



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İLAÇ TAŞIYICI SİSTEM UYGULAMALARI İÇİN GRAFEN ESASLI MALZEMELER ÜRETİLMESİ

KİBAR DEMİRHAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ECZACILIK TEMEL BİLİMLERİ ANABİLİM DALI

GENEL KİMYA

DANIŞMAN
Doç. Dr. ELİF ÇALIŞKAN SALİHİ

2020-İSTANBUL

BEYAN

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

KİBAR DEMİRHAN

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın ilk gününden sonuna kadar destek ve yardımlarını hissettiğim, tezin her aşamasında engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım bana her zaman yol gösterici olan ve aynı zamanda insani ve ahlaki yönüyle de örnek aldığım değerli hocam Doç. Dr. Elif ÇALIŞKAN SALİHİ' ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans çalışmam süresince desteklerini esirgemeyen başta Anabilim Dalı Başkanı değerli hocam Prof. Dr. Sinem GÖKTÜRK olmak üzere tüm Eczacılık Temel Bilimleri Anabilim Dalı öğretim üyelerine çok teşekkür ederim.

Tez savunmama katılarak yorum, öneri ve geri bildirimleri ile tezime katkı sağlayan Doç. Dr. Sibel ŞAHİNLER AYLAR' ya teşekkürlerimi sunarım.

Sitotoksikite deneylerinin yürütülmesini sağlayan sayın hocam Doç. Dr. Özlem BİNGÖL ÖZAKPINAR'a ve laboratuvarında destek olan Araş. Gör. Turgut ŞEKERLER'e teşekkür ederim.

FTIR analizleri konusunda yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Sevil ŞENKARDEŞ'e teşekkür ederim.

Lisansüstü eğitimimim boyunca motivasyonumu her daim yüksek tutan ve her türlü desteğini esirgemeyen sevgili eşim Mehmet DEMİRHAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından SAG-C-YLP-0905180230 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Bu tez çalışmasında önerilen yöntem ve üretilen malzemeler için PT2018-01922 numaralı ve Grafen Oksitten Elde Edilen Grafen Esaslı Malzemeler ve Bunları Elde Etme Yöntemi başlıklı Patent başvurusu yapılmıştır.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMA ve SİMGELER.....	iv
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
RESİM LİSTESİ.....	vii
TABLO LİSTESİ	viii
1. ÖZET	1
2. SUMMARY.....	2
3. GİRİŞ ve AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER.....	5
4.1. MALZEME BİLİMİ.....	5
4.2. İKİ BOYUTLU (2D) MALZEMELER.....	6
4.3. GRAFEN ve GRAFEN ESALİ MALZEMELER.....	6
4.4. KARBON.....	8
4.5. GRAFİT.....	10
4.6. MALZEMELERİN KARAKTERİZASYONU.....	11
4.6.1. Mor ötesi (ultraviyole, UV) ve görünür bölge absorpsiyon spektroskopisi	11
4.6.2. Kızılötesi (Infrared-Infrarouge) Işıklar ve FTIR Analizi.....	14
4.6.3. Raman Spektroskopisi.....	15
4.6.4. X-Işıkları Difraksiyonu (Kırınımı) (XRD).....	16
4.6.5. Taramalı Elektron Mikroskopu(SEM).....	21
5. GEREÇ VE YÖNTEM.....	23
5.1. KULLANILAN CİHAZLAR.....	23
5.1.1. Ultraviyole (UV)-görünür bölge spektrofotometresi.....	23
5.1.2. Santrifüj Cihazı	23
5.1.3. Ultrasonik Banyo	24
5.1.4. Etüv	24
5.1.5. Terazî.....	25
5.1.6. PH – Metre.....	25

5.2. KULLANILAN MALZEMELER.....	26
5.2.1. Sinnamaldehit.....	26
5.2.2 Undesilenik Asit.....	26
5.3. KULLANILAN YÖNTEMLER.....	27
5.3.1. GO Sentezi.....	27
5.3.2. GO'nun Modifikasyonu ile Grafen Esaslı Malzemelerin Üretilmesi.....	28
5.3.3. GO ve Grafen Esaslı Malzemelerin Karakterizasyonu.....	29
5.3.4. Toksisite Deneyleri (MTT testi).....	29
6. BULGULAR.....	31
6.1. DENEY ŞARTLARININ MODİFİKASYON ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN İNCELENMESİ.....	32
6.2. FTIR ANALİZLERİ.....	36
6.3. XRD DİYAGRAMLARI.....	38
6.4. RAMAN ANALİZLERİ.....	40
6.5. TARAMALI ELEKTRON MİKROSKOBU (SEM) GÖRÜNTÜLERİ.....	41
6.6. TOKSİSİTE DENEYLERİ (MTT TESTİ).....	43
7. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	45
8. KAYNAKLAR.....	47
9. ÖZGEÇMİŞ.....	53

KISALMA ve SİMGELER LİSTESİ

A: Absorbans

C: Karbon

CA: Sınnamaldehit

FTIR: Fourier Transform Infrared

GO: Grafen oksit

rGO: İndirgenmiş grafen oksit

SEM: Taramalı Elektron Mikroskobu

T: Geçirgenlik

UA: Undesilenik Asit

UV: Ultraviyole (Mor Ötesi)

XRD: X -Ray Diffraction (X-Işını Kırınımı)

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 4.1 Grafen (I), Grafen oksit (II) ve indirgenmiş Grafen oksit (III) yapısı (Harun ve Wadi, 2019)

Şekil 4.2 Karbonun temel allotropları ve bunlardan elde edilmiş karbon yapıları (Bandosz, 2006)

Şekil 4.3 Karbon yüzeyinde bulunabilecek en önemli gruplar (Bandosz, 2006)

Şekil 4.4 Karbonun grafitik formu (Geçkinli, 1992)

Şekil 4.5 Moleküler absorpsiyon spektroskopisinin şematik gösterimi (Skoog ve ark., 1998)

Şekil 4.6 Örnek UV spektrumu (Trippelenamin hidroklorür) (Biryol, 1995)

Şekil 4.7 X-ışınları kırınımının açıklanması (Skoog ve ark., 1998)

Şekil 5.1 Sinnamaldehit (CA) yapısı

Şekil 5.2 Undesilenik asit (UA) yapısı

Şekil 6.1 Sinnamaldehit (CA) ile yapılan modifikasyon sonucu gerçekleşen renk değişimi.

Şekil 6.2 Undesilenik Asit (UA) ile yapılan modifikasyon sonucu gerçekleşen renk değişimi.

Şekil 6.3 Grafen oksit (GO)'in CA ile modifikasyonuna deney süresinin etkisi

Şekil 6.4 Grafen oksit (GO)'in UA ile modifikasyonuna deney süresinin etkisi

Şekil 6.5 GO ve üretilen grafen esaslı malzemelerin FTIR Spektrumları

Şekil 6.6 Grafit, GO ve CA modifikasyonu ile üretilmiş olan grafen esaslı malzemelerin (rGO-CA25 ve rGO-CA85) XRD Diyagramları

Şekil 6.7 Grafit, GO ve UA modifikasyonu ile üretilmiş olan grafen esaslı malzemelerin (rGO-UA25 ve rGO-UA85) XRD Diyagramları

Şekil 6.8 Grafen oksit (GO) ve üretilen grafen esaslı malzemelerin Raman analizleri

Şekil 6.9 Grafen oksit (GO)'in Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Görüntüsü

Şekil 6.10 rGO-CA85'in Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Görüntüsü

Şekil 6.11 rGO-UA85'in Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Görüntüsü

Şekil 6.12 Grafen oksit (GO) ve grafen esaslı malzemelerin MTT testi



RESİM LİSTESİ

Resim 5.1 Ultraviyole-Görünür bölge spektrofotometresi

Resim 5.2 Santrifüj Cihazı (Sigma Labrotary Centrifuges 3K30/Z)

Resim 5.3 Ultrasonik Banyo

Resim 5.4 Etüv

Resim 5.5 Terazî

Resim 5.6 PH – Metre

Resim 5.7 Grafen oksit (GO) sentezi

Resim 5.8 Grafen oksitin (GO) modifikasyonu

TABLO LİSTESİ

Tablo 6.1 Grafen oksit (GO)'in modifikasyonuna reaktif miktarının etkisinin incelenmesi

Tablo 6.2 Grafen oksit (GO)'in modifikasyonuna deney süresinin etkisinin incelenmesi

Tablo 6.3 Grafen oksit (GO)'in modifikasyonuna sıcaklığın etkisinin incelenmesi



1. ÖZET

İlaç taşıyıcı sistem uygulamaları için grafen esaslı malzemeler üretilmesi

Öğrencinin Adı: Kibar DEMİRHAN

Danışman Adı: Doç. Dr. Elif ÇALIŞKAN SALİHİ

Amaç: Grafen esaslı malzemeler farmasötik endüstrisinin pek çok uygulamasında kullanılabilecek eşsiz alternatiflerdir ve bu alanda büyük bir potansiyel taşırlar. Bu bağlamda, bu tez çalışmasının amacı ilaç taşıyıcı sistem uygulamaları için grafen esaslı malzemeler üretilmesidir.

Gereç ve Yöntem: Grafen esaslı malzemeler grafen oksit (GO) basit, kullanımı kolay ve yeşil bir yöntem ile modifikasyonu yoluyla üretilmiştir. Modifikasyon işlemi doğal maddeler olan sinnamaldehit (CA) ve undesilenik asit (UA) kullanılarak yapılmıştır. GO, laboratuvarımızda modifiye edilmiş Hummers yöntemi kullanılarak üretilmiştir. Bu yöntem grafitin kuvvetli yükseltgeyiciler ve asit karışımı ile okside edilmesi ve tabakalarının ayrıştırılmasına dayanır. Modifiye edilmiş GO numuneleri ise GO dispersiyonlarının reaktif çözeltileri ile karıştırılması ile üretilmiştir. Modifikasyon deneyleri çeşitli sıcaklıklar ve farklı deney süreleri kullanılarak tekrarlanmıştır. Yıkanan numuneler daha sonra etüvde kurutulmuştur. Numunelerin karakterizasyonu elektron mikroskopisi ve spektrofotometrik yöntemler kullanılarak yapılmıştır.

Bulgular: Sonuçlar GO'nun CA ile başarılı olarak indirgendığını göstermektedir. Bununla birlikte UA ise, GO'nun hem indirgenmesi hem de biyofonksiyonelleştirilmesi için etkili olmuştur. İndirgenmenin gerçekleştiği optimum koşullar tespit edilmiş ve grafen esaslı malzemelerin üretilmesi için bu koşullar kullanılmıştır. Üretilen yeni grafen esaslı malzemeler UV-Görünür alan spektroskopisi, FTIR spektroskopisi, Raman spektroskopisi, XRD analizi ve Taramalı elektron mikroskobu ile karakterize edilmiştir. Malzemelerin biyoyumluluk düzeyleri sitotoksikite testleri ile değerlendirilmiştir.

Sonuç: GO'nun kimyasal indirgenmesi grafenin büyük miktarlarda üretimi için önemlidir çünkü kimyasal indirgeme büyük miktarlarda grafen üretimi için en işlevsel yöntemdir. GO'nun indirgenmesi için literatürde birçok indirgeyici bulunmaktadır fakat bunların çoğu canlılar için zararlıdır. Sonuç olarak, grafen ve grafen esaslı malzemelerin üretimi için ölçeklenebilir, kolay ve çevre dostu bir yöntem ihtiyacı vardır. Bu çalışma, grafen oksit bazik ortam ya da ilave kimyasallar kullanılmadan modifiye edilmesi için yeşil bir yöntem önermektedir. Bu yöntemle üretilen grafen esaslı malzemeler biyomalzeme üretimi için bir alternatif sunmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Grafen oksit, sinnamaldehit, undesilenik asit, indirgenme, biyofonksiyonelleştirme.

2. SUMMARY

Production of graphene based materials for drug delivery applications

Name of the Student: Kibar DEMİRHAN

Name of Supervisor: Assoc. Prof. Elif ÇALIŞKAN SALİHİ

Objective: Graphene based materials are excellent candidates and have great potential for many applications related to pharmaceutical industry due to their extraordinary and advanced properties. Therefore, the objective of this thesis was to produce graphene based materials for drug delivery applications.

Material and Methods: Graphene based materials were produced via modification of graphene oxide (GO) using a simple, easy to handle and green method. Modification was done by using cinnamaldehyde (CA) and undecylenic acid (UA) as natural substances. GO was produced by using Hummers method which has been revised in our laboratory. This method consists of the exfoliation of graphite by the oxidation of it with strong oxidants and an acid mixture. Modified GO samples were thereafter prepared by mixing GO dispersions with reagent solutions. Modification experiments were repeated for selected temperatures during selected contact times. Washed samples were then dried in an oven. Sample characterization was done by using electron microscopy and spectrophotometric techniques.

Results: Results of this thesis confirmed the successful reduction of GO by CA. In addition to this, UA was effective for the reduction of GO besides biofunctionalization. Optimum conditions for the modification were found and used to produce graphene based materials. New graphene based materials produced were characterized using UV-Visible spectroscopy, FTIR spectroscopy, Raman spectroscopy, XRD analysis and Scanning electron microscope. Cytotoxicity tests were done to evaluate the biocompatibility of the materials.

Conclusion: Chemical reduction techniques are important for the large-scale production of graphene since the chemical reduction is the most versatile method. There are several reducing agents reported for GO but these agents are mostly poisonous for the living organisms. So, there is a real need for a method that is scalable, easy to handle and environmentally friendly for the production of graphene and graphene based materials. The procedure used in this thesis offers a basic and green method for the production of graphene based materials which does not include using alkaline medium or any additives. Graphene based materials produced using this method are potential alternatives for the production of biomaterials.

Keywords: Graphene oxide, cinnamaldehyde, undecylenic acid, reduction, biofunctionalization.

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Grafen, bal peteği yapısında tamamı sp^2 konjugasyonuna sahip karbon atomlarından oluşmuş 2 boyutlu bir karbon malzemedir. Grafit oksit (GO), grafitin oksijen içeren ve suda dağılabilen bir türevidir ve sulu ortamda iyi disperse olan tek tabakalı ya da az tabakalı grafen okside (GO) kadar tabakalarına ayrıştırılabilir. GO plakalarının indirgenmesi, grafen yapısının kısmen kazanılmasını sağlar. Bu nedenle GO, büyük miktarlarda grafen üretimi ve modifikasyonu için stratejik başlama noktasıdır. İndirgenmiş grafen oksit (rGO), yapısı ve özellikleri saf grafene benzer olduğundan kimyasal olarak modifiye edilmiş grafenler arasında en önemlisidir. Grafen esaslı malzemelerin üstün elektrik, mekanik ve termal özelliklerinden dolayı birçok uygulama alanına yönelik araştırmaları yapılmaktadır (Chen ve ark., 2011; Chua ve Pumera, 2014; Dreyer ve ark., 2010; Thakur ve Karak, 2015; Zhang ve ark., 2012; Wang ve ark., 2017).

Önceki araştırmalar grafen oksit(GO) ve grafen esaslı malzemelerin su arıtımında ağır metal iyonlarını ve hidrofobik organik kontaminantları uzaklaştırmak için adsorban maddeler olarak (H u ve Mi, 2013; Salihi ve ark., 2016; Wang ve ark., 2016); yüksek spesifik kapasitans ve mükemmel iletkenliğinden dolayı, elektrokimyasal enerji depolama aygıtları ve elektrokimyasal sensörler için elektrot materyali olarak (Lin ve ark.,2015; Kim ve ark., 2009; Huang ve ark., 2011); ve DNA translokasyonlarının saptanması, diyabetin izlenmesi ve tedavisi gibi alanlar ile ilaç taşıyıcı sistem uygulamalarında biyomalzemeler olarak kullanılabileceğini göstermiştir. GO, biyofonksiyonelleştirilmiş grafen esaslı malzeme üretimi açısından avantajlı bir yapıya sahiptir. İlaç taşıyıcı sistem uygulamalarında GO'nun altılı karbon halkaları üzerindeki oksijen içeren gruplar, GO'nun fonksiyonel gruplar ile modifikasyonunu kolaylaştırır. Çünkü bu gruplar ilaç etken maddeleri, diğer organik moleküller ya da biyomoleküllerin yüzeyde tutunarak yapıya yüklenmesinde işlevsellik gösterir (Traversi ve ark., 2013; Lee ve ark., 2016; Song ve ark., 2019; Harun ve Wadi, 2019).

Grafenin endüstriyel uygulamaları için yaygın olarak geliştirilmesi, esas olarak, bu malzemenin büyük ölçekte hazırlanmasına ve uygulanmasına olanak tanıyan etkili ve ucuz yöntemlerin bulunmasına bağlıdır.

GO' nun kimyasal indirgenmesi ya da modifikasyonu ticari uygulamalar için büyük ölçekli grafen üretimine yönelik gelecek vadeden bir yoldur. Kimyasal indirgenme, hem asidik hem de alkali ortamlarda uygulanabilen çok yönlü bir yöntemdir. Aynı zamanda ölçeklenebilir ve ekonomiktir (Li ve Shi, 2012; Stankovich ve ark., 2007).

