

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**KAĞIT TABANLI KOLORİMETRİK BİYOSENSÖRLERİN
ÜRETİMİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SILA GİZEM ALHAN

DENİZLİ, MAYIS 2023

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**



**KAĞIT TABANLI KOLORİMETRİK BİYOSENSÖRLERİN
ÜRETİMİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SILA GİZEM ALHAN

DENİZLİ, MAYIS 2023

**Bu tez çalışması Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
birimi tarafından 2022FEBE029 nolu proje ile desteklenmiştir.**

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.

Sıla Gizem ALHAN

ÖZET

KAĞIT TABANLI KOLORİMETRİK BİYOSENSÖRLERİN ÜRETİMİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SILA GİZEM ALHAN

PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI:DOÇ. DR. ŞÜKRÜ GÖKHAN ELÇİ)

DENİZLİ, MAYIS 2023

Küresel sanayi devrimi ağır metallerin çevreye yayılımını hızlandırmaktadır. Bitkisel gıdaların tüketilmesi, güvenli olmayan suların içilmesi ve ağır metallerle kirlenmiş havanın insan sağlığı üzerinde uzun vadeli etkileri vardır. Ağır metallerin varlığı ve doğadan uzaklaştırılması, onların kalıcı çevresel kirleticiler olarak görülmesine neden olmaktadır. Yayılmalarını önlemek ve kirlilik seviyesini gözlemlemek için sahada tespit imkanı sağlayan düşük maliyetli, taşınabilir biyosensör sistemlerinin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Bu tezde sitrat kaplı altın ve gümüş nanoparçacıklar kolorimetrik sensör potansiyellerini araştırmak için ısıya dayalı ve ısıya dayalı olmayan teknikler kullanılarak hazırlandı. Sentezlenen nanoparçacıklar çeşitli ağır metallere karşı değerlendirildi ve yanıt veren metaller gözlemlendi. Altın ve gümüş nanoparçacıklar yüzey plazmon rezonans (LSPR) özellikleri sayesinde diğer parçacık türlerine kıyasla kolorimetrik sensörler için büyük adaydır. Çekirdek boyutu 7 nanometre olan küresel şekle sahip sitrat kaplı gümüş nanoparçacıklar ısıtmalı ve ısıtmasız olarak sentezlendi. Gümüş nanoparçacıklar farklı metal iyonlarıyla kolorimetrik olarak test edildi. Kolorimetrik olarak gözlenen değişiklikler UV-Vis absorpsiyon spektrumlarında incelendi. Her üç gümüş nanoparçacık Cr^{3+} iyonlarına karşı yüksek özgülük gösterdi; ancak duyarlılıkları sentez için kullanılan yöntemle ilgili olarak farklılık göstermektedir. Sahada kullanılabilecek taşınabilir bir sistem oluşturmak amacıyla çevre dostu ve ucuz sensör elde etmek için kağıt kullanıldı. Nanoparçacıklar piezoelektrik yazıcı kafasına sahip mürekkep püskürtmeli yazıcı kullanılarak kağıda basıldı. Sensör sistemi içme ve deniz suyu örneklerinde uygulandı. Ölçümler 1 ml gerçek örnek içine 20 μM Cr^{3+} iyonu eklenerek yapıldı. Ekleme öncesi ve ekleme sonrası değerler hesaplanarak yüzdesel olarak geri alım değerleri elde edildi. İçme suyu için yüzdesel olarak 106.3184 ± 2.378161 , deniz suyu için ise 90.97246 ± 1.453167 bulundu. Bu çalışmada sıcaklığın nanoparçacıkların dispersiyon kinetiklerini, görünümünü ve metal iyonlarıyla etkileşimini nasıl etkilediğinin karşılaştırmalı incelemesi sunulmaktadır.

ANAHTAR KELİMELELER: Ağır metaller, yüzey plazmon rezonans, gümüş nanoparçacık, kolorimetrik biyosensör

ABSTRACT

FABRICATION OF PAPER-BASED COLORIMETRIC SENSORS

MSC THESIS

SILA GİZEM ALHAN

PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

BIOMEDICAL ENGINEERING

(SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. ŞÜKRÜ GÖKHAN ELÇİ)

DENİZLİ, MAY 2023

The global industrial revolution is accelerating the spread of heavy metals into the environment. Consumption of plant-based foods, drinking unsafe water, and polluted air with heavy metals have long-term effects on human health. The presence of heavy metals and their removal from nature are considered permanent pollutants to the environment. It is essential to develop low-cost, portable biosensor systems that allow detection in the field to prevent their spread and measure the level of pollution. In this thesis, gold and silver nanoparticles with citrate coating were synthesized using heat and no heat-based techniques to investigate their colorimetric sensor potential. These nanoparticles were evaluated against various heavy metals, and the responding metals were observed. Gold and silver nanoparticles are great candidates for colorimetric sensors compared to other particles due to their localized surface plasmon resonance (LSPR) properties. Citrate-coated silver nanoparticles of spherical shape with a core size of 7 nm, were synthesized with and without heating. The silver nanoparticles were colorimetrically tested with different ions and showed high specificity against Cr^{3+} ions, yet their sensitivity differed based on the method used for synthesis. The paper was selected to obtain environmentally friendly and cheap sensors to create a portable system that can be used in the field. The particles were printed on the paper using an inkjet printer with a piezoelectric printhead. The sensor system was applied to drinking and seawater samples. Measurements were made by adding 20 μM Cr^{3+} ion into 1 ml of real samples. Pre-addition and post-addition values were calculated and recovery values in percentages were found. The percentage was 106.3184 ± 2.378161 for drinking water and 90.97246 ± 1.453167 for seawater. The study presents a effect of temperature on the dispersion kinetics of nanoparticles, their appearance, and their interaction with metal ions.

KEYWORDS: Heavy metals, surface plazmon rezonance, silver nanoparticle, colorimetric biosensor

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ	vi
SEMBOL LİSTESİ	vii
ÖNSÖZ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.2 Ağır Metaller ve Nanoteknoloji.....	2
1.2.1 Ağır Metaller.....	2
1.2.2 Ağır Metallerin Çevreye Etkisi.....	3
1.2.3 Ağır Metallerin İnsan Sağlığına Etkisi	4
1.2.4 Krom	6
1.3 Nanoteknoloji	8
1.3.1 Nanoteknolojinin Tanımı	8
1.3.2 Nanoteknolojinin Tarihçesi.....	8
1.4 Metalik Nanoparçacıklar	12
1.4.1 Gümüş Nanoparçacıklar	14
1.4.2 Gümüş Nanoparçacıkların Sentez Yöntemleri	15
1.4.2.1 Fiziksel Sentezler	15
1.4.2.2 Fotokimyasal Sentezler	15
1.4.2.3 Biyolojik Sentez	16
1.4.2.4 Kimyasal Sentez.....	16
1.4.3 Altın Nanoparçacıklar	18
1.4.4 Altın Nanoparçacıkların Sentez Yöntemleri	20
1.4.4.1 Turkevich Metodu.....	20
1.4.4.2 Brust-Schiffrin Metodu	20
1.4.4.3 Tohumla Büyüme Metodu	21
1.4.4.4 AuNP Sentezi için Diğer Yöntemler.....	22
1.5 Yüzey Plazmon Rezonans ve Biyosensörler	22
1.5.1 Lokalize Yüzey Plazmon Rezonans (LSPR) Kavramı	22
1.6 Biyosensörler.....	24
1.6.1 Biyosensör Çeşitleri.....	25
1.6.1.1 Biyolojik Türüne Göre Sınıflandırma	26
1.6.1.1.1 Enzim Biyosensörleri.....	26
1.6.1.1.2 Nükleik Asit Biyosensörleri.....	27
1.6.1.1.3 İmmüno-sensörler	27
1.6.1.1.4 Mikrobiyal Biyosensörler	27
1.6.1.2 Dedektör Sistemine Göre Sınıflandırma	27
1.6.1.2.1 Elektrokimyasal Biyosensörler	27
1.6.1.2.2 Termal Biyosensörler.....	28
1.6.1.2.3 Piezoelektrik Biyosensörler	29
1.6.1.2.4 Optik Biyosensörler	29
1.6.1.3 Kolorimetrik Sensörler.....	29

1.6.1.4 Kağıt Tabanlı Biyosensörler ve Mürekkep Püskürtmeli Baskı	30
1.7 Tezin Amacı	31
2. YÖNTEM.....	32
2.1 Materyaller	32
2.2 Cihazlar	32
2.3 Gümüş Nanoparçacıkların Sentezi	32
2.3.1 7 nm Sitrat Kaplı Gümüş Nanoparçacıkların Isıl İşlemsiz Sentezi	32
2.3.1.1 1 Numaralı Gümüş Nanoparçacık (AgNP1)	32
2.3.1.2 2 Numaralı Gümüş Nanoparçacık Sentezi (AgNP2)	33
2.3.2 3 Numaralı Gümüş Nanoparçacık Sentezi (AgNP3)	33
2.4 Altın Nanoparçacıkların Sentezi.....	34
2.5 Nanoparçacıkların 5-Amino-1,3,4-Tiyadiazol-2-Tiyol Bileşiği ile Fonksiyonelleştirilmesi	35
2.5.1 5-Amino-1,3,4-Tiyadiazol-2-Tiyol Bileşiğinin Sitrat Kaplı Altın Nanoparçacıklar ile Bağlanması	35
2.5.2 5-Amino-1,3,4-Tiyadiazol-2-Tiyol Bileşiği ile pH Kontrollü Sitrat Kaplı Altın Nanoparçacıkların Bağlanması	36
2.5.3 5-Amino-1,3,4-Tiyadiazol-2-Tiyol Bileşiğinin Sitrat Kaplı Altın Nanoparçacıklar ile Bağlanmasında 1-Pentanetiyol Bileşiğinin Ara Basamak Olarak Kullanılması	36
2.5.4 5-Amino-1,3,4-Tiyadiazol-2-Tiyol Bileşiğinin 30 nm Sitrat Kaplı Gümüş Nanoparçacıklar ile Bağlanması	37
2.6 Altın ve Gümüş Nanoparçacıkların Karakterizasyonu.....	38
2.7 Nanoparçacıkların Ağır Metallerle İncelenmesi	38
2.7.1 Gümüş Nanoparçacıkların Ağır Metallerle İncelenmesi	38
2.7.2 5-Amino-1,3,4-Tiyadiazol-2-Tiyol Bileşiği ile Fonksiyonelleştirilen AuNP'lerin Ağır Metallerle İncelenmesi.....	39
2.8 Gümüş Nanoparçacıkların Gerçek Örneklerle İncelenmesi	39
2.9 Kağıt Tabanlı Biyosensör Basımı.....	40
3. BULGULAR	41
3.1 Sitrat Kaplı Gümüş Nanoparçacıkların Karakterizasyonu	41
3.2 Sitrat Kaplı Gümüş Nanoparçacıklar ile Ağır Metal İyonlarının Kolorimetrik Tayini.....	43
3.3 Sitrat Kaplı Gümüş Nanoparçacıklar ile Cr ³⁺ İyonunun Kolorimetrik Tayini	44
3.4 Sitrat Kaplı Gümüş Nanoparçacıkların Metal Etkileşimlerinin UV-Vis Spektrumlarının İncelenmesi.....	45
3.5 Cr ³⁺ Tespitinin Duyarlılığının Belirlenmesi.....	46
3.6 Sitrat Kaplı Gümüş Nanoparçacıkların Gerçek Örneklerle Etkileşimi	48
3.7 5-Amino-1,3,4-Tiyadiazol-2-Tiyol ile Fonksiyonelleştirilmiş Sitrat Kaplı Altın Nanoparçacıkların Karakterizasyonu	50
3.8 5-Amino-1,3,4-Tiyadiazol-2-Tiyol ile Fonksiyonelleştirilmiş Sitrat Kaplı Altın Nanoparçacıkların Ağır Metal İyonlarıyla Kolorimetrik Tayini.....	51
3.9 Nanoparçacık İçeren Kağıt Tabanlı Kolorimetrik Sensör Çalışmaları	53
4. TARTIŞMA	55
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	57
6. KAYNAKÇA	61
7. ÖZGEÇMİŞ	71

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1 : Nanoteknolojinin tarihi.....	11
Şekil 1.2 : Nanoparçacıkların sentez yöntemleri.....	12
Şekil 1.3 : Gümüş nanoparçacıkların kimyasal sentezi.....	18
Şekil 1.4 : Turkevich metodu kullanılarak AuNP sentezi.....	20
Şekil 1.5 : Brust Schiffrin metodu kullanılarak AuNP sentezi.....	21
Şekil 1.6 : Tohumla büyütme metodu kullanılarak AuNP sentezi.....	21
Şekil 1.7 : Rezonans oluşumunun şematik gösterimi.....	23
Şekil 1.8 : Biyosensörlerin şematik gösterimi.....	24
Şekil 1.9 : Biyosensörlerin sınıflandırılması.....	26
Şekil 1.10 : Optik biyosensörlerin şematik gösterimi.....	29
Şekil 2.1 : 7 nm ısıtışlı işlemsiz ve ısıtışlı işlemlili CA-AgNP'lerin sentezi.....	34
Şekil 2.2 : CA-AuNP kimyasal sentezi.....	35
Şekil 2.3 : 5-amino-1,3,4-tiyadiazol-2-tiyol bileşigi ile CA-AuNP'nin bağlanması.....	36
Şekil 2.4 : 5-amino-1,3,4-tiyadiazol-2-tiyol bileşigi ile 1-pentantiyol stabilize AuNP'lerin bağlanması.....	37
Şekil 3.1 : AgNP1, AgNP2 ve AgNP3'ün UV-Vis absorpsiyon spektrumları.....	41
Şekil 3.2 : AgNP1'in TEM görüntüsü.....	42
Şekil 3.3 : AgNP2'nin TEM görüntüsü.....	42
Şekil 3.4 : AgNP3'ün TEM görüntüsü.....	42
Şekil 3.5 : 7 nm CA-AgNP'lerin metal tuzlarıyla kolorimetrik tayini.....	43
Şekil 3.6 : AgNP1, AgNP2 ve AgNP3 için renk değişiminin 96'lık plaka üzerinde şematik gösterimi	44
Şekil 3.7 : 7 nm CA-AgNP'lerin farklı Cr ³⁺ konsantrasyonlarına kolorimetrik cevabı.....	45
Şekil 3.8 : AgNP3'ün metal iyonlarıyla etkileşiminin UV-Vis absorpsiyon spektrumu.....	46
Şekil 3.9 : AgNP3'ün farklı Cr ³⁺ konsantrasyonlarında UV-Vis absorpsiyon spektrumu.....	47
Şekil 3.10 : AgNP3'ün içme suyuyla analizinin UV-Vis absorpsiyon spektrumu.....	48
Şekil 3.11 : AgNP3'ün deniz suyuyla analizinin UV-Vis absorpsiyon spektrumu.....	49
Şekil 3.12 : CA-AuNP UV-Vis Absorpsiyon Spektrumu.....	50
Şekil 3.13 : 5-amino-1,3,4-tiyadiazol-2-tiyol ile fonksiyonelleştirilmiş sitrat kaplı altın nanoparçacıkların UV-Vis absorpsiyon spektrumu.....	51
Şekil 3.14 : CA-AuNP kolloidal çözeltisi.....	52
Şekil 3.15 : 5-amino-1,3,4-tiyadiazol-2-tiyol ile fonksiyonelleştirilmiş sitrat kaplı altın nanoparçacıkların metal tuzlarıyla kolorimetrik yanıtı.....	52
Şekil 3.16 : Biyosensör şablonu.....	53
Şekil 3.17 : Sitrat kaplı gümüş nanoparçacık içeren kağıt tabanlı kolorimetrik sensör sistemi.....	54
Şekil 3.18 : Sensör sisteminin farklı Cr ³⁺ konsantrasyonlarında incelenmesi....	54

TABLO LİSTESİ

Şekil 3.1: Gerçek örneklerin geri alım hesaplamaları.....	50
---	----



SEMBOL LİSTESİ

AAS	:	Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi
AFS	:	Atomik Floresans Spektrometresi
AgNP	:	Sitrat Kaplı Gümüş Nanoparçacık
AuNP	:	Sitrat Kaplı Altın Nanoparçacık
BT	:	Bilgisayarlı Tomografi
CTAB	:	Setiltrimetil Amonyum Bromür
DMF	:	N-N Dimetil Formamid
DNA	:	Deoksiribo Nükleik Asit
EPA	:	Çevre Koruma Ajansı
GC-MS	:	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
GOD	:	Glikoz Oksidaz
HPLC	:	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi
ICP-MS	:	İndüktif Eşleşmiş Plazma-Kütle Spektroskopisi
ICPS	:	Uluslararası Kimyasal Güvenlik Programı
LC-MS	:	Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
LSPR	:	Lokalize Yüzey Plazmon Rezonans
LOD	:	Tespit Limiti
MRG	:	Manyetik Rezonans Görüntüleme
NP	:	Nanoparçacık
OA	:	Oleilamin
OES	:	Optik Emisyon Spektrometresi
OSHA	:	Mesleki Güvenlik ve Sağlık Yönetimi
PET	:	Pozitron Emisyon Tomografisi
PVP	:	Polivinil Prolidon
ROS	:	Reaktif Oksijen Türleri
SERS	:	Yüzey Geliştirilmiş Raman Görüntüleme
SPM	:	Havada Asılı Partikül Maddeler
SPW	:	Yüzey Plazmon Dalgası
TEM	:	Geçirimli Elektron Mikroskopu
TSC	:	Trisodyum Sitrat
TOAB	:	Tetraoktila Amonyum Bromür
US	:	Ultrason
UV-Vis	:	Ultraviyole-Görünür Işık Spektrometresi
WHO	:	Dünya Sağlık Örgütü

ÖNSÖZ

Tez çalışmam boyunca bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, deneylerimi titizlikle takip edip destek olan Sayın Doç. Dr. Şükrü Gökhan ELÇİ'ye, tez sürecim boyunca deneylerimin yürütülmesini sağlayan Pamukkale Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Analitik Kimya Laboratuvarındaki hocalarıma, Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimine, hayatım boyunca bana destek olan ve güvenini hissettiren değerli annem, babam ve kardeşlerime teşekkürlerimi sunarım.



1. GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Ağır metaller toprağın doğal bileşenleridir. Yaşam aminoasitler, karbonhidratlar ve nükleotitler gibi organik maddeler ile metaller gibi inorganik maddelerin karmaşık etkileşimi ile oluşmaktadır. Yer kabuğunda çözüldükten sonra metaller bozunamaz veya yok edilemez (Vigneri ve diğ. 2017).

Ağır metal kirliliği tüm dünyada giderek artan bir endişe kaynağı haline gelmektedir. Atık suların yetersiz arıtımı, kentsel ve endüstriyel faaliyetlerin artması ağır metallerin doğada birikmesine neden olmaktadır. Temiz suyun varlığı yaşamın sağlıklı devam etmesi için büyük öneme sahiptir. Bununla birlikte küresel su talebi yıllık olarak artarken, çeşitli kirleticilerin varlığı potansiyel su kaynaklarını tehlikeye atmaktadır. Kirli su tüketimi insan sağlığını büyük ölçüde etkilemekte ve çeşitli hastalıklara sebep olmaktadır (Joseph ve diğ. 2019).

Metaller eser miktarlarda vücut için gereklidir. Ancak daha yüksek konsantrasyonlarda toksik etkiler yaratmaktadır. Ağır metaller hem hormonal sistemi bozan kanserojenler hem de endokrin bozucular olarak görülmektedir (Vigneri ve diğ. 2017).

Bazı metaller önce besin zincirinde daha sonra bu besinlerin tüketilmesi yoluyla insan vücudunda birikerek kronik kirlilik oluşturmaktadır. Metal toksisitesi maruz kalma yoluna, emilen doza ve maruz kalma süresine bağlıdır. Genellikle yoğunluğu 5 g/cm³'ten fazla, çevre ve yaşayan organizmalar için negatif etkisi olan metaller; ağır metaller olarak adlandırılır (Jaishankar ve diğ. 2014). Arsenik, krom, nikel, çinko, bakır, kurşun, cıva ve kadmiyum atık suda en sık bulunan ağır metallerdir (Lambert ve diğ. 2000). Ağır metallerin tespiti için birçok analitik teknik mevcuttur. Standart ve klasik yöntemler eser analizler için maliyetli cihazlar gerektirir. Toksik metal iyonları ve inorganik kirleticiler için atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS), optik emisyon spektrometresi (OES), atomik floresans

spektrometresi (AFS), indüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometresi (ICP-MS), X ışını floresans spektrometresi gibi cihazlar kullanılırken; organik kirleticiler için yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi (LC-MS), gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) cihazları kullanılır. Ancak maliyetin yanı sıra bu teknikler analitin hızlı tespiti için saha çalışmalarına uygun değildir. Çünkü elektrik prizleri, kimyasallar ve eğitimli personel gibi birçok gerekliliği vardır (Alberti ve diğ. 2020).

Bilim insanlarının hızlı tespit yöntemlerine yönelmesi nanoteknolojik gelişmeleri artırmasının yanı sıra biyosensörlerin uygulama alanlarını da genişletmektedir (Vadgama ve Crump 1992). Kolorimetrik yöntemler sadeliği ve düşük maliyeti ile dikkat çekmektedir. Bu sensörlerde algılama için karmaşık ve pahalı ek cihazlara gerek yoktur. Algılama gözle görerek elde edilir. Ayrıca saha analizlerinde ve bakım noktası testlerinde kullanılmaktadır. Kağıt tabanlı kolorimetrik sensör sistemleri de son yıllarda oldukça dikkat çekmektedir (Wang ve diğ. 2019).

1.2 Ağır Metaller ve Nanoteknoloji

1.2.1 Ağır Metaller

Ağır metal kavramı nispeten yüksek yoğunluğa sahip, düşük konsantrasyonlarda bile toksik olabilen metalik elementi ifade etmek için kullanılmaktadır. Ağır metaller atom yoğunluğu 5 g/cm^3 'ten büyük ve elektronegatifliği yüksek metaller için kullanılan genel bir terimdir. Bunun yanında ağır metal özellikleri yoğunluktan çok kimyasal özelliklerle ilişkilidir. Tüm ağır metaller daha ağır bir çekirdek ve giderek sıkıştırılan elektronlara sahip oldukları için daha küçük katyonik boyuta sahiptir. Periyodik tabloda alkali metaller, toprak alkali metaller, lantanitler ve aktinitler hariç atom numarası yirmiden büyük metallerdir (Agarwal 2009).

Yaklaşık 69 element bu sınıfa dahildir ve bunlardan altısı doğada bulunmayan sentetik elementlerdir (Martin 2012). Büyük ölçüde periyodik tablonun geçiş grubu

elementleridir. Ağır metallerin çoğuna eser elementler de denir. (Haygarth ve Jarvis 2002).

Ağır metaller kaya oluşumlarında dağınık halde bulunurlar (Sharma ve Agrawal 2005). Gaz veya partikül halinde olmalarına bağlı olarak rüzgarla kaynaklarından uzak yerlere taşınabilirler. Yağmurlar vasıtasıyla havadan karaya ve yüzey sularına da taşınırlar (Sharma 2014).

Metaller ve metaloid iyonlarını üç grup halinde sınıflandırmak mümkündür. Birinci grup minimum konsantrasyonlarda bile toksik olabilen Kadmiyum(Cd), Kurşun(Pb) gibi elementlerden oluşur. İkinci grup daha az tehlikeli olan Bizmut(Bi), Arsenik(As), Talyum(Tl) gibi elementleri içerir. Üçüncü grup ise vücutta çeşitli biyokimyasal süreçlerin bir parçası olup metabolik faaliyetlerin sağlıklı şekilde yürütülmesi için gereken, aynı zamanda sadece belirli konsantrasyon seviyesinin üstünde toksik olan Krom(Cr), Çinko(Zn), Kobalt(Co), Bakır(Cu), Demir(Fe) ve Selenyum(Se) gibi metalleri kapsamaktadır (Zaynab ve diğ. 2022).

1.2.2 Ağır Metallerin Çevreye Etkisi

Volkanik patlamalar ve kayaların ayrışması ağır metalleri oluşturan doğal süreçlerdir. Toprakta var olan ağır metallerin nehirlerle, göllere ve okyanuslara sızması doğada aşırı düzeyde eser metal birikimine sebep olmaktadır (Sankhla ve diğ. 2016). Su tüm yaşam formları için hayati önem taşımaktadır. Yer altı ve yer üstü suları olmak üzere iki temel su kaynağı bulunmaktadır. Nehirler ve akarsular yer üstü sularına; kuyu suyu yer altı sularına örnek verilebilir.

Temiz suyun varlığı sağlıklı bir yaşam sürdürmek için büyük öneme sahiptir. Su polaritesi ve hidrojen bağları nedeniyle benzersiz kimyasal özelliklere sahiptir. Birçok farklı bileşiği çözebilir, absorplayabilir, adsorplayabilir ve askıya alabilir. Bu nedenle su çevresinden oldukça etkilenmektedir (Momodu ve Anyakora 2010).

Madencilik atıkları, atık depolama sırasında yaşanan sızıntılar, belediye atık suları ve sürekli artan endüstriyel faaliyetler toksik metaller gibi kirleticilerin birikmesinden kaynaklanan çevre kirliliği sorununun ve ekosistem hasarının

arkasındaki ana suçludur (Holland ve diğ. 2005). Madencilik faaliyetleri sona erse bile yayılan metaller uzun bir süre bozunamaz ve yok edilemez. Aynı zamanda metaller çökeltilerle taşınma eğilimi göstermektedir (Duruibe ve diğ. 2007)

Ağır metaller antropojenik kaynaklardan, toprak ve kayaların doğal jeokimyasal ayrışmasından insan ve hayvanların besin zincirlerine dahil olmaktadır. Ağır metallerin kirlenme zinciri endüstri, atmosfer, toprak, su, besin maddeleri ve yaşayan organizmalar olmak üzere döngüsel bir yol izler. Yapılan çalışmalara göre suda çözülmüş halde olan ağır metal türleri çevreye en yüksek zarar verme potansiyeline sahiptir (Holland ve diğ. 2005). Ağır metal kirliliği bitki kalitesi ve toprağın verimiyle ilgili parametreleri olumsuz etkilemekle kalmaz aynı zamanda mikrobiyal topluluğun boyutunda, bileşiminde ve aktivitesinde değişikliklere neden olur (Singh ve Kalamdhad 2011).

