

**AĞIR METAL AKÜMÜLATÖRÜ BİTKİLER İLE METALİK
NANOPARTİKÜL SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE
KULLANIM ALANLARININ ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

DENİZ UZUNOĞLU DOĞRUYOL

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİMYA MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI**

**MERSİN
ŞUBAT - 2022**

**AĞIR METAL AKÜMÜLATÖRÜ BİTKİLER İLE METALİK
NANOPARTİKÜL SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE
KULLANIM ALANLARININ ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

DENİZ UZUNOĞLU DOĞRUYOL
ORCID ID: 0000-0001-9706-303X

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİMYA MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI**

Danışman
Prof. Dr. Ayla ÖZER
ORCID ID: 0000-0002-7824-238X

**MERSİN
ŞUBAT - 2022**

ÖZET

AĞIR METAL AKÜMÜLATÖRÜ BİTKİLER İLE METALİK NANOPARTİKÜL SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE KULLANIM ALANLARININ ARAŞTIRILMASI

Bu doktora tez çalışmasında öncelikle demir hiperakümülatörü bir bitki olan *Pinus brutia*'nın dal ve yapraklarından demir içerikli bir liç çözeltisi hazırlandı. Bu liç çözeltisine uygun koşullar altında NaBH_4 eklenerek indirgenme yöntemi ile demir içerikli nanopartiküller (FeNPs) sentezlendi. UV-vis spektrumunda, demir içerikli nanopartiküllerin karakteristik piki olan 300 nm'de bir pik elde edildi. FT-IR analizinde Fe-O ve Fe-OH bağlarına ait pikler tespit edildi. EDX analizi ile FeNPs'nin; kütlece % 55.08 O, % 18.17 Fe, % 12.06 Ca, % 5.77 Na, % 5.32 Mg ve % 3.59 Cl elementlerini içerdiği belirlendi. XPS analizinde FeNPs'nin Mg 1s, Na 1s, Fe 2p, O 1s, Ca 2s, Ca 2p orbitallerine ait pikleri içerdiği tespit edildi. XRD analizi ile FeNPs'nin; Fe_3O_4 , FeOOH , $\gamma\text{-FeOOH}$, Fe^0 ve NaCl kristal yapılarına sahip olduğu belirlendi. VSM analizi ile FeNPs'nin ferromanyetik bir malzeme olduğu ve doygunluk manyetizasyon değerinin 4.5 emu/g olduğu tespit edildi. BET analizi ile FeNPs'nin mezo ve makro boyutta gözeneklere sahip olduğu ve spesifik BET yüzey alanının 32.67 m²/g olduğu belirlendi. DSC ve DTA eğrilerinde FeNPs yapısındaki demir haricindeki diğer bileşenlerin bozunmasından kaynaklanan 196 °C'de keskin bir pik elde edilirken, TGA eğrisinde 0-1000 °C aralığında 3 adımda toplamda %17.9022 kütle kaybının olduğu belirlendi. TEM analizinde FeNPs'nin küre benzeri çekirdek-kabuk yapısında olduğu olduğu tespit edildi.

FeNPs sentezi sırasında in situ (yerinde) $\text{H}_{2(g)}$ üretimi gerçekleştirildi ve bu prosese ait optimum ortam koşulları; 65 °C sıcaklık, pH=9.0, 2.50 g NABH_4 ve 1.0 g PVP olarak belirlendi ve bu koşullarda 80 dakikada toplam 6000±50 mL $\text{H}_{2(g)}$ üretilbildiği tespit edildi. Bu prosesin kinetik analizi sonucunda; FeNPs sentezi sırasında $\text{H}_{2(g)}$ üretimi reaksiyonunun mertebesinin 1.3523; 30°C, 45°C, ve 65°C'deki reaksiyon hız sabitlerinin sırasıyla 0.4219, 1.3473, 2.9434 [(mol^{0.3523})(L^{-0.3523})(min⁻¹)] olduğu belirlendi. Termodinamik değerlendirme ile; bu prosese ait aktivasyon enerjisi (E_a), üstel önu faktörü (A), aktivasyon entalpisi ($\Delta H^\#$) ve entropisi ($\Delta S^\#$) değerleri sırasıyla 46.86 kJ/mol, 5.65x10⁷, 44.19 kJ/mol ve -105.52 J/mol.K olarak hesaplandı.

FeNPs'nin antibakteriyel uygulamalarda, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve askorbik asit (AA)'ın kolorimetrik tespitinde değerlendirilebilirliği araştırıldı. Buna göre; FeNPs'nin seçilen bakterilerin tamamına karşı etkili olduğu ve *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* 0157:H7, *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* ve *Salmonella typhimurium* bakteri türleri için inhibisyon bölge çapları sırasıyla 20.85 ± 2.98, 17.33 ± 2.62, 16.93 ± 1.80, 22.74 ± 1.09, 31.56 ± 1.50 ve 20.35 ± 1.46 mm olarak belirlendi.

FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde optimum ortam koşulları; pH=2.0, 2:1 asetat tamponu:TMB (v:v) oranı, 700 µL 1.0 g/L FeNPs miktarı, 1.0 mM H_2O_2 derişimi ve 45 °C sıcaklık olarak belirlendi. Kinetik analiz sonuçlarına göre; TMB'nin substrat olduğu durumda $v_{\max}$ ve K_m değerleri sırasıyla 4.135x10⁻⁸ M/s ve 3.54 mM iken; H_2O_2 'nin substrat olduğu durumda, $v_{\max}$ ve K_m değerleri sırasıyla 4.0927x10⁻⁸ M/s ve 0.3247 mM'dır. H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde FeNPs'nin minimum tespit limiti 0.05-0.20 mM H_2O_2 derişimi aralığında; 0.05773 µM olarak belirlendi. Ayrıca, FeNPs'nin 6 ay boyunca aktivitesinde çok az bir düşüşle kararlı bir şekilde kullanılabileceği gözlemlendi. Doğruluk analizi kapsamında; kıyaslanan $\text{C}_4\text{K}_2\text{O}_9\text{Ti}_2\text{H}_2\text{O}$ kullanılan kolorimetrik yöntem ile FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespiti yöntemleri arasında anlamlı bir fark olmadığı; dolayısıyla, bu çalışmada kullanılan yöntem ile kolorimetrik H_2O_2 tespitinin doğru ve güvenilir bir şekilde yapılabileceği söylenebilir. FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitine ürik asit, askorbik asit (AA), oksalik asit, L-glutasyon, L-sistein, dopamin ve melamin bileşenlerinin etkileşimde bulundukları tespit edildi.

FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitini takiben AA'nın dolaylı tespiti yönteminin minimum tespit limiti 30-200 µM AA derişimi aralığında; 0.5462 µM olarak belirlendi. Ayrıca, çeşitli bileşenlerin varlığında bu yöntemin seçiciliği belirlendi ve bu yöntemin NaCl, KCl, CuCl_2 , CaCl_2 , ZnCl_2 , MgCl_2 , $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, glikoz, laktoz, maltoz, fruktoz, sakkaroz, üre, laktik asit, oksalik asit bileşenleri varlığında AA'nın hassas ve seçici tespitinde etkin bir şekilde kullanılabileceği tespit edildi. Bu çalışmada kullanılan yöntem ile ticari AA içerikli malzemelerde AA tespitinin doğru ve güvenilir bir şekilde yapılabildiği belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Hiperakümülatör bitki (*Pinus brutia*), Demir içerikli nanopartiküller, $\text{H}_{2(g)}$ üretimi, Antibakteriyel aktivite, Kolorimetrik H_2O_2 tespiti, Kolorimetrik askorbik asit tespiti.

Danışman: Prof. Dr., Ayla ÖZER, Mersin Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Mersin.

ABSTRACT

SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND INVESTIGATION OF UTILIZATION AREAS OF METALLIC NANOPARTICLES WITH HEAVY METAL ACCUMULATOR PLANTS

In this doctoral thesis, firstly, an iron-containing leach solution was prepared from the branches and leaves of *Pinus brutia*, an iron hyperaccumulator plant. Iron-containing nanoparticles (FeNPs) were synthesized by the reduction method by adding NaBH_4 to the leach solution under suitable conditions. A peak at 300 nm, which is the characteristic peak of iron-containing nanoparticles, was obtained in UV-vis spectrum. The peaks of Fe-O and Fe-OH bonds were detected in FT-IR analysis. By EDX analysis, it was determined that FeNPs contained 55.08% O, 18.17% Fe, 12.06% Ca, 5.77% Na, 5.32% Mg and 3.59% Cl elements by mass. In XPS analysis, it was determined that FeNPs contained peaks of Mg 1s, Na 1s, Fe 2p, O 1s, Ca 2s, Ca 2p orbitals. It was determined by XRD analysis that FeNPs had the crystal structures of Fe_3O_4 , FeOOH , $\gamma\text{-FeOOH}$, Fe0 and NaCl. It was determined by VSM analysis that FeNPs was a ferromagnetic material and its saturation magnetization value was 4.5 emu/g. It was determined by BET analysis that FeNPs were macroporous and the specific BET surface area was 32.67 m^2/g . In the DSC and DTA curves, a sharp peak at 196 $^\circ\text{C}$ was obtained due to the degradation of the other components except iron in the structure of FeNPs, while a total mass loss of 17.9022% was found in the TGA curve in 3 steps in the range of 0-1000 $^\circ\text{C}$. In the TEM analysis, it was determined that FeNPs had a sphere-like core-shell structure.

During FeNPs synthesis, in situ $\text{H}_{2(\text{g})}$ production was carried out and the optimum experimental conditions for this process were determined as 65 $^\circ\text{C}$ temperature, pH = 9.0, 2.50 g NaBH_4 , and 1.0 g PVP; also, it was determined that a total of 6000 ± 50 mL $\text{H}_{2(\text{g})}$ could be produced in 80 minutes under these conditions. It was determined as a result of the kinetic analysis of this process that the order of the reaction of $\text{H}_{2(\text{g})}$ production during the synthesis of FeNPs was 1.3523 and the reaction rate constants at 30 $^\circ\text{C}$, 45 $^\circ\text{C}$, and 65 $^\circ\text{C}$ were 0.4219, 1.3473, 2.9434 $[(\text{mol}^{0.3523}) (\text{L}^{-0.3523}) (\text{min}^{-1})]$, respectively. With thermodynamic evaluation; activation energy (E_a), exponential front factor (A), activation enthalpy ($\Delta H^\#$) and entropy ($\Delta S^\#$) values of this process were calculated as 46.86 kJ/mol, 5.65×10^7 , 44.19 kJ/mol, and -105.52 J/mol.K, respectively.

The evaluability of FeNPs in the antibacterial applications, colorimetric detection of hydrogen peroxide (H_2O_2) and ascorbic acid (AA) was investigated. Accordingly; it was observed that FeNPs were effective against all selected bacteria and the inhibition zone diameters for the bacteria species of *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157: H7, *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella typhimurium* were 20.85 ± 2.98 , 17.33 ± 2.62 , 16.93 ± 1.80 , 22.74 ± 1.09 , 31.56 ± 1.50 , and 20.35 ± 1.46 mm, respectively.

For the colorimetric detection of H_2O_2 with FeNPs, the optimum experimental conditions were determined as pH=2.0, 2:1 buffer:TMB (v:v) ratio, 700 μL 1.0 g/L FeNPs amount, 1.0 mM H_2O_2 concentration, and 45 $^\circ\text{C}$ temperature. According to the kinetic analysis results; v_{max} and K_m values were 4.135×10^{-8} M/s and 3.54 mM, respectively when TMB is the substrate while v_{max} and K_m values were 4.0927×10^{-8} M/s and 0.3247 mM, respectively when H_2O_2 is the substrate. In the colorimetric determination of H_2O_2 , the minimum detection limit of FeNPs was determined as 0.05773 μM in the H_2O_2 concentration range of 0.05-0.20 mM. It was observed that FeNPs could be used stably over 6 months with only a slight decrease in its activity. Within the scope of accuracy analysis; there was no significant difference between the colorimetric method using $\text{C}_4\text{K}_2\text{O}_9\text{Ti}_2\text{H}_2\text{O}$ and the colorimetric detection of H_2O_2 with FeNPs; therefore, it could be said that the colorimetric H_2O_2 detection could be made accurately and reliably with the method used in this study. It was determined that the components of uric acid, ascorbic acid (AA), oxalic acid, L-glutathione, L-cysteine, dopamine and melamine were found to interference with the colorimetric detection of H_2O_2 with FeNPs.

The minimum detection limit of the method of indirect AA detection by the colorimetric detection of H_2O_2 with FeNPs was determined as 0.5462 μM in the range of 30-200 μM AA concentration. In addition, the selectivity of this method was determined in the presence of various components and it was observed that this method could be used effectively in sensitive and selective detection of AA in the presence of the components of NaCl, KCl, CuCl_2 , CaCl_2 , ZnCl_2 , MgCl_2 , $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, glucose, lactose, maltose, fructose, sucrose, urea, lactic acid, and oxalic acid. It was determined that AA detection could be made accurately and reliably in commercial AA-containing materials with the method used in this work.

Keywords: Hyperaccumulator plant (*Pinus brutia*), Iron containing nanoparticles, $\text{H}_{2(\text{g})}$ production, Antibacterial activity, Colorimetric H_2O_2 detection, Colorimetric ascorbic acid detection.

Advisor: Prof. Dr., Ayla ÖZER, Department of Chemical Engineering, University of Mersin, Mersin.

TEŞEKKÜR

Lisans, yüksek lisans ve doktora eğitim hayatımda; engin bilgisi, yol gösterici önerileri ve yardımlarının yanı sıra manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, hayatım boyunca örnek alacağım değerli tez danışmanım Mersin Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Ayla ÖZER'e,

Destek ve yardımlarını esirgemeyen Mersin Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü öğretim üyesi hocalarıma,

Deneyisel çalışmalarım sırasında Mersin Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarından yararlanmamı sağlayan ve Tez İzleme Komite toplantılarında doktora tezime önemli katkılarda bulunan Mersin Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanı H. İbrahim EKİZ'e,

Değerli bilgi ve tecrübeleri ile Tez İzleme Komite toplantılarında doktora tezime önemli katkılarda bulunan Mersin Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Bahadır K. KÖRBAHTİ'ye,

Doktora tez çalışmamın temelini oluşturan hiperakümülatör bitkiler konusundaki bilgi ve deneyimlerini paylaşan ve materyal temininde yardımlarını esirgemeyen Mersin Üniversitesi Jeoloji Mühendisliği öğretim üyesi Dr. Öğr. Üyesi Zeynep ÖZDEMİR'e,

Tezimi maddi olarak destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) ve Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP)'ne,

Analiz çalışmalarımı yapmama yardımcı olan başta Dr. Öğr. Gör. Cihan GEÇGEL olmak üzere tüm Mersin Üniversitesi İleri Teknoloji Eğitim, Araştırma ve Uygulama Merkezi (MEİTAM) çalışanlarına,

Gerek deneysel çalışmalarımda gerekse günlük hayatımda destek ve yardımlarıyla her zaman yanımda olan Arş. Gör. Memduha ERGÜT ve Pınar KARACABEY'e,

Üzerimde büyük emeği olan ve maddi-manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, hayatım boyunca minnettar kalacağım sevgili babam İrfan UZUNOĞLU ve sevgili annem Hatice M. UZUNOĞLU'na,

Akademik çalışmalarım boyunca sabır, sevgi ve yardımlarını esirgemeyen, her zaman yanımda ve destekçim olan sevgili eşim D. Mustafa DOĞRUYOL'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	i
ONAY	ii
ETİK BEYAN	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
SİMGELER ve KISALTMALAR	xvi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	5
2.1. Nanoteknoloji.....	5
2.2. Nanopartikül Sentez Yöntemleri.....	7
2.3. Metal İyonu Akümülatörü Bitkiler	10
2.4. Hidrojen Gazı.....	20
2.5. Demir İçerikli Nanopartiküller	36
2.5.1. Antibakteriyel Aktivite Çalışmaları.....	44
2.5.2. H ₂ O ₂ 'nin Kolorimetrik Tespit Çalışmaları	49
2.5.2.1. H ₂ O ₂ 'nin Tarihçesi.....	49
2.5.2.2. H ₂ O ₂ 'nin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	50
2.5.2.3. H ₂ O ₂ 'nin Kullanım Alanları.....	50
2.5.2.4. H ₂ O ₂ 'nin İnsan Sağlığına Yaraları ve Zararları	53
2.5.2.5. H ₂ O ₂ 'nin Tayin Yöntemleri	54
2.5.3. Askorbik Asit (AA)'in Kolorimetrik Tespit Çalışmaları	59
2.5.3.1. Askorbit Asitin Tarihçesi	59
2.5.3.2. Askorbik Asitin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	60
2.5.3.3. Askorbik Asitin Kullanım Alanları	61
2.5.3.4. Askorbik Asitin Tayin Yöntemleri.....	62
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	66
3.1. <i>Pinus brutia</i> Örneklerinin Toplanması ve Liç Çözeltilisinin Hazırlanması.....	67
3.2. Demir İçerikli Nanopartikül (FeNPs) Sentezi ve Karakterizasyonu	70
3.3. Demir Nanopartikül (FeNPs) Sentezi Sırasında Hidrojen Gazı (H _{2(g)}) Üretimi.....	71
3.3.1. <i>P. brutia</i> 'dan Hazırlanan Liç Çözeltilisi İçerisindeki Demir İyonu Haricindeki Diğer Bileşenlerin FeNPs Sentezi Sırasındaki H _{2(g)} Üretimine Etkisinin Araştırılması	72
3.3.2. FeNPs Sentezi Sırasında H _{2(g)} Üretimi Kinetiği.....	72
3.3.3. FeNPs Sentezi Sırasında H _{2(g)} Üretiminin Termodinamik Analizi	74
3.4. FeNPs'nin Antibakteriyel Özelliklerinin Araştırılması	75
3.4.1. Bakteri Seçimi	75
3.4.2. Kültür ve Aşı Hazırlığı.....	75
3.4.3. Antibakteriyel Aktivite Testi.....	75
3.5. FeNPs'nin Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂)'in Kolorimetrik Tespitinde Kullanılabilirliğinin Araştırılması	76
3.5.1. FeNPs ile H ₂ O ₂ 'nin Kolorimetrik Tespiti Yönteminin Araştırılması	76
3.5.1.1. FeNPs ile H ₂ O ₂ 'nin Kolorimetrik Tespitinde UV-vis Analizi	76
3.5.1.2. Kolorimetrik H ₂ O ₂ Tespiti Sırasında Oluşan OH• Radikallerinin Belirlenmesi.....	76
3.5.2. Sentezlenen FeNPs ve Peroksidaz Enzimi (HRP) ile H ₂ O ₂ 'nin Kolorimetrik Tespitine Ortam Koşullarının Etkisinin Araştırılması	77
3.5.3. FeNPs ve HRP Enzimi ile H ₂ O ₂ 'nin Kolorimetrik Tespitinin Kinetik Analizi.....	77
3.5.4. FeNPs'nin Minimum Tespit Sınırının Belirlenmesi	78

3.5.5. H ₂ O ₂ 'nin Kolorimetrik Tespitinde FeNPs'nin Kararlılığının Belirlenmesi.....	79
3.5.6. Geliştirilen H ₂ O ₂ Tespit Yönteminin, Potasyum Titanyum Oksit Oksalat Dihidrat (C ₄ K ₂ O ₉ Ti ₂ H ₂ O) Kullanılan Kolorimetrik Yöntem ile Doğruluk Analizinin Yapılması.....	79
3.5.6.1. FeNPs Varlığında Kolorimetrik H ₂ O ₂ Tespiti.....	79
3.5.6.2. C ₄ K ₂ O ₉ Ti ₂ H ₂ O Varlığında Kolorimetrik H ₂ O ₂ Tespiti.....	79
3.5.7. FeNPs ile H ₂ O ₂ 'nin Kolorimetrik Tespitinde Ortam Bileşenlerinin Etkileşimlerinin Araştırılması	81
3.5.8. <i>P. brutia</i> 'dan Hazırlanan Liç Çözeltisi İçerisindeki Demir İyonu Haricindeki Diğer Bileşenlerin FeNPs ile H ₂ O ₂ 'nin Kolorimetrik Tespitine Etkisinin Araştırılması	81
3.6. Askorbik Asit (AA)'ın Dolaylı Kolorimetrik Tespitinde FeNPs'nin Kullanılabilirliğinin Araştırılması	82
3.6.1. AA'nın FeNPs ile Dolaylı Kolorimetrik Tespiti Yönteminin Araştırılması	82
3.6.2. AA'nın FeNPs ile Dolaylı Kolorimetrik Tespiti Yönteminin Minimum Tespit Sınırının Belirlenmesi	82
3.6.3. AA'nın FeNPs ile Dolaylı Kolorimetrik Tespiti Yönteminin Seçiciliğinin Belirlenmesi ..	83
3.6.4. AA'nın FeNPs ile Dolaylı Kolorimetrik Tespiti Yönteminin Doğruluk Analizinin Yapılması.....	83
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	85
4.1. <i>Pinus brutia</i> Bitkisi ile Hazırlanan Liç Çözeltisinin ICP-MS Analizi	85
4.2. Liç çözeltisi Kullanarak Demir Nanopartiküllerinin (FeNPs) Sentezi ve Karakterizasyonu	87
4.2.1. Liç Çözeltisi Kullanılan Demir Nanopartikülleri (FeNPs) Sentezine Ortam Koşullarının Etkisinin SEM Analizi ile Değerlendirilmesi	103
4.2.1.1. FeNPs Sentezine Sıcaklığın Etkisi (Deney i, vi, vii)	104
4.2.1.2. FeNPs Sentezine pH'nın Etkisi (Deney i, ii, iii).....	105
4.2.1.3. FeNPs Sentezine NaBH ₄ Miktarının Etkisi (Deney i, vi, vii, viii)	106
4.2.1.4. FeNPs Sentezine PVP Miktarının Etkisi (Deney ix, x, xi, xii)	107
4.3. FeNPs Sentezi Sırasında H _{2(g)} Üretimine Çevresel Koşulların Etkisinin Araştırılması	108
4.3.1. FeNPs Sentezi Sırasında H _{2(g)} Üretimine Sıcaklığın Etkisi.....	108
4.3.2. FeNPs Sentezi Sırasında H _{2(g)} Üretimine pH'ın Etkisi	109
4.3.3. FeNPs Sentezi Sırasında H _{2(g)} Üretimine NaBH ₄ Miktarının Etkisi.....	110
4.3.4. FeNPs Sentezi Sırasında H _{2(g)} Üretimine PVP Miktarının Etkisi	111
4.3.5. <i>P. brutia</i> 'dan Hazırlanan Liç Çözeltisi İçerisindeki Demir İyonu Haricindeki Diğer Bileşenlerin FeNPs Sentezi Sırasında H _{2(g)} Üretimine Etkisinin Araştırılması	114
4.3.6. FeNPs Sentezi Sırasında H _{2(g)} Üretimi Mekanizması ve Kinetiği	115
4.3.7. FeNPs Sentezi Sırasında H _{2(g)} Üretiminin Termodinamik Değerlendirmesi	118
4.4. FeNPs'nin Antibakteriyel Özelliklerinin Belirlenmesi	120
4.5. H ₂ O ₂ 'nin Kolorimetrik Tespitinde FeNPs'nin Kullanılabilirliğinin Araştırılması	124
4.5.1. FeNPs ile H ₂ O ₂ 'nin Kolorimetrik Tespiti Yönteminin Araştırılması	124
4.5.1.1. FeNPs ile H ₂ O ₂ 'nin Kolorimetrik Tespitinde UV-vis Analizi	124
4.5.1.2. Kolorimetrik H ₂ O ₂ Tespiti Sırasında Oluşan OH• Radikallerinin Belirlenmesi.....	127
4.5.2. FeNPs ve Peroksidaz Enzimi (HRP) ile H ₂ O ₂ 'nin Kolorimetrik Tespitine Çevresel Koşulların Etkisinin Araştırılması	129
4.5.2.1. FeNPs ve Peroksidaz Enzimi (HRP) ile H ₂ O ₂ 'nin Kolorimetrik Tespitine pH'ın Etkisi	129
4.5.2.2. FeNPs ve Peroksidaz Enzimi (HRP) ile H ₂ O ₂ 'nin Kolorimetrik Tespitine Asetat Tamponu:TMB (v:v) Oranı Etkisi.....	131
4.5.2.3. FeNPs ve Peroksidaz Enzimi (HRP) ile H ₂ O ₂ 'nin Kolorimetrik Tespitine Katalizör Miktarı Etkisi	133
4.5.2.4. FeNPs ve Peroksidaz Enzimi (HRP) ile H ₂ O ₂ 'nin Kolorimetrik Tespitine H ₂ O ₂ Derişimi Etkisi	134
4.5.2.5. FeNPs ve Peroksidaz Enzimi (HRP) ile H ₂ O ₂ 'nin Kolorimetrik Tespitine Sıcaklığın Etkisi	136

4.5.3. FeNPs ve Peroksidaz Enzimi (HRP) ile H ₂ O ₂ 'nin Kolorimetrik Tespitinin Kinetik Analizi	138
4.5.4. FeNPs'nin Minimum Tespit Sınırının Belirlenmesi	146
4.5.5. H ₂ O ₂ 'nin Kolorimetrik Tespitinde FeNPs'nin Kararlılığının Belirlenmesi	148
4.5.6. Potasyum Titanyum Oksit Oksalat Dihidrat (C ₄ K ₂ O ₉ Ti.2H ₂ O) Kullanılan Kolorimetrik Yöntem ile Geliştirilen H ₂ O ₂ Tespit Yönteminin Doğruluk Analizinin Yapılması	149
4.5.7. FeNPs ile H ₂ O ₂ 'nin Kolorimetrik Tespitinde Ortamdaki Farklı Bileşenlerin Etkileşimlerinin Araştırılması	151
4.5.8. <i>P. brutia</i> 'dan Hazırlanan Liç Çözeltilisi İçerisindeki Demir İyonu Haricindeki Diğer Bileşenlerin FeNPs ile H ₂ O ₂ 'nin Kolorimetrik Tespitine Etkisinin Araştırılması	153
4.6. Askorbik Asit (AA)'ın Dolaylı Kolorimetrik Tespitinde FeNPs'nin Kullanılabilirliğinin Araştırılması	154
4.6.1. AA'nın FeNPs ile Dolaylı Kolorimetrik Tespiti Yönteminin Araştırılması	154
4.6.2. AA'nın FeNPs ile Dolaylı Kolorimetrik Tespiti Yönteminin Minimum Tespit Sınırının Belirlenmesi	155
4.6.3. AA'nın FeNPs ile Dolaylı Kolorimetrik Tespiti Yönteminin Seçiciliğinin Belirlenmesi	158
4.6.4. AA'nın FeNPs ile Dolaylı Kolorimetrik Tespiti Yönteminin Doğruluk Analizinin Yapılması	160
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	162
KAYNAKLAR	173
ÖZGEÇMİŞ	201

TABLOLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.2. 1. Nanopartikül sentez yöntemleri	7
Tablo 2.3. 1. Literatürde yer alan çeşitli ağır metal akümülatörü bitkiler ile akümüle ettikleri ağır metal türleri ve ağır metal derişimleri.....	11
Tablo 2.3.2. Yapılan çalışmada farklı bölgelerden toplanmış <i>P. brutia</i> 'nın yaprak, dal ve kozalak örneklerindeki Fe ve Zn derişimleri.....	16
Tablo 2.3.3. Çalışmada toplanılan örneklerdeki Cd, Cr, Ni, Cu, Pb ve Fe elementlerinin derişimleri.....	16
Tablo 2.3.4. <i>Pinus brutia</i> 'nın bilimsel sınıflandırılması	18
Tablo 2.3.5. <i>P. brutia</i> ile ilgili yapılan çalışmalar	19
Tablo 2.4. 1. Enerji kaynakları sınıflandırılması.....	21
Tablo 2.4.2. Dünyadaki enerji talebinin (Milyon ton petrol eşdeğeri-Mtoe) yıllara göre değışimi	23
Tablo 2.4.3. Hidrojenin bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri	23
Tablo 2.4.4. Hidrojenin yanma şekline göre kullanım alanları.....	24
Tablo 2.4.5. Hidrojenin ve yaygın olarak kullanılan diğer yakıtların özellikleri.....	26
Tablo 2.4.6. Bazı kompleks hidrürlerin fiziksel özellikleri ile hidrojen depolama kapasiteleri	30
Tablo 2.4.7. Hidrojen üretim yöntemleri.....	32
Tablo 2.5. 1. Demir içerikli nanopartiküllerin çeşitli yöntemler ile sentezi ve kullanım alanları ile ilgili çalışmalar	39
Tablo 2.5.2. H ₂ O ₂ 'nin fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	50
Tablo 2.5.3. Birçok oksidaz enziminin yan ürünü olarak H ₂ O ₂ 'nin açığa çıkma reaksiyonları.....	51
Tablo 2.5.4. HRP için sıklıkla kullanılan substratlar	58
Tablo 2.5.5. H ₂ O ₂ 'nin fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	61
Tablo 3.1. Doktora tez çalışmasının kapsamı	66
Tablo 3.2. 1. <i>P. brutia</i> 'nın toplandığı koordinatlar	69
Tablo 4.1.1. <i>P. brutia</i> bitkisinin farklı koordinatlardan toplanan dal ve yaprak karışımlarından hazırlanan liç çözeltilerinin ICP-MS elementel analiz sonuçları	85
Tablo 4.1.2. 1-5 numaralı koordinatlarda yetişen <i>P. brutia</i> bitkilerinin yaprak ve dal örneklerinden ayrı ayrı hazırlanan liç çözeltilerinin ICP-MS elementel analiz sonuçları.....	86
Tablo 4.1.3. 1-5 numaralı koordinatlarda yetişen <i>P. brutia</i> bitkilerinin dal ve yapraklarının karıştırılması ile hazırlanan liç çözeltilisinin ICP-MS elementel analiz sonuçları	87
Tablo 4.2. 1. Literatürde manyetik özellik gösteren demir içerikli nanaopartiküllerin doygunluk manyetizasyon (M _s) değerleri.....	96
Tablo 4.2.2. Adsorpsiyon izoterm modelleri ve özellikleri.....	97
Tablo 4.2.3. Literatürde yer alan demir içerikli nanopartiküllerin spesifik BET yüzey alanları.....	100
Tablo 4.3.1. Literatürde H ₂ (g) üretimi ile ilgili yapılan çalışmalar	113
Tablo 4.3.2. Literatürdeki H ₂ (g) üretimine ait E _a , ΔH [#] ve ΔS [#] değerleri.....	119
Tablo 4.4.1. Literatürde yer alan demir içerikli nanopartiküllere ait çeşitli mikroorganizmalar için elde edilen inhibisyon çapları	122
Tablo 4.5.1. TMB ve H ₂ O ₂ 'nin ayrı ayrı substrat olduğu proseslere ait K _m ve v _{max} değerlerinin kıyaslanması.....	145
Tablo 4.5.2. Peroksidaz benzeri katalizörler ile H ₂ O ₂ 'nin kolorimetrik tespiti proseslerine ait doğrusal tespit aralıkları ve LOD değerleri	147
Tablo 4.5.3. Okunan absorbans değerleri ve hesaplanan derişimler	150
Tablo 4.5.4. Peroksidaz benzeri bir katalizör olarak FeNPs ile H ₂ O ₂ tespit yönteminin, C ₄ K ₂ O ₉ Ti.2H ₂ O ile H ₂ O ₂ tespit yöntemi ile elde edilen sonuçların istatistiksel kıyaslanması..	150
Tablo 4.5.5. Hesaplanan geri kazanım oranları	152

	Sayfa
Tablo 4.6.1. Literatürdeki AA tespiti proseslerine ait doğrusal tespit aralıkları ve LOD değerleri.....	157
Tablo 4.6.2. Hesaplanan geri kazanım oranları	160
Tablo 4.6.3. Doğruluk analizi sonuçları.....	161



ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.2.1. Geliştirilen nanopartikül sentez yöntemi.....	10
Şekil 2.4. 1. Yakıt türlerine göre dünyadaki enerji tüketimi.....	22
Şekil 2.4.2. Çeşitli yanıcı maddelerin birim kütleleri başına enerji içerikleri (MJ/kg)	25
Şekil 2.4.3. Mevcut hidrojen üretiminde kullanılan yöntemler.....	31
Şekil 3.2. 1. Minsan Madencilik'in kromit (FeCr_2O_4) yatağı işletme sahası içerisinde çeşitli koordinatlarda çekilen, P. brutia'nın bulunduğu gösteren fotoğraflar alanları	67
Şekil 3.2.2. P. brutia'nın 7 farklı koordinattan toplandığı alanı gösteren Google Earth uydu görüntüsü	69
Şekil 3.2.3. P. brutia'dan liç çözeltisi hazırlanması ve eş zamanlı olarak FeNPs oluşumu ve $\text{H}_{2(g)}$ üretimi	70
Şekil 3.3. 1. Eş zamanlı FeNPs sentezi ve $\text{H}_{2(g)}$ üretimi deney sistemi.....	72
Şekil 4.2.1. P. brutia bitkisinin dal ve yapraklarından hazırlanan liç çözeltisine NaBH_4 eklenmesi ile sentezlenen FeNPs içerikli karışımın UV-vis spektrumu (FeNPs sentez koşulları: 5.0 mL liç çözeltisi, doğal pH (≈ 1.18), 65 °C, 0.175 g NaBH_4)	88
Şekil 4.2.2. Sentezlenen FeNPs'nin FT-IR spektrumu (FeNPs sentez koşulları: 5.0 mL liç çözeltisi, doğal pH (≈ 1.18), 65 °C, 0.175 g NaBH_4)	89
Şekil 4.2.3. FeNPs'nin EDX analizi (FeNPs sentez koşulları: 5.0 mL liç çözeltisi, doğal pH (≈ 1.18), 65 °C, 0.175 g NaBH_4).....	89
Şekil 4.2.4. Sentezlenen FeNPs'nin XPS analizi (FeNPs sentez koşulları: 5.0 mL liç çözeltisi, doğal pH (≈ 1.18), 65 °C, 0.175 g NaBH_4) (a) Genel tarama (0-1300 eV), (b) Kısmi tarama (700-750 eV)	91
Şekil 4.2.5. Sentezlenen FeNPs'nin XRD analizi (FeNPs sentez koşulları: 5.0 mL liç çözeltisi, doğal pH (≈ 1.18), 65 °C, 0.175 g NaBH_4)	92
Şekil 4.2.6. Sentezlenen FeNPs'nin (a) -20/+20 kOe manyetik alan aralığında, (b) -1.0/+1.0 kOe manyetik alan aralığında VSM analizi (FeNPs sentez koşulları: 5.0 mL liç çözeltisi, doğal pH (≈ 1.18), 65 °C, 0.175 g NaBH_4).....	94
Şekil 4.2.7. Sentezlenen FeNPs'nin (a) adsorpsiyon izotermi, (b) Barrett-Joyner-Halenda (BJH) boyut dağılımı (FeNPs sentez koşulları: 5.0 mL liç çözeltisi, doğal pH (≈ 1.18), 65 °C, 0.175 g NaBH_4)	99
Şekil 4.2.8. Sentezlenen FeNPs'nin DSC, TGA ve DTA eğrileri (FeNPs sentez koşulları: 5.0 mL liç çözeltisi, doğal pH (≈ 1.18), 65 °C, 0.175 g NaBH_4)	101
Şekil 4.2.9. Sentezlenen FeNPs'nin TEM görüntüleri (a) 50.0 k büyütme oranında, (b) 100 k büyütme oranında, (c) 100 k büyütme oranında (farklı bölge)	102
Şekil 4.2.10. Farklı sıcaklıklarda sentezlenen FeNPs'nin SEM görüntüleri (a) T=30 °C, (b) T=45 °C, (c) T=65 °C (FeNPs sentez koşulları: 5.0 mL 13.81 mg/L liç çözeltisi, doğal pH ≈ 1.18 , 0.175 g NaBH_4 , T=30-65 °C)	104
Şekil 4.2.11. Nanopartikül oluşum şeması.....	105
Şekil 4.2.12. Farklı pH değerlerinde sentezlenen FeNPs'nin SEM görüntüleri (a) Doğal pH, (b) pH=3.0, (c) pH=5.5 (FeNPs sentez koşulları: 5.0 mL 13.81 mg/L liç çözeltisi, pH=doğal pH (≈ 1.18)-5.5), 0.175 g NaBH_4 , T=65 °C)	106
Şekil 4.2.13. Farklı NaBH_4 miktarları ile sentezlenen FeNPs'nin SEM görüntüleri (a) 0.35 g NaBH_4 , (b) 0.50 g NaBH_4 , (c) 0.625 g NaBH_4 (FeNPs sentez koşulları: 5.0 mL 13.81 mg/L liç çözeltisi, doğal pH ≈ 1.18 , 0.175-0.625 g NaBH_4 , T=65 °C).....	106
Şekil 4.2.14. Farklı PVP miktarları ile sentezlenen FeNPs'nin SEM görüntüleri (a) 0.025 g NaBH_4 , (b) 0.125 g NaBH_4 , (c) 0.25 g NaBH_4 , (d) 0.50 g PVP (FeNPs sentez koşulları: 5.0 mL 13.81 mg/L liç çözeltisi, doğal pH ≈ 1.18 , 0.175 g NaBH_4 , T=65 °C, 0.025-0.50 g PVP)	107
Şekil 4.3.1. (a) Farklı sıcaklıklarda üretilen $\text{H}_{2(g)}$ hacimlerinin zamanla değişimi, (b) Farklı sıcaklıklarda üretilen toplam $\text{H}_{2(g)}$ hacimleri (Deneysel koşullar: doğal pH ≈ 1.18 , T=30-65 °C, 20 mL 13.81 mg/L liç çözeltisi, 0.70 g NaBH_4)	108

Şekil 4.3.2. (a) Farklı pH değerlerinde üretilen $H_{2(g)}$ hacimlerinin zamanla değişimi, (b) Farklı pH değerlerinde üretilen toplam $H_{2(g)}$ hacimleri (DeneySEL koşullar: pH=doğal pH (≈ 1.18)-9.0, $T=65^\circ C$, 20 mL 13.81 mg/L liç çözeltisi, 0.70 g $NaBH_4$).....	109
Şekil 4.3.3. (a) Farklı $NaBH_4$ miktarları ile üretilen $H_{2(g)}$ hacimlerinin zamanla değişimi, (b) Farklı $NaBH_4$ miktarları ile üretilen toplam $H_{2(g)}$ hacimleri (DeneySEL koşullar: doğal pH ≈ 1.18 , $T=65^\circ C$, 20 mL 13.81 mg/L liç çözeltisi, 0.70-2.50 g $NaBH_4$).....	110
Şekil 4.3.4. (a) Farklı PVP miktarları ile üretilen $H_{2(g)}$ hacimlerinin zamanla değişimi, (b) Farklı PVP miktarları ile üretilen toplam $H_{2(g)}$ hacimleri (DeneySEL koşullar: doğal pH ≈ 1.18 , $T=65^\circ C$, 20 mL 13.81 mg/L liç çözeltisi, 0.70 g $NaBH_4$, 0-2.0 g PVP).....	111
Şekil 4.3.5. PVP'nin molekül yapısı	112
Şekil 4.3.6. <i>P.brutia</i> 'dan hazırlanan liç çözeltisi, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ve $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ ile üretilen toplam $H_{2(g)}$ hacimleri.....	114
Şekil 4.3.7. Reaksiyon (4.3.2.) ve Reaksiyon (4.3.3.) sonucu üretilen üretilen $H_{2(g)}$ hacimlerinin zamanla değişimleri.....	115
Şekil 4.3.8. (a). t'ye karşı (CBH4-) grafiği, (b) $\ln(CBH4-)$ 'e karşı $\ln(-d(CBH4-)/dt)$ grafiği	117
Şekil 4.3.9. $1/T$ 'ye karşı $\ln k$ ve $\ln(k/T)$ grafikleri	119
Şekil 4.4.1. FeNPs'nin test mikroorganizmaları üzerindeki antibakteriyel aktivitesi	121
Şekil 4.4.2. FeNPs varlığında her bir mikroorganizma için elde edilen inhibisyon bölge çapları	122
Şekil 4.5.1. FeNPs ve HRP ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde elde edilen spektrum taramaları (DeneySEL koşullar: 250 μL 2.0 mM TMB, 500 μL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), $T=20^\circ C$, 500 μL 100 mM H_2O_2 çözeltisi ve FeNPs ile yapılan deneyde 100 μL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi; HRP ile yapılan deneyde 100 μL 0.1 $\mu g/mL$ HRP çözeltisi; kontrol amacıyla yapılan deneyde 100 μL saf su).....	125
Şekil 4.5.2. FeNPs ve HRP ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespit adımları	126
Şekil 4.5.3. FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespiti prosesinde farklı (a) H_2O_2 ve (b) TMB derişimlerine bağlı olarak değişen çözelti renkleri	126
Şekil 4.5.4. (a) Farklı H_2O_2 derişimleri ve (b) FeNPs miktarları için elde edilen floresans spektrumları.....	128
Şekil 4.5.5. H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitine pH'ın etkisi (DeneySEL koşullar: 250 μL 2.0 mM TMB, 500 μL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0-14), $T=20^\circ C$, 100 mM 500 μL H_2O_2 çözeltisi ve kontrol deneyi için 100 μL saf su; FeNPs ile yapılan deneyde 100 μL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi; HRP ile yapılan deneyde 100 μL 0.1 $\mu g/mL$ HRP çözeltisi).....	130
Şekil 4.5.6. H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitine asetat tamponu:TMB (v:v) oranı etkisi (DeneySEL koşullar: 2.0 mM TMB, asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), $T=20^\circ C$, 100 mM 500 μL H_2O_2 çözeltisi ve kontrol deneyi için 100 μL saf su; FeNPs ile yapılan deneyde 100 μL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi; HRP ile yapılan deneyde 100 μL 0.1 $\mu g/mL$ HRP çözeltisi).....	132
Şekil 4.5.7. H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitine katalizör miktarının etkisi (DeneySEL koşullar: 250 μL 2.0 mM TMB, 500 μL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), $T=20^\circ C$, 100 mM 500 μL H_2O_2 çözeltisi ve kontrol deneyi için 1000 μL saf su; FeNPs ile yapılan deneyde 1.0 g/L FeNPs çözeltisi ve saf etanol (toplam hacim: 1000 μL); HRP ile yapılan deneyde 0.1 $\mu g/mL$ HRP çözeltisi ve saf su (toplam hacim: 1000 μL)).....	134
Şekil 4.5.8. H_2O_2 'nin (a) FeNPs ve (b) HRP ile kolorimetrik tespitine H_2O_2 derişiminin etkisi (DeneySEL koşullar: 250 μL 2.0 mM TMB, 500 μL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), $T=20^\circ C$, 500 μL H_2O_2 çözeltisi (0.001-500 mM) ve FeNPs ile yapılan deneyde 100 μL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi; HRP ile yapılan deneyde 100 μL 0.1 $\mu g/mL$ HRP çözeltisi).....	135
Şekil 4.5.9. H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitine sıcaklığın etkisi (DeneySEL koşullar: 250 μL 4.0 mM TMB, 500 μL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), 500 μL 100 mM H_2O_2 çözeltisi ve FeNPs ile yapılan deneyde 100 μL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi; HRP ile yapılan deneyde 100 μL 0.1 $\mu g/mL$ HRP çözeltisi).....	137
Şekil 4.5.10. (a) FeNPs ve (b) HRP ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde, H_2O_2 derişimi sabit tutulup TMB derişimi değiştirilerek elde edilen absorbans değerlerinin zamana karşı grafikleri	

(Deneyssel koşullar: 250 µL 0.1-8.0 mM TMB, 500 µL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 µL 100 mM H ₂ O ₂ çözeltisi ve FeNPs ile yapılan deneylerde 100 µL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi; HRP ile yapılan deneylerde 100 µL 0.1 µg/mL HRP çözeltisi).....	140
Şekil 4.5.11. (a) FeNPs ve (b) HRP ile H ₂ O ₂ 'nin kolorimetrik tespitinde, TMB derişimi sabit tutulup H ₂ O ₂ derişimi değiştirilerek elde edilen absorbans değerlerinin zamana karşı grafikleri (Deneyssel koşullar: 250 µL 2.0 mM TMB, 500 µL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 µL 1.0-1000 µM H ₂ O ₂ çözeltisi ve FeNPs ile yapılan deneylerde 100 µL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi; HRP ile yapılan deneylerde 100 µL 0.1 µg/mL HRP çözeltisi).....	140
Şekil 4.5.12. (a) FeNPs ile H ₂ O ₂ 'nin kolorimetrik tespitinde, H ₂ O ₂ derişimi sabit tutulup TMB derişimi değiştirilerek elde edilen eğrilerin doğrusal kısımları ve bu doğrulara ait doğru denklemleri (Deneyssel koşullar: 250 µL 0.1-8.0 mM TMB, 500 µL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 µL 100 mM H ₂ O ₂ çözeltisi ve 100 µL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi).....	141
Şekil 4.5.13. (b) HRP ile H ₂ O ₂ 'nin kolorimetrik tespitinde, H ₂ O ₂ derişimi sabit tutulup TMB derişimi değiştirilerek elde edilen eğrilerin doğrusal kısımları ve bu doğrulara ait doğru denklemleri (Deneyssel koşullar: 250 µL 0.1-8.0 mM TMB, 500 µL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 µL 100 mM H ₂ O ₂ çözeltisi ve 100 µL 0.1 µg/mL HRP çözeltisi).....	141
Şekil 4.5.14. (a) FeNPs ile H ₂ O ₂ 'nin kolorimetrik tespitinde, TMB derişimi sabit tutulup H ₂ O ₂ derişimi değiştirilerek elde edilen eğrilerin doğrusal kısımları ve bu doğrulara ait doğru denklemleri (Deneyssel koşullar: 250 µL 2.0 mM TMB, 500 µL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 µL 1.0-1000 µM H ₂ O ₂ çözeltisi ve 100 µL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi)	142
Şekil 4.5.15. (b) HRP ile H ₂ O ₂ 'nin kolorimetrik tespitinde, TMB derişimi sabit tutulup H ₂ O ₂ derişimi değiştirilerek elde edilen eğrilerin doğrusal kısımları ve bu doğrulara ait doğru denklemleri (Deneyssel koşullar: 250 µL 2.0 mM TMB, 500 µL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 µL 1.0-1000 µM H ₂ O ₂ çözeltisi ve 100 µL 0.1 µg/mL HRP çözeltisi).....	142
Şekil 4.5.16. (a) FeNPs ve (b) HRP ile H ₂ O ₂ 'nin kolorimetrik tespitinde farklı TMB derişimlerinde elde edilen tipik Michaelis–Menten ve Lineweaver–Burk grafikleri	143
Şekil 4.5.17. (a) FeNPs ve (b) HRP ile H ₂ O ₂ 'nin kolorimetrik tespitinde farklı H ₂ O ₂ derişimlerinde elde edilen tipik Michaelis–Menten ve Lineweaver–Burk grafikleri	144
Şekil 4.5.18. (a) FeNPs ile H ₂ O ₂ 'nin kolorimetrik tespitine ait kalibrasyon doğrusu, (b) Kontrol çözeltisine ait absorbans değerleri (Deneyssel koşullar: 250 µL 0.5 mM TMB, 500 µL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 µL 0.001-1.0 mM H ₂ O ₂ çözeltisi ve 100 µL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi)	146
Şekil 4.5.19. H ₂ O ₂ 'nin kolorimetrik tespitinde FeNPs'nin kararlılığı (Deneyssel koşullar: 250 µL 2.0 mM TMB, 500 µL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 µL 100 mM H ₂ O ₂ çözeltisi ve 100 µL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi).....	149
Şekil 4.5.20. (a) H ₂ O ₂ tespitinde FeNPs için kalibrasyon doğrusu (Deneyssel koşullar: 250 µL 2.0 mM TMB, 500 µL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 µL 0.05-0.02 mM H ₂ O ₂ çözeltisi ve 100 µL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi).....	150
Şekil 4.5.21. FeNPs ile kolorimetrik H ₂ O ₂ tespiti yönteminde ortamdaki farklı bileşenlerin etkileşimleri (Deneyssel koşullar: 250 µL 0.5 mM TMB, 500 µL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 µL 1.0 mM H ₂ O ₂ çözeltisi, 1000 µL 1.0 mM bileşen ve 100 µL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi).....	151
Şekil 4.5.22. <i>P.brutia</i> 'dan hazırlanan liç çözeltisi, FeSO ₄ .7H ₂ O ve Fe(NO ₃) ₃ .9H ₂ O ile sentezlenen FeNPs ile H ₂ O ₂ 'nin kolorimetrik tespiti sonuçları (Deneyssel koşullar: 250 µL 2.0 mM TMB, 500 µL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 µL 100 mM H ₂ O ₂ çözeltisi ve 100 µL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi).....	153
Şekil 4.6.1. FeNPs ile H ₂ O ₂ tespit ortamına farklı derişimlerde AA çözeltileri eklenmesi ile elde edilen spektrum taramaları (Deneyssel koşullar: 250 µL 0.5 mM TMB, 500 µL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 µL 0.1 mM H ₂ O ₂ çözeltisi, 1000 µL AA ve 100 µL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi).....	154
Şekil 4.6.2. FeNPs ile H ₂ O ₂ 'nin kolorimetrik tespitini takiben AA'nın dolaylı tespiti reaksiyon adımları	155

	Sayfa
Şekil 4.6.3. AA'nın tespitine ait kalibrasyon doğrusu, (b) Kontrol çözeltisine ait absorbens değerleri (DeneySEL koşullar: 250 µL 0.5 mM TMB, 500 µL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 µL 0.1 mM H ₂ O ₂ çözeltisi, 1000 µL 30-200 µM AA (kontrol çözeltisi için 1000 µL saf su) ve 100 µL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi).....	156
Şekil 4.6.4. FeNPs ile AA'nın dolaylı tespiti yöntemine AA ile karışım halindeki farklı bileşenlerin etkileri (DeneySEL koşullar: 250 µL 0.5 mM TMB, 500 µL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 µL 0.1 mM H ₂ O ₂ çözeltisi, 500 µL 1.0 mM AA, 500 µL 1.0 mM bileşen ve 100 µL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi).....	159
Şekil 4.6.5. Kullanılan C vitamini tableti ve C vitaminli su	161



SİMGELER ve KISALTMALAR

Kısaltma/Simgesi	Tanım
% GK	Geri kazanım oranı
ϵ	Molar absorpsiyon katsayısı ($1/(M.cm)$)
$C_{BH_4,0}$	BH_4^- 'ün başlangıç derişimi (mol/L)
C_{BH_4}	BH_4^- 'ün herhangi bir andaki derişimi (mol/L)
$C_{H_2,0}$	H_2 'nin başlangıç derişimi (mol/L)
C_{H_2}	H_2 'nin herhangi bir andaki derişimi (mol/L)
[S]	Substrat derişimi (mM)
[S ₀]	Başlangıç substrat derişimi (mM)
$\Delta G^\#$	Gibbs serbest enerjisi (J/mol)
$\Delta H^\#$	Aktivasyon entalpisi (J/mol)
$\Delta S^\#$	Aktivasyon entropisi (J/mol.K)
A	Absorbans değeri
AA	Askorbik asit
A _i	i bileşeni varlığında okunan absorbans değeri
A _r	Referans madde (saf su) varlığında okunan absorbans değeri
b	Belli bir sıcaklıktaki su buharının kısmi basıncı (atm)
BET	Brunauer–Emmett–Teller
BJH	Barrett–Joyner–Halenda
C	655 nm dalgaboyunda analiz edilen ürüne ait derişim (M)
DSC	Differential Scanning Calorimetry
DTA	Differential Thermogravimetric Analysis
E _a	Aktivasyon enerjisi
EDX	Energy Dispersive X-Ray
FeNPs	Demir içerikli nanopartiküller
FT-IR	Fourier Transform Infrared Spektrofotometer
h	Planck sabiti (6.626×10^{-34} J s)
H	Manyetik alan
HRP	Horseradish peroxidase (yaban turpu peroksidaz enzimi)
ICP-MS	Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometer
k _B	Boltzmann sabiti (1.381×10^{-23} J/K)
K _m	Michaelis–Menten sabiti (mM)
l	Işık yolu (cm)
LOD	Limit of detection (minimum tespit sınırı)
M	Manyetizasyon değeri
MeNPs	Metalik nanopartiküller
M _r	Kalıcı mıknatıklanma değeri
M _s	Doygunluk manyetizasyon değeri
n ₁	Kıyaslanan iki deney grubundan ilkinin örnek sayısı
n ₂	Kıyaslanan iki deney grubundan ikincisinin örnek sayısı
P	Ortamin barometrik basıncı (atm)
PVP	Poly vinyl pyrrolidone
R	İdeal gaz sabiti
RSD	% bağıl standart sapma
S	Örnekleme standart sapma
s	Kalibrasyon doğrusunun eğimi
s ₁	Kıyaslanan iki deney grubundan ilkinin standart sapması
s ₂	Kıyaslanan iki deney grubundan ikincisinin standart sapması
SEM	Scanning Electron Microscopy
T	Sıcaklık

Kısaltma/Simgesi	Tanım
TEM	Transmission Electron Microscopy
TGA	Thermogravimetric Analysis
TMB	3,3',5,5'-Tetrametilbenzidin
TPA	Tereftalik asit
UV-vis	Ultraviolet-visible
V	Üretilen $H_{2(g)}$ hacmi (L)
VSM	Vibrating-Sample Magnetometer
X_1	Kıyaslanan iki deney grubundan ilkinin aritmetik ortalaması
X_2	Kıyaslanan iki deney grubundan ikincisinin aritmetik ortalaması
XPS	X-ray Photoelectron Spectroscopy
XRD	X-ray Diffraction
ΔA_i	i bileşeni varlığında hesaplanan absorbans farkı değeri
ΔA_r	Referans madde (saf su) varlığında okunan absorbans farkı değeri
σ	Kontrol çözeltisinin standart sapma değeri
ν	Stokiyometrik katsayı
ν_{max}	Maksimum reaksiyon hızı (M/s)
ν_o	Başlangıç reaksiyon hızı (M/s)
χ	Manyetik duyarlılık

1. GİRİŞ

Nanopartiküller; boyutları 100 nm ve altında kalan tozlar olarak tanımlanmakta ve nanoteknolojinin temelini oluşturmaktadırlar. Nanopartiküller genellikle yüksek en boy oranına sahip düzenli yapı, hafif ağırlık, yüksek mekanik mukavemet, iyi elektrik ve ısı iletkenliği, metalik/yarı-metalik davranış ve geniş spesifik yüzey alanı gibi diğer ticari malzemelerden farklı ve üstün kabul edilen özellikler sergilemektedir. Sergiledikleri bu üstün özellikler nedeniyle aktivitesi yüksek katalizörler, optik uygulamalar için özel teknolojik malzemelerin yanı sıra süperiletkenler, kontrollü nanotaşıyıcılar, sensörler, nanomakineler, yüksek yoğunluklu veri depolama hücreleri, aşınmaya karşı katkılar, antibakteriyel ajan, yüzey aktif maddeler, özel teşhis aletleri gibi çeşitli teknolojik ve farmakolojik alanda etkin bir şekilde kullanılabilmektedirler [1].

Nanopartiküllerin; karbon içerikli, metalik, seramik, yarı iletken, polimerik ve lipid gibi çeşitleri bulunmaktadır. Bunlar arasında; 1800'lerin ortasında Faraday'ın kolloidal altın çalışmalarına başlaması ile metalik nanopartiküllerin üstün fizikokimyasal özellikleri fizik ve kimya alanlarında araştırılmaya devam eden bir konu haline geldi. Sahip oldukları bu üstün özellikler sayesinde günümüzde metalik nanopartiküller; bilgisayar teknolojisi, hidrojen üretimi ve bataryalar, hafıza kartları, kimyasal kaplamalar, televizyon teknolojisi, mobil iletişim sistemleri, optik sistemler, elektronik cihazlar, otomobil endüstrisi, inşaat malzemeleri, dedektörler, akıllı malzemeler, parlatıcı maddeler, adsorbentler, lazerler, alaşımlar, ayrıştırma teknolojileri, sensörler, biyoanaliz sistemleri, tıpta görüntüleme teknolojileri, antibakteriyel ajanlar, yapıştırıcılar, boyalar, filtre sistemleri, tekstil endüstrisi gibi teknolojilerde geniş kullanım alanlarına sahiptirler.

Nanoboyutta metalik özellik gösteren malzemelerin sentezini ve cihazların tasarlanmasını, aynı zamanda bu malzemelerin fonksiyonel olarak kullanımını içeren nanoteknoloji alanındaki yeni araştırmalar için en önemli adım nanopartiküllerin üretimidir. Nanoteknolojik malzemelerin çıkış noktasını oluşturan metalik nanopartiküllerin sentezi için elektrokimyasal sentez, hidrotermal sentez, sonokimyasal çöktürme, ters misel/mikroemülsiyon yöntemi, kimyasal indirgenme gibi geleneksel üretim yöntemleri bulunmaktadır. Bu sentez çalışmalarının genelinde sentezlenen nanopartiküllerin belirli bir boyutta ve morfolojide olmaları amaçlanmaktadır [2]. Metalik nanopartiküller belirtilen bu geleneksel sentez yöntemleri ile hedeflenen boyut ve morfolojide sentezlenebilmelerine rağmen bu yöntemlere ait tehlikeli kimyasal ve toksik madde kullanımı, zor ve masraflı saflaştırma gereksinimi, düşük dönüşüm, yüksek enerji gereksinimi gibi dezavantajları en aza indirebilmek amacıyla biyosentez gibi uygulanabilirliği kolay, düşük maliyetli ve çevreye ve insan sağlığına zararlı ve toksik madde içermeyen yöntemler araştırılmaya başlandı. Metalik nanopartiküllerin klasik indirgeme yoluyla sentez yöntemlerinde, farklı indirgeyici kimyasalların (sodyum borohidür, sodyum sitrat, R-

COH: glikoz, laktoz, maltoz ve etilen glikol) kullanımı ile metal tuzlarında indirgenme yoluyla partikül sentezlenirken; klasik biyosentez yönteminde ise farklı indirgeyici kimyasallar yerine aynı görevi gören bitki özütleri, mantar, maya, alg, virüs v.b. canlı organizmaların kullanımı ile metal tuzlarından indirgenme yoluyla partikül sentezlenmektedir.

Biyosentez yöntemi yeşil kimya kavramı ile ortaya çıkmış bir yaklaşımdır. Yeşil Kimya zararlı kimyasalların kullanımını, çevreye ve insan sağlığına olan etkileri denetlemeyi, kontrol altına almayı ve mümkün olduğunca ortadan kaldırmayı hedefleyen bir yaklaşımdır. Yeşil Kimya sürdürülebilir temiz bir çevre için sadece süreçte kullanılan zararlı kimyasalların etkilerini değil, aynı zamanda sürecin tüm aşamalarıyla birlikte ortaya çıkan ürünlerin etkilerini de ele almaktadır. Son yıllarda artan nüfus ve sanayileşmeden kaynaklanan azalan kaynaklar, çevreyi kirleten atıklar ve ürünler sonucunda; atık kullanımını azaltma yöntemleri, yenilenebilir enerji kaynaklarının kullanımı, yaşam döngüsü analizi gibi olgular gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Yeşil Kimya kavramının gelişen dünyamızda sürdürülebilir bir gelecek için kullanılabilecek en önemli kavramlardan biri olduğu göz önünde bulundurulmalıdır. Bu amaçla bu tez çalışması kapsamında; geleneksel biyosentez yöntemine alternatif olabilecek, kirliliği kaynağında yok etmeyi, çevreye ve insan sağlığına olan zararı en aza indirmeyi ekonomik yollardan olanaklı hale getiren yeni bir nanopartikül biyosentez yöntemi geliştirildi. Bu sentez yönteminin temeli, kimyasal indirgenme yoluyla nanopartikül sentezi prensibine dayanmaktadır. Kimyasal indirgenme yönteminde, metal iyonları kuvvetli bir kimyasal indirgeyici reaktif eşliğinde metalik nanopartiküllere indirgenirken; bu tez çalışması kapsamında geliştirilen biyosentez yönteminde metal iyonu kaynağı olarak ağır metal akümülatörü olan bitkilerden hazırlanan ve ağır metal iyonu içeren çözeltiler kullanılırken, kimyasal indirgeyici olarak ise NaBH_4 kullanılmaktadır. Bu yöntemde indirgeyici ajan olarak kullanılan NaBH_4 , aynı zamanda bir hidrojen gazı kaynağıdır. Bu nedenle NaBH_4 bu yöntemde hem indirgeyici ajan hem de $\text{H}_{2(g)}$ kaynağı olarak kullanılmakta; sonuç olarak sentez reaksiyonları sırasında çevreye ve insan sağlığına zararlı toksik bileşenler açığa çıkmamaktadır. Ayrıca, kimyasal indirgeyici bir ajan kullanılması sonucu hızlı ve yüksek verimle nanopartiküller sentezlenebilmektedir. Kimyasal indirgeme yönteminden farklı olarak sentetik metal tuzu çözeltisi yerine doğal bir kaynaktan hazırlanan metal iyonu içerikli çözelti kullanılması ile de üretim maliyetinin düşürülmesinin yanı sıra doğal bir kaynağın ekonomik değere dönüştürülmesi amaçlanmaktadır. Böylelikle geliştirilen bu yöntem sayesinde literatürde ilk defa; eş zamanlı olarak hem geniş kullanım alanı bulunan demir içerikli nanopartiküller basit, hızlı, yüksek verimli, düşük maliyetli ve çevre dostu bir şekilde sentezlenebilmekte hem de yüksek verim-güç yoğunluğu ve sıfır kirletici emisyonu gibi özelliklerinden dolayı son yıllarda oldukça dikkat çeken yenilenebilir bir enerji kaynağı olan hidrojen gazı ($\text{H}_{2(g)}$) üretilebilmektedir.

Bu tez çalışmasında; çalışmanın amacına uygun öncelikle ağır metal biyoakümütor/hiperakümülatör bitkilerin neler olduğu konusunda bilgi sahibi olmak için geniş bir literatür taraması yapıldı. Bu konuda özellikle Mersin Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Jeoloji Mühendisliği Bölümü öğretim üyesi Dr. Öğretim Üyesi Zeynep ÖZDEMİR'in bilgi ve deneyimlerinden yararlanıldı. Dr. Öğretim Üyesi Zeynep ÖZDEMİR tarafından yapılan bir çalışma referans alınarak, Mersin ili Musalı bölgesinde bulunan Minsan Madencilik kromit (FeCr_2O_4) yatağı işleme sahası içerisinde yetişen *Pinus brutia* (Kızılçam) bitkisinin ağır metal içeriği belirlendi. Yüksek demir içerikli olduğu belirlenen bu bitkiden elde edilen liç çözeltisi, nanopartikül sentezinde sentetik demir içerikli çözelti yerine kullanıldı. Çalışmada geliştirilen biyosentez yöntemi kapsamında hazırlanan bu çözeltiye NaBH_4 eklenerek demir içerikli nanopartikül (FeNPs) sentezi ve karakterizasyonu gerçekleştirildi. Bu sentez sırasında ise yerinde (in situ) $\text{H}_{2(g)}$ üretimi yapılarak, çeşitli parametrelerin prosese etkileri araştırıldı ve kinetik ve termodinamik değerlendirme yapıldı.

Çalışmanın bir sonraki aşamasında ise demir içerikli nanopartiküllerin (FeNPs) kullanım alanları ile ilgili bir literatür taraması yapıldı. Buna göre; literatürde, nanopartikül sentezinde metal kaynağı olarak metal hiperakümülatörü bir bitkinin değerlendirildiği bir çalışmaya rastlanmadı. Ayrıca, demir içerikli nanopartiküllerin kullanım alanları ayrıntılı olarak incelendiğinde, çeşitli yöntemler ile sentezlenen demir içerikli nanopartiküllerinin birçok alanda etkin bir şekilde kullanılabildikleri fakat bu tip nanopartiküllerin antibakteriyel [3–5], kirletici giderimi [6–8] ve kolorimetrik tespit [9–11] özelliklerinin daha çok ön plana çıktığı görülmektedir. Demir içerikli nanopartiküllerin bu özelliklerinden dolayı, bu çalışmada sentezlenen FeNPs'nin antibakteriyel aktivitesi çeşitli gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı araştırıldı.

Ayrıca, yapılan literatür taraması, önemli bir kullanım alanı olan kolorimetrik tespit çalışmalarında kullanılan demir içerikli nanopartiküllerin kimyasal yöntemlerle sentezlenmiş olduklarını ve bu nanopartiküllerin çoğunlukla kompozit halinde daha etkin bir şekilde kullanıldıklarını göstermektedir. Bu çalışmalarda; hem nanopartiküllerin kimyasal yöntemlerle sentezlenmiş olmaları hem de kompozit oluşturma ek prosesi olması, kolorimetrik tespit maliyetini artıran unsurlardır. Bu bağlamda geliştirilecek kompozit olmayan nanopartikül temelli kolorimetrik tespit yönteminin bu dezavantajın üstesinden gelinmesi anlamında son derece önemli olacağı düşünülmektedir. Bu durum göz önüne alınarak; H_2O_2 ve askorbik asit (AA)'in kolorimetrik tespiti için tarafımızca geliştirilen yeni sentez yöntemi ile sentezlenmiş kompozit olmayan FeNPs'nin kullanıldığı uygulanabilirliği kolay, kararlı, hassas, seçimli ve düşük maliyetli bir kolorimetrik tespit yöntemi geliştirildi. Geliştirilen kolorimetrik H_2O_2 tayin yöntemi, FeNPs varlığında H_2O_2 'nin $\text{OH}\cdot$ radikalini oluşturup, oluşan bu radikalın horseradish peroksidaz-temelli tespit prosesleri için yaygın olarak kullanılan kromojenik bir substrat olan 3,3',5,5'-

Tetrametilbenzidin (TMB) reaktifinin oksidasyonuna neden olması sonucu oluşan renkli ürünlerin UV-vis spektrofotometresinde absorbans ölçümünün yapılması prensibine dayanmaktadır. AA'nın tespiti için ise AA'nın antioksidan özelliğinden yararlanılan kolorimetrik H_2O_2 tespitinin aracı olduğu bir yöntem kullanıldı. Bu yöntemin prensibi ise, yukarıda bahsedilen kolorimetrik H_2O_2 tespit ortamına AA eklenmesi ile TMB'nin oksitlenmesinin bastırılmasına bağlı olarak kolorimetrik H_2O_2 tespiti sonucu oluşan renkli oksidasyon ürünlerinin absorbans değerlerindeki azalmaların UV-vis spektrofotometresinde ölçülmesine dayanmaktadır. Bu yöntem, FeNPs ve H_2O_2 varlığında oluşan $OH\bullet$ radikalının TMB'yi oksitlemesi sonucu oluşturduğu renkli ürünlerin absorbans değerlerinde, ortama AA eklenmesi sonucu oluşan azalmayı tayin ederek AA'nın hassas ve seçimli tayinine imkân vermektedir.

Sonuç olarak; bu doktora tez çalışmasının, yenilenebilir bitkisel bir kaynaktan demir kazanımı ile tarafımızdan geliştirilmiş bir yöntem ile demir içerikli nanopartikül sentezi, karakterizasyonu, antibakteriyel aktivitesinin araştırılması, H_2O_2 ve AA'nın kolorimetrik tespitinde kullanılması ve $H_{2(g)}$ üretimi konularında bilimsel literatüre önemli katkılarının olacağı düşünülmektedir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

2.1. Nanoteknoloji

Nanoteknoloji, geçen yüzyıldan beri bilinen bir araştırma alanıdır. Nobel ödüllü Richard P. Feynman'ın "There's Plenty of Room at the Bottom" isimli ünlü konuşması (1960) sırasında nanoteknoloji kavramını sunduğundan bu yana nanoteknoloji alanında çeşitli devrimsel gelişmeler olmuştur. Nanoteknoloji; fiziksel, kimyasal ve biyolojik sistemlerin boyut olarak yaklaşık 1-100 nm arasındaki partiküllerin üretilmesi ve uygulanması ile sonuçta elde edilen nanoyapıların daha büyük sistemlere entegrasyonu ile ilgilenen bir bilim dalı olarak tanımlanabilir. Araştırmacıların üretilen bu nanomalzemelerin boyutlarının onların fizikokimyasal özelliklerini etkilediklerini keşfetmeleri ile nano boyuttaki malzemelerin önemi çok daha iyi anlaşılmaya başlamıştır. Oldukça küçük boyutlara ve yüksek yüzey/hacim oranlarına sahip nanopartiküller; mekanik özellikler, biyolojik ve sterik özellikler, katalitik aktivite, termal ve elektriksel iletkenlik, optik soğurma ve erime noktası gibi birçok fiziksel ve kimyasal özelliklerde, aynı yapıya sahip daha büyük boyutlardaki partiküllere üstünlük sağlamaktadırlar. Bu nedenle; çevre, sağlık, kataliz, gıda ve yem, biyomedikal, kozmetik, enerji bilimi, ilaç-gen dağıtımı, optik, kimyasal endüstriler, mekanik, elektronik, uzay endüstrileri, doğrusal olmayan optik cihazlar, tekli elektron transistörleri, foto-elektrokimyasal uygulamalar ve ışık yayıcılar gibi çeşitli alanlarda yaygın olarak kullanılabilmektedirler [12].

Nanopartiküller, morfolojilerine, boyutlarına ve kimyasal özelliklerine bağlı olarak geniş bir şekilde çeşitli kategorilerde incelenebilirler. Fiziksel ve kimyasal özelliklere dayanarak, nanopartikülleri karbon içerikli, metalik, seramik, yarı iletken, polimerik ve lipid olmak üzere 6 sınıfa ayırmak mümkündür [13]:

i. Karbon içerikli nanopartiküller: Fullerenler ve karbon nanotüpler (CNTs), karbon içerikli nanopartiküllerin iki temel sınıfını temsil ederler. Fullerenler, allotropik karbon formları gibi küresel içi boş kafesden yapılmış nanomateriyaller içerirler. Fullerenler; elektrik iletkenliği, yüksek mukavemeti, yapısı, elektron ilgisi ve çok yönlülüğü gibi özelliklerinden dolayı ticari anlamda oldukça ilgi görmektedirler. Karbon nanotüpler (CNTs); uzatılmış, tübüler yapıda, 1-2 nm çapındadırlar. CNTs, kendi üzerinde yuvarlanmış grafit levhalara benzetilirler. Bu levhalar; tek, çift veya çok sayıda duvarlı olabilir ve bu nedenle tek duvarlı (SWNT), çift duvarlı (DWNT) veya çok duvarlı karbon nanotüpleri (MWNT) olarak adlandırılırlar. CNTs, grafitten lazerle veya elektrik arkıyla buharlaştırılan karbon kaynaklarının metalik partiküllere biriktirilmesi ile yaygın olarak sentezlenirler. Son zamanlarda ise kimyasal buhar biriktirme (CVD) tekniği ile de sentezlenebilmektedirler. Üstün fiziksel, kimyasal ve mekanik özelliklerinden

dolayı, bu malzemeler sadece saf halde değil, aynı zamanda; dolgu maddesi, çevre ıslahı için verimli gaz adsorbenti, çeşitli inorganik ve organik katalizörler için destek malzemesi olarak birçok ticari uygulamada nanokompozit halinde de kullanılmaktadırlar.

ii. Metalik nanopartiküller: Bu tip nanopartiküller tamamen metal kaynaklarından sentezlenirler. Lokal yüzey plazmon rezonans karakteristikleri nedeniyle, metalik nanopartiküller benzersiz optoelektrik özelliklere sahiptirler. Alkali ve soy metallerden sentezlenen nanopartiküller, örneğin Cu, Ag, Au, vb., elektromanyetik güneş spektrumunun görünür bölgesinde geniş bir absorpsiyon bandına sahiptirler. Metalik nanopartiküllerin yüzey, boyut ve şekil kontrollü sentezlenebilir olmaları, günümüzün ileri teknoloji malzemeleri için oldukça önemli ve istenen bir özelliktir. Bu özelliklerinden dolayı metalik nanopartiküller; tıp, ilaç salımı, biyosensör, kataliz, elektronik, paketlenme, kozmetik, biyomühendislik gibi çeşitli uygulama alanlarında kullanılabilmektedirler.

iii. Seramik nanopartikülleri: Seramik nanopartiküller, ısı ve ardışık soğutma yoluyla sentezlenen inorganik metalik olmayan katılardır. Amorf, polikristalin, gözenekli veya içi boş formlarda bulunabilirler. Bu nedenle, bu tip nanopartiküller; kataliz, fotokataliz, boyaların fotodegradasyonu ve görüntüleme uygulamaları gibi uygulama alanlarında etkin olarak kullanılabilmektedirler.

iv. Yarı iletken nanopartiküller: Yarı iletken nanopartiküller; metaller ve ametaller arasında özelliklere sahiptirler ve bu özelliklerinden dolayı, literatürde çeşitli uygulamalarda yer almaktadırlar. Bu tip nanopartiküller, geniş band aralıklarına sahiptirler ve band aralığı ayarlanabilmesi ile özelliklerinde önemli değişiklikler gösterebilmektedirler. Bu nedenle, fotokataliz, foto-optik ve elektronik cihazlarda etkin olarak kullanılabilmektedirler. Ayrıca, yarı iletken nanopartiküllerin uygun bant aralığı ve bant konumları nedeniyle suyun ayrıştırılmasında son derece verimli oldukları literatürde belirtilmektedir.

v. Polimerik nanopartiküller: Bu tip malzemeler organik bazlı nanopartiküllerdir ve genellikle nanoküresel veya nanokapsüler formdadırlar. Nanoküresel formda olanlar tamamı katı olan matriks partiküllerdir ve diğer moleküller, küresel yüzeyin dış sınırına adsorbe olurlar. Nanokapsüler formda olanlarda ise; katı kütle partikül içinde tamamen kapsüllenmiş durumdadır. Bu özelliklerinden dolayı, polimerik nanopartiküller kolayca işlevselleştirilebilmektedirler ve literatürde birçok uygulamada etkin bir şekilde kullanılabilmektedirler.

vi. Lipid bazlı nanopartiküller: Bu tip nanopartiküller, lipid kısımları içerir ve birçok biyomedikal uygulamada etkili bir şekilde kullanılırlar. Lipid bazlı nanopartiküller 10-1000 nm arasında değişen çapa sahip karakteristik olarak küresel yapıda olan partiküllerdir. Polimerik nanopartiküller gibi, lipid bazlı nanopartiküller de lipiddten yapılmış katı bir çekirdeğe sahiptir, malzeme matrisi çözünür lipofilik moleküller içerir ve yüzey aktif maddeler veya

emülsiyonlaştırıcılar, bu nanopartiküllerin dış çekirdeğini stabilize eder. Lipid nanoteknolojisi, kanser tedavisinde ilaç taşıyıcıları ve iletimi ve RNA salımı gibi çeşitli uygulamalar için lipid nanopartiküllerinin tasarımına ve sentezi ile ilgili özel bir alandır.

2.2. Nanopartikül Sentez Yöntemleri

Bir önceki bölümde bahsedildiği üzere nanopartiküllerin birçok çeşidi mevcuttur ve nanopartiküller çeşitlerine göre çok geniş kullanım alanlarına sahiptirler. Birçok çeşidi ve kullanım alanı olan nanopartiküllerin sentez yöntemleri temel olarak Tablo 2.2.1.'de verildiği gibi yukarıdan aşağı ve aşağıdan yukarı olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır.

Tablo 2.2. 1. Nanopartikül sentez yöntemleri

Aşağıdan-Yukarı	Yukarıdan-Aşağı
Eğirme	Yüksek enerjili mekanik öğütme
Şablon destek sentezi	Kimyasal aşındırma
Plazma veya alev püskürtme sentezi	Püskürtme
Lazer veya sprey piroliz	Lazer ablasyon
Kimyasal buhar biriktirme	Elektro-patlama
Atomik veya moleküler kondenzasyon	Litografik teknik
Sol-jel prosesi	Sonikasyon
Aerosol prosesi	Termal dekompozisyon
Biyosentez	

Yukarıdan-aşağı prensibinde olan yöntemlerde; dışarıdan mekaniksel ve/veya kimyasal işlemler ile yığın halde bulunan malzemeye enerji verilmesi sonucunda malzemenin nano boyuta kadar küçültülmesi sağlanabilmektedir. Mekanik öğütme ve aşındırma, bu tip yöntemlere verilecek en genel örneklerdir. Ancak bu yöntemlerde klasik öğütme işlemlerine kıyasla çok daha fazla enerji tüketimi gerçekleşmektedir. Aşağıdan-yukarı prensibinde olan yöntemlerde ise; atomik veya moleküler boyuttaki yapılar kimyasal reaksiyonlar ile büyütülerek nanopartikül oluşumu sağlanmaktadır [14].

Belirtilen bu iki kategori dışında nanopartikül sentez yöntemlerini fiziksel, kimyasal, biyolojik ve bunların birkaçının birleşimi olan hibrid teknikler olarak sınıflandırmak da mümkündür [15]. Bu kapsamda; nanopartikül sentezinde kullanılan yöntemler Tablo 2.2.2.'de özet olarak sunulmaktadır:

Tablo 2.2.1. Nanopartikül sentez yöntemleri

Fiziksel Yöntemler	Kimyasal Yöntemler	Biyolojik Yöntemler
Ark deşarj yöntemi	Birlikte çöktürme	Biyosentez (bitki ekstraktı, bakteriler, virüsler, algler, enzim vb. kullanılabilir)
Elektron demeti litografi	Metal tuzlarının kimyasal indirgenmesi	
İyon implantasyonu	Elektroliz	
İnert gaz kondenzasyonu	Mikroemülsiyon	
Mekanik taşıma	Piroliz	
Öğütme	Fotokimyasal yöntem	
Sprey piroliz	Sonokimyasal yöntem	
Buhar faz sentezi	Sol-jel prosesi	
	Solvothermal sentez	

Geleneksel fiziksel ve kimyasal yöntemler ile istenen boyut ve morfolojide kısa bir süre içerisinde yüksek verimle nanopartiküller sentezlenebilmektedir. Ancak bu yöntemler yüksek enerji gereksinimi nedeniyle maliyetli oldukları ve kimyasal yöntemlerde toksik yan ürün oluşabildiğinden zor ve masraflı saflaştırma gereksinimine ihtiyaç duydukları için son yıllarda biyosentez gibi uygulanması basit, düşük maliyetli ve zararlı madde içermeyen yöntemler daha çok tercih edilmeye başlandı [15]. Biyosentez yönteminin prensibi, kimyasal nanopartikül sentezlerinden biri olan kimyasal indirgenme yöntemine dayanmaktadır. Kimyasal indirgenme yöntemi ile nanopartikül sentezinde; sodyum borohidür, sodyum sitrat, R-COH: glikoz, laktoz, maltoz, etilen glikol, gibi farklı indirgeyici kimyasallar kullanılarak metal tuzlarından indirgenme gerçekleştirilirken; biyosentez yöntemi ile nanopartikül sentezinde ise indirgeyici kimyasallar yerine bitki, bakteri, virüs, alg, enzim gibi biyolojik kaynakların kullanımı ile metal tuzlarından indirgenme gerçekleştirilmektedir. Biyolojik kaynak olarak bakteri, virüs, vb. kullanıldığında ortamın sterilizasyonu, oluşan nanopartiküllerin saflaştırılması gibi maliyeti artıran ve yöntemin uygulanabilirliğini zorlaştıran prosesler gerekmektedir. Biyosentez yönteminde biyolojik kaynak olarak bitkilerin kullanılması ise, bitkilerin kolay ulaşılabilirliği, kolay ve güvenli işlenebilmesi, sterilizasyona gerek duyulmadığından ek bir proses gerektirmemesi açısından daha iyi bir alternatiftir. Fakat biyolojik kaynak olarak bitkilerin kullanıldığı biyosentez yönteminin de aşağıda belirtilen birkaç dezavantajı bulunmaktadır:

- X Mevsimsel veya iklim değişikliklerinden kaynaklı bitkilerin içeriğindeki sentez için gerekli biyomoleküllerin derişimlerinde fark oluşabilmesi,
- X Bitki ekstraktlarının bazı nanopartiküllerin indirgenmesi için yeterli indirgeme gücüne sahip olmaması,
- X Bitkilerin fazla kullanılması durumunda ekolojik dengenin bozulabilmesi.

Bu gibi dezavantajlar, bitki ekstraktları kullanılan biyosentez yönteminin uygulanmasına bir sınırlama getirmektedir [16].

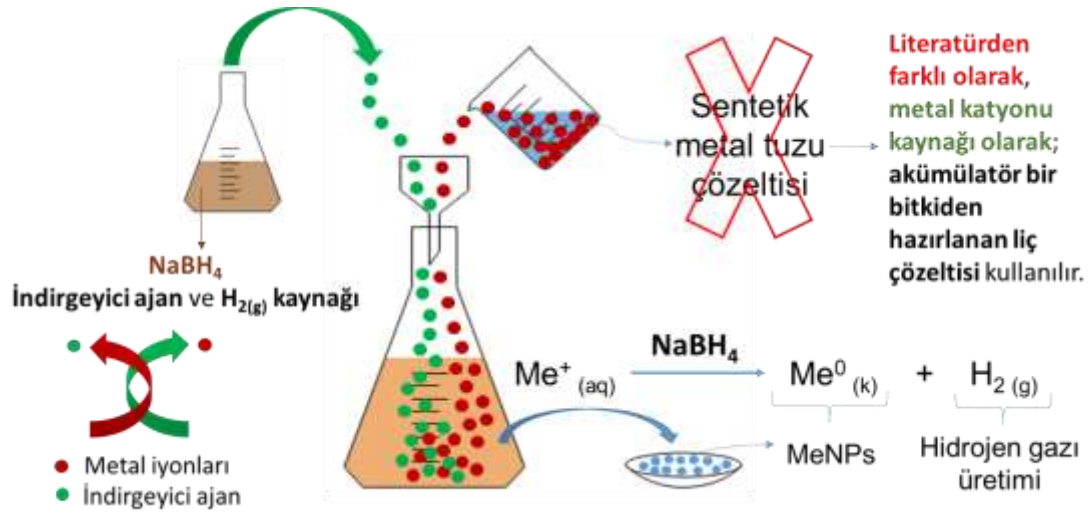
Nanopartikül sentez yöntemlerinin yukarıda belirtilen özelliklerinden dolayı; bu tez çalışması kapsamında, kimyasal ve biyolojik yöntemlerin avantajlarını bir araya getirerek dezavantajları azaltan bir yöntem geliştirildi. Bu yönteme göre; metal hiperakümülatörü bir bitkiden elde edilmiş liç çözeltisinde bulunan metal tuzunun kimyasal indirgenmesi ile nanopartikül sentezi gerçekleştirilebilmektedir. Böylelikle; biyosentez yöntemi ile metalik nanopartikül sentezinde bitkiler indirgeyici ajan olarak kullanılırken alternatif olarak bünyesinde metal biriktirebilen bitkilerden elde edilecek metalik türlerin metal tuzu olarak kullanılması mümkün olabilmektedir.

Bu tez çalışması kapsamında geliştirilen nanopartikül sentez yöntemi, kimyasal yöntemlerden “ NaBH_4 ile sentetik metal tuzlarının kimyasal indirgenmesi yöntemi” temelinde olup, bu yöntemden farkı; sentetik metal tuz çözeltisi yerine metal akümülatörü bir bitkiden hazırlanan liç çözeltisinin kullanılacak olmasıdır. Geliştirilen bu yöntem ile kimyasal yöntemlerin avantajlarından olan hem yüksek verimlilikle kısa sürede nanopartikül sentezlenebilmekte, hem de biyolojik yöntemlerin avantajlarından olan bitki kullanımından kaynaklı maliyet düşürülmekte ve toksik yan ürünlerin oluşumu azaltılabilmektedir.

Bu tez çalışması kapsamında nanopartikül sentezinde uygulanacak bu yöntem, Anastas ve Warner (1998) tarafından tanımlanan yeşil kimya temellerinin birçoğunu karşılamakla birlikte, aşağıda belirtilen birçok avantajı da beraberinde getirmektedir:

- ✓ Akümülatör bitkilere yeni bir kullanım alanı yarattığı için ekonomik fayda sağlar.
- ✓ İlimli koşullar altında (düşük sıcaklık, basınç, vb.) çalışmaya imkân verdiği için enerji tasarrufu sağlamaya yöneliktir.
- ✓ Bitkilerin kullanımı ve ilimli koşullar altında çalışılabilmesi gibi avantajları üretim maliyetlerinin azaltılmasına katkı sağlar.
- ✓ Atık madde oluşumunu en aza indirerek insan ve doğa sağlığının korunmasını sağlar.
- ✓ Üretim prosesinin daha güvenli yollar içermesi ile kaza riskini azaltarak çalışma ortamının daha güvenli olmasını sağlar.
- ✓ Sahip olduğu bu tip imkânlardan dolayı rekabet avantajı kazandırır.

Geliştirilen bu nanopartikül sentez yöntemi Şekil 2.2.1’de şematize edilmektedir. Buna göre; sentetik metal tuzu çözeltisi yerine kullanılan hiperakümülatör bir bitkiden hazırlanan liç çözeltisi içerisindeki metal iyonları (Me^+), NaBH_4 ajanı ile metalik nanopartiküllere (MeNPs) indirgenmekte ve aynı zamanda hidrojen gazı ($\text{H}_{2(g)}$) açığa çıkmaktadır.



Şekil 2.2.1. Geliştirilen nanopartikül sentez yöntemi

2.3. Metal İyonu Akümülatörü Bitkiler

Atomik yoğunluğu 5 g/mL'den büyük olan metal ve metaloitler grubuna ağır metaller adı verilmektedir. Bu grupta; krom, kurşun, demir, kadmiyum, kobalt, nikel, bakır, çinko ve civa olmak üzere altmıştan fazla metal bulunmaktadır. Cu, Mo, Fe, Zn, Mn, Ni ve Co gibi bazı ağır metaller, bitkilerin beslenmesi için önemlidir ancak yüksek derişimlerde toksik etkiye sebep olmaktadır. Bu toksik etkiler; bitkilerde stoma hareketleri, transpirasyon, su alımı, enzim aktivitesi, fotosentez, çimlenme, membran stabilitesi, hormonal denge, protein sentezi gibi birçok fizyolojik olayın bozulmasına sebebiyet vermektedir [17].

Maden yatakları ve işletmeleri, endüstriyel faaliyetler, enerji ve yakıt üretimi, tarımda kullanılan gübre ve ilaçlar, volkanik faaliyetler, çeşitli kentsel atıklar, motorlu taşıtların egzozları ağır metallerin çevreye yayılmasına sebep olan bazı etmenlerdir [18]. Çeşitli yollarla çevreye yayılan bu ağır metal iyonlarını; doğada var olan bazı bitkilerin kök, gövde, dal ve yapraklarında biriktirdiği bilinmektedir. Bünyesinde metal biriktirebilen bitkilerin bünyelerindeki metal içeriğine göre kimyasal indirgeme yöntemi ile nanopartikül sentezinde metal kaynağı olarak kullanımına karar verilebilir. Bu nedenle, bitkilerin bünyelerinde ağır metal biriktirme mekanizmalarının bilinmesi oldukça önemlidir. Bitki bünyesine alınan yüksek derişimdeki metaller, bitki üzerinde ciddi toksik etkiler oluşturarak, bitkinin ölümüne neden olabilmektedir. Bu nedenle bitkiler, absorblanan yüksek derişimdeki metallerin bünyelerindeki etkilerini azaltılmak amacıyla farklı cevaplar geliştirmişlerdir. Bitkiler; yüksek derişimdeki metali hücre içine alınmasını engellemek amacıyla, metali hücre duvarına sabitlemesi veya plazma membranının geçirgenliğinin azaltılması gibi cevaplar oluşturabilmektedir. Böylece hücre içine metal girişi zorlaşmaktadır. Ortamdaki metal derişiminin çok daha yüksek olduğu durumlarda hücre içine metal girişi olasılığı daha yüksektir. Bitkiler, bu gibi durumlarda, hücre içine girmesi

engellenememiş olan metallerin vakuollerde depolanma ya da metallothioneinler, organik asitler, amino asitler, fitoşelatlar gibi ligandlar tarafından tutulup metal-ligand kompleksi oluşturularak sabitlenmesi gibi cevaplar oluşturabilmektedir. Bu sayede; bünyelerinde ağır metal depolayabilen bitkiler, doğal birer ağır metal kaynağı potansiyeli oluşturmaktadırlar. Ağır metallerin bitkilerde birikimi ve organlarda dağılımı bitkinin ve elementin türüne, oksidasyon-redüksiyon potansiyeline, kimyasal ve biyolojik aktiviteye, ısıya ve köklerin salgı yeteneğine, pH değerine, oksijenin çözülmesine, katyon değişim kapasitesine bağlıdır. Buna göre; bitkiler akümülayon kapasitelerine göre dört gruba ayrılmaktadırlar [19]:

- **Genel bitkiler:** Metal depolama kapasiteleri düşük olan bitkilerdir. Metal derişiminin artışıyla birlikte artan toksik etki bu bitkilerin ölümüne neden olur.
- **Excluders (hariciler):** Regüasyon sistemleri güçlü olan bitkilerdir. Genel bitkilere oranla daha yüksek metal derişimlerine direnç gösterebilmektedirler ancak artan metal derişimiyle birlikte oluşan toksik etki bu bitkilerin de ölümüne neden olur.
- **Biyoindikatörler:** Toksisiteye karşı daha dirençli bitkilerdir ve genel bitkilere göre daha yüksek derişimdeki metali toksik etki görülmeksizin bünyelerinde biriktirebilirler. Çevrelerindeki metal değişimlerine duyarlıdırlar ve bu nedenle pek çok toksisite çalışmasında tercih edilmektedirler.
- **Hiperakümülatörler:** Toksisiteye karşı oldukça dirençli bitkilerdir ve diğer tüm bitki türlerine kıyasla daha yüksek derişimlerde metalleri bünyelerinde biriktirebilmektedirler.

Bu kapsamda, bünyesinde ağır metal biriktirebilen bitkiler ile ilgili bir literatür taraması yapılmış; çeşitli ağır metal akümülatörü bitkiler ile akümüle ettikleri ağır metal türleri ve ağır metal derişimleri Tablo 2.3.1.'de sunulmaktadır.

Tablo 2.3. 1. Literatürde yer alan çeşitli ağır metal akümülatörü bitkiler ile akümüle ettikleri ağır metal türleri ve ağır metal derişimleri

Bitki Türü	Ağır Metal Türü	Ağır metal derişimi (mg/kg)	Referans
Hiperakümülatör Bitkiler			
<i>Alyssum bertolonii</i>	Ni	10900	[20]
<i>Alyssum caricum</i>		12500	
<i>Alyssum corsicum</i>		18100	
<i>Alyssum heldreichii</i>		11800	
<i>Alyssum markgrafii</i>		19100	
<i>Alyssum murale</i>		4730-20100	
<i>Alyssum pterocarpum</i>		13500	
<i>Berkheya coddii</i>		18000	
<i>Isatis pinnatifolia</i>		1441	
<i>Alyssum serpyllifolium</i>		10000	

Bitki Türü	Ağır Metal Türü	Ağır metal derişimi (mg/kg)	Referans
<i>Azolla pinnata</i>		740	
<i>Solanum photeinocarpum</i>	Cd	158	
<i>Thlaspi caerulescens</i>		263	
	Cu	20200	
<i>Eleocharis acicularis</i>	Zn	11200	
	Cd	239	
	As	1470	
<i>Euphorbia cheiradenia</i>	Pb	1138	
<i>Corrigiola telephiiifolia</i>		2110	
<i>Pteris biaurita</i>		~2000	
<i>Pteris cretica</i>	As	2200-3030	
<i>Pteris quadriaurita</i>		~2900	
<i>Pteris ryukyuensis</i>		3647	
<i>Pteris vittata</i>		8331	
<i>Pteris vittata</i>	Cr	20675	
<i>Schima superba</i>	Mn	62412	
<i>Ergrostis recemosa</i>	Au	57	
<i>Amaranthus retroflexus</i>		6230	
<i>Cydonia oblonga</i>	Fe	520	[21]
<i>Lutea petidaris</i>		246	
<i>Myositis caespitosa</i>		80	
Biyoindikatör Bitkiler			
<i>Brassica juncea</i>		2.8	
<i>Vigna dolomitica</i>		3.0	
<i>Pandiaka metallorum</i>	Cu	6.3	
<i>Haumanisatrum katangense</i>		9.2	
<i>Ipomea alpina</i>		12.3	
<i>Aeollanthus subcaulis</i>		13.7	
<i>Polycarpaea synandra</i>		1.0	
<i>Acer pseudoplatanus</i>		1.9	
<i>Thlaspi alpestre</i>	Pb	2.7	
<i>Thlaspi rotundifolium</i>		8.2	
<i>Agrostis tenuis</i>		13.5	
<i>Minuartia verna</i>		20.0	
<i>Thlaspi idahoense</i>		1.2	[22]
<i>Thlaspi caerulescens</i>		1.4	
<i>Cochlearia pyrenaica</i>		1.7	
<i>Thlaspi violascens</i>		2.7	
<i>Thlaspi montanum</i>		3.0	
<i>Thlaspi ochroleucum</i>		3.0	
<i>Thlaspi parvifolium</i>	Zn	3.1	
<i>Thlaspi liaceum</i>		3.5	
<i>Thlaspi magellanicum</i>		3.9	
<i>Thlaspi bulbosum</i>		10.5	
<i>Thlaspi praecox</i>		11.0	
<i>Arabidopsis thaliana</i>		11.0	
<i>Thlaspi stenocarpum</i>		16.0	

Bitkilerin yetiştiği ortamda fazla miktarda ağır metal olduğu durumda; hiperakümülatör olmayan bitkilerde bu metallerin bünyeye alınmasını ve taşınmasını önleyen dışlama mekanizması geçerli olurken, hiperakümülatör bitkilerde bu metallerin bünyeye alındığı ve filizlere taşındığı birikim ve sekestrasyon mekanizması geçerli olur. Bu mekanizma için ağır metal

iyonları öncelikle bitki hücre duvarında detoksifiye edilir. Metal stres koşulları altında, bitkiler aynı anda birkaç mekanizma ile tepki göstermektedirler. Ağır metaller özellikle sitosol ve kloroplast stromanın plazmatik bölümünde birikmekte ve bitkiler amino asitler, şekerler, metabolitler, fitoşelatlar vb. üreterek farklı şekillerde davranabilmektedirler [23]. Bitki hücre duvarı; protein, selüloz, hemiselülöz, lignin ve müsilajdan oluşmuş olup iyon değişimi, absorpsiyon, kompleks oluşturma ve kristalleştirme şeklinde ağır metalleri dönüşüme uğratan hidroksil, karboksil, amino, aldehit, fosfat ve tiyol gruplarını taşımaktadır. Bitkiler yüksek derişimlerde ağır metale maruz kaldığı zaman, hücre duvarının apoplastik kısımlarında kelat oluşumunu sağlayan kalloz salgırlarlar. Yani bitki hücre duvarı ağır metal iyonlarının detoksifikasyon yeridir. Ağır metal birikiminde etkili olan başlıca mekanizmalar aşağıda belirtilmektedir [24].

- ✓ Ağır metal kelatlayıcı proteinlerin uyarılması: Fitokelatinler tekrarlanan γ -glu-cys dizileri içeren ve uç kısımlarında glisin bulunduran bir peptid grubudur. Fitokelatinler birçok ağır metale karşılık glutation (GSH)'dan enzimatik olarak sentezlenmektedir. Ağır metallere bağlı olarak fitokelatin sentezi şu şekilde gerçekleşmektedir: Fitokelatinler birçok ağır metal iyonu tarafından hızlı bir şekilde uyarılır ve GSH'dan γ -glu-cys dipeptidil transpeptidaz enzimi yoluyla sentezlenir. Örneğin; fitokelatin yüksek bitkiler, fitokelatin-Cd bileşikler oluşturur ve serbest metal derişimini azaltarak özellikle Cd detoksifikasyonu ile Cd akümülyasyonunda önemli rol oynar.
- ✓ Prolin birikimi: Proteinleri oluşturan yirmi aminoasitten biri prolindir. Diğer tüm aminoasitler birincil amin grubu ($-NH_2$) taşımalarına rağmen, prolin; yan zincirindeki üç karbon atomu bir halka oluşturarak tekrar peptid bağındaki nitrojen atomuna bağlandığı için, ($-NH_2$)'a sahip değildir. Bitkiler yüksek derişimlerde ağır metale maruz kaldığı zaman, membranlarında ve proteinlerinde meydana gelen hasarı indirmek için prolin biriktirmeye başlar. Biriktirilen prolin; bir osmotik koruyucu, protein stabilizatörü, lipid peroksidasyon inhibitörü, hidroksil radikalleri temizleyici ve singlet oksijen temizleyicisi gibi davranır ve ağır metallerin akümülyasyonunda önemli rol oynar.

Hiperakümülatör bitkiler, öncelikle topraktaki bağlı ağır metalleri harekete geçirerek akümülyasyon prosesini başlatırlar. Topraktaki bağlı ağır metalleri harekete geçirme prosesleri aşağıda belirtilen farklı şekillerde olabilmektedir [23]:

- ✓ Topraktaki bağlı ağır metalleri çözündürebilmek veya şelatlayabilmek için fitozitroforlar, düşük molekül ağırlıklı organik asitler gibi metal şelatlayıcı moleküller, rizosfer içine salgılanabilir. Örneğin; bünyedeki demir eksikliği için

deoksimugeneik asitler, avenik asit, vb. fitozitroforlar salgılanır ve prensip olarak bunlar Cd, Pb, Cu, Zn, Mn vb. diğer ağır metalleri topraktan harekete geçirebilir. Metallothioninler veya fito-şelatinler ile ilişkili metal şelatlayıcı proteinler, bitkilerde yan-roforlar olarak da işlev görebilirler. Ya da, nikel hiperakümülatörü olan *Alyssum lesbiacum* gibi bitkiler, nikeli bünyesine alabilmek ve organlarına taşıyabilmek için mükemmel bir nikel şelatörü olan histidini salgılayabilir.

- ✓ Bitki kökleri, spesifik plazma membranına bağlı metal indirgeyicilerle, topraktaki bağlı metalleri indirgeyebilirler. Plazma membranın iç kısmının negatif yüklü olması ağır metal katyonlarının alımı için geçiş üstünlüğü sağlamaktadır.
- ✓ Topraktaki bağlı metal iyonlarının serbest kalması için düşük pH ortamı (güçlü asidik ortam) gereklidir. Buna bağlı olarak bitki kökleri, toprak ortamlarını köklerden salınan protonlarla asitleştirerek, topraktaki bağlı ağır metalleri çözebilirler.
- ✓ Bitki kökleri, topraktaki bağlı metallerin biyo-yararlanımını arttırmak için rizosferik organizmaları (mikorizal mantarlar veya kök kolonize bakteriler) kullanabilirler.

Bu şekilde harekete geçirilen metaller, topraktan bitki kökleri ile alınır ve filizlere taşınır. Bu süreç sırasıyla şu şekildedir [25]:

- i. Topraktaki metal iyonlarının bir kısmının bitkinin kök yüzeyine tutunması,
- ii. Hücre membranları içerisinde kök hücreleri içerisine biyo-yarayışlı metal iyonlarının taşınımı,
- iii. Kök hücreleri içerisine absorblanmış bir metal fraksiyonunun hareketsizleştirilmesi,
- iv. Hareketli metal iyonlarının bir kısmının hücre membranlarına geçmesi ve bitki gövdesine ve yapraklarına taşınması,

Ağır metal iyonlarının kökler vasıtası ile alınmasından sonra bitki organlarına taşınması; pasif, aktif ve kolaylaştırılmış taşınım olmak üzere üç farklı şekilde olmaktadır. Pasif alımın; spesifik taşıyıcılara gereksinim duyulmadan, derişim farklılıklarına ve basit difüzyon kurallarına göre gerçekleşmektedir. Aktif taşınım ise; spesifik taşıyıcı moleküllerine ve enerjiye ihtiyaç duyulmaktadır. Kolaylaştırılmış taşınım ise metabolik aktivite gereklidir ve metal iyonları taşıyıcı ajanlar ile bitkiye alınmaktadır. Fitokelatin gibi protein sınıflarının bazılarının ve bazı organik asitlerin ağır metal iyonlarının taşınımında görev yaptığı bilinmektedir [18].

Çevreye zararlı metallerin çoğu, bitkinin damar sisteminde serbestçe hareket edemeyecek kadar çözünürlüğü azdır. Birçok sülfat, karbonat veya fosfat formu, bu metalleri apoplastik ve basit bölmelerde hareketsiz hale getirir. Bu metallerin apoplastik taşınması, metal

iyonu katyonik olmayan bir metal şelat olarak taşınmadıkça, hücre duvarlarının yüksek katyon değişim kapasitesi ile sınırlıdır. Hiperakümülatör bitki türlerinde, bazı toksik metaller, çoğunlukla sitrat olmak üzere organik asitlerle kompleks halinde filize taşınabilir. Örneğin; Cd akümülatörü olan *Brassica juncea*'nin köklerinde Cd'nin fitoşelatinleri içeren CdS₄ kompleksi olarak bulunduğu bilinmektedir. Ksilem sapında ise Cd'nin çoğunlukla, oksijen veya azot ligandları ile koordine halde bulunur. Yapraklarında ise, Cd genellikle trikomlarda birikmektedir [23].

Topraktan alınan ağır metallerin çoğunu kök hücrelerinde tutan, sitoplazmada şelasyonla detoksifiye eden veya vakuollere depolayan hiperakümülatör olmayan bitkilerden farklı olarak, hiperakümülatör bitkiler bu elementleri hızlı ve verimli bir şekilde ksilem yoluyla filizlere taşırlar veya kök içindeki floem yoluyla da ağır metal iyonları bitkide ilerleyebilirler. Ksilem kanalları içine giren metal iyonları, ilk olarak endodermisi ve epidermisi bölen kaspari şeridine girerler. Kaspari şeridi ekstraselüler geçişi bloke ederek suyun hareketini engeller ve metal iyonları intraselüler olarak hareket ederler. Bazı metal akümülatörleri bitkilerin ksilem özlerinin analizi yapıldığında, metal iyonlarının taşınımında organik asitlerin görev yaptığı belirlenmiştir. Kök içindeki floemde de metaller ya organik asitlerle şelatlı olarak ya da fitoşelatinlerle veya metallotiyoninlerle taşınabilirler [26].

Ağır metal iyonları yukarıda belirtilen şekilde hücre içine alınıp akümüle edildiklerinde, detoksifiye edilmeleri gerekir. Bu durum ise, şelatlama ve çöktürme şeklinde olmaktadır. Örneğin; çinko organik asitler ile şelatlanıp vakuollerde birikebilmektedir. Ya da kurşun akümülatörü olduğu bilinen *Brassica juncea*'nin köklerinde fitoşelatinlerin üretildiği belirlenmiştir; belirlenen bu fitoşelatinlerin bünyede akümüle edilen kurşunun detoksifikasyonu ile ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır [26].

Literatürde hiperakümülatör ve biyoindikatör bitkiler, fitoremediasyon yöntemlerinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar [21, 27–29]. Ayrıca, biyojeokimyasal prospeksiyon çalışmalarında çeşitli maden cevherlerinin ortaya çıkarılması amacıyla da ağır metal akümülatörü bitkilerin kullanıldıkları bilinmektedir [30–34].

Bu tez çalışması kapsamında ise; Mersin ili Musalı bölgesindeki Minsan Madencilik'in kromit (FeCr₂O₄) yatağı işletme sahası içinde yetişen ve demir hiperakümülatörü olduğu bilinen *Pinus brutia* (Kızılçam) bitkisi metalik nanopartikül sentezinde kullanılacaktır. *P. brutia*'nın bünyesinde demir akümüle edebildiğini gösteren literatürde yapılan bazı çalışmalar aşağıda özetlenmektedir:

Özdemir (2005)'in yaptığı çalışmada, *P. brutia*'nın yaprak, dal ve kozalak örnekleri Mersin ili Musalı bölgesindeki kromit yatağı çevresinden ve Mersin ili Silifke-Anamur alanındaki klastik

sedimanları yakınından toplanmış ve bu örneklerdeki Fe ve Zn derişimleri atomik absorpsiyon spektroskopisi ile analiz edilmiştir [35]. Elde edilen sonuçlar Tablo 2.3.2.'de sunulmaktadır.

Tablo 2.3.2. Yapılan çalışmada farklı bölgelerden toplanmış *P. brutia*'nın yaprak, dal ve kozalak örneklerindeki Fe ve Zn derişimleri

Bitki kısmı	Zn derişimi (µg/g)		Fe derişimi (µg/g)	
	Musalı bölgesi	Silifke-Anamur alanı	Musalı bölgesi	Silifke-Anamur alanı
Yaprak	11-90	18-126	86-614	200-703
Dal	10-46	18-156	103-1125	106-788
Kozalak	7-53	26-82	143-486	220-618

İncelenen her iki bölgede *P. brutia*'nın tüm kısımlarında demir elementinin çinkoya göre daha en yüksek derişimde bulunduğu belirlenmiştir.

Doğan ve arkadaşları (2007), Türkiye'nin Batı Anadolu bölgesinde yetişen *P. brutia* ağacı kabuklarını kullanarak bölgede eser element kirliliği biyoizlemi çalışması yapmışlardır. Bu çalışma için İzmir, Manisa, Aydın, Denizli, Muğla, Balıkesir, Çanakkale ve Kütahya şehirlerindeki kırsal, banliyö, yol kenarı ve endüstriyel alanlardan örnekler toplamışlar ve topladıkları örneklerde Cd, Cr, Ni, Cu, Pb ve Fe elementlerinin analizlerini yapmışlardır. Kontrol deneyleri için ise Akdağ, Bozdağ, Murat Dağı ve Kaz Dağından örnekler toplamışlardır. Elde ettikleri sonuçlar Tablo 2.3.3.'te sunulmaktadır. Buna göre; *P. brutia* bünyesinde bulunan elementlerin genel olarak endüstriyel alanda diğer alanlardan daha yüksek derişimde olduğu belirlenmiştir. Endüstriyel ve kentsel yol kenarı örneklerinde görülen yüksek ağır metal derişimlerinin; yüksek araç yoğunluğu ile birlikte yüksek insan aktivitesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Diğerlerinden farklı olarak, Pb elementi derişiminin yol kenarı örneklerinde daha yüksek olmasının; yüksek araç yoğunluğu sebebi ile petrol kirliliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca, *P. brutia*'nın bünyesinde en fazla demir elementini akümüle ettiği de açıkça görülmektedir [36].

Tablo 2.3.3. Çalışmada toplanılan örneklerdeki Cd, Cr, Ni, Cu, Pb ve Fe elementlerinin derişimleri

Alan	Elementler ve derişimleri (µg/g)					
	Cd	Pb	Cr	Fe	Ni	Cu
Kontrol	0.68±0.06	4.59±0.57	0.44±0.12	486.35±130.95	3.56±0.52	3.52±0.35
Kırsal	0.63±0.05	7.32±2.05	0.84±0.12	526.21±160.80	5.11±1.60	4.57±0.82
Banliyö	0.68±0.04	9.02±1.41	0.99±0.34	598.70±170.10	4.26±0.66	5.78±1.18
Yol kenarı	0.60±0.02	16.15±8.53	1.24±0.54	594.58±154.12	3.72±0.91	5.36±1.45
Endüstriyel	0.71±0.02	20.03±10.50	3.17±1.26	1274.04±263.20	18.87±10.60	15.30±7.87

Doğan ve arkadaşları (2010), *P. brutia* yapraklarının Türkiye'nin batı Anadolu bölgesindeki eser element kirliliğinde biyoizlem amacıyla kullanılabilirliğini test etmişlerdir. Bu

amaçla, endüstriyel, banliyö, yol kenarı ve kırsal bölgelerden 30 farklı örnek toplamışlar ve bu örneklerdeki ağır metal derişimlerini atomik absorpsiyon spektrometresi ile analiz etmişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda en yüksek ağır metal derişimleri endüstriyel bölgede belirlenmiş olup bu değerler; *P. brutia* yapraklarında Pb, Cd, Cr, Fe, Ni ve Cu derişimleri sırasıyla 12.1, 0.54, 12.12, 595.5, 10.4 ve 10.1 µg/g'dır. Buna göre; *P. brutia*'nın yapraklarında en yüksek derişimde bulunan ağır metalin demir olduğu görülmektedir [37].

Ganatsas ve arkadaşları (2011), hava trafiği kirliliğinin *P. brutia*'nın tohum kalitesine etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla, yoğun trafik nedeniyle kirlenen Selanik çevre yolunda (Yunanistan'ın en büyük ikinci şehri) yetişen *P. brutia* ağaçlarından örnekler toplamış ve yola uzak ve yakın yerlerden topladıkları bu örneklerde Cr, Cu, Fe ve Mn ağır metal elementlerinin derişimlerini belirleyerek hava kirliliğinin tohum kalitesindeki etkisini incelemişlerdir. Yapılan çalışmalar sonucunda; yola en yakın yerde yetişen *P. brutia*'da Cr, Cu, Fe ve Mn derişimleri sırasıyla 1.467, 11.21, 135.05 ve 33.72 µg/g olarak belirlenmiştir. Buna göre; *P. brutia* bünyesinde en yüksek derişimde bulunan ağır metalin demir olduğu görülmektedir [38].

Yıldırım ve arkadaşlarının (2012) yaptıkları bir çalışmada, Amasya şehir merkezinde yaygın olarak bulunan *P. brutia*'nın Cu, Fe ve Mn içerikleri ve Cu, Fe ve Mn kirliliğinin tespitinde kullanılabilirlikleri araştırılmıştır. Yaprak örnekleri yol kenarlarındaki ağaçlardan toplanmış ve araştırılan elementlerin derişimleri atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile belirlenmiştir. Buna göre; *P. brutia*'da Cu=25.81 µg/g, Fe=67.22 µg/g ve Mn=6.77 µg/g olarak analiz edilmiştir. *P. brutia*'nın yapraklarında en fazla demir elementinin bulunduğu açıkça görülmektedir [39].

Yalçın ve arkadaşlarının (2013) yaptıkları çalışmada; ağır metal kirliliğinin bitkinin mineral besin durumu üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi için *P. brutia*'nın yaprak, ağaç kabuğu ve toprak örnekleri incelenmiştir. Örnekler 2012 yılında, Boğaziçi'nin 4 farklı bölgesi ve kontrol olarak Prens adası olmak üzere 5 farklı bölgeden toplanmıştır. Tüm örneklerdeki ağır metaller ve besin elementleri (Al, B, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb ve Zn) Endüktif Olarak Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektroskopisi (ICP-OES) kullanılarak analiz edilmiştir. Yapılan analizlere göre; en düşük ve en yüksek ağır metal birikimi ile mineral besin miktarları (mg/kg) bitki bünyesinde ve toprakta sırasıyla şu şekildedir; Al için 28.420-115.809 ve 4191.285-5776.910, B için 1.308-11.432 ve 9.318-15.803, Ca için 1604.497-9312.622 ve 2457.361-4817.899, Cd için 0.307-1.587 ve 0.803-1.890, Co için 0.064-0.579 ve 3.860-6.731, Cr için 0.853-5.445 ve 12.472-22.761, Cu için 2.063-11.292 ve 8.304-24.193, Fe için 158.090-242.056 ve 4733.993-5727.813, K için 88.021-4312.240 ve 1231.649-1931.372, Mg için 98.325-850.764 ve 2668.299-4489.028, Mn için 3.752-9.764 ve 143.698-278.108, Na için 45.716-1315.764 ve 91.225-116.795, Ni için 0.889-7.746 ve 7.437-15.750, Pb için 3.917-14.341 ve 31.122-71.762 ve Zn için 10.268-35.844 ve 43.746-122.258'dir. Buna göre; Ca, K, Mg ve Na gibi alkali ve toprak

alkali metallerden sonra *P. brutia* bünyesinde en yüksek derişimde bulunan ağır metalin demir olduğu görülmektedir [40].

Yukarıda özetlenen çalışmalarda da görüldüğü üzere; *P. brutia* bünyesinde demir elementinin diğer ağır metallere kıyasla çoğunlukla daha yüksek derişimde bulunduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle bu tez çalışmasında, nanopartikül sentezinde kullanılmak üzere demir içerikli çözelti hazırlanması amacıyla *P. brutia*'nın kullanılmasının uygun olduğu düşünülmektedir. Aşağıda, *P. brutia*'nın özellikleri ile ilgili genel bilgiler verilmektedir.

Pinus brutia; 15-20 metre boylarında, kalın dallı bir ağaç olup genç sürgünleri kalın ve kırmızı renkte olduğu için Kızılçam adı ile de bilinmektedir. Kuraklığa son derece dayanıklı olup, kışların ılık geçtiği bölgelerde verimli bir şekilde yetişen ve yetiştirilen bir türdür. Genel coğrafi yayılımı Doğu Akdeniz Havzası ve özellikle Türkiye'nin Akdeniz, Ege ve Marmara bölgeleridir. Genellikle sahil kesimlerinde yayılmasına rağmen 1200 metre yükseltilere kadar çıkabilmektedir. Ülkemiz genelinde yaklaşık 3.5 milyon hektar yayılma alanına sahiptir. Dünyada en geniş ve verimli yayılma bölgeleri Türkiye topraklarında bulunan Kızılçam, bu özelliğinden dolayı yerli ve yabancı yayınlarda son yıllarda genel olarak Türk kızılçamı (Turkish red pine) olarak adlandırılmaktadır. *Pinus brutia*'nın bilimsel sınıflandırılması Tablo 2.3.4.'de verilmektedir.

Tablo 2.3.4. *Pinus brutia*'nın bilimsel sınıflandırılması

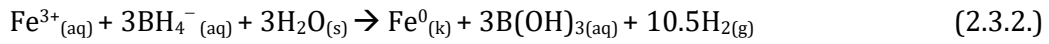
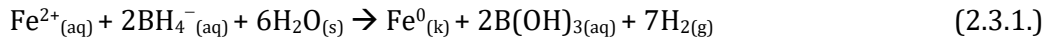
Âlem	Plantae (Bitkiler)
Bölüm	Pinophyta (Açık tohumlular)
Sınıf	Pinopsida
Takım	Pinales (İğne yapraklılar)
Familya	Pinaceae (Çamgiller)
Cins	<i>Pinus</i>
Tür	<i>P. brutia</i>

Literatürde *P. brutia* ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde; *P. brutia*'nın çoğunlukla ormancılık [41–43], çevre bilimi [44–47], malzeme bilimi [48–50], mühendislik [51–53], kimya/biyokimya ve moleküler biyoloji [36, 54–58], uygulamalı mikrobiyoloji [59, 60] alanlarında araştırıldığı görülmektedir. Yapılan literatür taraması Tablo 2.3.5.'de özetlenmektedir.

Tablo 2.3.5. *P. brutia* ile ilgili yapılan çalışmalar

Araştırma alanı	Konu	Kaynak
Ormancılık	<i>P. brutia</i> 'nın doğal rejenerasyonu	[41]
	<i>P. brutia</i> 'nın ölü odunundaki karbon stoğunun doğrudan ve dolaylı olarak değerlendirilmesi	[42]
	<i>P. brutia</i> 'nın nem içeriğinin modellenmesi	[43]
Çevre bilimi	<i>P. brutia</i> 'nın dendroklimatolojik analizi	[44]
	<i>P. brutia</i> 'nın ksilem sapındaki ağır metal konsantrasyonlarının belirlenmesi	[45]
	<i>P. brutia</i> 'nın tohum çimlenmesi üzerine ısı şokunun etkilerinin araştırılması	[46]
	<i>P. brutia</i> iğne yapraklarındaki glutatyon S-transferazlarının karakterizasyonu	[47]
Malzeme bilimi	Isıl işleminden etkilenen <i>P. brutia</i> 'nın fiziksel, mekanik ve bağlanma performansının araştırılması	[48]
	<i>P. brutia</i> 'nın yüzey pürüzlülük değerlerinin belirlenmesi	[49]
	<i>P. brutia</i> 'nın oleoresin ve larva galeri reçinesinin kimyasal bileşimi	[50]
Mühendislik	Sürdürülebilir ormancılıktan geri kazanılan enerji biyokütlesinin araştırılması	[51]
	<i>P. brutia</i> 'nın pirolizinin araştırılması	[52]
	DeneySEL arteriyel hipertansiyonda, <i>P. brutia</i> kabuğu ekstraktının biyokimyasal parametreler ve kan basıncına etkilerinin değerlendirilmesi	[53]
Kimya/biyokimya ve moleküler biyoloji	Kuraklık stresli <i>P. brutia</i> 'nın iğne yapraklarında glutatyon S-transferaz aktiviteleri ve glutatyon seviyelerinin incelenmesi	[54]
	<i>P. brutia</i> 'nın gövde kabuğu kullanarak eser element kirliliğinin biyoizlenmesi	[36]
	<i>P. brutia</i> 'nın iğne flavonoid bileşimindeki genetik varyasyonun araştırılması	[55]
	Yapay sinir ağı modellemesi kullanılarak <i>P. brutia</i> 'nın monosakkarit kompozisyonunun spektrofotometrik tayini	[56]
	<i>P. brutia</i> 'nın kabuklarındaki ve yapraklarındaki uçucu yağların kimyasal bileşiminin incelenmesi	[57]
	Bir orman atığı olan <i>P. brutia</i> kozalaklarının asit ve alkali işlemlerinin, metil yeşili boyarmaddesinin adsorpsiyon verimliliğine etkisinin araştırılması	[58]
	<i>Dioryctria sylvestrella</i> 'nın genç <i>P. brutia</i> ağaçlarının bazal alan artış kaybı üzerindeki etkilerinin araştırılması	[59]
Uygulamalı mikrobiyoloji	<i>P. brutia</i> 'da embriyojenik dokunun ve somatik embriyoların olgunlaşmasının incelenmesi	[60]

Bu tez çalışması kapsamında ise, bu çalışmada geliştirilen yöntem ile nanopartikül sentezi gerçekleştirilecektir. Buna göre; metal iyonu kaynağı olarak *P. brutia* hiperakümülatör bitkisinden hazırlanan demir içerikli liç çözeltisi, indirgeyici ajan olarak ise NaBH₄ kullanılacaktır. Buna göre; nanopartikül sentezi aşamasında gerçekleştiği öngörülen reaksiyonlar Eşitlik (2.3.1.) ve (2.3.2.)'de sunulmaktadır [61,62]:



Eşitlik (2.3.1.) ve (2.3.2.)’de verilen reaksiyonlara göre; reaksiyon ürünleri olarak demir nanopartikülleri (Fe^0), hidrojen gazı ($\text{H}_{2(\text{g})}$) ve borik asit ($\text{B}(\text{OH})_3$) görülmektedir. Bu yöntemde, kimyasal indirgeyici olarak kullanılan NaBH_4 , reaksiyonlarda hem indirgeyici ajan hem de $\text{H}_{2(\text{g})}$ kaynağı olarak kullanılmakta; sonuç olarak sentez reaksiyonları sırasında çevreye ve insan sağlığına zararlı toksik bileşenler açığa çıkmamaktadır. Ayrıca, kimyasal indirgeyici bir ajan kullanılması sonucu hızlı ve yüksek verimle nanopartiküller sentezlenebilmektedir. Kimyasal indirgenme yönteminden farklı olarak sentetik metal tuzu çözeltisi yerine doğal bir kaynaktan hazırlanan metal iyonu içerikli çözelti kullanılması ile de üretim maliyetinin düşürülmesinin yanı sıra doğal bir kaynağın ekonomik değere dönüştürülmesi amaçlanmaktadır. Böylelikle geliştirilen bu yöntem sayesinde; eş zamanlı olarak hem geniş kullanım alanı bulunan demir içerikli nanopartiküller basit, hızlı, yüksek verimli, düşük maliyetli ve çevre dostu bir şekilde sentezlenebilmekte hem de yüksek verim-güç yoğunluğu ve sıfır kirletici emisyonu gibi özelliklerinden dolayı son yıllarda oldukça dikkat çeken yenilenebilir bir enerji kaynağı olan hidrojen gazı üretilmektedir.

Ayrıca, hiperakümülatör bitkiden demir iyonu içerikli liç çözeltisi hazırlanırken derişik asitler kullanılmaktadır ve bu nedenle bu çalışmada gerçekleşen nanopartikül sentezi ve $\text{H}_{2(\text{g})}$ üretimi reaksiyonunun Eşitlik (2.3.1.) ve (2.3.2.)’de verilenlerden farklı olduğu düşünülmektedir. Öngörülen bu durum; “4.3.6. FeNPs Sentezi Sırasında $\text{H}_{2(\text{g})}$ Üretimi Mekanizması ve Kinetiği” başlığı altında ilerleyen bölümlerde ayrıntılı olarak incelenecektir.

Sonuç olarak bu çalışmada geliştirilen yöntem ile hidrojen gazı ($\text{H}_{2(\text{g})}$) ve demir içerikli nanopartiküller (FeNPs) olmak üzere iki temel ürün elde edilmektedir. Bu nedenle aşağıdaki bölümlerde öncelikle hidrojen gazı, daha sonra ise demir içerikli nanopartiküller ve kullanım alanları ile ilgili bilgilere yer verilmektedir.

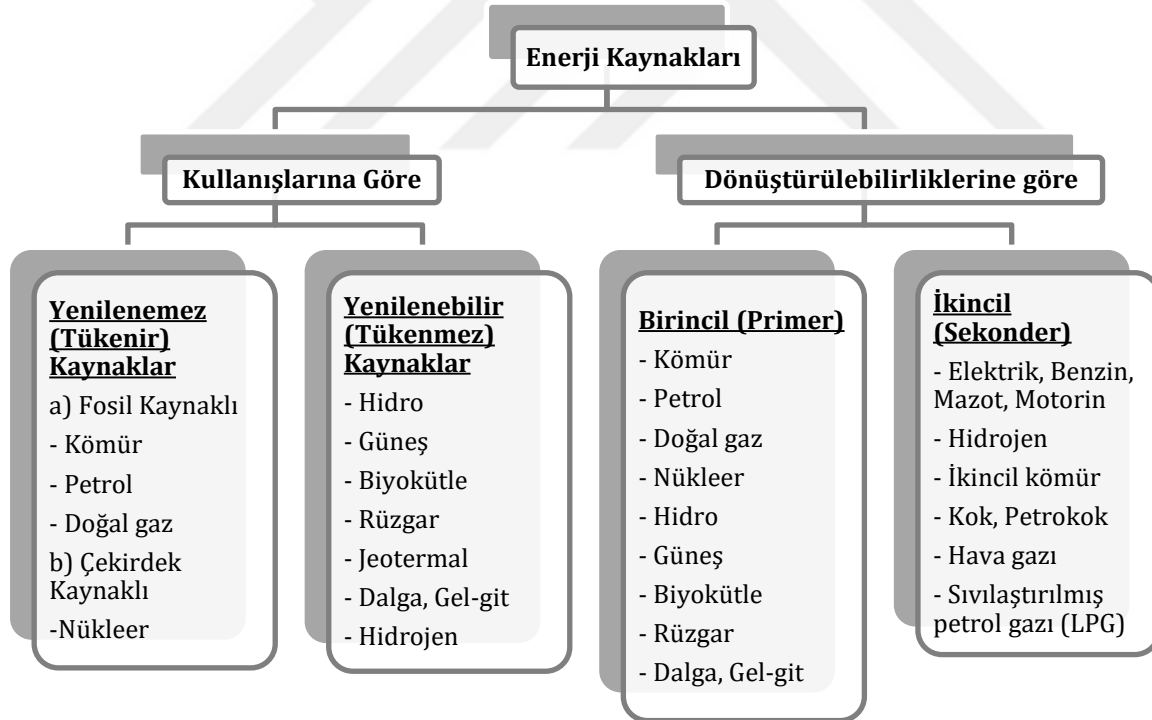
2.4. Hidrojen Gazı

Canlıların hayatta kalması için hayati öneme sahip olan enerji, insanlar ve devletler için vazgeçilmez unsurlardan biridir. Özellikle ısıtma, savunma, ulaşım, aydınlatma, iletişim gibi pek çok alanda stratejik bir öneme sahiptir. Bu nedenlerden dolayı, insanlık için enerji bağımlılığı asla sona ermeyecektir. Gittikçe artan enerji üretimi ve kullanımı; hava kirliliği, küresel ısınma ve iklim değışiklikleri gibi çevresel sorunların insanların yaşamlarını doğrudan etkilemesine neden olmaktadır. Bunun temel nedeni günümüzde ihtiyaç duyulan enerjinin çoğunun fosil yakıtlardan karşılanmasıdır. Rezervleri sınırlı olduğu için fosil yakıtların çok kısa sürede tükeneceği

bilinmektedir. Bu nedenle, yenilenebilir enerji kaynakları gibi farklı enerji kaynakları kullanılmalıdır.

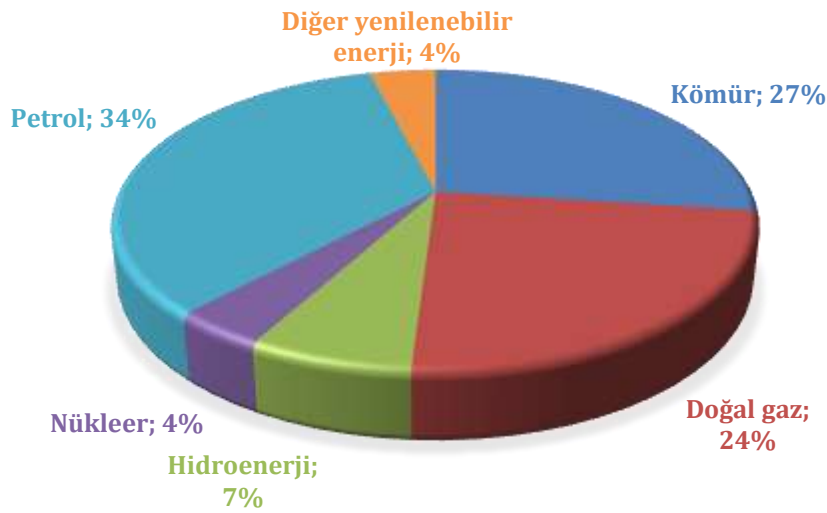
Günümüzde kullanılan enerji kaynakları, kullanılışlarına ve dönüştürülebilirliklerine göre sınıflandırılmaktadır ve yapılan sınıflandırma Tablo 2.4.1.'de gösterilmektedir. Buna göre; kullanılışlarına göre enerji kaynakları yenilenebilir ve yenilenemez enerji kaynakları olarak sınıflandırılırken; dönüştürülebilirliklerine göre enerji kaynakları birincil ve ikincil enerji kaynakları olarak ikiye ayrılmaktadır. Yenilenemez enerji kaynakları, yani fosil kaynaklılar ve çekirdek kaynaklılar kısa bir gelecekte tükenebileceği öngörülen enerji kaynaklarıdır. Yenilenebilir enerji kaynakları ise; enerji kaynağından alınan enerjiye eşit oranda veya kaynağın tükenme hızından daha çabuk bir şekilde kendini yenileyebilen kaynaklardır. Birincil enerji kaynakları; enerjinin herhangi bir değişim ya da dönüşüme uğramamış şekli olup; kömür, petrol, doğal gaz, hidrolik, nükleer, dalga-gelgit, biyokütle, rüzgâr ve güneş gibi kaynaklardır. Elektrik, mazot, benzin, hidrojen, motorin, ikincil kömür, kok kömürü, petrokok, sıvılaştırılmış petrol gazı (LPG), hava gazı ise birincil enerjinin dönüştürülmesi sonucu elde edilen enerji türleridir [63].

Tablo 2.4. 1. Enerji kaynakları sınıflandırılması



Şekil 2.4.1.'de, 2019 yılı verilerine göre dünyadaki enerji tüketiminin yakıt türlerine göre dağılımı gösterilmektedir. Buna göre, tüketimin büyük oranda (% 85) fosil kaynaklardan karşılandığı açıkça görülmektedir. Artan dünya nüfusu ve gelişen teknoloji ile enerji ihtiyacı

sürekli artmaktadır. Örneğin, 1850 ile 1970 arasında, Dünya'da nüfusu üç kattan fazla artmış ve böylece ihtiyaç duyulan enerji miktarı da doğal olarak artmıştır [64,65].



Şekil 2.4. 1. Yakıt türlerine göre dünyadaki enerji tüketimi

Tablo 2.4.2., dünyadaki enerji talebinin (Milyon ton petrol eşdeğeri-Mtoe) yıllara göre değişimini göstermektedir. Buna göre; küresel enerji tüketiminin 2015'ten 2035'e kadar % 21.5 artacağı ve enerji talebinin 13776 Mtoe'dan 16748 Mtoe'ya çıkacağı öngörülmektedir. Ayrıca, en yüksek ortalama yıllık büyüme oranının diğer yenilenebilir enerji kaynaklarına ait olduğu görülmektedir. 2020-2035 yılları arasında fosil yakıtların enerji tüketiminin büyük çoğunluğunu karşılamaya devam edeceği tahmin edilmektedir. 2035 yılında fosil yakıtların enerji üretiminde payının 2008 yılına göre % 81.3'ten % 73.7'ye düşeceği tahmin edilmektedir; ancak bu durumda bile fosil yakıtlar baskın bir enerji kaynağı olmaya devam edeceklerdir. Ancak, fosil yakıtların hem rezervleri oldukça sınırlıdır hem de karbon içerikli fosil yakıtlar yandığında CO₂ ve H₂O oluşturdıklarından sera gazları için büyük bir CO₂ gazı kaynağıdır. Fosil yakıtlara bağımlılık devam ettiği sürece, sera gazı seviyeleri artmaya devam edecek ve dünya ısınmaya devam edecektir. Bu nedenle, 21. yüzyılın en büyük sorunu birçok bilim adamına göre küresel ısınmadır. Bu sorunu çözmek için alternatif enerji kaynaklarına geçmek oldukça büyük önem arz etmektedir. Yenilenebilir bir enerji kaynağı olan hidrojen, geleceğin enerji sistemleri için iyi bir alternatif olarak tercih edilebilir. Hidrojenin yanması veya yakıt hücresinde tüketilmesi sonucu son ürün olarak sadece su üretildiğinden; fosil yakıt kullanmanın dezavantajlarından olan küresel ısınmanın ve çevre kirliliğinin önemli ölçüde azaltılması amacıyla hidrojen yenilenebilir kaynaklardan üretilebilir ve yüksek verimli yakıt hücrelerinde veya motorlarda kullanılabilir. Hidrojen çeşitli yöntemler kullanılarak, kirlenici madde ve sera gazları emisyonu yapmadan üretilebilmekte ve teknoloji ilerledikçe, üretim maliyetinin diğer kaynaklarla rekabet edebilir seviyelere ulaşması hedeflenmektedir [65–67].

Tablo 2.4.2. Dünyadaki enerji talebinin (Milyon ton petrol eşdeğeri-Mtoe) yıllara göre değişimi

Yakıt türü	1980	2008	2015	2020	2030	2035	2008-2035 Ortalama yıllık büyüme oranı
Kömür	1792	3315	3892	3966	3984	3934	0.6 %
Petrol	3107	4059	4252	4346	4550	4662	0.5 %
Gaz	1234	2596	2919	3132	3550	3748	1.4 %
Nükleer	186	712	818	968	1178	1273	2.2 %
Hidroenerji	148	276	331	376	450	476	2.0 %
Biyoenjerji	749	1225	1385	1501	1780	1957	1.7 %
Diğer yenilenebilir enerji	12	89	178	268	521	699	7.9 %
Toplam	7229	12271	13776	14556	16014	16748	1.2%

Hidrojen, doğada serbest formda değil, birer elektrona sahip iki hidrojen atomunun birleşmesinin oluşturduğu bir molekül halinde bulunur. Ayrıca, hidrojen molekülü oksijenle çok kolay reaksiyona girdiği için doğada son derece nadir bulunur. Hidrojen; oda koşullarında (25 °C ve 1 atm) gaz halinde bulunan, renksiz, kokusuz, toksik olmayan ve havadan 14.4 kat daha hafif bir gazdır. Ayrıca, hidrojen çok düşük kaynama sıcaklığına sahiptir ve -253 °C'de gaz halinden sıvı hale dönüşür. Gaz fazındaki hidrojenin hacmi, sıvılaştırılmış hidrojen hacminin 700 katıdır. Tablo 2.4.3.'te hidrojenin bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri gösterilmektedir [65].

Tablo 2.4.3. Hidrojenin bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri

Kimyasal özellikler	Sembol	H
	Atom numarası	1
	Atom ağırlığı	1.00794 g/mol
	Oda koşullarındaki (25 °C ve 1 atm) özellikleri	Renksiz, kokusuz, zehir olmayan, hafif gaz
	Metal özelliği	Göstermez
	Elektron konfigürasyonu	1s ¹
	Kabuk yapısı	1
	Elektron ilgisi	72.8 kJ/mol
	Elektronegatifliği	2.20
	Atom çapı	25 pm
	İyonlaşma enerjisi	1312 kJ/mol
Fiziksel özellikler	Oksidasyon numarası	1
	Yoğunluğu	0.08999 kg/m ³
	Erime noktası	-259.14 °C (14.01 K)
	Kaynama noktası	-252.87 °C (20.28 K)
	Molar hacmi	11.42 mL/mol
	Isıl iletkenliği (300 K'de)	0.1815 W/(m.K)
	Özgül ısısı	14.314 j/(g.K)
	Buharlaşma entalpisi	0.452 kJ/mol
	Atomlaşma entalpisi	218 kJ/mol

Hidrojenin yakıt olarak kullanılabileceği birçok alan mevcuttur. Bu kullanım alanları hidrojenin yanma şeklinde göre değişmektedir. Bu durum Tablo 2.4.4.'te özetlenmektedir. Buna

göre; diğer yakıtlarla karşılaştırıldığında, hidrojenin birçok alanda güvenli ve etkin bir şekilde kullanılabilir olduğu söylenebilir. Örneğin; otomobillerde veya uçaklarda kömürün kullanılması pratik açıdan uygun değilken; hidrojenin hemen her yerde kullanılabilme imkânı vardır. Evlerde, ısıtma amacı ile kalorifer, fırın ve şofbenlerde doğal gaz yerine rahatlıkla kullanılabilir [68].

Tablo 2.4.4. Hidrojenin yanma şekline göre kullanım alanları

Yanma Şekli	Kullanım Alanları
Alevli yanma	İçten yanmalı motorlar, gaz türbinleri, jet motorları, roket motorları, ısıtma, pişirme alanları
Direk buhara dönüşme Katalitik yanma (alevsiz yanma)	Buhar türbinleri, buharlı tahrik, endüstriyel buhar, buharla ısıtma Pişirme alanları, su ısıtma, hacim (ortam ısıtma), absorpsiyonlu soğutma

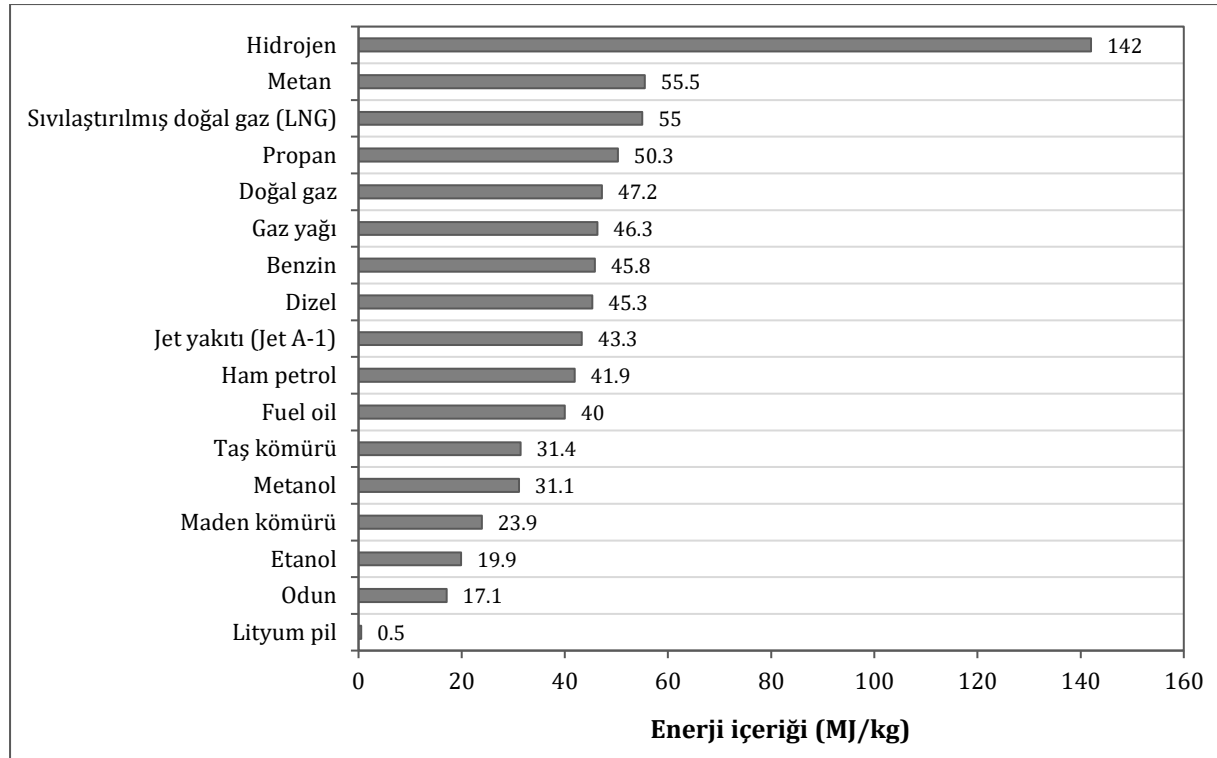
Otobüs, kamyon, otomobil, traktör, tarım makineleri gibi içten yanmalı motora sahip taşıtlarda sınırlı rezerve sahip petrol ürünlerinin yerine hidrojenin çevre dostu bir yakıt olarak kullanılabilmesi, son yıllarda özellikle taşıt üretimi yapan şirketlerin ilgi odağı haline gelmektedir.

Özellikle içten yanmalı motorlarda kullanılan yakıtların, aşağıdaki özelliklere sahip olmaları istenir;

- ✓ Güvenli olarak her yere kolaylıkla taşınabilmeli ve depolanabilmeli,
- ✓ Sanayi, ev, taşıt gibi birçok yerde kullanılabilmeli,
- ✓ Birim kütle başına yüksek ısı değeri, temiz ve hafif olmalı,
- ✓ Isı, elektrik ve mekanik enerjiye kolaylıkla dönüşebilmeli,
- ✓ Yüksek verimle enerji üretilebilmeli ve ekonomik olmalıdır.

İdeal şartlarda yukarıdaki özellikler istenmesine rağmen hali hazırda kullanılan yakıtlar arasında bu özelliklerin tamamına sahip herhangi bir yakıt yoktur. Ancak, hidrojenin sıralanan bu özelliklerin çoğunu bünyesinde barındıran ideal bir yakıt olduğu söylenebilir.

Şekil 2.4.2. çeşitli yanıcı maddelerin kütleleri başına enerji içeriklerini göstermektedir. Buna göre; enerji içeriği olarak kıyaslandığında 1.0 kg hidrojen 2.56 kg metan veya 3.0 kg doğal gaz veya 3.1 kg benzinin sahip olduğu enerjiye sahiptir. Buna göre; hidrojen yakıtlı taşıtların diğer yakıtları kullanan taşıtlara göre en önemli üstün özelliklerinden biri, motor verimlerinin oldukça yüksek olmasıdır. Bir diğeri önemli özelliği ise, yanma ürününün sadece su buharı olmasıdır. Atık ürün olarak sadece silindirleri yağlamak için kullanılan petrol ürünlerinden kaynaklanan çok az miktarda karbon monoksit ve hidrokarbonlar ve yüksek sıcaklıktan kaynaklanan azot oksitlerin olabileceği söylenebilir. Yüksek sıcaklıktan kaynaklanan azot oksitlerin miktarlarının ise atık su buharının bir kısmının yeniden silindire gönderilmesiyle yanma sıcaklığını düşürerek azaltma imkânı bulunmaktadır. Bu nedenle, hidrojen yakıtlı motorlardan kaynaklanan gaz emisyonları, fosil yakıt kullanılan taşıtlara göre ihmal edilebilecek kadar düşük düzeydedir.



Şekil 2.4.2. Çeşitli yanıcı maddelerin birim kütleleri başına enerji içerikleri (MJ/kg)

Tablo 2.4.5'te hidrojen ile içten yanmalı motorlarda kullanılan benzin ve metanın özellikleri karşılaştırmalı olarak sunulmaktadır. Sıvı ve gaz halinde kullanılabilmesi, hidrojenin en önemli özelliğinden biridir. Gaz halindeki hidrojen, aynı hacimdeki havadan yaklaşık 14 kat daha hafiftir. İçten yanmalı motorlarda kullanılan hidrokarbon içerikli yakıtlar ile karşılaştırıldığında ise, Tablo 2.4.4'ten gaz halindeki hidrojenin metan gibi gaz halindeki yakıtlardan 10 kat daha hafif olduğu görülmektedir. Hidrojenin motorlarda yakıt olarak kullanımındaki en önemli avantajı, tutuşma sınırlarının çok geniş yakıt karışım oranlarına uzanmasıdır. Hidrojen, hava içerisinde hacimce % 4.0-75 oranları arasında bulunduğu tutuşabildiği bilinmektedir. Bu değer benzin-hava için 1.0-7.6 iken, metan-hava için 5.3-15 arasındadır. Buna göre; belirtilen diğer yakıtlara kıyasla hidrojen-hava karışımları daha geniş tutuşma sınırlarına sahiptir. Hidrojenin havadaki alev sıcaklığı ise metandan yüksek, benzine oldukça yakındır. Alt ısı değerleri karşılaştırıldığında ise; kütleli temelde hidrojenin alt ısı değerinin benzin ve metandan daha yüksek olduğu görülmektedir. Ancak hidrojenin alt ısı değeri hacimsel olarak ele alındığında diğer yakıtlara göre daha düşüktür. Ayrıca, hidrojen karbon içermeyen bir yakıt olması nedeni ile yanması sonucu sadece su açığa çıkarır ve bu nedenle fosil yakıtların yanmasındaki gibi çevreye emisyon gazı (karbon dioksit, NO_x, SO_x, hidroflorür karbonlar, perfloro karbonlar, sülfürheksa florid vb.) yayılmaz; dolayısıyla, hidrojenin yakıt olarak kullanımı fosil yakıtların neden olduğu türden bir kirliliğe yol açmamaktadır. Buna göre; yakıtın ve yanma ürünlerinin zehirliliği azalan sıra ile benzin, metan ve hidrojen şeklindedir.

Yakıtın ve yanma ürünlerinin zehirliliği, hava içindeki difüzyon katsayısı, alev yayılması, havada ateşleme enerjisi, patlama enerjisi gibi faktörlere göre yapılan emniyet değerlendirmesine göre benzin, metan ve hidrojenin emniyet faktörleri sırasıyla 0.53, 0.80 ve 1.00'dır; buna göre, benzin ve metan arasında hidrojenin en emniyetli yakıt olduğu söylenebilir [68,69].

Tablo 2.4.5. Hidrojenin ve yaygın olarak kullanılan diğer yakıtların özellikleri

Özellik	Benzin	Metan	Hidrojen
Yoğunluk (kg/m ³)	4.40	0.65	0.089
Hava içindeki difüzyonu (cm ² /s)	0.05	0.16	0.61
Özgül ısı (J/g.K)	1.20	2.22	14.89
Havada ateşleme sınırı (% hacim)	1.0-7.6	5.3-15	4.0-75
Havada ateşleme enerjisi (mJ)	0.24	0.29	0.02
Ateşleme sıcaklığı (°C)	228-471	540	585
Havada alev sıcaklığı (°C)	2197	1875	2045
Alev yayılması (emissivitesi, %)	34-42	25-33	17-25
Patlama enerjisi (g TNT/kJ)	0.25	0.19	0.17
Alt ısı değeri (kJ/g)	44.15	50.04	119.95
Alt ısı değeri (MJ/L)	32.70	31.8	8.69

Hidrojen aynı zamanda, Carnot çevriminin sınırlayıcı etkisi altında kalmadan yakıt hücreleri yardımıyla ve elektrokimyasal çevrim ile direk elektrik üretiminde de kullanılabilir. Böylece, yakıtlı piller içinde hidrojenin elektriğe dönüştürülmesi ile üretilen elektriğin evlerde ve sanayide kullanılması mümkündür. Ayrıca, hidrojen yakıtlı piller içinde üretilen elektriğin elektrik motorlarına iletilmesi ile taşıta güç sağlanması da mümkündür. Hidrojenin yakılması yerine elektrik üretme kaynağı olarak kullanıldığı taşıtlarda su buharı dâhil havaya zararlı herhangi bir gaz emisyonu olmamaktadır. İster içten yanmalı isterse yakıt pilli olsun, hidrojenin yakıt olarak kullanılacağı taşıtlarda temel sorun, hidrojenin güvenli olarak depolanma sorunudur.

Hidrojen; yüksek basınçlı tanklarda sıkıştırılmış gaz halinde, yalıtılmış tanklarda sıvılaştırılmış olarak, karbon nanotüplerde, metal veya kimyasal hidrürler üzerine adsorplanarak çeşitli fiziksel veya kimyasal yöntemler ile depolanabilmektedir. Her depolama yönteminin kendine özgü avantajları ve dezavantajları vardır. Bu yöntemlerin avantaj ve dezavantajları aşağıda belirtilmektedir:

Sıkıştırılmış gaz halinde depolama: Yakıt hücreleri kullanarak çalışan prototip araçların çoğunda, yüksek basınçlı tanklarda sıkıştırılarak depolanan hidrojen kullanılmaktadır. Hidrojen, uygun kontrol üniteleri ile sıkıştırılmış gaz tanklarından yakıt hücresine beslenir. Hacimsel alt ısı değeri göz önüne alındığında (Tablo 2.4.5.); bir otomobil ortalama 65 L (47 kg) benzin alabilmekte olup, bu miktar enerji olarak 17 kg hidrojene karşılık gelmektedir. Yani aynı enerjinin sağlanması amacıyla hidrojen yakıtı için daha geniş hacimli tanklar gerekmektedir. Ancak hidrojen gazının çelik

tüplerde sıkıştırılmış halde depolanmasındaki en büyük sorun çelik tüplerin kendi ağırlıklarıdır. Düzenlemelere göre; tanklara hidrojen doldurma basıncı ve sıcaklığı 87.5 MPa ve 85 °C ile sınırlıdır. Bu yüksek basınç değerinde bile, hidrojen için elde edilebilecek en iyi enerji eşdeğeri 4.4 MJ/L'dir ki bu değer aynı miktardaki benzinin enerji eşdeğerinin (31.6 MJ/L) yaklaşık %14'ü kadardır. Tüm sistemin ağırlığı göz önüne alındığında (çelik depolama tanklarının ağırlıkları), yüksek basınçlı tanklar ağırlıkça % 3.5-4.5 hidrojen içerebilirler. Bu nedenle, bu tip yüksek basınçlı tankların taşınabilir olması oldukça sınırlıdır. Otobüsler ve diğer büyük araçlar, sıkıştırılmış tankların gerektirdiği fiziksel boyuta sahiptir, ancak otomobillerde ve diğer küçük taşınabilir cihazlarda bunu yapmak zor olacaktır. Diğer sorunlardan bir tanesi; hidrojenin yüksek basınç altında yanıcı ve patlayıcı bir gaz olması nedeniyle fiziksel bir tehlike yaratması olup, buna ek olarak, hidrojenin düşük moleküler ağırlıklı bir gaz olmasından kaynaklı sızıntı problemleri de meydana gelebilmektedir [70].

Sıvılaştırarak depolama: Hidrojenin gaz fazındayken kapladığı hacim fazla olduğundan, bu hacmin azaltılması amacıyla hidrojenin sıvılaştırılarak depolanması iyi bir alternatif olarak ortaya çıkmaktadır. Hidrojenin sıvılaştırılarak depolanması yöntemi, diğer yöntemlere göre en fazla hacimde depolama yapılabilen yöntemdir. Atmosferik basınçta (0.1 MPa) sıvı hidrojenin yoğunluğu 70.9 g/L iken sıkıştırılmış hidrojenin (70 MPa, 288 K) yoğunluğu 40 g/L'dir; bu nedenle sıvılaştırılarak depolama, sıkıştırılmış gaz olarak depolamaya göre daha düşük basınçlarda yapılabilindiğinden, hidrojenin yüksek basınçlı tanklardan daha çok sıvılaştırılmış halde depolanması daha güvenli ve avantajlıdır. Bu depolama yönteminin, genel olarak uzay çalışmaları gibi depolama hacminin sınırlı olduğu durumlarda kullanılması önerilmektedir. Ancak hidrojenin sıvılaştırılması için de bir enerji gereksinimine ihtiyaç duyulmaktadır. İhtiyaç duyulan bu enerji, sıvı hidrojenin enerjisinin 1/3'ü kadardır. Ancak, hidrojen moleküllerinin arasındaki mesafe sıvı halde bile fazla olduğundan, hidrojen (70.9 g/L) suya göre (1000 g/L) oldukça düşük yoğunluğa sahiptir. Bu düşük yoğunluğa sahip hidrojenin enerji eşdeğeri benzinin enerji eşdeğerinin sadece %27'sine eşittir. Düşük enerji eşdeğeri sağlanmasının yanı sıra, hidrojenin sıvılaştırılarak depolanmasındaki diğer bir sorun ise, hidrojenin dışarıdan ısı alarak gaz fazına geçmesi ve depolama tankının basıncını artırmasıdır. Bu basınç artışını önleyebilmek için bu gaz fazın dışarı tahliye edilmesi gereklidir [70].

Nanotüplerde depolama: Hidrojen, karbon nanotüplerde fiziksel ve kimyasal olmak üzere iki şekilde depolanabilmektedir. Fiziksel sistemde; zayıf Van der Waals bağları ile depolama meydana gelmekte ve depolanan hidrojen geri alınabildiği gibi aynı

miktarda hidrojen karbon nanotüplere tekrar depolanabilmektedir. Kimyasal sistemde ise; kovalent bağların oluşumu ile depolama sağlanmakta ancak depolanan hidrojenin geri kazanımı yüksek sıcaklıklarda mümkün olabildiğinden bu yöntem fazla tercih edilmemektedir. Literatürde yapılan çalışmalar, karbon nanotüplerde %4-14 arasında hidrojen depolamanın mümkün olduğunu belirtilmektedir. Bu yöntem, sıkıştırılmış gaz halinde depolamaya benzetilebilir ancak bu yöntemden farklı olarak; basınçlandırılmış depolama tankı karbon nanotüpler ile doldurulmaktadır. Tankın kendi ağırlığının dışında, grafitler de ek bir ağırlığa neden olsalar da, aynı basınçta ve tank boyutunda karbon nanotüplerde daha fazla hidrojen depolanabilmektedir [65].

Metal hidrürlerde depolama: Bazı metaller ve alaşımlar normal basınç ve sıcaklıkta hidrojeni absorbe edebilme özelliğine sahiptirler. Bu absorpsiyon işleminin sonunda hidrojen ile bir veya birkaç element içeren hidrür bileşikler oluşur. Metal hidrür sistemi ile depolama yönteminde hidrojen, metal atomları arasındaki boşlukta depolanırlar. Bu depolama yöntemi aşağıda verilen altı aşamada gerçekleşir [65]:

- i. Moleküler hidrojen gazı ve metal birbiriyle karşılaşır.
- ii. Hidrojen molekülleri, normal sıcaklık ve basınçta metal yüzeyle fiziksel olarak bir bağ kurmaya başlar.
- iii. Hidrojen molekülleri atomlarına ayrılır ve metal yüzeyindeki atomlarla kimyasal bağlar oluşturur.
- iv. Hidrojen atomları metal içindeki boşluklar arasında hareket etmeye başlar.
- v. Hidrojen atomları, boşluk kalmayınca kadar metal içindeki boşluklardan yayılmaya devam eder.
- vi. Hidrojen atomları, metaldeki tüm boşlukları doldurur ve hidrür oluşumu tamamlanır.

Metal hidrürler tabiatı gereği kararlıdırlar ve bu nedenle depolama için fazla enerji gerektirmezler, ancak metal hidrürlerde depolanmış hidrojenin geri kazanımı için ısı vermek yani bir enerji harcamak gerekmektedir. Metal hidrürler genellikle, Pd, Mg, Ta gibi metallerden; ZrMn₂, LaNi₅, Mg₂Ni gibi özel bileşiklerden veya TiNi-Ti₂Ni, Mg-Mg₂Ni gibi çok fazlı alaşımlardan oluşmaktadırlar. Metal hidrür sistemlerinin avantajları dezavantajları aşağıda sıralanmaktadır:

Avantajları:

- ✓ Depolama için gerekli sıcaklık ve basınç düşüktür.
- ✓ Çeşitli hazırlama şekilleri mevcuttur.

- ✓ Tekrar tekrar depolama imkânı vardır.
- ✓ Elde edilen hidrojen oldukça saftır.
- ✓ Sıvılaştırılmış hidrojen depolama tanklarında olduğu gibi buharlaşma kaybı yoktur yani güvenlidir.

Dezavantajları:

- X Birim kütlede düşük depolama kapasitesi vardır.
- X Düşük depolama kapasitesinden dolayı araçlarda kısa menziller için kullanılabilir.
- X Depolama için gerekli süre uzundur.

Kimyasal hidrürlerde depolama: Kompleks kimyasal hidrürler hidrojen kaynağı olarak kullanılabilirler. Bu yöntem, birçok depolama yöntemine kıyasla ağırlıkça daha fazla hidrojen depolama kapasitesine sahiptir. Metal hidrürlerde, hidrojen atomları metal içindeki boşluklara yerleşirlerken, kompleks hidrürlerde BH_4^- iyonları metalik katyona iyonik olarak bağlanır. Kimyasal hidrürlerde depolama yönteminin en büyük avantajı, sadece hidrojenin depolanması değil, gerektiğinde üretilmesidir. Ancak hidrojenin üretilme reaksiyonunun tamamen geri dönüşümlü olmaması ve bu nedenle malzemenin kolayca geri dönüştürülememesi bu yöntemin kullanımını sınırlayan bir durumdur. $NaAlH_4$, $LiAlH_4$, $Mg(AlH_4)_2$, $KAlH_4$, $Ca(AlH_4)_2$ gibi alüminyum içeren hidrürlerde yani alanatlarda hidrojen depolama metal hidrürlerde olduğu gibi katı halde yapılmaktadır. $NaBH_4$, KBH_4 , LiH , NaH gibi bor içeren kompleks hidrürler ise sıvı koşullarda kullanılabilmesi nedeniyle avantaj sağlamaktadır [70].

Tablo 2.4.6. hidrojen depolama yöntemlerinin enerji kapasitelerini göstermektedir. Gaz halinde ve sıvılaştırılarak depolama yöntemlerinin haricinde Tablo 2.4.6.'da yer verilen bazı kompleks hidrürler ve malzemeler arasında hidrojen kaynağı olarak $NaBH_4$ 'ün en yüksek hidrojen içeriğine sahip olduğu görülmektedir. Buna göre $NaBH_4$ 'ün kullanımının bazı avantaj ve dezavantajları aşağıda sıralanmaktadır [71]:

Avantajları:

- ✓ Kolayca erişilebilirdir.
- ✓ Kütlece ve hacimce hidrojen depolama kapasitesi yüksektir.
- ✓ Uygun katalizörler ile daha hızlı, güvenilir ve kontrollü hidrojen üretimi imkânı sağlar.
- ✓ Çevreye zararı olan reaksiyon yan ürünleri yoktur.
- ✓ Reaksiyon yan ürünleri (BO_2^- iyonun) geri dönüştürülebilir.
- ✓ Reaksiyon çözeltisinin alev alma riski yoktur.

- ✓ Hidrojen üretim reaksiyonu ekzotermiktir ve bu nedenle dışarıdan ortama herhangi bir ısı aktarımına ihtiyaç yoktur.

Dezavantajları:

- X NaBH_4 yüksek maliyetlidir.
- X Reaksiyon yan ürünlerinden biri olan NaBO_2 , su molekülleriyle kristal bir yapı oluşturarak reaksiyon ortamında birikir ve hidrojen gazı üretimini olumsuz yönde etkileyebilir.
- X NaBH_4 hidrolizi yoluyla üretilen hidrojen gazının taşıt ve diğer uygulamalarda kullanılabilirliği kısıtlıdır.

Tablo 2.4.6. Bazı kompleks hidrürlerin fiziksel özellikleri ile hidrojen depolama kapasiteleri

Depolama yöntemi	Hidrojen içeriği (kütlece %)	Enerji yoğunluğu	
		MJ/kg	MJ/L
Gaz faz (35 MPa)	100	141.9	3.35
Gaz faz (70 MPa)	100	141.9	5.63
Sıvılaştırılmış (-253 °C)	100	141.9	10.27
MgH_2	7.65	9.92	14.32
Mg_2NiH_4	3.60	4.48	11.49
$\text{TiFeH}_{1.95}$	1.95	2.47	13.56
$\text{LaNi}_5\text{H}_{6.7}$	1.50	1.94	12.77
NaAlH_4	7.40	-	8.25
NaBH_4 (katı)	10.6	-	-
NaBH_4 (%20lik çözelti)	4.40	44	-
NaBH_4 (%35lik çözelti)	7.70	77	-
Nanotüp	1-10	-	-
Benzin	-	46.94	34.77
Motorin	-	45.60	38.19
Doğal gaz	-	50.84	0.03905
Metanol	-	22.69	5.9-8.9

Tüm bunlar göz önüne alınarak, hidrojenin yakıt olarak kullanılmasının avantajlarını ve dezavantajlarını aşağıdaki gibi sıralamak mümkün olacaktır [72];

Avantajları:

- ✓ Hidrojenin yanması sonucu ürün olarak sadece su açığa çıkar, bu nedenle hidrojen temiz ve çevre dostu bir yakıttır.
- ✓ Hidrojen birçok kaynaktan elde edilebilmekte olup bu kaynakların çoğu yenilenebilir olduğundan bol bulunabilecek bir yakıt olduğu söylenebilir.
- ✓ Enerji üretim verimi diğer yakıtlar ile rekabet edebilir düzeydedir.
- ✓ Hidrojen gaz ve sıvılaştırılmış halde tanklarda, kimyasal olarak bileşiklerde depolanabilmektedir.

- ✓ Hidrojen, oksijenli bir ortamda yanar ve açığa çıkan enerji ısıtma, türbin, buhar kazanı, taşıt motoru gibi birçok alanda kullanılabilir.
- ✓ Hidrojen, yanma işlemi olmadan yakıt pillerinde elektrik üretilmesi ile de alternatif bir enerji kaynağı olarak kullanılabilir.
- ✓ Isı, elektrik, mekanik gibi diğer enerji türlerine kolaylıkla dönüştürülebilmektedir.

Dezavantajları:

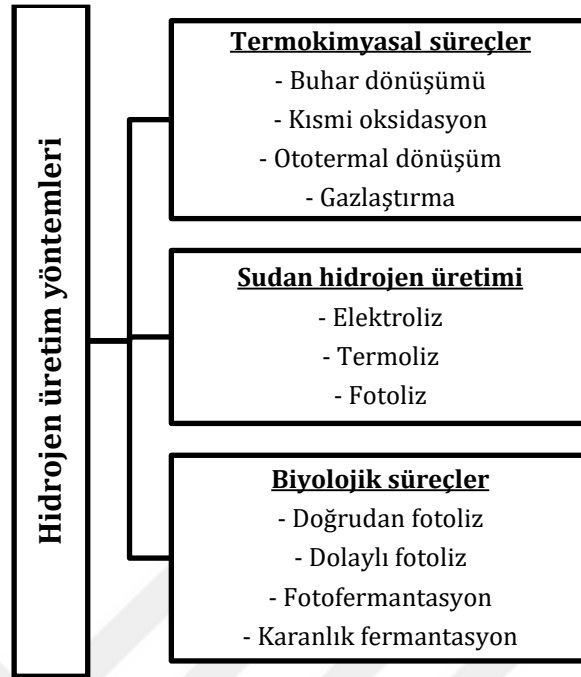
- X Hidrojenin bir enerji kaynağı olarak kullanımında altyapı ve depolama maliyetleri oldukça yüksektir. Bu sorunlar, teknolojinin ilerlemesi ile çözülebilecek olsa da hali hazırda kullanılan diğer yakıtlara kıyasla hidrojen enerjisinin kullanımı pahalıdır.
- X Fiziksel olarak oldukça uçucu yapısı sebebiyle sızıntı durumunda ekonomik kayıplara sebep olabilir.

Şekil 2.4.3. mevcut hidrojen üretiminde kullanılan yöntemleri göstermektedir [73]. Buna göre; günümüzde küresel ham hidrojen üretimi neredeyse sadece fosil kaynakların kullanıldığı yöntemlerle gerçekleştirilmektedir. Ancak bu durum fosil kaynaklara bağımlılığı devam ettirecek ve bu nedenle hava kirliliğine neden olacaktır.



Şekil 2.4.3. Mevcut hidrojen üretiminde kullanılan yöntemler

Hidrojen üretim yöntemleri Tablo 2.4.7.'de gösterildiği gibi termokimyasal süreçler, sudan üretim ve biyolojik süreçler olmak üzere üç temel kısma ayrılabilir [72].

Tablo 2.4.7. Hidrojen üretim yöntemleri

Tablo 2.4.7.'de verilen hidrojen üretiminde kullanılan yöntemler, kısaca aşağıda açıklanmaktadır:

Termokimyasal süreçler: Günümüzde en fazla buhar dönüşümü, kısmi oksidasyon, ototermal dönüşüm ve gazlaştırma gibi termokimyasal yöntemler ile fosil yakıtlar ve biyokütle gibi kaynaklardan hidrojen üretilmektedir [72].

i. Buhar dönüşümü yöntemi: Termokimyasal süreçler ile hidrojen üretiminde en sık kullanılan buhar dönüşümü yöntemidir ve hidrojen üretim verimi % 74-85 aralığındadır. Bu yöntem; yüksek sıcaklık (850-900 °C) ve yüksek basınçta (2.0-3.5 MPa) metan, etan, propan, bütan, pentan gibi hidrokarbon içerikli gaz karışımlarının buhar ile birlikte katalitik olarak CO₂ ve H₂'e dönüşmesi esasına dayanmaktadır. Kullanılan hammadde karışımı sülfür içeriyorsa, katalizör yapısının bozulmasını önlemek amacıyla, karışım reaksiyon işleminden önce desülfürizasyon prosesinden geçirilmektedir. Buhar dönüşümü prosesinin genel üniteleri; desülfürizasyon, dönüştürücü, su gazı yönlendirme reaktörü, CO₂ absorplayıcı-H₂ ayırıştırıcı şeklindedir.

ii. Kısmi oksidasyon yöntemi: Bu yöntem; kapalı bir yanma odasında hidrokarbon içerikli fosil yakıtların su buharı ve sınırlı miktarlardaki oksijen ile 1300-1500 °C'de kısmi olarak yanması esasına dayanır. Bu yöntemde, hidrojen üretim verimi yaklaşık % 70'dir ve buhar dönüşümü yönteminde olduğu gibi katalizöre ihtiyaç duyulmaz; bu nedenle bu yöntem, katalizör gerektirmediği için sülfür içeren düşük kaliteli fosil yakıtların bile kullanılmasına imkân verebilmektedir. Ancak, bu yöntemin desülfürizasyon prosesi

gerektirmemesi avantajının yanında, yöntemde % 95-99 saflıkta oksijen kullanılması maliyeti artıran bir unsurdur. Oksijen yerine hava kullanılan proseslerde ise üretilen hidrojenin, paladyum membran kullanılarak azot ve diğer gazlardan arındırılacağı ek bir proses gerekmektedir.

iii. Ototermal dönüşüm: Bu yöntem, buhar dönüşümü ve kısmi oksidasyon yöntemlerinin bir kombinasyonudur. Buna göre; buhar dönüşümü ile hidrojen üretimi için gerekli ısı ekzotermik bir reaksiyon olan kısmi oksidasyondan sağlanırken, buhar dönüşümü yöntemi kullanılarak hidrojen üretim verimi artırılır. Buradan anlaşılabileceği üzere; buhar ve oksijen (veya hava) dönüştürücüye birlikte beslenir ve böylece oksidasyon ve dönüşüm reaksiyonları eş zamanlı olarak gerçekleşir.

iv. Gazlaştırma yöntemi: Bu yöntemde; hammadde olarak kömür (özellikle düşük kalorili kömürler), yüksek kükürt içeren akaryakıtlar, biyokütleler ve atıklar (tehlikeli atıklar, evsel atıklar vb.) yüksek basınç (1-33 bar) ve yüksek sıcaklıkta (500-1400 °C) az oksijenli ortamda buharla işleme tabii tutulur ve bu tepkimenin sonucunda hidrojen, metan, karbon dioksit, karbon monoksit ve azot içeren sentez gazı elde edilir. Elde edilen bu sentez gazı, doğrudan bir türbine gönderilerek elektrik üretmek için kullanılabilir ya da bazı işlemlerden geçirilerek hidrojen ve gübre gibi kimyasallar üretmek için kullanılabilir. Gazlaştırma işlemi sonucunda, gazlaştırılmamış maddeler gazlaştırıcının altından cüruf olarak alınır ve bu cüruf inşaat endüstrisinde katkı maddesi olarak kullanılabilir.

Sudan hidrojen üretilmesi: Son yıllarda, fosil yakıt kaynaklarının sınırlı olması ve çevreye verdikleri zararlar nedeniyle yenilenebilir ve çevre dostu olan kaynaklardan hidrojen üretimine yönelinmektedir. Bu noktada; elektroliz, termoliz, fotoliz gibi sudan hidrojen üretim yöntemleri öne çıkmaktadır. Hidrojen üretiminde kullanılan kaynağı yenilenebilir olan bu yöntemler oldukça temiz üretim sağlamaktadır [72].

i. Elektroliz: Bu yöntemde, suyun elektrokimyasal reaksiyon sonucu hidrojen ve oksijene ayrışması ile hidrojen üretilmektedir. Elektroliz prosesi; bir anot ve bir katot elektrot, güç kaynağı ve elektrolitten oluşur. Burada; anot ve katot arasına doğru akım uygulandığında, elektrolit içindeki su katotta hidrojene ve anotta oksijene ayrışır. Saf su yüksek bir elektrik direncine (100 ohm/cm) sahip olduğundan, elektroliz işleminin gerçekleştirilmesi için oldukça fazla miktarda akım gereklidir. Bu durum, elektroliz işleminin çok pahalı olmasına ve Şekil 2.4.2.'de görüldüğü gibi hidrojen üretiminde sadece % 4'lük bir paya sahip olmasına neden olmaktadır. Suyun elektrolizi için gerekli voltaj 25 °C ve 1 atm basınçta 1.24 voltur ve 1 mol suyun elektrolizi için gereken minimum enerji miktarı 65.3 Wh iken, 1 m³ hidrojen üretmek için gereken minimum enerji miktarı 4.8

kWh'dir. Buna göre, elektroliz işleminin verimi yaklaşık % 70'tir. Bu yöntemin maliyetini azaltmak için; suyun elektrik direncini azaltmak, diğer bir deyişle iletkenliği arttırmak gerekmektedir. Bu amaçla; su sıcaklığı 700-1000 °C'ye yükseltilebilir veya elektrolite tuz ve potasyum hidroksit gibi bileşikler eklenebilir veya nikel kaplı çelik elektrotlar kullanılabilir.

ii. Termoliz: Bir maddenin yüksek sıcaklığa maruz kalması sonucu daha basit molekül veya atomlara parçalanmasına termoliz (termal dekompozisyon) denir. Termoliz yöntemi ile hidrojen üretimi ise; suyun 1400 °C'nin üzerine kadar ısıtılması sonucu hidrojen ve oksijen atomlarına ayrışması ile gerçekleşmektedir. Termoliz sıcaklığı ne kadar artarsa, ayrışma hızı da o kadar hızlı olmaktadır. Su buharı ayrıştıktan sonra, oluşan gazlar seramik bir membran yardımı ile birbirinden ayrıştırılmaktadır. Termoliz ile hidrojen üretimi, yüksek sıcaklık gereksiniminden ve bu sıcaklıklara dayanıklı malzeme ihtiyacından dolayı maliyetlidir. Bu nedenle, suyun düşük sıcaklıklarda termal ayrışması için sülfür ve iyot gibi bazı kimyasallar kullanılabilmektedir. Buna göre aşağıdaki reaksiyonlar gerçekleştirilmektedir:



Eşitlik (2.4.1.)'e göre; öncelikle proses için gerekli H_2SO_4 ve HI ürünleri ekzotermik bir reaksiyonla üretilir. Daha sonra Eşitlik (2.4.2.)'de görüldüğü üzere; üretilen H_2SO_4 yaklaşık 900 °C'de bileşenlerine ayrılır ve bu reaksiyon sonucu oluşan oksijen gazı ürün olarak alınır. Son olarak ise Eşitlik (2.4.1.)'deki reaksiyon ile üretilen HI, Eşitlik (2.4.3.)'e göre yaklaşık 400 °C'de bileşenlerine ayrılır ve hidrojen gazı ürün olarak alınır.

iii. Fotoliz: Bu yöntem, bir fotokatalist hücre tarafından absorbe edilen güneş ışınları ile suyun hidrojen ve oksijen atomlarına ayrışması esasına dayanır. Proseste ki fotokatalist hücre, fotoelektrokimyasal bir pil ve yarı iletken elektrotlardan oluşmaktadır ve bu hücre, içindeki yarı iletken elektrotun üzerine güneş ışınlarının düşmesi ile çalışmaya başlar; daha sonra, hücre tarafından üretilen enerji suyun elektrokimyasal olarak ayrışmasına sebep olur. Bu yönüyle, bu yöntem elektroliz ile hidrojen üretim yöntemine benzemektedir ancak yapılan çalışmalar fotoliz yönteminin daha verimli olduğunu belirtmektedir.

Biyolojik süreçler: Elektroliz, termoliz ve fotoliz gibi yöntemlerde fosil yakıtlar kullanılmasa da suyun kaynak olarak kullanılması uzun vadede dünyada su sıkıntısına neden olabilir. Bu nedenle, biyolojik kaynakların ve atıkların hidrojen üretiminde kullanılması diğer

yöntemlere göre daha iyi bir alternatiftir. Ayrıca, biyolojik kaynakların ve atıkların kullanıldığı proseslerde oda sıcaklığı ve basıncında çalışabildiğinden daha az enerji gereksinimine ihtiyaç duyulmakta ve dolayısıyla diğer yöntemlere göre proses maliyeti daha düşük olduğundan, bu yöntemler daha çok tercih edilmektedir. Bu yöntemlerin temeli, biyokütle veya atıkların bazı bakteriler veya alglerin hidrojenaz ve nitrojenaz enzimleri aracılığıyla parçalanmasıdır [74].

i. Doğrudan fotoliz: Bu yöntemde su molekülleri, bitki ve alglerin güneş enerjisi ile yaptıkları fotosentez işlemleri sonucunda doğrudan hidrojen ve oksijene ayrılır. Üretilen hidrojen iyonları, hidrojenaz enzimi ile hidrojen gazına çevrilir.

ii. Dolaylı fotoliz: Bu yöntemde hidrojen, iki aşamada üretilmektedir. İlk aşamada; su, karbondioksit ve güneş enerjisinin bir araya gelmesi ile karbonhidrat ve oksijen üretilir ($6\text{H}_2\text{O} + 6\text{CO}_2 + \text{"güneş ışığı"} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2$). İkinci aşamada, üretilen karbonhidrattan *Cyanobacteria*'nın sahip olduğu nitrojenaz ve hidrojenaz enzimleri aracılığıyla hidrojen üretilmektedir ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 12\text{H}_2\text{O} + \text{"ışık"} \rightarrow 12\text{H}_2 + 6\text{CO}_2$).

iii. Fotofermentasyon: Bu yöntemde; organik asitler, su ve güneş ışığı kullanılarak azotun az olduğu durumlarda nitrojenaz enzimine sahip fotofermentatif bakteriler ile hidrojen üretilmektedir ($\text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O} + \text{"ışık"} \rightarrow 4\text{H}_2 + 2\text{CO}_2$).

iv. Karanlık fermantasyon: Bu yöntemde; karbonhidrat bakımından zengin ve karanlık bir ortamda, anaerobik bakteriler (*Enterobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*) kullanılarak hidrojen üretilmektedir ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{CO}_2 + 4\text{H}_2$).

Yukarıda bahsedilen yöntemlerden farklı olarak; Schlesinger ve Brown (1953), NaBH_4 'ün hidrojeni depolamasının yanı sıra $\text{H}_{2(g)}$ üretiminde de kullanılabileceğini rapor eden bir çalışma yapmışlardır [75]. Buna göre; NaBH_4 su ile aşağıdaki ekzotermik hidroliz reaksiyonunu verir:



Eşitlik (2.4.4.)'e göre; NaBH_4 'ün tamamı hidrolize uğradığında $(2.37\text{ L H}_{2(g)}) / (\text{g NaBH}_4)$ oluşur. NaBH_4 ile hidrojen üretiminde üretilen $4.0\text{ mol H}_{2(g)}$ 'nin, 2.0 mol BH_4^- iyonundan, diğer 2.0 mol ise reaksiyon ortamındaki sudan gelmektedir. Böylece $\text{H}_{2(g)}$ üretiminde kullanılan su aynı zamanda hidrojen kaynağı olarak da kullanılmaktadır

Ayrıca, Eşitlik (2.4.4.)'te verilen NaBH_4 'ün hidrolizi çeşitli katalizörlerin kullanımı ile gerçekleşebilmektedir. Katalizörsüz gerçekleşen hidroliz reaksiyonunun, katalizörlü reaksiyonlar ile kıyaslandığında oldukça yavaş olduğu araştırmacılar tarafından belirtilmektedir [71,76].

Schlesinger ve Brown (1953) yaptıkları çalışmada; NaBH_4 'ün hidrolizi sonucu oluşan metaborat (BO_2^-) iyonunun reaksiyon ortamını alkali hale getirerek reaksiyonu yavaşlattığını

tespit etmişlerdir. Bu kapsamda; hidroliz reaksiyonunu hızlandırmak amacıyla oksalik asit, süksinik asit, ftalik asit, malonik asit, salisilik asit, sitrik asit, tartarik asit, benzoik asit, sülfamik asit gibi çeşitli asitlerin yanı sıra metal tuzlarının da kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Hidroliz reaksiyonunun hızlandırılması amacıyla ortama ilave edilen $MnCl_2$, $FeCl_2$, $CoCl_2$, $NiCl_2$ ve $CuCl_2$ gibi tuzlarının $NaBH_4$ tarafından indirgendiği ve oluşan siyah renkli çökeltilerin hidroliz reaksiyonunu katalizlediği belirlenmiştir [75].

Bu tez çalışması kapsamında ise; Bölüm 2.2.'de anlatıldığı ve Şekil 2.2.1.'de şematize edildiği gibi, $H_{2(g)}$ herhangi bir kullanım alanı olmayan yenilenebilir doğal bir kaynak olan hiperakümülatör bir bitki ve yukarıda avantajları sunulan $NaBH_4$ kullanılarak sentezlenmektedir. Bu yöntem, temelde Schlesinger ve Brown (1953)'ın yaptıkları çalışmada kullandıkları yöntemle benzerdir fakat onlardan farklı olarak bu çalışmada kullanılan yöntemde, hiperakümülatör bir bitkiden elde edilen demir iyonu içerikli çözelti ile $NaBH_4$ bir araya getirilerek; $NaBH_4$ bünyesinde depolanmış olan $H_{2(g)}$ açığa çıkarılmaktadır. Ayrıca, bu çalışmada hiperakümülatör bitkiden demir iyonu içerikli liç çözeltisi hazırlanırken derişik asitler kullanılmaktadır ve bu nedenle, Schlesinger ve Brown (1953)'ın yaptıkları çalışmadan farklı olarak, bu çalışmada gerçekleşen $H_{2(g)}$ üretimi reaksiyonunun $NaBH_4$ 'ün su ile değil asit ile reaksiyonuna göre gerçekleştiği düşünülmektedir. Öngörülen bu durum; "4.3.6. FeNPs Sentezi Sırasında $H_{2(g)}$ Üretimi Mekanizması ve Kinetiği" başlığı altında ilerleyen bölümlerde ayrıntılı olarak incelenecektir.

Ayrıca, bu çalışmada kullanılan yöntemin en büyük avantajı; sadece $NaBH_4$ 'ün bünyesinde depolanan hidrojenin gerektiğinde üretilmesi değil, aynı zamanda $NaBH_4$ 'ün indirgeyici özelliğinin kullanılması ile demir içerikli nanopartiküllerin de sentezlenmesidir. Bir sonraki bölümde, demir içerikli nanopartiküller ve bunların kullanım alanları ile ilgili bilgi verilmektedir.

2.5. Demir İçerikli Nanopartiküller

Yer kabuğunda en bol bulunan dördüncü element olan demir; simgesi Fe, atom numarası 26, atom ağırlığı 55.845 olan 7.86 g/cm^3 yoğunluğunda, $1538 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de eriyen, dövülmeye ve işlenmeye çok elverişli, gümüşümsü gri renkte (paslandığında kırmızı-kahve renkte), periyodik tabloda 8B grubunda (geçiş metalleri grubu) ve 4. periyotta bulunan metalik bir elementtir [77].

Nanoboyuttaki demir temel olarak; sıfır değerlikli (Fe^0), manyetit (Fe_3O_4), hematit ($\alpha\text{-Fe}_2O_3$), maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2O_3$), $\beta\text{-Fe}_2O_3$, $\epsilon\text{-Fe}_2O_3$, goetit ($FeOOH$), lepidokrosit ($\gamma\text{-FeOOH}$) fazlarında bulunabilmektedir. Bu fazların özellikleri aşağıda belirtilmektedir.

Sıfır değerlikli demir (Fe^0): Fe^0 , metalik demir çekirdeği ve demir oksit kabuktan oluşan; ucuz, bol bulunabilen, üretimi kolay ve toksik olmayan; XRD deseninde kırınım piki yaklaşık 45 derece 2-theta değerinde gözlenen ve gövde-merkezli kübik yapıya sahip

bir maddedir. Aşırı ince boyutu ve yüksek özgül yüzey alanı nedeniyle sıfır değerlikli demir atmosferik koşullarda kararlı halde bulunmaz ve kolayca Fe_3O_4 , Fe_2O_3 , FeOOH şeklinde oksitleri/hidroksitleri formuna geçmeye eğilimlidir. Bu nedenle saf etanol içerisinde saklanması önerilir. Metalik demirin (Fe^0) çözünmüş sulu demir iyonuna (Fe^{+2}) oksidasyon reaksiyonunun standart indirgenme potansiyeli $E^0 = -0.44 \text{ V}$ 'dur ve bu da metalik demir çekirdeğinin, standart indirgenme potansiyelleri demirden daha yüksek olan Cr, As, U, Cu, Pb, Se, Ni, Pd, Co, Pt, Ag, Hg gibi metal katyonlarına karşı güçlü bir indirgeyici madde olduğunu gösterir. İndirgenme potansiyelleri demirden daha küçük olan metal katyonları olursa sadece sorpsiyon gerçekleşirken, indirgeme potansiyelleri demire yakın olan metal katyonları için hem sorpsiyon hem de indirgenme gerçekleşir. Literatürde sıfır değerlikli demir nanopartiküllerin çeşitli fiziksel ve kimyasal yöntemlerle sentezlenebildikleri belirtilmektedir. Bu yöntemler arasında en sık kullanılanı ise demir katyonlarının NaBH_4 ile indirgenmesi yöntemidir. Bu yöntem sırasında gerçekleştiği öngörülen reaksiyonlar önceki bölümde Eşitlik (2.3.1.) ve (2.3.2.)'de sunulmaktadır [77,78].

Manyetit (Fe_3O_4): Diğer demir oksitlerden farklı olarak manyetit, hem iki hem de üç değerlikli demir iyonu içerir, ferromanyetik özelliğe, yüksek koersiviteye ve düşük Curie sıcaklığına sahip, toksik olmayan ve biyoyumlu bir malzemedir. Kübik ters spinel kristal yapıya sahiptir ve bu yapı oksijen iyonlarının kübik sıkı paketlenmiş dizilimini içerir. Ayrıca bu yapıda, Fe^{2+} iyonları oktahedral alanların yarısında bulunurken, Fe^{3+} iyonları sol oktahedral ve tetrahedral alanlara eşit olarak bölünmüş halde bulunurlar. Manyetit nanopartiküllerinin literatürde; dinamik sızdırmazlık, biyosensör, manyetik rezonans (MR) görüntülemeye kontrast maddesi, terapötik hipertermide lokalizör, kirletici giderimi ve kontrollü salım sistemlerinde kullanılabildiği belirtilmektedir [79–81].

Hematit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$): Hematit; doğada mineral olarak var olan, kayalarda ve topraklarda yaygın olarak bulunan en sık görülen polimorftur ve demir oksitlerin en kararlı halidir. Çevre dostu, toksik olmayan, biyoyumlu, ekonomik ve korozyona karşı oldukça dayanıklıdır. Oda sıcaklığında zayıf ferromanyetik veya antiferromanyetik; 956 K üzerindeki sıcaklıklarda ise paramanyetik özelliğe sahip bir oksittir. Hematit; kapalı bir altıgen kristalografik sistem olarak iyon O^{2-} retikülü ve alternatif katmanlarda oktahedral aralıkların üçte ikisini işgal eden Fe^{+3} iyonlarından oluşan korindon tipi ve eşkenar dörtgen yapıya sahiptir. Hematitin sentezlenmesi, diğer demir oksit formlarının son ürünü olduğundan ve çevresel koşullar altında da son derece kararlı olduğundan, diğer oksit formlarından daha kolay sentezlenebilmektedir [79,80].

Maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$): Tipik bir ferromanyetik mineral olan maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) termal olarak kararsızdır ve yüksek sıcaklıklarda ise hematite dönüştürülür. Oksidatif atmosferde metastabil oksit olan maghemit, 673 K üzerindeki sıcaklıklarda hematit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$)'e oksitlenir. $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ve manyetit (Fe_3O_4) kolayca mıknatıslanırlar; bu nedenle, harici bir manyetik alana gönderildiğinde yüksek manyetik tepki gösterirler. Katyon alt kafes yapısındaki boşluklar hariç, manyetitinkine benzer bir spinel kristal yapıya sahiptir. Kristal yapının üçte ikisi Fe^{3+} iyonları ile doldurulmuş iki alandan oluşmakta ve bu alanı bir boş alan takip etmektedir [79,80].

$\beta\text{-Fe}_2\text{O}_3$: Gövde-merkezli kübik yapı sergileyen nadir bir demir oksit türüdür ve iki eşdeğer olmayan oktahedral kristalografik bölgesi Fe^{+3} iyonlarınca doldurulmuş haldedir. Oda sıcaklığında paramanyetik bir davranış sergileyen tek demir oksit formudur. Curie manyetik geçiş sıcaklığı 100-119 K arasındadır; bu sıcaklığın altında, $\beta\text{-Fe}_2\text{O}_3$ anti-ferromanyetiktir. Termodinamik olarak kararsız olduğundan, ısıtıldığında $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ veya $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 'e dönüşür [79,80].

$\epsilon\text{-Fe}_2\text{O}_3$: Demir oksitlerin epsilon formu, sık istiflenmiş dört oksijen katmanından oluşan ortorombik bir kristal yapı sergiler. $\epsilon\text{-Fe}_2\text{O}_3$; hem $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ hem de $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ile benzerlik gösteren polimorf bir ara madde olarak kabul edilebilmektedir. Bu formun manyetik davranışı tam anlaşılamamakla birlikte, biri 495 K (Curie sıcaklığı) diğeri ise 110 K olduğu bilinen iki manyetik geçiş sıcaklığına sahip olduğu belirtilmektedir. $\epsilon\text{-Fe}_2\text{O}_3$; 495 K'de paramanyetikten manyetik hale geçerken, 110 K'de oda sıcaklığında gözlenenden oldukça farklı bir manyetik rejime geçiş yapar [79,80].

Goetit (FeOOH): Goetit, yaygın bir toprak mineralidir ve birçok cevher, sediman ve toprağın önemli bir bileşenidir ve termodinamik olarak en kararlı demir oksitlerden biridir [82]. Normal basınç ve sıcaklık koşullarında kararlı olan feroksit ve lepidokrosit, goetitin polimorflarıdır ve goetit ile aynı kimyasal formüle sahip olmalarına rağmen, farklı kristal yapılar sergilerler. Goetit, oktahedral merkezinde Fe^{3+} iyonlarıyla birlikte hegzagonal sık istiflenmiş O_2^- ve OH^- iyonlarının bulunduğu ortorombik kristal düzene sahiptir. Curie manyetik geçiş sıcaklığı 120°C 'dir ve bu sıcaklığın üzerinde goetit basit bir paramanyetik malzeme olarak davranır [83]. Goetitin, $300\text{-}400^\circ\text{C}$ arasında bir sıcaklığa ısıtıldığında endotermik bir reaksiyonla hematite dönüştüğü belirtilmektedir [84]. Hematit gibi, goetit de manyetik doyumluğa ulaşmak için yüksek manyetik alanlara ihtiyaç duyan "sert manyetik malzemeler" grubunda yer almaktadır. Her iki mineral de benzer kalıcı koersitiviteye sahip olsa da, goetitin kalıcı manyetik doyumluğa ulaşması için daha güçlü manyetik alana ihtiyacı vardır [85].

Lepidokrosit (γ -FeOOH): Goetitten daha az yaygın bulunan ortorombik kristal düzene sahip bir mineraldir. Curie sıcaklığı -196°C 'dir ve bu nedenle önemli bir artık mıknatıslanma taşıyıcısı değildir. Ancak goetit gibi ısıtıldığında maghemite dehidrate olur ve bu nedenle, dolaylı olarak manyetikliğe katkıda bulunabilir [79,80,83].

Yukarıda çeşitli fazları açıklanan demir içerikli nanopartiküllerin kullanım alanları ile ilgili bir literatür taraması yapıldı. Tablo 2.5.1.'de demir içerikli nanopartiküllerin çeşitli yöntemler ile sentezi ve kullanım alanları ile ilgili çalışmalar özet olarak sunulmaktadır.

Tablo 2.5. 1. Demir içerikli nanopartiküllerin çeşitli yöntemler ile sentezi ve kullanım alanları ile ilgili çalışmalar

Nanopartikül	Sentez Yöntemi	Kullanım Alanı	Kaynak
Antibakteriyel çalışmalar			
Demir oksit nanopartikülleri	PVA kullanılarak matris destekli sentez	<i>Staphylococcus aureus</i> 'e karşı antibakteriyel ajan	[86]
Demir nanopartikülleri	Bitki ekstraktı ile biyosentez	<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella enterica</i> , <i>Proteus mirabilis</i> ve <i>Staphylococcus aureus</i> 'e karşı antibakteriyel ajan	[87]
α -Fe ₂ O ₃	Bitki ekstraktı ile biyosentez	<i>Escherichia coli</i> ve <i>Staphylococcus aureus</i> 'e karşı antibakteriyel ajan	[3]
α -Fe ₂ O ₃	Bitki ekstraktı ile biyosentez	<i>Escherichia coli</i> ve <i>Staphylococcus aureus</i> 'e karşı antibakteriyel ajan	[88]
α -Fe ₂ O ₃	Bitki ekstraktı ile biyosentez	<i>Strains viz.</i> , <i>Bacillus subtilis</i> (NCIM-2063), <i>Staphylococcus aureus</i> (NCIM-2079), <i>Escherichia coli</i> (NCIM-2065), <i>Klebsiella pneumonia</i> (NCIM-2327)'e karşı antibakteriyel ajan	[89]
Fe ₃ O ₄	Alkali ortamda birlikte çöktürme	<i>Escherichia coli</i> MTCC 443, <i>Proteus mirabilis</i> MTCC 425 ve <i>Bacillus subtilis</i> MTCC 441'e karşı antibakteriyel ajan	[90]

Nanopartikül	Sentez Yöntemi	Kullanım Alanı	Kaynak
Fe ₃ O ₄	Birlikte çöktürme	<i>Shigella flexneri</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> (MTCC 7425), <i>Bacillus brevis</i> (MTCC 7404), <i>Vibrio cholerae</i> (MTCC 3904), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (MTCC 1034) ve <i>Staphylococcus epidermidis</i> (MTCC 3615)'e karşı antibakteriyel ajan	[91]
Fe ₃ O ₄	Yüzey aktif madde kullanılmayan elektrokimyasal yöntem	<i>Escherichia coli</i> ve <i>Staphylococcus aureus</i> 'e karşı düşük toksisiteli antibakteriyel ajan	[5]
Fe ₃ O ₄	Kimyasal yanma	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Xanthomonas</i> , <i>Escherichia coli</i> ve <i>Proteus vulgaris</i> 'e karşı antibakteriyel ajan	[4]
γ-Fe ₂ O ₃	Termal dekompozisyon	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i> ve <i>Salmonella typhi</i> 'e karşı antibakteriyel ajan	[92]
γ-Fe ₂ O ₃	NaOH kullanılarak çöktürme	<i>Escherichia coli</i> ve <i>Klebsiella pneumoniae</i> 'e karşı antibakteriyel ajan	[93]
Fe ⁰	NaBH ₄ kullanılarak indirgeme	<i>Escherichia coli</i> ve <i>Staphylococcus aureus</i> 'e karşı antibakteriyel ajan	[94]
Fe ⁰	Bitki ekstraktı ile biyosentez	<i>Escherichia coli</i> 'ye karşı antibakteriyel ajan Nitrat adsorpsiyonu	[95]
Kirletici giderimi ile ilgili çalışmalar			
Fe ₃ O ₄	Birlikte çöktürme	As ve Cu adsorpsiyonu	[96]
Fe ₃ O ₄	Birlikte çöktürme	Cu, Ni, Zn adsorpsiyonu	[97]
Fe ₃ O ₄	Birlikte çöktürme	Sudan I, Rhodamine B ve Methylene Blue boyarmaddelerinin degradesyonu	[98]
Fe ₃ O ₄	Hidrotermal sentez	Norfloksasin antibiyotikinin degradesyonu	[99]
γ-Fe ₂ O ₃	Birlikte çöktürme	BTEX (benzen, toluen, etilbenzen, ksilen izomerleri) adsorpsiyonu	[100]
γ-Fe ₂ O ₃	Birlikte çöktürme yöntemi/havalandırma oksidasyonu	Sülfür, sülfid ve tiyosülfatın adsorpsiyonu	[6]
γ-Fe ₂ O ₃	Bitki ekstraktı ile biyosentez	Pb ve Cd'nin adsorpsiyonu	[101]
γ-Fe ₂ O ₃	Katı faz indirgeme/oksidasyon	As'nin adsorpsiyonu	[8]

Nanopartikül	Sentez Yöntemi	Kullanım Alanı	Kaynak
α -Fe ₂ O ₃	Bitki ekstraktı ile biyosentez	Methyl red, Methyl Orange, Eosin Yellowish ve Methylene Blue boyarmaddelerinin degradasyonu	[102]
α -Fe ₂ O ₃	Mısır böcek ilacı ile sentez	Rhodamine B boyarmaddesinin fotokatalitik degradasyonu	[7]
α -Fe ₂ O ₃	Sol-jel	Cibacron Red FN-R boyarmaddesinin fotokatalitik degradasyonu	[103]
FeOOH	Kimyasal çöktürme	As'nin adsorpsiyonu	[104]
FeOOH	Kimyasal çöktürme	Glufosat tarım ilacının adsorpsiyonu	[105]
FeOOH	Kimyasal çöktürme	Levofloxacin antibiyotikinin adsorpsiyonu	[106]
FeOOH	Kimyasal çöktürme	Cr(IV)'nin indirgenmesi	[107]
Fe ⁰	Bitki ekstraktı ile biyosentez	Sulu çözeltilerden Cr(VI) giderimi	[108]
Fe ⁰	NaBH ₄ kullanılarak indirgeme	p-nitrofenol indirgenmesi	[109]
Fe ⁰	NaBH ₄ kullanılarak indirgeme	Sülfentrazonun deklorasyonu	[110]
Fe ⁰	NaBH ₄ kullanılarak indirgeme	Trikloroetenin degradasyonu	[111]
Fe ⁰	NaBH ₄ kullanılarak indirgeme	Sulu çözeltilerden Cu(II) ve Co(II) giderimi	[61]
Fe ⁰	NaBH ₄ kullanılarak indirgeme	Diklorodifeniltrikloroetan degradasyonu	[112]
Fe ⁰	NaBH ₄ kullanılarak indirgeme	Metronidazol antibiyotikinin giderimi	[113]
Cu/Fe ⁰	NaBH ₄ kullanılarak indirgeme	Oksitetrasiklin antibiyotikinin giderimi	[114]
Fe ⁰ /kitosan	NaBH ₄ kullanılarak indirgeme	Perklorat degradasyonu	[115]
Fe ⁰ /aktif karbon	Islaklık emdirme yöntemi	Fenol oksidasyonu	[116]
Demir oksit nanopartikülleri	Bitki ekstraktı ile biyosentez	Doksorubisin anti-kanser ilacının adsorpsiyonu	[117]
İlaç salımı çalışmaları			
FeOOH-mezogözenekli silika küreleri	Mikroemülsiyon	Doksorubisin hidroklorür kanser ilacının salımı	[118]
Süpermanyetik demir oksit nanopartikülleri	Birlikte çöktürme	Doksorubisin hidroklorür kanser ilacının salımı	[119]
Süpermanyetik demir oksit nanopartikülleri	Birlikte çöktürme	Daunomisin kanser ilacının salımı	[120]

Nanopartikül	Sentez Yöntemi	Kullanım Alanı	Kaynak
Demir oksit nanopartikülleri	Birlikte çöktürme	Streptomisin antibiyotiğinin salımı	[121]
Manyetik demir nanopartikülleri	Birlikte çöktürme	Polien antibiyotiklerinin salımı	[122]
Fe ₃ O ₄	Birlikte çöktürme	β-siklodekstrin kanser ilacının salımı	[123]
Fe ₃ O ₄	Birlikte çöktürme	Karmustin kanser ilacının salımı	[124]
Fe ₃ O ₄ @SiO ₂	Birlikte çöktürme	Sitarabin kanser ilacının salımı	[125]
γ-Fe ₂ O ₃	Birlikte çöktürme	Siprofloksasin antibiyotiğinin salımı	[126]
γ-Fe ₂ O ₃	Birlikte çöktürme	Paclitaxel kanser ilacının taşıyıcısı	[127]
Çeşitli bileşenlerin tespit çalışmaları			
Fe ₃ O ₄	Birlikte çöktürme	H ₂ O ₂ ve glikozun kolorimetrik tespiti	[128]
Fe ₃ O ₄	Birlikte çöktürme	Melaminin kolorimetrik tespiti	[129]
Fe ₃ O ₄ @ZIF-67	Hidrotermal sentez	Hg(II)'nin kolorimetrik tespiti	[130]
Fe ₃ O ₄ -montmorillonit nanokompoziti	Kimyasal çöktürme	H ₂ O ₂ 'nin kolorimetrik tespiti	[58]
Fe ₃ O ₄ katkılı hidrojel	Kimyasal çöktürme	H ₂ O ₂ ve glikozun kolorimetrik tespiti	[131]
PtPd-Fe ₃ O ₄	Kimyasal çöktürme	H ₂ O ₂ 'nin elektrokimyasal tespiti	[132]
Karbon kaplı Fe ₃ O ₄	Solvotermal sentez	Glikozun kolorimetrik tespiti	[133]
Fe ₃ O ₄ /azot doplanmış karbon hibrid nanofiberleri	Elektrospinning-kalsinasyon-termokimyasal indirgeme	Askorbik asitin kolorimetrik tespiti	[134]
Karbon dotları/Fe ₃ O ₄ hibrid nanofiberleri	Elektrospinning-kalsinasyon-termal indirgeme	Askorbik asitin kolorimetrik tespiti	[135]
Fe ₃ O ₄ nanoküreleri/grafen oksit	Solvotermal sentez	Asetilkolin'in kolorimetrik tespiti	[10]
FePt-Au	Hidrotermal sentez	H ₂ O ₂ 'nin kolorimetrik tespiti	[136]
Fe@SiO ₂	Sol-jel prosesi	Kobaltın kolorimetrik tespiti	[11]
Fe(III) bazlı koordinasyon polimer nanopartikülleri	Kimyasal çöktürme	H ₂ O ₂ ve glikozun kolorimetrik tespiti	[137]
MIL-53(Fe)	Solvotermal sentez	Askorbik asitin kolorimetrik tespiti	[138]
ZnFe ₂ O ₄	Hidrotermal sentez	İdrar glikozunun kolorimetrik tespiti	[9]

Nanopartikül	Sentez Yöntemi	Kullanım Alanı	Kaynak
Pd/CoFe ₂ O ₄ nanotüpleri	Elektrospinning tekniği	H ₂ O ₂ 'nin kolorimetrik tespiti	[139]
γ -Fe ₂ O ₃ /SiO ₂	Alev destekli sprej piroliz	Glikozun kolorimetrik tespiti	[140]
γ -Fe ₂ O ₃	Birlikte çöktürme	Kolestrolün kolorimetrik tespiti	[141]
α -Fe ₂ O ₃	Hidrotermal sentez	Dopaminin elektrokimyasal tespiti	[142]
Aptamer ile fonksiyonelleştirilmiş altın kaplı demir oksit nanopartikülleri	Birlikte çöktürme+kimyasal indirgeme	Trombinin kolorimetrik tespiti	[143]
Diğer kullanım alanları			
Fe ⁰ ve Fe ₃ O ₄	NaBH ₄ ve Na ₂ CO ₃ kullanılarak indirgeme	Biyogaz ve metan üretimi	[62]
Fe ⁰	Ticari	In-vitro toksisite uygulamaları	[144]
Fe ⁰	Bitki ekstraktı ile biyosentez	Tümörlü ve tümörsüz hücrelerde sitotoksisite araştırılması	[145]
FeOOH	Kimyasal çöktürme	Bisfenol A'nın transformasyonu	[146]
α -Fe ₂ O ₃	Zorlanmış hidroliz	Fermantatif hidrojen gazı üretimi	[147]
Fe ₃ O ₄	Sıvı faz plazma sentezi	Süperkapasitör uygulamaları	[148]
Sülfonatlı karbon kapsüllenmiş demir nanopartikülleri	Hibrid yöntem	Benzimidazol sentezinde katalizör	[149]
Demir nanopartikülleri	Bitki ekstraktı ile biyosentez	Nitrobenzen indirgenmesi ve florür rejeksiyonunda kullanılan membrana destek malzemesi	[150]

Tablo 2.5.1. ayrıntılı olarak incelendiğinde; farklı yöntemlerle sentezlenmiş demir içerikli nanopartiküllerin antibakteriyel aktivite, kirletici giderimi, ilaç salımı, kolorimetrik tespit alanları başta olmak üzere çeşitli alanlarda etkin bir şekilde kullanılabildikleri görülmektedir. Fakat yapılan literatür taraması sonucunda, metal kaynağı olarak metal hiperakümülatörü bir bitkinin kullanılması ile demir içerikli nanopartiküllerin sentezlenip, bir kullanım alanında değerlendirildiği herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle, bu tez çalışmasında Bölüm 2.2.'de açıklanan tarafımızca geliştirilmiş olan nanopartikül sentez yöntemi ile demir içerikli nanopartiküllerin sentezlenmesi ve yukarıda belirtilen kullanım alanlarından olan antibakteriyel aktivite, H₂O₂ ve askorbik asit (AA)'in kolorimetrik tespiti alanlarında kullanılabilişliği araştırılacaktır. Bir sonraki bölümde, bu kullanım alanları ile ilgili bilgiler verilmektedir.