GO'nun indirgenmesi için birçok kimyasal madde kullanılmıştır ancak bu kullanılan kimyasalların çoğu çevre ve insan sağlığı açısından tehdit oluşturmaktadır. Bu sebeple GO'nun indirgenmesinin kolay, çevre dostu ve ölçeklenebilir olarak yapılabilmesi için yeni bir yöntem ihtiyacı vardır (Stankovich ve ark., 2007; Adhikari ve Banerjee, 2013). Yakın zamanda GO'nun indirgenmesi ve fonksiyonelleştirilmesi için biyomoleküllerin kullanıldığı yöntemlere yönelik çalışmalar yapılmıştır (Zhang ve ark., 2012; Chua ve Pumera, 2014; Gaove ark., 2010; Phamve ark., 2011; Mave ark., 2013; Adhikari ve Banerjee, 2013; Paredes ve ark., 2011; Gurunathan ve ark., 2013; Han ve ark., 2013; Kim ve ark., 2013; Zhang ve ark., 2010; Mallakpour ve ark., 2014; Bose ve ark., 2012). Ancak literatürde GO'nun indirgenmesi ya da fonksiyonelleştirilmesi için sinnamaldehit ya da undesilenikasitin kullanıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Tüm bunların ışığında bu tez çalışmasının amacı, laboratuvarımızda modifiye edilen Hummers yöntemi kullanılarak üretilmiş olan GO'nun yeşil yöntemler ile modifiye edilmesiyle ilaç taşıyıcı sistem uygulamalarına yönelik grafen esaslı malzemeler üretilmesidir. Modifikasyon için doğadaki tarçın gibi bazı bitkilerin bileşiminde bulunan sinnamaldehit ve bir yağ asidi olan undesilenik asit kullanılmıştır. Modifikasyon çalışmaları çeşitli deney süreleri ve farklı reaktif miktarları kullanılarak yürütülmüştür. Ortam sıcaklığının modifikasyon üzerindeki etkisi de incelenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda, grafen esaslı malzemelerin üretimi için optimum şartlar tespit edilmiş ve üretilen malzemelerin fizikokimyasal karakterizasyonu yapılmıştır. Ayrıca in-vitro sitotoksikite testleri yapılmış ve üretilen malzemelerin biyouyumluluk düzeyleri irdelenmiştir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Malzeme Bilimi

İnsanların toplum yaşayışlarında kullandığı araç ve gereçler genelde “malzeme” adı verilen nesnelerden yapılırlar. Malzeme bilimi; malzemelerin bileşimi, yapısı ve özellikleri arasındaki ilişkiler ile bunların kimyasal, mekanik ve ısıt işlemlerle değişimlerini inceleyerek çeşitli kullanım alanlarına göre mevcut malzemenin özelliklerini ve yeni malzemeler oluşturulmasını sağlayacak üretim yöntemlerini geliştiren çok geniş ve önemli bir bilim dalıdır. Malzeme seçiminde amaç; en düşük maliyetle istenilen teknik emniyet ve diğer özellikleri verebilecek malzemenin mevcutları arasından uygun bir şekilde seçilmesidir (Dikeç, 2013). Buradan da görülebileceği gibi malzeme seçiminde iki önemli etken göz önüne alınmalıdır:

- 1) Arzu edilen özellikleri ihtiva eden ve teknolojik anlamda üretimi mümkün olan malzeme.
- 2) Mevcutları arasında en ucuz olan malzeme.

Teknik açıdan ise malzeme seçiminde göz önüne alınması gereken özellikler şunlardır:

1. Fiziksel özellikler

- a. Yapısal özellikler: Şekil, boyut, yoğunluk, iç yapı.
- b. Mekanik özellikler: Çekme mukavemeti, sertlik, kırılma mukavemeti, elastiklik, süreklilik, aşınma mukavemeti, basma mukavemeti vb.
- c. Isıl özellikler: Isı iletimi, ısıt genleşme, özgül ısı vb.
- d. Ses özellikleri: Ses geçirgenliği.
- e. Optik özellikler: Renk, ışığı kırma, yansıtma vb.
- f. Elektrik özellikleri: Elektrik geçirgenliği, direnci vb.
- g. Manyetik özellikler: manyetik özelliği, histerezis kayıpları vb.

2. Kimyasal özellikler: Kimyasal bileşim, atmosfer koşullarındaki asit, baz ve nötr ortamlardaki gaz, sıvı ve katı hallerindeki kimyasal davranışları, elektrokimyasal özellikler, paslanma vb.
3. Biyolojik özellikler: bitkisel ve hayvansal etkenler karşısındaki davranışlar, çevre sağlığına etkisi vb.
4. Teknolojik özellikleri: Döküm, plastik şekil verme (haddeleme, dövme, derin çekme, ekstrüzyon), talaş kaldırarak işleme (torna, freze, matkap), yüzey işlemleri (kaplama, boyama, emaye), kaynakla birleştirme gibi mevcut üretim yöntemlerine göre durumu.
5. Teknik kullanım özellikleri: Kullanım imkanları, şekilleri ve miktarlar.
6. Ekonomik özellikleri: Üretim, işleme, nakliye gibi safhalarda maliyet ve çalışma ömrü (Dikeç, 2013).

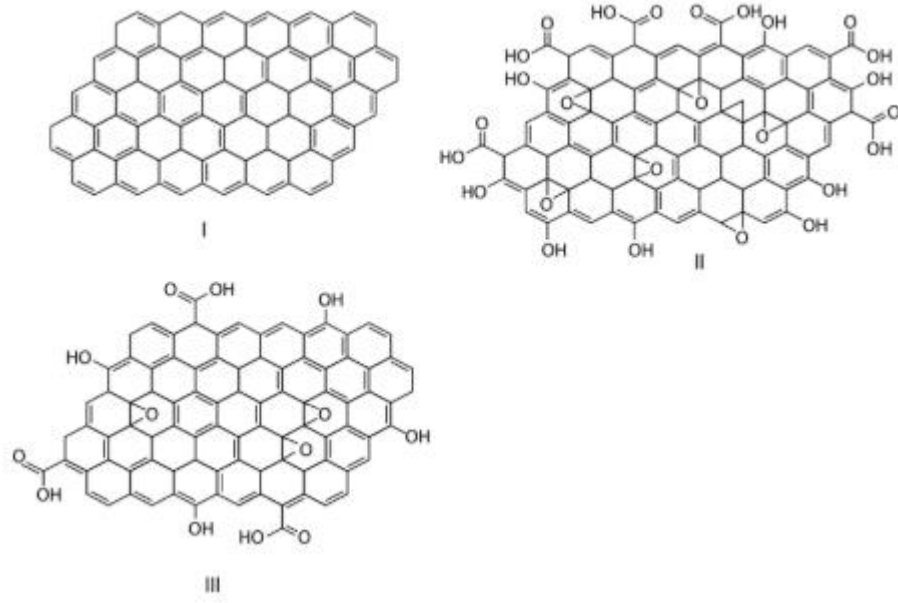
4.2. İki Boyutlu (2D) Malzemeler

Üç boyutlu malzemeler kitap gibi düşünülürse, iki boyutlu malzemeler de bu kitabı oluşturan sayfalar olarak düşünülebilir. Aynı bir sayfada olduğu gibi, iki boyutlu malzemelerin z eksenindeki uzunlukları, x ve y eksenlerindeki uzunluklarından defalarca kat daha kısadır. İki boyutlu malzemeler genellikle bir veya birkaç atom kalınlığındadır. İki boyutlu malzemeler birçok alanda kullanılmaktadır (Gürarlan, 2018).

4.3. Grafen ve Grafen Esaslı Malzemeler

2004 yılında araştırmacılar “Scotch tape” yöntemi ile grafen (Şekil 4.1) elde edene kadar, bilim insanları bir atom kalınlığındaki malzemelerin var olmasının termodinamik olarak mümkün olmayacağını düşünüyorlardı. Bu çalışma 2010 yılında Nobel Fizik ödülü ile ödüllendirildi.

Araştırmacıların grafen üretiminde kullandıkları yöntem mekanik eksfolasyon olarak da bilinir ve üçboyutlu (3D) bir malzemenin katmanlarının soyularak yada ayrılarak iki boyutlu bir malzeme elde edilmesine dayanır (Gürarlan, 2018).



Şekil 4.1. Grafen (I), Grafen oksit (II) ve indirgenmiş Grafen oksit (III) yapısı (Harun ve Sulaiman Wadi, 2019)

Grafen, bal peteği yapısındadır ve sp^2 konjugasyonuna sahip karbon atomlarından oluşmuştur. 2 boyutlu bir karbon malzemedir. Grafite oksit, grafitin oksijen içeren ve suda dağılabilen bir türevidir ve sulu ortamda iyi disperse olan tek tabakalı ya da az tabakalı GO' ya kadar tabakalarına ayrıştırılabilir (Şekil 4.1) (Wang ve ark., 2017). Grafen oksit ve diğer grafen esaslı malzemeler, yeni ve ileri fonksiyonel malzemelerin geliştirilmesi açısından önemli bir role sahiptir. Grafen oksit, amaca uygun bileşenler kullanılarak kovalent ya da kovalent olmayan (nonkovalent) bağlar ile modifiye edilebilir (Nurunnabi ve ark., 2019).

Grafen esaslı malzemeler çok büyük yüzey alanları, eşsiz mekanik dayanımları, iyi biyoyoumluluk düzeyleri ve düşük toksisiteleri sebebiyle gelecekteki ilaçtaşıyıcı system uygulamaları açısından büyük bir öneme sahiptirler. Tek atom kalınlığındaki yapı adsorpsiyon ve ilaç etken madde moleküllerinin yüzeyin iki tarafına da tutulması sayesinde ilaç yükleme kapasitesinin daha yüksek olmasını sağlar. Bunun yanı sıra, GO' nun yapısındaki oksijen içeren gruplar suda çok iyi dağılmasını sağladığından suda çözünmeyen ilaçların hidrofilik yapı üzerinde taşınmasına imkan verir.

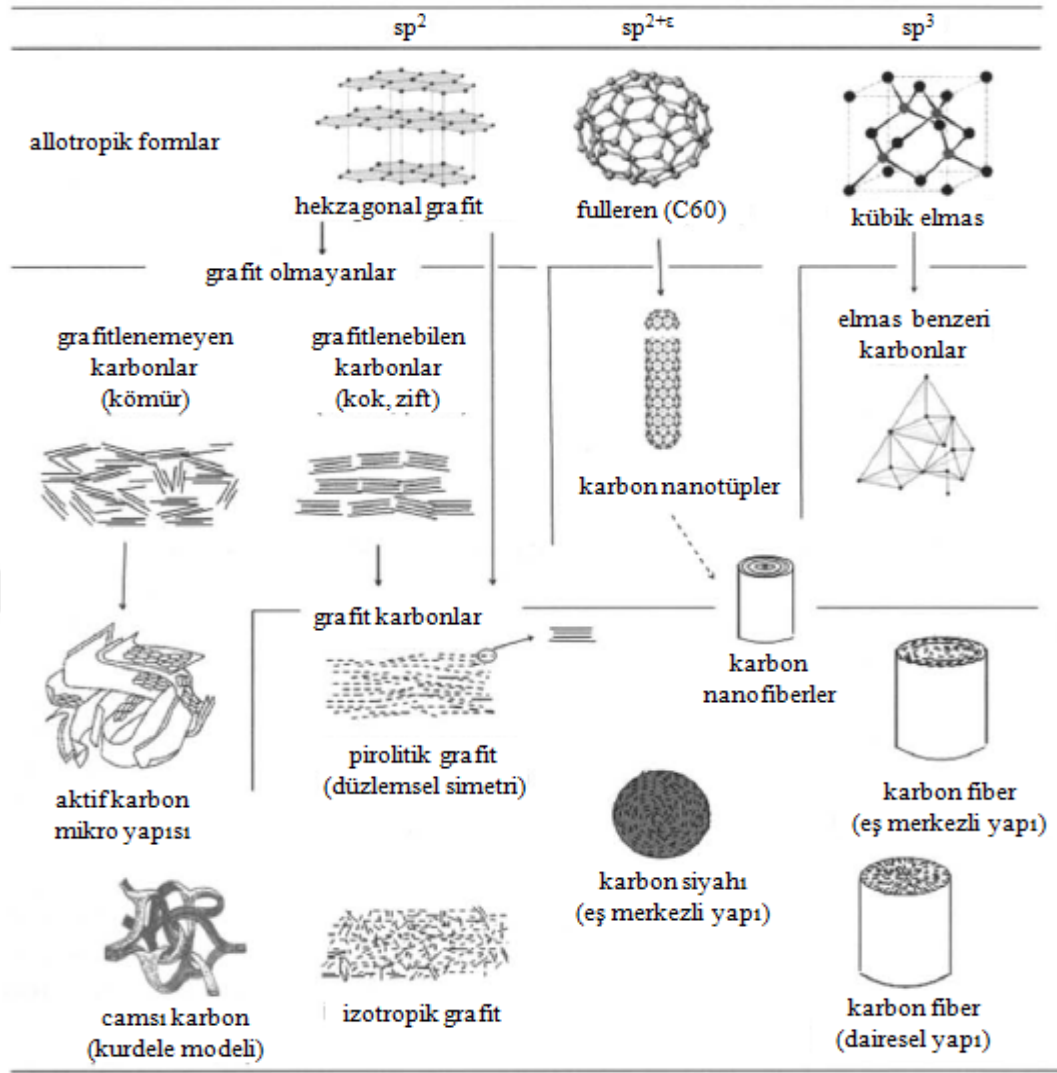
Bu oksijen içeren gruplar kolaylıkla modifiye edilebildiğinden, yüzey mühendisliği ile fonksiyonel ve özellikleri control edilebilir yüzeyler geliştirilebilir. GO yüzeyinin modifiye edilmesi sadece biyouyumluluğu arttırmakla kalmaz, ilaç taşınımı ve terapötik etki açısından da avantaj sağlar (Song ve ark., 2019; Zhang ve ark.,2016; Yang ve ark., 2013).

4.4. Karbon

Karbon malzemeler esas olarak karbon elementinden oluşur. Atom numarası 6 olan karbon elementi atom yapısından dolayı kendisi ve diğer elementler ile eşsiz bağ yapma özellikleri taşır. Karbon atomlarının hibritleşme türüne bağlı olarak farklı allotroplar oluşturabilir (Bandosz, 2006).

Atomların üç boyutlu ağ yapısı ile bir arada tutulduğu kristaller, kovalent kristallerdir. Grafit ve elmas karbon atomunun allotroplarıdır ve en çok bilinen kovalent kristallere örneklerdir. Elmasın bilinen en sert malzeme olmasının sebebi üç boyuttaki kovalent bağlardır. Bu bağlar erime noktasının çok yüksek (3550 °C) olmasını sağlar. Grafitin kristal yapısında ise altıgen halkalar oluşturacak şekilde dizilen karbon atomlarının tümü sp^2 melezleşmesi yapmıştır. Melezleşmemiş olan 2p orbitali ise pi bağlarının yapılmasında kullanılmaktadır. 2p orbitallerinde bulunan elektronların hareketi serbest olduğundan, grafit düzlemler boyunca elektriği kolayca iletir. Grafiti oluşturan tabakaları bir arada tutan kuvvet Van der Waals etkileşimleridir. Grafite sertlik veren ise, yapısındaki kovalent bağlardır. Grafitin tabakaları birbiri üzerinden kolayca kayabilir ve kayganlaştırıcı olarak kullanılır. Kurşun kalemelerde, bilgisayar kayıt cihazlarında da grafit kullanılır (Chang, 2011).

Karbonun temel allotropları ve bunlardan elde edilen karbon yapıları Şekil 4.2' de gösterilmiştir (Bandosz, 2006).

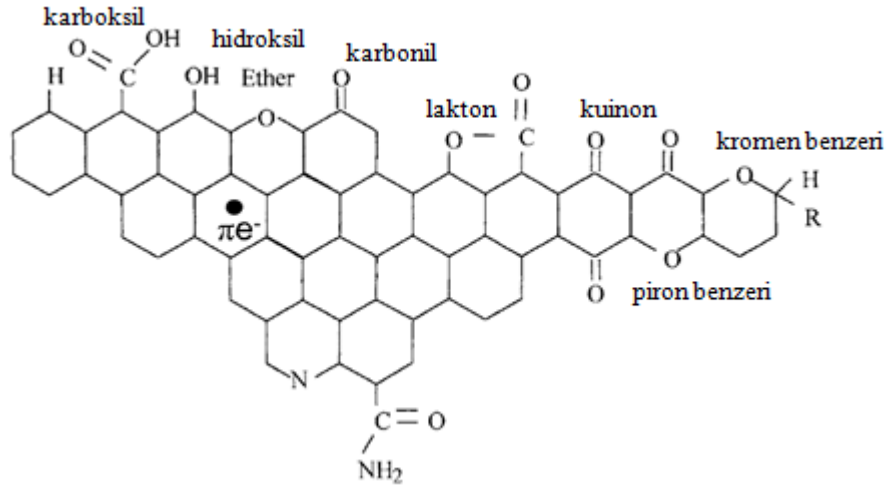


Şekil 4.2. Karbonun temel allotropları ve bunlardan elde edilmiş karbon yapıları (Bandosz, 2006)

Karbon yapısının uçlarında yerleşmiş olan karbon atomları doymamış atomlardır, yani çiftleşmemiş elektronları vardır. Bu bölgeler genelde yüzey gruplarını oluşturan hetero-atomlara bağlıdır (Şekil 4.3). Bu gruplar arasında en yaygın olanı oksijen içeren yüzey gruplarıdır.

Fonksiyonel gruplarla ilişkili olan yüzey bölgeleri toplam yüzey alanının küçük bir kısmını oluşturmalarına rağmen, karbonun kimyasal yapısındaki küçük değişiklikler adsorpsiyon kapasitesinde önemli değişikliklere sebep olabilir. Yüzey gruplarının varlığı ya da yokluğu karbonun farklı adsorbanlarla olan etkileşimini önemli derecede etkiler.