Kısacası ağır metaller, çevrenin tüm unsurlarıyla etkileşime girme imkanına sahiptirler. Bu sebeple doğada birikimleri özellikle gelişmekte olan ülkelerde giderek artan bir endişe kaynağı haline gelmektedir (Joseph ve diğ. 2019)

1.2.3 Ağır Metallerin İnsan Sağlığına Etkisi

Normalde toksik olan bazı elementler belirli organizmalar için veya belirli koşullar altında faydalıdır. Bazıları organizmaların ihtiyaç duyduğu mikro besinler olarak adlandırılır. Örneğin bitkiler bakır, molibden ve çinko; hayvanlar ve insanlar ise kobalt, krom, selenyum gibi ağır metalleri mikro besin olarak kullanmaktadır. Topraklar özellikle orman topraklarında mikro besin eksikliği olabilir. Mikro besinlerin eksik alınması zararlıdır. Aksine eser elementler olarak da adlandırılan ağır metaller toksisiteye yol açan seviyelere de ulaşabilmektedir. Biyotoksik etki; önerilen sınırların üzerinde maruz kalınan ağır metallerin vücuda zararlı etkilerini ifade eder (Duruibe ve diğ. 2007).

İnsan sağlığına yönelik tehdit metal konsantrasyonuyla doğrudan ilişkilidir. Buna rağmen düşük seviyelerde sürekli maruziyet uzun vadede olumsuz sonuçlar doğurmaktadır. Mesleki maruziyet ağır metallerin insan vücuduna alımında büyük rol oynar. Kadmiyum, krom, kurşun, cıva madenciliği ve üretimi işçilerinde

maruziyetin bu şekilde açığa çıktığı bildirilmektedir. Ayrıca ağır metal madenciliği ve proseslerinin sanayi bölgeleri çevresinde yaşayanlar havada asılı partikül maddeler (SPM) yoluyla da maruziyet yaşamaktadırlar (Duruibe ve diğ. 2007).

Metal iyonlarının memeli sistemlerinde yarattığı toksisite iyonların hücresel ve yapısal proteinler, enzimler ve membran sistemi ile kimyasal reaktivitesinden kaynaklanır. Spesifik metal toksisitelerinde hedef organlar genellikle metalin en yüksek konsantrasyonlarını in vivo olarak biriktiren organlardır. Bu genellikle maruz kalma yoluna, metalin kimyasal yapısına yani değerlik durumuna, uçuculuğuna ve lipit çözünürlüğüne bağlıdır (Mahurpawar 2015).

Ağır metaller kalp, kemik, karaciğer, beyin ve böbrekler gibi hayati hedef organlarda ve salgı bezlerinde birikirler. Biyolojik işlevleri sağlamak için gerekli olan hayati besin minerallerini vücuttaki uygun yerlerinden alırlar. Örneğin kadmiyum enzim reaksiyonunda kalsiyumun yerini alır ve metabolik fonksiyonları büyük ölçüde bozar (Singh ve Kalamdhad 2011).

Ağır metal toksisitesinin arkasındaki mekanizmalar oksidatif stres ile ilişkilendirilebilir. Metaller, proteinler ve DNA ile etkileşime girerek biyolojik makromoleküllerin oksidatif bozulmasına neden olurlar. Çalışmalar ağır metalin reaktif oksijen türlerini (ROS) üretme yeteneğine sahip olduğunu ve bu radikallerin hücre zarındaki lipit çift tabakasına ve DNA'ya hasar verdiğini göstermektedir. Reaktif radikal türleri arasında toksik metallerle kompleksleşmiş aminoasitler, peptitler ve protein şelatları bulunmaktadır. DNA'yı etkiledikleri için genotoksisiteye vücudu tahriş ettikleri için immünotoksisiteye neden olmaktadır (Ray ve Ray 2009).

Toksisitelerini karboksilik asit (-COOH), tiyol (-SH), amin (-NH₂) gruplarını içeren proteinlerle kompleks oluşturarak üretirler. Metaller bu gruplara bağlandığında enzim sistemlerini etkisiz hale getirirler veya katalitik özellikleriyle bağlantılı protein yapısını etkilerler. Yapısı bozulan biyolojik moleküller düzgün çalışma yeteneklerini kaybederler. Bu durum hücrelerin düzgün çalışmamasına ve zaman içerisinde ölümüne neden olmaktadır (Momodu ve Anyakora 2010).

Her bir ağır metal toksik olmayan konsantrasyon sınırları içinde olsa bile hücre hasarına yol açabilmektedir. Bu durum hormesis etki (doğrusal olmayan hücre tepkisi nedeniyle çok küçük konsantrasyonlarda ağır metal aktivitesi) ve farklı metallerin birbiriyle etkileşimi sonucu sinerjik olarak ağır metal etkisinin artması ile açıklanır. Ağır metaller hem endokrin bozucular hem de kötü huylu hücre dönüşümünü teşvik ederek kansorejenler olarak davranmaktadır. Dönüştürme etkisi diğer kansorejenlere benzer şekilde fetüs ve erken çocukluk dönemindeki gelişmekte olan organizmalarda daha yüksektir. Krom, bakır, kobalt ve demir gibi farklı metaller redoks döngüsü reaksiyonlarına girerek baskın etkiler yaratmaktadır. Aynı zamanda vücut içinde birikerek bir antioksidan olan glutatyonu tüketmektedir (Vigneri ve diğ. 2017).

1.2.4 Krom

Krom; atom numarası 24, dört kararlı izotoptan ($\text{Cr} = \%84$) oluşan atom ağırlığı 51,996 g ve yoğunluğu 7,14 g/cm³ olan metalik bir elementtir. Kristalinin erime noktası 1900°C ve kaynama noktası 2642°C olan parlak, sert, çelik grisi bir metaldir. Geçiş metallerinin 6b grubuna aittir (Holland ve diğ. 2005). Krom iki yüzyıl önce keşfedilen çok yönlü bir metaldir. Metalik krom inerttir. Aktivitesi değerlik durumuna bağlıdır (Dotaniya ve diğ. 2014).

Krom elementel olarak doğada bulunmaz. Cevherlerde esas olarak kromit formunda (FeCr_2O_3) bulunmaktadır (Vincent 2000). Kromun doğada baskın olan iki oksidasyon durumu Cr(III) ve Cr(VI) stabildir. Nötr pH değerine yakın doğal suların çoğunda kromun +3 değerlikli oksidasyon durumu $\text{Cr}^{6+}/\text{Cr}^{3+}$ çifti için yüksek redoks potansiyeli nedeniyle baskın formdur. Cr^{3+} hidroksillerle güçlü gruplar oluşturur (Holland ve diğ. 2005). Atmosferik oksijen ile kısmi dengede bulunan topraklar ve tortular oksitlenmiş manganez ve indirgenmiş karbon içerirler. Cr^{3+} manganez oksitleri tarafından Cr^{6+} 'ya yükseltgenir. Cr^{6+} ise topraktaki karbon bileşikleri tarafından Cr^{3+} 'e indirgenmektedir. İndirgenme ve yükseltgenme olayları termodinamik olarak kendiliğinden gerçekleşen reaksiyonlardır. Doğadaki krom döngüsünün temeli oksidasyon ve redüksiyon mekanizmalarının eş zamanlı gerçekleşebilmesidir (Bartlett 1991).

Krom kaplama ve parlatma işlemi, inorganik kimyasal üretim, çelik fabrikası atıkları, ağaç işleme tesisleri, tabaklama endüstrileri ve petrol rafineleri gibi endüstriyel faaliyetler kromun doğada birikmesine neden olmaktadır. Yapılan araştırmalar içme suyunda bulunan kromun 0,1 mg/l olduğunu söylemektedir. Doğal toprak ise 53 mg/kg krom içermektedir (Ray ve Ray 2009). Krom alaşımları ve diğer metal endüstrileri atmosferik emisyonların büyük çoğunluğunu oluştururlar. Daha küçük emisyonlara ise kömür yakımları ve belediye çöp yakımları neden olmaktadır. Su ortamında krom birikiminin başlıca sebebi elektrokaplama tesisleridir. Krom doğada katı, sıvı ve gaz formunda bulunabilir. Sudaki çökeltilerinde kalıcılığı yüksektir (Holland ve diğ. 2005).

Krom glikoz ve kolesterol metabolizmasında önemli bir rol oynamaktadır. İnsan ve hayvanlar için gerekli ve önemli bir elementtir. Sıçanlarda glikoz toleransının korunması için kromun gerekliliği ilk kez 1959'da bildirildi. Bu çalışmayı insan deneklerinde krom takviyesi ile glikoz toleransında iyileşme raporları izledi. ABD Ulusal Araştırma Konseyi Gıda ve Beslenme Kurulu günlük 1 ile 4 umol krom alımının güvenli olduğunu belirtti. Dünya Sağlık Örgütü Uzman Komitesi (WHO) ve Uluslararası Kimyasal Güvenlik Programı (IPCS) üç değerlikli kromu aynı şekilde günlük 1 ile 4 umol olan alımlarda temel besin maddesi olarak tanımladı. Yirmi yıldan daha uzun bir süre önce Schroeder, kalp hastalığından ölen deneklerin aortlarındaki krom konsantrasyonunun, kazalarda ölen deneklere kıyasla az olmasına dayanarak krom eksikliğinin kardiyovasküler hastalıklara zemin hazırladığını ortaya koydu (Mertz 1993).

Krom maruziyetinin düzenleyici sınırları şu şekilde ifade edilebilir. Çevre Koruma Ajansı'na (EPA) göre içme suyunda 0,1 ppm (milyonda bir parça) ve OSHA standartlarında göre her gün ortalama 8 saat çalışılan bir işyeri havası için metreküp başına 0,0005 ile 1 mg olmalıdır. (Mahurpawar 2015).

Kromun belli seviyelerde alımı vücut için gerekli olsa bile belirli konsantrasyonların üstünde ciddi sağlık sorunlarına neden olmaktadır. Krom maruziyeti yiyecek ve içecekler yoluyla vücut içine girebilir. Mesleki maruziyet ise soluma yoluyla gerçekleşir. Kroma maruz kalan işçilerde konsantrasyona bağlı olarak burun tahrişi ($<0,01 \text{ mg/m}^3$ 'te, akut maruziyette), burun ülserleri ve nazal

septumun delinmesi (2 g/m^3 'te alt kronik veya kronik maruziyette) gibi semptomlar gözlenmektedir (Ray ve Ray 2009).

1.3 Nanoteknoloji

1.3.1 Nanoteknolojinin Tanımı

İnsanların hayal gücü genellikle bilim ve teknolojiadaki gelişmelerin öncüsü olmaktadır. Yirmi birinci yüzyılın önemli bir adımı olan nanoteknoloji bu tür hayallerden meydana geldi. Nanoteknoloji terimi için belirli sınırlar içinde bir tanım yapmak mümkün olmamakla birlikte nano düzeyde gerçekleştirilen çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik süreçlere dayanan teknolojilerle açıklanmaktadır. Uygulama ilkeleri hakkında birçok kavramın tam olarak açıklanamamasının sebebi mevcut teknolojilerin sürekli güncellenmesi ve gelişmesidir (Hulla ve diğ. 2015).

Nano kelimesinin kökeni Yunanca'da çok küçük anlamına gelen bir kelimeye dayanmaktadır. Nanobilimi iki şekilde tanımlamak mümkündür. Birincisi en az bir boyutu nanometre ölçeğinde olan malzemelerin incelenmesi, ikincisi ise nanometre ölçeğinde malzemeler kullanılarak sistemlerin nasıl tasarlanacağı ve kontrol edileceğidir (Rafique ve diğ. 2020). Kısacası 1 ile 100 nm ölçek aralığında malzeme ve yapıların sentezi, karakterizasyonu ve uygulamaları olarak tanımlanmaktadır. Bu boyut aralığı bilim ve teknolojiye benzersiz uygulamalara olanak tanır. Boyut aralığının daha iyi anlaşılması için birkaç örnek vermek mümkündür. Örneğin bir insan saç telinin çapı 1 nanometreden 1000 kat daha kalındır. 1 nanometre bir hidrojen atomu çapının onda biri kadardır. Nanoteknoloji sistemleri ultra yüksek hassasiyet gerektirir ve atomik hassasiyete sahip malzemelerin üretimi ile ilgilenir (Bayda ve diğ. 2019).

1.3.2 Nanoteknolojinin Tarihçesi

Nanoparçacıklarla yapılan çalışmalar oldukça eskiye dayanmaktadır. Nanoparçacıklarla insanlar arasındaki etkileşim tarih boyunca devam etmiş olsa da

sanayi devrimi bu etkileşimi büyük oranda artırmıştır. Çeşitli maddelerin küçük parçacıklarının aynı maddenin daha büyük parçacık boyutundan farklı özelliklere sahip olması uzun zamandır bilinen bir gerçektir ancak bunun nedeni açık değildir. Örneğin milattan binlerce yıl önce insanlar tarafından keten, ipek, pamuk ve yün gibi doğal kumaşlar tanınıyor ve kullanılıyordu. Bu kumaşları özel yapan şey 1 ile 20 nm büyüklüğünde gelişmiş bir gözenek ağına sahip olmalarıydı, yani tipik nanogözenekli malzemelerdi. Günümüzde nanogözenek yapısına sahip doğal kumaşlar teri iyi emebilme ve çabuk kuruma gibi özelliklerinden dolayı sıklıkla tercih edilmektedir. Bunun yanı sıra insanlar antik çağlardan beri nano seviyedeki fermantasyon süreçlerinin kritik olduğu şarap, bira, peynir ve diğer gıda maddelerinin yapımında ustalaştılar. Eski Mısır'da saçları siyaha boyamak yaygın bir gelenektir. Mısırlıların kınayla saçlarını boyadıklarına inanılıyordu. Bununla birlikte Ph. Walter tarafından eski Mısır mezar alanlarından saç örnekleri üzerine yapılan araştırmalar saçın kurşun oksit ve kirecin suyla karıştırılması sonucu elde edilen macun benzeri bir karışımla siyaha boyandığı göstermiştir. Bu karışımda galenit (kurşun sülfür) nanoparçacıkları elde edildi. Doğal saç renginin saç keratinine inklüzyonlar şeklinde yayılan melanin adı verilen pigment ile sağlandığı bilinmektedir. Mısırlılar keratinin bir parçası olan kükürt ile macundaki maddelerin reaksiyona girmesini sağlamışlardır (Tolochko 2009).

Antik Roma'nın cam üreticilerinin seçkin bir ürünü olan Lycurgus Kupası nanoteknoloji kullanımının en bilinen örneklerinden biridir. Bu kase alışılmadık optik özelliklere sahiptir. Işık kaynağının konumunun kaseinin içinde veya dışında olmasına göre kaseinin rengi değişmektedir. Doğal ışıktaki kase yeşildir, kaseinin içine bir ışık kaynağı yerleştirildiğinde renk kırmızıya döner. General Electric laboratuvarlarında kase parçalarının analizi 1959 yılında ilk kez gerçekleştirildi. Kaseinin soda, kireç ve kuvars camdan oluştuğu görüldü. Aynı zamanda yaklaşık %1 oranında altın ve gümüşe, ayrıca bileşen olarak %0,5 manganze sahip olduğu anlaşıldı. Araştırmacılar daha sonra camın olağan dışı renginin ve yayılma etkisinin kolloidal altın tarafından sağlandığını varsaydılar. Orta Çağ'da Avrupa'da çok renkli kilise camlarında da kolloidal altın kullanıldığı bilinmektedir (Gartia ve diğ. 2013).

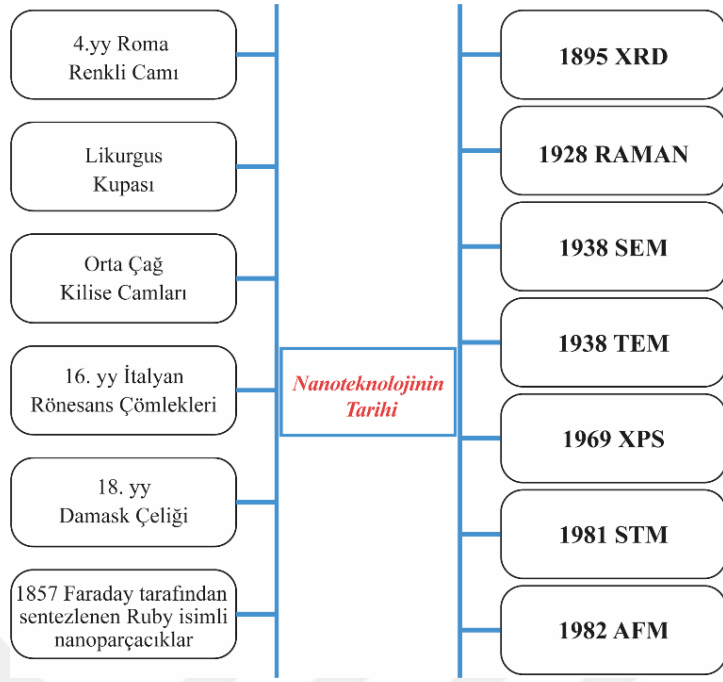
Haçlı Seferleri sırasında Avrupalı şövalyeler Damask çeliği ile yapılan kılıçlarla karşılaştı. Bu çeliği taklit etmek için yapılan tüm zırhlama girişimleri

başarısızlıkla sonuçlandı. Damask çeliğinden yapılan kılıçlar 2006 yılında P.Paufler tarafında elektronik mikroskop kullanarak incelendi. Çeliğin nanofibröz yapıda olduğu ve özel bir termodinamik süreçle üretildiği anlaşıldı (Sukhanov 2014).

Nanoteknoloji olarak adlandırılan bilerek yaratılmış ve uygulanmış teknolojik araçların ve süreçlerin terimsel olarak ilk ifadesi ise Kaliforniya Teknoloji Enstitüsü profesörü R. Feynman'a aittir. Amerikan Fizik Derneği konferansındaki devrim niteliğindeki konuşması nanoteknolojinin temeli sayılmaktadır. En Altta Bolca Yer Var: Fiziğin Yeni Bir Alana Girmeye Daveti adlı bu konferansta ilk kez atomların yapı taşı olarak kullanılmasıyla nano boyutta malzemeler yaratma olasılığından bahsedildi. Günümüzde bu konferans nanoteknolojik pragmatizmin kökeni kabul edilmektedir (Toumey 2008).

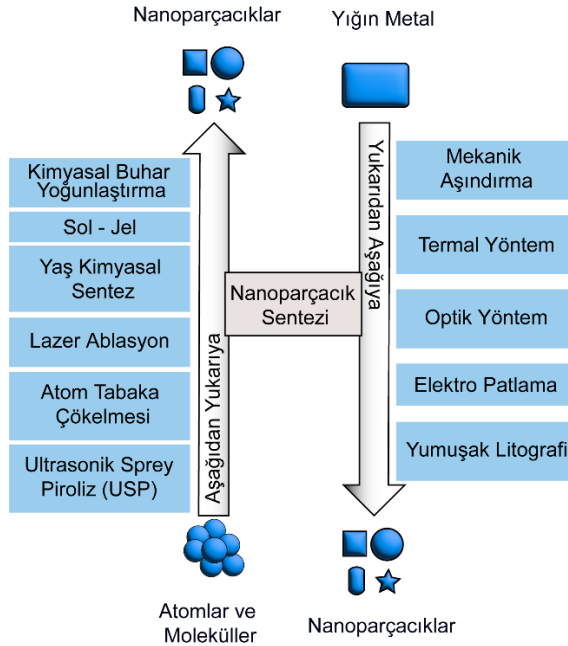
Nanoteknoloji kelimesi 1974 yılında Tokyo'daki Uluslararası Endüstriyel Üretim Konferansı'nda N. Taniguchi tarafından ilk kez bilim dünyasına sunuldu. Bu kelime malzemelerin nanometre hassasiyetinde işlenmesi ve nano boyutta mekanik tasarımlar yapılmasını tanımlamak amacıyla kullanıldı. Feynman tarafından öne sürülen nanoteknolojik strateji fikirleri E. Drexler tarafından geliştirildi. Bu fikirleri 1986 yılında yayınladığı Yaratılış Araçları: Nanoteknoloji Çağının Gelişimi adlı kitabında sundu. Kendini onarma ve kopyalama yeteneğine sahip nano ölçekli bir birleştirici fikri ortaya attı (Sharon 2019).

Buna göre 1950 yılına kadar olan süreç nanoteknolojinin ön tarihi olarak kabul edilebilir. Nanoteknoloji paradigması 1960'ların başında oluşurken 1980'lerin ikinci yarısından 1990 yılının başına kadar nanoteknolojinin gelişimi hızlı bir şekilde devam etti. Bilimsel ve teknik gelişimin bu dönemde hızlanmasının sebebi diğer teknolojilerde de ilerlemelerin olmasıydı (Şekil 1.1). Elektron ve atomik kuvvet mikroskoplarının icadı, fullerenlerin ve karbon nanotüplerin keşfi nanoteknolojik ilerlemenin en güzel örnekleridir. Nanoteknoloji oda büyüklüğündeki bilgisayarları taşınabilir diz üstü bilgisayarlara indirdi. Akıllı telefonlarda karmaşık elektronik devreler nano ölçeklerde tasarlanarak kayda değer ilerlemeler kaydedildi (Napagoda ve diğ. 2020).



Şekil 1.1: Nanoteknolojinin tarihi.

Feynman nanoteknoloji olarak adlandırılan yeni araştırma alanını keşfettikten sonra birçok bilim insanı dikkatini bu alana verdi. Nano ölçek aralığında parçacıkların sentezi için farklı olasılıkları tanımlayan iki yaklaşım geliştirildi. Bu üretim yaklaşımları Şekil 1.2’de belirtilen kalite, hız ve maliyet açısından farklılık gösteren yukarıdan aşağıya ve aşağıdan yukarıya olmak üzere ikiye ayrılır. Yukarıdan aşağıya yaklaşım nano boyutlu parçacıklar elde etmek için yığın malzemelerin parçalanmasıdır. Bu yaklaşım hassas mühendislik ve litografi gibi ileri teknikler kullanılarak başarılabılır. Aşağıdan yukarıya yaklaşım ise nano ölçek aralığında (1nm ile 100 nm) fiziksel ve kimyasal yöntemler kullanarak atom-atom veya molekül-molekül yapılarının kendi kendine kontrollü birleşimi şeklinde tanımlanabilir. Kimyasal sentez doğrudan düzensiz yapıda ürünler veya düzenli malzemelerin yapı taşları olarak kullanılabilen kaba malzemeler üretme tekniğidir. Kendi kendine birleşim olarak adlandırılan kavram ise atomların ve moleküllerin aralarındaki fiziksel veya kimyasal etkileşimlerle kendilerini düzenli nano yapılar olarak organize etmeleri anlamına gelmektedir (Bayda ve diğ. 2019).



Şekil 1.2: Nanoparçacıkların sentez yöntemleri.

1.4 Metalik Nanoparçacıklar

Nanoteknoloji alanı son birkaç yıldır metalik nanoparçacıklar adıyla yeni bir terminolojiye odaklandı. Kataliz Narayanan ve El-Sayed (2004), kompozit Moura ve diğ. (2017), hastalık teşhis ve tedavisi Banerjee ve diğ. (2017), sensör teknolojisi Shaikh ve diğ. (2016) optoelektronik Gracias ve diğ. (2000) alanlarında göze çarpan yararlı özellikleri bulunmaktadır. Metalik nanoparçacıklar bilim insanları tarafından oldukça kabul görmekte ve günümüzde biyomedikal bilimler ve mühendislik alanlarında sıkça kullanılmaktadır. Antibakteriyel özellikleri sayesinde yara örtülerine ve kemik implantlarına dahil edilmektedir (Schröfel ve diğ. 2014).

Spektral özellikleri, biyokararlılıkları ve kolay biyofonksiyonelleştirilmeleri en ilgi çekici özelliklerindendir. Nanometre boyutundaki metalik nanoparçacıklar yüksek yüzey alanı/hacim oranları nedeniyle makro ölçekli muadillerine kıyasla önemli ölçüde değişmiş fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikler göstermektedir. Genel olarak kullanılan NP'lerin boyutu 10 nm ile 500 nm arasında değişmekte, nadiren 700 nm üstünde olmaktadır. Bu boyut parçacıkların hücre yüzeyindeki ve hücre içindeki biyomoleküllerle, hücrelerin çeşitli biyokimyasal ve fizikokimyasal özellikleri doğrultusunda etkileşime girer. Benzer şekilde ilaç dağıtım sistemi ve

noninvaziv görüntülemeadaki potansiyel uygulaması geleneksel farmasötik ajanlara göre çeşitli avantajlar sağlar (Spivey 2014).

Nanoparçacık sisteminin verimliliği; sistemin biyouyumlu, kararlı ve sistemik uygulamadan sonra hedef bölgeye seçici olabilme yeteneğine bağlıdır. Hedef hücrelere spesifik bağlanma yeteneğine sahip uygun bir ligand ile konjuge edilerek spesifikliği artırılabilir. Aynı şekilde ligand yüzey kaplaması ve parçacık boyutunun kontrol edilmesiyle vücudun bağışıklık sisteminden kaynaklanan tepki azaltılarak nanoparçacıkların kanda daha fazla kalması sağlanabilir. Bu ilerlemeler hastalığın teşhis ve tedavisi için fırsatları beraberinde getirmektedir. Nanoparçacıklar hedefe spesifik olmasının dışında ultrason (US), bilgisayarlı tomografi (BT), pozitron emisyon tomografisi (PET) , manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ,optik görüntüleme ve yüzey geliştirilmiş Raman görüntüleme (SERS) gibi çeşitli tekniklerle vücut içindeki davranışları görüntülenebilmektedir (Mody ve diğ. 2010).

