

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

**MOF-PLATİN NANOPARTİKÜL KATKILANMIŞ
İNDİRGENMİŞ GRAFEN OKSİT KOMPOZİTİN
BİYOSENSÖR UYGULAMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Didem UZAK

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA
Enstitü Bilim Dalı : FİZİKOKİMYA
Tez Danışmanı : Prof. Dr. Mahmut ÖZACAR

Eylül 2021

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MOF-PLATİN NANOPARTİKÜL KATKILANMIŞ
İNDİRGENMİŞ GRAFEN OKSİT KOMPOZİTİN
BİYOSENSÖR UYGULAMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Didem UZAK

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA

Bu tez 16/09/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği / oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

Üye

Üye

BEYAN

Bu tez çalışmasında kullanılan tüm literatür bilgilerinin akademik kurallar çerçevesinden tarafımdan elde edildiğini, kullanılan yazılı ve görsel bilgilerin etik kurallara uygun olarak ortaya konulduğunu, deneysel sonuçlarda herhangi bir tahrifat yapılmadığını, literatür taraması sırasında yararlanılan eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, bu verilerin Sakarya niversitesi veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Didem Uzak

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimin başlangıcından son anına kadar bilgisi, deneyimi, bilgiyi aktarma becerisi, hoşgörüsü ve sabrıyla yanımda olan, öğrencisi olmaktan mutluluk duyduğum tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Mahmut ÖZACAR'a teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Gerek literatür taraması gerekse laboratuvar çalışmaları sırasında desteklerinden güç aldığım, akademik bilgi birikimini benimle paylaşan değerli hocalarım Atheer ATİROĞLU ve Vesen ATİROĞLU'na emekleri için teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma sırasında manevi desteğiyle yanımda olan eşim Ali İrfan UZAK'a, beni yüreklendiren oğlum Ahmet Ilgın UZAK'a, sektörel ve kişisel tecrübesiyle her zaman yanımda olan, yardımlarını esirgemeyen kuzenim Banu DEMİRBOĞA ASLAN'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
TABLolar LİSTESİ.....	x
ÖZET.....	xi
SUMMARY	xii
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2.	
BİYOSENSÖRLERE GİRİŞ	3
2.1. Biyosensörler.....	3
2.1.1. Biyosensörlerin yapısı ve işlevi	4
2.1.1.1. Biyoreseptörler	4
2.1.1.2. Transdüserler	5
2.1.2. Biyosensörlerin sınıflandırılması	5
2.1.2.1. Biyoaktif tabakada kullanılan biyobileşen türüne göre .	5
2.1.2.1.1. Enzim temelli biyoreseptöre sahip	
biyosensörler	5
2.1.2.1.2. Antikor temelli biyoreseptöre sahip	
biyosensörler	7
2.1.2.1.3. Aptamer temelli biyoreseptöre sahip	
biyosensörler	7

2.1.2.1.4. Mikroorganizma temelli biyoreseptöre sahip biyosensörler	8
2.1.2.1.5. Doku temelli biyoreseptöre sahip biyosensörler	8
2.1.2.2. Biyoaktif tabaka iletim ve ölçüm sistemi içeriğine göre .	9
2.1.2.2.1. Elektrokimyasal Biyosensörler	9
2.1.2.2.2. Potansiyometrik biyosensörler	12
2.1.2.2.3. İletkenlik/kapasitans/impedans biyosensörler	16
2.1.2.2.4. Optik biyosensörler	16
2.1.2.2.5. Piezoelektrik biyosensörler	17
2.1.2.2.6. Kalorimetrik biyosensörler	19
2.1.2.3. Kullanım durumuna göre biyosensörler	20
2.1.2.3.1. Tek kullanımlık biyosensörler	20
2.1.2.3.2. Ara kullanımlık biyosensörler	20
2.1.2.3.3. Sürekli kullanımlık biyosensörler	20
2.1.3. Biyosensörlerin tasarımı	20
2.1.4. İdeal bir biyosensörün özellikleri	21
2.1.4.1. Duyarlılık	21
2.1.4.2. Seçicilik	21
2.1.4.3. Ölçüm aralığı	22
2.1.4.4. Hızlı cevap süresi	22
2.1.4.5. Kalibrasyon ihtiyacı	23
2.1.4.6. Tayin sınırı	23
2.1.4.7. Tekrar edilebilirlik	23
2.1.4.8. Kullanım ömrü	24
2.1.4.9. Kararlılık	24
2.1.4.10. Biyoyumluluk	24
2.1.4.11. Maliyet düşüklüğü ve tasarım kolaylığı	25
2.1.4.12. Sterilizasyon ve minimize edilebilirlik	25
2.1.5. Biyosensörlerin performansını etkileyen faktörler	25
2.1.5.1. Elektrota bağlı etkiler	25
2.1.5.2. Elektrolit türüne bağlı etkiler	26

2.1.5.3. Elektriksel etkiler	26
2.1.5.4. Dış etkiler.....	26
2.1.5.5. Tepkime parametrelerinin etkisi	26
2.1.5.6. Olası gürültü etkileri	26
2.1.5.7. Kütle transfer etkileri	27
2.1.6. Biyosensörlerin uygulama alanları.....	27
 BÖLÜM 3.	
ENZİMLERE GİRİŞ.....	31
3.1. Enzimler	31
3.2. Enzimlerin Diğer Katalizörlerden Farkı.....	33
3.3. Enzimlerle İlgili Bazı Temel Kavramlar	34
3.4. Enzimlerin Sınıflandırılması	34
3.4.1. Oksidoredüktazlar	35
3.4.2. Transferazlar.....	35
3.4.3. Hidrolazlar.....	35
3.4.4. Liyazlar.....	36
3.4.5. İzomerazlar	36
3.4.6. Ligazlar.....	36
3.5. Enzim Katalizli Bir Reaksiyonun Hızını Etkileyen Faktörler.....	37
3.5.1. pH ve iyonik güç etkisi.....	37
3.5.2. Substrat konsantrasyonu etkisi	38
3.5.3. Enzim konsantrasyonunun etkisi.....	38
3.5.4. Ürün konsantrasyonunun etkisi	39
3.5.5. Sıcaklık etkisi	39
3.5.6. Su miktarının etkisi	40
3.5.7. İnhibitör ve aktivatör konsantrasyonu etkisi	40
3.6. Enzim -substrat birleşme modelleri.....	41
3.7. 3.7. Enzim immobilizasyonu ve immobilizasyon yöntemleri.....	42
3.7.1. Çözünmeyen enzimler için kullanılan yöntemler.....	43
3.7.1.1. Bağlama yöntemi	43
3.7.1.1.1. Çapraz bağlama.....	43

3.7.1.1.2. Taşıyıcıya bağlama yöntemi	44
3.7.1.2. Hapsetme	45
3.7.2. Çözünen enzimler için kullanılan yöntemler	46
3.8. Enzim İmmobilizasyonunun Avantajları	46
3.9. Enzim İmmobilizasyonunun Dezavantajları	47
3.10. Glukoz Oksidaz Enzimi	47
 BÖLÜM 4.	
METAL ORGANİK KAFESLER	50
4.1. MOF'ların Özellikleri	51
4.2. MOF'ların Sentez Yöntemleri.....	52
4.2.1. Sıvı faz sentez.....	53
4.2.1.1. İyonotermal yöntem.....	54
4.2.1.2. Püskürtmeli kurutma yöntemi.....	55
4.2.1.3. Mikrodalga yöntemi.....	55
4.2.1.4. Sonokimyasal yöntem.....	56
4.2.1.5. Yavaş buharlaşma yöntemi.....	57
4.2.1.6. Hidrotermal veya solvotermal yöntem	57
4.2.1.7. Akış kimyası yöntemi	58
4.2.1.8. Elektrokimyasal yöntem	58
4.2.2. Katı faz sistemi.....	59
4.3. MOF'larda kullanılan enzim immobilizasyon yöntemleri	61
4.3.1. Enzimlerin yüzey immobilizasyonu.....	61
4.3.1.1. Yüzey immobilizasyonunda kimyasal bağlanma	62
4.3.2. Yüzey immobilizasyonunda fiziksel bağlanma.....	62
4.3.2.1. Enzimlerin MOF yüzeyine difüzyonu	62
 BÖLÜM 5.	
GRAFENOKSİT YAPISI VE UYGULAMA ALANLARI.....	64
 BÖLÜM 6.	
PLATİN NANOPARTİKÜLLER.....	67

BÖLÜM 7.

DENEYSEL ÇALIŞMALAR	69
7.1. Giriş	69
7.2. Materyal ve Metotlar	70
7.2.1. Zn-MOF-74 sentezi	70
7.2.2. Grafen oksit sentezi	70
7.2.3. İndirgenmiş grafen oksit katkılı pt nanopartiküllerin sentezi (rGO/PtNPs).....	70
7.2.4. rGO/Pt NPs @ Zn-MOF-74 sentezi	71
7.2.5. GOx-rGO/Pt NPs@Zn-MOF-74 ile modifiye edilmiş GCE sentezi	71

BÖLÜM 8.

ARAŞTIRMA BULGULARI	72
8.1. Nanomateryallerin Karakterizasyonu.....	72
8.2. GOx-rGO/Pt NPs@Zn-MOF-74'ün Elektrokimyasal Karakterizasyonu.....	76
8.3. GOx-rGO / Pt NP @ Zn-MOF-74 Kaplamalı Elektrotun Performansı	78
8.4. Modifiye Elektrotun Tekrarlanabilirliği ve Yeniden Üretilebilirliği ..	81
8.5. Meyve Suyunda Glukoz Tayini.....	81
8.6. Kiraz Suyunda Glukoz Analizi	82
8.7. Tartışma ve Genel Değerlendirme	82
KAYNAKLAR	84
ÖZGEÇMİŞ	96

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

ALP	: Alkalen fosfataz
BG	: E.coli β . D galaktosidaz
CMC	: Karboksimetil selüloz
DEAE	: Dietilaminoetil
DMF	: Dimetil formamit
DW	: Deiyonize su
FAD	: Flavın adenin dinükleotid
GCE	: Camsı karbon elektrot
Gox	: Glukoz oksidaz
HRP	: Karaturp peroksidaz
LSV	: Doğrusal tarama voltametrısı
MOF	. Metal organik çerçeve
PBS	: Fosfat tamponlu tuz çözeltısı
PTFE	: Poli tetra floro etilen
SAW	: Yüzey akustik dalga
QCM	: Kuartz kristal mikrobals

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Biyosensörlerin basit şematik gösterimi	4
Şekil 2.2. Bir enzim reseptörünün çalışma ilkesi	6
Şekil 2.3. Amperometrik bir biyosensörün basit şematik gösterimi	10
Şekil 2.4. Amperometrik biyosensörlerde biyolojik algılayıcı olarak enzim kullanılan bazı reaksiyonlar	11
Şekil 2.5. Potansiyometrik bir biyosensörün çalışma prensibi	13
Şekil 2.6. Potansiyometrik bir biyosensörün şematik gösterimi	14
Şekil 2.7. Potansiyometrik biyosensörlerle ölçümü yapılabilen bazı moleküllere ait reaksiyonlar	15
Şekil 2.8. Optik bir biyosensörün şematik gösterimi	17
Şekil 2.9. Piezoelektrik bir biyosensörün şematik gösterimi	18
Şekil 2.10. QCM biyosensörde kullanılan kristal algılama başının yapısı, a)üstten görünüm b) en-kesit görünümü	18
Şekil 2.11. SAW biyosensörü çalışma prensibi	19
Şekil 2.12. Lab-on -a -chip uygulaması	28
Şekil 2.13. Biyosensörlerin kullanım alanları	30
Şekil 3.1. Peptit bağı oluşumu	32
Şekil 3.2. Disülfid bağı	32
Şekil 3.3. Optimum pH'ın tepkime hızına etkisi	37
Şekil 3.4. Substrat konsantrasyonunun reaksiyon hızına etkisi	38
Şekil 3.5. Enzim konsantrasyonunun reaksiyon hızına etkisi	38
Şekil 3.6. Sıcaklığın reaksiyon hızına etkisi	39
Şekil 3.7. Su miktarının reaksiyon hızına etkisi.....	40
Şekil 3.8. Aktivatör ve reaksiyon hızı ilişkisi	41
Şekil 3.9. İnhibitör ve reaksiyon hızı ilişkisi.....	41
Şekil 3.10. Enzim-substrat "anahtar-kilit " modeli	41
Şekil 3.11. Enzim ve substratların indüklenmiş uyum modeli	42

Şekil 3.12. D-Glukozun GOx ile katalizlendiği reaksiyon	48
Şekil 3.13. Biyosensörlerde kullanılan bazı enzimler	49
Şekil 4.1. Metal organik kafes yapıların şematik gösterimi	50
Şekil 4.2. MOF-5'in şematik görünümü	51
Şekil 4.3. Tripsin'in MOF üzerine immobilizasyonu	62
Şekil 4.4. Enzimin MOF gözeneklerine difüzyonu.....	63
Şekil 5.1. Grafenin uygulama alanları.....	65
Şekil 5.2. Modifiye Hummer Sentezi	66
Şekil 6.1. Nanopartiküllerin diğer moleküllerle karşılaştırılması	67
Şekil 6.2. Nanopartikül çeşitleri.....	68
Şekil 8.1. GOx-rGO / Pt NPs @ Zn-MOF-74 ile modifiye edilmiş GCE'nin montajı.....	72
Şekil 8.2. (A) rGO'nun TEM görüntüsü, (B) rGO/Pt NPs, (C) Zn-MOF-74, (D) rGO/Pt NPs@Zn-MOF-74 ve (E) MOF-74 (D) and GOx-rGO/Pt NP .	73
Şekil 8.3. (A) Nanomateriyallerin TGA eğrileri, (B) Nanomateriyallerin XRD verileri, (C) rGO, rGO/Pt NPs, rGO/Pt NPs@Zn-MOF-74'ün UV-VİS spektrumları ve (D) GOX-rGO /Pt NPs @Zn-MOF-74.....	74
Şekil 8.4. A) Elektrotların ve Randles devresinin Nyquist grafiği (Rs: Yük aktarım dienci, Cdl: Çift katman kapasitans, W: Warburg empedansı B) 5 mM [Fe (CN) 6] 3-/4- içeren 0, 1 M PBS ve 0.1 M KCL içindeki elektrotların 100mVs-1'de döngüsel voltamogramı	76
Şekil 8.5. A) Elektrotların LSV eğrileri B) Amperometrik yanıt C) Kalibrasyon eğrisi D)Glukozun, 0.1 M PBS, 0.2 V, Ag/AgCl içindeki GOxrGO / Pt NPs @ Zn-MOF-74 ile modifiye edilmiş elektrotla algılanmasında glukoz ölçümüne müdahale eden madde etkisi E) Standart e.....	79

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1. Biyosensörlerin tarım, gıda ve çevre uygulamaları.	29
Tablo 4.1. Bazı MOF'ların iyonotermal yöntemle sentezi.	54
Tablo 4.2. Bazı MOF'ların farklı prekürsör ve solventlerle püskürtmeli kurutma metoduyla sentezi	55
Tablo 4.3. Bazı MOF'ların mikrodalga yöntemi ile sentezi.	55
Tablo 4.4. Bazı MOF'ların solvotermal yöntemle sentezi.....	57
Tablo 4.5. Bazı MOF'ların akış kimyası yöntemiyle sentezi	58
Tablo 4.6. Bazı MOF'ların elektrokimyasal yöntemle sentezi	59
Tablo 4.7. Bazı MOF'ların mekano kimyasal sentezi.....	60
Tablo 5.1. Karbon allotroplarının karşılaştırmalı özellikleri	65
Tablo 8.1. GOx tabanlı elektrokimyasal glikoz biyosensörlerinin analitik performanslarının karşılaştırılması.....	81

ÖZET

Anahtar Kelimeler: Mof-74, glukoz oksidaz, indirgenmiş grafen oksit, Pt-nanopartiküller, elektrokimyasal biyosensör.

Bu çalışmada, üzerinde glukoz oksidazın immobilize edildiği platin nanopartiküller ile entegre edilmiş indirgenmiş grafen oksit (rGO) /Zn-MOF-74 hibrit nanomalzeme, glukoz biyosensörü olarak kullanılmak üzere üretilmiştir. rGO'nun ve gözenekli Zn-MOF-74'ün avantajlarına, Pt nanopartiküllerin iletkenlik avantajlarının da eklenmesiyle yüksek yüzey alanı ve gözeneklilik ile birlikte GOx immobilizasyon verimliliği ve immobilizasyon hızı artarken, PtNPs'le birlikte elektron hareketliliği, yüksek akım yoğunluğu ve gelişmiş elektron transferi de sağlandı. GOx-rGO/Pt NPs@Zn-MOF-74 kaplı elektrot, glikoz için 0.006 ila 6 mM arasında doğrusal bir ölçüm aralığı, 1.8 μM (S/N: 3) ve 64, 51 $\mu\text{A}\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-2}$ hassasiyet ile amperometrik olarak Michaelis-Menten kinetiğinin tipik davranışını sergiledi. Üretilen biyosensör kullanılarak tatmin eden bir hassasiyet ve ölçüm aralığında vişne suyunda hızlı ve doğru glukoz ölçümü yapılarak, enzim yükleme kapasitesinin yüksekliği ve sudaki stabilitesi ile Zn-MOF-74'ün biyosensör için dayanıklı bir destek malzemesi olarak kullanılabileceği gösterildi.

MOF PLATINUM NANOPARTICLE DOPED REDUCED GRAPHEN OXIDE COMPOSITE BIOSENSOR APPLICATION

SUMMARY

Keywords: MOF-74, Glucose oxidase, reduced graphene oxide, Pt Nanoparticles, Electrochemical biosensor.

In this study, reduced graphene oxide (rGO)n-MOF-74 hybrid nano material which is integrated with platinum nanoparticles (Pt NPs) on which glucose oxidase is immobilized, is produced for being used as glucose biosensor. With the advantages of rGO and porous Zn-MOF-74 and conductive Pt nanoparticles; GOx immobilization efficiency and immobilization speed are increased. In the meantime; mobility of electron, high current density and improved electron transfer were achieved with PtNPs. GOx-rGO/Pt NPs@Zn-MOF-74 coated electrode shows typical behaviour of Michaelis-Menten kinetics amperometrically with a linear range of 0, 006 to 6Mm glucose and 1.8 μM (S/N: 3) and 64.51 $\mu\text{AmM}^{-1} \text{ cm}^{-2}$ precision. Finally; glucose in cherry juice is measured with the biosensor which is produced in this study. It has been shown that Zn-MOF-74 is resistant and reinforced material for biosensor production since it has high enzyme loading capacity and its stable behaviour in water.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Nanoteknoloji, teknolojinin, tüm sanayi kollarında özellikle de sağlık alanında kullanımı artan, günlük hayatta karşılaşılan pek çok soruna çözümler sunan, maddeyi atomik ve moleküler seviyede kontrol edebilen bir dalıdır. Nanoteknoloji fikri ilk olarak, 1959 yılında Richard Feynman'ın Amerikan Teknoloji Enstitüsü'nde yaptığı "There is plenty of rooms at the bottom (Alt kısımda bir çok oda var)" adlı konuşmasıyla bilim dünyasında yer bulmuştur [1]. Nanoteknoloji 10^{-9} m. boyutundaki malzemelerin fiziksel, kimyasal, biyolojik yapılarını araştıran ve farklı disiplinler yardımıyla bu malzemeleri işlevselleştirerek kullanıma sunan bir alandır.

Nanomalzemeler, sahip oldukları eşsiz optik, manyetik ve elektriksel özellikler ile nanoteknolojinin temelini oluştururlar. Grafen ve karbon nanotüpler (CNT) en çok kullanılan nanomalzemelerdir. Grafen, bal peteği yapısında dizilmiş olan karbon atomlarının iki boyutlu bir tabaka olarak ayrılmış halidir. Oldukça hafif olmasına rağmen çelikten 100 kat daha sağlam olması, tek katmanının % 97 oranında saydamlığı, %20 oranında esnekliği ve yüksek iletkenliği grafenin ilgi çekici özelliklerindendir [2].

Sağlık alanında kullanılan MR cihazları, araçlardaki yakıt miktarını, aracın hızı ve motor devrini gösteren sensörler, mikrofonlar, sıcaklık ve nem ölçen saatler, fotoselli lambalar gibi pek çok cihaz günlük hayatta kullandığımız biyosensörlerdir [3]. Bilimsel çalışmaların ilerlemesiyle geliştirilen biyosensörlerin belki de en ilham vericisi olan sensör tüm canlıların sahip olduğu beş duyu organıdır. Başlı başına bir biyolojik sensör olan vücudumuzda denge bozulduğunda beden çeşitli yollarla tıpkı bir sensör gibi tepki verir [4, 5].

Bir biyosensör sensör yüzeyine tutturulan DNA, protein, enzim gibi maddelerle biyofonksiyonellik kazandırılmış, biyolojik numunelere karşı seçicilik gösteren, yapı ve konsantrasyon bilgilerini okunabilir sinyallere dönüştürebilen bir cihazdır. Nanoteknolojinin gelişmesiyle birlikte 1990'lı yılların sonundan itibaren ilgi görmeye başlamış olan nanobiyosensörler, gözyaşı, tükürük, idrar, ter ve kan gibi biyolojik materyalleri ölçülebilir verilere dönüştürebilen mikro ve nano boyutlu hassas ölçüm cihazlarıdır [5].

Biyosensör uygulamalarında, son yıllarda oksidoredüktazlar ve elektrot arasındaki elektrokimyaya dayanan üçüncü nesil biyosensörler üzerindeki çalışmalar artmıştır. Bu biyosensörlerde elektrot olarak kullanılan grafen türevleri, katalitik aktiviteyi, elektriksel iletkenliği, biyoyumluluğu ve yüzey alanını geliştirmek için modifiye edilmiş, bu modifikasyon da gelişmiş enzim immobilizasyonu ile sonuçlanmıştır. Platin nanopartiküller, oksidoredüktaz (örneğin GOx) reaksiyonlarında ortaya çıkan hidrojen peroksiti katalizlerken elektrokatalitik aktivite üzerinde bir sinerji yaratarak enzim immobilize biyosensörün duyarlılığı üzerinde artış sağlar. Pt nanopartiküller hedef analitlerin difüzyon hızını da arttırdığı için yüzey alanı da genişler [6].

BÖLÜM 2. BİYOSENSÖRLERE GİRİŞ

2.1. Biyosensörler

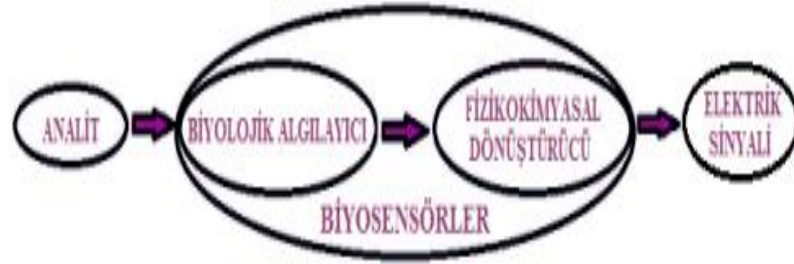
Biyosensörler; biyolojik etkileşimleri kolayca okunabilir sinyallere dönüştürmek için, enzim, hücre ve antikor gibi biyolojik algılama elemanlarını bir dönüştürücü ile birleştiren analitik araçlardır .Yüksek seçicilik, hızlı analiz, komplike olmayan hazırlık aşaması, yüksek hassasiyet ve gerçek zamanlı ölçüm gibi avantajlara sahip olan biyosensörler, spesifik, hassas ve hızlı analizler için umut veren araçlar olarak literatürde geniş yer bulmuştur [7].

Genel olarak bir sensör, fiziksel bir özelliği ya da değişimi algılayarak ölçülebilir bir yanıt ortaya koyar.İnsandaki beş duyu en ilkel ve en temel sensördür. Canlıların sahip oldukları duyuusal algılama özellikleri, doğal ve mükemmel biyosensörlerdir. Doğadaki canlılar, yaşam döngüsünün sürekliliğini koruyabilmek için içgüdüsel olarak, fiziksel değişimleri algılayıp, bu değişimlere uyum sağlarlar.Canlıların bu özelliği biyomimetik olarak da araştırmacılara ilham vermiştir [8].

Bir biyosensör, biyolojik sistemlerin algı yeteneği ve seçicilik özellikleriyle gelişmiş elektronik yöntemleri birleştiren analitik bir cihazdır.Başka bir deyişle biyolojik bir katalizöre sahip sensör olarak da tanımlanabilir [9]. Biyosensörde, analiz edilecek madde, biyosensör yüzeyindeki biyolojik tanıma bölgesi ile etkileşime girer ve bunun sonucunda transduser (dönüştürücü) üzerinde analit miktarıyla orantılı ölçülebilen bir sinyal oluşur.Bu sinyal ölçüm cihazına iletilerek analiz gerçekleştirilir [10].

2.1.1. Biyosensörlerin yapısı ve işlevi

Biyosensör sistemi temel olarak, biyoreseptör, transdüser ve elektronik sinyal okuyucu kısımdan oluşur. Şekil 2.1.'de biyosensörün basit şematik yapısı verilmiştir.



Şekil 2.1. Biyosensörlerin basit şematik gösterimi [11]

Biyolojik algılayıcı analitle reaksiyona girerek tanınmasını sağlar. Elektrokimyasal dönüştürücü ise tanıma işlemi ile elde edilen veriyi okunabilir bir değere dönüştürür. Biyosensör, spesifik, hızlı ve sürekli olarak reaksiyonu algılayarak işlevini yerine getirir. Bunu da ölçülebilir bir elektriksel sinyale dönüştürerek yapar.

Biyosensörlerde biyoreseptör olarak; enzimler, antikorlar, nükleik asitler, mikroorganizmalar, hücreler, immuno ajanlar kullanılabilir. Transdüser olarak ise; potansiyometrik, voltametrik, amperometrik, optik, termal, kalorimetrik, akustik dönüştürücülerden uygun olan biri seçilebilir. İlk adım analitlerin biyoreseptördeki algılayıcıya bağlanmasıdır. Bu şekilde analit tanınır, değişim algılanır, ölçülerek dijital sinyallere dönüştürülür.

2.1.1.1. Biyoreseptörler

Biyoreseptör olarak kullanılan moleküller, analit ile seçici olarak reaksiyona giren duyarlı moleküllerdir. Bu reaksiyon sonucunda analit biyoreseptör tarafından tanınır ve transdüser tarafından okunabilen çeşitli veri değişimleri elde edilir. Bu değişimler;

- Optik özellik veya kütle değişimi

- Tepkime sonucunda ısı kaybı veya ısı kazanımı
- Tüklenen veya oluşan ürün tarafından meydana getirilen elektrokimyasal bir değişim [12] şeklindedir.

Biyoreseptör molekülleri benzersiz kılan en önemli özellik hedef analitle yüksek afinite ve özgüllük ilişkisi kurabilmeleridir. Sıklıkla kullanılan biyoreseptör kaynakları; mikroorganizmalar, enzimler, antikorlar ve aptamerlerdir [13].

2.1.1.2. Transdüserler

Transdüser, analitin biyoreseptör ile reaksiyonunu analit derişimiyle orantılı fiziksel bir sinyale dönüştürür. Seçilen transdüser gerçekleşen reaksiyon sonucundaki değişimin türüne uygun olmalıdır. Elektrokimyasal tepkimeler sonucunda ortamın iletkenliğinde, akımda veya potansiyelde değişimler meydana gelir. Bu durumda; kondüktometrik, voltametrik veya amperometrik bir transdüser seçilir [14]. Optik transdüserler ışıktaki değişiklikleri, piezoelektrik transdüserler ise kristal salınım rezonansları ile ilgili değişiklikleri sinyale dönüştürerek ölçülebilir hale getirirler [15].

Literatürdeki makale sayısı ve ticari üretimler göz önüne alındığında en yaygın olarak kullanılan ve üzerinde çalışılan dönüştürücülerin elektrokimyasal tabanlı olan transdüserler olduğu görülmektedir [16]. Bu durum, basit yapılı ve kolay kullanıma sahip olmaları ve düşük bir maliyetle tasarlanabilmeleri ile açıklanabilir [17].

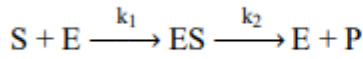
2.1.2. Biyosensörlerin sınıflandırılması

2.1.2.1. Biyoaktif tabakada kullanılan biyobileşen türüne göre

2.1.2.1.1. Enzim temelli biyoreseptöre sahip biyosensörler

Kimyasal tepkimelere katılan enzimler, hiç bir değişikliğe uğramadan reaksiyonu hızlandırarak ölçülebilir reaksiyon ürünü meydana getirirler. Bu işlemi de hücre

faaliyetleri ile koordine olarak gerçekleştirirler. Enzimler, protein yapısında olup yüksek spesifikliğe ve afiniteye sahiptirler. Enzimin katalizlediği bir reaksiyonda öncelikle geçiş durumu stabil hale getirilerek reaksiyon hızlanır ve enzim substrat bileşiği oluşur [12]. Enzim katalizi basitçe şu şekilde formüle edilebilir:



Burada; S=substrat

E=enzim

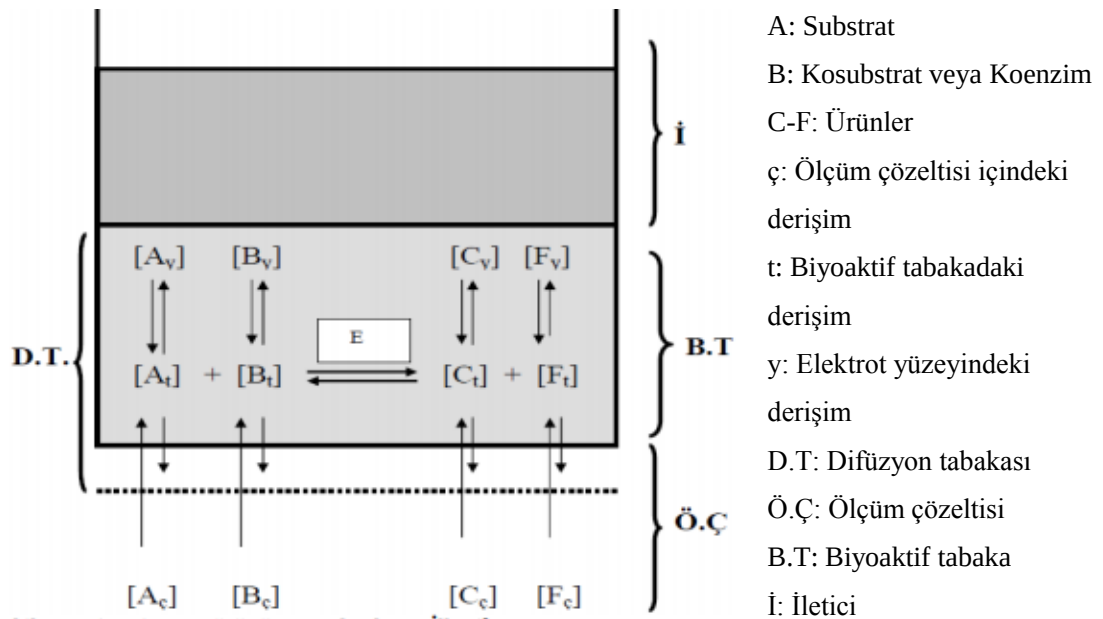
ES=enzim-substrat bileşiği

P=ürün

k_1 =enzim-substrat bileşiğinin reaksiyon hız sabiti

k_2 =enzim-substrat bileşiğinin ayrışma reaksiyonu hız sabiti

Enzimler, biyosensörlerde biyoreseptör olarak yaygın bir şekilde kullanılırlar. Doğada 2500'den fazla enzim bulunur. Bunların çoğu ticari olarak erişilebilir durumdadır. Biyosensörlerde yaygın olarak kullanılan üç enzim; alkalen fosfataz (ALP), karaturp peroksidaz (HRP) ve E. coli β -D galaktosidaz (BG)'dir [18].