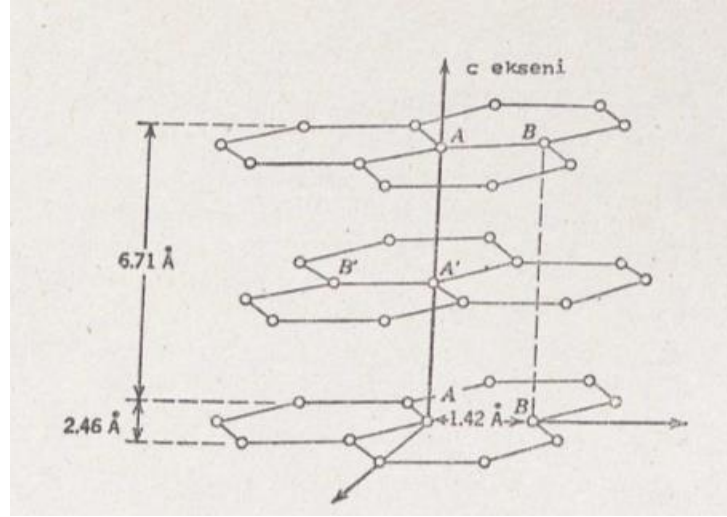
İlk olarak, oksijen içeren yüzey grupları polardır ve varlıkları genelde hidrofobik olan karbon yüzeyinin hidrofilliğinin artmasına sebep olur. İkinci olarak ise, yüzey grupları karbonun asidik ya da bazik olan karakterini etkiler (Çalışkan, 2011).



Şekil 4.3. Karbon yüzeyinde bulunabilecek en önemli gruplar (Bandosz, 2006)

4.5. Grafit

Grafit, yüksek sıcaklığa dayanıklılık, düşük yoğunluk, yüksek buharlaşma sıcaklığı ve termal şoka karşı dirençli olması gibi üstün özellikleri nedeniyle ileri teknoloji uygulamalarında kullanılan başlıca malzemeler arasında yer almaktadır. Grafit, grafitik karbon içeren malzeme olarak kabul edilmektedir. Karbonun grafitik formu Şekil 4.4’ de gösterilmiştir. Hegzagonal grafit kafesinde her karbon, dört değerlik elektronuna sahiptir. Karbon halkalarını içeren tabakalar ise zayıf Van der Waals bağları ile birbirlerine bağlanmıştır. Tabakalardaki atomlar arası mesafe, 1.42 Å iken katmanlar arası mesafe 3.35 Å dur. Bu kafes yapısı grafitin fiziksel özelliklerinin (yapısal özellikler, mekanik özellikler, ısı özellikler, ses özellikleri, optik özellikler, elektrik özellikleri, manyetik özellikler) fevkalade anizotropik olmasına neden olmaktadır. Anizotropik terimi, yöne bağlı olan atomik düzenlemelere sahip olan malzemeleri ifade etmek için kullanılır; başka bir deyişle, fiziksel özellikler malzeme içindeki farklı yönlere göre değişir. Örneğin; ısı ve elektrik iletkenliği, a yönünde yüksek iken, c doğrultusunda düşüktür. Isıl genleşme ise, a yönünde düşük, buna mukabil c yönünde yüksektir (Geçkinli, 1992).



Şekil 4.4. Karbonun grafitik formu (Geçkinli, 1992)

Grafitin ham maddesi petrol kokudur. Petrol kokunun ucuz ve empuritelerden (saf olmayan, kirlilik yaratan) uzak olması, üstünlük sağlamaktadır. Grafiti şekillendirmek için bağlayıcı kullanmak gerekir. Bağlayıcı olarak genellikle kömür katran zifti (coal tar pitches) ve fenol formaldehit reçineler kullanılır. Isıl işlem esnasında ham maddelerin yapısındaki değişme nihai ürünün kalitesinde rol oynayan önemli faktördür. Genel olarak, düzenli yapı, yüksek aromatik hidrokarbonlardan elde edilir. Bu malzeme, grafitin hegzagonal halka yapısının oluşmasını sağlar (Geçkinli, 1992).

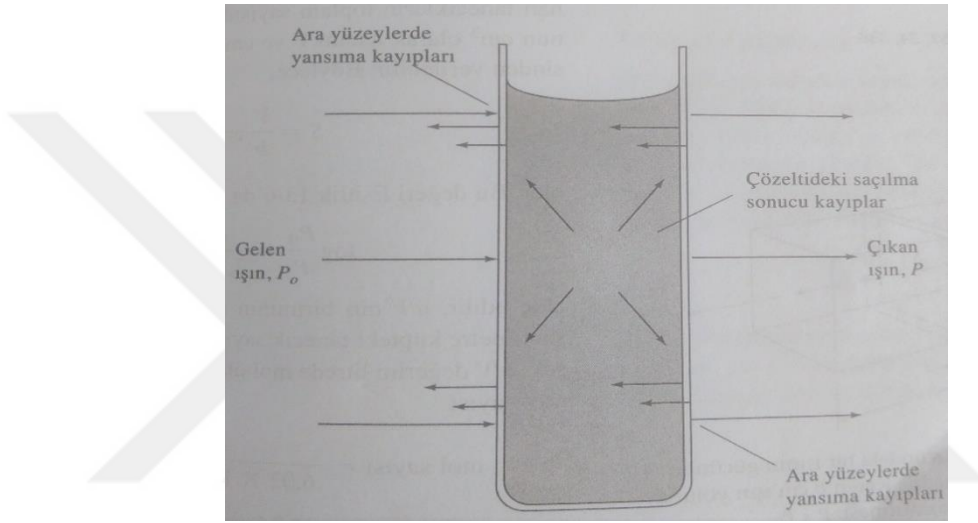
4.6. Malzemelerin Karakterizasyonu

4.6.1. Mor ötesi (ultraviyole, UV) ve görünür bölge absorpsiyon spektroskopisi

Atom ve moleküller ait oldukları maddenin yapısına bağlı olan bazı sınırlamalar dahilinde enerji absorplayabilirler. Bu enerji elektromanyetik radyasyondan (ışıktan) da sağlanabilir ve absorplanan ışığın cinsi ile miktarı, absorplayan molekülün cinsine bağlıdır. Absorplanan ışığın miktarı aynı zamanda ışıkla etkileşen moleküllerin sayısına da bağlıdır. Absorpsiyon spektroskopisi, madde ve ışık absorpsiyonu arasındaki ilişkiyi esas alan ölçüm yöntemleridir (Biryol, 1995).

Mor ötesi ve görünür bölge ışınların absorpsiyon ölçümleri birçok bileşiğin kalitatif ve kantitatif analizinde kullanılan yaygın bir yöntemdir. 160-780 nm dalga boyu aralığındaki elektromanyetik ışınları kullanır.

Moleküler absorpsiyon spektroskopisi ışın yolu b cm olan ve ışığı geçiren bir kapta bulunan çözeltinin absorbansının (A) veya geçirgenliğinin (T) ölçülmesi esasına dayanmaktadır (Skoog ve ark., 1998).

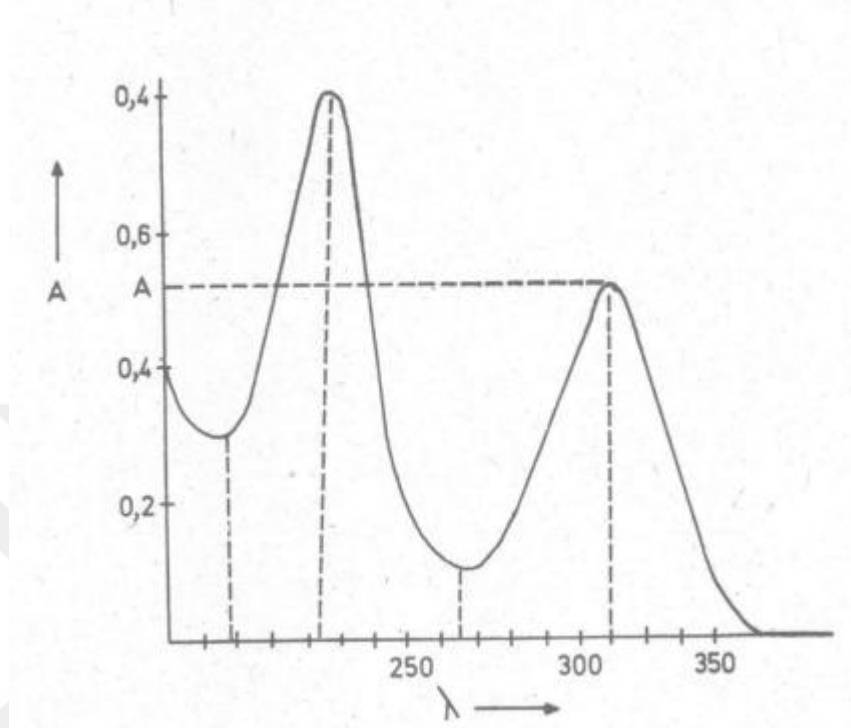


Şekil 4.5. Moleküler absorpsiyon spektroskopisinin şematik gösterimi (Skoog ve ark., 1998)

Ölçümü yapılan çözeltinin transmitans ya da absorbans değerleri, bu değerleri dalga boyunun fonksiyonu olarak gösteren eğriler ile temsil edilir.

Bazı maddelerin çözeltileri geniş bir spektral bölgede oldukça genel bir absorpsiyon gösterirler. Bazı maddeler ise sadece belli karakteristik dalga boylarında absorpsiyon yaparlar. Örneğin; Trippelenamin hidroklorürün 0,25 M HCl içerisinde alınmış U.V. absorpsiyon spektrumunda 310 ve 240 nm dolaylarında iki pik görülmektedir (Şekil 4.6). Absorbans-dalga boyu eğrilerindeki tepe noktaları (maksimumlar) Transmitans-dalga boyu eğrilerinde çukur noktaları (minimumlar) olarak görülür. Çalışılmaya başlanan çözeltinin önce spektrumu alınır yani dalga boyuna karşı absorbans veya transmitansını veren grafik çizilir.

En yüksek (maksimum) absorbansa karşılık gelen (en düşük transmitans) dalga boyları belirlenir. Çünkü bu dalga boylarında yapılacak ölçümün duyarlılığı en yüksektir ve istisnalar olmakla birlikte bu duyarlılıkta çalışmak daha uygundur (Biryol, 1995).



Şekil 4.6. Örnek UV spektrumu (Trippelenamin hidroklorür) (Biryol, 1995)

Spektrum ölçmek için kullanılan cihazlara spektrometre denir. Eğer geçen ışığın şiddeti fotoelektrik bir hücre vasıtası ile ölçülüyorsa cihaz spektrofotometre adını alır. Spektrofotometrelerin bölümleri sırası değişebilmekle birlikte genel olarak şöyledir:

1. Işık kaynağı
2. Frekans seçici
3. Işık şiddeti ayarlayıcısı
4. Numune tutucusu
5. Dedektör
6. Ölçücü veya kaydedici düzenek (Biryol, 1995).

Yapı malzemesi ve yapılış ayrıntıları aletin kullanılacağı dalga boyu aralığına göre değişir.

Ultraviyole, görünür bölge ve yakın-infrared bölgede moleküler absorpsiyon ölçmek için seçim yapılabilecek 100'den fazla marka ve model vardır. Bazıları basit ve ucuzdur; diğerleri daha karmaşık yapılı ve bilgisayar kontrollüdür.

Çoğu uygulama için, basit cihazlar çok daha karmaşık cihazlar kadar hızlı ve uygun sonuçlar verirler. Diğer taraftan daha basit cihazlarla yapılması zor, zaman alıcı veya imkansız olan analizleri yapmak için daha gelişmiş cihazlar üretilmiştir. Bir absorpsiyon cihazının diğer parçalarında olduğu gibi, numune kabı veya hücreleri çalışılan spektrum bölgesinde ışını geçiren maddelerden yapılmalıdır. Yani ultraviyole bölgede silis ya da kuvars kullanılır. 350-200 nm arasındaki bölgede silikat camları kullanılabilir. Görünür bölgede plastik hücreler de kullanım alanı bulmuştur. Mor ötesi ve görünür bölgeye dayanan absorpsiyon ölçümleri, onbinlerce bileşiğin tanınmasında ve tayininde yaygın kullanım alanları bulmuştur. Moleküler ultraviyole/görünür bölge absorpsiyon yöntemleri dünyada kimya ve klinik laboratuvarında en çok kullanılan kantitatif analiz teknikleri arasındadır (Skoog ve ark., 1998; Biryol, 1995).

4.6.2. Kızılötesi (Infrared-Infrarouge) ışınlar ve FTIR analizi

Kızılötesi ışınların dalga boyları; 0,75 μm - 1000 μm arasında, morötesi ışınlarının dalga boyları 0,4 μm - 0,1 μm arasında değişmektedir. Söz konusu bu ışınlar gözümüzün retinası tarafından algılanamazlar; ancak termoelektrik piller, floresan ekran, fotoğraf kağıdı, fotoelektrik hücreleri gibi özel algılayıcılarla belirlenebilmektedir (Erkmen, 2012).

Kızılötesi ışınları, özellikle konveksiyon ve radyasyon yolu ile ısı taşımaktadırlar. Kızıl ötesi bölgesinin absorpsiyonunun ölçümünde kullanılan cihazlar üç tiptedir:

- 1) Dispersif optik ağırlı spektrofotometreler (Kalitatif çalışmalar için)
- 2) Fourier Dönüşümlü spektrometreler (FTIR) (Hem kalitatif hem de kantitatif)
- 3) Dispersif olmayan fotometreler (Birçok organik maddenin absorpsiyon, emisyon ve yansıma spektroskopisi ile kantitatif tayini için) (Skoog ve ark., 1998).

Günümüzde en yaygın olarak kullanılan Fourier dönüşümlü spektrometreler (FTIR), zamanla Dispersif spektrofotometrelerin yerini almıştır. Hız, güvenilirlik ve kullanım kolaylığı sağlarlar. Kızılötesi bölge ölçümleri için iki çeşit çok amaçlı cihaz vardır. Birinde kodlama; kaynaktan gelen ışını, ışın yolu uzunluğu girişim deseni vermek üzere periyodik olarak değişebilen iki ayrı ışın demetine ayırarak yapılır. Verilerin işlenmesinde ise Fourier dönüşümü kullanılmaktadır.

Fourier dönüşümlü cihazların çoğunda çalışma sistemi Michelson interferometreye dayanır. Fakat farklı optik sistemler de kullanılabilir (Skoog ve ark., 1998).

4.6.3. Raman spektroskopisi

Işığın geçirgen bir ortamdan geçmesi sırasında, ortamda bulunan türler, gelen bu ışın demetinin bir kısmını farklı yönlerde doğru saçarlar. 1928’de C. V. Raman, belirli moleküller tarafından saçılan ışının ufak bir kesrinin görünür alandaki dalga boyunun gelen ışığınkinden farklı olduğunu ve buna ilaveten dalga boyundaki kaymaların, saçılmadan sorumlu moleküllerin kimyasal yapısına bağlı olduğunu buldu. Kendisi bu buluşundan ve olguyu sistematik incelemesinden dolayı 1931’de Nobel Fizik Ödülü’nü aldı (Skoog ve ark., 1998).

Raman spektroskopisinde moleküllerin enerji seviyeleri moleküller tarafından saçılan ışında mevcut olan frekanslara bakılarak araştırılır. Tipik bir deneyde, gelen monokromatik şiddetli bir ışın demeti numune içerisinden geçirilir ve ışın demetine dik olarak saçılan ışın izlenir. Gelen fotonların yaklaşık 10^7 de 1’i moleküllerle çarpışır, enerjisinin bir kısmını bırakır ve numune tarafından daha düşük enerjili ışınlar yayılır. Numunenin yaydığı daha düşük frekanslı bu ışınlara **Stokes ışını** denir. Numune molekülleri önceden uyarılmışsa, numuneye gelen fotonların bazıları, bu moleküllerden enerji alabilir ve daha yüksek frekanslı **anti-Stokes ışınları** olarak ortaya çıkarlar. Frekans değişimi olmaksızın geliş doğrultusunda ilerleyen ışın bileşenine **Rayleigh ışını** denir. Saçılan ışının frekansının farkı gelen ışınınkinden oldukça küçüktür ve farkların gözlemlenebilmesi için gelen ışın monokromatik olmalıdır. Ayrıca, saçılan ışının şiddeti çok düşüktür, bu yüzden gelen ışın demetleri gereklidir. Raman spektroskopisinde laserlerin kullanımı idealdir ve daha önceleri kullanılan cıva arkalarının tamamı ile yerini almıştır. Lazer Raman spektrumları önceleri görünür ve ultraviyole bölgesindeki ışınlar kullanılarak incelenirdi.

Günümüzde yakın infrared ışın yaygın olarak kullanılmaktadır. Çünkü yakın infrared ışın kullanımı, floresansın uyarılmasından doğan karışıklıkları önlemektedir. Sinyalin dedeksiyonu genellikle bir yarı iletken düzenele yapılır. Raman spektroskopisi çoğu kez infrared spektroskopiye tamamlayıcıdır. Çünkü iki teknikte farklı seçicilik kuralları geçerlidir (Atkins, 1998).

Raman spektroskopisinde kullanılan modern cihazların üç ana bileşeni vardır. Bunlar lazer kaynağı, numune aydınlatma sistemi ve bir de spektrometredir. Raman spektroskopisi; organik, inorganik ve biyolojik sistemlerin kalitatif ve kantitatif analizlerinde kullanılmaktadır. Organik türlerin Raman Spektrumları, infrared spektrumlarına benzer. Çünkü fonksiyonel grup belirtilmesinde yararlı bölgeler ile parmak izi bölgelerine sahiptirler. Parmak izi bölgeleri belirli bileşiklerin tanınmasını sağlar. Raman Spektroskopisi, biyolojik sistemlerin incelenmesinde yaygın olarak kullanılmıştır. Bu tekniğin avantajları;

- Az miktarda numune gerektirmesi
- Suyun girişiminin çok az olması
- Ayrıntılı spektrum elde edilmesi
- Konformasyonel yapıya ve çevreye çok duyarlı olmasıdır (Skoog ve ark., 1998).