Metalik nanoparçacıkların boyut kontrolü için çeşitli fiziksel ve kimyasal yöntemler kullanılmaktadır. Sentez süreci büyük önem taşımaktadır. Çünkü sentez sırasında metal iyonlarının indirgeyici ajanla etkileşim kinetiği, stabilize edici ajanın nanoparçacıkla adsorpsiyon süreci nanoparçacığın morfolojisi üzerinde güçlü bir etkiye sahip olmaktadır (Jamkhande 2019).

Parçacık boyutu küçüldükçe optik, elektronik ve floresans özellikler değişmektedir. Bir metal NP için içsel ve dışsal olmak üzere iki tip boyut etkisi vardır. İçsel boyut etkisi yüzey ve hacim ile ilgili spesifik değişiklikleri açıkladığı için önemlidir. Metal kümelerinin bağlanma enerjisi, iyonlaşma potansiyeli, kimyasal reaktivitesi, kristal yapısı, optik özellikleri ve erime sıcaklığı boyut ve geometriye bağlı özellikler arasındadır (Jana ve diğ. 2016).

Farklı optik ve fizikokimyasal özellikler sergileyen metal NP'ler boyalardan daha yüksek molar absorpsiyon katsayına sahiptir. Buna ek olarak lokalize yüzey plazmon özellikleri (LSPR) onları çeşitli kimyasal ve biyolojik analitlerin hassas kolorimetrik tayini için kullanılmasını sağlar (Alberti ve diğ. 2021). Metal NP'lerin optik özelliklerini saçılma ve soğurma olmak üzere iki temel kavramla ilişkilendirmek mümkündür. Büyük boyutlu nanoparçacıklar ışığı verimli bir şekilde saçarken küçük boyutlu olanların rengi soğurma davranışından kaynaklanır. Saçılma

fotokatalitik cihazlarda uygulanmaktadır ancak soğurma özelliği daha fazla dikkat çekmektedir. Soğurma davranışı LSPR etkisinin yanı sıra d bandı ve iletim bandı arasındaki enerji transferinden kaynaklanmaktadır (Liu ve diğ. 2017).

1.4.1 Gümüş Nanoparçacıklar

Metalik gümüş atom numarası 47, atom ağırlığı 107,87 g olan dayanıklı bir geçiş elementidir. Parlak metalik özelliği ve nadir bulunması sebebiyle yıllardır mücevher ve para birimi olarak kullanılmaktadır. Saf gümüş yüksek ısı ve elektrik iletkenliğine, nispeten düşük temas direncine sahiptir (Mulfinger ve diğ. 2007).

Gümüşün keşfi ve kullanımı neolitik devirden bile öncesine dayanmaktadır. Mayer tarafından sekizinci yüzyılda gümüşün tıbbi alanda kullanımını ilk kez raporlandı. Zaten gümüşün koruyucu ve tıbbi özellikleri 2000 yılı aşkın süredir bilinmektedir. Antik Roma ve Yunan uygarlıkları suyu muhafaza etmek için gümüş kaplar kullandılar. Gümüş nitrat on yedinci yüzyılda ülser tedavisinde kullanıldı. Sülfadiazin 1967 yılında tanıtıldı. Gümüş sülfadiazin krem günümüzde de seröz yanıklar için sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak gümüş vücut içerisinde birikebilir bu durum gözlerde ve ciltte renk değişikliklerine yol açmaktadır. Gümüşün mikrobiyal alanda kullanımı penisilin gibi antibiyotiklerin bulunmasıyla azaldı. Antibiyotik kullanımının sıklaşması bakteri suşlarının dirençli hale gelmesine neden oldu (Yu ve diğ. 2013).

M.C. Lea tarafından 1889 kadar erken bir yılda sitratla stabilize edilmiş kolloidal gümüş nanoparçacık sentezi rapor edildi. Resmi olarak nano adı altında kullanılmamış olsa da 10 nm boyutunda Callargol adı verilen gümüş nanoparçacık 1897'den beri tıbbi uygulamalarda kullanılmaktadır. 20 nm boyutunda jelatin stabilize gümüş nanoparçacıklar 1953 yılında üretildi. Yine nano gümüşün protein kullanılarak yapılan stabilizasyonu 1902 yılına dayanmaktadır. Algedyn adıyla çıkarılan biyosidal gümüş günümüzde de dezenfektan olarak kullanılmaktadır (Nowack ve diğ. 2011).

Gümüş nanoparçacıkların boyut aralığı 1 nm ile 100 nm arasında değişmektedir. Nano boyuta inildiğinde reaksiyon için hazır bulunan kütle başına

büyük yüzey alanı düşer. Bu durumda gümüş nanoparçacıklar yığın metale göre birçok yeni özellik kazanırlar. Aynı metalin yüzey alanı/hacim oranı değiştiğinde farklı absorbans, floresans ve lüminesans özellikleri gösterecektir. LSPR ve kuvvetli antimikrobiyal özellikleri gümüşü çeşitli metaller arasında ön plana çıkarmaktadır. (Van Dong ve diğ. 2012).

1.4.2 Gümüş Nanoparçacıkların Sentez Yöntemleri

1.4.2.1 Fiziksel Sentezler

Bu yaklaşımda gümüş nanoparçacıkların sentezi için fiziksel enerjiler kullanılır. Lazer ablasyon ve buharlaşma/yoğuşma en eski yöntemlerdir. Buharlaşma/yoğuşma yönteminde genellikle 1 atm basınçta bir tüp fırın kullanılır. Ag, Au ve fulleren gibi çeşitli malzemelerin nanoparçacıkları bu yöntemle sentezlenmektedir. Ancak tüp fırın kullanmanın dezavantajları olabilmektedir. Tüp fırınlar büyük miktarda enerji tüketmektedir. Optimum sıcaklık seviyesinin ayarlanması uzun zaman alır. Çünkü termal kararlılık seviyesi için ön ısıtma gereklidir. Bu durum birkaç kilovattan fazla güç tüketimi demektir. Kaynağa yaklaşıldığında yüksek çevre sıcaklığı ve geniş yer kaplaması da bu yöntemin dezavantajlarından sayılabilir. Gümüş nitrat ve sodyum asetatın oluşan karışım tüp fırında ısıtılır. Bu sıvı sıcaklığın etkisiyle buharlaşarak gaza dönüşür. Sonrasında uygulanan soğutma işlemi AgNP oluşumunu sağlar. Bu yöntem bir kerede büyük miktarlarda parçacık sentezine izin vermektedir (Mughal 2022).

Daha etkili olan lazer ablasyon yöntemi ise lazerin dalga boyu, lazer atımlarının süresi ve etkili sıvı ortam gibi pek çok parametreye bağlıdır. Yöntemin avantajı çözeltide kimyasal reaktiflerin bulunmamasıdır (Alberti ve diğ. 2021).

1.4.2.2 Fotokimyasal Sentezler

Fotokimyasal sentezleri, yukarıdan aşağıya fotofiziksel sentez ve aşağıdan yukarıya fotokimyasal sentez olmak üzere iki ana başlık altında toplamak

mümkündür. Fotofiziksel yöntem metal yığınlarının fiziksel olarak parçalanmasıyla meydana gelirken, fotokimyasal yöntem iyonik öncüllerle metalik nanoparçacık oluşumunu sağlar. İki yöntemin ortak yanı metalik kaynağın indirgenmesini içerir. Metal iyonlarının fotoredüksiyonu serbest radikaller ve uyarılmış moleküller açığa çıkarır (Alberti ve diğ. 2021).

1.4.2.3 Biyolojik Sentez

Son yıllarda bitki özü, bakteri veya mantar gibi biyolojik mikroorganizmalar AgNP sentezi için sıklıkla kullanılmaktadır. Kimyasal prosedürlere göre daha çevre dostu bir sentez türü olmasıyla ön plana çıkmaktadır. Bakteri ve mantar gibi mikroorganizmalar metal iyonlarını indirgeyerek inorganik kirleticilerin eliminasyonunda önemli rol oynamaktadır. Bakterilerin hücre içi bileşenleri indirgeyici ve stabilize edici ajanlar olarak işlev gördüğünden nanoparçacıkları hücre içinde sentezleme yeteneklerine sahiptirler. Bu durum onları sonsuz bir NP kaynağı haline getirmektedir. Mukherjee ve arkadaşları tarafından *Verticillium* mantarını kullanarak gümüş nanoparçacık sentezi önerildi. Mantar biyokütlesinin sulu Ag^{+1} iyonu çözeltisiyle etkileşimi gümüş iyonlarının hücre içi indirgenmesiyle sonuçlandı. Bu olay yaklaşık 25 nm boyutunda AgNP üretilmesini sağladı. A.R. Vilchis - Nestor ve arkadaşları tarafından AgNP sentezi için indirgeyici ve stabilize edici ajan olarak yeşil çay (*Camellia sinensis*) özütü kullanıldı. (Yu ve diğ. 2013). (+) yüklü metal iyonları ile (-) yüklü hücre duvarı arasında elektrostatik bir etkileşim meydana gelerek uygun sıcaklık ve basınç sağladığında metal iyonlarının indirgenmesi sağlanır. Ancak bu yöntem büyük miktarlarda nanoparçacık sentezine izin vermez (Alberti ve diğ. 2021).

1.4.2.4 Kimyasal Sentez

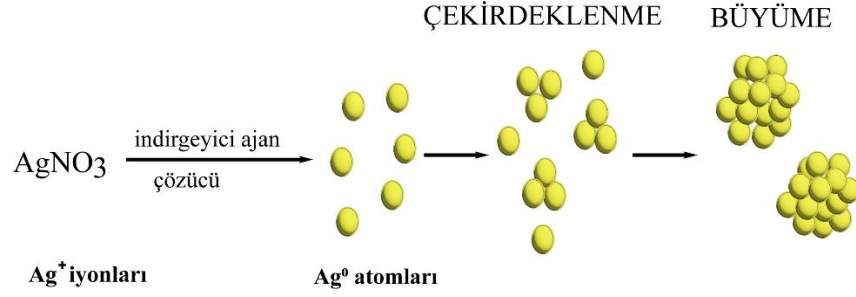
Yukarıda belirtilen sentez yöntemlerinin aksine kimyasal indirgeme yöntemi basitliği sebebiyle daha fazla tercih edilmektedir. Organik ve inorganik indirgeme ajanları yardımıyla nanoparçacık sentezlenir (Mulfinger ve diğ. 2007). Sulu veya susuz çözeltideki gümüş iyonları (Ag^{+}); askorbat, sodyum borhidrür ($NaBH_4$),

askorbik asit, hidrazin, amonyum format, N-N-dimetilformamid (DMF) ve sodyum sitrat gibi kimyasallarla indirgenir (Beyene ve diğ. 2017).

İlk kez 1982 yılında sitrat varlığında gümüş nitrat (AgNO_3) indirgenerek Ag kolloidleri Lee ve Meisel tarafından rapor edildi (Rycenga ve diğ. 2011). Bu yöntemde 90 mg gümüş nitrat 500 ml damıtılmış suya eklendi ve çözünmesi sağlandı. Bu çözelti kaynama noktasına kadar ısıtıldı kaynama başladıktan sonra 10 ml %1'lik sodyum sitrat çözeltisi eklenerek 1 saat karışmaya bırakıldı. Elde edilen kolloidal gümüş çözeltisi yeşilimsi renkteydi ve 420 nm'de maksimum absorpsiyon gösterdi. Sodyum sitrat gibi zayıf bir indirgeyicinin kullanılması daha yavaş bir indirgeme sağladı ancak boyut dağılımının dar olmadığı gözlemlendi. (Ravindran ve diğ. 2013).

Creightons yöntemi olarak adlandırılan başka bir yöntemde indirgeyici olarak sodyum borhidrür kullanıldı. İlk olarak 0,0036 g sodyum borhidrür (NaBH_4), 50 ml'lik hacimsel şişede seyreltilti. Reaksiyon öncesi çözeltiden azot gazı geçirildi sonrasında buz banyosuna konuldu. 0,0042 g AgNO_3 25 ml'lik hacimsel şişede seyreltilti. Daha sonra soğuk NaBH_4 çözeltisinden 12 ml, AgNO_3 çözeltisinden 4 ml alınarak karıştırıldı. Karışma reaksiyon oda sıcaklığına gelene kadar sürdürüldü. Kolloidal çözelti rengi açık sarıydı. Sodyum borhidrür gibi güçlü bir indirgeyici varlığında monodispers küçük boyutlu gümüş nanoparçacıkların oluştuğu gözlemlendi. Ancak daha büyük boyutlu parçacıkların kontrolü zorlaştı (Abou El-Nour ve diğ. 2010).

Kimyasal sentez olayının meydana gelmesi için 3 unsur bulunmaktadır. Birincisi metal tuzu, ikincisi indirgeyici ajanlar, üçüncüsü ise nanoparçacığın yüzeyini kaplayarak stabilizasyonunu sağlayan maddelerdir. Gümüş tuzundan kolloidal çözeltilerin oluşumu çekirdeklenme ve ardından büyüme olmak üzere iki temel aşamadan oluşmaktadır (Şekil 1.3). Küresel bir şekle ve dar boyut dağılımına sahip nanoparçacık üretimi daha zordur. İki temel aşama boyut kontrolü üstünde oldukça etkilidir. Tek tip boyut dağılıma sahip monodispers AgNP'lerin sentezi için tüm çekirdeklerin aynı anda oluşması gereklidir. Başlangıçta çeşitli komplekslerle Ag^+ iyonunun indirgenmesiyle gümüş atomları (Ag^0) oluşur. Sonrasında oligomerik kümeler halinde aglomerasyon olayı meydana gelir. Bu kümeler kolloidal gümüş nanoparçacıklarını oluşturmaktadır (Natsuki ve diğ. 2015).



Şekil 1.3: Gümüş nanoparçacıkların kimyasal sentezi.

1.4.3 Altın Nanoparçacıklar

Altın (Au) atom numarası 79 olan asil bir metaldir. Doğası gereği standart koşullar altında katı, parlak sarı, yoğun, yumuşak ve sünek bir metaldir. Reaktifliği düşüktür. Kimyasal oksidasyona uğramadan binlerce yıl parlaklığını koruyabilir. Kolay işlenmesi, nadir bulunması ve korozyon direncinin yüksek olması gibi özellikleri altını değerli kılmaktadır. Yığın haldeki altın madeni paralarda ve elektronik alanında sıklıkla kullanılır (Sztandera ve diğ. 2018).

Altının tarihi yazının icadından ve ilk Mezopotamya ve Mısır şehirlerinin kurulmasından öncesine dayanmaktadır. Altın ilk olarak sarı külçeler halinde keşfedildi. Mısırlıların milattan önce 3500 yılında doğu çöllerinde altın çıkardıkları bilinmektedir. Altın tarihi için diğer bir önemli tarih Amerika'nın keşfi ve kayıp altın şehir (El Dorado) arayışıyla keşiflerin başladığı 1492 yılıdır. Aztekler de altını tanrının bir ürünü olarak görmekteydi ve ona güneşin teri diyorlardı (Louis ve Pluchery 2017).

Altın nanoparçacıkların özellikleri yığın formundan oldukça farklıdır. Altın yığın formunda sarı renkli bir katıdır ve inerttir. Altın nanoparçacıklar ise şarap kırmızısı renkte kolloidal bir çözeltidir. (Khan ve diğ. 2014).

Altın nanoparçacıkların geçmişi Roma dönemine kadar uzanmaktadır. O dönemde AuNP'ler camları dekoratif amaçla boyamak için kullanılmaktaydı. AuNP sentezinin modern çağı 150 yıl kadar önce Micheal Faraday'ın çalışmalarıyla başladı.

Faraday esas olarak ışığın metal parçacıklarla etkileşimiyle ilgileniyordu. Ancak çalışmalarını AuNP'lere yöneltti. Altın klorürün organik bileşikler ve fosfor gibi reaktiflerle reaksiyona girmesiyle ısı işlem varlığında indirgenebileceğini gösterdi. Yaklaşık 100 yıl sonra Faraday tarafından hazırlanan yakut renkli kolloidlerin kararlı olduğu ve boyutlarının 2 ile 6 nm arasında değişiklik gösterdiği belirlendi (Giljohann ve diğ. 2010). Zsigmondy aynı şekilde yakut rengi camın rengi ve opaklığı için çeşitli çalışmalara başladı. En büyük buluşu ultramikroskoptur. Bu sayede AuNP'lerin boyutları belirlenebildi. Boyutun, parçacık özelliğini değiştirdiği kanıtlandı. Au kolloidal çözeltilerine çeşitli tuzlar ekleyerek renk değişiklikleri araştırıldı. T. Svedberg adlı başka bir bilim adamı ise kolloidal solların özellikleriyle ilgilenmeye başladı. Bu ilgi onun yerçekimi kuvvetinin 100.000 katından fazla kuvvet üretebilen ultrasantrifüje odaklanmasını sağladı. Altın nanoparçacık sentezine ait ilk başarı nanokürelerdir. Sonrasında nanorodlar, nanokafesler ve nanokabuklar gibi çeşitli formlar elde edildi. (Das ve diğ. 2011).

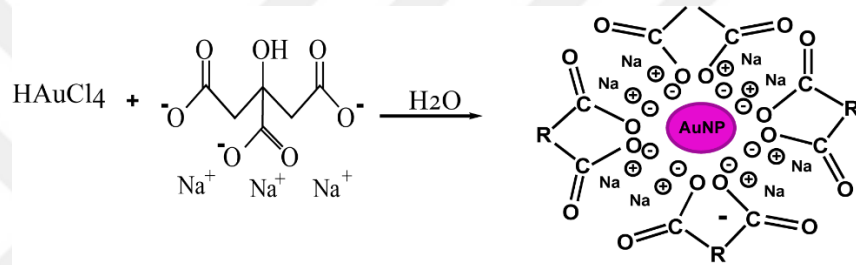
Son yıllarda altın nanokonjugatlar tıp alanında heyecan verici gelişmelere yol açmaktadır. Moleküler formda altın bileşikleri katalizörlerden anti-artrit ilaçlara kadar çeşitli formlarda hizmet verebilir. Yoğun fotofiziksel özellikleri sayesinde gebelik testi kadar basit yorumlanabilen diyagnostik testlerde kullanılabilir (Dreaden ve diğ. 2012).

Altın nanoparçacıkların biyouyumluluğu yüksektir. Küçük boyutu, geniş yüzeyi, şekli ve kristallliği nedeniyle mükemmel terapötik ajanlardır. Hedef hücrelere daha kolay ve daha kısa sürede girebilirler ve yüksek ilaç yükü taşıyabilirler. DNA aşılarının epidermal yolla verilmesi için yaygın olarak kullanılmaktadır. Altın nanokafesler sıcaklığa duyarlı polimer ile kaplanmış duvarlara sahiptir. Bu duvarlara yakın kızıl ötesi ışınımının etkileşimi sonucu AuNP ilacı serbest bırakır. 1 nm çapında olan altın nanoparçacıklar hücre zarını ve çekirdeğini geçerek DNA ile etkileşime girebilmektedir (Khan ve diğ. 2014). Etki mekanizması tam olarak anlaşılmamış olsa da kolloidal altın kullanılarak yapılan çeşitli tedaviler milattan önce beşinci yüzyıla ait Arap, Çin ve Hint belgelerinde bulunmaktadır. Orta Çağ Avrupası'nda da simyacılar tarafından akıl hastalıkları, ishal ve frengi tedavisinde kullanılan altın nanoparçacıklar uzun ömür iksiri olarak anıldı (Sztandera ve diğ. 2018).

1.4.4 Altın Nanoparçacıkların Sentez Yöntemleri

1.4.4.1 Turkevich Metodu

En popüler sentez yöntemlerinden biri olan Turkevich metodu 1951 yılında tanıtıldı. Bu yöntemde kloroaurik asit (HAuCl_4) deiyonize suda çözündürülür. Sulu HAuCl_4 çözeltisi kaynatılır. Kaynama başladıktan sonra kuvvetli karıştırma altında trisodyum sitrat dihidrat çözeltisi eklenir. Sitrat varlığında Au^{3+} iyonları indirgenerek $\text{Au}(0)$ üretir (Şekil 1.4). Çözeltinin rengi kademeli olarak sarıdan griye, koyu mora son olarak da şarap kırmızısına döner (Alberti ve diğ. 2021).



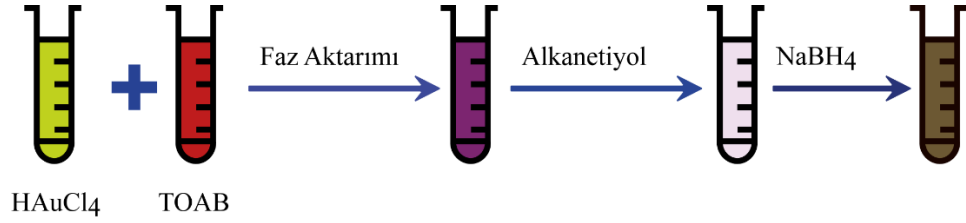
Şekil 1.4: Turkevich metodu kullanılarak AuNP sentezi.

Reaksiyon sonucu 20 nm boyutunda şarap kırmızı kolloidal altın süspansiyonu elde edilmektedir. Sodyum sitrat indirgeyici olması dışında dengeleyici olarak da görev yapar. Negatif yüklü iyonlar nanoparçacıkların yüzeyine nüfuz eder agregasyonu önler (Alberti ve diğ. 2021).

1.4.4.2 Brust-Schiffrin Metodu

Alkanetiyollerle çevrelenen yüksek kararlılığa sahip altın nanoparçacıkların hazırlanması için iki fazlı bir indirgeme sunan bu yöntem 1994 Brust ve arkadaşları tarafından bildirildi. İlk olarak HAuCl_4 'ün sulu çözeltisi organik bir çözücü olan toluen ile karıştırıldı. Daha sonra kloroaurik asit, faz transfer katalizörü olan tetraoktilamonyum bromür (TOAB) yardımıyla organik faza aktarıldı. Organik faza koruyucu bir ligand olan dodekanetiyol eklendi. Au^{3+} iyonlarının indirgenmesi için ise sodyum borhidrürün sulu çözeltisi karışıma ilave edildi. İndirgeme sonrasında

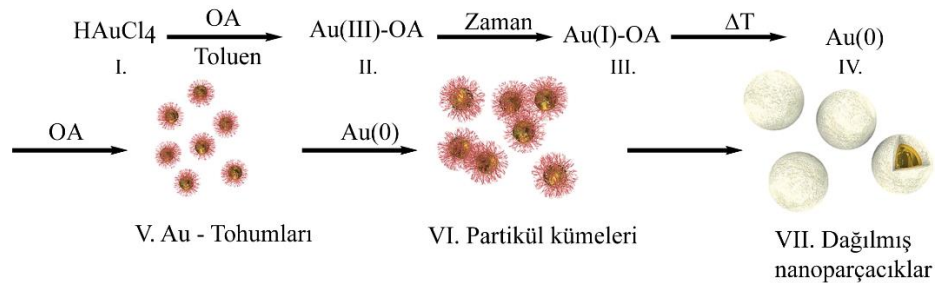
koyu kahverengi AuNP toluen çözeltisi elde edildi. Sentez aşaması Şekil 1.5'te gösterilmektedir. Elde edilen nanoparçacıklar kloroform ve pentan gibi diğer organik çözücülerde de çözünmektedir. İndirgeyici maddenin hızlı eklenmesi ve düşük sıcaklık monodispers küçük boyutlu AuNP'lerin üretilmesini sağlamaktadır. Daha yüksek miktarda küçük çekirdek boyutları elde etmek için hacmi yüksek ligandlar kullanılabilir (Alex ve Tiwari 2015).



Şekil 1.5: Brust-Schiffrin metodu kullanılarak AuNP sentezi.

1.4.4.3 Tohumla Büyüme Metodu

Hiramatsu ve Osterloh tarafından 2004 yılında indirgeme ve stabilizasyon ajanı olarak oleylamin (OA) kullanılarak toluen organik çözücüsü içinde AuNP sentezlendi. Ortalama çapı 9 nm olan altın nanoparçacıklar daha büyük boyutlarda parçacık sentezlemek için kullanılır. Toluene ve OA karışımında dispers halde bulunan AuNP'lerin üzerine kloroaurik asit yavaşça eklenir. Şekil 1.6'da gösterilen büyüme reaksiyonu sırasında parçacıklar birleşmektedir ancak bu durum elde edilen küresel AuNP'lerin boyut dağılımını etkilememektedir. Bu metod basit, hızlı ve düşük maliyetlidir (Stanglmair ve diğ. 2014).



Şekil 1.6: Tohumla büyüme metodu kullanılarak AuNP sentezi.

1.4.4.4 AuNP Sentezi için Diğer Yöntemler

Yeşil sentez, AuNP sentezinde sık kullanılan bir yöntemdir. Doğal bir biyomateryal olan yumurta kabuğu zarı kullanarak 25+7 nm boyutlarında nanoparçacık sentezi yapılabilir. Bu yöntemde herhangi kimyasal indirgeyici kullanılmadan yumurta kabuğu zarı HAuCl_4 çözeltisi içine daldırılır. Bunun dışında kitosan, narenciye özleri, yenilebilir mantar ve *Bacillus licheniformis* adlı bakteri türü sıklıkla AuNP sentezi için kullanılır (Sztandera ve diğ. 2018).