2.5.1. Antibakteriyel Aktivite Çalışmaları

Antibiyotik direncinin ve birçok ilaca dirençli suşlar olan Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilerin yaygınlığı, küresel nüfus için ciddi bir tehdittir. Belirtilen bu direnç; yeni antibiyotik direnç suşunun daha hızlı bir şekilde evrimine neden olan antibiyotiklerin dünya çapında gelişigüzel kullanılmasından kaynaklanmaktadır. Dünya sağlık örgütü (WHO), dünyadaki en yaygın ölüm nedenlerinden birinin mikrobiyal kontaminasyon ve ilaçlara patojen direnci olduğu belirtmektedir. Yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi ve/veya var olan antibiyotiklerin kimyasal olarak modifiye edilmesi ile antibiyotiklere karşı olan bakteri direncinin önüne geçilmeye çalışılmaktadır [151]. Fakat ne yazık ki; yeni antibiyotik geliştirilmesinin, mikrobiyal patojenlerin hızlı ve sürekli direnç geliştirme hızını yakalayabileceğinin bir garantisi yoktur. Örneğin; Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilerin sebep olduğu ilaca dirençli enfeksiyonlar hastanelerde ve topluluklarda hızla büyümekte ve bu şekilde antimikrobiyal direncin sürekli gelişimi, enfeksiyonları tedavi etme yeteneğini ciddi şekilde tehlikeye atarak insan sağlığını tehdit etmektedir. Enfeksiyon hastalıklarının bu zorlu ve dinamik hali ve günümüzde kullanılan birçok antibiyotiğe dirençli bakteri suşlarının ortaya çıkması, bu sürekli büyüyen soruna daha uzun vadeli çözümlerinin bulunmasını zorunlu hale getirmektedir [152]. Bahsedilen soruna uzun vadeli çözümün ise, mikrobiyal patojenlerin direnç geliştiremeyeceği antibakteriyel nanomalzemelerin ve/veya etkili antibiyotiklerin salınımı için nanomalzemelerin geliştirilmesi olduğu düşünülmektedir. Nanomalzemeler aynı anda birçok biyomolekülü hedef alarak, dirençli suşların gelişmesini hızlıca önleyebilirler. Özellikle metalik nanopartiküllerin, enfeksiyon hastalıklarının kontrolünde kullanılabilecek güçlü antibakteriyel aktiviteye sahip oldukları belirtilmektedir. Antibakteriyel metalik nanopartiküller; geleneksel antibiyotiklere kıyasla, akut toksisiteyi azaltma, direnci aşma ve maliyeti düşürme gibi birçok avantaj sunmaktadırlar. Metalik nanopartiküllerin boyut, yük, zeta potansiyeli, yüzey morfolojisi ve kristal yapı gibi fiziksel özellikleri, bakteri hücresi üzerindeki antibakteriyel aktivitelerini kontrol eder. Nanopartiküllerin kontrol edilebilir bu özellikleri, biyofilmleri kolayca bozabilmelerini sağlar ve bu durum onları bakterilere karşı umut vaat edici alternatif bir materyal yapar. Antibakteriyel aktiviteyi; nanopartiküllerin fiziksel özelliklerinin yanı sıra, nanopartikül sentezinde kullanılan elementler ve bakterinin hücre duvarı yapısı da etkiler. Aşağıda antibakteriyel aktiviteyi etkileyen parametreler açıklanmaktadır [153];

Bakterinin hücre duvarı yapısı: Çoğu bakteri hücre duvarı yapılarına göre Gram-pozitif ve Gram-negatif olmak üzere iki ayrı sınıfa ayrılabilir. Gram-pozitif bakteriler, hücre duvarlarında kalın bir peptidoglikan tabakası içerirken; Gram-negatif bakteriler, lipopolisakaritten oluşan ek bir dış zar ile birlikte ince bir peptidoglikan tabakasına sahiptir. Gram-negatif bakterilerdeki bu ilave zar, periplazma olarak adlandırılan ekstra

bir membran tabakası olduğu anlamına gelir. Birçok çalışma, Gram-pozitif bakterilerin bazı nanopartiküllere daha dirençli olduklarını göstermektedir. Bu durumun, bakterinin hücre yapısından kaynaklandığı düşünülmektedir. *Escherichia coli* gibi Gram-negatif bakteriler, 1-3 µm kalınlığında lipopolisakkarit ve 8 nm kalınlığında peptidoglikan tabakası ile kaplıdır. *Staphylococcus aureus* gibi Gram-pozitif bakteriler ise; Gram-negatif bakterilerden çok daha kalın peptidoglikan katmanına sahiptirler ve bu katmana 80 nm'nin üzerinde bir kalınlıkta teikoik ve teikuronik asitler kovalent olarak bağlıdır. Bu durum, nanopartiküllerin Gram-negatif bakteri hücrelerine girmelerini kolaylaştırmaktadır. Gram-negatif bakteriler muhtemelen koruyucu bir tabaka olarak işlev gören kalın peptidoglikan katmanından yoksun oldukları için, nanopartiküller ve Gram-negatif bakterilerin hücre duvarları arasındaki fiziksel etkileşimden kaynaklanan hücre duvarı tahribatı daha zarar vericidir, yani antibakteriyel aktivite değeri daha yüksektir.

Gram-negatif bakterilerin nanopartiküllere daha duyarlı olmalarının bir diğer sebebi ise, Gram-negatif bakterilerin negatif bir yük taşıyan lipopolisakkarit molekülleri ile kaplanması olduğu düşünülmektedir. Bu negatif yüklü moleküller, nanopartiküllerin çoğunun saldırdığı pozitif iyonlara karşı daha yüksek bir afiniteye sahiptir ve bu etkileşim sonucunda pozitif iyonların daha çok birikmesi ve çoğalması ile hücre içi hasar daha fazla olmaktadır.

Hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakteriler negatif yüzey yüküne sahiptirler ve bu durum bakterilerin hücre duvarı ile nanopartiküllerden salınan pozitif yüklü iyonlar arasındaki etkileşimleri büyük ölçüde etkilemektedir. Örneğin; Gram-negatif bir bakteri olan *Salmonella typhimurium* ile çalışılan bir çalışmada, bu bakterinin hücre duvarının mozaik şeklinde anyonik yüzeyler ile kaplı olduğu gösterilmektedir. Dolayısıyla, yüzey alanı yüksek bu anyonik yapı üzerinde çok sayıda nanopartikülün bağlanması ile bu bölgelerde daha yüksek nanopartikül derişimi olmakta ve bu durum fokal toksisiteyi artırıcı yönde etki yapmaktadır. Ayrıca, literatürdeki elektroforetik mobilite ve matematiksel hesaplamaların yapıldığı çalışmalar, *Escherichia coli*'nin *Staphylococcus aureus*'tan daha negatif yüklü ve daha rijit bir yapıda olduğunu göstermektedir. Bakterilerin hücre duvarlarının elektronegatifliğindeki değişikliklerin, bakterilerinin yetiştirildiği besi yerlerdeki farklılardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Örneğin, farklı karbon kaynaklarına sahip ortamlarda büyütülen *Salmonella typhimurium* suşlarında yapılan elektroforetik çalışmalarda; O-antijenin lipopolisakkarit tabakası üzerine birleşiminin, suşun galaktoz bazlı bir ortamda büyütüldüğünde meydana geldiği, glikoz bazlı bir ortamda büyütüldüğünde meydana gelmediği belirtilmektedir. Fakat, lipopolisakkarit düzenindeki bu farkın elektroforetik mobilite üzerinde hiçbir etkisinin

olmadığı gösterilmektedir. Elektroforetik mobilite üzerine benzer gözlemler, *Escherichia coli*'nin farklı besi ortamlarında büyütüldüğü durumlarda da rapor edilmektedir.

Oksidatif stres indüksiyonu mekanizmasının gerçekleştiği durumlarda oluşan bazı reaktifler hidroksil radikalleri gibi negatif yüklüdür ve bu nedenle hücre zarına kolayca nüfus edemezler. Bu durumda, nanopartiküller çeşitli ajanlarla modifiye edilerek elektrostatik etkileşimi artırılabilir.

Hücre zarı yükü ve yapısının tipik etkilerinde, ağır metal dirençli bakterilerin bir istisna olduğu söylenebilir. Örneğin, Gram-negatif olan *Escherichia coli* ve *Cupriavidus metallidurans* bakterileri, TiO_2 nanopartikülleri, Al_2O_3 nanopartikülleri ve karbon nanotüpleri ile etkileşime sokulduklarında, *Escherichia coli* test edilen tüm nanomalzemelere karşı duyarlı olup hepsi tarafından öldürülürken; *Cupriavidus metallidurans*'nin test edilen tüm nanomalzemelere karşı dirençli olduğu belirtilmektedir. *Cupriavidus metallidurans* ile ilgili yapılan diğer çalışmalar, metal direncinin pMol-28 ve pMol-30 olarak adlandırılan iki büyük plazmid tarafından gösterildiğini belirtmektedir. pMol-28; Co^{2+} , Cr^{6+} , Hg^{2+} ve Ni^{2+} iyonlarına maruz kaldığında direnç gösterirken; pMol-30'un ise; Ag^+ , Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} ve Zn^{2+} iyonlarına maruz kaldığında direnç gösterdiği rapor edilmektedir.

Nanopartikül sentezinde kullanılan elementler: Antibakteriyel nanopartikül sentezinde kullanılan elementler genellikle yoğunlukları 5 g/mL'den daha yüksek olan ve ağır metal olarak adlandırılan metallerdir. Ve bunlar geçiş metali olma eğilimindedirler, yani elektron konfigürasyonları atomun d orbitalinin kısmen doldurulduğu şeklindedir. Bu durum önemlidir çünkü kısmen doldurulmuş bir d orbitali, bu metallerin genellikle daha fazla redoks potansiyellerinin olduğu anlamına gelir ve bu durum nanopartikül oluşumunu kolaylaştırır. Birçok geçiş metali, hidroksilasyon, redoks reaksiyonları ve elektron taşınması gibi önemli biyolojik işlevleri yerine getirir. Bu metaller az miktarlarda gerekli olmakla birlikte, yüksek derişimlerde çok toksik hale gelirler. Özetle, metal katyonları hücre içi fonksiyonları için gereklidir ve bu nedenle hücreye taşınmaları gerekmektedir. Bununla birlikte, bu metallerden sentezlenen nanopartiküller nötr metallerdir ve yoğunlukla hücre zarını geçemezler. Ancak, metalik nanopartiküllerin, zarları geçebilen ve hücrenin içinden hücresel süreçleri bozabilecek metal katyonlarını yavaşça saldıkları bilinmektedir. Nanopartiküller tarafından salınan Ag^+ , Hg^{2+} , Fe^{3+} gibi yüksek atom numaralarına sahip ağır metal iyonları, sistein gibi S-H gruplarına kolayca bağlanarak, spesifik enzimlerin işlevini doğrudan bozabilirler veya proteinlerin bütünlüğünü korumak için gerekli S-S köprülerini kırarak hücrenin metabolizması ve fizyolojisi üzerinde zararlı etkilere neden olabilirler.

Nanopartiküllerin fiziksel özellikleri: Küçük boyutları ve geniş yüzey alanlarından dolayı, nanopartiküller yığın formlarından farklı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahiptirler ve bu farklı fiziksel ve kimyasal özellikler antibakteriyel aktivitelerini etkiler.

Tipik olarak, boyutu küçük olan nanopartiküller yüksek antibakteriyel aktivite gösterirler. Ancak bazı çalışmalar, boyutu artan nanopartiküllerin daha iyi antibakteriyel aktivite sergilediklerini göstermektedir ve bu durum, antibakteriyel aktivite üzerinde sadece boyutun etkili olmadığını göstermektedir. Antibakteriyel aktiviteyi etkileyen diğer faktörler arasında sentez yöntemi, çevresel koşullar, bakteriyel savunma mekanizması ve nanopartiküllerin fiziksel özellikleri sayılabilir.

Literatürdeki birçok çalışmada, küçük boyuttaki nanopartiküllerin yüzey alanlarının geniş olması sebebiyle reaktif oksijen türlerinin daha fazla oluşmasına neden olarak bakterinin DNA, protein ve lipid gibi önemli biyomoleküllerine daha fazla zarar verdiği rapor edilmektedir.

Nanopartiküller çoğunlukla küresel yapıda sentezlenirlerken; levha, plaka, tüp, küp, çubuk ve üçgen şeklinde nanopartiküller de mevcuttur. Bunlar arasında nanoküplerin ve nanoçubukların maruz kalan düzlemler ve metallerin oksidasyon seviyeleri nedeniyle antibakteriyel açıdan diğer şekillerden daha etkili oldukları düşünülmektedir. Bu durum, maruz kalan kristal yüzeylerin analizi ile şu şekilde desteklenmektedir: daha az kararlı düzlemler oksijen boşluğu oluşturmak için daha az enerji gerektirirler, bu durum ise nanopartiküllerin antibakteriyel aktivitelerini düzlemlerinin kararlılığına bağlamaktadır. Aynı yüzey alanına sahip nanopartiküller arasında bile, yüksek atom yoğunluklu yüzeylere sahip düzlemler antibakteriyel etkiyi artırdığından, nanopartiküllerin şekli antibakteriyel aktivite için önemlidir. Bir nanopartikülün yapısı ayrıntılı olarak incelendiğinde, köşelerin, kenarların veya bozunmaların varlığı ile antibakteriyel aktivite arasında ilişki vardır. Buna göre bu yapıların varlığından kaynaklı artan yüzey alanı nedeniyle; (i) bileşenlerin yüzeye adsorpsiyonu ve bağlanması artar, (ii) yüzey alanı-hacim oranı artacağından reaktif oksijen türlerinin üretimi artar ve böylelikle antibakteriyel aktivitenin artacağı söylenebilir.

Antibakteriyel aktivitede diğer bir önemli faktör nanopartiküllerin yüküdür. Yukarıda da belirtildiği üzere hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakterilerin hücre duvarları negatif yüklüdür ve pozitif yüklü nanopartiküller ile kolaylıkla etkileşim sağlarlar ve bu durum antibakteriyel aktiviteyi artırıcı yönde etki yapar.

Asidik koşulların da nanopartiküllerin bakterilerin hücre duvarına bağlanmasını artırdığı belirtilmektedir ve bu durum, elektrostatik etkileşimlerin antibakteriyel aktivite üzerinde etkili olduğunu destekler niteliktedir. Örneğin, pozitif yüzey yüklü Ag-

polietilenimin (BPEI) nanopartiküllerinin bakteri ile kuvvetli bir etkileşim yaparken; negatif yüzey yüklü sitrat-Ag nanopartiküllerinin bakteriler ile herhangi bir etkileşim içine girmediği belirtilmektedir. Bu durum, yüzey yükünün antibakteriyel aktivite üzerinde oldukça önemli olduğunu göstermektedir.

Tüm bunlar göz önüne alınarak metalik nanopartiküller ile antibiyotikler arasında aşağıdaki gibi bir karşılaştırma yapılabilir:

- ✓ Nanopartiküllerin kontrol edilebilir fiziksel özellikleri ve düşük toksisitesi nedeniyle antibiyotiklerin karşısında iyi bir alternatiftir.
- ✓ Metalik nanopartiküllerin boyutlarının antibiyotiklere göre çok daha küçük ve yüzey alanlarının daha geniş olması antibakteriyel aktiviteyi artırıcı yönde etki yapmaktadır.
- ✓ Antibiyotiklere kıyasla, nanopartiküllerin az miktardaki dozları bile antibakteriyel etkiye neden olabilmektedir.
- ✓ Antibiyotikler; hücre duvarı, dönüşüm mekanizması ve DNA replikasyonu olmak üzere üç bakteriyel bölgeye saldırır ve bu nedenle, bu bölgelerin her birine karşı bakteri direnci gelişir. Direnç mekanizması, β laktamazlar ve aminoglikozitler gibi antibiyotikleri parçalayan enzimlerin ekspresyonunu içerir. Bundan farklı olarak nanopartikülleri etki mekanizması ise, hücreye nüfuz etmeden bakteri hücrelerine zarar veren bakteriyel hücre duvarıyla doğrudan bir temas şeklindedir. Bu nedenle, nanopartiküller antibiyotiklere göre bakteri direncine daha az eğilimlidirler.
- ✓ Metalik nanopartiküllerin pozitif yüzey yükü, negatif yüklü bakteri yüzeyine kolayca bağlanmasını ve böylelikle antibakteriyel etki göstermesine sebep olmaktadır.

Bu özelliklerinden dolayı metalik nanopartiküller; antibiyotiklerin yerine kullanılabilmelerinin yanı sıra, biyomedikal alanlar, tekstil kumaşları veya dezenfektan olarak su arıtımı gibi çeşitli alanlarda değerlendirilebilmektedirler.

Metalik nanopartiküllerin bakteri üzerinde üç farklı mekanizmasının olduğu düşünülmektedir: oksidatif stres indüksiyonu, metal iyonu salımı veya oksidatif olmayan mekanizma. Nanopartiküllerdeki avantajı, bu mekanizmaların ayrı ayrı gerçekleştirilmesinin yanında hepsinin aynı anda meydana gelebilmesidir. Bu mekanizmalar sayesinde meydana gelen antibakteriyel aktivite adımları aşağıdaki gibidir [154]:

- i. Bakterilerle nanopartiküllerin etkileşimi, membran potansiyelinin ve bütünlüğünün bozulmasına yol açar,

- ii. Konakçı immün yanıtları tetiklenir,
- iii. Biyofilm oluşumunun inhibisyonu gerçekleşir,
- iv. Reaktif oksijen türlerinin üretimi, metal iyonu salımı veya oksidatif olmayan bir mekanizma gerçekleşir,
- v. Hücre içi etkilerin indüksiyonu yoluyla RNA ve/veya protein sentezinin inhibisyonu meydana gelerek bakteri hücrelerinin ölümü gerçekleşir.

Gümüş, çinko, titanyum, bakır ve demir nanopartikülleri antibakteriyel çalışmalarda en sık kullanılan metalik nanopartiküllerdendir [155]. Bunların arasında demir nanopartikülleri antibakteriyel ajan olarak kullanılmalarının yanı sıra, manyetik rezonans görüntüleme için kontrast madde, hipertermi için ısıtma aracı, ilaç/gen taşıyıcısı olarak biyotıpta çeşitli alanlarda kendine yer bulmaktadırlar [156]. Tablo 2.5.1.'de demir içerikli nanopartikülleri antibakteriyel ajan olarak kullanıldığı çalışmalar sunulmaktadır. Yapılan literatür taraması, demir içerikli nanopartiküllerin hem Gram-pozitif hem Gram-negatif bakteriler üzerinde güçlü bir antibakteriyel etkisinin olduğunu göstermektedir. Bu tez çalışmasında ise, literatürden farklı olarak tarafımızca geliştirilen bir yöntem ile sentezlenen demir içerikli nanopartiküllerin hem Gram-pozitif hem Gram-negatif bakterilere karşı antibakteriyel aktiviteleri araştırılacaktır.

2.5.2. H₂O₂'nin Kolorimetrik Tespit Çalışmaları

2.5.2.1. H₂O₂'nin Tarihçesi

H₂O₂, ilk olarak 1818'de bilim adamı Louis Jacques Thenard tarafından keşfedilip, saflaştırıldı. Bu keşfi, baryum peroksit sentezlemek için baryum tuzlarını yakarken elde etti. Sentez sonucunda elde ettiği baryum peroksiti suda çözdürmek istediğinde H₂O₂ üretildiğini fark etti. Bu yöntem, yirminci yüzyılın ortalarına kadar hidrojen peroksit üretiminin en yaygın yolu oldu. Fakat, uzun yıllar boyunca bu şekilde üretilen H₂O₂ kararsız bir haldeydi çünkü üretilen H₂O₂'yi sudan ayırma işlemlerinin tümü başarısız oldu. 1894 yılında ise, bilim adamı Richard Wolfenstein tarafından vakumlu damıtma işlemi ile H₂O₂ sudan ayrıştırıldı. 19. yüzyılın sonuna kadar H₂O₂ için birçok formül önerildi ancak doğru formül ilk defa Petre Melinkishvili tarafından kanıtlandı.

1888 yılında, Journal of the American Medical Association dergisinde bir yayın yağmur suyunun H₂O₂ içerdiğini kanıtladı. Bu durum ise dünyanın kendisini sterilize etme yolu olarak görüldü. Bu yayından sonra uzun yıllar boyunca H₂O₂ endüstride sterilizasyon amacıyla kullandı. Örneğin; ilaç endüstrisinde petri kaplarının sterilizasyonu ve havacılıkta uyduların sterilizasyonu için H₂O₂ kullanılmaya başlandı [157].

İlerleyen yıllarda, H_2O_2 yakıt olarak da kullanılmaya başlandı fakat H_2O_2 'nin bu kullanım alanı tarihte birçok kazaya yol açtı. 1934'te H_2O_2 roketinin patlaması ile Almanya'da 3 kişi hayatını kaybetti ancak buna rağmen Almanya 2. Dünya Savaşı sırasında roketlerde yakıt olarak H_2O_2 'nin kullanımına devam etti. 2000 yılının Ağustos ayında ünlü Rus deniz altısı Kursk, H_2O_2 yakıtlı torpidoların birinden H_2O_2 sızıntısı sonucu ölümcül bir patlama ile battı. 2005 yılının Temmuz ayında ise, Londra'daki bir uçakta canlı bomba saldırısında H_2O_2 kullanıldı ve bu olaydan sonra tüm uçuşlarda sıvıların yasaklanması kararı alındı [158, 159].

2.5.2.2. H_2O_2 'nin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

H_2O_2 'nin fiziksel ve kimyasal özellikleri Tablo 2.5.2.'de verilmektedir [159].

Tablo 2.5.2. H_2O_2 'nin fiziksel ve kimyasal özellikleri

Kimyasal formülü	H_2O_2
Molekül kütlesi	34.0147 g/mol
Görünüşü	Çok açık mavi renk Çözeltide renksiz
Koku	Biraz keskin
Yoğunluk	1.11 g/mL (20 °C, %30 w/w çözelti) 1.450 g/mL (20 °C, saf)
Erime noktası	-0.43 °C (31.23 °F; 272.72 K)
Kaynama noktası	150.2 °C (302.4 °F; 423.3 K)
Çözünürlük	Su, eter ve alkolde çözünür Petrol eterinde çözünmez
Buhar basıncı	5 mmHg (30 °C)
Refraktif indeks	1.4061
Viskozite	1.245 cP (20 °C)
Isı kapasitesi	1.267 J/(g·K) (gaz) 2.619 J/(g·K) (sıvı)
Standart oluşum entalpisi	-187.80 kJ/mol

2.5.2.3. H_2O_2 'nin Kullanım Alanları

H_2O_2 ; su molekülü ve oksijen atomlarından oluşmaktadır ve kullanıldıktan sonra kolayca tekrar su moleküllerine ve oksijen atomlarına parçalanabilir; bu nedenle çevre dostu bir madde olmakla beraber yüksek oksijen içermesi nedeniyle diğer yükseltgeyici ajanlara göre daha yüksek etkinliğe sahip bir yükseltgeyici ajandır. Bu özelliklerinden dolayı H_2O_2 ; birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır.

H_2O_2 ; çok sayıda oksidaz enziminin yan ürünü olmakla beraber gıda, kozmetik, tekstil, elektronik, maden, kâğıt, su ürünleri endüstrileri, tıp, çevre kimyası, biyolojik analiz ve klinik teşhis gibi çeşitli alanlarda önemli rol oynamaktadır [160]. H_2O_2 'nin bu alanlardaki yeri aşağıda özetlenmektedir:

Oksidaz enziminin yan ürünü: Tablo 2.5.3., H_2O_2 'nin birçok oksidaz enziminin yan ürünü olarak açığa çıkma reaksiyonlarını göstermektedir. Tablo 2.5.3'ten de görüldüğü gibi; glikoz oksidaz, monoamin oksidaz, ksantin oksidaz, lizil oksidaz, kolesterol oksidaz, protoporfirinojen oksidaz, L-amino asit oksidaz gibi birçok oksidaz enziminin yan ürünü olarak H_2O_2 açığa çıkmaktadır.

Tablo 2.5.3. Birçok oksidaz enziminin yan ürünü olarak H_2O_2 'nin açığa çıkma reaksiyonları

Oksidaz enzimi	Reaksiyon
Glikoz oksidaz	α-D-glucose $\rightleftharpoons$ β-D-glucose + O_2 $\xrightarrow{\text{glucose oxidase}}$ D-glucono-1,5-lactone + H_2O_2
Monoamin oksidaz	Tyramine + H_2O + O_2 $\xrightarrow{\text{Monoamine oxidase}}$ 4-Hydroxyphenyl-acetaldehyde + NH_3 + H_2O_2
Ksantin oksidaz	O_2 + xanthine + H_2O $\xrightarrow{\text{xanthine oxidase}}$ urate + H_2O_2
Lizil oksidaz	lysine residue + O_2 + H_2O $\xrightarrow{\text{lysyl oxidase}}$ allysine residue + NH_3 + H_2O_2
Kolesterol oksidaz	CHOLESTEROL + O_2 $\xrightarrow{\text{Cholesterol oxidase}}$ 4-CHOLESTEN-3-ONE + H_2O_2
Protoporfirinojen oksidaz	Protoporphyrinogen IX $\xrightarrow{\text{Protoporphyrinogen Oxidase}}$ Protoporphyrin IX + $3H_2O_2$
L-amino asit oksidaz	$R-\underset{NH_3^+}{\overset{H}{C}}-CO_2^- + O_2 \xrightarrow{\text{LAAO}} R-\overset{O}{\underset{ }{C}}-CO_2^- + H_2O_2 + NH_3$ keto acid

Gıda endüstrisi: Güçlü oksitleyici özelliği nedeniyle H_2O_2 ; yağ, şeker, un, beyaz yumurta, nişasta, sakız gibi bazı gıdalarda ağartıcı madde olarak kullanılmaktadır. Sütlerde, antimikrobiyal ajan; gıda ambalajlarında sterilizasyon ajanı olarak kullanılmaktadır [161].

Kozmetik endüstrisi ve tıp: H_2O_2 'nin oksitleyici özelliği, kozmetik ve tıbbi alanlarda dezenfektan ve ağartıcı madde olarak kullanılmasını sağlamaktadır. Örneğin; kozmetikte, oksidatif saç boyama sırasında antimikrobiyal bir ajan olarak kullanılırken; tıpta lekeleri oksijenleyerek dişlerin beyazlığını artırır. Diş beyazlatma işleminin temeli oksidasyon-redüksiyon reaksiyonuna dayanmaktadır. Bu reaksiyonda, H_2O_2 'nin (okside edici ajan) çiftleşmemiş elektronlara sahip serbest radikalleri elektron verir ve dişteki lekeler (indirgeyici ajan) bu elektronları kabul ederek okside olur ve dişler bu şekilde beyazlatılır. Ayrıca tıbbi uygulamalarda; yara ve çizik tedavisinde H_2O_2 'nin dezenfektan özelliğinden yararlanılmaktadır [161].

Tekstil endüstrisi: H_2O_2 ; yün, keten, pamuk, ipek ve suni ipek içeren doğal ve sentetik liflerin işlenmesinde birincil ağartıcı maddedir. Liflere yüksek derecede parlaklık verirken aynı zamanda mekanik özelliklerini de korur. Ağartma işlemi sonrasında, anti-peroksit maddeler kullanılarak ürün üzerindeki H_2O_2 kalıntıları uzaklaştırılır [161].

Elektronik endüstrisi: Bu alanda, oksitleyici ve temizlik maddesi olarak kullanılmaktadır. Örneğin, baskılı devre kartı üretim sürecinde H_2O_2 , metal yüzeyleri aşındırıcı asit olarak kullanılır. Yarıiletkenlerin üretiminde ise; yüksek elektronik kaliteli H_2O_2 , oksitleyici ve temizleyici madde olarak kullanılır [161].

Maden endüstrisi: Bu endüstride H_2O_2 , hem oksijen kaynağı hem de oksitleyici ajan olarak kullanılmaktadır. Örneğin, altın ve uranyum üretim işlemlerinde derişik madde hazırlama ve cevher liçi işlemlerinde kullanılır [161].

Kâğıt endüstrisi: Bu endüstride H_2O_2 , özellikle kimyasal kâğıt hamuru ağartma aşamalarında çok yönlü ağartma maddesi olarak kullanılmaktadır. Mekanik hamur ağartma işleminde, çekirdek ağartma maddesi olarak; kâğıt geri dönüşüm tesislerinde ise, mürekkepten arındırma maddesi olarak kullanılmaktadır [161].

Su ürünleri endüstrisi: H_2O_2 , su ürünleri yetiştiriciliğinde yumurta dezenfeksiyonunda, yetiştiricilikte kullanılan materyallerin basit temizliğinde dezenfektan madde olarak; balık transferinde ise oksijen kaynağı olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, balıkların raf ömrünün uzatılması amacıyla H_2O_2 ile muamele edilmektedir. Balık filetolarının renklerini ağartmak amacıyla da H_2O_2 kullanıldığı bilinmektedir, fakat bu alanda kullanılan H_2O_2 derişimine dikkat edilmelidir çünkü yüksek derişimler yağ bozunmalarına sebep olmaktadır [162, 163].

Çevre kimyası: H_2O_2 , su ve hava arıtımında yaygın olarak kullanılmaktadır. Çeşitli basit ve ileri oksidasyon yöntemleri kullanılarak su arıtma işlemleri gerçekleştirilmektedir. Basit oksidasyon yönteminde; arıtılacak olan suya ilave herhangi bir kimyasal koymadan sadece H_2O_2

eklenir ve bu sayede; biyolojik büyüme kontrol altına alınır, sudaki oksijen ihtiyacı karşılanır; klor kalıntıları uzaklaştırılır, sülfidlerin, metallerin ve diğer kolay yükseltgen BOİ/KOİ bileşenlerinin yükseltgenmesi sağlanır. H_2O_2 /UV, O_3/H_2O_2 /UV, Fenton prosesleri (elektro-Fenton, foto-Fenton, katalitik-Fenton), H_2O_2 /ultrasonik işlem, elektrokimyasal oksidasyon gibi ileri oksidasyon yöntemleri ise zor yükseltgen kirleticiler için kullanılmaktadır. Bu yöntemlerde genel olarak H_2O_2 'nin yükseltgenme reaksiyonu hızlandırılarak sudaki zor yükseltgen kirleticilerin giderimi sağlanır. Hava arıtımı için gaz plazma sterilizasyonu kullanılmaktadır. Bu yöntemde; plazma vakumu, elektromanyetik alan ve H_2O_2 kullanılır. Buna göre; vakum kazanına H_2O_2 gaz olarak girer ve radyo frekans enerjisinin uygulanması ile H_2O_2 havadaki mikroorganizmalar ile reaksiyona girip onların yaşamsal aktivitelerini durduracak bir plazma yaratılır. Radyo frekansı kapatıldığında, H_2O_2 su buharı ve oksijene dönüşür ve mikroorganizmalardan arıtımı sağlanan ortamın ayrıca bir havalandırmaya ihtiyacı kalmaz [161].

Biyolojik analiz ve klinik teşhis: Birçok endüstride olduğu gibi bu alanda da H_2O_2 'nin oksitleyici özelliğinden yararlanılarak birçok analizde oksijen kaynağı veya oksitleyici ajan olarak kullanılmakta ve böylelikle klinik teşhis aşamalarında yer almaktadır [161].

2.5.2.4. H_2O_2 'nin İnsan Sağlığına Yararları ve Zararları

Bağışıklık sisteminde büyük rol oynayan bir çeşit alyuvar olan granülositler ve T-hücreleri ilk savunma mekanizması olarak H_2O_2 üretirler ve H_2O_2 'nin güçlü yükseltgeyici özelliği sayesinde; insan vücuduna giren virüsler, mikroplar ve parazitler inaktive edilmektedir. Ayrıca, kan trombositleri kan partikülleriyle karşılaştıkları zaman da H_2O_2 salgılamaktadırlar. H_2O_2 , bakteri yüklü bir kesik ya da yara ile temasa geçtiğinde yoğun bir köpük görülür; bu durum, H_2O_2 yapısındaki oksijenin serbest kalması ve bakterinin yok edilmesinden kaynaklanmaktadır. H_2O_2 aynı zamanda bir antineoplastiktir, yani; tümörler gibi yeni dokuların büyümelerini engellemektedir [163].

H_2O_2 'nin yararları olduğu kadar zararları da mevcuttur. Örneğin; yüksek derişimlerdeki H_2O_2 'nin aşındırıcı ve tahriş edici etkisi vardır. Yine yüksek derişimlerdeki H_2O_2 buharının solunması ile solunum yolu ve burundaki mukoza zarar görebilmektedir. Yüksek dozda vücuda alındığında; sindirim sisteminde hasarlara yol açabilmekte, kusma, ishal ve doku bozulmaları görülebilmektedir. Uzun süre maruz kalınması sonucu; akciğerlerde ödem, beyinde sıvı birikimi gibi ciddi sağlık sorunlarına yol açabilmektedir. Ayrıca, literatürde vücutta aşırı H_2O_2 üretiminin kötü huylu tümör, Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı gibi hastalıkların oluşumu ile yakından ilişkili olabileceği de belirtilmektedir [164–167]. Bu durumun, vücutta üretilen aşırı H_2O_2 'nin bazı temel protein sınıfına zarar vermesi ile kardiyovasküler, diyabet ve nörodejeneratif bozukluklar gibi çeşitli hastalıklara neden olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca, H_2O_2 'nin

katalaz enzimi ile reaksiyonu sonucu, H_2O_2 ayrışmakta ve dokularda oksijen ve su oluşmaktadır. Oluşan oksijen miktarı kandaki maksimum çözünürlüğü aştığında; sistemik venöz ve intravasküler oksijen embolisi etkisi oluşabilmektedir [164,168–170].

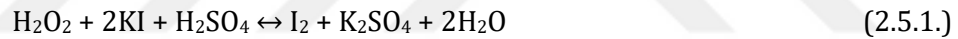
Tüm bu nedenlerden dolayı; H_2O_2 'nin tespiti ve kantitatif tayin edilmesi büyük önem arz etmektedir. Bir sonraki bölümde; H_2O_2 'nin tayini için kullanılan yöntemler anlatılmaktadır.

2.5.2.5. H_2O_2 'nin Tayin Yöntemleri

H_2O_2 'nin tayini için; titrimetrik, spektrofotometrik, florimetrik, kemilüminesans yöntemler gibi birçok analitik teknik bulunmaktadır [171].

1. Titrimetrik yöntemler: Uzun zamandan beri H_2O_2 tayini için yaygın olarak uygulanan titrimetrik yöntemler; iyodometrik, permanganat ve seryum sülfatlı yöntemler olarak 3'e ayrılmaktadır. Temeli; titrant olarak I^- , MnO_4^- , SO_4^{2-} iyonları içeren çözeltilerin kullanıldığı redoks reaksiyonlarına dayanmaktadır [171].

i. İyodometrik yöntem: Bu yöntemin temeli; asidik koşullarda, molibdat katalizörü varlığında ve ortamda fazla I^- olması durumunda, Eşitlik (2.5.1.)'de verilen reaksiyona göre iyot oluşumuna dayanmaktadır. Daha kesin sonuçlar elde edebilmek için; iyot oluşumu tamamlandıktan sonra çözelti karanlıkta 5.0 dakika bekletilmektedir.



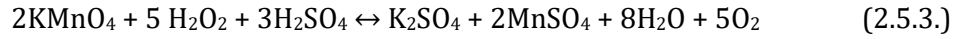
Eşitlik (2.5.1.)'de verilen reaksiyon sonucu oluşan iyot, nişasta indikatörü varlığında Eşitlik (2.5.2.)'de verilen reaksiyona göre $S_2O_3^{2-}$ ile titre edilir.



Titrasyon ile iyot derişiminin azalması ile koyu sarı renkli çözeltinin rengi açık sarıya döner. Dönüm noktasına yakın ortama nişanta eklenir ve koyu mavi renkli bir çözelti elde edilir. Nişasta ile iyotun bir araya gelmesi ile ortamda çözünmeyen kompleksler oluşacağından, nişasta dönüm noktasına yakın ortama eklenmelidir. Nişasta eklenmesi ile koyu mavi renk olan çözelti, renksiz hale gelinceye kadar titrasyon işlemine devam edilir.

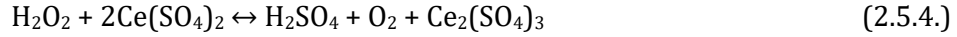
Bu yöntem; genellikle H_2O_2 çözeltisinin standartlaştırılması için kullanılmaktadır. H_2O_2 içerisindeki bakır, demir, krom ve nikel gibi çeşitli metal iyonları; H_2O_2 'nin ayrışmasını katalize eder ve bu durum, H_2O_2 'nin kullanım alanlarında olumsuz sonuçlara neden olur.

ii. Permanganatlı yöntem: Bu yöntemde; Eşitlik (2.5.3.)'de verilen reaksiyona göre H_2O_2 varlığında $Mn(VII)$, $Mn(II)$ 'ye indirgenmektedir.



H_2SO_4 kullanılarak hazırlanan asidik koşullarda; 5 mol H_2O_2 ile 2 mol KMnO_4 arasında titrasyon gerçekleştirilir ve dönüm noktası, pembe renkli çözelti ile elde edilir.

iii. Seryum sülfatlı yöntem: Bu yöntem; $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ ile H_2O_2 arasındaki Eşitlik (2.5.4.)'de verilen titrasyon reaksiyonu temeline dayanmaktadır.



Eşitlik (2.5.4.)'de verilen reaksiyonda $\text{Ce}(\text{IV})$, asidik koşullarda H_2O_2 ve ferroin indikatörü varlığında $\text{Ce}(\text{III})$ 'e indirgenir. Dönüm noktası, çözelti renginin turuncuya dönmesi ile elde edilir. Ayrıca, bu titrasyon ortamı sıcaklığının 10°C 'yi aşmamasına dikkat edilmelidir.

2. Spektrofotometrik (kolorimetrik) yöntemler: H_2O_2 tayini için yaygın olarak uygulanan spektrofotometrik yöntemler; kobalt karbonat, iyodometrik, titanyum, yaban turpu peroksidazı (horseradish peroxidase-HRP) ve vanadyum yöntemleri olarak 5'e ayrılmaktadır [171].

i. Kobalt karbonat yöntemi: Bu yöntem; $\text{Co}(\text{II})$ 'nin H_2O_2 ile $\text{Co}(\text{III})$ 'e oksitlenmesi temeline dayanmaktadır. Bu oksidasyon işlemi sonucunda, $[\text{Co}(\text{CO}_3)_3]\text{Co}$ kompleksi oluşur. Oluşan bu kompleks; 635, 440 ve 260 nm dalga boylarında absorbanans piki veren koyu yeşil renklidir. Bu spektrofotometrik tayin için; 260 nm dalga boyu tavsiye edilmektedir.

ii. İyodometrik yöntem: Bu yöntem; Eşitlik (2.5.5.)'de verilen reaksiyona göre iyodürün molibdat katalizörlüğünde iyota oksidasyonu temeline dayanmaktadır.



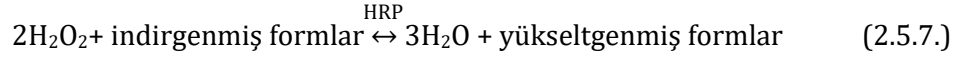
Oluşan iyot (I_2) ortamda kalan iyodür (I^-) ile reaksiyona girer ve Eşitlik (2.5.6.)'de verilen reaksiyona göre çözünmeyen I_3^- kompleksi oluşur. Oluşan kompleksin rengi spektrofotometrik olarak analiz edilir. Nötr pH'lara yakın pH değerlerinde çözelti rengi sarı olmakta ve spektrofotometrede 351 nm dalgaboyunda analiz edilmektedir.



Bu yöntemin tespit sınırı $50 \mu\text{g/L}$ 'dir ve klor ve geçiş metalleri gibi oksidanların yöntemde girişim yaptıkları düşünülmektedir.

iii. Titanyum yöntemi: Bu yöntemin temeli; asidik ortamda H_2O_2 ile $\text{K}_2\text{TiO}(\text{C}_2\text{O}_4)$ arasındaki reaksiyon sonucu perokso-titanyum kompleksinin oluşumuna dayanmaktadır. Oluşan bu kompleks sarı renklidir ve spektrofotometrede 400 nm dalga boyunda maksimum absorbanans bandı vermektedir.

iv. HRP yöntemi: Bu yöntem, bazı substratların H_2O_2 ile oksidasyonunu katalizleyebilen bir hemoprotein olan yaban turpu peroksidazının (HRP) kullanımını içerir. Eşitlik (2.5.7.)’de verilen HRP ve H_2O_2 arasındaki reaksiyon, yöntemle girişim yapan türlere karşı yeterince seçici ve dirençlidir.



Bu reaksiyon H_2O_2 için oldukça seçicidir ve bu nedenle HRP kullanılarak H_2O_2 ’nin tayini spektrofotometrik olarak kolaylıkla yapılabilir. Bu yöntemde; kemilüminesan türlerin oksitlenmesi veya floresan türlerin bozunumu sonucu spektrofotometrik olarak saptanabilen bir madde oluşturulmaktadır.

v. Vanadyum yöntemi: Literatürde yapılan çalışmalar, dioksido-vanadyum (V), amonyum metavanadat (NH_4VO_3) gibi vanadyum içerikli bileşikler ile H_2O_2 ’nin renkli kompleksler oluşturduğunu ve oluşan bu kompleksin spektrofotometrik olarak analiz edilmesi ile H_2O_2 tayinin yapılabileceğini belirtmektedir [172-174].

3. Florimetrik yöntemler: Bu yöntemlerin temeli; bazı substratların oksidasyonunun H_2O_2 ile katalizlenmesine dayanmaktadır. Florimetrik yöntemler; (p-hidroksifenil) asetik asit (POHPAA) ve skopoletin (7-hidroksi-6-metoksi-2H-1-benzopiran-2-on) yöntemleri olarak 2’ye ayrılmaktadır ve her iki yöntemde de HRP kullanılmaktadır [171].

i. POHPAA yöntemi: Bu yöntemin temeli; HRP varlığında POHPAA’dan florokrom bir dimer üretilmesine dayanmaktadır ve bu reaksiyonun mekanizması oldukça karmaşıktır. Bu proses sırasında; peroksidaz +3 değerlikten +5 değerine yükseltgenir ve daha sonra yükseltgenmiş peroksidaz POHPAA tarafından indirgenerek POHPAA radikalleri oluşur. Oluşan POHPAA radikalleri, floresan özelliklere sahip bir ürün oluşturmak için dimerize olur. Oluşan dimerize ürün, 400 nm’de emisyonu sahiptir ve 313 nm’de uyarılır. Doğal su içerisinde bulunan anyon ve katyonlar bu yöntem üzerinde büyük bir olumsuz etkiye sahip değildir. Ayrıca, klor ve hiperklorür formundaki oksidanlar yöntemle olumlu bir şekilde girişim yaparlar.

ii. Skopoletin yöntemi: Skopoletin; pamuk yaprağı ve limon kabuğunda doğal olarak bulunan peroksidaz enzimi için floresan bir substrattır ve H_2O_2 ’nin tayini için kullanılabileceği bilinmektedir. Bu yöntemde; katalaz veya peroksidaz enzimi ile H_2O_2 bir araya geldiğinde skopoletin oksidasyonuna neden olmakta ve skopoletin floresan şiddetinde azalmaya yol açmaktadır. Burada; skopoletin floresan şiddetinin skopoletin derişimi ile doğru orantılı, oksidasyona uğramış skopoletin derişimi yani dolaylı yoldan H_2O_2 ’nin derişimi ile ters orantılıdır. Skopoletin sulu çözeltisinin dağınık ışıktaki oldukça kararlı olduğu; tek başına peroksidaz enzimi varlığında veya tek başına

H₂O₂ varlığında oksidasyona uğramadığı belirtilmektedir. Buna göre; hem peroksidaz enzimi hem de H₂O₂'nin ilave edildiği skopoletin çözeltisinin floresan şiddetinde azalma olacağı bilinmektedir. İlgili reaksiyon 4.5 pH değerinde gerçekleşmekte olup, borat tamponu ile çözelti pH değerinin 10 yapılması ile durdurulabilmektedir [174].

4. Kemilüminesans yöntem: Bu yöntemde; bir katalizör varlığında kimyasal bir fosfor olan 5-amino-2,3-dihidro-1,4-falazlazon (luminol) ve H₂O₂ ile karıştırıldığında bir dizi reaksiyon meydana gelir ve bu reaksiyonlar bir lüminal yan üründen fotonların salınması ile sonlanır. Bu reaksiyon dizisi aşağıdaki adımları içermektedir [171]:

- i. Öncelikle, bir katalizör varlığında OH• radikalleri üzerinde peroksit bozunur.
- ii. Daha sonra luminol anyonları, luminol radikalleri üretmek için OH• radikalleri ile reaksiyona girer.
- iii. Luminol radikalleri, bir hiproperoksit ara ürünü oluşturmak üzere, OH• radikalleri ve peroksit arasındaki reaksiyonla üretilen oksijen radikalleri ile reaksiyona girer.
- iv. Hiproperoksit ara ürünü, 3-aminoftalata uyarılmış bir enerji seviyesinde ayrışır. Serbest bırakılan fotonlar temel seviyeye geçer.
- v. Yayılan fotonlar, bir foto-çoğaltıcı tüp yoluyla tespit edilir.

Bu reaksiyon dizisinin oluşması için, luminol anyonlarının varlığını sağlamak amacıyla ortam pH değerinin yaklaşık 10 olması gerekmektedir. Bakır veya kobalt içerikli katalizörler, peroksitin bozunumunu katalizleyebilmektedirler.

Tüm bu yöntemler arasında; H₂O₂ tespitine yönelik en yaygın yaklaşım ise, tespit için renkli veya floresan özelliklere sahip maddelerin (spektrofotometrik/kolorimetrik veya florimetrik yöntemler) reaksiyon sonucunda ortaya çıkmasını sağlamak amacıyla bir peroksidaz enziminin (genellikle yaban turpu peroksidazı, horseradish peroxidase-HRP) aracı olduğu H₂O₂ ile bazı substratların oksidasyonudur. Bu kapsamda, birçok kromojenik substrat özellikle spektrofotometrik/kolorimetrik ve florimetrik analizlerde kullanılabilmektedir. Bu substratlar, oksidasyon sonucunda spektrofotometrik veya florimetrik olarak izlenebilen renkli bir ürün oluşturan hidrojen vericileridir. Tablo 2.5.4.'te HRP'nin en çok kullanılan substratlarından bazıları sunulmaktadır [175].

Tablo 2.5.4.'te verilen substratlar arasında TMB; renksiz ve daha az toksik olması ve daha kararlı reaksiyon ürünleri oluşturması nedeniyle uygulamalarda sıklıkla tercih edilmektedir. Bunun yanı sıra, yapılan çalışmalar HRP'nin katalitik prosesinde TMB-H₂O₂ ikilisinin geniş

dinamik aralık, yüksek hassasiyet ve düşük tespit limiti ile daha iyi performans sergilediğini göstermektedir [176].

Tablo 2.5.4. HRP için sıklıkla kullanılan substratlar

Substrat		Analiz yöntemi
Genel kullanım adı	Sinonimi	
ABTS	2,2'-Azino-di (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonat)	Spektrofotometrik/ kolorimetrik
Benzidin	4,4'-Diaminobifenil	
TMB	3,3', 5,5'-Tetrametilbenzidin	
DAB	3,3'-Diaminobenzidin	
Guayakol	2-Metoksifenol	
Pirogallol	1,2,3-Trihidroksibenzen	
Fenol	Hidroksibenzen	
p-Krezol	4-Metilfenol	
o-Dianisidin	3,3'-Dimetoksibenzidin	
p-Toluidin	1-Amino-4-metilbenzen	
Tolidin	3,3'-Dimetilbenzidin	
Hidrokinon	1,4-Dihidroksibenzen	
Resorsinol	1,3-Dihidroksibenzen	
Katekol	1,2-Dihidroksibenzen	
4-Aminoantipirin	4-Amino-2,3-dimetil-1-fenil-3-pirazolinon	
p-Anisidin	1-Amino-4-metoksifenol	
o-Fenilendiamin	1,2-Diaminofenol	
Lüminol	3-Aminofital hidrazid	Florimetrik
Ferulik asit	4-Hidroksi-3-metoksisinamik asit	
Kafeik asit	3,4-Dihidroksisinamik asit	

Literatürde önceki yıllarda, TMB'nin H_2O_2 varlığında katalitik oksidasyonunda genellikle biyolojik bir katalizör olan HRP kullanılmaktaydı. HRP, ılımlı koşullar altında yüksek substrat özgünlüğü ve verimi gibi avantajlara sahipken; ekstrem koşullar altında (güçlü asidik ve bazik ortam, yüksek sıcaklık) kararsızdır (katalitik aktivitesi çevresel koşullara oldukça hassastır) ve kolaylıkla denatüre edilir veya proteazlar tarafından sindirilir. Ayrıca, HRP gibi doğal enzimlerin hazırlanması, saflaştırılması ve depolanması genellikle zaman alıcı ve pahalıdır. Bu nedenlerle, son yıllarda HRP gibi biyolojik katalizörlerin kararlılık ve maliyet sorunlarının üstesinden gelmek amacıyla, etkin peroksidaz enzim-mimetikleri arayışlarına girilmiştir. Bu bakımdan enzim-mimetik nanomalzemeler; düşük maliyet, yüksek kararlılık, kolay hazırlama ve uygulanabilirlik, kontrol edilebilir yapı ve bileşim ve ayarlanabilir katalitik aktivite gibi nedenlerle kolorimetrik tespit için ideal ve önemli materyallerin yeni bir sınıfı olarak öne çıkmaktadırlar [177]. Literatürde yapılan çalışmalar; Fe_3O_4 nanopartikülleri [128], Prusya mavisi nanopartikülleri [177], Co_3O_4 -indirgenmiş grafen oksit nanokompoziti [178], silika nanopartikülleri [179], grafen kuantum noktaları/gümüş nanopartikülleri [180], mangan selenid nanopartikülleri [181], MoS_2 nanopartikülleri [182], porfirin fonksiyonelleştirilmiş seryum oksit nanopartikülleri [183], $Fe(III)$ bazlı koordinasyon polimer nanopartikülleri [137], $CuO-Au$ nanoalaşımları [184],

Pd/CoFe₂O₄ nanotüpleri [139], CeO₂/Zeolit nanokompoziti [185] gibi nanomalzemelerin etkin birer peroksidaz benzeri katalizör olarak kullanılabilirliğini göstermektedir. Enzim-mimetik nanomalzemelerin, geleneksel yöntemlerde kullanılan HRP gibi biyolojik enzimlerle rekabet edebilir düzeyde oldukları belirtilmektedir. Ancak günümüzde özellikle biyolojik analiz ve klinik teşhis alanında düşük derişimlerdeki H₂O₂ tespitinin yapılabilmesi ile ilgili araştırmalar halen sürmektedir. Bölüm 2.5.2.4.'te de belirtildiği gibi; vücutta aşırı H₂O₂ üretiminin DNA hasarı, yaşlanma ve nörodejeneratif hastalıklar gibi patolojik değişikliklere neden olabileceğini gösteren birçok çalışma bulunmaktadır [164,168–170]. Ayrıca, literatürde vücutta aşırı H₂O₂ üretiminin kötü huylu tümör, Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı gibi hastalıkların oluşumu ile yakından ilişkili olabileceği belirtilmektedir [164–167]. Ancak, H₂O₂ ile bu hastalıklar arasındaki ilişkiyi aydınlatmakta, H₂O₂'nin karmaşık biyolojik ortamlarda hassas olarak izlenmesi ile ilgili birtakım zorluklarla karşılaşmaktadır [186]. Bu nedenle, enzim-mimetik nanomalzemeler kullanılarak H₂O₂ tespiti yönteminin uygulamasına sınırlama getiren bu durumun iyileştirilmesine/geliştirilmesine yönelik olarak; günümüzde halen enzim-mimetik olarak kullanılacak nanomalzemelerin katalitik aktivitelerinin, hassasiyetlerinin, seçiciliklerinin ve kararlılıklarının artırılması ile ilgili çalışmalar hızla devam etmektedir.

Bu doktora tez çalışmasında; geleneksel yöntemlere kıyasla yukarıda belirtilen avantajlara sahip, tarafımızca geliştirilen yeni nanopartikül sentez yöntemi ile herhangi bir kompozit oluşturmaksızın enzim-mimetik demir içerikli nanopartiküller (FeNPs) sentezlenecek; sentezlenecek FeNPs ile H₂O₂'nin özellikle biyolojik analiz ve klinik teşhis çalışmalarında kolorimetrik tespitinin yüksek hassasiyet, seçicilik ve kararlılıkta yapılabilmesi çalışmaları gerçekleştirilecektir.

2.5.3. Askorbik Asit (AA)'in Kolorimetrik Tespit Çalışmaları

2.5.3.1. Askorbit Asitin Tarihçesi

İlk olarak 1753 yılında İskoçyalı bilim adamı James Lind'in turunçgillerin skorbüt hastalığını önlediğini belirlemesi ile askorbik asit (AA)'in keşfinin yolu açıldı. Lind çalışmasında; 12 skorbüt hastasını 4 gruba ayırdı ve her bir gruba elma, limon, deniz suyu ve portakal verdi ve limon ve protakalın skorbüt hastalığını önlediği sonucuna vardı [187]. Fakat AA ile ilgili ilk bilimsel araştırmalar Holst ve Frolich tarafından ancak 1907 yılında yapılan deneyler ile başladı. Holst ve Frolich, birçok besin maddesinin, özellikle yeşil sebze ve meyvelerin, skorbüt hastalığını önleyici etkileri olduğunu belirlediler. 1912 yılında ise Polonyalı biyokimyacı Casimir Funk, skorbüt hastalığının besinlerde bulunan bir bileşenin eksikliği sonucu oluştuğunu belirledi ve bu bileşene anti-skorbutik vitamin adını verdi. 1920 yılında ise İngiliz biyokimyacı Jack Drummond,

bu bileşen için C vitamini ismini kullandı. Tarihte C vitamini eksikliğinin yol açtığı skorbüt hastalığı nedeniyle birçok üzücü olay yaşandı. Örneğin, 1200'lerde Haçlı Seferleri sırasında skorbüt hastalığı nedeniyle Avrupalı askerler eklem ağrısı, damak şişmesi, diş etinin çekilip düşmesi gibi rahatsızlıklar yaşadı ve sonrasında askerlerin bir kısmı bu rahatsızlıklardan dolayı yaşamını yitirdi. 1497 yılında Vasco da Gama Afrika'nın güneyinden Hindistan'a ulaştığında, 1519 yılında Macellan Güney Amerika keşfinin sonunda; mürettebatlarının %80'ini skorbüt hastalığının sebep olduğu rahatsızlıklardan dolayı hayatlarını kaybettiler. 1911 yılında Güney Kutbu'nun keşfinde Amundsen'in rakibi olan İngiliz R. F. Scott Güney Kutbu'na ulaştığında skorbüt hastasıydı. R. F. Scott Güney Kutbu'na ulaştığında, Amundsen'in kendinden önce Güney Kutbu'nu keşfettiğini görüp dönüş yoluna geçti ve dönüş yolunda Scott ve ekibi skorbüt hastalığı nedeniyle yaşamlarını yitirdiler.

1918-1929 yılları arasında, S. S. Zilva ve çalışma ekibi limondan C vitamini eldesi üzere çalıştılar ve neredeyse saf C vitaminini izole etmeyi başardılar. Bu çalışmalar sırasında, 2,6-diklorofenolindofenolün C vitamini çözeltisi tarafından indirgendiğini de belirlediler. Zilva ve ekibi bu çalışmalarını yürütürken, 1928 yılında Albert Szent-Gyorki portakal, lahana ve hayvanların adrenal bezlerinden C vitamini izole etti; ancak 1932 yılına kadar bu bileşenin C vitamini olduğunu anlayamadı. Szent-Gyorki çalışmasını yayınlamadan, bu çalışmadan habersiz olan King, limon suyundan heksuronik asit ile aynı olduğunu kabul ettiği bir kristal maddeyi izole ettiğini bildirdi. Bundan sonra, Tillmans, Vedder, Nelson, Harris ve Von Vargha gibi birçok araştırmacı C vitamini üzerine çalışmalar yaptılar, vitaminin kimliğini belirlediler ve glikozdan C vitamini sentezi gerçekleştirdiler. Yapılan çalışmalar sonucunda ise Szent-Gyorki'e ithafen C vitaminine askorbik asit adı verildi. Askorbik asit ve vitamin C, günümüzde sıklıkla kullanılan iki isim iken; AA'nın tarihsel gelişimi sırasında antiskorbutik vitamin, cevitamik asit, heksuronik asit, redoxon ve skorbutamin gibi birçok isimle adlandırıldı [188].

2.5.3.2. Askorbik Asitin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Askorbik asit; oksidatif stresin yıkıcı etkilere karşı hücreleri koruyan, suda çözünebilen, reaktif oksijen ve nitrojen türlerini temizleyici önemli bir antioksidandır. L-askorbik asit; Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği'nin (International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC) Biyokimyasal Nomenklatur İsimlendirme Komitesi (Commission on Biochemical Nomenclature) tarafından kabul edilen ve C vitamini yerine sıklıkla kullanılan bir terimdir. Sistematik isimlendirmesi 2,3-enediol-L-glukonik asit- γ -lakton'dur. %100 veya buna yakın daha az bir oranda L-askorbik asit aktivitesi gösteren bileşikler, C vitamini kapsamına girmektedir [189]. Bu bileşikler; göreceli olarak %100 oranında aktivite gösteren askorbik asidin esterleşmiş formu olan askorbil palmitat, %33 oranında aktivite gösteren 6-deoksi-L-askorbik

asit ve L-askorbik asidin primer okside ürünü olan dehidroaskorbiktir. L-askorbik asit ve dehidroaskorbik asit; C vitaminin ana kaynaklarını oluşturmaktadır [190].

AA'nın fiziksel ve kimyasal özellikleri Tablo 2.5.5.'te verilmektedir [188–190].

Tablo 2.5.5. H₂O₂'nin fiziksel ve kimyasal özellikleri

Kimyasal formülü	C ₆ H ₈ O ₆
Molekül kütlesi	176.124 g/mol
Görünüşü	Beyaz veya açık sarı katı
Yoğunluk	1.65 g/mL
Erime noktası	190-192 °C (374-378 °F; 463-465 K)
Çözünürlük	Su (330 g/L), etanol (20 g/L), gliserol (10 g/L), propilen glikol (50 g/L)'de çözünür Dietil eter, kloroform, benzen, petrol eteri ve yağlarda çözünmez

2.5.3.3. Askorbik Asitin Kullanım Alanları

Askorbik asit (C vitamini), suda çözünebilen güçlü bir antioksidan maddedir. Güçlü antioksidan özelliği ile toksik serbest radikalleri ve diğer reaktif oksijen türlerini etkin biçimde yok edebilir ve böylelikle insan vücudunu oksidatif strese karşı koruyabilir. Bu özelliğinden dolayı; yiyecek, içecek, kozmetik ve farmasötik formülasyonlarda etkin bir antioksidan madde olarak kullanılmaktadır. Aşağıda, AA'nın sıklıkla kullanıldığı gıda endüstrisindeki birkaç kullanım alanı sıralanmaktadır [190]:

- Bira endüstrisinde, bulanıklığı engelleyerek biranın raf ömrünü uzatan antioksidan bir madde olarak kullanılır.
- Et endüstrisinde, rengin uzun süre kalıcılığını sağlayan koruyucu bir ajan olarak kullanılır.
- Geliştirici bir ajan olarak fırıncılıkta kullanılır.
- Meyve posası ve sularında renk solmasının önlenmesi amacıyla yardımcı ajan olarak kullanılır.
- Gıda sektöründe donmuş yumurta ürünleri, tereyağı, donmuş patates, toz ve konsantre süt gibi ürünlerde koruyucu ve asit düzenleyici olarak kullanılır.
- Sodyum askorbat ve potasyum askorbat olmak üzere iki adet tuzu olan askorbik asit, özellikle konserve veya şişelenmiş ürünler gibi tepe boşluğu olan ürünlerde oksijen tutucu olarak kullanılır.
- Askorbik asit, oksijeni absorblayarak tersinir bir tepkime ile dehidroaskorbik asite dönüştürmektedir. Bu önemli işlev; et ve deniz ürünlerinde ransiditeyi, sütte

arzu edilmeyen koku gelişimini, meyve ve sebzelerde oksidatif esmerleşmeyi önleyici etki yapmaktadır.

- İçecek ürünleri, hayvan yemleri ve vitamin preparatlarında katkı maddesi olarak C vitamini kullanılır.

İnsan vücudunda AA'nın biyosentezi için gerekli gulonolakton oksidaz enziminin bulunmamasından dolayı, insanlar AA'yı metabolik olarak üretemezler; bu nedenle meyve ve sebzelerde doğal olarak bulunan AA'yı haricen vücutlarına alırlar. AA'nın bağışıklık sisteminin korunmasında çok önemli bir rolü olduğundan, sebze/meyve veya takviye ilaç yoluyla vücuda alınması önemle tavsiye edilir. AA'nın insan vücuduna dışarıdan alınması, eczacılıkta ve gıda endüstrisinde önemli bir katkı maddesi olarak kullanılmasına da neden olmaktadır.

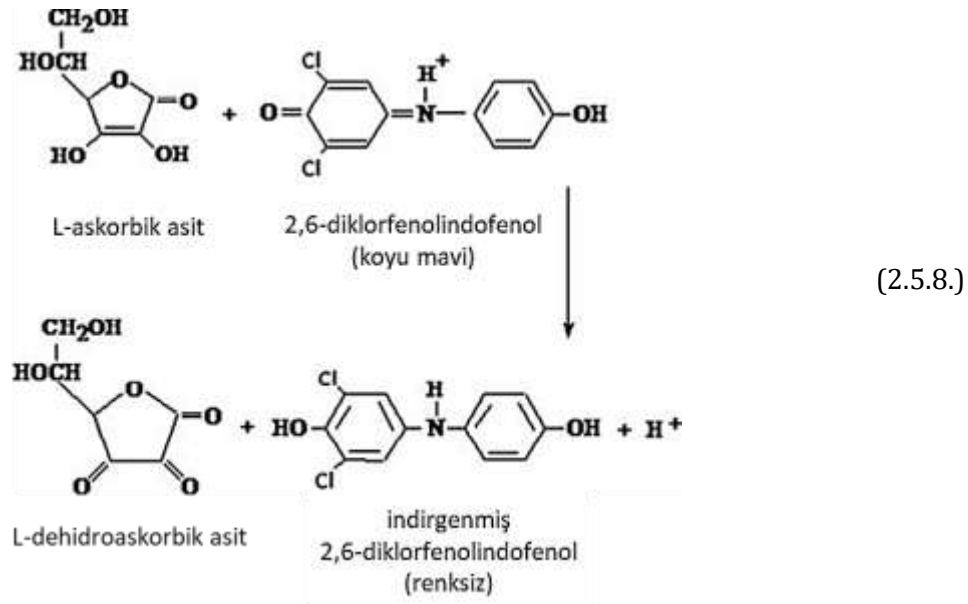
AA aynı zamanda skorbüt hastalığı, anemi, diş eti iltihabı, kanser, kalp-damar hastalıkları, gut, soğuk algınlığı, akıl hastalıkları, kısırlık, ilaç zehirlenmesi, karaciğer hastalıkları, alerjik reaksiyonlar, diyabet ve AIDS'in önlenmesi ve tedavisinde de kullanılabilir. Ayrıca; kolajen karnitin, nörotransmitter oluşumu, amino asit metabolizması, iyon Emilimi vb. birçok fizyolojik ve biyolojik süreçte enzimatik kofaktör olarak görev yapmaktadır [191].

2.5.3.4. Askorbik Asitin Tayin Yöntemleri

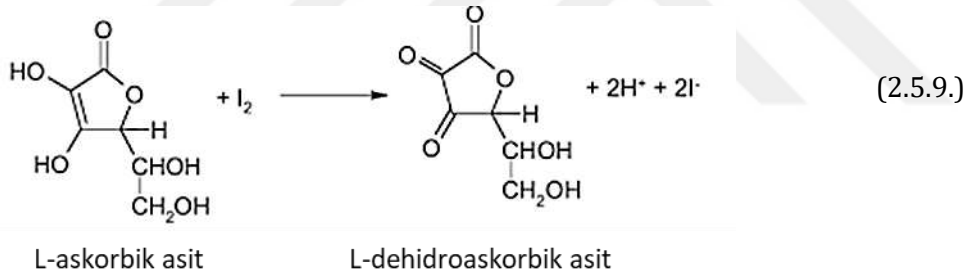
AA derişimi, merkezi sinir sisteminde milimolar seviyelerinde iken; sağlıklı insan vücudunun plazmasında veya serumunda bu miktar yaklaşık olarak 40-120 μM aralığındadır. AA, insan vücudu için gerekli olmasına rağmen; vücutta aşırı AA seviyeleri sağlığa zararlıdır ve mide tahrişine ve böbrek rahatsızlıklarına neden olabilir. Bu nedenle, AA derişiminin hızlı, hassas, seçici ve doğru tespiti ve kantitatif analizi; gıda endüstrisi, farmasötik analiz ve klinik teşhis çalışmaları için oldukça önemlidir [192].

AA tayini için; titrimetrik, spektrofotometrik ve kromatografik gibi geleneksel yöntemler bulunmaktadır. Aşağıda bu yöntemler açıklanmaktadır.

1. Titrimetrik yöntemler: AA tayininde kullanılan en eski yöntemlerden biridir. Bu yöntemlerin hassasiyeti ve seçicilikleri düşüktür; bu nedenle, örnekte var olan diğer indirgeyici ajanların girişimine elverişlidir. Bu yöntemlerden bir tanesi; AA'nın kuvvetli bir indirgen olması nedeniyle Eşitlik (2.5.8.)'de verilen reaksiyona göre; 2,6-diklorfenolindofenol boya çözeltisi ile yapılan titrasyon sonucu dehidroaskorbik asitin oluşması ilkesine dayanır. Burada, 2,6-diklorfenolindofenol reaksiyon öncesinde koyu mavi renkli iken, titrasyon reaksiyonu sonucunda AA ile indirgenmesiyle renksiz indirgenmiş formu oluşur. Bu noktada titrasyon sona erdirilir ve AA miktarı hesaplanır [193].



Diğer bir titrasyon yönteminde ise; AA iyot tarafından yükseltgenerek aşağıdaki reaksiyona (Eşitlik (2.5.9.)) göre dehidroaskorbik aside dönüştürülür. Bu yöntemde tüm AA ile iyot reaksiyona girdikten sonra, ortamda kalan fazla iyot nişasta indikatörü ile reaksiyona girer ve renkli bir kompleks oluşur. Bu noktada titrasyon sona erdirilir ve AA miktarı hesaplanır.



2. Spektrofotometrik yöntemler: AA tayininde en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir. Bunlardan bir tanesi, 2,4-dinitrofenil hidrazin'in kullanıldığı spektrofotometrik yöntemdir. Bu yöntemde; AA dehidroaskorbik aside dönüşürken, 2,4-dinitrofenil hidrazin ise 2,4-dinitrofenil hidrazon'a dönüşür. Oluşan 2,4-dinitrofenil hidrazon reaksiyon ürünü %85'lik sülfirik asitte çözündüğünde çözeltiye kırmızı renk verir ve bu renkli çözelti spektrofotometrede 520-525 nm dalga boyu aralığında maksimum absorpsiyon verir. Oluşturulan kalibrasyon doğrusu ile AA'nın dolaylı yoldan derişimi hesaplanır. Bu yöntemin dezavantajı glukoz, fruktoz ve glukuronik asitin de fenil hidrazon oluşum reaksiyonu vererek, yöntemde etkileşim yaratmasıdır. Bu yöntem esnasında meydana gelen zorluklardan bir tanesi ise fenil hidrazonun ayrılması için ince tabaka kromatografisine ihtiyaç duyulmasıdır.

Diğer bir spektrofotometrik yöntem ise, L-askorbat oksidazın kullanıldığı yöntemdir. Bu yöntemde; L-askorbat oksidaz enzimi, AA'nın dehidroaskorbik aside dönüşmesini sağlar ve burada dehidroaskorbik asitin konsantrasyonuna bağlı olarak 265 nm dalga boyundaki

maksimum absorbans değerindeki düşüşün spektrofotometrik olarak ölçülmesiyle analiz gerçekleştirilir. AA miktarı, toplam AA miktarından dehidroaskorbik asitin çıkarılması ile de belirlenebilir. Bu yöntemde AA dolaylı yoldan tespit edilir ve tespit limiti 0,5 µmol/L'dir.

Bir diğer spektrofotometrik yöntem ise AA'nın demir iyonunu indirgemesi temeline dayanmaktadır. AA ile çeşitli demir iyonu içeren bileşiklerin arasındaki reaksiyon sonucu oluşturulan renkli komplekslerin absorbans değerlerinin spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile AA miktarının tayin edildiği bu yöntemler oldukça zaman alıcı ve karmaşıktır [193].

3. Kromatografik yöntemler: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi, gaz kromatografisi ve iyon kromatografisi gibi birçok kromatografik AA tayin yöntemi bulunmaktadır [193].

Yukarıda açıklanan geleneksel analitik yöntemlerin yanı sıra son zamanlarda elektrokimyasal [194,195], kolorimetrik [196–198], floresan [199,200] ve kemilüminesans gibi birçok yöntem geliştirildi. Geleneksel yöntemlerin; karmaşık ekipman, kalifiye uzman, karmaşık numune ön hazırlaması, yüksek maliyetli reaktif gereksinimleri gibi dezavantajları bulunmaktadır. Diğer yöntemler arasında; yüksek hassasiyet, basitlik ve kolay uygulanabilirlik açısından kolorimetrik yöntemler birçok alanda sıklıkla tercih edilmektedirler. Kolorimetrik yöntemin uygulanabilirliği, tespit olaylarını renk değişimlerine dönüştüren katalizörlerin katalitik verimliliğine büyük oranda bağlıdır. Bu bağlamda, kolorimetrik tespitlerde kullanılan katalizörlerin (çoğunlukla doğal enzimler); katalitik aktivitelerinin çevresel koşullara duyarlılıkları, denatürasyon ve sindirim nedeniyle düşük kararlılıkları, hazırlama ve saflaştırmalarındaki yüksek maliyetleri gibi sorunlar kolorimetrik yöntemlerin kullanımlarını büyük ölçüde sınırlandırmaktadır. Bu nedenlerle bu tip katalizörlerin dezavantajlarının üstesinden gelmek amacıyla; yüksek aktiviteye sahip, ucuz, çevre dostu, sentezi basit, ekstrem koşullarda yüksek kararlılığa sahip enzim-mimetik malzemeler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu bakımdan; enzim-mimetik nanomalzemeler; yüksek kararlılık, kolay hazırlama ve uygulanabilirlik, kontrol edilebilir yapı ve bileşim ve ayarlanabilir katalitik aktivite gibi nedenlerle kolorimetrik tespit için uygun alternatiflerdir [177]. Özellikle düşük derişimlerdeki AA miktarlarının yüksek hassasiyet ve kararlılıkta doğru ve kolay bir şekilde tespit edilebilmesi ile ilgili araştırmalar halen sürmektedir. Bu kapsamda; literatürde altın nanopartikülleri [201], gümüş nanomalzemeleri [197], poli (stiren sülfonat) ile fonksiyonelleştirilmiş indirgenmiş grafen oksit nanomalzemeleri [202], karbon dotları/Fe₃O₄ hibrid nanofiberleri [135], Fe₃O₄/azot doplanmış karbon hibrid nanofiberleri [134], CoOOH nanomalzemeleri [203,204], MnO₂ nanomalzemeleri [205], Cu-Ag bimetallik nanokompozitleri [206], Pt/CeO₂ nanokompozitleri [192]'nin AA'nın kolorimetrik tespitinde etkin olarak kullanılabildikleri belirtilmektedir. Bu çalışmaların bir kısmında AA'nın kolorimetrik tespiti, doğrudan bu tip nanomalzemeler ile yapılırken; birçoğunda ise dolaylı yoldan TMB'nin oksidasyonu veya TMB oksidasyonu ile

H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitini takiben yapılmaktadır. Doğrudan tespit çalışmalarında, genellikle malzemelerin indirgeme özelliklerinden yararlanılarak doğrudan AA'nın kolorimetrik tespiti yapılmaktadır. Dolaylı yoldan yapılan tespit çalışmalarında ise; AA'nın antioksidan özelliğinden yararlanılarak H_2O_2 olmadan TMB'nin oksidasyonu veya TMB oksidasyonu ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitini takiben AA'nın tespitinin yapılması söz konusudur. Buna göre; hem H_2O_2 olmadan TMB'nin oksidasyonunda hem de TMB oksidasyonu ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitine dayalı yöntemde öncelikle enzim-mimetik nanomalzeme katalizörlüğünde TMB'nin katalitik oksidasyonu ile renkli bir çözelti elde edilmekte, daha sonra ortama antioksidan AA'nın eklenmesi ile TMB'nin oksidasyonu bastırılmakta ve çözelti renksizleşmektedir. Böylelikle hem H_2O_2 'nin hem de AA'nın tespitinin yapılması mümkün olabilmektedir.

Bu doktora tez çalışmasında; tarafımızca geliştirilen yeni nanopartikül sentez yöntemi ile enzim-mimetik demir içerikli nanopartiküller (FeNPs) sentezlenecek ve karakterize edilecek; sentezlenecek FeNPs kullanılarak TMB oksidasyonu ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitini takiben AA'nın tespitinin yüksek hassasiyet, seçicilik ve kararlılıkta yapılabilmesi çalışmaları gerçekleştirilecektir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu doktora tez çalışması kapsamında yapılması öngörülen çalışmalar için kullanılan deneysel yöntemler, analiz yöntemleri, veri analizi ve modellemeler ile ilgili ayrıntılar, Bölümler halinde Tablo 3.1.'de sunuldu.

Tablo 3.1. Doktora tez çalışmasının kapsamı

#	Yapılan Çalışmanın Özeti	Ayrıntılı Açıklamalar
BÖLÜM 3.1.	Bünyesinde metal birikimi yapabilen bir bitki türünün araştırılması	Çalışmanın amacına uygun öncelikle ağır metal biyoakümütor/hiperakümülatör bitkilerin neler olduğu konusunda bilgi sahibi olmak için geniş bir literatür taraması yapıldı. Bu konuda özellikle Mersin Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Jeoloji Mühendisliği Bölümü öğretim üyesi Dr. Öğretim Üyesi Zeynep ÖZDEMİR'in bilgi ve deneyimlerinden yararlanıldı. Dr. Öğretim Üyesi Zeynep ÖZDEMİR tarafından yapılan bir çalışma referans alınarak, Mersin ili Musalı bölgesinde bulunan Minsan Madencilik kromit (FeCr_2O_4) yatağı işleme sahası içerisinde yetişen <i>Pinus brutia</i> (Kızılçam) bitkisinin ağır metal içeriği belirlendi. Yüksek demir içerikli olduğu belirlenen bu bitkiden elde edilen liç çözeltisi, nanopartikül sentezinde sentetik demir içerikli çözelti yerine kullanıldı.
	<i>Pinus brutia</i> 'dan metal içerikli liç çözeltisi hazırlanması ve analizi	Mersin ili Musalı bölgesinde bulunan Minsan Madencilik kromit (FeCr_2O_4) yatağı işleme sahası içerisinde yetişen <i>Pinus brutia</i> bitkisinin dal ve yaprakları toplandı. Toplanan dal ve yapraklardan liç yöntemi ile bir çözelti hazırlandı ve ICP-MS cihazı ile analizlendi. ICP-MS analizi ile hazırlanan çözeltinin demir içeriğinin yüksek olduğu ve bu nedenle <i>P. brutia</i> bitkisinin demir hiperakümülatörü bir bitki olduğu belirlendi.
BÖLÜM 3.2.	Demir içerikli liç çözeltisi ile demir nanopartikül (FeNPs) sentezi ve karakterizasyonu	<i>P. brutia</i> 'dan hazırlanan ve demir derişimi yüksek olan liç çözeltisi ile NaBH_4 'ün birleştirilmesi ile FeNPs sentezi gerçekleştirildi. Sentezlenen FeNPs'nin UV-vis, FT-IR, XRD, XPS, VSM, BET, DSC, TGA/DTA, TEM, SEM ve EDX cihazları ile karakterizasyonu yapılarak yapısı belirlendi.
BÖLÜM 3.3.	FeNPs sentezi sırasında hidrojen gazı ($\text{H}_{2(g)}$) üretimi	FeNPs sentezi sırasında $\text{H}_{2(g)}$ üretiminin de olduğu belirlendi. Bu prosese sıcaklık, pH, NaBH_4 miktarı, PVP miktarı gibi çevresel koşulların etkisi araştırılarak optimum ortam koşulları belirlendi. FeNPs sırasında gerçekleşen $\text{H}_{2(g)}$ üretimi mekanizması aydınlatıldı. FeNPs sırasında gerçekleşen $\text{H}_{2(g)}$ üretiminin termodinamik değerlendirmesi yapıldı.
BÖLÜM 3.4., 3.5., 3.6.	FeNPs'nin kullanım alanlarının araştırılması	FeNPs'nin antibakteriyel aktivitesinin araştırılması FeNPs'nin kolorimetrik H_2O_2 tespitinde kullanılabilirliğinin araştırılması Askorbik asit (AA)'in dolaylı kolorimetrik tespitinde FeNPs'nin kullanılabilirliğinin araştırılması

#	Yapılan Çalışmanın Özeti	Ayrıntılı Açıklamalar
BÖLÜM 3.4	FeNPs'nin antibakteriyel aktivitesinin araştırılması	<i>Salmonella enteritidis</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> O157:H7, <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922), <i>Staphylococcus aureus</i> ve <i>Salmonella typhimurium</i> bakterilerine karşı FeNPs'nin antibakteriyel aktivitesi, uyarlanmış agar disk yöntemi ile değerlendirildi.
BÖLÜM 3.5.	FeNPs'nin kolorimetrik H_2O_2 tespitinde kullanılabilirliğinin araştırılması	FeNPs'nin, H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde peroksidaz benzeri bir katalizör olarak kullanılabilirliği araştırıldı. Bu prosese pH, asetat tamponu:TMB (v:v) oranı, sıcaklık, H_2O_2 derişimi, katalizör miktarı gibi çevresel koşulların etkisi araştırıldı. Bu prosesin kinetik analizi yapıldı. FeNPs'nin H_2O_2 için minimum tespit sınırı belirlendi. Bu proseste kullanılan FeNPs'nin kararlılığı ve seçiciliği araştırıldı. FeNPs ile kolorimetrik H_2O_2 tespit yönteminin doğruluk analizi yapıldı.
BÖLÜM 3.6.	Askorbik asit (AA)'in dolaylı kolorimetrik tespitinde FeNPs'nin kullanılabilirliğinin araştırılması	FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitine en fazla etkileşimin askorbik asitte olduğu belirlendi ve dolayısıyla bu kolorimetrik yöntemde ortama AA eklenmesi sonucu oluşacak absorbans düşüşü esas alınarak, askorbik asitin dolaylı yoldan tespitinin yapılabileceği sonucuna varıldı. FeNPs'nin AA için minimum tespit sınırı belirlendi. Bu proseste kullanılan FeNPs'nin seçiciliği araştırıldı. Bu yöntemin doğruluk analizi yapıldı.

3.1. *Pinus brutia* Örneklerinin Toplanması ve Liç Çözeltilisinin Hazırlanması

Pinus brutia'nın dal ve yaprak örnekleri, Mersin ili Musalı bölgesinde bulunan Minsan Madencilik'in kromit ($FeCr_2O_4$) yatağı işletme sahası içerisinde toplandı. İşletme sahası içerisinde çeşitli koordinatlarda çekilen, *P. brutia*'nın bulunduğu alanları gösteren fotoğraflar Şekil 3.2.1.'de sunuldu.



Şekil 3.2. 1. Minsan Madencilik'in kromit ($FeCr_2O_4$) yatağı işletme sahası içerisinde çeşitli koordinatlarda çekilen, *P. brutia*'nın bulunduğu gösteren fotoğraflar alanları

a) 36.9709 °K, 34.6007 °D; b) 36.9712 °K, 34.6000 °D; c) 36.9718 °K, 34.6048 °D; d) 36.9769 °K, 34.6089 °D; e) 36.9727 °K, 34.6006 °D

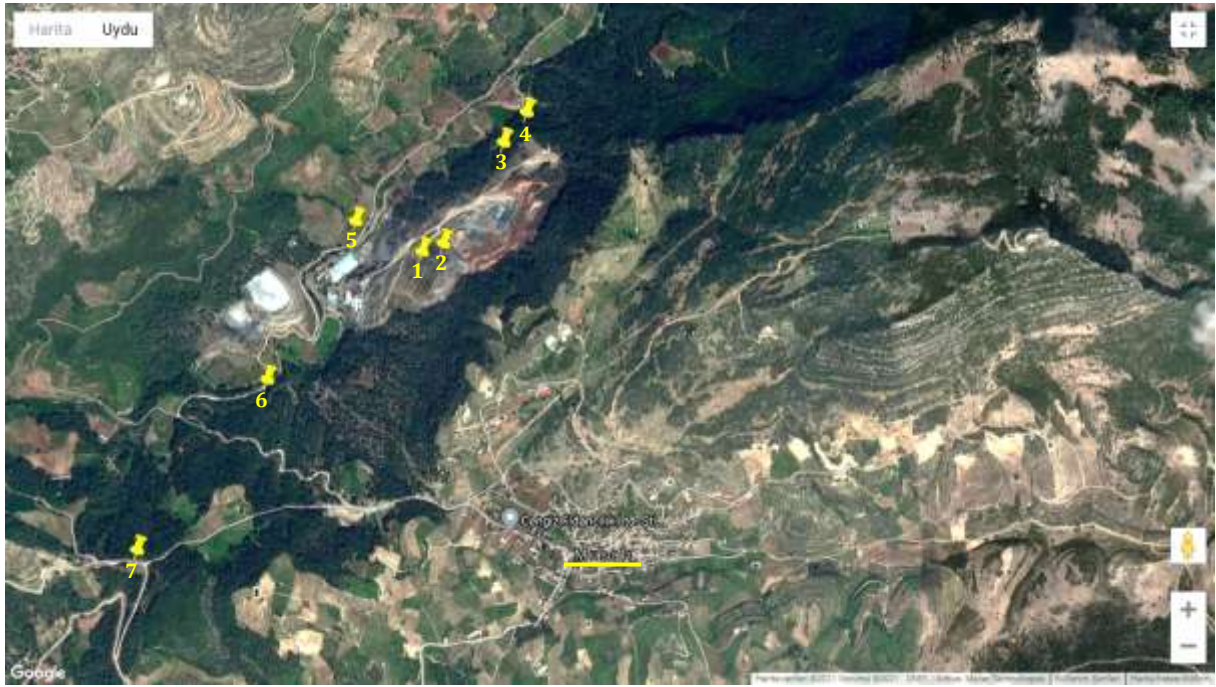


Şekil 3.2.1. (devam) Minsan Madencilik'in kromit (FeCr_2O_4) yatağı işletme sahası içerisinde çeşitli koordinatlarda çekilen, *P. brutia*'nın bulunduğu alanları gösteren fotoğraflar
a) 36.9709 °K, 34.6007; **b)** 36.9712 °K, 34.6000 °D; **c)** 36.9718 °K, 34.6048 °D; **d)** 36.9769 °K, 34.6089 °D; **e)** 36.9727 °K, 34.6006 °D

Mersin ili Musalı bölgesinde bulunan Minsan Madencilik'in kromit (FeCr_2O_4) yatağı işletme sahası içerisinde yetişen *P. brutia*'nın toplandığı koordinatlar Tablo 3.2.1.'de ve toplandığı alanı gösteren Google Earth uydu görüntüsü Şekil 3.2.2.'de verildi. Şekil 3.2.2.'deki uydu görüntüsünü ayrıntılı incelemek için "<https://earth.google.com/web/search/36.96+34.61/@36.96651498,34.60280987,518.37712523a,3449.56698455d,30y,0h,0t,0r/data=CigilgokCcPn9bqmFEJAEbY7tgf1e0JAGX53pey3TUFAIQBcfpi rSOFA>" adresi ziyaret edilebilir.

Tablo 3.2.1. *P. brutia*'nın toplandığı koordinatlar

#	Enlem (K)	Boylam (D)
1	36.9715	34.6039
2	36.9718	34.6048
3	36.9758	34.6077
4	36.9769	34.6089
5	36.9727	34.6006
6	36.9666	34.5963
7	36.9600	34.5900

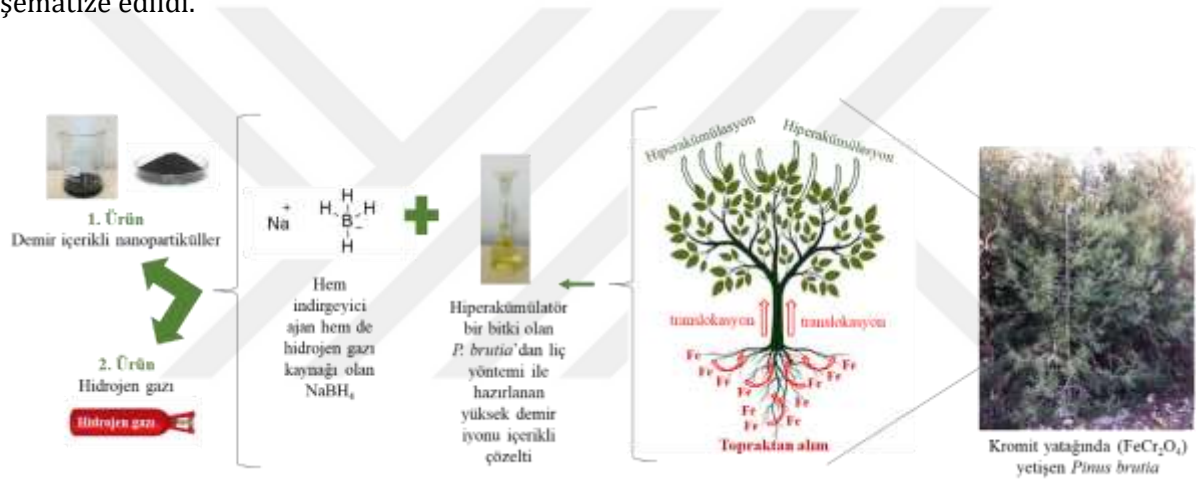
**Şekil 3.2.2.** *P. brutia*'nın 7 farklı koordinattan toplandığı alanı gösteren Google Earth uydu görüntüsü

6 ve 7 numaralı koordinatlardaki *P. brutia* bitkileri, kromit (FeCr_2O_4) yatağı işletme sahası içerisinde bulunmayıp, yol kenarında yetişmişlerdir. Buna bağlı olarak, bu koordinatlarda yetişen *P. brutia* bünyesinde daha az demir iyonu biriktiği düşünülmektedir. Bu nedenle deneylerde; 1-5 numaralı koordinatlardan toplanan *P. brutia* bitkisinin dal ve yaprakları eşit oranda karıştırılarak kullanıldı.

P. brutia bitkisinden liç çözeltisi hazırlanması amacıyla; Mersin ili Musalı bölgesindeki Minsan Madencilik'in kromit (FeCr_2O_4) yatağı işletme sahası içinde 1-5 numaralı koordinatlardan toplanan *P. brutia* bitkisinin dal ve yaprakları birbirinden ayrıldı ve kirliliklerinden arındırılması amacıyla önce çeşme suyu daha sonra saf su ile yıkandı. Kirliliklerinden arındırılan dal ve yapraklar, 60 °C'de çalışan bir etüvde sabit tartıma gelinceye kadar kurutuldu, kurutulan dal ve yaprak örneklerinden ayrı ayrı 8.0'er g, dal ve yaprak örneklerinin karışımından liç çözeltisi hazırlanması durumunda ise dal ve yaprak örneklerinden 2.0'şer g; karışım halinde toplamda 4.0

g olacak şekilde tartılıp porselen krezellerin içerisinde 550 °C'deki kül fırınında 10 saat süre ile yakıldı. Yakma sonucu elde edilen küllerin üzerine 20 mL derişik HNO₃ (%65 v:v) çözeltisi eklenip, ısıtıcı tabla üzerinde küller kuruyuncaya kadar HNO₃ çözeltisi buharlaştırıldı. Kalıntı üzerine 20 mL derişik HCl çözeltisi (%37 v:v) eklendi ve çözünmeyen kalıntının uzaklaştırılması amacıyla elde edilen çözelti mavi bant süzgeç kâğıdından süzöldü. Süzölen çözelti, balon joje içerisinde saf su ile 1.0 L hacme tamamlandı [31]. Bu şekilde hazırlanan liç çözeltisinin içeriğı İndüktif Olarak Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi (ICP-MS) ile analiz edildi.

Çalışmanın bir sonraki aşamasında; *P. brutia*'dan liç yöntemi ile hazırlanan çözelti ile sodyum bor hidrür (NaBH₄)'ün bir araya getirilmesi ile eş zamanlı olarak demir içerikli nanopartiköller (FeNPs) sentezlendi ve hidrojen gazı (H_{2(g)}) üretimi gerçekleştirildi. *P. brutia*'dan liç çözeltisi hazırlanması ve eş zamanlı olarak FeNPs oluşumu ve H_{2(g)} üretimi Şekil 3.2.3.'te şematize edildi.



Şekil 3.2.3. *P. brutia*'dan liç çözeltisi hazırlanması ve eş zamanlı olarak FeNPs oluşumu ve H_{2(g)} üretimi

3.2. Demir İçerikli Nanopartiköl (FeNPs) Sentezi ve Karakterizasyonu

1-5 numaralı koordinatlardan toplanan *P. brutia*'nın dal ve yaprak karışımı ile yukarıda belirtildiğı şekilde hazırlanan demir içerikli liç çözeltisinin kullanıldığı FeNPs sentezi; indirgeyici ajan olarak NaBH₄'ün kullanıldığı kimyasal indirgeme prensibine göre gerçekleştirildi. Buna göre; 50 mL hacimli erlen içerisinde alınan doğal pH (≈1.18) değeriindeki 20 mL liç çözeltisi bir ısıtıcı üzerine alınarak 65 °C sıcaklığa kadar ısıtıldı, istenilen sıcaklığa ulaşan liç çözeltisi içerisinde 0.70 g NaBH₄ ilave edildi, sentez sonucunda elde edilen ve nanopartiköl içeren koyu siyah renkli karışım 30 dakika süre ile 1000 rpm hızında manyetik olarak karıştırıldı. Daha sonra karışım 6000 rpm hızında 5.0 dakika süre ile santrifüjlenerek katı nanopartiköller sıvı kısımdan ayrıldı. Sıvı kısımdan ayrılan demir içerikli nanopartiköller (FeNPs), saf etanol ile yıkandı ve deneylerde kullanılabilecek kadar saf etanol içerisinde +4.0 °C'deki buzdolabında saklandı [207].

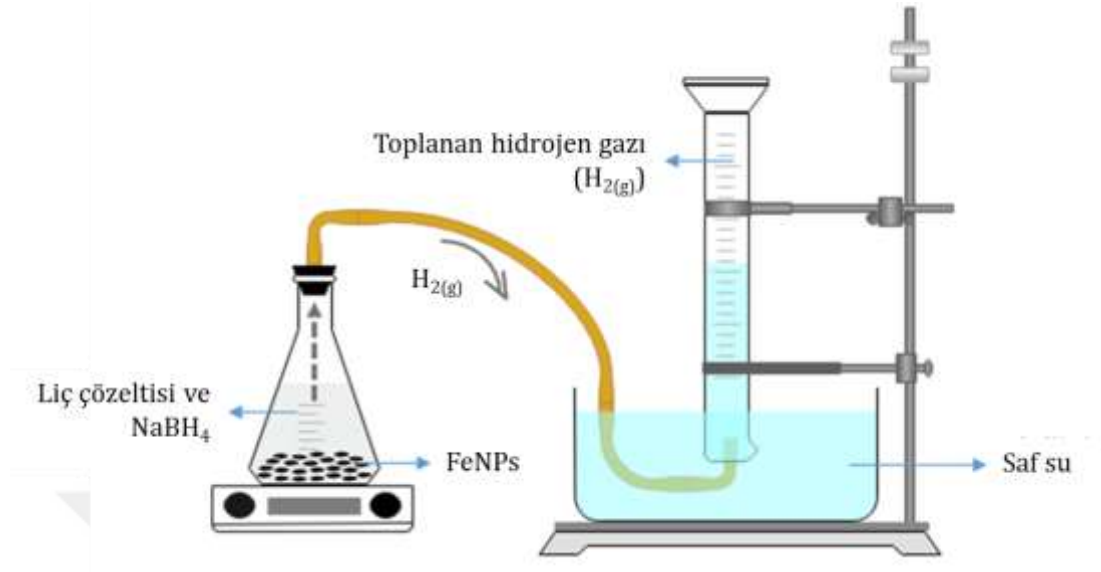
Sentezlenen FeNPs'nin karakterizasyonu UV-vis, FT-IR (Fourier Transform Infrared Spektrofotometer), XRD (X-ray Diffraction), XPS (X-ray Photoelectron Spectroscopy), VSM (Vibrating-Sample Magnetometer), BET yüzey alanı (Brunauer-Emmett-Teller), DSC (Differential Scanning Calorimetry), TGA/DTA (Thermogravimetric Analysis / Differential Thermogravimetric Analysis), TEM (Transmission Electron Microscopy) ve EDX (Energy Dispersive X-Ray) analizleri ile gerçekleştirildi. UV-vis analizi hariç diğer analizlerin yapılabilmesi için sentezlenen FeNPs 80 °C'de çalışan etüvde 24 h kurutuldu. Ayrıca, FeNPs'nin; sıcaklık (30-65 °C), pH (doğal pH ($\approx$ 1.18)-5.5), NaBH₄ miktarı (0.175-0.625 g), PVP miktarı (0.025-0.50 g) gibi farklı sentez koşullarındaki yüzey özellikleri SEM (Scanning Electron Microscopy) analizi ile incelendi. Bu analizlerden SEM, EDX, XRD ve BET yüzey analizi Mersin Üniversitesi İleri Teknoloji Eğitim, Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde; VSM, DSC ve TGA/DTA analizleri Çukurova Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı'nda; FT-IR, XPS ve TEM analizleri Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi.

3.3. Demir Nanopartikül (FeNPs) Sentezi Sırasında Hidrojen Gazı (H_{2(g)}) Üretimi

FeNPs sentezi sırasında, demir içerikli liç çözeltisine NaBH₄'ün eklenmesinin ardından FeNPs oluşumu ile eş zamanlı olarak üretilen H_{2(g)} hacmi; ters mezür yöntemi ile suyun yer değiştirme prensibine göre belirlendi [208]. Eş zamanlı FeNPs sentezi ve H_{2(g)} üretimi deney sistemi Şekil 3.3.1.'de sunulduğu gibidir. Buna göre; öncelikle 5.0 L kapasiteli plastik bir kap 2.0 L saf su ile dolduruldu, daha sonra saf su ile doldurulan 1.0 L hacimli mezür tablalı demir bir spor ve tutucuları yardımıyla saf su dolu plastik kap içerisine ters bir şekilde konumlandırıldı. Diğer taraftan, 20 mL liç çözeltisi 50 mL hacimli bir erlen içerisine alındı ve istenilen pH değerine ayarlanıp istenilen sıcaklığa gelene kadar bir ısıtıcı üzerinde ısıtıldı, istenilen sıcaklığa ulaşan liç çözeltisi manyetik olarak 1000 rpm hızında karıştırılırken içerisine istenilen miktarda NaBH₄ ve PVP ilave edilerek erlenin ağzı bir tıpa yardımıyla kapatıldı. Kullanılan tıpa kauçuk 0.5 cm çapında delikli bir tıpadır ve tıpanın delik kısmına cam bir silindir, onun üzerine de yaklaşık 50 cm uzunluğunda kauçuk elastik bir hortum yerleştirildi. Herhangi bir gaz kaçağının önlenmesi amacıyla tıpanın cam silindir yerleştirilen kısmının etrafı parafilm ile sarıldı. Hortumun diğer ucu saf su dolu plastik kap içerisine ters bir şekilde yerleştirilen saf su dolu mezürün içerisine yerleştirildi. Bu prosese göre; liç çözeltisi içerisine NaBH₄ eklenmesi ile FeNPs oluşurken, aynı zamanda H_{2(g)} çıkışı olmakta ve FeNPs oluşumu ile eş zamanlı olarak üretilen H_{2(g)} mezür içerisindeki saf su ile yer değiştirmektedir.

H_{2(g)} üretimine etki eden sıcaklık (30-65 °C), pH (doğal pH ($\approx$ 1.18)-5.5), NaBH₄ miktarı (0.175-0.625 g), PVP miktarı (0.025-0.50 g) gibi çevresel koşulların etkisi bir değişkenin

değiştirilip diğer faktörlerin sabit tutulması yöntemi ile araştırıldı, her bir koşulda zamanla üretilen $H_{2(g)}$ hacimleri not edildi ve bu prosese ait optimum ortam koşulları belirlendi.



Şekil 3.3.1. Eş zamanlı FeNPs sentezi ve $H_{2(g)}$ üretimi deney sistemi

3.3.1. *P. brutia*'dan Hazırlanan Liç Çözeltisi İçerisindeki Demir İyonu Haricindeki Diğer Bileşenlerin FeNPs Sentezi Sırasındaki $H_{2(g)}$ Üretimine Etkisinin Araştırılması

FeNPs sentezi sırasında $H_{2(g)}$ üretiminde kullanılan *P. brutia*'dan hazırlanan liç çözeltisi içerisindeki demir hariç diğer bileşenlerin $H_{2(g)}$ üretimine etkisinin araştırılması amacıyla çeşitli demir iyonu kaynaklarından ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ve $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$) sentetik çözeltiler hazırlandı ve hazırlanan bu çözeltiler ile $H_{2(g)}$ üretimi deneyleri yapıldı. Bu amaçla, üç tane 50 mL hacimli erlene ayrı ayrı olacak şekilde 13.81 mg/L demir iyonu içeren 20 mL hacminde liç çözeltisi, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ve $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ sentetik çözeltileri alındı. Liç çözeltisi hariç diğer iki sentetik demir içerikli çözeltilerin pH değerleri 1.18'e ayarlandı. İstenen pH değerinde olan çözeltiler ısıtıcı üzerine alınarak 65 °C sıcaklığa kadar ısıtıldı. Daha sonra her bir erlen içerisindeki çözeltiliye 0.70 g $NaBH_4$ eklenerek erlenlerin ağzı tıpa yardımıyla kapatıldı ve üretilen $H_{2(g)}$ hacimleri; Bölüm 3.3.'te açıklanan ters mezür yöntemi ile suyun yer değiştirme prensibine göre belirlendi.

3.3.2. FeNPs Sentezi Sırasında $H_{2(g)}$ Üretimi Kinetiği

FeNPs sentezi sırasında $H_{2(g)}$ üretiminin reaksiyon kinetiği, farklı sıcaklıklarda kesikli sistemde gerçekleştirilen deneysel çalışmalardan elde edilen (zaman, hacim) verilerinin analizi ile belirlendi. Bu amaçla; Eşitlik (2.3.1.) ve (2.3.2.)'de verilen reaksiyonlara göre kesikli bir reaktörde $H_{2(g)}$ 'nin üretim hızı (r_{H_2}) ve BH_4^- iyonunun harcanma hızı ($r_{BH_4^-}$) sırasıyla Eşitlik (3.3.1.) ve (3.3.4.)'te verildiği gibidir [209]:

$$\left[\frac{d(C_{H_2})}{dt} \right] = k.(C_{BH_4^-})^n \quad (3.3.1.)$$

$$- \left[\frac{d(C_{BH_4^-})}{dt} \right] = k.(C_{BH_4^-})^n \quad (3.3.2.)$$

Burada; n reaksiyon mertebesi, k reaksiyon hız sabiti $[(\text{mol}^{1-n})(\text{L}^{1-n})(\text{min}^{-1})]$, t reaksiyon süresi (min), $C_{BH_4^-}$ reaksiyonda harcanmadan kalan BH_4^- iyonu derişimi (mol/L)'dir.

Eşitlik (3.3.2.)'nin doğrusallaştırılması ile Eşitlik (3.3.3.) elde edildi.

$$\ln \left(- \frac{d(C_{BH_4^-})}{dt} \right) = \ln k + n. \ln(C_{BH_4^-}) \quad (3.3.3.)$$

Eşitlik (3.3.3.)'e göre; $\ln(C_{BH_4^-})$ 'e karşı $\ln(-d(C_{BH_4^-})/dt)$ değerleri grafiğe geçirildiğinde, elde edilen doğrunun eğimi ve kayması sırasıyla FeNPs sentezi sırasında $H_{2(g)}$ üretimi reaksiyonuna ait n ve k değerlerini verir.

n ve k değerlerinin hesaplanması amacıyla, öncelikle üretilen deneysel $H_{2(g)}$ hacimleri kullanılarak üretilen $H_{2(g)}$ mol sayılarının hesaplanması gerekmektedir. Bu amaçla, Eşitlik (3.3.4.)'te verilen düzeltilmiş ideal gaz denklemi kullanıldı.

$$n(H_2) = \frac{(P-b).V}{R.T} \quad (3.3.4.)$$

Burada, P ortamın barometrik basıncı (atm), b belli bir sıcaklıktaki su buharının kısmi basıncı (atm), V üretilen $H_{2(g)}$ hacmi (L), R ideal gaz sabiti $(0.0821 \text{ (L.atm)/(mol.K)})$ ve T sıcaklık (K). Bu eşitliğin kullanılmasının nedeni, üretilen $H_{2(g)}$ 'nin doymuş su buharı içermesidir. Bu nedenle üretilen $H_{2(g)}$ mol sayısının doğru hesaplanması için; toplam basınçtan su buharının kısmi basıncının çıkarılması gerekmektedir. Burada, su buharının kısmi basıncı; ilgili sıcaklıktaki doymuş su buharının basıncıdır.

Eşitlik (3.3.4.) ile hesaplanan $H_{2(g)}$ mol sayıları kullanılarak, $C_{H_2} = n_{H_2}/V_{\text{çözelti}}$ eşitliğinden $H_{2(g)}$ derişimlerine (C_{H_2}) geçildi. Daha sonra, reaksiyon ilerleme derecesinden faydalanılarak Eşitlik (3.3.5.)'e göre $C_{BH_4^-}$ değerleri hesaplandı [210].

$$\varepsilon = \frac{C_{H_2} - C_{H_2,0}}{\nu_{H_2}} = \frac{C_{BH_4^-} - C_{BH_4,0}}{\nu_{BH_4^-}} \quad (3.3.5)$$

Burada, $C_{H_2,0}$ ve $C_{BH_4,0}$ bileşenlerin başlangıç derişimleri (mol/L), C_{H_2} ve $C_{BH_4^-}$ bileşenlerin herhangi bir andaki derişimleri (mol/L) ve ν stokiyometrik katsayıdır.

Eşitlik (3.3.5.)'e göre; deneysel C_{H_2} değerlerinden yararlanılarak zamanla değişen $C_{BH_4^-}$ değerleri hesaplandıktan sonra, t'ye karşı $C_{BH_4^-}$ değerleri grafiğe geçirildi ve elde edilen noktalara

polinom uydurma yöntemi ile eğilim çizgisi eklendi ve $(C_{\text{BH}_4^-}) = f(t)$ formundaki denklemler farklı sıcaklıklar için belirlendi. Daha sonra, belirlenen $(C_{\text{BH}_4^-}) = f(t)$ formundaki polinom denklemlerinin 1. dereceden türevleri alınarak $^{-d(C_{\text{BH}_4^-})/dt}$ ifadesi elde edildi ve zamanla bu değerler hesaplanarak $\ln(C_{\text{BH}_4^-})$ 'e karşı $\ln(^{-d(C_{\text{BH}_4^-})/dt})$ değerleri grafiğe geçirildi ve farklı sıcaklıklarda elde edilen doğruların eğim ve kayma değerlerinden sırasıyla n ve k değerleri hesaplandı [209].

3.3.3. FeNPs Sentezi Sırasında $\text{H}_{2(g)}$ Üretiminin Termodinamik Analizi

FeNPs sentezi sırasında $\text{H}_{2(g)}$ üretimi için aktivasyon enerjisi, entalpisi ve entropisi gibi bazı aktivasyon parametreleri belirlendi.

$\text{H}_{2(g)}$ üretimi reaksiyonuna ait aktivasyon enerjisi (E_a), Eşitlik (3.3.6.)'da verilen Arrhenius eşitliğinin doğrusal formundan yararlanılarak hesaplandı.

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{RT} \quad (3.3.6.)$$

Burada, k reaksiyon hız sabiti, A üstel önü faktörü, E_a aktivasyon enerjisi (J/mol), R ideal gaz sabiti (8.314 J/(mol.K)) ve T sıcaklık (K)'tır. Buna göre, $(1/T)$ 'e karşı $\ln k$ değerleri grafiğe geçirilerek elde edilen doğrunun eğim ve kayma değerlerinden sırasıyla E_a ve A değerleri belirlendi.

Aktivasyon entalpisi ($\Delta H^\#$) ve entropisi ($\Delta S^\#$) değerlerinin hesaplanması amacıyla ise Eyring eşitliğinden (Eşitlik (3.3.7.)) yararlanıldı.

$$k = \left(\frac{k_B \cdot T}{h}\right) \cdot \exp\left(-\frac{\Delta G^\#}{RT}\right) \quad (3.3.7.)$$

Eşitlik (3.3.7.)'de $\Delta G^\# = \Delta H^\# - T\Delta S^\#$ eşitliği yerine koyularak Eşitlik (3.3.8.) elde edildi.

$$k = \left(\frac{k_B \cdot T}{h}\right) \cdot \exp\left(\frac{\Delta S^\#}{R}\right) \cdot \exp\left(-\frac{\Delta H^\#}{RT}\right) \quad (3.3.8.)$$

Burada, k_B Boltzmann sabiti (1.381×10^{23} J/K), h Planck sabiti (6.626×10^{34} J s), $\Delta H^\#$ aktivasyon entalpisi (J/mol) ve $\Delta S^\#$ aktivasyon entropisi (J/mol.K)'dir.

Eşitlik (3.3.8.)'in doğrusallaştırılması ile Eşitlik (3.3.9.) elde edildi.

$$\ln\left(\frac{k}{T}\right) = \ln\left(\frac{k_B}{h}\right) + \left(\frac{\Delta S^\#}{R}\right) - \left(\frac{\Delta H^\#}{R}\right) \frac{1}{T} \quad (3.3.9.)$$

Eşitlik (3.3.9.)'e göre, $(1/T)$ 'e karşı $\ln(k/T)$ grafiğe geçirilerek elde edilen doğrunun eğim ve kayma değerlerinden sırasıyla $\Delta H^\#$ ve $\Delta S^\#$ değerleri belirlendi [211].

3.4. FeNPs'nin Antibakteriyel Özelliklerinin Araştırılması

3.4.1. Bakteri Seçimi

FeNPs'nin antibakteriyel aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla yaygın olarak kullanılan ve gıda kaynaklı patojenlerden olan *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* ve *Salmonella typhimurium* bakteri türleri seçildi. Burada, *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* gram pozitif patojenler; *Escherichia coli* (O157: H7), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella enteritidis* ve *Salmonella typhimurium* gram negatif patojenler grubunda yer almaktadırlar.

3.4.2. Kültür ve Aşı Hazırlığı

FeNPs'nin antibakteriyel aktivitelerini belirlenmesi amacıyla; Mersin Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda var olan *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* ve *Salmonella typhimurium* kültürleri kullanıldı. Bakteri kültürleri, Tryptic Soy Agar (TSA) eğrileri üzerinde geliştirildi ve 4.0 °C'de saklandı. TSA eğimlerinden elde edilen izole edilmiş koloniler, bir öze yardımıyla stok kültürden alınarak Tryptic Soy Broth (TSB) besiyerine ilave edilip, 37 °C'de 24 saat süreyle inkübasyona tabi tutularak aktiveleştirme işlemi sağlandı. Kültürün optik yoğunluğu, 1×10^8 koloni oluşturu birim (CFU)/mL inokulum boyutu elde etmek için spektrofotometrik olarak (625 nm'de) 0.08–0.10 absorbans aralığında ayarlandı [212].

3.4.3. Antibakteriyel Aktivite Testi

FeNPs'nin antibakteriyel aktiviteleri, agar kuyusu difüzyon yöntemi ile değerlendirildi. Bu amaçla; Mueller Hinton Agar plakasının yüzeyine, ayarlanan kültürden 100 µL inoküle edildi. Sonrasında 6.0 mm çaplı bir kuyu aseptik olarak açıldı. Örnek bileşikten (FeNPs) 0.0015 g ve steril saf sudan 30 µL kuyu içerisine ilave edildi. Hazırlanan petri kapları 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda örnek bileşik, agara yayıldı ve mikroorganizmanın büyümesini engelledi. İnhibisyon bölgelerinin çapları dijital kaliper yardımı ile ölçüldü [212].

3.5. FeNPs'nin Hidrojen Peroksit (H₂O₂)'in Kolorimetrik Tespitinde Kullanılabilirliğinin Araştırılması

3.5.1. FeNPs ile H₂O₂'nin Kolorimetrik Tespiti Yönteminin Araştırılması

FeNPs ile H₂O₂'nin kolorimetrik tespiti sırasında, FeNPs'nin H₂O₂'nin dekompozisyonuna neden olarak OH• radikallerini oluşturduğu; oluşan bu radikallerin ise TMB'nin oksidasyonunu sağladığı öngörülmektedir. Öngörülen bu adımların desteklenmesi amacıyla; UV-vis analizinde TMB'nin oksidasyonunu gösteren 450 nm ve 655 nm dalgaboylarında FeNPs'nin yaban turpu peroksidazı (Horseradish Peroxidase-HRP) ve saf su (kontrol)'ya kıyasla daha yüksek absorbans değerine sahip olduğunun gösterilmesi ve bununla birlikte ortamda OH• radikallerinin oluştuğunun kanıtlanması gerekmektedir. Bu amaçla öncelikle FeNPs, HRP ve saf suyun kullanıldığı TMB oksidasyonunda UV-vis analizi gerçekleştirildi; ardından, FeNPs ile H₂O₂'nin kolorimetrik tespiti ortamında OH• radikallerinin oluşumu floresans spektrofotometresi ile belirlendi.

3.5.1.1. FeNPs ile H₂O₂'nin Kolorimetrik Tespitinde UV-vis Analizi

Bölüm 3.5.1'de öngörülen adımların desteklenmesi amacıyla TMB oksidasyonunda FeNPs, HRP ve saf su kullanıldığı durumlarda UV-vis analizi gerçekleştirildi. Buna göre; üç adet UV-vis spektrofotometresi küveti içerisine ilk olarak 250 µL 2.0 mM TMB çözeltisi, bu çözelti üzerine sırasıyla 500 µL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0) ve 500 µL 100 mM H₂O₂ çözeltisi eklendi. Daha sonra her bir küvete ayrı ayrı olacak şekilde birinci küvete 100 µL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi, ikinci küvete 100 µL 0.1 µg/mL HRP çözeltisi ve üçüncü küvete 100 µL saf su ilave edildi. FeNPs, HRP ve kontrol amaçlı saf su ile yapılan deneylerde, TMB'nin oksidasyonu sonucu oluşan oksidasyon ürünlerini içeren çözeltilerin UV-vis spektrofotometresinde 300-1100 nm dalga boyu aralığında spektrum taramaları yapıldı [213].

3.5.1.2. Kolorimetrik H₂O₂ Tespiti Sırasında Oluşan OH• Radikallerinin Belirlenmesi

Bölüm 3.5.1'de öngörülen adımların desteklenmesi amacıyla, OH• radikallerinin oluşumu floresans spektrofotometresi ile belirlendi. Buna göre; tereftalik asitin ajan olarak kullanıldığı florimetrik bir yöntem kullanıldı. Bu yöntemde; tereftalik asit ile ortamda oluşan OH• radikalleri reaksiyona girerek floresan özelliğe sahip 2-hidroksi tereftalik asit ürününü oluşturmaktadır. Floresan özelliğe sahip bu ürünün tespiti amacıyla; UV-vis spektrofotometresi küvetlerinin içerisine 400 µL farklı derişimlerdeki H₂O₂ çözeltileri, farklı miktarlardaki 1.0 g/L FeNPs çözeltileri (100-400 µL) ve 2800 µL asetat tamponu (pH=4.0) çözeltileri karıştırıldı ve hazırlanan

her bir karışımın içerisine 400 µL 5.0 mM tereftalik asit çözeltisi eklendi. Hazırlanan karışımların, floresans spektrofotometresi kullanılarak 315 nm eksitasyon dalga boyunda ve 335-615 nm emisyon dalga boyu aralığında spektrum taramaları yapıldı [214].

3.5.2. Sentezlenen FeNPs ve Peroksidaz Enzimi (HRP) ile H₂O₂'nin Kolorimetrik Tespitine Ortam Koşullarının Etkisinin Araştırılması

Sentezlenen FeNPs ve ticari peroksidaz enzimi HRP ile H₂O₂'nin kolorimetrik tespitinin yapılması amacıyla, yaygın olarak kullanılan bir peroksidaz substratı olan 3,3',5,5'-Tetra-metil-benzidin (TMB)'nin H₂O₂ varlığında oksidasyonu test edildi. Bu amaçla; UV-vis spektrofotometresi kuvvetleri içerisine ilk olarak belli hacim ve derişimdeki TMB çözeltileri, daha sonra bu çözeltilerin üzerine sırasıyla belli hacim ve pH değerindeki asetat tamponu çözeltileri daha sonra da belli hacim ve derişimdeki H₂O₂ çözeltileri eklendi. FeNPs ile H₂O₂ tespiti yapılacak olan kuvetlere belli hacim ve derişimdeki FeNPs çözeltisi, HRP ile H₂O₂ tespiti yapılacak olan kuvetlere ise belli hacim ve derişimdeki HRP enzim çözeltisi ilave edilerek, TMB'nin oksidasyonu sonucu oluşan oksidasyon ürünlerini içeren çözeltinin UV-vis spektrofotometresinde 655 nm dalga boyunda absorbans değerleri kaydedildi [131]. FeNPs ve HRP ile H₂O₂'nin kolorimetrik tespitine etki eden pH (2.0-14), asetat tamponu:TMB hacim oranı (1:1-1:4), sıcaklık (20-75 °C), H₂O₂ derişimi (0.001-1000 mM), FeNPs (1.0 g/L) ve HRP (0.1 µg/mL) miktarı (100-1000 µL) gibi çevresel koşulların etkisi bir değişkenin değiştirilip diğer faktörlerin sabit tutulması yöntemi ile araştırıldı; bu prosese ait optimum ortam koşulları belirlendi.

3.5.3. FeNPs ve HRP Enzimi ile H₂O₂'nin Kolorimetrik Tespitinin Kinetik Analizi

TMB ve H₂O₂'nin substrat olarak kullanıldığı kolorimetrik tespit prosesinde, FeNPs ve HRP'nin katalitik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yatışkın hal kinetik analizi yapıldı. Bu amaçla yapılan deneysel çalışmalarda bir substrat derişimi sabit tutulurken diğeri derişimi değiştirilerek aşağıda verilen deneysel plana göre kinetik veriler elde edildi:

- i. H₂O₂ substratı derişiminin sabit tutulduğu deneylerde; UV-vis spektrofotometresi kuveti içerisine ilk olarak 250 µL farklı derişimlerdeki TMB çözeltileri (0.1-8.0 mM) eklendi, daha sonra bu çözeltilerin üzerine sırasıyla 500 µL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), 500 µL 100 mM H₂O₂ çözeltisi ve 100 µL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi, paralel olarak hazırlanan diğerküvete de FeNPs yerine 100 µL 0.1 µg/mL HRP çözeltisi ilave edildi.
- ii. TMB substratı derişiminin sabit tutulduğu deneylerde; UV-vis spektrofotometresi kuveti içerisine ilk olarak 250 µL 2.0 mM TMB çözeltisi eklendi, daha sonra bu çözelti

üzerine sırasıyla 500 µL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), 500 µL farklı derişimlerde H₂O₂ çözeltileri (0.001-1.0 mM) ve 100 µL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi, paralel olarak hazırlanan diğer küvete de FeNPs yerine 100 µL 0.1 µg/mL HRP çözeltisi ilave edildi.

- iii. TMB'nin oksidasyonu sonucu oluşan oksidasyon ürünlerini içeren çözeltilerin UV-vis spektrofotometresinde 655 nm dalga boyunda absorbens değerleri önceden belirlenen zaman aralıklarında kaydedildi. Zamanla absorbens değerleri değişimi kinetik verileri, Eşitlik (3.5.1.)'de verilen Michaelis–Menten eşitliğine uygulandı.

$$v_o = \frac{v_{\max} \cdot [S]}{(K_m + [S])} \quad (3.5.1.)$$

Burada, v_o başlangıç reaksiyon hızı (M/s), $[S]$ substrat derişimi (mM), K_m Michaelis–Menten sabiti (mM) ve $v_{\max}$ maksimum reaksiyon hızı (M/s)'dir. Bu amaçla öncelikle; farklı substrat derişimlerinde elde edilen absorbens değerlerinden hesaplanan derişim değerleri zamana karşı grafiğe geçirildi ve farklı substrat derişimlerinde elde edilen eğrilerin doğrusal kısımlarından v_o başlangıç reaksiyon hızları hesaplandı.

Michaelis–Menten eşitliğinin doğrusal formu olan Eşitlik (3.5.2.)'e göre; $1/[S_o] - 1/v_o$ değerleri hesaplandıktan sonra Lineweaver–Burk grafikleri çizildi. Lineweaver–Burk grafiklerinden elde edilen doğruların eğim ve kayma değerlerinden sırasıyla $K_m/v_{\max}$ ve $1/v_{\max}$ değerleri hesaplandı [215]. FeNPs ve HRP enzimi için hesaplanan K_m ve $v_{\max}$ değerleri ile literatür karşılaştırıldı.

$$\frac{1}{v_o} = \frac{K_m}{v_{\max}} \frac{1}{[S_o]} + \frac{1}{v_{\max}} \quad (3.5.2.)$$

3.5.4. FeNPs'nin Minimum Tespit Sınırının Belirlenmesi

FeNPs varlığında TMB'nin oksidasyonu temelinde H₂O₂'nin kolorimetrik ve kantitatif tespiti yapılabilmektedir. Bu amaçla; UV-vis spektrofotometresi küveti içerisine ilk olarak 250 µL 2.0 mM TMB çözeltisi eklendi, daha sonra bu çözelti üzerine sırasıyla 500 µL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), 500 µL farklı derişimlerde H₂O₂ çözeltileri (0.001-1.0 mM) ve 100 µL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi ilave edilerek, TMB'nin oksidasyonu sonucu oluşan oksidasyon ürünlerini içeren çözeltilerin UV-vis spektrofotometresinde 655 nm dalga boyunda absorbens değerleri kaydedildi. Farklı H₂O₂ derişimlerine karşı bu derişimlerde okunan absorbens değerleri grafiğe geçirilerek bir kalibrasyon doğrusu oluşturuldu. Elde edilen doğrunun eğimi ve kontrol çözeltisinin standart sapma değeri kullanılarak FeNPs'nin minimum tespit sınırı (LOD=3σ/s)

hesaplandı. Burada s kalibrasyon doğrusunun eğimi, σ kontrol çözeltisinin standart sapma değeridir [216].

3.5.5. H_2O_2 'nin Kolorimetrik Tespitinde FeNPs'nin Kararlılığının Belirlenmesi

Kolorimetrik tespit proseslerinde kullanılan katalizörün uzun süre boyunca aktivitesini kaybetmeden kullanılabilmesi istenir. H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde FeNPs'nin kararlılığının belirlenmesi amacıyla; UV-vis spektrofotometresi küveti içerisine ilk olarak 250 μ L 2.0 mM TMB çözeltisi eklendi, daha sonra bu çözelti üzerine sırasıyla 500 μ L asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), 500 μ L 100 mM H_2O_2 çözeltisi ve 100 μ L 1.0 g/L FeNPs çözeltisi ilave edildi ve bu prosedür 20 ay boyunca tekrarlandı. TMB'nin oksidasyonu sonucu oluşan oksidasyon ürünlerini içeren çözeltilerin UV-vis spektrofotometresinde 655 nm dalga boyunda absorpsiyon değerleri kaydedildi.

3.5.6. Geliştirilen H_2O_2 Tespit Yönteminin, Potasyum Titanyum Oksit Oksalat Dihidrat ($C_4K_2O_9Ti.2H_2O$) Kullanılan Kolorimetrik Yöntem ile Doğruluk Analizinin Yapılması

Literatürde H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde kromojenik ajan olarak $C_4K_2O_9Ti.2H_2O$, $TiOSO_4$ gibi titanyum içerikli maddelerin kullanılabildiği belirtilmektedir [217, 218]. Bu nedenle, doğruluğu kanıtlanmış bir yöntem ile bu doktora tez çalışmasında geliştirilen yöntem istatistiksel olarak kıyaslanarak, bu çalışmadaki yöntemin uygulanabilirliği ortaya koyuldu. Bu amaçla; ayrı ayrı FeNPs ve $C_4K_2O_9Ti.2H_2O$ varlığında kolorimetrik H_2O_2 tespiti aşağıda belirtildiği gibi gerçekleştirildi:

3.5.6.1. FeNPs Varlığında Kolorimetrik H_2O_2 Tespiti

5 farklı stoktan hazırlanmış 0.05 mM derişimindeki H_2O_2 çözeltileri için yöntem, Bölüm 3.5.2.'de belirtildiği şekilde uygulanarak UV-vis spektrofotometresinde 655 nm'de absorpsiyon değerleri kaydedildi. Elde edilen absorpsiyon değerleri, Bölüm 3.5.4.'te belirtildiği gibi oluşturulan kalibrasyon doğru denkleminde yerine koyularak H_2O_2 'nin derişim değerleri hesaplandı.

3.5.6.2. $C_4K_2O_9Ti.2H_2O$ Varlığında Kolorimetrik H_2O_2 Tespiti

Bu yöntemin uygulanabilmesi için öncelikle kalibrasyon doğru oluşturuldu. Bu amaçla; UV-vis spektrofotometresi küvetlerinin içerisine farklı derişimlerdeki 1.0 mL H_2O_2 çözeltileri (0.5-10 mM) eklendi, daha sonra bu çözeltilerin üzerine sırasıyla 0.1 mL 1/17 oranında su ile

seyreltilmiş H_2SO_4 çözeltisi ve 0.1 mL 35 g/L $C_4K_2O_9Ti \cdot 2H_2O$ çözeltisi eklendi ve reaksiyon sonucu oluşan sarı renkli çözeltilerin absorbans değerleri UV-vis spektrofotometresinde 390 nm'de kaydedildi. Farklı H_2O_2 derişimlerine karşı bu derişimlerde okunan absorbans değerleri grafiğe geçirilerek bir kalibrasyon doğrusu oluşturuldu. Daha sonra, 5 farklı stoktan hazırlanmış 5.0 mM derişimindeki H_2O_2 çözeltileri için yöntem, aynı şekilde uygulanarak UV-vis spektrofotometresinde 390 nm'de absorbans değerleri kaydedildi. Elde edilen absorbans değerleri, oluşturulan kalibrasyon doğru denkleminde yerine koyularak H_2O_2 'nin derişim değerleri hesaplandı [217].

Bölüm 3.5.6.1. ve 3.5.6.2.'de verilen yöntemlerden elde edilen derişim değerleri birbiri ile kıyaslanarak t- ve F- testleri yapıldı. t- ve F- testlerinin uygulanması için hesap yöntemi aşağıda özetlendi [217]:

Eğer iki deney grubunun standart sapması birbirinden çok farklı değilse, iki deney grubunun örneklenmiş standart sapması Eşitlik (3.5.3.) ile bulunur;

$$S^2 = \frac{[(n_1-1)s_1^2 + (n_2-1)s_2^2]}{(n_1+n_2-2)} \quad (3.5.3.)$$

Örneklenmiş standart sapma kullanılarak t testi Eşitlik (3.5.4) ile; eğer iki deney grubunun standart sapması birbirinden farklı ise, t testi Eşitlik (3.5.5.) ile hesaplanır.

$$t = \frac{(X_1 - X_2)}{\sqrt{S^2 \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)^2}} \quad (3.5.4.)$$

$$t = \frac{(X_1 - X_2)}{\sqrt{\left(\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2} \right)^2}} \quad (3.5.5.)$$

F testi her iki durumda da Eşitlik (3.5.6.) ile hesaplanır.

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2} \quad (s_1 > s_2 \text{ olmalıdır}) \quad (3.5.6.)$$

Verilen eşitliklerde; S örneklenmiş standart sapma, s_1 , s_2 kıyaslanan iki deney grubunun kendi standart sapmaları, n_1 , n_2 kıyaslanan iki deney grubunun örnek sayısı, n_1+n_2-2 serbestlik derecesi, X_1 , X_2 Bölüm 3.5.6.1. ve 3.5.6.2.'de kıyaslanan deney gruplarının aritmetik ortalamalarıdır. Hesaplanan t- ve F- değerleri ile istatistiksel bir analiz yapılarak, kıyaslanan yöntemler arasında anlamlı bir fark olup olmadığı belirlendi.

3.5.7. FeNPs ile H₂O₂'nin Kolorimetrik Tespitinde Ortam Bileşenlerinin Etkileşimlerinin Araştırılması

Literatürde H₂O₂'nin karmaşık biyolojik ortamlarda hassas olarak izlenmesi ile ilgili birtakım zorluklarla karşılaşıldığı belirtilmektedir. Bu durum göz önüne alınarak biyolojik ortamlarda bulunabilecek; NaCl, KCl, CuCl₂, CaCl₂, ZnCl₂, MgCl₂, Al(NO₃)₃, (NH₄)₂HPO₄, glikoz, laktoz, maltoz, fruktoz, sakkaroz, üre, ürik asit, askorbik asit, oksalik asit, laktik asit, L-sistein, glutatyon, dopamin, melamin gibi farklı bileşenlerin varlığında FeNPs ile H₂O₂'nin kolorimetrik tespiti gerçekleştirildi [219–221]. Bu amaçla; belirtilen farklı bileşenlerin varlığında (her bir bileşen: 1000 µL 1.0 mM), UV-vis spektrofotometresi küveti içerisinde ilk olarak 250 µL 0.5 mM TMB çözeltisi eklendi, daha sonra bu çözelti üzerine sırasıyla 500 µL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), 500 µL 0.1 mM H₂O₂ çözeltisi ve 100 µL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi ilave edilerek, TMB'nin oksidasyonu sonucu oluşan oksidasyon ürünlerini içeren çözeltilerin UV-vis spektrofotometresinde 655 nm dalga boyunda absorbands değerleri kaydedildi. Elde edilen absorbands değerleri değerlendirilerek ortamdaki diğer bileşenlerin H₂O₂'nin kolorimetrik tespitine etkileşimleri belirlendi.

Farklı bileşenler varlığında okunan absorbands değerlerinin geri kazanım oranları saf su referans alınarak hesaplandı (Eşitlik (3.5.6.)).

$$\text{Geri kazanım oranı (\% GK)} = \frac{A_i}{A_r} \times 100 \quad (3.5.6.)$$

Burada; A_i: i bileşeni varlığında okunan absorbands değeri, A_r: referans madde (saf su) varlığında okunan absorbands değeridir.

3.5.8. *P. brutia*'dan Hazırlanan Liç Çözeltisi İçerisindeki Demir İyonu Haricindeki Diğer Bileşenlerin FeNPs ile H₂O₂'nin Kolorimetrik Tespitine Etkisinin Araştırılması

P. brutia'dan hazırlanan liç çözeltisi içerisindeki demir haricindeki diğer bileşenlerin FeNPs ile H₂O₂'nin kolorimetrik tespitine etkisinin araştırılması amacıyla çeşitli demir iyonu kaynaklarından (FeSO₄·7H₂O ve Fe(NO₃)₃·9H₂O) sentetik çözeltiler hazırlandı ve hazırlanan bu çözeltiler ile FeNPs sentezi gerçekleştirildi. Bu amaçla, 50 mL hacimli erlen içerisine alınan 1.18 pH değerindeki 13.81 mg/L demir iyonu içeren 20 mL çözeltiler ısıtıcı üzerine alınarak 65 °C sıcaklığa kadar ısıtıldı. İstenilen sıcaklığa ulaşan çözeltilerin içerisine 0.70 g NaBH₄ eklendi ve sentez sonucunda elde edilen ve nanopartikül içeren koyu siyah renkli karışımlar 30 dakika süre ile 1000 rpm hızında manyetik olarak karıştırıldı. Daha sonra karışımlar 6000 rpm hızında 5.0 dakika süre ile santrifüjlenerek katı nanopartiküller sıvı kısımdan ayrıldı. Sıvı kısımdan ayrılan FeNPs, saf etanol ile yıkandı. Daha sonra elde edilen FeNPs, saf etanolde çözülerek 1.0 g/L

derişiminde çözeltiler hazırlandı. Üç farklı demir bileşiminden (*P. brutia*'dan hazırlanan liç çözeltisi, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ve $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) hazırlanan demir iyonu içerikli çözeltiler ile sentezlenen FeNPs ile kolorimetrik H_2O_2 tespiti deneyleri yapıldı. Bu amaçla; UV-vis spektrofotometresi küveti içerisine ilk olarak 250 μL 2.0 mM TMB çözeltisi eklendi, daha sonra bu çözelti üzerine sırasıyla 500 μL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), 500 μL 100 mM H_2O_2 çözeltisi ve 100 μL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi ilave edildi. TMB'nin oksidasyonu sonucu oluşan oksidasyon ürünlerini içeren çözeltilerin UV-vis spektrofotometresinde 655 nm dalga boyunda absorbans değerleri kaydedildi.

3.6. Askorbik Asit (AA)'in Dolaylı Kolorimetrik Tespitinde FeNPs'nin Kullanılabilirliğinin Araştırılması

3.6.1. AA'nın FeNPs ile Dolaylı Kolorimetrik Tespiti Yönteminin Araştırılması

FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespiti prosesini takiben AA'nın dolaylı tespiti yönteminin araştırılması amacıyla; UV-vis spektrofotometresi küveti içerisine ilk olarak 250 μL 0.5 mM TMB çözeltisi eklendi, daha sonra bu çözelti üzerine sırasıyla 500 μL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), 500 μL 0.1 mM H_2O_2 çözeltisi ve 100 μL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi ilave edilerek, TMB'nin oksidasyonu sonucu oluşan oksidasyon ürünlerini içeren yeşil renkli çözeltilerin UV-vis spektrofotometresinde 300-1100 nm dalga boyu aralığında spektrum taramaları yapıldı. Daha sonra, hazırlanan yeşil renkli çözeltilere farklı derişimlerde (10-1000 μM) 1000 μL AA çözeltileri eklendi ve hazırlanan çözeltilerin 300-1100 nm dalga boyu aralığında tekrar spektrum taramaları yapılarak, AA eklenmesi ile absorpsiyon pik şiddetlerindeki azalmalar belirlendi [192].

3.6.2. AA'nın FeNPs ile Dolaylı Kolorimetrik Tespiti Yönteminin Minimum Tespit Sınırının Belirlenmesi

FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitini takiben AA'nın dolaylı tespiti yönteminin minimum tespit sınırının belirlenmesi amacıyla; UV-vis spektrofotometresi küveti içerisine ilk olarak 250 μL 0.5 mM TMB çözeltisi eklendi, daha sonra bu çözelti üzerine sırasıyla 500 μL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), 500 μL 0.1 mM H_2O_2 çözeltisi ve 100 μL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi ilave edilerek, TMB'nin oksidasyonu sonucu oluşan oksidasyon ürünlerini içeren yeşil renkli çözeltilerin UV-vis spektrofotometresinde 655 nm dalga boyunda absorbans değerleri (A_{ilk}) kaydedildi. Daha sonra, hazırlanan yeşil renkli çözeltilere farklı derişimlerde (1.0-200 μM) 1000 μL AA çözeltileri eklendi ve 655 nm dalga boyunda absorbans değerleri (A_{son}) kaydedilip, absorbans farkları ($\Delta A = A_{\text{ilk}} - A_{\text{son}}$) hesaplandı. Daha sonra, farklı AA derişimlerine karşı bu

derişimlerde hesaplanan absorbans farkı değerleri grafiğe geçirilerek bir kalibrasyon doğrusu oluşturuldu; elde edilen doğrunun eğimi ve kontrol çözeltisinin standart sapma değeri kullanılarak yöntemin minimum tespit limiti ($LOD=3\sigma/s$) hesaplandı. Burada s kalibrasyon doğrusunun eğimi, σ kontrol çözeltisinin standart sapma değeridir [192].

3.6.3. AA'nın FeNPs ile Dolaylı Kolorimetrik Tespiti Yönteminin Seçiciliğinin Belirlenmesi

FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitini takiben AA'nın dolaylı tespiti yönteminin seçiciliğinin belirlenmesi amacıyla; UV-vis spektrofotometresi küveti içerisine ilk olarak 250 μ L 0.5 mM TMB çözeltisi eklendi, daha sonra bu çözelti üzerine sırasıyla 500 μ L asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), 500 μ L 0.1 mM H_2O_2 çözeltisi ve 100 μ L 1.0 g/L FeNPs çözeltisi ilave edilerek, TMB'nin oksidasyonu sonucu oluşan oksidasyon ürünlerini içeren yeşil renkli çözeltilerin UV-vis spektrofotometresinde 655 nm dalga boyunda absorbans değerleri kaydedildi. Daha sonra, hazırlanan bu yeşil renkli çözeltilere; NaCl, KCl, $CuCl_2$, $CaCl_2$, $ZnCl_2$, $MgCl_2$, $Al(NO_3)_3$, $(NH_4)_2HPO_4$, glikoz, laktoz, maltoz, fruktoz, sakkaroz, üre, ürik asit, oksalik asit, laktik asit, L-sistein, glutatyon, dopamin, melamin çözeltileri AA ile karışım (500 μ L 1.0 mM AA + 500 μ L 1.0 mM bileşen) olarak ilave edildi ve çözeltilerin 655 nm dalga boyunda absorbans değerleri kaydedilerek, ilk ve son durum arasındaki absorbans farkları ($\Delta A = A_{ilk} - A_{son}$) hesaplandı. Elde edilen absorbans değerlerindeki azalmalar değerlendirilerek yöntemin seçiciliği ve diğer bileşenlerin etkileşimleri belirlendi [192].

Farklı bileşenler varlığında hesaplanan absorbans farkı değerlerinin geri kazanım oranları saf su referans alınarak hesaplandı (Eşitlik (3.6.1.)).

$$\text{Geri kazanım oranı (\% GK)} = \frac{\Delta A_i}{\Delta A_r} \times 100 \quad (3.6.1.)$$

Burada; ΔA_i : i bileşeni varlığında hesaplanan absorbans farkı değeri, ΔA_r : referans madde (saf su) varlığında okunan absorbans farkı değeridir.

3.6.4. AA'nın FeNPs ile Dolaylı Kolorimetrik Tespiti Yönteminin Doğruluk Analizinin Yapılması

FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitini takiben AA'nın dolaylı tespiti yönteminin doğru bir şekilde uygulanabilirliğinin test edilmesi amacıyla ticari AA içerikli malzemeler (C vitamini tableti ve C vitaminli su) ve teorik derişimi bilinen AA çözeltileri kullanıldı. Bu amaçla; UV-vis spektrofotometresi küveti içerisine ilk olarak 250 μ L 0.5 mM TMB çözeltisi eklendi, daha sonra bu çözelti üzerine sırasıyla 500 μ L asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), 500 μ L 0.1 mM H_2O_2 çözeltisi ve 100 μ L 1.0 g/L FeNPs çözeltisi ilave edilerek, TMB'nin oksidasyonu sonucu oluşan

oksidasyon ürünlerini içeren yeşil renkli çözeltilerin UV-vis spektrofotometresinde 655 nm dalga boyunda absorbans değerleri kaydedildi. Daha sonra, hazırlanan bu yeşil renkli çözeltilere; 1000 µL hazırlanan çözeltiler (C vitamini tableti içeren çözelti, C vitaminli su ve teorik derişimi bilinen AA çözeltileri) eklendi ve çözeltilerin 655 nm dalga boyunda absorbans değerleri kaydedilerek, ilk ve son durum arasındaki absorbans farkları ($\Delta A = A_{ilk} - A_{son}$) hesaplandı. Elde edilen absorbans farkları, Bölüm 3.6.2.'de belirtildiği gibi oluşturulan kalibrasyon doğru denkleminde yerine koyularak AA'nın derişim değerleri hesaplandı. Buna göre; teorik ve hesaplanan derişim değerleri karşılaştırılarak yöntemin doğruluk analizi yapıldı [205]. Bu analizde kullanılan % geri kazanım ve % bağıl standart sapma (RSD) formülleri sırasıyla Eşitlik (3.6.2.) ve (3.6.3.)'te verildi:

$$\text{Geri kazanım (\%)} = \frac{\text{Deneyisel derişim değeri}}{\text{Teorik derişim değeri}} \times 100 \quad (3.6.2.)$$

$$\text{RSD (\%)} = \frac{\text{Standart sapma}}{\text{Ortalama derişim değeri}} \times 100 \quad (3.6.3.)$$

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu doktora tez çalışmasının amacı, ağır metal biyoakümütor/hiperakümülatör bitkilerden yararlanarak geliştirilecek bir yöntem ile metalik nanopartikül sentezi, sentezlenen nanopartikülün karakterizasyonu ve metalik nanopartikülün kullanım alanlarının belirlenmesidir. Bu kapsamda yapılan çalışmalar, sonuçları, bulguları ve tartışmaları aşağıdaki bölümlerde ayrıntılı olarak sunuldu:

4.1. *Pinus brutia* Bitkisi ile Hazırlanan Liç Çözeltilerinin ICP-MS Analizi

P. brutia bitkisinin farklı koordinatlardan toplanan, eşit miktarda dal ve yaprak içeren karışımlardan Bölüm 3.1.'de belirtildiği gibi hazırlanan liç çözeltilerinin içerikleri ICP-MS analizi ile belirlendi ve sonuçlar Tablo 4.1.1.'de sunuldu.

Tablo 4.1.1. *P. brutia* bitkisinin farklı koordinatlardan toplanan dal ve yaprak karışımlarından hazırlanan liç çözeltilerinin ICP-MS elementel analiz sonuçları

Element Koordinat kodu	1	2	3	4	5	6	7
Na (mg/L)	5.27	5.29	6.20	6.17	6.26	5.30	6.99
Mg (mg/L)	49.83	50.46	44.66	45.51	50.43	46.85	48.52
Al(mg/L)	3.16	3.24	3.43	3.48	3.60	3.48	4.01
K (mg/L)	12.36	12.04	12.43	12.21	12.67	16.95	12.80
Ca (mg/L)	49.35	47.71	56.15	55.17	42.98	21.12	16.19
Fe (mg/L)	14.90	15.14	13.58	13.66	13.31	6.54	5.01
Ni (mg/L)	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.02	0.02
Cu (mg/L)	0.03	0.03	0.03	0.02	0.02	0.02	0.04
Zn (mg/L)	0.06	0.04	0.06	0.06	0.05	0.03	0.06

Tablo 4.1.1.'den, kromit (FeCr_2O_4) yatağı işletme sahası içerisinde yetişen (koordinat kodu:1-5) *P. brutia* bitkilerinin yüksek Fe içeriğine sahip oldukları belirlendi. 1-5 numaralı koordinatlarda yetişen *P. brutia* bitkilerinin içerdiği Fe elemanı derişimleri sırasıyla 14.90, 15.14, 13.58, 13.76 ve 13.31 mg/L'dir. Belirtilen konumların arasında, 2 numaralı koordinatta yetişen *P. brutia*'nın en yüksek Fe içeriğine sahip olduğu görüldü. Kromit (FeCr_2O_4) yatağı işletme sahasına giden yol üzerinde (koordinat kodu: 6 ve 7) yetişen *P. brutia* bitkilerinin ise Fe içeriklerinin oldukça düşük oldukları tespit edildi. 1-5 numaralı koordinatlarda yetişen *P. brutia* bitkilerinin demir içerikleri birbirlerine yakın olduğu için (standart sapma: ± 0.7486), bu çalışmada 1-5 numaralı koordinatlarda yetişen *P. brutia* bitkilerinin dal ve yaprakları eşit oranda karıştırılarak kullanıldı.

1-5 numaralı koordinatlarda yetişen *P. brutia* bitkilerinin dal ve yaprak örneklerinden ayrı ayrı hazırlanan liç çözeltilerinin içerikleri ICP-MS analizi ile belirlendi ve sonuçlar Tablo 4.1.2.'de sunuldu.

ICP-MS sonucu sıvı temelde elde edilen derişim değerlerinden yararlanılarak dal ve yaprak örneklerinin birim kütlesi başına içerdikleri bileşen miktarları, örnek olarak Fe elementi alınarak Eşitlik (4.1.1.-4.1.2.)'de verildiği şekilde hesaplandı.

$$15.77 \frac{\text{mg Fe}}{\text{L}} \cdot \frac{1.0 \text{ L}}{8.0 \text{ g yaprak}} \cdot \frac{1000 \text{ g}}{1.0 \text{ kg}} = 1971.25 \frac{\text{mg Fe}}{\text{kg yaprak}} \quad (4.1.1.)$$

$$38.13 \frac{\text{mg Fe}}{\text{L}} \cdot \frac{1.0 \text{ L}}{8.0 \text{ g dal}} \cdot \frac{1000 \text{ g}}{1.0 \text{ kg}} = 4766.25 \frac{\text{mg Fe}}{\text{kg dal}} \quad (4.1.2.)$$

Tablo 4.1.2. 1-5 numaralı koordinatlarda yetişen *P. brutia* bitkilerinin yaprak ve dal örneklerinden ayrı ayrı hazırlanan liç çözeltilerinin ICP-MS elementel analiz sonuçları

Element	Dal örnekleri		Yaprak örnekleri	
	Sıvı temelde (mg/L)	Katı temelde (mg/kg)	Sıvı temelde (mg/L)	Katı temelde (mg/kg)
Na	10.48	1310.60	12.47	1558.75
Mg	112.13	14016.25	80.66	10082.50
Al	8.94	1117.50	4.28	535.14
K	16.39	2048.52	33.17	4146.06
Ca	108.34	13542.50	101.01	12626.25
Fe	38.13	4766.25	15.77	1971.25
Ni	0.0504	6.30	0.014	1.75
Cu	0.0267	3.33	0.0533	6.67
Zn	0.0911	11.39	0.1602	20.03

Hesaplanan Fe derişimlerinden ve Tablo 4.1.2.'den görüleceği üzere; *P. brutia* bitkisinin dallarında yapraklarından daha fazla miktarda demir birikmektedir. Bölüm 2.3.'te de belirtildiği üzere; topraktaki ağır metal iyonlarını kökleri yardımıyla bünyelerine alan hiperakümülatör bitkiler bu iyonları ksilem yoluyla veya kök içindeki floem yoluyla bitkinin dal ve yapraklarına taşımaktadırlar. Buna göre; *P. brutia* bitkisinde kök ile alınan demir iyonları belirtilen iki yoldan herhangi biriyle önce dal, daha sonra yapraklara taşınmakta; bu taşınma sırasında dallara iletilen iyonların tamamının yapraklara kadar iletilememesi sonucunda yapraklarda daha az miktarda demir iyonu biriktiği düşünülmektedir.

P. brutia bitkisinin dallarında yapraklarından daha fazla miktarda demir birikmesine rağmen, bitkinin tüm organlarını değerlendirebilmek amacıyla; 1-5 numaralı koordinatlarda yetişen *P. brutia* bitkilerinin hem dal hem de yaprakları eşit miktarda karıştırılarak bir liç çözeltisi hazırlandı. 1-5 numaralı koordinatlarda yetişen *P. brutia* bitkilerinin dal ve yapraklarının eşit

miktarda karıştırılması ile hazırlanan liç çözeltisinin içeriği ICP-MS analizi ile belirlendi ve sonuçlar Tablo 4.1.3.'te sunuldu.

ICP-MS sonucu sıvı temelde elde edilen derişim değerlerinden yararlanılarak *P. brutia*'nın birim organ (dal ve yaprak) kütlesi başına içerdiği bileşen miktarları, örnek olarak Fe elementi alınarak Eşitlik (4.1.3.)'te verildiği şekilde hesaplandı.

$$13.81 \frac{\text{mg Fe}}{\text{L}} \cdot \frac{1.0 \text{ L}}{4.0 \text{ g organ}} \cdot \frac{1000 \text{ g}}{1.0 \text{ kg}} = 3452.50 \frac{\text{mg Fe}}{\text{kg organ}} \quad (4.1.3.)$$

Tablo 4.1.3. 1-5 numaralı koordinatlarda yetişen *P. brutia* bitkilerinin dal ve yapraklarının karıştırılması ile hazırlanan liç çözeltisinin ICP-MS elementel analiz sonuçları

Element	Ca	Mg	Fe	K	Na	Al	Ni	Zn	Cu
Sıvı temelde (mg/L)	51.80	48.18	13.81	12.38	5.58	3.41	0.016	0.062	0.022
Katı temelde (mg/kg)	12950	12045	3452.5	3095	1395	852.5	3.96	15.58	5.5

Tablo 4.1.1., Tablo 4.1.2. ve Tablo 4.1.3.'ten; Fe elementine kıyasla Ca ve Mg elementlerinin miktarlarının yüksek olduğu görüldü. Bu durumun *P. brutia*'nın yetiştiği toprak yapısının kalkerli olmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. K ve Na elementleri de toprak yapısından kaynaklanmaktadır. Bunun yanı sıra, Fe haricindeki diğer metal elementlerinin miktarları (Al, Ni, Zn, Cu), Fe elementine kıyasla oldukça düşük olduğu tespit edildi.

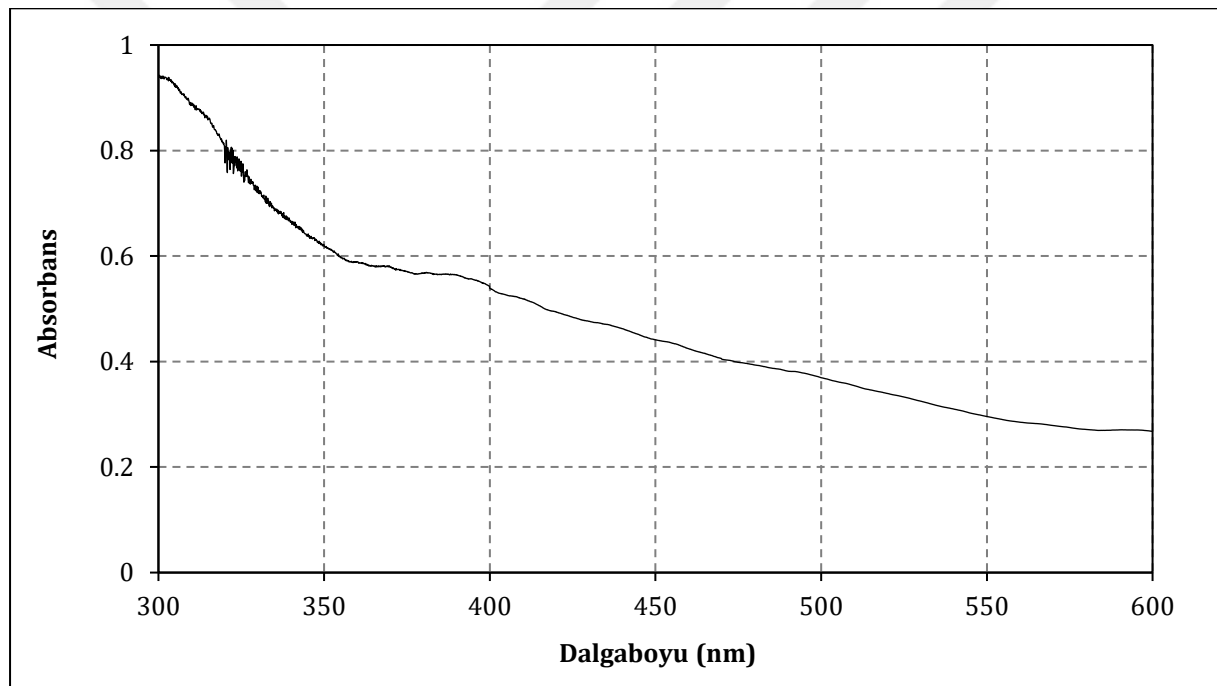
Tablo 4.1.2. ve Tablo 4.1.3.'te *P. brutia*'nın katı temelde içerdiği Fe derişimleri ile Tablo 2.3.1.'de Fe için belirtilen hiperakümülatör bitkilerin akümüle ettikleri Fe derişimleri (mg/kg) kıyaslandığında; bu çalışmada kullanılan *P. brutia*'nın da demir hiperakümülatörü bitkiler sınıfına girebileceği sonucuna varıldı.

4.2. Liç çözeltisi Kullanarak Demir Nanopartiküllerinin (FeNPs) Sentezi ve Karakterizasyonu

P. brutia'dan hazırlanan yüksek demir içerikli liç çözeltisinin kullanıldığı FeNPs sentezi, indirgeyici ajan olarak NaBH₄'ün kullanıldığı kimyasal indirgeme prensibine göre gerçekleştirildi. Tablo 4.1.3.'te özellikleri verilen *P. brutia*'nın dal ve yaprak karışımı ile hazırlanan liç çözeltisi kullanılarak sentezlenen FeNPs'nin karakterizasyonu UV-vis, FT-IR, XRD, XPS, VSM, BET, DSC, TGA/DTA, TEM ve EDX analizleri ile gerçekleştirildi. Ayrıca, FeNPs'nin; sıcaklık (30-65 °C), pH

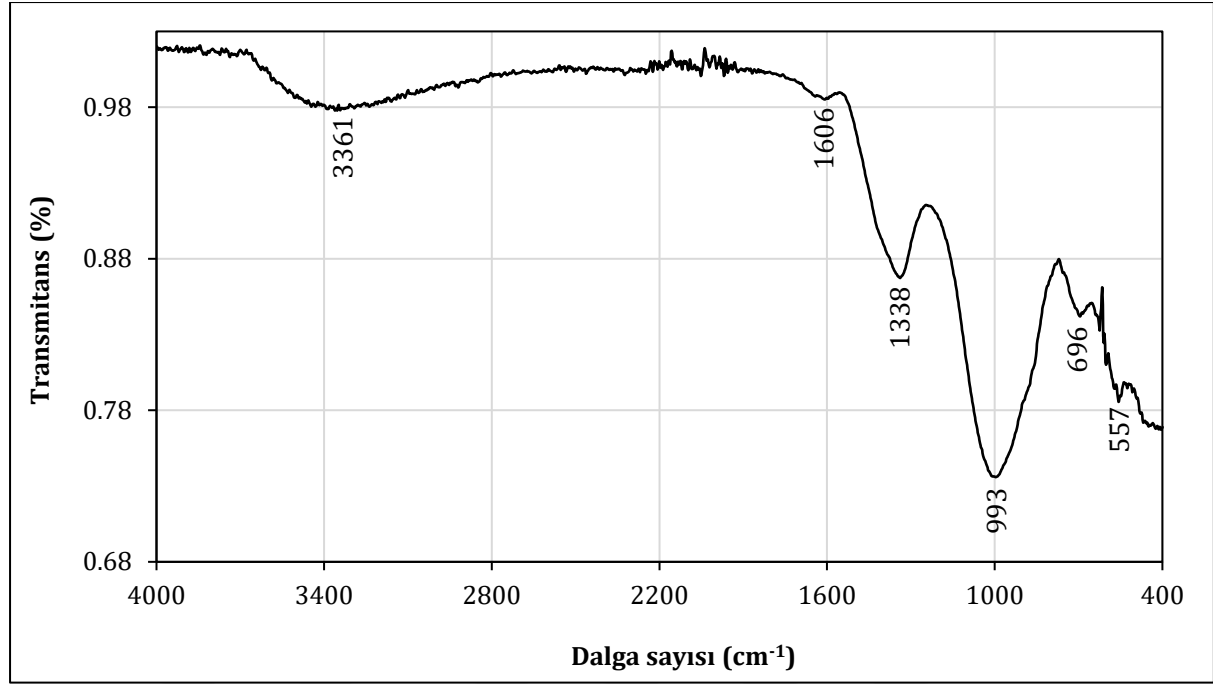
(doğal pH (≈ 1.18)-5.5), NaBH_4 miktarı (0.175-0.625 g), PVP miktarı (0.025-0.50 g) gibi farklı sentez koşullarındaki yüzey özellikleri SEM analizi ile incelendi.

UV-vis analizi: *P. brutia* bitkisinin dal ve yapraklarından hazırlanan liç çözeltisine NaBH_4 eklenmesi ile FeNPs içeren koyu siyah renkli bir karışım elde edildi. FeNPs oluşumunu gösteren bu siyah renkli karışımın UV-vis analizi, Analytik Jena marka UV-vis spektrofotometresi ile 300-600 nm dalga boyu aralığında spektrum taraması yapılarak gerçekleştirildi ve elde edilen spektrum taraması Şekil 4.2.1.'de sunuldu. Şekil 4.2.1.'e göre; FeNPs içerikli siyah renkli karışıma ait maksimum absorpsiyon piki 300 nm dalga boyunda tespit edildi. Sentezlenen nanopartiküllere ait bu karakteristik absorpsiyon piki, literatürde yer alan demir içerikli nanopartikül sentezi ile ilgili çalışmaların sonuçları ile uyumludur [156,222,223].



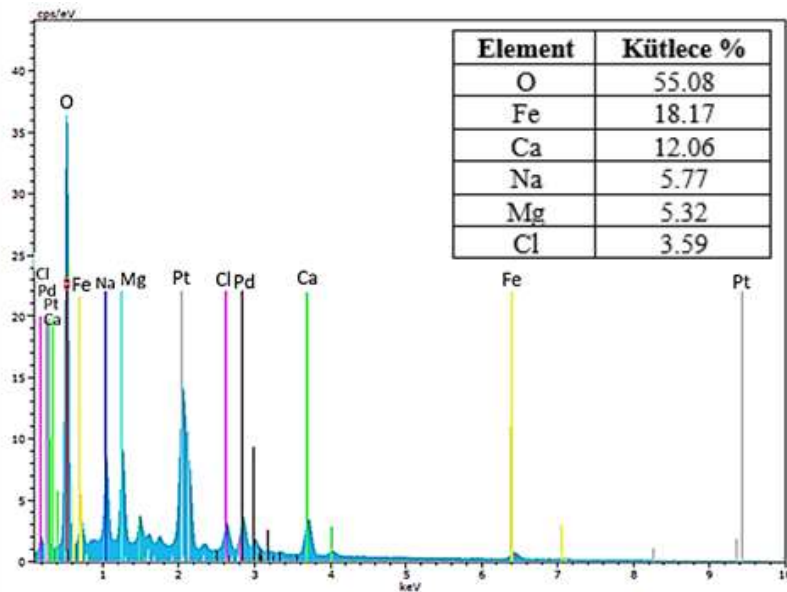
Şekil 4.2.1. *P. brutia* bitkisinin dal ve yapraklarından hazırlanan liç çözeltisine NaBH_4 eklenmesi ile sentezlenen FeNPs içerikli karışımın UV-vis spektrumu (FeNPs sentez koşulları: 5.0 mL liç çözeltisi, doğal pH (≈ 1.18), 65 °C, 0.175 g NaBH_4)

FT-IR analizi: Sentezlenen FeNPs'nin fonksiyonel grupları FT-IR analizi ile belirlendi ve elde edilen FT-IR spektrumu Şekil 4.2.2.'de sunuldu. Şekil 4.2.2.'den; FeNPs'nin 557, 696, 993, 1338, 1606 ve 3361 cm^{-1} 'de piklere sahip olduğu belirlendi. 3361 ve 1606 cm^{-1} 'de görülen geniş absorpsiyon bantları sırasıyla hidroksil gruplarının ve/veya su moleküllerinin gerilme ve bükülme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. Fe-O bağına ait titreşim ve gerilmeden kaynaklı sırasıyla 557 ve 1338 cm^{-1} 'de pikler görülürken; Fe-OH gruplarından kaynaklı -OH bükülmelerinden dolayı 696 ve 993 cm^{-1} 'de piklerin olduğu görüldü [224-227].



Şekil 4.2.2. Sentezlenen FeNPs'nin FT-IR spektrumu (FeNPs sentez koşulları: 5.0 mL liç çözeltisi, doğal pH (≈ 1.18), 65 °C, 0.175 g NaBH₄)

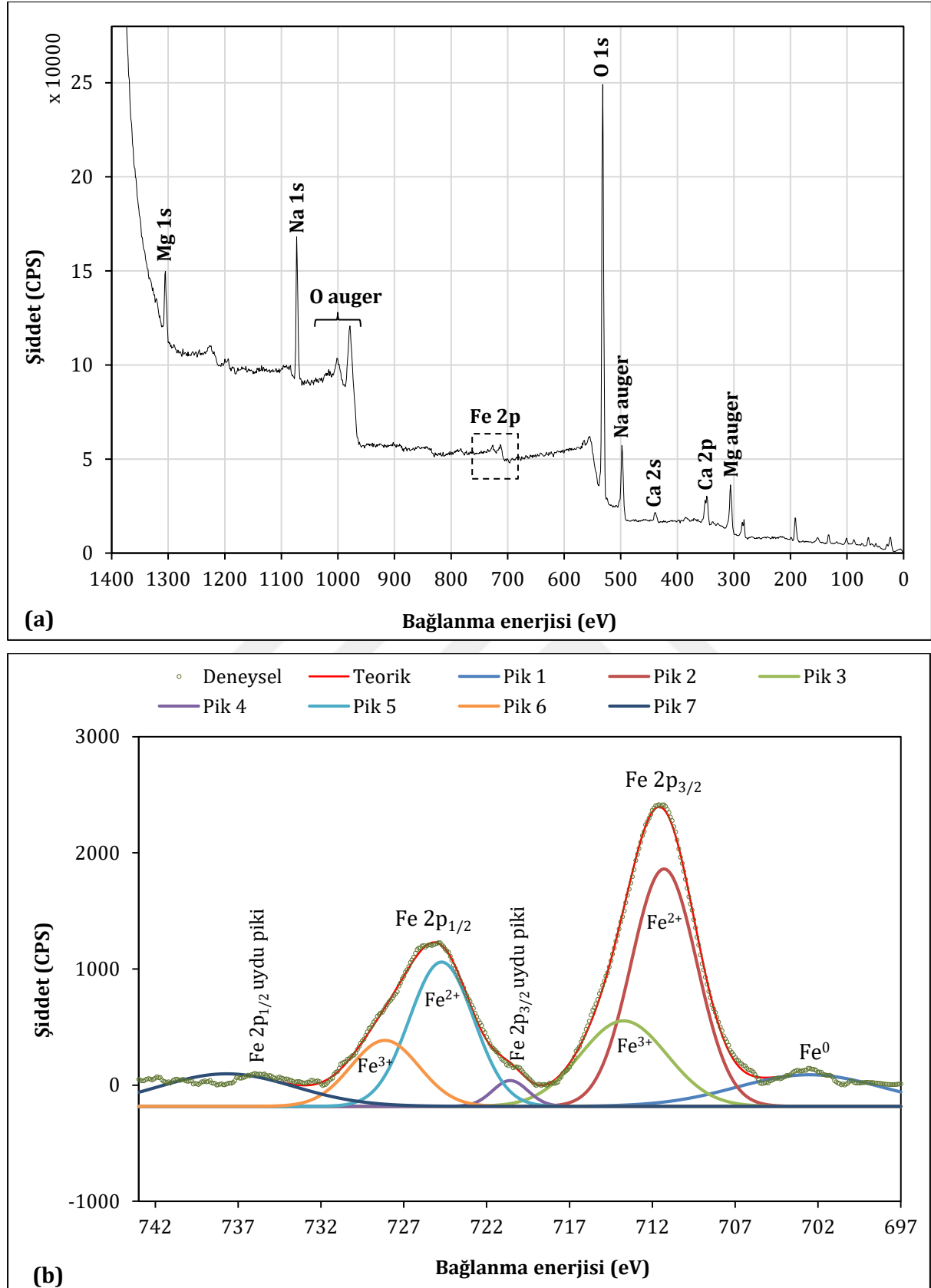
EDX analizi: Sentezlenen FeNPs'nin elementel içeriğinin belirlenmesi amacıyla EDX ile yapıldı ve elde elementel analiz sonuçları Şekil 4.2.3.'te sunuldu. FeNPs'nin içeriğinde kütlece % 55.08 oksijen (O), % 18.17 demir (Fe), %12.06 kalsiyum (Ca), % 5.77 sodyum (Na), % 5.32 magnezyum (Mg) ve %3.59 klor (Cl) elementlerinin olduğu tespit edildi. Demir haricindeki elementlerin, nanopartikül sentezi sırasında kullanılan *P. brutia* bitkisi yapısından kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 4.2.3. FeNPs'nin EDX analizi (FeNPs sentez koşulları: 5.0 mL liç çözeltisi, doğal pH (≈ 1.18), 65 °C, 0.175 g NaBH₄)

XPS analizi: Sentezlenen FeNPs'nin içerdiği elementlerin seviyelerinin belirlenmesi amacıyla XPS analizi yapıldı. 0-1300 eV bağlanma enerjisi aralığında yapılan genel tarama grafiği ve Fe elementinin 2p seviyesi için 700-750 eV bağlanma enerjisi aralığında yapılan kısmi tarama grafiği sırasıyla Şekil 4.2.4. (a) ve (b)'de sunuldu. Şekil 4.2.4. (a)'ya göre; FeNPs'nin 1305.15 eV'de Mg 1s, 1072.16 eV'de Na 1s, 711 eV ve 725 eV'de Fe 2p, 532.25 eV'de O 1s, 439.22 eV'de Ca 2s, 348.30 eV'de Ca 2p orbitallerine ait pikleri içerdiği tespit edildi. 532.25 eV'de O 1s piki; 530.7, 531.6 ve 532.25 eV değerlerinde olacak şekilde 3 bileşene ayrıştırılabilir. 530.7, 531.6 ve 532.25 eV değerlerinde piklerin sırasıyla; metal oksitlerindeki kristal O^{2-} 'ye (M–O–M), metal hidroksitlerdeki O atomuna veya hidroksil gruplarına (M–O–H) ve zayıf şekilde yüzeye adsorbe olan türlere (H–O–H) karşılık gelebileceği söylenebilir. Elde edilen O pik şiddetinin yüksek olmasının nedeninin, analiz için FeNPs'nin kurutuma aşamasında oksitlenmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir [228]. Ayrıca, bir ya da birkaç elektronun ya da dış kaynaktan gelen fotonun saçılması sonucu bir atomun iç kabuğunda bulunan elektronların yaptığı geçiş sonucu başka bir elektron yayınlanmasından (Auger etkisi) kaynaklı 950-1000 eV arasında O elementine ait, 500 eV'de Na elementine ait ve 306.36 eV'de Mg elementine ait auger piklerinin olduğu görüldü [229,230].

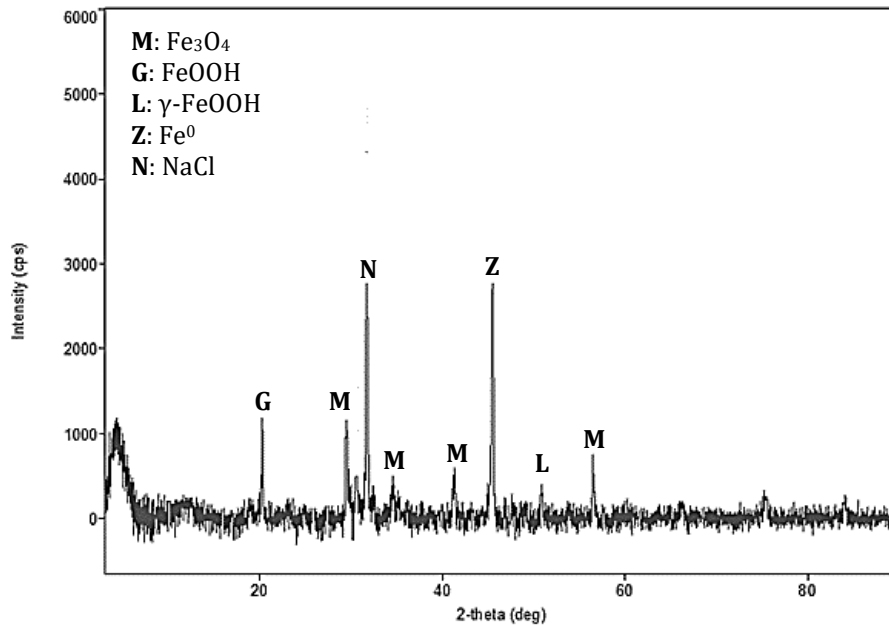
FeNPs'nin içerdiği demir fazlarının belirlenmesi amacıyla 700-750 eV bağlanma enerjisi aralığında genel taramaya kıyasla daha hassas olan bir kısmi tarama yapıldı ve kısmi tarama grafiği Şekil 4.2.4. (b)'de sunuldu. Kısmi tarama grafiğine öncelikle referans çizgisi düzeltme (baseline correction) işlemi OriginPro 2019b programı ile yapıldı. Ardından, Fe 2p orbitalinde bulunabilecek bileşenlere eğri uydurma prosedürü (multiple peak fitting), OriginPro 2019b programında Gaussian fonksiyonunu kullanan en küçük kareler yöntemi ile gerçekleştirildi ve yöntemine ait R^2 değeri 0.96 olarak elde edildi. Buna bağlı olarak; Şekil 4.2.4. (b)'den, deneysel ile teorik eğrilerin birbirleri ile oldukça uyumlu oldukları tespit edildi. Kısmi tarama sonucunda FeNPs'e ait temel olarak 702.5, 711.4, 725.1 ve 735.4 eV değerlerinde 4 ana pik elde edildi. 702.5 eV değerindeki pik FeNPs yapısında sıfır değerlikli demir (Fe^0)'in olduğunu gösterdi. 711.4 ve 725.1 eV değerlerindeki piklerin sırasıyla Fe $2p_{3/2}$ ve Fe $2p_{1/2}$ orbitallerine ait olduğu belirlendi. Eğri uydurma prosedürü sonucunda Fe 2p orbitaline ait pikler 702.5, 711.2, 713.5, 720.7, 724.4, 727.9 ve 737.7 eV değerlerinde 7 adet alt bileşene ayrıştırıldı. Fe $2p_{3/2}$ orbitaline ait pik, 711.2 ve 713.5 eV değerlerinde 2 adet pike ayrıştırıldı ve bu piklerin sırasıyla $Fe^{2+} 2p_{3/2}$ ve $Fe^{3+} 2p_{3/2}$ bileşenlerine ait oldukları tespit edildi. Fe $2p_{1/2}$ orbitaline ait pik, 724.4 ve 727.9 eV değerlerinde 2 adet pike ayrıştırıldı ve bu piklerin sırasıyla $Fe^{2+} 2p_{1/2}$ ve $Fe^{3+} 2p_{1/2}$ bileşenlerine ait oldukları tespit edildi [231–233].



Şekil 4.2.4. Sentezlenen FeNPs'nin XPS analizi (FeNPs sentez koşulları: 5.0 mL liç çözeltisi, doğal pH (≈ 1.18), 65 °C, 0.175 g NaBH₄) **(a)** Genel tarama (0-1300 eV), **(b)** Kısmi tarama (700-750 eV)

Şekil 4.2.4. (b)'de görülen 720.7 ve 735.4 eV değerlerindeki piklerin ise sırasıyla Fe 2p_{3/2} ve Fe 2p_{1/2} orbitallerine ait uydu piklerinin olduğu belirlendi. Uydu pikleri, bir çekirdek elektronu bir fotoiyonizasyonla ayrıldığında ortaya çıkar. Ayrılan elektron bir değerlik elektronu ile etkileşime girer ve onu daha yüksek bir enerji seviyesine uyarır. Sonuç olarak, çekirdek elektronu enerjisi azaltılır ve bir uydu yapısı çekirdek seviyesi konumunun birkaç eV üzerinde görünür. Bu duruma uyumlu olarak; Fe 2p_{3/2} ve Fe 2p_{1/2} orbitallerine ait uydu piklerinin Fe 2p_{3/2} ve Fe 2p_{1/2} orbitallerine ait ana piklerin birkaç eV üzerinde olduğu Şekil 4.2.4. (b)'den görüldü [234,235].

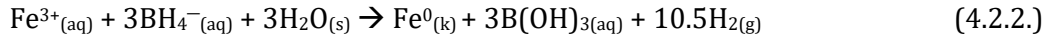
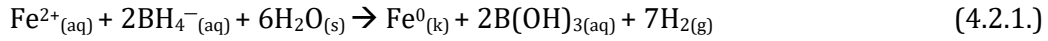
XRD analizi: XPS analizinde belirlenen Fe⁰, Fe²⁺ ve Fe³⁺ değerlikli demir iyonlarının hangi tür kristal demir fazından kaynaklandığının belirlenmesi amacıyla XRD analizi yapıldı ve elde edilen analiz sonucu Şekil 4.2.5.'te sunuldu. Buna göre; sentezlenen nanopartiküller Fe₃O₄ (manyetit, 2-theta=30.56, 34.55, 41.30, ve 56.46 deg), FeOOH (goetit, 2-theta=20.28 deg), γ-FeOOH (lepidokrosit, 2-theta=50.83 deg), Fe⁰ (sıfır değerlikli demir, 2-theta=45.44 deg) ve NaCl (tuz, 2-theta=31.72 deg)'e ait karakteristik piklere sahiptir. 0-20 deg arasında yer alan pik ise FeNPs'nin içerdiği amorf yapıdan kaynaklanmaktadır [236]. FeNPs'nin içerdiği Fe₃O₄, FeOOH ve γ-FeOOH kristal fazlarında hem +2 hem de +3 değerlikli demir iyonlarının varlığı ve Fe⁰'a ait pik XPS analiz sonuçlarını doğrulamaktadır.



Şekil 4.2.5. Sentezlenen FeNPs'nin XRD analizi (FeNPs sentez koşulları: 5.0 mL liç çözeltisi, doğal pH (≈1.18), 65 °C, 0.175 g NaBH₄)

Bu çalışmada sentezlenen FeNPs'nin yapısındaki farklı demir içerikli fazların, sentez sırasında ve sonrasında gerçekleşen bir dizi reaksiyondan kaynaklandığı düşünülmektedir.

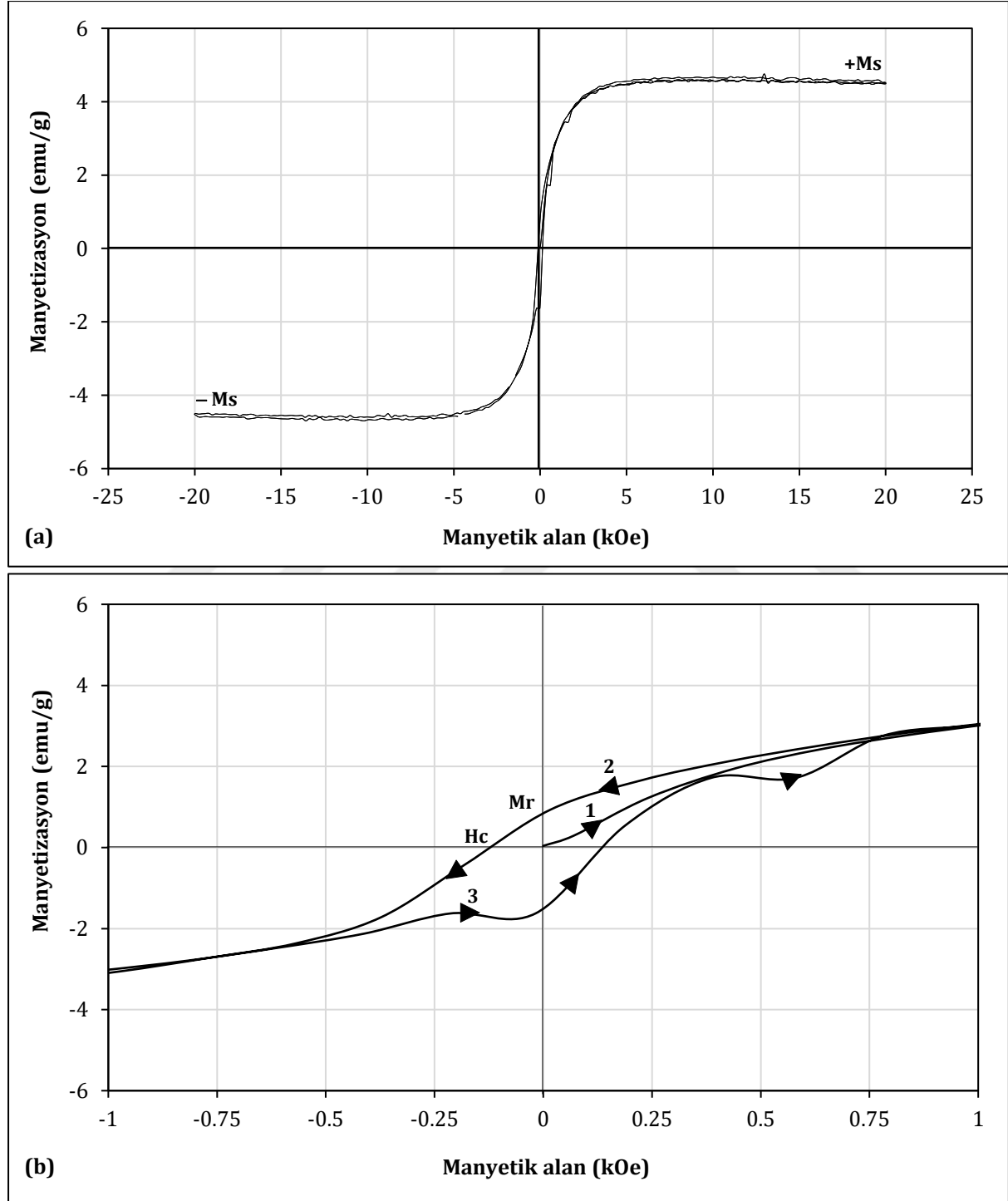
Nanopartikül sentezi aşamasında ve sonrasında gerçekleştiği öngörülen reaksiyonlar Eşitlik (4.2.1.-4.2.9.) ile verildi [61,62,237].



Eşitlik (4.2.1.) ve (4.2.2.)'e göre; FeNPs'nin biyosentezi aşamasında, XPS analizinde belirlenen +2/+3 değerlikli demir iyonları, BH_4^{-} iyonları ile sıfır değerlikli demir nanopartiküllerine indirgenmektedir. Ancak sentezlenen sıfır değerlikli demir nanopartiküllerinin su (Eşitlik (4.2.3.)) veya hava (Eşitlik (4.2.4.)) ile teması nanopartiküllerin oksitlenip demir oksit/hidroksit yapılarının oluşmasına neden olmaktadır. Bu nedenle sentezlenen sıfır değerlikli demir nanopartiküllerinin kullanıma kadar saf etanol içerisinde saklanması önerilmektedir [207]. Eşitlik (4.2.5.)-(4.2.9.)'da verilen reaksiyonlar ile XRD analizinde belirlenen Fe_3O_4 ve $\gamma\text{-FeOOH}$ fazlarının oluştuğu öngörülmektedir.

VSM analizi: Sentezlenen FeNPs'nin manyetik özellikleri VSM analizi ile belirlendi. VSM yöntemiyle 300 K sabit oda sıcaklığında, uygulanan manyetik alan şiddeti $-20 - +20$ kOe arasında değiştirilerek FeNPs üzerine meydana gelen manyetizasyon (emu) değerleri ölçüldü, bu değerler analizde kullanılan numune kütesine bölünerek belirtilen manyetik alan aralığında birim kütle başına meydana gelen manyetizasyon değerleri (emu/g) hesaplandı; bu veriler kullanılarak $-20 - +20$ kOe ve $-1.0 - +1.0$ kOe aralığında elde edilen histerezis eğrileri sırasıyla Şekil 4.2.6. (a) ve (b)'de sunuldu. Manyetizasyon değeri (M) ile manyetik alan (H) arasında; $M=\chi H$ şeklinde bir ilişki vardır. Burada χ manyetik duyarlılığı temsil eder ve SI birim sisteminde boyutsuzdur. Manyetik malzemeler χ değeri cinsinden sınıflandırılmaktadır. Buna göre; zayıf itme davranışı gösteren ($\chi = -10^{-6} - -10^{-3}$) malzemeler diyamanyetik malzemeler olarak adlandırılmaktadır. Malzemeler küçük pozitif duyarlılık gösteriyorsa ($\chi = 10^{-1} - 10^{-6}$), bunlar paramanyetik malzemelerdir. Ferromanyetik malzemeler ise pozitif geniş duyarlılık sergileyen bir malzemelerdir. Diyamanyetik ve paramanyetik malzemelerin manyetizasyon değerleri dış manyetik alan kaldırıldığında devam etmezken; ferromanyetik malzemeler dış manyetik alanın kaldırılmasından sonra bile kararlı manyetik özelliğe sahiptirler. Diyamanyetik ve paramanyetik

malzemeler için $M=\chi H$ ilişkisi doğrusalken; ferromanyetik malzemeler için bu ilişki doğrusal olmayıp, histeresis bir döngü şeklindedir. Buna göre; Şekil 4.2.6. (a) ve (b)'de görüldüğü üzere FeNPs için elde edilen M-H grafiği histeresis bir döngü şeklinde olduğu için FeNPs'nin ferromanyetik malzeme davranışı sergilediği sonucuna varıldı [238].



Şekil 4.2.6. Sentezlenen FeNPs'nin **(a)** -20/+20 kOe manyetik alan aralığında, **(b)** -1.0/+1.0 kOe manyetik alan aralığında VSM analizi (FeNPs sentez koşulları: 5.0 mL liç çözeltisi, doğal pH (≈ 1.18), 65 °C, 0.175 g NaBH_4)

M-H histeresis döngüsünün açıklaması şu şekildedir [239,240]:

- M ve H değerlerinin sıfır olduğu durumda M-H arasındaki ilişki H'nin artan miktarları için çizildiğinde M değeri Şekil 4.2.6. (b)'de verilen 1 numaralı mıknatıslanma eğrisini izler. Bu eğri önce hızla artar ve daha sonra Şekil 4.2.6. (a)'da görüldüğü gibi manyetik doygunluğa ($+M_s$) yaklaştıkça asimtotik hale gelir.
- Manyetik doygunluğa ulaşıldıktan sonra, H değerleri düzenli olarak azaltılırsa, M değeri Şekil 4.2.6. (b)'de verilen 2 numaralı mıknatıslanma eğrisini izler. Bu durumda $H=0$ noktasında M değeri artık sıfır değildir. $H=0$ 'da M değeri; malzemedeki artık manyetizma seviyesini gösteren, kalıcı mıknatıslanma adı verilen M_r değeri kadar orjinden kaymıştır. Bu noktadan sonra, eğri $M=0$ olan bir noktaya ulaşmak için sigmoidal bir eğilim izler. Bu eğrinin $M=0$ noktasına ulaştığı H değeri, malzemenin manyetizasyonunu sıfıra geri getirmek için negatif yönde uygulanması gereken manyetik alanın büyüklüğünü ifade eden koersivite değeri (H_c)'dir. Bu noktadan sonra H değeri negatif yönde arttırıldıkça, malzeme tekrar manyetik olarak doygun hale gelir fakat bu doygunluk negatif yönde bir manyetik doygunluktur ($-M_s$).
- Negatif manyetik doygunluğa ulaşıldıktan sonra H değerinin pozitif yönde tekrar arttırılması H değerini sıfıra döndürür ve eğri Şekil 4.2.6. (b)'de verilen 3 numaralı yolu izleyerek pozitif doyma noktasına ($+M_s$) döner ve bu şekilde histeresis döngüsünü tamamlanır.
- Ferromanyetik bir malzemenin tipik histeresis döngüsü, bu çalışmada VSM analizi ile FeNPs için elde edilen Şekil 4.2.6. (a) ve (b) gibidir. Şekil 4.2.6. (a)'ya göre; FeNPs için M_s , M_r ve H_c değerleri sırasıyla 4.5 emu/g, 0.8438 emu/g ve 125 Oe'dir. FeNPs için elde edilen, M_s değerinin %25'inden küçük kalıcı mıknatıslanma değeri ($M_r < 1.125$), manyetik malzemenin kalıcı bir mıknatısla ortamdan kolayca ayrılabilmesini ve topaklaşmadan hızla çözelti içinde yeniden çözülebileceğini göstermektedir [241]. Manyetik malzemeler H_c değerlerine göre yumuşak, sert ve yarı-sert malzemeler olarak 3 sınıfa ayrılmaktadırlar. H_c değeri 12.5 Oe'den küçük olanlar yumuşak, 1256.6 Oe'den yüksek olanlar sert, 12.5-1256.6 Oe arasında olanlar ise yarı-sert malzemeler olarak adlandırılmaktadır. Buna göre; bu çalışmada sentezlenen FeNPs'nin H_c değeri 125 Oe olduğu için, FeNPs'nin yarı-sert manyetik malzeme sınıfına girdiği belirlendi. Yumuşak manyetik malzemeler; kolay mıknatıslanırlar, mıknatıslanmaları kolay kaybolur, manyetik geçirgenlikleri yüksektir ve kalıcı mıknatıslanmaları düşüktür. Sert manyetik malzemeler ise; yüksek M_r ve H_c değerlerine bağlı olarak geniş ve yüksek bir histerisize sahiptirler, kalıcı manyetiklikleri yüksektir. Buna göre; yarı-sert manyetik malzeme sınıfına giren FeNPs'nin döngü içinde hareket etmeleri için yumuşak malzemelere göre daha fazla enerjiye ihtiyaç duydukları ve doygunluk

manyetizasyonuna ulaşmaları için ise sert manyetik malzemelerden daha düşük bir manyetik alan gerektirdikleri sonucuna varıldı. Yarı-sert manyetik malzemelerin; manyetik olarak birleştirilmiş cihazlar (frenler, kavramalar, gerdiriciler), ürün koruma/güvenlik sistemlerinde öngerilim elemanı, röle mıknatısları, manyetik takım tutucular, sensör mıknatısları, manyetik karıştırıcılar, seviye sensörleri gibi oldukça geniş kullanım yerleri bulunmaktadır. Buna göre bu çalışmada sentezlenen FeNPs'nin yarı-sert manyetik malzemelerin kullanım alanlarında etkin olarak kullanılabilecekleri söylenebilir [242,243].

Literatürde manyetik özellik gösteren demir içerikli nanopartiküllerin doygunluk manyetizasyon değerleri (M_s) araştırıldı ve bu çalışmada sentezlenen FeNPs'nin M_s değeri ile karşılaştırıldı. Yapılan literatür taramasından elde edilen veriler Tablo 4.2.1.'de sunuldu.

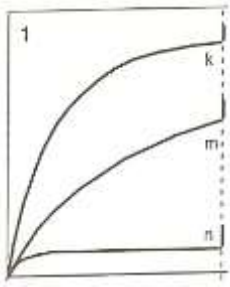
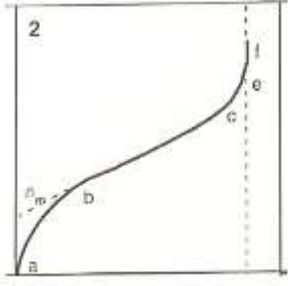
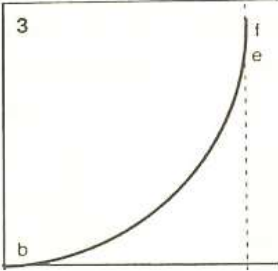
Tablo 4.2. 1. Literatürde manyetik özellik gösteren demir içerikli nanaopartiküllerin doygunluk manyetizasyon (M_s) değerleri

Nanopartikül	M_s (emu/g)	Kaynak
Saf Fe_3O_4 nanopartikülleri (ticari)	92	[244]
Sitrik asit ile fonksiyonelleştirilmiş demir nanopartikülleri	90.23	[245]
Yeşil sentezlenmiş Fe_3O_4 nanopartikülleri	73.04	[244]
Fe_3O_4 nanopartikülleri	65.53	[246]
Fe_3O_4 nanopartikülleri	60	[247]
Kimyasal çöktürme yöntemi ile sentezlenmiş demir oksit nanopartikülleri	60	[248]
Yeşil sentezlenmiş demir oksit nanopartikülleri	0.51	
Pentaerythritol tetrakis 3-merkaptopropionat-polimetakrilik asit ile kaplanmış Fe_3O_4 nanopartikülleri	45	[249]
$FeOOH/\gamma-Fe_2O_3$ nanopartikülleri	36.4	[250]
Fe_3O_4 nanopartikülleri	20.639	[251]
Hidroksiapatit- Fe_3O_4 nanokompoziti	7.34	
Yeşil sentezlenmiş Fe_3O_4 nanopartikülleri	17.3	[252]
Yeşil sentezlenmiş Fe_3O_4 nanopartikülleri	14.2	[253]
Poli-metilmetakrilat/%10 Fe nanopartikülleri	11.5	[254]
Poli-metilmetakrilat/%1 Fe nanopartikülleri	0.411	
Yeşil sentezlenmiş demir oksit nanopartikülleri	5.35	[255]
Yeşil sentezlenmiş Fe_3O_4 nanopartikülleri	5.14	[256]
FeNPs	4.5	Bu çalışma
Zn yüklenmiş $\alpha-Fe_2O_3$ nanokristalleri	3.81	[257]
Selüloz/ Fe^0 nanopartikülleri	3.0	[258]
Sitrik asit ile fonksiyonelleştirilmiş demir oksit nanopartikülleri	2.69	[259]
Manyetik demir nanopartikülleri	1.5	[260]
Yeşil sentezlenmiş demir oksit nanopartikülleri	0.3414	[261]

Tablo 4.2.1'e göre; bu çalışmadan sentezlenen FeNPs'nin literatürdeki birçok demir içerikli malzemeden daha düşük M_s değerine sahip olduğu tespit edildi. Karakterizasyon çalışmalarında tespit edilen FeNPs'nin içerdiği demir dışındaki diğer elementlerin, FeNPs'nin doygunluk manyetizasyon (M_s) değerini düşürdüğü düşünülmektedir.

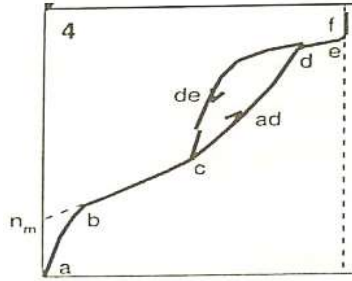
BET analizi: Sentezlenen FeNPs'nin spesifik yüzey alanı ve gözenek boyutları N_2 adsorpsiyon-desorpsiyon ölçümleri yapılarak belirlendi. Elde edilen BET izotermi ve Barrett-Joyner-Halenda (BJH) gözenek boyut dağılımı Şekil 4.2.7. (a) ve (b)'de sunuldu. Teorik olarak 6 tip adsorpsiyon izoterminin bulunduğu bilinmektedir, bu izotermilerin özellikleri Tablo 4.2.2.'de özetlendi [262].

Tablo 4.2.2. Adsorpsiyon izoterm modelleri ve özellikleri

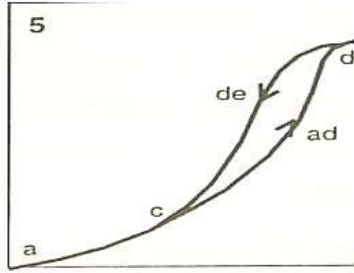
İzoterm tipi (Grafiklerde x eksen 0-1 aralığında P/P_o veya C/C_o ; y eksen mol/g)	Özellikleri
	1. tip izoterm; boyutları ancak birkaç molekül çapı kadar olan, mikrogözenekli katılarda fiziksel ya da kimyasal adsorpsiyon olduğu durumda elde edilir. Adsorplanan moleküllerinin katı yüzeyinde tek bir katman biçiminde tutulmasından ortaya çıkan bu izoterm, Langmuir izoterm denkleminde de uygundur. k: Mikrogözenekli katılardaki adsorpsiyon izotermi m: Mezo gözenekli katılardaki adsorpsiyon izotermi n: Makrogözenekli katılardaki adsorpsiyon izotermi
	2. tip izoterm; gözeneksiz katılarda fiziksel adsorpsiyon olduğu durumda elde edilir. Birinci katmanın adsorpsiyon ısı yoğunlaşma ısısından daha yüksek olan ve kılcal yoğunlaşmanın (<i>Kılcal yoğunlaşma; P denge basıncının P_o yani buhar basıncının doygun noktasına ulaşamadığı ($P/P_o < 1$) durumda gözeneklerde gözlemlenebilen yoğunlaşma olayıdır.</i>) az olduğu durumu belirtir. Bu izotermde, 1. tip izoterm tersine çok katmanlı fiziksel adsorpsiyon meydana gelir. Bu izoterm tipinde; düşük bağıl basınçlarda bir dönüm noktası (b) ve orta bağıl basınçlarda ($0.05 < P/P_o < 0.35$) doğrusal bir bölge (b-e) bulunur. İzoterm (a-b) parçasının tamamında tek katmanlı adsorpsiyon, (b-e) parçasının tamamında ise çok katmanlı adsorpsiyon ve kılcal yoğunlaşma gerçekleşmektedir. Bu izoterm BET izoterm modeline uygunluk gösterir. İzoterm b noktasından sonraki doğrusal kısmının uzantısından tek tabaka kapasitesi (n_m) grafikten yaklaşık olarak okunabilir.
	3. tip izoterm; gözeneksiz ya da makrogözenekli katılardaki adsorpsiyonu belirtir. Birinci katmanın adsorpsiyon ısı yoğunlaşma ısısından daha az olan ve kılcal yoğunlaşmanın görece az olduğu durumlarda elde edilir. Bu tip proseslerde zayıf gaz-katı etkileşimi olan adsorpsiyon söz konusudur. Adsorbent-adsorplanan kuvvetlerinin oldukça zayıf olmasından kaynaklı, düşük bağıl basınç alanında izotermdeki artış yok sayılabilecek kadar azdır. Bu bölgede adsorpsiyon, katı yüzeyine bir molekülün tutulmasıyla başlar ve yüzeyde tutulan bu molekül diğer molekülleri de çekerek yüzeyin tamamıyla kaplanmasına yol açar.

İzoterm tipi

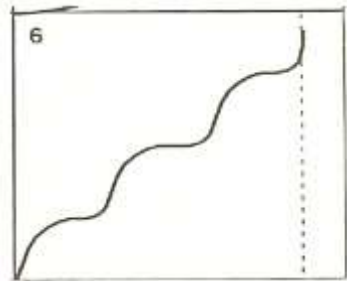
(Grafiklerde x eksen 0-1 aralığında P/P_0 veya C/C_0 ; y eksen mol/g)

Özellikleri

4. tip izoterm; mezogözenekli katılardaki adsorpsiyonu gösterir. Birinci katmanın adsorpsiyon ısısı yoğunlaşma ısısından daha yüksek olan ve kılcal yoğunlaşmanın fazla olduğu durumlarda elde edilir. 2. tip ve 4. tip izotermelerde bazı benzerlikler ve farklılıklar gözlenmektedir. Benzerlikleri; her ikisinde de çok katmanlı adsorpsiyon olması, (b) dönüm noktasının bulunması ve adsorbent-adsorplanan arasındaki etkileşimin güçlü olmasıdır. Farklılığı ise; 2. tip izotermde adsorpsiyon ve desorpsiyon izotermlerinin izledikleri yol aynı iken; 4. tip izotermde orta bağıl basınçlarda farklı yollar izlenmektedir. Bu duruma "histeresis"; izotermelerin birbiri ile arasında oluşan ayrıma "histeresis ayrımı" denir. Bu bölgede kılcal yoğunlaşma söz konusudur. İzotermin (a-b) parçası boyunca tek katmanlı adsorpsiyon, (b-c) parçası boyunca çok katmanlı adsorpsiyon, (c-d) parçası boyunca ise kılcal yoğunlaşma meydana gelmektedir. Kılcal yoğunlaşma sonlandıktan sonra gözeneklerin başlangıcındaki içe çökük yüzeyler de dolmakta ve (e-f) parçası boyunca adsorplanan madde kitle olarak ayrılmaktadır.



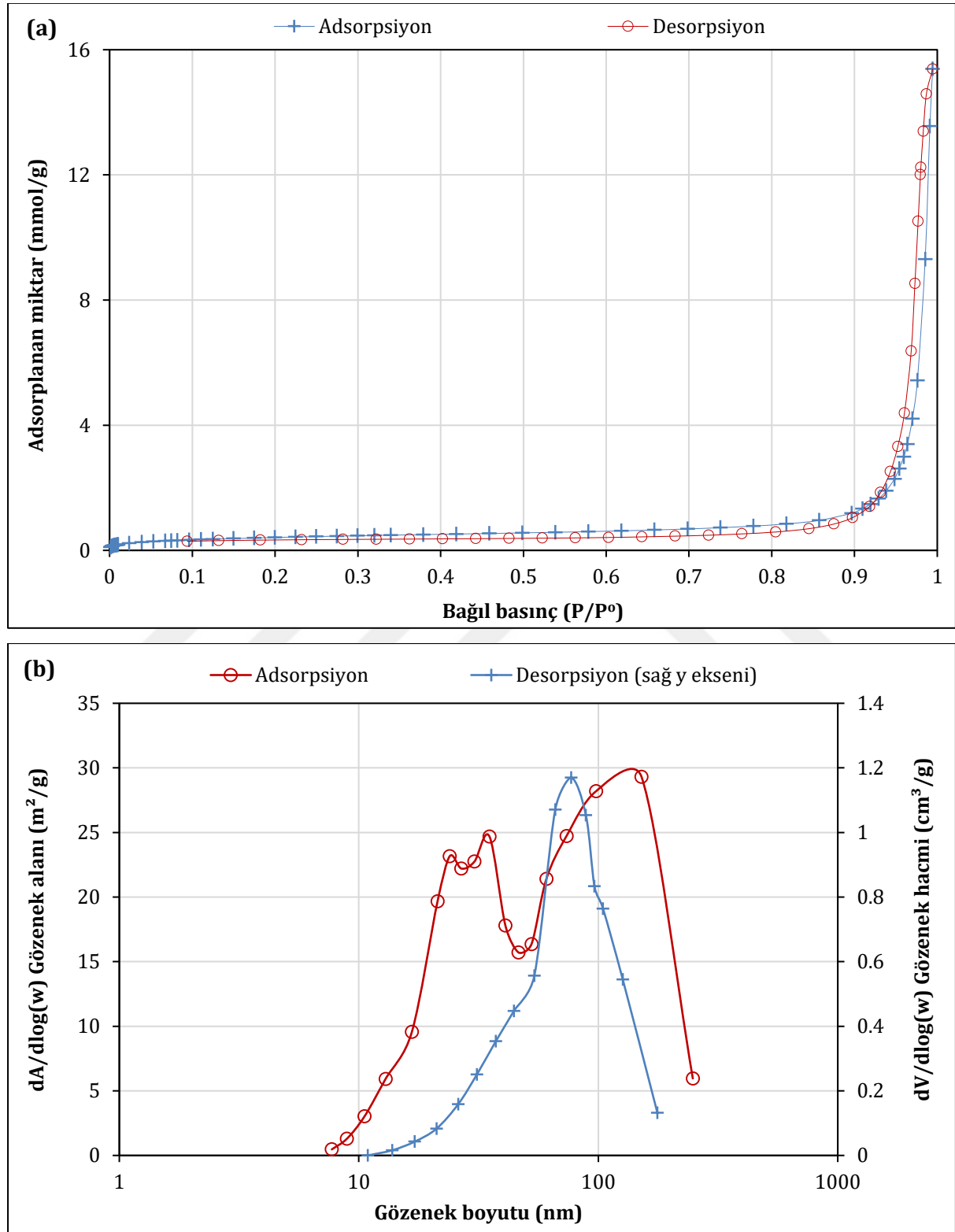
5. tip izoterm; adsorplanma kuvveti az olan mezogözenekli katılardaki adsorpsiyonu gösterir. Birinci katmanın adsorpsiyon ısısı yoğunlaşma ısısından daha küçük olan ve kılcal yoğunlaşmanın fazla olduğu durumlarda elde edilir. İzotermin (a-c) parçası boyunca yüzey tek katmanlı ya da çok katmanlı olarak kaplandıktan sonra, (c-d) parçası boyunca kılcal yoğunlaşma olmaktadır.



6. tip izoterm; izotermelerin nadiren rastlanan basamaklı bir türüdür. Mikrogözenekler yanında farklı boyutlarda mezogözenek takımları içeren katılardaki adsorpsiyon izotermeleri bu biçime benzerlik göstermektedir.

Tablo 4.2.2.'ye göre; bu çalışmada elde edilen izotermin 3. tip adsorpsiyon izotermine uyduğu tespit edildi. Bu tip izoterm; adsorbent-adsorplanan kuvvetlerinin oldukça zayıf olduğu gözeneksiz ya da makrogözenekli katılardaki adsorpsiyonu temsil etmektedir. Bu durumda gözenek yapısının incelenmesi gerekmektedir. Bu amaçla Barrett-Joyner-Halenda (BJH) boyut dağılımı analizi yapıldı ve sonuçlar Şekil 4.2.7.(b)'de sunuldu. Yapılan bu analize göre; FeNPs'nin küre-benzeri gözeneklerinin 7-250 nm aralığında yer aldığı tespit edildi. Şekil 4.2.7.(b)'de verilen gözenek boyut dağılımı grafiği, International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) sınıflandırmasına göre FeNPs'nin mezogözeneklere (2-50 nm) ve makrogözeneklere (>50 nm) sahip olduğunu gösterdi. BJH adsorpsiyon ve desorpsiyon ortalama gözenek boyutları sırasıyla 76.16 nm ve 57.15 nm olarak belirlendi. BJH adsorpsiyon ve desorpsiyon ortalama gözenek

boyutlarının 50 nm'den büyük olması, bu çalışmada sentezlenen FeNPs için elde edilen makrogözenekli katılarda gözlenen 3. tip izotermi doğrular niteliktedir [262].



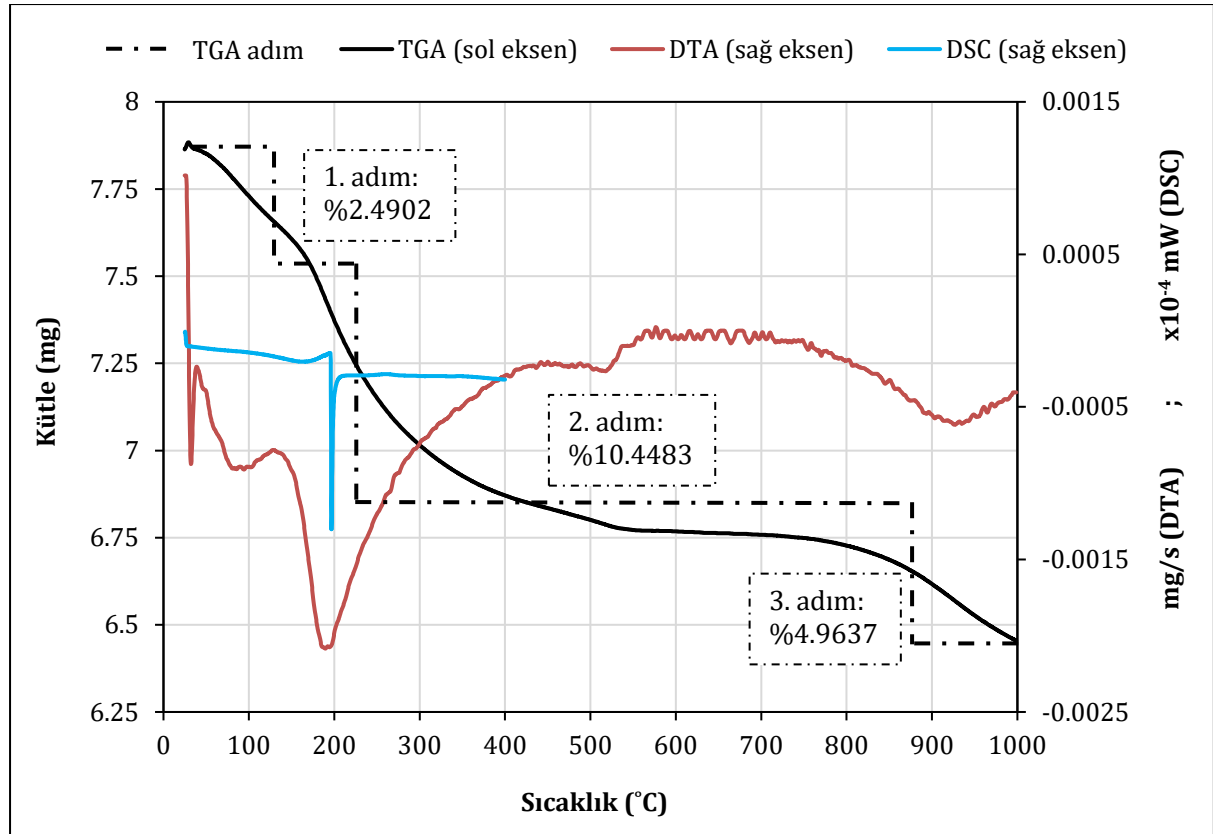
Şekil 4.2.7. Sentezlenen FeNPs'nin **(a)** adsorpsiyon izotermi, **(b)** Barrett-Joyner-Halenda (BJH) boyut dağılımı (FeNPs sentez koşulları: 5.0 mL liç çözeltisi, doğal pH (≈ 1.18), 65 °C, 0.175 g NaBH₄)

Sentezlenen FeNPs'nin spesifik BET yüzey alanı $32.67 \text{ m}^2/\text{g}$ olarak tespit edildi. FeNPs için tespit edilen spesifik BET yüzey alanı literatürde yer alan demir içerikli nanopartiküller ile karşılaştırıldı ve sonuçlar Tablo 4.2.3.'te özetlendi. Tablo 4.2.3.'ten görüldüğü üzere demir içerikli nanopartiküller oldukça değişken yüzey alanlarına sahiptirler. Bu değişkenliklerin, nanopartiküllerin sentez yöntemlerinin ve içerdikleri demir fazlarının farklılıklarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Literatürde yer alan demir içerikli nanopartiküllere göre, bu çalışmada sentezlenen FeNPs'nin spesifik BET yüzey alanının ortalama düzeyde olduğu görüldü. Karakterizasyon çalışmalarında tespit edilen FeNPs'nin içerdiği demir dışındaki diğer elementlerin, FeNPs'nin spesifik BET yüzey alanını düşürdüğü düşünülmektedir.

Tablo 4.2.3. Literatürde yer alan demir içerikli nanopartiküllerin spesifik BET yüzey alanları

Nanopartikül	Spesifik BET yüzey alanı (m^2/g)	Kaynak
Fe_3O_4 nanopartikülleri	86.55	[263]
$\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanopartikülleri	18.31	[264]
%2 Ag yüklenmiş $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanopartikülleri	69.60	[265]
Sıfır değerlikli demir nanopartikülleri	67.51	[266]
Fe_3O_4 nanopartikülleri	57.54	[267]
Sıfır değerlikli demir nanopartikülleri	47.49	[268]
Yeşil sentezlenmiş Fe_3O_4 nanopartikülleri	47.07	[269]
Fe_3O_4 nanopartikülleri	36.61	[270]
Yeşil sentezlenmiş demir nanopartikülleri	36.62	[271]
$\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanopartikülleri	34.10	[271]
FeNPs	32.67	Bu çalışma
Fe_3O_4 nanopartikülleri	27	[272]
Yeşil sentezlenmiş Fe_3O_4 nanopartikülleri	26.21	[273]
Sıfır değerlikli demir nanopartikülleri	25	[207]
$\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanopartikülleri	18.30	[274]
Yeşil sentezlenmiş Fe_3O_4 nanopartikülleri	17.60	[275]
Ticari $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanopartikülleri	16.27	[276]
Yeşil sentezlenmiş Fe_3O_4 nanopartikülleri	14.60	[277]
Sıfır değerlikli demir nanopartikülleri	14.50	[278]
Yeşil sentezlenmiş Fe_3O_4 nanopartikülleri	10.88	[273]
Yeşil sentezlenmiş demir oksit nanopartikülleri	7.67	[279]
Yeşil sentezlenmiş Fe_3O_4 nanopartikülleri	3.517	[273]

DSC, TGA/DTA analizi: Bu çalışmada sentezlenen FeNPs'nin termal davranışı Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) ve Termogravimetrik ve Diferansiyel Termogravimetrik Analizleri (TGA/DTA) ile incelendi. DSC analizinde; $25\text{-}400^\circ\text{C}$ sıcaklık aralığında 10 K/min ısıtma hızıyla çalışıldı ve atmosfer olarak 40 mL/min akış hızında azot gazı kullanıldı. TGA/DTA analizlerinde ise $25\text{-}1000^\circ\text{C}$ sıcaklık aralığında 20 K/min ısıtma hızıyla çalışıldı ve atmosfer olarak 40 mL/min akış hızında azot gazı kullanıldı. Şekil 4.2.8.'de, sentezlenen FeNPs'nin DSC ve TGA/DTA termal analizleri ile elde edilen sıcaklık artışıyla değişen kütle değişimi ve ısı akışı eğrileri sunuldu.

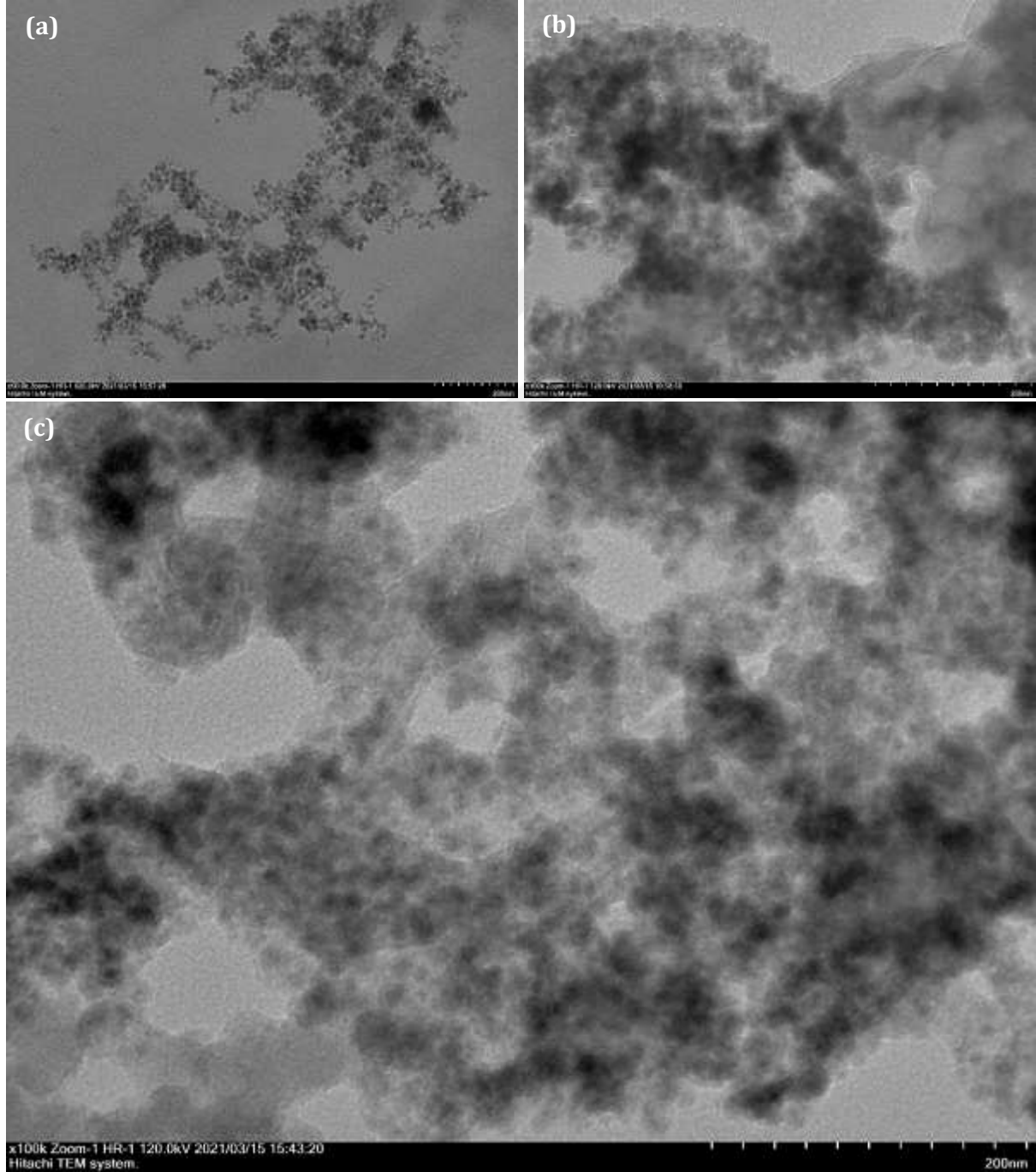


Şekil 4.2.8. Sentezlenen FeNPs'nin DSC, TGA ve DTA eğrileri (FeNPs sentez koşulları: 5.0 mL liç çözeltisi, doğal pH (≈ 1.18), 65 °C, 0.175 g NaBH₄)

Şekil 4.2.8.'de verilen DTA eğrisinde 32 °C'de keskin bir pik ve 70-120 °C aralığında merkezi yaklaşık 95 °C olan geniş bir band tespit edildi. Bunlar, FeNPs yüzeyine fiziksel olarak adsorplanmış suyun uzaklaşmasından kaynaklanmaktadır. TGA eğrisinde ise; fiziksel olarak adsorplanmış suyun yapıdan uzaklaşmasından kaynaklı 0-130 °C sıcaklık aralığındaki ilk adımda FeNPs'nin kütlesinde %2.4902'lik bir kütle kaybının olduğu tespit edildi [280,281]. Şekil 4.2.8.'de görülen DSC eğrisi yaklaşık 196 °C sıcaklığında endotermik reaksiyon olduğunu gösteren bir pik verirken, DTA eğrisi yaklaşık bu sıcaklıkta büyük miktarda bir kütle kaybına işaret etmektedir. TGA eğrisinde ise bu kütle kaybının 430 °C sıcaklığa kadar devam ettiği görülmektedir. Bu kütle kaybının nedeninin FeNPs yapısında EDX analizi ile tespit edilen demir haricindeki diğer bileşenlerin bozunmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. FeNPs sentezi sırasında kullanılan bitki yapısından kaynaklı demir haricindeki bileşenlerin bozunması nedeniyle TGA eğrisinde 130-430 °C sıcaklık aralığındaki ikinci adımda FeNPs'nin kütlesinde %10.4483'lik bir kütle kaybının olduğu tespit edildi [282,283]. Bitki yapısından kaynaklı bileşenlerin bozunmasından kaynaklı kütle kaybının 430 °C'dan sonra da devam ettiği görülürken; DTA eğrisinde 800-1000 °C sıcaklık aralığında geniş bir band tespit edildi. Tespit edilen bu bandın, FeNPs yapısındaki Fe₃O₄ fazının Fe₂O₃ fazına dönüşmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. FeNPs sentezi sırasında kullanılan bitki yapısından kaynaklı bileşenlerin bozunmalarının devam etmesi ve

FeNPs yapısındaki Fe_3O_4 fazının Fe_2O_3 fazına dönüşmesi nedeniyle; TGA eğrisinde 430-1000 °C sıcaklık aralığındaki üçüncü adımda FeNPs'nin kütlelerinde %4.9637'lik bir kütle kaybının olduğu tespit edildi [284,285].

TEM analizi: Bu çalışmada sentezlenen FeNPs'nin farklı büyütme oranlarındaki TEM görüntüleri Şekil 4.2.9.(a)-(c)'de sunuldu.



Şekil 4.2.9. Sentezlenen FeNPs'nin TEM görüntüleri **(a)** 50.0 k büyütme oranında, **(b)** 100 k büyütme oranında, **(c)** 100 k büyütme oranında (farklı bölge) (FeNPs sentez koşulları: 5.0 mL liç çözeltisi, doğal pH (≈ 1.18), 65 °C, 0.175 g NaBH_4)

Şekil 4.2.9. (a)-(c)'den, oldukça küçük nanoboyutlardaki (<10 nm) FeNPs'nin birleşerek toplandığı ve topaklaşmanın olduğu bu yerlerde daha koyu görüntülerin elde edildiği tespit edildi. Ayrıca, TEM görüntülerinden FeNPs'nin küre-benzeri şekilsel yapıya sahip oldukları belirlendi. Küre-benzeri yapılar yakından incelendiğinde ise, FeNPs'nin çekirdek-kabuk yapısına sahip olduğu görüldü. FeNPs'nin küre-benzeri yapılarının merkezinin (çekirdeğinin) daha koyu renkli; dış kısmının (kabuğunun) daha açık renkli olduğu tespit edildi. TEM cihazında; yüksek atom numaralı elementlerin koyu renk, düşük atom numaralı elementlerin ise daha açık renk göründükleri bilinmektedir [207]. Buna göre; FeNPs'nin çekirdek-kabuk yapısının koyu görünen çekirdek kısmının atom numarası büyük olan sıfır değerlikli demir (Fe^0), kabuk kısmının ise ortalama atom numaraları $\text{Fe}^{0'}$ dan daha küçük olan demir oksit/hidroksitleri olduğu söylenebilir [286,287]. XRD analizinde de FeNPs'inin $\text{Fe}^{0'}$ 'nin yanı sıra Fe_3O_4 , FeOOH , $\gamma\text{-FeOOH}$ gibi demir oksit yapılarını içerdiği belirlenmiştir.

4.2.1. Liç Çözeltisi Kullanılan Demir Nanopartikülleri (FeNPs) Sentezine Ortam Koşullarının Etkisinin SEM Analizi ile Değerlendirilmesi

P. brutia bitkisinden hazırlanan yüksek demir iyonu içerikli liç çözeltisi kullanılan FeNPs sentezine etki eden sıcaklık ($30\text{-}65$ °C), pH (doğal pH (≈ 1.18)-5.5), NaBH_4 miktarı (0.175-0.625 g), PVP miktarı (0.025-0.50 g) gibi çevresel koşulların etkisi bir değişkenin değiştirilip diğer faktörlerin sabit tutulması yöntemi ile araştırıldı. Her bir koşulda sentezlenen FeNPs'nin yüzey özellikleri SEM analizi yapılarak belirlendi. Bu amaçla, 15 mL'lik deney tüpleri içerisindeki *P. brutia* bitkisi ile hazırlanmış 5.0 mL hacimdeki istenilen sıcaklıkta ve pH değerinde olan liç çözeltilerine, istenilen miktarda NaBH_4 eklendi. NaBH_4 'ün eklenmesinin ardından $\text{H}_{2(g)}$ çıkışıyla birlikte nanopartikül oluşumu gözlemlendi. Sentez sonucunda elde edilen ve nanopartikül içeren koyu siyah renkli karışım 30 dakika süre ile 1000 rpm hızında manyetik olarak karıştırıldı, daha sonra 6000 rpm hızında 5.0 dakika süre ile santrifüjlenerek nanopartiküller sıvı kısımdan ayrıldı. Sentezlenen FeNPs, önce saf etanol daha sonra saf su ile yıkandı ve SEM analizleri için 110 °C'deki etüvde sabit tartıma gelinceye kadar kurutuldu. FeNPs sentezine ortam koşulları etkisinin araştırılması amacı ile aşağıda verilen deneysel koşullarda bir seri deney yapıldı, her bir parametre için sentezlenen nanopartikülün SEM görüntüleri alınarak ortam koşullarının senteze etkileri tartışıldı.

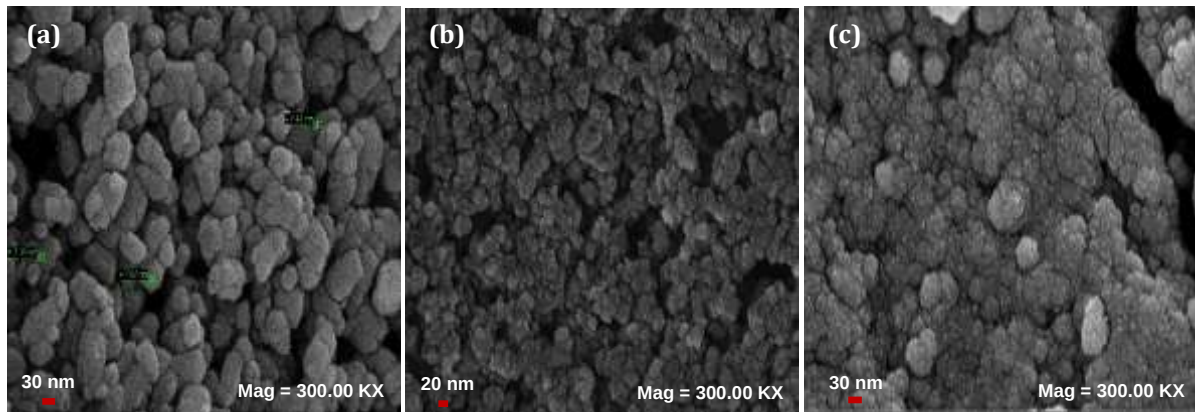
- i. Doğal pH (≈ 1.18), 65 °C, 0.175 g NaBH_4
- ii. pH=3.0, 65 °C, 0.175 g NaBH_4
- iii. pH=5.5, 65 °C, 0.175 g NaBH_4
- iv. Doğal pH (≈ 1.18), 30 °C, 0.175 g NaBH_4
- v. Doğal pH (≈ 1.18), 45 °C, 0.175 g NaBH_4

- vi. Doğal pH (≈ 1.18), 65 °C, 0.35 g NaBH₄
- vii. Doğal pH (≈ 1.18), 65 °C, 0.50 g NaBH₄
- viii. Doğal pH (≈ 1.18), 65 °C, 0.625 g NaBH₄
- ix. Doğal pH (≈ 1.18), 65 °C, 0.175 g NaBH₄, 0.025 g PVP
- x. Doğal pH (≈ 1.18), 65 °C, 0.175 g NaBH₄, 0.125 g PVP
- xi. Doğal pH (≈ 1.18), 65 °C, 0.175 g NaBH₄, 0.25 g PVP
- xii. Doğal pH (≈ 1.18), 65 °C, 0.175 g NaBH₄, 0.50 g PVP

Bu koşullarda sentezlenen FeNPs'nin SEM analiz sonuçları ayrıntılı bir şekilde aşağıda sunuldu.

4.2.1.1. FeNPs Sentezine Sıcaklığın Etkisi (Deney i, vi, vii)

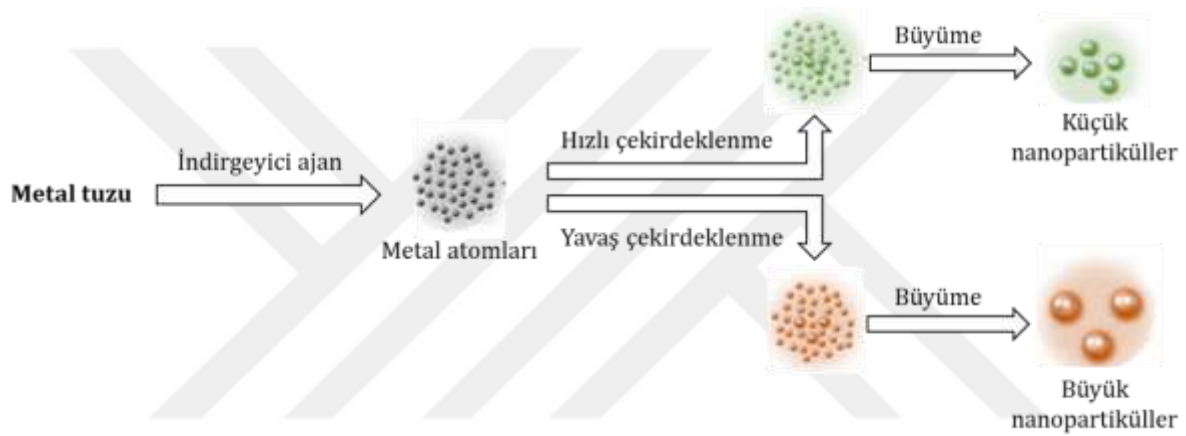
FeNPs'nin sentezine sıcaklığın etkisi 30-65 °C aralığında araştırıldı. Bu amaçla, farklı sıcaklıklardaki ve doğal pH değerindeki (≈ 1.18) 5.0 mL liç çözeltilerine, 0.175 g NaBH₄ ilave edildi. Bu koşullarda sentezlenen FeNPs'nin yüzey özellikleri SEM analizleri ile incelendi. 30 °C, 45 °C ve 65 °C'de sentezlenen FeNPs'ne ait SEM görüntüleri sırasıyla Şekil 4.2.10. (a), (b) ve (c)'de sunuldu. Buna göre; sıcaklık artışının nanopartiküllerin daha düzenli küresel yapılarda olmalarını sağladığı söylenebilir.



Şekil 4.2.10. Farklı sıcaklıklarda sentezlenen FeNPs'nin SEM görüntüleri (a) T=30 °C, (b) T=45 °C, (c) T=65 °C (FeNPs sentez koşulları: 5.0 mL 13.81 mg/L liç çözeltisi, doğal pH ≈ 1.18 , 0.175 g NaBH₄, T=30-65 °C)

30 °C, 45 °C ve 65 °C'de sentezlenen FeNPs'nin boyutları Image-J programı ile en az 100 ölçüm alınarak sırasıyla 9.05 ± 1.21 nm, 7.98 ± 0.99 nm ve 5.16 ± 0.81 nm olarak hesaplandı. Buna göre; sıcaklık arttıkça nanopartiküllerin boyutlarının küçüldüğü ve topaklaşmaların da bir miktar azaldığı sonucuna varıldı. Bu durum şu şekilde açıklanabilir: İndirgeme yöntemi ile nanopartiküllerin oluşumu sırasıyla indirgenme, çekirdeklenme ve büyüme şeklinde gerçekleşir. Buna göre öncelikle metal tuzu indirgeyici bir ajan varlığında metal atomlarına indirgenir. Daha

sonra sırasıyla çekirdeklenme ve büyüme aşamaları ile nanopartiküller oluşur. Çekirdeklenme, kristal büyüme için atomların şablon görevi gördüğü süreçtir. Sıcaklık arttıkça moleküllerin kinetik enerjileri artar ve dolayısıyla metal atomlarına indirgenme hızı artacağından hızlı çekirdeklenme gerçekleşerek küçük boyutta nanopartiküller oluşur. Bu durumda çekirdeklenme sona erdikten sonra büyüme meydana geldiğinden, küçük boyutta nanopartiküller oluşur. Düşük sıcaklıklarda yani düşük indirgenme hızlarında ise bir yandan çekirdeklenme olurken diğer yandan oluşan çekirdeklerin büyümesi de meydana geleceğinden nanopartiküllerin boyutları artar [288,289]. Bu durum, sıcaklık değişimi ile istenilen boyutta nanopartikül sentezine olanak vermektedir. Sıcaklık değişimine bağlı çekirdeklenme hızının nanopartiküllerin boyutuna etkisi Şekil 4.2.11.'de şematize edilmektedir.

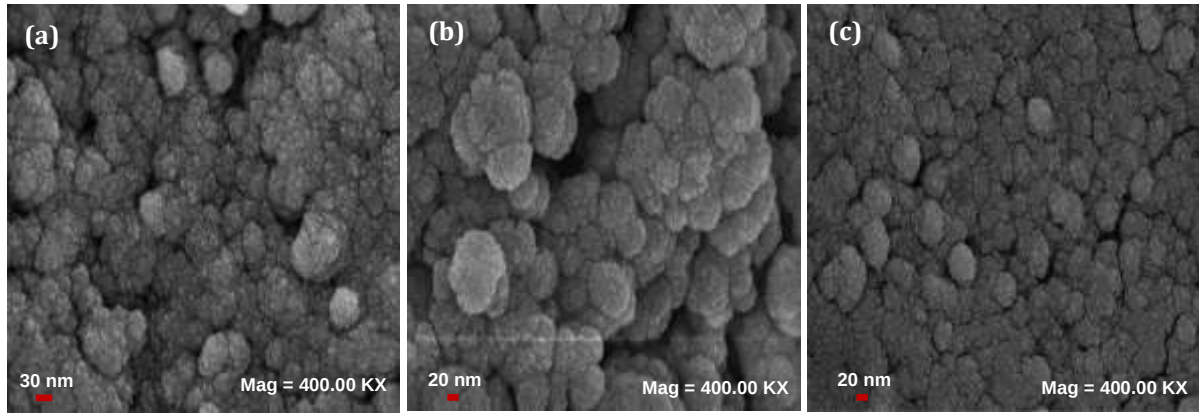


Şekil 4.2.11. Nanopartikül oluşum şeması

4.2.1.2. FeNPs Sentezine pH'nın Etkisi (Deney i, ii, iii)

FeNPs'nin sentezine liç çözeltisinin pH'nın etkisi doğal pH (≈ 1.18)-5.5 aralığında araştırıldı. Bu amaçla, farklı pH değerlerindeki ve 65 °C'deki 5.0 mL liç çözeltilerine, 0.175 g NaBH_4 ilave edildi. Bu koşullarda sentezlenen FeNPs'nin yüzey özellikleri SEM analizleri ile incelendi. Doğal pH, pH=3.0 ve pH=5.5'da sentezlenen FeNPs'ne ait SEM görüntüleri sırasıyla Şekil 4.2.12. (a), (b) ve (c)'de sunuldu. Buna göre; liç çözeltisi pH'nın FeNPs'nin yüzey özelliklerine önemli bir etkisinin olmadığı görüldü.

Doğal pH, pH=3.0 ve pH=5.5'da sentezlenen FeNPs'nin boyutları Image-J programı ile en az 100 ölçüm alınarak sırasıyla 5.16 ± 0.81 nm, 5.01 ± 0.77 nm ve 5.02 ± 0.76 nm olarak hesaplandı. Buna göre; pH değişiminin nanopartiküllerin küresel yapılarını ve büyüklüklerini etkilemediği tespit edildi.

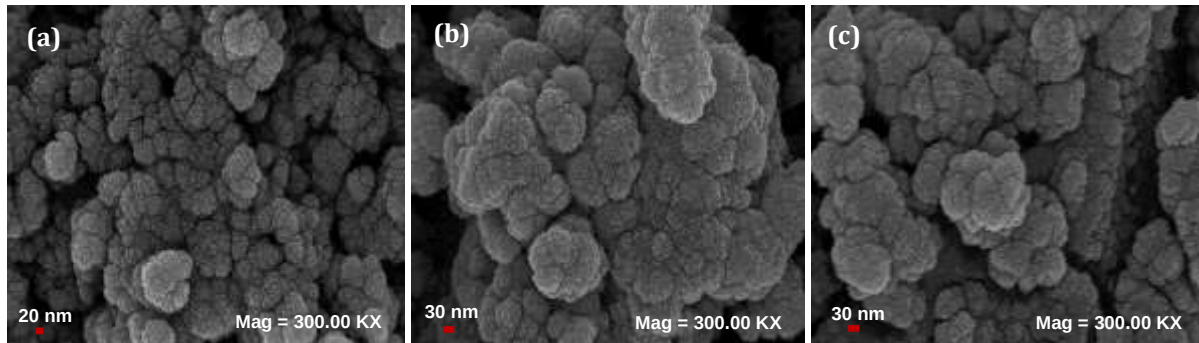


Şekil 4.2.12. Farklı pH değerlerinde sentezlenen FeNPs'nin SEM görüntüleri **(a)** Doğal pH, **(b)** pH=3.0, **(c)** pH=5.5 (FeNPs sentez koşulları: 5.0 mL 13.81 mg/L liç çözeltisi, pH=doğal pH (≈ 1.18)-5.5), 0.175 g NaBH₄, T=65 °C)

4.2.1.3. FeNPs Sentezine NaBH₄ Miktarının Etkisi (Deney i, vi, vii, viii)

FeNPs'nin sentezine NaBH₄ miktarının etkisi 0.175-0.50 g aralığında araştırıldı. Bu amaçla, doğal pH değeri ve 65 °C'deki 5.0 mL liç çözeltilerine, farklı miktarlarda NaBH₄ ilave edildi. Bu koşullarda sentezlenen FeNPs'nin yüzey özellikleri SEM analizleri ile incelendi. 0.35 g, 0.50 g ve 0.625 g NaBH₄ kullanılarak sentezlenen FeNPs'ne ait SEM görüntüleri sırasıyla Şekil 4.2.13. (a), (b) ve (c)'de sunuldu.

0.35 g, 0.50 g ve 0.625 g NaBH₄ kullanılarak sentezlenen FeNPs'nin boyutları Image-J programı ile en az 100 ölçüm alınarak sırasıyla 5.19±0.52 nm, 5.39±0.59 nm ve 5.74±0.70 nm olarak hesaplandı. Ayrıca Şekil 4.2.13. incelendiğinde, NaBH₄ miktarı arttıkça nanopartiküllerin topaklaşmalarının da arttığı gözlemlendi. Bu durum şu şekilde açıklanabilir: Eşitlik (2.3.1.) ve (2.3.2.)'deki tepkimelere göre; NaBH₄ miktarı arttıkça oluşan FeNPs miktarı artar ve bu durumda ortamda daha fazla nanopartikül olduğundan, bu nanopartiküller birleşerek kümeler oluştururlar.

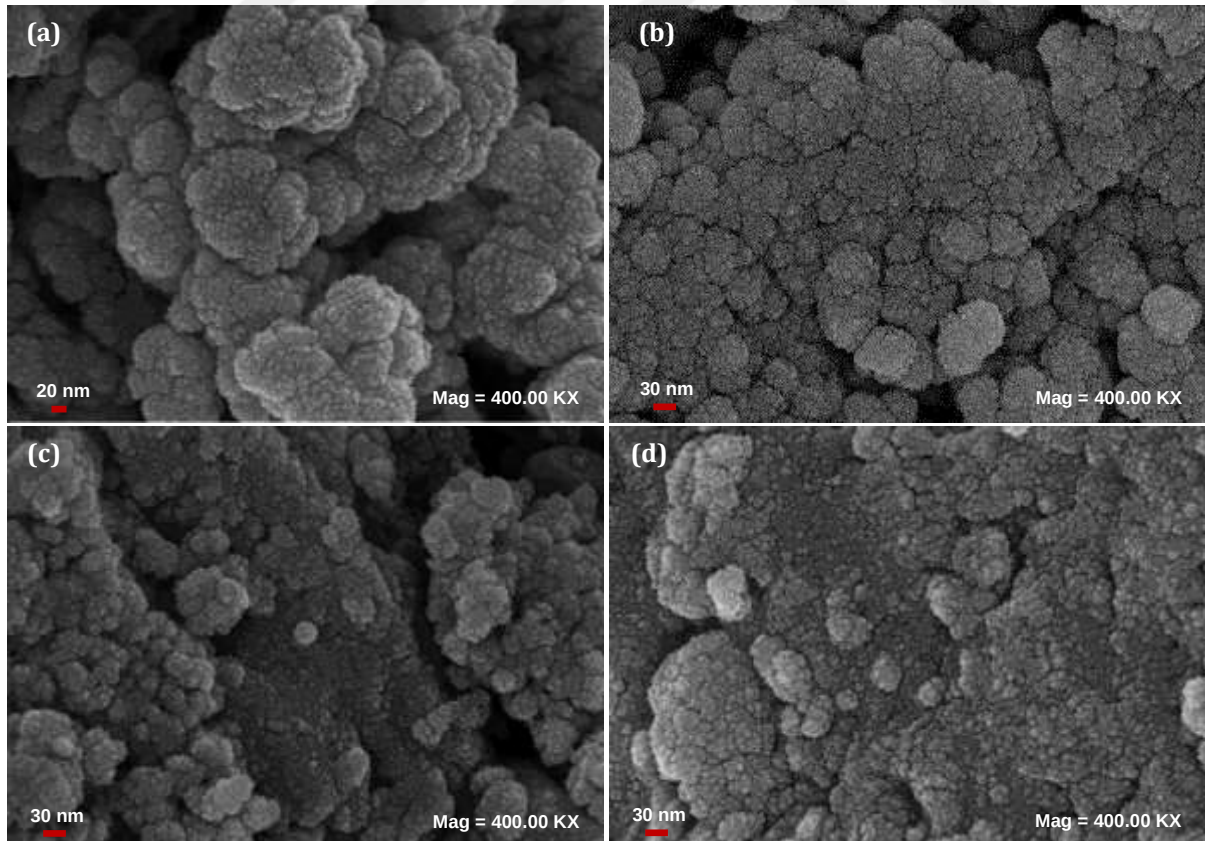


Şekil 4.2.13. Farklı NaBH₄ miktarları ile sentezlenen FeNPs'nin SEM görüntüleri **(a)** 0.35 g NaBH₄, **(b)** 0.50 g NaBH₄, **(c)** 0.625 g NaBH₄ (FeNPs sentez koşulları: 5.0 mL 13.81 mg/L liç çözeltisi, doğal pH ≈ 1.18 , 0.175-0.625 g NaBH₄, T=65 °C)

4.2.1.4. FeNPs Sentezine PVP Miktarının Etkisi (Deney ix, x, xi, xii)

Sentez sırasında nanopartiküllerin topaklaşmalarının engellemek amacıyla poly vinyl pyrrolidone (PVP) yüzey aktif maddesi kullanıldı. FeNPs'nin sentezine PVP miktarının etkisi 0.025-0.50 g aralığında araştırıldı. Bu amaçla, doğal pH değeri ve 65 °C'deki 5.0 mL liç çözeltilerinde farklı miktarlarda PVP çözüldü ve her bir liç çözeltisine 0.175 g NaBH₄ eklendi. Bu koşullarda sentezlenen FeNPs'nin yüzey özellikleri SEM analizleri ile incelendi. 0.025 g, 0.125 g, 0.25 g ve 0.50 g PVP kullanılarak sentezlenen FeNPs'ne ait SEM görüntüleri sırasıyla Şekil 4.2.14. (a), (b), (c) ve (d)'de sunuldu.

0.025 g, 0.125 g, 0.25 g ve 0.50 g PVP kullanılarak sentezlenen FeNPs'nin boyutları Image-J programı ile en az 100 ölçüm alınarak sırasıyla 5.15±0.66 nm, 5.14±0.58 nm, 5.06±0.69 ve 5.03±0.72 nm olarak hesaplandı. Buna göre; PVP'nin partikül boyutu üzerine belirgin bir etkisinin olmadığı belirlendi. Ayrıca beklendiği üzere; PVP miktarı arttıkça nanopartiküllerin topaklaşmalarının da azaldığı Şekil 4.2.14. (a), (b), (c) ve (d)'den açıkça gözlemlendi. Buna göre; nanopartikül sentezi sırasında PVP'nin, liç çözeltisindeki demir iyonlarının çevresini sararak hidrofilik ve hidrofobik uçları sayesinde indirgenme reaksiyonu sırasında topaklaşma olmasını engellediği düşünülmektedir.



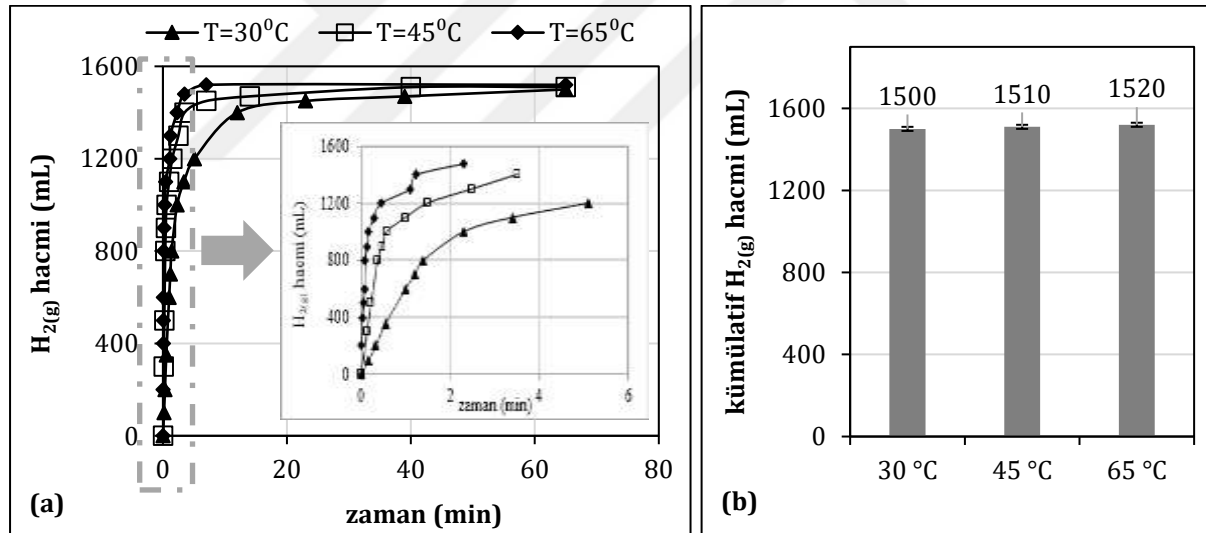
Şekil 4.2.14. Farklı PVP miktarları ile sentezlenen FeNPs'nin SEM görüntüleri **(a)** 0.025 g NaBH₄, **(b)** 0.125 g NaBH₄, **(c)** 0.25 g NaBH₄, **(d)** 0.50 g PVP (FeNPs sentez koşulları: 5.0 mL 13.81 mg/L liç çözeltisi, doğal pH≈1.18, 0.175 g NaBH₄, T=65 °C, 0.025-0.50 g PVP)

4.3. FeNPs Sentezi Sırasında $H_{2(g)}$ Üretimine Çevresel Koşulların Etkisinin Araştırılması

FeNPs sentezi sırasında üretilen $H_{2(g)}$ hacmi; ters mezür yöntemi ile suyun yer değiştirme prensibine göre belirlendi. $H_{2(g)}$ üretimine etki eden sıcaklık (30-65 °C), pH (doğal pH (≈ 1.18)-9.0), $NaBH_4$ miktarı (0.70-2.50 g), PVP miktarı (0.1-2.0 g) gibi çevresel koşulların etkisi bir değişkenin değiştirilip diğer faktörlerin sabit tutulması yöntemi ile araştırıldı, her bir koşulda zamanla üretilen $H_{2(g)}$ hacimleri not edildi ve bu prosese ait optimum ortam koşulları belirlendi.

4.3.1. FeNPs Sentezi Sırasında $H_{2(g)}$ Üretimine Sıcaklığın Etkisi

FeNPs sentezi sırasında $H_{2(g)}$ üretimine sıcaklığın etkisi 30-65 °C aralığında araştırıldı. Bu amaçla, farklı sıcaklıklardaki ve doğal pH değerindeki (≈ 1.18) 20 mL liç çözeltilerine, 0.70 g $NaBH_4$ ilave edildi ve zamanla üretilen $H_{2(g)}$ hacimleri not edildi. Farklı sıcaklıklarda üretilen $H_{2(g)}$ hacimlerinin zamanla değişimi ve farklı sıcaklıklarda üretilen toplam $H_{2(g)}$ hacimleri sırasıyla Şekil 4.3.1. (a) ve (b)'de sunuldu.



Şekil 4.3.1. (a) Farklı sıcaklıklarda üretilen $H_{2(g)}$ hacimlerinin zamanla değişimi, **(b)** Farklı sıcaklıklarda üretilen toplam $H_{2(g)}$ hacimleri (DeneySEL koşullar: doğal pH ≈ 1.18 , T=30-65 °C, 20 mL 13.81 mg/L liç çözeltisi, 0.70 g $NaBH_4$)

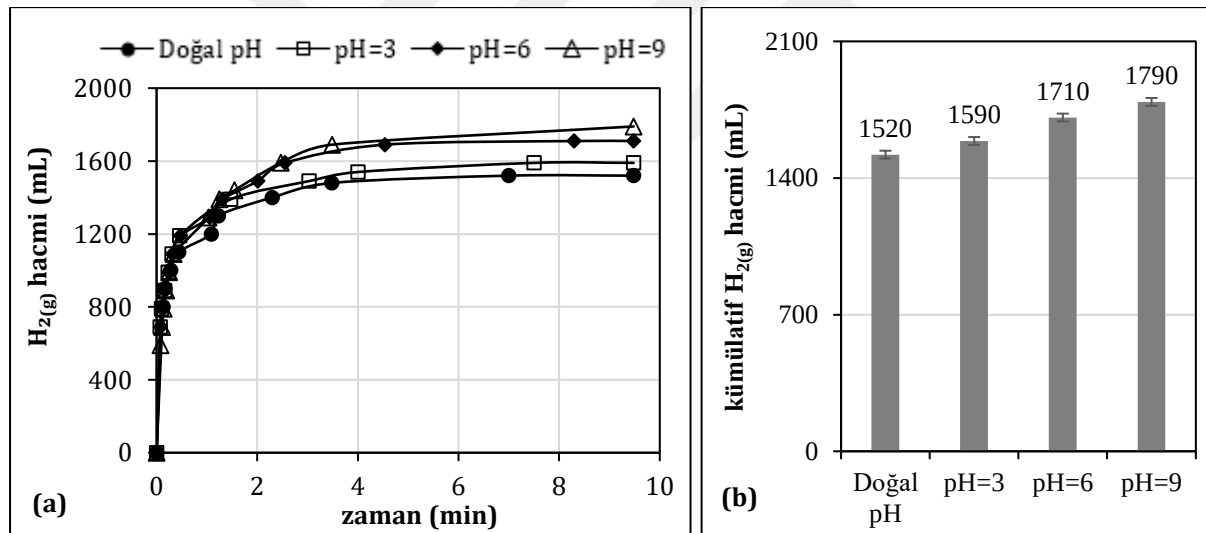
Şekil 4.3.1.(a)'dan; üretilen $H_{2(g)}$ hacimlerinin 30, 45 ve 65 °C için sırasıyla 60, 40 ve 7. dakikaya kadar arttığı, daha sonra yaklaşık sabitlendiği belirlendi. Buna göre, sıcaklık arttıkça reaksiyonun daha kısa sürede gerçekleştiği sonucuna varıldı. Bu durum şu şekilde açıklanabilmektedir; sıcaklık arttıkça liç çözeltisi içerisinde bulunan moleküllerin kinetik enerjileri dolayısıyla hızları artar; böylelikle moleküllerin birim zamandaki çarpışma sayısı artar

ve reaksiyon daha kısa sürede gerçekleşir [290]. Bu durum “4.3.6. FeNPs Sentezi Sırasında $H_{2(g)}$ Üretimi Mekanizması ve Kinetiği” bölümünde daha ayrıntılı bir şekilde incelenecektir.

Şekil 4.3.1.(b)’den; 30, 45 ve 65 °C’de üretilen toplam $H_{2(g)}$ miktarlarının sırasıyla 1500±10, 1510±10 ve 1520±10 mL olduğu belirlendi. Buna göre; üretilen toplam $H_{2(g)}$ hacimleri üzerinde sıcaklığın belirgin bir etkisinin olmadığı, sadece reaksiyon hızını arttırdığı sonucuna varıldı.

4.3.2. FeNPs Sentezi Sırasında $H_{2(g)}$ Üretimine pH’ın Etkisi

FeNPs sentezi sırasında $H_{2(g)}$ üretimine pH’nın etkisi doğal pH (≈ 1.18)-9.0 aralığında araştırıldı. Bu amaçla, farklı pH değerlerindeki ve 65 °C’deki 20 mL liç çözeltilerine, 0.70 g $NaBH_4$ ilave edildi ve zamanla üretilen $H_{2(g)}$ hacimleri not edildi. Farklı pH değerlerinde üretilen $H_{2(g)}$ hacimlerinin zamanla değişimi ve farklı pH değerlerinde üretilen toplam $H_{2(g)}$ hacimleri sırasıyla Şekil 4.3.2. (a) ve (b)’de sunuldu.

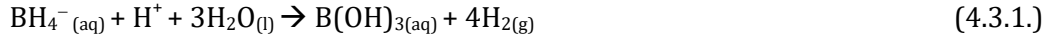


Şekil 4.3.2. (a) Farklı pH değerlerinde üretilen $H_{2(g)}$ hacimlerinin zamanla değişimi, **(b)** Farklı pH değerlerinde üretilen toplam $H_{2(g)}$ hacimleri (DeneySEL koşullar: pH=doğal pH (≈ 1.18)-9.0, T=65 °C, 20 mL 13.81 mg/L liç çözeltisi, 0.70 g $NaBH_4$)

Şekil 4.3.2.(a)’dan; üretilen $H_{2(g)}$ hacimlerinin tüm pH değerlerinde 7. dakikaya kadar arttığı, daha sonra yaklaşık sabitlendiği belirlendi.

Şekil 4.3.2.(b)’den; doğal pH (≈ 1.18), 3.0, 6.0 ve 9.0 değerlerinde üretilen toplam $H_{2(g)}$ hacimlerinin sırasıyla 1520±10, 1590±20, 1710±20 ve 1790±20 mL olduğu tespit edildi. Üretilen toplam $H_{2(g)}$ hacimlerinin, H^+ iyon miktarının fazla olduğu güçlü asidik değerlerde düşük olmasının sebebi elektrot potansiyelleri ile açıklanabilmektedir. Elektrot potansiyel değerleri şu şekildedir; $[2H^+/H_2] = 0.00$ V, $[Fe^{3+}/Fe^0] = -0.04$ V, $[Fe^{2+}/Fe^0] = -0.41$ V. Buna göre; düşük pH

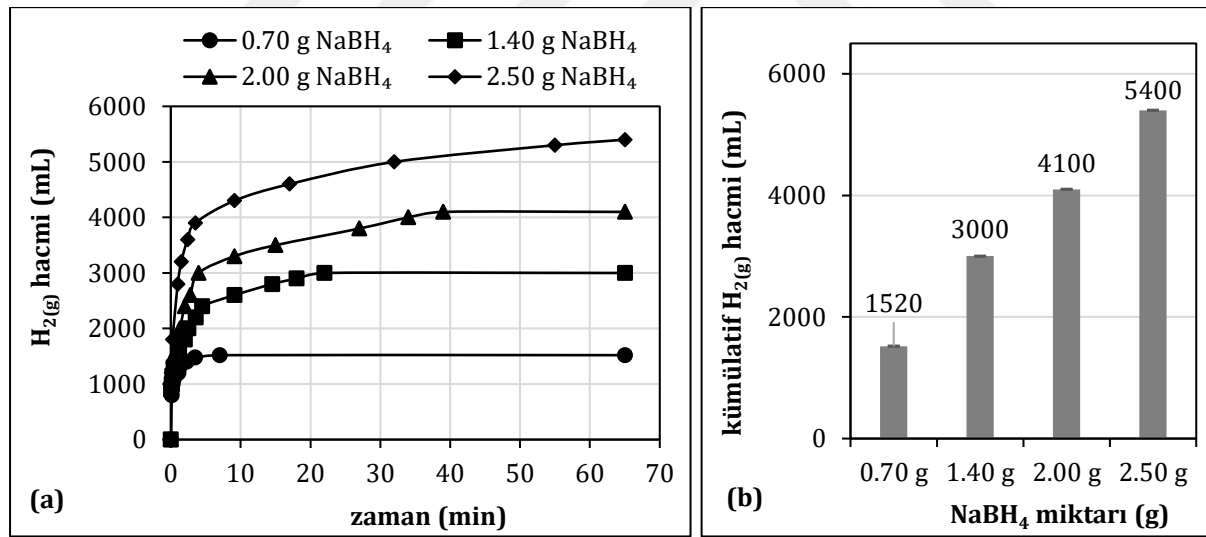
değerlerinde, Eşitlik (2.3.1.) ve (2.3.2.)’de verilen demir iyonlarının indirgenmesinden daha çok elektrot potansiyeli yüksek olan H^+ indirgenmesi gerçekleşir (Eşitlik 4.3.1.). Bu durumda, FeNPs oluşumu ile $H_{2(g)}$ üretimi yarışmalı bir şekilde meydana gelir ve bu durum üretilen toplam $H_{2(g)}$ hacimlerinin düşmesine neden olur [291].



pH arttıkça, Eşitlik (2.3.1.) ve (2.3.2.)’de verilen demir iyonlarının (Fe^{2+}/Fe^{3+}) indirgenmesi öncelikli olarak oluşur ve bu tepkimelerin gerçekleşmesi sonucu üretilen toplam $H_{2(g)}$ hacimleri artar.

4.3.3. FeNPs Sentezi Sırasında $H_{2(g)}$ Üretimine $NaBH_4$ Miktarının Etkisi

FeNPs sentezi sırasında $H_{2(g)}$ üretimine $NaBH_4$ miktarının etkisi 0.70-2.50 g aralığında araştırıldı. Bu amaçla, doğal pH değeri ve 65 °C’deki 20 mL liç çözeltilerine, farklı miktarlarda $NaBH_4$ ilave edildi ve zamanla üretilen $H_{2(g)}$ hacimleri not edildi. Farklı $NaBH_4$ miktarları ile üretilen $H_{2(g)}$ hacimlerinin zamanla değişimi ve farklı $NaBH_4$ miktarları ile üretilen toplam $H_{2(g)}$ hacimleri sırasıyla Şekil 4.3.3. (a) ve (b)’de sunuldu.



Şekil 4.3.3. (a) Farklı $NaBH_4$ miktarları ile üretilen $H_{2(g)}$ hacimlerinin zamanla değişimi, **(b)** Farklı $NaBH_4$ miktarları ile üretilen toplam $H_{2(g)}$ hacimleri (Deneysel koşullar: doğal pH $\approx$ 1.18, T=65 °C, 20 mL 13.81 mg/L liç çözeltisi, 0.70-2.50 g $NaBH_4$)

Şekil 4.3.3.(a)’dan; 0.70, 1.40, 2.00 ve 2.50 g $NaBH_4$ miktarları için üretilen $H_{2(g)}$ hacimlerinin sırasıyla 7, 22, 39 ve 60. dakikaya kadar arttığı, daha sonra yaklaşık sabitlendiği belirlendi.

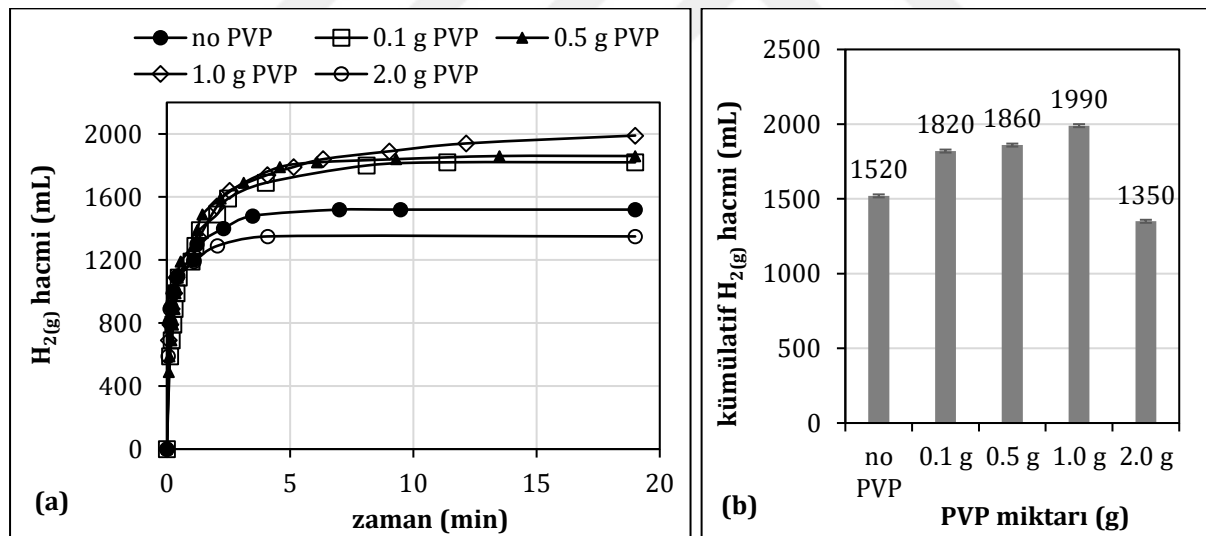
Şekil 4.3.3.(b)’den; 0.70, 1.40, 2.00 ve 2.50 g $NaBH_4$ miktarları ile üretilen toplam $H_{2(g)}$ hacimlerinin sırasıyla 1520 $\pm$ 10, 3000 $\pm$ 20, 4100 $\pm$ 20 ve 5400 $\pm$ 20 mL olduğu belirlendi. Buna göre,

ortama ilave edilen NaBH_4 miktarı arttırıldıkça üretilen toplam $\text{H}_{2(g)}$ miktarı arttığı tespit edildi. Çalışılan her dört durumda reaksiyon ortamında sınırlayıcı bileşen NaBH_4 'dür ve bu durumda ortamda NaBH_4 ile reaksiyona girecek yeterli miktarda reaktan bulunduğu için NaBH_4 miktarı arttırıldıkça üretilen toplam $\text{H}_{2(g)}$ miktarının arttığı tespit edildi.

4.3.4. FeNPs Sentezi Sırasında $\text{H}_{2(g)}$ Üretimine PVP Miktarının Etkisi

Bu çalışmada PVP (M.W. 50.000), sentez aşamasında nanopartiküllerin topaklaşmasını önlemek amacıyla stabilizör/yüzey aktif maddesi olarak tercih edildi. İstenilen sonuca ulaşılıp, sentezlenen FeNPs'nin topaklaşmalarının engellendiği SEM analizleri ile önceki bölümlerde kanıtlandı.

Bu bölümde ise, FeNPs sentezi sırasında $\text{H}_{2(g)}$ üretimine PVP miktarının etkisi 0.1-2.0 g aralığında araştırıldı. Bu amaçla, doğal pH değeri ve 65 °C'deki 20 mL liç çözeltilerinde farklı miktarlarda PVP çözüldü ve her bir liç çözeltisine 0.70 g NaBH_4 eklenerek zamanla üretilen $\text{H}_{2(g)}$ hacimleri not edildi. Farklı PVP miktarları ile üretilen $\text{H}_{2(g)}$ hacimlerinin zamanla değişimi ve farklı PVP miktarları ile üretilen toplam $\text{H}_{2(g)}$ hacimleri sırasıyla Şekil 4.3.4. (a) ve (b)'de sunuldu.

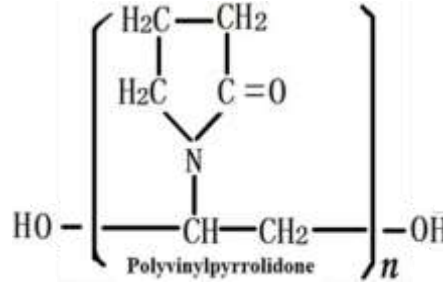


Şekil 4.3.4. (a) Farklı PVP miktarları ile üretilen $\text{H}_{2(g)}$ hacimlerinin zamanla değişimi, **(b)** Farklı PVP miktarları ile üretilen toplam $\text{H}_{2(g)}$ hacimleri (Deneysel koşullar: doğal $\text{pH} \approx 1.18$, $T = 65^\circ\text{C}$, 20 mL 13.81 mg/L liç çözeltisi, 0.70 g NaBH_4 , 0-2.0 g PVP)

Şekil 4.3.4.(a)'dan; PVP'siz durumda ve ortama 0.1, 0.5, 1.0 ve 2.0 g PVP eklendiği durumda reaksiyonların sırasıyla 7.0, 11.38, 13.50, 19 ve 4.10 dakikada dengeye ulaştığı ve bu noktadan sonra herhangi bir $\text{H}_{2(g)}$ üretiminin olmadığı belirlendi. Sonuç olarak, PVP miktarının 1.0 g'a kadar artırılması ile reaksiyonun dengeye gelme süresinin uzadığı tespit edildi.

Şekil 4.3.4.(b)'den; PVP'siz durumda, 0.1, 0.5, 1.0 ve 2.0 g PVP eklendiği durumda üretilen toplam $H_{2(g)}$ hacimlerinin sırasıyla 1520 ± 10 , 1820 ± 20 , 1890 ± 20 , 1990 ± 20 ve 1350 ± 20 mL olduğu belirlendi. Buna göre; PVP miktarının 1.0 g'a kadar artması ile üretilen toplam $H_{2(g)}$ hacimlerinin arttığı; ortamda 2.0 g PVP bulunduğu durumda ise azaldığı tespit edildi.

PVP'nin $H_{2(g)}$ üretimine etkisi, PVP'nin molekül yapısı (Şekil 4.3.5.) ile açıklanabilmektedir.



Şekil 4.3.5. PVP'nin molekül yapısı

PVP; güçlü bir hidrofilik kısım (amid grubu) ve bir hidrofobik kısım (alkil grubu) içeren tipik bir homojen amfifilik polimerdir. Bu nedenle literatürde çoğunlukla stabilizör ajan olarak kullanılmaktadır. Fakat bazı araştırmacılar PVP'nin stabilize edici özelliğinin yanı sıra uzun zincirli alkollere benzer olarak çeşitli metalleri indirgeyici özelliğe de sahip olduğunu kanıtlamışlardır [292,293]. Uzun zincirli alkoller ile indirgeme, metal kolloidlerin sentezine yönelik uzun zamandır bilinen bir yoldur. Ayrıca, bir alkolün indirgeme gücünün, alkil zinciri uzadıkça azaldığı da bilinmektedir. Buna benzer olarak; hidroksil ($-OH$) uç gruplarına sahip polimerler, metalik nanopartiküllerin sentezinde indirgeyici ajan olarak kullanılabilir. Ticari olarak temin edilebilen PVP'nin uçları da, polimerizasyon ortamında su ve hidrojen peroksitin bulunmasına bağlı olarak hidroksil ($-OH$) grubu ile sona erer ve bu durum PVP'ye indirgeyici özellik kazandırır [294]. Bu çalışmada ise, ortamdaki PVP miktarı arttıkça üretilen toplam $H_{2(g)}$ miktarı artmasının nedeninin PVP'nin indirgeyici özelliğine bağlı olduğu düşünülmektedir. Bu durumda ortamda indirgeyici ajan olarak $NaBH_4$ 'ün yanı sıra PVP de bulunmaktadır ve dolayısıyla ortamda indirgeyici ajan miktarı arttıkça oluşan FeNPs miktarı ve buna bağlı olarak da üretilen toplam $H_{2(g)}$ miktarı artmaktadır. Ayrıca literatürde, PVP ile gerçekleşen indirgeme reaksiyonlarının diğer indirgeyiciler ile gerçekleşen indirgeme reaksiyonlarına göre daha yavaş gerçekleştiği bildirilmiştir. PVP miktarının 1.0 g'a kadar artması ile reaksiyonun dengeye gelme süresinin uzamasının da buna bağlı olduğu söylenebilir.

Nanopartikül sentezi sırasında PVP, metal iyonlarının çevresini sararak hidrofilik ve hidrofobik uçları sayesinde indirgenme reaksiyonu sırasında topaklaşma olmasını engellemektedir. Bu çalışmada, ortamda 2.0 g PVP olduğu durumda ise PVP'nin demir iyonlarının etrafını çok fazla sararak demir iyonlarının $NaBH_4$ ile indirgenmesini engellediği ve buna bağlı olarak üretilen toplam $H_{2(g)}$ miktarını da azalttığı düşünülmektedir.

Elde edilen sonuçlara göre FeNPs sentezi sırasında $H_{2(g)}$ üretimi için optimum koşullar; 65 °C sıcaklık, pH=9.0, 2.50 g $NaBH_4$ ve 1.0 g PVP olarak belirlendi ve bu koşullarda 80 dakikada toplam 6000±50 mL $H_{2(g)}$ üretildiği tespit edildi. Literatürde $H_{2(g)}$ üretimi ile ilgili yapılan çalışmalar Tablo 4.3.1.'de sunuldu.

Tablo 4.3.1. Literatürde $H_{2(g)}$ üretimi ile ilgili yapılan çalışmalar

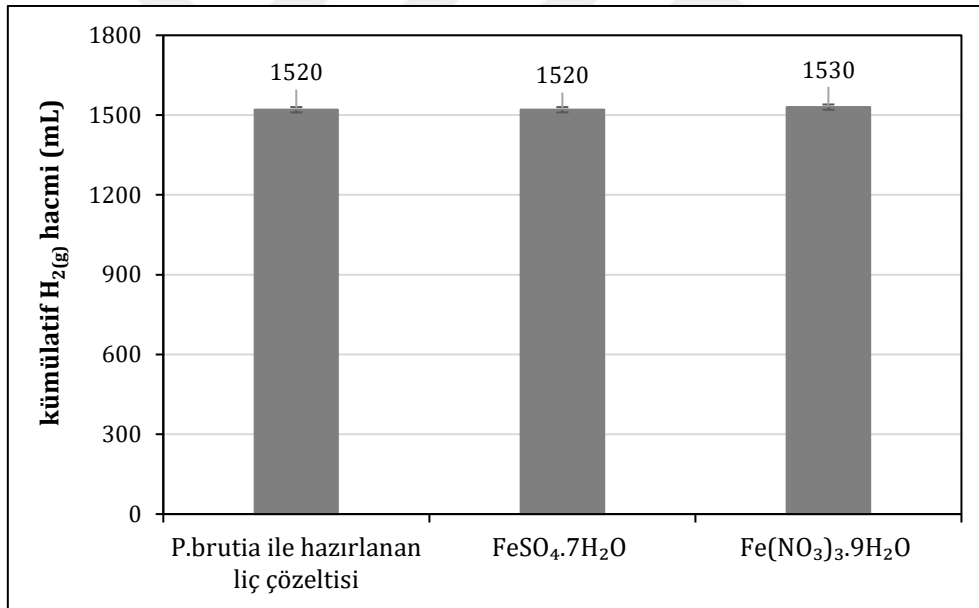
Malzeme	$NaBH_4$ (M)	Üretilen $H_{2(g)}$ hacmi (mL)	Bağlı $H_{2(g)}$ hacmi ($\frac{mL}{M NaBH_4}$)	Reaksiyon süresi (min)	Kaynak
Poli (<i>Enteromorpha</i> -g-akrilik asit)/Cu nanopartiküller kompozit hidrojel	0.03	240	8000	250	[295]
Poli (<i>Enteromorpha</i> -g-akrilik asit)/Ni nanopartiküller kompozit hidrojel		225	7500	120	
Demir içerikli nanopartiküller	0.925	6000	6486	80	Bu çalışma
Poli (akrilamid-ko-vinil sülfonik asit) / Co nanopartiküller kompozit hidrojel	0.15	750	5000	100	[296]
Poli (2-akrilamido-2-metil-1-propansülfonik asit)/Ru-Fe nanopartikülleri kompozit hidrojel	0.05	246	4920	9.5	[297]
2-akrilamido-2-metil-1-propansülfonik asit-Co kompozit hidrojel	0.25	1230	4920	140	[298]
Nikel-borid-silika nanokompoziti	0.15	650	4333	120	[299]
Manyetik kobalt/karbon kompoziti	0.125	500	4000	30	[300]
Poli (2-vinil piridin) polimerik partiküller	0.50	1020	2040	20	[301]
Silika partikülleri	1.00	2020	2020	20	[302]
Modifiye çok duvarlı karbon nanotüpler	0.50	1000	2000	15	[303]

Tablo 4.3.1.'e göre, bu çalışmada üretilen $H_{2(g)}$ miktarının literatürdeki birçok çalışmaya göre oldukça fazla olduğu açıkça görülmektedir. Ayrıca, yapılan literatür taraması ile; $H_{2(g)}$ 'nin çoğunlukla $NaBH_4$ 'ün katalitik hidroliz reaksiyonu ile üretildiği tespit edildi ancak bir nanopartikül sentezi sırasında ortaya çıkan $H_{2(g)}$ 'nin değerlendirilmesi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmadı. Bu yöntemde $NaBH_4$, hem nanopartikül sentezinde indirgeyici ajan görevi yapmakta hem de hidrojen kaynağı olarak kullanılmaktadır. Sonuç olarak bu yöntem ile hem atıksu arıtımı, katalizör çalışmaları, antibakteriyel çalışmalar, sensör çalışmaları gibi birçok

alandaki yaygın olarak kullanılabilen demir içerikli nanopartiküller sentezlenebilmekte hem de eş zamanlı olarak alternatif bir enerji kaynağı olan $H_{2(g)}$ üretilmektedir.

4.3.5. *P. brutia*'dan Hazırlanan Liç Çözeltisi İçerisindeki Demir İyonu Haricindeki Diğer Bileşenlerin FeNPs Sentezi Sırasındaki $H_{2(g)}$ Üretimine Etkisinin Araştırılması

FeNPs sentezi sırasında $H_{2(g)}$ üretiminde kullanılan *P. brutia*'dan hazırlanan liç çözeltisi içerisindeki demir haricindeki diğer bileşenlerin $H_{2(g)}$ üretimine etkisinin araştırılması amacıyla çeşitli demir iyonu kaynaklarından ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ve $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$) sentetik çözeltiler hazırlandı ve hazırlanan bu çözeltiler ile $H_{2(g)}$ üretimi deneyleri yapıldı. Bu amaçla, 65 °C sıcaklık ve doğal pH (1.18) değerinde olan, 13.81 mg/L demir iyonu içeren 20 mL çözeltilerin içerisine 0.70 g $NaBH_4$ eklendi ve elde edilen sonuçlar Şekil 4.3.6.'da sunuldu. Şekil 4.3.6.'dan görüldüğü üzere demir içerikli liç çözeltisi, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ çözeltisi ve $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ çözeltisi ile yapılan deneyler sonucunda üretilen toplam $H_{2(g)}$ miktarları sırasıyla 1520 ± 10 , 1520 ± 10 ve 1530 ± 10 mL'dir.

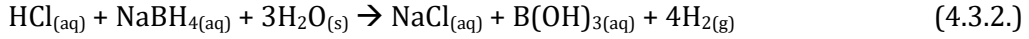


Şekil 4.3.6. *P. brutia*'dan hazırlanan liç çözeltisi, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ve $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ ile üretilen toplam $H_{2(g)}$ hacimleri

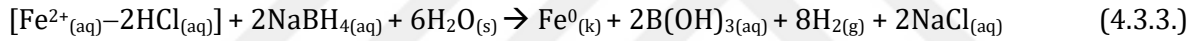
Elde edilen bu deneysel sonuçlar; liç çözeltisi içeriğindeki Ca, Mg, K, Na, Al, Ni, Zn, Cu gibi demir haricindeki diğer bileşenlerin $H_{2(g)}$ üretimine etkileşimde bulunmadıklarını göstermektedir. Buna göre; üretilen $H_{2(g)}$ hacimlerinin kullanılan demir kaynağından bağımsız olduğu söylenebilir. Bu nedenle bu çalışmada gerçekleştirilen reaksiyonda çevre dostu, düşük maliyetli ve yenilenebilir bir kaynak olan *P. brutia*'dan hazırlanan liç çözeltisinin sentetik demir çözeltileri yerine alternatif olarak kullanılabileceği sonucuna ulaşıldı.

4.3.6. FeNPs Sentezi Sırasında $H_{2(g)}$ Üretimi Mekanizması ve Kinetiği

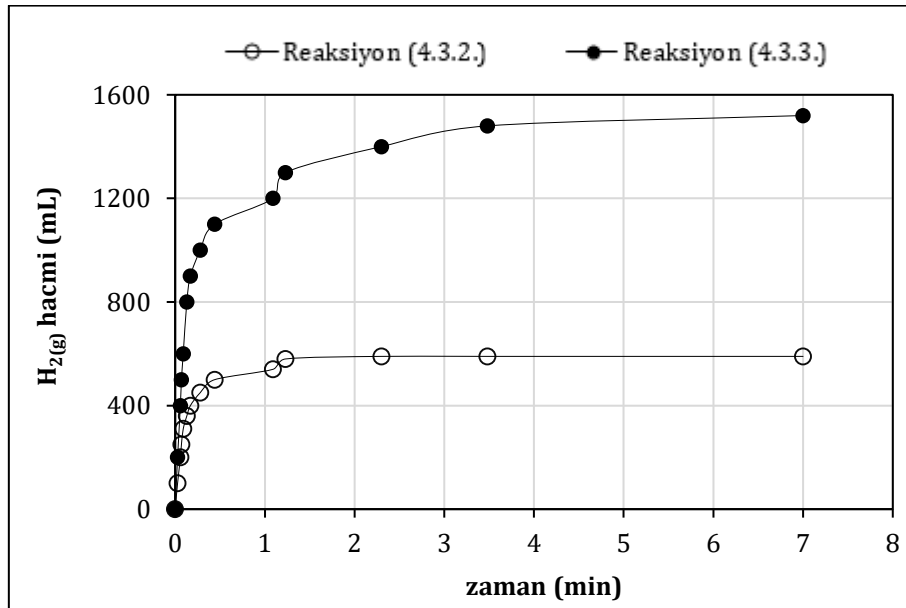
FeNPs sentezi sırasında $H_{2(g)}$ üretiminde kullanılan *P.brutia*'dan hazırlanan liç çözeltisi, derişik HCl çözeltisi kullanılarak hazırlandı. Hazırlanan liç çözeltisi içerisindeki HCl ile $H_{2(g)}$ üretimi sırasında kullanılan $NaBH_4$ arasında Eşitlik (4.3.2.)'de verilen $NaBH_4$ 'ün asidik hidroliz reaksiyonu gerçekleşir [304].



Ancak, Eşitlik (4.3.3.)'te görüldüğü gibi HCl çözeltisi bu çalışmada gerçekleşen reaksiyon ortamına haricen eklenmemekte, demir iyonlarının çözücüsü olarak kullanıldığı için demir iyonlarına bağlı halde bulunmaktadır. Bu nedenle, HCl çözeltisi ile demir iyonları birbirinden ayrı düşünülemez. Tüm bunlar göz önünde bulundurularak, bu çalışmada gerçekleştirilen FeNPs sentezi sırasında $H_{2(g)}$ üretimi için Eşitlik (4.3.3.)'te verilen reaksiyon önerilmektedir. Buna göre; Eşitlik (2.3.1.) ve (2.3.2.)'de verilen FeNPs'nin oluşumu ve bunun yanı sıra Eşitlik (4.3.2.)'de verilen $NaBH_4$ 'ün asidik hidroliz reaksiyonu birlikte gerçekleşir.



Eşitlik (4.3.2.) ve (4.3.3.)'de verilen reaksiyonlar sonucu üretilen $H_{2(g)}$ hacimlerinin zamanla değişimleri Şekil 4.3.7.'de sunuldu.



Şekil 4.3.7. Reaksiyon (4.3.2.) ve Reaksiyon (4.3.3.) sonucu üretilen $H_{2(g)}$ hacimlerinin zamanla değişimleri

Şekil 4.3.7.'e göre; Reaksiyon (4.3.2.) ile üretilen $H_{2(g)}$ miktarı 590 mL iken, Reaksiyon (4.3.3.) ile üretilen $H_{2(g)}$ miktarı 1520 mL'dir. Elde edilen sonuçlar; Reaksiyon (4.3.2.)'nin tek başına gerçekleşmediğini, bu çalışmada üretilen $H_{2(g)}$ miktarını destekler nitelikte olan Reaksiyon (4.3.3.) şeklinde gerçekleştiğini göstermektedir.

Farklı sıcaklıklarda kesikli bir proseste gerçekleştirilen Reaksiyon (4.3.3.)'ten elde edilen veriler, $H_{2(g)}$ üretim kinetiğinin belirlenmesinde kullanıldı. Bu kapsamda, ilgili reaksiyon mertebesi ve farklı sıcaklıklardaki reaksiyon hız sabitleri belirlendi.

Reaksiyon (4.3.3.)'e göre; kesikli bir reaktörde $H_{2(g)}$ üretim hızı (r_{H_2}) ve BH_4^- iyonunun harcanma hızı ($r_{BH_4^-}$) sırasıyla Eşitlik (4.3.4.) ve (4.3.5.)'te verildiği gibidir [209]:

$$\left[\frac{d(C_{H_2})}{dt} \right] = k \cdot (C_{BH_4^-})^n \quad (4.3.4.)$$

$$- \left[\frac{d(C_{BH_4^-})}{dt} \right] = k \cdot (C_{BH_4^-})^n \quad (4.3.5.)$$

Reaksiyon ortamında suyun derişiminin değişmediği varsayılarak; reaksiyon hızı, BH_4^- iyonu derişimi üzerinden önerilmektedir.

Eşitlik (4.3.5.) doğrusallaştırılarak n ve k değerleri bulunabilir. Buna göre, Eşitlik (4.3.5.)'in doğrusal formu Eşitlik (4.3.6.)'da sunuldu.

$$\ln \left(- \frac{d(C_{BH_4^-})}{dt} \right) = \ln k + n \cdot \ln(C_{BH_4^-}) \quad (4.3.6.)$$

Eşitlik (4.3.6.)'ya göre; $\ln(C_{BH_4^-})$ 'e karşı $\ln(-d(C_{BH_4^-})/dt)$ değerleri grafiğe geçirildiğinde, elde edilen doğrunun eğimi ve kayması sırasıyla n ve k değerlerini verir.

n ve k değerlerinin hesaplanması amacıyla, öncelikle deneysel üretilen $H_{2(g)}$ hacimleri kullanılarak üretilen $H_{2(g)}$ mol sayılarının hesaplanması gerekmektedir. Bu amaçla, Eşitlik (4.3.7.)'de verilen düzeltilmiş ideal gaz denklemi kullanıldı.

$$n(H_2) = \frac{(P-b) \cdot V}{R \cdot T} \quad (4.3.7.)$$

Hesaplanan $H_{2(g)}$ mol sayıları kullanılarak, $C_{H_2} = n_{H_2} / V_{\text{çözeltili}}$ ($V_{\text{çözeltili}} = 0.02$ L) eşitliğinden $H_{2(g)}$ derişimlerine geçildi. Daha sonra, Reaksiyon (4.3.3.)'ün ilerleme derecesinden faydalanılarak Eşitlik (4.3.8.)'e göre $C_{BH_4^-}$ değerleri hesaplandı [210].

$$\xi = \frac{C_{H_2} - C_{H_{2,0}}}{\nu_{H_2}} = \frac{C_{BH_4^-} - C_{BH_{4,0}^-}}{\nu_{BH_4^-}} \quad (4.3.8.)$$

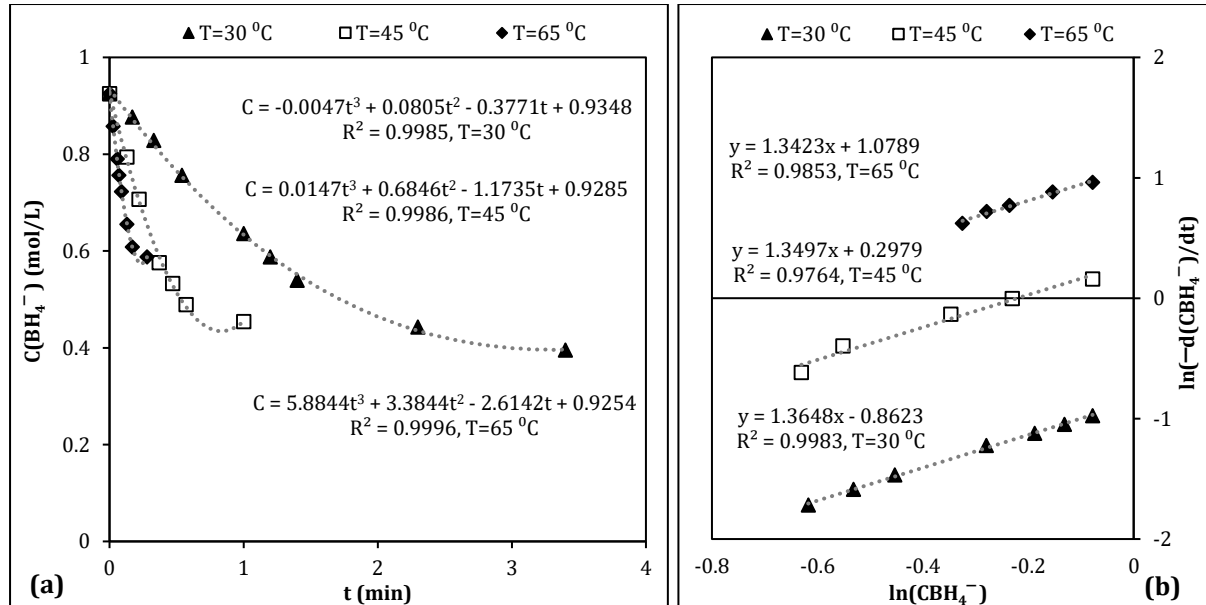
Buradaki stokiyometrik katsayılar (ν) Reaksiyon (4.3.3.)'e göre yazılır. Ayrıca, $H_{2(g)}$ başlangıçta reaksiyon ortamında olmadığı için $C_{H_{2,0}}$ terimi sıfırdır. Sayısal değerler yerine koyuldu ve Eşitlik (4.3.9.) elde edildi:

$$\varepsilon = \frac{C_{H_2} - 0}{8} = \frac{C_{BH_4^-} - C_{BH_4^-,0}}{-2} \quad (4.3.9.)$$

Eşitlik (4.3.9.)'dan görüldüğü üzere; H_2 ve BH_4^- iyonu arasındaki stokiyometrik oran 4.0'tür. Bu durumda, $C_{BH_4^-}$ için Eşitlik (4.3.10.) elde edildi.

$$C_{BH_4^-} = C_{BH_4^-,0} - \frac{C_{H_2}}{4} \quad (4.3.10.)$$

DeneySEL C_{H_2} 'den yararlanılarak Eşitlik (4.3.10)'a göre zamanla $C_{BH_4^-}$ değerleri hesaplandıktan sonra, t 'ye karşı $C_{BH_4^-}$ değerleri grafiğe geçirildi ve elde edilen noktalara polinom uydurma yöntemi ile eğilim çizgisi eklendi ve $(C_{BH_4^-}) = f(t)$ formundaki denklemler farklı sıcaklıklar için belirlendi (Şekil 4.3.8. a). Daha sonra, belirlenen $(C_{BH_4^-}) = f(t)$ formundaki polinom denklemlerinin 1. dereceden türevleri alınarak $-d(C_{BH_4^-})/dt$ ifadesi elde edildi ve zamanla bu değerler hesaplanarak $\ln(C_{BH_4^-})$ 'e karşı $\ln(-d(C_{BH_4^-})/dt)$ değerleri grafiğe geçirildi (Şekil 4.3.8.b). Böylelikle, farklı sıcaklıklarda elde edilen doğruların eğim ve kayma değerlerinden sırasıyla n ve k değerleri hesaplandı [209].



Şekil 4.3.8. (a). t 'ye karşı $(C_{BH_4^-})$ grafiği, **(b)** $\ln(C_{BH_4^-})$ 'e karşı $\ln(-d(C_{BH_4^-})/dt)$ grafiği (DeneySEL koşullar; doğal pH (≈ 1.18), 20 mL liç çözeltisi (PVPsüz), 0.70 g $NaBH_4$, $T=30, 45, 65$ °C, $t=0-65$ min)

Elde edilen sonuçlara göre; reaksiyon mertebesi ortalama 1.3523 olarak hesaplanırken, 30°C, 45°C, ve 65°C'deki reaksiyon hız sabitleri sırasıyla 0.4219, 1.3473, 2.9434 $[(\text{mol}^{0.3523})(\text{L}^{-0.3523})(\text{min}^{-1})]$ olarak belirlendi. Beklendiği üzere; reaksiyon sıcaklığı arttıkça reaksiyon hız sabitleri de arttı ve böylelikle sıcaklık arttıkça reaksiyonun dengeye daha kısa sürede geleceği sonucuna varıldı. Bu sonuç, “Bölüm 4.3.1. FeNPs Sentezi Sırasında $\text{H}_{2(g)}$ Üretimine Sıcaklığın Etkisi”nde bulunan sonuçları da doğrular niteliktedir. Yani; sıcaklık arttıkça liç çözeltisi içerisinde bulunan moleküllerin kinetik enerjileri dolayısıyla hızları artar; böylelikle moleküllerin hızı artacağı için birim zamandaki çarpışma sayısı artar ve reaksiyon daha kısa sürede gerçekleşir.

4.3.7. FeNPs Sentezi Sırasında $\text{H}_{2(g)}$ Üretiminin Termodinamik Değerlendirmesi

FeNPs sentezi sırasında $\text{H}_{2(g)}$ üretimi reaksiyonuna ait aktivasyon enerjisi, entalpisi ve entropisi gibi bazı aktivasyon parametreleri belirlendi.

$\text{H}_{2(g)}$ üretimi reaksiyonuna ait aktivasyon enerjisi (E_a), aşağıda verilen doğrusallaştırılmış Arrhenius eşitliğinden (Eşitlik (4.3.11.)) yararlanılarak hesaplandı.

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{RT} \quad (4.3.11.)$$

Buna göre, $(1/T)$ 'e karşı $\ln k$ değerleri grafiğe geçirildi (Şekil 4.3.9.) ve eğim ve kayma değerlerinden sırasıyla E_a ve A değerleri belirlendi. Şekil 4.3.9.'dan, E_a ve A değerleri sırasıyla 46.86 kJ/mol ve 5.65×10^7 olarak hesaplandı.

Aktivasyon entalpisi ($\Delta H^\#$) ve entropisi ($\Delta S^\#$) değerlerinin hesaplanması amacıyla ise Eyring eşitliğinden (Eşitlik (4.3.12.)) yararlanıldı.

$$k = \left(\frac{k_B \cdot T}{h} \right) \cdot \exp\left(-\frac{\Delta G^\#}{RT}\right) \quad (4.3.12.)$$

Eşitlik (4.3.12.)'de $\Delta G^\# = \Delta H^\# - T\Delta S^\#$ eşitliği yerine koyularak Eşitlik (4.3.13.) elde edildi.

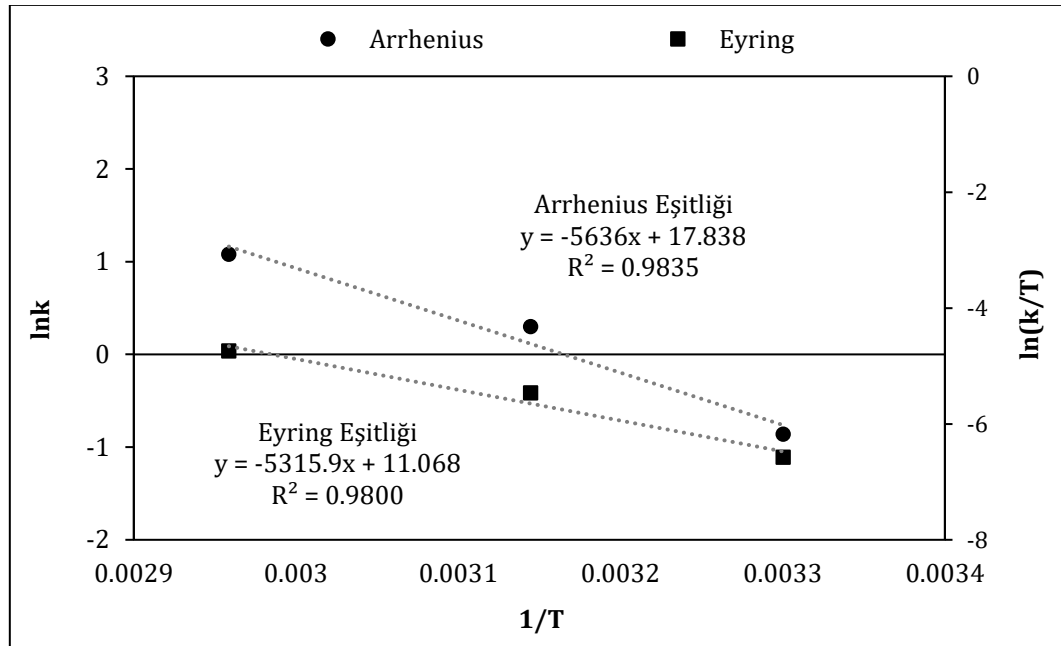
$$k = \left(\frac{k_B \cdot T}{h} \right) \cdot \exp\left(\frac{\Delta S^\#}{R}\right) \cdot \exp\left(-\frac{\Delta H^\#}{RT}\right) \quad (4.3.13.)$$

Eşitlik (4.3.14.) doğrusallaştırıldı ve Eşitlik (4.3.14.) elde edildi.

$$\ln\left(\frac{k}{T}\right) = \ln\left(\frac{k_B}{h}\right) + \left(\frac{\Delta S^\#}{R}\right) - \left(\frac{\Delta H^\#}{R}\right) \frac{1}{T} \quad (4.3.15)$$

Eşitlik (4.3.14.)'e göre, $(1/T)$ 'e karşı $\ln(k/T)$ grafiğe geçirildi (Şekil 4.3.9.) ve eğim ve kayma değerlerinden sırasıyla $\Delta H^\#$ ve $\Delta S^\#$ değerleri belirlendi. Şekil 4.3.9.'dan, $\Delta H^\#$ ve $\Delta S^\#$ değerleri sırasıyla 44.19 kJ/mol ve -105.52 J/mol.K olarak hesaplandı. Buna göre; bu çalışmada

gerçekleştirilen Reaksiyon (4.3.3.)'ün, endotermik ($\Delta H > 0$) ve entropisi azalan ($\Delta S < 0$) bir reaksiyon olduğu sonucuna varıldı [211].



Şekil 4.3.9. $1/T$ 'ye karşı $\ln k$ ve $\ln(k/T)$ grafikleri

Hesaplanan E_a , $\Delta H^\#$ ve $\Delta S^\#$ değerleri literatürle karşılaştırıldı ve sonuçlar Tablo 4.3.2.'de özetlendi. Literatürdeki E_a değerleri ile karşılaştırıldığında, bu çalışmaya ait E_a değeri nispeten düşüktür. Böylelikle, bu çalışmaya ait $H_{2(g)}$ için reaktivite düzeyini gösteren E_a değerinin, literatürdeki pahalı malzemelere ait E_a değerleri ile oldukça rekabet edebilir düzeyde olduğu söylenebilir. Ayrıca, bu çalışmada olduğu gibi, literatürdeki çalışmaların tüm $\Delta H^\#$ değerlerinin pozitif olduğu, yani proseslerin endotermik olduğu ve tüm $\Delta S^\#$ değerlerinin negatif olduğu, yani proseslerin entropilerinin azaldığı belirlendi. Ayrıca, E_a ile $\Delta H^\#$ değerlerinin birbirine oldukça yakın olduğu tespit edildi. Bu durum, E_a ile $\Delta H^\#$ arasındaki $E_a = \Delta H^\# + RT$ bağıntısından kaynaklanmaktadır. Örneğin, reaksiyon 45°C 'de gerçekleştiriliyorsa RT ifadesi yaklaşık 2.6 kJ/mol gibi küçük bir değer alır ve böylelikle E_a ile $\Delta H^\#$ arasındaki fark oldukça küçük olur. Bu nedenle bu iki enerji, literatürde bir reaksiyonun aktivasyon bariyerini tanımlamak için birbirinin yerine kullanılabilir.

Tablo 4.3.2. Literatürdeki $H_{2(g)}$ üretimine ait E_a , $\Delta H^\#$ ve $\Delta S^\#$ değerleri

Malzeme	E_a (kJ/mol)	$\Delta H^\#$ (kJ/mol)	$\Delta S^\#$ (J/mol.K)	Kaynak
Co_2B	77.90	-	-	[305]
$\text{NiB/NiFe}_2\text{O}_4$	72.52	-	-	[306]
Fe-B	64.26	-	-	[307]
Cu içerikli katalizör	61.16	-	-	[308]
Ru/G	61.10	-	-	[309]

Malzeme	E _a (kJ/mol)	ΔH [#] (kJ/mol)	ΔS [#] (J/mol.K)	Kaynak
SiO ₂ -destekli ferromanyetik katalizör	57-61	-	-	[310]
CoB/ZIF-8	57.72	-	-	[311]
Co emdirilmiş dikatyonik cap-p(4-VP) polimerik partiküller	56.50	52.60	-0.1122	[312]
Co-Ni-Mo-P/γ-Al ₂ O ₃	52.43	49.86	-14.47	[313]
Ni- polimer nanojel hibrit partikülleri	50.96	48.28	-78.45	[314]
Co ₃ O ₄ nanotelleri	50.90	-	-	[315]
Fe ₃ O ₄ @C-700-3-Co	47.30	-	-	[316]
FeNPs	46.86	44.19	-105.52	Bu çalışma
Hidrojel-Cu	42.61	39.15	-147.83	[295]
Hidrojel-Ni	39.1	36.47	-155.86	
Grafen oksit nanotabakaları üzerinde indirgenmiş Co nanopartikülleri	40.20	37.67	-136.30	[208]
Co-Mn/TiO ₂	38.70	-	-	[317]
p(APTMAcI)-Co kriyojel	37.36	19.26	-219.42	[318]
Co-Cr-B	37.00	-	-	[319]
Metal içermeyen piridinyum bazlı polimerik iyonik sıvı	20.84	18.02	-212.30	[301]

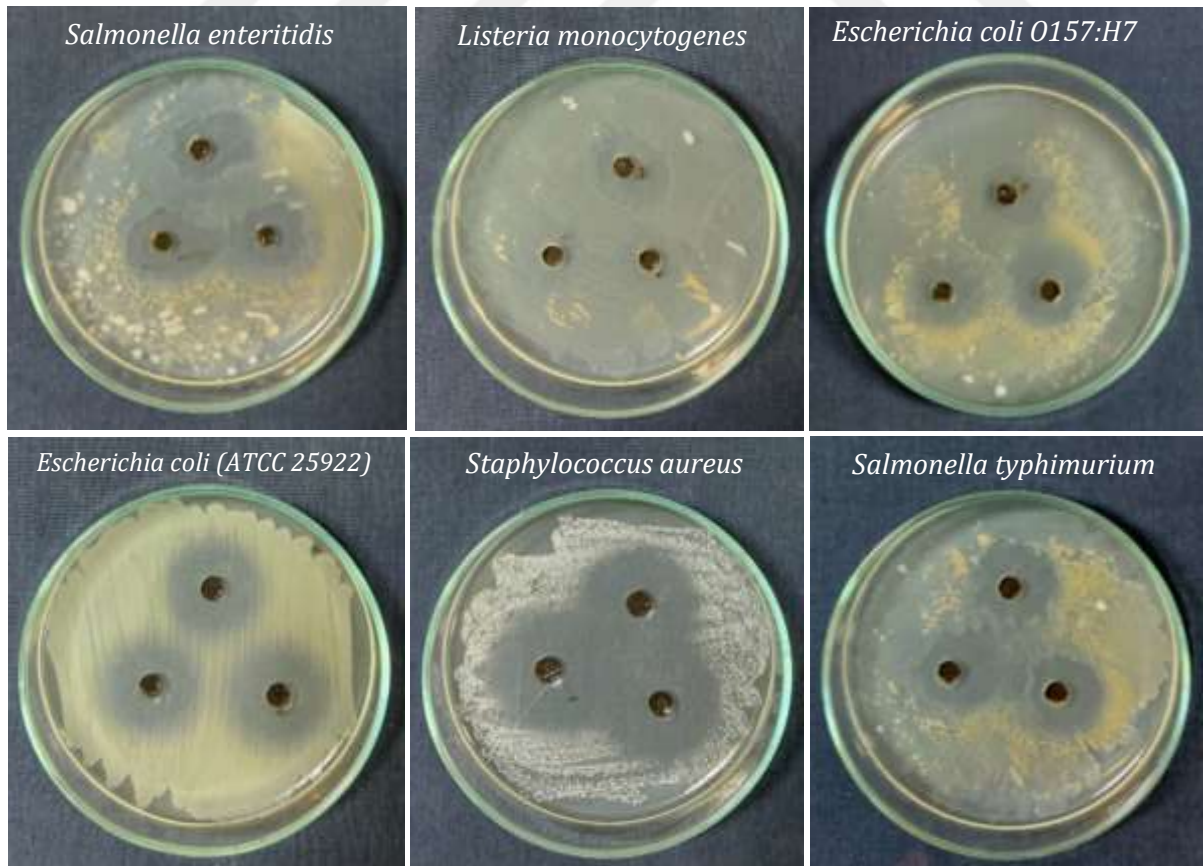
4.4. FeNPs'nin Antibakteriyel Özelliklerinin Belirlenmesi

P. brutia kullanılarak sentezlenen FeNPs'nin antibakteriyel aktivitesi, agar disk yöntemi ile değerlendirildi. FeNPs'nin antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi kapsamında; gram pozitif patojen olarak *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus*; gram negatif patojen olarak *Escherichia coli* (O157: H7), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella enteritidis* ve *Salmonella typhimurium* kullanıldı. FeNPs'nin test mikroorganizmaları üzerindeki antibakteriyel aktivitesini gösteren fotoğraflar Şekil 4.4.1.'de, her bir mikroorganizma için elde edilen inhibisyon bölge çaplarını gösteren grafik ise Şekil 4.4.2.'de sunuldu. Buna göre; *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* ve *Salmonella typhimurium* bakteri türleri için örnek bileşiğin inhibisyon bölge çapları sırasıyla 20.85 ± 2.98 , 17.33 ± 2.62 , 16.93 ± 1.80 , 22.74 ± 1.09 , 31.56 ± 1.50 ve 20.35 ± 1.46 mm olarak belirlendi. Elde edilen sonuçlar ile FeNPs'nin, seçilen bakterilerin tamamına karşı etkili olduğunu kanıtlandı. Sonuç olarak, bu çalışmada sentezlenen FeNPs'nin test edilen gıda kaynaklı mikroorganizmalara karşı güçlü inhibitör etkiye sahip olması; FeNPs'nin koruyucu ajan olarak gıda endüstrisinde gıda kontaminasyonunu azaltmak ve daha uzun ömürlü saklama imkanı

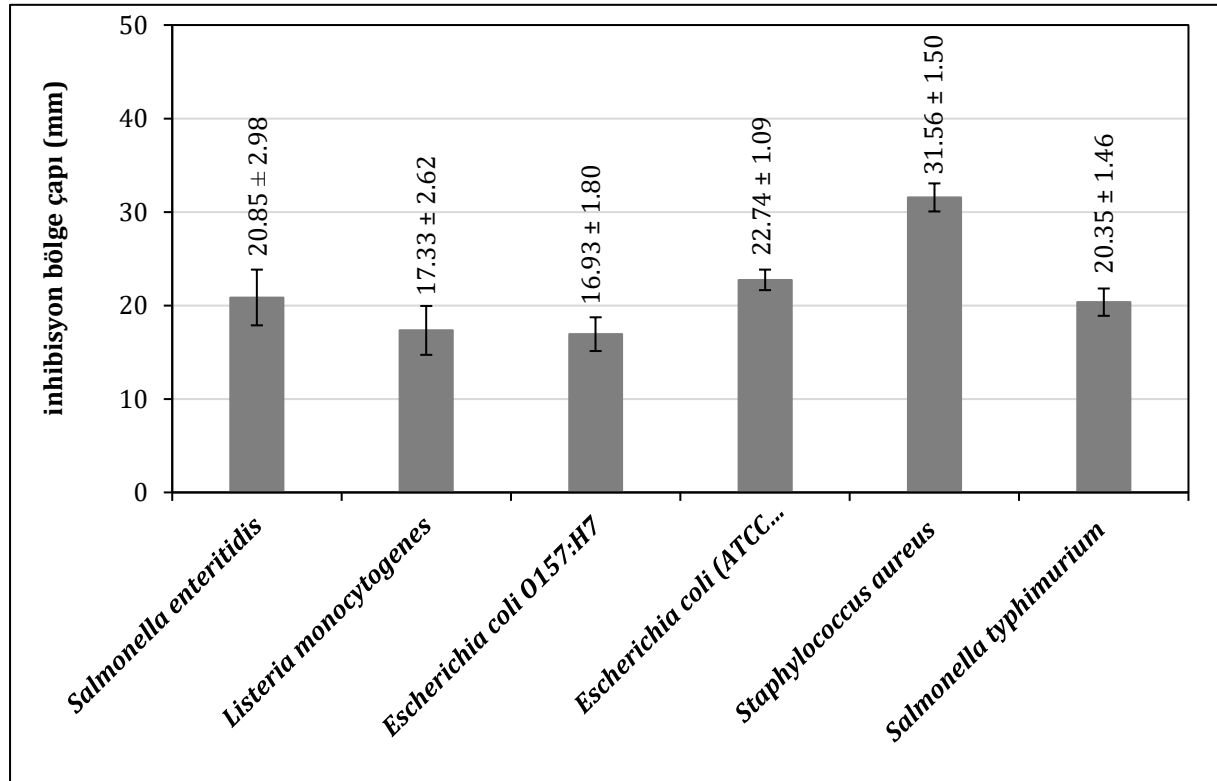
sağlamak amacıyla kullanabilmesine imkan vereceği sonucuna varıldı [320]. Bu durumda FeNPs'nin, biyomedikal cihazlar için bakteri dirençli kaplama ve antibakteriyel uygulamalar için kullanılması önerilebilir [321].

Test edilen mikroorganizmalar ile FeNPs arasında aşağıda sıralanan mekanizmalardan biri veya birkaçının geçerli olabileceği düşünülmektedir [4]:

- i. Pozitif yüklü metalik nanopartiküller ile negatif yüzey yüklü bakteriler arasında gerçekleşen elektrostatik etkileşim sonucu, bakteriler oksidasyona uğrar ve kalıcı olarak hücre yıkımı olur. Genel olarak; metalik nanopartiküller, bakteri yüzeyi üzerinde bulunan proteinlerin tiyol grupları (-SH) ile reaksiyona giren iyonların serbest bırakmaları sonucu hücre yıkımı gerçekleşir.
- ii. Nanopartiküller tarafından üretilen süperoksit radikalleri, hidroksil radikalleri gibi radikaller ve tekli oksijen gibi reaktif oksijen türlerinin neden olduğu oksidatif stres sonucu oluşan antibakteriyel aktivite, bakterilerdeki proteinlere ve DNA'ya zarar vererek hücre yıkımının gerçekleşmesini sağlarlar.
- iii. 10-80 nm büyüklüğündeki nanopartiküller bazı bakteri membranları içerisine difüzlenebilir. Hücre içine giren bu nanopartiküller, hücre içi oksijen ile etkileşime girerek oksidatif stres üretebilir ve sonuçta hücre yıkımını tetikleyebilirler.



Şekil 4.4.1. FeNPs'nin test mikroorganizmaları üzerindeki antibakteriyel aktivitesi



Şekil 4.4.2. FeNPs varlığında her bir mikroorganizma için elde edilen inhibisyon bölge çapları

Bu çalışmada sentezlenen FeNPs'ne ait her bir mikroorganizma için elde edilen inhibisyon çapları literatürde yer alan demir içerikli nanopartiküllere ait değerler ile karşılaştırıldı ve sonuçlar Tablo 4.4.1.'de özetlendi.

Tablo 4.4.1. Literatürde yer alan demir içerikli nanopartiküllere ait çeşitli mikroorganizmalar için elde edilen inhibisyon çapları

Malzeme ve Miktarı	Sentez Yöntemi	Kullanılan mikroorganizma	İnhibisyon çapı (mm)	Kaynak
Demir nanopartikülleri (20 µg/mL)	Sol-jel	<i>Escherichia coli</i>	22	[322]
		<i>Bacillus subtilis</i>	27	
Demir nanopartikülleri (30 µg/mL)	Bitki ekstraktı ile biyosentez	<i>Bacillus subtilis</i>	10±0.20	[323]
		<i>Escherichia coli</i>	18±0.34	
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	16±0.40	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	13±0.23	
Fe ₃ O ₄ (100 µg/mL)	Kimyasal yanma	<i>Staphylococcus aureus</i>	15	[4]
		<i>Xanthomonas</i>	15	
		<i>Escherichia coli</i>	21	
		<i>Proteus vulgaris</i>	21	
Demir nanopartikülleri (20 mg/mL)	Bitki ekstraktı ile biyosentez	<i>Staphylococcus aureus</i>	8	[324]
		<i>Escherichia coli</i>	10	

Malzeme ve Miktarı	Sentez Yöntemi	Kullanılan mikroorganizma	İnhibisyon çapı (mm)	Kaynak
Demir nanopartikülleri (50 mg/mL)	Birlikte çöktürme	<i>Staphylococcus aureus</i>	12±0.35	[91]
		<i>Bacillus licheniformis</i>	22±0.70	
		<i>Bacillus brevis</i>	9±0.15	
		<i>Vibrio cholerae</i>	9±0.0	
		<i>Streptococcus aureus</i>	12±0.35	
		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	14±0.44	
		<i>Bacillus subtilis</i>	20±1.11	
		<i>Escherichia coli</i>	11±0.44	
Demir nanopartikülleri (50 mg/mL)	Geliştirilmiş biyosentez	<i>Salmonella enteritidis</i>	20.85 ± 2.98	Bu çalışma
		<i>Listeria monocytogenes</i>	17.33 ± 2.62	
		<i>Escherichia coli</i> O157:H7	16.93 ± 1.80	
		<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	22.74 ± 1.09	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	31.56 ± 1.50	
		<i>Salmonella typhimurium</i>	20.35 ± 1.46	
Demir nanopartikülleri	Bitki ekstraktı ile biyosentez	<i>Escherichia coli</i>	27	[325]
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	29	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	30	
Demir nanopartikülleri	Bitki ekstraktı ile biyosentez	<i>Escherichia coli</i>	1.60±0.40	[326]
		<i>Staphylococcus aureus</i>	1.90±0.10	
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1.00±0.40	
		<i>Bacillus subtilis</i>	5.05±0.05	
Demir nanopartikülleri	Mantar biyokütlesi ile biyosentez	<i>Bacillus subtilis</i>	16.4±0.70	[327]
		<i>Staphylococcus aureus</i>	12.3±0.50	
		<i>Escherichia coli</i>	13.2±0.60	
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10.5±0.30	
Demir nanopartikülleri	Bitki ekstraktı ile biyosentez	<i>Escherichia coli</i>	15	[87]
		<i>Salmonella enterica</i>	12	
		<i>Proteus mirabilis</i>	13	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	16	

Tablo 4.4.1.'de sonuçları özetlenen literatür taraması ile bu çalışmada sentezlenen FeNPs'nin, literatürdeki birçok demir içerikli nanopartikül ile antibakteriyel aktivite yönünden rekabet edebilir düzeyde olduğu sonucuna varıldı.

4.5. H₂O₂'nin Kolorimetrik Tespitinde FeNPs'nin Kullanılabilirliğinin Araştırılması

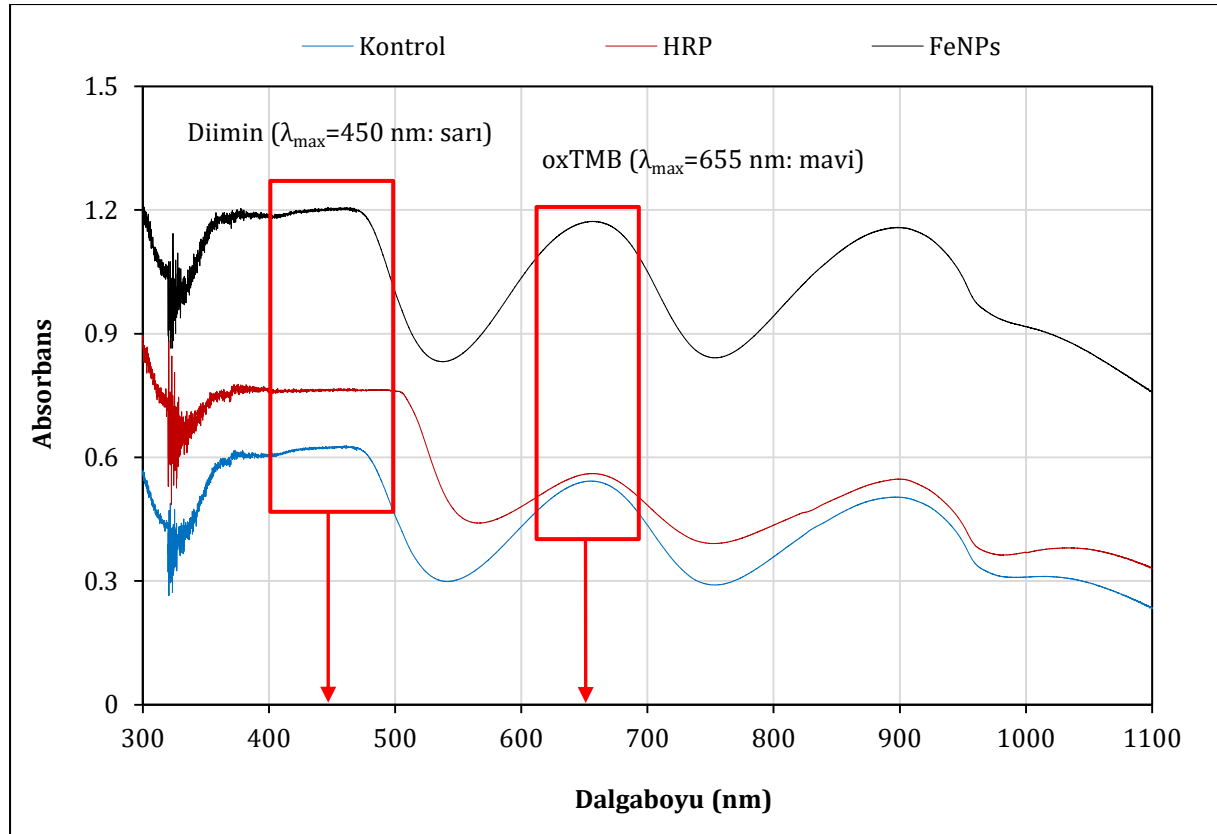
Çalışmada, H₂O₂'nin kolorimetrik tespiti için sentezlenen FeNPs'nin peroksidaz benzeri bir katalizör olarak değerlendirilebilirliği araştırıldı. Sentezlenen FeNPs ile H₂O₂'nin kolorimetrik tespitinin yapılması amacıyla, yaygın olarak kullanılan bir peroksidaz substratı olan TMB'nin H₂O₂ varlığında oksidasyonu test edildi ve sonuçlar TMB'nin H₂O₂ varlığında katalitik oksidasyonunda biyolojik bir katalizör olarak sıklıkla kullanılan HRP ile karşılaştırılarak bu çalışmada sentezlenen FeNPs'nin HRP'ye kıyasla avantaj ve dezavantajları tartışıldı. Bu kapsamda; FeNPs ve HRP ile kolorimetrik H₂O₂ tespiti prosesine çevresel koşulların etkileri araştırıldı, bu proseslerin kinetik analizleri gerçekleştirildi. FeNPs'nin minimum tespit sınırı, kararlılığı, seçiciliği belirlendi ve FeNPs ile kolorimetrik H₂O₂ tespiti prosesinin doğruluk analizi yapıldı. Yapılan çalışmaların sonuçları aşağıda verilen bölümlerde ayrıntılı olarak sunuldu.

4.5.1. FeNPs ile H₂O₂'nin Kolorimetrik Tespiti Yönteminin Araştırılması

FeNPs ile H₂O₂'nin kolorimetrik tespiti sırasında, FeNPs'nin H₂O₂'nin dekompozisyonuna neden olarak OH• radikallerini oluşturduğu; oluşan bu radikallerin ise TMB'nin oksidasyonunu sağladığı öngörülmektedir. Öngörülen bu adımların desteklenmesi amacıyla; UV-vis analizinde TMB'nin oksidasyonunu gösteren 450 nm ve 655 nm dalgaboylarında FeNPs'nin yaban turpu peroksidazı (Horseradish Peroxidase-HRP) ve saf su (kontrol)'ya kıyasla daha yüksek absorbans değerine sahip olduğunun gösterilmesi ve bununla birlikte ortamda OH• radikallerinin oluştuğunun kanıtlanması gerekmektedir. Bu amaçla öncelikle FeNPs, HRP ve saf suyun kullanıldığı TMB oksidasyonunda UV-vis analizi gerçekleştirildi; ardından, FeNPs ile H₂O₂'nin kolorimetrik tespiti ortamında OH• radikallerinin oluşumu floresans spektrofotometresi ile belirlendi.

4.5.1.1. FeNPs ile H₂O₂'nin Kolorimetrik Tespitinde UV-vis Analizi

FeNPs ile H₂O₂'nin kolorimetrik tespiti yönteminin araştırılması amacıyla; TMB oksidasyonunda FeNPs, HRP ve saf su (kontrol) kullanıldığı durumlarda UV-vis analizi gerçekleştirildi; yöntem Bölüm 3.5.1.1.'de açıklandığı şekilde uygulandı. FeNPs, HRP ve kontrol amaçlı saf su ile yapılan H₂O₂'nin kolorimetrik tespiti deneylerinde, substrat TMB'nin oksidasyonu sonucu oluşan oksidasyon ürünlerini içeren çözeltilerin spektrum taramaları ve buna göre öngörülen tespit adımları sırasıyla Şekil 4.5.1. ve Şekil 4.5.2.'de sunuldu.

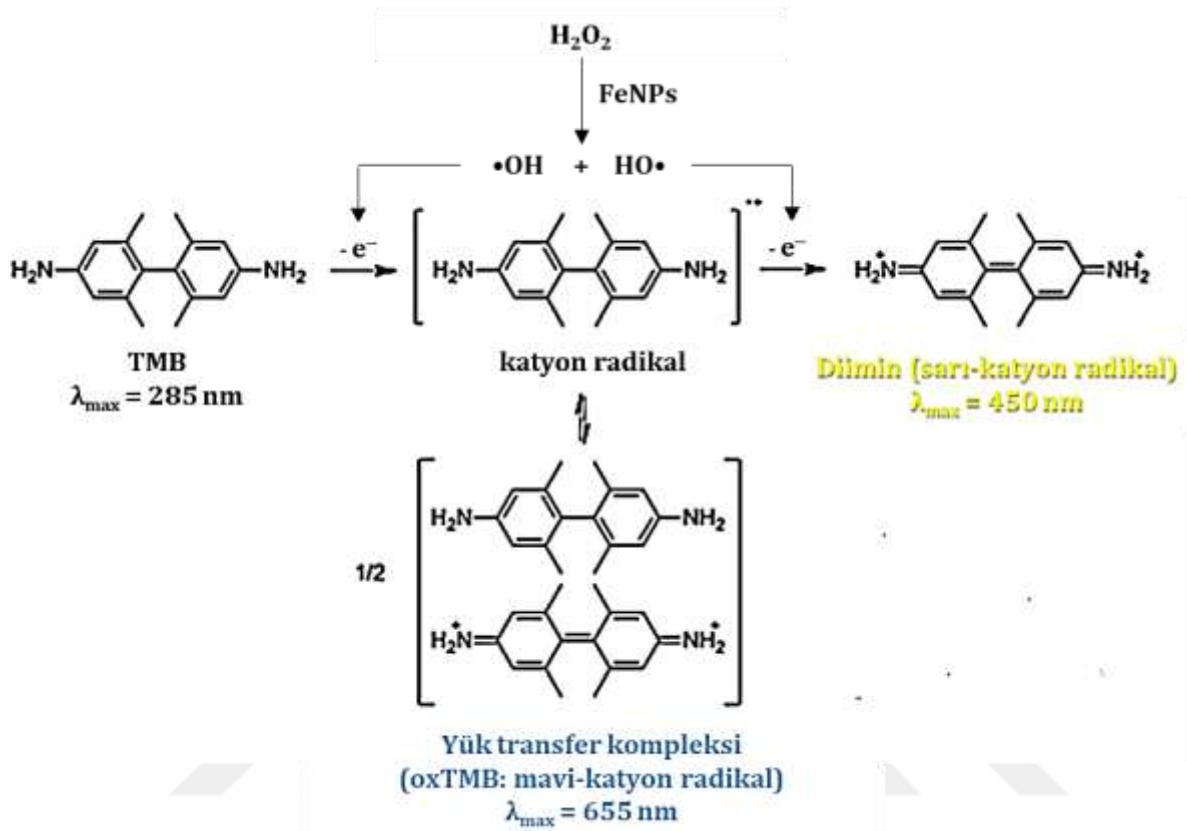


Şekil 4.5.1. FeNPs ve HRP ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde elde edilen spektrum taramaları (Deneyel koşullar: 250 μ L 2.0 mM TMB, 500 μ L asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), $T=20^\circ C$, 500 μ L 100 mM H_2O_2 çözeltisi ve FeNPs ile yapılan deneyde 100 μ L 1.0 g/L FeNPs çözeltisi; HRP ile yapılan deneyde 100 μ L 0.1 μ g/mL HRP çözeltisi; kontrol amacıyla yapılan deneyde 100 μ L saf su)

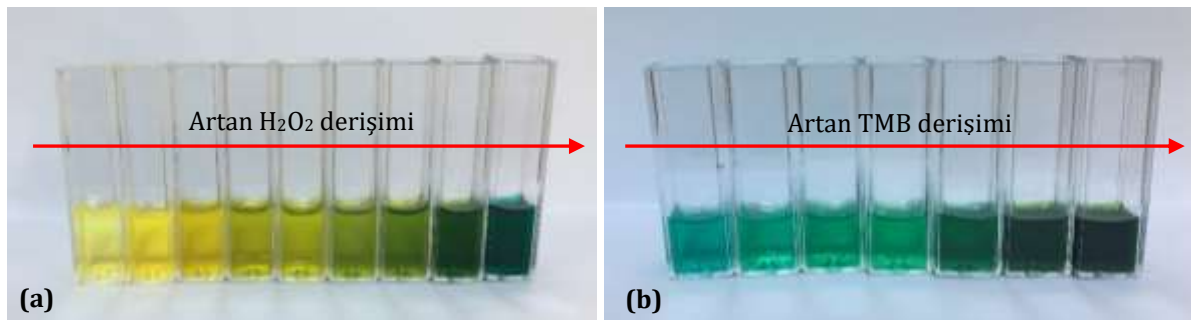
Öngörülen tespit adımlarına göre (Şekil 4.5.2.); Fenton-benzeri reaksiyon ile FeNPs varlığında H_2O_2 dekompozisyona uğrar, $OH\bullet$ radikallerini oluşturur ve oluşan bu radikaller substrat TMB'nin oksidasyonuna neden olur. $OH\bullet$ radikalleri ile substrat TMB'nin reaksiyonu sonucu; TMB elektron kaybederek öncelikle bir katyon radikali oluşturur, daha sonra sarı renkli diimin ve mavi renkli oksitlenmiş TMB (oxTMB: yük transfer kompleksi) oluşumu ile reaksiyon sona erer. Şekil 4.5.1.'den; FeNPs'nin H_2O_2 varlığında TMB'nin oksidasyonunu katalizleyerek 450 nm'deki diimin ve 655 nm'deki oxTMB'ye ait absorbans değerlerinin artmasını sağladığı sonucuna varıldı. pH=2.0'de HRP'nin aktivitesi oldukça düşüktür, bu nedenle; HRP'nin FeNPs'ye kıyasla substrat TMB'nin oksidasyonunu gösteren 655 nm'deki oxTMB'ye ait absorbans değerinde çok daha az bir artışa sebep olduğu belirlendi.

FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespiti prosesinde artan H_2O_2 ve TMB derişimlerine bağlı olarak değişen çözelti renkleri Şekil 4.5.3. (a) ve (b)'de sunuldu. Şekil 4.5.3.(a)'dan görüldüğü üzere; düşük H_2O_2 derişimlerinde TMB'nin oksidasyonu için ortamda yeterli radikal oluşmadığından, Şekil 4.5.2.'de belirtilen katyon radikalının sadece diimin yan ürününe dönüştüğü ve bu nedenle çözelti renginin sarı olduğu tespit edildi. H_2O_2 derişimi arttıkça diimin oluşumunun yanı sıra TMB oksidasyonunun sağlandığı ve oluşan oxTMB derişiminin artmasına

bağlı olarak H_2O_2 derişimi arttıkça çözelti renginin koyulaştığı gözlemlendi. Benzer şekilde, TMB derişimi arttıkça oluşan oxTMB derişiminin artmasına bağlı olarak çözelti renginin koyulaştığı belirlendi (Şekil 4.5.3.(b)) [328].



Şekil 4.5.2. FeNPs ve HRP ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespit adımları



Şekil 4.5.3. FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespiti prosesinde farklı (a) H_2O_2 ve (b) TMB derişimlerine bağlı olarak değişen çözelti renkleri

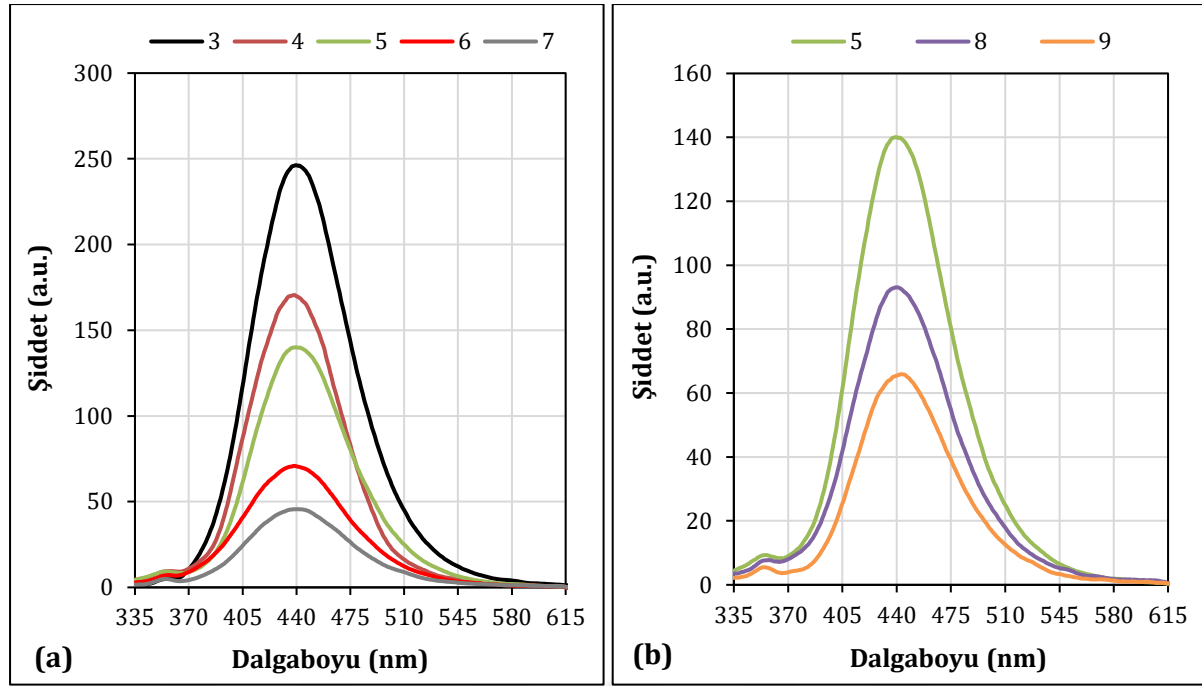
Yukarıda belirtilen reaksiyon adımları, literatürdeki bir peroksidaz enzimi olan HRP ile H_2O_2 'nin dekompozisyonu sonucu TMB substratının oksidasyonu reaksiyonuna oldukça benzeşmektedir. Bu nedenle, H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde FeNPs'nin peroksidaz benzeri bir katalizör olarak değerlendirilebileceği belirlendi.

4.5.1.2. Kolorimetrik H_2O_2 Tespiti Sırasında Oluşan $OH^\bullet$ Radikallerinin Belirlenmesi

FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespiti sırasında, yukarıda belirtildiği üzere FeNPs'nin H_2O_2 'nin dekompozisyonuna neden olarak $OH^\bullet$ radikallerini oluşturduğu; oluşan bu radikallerin ise TMB'nin oksidasyonunu sağladığı öngörülmektedir. $OH^\bullet$ radikallerinin oluştuğunun kanıtlanarak öngörülen bu adımların desteklenmesi amacıyla tereftalik asitin (TPA) ajan olarak kullanıldığı florimetrik bir yöntem kullanıldı. Bu yöntemde; tereftalik asit ile ortamda oluşan $OH^\bullet$ radikalleri reaksiyona girerek floresan özelliğe sahip 2-hidroksi tereftalik asit ürününü oluşturmaktadır. Bu amaçla aşağıda bileşimleri verilen 9 farklı karışım toplam hacimleri 4.0 mL olacak şekilde hazırlandı.

- 1) 400 μ L 5 mM TPA + 2800 μ L asetat tamponu çözeltisi (pH=4.0) + 800 μ L saf su
- 2) 400 μ L 5 mM TPA + 400 μ L FeNPs + 2800 μ L asetat tamponu çözeltisi (pH=4.0) + 400 μ L saf su
- 3) 400 μ L 5 mM TPA + 400 μ L 0.50 M H_2O_2 + 400 μ L FeNPs + 2800 μ L asetat tamponu çözeltisi (pH=4.0)
- 4) 400 μ L 5 mM TPA + 400 μ L 0.35 M H_2O_2 + 400 μ L FeNPs + 2800 μ L asetat tamponu çözeltisi (pH=4.0)
- 5) 400 μ L 5 mM TPA + 400 μ L 0.25 M H_2O_2 + 400 μ L FeNPs + 2800 μ L asetat tamponu çözeltisi (pH=4.0)
- 6) 400 μ L 5 mM TPA + 400 μ L 0.10 M H_2O_2 + 400 μ L FeNPs + 2800 μ L asetat tamponu çözeltisi (pH=4.0)
- 7) 400 μ L 5 mM TPA + 400 μ L 0.05 M H_2O_2 + 400 μ L FeNPs + 2800 μ L asetat tamponu çözeltisi (pH=4.0)
- 8) 400 μ L 5 mM TPA + 400 μ L 0.25 M H_2O_2 + 200 μ L FeNPs + 200 μ L saf su + 2800 μ L asetat tamponu çözeltisi (pH=4.0)
- 9) 400 μ L 5 mM TPA + 400 μ L 0.25 M H_2O_2 + 100 μ L FeNPs + 300 μ L saf su + 2800 μ L asetat tamponu çözeltisi (pH=4.0)

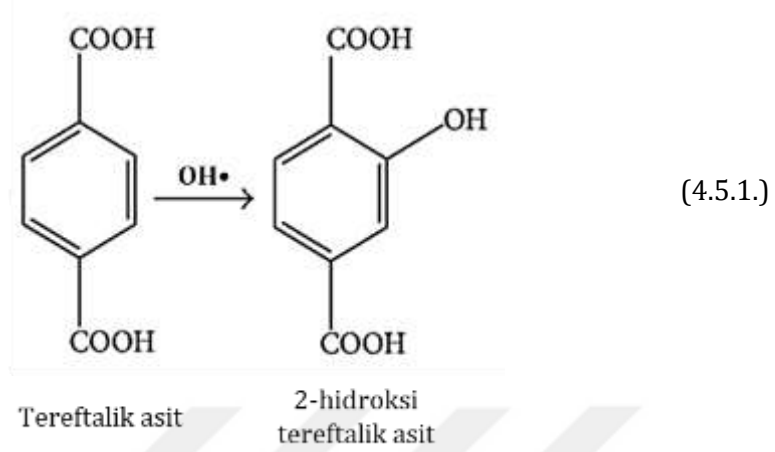
Floresans spektrofotometresi kullanılarak 315 nm eksitasyon dalga boyunda ve 335-615 nm emisyon dalga boyu aralığında spektrum taraması yapılarak hazırlanan karışımlardaki floresan özelliğe sahip ürünün tespiti yapıldı. 1 ve 2 nolu karışımların 335-615 nm emisyon dalga boyu aralığında herhangi bir pik vermedikleri tespit edildi, bu nedenle bu karışımlara ait spektrumlar sunulmadı. Farklı H_2O_2 derişimleri (3-7 nolu karışımlar) ve farklı FeNPs miktarları (5, 8, 9 nolu karışımlar) için elde edilen floresans spektrumları sırasıyla Şekil 4.5.4. (a) ve (b)'de sunuldu.



Şekil 4.5.4. (a) Farklı H_2O_2 derişimleri ve **(b)** FeNPs miktarları için elde edilen floresans spektrumları

Şekil 4.5.4. (a) ve (b)'de sunulan spektrumların tümünde maksimum pik 440 nm dalga boyunda elde edildi. 440 nm dalga boyunda elde edilen bu pik; tereftalik asit ile ortamda oluşan $OH\bullet$ radikallerinin Eşitlik (4.5.1.)'de verilen reaksiyonu sonucu oluşan ve floresan özelliğe sahip olan 2-hidroksi tereftalik asit ürününe aittir. Buna göre; FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespiti için geçerli reaksiyon adımlarının, Şekil 4.5.2.'de verildiği gibi; FeNPs'nin H_2O_2 'nin dekompozisyonuna neden olarak $OH\bullet$ radikallerini oluşturduğu ve oluşan bu radikallerin TMB'nin oksidasyonunu sağladığı şeklinde olduğu doğrulandı [214]. Bu reaksiyon adımlarına benzer olarak; bir peroksidaz enzimi olan HRP'nin de H_2O_2 'nin dekompozisyonuna neden olarak TMB'nin oksidasyonunu sağladığı bilinmektedir. HRP, H_2O_2 ve TMB arasında gerçekleşen reaksiyona göre; HRP, H_2O_2 'yi suya dönüştürür ve bunun için ihtiyaç duyduğu iki hidrojen atomunu verici bir molekül olan TMB'den sağlar, böylece H_2O_2 indirgenirken aynı zamanda TMB oksitlenir. Bu çalışmada gerçekleşen reaksiyonun; HRP ile H_2O_2 'nin dekompozisyonu sonucu TMB'nin oksidasyonu reaksiyonuna oldukça benzemesi nedeniyle, H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde FeNPs'nin peroksidaz benzeri bir katalizör olarak görev yaptığı sonucuna varıldı [329]. Ayrıca, Şekil 4.5.4. (a) ve (b)'den, H_2O_2 derişimi ve FeNPs miktarı arttıkça 440 nm dalga boyundaki floresans şiddetlerinin de arttığı tespit edildi. Bu durum şu şekilde açıklanabilmektedir: ortamda yeterli miktarda FeNPs varlığında H_2O_2 derişimi arttırıldığında (Şekil 4.5.4.(a)), ortamda H_2O_2 'nin dekompozisyonu sonucu oluşan $OH\bullet$ radikallerinin artmasına bağlı olarak floresans şiddeti artar. Şekil 4.5.3.(a)'da sunulan H_2O_2 derişimi arttıkça çözelti renklerinin koyulaşması da aynı sebepten, yani H_2O_2 derişimi arttıkça oluşan $OH\bullet$ radikallerinin artmasına bağlı olarak TMB

oksidasyonunun artmasından kaynaklanmaktadır. Benzer şekilde; ortamda yeterli miktarda H_2O_2 olduğu durumda FeNPs arttıkça (Şekil 4.5.4.(b)), H_2O_2 'nin dekompozisyonu artar ve buna bağlı olarak oluşan $OH^\bullet$ radikali miktarı artar ve böylelikle 440 nm'de daha şiddetli pikler elde edilir.



Sonuç olarak 4.5.1.1.'de önerilen reaksiyon adımlarının FeNPs ile kolorimetrik H_2O_2 tespitinde geçerli olduğu kanıtlandı ve H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde FeNPs'nin peroksidaz benzeri bir katalizör olarak değerlendirilebileceği sonucuna varıldı. FeNPs'nin H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde peroksidaz benzeri bir katalizör olarak kullanılabilirliği aşağıdaki bölümlerde ayrıntılı olarak incelendi.

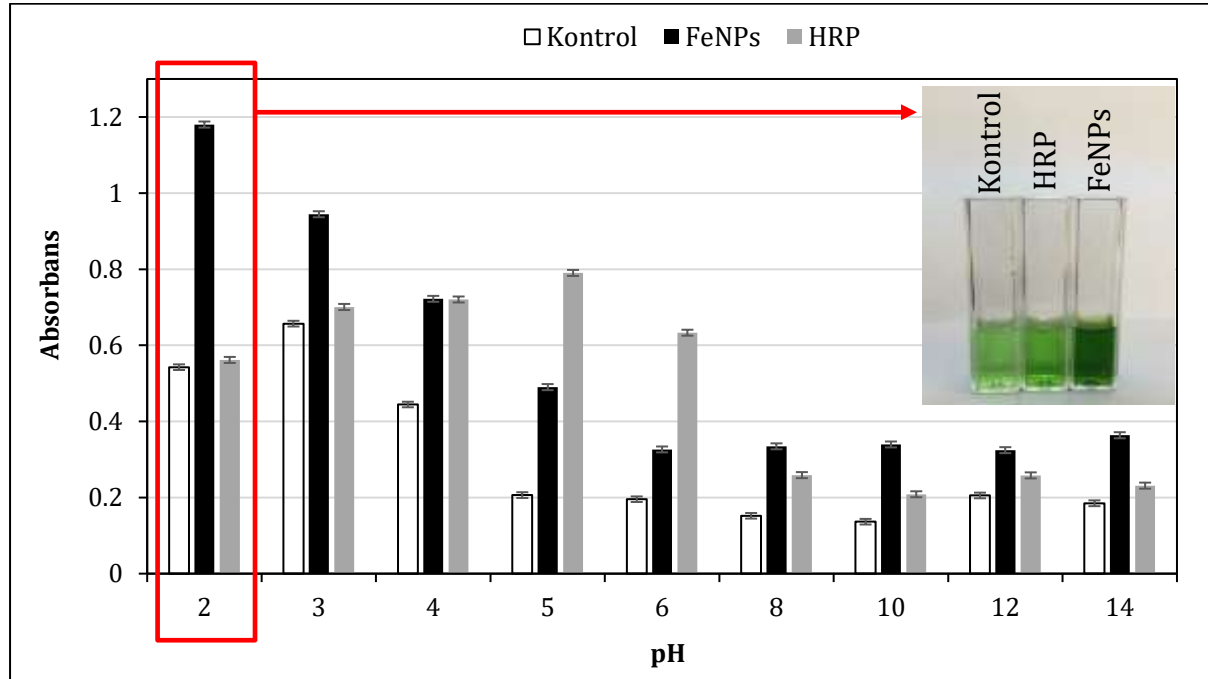
4.5.2. FeNPs ve Peroksidaz Enzimi (HRP) ile H_2O_2 'nin Kolorimetrik Tespitine Çevresel Koşulların Etkisinin Araştırılması

FeNPs ve peroksidaz enzimi HRP ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitine etki eden pH (2.0-14), TMB derişimi (0.1-8.0 mM), asetat tamponu:TMB hacim oranı (1:1-1:4), sıcaklık (20-75 °C), H_2O_2 derişimi (0.001-1000 mM), FeNPs (1.0 g/L) veya HRP (0.1 µg/mL) miktarı (100-1000 µL) gibi çevresel koşulların etkisi bir değişkenin değiştirilip diğer faktörlerin sabit tutulması yöntemi ile araştırıldı; bu prosese ait optimum ortam koşulları belirlendi.

4.5.2.1. FeNPs ve Peroksidaz Enzimi (HRP) ile H_2O_2 'nin Kolorimetrik Tespitine pH'ın Etkisi

H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitine pH'ın etkisi 2.0-14 aralığında; FeNPs çözeltisi, HRP çözeltisi ve kontrol amacıyla saf su olduğu durumlarda araştırıldı. Deneyler, UV-vis spektrofotometre küveti içerisinde gerçekleştirildi. 9 farklı pH değerinin etkisinin incelenmesi amacıyla 27 adet UV-vis spektrofotometresi küveti alınıp 3'erli gruplara ayrıldı. Daha sonra bu 3'erli küvetlerin içerisinde ilk olarak 250 µL 2.0 mM TMB çözeltileri üzerine sırasıyla farklı pH

değerindeki 500 μL asetat tamponu çözeltileri ve 100 mM 500 μL H_2O_2 çözeltileri eklendi. Daha sonra her bir küvete ayrı ayrı olacak şekilde birinci küvetlere 100 μL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi, ikinci küvetlere 100 μL 0.1 $\mu\text{g/mL}$ HRP çözeltisi ve üçüncü küvetlere 100 μL saf su ilave edilerek 120 dakika sonunda 655 nm dalga boyunda absorbans değerleri kaydedildi ve sonuçlar Şekil 4.5.5.'te sunuldu.



Şekil 4.5.5. H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitine pH'nın etkisi (Deneyel koşullar: 250 μL 2.0 mM TMB, 500 μL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0-14), T=20 °C, 100 mM 500 μL H_2O_2 çözeltisi ve kontrol deneyi için 100 μL saf su; FeNPs ile yapılan deneyde 100 μL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi; HRP ile yapılan deneyde 100 μL 0.1 $\mu\text{g/mL}$ HRP çözeltisi)

Şekil 4.5.5.'ten; pH değeri arttıkça FeNPs'nin aktivitesinin azaldığı, HRP'nin aktivitesinin ise pH'ın 2.0'den 5.0'e artırılması ile arttığı, daha sonra azaldığı görüldü. HRP'nin zayıf asidik ortamlarda etkin olduğu bilinmektedir. Bu doğrultuda; HRP'nin en iyi aktiviteyi pH=5.0'te gösterdiği, bazı koşulların aktivitesini azalttığı belirlendi [330].

H_2O_2 'nin FeNPs ile kolorimetrik tespitinde optimum pH=2.0 olarak belirlendi ve bazik koşullarda aktivitesinin oldukça azaldığı tespit edildi. Bu durum şu şekilde açıklanabilmektedir; FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde bazik koşullarda ortamda bulunan OH^- iyonlarının FeNPs yüzeyine adsorplanması ve Fe—OH bağlarının oluşması sonucu FeNPs yüzeyinde bulunan aktif bölge sayısının azalması [331] ile H_2O_2 tespiti için bazik koşullardan ziyade asidik koşullarda çalışılmasının daha verimli olduğu sonucuna varıldı.

Ayrıca, yüksek pH'larda oxTMB ürünün oluşumu daha hızlı olduğundan çözelti rengi öncelikle mavi olurken, düşük pH'larda diimin oluşumu hızlı olduğundan mavi renkli oxTMB ürünü ile sarı renkli diimin ürününün renginin birleşmesi sonucu yeşil renkli bir çözelti elde

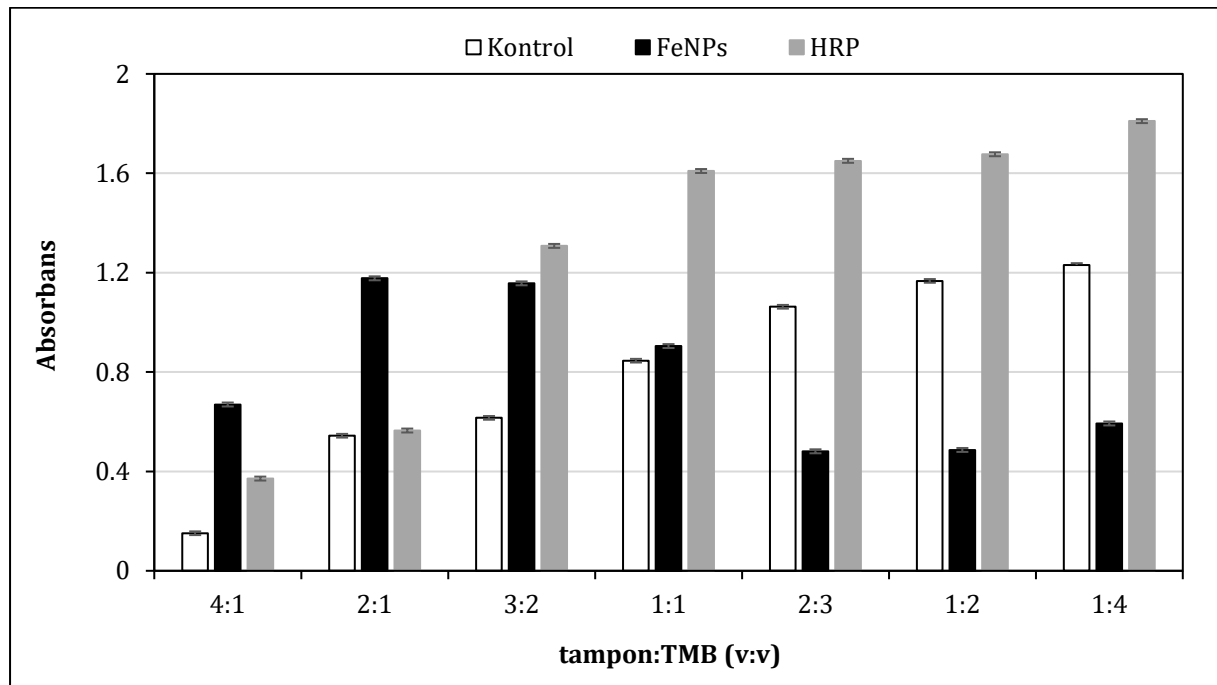
edildiği bilinmektedir [10]. Bu çalışmada FeNPs ile kolorimetrik H_2O_2 tespiti prosesi için optimum pH=2.0 olarak belirlendiğinden, çözelti renkleri belirtilen sebepten yeşil renklidir.

4.5.2.2. FeNPs ve Peroksidaz Enzimi (HRP) ile H_2O_2 'nin Kolorimetrik Tespitine Asetat Tamponu:TMB (v:v) Oranı Etkisi

H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitine asetat tamponu:TMB (v:v) oranı etkisi; FeNPs çözeltisi, HRP çözeltisi ve kontrol amacıyla saf su olduğu durumda araştırıldı. Deneyler, UV-vis spektrofotometre küveti içerisinde gerçekleştirildi. 7 farklı asetat tamponu:TMB (v:v) oranının etkisinin incelenmesi amacıyla 21 adet UV-vis spektrofotometresi küveti alınıp 3'erli gruplara ayrıldı. Daha sonra bu 3'erli küvetlerin içerisinde asetat tamponu ve TMB hacimleri toplamı 750 μ L olacak şekilde oranlar ayarlanarak, belirli hacimdeki 2.0 mM TMB çözeltileri üzerine sırasıyla belirli hacimdeki asetat tamponu çözeltileri (pH=2.0) ve 100 mM 500 μ L H_2O_2 çözeltileri eklendi. Daha sonra her bir küvete ayrı ayrı olacak şekilde birinci küvetlere 100 μ L 1.0 g/L FeNPs çözeltisi, ikinci küvetlere 100 μ L 0.1 μ g/mL HRP çözeltisi ve üçüncü küvetlere 100 μ L saf su ilave edilerek 120 dakika sonunda 655 nm dalga boyunda absorbens değerleri kaydedildi ve sonuçlar Şekil 4.5.6.'da sunuldu.

Şekil 4.5.6.'ya göre; H_2O_2 'nin FeNPs ile kolorimetrik tespiti için maksimum absorbens değeri asetat tamponu:TMB (v:v) oranının 2:1 olduğu durumda elde edildi. Bu durum ortamın pH değeri ve ortamdaki TMB miktarı ile açıklanabilmektedir. Asetat tamponu:TMB (v:v) oranının 4:1, 2:1, 3:2, 1:1, 2:3, 1:2 ve 1:4 olduğu durumlarda ortamın pH değerleri sırasıyla 1.88, 2.02, 2.11, 2.26, 2.42, 2.58 ve 2.71'dir. H_2O_2 'nin FeNPs ile kolorimetrik tespitine pH etkisinin incelendiği durumda; ortamın pH değeri arttıkça 655 nm'de elde edilen absorbens değerlerinin azaldığı belirlendi. Buna göre; Şekil 4.5.6.'dan ortamda asetat tamponu miktarı azaldıkça (grafikte sağ doğru gidildikçe) ortam pH'nın bir miktar arttığı ve böylelikle FeNPs'nin aktivitesinin azalması sonucu H_2O_2 'nin dekompozisyonu daha az gerçekleştiğinden absorbens değerlerinin azaldığı gözlemlendi. Asetat tamponu:TMB (v:v) oranının 4:1 olduğu durumda ise TMB oksidasyonu için gerekli pH değeri sağlanamadığından (pH=1.88) ve ortamdaki TMB miktarı düşük olduğundan, asetat tamponu:TMB (v:v) oranının 2:1 olduğu duruma göre daha düşük bir absorbens değeri elde edildi. Asetat tamponu:TMB (v:v) oranının 4:1'den 2:1'e düştüğü durumda hem TMB oksidasyonu için gerekli pH değeri sağlandığından (pH=2.02) hem de ortamdaki TMB miktarı arttığı için TMB'nin oksidasyonunun artmasına bağlı olarak absorbens değerinin arttığı tespit edildi. Ancak asetat tamponu:TMB (v:v) oranının değişmesi ile ortamın pH değerlerinin yüksek oranda değişmemesi, Şekil 4.5.6.'da verilen absorbens değerlerinin değişiminin sadece ortamın pH değerine bağlı olmadığını göstermektedir. Bu durumda, ortamdaki TMB miktarının etkisine bakıldı. Buna göre; asetat tamponu:TMB (v:v) oranının 2:1'den 3:2'ye değişmesi ile ortamdaki

TMB miktarının artmasına rağmen H_2O_2 ve FeNPs miktarı sabit olduğundan daha fazla $OH^\bullet$ radikali oluşmaz ve bu durumda daha fazla TMB oksidasyonu gerçekleşmediğinden, TMB'nin oksidasyonu sonucu oluşan ürün derişiminin yaklaşık sabit kaldığı tespit edildi. Bu nedenle asetat tamponu:TMB (v:v) oranının 3:2 olduğu durum ile 2:1 olduğu durumda birbirine oldukça yakın absorbands değerleri elde edildi. Asetat tamponu:TMB (v:v) oranının 3:2'den daha düşük olduğu durumlarda (grafikte sağ doğru gidildikçe) ise ortamdaki TMB miktarının artmasına rağmen absorbands değerlerinin azalmasının nedeninin artan pH değerinin yanı sıra ortamda bulunan fazla miktardaki TMB'nin FeNPs'nin aktivitesini azaltmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Sonuç olarak, H_2O_2 'nin FeNPs ile kolorimetrik tespiti için optimum asetat tamponu:TMB (v:v) oranı 2:1 olarak belirlendi.



Şekil 4.5.6. H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitine asetat tamponu:TMB (v:v) oranı etkisi (DeneySEL koşullar: 2.0 mM TMB, asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 100 mM 500 μ L H_2O_2 çözeltisi ve kontrol deneyi için 100 μ L saf su; FeNPs ile yapılan deneyde 100 μ L 1.0 g/L FeNPs çözeltisi; HRP ile yapılan deneyde 100 μ L 0.1 μ g/mL HRP çözeltisi)

H_2O_2 'nin HRP ile kolorimetrik tespitinde ise; Şekil 4.5.6.dan ortamda asetat tamponu:TMB oranı azaldıkça (grafikte sağ doğru gidildikçe) 655 nm'de elde edilen absorbands değerlerinin arttığı belirlendi. Bu durum hem ortamın pH değeri hem de ortamdaki TMB miktarı ile ilgilidir. Ortamda asetat tamponu:TMB oranı azaldıkça ortamın pH değeri arttığı yukarıda belirtilmişti. Bu durumda, ortamın pH değerinin artmasına bağlı olarak HRP'nin aktivitesinin artması ile birlikte TMB'nin oksidasyonu daha fazla gerçekleştiğinden okunan absorbands değerlerinin arttığı belirlendi. Ancak asetat tamponu:TMB oranı azalması ile absorbands değerlerindeki artışın pH değişiminden daha çok ortamdaki TMB miktarı ile ilgisi olduğu düşünülmektedir. Buna göre;

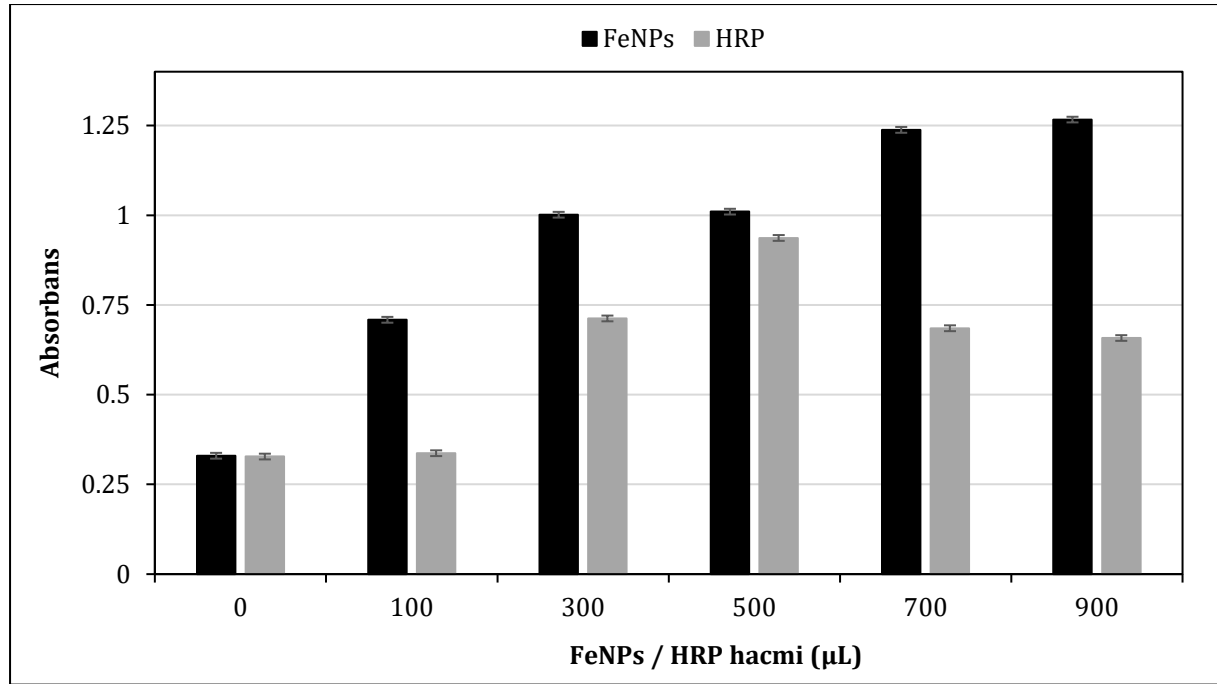
Şekil 4.5.6.'dan asetat tamponu:TMB oranı azaldıkça (grafikte sağ doğru gidildikçe) ortamdaki TMB miktarının artmasına bağlı olarak TMB'nin oksidasyonu sonucu oluşan ürün derişiminin arttığı ve bu nedenle 655 nm'de elde edilen absorbens değęerlerinin arttığı tespit edildi [217].

4.5.2.3. FeNPs ve Peroksidaz Enzimi (HRP) ile H₂O₂'nin Kolorimetrik Tespitine Katalizör Miktarı Etkisi

FeNPs ve HRP ile H₂O₂'nin kolorimetrik tespitine katalizör miktarının etkisi 0-900 µL aralığında araştırıldı. Deneyler, UV-vis spektrofotometre küveti içerisinde gerçekleştirildi. Bu amaçla, 11 adet UV-vis spektrofotometresi küveti içerisinde sırasıyla 250 µL 2.0 mM TMB çözeltisi, 500 µL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0) ve 100 mM 500 µL H₂O₂ çözeltisi eklendi. Daha sonra ilk küvete 1000 µL saf su; sonraki 5 küvete ayrı ayrı olacak şekilde 100, 300, 500, 700 ve 900 µL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi (toplam FeNPs çözelti hacmi 1000 µL'ye saf etanol ile tamamlandı); son 5 küvete ise ayrı ayrı olacak şekilde 100, 300, 500, 700 ve 900 µL 0.1 µg/mL HRP çözeltisi (toplam HRP çözelti hacmi 1000 µL'ye saf su ile tamamlandı) ilave edilerek 120 dakika sonunda 655 nm dalga boyunda absorbens değęerleri kaydedildi ve sonuçlar Şekil 4.5.7.'de sunuldu.

Şekil 4.5.7.'ye göre; FeNPs hacminin 700 µL'ye kadar artışı ile absorbens değęerleri arttı, daha sonra yaklaşık sabit kaldı. FeNPs miktarı arttıkça, ortamda oluşan OH• radikalının artmasına bağlı olarak TMB'nin oksidasyonun artması sonucu oluşan ürün derişiminin arttığı ve bu nedenle 655 nm'de elde edilen absorbens değęerlerinin arttığı tespit edildi. 700 µL'den fazla FeNPs hacminde ise, ortamdaki H₂O₂ derişimi sabit olduğundan FeNPs miktarının artışı ile daha fazla OH• radikali oluşmaz ve daha fazla TMB oksidasyonu gerçekleşmez. Bu nedenle ortamda 900 µL FeNPs olduğu durumda, TMB'nin oksidasyonu sonucu oluşan ürün derişiminin ve dolayısıyla absorbens değęerlerinin yaklaşık sabit kaldığı gözlemlendi [178]. Sonuç olarak, H₂O₂'nin FeNPs ile kolorimetrik tespiti için optimum FeNPs hacmi 700 µL olarak belirlendi.

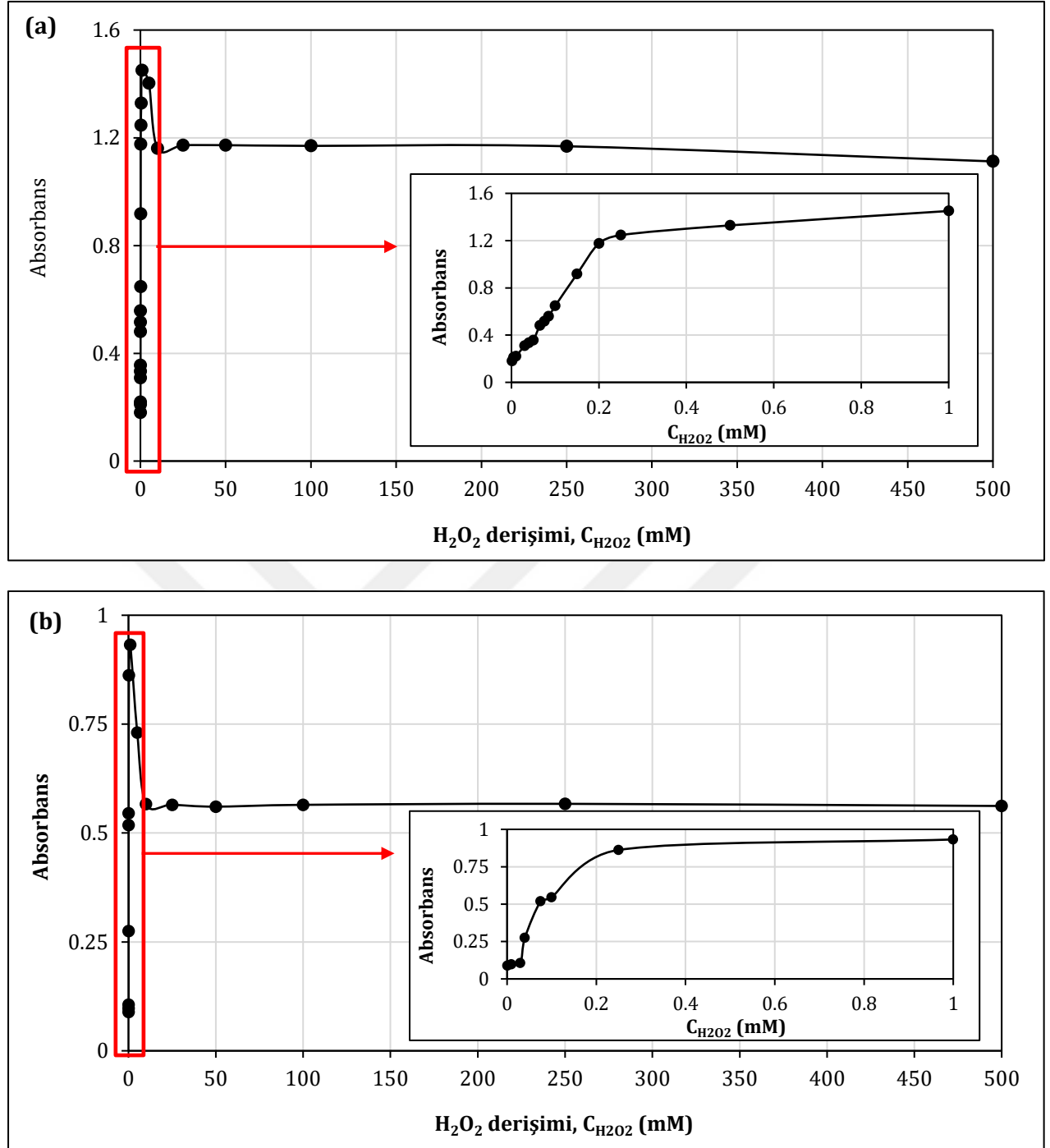
Ayrıca, Şekil 4.5.7.'ye göre; H₂O₂'nin HRP ile kolorimetrik tespitinde HRP miktarının 500 µL'ye kadar artışı ile absorbens değęerleri arttı, daha sonra azaldı. HRP miktarının 500 µL'ye kadar arttıkça, ortamda oluşan OH• radikalının artmasına bağlı olarak TMB'nin oksidasyonun artması sonucu oluşan ürün derişiminin arttığı ve bu nedenle 655 nm'de elde edilen absorbens değęerlerinin arttığı tespit edildi. Kolorimetrik tespit ortamında HRP'nin 500 µL'den fazla bulunması durumunda ise, TMB'nin oksidasyonunun çok hızlı gerçekleştiği ve mavi renkli oxTMB ürününün hızlıca sarı renkli diimin yan ürününe dönüştüğü ve oluşan açık renkli yan ürünün çözelti rengine açılmaya neden olarak absorbens değęerlerinin düşmesine sebep olduğu belirlendi.



Şekil 4.5.7. H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitine katalizör miktarının etkisi (Deneysel koşullar: 250 µL 2.0 mM TMB, 500 µL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), $T=20^\circ C$, 100 mM 500 µL H_2O_2 çözeltisi ve kontrol deneyi için 1000 µL saf su; FeNPs ile yapılan deneyde 1.0 g/L FeNPs çözeltisi ve saf etanol (toplam hacim: 1000 µL); HRP ile yapılan deneyde 0.1 µg/mL HRP çözeltisi ve saf su (toplam hacim: 1000 µL))

4.5.2.4. FeNPs ve Peroksidaz Enzimi (HRP) ile H_2O_2 'nin Kolorimetrik Tespitine H_2O_2 Derişimi Etkisi

FeNPs ve HRP ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitine H_2O_2 derişiminin etkisi 0.001-500 mM aralığında araştırıldı. Deneyler, UV-vis spektrofotometre küveti içerisinde gerçekleştirildi. Farklı H_2O_2 derişimi etkisinin incelenmesi amacıyla belli sayıda UV-vis spektrofotometresi küvetleri alınıp 2'şerli gruplara ayrıldı. Daha sonra bu 2'şerli küvetlerin içerisinde ilk olarak 250 µL 2.0 mM TMB çözeltileri üzerine sırasıyla 500 µL asetat tamponu çözeltileri (pH=2.0), farklı derişimlerde 500 µL H_2O_2 çözeltileri eklendi. Daha sonra her bir küvete ayrı ayrı olacak şekilde birinci küvetlere 100 µL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi ve ikinci küvetlere 100 µL 0.1 µg/mL HRP çözeltisi ilave edilerek 120 dakika sonunda 655 nm dalga boyunda absorbans değerleri kaydedildi ve sonuçlar Şekil 4.5.8. (a) ve (b)'de sunuldu.



Şekil 4.5.8. H₂O₂'nin (a) FeNPs ve (b) HRP ile kolorimetrik tespitine H₂O₂ derişiminin etkisi (Deneyel koşullar: 250 µL 2.0 mM TMB, 500 µL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 µL H₂O₂ çözeltisi (0.001-500 mM) ve FeNPs ile yapılan deneyde 100 µL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi; HRP ile yapılan deneyde 100 µL 0.1 µg/mL HRP çözeltisi)

Şekil 4.5.8. (a) ve (b)'den; hem FeNPs hem de HRP'nin kullanıldığı durumda H₂O₂ derişiminin 1.0 mM değerine kadar absorbans değerlerinin arttığı, daha sonra azaldığı ve bu azalmanın HRP'nin kullanıldığı durumda daha fazla olduğu belirlendi. Buna göre; FeNPs ile H₂O₂'nin kolorimetrik tespitinde H₂O₂ derişimi 1.0 mM'a kadar arttıkça, ortamda oluşan OH• radikalının artmasına bağlı olarak TMB'nin oksidasyonu sonucu oluşan renkli oksidasyon ürünün

derişiminin arttığı ve dolayısıyla absorbands değerlerinin arttığı belirlendi. Ancak ortamdaki H_2O_2 derişiminin 1.0 mM'dan daha fazla olduğu durumlarda, ortamdaki fazla H_2O_2 , H_2O_2 'nin dekompozisyon reaksiyonu sonucu oluşan $OH\bullet$ radikali ile reaksiyona girerek $OH\bullet$ radikaline kıyasla daha az aktif olan $HO_2\bullet$ radikalini oluşturduğu ($H_2O_2 + OH\bullet \rightarrow HO_2\bullet + H_2O$) [2] öngörülmektedir. Bu durumda; TMB'nin oksidasyonu için gerekli olan radikal derişiminin azalmasına bağlı olarak TMB'nin oksidasyonu sonucu oluşan renkli oksidasyon ürünlerinin derişimlerinin azaldığı ve dolayısıyla H_2O_2 derişimi 1.0 mM'dan daha yüksek değerlere arttırıldıkça absorbands değerlerinin azaldığı tespit edildi [178].

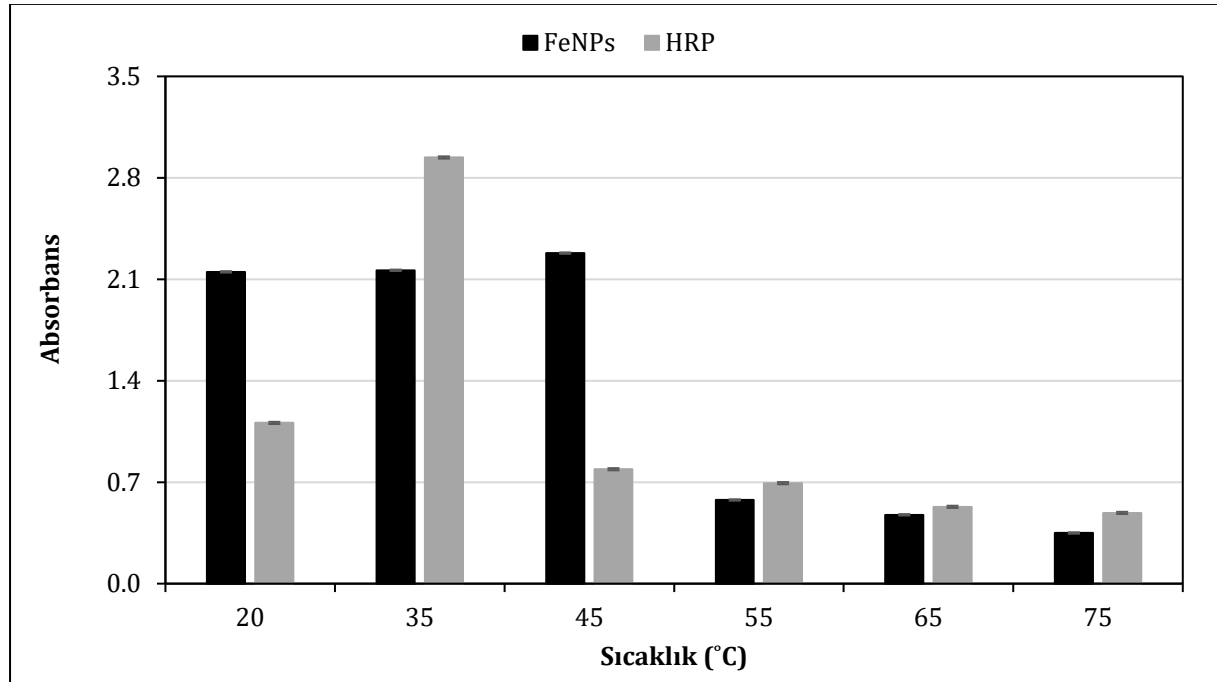
HRP ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde de benzer bir durum söz konusudur. Ortamdaki H_2O_2 derişimi 1.0 mM'a kadar arttıkça TMB'nin oksidasyonu sonucu oluşan ürün derişiminin arttığı ve dolayısıyla absorbands değerlerinin arttığı tespit edildi. Ortamdaki H_2O_2 derişiminin 1.0 mM'dan fazla olduğu durumlarda ise ortamdaki fazla H_2O_2 derişiminin HRP enziminin aktivitesini azaltarak absorbands değerlerinin düşmesine sebep olduğu sonucuna varıldı.

4.5.2.5. FeNPs ve Peroksidaz Enzimi (HRP) ile H_2O_2 'nin Kolorimetrik Tespitine Sıcaklığın Etkisi

FeNPs ve HRP ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitine sıcaklığın etkisi 20-75 °C aralığında araştırıldı. Deneyler, UV-vis spektrofotometre küveti içerisinde gerçekleştirildi. 6 farklı sıcaklık değerinin etkisinin incelenmesi amacıyla 12 adet UV-vis spektrofotometresi küveti alınıp 2'şerli gruplara ayrıldı. Daha sonra bu 2'şerli küvetlerin içerisinde ilk olarak 250 μ L 4.0 mM TMB çözeltileri üzerine sırasıyla 500 μ L asetat tamponu çözeltileri (pH=2.0) ve 100 mM 500 μ L H_2O_2 çözeltileri ilave edilerek, hazırlanan çözeltiler bir su banyosuna yerleştirilerek istenilen sıcaklığa ısıtıldı. İstenilen sıcaklığa gelen çözeltilerin üzerine ayrı ayrı olacak şekilde birinci küvetlere 100 μ L 1.0 g/L FeNPs çözeltisi ve ikinci küvetlere 100 μ L 0.1 μ g/mL HRP çözeltisi ilave edilerek 120 dakika sonunda 655 nm dalga boyunda absorbands değerleri kaydedildi ve sonuçlar Şekil 4.5.9.'da sunuldu.

Şekil 4.5.9.'dan görüldüğü üzere; H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitine sıcaklığın etkisi çalışmaları sonucunda; 20, 35 ve 45 °C'de elde edilen maksimum absorbands değerlerine FeNPs için sırasıyla 45., 10. ve 5. dakikalarda ulaşılırken; HRP için 20 ve 35 °C'de elde edilen maksimum absorbands değerlerine sırasıyla 90. ve 40. dakikalarda ulaşıldı. Buna göre; FeNPs ile H_2O_2 tespitinin HRP'ye göre daha kısa sürede yapılabildiği tespit edildi. Ayrıca, her iki proses için sıcaklığın belli bir değere kadar artmasıyla TMB'nin oksidasyonu reaksiyonunun daha kısa sürede tamamlandığı belirlendi. Bu durum şu şekilde açıklanabilmektedir: sıcaklık arttıkça çözelti içerisinde bulunan moleküllerin kinetik enerjileri dolayısıyla hızları artar; böylelikle birim zamandaki çarpışma sayısı artar ve TMB'nin oksidasyonu reaksiyonu daha kısa sürede

gerçekleşir. Böylelikle, H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinin daha kısa sürede yapılabilmesi için yüksek sıcaklıkların gerektiği sonucuna varıldı. Fakat çok yüksek sıcaklıklarda katalizörlerin yapısı bozulduğundan absorbans değerleri de düşmektedir. Ancak, FeNPs'nin aktivitesi 20-45 °C aralığında yüksek iken, HRP için sadece bir sıcaklıkta (35 °C) yüksek aktivite elde edilebildi çünkü FeNPs inorganik bir yapıya sahip olduğundan organik yapılı HRP'ye kıyasla yüksek sıcaklıklara daha dayanıklıdır ve bu durum FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinin geniş bir sıcaklık aralığında yapılabilmesine olanak sağlar [213].



Şekil 4.5.9. H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitine sıcaklığın etkisi (Deneysel koşullar: 250 μ L 4.0 mM TMB, 500 μ L asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), 500 μ L 100 mM H_2O_2 çözeltisi ve FeNPs ile yapılan deneyde 100 μ L 1.0 g/L FeNPs çözeltisi; HRP ile yapılan deneyde 100 μ L 0.1 μ g/mL HRP çözeltisi)

Sonuç olarak FeNPs ile kolorimetrik H_2O_2 tespiti prosesine ait optimum ortam koşulları; pH=2.0, asetat tamponu:TMB (v:v) oranı 2:1, FeNPs hacmi 700 μ L, H_2O_2 derişimi 1.0 mM ve sıcaklık 45 °C olarak belirlendi.

4.5.3. FeNPs ve Peroksidaz Enzimi (HRP) ile H_2O_2 'nin Kolorimetrik Tespitinin Kinetik Analizi

TMB ve H_2O_2 'nin substrat olarak kullanıldığı kolorimetrik tespit prosesinde, FeNPs ve HRP'nin katalitik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yatışkın hal kinetik analizi yapıldı. Bu amaçla, bir substrat derişimi sabit tutulurken diğeri değıştirilerek 2 ayrı durumda kinetik veriler elde edildi. Kinetik analiz deneylerinin, Bölüm 4.5.2.'de belirlenen optimum ortam koşulları yerine daha ılımlı koşullar altında (daha düşük sıcaklık ve katalizör miktarı) yapılmaları tercih edildi. Belirtilen 2 ayrı durum için aşağıda verilen deneysel plana göre kinetik veriler elde edildi:

- i. H_2O_2 substratı derişiminin sabit tutulduğu deneylerde; UV-vis spektrofotometresi küveti içerisinde ilk olarak 250 μ L farklı derişimlerdeki TMB çözeltileri (0.1-8.0 mM) eklendi, daha sonra bu çözeltilerin üzerine sırasıyla 500 μ L asetat tamponu çözeltilisi (pH=2.0), 500 μ L 100 mM H_2O_2 çözeltilisi ve 100 μ L 1.0 g/L FeNPs çözeltilisi, paralel olarak hazırlanan diğerküvete de FeNPs yerine 100 μ L 0.1 μ g/mL HRP çözeltilisi ilave edildi.
- ii. TMB substratı derişiminin sabit tutulduğu deneylerde; UV-vis spektrofotometresi küveti içerisinde ilk olarak 250 μ L 2.0 mM TMB çözeltilisi eklendi, daha sonra bu çözeltili üzerine sırasıyla 500 μ L asetat tamponu çözeltilisi (pH=2.0), 500 μ L farklı derişimlerde H_2O_2 çözeltileri (0.001-1.0 mM) ve 100 μ L 1.0 g/L FeNPs çözeltilisi, paralel olarak hazırlanan diğerküvete de FeNPs yerine 100 μ L 0.1 μ g/mL HRP çözeltilisi ilave edildi.
- iii. TMB'nin oksidasyonu sonucu oluşan oksidasyon ürünlerini içeren çözeltilerin UV-vis spektrofotometresinde 655 nm dalga boyunda absorbands değıerleri önceden belirlenen zaman aralıklarında kaydedildi. Zamanla absorbands değıerleri değıişimi kinetik verileri, Eşitlik (3.5.1.)'de verilen Michaelis–Menten eşitliğine uygulandı.

FeNPs ve HRP ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde, H_2O_2 derişiminin 100 mM'da sabit tutulup TMB derişiminin 0.1-8.0 mM arasında değıştirilmesi durumunda elde edilen absorbands değıerlerinin zamana karşı grafikleri Şekil 4.5.10. (a) ve (b)'de; TMB derişiminin 2.0 mM'da sabit tutulup H_2O_2 derişiminin 1.0-1000 μ M arasında değıştirilmesi durumunda elde edilen absorbands değıerlerinin zamana karşı grafikleri Şekil 4.5.11. (a) ve (b)'de sunuldu.

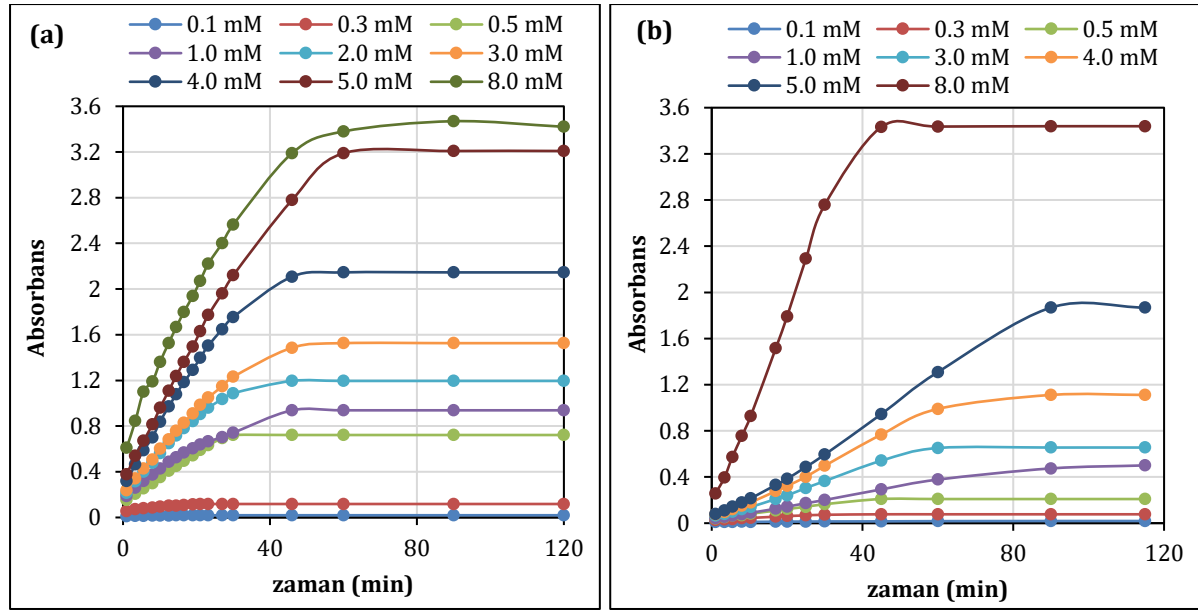
Lambert-Beer yasasının Eşitlik (4.5.2.)'de verilen eşitliğinden yararlanılarak; Şekil 4.5.10. (a) ve (b) ve Şekil 4.5.11. (a) ve (b)'de zamana karşı elde edilen absorbands değıerleri ile TMB oksidasyonu sonucu oluşan ve 655 nm dalgaboyunda analiz edilen ürüne ait derişimler hesaplandı.

$$C = \frac{A}{l \cdot \epsilon} \quad (4.5.2.)$$

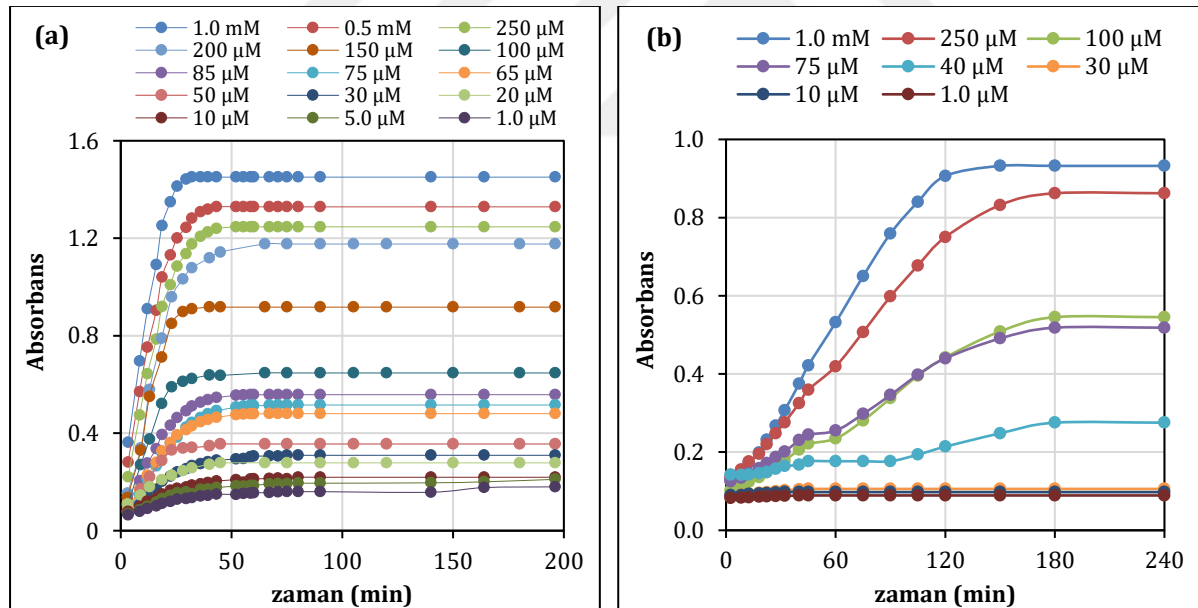
Eşitlik (4.5.2.)’de; C 655 nm dalgaboyunda analiz edilen ürüne ait derişim (M), A absorbands değeri, l ışık yolu (cm) ve ϵ molar absorpsiyon katsayısı ($1/(M \cdot cm)$)’dır. TMB oksidasyonu sonucu oluşan ve 655 nm dalgaboyunda analiz edilen ürüne ait molar absorpsiyon katsayısının $39000 M^{-1} \cdot cm^{-1}$ olduğu bilinmektedir ve bu ürünün analizi için 1.0 cm ışık yoluna sahip UV-vis spektrofotometre küveti kullanıldı.

Eşitlik (4.5.2.) ile hesaplanan derişimler zamana karşı grafiğe geçirildi ve elde edilen eğrilerin doğrusal kısımlarına ait eğimler kullanılarak başlangıç reaksiyon hızları (v_0) hesaplandı. Başlangıç reaksiyon hızlarının hesaplanması amacıyla Şekil 4.5.10. (a)-(b) ve Şekil 4.5.11. (a)-(b)’de elde edilen eğrilerin doğrusal kısımları kullanılarak çizilen doğrusal grafikler ve bu doğrulara ait doğru denklemleri TMB’nin substrat olarak kullanıldığı kolorimetrik tespit proseslerinde FeNPs ve HRP için sırasıyla Şekil 4.5.12. (a)-(b) ve Şekil 4.5.13. (a)-(b)’de, H_2O_2 ’nin substrat olarak kullanıldığı kolorimetrik tespit proseslerinde FeNPs ve HRP için sırasıyla Şekil 4.5.14. (a)-(b) ve Şekil 4.5.15. (a)-(b)’de verildi. Şekil 4.12-15’den, verileri temsil eden doğru denklemlerinde kontrol çözeltisine ait absorbands değerlerinden kaynaklı kayma değerlerinin olduğu görülmektedir. Şekil 4.10-11’de verilen (zaman, absorbands) grafiklerindeki absorbands değerlerinden kontrol çözeltisi absorbands değerlerinden kaynaklı kayma değerlerinin çıkarılması ile elde edilecek absorbands değerlerinin, zamanla değişimi aynı eğilimde olacak, bu verilerin değerlendirilmesi ile elde edilecek (zaman, derişim) değerlerinden elde edilecek doğru denkleminde kayma değeri “0” olurken eğim aynı olacaktır [332]. Çalışmanın bütününde elde edilen absorbands değerlerinin birbiri ile tutarlı olması açısından; başlangıç hızlarının hesaplanmasında sadece eğimin kullanılması nedeniyle Şekil 4.5.10. (a)-(b) ve Şekil 4.5.11. (a)-(b)’deki absorbands değerlerinden kontrol çözeltisine ait absorbands değerleri çıkarılmadan Şekil 4.5.12. (a)-(b), Şekil 4.5.13. (a)-(b), Şekil 4.5.14. (a)-(b) ve Şekil 4.5.15. (a)-(b) grafikleri çizildi.

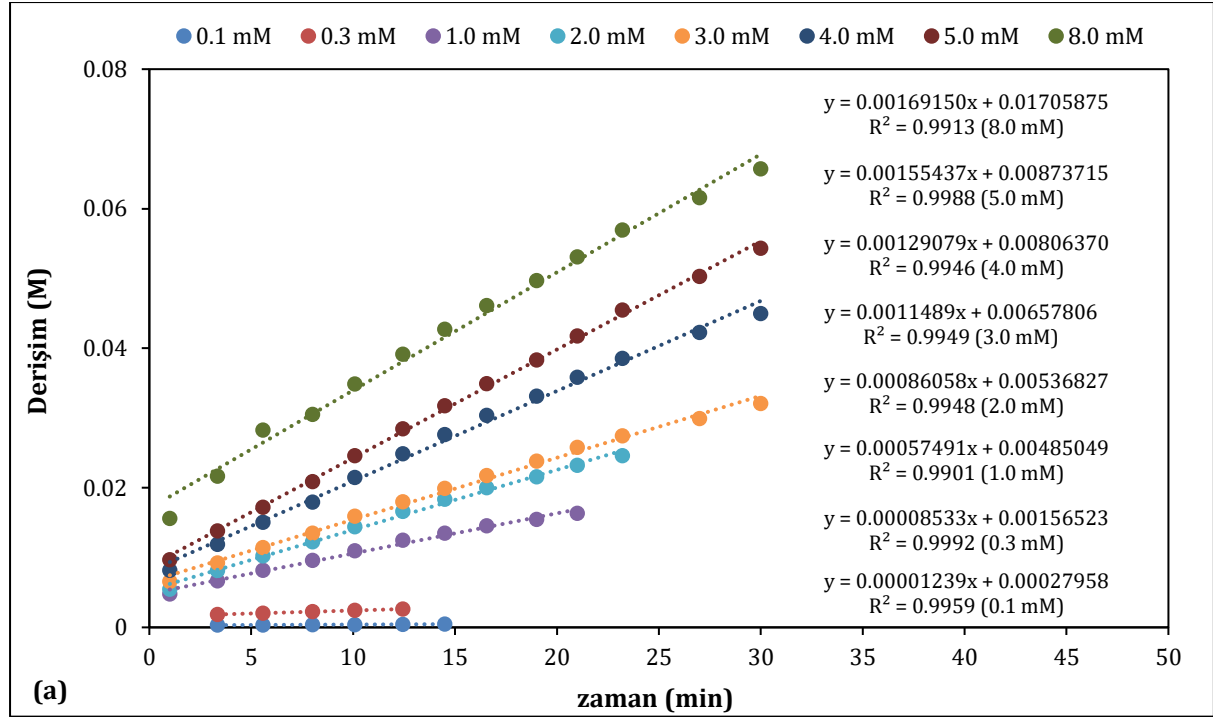
Şekil 4.5.12. (a)-(b), Şekil 4.5.13. (a)-(b), Şekil 4.5.14. (a)-(b) ve Şekil 4.5.15. (a)-(b)’deki eğim değerleri kullanılarak uygun birimdeki v_0 değerleri hesaplandıktan sonra elde edilen veriler Michaelis–Menten eşitliğine (Eşitlik (3.5.1.)) uygulandı [210]. Buna göre; K_m ve v_{max} değerleri; Eşitlik (3.5.2.)’ye göre; Lineweaver–Burk grafiklerinde ($1/[S_0] - 1/v_0$) elde edilen doğruların eğim ve kayma değerlerinden hesaplandı [215]. FeNPs ve HRP ile H_2O_2 ’nin kolorimetrik tespitinde elde edilen tipik Michaelis–Menten ve Lineweaver–Burk grafikleri sırasıyla Şekil 4.5.16. (a)-(b) ve Şekil 4.5.17. (a)-(b)’de sunuldu.



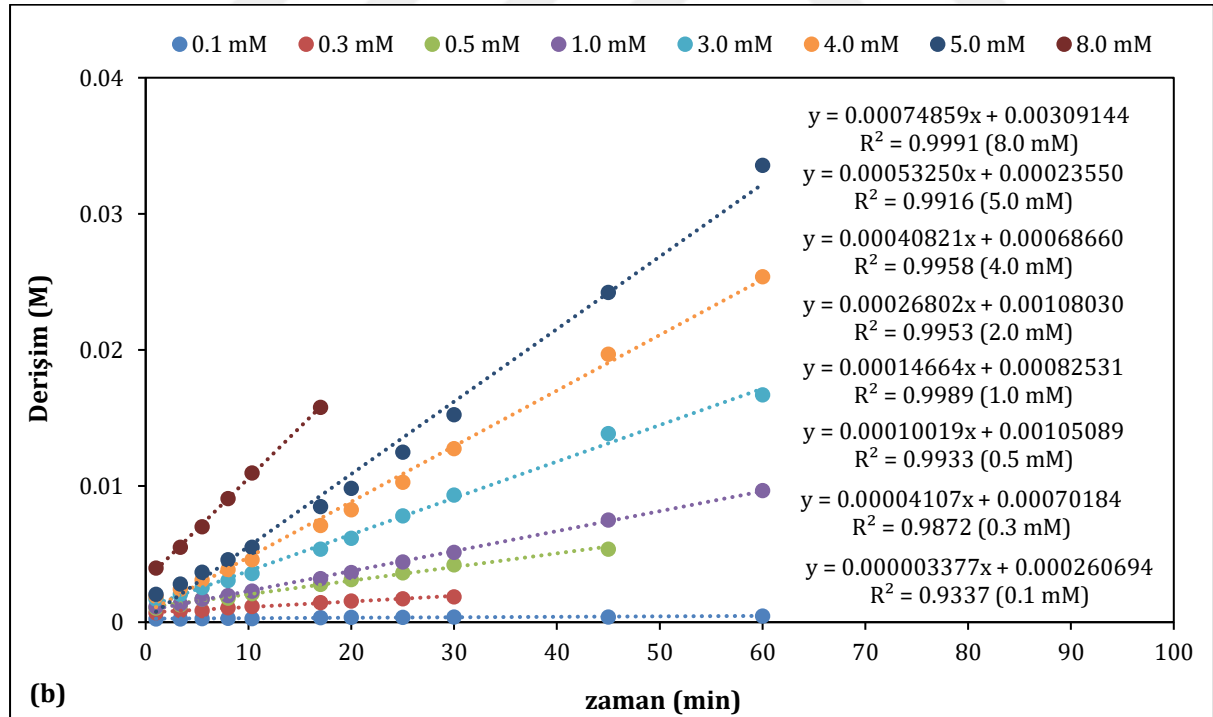
Şekil 4.5.10. (a) FeNPs ve (b) HRP ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde, H_2O_2 derişimi sabit tutulup TMB derişimi değiştirilerek elde edilen absorbans değerlerinin zamana karşı grafikleri (Deneysel koşullar: 250 μ L 0.1-8.0 mM TMB, 500 μ L asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 μ L 100 mM H_2O_2 çözeltisi ve FeNPs ile yapılan deneylerde 100 μ L 1.0 g/L FeNPs çözeltisi; HRP ile yapılan deneylerde 100 μ L 0.1 μ g/mL HRP çözeltisi)



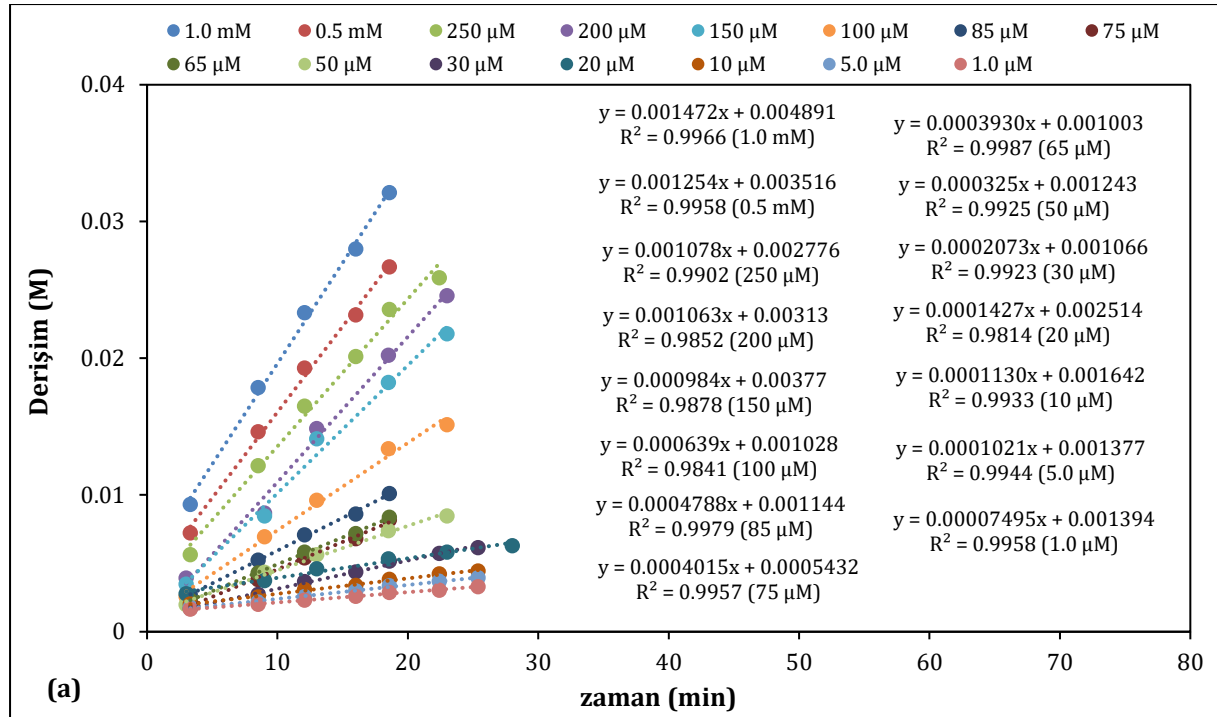
Şekil 4.5.11. (a) FeNPs ve (b) HRP ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde, TMB derişimi sabit tutulup H_2O_2 derişimi değiştirilerek elde edilen absorbans değerlerinin zamana karşı grafikleri (Deneysel koşullar: 250 μ L 2.0 mM TMB, 500 μ L asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 μ L 1.0-1000 μ M H_2O_2 çözeltisi ve FeNPs ile yapılan deneylerde 100 μ L 1.0 g/L FeNPs çözeltisi; HRP ile yapılan deneylerde 100 μ L 0.1 μ g/mL HRP çözeltisi)



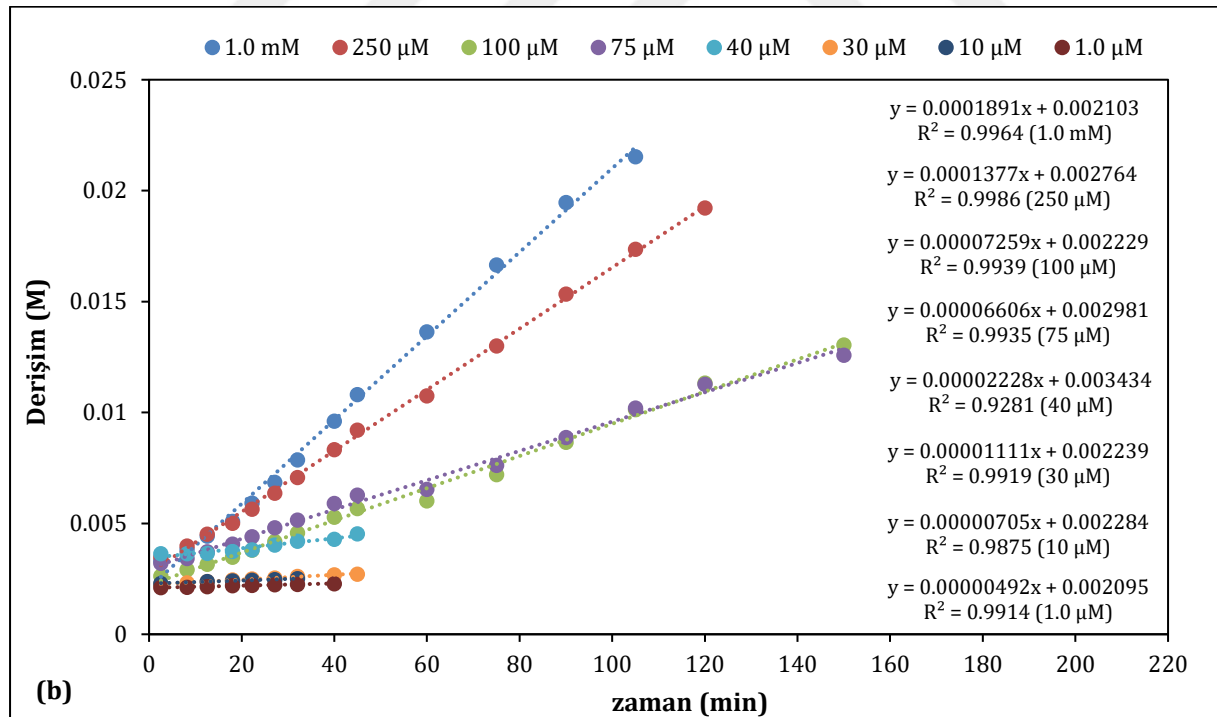
Şekil 4.5.12. (a) FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde, H_2O_2 derişimi sabit tutulup TMB derişimi değiştirilerek elde edilen eğrilerin doğrusal kısımları ve bu doğrulara ait doğru denklemleri (DeneySEL koşullar: 250 μ L 0.1-8.0 mM TMB, 500 μ L asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 μ L 100 mM H_2O_2 çözeltisi ve 100 μ L 1.0 g/L FeNPs çözeltisi)



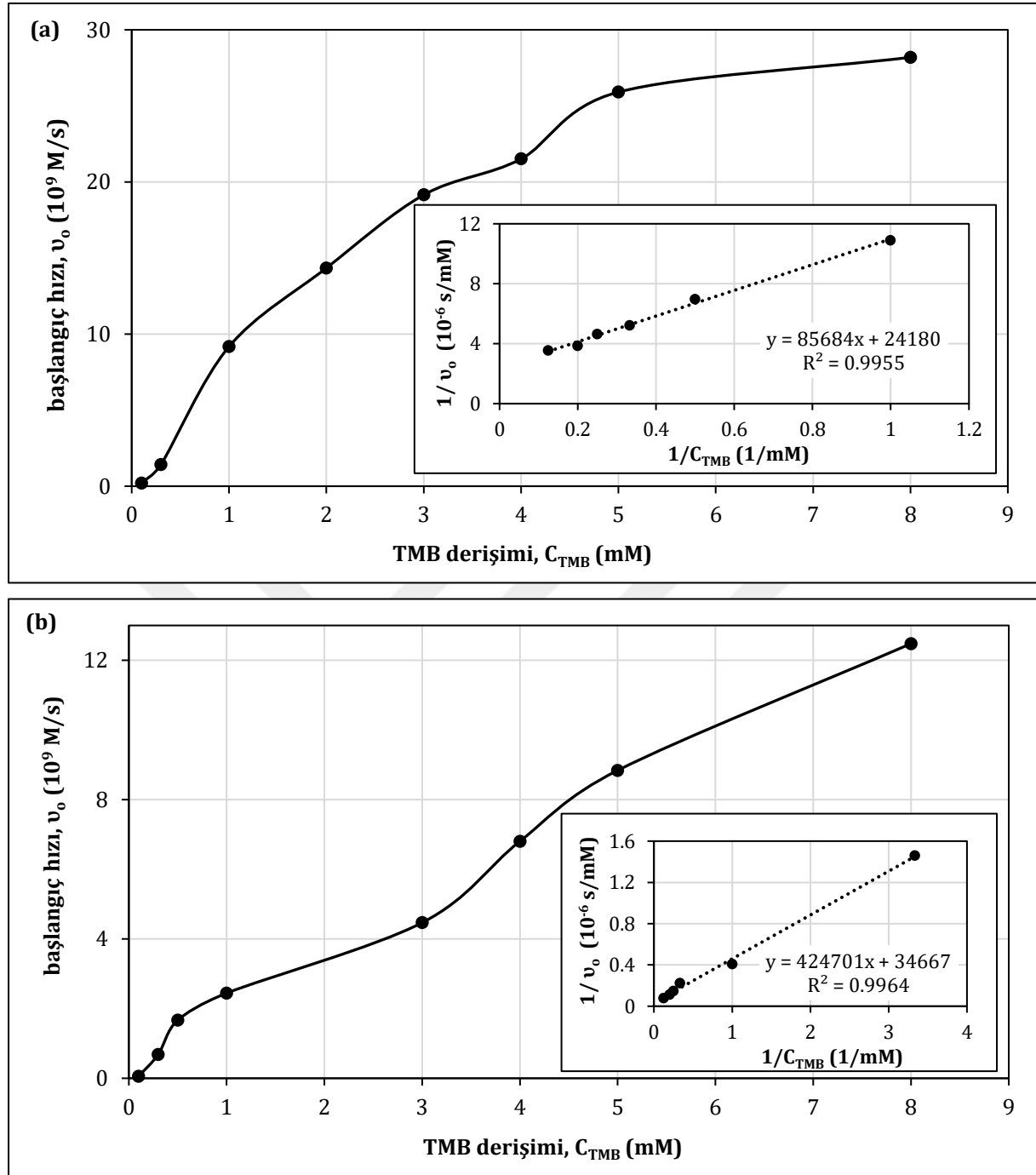
Şekil 4.5.13. (b) HRP ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde, H_2O_2 derişimi sabit tutulup TMB derişimi değiştirilerek elde edilen eğrilerin doğrusal kısımları ve bu doğrulara ait doğru denklemleri (DeneySEL koşullar: 250 μ L 0.1-8.0 mM TMB, 500 μ L asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 μ L 100 mM H_2O_2 çözeltisi ve 100 μ L 0.1 μ g/mL HRP çözeltisi)



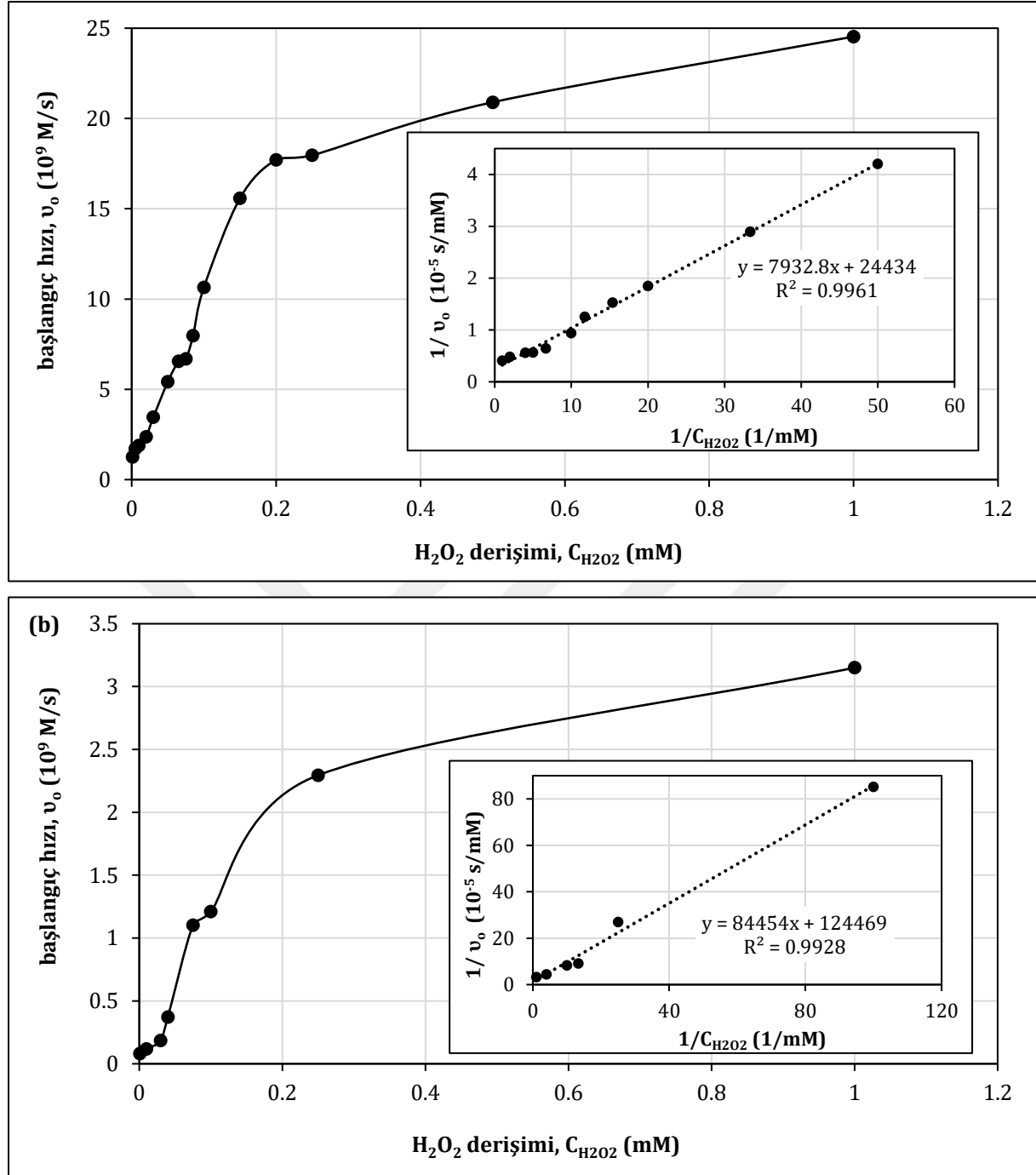
Şekil 4.5.14. (a) FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde, TMB derişimi sabit tutulup H_2O_2 derişimi değiştirilerek elde edilen eğrilerin doğrusal kısımları ve bu doğrulara ait doğru denklemleri (DeneySEL koşullar: 250 μ L 2.0 mM TMB, 500 μ L asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 μ L 1.0-1000 μ M H_2O_2 çözeltisi ve 100 μ L 1.0 g/L FeNPs çözeltisi)



Şekil 4.5.15. (b) HRP ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde, TMB derişimi sabit tutulup H_2O_2 derişimi değiştirilerek elde edilen eğrilerin doğrusal kısımları ve bu doğrulara ait doğru denklemleri (DeneySEL koşullar: 250 μ L 2.0 mM TMB, 500 μ L asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 μ L 1.0-1000 μ M H_2O_2 çözeltisi ve 100 μ L 0.1 μ g/mL HRP çözeltisi)



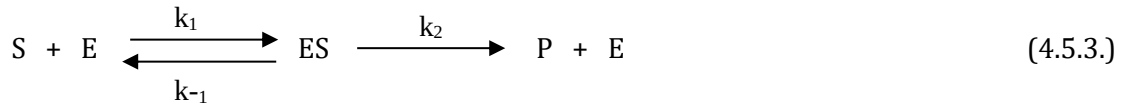
Şekil 4.5.16. (a) FeNPs ve (b) HRP ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde farklı TMB derişimlerinde elde edilen tipik Michaelis–Menten ve Lineweaver–Burk grafikleri (Deneyisel koşullar: 250 μ L 0.1-8.0 mM TMB, 500 μ L asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 μ L 100 mM H_2O_2 çözeltisi ve FeNPs ile yapılan deneylerde 100 μ L 1.0 g/L FeNPs çözeltisi; HRP ile yapılan deneylerde 100 μ L 0.1 μ g/mL HRP çözeltisi)



Şekil 4.5.17. (a) FeNPs ve (b) HRP ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde farklı H_2O_2 derişimlerinde elde edilen tipik Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri (Deneyel koşullar: 250 μ L 2.0 mM TMB, 500 μ L asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 μ L 1.0-1000 μ M H_2O_2 çözeltisi ve FeNPs ile yapılan deneylerde 100 μ L 1.0 g/L FeNPs çözeltisi; HRP ile yapılan deneylerde 100 μ L 0.1 μ g/mL HRP çözeltisi)

TMB'nin substrat olduğu durumda (Şekil 4.5.16. (a)-(b)), v_{max} ve K_m değerleri sırasıyla FeNPs için 4.135×10^{-8} M/s ve 3.54 mM; HRP için 2.884×10^{-8} M/s ve 12.25 mM olarak hesaplandı. H_2O_2 'nin substrat olduğu durumda (Şekil 4.5.17. (a)-(b)), v_{max} ve K_m değerleri sırasıyla FeNPs için 4.0927×10^{-8} M/s ve 0.3247 mM; HRP için 8.034×10^{-9} M/s ve 0.6785 mM olarak hesaplandı.

K_m , enzim ile substrat arasındaki ilgiyi gösteren bir sabittir. Enzim ile substrat arasındaki klasik reaksiyon denklemi aşağıdaki gibidir:



Burada, enzim (E) ve substrat (S) bir araya gelerek ES kompleksini oluşturur, daha sonra oluşan bu kompleks istenen ürüne (P) dönüşür ve ortamda serbest enzim (E) kalır. K_m sabiti ise $(k_{-1}+k_2)/k_1$ oranı olarak belirtilmektedir. Buna göre K_m sabitinin küçük olması için ES kompleksinin oluşum reaksiyonunun hız sabiti k_1 'in yüksek olması gerekmektedir. k_1 'in yüksek olması ise substrat ile enzim arasındaki reaksiyonun gerçekleşme eğiliminin daha yüksek olması anlamına gelmektedir. Sonuç olarak küçük K_m değerleri ES kompleksinin oluşum reaksiyonunun gerçekleşme eğiliminin dolayısıyla enzim ile substrat arasındaki ilginin yüksek olduğunu göstermektedir. Elde edilen kinetik sabitlere göre; FeNPs/TMB ve FeNPs/H₂O₂ enzim/substrat ikililerine ait K_m değerleri HRP/TMB ve HRP/H₂O₂ enzim/substrat ikililerine ait K_m değerlerinden küçük olduğu için FeNPs ile TMB ve H₂O₂ substratları arasındaki ilginin daha yüksek olduğu sonucuna varıldı. Ayrıca, v_{max} değerleri kıyaslandığında; FeNPs ile kolorimetrik H₂O₂ tespitinin HRP ile kolorimetrik H₂O₂ tespitine göre daha hızlı olduğu belirlendi. FeNPs ve HRP ile kolorimetrik H₂O₂ tespiti proseslerine ait K_m ve v_{max} değerlerinin kıyaslanması amacıyla bir literatür taraması yapıldı ve literatürde yapılan çalışmalarda elde edilen K_m ve v_{max} değerleri Tablo 4.5.1.'de özetlendi.

Tablo 4.5.1. TMB ve H₂O₂'nin ayrı ayrı substrat olduğu proseslere ait K_m ve v_{max} değerlerinin kıyaslanması

Peroksidaz benzeri enzim	Substrat	K_m (mM)	v_{max} ($\times 10^8$ M/s)	Kaynak
Co ₃ O ₄ /rGO	TMB	0.19	10.71	[178]
	H ₂ O ₂	24.04	10.19	
PtPdNAs/GNs	TMB	0.33	56.84	[215]
	H ₂ O ₂	13.67	11.09	
FeSe film	TMB	0.04	8.9	[160]
	H ₂ O ₂	13.20	15.4	
FePt-Au HNPs	TMB	0.445	24.67	[136]
	H ₂ O ₂	0.0185	0.6894	
H ₂ TCPP-CeO ₂ NPs	TMB	0.0854	435	[183]
	H ₂ O ₂	0.254	1.31	
PDI-Co ₃ O ₄	TMB	0.0562	11130	[213]
	H ₂ O ₂	34.38	0.3294	
PtAg-MoS ₂	TMB	25.71	7.29	[333]
	H ₂ O ₂	0.386	3.22	
C ₆₀ [C(COOH) ₂] ₂	TMB	0.233	0.3473	[334]
	H ₂ O ₂	24.58	0.4011	
FeNPs	TMB	3.54	4.1350	Bu çalışma
	H₂O₂	0.3247	4.0927	
HRP	TMB	12.25	2.8840	
	H₂O₂	0.6785	0.8034	

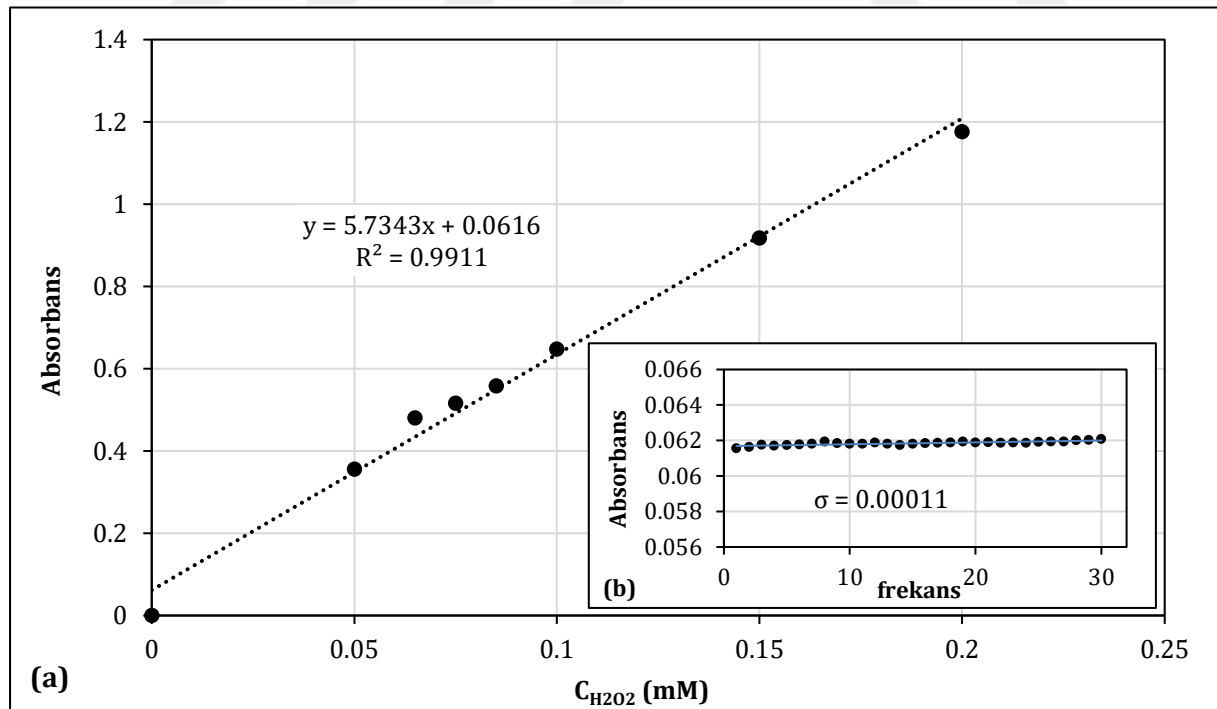
Tablo 4.5.1. incelendiğinde; bu çalışmada TMB'nin substrat olduğu durumda K_m değeri literatürdeki çalışmalara kıyasla çoğunlukla daha yüksek ve v_{max} değeri ise daha düşüktür. H_2O_2 'nin substrat olduğu durumda ise K_m değerinin literatürdeki çalışmalardan daha düşük olduğu ve v_{max} değerinin ise daha yüksek olduğu durumlar mevcuttur.

FeNPs ile HRP'nin enzim olarak kullanıldığı prosesler kıyaslandığında; her iki enzim/substrat ikilisi için FeNPs'ye ait K_m değerleri daha düşük, v_{max} değerleri çok daha yüksektir. Buna göre; FeNPs'nin HRP'ye kıyasla substratlar (TMB veya H_2O_2) ile arasındaki ilginin daha kuvvetli olduğu ve tespit hızının daha yüksek olduğu sonucuna varıldı.

Elde edilen sonuçlara göre; bu çalışmada sentezlenen FeNPs'nin, H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde literatürdeki diğer peroksidaz benzeri katalizörler ile rekabet edebilecek düzeyde etkin bir şekilde kullanılabileceği belirlendi.

4.5.4. FeNPs'nin Minimum Tespit Sınırının Belirlenmesi

FeNPs varlığında TMB'nin oksidasyonu temelinde H_2O_2 'nin kolorimetrik ve kantitatif tespiti yapılabilmektedir. Bu amaçla farklı H_2O_2 derişimlerine karşı bu derişimlerde okunan absorbans değerleri grafiğe geçirilerek bir kalibrasyon doğrusu oluşturuldu ve elde edilen grafik Şekil 4.5.18.'de sunuldu.



Şekil 4.5.18. (a) FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitine ait kalibrasyon doğrusu, **(b)** Kontrol çözeltisine ait absorbans değerleri (DeneySEL koşullar: 250 μ L 0.5 mM TMB, 500 μ L asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 μ L 0.001-1.0 mM H_2O_2 çözeltisi ve 100 μ L 1.0 g/L FeNPs çözeltisi)

Şekil 4.5.18.(a)'ya göre; 0.05-0.2 mM H_2O_2 derişimi aralığında R^2 değeri yüksek, doğrusal bir grafik elde edildi. Elde edilen doğru denklemi $A = 5.7343 \times C_{H_2O_2} \text{ (mM)} + 0.0616$ şeklindedir. Doğru denkleminde elde edilen kayma değeri, Şekil 4.5.18.(b)'den görüldüğü üzere kontrol çözeltisine ait absorbans değerinden kaynaklanmaktadır. Bu değerin, farklı H_2O_2 derişimleri için elde edilen absorbans değerlerinden çıkarılması sonucu elde edilen absorbans değerleri farklı H_2O_2 derişimlerine karşı grafiğe geçirildiğinde, eğimi 5.7343 olan ve orjinden geçen bir kalibrasyon doğrusu elde edildi [332]. Bu doğrunun eğimi ve kontrol çözeltisinin standart sapma değeri kullanılarak FeNPs'nin minimum tespit limiti ($LOD=3\sigma/s$) hesaplandı. Burada s kalibrasyon doğrusunun eğimi, σ kontrol çözeltisinin standart sapma değeridir. σ değerinin hesaplanması amacıyla; 250 μ L 2.0 mM TMB, 500 μ L asetat tamponu çözeltisine (pH=2.0) 100 μ L 1.0 g/L FeNPs çözeltisi ilave edilerek bir çözelti hazırlandı. 30 adet aynı şekilde hazırlanan kontrol çözeltilerinin absorbans değerleri ölçüldü ve standart sapma değeri hesaplandı. Buna göre; FeNPs'nin minimum tespit limiti (LOD) 0.05773 μ M olarak belirlendi.

FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespiti prosesinde doğrusal tespit aralığının ve FeNPs'nin LOD değerinin kıyaslanması amacıyla bir literatür taraması yapıldı ve sonuçlar Tablo 4.5.2.'de özetlendi.

Tablo 4.5.2. Peroksidaz benzeri katalizörler ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespiti proseslerine ait doğrusal tespit aralıkları ve LOD değerleri

Peroksidaz benzeri katalizör	Doğrusal aralık	LOD (μ M)	Kaynak
Hemin ile fonksiyonelleştirilmiş grafen nanofilm	0.05 μ M-0.5 mM	0.02	[335]
FeNPs	0.05-0.2 mM	0.0577	Bu çalışma
MnSe	0.17-10 μ M	0.085	[181]
Fe ₃ O ₄ içerikli hidrojel	1-10 μ M	0.1	[128]
PtPdNDs/GNs	0.5-150 μ M	0.1	[215]
Fe (III) içerikli koordinasyon polimer nanopartikülleri	1-50 μ M	0.4	[137]
Co ₃ O ₄ /GO	0.5-100 μ M	0.5	[178]
FeHPO	57.4-525.8 μ M	1.0	[336]
Fe ₃ O ₄ @MSN	1x10 ⁻⁶ -1x10 ⁻⁴ M	1.0	[179]
WS ₂	10-100 μ M	1.2	[337]
Porfirin ile fonksiyonelleştirilmiş seryum nanopartikülleri	0.01-0.1 mM	1.8	[183]
PDI-Co ₃ O ₄	3-60 μ M	2.37	[213]
Fe ₃ O ₄	5x10 ⁻⁶ -1x10 ⁻⁴ M	3.0	[128]
Fe ₃ O ₄ nanopartikülleri yüklü montmorillonit	5x10 ⁻⁵ -2x10 ⁻⁴ M	5.1	[338]

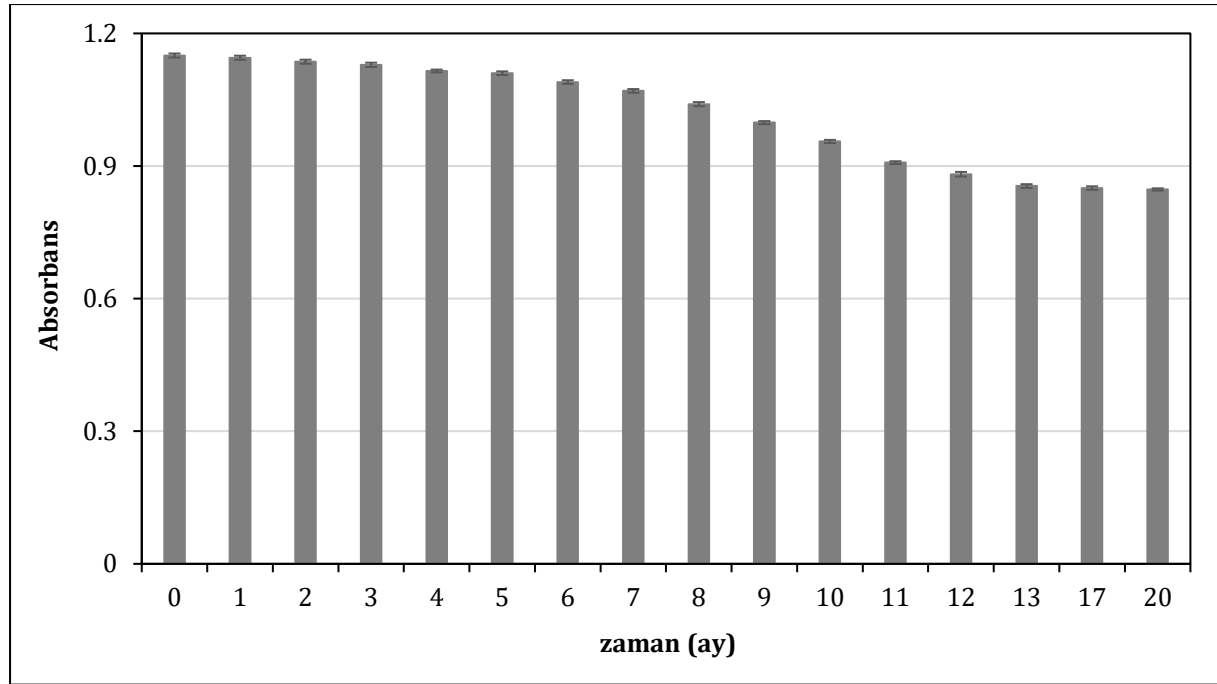
Peroksidaz benzeri katalizör	Doğrusal aralık	LOD (μM)	Kaynak
Azot doplanmış kuantum dot	20-1170 μM	5.3	[339]
Seryum nanopartikülleri yüklü montmorillonit	9×10^{-6} - 5×10^{-4} M	7.8	[214]
FePt-Au HNPs	20-700 μM	12.33	[136]

Tablo 4.5.2.'ye göre; bu çalışmada kullanılan FeNPs'nin H_2O_2 'yi minimum kolorimetrik tespit limiti, literatürde yer alan birçok peroksidaz benzeri katalizöre kıyasla oldukça düşüktür ve FeNPs nispeten geniş bir aralıkta doğrusal tespit sınırına sahiptir. Bu özelliklerinden dolayı, bu çalışmada sentezlenen FeNPs'nin TMB varlığında H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde etkin bir peroksidaz benzeri katalizör olarak kullanılabileceği sonucuna varıldı.

4.5.5. H_2O_2 'nin Kolorimetrik Tespitinde FeNPs'nin Kararlılığının Belirlenmesi

Kolorimetrik tespit proseslerinde kullanılan katalizörün uzun süre boyunca aktivitesini kaybetmeden kullanılabilmesi istenir. H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde FeNPs'nin kararlılığının belirlenmesi amacıyla; UV-vis spektrofotometresi küveti içerisine öncelikle 250 μL 2.0 mM TMB çözeltisi ilave edildi, daha sonra bu çözelti üzerine sırasıyla 250 μL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), 500 μL 100 mM H_2O_2 çözeltisi ve 100 μL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi ilave edildi ve bu prosedür 20 ay boyunca tekrarlandı. TMB'nin oksidasyonu sonucu oluşan oksidasyon ürünlerini içeren çözeltilerin UV-vis spektrofotometresinde 655 nm dalga boyunda absorbans değerleri kaydedildi ve elde edilen sonuçlar Şekil 4.5.19.'da sunuldu.

Şekil 4.5.19.'dan; FeNPs'nin sentezlendikten sonraki 6 ay içerisinde aktivitesinde oldukça az bir düşüşün (~%5.0) olduğu, 6 aydan sonra ise bu düşüşün hızlandığı, 13. aydan sonra ise yaklaşık sabitlendiği tespit edildi. Sonuç olarak, bu çalışmada sentezlenen FeNPs'nin H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde en az 6 ay boyunca etkin bir şekilde kullanılabileceği sonucuna varıldı.



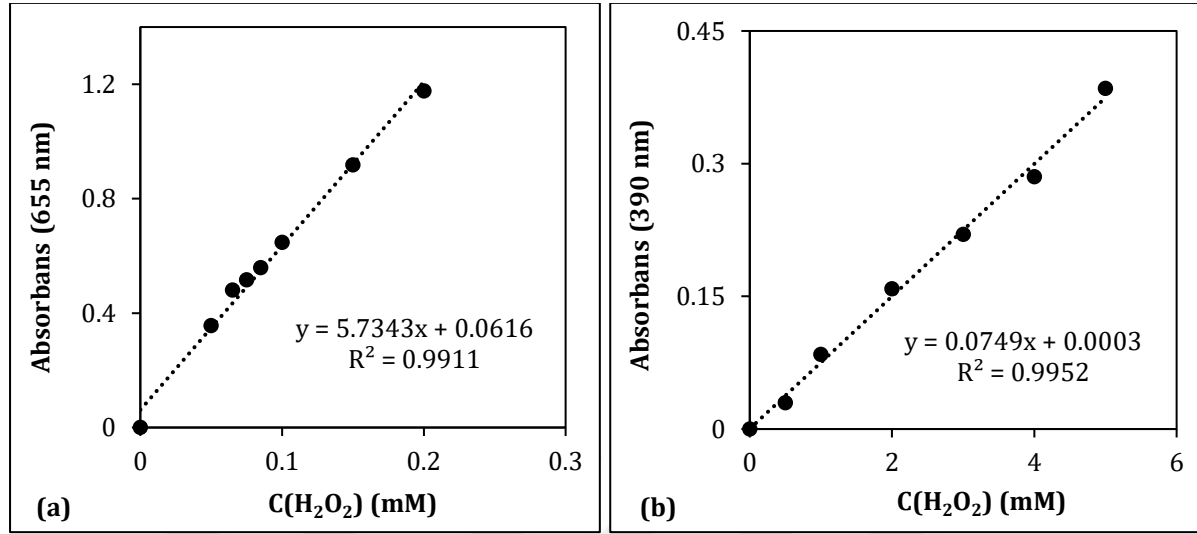
Şekil 4.5.19. H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde FeNPs'nin kararlılığı (DeneySEL koşullar: 250 μ L 2.0 mM TMB, 500 μ L asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 μ L 100 mM H_2O_2 çözeltisi ve 100 μ L 1.0 g/L FeNPs çözeltisi)

4.5.6. Potasyum Titanyum Oksit Oksalat Dihidrat ($C_4K_2O_9Ti.2H_2O$) Kullanılan Kolorimetrik Yöntem ile Geliştirilen H_2O_2 Tespit Yönteminin Doğruluk Analizinin Yapılması

Bu çalışmada geliştirilen FeNPs ile kolorimetrik H_2O_2 tespiti yönteminin pratikte uygulanabilirliğinin test edilmesi amacıyla, literatürde doğruluğu kanıtlanmış bir yöntem ile bu çalışmada geliştirilen yöntem istatistiksel olarak kıyaslandı. Bu amaçla; ayrı ayrı FeNPs ve $C_4K_2O_9Ti.2H_2O$ varlığında kolorimetrik H_2O_2 tespiti Bölüm 3.5.6.1. ve 3.5.6.2.'de belirtildiği gibi gerçekleştirildi. Her iki yöntemde oluşturulan kalibrasyon doğruları Şekil 4.5.20. (a) ve (b)'de sunuldu.

Her iki yöntemin kıyaslanması amacıyla öncelikle kalibrasyon doğrularının sınırlarına göre seçilen derişimlerde 5 farklı stoktan H_2O_2 çözeltileri hazırlandı. Daha sonra, her iki yöntemde 5 farklı stoktan hazırlanan H_2O_2 çözeltileri ile Bölüm 3.5.6.'da belirtildiği gibi kolorimetrik H_2O_2 tespiti deneyleri yapıp absorbans değerleri not edildi, daha sonra H_2O_2 çözelti derişimleri kalibrasyon doğruları kullanılarak hesaplandı. Fakat kalibrasyon doğrularından da görüldüğü üzere; $C_4K_2O_9Ti.2H_2O$ 'nin kullanıldığı yöntemde FeNPs'nin kullanıldığı yöntemde olduğu kadar düşük derişimlerin tespiti yapılamadığından (stok derişimi 5.0 mM olarak belirlendi), $C_4K_2O_9Ti.2H_2O$ 'nin kullanıldığı yöntemde elde edilen derişim değerleri seyreltme faktörüyle çarpılarak FeNPs temelli H_2O_2 tespiti yönteminde kullanılan H_2O_2 derişimine (0.05

mM) yaklaştırıldı [25]. Okunan absorbans değerleri ve hesaplanan derişimler Tablo 4.5.3.'te sunuldu.



Şekil 4.5.20. (a) H₂O₂ tespitinde FeNPs için kalibrasyon doğrusu (Deneysel koşullar: 250 µL 2.0 mM TMB, 500 µL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 µL 0.05-0.02 mM H₂O₂ çözeltisi ve 100 µL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi)

(b) H₂O₂ tespitinde C₄K₂O₉Ti.2H₂O için kalibrasyon doğrusu (Deneysel koşullar: T=20 °C, 1.0 mL 0.5-5.0 mM H₂O₂ çözeltisi, 0.1 mL 1/17 oranında su ile seyreltilmiş H₂SO₄ çözeltisi ve 0.1 mL 35 g/L C₄K₂O₉Ti.2H₂O çözeltisi)

Tablo 4.5.3. Okunan absorbans değerleri ve hesaplanan derişimler

#	FeNPs		C ₄ K ₂ O ₉ Ti.2H ₂ O		
	A _{655nm}	Deneysel C _{H₂O₂} (mM) (Teorik C _{H₂O₂} = 0.05 mM)	A _{390nm}	Deneysel C _{H₂O₂} (mM) (Teorik C _{H₂O₂} = 5.0 mM)	Yaklaştırılmış C _{H₂O₂} (mM)
1	0.3515	0.0506	0.3944	5.2617	0.05262
2	0.3551	0.0512	0.4116	5.4913	0.05491
3	0.3470	0.0498	0.3882	5.1789	0.05179
4	0.3499	0.0503	0.3898	5.2003	0.05200
5	0.3463	0.0496	0.3852	5.1389	0.05139

Elde edilen bu derişim değerleri birbiri ile kıyaslanarak t- ve F- testleri yapıldı. t- ve F- testlerinin uygulanması için hesap yöntemi Bölüm 3.5.6.'da özetlendi [217]. Bölüm 3.5.6.'da verilen eşitlikler kullanılarak hesaplanan değerler Tablo 4.5.4.'te sunuldu.

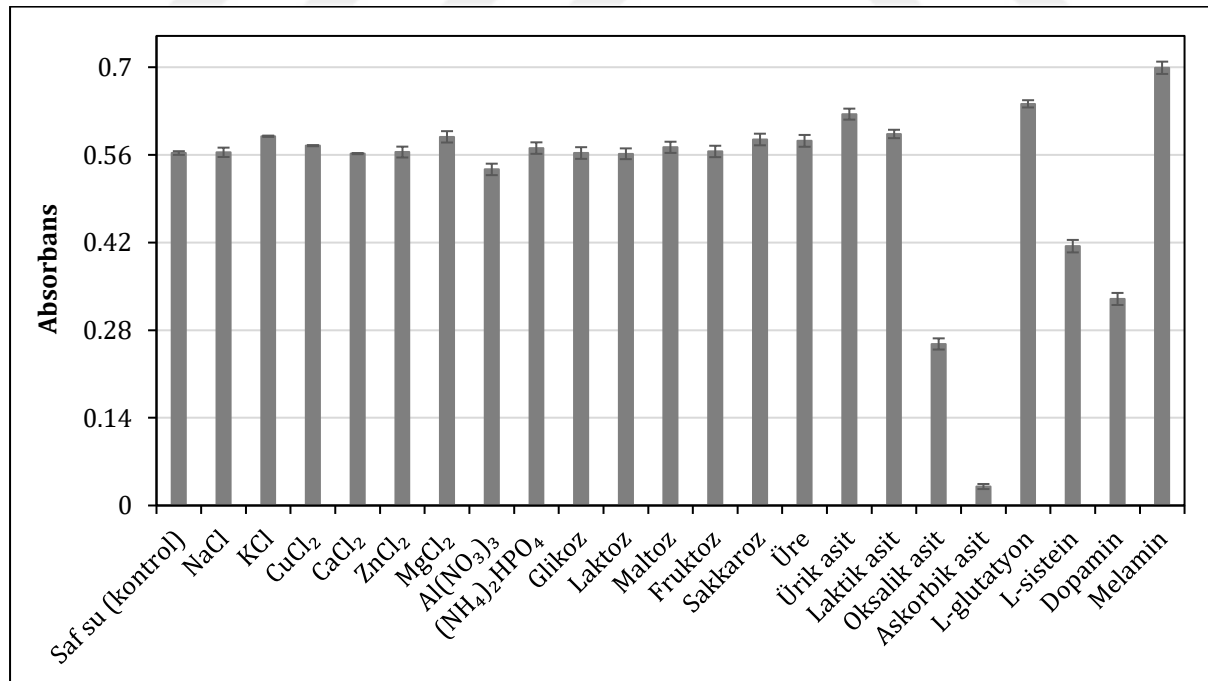
Tablo 4.5.4. Peroksidaz benzeri bir katalizör olarak FeNPs ile H₂O₂ tespit yönteminin, C₄K₂O₉Ti.2H₂O ile H₂O₂ tespit yöntemi ile elde edilen sonuçların istatistiksel kıyaslanması

Yöntem	Ortalama Derişim (mM)	Standart Sapma	Örneklenmiş Standart Sapma	t	t _{tablo}	F	F _{tablo}
FeNPs	0.0503	3.09x10 ⁻⁷	9.68x10 ⁻⁴	3.68	3.89	5.04	15.98
C ₄ K ₂ O ₉ Ti.2H ₂ O	0.0526	1.56x10 ⁻⁶					

t ve F-testleri sırasıyla popülasyon ortalamalarını ve varyanslarını karşılaştırmak için kullanıldı. Doğruluk analizi için uygulanan t ve F-testleri için kullanılan güven düzeyleri sırasıyla %99.5 ve %99'dur. Buna göre, Tablo 4.5.4.'ten de görüldüğü üzere $t_{\text{tablo}} > t$ ve $F_{\text{tablo}} > F$ 'dir ve böylelikle kıyaslanan yöntemler arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi. Özetle, bu çalışmada sentezlenen FeNPs'nin peroksidaz benzeri bir enzim olarak kullanılması ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinin doğru ve güvenilir bir şekilde yapılabileceği sonucuna varıldı.

4.5.7. FeNPs ile H_2O_2 'nin Kolorimetrik Tespitinde Ortamdaki Farklı Bileşenlerin Etkileşimlerinin Araştırılması

Literatürde H_2O_2 'nin karmaşık biyolojik ortamlarda hassas olarak izlenmesi ile ilgili birtakım zorluklarla karşılaşıldığı belirtilmektedir. Bu durum göz önüne alınarak biyolojik ortamlarda bulunabilecek; NaCl, KCl, $CuCl_2$, $CaCl_2$, $ZnCl_2$, $MgCl_2$, $Al(NO_3)_3$, $(NH_4)_2HPO_4$, glikoz, laktoz, maltoz, fruktoz, sakkaroz, üre, ürik asit, laktik asit, askorbik asit, oksalik asit, L-glutasyon, L-sistein, dopamin ve melamin gibi farklı bileşenlerin varlığında FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespiti gerçekleştirildi ve TMB'nin oksidasyonu sonucu oluşan oksidasyon ürünlerini içeren çözeltilerin UV-vis spektrofotometresinde 655 nm dalga boyunda absorbans değerleri kaydedildi [219–221]. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.5.21.'de sunuldu.



Şekil 4.5.21. FeNPs ile kolorimetrik H_2O_2 tespiti yönteminde ortamdaki farklı bileşenlerin etkileşimleri (Deney koşulları: 250 μ L 0.5 mM TMB, 500 μ L asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 μ L 1.0 mM H_2O_2 çözeltisi, 1000 μ L 1.0 mM bileşen ve 100 μ L 1.0 g/L FeNPs çözeltisi)

Şekil 4.5.21.'den, ürik asit, askorbik asit (AA), oksalik asit, L-glutasyon, L-sistein, dopamin ve melamin bileşenlerinin FeNPs ile H₂O₂'nin kolorimetrik tespitine etkileşimde bulundukları tespit edildi. Bu 7 bileşen haricindeki diğer bileşenlerin ise saf su ile yaklaşık aynı etkileşimi gösterdikleri, yani yönteme herhangi bir olumsuz etkide bulunmadıkları belirlendi.

Farklı bileşenler varlığında okunan absorbans değerlerinin geri kazanım oranları ($\% \text{ GK} = (A_i/A_r) \times 100$) saf su referans alınarak hesaplandı (Eşitlik (3.5.6.)) ve sonuçlar Tablo 4.5.5.'te sunuldu.

Tablo 4.5.5'e göre; ürik asit, askorbik asit (AA), oksalik asit, L-glutasyon, L-sistein, dopamin ve melamin haricindeki diğer bileşenlerin geri kazanım oranları % 95.35-105.40 aralığındadır. Elde edilen bu geri kazanım oranları ($\pm\%5.40$) kabul edilebilir bir aralıkta olduğu için; ürik asit, askorbik asit (AA), oksalik asit, L-glutasyon, L-sistein, dopamin ve melamin haricinde test edilen diğer bileşenler varlığında FeNPs'nin H₂O₂'nin kolorimetrik tespitinde etkin bir şekilde kullanılabileceği sonucuna varıldı.

Ayrıca, yönteme en fazla etkileşimi askorbik asitin yaptığı belirlendi ve dolayısıyla bu kolorimetrik yöntemde ortama bir bileşen (askorbik asit) eklenmesi sonucu oluşacak absorbans düşüşü esas alınarak, askorbik asitin dolaylı yoldan tespitinin yapılabileceği sonucuna varıldı. Bir sonraki bölümde askorbik asitin dolaylı yoldan tespiti yöntemi ile ilgili sonuçlar sunuldu.

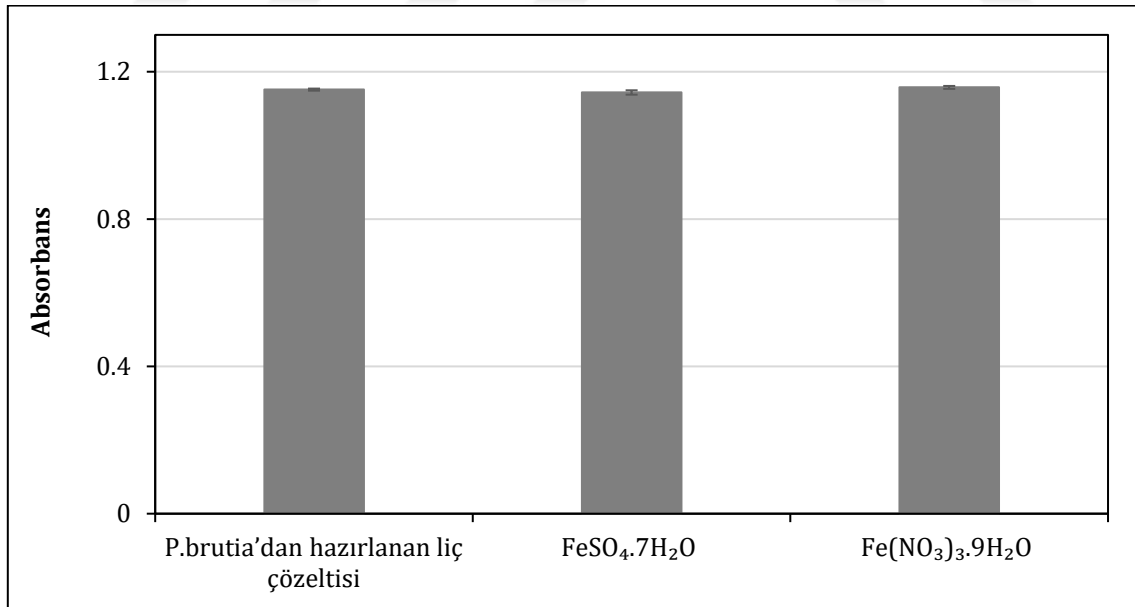
Tablo 4.5.5. Hesaplanan geri kazanım oranları

Bileşen	Geri kazanım oranı
NaCl	100.20
KCl	104.76
CuCl ₂	102.09
CaCl ₂	99.83
ZnCl ₂	100.27
MgCl ₂	104.59
Al(NO ₃) ₃	95.35
(NH ₄) ₂ HPO ₄	101.40
Glikoz	100.00
Laktoz	99.79
Maltoz	101.62
Fruktoz	100.45
Sakkaroz	103.84
Üre	103.45
Ürik asit	111.03
Laktik asit	105.40
Oksalik asit	45.83
Askorbik asit	5.38
L-glutasyon	113.95
L-sistein	73.57
Dopamin	58.60
Melamin	124.18

4.5.8. *P. brutia*'dan Hazırlanan Liç Çözeltisi İçerisindeki Demir İyonu Haricindeki Diğer Bileşenlerin FeNPs ile H₂O₂'nin Kolorimetrik Tespitine Etkisinin Araştırılması

P. brutia'dan hazırlanan liç çözeltisi içerisindeki demir haricindeki diğer bileşenlerin FeNPs ile H₂O₂'nin kolorimetrik tespitine etkisinin araştırılması amacıyla çeşitli demir iyonu kaynaklarından (FeSO₄.7H₂O ve Fe(NO₃)₃.9H₂O) sentetik çözeltiler hazırlandı ve hazırlanan bu çözeltiler ile FeNPs sentezlendi ve daha sonra hazırlanan demir iyonu içerikli çözeltiler ile sentezlenen FeNPs ile kolorimetrik H₂O₂ tespiti deneyleri yapıldı. TMB'nin oksidasyonu sonucu oluşan oksidasyon ürünlerini içeren çözeltilerin UV-vis spektrofotometresinde 655 nm dalga boyunda absorbans değerleri kaydedildi ve elde edilen sonuçlar Şekil 4.5.22.'de sunuldu.

Elde edilen bu deneysel sonuçlar; liç çözeltisi içeriğindeki Ca, Mg, K, Na, Al, Ni, Zn, Cu gibi demir haricindeki diğer bileşenlerin H₂O₂'nin kolorimetrik tespitine etkileşimde bulunmadıklarını gösterdi. Buna göre; belirtilen şekilde sentezlenen FeNPs ile H₂O₂'nin kolorimetrik tespitinin, nanopartikül sentezinde kullanılan demir kaynağından bağımsız olduğu söylenebilir. Bu nedenle bu çalışmada *P. brutia*'dan hazırlanan liç çözeltisi ile sentezlenen FeNPs'nin, literatürde sentetik demir çözeltileri kullanılarak belirtilen yöntemle sentezlenen FeNPs yerine H₂O₂'nin kolorimetrik tespitinde çevre dostu, düşük maliyetli ve yenilenebilir bir peroksidaz benzeri katalizör olarak kullanılabileceği sonucuna ulaşıldı.



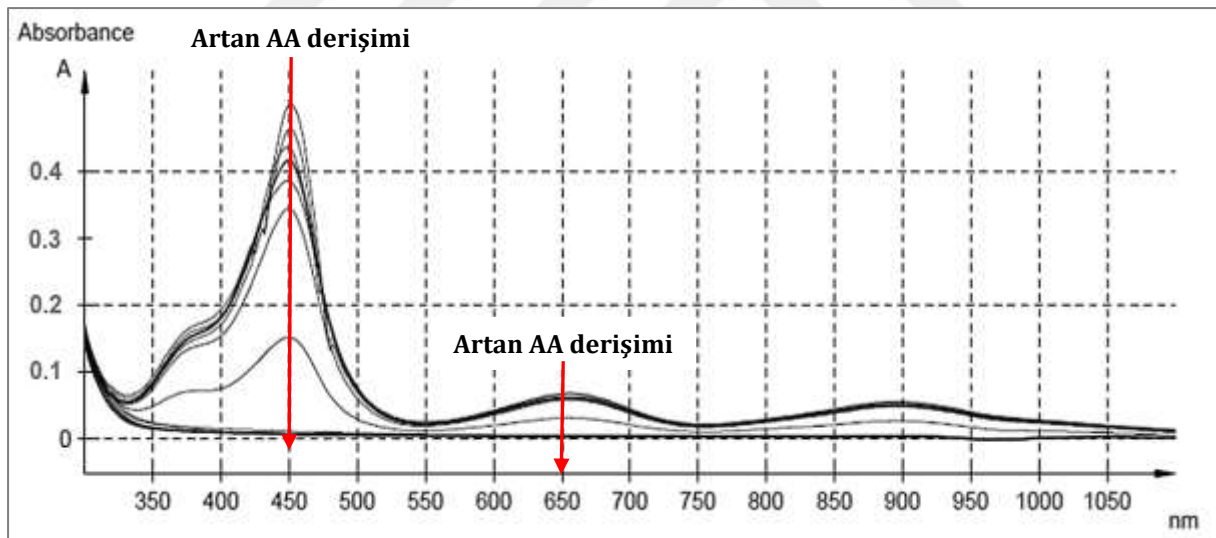
Şekil 4.5.22. *P. brutia*'dan hazırlanan liç çözeltisi, FeSO₄.7H₂O ve Fe(NO₃)₃.9H₂O ile sentezlenen FeNPs ile H₂O₂'nin kolorimetrik tespiti sonuçları (Deneysel koşullar: 250 µL 2.0 mM TMB, 500 µL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 µL 100 mM H₂O₂ çözeltisi ve 100 µL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi)

4.6. Askorbik Asit (AA)'in Dolaylı Kolorimetrik Tespitinde FeNPs'nin Kullanılabilirliğinin Araştırılması

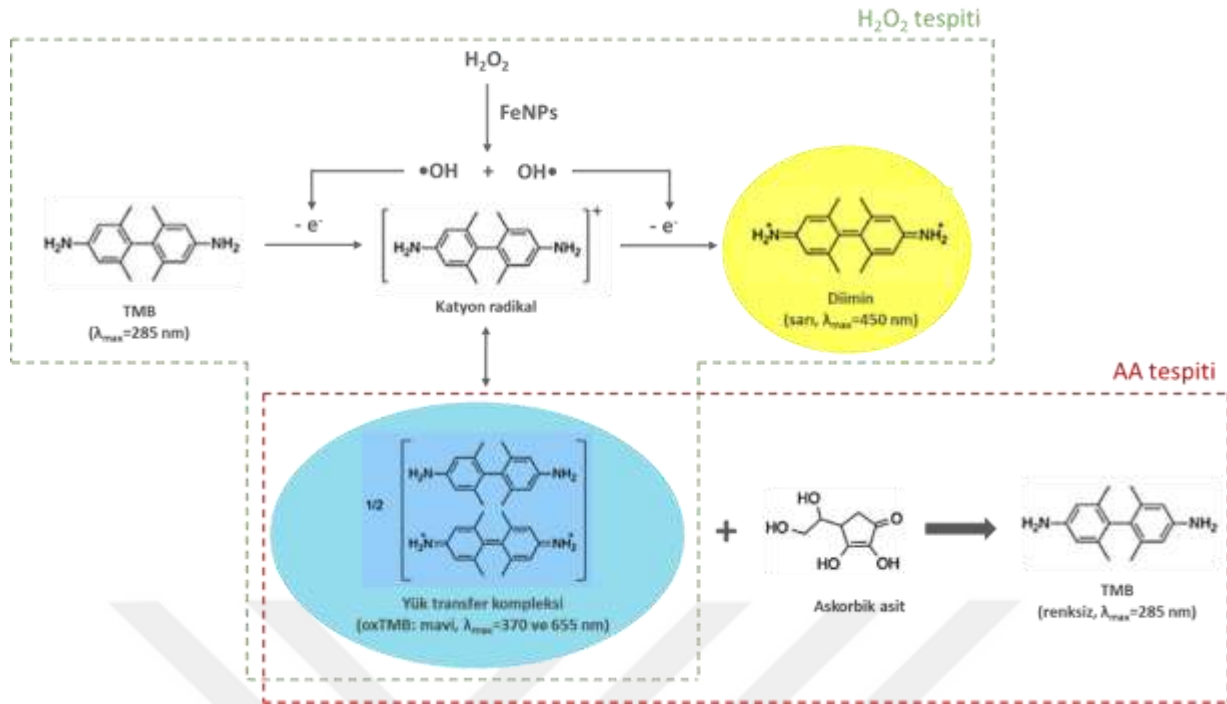
FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde askorbik asit (AA)'in, yöntemeye yüksek oranda etkileşim yaptığı belirlendi. Belirlenen bu etkileşim, AA'nın dolaylı yoldan tespitinin yapılmasına olanak sağlamaktadır. Bu bakış açısıyla, FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitini takiben AA'nın dolaylı tespiti yöntemi araştırıldı, yöntemin minimum tespit sınırı ve seçiciliği belirlendi ve doğruluk analizi yapıldı.

4.6.1. AA'nın FeNPs ile Dolaylı Kolorimetrik Tespiti Yönteminin Araştırılması

FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitini takiben AA'nın dolaylı tespiti yönteminin araştırılması amacıyla; FeNPs ile H_2O_2 tespit ortamına farklı derişimlerde AA çözeltileri eklendi ve hazırlanan çözeltilerin 300-1100 nm dalga boyu aralığında spektrum taramaları yapılarak, AA eklenmesi ile absorpsiyon pik şiddetlerindeki azalmalar belirlendi. Elde edilen spektrum taramaları ve AA tespiti reaksiyon adımları sırasıyla Şekil 4.6.1. ve Şekil 4.6.2.'de sunuldu.



Şekil 4.6.1. FeNPs ile H_2O_2 tespit ortamına farklı derişimlerde AA çözeltileri eklenmesi ile elde edilen spektrum taramaları (Deneyisel koşullar: 250 μ L 0.5 mM TMB, 500 μ L asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 μ L 0.1 mM H_2O_2 çözeltisi, 1000 μ L AA ve 100 μ L 1.0 g/L FeNPs çözeltisi)



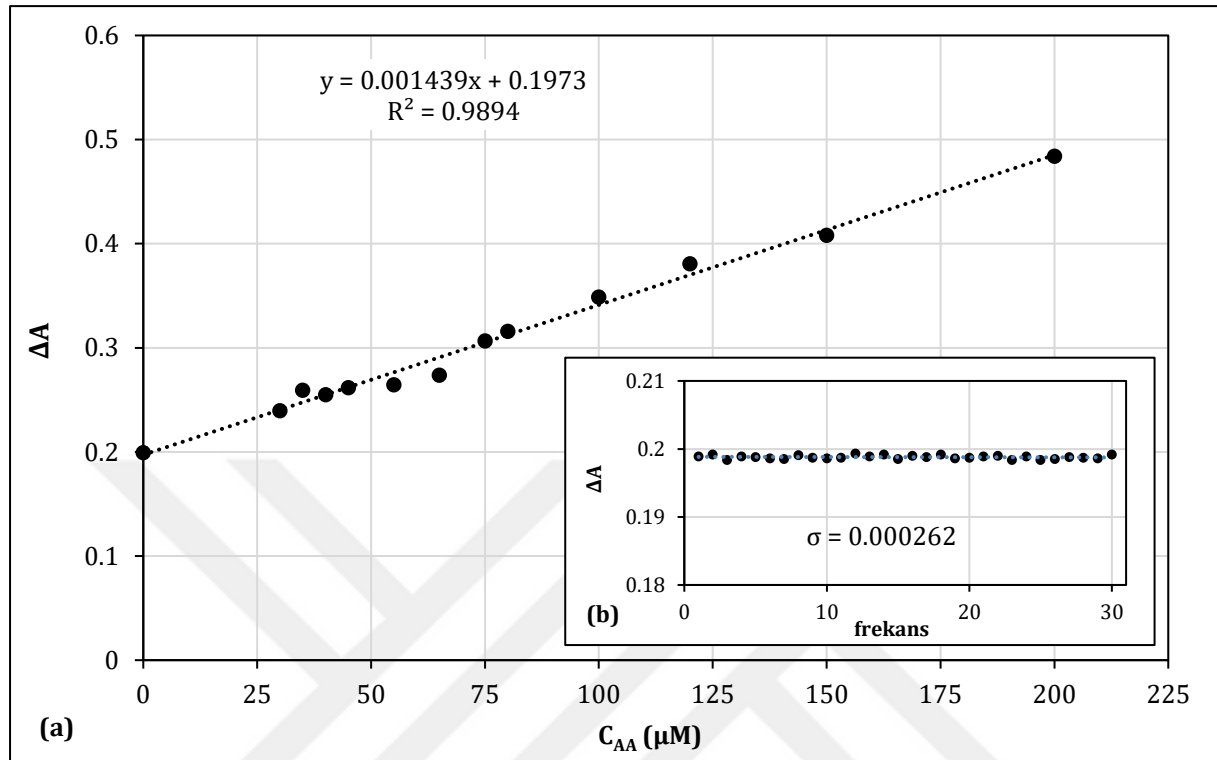
Şekil 4.6.2. FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespiti takiben AA'nın dolaylı tespiti reaksiyon adımları

Öngörülen reaksiyon adımlarına göre; öncelikle FeNPs ile H_2O_2 arasında gerçekleşen Fenton-benzeri reaksiyon sonucu H_2O_2 dekompozisyonu gerçekleşerek hidroksil radikalleri ($\bullet OH$) oluşmakta, oluşan bu $\bullet OH$ radikalleri TMB'nin oksidasyonuna neden olarak diimin ve oksitlenmiş TMB (oxTMB) ürünlerinin oluşmasını sağlamaktadır. Bu reaksiyon sonunda oluşan renkli ürünlerin spektrofotometrik olarak analiz edilmesi ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespiti gerçekleştirilebilmektedir. AA'nın tespiti için ise, AA'nın antioksidan özelliğinden yararlanılmaktadır. Buna göre; H_2O_2 tespit ortamına AA eklenmesi ile TMB'nin oksidasyonu bastırılarak renkli çözeltinin renksizleşmesine bağlı olarak AA tespiti gerçekleştirilebilmektedir. Buna göre; Şekil 4.6.1.'de verilen spektrum taramasındaki 450 nm ve 650 nm'deki pikler sırasıyla; FeNPs ve H_2O_2 varlığında TMB'nin oksidasyonu sonucu oluşan sarı renkli diimin ve mavi renkli oksitlenmiş TMB (oxTMB) maddelerine aittir [328]. AA eklenmesi ile oksidasyon ürünlerinin oluşumu bastırıldığından ürünlerin derişimlerinin düşmesine bağlı olarak absorbans değerlerinde de azalma meydana geldiği tespit edildi.

4.6.2. AA'nın FeNPs ile Dolaylı Kolorimetrik Tespiti Yönteminin Minimum Tespit Sınırının Belirlenmesi

FeNPs ile H_2O_2 'nin tespiti takiben AA'nın dolaylı kolorimetrik ve kantitatif tespiti yapılabilir. Bu amaçla Bölüm 3.6.2.'de belirtildiği gibi, farklı AA derişimlerine karşı bu

derişimlerde hesaplanan absorbans farkı ($\Delta A = A_{ilk} - A_{son}$) değerleri grafiğe geçirilerek bir kalibrasyon doğrusu oluşturuldu ve elde edilen grafik Şekil 4.6.3.'te sunuldu.



Şekil 4.6.3. AA'nın tespitine ait kalibrasyon doğrusu, **(b)** Kontrol çözeltisine ait absorbans değerleri (DeneySEL koşullar: 250 μL 0.5 mM TMB, 500 μL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 μL 0.1 mM H_2O_2 çözeltisi, 1000 μL 30-200 μM AA (kontrol çözeltisi için 1000 μL saf su) ve 100 μL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi)

Şekil 4.6.3. (a)'dan; 30-200 μM AA derişimi aralığında R^2 değeri yüksek doğrusal bir grafik elde edildiği görüldü. Elde edilen doğrusal grafiğin denklemi $\Delta A = 0.001439 \times C_{AA} (\mu M) + 0.1973$ şeklindedir. Doğru denkleminde elde edilen kayma değeri, Şekil 4.6.3. (b)'den görüldüğü üzere kontrol çözeltisine ait absorbans değerinden kaynaklanmaktadır. Bu doğrunun eğimi ve kontrol çözeltisinin standart sapma değeri kullanılarak yöntemin minimum tespit limiti ($LOD=3\sigma/s$) hesaplandı. Burada s kalibrasyon doğrusunun eğimi, σ kontrol çözeltisinin standart sapma değeridir [192]. σ değerinin hesaplanması amacıyla; öncelikle 250 μL 0.5 mM TMB, 500 μL asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), 500 μL 0.1 mM H_2O_2 çözeltisi ve 100 μL 1.0 g/L FeNPs çözeltisi içeren karışım hazırlanarak absorbans değeri ölçüldü (A_{ilk}), daha sonra bu karışıma 1000 μL saf su ilave edilerek yeniden absorbans değeri ölçüldü (A_{son}). 30 adet aynı şekilde hazırlanan kontrol çözeltilerinin absorbans değerleri ölçülerek absorbans farkı değerleri ($\Delta A = A_{ilk} - A_{son}$) bulundu ve standart sapma değeri (σ) hesaplandı. Buna göre; FeNPs ile H_2O_2 'nin tespitini takiben AA'nın dolaylı kolorimetrik tespiti yönteminin minimum tespit limiti (LOD) 0.5462 μM ve doğrusal tespit aralığı 30-200 μM olarak belirlendi.

FeNPs ile AA'nın dolaylı kolorimetrik tespiti yönteminin doğrusal tespit aralığının ve LOD değerinin kıyaslanması amacıyla bir literatür taraması yapıldı ve sonuçlar Tablo 4.6.1.'de özetlendi.

Tablo 4.6.1. Literatürdeki AA tespiti proseslerine ait doğrusal tespit aralıkları ve LOD değerleri

	Tespit yöntemi	Doğrusal aralık (μM)	LOD (μM)	Kaynak
Doğrudan	Mezogözenekli silika kaplı altın nanoçubuklarının gümüş kaplanması ile doğrudan AA tespiti	0.1-2.5	0.049	[196]
	Altın nanopartikül varlığında alkin-azid reaksiyonu ile doğrudan AA tespiti	0.0044-1.0	0.003	[201]
	Gümüş nanopartiküllerin büyümesine dayanan doğrudan AA tespiti	0.25-25	0.054	[191]
	CoOOH nanomalzemesinin AA varlığında Co(II)'ye indirgenmesi ile doğrudan AA tespiti	0.25-60	0.057	[204]
	Gümüş nanopartiküllerin büyümesine dayanan doğrudan AA tespiti	0.25-50	0.079	[197]
Dolaylı	CoOOH nanomalzemesi varlığında TMB'nin katalitik oksidasyonu dolaylı yolu ile AA tespiti	0.01-1.0	0.005	[203]
	Fe ₃ O ₄ /azot doplanmış karbon hibrid nanofiberleri varlığında H ₂ O ₂ 'nin TMB ile katalitik oksidasyonu dolaylı yolu ile AA tespiti	0-50	0.04	[134]
	MnO ₂ nanomalzemesi varlığında TMB'nin katalitik oksidasyonu dolaylı yolu ile AA tespiti	0.25-30	0.063	[205]
	Pt/CeO ₂ nanokompoziti varlığında H ₂ O ₂ 'nin TMB ile katalitik oksidasyonu dolaylı yolu ile AA tespiti	0.5-30	0.08	[192]
	CoOOH nanomalzemesi varlığında TMB'nin katalitik oksidasyonu dolaylı yolu ile AA tespiti	0.5-50	0.142	[340]
	AA ile Cr(IV)'nin Cr(III)'e indirgenmesinin altın nanopartiküllerinin çökmesini sağlaması ile AA tespiti	0.2-10	0.15	[204]
	Poli (stiren sülfonat) ile fonksiyonelleştirilmiş indirgenmiş grafen oksit nanomalzemeleri varlığında H ₂ O ₂ 'nin TMB ile katalitik oksidasyonu dolaylı yolu ile AA tespiti	0.8-70	0.15	[202]
	Co ₃ O ₄ nanopartikülleri/grafen mikroküreleri varlığında H ₂ O ₂ 'nin TMB ile katalitik oksidasyonu dolaylı yolu ile AA tespiti	30-140	0.19	[341]
	Karbon dotları/Fe ₃ O ₄ hibrid nanofiberleri varlığında H ₂ O ₂ 'nin TMB ile katalitik oksidasyonu dolaylı yolu ile AA tespiti	1-30	0.285	[135]
	FeNPs varlığında H₂O₂'nin TMB ile katalitik oksidasyonu dolaylı yolu ile AA tespiti	30-200	0.5462	Bu çalışma
	MIL-88 varlığında H ₂ O ₂ 'nin TMB ile katalitik oksidasyonu dolaylı yolu ile AA tespiti	2.54-10	1.03	[342]
	Cu-Ag bimetalik nanopartikülleri/indirgenmiş grafen oksit varlığında H ₂ O ₂ 'nin TMB ile katalitik oksidasyonu dolaylı yolu ile AA tespiti	0.005-0.03	3.60	[206]
	MIL-53(Fe) varlığında H ₂ O ₂ 'nin TMB ile katalitik oksidasyonu dolaylı yolu ile AA tespiti	28.6-190.5	15	[138]

Yapılan literatür taraması ile AA tespiti doğrudan ve dolaylı olmak üzere iki şekilde yapılabildiği tespit edildi. Doğrudan tespit yöntemlerinde, tek adımda AA'nın kolorimetrik tespiti yapılabilirken; dolaylı yoldan tespit yöntemlerinde ise bu çalışmada olduğu gibi, öncelikle tespit için renkli bir ortam oluşturulmakta, daha sonra oluşturulan renkli ortama AA eklenmesi ile AA'nın tespiti yapılabilmektedir.

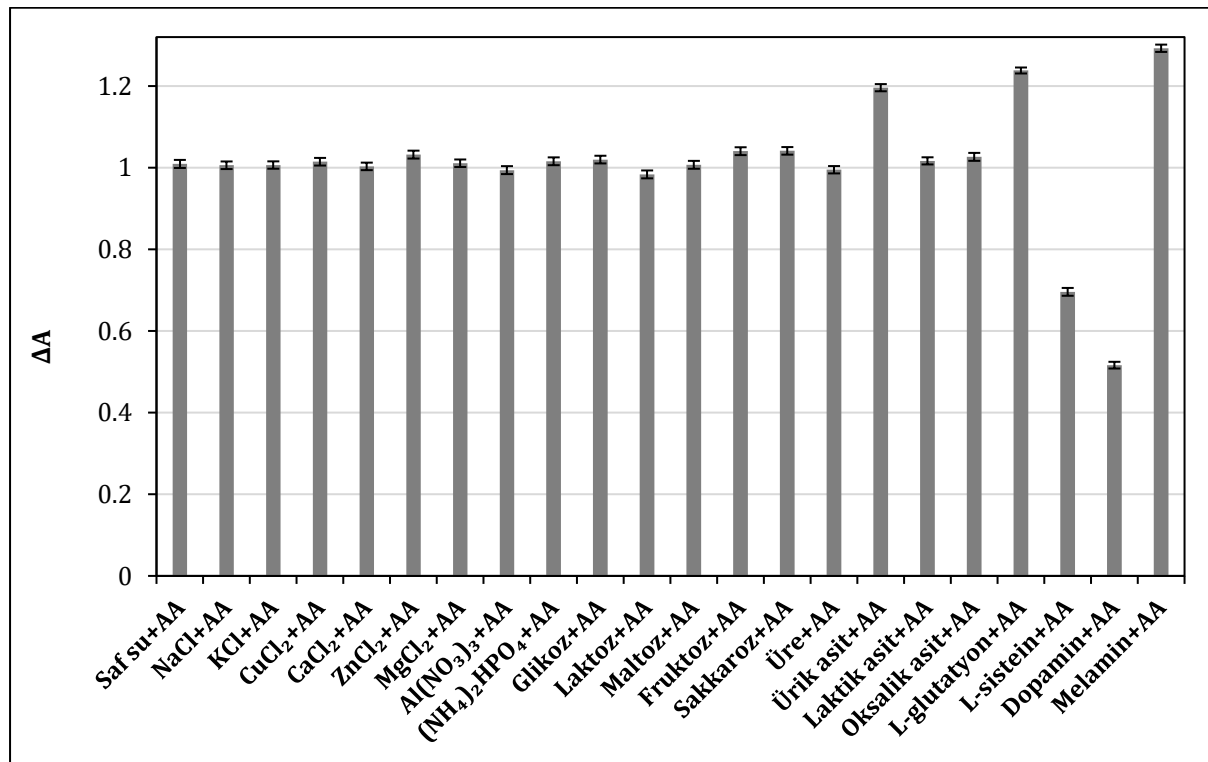
Tablo 4.6.1.'e göre; doğrudan AA tespit yöntemlerine ait LOD değerlerinin, dolaylı yoldan tespit yöntemlerine kıyasla genel olarak daha düşük olduğu belirlendi. Bu durumun, doğrudan tespit yöntemlerinde AA'nın tespiti tek aşamada gerçekleşebiliyor olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca, genel olarak literatürdeki çalışmalar incelendiğinde; tespit limitleri arasında çok büyük farkların olmadığı görülmektedir. Bu nedenle bu çalışmadaki yöntemin minimum tespit limitinin literatürdeki diğer çalışmalar ile rekabet edebilir düzeyde düşük ve doğrusal tespit sınırının kabul edilebilir düzeyde geniş olduğu sonucuna varıldı. Ayrıca, yapılan literatür taraması ile AA'nın tespit çalışmalarında kullanılan nanomalzemelerin kimyasal yöntemlerle sentezlenmiş oldukları ve bu nanomalzemelerin çoğunlukla kompozit halinde daha etkin bir şekilde kullanıldıkları belirlendi. Bu çalışmalarda; hem nanomalzemelerin kimyasal yöntemlerle sentezlenmiş olmaları hem de kompozit oluşturma ek prosesi olması, tespit maliyetini artıran unsurlardır. Özellikle LOD değerleri göz önüne alındığında, bu çalışmaya ait LOD değeri her ne kadar birçok çalışmaya kıyasla bir miktar daha yüksek olsa da bu çalışmada kullanılan FeNPs'nin basit, hızlı, düşük maliyetli ve çevre dostu bir yöntemle kompozit malzeme oluşturmaksızın sentezlenmiş olmasının, bu çalışmada kullanılan yöntemin diğer yöntemlerle özellikle maliyet açısından rekabet edebilmesine önemli bir katkı sağlayacağı sonucuna varıldı.

4.6.3. AA'nın FeNPs ile Dolaylı Kolorimetrik Tespiti Yönteminin Seçiciliğinin Belirlenmesi

Bir kolorimetrik tespit yönteminin farklı bileşenler varlığında oldukça hassas ve seçici olması beklenmektedir. Bu bağlamda, FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitini takiben AA'nın dolaylı tespiti yönteminin seçiciliği; NaCl, KCl, $CuCl_2$, $CaCl_2$, $ZnCl_2$, $MgCl_2$, $Al(NO_3)_3$, $(NH_4)_2HPO_4$, glikoz, laktoz, maltoz, fruktoz, sakkaroz, üre, ürik asit, laktik asit, oksalik asit, L-glutasyon, L-sistein, dopamin ve melamin gibi bileşenlerin varlığında test edildi. Bu amaçla, Bölüm 3.6.3.'te belirtildiği gibi ilgili deneyler yapıldı ve elde edilen absorban değerlerindeki azalmalar değerlendirilerek yöntemin seçiciliği ve diğer bileşenlerin etkileşimleri belirlendi [192]. Buna göre, yukarıda belirtilen bileşenlerin ortama AA ile karışım olarak eklenmesi sonucunda elde edilen absorban değerlerindeki azalmalar sırasıyla Şekil 4.6.4.'te sunuldu.

Yukarıda belirtilen bileşenlerin ortama bireysel olarak eklenmesi sonucunda elde edilen absorban değerlerindeki azalmalar ise Şekil 4.5.21.'de verilmişti ve absorban değerinde en yüksek azalma AA'nın olduğu durumda gözlenmişti; ürik asit, oksalik asit, L-glutasyon, L-sistein,

dopamin ve melamin haricindeki diğer bileşenler ise saf su ile yaklaşık aynı etkileşimi göstermişlerdi. Ancak her ne kadar oksalik asit bireysel olarak bir etkileşim göstermiş olsa da Şekil 4.6.4.'ten AA ile birlikte olduğu durumda etkileşiminin sönümlendiği gözlemlendi. Diğer bir deyişle, oksalik asitin H_2O_2 tespitine negatif bir etkisi olmasına rağmen, AA tespitine herhangi bir olumsuz etkisi görülmedi. Fakat; ürik asit, L-glutatyon, L-sistein, dopamin ve melamin bileşenlerinin H_2O_2 tespitine olduğu gibi AA tespitine de olumsuz etkide bulundukları belirlendi. Bu nedenle; FeNPs ile AA'nın dolaylı tespiti yönteminin ürik asit, L-glutatyon, L-sistein, dopamin ve melamin haricindeki diğer bileşenler varlığında AA'nın hassas ve seçici tespitinde etkin bir şekilde kullanılabileceği sonucuna varıldı.



Şekil 4.6.4. FeNPs ile AA'nın dolaylı tespiti yöntemine AA ile karışım halindeki farklı bileşenlerin etkileri (Deneyel koşullar: 250 μ L 0.5 mM TMB, 500 μ L asetat tamponu çözeltisi (pH=2.0), T=20 °C, 500 μ L 0.1 mM H_2O_2 çözeltisi, 500 μ L 1.0 mM AA, 500 μ L 1.0 mM bileşen ve 100 μ L 1.0 g/L FeNPs çözeltisi)

Farklı bileşenler varlığında okunan absorbans değerlerindeki azalmaların geri kazanım oranları ($\% \text{ GK} = (\Delta A_i / \Delta A_r) \times 100$) saf su referans alınarak hesaplandı (Eşitlik (3.6.1.)) ve sonuçlar Tablo 4.6.2.'de sunuldu. Tablo 4.6.2.'ye göre; ürik asit, L-glutatyon, L-sistein, dopamin ve melamin haricindeki diğer bileşenlerin etkileşim oranları % 97.46-103.17 aralığındadır. Elde edilen geri kazanım oranları ($\pm\%3.0$) kabul edilebilir bir aralıkta olduğu için; ürik asit, L-glutatyon, L-sistein, dopamin ve melamin haricindeki diğer bileşenler varlığında FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitini takiben AA'nın dolaylı tespitinin etkin bir şekilde yapılabileceği sonucuna varıldı.

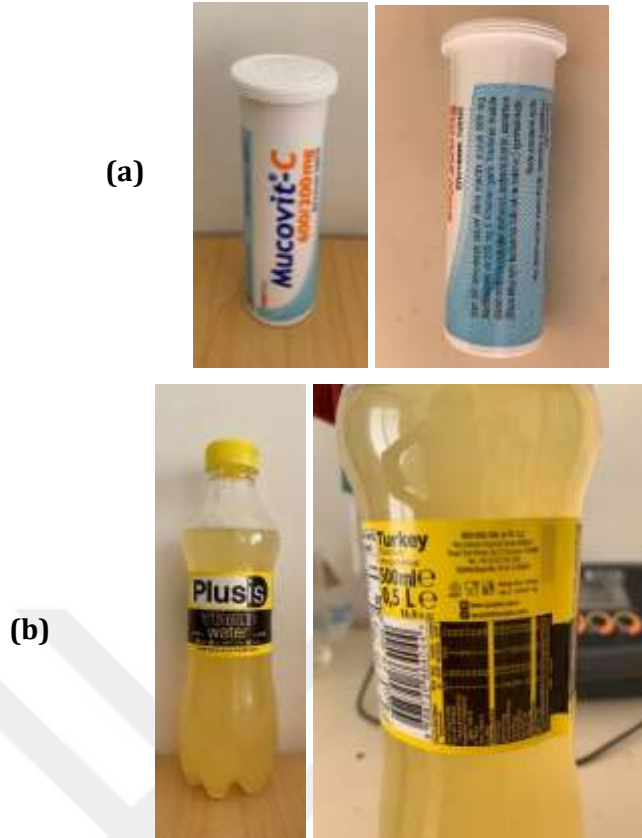
Tablo 4.6.2. Hesaplanan geri kazanım oranları

Bileşen	Geri kazanım oranı
NaCl+AA	99.68
KCl+AA	99.73
CuCl ₂ +AA	100.54
CaCl ₂ +AA	99.41
ZnCl ₂ +AA	102.27
MgCl ₂ +AA	100.16
Al(NO ₃) ₃ +AA	98.50
(NH ₄) ₂ HPO ₄ +AA	100.64
Glikoz+AA	101.06
Laktoz+AA	97.46
Maltoz+AA	99.79
Fruktoz+AA	103.10
Sakkaroz+AA	103.17
Üre+AA	98.59
Ürik asit+AA	117.88
Laktik asit+AA	100.75
Oksalik asit+AA	101.72
L-glutatyon+AA	122.69
L-sistein+AA	69.17
Dopamin+AA	51.29
Melamin+AA	128.84

4.6.4. AA'nın FeNPs ile Dolaylı Kolorimetrik Tespiti Yönteminin Doğruluk Analizinin Yapılması

FeNPs ile H₂O₂'nin kolorimetrik tespitini takiben AA'nın dolaylı tespiti yönteminin doğru bir şekilde uygulanabilirliğinin test edilmesi amacıyla ticari AA içerikli malzemelere (C vitamini tableti ve C vitaminli su) ve teorik derişimi bilinen AA çözeltilerine yöntem Bölüm 3.6.4.'te belirtildiği şekilde uygulandı. Kullanılan C vitamini tableti ve C vitaminli su sırasıyla Şekil 4.6.5. (a) ve (b)'de verildi. Şekil 4.6.5. (a)'da gösterilen 200 mg AA içeren C vitamini tableti kullanılarak teorik derişimi 142 µM olan bir çözelti hazırlandı ve hazırlanan bu çözelti deneylerde kullanıldı. C vitaminli su ise teorik derişiminin kalibrasyon doğrusu aralığında olabilmesi için 1/10 oranında saf su ile seyreltilerek kullanıldı.

Belirtilen şekilde hazırlanan örneklerle, Bölüm 3.6.4.'te belirtildiği şekilde yöntem uygulandıktan sonra elde edilen absorbans değerlerindeki azalmalar, Bölüm 3.6.2.'de belirtildiği gibi oluşturulan kalibrasyon doğru denkleminde yerine koyularak AA'nın derişim değerleri hesaplandı. Buna göre; teorik ve hesaplanan derişim değerleri karşılaştırılarak yöntemin doğruluk analizi yapıldı [205]. Doğruluk analizi kapsamında elde edilen değerler Tablo 4.6.3.'te sunuldu.



Şekil 4.6.5. Kullanılan C vitamini tableti ve C vitaminli su

Tablo 4.6.3. Doğruluk analizi sonuçları

Örnek	Teorik Derişim (μM)	Deneysel derişim (μM) (n=3)	Geri Kazanım (%)	RSD (%) (n=3)
AA çözeltisi	30	31.37 $\pm$ 1.03	104.57	3.28
C vitaminli su (ticari)	45.42	45.92 $\pm$ 1.36	101.10	2.96
AA çözeltisi	60	60.95 $\pm$ 1.13	101.58	1.85
AA çözeltisi	120	120.71 $\pm$ 1.87	100.59	1.55
C vitamini tableti (ticari)	142	143.56 $\pm$ 1.63	101.10	1.14

Tablo 4.6.3.'e göre; geri kazanım değerleri % 100.59-104.57 arasında iken, RSD değerleri % 1.14-3.27 arasındadır. % 95 güven düzeyi göz önüne alındığında bu değerler; bu çalışmada uygulanan FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitini takiben AA'nın dolaylı tespiti yönteminin, özellikle girişim yapabilecek maddelerin bulunduğu ticari örneklerde pratik AA tespiti için doğru ve güvenilir bir şekilde uygulanabilir olduğunu gösterdi.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu doktora tez çalışmasının amacı, ağır metal biyoakümülatör/hiperakümülatör bitkilerden yararlanarak metalik nanopartikül sentezinin gerçekleştirilmesi ve sentez için yeni bir yöntemin önerilmesidir. Çalışmanın amacına uygun öncelikle ağır metal biyoakümülatör/hiperakümülatör bitkilerin neler olduğu konusunda bilgi sahibi olmak için geniş bir literatür taraması yapıldı. Bu konuda özellikle Mersin Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Jeoloji Mühendisliği Bölümü öğretim üyesi Dr. Öğretim Üyesi Zeynep ÖZDEMİR'in bilgi ve deneyimlerinden yararlanıldı. Dr. Öğretim Üyesi Zeynep ÖZDEMİR tarafından yapılan bir çalışma referans alınarak, Mersin ili Musalı bölgesinde bulunan Minsan Madencilik kromit (FeCr_2O_4) yatağı işleme sahası içerisinde yetişen *Pinus brutia* (Kızılçam) bitkisi ağır metal içeriğinin metalik nanopartikül sentezi amacı ile kullanılabilirliğinin araştırılması gerektiği fikri oluştu. Bu çerçevede öngörülen çalışmalar özet olarak aşağıda sunuldu:

- Kromit yatağı sahası içerisinde yetişen *P. brutia*'nın demir hiperakümülatör bir bitki olduğu belirlendi.
- *P. brutia* bitkisinden liç çözeltisi hazırlandı, liç çözeltisi sentetik metal çözeltisi yerine kullanıldı.
- Bitkiden hazırlanan metal içerikli liç çözeltisinin kullanıldığı nanopartikül sentezi amacı ile bir sentez yöntemi geliştirildi ve bu yöntemle demir içerikli nanopartiküller (FeNPs) sentezlendi.
- Sentezlenen FeNPs'nin UV-vis, FT-IR, XRD, XPS, VSM, BET, DSC, TGA/DTA, TEM, SEM ve EDX cihazları ile karakterizasyonu yapıldı ve yapısı aydınlatıldı.
- Nanopartikül sentezi sırasında hidrojen gazı ($\text{H}_{2(g)}$) üretimi gerçekleştiği gözlemlendi. Nanopartikül sentezi sırasında $\text{H}_{2(g)}$ üretimine etki eden sıcaklık, pH, NaBH_4 miktarı, PVP miktarı gibi çevresel koşulların etkisi araştırılarak optimum ortam koşulları belirlendi.
- Sentezlenen nanopartikülün gram-pozitif ve gram-negatif bakteriler için antibakteriyel özelliği, kirletici giderimi, ilaç salımı, H_2O_2 , glikoz ve askorbik asitin kolorimetrik tespiti alanları başta olmak üzere çeşitli alanlardaki kullanılabilirliği araştırıldı.

Tez kapsamında yapılan ve yukarıda sıralanan çalışmalar ve çalışma sonuçları aşağıda maddeler halinde ayrıntılı olarak sunuldu:

- i. *P. brutia* bitkisinin dal ve yapraklarının eşit miktarda karıştırılması ile hazırlanan liç yaprak ve dal karışımından hazırlanan liç çözeltisinin elementel analizi ICP-MS analizi ile gerçekleştirildi. Analiz sonuçları birim katı kütlesi temelinde (mg/kg

katı): 12950 mg Ca > 12045 mg Mg > 3452.5 mg Fe > 3095 mg K > 1395 mg Na > 852.5 mg Al > 15.58 mg Zn > 5.5 mg Cu > 3.96 mg Ni olarak belirlendi. Katı temelde Fe için belirlenen değer ile literatürde hiperakümülatör bitkilerin akümüle ettikleri Fe derişimleri (mg/kg) ile karşılaştırıldı; *P. brutia*'nın demir hiperakümülatörü bitki olduğu sonucuna varıldı.

- ii. *P. brutia* bitkisinin yaprak ve dal karışımından hazırlanan liç çözeltisi ile NaBH₄ kullanılarak sentezlenen FeNPs'nin UV-vis spektrofotometresi ile analiz yapıldı, FeNPs içeren çözeltiye ait maksimum absorpsiyon piki 300 nm dalga boyunda tespit edildi. Elde edilen bu sonucun, literatürde yer alan demir içerikli nanopartiküllere ait absorpsiyon pikleri ile uyumlu olduğu belirlendi.
- iii. FT-IR analizinde; FeNPs'nin içerdiği hidroksil gruplarından ve/veya su moleküllerinden kaynaklı 3361 ve 1606 cm⁻¹'de, Fe-O bağına ait titreşim ve gerilmeden kaynaklı 557 ve 1338 cm⁻¹'de, Fe-OH gruplarından kaynaklı 696 ve 993 cm⁻¹'de pikler elde edildi.
- iv. Elementel EDX analizi sonuçlarına göre; oksijen (% 55.08 O), demir (% 18.17 Fe), kalsiyum (% 12.06 Ca), sodyum (% 5.77 Na), magnezyum (% 5.32 Mg) ve klor (% 3.59 Cl) olarak belirlendi.
- v. *P. brutia* bitkisinin yaprak ve dal karışımından hazırlanan liç çözeltisinin ICP-MS ile belirlenen içeriğindeki ve bu liç çözeltisi kullanılarak sentezlenen FeNPs'nin EDX ile belirlenen içeriğindeki Fe haricindeki alkali (Na, K) ve toprak alkali metalleri (Ca, Mg) elementlerinin toprak yapısından kaynakladığı düşünülmektedir.
- vi. Sentezlenen FeNPs'nin içerdiği elementlerin seviyelerinin belirlenmesi amacıyla XPS cihazı ile 0-1300 eV aralığında genel tarama, Fe 2p orbitali için 700-750 eV aralığında ise kısmi tarama yapıldı. Genel tarama sonuçları, FeNPs'nin; Mg 1s, Na 1s, Fe 2p, O 1s, Ca 2s ve Ca 2p orbitallerini içerdiğini gösterdi. Yapılan kısmi taramada ise FeNPs içerdiğinde; Fe 2p orbitaline ait Fe⁰, Fe²⁺ ve Fe³⁺ değerlikli demir iyonlarının olduğu belirlendi.
- vii. Sentezlenen FeNPs'nin kristal yapısının aydınlatılması amacı ile XRD analizi gerçekleştirildi. Sentezlenen nanopartiküllerin; Fe₃O₄ (manyetit, 2-theta=30.56, 34.55, 41.30, ve 56.46 deg), FeOOH (goetit, 2-theta=20.28 deg), γ-FeOOH (lepidokrosit, 2-theta=50.83 deg), Fe⁰ (sıfır değerlikli demir, 2-theta=45.44 deg) ve NaCl (tuz, 2-theta=31.72 deg) kristal yapılarına sahip olduğu tespit edildi. Bu sonuçlar, FeNPs'nin XPS analizi sonuçlarını doğrular nitelikte olduğu belirlendi.
- viii. FeNPs'nin manyetik özellikleri VSM analizi ile belirlendi. Elde edilen sonuçlar; FeNPs'e ait M-H grafiğinin histeresis bir döngü şeklinde olması nedeniyle,

FeNPs'nin ferromanyetik özelliğe sahip olduğunu gösterdi. Ferromanyetik malzemelerde önemli olan M_s , M_r ve H_c değerleri FeNPs için sırasıyla 4.5 emu/g, 0.8438 emu/g ve 125 Oe olarak belirlendi.

- ix. FeNPs'nin spesifik yüzey alanı ve gözenek hacmi, N_2 adsorpsiyon-desorpsiyon ölçümlerine dayanan BET analizi ile belirlendi. Elde edilen sonuçlara göre; FeNPs'e ait izotermin makrogözenekli yapılarda gözlenen 3. tip adsorpsiyon izotermin modeline uyduğu, adsorpsiyon ve desorpsiyon ortalama gözenek boyutlarının sırasıyla 76.16 nm ve 57.15 nm olduğu belirlendi. Ayrıca, FeNPs'nin spesifik BET yüzey alanı 32.67 m²/g olarak tespit edildi.
- x. Sentezlenen FeNPs'nin termal davranışı DSC ve TGA/DTA analizleri ile belirlendi. 32 °C ve 95 °C'de DTA eğrisinde elde edilen piklerin ve TGA eğrisinde 0-130 °C aralığındaki %2.4902'lik kütle kaybının; FeNPs yüzeyine fiziksel olarak adsorplanmış suyun uzaklaşmasından kaynaklandığı belirlendi. DSC eğrisinde 196 °C'de elde edilen endotermik pikin, DTA eğrisinde aynı sıcaklıkta elde edilen pikin ve TGA eğrisinde 130-430 °C aralığındaki %10.4483'lik kütle kaybının ise FeNPs yapısında bulunan demir haricindeki diğer bileşenlerin bozunmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca, DTA eğrisinde 800-1000 °C aralığındaki bandın ve TGA eğrisinde 430-1000 °C aralığındaki %4.9637'lik kütle kaybının da Fe₃O₄ fazının Fe₂O₃ fazına dönüşmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.
- xi. FeNPs'e ait TEM görüntülerinde; FeNPs'nin nanoboyutta ve çekirdek-kabuk yapısında olduğu görüldü. Ayrıca, FeNPs'nin küre-benzeri yapılarının merkezinin (çekirdeğinin) atom numarası büyük olan sıfır değerlikli demir içeriğinden kaynaklı daha koyu renkli; dış kısmının (kabuğunun) ortalama atom numaraları Fe⁰'dan daha küçük olan demir oksit/hidroksitlerin içeriğinden kaynaklı daha açık renkli olduğu tespit edildi.
- xii. Sıcaklık, pH, NaBH₄ miktarı ve PVP miktarı gibi çevresel koşulların FeNPs sentezine FeNPs'nin yüzey özelliklerinin SEM analizi görüntüleri ile incelendi. Görüntülerden sıcaklık artışı ile nanopartiküllerin boyutlarının ve topaklaşmaların azaldığı, pH değişiminin nanopartiküllerin küresel yapılarını ve büyüklüklerini etkilemediği, NaBH₄ miktarı artışı ile nanopartiküllerin topaklaşmalarının arttığı ve PVP miktarı arttıkça nanopartiküllerin boyutlarının ve topaklaşmalarının azaldığı tespit edildi.
- xiii. FeNPs sentezi sırasındaki H_{2(g)} üretimine sıcaklık, pH, NaBH₄ miktarı ve PVP miktarı gibi çevresel koşulların etkisi araştırıldı ve prosese ait optimum ortam koşulları belirlendi. Buna göre; sıcaklığın üretilen toplam H_{2(g)} miktarına etkisinin olmadığı sadece sıcaklık arttıkça reaksiyonun daha kısa sürede gerçekleştiği, pH

ve NaBH_4 miktarı arttıkça üretilen toplam $\text{H}_{2(g)}$ miktarının arttığı, PVP miktarının 1.0 g'a kadar artması ile üretilen toplam $\text{H}_{2(g)}$ hacimlerinin arttığı, PVP miktarının 1.0 g'dan daha fazla artışı ile azaldığı tespit edildi. Sonuç olarak; FeNPs sentezi sırasında $\text{H}_{2(g)}$ üretimi için optimum ortam koşullar; 65 °C sıcaklık, pH=9.0, 2.50 g NaBH_4 ve 1.0 g PVP olarak belirlendi ve bu koşullarda 80 dakikada toplam 6000 ± 50 mL $\text{H}_{2(g)}$ üretilbildiği belirlendi. Optimum koşullarda kullanılan NaBH_4 miktarına bağlı toplam $\text{H}_{2(g)}$ miktarı, literatürdeki $\text{H}_{2(g)}$ üretimi çalışmalarının sonuçları ile karşılaştırıldığında; literatürdeki birçok çalışmaya göre bu çalışmada üretilen $\text{H}_{2(g)}$ miktarının oldukça fazla olduğu tespit edildi.

xiv. FeNPs sentezi sırasında $\text{H}_{2(g)}$ üretiminde kullanılan *P.brutia*'dan hazırlanan liç çözeltisi içerisindeki demir haricindeki diğer bileşenlerin $\text{H}_{2(g)}$ üretimine etkisi de araştırıldı. Bu amaçla; çeşitli demir iyonu kaynaklarından aynı derişimlerde hazırlanan ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ve $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) sentetik çözeltiler ve *P.brutia*'dan hazırlanan liç çözeltisi ile $\text{H}_{2(g)}$ üretimi deneyleri yapıldı. Demir içerikli liç çözeltisi, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi ve $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi kullanılarak yapılan denemelerde toplam $\text{H}_{2(g)}$ miktarlarının sırasıyla 1520 ± 10 , 1520 ± 10 ve 1530 ± 10 mL olduğu tespit edildi. Buna göre; liç çözeltisi içeriğindeki Fe hariç Ca, Mg, K, Na, Al, Ni, Zn, Cu gibi diğer bileşenlerin $\text{H}_{2(g)}$ üretiminde etkileşimde bulunmadığı sonucuna varıldı.

xv. $\text{H}_{2(g)}$ üretiminin;

“ $[\text{Fe}^{2+}_{(aq)} - 2\text{HCl}_{(aq)}] + 2\text{NaBH}_{4(aq)} + 6\text{H}_2\text{O}_{(l)} \rightarrow \text{Fe}^0_{(k)} + 2\text{B}(\text{OH})_{3(aq)} + 8\text{H}_{2(g)} + 2\text{NaCl}_{(aq)}$ ” reaksiyonuna göre gerçekleştiği öngörülmektedir. Öngörülen $\text{H}_{2(g)}$ üretimi reaksiyon mertebesi ve farklı sıcaklıklardaki reaksiyon hız sabiti değerleri deneysel kinetik verilerin analizi ile belirlendi. Yapılan veri analizi sonuçlarına göre; reaksiyon mertebesinin $\text{NaBH}_{4(aq)}$ 'e göre 1.3523 dereceden olduğu belirlendi. 30°C, 45°C, ve 65°C sıcaklıklarda yapılan deneysel çalışmalardan elde edilen kinetik verilerin analizi ile reaksiyon hız sabitleri sırasıyla 0.4219, 1.3473, 2.9434 $[(\text{mol}^{0.3523})(\text{L}^{-0.3523})(\text{min}^{-1})]$ olarak hesaplandı.

xvi. FeNPs sentezi sırasında $\text{H}_{2(g)}$ üretimi prosesinin termodinamik değerlendirmesi de yapıldı. Farklı sıcaklıklarda belirlenen k-hız sabiti değerleri; Arrhenius eşitliğinde kullanılarak, reaksiyon için aktivasyon enerjisi (E_a) ve üstel önu faktörü (A) sırasıyla 46.86 kJ/mol ve 5.65×10^7 olarak hesaplandı. Daha sonra Eyring eşitliği yardımı ile, Aktivasyon entalpisi ($\Delta H^\#$) ve entropisi ($\Delta S^\#$) değerleri sırasıyla 44.19 kJ/mol ve -105.52 J/mol.K olarak hesaplandı. Elde edilen sonuçlar, FeNPs sentezi sırasında $\text{H}_{2(g)}$ üretimi reaksiyonunun endotermik ($\Delta H > 0$) ve entropisi azalan ($\Delta S < 0$) bir proses olduğunu gösterdi. Hesaplanan bu değerlerin

literatürdeki $H_{2(g)}$ üretimi çalışmalarının sonuçları ile uyumlu olduğu belirlendi. Literatürde verilen $H_{2(g)}$ üretimi reaksiyonları için belirlenen E_a değerleri ile bu çalışmada hesaplanan aktivasyon enerjisi değerleri karşılaştırıldı, bu çalışmada bulunan aktivasyon enerjisi değerinin literatürde verilen değerlerden daha düşük olduğu belirlendi. Sonuç olarak, bu çalışma ile geliştirilen $H_{2(g)}$ üretim prosesinin literatürde verilen pahalı malzemelerin kullanıldığı $H_{2(g)}$ üretimi prosesleri ile rekabet edebilir nitelikte olduğu söylenebilir.

- xvii.** FeNPs'nin antibakteriyel özelliklerinin araştırılması kapsamında yapılan çalışmalar sonucunda, FeNPs'nin seçilen tüm gram-pozitif ve gram-negatif bakteri türlerine karşı etkin antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu belirlendi. Buna göre; *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* ve *Salmonella typhimurium* bakteri türleri için inhibisyon bölge çapları sırasıyla 20.85 ± 2.98 , 17.33 ± 2.62 , 16.93 ± 1.80 , 22.74 ± 1.09 , 31.56 ± 1.50 ve 20.35 ± 1.46 mm'dir. Belirlenen bu inhibisyon bölge çapları, literatürde antibakteriyel aktivitesi araştırılan çeşitli demir içerikli nanopartiküller ile rekabet edebilir düzeydedir. Bu nedenle bu doktora tezi kapsamında sentezlenen FeNPs'nin koruyucu ajan olarak gıda endüstrileri, biyomedikal cihazların antibakteriyel kaplaması gibi çeşitli antibakteriyel uygulamalarda etkin olarak kullanılabileceği söylenebilir.
- xviii.** Bu çalışmada sentezlenen FeNPs'nin, H_2O_2 'nin kolorimetrik tespiti için peroksidaz benzeri bir katalizör olarak kullanılabilirliği araştırıldı. Bu kapsamda öncelikle bu prosese etki eden pH, asetat tamponu:TMB (v:v) oranı, sıcaklık, H_2O_2 derişimi, katalizör miktarı gibi çevresel koşulların etkisi araştırıldı. Buna göre; pH arttıkça katalizör aktivitesinin azaldığı, asetat tamponu:TMB (v:v) oranının 2:1 değerine kadar katalizör aktivitesinin arttığı daha yüksek oranlarda aktivitenin azaldığı, katalizör hacminin 700 μ L'ye kadar artışı ile katalizör aktivitesinin arttığı daha yüksek katalizör hacimlerinde aktivitenin yaklaşık sabit kaldığı, H_2O_2 derişiminin 1.0 mM değerine kadar katalizör aktivitesinin arttığı daha yüksek derişimlerde azaldığı ve sıcaklık değerinin 45 °C'ye kadar artması ile katalizör aktivitesinin arttığı daha yüksek sıcaklıklarda azaldığı tespit edildi. Sonuç olarak; FeNPs ile kolorimetrik H_2O_2 tespiti prosesine ait optimum ortam koşulları; pH=2.0, asetat tamponu:TMB (v:v) oranı 2:1, FeNPs (1.0 g/L) hacmi 700 μ L, H_2O_2 derişimi 1.0 mM ve sıcaklık 45 °C olarak belirlendi.
- xix.** TMB ve H_2O_2 'nin substrat olarak kullanıldığı, FeNPs ve HRP'nin katalitik etkilerinin belirlenmesi amacı ile yapılan deneylerden elde edilen verilerin kinetik analizi Michaelis-Menten eşitliğinin doğrusal formu olan Lineweaver-Burk

eşitliği kullanılarak yapıldı. TMB'nin substrat olduğu durumda FeNPs ve HRP için $v_{\max}$ ve K_m değerleri hesaplandı. FeNPs'nin maksimum tespit hızı TMB için $v_{\max} = 4.135 \times 10^{-8}$ M/s, H_2O_2 için $v_{\max} = 4.0927 \times 10^{-8}$ M/s, HRP'nin maksimum tespit hızı TMB için $v_{\max} = 2.884 \times 10^{-8}$ M/s, H_2O_2 için $v_{\max} = 8.034 \times 10^{-9}$ M/s olarak belirlendi. FeNPs'nin maksimum tespit hızı TMB ve H_2O_2 için yaklaşık birbirine eşittir. FeNPs ile HRP'nin TMB ve H_2O_2 'i tespit hızları karşılaştırıldığında FeNPs'nin daha yüksek hızda tespit etme özelliği olduğu dikkat çekmektedir. TMB'nin substrat olduğu durumda FeNPs ve HRP için K_m değerleri sırasıyla 3.54 mM ve 12.25 mM olup; H_2O_2 'nin substrat olduğu durumda FeNPs ve HRP için K_m değerleri sırasıyla 0.3247 mM ve 0.6785 mM'dır. FeNPs'ye ait K_m değerlerinin HRP'ye kıyasla düşük olması FeNPs ile substratlar arasındaki ilginin daha yüksek olduğunu göstermektedir. Ayrıca, hesaplanan kinetik değerler literatür ile kıyaslandığında, bu çalışmada sentezlenen FeNPs'nin literatürdeki diğer peroksidaz benzeri katalizörler ile rekabet edebilir düzeyde olduğu sonucuna varıldı.

- xx. FeNPs ile kolorimetrik H_2O_2 tespiti prosesinde, 0.05-0.20 mM H_2O_2 derişimi aralığında FeNPs ile H_2O_2 tespiti için kalibrasyon doğrusu denklemi; $A = 5.7343 \times C_{H_2O_2} \text{ (mM)} + 0.0616$ olarak belirlendi. Denklemden FeNPs'nin minimum tespit sınırı (LOD) 0.05773 μM olarak hesaplandı. Bu değer, literatürde verilen birçok peroksidaz benzeri katalizöre kıyasla oldukça düşük olarak değerlendirildi.
- xxi. H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde FeNPs'nin kararlılığı çalışmaları yapıldı. FeNPs'nin sentezlenme sürecini takip eden 6 aylık süreçte aktivitesinde ~%5.0 azalma olduğu, 6 aydan sonra aktivitede azalmanın arttığı tespit edildi.
- xxii. FeNPs ile kolorimetrik H_2O_2 tespiti yönteminin doğruluk analizi, literatürde doğruluğu kanıtlanmış potasyum titanyum oksit oksalat dihidrat ($C_4K_2O_9Ti.2H_2O$) kolorimetrik yöntemi ile istatistiksel bir kıyaslama yapıldı. Elde edilen sonuçlar; kıyaslanan yöntemler arasında anlamlı bir fark olmadığını gösterdi. Böylelikle; bu çalışmada sentezlenen FeNPs'nin peroksidaz benzeri bir enzim olarak kullanılması ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinin doğru ve güvenilir bir şekilde yapılabileceği sonucuna varıldı.
- xxiii. *P.brutia*'dan hazırlanan liç çözeltisi içeriğinde bulunan bileşenlerin FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitine etkisi, $FeSO_4.7H_2O$ ve $Fe(NO_3)_3.9H_2O$ 'den hazırlanan sentetik demir çözeltileri ile sentezlenen nanopartikül ile H_2O_2 tespiti sonuçları ile karşılaştırılarak belirlendi. Sonuçlar, liç çözeltisi içeriğinde bulunan demir hariç Ca, Mg, K, Na, Al, Ni, Zn, Cu gibi diğer bileşenlerin H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitine etkileşimde bulunmadıklarını gösterdi.

- xxiv.** Kolorimetrik H_2O_2 tespiti sırasında oluştuğu öngörülen $OH\bullet$ radikalleri, tereftalik asitin (TPA) ajan olarak kullanıldığı florimetrik bir yöntem ile belirlendi. Floresans spektrum sonuçları; kolorimetrik H_2O_2 tespiti sırasında oluşan $OH\bullet$ radikalleri ile TPA'nın reaksiyona girerek ürün olarak 440 nm'de pik veren floresan özelliğe sahip 2-hidroksi tereftalik asitin oluştuğunu gösterdi. Benzer olarak, FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespiti yönteminin; FeNPs'nin Fenton-benzeri reaksiyon ile H_2O_2 'nin dekompozisyonu sonucu $OH\bullet$ radikallerinin oluşması, oluşan $OH\bullet$ radikallerinin ise TMB'nin oksidasyonunu sağlaması basamaklarından oluştuğu sonucuna varıldı.
- xxv.** FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde ortamdaki NaCl, KCl, $CuCl_2$, $CaCl_2$, $ZnCl_2$, $MgCl_2$, $Al(NO_3)_3$, $(NH_4)_2HPO_4$, glikoz, laktoz, maltoz, fruktoz, sakkaroz, üre, ürik asit, laktik asit, askorbik asit, oksalik asit, L-glutasyon, L-sistein, dopamin ve melamin gibi farklı bileşenlerin etkileşimleri araştırıldı. FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde ürik asit, askorbik asit (AA), oksalik asit, L-glutasyon, L-sistein, dopamin ve melamin bileşenlerinin etkileşimde bulundukları tespit edildi. NaCl, KCl, $CuCl_2$, $CaCl_2$, $ZnCl_2$, $MgCl_2$, $Al(NO_3)_3$, $(NH_4)_2HPO_4$, glikoz, laktoz, maltoz, fruktoz, sakkaroz, üre ve laktik asit bileşenlerinin geri kazanım oranlarının ($\pm\%5.40$) kabul edilebilir aralıkta olduğu, bu nedenle bu bileşenlerin varlığında H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitinde FeNPs'nin etkin bir şekilde kullanılabileceği sonucuna varıldı.
- xxvi.** FeNPs ile H_2O_2 'nin kolorimetrik tespitine en fazla etkileşimin, askorbik asitte olduğu belirlendi ve dolayısıyla bu kolorimetrik yöntemde, ortama askorbik asit eklenmesi sonucu oluşacak absorbans düşüşü esas alınarak, askorbik asitin dolaylı yoldan tespitinin yapılabileceği sonucuna varıldı.
- xxvii.** H_2O_2 'nin FeNPs ile kolorimetrik tespitini takiben AA'nın dolaylı tespiti yönteminin uygulanmasında, 30-200 μM AA derişimi aralığında $\Delta A = 0.001439 \times C_{AA} (\mu M) + 0.1973$ kalibrasyon doğrusu denklemi elde edildi. Denkleme göre; FeNPs ile AA'nın dolaylı kolorimetrik tespiti yönteminin minimum tespit limiti (LOD) 0.5462 μM olarak hesaplandı. Bu LOD değerinin, H_2O_2 'nin tespiti ile ilgili literatür LOD değerleri ile karşılaştırıldığında, bir miktar yüksek olduğu gözlemlendi. LOD değerinin literatüre göre yüksek olması bir dezavantaj olarak görünse de, bu çalışmada kullanılan FeNPs'nin basit, hızlı, düşük maliyetli ve çevre dostu bir yöntemle kompozit malzeme oluşturmaksızın sentezlenmiş olması ve bu çalışmada geliştirilen yöntemin diğer yöntemlerle özellikle maliyet açısından rekabet edebilmesine önemli bir katkıda bulunabileceği avantaj olarak sıralanabilir.

- xxviii.** NaCl, KCl, CuCl₂, CaCl₂, ZnCl₂, MgCl₂, Al(NO₃)₃, (NH₄)₂HPO₄, glikoz, laktoz, maltoz, fruktoz, sakkaroz, üre, ürik asit, laktik asit, askorbik asit, oksalik asit, L-glutasyon, L-sistein, dopamin ve melamin gibi bileşenlerin varlığında FeNPs ile AA'nın dolaylı tespiti yönteminin seçiciliği belirlendi. Elde edilen sonuçlara göre; ürik asit, oksalik asit, L-glutasyon, L-sistein, dopamin ve melamin bileşenleri hariç diğer bileşenlerin prosesle etkileşim yapmadıkları gözlemlendi. NaCl, KCl, CuCl₂, CaCl₂, ZnCl₂, MgCl₂, Al(NO₃)₃, (NH₄)₂HPO₄, glikoz, laktoz, maltoz, fruktoz, sakkaroz, üre ve laktik asit bileşenlerinin geri kazanım oranlarının ($\pm\%3.0$) kabul edilebilir aralıkta olduğu, bu nedenle bu bileşenlerin varlığında AA'nın hassas ve seçici tespitinin etkin bir şekilde yapılabileceği sonucuna varıldı.
- xxix.** FeNPs ile AA'nın dolaylı tespiti yönteminin doğruluk analizi; ticari AA içerikli malzemeler (C vitamini tableti ve C vitaminli su) ve teorik derişimi bilinen AA çözeltileri ile deneyler yapılarak gerçekleştirildi. Verilerin değerlendirilmesi ile geri kazanım değerlerinin % 100.59-104.57 aralığında, RSD değerlerinin ise % 1.14-3.27 aralığında olduğu belirlendi. Güven düzeyi % 95 olarak göz önüne alındığında, hesaplanan bu değerler; bu çalışmada uygulanan FeNPs ile dolaylı AA tespiti yönteminin, özellikle girişim yapabilecek maddelerin bulunduğu ticari örneklerde pratik AA tespiti için doğru ve güvenilir bir şekilde uygulanabilir olduğunu gösterdi.

Tez kapsamında yapılan çalışmalar ve sonuçları dışında yapılan ek çalışmalar ile bu doktora tez çalışması kapsamında yapılması öngörülen çalışmalar ile ilgili öneriler aşağıda maddeler halinde ayrıntılı olarak sunuldu:

- Bu doktora tez çalışması kapsamında elde edilen sonuçlara göre; hiperakümülatör bir bitkiden hazırlanan demir içerikli liç çözeltilisine NaBH₄ ilave edilmesi ile demir içerikli nanopartiküller başarılı bir şekilde sentezlendi. Sentezlenen FeNPs'nin karakterizasyonu çalışmaları ile yapısı doğrulandı. ***Bundan sonra yapılacak çalışmalarda; farklı hiperakümülatör bitkiler kullanılarak demir içerikli veya farklı metal içerikli nanopartiküller sentezlenerek karakterizasyon çalışmaları yapılabilir. Ayrıca, bu çalışma kapsamında metal hiperakümülatörü bitkilerden elde edilen metal çözeltileri ile aynı ve/veya başka bir bitkinin özütünün birlikte kullanıldığı tam anlamıyla yeşil kimya ile uyumlu nanopartikül sentezi yöntemi geliştirilmesi çalışmaları yapıldı ancak henüz başarılı sonuçlar elde edilemedi. İlerleyen zamanlarda bu yöndeki çalışmalara ağırlık verilmesi düşünülmektedir.***

- Bu doktora tez çalışmasında literatürde ilk defa, hiperakümülatör bir bitkiden hazırlanan demir içerikli liç çözeltilisine NaBH_4 ilave edilmesi ile sentezlenen demir içerikli nanopartikül sentezi sırasında in situ (yerinde) $\text{H}_{2(g)}$ üretimi gerçekleştirildi. ***Bundan sonra yapılacak çalışmalarda; bu çalışmadaki $\text{H}_{2(g)}$ üretimi pilot ölçekte çalışılabilir ve bu şekilde üretilen $\text{H}_{2(g)}$ 'nin prototip araçlarda yakıt olarak kullanımı, elektrik enerjisi üretimi gibi alanlarda kullanılabilirliği araştırılabilir.***
- Bu çalışmada geliştirilen yöntem ile sentezlenen FeNPs güçlü antibakteriyel aktiviteye sahiptir ve H_2O_2 ve AA'nın kolorimetrik tespitinde etkin bir şekilde kullanılabilir. Ayrıca, bu çalışmada sentezlenen FeNPs'nin bir florokinolon antibakteriyel madde olan Norfloxacin (NOR) adsorpsiyonunda değerlendirilmesi tek kademeli kesikli adsorpsiyon prosesinde incelendi. Elde edilen verilere göre, $\text{pH}=3.0$ 10 mL 100 mg/L NOR çözeltilisine 500 μL FeNPs deney koşullarında FeNPs ile NOR adsorpsiyon yüzdesi % 23 olarak belirlendi. Aynı deney koşullarında 10 mg/L NOR başlangıç derişimi için yaklaşık % 100 giderim elde edildi. Literatürde NOR adsorpsiyonu için Fe_2O_3 /kitosan [30], $\text{Fe}/\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ [31], Fe-MCM-41 [32], Fe_3O_4 /grafen oksit [33], aktifleştirilmiş manyetik biyoçar [34] gibi malzemeler adsorbent olarak kullanılmaktadır. Literatürden edinilen bilgilere göre, NOR adsorpsiyonu için kullanılan demir içerikli adsorbentlerin; genellikle kitosan, alüminyum oksit, mezoporlu silika, grafen oksit, biyoçar, aktif karbon gibi bazı destek malzemeleri ile kompozit halinde kullanıldıkları görülmektedir. Bu işlemin amacının, hem çözelti ortamına demir salınımını engellemek hem de adsorpsiyon kapasitesini artırmak olduğu düşünülmektedir. ***Bu kapsamda bundan sonra yapılacak çalışmalarda, yukarıda belirtilen destek malzemelerinden biri veya birkaçı ile bu çalışmada sentezlenen FeNPs bir araya getirilerek kompozit bir malzeme sentezlenebilir ve sentezlenen bu kompozit malzemenin NOR adsorpsiyonunda adsorbent olarak değerlendirilebilirliği araştırılabilir. Ayrıca, NOR adsorpsiyonuna etki eden pH, başlangıç NOR derişimi, sıcaklık, adsorbent derişimi, temas süresi gibi çeşitli deneysel koşulların etkisi araştırılıp; adsorpsiyon mekanizması aydınlatılabilir.***
- Bu çalışmada sentezlenen FeNPs'nin Methyl Orange (MO) boyarmaddesinin indirgenmesi ile renk gideriminde katalizör olarak kullanılabilirliği araştırıldı. Bu kapsamda; başlangıç MO derişiminin 200 mg/L, doğal pH (≈ 5.0), sıcaklığın 25 °C, NaBH_4 derişiminin 1.0 g/L, FeNPs derişiminin 0.5 g/L olduğu deneysel koşullarda; sadece NaBH_4 varlığında 2.0 saat süre sonunda MO boyarmaddesinin indirgenmesi gerçekleşmezken, ortama FeNPs'nin ilavesi ile MO

boyarmaddesinin 10 dakika içerisinde tamamen indirgendiği UV-vis spektrofotometresinde spektrum taraması yapılarak tespit edildi. Bu proseste renk giderimi mekanizmasının şu şekilde gerçekleştiği öngörülmektedir; MO ve NaBH_4 'ün bulunduğu reaksiyon ortamına katalizör olarak FeNPs'nin eklenmesi ile elektron verici olan bor-hidrür iyonları ve elektron alıcı olan MO, FeNPs katalizörünün yüzeyine adsorbe olurlar ve burada indirgenme, elektronların bor-hidrür iyonlarından MO boyarmaddesine transferiyle gerçekleşir ve renksiz indirgenme ürünleri oluşur. FeNPs ise, elektron verici maddeden elektron alıcı maddeye daha fazla elektron geçişi sağlayarak bu elektron iletim sürecini geliştirir ve böylelikle MO boyarmaddesinin indirgenmesi ve renk giderimi sağlanır. ***Bundan sonra yapılacak çalışmalarda; FeNPs ile MO boyarmaddesinin indirgenmesi ile renk gideriminde; başlangıç pH'ı, başlangıç boyarmadde derişimi, katalizör derişimi, sıcaklık, temas süresi, NaBH_4 derişimi gibi deneysel koşulların etkisi araştırılabilir ve öngörülen mekanizma sonucu oluşan indirgenme ürünleri GC-MS ile analiz edilerek indirgenme mekanizması aydınlatılabilir.***

- Bu çalışmada sentezlenen FeNPs'nin kolorimetrik glikoz tespitinde kullanılabilirliği araştırıldı ancak başarılı sonuçlar elde edilemedi. Literatürde, kolorimetrik glikoz tespitinde kullanılan demir içerikli nanopartiküllerin genellikle çeşitli destek malzemeleri ile kompozit halinde veya farklı metalik nanopartiküller ile bimetalik nanopartikül şeklinde daha etkin bir şekilde kullanıldıkları görülmektedir. ***Bu nedenle bundan sonra yapılacak çalışmalarda, literatürde kolorimetrik glikoz tespitinde nanopartiküller ile kompozit oluşturduğunda başarılı sonuçlar veren destek malzemeleri veya metalik nanopartiküller ile bu çalışmada geliştirilen nanopartikül sentez yöntemi kullanılarak glikozun kolorimetrik tespiti için yeni bir demir nanopartikül içerikli kompozit malzeme sentezlenebilir. Bu şekilde sentezlenen demir nanopartikül içerikli kompozit malzeme eğer glikozun kolorimetrik tespitinde kullanılabilir özelliğe sahip olursa; bu kompozit malzemenin minimum glikoz tespit sınırı, seçicilik ve kararlılık gibi özellikleri belirlenebilir.***
- ***Bundan sonra yapılacak çalışmalarda yukarıda bahsedilen ön denemeleri yapılan kullanım alanları dışında; literatürde demir içerikli nanopartiküllerin kullanılabildikleri ilaç salımı, katalizör çalışmaları, kirletici giderimi, fonksiyonel malzeme sentezi gibi diğer kullanım***

alanlarında bu çalışmada sentezlenen FeNPs'nin kullanılabilirliği araştırılabilir.

Sonuç olarak; bu doktora tezi çalışması çıktılarının ilgili literatüre önemli katkılarının olduğu söylenebilir. Ayrıca, bu çalışmanın literatüre sağladığı katkılar sonucu ilgili konunun yukarıda örnekleri verildiği gibi geliştirilmesi/genişletilmesi ile ulusal/uluslararası yeni projelerin/tez konularının ortaya çıkarılabilmesi mümkündür.



KAYNAKLAR

- [1]. Ghaedi, M.; Sadeghian, B.; Pebdani, A. A.; Sahraei, R.; Daneshfar, A.; Duran, C., Kinetics, Thermodynamics and Equilibrium Evaluation of Direct Yellow 12 Removal by Adsorption onto Silver Nanoparticles Loaded Activated Carbon. *Chemical Engineering Journal* **2012**, 187, 133–141.
- [2]. Tavakoli, A.; Sohrabi, M.; Kargari, A., A Review of Methods for Synthesis of Nanostructured Metals with Emphasis on Iron Compounds. *Chemical Papers* **2007**, 61, (3), 151–170.
- [3]. Rufus, A.; Sreeju, N.; Vilas, V.; Philip, D., Biosynthesis of Hematite (α -Fe₂O₃) Nanostructures: Size Effects on Applications in Thermal Conductivity, Catalysis, and Antibacterial Activity. *Journal of Molecular Liquids* **2017**, 242, 537–549.
- [4]. Prabhu, Y. T.; Rao, K. V.; Kumari, B. S.; Kumar, V. S. S.; Pavani, T., Synthesis of Fe₃O₄ Nanoparticles and Its Antibacterial Application. *International Nano Letters* **2015**, 5, (2), 85–92.
- [5]. Taimoory, S. M.; Rahdar, A.; Aliahmad, M.; Sadeghfar, F.; Hajinezhad, M. R.; Jahantigh, M.; Shahbazi, P.; Trant, J. F., The Synthesis and Characterization of a Magnetite Nanoparticle with Potent Antibacterial Activity and Low Mammalian Toxicity. *Journal of Molecular Liquids* **2018**, 265, 96–104.
- [6]. Bahiraei, A.; Afkhami, A.; Madrakian, T.; Gheitaran, R., Preparation and Characterization of γ -Fe₂O₃ Nanoparticles and Investigation of Its Adsorption Performance for Sulfide, Sulfite and Thiosulfate from Aqueous Solutions Using Ultrasonic Assisted Method: Modeling and Optimization. *Ultrasonics Sonochemistry* **2018**, 40, 1049–1058.
- [7]. Hegazey, R. M.; Abdelrahman, E. A.; Kotp, Y. H.; Hameed, A. M.; Subaihi, A., Facile Fabrication of Hematite Nanoparticles from Egyptian Insecticide Cans for Efficient Photocatalytic Degradation of Rhodamine B Dye. *Journal of Materials Research and Technology* **2020**, 9, (2), 1652–1661.
- [8]. Ren, G.; Wang, X.; Zhang, Z.; Zhong, B.; Yang, L.; Xu, D.; Yang, X., Facile Synthesis of Maghemite Nanoparticle from Waste Green Vitriol as Adsorbent for Adsorption of Arsenite. *Journal of Molecular Liquids* **2018**, 259, (2017), 32–39.
- [9]. Su, L.; Feng, J.; Zhou, X.; Ren, C.; Li, H.; Chen, X., Colorimetric Detection of Urine Glucose Based ZnFe₂O₄ Magnetic Nanoparticles. *Analytical Chemistry* **2012**, 84, (13), 5753–5758.
- [10]. Qian, J.; Yang, X.; Jiang, L.; Zhu, C.; Mao, H.; Wang, K., Facile Preparation of Fe₃O₄ Nanospheres/Reduced Graphene Oxide Nanocomposites with High Peroxidase-like Activity for Sensitive and Selective Colorimetric Detection of Acetylcholine. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **2014**, 201, 160–166.
- [11]. Jeong, U.; Shin, H. H.; Kim, Y., Functionalized Magnetic Core-Shell Fe@SiO₂ Nanoparticles

- as Recoverable Colorimetric Sensor for Co²⁺ Ion. *Chemical Engineering Journal* **2015**, 281, 428–433.
- [12]. Hammamchi, H., Biyolojik Yollar İle Sentezlenen Organik/İnorganik Nanopartiküllerin Biyoaktivitelerinin Belirlenmesi Ve Tedavi Amaçlı Kullanımları, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2019.
- [13]. Ersöz, M.; Işıtan, A., *Nanoteknolojinin Temelleri*; 1. Baskı; BilalOfset Basım-Yayın & Matbaacılık, Denizli, 2013; p 53.
- [14]. Gürmen, S.; Ebin, B., Nanopartiküller ve Üretim Yöntemleri. *TMMOB Metalurji Mühendisleri Odası Dergisi* **2010**, 31–38.
- [15]. Patra, J. K.; Baek, K. H., Green Nanobiotechnology: Factors Affecting Synthesis and Characterization Techniques. *Journal of Nanomaterials* **2014**, 219-231.
- [16]. Mukherjee, S.; Patra, C. R., Biologically Synthesized Metal Nanoparticles: Recent Advancement and Future Perspectives in Cancer Theranostics. *Future Science OA* **2017**, 3, (3), 2056-5623.
- [17]. <http://acikerisim.nku.edu.tr:8080/xmlui/handle/20.500.11776/2055> (20.02.2020)
- [18]. Kürüm, N. G., Norveç (Røros) Bakır Madenlerinde Yetişen Bazı Bitkilerde Metal Birikimi Ve Fitoremediasyon Potansiyelinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2016.
- [19]. Tunca, E. Ü., Nanoteknolojini Temeli Nanopartiküller ve Nanopartiküllerin Fitoremediasyonu. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi* **2015**, 5, (2), 23–34.
- [20]. Ali, H.; Khan, E.; Sajad, M. A., Phytoremediation of Heavy Metals-Concepts and Applications. *Chemosphere* **2013**, 91, (7), 869–881.
- [21]. Chehregani, A.; Noori, M.; Yazdi, H. L., Phytoremediation of Heavy-Metal-Polluted Soils: Screening for New Accumulator Plants in Angouran Mine (Iran) and Evaluation of Removal Ability. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2009**, 72, (5), 1349–1353.
- [22]. Ulukol, H., Çanakkale Biga Lapseki Ve Yenice Kalkım Civarındaki Bazı Pb-Zn Yataklarının Biyojeokimyasal Olarak İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2010.
- [23]. Shrivastava, M.; Khandelwal, A.; Srivastava, S., Plant-Metal Interactions. *Plant-Metal Interactions*. 1st ed.; Springer Press: New York, 2019; p 60.
- [24]. Yazılan, S., Dilovasi Organize Sanayi Bölgesi (Gebze-Kocaeli)' Ndeki Ağır Metal Kirliliğinin Bitkiler Üzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2008.
- [25]. Eke, M., Nikel Hiperakümülatörü *Thlaspi Elegans* Boiss'den Nikelin Asitle Ekstraksiyonu Ve Elektrokimyasal Yolla Metal Olarak Geri Kazanımının Araştırılması, Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2010.

- [26]. Keser, G., *Nasturtium Officinale* R. Br.'de Kurşunun Strese Bağlı Enzimlerin Aktivitelerine, Gelişmeye, Mineral Ve Klorofil İçeriğine Etkileri, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2010.
- [27]. Becerril, J. M.; Amezaga, I.; Albizu, I.; Garbisu, C., Kraft Paper: Extensible Multiwall Prices up, While Sack Papers' Lag. *Pulp and Paper* **2005**, 79, (11), 15-25.
- [28]. Tak, H. I.; Ahmad, F.; Babalola, O. O., Advances in the Application of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria in Phytoremediation of Heavy Metals. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* **2013**, 223, 33-52.
- [29]. Vymazal, J., Concentration Is Not Enough to Evaluate Accumulation of Heavy Metals and Nutrients in Plants. *Science of the Total Environment* **2016**, 544, 495-498.
- [30]. Turan, H.; Özdemir, Z.; Zorlu, S., Çiftehan (Ulukışla-Niğde) Bölgesinin Cu, Zn, Fe, Mn Ve Ni İçin Biyojeokimyasal Anomalilerin Araştırılması. *İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yerbilimleri Dergisi* **2006**, 2, (19), 131-140.
- [31]. Özdemir, Z.; Demir, E., Fındıkpınarı-Erdemli/Mersin Bölgesinde Nikel Akümülatörü Bir Bitki Türü *Alyssum Murale* Waldst.&kit. *Jeoloji Muhendisligi Dergisi* **2010**, 34, (1), 57-70.
- [32]. Demir, E.; Özdemir, Z., Kazanlı - Mersin Bölgesinde Cu, Mn, Zn, Cd ve Pb İçin Biyojeokimyasal Anomalilerin İncelenmesi ve Çevresel Ortamin Yorumlanması. *Jeoloji Muhendisligi Dergisi* **2013**, 37, (2), 119-140.
- [33]. Özdemir, Z.; Zorlu, S.; Akyildiz, M., Kırka (Eskişehir), Bigadiç (Balıkesir) ve Emet (Kütahya) Bor Yatakları Bölgesinde Mn, Zn, Cu, Ni ve Co İçin Biyojeokimyasal Anomalilerin Araştırılması. *Jeoloji Muhendisligi Dergisi* **2014**, 38, (2), 135-149.
- [34]. Kara, H.; Kalender, L., Geli Dere (Baskil- Elazığ) Çevresindeki *Verbascum Euphraticum* L. Köklerinde ve Üzerinde Yetiştigi Dere Sedimentindeki As , Cu , Mn , Pb ve Zn ' Nun D Ağılımı. **2015**, 27, (1), 73-84.
- [35]. Özdemir, Z., *Pinus Brutia* as a Biogeochemical Medium to Detect Iron and Zinc in Soil Analysis, Chromite Deposits of the Area Mersin, Turkey. *Chemie der Erde* **2005**, 65, (1), 79-88.
- [36]. Dogan, Y.; Durkan, N.; Baslar, S., Trace Element Pollution Biomonitoring Using the Bark of *Pinus Brutia* (Turkish Red Pine) in the Western Anatolian Part of Turkey. *Trace Elements and Electrolytes* **2007**, 24, (3), 146-150.
- [37]. Dogan, Y.; Ugulu, I.; Baslar, S., Bir Biyolojik İndikatör Olarak Kızılçam: Yaprak ve Kabuklarındaki İz Element Birikimlerinin Karşılaştırılması. *Ekoloji* **2010**, 96, (75), 88-96.
- [38]. Ganatsas, P.; Tsakalimi, M.; Zachariadis, G., Effect of Air Traffic Pollution on Seed Quality Characteristics of *Pinus Brutia*. *Environmental and Experimental Botany* **2011**, 74, (1), 157-161.
- [39]. Yildirim, C., Amasya İli Şehir Merkezinde Bulunan *Elaeagnus Angustifolia* L . ve *Pinus*

- Brutia Ten. Determination of Some Heavy Metal Contents in *Elaeagnus Angustifolia* L. and *Pinus*. **2012**, 5, (2), 7–11.
- [40]. Yalçın, İ. E., İstanbul'da *Pinus Brutia* Ten. (Pinaceae)'de Ağır Metal Birikimi ve Habitatında Partikül Madde (PM) Ölçümleri, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2013.
- [41]. Muhamed, H.; Youssef, S.; Mustafa, A.; Suliman, H.; Abdulqader, A.; Mohammed, H.; Michalet, R., Natural Regeneration of *Pinus Brutia* Ten. in a Recreational Public Forest in Zawita-Kurdistan Region, Iraq. *Journal of Forestry Research* **2019**, 30, (5), 1849–1857.
- [42]. De Meo, I.; Lagomarsino, A.; Agnelli, A. E.; Paletto, A., Direct and Indirect Assessment of Carbon Stock in Deadwood: Comparison in Calabrian Pine (*Pinus Brutia* Ten. Subsp. *Brutia*) Forests in Italy. *Forest Science* **2019**, 65, (4), 460–468.
- [43]. Bilgili, E.; Coskuner, K. A.; Usta, Y.; Goltas, M., Modeling Surface Fuels Moisture Content in *Pinus Brutia* Stands. *Journal of Forestry Research* **2019**, 30, (2), 577–587.
- [44]. Salih, T. K.; Younis, M. S.; Wali, S. T., Dendroclimatological Analysis of *Pinus Brutia* Ten. Grown in Swaratoka, Kurdistan Region—Iraq. *Recent Researches in Earth and Environmental Sciences*. Springer Press: New York, 2019, p 10.
- [45]. Rahsan Ivgin Tunca, Okan Ozgul, Murat Yabanlı, I. S., Evaluation Of Heavy Metal Concentrations In The Xylem Sap Of Turkish Pine (*Pinus Brutia* Ten.) and Honeydew of *Marchalina Hellenica*, *Gennadius* (Hemiptera: Marchalinidae), Collected In Western Anatolia, Turkey. *Journal of Chemical Information and Modeling* **2013**, 53, (9), 1689–1699.
- [46]. Boydak, M.; Caliskan, S., Efectos de Choque Térmico Sobre La Germinación de Semillas de Pino Rojo de Turquía (*Pinus Brutia*). *Bosque* **2016**, 37, (2), 327–333.
- [47]. Öztetik, E.; İcçan, M., Characterization of Glutathione S-Transferases from Needles of *Pinus Brutia* Ten. Trees. *Fresenius Environmental Bulletin* **2013**, 22, (2A), 516–523.
- [48]. Güntekin, E.; Aydın, T. Y.; Üner, B., Utjecaj Toplinske Obrade Na Fizikalna i Mehanička Svojstva Te Na Svojstva Lijepljenih Spojeva Drva Kalabrijskog Bora (*Pinus Brutia* Ten.). *Drvna Industrija* **2017**, 68, (2), 99–106.
- [49]. Kılıç, M., Determination of the Surface Roughness Values of Turkish Red Pine (*Pinus Brutia* (Ten.)) Woods. *BioResources* **2017**, 12, (1), 1216–1227.
- [50]. Öz, M.; Deniz, İ.; Okan, O. T.; Said Fidan, M., Kemijski Sastav Oleorezina i Smole Galerije Ličinki Sa Stabla Bora (*Pinus Brutia*) Napadnutoga Insektima *Dioryctria Sylvestrella* Ratz. *Drvna Industrija* **2015**, 66, (3), 179–188.
- [51]. Eker, M.; Spinelli, R.; Gürlevik, N., Recovering Energy Biomass from Sustainable Forestry Using Local Labor Resources. *Journal of Cleaner Production* **2017**, 157, 57–64.
- [52]. Şensöz, S.; Can, M., Pyrolysis of Pine (*Pinus Brutia* Ten.) Chips: 1. Effect of Pyrolysis Temperature and Heating Rate on the Product Yields. *Energy Sources* **2002**, 24, (4), 347–

- 355.
- [53]. Paduraru, C. F.; Filip, N.; Trifan, A.; Miron, S. D.; Badescu, C.; Costache, I. I.; Namat, R. Al; Diaconescu, B.; Dumitrescu, N.; Ciocoiu, M., Evaluation of the Effects of a Pinus Brutia Bark Extract on Biochemical Parameters and Blood Pressure in an Experimental Arterial Hypertension. *Revista de Chimie* **2018**, 69, (7), 1718–1721.
- [54]. Yilmaz, C.; Işcan, M., Kuraklık Baskisi Altındaki Pinus Brutia Ten. Ağaçları İğne Yapraklarında Glutasyon S-Transferaz Aktiviteleri ve Glutasyon Seviyeleri. *Turkish Journal of Biochemistry* **2014**, 39, (2), 238–243.
- [55]. Kaundun, S. S.; Lebreton, P.; Fady, B., Genetic Variation in the Needle Flavonoid Composition of Pinus Brutia Var. Brutia Populations. *Biochemical Systematics and Ecology* **1998**, 26, (5), 485–494.
- [56]. Yaşar, S., Spectrophotometric Determination of Monosaccharide Composition of Wood (Pinus Brutia Ten.) Using Artificial Neural Network Modelling. *Asian journal of chemistry* **2014**, 26, (18), 6097–6100.
- [57]. Bagci, E.; Hayta, S.; Dogan, G., Chemical Composition of Essential Oils from Bark and Leaves of Pinus Brutia Ten. from Turkey. *Asian Journal of Chemistry* **2011**, 23, (6), 2782–2784.
- [58]. Mekhalif, T.; Guediri, K.; Reffas, A.; Chebli, D.; Bouguettoucha, A.; Amrane, A., Effect of Acid and Alkali Treatments of a Forest Waste, Pinus Brutia Cones, on Adsorption Efficiency of Methyl Green. *Journal of Dispersion Science and Technology* **2017**, 38, (4), 463–471.
- [59]. Sarikaya, O.; Çatal, Y., Effects of Dioryctria Sylvestrella (Ratzeburg, 1840) on Basal Area Increment Loss of the Young Brutian Pine (Pinus Brutia Ten.) Trees in the South-Western of Turkey. *Research Journal of Biotechnology* **2014**, 9, (3), 24–28.
- [60]. Yildirim, T.; Kaya, Z.; Işık, K., Induction of Embryogenic Tissue and Maturation of Somatic Embryos in Pinus Brutia TEN. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **2006**, 87, (1), 67–76.
- [61]. Üzümlü, Ç.; Shahwan, T.; Eroğlu, A. E.; Hallam, K. R.; Scott, T. B.; Lieberwirth, I., Synthesis and Characterization of Kaolinite-Supported Zero-Valent Iron Nanoparticles and Their Application for the Removal of Aqueous Cu²⁺ and Co²⁺ Ions. *Applied Clay Science* **2009**, 43(2), 172–181.
- [62]. Abdelsalam, E.; Samer, M.; Attia, Y. A.; Abdel-Hadi, M. A.; Hassan, H. E.; Badr, Y., Influence of Zero Valent Iron Nanoparticles and Magnetic Iron Oxide Nanoparticles on Biogas and Methane Production from Anaerobic Digestion of Manure. *Energy* **2017**, 120, 842–853.
- [63]. Koç, E.; Şenel, M. C., Dünyada ve Türkiyede Enerji Durumu. *Mühendis ve Makina* **2013**, 1, 32–44.
- [64]. World Energy Outlook IEA. <https://www.iea.org/reports/world-energy-outlook-2019/data> (02.03.2020)
- [65]. Kilci, E., Experimental Study Of Availability Of Using Of CO₂ Coming From Exhaust In

- Hydrogen Production Technology Of NaBH₄, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2017.
- [66]. World Energy Council, World Energy Scenarios 2019: Exploring Innovation Pathways to 2040. *World Energy Council* **2019**, 1–148.
- [67]. Ruhe, C. H. W. Statistical Review of World Energy. *The Journal of the American Medical Association* **1973**, 225 (3), 299– 306
- [68]. Şenaktaş, B., Hidrojen Enerjisi, Üretimi ve Uygulamaları, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 2005.
- [69]. Kahraman, N.; Akansu, S. O.; Albayrak, B., İçten Yanmalı Motorlarda Alternatif Yakıt Olarak Hidrojen Kullanılması. *Mühendislik ve Makina* 48, (569), 9–15.
- [70]. Boran, A., Design Of Prototype Reactor For Hydrogen Production From Sodium Borohydride, Yüksek Lisans Tezi, Ortadoğu Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2011.
- [71]. Yaşar, A. Ö., Akıllı Hidrojel Ve Kompozitlerin İçerisinde Metal Nanopartiküllerin Hazırlanması Ve Bunların Hidrojen Üretiminde Kullanılması, Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale, 2013.
- [72]. Arınan E., Sodyum Borhidrürden Katalitik Hidrojen Üretimi İçin Katalizör Geliştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2019.
- [73]. Singh, R.; Dutta, S., A Review on H₂ Production through Photocatalytic Reactions Using TiO₂/TiO₂-Assisted Catalysts. *Fuel* **2018**, 220, 607–620.
- [74]. Chandrasekhar, K.; Lee, Y. J.; Lee, D. W., Biohydrogen Production: Strategies to Improve Process Efficiency through Microbial Routes. *International Journal of Molecular Sciences* **2015**, 16, (4), 8266–8293.
- [75]. Schlesinger, H. I.; Brown, H. C.; Finholt, A. E.; Gilbreath, J. R.; Hoekstra, H. R.; Hyde, E. K., Sodium Borohydride, Its Hydrolysis and Its Use as a Reducing Agent and in the Generation of Hydrogen. *Journal of the American Chemical Society* **1953**, 75, (1), 215–219.
- [76]. Karapınar, E., Alkali Sodyum Borhidrür Çözeltisinden Katalitik Hidrojen Üretimi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2008.
- [77]. Kundakçı, Ö., Kesikli Ve Sürekli Sistemlerde Sıfır Değerlikli Demir Nano Tanecikleri Ve Manyetik Biyosorbentin Sentezi, Karakterizasyonu Ve Sulu Çözeltilerden Boyar Madde Giderimi İçin Kullanılabilirliği, Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Sivas, 2015.
- [78]. Gül, E., Sıfır Değerlikli Demir İle Reaktif Mavi 220 Boyarmaddesinin Giderimi, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, 2017.
- [79]. Bhateria, R.; Singh, R., A Review on Nanotechnological Application of Magnetic Iron Oxides for Heavy Metal Removal. *Journal of Water Process Engineering* **2019**, 31, 100845-100855.

- [80]. Campos, E. A.; Pinto, D. V. B. S.; de Oliveira, J. I. S.; Mattos, E. da C.; Dutra, R. de C. L., Synthesis, Characterization and Applications of Iron Oxide Nanoparticles - A Short Review. *Journal of Aerospace Technology and Management* **2015**, 7, (3), 267–276.
- [81]. Wei, Y.; Han, B.; Hu, X.; Lin, Y.; Wang, X.; Deng, X., Synthesis of Fe₃O₄ Nanoparticles and Their Magnetic Properties. *Procedia Engineering* **2012**, 27, (2011), 632–637.
- [82]. Liu, H.; Chen, T.; Frost, R. L., An Overview of the Role of Goethite Surfaces in the Environment. *Chemosphere* **2014**, 103, 1–11.
- [83]. Opdyke, N. D.; Channell, J. E. T., Magnetization Processes and Magnetic Properties of Sediments. In *International Geophysics* **1996**; 64, 26–48.
- [84]. Strangway, D. W.; Honea, R. M.; McMahon, B. E.; Larson, E. E., The Magnetic Properties of Naturally Occurring Goethite. *Geophysical Journal of the Royal Astronomical Society* **1968**, 15, (4), 345–359.
- [85]. Chaparro, M. A. E.; Sinito, A. M.; Bidegain, J. C.; de Barrio, R. E., Magnetic Studies of Natural Goethite Samples from Tharsis, Huelva, Spain. *Geofisica Internacional* **2006**, 45, (4), 219–230.
- [86]. Tran, N.; Mir, A.; Mallik, D.; Sinha, A.; Nayar, S.; Webster, T. J., Bactericidal Effect of Iron Oxide Nanoparticles on Staphylococcus Aureus. *International Journal of Nanomedicine* **2010**, 5, (1), 277–283.
- [87]. Naseem, T.; Farrukh, M. A., Antibacterial Activity of Green Synthesis of Iron Nanoparticles Using Lawsonia Inermis and Gardenia Jasminoides Leaves Extract. *Journal of Chemistry* **2015**, 158, (4), 39–42.
- [88]. Rufus, A.; Sreeju, N.; Philip, D., Synthesis of Biogenic Hematite (α -Fe₂O₃) Nanoparticles for Antibacterial and Nanofluid Applications. *RSC Advances* **2016**, 6, (96), 94206–94217.
- [89]. Pallela, P. N. V. K.; Ummey, S.; Ruddaraju, L. K.; Gadi, S.; Cherukuri, C. S. L.; Barla, S.; Pammi, S. V. N., Antibacterial Efficacy of Green Synthesized α -Fe₂O₃ Nanoparticles Using Sida Cordifolia Plant Extract. *Heliyon* **2019**, 5, (11), e02765- e02772.
- [90]. Arokiyaraj, S.; Saravanan, M.; Udaya Prakash, N. K.; Valan Arasu, M.; Vijayakumar, B.; Vincent, S., Enhanced Antibacterial Activity of Iron Oxide Magnetic Nanoparticles Treated with Argemone Mexicana L. Leaf Extract: An in Vitro Study. *Materials Research Bulletin* **2013**, 48, (9), 3323–3327.
- [91]. Behera, S. S.; Patra, J. K.; Pramanik, K.; Panda, N.; Thatoi, H., Characterization and Evaluation of Antibacterial Activities of Chemically Synthesized Iron Oxide Nanoparticles. *World Journal of Nano Science and Engineering* **2012**, 02, (04), 196–200.
- [92]. Rana, P.; Sharma, S.; Sharma, R.; Banerjee, K., Apple Pectin Supported Superparamagnetic (γ -Fe₂O₃) Maghemite Nanoparticles with Antimicrobial Potency. *Materials Science for Energy Technologies* **2019**, 2, (1), 15–21.

- [93]. Mahdy, S. A. H., Microbicidal Effect of Fe₂O₃ Nanoparticles in Antimicrobial Agent System. *Journal of Engineering* **2016**, 22, (10), 52–61.
- [94]. Mahdy, S. A.; Raheed, Q. J.; Kalaichelvan, P. T., Antimicrobial Activity of Zero-Valent Iron Nanoparticles. *International Journal of Modern Engineering Research (IJMER)* **2012**, 2, (1), 578–581.
- [95]. Katata-Seru, L.; Moremedi, T.; Aremu, O. S.; Bahadur, I., 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* **2018**, 256, 296–304.
- [96]. Iconaru, S. L.; Guégan, R.; Popa, C. L.; Motelica-Heino, M.; Ciobanu, C. S.; Predoi, D., Magnetite (Fe₃O₄) Nanoparticles as Adsorbents for As and Cu Removal. *Applied Clay Science* **2016**, 134, 128–135.
- [97]. Adeli, M.; Yamini, Y.; Faraji, M., Removal of Copper, Nickel and Zinc by Sodium Dodecyl Sulphate Coated Magnetite Nanoparticles from Water and Wastewater Samples. *Arabian Journal of Chemistry* **2017**, 10, S514–S521.
- [98]. Radoń, A.; Łoński, S.; Warski, T.; Babilas, R.; Tański, T.; Dudziak, M.; Łukowiec, D., Catalytic Activity of Non-Spherical Shaped Magnetite Nanoparticles in Degradation of Sudan I, Rhodamine B and Methylene Blue Dyes. *Applied Surface Science* **2019**, 487, 1018–1025.
- [99]. Ding, D.; Liu, C.; Ji, Y.; Yang, Q.; Chen, L.; Jiang, C.; Cai, T., Mechanism Insight of Degradation of Norfloxacin by Magnetite Nanoparticles Activated Persulfate: Identification of Radicals and Degradation Pathway. *Chemical Engineering Journal* **2017**, 308, 330–339.
- [100]. Sheikholeslami, Z.; Kebria, D. Y.; Qaderi, F., Application of γ -Fe₂O₃ Nanoparticles for Pollution Removal from Water with Visible Light. *Journal of Molecular Liquids* **2020**, 299, 2–10.
- [101]. Yadav, V. K.; Fulekar, M. H., Biogenic Synthesis of Maghemite Nanoparticles (γ -Fe₂O₃) Using Tridax Leaf Extract and Its Application for Removal of Fly Ash Heavy Metals (Pb, Cd). *Materials Today: Proceedings* **2018**, 5, (9), 20704–20710.
- [102]. Rufus, A.; Sreeju, N.; Philip, D., Size Tunable Biosynthesis and Luminescence Quenching of Nanostructured Hematite (α -Fe₂O₃) for Catalytic Degradation of Organic Pollutants. *Journal of Physics and Chemistry of Solids* **2019**, 124, 221–234.
- [103]. Farhan, A. M.; Abdullah, H. I.; Ali, A. J., Sol-Gel Synthesis of Hematite Nanoparticles and Photo Degradation of Cibacron Red FN-R Dye. *Baghdad Science Journal* **2017**, 14, (3), 539–546.
- [104]. Ghosh, M. K.; Poinern, G. E. J.; Issa, T. B.; Singh, P., Arsenic Adsorption on Goethite Nanoparticles Produced through Hydrazine Sulfate Assisted Synthesis Method. *Korean Journal of Chemical Engineering* **2012**, 29, (1), 95–102.

- [105]. Sheals, J.; Sjöberg, S.; Persson, P., Adsorption of Glyphosate on Goethite: Molecular Characterization of Surface Complexes. *Environmental Science and Technology* **2002**, 36, (14), 3090–3095.
- [106]. Qin, X.; Liu, F.; Zhao, L.; Hou, H.; Wang, G.; Li, F.; Weng, L., Adsorption of Levofloxacin to Goethite: Batch and Column Studies. *Environmental Engineering Science* **2016**, 33, (4), 235–241.
- [107]. Kim, C.; Lan, Y.; Deng, B., Kinetic Study of Hexavalent Cr(VI) Reduction by Hydrogen Sulfide through Goethite Surface Catalytic Reaction. *Geochemical Journal* **2007**, 41, (6), 397–405.
- [108]. Fazlzadeh, M.; Rahmani, K.; Zarei, A.; Abdoallahzadeh, H.; Nasiri, F.; Khosravi, R., A Novel Green Synthesis of Zero Valent Iron Nanoparticles (NZVI) Using Three Plant Extracts and Their Efficient Application for Removal of Cr(VI) from Aqueous Solutions. *Advanced Powder Technology* **2017**, 28, (1), 122–130.
- [109]. Bae, S.; Gim, S.; Kim, H.; Hanna, K., Effect of NaBH₄ on Properties of Nanoscale Zero-Valent Iron and Its Catalytic Activity for Reduction of p-Nitrophenol. *Applied Catalysis B: Environmental* **2016**, 182, 541–549.
- [110]. Nascimento, M. A.; Lopes, R. P.; Cruz, J. C.; Silva, A. A.; Lima, C. F., Sulfentrazone Dechlorination by Iron-Nickel Bimetallic Nanoparticles. *Environmental Pollution* **2016**, 211, 406–413.
- [111]. Sun, Y. P.; Li, X. Q.; Zhang, W. X.; Wang, H. P., A Method for the Preparation of Stable Dispersion of Zero-Valent Iron Nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **2007**, 308, (1–3), 60–66.
- [112]. Zhu, C.; Fang, G.; Dionysiou, D. D.; Liu, C.; Gao, J.; Qin, W.; Zhou, D., Efficient Transformation of DDTs with Persulfate Activation by Zero-Valent Iron Nanoparticles: A Mechanistic Study. *Journal of Hazardous Materials* **2016**, 316, 232–241.
- [113]. Fang, Z.; Chen, J.; Qiu, X.; Qiu, X.; Cheng, W.; Zhu, L., Effective Removal of Antibiotic Metronidazole from Water by Nanoscale Zero-Valent Iron Particles. *Desalination* **2011**, 268, (1–3), 60–67.
- [114]. Wu, Y.; Yue, Q.; Gao, Y.; Ren, Z.; Gao, B., Performance of Bimetallic Nanoscale Zero-Valent Iron Particles for Removal of Oxytetracycline. *Journal of Environmental Sciences (China)* **2018**, 69, 173–182.
- [115]. Xie, Y.; Yi, Y.; Qin, Y.; Wang, L.; Liu, G.; Wu, Y.; Diao, Z.; Zhou, T.; Xu, M., Perchlorate Degradation in Aqueous Solution Using Chitosan-Stabilized Zero-Valent Iron Nanoparticles. *Separation and Purification Technology* **2016**, 171, 164–173.
- [116]. Messele, S. A.; Bengoa, C.; Stüber, F.; Fortuny, A.; Fabregat, A.; Font, J., Catalytic Wet Peroxide Oxidation of Phenol Using Nanoscale Zero-Valent Iron Supported on Activated Carbon. *Desalination and Water Treatment* **2016**, 57, (11), 5155–5164.

- [117]. Izadi, A.; Safaeijavan, R.; Moniri, E.; Alavi, S. A., Green Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles Using *Carum Carvi* L. and Modified with Chitosan in Order to Optimize the Anti-Cancer Drug Adsorption. *Int. J. Bio-Inorg. Hybr. Nanomater* **2018**, 7, (1), 71–78.
- [118]. Teng, Y.; Du, Y.; Shi, J.; Pong, P. W. T., Magnetic Iron Oxide Nanoparticle-Hollow Mesoporous Silica Spheres: Fabrication and Potential Application in Drug Delivery. *Current Applied Physics* **2020**, 20, (2), 320–325.
- [119]. Thi, T. T. H.; Tran, D. H. N.; Bach, L. G.; Quang, H. V.; Nguyen, D. C.; Park, K. D.; Nguyen, D. H., Functional Magnetic Core-Shell System-Based Iron Oxide Nanoparticle Coated with Biocompatible Copolymer for Anticancer Drug Delivery. *Pharmaceutics* **2019**, 11, (3), 120–133.
- [120]. Liu, M. C.; Jin, S. F.; Zheng, M.; Wang, Y.; Zhao, P. L.; Tang, D. T.; Chen, J.; Lin, J. Q.; Wang, X. H.; Zhao, P., Daunomycin-Loaded Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles: Preparation, Magnetic Targeting, Cell Cytotoxicity, and Protein Delivery Research. *Journal of Biomaterials Applications* **2016**, 31, (2), 261–272.
- [121]. Hussein-Al-Ali, S. H.; El Zowalaty, M. E.; Hussein, M. Z.; Ismail, M.; Webster, T. J., Synthesis, Characterization, Controlled Release, and Antibacterial Studies of a Novel Streptomycin Chitosan Magnetic Nanoantibiotic. *International Journal of Nanomedicine* **2014**, 9, (1), 549–557.
- [122]. Niemirowicz, K.; Durnaś, B.; Tokajuk, G.; Głuszek, K.; Wilczewska, A. Z.; Misztalewska, I.; Mystkowska, J.; Michalak, G.; Sodo, A.; Wątek, M.; Kiziewicz, B.; Gózdź, S.; Głuszek, S.; Bucki, R., Magnetic Nanoparticles as a Drug Delivery System That Enhance Fungicidal Activity of Polyene Antibiotics. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* **2016**, 12, (8), 2395–2404.
- [123]. Shelat, R.; Chandra, S.; Khanna, A., Detailed Toxicity Evaluation of β -Cyclodextrin Coated Iron Oxide Nanoparticles for Biomedical Applications. *International Journal of Biological Macromolecules* **2018**, 110, 357–365.
- [124]. Akilo, O. D.; Choonara, Y. E.; Strydom, A. M.; Du Toit, L. C.; Kumar, P.; Modi, G.; Pillay, V., AN in Vitro Evaluation of a Carmustine-Loaded Nano-Co-Plex for Potential Magnetic-Targeted Intranasal Delivery to the Brain. *International Journal of Pharmaceutics* **2016**, 500, (1–2), 196–209.
- [125]. Shahabadi, N.; Falsafi, M.; Mansouri, K., Improving Antiproliferative Effect of the Anticancer Drug Cytarabine on Human Promyelocytic Leukemia Cells by Coating on Fe₃O₄ at SiO₂ Nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2016**, 141, 213–222.
- [126]. Sirivisoot, S.; Harrison, B. S., Magnetically Stimulated Ciprofloxacin Release from Polymeric Microspheres Entrapping Iron Oxide Nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine* **2015**, 10, 4447–4458.

- [127]. Yin, H.; Yu, S.; Casey, P. S.; Chow, G. M., Synthesis and Properties of Poly(d,l-Lactide) Drug Carrier with Maghemite Nanoparticles. *Materials Science and Engineering C* **2010**, 30, (4), 618–623.
- [128]. Wei, H.; Wang, E., Fe₃O₄ Magnetic Nanoparticles as Peroxidase Mimetics and Their Applications in H₂O₂ and Glucose Detection. *Analytical Chemistry* **2008**, 80, (6), 2250–2254.
- [129]. Ding, N.; Yan, N.; Ren, C.; Chen, X., Colorimetric Determination of Melamine in Dairy Products by Fe₃O₄ Magnetic Nanoparticles-H₂O₂-ABTS Detection System. *Analytical Chemistry* **2010**, 82, (13), 5897–5899.
- [130]. Christus, A. A. B.; Panneerselvam, P.; Ravikumar, A.; Morad, N.; Sivanesan, S., Colorimetric Determination of Hg(II) Sensor Based on Magnetic Nanocomposite (Fe₃O₄@ZIF-67) Acting as Peroxidase Mimics. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2018**, 364, (2), 715–724.
- [131]. Song, S.; Liu, Y.; Song, A.; Zhao, Z.; Lu, H.; Hao, J., Peroxidase Mimetic Activity of Fe₃O₄ Nanoparticle Prepared Based on Magnetic Hydrogels for Hydrogen Peroxide and Glucose Detection. *Journal of Colloid and Interface Science* **2017**, 506, 46–57.
- [132]. Sun, X.; Guo, S.; Liu, Y.; Sun, S., Dumbbell-like PtPd-Fe₃O₄ Nanoparticles for Enhanced Electrochemical Detection of H₂O₂. *Nano Letters* **2012**, 12, (9), 4859–4863.
- [133]. Li, Q.; Tang, G.; Xiong, X.; Cao, Y.; Chen, L.; Xu, F.; Tan, H., Carbon Coated Magnetite Nanoparticles with Improved Water-Dispersion and Peroxidase-like Activity for Colorimetric Sensing of Glucose. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **2015**, 215, 86–92.
- [134]. Jiang, Y.; Song, N.; Wang, C.; Pinna, N.; Lu, X., A Facile Synthesis of Fe₃O₄/Nitrogen-Doped Carbon Hybrid Nanofibers as a Robust Peroxidase-like Catalyst for the Sensitive Colorimetric Detection of Ascorbic Acid. *Journal of Materials Chemistry B* **2017**, 5, (27), 5499–5505.
- [135]. Chen, S.; Chi, M.; Yang, Z.; Gao, M.; Wang, C.; Lu, X., Carbon Dots/Fe₃O₄ Hybrid Nanofibers as Efficient Peroxidase Mimics for Sensitive Detection of H₂O₂ and Ascorbic Acid. *Inorganic Chemistry Frontiers* **2017**, 4, (10), 1621–1627.
- [136]. Ding, Y.; Yang, B.; Liu, H.; Liu, Z.; Zhang, X.; Zheng, X.; Liu, Q., FePt-Au Ternary Metallic Nanoparticles with the Enhanced Peroxidase-like Activity for Ultrafast Colorimetric Detection of H₂O₂. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **2018**, 259, 775–783.
- [137]. Tian, J.; Liu, S.; Luo, Y.; Sun, X., Fe(III)-Based Coordination Polymer Nanoparticles: Peroxidase-like Catalytic Activity and Their Application to Hydrogen Peroxide and Glucose Detection. *Catalysis Science and Technology* **2012**, 2, (2), 432–436.
- [138]. Ai, L.; Li, L.; Zhang, C.; Fu, J.; Jiang, J., MIL-53(Fe): A Metal-Organic Framework with Intrinsic Peroxidase-like Catalytic Activity for Colorimetric Biosensing. *Chemistry - A European*

- Journal* **2013**, 19, (45), 15105–15108.
- [139]. Yang, Z.; Zhang, Z.; Jiang, Y.; Chi, M.; Nie, G.; Lu, X.; Wang, C., Palladium Nanoparticles Modified Electrospun CoFe₂O₄ Nanotubes with Enhanced Peroxidase-like Activity for Colorimetric Detection of Hydrogen Peroxide. *RSC Advances* **2016**, 6, (40), 33636–33642.
- [140]. Lu, C.; Liu, X.; Li, Y.; Yu, F.; Tang, L.; Hu, Y.; Ying, Y., Multifunctional Janus Hematite-Silica Nanoparticles: Mimicking Peroxidase-Like Activity and Sensitive Colorimetric Detection of Glucose. *ACS Applied Materials and Interfaces* **2015**, 7, (28), 15395–15402.
- [141]. Wang, X.; Ouyang, F.; Cui, L.; Xiong, T.; Guan, X.; Guo, Y.; Duan, S., Surface Coating-Modulated Peroxidase-like Activity of Maghemite Nanoparticles for a Chromogenic Analysis of Cholesterol. *Journal of Nanoparticle Research* **2019**, 21, (10), 1-13.
- [142]. Chen, A.; Xu, L.; Zhang, X.; Yang, Z.; Yang, S., Improving Surface Adsorption via Shape Control of Hematite α -Fe₂O₃ Nanoparticles for Sensitive Dopamine Sensors. *ACS Applied Materials and Interfaces* **2016**, 8, (49), 33765–33774.
- [143]. Liang, G.; Cai, S.; Zhang, P.; Peng, Y.; Chen, H.; Zhang, S.; Kong, J., Magnetic Relaxation Switch and Colorimetric Detection of Thrombin Using Aptamer-Functionalized Gold-Coated Iron Oxide Nanoparticles. *Analytica Chimica Acta* **2011**, 689, (2), 243–249.
- [144]. Asl, B. A.; Mogharizadeh, L.; Khomjani, N.; Rasti, B.; Pishva, S. P.; Akhtari, K.; Attar, F.; Falahati, M., Probing the Interaction of Zero Valent Iron Nanoparticles with Blood System by Biophysical, Docking, Cellular, and Molecular Studies. *International Journal of Biological Macromolecules* **2018**, 109, 639–650.
- [145]. Lourenço, I. M.; Pieretti, J. C.; Nascimento, M. H. M.; Lombello, C. B.; Seabra, A. B., Eco-Friendly Synthesis of Iron Nanoparticles by Green Tea Extract and Cytotoxicity Effects on Tumoral and Non-Tumoral Cell Lines. *Energy, Ecology and Environment* **2019**, 4, (6), 261–270.
- [146]. Lin, K.; Ding, J.; Wang, H.; Huang, X.; Gan, J., Goethite-Mediated Transformation of Bisphenol A. *Chemosphere* **2012**, 89, (7), 789–795.
- [147]. Han, H.; Cui, M.; Wei, L.; Yang, H.; Shen, J., Enhancement Effect of Hematite Nanoparticles on Fermentative Hydrogen Production. *Bioresource Technology* **2011**, 102, (17), 7903–7909.
- [148]. Lee, H.; Lee, W. J.; Park, Y. K.; Ki, S. J.; Kim, B. J.; Jung, S. C., Liquid Phase Plasma Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles on Nitrogen-Doped Activated Carbon Resulting in Nanocomposite for Supercapacitor Applications. *Nanomaterials* **2018**, 8, (4), 190-203.
- [149]. Kasprzak, A.; Bystrzejewski, M.; Poplawska, M., Sulfonated Carbon-Encapsulated Iron Nanoparticles as an Efficient Magnetic Nanocatalyst for Highly Selective Synthesis of Benzimidazoles. *Dalton Transactions* **2018**, 47, (18), 6314–6322.
- [150]. Mondal, P.; Purkait, M. K., Green Synthesized Iron Nanoparticles Supported on PH

- Responsive Polymeric Membrane for Nitrobenzene Reduction and Fluoride Rejection Study: Optimization Approach. *Journal of Cleaner Production* **2018**, 170, 1111–1123.
- [151]. Saqib, S.; Munis, M. F. H.; Zaman, W.; Ullah, F.; Shah, S. N.; Ayaz, A.; Farooq, M.; Bahadur, S., Synthesis, Characterization and Use of Iron Oxide Nano Particles for Antibacterial Activity. *Microscopy Research and Technique* **2019**, 82, (4), 415–420.
- [152]. Huh, A. J.; Kwon, Y. J., “Nanoantibiotics”: A New Paradigm for Treating Infectious Diseases Using Nanomaterials in the Antibiotics Resistant Era. *Journal of Controlled Release* **2011**, 156, (2), 128–145.
- [153]. Slavin, Y. N.; Asnis, J.; Häfeli, U. O.; Bach, H., Metal Nanoparticles: Understanding the Mechanisms behind Antibacterial Activity. *Journal of Nanobiotechnology* **2017**, 15, (1), 1–20.
- [154]. Cansiz, E. İ.; Kirmusaoğlu, S., Nanoteknolojide Nano Gümüşün Antibakteriyel Özelliği Antibacterial Properties of Nano Silver in Nanotechnology. *Haliç Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi* **2018**, 1, 119–130.
- [155]. Selvarani, M.; Prema, P., Evaluation of Antibacterial Efficacy of Chemically Synthesized Copper and Zerovalent Iron Nanoparticles. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* **2013**, 6, (3), 223–227.
- [156]. Lee, C.; Jee, Y. K.; Won, I. L.; Nelson, K. L.; Yoon, J.; Sedlak, D. L., Bactericidal Effect of Zero-Valent Iron Nanoparticles on Escherichia Coli. *Environmental Science and Technology* **2008**, 42, (13), 4927–4933.
- [157]. Hydrogen Peroxide [https://www.bobbyshealthyshop.co.uk/Hydrogen-Peroxide-History.php#:~:text=History Of Hydrogen Peroxide,dissolve%2C hydrogen peroxide was produced. \(20.03.2020\).](https://www.bobbyshealthyshop.co.uk/Hydrogen-Peroxide-History.php#:~:text=History Of Hydrogen Peroxide,dissolve%2C hydrogen peroxide was produced. (20.03.2020).)
- [158]. Durmazel, S., Hidrojen Peroksit Tayini İçin Gümüş Nanopartikül Esaslı Sensör Geliştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2016.
- [159]. Hydrogen peroxide - Wikipedia fiziksel kimyasal [https://en.wikipedia.org/wiki/Hydrogen_peroxide \(20.03.2020\).](https://en.wikipedia.org/wiki/Hydrogen_peroxide (20.03.2020).)
- [160]. Dutta, A. K.; Maji, S. K.; Mondal, A.; Karmakar, B.; Biswas, P.; Adhikary, B., Iron Selenide Thin Film: Peroxidase-like Behavior, Glucose Detection and Amperometric Sensing of Hydrogen Peroxide. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **2012**, 173, 724–731.
- [161]. [https://www.analyticaltechnology.com/analyticaltechnology/gas-water-monitors/blog.aspx?ID=1192&Title=Top \(20.03.2020\).](https://www.analyticaltechnology.com/analyticaltechnology/gas-water-monitors/blog.aspx?ID=1192&Title=Top (20.03.2020).)
- [162]. Atar, H. H.; Akbaş, S.; Ayvaz, Z., Hidrojen Peroksit (H₂O₂)’in Su Ürünlerinde Kullanımı. *Ziraat Mühendisliği* **2018**, 366, 14–20.
- [163]. Hidrojen Peroksit Tedavisi Nedir_ <https://www.beslenmedestegi.com/kanitlanmamis->

- tedaviler/hidrojen-peroksit-tedavisi (20.03.2020).
- [164]. Barnham, K. J.; Masters, C. L.; Bush, A. I.; Galaris, D.; Skiada, V.; Barbouti, A.; Temple, M. D.; Perrone, G. G.; Dawes, I. W.; Finkel, T.; Serrano, M.; Blasco, M. A.; Diehn, M.; Cho, R. W.; Lobo, N. A.; Kalisky, T.; Dorie, M. J.; Kulp, A. N.; Qian, D.; Lam, J. S.; Ailles, L. E.; Wong, M.; Joshua, B.; Kaplan, M. J.; Wapnir, I.; Dirbas, F. M.; Somlo, G.; Garberoglio, C.; Paz, B.; Shen, J.; Lau, S. K.; Quake, S. R.; Brown, J. M.; Weissman, I. L.; Clarke, M. F.; Krohn, K.; Maier, J.; Paschke, R.; Handschin, C.; Spiegelman, B. M., Neurodegenerative Diseases and Oxidative Stress. *Nature Reviews Drug Discovery* **2004**, 3, (3), 205–214.
- [165]. Knut Krohn, J. M. and R. P., Mechanisms of Disease: Hydrogen Peroxide, DNA Damage and Mutagenesis in the Development of Thyroid Tumors. *Nature* **2007**, 458, (7239), 780–783.
- [166]. Galaris, D.; Skiada, V.; Barbouti, A., Redox Signaling and Cancer: The Role of “Labile” Iron. *Cancer Letters* **2008**, 266, (1), 21–29.
- [167]. Beal, M. T. L. & M. F., Alzheimer’s APP Mangles Mitochondria. *Endocrine Reviews* **2006**, 27, (7), 728–735.
- [168]. Diehn, M.; Cho, R. W.; Lobo, N. A.; Kalisky, T.; Dorie, M. J.; Kulp, A. N.; Qian, D.; Lam, J. S.; Ailles, L. E.; Wong, M.; Joshua, B.; Kaplan, M. J.; Wapnir, I.; Dirbas, F. M.; Somlo, G.; Garberoglio, C.; Paz, B.; Shen, J.; Lau, S. K.; Quake, S. R.; Brown, J. M.; Weissman, I. L.; Clarke, M. F., Association of Reactive Oxygen Species Levels and Radioresistance in Cancer Stem Cells. *Nature* **2009**, 458, (7239), 780–783.
- [169]. Temple, M. D.; Perrone, G. G.; Dawes, I. W., Complex Cellular Responses to Reactive Oxygen Species. *Trends in Cell Biology* **2005**, 15, (6), 319–326.
- [170]. Finkel, T.; Serrano, M.; Blasco, M. A., The Common Biology of Cancer and Ageing. *Nature* **2007**, 448, (7155), 767–774.
- [171]. Yavuz, T., Development Of A New Spectrophotometric Method For The Determination Of Hydrogen Peroxide, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, İzmir, 2016.
- [172]. Kurbah, S. D.; Syiemlieh, I.; Lal, R. A., Colorimetric Detection of Hydrogen Peroxide by Dioxido-Vanadium(V) Complex Containing Hydrazone Ligand: Synthesis and Crystal Structure. *Royal Society Open Science* **2018**, 5, (3), 171471- 171479.
- [173]. Azevedo, A. M.; Martins, V. C.; Prazeres, D. M.; Vojinovic, V.; Cabral, J. M.; Fonseca, L. P., Horseradish peroxidase: a valuable tool in biotechnology. *Biotechnology annual review* **2003**, 9(3), 1387-2656.
- [174]. Corbett, J. T., The Scopoletin Assay for Hydrogen Peroxide A Review and a Better Method. **1989**, 18, 297–307.
- [175]. Azevedo, A. M.; Martins, V. C.; Prazeres, D. M. F.; Vojinović, V.; Cabral, J. M. S.; Fonseca, L. P., Horseradish Peroxidase: A Valuable Tool in Biotechnology. In *Biotechnology Annual Review*; 2003; Vol. 9, pp 199–247.

- [176]. Sun, W.; Ju, X.; Zhang, Y.; Sun, X.; Li, G.; Sun, Z., Application of Carboxyl Functionalized Graphene Oxide as Mimetic Peroxidase for Sensitive Voltammetric Detection of H₂O₂ with 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine. *Electrochemistry Communications* **2013**, 26, (1), 113–116.
- [177]. Zhang, W.; Ma, D.; Du, J., Prussian Blue Nanoparticles as Peroxidase Mimetics for Sensitive Colorimetric Detection of Hydrogen Peroxide and Glucose. *Talanta* **2014**, 120, 362–367.
- [178]. Xie, J.; Cao, H.; Jiang, H.; Chen, Y.; Shi, W.; Zheng, H.; Huang, Y., Co₃O₄-Reduced Graphene Oxide Nanocomposite as an Effective Peroxidase Mimetic and Its Application in Visual Biosensing of Glucose. *Analytica Chimica Acta* **2013**, 796, 92–100.
- [179]. Wang, Y.; Zhou, B.; Wu, S.; Wang, K.; He, X., Colorimetric Detection of Hydrogen Peroxide and Glucose Using the Magnetic Mesoporous Silica Nanoparticles. *Talanta* **2015**, 134, 712–717.
- [180]. Chen, S.; Hai, X.; Chen, X. W.; Wang, J. H., In Situ Growth of Silver Nanoparticles on Graphene Quantum Dots for Ultrasensitive Colorimetric Detection of H₂O₂ and Glucose. *Analytical Chemistry* **2014**, 86, (13), 6689–6694.
- [181]. Qiao, F.; Chen, L.; Li, X.; Li, L.; Ai, S., Peroxidase-like Activity of Manganese Selenide Nanoparticles and Its Analytical Application for Visual Detection of Hydrogen Peroxide and Glucose. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **2014**, 193, 255–262.
- [182]. Yu, J.; Ma, X.; Yin, W.; Gu, Z., Synthesis of PVP-Functionalized Ultra-Small MoS₂ Nanoparticles with Intrinsic Peroxidase-like Activity for H₂O₂ and Glucose Detection. *RSC Advances* **2016**, 6, (84), 81174–81181.
- [183]. Liu, Q.; Yang, Y.; Lv, X.; Ding, Y.; Zhang, Y.; Jing, J.; Xu, C., One-Step Synthesis of Uniform Nanoparticles of Porphyrin Functionalized Ceria with Promising Peroxidase Mimetics for H₂O₂ and Glucose Colorimetric Detection. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **2017**, 240, 726–734.
- [184]. Mvango, S.; Mashazi, P., Synthesis, Characterization of Copper Oxide-Gold Nanoalloys and Their Peroxidase-like Activity towards Colorimetric Detection of Hydrogen Peroxide and Glucose. *Materials Science and Engineering C* **2019**, 96, 814–823.
- [185]. Cheng, X.; Huang, L.; Yang, X.; Elzatahry, A. A.; Alghamdi, A.; Deng, Y., Rational Design of a Stable Peroxidase Mimic for Colorimetric Detection of H₂O₂ and Glucose: A Synergistic CeO₂/Zeolite Y Nanocomposite. *Journal of Colloid and Interface Science* **2019**, 535, 425–435.
- [186]. Li, N.; Huang, J.; Wang, Q.; Gu, Y.; Wang, P., A Reaction Based One- and Two-Photon Fluorescent Probe for Selective Imaging H₂O₂ in Living Cells and Tissues. *Sensors & Actuators: B. Chemical* **2018**, 254, 411–416.
- [187]. İskorbüt - Vikipedi <https://tr.wikipedia.org/wiki/İskorbüt> (21.03.2020).
- [188]. https://tr.wikipedia.org/wiki/C_vitamini (21.03.2020).

- [189]. Alak, İ., Farklı Dozlarda C Vitamini Uygulanan Koyunların İleri Gebelik, Erken Ve Geç Laktasyon Dönemleri İle Bunlardan Doğacak Kuzularda Oksidan/Antioksidan Denge, Kan Gazları Ve Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Tespiti, Doktora Üniversitesi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, 2020.
- [190]. Türközü, D., Marul ve Roka Sebzelerine Uygulanan Bazı Dezenfektanların Sebzelerin C Vitamini İçerikleri Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2014.
- [191]. Rostami, S.; Mehdinia, A.; Jabbari, A., Seed-Mediated Grown Silver Nanoparticles as a Colorimetric Sensor for Detection of Ascorbic Acid. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **2017**, 180, 204–210.
- [192]. Liu, X.; Wang, X.; Qi, C.; Han, Q.; Xiao, W.; Cai, S.; Wang, C.; Yang, R., Sensitive Colorimetric Detection of Ascorbic Acid Using Pt/CeO₂ Nanocomposites as Peroxidase Mimics. *Applied Surface Science* **2019**, 479, 532–539.
- [193]. Budak, B., L-Askorbik Asit (C Vitamini) Tayinine Yönelik Olarak Kalem Grafit Elektrot-Askorbat Oksidaz Temelli Yeni Bir Biyosensör Geliştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 2016.
- [194]. Sheng, Z. H.; Zheng, X. Q.; Xu, J. Y.; Bao, W. J.; Wang, F. Bin; Xia, X. H., Electrochemical Sensor Based on Nitrogen Doped Graphene: Simultaneous Determination of Ascorbic Acid, Dopamine and Uric Acid. *Biosensors and Bioelectronics* **2012**, 34, (1), 125–131.
- [195]. Lavanya, J.; Gomathi, N., High-Sensitivity Ascorbic Acid Sensor Using Graphene Sheet/Graphene Nanoribbon Hybrid Material as an Enhanced Electrochemical Sensing Platform. *Talanta* **2015**, 144, 655–661.
- [196]. Wang, G.; Chen, Z.; Chen, L., Mesoporous Silica-Coated Gold Nanorods: Towards Sensitive Colorimetric Sensing of Ascorbic Acid via Target-Induced Silver Overcoating. *Nanoscale* **2011**, 3, (4), 1756–1759.
- [197]. Peng, J.; Ling, J.; Zhang, X. Q.; Zhang, L. Y.; Cao, Q. E.; Ding, Z. T., A Rapid, Sensitive and Selective Colorimetric Method for Detection of Ascorbic Acid. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **2015**, 221, 708–716.
- [198]. Hormozi Nezhad, M. R.; Karimi, M. A.; Shahheydari, F., A Sensitive Colorimetric Detection of Ascorbic Acid in Pharmaceutical Products Based on Formation of Anisotropic Silver Nanoparticles. *Scientia Iranica* **2010**, 17, (2 F), 148–153.
- [199]. Wang, X.; Wu, P.; Hou, X.; Lv, Y., An Ascorbic Acid Sensor Based on Protein-Modified Au Nanoclusters. *Analyst* **2013**, 138, (1), 229–233.
- [200]. Gong, J.; Lu, X.; An, X., Carbon Dots as Fluorescent Off-on Nanosensors for Ascorbic Acid Detection. *RSC Advances* **2015**, 5, (11), 8533–8536.
- [201]. Zhang, Y.; Li, B.; Xu, C., Visual Detection of Ascorbic Acid via Alkyne-Azide Click Reaction

- Using Gold Nanoparticles as a Colorimetric Probe. *Analyst* **2010**, 135, (7), 1579–1584.
- [202]. Chen, J.; Ge, J.; Zhang, L.; Li, Z.; Li, J.; Sun, Y.; Qu, L., Reduced Graphene Oxide Nanosheets Functionalized with Poly(Styrene Sulfonate) as a Peroxidase Mimetic in a Colorimetric Assay for Ascorbic Acid. *Microchimica Acta* **2016**, 183, (6), 1847–1853.
- [203]. Ding, Y.; Zhao, J.; Li, B.; Zhao, X.; Wang, C.; Guo, M.; Lin, Y., The CoOOH-TMB Oxidative System for Use in Colorimetric and Test Strip Based Determination of Ascorbic Acid. *Microchimica Acta* **2018**, 185, (2), 1-10.
- [204]. Nie, Q.; Cai, Q.; Xu, H.; Qiao, Z.; Li, Z., A Facile Colorimetric Method for Highly Sensitive Ascorbic Acid Detection by Using CoOOH Nanosheets. *Analytical Methods* **2018**, 10, (22), 2623–2628.
- [205]. He, L.; Wang, F.; Chen, Y.; Liu, Y., Rapid and Sensitive Colorimetric Detection of Ascorbic Acid in Food Based on the Intrinsic Oxidase-like Activity of MnO₂ Nanosheets. *Luminescence* **2018**, 33, (1), 145–152.
- [206]. Darabdhara, G.; Sharma, B.; Das, M. R.; Boukherroub, R.; Szunerits, S., Cu-Ag Bimetallic Nanoparticles on Reduced Graphene Oxide Nanosheets as Peroxidase Mimic for Glucose and Ascorbic Acid Detection. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **2017**, 238, 842–851.
- [207]. Yuvakkumar, R.; Elango, V.; Rajendran, V.; Kannan, N., Preparation and Characterization of Zero Valent Iron Nanoparticles. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* **2011**, 6, (4), 1771–1776.
- [208]. Huang, G.; Huang, G.; Gao, C.; Li, X.; Qiu, H., Co Nanoparticles Supported 3D Structure for Catalytic H₂ Production. *Materials Chemistry and Physics* **2017**, 191, 6–12.
- [209]. Scott Fogler, H., *Elements of Chemical Reaction Engineering*, 4th ed.; Prentice Hall PTR Press: Upper Saddle River, N.J., 2006; p 185.
- [210]. Liu, X.; Wang, X.; Han, Q.; Qi, C.; Wang, C.; Yang, R., Facile Synthesis of IrO₂/RGO Nanocomposites with High Peroxidase-like Activity for Sensitive Colorimetric Detection of Low Weight Biothiols. *Talanta* **2019**, 203, 227–234.
- [211]. Ozay, O.; Aktas, N.; Inger, E.; Sahiner, N., Hydrogel Assisted Nickel Nanoparticle Synthesis and Their Use in Hydrogen Production from Sodium Boron Hydride. *International Journal of Hydrogen Energy* **2011**, 36, (3), 1998–2006.
- [212]. Hemmati, S.; Rashtiani, A.; Zangeneh, M. M.; Mohammadi, P.; Zangeneh, A.; Veisi, H., Green Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles Using Fritillaria Flower Extract and Their Antibacterial Activity against Some Human Pathogens. *Polyhedron* **2019**, 158, 8–14.
- [213]. Ding, Y.; Chen, M.; Wu, K.; Chen, M.; Sun, L.; Liu, Z.; Shi, Z.; Liu, Q., High-Performance Peroxidase Mimics for Rapid Colorimetric Detection of H₂O₂ and Glucose Derived from Perylene Diimides Functionalized Co₃O₄ Nanoparticles. *Materials Science and Engineering C* **2017**, 80, 558–565.

- [214]. Sun, L.; Ding, Y.; Jiang, Y.; Liu, Q., Montmorillonite-Loaded Ceria Nanocomposites with Superior Peroxidase-like Activity for Rapid Colorimetric Detection of H₂O₂. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **2017**, 239, 848–856.
- [215]. Chen, X.; Chen, X.; Su, B.; Cai, Z.; Oyama, M., PtPd Nanodendrites Supported on Graphene Nanosheets: A Peroxidase-like Catalyst for Colorimetric Detection of H₂O₂. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **2014**, 201, 286–292.
- [216]. Zhang, X.; Bi, X.; Di, W.; Qin, W., A Simple and Sensitive Ce(OH)CO₃/H₂O₂/TMB Reaction System for Colorimetric Determination of H₂O₂ and Glucose. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **2016**, 231, 714–722.
- [217]. Üzer, A.; Durmazel, S.; Erçağ, E.; Apak, R., Determination of Hydrogen Peroxide and Triacetone Triperoxide (TATP) with a Silver Nanoparticles—Based Turn-on Colorimetric Sensor. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **2017**, 247, 98–107.
- [218]. Amin, V. M.; Olson, N. F., Spectrophotometric Determination of Hydrogen Peroxide in Milk. *Journal of Dairy Science* **1967**, 50, (4), 461–464.
- [219]. Zhang, L.; Li, L., Colorimetric Detection of Hydrogen Peroxide Using Silver Nanoparticles with Three Different Morphologies. *Analytical Methods* **2016**, 8, (37), 6691–6695.
- [220]. Qin, W.; Su, L.; Yang, C.; Ma, Y.; Zhang, H.; Chen, X., Colorimetric Detection of Sulfite in Foods by a TMB-O₂-Co 304 Nanoparticles Detection System. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2014**, 62, (25), 5827–5834.
- [221]. Zhang, Y.; Tian, J.; Liu, S.; Wang, L.; Qin, X.; Lu, W.; Chang, G.; Luo, Y.; Asiri, A. M.; Al-Youbi, A. O.; Sun, X., Novel Application of CoFe Layered Double Hydroxide Nanoplates for Colorimetric Detection of H₂O₂ and Glucose. *Analyst* **2012**, 137, (6), 1325–1328.
- [222]. Hoag, G. E.; Collins, J. B.; Holcomb, J. L.; Hoag, J. R.; Nadagouda, M. N.; Varma, R. S., Degradation of Bromothymol Blue by “greener” Nano-Scale Zero-Valent Iron Synthesized Using Tea Polyphenols. *Journal of Materials Chemistry* **2009**, 19, (45), 8671–8677.
- [223]. Guo, L.; Huang, Q.; Li, X. Y.; Yang, S., Iron Nanoparticles: Synthesis and Applications in Surface Enhanced Raman Scattering and Electrocatalysis. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2001**, 3, (9), 1661–1665.
- [224]. Lassoued, A.; Lassoued, M. S.; Dkhil, B.; Ammar, S.; Gadri, A., Synthesis, Photoluminescence and Magnetic Properties of Iron Oxide (α -Fe₂O₃) Nanoparticles through Precipitation or Hydrothermal Methods. *Physica E: Low-Dimensional Systems and Nanostructures* **2018**, 101, 212–219.
- [225]. Mei, L.; Liao, L.; Wang, Z.; Xu, C., Interactions between Phosphoric/Tannic Acid and Different Forms of FeOOH. *Advances in Materials Science and Engineering* **2015**, 2015, 1–10.
- [226]. Huang, X.; Schmucker, A.; Dyke, J.; Hall, S. M.; Retrum, J.; Stein, B.; Remmes, N.; Baxter, D. V.;

- Dragnea, B.; Bronstein, L. M., Magnetic Nanoparticles with Functional Silanes: Evolution of Well-Defined Shells from Anhydride Containing Silane. *Journal of Materials Chemistry* **2009**, 19, (24), 4231–4239.
- [227]. Quy, D. Van; Hieu, N. M.; Tra, P. T.; Nam, N. H.; Hai, N. H.; Thai Son, N.; Nghia, P. T.; Anh, N. T. Van; Hong, T. T.; Luong, N. H., Synthesis of Silica-Coated Magnetic Nanoparticles and Application in the Detection of Pathogenic Viruses. *Journal of Nanomaterials* **2013**, 2013, 1-6.
- [228]. Cai, J.; Zhang, Y.; Qian, Y.; Shan, C.; Pan, B., Enhanced Defluoridation Using Novel Millisphere Nanocomposite of La-Doped Li-Al Layered Double Hydroxides Supported by Polymeric Anion Exchanger. *Scientific Reports* **2018**, 8, (1), 1–10.
- [229]. Gonçalves, L. C.; Seabra, A. B.; Pelegrino, M. T.; De Araujo, D. R.; Bernardes, J. S.; Haddad, P. S., Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles Dispersed in Pluronic F127 Hydrogel: Potential Uses in Topical Applications. *RSC Advances* **2017**, 7, (24), 14496–14503.
- [230]. Thapa, S., Paudel, R., Blanchet, M. D., Gemperline, P. T., & Comes, R. B., Probing Surfaces and Interfaces in Complex Oxide Films via in Situ X-Ray Photoelectron Spectroscopy. *Journal of Materials Research* **2021**, 36, (1), 26–51.
- [231]. Wang, X.; Liu, Y.; Arandiyani, H.; Yang, H.; Bai, L.; Mujtaba, J.; Wang, Q.; Liu, S.; Sun, H., Uniform Fe₃O₄ Microflowers Hierarchical Structures Assembled with Porous Nanoplates as Superior Anode Materials for Lithium-Ion Batteries. *Applied Surface Science* **2016**, 389, (July), 240–246.
- [232]. Hallam, P. M.; Gómez-Mingot, M.; Kampouris, D. K.; Banks, C. E., Facile Synthetic Fabrication of Iron Oxide Particles and Novel Hydrogen Superoxide Supercapacitors. *RSC Advances* **2012**, 2, (16), 6672–6679.
- [233]. Wang, L. L.; Li, N.; Zhao, T.; Li, B.; Ji, Y., Magnetic Properties of FeNi₃ Nanoparticle Modified Pinus Radiata Wood Nanocomposites. *Polymers* **2019**, 11, (3), 1–10.
- [234]. Magno De Lima Alves, T.; Amorim, B. F.; Morales Torres, M. A.; Bezerra, C. G.; Nóbrega De Medeiros, S.; Gastelois, P. L.; Fernandez Outon, L. E.; Augusto De Almeida Macedo, W., Wasp-Waisted Behavior in Magnetic Hysteresis Curves of CoFe₂O₄ Nanopowder at a Low Temperature: Experimental Evidence and Theoretical Approach. *RSC Advances* **2017**, 7, (36), 22187–22196.
- [235]. Lee, A. R.; Leather, C.; Wilkins, A. C. R.; Brenton, A. G., Collisional Excitation of O⁺² and N⁺² Electronic States via Single Electron Capture by B²⁺ Ions. *Journal of Molecular Spectroscopy* **1995**, 173(2), 603-608.
- [236]. Pullin, H.; Springell, R.; Parry, S.; Scott, T., The Effect of Aqueous Corrosion on the Structure and Reactivity of Zero-Valent Iron Nanoparticles. *Chemical Engineering Journal* **2017**, 308, 568–577.

- [237]. Liu, A.; Liu, J.; Han, J.; Zhang, W. X., Evolution of Nanoscale Zero-Valent Iron (NZVI) in Water: Microscopic and Spectroscopic Evidence on the Formation of Nano- and Micro-Structured Iron Oxides. *Journal of Hazardous Materials* **2017**, 322, 129–135.
- [238]. Estelrich, J.; Escribano, E.; Queralto, J.; Busquets, M. A., Iron Oxide Nanoparticles for Magnetically-Guided and Magnetically-Responsive Drug Delivery. **2015**, 8070–8101.
- [239]. Özdemir, R., The Effect of Additives on Structural and Magnetic Properties of CoNi Alloy Thin Film Coatings Produced by Electrodeposition Elektrodepolama ile Üretilen CoNi Alaşım İnce Film Kaplamaların Yapısal ve Manyetik Özellikleri Üzerine Ek Katkı Maddelerinin Etki. **2019**, 7, (3), 661–675.
- [240]. Teja, A. S.; Koh, P., Synthesis , Properties , and Applications of Magnetic Iron Oxide Nanoparticles. *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials* **2009**, 55, (1–2), 22–45.
- [241]. Sajitha, E. P., Synthesis and Characteristics of Iron Nanoparticles in a Carbon Matrix along with the Catalytic Graphitization of Amorphous Carbon. **2004**, 42, 2815–2820.
- [242]. Tumanski, S., *Handbook of Magnetic Measurements*, 1st ed.; CRC press: Boca Raton, Florida, 2021; p 125.
- [243]. <https://www.arnoldmagnetics.com/wp-content/uploads/2017/10/Semi-Hard-Magnets-Constantinides-Magnetics-2011-psn-hi-res.pdf> (21.03.2020)
- [244]. Zambri, N. D. S.; Taib, N. I.; Abdul Latif, F.; Mohamed, Z., Utilization of Neem leaf extract on biosynthesis of iron oxide nanoparticles. *Molecules* **2019**, 24(20), 3803-3815.
- [245]. Khan, S.; Shah, Z. H.; Riaz, S.; Ahmad, N.; Islam, S.; Raza, M. A.; Naseem, S., Antimicrobial Activity of Citric Acid Functionalized Iron Oxide Nanoparticles – Superparamagnetic e Ff Ect. *Ceramics International* **2020**, 46, (8), 10942–10951.
- [246]. Zhao, D.; Zeng, X.; Xia, Q.; Tang, J., Preparation and Coercivity and Saturation Magnetization Dependence of Inductive Heating Property of Fe₃O₄ Nanoparticles in an Alternating Current Magnetic Field for Localized Hyperthermia. **2009**, 469, 215–218.
- [247]. Shi, S.; Xu, C.; Wang, X.; Xie, Y.; Wang, Y.; Dong, Q.; Zhu, L., Electrospinning Fabrication of Flexible Fe₃O₄ Fibers by Sol-Gel Method with High Saturation Magnetization for Heavy Metal Adsorption. *Materials & Design* **2020**, 186, 108298-108309.
- [248]. Meyyappan, A.; A. S. B.; Kurian, G. A., Innovare Academic Sciences One Step Synthesis Of Iron Oxide Nanoparticles Via Chemical And Green Route – An Effective Comparison. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* **2015**, 7, (1), 70-74.
- [249]. Majeed, M. I.; Guo, J.; Yan, W.; Tan, B., Preparation of magnetic iron oxide nanoparticles (MIONs) with improved saturation magnetization using multifunctional polymer ligand. *Polymers* **2016**, 8(11), 392-408.
- [250]. Zeng, H.; Zhai, L.; Zhang, J.; Li, D., Science of the Total Environment As (V) Adsorption by a

- Novel Core-Shell Magnetic Nanoparticles Prepared with Iron-Containing Water Treatment Residuals. *Science of the Total Environment* **2021**, 753, 142002-142013.
- [251]. Sneha, M.; Sundaram, M., Preparation and Characterization of an Iron Oxide-Hydroxyapatite Nanocomposite for Potential Bone Cancer Therapy. **2015**, 10, 99–106.
- [252]. Prasad, C. H.; Sreenivasulu, K.; Gangadhara, S.; Venkateswarlu, P., A Facile Green Synthesis of Spherical Fe₃O₄ Magnetic Nanoparticles and Their Effect on Degradation of Methylene Blue in Aqueous Solution. *Journal of Molecular Liquids* **2016**, 221, 993-998.
- [253]. Prasad, C.; Venkateswarlu, S. G. P., Bio-Inspired Green Synthesis of Fe₃O₄ Magnetic Nanoparticles Using Watermelon Rinds and Their Catalytic Activity. *Applied Nanoscience* **2016**, 6, (6), 797–802.
- [254]. Wilson, J. L.; Poddar, P.; Frey, N. A.; Srikanth, H., Synthesis and Magnetic Properties of Polymer Nanocomposites with Embedded Iron Nanoparticles. **2004**, 95, (3), 1439–1443.
- [255]. Khatami, M.; Alijani, H. Q.; Fakheri, B.; Mobasser, M. M.; Heydarpour, M.; Farahani, Z. K.; Ullah, A., Super-Paramagnetic Iron Oxide Nanoparticles (SPIONs): Greener Synthesis Using Stevia Plant and Evaluation of Its Antioxidant Properties. *Journal of Cleaner Production* **2019**, 208, 1171–1177.
- [256]. Vinayagam, R.; Zhou, C.; Pai, S.; Varadavenkatesan, T., Structural Characterization of Green Synthesized Magnetic Mesoporous Fe₃O₄ NPs@ME. *Materials Chemistry and Physics* **2021**, 262, 124323-124334.
- [257]. Ramesh, N.; Ranganayakulu, S. V, Size Dependent Optical And Magnetic Properties Of Zn Doped Iron Oxide Nanoparticles. *Journal of Ovonic Research* **2019**, 15, (2), 135–141.
- [258]. Kumari, A.; Rupesh, S.; Meenu, S. D.; Rabindra, A.; Babu, Y. M. J. N., Reductive-Co-Precipitated Cellulose Immobilized Zerovalent Iron Nanoparticles in Ionic Liquid / Water for Cr (VI) Adsorption. *Cellulose* **2018**, 25, (9), 5275–5291.
- [259]. Amos-tautua, B. M.; Fakayode, O. J.; Songca, S. P., Nano-Structures & Nano-Objects Effect of Synthetic Conditions on the Crystallinity , Porosity and Magnetic Properties of Gluconic Acid Capped Iron Oxide Nanoparticles. *Nano-Structures & Nano-Objects* **2020**, 23, 100480-100493.
- [260]. Kekalo, K., Baker, I., Meyers, R., & Shyong, J., Magnetic Nanoparticles with High Specific Absorption Rate at Low Alternating Magnetic Field. **2016**, 5, (2), 1550002-1550008.
- [261]. Lin, J.; Su, B.; Sun, M.; Chen, B.; Chen, Z., Science of the Total Environment Biosynthesized Iron Oxide Nanoparticles Used for Optimized Removal of Cadmium with Response Surface Methodology. *Science of the Total Environment* **2018**, 627, 314–321.
- [262]. Yıldırım, S. A., İkel Oksit Katkılı Farklı Türde Gözenekli Malzeme İle Desteklenmiş Metal Oksit Adsorbentler Kullanılarak Atık Sulardan Krom (VI) Giderilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2019.

- [263]. Srivastava, V.; Singh, P. K.; Weng, C. H.; Sharma, Y. C., Economically Viable Synthesis of Fe₃O₄ Nanoparticles and Their Characterization. **2011**, 13, (2), 1–5.
- [264]. Wang, Y.; Wang, Y.; Cao, J.; Kong, F.; Xia, H.; Zhang, J.; Zhu, B.; Wang, S.; Wu, S., Low-Temperature H₂S Sensors Based on Ag-Doped α -Fe₂O₃ Nanoparticles. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **2008**, 131, (1), 183–189.
- [265]. Wang, Q.; Snyder, S.; Kim, J.; Choi, H., Aqueous Ethanol Modified Nanoscale Zerovalent Iron in Bromate Reduction: Synthesis, Characterization, and Reactivity. *Environmental Science and Technology* **2009**, 43, (9), 3292–3299.
- [266]. Liu, Y.; Liu, P.; Su, Z.; Li, F.; Wen, F., Attapulgitite-Fe₃O₄ Magnetic Nanoparticles via Co-Precipitation Technique. *Applied Surface Science* **2008**, 255, 2020–2025.
- [267]. Wang, Q.; Kanel, S. R.; Park, H.; Ryu, A.; Choi, H., Controllable Synthesis, Characterization, and Magnetic Properties of Nanoscale Zerovalent Iron with Specific High Brunauer-Emmett-Teller Surface Area. *Journal of Nanoparticle Research* **2009**, 11, (3), 749–755.
- [268]. Dash, A.; Ahmed, M. T.; Selvaraj, R., Mesoporous Magnetite Nanoparticles Synthesis Using the Peltophorum Pterocarpum Pod Extract, Their Antibacterial Efficacy against Pathogens and Ability to Remove a Pollutant Dye. *Journal of Molecular Structure* **2019**, 1178, 268–273.
- [269]. Liu, X.; Hu, Q.; Fang, Z.; Wu, Q.; Xie, Q., Carboxyl Enriched Monodisperse Porous Fe₃O₄ Nanoparticles with Extraordinary Sustained-Release Property. *Langmuir* **2009**, 25, (13), 7244–7248.
- [270]. Sangami, S.; Manu, B., Synthesis of Green Iron Nanoparticles Using Laterite and Their Application as a Fenton-like Catalyst for the Degradation of Herbicide Ametryn in Water. *Environmental Technology and Innovation* **2017**, 8, 150–163.
- [271]. Khan, U. S.; Amanullah; Manan, A.; Khan, N.; Mahmood, A.; Rahim, A., Transformation Mechanism of Magnetite Nanoparticles. *Materials Science- Poland* **2015**, 33, (2), 278–285.
- [272]. Behera, S. K., Facile Synthesis and Electrochemical Properties of Fe₃O₄ Nanoparticles for Li Ion Battery Anode. *Journal of Power Sources* **2011**, 196, (20), 8669–8674.
- [273]. Sirdeshpande, K. D.; Sridhar, A.; Cholkar, K. M.; Selvaraj, R., Structural Characterization of Mesoporous Magnetite Nanoparticles Synthesized Using the Leaf Extract of Calliandra Haematocephala and Their Photocatalytic Degradation of Malachite Green Dye. *Applied Nanoscience (Switzerland)* **2018**, 8, (4), 675–683.
- [274]. Zheng, Y.; Cheng, Y.; Wang, Y.; Bao, F.; Zhou, L.; Wei, X.; Zhang, Y.; Zheng, Q., Quasicubic α -Fe₂O₃ Nanoparticles with Excellent Catalytic Performance. *Journal of Physical Chemistry B* **2006**, 110, (7), 3093–3097.
- [275]. Prasad, C.; Yuvaraja, G.; Venkateswarlu, P., Biogenic Synthesis of Fe₃O₄ Magnetic Nanoparticles Using Pisum Sativum Peels Extract and Its Effect on Magnetic and Methyl

- Orange Dye Degradation Studies. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* **2017**, 424, 376–381.
- [276]. Cao, Y.; Luo, H.; Jia, D., Low-Heating Solid-State Synthesis and Excellent Gas-Sensing Properties of α -Fe₂O₃ Nanoparticles. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **2013**, 176, 618–624.
- [277]. Prasad, C.; Karlapudi, S.; Venkateswarlu, P.; Bahadur, I.; Kumar, S., Green Arbitrated Synthesis of Fe₃O₄ Magnetic Nanoparticles with Nanorod Structure from Pomegranate Leaves and Congo Red Dye Degradation Studies for Water Treatment. *Journal of Molecular Liquids* **2017**, 240, 322–328.
- [278]. Sun, Y. P.; Li, X. qin; Cao, J.; Zhang, W. xian; Wang, H. P., Characterization of Zero-Valent Iron Nanoparticles. *Advances in Colloid and Interface Science* **2006**, 120, (1–3), 47–56.
- [279]. Aksu Demirezen, D.; Yıldız, Y. Ş.; Demirezen Yılmaz, D., Amoxicillin Degradation Using Green Synthesized Iron Oxide Nanoparticles: Kinetics and Mechanism Analysis. *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management* **2019**, 11, 100219-100228.
- [280]. Ali, A. A.; Ahmed, I. S.; Elfiky, E. M., Auto-Combustion Synthesis and Characterization of Iron Oxide Nanoparticles (α -Fe₂O₃) for Removal of Lead Ions from Aqueous Solution. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials* **2021**, 31, (1), 384–396.
- [281]. Zaman, M. M.; Karal, M. A. S.; Khan, M. N. I.; Tareq, A. R. M.; Ahammed, S.; Akter, M.; Hossain, A.; Ullah, A. K. M. A., Eco-Friendly Synthesis of Fe₃O₄ Nanoparticles Based on Natural Stabilizers and Their Antibacterial Applications. *ChemistrySelect* **2019**, 4, (27), 7824–7831.
- [282]. Mahon, D.; Claudio, G.; Eames, P., An Experimental Study of the Decomposition and Carbonation of Magnesium Carbonate for Medium Temperature Thermochemical Energy Storage. *Energies* **2021**, 14, (5), 1316-1339.
- [283]. Ding, Q.; Luo, X.; Lin, X., Thermal Decomposition Characteristics of Mg (NO₃)₂·6H₂O and MgCl₂·6H₂O Composite as Phase Change Material. *Materials Science Forum* **2012**, 724, (3), 425–428.
- [284]. Wahyuningsih, S.; Kristiawan, A. H. R. and Y. R., Transformation of Magnetite (Fe₃ O₄) and Maghemite (γ -Fe₂ O₃) to α -Fe₂O₃ from Magnetic Phase of Glagah Iron Sand. *Journal of Engineering Science* **2019**, 15, 11–21.
- [285]. Zhao, S. Y.; Don, K. L.; Chang, W. K.; Hyun, G. C.; Young, H. K.; Young, S. K., Synthesis of Magnetic Nanoparticles of Fe₃O₄ and CoFe₂O₄ and Their Surface Modification by Surfactant Adsorption. *Bulletin of the Korean Chemical Society* **2006**, 27, (2), 237–242.
- [286]. Aksu Demirezen, D.; Yıldız, Y. Ş.; Yılmaz, Ş.; Demirezen Yılmaz, D., Green Synthesis and Characterization of Iron Oxide Nanoparticles Using Ficus Carica (Common Fig) Dried Fruit Extract. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **2019**, 127, (2), 241–245.

- [287]. Hamdy, A.; Mostafa, M. K.; Nasr, M., Zero-Valent Iron Nanoparticles for Methylene Blue Removal from Aqueous Solutions and Textile Wastewater Treatment, with Cost Estimation. *Water Science and Technology* **2018**, 78, (2), 367–378.
- [288]. Soltani, N., Saion, E., Erfani, M., Rezaee, K., Bahmanrokh, G., Drummen, G. P., Hussein, M. Z., Influence of the Polyvinyl Pyrrolidone Concentration on Particle Size and Dispersion of ZnS Nanoparticles Synthesized by Microwave Irradiation _ Enhanced Reader.Pdf. *International journal of molecular sciences* **2012**, 13, 12412–12427.
- [289]. Mohammed Fayaz, A.; Balaji, K.; Kalaichelvan, P. T.; Venkatesan, R., Fungal Based Synthesis of Silver Nanoparticles-An Effect of Temperature on the Size of Particles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **2009**, 74, (1), 123–126.
- [290]. Zhu, L.; Chang, X.; He, D.; Xue, Q.; Li, X.; Jin, Y.; Zheng, H.; Ling, C., Defective Germanene as a High-Efficiency Helium Separation Membrane: A First-Principles Study. *Nanotechnology* **2017**, 28, (13), 135703-135714.
- [291]. Turabik, M.; Simsek, U. B., Effect of Synthesis Parameters on the Particle Size of the Zero Valent Iron Particles. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry* **2017**, 47, (7), 1033–1043.
- [292]. Koczkur, K. M.; Mourdikoudis, S.; Polavarapu, L.; Skrabalak, S. E., Polyvinylpyrrolidone (PVP) in Nanoparticle Synthesis. *Dalton Transactions* **2015**, 44, (41), 17883–17905.
- [293]. Verma, M.; Kedia, A.; Newmai, M. B.; Kumar, P. S., Differential role of PVP on the synthesis of plasmonic gold nanostructures and their catalytic and SERS properties. *RSC Advances* **2016**, 6(83), 80342-80353.
- [294]. Xiong, Y.; Washio, I.; Chen, J.; Cai, H.; Li, Z. Y.; Xia, Y., Poly (Vinyl Pyrrolidone): A Dual Functional Reductant and Stabilizer for the Facile Synthesis of Noble Metal Nanoplates in Aqueous Solutions. *Langmuir* **2006**, 22, (20), 8563–8570.
- [295]. Zhao, L.; Li, Q.; Su, Y.; Yue, Q.; Gao, B., A Novel Enteromorpha Based Hydrogel for Copper and Nickel Nanoparticle Preparation and Their Use in Hydrogen Production as Catalysts. *International Journal of Hydrogen Energy* **2017**, 42, (10), 6746–6756.
- [296]. Seven, F.; Sahiner, N., Poly(Acrylamide-Co-Vinyl Sulfonic Acid) p(AAm-Co-VSA) Hydrogel Templates for Co and Ni Metal Nanoparticle Preparation and Their Use in Hydrogen Production. *International Journal of Hydrogen Energy* **2013**, 38, (2), 777–784.
- [297]. Sahiner, N.; Ozay, O.; Inger, E.; Aktas, N., Controllable Hydrogen Generation by Use Smart Hydrogel Reactor Containing Ru Nano Catalyst and Magnetic Iron Nanoparticles. *Journal of Power Sources* **2011**, 196, (23), 10105–10111.
- [298]. Sahiner, N.; Ozay, O.; Inger, E.; Aktas, N., Superabsorbent Hydrogels for Cobalt Nanoparticle Synthesis and Hydrogen Production from Hydrolysis of Sodium Boron Hydride. *Applied Catalysis B: Environmental* **2011**, 102, (1–2), 201–206.
- [299]. Chen, Y.; Kim, H., Use of a Nickel-Boride-Silica Nanocomposite Catalyst Prepared by in-Situ

- Reduction for Hydrogen Production from Hydrolysis of Sodium Borohydride. *Fuel Processing Technology* **2008**, 89, (10), 966–972.
- [300]. Lin, K. Y. A.; Chang, H. A., Efficient Hydrogen Production from NaBH₄ Hydrolysis Catalyzed by a Magnetic Cobalt/Carbon Composite Derived from a Zeolitic Imidazolate Framework. *Chemical Engineering Journal* **2016**, 296, 243–251.
- [301]. Sahiner, N.; Yasar, A. O.; Aktas, N., Metal-Free Pyridinium-Based Polymeric Ionic Liquids as Catalyst for H₂ Generation from NaBH₄. *Renewable Energy* **2017**, 101, 1005–1012.
- [302]. Sahiner, N.; Yasar, A. O., A New Application for Colloidal Silica Particles: Natural, Environmentally Friendly, Low-Cost, and Reusable Catalyst Material for H₂ Production from NaBH₄ Methanolysis. *Industrial and Engineering Chemistry Research* **2016**, 55, (43), 11245–11252.
- [303]. Sahiner, N., Modified Multi-Wall Carbon Nanotubes as Metal Free Catalyst for Application in H₂ Production from Methanolysis of NaBH₄. *Journal of Power Sources* **2017**, 366, 178–184.
- [304]. Abdul-Majeed, W. S.; Arslan, M. T.; Zimmerman, W. B., Application of Acidic Accelerator for Production of Pure Hydrogen from NaBH₄. *International Journal of Industrial Chemistry* **2014**, 5, (2), 1–9.
- [305]. Krishnan, P.; Advani, S. G.; Prasad, A. K., Cobalt Oxides as Co₂B Catalyst Precursors for the Hydrolysis of Sodium Borohydride Solutions to Generate Hydrogen for PEM Fuel Cells. *International Journal of Hydrogen Energy*. 2008, pp 7095–7102.
- [306]. Liang, Z.; Li, Q.; Li, F.; Zhao, S.; Xia, X., Hydrogen Generation from Hydrolysis of NaBH₄ Based on High Stable NiB/NiFe₂O₄ Catalyst. *International Journal of Hydrogen Energy* **2017**, 42, (7), 3971–3980.
- [307]. Ocon, J. D.; Tuan, T. N.; Yi, Y.; De Leon, R. L.; Lee, J. K.; Lee, J., Ultrafast and Stable Hydrogen Generation from Sodium Borohydride in Methanol and Water over Fe-B Nanoparticles. *Journal of Power Sources* **2013**, 243, 444–450.
- [308]. Balbay, A.; Saka, C., Effect of Phosphoric Acid Addition on the Hydrogen Production from Hydrolysis of NaBH₄ with Cu Based Catalyst. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects* **2018**, 40, (7), 794–804.
- [309]. Liang, Y.; Dai, H. Bin; Ma, L. P.; Wang, P.; Cheng, H. M., Hydrogen Generation from Sodium Borohydride Solution Using a Ruthenium Supported on Graphite Catalyst. *International Journal of Hydrogen Energy* **2010**, 35, (7), 3023–3028.
- [310]. Shih, Y. J.; Su, C. C.; Huang, Y. H.; Lu, M. C., SiO₂-Supported Ferromagnetic Catalysts for Hydrogen Generation from Alkaline NaBH₄ (Sodium Borohydride) Solution. *Energy* **2013**, 54, 263–270.
- [311]. Li, Q.; Yang, W.; Li, F.; Cui, A.; Hong, J., Preparation of CoB/ZIF-8 Supported Catalyst by

- Single Step Reduction and Its Activity in Hydrogen Production. *International Journal of Hydrogen Energy* **2018**, 43, (1), 271–282.
- [312]. Sahiner, N.; Yasar, A. O.; Aktas, N., Dicationic Poly(4-Vinyl Pyridinium) Ionic Liquid Capsules as Template for Co Nanoparticle Preparation and H₂ Production from Hydrolysis of NaBH₄. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* **2015**, 23, 100–108.
- [313]. Wang, L.; Li, Z.; Zhang, P.; Wang, G.; Xie, G., Hydrogen Generation from Alkaline NaBH₄ Solution Using Co-Ni-Mo-P/ γ -Al₂O₃ Catalysts. *International Journal of Hydrogen Energy* **2016**, 41, (3), 1468–1476.
- [314]. Cai, H.; Liu, L.; Chen, Q.; Lu, P.; Dong, J., Ni-Polymer Nanogel Hybrid Particles: A New Strategy for Hydrogen Production from the Hydrolysis of Dimethylamine-Borane and Sodium Borohydride. *Energy* **2016**, 99, 129–135.
- [315]. Wei, L.; Cao, X.; Ma, M.; Lu, Y.; Wang, D.; Zhang, S.; Wang, Q., Co₃O₄ Nanowires as Efficient Catalyst Precursor for Hydrogen Generation from Sodium Borohydride Hydrolysis. *Functional Materials Letters* **2018**, 11, (1), 1–5.
- [316]. Baye, A. F.; Abebe, M. W.; Appiah-Ntiamoah, R.; Kim, H., Engineered Iron-Carbon-Cobalt (Fe₃O₄@C-Co) Core-Shell Composite with Synergistic Catalytic Properties towards Hydrogen Generation via NaBH₄ Hydrolysis. *Journal of Colloid and Interface Science* **2019**, 543, 273–284.
- [317]. Özsaçmacı, G.; Çakanyıldırım, Ç.; Gürü, M., Co-Mn/TiO₂ Catalyst to Enhance the NaBH₄ Decomposition. *Bor Dergisi* **2016**, 1, (1), 1–5.
- [318]. Sahiner, N.; Seven, F., A Facile Synthesis Route to Improve the Catalytic Activity of Inherently Cationic and Magnetic Catalyst Systems for Hydrogen Generation from Sodium Borohydride Hydrolysis. *Fuel Processing Technology* **2015**, 132, 1–8.
- [319]. Fernandes, R.; Patel, N.; Miotello, A., Hydrogen Generation by Hydrolysis of Alkaline NaBH₄ Solution with Cr-Promoted Co-B Amorphous Catalyst. *Applied Catalysis B: Environmental* **2009**, 92, (1–2), 68–74.
- [320]. Mohanta, Y. K.; Nayak, D.; Biswas, K.; Singdevsachan, S. K.; Abd_Allah, E. F.; Hashem, A.; Alqarawi, A. A.; Yadav, D.; Mohanta, T. K., Silver Nanoparticles Synthesized Using Wild Mushroom Show Potential Antimicrobial Activities against Food Borne Pathogens. *Molecules* **2018**, 23, (3), 1–18.
- [321]. Nehra, P.; Chauhan, R. P.; Garg, N.; Verma, K., Antibacterial and Antifungal Activity of Chitosan Coated Iron Oxide Nanoparticles. *British Journal of Biomedical Science* **2018**, 75, (1), 13–18.
- [322]. Khan, S.; Shah, Z. H.; Riaz, S.; Ahmad, N.; Islam, S.; Raza, M. A.; Naseem, S., Antimicrobial Activity of Citric Acid Functionalized Iron Oxide Nanoparticles – Superparamagnetic Effect. *Ceramics International* **2020**, 46, (8), 10942–10951.

- [323]. Khashan, K. S.; Sulaiman, G. M.; Mahdi, R., Preparation of Iron Oxide Nanoparticles-Decorated Carbon Nanotube Using Laser Ablation in Liquid and Their Antimicrobial Activity. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology* **2017**, 45, (8), 1699–1709.
- [324]. Kanagasubbulakshmi, S.; Kadirvelu, K., Green Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles Using *Lagenaria Siceraria* and Evaluation of Its Antimicrobial Activity. *Defence Life Science Journal* **2017**, 2, (4), 422-427.
- [325]. Devatha, C. P.; Jagadeesh, K.; Patil, M., Effect of Green Synthesized Iron Nanoparticles by *Azadirachta Indica* in Different Proportions on Antibacterial Activity. *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management* **2018**, 9, (November 2017), 85–94.
- [326]. Vitta, Y.; Figueroa, M.; Calderon, M.; Ciangherotti, C., Synthesis of Iron Nanoparticles from Aqueous Extract of *Eucalyptus Robusta* Sm and Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activity. *Materials Science for Energy Technologies* **2020**, 3, 97–103.
- [327]. Mohamed, Y. M.; Azzam, A. M.; Amin, B. H.; Safwat, N. A., Mycosynthesis of Iron Nanoparticles by *Alternaria Alternata* and Its Antibacterial Activity. *African Journal of Biotechnology* **2015**, 14, (14), 1234–1241.
- [328]. Ting Wang, Ping Su, Huifen Li, Y. Y. and Y. Y., Triple-Enzyme Mimetic Activity of Co₃ O₄ Nanotubes and Their Applications in Colorimetric Sensing of Glutathione. *New Journal of Chemistry*, 40(12). *Analytical Biochemistry* **2016**, 40, (12), 10056–10063.
- [329]. Josephy, P. D., Eling, T., & Mason, R. P., The Horseradish Peroxidase-Catalyzed Oxidation of 3,5,3',5'-Tetramethylbenzidine. Free Radical and Charge-Transfer Complex Intermediates. _Elsevier Enhanced Reader.Pdf. *Journal of Biological Chemistry* **1981**, 257, (7), 3669–3675.
- [330]. Lian, J.; Liu, P.; Jin, C.; Shi, Z.; Luo, X.; Liu, Q., Perylene Diimide-Functionalized CeO₂ Nanocomposite as a Peroxidase Mimic for Colorimetric Determination of Hydrogen Peroxide and Glutathione. *Microchimica Acta* **2019**, 186, (6), 1-9.
- [331]. Lin, T.; Zhong, L.; Song, Z.; Guo, L.; Wu, H.; Guo, Q.; Chen, Y.; Fu, F. F.; Chen, G., Visual Detection of Blood Glucose Based on Peroxidase-like Activity of WS₂ Nanosheets. *Biosensors and Bioelectronics* **2014**, 62, 302–307.
- [332]. https://bilsenbesergil.blogspot.com/p/blog-page_424.html (12.08.2021).
- [333]. Cai, S., Han, Q., Qi, C., Lian, Z., Jia, X., Yang, R., & Wang, C., Pt 74 Ag 26 Nanoparticle-Decorated Ultrathin MoS₂ Nanosheets as Novel Peroxidase Mimics for Highly Selective Colorimetric Detection of H₂ O₂ and Glucose. *Nanoscale* **2016**, 8, (6), 3685–3693.
- [334]. Li, R.; Zhen, M.; Guan, M.; Chen, D.; Zhang, G.; Ge, J.; Gong, P.; Wang, C.; Shu, C., A Novel Glucose Colorimetric Sensor Based on Intrinsic Peroxidase-like Activity of C₆₀-Carboxyfullerenes. *Biosensors and Bioelectronics* **2013**, 47, 502–507.
- [335]. Guo, Y.; Li, J.; Dong, S., Hemin Functionalized Graphene Nanosheets-Based Dual Biosensor Platforms for Hydrogen Peroxide and Glucose. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **2011**,

- 160, (1), 295–300.
- [336]. Zhang, T.; Lu, Y.; Luo, G., Synthesis of Hierarchical Iron Hydrogen Phosphate Crystal as a Robust Peroxidase Mimic for Stable H₂O₂ Detection. *ACS Applied Materials and Interfaces* **2014**, 6, (16), 14433–14438.
- [337]. Lin, T.; Zhong, L.; Song, Z.; Guo, L.; Wu, H.; Guo, Q.; Chen, Y.; Fu, F. F.; Chen, G., Visual Detection of Blood Glucose Based on Peroxidase-like Activity of WS₂ Nanosheets. *Biosensors and Bioelectronics* **2014**, 62, 302–307.
- [338]. Wu, K.; Zhao, X.; Chen, M.; Zhang, H.; Liu, Z.; Zhang, X.; Zhu, X.; Liu, Q., Synthesis of Well-Dispersed Fe₃O₄ Nanoparticles Loaded on Montmorillonite and Sensitive Colorimetric Detection of H₂O₂ Based on Its Peroxidase-like Activity. *New Journal of Chemistry* **2018**, 42, (12), 9578–9587.
- [339]. Lin, L.; Song, X.; Chen, Y.; Rong, M.; Zhao, T.; Wang, Y.; Jiang, Y.; Chen, X., Intrinsic Peroxidase-like Catalytic Activity of Nitrogen-Doped Graphene Quantum Dots and Their Application in the Colorimetric Detection of H₂O₂ and Glucose. *Analytica Chimica Acta* **2015**, 869, 89–95.
- [340]. Ji, D.; Du, Y.; Meng, H.; Zhang, L.; Huang, Z.; Hu, Y.; Li, J.; Yu, F.; Li, Z., A Novel Colorimetric Strategy for Sensitive and Rapid Sensing of Ascorbic Acid Using Cobalt Oxyhydroxide Nanoflakes and 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **2018**, 256, 512–519.
- [341]. Fan, S.; Zhao, M.; Ding, L.; Li, H.; Chen, S., Preparation of Co₃O₄/Crumpled Graphene Microsphere as Peroxidase Mimetic for Colorimetric Assay of Ascorbic Acid. *Biosensors and Bioelectronics* **2017**, 89, 846–852.
- [342]. Gao, C.; Zhu, H.; Chen, J.; Qiu, H., Facile Synthesis of Enzyme Functional Metal-Organic Framework for Colorimetric Detecting H₂O₂ and Ascorbic Acid. *Chinese Chemical Letters* **2017**, 28, (5), 1006–1012.