4.6.4. X-Işınlari difraksiyonu (Kırınımı) (XRD)

Dalgaların önemli özelliklerinden biri de aralarında girişim yapmalarıdır. Girişim anında iki dalganın tepeleri veya çukurları üst üste geliyorsa, bileşke dalganın öteleme değeri (genliği) artar; tersine, bir dalganın tepesi ötekinin çukuruna denk geliyorsa, o zaman sönümlene olur.

Klasik elektromanyetik teoriye göre, elektromanyetik ışının şiddeti dalga genliğinin karesi ile orantılıdır. Onun için, olumlu ve olumsuz girişim olan bölgelerde, sırası ile dalga şiddeti artar ya da azalır. Kırınım olayı dalgaların yolu üzerindeki bir cisim tarafından sebep olunan girişimdir ve ortaya çıkan şiddet değişimi deseni kırınım deseni olarak isimlendirilir. Kırınımına sebep olan cismin boyutları ışının dalga boyu ile karşılaştırılabilir ölçüde olduğu zaman kırınım meydana gelir (Atkins, 1998).

X-ışınları moleküllerdeki bağ uzunlukları ve kristallerdeki atomlar arasındaki uzaklık ile karşılaştırılabilir dalga boylarına sahiptir (yaklaşık olarak 100 pm). Bir X-ışın kırınım deseninin analizi ile, proteinler gibi kompleks moleküllerde bile atomların yerlerini gösteren ayrıntılı bir şekil çıkarmak mümkündür.

Elektronlar (yaklaşık olarak 4 kV ile hızlandırıldıktan sonra) yaklaşık olarak 20000 km/s hızla hareket eder ve 40 pm'lik dalga boylarına sahiptir. Bu elektronlar moleküller, yüzeyler ve ince katı dilimleri ile kırınımına uğratabilir. Bir nükleer reaktörde üretilen ve sonra termal hızlara kadar yavaşlatılan nötronlar benzer dalga boylarına sahiptir ve kırınım çalışmalarında kullanılabilir (Atkins, 1998).

10^{-10} m metrebesinde dalga boylu elektromanyetik ışın olan X-ışınları genellikle yüksek enerjili elektronlarla bir metalin bombardımanından elde edilir. Elektronlar metale dalıp çıkarken yavaşlar ve Bremsstrahlung denilen sürekli bir dalga boyu aralığına sahip ışın üretir. Sürekli bant üzerinde yüksek şiddetli birkaç keskin pik yer alır. Bu pikler atomun iç tabakalarındaki elektronlar ile, gelen elektronların çarpışmalarından ileri gelir. Çarpışma, iç tabakadan bir elektronu uzaklaştırır. Oluşan boşluğa X-ışın fotonu olarak enerji yayımlayarak daha yüksek enerjili bir elektron düşer. Elektron K tabakasına düşerse (yani, $n=1$ olan bir tabaka), X-ışınları K-ışınması olarak sınıflandırılır. Benzer şekilde, L ($n=2$) ve M ($n=3$) tabakalarına geçişler için aynı sınıflandırma uygulanır. Şiddet bakımından farklı çizgiler K_{α} , K_{β} şeklinde isimlendirilir (Atkins, 1998).

1895' de Wilhelm Röntgen X-ışınlarını keşfetti. On yedi yıl sonra, Max vonLoue bir kristal içerisinden geçtiği zaman bu ışınların kırılabilirliğini ileri sürdü. Çünkü X-ışınlarının dalga boylarının örgü düzlemleri arasındaki uzaklıkla karşılaştırılabileceğini biliyordu. VonLoue' nin önerisi kısa zaman sonra Walter Friedrich ve Paul Knipping tarafından doğrulandı ve o tarihten sonra son derece güçlü bir teknik ortaya çıktı (Atkins, 1998).

Analitik amaçlarla kullanılan X-ışınları dört yöntemle oluşturulur:

1. Yüksek enerjili elektron demeti kullanılarak metal bir hedef bombardıman edilir.

2. Bir madde birincil X-ışınlarına maruz bırakılarak ikincil x ışınları demeti floresansı elde edilir.
3. Radyoaktif bir kaynak kullanılarak bozunması ile X-ışınları emisyonu oluşturulur.
4. Radyoaktif bir kaynaktan bir sinkrotron (Skoog ve ark., 1998).

X-ışını spektroskopisi, diğer optik spektroskopiler gibi elektromanyetik ışının emisyon, absorpsiyon, saçılma, floresans ve kırınımının ölçümüne dayanır. X-ışını floresans ve X-ışını absorpsiyon yöntemleri periyodik çizelgedeki atom numarası sodyumdan büyük bütün elementlerin kalitatif ve kantitatif tayini için yaygın olarak kullanılmaktadır. Özel donanımlarla atom numarası 5-10 arasındaki elementler de tayin edilebilmektedir (Skoog ve ark., 1998).

X-ışınının elektrik vektörüyle ışının içinden geçtiği madde elektronları arasında bir etkileşim oluşur ve bu etkileşimin sonucunda saçılma meydana gelir. Eğer bu saçılma bir kristalin düzenli ortamı tarafından yapılmış ise saçılmayı yapan merkezler arasındaki uzaklık X ışınının dalga boyu ile aynı mertebeden olduğundan saçılan ışınlar girişim (olumlu ve olumsuz etki) yaparlar. Bunun sonucu olarak kırınım meydana gelir (Skoog ve ark., 1998).

X-Işınlarının temel özellikleri:

- 1) Normal filmi karartırlar
- 2) Elektrik ve manyetik alandan etkilenmezler
- 3) Yüksüzdürler
- 4) Işık hızı ile yayılırlar
- 5) Havayı iyonlaştırır, bazı durumlarda floresans ve fosforesans etki meydana getirirler
- 6) Sıvı ve katıların elektriksel özelliklerini etkilerler (Erkmen, 2012).

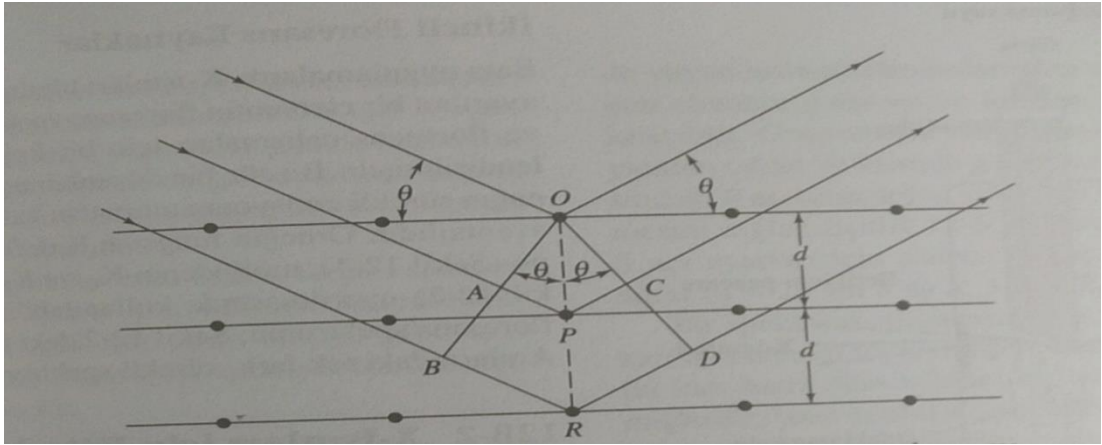
X-Işınları (veya nötron difraksiyonu) sonucunda, farklı fazlardan oluşan bir karışımındaki fazların miktarları, kendilerine ait olan atom düzlemlerinden saçılan (difraksiyona uğrayan), ışınların difraksiyon piklerinin şiddetleri ile bağlantılıdır (Erkmen, 2012).

Herhangi bir X-ışını demeti bir kristalin yüzeyine θ açısıyla çarptığında, bu ışının bir kısmı yüzeyde bulunan atom tabakası tarafından saçılıma uğratılır. Bu ışın demetinin saçılmayan kısmı ise ikinci atom tabakasına gelir.

İkinci atom tabakasında ışınların bir kısmı yine saçılır. Geri kalan ışın, üçüncü atom tabakasına gelir. Kristalin örgü yapısı içinde var olan merkezler bu saçılmayı oluşturur.

X-ışını kırınımı için:

1. Atom tabakalarının arasında bulunan uzaklık ışının dalga boyuyla yaklaşık olarak aynı olmalıdır.
2. Saçılmayı yapan merkezlerin düzeni çok düzgün ve tekrarlanır olmalıdır (Skoog ve ark., 1998).



Şekil 4.7. X-ışınları kırınımının açıklanması (Skoog ve ark., 1998)

Kristaller tarafından verilen kırınım desenlerinin analizi için eski bir yaklaşım, örgü düzlemine ayna olarak bakmak ve kristali aralarındaki uzaklık dolan yansıtıcı örgü düzlemlerinin yığınları olarak modellendirmektir. Bu model meydana gelecek olumlu girişim için, gelen X-ışını ile kristalin yaptığı açıları hesaplamayı kolaylaştırır.

Olumlu girişimden kaynaklanan yansımış şiddetli bir ışın demetini göstermek için, yansıma terimi de sık sık kullanılır (Atkins, 1998).

W. L. Bragg, 1912’de Şekil 4.8’de görüldüğü gibi kristallerin X-ışınları kırınımını incelemiştir. Burada ince bir ışın demeti kristal yüzeye θ açısıyla çarpmaktadır:

Işının O, P ve R’ deki atomlarla etkileşimi sonucu saçılma olmaktadır.

Eğer;

$$AP + PC = n\lambda$$

İse (burada n bir tamsayıdır), saçılan ışın OCD’ de aynı fazdadır ve kristal X-ışınını yansıtacaktır.

$$AP = PC = d \sin \theta$$

Burada d, kristaldeki tabakalar arası mesafedir. Bu durumda kristal yüzeyine θ açısı ile gelen ışın demeti için olumlu girişim şartı

$$n\lambda = 2d \sin \theta$$

olur ve bu eşitliğe **Bragg eşitliği** denir. Bu eşitlik çok önemli bir işleve sahiptir.

X- ışınlarının kristalden yansıtılmış olarak gözlenebilmesi için geliş açısının şu şartı yerine getirmesi gerekir:

$$\sin \theta = \frac{n\lambda}{2d}$$

Diğer bütün açılarda olumsuz girişim meydana gelir. Modern çalışmalarda, Bragg yasasını

$$\lambda = 2d \sin \theta$$

şeklinde yazmak için n’yi d’nin içine katmak ve n. inci derece yansımalar (nh, nk, nl) düzlemlerinden çıkmış olarak görmek alışılmış durumdur. Bir yansımaya karşılık gelen θ açısı tayin edildikten sonra, d kolaylıkla hesaplanabilir. O halde örgüdeki tabakalar arasındaki uzaklığın belirlenmesinde Bragg yasası kullanılabilir (Atkins, 1998, Skoog ve ark., 1998).

X-ışınları absorpsiyonu, emisyonu, floresansı ve kırınımının analitik kimyada uygulamaları vardır. Bu uygulamalarda kullanılan cihazların beş parçası optik spektroskopik cihazların parçaları ile benzer fonksiyona sahiptirler.

Bu parçalar: bir kaynak, gelen ışının dalga boyu aralığını ayıran bir düzenek, bir numune tutucu, bir ışın dedektörü veya transduser, bir sinyal işlemcisi düzeneğidir. Optik cihazlarda olduğu gibi hem X-ışını fotometreleri hem de spektrofotometreleri mevcut olup bunlarda sırasıyla kaynaktan gelen ışını sınırlamak için filtre ve monokromatörler kullanılır.

Ancak X-ışınları spektrumunun bir kısmını izole etmek için üçüncü bir yöntem daha vardır. Burada izolasyon, spektrumun çeşitli kısımlarını dalga boylarına göre değil enerjilerine göre parçalarına ayıran elektronik düzeneklerle sağlanır. Bu nedenle X-ışını cihazları genellikle spektrumu çözümlemek için kullanılan yöntemle bağlı olarak dalga boyu ayırıcılı veya enerji ayırıcılı cihazlar olarak tanımlanır. X-ışını cihazlarındaki kaynaklar X-ışını tüpleri, radyoizotoplar ve ikincil floresans kaynaklardır (Skoog ve ark., 1998).

4.6.5. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Taramalı elektron mikroskopisi, katı yüzeyler hakkında morfolojik ve topografik bilgi sağlar. Bu genellikle yüzeylerin davranışlarının anlaşılması için gereklidir. Böylece bir katının yüzey özellikleriyle ilgili çalışmalarda elektron mikroskobu, incelemenin ilk adımını oluşturur. Katı yüzeylerin fiziksel özellikleri hakkında bilgi sağlamak kimya ve malzeme bilimi açısından çok önemlidir. Son yıllarda yüzeyler hakkında bilgi sağlanmak için üç teknik kullanılmaktadır: Taramalı elektron mikroskobu (SEM), Taramalı tünelleme mikroskopisi (STM), Atomik kuvvet mikroskopisi (AFM). Taramalı elektron mikroskopunda, katı numune yüzeyi raster düzeninde yüksek enerjili bir elektron demetiyle taranır. Bu teknikte yüzeyden çeşitli tür sinyaller oluşturulur. Bunlar geri saçılmış elektronlar, ikincil elektronlar, Auger elektronları, X-ışını floresans fotonları ve değişik enerjili diğer fotonlardır. Bütün bu sinyaller yüzey çalışmalarında kullanılmış olmakla beraber, bunların içinde en yaygın olan iki tanesi;

- 1) Taramalı elektron mikroskopisinin temelini oluşturan geri saçılmış ve ikincil elektronlar
- 2) Elektron mikroprob analizinde kullanılan X-ışını emisyonudur (Skoog ve ark., 1998).

Elektron mikroskopu (SEM) sistemi, elektron kaynağı, elektronları numuneye doğru hızlandırmak için yüksek gerilimin (burada 0,5-30 kV) uygulandığı anot plakası, demeti toplamak ve yönlendirmekte kullanılan kondansör (yoğunlaştırıcı) mercekler, demet çapını sınırlamakta kullanılan açıklıklar, numune yüzeyini taraması için demeti uygun şekilde saptıran tarama bobinleri, optik kolonun alt kısmında numune odası, dedektörler, mekanik ve difüzyon pompalı vakum sistemi ile bilgisayardan meydana gelmektedir (Erkmen, 2012).

Bir katının elektron demeti ile olan etkileşimini iki gruba ayırabiliriz. Birincisi esnek (elastik) etkileşim, diğeri esnek olmayan (inelastik) etkileşimdir.

SEM ve mikroproben çalışmalarda kullanımı katılar ile etkileşen elektron demeti tarafından oluşturulan çeşitli sinyallerden kaynaklanmaktadır. Üç tanesi şöyledir: Geri saçılan elektronlar, ikincil elektronlar, X-ışınları emisyonu (Skoog ve ark., 1998).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Kullanılan Cihazlar

Tez çalışması boyunca kullanılan cihazların ve kimyasal maddelerin fiziksel ve kimyasal özellikleri aşağıda açıklanmıştır.

5.1.1. Ultraviyole (UV)-görünür bölge spektrofotometresi

Numunelerin spektrumları Resim 5.1.'de gösterilen Shimadzu (UV-1700) marka Ultraviyole-görünür bölge spektrofotometresi kullanılarak ölçüldü.



Resim 5.1 Ultraviyole-Görünür bölge spektrofotometresi

5.1.2. Santrifüj cihazı

Numunelerin santrifüjleri Resim 5.2'de gösterilen Sigma Labrotary Centrifuges 3K30/Z cihazı ile yapıldı.



Resim 5.2 Santrifüj cihazı

5.1.3. Ultrasonik Banyo

GO ve modifiye edilmiş GO numunelerinin dispersiyonlarının hazırlanmasında Resim 5.3’ de gösterilen WiseClean marka ultrasonik banyo kullanıldı.



Resim 5.3 Ultrasonik banyo

5.1.4. Etüv

Deneyler süresince istenilen sıcaklığın sabit tutulması ve numunelerin kurutulması için Thermo Scientific Heraeus marka etüv kullanıldı (Resim 5.4).



Resim 5.4 Etüv

5.1.5. Terazi

Deneyler boyunca yapılan tartım işlemlerinde Shimadzu AX200 marka terazi kullanıldı (Resim 5.5).



Resim 5.5 Terazi

5.1.6. pH – Metre

Tez çalışması boyunca bütün pH ölçümleri Isolab marka pH -Metre ile yapıldı.



Resim 5.6 pH- Metre

5.2. Kullanılan Malzemeler

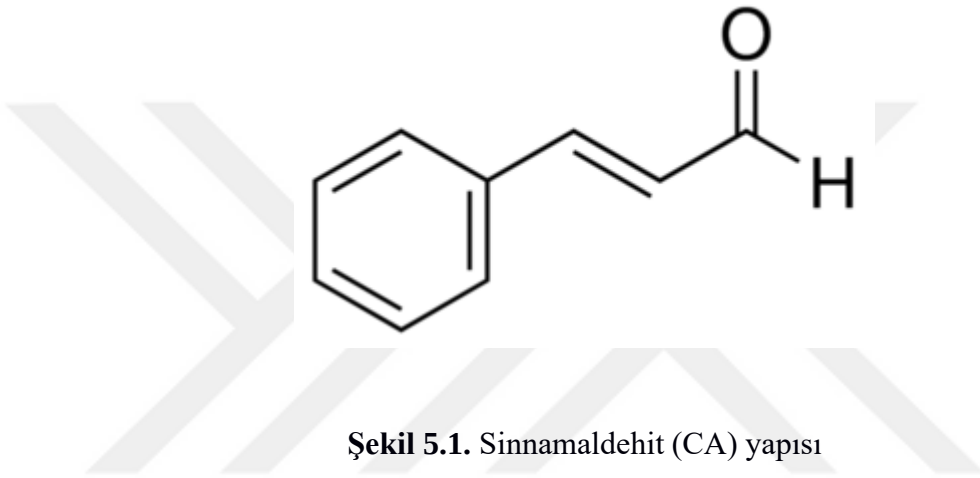
5.2.1. Sinnamaldehit

Sigma-Aldrich Firmasından temin edilmiştir ve yapısı Şekil 5.1’de gösterilmiştir.