Katı faz mekanokimyasal yönteminde PVP korucu ajan olarak, sodyum borhidrür indirgeyici ajan olarak kullanılır. Bu kimyasallar varlığında tetraaurokloratın (KAuCl_4) yüksek hızda titreşimlerle öğütülerek indirgenmesi sağlanır. Sitrik asitin indirgeyici ajan, setiltrimetil amonyum bromürün (CTAB) stabilize edici ajan olarak kullanıldığı mikrodalga ısıma da AuNP sentezi için bir başka yöntemdir (Khan ve diğ. 2014).

1.5 Yüzey Plazmon Rezonans ve Biyosensörler

1.5.1 Lokalize Yüzey Plazmon Rezonans (LSPR) Kavramı

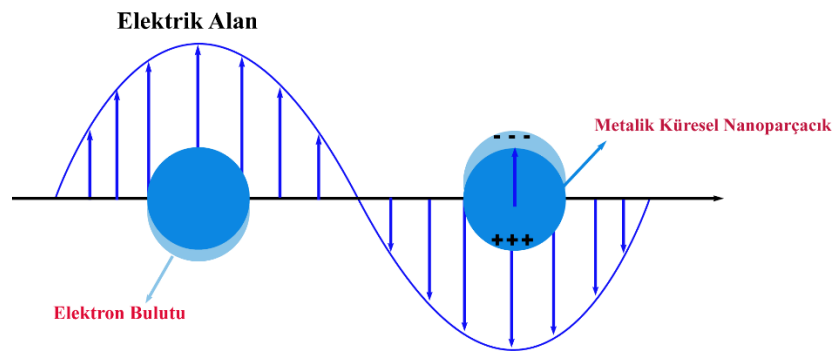
Plazmonik kavramı elektromanyetik dalgaların kırınım sınırının ötesinde nanometre boyutuna kadar yönlendirilmesi ve manipülasyonu ile ilgilidir. Plazmoniklerin temel bileşeni metallerdir. Metallerin serbest elektronlarının salınımı yüzey plazmonlarının oluşmasını sağlamaktadır (Zeng ve diğ. 2013). Robert W. Wood tarafından 1902 yılında yüzey plazmon kavramı tanımlandı. Ritchie'nin 1950 yılında yaptığı öncü çalışmalar ise yüzey plazmon kavramının yüzey bilimi alanında tanıtılmasını sağladı (Jackson 1999).

Yalıtkan sabitinin işaret değiştirdiği iki yüzey arasındaki lokal olmayan elektron salınımları yüzey plazmonları olarak adlandırılmaktadır. Görünür ışık altında dielektrik ve metal arasındaki sınırlar yüzey plazmonlarına örnek verilebilir. Yüzey plazmonlarının en cazip özelliklerinden biri ışığı yoğunlaştırmaya ve kanalize etmeye yardımcı olmalarıdır. Yüzey plazmonlarının kullanımı metallerin ve onları

çevreleyen iletken olmayan maddelerin göreceli geçirgenliklerinden kaynaklanmaktadır (Schasfoort 2017).

Lokalize yüzey plazmon rezonans (SPR) kavramının incelenmesi metal nanoparçacıkların optik özelliklerinin algılanmasında büyük önem taşımaktadır. SPR etkisinin bulunduğu sensör sistemleri kabaca ince film refraktometresine benzetilebilir. Cam gibi dielektrik tabakanın üzerindeki ince metal filmlerde gerçekleşen bu olay biyoalgılama amacıyla kullanılmaktadır (Piliarik ve Homola 2009). Deneysel olarak yüksek molar absorpsiyon katsayısına sahip bir soğurma bandı sayesinde LSPR etkisini görmek mümkündür. LSPR etkisi spektral soğurma aralığını genişletebilir ve yerel elektromanyetik alanı artırabilir (Lv ve diğ. 2022).

Lokalize yüzey plazmon rezonans (LSPR) etkisini anlayabilmek için ışığın bir yüzeyle etkileşimine odaklanmak gerekir. Işık belirli koşullar altında metalin ince tabakasına çarpar. Bu durumda gelen ışık dalgası metalin elektron paketçikleri olarak adlandırılan yüzey plazmonlarını uyarır (Alberti ve diğ. 2021). Bir başka deyişle LSPR; foton frekansı, pozitif çekirdeklerin geri yükleme kuvvetine karşı salınan metal yüzey elektronlarının doğal frekansı ile eşleştiğinde ortaya çıkan metal-dielektrik arayüzünde yükün rezonans kaynaklı uyumlu salınımıdır (Şekil 1.7). Metalik nanoparçacığın içinde parçacığın hacmi boyunca homojen olan rezonansla güçlendirilmiş bir alan oluşur. Parçacığın dışında dipolar bir alan oluşur. Rezonans durumu elektromanyetik dalgalar için gelişmiş soğurma ve saçılma kesitlerinin yanı sıra parçacık yüzeyinin hemen yakınında güçlü gelişmiş bir alan oluşmasında yol açmaktadır. Metalik NP'ler kullanılarak oluşturulan sistemlerin kaynağı, rezonans sonucu geliştirilmiş yakın alandır (He ve diğ. 2022).



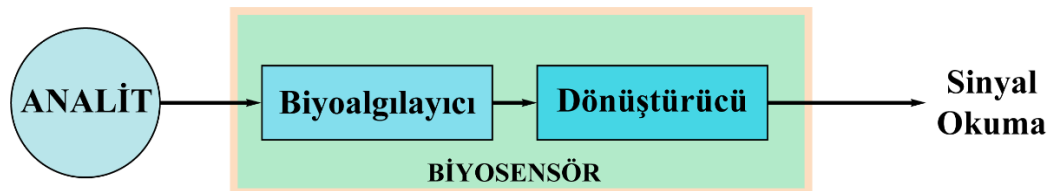
Şekil 1.7: Rezonans oluşumunun şematik gösterimi.

Bu rezonans durumunda maksimum seviyede enerji absorplanır. Güçlü bir rezonans soğurma piki oluşur. Işığın enerji yüklü bir foton olarak düşünürsek enerji yüklü foton metalin yüzey elektronlarını indükler. Bunun sonucunda enerji transferi gerçekleşir. Ancak sadece rezonans durumu sağlayan açıda enerji transferi meydana gelir. Bir yüzey plazmonu uyarıldığında bir foton kaybolur ve yansıyan ışık enerjisinden kaybeder. Metal NP'lerin yüzeyindeki yerel elektromanyetik alan (yüzeyden dışarı doğru onlarca nanometre uzanan) LSPR etkisiyle önemli ölçüde artmaktadır. Elektromanyetik alan ne kadar güçlü olursa daha fazla fotojenik elektron deliği çifti potansiyel olarak ayrılabilir (Lv ve diğ. 2022). Yüzey plazmon rezonansın gerçekleşmesi için gelen ışığın dalga vektörü ile yüzey plazmonun dalga vektörü eşit olmalıdır. Bu denge küçük değişikliklere karşı çok hassastır. Gelen ışığın dalga boyu ve geliş açısı değişen parametreler arasında yer almaktadır. Yüzey plazmon dalgası (SPW) enine manyetik bir dalgadır. Bu dalga havadan ışık yayılması ile oluşamaz, p-polarize ışığa ihtiyaç duymaktadır (Barnes ve diğ. 2003).

1.6 Biyosensörler

Analitik kimyada genel amaç pratik ve basit bir ölçüm sisteminin üretilmesidir. Biyosensörlerin uygulama alanları tıp dışında gıda işleme, tarım, petrokimya endüstrisi, biyoterörizmin tespiti ve önlenmesine kadar uzanmaktadır. Tüm bu alanların ortak gereksinimi dinamik ve hızlı gelişen süreçler hakkında gerçek zamanlı parametrelere ulaşmaktır (Vadgama ve Crump 1992).

İnsan vücudunda burun ve dil gibi organlar doğal birer biyosensördür. Biyosensörler, bir biyolojik algılayıcı ve dönüştürücü kullanarak analitlerin tespitinde ölçülebilir sinyaller üretebilen sistemlerdir (Şekil 1.8).



Şekil 1.8: Biyosensörlerin şematik gösterimi.

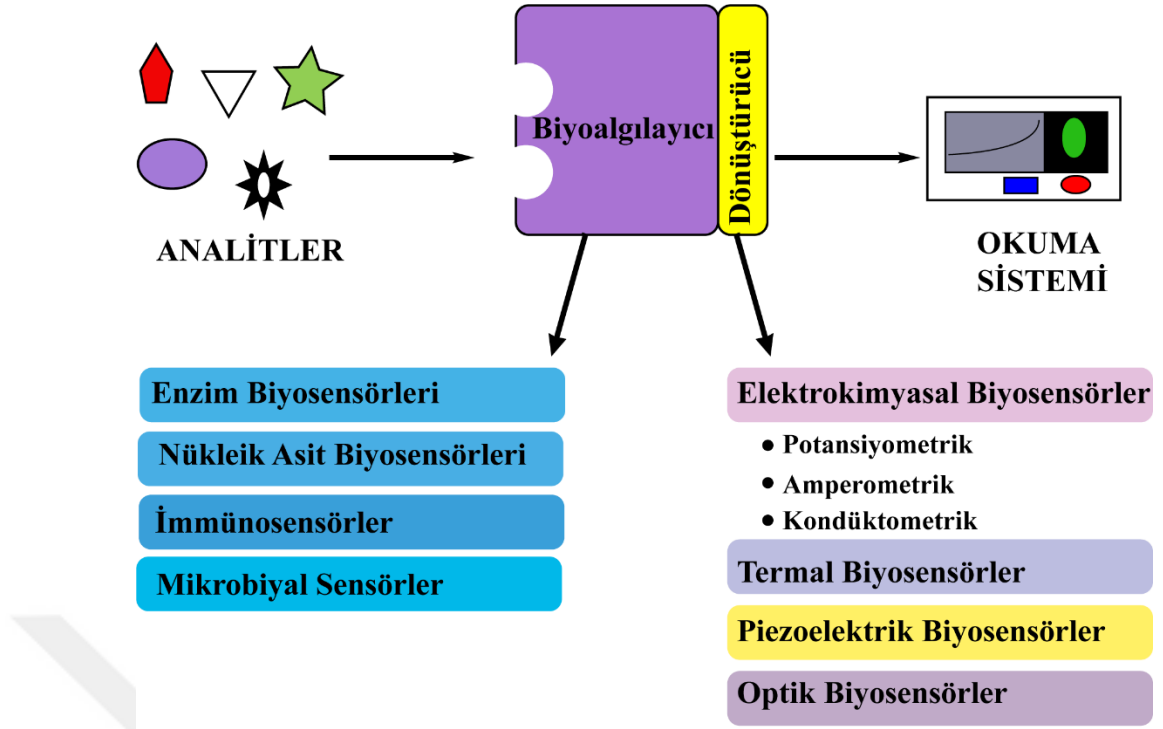
Aynı zamanda düşük analit konsantrasyonlarında analitin hassas ve seçici tayinini yapmaktadır (Scheller ve Schubert 1991). Karmaşık biyoanalitik ölçümler yapabilmek için fizikokimyasal dönüştürücülerle birlikte biyolojinin hassasiyetinden ve özgüllüğünden yararlanırlar (Turner 2000). Kısacası biyosensör tanıma olayı yaratan biyolojik bir unsurun tanıma olayını ileten fiziksel bir unsurla kombinasyonu şeklinde tanımlanmaktadır (Mohanty ve Kougianos 2006).

Diyabet hastaları pankreaslarında yeterli insülin üretemedikleri için kanlarındaki glikoz seviyesinin tespiti büyük önem taşımaktadır. Önceki zamanlarda kan örneklerinin tıbbi laboratuvarlarda incelenmesi ve analiz edilmesi epey zaman almaktaydı. Hızlı tespit için ilk biyosensör Clark ve Lyons tarafından 1962 yılında glikoz tespiti için tanımlandı. Bu biyosensöre enzim elektrotları adı verildi. Glikoz biyosensörlerinde temel prensip glikozun, glikoz oksidaz enzimi(GOD) yardımıyla glukonik aside oksidasyonudur. İlk biyosensörlerde oksitleyici ajan olarak oksijen kullanıldı. Bu sensör, immobilize glikoz oksidaz elektrodu kullanarak hidrojen peroksitin (H_2O_2) elektrokimyasal tespitine dayanmaktadır (Scheller ve Schubert 1991).

Sensör sistemleri iki temel işlevsel bileşene sahiptir. İlki hedef analitle spesifik bağlanma için tanıma elemanı, ikincisi ise bağlanma olayı gerçekleştikten sonra sinyal algılaması için dönüştürücüdür. Tepki süresi, sinyal/gürültü oranı, seçicilik ve tespit limitleri (LOD) gibi özellikler etkili bir sensör sisteminin önemli parametreleridir. Verimliliği yüksek sensör sistemlerinin tasarlanması yani tanıma ve iletim süreçlerinin iyileştirilmesi için yeni malzemeler geliştirilmelidir. Nano malzemeler bu süreçleri iyileştirmenin yanı sıra, sensör elemanlarının küçültülmesiyle sinyal/gürültü oranını iyileştirmede büyük fayda sağlayacak benzersiz özelliklere sahiptir (Saha ve diğ. 2012).

1.6.1 Biyosensör Çeşitleri

Biyosensörler biyoelemente ve dönüştürücü sistemine göre iki farklı şekilde sınıflandırılmaktadır (Şekil 1.9).



Şekil 1.9: Biyosensörlerin sınıflandırılması.

1.6.1.1 Biyoalgılayıcı Türüne Göre Sınıflandırma

1.6.1.1.1 Enzim Biyosensörleri

İlk kullanılan biyosensörler enzim biyosensörleridir. Enzimatik çalışmalar substrat özelliklerini ve katalitik mekanizmaları anlamaya yardımcı olarak biyolojik süreçlerin ayrıntılarını ortaya çıkarmaktadır. Enzimler genellikle protein yapıdadır. Enzimlerin ilgili oldukları substratlara karşı yüksek afinitesi, reaksiyonların katalizi sırasında ısı, ışık gibi reaksiyon ürünü ortaya çıkarmaları, bu sürecin hızlı ve yüksek verimle gerçekleşmesi enzimleri popüler biyoreseptörler haline getirmektedir (Dai ve Kool 2011).

1.6.1.1.2 Nükleik Asit Biyosensörleri

Nükleik asit ile oluşturulan sensör sistemleri genellikle yüksek verimliliğe ve özgüllüğe sahip tep iplik DNA'dan (ss DNA) oluşur. Tek iplikli DNA tamamlayıcı iplik ile hibridize olabilmektedir. Böylece tamamlayıcı iplik sayesinde DNA veya RNA'nın tespiti gerçekleştirilir (Du ve Dong 2017).

1.6.1.1.3 İmmünosensörler

İnsan bağışıklık sistemi kendini yabancı bir türe karşı ayırt etme yeteneğine sahiptir. Yüksek özgüllüğe sahip antikorlar antijen adı verilen yabancı türlerin algılanmasının ardından organizma tarafından üretilir. Bu sensörler antijen-antikor etkileşimini esas almaktadır. Antikorların antijenlere karşı hızlı tepkisi ve yüksek bağlanma sabitleri sergilemesi immünosensörlerin tercih sebeplerindendir (Cristea ve diğ. 2015).

1.6.1.1.4 Mikrobiyal Biyosensörler

Mikrobiyal sensörler bir dönüştürücü ve algılama elemanı olarak mikroorganizmalardan oluşmaktadır. Uzun kullanım ömrü, maliyet performansı gibi avantajlarının yanı sıra uzun tepki süresi gibi bir dezavantaja sahiptir (Nakamura ve diğ. 2008).

1.6.1.2 Dedektör Sistemine Göre Sınıflandırma

1.6.1.2.1 Elektrokimyasal Biyosensörler

Elektrokimya yükün bir elektrottan katı veya sıvı bir örnek olabilen başka bir faza aktarılmasıdır. Kimyasal enerji ve elektrik enerjisi arasındaki dönüşüme odaklanır. Elektrokimyasal sensörleri potansiyometrik, amperometrik ve

kondüktometrik sensörler olarak üç ana başlıkta toplamak mümkündür (Grieshaber ve diğ. 2008).

Potansiyometrik ölçümler referans elektrot ve indikatör elektrot arasındaki potansiyel farka dayanmaktadır. Bir iyon iyonofora bağlandığında elektriksel gerilimde değişiklik meydana gelmektedir. Elektrodun seçici olarak bağlanmasıyla oluşturulan sistemdeki iyon konsantrasyonu ile ilgili potansiyel değişim izlenir (Saurina ve diğ. 2002).

Amperometrik sensörlerde elektrokimyasal hücrelere sabit bir potansiyel uygulanır. Bazı kimyasal türler inert metal elektrotlarda oksidasyona uğradıkça ve indirgendikçe elektronlar, analitten çalışma elektroduna veya elektrottan analite aktarılır. Analitin özellikleri elektronların akış gücünü belirler. Çalışma elektroduna uygulanan potansiyel değiştirilerek de akış yönü kontrol edilebilir. Çalışma elektronu altın ve platin gibi bir metalden, çalışma elektroduna uygulanan potansiyele karşı sabit bir potansiyel sağlayan referans elektrodu gümüş klorürden (AgCl) oluşur. Akım redoks reaksiyonları sonucu elde edilir (Helm ve diğ. 2010).

Kondüktometrik sensörler ise iletkenlikteki değişiklikleri tespit etmektedir. Yük türlerinin üretimi ve tüketimi prensibine dayanmaktadır. Yük türlerindeki değişiklik analitlerin iyonik bileşimini değiştirmektedir (Zappa ve diğ. 2013).

1.6.1.2.2 Termal Biyosensörler

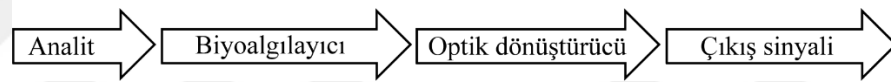
Termal biyosensörlere kalorimetrik sensörler adı da verilmektedir. Enzim, organel, mikroorganizma, bitki veya hayvan hücresi ya da dokusu gibi biyolojik yapıların termometre, termistör veya termopil gibi fiziksel bir dönüştürücüyle kombinasyonu ile oluşmaktadır. En çok kullanılan termistör tabanlı termal biyosensörlerdir. Temel prensibi enzimlerin dahil olduğu biyokimyasal reaksiyonlar sırasında açığa çıkan ısıyı ölçmektir (Vasuki ve diğ. 2019).

1.6.1.2.3 Piezoelektrik Biyosensörler

Piezoelektrik biyosensörler temel olarak kristal yüzeyi üzerindeki kütle değişimi sonucu kristalin rezonant frekansındaki değişiklikleri ölçmektedir. Piezoelektrik algılama başı kuartz kristal levhadan ve bu levhanın iki yanına karşılıklı olarak yerleştirilen uyarma elektrotlarından oluşur. Maliyetinin düşük olması, basitliği ve yüksek hassasiyeti nedeniyle sıklıkla tercih edilen bir biyosensör çeşididir (Steinem ve Janshoff 2007).

1.6.1.2.4 Optik Biyosensörler

Optik biyosensörler, optik bir dönüştürücü sistemiyle entegre edilmiş biyolojik tanıma elemanı içeren kompakt bir analitik sistemdir (Şekil 1.10). Yüksek özgüllük, düşük maliyet ve küçük boyut avantajları arasındadır (Damborský ve diğ. 2016).



Şekil 1.10: Optik biyosensörlerin şematik gösterimi.

1.6.1.3 Kolorimetrik Sensörler

Analitin renk değişimlerinin tespitine dayanan kolorimetrik sensörler, diğer analitik yöntemlere göre daha hassas, verimliliği yüksek ve maliyeti düşük bir biyosensördür. Kolorimetrik biyosensör sisteminde dönüştürücüye gerek yoktur. Elde edilen renk değişimleri göz ile doğrudan tespit edilebilmektedir. Metalik nanoparçacıkların birleşme ve dağılma kinetiğiyle ilişkili renk değişimlerinden yararlanılarak kolorimetrik tabanlı analizler geliştirilmektedir. Metalik nanoparçacıklar esas olarak boyutlarına, şekillerine ve partikül arası mesafeye göre değişiklik gösteren yüksek molar absorpsiyon katsayısına sahiptir. Bu özellikleriyle absorbans ve floresans spektroskopisi gibi analitik tekniklerle rekabet edebilirler. Özellikle altın ve gümüş nanoparçacıklar araştırmacıların dikkatini çekmektedir.

Metalik NP tabanlı kolorimetrik tespit yöntemlerinin çoğu altın nanoparçacıklar üzerine yoğunlaşmaktadır. Çünkü gümüş nanoparçacıklar daha yüksek molar absorpsiyon katsayısına sahip olmalarına rağmen yüzeyi kolay oksidasyona uğramaktadır (Jiang ve diğ. 2012).

Nanoparçacıkların kolorimetrik değişiklikleri partikül yüzey modifikasyonundan kaynaklanmaktadır. Bu durum partiküller arası bağ oluşumu ile indüklenir. Kolloidal çözeltilerdeki renk değişimleri nanoparçacıkların agregasyonu ile ilişkilidir. NP agregasyonu çapraz bağlanma ve çapraz bağlanmayan agregasyon olarak ikiye ayrılır. Çapraz bağlanmayan durumda agregasyon parçacıklar arasındaki London-van der Waals kuvvetleri tarafından yönetilmektedir. NP'lerin yüzeyine bağlanan (-OH), karboksil (-COOH), amin (NH₂) gibi fonksiyonel grupların varlığı büyük önem taşımaktadır. Örneğin yüksek yüklü nükleotitler ile yüksüz nükleozitler zayıf bağlı sitrat iyonları ile yer değiştirerek nanoparçacığa bağlanabilir. Bu durum stabilizasyonu artırdığı gibi yüzey yüklerinin değişmesi sonucu agregasyonu tetikler ve gözle görülebilen renk değişikliklerine neden olur. (Sabela ve diğ. 2017).

1.6.1.4 Kağıt Tabanlı Biyosensörler ve Mürekkep Püskürtmeli Baskı

Doğru ve uygun fiyatlı teşhisler oldukça önemlidir. Kağıt tabanlı biyosensörler düşük maliyetli minyatürize analitik testler için gelişmekte olan bir alandır. pH test şeritleri ve hamilelik testleri kağıt tabanlı analitik araçlardır (Shen ve diğ. 2019). Literatürde çeşitli kağıt tabanlı analitik cihazlar bildirilmiş olsa da, kağıt kullanımını içeren ilginç bir yaklaşım 2012 yılında Li ve arkadaşları tarafından bildirildi. Onlar belirli reaksiyonları kullanarak kan grubu analizi için kağıt tabanlı bir sistem geliştirmek için kağıdın gözenekli yapısından yararlandılar (Cinti ve diğ. 2018).

Anastas ve Warner tarafından oluşturulan 12 Yeşil Kimya ilkesinden bazılarına göre, kağıt çok sayıda yeşil özelliğe sahiptir ve kendini sürdürülebilir bir reaktör olarak öne çıkmaktadır. Az miktarda öncülün kullanılması israfı önler, çözücüler gereksizdir ve enerji israfı yoktur. Proses izlemede gerçek zamanlılığa izin verir. (Loo ve Pui 2020). Ayrıca kağıt değişen analitlere karşı gösterdiği yüzey

afinitesi ve sıvıyı emme oranı gibi özellikleriyle de ön plana çıkmaktadır. Optik-kolorimetrik, elektrokimyasal, elektrokemilüminesans gibi tespit prensipleri kağıt tabanlı sensörlere entegre edilebilmektedir. Yerinde, çıplak gözle hızlı tespit yapabilen kolorimetrik kağıt tabanlı biyosensörlere yönelik güçlü bir talep vardır (Choi ve diğ. 2016).

Mürekkep püskürtmeli baskı, mürekkebi nokta matrisi olarak adlandırılan alanda biriktiren darbesiz bir baskı teknolojisidir. Çalışma prensibi kağıt üzerinde önceden belirlenmiş bir konuma küçük bir açıklık yardımıyla sıvı damlalarının dijital olarak kontrollü şekilde püskürtülmesi esasına dayanır (Li ve diğ. 2015). Mürekkep püskürtmeli baskının ilk uygulamaları grafik ve metin yazdırma gibi malzemeleri işaretlemeyi içermesine rağmen, daha yeni uygulamalar arasında düz panel ekranlar oluşturmak için ışık yayan polimerlerin yazdırılması, veri depolama cihazları oluşturmak için manyetik nanoparçacıkların yazdırılması ve biyosensörler oluşturmak için saflaştırılmış protein dizilerinin yazdırılması yer almaktadır (Boehm ve diğ. 2014).

1.7 Tezin Amacı

Tez çalışması kapsamında canlı yaşamı için hayati bir önem taşıyan sularda kullanılmak üzere kağıt tabanlı kolorimetrik sensör tasarımı amaçlanmaktadır. Sensör tasarımında yüzey plazmon rezonans (LSPR) özellikleri sayesinde ayırt edici fizikokimyasal ve optik özellikler gösteren altın ve gümüş nanoparçacıklar farklı sentez teknikleri kullanılarak sentezlenecektir. Sentez sırasında boyut kontrolünün sağlanması ve agregasyonun önlenmesi amacıyla çeşitli stabilize edici kimyasallar kullanılacak, ultraviyole-görünür ışık spektrometresi (UV-Vis) ve geçirimli elektron mikroskobu (TEM) yardımıyla karakterizasyon çalışmaları yapılacaktır. Nanoparçacıkların belirli konsantrasyonlardaki metal tuzlarıyla etkileşimi sağlanarak gösterdiği kolorimetrik yanıtlar incelenecek ve metal tuzlarıyla etkileşimin ardından nanoparçacıkların absorpsiyon spektrumlarında meydana gelen değişikliklerin nedeni açıklanacaktır. Son olarak piezoelektrik uçlu mürekkep püskürtmeli yazıcı kullanılarak nanoparçacık içeren kağıt tabanlı biyosensör üretimi gerçekleştirilecektir.

2. YÖNTEM

2.1 Materyaller

Trisodyum Sitrat (TSC), Sodyum Klorür (NaCl), Cıva Klorür (HgCl_2), Baryum Klorür Dihidrat ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), Bakır(II) Nitrat Trihidrat ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), Kadmiyum Asetat Dihidrat ($(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), Mangan(II) Sülfat Tetrahidrat ($\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), Nikel(II) Nitrat Hekzahidrat ($\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), Kurşun(II) Nitrat ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$); Gümüş Nitrat (AgNO_3) ve Kalsiyum Klorür Dihidrat ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) Merck'ten; Demir Sülfat Heptahidrat ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), Kobalt(II) Nitrat Hekzahidrat ($\text{Co}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), Sodyum Borhidrür (NaBH_4), Potasyum Klorür (KCl), Krom(III) Nitrat Nonahidrat ($\text{CrN}_3\text{O}_9 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$), Magnezyum Sülfat Heptahidrat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) Isolab'tan ve Çinko Nitrat Hekzahidrat ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) Sigma Aldrich'ten satın alındı.

2.2 Cihazlar

- Shimadzu UV-Visible Spectrophotometer
- FEI Tecnai G2 Spirit BioTwin CTEM Mikroskop

2.3 Gümüş Nanoparçacıkların Sentezi

2.3.1 7 nm Sitrat Kaplı Gümüş Nanoparçacıkların Isıl İşlemsiz Sentezi

2.3.1.1 1 Numaralı Gümüş Nanoparçacık (AgNP1)

AgNP1 sentezi için; 30 ml, 2 mM NaBH_4 çözeltisi hazırlandı. Çözelti soğuması için buzluğa konuldu. Soğukta 10 dakika bekletildi. Bu sırada 10 ml %1'lik (w/v) trisodyum sitrat (TSC) çözeltisi hazırlandı. Soğutulmuş sodyum

borhidrür çözeltisi manyetik karıştırıcıya yerleştirildi. Üzerine hazırlanan TSC çözeltisinden 3 ml eklendi. Karışım, 5 dakika karıştırıldı. Sürenin sonunda karıştırma kapatılarak hazırlanan 25 ml 1 mM AgNO_3 çözeltisinden 21 ml alınarak karışım içerisine damla damla eklendi. Elde edilen sarı renkli AgNP kolloidal çözeltisi 20 dakika boyunca 10,000 rpm hızla santrifüjlendi. Santrifüjden sonra çökelti mikropipet kullanılarak toplanıp eppendorf tüpüne aktarıldı. Sentez aşaması Şekil 2.1’de gösterilmektedir. (Elavarasi ve diğ. 2014).

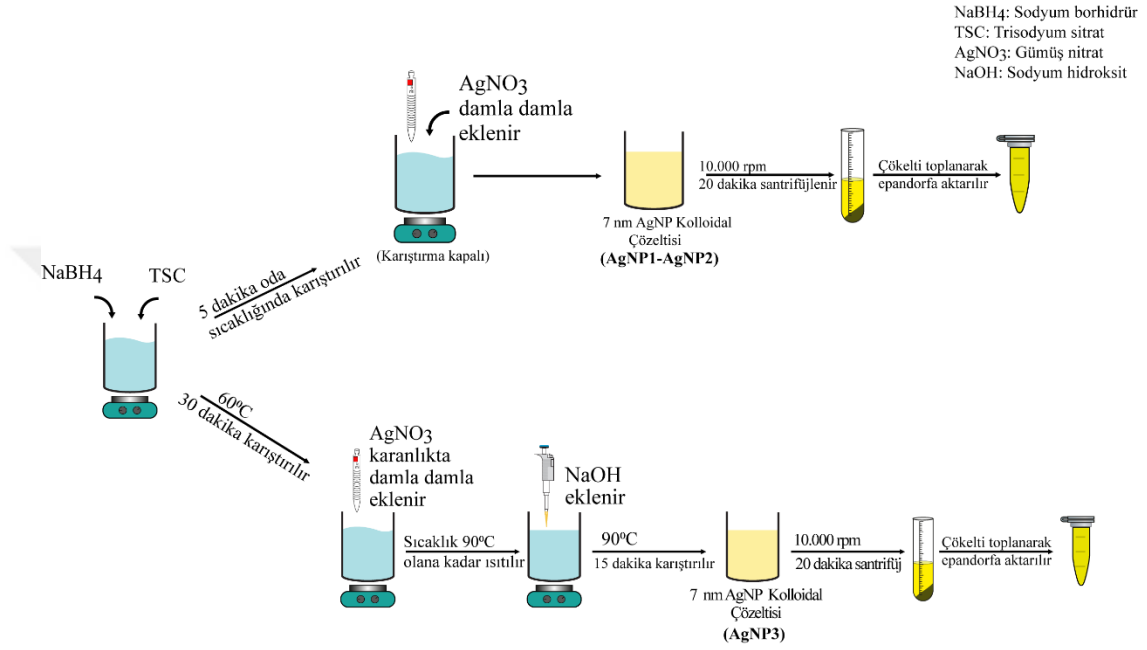
2.3.1.2 2 Numaralı Gümüş Nanoparçacık Sentezi (AgNP2)

AgNP2 sentezi için; 30 ml, 2 mM NaBH_4 çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan çözelti soğuması için 10 dakika buzlukta bekletildi. Bu sırada 10 ml %1’lik (w/v) TSC çözeltisi hazırlandı. Soğutulmuş sodyum borhidrür çözeltisi manyetik karıştırıcıya yerleştirildi. Üzerine hazırlanan TSC çözeltisinden 2 ml eklendi. Karışım, 5 dakika karıştırıldı. Sürenin sonunda karıştırma kapatılarak hazırlanan 10 ml 1 mM AgNO_3 çözeltisinden 7 ml alınarak karışım içerisine damla damla eklendi. Elde edilen sarı renkli AgNP kolloidal çözeltisi 10,000 rpm hızla 20 dakika boyunca santrifüjlendi. Santrifüjden sonra çökelti mikropipet kullanılarak toplanıp eppendorf tüpüne aktarıldı. Sentez aşaması Şekil 2.1’de gösterilmektedir (Elavarasi ve diğ. 2014).

2.3.2 3 Numaralı Gümüş Nanoparçacık Sentezi (AgNP3)

AgNP3 sentezi için; NaBH_4 (2 M) ve TSC (3,55 M) çözeltileri 250 ml’lik balon joje içerisinde hazırlanıp bu çözelti behere eklendi. Son hacmin 240 ml olması için cam pipet kullanılarak beherdeki çözeltiden 10 ml çekilip atıldı. Cam beher manyetik karıştırıcıya yerleştirildi. Manyetik karıştırıcı sıcaklığı 60°C’ye ayarlandı. Karışımın sıcaklığı 60°C’ye çıktığında bu sıcaklık değerinin korunmasına dikkat edilerek 30 dakika karıştırıldı. Sürenin sonunda hazırlanan 10 ml, 1 M gümüş nitrat (AgNO_3) çözeltisinin tamamı karanlık ortamda damla damla eklendi. Ekleme bittikten sonra sıcaklık 90°C’ye çıkarıldı. Bu aşamanın hızlı olmasına dikkat edildi. Sıcaklık 90°C’ye çıktığında hazırlanan 25 ml, 0,1 M sodyum hidroksit (NaOH)

çözeltisi, karışımın pH değerinin 10,5 olması için 6 ml eklendi. Ekleme sonrası sıcaklık 90°C’de sabit tutularak 20 dakika boyunca karıştırıldı. Süre sonunda soğumaya bırakıldı. Oda sıcaklığına gelen sarı renkli koloidal AgNP çözeltisi 10,000 rpm hızla 20 dakika boyunca santrifüjlendi (Şekil 2.1). Santrifüjden sonra çökelti mikropipet kullanılarak toplanarak eppendorf tüpüne aktarıldı (Agnihotri ve diğ. 2014).

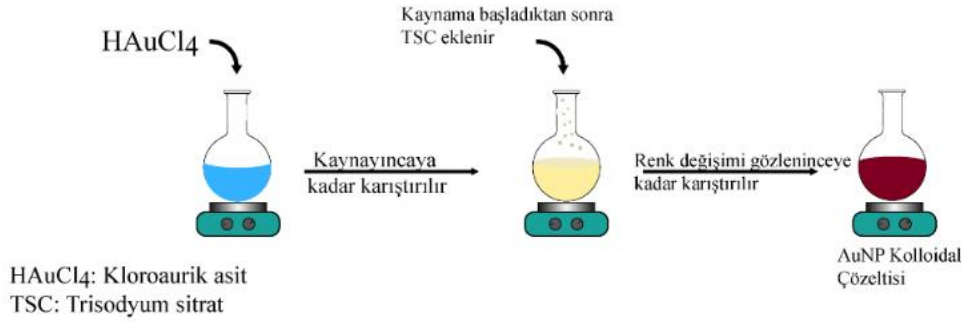


Şekil 2.1: 7 nm ısılsız ve ısılsız CA-AgNP'lerin sentezi.

2.4 Altın Nanoparçacıkların Sentezi

CA-AuNP sentezi için; 250 ml, 1 mM kloroaurik asit (HAuCl_4) çözeltisi hazırlandı. Çözelti 250 ml hacminde altı düz cam balona aktararak manyetik karıştırıcıya yerleştirildi. Kloroaurik asit çözeltisi kuvvetli karıştırma altında kaynamaya bırakıldı. Bu aşamada renk soluk sarıydı. Kaynama başladıktan sonra hazırlanan 25 ml 38,8 mM trisodyum sitrat (TSC) çözeltisinin tamamı cam balona eklendi. Soluk sarı rengin, TSC eklenmesinin ardından önce siyaha daha sonra şarap kırmızısına döndüğü gözlemlendi (Şekil 2.2). Eklemenin ardından ısıtma kapatılarak

çözeltinin oda sıcaklığına gelene kadar karışması sağlandı. 16 nm boyutlu altın nanoparçacıklar elde edildi (Chai ve diğ. 2009).

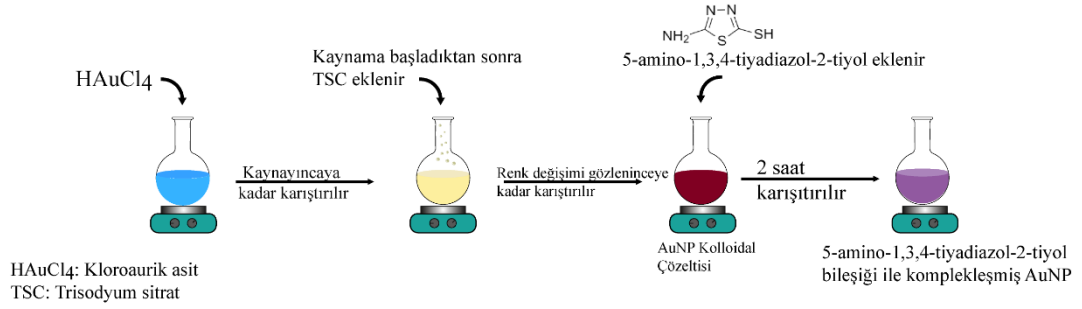


Şekil 2.2: CA-AuNP kimyasal sentezi.

2.5 Nanoparçacıkların 5-Amino-1,3,4-Tiyadiazol-2-Tiyol Bileşiği ile Fonksiyonelleştirilmesi

2.5.1 5-Amino-1,3,4-Tiyadiazol-2-Tiyol Bileşiğinin Sitrat Kaplı Altın Nanoparçacıklar ile Bağlanması

10 ml, 0,02 μ M 5-amino-1,3,4-tiyadiazol-2-tiyol çözeltisi hazırlandı. Daha önce 250 ml hacminde sentezlenen CA-AuNP kolloidal çözeltisinden 10 ml alınarak cam behere aktarıldı. Beher manyetik karıştırıcı üzerine yerleştirildi. Şekil 2.3'te gösterildiği üzere kolloidal nanoparçacık çözeltisine, 5-amino-1,3,4-tiyadiazol-2-tiyol çözeltisinden 200 μ l eklendi. Ekleme miktarları daha önceki çalışmalardan elde edilen literatür verileri esas alınarak yapıldı. Yaklaşık 2 saat karışmaya bırakıldı. 2 saatin sonunda karışım renginin şarap kırmızısından mavi-mora döndüğü gözlemlendi. (Zhou ve diğ. 2014).



Şekil 2.3: 5-Amino-1,3,4-Tiyadiazol-2-Tiyol bileşiği ile CA-AuNP'nin bağlanması.

2.5.2 5-Amino-1,3,4-Tiyadiazol-2-Tiyol Bileşiği ile pH Kontrollü Sitrat Kaplı Altın Nanoparçacıkların Bağlanması

Daha önce 250 ml hacminde sentezlenen CA-AuNP kolloidal çözeltisinden 10 ml alınarak 10,000 rpm hızla 20 dakika tekrar santrifüjlendi. Santrifüjden sonra çökelti mikropipet kullanılarak toplandı. Çökelti ultra saf su yerine 10 ml pH 7,4 fosfat tamponuyla karıştırılarak cam behere aktarıldı.

Beher içindeki fosfat tamponlu altın nanoparçacıkların üzerine hazırlanan 10 ml 0,02 μ M 5-amino-1,3,4-tiyadiazol-2-tiyol çözeltisinden 200 μ l eklendi. 2 saat karışmaya bırakıldı. 2 saatin sonunda renk mavi-mor olarak gözlemlendi.

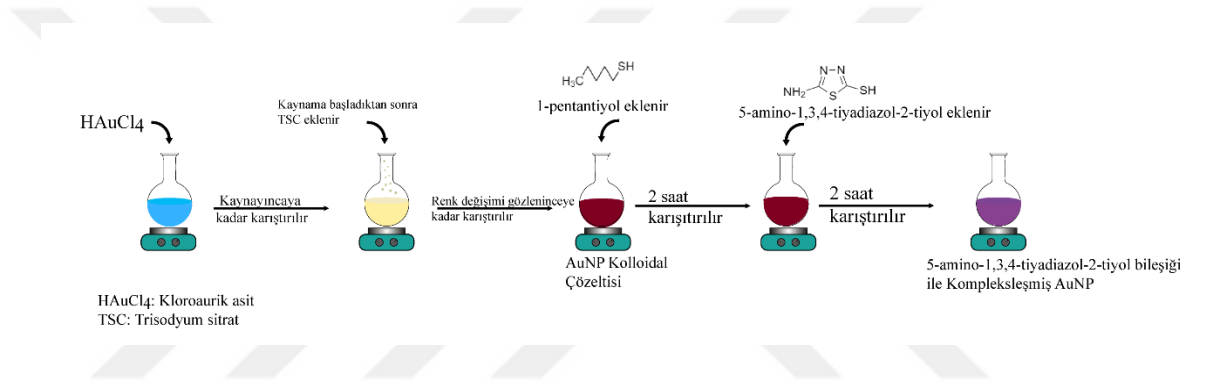
pH tamponu hazırlamak için 1,1g (8 mmol) NaH₂PO₄·H₂O (sodyum dihidrojenfosfat monohidrat) ile 1,43g (4 mmol) Na₂HPO₄·12H₂O (disodyum hidrojenfosfat dodekahidrat) bir şişe içine eklenerek son hacim 100 ml'ye tamamlandı.

2.5.3 5-Amino-1,3,4-Tiyadiazol-2-Tiyol Bileşiğinin Sitrat Kaplı Altın Nanoparçacıklar ile Bağlanmasında 1-Pentanetiyol Bileşiğinin Ara Basamak Olarak Kullanılması

10 ml 0,02 μ M 1-pentandiyol çözeltisi hazırlandı. Daha önce 250 ml hacminde sentezlenen CA-AuNP kolloidal çözeltisinden 10 ml alınarak cam behere

konuldu. Üzerine 10 ml 0,02 μM 1-pentandiyol çözeltisinden 200 μl eklendi. 2 saat karıştırılmaya bırakıldı. 2 saatin sonunda renk şarap kırmızıydı. Oluşan karışım 10,000 rpm hızla 20 dakika santrifüjlendi. Çöken kısım mikropipet kullanılarak toplandı ve 10 ml ultra saf su ile karıştırılarak tekrar cam behere kondu. Üzerine 10 ml 0,02 μM 5-amino-1,3,4-tiyadiazol-2-tiyol çözeltisinden 200 μl eklendi. 2 saat daha karışmaya bırakıldı. 2 saatin sonunda renk mavi-mor olarak gözlemlendi (Şekil 2.4).

Aynı işlem 1-pentandiol bağlı AuNP'ler santrifüjledikten sonra mikropipet kullanılarak toplanan çökeltiyi 10 ml pH 7,4 fosfat tamponuyla karıştırılacak şekilde tekrar edildi. Parçacıkların rengi yine mavi-mor olarak gözlemlendi.



Şekil 2.4: 5-Amino-1,3,4-Tiyadiazol-2-Tiyol bileşiği ile 1-pentantiyol stabilize AuNP'lerin bağlanması.

2.5.4 5-Amino-1,3,4-Tiyadiazol-2-Tiyol Bileşiğinin 30 nm Sitrat Kaplı Gümüş Nanoparçacıklar ile Bağlanması

30 nm CA-AgNP sentezi için; NaBH₄ (1 M) ve TSC (3,55 M) çözeltisi 100 ml balon joje içerisinde hazırlanıp bu çözelti cam behere eklendi. Son hacmin 90 ml olması için beherden cam pipet yardımıyla 10 ml çekilip atıldı. Cam beher manyetik karıştırıcı üstüne yerleştirildi. Manyetik karıştırıcı sıcaklığı 60°C'ye ayarlandı. Karışımın sıcaklığı 60°C'ye çıktığında sıcaklık değerinin korunmasına dikkat edilerek 30 dakika karıştırıldı. Süre sonunda hazırlanan 10 ml 4 M gümüş nitrat (AgNO₃) çözeltisinin tamamı karanlıkta damla damla eklendi. Ekleme sonunda sıcaklık 90°C'ye çıkarıldı. Sıcaklığın 90 °C'de sabit tutulmasına özen gösterilerek karışımın pH değerini 10,5 yapabilmek için hazırlanan 25 ml 0,1 M NaOH

çözeltisinden 8 ml cam behere eklendi. 20 dakika daha aynı sıcaklıkta karıştırıldı. 20 dakikanın sonunda yeşil renkli AgNP kolloidal çözeltisi elde edildi. Çözelti soğumaya bırakıldı. Oda sıcaklığına geldikten sonra 10,000 rpm hızla 20 dakika boyunca santrifüjlendi.

Çökelti mikropipet kullanılarak toplandı ve eppendorf tüpüne aktarıldı. Çökelti eppendorf içine alınırken bir kısmı 10 ml ultra saf su bir kısmı 10 ml pH 7,4 fosfat tamponuyla karıştırıldı.

Ayrı ayrı muhafaza edilen 30 nm CA-AgNP'ler iki ayrı cam behere aktarıldı. İki cam beherin de üzerine 10 ml 0,02 μ M 5-amino-1,3,4-tiyadiazol-2-tiyol çözeltisinden 200 μ l eklendi. İki beherde de nanoparçacıkların rengi mavi-mor olarak gözlemlendi.

2.6 Altın ve Gümüş Nanoparçacıkların Karakterizasyonu

Sentezlenen nanoparçacıkların karakterizasyonu için ultraviyole ve görünür ışık (UV-Vis) absorpsiyon spektroskopisi (Shimadzu UV-Visible Spectrophotometer) kullanıldı. Nanoparçacıkların yüzey ve ince yapılarının ayrıntılı olarak yüksek çözünürlük ve kontrastta görüntülenmesi için geçirimli elektron mikroskopu (FEI Tecnai G2 Spirit BioTwin CTEM Mikroskop) kullanıldı.

2.7 Nanoparçacıkların Ağır Metallerle İncelenmesi

2.7.1 Gümüş Nanoparçacıkların Ağır Metallerle İncelenmesi

Sentezlenen her bir 7 nm CA-AgNP'nin kolorimetrik nanosensör olarak kullanılabilmesi için ağır metallerle renk değişimine bakıldı. Her bir metal tuzundan (KCl, NaCl, HgCl₂, FeSO₄.7H₂O, MgSO₄.7H₂O, Cu(NO₃)₂.3H₂O, CrN₃O₉.9H₂O, Pb(NO₃)₂, Co(NO₃)₂.6H₂O, (CH₃COO)₂Cd.2H₂O, CaCl₂.2H₂O, Ni(NO₃)₂.6H₂O, Zn(NO₃)₂.6H₂O, BaCl₂.2H₂O, ve MnSO₄.4H₂O) 20 μ M konsantrasyonunda hazırlandı.

Renk değişimi eppendorf tüplerine 1:1 oranında (nanoparçacık:metal iyonu) eklenerek bakıldı. Sentezlenen 7 nm boyutunda 3 farklı gümüş nanoparçacık için aynı işlem uygulandı. Her üç gümüş nanoparçacık için krom(III) nitrat nonahidrat($\text{CrN}_3\text{O}_9 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$):nanoparçacık oranı sabit tutularak ve krom(III) nitrat nonahidrat($\text{CrN}_3\text{O}_9 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) konsantrasyonu 500 nM ve 100 μM arasında değiştirilerek tekrarlandı. UV-Visible absorpsiyon spektrumlarının incelenmesi için eppendorf tüplerine 1:1 oranında (nanoparçacık:metal iyonu) eklendi. Isıl işlem uygulanan nanoparçacık için herhangi bir inkübasyon süresi uygulanmazken ısıl işlem olmadan sentezlenen parçacıklar için 5 dakikalık inkübasyon süresi uygulandı.

2.7.2 5-Amino-1,3,4-Tiyadiazol-2-Tiyol Bileşiği ile Fonksiyonelleştirilen AuNP'lerin Ağır Metallerle İncelenmesi

Her bir ağır metal tuzundan (KCl, NaCl, HgCl_2 , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $\text{CrN}_3\text{O}_9 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, ve $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 20 μM konsantrasyonunda hazırlandı. Eppendorf tüplerine 1:1 oranında (nanoparçacık:metal iyonu) eklenerek renk değişimi incelendi.

2.8 Gümüş Nanoparçacıkların Gerçek  rneklerle İncelenmesi

7 nm ısıl işlem kullanılarak sentezlenen nanoparçacık (AgNP3) için gerçek örnek taramalarına bakıldı. Gerçek  rnek olarak içme suyu ve deniz suyu kullanıldı. Gerçek  rnek analizleri ekleme öncesi ve ekleme sonrası olarak test edildi. Geri alım hesaplamaları yapıldı. Ekleme miktarı konsantrasyon sonucu elde edilen lineer grafiğe göre belirlendi. Ölçümler 1 ml gerçek örnek içine 20 μm Cr^{3+} eklenerek gerçekleştirildi. Daha sonra UV-Vis spektroskopik görüntüleme için eppendorf tüplerine 1:1 oranında (nanoparçacık:metal iyonu) eklendi. Herhangi bir inkübasyon süresi uygulanmadan ölçüm sonuçları elde edildi.

2.9 Kağıt Tabanlı Biyosensör Basımı

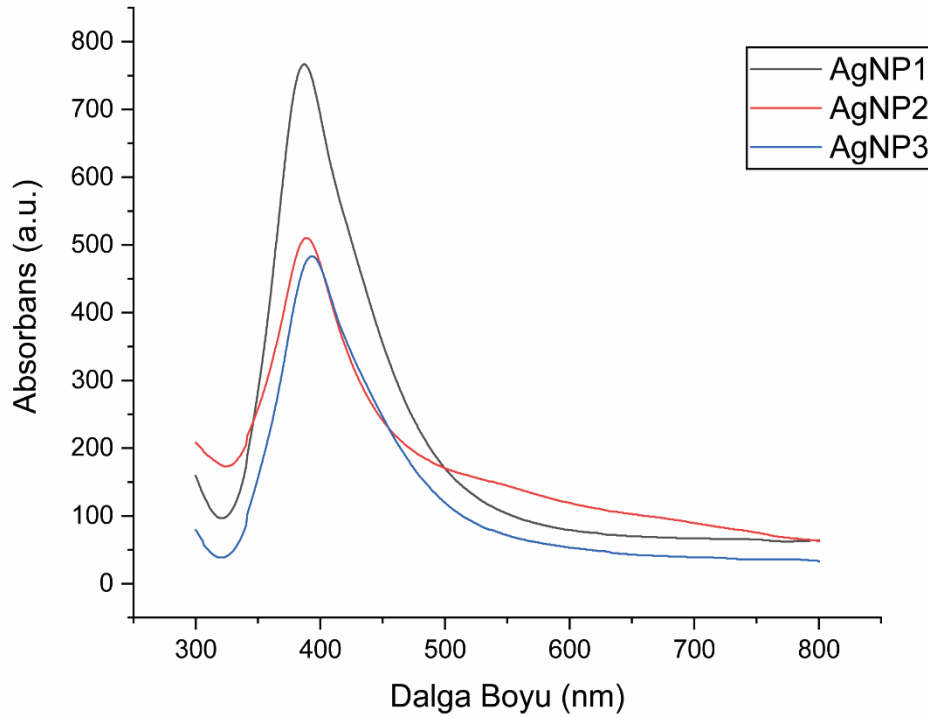
Kağıt tabanlı biyosensör basımı için 7 nm gümüş nanoparçacıklardan ısıtma işlemi varlığında daha önce bahsedilen şekilde 3 litre sentezlendi. Sentezlenen nanoparçacıklar 10.000 rpm 20 dakika santrifüjlendi. Çöken kısım toplandı. Çökelti ultra saf su yerine mürekkep baskılı yazıcıya yüklenmek üzere baskı karışımıyla karıştırıldı. Baskı karışımını hazırlamak için %69 su, %20 gliserol, %10 1,2-hekzandiyol ve %1 trietanolamin 100 ml beher içerisine eklendi (Bihar ve diğ. 2018). Biyosensör üretimi için piezoelektrik uçlu Epson L1210 tanklı mürekkep püskürtmeli yazıcı kullanıldı. Elde edilen nanoparçacık-baskı karışımı yazıcıya yüklenerek Adobe Illustrator programında hazırlanan şablon üzerine yazdırıldı. Elde edilen kağıt tabanlı kolorimetrik sensör ultra saf su, 20 μM Cr^{3+} ve 20 mM Cr^{3+} konsantrasyonlarında test edildi.

3. BULGULAR

3.1 Sitrat Kaplı Gümüş Nanoparçacıkların Karakterizasyonu

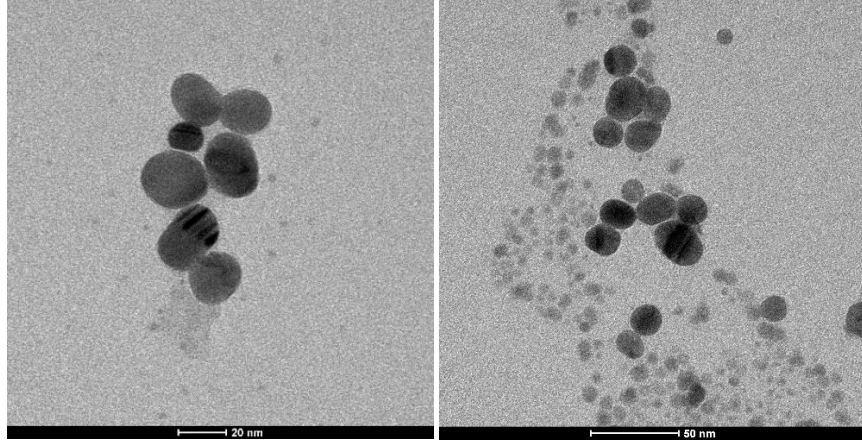
Gümüş nanoparçacıkların karakterizasyonunda kolorimetrik değişimler ve UV-Vis absorptans ölçümleri esas alındı. Şekil 3.1’de AgNP1 ve AgNP2 için maksimum absorpsiyon değeri literatürdeki değerle uyumlu olarak 392 nm olarak gözlemlendi. (Elavarasi ve diğ. 2014). AgNP3 için maksimum absorpsiyon değeri literatürdeki veriyle uyumlu olarak 396 nm olarak gözlemlendi (Agnihotri ve diğ. 2014).

Bu absorpsiyon bandı 7 nm boyutlarındaki gümüş nanoparçacıkların lokalize yüzey plazmon rezonans (LSPR) özellikleriyle açıklandı.

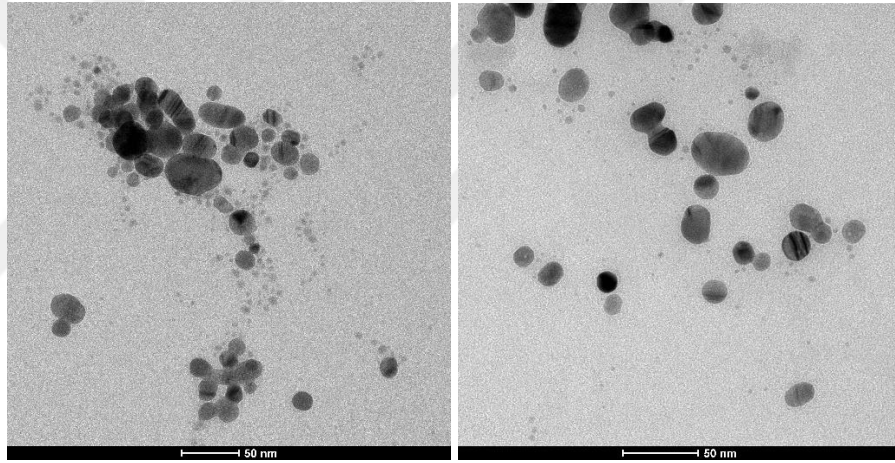


Şekil 3.1: AgNP1, AgNP2 ve AgNP3’ün UV-Vis absorpsiyon spektrumları.

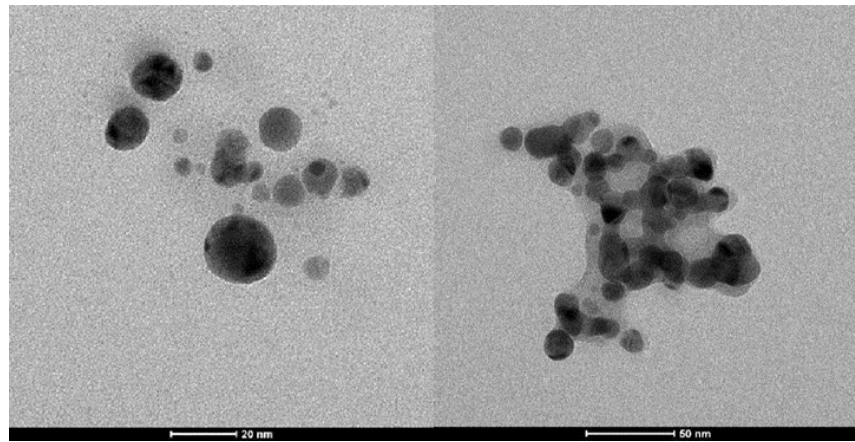
Her üç nanoparçacığın Uv-Vis absorpsiyon spektrumlarının yanı sıra yüzey ve ince yapılarının ayrıntılı olarak belirlenmesi için TEM görüntüleri de incelendi.



Şekil 3.2: AgNP1'in TEM görüntüsü.



Şekil 3.3: AgNP2'nin TEM görüntüsü.



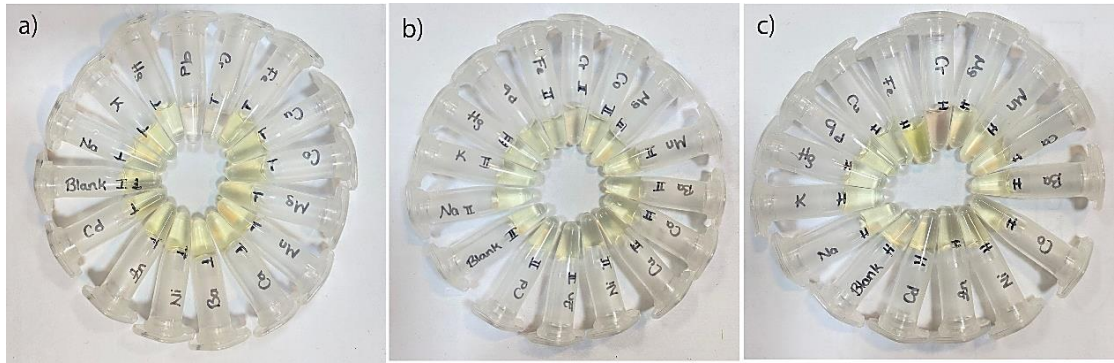
Şekil 3.4: AgNP3'ün TEM görüntüsü.

TEM görüntüleri incelendiğinde diğer nanoparçacıklara göre AgNP3 koloidal çözeltisinde boyut dağılımının 7 nm ağırlıklı olduğu görülmektedir. Homojen bir boyut dağılımı ısıtma işleminin varlığı ile açıklanmaktadır.

3.2 Sitrat Kaplı Gümüş Nanoparçacıklar ile Ağır Metal İyonlarının Kolorimetrik Tayini

Sentezlenen her bir gümüş nanoparçacığın ağır metallerle renk değişimine bakıldı. Her bir metal tuzundan 20 μ M konsantrasyonunda hazırlandı. Renk değişimi eppendorf tüplerine 1:1 oranında nanoparçacık:metal iyonu eklenerek bakıldı. Eppendorf tüplerine öncelikle seyreltilmiş nanoparçacık çözeltisinden 50 μ l koyuldu. Seyreltme miktarları UV-Vis spektrometresinde ölçülen absorbans değerleri esas alınarak yapıldı. Ardından sırasıyla 50 μ l olacak şekilde saf su ve Na^+ , K^+ , Hg^{2+} , Pb^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Fe^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , ve Zn^{2+} iyonları eklendi.

Sentezlenen üç nanoparçacık için aynı işlem uygulandı. Gümüş nanoparçacıkların Şekil 3.5 ve Şekil 3.6'da görüldüğü gibi Cr^{3+} iyonunda diğer metallerden farklı bir kolorimetrik yanıt verdiği gözlemlendi. AgNP1 ve AgNP2 için kolorimetrik yanıt süresinin uzun olduğu görüldü. AgNP3 ise metal tuzlarını ekledikten birkaç dakika sonra kolorimetrik yanıt göstermekteydi.



Şekil 3.5: 7 nm CA-AgNP'lerin metal tuzlarıyla kolorimetrik tayini.

a) AgNP1 b) AgNP2 c) AgNP3

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Ağır metal sıralaması		AgNP1			AgNP2			AgNP3			
A	Kör	Mg ²⁺	●	●	○	●	●	○	●	●	○	○
B	Na ⁺	Cu ²⁺	●	●	○	●	●	○	●	●	○	○
C	K ⁺	Mn ²⁺	●	●	○	●	●	○	●	●	○	○
D	Hg ²⁺	Ni ²⁺	●	●	○	●	●	○	●	●	○	○
E	Pb ²⁺	Ca ⁺	●	●	○	●	●	○	●	●	○	○
F	Co ²⁺	Ba ²⁺	●	●	○	●	●	○	●	●	○	○
G	Fe ²⁺	Zn ²⁺	●	●	○	●	●	○	●	●	○	○
H	Cr ³⁺	Cd ²⁺	●	●	○	●	●	○	●	●	○	○

Şekil 3.6: AgNP1, AgNP2 ve AgNP3 için renk değişiminin 96'lık plaka üzerinde şematik gösterimi.

3.3 Sitrat Kaplı Gümüş Nanoparçacıklar ile Cr³⁺ İyonunun Kolorimetrik Tayini

Metal tuzlarıyla etkileşimlerinden yola çıkılarak her üç nanoparçacık için farklı Cr³⁺ konsantrasyonlarında verdikleri kolorimetrik yanıt incelendi. Her üç gümüş nanoparçacık için krom(III) nitrat nonahidrat (CrN₃O₉.9H₂O) konsantrasyonu 20 µM ile 100 µM ve 500 nm ile 50 µM arasında değiştirilerek tekrarlandı. Bu işlem için, hazırlanan her bir konsantrasyondan 150 µl olacak şekilde eppendorf tüplerine eklendi. Üzerine seyreltilmiş nanoparçacık çözeltisinden 150 µl eklendi.

Öncelikle her üç parçacık için 20 µM - 50 µM - 100 µM - 200 µM - 500 µM olarak belirlenen Cr³⁺ konsantrasyonları varlığında göstermiş olduğu cevaba bakıldı. AgNP3 için kolorimetrik olarak gözle görülebilme sınırı 20 µM değerine kadar düşmekte, AgNP1 ve AgNP2 için bu sınır 100 µM konsantrasyonuna çıkmaktadır. Karşılaştırmalı bu incelemede ısıtma işleminin nanoparçacığın kolorimetrik cevabını etkilediği görülmektedir.

Aynı çalışma bir gün sonra yeniden tekrarlandı. AgNP3'ün gösterdiği kolorimetrik yanıt değişmedi. AgNP1 ve AgNP2 için kolorimetrik cevap bir önceki günden farklı olarak 200 μ M konsantrasyonunda gözlemlendi. Isıtma işleminin kolorimetrik cevabı iyileştirmesinin yanı sıra nanoparçacığın stabilizasyonunu büyük ölçüde artırdığı sonucuna ulaşıldı.

AgNP3; AgNP1 ve AgNP2'ye göre daha düşük Cr^{3+} konsantrasyonlarında bile gözle görülür bir kolorimetrik yanıt verdiği için, UV-Vis absorpsiyon spektrumlarına bakıldı. Bu konsantrasyonlar 0.5 μ M - 1 μ M - 2 μ M - 5 μ M - 10 μ M - 20 μ M - 50 μ M - 100 μ M olarak belirlendi. Bu uygulamada nanoparçacık-metal etkileşimi sonucu AgNP3 için kolorimetrik olarak gözle görülebilme sınırının 2 μ M değerine kadar düştüğü görüldü. AgNP3'ün kolorimetrik sensör sistemlerinde kullanılmak üzere duyarlılığının yüksek olduğu sonucuna ulaşıldı (Şekil 3.7).



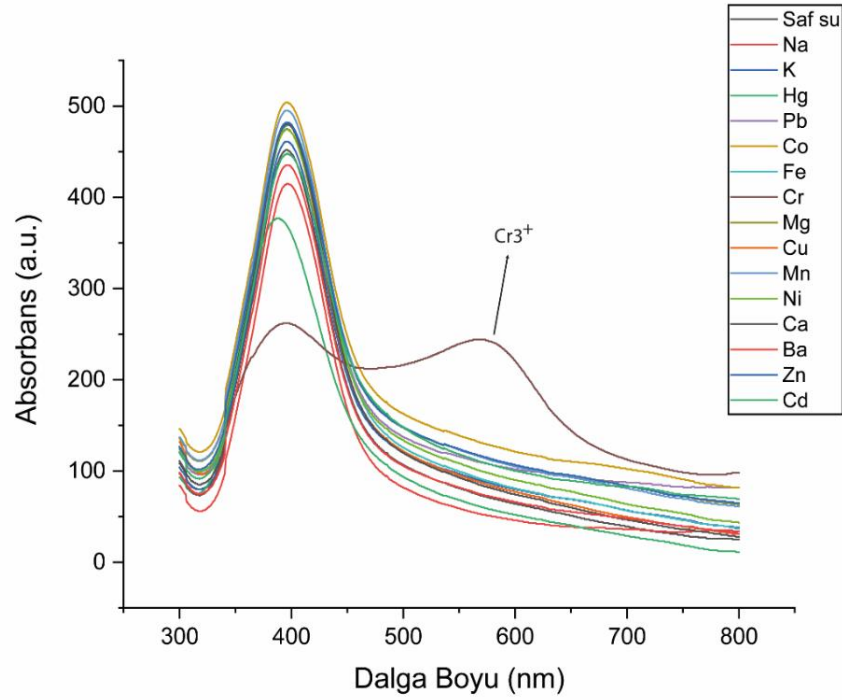
Şekil 3.7: 7 nm CA-AgNP'lerin farklı Cr^{3+} konsantrasyonlarına kolorimetrik cevabı.

a) AgNP1 b) AgNP2 c) AgNP3

3.4 Sitrat Kaplı Gümüş Nanoparçacıkların Metal Etkileşimlerinin UV-Vis Spektrumlarının İncelenmesi

Daha önceki çalışmalarda AgNP3'ün duyarlılığının daha yüksek olduğu görüldü. Metal iyonlarının AgNP3 ile etkileşimlerinin UV-Vis absorpsiyon spektrumu Şekil 3.8'de gösterilmektedir. AgNP3 diğer metal iyonlarıyla etkileştiğinde 390 nm ile 400 nm arasında tek pik vermekteydi, Cr^{3+} iyonu ile etkileşiminin UV-Vis spektrumuna bakıldığında çift pik verdiği gözlemlendi. Bu sonuca göre 562 nm'de yani spektrumun kırmızı bölgesinde görülen ikinci pikin Cr^{3+} iyonunun kendisinden kaynaklandığı ortaya koyuldu.

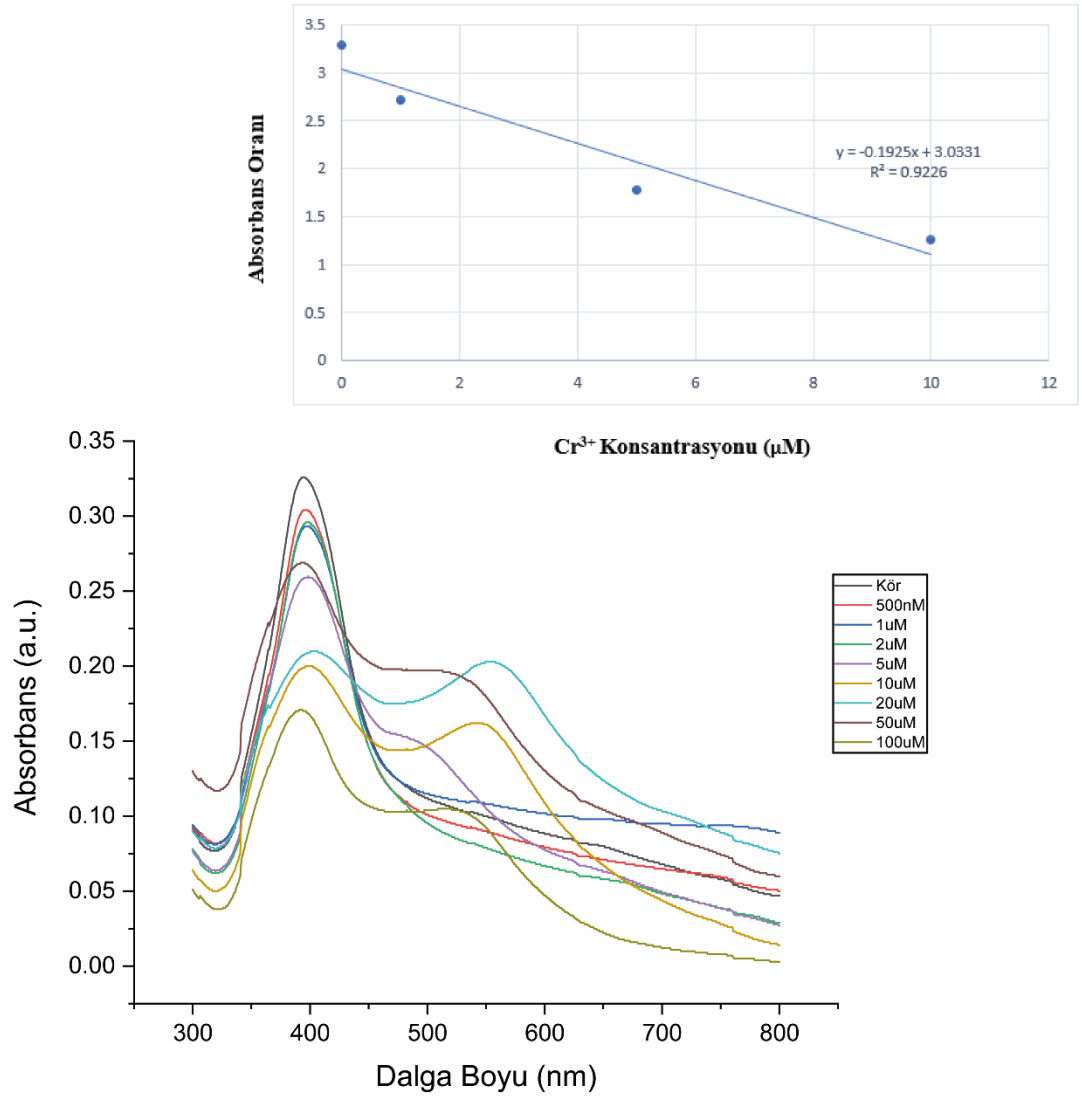
AgNP3 için, belirli bir krom konsantrasyon değerine kadar spektrum tek pik olarak gözlemlendi. Belirli bir konsantrasyon değerinden sonra kırmızı bölgede başka bir pik daha görüldü. Bu durum Cr^{3+} iyonunun varlığına bağlandı. Çünkü Cr^{3+} konsantrasyonunun küçük olduğu değerlerde tek pik, Cr^{3+} yoğunluğunun arttığı ve gözle görülür bir kolorimetrik cevabın olduğu konsantrasyon değerlerinde çift pik görülmekteydi.



Şekil 3.8: AgNP3'ün metal iyonlarıyla etkileşiminin UV-Vis absorpsiyon spektrumu.

3.5 Cr^{3+} Tespitinin Duyarlılığının Belirlenmesi

Cr^{3+} tespitinin duyarlılığı için AgNP3 kullanıldı. Renk değişiminin gözle görülebildiği nispeten yüksek krom konsantrasyonlarından itibaren kırmızı bölgede ikinci bir pik görülmektedir. Konsantrasyonlar arasındaki doğrusal ilişki iki pik arasındaki oran esas alınarak yapıldı.

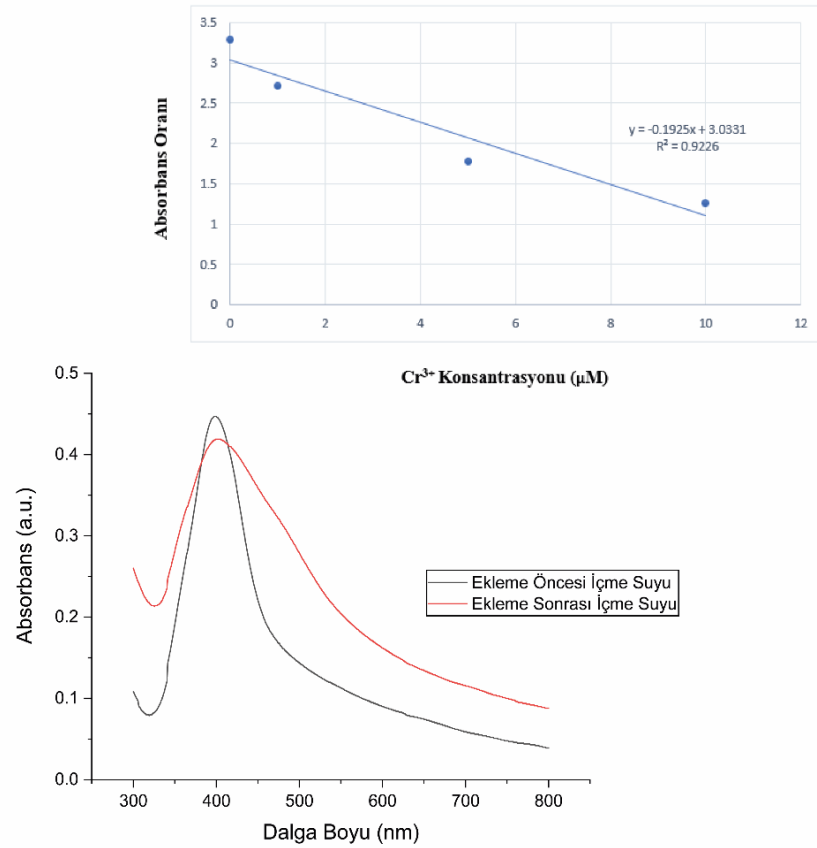


Şekil 3.9: AgNP3' n farklı Cr^{3+} konsantrasyonlarında UV-Vis absorpsiyon spektrumu.

AgNP3 için incelenen Cr^{3+} konsantrasyonlarda (0.5 M ile 100 M) lineer bir yanıt verdiği ve Cr^{3+} konsantrasyonları ile gümüş nanopar ac  n (AgNP3) absorbansı arasında doğrusal bir ilişki ($y = -0.1925x + 3.0331$, $R^2 = 0.9226$) olduğu gözlendi ( ekil 3.9).

3.6 Sitrat Kaplı Gümüş Nanoparçacıkların Gerçek Örneklerle Etkileşimi

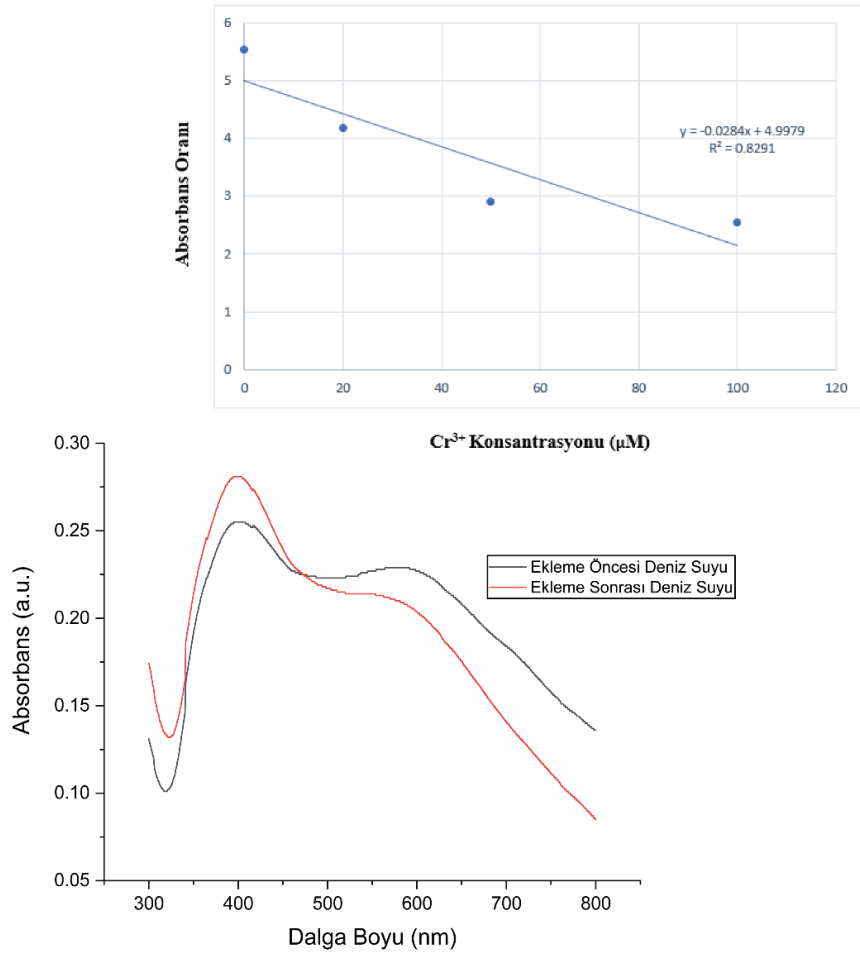
Cr^{3+} iyonu ile spesifik ve yüksek duyarlılıkta kolorimetrik cevap veren AgNP3 için 5 adet gerçek örnekte (içme suyu, mineral suyu, atık suyu, deniz suyu ve içme suyu) analizler yapıldı. Gerçek örnek analizleri ekleme öncesi ve ekleme sonrası olarak test edildi. Geri alım hesaplamaları yapıldı. Ekleme miktarları elde edilen lineer kalibrasyon eğrisine göre belirlendi. Ölçümler 1 ml içine 20 μM Cr^{3+} eklenerek gerçekleştirildi. Deniz suyu ve içme suyunda geri alım değerleri yüzdesel olarak yüksek bulundu. İçme suyu karmaşık iyon kompleksleri içermediğinden tek bir absorbans piki gösterdiği varsayıldı. Bunun yanı sıra krom eklendikten sonra absorbans pikindeki azalma beklenildiği gibiydi (Şekil 3.10).



Şekil 3.10: AgNP3'ün içme suyuyla analizinin UV-Vis absorpsiyon spektrumu.

Deniz suyu içme suyuna göre daha fazla karmaşık iyon kompleksleri içermektedir. Bu durum deniz suyunda birçok farklı organizmanın varlığına

bağlanmaktadır. Bu sebeple deniz suyu, içme suyundan farklı olarak spektrumda çift pik vermektedir. Ekleme sonrası maksimum absorpsiyon değerinin, ekleme öncesine göre daha düşük olduğu Şekil 3.11’de görülmektedir. Bu spektrumda absorpsiyon değerleri arasındaki azalma değil, görülen iki tepe noktasının birbiriyle oranı önemlidir.



Şekil 3.11: AgNP3’ün deniz suyuyla analizinin UV-Vis absorpsiyon spektrumu.

Bu sonuçlar doğrultusunda içme ve deniz suyu için öncelikle UV-Vis spektrumunda görülen her bir pikin ayrı ayrı kırmızı bölgedeki en yüksek absorbans değeri mavi bölgedeki en yüksek absorbans değerine bölündü. Ekleme öncesi ve sonrası için ayrı ayrı bulunan oran değerleri görülen lineer kalibrasyon eğrilerinde y yerine yazılarak x değerleri bulundu. Ekleme öncesi ve sonrası için bulunan x

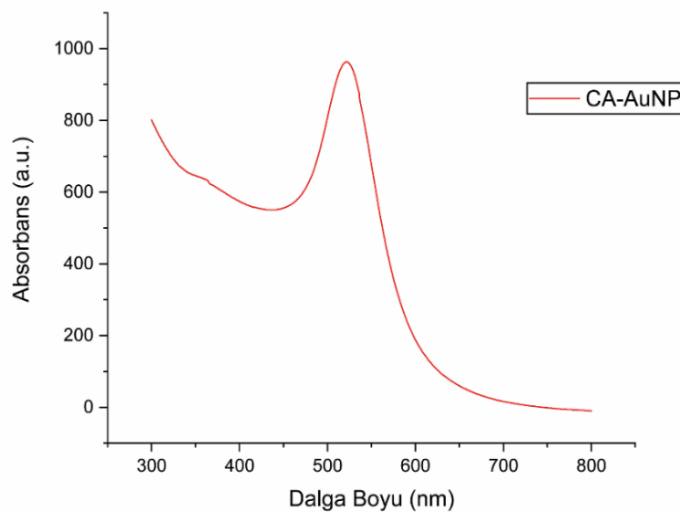
değerleri arasındaki fark mutlak değer içinde alınarak geri alım değerleri yüzdesel olarak hesaplandı (Tablo 3.1).

Tablo 3.1: Gerçek örneklerin geri alım hesaplamaları.

GERÇEK ÖRNEKLER	EKLENEN MİKTAR	BULUNAN MİKTAR	GERİ ALIM(%)
İçme Suyu	20 µM	21.3 µM	106.3184 ± 2.378161 (n=3)
Deniz Suyu	20 µM	18.2 µM	90.97246 ± 1.453167 (n=3)

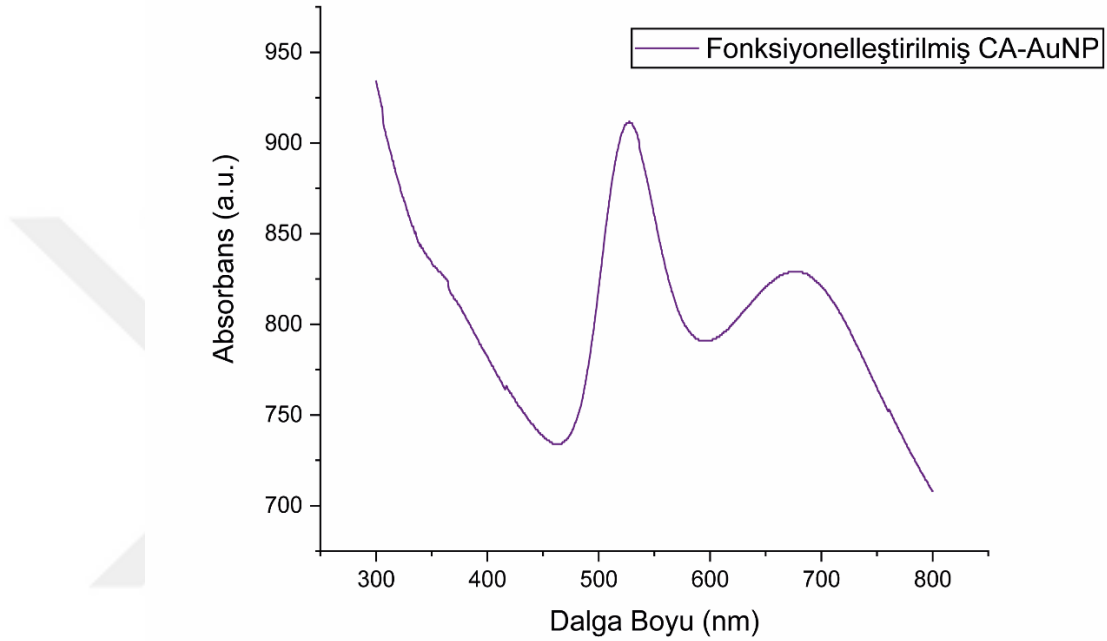
3.7 5-Amino-1,3,4-Tiyadiazol-2-Tiyol ile Fonksiyonelleştirilmiş Sitrat Kaplı Altın Nanoparçacıkların Karakterizasyonu

Sitrat kaplı altın nanoparçacıklar Şekil 3.12’de görüldüğü gibi 518 nanometrede maksimum absorbans piki vermektedir. Bu veri daha önceki çalışmalarda ortaya koyulan literatür verileriyle uyumludur (Chai ve diğ. 2009).



Şekil 3.12: Sitrat kaplı altın nanoparçacıkların Uv-Vis absorpsiyon spektrumu.

5-amino-1,3,4-tiyadiazol-2-tiyol bileşiği ile bağlandığında ise sitrat kaplı altın nanoparçacıkların kendi spektrumundan farklı olarak 670 nanometrede yani kırmızı bölgede ikinci bir pikin varlığı gözlemlendi (Şekil 3.13). CA-AuNP'lerin şarap kırmızı renginin parçacıkların agregasyon eğilimi göstermesi sonucu mavi-mora dönmesi ikinci pikin varlığıyla açıklanmaktadır.

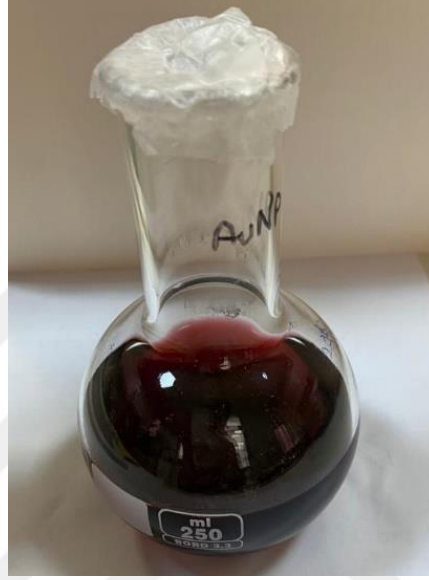


Şekil 3.13: 5-Amino-1,3,4-Tiyadiazol-2-Tiyol ile fonksiyonelleştirilmiş sitrat kaplı altın nanoparçacıkların Uv-Vis absorpsiyon spektrumu.

3.8 5-Amino-1,3,4-Tiyadiazol-2-Tiyol ile Fonksiyonelleştirilmiş Sitrat Kaplı Altın Nanoparçacıkların Ağır Metal İyonlarıyla Kolorimetrik Tayini

Sentezlenen sitrat kaplı altın nanoparçacığının ağır metaller varlığıyla renk değişimi incelendi. Her bir metal tuzundan 20 μ M konsantrasyonunda hazırlandı. Renk değişimi eppendorf tüplerine 1:1 oranında nanoparçacık:metal iyonu seyreltilerek bakıldı. Eppendorf tüplerine öncelikle seyreltilmiş nanoparçacık çözeltisinden 50 μ l koyuldu. Ardından sırasıyla 50 μ l olacak şekilde saf su ve Na^+ , K^+ , Hg^{2+} , Pb^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Fe^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , ve Zn^{2+}

iyonları eklendi. Kolloidal CA-AgNP çözeltisi Şekil 3.14'te gösterildiği gibi şarap kırmızı renktedir. 5-amino-1,3,4-tiyadiazol-2-tiyol ile bağlandığında sitrat kaplı altın nanoparçacıklar agregasyona uğrayarak mavi-mor renge dönmektedir. Agregasyona uğrayan nanoparçacıklar üzerine belirtilen oranlarda metal tuzu eklendiğinde fonksiyonelleştirilmiş CA-AuNP'lerin spesifik bir yanıt vermediği Şekil 3.15'te gösterilmektedir.



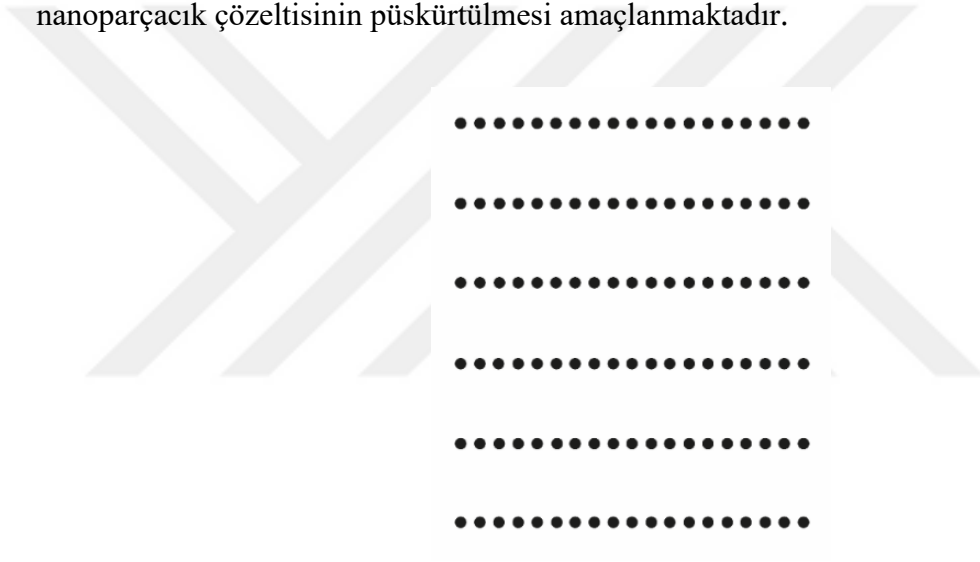
Şekil 3.14: CA-AuNP kolloidal çözeltisi.



Şekil 3.15: 5-Amino-1,3,4-Tiyadiazol-2-Tiyol ile fonksiyonelleştirilmiş sitrat kaplı altın nanoparçacıkların metal tuzlarıyla kolorimetrik yanıtı.

3.9 Nanoparçacık İçeren Kağıt Tabanlı Kolorimetrik Sensör Çalışmaları

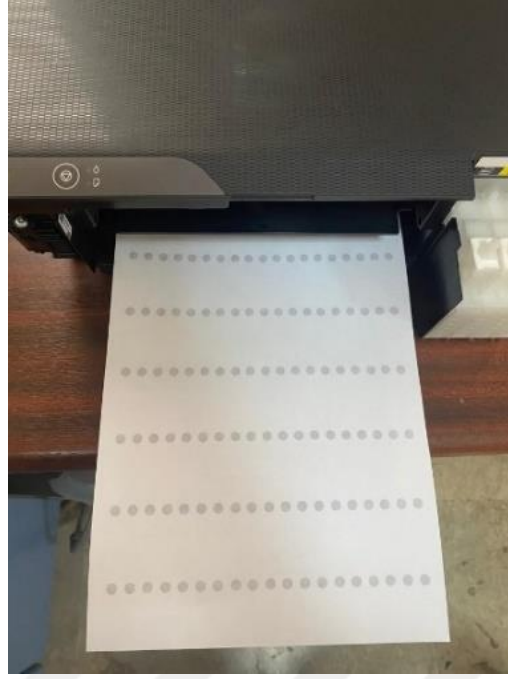
Kağıt tabanlı kolorimetrik sensör sistemi üretmek için kolorimetrik cevabın duyarlılığı esas alındı. AgNP3 düşük Cr^{3+} konsantrasyonlarında güçlü kolorimetrik yanıt verdiği için bu nanoparçacık tercih edildi. Sentezlenen nanoparçacık hazırlanan baskı karışımıyla karıştırılarak piezoelektrik uçlu Epson L1210 tanklı mürekkep püskürtmeli yazıcıya yüklendi. Normalde yazıcının çalışma prensibi yazıcıya mürekkep yüklenmesine dayanmaktadır. Bu çalışmada mürekkep yerine nanoparçacık çözeltisi yüklenmektedir. Şekil 3.16'da gösterilen biyosensör şablonu yazıcı yardımıyla yazdırılarak şablon üzerinde gösterilen koyu renkli noktalara nanoparçacık çözeltisinin püskürtülmesi amaçlanmaktadır.



Şekil 3.16: Biyosensör şablonu.

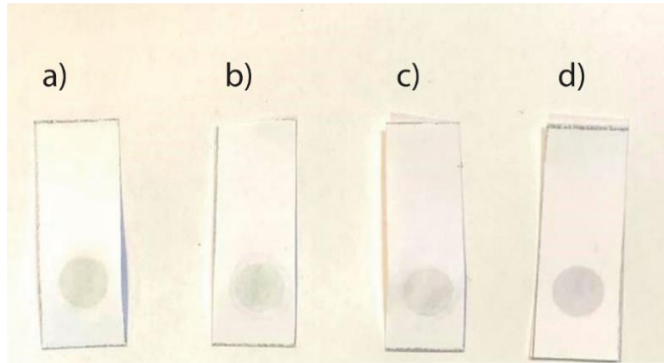
Ayrıca 7 nm sitrat kaplı gümüş nanoparçacıkların kolloidal çözeltisi sarı renktedir. Çalışma kapsamında mürekkep kadar koyu bir renk elde edebilmek için yüksek miktarlarda sentez gerektiği görüldü. Bunun için sitrat kaplı gümüş nanoparçacık kolloidal çözeltisinden 3 litre sentezlendi. Nanoparçacık çözeltisi mürekkep kadar koyu bir renk pigmentine sahip olamadığından baskı kalitesi düşmekte ve şablon birkaç kez yazdırılmak durumunda kalınmaktaydı.

Şekil 3.17'de görülen sitrat kaplı gümüş nanoparçacık içeren kağıt tabanlı kolorimetrik sensör sistemi 5. yazdırmadan sonra koyu rengine ulaşmaktadır.



Şekil 3.17: Sitrat kaplı gümüş nanoparçacık içeren kağıt tabanlı kolorimetrik sensör sistemi.

Tasarlanan sensör sistemi için Şekil 3.18’de gösterilen duyarlılık çalışmaları yapıldı. Sistem ultra saf su, $20\ \mu\text{M}$ Cr^{3+} ve $20\ \text{mM}$ Cr^{3+} konsantrasyonlarında test edildi. Gözlenen kolorimetrik değişiklik daha önce eppendorf tüplerinde test edilen kadar belirgin değildi.



Şekil 3.18: Sensör sisteminin farklı Cr^{3+} konsantrasyonlarında incelenmesi.

a) $20\ \text{mM}$ Cr^{3+} b) $20\ \mu\text{M}$ Cr^{3+} c) saf su d) kör

4. TARTIŞMA

Tez kapsamında sitrat kaplı gümüş nanoparçacıkların boyut kontrolünün sağlanmasında sıcaklığın önemine değinilmiştir. Isıtma işlemi varlığında ya da ısıtma işlemi olmadan sentezlenen CA-AgNP'ler Cr^{3+} iyonuna yüksek özgülük gösterdiği ancak duyarlılıkları sentez yöntemine bağlı olarak değiştiği gözlenmektedir. Yapılmış çalışmalar sıcaklığın kolloidal süspansiyonların kararlılığı ve duyarlılığı üzerinde olumlu bir etkisi olduğunu göstermektedir (Jiang ve diğ. 2011). Nanoparçacıkların dispersiyon kinetiklerinin pH, sıcaklık, iyonik güç ve organik maddelerin varlığı gibi çevresel faktörlere de bağlı olduğu görülmektedir.

Yapılmış çalışmalarda metal etkileşimlerinin kantitatif incelenmesi yapılmış olsa da kalitatif bir inceleme söz konusu değildir. Tez çalışmasında her üç gümüş nanoparçacığının farklı metal tuzlarıyla etkileşim kinetiklerinin hem kolorimetrik olarak incelenmesi hem de elde edilen kolorimetrik değişikliklerin UV-Vis absorpsiyon spektrumlarının incelenmesi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar karşılaştırılmalı olarak incelenmiş ve farklılıkların sebepleri açıklanmıştır. Karşılaştırmalı incelemenin daha önceki çalışmalarda belirtilmemiş olması tez çalışması ön plana çıkarmaktadır.

7 nm gibi küçük parçacık boyutu seçilmesinin sebebi yüksek yüzey alanına ve gümüş iyonu salınımını kolaylaştıran çok sayıda reaktif bölgeye sahip olmasıdır. Kolorimetrik değişikliklerin sebebi metal nanoparçacıkların LSPR özelliğinden kaynaklanmaktadır. Nanoparçacıklar boyut ve şeklinin bir sonucu olarak farklı dalga boyunda ışınları absorplamaktadır. Boyut kontrolü farklı kimyasallarla kontrol sağlanmaktadır. Nanoparçacıklar London-van der Waals gibi çeşitli etkileşimler vasıtasıyla birleşme eğilimindedirler. Nanoparçacıklar agregasyona uğradığında yüzey bölgelerine erişim azalır ve bu durum reaktivite kaybına neden olmaktadır (Shrestha ve diğ. 2020). Parçacıklar arasındaki mesafenin azalması plazmon alanları arasında güçlü bir örtüşmeye yol açarak LSPR bandında kırmızıya kaymaya, yoğunlukta bir artışa ve NP çözeltisinde gözlemlenebilir bir renk değişikliğine sebep olmaktadır. Küçük boyutlu nanoparçacıkların sentezi ve agregasyonunun önlenmesinin zor olduğu görülmektedir. Çünkü partikül çapının azalmasıyla yüzeyde

daha fazla atom yüzdesi bulunur, atom yüzdesinin artması elektrik çift katmanında yük azalmasına yol açarak agregasyonu tetiklemektedir. Parçacıklar arası mesafe azaldıkça sırasıyla AuNP'ler için kırmızıdan maviye; AgNP'ler için sarıdan kahverengiye doğru bir renk değişimi görülmektedir.

Sitrat kaplı altın nanoparçacıkların(CA-AuNP) fonksiyonelleştirilmesinde kullanılan 5-amino-1,3,4-tiyadiazol-2-tiyol bileşiği ise daha önce herhangi bir biyosensör çalışmasında ve nanoparçacıklara bağlamada kullanılmamıştır. Yapısında elektron çekici ve itici grupların varlığı nanoparçacığın yük yoğunluğunu değiştirerek kolloidal çözeltinin görünümünü etkilemektedir.

Bu çalışma taşınabilir, pratik ve herkes tarafından kullanılabilen analitik tespit sisteminin gerekliliğinin önemini vurgulamaktadır. Oluşturulması hedeflenen biyosensörün diğer analitik metotlarla kıyaslandığında üstünlükleri olduğunu söylemek mümkündür. Tasarlanan kağıt tabanlı kolorimetrik biyosensör sistemi çevre dostudur. Kağıt alt tabakasının gözenekliliği biyolojik biriktirilmesi için gereken yüzey alanını artırır. Maliyetin düşürülmesi geliştirmekte olan ülkelerin de biyosensör sistemini kullanabilmesine olanak tanımaktadır. Kolloidal çözeltisi koyu renkler veren daha büyük nanoparçacık boyutunda sistemin daha verimli çalışacağı sonucuna ulaşmak mümkündür. Gelecekteki çalışmalarda da biyosensör sistemlerinde nanoparçacıkların kullanılması sinyal/gürültü oranını iyileştirmeye yardımcı olacaktır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Analitik metotlar örneğin sentezlenmesi, karakterizasyonu ve elde edilen bilginin yorumlanması aşamalarına dayanmaktadır. Elde edilen bilginin işlenmesi ve yorumlanması iyi bir bilgi birikiminin yanı sıra yüksek maliyetli cihazlar gerektirmektedir (Qi ve diğ. 2018). Tez çalışması kapsamında kağıdın gözenekli yapısı kullanılarak tasarlanan biyosensör maliyeti düşürmeye yöneliktir. Nanoparçacık tabanlı kolorimetrik biyosensörler çeşitli kimyasal mekanizmalardan yararlanan hızlı ve kullanıcı dostu tespit yaklaşımlarıdır. Tez çalışmasında altın ve gümüş gibi metalik nanoparçacıklar hem görünür ışık hem de ultraviyole ışık dahil olmak üzere güneş ışığı spektrumun geniş bir aralığında yüksek optik emilimleri nedeniyle tercih edildi. Elde edilen canlı renkler ışık emilimini doğrudan etkileyen nanoparçacıkların boyut ve şeklinin bir sonucudur (Guo, 2012).

Sentez yönteminin nanoparçacığın etkileşim mekanizmasını nasıl etkilediği aydınlatılmaya çalışıldı. Öncelikle ısı işlem varlığında ve ısı işlem olmadan iki farklı yöntemle monodispers 7 nm sitrat kaplı gümüş nanoparçacıklar sentezlendi. UV-Vis absorpsiyon spektroskopisi ile karakterizasyon gerçekleştirildiğinde AgNP3 için maksimum absorbans değeri 396 nm, AgNP1 ve AgNP2 olarak adlandırılan iki farklı nanoparçacık için maksimum absorbans değeri 392 nm olarak gözlemlendi. 30 nm boyutlu CA-AgNP için maksimum absorbans değeri ise 411 nm olarak belirlendi. Değerlerin daha önceki çalışmalarda gözlenen verilerle uyumlu olduğu görüldü. Absorbans değerlerini değişmesi kolloidal çözeltilerde gözle görülür renk değişimi ile sonuçlandı. NP - ışık etkileşimi sonucu hem nanoparçacık yüzeyinde yüksek enerjili elektron konsantrasyonu artmakta hem de güçlü bir elektrik alan ortaya çıkmaktadır. Nanoparçacıklar spektrumun görünür bölgesinde aralıklı olduklarında, toplanma durumlarından daha farklı renkler vermektedir (Lv ve diğ. 2022).

Absorpsiyon spektrumlarına bakıldığında 7 nm boyutlu AgNP'ler için sentez yönteminin dalga boyunda ciddi bir farklılığa yol açmadığı, ısı işlem olmadan da monodispers küçük boyutlu nanoparçacıkların elde edilebileceği sonucuna ulaşıldı. Ancak ısı işlem olmadan sentezlenen parçacıkların birkaç gün içinde agregasyona uğradığı ve rengin sarıdan kahverengiye kaydığı görüldü. Nanoparçacıkların

koloidal çözeltilerinin TEM görüntüleri incelendiğinde ise AgNP3'ün daha homojen ve 7 nm ağırlıklı bir parçacıklardan oluştuğu görüldü. Buna göre ısıtma işlemi, nanoparçacığın stabilizasyonu artırıp kısa sürede agregasyona uğrama ihtimalini düşürmekte ve homojen bir boyut dağılımı sağlamaktadır.

Sentezlenen nanoparçacıklar kağıt tabanlı kolorimetrik biyosensör sisteminde kullanılmak üzere 1:1 oranında metal tuzlarıyla etkileşime sokuldu. Sentez tekniği gözetmeksizin 7 nm CA-AgNP'lerin, Cr^{3+} iyonu ile etkileştiğinde diğer metal tuzlarından farklı olarak pembe bir renk verdiği gözlemlendi. Metal atomlarının yük yoğunluğunun değişmesi metal-nanoparçacık etkileşimi sonucu gözlenen farklı renklerin sebebidir. Metal atomları valans bandında yüksek sayıda elektron içerirler ve metal-metal etkileşimi sırasında elektronlar kristal yapı boyunca yer değiştirmektedir (García, 2011).

Nanoparçacıkların duyarlılıklarının belirlenmesi için farklı Cr^{3+} konsantrasyonlarında kolorimetrik cevaplarına bakıldı. AgNP3 için, ısıtma işlemi olmadan sentezlenen nanoparçacıklara göre daha düşük konsantrasyonlarda daha güçlü kolorimetrik değişiklikler gösterdiği sonucuna ulaşıldı. Sentez tekniği nanoparçacığın metal ile etkileşimini büyük ölçüde etkilemektedir. Isıtma işleminin varlığı parçacığın duyarlılığı artırarak daha küçük krom konsantrasyonlarında bile kolorimetrik yanıt gözlenmesini sağlamaktadır.

Tez kapsamında 5-amino-1,3,4-tiyadiazol-2-tiyol bileşiği ile fonksiyonelleştirilmiş nanoparçacıklar sentezlendi. 5-amino-1,3,4-tiyadiazol-2-tiyol bileşiğinin yapısında tiyadiazol grubu bulunmaktadır. Tiyadiazol $C_2H_2N_2S$ formülüne sahip beş üyeli heterosiklik bir organik bileşiktir. Yapısında elektron verici ($-C=N$), elektron çekici ($-S$) grubu vardır. Bu yüzden kimyasal reaksiyonlara karşı reaktiftir (Drapak 2019).

Fonksiyonelleştirme sırasında 30 nm CA-AgNP ve CA-AuNP kullanıldı. Nanoparçacıkların yüzeyi sitrik asitin konjuge bazı olan trisodyum sitrat (TSC) ile kaplandı. 5-amino-1,3,4-tiyadiazol-2-tiyol bileşiği direk sitrat kaplı nanoparçacıklarla bağlanmaya çalışıldığında agregasyona uğramaktaydı. Bunun için ilk olarak nanoparçacıklar sentezlendikten sonra fosfat tamponunda muhafaza edildi. Tampon eklenmesindeki amaç sentez sırasında sodyum hidroksit (NaOH) eklendiğindeki

amaçla aynı doğrultudadır. Amaç nanoparçacıkların sabit pH değerinde muhafaza edilmesini sağlamaktır. Ancak fosfat tamponu eklendiği anda beklenen değişiklik gözlemlenmedi. Nanoparçacıkların rengi mavi-mora döndü. Fosfat tamponundaki sodyumun varlığı agregasyona sebep olmaktadır. Aktif bir bileşen olan fosfat tamponun çok değerlikli katyonları bağladığı ve çökmesine sebep olduğu görüldü.

CA-AuNP'lerin stabilizasyonlarını artırmak ve sentez sırasında birleşme eğilimlerini ortadan kaldırmak için 1-pentantiyol bileşiği nanoparçacığa bağlandı. Sentez sırasında stabilize edici ajan olarak kullanılan TSC ile nanoparçacık arasında elektrostatik bir etkileşim bulunmaktadır. Sitrat kaplı altın nanoparçacıkların yüzeyinde sitratla 1-pentantiyol arasında yer değiştirme meydana gelmektedir. Kovalent bağlarla kükürt bağlanmasıyla nanoparçacığın daha kararlı hale gelmesi amaçlanmaktadır. 1-pentantiyol stabilize AuNP'lere 5-amino-1,3,4-tiyadiazol-2-tiyol bileşiği bağlandığında nanoparçacıkların rengini koruyamadığı ve agregasyona uğradığı görülmektedir. Bu durum nanoparçacığın UV-Vis absorpsiyon spektrumunda kırmızı bölgede ikinci bir pik varlığına sebep olmaktadır. Tiyol varlığında nanoparçacıkların stabilizasyonun arttığı düşünüldüğünde 5-amino-1,3,4-tiyadiazol-2-tiyol bileşiğindeki tiyadiazol ve amino gruplarının varlığı bu stabilizasyonu bozmaktadır ve boyut kontrolünü zorlaştırmaktadır.

Bu çalışmada ifade edildiği üzere, nanoparçacıklar komşu partiküller arasında itici bir bariyer oluşturan kararlı, homojen dağılımlı kolloidal süspansiyonun oluşmasını sağlayan trisodyum sitrat gibi yüklü moleküller ile elektronik olarak stabilize edilmektedir. Boyut kontrolü için sitrat/metal iyonu(Ag^{+1} , Au^{3+}) oranı oldukça önemlidir. Düşük sitrat konsantrasyonlarında parçacığın yüzeyindeki sitrat kaplaması eksik olduğu için agregasyon meydana gelmektedir. 7 nm sitrat kaplı gümüş nanoparçacıkların 30 nm boyutundakilere göre daha kısa süre içinde agregasyona uğraması ve işlevini kaybetmesi bununla açıklanabilir.

Sitrat kaplı nanoparçacık yüzeyi yer değiştirme reaksiyonu sonucu farklı fonksiyonel gruplarla bağlandığında kararlılıkları değişmektedir. Kaplama maddesi moleküllerinin partikül yüzeyine adsorpsiyonu; stabilizatör moleküllerinin yoğunluğuna, partikül yüzeyinin yük yoğunluğuna, polaritesine, iyonik bileşim ve iyonik güç gibi çözelti koşullarına bağlıdır. Çözeltinin iyonik gücünün artması sonucu elektrik çift tabakası sıkışır ve itici bariyer azalır ve sonuç olarak

nanoparçacıklar monodispers bir dağılım gösterememektedir. Nanoparçacıkların dispersiyon kinetikleri pH, sıcaklık, iyonik güç ve organik maddelerin varlığı gibi çevresel faktörlere de bağlıdır (Mody ve diğ. 2010).

Mürekkep püskürtmeli baskı mikron boyutundaki bir açıklıktan piko litre hacmindeki sıvıyı tanımlanmış bir alt tabaka üzerine püskürtmek için elektrikli aktüatörlerin kullanımına dayanmaktadır. Bu basit sistem kontaminasyonu en aza indirmektedir (Maejima ve diğ. 2013). Tez çalışmasında kullanılan nanoparçacığın rengi baskı kalitesini düşürmektedir. Bu durum AgNP3'ün Cr^{3+} ile etkileştiğinde gösterdiği pembe rengi, kağıt üzerine püskürtüldüğünde gösterememesine neden olmaktadır. Bu sebeple daha belirgin baskı kalitesi elde etmek için piezoelektrik uç tercih edilmektedir. Kağıdın kullanımı laboratuvar ölçeğinde maliyeti yarı yarıya düşürmektedir. Ucuzluk, yerel olarak üretilebilirlik, hafiflik gibi özelliklerinin yanı sıra biyolojik olarak parçalanabilir ve geri dönüştürülebilir olması kağıdı ideal sürdürülebilir bir malzeme haline getirir (Mahato ve diğ. 2017).

6. KAYNAKÇA

Abou El-Nour, K. M., Eftaiha, A. A., Al-Warthan, A. and Ammar, R. A., Synthesis and applications of silver nanoparticles. *Arabian journal of chemistry*, 3(3), 135-140, (2010).

Agarwal, S. K., *Heavy metal pollution*, Vol. 4 : APH publishing, (2009).

Agnihotri, S., Mukherji, S. and Mukherji, S., Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5–100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy. *Rsc Advances*, 4(8), 3974-3983, (2014).

Alberti, G., Zanoni, C., Magnaghi, L. R. and Biesuz, R., Disposable and low-cost colorimetric sensors for environmental analysis. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(22), 8331, (2020).

Alberti, G., Zanoni, C., Magnaghi, L. R. and Biesuz, R., Gold and silver nanoparticle-based colorimetric sensors: New trends and applications. *Chemosensors*, 9(11), 305, (2021).

Alex, S. and Tiwari, A., Functionalized gold nanoparticles: synthesis, properties and applications—a review. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 15(3), 1869-1894, (2015).

Banerjee, K., Das, S., Choudhury, P., Ghosh, S., Baral, R. and Choudhuri, S. K., A novel approach of synthesizing and evaluating the anticancer potential of silver oxide nanoparticles in vitro. *Chemotherapy*, 62(5), 279-289, (2017).

Barnes, W. L., Dereux, A. and Ebbesen, T. W., Surface plasmon subwavelength optics. *nature*, 424(6950), 824-830, (2003).

Bartlett, R. J., Chromium cycling in soils and water: links, gaps, and methods. *Environmental Health Perspectives*, 92, 17-24, (1991).

Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M. and Rizzolio, F., The history of nanoscience and nanotechnology: from chemical–physical applications to nanomedicine. *Molecules*, 25(1), 112, (2019).

Beyene, H. D., Werkneh, A. A., Bezabh, H. K. and Ambaye, T. G., Synthesis paradigm and applications of silver nanoparticles (AgNPs), a review. *Sustainable materials and technologies*, 13, 18-23, (2017).

Bihar, E., Wustoni, S., Pappa, A. M., Salama, K. N., Baran, D. and Inal, S., A fully inkjet-printed disposable glucose sensor on paper. *npj Flexible Electronics*, 2(1), 30, (2018).

Boehm, R. D., Miller, P. R., Daniels, J., Stafslie, S. and Narayan, R. J., Inkjet printing for pharmaceutical applications. *Materials Today*, 17(5), 247-252, (2014).

Chai, F., Wang, C., Wang, T., Ma, Z. and Su, Z., L-cysteine functionalized gold nanoparticles for the colorimetric detection of Hg^{2+} induced by ultraviolet light. *Nanotechnology*, 21(2), 025501, (2009).

Choi, J. R., Hu, J., Tang, R., Gong, Y., Feng, S., Ren, H., Wen, T., Li, X., Abas, W. A. B. W., Pingguan-Murphy, B. and Xu, F., An integrated paper-based sample-to-answer biosensor for nucleic acid testing at the point of care. *Lab on a Chip*, 16(3), 611-621, (2016).

Cinti, S., Cusenza, R., Moscone, D. and Arduini, F., based synthesis of Prussian Blue Nanoparticles for the development of whole blood glucose electrochemical biosensor, *Talanta*, 187, 59-64, (2018).

Cristea, C., Florea, A., Tertiş, M. and Săndulescu, R., Immunosensors. In *Biosensors-micro and nanoscale applications* : IntechOpen, (2015).

Dai, N. and Kool, E. T., Fluorescent DNA-based enzyme sensors. *Chemical Society Reviews*, 40(12), 5756-5770, (2011).

Damborský, P., Švitel, J. and Katrlík, J., Optical biosensors. *Essays in biochemistry*, 60(1), 91-100, (2016).

Das, M., Shim, K. H., An, S. S. A. and Yi, D. K., Review on gold nanoparticles and their applications. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 3, 193-205, (2011).

Drapak, I. V., Synthesis, diuretic activity research and QSAR-analysis of N-(1,3,4-tiadiazol-2-il) substituted amides of alkanecarboxylic acids. *Farmatsevtichnyi zhurnal*, (2), 55-65, (2019).

Dreaden, E. C., Alkilany, A. M., Huang, X., Murphy, C. J. and El-Sayed, M. A., The golden age: gold nanoparticles for biomedicine. *Chemical Society Reviews*, 41(7), 2740-2779, (2012).

Du, Y. and Dong, S., Nucleic acid biosensors: recent advances and perspectives. *Analytical chemistry*, 89(1), 189-215, (2017).

Duruibe, J. O., Ogwuegbu, M. O. C. and Egwurugwu, J. N., Heavy metal pollution and human biotoxic effects. *International Journal of physical sciences*, 2(5), 112-118, (2007).

Dotaniya, M. L., Thakur, J. K., Meena, V. D., Jajoria, D. K. and Rathor, G., Chromium pollution: a threat to environment-a review. *Agricultural Reviews*, 35(2), 153-157, (2014).

Elavarasi, M., Rajeshwari, A., Alex, S. A., Kumar, D. N., Chandrasekaran, N. and Mukherjee, A., Simple colorimetric sensor for Cr (III) and Cr (VI) speciation using silver nanoparticles as a probe. *Analytical Methods*, 6(14), 5161-5167, (2014).

García, M. A., Surface plasmons in metallic nanoparticles: fundamentals and applications. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 44(28), 283001, (2011).

Gartia, M. R., Hsiao, A., Pokhriyal, A., Seo, S., Kulsharova, G., Cunningham, B. T., Bond, T.C. and Liu, G. L., Colorimetric plasmon resonance imaging using nano lycurgus cup arrays. *Advanced Optical Materials*, 1(1), 68-76, (2013).

Giljohann, D. A., Seferos, D. S., Daniel, W. L., Massich, M. D., Patel, P. C. and Mirkin, C. A., Gold nanoparticles for biology and medicine. *Angewandte Chemie International Edition*, 49(19), 3280-3294, (2010).

Gracias, D. H., Tien, J., Breen, T. L., Hsu, C. and Whitesides, G. M., Forming electrical networks in three dimensions by self-assembly. *science*, 289(5482), 1170-1172, (2000).

Grieshaber, D., MacKenzie, R., Vörös, J. and Reimhult, E., Electrochemical biosensors-sensor principles and architectures. *Sensors*, 8(3), 1400-1458, (2008).

Guo, X., Surface plasmon resonance based biosensor technique: a review. *Journal of biophotonics*, 5(7), 483-501, (2012).

Haygarth, P. M. and Jarvis, S. C. (Eds.), *Agriculture, hydrology, and water quality* (p. 502). Wallingford : CABI, (2002).

He, W., Huang, X., Ma, X. and Zhang, J., Significant temperature effect on the LSPR properties of noble metal nanoparticles. *Journal of Optics*, 51(1), 142-153, (2022).

Helm, I., Jalukse, L. and Leito, I., Measurement uncertainty estimation in amperometric sensors: A tutorial review. *Sensors*, 10(5), 4430-4455, (2010).

Holland, H. D., Lollar, B. S. and Turekian, K. K. (Eds.), *Environmental geochemistry*, Vol. 9 : Elsevier, (2005).

Hulla, J. E., Sahu, S. C. and Hayes, A. W., Nanotechnology: History and future. *Human & experimental toxicology*, 34(12), 1318-1321, (2015).

Jackson, J. D., *Classical electrodynamics*, (1999).

Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B. B. and Beeregowda, K. N., Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary toxicology*, 7(2), 60, (2014).

Jamkhande, P. G., Ghule, N. W., Bamer, A. H. and Kalaskar, M. G., Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications. *Journal of drug delivery science and technology*, 53, 101174, (2019).

Jana, J., Ganguly, M. and Pal, T., Enlightening surface plasmon resonance effect of metal nanoparticles for practical spectroscopic application. *RSC advances*, 6(89), 86174-86211, (2016).

Jiang, H., Chen, Z., Cao, H. and Huang, Y., Peroxidase-like activity of chitosan stabilized silver nanoparticles for visual and colorimetric detection of glucose. *Analyst*, 137(23), 5560-5564, (2012).

Jiang, X. C., Chen, W. M., Chen, C. Y., Xiong, S. X. and Yu, A. B., Role of temperature in the growth of silver nanoparticles through a synergetic reduction approach. *Nanoscale Res Lett*, 6, 1-9, (2011).

Joseph, L., Jun, B. M., Flora, J. R., Park, C. M. and Yoon, Y., Removal of heavy metals from water sources in the developing world using low-cost materials: A review. *Chemosphere*, 229, 142-159, (2019).

Khan, A. K., Rashid, R., Murtaza, G. and Zahra, A. J. T. R., Gold nanoparticles: synthesis and applications in drug delivery. *Tropical journal of pharmaceutical research*, 13(7), 1169-1177, (2014).

Lambert, M., Leven, B. A. and Green, R. M., New methods of cleaning up heavy metal in soils and water. *Environmental science and technology briefs for citizens*, 7(4), 133-63, (2000).

Li, J., Rossignol, F. and Macdonald, J., Inkjet printing for biosensor fabrication: combining chemistry and technology for advanced manufacturing. *Lab on a Chip*, 15(12), 2538-2558, (2015).

Liu, L., Zhang, X., Yang, L., Ren, L., Wang, D. and Ye, J., Metal nanoparticles induced photocatalysis. *National Science Review*, 4(5), 761-780, (2017).

Loo, S. W. and Pui, T. S., Cytokine and cancer biomarkers detection: the dawn of electrochemical paper-based biosensor. *Sensors*, 20(7), 1854, (2020).

Louis, C. and Pluchery, O. (Eds.), *Gold nanoparticles for physics, chemistry and biology* : World Scientific, (2017).

Lv, S., Du, Y., Wu, F., Cai, Y. and Zhou, T., Review on LSPR assisted photocatalysis: effects of physical fields and opportunities in multifield decoupling. *Nanoscale Advances*, 4(12), 2608-2631, (2022).

Maejima, K., Tomikawa, S., Suzuki, K. and Citterio, D., Inkjet printing: an integrated and green chemical approach to microfluidic paper-based analytical devices. *RSC advances*, 3(24), 9258-9263, (2013).

Mahato, K., Srivastava, A. and Chandra, P., Paper based diagnostics for personalized health care: Emerging technologies and commercial aspects. *Biosensors and Bioelectronics*, 96, 246-259, (2017).

Mahurpawar, M., Effects of heavy metals on human health. *Int J Res Granthaalayah*, 530, 1-7, (2015).

Martin, M. H., *Biological monitoring of heavy metal pollution: land and air* : Springer Science & Business Media, (2012).

Mertz, W., Chromium in human nutrition: a review. *The Journal of nutrition*, 123(4), 626-633, (1993).

Mody, V. V., Siwale, R., Singh, A. and Mody, H. R., Introduction to metallic nanoparticles. *Journal of Pharmacy and bioallied sciences*, 2(4), 282, (2010).

Mohanty, S. P. and Kougianos, E., Biosensors: A tutorial review. *Ieee Potentials*, 25(2), 35-40, (2006).

Momodu, M. A. and Anyakora, C. A., Heavy metal contamination of ground water: The Surulere case study. *Res J Environ Earth Sci*, 2(1), 39-43, (2010).

Moura, D., Souza, M. T., Liverani, L., Rella, G., Luz, G. M., Mano, J. F. and Boccaccini, A. R., Development of a bioactive glass-polymer composite for wound healing applications. *Materials Science and Engineering: C*, 76, 224-232, (2017).

Mughal, S. S., Role of silver nanoparticles in colorimetric detection of biomolecules. *Authorea Preprints*, (2022).

Mulfinger, L., Solomon, S. D., Bahadory, M., Jeyarajasingam, A. V., Rutkowsky, S. A. and Boritz, C., Synthesis and study of silver nanoparticles. *Journal of chemical education*, 84(2), 322, (2007).

Nakamura, H., Shimomura-Shimizu, M. and Karube, I., Development of microbial sensors and their application. *Biosensing for the 21st Century*, 351-394, (2008).

Napagoda, M., Jayathunga, D. and Witharana, S., Introduction to nanotechnology. In *Nanotechnology in Modern Medicine*, Singapore: Springer Nature, 1-17, (2020).

Narayanan, R. and El-Sayed, M. A., Shape-dependent catalytic activity of platinum nanoparticles in colloidal solution. *Nano letters*, 4(7), 1343-1348, (2004).

Natsuki, J., Natsuki, T. and Hashimoto, Y., A review of silver nanoparticles: synthesis methods, properties and applications. *Int. J. Mater. Sci. Appl*, 4(5), 325-332, (2015).

Nowack, B., Krug, H. F. and Height, M., 120 years of nanosilver history: implications for policy makers, (2011).

Piliarik, M. and Homola, J., Surface plasmon resonance (SPR) sensors: approaching their limits?, *Optics express*, 17(19), 16505-16517, (2009).

Qi, M., Tu, C., Dai, Y., Wang, W., Wang, A. and Chen, J., A simple colorimetric analytical assay using gold nanoparticles for specific detection of tetracycline in environmental water samples. *Analytical Methods*, 10(27), 3402-3407, (2018).

Rafique, M., Tahir, M. B., Rafique, M. S. and Hamza, M., History and fundamentals of nanoscience and nanotechnology. In *Nanotechnology and photocatalysis for environmental applications*, Elsevier, 1-25, (2020).

Ravindran, A., Chandran, P. and Khan, S. S., Biofunctionalized silver nanoparticles: advances and prospects. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 105, 342-352, (2013).

Ray, S. and Ray, M. K., Bioremediation of heavy metal toxicity-with special reference to chromium. *Al Ameen J Med Sci*, 2(2), 57-63, (2009).

Rycenga, M., Cobley, C. M., Zeng, J., Li, W., Moran, C. H., Zhang, Q., Qin D. and Xia Y., Controlling the synthesis and assembly of silver nanostructures for plasmonic applications. *Chemical reviews*, 111(6), 3669-3712, (2011).

Sabela, M., Balme, S., Bechelany, M., Janot, J. M. and Bisetty, K., A review of gold and silver nanoparticle-based colorimetric sensing assays. *Advanced Engineering Materials*, 19(12), 1700270, (2017).

Saha, K., Agasti, S. S., Kim, C., Li, X. and Rotello, V. M., Gold nanoparticles in chemical and biological sensing. *Chemical reviews*, 112(5), 2739-2779, (2012).

Sankhla, M. S., Kumari, M., Nandan, M., Kumar, R. and Agrawal, P., Heavy metals contamination in water and their hazardous effect on human health-a review. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci* (2016), 5(10), 759-766, (2016).

Saurina, J., López-Aviles, E., Le Moal, A. and Hernández-Cassou, S., Determination of calcium and total hardness in natural waters using a potentiometric sensor array. *Analytica Chimica Acta*, 464(1), 89-98, (2002).

Schasfoort, R. B. (Ed.), *Handbook of surface plasmon resonance*. Royal Society of Chemistry, (2017).

Scheller, F. and Schubert, F., *Biosensors*: Elsevier, (1991).

Schröfel, A., Kratošová, G., Šafařík, I., Šafaříková, M., Raška, I. and Shor, L. M., Applications of biosynthesized metallic nanoparticles—a review. *Acta biomaterialia*, 10(10), 4023-4042, (2014).

Shaikh, S. F., Mane, R. S., Min, B. K., Hwang, Y. J. and Joo, O. S., D-sorbitol-induced phase control of TiO₂ nanoparticles and its application for dye-sensitized solar cells. *Scientific reports*, 6(1), 20103, (2016).

Sharma, R. K. and Agrawal, M., Biological effects of heavy metals: an overview. *Journal of environmental Biology*, 26(2), 301-313, (2005).

Sharma, S. K. (Ed.), *Heavy metals in water: presence, removal and safety*. Royal Society of Chemistry, (2014).

Sharon, M. (Ed.), *History of nanotechnology: from prehistoric to modern times* : John Wiley & Sons, (2019).

Shen, Y., Tran, T. T., Modha, S., Tsutsui, H. and Mulchandani, A., A paper-based chemiresistive biosensor employing single-walled carbon nanotubes for low-cost, point-of-care detection. *Biosensors and Bioelectronics*, 130, 367-373, (2019).

Shrestha, S., Wang, B. and Dutta, P., Nanoparticle processing: Understanding and controlling aggregation. *Advances in Colloid and Interface Science*, 279, 102162, (2020).

Singh, J. and Kalamdhad, A. S., Effects of heavy metals on soil, plants, human health and aquatic life. *Int J Res Chem Environ*, 1(2), 15-21, (2011).

Sukhanov, D. A., Damask steel–unalloyed carbide class steel. *Metallurgist*, 58(1-2), 149-153, (2014).

Spivey, J., Metal nanoparticles for catalysis: advances and applications, (2014).

Stanglmair, C., Scheeler, S. P. and Pacholski, C., Seeding growth approach to gold nanoparticles with diameters ranging from 10 to 80 nanometers in organic solvent. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2014(23), 3633-3637, (2014).

Steinem, C., & Janshoff, A. (Eds.), *Piezoelectric sensors*, Vol. 5 : Springer Science & Business Media, (2007).

Sztandera, K., Gorzkiewicz, M. and Klajnert-Maculewicz, B., Gold nanoparticles in cancer treatment. *Molecular pharmaceuticals*, 16(1), 1-23, (2018).

Tolochko, N. K., History of nanotechnology. *Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)*, (2009).

Toumey, C. P., Reading Feynman into nanotechnology: A text for a new science. *Techné: Research in Philosophy and Technology*, 12(3), 133-168, (2008).

Turner, A. P., Biosensors--sense and sensitivity. *Science*, 290(5495), 1315-1317, (2000).

Vadgama, P. and Crump, P. W., Biosensors: recent trends. A review. *Analyst*, 117(11), 1657-1670, (1992).

Van Dong, P., Ha, C. H., Binh, L. T. and Kasbohm, J., Chemical synthesis and antibacterial activity of novel-shaped silver nanoparticles. *International Nano Letters*, 2, 1-9, (2012).

Vasuki, S., Varsha, V., Mithra, R., Dharshni, R. A., Abinaya, S., Dharshini, R. D. and Sivarajasekar, N., Thermal biosensors and their applications. *Am. Int. J. Res. Sci. Tech. Eng. Math*, 262-264, (2019).

Vigneri, R., Malandrino, P., Giani, F., Russo, M. and Vigneri, P., Heavy metals in the volcanic environment and thyroid cancer. *Molecular and cellular endocrinology*, 457, 73-80, (2017).

Vincent, J. B., The biochemistry of chromium. *The Journal of nutrition*, 130(4), 715-718, (2000).

Wang, Y., Zhong, X., Huo, D., Zhao, Y., Geng, X., Fa, H., Luo, X., Yang, M. and Hou, C., Fast recognition of trace volatile compounds with a nanoporous dyes-based colorimetric sensor array, *Talanta*, 192, 407-417, (2019).

Yu, S. J., Yin, Y. G. and Liu, J. F., Silver nanoparticles in the environment. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 15(1), 78-92, (2013).

Zappa, D., Comini, E., Zamani, R., Arbiol, J., Morante, J. R. and Sberveglieri, G., Preparation of copper oxide nanowire-based conductometric chemical sensors. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 182, 7-15, (2013).

Zaynab, M., Al-Yahyai, R., Ameen, A., Sharif, Y., Ali, L., Fatima, M., Khan, K. A. and Li, S., Health and environmental effects of heavy metals. *Journal of King Saud University-Science*, 34(1), 101653, (2022).

Zeng, S., Yu, X., Law, W. C., Zhang, Y., Hu, R., Dinh, X. Q., Ho, H. P. and Yong, K. T., Size dependence of Au NP-enhanced surface plasmon resonance based on differential phase measurement. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 176, 1128-1133, (2013).

Zhou, Y., Dong, H., Liu, L., Li, M., Xiao, K. and Xu, M., Selective and sensitive colorimetric sensor of mercury (II) based on gold nanoparticles and 4-mercaptophenylboronic acid. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 196, 106-111, (2014).