Şekil 2.2. Bir enzim reseptörünün çalışma ilkesi [19]

2.1.2.1.2. Antikor temelli biyoreseptöre sahip biyosensörler

Antikorlar, çok hücreli organizmaların kendi organizmalarına ait olmayan organik yapılara karşı, bağışıklık sistemi tarafından geliştirilen glikoprotein yapılı moleküllerdir. Bu moleküller olası zararlı etkilere karşı organizmayı önceden uyararak bağışıklık sağlarlar. Antikorlar da tıpkı enzimler gibi yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahiptirler. Mikroorganizmanın tamamını tanımanın yanı sıra onlara ait toksin, spor, peptid gibi çok küçük parçaları dahi algılayabilirler [13]. Antikorlar belirli antijenlere karşı olarak üretilir. Toksinleri nötralize ederek, hücre ve bakterilere yapışarak, çözünabilir antijenleri çökeltirerek görevlerini yerine getirirler. Antikorlar, kullanım amaçlarına göre modifiye edilebilmeleri yönünden oldukça avantajlıdır.

Antikor tabanlı bir biyosensör immunojendir. Bu özellik, analitin önceden saflaştırılması ihtiyacını ortadan kaldırır [20]. Bu tür biyosensörler için optik ve elektrokimyasal olmak üzere çeşitli sinyal iletim teknikleri kullanılmaktadır. En optimal olanı enzim-floresan kaynaklı olanlardır [20, 21]. Uygun bir transduser seçilerek pestisit, bakteri, virüs, hormon gibi moleküllerin tespiti için immuno biyosensörler geliştirilebilir.

2.1.2.1.3. Aptamer temelli biyoreseptöre sahip biyosensörler

Aptamerler, yüksek affinite ve özgüllüğe sahip oligonükleotidlerdir. Peptid, vitamin, ilaç mikroorganizma ve bakteri sporu gibi çeşitli moleküllere bağlanabilirler [22].

Enzim ve antikor temelli biyoreseptörler ile karşılaştırıldıklarında;

- Analite karşı daha yüksek özgüllük ve affiniteye sahiptirler.
- Yüksek miktarda ve saflıkta sentezlenebilirler ve DNA aptamerleri oldukça stabildirler.
- Analite bağlandıklarında konformasyonel değişikliklere uğramaları yeni biyosensör tasarımında daha geniş bir alan sağlar [22, 23].

Zelada-Guillen ve arkadaşlarının biyoreseptör olarak aptamer ve iletken olarak da karbon nanotüp kullanarak tasarladıkları bir biyosensör, 5 ml'lik bir çözelti içindeki Salmonella Typhi'yi, 60 saniyeden kısa bir sürede %100 duyarlılık ve spesifiklele tespit edebilmiştir [24].

2.1.2.1.4. Mikroorganizma temelli biyoreseptöre sahip biyosensörler

Biyolojik algılayıcı olarak kullanılan pek çok molekül mikroorganizma temelli olmakla birlikte mikroorganizmalar da doğrudan biyoreseptör olarak kullanılabilir ve daha geniş bir skalada kimyasal yapı tespit edebilirler. Bu tip biyoreseptörler;

- Farklı pH ve sıcaklıklarda çalışabilmeleri
- Modifikasyonlara uyum sağlayabilmeleri
- Olumsuz şartlara uyum sağlayarak yeni moleküller geliştirebilme özellikleri yönünden avantajlıdır [25, 26].

2.1.2.1.5. Doku temelli biyoreseptöre sahip biyosensörler

Hayvansal ve bitkisel dokular enzimlerce zengindirler. İzole edilmiş enzimler yerine doğrudan doku parçaları da biyobileşen olarak kullanılabilir. Doku kullanmanın avantajı, masraflı ve uzun olabilen enzim saflaştırma basamağına gerek olmamasıdır. Ayrıca hedeflenen analit, çok basamaklı bir dönüşüme sahipse ve farklı enzimlere ihtiyaç duyuyorsa bu enzimlere sahip olan dokunun kullanılması da bir diğer avantajdır. Enzimler doğal ortamlarında olduklarından katalitik olarak stabiliteye sahip olmaları da önemli bir kazanım sağlar. Difüzyon bariyerinin artmasına bağlı olarak cevap süresinin uzaması ise bu tür biyosensörlerin dezavantajıdır [27]. Bu durum tamamen safdışı edilemese de dokuların homojenizasyonu ile kısmen giderilebilir. Stabil etken maddeler, aktivatör ve inhibitörler seçiciliği arttırmak ve biyosensörün ömrünü uzatmak için kullanılabilir [28].

Bitki ve hayvansal doku esaslı biyosensörlerin, amino asitler, toksikantlar, hormonlar, ilaçlar ve nöroiletkenler gibi çeşitli analitler için kapsamlı bir değerlendirmesini Wijesuriya ve Rechnitz literatüre sunmuşlardır [29].

2.1.2.2. Biyoaktif tabaka iletim ve ölçüm sistemi içeriğine göre

2.1.2.2.1. Elektrokimyasal Biyosensörler

Elektrokimyasal biyosensörler üzerinde en fazla çalışılmış olan en gelişmiş ve eski biyosensörlerdir. Elektrokimyasal biyosensörler üzerindeki çalışmalar; küçültme, nanomateriyaller, immobilizasyon, etkin elektron transferi gibi elektrot tasarımlarının geliştirilmesi üzerine odaklanmıştır [28].

Elektrokimyasal tepkimeler yükseltgenme-indirgenme türü tepkimelerdir. Bu tepkimeler elektrokimyasal hücrede gerçekleştirilir. Elektrotlarda tepkimeye giren her bir tür, dış devrede belli sayıda elektronun iletilmesine neden olur.

Elektrokimyasal biyosensörler;

- Amperometrik/voltametrik biyosensörler
- Potansiyometrik biyosensörler
- İletkenlik/kapasitans/impedans biyosensörler

olarak üç kısımda incelenebilir.

Amperometri akım şiddetinin ölçümünü esas alır. Amperometrik sensörlerde, sabit bir potansiyel uygulanan elektrokimyasal hücrede redox reaksiyonu gerçekleştirilir ve bir akım elde edilir. Bu akımla analit derişimi arasında doğru bir orantı vardır. Amperometrik biyosensörlerde, derişime bağlı akımı, biyomateriyalle kaplı bir elektrot ölçer. Temelde elektroaktif türlerin oksidasyonu ve elektrot yüzeyinde redoksasyonuna dayanır [28]. Analit derişimi ve akım arasındaki ilişki Cottrell denklemi ile ifade edilir:

$$i = n F A C_0 [D / (\pi t)]^{1/2} \quad (2.1)$$

Burada;

i =ölçülecek akım

n =transfer edilen elektron sayısı

F =Faraday sabiti

A =elektrot alanı

C_0 =analit konsantrasyonu

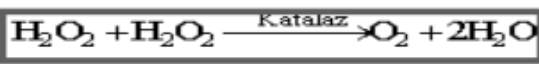
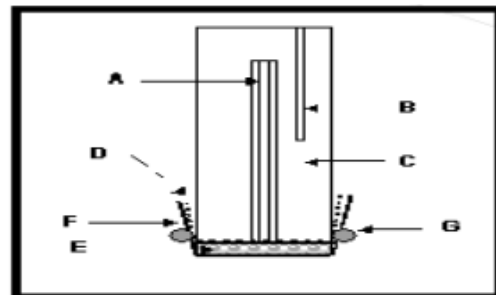
D =difüzyon sabiti

t =potansiyel uygulandıktan sonra geçen süre

Amperometrik sensörler, voltametrik sensörlerin alt grubudurlar. Amperometrik bir transdüser, DNA, antikor, enzim, hücre ve doku gibi pek çok biyomateryal ile kullanılabilir.

Amperometrik bir biyosensörün cevap verme hızı;

- Difüzyon hızına
- Çözelti tepkimesinin hızına
- Adsorplanan türlerin yüzeye tutunma ve daha sonra yüzeyden koparak çözeltiye geçme hızına
- Elektron aktarım hızına bağlıdır.

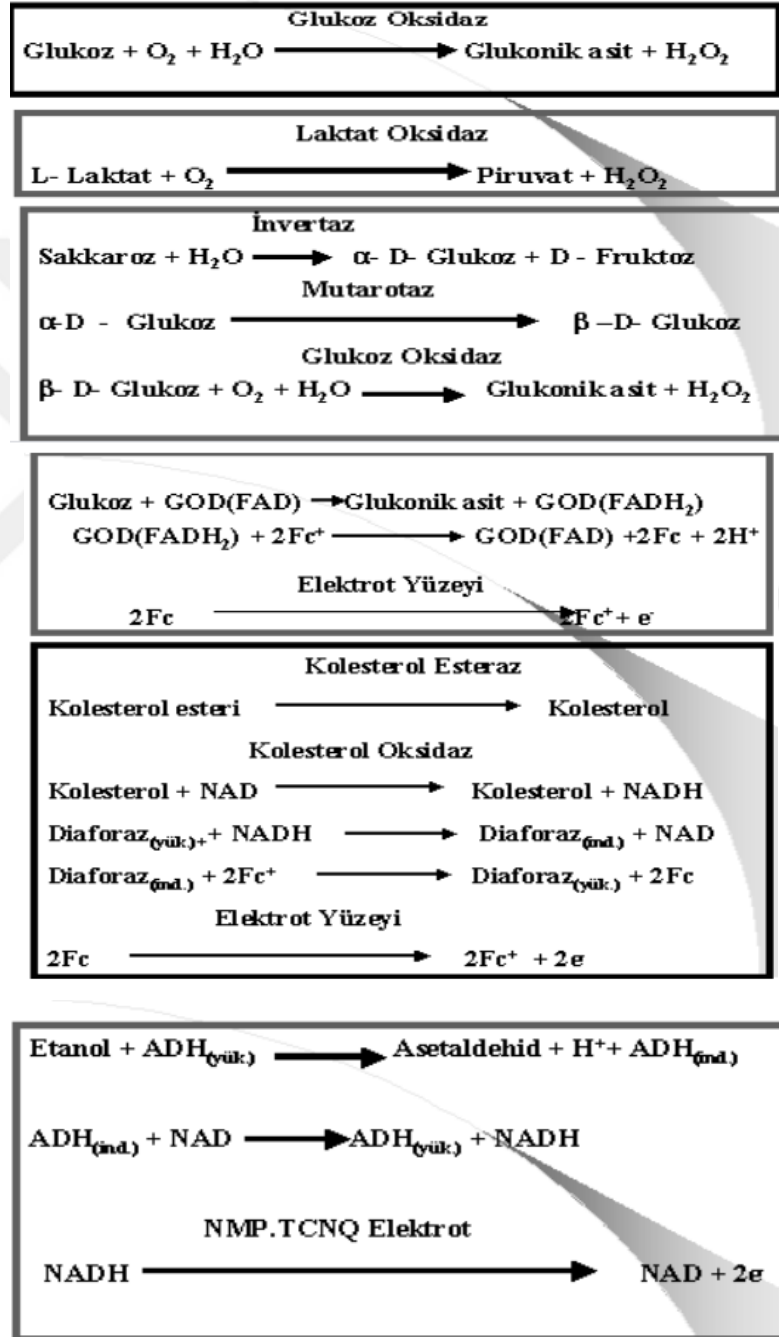


Amperometrik esaslı bir biyosensörün şematik gösterimi
A: Çalışma elektrodu(Pt),
B: Referans elektrot (Ag/AgCl),
C: Elektrolit çözelti(KCl),
D: İç gaz geçirgen membran(Teflon),
E: İmmobilize enzimi içeren biyoaktif tabaka
F: Dış koruyucu membran(Selüloz a setat v.s)

Şekil 2.3. Amperometrik bir biyosensörün basit şematik gösterimi [30]

Elektron aktarım hızını ise reaksiyona giren maddelerin türü, konsantrasyonu, elektrot türü ve gerilim belirler [31].

Amperometrik biyosensörlerde biyolojik algılayıcı olarak enzim kullanılan bazı reaksiyonlar aşağıdaki gibidir [30]:



Şekil 2.4. Amperometrik biyosensörlerde biyolojik algılayıcı olarak enzim kullanılan bazı reaksiyonlar [30].
 Amperometrik biyosensörlerin diğer türlere göre daha çok tercih edilmesi;

- Bir çok farklı türde moleküle uygulanabilmeleri
- Düşük maliyetli olmaları
- Tek kullanımlık ve taşınabilir biyosensörlerin düşük maliyetlerle hazırlanabilmeleri
- Farklı teknolojilerle kolay entegre olabilmeleri gibi avantajlarına bağlıdır [12].

Oksidoredüktaz enzimlerini içeren amperometrik biyosensörler algılamada sıklıkla kullanılan sensörlerdir. Bu enzim bazlı sensörde, oksidoredüktaz enzimi elektrot yüzeyine uygun bir yöntemle immobilize edilir. Enzimin analit tepkimesini katalizlemesiyle birlikte redox tepkimesi gerçekleşir ve elektron transferi sağlanır. Buna bağlı olarak değişen akım ölçülerek substrat konsantrasyonu tayin edilir [12].

Voltametrik sensörler doğrusal veya döngüsel modlarda çalışabilirler. Buna bağlı olarak her modda akım ve gerilim farklı olacaktır. Voltametrinin çalışma prensibi, polarize olabilen bir çalışma elektrotu ile bir referans elektrot arasında potansiyel değerinin zamanla değiştirilerek akımın ölçülmesine dayanır [32]. Uygulanan potansiyel, redox reaksiyonları sonucunda elektroaktif türlerin konsantrasyonlarında değişime neden olur.

2.1.2.2.2. Potansiyometrik biyosensörler

Potansiyometri, elektrokimyasal bir hücredeki bir çözeltinin potansiyelinin ölçülerek konsantrasyonunun belirlenmesi tekniği olarak tanımlanır. Potansiyometrik biyosensörler birbiri ile uyumlu transdüser ve biyoreseptörü birleştirerek, iyonlar aracılığıyla oluşan gerilim değişikliklerini izleyerek sonuca ulaşır [28]. Çalışma elektrodu, seçiciliği uygun bir malzeme ile kaplanarak, çalışma elektrodu ile referans elektrot arasında akımın geçmediği bir anda potansiyel farkı ölçülür [33]. Bu fark Nernst denklemi ile verilir:

$$E = E_0 + [RT / (nF)] \ln a \quad (2.2)$$

Burada;

E = Çalışma elektrodu potansiyeli

E_0 = 1 mol l⁻¹ için standart elektrot potansiyeli

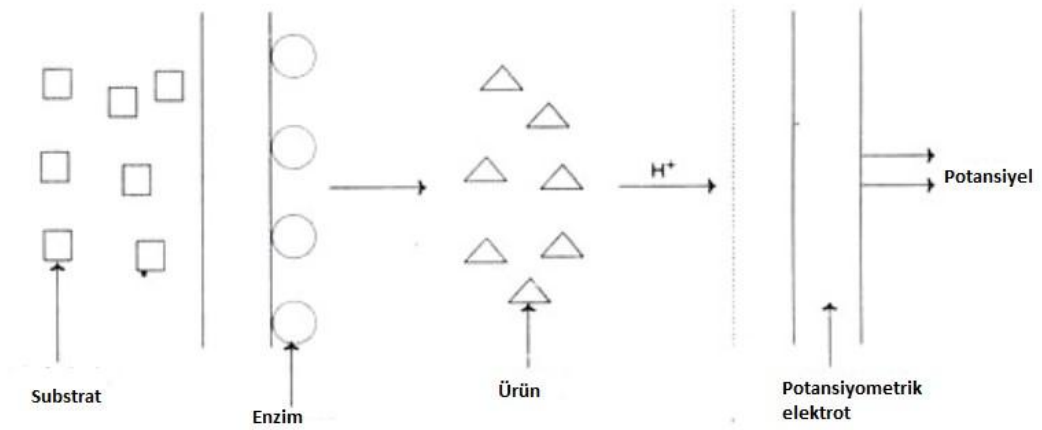
R = gaz sabiti (8,314 J.mol⁻¹K⁻¹)

T = Kelvin biriminde sıcaklık

F = Faraday sabiti (96486 J.V⁻¹)

n = Transfer edilen elektron sayısı

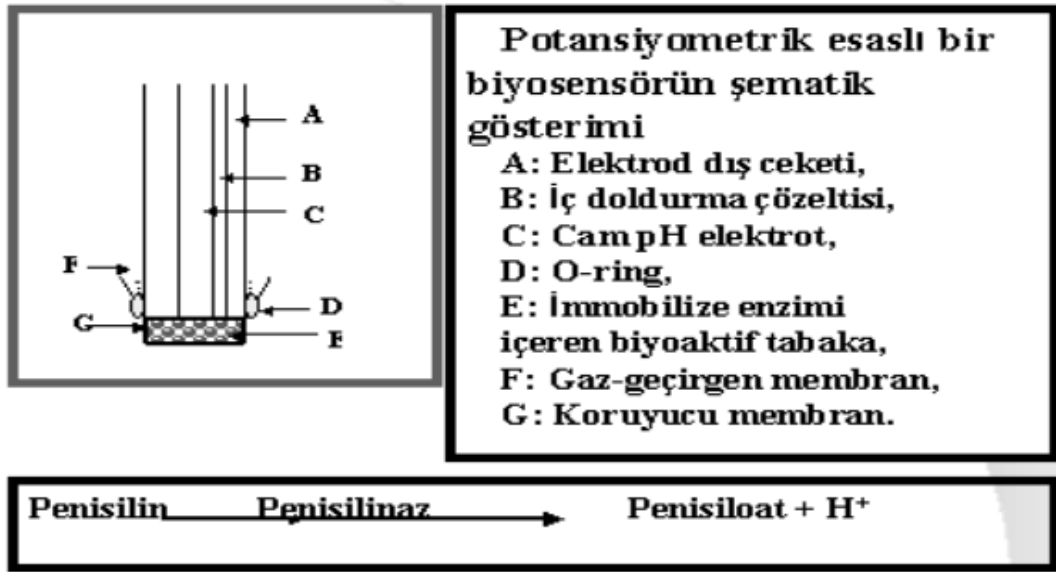
a = iyon aktivitesi



Potansiyometrik Biyosensör

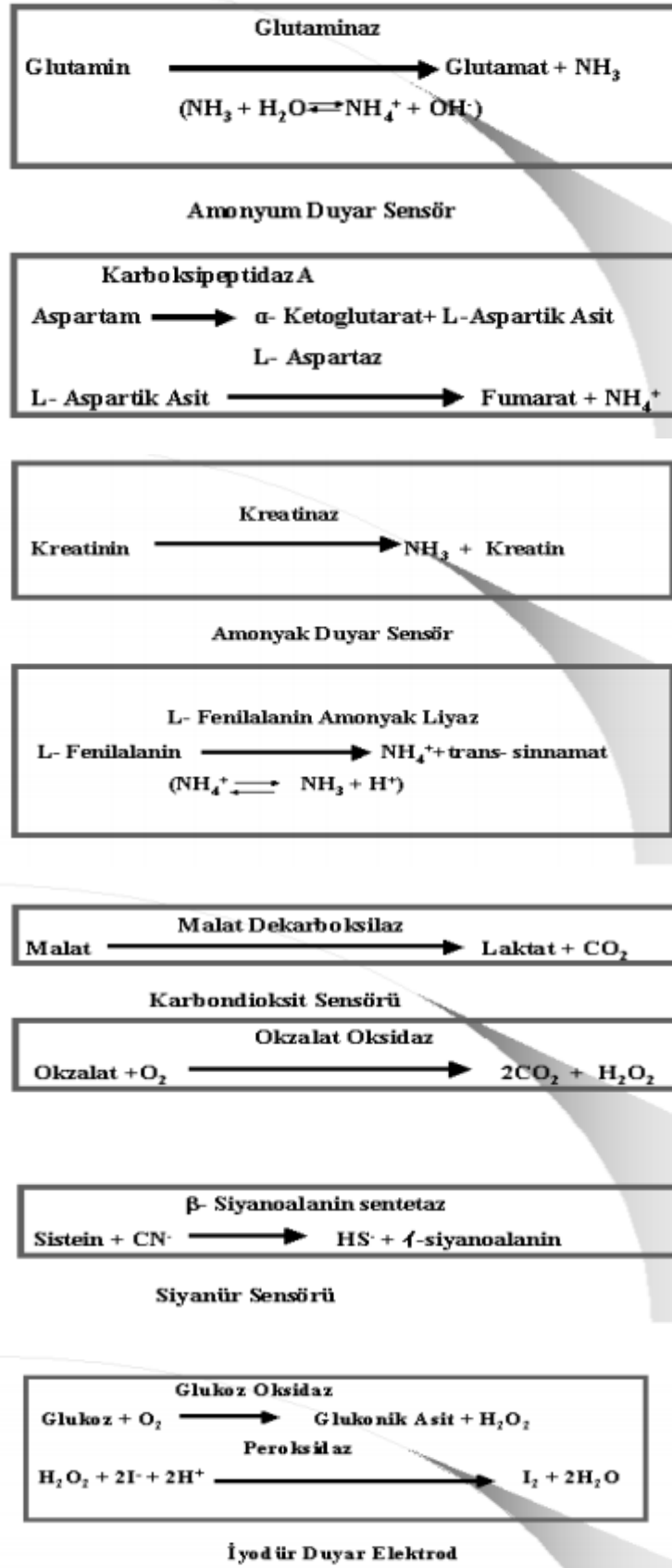
Şekil 2.5. Potansiyometrik bir biyosensörün çalışma prensibi

Potansiyometrik biyosensörlerde, pH ya da tek değerli iyonlara duyarlı cam elektrotlar, anyon ya da katyonlara duyarlı iyon seçimli elektrotlar ve gaz duyarlı elektrotlar kullanılır [30]. Bu biyosensörlerin dezavantajı antikor -antijen bağlanmasında oluşan potansiyel farkının küçük olması ve Nernst eşitliğini sağlayamamasıdır [33].



Şekil 2.6. Potansiyometrik bir biyosensörün şematik gösterimi [30].

Potansiyometrik biyosensörlerle ölçümü yapılabilen bazı moleküllere ait reaksiyonlar aşağıdaki gibidir [30].



Şekil 2.7. Potansiyometrik biyosensörlerle ölçümü yapılabilen bazı moleküllere ait reaksiyonlar

2.1.2.2.3. İletkenlik/kapasitans/impedans biyosensörler

Bu biyosensörler, elektriksel alandaki değişiklikleri ölçerler. Bu değişiklikler;

- Çözeltinin elektrik iletkenliği
- Elektrot yüzeyinin kaplandığı tabakaya bağlı olan ve impedimetrik reaksiyon sonucundaki kapasite değişimi şeklinde olabilir [28].

Enzimler reaksiyonları katalizler ve bu da çözeltinin iletkenliğinde değişikliklere yol açar. İletkenlik ölçen biyosensörler temelde bu değişiklik üzerinden sonuç verirler.

İletkenlik ve kapasitans biyosensörleri, impedans biyosensörlerinin daha basit yapılı olanlarıdır. İmpedans, kapasitans, direnç ve indüktans arasındaki ilişki şu bağıntıyla gösterilir;

$$Z = R + j.X = R + j (X_L - X_C)$$

Z= İmpedans

R= Direnç

X_C =Kapasitif reaktans

X_L =İndüktif reaktans

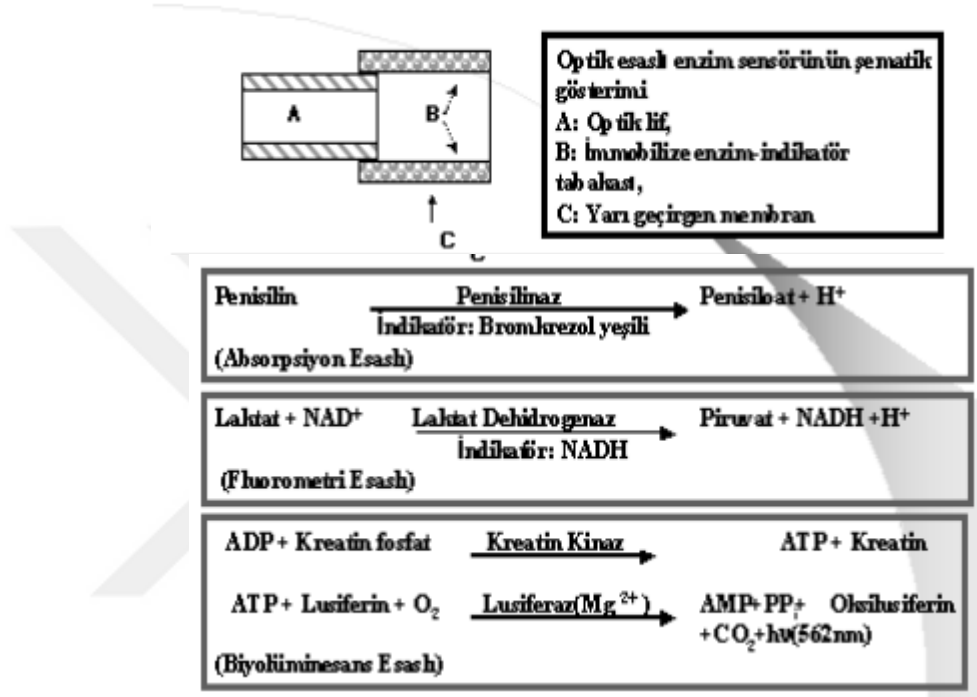
j=İmajiner birim

İmpedans biyosensörleri, daha çok patojenik bakteri ve canlı bakteri tespitinde uygulama alanı bulmuşlardır. Louie ve arkadaşları tek kullanımlık ve taşınabilir bir impedans tabanlı biyosensörü saha kullanımı için tasarlamıştır [34]. Pestisit kalıntılarının tespiti için kapasitif alan etkili bir biyosensör de literatürde yer almaktadır [35].

2.1.2.2.4. Optik biyosensörler

Optik biyosensörler, optik lifler üzerine biyo algılayıcı olarak uygun bir biyolojik materyalin immobilize edildiği, etkileşim sonucu fizikokimyasal veya kimyasal bir

değişimin elde edildiği sistemlerdir. Ölçüm sinyali, ışık yansıması, ışık saçılması ya da yayılması ile oluşur. Başka bir deyişle reaktantlar aracılığıyla ışığın emisyonu veya adsorpsiyonu ölçülür. Optik biyosensörler temelde floresans, adsorpsiyon, biyoluminesans gibi ilkelerle çalışırlar [30]. Patojen tayininde ve hastalıkların teşhisinde tercih edilen optik sensörler ticari olarak da ilgi görmektedirler [33].

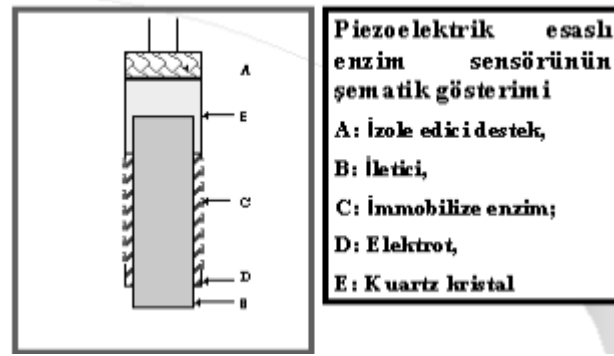


Şekil 2.8. Optik bir biyosensörün şematik gösterimi

2.1.2.2.5. Piezoelektrik biyosensörler

Piezoelektrik biyosensörler, bir kristal üzerindeki analitin kütle ölçümüne dayanırlar. Biyosensörde madde adsorplandığı zaman kristalin salınım frekansının değişimi ölçülerek sonuca varırlar. Kütle değişimi ise immobilize edilen enzim moleküllerine substratların bağlanması ile meydana gelir [36].

Tipik bir piezoelektrik biyosensörde kuartz kristal bir levha ve bu levhanın iki yanına yerleştirilmiş iki elektrot vardır. Levha, doğal veya sentetik kristalden elde edilebilir. Kristalin simetrisi, kesme açısı ve elektrot konfigürasyonu elektromekanik birleşmede etkilidir ve bu etki değişik tiplerde akustik dalgalara neden olur [28].



Şekil 2.9. Piezoelektrik bir biyosensörün şematik gösterimi

İki ana tür piezoelektrik sensör bulunur;

- Kuartz kristal mikrobals (QCM)
- Yüzey akustik dalga (SAW)

Kuartz kristal mikrobals, 15 MHz altındaki frekanslarda çalışır. Kristal yüzeyindeki değişimler analitin tespit edilmesini sağlar [28]. Sauerbrey denklemi frekans ve kütle değişimi arasındaki ilişkiyi açıklar;

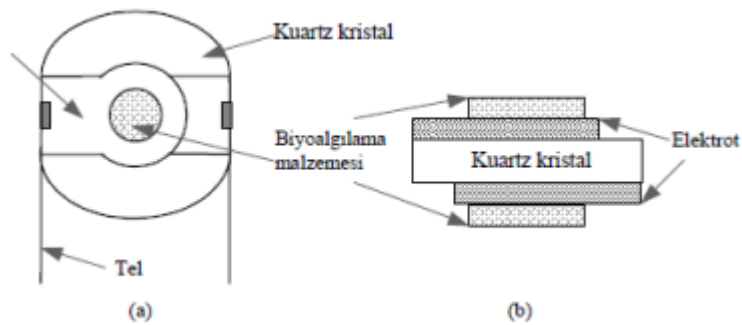
$$\Delta f = -2,3 \times 10^6 (f_0)^2 \Delta M/A$$

Δf = Kaplanmış kristalin frekansındaki değişim (Hz)

f_0 = Kristalin rezonant frekansı (MHz)

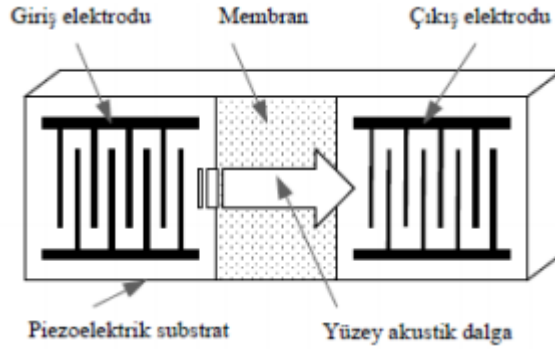
A = Kaplanmış alan (cm²)

ΔM = Depolanan kütle (g)



Şekil 2.10. QCM biyosensörde kullanılan kristal algılama başının yapısı, a) üstten görünüm b) en-kesit görünümü [28]

Bir SAW biyosensörü ise 100 MHz üzerinde çalışır.Çalışma frekansıyla kütle hassasiyeti doğru orantılı olduğundan bu cihazlar QCM'e göre daha hassas ölçümler yaparlar [28].



Şekil 2.11. SAW biyosensörü çalışma prensibi [21]

Piezoelektrik biyosensörlerin kullanımı kolay olmakla beraber bazı dezavantajlara sahiptirler.Yüksek maliyet, rejenerasyon, uzun inkübasyon zamanı, seçiciliğin düşük olması, biyomateriyallerin spesifik olmayan bağlanmaları, kaplama materyalinin kaybı yöntemin olumsuzlukları arasında sayılabilir [33].

2.1.2.2.6. Kalorimetrik biyosensörler

Kalorimetrik biyosensörler, bir biyoalgılama materyalinin termometre, termopil veya termistör gibi bir transdüser ile entegre edilmesi ile geliştirilmiş olup, enzimatik bir reaksiyonda meydana gelen entalpi değişimi ile substrat derişimini belirleyerek ölçüm yaparlar [30]. Termal biyosensörler arasında en ilgi gören, termistör tabanlı biyosensörlerdir.Bunun nedeni hassaslığı ve kolay akışkan enjeksiyon analizine sahip olmasıdır [28].

Ramanathan ve Danielsson'un sunduğu bir çalışmaya göre termistör tabanlı kalorimetrik biyosensörler ile, klinik izleme, süreç izleme, enzim aktivitesi ölçümü, çevresel izlemeler ve susuz izlemeler yapılabilir [37].

2.1.2.3. Kullanım durumuna göre biyosensörler

2.1.2.3.1. Tek kullanımlık biyosensörler

Bu biyosensörler oldukça hızlı cevap vermelerinin yanında doğruluk ve kesinlik açısından çok güvenilir değillerdir. Analit ile reseptör reaksiyonu başladıktan sonra 60 saniye gibi kısa bir sürede tüm ölçüm tamamlanır. Tek kullanımlık oldukları için maliyetleri oldukça yüksektir ve kalibrasyonu zordur. Tüm bu olumsuzluklarına rağmen kanda glukoz tayininde tercih edilen biyosensörlerdendir [38].

2.1.2.3.2. Ara kullanımlık biyosensörler

Bu biyosensörler laboratuvar ortamında kullanılan biyosensörlerdir. Taşınır durumda olmadıklarından analitin sensör ortamına getirilmesi gerekir. Bu zorluğun yanı sıra, kalibrasyon kolaylığı, düşük maliyet, yüksek doğruluk ve kesinlik, düşük konsantrasyonlarda bile hassas ölçüm yapabilme gibi avantajlara da sahiptirler [38].

2.1.2.3.3. Sürekli kullanımlık biyosensörler

Sürekli kullanımlık biyosensörler basit yapılı ve düşük maliyetlilerdir. Ancak etkinlikleri ve algılama limitleri de çok düşüktür. Doğruluk ve kesinlikleri tatmin edici değildir [39].

2.1.3. Biyosensörlerin tasarımı

Nitelikli ve optimal bir biyosensör tasarımında öncelikle analit iyi tanınmalı ve bu analite uygun bir biyoreseptör seçilmelidir. Biyoreseptörün immobilizasyon yöntemi ve transdüser tercihi, cihazın kompakt bir hale getirilerek dizayn edilmesinde önemli rol oynar. Örneğin ısı değişiminin söz konusu olduğu bir reaksiyonda entalpi değişimine bağlı olarak ölçüm yapabilecek ve bunu dönüştürebilecek yöntem ve bileşenler seçilmelidir [15]. Tüm bunları gerçekleştirirken kimya, biyokimya, biyoloji, moleküler biyoloji, MEMS, NEMS, nanotüp, nanopartikül, nanotel gibi

teknolojilerden destek alınır. Analit, katı, sıvı, gaz, organik ve inorganik materyallerin karışımı şeklinde olabilir. Analit konsantrasyonu da alt tespit limit sınırında olmalıdır. Bu limiti iyileştirmek için gerekirse, filtrasyon, santrifüj, manyetik ayırıştırma gibi yöntemler kullanılabilir [11]. Algılayıcı görevindeki biyoreseptör, analit ile reaksiyona girerek transdüserin dönüştürebileceği bir fizikokimyasal değişim ortaya koymalıdır ve sadece analite ilgi göstererek seçici bir davranış sergilemelidir. Bu durum hatalı sonuçları önler [11]. Transdüser seçiminde reaksiyon tipi göz önünde bulundurulmalı, biyosensörün kullanılacağı ortama göre tercih yapılmalıdır. Örneğin canlı ortamda kullanılacak bir biyosensör biyoyumluluk göstermeli, küçük boyutlu olmalı, toksik, metalik etkiler göstermemelidir [15].

2.1.4. İdeal bir biyosensörün özellikleri

2.1.4.1. Duyarlılık

Bir biyosensörde yüksek duyarlılık çok küçük değişimleri dahi ölçebilme yeteneği anlamına gelir. Hassasiyet, çıkış sinyalindeki değişimin hedef analit konsantrasyonundaki değişime oranlanması ile ölçülür ki bu da akım - derişim eğrisinin eğimi ile doğru orantılıdır. Bu eğim değeri ne kadar büyükse duyarlılığın da o ölçüde büyük olduğu anlamına gelir [40]. Sensörün fiziksel boyutu, membran kalınlığı, aktiviteyi düşüren faktörler biyosensörün duyarlılığı üzerinde etkilidir. İdeal bir biyosensörde duyarlılık kullanım ömrü boyunca aynı kalmalıdır.

2.1.4.2. Seçicilik

Seçicilik bir biyosensörün en önemli ayırt edici özelliğidir ve numunede bulunan birden fazla madde içinde sadece birini tanıyıp onunla etkileşime girmesi demektir. İdeal bir biyosensör sadece hedef analitle ilgili değişimlere cevap vermeli diğer türlerden etkilenmemelidir. Aksi halde bu hatalı sonuçlar elde edilmesine neden olur [41]. Böyle bir durumda hataya yol açan madde bir ön işlemle uzaklaştırılır. Bu mümkün değilse farklı bir sensör tasarlanır.

Seicilikte ortamın pH'ı önemli bir role sahiptir. Her enzim farklı bir pH'ta optimum aktivite gösterir. Bunun yanı sıra bazı elektrotlar da çalışma için uygun bir pH aralığına ihtiyaç duyarlar. Tayin aralığı da seçimliliği etkiler. Düşük bir tayin aralığında ölçüm yapabilme kabiliyetine sahip bir biyosensörde hedef analitin derişimi düşürölerek girişim yapan madde bertaraf edilebilir [40]. Girişim etkisini asgari düzeyde tutabilmek için; uygulanan potansiyelin düşük olması, uygun immobilizasyon yönteminin kullanılması, elektrodun bir membranla korunması, negatif yüklü bir membran yerleştirilmesi gibi yöntemlere başvurulabilir [42].

2.1.4.3. Ölçüm aralığı

Nitelikli bir biyosensör optimum bir konsantrasyon aralığına sahip olmalıdır. Biyosensör uygulamalarında belirli bir derişimden sonra sapmalar gözlenebilir. Bunun nedenleri arasında ortam stabilitesinin korunamaması, enzim aktivitesinin düşmesi, elektrot yüzeyinde radikallerin oluşması gibi cevabı olumsuz yönde etkileyen unsurlar sayılabilir. İdeal bir biyosensörde kalibrasyon grafiğindeki analit derişimi ile sensör yanıtı arasındaki ilişkinin doğrusal olduğu bölgenin genişliği ölçüm aralığının da geniş olduğu anlamına gelir [40, 43].

2.1.4.4. Hızlı cevap süresi

Bir biyosensörde kısa zamanda sonuç alabilmek biyosensörün kullanılabilirliği açısından önemlidir. Uygulama sırasında analitin çalışma ortamına ilavesinden önce akımın sabit ve kararlı durumda olması gerekir. Sistemde akım değişiminin olduğu ve yeni bir ölçüm için stabilitenin sağlandığı zaman aralığı cevap süresini belirler. Biyosensörün yanıt süresi şu faktörlere bağlıdır [12]:

- Substratın membran yüzeyine difüzyonu
- Substratın membran içine difüzyonu
- Biyokatalizör ile tepkime hızı
- Reaksiyon sonucu ortaya çıkan ürünün membran yüzeyine difüzyonu

Yukarıda sayılan maddeler de derişim, karıştırma hızı, enzim konsantrasyonu, pH, sıcaklık, membran kullanımı, membranın kalınlığı, niteliğı ve morfolojisi gibi parametrelerle ilgilidir. Karıştırma hızının yüksek olması cevap süresini olumlu yönde etkilerken, substrat ve enzim derişimlerinin artması negatif etkiye neden olur. Sıcaklık difüzyon hızını arttırırken enzimin aktivitesini düşürebilir. Tüm bu parametreler göz önünde bulundurularak en uygun koşullar sağlanmalıdır [40].

2.1.4.5. Kalibrasyon ihtiyacı

İdeal bir biyosensörde kalibrasyon ihtiyacının olmaması ya da en aza indirilmiş olması tercih edilir. Ancak şimdilik bu mümkün olmamıştır. Biyosensör yanıtını etkileyen şartlar, kalibrasyonda da etkilidir. Kullanıldıkları sürece biyosensörlerin sık sık kalibre edilmeleri gerekir [44].

2.1.4.6. Tayin sınırı

Biyosensörlerde cevap alınabilen en küçük konsantrasyon değeri tayin sınırıdır. Düşük bir tayin sınırı tercih edilen bir durumdur. Analite karşı affinite, elektrot yüzey alanı, immobilizasyon materyali konsantrasyon tayin sınırını etkileyen faktörlerdir [44].

2.1.4.7. Tekrar edilebilirlik

Nitelikli bir biyosensörde aynı koşullarda arka arkaya yapılan ölçümlerde aynı ya da en azından birbirine yakın sonuçların alınması beklenir. Ölçümlerden elde edilen değerlerin standart sapması hesaplanarak biyosensörün tekrarlanabilirliği ortaya konulabilir. Bu durum pratikte başarılmış olmasa da teorik olarak incelenmeli ve bulgular değerlendirilmelidir [31, 40, 45].

2.1.4.8. Kullanım ömrü

Biyosensörlerde kullanım ömrü, aktivitedeki azalma ile ifade edilir.İdeal biyosensör normal şartlar altında hassasiyetini koruyabilmelidir.Bir biyosensörün ömrünü belirleme üç kriter üzerinden değerlendirilir [46];

- Biyoreseptördeki algılayıcı ömrü
- Depoda uygun koşullarda saklanan biyosensörün ömrü
- Aktif olarak kullanılan bir biyosensörün ömrü

Aktif olarak kullanılan bir biyosensörün kullanım ömründen bahsederken toplam ölçüm sayısı ya da ölçülen analit derişimine bakmak gerekir.Yüksek derişimlerde yapılan ölçümler kullanım süresini kısaltabilir.Girişim yapan türler de duyarlılığı düşürerek kullanım süresini düşürür.Biyosensörün uygun koşullarda muhafaza edilmesi uzun bir zaman aralığında aktivitesini korumasında etkili olur [47].

2.1.4.9. Kararlılık

Elektrotta kullanılan biyolojik materyalin kararlılığı fiziksel dayanıklılığına bağlıdır.Enzimi immobilize etmede kullanılan malzeme, ısı, nem, sıcaklık, pH, oksijen konsantrasyonu ve ortam elektrotun, dolayısıyla biyosensörün kararlılığında rol oynar [44].

2.1.4.10. Biyouyumluluk

Doku altına yerleştirilen biyosensörler, dokularda fibrozis ya da toksik etkiler oluşturabilir.Biyolojik sıvılarla direkt temas halinde olunması durumunda biyosensör yüzeyinde oluşabilecek matriks kaynaklı kirlilik difüzyonu zorlaştırarak yanıtı saptırabilir [42]. Bu nedenlerle kullanılan biyomateryalin ortam ve şartlar yönünden optimize edilmiş olması ideal biyosensör için aranan şartlardandır.

2.1.4.11. Maliyet düşüklüğü ve tasarım kolaylığı

Düşük maliyet ticari anlamda biyosensörün uygulanabilirliğini artırır. Genel anlamda maliyet söz konusu olduğunda biyosensörün hazırlık giderleri ve analiz giderleri bir bütün olarak ele alınır. Karmaşık olmayan, basit ve kolay tasarımlar maliyeti düşürme ve ticari uygulama anlamında da nitelikli biyosensörlerde olması gereken özelliklerdir.

2.1.4.12. Sterilizasyon ve minimize edilebilirlik

Elektrotların boyutunun küçüklüğü kadar sterilizasyon sırasında gösterdiği kararlılık da göz ardı edilmemesi gereken faktörlerdendir. Burada biyolojik malzemenin dayanıklılığı, enzim tabakasının koruyucu bir materyalle kaplanması sterilizasyonu kolaylaştırabilir [48].

2.1.5. Biyosensörlerin performansını etkileyen faktörler

Biyosensörlerin performansı elektrot ve elektrolit türü, elektriksel etki, dış etmenler, tepkime parametreleri, olası gürültüler ve kütle transferi olaylarından etkilenir [17]. Tüm bu parametrelerin birbiriyle uyumlu en optimal şartlarda entegre edilmesi ideal bir sensör tasarımında performansı üst düzeyde başarılı kılar.

2.1.5.1. Elektrota bağlı etkiler

- Elektrotun cinsi
- Elektrotun yüzey alanı
- Elektrotun geometrisi
- Elektrotun yüzey koşulları

2.1.5.2. Elektrolit türüne bağlı etkiler

- pH
- Çözücü madde
- Safsızlıklar
- Elektroaktif türlerin konsantrasyonu

2.1.5.3. Elektriksel etkiler

- Yük
- Potansiyel
- Akım
- İmpedans

2.1.5.4. Dış etkiler

- Numune- matriks bileşimi
- Zaman
- Basınç
- Sıcaklık
- Girişimler

2.1.5.5. Tepkime parametrelerinin etkisi

- Hızı belirleyen basamak veya basamaklar
- Tepkimeye giren maddelerin kararlılığı
- Elektron transfer tepkimelerinde termodinamik ve kinetik değişkenler

2.1.5.6. Olası gürültü etkileri

- Elektromanyetik gürültüler
- Elektrokimyasal gürültüler

- Isı kaynaklı gürültüler

2.1.5.7. Kütle transfer etkileri

- Adsorpsiyon
- Yüzey konsantrasyonu
- Difüzyon
- Konveksiyon

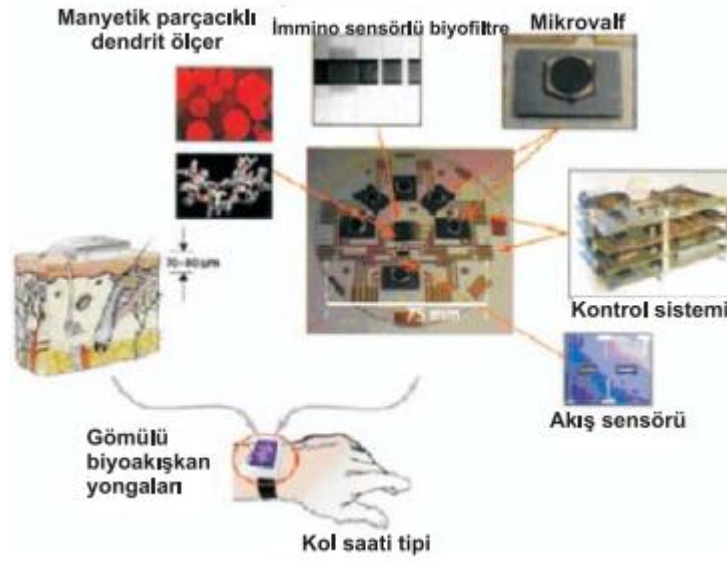
2.1.6. Biyosensörlerin uygulama alanları

Biyosensörler yoğunlukla tıbbi tanı ve teşhiste kullanılır. Bu alanda ilk geliştirilen sensör bir enzim biyosensörüdür. Ticari olarak ilk üretim ise glukoz tayini yapan bir glukoz oksidaz elektrotlu biyosensör ile gerçekleştirilmiştir [8]. Gen incelemelerinde ve alerji sonucu beliren antikorların analizinde [49], kalp hastalıklarında ritim düzenlemede [50], diyaliz hastalarının takibinde, hasarlı doku ya da kemiklerin onarımında, metabolik verilerin izlenmesinde [51] biyosensörler kullanılır. Glukoz, kolesterol, laktat, üre, kreatin tespitinde kullanılan biyosensörler amperometrik enzim biyosensörleridir [38]. Bu sensörler;

- Off line
- İn vivo
- On line olmak üzere üç şekilde kullanılabilir [38].

Gen araştırmalarında, genetik veya bulaşıcı hastalıkların tespitinde, ilaç ve DNA'nın etkileşim takibinde, çevre ve adli tıp analizlerinde DNA sensörleri devreye girer ve önemli verilerin elde edilmesine imkan verir [38].

Şekil 2.12.'de "lab-on -a-chip" adı verilen, ilaç salınım sistemlerini, hücre içi basınç sensörlerini, implant edilebilen mikro elektrotları barındıran bir teknoloji gösterilmektedir [50, 52].



Şekil 2.12. Lab-on -a -chip uygulaması [50].

Tarım, gıda ve çevre alanları da biyosensör teknolojilerinin sıklıkla kullanıldığı alanlardır. Tarımda biyosensörlerden suni gübre, kötü koku, hayvan hastalıkları ve pestisit ölçümlerinde yararlanılmaktadır. Tarım kimyasallarının, ekinlerde ve topraklardaki kirleticilerin ve hayvanlardaki hastalıkların tespit edilmesinde, hayvan doğurganlığının izlenmesinde [53], haşere ve mantarla mücadele ilaçlarında kullanılan biyosensörler, enzim, antikor ve hücre esaslı, amperometrik, potansiyometrik ve optik dönüştürme metotları ile geliştirilmişlerdir [28].

Gıda güvenliğinde kimyasal ve mikrobiyal içeriklerin belirlenmesi ve kalite kontrol uygulamalarında da biyosensörler başvurulan araçlardan olmuşlardır. Balık ve et ürünlerinin tazeliğini ölçmek, bazı gıda kaynaklı patojenleri tespit etmek için çeşitli sensörler geliştirilmiştir. Gıda analizinde enzim esaslı amperometrik biyosensörler [54], patojenik bakteri tespiti için [40, 55], gıda güvenliğinde biyolojik ve kimyasal analitlerin ölçümü için [56] geliştirilen biyosensörler literatürde mevcuttur. Gıda, çevre ve tarım uygulamalarının yer aldığı çalışmalar Tablo 2.1.'de gösterilmiştir.

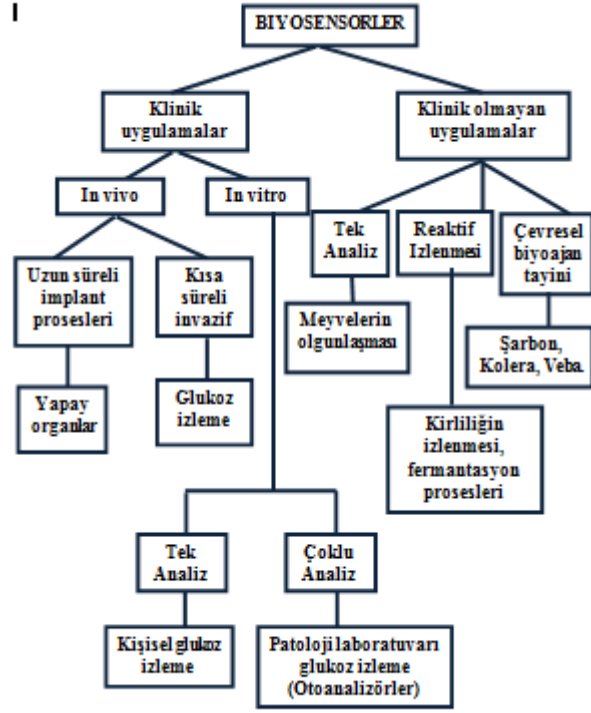
Tablo 2.1. Biyosensörlerin tarım, gıda ve çevre uygulamaları [28].

Uygulama	Analitik Hedefler	Biyosensör Tipleri
Tarım		
Insektisitler	Paraonon, dichlorvos, aldicard, chlorpyrifos ethyl oxon, methamidophos, malaoxon, etofenprox, vb.	Amperometrik immüno ve enzim sensörler Potansiyometrik immüno ve enzim sensörler Emilim immüno ve enzim sensörler Floresan immüno ve enzim sensörler
Herbisitler	Atrazine, cyanazine, propazine, smazine, prometon, terbutryn, vb.	Hücre esaslı elektrokimyasal ve optik sensörler LAPS immüno ve enzim sensörler Fiber optik immüno sensörler
Fungusitler	Dithiocarbamate, carbofuran, metalaxyl, triadimefon, vb.	QCM immüno sensörler
Gıda		
Putrescine, cadaverine		Amperometrik enzim sensörler
hypoxanthine		Amperometrik immüno sensörler DNA / RNA sensörler
L-lactate, D-lactate		Amperometrik hücre esaslı ve doku sensörler
Glukoz, sukroz, laktoz, fruktoz		Potansiyometrik enzim sensörleri
Glutamate, aspartame		LAPS immüno sensörler
Etanol, sülfid		Optik FIA biyosensör
<i>Listeria monocytogenes</i>		Floresan immüno sensörler, PCR-DNA sensörler
<i>E. coli</i> O157:H7		SPR immüno sensörler, DNA sensörler
<i>Salmonella typhimurium</i>		Kemiluminesans immüno sensörler
<i>Staphylococcus aureus</i>		QCM immüno sensörler, QCM-DNA sensörler
Diğer bakteri ve virüsler		Empedans immüno sensörler
Antibiyotikler, pestisitler, fungusitler		Termal enzim sensörler
Çevre		
Oksijen		Amperometrik immüno ve mikrop sensörler
Paraonon, atrazine, dithiocarbamate, vb.		Potansiyometrik hücre esaslı sensörler Empedans immüno sensörler
Alkilat sülfonat		Fiber optik immüno sensörler, floresans sensörler
Sefalosporinler, penisilinler, nystatin		Optik hücre esaslı sensörler LAPS immüno sensörler

Çevre izlemelerinde biyosensörler, hava, su ve toprak örneklerinde pestisit ve antibiyotik kalıntılarını, toksin ve mikropları tespit etmede ve BOD ölçümünde kullanılmışlardır. Wang ve arkadaşları çevresel izlemelerde DNA tabanlı elektrokimyasal biyosensörleri incelemişlerdir [57]. Rodriguez - Mozaz ve arkadaşları çevresel uygulamalarda kullanılan biyosensörler üzerinde çalışmışlar ve gelecekteki trendleri üzerine bir çalışma ortaya koymuşlardır [58].

Biyosensör pazarının %80'inden fazlasını glikoz biyosensörleri kapsamakta, tarımsal üretim, gıda işleme, kalite kontrol, gıda güvenliği ve kontaminasyon tespiti, ambalajlama ile çevresel izleme alanlarında biyosensör kullanımıyla ilgili araştırma ve geliştirme çalışmaları devam etmektedir.

Savunma alanında biyosensörler biyolojik savaş ajanlarının tespit ve takibinde hızlı ve güvenilir sonuçlar vermesi nedeniyle tercih edilmektedir [8].



Şekil 2.13. Biyosensörlerin kullanım alanları [38]

BÖLÜM 3. ENZİMLERE GİRİŞ

3.1. Enzimler

Enzimler ,reaksiyon hızını arttıran biyolojik katalizörlerdir.Bu sırada reaksiyonun denge sabitlerini ve , geçiş durumunun kararlılığını arttırıp aktivasyon enerjisini düşürerek sistemin termodinamik özelliklerini değıştirmedikleri gibi kendileri de değışikliğe uğramazlar.Ribozimler dışındaki tüm enzimler protein yapısında olup saflaştırıldıktan sonra da aktivite gösterebilirler.Kataliz güçleri, kimyasal katalizörlere göre 109 kattan daha fazladır.

Enzimler hücre içinde mitokondrilerde protein sentezi ile sentezlenir.Her protein bir gen tarafından üretilir.Bu durum her enzimin amino asit diziliminin farklı olması ile sonuçlanır.

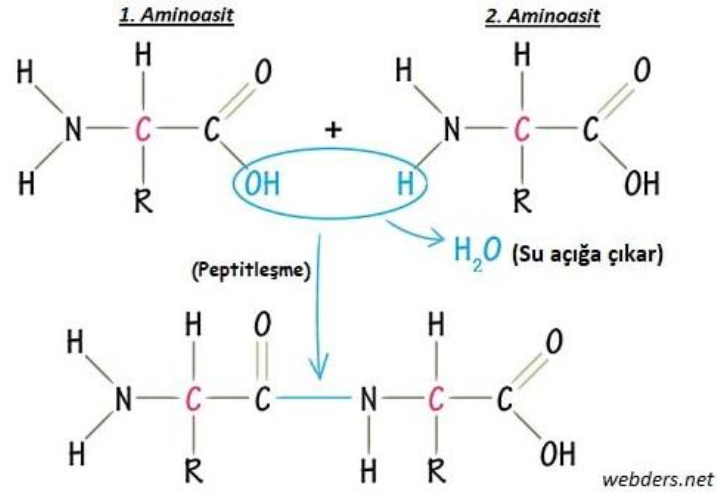
Enzimlerin yapısında kovalent ve kovalent olmayan bağlar bulunur.Kovalent bağlar;

- Peptit bağları
- Disülfid bağlarıdır

Kovalent olmayan bağlar ise;

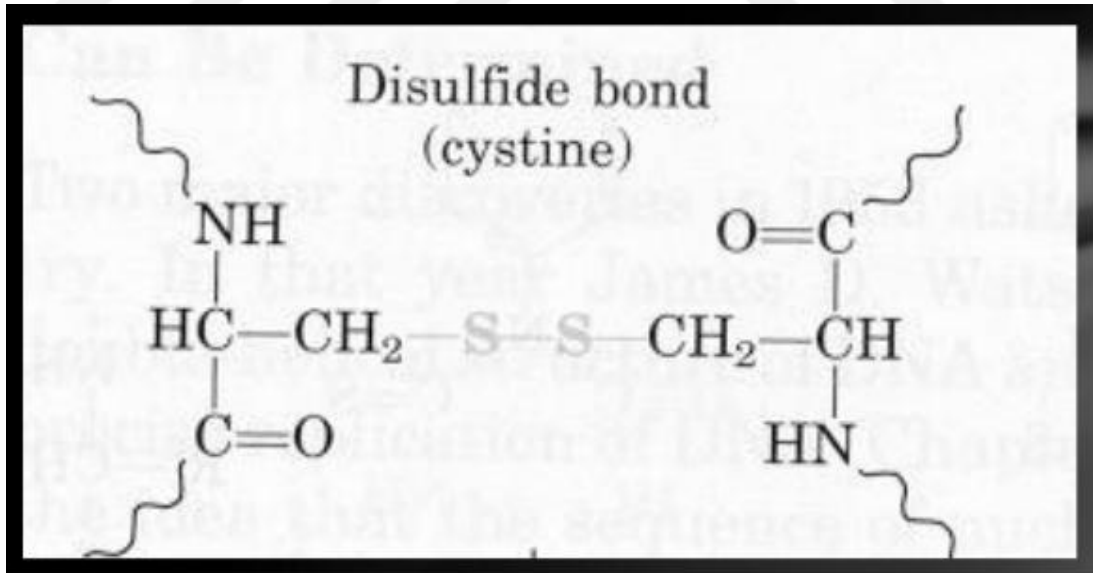
- Hidrofobik etkileşimler
- Hidrojen bağları
- İyonik etkileşimlerdir.

Peptit bağları bir aminoasitteki α -karboksil grubundaki karbonla başka bir aminoasidin azotu arasındaki C-N bağlarıdır.



Şekil 3.1. Peptit bağı oluşumu [59].

Disülfid bağları; iki sistein amino asidi arasında S-H gruplarının hidrojen kaybetmeleri ile oluşan S-S bağlarıdır. Disülfid bağlarının protein molekülünün şeklinin oluşmasında ve korunmasında etkisi büyüktür. Bu bağlar bir polipeptit zinciri içerisinde olabildiği gibi farklı polipeptit zincirlerinin birbirine bağlanmasını da sağlayabilir [60].



Şekil 3.2. Disülfid bağı

Hidrojen Bağı; bir polipeptit zincirindeki oksijen atomu ile başka bir peptit bağı veya düzlemindeki azot atomu arasında birbirleriyle ya da suyla hidrojen köprüsü kurarak oluşturdukları bağlardır.

İyonik bağlar; fizyolojik pH'ta tamamen veya kısmen iyonlaşarak zıt yüklerle yüklenen amino asitler arasında elektrostatik çekimlerle oluşan bağlardır [61].

3.2. Enzimlerin Diğer Katalizörlerden Farkı

Enzimler, yalnızca canlılar tarafından sentezlenir. En önemli özelliği spesifik olmasıdır. Bir enzim molekülü tek bir tepkimeyi ya da o tepkimeyle ilişkili tepkimeler serisini katalizler. Enzimlerin, katalizleyerek etki ettikleri maddelere substrat denir. Enzimler substratlarına göre dört ayrı çeşit spesifiklik gösterirler:

- Mutlak spesifiklik; bir enzimin tek bir substratı katalizlemesidir. Glikoz oksidazın tüm şeker türleri içinde sadece glikozu yükseltgemesi gibi
- Grup spesifikliği; bir enzimin bir grup substrata karşı etkin olmasıdır. Transmetilaz enziminin metil grubu barındıran substratları katalizlemesi gibi
- Bağ spesifikliği; bir enzimin substrattaki belli bir bağa karşı seçici olmasıdır. Proteaz enzimi için peptit bağının, esteraz enzimi için ester bağının bulunması gibi
- Stereo-kimyasal spesifiklik; enzimin substrattaki stereo kimyasal özelliğe karşı spesifik olmasıdır. İzomeraz enzimi gibi

Enzimlerin spesifikliği, istenmeyen tüm yan tepkime ürünlerinin engellenmesi ve seçilen tepkimenin gerçekleştirilmesi demektir. Bu da maliyetin azaltılarak üretimin artırılmasında etkili olur. Ayrıca istenmeyen yan ürünler oluşmayacağı için saflaştırma maliyeti de düşer ve çevre kirliliğine olan olumsuz etki de bertaraf edilir. Enzim tepkimeleri ılıman koşullar gerektirdiği için enerji gereksinimi ve korozyon donanımlarına bağlı maliyetler de düşer. Enzimler kimyasal katalizörlere oranla daha verimli ve üstün katalizörlerdir. Klasik kimyasal yöntemlerle uzun zaman ve büyük çaba gerektiren bazı tepkimeler enzimlerle kolaylıkla gerçekleştirilebilir [61].

3.3. Enzimlerle İlgili Bazı Temel Kavramlar

Enzimlerin tepkimelerde katalizör olarak etki ettikleri maddelere " substrat ", substratların enzim ile etkileştikleri bölgelere "aktif bölge " adı verilir.Enzimlerde, protein yapısında olmayan ancak aktivite için gerekli olan gruplara " kofaktör " adı verilir.Kofaktörler demir, çinko gibi metal iyonlarıdır.Bu grup organik bileşik olduğu zaman " koenzim " adını alır.Bazı durumlarda enzimde hem metalik bir iyon hem de organik bir bileşik bulunabilir [62].

Katalitik olarak aktif enzim ile kofaktör kompleksi "haloenzim " olarak anılır.Enzimin kofaktör içermeyen protein kısmı ise "apoenzim " olarak adlandırılır. "İzozimler " ise aynı reaksiyonu katalizleyen ancak birkaç aminoasit dizisinde farklılık gösteren enzimlerdir.Enzime ya da proteine kolay uzaklaştırılamayacak şekilde kovalent bağlarla sıkıca bağlanmış kofaktörlere "prostetik grup " denir [62].

Sentezlendikleri hücre içinde kalarak etkisini burada sürdüren enzimler "endoenzim " hücre dışına salınan enzimler ise "ekzoenzim "adını alır.Bazı sindirim enzimleri yapıldıkları hücreye zarar vermemeleri için "proenzim (zimojen) " şeklinde bulunur ve daha sonra aktif hale gelirler [61].

3.4. Enzimlerin Sınıflandırılması

Enzimler temelde iki kısımda incelenir:

- Basit enzimler, proteinden meydana gelen, tekli veya çoklu alt birimlere sahip enzimlerdir.Katalitik etki, proteinin poli peptit zinciri tarafından gösterilir.Pepsin, tripsin, üreaz basit enzimlerdendir
- Kompleks enzimler, protein yapısı yanında bir metal iyonu veya bir organik bileşik içeren enzimlerdir.Proteinden oluşan kısım yani apoenzim, enzimin substratını belirlerken kofaktör kısmı enzimi aktive eder [61].

3.4.1. Oksidoredüktazlar

Birçok kimyasal gruba hidrojen ekleyerek veya çıkararak yükseltgenme-indirgenme tepkimelerini elektron aktarımı yoluyla katalizlerler.

- Dehidrogenazlar
- Oksidazlar
- Redüktazlar
- Peroksidazlar
- Katalazlar
- Oksijenazlar
- Hidroksilazlar bu gruptandır.

3.4.2. Transferazlar

Metil, amino, açıl, fosfat, glikozil gibi fonksiyonel grupların taşındığı tepkimeleri katalizlerler.

- Transaldolaz
- Transketolaz
- Açıl, metil, fosforil, glikozil transferazlar
- Kinazlar
- Fosfomutazlar [62].

3.4.3. Hidrolazlar

Su varlığında substratlarda çeşitli bağların parçalandığı reaksiyonları katalizleyen enzimlerdir.

- Proteazlar, protein ve peptitlerin hidrolizini
- Esteraz ve lipazlar, ester ve lipidlerin hidrolizini

- Karbonhidrazlar, şekerler arasındaki veya şekerler ve alkoller arasındaki bağların hidrolizini
- Fosfatazlar, fosforik asit, anhidrit ve esterlerin hidrolizini
- Amilazlar, amit ve peptit bağlarının hidrolizini katalize ederler [12].

3.4.4. Liyazlar

Hidroliz ve oksidasyon dışındaki yollarla bağların kırıldığı ve çift bağın olduğu tepkimeleri katalizleyen enzimlerdir [62].

- Dekarboksilazlar
- Aldolazlar
- Hidratazlar
- Dehidratazlar
- Sentazlar

3.4.5. İzomerazlar

Molekülde yapısal ve geometrik izomer değişikliklerinin gerçekleştirildiği, atomların yeniden düzenlendiği tepkimeleri katalizleyen enzimlerdir .Bu enzimlere glukoz oksidaz, trioz fosfat izomeraz örnek verilebilir [61].

- Rasemazlar
- Mutazlar
- Epimerazlar
- İzomerazlar

3.4.6. Ligazlar

ATP enerjisi kullanarak iki molekülü birleştiren enzimlerdir.DNA ligaz bu tür enzimlere örnektir.

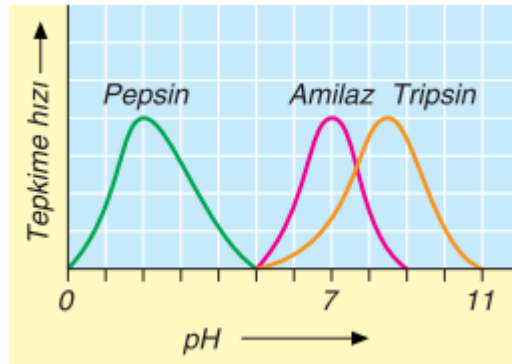
- Senteazlar
- Karboksilazlar

3.5. Enzim Katalizli Bir Reaksiyonun Hızını Etkileyen Faktörler

Enzimlerin katalizörlüğünde ilerleyen bir reaksiyon, ortamın pH'ı, iyonik güç, substrat, enzim ve ürün konsantrasyonu, sıcaklık, hormonlar, ışık, su miktarı, inhibitör derişimi ve aktivatör derişimi gibi fiziksel parametrelerden etkilenir [61].

3.5.1. pH ve iyonik güç etkisi

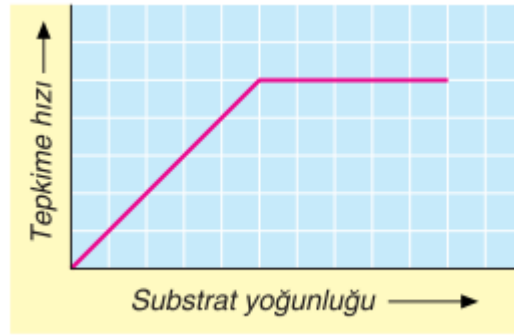
Bir enzimin en yüksek aktivite gösterdiği pH değerine " optimum pH " denir. Her enzimin kendine özgü bir optimum pH değeri vardır. Bu değer dışında enzim ya aktivitesini kaybeder ya da çok az aktif olur. Bunun nedeni, pH düşük olduğunda yani ortamda H^+ iyonlarının fazla olduğu koşullarda metal katyonları ile H^+ iyonları arasında enzimin metal bağlayıcı bölgelerine bağlanmak için bir yarış olmasıdır. Daha az katyon bağlanabilir ve aktivite düşer. pH'ın artması yani bazik koşullar iyonlar ve enzim ligandları arasındaki yarış hızlandırarak hidroksit oluşumuyla enzimden kopuşlara yol açar.



Şekil 3.3. Optimum pH'ın tepkime hızına etkisi [63].

3.5.2. Substrat konsantrasyonu etkisi

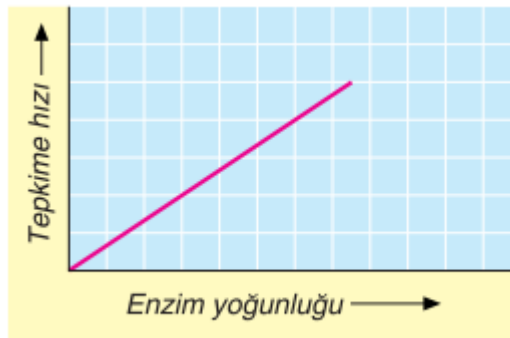
Reaksiyon hızının reaktant konsantrasyonuna bağlı olmadığı sıfırıncı dereceden reaksiyonlar dışında tüm reaksiyonlar reaktant konsantrasyonunun artışından olumlu etkilenir. Ancak enzim katalizörlüğünde gerçekleşen bir reaksiyonda optimum koşullar oluştuğunda çıkılan hız, konsantrasyonun arttırılmasına rağmen maksimum hız olarak kalır [61].



Şekil 3.4. Substrat konsantrasyonunun reaksiyon hızına etkisi [63].

3.5.3. Enzim konsantrasyonunun etkisi

Optimum koşulların sağlandığı ve substratın da yeterince fazla olduğu durumlarda reaksiyon hızı enzim konsantrasyonuyla doğru orantılı olarak artar. Ortamda belirli miktarda substrat varsa enzim miktarının arttırılması hızı etkilemez [61].



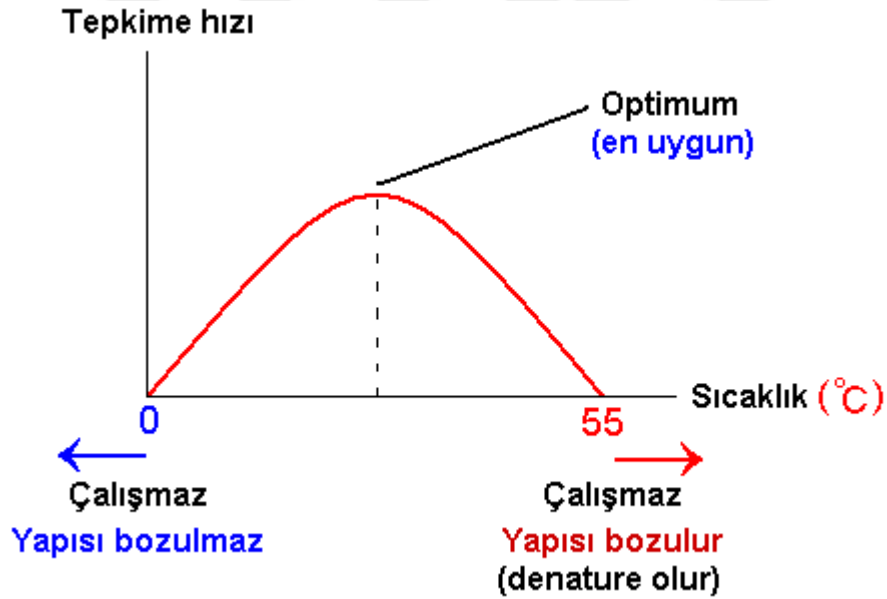
Şekil 3.5. Enzim konsantrasyonunun reaksiyon hızına etkisi [63].

3.5.4. Ürün konsantrasyonunun etkisi

Ürün konsantrasyonunun giderek artması bir feed-back kontrol mekanizmasıyla reaksiyonun hızını düşürür.

3.5.5. Sıcaklık etkisi

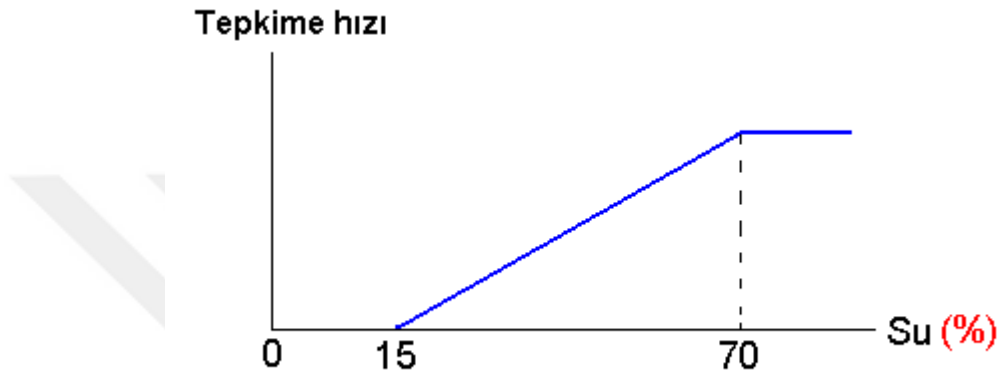
Bir enzimin maksimum etki gösterdiği sıcaklığa "optimum sıcaklık" denir. Reaksiyonların çoğunun hızı her 10^0 C 'ta iki kat artar. Ancak optimum sıcaklık değerinin daha üstündeki ve daha altındaki sıcaklıklarda enzimler üç boyutlu bir bozulmaya yani denatürasyona uğrarlar. Bu bozulmalar düşük sıcaklıklarda tersinir yani geri dönüşümlü, yüksek sıcaklıklarda ise tersinmez yani geri dönüşümsüzdür. Yüksek sıcaklıklarda enzim uğradığı geri dönüşümsüz denatürasyondan dolayı aktivitesini tamamen kaybeder [61].



Şekil 3.6. Sıcaklığın reaksiyon hızına etkisi [62]

3.5.6. Su miktarının etkisi

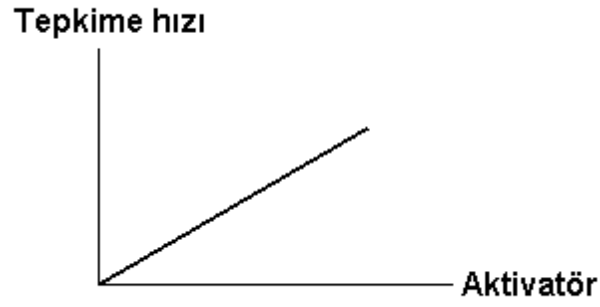
Moleküllerin çarpışması için gerekli hareket ortamını sağlayan sudur. Enzimatik reaksiyonlar için genellikle %15 oranında suya ihtiyaç duyulur. Kurutulmuş sebze ve meyveler taze olanlara göre, su miktarının azalmasıyla enzim aktivitesi durduğu için daha uzun ömürlüdürler.



Şekil 3.7. Su miktarının reaksiyon hızına etkisi [62].

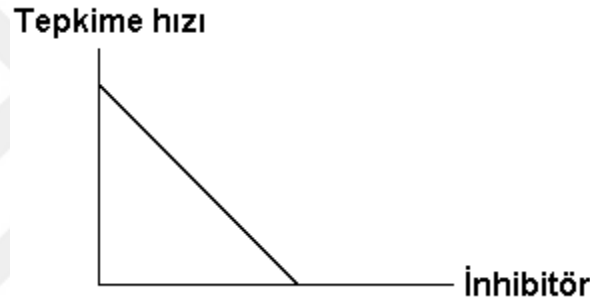
3.5.7. İnhibitör ve aktivatör konsantrasyonu etkisi

Aktiviteyi arttıran moleküllere " aktivatör ", durduran veya düşüren moleküllere "inhibitör " denir. İnhibitörlerin çoğu kimyasal maddelerdir. Ancak bir organizmanın enzimi başka bir organizma için inhibitör olarak da görev yapar. İnhibitörlerden genellikle ilaç yapımında yararlanır. Aktivatörler de genellikle metal iyonları olan koenzimler ve kofaktörlerdir [61]. Aktivatör miktarının artması reaksiyonu hızlandırır.



Şekil 3.8. Aktivatör ve reaksiyon hızı ilişkisi [57].

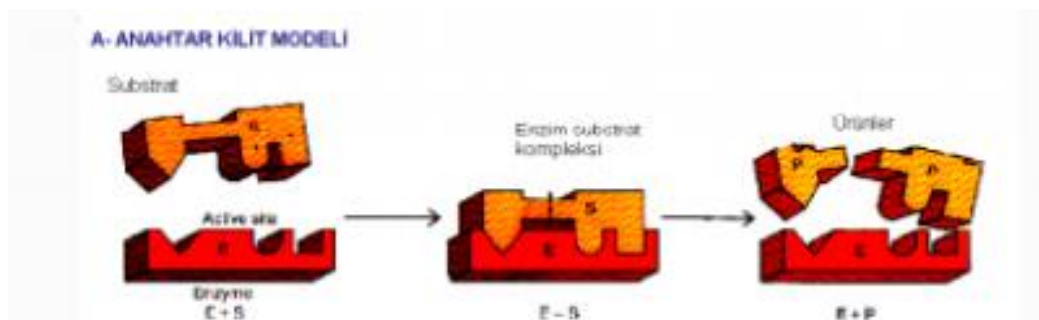
İnhibitörler aktif bölgeye bağlanarak enzimin substrata bağlanmasını engeller. İnhibitör miktarının artışı reaksiyonu yavaşlatır veya durdurur.



Şekil 3.9. İnhibitör ve reaksiyon hızı ilişkisi [62].

3.6. Enzim -substrat birleşme modelleri

Enzimler substratlarına göre çok büyük spesifiklik gösterirler. Bunun nedeni enzim ve substratın birbirine tam uyumlu geometrik bir şekle sahip olmasıdır. Bu düşünce genel olarak " anahtar kilit modeli " olarak anılır [64].



Şekil 3.10. Enzim-substrat "anahtar-kilit " modeli [64].

Enzimler göreceli olarak esnek yapıda moleküllerdir. Substratın da etkisiyle aktif merkezin şekli enzimle etkileşim sırasında sürekli olarak değişime uğrar. Başka bir deyişle substrat hareketsiz bir aktif merkeze değil de aminoasit ve yan zincirlerin enzimin katalitik işlevini yerine getirmesi için şekil aldığı bir yapıya bağlanır. Bazı reaksiyonlarda substrat da şekil değişikliğine uğrar. Tam bağlanmanın olduğu noktada son şekil ve yük belirlenir [64].



Şekil 3.11. Enzim ve substratların indüklenmiş uyum modeli [64].

3.7. Enzim immobilizasyonu ve immobilizasyon yöntemleri

Biyokatalizör olarak kullanılan doğal enzimler, işlevlerini tamamladıktan sonra, kimyasal ya da fiziksel metotlarla inaktive edilirler. Bu durum enzimlerin tekrar kullanılmalarını olanaksız kılar. Enzim aktivasyonunu yitirmeden ortamdan uzaklaştırılabildiğinde ise defalarca kullanımı mümkün olur.

Enzim immobilizasyonu enzimin çözünmeyen bir maddeye hapsedilmesi ya da bağlanmasıdır. Destek görevi gören bu materyaller "matriks" olarak anılır. Enzimler matrikslere aktif grupların işlevini engellemeyecek şekilde immobilize edilmelidirler [65].

Seçilecek immobilizasyon yönteminin başarısı, enzimin çözünürlüğüne, fonksiyonel gruplara, matriks materyalinin yapısına, immobilizasyonla oluşan bağların gücüne, enzim değişimlerinin enzim gücüne etkisine bağlıdır [61]. Immobilizasyon yöntemleri temel olarak iki kısımda incelenebilir;

- Çözünmeyen enzimler için kullanılan yöntemler
- Çözünen enzimler için kullanılan yöntemler

3.7.1. Çözünmeyen enzimler için kullanılan yöntemler

3.7.1.1. Bağlama yöntemi

Bir enzim molekülündeki fonksiyonel gruplar; aminoasitlerdeki serbest karboksil, amino, hidroksil, indizol ve sülfahidril gruplarıdır. Bağlamada kullanılan bu grupların, ılıman koşullarda hedeflenen bağları uygun kuvvette oluşturmaya, enzim aktivitesi için kritik olmamasına, enzim denatürasyonuna neden olmamasına, enzimin katalizlediği substrat ve reaksiyon üzerinde bir değişim oluşturmamasına dikkat edilmelidir. Bağlama sırasında yeni bağlar oluştuğu için enzim modifiye edilmiş olur [61]. Bağlama yöntemleri çapraz bağlama ve taşıyıcıya bağlama olarak iki bölümde incelenir.

3.7.1.1.1. Çapraz bağlama

İki veya daha fazla fonksiyonel grup içeren bir çapraz bağlama ajanı, enzim çözeltisine uygun miktarda eklenerek oluşturulan kontrollü reaksiyonlar ile enzim molekülleri çoklu kovalent bağlarla birbirine bağlanır. Bu üç boyutlu çapraz bağlı enzimler suda tamamen çözünmezler. Çözünmeyen kompleksin oluşumu, çözeltinin pH'ına, iyonik güce, enzim ve ajanın konsantrasyonuna bağlıdır. Çapraz bağlamada uygun süre ve sıcaklık her enzim için farklıdır. Bu koşulların sağlandığı uygun verilere deneme yanılma yoluyla ulaşılır. Yöntem genellikle başka bir yöntemle birlikte kullanılır.

Çapraz bağlama yönteminin dezavantajları şöyle sıralanabilir [61]:

- Pahalı bir yöntemdir
- Çapraz bağlı enzim grubu jelatin yapısındadır
- Tepkime kontrolü güçtür

- Aktif bölge bağ oluşumunda yer aldığı ve çapraz bağlı yapının merkezinde kaldığı için aktivite kaybı yaşanır
- Enzimin bir kısmı destek görevine katıldığı için yetersiz bir yöntemdir

3.7.1.1.2. Taşıyıcıya bağlama yöntemi

Bu yöntem, immobilizasyonda ilk kullanılan yöntemdir. Taşıyıcıya bağlama yönteminde enzimler, iyonik ya da kovalent bağlarla veya adsorpsiyonla doğrudan destek malzemesine bağlanır. Enzim aktivitesi taşıyıcı materyalin yapısına bağlıdır. Taşıyıcı seçiminde ise enzimin yapısı, boyutu, hidrofil grupların hidrofob gruplara oranı, kimyasal bileşimi ve yüzey alanı gibi parametreler göz önünde bulundurulmalıdır. Taşıyıcıya bağlama yönteminde inorganik, organik ve biyolojik destekler kullanılabilir. Taşıyıcıya bağlama yönteminde dört farklı yol izlenebilir:

- Fiziksel adsorpsiyon
- Metal bağlama
- İyonik bağlama
- Kovalent bağlama

Fiziksel adsorpsiyon: Enzim immobilizasyonundaki en basit yol fiziksel adsorpsiyondur. Konsantrasyonu yüksek enzim çözeltisi katı maddeyle karıştırılarak enzim proteini ve matriks yüzeyi arasında spesifik olmayan fiziksel etkileşimlerle gerçekleştirilir. Reaksiyon sırasında oldukça zayıf bağlar oluşsa da çok sayıda olduklarından yeterli bağ gücünü sağlarlar. Bu yöntem, yüzey özellikleri kullanıldığından enzim ve katı maddede kimyasal modifikasyonlara ihtiyaç duymaz. Dolayısıyla enzim yapısına çok az zarar verir, ucuz ve kolay bir yöntemdir. Destekten enzim sızıntısının olması ise fiziksel adsorpsiyon yönteminin dezavantajıdır [61].

Metal bağlama: Bu yöntemde geçiş metallerinin özgül bağ oluşturma özelliklerinden yararlanılır. Enzimde uygun uçların bulunması ve bu uçların metalle reaksiyona girme kabiliyetleri enzim aktivitesine sahip yeni bir türevin oluşmasına yol

açar.Metal bağlama yönteminde substratın molekül ağırlığı, molekül büyüklüğü ve şekli göz önünde bulundurulmalıdır [61].

İyonik bağlama: İyon değiştirici uçlar taşıyan ve suda çözünmeyen bir taşıyıcıya, enzim proteininin iyonik bağlar ile bağlanması yöntemin temelidir.Taşıyıcı olarak, iyon değiştirici merkezlere sahip polisakkaritler ve sentetik polimerler kullanılır.Kovalent bağlanmaya göre daha ılıman koşullar gerektirir ancak oluşan bağlar daha zayıftır. Fiziksel adsorpsiyondan farkı ise daha kuvvetli bağlar oluşmasıdır. İyonik bağlamada enzim aktivitesi yüksektir.Bu durum, metodun enzimin aktif bölgesinde ve konformasyonunda çok az değişime neden olması ile açıklanır.Dezavantaj olarak, enzim sızıntısı görülebilir.

Kovalent bağlama: Enzim immobilizasyonu, destek ve enzim arasında kovalent bağlar oluşmasıyla gerçekleştirilir.Yöntemde, enzimin doğal konformasyonunu bozmamak için hidrofilik destek matriksleri kullanılır.Destek malzemeleri DEAE (dietilaminoetil), CMC (karboksimetil selüloz) gibi belli ayıraçlarla fonksiyonel gruplar oluşturulabilen malzemeler de olabilir.Kovalent bağlama yönteminde yüksek aktivite, aktif bölgede inaktive olmaya müsait uçların korunmasıyla elde edilir.Bu metot daha karmaşık ve daha sert koşullara ihtiyaç duyar.Bu da enzimin konformasyonel yapısının ve enzim aktif merkezinin değişerek enzim aktivitesinin düşmesi ya da substrat değişimi anlamına gelir.Kovalent bağlama yönteminin optimizasyon koşulları daha zordur.Ancak, taşıyıcı ve enzim bağı çok kuvvetli olduğu için enzim sızıntısı minimum seviyededir.Enzim yüzeyden bağlandığı için büyük boyutlu substrat molekülleriyle de etkileşebilir [61].

3.7.1.2. Hapsetme

Hapsederek immobilize etme yönteminde enzim, substratın içeri ürünün ise dışarı difüzyonuna izin verecek bir polimer matriks veya membrana yerleştirilir.Burada bağlanma olmadığından enzimin yapısı bozulmaz.Ancak polimerizasyon esnasında oluşan serbest radikaller enzim aktivitesini etkileyebilir.Düşük ağırlıklı substratların

katalizlendiği enzimler için kullanılabilen bu yöntem yüksek ağırlıklı substratlarda difüzyon kısıtlamaları nedeniyle uygulanamaz. Hapsetme işlemi üç şekilde yapılır:

- Jele hapseme
- Life hapsetme
- Mikroenkapsülasyon

3.7.2. Çözünen enzimler için kullanılan yöntemler

Çözünen enzimlerin immobilizasyonunda enzim çözeltisi yarı geçirgen membranlar arasında tutulur. Yarı geçirgen membran naylon, selüloz, polisülfon veya poliakrilat olabilir.

3.8. Enzim İmmobilizasyonunun Avantajları

- Tepkime çözeltisinden enzimi çıkartmak kolaydır.
- Reaksiyonu sonlandırmak için enzimin deaktif olmasını sağlayacak inhibitör ekleme, ani ısıtma gibi işlemlere gerek yoktur.
- Kesikli işlemlerde defalarca, sürekli işlemlerde uzun süre kullanılabilirler. Bu da katalizör maliyetini azaltır.
- Serbest enzimlere oranla daha kararlıdır.
- Serbest enzimlere oranla daha uzun yarı ömre sahiptirler.
- Enzim üründen kolaylıkla ayrılabilir.
- Enzim birden fazla kez kullanılabilir.
- Farklı optimum koşullar gerektiren enzimler aynı proste bir arada kullanılabilir.
- Zaman, materyal ve laboratuvar gücü ihtiyacı azalır.
- Enzimin kendi kendini denatüre etme olasılığı düşüktür.
- Proses koşullarına daha dayanıklıdır [54, 55, 61].
- Bozulma hızları tahmin edilebildiği için ayıraç hazırlanmasına gerek kalmaz [61].

3.9. Enzim İmmobilizasyonunun Dezavantajları

- Bazı immobilizasyon metotlarında enzim sızıntısı olabilir.
- Sterik zorluklar ve difüzyon kısıtlaması vardır.
- Enzim mikro çevresinin kontrolü zordur.

3.10. Glukoz Oksidaz Enzimi

Glukoz oksidaz (GOx), glukoz sensörlerinde en fazla kullanılan enzimdir. GOx, kofaktör olarak iki adet flavin adenin dinükleotit (FAD) içerir [66]. Enzim molekülünde FAD'ın olmadığı bir durumda enzim aktivitesinden söz edilemez. GOx enzimi kaynak ve türüne göre %10-24 arasında karbonhidrat bileşiminden oluşur [40]. Şekil 3.12.'de D-glukozun glukonik aside yükseltgendiği reaksiyon gösterilmiştir. Bu reaksiyonda önce indirgenme sonra yükseltgenme olmuş reaksiyon iki basamak üzerinden yürümüştür. İndirgenme basamağında glukoz glukanolaktone dönüşür, yükseltgenme basamağında ise hidrojen peroksit oluşur [40]. Bu reaksiyona göre glukoz miktarı ile oluşan H_2O_2 miktarı doğru orantılıdır [67].

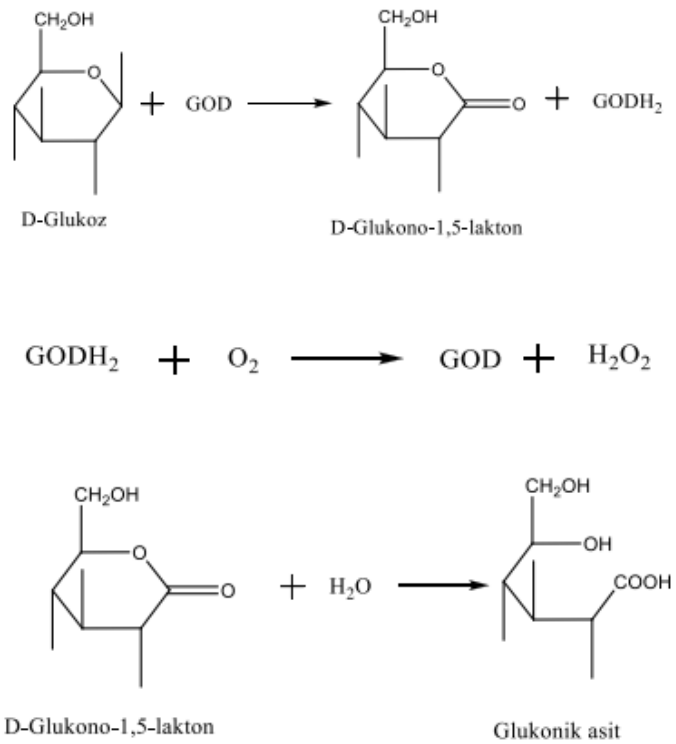
FAD, yapısında bulunan riboflavinden dolayı indirgenmektedir. FAD, elektron alıcısı gibi davranarak glukozu yükseltgenir, daha sonra moleküler oksijeni indirgeyerek H_2O_2 'ye dönüştürür ve tekrar oksitlenmiş formuna geri döner [66].

İlk defa 1904 yılında Maksimow, Asperigillus Nîger'de GOx enzimi ile ilgili çalışmalar yaparak bu enzimin aktivitesini ortaya koymuştur. Enzimin oksidatif özelliği ise 1928'de Müller tarafından saptanmıştır [12]. 1962'de ise Clark ve Lyons enzimatik elektrot kavramını önermişlerdir [68].

Glukoz tespitinde glukoz biyosensörünün çalışması, analitteki glukoz ve çözünmüş oksijenin elektrot yüzeyine ulaşması ile başlar. Glukoz, glukonik asite dönüşür ve bu sırada O_2 harcanır. Ortamdaki glukoz bittiğinde başlangıçtaki ve reaksiyon sonundaki çözünmüş O_2 karşılaştırılır. Aradaki fark, ortamdaki glukozun oksidasyonu için harcanan O_2 olup buradan biyolojik sıvıdaki glukoz miktarı hesaplanır [69]. O_2 tüketimine dayanan bu yaklaşımın dezavantajı, O_2 'nin sudaki çözünürlüğünün az

olması ve konsantrasyondaki dalgalanmalar nedeniyle yanlış sonuçlara yol açabilmesidir [70].

H₂O₂ oksidasyonuna dayanan yaklaşımın dezavantajı ise, gerçek numunelerde çoğunlukla glukoz ile bir arada bulunan bir çok elektroaktif maddenin de çalışma elektrotu üzerinde oksitlenmesidir [71].



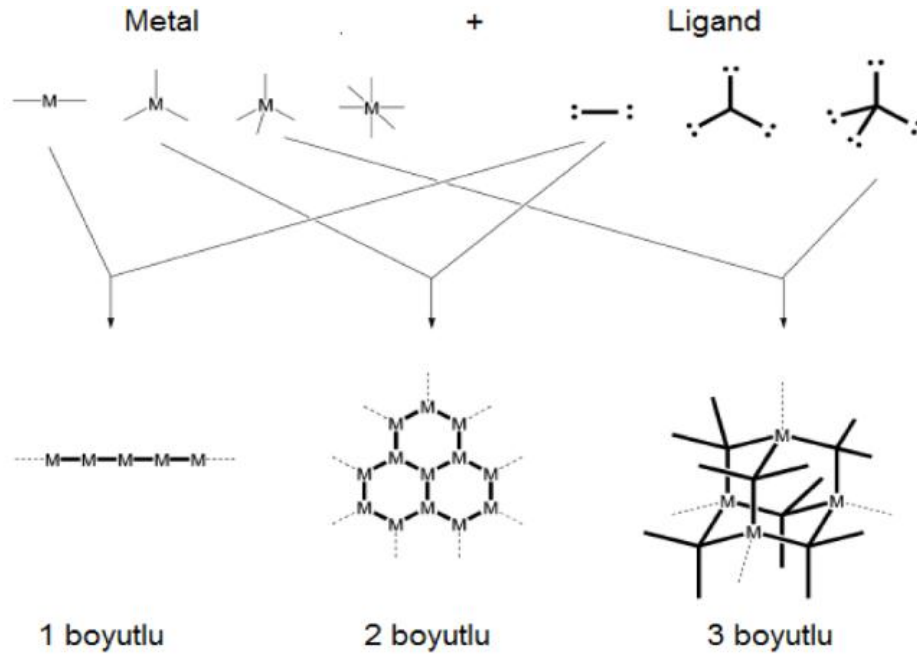
Şekil 3.12. D-Glukozun GOx ile katalizlendiği reaksiyon [40].

Enzim	Substrat
Glukoz oksidaz	Glukoz
Laktat oksidaz	Laktat
Aldehit dehidrogenaz	Aldehit
Peroksidaz	Hidrojen peroksit
Kolin oksidaz	Kolin
Katalaz	Hidrojen peroksit, florür, siyanür
Üreaz	Üre
Galaktoz oksidaz	Galaktoz
Alkol oksidaz	Etanol, metanol, formaldehit
Glutamat oksidaz	Glutamat

Şekil 3.13. Biyosensörlerde kullanılan bazı enzimler

BÖLÜM 4. METAL ORGANİK KAFESLER

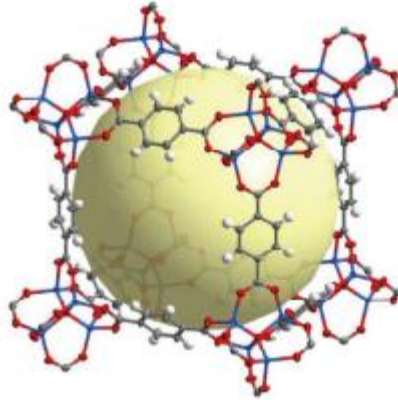
Metal organik çerçeveler (Metal organik frameworks), metal iyonu ve bağlantı noktalarından köprülenmiş ligantlardan oluşan hibrit malzemelerdir . Bu ligantlar organik ve inorganik bağlayıcı moleküllerdir. Koordinasyon Polimeri (CP) veya Koordinasyon Ağları olarak da adlandırılırlar. Yapısal esneklik, gözeneklilik, kontrol edilebilir sentez, kontrol edilebilir gözenek boyutu, esnek duvar modifikasyonu özellikleri nedeniyle biyosensörler gibi algılama ve görüntüleme uygulamalarında ilgi çekerler .MOF'lar floresan ve luminesan sensörlerin üretimi için de yapı bileşenlerindeki etkileşimin ayarlanabilmesi nedeniyle tercih edilir [72]. Nano boyuta getirilen MOF'lar in-vivo çalışmalarda görüntüleme maddesi olarak da kullanılabilir.Kendiliğinden biyolojik olarak bozunabilmeleri, görev tamamlandıktan sonra hızlı temizlenmeyi de kolaylaştırır [73].



Şekil 4.1. Metal organik kafes yapıların şematik gösterimi [74].

MOF tabanlı biyo algılama ve biyo görüntüleme şu şekilde sınıflandırılır:

- MOF'lar, canlı hücrelerde DNA veya adenozini saptamak için boya etiketli DNA problemlerini söndürmek için nano MOF'ların kullanılması gibi florofor söndürücü olarak kullanılır [75, 76].
- MOF'ların floresan yoğunluğu, çevresindeki hedef biyomoleküllerden etkilenir [77, 78].
- Enzimler ve MOF'lar birleştirilerek biyomoleküllerin etiketsiz algılanmasında kullanılır [79, 80].
- MOF'lar, klinik tanı için yararlı teknikler olan manyetik rezonans görüntüleme (MRI) ve bilgisayarlı tomografi (CT) dahil olmak üzere oldukça etkili görüntüleme yöntemleri için kontrast maddeleri olarak kullanılmaktadır [81].



Şekil 4.2. MOF-5'in şematik görünümü [82]

4.1. MOF'ların Özellikleri

MOF'ların;

- Stabilité
- Seçicilik
- Gözeneklilik
- Kristal yapı
- Ayarlanabilir gözenek boyutu

- Kolay işlevselleştirme

gibi mükemmel özellikleri vardır. Bu özellikler adsorbe edilen konakçı ve biyomoleküller arasındaki etkileşimler nedeniyle gömülü moleküllerin sızma olasılığını ortadan kaldırmaya veya azaltmaya yardımcı olur [83]. MOF'ların işlevselliği biyomoleküllerin hem kovalent hem de kovalent olmayan bağlanmalarına izin verir [84].

MOF'ların adsorbsiyon ve konjugasyon için; gözenekler, metal merkezleri, ligandın hidrofobik halkaları, ligandın fonksiyonel grupları ve kanalları gibi bir çok yeri vardır. Diğer nanomalzemelerin pek çok olası konjugasyon bölgesi göstermesi olası değildir [85].

MOF'ların gözenekli yapıları ve geniş yüzey alanlarına ek olarak konuk moleküller ve organik moleküllerin fonksiyonel grupları arasındaki olası π - π etkileşimleri de üstün özellikleri arasında sayılabilir. Bu özellik diğer materyallere göre konuk moleküllerin sızması gibi kusurların giderilmesinde oldukça yararlıdır [86].

MOF'ların, biyomoleküllerin kapsüllenmesinde bir diğer avantajı da nano ölçekli partiküllerde sentezlenebilmesidir. Bu da makro, mezo ve mikro gözenekli diğer materyallere göre katalitik ve algılama özelliklerini artırır. Bu malzemenin en büyük dezavantajı neme karşı stabilitesinin düşük olmasıdır [83]. Metal organik kafesler, uygun gözenekliliğe sahip geniş yüzey alanları, biyoyumlulukları, operasyonel kararlılıkları, yüzeyel kimyalarının ayarlanabilirliği ile biyomoleküller için ideal konakçı malzemelerdir.

4.2. MOF'ların Sentez Yöntemleri

MOF'lar, organik bir ligantın metal iyonlarıyla üç boyutlu bir kafes yapı oluşturacak şekilde bir araya gelmesiyle koordinasyon kimyası içinde geniş ve önemli bir yer tutarlar. Bu koordinasyon bileşikleri, organik ligantların metal iyonu ve metal iyonu kümeleriyle kovalent bağlar oluşturarak, farklı ve ayarlanabilir boyutlarda kafes yapıların sentezlenmesine olanak sağlar.

MOF'ların hazırlanmasında katyonik elementler inorganik düğümler olarak kullanılır. Bu amaçla sıklıkla kullanılan metaller; Ag^{+1} [87], Zn^{+2} [88], Mn^{+2} [89], Mg^{+2} [90], Co^{+2} [91], Zr^{+4} [92], Ti^{+4} [93], Hf^{+4} [94], Cu^{+2} [88], Al^{+3} [95], Fe^{+3} [96], Cr^{+3} [97] ve V^{+3} [98]'dir. Farklı uzunluklardaki organik bağlayıcılara ise; 1, 4-benzendikarboksilik asit, 1, 3, 5-benzentrikarboksilik asit, bifenil-4, 4'-dikarboksilik asit, 4, 4, 4'-s-triazin-2, 4, 6-triyl -tri-benzoik asit, 1, 3, 5-tris (4-karboksifenil) benzen, 2, 6-naftalendikarboksilik asit ve bunların türevleri örnek gösterilebilir [99].

Sentez prosesi sırasında çözücü moleküllerinin yapıdan çıkarılmasından sonra aromatik halkalar arasındaki güçlü p-p etkileşimi nedeniyle birim hücrelerin hacmi daralabilir [100, 101]. Bu durum konuk molekülün kimyasal yapısı, metallerin ve organik bağlayıcının türü ve basıncın ayarlanmasıyla kontrol edilebilir.

4.2.1. Sıvı faz sentez

Bu yöntem, zeolit ve metal oksit gibi gözenekli malzemelerin sentezinde sıklıkla kullanılmaktadır [102]. Seçici bir çözücü, uygun bir organik bağlayıcı ve metal tuzu sıvı faz sentezinin ana bileşenleridir. Genellikle metal tuzu ve organik ligand, çözücü içinde birlikte karıştırılır. İkinci bir yol ise metal tuzu ve organik ligandın çözücü içinde ayrı ayrı çözülerek tek bir kapta birleştirilmesidir [103].

Çözücü ve çözünen etkileşimleri; hidrojen bağı etkileşimleri, iyon -dipol, dipol-dipol, dipol-uyarılmış dipol, solvofobik kuvvetler, London Kuvvetleri ve dispersiyon kuvvetlerini kapsar. Polarite, kaynama noktası sıcaklığı, reaktivite, verici sayısı, stabilite, çözünürlük, dielektrik sabiti gibi çözücü özellikleri sıvı faz sentezi performansını etkileyen faktörlerdir [104, 105]. Malzemenin topografik yapısına, morfolojiye, kristal boyutuna ve saflığa etki eden diğer etmenler ise reaktiflerin derişimi, ısıtma sıcaklığı ve süresi, çözeltinin pH değeri ve öncülün özellikleridir.

Sıvı faz sentezinde kullanılan yöntemler şunlardır:

- İyonotermal yöntem
- Püskürtmeli kurutma yöntemi
- Mikrodalga yöntemi
- Sonokimyasal yöntem
- Yavaş buharlaşma yöntemi
- Hidrotermal veya solvotermal yöntem
- Akış kimyası yöntemi
- Elektrokimyasal yöntem

4.2.1.1. İyonotermal yöntem

İyonotermal sentez, sentezlenen katı malzemenin özelliklerini kontrol etmek amacıyla iyonik sıvıların hem çözücü hem de şablon olarak kullanıldığı bir sentez metodudur. Çoğu sıvı faz sentez yöntemi, nispeten sert reaksiyon koşullarına sahip olması, çok fazla miktarda organik bileşene ve daha fazla enerjiye ihtiyaç duyulması gibi dezavantajlara sahipken iyonik sıvılar bazı avantajlarıyla bu gibi sorunları bertaraf etmede bir alternatif sunarlar.

Bu yöntemin dezavantajı ise iyonik sıvıların çok yüksek viskoziteye sahip olmasıdır. Bu yüksek viskozite çözünen maddenin difüzyonunu etkileyerek karıştırma ve filtrasyon zorluğuna yol açar. Ayrıca çoğunun erime noktası tanımlanmadığı için istenmeyen kristalleşmeler de görülebilir [106]. Bu yöntem, MOF sentezinden önce iyonik sıvının sentezini gerektirdiği için maliyet artışı da söz konusudur. Kalıntıların nihai üründen uzaklaştırılması da bu metodun dezavantajlarındandır.

Tablo 4.1. Bazı MOF'ların iyonotermal yöntemle sentezi [107].

MOFs	Precursors	Ionic liquid	Reference
Co-MOF	Co (NO ₃) ₂ ·6H ₂ O, H ₂ BDC	1-Ethyl-3-methylimidazolium chloride	[152]
Zn-MOF	Zn (NO ₃) ₂ ·6H ₂ O, H ₃ BTC	1-Ethyl-3-methylimidazolium bromide	[153]
Mn-MOF	Mn (OAc) ₂ , H ₃ BTC	propyl -3-methylimidazolium-iodine	[154]
Cd-MOF	Cd (NO ₃) ₂ ·4H ₂ O, H ₂ BDC	1-butyl-3-methylimidazolium bromide	[155]
Zn-MOF	Zn (NO ₃) ₂ ·6H ₂ O, H ₂ BDC	1-butyl-3-methylimidazolium bromide	[156]
Zn-MOF	Zn (NO ₃) ₂ ·6H ₂ O, H ₂ BDC	1-Amyl-3-methylimidazolium iodine	[156]
Mg-MOF	Mg (NO ₃) ₂ ·6H ₂ O, H ₂ OBA	1-butyl-2,3-dimethylimidazolium-Bromide	[157]
In-MOF	In (NO ₃) ₃ ·6 H ₂ O, H ₂ DABCO	1-Ethyl-3- methylimidazolium ethylsulfate	[158]
Cu-MOF	Cu (NO ₃) ₂ ·3H ₂ O, H ₂ BPP	1-butyl-3-methylimidazolium-tetrafluoroborate	[159]
Ni-MOF	Ni (OAc) ₂ ·4H ₂ O, H ₃ TMA	1-butyl 3-methylimidazolium- bromide	[160]
Eu-MOF	EuCl ₃ ·6H ₂ O, H ₂ BDC	1-ethyl-3-methylimidazolium bromide	[161]

4.2.1.2. Püskürtmeli kurutma yöntemi

Püskürtmeli kurutma prosesinde ilk adım, iki akışkanlı bir püskürtme sistemi kullanılarak, öncü çözeltinin mikro damla sprey şeklinde atomize edilmesidir. Öncül damlacık bir gaz akımı ile süspanse edilerek belli bir sıcaklığa ulaştırılır. Çözücü buharlaşırken öncüller yüzeye dağılır. Öncül konsantrasyonu yüzeyde belirli bir miktara ulaştığında nano boyuttaki MOF kristalleri büyümeye ve yüzeyde birikmeye başlar [108]. Bu yöntemde kullanılan çözücü kolaylıkla geri kazanılabilir.

Tablo 4.2. Bazı MOF'ların farklı prekürsör ve solventlerle püskürtmeli kurutma metoduyla sentezi [107].

MOFs	Precursors	Solvents	Reference
Cu-HKUST-1	Cu (NO ₃) ₂ ·2.5H ₂ O, H ₃ BTC	DMF, EtOH, H ₂ O	[130]
Fe-MIL-88A	FeCl ₃ ·6H ₂ O, C ₄ H ₄ O ₄	H ₂ O, NaOH	[130]
Zr-Uio-66	ZrOC ₁₂ ·8H ₂ O, H ₂ BDC-NH ₂	H ₂ O, AAC	[132]
Ni-MOF	Ni (CH ₃ COO) ₂ ·4H ₂ O, HPZDC	DMF, H ₂ O	[131]
Co-SIFSIX-3	CoSiF ₆ , HPYZ	MeOH	[133]
Fe-MIL100	Fe (NO ₃) ₃ ·9H ₂ O, H ₃ BTC	DMF	[131]
Zn-ZIF-8	Zn (CH ₃ CO ₂) ₂ ·XH ₂ O, 2-Melm	H ₂ O	[134]
Zn-IRMOF-3	Zn (CH ₃ CO ₂) ₂ ·XH ₂ O, DHBDC	DMF	[130]
Mg-MOF-74	Mg (NO ₃) ₂ ·6H ₂ O, DHBDC	DMF, EtOH, H ₂ O	[130]
Co-ZIF-67	Co (OAc) ₂ ·4H ₂ O, 2-Melm	H ₂ O	[135]

4.2.1.3. Mikrodalga yöntemi

Mikrodalga yöntemi nano boyutta metal oksit eldesi için hızlı, temiz ve kolay bir yöntemdir [109]. Yöntemin avantajları arasında kontrol edilebilir morfoloji, kristal boyutu, verimliliğin yüksek olması ve faz seçiciliği sayılabilir [110, 111]. Mikrodalga sentez metodunda, elektromanyetik dalgaların çözeltideki metal iyonları ve organik ligantlarla etkileşimi sağlanır. Mikrodalga ısıması altında MOF kristalleri, 423K-493K arasında bir dakika içinde çok hızlı bir şekilde oluşur [111].

Tablo 4.3. Bazı MOF'ların mikrodalga yöntemi ile sentezi [107].

MOFs	Precursors	Solvent	Reference
Cr-MIL-100	Cr (NO ₃) ₃ ·XH ₂ O, H ₃ BTC	H ₂ O, HF	[121]
Fe-MIL-100	FeCl ₃ ·6H ₂ O, NH ₂ -H ₂ BDC	EtOH, DMF, HCl, H ₂ O	[122]
Zn-MOF-5	Zn (NO ₃) ₂ ·4H ₂ O, H ₂ BDC	NMP	[119]
Cu-HKUST-1	Cu (NO ₃) ₂ ·3H ₂ O, H ₃ BTC	H ₂ O, EtOH	[123]
Mn-MOF	MnCl ₂ ·4H ₂ O, H ₂ BDC	DMF, EtOH, H ₂ O	[124]
Mg-MOF	Mg (NO ₃) ₂ ·6H ₂ O, DOT	DMF, EtOH, H ₂ O	[125]
Ni-MOF	Ni (NO ₃) ₂ ·6H ₂ O, H ₄ DHTP	DMF, MeOH, H ₂ O	[126]
Co-MOF	Co (ACAC) ₂ , H ₂ BPDC	DMF, CHCl ₃	[127]
Hf-Uio-66	HfCl ₄ , H ₂ BDC	DMF, CH ₃ COOH	[128]
Zr-Uio-67	ZrCl ₄ , BPDC	DMF, BenAc or HCl	[120]

Mikrodalga'nın sağlık ve güvenlik açısından riskler taşıması, yüksek reaksiyon sıcaklığı, düşük kaynama noktasına sahip çözücülerin basınç altında kullanılması gerekliliği yöntemin dezavantajlarıdır.öncüllerin konsantrasyonu ve reaksiyon süresi ürünün verimi ve özellikleri üzerinde oldukça etkilidir.Kısa sürede düşük verimli ve çok kristalli ürün alınabilirken, uzun sürede yüksek verimli fakat düşük kristalli MOF rnleri almak mümkündür [112, 113].

4.2.1.4. Sonokimyasal yöntem

Sonokimyasal yöntemde solvent içindeki metal merkezler ve organik ligantlar arasındaki reaksiyonu hızlandırmak için ultrason enerjisi kullanılır [114]. Hızlı, ekonomik ve evre dostu bir sentez yöntemi olmasının yanı sıra, reaksiyon süresinin kısalığı, yüksek basınç ve sıcaklık gibi ekstrem koşullara ihtiyaç duyulmaması sonokimyasal metodun avantajlarındanır. Ses dalgalarının reaksiyon çözeltisinden geçişi periyodik bir kompresyon ile yüksek ve düşük basınçlı bölgeler oluşturarak, sentez sırasında nano parçacıkların etkili ve homojen bir şekilde dağılmasını sağlar [115]. Ultrason uygulanan sıvılar içinde akustik dalgalar tarafından kabarcıklar oluşturulur.Sıvı içinde salınım yapan bu baloncukların içinde biriken enerjiyle birlikte lokal bir sıcaklık ve basınç artışı olur.Akustik kavitasyon süresince uygulanan ses alanında oluşan basınç dalgalanmaları oluşan baloncukların büyümesine ve çökmesine yol açar.Ařırđ koşullar nedeniyle ısı artışı ve serbest radikal oluşumu gözlenebilir.

Ürünün karakteri, ultrasonikasyonun süresi, sıcaklık ve uygulanan ultrason gücüne bağlıdır [116]. Morfoloji, verim ve kristal boyutu reaksiyon süresi ve prekürsör konsantrasyonuyla doğrudan ilgilidir. Sono kimyasal sentezin kullanıldığı proseslerde, reaksiyon hızında ve verimde artış, küçük boyutlu nanopartikül oluşumu, homojen dağılım, yüksek sağlık, daha ekonomik enerji kullanımı, oda sıcaklığında gerçekleştirilebilmesi gibi pozitif etkiler söz konusudur [117].

4.2.1.5. Yavaş buharlaşma yöntemi

Bu yöntemde başlangıç çözeltisi, çözücünün düşük sıcaklıkta yavaşça buharlaştırılmasıyla konsantre hale getirilir. Sıcaklığın düşük olması sebebiyle buharlaştırma işlemi zaman alacağından her zaman tercih edilen bir yöntem değildir. Yüksek kristal kalitesinden önce yüksek verim tercih ediliyorsa öncüllerin konsantrasyonu ve çalkalama arttırılarak reaksiyon süresi kısaltılabilir [118].

4.2.1.6. Hidrotermal veya solvotermal yöntem

Hidrotermal yöntem, kaynama noktasının üzerinde bir sıcaklıkta ve 1 atm'in üzerinde bir basınçta su varlığında homojen veya heterojen bir kimyasal reaksiyonun gerçekleştirildiği bir yöntemdir. Solvotermal yöntemde ise protik veya aprotik organik çözücüler varlığında reaksiyon gerçekleştirilir [119, 120]. Uygun koşulları sağlayarak başarılı bir reaksiyon gerçekleştirmek için sentez cam şişe veya asit bombasında (acid digestion vessel) gerçekleştirilmelidir. Asit bombası analiz numunesi hazırlamak için kullanılan özel bir alettir. İnert PTFE ile hızlı numune çözülmesi sağlar. Kuvvetli asit ve alkalileri kaynama sıcaklığının üstünde tutarak çözünmeyi hızlandırır. 373 K'den düşük sıcaklıklarda ve bir kaç bardan düşük basınçlarda cam şişe, yüksek basınç ve yüksek sıcaklıklarda ise asit bombası (acid digestion vessel) kullanılmalıdır [103, 121].

Tablo 4.4. Bazı MOF'ların solvotermal yöntemle sentezi [107].

MOFs	Precursors	Solvents	Reference
Cu-HKUST-1	Cu (NO ₃) ₂ ·3H ₂ O, H ₃ BTC	H ₂ O, EtOH	[60]
Zn-MOF-5	Zn (NO ₃) ₂ ·4H ₂ O, H ₂ BDC	DEF	[61]
Zr-PCN-111	ZrCl ₄ , H ₂ BDDDB	DMF, CF ₃ COOH	[62]
Co-MOF	Co (NO ₃) ₂ ·6H ₂ O, H ₃ DCPNA	DMF, DXN, H ₂ O	[63]
Mn-MOF	Mn (CH ₃ COO) ₂ ·4H ₂ O, H ₂ BTAC,	DMF, EtOH	[64]
Ti-MIL-125	Ti(OiPr) ₄ , H ₂ BDC	DMF, MeOH	[65]
Y-JUC-32	Y (NO ₃) ₃ ·6H ₂ O, H ₃ BTC	AB, MeOH	[66]
Al-MIL-96	Al (NO ₃) ₃ ·9H ₂ O, H ₃ BTC	H ₂ O	[67]
Eu-MOF	Eu (NO ₃) ₃ ·6H ₂ O, H ₂ MFDA	CH ₃ CH ₂ OH, DMF, H ₂ O	[68]
Ni-CPO-27	Ni (CH ₃ COO) ₂ ·x H ₂ O, H ₄ DHTP	HF, H ₂ O	[69]
Fe-MOF74	FeCl ₂ ·4H ₂ O, 2OH-H ₂ BDC,	DMF, C ₂ H ₅ O, H ₂ O	[70]
Mn-MOF	MnCl ₂ ·4H ₂ O, H ₃ BTC	DMF, C ₂ H ₅ O ₂ , TEA	[71]
Eu-MOF	Eu (NO ₃) ₃ ·6H ₂ O, H ₃ BTC	H ₂ O, DMF	[72]
Ca-MOF	Ca (NO ₃) ₂ ·4H ₂ O, H ₄ AZBZ-TC	DMF	[73]
Mg-MOF-74	Mg (CH ₃ COO) ₂ ·4H ₂ O, 2OH-H ₂ BDC	DMF, H ₂ O, EtOH	[74]

Otojen basıncın kontrol edilebilmesi için sulu çözelti hacminin, toplam hacmin % 30'undan az, organik çözelti hacminin ise %75'inden az olması gerekir. Çözücü

olarak, su, asetik asit, etanol, metanol gibi yüksek dielektrik sabiti ve polaritesi olan çözücüler veya N, N-dimetilformamid, aseton, asetonitril, dimetilsülfoksit gibi aprotik çözücüler kullanılabilir.

Maliyetin ve atık miktarının yüksek olması, oksidasyon ve korozyon tehlikesi, nitrat ve klorür gibi anyonlara bağlı olarak oluşabilecek risklerdir [34].

4.2.1.7. Akış kimyası yöntemi

Akış kimyası metodu, ayarlanabilir özelliklere sahip MOF'ları, sıcaklık, konak süresi ve hacim gibi parametreleri kontrol ederek sentezlemek için kullanılan hızlı bir yöntemdir [122]. Yöntem dört ana bölümden oluşur; şırınga sistemi, mikrotübüler reaktör, sıcaklık kontrollü yağ banyosu ve ürünün toplandığı cam şişe. Şırınga sisteminde solvent, metal solüsyon ve organik ligant solüsyonu için üç enjeksiyon şırıngası vardır. Reaksiyon, reaktördeki reaktantların akışı yoluyla gerçekleşir. Nihai ürün olan kristal MOF, reaktör çıkışındaki cam şişenin dibinde çökeltirilir [123].

Tablo 4.5. Bazı MOF'ların akış kimyası yöntemiyle sentezi [107].

MOFs	Precursors	Solvent	References
Cu-HKUST-1	Cu (NO ₃) ₂ ·2.5H ₂ O, H ₃ BTC	DMF, EtOH	[136]
Al-MIL-53	Al (NO ₃) ₃ ·9H ₂ O, H ₂ BDC	H ₂ O	[138]
Zn-MOF-5	Zn (NO ₃) ₂ ·6H ₂ O, H ₂ BDC	DMF	[139]
Zr-Uio-66	ZrCl ₄ , H ₂ BDC	DMF	[140]
Ni-MOF-74	Ni (CH ₃ COO) ₂ ·4H ₂ O, 2OH-H ₂ BDC	H ₂ O, DMF	[141]
Cd-STA-12	Cd (AcO) ₂ ·2H ₂ O, H ₂ PAMPA	H ₂ O, KOH	[140]
Ce-MOF	Ce (NH ₄) ₂ (NO ₃) ₆ , H ₂ BDC	DMF	[142]
Fe-MIL-88B-NH ₂	FeCl ₃ ·6H ₂ O, NH ₂ -H ₂ BDC	H ₂ O, DMF	[137]
Sc-NOTT-400	Sc (SO ₃ CF ₃) ₃ , H ₂ BPTC	DMF, THF, H ₂ O	[143]
Ni-CPO-27-Ni	Ni (CH ₃ COO) ₂ ·4H ₂ O, 2OH-H ₂ BDC	H ₂ O	[144]

4.2.1.8. Elektrokimyasal yöntem

Bu yöntem kristallerin hızlı ve kolay büyümesi, ılıman reaksiyon koşulları ve çevre dostu bir yöntem olması nedeniyle umut verici bir yöntemdir. Sentez işlemi sırasında reaksiyon koşulları kontrol edilebilir olduğundan endüstriyel üretimde de tercih edilir. Bu yöntemin temelinde üç ön adım vardır; organik bağlayıcı ve elektrolit seçici bir çözücü içinde karıştırılır, metal iyonlarının anodik olarak çözünmesi sağlanır ve çözeltideki OH⁻ iyonları arttırılarak pH değeri yükseltilir [124, 125]. Elektrot yüzeyinin yakınında anodik çözünmenin bir sonucu olarak MOF

kristallerinin çekirdeklenmesiyle birlikte ince bir MOF tabakası oluşur [126]. Başka bir deyişle elektrokimyasal yöntemde metal iyonları üretmek için elektrot, elektrolit içeren bir bağlayıcı çözelti içine daldırılır. Uygulanan voltajla elektrot yüzeyi çevresinde metal iyonları üretilir. Bu metal iyonları, MOF moleküllerini oluşturmak için, çözeltideki protonu giderilmiş bağlayıcılarla reaksiyona girer [127].

Su içeriği, çözücü tipi, sentez süresi, bağlayıcının kimyası, elektrolit konsantrasyonu, elektrotlar arasındaki boşluk, nitrat varlığı, uygulanan voltaj ve akım ürünün kalitesini etkiler [125]. Elektrokimyasal sentez, süreç boyunca reaktantların konsantrasyonunu kontrol etmek için esnekliği olan bir yöntemdir. Metal ilavesiyle anodik oksidasyon kontrolü sağlanırken bağlayıcı ilavesi de yapılabilir [128, 129]. Metalin oksidasyon hızı da uygulanan voltajın değiştirilmesiyle ayarlanabilir [124].

MOF filminin kalınlığının, partikül boyutunun ve morfolojisinin yönetilmesi zorluğu bu yöntemin dezavantajlarından biridir. İndirgeme reaksiyonuyla birlikte indirgenmiş metalin elektrot üzerinde birikmesi MOF'lardaki safsızlığı artırarak yöntemin performansını etkileyebilir [130].

Tablo 4.6. Bazı MOF'ların elektrokimyasal yöntemle sentezi [107].

MOF	Precursors	Solvents/modulators	
Zn-MOF-5	Zn (NO ₃) ₂ ·6H ₂ O, H ₂ BDC	DMF	[59]
Zr-Uio-66	ZrCl ₄ , H ₂ BDC	DMF, EtOH, CH ₃ CO ₂ H, TBAB	[87]
Cu-KHUST-1	Cu- electrode, H ₃ BTC	EtOH, MTBS	[77]
Fe-MIL-100	Fe electrode, BTC	MeOH, MTBS	[86]
Al-MIL-53	Al electrode, BDC	DMF, H ₂ O, KCl	[77]
Zn-DMOF-1	Zn electrode, BDC, DABCO	DMF, LiClO ₄	[88]
Zn-MOF-5	Zn (NO ₃) ₂ ·6H ₂ O, H ₂ BDC	Bmim-Cl, DMF	[89]
Ti-MIL-100	TiCl ₄ , H ₂ BDC,	DMF, EtOH, TBAPF ₆	[90]
Cu-MOF	Cu-electrode, H ₃ BTC	H ₂ O, EtOH, MTBS	[91]
Ni-MOF	Ni-electrode, H ₃ BTC	H ₂ O, EtOH, TBATFB	[92]
NH ₂ -Uio-66	Zr-electrode, NH ₂ -H ₂ BDC	CH ₃ CO ₂ H, DMF, TABA	[93]

4.2.2. Katı faz sistemi

Solventlerin yoğun olarak kullanıldığı geleneksel yöntemlerin aksine, katı faz yöntemi, katı reaktiflerin çözücüsüz veya düşük çözücülü reaksiyon koşullarında öğütülmesi esasına dayanır. Mekanik sentezde moleküler bileşiklerin üretimi için genellikle katılardan başlanarak reaksiyon aktivasyonu sağlanır [131]. Mekano sentezin avantajlarından biri reaktantların düşük çözünürlüğü nedeniyle geleneksel

yöntemlerle sentezlenemeyen bazı MOF'ların sentezlenmesine fırsat vermesidir. Bu yöntemle MOF sentezinde üç farklı teknik kullanılır:

- Hidratlı metal tuzlarının kullanıldığı solventsiz öğütme tekniği,
- Reaktiflerin hareketliliğini, kısmi çözünmelerini ve maksimum erime yeteneklerini kolaylaştırmak için katalitik etkiyi arttıran sıvı destekli teknik [132, 133].
- İyon ve sıvı destekli teknik [134].

Tablo 4.7. Bazı MOF'ların mekano kimyasal sentezi [107].

Number	Precursors	Solvents	Reference
Cu-MOF-14	Cu (CH ₃ COO) ₂ ·H ₂ O, H ₃ BTC	Nil	[170]
Zn-MOF-74	ZnO, 20H-H ₂ BDC	H ₂ O	[171]
Cd-MOF	Cd (CH ₃ COO) ₂ ·2H ₂ O, H ₃ BTC	Nil	[172]
Zr-Uio-66	Zr ₆ O ₄ (OH) ₄ (MC) ₁₂ , H ₂ BDC	H ₂ O	[173]
Co-MOF	CoCl ₂ ·6H ₂ O, BIPY	Nil	[174]
Ni-MOF	Ni (OAc) ₂ ·4H ₂ O, H ₃ BTC	MeOH, EtOH, DMF	[175]
In-OF-1	In (OAc) ₃ ·6H ₂ O, H ₄ BPTC	H ₂ O, DMF, CH ₃ CN	[176]
Y-MOF	YH ₃ , H ₃ BTC	Nil	[177]
Fe-MOF	Fe (NO ₃) ₃ ·9H ₂ O, H ₃ BTC	TMAOH	[178]
Cr-MIL-101	Cr (NO ₃) ₃ ·9H ₂ O, H ₂ BDC	Nil	[179]

Hidrotermal ve solvotermal yöntemler zaman alan metotlar olmalarına rağmen oluşan kristal yapının analizinin daha kolay ve kesin olması nedeniyle daha çok tercih edilen tekniklerdir.

Reaksiyon sırasındaki basınç, sıcaklık, solvent ve prekürsör türü, reaktant oranları, süre ve ortam pH'ı, kafes yapıların yüzey özellikleri, kristal formları ve gözenek ebatları üzerinde önemli rol oynar. Uygun sentez yöntemi, kristal çekirdeklenmesi, büyüme şartlarının sağlanması ve yan ürün oluşumunun engellenmesi için dikkatle seçilmelidir. Sıklıkla kullanılan sentez yöntemleri şunlardır:

- Sonokimyasal sentez
- Elektrokimyasal sentez
- Hidrotermal-Solvotermal sentez
- Mekanokimyasal sentez
- Mikrodalga sentez

4.3. MOF’larda kullanılan enzim immobilizasyon yöntemleri

Enzimler benzersiz özelliklere sahip olmalarına rağmen yüksek sıcaklık ve yüksek pH koşullarında stabilitelerinin düşük olması ve geri kazanım zorluğu gibi dezavantajlara da sahiplerdir. Enzim immobilizasyonu, stabilizasyon, geri kazanım kolaylığı ve birden fazla kullanım için dezavantajların giderilmesine imkan sağlar.

Son yıllarda, uygun gözenek yapıları, kimyasal ve termal stabilitesi, yüksek yüzey alanları gibi özellikleri ile MOF’lar, enzimlerin hareketsizleştirilmesinde alternatif bir hibrit malzeme olarak ilgi çekmiştir. MOF- Enzim biyokompozitlerinin temel özellikleri arasında katalitik performans, enzimin organik kafes yapıyla etkileşimi, yüksek enzim taşıyabilme kapasitesi sayılabilir.

Genel olarak enzimler MOF’lara iki farklı strateji ile sabitlenebilir:

- Enzimlerin yüzey immobilizasyonu, kovalent bağlanma ve kapsülleme gibi yöntemlerle önceden sentezlenmiş MOF üzerinde hareketsizleştirilmesi
- Enzim molekülleri etrafında çerçevelerin oluşturulduğu de -novo yaklaşımı [135].

4.3.1. Enzimlerin yüzey immobilizasyonu

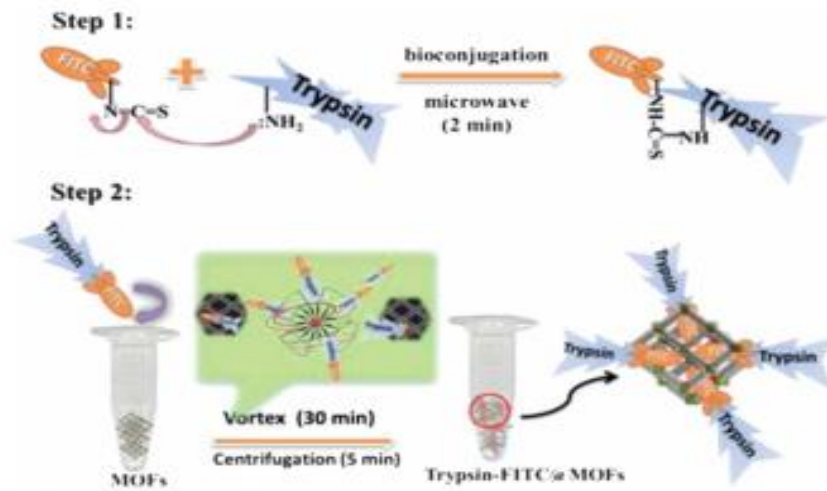
Yüksek yüzey alanı ve gözenekli yapısıyla son yıllarda araştırmacıların yoğun ilgisini çeken MOF’lar, yüzey immobilizasyonu ile fazla miktarda enzimi hareketsizleştirerek avantajlı kompozit malzemeler arasında yerlerini almışlardır. Yüzey immobilizasyonu kimyasal bağlanma ve fiziksel bağlanma olarak iki alt kısımda incelenebilir. Kimyasal bağlanmada MOF’ların yüzeyi fonksiyonel gruplarla modifiye edilerek enzimle kararlı bir kovalent bağ oluşması sağlanır. Fiziksel bağlanmada ise moleküller arası etkileşimler, hidrojen bağları ve π - π bağları gibi görece daha zayıf etkileşimler söz konusudur [136].

4.3.1.1. Yüzey immobilizasyonda kimyasal bağlanma

Bu yöntemde enzimler MOF yüzeyine kovalent bağlar ile bağlanır. Organik ligandın fonksiyonel grupları aktive edilerek enzimle güçlü kovalent bağlar oluşması ile enzimin kafes platformda hareketsizleştirilmesi sağlanır. Enzim ve MOF arasında bir çapraz bağlayıcı kullanılarak da kimyasal yüzey immobilizasyonu gerçekleştirilebilir.

4.3.2. Yüzey immobilizasyonda fiziksel bağlanma

Bu yöntemde enzimler MOF üzerine yük etkileşimi, π - π etkileşimi, moleküler etkileşimler ve hidrojen bağları gibi kimyasal bağlanmaya oranla daha zayıf bağlarla sabitlenirler. Etiket olarak kullanılan molekül enzime bağlandıktan sonra düşük enerjili bir vorteks yardımıyla MOF'a entegre edilir. Bu yöntemde etiket molekül MOF gözeneklerine girerek organik bağlayıcı ile güçlü π - π etkileşimi ve Hidrojen bağları oluşturur [137]. Şekil 4.3'te Tripsin'in MOF üzerine immobilizasyonu görülmektedir.

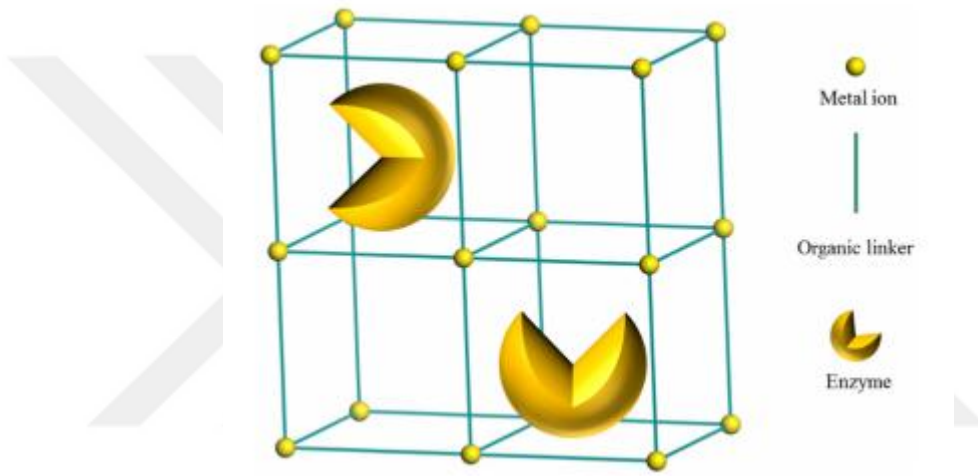


Şekil 4.3. Tripsin'in MOF üzerine immobilizasyonu [137].

4.3.2.1. Enzimlerin MOF yüzeyine difüzyonu

Gözenek yapıları istenilen büyüklükte tasarlanıp düzenlenebildiği için önemli platformlar olarak öne çıkan MOF'lar üzerinde enzim molekülleri difüzyon yolu ile

de hareketsizleştirilebilir. Bu yöntem temelde iki şekilde olur: Modifiye edilmemiş MOF'lara difüzyon ve porojen destekli modifiye edilmiş MOF'lara difüzyon. Seçilen enzimlerden daha büyük boyuta sahip modifiye edilmemiş MOF'lar üzerine difüzyon daha basit ve daha yaygın bir sentez yöntemidir [136]. Bu metotta yüzey aktif madde ve su gibi porojenlerle MOF gözeneklerini büyütürken enzim difüzyonunu kolaylaştırmak da mümkündür [138]. Moleküllerin büyüklüğünün gözenek boyutlarından daha küçük olması gerekliliği difüzyon ile immobilizasyonun kısıtlayıcı bir yanıdır.



Şekil 4.4. Enzimin MOF gözeneklerine difüzyonu [136]

BÖLÜM 5. GRAFENOKSİT YAPISI VE UYGULAMA ALANLARI

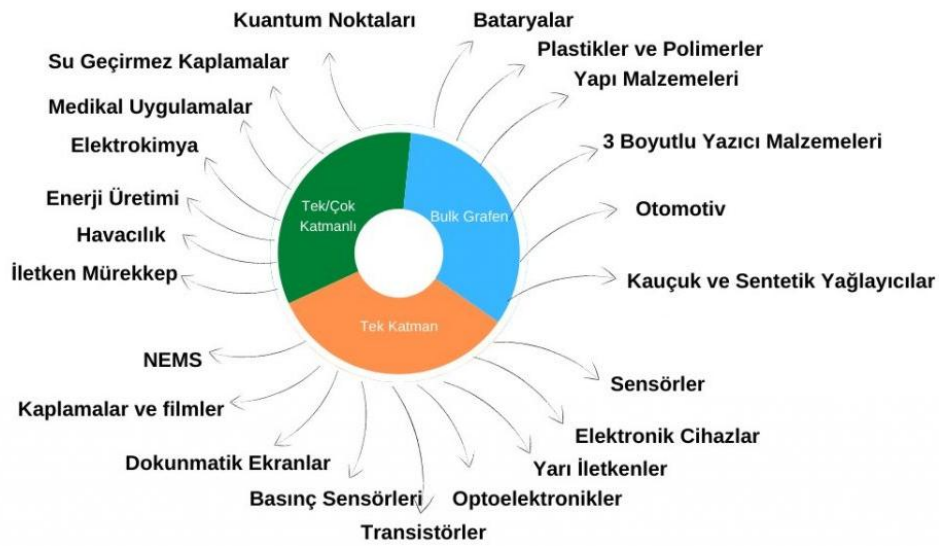
Grafen, yüksek elektron hareketliliği, yüksek geçirgenlik, termal iletkenlik ve 2, 600 m² /g'lık geniş bir yüzey alanına sahip olması gibi özellikleriyle ilgi gören ve araştırmacıların dikkatini çeken bir malzemedir. Geniş yüzey alanına sahip olması 3 gramı ile bir futbol sahasının kaplanabileceği anlamına gelir. Elektronik hareketliliği silikondan 100 kat hızlı, ısı iletkenliği elmastan 2 kat fazladır. Tek tabakalı bir grafen levha He atomlarının geçişine dahi izin vermez. İki boyutlu ve düzlemsel grafen levhalar mekanik özellikleri ve termal stabilitesi nedeniyle kompozit malzemelerde enerji toplama cihazları, fotodetektörler, optik cihazlar olarak kullanılmışlardır. Bazı güneş pillerinde, esnek yapısı, daha az toksiteye sahip olması ve düşük üretim maliyeti gibi avantajlarıyla da öne çıkmışlardır [139]. Grafen, iki boyutta düzenlenmiş karbon atomlarının sp² hibritleşmesiyle oluşan kuvvetli bir bağ özelliğine sahip hekzagonal yapıda nano boyutlu bir malzemedir. Bir grafen tabakasında iki karbon atomu arasındaki uzaklık 1, 42Å (0, 142 nm)'dir .Bu mesafe grafene şeffaflık, iletkenlik ve esneklik özelliği kazandırır [139].

Karbon, doğada dört farklı allotropa sahiptir. Bunlar grafen, grafit, fulleren ve karbon nanotüptür. Tablo 5.1.'de karbon allotroplarının özellikleri karşılaştırmalı olarak gösterilmektedir.

Tablo 5.1. Karbon allotroplarının karşılaştırmalı özellikleri [140].

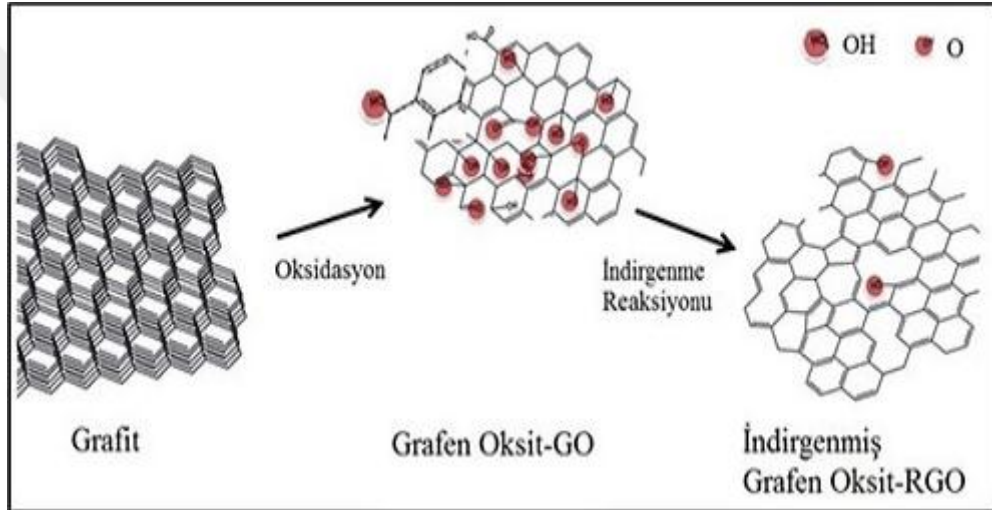
Özellik	Grafen	Karbon Nanotüp	Grafit	Fulleren
Yüzey alanı (m ² /g)	2630	1315	10	5
Termal iletkenlik (W/mK)	5000	>3000 (çok duvarlı knt)	3000	0,4
Mobility (cm ² /Vs)	15000 SiO ₂ üzerinde 200.000 serbest halde	100000	13000	0,56
Young modülü (TPa)	1	0,64	1,06	0,01
Optik geçirgenlik (%)	97,7	-	-	-

Grafen, lityum iyon piller, ışık panelleri, dokunmatik ekranlar, gaz sensörleri, biyosensörler, alan etkili transistörler, hidrojen depolama cihazları gibi alanlarda kompozit malzeme desteği göreviyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Giyilebilir teknoloji ve tekstil alanında da tercih edilen bir malzeme olan grafen esnek olması ve iletkenliğinin yüksek olması nedeniyle alternatif bir malzeme olmuştur. Tüm bu kullanım alanlarının yanı sıra grafen, hassas elektronik cihazların korunması, iletişim, bilgi aktarımı, ısı kontrolü, belli bir uyarana tepki verme gibi alanlarda da yenilikçi bir kompozit malzeme desteği olarak kendine yer bulmuştur [139].



Şekil 5.1. Grafenin uygulama alanları [141].

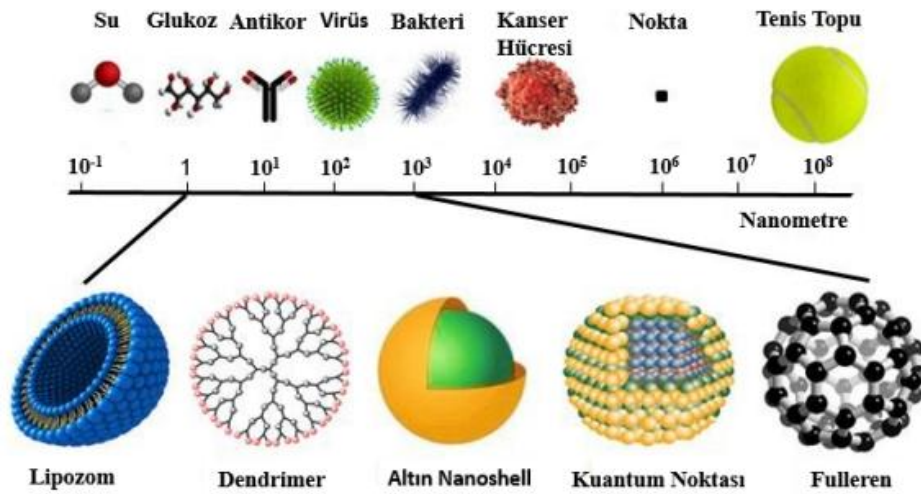
Grafen elde etmek için temel olarak kimyasal, ultraviyole, termal ve mikro dalga yöntemler kullanılır. Kimyasal yöntem hem ürün verimliliği hem de maliyet açısından tercih edilen avantajlı bir yöntemdir. Grafenin saf halinin kompozit malzemelere entegrasyonu zor bir işlem olduğundan oksidasyon ile grafene fonksiyonel gruplar eklenerek hidrofilik özellik kazanması sağlanır. İndirgeme işlemi sonrasında ise hidrofobik rGO elde edilir [142, 143]. rGO eldesinde indirgeyici olarak; sodyum bisülfid, sodyum hidroksit, vitamin C, hidrazin, sodyum borhidrür, dimetil hidrazin, askorbik asit gibi indirgeyiciler kullanılabilir. Seçilen indirgeyici elde edilen rGO özelliklerini de etkiler [139].



Şekil 5.2. Modifiye Hummer Sentezi [12].

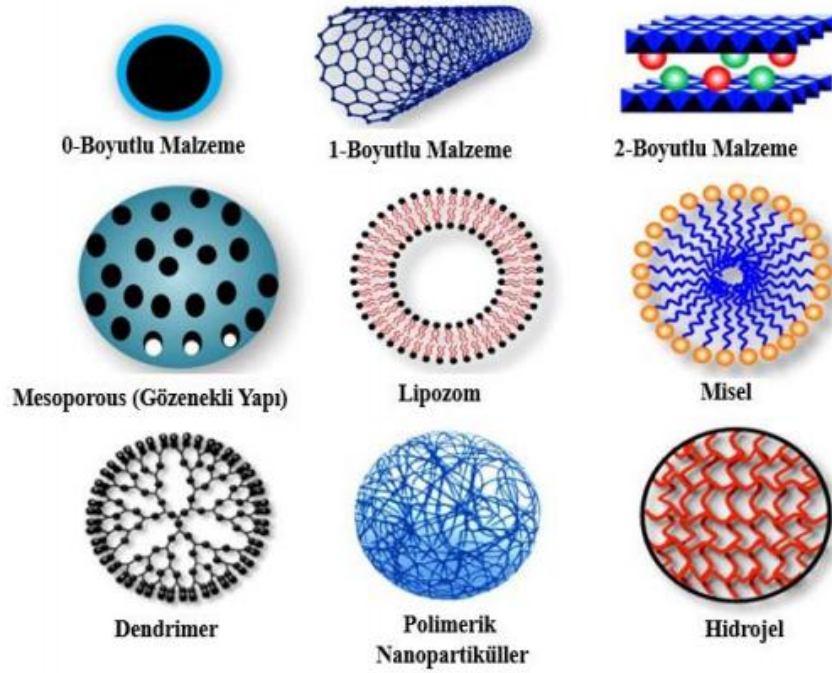
BÖLÜM 6. PLATİN NANOPARTİKÜLLER

Nanopartiküller katalitik reaksiyon sırasında kuantum etkileri üretecek kadar küçük oldukları için yüksek yüzey-hacim oranına sahip olmalarının yanı sıra kolayca ayrılabilir ve geri dönüştürülebilirler [144]. Biyomoleküller, organikler, karbon türevleri, metaller, metal oksitler, oksit olmayan seramikler, polimerler ve silikatlar gibi malzemeler nanopartikül sentezi için kaynak sağlayan malzemelerdir [145]. Bir parçacığın nanopartikül olarak tanımlanabilmesi için; sıfır, bir, iki veya üç boyutlu olup, 1-100 nm aralığında bir büyüklüğe sahip olması gerekir [146].



Şekil 6.1. Nanopartiküllerin diğer moleküllerle karşılaştırılması [147].

Nanopartiküllerin tasarlanmasında, uygulama alanının ihtiyaçlarına göre yüzey modifikasyonu yapmak mümkündür. Kimyasal doğalarının genişliği, morfolojik özellikleri, parçacıkların dispersiyonu ve yüzey modifikasyonunun çeşitliliği nanopartikülleri endüstri, teknoloji, tıp, biyoloji, sanayi, biyoteknoloji, fizik, kimya ve enerji alanlarında vazgeçilmez kılmıştır [1].



Şekil 6.2. Nanopartikül çeşitleri [148].

Platin nadir ve değerli elementlerdendir. Hem mücevher sektörü hem de katalizör olarak kullanımı için ilgi çekmektedir. Moleküllerdeki hidrojen atomları platin atomlarıyla bağlandıktan sonra, platin hidrojen atomlarını serbest bırakarak diğer moleküllerle reaksiyonu kolaylaştırır. Ayrıca reaksiyonun daha düşük sıcaklıkta, ılıman koşullarda gerçekleşmesine de katkı sağlar. Pt nanopartiküllerin biyosensör malzemeleri, süper iletken malzemeler, elektronik, kozmetik, enerji, biyoteknoloji, katalizör uygulamaları, antikanser, antioksidan ve antimikrobiyal olarak çeşitli alanlarda kullanılmasının temelinde; optik, elektriksel ve manyetik özellikleri ile boyut ve şekli de yer alır [1]. Platin nanoparçacıklar oksidasyon ve hidrojenasyon da dahil olmak üzere farklı reaksiyonlarda katalitik açıdan üstün aktivite ve kararlılık sergileyerek literatürde yer bulmuşlardır [145].

BÖLÜM 7. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

7.1. Giriş

Enzim biyosensörleri, nanomateriyaller kullanılarak enzim katalizörlüğünde biyolojik analitleri algılayan sensörlerdir. Yapılan çalışmalar neticesinde hassas, kararlı, seçici, maliyeti düşük, kullanım kolaylığına sahip biyosensörler geliştirilmiştir. Gıda endüstrisinde ve tıbbi uygulamalarda glikozun hızlı ve güvenilir bir şekilde tayini önemlidir. Glukoz tayini için önerilen malzemelerin düşük kütle taşınımına sahip olması, düşük hassasiyet ve düşük akım yanıtı gibi dezavantajlar yüzünden kullanışlı bulunmamaktadır [149].

Metal organik çerçeveler, organik bağlayıcı ve metal iyonlarından oluşan sağlam yapılı, kristal gözenekli sentetik ve polimerik hibrit malzemelerdir. Kanal ve kafeslerden oluşan gözenekli yapıları, ayarlanabilir gözenek boyutları, geniş yüzey alanı, fonksiyonel gruplarla arttırılmış işlevselliği MOF'ların biyoalgılama uygulamalarında kullanılabilirliğini arttırmıştır. MOF-74, doymamış metal merkezlerine sahip, kimyasal ve termal kararlılığı yüksek bir malzemedir. Metalik merkez olarak Zn, Mg, Ni ve Co kullanılabilir. İyi bir iletkenliğe sahip indirgenmiş grafen oksit (rGO), MOF tabanlı nano malzemelerin zayıf elektron iletkenliğini arttırarak hibrit nano malzemeler ile biyosensör uygulamalarında başarılı sonuçlar vermiştir [150].

Grafen, indirgenmiş grafen oksit ve karbon nanotüpler, yüksek elektron transfer hızı ve geniş yüzey alanlarının sağladığı avantajlarla glukoz biyosensörlerinde yaygın olarak kullanılırlar [151].

7.2. Materyal ve Metotlar

Bu çalışmada kullanılan Glikoz oksidaz (GOx, E.C.1.1.3.4., Tip II, 17300 U / g, Aspergillus niger'den), D - (+) - glikoz, H₂SO₄ (95.0–% 97.0), sodyum fosfat monobazik monohidrat, sodyum fosfat dibazik, potasyum permanganat, grafit, HCl, fosfor pentoksit (P₂O₅), 2, 5-Dihidroksi-tereftalik asit, hidrazin monohidrat, çinko asetat dihidrat (Zn (OAc)₂.2H₂O), H₂PtCl₆, Sigma-Aldrich'ten temin edildi. Dimetilformamid (DMF) ve metanol Fisher Scientific'ten, H₂O₂ çözeltisi (%30) Merck'ten, Potasyum persülfat (K₂SO₄), Riedel-de -Haen'den satın alındı. 1M D-(+) glukozdan oluşan stok çözelti deiyonize su ile hazırlandı ve bir gece bekletildi.

7.2.1. Zn-MOF-74 sentezi

0, 480 g 2, 5-Dihidroksitereftalik asit ve 1, 37 g Zn(OAc)₂.2H₂O, 40 ml DMF içinde çözdürüldü ve karışım oda sıcaklığında 20 saat karıştırıldı. Ürün daha sonra sırasıyla 30 ml DMF ve 30 ml metanol ile yıkandı ve gece boyunca 30 ml metanol içinde tutuldu. Metanolün dekante edilmesinden sonra Zn -MOF-74, oda sıcaklığında 7 saat bekletildi. Son olarak ürün 10 saat boyunca 110 ° C'de, daha sonra vakum altında 12 saat boyunca 260 ° C'de ısıtıldı ve daha sonra oda sıcaklığına kadar soğutuldu [152].

7.2.2. Grafen oksit sentezi

10 g grafit, 2 saat boyunca 80 ° C'de, 16 ml konsantre H₂SO₄, 5 g P₂O₅, 6 g K₂S₂O₄ ile önceden okside edildi. Daha sonra 34 g KMnO₄ ve 240 ml H₂SO₄ ile oksidasyon sürdürüldü. Elde edilen kahverengi süspansiyon deiyonize su ile yıkandı ve gece boyunca vakumlu bir fırında kurutuldu [153].

7.2.3. İndirgenmiş grafen oksit katkı Pt nanopartiküllerin sentezi (rGO/PtNPs)

rGO /Pt NPs sentezi için, 100 mg GO tozu, 100ml deiyonize su içerisinde disperse edildi ve daha sonra 1 saat süreyle ultra sonikasyona tabi tutuldu. Daha sonra su

içinde çözülmüş 4 ml $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (2500 ppm Pt) çözeltisi GO süspansiyonuna eklendi ve oda sıcaklığında 15 dakika karıştırıldı. 0,1 M NaOH çözeltisi ile pH 10'a ayarlanan süspansiyon yuvarlak bir şişeye alındı ve kuvvetlice karıştırılarak 200 mg NaBH_4 ilave edildi. 8 saat boyunca sürekli karıştırılarak reflux edildi. rGO/ Pt NPs süspansiyonu bir kaç kez deiyonize su ile yıkandı ve oluşan ürün yapısal karakterizasyonunu kazanması için 60°C 'de vakum altında kurutuldu [154].

7.2.4. rGO/Pt NPs @ Zn-MOF-74 sentezi

1, 37 g $\text{Zn}(\text{OAc})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 5 dakika boyunca ultrasonikasyon altında 200 ml DMF içerisinde çözdürüldü. 10 ml $\text{Zn}(\text{OAc})_2$ çözeltisi 0,480 g DMF içerisinde 10 ml 2,5-Dihidroksitereftalik asit çözeltisi ile karıştırıldı. Daha sonra 2,4 ml asetik asit ve 0,05 ml, 0,1 ml ve 0,2 ml rGO/Pt NPs süspansiyonları ilave edildi. Karışım 120°C 'de bir fırında 48 saat tutuldu. Ürün oda sıcaklığına getirildikten sonra santrifüjlendi ve üç kez DMF ile yıkandı. Daha sonra üç gün boyunca 60°C 'de metanol içine daldırıldı ve DMF'yi uzaklaştırmak için her 24 saatte bir metanol ile yıkandı. Bu işlem üç kez tekrarlandı ve ürün bir fırında 80°C 'de kurutuldu [154].

7.2.5. GOx-rGO/Pt NPs@Zn-MOF-74 ile modifiye edilmiş GCE sentezi

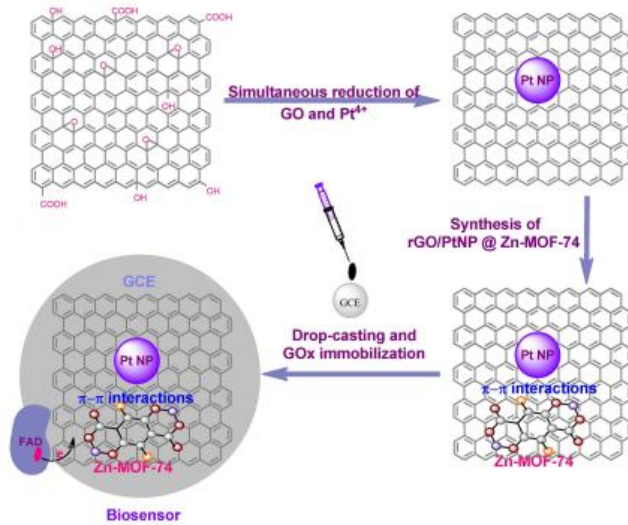
GCE 0,05 μm alumina bulamacı ile muamele edildikten sonra elektrotlar 20 dakika sırasıyla etanol ve deiyonize su içinde sonike edildi. DW ile iyice kurulandı ve oda sıcaklığında kurutuldu. Daha sonra GCE'ler 8 μL nanomateryal süspansiyonu ile (0,5 mg/ml) damla dökümle (drop-casting) ters çevrilerek bir beherde kurutuldu.

GOx immobilizasyonu, nano malzeme kaplı elektrotları, 4 saat boyunca, 4°C 'de 250 μL GO çözeltisine (40 mg/ml) batırılarak gerçekleştirildi. Immobilize edilemeyen GOx, elektrotlardan PBS ile yıkanarak uzaklaştırıldı. Elektrotlar 4°C 'de saklandı.

BÖLÜM 8. ARAŞTIRMA BULGULARI

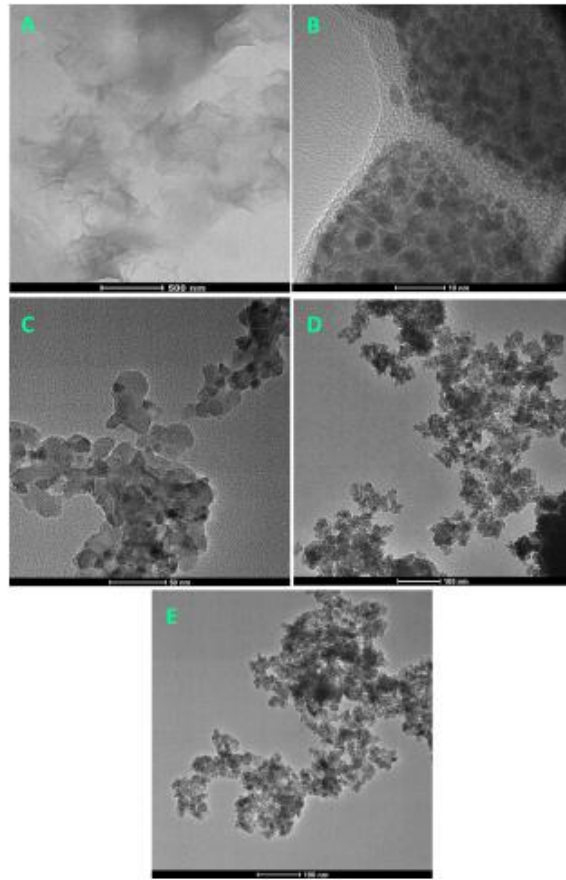
8.1. Nanomateryallerin Karakterizasyonu

Şekil 8.1.'de gösterildiği gibi GOx-rGO/PtNPs @Zn MOF-74 kullanılarak çalışmadaki biyosensör üretilmiştir. GO ve Pt^{+4} eş zamanlı olarak indirgenerek GOx-rGO/PtNPs @Zn MOF-74 üzerinde fiziksel etkileşimler yoluyla enzim immobilize edilmiştir. Enzimlerin büyük boyutları ile MOF'ların nispeten küçük gözenekleri arasında yüzey immobilizasyonu gerçekleşir. MOF'lar yüzey immobilizasyonu yoluyla boyutları ne olursa olsun dikkate değer miktarda enzimi hareketsiz hale getirebilirler. Bu sırada enzimler ve MOF'lar arasında Hidrojen bağları, π - π etkileşimleri, dispersiyon ve van der Waals kuvvetleri oluşur. Polarize edilebilen elektronların artan sayısı dispersiyon kuvvetlerinin makromoleküller üzerinde baskın kuvvet haline gelmesine neden olabilir. Yüzey immobilizasyonlu enzim-MOF platformları diğer immobilizasyon yöntemlerine göre kütle transferi açısından daha avantajlıdır [137].



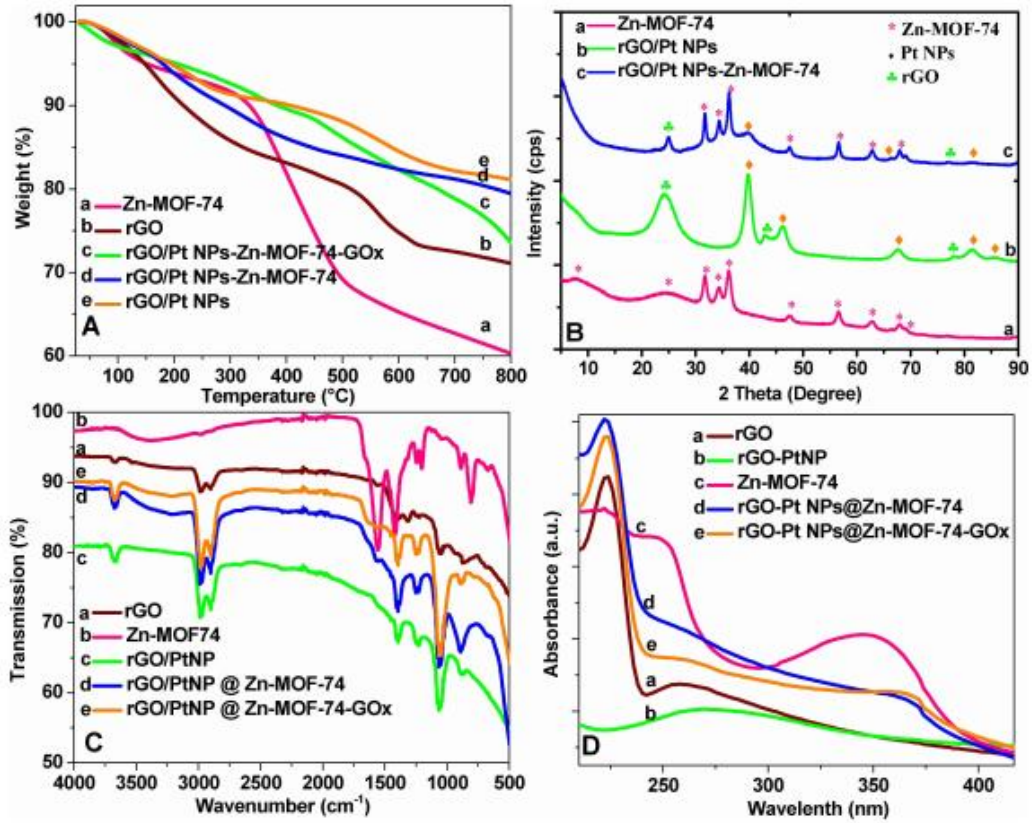
Şekil 8.1. GOx-rGO / Pt NPs @ Zn-MOF-74 ile modifiye edilmiş GCE'nin montajı

rGO, rGO / Pt NPs, rGO / Pt NPs @ Zn-MOF-74 ve GOx-rGO / Pt NPs @ Zn-MOF-74 morfolojileri TEM ve yüksek çözünürlüklü TEM (HRTEM) ile görüntülendi. Şekil 8.2. A rGO'nu TEM görüntülerini, Şekil 8.2. B ise rGO / Pt NP'lerin HRTEM görüntülerini göstermektedir. Platin nanopartiküller yaklaşık 3,4 nm büyüklüğündedir ve indirgenmiş grafen oksite eşit şekilde yayılmışlardır. Şekil 8.2. C'deki TEM görüntüsü sentezlenen Zn-MOF-74'ün 10 nm çapında kristal yapı gösterdiğini ortaya koymuştur. Şekil 8.2. D'de ise geniş bir yüzey alanına sahip rGO / Pt NPs @ Zn-MOF-74'ün TEM görüntüsü görülmektedir. Şekil 8.2. E'de görüldüğü üzere, GOx, rGO / Pt NPs @ Zn-MOF-74 üzerinde hareketsiz hale getirildiğinde, GOx, rGO / Pt NPs @ Zn-MOF-74 yüzeyine adsorbe edilebilir ve toplanma eğilimindedir. GOx-rGO / Pt NPs @ Zn-MOF-74'ün açık yapısı, substratın GOx'e ulaşımını kolaylaştırarak biyosensörün elektrokimyasal tepkisinin iyileşmesiyle sonuçlanmıştır.



Şekil 8.2. (A) rGO'nun TEM görüntüsü, (B) rGO/Pt NPs, (C) Zn-MOF-74, (D) rGO/Pt NPs@Zn-MOF-74 ve (E) MOF-74 (D) and GOx-rGO/Pt NP

Şekil 8.3. A’da nanomateryal içeriğini ortaya koymak için yapılan TGA analizleri görülmektedir. Zn-MOF-74 ve rGO eğrisinde görüldüğü gibi, adsorbe edilen su 100⁰ C altında uzaklaştırılmıştır. Zn-MOF-74 ve rGO’da sırasıyla %40 ve % 29 kütle kaybı gözlenmiştir. Metal varlığı sebebiyle PtNPs’in kütle kaybı rGO’ya göre %10 düşüktür. Organik maddelerin bozunması nedeniyle MOF ve enzim ilavesi kütle kaybının %26 artmasına sebep olmuştur.



Şekil 8.3. (A) Nanomateryallerin TGA eğrileri, (B) Nanomateryallerin XRD verileri, (C) rGO, rGO/Pt NPs, rGO/Pt NPs@Zn-MOF-74’ün UV-VİS spektrumları ve (D) GOX-rGO /Pt NPs @Zn-MOF-74

Şekil 8.3. B’deki XRD bulguları, rGO/Pt NPs ve rGO/Pt NPs@Zn-MOF-74’ün karakteristik zirveleri ile oluşumlarını gösterdi [28]. RGO / Pt NP’lerin spektrumunda, $2\theta = 26^\circ$ ’deki tepe rGO [155]’ya karşılık gelir ve $2\theta = 42.9, 46.4, 67.9, 81.8$ ve 86.2° ’deki tepe noktaları (111), (200), (220), (311), (222) ile ifade edilebilir. Zn-MOF-74 spektrumunda da görüldüğü üzere, $2\theta = 7.5^\circ$ ’deki tepe noktaları, MOF-74 yapısı için karakteristik tepe noktasıdır ve Zn-MOF-74’ün (110)

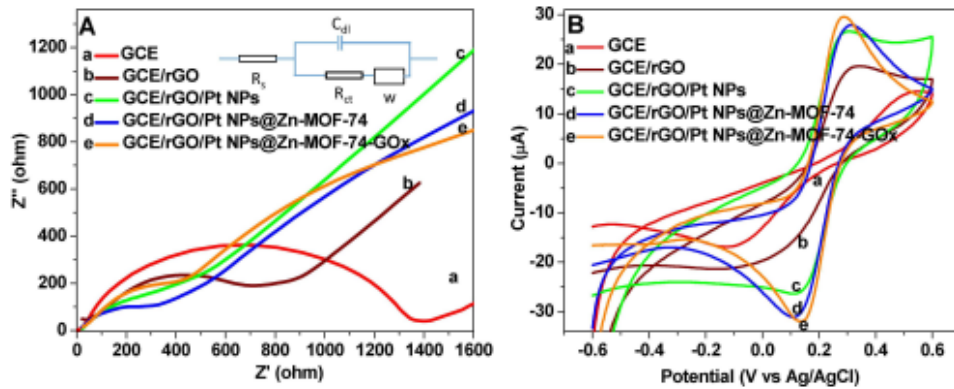
düzlemi ile ifade edilebilir. Ayrıca, kristalize Zn-MOF-74 oluşumu spektrum ile de doğrulanmıştır [156].

Zn-MOF-74, rGO, rGO / Pt NP'lerin sentezini ve GOx'un immobilizasyonunu doğrulamak için FTIR analizleri yapıldı. rGO spektrumundaki 1066 cm^{-1} ve 1311 cm^{-1} pikleri aromatik C-H titreşimlerini ve hidroksil bükülmelerini gösterir. 1411 cm^{-1} 'deki pik karbonil parçalarının simetrik gerilme titreşimi ile ilişkilendirilir [12]. Zn-MOF-74 spektrumunda görülen 1558 cm^{-1} 'deki pik aromatik C=C bağları ile ilgiliyken 1421 cm^{-1} 'deki pik karbonil gruplarının simetrik gerilme titreşiminden kaynaklanır [157]. 809 cm^{-1} 'deki pik ise C-O-C esnemesine, O-H ve C=O deformasyonuna atfedilir. 1204 cm^{-1} 'deki pik C-O titreşimini gösterir. 1571 cm^{-1} 'deki pik, grafen oksit ve platin nanopartiküllerin indirgemesi üzerine Zn-MOF-74 hidroksillerinin oksidasyonuna bağlı kinon oluşumu söz konusu olabilir. GOx-rGO / Pt NPs @ Zn-MOF-74 spektrumunda 1542 cm^{-1} 'deki amid II ve 1638 cm^{-1} 'deki amid I pikleri enzim immobilizasyonunu ve sekonder yapıyı doğrulamıştır [158]. Tüm bu veriler ışığında elektrot yüzeyinde GOx immobilizasyonunun verimli bir şekilde gerçekleştirildiği doğrulanmıştır.

Şekil 8.3. D'de RGO, rGO / Pt NP'ler, rGO / Pt NPs @ Zn-MOF-74 ve GOx-rGO / Pt NPs @ Zn-MOF-74'ün UV-VİS spektrumları ile oksijen içeren kısımların redüksiyonu gösterilmiştir. İndirgenmiş grafen oksit ve platin nanopartiküllerin Zn-MOF-74 GOx üzerine bağlanması UV-VİS spektrofotometresi ile açıklanmıştır. Şekil 8.3. D'de rGO'nun iki karakteristik bağlanma gösterdiği görülür; 224 nm 'de güçlü bir absorpsiyon bandı ile birleşen $\pi-\pi^*$ geçişi ve 310 nm 'de C=O bağına atfedilen $n-\pi^*$ geçişi [22]. rGO'nun $\pi-\pi^*$ ve $n-\pi^*$ geçişleri sırasıyla 270 nm ve 310 nm 'de gözlenmiştir. GOx-rGO / Pt NPs @ Zn-MOF-74 spektrumunda, $\pi-\pi^*$ geçişi ve $n-\pi^*$ geçişi sırasıyla 212 nm ve 266 nm 'lik daha düşük dalga boylarında oluşu, rGO'nun hidrofobik aromatik bölgeleri ile Zn-MOF-74 arasındaki $\pi-\pi^*$ istifleme etkileşiminin hidrojen bağı oluşumu ile gerçekleştiğini kanıtladı [159]. Tüm bu bulgulara dayanarak Zn-MOF-74 rGO yüzeyine bağlanabildiği ve bu durumun da etkili GOx immobilizasyonuna yol açtığı sonucuna varılır.

8.2. GOx-rGO/Pt NPs@Zn-MOF-74'ün Elektrokimyasal Karakterizasyonu

Elektrotların empedans spektrumlarının Nyquist grafiği, sınırlı elektron transferi nedeniyle daha yüksek frekanslarda yarım daire parçası ve difüzyon işlemi nedeniyle daha düşük frekanslarda doğrusal bir kısımdan oluşur. Elektrot yüzeyindeki elektron transfer direnci (R_{ct}), yarım daire çapından hesaplanabilir. Randles devresi, elde edilen AC empedans verilerine uyacak şekilde seçildi. Şekil 8.4. Modifiye edilmemiş ve modifiye edilmiş GCE'lerin EIS grafiklerini gösterir. rGO / GCE'nin (720Ω) R_{ct} değeri, modifiye edilmemiş GCE'nin (1400Ω) değerinden daha küçüktür, bu da rGO'nun GCE'de depolandığını ve rGO'nun redoks çiftinden elektrot yüzeyine elektron transferi geliştirdiğini doğrular. Pt NPs-rGO / GCE'ye gelince, R_{ct} değeri, Pt NP'lerin elektron transferini büyük ölçüde artırdığını gösteren 400Ω değerine belirgin bir şekilde düşmüştür. rGO / Pt NPs @ Zn-MOF-74, 300Ω R_{ct} ile redoks çiftine karşı en iletken davranışı sergilemiştir. GOx immobilizasyonunun, negatif yüklü GOx (pI: 4.2) ve redoks çifti arasındaki itme nedeniyle R_{ct} 'yi 420Ω 'a yükselttiği görülmüştür [159].



Şekil 8.4. A) Elektrotların ve Randles devresinin Nyquist grafiği (R_s : Yük aktarım dienci, C_{dl} : Çift katman kapasitans, W : Warburg empedansı B) $5 \text{ mM } [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ içeren $0, 1 \text{ M PBS}$ ve 0.1 M KCL içindeki elektrotların 100 mVs^{-1} 'de döngüsel voltamogramı

$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ redoks çiftinin CV analizi, modifiye edilmiş ve edilmemiş elektrotların elektrokimyasal davranışını ve elektron transfer oranlarını karakterize etmek için gerçekleştirildi (Şekil 8.4.). Tepeden tepeye ayrılma potansiyellerinin büyük oluşu (ΔE_p), yavaş elektron transfer kinetiğini gösterir. Pt NP'li elektrotlar, hızlı elektron transferini ifade eden klasik bir sigmoidal şekle sahip dar ayrımlar

ortaya çıkardı. Nanomateryal kaplı GCE aynı zamanda 140 mV civarında en dar ΔE_p değerini gösterdi ve GOx'in redoks aktif bir enzim olması nedeniyle diğer elektrot yapılarına kıyasla daha hızlı elektron transferi gösterdiğine işaret etti. Elektrot yüzeyinin Pt NPs-rGO ile modifikasyonundan sonra, $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 'ün tepe akımı rGO kaplı elektrota kıyasla arttı. Pt NP'lerin birikmesi, gelişmiş bir elektroaktif yüzey alanının tasarlanmasında ve elektron transferini iyileştirmek için iletken ara katmanın korunmasında önemli bir rol oynadı. Tüm bu verilere dayanarak modifiye edilmiş elektrotların akımları ve ΔE_p değerleri dikkate alındığında, Pt NP'lerin elektron transferini arttırdığı ve Zn-MOF-74'ün değerleri iyileştirdiği sonucuna varılabilir.

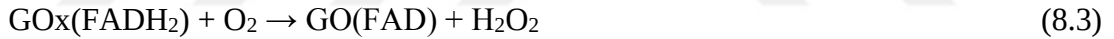
Modifiye edilmiş GCE'lerin dinamik yüzey alanları (A), taşınımın sadece difüzyonla gerçekleştiğini varsayan Randles-Sevcik denklemi kullanılarak belirlenmiştir. Elektroaktif alan incelemesi 5.0 mM $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ test çözeltisi ve destekleyici elektrot olarak 0.1 M KCL eşliğinde, 0.1 Vs^{-1} 'de gerçekleştirilmiştir. $T = 298 \text{ K}$ 'da ve tersinir bir reaksiyon için denklem aşağıdaki gibidir [160].

$$I_p = 2.69 \times 10^5 A D^{1/2} n^{3/2} v^{1/2} C \quad (8.1)$$

Bu denklemde I_p amper cinsinden maksimum akım, n redoks sürecine dahil olan elektron sayısı ki bu durumda 1'dir, D molekülün difüzyon katsayısı ($7.6 \times 10^{-6} \text{cm}^2 \text{s}^{-1}$), C prob molekülünün konsantrasyonu (mol cm^{-3}) ve v tarama hızıdır (Vs^{-1}). rGO, rGO / Pt NPs, rGO / Pt NPs @ Zn-MOF-74 ve GOx-rGO / Pt NPs @ Zn-MOF-74 için dinamik yüzey alanı sırasıyla 0,017 cm^2 , 0,022 cm^2 , 0,024 cm^2 ve 0,025 cm^2 olarak bulunmuştur. Buna dayanarak Pt nanopartiküllerinin birikimi, rGo'nun etkili yüzey alanında 0.3 kat artışa yol açmıştır. Tüm bu bulgular, Pt NP'lerin varlığının, geliştirilmiş elektron transferine bağlı olarak elektrokimyasal yanıtı büyük ölçüde artırdığını ve rGO ile birlikte ZnMOF-74'ün biyosensör uygulaması için dinamik yüzey alanını da büyüttüğünü doğruladı.

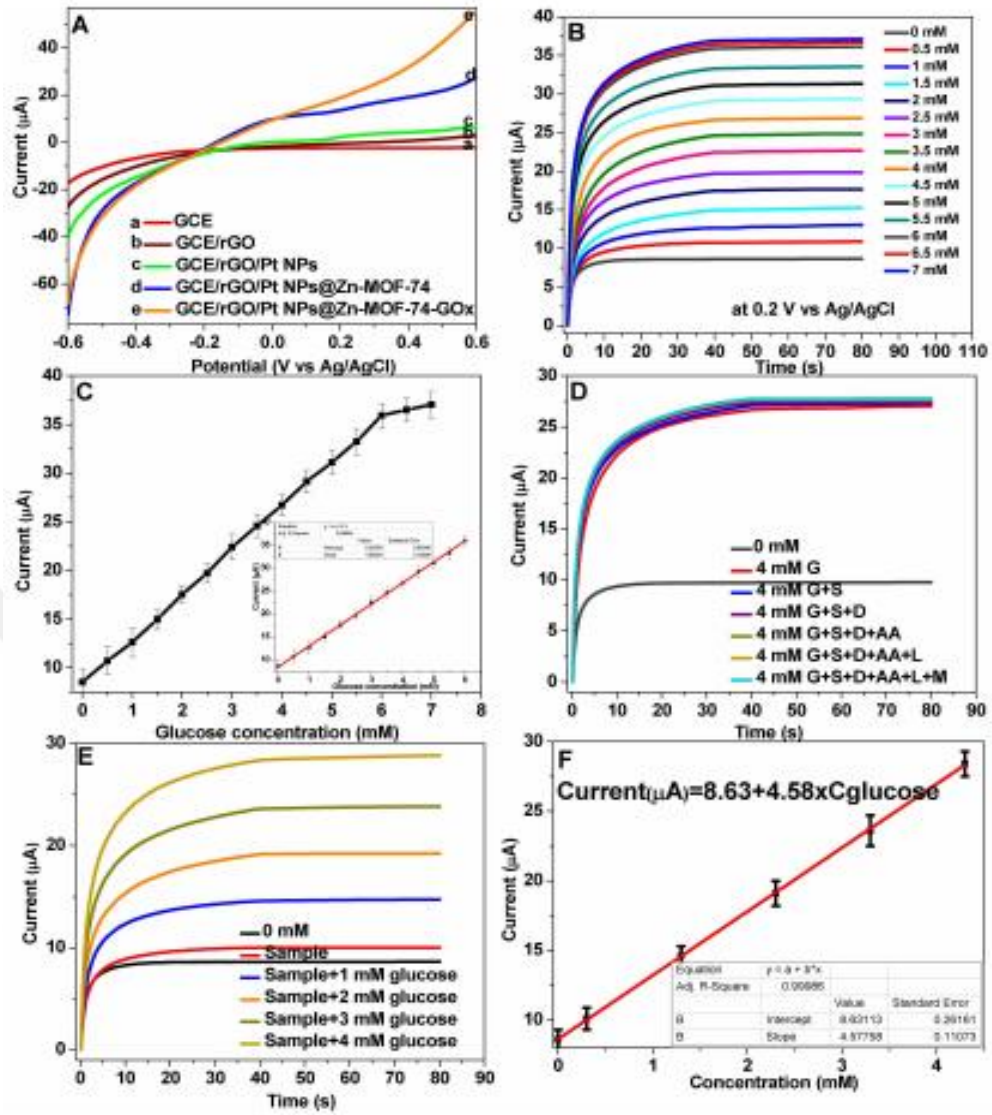
8.3. GOx-rGO / Pt NP @ Zn-MOF-74 Kaplamalı Elektrotun Performansı

Amperometrik oksidaz bazlı biyosensörler, enzimatik reaksiyon sırasında ortaya çıkan H_2O_2 'nin saptanması esasına dayanır. Şekil 8.5.'te doğrusal tarama voltametrisinin (LSV) gösterdiği üzere, modifiye elektrotun algılama potansiyeli, H_2O_2 'yi 0.8 V üzerine oksitleyen modifiye edilmemiş GCE'ye oranla daha düşüktür. Bu nedenle çalışmalarda işlem potansiyeli 0, 2 V olarak seçilmiştir. Hidrojen peroksitin elektrokatalitik oksidasyonu 0.1 M pH 7.4 PBS'de GOx-rGO / Pt NPs @ Zn-MOF-74 modifiye biyoelektrot kullanılarak 0.2 V ile Ag / AgCl'ye karşı korono-amperometrik ölçümler yapılarak araştırıldı (Şekil 8.5.). Elektrot glukoz ilavesine hızlı ve hassas bir yanıt gösterdi ve sabit durum akımı 40 saniye sonra elde edildi. Katalitik akım, 0.2 ila 6 mM aralığında glukoz konsantrasyonu ile doğrusal bir ilişki sergiler. GOx-rGO / Pt NPs @ Zn-MOF-74 elektrot, (2) ve (3) no'lu denklemlere göre glukoz oksidasyonunu katalize edebilir.



Serbest kalan H_2O_2 'de 4 numaralı denkleme göre elektrot yüzeyinde okside olabilir.





Şekil 8.5. A) Elektrotların LSV eğrileri B) Amperometrik yanıt C) Kalibrasyon eğrisi D) Glukozun, 0.1 M PBS, 0.2 V, Ag/AgCl içindeki GOx/rGO / Pt NPs @ Zn-MOF-74 ile modifiye edilmiş elektrotla algılanmasında glukoz ölçümüne müdahale eden madde etkisi E) Standart e

Doğrusal regresyon denklemi; $I (\mu A) = 8.35 (\mu A) + 4.58 \times C$ (glukoz konsantrasyonu) ($\mu A m M^{-1}$), $R^2 = 0.999$ olarak gösterilebilir. Kalibrasyon eğrisinin eğimini elektrot yüzey alanına (0.071 cm^2) bölünerek hassasiyet $64, 51 \mu A m M^{-1} \text{ cm}^{-2}$ olarak hesaplandı. $3 \times (10 \text{ boş ölçüm} / \text{duyarlılığın standart sapması})$ olarak ifade edilen formül kullanılarak saptama sınırı (LOD) $1, 8 \mu M$ olarak ve $10 \times (10 \text{ boş ölçüm} / \text{duyarlılığın standart sapması})$ olarak ifade edilen formül kullanılarak kantifikasyon sınırı 0.006 mM olarak bulundu [161]. Üzerinde çalışılan biyosensörün katalitik özelliklerinin iyi olması beş faktöre atfedilir.

- rGO / Pt NPs @ Zn-MOF-74'ün üç boyutlu yapısı, ve düzenli yapının geniş ara katman mesafesi gelişmiş enzim immobilizasyonu ve hızlı elektron transferi sağlar.
- Zn-MOF-74 üzerinde GOx immobilizasyonu, genellikle yavaş dönüşüm oranlarına yol açan agregasyonun önüne geçilmesi nedeniyle modifiye edilmemiş benzerlerine oranla daha iyi katalitik aktivite gösterebilir.
- İmmobilizasyondan sonra enzim aktivitesini iyileşmiş olması nanomalzemenin biyoyumluluğundan dolayı enzim denatürasyonunun önemli ölçüde önlenmesi ile açıklanabilir.
- Pt NP'ler, oksidasyon akımı üzerinde sinerjistik etkiye yol açan H₂O₂'nin ayrışmasını katalize edebilir [12].
- Pt NP'ler, rGO ve Zn-MOF-74'ün yüzey alanını genişletirken ve rGO ile Pt NP'ler arasındaki bağlantı GOx'ten elektroda elektron transferini kolaylaştırmıştır [162]. Pt NP'lerin ve rGO'nun iletkenliğinin yüksek olması da bu transferi destekler .

Oksidasyon akımları 6mM glukozdan sonra doğrusallıktan saparak eşitlendi ve Michaelis-Menten kinetiğini gösterdi. Michaelis-Menten sabiti (K_m), enzim katalizörlü reaksiyon kinetiğini açıklayan bir parametredir ve Lineweaver-Burk denklemi ile hesaplanabilir [159]:

$$1/I_{ss} = 1/I_{max} + (K_m/I_{max}) \times (1/C_{glukoz}) \quad (8.5)$$

Burada I_{ss} sabit durum akımıdır, I_{max} doygunluktaki akımdır ve C_{glukoz} , glukoz konsantrasyonudur. Küçük K_m değeri enzimin substratına karşı daha yüksek bir seçicilik gösterdiğini ifade eder. Ayrıca, daha düşük K_m değeri, rGO / Pt NPs @ Zn-MOF-74'te GOx'in doğal yapısının korunmasını ve nanomateryalin mimarisi sayesinde hızlandırılmış substrat difüzyonunu doğrular. GOx-rGO / Pt NPs @ ZnMOF-74'ün K_m değeri, literatürde bildirilenlerle karşılaştırılabilir olan 2, 21 mM olarak tahmin edilmiştir [163, 164]. Pt-NP'lerin kullanılması yüzey alanını genişleterek iletkenliği arttırmış ve etkili GOX immobilizasyonuna imkan vermiştir.

Tablo 8.1. GOx tabanlı elektrokimyasal glikoz biyosensörlerinin analitik performanslarının karşılaştırılması

Electrode material	LOD/ μ M	Linear range /mM	Sensitivity / μ AmM ⁻¹ cm ⁻²	Potential /V vs. Ag/AgCl	Ref.
RGO/PI ^[a] -AuPd-GOx	113	0.24–4.6	n/a	0.54	[39]
MSPE ^[b] /RGO-Fe ₃ O ₄ -GOx	0.1	0.05–1	5.9	–0.45	[40]
GCE/MWCNT-GO-GOx	28	0.05–23.2	0.266	–0.402	[41]
GCE/CS-Fe ^[c] -GO-GOx	7.6	0.02–6.78	10	0.3	[42]
GCE/CNDs ^[d] -rGO-GOx	40	0.04–20	n/a	–0.62	[43]
GCE/G ^[e] -Co ₃ O ₄ NP-GOx	50	0.5–16.5	13.52	–0.48	[44]
GCE/ERGO-MWCNT-GOx-Ni ^[f]	4.7	0.01–6.5	7.95	0.35	[45]
GCE/rGO-Pt NPs-GOx	1.21	2–10	27.51	–0.462	[28]
GCE/rGO-Au NPs-GOx	0.09	2–10	18.73	–0.51	[27]
CIE/MIL-100(Fe)-Pt NPs-GOx ^[g]	5	0.005–1.4	71	0.5	[17]
GCE/PorPC ^[h] -GOx	80	0.5–18	n/a	–0.25	[46]
GCE/ZIF-8-Au NP ^[i] -GOx	5	0.05–0.45 μ M	n/a	–0.45	[47]
GCE/ZIF-8-PDA ^[j] -GOx	0.333	0.001–1.2 and 1.2–3.6	n/a	0.6	[48]
GCE/Zn-MOF-74-rGO-Pt NPs-GOx	1.8	0.006–6	64.51	0.2	This study

8.4. Modifiye Elektrotun Tekrarlanabilirliği ve Yeniden Üretilirliği

6mM glukoz içeren PBS (0.1 M pH 7.4)’te biyosensörün tekrarlanabilirliği ve yeniden üretilirliği araştırıldı. Aynı biyosensör kullanılarak arka arkaya 10 ölçüm yapıldı. Bu 10 ölçüm için bağıl standart sapma (RSD), tekrarlanabilirlik için iyi bir sonuç olan % 7.1 olarak bulundu. Altı farklı biyosensör için bulunan RSD %6.6 değeri, ürünün fabrikasyonu için uygulanabilir bir üretim verisi olarak doğrulandı. Elektrotun stabilitesi GOx’un biyoaktivitesini koruması için mükemmel bir mikro ortam sağlayan rGO- Pt- NP’lerin biyoyumluluğu ile açıklanabilir. Tüm bu bulgular, nanomateryalin tatmin edici tekrarlanabilirliği ve stabilitesinin, ticari biyosensör imalatı için gelişmiş bir malzeme olarak potansiyel uygulamalarda tercih edilebileceğini göstermektedir.

8.5. Meyve Suyunda Glukoz Tayini

Askorbik asit (AA) ve dopamin (D) düşük potansiyellerde oksitlenebilir. Şekil 8.5.’de görüldüğü gibi, girişim çalışmaları, krontamperometri ile optimum koşullar altında 4 mM AA, D, sukroz (S), laktoz (L) ve maltoz (M) çözeltileri ile birlikte 4 mM glukoz kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PBS’ye yüksek konsantrasyonlu farklı ajanların ilave edilmesi önemli bir değişiklik sağlamamıştır. Tüm reaktiflerin eklenmesinden sonra

% 4, 16'lık bir RSD gözlenmiş, bu sonuç da yüksek seçiciliği onaylamıştır. Daha düşük potansiyel kullanılarak bu maddelerin oksidasyonu önlenmiş olması bu bulguya ulaşılmasını sağlamıştır.

8.6. Kiraz Suyunda Glukoz Analizi

Biyosensörün içecek analizinde uygulanması için, kiraz suyundaki glikozu belirlemek amacıyla GOx-rGO / Pt NPs @ Zn-MOF-74 elektrodu, bir ön işleme gerek kalmadan kullanıldı ve kronoamperometrik akımlar kaydedildi . Doğrusal regresyon denklemi şu şekilde gösterilebilir:

$$\text{Akım } (\mu\text{A}) = 8.63 + 4.58 \times C_{\text{glukoz}}$$

Buna göre, kiraz suyundaki glukoz konsantrasyonu, 0, 4 mL meyve numunesi için 0, 32 mM olarak bulunmuştur, bu da 100 ml meyve suyunda 14, 5 g glukoz karşılık gelir. Üretilen biyosensör, kiraz suyunda glikoz tespiti için tatmin edici bir doğruluk sergilemiştir ve içecek analizlerinde kullanılabilir.

8.7. Tartışma ve Genel Değerlendirme

Bu çalışmada bir elektrokimyasal biyosensörün çalışma prensipleri ve gereklilikleri belirlenerek, karbon bazlı 3 boyutlu malzemelerin sunduğu avantajlar değerlendirilmiş, glukoz tayini için düşük maliyetli, verimli, uygulama ve fabrikasyon kolaylığına sahip bir biyosensör sunulmuştur. Biyosensörün yapımında platin nanopartiküllerin depolandığı rGO ile Zn -MOF-74 birleştirilerek modifiye bir nanomateriyal kullanılmıştır. Biyosensörün elektrokimyasal karakterizasyonu, fabrikasyon elektrotun geniş bir doğrusal aralıkla, yüksek hassasiyet, düşük tespit limiti ve hızlı yanıt süresi ile elektrokimyasal glikoz biyosensörü için umut verici bir çalışma olduğunu ortaya koymuştur. rGO ve nanomateriyaller elektrotun iletkenliğini arttırırken rGO ve Zn -MOF-74 gelişmiş enzim immobilizasyonu ve Pt -NPs birikimi için gözenekliliği ve yüzey alanını geliştirmiştir. Burada, MOF üzerindeki enzim immobilizasyonu ile enzim agregasyonu oluşumu azaltılmış ve konformasyonel

değişiklikler de kısıtlanmıştır. GOx, bir dereceye kadar stabiliteyi, yeniden kullanılabilirliği ve enzim aktivitesini artırmış, fabrikasyon biyosensör, kiraz suyunda glikoz tayini için tatmin edici bir doğruluk sergilemiştir.



KAYNAKLAR

- [1] Aygün, A., Yeni Nesil Nanokompozitlerin/Nanoilaçların Hazırlanması ve Antikanserojen-Antimikrobiyal İlaç Potansiyellerinin Araştırılması, Kütahya Dumlupınar Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Ağustos 2019.
- [2] Alagarasi (2011), Introduction to Nanomaterials, Chapter 1, 76
- [3] Burke, B. E. et al. CCD Imager Development for Astronomy. Linc. Lab. J. 16(2), 2007, pp.392–412.
- [4] David, C. et al. A Review of Continuous Glucose Monitoring Technology. Diabetes Technology & Therapeutics, 7(5), 2005, pp.770-775.
- [5] Tang, X. et al. Carbon Nanotube DNA Sensor and Sensing Mechanism. Nano Letters, 6(8), 2006, pp. 1632-1636.
- [6] Akkaya, B., Çakıroğlu, B., Özacar, M., Tannic Acid-Reduced Graphene Oxide Deposited with Pt Nanoparticles for Switchable Bioelectronics and Biosensors Based on Direct Electrochemistry, ACS Sustainable Chem. Eng. 2018, 6, 3805–3814.
- [7] Fatoni, A., Aziz, A.N., Anggraeni, M.D., Low-cost and real-time color detector developments for glucose biosensor. Sensing and Bio-Sensing Research, 28: 100325, 2020.
- [8] Bulut, Y., Biyosensörlerin Tanımı ve Biyosensörlere Genel Bakış. 6th International Advanced Technologies Symposium (IATS'11), 16-18, 2011.
- [9] Yavuz, A.G., Polivinil Ferrosen Modifiye Elektrodunu Temel Alan Glukoz Biyosensörünün Geliştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, 12-15, 2005.
- [10] Kökbaş, U., Kayrın, L., Tuli, A., Biosensors and their Medical Applications. Archives Medical Review Journal 22(4): 499-513, 2013.
- [11] Tüylek, Z., Biyosensörler ve Nanoteknolojik Etkileşim. BEU Journal of Science 6(2): 71-80, 2017.
- [12] Akkaya, B., 2018. Platin nanopartikül kaplı indirgenmiş grafen oksitin biyosensör uygulaması. Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü, Yüksek Lisans Tezi.

- [13] Otlu, B., Biyosensörler, Biyoreseptör Moleküller. 6th Internatinonal Advanced Technologies Symposium (IATS'11), 16-18, 2011.
- [14] Grieshaber, D., Mackenzie, R., Vörös and Peimhult, E. Electrochemical Biosensor-Sensor Principles and Architectures Sensors, 8, 1400-1458, 2008.
- [15] Eggins.B.R. Biosensors: An Introduction (Birinci Baskı) .Batı Sussex; John Wiley & Sons Limited, Stuttgart: B.G.Teuloner, 1-13, 1996.
- [16] Topçu, M . Altın Biriktirilmiş Polivinil Ferrosen Modifiye Pt Elektrotunu Temel Alan Glukoz Biyosensörünün Geliştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, 21-22, 2003.
- [17] Borgmann, S., Schulte, A., Neuyebauer, S.and Schuhmann, W. Amperometric Biosensors. In Richard C. Alkire, Dieter M .Kolb, Sacek Lipkowski (Eds), Advances in Electrochemical Science and Engineering: Bioelectrochemistry, Volume 13.Weinheim: Wiley-VCH Verlag .GmbH Co.KGaA, 1-83, 2011.
- [18] Li, Yanbin. 2006 . Section 2.3 Biosensors, pp. 52- 93, of chapter 2 Hardware, in CIGR Handbook of Agricultural Engineering Volume VI, Information Technology. Edited by CIGR -The International Commission of Agricultural Engineering.Volume Editor, Axel Munack . St.Joseph, Michigan, USA: ASABE. Copyright American Society of Agricultural Engineers.
- [19] Akyılmaz, E., Baysal, S.H., Dinçkay, E., Investigtion of metal activation of a partiallypurified polyphenol oxidase enzyme electrode .Int JEnviron Anal Chem. 2007, 87: 755-61.
- [20] J.P. Chambers, B.P. Arulanandam, Matta LL, Weis A, Waldes JJ. Biosensor recognition elements. Curr Issues, Mol Biol . 2009; 10 (1-2): 1-12
- [21] F.Salam, I.E.Tothill, Detection of salmonella typhimurium using and electrochemical immunosensor.Biosens Bioelectron . 2009; 24 (8);2630-2636
- [22] S.Shiping, W. Lihua, Z. Jianlong, F.Chuahai, Aptamer based biosensors.Trends in Analytical Chemisrty . 2008; 27(2): 108-117
- [23] E. Torres - Chavolla, E.C.Alocilja, Aptasensors for detection of microbial and viral pathogens.Biosens Bioelectron .2009;24 (11): 3175-3182
- [24] G.A. Zeld-Guillen, J. Riu, A.Duzgun, F. X. Rius, Immediate detection of living bacteria at ultralow concentrations using a carbon nanotube based potentiometric aptasensors.Angew Chem Int. Ed.Engl.2009; 48 (40): 7334-7337
- [25] S.F.D'souza, Microbial biosensors.Biosens Bioelectron . 2001;16(6): 337-353
- [26] Y.Lei, W. Chen, A.Mulchandani, Microbial Biosensors, Anal Chem Acta 2006, 568 (1-2): 200-210

- [27] Garipcan B., Andac M., Uzun L., Denizli A., Methacryloylamidocysteine functionalized poly (2 - hydroxy ethyl methacrylate) beads and its design as a metal-chelate affinity support for human serum albumin adsorption .React Func Polym. 2004;59: 119-28.
- [28] Li, Y., 2006. Section 2.3 Biosensors, pp. 52-93, of Chapter 2 Hardware, in CIGR Handbook of Agricultural Engineering Volume VI Information Technology. Edited by CIGR-The International Commission of Agriculturel Enginneering: Volume Editor, Axel Munack. St. Joseph, Michigan, USA: ASABE. Copyright American Society of Agriculturel Engineers.
- [29] Wijesuriya, P.C., and G.A. Rechnitz .1993 Biosensors based on plant and animal tissues.Biosens Bioelectron.8: 155-60
- [30] Uyar, D., Güven, Ö., Artıktay, I., Dokuz Eylül Üniversitesi Buca Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Eğitimi Anabilim Dalı, <https://dokumen.tips/documents/pdf-dosyasi-xxx-kb.html>.
- [31] Emre, F.B. Kolesterol Biyosensorü Tasarımında Bazı Polimerik Materyallerin Enzim İmmobilizasyon Ortamı Olarak Kullanımı, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya, 34-36, 2007.
- [32] Yılmaz, Selahattin, 2015, Uygulama Örnekleriyle Elektroanalitik Kimya, İstanbul, Kriter Yayınları
- [33] Derkuş, B., 2012. Anti-miyelin temelli protein tayini için impedimetrik immünosensör geliştirilmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü, Yüksek Lisans Tezi.
- [34] Louie, A.S., I.G.Marenchic and R.H. Whelan . 1998.A fieldable modular biosensor for use in detection of foodbarne pathogens.Field Anal.Chem.Tech 2222.371-372
- [35] Schöning, M.J., M.Arzdorif, P. Mulchandani, W. Chen, and A.Mulchandani.2003. A Capacitive fiel-effect sensor for the direct determination of organophosphorus pesticides.Sensors Actuars B91: 92-97
- [36] Demirci, Y., Gökgöz, E., Kendinden güçalan elektrokimyasal glukoz ve laktoz biyosensörü.Sakarya Üniversitesi Fen -Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, Bitirme Çalışması Mayıs 2018
- [37] Ramanathan, K., and B.Danielsson . 2001. Principles and applications of thermal biosensors.Biosens Bioelectron . 16: 417-423
- [38] Sağbaş, B., Durakbaşı, N., Tıbbi ölçüm ve analizlerde kullanılan biyosensörler. Mühendis ve Makina Cilt: 51, Sayı: 600.
- [39] Kissinger, P.T.2005.'Biosensors perspective''Biosensors and Bioelectronics, 20.2512-2516.

- [40] Özyurt, M., 2014. Glukoz tayini için yeni bir biyosensör hazırlanması. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü, Yüksek Lisans Tezi.
- [41] Buerk, D.G. Biosensors: Theory and Applications, ABD.CRC Press, 6-16, 1993.
- [42] Telefoncu, A.Biyosensörler. İzmir: Ege Üniversitesi Yayınları, 1-280, 1999.
- [43] Dursun, F. Medyator Bağlı Matrikslerden Tyrosinase Tabanlı Fenol Biyosensörüne Uygulanması, Yüksek Lisans Tezi, Gebze İleri teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Gebze, 31-34, 2009.
- [44] Kılınç, M. E. Enzime Dayalı Elektrokimyasal Biyosensörlerin Medyator Kullanarak Tasarımı, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 9-23, 1996.
- [45] Yardım, Y. Elektrokimyasal DNA Biyosensörlerin Bazı Kullanım Alanlarının Guanin yada Adenin Sinyali Üzerinden İncelenmesi, Doktora Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van, 38, 2009.
- [46] H.M. Yang, X.L. Song, T.L. Yang, Z.H. Liang, C.M. Fan, X.G. Hao, RSC Adv. 4 (2014) 15720e15726.
- [47] Koyun, A., Ahlatçioğlu, E. and İpek, Y. K. Biosensors and Their Principles, In Sadık Kara (Ed.), A Roadmap of Biomedical Engineers and Milestones. Hırvatistan: InTech, 115-142, 2012.
- [48] Ammon, H.P.T., Ege, W., Oppermann, M., Göpel, W. and Eisele, S. Improvement in the Long-Term Stability of an Amperometric Glucose Sensor System by Introducing a Cellulose Membrane of Bacterial Origin. Analytical Chemistry, 67(2), 466-471, 1995.
- [49] Nordström, M. 2007.Biosensors and Bio MEMS.Bioprobos Group MIC-Department of Micro and Nanotechnology, Technical University of Denmark . <http://www.innovationlab.net/sw/8745.asp>.
- [50] Bhushan.B. 2007.'Nanotribology and nanomechanics of MEMS/NEMS and BioMEMS/BioNEMS Materials and Devices''Microelectronic Engineering, 84, 387-412.
- [51] Schwartz, M.2002 Encyclopedia of smart materials, vol 1, 2. John Wiley and Sons, Inc., Newyork, A.B.D.
- [52] Okandan, M., Glambos, P., Mani, S., Jakubczak, J. Development of Surface of Micromachining Technologies for Microfluidies and BIOMEMS, Sandia National Laboratories, P: O: Box 5800 MS 1080 Albuquerque, NM 87185 USA.
- [53] Velasco-Garcia, M. N., and T. Mottram. 2003. Biosensors technology addressing agricultural problems. Biosystem Engr. 84: 1-12.

- [54] Wang, J. (1999). Amperometric Biosensors For Clinical and Therapeutic Drug Monitoring: A Review. *Journal of Biomedical Analysis*, 19, 47-53.
- [55] Dindar, B. (2010). Üre Tayinine Yönelik Biyosensör Geliştirilmesi ve Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 7-31.
- [56] Patel, P. D. 2002. (Bio)sensors for measurement of analytes implicated in food safety: A review. *TrAC Trends Anal. Chem.* 21: 96-115.
- [57] Wang, J., G. Rivas, and X. Cai. 1997. DNA electrochemical biosensors for environmental monitoring. *Anal. Chim. Acta* 347: 1-8.
- [58] Rodriguez-Mozaz, S., M.-P. Marco, M. J. L de Alda, and D. Barcelo. 2004. Biosensors for environmental applications: Future development trends. *Pure Appl. Chem.* 76(4): 723-752.
- [59] [webders.net/ 892 /peptit - bagi.html# .~: text=Peptit %20bağı%20 oluşumunu %20anlamak %20 için %20 görsel %20model %20üzerinden %20gösterelim %20.](http://webders.net/892/peptit-bagi.html#.~:text=Peptit%20bağı%20oluşumunu%20anlamak%20için%20görsel%20model%20üzerinden%20gösterelim%20.)
- [60] [eczacılık.anadolu.edu.tr file: ///C:/Users/tosh/Desktop/TEZ/69.pdf](http://eczacılık.anadolu.edu.tr/file:///C:/Users/tosh/Desktop/TEZ/69.pdf) ‘Amino Asit, Peptit ve Protein’’Yard. Doç.Dr. Gülay Büyükköroğlu.
- [61] Yıldız, S., 2007, Enzimler, Isparta, Fakülte Yayınevi
- [62] [http://biyodoc.com/Enzim-calismasina-etki-edem-faktorler.html#.~: text=**S%C4%B1cakl%C4%B1k., Erişim Tarihi:10.01.2021.](http://biyodoc.com/Enzim-calismasina-etki-edem-faktorler.html#.~:text=**S%C4%B1cakl%C4%B1k.,ErişimTarihi:10.01.2021.)
- [63] [http://www.biyolojideferi.com/index.php/enzim-calismasina-etki-edem-faktorler.,](http://www.biyolojideferi.com/index.php/enzim-calismasina-etki-edem-faktorler.) Erişim Tarihi:10.01.2021.
- [64] [http://evrenbilgisi.blogspot.com/2013/01/enzimler-ve-ozellikleri.html#.~: text=Ph: %20Enzimler%20pH%20de%C4%9Fi%C5%9Fimine%20kar%C5%9F %C4%B1%20%C3%A7ok%20duyarl%C4%B1d%C4%B1rlar., Erişim Tarihi:10.01.2021.](http://evrenbilgisi.blogspot.com/2013/01/enzimler-ve-ozellikleri.html#.~:text=Ph:%20Enzimler%20pH%20de%C4%9Fi%C5%9Fimine%20kar%C5%9F%C4%B1%20%C3%A7ok%20duyarl%C4%B1d%C4%B1rlar.,ErişimTarihi:10.01.2021.)
- [65] Erdem, C. (2012). Glukoz Tayini için Nikel Oksit Modifiye Karbon Pasta Elektrotların hazırlanması. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 16-35.
- [66] Kasovi, C., “Kovalent bağlanma ve fiziksel adsorpsiyon metotları ile protez enziminin immobilizasyonu” İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, 2006.
- [67] Çogal, S., Grafen oksit-polianilin nanokompozit temelli amperometrik glukoz biyosensörü geliştirilmesi. *Akademik Gıda* 15(2): 124-129, 2017.
- [68] L.C. Clark, C. Lyons, Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 102 (1962) 29–45.

- [69] Von Lucadou I, Luft G, Preidel W, Richter GJ. The electrocatalytic glucose sensor. *Horm Metab Res Suppl.* 1988; 20: 41-3.
- [70] J. Wang, Electrochemical glucose biosensors, *Chem. Rev.* 108 (2008) 814–825.
- [71] Kausaite-Minkstine, A., Glumbokaite, L., Ramanaviciene, A., Ramanavicius A., Reagent-less amperometric glucose biosensor based on nanobiocomposite consisting of poly(1, 10-phenanthroline-5, 6-dione), poly(pyrrole-2-carboxylic acid), gold nanoparticles and glucose oxidase. *Microchemical Journal*, 154: 104665, 2020.
- [72] Y. Cui, F. Zhu, B. Chen, G. Qian, *Chem. Commun.* 51 (2015) 7420–7431.
- [73] Wang, H-S., Metal-organic frameworks for biosensing and bioimaging applications. *Coordination Chemistry Reviews* 349: 139-155, 2017.
- [74] <https://muhendisolmak.com/metal-organik-kafes-yapilari-nedir/>, Erişim Tarihi:10.01.2021.
- [75] S.E. Miller, M.H. Teplensky, P.Z. Moghadam, D. Fairen-Jimenez, *Interface Focus* 6 (2016) 20160027.
- [76] H.-S. Wang, J. Li, J.-Y. Li, K. Wang, Y. Ding, X.-H. Xia, *NPG Asia Mater.* 9 (2017) e354.
- [77] Y. Zhang, B. Li, H. Ma, L. Zhang, Y. Zheng, *Biosens. Bioelectron.* 85 (2016) 287– 293.
- [78] F.-Y. Yi, D. Chen, M.-K. Wu, L. Han, H.-L. Jiang, *ChemPlusChem* 81 (2016) 675– 690.
- [79] Y. Wang, Y. Zhu, A. Binyam, M. Liu, Y. Wu, F. Li, *Biosens. Bioelectron.* 86 (2016) 432–438.
- [80] L. Ai, L. Li, C. Zhang, J. Fu, J. Jiang, *Chem. Eur. J.* 19 (2013) 15105–15108.
- [81] C. He, D. Liu, W. Lin, *Chem. Rev.* 115 (2015) 11079–11108.
- [82] Öztürk, Z., Köse, D.A., Öztürk, B., Asan, A., 2013 Bazı metal organik kafes yapılı bileşiklerin hidrojen depolama performanslarının incelenmesi, 28. Cilt. Gazi Üniv., Müh., Mim., Fak., Der., 333-337.
- [83] Kempahanumakkagari, S., Kumar, V., Samaddar, P., Kumar, P., Ramakrishnappa T., Kim, Ki-H., Biomolecule-embedded metal-organic frameworks as an innovative sensing platform. *Biotechnology Advances*, 2018.

- [84] Hintz, H., Wuttke, S., 2014. Postsynthetic modification of an amino-tagged MOF using peptide coupling reagents: a comparative study. *Chem. Commun.* 50 (78), 11472–11475.
- [85] Liu, W.L., Wu, C.-Y., Singco, B., Lin, C.-H., Huang, H.-Y., 2014. Fast multipoint immobilized MOF bioreactor. *Chem. Eur. J.* 20 (29), 8923–8928.
- [86] Kempahanumakkagari, S., Vellingiri, K., Deep, A., Eilhann, E., Kwon, E.E., Bolan, N., Kim, K.H., 2018. Metal–organic framework composites as electrocatalysts for electrochemical sensing applications. *Coord. Chem. Rev.* 357, 105–129.
- [87] M. Handke, H. Weber, M. Lange, J. Möllmer, J. Lincke, R. Gläser, R. Staudt, H. Krautscheid *Inorg. Chem.*, 53 (2014), pp. 7599–7607.
- [88] B. Panella, M. Hirscher, H. Pütter, U. Müller *Adv. Funct. Mater.*, 16 (2006), pp. 520–524.
- [89] Y. Liu, H. Li, Y. Han, X. Lv, H. Hou, Y. Fan, *Cryst. Growth Des.* 12 (2012) 3505–3513.
- [90] Mallick, S. Saha, P. Pachfule, S. Roy, R. Banerjee, *J. Mater. Chem.* 20 (2010) 9073–9080.
- [91] L. Fan, X. Liu, L. Zhang, X. Kong, Z. Xiao, W. Fan, R. Wang, D. Sun *J. Mol. Struct.*, 1197 (2019), pp. 87–95.
- [92] M. Kandiah, M.H. Nilsen, S. Usseglio, S. Jakobsen, U. Olsbye, M. Tilset, C. Larabi, E.A. Quadrelli, F. Bonino, K.P. Lillerud *Chem. Mater.*, 22 (2010), pp. 6632–6640.
- [93] A.M. Rasero-Almansa, M. Iglesias, F. Sánchez *RSC Adv.*, 6 (2016), pp. 106790–106797.
- [94] R.J. Marshall, S.L. Griffin, C. Wilson, R.S. Forgan *Chemistry—A European Journal*, 22 (2016), pp. 4870–4877.
- [95] F. Zhang, X. Zou, X. Gao, S. Fan, F. Sun, H. Ren, G. Zhu *Adv. Funct. Mater.*, 22 (2012), pp. 3583–3590.
- [96] M.A. Haydar, H.R. Abid, B. Sunderland, S. Wang *Drug Des. Dev. Ther.*, 11 (2017), p. 2685.
- [97] L. Hamon, P.L. Llewellyn, T. Devic, A. Ghoufi, G. Clet, V. Guillermin, G.D. Pirngruber, G. Maurin, C. Serre, G. Driver *J. Am. Chem. Soc.*, 131 (2009), pp. 17490–17499.
- [98] S. Rives, H. Jobic, D. Kolokolov, A. Gabrienko, A. Stepanov, Y. Ke, B. Frick, T. Devic, G. Férey, G. Maurin *J. Phys. Chem. C*, 117 (2013), pp. 6293–6302.

- [99] H. Furukawa, K.E. Cordova, M. O’Keeffe, O.M. Yaghi *Science* (2013), p. 341.
- [100] M. Alhamami, H. Doan, C.-H. Cheng *Materials*, 7 (2014), p. 3198.
- [101] M.-H. Zeng, X.-L. Feng, X.-M. Chen *Dalton Trans.* (2004), pp. 2217-2223.
- [102] X. Meng, F.-S. Xiao, *Chem. Rev.* 114 (2014) 1521-1543.
- [103] C. Dey, T. Kundu, B.P. Biswal, A. Mallick, R. Banerjee, *Acta Crystallogr. B Struc. Sci. Crystal Eng. Mater.* 70 (2014) 3-10.
- [104] Persson, *Pure Appl. Chem.* 58 (1986) 1153-1161.
- [105] O.A. El Seoud, *Pure Appl. Chem.* 81 (2009) 697-707.
- [106] J.S. Wilkes, *J. Mol. Catal. Chem.* 214 (2004) 11-17.
- [107] Al Amery, N., Abid, H.R., Al- Saadi, S., Wang, S., Liu, S., Facile directions for synthesis, modification and activation of MOFs. *Materials Today Chemistry* 17: 100343, 2020
- [108] Carne-S anchez, I. Imaz, M. Cano-Sarabia, D. Maspoch, *Nat. Chem.* 5 (2013) 203-211.
- [109] Lagashetty, V. Havanoor, S. Basavaraja, S.D. Balaji, A. Venkataraman, *Sci. Technol. Adv. Mater.* 8 (2007) 484-493.
- [110] P. Horcajada, T. Chalati, C. Serre, B. Gillet, C. Sebrie, T. Baati, J.F. Eubank, D. Heurtaux, P. Clayette, C. Kreuz, J.-S. Chang, Y.K. Hwang, V. Marsaud, P.- N. Bories, L. Cynober, S. Gil, G. Ferey, P. Couvreur, R. Gref, *Nat. Mater.* 9 (2009) 172.
- [111] S.H. Jhung, J.-H. Lee, P.M. Forster, G. Ferey, A.K. Cheetham, J.-S. Chang, *Chem. Eur J.* 12 (2006) 7899-7905.
- [112] Z. Ni, R.I. Masel, *J. Am. Chem. Soc.* 128 (2006) 12394-12395.
- [113] J.-S. Choi, W.-J. Son, J. Kim, W.-S. Ahn, *Microporous Mesoporous Mater.* 116 (2008) 727-731.
- [114] Chen, X. Feng, Q. Zhu, R. Dong, R. Yang, Y. Cheng, C. He, *Inorg. Chem.* 58 (2019) 2717-2728.
- [115] Dheyab, M.A., Aziz, A.A., Jameel, M.S. Khaniabadi, P.M., Mehrdel, B., Sonochemical-assisted synthesis of highly stable gold nanoparticles catalyst for decoloration of methylene blue dye, *Inorganic Chemistry Communications*, Volume 127, May 2021, 108551

- [116] G. Sargazi, D. Afzali, N. Daldosso, H. Kazemian, N.P.S. Chauhan, Z. Sadeghian, T. Tajerian, A. Ghafarinazari, M. Mozafari, *Ultrason. Sonochem.* 27 (2015) 395-402.
- [117] Zhao, W., Li, M., Qi, Y., Tao, Y., Shi, Z., Liu, Y., Cheng, J., Ultrasound sonochemical synthesis of amorphous Sb₂S₃-graphene composites for sodium-ion batteries. *Journal of Colloid and Interface Science* 586: 404-411, 2021.
- [118] J.L. Rowsell, O.M. Yaghi, *Microporous Mesoporous Mater.* 73 (2004) 3-14.
- [119] M. Yoshimura, K. Byrappa, *J. Mater. Sci.* 43 (2008) 2085-2103.
- [120] G. Ferey, in: R. Xu, Z. Gao, J. Chen, W. Yan (Eds.), *Studies in Surface Science and Catalysis*, vol. 170, Elsevier, 2007, pp. 66-84.
- [121] J.L. Crane, K.E. Anderson, S.G. Conway, *J. Chem. Educ.* 92 (2015) 373-377.
- [122] M. Gimeno-Fabra, A.S. Munn, L.A. Stevens, T.C. Drage, D.M. Grant, R.J. Kashtiban, J. Sloan, E. Lester, R.I. Walton, *Chem. Commun.* 48 (2012) 10642-10644
- [123] L. Paseta, B. Seoane, D. Julve, V. Sebastian, C. T ellez, J. Coronas, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 5 (2013) 9405-9410.
- [124] Martinez Joaristi, J. Juan-Alcaniz, P. Serra-Crespo, F. Kapteijn, J. Gascon, ~ *Cryst. Growth Des.* 12 (2012) 3489-3498.
- [125] M. Li, M. Dinca, *Chem. Mater.* 27 (2015) 3203-3206.
- [126] H. Al-Kutubi, J. Gascon, E.J.R. Sudholter, L. Rassaei, *ChemElectroChem* 2 € (2015) 462- 474.
- [127] W.-J. Li, J. Lü, S.-Y. Gao, Q.-H. Li, R. Cao, *J. Mater. Chem.* 2 (2014) 19473-19478.
- [128] S. Sachdeva, A. Pustovarenko, E.J. Sudholter, F. Kapteijn, L.C. de Smet, € J. Gascon, *CrystEngComm* 18 (2016) 4018-4022.
- [129] [http://refhub.elsevier.com/S2468-5194\(20\)30103-8/sref84](http://refhub.elsevier.com/S2468-5194(20)30103-8/sref84) N. Stock, S. Biswas, *Chem. Rev.* 112 (2011) 933-969. Erişim Tarihi: 20.05.2021
- [130] W.-J. Li, M. Tu, R. Cao, R.A. Fischer, *J. Mater. Chem.* 4 (2016) 12356-12369.
- [131] Dubois, M.O. Colaco, J. Wouters, *Chem. Nouv.* (2014) 21-30.
- [132] A.A.L. Michalchuk, I.A. Tumanov, E.V. Boldyreva, *CrystEngComm* 15 (2013) 6403-6412.

- [133] Mottillo, T. Friscic, *Molecules* 22 (2017) 144.
- [134] M. Rubio-Martinez, C. Avci-Camur, A.W. Thornton, I. Imaz, D. Maspoch, M.R. Hill, *Chem. Soc. Rev.* 46 (2017) 3453-3480.
- [135] Nadar, S.S., Vaidya, L., Rathod, V.K., Enzyme embedded metal organic framework (enzyme–MOF): De novo approaches for immobilization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 149 (2020) 861-876
- [136] Yingli, H., Lingmei, D., Dehua, L., Wei, D., Yujun, W., Progress & prospect of metal-organic frameworks (MOFs) for enzyme immobilization (enzyme/MOFs). *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 91 (2018) 793-801.
- [137] Liu W-L, Lo S-H, Singco B, Yang C-C, Huang H-Y, Lin C-H. Novel trypsin-FITC@MOF bioreactor efficiently catalyzes protein digestion. *J Mater Chem B* 2013;1: 928–32.
- [138] Kim Y, Yang T, Yun G, Ghasemian MB, Koo J, Lee E, et al. Hydrolytic transformation of microporous metal–organic frameworks to hierarchical micro- and mesoporous
- [139] Tiyeke, İ., Dönmez, U., Yıldırım, B., Alma, M.H., Ersoy, M.S., Karataş, Ş., Yazıcı, M., Kimyasal yöntem ile indirgenmiş grafen oksit sentezi ve karakterizasyonu. *SAÜ Fen Bil Der* 20. Cilt, 2. Sayı, s. 349-357, 2016
- [140] M. C. Hsiao, S. H. Liao, Y. F. Lin, C. A. Wang, N. W. Pu, H. M. Tsai ve C. C. M. Ma, “Preparation and characterization of polypropylene-grafted-thermally reduced graphite oxide with an improved compatibility with polypropylene-based nanocomposite”, *Nanoscale*, no. 3, pp. 1516-1522, 2011.
- [141] <https://www.nanografi.com.tr/grafen/>, Erişim Tarihi:10.01.2021.
- [142] S. Park ve R. S. Ruoff, “Chemical methods for the production of graphenes”, *Nature Nanotechnology*, cilt 4, no. 4, pp. 271-224, 2009.
- [143] F. R. Hanifah, J. Jaafar, M. Aziz, A. F. Ismail, M. A. Rahman ve M. H. D. Othman, “Synthesis of graphene oxide nanosheets via modified hummers’ method and its physicochemical properties”, *Jurnal Teknologi*, cilt 74, no. 1, pp. 189-192, 2015.
- [144] Sun, Y., Li, X., Wang, J., Ning, W ., Fu, J., Lu, X., Hou, Z., Carbon film encapsulated Pt NPs for selective oxidation of alcohols in acidic aqueous solution, *Applied Catalysis B: Environmental* Volume 218, 5 December 2017, Pages 538-544.

- [145] Subhan, F., Aslam, S., Yan, Z., Yaseen, M., Zoda, A., İkrām, M., Fabrication of highly dispersed Pt NPs in nanoconfined spaces of as-made KIT-6 for nitrophenol and MB catalytic reduction in water, *Separation and Purification Technology* Volume 265, 15 June 2021, 118532
- [146] Khan, F. H. (2013). Chemical Hazards of Nanoparticles to Human and Environment (A Review). *Oriental Journal of Chemistry*, 29(4), 1399-1408.
- [147] Sahab-Uddin, M. D. (2019). Nanoparticles as Nanopharmaceuticals: Smart Drug Delivery System. *Nanoparticulate Drug Delivery Systems*, Apple Academic Press, 85-120
- [148] O. Parlak, A. İncel, L. Uzun, A. P. F. Turner, A. Tiwari, *Biosens. Bioelectron.* 2016, 89, 545–550
- [149] M. Jahan, Z. Liu, K. P. Loh, *Adv. Funct. Mater.* 2013, 23, 5363–5372
- [150] S. Patra, A. Chaussé, L. Legrand, T. Hidalgo Crespo, A. Permyakova, C. Sicard, C. Serre, N. Steunou, *J. Mater. Chem. B* 2015, 3, 8983–8992.
- [151] J. Tranchemontagne, J. R. Hunt, O. M. Yaghi, *Tetrahedron* 2008, 64, 8553–8557.
- [152] N. I. Kovtyukhova, P. J. Ollivier, B. R. Martin, T. E. Mallouk, S. A. Chizhik, E. V. Buzaneva, A. D. Gorchinskiy, *Chem. Mater.* 1999, 11, 771–778.
- [153] K. Ateş, E. Er, H. Çelikkan, N. Erk, *New J. Chem.* 2017, 41, 15320–15326.
- [154] J. Wang, H. Deng, H. Furukawa, F. Gándara, K. E. Cordova, D. Peri, O. M. Yaghi, *Inorg. Chem.* 2014, 53, 5881– 5883.
- [155] Tan, N. Nijem, Y. Gao, S. Zuluaga, J. Li, T. Thonhauser, Y. J. Chabal, *CrystEngComm.* 2015, 17, 247–260.
- [156] Mehdi, A. A. Mehde, M. Özacar, Z. Özacar, *Int. J. Biol. Macromol.* 2018, 117, 947–958.
- [157] Çakıroğlu, M. Özacar, *Electroanalysis* 2017, 29, 2719– 2726.
- [158] O. Laoire, E. Plichta, M. Hendrickson, S. Mukerjee, K. M. Abraham, *Electrochim. Acta* 2009, 54, 6560–6564.
- [159] Çakıroğlu, M. Özacar, *J. Electrochem. Soc.* 2019, 166, B728–B734.
- [160] H. Wu, J. Wang, X. Kang, C. Wang, D. Wang, J. Liu, I. A. Aksay, Y. Lin, *Talanta* 2009, 80, 403–406.
- [161] G. de Jesus, D. Lima, V. dos Santos, K. Wohnrath, C. A. Pessôa, *Sens. Actuators B* 2013, 186, 44–51.

- [162] Z. Nasri, E. Shams, *Electrochim. Acta* 2013, 112, 640–647.
- [163] Senapati, S., Mahanta, A. K., Kumar, S., Maiti, P. (2018). Controlled drug delivery vehicles for cancer treatment and their performance. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 16, 3-7.
- [164] E. Yılmaz, B. Çakıroğlu, A. Gökçe, F. Findik, H. O. Gulsoy, N. Gulsoy, Ö. Mutlu, M. Özacar, *Mater. Sci. Eng. C* 2019, 101 292–305.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Didem UZAK

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Sakarya Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü /Kimya Bölümü-Fizikokimya	Devam ediyor
Lisans	Sakarya Üniversitesi / Fen-Edebiyat Fakültesi /Kimya Bölümü	2017
Lise	Adapazarı Atatürk Lisesi	1990

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer	Görev
2021-Halen	Gülümse Yemek	Sorumlu Müdür

YABANCI DİL

İngilizce