Kimyasal Adı: 3-Phenylprop-2-enal

Molekül Formülü: $C_6H_5CH=CHCHO$

Molekül Ağırlığı: 132.16 g/mol



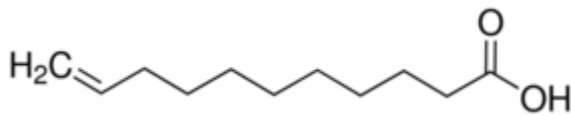
5.2.2. Undesilenik asit

Sigma-Aldrich Firmasından temin edilmiştir ve yapısı Şekil 5.2’de gösterilmiştir.

Kimyasal / Diğer Adı: 10-Undecenoic acid

Molekül Formülü: $CH_2=CH(CH_2)_8COOH$

Molekül Ağırlığı: 184.28 g/mol



5.3. Kullanılan Yöntemler

5.3.1. GO Sentezi

GO, laboratuvarımızda modifiye edilmiş olan Hummers yöntemi (Hummers ve Offeman,1958) ile sentezlenmiştir. GO sentezi için toz halde grafit, sülfürik asit (H_2SO_4), fosforik asit (H_3PO_4), potasyum permanganat ($KMnO_4$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) kullanılmıştır.



Resim 5.7 Grafen oksit (GO) sentezi

100 mL sülfürik asit (H_2SO_4) ve 20 ml fosforik asit (H_3PO_4) bir beherde karıştırılarak üzerine 2 g grafit yavaş yavaş ilave edildi.

Bu karışımın üzerine 8 g potasyum permanganat ($KMnO_4$) aynı şekilde yavaş yavaş eklendi. Oluşan koyu yeşil dispersiyon manyetik karıştırıcı ile karıştırılmaya devam edildi (Resim 5.7). Daha sonra bu dispersiyon karıştırma işlemi durdurularak üç gün boyunca bekletildi. Dördüncü günde bu karışımın üzerine damlalık ile hidrojen peroksit (H_2O_2) damlatıldı ve parlak sarı renk gözlemlendi. Sentezlenen GO, önce %5'lik HCl çözeltisi ve daha sonra saf su ile nötr pH değeri gözlenen kadar yıkandı. Santrifüj ile ayrılan GO, 85°C'de kurutuldu.



Resim 5.8 Grafen oksitin (GO) modifikasyonu

5.3.2.GO'nun modifikasyonu ile grafen esaslı malzemelerin üretilmesi

GO'nun modifikasyonu (Resim 5.8) seçilen çeşitli deney süreleri ve farklı reaktif miktarları kullanılarak yürütüldü. Ortam sıcaklığının modifikasyon üzerindeki etkisi de incelendi.

Modifikasyon için ayrı ayrı kullanılan reaktifler olan CA ve UA miktarının modifikasyona etkisi 1-10 mL aralığında 1 mL, 2,5 mL, 5 mL ve 10 mL reaktifler kullanılarak incelendi. Seçilen miktarda reaktif cam bir çözelti şişesine alınarak üzeri 100 mL'ye kadar saf su ile tamamlandı. 10 mg GO yine 100 mL saf suda ultrasonik banyo ile disperse edilerek reaktifin bulunduğu şişenin üzerine ilave edildi. Hazırlanan karışım sabit sıcaklığın korunması amacıyla etüve yerleştirildi. Deney devam ederken 4 saat, 8 saat, 12 saat, 24 saat ve 48 saatte numune alınarak deney süresinin modifikasyon işlemi üzerindeki etkisi incelendi. İstenen deney süresinin bitiminde alınan numuneler önce etanol ve daha sonra saf su ile yıkandı. Modifiye edilmiş GO numuneleri santrifüj ile ayrılarak 85°C'de etüvde kurutuldu. Deney sıcaklığının modifikasyon üzerindeki etkisinin incelenmesi için, modifikasyon işlemi 25°C, 45°C, 65°C ve 85°C'de aynı prosedür kullanılarak tekrarlandı. Yapılan deneyler reaktifin katılmadığı kontrol numuneleri ile aynı koşullarda tekrar edildi. Numunelerin isimlendirilmesi kullanılan reaktif ve uygulanan deney sıcaklığı esas alınarak yapıldı. Örneğin rGO-CA25, CA kullanılarak 25°C'de yapılan modifikasyon sonucu üretilen grafen esaslı malzemedir; rGO-CA85 ise, CA kullanılarak 85°C'de yapılan modifikasyon sonucu üretilen grafen esaslı malzemedir.

5.3.3. GO ve grafen esaslı malzemelerin karakterizasyonu

Elde edilen numunelerin öncelikle renk değişimleri izlendi. Daha sonra UV-Görünür bölge spektrofotometresi kullanılarak dispersiyon haldeki numunelerin spektrumları alındı. Numunelerin karakterizasyonu için FTIR, Raman Spektroskopisi ve XRD analizleri yapıldı. SEM kullanılarak elde edilen malzemelerin şekil ve boyut özelliklerinin görüntülenmesi sağlandı.

5.3.4. Sitotoksite deneyleri (MTT testi)

MTT; hücre proliferasyonunu, hücre canlılığını ve sitotoksiteyi ölçmede kullanılan kantitatif bir yöntemdir. Bu yöntem, mitokondriyal enzim sistemleri tarafından kataliz edilen tetrazolium tuzlarının indirgenmesine dayanmaktadır. Sitotoksite deneyleri Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

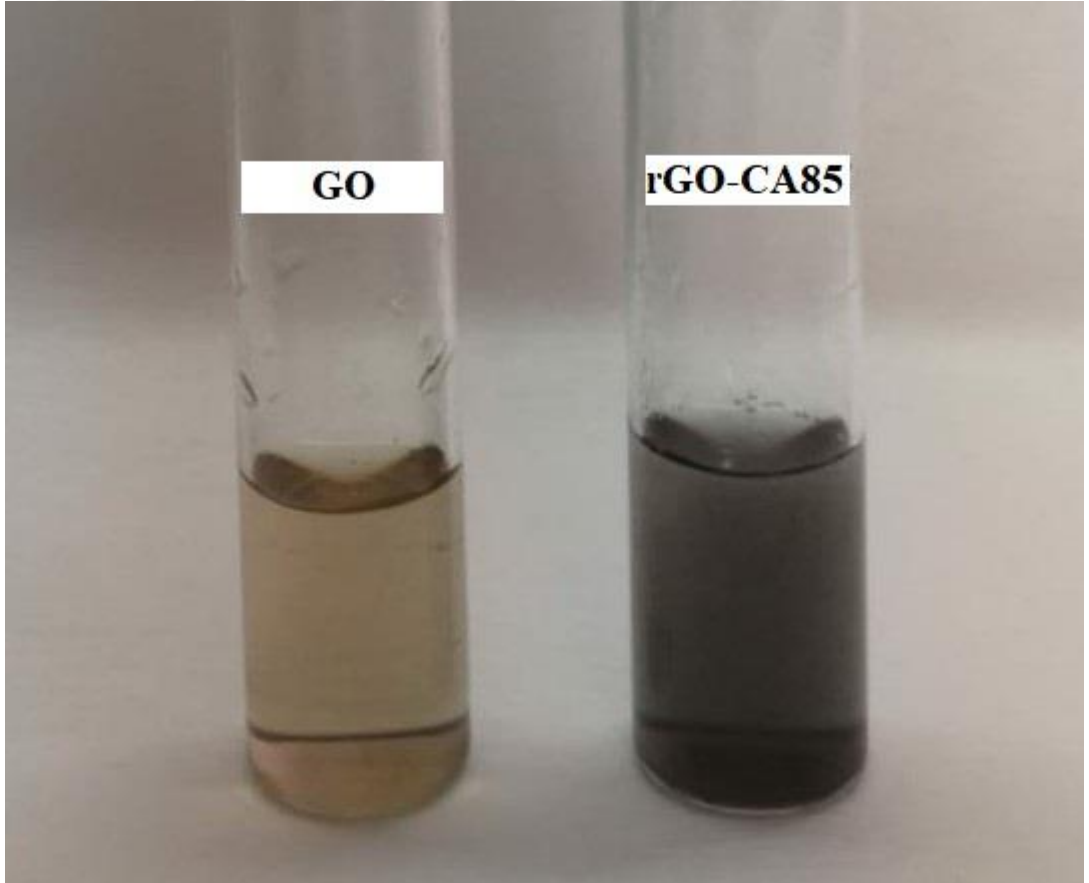
Sentezlenen GO ve grafen esaslı malzemelerin non-kanserojenik fare embriyonik fibroblast hücre serisi (NIH-3T3) üzerindeki sitotoksik etkileri MTT yöntemi kullanılarak test edildi. Fibroblast hücreleri öncelikle sayımı yapılarak kuyucuk başına 10.000 hücre olacak şekilde 96 kuyucuklu plakalara ekildi.

Kuyucuklara ekilen hücreler inkübatöre kaldırılarak 24 saat inkübe edildi. 24 saatlik inkübasyon sonunda, hücrelere sentezlenen maddelerden 10, 20, 50 ve 100 µL eklenerek tekrar inkübatöre kaldırıldı. 48 saat sonunda inkübatörden çıkarılan hücrelerin besiyeri pipetle çekilip atıldı. Kuyucuklara 200 µL PBS eklenerek kuyucukların iyice temizlenmesi sağlandı. PBS çekilerek taze hazırlanan hücre besiyerinden 100 µL bütün kuyucuklara dağıtıldı.

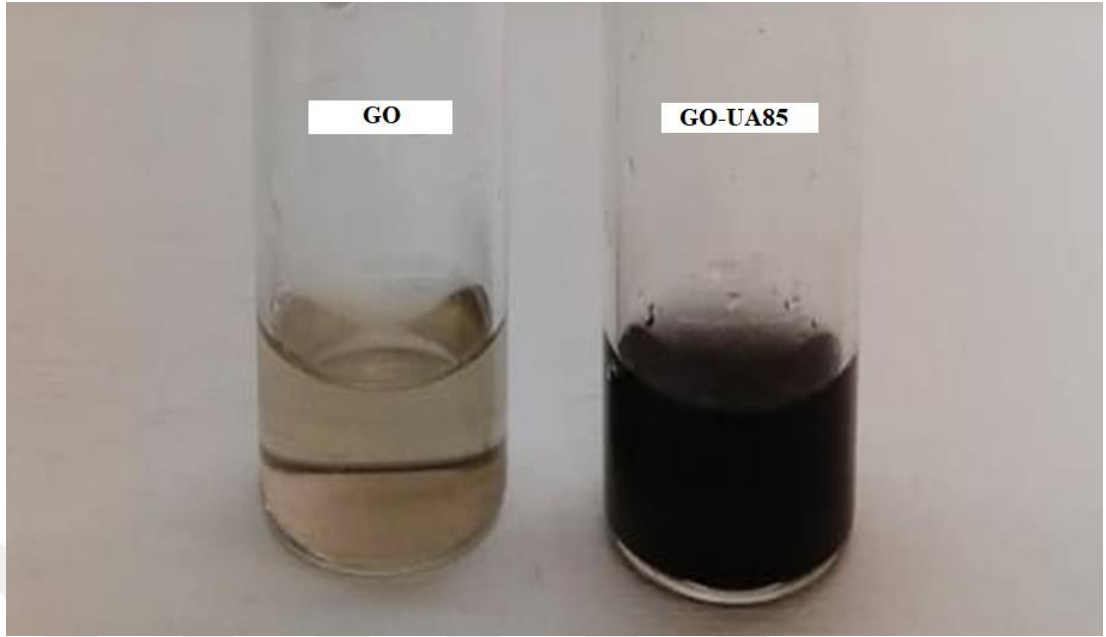
Daha sonra, her bir kuyucuğa 10 µL MTT solüsyonu eklenerek 4 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. 4 saat sonunda, kuyucuklara 100 µL sodyum dodesil sülfat (SDS) eklenerek MTT ile oluşan formazon kristallerini çözmek için 12 saat boyunca 37°C'de inkübe edildi. Kültür plağı mikroparka okuyucusuna konularak, absorbans değerleri 570 nm dalga boyunda okutuldu. Hiçbir madde eklenmeyen kontrol kültürlerinden elde edilen absorbans değerlerinin ortalaması alınarak bu değer %100 kabul edildi. Numune içeren kültürlerden elde edilen absorbans değerleri kontrol absorbans değerine oranlanarak hücrelerin canlılık oranları % olarak ifade edildi. Bu deneyler iki farklı zaman aralığında ve en az 3 tekrarlı olarak yapıldı.

6.BULGULAR

Bu tez çalışması kapsamında GO ve GO' nun doğal maddeler ile modifikasyonu yoluyla grafen esaslı malzemeler üretilmiştir. Yapılan modifikasyon işleminin GO üzerindeki etkisi ve grafen esaslı malzemelerin oluşumu öncelikle renk değişimi ile gözlenmiştir. Dispersiyon haldeki GO ve modifikasyon ile elde edilen numunelerin renkleri karşılaştırılmış ve kahverengi olan GO dispersiyonlarının indirgenme sonucu siyah renkli dispersiyonlara dönüştüğü gözlenmiştir. Şekil 6.1'de kahverengi renkli GO ve GO' nun CA ile gerçekleştirilen modifikasyonu sonucu üretilen numunenin siyah rengi görülmektedir. Şekil 6.2'de ise aynı renk değişimi UA ile gerçekleştirilen modifikasyon için gösterilmiştir.



Şekil 6.1. Sinamaldehit (CA) ile yapılan modifikasyon sonucu gerçekleşen renk değişimi.



Şekil 6.2. Undesilenik Asit (UA) ile yapılan modifikasyon sonucu gerçekleşen renk değişimi.

GO'nun indirgenmesi sonucu gözlenen bu renk değişimi literatür sonuçları ile uyum göstermektedir (Adhikari ve Banerjee, 2013; Gao ve ark., 2010; Wang ve ark., 2017).

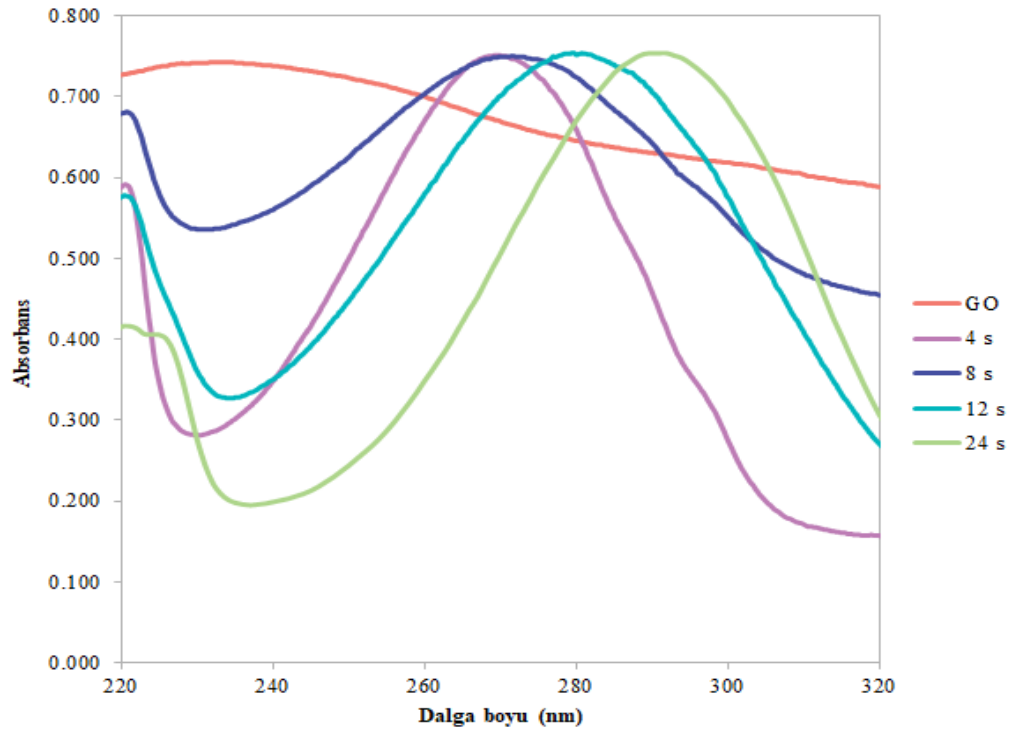
6.1. Deney şartlarının modifikasyon üzerindeki etkisinin incelenmesi

GO'nun modifikasyonu çeşitli deney süreleri ve farklı reaktif miktarları kullanılarak yürütüldü. Ortam sıcaklığının modifikasyon üzerindeki etkisi de incelendi. Reaktif miktarının modifikasyon üzerindeki etkisi 1-10 mL aralığında spektrofotometrik olarak incelendi ve elde edilen sonuçlar Tablo 6.1'da gösterildi. Tablodan da görüldüğü gibi, GO'nun CA ile olan modifikasyonunda, 2,5 mL CA modifikasyon için yeterli olmuştur. GO'nun UA ile modifikasyonunda ise, 5 mL UA yeterli olmuştur. Bu miktarlardan sonra reaktif miktarının arttırılması spektrum üzerinde değişikliğe sebep olmamıştır.

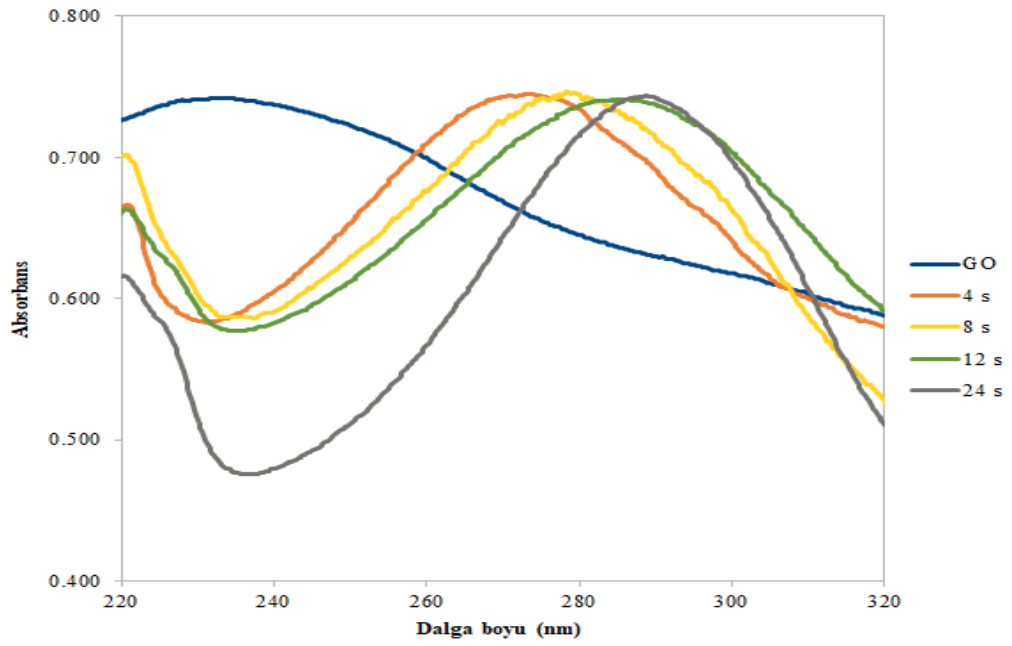
Tablo 6.1 Grafenoksit(GO)'in modifikasyonuna reaktif miktarının etkisinin incelenmesi

	λ_{max}	
	CA	UA
GO	228 nm	
1 mL reaktif	245 nm	241 nm
2,5 mL reaktif	291 nm	243 nm
5 mL reaktif	291 nm	288 nm
10 mL reaktif	291 nm	288 nm

Deney süresinin modifikasyon üzerindeki etkisi 4 saat, 8 saat, 12 saat, 24 saat ve 48 saatte alınan numuneler ile spektrofotometrik olarak incelendi. GO'nun CA ile modifikasyonuna deney süresinin etkisi Şekil 6.3'te gösterilmiştir. GO'nun UA ile modifikasyonuna deney süresinin etkisi ise Şekil 6.4'te gösterilmiştir. Reaktifler ile indirgenme sonucu oluşan spektrumların tepe noktalarındaki kayma değerleri Tablo 6.2'de verilmiştir. Tablodan da görüldüğü gibi, her iki reaktif için de modifikasyon işlemi 24 saat içinde tamamlanmaktadır.



Şekil 6.3. Grafen oksit (GO)'in CA ile modifikasyonuna deney süresinin etkisi



Şekil 6.4 Grafen oksit (GO)'in UA ile modifikasyonuna deney süresinin etkisi

Tablo 6.2 Grafen oksit (GO)'in modifikasyonuna deney süresinin etkisinin incelenmesi

	λ_{max}	
	CA	UA
GO	228 nm	
4 s	269 nm	273 nm
8 s	271 nm	278 nm
12 s	279 nm	285 nm
24 s	291 nm	288 nm
48 s	291 nm	288 nm

GO'nun modifikasyonu sonucu spektrum piklerinde kırmızı kayma gözlenmiştir. 228 nm'deki absorpsiyon piki aromatik C=C bağlarının π - π^* geçişlerine karşılık gelir. Kırmızı kayma oksijen içeren fonksiyonel grupların elimine edilmesi sonucu konjuge C=C bağlarının tekrar düzenlenmesinin bir sonucudur. Çünkü indirgenme sonucu sp^2 tipi hibritleşmiş karbon ağı tekrar düzenlenir. Spektrum piklerinde gözlenen bu kırmızı kayma, literatürde bulunan çalışmalarda GO'nun başka biyomoleküller ile indirgenmesi sonucunda da gözlenmiştir (Chen ve ark., 2015; Adhikarive Banerjee, 2013; Zhang ve ark., 2010; Bose ve ark., 2012; Ma ve ark., 2013; Wang ve ark., 2017). Deney sıcaklığının modifikasyon üzerindeki etkisinin incelenmesi için, modifikasyon işlemi 25°C, 45°C, 65°C ve 85°C'de tekrarlandı.

Elde edilen numuneler spektrofotometrik olarak incelendi ve alınan sonuçlar Tablo 6.3'te özetlendi. Tablodan da görüldüğü gibi sıcaklığın CA ile yapılan modifikasyona etkisi daha küçük bir boyutta olmuştur. UA modifikasyonunda ise sıcaklığın artışı spektrum piklerinde daha fazla kaymaya neden olmuştur.

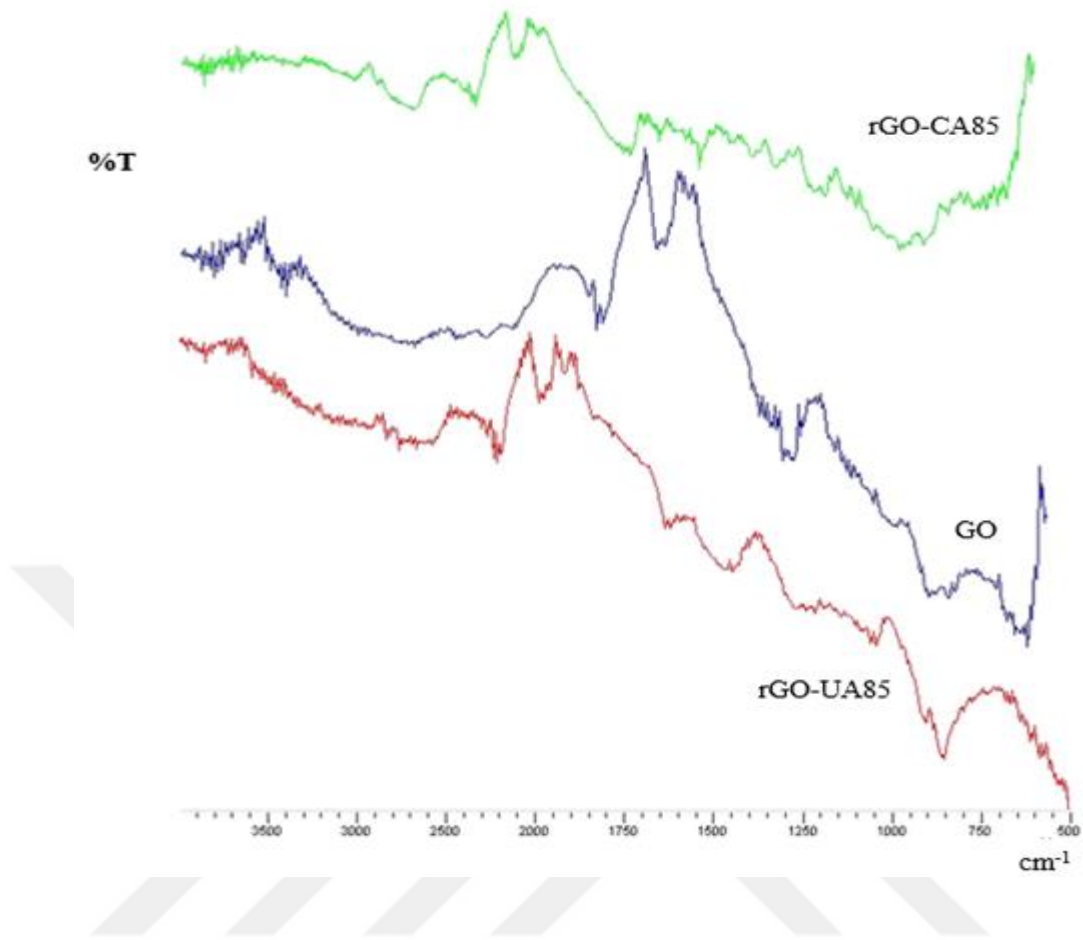
Tablo 6.3 Grafen oksit (GO)'in modifikasyonuna sıcaklığın etkisinin incelenmesi

	λ_{max}	
	CA	UA
GO	228 nm	
25°C	282 nm	262 nm
45°C	288 nm	271 nm
65°C	289 nm	283 nm
85°C	291 nm	288 nm

Deney şartlarının modifikasyon üzerindeki etkilerinin incelenmesi sonucu grafen esaslı malzemelerin üretimi için optimum koşullar belirlenmiş ve malzemeler bu koşullar kullanılarak üretilmiştir. GO'nun CA ile modifikasyonu ile üretilmiş olan rGO-CA85; 2,5 mL CA kullanılarak 85°C'ta ve 24 saatte üretilmiştir. GO' nun UA ile modifikasyonu ile üretilmiş olan rGO-UA85; 5 mL UA kullanılarak 85°C'de ve 24 saatte üretilmiştir.

6.2. FTIR Analizleri

Modifikasyon sonucu GO numunelerinin yapılarında gerçekleşen değişimler FTIR analizleri ile tespit edilmiştir. GO ve üretilen grafen esaslı malzemelerin FTIR spektrumları Şekil 6.5'te verilmiştir.



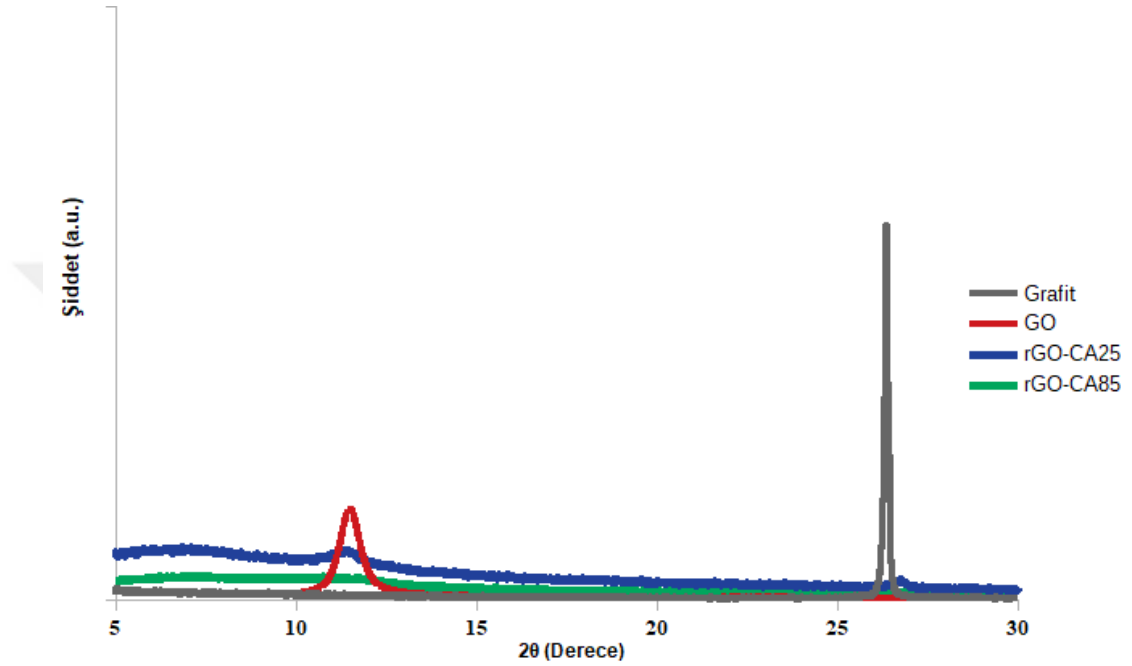
Şekil 6.5 Grafen oksit (GO) ve üretilen grafen esaslı malzemelerin FTIR Spektrumları

GO'nun FTIR spektrumunda 2000 cm^{-1} ve 3500 cm^{-1} arasında gözlenen geniş pik hidroksil (-OH) bağlarını göstermektedir. Karbonil (C=O) bağları 1800 cm^{-1} – 1850 cm^{-1} dolaylarında gözlenen piklere ve aromatik C=C bağları 1650 cm^{-1} 'de gözlenen piklere karşılık gelir. 1300 cm^{-1} değerinde epoksi (C-O) bağlarına ait pik gözlenmiştir. rGO-CA85'in FTIR spektrumunda -OH grubunu gösteren geniş pikin çok küçülmüş olması, karbonil ile epoksi gruplarına ait piklerin gözlenmemesi ve aromatik C=C bağlarına ait piklerin yer değiştirmiş olması indirgenmenin başarılı olduğunu göstermektedir(Wang ve ark., 2017). rGO-UA85'in FTIR spektrumunda da indirgenmenin etkisiyle hidroksil grubunu gösteren geniş pik küçülmüştür.

Ayrıca meydana çıkan yeni pikler UA ile modifikasyonda fonksiyonelleşmenin de etkili olduğunu göstermektedir. 1650 cm^{-1} , 1450 cm^{-1} ve 850 cm^{-1} 'de sırasıyla karboksil grubuna ait C=O ile C-C ve C-H bağlarını gösteren yeni pikler oluşmuştur (Seol ve ark., 2012; Ossoinonve ark., 2017).

6.3. XRD Diyagramları

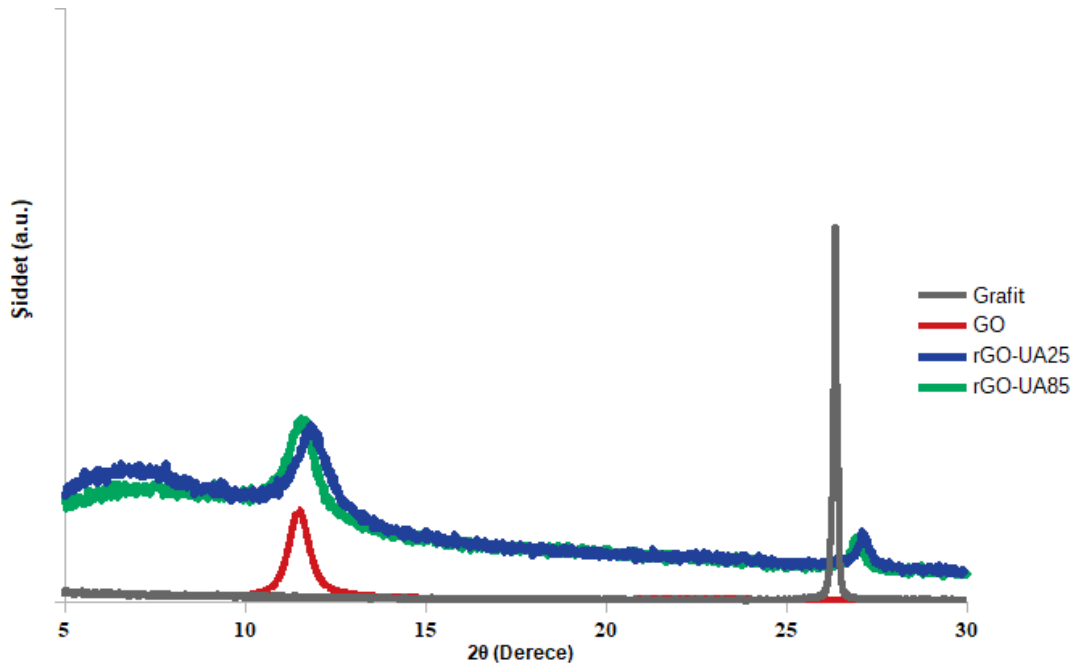
Modifikasyon sonucu GO numunelerinin yapılarında gerçekleşen değişimler XRD analizleri ile onaylanmıştır. Grafit, GO, rGO-CA25, rGO-CA85, rGO-UA25 ve rGO-UA85'in XRD diyagramları Şekil 6.6 ve Şekil 6.7'de verilmiştir.



Şekil 6.6. Grafit, GO ve CA modifikasyonu ile üretilmiş olan grafen esaslı malzemelerin (rGO-CA25 ve rGO-CA85) XRD Diyagramları

XRD diyagramlarında Grafit ve GO'ya ait karakteristik pikler görülmektedir. Grafite ait pik $2\theta = 26,36^\circ$ değerindedir ve grafit tabakaları arası uzaklık (d) bu değer ve Bragg Kanunu kullanılarak 0,34 nm olarak hesaplanmıştır. GO'ya ait XRD diyagramında grafit pikinin tamamen kaybolmuş olması ve $2\theta = 11,52^\circ$ 'de görülen GO pikinden hesaplanan GO tabakaları arası uzaklığın 0,77 nm olması, GO'nun başarılı bir şekilde sentezlenmiş olduğunu göstermiştir. GO sentezi sırasında yapıya eklenen ve oksijen içeren fonksiyonel gruplar tabakalar arası mesafeyi 0,34 nm'den 0,77 nm'ye çıkarmıştır. CA kullanılarak 25°C 'de üretilen rGO-CA25 piki $2\theta = 11,35^\circ$ 'de görülmektedir ve karşılık gelen tabakalar arası uzaklık 0,78 nm olarak hesaplanmıştır.

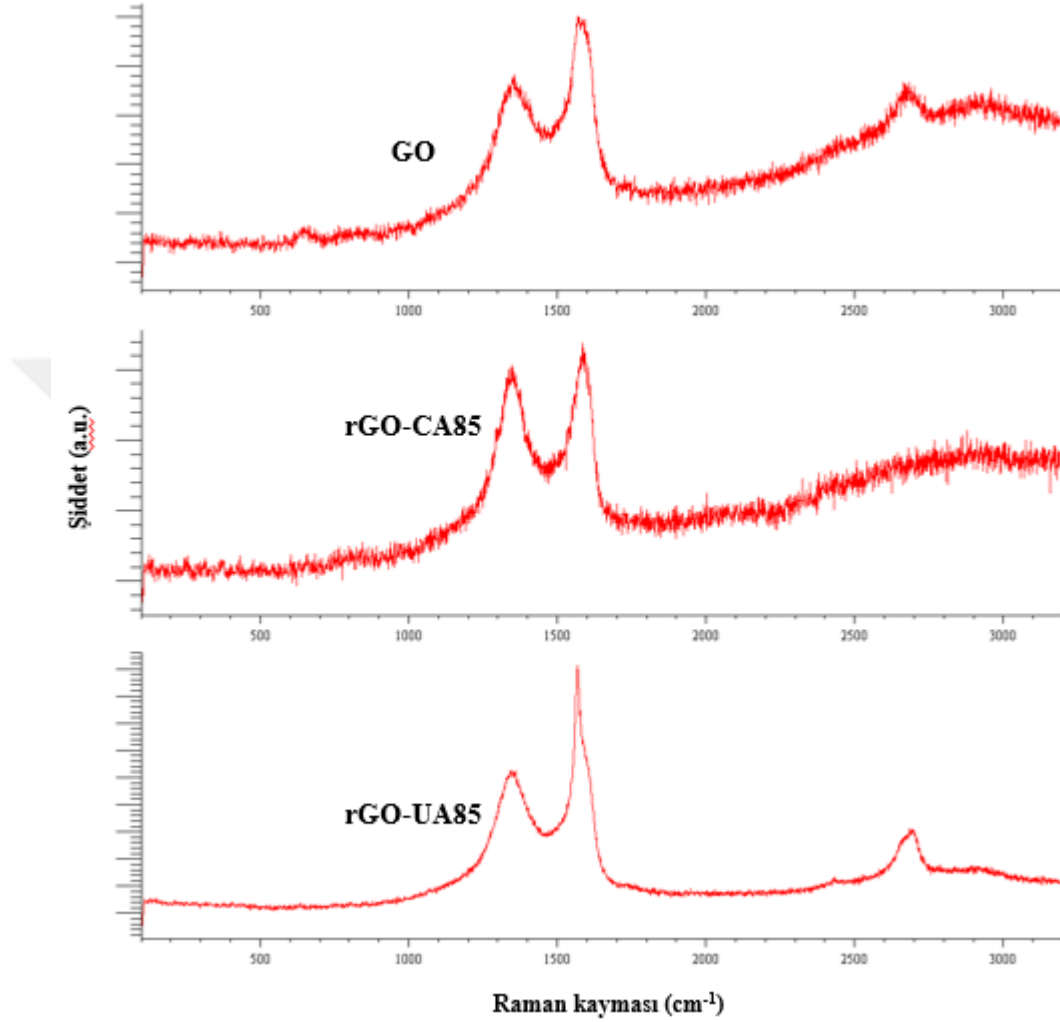
25°C’de yürütülen modifikasyon sonucunda CA moleküllerinin GO tabakalarının arasına ve yüzeyine tutunduğu ve indirgenmenin bu sıcaklıkta henüz tamamlanmamış olduğu bir ara form oluştuğu düşünülmektedir. 26-27° dolaylarında ortaya çıkan küçük pik bu ara formdaki düzensizlikleri göstermiştir. 85°C’de üretilen rGO-CA85’in XRD diyagramında hiç pik görülmemiş olması GO’nun 85°C’de başarılı bir şekilde indirgenliğini göstermiştir (Wang ve ark., 2017). UA kullanılarak 25°C’de üretilen rGO-UA25 piki $2\theta = 11,84^\circ$ ’de görülmektedir ve karşılık gelen tabakalar arası uzaklık 0,75 nm olarak hesaplanmıştır. Yine UA kullanılarak 85°C’de üretilen rGO-UA85 piki ise $2\theta = 11,59^\circ$ ’de görülmektedir ve karşılık gelen tabakalar arası uzaklık 0,76 nm olarak hesaplanmıştır. UA’nın 25°C’de yürütülen modifikasyon sırasında GO tabakaları arasına dolması ve fonksiyonelleşmenin gerçekleşmesi ile tabakalar arası uzaklık bir miktar azalmıştır. Ancak sıcaklık 85°C’ye çıkarıldığında fonksiyonelleşmenin yanı sıra indirgenme de etkili olmuş ve tabakalar arası uzaklık tekrar artmıştır. 26-27° dolaylarında ortaya çıkan küçük pikler ise, UA ile fonksiyonelleşme sonucu GO yapısında oluşan düzensizlikleri gösterir (Luo ve ark., 2016). XRD diyagramları GO’nun UA tarafından başarılı şekilde biyofonksiyonelleştirilmiş olduğunu onaylamaktadır.



Şekil 6.7. Grafit, GO ve UA modifikasyonu ile üretilmiş olan grafen esaslı malzemelerin (rGO-UA25 ve rGO-UA85) XRD Diyagramlar

6.4. Raman Analizleri

GO ve üretilen grafen esaslı malzemelerin Raman analizleri yapıldı ve sonuçlar Şekil 6.8’de gösterildi.



Şekil 6.8. Grafen oksit (GO) ve üretilen grafen esaslı malzemelerin Raman analizleri

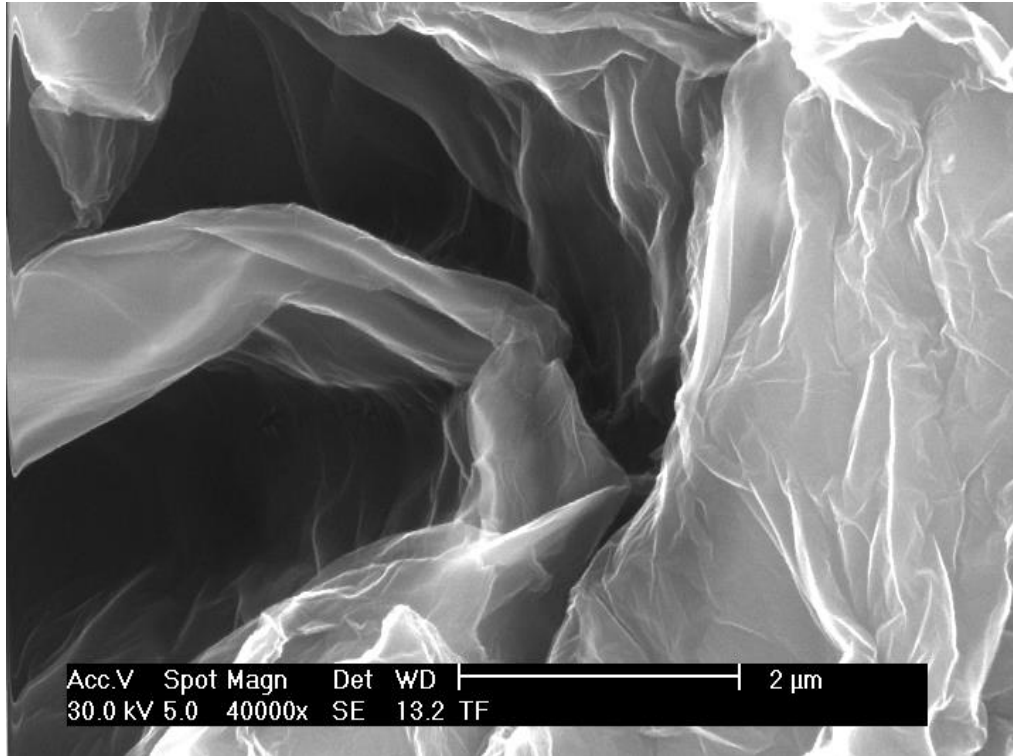
Raman spektrumları modifikasyonun GO yapısında meydana getirdiği değişimleri ortaya koymuştur. GO’nun Raman spektrumunun karakteristik iki piki vardır. Bunlardan birincisi 1350 cm^{-1} dolayında olan D pikidir ve karbon yapıdaki düzensizlikleri gösterir. İkinci pik ise 1590 cm^{-1} dolayında olan G pikidir ve düzenli yapıların şiddetini ifade eder. Bu piklerin relatif şiddetleri oranı yani I_D/I_G oranı, modifikasyon sırasında oluşan değişimleri gösterir. Şekil 6.8’de görülen Raman spektrumlarının I_D/I_G oranları hesaplandı ve GO için bu oranın 0,85 olduğu bulundu.

CA kullanılarak 85°C’de üretilen rGO-CA85 için ise bu oran 0,95 olarak hesaplandı yani oranda GO’nun değerine göre artış gözlemlendi.

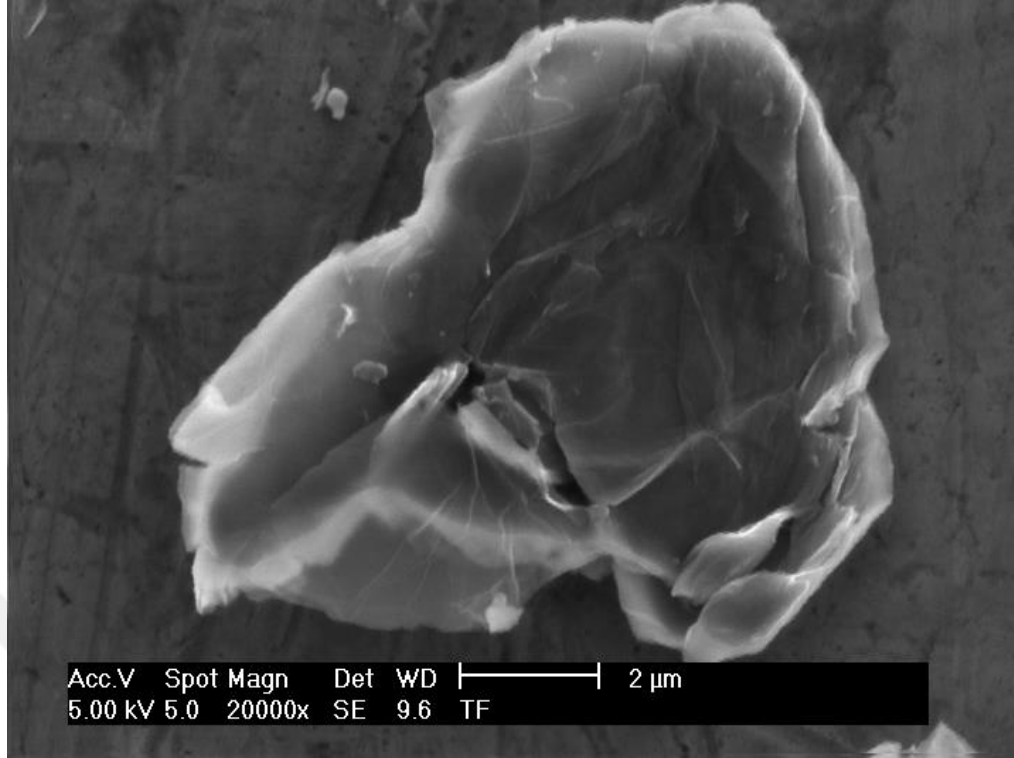
Bu artış GO’nun CA ile indirgenmesi sırasında yeni sp^2 yapılarının oluştuğunu ve GO’nun başarılı olarak indirgendüğünü gösterir (Bose ve ark., 2012; Ma ve ark., 2013; Wang ve ark., 2017). 85°C’de UA kullanılarak üretilen rGO-UA85’e ait spektrumdan ise I_D/I_G oranı 0,65 olarak bulundu yani meydana gelen fonksiyonelleşmenin bir sonucu olarak GO’nun değerine göre azalma gözlemlendi (Douado ve ark., 2019).

6.5. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Görüntüleri

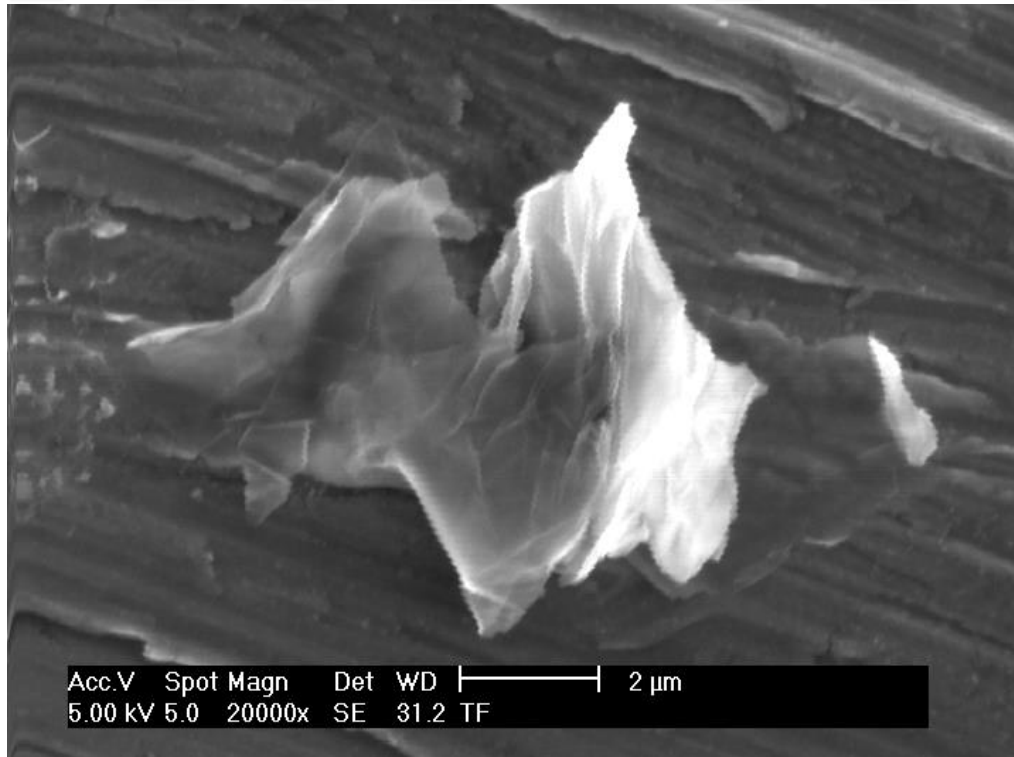
Taramalı elektron mikroskobu kullanılarak GO ve üretilen grafen esaslı malzemelerin şekil ve boyut özelliklerinin görüntülenmesi sağlanmıştır. Elde edilen SEM görüntüleri Şekil 6.9, 6.10 ve 6.11’de verilmiştir. GO ve grafen esaslı malzemelerin tabakalı yapısı SEM görüntülerinden açıkça görülmektedir. Grafen esaslı malzemelerin boyutları μm düzeyinde ve GO’ya göre daha küçüktür.



Şekil 6.9. Grafen oksit (GO)’in taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü



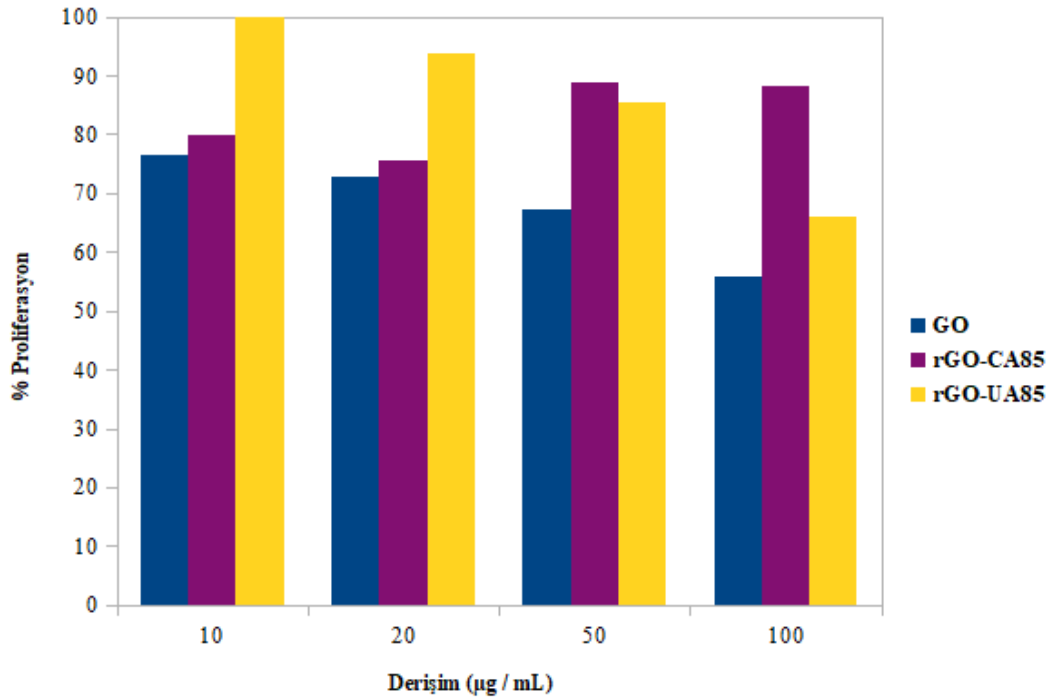
Şekil 6.10. rGO-CA85'in taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü



Şekil 6.11. rGO-UA85'in taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüsü

6.6. Toksisite Deneyleri (MTT testi)

Sentezlenen GO ve grafen esaslı malzemelerin biyoyumluluk düzeyleri toksisite deneyleri ile tespit edildi. Malzemelere ait numunelerin non-kanserojenik fare embriyonik fibroblast hücre serisi (NIH-3T3) üzerindeki sitotoksik etkileri MTT yöntemi kullanılarak test edildi ve bulunan sonuçlar Şekil 6.12’de gösterildi.



Şekil 6.12. Grafen oksit (GO) ve grafen esaslı malzemelerin MTT testi

Şekil 6.12’den görüldüğü gibi, GO’ya uygulanan modifikasyon sonucunda biyoyumluluk düzeyi daha yüksek olan grafen esaslı malzemeler elde edilmiştir. Toksisite deneylerinde bulunan sonuçlara göre UA kullanılarak 85°C’de üretilen rGO-UA85’in % Proliferasyon değeri 10 µg/mL derişim için %100 olarak bulunmuştur. Derişimin artması ile % Proliferasyon değerinde düşüş gözlenmiştir. Bu sonuçlar, rGO-UA85’in ilaç taşıyıcı sistem uygulamaları için uygun biyoyumlu bir malzeme olduğunu göstermiştir. CA kullanılarak 85°C’de üretilen rGO-CA85’in % Proliferasyon değerleri ise malzeme derişiminin artması ile artış göstermiştir.

Elde edilen bu sonuç, rGO-CA85'in hücre gelişimini promote ettiği ve ilaç taşıyıcı sistem uygulamalarının yanı sıra yara iyileştirmesi amacıyla da kullanılabilecek biyouyumlu bir malzeme olduğunu göstermiştir.



7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Grafen esaslı malzemeler, eşsiz özellikler sebebiyle ilaç taşıyıcı sistemlerin üretimi ve diğer pek çok uygulama açısından büyük bir potansiyel taşımaktadırlar. Grafen oksitin (GO) kimyasal yöntem ile modifikasyonu grafen ve grafen esaslı malzemelerin büyük miktarlarda üretimi için önemli bir yoldur. Bu sebeple bu çalışmada GO'nun doğal maddeler ile modifikasyonu yoluyla biyouyumlu grafen esaslı malzemeler üretilmiştir. Modifikasyon işleminde doğal maddeler olarak Sinnamaldehit (CA) ve Undesilenik asit (UA) kullanılmıştır. Modifikasyon süreci çeşitli reaktif miktarları, deney süreleri ve deney sıcaklıkları kullanılarak spektrofotometrik olarak incelenmiştir. Elde edilen sonuçlardan grafen esaslı malzemelerin üretileceği optimum koşullar belirlenmiştir. GO'nun CA ile modifikasyonu ile üretilmiş olan rGO-CA85; 2,5 mL CA kullanılarak 85°C'de ve 24 saatte üretilmiştir. GO'nun UA ile modifikasyonu ile üretilmiş olan rGO-UA85; 5 mL UA kullanılarak 85°C'de ve 24 saatte üretilmiştir.

Üretilen malzemeler FTIR spektroskopisi, XRD analizi, Raman spektroskopisi ve Taramalı elektron mikroskopu ile karakterize edilmiştir. GO'nun modifikasyonu ilk olarak gözle görülen renk değişimi ile tespit edilmiştir. Kahverengi GO dispersiyonları, GO'nun indirgenmesi sonucu siyah renkli dispersiyonlara dönüşmüştür. UV spektrumlarında gözlenen kırmızı kayma, GO'nun indirgenmesini onaylamıştır. FTIR piklerinde görülen değişimler GO'nun CA ile indirgenmesinin başarılı olduğunu, UA'nın ise GO üzerinde hem indirgeme hem de fonksiyonelleştirme etkisi bulunduğunu ortaya koymuştur. Yapılan XRD analizleri GO modifikasyonunun her iki reaktif için de 85°C'de tamamlandığını ve CA'nın GO üzerindeki indirgeme etkisi ise UA'nın GO üzerindeki biyofonksiyonelleştirme etkisini desteklemiştir. Raman spektrumlarından elde edilen I_D/I_G oranlarının değişimide, iki farklı reaktifin modifikasyon sonucu GO yapısında oluşturduğu değişimleri ve modifikasyonun başarılı olduğunu ortaya koymuştur. Çekilen Taramalı elektron mikroskopu görüntülerinden üretilen grafen esaslı malzemelerin boyutlarının μm düzeyinde ve GO'ya göre daha küçük olduğu tespit edilmiştir.

Üretilen malzemelerin biyouyumluluk düzeyleri toksisite testleri ile ortaya konmuştur. UA kullanılarak 85°C'de üretilen rGO-UA85'in %Proliferasyon değeri 10 $\mu\text{g/mL}$ derişim için %100 olarak bulunmuştur. Toksisite testlerinin sonuçlarına göre üretilen

malzemeler ilaç taşıyıcı sistem uygulamalarında kullanılmak için uygun biyoyumlu malzemelerdir. CA kullanılarak 85°C’de üretilen rGO-CA85’in %Proliferasyon değerleri malzeme derişiminin artması ile artış göstermiştir. Bu sonuç, bu malzemenin hücre gelişimini promote ettiği ve ilaç taşıyıcı sistem uygulamalarının yanı sıra yara iyileştirmesi amacıyla da kullanılabilecek potansiyel bir malzeme olduğunu göstermiştir.

Bu tez çalışması, GO’nun indirgenmesi ve fonksiyonelleştirilmesi için çevreye dost ve uygulanması kolay bir yöntem ortaya koymuştur. Bu çalışmada üretilen malzemeler ve ortaya konan yöntem, ilaç taşıyıcı sistem uygulamalarına olduğu kadar diğer biyomalzemelerin üretimine de bir alternatif sunmaktadır.

8. KAYNAKLAR

Adhikari, B., Banerjee A., Catalytic properties of graphene–metal nanoparticle hybrid prepared using an aromatic amino acid as the reducing agent, Materials Chemistry and Physics. 139(2-3) (2013) 450-458.

Atkins, P.W. Fizikokimya, Bilim Yayıncılık, Ankara, 2001:975:556-049-1.

Bandosz, T.J., 2006, Interface Science and Technology Volume 7: Activated Carbon Surfaces in Environmental Remediation, Academic Press, Amsterdam, 978-0-12-370536-5.

Biryol, İ., Analitik Kimya Ders Kitabı, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 1995: 975-482-015-5.

Bose, S., Kuila, T., Mishra, A.K., Kim, N.H., Lee, J.H., Dual role of glycine as a chemical functionalizer and a reducing agent in the preparation of graphene: an environmentally friendly method, J. Mater. Chem. 22(19) (2012) 9696-9703.

Chang R. General Chemistry Çeviren: Uyar T, Aksoy S, İnam R. Genel Kimya Temel Kavramlar. 4. Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara; 2011.

Chen, D., Li, L., Guo, L. An environment-friendly preparation of reduced graphene oxide nano sheets via amino acid, Nanotechnology. 22(32) (2011) 325601.

Chua, C.K., Pumera, M. Chemical reduction of graphene oxide: a synthetic chemistry view point, Chem. Soc. rev. 43(1) (2014) 291-312.

Çalışkan E. Bazı İlaç Etken Maddelerinin Sulu Ortamda ve Yüzey Aktif Maddeler Varlığında Adsorpsiyonunun İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2011, İstanbul (Danışman: Prof. Dr. M. Mehmet).

Dikeç, G. Malzeme Bilgisi ve İmal Usulleri, Gedik Üniversitesi Yayınları, İstanbul, 2013: 978-605-855-7208

Douda, J., et al. "Optical properties of amine-functionalized graphene oxide." *Applied Nanoscience* 9. 4 (2019): 567-578.

Dreyer, D.R., Park, S., Bielawski, C.W., Ruoff, R.S. The chemistry of graphene oxide, *Chem. Soc. Reviews*. 39(1) (2010) 228-240.

Erkmen, Z.E., *Modern fizik takviyeli malzeme karakterizasyonu ve temel ilkeleri*, Yalın yayıncılık, İstanbul, 2012: 978-9759617950.

Gao, J., Liu, F., Liu, Y., Ma, N., Wang, Z., Zhang, X. Environment-Friendly Method To Produce Graphene That Employs Vitamin C and Amino Acid, *Chem. Mater.* 22(7) (2010) 2213-2218.

Geçkinli E. *İleri Teknoloji Malzemeleri*, İstanbul Teknik Üniversite Matbaası, 1992.

Gurunathan, S., Han, J., Kim, J.H. Humanin: anovel functional molecule for the green synthesis of graphene, *Colloids Surf. B: Biointerfaces*. 111 (2013) 376-383.

Gurunathan, S., Han, J.W., Kim, J.H. Green chemistry approach for the synthesis of biocompatible graphene, *Int. J. Nanomedicine* 8 (2013) 2719-2732.

Gurunathan, S., Han, J.W., Eppakayala, V., Kim, J.H. Green synthesis of graphene and its cytotoxic effects in human breast cancer cells, *Int. J. Nanomedicine* 8 (2013) 1015-1027.

Gürarlan, 2018, *İki Boyutlu Malzemelerin Tekstil Yüzeylerine Transferi*, *Tekstil ve Mühendis*, 25: 110, 96-102.

Harun, Sulaiman Wadi, ed. *Handbook of Graphene: Biomaterials*. John Wiley&Sons, 2019.

Hu, M., Mi, B., Enabling graphene oxide nanosheets as water separation membranes, *Environ. Sci. Technol.* 47(2013) 3715-3723.

Huang, X., Yin, Z., Wu, S., Qi, X., He, Q., Zhang, Q., Yan, Q., Boey, F., Zhang, H., Graphene-based materials: synthesis, characterization, properties, and applications, *Small* 7 (2011) 1876-1902.

Hummers, W.S., Offeman, R.E. Preparation of graphite oxide, *J. Am.Chem.Soc.* 80(6) (1958) 1339.

Jia, S., Yang, Z., Ren, K., Tian, Z., Dong, C., Ma, R., Yu, G., Yang, W. Removal of antibiotics from water in the coexistence of suspended particles and natural organic matters using amino-acid-modified-chitosan flocculants: a combined experimental and theoretical study, *J.Hazard. Mater.* 317 (2016) 593-601.

Kim, K.S., Zhao, Y., Jang, H., Lee, S.Y., Kim, J.M., Kim, K.S., Ahn, J.H., Kim, P., Choi, J.Y., Hong, B.H., Large-scale pattern growth of graphene film for stretchable transparent electrodes, *Nature* 457(2009) 706-710.

Lee, H., Choi, T.K., Lee, Y.B., Cho, H.R., Ghaffari, R., Wang, L., Choi, H.J., Chung, T.D., Lu, N., Hyeon, T., Choi, S.H., Kim, D.H. A graphene-based electrochemical device with thermoresponsive microneedles for diabetes monitoring and therapy, *Nat. Nanotechnol.* 11(2016) 566-572.

Li, C., Shi, G. Three-dimensional graphene architectures, *Nanoscale* 4(18) (2012) 5549-5563.

Lin, T., Chen, I-W., Liu, F., Yang, C., Bi, H., Xu, F. And Huang, F. Nitrogen doped mesoporous carbon of extraordinary capacitance for electrochemical energy storage. *Science*, 2015. 350: p.1508-1513.

Luo, Fubin, et al. "Anisotropic thermal conductivity and flameretardancy of nanocomposite based on mesogenic epoxy and reduced graphene oxide bulk." *Composites Science and Technology* 132 (2016): 1-8.

Ma, J., Wang, X., Liu Y., Wu, T., Liu, Y., Guo, Y., Ruqiang, L., Sun, X., Wu, F., Li, J. Gao, Reduction of graphene oxide with l-lysine to prepare reduced graphene oxide stabilized with polysaccharide polyelectrolyte, *J. Mater. Chem. A* 1(6) (2013) 2192-2201.

Mallakpour, S., Abdolmaleki, A., Borandeh, S. Covalently functionalized graphene sheets with biocompatible natural amino acids, *Appl. Surf. Sci.* 307 (2014) 533-542.

Nurunnabi, Md, and Jason McCarthy, eds. *Biomedical Applications of Graphene and 2D Nanomaterials*. Elsevier, 2019.

Ossouon, Benjamin Diby, and Daniel Belanger. "Synthesis and characterization of sulfophenyl-functionalized reduced graphene oxide sheets." *RSC Advances* 7.44 (2017): 27224-27234.

Paredes, J.I., Villar-Rodil, S., Fernández-Merino, M.J., Guardia, L., Martínez-Alonso, A., Tascón, J.M.D. Environmentally friendly approaches toward the mass production of processable graphene from graphite oxide, *J. Mater. Chem.* 21(2) (2011) 298-306.

Pham, T.A., Kim, J.S. Jeong, Y.T. One-step reduction of graphene oxide with l-glutathione, *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.* 384(1-3) (2011) 543-548.

Salihi, E.C., Wang, J., Coleman, D.J.L., Siller, L. Enhanced removal of nickel(II) ions from aqueous solutions by SDS-functionalized graphene oxide, *Sep. Sci. Technol.* 51(2016) 1317- 1327.

Seol, Young Gug, et al. "Nanocomposites of reduced graphene oxide nanosheets and conducting polymer for stretchable transparent conducting electrodes." *Journal of Materials Chemistry* 22.45 (2012): 23759- 23766.

Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A., *Principles of Instrumental Analysis*. Çeviren: Kılıç, E., Köseoğlu, F., Yılmaz, H., *Enstrümental Analiz İlkeleri*, Birinci Baskı, Bilim Yayıncılık Ltd. Şti., Ankara:1998

Song, Saijie, et al. "Biomedical Application of Graphene: from Drug Delivery, Tumor Therapy, to Theranostics." *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* (2019): 110596.

Stankovich, S., Dikin, D.A., Piner, R.D., Kohlhaas, K.A., Kleinhammes, A., Jia, Y., Wu, Y., Nguyen, S.T., Ruoff, R.S. Synthesis of graphene-based nano sheets via chemical reduction of exfoliated graphite oxide, *Carbon* 45(7) (2007) 1558-1565.

Thakur, S., Karak, N. Alternative method sandnature-based reagents for the reduction of graphene oxide: are view, *Carbon*94 (2015) 224-242.

Traversi, F., Railon, C., Benameur, S.M., Liu, K., Khlybov, S., Tosun, M., Krasnazhon, D., Kis, A., Radenovic, A. Detecting the translocation of DNA through a nanopore using graphene nanoribbons, *Nat. Nanotechnol.*8 (2013) 939-945.

Wang, J., Çalışkan, Salihi, E., and Lidiya Šiller. "Green reduction of graphene oxide using alanine." *Materials Science and Engineering: C* 72 (2017): 1-6.

Wang, J., Chen, B., Xing, B., Wrinkles and folds of activated graphene nano sheets as fast and efficient adsorptive sites for hydrophobic organic contaminant, *Environ. Sci. Technol.* 50(2016) 3798-3808.

Yang, Yuqi, et al. "Graphene based materials for biomedical applications." *Material stoday* 16.10 (2013): 365-373.

Zhang, Baomei, Yang Wang, and Guangxi Zhai. "Biomedical applications of the graphene-based materials." *Materials Science and Engineering: C* 61 (2016): 953-964.

Zhang, Y., Tian, J., Li, H., Wang, L., Qin, X., Asiri, A.M., Al-Youbi, A.O., Sun, X. Biomolecule-assisted, environmentally friendly, one-pot synthesis of CuS/reduced graphene oxide nanocomposites with enhanced photo catalytic performance, *Langmuir* 28(35) (2012) 12893-12900.

Zhang, J., Yang, H., Shen, G., Cheng, P., Zhang, J., Guo, S. Reduction of graphene oxide via L-ascorbic acid, Chem. Commun. 46(7) (2010) 1112-1114.



9.ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	KİBAR	Soyadı	DEMİRHAN
Doğum Yeri	YÜREĞİR	Doğum Tarihi	04.05.1988
Uyruğu	TC	Tel	05413715411
E-mail	demirhan.9082@gmail.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	MARMARA ÜNİVERSİTESİ	2020
Lisans	MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ	2014
Lise	ENVER KURTTEPELİ LİSESİ	2006

Yabancı Dil Bilgisi

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İNGİLİZCE	İYİ	İYİ	İYİ

Sınav Bilgileri

ALES Puanı	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
	62,03485	59,89107	56,51872

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS OFFICE	İYİ

EK: Diğer bilimsel faaliyetler (yayın, kongre, bildiri vs.)

Çalışkan Salihi E., Demirhan, K. (2018) Green reduction of graphene oxide for pharmaceutical applications. 14. Nanoscience and Nanotechnology Conference (NANO-TR) (Sözlü bildiri).

Çalışkan Salihi E., Demirhan, K. (2018) İlaç taşıyıcı uygulamaları için grafen esaslı malzemeler üretilmesi, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi (ULUSAL) (Mülkiyet Hakları ve Patent Teşvik Desteği- P Tipi proje).

Çalışkan Salihi E., Demirhan, K. (2018) İlaç taşıyıcı uygulamaları için grafen esaslı malzemeler üretilmesi, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi (ULUSAL) (Lisansüstü tez projesi- C Tipi proje).

Çalışkan Salihi E., Demirhan, K. (2019) Grafen oksitten elde edilen grafen esaslı malzemeler ve bunları elde etme yöntemi, PT2018-01922 numaralı patent başvurusu.

Demirhan, K., Çalışkan Salihi E. (2018) Biofunctionalization of graphene oxide for drug delivery applications. 12. International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS).