

**MANYETİK NANOYAPILI İMMÜNOSENSÖR PLATFORMLARININ
GELİŞTİRİLMESİ**

Ferat ŞAHİN

DOKTORA TEZİ

KİMYA

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ARALIK 2012

ANKARA

Ferat ŞAHİN tarafından hazırlanan “MANYETİK NANOYAPILI İMMÜNOSENSÖR PLATFORMLARININ GELİŞTİRİLMESİ” adlı bu tezin Doktora tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Hayrettin TÜMTÜRK
Tez Danışmanı, Kimya Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Kimya Anabilim Dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Serpil AKSOY
Kimya Anabilim Dalı, G.Ü.

Doç. Dr. Hayrettin TÜMTÜRK
Kimya Anabilim Dalı, G.Ü.

Prof. Dr. Halil İbrahim ÜNAL
Kimya Anabilim Dalı, G.Ü.

Prof. Dr. Meral KARAKIŞLA ŞAHİN
Kimya Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Doç. Dr. Fatih BÜYÜKSERİN
Biyomedikal Mühendisliği, TOBB ETÜ

Tarih: 27/12/2012

Bu tez ile G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Doktora derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Şeref SAĞIROĞLU
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Ferat ŞAHİN

MANYETİK NANOYAPILI İMMÜNOSENSÖR PLATFORMLARININ GELİŞTİRİLMESİ

(Doktora Tezi)

Ferat ŞAHİN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Aralık 2012

ÖZET

Bu çalışmada, protein-antijen çözeltilerinden spesifik olarak antijeni seçici bağlayabilmesi için yeni çekirdek-kabuk manyetik nanotanecikler sentezlendi. İlk olarak, manyetik nanotanecikler silika, polidopamin (PDA) ve gümüş tabakasıyla kaplandı. Ardından antikörlerin kolaylıkla nanotanecik yüzeyine kovalent bağlanması için silika kaplı manyetik nanotanecikler 3-aminopropiltrietoksilanol (APTES) ile modifiye edildi ve gümüş kaplı manyetik nanotanecikler 11-merkaptoundekanoik asit (MUA) ile fonksiyonelleştirildi. Nanotanecikler, birleştirilmiş toplam yansıtma-fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (ATR-FT-IR), X-ışınları fotoelektron spektroskopisi (XPS), X-ışınları kırınımı (XRD), geçirimli elektron mikroskobu (TEM), taramalı elektron mikroskobu (SEM), dinamik ışık saçılması (DLS) ve titreşen örnek manyetometresi (VSM) ile karakterize edildi. XPS sonuçları bütün modifikasyon işlemlerinin başarıyla gerçekleştiğini gösterdi. TEM görüntüleri nanotaneciklerin iyi şekilde dağıldıklarını gösterdi. XRD sonuçları, hazırlanan nanotaneciklerin kristalliliğinin modifikasyon basamaklarından sonra değişmediğini gösterdi. Hazırlanan bütün nanotaneciklerin oda sıcaklığında süperparamanyetik özelliğe sahip

olduklarını VSM sonuçları gösterdi. Spesifik antijen bağlamayı sağlamak için antikorların nanotaneciklere immobilizasyonu gerçekleştirildi. Anti-IgG bağlı PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin Fbg, Hb, Mb ve Lys proteinlerine karşı gösterdikleri IgG seçicilikleri sırasıyla 74,4, 64,9, 59,8 ve 54,6 µg/mg manyetik nanotanecik olarak belirlendi. Aynı şekilde, anti-ferritin bağlı PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin aynı proteinlere karşı gösterdikleri ferritin seçicilikleri sırasıyla 83,7, 76,3, 71,2 and 68,7 µg/mg manyetik nanotanecik olarak belirlendi. Ferritin immobilize edilmiş PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin protein karışımından seçici antijen bağlama kapasitesinin diğer çekirdek-kabuk nanotaneciklere göre daha yüksek olduğu sonucuna varıldı. Sonuç olarak, nanotanecikler üzerine immobilize edilen antikorlar spesifik antijenlerine karşı yüksek aktivite ve güçlü bir ilgi gösterdiği belirlendi.

Bilim Kodu : 201.1.117

Anahtar Kelimeler : Çekirdek-kabuk manyetik nanotanecikler, antikor, antijen

Sayfa Adedi : 175

Tez Yöneticisi : Doç. Dr. Hayrettin TÜMTÜRK

**DEVELOPMENT OF IMMUNOSENSOR PLATFORMS BASED ON
MAGNETIC NANOSTRUCTURED**

(Ph. D. Thesis)

Ferat ŞAHİN

GAZI UNIVERSITY

INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

December 2012

ABSTRACT

In this study, magnetic core-shell nanoparticles were synthesized for the selective binding of a specific antigen from a protein-antigen mixture with highly effective. Firstly, magnetic nanoparticles coated with silica, silver and polydopamine (PDA) layer. Then silica-coated nanoparticle surface was covered with 3-aminopropyltriethoxysilane (APTES), then silver-coated nanoparticle surface was covered with 11-mercaptopundecanoic acid (MUA) for easy immobilization of antibodies. Nanoparticles were characterized by Attenuated total reflectance fourier transform infrared spectroscopy (ATR-FT-IR), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), X-ray diffractometer (XRD), transmission electron microscopy (TEM) and vibrating sample magnetometer (VSM). XPS results demonstrated that all the modification steps were done successfully. TEM images of the nanoparticles demonstrated that they were well dispersed. XRD results indicated that the crystallinity of the prepared nanoparticles did not change after the modification steps. VSM results showed that all of the prepared nanoparticles have superparamagnetic property at room temperature. The immobilization of antibodies on nanoparticles was carried out to ensure specific

binding of antigens. The selectivity of the anti-IgG antibody-immobilized PDA coated nanoparticles for IgG against that for Fbg, Hb, Mb and Lys was 74,4, 64,9, 59,8 and 54,6 $\mu\text{g}/\text{mg}$ magnetic nanoparticles, respectively. In the same way, the anti-ferritin antibody-immobilized MUA modified nanoparticles adsorption capacities for ferritin with respect to the same proteins were 83,7, 76,3, 71,2 and 68,7 $\mu\text{g}/\text{mg}$ magnetic nanoparticles, respectively. It was concluded that, the selective antigen binding capacity of ferritin-immobilized PDA coated magnetic nanoparticles was relatively high compared with other core-shell nanoparticles from the protein mixture. As a result, the antibody immobilized nanoparticles represented high activity and strong affinity for the specific antigen.

Science Code : 201.1.117
Keywords : Core-shell magnetic nanoparticles, antibody, antigen
Page Number : 175
Adviser : Assoc. Prof. Dr. Hayrettin TÜMTÜRK

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca ilgi, destek ve yardımlarını esirgemeyen ve elinden gelen tüm imkanları biz öğrencilerine sunan değerli hocam sayın Doç. Dr. Hayrettin TÜMTÜRK'e sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışmanın yürütülmesinde bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım çok değerli hocalarım sayın Prof. Dr. Halil İbrahim ÜNAL ve sayın Doç. Dr. Fatih BÜYÜKSERİN'e desteklerinden ötürü teşekkürlerimi sunarım.

05/2010-76 kodlu Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Birimi'nin bu çalışmaya verdiği maddi desteklerinden ötürü teşekkür ederim.

Dinamik ışık saçılımı ölçümlerinden dolayı sayın Özlem EROL'a ve sayın Adem ZENGİN'e teşekkür ederim.

Lisans, yüksek lisans ve doktora öğrenimim her zamanda yanımda olan arkadaşım sayın Doç. Dr. Gökhan DEMİREL'e teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım boyunca desteğini hiç esirgemeyen, tüm bilgisi ile bana her zaman destek olan Dr. Eylem TURAN'a teşekkür ederim.

Tüm eğitim hayatım boyunca üstün bir çaba gösteren, onlara çok şey borçlu olduğum aileme sonsuz teşekkürleri borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR	xviii
1. GİRİŞ	1
2. MANYETİK NANOTANECİKLER.....	6
2.1. Manyetik Nanotaneciklerin Sentezi	7
2.1.1. Termal bozunma yöntemi.....	8
2.1.2. İkili çöktürme yöntemi	9
2.1.3. Manyetik nanotaneciklerin kararlılığı/korunması	11
2.2. Doygunluk Miknatıslığı.....	18
2.2.1. Paramanyetizma	19
2.2.2. Süperparamanyetizma	20
3. İMMÜNOSENSÖRLER	21
3.1. Antikorlar	21
3.2. Antikor-Antijen Bağlanma Özellikleri	22
3.3. Antikor-Antijen Bağlanma Kinetiği	24
4. NANOTANECİK KARAKTERİZASYON YÖNTEMLERİ	26
4.1. Fourier Dönüşümlü-Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR)	27

Sayfa

4.2. X-Işınları Fotoelektron Spektroskopisi (XPS)	28
4.3. X-Işınları Kırınımı (XRD)	33
4.3.1. X-Işınları kırınımı ile kristal yapıların tayini	35
4.3.2. Debye-Scherrer yöntemi ile tanecik büyüklüğü tayini	36
4.4. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	37
4.5. Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM)	40
4.5.1. Numune hazırlama	42
4.5.2. TEM ile SEM arasındaki farklar	43
4.6. Titreşen Örnek Manyetometresi (VSM)	44
4.6.1. Histerezis eğrileri	45
4.7. Dinamik Işık Saçılımı (DLS)	46
4.7.1. Verilerin değerlendirilmesi	48
4.7.2. Korelasyon fonksiyonunun kullanılması	50
4.7.3. Şiddet, hacim ve sayı Dağılımları	51
5. DENEYSEL KISIM	53
5.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	53
5.2. Manyetik Nanotaneciklerin Sentezi	58
5.3. Silika Kaplı Manyetik Nanotaneciklerin Sentezi	59
5.4. APTES Modifiyeli Manyetik Nanotaneciklerin Sentezi	59
5.5. PDA Kaplı Manyetik Nanotaneciklerin Sentezi	59
5.6. Gümüş Kaplı Manyetik Nanotaneciklerin Sentezi	60
5.7. MUA Modifiyeli Manyetik Nanotaneciklerin Sentezi	60
5.8. Manyetik Nanotaneciklere Antikor Bağlanması	61

Sayfa

5.9. Manyetik Nanotaneciklerde Antikor-Antijen Bağlanma Kinetiği	62
5.10. Manyetik Nanotaneciklerde Antikor-Antijen Komplekslerinin Ayrışma Sabitleri	63
5.11. Hedef Proteine Seçicilik	63
5.12. Nanotaneciklerin Karakterizasyonu	64
5.12.1. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR)	64
5.12.2. X-ışınları fotoelektron spektroskopisi (XPS)	64
5.12.3. X-ışınları difraktometresi (XRD)	64
5.12.4. Geçirimli elektron mikroskobu (TEM)	65
5.12.5. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)	65
5.12.6. Dinamik ışık saçılımı (DLS)	65
5.12.7. Manyetometre	66
6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	67
6.1. Manyetik, Silika Kaplı ve Amin Modifiyeli Manyetik Nanotaneciklerin Sentezi ve Karakterizasyonu	67
6.2. PDA Kaplı, Gümüş Kaplı ve Karboksilli Asit Modifiyeli Manyetik Nantaneciklerin Sentezi ve Karakterizasyonu	93
6.3. Biyofonksiyonel Manyetik Nanotanecikler	116
6.3.1. Manyetik nanotaneciklere antikor bağlanması	116
6.3.2. Manyetik nanotaneciklerde antikor-antijen bağlanma tepkimesi	130
6.3.3. Nanotanecikler üzerinde antikor-antijen komplekslerinin ayrışma sabitleri	136
6.3.4. Hedef proteine seçicilik	141
7. SONUÇ	148

	Sayfa
KAYNAKLAR	150
ÖZGEÇMİŞ	173

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 6.1. Manyetik ve silika kaplı manyetik nanotaneciklerin boy ve boyut dağılımları	90
Çizelge 6.2. PDA ve gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin boy ve boyut dağılımları	109
Çizelge 6.3. Karboksilli asit modifiyeli manyetik nanotaneciklerin bağlanma enerjilerinin MUA derişimi ile değişimi	113
Çizelge 6.4. Anti-IgG ve anti-ferritin bağlı manyetik nanotaneciklerin protein bağlama kapasiteleri	145

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Çoklu fonksiyonel manyetik nanotaneçiklerin elde edilme yöntemleri ve potansiyel uygulamaları	6
Şekil 2.2. Paramanyetik özelliğın manyetik alan ile değışimi.....	19
Şekil 3.1. Antikorların genel yapısının şematik gösterimi	21
Şekil 3.2. Antijen-antikor bağlanmasında etkili olan kuvvetler	23
Şekil 4.1. ATR hücresinin şematik gösterimi	27
Şekil 4.2. XPS ile kimyasal analiz	31
Şekil 4.3. X-ışını ve elektronların etkileşimi.....	33
Şekil 4.4. Bir kristaldeki X-ışını kırınımı (Bragg Diyagramı).....	35
Şekil 4.5. XRD cihazının şematik gösterimi	37
Şekil 4.6. Taramalı elektron mikroskopunun şematik gösterimi	40
Şekil 4.7. Geçirimli elektron mikroskopunun şematik gösterimi.....	43
Şekil 4.8. Titreşen örnek manyetometresinin şematik gösterimi	44
Şekil 4.9. Dış manyetik alana karşı malzeme içerisinde oluşan mıknatıslanma eğrisi	45
Şekil 4.10. Nanotaneçiklerden saçılan ışınların dedektörde ölçülmesi.....	46
Şekil 4.11. Küçük ve büyük parçacıkların Brown hareketi.....	48
Şekil 4.12. Tipik bir korelasyon-zaman eğrisi.....	49
Şekil 4.13. Küçük ve büyük parçacıklar üzerine korelasyon fonksiyonunun etkisi	50
Şekil 4.14. Tipik bir boyut dağılım grafiğı	51
Şekil 4.15. Sayı, hacim ve şiddet dağılım grafikleri	51
Şekil 6.1. Manyetik nanotaneçiklerin ikili çöktürme yöntemiyle bazik ortamda sentezi.....	68

Şekil	Sayfa
Şekil 6.2. Silika kaplı manyetik nanotaneciklerin sentezi	69
Şekil 6.3. Silika kaplı manyetik nanotaneciklerin APTES ile modifikasyon mekanizması	70
Şekil 6.4. Manyetik nanotaneciklerin FT-IR spektrumu	71
Şekil 6.5. Silika kaplı manyetik nanotaneciklerin FT-IR spektrumu	72
Şekil 6.6. APTES modifiyeli manyetik nanotaneciklerin FT-IR spektrumu ..	73
Şekil 6.7. Manyetik nanotaneciklerin XPS spektrumu	74
Şekil 6.8. Manyetik nanotaneciklerin Fe2p ve O1s atomlarının yüksek çözünürlüklü XPS spektrumları	75
Şekil 6.9. Silika kaplı manyetik nanotaneciklerin XPS spektrumu	77
Şekil 6.10. Silika kaplı manyetik nanotaneciklerin Fe2p, O1s, C1s ve Si2p atomlarının yüksek çözünürlüklü XPS spektrumları	78
Şekil 6.11. APTES modifiyeli manyetik nanotaneciklerin XPS spektrumu	80
Şekil 6.12. APTES modifiyeli manyetik nanotaneciklerin O1s, N1s, C1s ve Si2p atomlarının yüksek çözünürlüklü XPS spektrumları	81
Şekil 6.13. Manyetik nanotaneciklerin XRD deseni.....	82
Şekil 6.14. Silika kaplı manyetik nanotaneciklerin XRD deseni.....	83
Şekil 6.15. Manyetik nanotaneciklerin TEM görüntüsü	85
Şekil 6.16. Silika kaplı manyetik nanotaneciklerin TEM görüntüsü	86
Şekil 6.17. Manyetik nanotaneciklerin SEM görüntüleri (a)10000 büyötmeli (b) 35000 büyötmeli.....	87
Şekil 6.18. Silika kaplı manyetik nanotaneciklerin SEM görüntüleri (a)10000 büyötmeli (b) 35000 büyötmeli.....	88
Şekil 6.19. Manyetik ve silika kaplı manyetik nanotaneciklerin histerezis eğrileri	91

Şekil	Sayfa
Şekil 6.20. (a) Polidopamin destekli akımsız gümüş kaplama ile manyetik-gümüş çekirdek-kabuk nanotaneciklerinin hazırlanma yöntemi (b) Dopaminin oksidatif kendiliğinden polimerleşmesi için olası mekanizma.....	94
Şekil 6.21. PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin FT-IR spektrumu	95
Şekil 6.22. PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin XPS spektrumu	97
Şekil 6.23. PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin O1s, N1s ve C1s atomlarının yüksek çözünürlüklü XPS spektrumları	98
Şekil 6.24. Gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin XPS spektrumu	100
Şekil 6.25. Gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin yapısındaki Ag3d Atomunun yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu.....	101
Şekil 6.26. PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin XRD deseni	102
Şekil 6.27. Gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin XRD deseni	103
Şekil 6.28. PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin TEM görüntüsü.....	105
Şekil 6.29. Gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin TEM görüntüsü	106
Şekil 6.30. PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin SEM görüntüleri (a)25000 büyötmeli (b) 40000 büyötmeli.....	107
Şekil 6.31. Gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin SEM görüntüleri (a)25000 büyötmeli (b) 40000 büyötmeli.....	108
Şekil 6.32. Manyetik, PDA kaplı ve gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin histerezis eğrileri	110
Şekil 6.33. MUA modifiyeli manyetik nanotaneciklerin XPS spektrumları..	112
Şekil 6.34. 3 mM MUA ile modifiye edilen manyetik nanotaneciklerdeki S2p atomuna ait yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu	115
Şekil 6.35. Antikorun nanotanecik yüzeyine fiziksel ve kovalent adsorpsiyonu.....	118
Şekil 6.36. Anti-ferritin ve anti-IgG'nin -COOH gruplarının EDC/NHS ile aktifleşmesi	120

Şekil	Sayfa
Şekil 6.37. MUA modifiyeli gümüş kaplı manyetik nanotaneceklerin -COOH gruplarının EDC/NHS ile aktifleşmesi.....	121
Şekil 6.38. APTES modifiyeli silika kaplı manyetik nanotaneceklerle antikorun kovalent bağlanması	124
Şekil 6.39. MUA modifiyeli gümüş kaplı manyetik nanotaneceklerle antikorun kovalent bağlanması	125
Şekil 6.40. PDA kaplı manyetik nanotaneceklerle antikorların bağlanması...127	
Şekil 6.41. Farklı manyetik nanotaneceklerle kovalent bağlanan anti-IgG miktarı	128
Şekil 6.42. Farklı manyetik nanotaneceklerle kovalent bağlanan anti-ferritin miktarı	129
Şekil 6.43. Antikor-antijen bağlanma bölgesi	131
Şekil 6.44. Farklı manyetik nanotaneceklerde antikor-antijen (anti-IgG-IgG) tepkimesi.....	132
Şekil 6.45. Farklı manyetik nanotaneceklerde antikor-antijen (anti-ferritin-ferritin) tepkimesi.....	132
Şekil 6.46. Gelişigüzel ve yönlendirilmiş immobilizasyonla nanotaneceklerle bağlanan antikora antijenlerin spesifik bağlanması	134
Şekil 6.47. Ferritin yapısı.....	135
Şekil 6.48. Ferritin çoklu epitopik yapısı ve anti-ferritin nanotanecek yüzeyinde düzensiz yönelmesi.....	135
Şekil 6.49. Anti-IgG bağlı manyetik nanotaneceklerdeki antikor-antijen tepkimelerinin Hill eğrileri	137
Şekil 6.50. Anti-ferritin bağlı manyetik nanotaneceklerdeki antikor-antijen tepkimelerinin Hill eğrileri	138
Şekil 6.51. Manyetik nanotaneceklerin hedef proteine seçiciliği.....	142
Şekil 6.52. Anti-IgG bağlı manyetik nanotaneceklerin hedef proteine seçiciliği.....	143
Şekil 6.53. Anti-ferritin bağlı manyetik nanotaneceklerin hedef proteine seçiciliği.....	144

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
$^{\circ}\text{C}$	Derece Celcius
θ	Teta
$^{\circ}$	Derece
Kısaltmalar	Açıklama
MNT	Manyetik nanotanecik
APTES	(3-aminopropil)trietoksisilan
TEOS	Tetraetilortosilikat
MUA	11-merkaptoundekanoik asit
PDA	Polidopamin
EDC	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)karbodiimit
NHS	N-Hidroksisüksinimit
IgG	İmmunoglobulin G
Anti-IgG	Anti-immunoglobulin G
Fbg	Fibrinojen
Hb	Hemoglobin
Mb	Miyoglobin
Lys	Lizozim
FT-IR	Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi
XPS	X-ışınları fotoelektron spektroskopisi
TEM	Geçirimli elektron mikroskobu
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
XRD	X-ışınları kırınımı
VSM	Titreşen örnek manyetometresi
DLS	Dinamik ışık saçılması
UV-GB	Ultraviyole-görünür bölge

1.GİRİŞ

Nanoteknoloji, moleküler biyoloji ve tıbbın birleşmesi sonucunda ortaya çıkan nanobiyoteknoloji, yeni malzemeler, süreçler ve olguları keşfetmek için heyecan verici fırsatlar sunan yeni bir araştırma alanı olarak aktif gelişmelere yol açmıştır [1]. Nano ölçekli manyetik malzemeler, kendilerine özgü avantajları sayesinde biyomedikal uygulamalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Birkaç nanometreden onlarca nanometreye kadar boyutları kontrol edilebilen, istenilen şekil ve özellikler kazandırılabilen ve dış manyetik alan yardımıyla kolaylıkla ortamdan izole edilebilen manyetik nanotaneciklerde, bu “uzaktan eylem” özelliği birçok uygulama için avantaj sağlamaktadır. Son yıllarda, homojen olan ve boyutları kontrol edilebilen FePt, Fe₃O₄, ve γ -Fe₂O₃ gibi manyetik nanotanecikler hastalıkların teşhis/tedavisinde, ilaç salımı, biyo-etiketleme ve biyomoleküllerin ayrılması/saflaştırılması ve tıbbi görüntüleme dahil olmak üzere birçok araştırmaya konu olmuştur [2,3]. Bu uygulama alanlarında kullanılan manyetik nanotanecik tabanlı birden fazla işlevselliğe sahip nanoyapıların elde edilmesi için geliştirilmiş iki çeşit yöntem vardır [4].

Bu yöntemlerden ilki, moleküler fonksiyonelleştirmedir. Manyetik nanotanecikler, antikorlar, ligandlar veya reseptörler gibi biyoajanlar ile fonksiyonelleştirildikten sonra spesifik etkileşim ile eşlenik biyolojik birimlerle etkileştirilir. Böylece “biyo-etiketleme” kontrol edilebilir. Moleküler fonksiyonelleştirmeden sonra, yüksek seçicilik ve duyarlılık kazanan biyofonksiyonel manyetik nanotanecikler birçok biyolojik uygulamalarda kullanılabilir. İkinci yöntemde ise, manyetik nanomalzemeler ile farklı özellikteki nanoyapıların ardışık büyüme veya kaplama gibi yöntemlerle birleştirilerek nanokompozit ve/veya nanohibrit yapılar hazırlanmaktadır. Böylece nano ölçekli birden fazla özelliği olan tek bir malzeme elde edilmektedir. Örneğin, manyetik nanoçekirdekler yarı iletken tabakalarla kaplanarak çekirdek-kabuk nanoyapılar veya heterodimer nanoyapılar elde edilmektedir. Manyetik ve metalik nanotaneciklerin birleştirilmesi ile oluşan

heterodimer yapılar iki farklı yüzeye ve özelliklere sahip olmaktadır. Elde edilen bu heterodimer yapılara farklı fonksiyonel gruplar spesifik bir şekilde bağlanabilmektedir. Çekirdeğin manyetik ve kabuğun floresan özellikleri kullanılarak manyetik rezonans ve floresan görüntüleme işlemleri bir arada yapılabilmektedir. Bununla birlikte, potansiyel anti-kanser ilaçlarının manyetik nanokabuklar içine kapsüllenmesi ile elde edilen nanoyapılar kontrollü ilaç salımında kullanılmaktadır [4-6].

Çözeltideki manyetik nanotaneciklerin topaklanmasını engellemek çok zor olduğu için pratik uygulamalarda bunların sulu çözeltilerdeki dağılma özelliklerinin çok iyi olması gerekmektedir [7]. Son yıllarda, manyetik nano-çekirdek içeren çekirdek-kabuk nanoyapılar manyetik özelliklerinden dolayı çok fazla ilgi çekmektedirler [8]. Çekirdek-kabuk nanotanecikler, fonksiyonel çekirdek ve kabukları sebebiyle çok önemli malzemelerdir [9]. Bu yapılar, veri depolama, biyoetiketleme ve biyomoleküllerin ayrılması/saflaştırılması gibi potansiyel uygulamalarının olması sebebiyle birçok araştırmacının ilgisini çekmektedir. Bu uygulamaların çoğunda çekirdek-kabuk nanotaneciklerin kimyasal olarak kararlı olması, eşit büyüklükte olması ve sıvı ortamında iyi dağılabilmesi istenmektedir [10-13].

Genel olarak, koruyucu bir tabaka nanotaneciklerin kimyasal kararlılığını sağlamak ve bunların dağılım yeteneğini geliştirmek için gereklidir. Silika gibi koruyucu bir katmanın kimyasal kararlılık, biyoyumluluk ve reaktivite gibi özellikler kazandırmasından dolayı manyetik nanotaneciklerin korunması için ideal malzeme olarak kabul edilmiştir. Ayrıca manyetik nanotanecikler büyük yüzey alanı/hacim oranı nedeniyle kümelenme davranışı göstererek mikro boyutta tanecikler oluşturur. Bu nedenle manyetik nanotanecikler silika tabakası ile kaplanmaktadır. Manyetik-silika çekirdek-kabuk nanotanecikler, sulu çözeltideki manyetik nanotaneciklerin kümelenmesini etkili bir şekilde önlemekte ve kararlı bir manyetik süspansiyonun elde edilmesini sağlamaktadır [14,15]. Ayrıca, silika kaplı

manyetik nanotanecikler çok kolay bir şekilde farklı fonksiyonel gruplarla modifiye edilebilmektedir [15].

Polimer tabakası ile kaplanarak hazırlanan manyetik temelli çekirdek-kabuk yapıları biyouyumlulukları, boyutları, yapıları ve fonksiyonellikleri gibi özel özellikleri sebebiyle nanotaneciklerin gelişmesinde çok önemli rol oynamaktadırlar [16].

Dopamin (kimyasal adı 2-(3,4-dihidroksifenil) etilamin ve kısaltması DA' dır) ortamdaki oksijen ile kendiliğinden polimerleşebilmektedir [17]. Manyetik-PDA çekirdek-kabuk nanotanecikleri, yüksek biyouyumlu yüzey özelliklerinden dolayı biyoteknoloji, eczacılık ve teşhis gibi alanlarda sıkça kullanılmaktadır [18,19]. Ayrıca PDA tabakası ikincil reaksiyonlar için çok yönlü bir platform olarak kullanılabilir [20,21].

Manyetik-gümüş çekirdek-kabuk nanotanecikler biyouyumlu, biyogüvenli ve non-toksik nanomalzemelerdir [22]. Gümüş içeren malzemeler biyomedikal endüstrisinde katater, diş malzemesi, medikal aygıtlar, implantların yanısıra açık yara ve yanık tedavisinde geniş bir uygulama alanına sahiptir. Ayrıca geniş spektrumlu bir antibakteriyel aktiviteye sahip olmalarından ve düşük toksisitelerinden dolayı açık yaraların antibakteriyel tedavilerinde de kullanılabilirler [23]. Gümüş kaplı manyetik nanotanecikler, antikor ile spesifik antijeni arasındaki etkileşimlerin izlenebilmesi için organik tiyoller veya disüflitlerle kolaylıkla fonksiyonelleştirilebilirler [24].

Organik moleküllerle modifiye edilen manyetik nanotanecikler, uygulanan dış manyetik alan ile özelliklerinin kontrol edilebilmesinden dolayı biyoteknolojik ve biyomedikal uygulamalarda kullanılmaktadır.

Manyetik nanotanecikler biyomoleküller ile fonksiyonelleştirildikten sonra eşlenik biyolojik birimlerin özgül bağlanma ile saptanması veya saflaştırılması gibi üstün özelliklere sahip olmaktadır. Dış manyetik alana da

hızlı cevap verebilmeleri nedeniyle biyofonksiyonel manyetik nanotanecekler özgüllük ve manyetizma gibi iki özelliği bir arada sergilerler. Manyetizma özelliği sayesinde, dış manyetik alan ile biyolojik birimin konumunu rahatlıkla kontrol etmek mümkündür. Biyomolekül çiftleri doğada yaygın şekilde özgül ve yüksek ilgi ile etkileşmektedirler. Biyofonksiyonel manyetik nanotanecekler uygun biyomoleküle özgül olarak bağlanabilmektedir. Bu kavram temel alınarak, biyofonksiyonel manyetik nanotanecekler ile patojen tespiti, protein saflaştırılması, vücuttan toksin atılması, hastalıkların teşhis ve tedavisi yapılabilmektedir. Tıbbi teşhis ve moleküler hedeflerin tanınması biyofonksiyonel manyetik nanotaneceklerin umut verici uygulamalarındandır [25].

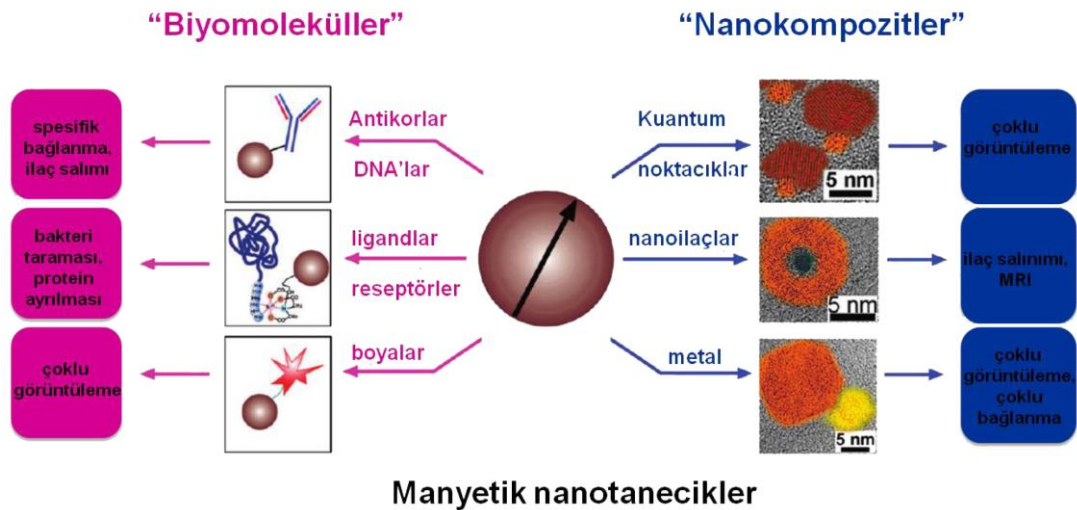
Biyofonksiyonel manyetik nanotanecekler, özellikle manyetik rezonans görüntüleme [26], ilaç salımı [27], biyomoleküler sensörler [28], magnetotermal tedavi [29] ve biyoayırma [30] dahil olmak üzere çeşitli biyolojik uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Son zamanlarda, biyofonksiyonel manyetik nanotaneceklerin büyük yüzey alanı/hacim oranları ve üstün manyetik özelliklerinden faydalanılarak yüksek bir özgüllük ve duyarlılıkla insan plazmasındaki hedef biyobelirteçlerin tanınması ve ayrılması için nanoprob olarak kullanılmaktadır [31,32].

Bu tez kapsamında, klinik olarak immüoglobülin G (IgG) ve ferritin antijenlerinin tespiti için kimyasal olarak fonksiyonelleştirilen manyetik nanotaneceklerle dayalı immünosensörlerin hazırlanması ve kullanılabilirliğinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu immünosensörlerden ilki, manyetik nanotaneceklerin silika ile kaplanması ve 3-aminopropiltrietoksisilan (APTES) ile fonksiyonelleştirilmesinin ardından anti-IgG ve anti-ferritin antikollarının kovalent bağlanması ile hazırlanmıştır. Manyetik nanotaneceklerin kimyasal kararlılığını artırmak ve sıvı ortamında dağılım yeteneğini geliştirmek amacıyla silika ile kaplanan manyetik nanotanecekler antikolların yüzeye amit bağları ile bağlanması için APTES ile amin fonksiyonlu hale getirilmiştir. İkinci immünosensör, manyetik

nanotaneciklerin yüzeyinde dopaminin kendiliğinden polimerleşmesinden sonra anti-IgG ve ferritin antikorlarının poli(dopamin) (PDA) tabakasına adheziv kuvvetler aracılığıyla bağlanması ile hazırlanmıştır. Poli(dopamin) tabakası, manyetik nanotaneciklere kimyasal kararlılık, biyouyumluluk ve reaktivite gibi özellikler kazandırmıştır. Üçüncü immünosensör ise, yoğun ve iletken gümüş tabakası ile kaplanan manyetik nanotaneciklerin 11-merkaptoundekanoik asit (MUA) ile modifiye edilmesinin ardından anti-IgG ve anti-ferritin antikorlarının kovalent bağlanması ile hazırlanmıştır. Gümüş tabakası ile manyetik nanotaneciklerin kaplanması, dopaminin kendiliğinden polimerleşmesini ve akımsız kaplama işlemlerini içermektedir. Burada polidopamin tabakası yüzeyde gümüşün birikebilmesi için gümüş iyonlarının kemisorpsiyon bölgeleri olarak kullanılmıştır. Akımsız kaplama, yüzey aktivasyonu, büyüme ve birikme işlemlerini bir arada içermektedir. Gümüş tabakası ile kaplanan manyetik nanotanecikler, sulu ortamdaki dağılma özelliklerini iyileştirmek ve antikorların yüzeye kovalent bağlanması için MUA ile fonksiyonelleştirilmiştir. İkili çöktürme yöntemi ile sentezlenen ve ardından farklı tabakalarla modifiye edilen manyetik nanotaneciklerin yapısal ve kimyasal karakterizasyonları sırasıyla FT-IR ve XPS ile gerçekleştirilmiştir. Manyetik nanotanciklerin kristal yapısı XRD ile incelenmiştir. Ayrıca her bir nanotaneciğin yüzey morfolojisi ile manyetik karakterizasyonu TEM ve VSM ölçümleri ile araştırılmıştır. Bütün bu karakterizasyon işlemleri manyetik nanotaneciklerin ayrı ayrı silika, polidopamin ve gümüş tabakası ile kaplandığını ve ayrıca APTES ve MUA ile fonksiyonelleştirildiğini göstermiştir. Son olarak, hazırlanan biyofonksiyonel nanotaneciklerin seçici antijen bağlama kapasiteleri ve ilgileri incelenmiştir. Antikorlar ile biyofonksiyonelleştirilen manyetik nanotaneciklerin, seçicilik çalışmaları sonucunda, özgül olmayan protein adsorpsiyonun düşük olduğu ve protein-antijen karışımında kendilerine özgül antijene karşı yüksek aktivite ve güçlü bir ilgi gösterdikleri belirlenmiştir.

2. MANYETİK NANOTANECİKLER

Boyutları kullanım alanına göre 1-100 nm aralığında değişen birçok yeni özelliğe sahip nanotanecikler organik veya inorganik türlerden hazırlanmaktadır [33]. Manyetik nanotanecikler süperparamanyetiklik, yüksek koersivite (Koersivite: Manyetik alan sıfır olduğunda okunan manyetizasyon değerine koersivite denir. Oda sıcaklığında süperparamanyetik özellik gösteren nanotaneciklerin koersivitesi sıfırdır), düşük Curie sıcaklığı, yüksek manyetik duyarlılık gibi eşsiz özelliklere sahiptir [34-38]. Bu iyi manyetik özelliklerinden dolayı manyetik nanotanecikler birçok araştırmacının çalışmalarına konu olmuştur [39]. Manyetik nanotanecikler düşük toksisitelerinden dolayı birçok biyomedikal uygulamalarda kullanılabilmektedir. Ayrıca çok karışık matrislerden dış manyetik alan ile kolayca ayrılmalari sebebiyle, hastalıkların teşhis ve tedavisinde, ilaç dağıtım, biyo-etiketleme ve biyomoleküllerin ayrılması/saflaştırılması ve tıbbi görüntüleme dahil olmak üzere, biyoloji ve tıp alanında birçok uygulama alanına sahiptirler (Şekil 2.1.) [40,41].



Şekil 2.1. Çoklu fonksiyonel manyetik nanotaneciklerin elde edilme yöntemleri ve potansiyel uygulamaları [4].

Ancak ayarlanabilen fiziksel ve kimyasal özellikleri ile nano ölçekli malzemeleri seçmek önemlidir. Bu amaçla, manyetik demir oksit nanotaneçikler teşhis ve tedavi amaçlı kullanım için çok güçlü adaylar haline gelmiştir [42]. Son yıllarda, çoğunlukla Fe_3O_4 , $\text{Fe}^{\text{II}}\text{Fe}_2^{\text{III}}\text{O}_4$, (manyetit, ferrimanyetik, süperparamanyetik), $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (hematit, zayıf ferromanyetik veya anti-ferromanyetik), $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (magemit, ferrimanyetik), FeO (anti-ferromanyetik), $\epsilon\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ve $\beta\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanotaneçikler üzerine araştırmalar yoğunlaşmıştır. Bunların arasında manyetit (Fe_3O_4) ve magemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) biyoyumlulukları nedeniyle uygulama alanı bulmuştur [43].

2.1. Manyetik Nanotaneçiklerin Sentezi

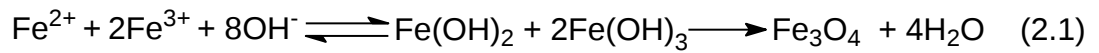
Manyetik nanotaneçikler farklı şekillerde ve fazlarda, demir oksitler örneğin Fe_3O_4 ve $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, saf metaller (Fe, Co), spinel tip ferromagnetler (MgFe_2O_4 , MnFe_2O_4 ve CoFe_2O_4), ve alaşımlar (CoPt_3 ve FePt) şeklinde sentezlenebilmektedir [44-48]. Son zamanlarda araştırmaların çoğunluğu yüksek kararlılıkta ve homojen taneçik dağılımını verecek en etkin sentez yöntemleri üzerine yoğunlaşmıştır. Demir oksitlerin sentezinde genelde iki yöntem vardır: (a) İkili çöktürme ve (b) Termal bozunma yöntemi. İkili çöktürme yönteminde Fe (II) ve Fe (III) tuzlarının alkali ortamda birlikte çöktürülmesi sonucunda manyetik nanotaneçikler elde edilir. Termal bozunma yönteminde ise, demir komplekslerinin yüksek sıcaklıkta bozunması sonucu manyetik demir oksit nanotaneçikler sentezlenir. Termal bozunma yöntemi sonucunda genelde yüksek sıcaklıktan kaynaklanan kristal kusurları oluşur ve ikili çöktürme yöntemine göre nanotaneçiklerin homojenliği daha düşüktür. Bu nedenle manyetik nanotaneçiklerin sentezlenmesinde ikili çöktürme yöntemi daha çok kullanılmaktadır [49-51].

2.1.1. Termal bozunma yöntemi

Organik çözültideki demir(III) *N*-nitrozofenilhidroksilamin ($\text{Fe}(\text{cup})_3$, cup=*N*-nitrozofenilhidroksilamin), demir(III) asetilasetonat ($\text{Fe}(\text{acac})_3$, acac=asetilasetonat) veya pentakarbonildemir ($\text{Fe}(\text{CO})_5$) komplekslerinin termal bozunmasıyla yüksek kalitede homojen demir oksit nanotanecekleri hazırlanmaktadır. Sun ve Zeng, $\text{Fe}(\text{acac})_3$ kompleksinin alkol, oleik asit ve oleilamin içeren fenil eter çözeltisi içerisinde 265 °C sıcaklıkta termal bozunma yaklaşımı ile boyutları kontrol edilebilen homojen manyetik nanotaneceklerin sentezlenebildiğini rapor etmişlerdir [52]. Termal bozunma yöntemi ile $\text{Fe}(\text{CO})_5$ kompleksinden Fe_3O_4 nanotanecekleri sentezlenebilmekte ve oksidasyon ile homojen $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanotanecekleri elde edilebilmektedir [53]. Genel olarak, $\text{Fe}(\text{cup})_3$ kompleksi termal bozunma yöntemiyle doğrudan $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanotaneceklerini sentezlemek için kullanılabilir [53]. Hyeon ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, oleik asit varlığında $\text{Fe}(\text{CO})_5$ kompleksinin 100 °C sıcaklıktaki termal bozunmasıyla yüksek kristallığe sahip homojen demir oksit nanotanecekleri sentezlemişlerdir. Elde edilen manyetik nanotaneceklerden trietilamin-*N*-oksit yükseltgeyicisi (ılımlı yükseltgeyici) varlığında kontrollü oksidasyon ile homojen $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanotaneceklerini hazırlamış ve nanotanecek boyutlarının 4-16 nm aralığında değiştiğini belirlemişlerdir [53]. Çekirdek olarak kullanılabilen çok küçük manyetik nanotanecekler 20 nm gibi daha büyük boyutlardaki homojen nanotaneceklerle göre apolar çözücülerde dağılabilmektedir. Termal bozunma yöntemi ile, dar boyut dağılımına sahip oldukça homojen manyetik nanotanecekler elde edilmesine rağmen, yüksek sıcaklıktan kaynaklanan kristal kusurlarının oluşması ve nanotaneceklerin yalnızca apolar çözücülerde dağılabilmesinden dolayı fazla tercih edilmemektedir [49-51].

2.1.2. İkili çöktürme yöntemi

Basit ve ürün dağılımının iyi olmasından dolayı ikili çöktürme yöntemi sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Uygulanabilirliğinin kolay olması ve sentez için zehirli kimyasalların kullanılmamasından dolayı biyomedikal uygulamalar için tercih edilen bir yöntemdir. Manyetik nanotaneceklerin sentez tepkimesi basit bir şekilde Eşitlik 2.1'deki gibi gösterilebilir [54].



Nanometre büyüklüğünde manyetik nanotanecek sentezlemek için iki genel yöntem vardır. İlk yöntemde, farklı oksitleme ajanları kullanılarak demir hidroksit süspansiyonun kısmi oksitlenmesiyle manyetik nanotanecekler sentezlenmektedir. Örneğin, ortalama çapı 30-100 nm arasında değişen dar çap dağılımına sahip küresel manyetik nanotanecekleri sentezlemek için Fe(II) tuzu, bir baz ve ılımlı oksitleyici (örneğin nitrat iyonları) kullanılmaktadır [55]. Diğer yöntemde ise, Fe(II) ve Fe(III) hidroksit sulu çözeltilerinin yaşlandırılması ile homojen çap dağılımına sahip küresel manyetik nanotanecekler elde edilebilir. Ortamın pH'sının ve iyonik şiddetinin değiştirilmesi ile nanotaneceklerin ortalama çapı kontrol edilebilmektedir. Ortamın pH'sı ve iyonik şiddeti arttıkça nanotanecek çapı düşmektedir. Her iki parametrede nanotanecek yüzey kompozisyonunu değiştirmekte ve bu da nanotaneceklerin elektrostatik yüzey yükünü değiştirmektedir. Bu koşullar altında, birincil taneciklerin kümelenmesiyle Fe(OH)₂ jeli içerisinde manyetik nanotanecekler oluşur. Bu düzenli kümelenme sayesinde son olarak küresel yapıda homojen ve düzenli manyetik nanotanecekler elde edilir [56-58]. Daha küçük çapa sahip manyetik nanotaneceklerin eldesinde demir iyonları içeren çözelti içerisine polivinilalkol (PVA) ilavesi ile sağlanabilir. PVA ilavesi ile birlikte ortama ilave edilecek olan dekstran türü maddeler sayesinde elde edilecek olan nanotaneceklerin biyo-uygulamalarda özellikle *in vivo* çalışmalarda kullanımına olanak sağlamaktadır [59]. Daha da küçük boyutlarda manyetik

nanotaneciklerin eldesi için ise asidik ortamdaki Fe(II) ve Fe (III) çözeltisi içine eşit miktarda karbonat ilave edilerek demir türleri Fe(II)-Fe(III) karbonat haline çevrilir. Daha sonra termal oksidasyonla manyetik nanotanecikler elde edilebilir. Elde edilecek olan nanotaneciklerin çapı termal oksidasyon tepkimesinin kinetik kontrolü ile ya da demir tuzlarının derişimi ile kontrol edilebilir [60-62].

İkili çöktürme yöntemi, nano ölçekli taneciklerin kimyasal ve fiziksel özelliklerini etkilemektedir. Genellikle, nanotaneciklerin doygunluk mıkmatıslanma (M_s) değerleri yığın fazında olanlara oranla çok daha küçük olmaktadır. Buna göre, manyetik nanotaneciklerin M_s değerlerinin 30-80 emu.g⁻¹ aralığında olduğu ve 100 emu.g⁻¹ M_s değerine sahip yığın fazına oranla manyetik duyarlılığının daha düşük olduğu bildirilmektedir [63]. Ek olarak, Fe₃O₄ nanotanecikler ortam koşullarında çok kararlı değildirler ve kolaylıkla γ -Fe₂O₃ yapısına oksitlenirler veya asidik ortamda çözünürler. Bu sebeple, manyetik nanotaneciklerin hava ile oksitlenmesini engellemek amacıyla oksijensiz ortamda sentezlenmeleri gerekmektedir. Bu noktaya dayanarak, Fe₃O₄ nanotaneciklerden oksijen atmosferinde γ -Fe₂O₃ nanotaneciklerini elde etmek veya bunları oksijen atmosferinde tavlamak (sertleştirmek) mümkündür. γ -Fe₂O₃ nanotaneciklerinin bazik veya asidik ortamlardaki kimyasal kararlılığından ötürü, oksidasyon bu nanotaneciklerin yapılarını negatif yönde etkilememektedir. Bununla birlikte, bu yöntem ile geniş bir parçacık boyut dağılımına sahip nanotanecikler elde edilmektedir. Geniş bir parçacık boyut dağılımı birçok uygulama için ideal olmayan manyetik özelliklere sebep olan geniş bir bloklama sıcaklık (T_B , kalıcı olarak mıkmatıslanabilen malzemelerin bu özelliklerini kaybettikleri sıcaklığa bloklama sıcaklığı denir) aralığına sebep olmaktadır. Çünkü bloklama sıcaklığı nanotaneciklerin boyutuna bağlıdır. Ayrıca homojen ve tekdüze nanotaneciklerin sentezlenebilmesi için sentez ve saflaştırma işlemleri esnasında pH değerinin çok iyi ayarlanması gerekmektedir. [64,65]. Kang ve arkadaşları, ikili çöktürme yöntemiyle yüzey aktif madde olmaksızın

$\text{Fe}^{\text{II}}/\text{Fe}^{\text{III}}$ mol oranının 0,5 ve pH değerinin 11-12 aralığında olduğu çözelti ortamına yüzey aktif madde eklenmeksizin ikili çöktürme yöntemiyle ortalama $8,5 \pm 1,3$ nm çapa sahip homojen, tekdüze ve dar bir parçacık boyut dağılımına sahip Fe_3O_4 nanotanecikler sentezlemiştir. Bu nanotaneciklerden, oksijen atmosferinde doğrudan oksidasyon ile $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanotanecikler elde etmişlerdir [66].

2.1.3. Manyetik nanotaneciklerin kararlılığı/korunması

Manyetik nanotanecikler; manyetik akışkanlar, kataliz, biyoteknoloji, manyetik rezonans görüntüleme, data depolama gibi çok geniş bir kullanımı olması nedeniyle oldukça dikkat çekici bir yere sahiptir [67-69] Çeşitli yapılarda ve kompozisyonlarda manyetik nanotaneciklerin sentezi için birçok uygun sentez yöntemi geliştirilmesine rağmen manyetik nanotaneciklerin yukarıda adı geçen disiplinlerde etkin olarak kullanılabilmesi, nanotaneciğin çeşitli ortamlardaki kararlılığına önemli ölçüde bağlıdır. Birçok uygulamada, parçacık boyutu, kritik değerin altında (büyük ölçüde malzemenin özelliğine bağlı bir değer) genelde 10-20 nm arasında olduğunda manyetik nanotanecikler optimum kararlılıkta olurlar. Optimum kararlılıkta olan manyetik nanotanecikler tek bir manyetik parçacık şeklinde davranırlar ve bloklama sıcaklığının üzerinde süperparamanyetik özellik gösterirler. Bu tip parçacıklar sabit bir manyetik momente sahip olmakla birlikte uygulanan manyetik alana çok hızlı cevap veren büyük bir paramanyetik atom grubu gibi davranır. Bu tür özellikteki paramanyetik nanotanecikler oda sıcaklığında kümelenme riski olmadığından özellikle biyomedikal uygulamalarda oldukça dikkat çekici bir yere sahiptir. Yukarıda sayılan avantajlı özelliklerinin bulunması ile birlikte manyetik nanotaneciklerin 10-20 nm arasında bağıl kararsızlıklarını da beraberinde getirmesi gibi dezavantajları bulunmaktadır. Belirli bir süre sonunda, nanotanecikler yüksek yüzey alanı/hacim oranından kaynaklanan yüksek enerjilerini kümelenerek düşürürler. Her ne kadar koruyucu gruplarla modifiye edilmeyen nanotanecikler çok daha aktif olsalar da, bu durum

nanotaneciklerin uygulamalarında oldukça sıkıntı yaratmaktadır. Bu nedenle, manyetik nanotanecikler sentez ortamında ya da sentez sonrasında koruyucu gruplar ile modifiye edilerek çok uzun bir süre ortamda kararlı kalmaları ve sıvı ortamında iyi dağılmaları sağlanır [70-73]. Bu nedenle, manyetik nanotanecikler genellikle polimerler, küçük organik moleküller, yüzey aktif maddeler ve biyomoküller gibi organik bir tabaka ile veya silika, karbon, metal veya metal oksit, metal sülfür gibi inorganik koruyucu bir tabaka ile modifiye edilmektedir. Manyetik nanotanecikler, sadece kararlılıklarının veya sıvı içerisindeki dağılma yeteneklerinin iyileştirilmesi için değil ayrıca kullanılabilirliklerinin artırılması için de koruyucu tabakalarla kaplanmaktadır. Ayrıca bu tabakalara farklı fonksiyonel gruplarla işlevsellik kazandırılmaktadır. Manyetik nanotaneciklerin fonksiyonel gruplarla modifiye edilmesi ve çok karışık matrislerden dış manyetik alan ile kolayca ayrılmaları sayesinde özellikle kataliz, biyo-ayırma gibi uygulama alanlarında hem analiz süresi hem de maliyet önemli ölçüde düşürülmektedir [74-76].

Silika kaplama

Silika tabakası manyetik çekirdeğin kararlılığını sağlamakla birlikte silika tabakasına bağlı moleküller sayesinde manyetik çekirdeğin etkileşmesini de engelleyerek istenmeyen tepkimeleri de önlemiş olur. Örneğin, boyar maddelerin manyetik tanecikler üzerine bağlanması sıklıkla bu maddelerin lüminesans özelliklerini yitirmesine sebep olur. Böyle bir durumla karşılaşmamak için ilk olarak manyetik nanotanecikler silika ile kaplandıktan sonra boyar maddelerin silika tabakası üzerine bağlanması sağlanır [77]. Düşük pH'larda sulu çözeltilerindeki kararlılıkları, kolay yüzey modifikasyonu ve nanotanecikler arası etkileşimlerin kontrol edilmesinin kolay olması gibi avantajları vardır.

Manyetik nanotaneciklerin silika kaplanmasında Stöber metodu olarak bilinen sol-jel metodu sıklıkla tercih edilen bir yöntemdir [78,79]. Amonyak

derişimi ve tetraetilortosilikat/su ($[\text{TEOS}]/[\text{H}_2\text{O}]$) derişim oranının değiştirilmesiyle silika tabaka kalınlığı ayarlanabilmektedir. Elde edilen silika tabakasında serbest hidroksil gruplarının bulunması sebebiyle hidrofilik özellik olmakla birlikte ticari olarak bulunan diğer organosilan molekülleri ile modifiye edilebilirler. Modifiye edilen manyetik-silika nanotaneciklerin, biyo-etiketleme, ilaç güdüleme ve salımı gibi geniş bir kullanım alanı vardır [80].

Xia ve arkadaşları ticari ferro akışkanların TEOS molekülünün hidrolizi ile manyetik nanotaneciklerin direkt olarak silika ile kaplandığını göstermişlerdir. Ferro akışkan, deiyonize su ve 2-propanol ile seyreltildikten sonra amonyak çözeltisi ve farklı miktarlarda TEOS ilave edilmiş ve elde edilen karışım oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Elde edilen silika tabakasının kalınlığının ilave edilen TEOS miktarı ile değiştğini göstermişlerdir [81]. Manyetik nanotaneciklerin silikaya karşı ilgili olması nedeniyle çekirdeğin üzerinde silika tabakasının oluşması için herhangi bir ara bağlayıcı kullanılmamaktadır. Silika tabakasının negatif yüklü olmasından dolayı herhangi bir ilave yüzey aktif madde olmadan su içerisinde kolaylıkla dispers olmaktadır. Bununla birlikte silika tabakası bazik ortamlarda kararsızdır. Buna ilaveten silika tabakasının doğası gereği oksijen ya da ortamda bulunan diğer türlerin difüzlenebileceği gözenekler de bulunmaktadır [82].

Metal kaplama:

Demir oksit nanotaneciklerin kararlılığını artırmak ve korumak için başka bir basit yol, altın, gümüş, platin, paladyum, demir, karbon gibi bir saf metal ya da ametal kabuk ile kaplanmasını sağlamaktır. Tek metal veya ametal tabakasının demir oksit nanotaneciklerin özellikle biyomedikal ve kataliz gibi uygulamalarına etkisini kontrol etmek çok önemlidir. Örneğin, altın tabaka manyetik nanotaneciklerin yüzeylerini yükseltgenmeye karşı pasive etmek için kullanılmaktadır. Burada bilinmesi gereken en önemli nokta, altın, gümüş ve karbon ile kaplanan manyetik nanotaneciklerin doygunluk

mıknatıslanma değerleri (M_s) düşmektedir. Buna karşılık kobalt, platin, bakır, paladyum gibi metallerle kaplanan manyetik nanotaneciklerin manyetik duyarlılıkları kütleye bağlı olarak tam tersi bir durum gösterebilir. Ek olarak, metal veya ametal ile fonksiyonelleştirilen manyetik nanotaneciklerin çapları kontrol edilebilmektedir.

Genel olarak, demir oksit nanotaneciklerin metal ile fonksiyonelleştirilmesi için iki yöntem vardır. Bunlardan ilki, tek metal iyonlarının manyetik nanotaneciklerin yüzeyinde indirgenmesidir [83]. Mandal ve arkadaşları, Au^+ ve Ag^+ iyonlarının manyetik nanotaneciklerin yüzeyinde indirgenmesi ile yeni çekirdek-kabuk nanotanecikler sentezlemişler ve nanotaneciklerin kararlılıklarının daha uzun süre devam ettiğini bildirmişlerdir. Manyetik nanotaneciklerin 18 nm olan ortalama çapının altın tabakası ile kaplandıktan sonra 30 nm'ye arttığı ve çok düzgün bir çekirdek-kabuk yapısının elde edildiği TEM görüntülerinden belirlenmiştir. Ayrıca 10 K sıcaklıkta doygunluk mıknatıslanma değeri 92 emu.g^{-1} olan manyetik nanotaneciklerin altın tabaka ile kaplandıktan sonra manyetik duyarlılığını % 57,6 oranında kaybettiği ve aynı sıcaklıkta M_s değerinin 38 emu.g^{-1} 'a düştüğü gözlenmiştir [83]. Genellikle bu yöntem, çekirdek-kabuk tipindeki manyetik nanotaneciklerin sentezi için çok uygundur fakat modifiye edilmemiş manyetik nanotaneciklere göre manyetik özellikleri düşüktür. Bir diğer yöntem ise silika, polimer veya küçük molekül ile modifiye edilen manyetik nanotaneciklerin yüzeyinde metal iyonlarının indirgenmesidir. Wu ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, amin modifiyeli manyetik nanotanecikleri altın tabakası ile kaplamışlardır. Burada amin modifiyeli manyetik nanotanecikler indirgeyici olarak davranmıştır. Amin gruplarıyla fonksiyonelleştirilen manyetik nanotaneciklerin 10 K sıcaklıktaki M_s değeri 65 emu.g^{-1} iken, 30 nm çapındaki altın kaplı manyetik nanotaneciklerin 300 K sıcaklıktaki M_s değeri 65 emu.g^{-1} olarak belirlenmiştir [84]. Stova ve arkadaşları, silika kaplı manyetik nanotaneciklerin etrafında elektrostatik atak ile 1-3 nm'lik kalınlıkta bir kabuk oluşturmuşlardır. Bu kabuğun oluşumu $HAuCl_4$ çözeltisindeki altın iyonlarının indirgenmesiyle

gerçekleşmiştir [85]. Altın veya gümüş ile modifikasyon, manyetik nanotaneceklerin sıvı içerisindeki kararlılıklarını artırmanın yanı sıra tiyol ($-SH$) gruplarının kolaylıkla bağlanarak biyolojik uygulamalardaki kullanımını genişletmektedir.

Metal-kapsüllü mikro/nanotanecekler kataliz, manyetikler, biyokimya, elektronik ve fotonik gibi farklı alanlardaki potansiyel uygulamaları ile birçok çalışmaya konu olmaktadır [86-89]. Bu kompozit malzemelerin hazırlanması için püskürtme metotları, kimyasal indirgeme, kendiliğinden düzenlenme ve akımsız kaplama işlemleri uygulanmaktadır [90-94]. Bunlar arasında, akımsız kaplama düşük maliyeti, küçük alanlarda düzgün kaplama yapabilmesi ve karmaşık şekillerle yalıtkan yüzeylerin kullanımı sebebiyle diğer metotlara göre daha avantajlıdır. Bununla birlikte, bu yöntemde çevre dostu olmayan işlemler sonucunda yüksek saflıkta yoğun ve tekdüze metal tabakası elde edilebilir. Üstelik metal tabaka ile alt tabaka arasındaki adhezyon kuvvetleri genellikle yetersizdir. Bu nedenle, alt tabaka yüzeyinin modifikasyona tabi tutulması metal tabaka ile arasındaki yapışmayı iyileştirmek için faydalıdır. Bu sebeple, akımsız kaplamanın yapılması için basit ve çok yönlü bir alt tabakanın kullanımı bu yöntemle metal kapsüllü taneciklerin hazırlanması açısından oldukça önemlidir [95-97]. Bu noktadan yola çıkılarak, metalin yüzeyde kolaylıkla indirgenmesini sağlamak amacıyla farklı fonksiyonel gruplara sahip polimerik alt tabakalar kullanılabilmektedir.

Midyelerin adheziv proteinleri, içerdikleri katekol ve amin fonksiyonel gruplarının olağanüstü yapışma özellikleri sayesinde en çok organik ve inorganik yüzeylere güçlü bir şekilde bağlanma yeteneğine sahiptirler. Genellikle nörotransmitter olarak bilinen ve küçük bir molekül olan dopamin bu adheziv proteinlerin bir taklididir. Dopaminin bazik ortamlarda kendiliğinden polimerleşmesi yaklaşımla yapışkan polidopamin (PDA) kaplı basit ama çok yönlü yüzeylerin hazırlanması üzerine araştırmalar yoğunlaşmıştır [98]. PDA tabakası ile fonksiyonelleştirilen birçok yüzeyin biyomolekül uygulamalarında geniş bir kullanım alanı bulunmaktadır. PDA

kaplı yüzeylerin proteinleri bağlama/yeniden bağlama kapasitelerinin ve ayrıca proteinler ile biyofonksiyonelleştirilen PDA kaplı yüzeylerin spesifik protein tanıma yeteneklerinin yüksek olduğu bilinmektedir. Polidopaminin hidrofilik ve biyouyumlu olması, çoklu fonksiyonel gruplara (amin ve katekol) sahip olması, hibrid malzeme ve sensörlerin hazırlanabilmesini kolaylaştırması sebebiyle PDA protein tanıma malzemesi olarak kullanılabilir [99-101]. Son yıllarda, PDA kaplı elektrotlarla hazırlanan biyosensörler [102], çok fonksiyonlu PDA kaplı karbon nanotüpler [103] ve kararlı PDA-P(L-lizin)/hyaluronik asit gibi çok katmanlı filmlerin kaplı olduğu elektrotlar [104] dopaminin kendiliğinden oksidatif polimerleşmesiyle hazırlanmış ve birçok çalışmaya konu olmuştur. Ayrıca yapılan bir çalışmada, silika nanotaneceklerin yüzeyinde dopaminin oksidatif kendiliğinden polimerleşmesi ile ince PDA tabakası oluşturulmuş ve silika nanotanecekler yapıdan uzaklaştırılarak mezo-gözenekli küresel yapılar hazırlanmıştır. Elde edilen bu PDA kapsülleri ihmal edilebilir düzeyde toksisite gösterdikleri için biyomedikal uygulamalarda kullanılabilecekleri öngörülmüştür [105,106].

Yüzey aktif madde ve polimer kaplama:

Yüzey aktif maddeler ve polimerler çoğunlukla sentez sırasında veya sonrasında oluşan kümelenmeyi önlemek için kullanılır. Genellikle, elektrostatik itme ve sterik itme nanotaneceklerin iyi dağılabilmesi ve kararlı bir koloidal yapıda tutulması için kullanılır. Yüzey aktif maddeler ve polimerler tek veya çift katman oluşturmak amacıyla kimyasal veya fiziksel olarak manyetik nanotaneceklerle bağlanarak van der Waals çekme kuvvetlerini dengeleyen bir itme kuvveti (genellikle sterik itme) oluştururlar [107,108]. Böylece, sterik itme ile manyetik nanotanecekler kararlı hale gelmiş olur. Fonksiyonel grup içeren polimerler, manyetik nanotanecekler üzerine bağlanabilir [109]. Kaplamaya uygun polimerler; poli(pirrol), poli(anilin), poli(alkilsiyanoakrilat)lar, poli(metiliden malonat) ile poli(laktik asit), poli(glikolik asit), poli(ϵ -kaprolakton) gibi poliesterlerdir [110-113].

Biyouyumlu polimerler ile yüzeyi değiştirilmiş manyetik nanotanecikler manyetik alan yönelimli ilaç salımı ve manyetik rezonans görüntülemeye yoğun bir şekilde çalışılmıştır [114,115]. Tek veya çift yüzey katmanları veya polimerler ile kararlı hale getirilmiş metalik manyetik nanotanecikler havaya karşı kararlı değildir ve kolaylıkla asit çözeltilerinde parçalanarak manyetik özelliklerini kaybederler. İnce polimer kaplamaları yüksek reaktivitekteki metal nanotaneciklerinin oksidasyonunu engelleyecek bir bariyer oluşturmada yeterli değildirler. Bu yüzden polimer kaplamaları yüksek reaktiviteye sahip manyetik nanotaneciklerin korunmasına çok uygun değildir. Polimer kaplamanın diğer bir dezavantajı ise, polimerlerin yüksek sıcaklıklardaki düşük kararlılıklarıdır ki bu sorun metal çekirdekindeki katalitik hareketlerle daha da fazlalaşmaktadır [116,117]. Buna karşılık, birbirinden ayrı olarak korunan nanokristaller koruyucu kabuğun bulunduğu birçok ortamda kararlı ve kolayca dağılabilir yapıda olurlar [118].

Biyolojik molekül kaplama:

Protein, polipeptit, antikor, biyotin ve avidin gibi birçok biyolojik moleküller, farklı fonksiyonel uç gruplara sahip manyetik nanotaneciklerin yüzeyine, onları hedefe özgü hale getirebilmek için doğrudan veya dolaylı olarak kimyasal bağlanırlar. Biyoaktiviteye sahip moleküllerin bağlanmasıyla manyetik nanotaneciklerin biyouyumluluğu büyük ölçüde artmaktadır. Biyofonksiyonel manyetik nanotaneciklerin çoğu, protein, DNA, hücreler, biyokimyasal ürünlerin etkili bir şekilde ayrılmasında çokça kullanılmaktadır [119-120]. Zhang ve arkadaşları tarafından mikroemülsiyon yaklaşımıyla manyetik nanotanecikler, ^{188}Re etiketli insan serum albümini ile biyofonksiyonelleştirilmiştir. Bu amaçla, Span-83 emülsiyon edici ile insan serum albümin ve manyetik nanotaneciklerin dağıtıldığı sulu çözelti 15 dakika ultrasonik dalgaya tabi tutulduktan sonra içine $130\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'da pamuk yağı hızlı bir şekilde damlatılarak ortalama 200 nm çaplı albümin modifiyeli manyetik nanotaneciklerin elde edildiği ve in vivo bölgesel hedef tedavilerinde kullanılmak üzere ^{188}Re ile optimum koşullarda etiketlendiği

bildirilmiştir [121]. Lee ve grubu ise, streptavidin proteini ile biyofonksiyonelleşen $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanotaneciklerin spesifik olarak çözeltideki biyotin etiketli tek sarmal oligonükleotitleri biyotaniması üzerine araştırma yapmışlardır. Bunun için, öncelikle suda iyi dağılabilen karboksilli asit gruplara sahip manyetik nanotanecikler sentezlemişler ve bu grupların 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)karbodiimid (EDC) ile aktiflenmesini sağlamışlardır. Böylece nanotaneciklerin yüzeyinde streptavidin proteini kolaylıkla bağlanmıştır. Streptavidin ile biyofonksiyonelleşen $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ biyotin etiketli tek sarmal oligonükleotitleri, streptavidin ile biyotin arasındaki güçlü ilgi nedeniyle, kolaylıkla ve spesifik olarak tanımaktadır [121].

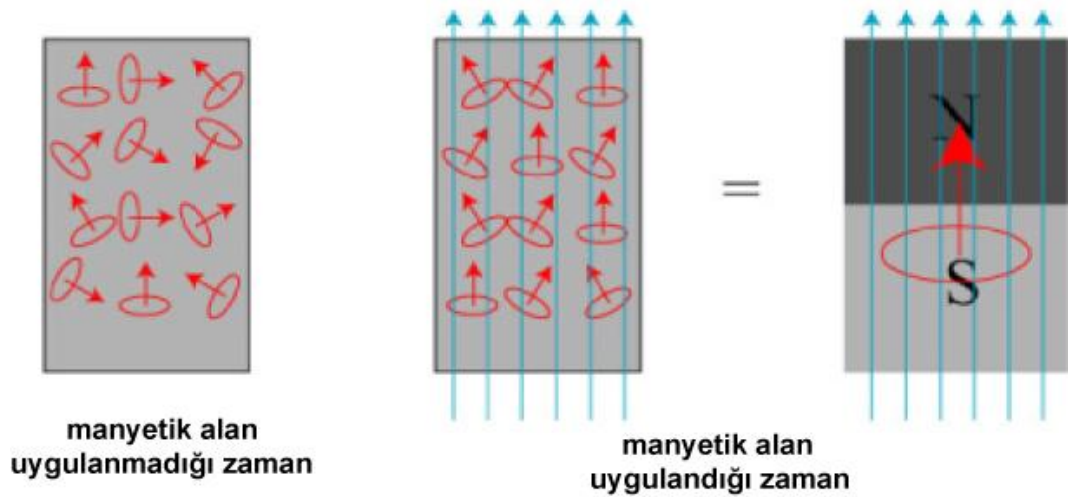
2.2. Doygunluk Mıknatıslığı

Kendiliğinden mıknatıslanmanın çok küçük alanlarda, ama farklı yönelimler içinde olduğu bilinmektedir ve söz konusu alanların ortalaması sıfır değerini vermektedir. Alanların yakınında momentlerin sıralanmamasından kaynaklanan enerji fazlalığı, mıknatıs içinde alan çizgilerinin hapsolması sonucunda dengelenir. Bir demir parçasına manyetik alan uygulandığında, alana paralel mıknatıslanma önce tersinir, sonra tersinmez biçimde büyür; bu olay çeperlerin kristal kusurlarını aşmasından veya başka alanların yönelim dengesini bozmasından ileri gelir. Kuvvetli bir alanda hemen hemen genelleşen sıralanma, mıknatıslanmanın doygunluğa girmesine yol açar. Yani mini boyuttaki manyetik bölgeleri belirli bir doğrultuya yönelmiş mıknatıstır [122]. Histerezis eğrisine göre başlangıç konumunda bulunan bir ferromanyetik madde mıknatıslanmamıştır. Dış manyetik alanın uygulanması sonucunda manyetik indüksiyon uygulanan alan yönünde artar. Manyetik alan yeterince büyük bir şekilde artırılırsa mıknatıslanma sonucunda M_s ile ifade edilen bir doyma noktasına erişilir. Bu durum bir maddenin içindeki tüm manyetik momentlerin uygulanan manyetik alan yönünde düzenlenmesini gösterir. Doygunluk mıknatıslığı sadece atomik

manyetik momentlerin büyüklüğüne ve birim hacimdeki atomların sayısına bağlıdır. Bunun için M_s sadece örnekte bulunan maddelere bağlıdır [123].

2.2.1. Paramanyetizma

Paramanyetik maddeler eşleşmemiş elektronlara sahiptirler ve manyetik alan tarafından zayıfça çekilirler. Elektronların spin ve orbital hareketleri manyetizmayı doğurur. Dış manyetik alan kalktığında manyetizmaları yok olur. Eşleşmemiş elektron sayısı arttıkça paramanyetik özellik artar. Örnek olarak O_2 , Fe, Gd, Mg verilebilir. Bu tür manyetizasyonun görüldüğü malzemelerde, manyetizasyonun kaynağı eşleşmemiş elektronların spinleridir [124]. Elektronların spinlerinden kaynaklanan manyetik momentlerin yönelimi, termal enerjiden dolayı farklıdır. Bir dış alan uygulandığında, bu alana göre yönelme eğilimindedirler. Böylece zayıf ama manyetik alan yönünde bir manyetizasyon görülür (Şekil 2.1).



Şekil 2.2. Paramanyetik özelliğin manyetik alan ile değişimi

2.2.2. Süperparamanyetizma

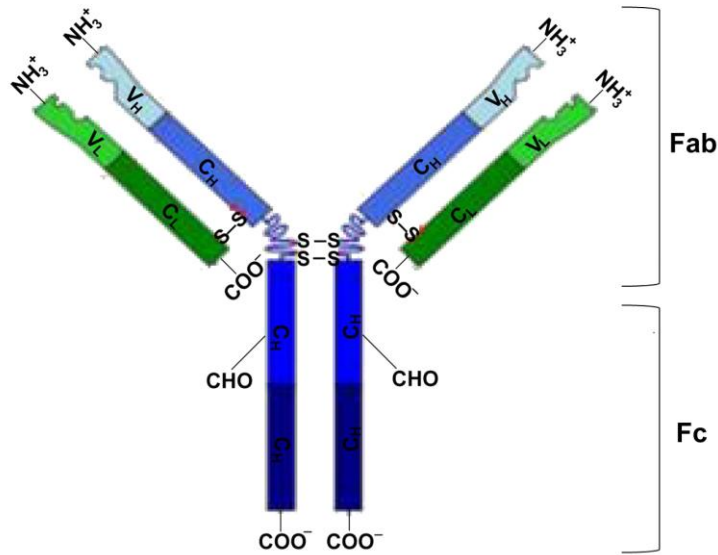
Parçacık boyutunun küçülmesine bağlı olarak, manyetik enerji ile termal enerjinin, birbirini dengelemesi ve parçacık içerisindeki momentlerin tamamen düzensiz olması durumuna süperparamanyetik özellik denilmektedir. Süperparamanyetik bir yapı, birçok paramanyetik davranışı sergiler ama süperparamanyetik yapılar paramanyetik yapılardan farklıdır. Süperparamanyetizma yalnızca nano yapılarda gözlenen bir özelliktir. Ferromanyetik yapılar gibi çok yüksek doygunluk manyetizasyon değeri gösterirler [125]. Tanecik büyüklüğü daha da küçülürse malzeme süperparamanyetik özellik göstermeye başlar ve koersivitesi sıfır olur. Bir maddeyi süperparamanyetik olarak adlandırmak için maddenin koersivitesi sıfır olmalıdır. Bu durumda ısı rastgelelikler manyetik enerjiyi yenebilecek hale gelir ve manyetik momentler gelişigüzel yönelirler [126]. Belirli bir kritik sıcaklığın altına inildiğinde ısı rastgelelikler manyetik enerjiyi yenemeyecek kadar azalır. Bunu sonucunda manyetik momentler aynı yöne yönelmeye başlarlar [124]. Süperparamanyetik malzemelerde, tüm spinleri aynı yöne yönleltmek için (doygunluk değerine ulaşması için) oldukça yüksek bir dış manyetik alan gerekmektedir. Bu da yüksek doygunluk değerine sahip olduğu anlamına gelmektedir. Ayrıca süperparamanyetik malzemelerin koersivite değeri sıfırdır. Bu da, dış manyetik alan kaldırıldığında spinlerin sahip olduğu termal enerjinin, dış bir demanyetizasyon uygulamadan tekrar serbest düzenlenmelerine olanak sağlar. Eğer spinlerin sahip olduğu termal enerji azalır, yapı tekrar bir koersivite gösterir. Bu limit sıcaklık değerine “bloklama sıcaklığı” denir. Bloklama sıcaklığının bir diğer önemi de, bu değerde yapı maksimum doygunluk değerini göstermesidir [124].

3. İMMÜNOSENSÖRLER

İmmünoansörler, biyospesifik duyar element olarak immünoaktif maddelerin kullanıldığı bir biyosensör tipidir ve uygun antijen ile antikorun kompleks oluşumu esasına dayanır. Antikor-antijen reaksiyonu son derece seçicidir [127].

3.1. Antikorlar

Antikorlar, vücudun immün (bağışıklık) sisteminin bir parçası olan β -lenfositler tarafından gereksinim duyulduğunda üretilen ve vücuda giren yabancı maddeyi (antijen) tanıyarak immün sistemini harekete geçiren protein molekülleridir. “Ab” ile simgelenir. *Antijen* ise bir immün yanıtı neden olan ve vücut tarafından yabancı olarak tanınan herhangi bir moleküler maddedir ve “Ag” ile simgelenir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Antikorların genel yapısının şematik gösterimi

V: değişken, **C:** sabit bölgeleri tanımlar. Her bölge zincirin bir globüler bölgesidir. Antikorlar, ağır ve hafif zincirlerden oluşan Fab (the fragment

antigen binding) parçasından, antijenle spesifik olarak birleşir. Antikoru antijen ile birleştiği yüzeyin büyüklüğü, 8-12 aminoasit veya 3-6 glikoz molekülük bir grubu kavrayacak kadardır. Antikoru antijen ile birleştiği bu bölge “paratop” olarak adlandırılmaktadır [128]. Antikorlar girişim etkileri varlığında uygun bir antijenin tanınmasına olanak veren, yüksek derecede spesifikliğe sahip olduğundan, biyolojik tanıma elementi olarak çok fazla tercih edilir. Antikorlar, düşük molekül ağırlıklı haptenlerden bakteri gibi büyük hacimli maddelere kadar, geniş bir alanda antijeni tanıma yeteneğine sahiptir. Antijenlerin sadece epitop denilen spesifik bölgeleri bu immün cevaba neden olur. Ayrıca epitop, uygun antikor için bağlanma bölgesi olarak görev yapar [129].

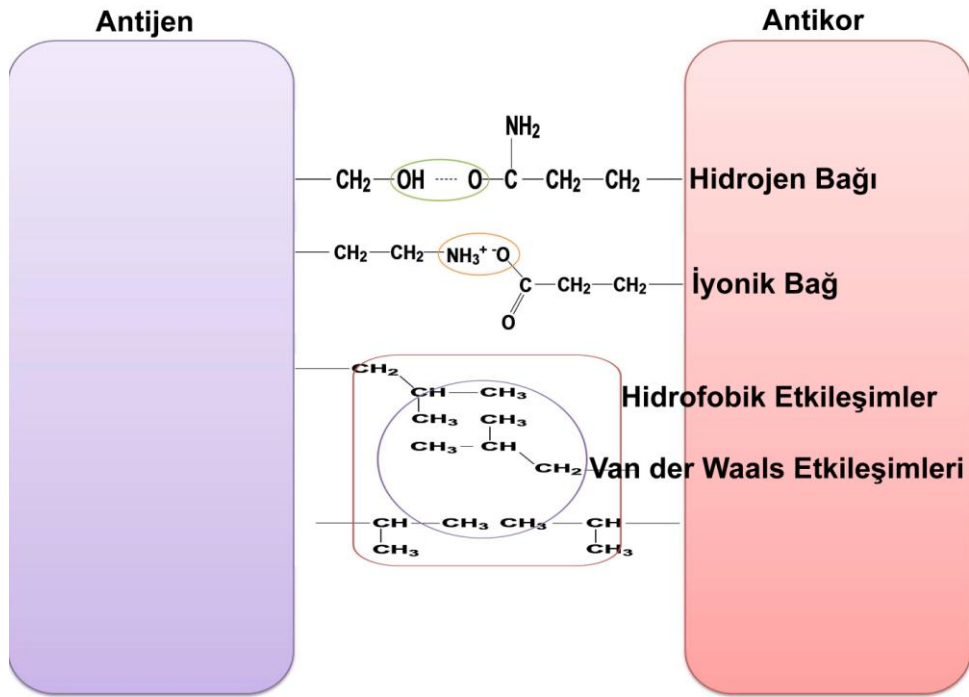
Teorikte antikorlar, sınırsız sayıda antijenik determinant için hazırlanabilmektedir. Antijen etkinliğine bağlı olarak, antikorların bir türü, aynı antijene cevap vermesine rağmen, antijenin farklı bölgelerine bağlanarak ve bu antijen için farklı ilgilere sahip olarak üretilirler. Bu antikorlar farklı alt sınıflara aittir ve epitop spesifikliğinde farklılıklara sahiptirler. Aynı antijene cevap veren bu heterojen antikorlar poliklonal olarak adlandırılır. Monoklonal antikor teknolojisi, homojen antikorların büyük bir miktarının üretilmesi için imkan sağlar. Bu antikorlar, bir antijenin aynı epitopuna cevap verirler. Böylece, monoklonal antikorlar, verilen bir antijen için, aynı ilgi ve spesifikliğe sahiptir. Genelde, monoklonal antikorlar, poliklonal antikordardan daha yüksek bir spesifikliğe sahiptir, fakat daha düşük ilgi gösterirler. Bununla birlikte, poliklonal antikorların heterojenliğinin fazla olması büyük bir dezavantajdır [129].

3.2. Antikor-Antijen Bağlanma Özellikleri

Antijen-antikor birleşmesi özgüldür. Bir antijen sadece oluşumuna neden olduğu antikor ile birleşebilir. Özgüllük nedeniyle antijen veya antikordan biri elinizde olursa, diğerini araştırmak, tanımak ve saptamak mümkün olabilir. Bu özellikten yararlanarak yapılan serolojik testlerle mikrobik hastalıklara

tanı konur. Antijen-antikor birleşmesi, antijen yüzeyindeki epitop ile antikor molekülünün Fab kısmının ucundaki V bölgesi arasında olur. Ag-Ab birleşmesi kimyasal bir olaydır. Ancak bu birleşmede çok kuvvetli olmayan, düşük enerjili bağlar rol oynar ve olay tersinir özelliktedir. Birleşme sonunda antijen veya antikor yapısında değişiklik veya parçalanma olmaz. Ag-Ab birleşmesi, iki molekülün birbirlerine yakınlık derecesine ve bağlanma bölgelerinin birbirine uygunluk derecesine göre sıkı veya gevşek olabilmektedir. İki molekül birbirine ne kadar yakınsa ve bağlanma grupları ne kadar birbirine uyum sağlarsa bağlanma o kadar güçlü olmaktadır. (Anahtar-kilit modelinde olduğu gibi) [127-129].

Herhangi bir biyomoleküler tepkime boyunca, var olan kuvvetler antikor ve antijen arasındaki etkileşimin kararlılığını sağlamaktan sorumludur. Bu kuvvetler; hidrojen bağları, elektrostatik etkileşimler, Van der Waals etkileşimleri ve hidrofobik etkileşimlerdir. Antikor ve antijen arasında etkin olan bu kuvvetler Şekil 3.2’de şematize edilmiştir.



Şekil 3.2. Antijen-antikor bağlanmasında etkili olan kuvvetler

Elektrostatik etkileşimler, polaritesi yüksek moleküller arasında dipol-dipol etkileşimleri veya yüklü moleküller arasında ya itici ya da çekici kuvvetler olabilirler. Proteinlerde polipeptit omurgasının karbonil grupları ve polar aminler kalıcı dipollere yol açar. Ayrıca polar ve yüklü zincir bölgeleri dipollere katkıda bulunur. Hidrojen bağları elektrostatik etkileşimlerin bir alt grubu olarak düşünülür. Hidrojen bağları elektronegatifliği yüksek bir proton alıcı üzerindeki bağlanmamış bir çift elektron ile elektronegatifliği yüksek bir proton verici arasında meydana gelir. Amin grupları proton verici olarak görev yapar ve karbonil grupları bir proton alıcı olarak görev yapar. Bu hidrojen bağları ve elektrostatik etkileşimler bağlanmanın gücüne katkıda bulunurlar ve sulu çözeltide bu etkileşimler, moleküller arası kararlılık için oldukça fazla katkı sağlarlar. Van der Waals kuvvetleri, elektrostatik etkileşimlerden daha zayıf dipoller arasında meydana gelir. Yakın moleküllerin elektrik alanları bu kuvvetlerden sorumlu geçici dipollerin oluşumuna sebep olur. Bu etkileşimler kısmen zayıf olmasına rağmen, birçok etkileşimden meydana geldiği için toplam bağlanma şiddetinin % 50'sini oluşturabilir [129].

Hidrofobik etkileşimler, polar olmayan moleküller ve su arasında meydana gelen itici güçlerdir. Termodinamik kararlılığın sağlanmasında, polar olmayan bölgeler entropinin etkisiyle bir tepkime bölgesinde bulunuyorsa, moleküller arası kararlılığın ve bağlanma şiddetinin artmasına yol açarlar. Antikorda var olan dipoller antijenin dipolleriyle etkileşir ve bağlanma için uygun bir yönelmeyi sağlamak için ortak hareket ederler. Bu elektrostatik etkileşimler ve hidrojen bağları moleküller arası kararlılık için birincil katkı sağlarken, diğer güçler tamamlayıcı olarak görev yapar [129].

3.3. Antikor-Antijen Bağlanma Kinetiği

Çözeltide antikor ile antijen arasında gelişen etkileşimlerin temel termodinamik prensibi Eşitlik 3.1'deki gibidir.



Ab, serbest antikor, Ag serbest antijeni, AbAg antikor-antijen kompleksini göstermektedir. k_a ve k_d sırasıyla birleşme (assosiasyon) ve ayrışma (dissosiasyon) hız sabitleridir. K_a ve K_d ise sırasıyla birleşme (assosiasyon) ve ayrışma (dissosiasyon) denge sabitleridir. İmmünosensörlerde kullanılan antikorlar ve antijenler tipik olarak bir katı yüzey üzerine immobilize edilirler. İmmobilizasyon antikorun (veya antijenin) yapısına göre değişebilir ve böylece bağlanma kinetiğini etkileyebilmektedir.

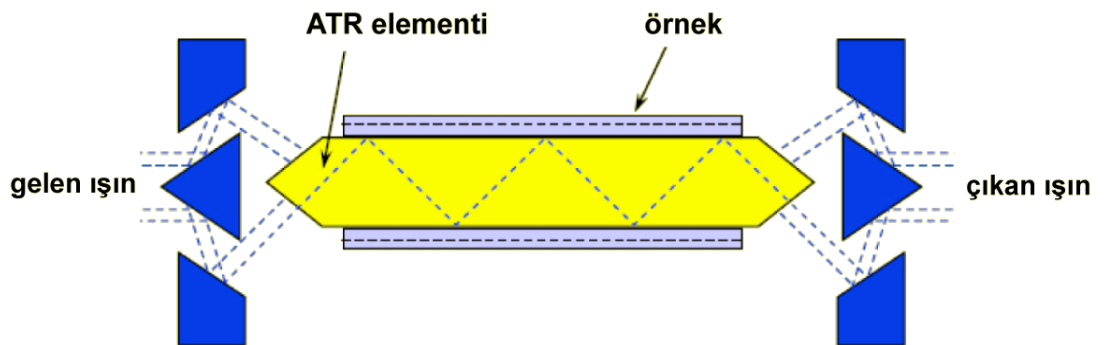
4. NANOTANECİK KARAKTERİZASYON YÖNTEMLERİ

Nano boyuttaki malzemelerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin karakterize edilmesi, bu malzemelerin katalitik aktiviteden biyolojik uyumluluğa kadar pek çok konudaki davranışlarının anlaşılabilmesini mümkün kılmaktadır. Klasik kimyasal ve fiziksel karakterizasyon teknikleri, incelenen malzemenin miktarı ve boyutu küçüldükçe olanaksız hale gelmektedir. Standart analitik teknikler için gerekli olan malzeme miktarı genellikle tüm nanomalzemelerin miktarından oldukça fazladır. Ayrıca yapıların ebatları nano-boyuta ulaştığında kuantum özelliklerin baskın olması ile birlikte makroskobik boyutta görülmeyen farklı fiziksel özellikler ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle, nano-ölçekli yapıların özelliklerini, makroskobik ölçekteki yapıların özelliklerini inceleyen tekniklerle tam olarak belirlemek mümkün değildir [130].

Günümüzde nanotaneciklerin fiziksel ve kimyasal özellikleri mikroskop, kırınım ve spektroskopi tabanlı birçok yöntem kullanılarak belirlenmektedir. Nanotaneciklerin kimyasal karakterizasyonunda, spektroskopik tabanlı X-ışınları fotoelektron spektroskopisi (XPS, ESCA) ve Auger elektron spektroskopisi (AES) sıklıkla kullanılmaktadır. X-ışınları kırınım tekniği ile bu nanotaneciklerin kristal yapıları büyük bir hassasiyetle belirlenebilmektedir. Kimyasal analiz yöntemleri ile nanotaneciklerin boyut, şekil ve geometrileri hakkında bilgiler elde edilemediğinden dolayı fiziksel yöntemlerde nanotanecik karakterizasyonunda oldukça önemlidir. Fiziksel karakterizasyon yöntemlerinin başında uzun zamandan beri kullanılmakta olan taramalı elektron mikroskobu (SEM), elektron demeti ile nanomalzeme arasındaki etkileşimler sayesinde nanotaneciklerin morfolojileri hakkında bilgiler vermektedir. Diğer elektron mikroskobu örneği olan geçirimli elektron mikroskobu (TEM), atomik seviyede görüntü alınmasına olanak sağlayan, nanotaneciklerin yüzeyleri, boyutları ve geometrileri ile ilgili oldukça yararlı bilgiler vermektedir [130].

4.1. Fourier Dönüşümlü-Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR)

FT-IR spektroskopisi, moleküllerin IR ışığını ($12800-10\text{ cm}^{-1}$ dalga sayılı veya $0,78-1000\text{ }\mu\text{m}$ dalga boylu) absorpsiyonuyla titreşim ve dönme enerji seviyelerine uyarılmalarının ölçümüne dayanan bir yöntemdir. Dalga sayısı ($1/\lambda$) hem enerji hem de frekans ile doğru orantılı olduğu için FT-IR spektroskopisinde doğrusal bir dalga sayısı ölçeği kullanılır. FT-IR spektrofotometresinde monokromatör kullanılmamaktadır. Bu sebeple, ışınım zamanının bir fonksiyonu olarak alınır. Spektrumlar frekans ölçeğinde değil zaman ölçeğinde elde edilir. Her dalga boyunu ayrı ayrı taramak gerekmediği için hızlı ve yüksek çözünürlüklü spektrumlar elde edilir. Normal IR spektrofotometresinde monokromatörler yardımıyla dalga boyları seçilir ve spektroskopik bilgiler toplanır. FT-IR spektroskopisinde interferogram denilen spektrumlar absorpsiyon spektrumunun Fourier dönüşümüdür. Elde edilen veriler bilgisayar ile bilgilere dönüştürülür. Ters fourier dönüşümü denilen bu yöntemle veriler zaman alanından frekans alanına aktarılır ve değişik frekanslarda alınan absorbanlar grafiğe geçirilir. ATR-FT-IR (Attenuated Total Reflectance FT-IR, Birleştirilmiş Toplam Yansıtma FT-IR) spektroskopisinde ise, ışığın numune tarafında soğurulup yansıtılması (geçirgenlik yöntemi) yerine, ışığın örnekten saçılımı ölçülür.



Şekil 4.1. ATR hücresinin şematik gösterimi

ATR-FT-IR'da absorpsiyon bandlarının dalga boyunda azalmalar meydana getirilerek daha kısa zamanda ve örnek kalınlığından bağımsız olarak soğurganlığı çok fazla olabilen farklı maddelerin analizleri yapılabilir. FT-IR spektroskopisinde her dalga boyunu tek tek taramak gerekmediği için spektrum birkaç saniyede kaydedilir. Yarık veya prizma kullanılmadığı için duyarlılık değişmeden yüksek çözünürlüklü spektrumlar elde edilir. Ayrıca alınan spektrumda S/N (Signal/Noise - Sinyal/Gürültü) oranı büyük olduğu için bandlar net ve şiddetli bir şekilde gözlenir [131].

4.2. X-Işınları Fotoelektron Spektroskopisi (XPS)

Atom ya da moleküllerin X-ışını bombardımanı sırasında, atomdan ya da molekülden fırlatılan elektronun kinetik enerjisinin ölçülmesi, elektron spektroskopisinin temelidir. Fırlatılan bu elektronlar, atomların iç kabuklarının birinden çıktığı için, bu olay sırasında oluşan iyon, uyarılmış bir iyondur. X-ışınları ile gerçekleştirilmiş bu tür elektron spektroskopisi türüne X-ışınları fotoelektron spektroskopisi (XPS) veya kimyasal analiz için elektron spektroskopisi (electron spectroscopy for chemical analysis, ESCA) denilmektedir.

Atomdan fırlatılan elektronun kinetik enerjisi, örneğe gönderilen X-ışınının enerjisine ve elektronun örnek maddeye bağlanma enerjisine bağlıdır. Örnek tarafından adsorplanan X-ışını enerjisinin bir kısmı elektronun bağlanma enerjisini (E_b) yenmek için kullanılır, kalan enerji ise elektronun kinetik enerjisi (E_k) olarak ortaya çıkar.



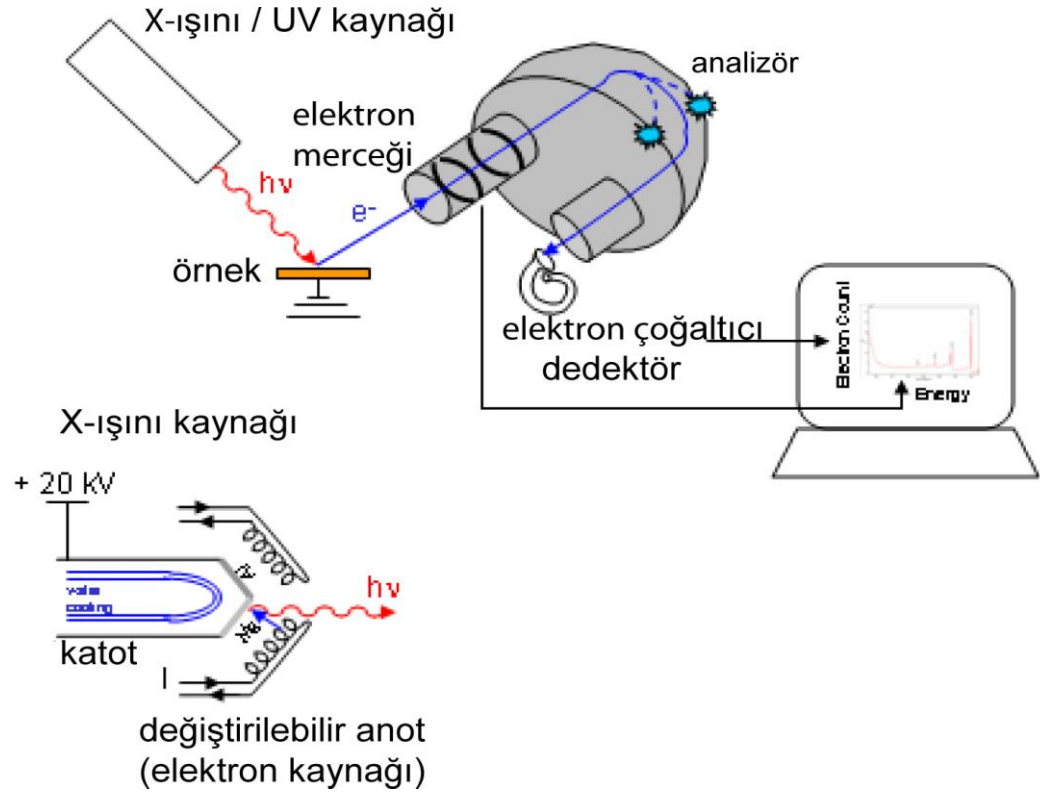
$$h\nu = E_b + E_k \quad (4.2)$$

Bağlanma enerjisi, her elementin her elektronu için sabit bir değerdir ve bu nedenle o elementin belirlenmesinde kullanılabilir. Ayrıca bağlanma enerjisinin değeri, örnek maddesinde bulunan bir elementin yükseltgenme sayısına ve o örnek maddesinin bulunduğu kimyasal çevreye bağlıdır. Böylece, bağlanma enerjisinin ölçümü ile maddede bulunan belli element hakkında ayrıntılı bilgi edinmek mümkündür. Atomun bulunduğu bileşikte elektron yoğunluğunu etkileyen faktörlerin neden olduğu farklılıklar, elektronun ölçülen kinetik enerjisini değiştirir. Aynı elementin aynı tür elektronu için gözlenen bu değişiklikler, elektronun farklı çevrelerde farklı bağlanma enerjilerine sahip olmasından kaynaklanır. Bağlanma enerjilerinde ölçülen bu farklılıklar “kimyasal kayma” olarak adlandırılır. Her bir elementin belli orbitalinden fırlatılan elektronlar için ölçülen E_b değerleri tablolardan bulunabilir. Böylece kimyasal kayma değerleri nitel analiz amacı ile kullanılabilir.

XPS yönteminde X-ışınları kaynağı olarak Al veya Mg hedefli X-ışını tüpleri kullanılır. Bu elementlerin şiddetli olarak yaydıkları $K\alpha$ hatlarının oldukça keskin oluşu nedeniyle, ayrıca bir monokromatör kullanılmasına gerek kalmaz. Al veya Mg hedefli tüpte kullanılan bir Al veya Be pencere ile tüpten yayılan $K\beta$ hatlarının ve zemin ışımasının büyük bir kısmının tüpten çıkması önlenir. Al $K\alpha$ hattının dalga boyu 0,8342 nm (1487 eV enerjili)’dir. Daha kısa dalga boylu X-ışınları gerektiğinde 0,2294 nm (5406 eV enerjili) Cr $K\alpha$ hattını yayan tüp, daha uzun dalga boylu X-ışını gerektiğinde ise 9,34 nm dalga boylu (132,8 eV enerjili) hattını yayan tüp kullanılır [34]. Örnekten fırlatılan elektronların kinetik enerjilerinin ölçümü elektron spektroskopisi yöntemlerinin temelini oluşturduğu için, örnek ile detektör arasına ayırma gücü oldukça yüksek olan ikinci bir enerji analizörünün yerleştirilmesi zorunludur. Bu amaçla en çok silindir veya küresel geometriye sahip elektrostatik enerji analizörleri kullanılır. Elektron spektroskopisinde detektör olarak genellikle elektron çoğaltıcı adı verilen düzenek kullanılır. Foto çoğaltıcılarda olduğu gibi bu düzeneklerde de belli bir yüzeye çarpan elektronlar bu yüzeyden daha çok sayıda elektron fırlatır. Fırlatılan

elektronlar başka bir yüzeye doğru yönlendirilir ve bu işlemin birkaç yüzeyde tekrarlanması sonucunda duyarlılık giderek artar. Fotoelektron spektroskopisinde örnek, hem kaynağa hem de enerji analizörüne olabildiğince yakın yerleştirilir. Böylece hem daha çok sayıda elektronun örnekle etkileşmesi sağlanır, hem de fırlatılan elektronların büyük bir kısmının enerji analizörüne ulaşması sağlanır. Elektronların başka parçacıklarla çarpışması sonucu kinetik enerjilerinde bir azalma olması da istenmeyen bir durum olduğundan, elektron spektrometreleri düşük vakum altında ($\sim 10^{-8}$ - 10^{-9} mm Hg) çalıştırılır.

XPS genellikle katı örneklerin yüzey analizlerinde kullanılır. Birçok maddenin iç kısımları ile yüzeyinin kimyasal yapısı farklı olabilir. Yüzey özellikleri ile maddenin iç kısımlarının yapısı aynı olan maddelerin nitel analizi gerçekleştirilebilir. Ancak yüzey ile iç kesimleri yapısı farklı olduğu durumda ise, yüzey hızlandırılmış argon iyonları ile bombardıman edilerek aşındırılır ve daha sonra iç kesimleri açığa çıkartılarak analizi yapılır. Elektron spektroskopisi analizinde, örnek maddesinin elektronlar ile bombardıman edilmesi sonucu oluşan pozitif yüklü iyonlardan dolayı yüzeyde bir pozitif yük birikmesi olur. Bu birikim yüzeyden elektronların fırlatılmasını engelleyebilir veya fırlatılan elektronların kinetik enerjilerini azaltabilir. Örnek maddesinin iletken olduğu durumda örnek ve spektrofotometre arasında bir temas kurulur. Örneğin elektriği iletmediği durumlarda ise, başka bir kaynaktan düşük enerjili elektronlar yüzeye gönderilerek pozitif yük birikimi önlenir.



Şekil 4.2. XPS ile kimyasal analiz

XPS ile nitel analizde, ölçülen bağlanma enerji değerleri ve kimyasal kayma değerleri kullanılır. Bu yöntem ile H ve He dışındaki tüm elementlerin nitel analizi yapılabilir. Örneğe gönderilen düşük enerjili X-ışınlarının birkaç yüz nm derinliğe ulaşabilmesine rağmen, örnekten fırlatılan elektronlar sadece 10 nm kadar yol alabildiklerinden, yüzeye sadece birkaç nm kadar yakın olan tabakaların nitel analizi mümkün olmaktadır. XPS yöntemi katı hal fiziği, metalürji, malzeme bilimi ve jeokimya alanında geniş uygulama alanına sahiptir [132].

Özetle XPS;

- X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) malzemenin içindeki elementel kompozisyonu, basit formülü, kimyasal ve elektronik durumları ölçmeye yarayan bir cihazdır.

- XPS cihazı ile malzemeye X-ışınları gönderilirken malzemenin 1 ile 10 nm derinliğindeki yüzeyinin kinetik enerjisi ve yüzeyden kopan elektron sayısı ölçülür. XPS cihazı ultra yüksek vakum (UHV) şartlarına gereksinim duyar.
- XPS, atom numarası 3 (lityum) ve 3'ten büyük atomları algılamaktadır. Orbital çapları küçük olduğu için hidrojen (1) ve helyum (2) atomlarını algılayamamaktadır.
- Bir yüzey analiz yöntemi olan XPS, yüzey atomlarının iç kabuklarındaki (core level) enerji seviyelerinde bulunan elektronların fotoelektrik olay sonucu uyarılması mantığına dayanır. Basitçe, fotoelektrik olay sebebiyle belli bir enerjiyle uyarılan elektronların kinetik enerjileri bilinirse bağlanma enerjileri de hesaplanabilir. Bağlanma enerjisi ise yüzeydeki atomlar, bu atomların değerlikleri ve kimyasal yapıları hakkında bilgi vermek için yeterlidir.
- İç kabuklardan uyarılan ve fotoelektron adı verilen elektronların kinetik enerjilerinden yola çıkarak Einstein prensibince bağlanma enerjileri (binding energy) hesap edilip, spektrumlar elde edilebilir.

$$h\nu = BE + KE + \phi \text{ (Einstein Prensibi)} \quad (4.3)$$

Burada,

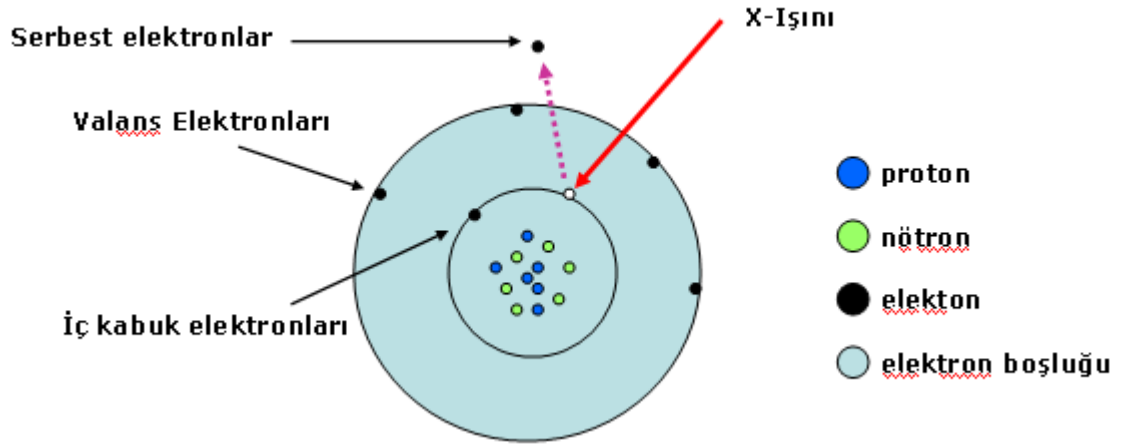
h = Planck sabiti

ν = Gönderilen X-ışınının frekansı

BE = Atomun bağlanma enerjisi

KE = Uyarılan elektronun kinetik enerjisi

ϕ = İş fonksiyonu olarak verilmektedir.



Şekil 4.3. X-ışını ve elektronların etkileşimi

- Bağlanma enerjisi gerek çevresel etkenlere, gerekse karakteristik özelliklere bağlı olduğu için, XPS sayesinde numunenin yüzeyi hakkında nitel ve nicel bilgiler elde edilebilir [133].

4.3. X-Işınları Kırınımı (XRD)

Kristal yapı, üç boyutlu uzayda düzgün tekrarlanan bir deseni temel alan bir atomik yapıya sahiptir. Bu nedenle, katıların kristal yapısı, yapıda bulunan atom gruplarının ya da moleküllerin katıya özgü olacak şekilde geometrik düzende bir araya gelmesi ile oluşur. İlk kez Max van Laue tarafından kristal yapı ve yapı içerisindeki atomların dizilişleri X-ışını kırınım desenleri kullanılarak incelenmiştir.

Bir malzemenin atomik yapısını görüntülemek, yüksek çözünürlüğe sahip çeşitli elektron mikroskopları kullanılarak mümkündür. Fakat bilinmeyen yapıları belirlemek veya yapısal parametreleri tayin etmek için kırınım tekniklerini kullanmak gerekir. Katıların kristal yapılarını incelemek için en çok kullanılan kırınım tekniği X-ışını kırınımıdır. Bu tekniğin ince film analizi için uygun olması,

- X-ışınlarının dalga boylarının, yoğunlaştırılmış maddedeki atomik mesafeler ölçüsündedir ve bu özellik, yapısal araştırmalarda kullanılmalarını sağlaması,
- X-ışını saçılım tekniklerinin, incelenen numuneyi değiştirmemesinden dolayıdır.

Katı malzemelerin incelenmesinde kullanılan X-ışınlarının dalga boyları, atomlar arası mesafelerle kıyaslanabilir büyüklükte olup yaklaşık olarak 0,5 Å ile 2,5 Å arasında değişir. Kristal ve moleküllerdeki atomlar arası mesafeler 0,15-0,4 nm arasındadır. Bu mesafe 3 keV ve 8 keV arasında foton enerjilerine sahip X-ışınlarının elektromagnetik spektrum dalga boyuna karşılık gelir. Bundan dolayı, kristal ve molekül yapıları X ışınlarına maruz kaldığında, yapıcı ve yıkıcı girişim gibi olgular gözlemlenmektedir.

İnce film fiziğinde elektron saçılması, X-ışını saçılmasından daha sık kullanılır, fakat X-ışını saçılması kafes parametrelerinin kesin ölçümlerinin gerekli olduğu yerlerde kullanılır. İki metot arasındaki farklardan birisi, X-ışının daha büyük nüfuz derinliğine sahip olmasıdır. Fakat çok ince örnekler (5 nm) için bile saçılma modelleri elde edilebilmektedir. Çok keskin odağa sahip X-ışını tüpü kullanılarak, yoğunluk artırılabilir ve böylece maruz kalma süresi dörtte bir oranında azaltılabilir. Diğer taraftan, saçılma açıları, X-ışınlarında daha büyüktür ve bu kafes parametrelerinin elektronlara nazaran daha kesin olarak belirlenmesini sağlar. Saçılma modelleri, filmin toplam kalınlığı veya belki de altlık tarafından elde edilir, bazı durumlarda altlıkla elde edilmesi, kafes sabitlerinin belirlenmesi için avantaj sağlar.

X-ışınları kristal yapı üzerine düşürüldüğünde, ışınlar katı yüzeyinden küçük geliş açılarıyla tam yansımaya uğrarlar ve ışınlar kristaldeki atomların paralel düzlemleri tarafından saçılırlar. Kristal yapıdaki bu saçılımlar kırınım olarak adlandırılır ve kırınım çok sayıda atomu içeren saçılmalardan

meydana gelir. X-ışınlarının kristal yapıda kırınımı Bragg Kanunu ile açıklanır ve Bragg kanunun en basit şekli Eşitlik 4.4 ile verilir.

$$n\lambda=2d\sin\theta \quad (4.4)$$

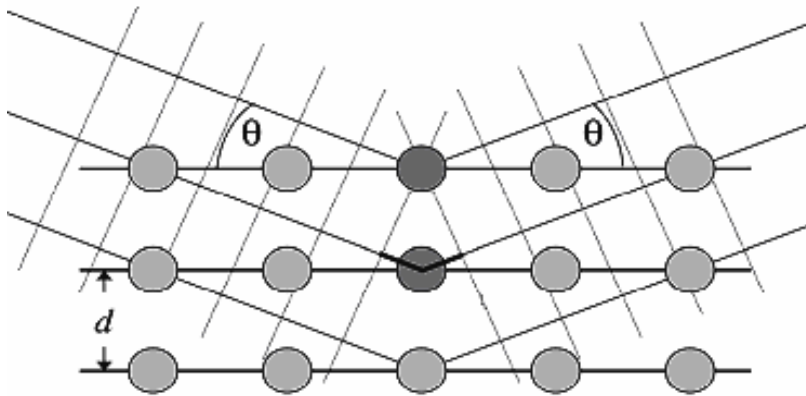
Burada;

d , atomlar arası uzaklık

n , sabit

θ , X-ışınının geliş açısı

λ , X-ışınının dalga boyudur.



Şekil 4.4. Bir kristaldeki X-ışını kırınımı (Bragg Diyagramı)

Modern X-ışını cihazlarında, kırınıma uğrayan ışının kırınım açısını ve şiddetini ölçecek ışınım sayıcılar bulunur. Böylece kırınım açısı 2θ 'nın, kırınıma uğrayan ışının şiddetine göre değişimini veren kırınım deseni elde edilir. Desen üzerindeki pik genişliklerine ve zemin şiddetine bakılarak malzemenin kristalleşmesi hakkında bilgi edinilebilir.

4.3.1. X-ışınları Kırınımı İle Kristal Yapıların Tayini

Kristallerde X-ışını kırınımı ve diğer kırınım (elektron ve nötron kırınımı) teknikleri ile kristalin yapısı, mükemmelliği veya fazın saflığı, doğrultuları ve

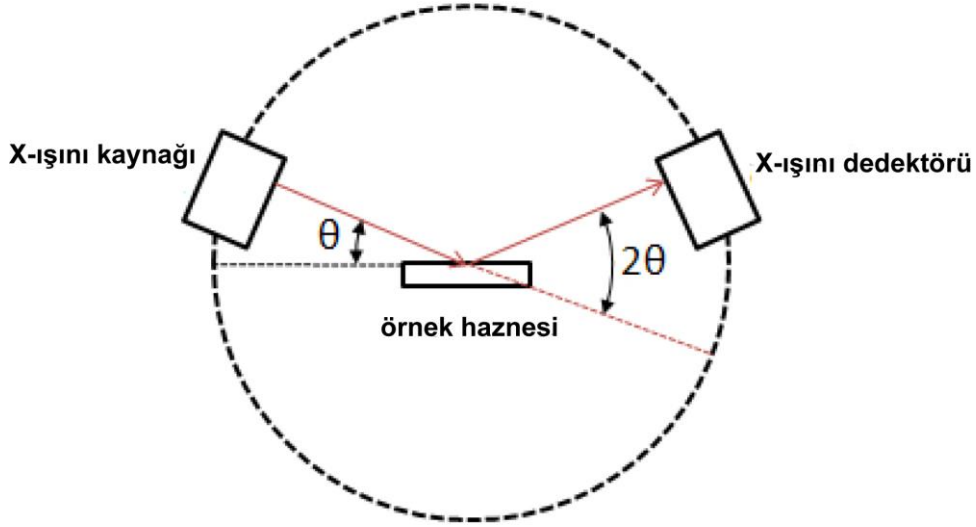
örgü sabitleri belirlenmektedir. Günümüzde kristallerde kırınım, kristal yapıların hemen hemen hepsinin yapısının biliniyor olması sebebiyle, kristalin mükemmelliği ve doğrultularının belirlenmesinde kullanılmaktadır. Ayrıca, yeni modeller geliştirmeye yönelik çalışmalarda veya endüstriyel değere sahip polimerler, biyomoleküller, zeolitler gibi yapıların ve örgü sabitlerinin belirlenmesi çalışmaları önemli bir yere sahiptir. Kristal yapıların ortaya çıkarılması denince a,b,c ve alfa, beta, gama birim hücre parametrelerini, birim hücrede kaç tane atom veya molekül olduğunun çıkarılması anlaşılır. Bunların dışında atomların konumları bağ uzunlukları, kristal yüzlerinin indislenmesi, kristalin mükemmelliği de tespit edilebilir. Kristal yapıyı tespit ederken atomların veya moleküllerin yerlerinin belirlenmesi spektroskopik yöntemlerle gerçekleştirilir. Bu yöntemlerden ilki X-ışınları kırınımıdır. Bunun dışında nötron kırınımı ve elektron kırınımı da kullanılır. X-ışınları kırınımı kristal yapıların incelenmesinde çok güçlü bir yöntemdir. Bu yöntem kullanılarak malzemelerin kristal yapıları, tanecik büyüklükleri, seçimli yönelimleri gibi pek çok özellikleri belirlenebilir.

4.3.2. Debye-Scherrer yöntemi ile tanecik büyüklüğü tayini

X-ışını toz kırınımını tek yarıқта kırınım benzetebiliriz. Tek yarıқта kırınımda yarık üzerindeki her nokta bir kaynak gibi davranır uygun koşullar altında bir kırınım deseni elde edilir. Elde edilen bu kırınım deseni piklerin genişlikleri yarığın genişliğine bağlıdır. Yarık genişledikçe pikler daralır. Bir kristal yapıda o kristal yapıyı oluşturan her atom x-ışınları karşısında bir tek yarık gibi davranır ve bu nedenle parçacık boyutu küçüldükçe yani parçacıklar içindeki atom sayısı “yarık sayısı” azaldıkça elde edilen X-ışını kırınım desenini oluşturan pikler genişler. Bu olgu Debye-Scherrer tarafından tanımlanmıştır.

$$\beta = (\lambda/d\cos\theta) + (4\epsilon\tan\theta) \quad (4.5)$$

Burada β pik yarı genişliği, d tanecik boyutu, λ uygulanan x-ışınlarının dalga boyu, θ pikin gözlemlendiği açı değeri, ε ise örnek üzerindeki gerilmedir.



Şekil 4.5. XRD cihazının şematik gösterimi

Şekil 4.5’de XRD cihazı şematize edilmiştir. Işını üreten sol üst başlık ile dedektör (sağ üst) birbirine V şeklinde bir açıyla bağlanmıştır ve bu açı değişebilmekte olup orta hazne örnek yüklemesi için kullanılabilir. Kristal yapısına göre ışını farklı açılarda ve şiddette kıran örnekler çok hassas biçimde analiz edilebilmektedir [134].

4.4. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Taramalı elektron mikroskobu (SEM), elektronların kullanılmasıyla örnek yüzeyinden yüksek çözünürlüklü görüntü alınmasını sağlayan sistemlerdir. SEM, örnek yüzeyinin üç boyutlu görüntülerinin belirlenmesinde son derece kullanışlı bir yöntemdir. 1930 yılında Manfred Von Ardenne bu yöntemin bulunuşunda öncülük etmiştir. Charles Oatley SEM cihazını ilk olarak ticari hale getirmiştir.

Temel olarak taramalı elektron mikroskobu, Tungsten, Lantan hekza borit katottan veya alan emisyonlu (FEG) tabancadan ortaya çıkan elektronların kullanımı incelenecek malzeme yüzeyine gönderilmesi sonucu oluşan etkileşmelerden yararlanılması esasına dayanır. SEM'ler genel olarak bu elektron enerjisi 200-300 eV dan 100 keV'a kadar değişebilir. Bu amaçla, yoğunlaştırıcı elektromanyetik mercekle (condenser lense) toplanan, objektif mercekle odaklanan elektron demeti, yine elektromanyetik saptırıcı bobinlerle örnek yüzeyinde tarama işlemi (scanning) gerçekleşir. Bir taramalı elektron mikroskopunda görüntü oluşumu temel olarak; elektron demetinin incelenen örneğin yüzeyi ile yaptığı fiziksel etkileşmelerin (elastik, elastik olmayan çarpışmalar ve diğerleri) sonucunda ortaya çıkan sinyallerin toplanması ve incelenmesi prensibine dayanır.

Bunlardan ilki, gelen elektron demetindeki elektronların, malzemedeki atomlarla yapmış olduğu elastik olmayan çarpışma sonucu (yani, örnek yüzeyindeki atomlardaki elektronlara enerjilerini transfer ederek) ortaya çıkan ikincil elektronlardır. Bu elektronlar örnek yüzeyinin yaklaşık 10 nm'lik bir derinliğinden ortaya çıkarlar ve bunların tipik enerjileri en fazla 50 eV civarındadır. İkincil elektronlar fotoçoğaltıcı tüp yardımıyla toplanıp, örneğin tarama sinyali konumuyla ilişkilendirilerek yüzey görüntüsü elde edilir.

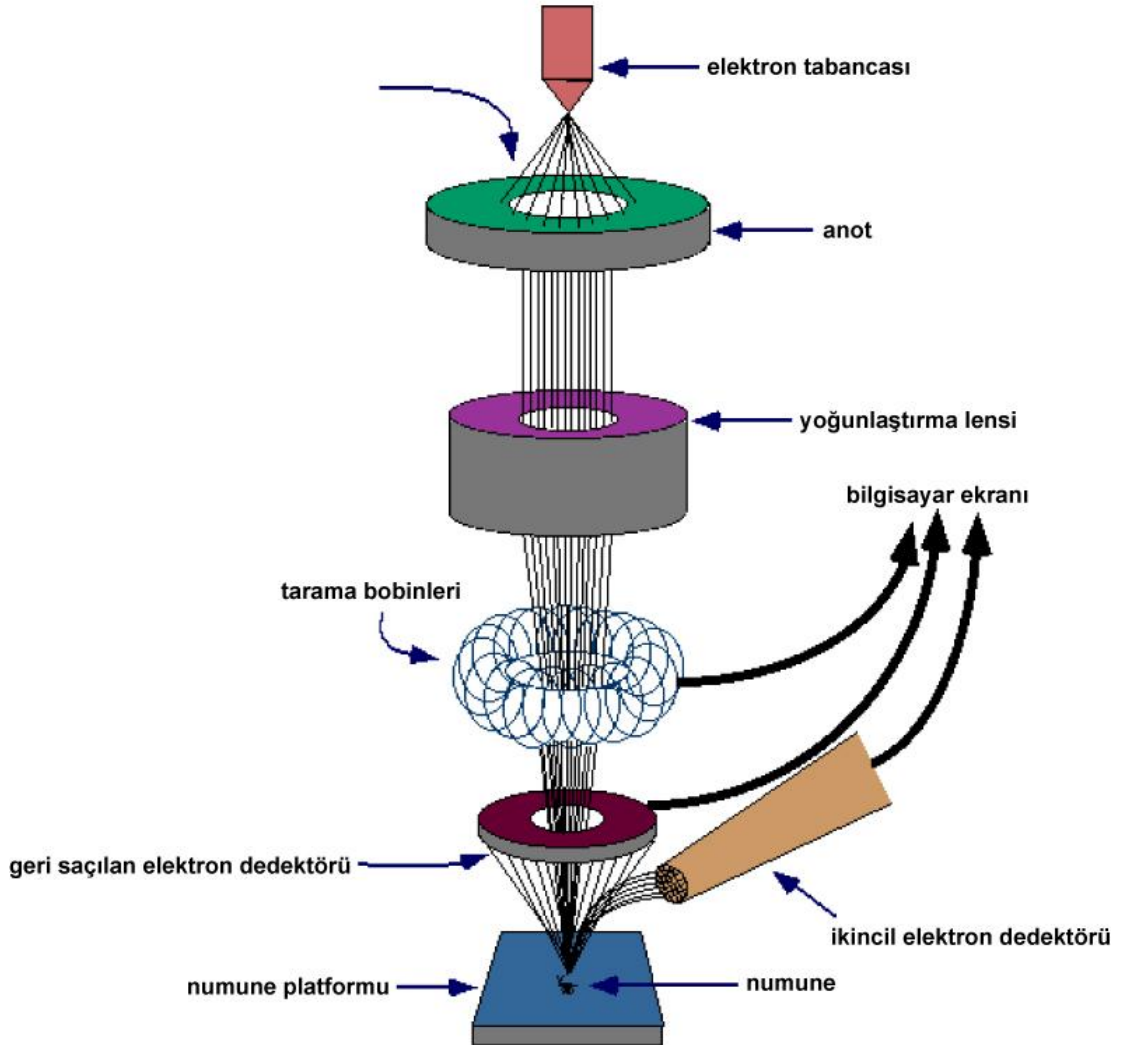
Elektron demeti ile incelenen örnek yüzeyindeki malzeme arasındaki etkileşimde ortaya çıkan diğer bir elektron grubu ise geri saçılma elektronları (backscattered electrons) adı verilen elektronlardır (bu elektronlar, yüzeye gelen elektron demeti ile yaklaşık 180° açı yapacak biçimde saçılırlar). Geri saçılma elektronları, yüzeyin derin bölgelerinden (yaklaşık 300 nm'ye kadar) gelen daha yüksek enerjili elektronlardır. Bu enerjideki elektronlar bir fotoçoğaltıcı tüp tarafından tespit edilemeyecek kadar yüksek enerjiye sahip olduklarından, genellikle quadrant foto-dedektörler (yani katıhal dedektörleri) yardımıyla tespit edilir. Bilindiği üzere bu tür dedektörler üzerine gelen elektronların indüklediği elektrik akımının şiddetine göre çıkış sinyali verirler (kısaca hatırlatmak gerekirse,

incelenecek örnekteki yüksek atom numarasına sahip bir atomdan saçılan elektronun enerjisi küçük atom numaralı bir atomdan saçılana göre daha yüksektir). Sonuç olarak ikincil elektronlar incelenen örneğin kompozisyonu hakkında bilgi verir.

Gelen elektron demetinin incelenen örnek yüzeyi ile yapmış olduğu diğer bir etkileşme ise (yaklaşık 1000 nm derinlik civarında), karakteristik X ışınlarının çıktığı durumdur (enerjileri keV mertebesinde). Buna göre örneğe çarpan elektron, örnekteki atomun iç yörüngesinden bir elektron kopmasına neden olunca, enerji dengelenmesi gereği bir üst yörüngedeki elektron bu seviyeye geçer ve geçerken de ortama bir X ışını yayar ve buna da karakteristik X ışını adı verilir. Bu X-ışını mesela 10 mm çapındaki bir Si (Li) dedektörle algılanır, ortaya çıkan sinyal yükselticiye, oradan çok kanallı analizöre ve daha sonra da SEM sistemin bilgisayarına gönderilir. Sonuçta ortaya çıkan karakteristik X-ışını (ki bu ışının enerjisi her atoma özeldir), SEM'de incelenen malzemenin element bakımından muhtevasının nitel ve nicel olarak tespit edilmesine yardımcı olur.

SEM şekilleri oluşturmak için ışıktan çok elektronları kullanan bir tür mikroskoptur. Işık mikroskobu yerine SEM kullanımının pek çok avantajı vardır. Yapı içinde büyük derinliklerde çalışma olanağına sahiptir. Bu sayede, bir kerede büyük miktarda örneğe odaklanma izini verir. SEM şekilleri yüksek çözünürlükte elde etmemizi sağlar, yani yüksek büyütme ile birbirine yakın yüzeylerin özelliklerini ayrı ayrı incelememizi sağlar. Örnek hazırlamak oldukça kolaydır ki, bazı SEM'ler sadece örneğin iletken olmasına ihtiyaç duyar. Daha yüksek büyütme, daha büyük derinliklere odaklanabilme, geniş çözünürlük, örnek görüntüleme kolaylığı, SEM'i en fazla kullanılan cihaz yapmıştır. SEM'in çalışma prensibini kısaca özetlersek, mikroskobun tepesindeki metalik filamanın ısıtılması sayesinde elektron demeti elde edilir. Elektron demeti yatay bir yörüngeyi takip eder ki bu mikroskop sütununa doğrudur. Bu, onların yollarını elektromanyetik lenslere doğru çevirir. Elektromanyetik lensler elektronları odaklar ve demeti

direkt olarak örnek üzerine gönderir. Demet örneğe çarpar ve örnek üzerinden iki tip elektron (geri yansıyan veya ikincil elektronlar) dışarı çıkar. Dedektörler bu gelen elektronları toplar ve üç boyutta örneği incelememize olanak sağlar [135,136].



Şekil 4.6. Taramalı elektron mikroskobunun şematik gösterimi

2.5. Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM):

Geçirimli elektron mikroskobu, görüntüleme ve kırınım tekniklerini birlikte kullanarak malzemelerin mikro-yapısal incelenmesini ve kristal yapılarının

belirlenmesini birlikte sağlayabilen çok özel bir malzeme karakterizasyon cihazıdır. Bir başka deyişle, nanometre mertebesinde çok küçük ve ince alanlardan, milyon katı büyütmelede malzemenin kristalografik ve morfolojik bilgilerine aynı anda ulaşılmasını olanaklı kılan bir tekniktir. Yüksek ayırma gücü, aynı anda kırınım ve görüntü bilgilerinin alınabilmesi gibi üstünlüklerine rağmen, bu tekniğin de belli sınırlamaları vardır: Üç boyutlu bir numuneden alınan iki boyutlu ve kırınım kökenli görüntülerin yorumlanması uzmanlık gerektirir. Özellikle biyolojik ve polimerik malzemelerde öne çıkan ışın hasarı (beam damage) etkisi numune özelliklerinin değişmesine yol açabilmektedir. En büyük kısıtlama ise numune hazırlamada ortaya çıkar. Elektron mikroskobunda incelenecek numune kesinlikle katı malzeme olmak zorundadır ve 3mm çapında, 100 mm'den daha ince ve elektron geçirgenliğine sahip (bir kaç mm) bir disk olarak hazırlanma zorunluluğu sorun yaratabilir. Dolayısıyla elektron geçirgenliğine uygun olarak hazırlanmamış bir numuneden bir görüntü kontrastı elde etmek mümkün olamamaktadır. TEM'de görüntü ve kırınım bilgisini elde etmenin temel prensibi, ortasında çok küçük bir delik bulunan numuneye paralel bir elektron demeti göndermek ve numuneden doğrudan geçen kırınımına uğramamış ışınları (TB) ve numunenin belirli düzlemlerinden Bragg şartlarına uygun açılarda kırınımına uğramış (DB) ışınları numunenin altında toplamak esasına dayanır. Sırasıyla sadece geçen ışın demetini ve kırınımına uğramış ışınlardan biri kullanılarak yapılan görüntüleme teknikleri olan aydınlık alan ve karanlık alan görüntüleri numunelerdeki mikron altı boyutlardaki oluşumların incelenmesinde, var olan ikinci fazların ayırt edilmesinde en çok kullanılan yöntemlerdir. Yüksek Çözünürlüklü Kafes Görüntülemesi (HRLI) kristal numunelerdeki atomik düzlemlerin izdüşümlerini görüntülemeye kullanılan daha ileri bir tekniktir. Malzemelerin kristal yapılarının belirlenmesinde ise Seçilmiş Alan Kırınım yöntemi kullanılır. Yüksek açılı huzme kırınımı (CBED) ise malzemelerin tam kristalografik analizinde (nokta ve uzay gruplarının belirlenmesi) kullanılabilen bir başka kırınım tekniğidir. Yüksek açılı açılal karanlık alan (HAADF) dedektörüne sahip Taramalı-Geçirimli Elektron Mikroskobu

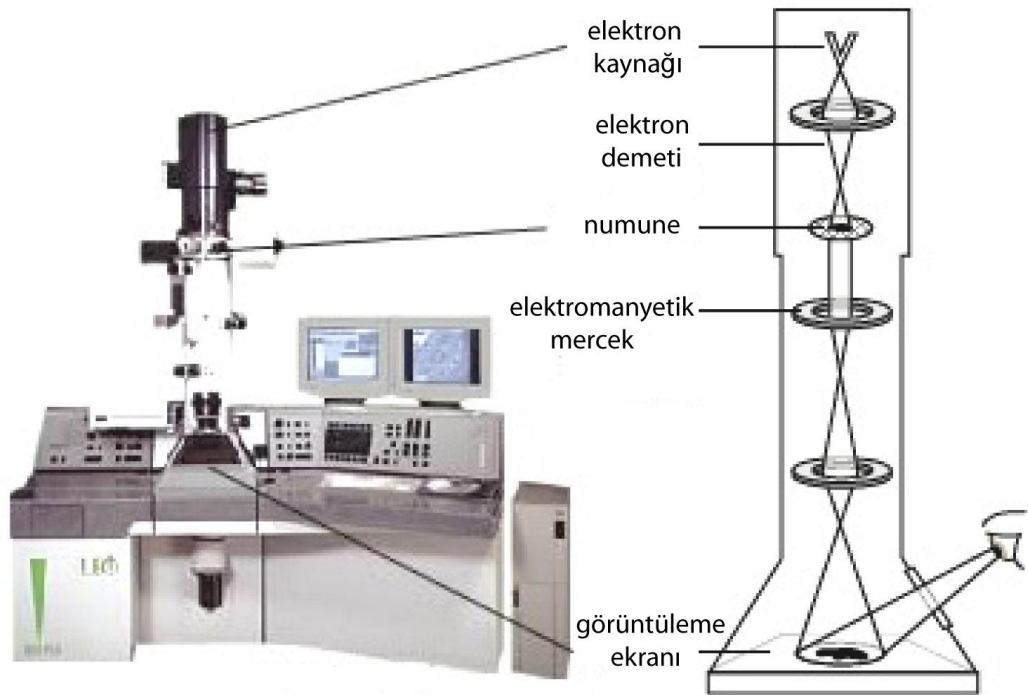
(STEM) HAABF ve HAADF görüntülerinin eldesinde kullanılır. STEM görüntülerinde taramalı elektron mikroskobuna benzer bir mantıkla numuneyi tarayan bir ışıktan alınan sinyallerle görüntü eldesi biraz zaman almakla birlikte, mercek hatalarından arındırılmış görüntüler elde edilmesiyle önemli bir avantaj olarak görülebilir [137].

4.5.1. Numune hazırlama

Toz numuneler bir ependorf içinde uygun sıvıda süspansiyona alınır ve ultrasonik banyoda dağıtıldıktan sonra, ince uçlu şırıngaya çekilip, numuneye uygun ızgara üstüne bir damla damlatılıp, en az bir gece süreyle bekletilerek kurutulur. TEM optik mikroskopa benzer bir çalışma sistemine sahiptir. Tek fark ışık ışını yerine elektron ışını kullanılır. Optik mercekler yerine elektron mercekleri kullanılır. Görüntüler bir ekranda veya fotografik levhada elde edilir. Elektronlar çok kolay bir şekilde yollarından sapabileceklerinden dolayı, bütün işlem ve görüntü eldesi vakum altında yapılır. Elektronlar tungstenden yapılmış akkor flamanlı elektrikle ısıtılan elektron tabancasından yayılır. Anotla flaman arasına 100000 V'luk bir potansiyel farkı uygulanır. Flamandan yayılan elektronlar hızlandırılır ve ekranda yeterli bir görüntü oluşturabilecek kadar güçlendirilir. Bu aşamada 500000 defa büyük bir görüntü elde etmek mümkündür. Optik mikroskoptaki gibi ışınlandırma belirli bir bölgede yoğunlaştırılabilir ancak bu yoğunlaştırma polimerik ve biyolojik örneklerle zarar verebilir. Elektromanyetik mercekler aynen ışık mercekleri gibi elektronların odaklanmasında kullanılır. Elektromanyetik mercek sistemi, cihazın en önemli parçasıdır. Bu mercek sistemi, 50-100 arasında ara bir büyütme elde eder. Büyütme işleminde gelen ışın demetlerinin açısal genişliği küçüldüğü için, projektör sistemi bu büyütülmüş görüntüyü kolayca işler [137].

4.5.2. TEM ile SEM arasındaki farklar

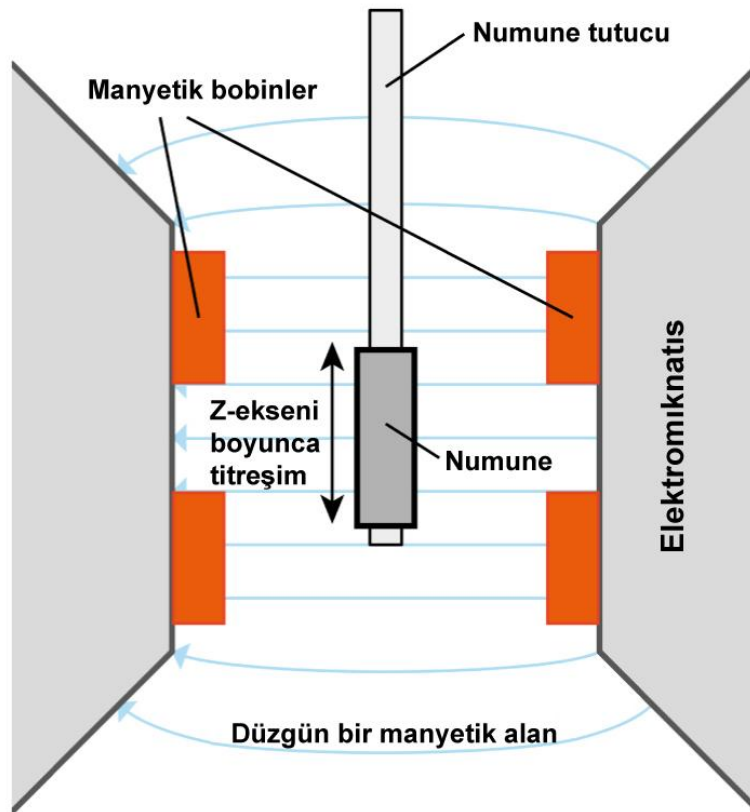
- TEM'de görüntü örnekten geçen elektronlarla oluşturulurken, SEM'de örnekten yansıyan elektronlarla görüntü oluşturulur.
- TEM'de örnekler, elektron ışını geçirecek incelikte hazırlanırken SEM'de böyle bir durum söz konusu değildir. Örnekten geçen ve saçılan ışın manyetik alanlardan oluşan mercekler tarafından büyütüldükten sonra izlenir.
- SEM ile sadece yüzey morfolojisi incelenirken, TEM ile örnek derinlemesine incelenir [137].



Şekil 4.7. Geçirimli elektron mikroskobunun şematik gösterimi

4.6. Titreşen Örnek Manyetometresi (VSM):

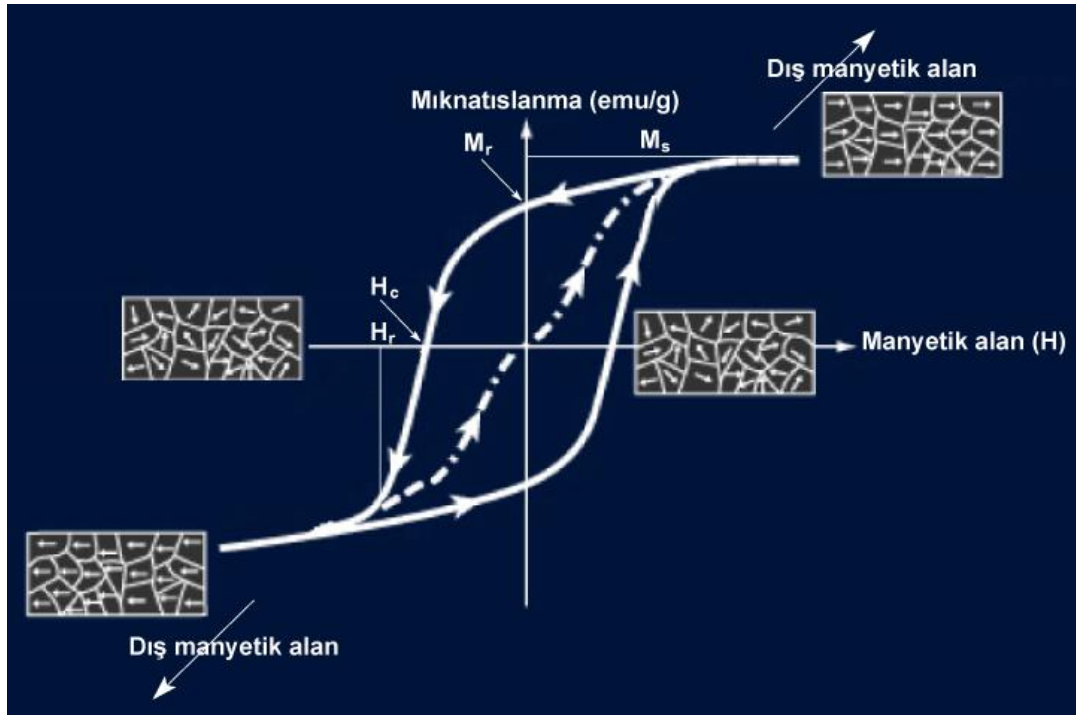
VSM ile mıknatıslanma ölçme metodu, Foner tarafından geliştirilmiştir ve çalışma prensibi, titreştirilen örnek yanındaki sarımlarda meydana gelen akı değişimlerinin ölçülmesine dayanır. Uzun bir çubuğun bir ucunda örnek, diğer ucunda ise titreştirici vardır. Salınarak örnekten gelen manyetik alan sarımlarda değişen elektromotor gücü (emf) meydana getirir. Çubuğun üst ucunda da sarımlar mevcuttur ki bu sarımlar çubuğun üst ucundaki referans uzayının titreşiminden meydana gelen emf değerini kayıt eder ve örnekten gelen ile referanstan gelen emf arasındaki potansiyel fark örneğin manyetik momenti ile ilişkili bir değerdir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Titreşen örnek manyetometresinin şematik gösterimi

4.6.1. Histerezis eğrileri:

Ferromanyetik malzemeler kendilerine uygulanan bir dış manyetik alanı, bu manyetik alan kaldırıldıktan hemen sonra hatırlarlar ve net bir mıknatıslanma meydana getirirler. Bu davranış *histerezis* ve uygulanan manyetik alan ile malzeme içerisindeki mıknatıslanmaya bağlı olan eğri ise “*histerezis eğrisi*” olarak tanımlanır.



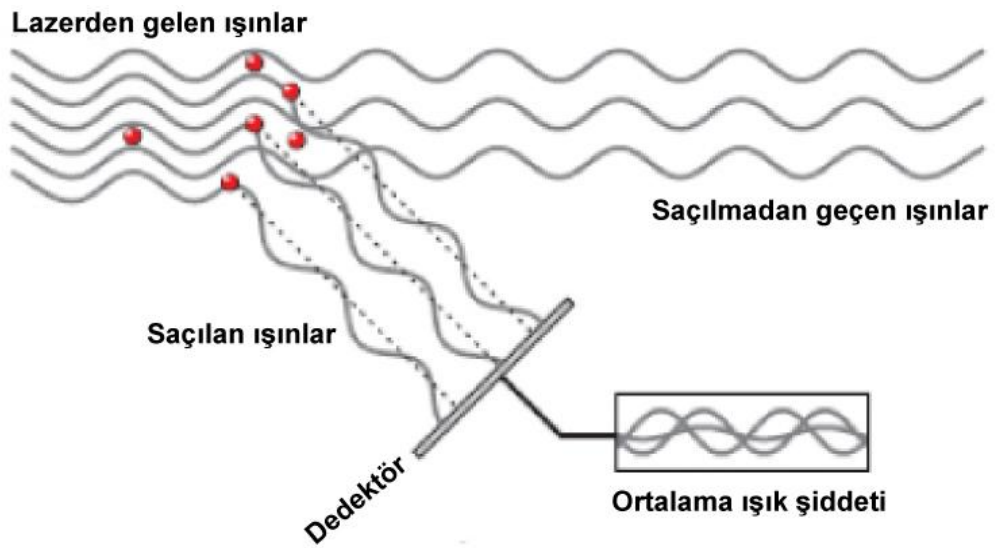
Şekil 4.9. Dış manyetik alana karşı malzeme içerisinde oluşan histerezis eğrisi

Malzemede gözlenebilecek en yüksek mıknatıslanma değerine “doygunluk mıknatıslanması” denir ve “ M_s ” ile gösterilir. Malzeme doygunluk mıknatıslanma değerine ulaştıktan sonra, dış manyetik alan tekrar sıfıra indirilirse, malzeme ilk izlediği rotayı takip etmez. Dış manyetik alan sıfır olsa bile, malzeme içerisinde bir mıknatıslanma vardır. Bu değere “kalıcı mıknatıslanma” denir ve “ M_r ” ile gösterilir. Malzeme içerisindeki mıknatıslanmayı sıfır yapan manyetik alan değerine “koersivite” denir ve “ H_c ” ile gösterilir. Histerezis eğrisinin bir diğer özelliği ise, ters yönde alan

uygulanıp kaldırılırsa, doygun mıknatıslanma değeri sıfır olduğunda belirli bir alan sergiler. Bu değer koersiviteden daha büyük bir değerdir ve “kalıcı koersivite” olarak adlandırılır (H_r). Histerezis eğrisinden elde edilen parametreler, parçacık büyüklüğüne, domainin (alanın) durumuna, sıcaklığa ve strese bağlıdır [138].

4.7. Dinamik Işık Saçılımı (DLS):

Dinamik ışık saçılması (DLS, Dynamic light scattering), mikrosaniyenin onda biri ile mili saniye zaman aralığında, örnek çözeltinin küçük bir kısmından saçılan ışığın zamanla değişiminin ölçülmesidir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. Nanotaneceklerden saçılan ışınların dedektörde ölçülmesi

Saçılan ışığın şiddetindeki değişimler, çalışılan bölgenin içindeki ve dışındaki moleküllerin difüzyon hızıyla ilgilidir. Brown hareketi ve analiz edilen veriler direkt olarak ışık saçılmasına neden olan parçacıkların difüzyon katsayılarını vermektedir. Brown hareketi, bir sıvı ortam içindeki parçacıkların, çevredeki diğer parçacıkların bombardımanı (sürekli çarpışmaları) sonucu yaptıkları rastgele harekettir. (*Brown Hareketi* iki

kavrama işaret etmektedir: -Bir sıvıda yüzen veya asılı parçacıkların rastlantısal hareketi. -Bu hareketi açıklamak için kullanılan matematiksel model. -Bu modele Wiener metodu da denir). Bu sebeple farklı moleköl türleri varlığında, difüzyon katsayılarında dağılım gözlenmektedir. Genellikle, elde edilen verilerin difüzyon katsayısına dönüştürülmesi yerine, parçacıkların büyüklükleri (yarıçap veya çap) hesaplanır. Difüzyon ile parçacık büyüklüğü arasındaki ilişki, küresel parçacık için Einstein tarafından geliştirilen ve Brown hareketi ile açıklanan teorik denklikle açıklanmaktadır. Bu denklikten, küresel parçacıklara ait difüzyon katsayıları fonksiyonlaştırılıp, hidrodinamik çap veya Stokes yarıçapı (r) değerine ulaşılabilmektedir.

$$D=kT/6\pi\eta r \text{ Stokes-Einstein eşitliği} \quad (4.5)$$

Burada,

k: Boltzmann sabiti

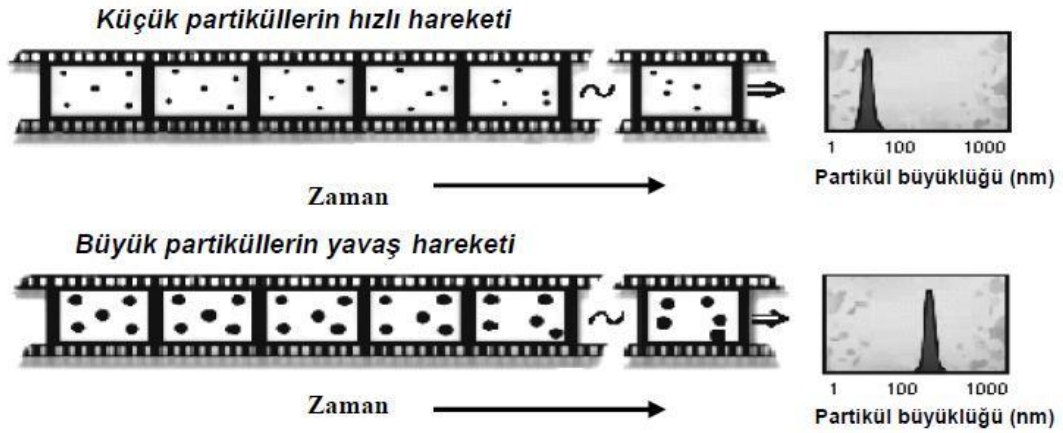
T: Mutlak sıcaklık

η : Viskozite

D: Difüzyon sabiti

r: Küresel parçacığın yarıçapını göstermektedir.

Foton korelasyon spektroskopisi olarak da bilinen dinamik ışık saçılması, parçacık büyüklüğü ölçüm yöntemleri arasında en bilinen tekniktir. Yöntemde lazer gibi, tek renkli bir ışık kullanılır. Küresel parçacıkların bulunduğu örnek çözeltisi üzerine gönderilen ışık, Brown hareketi sonucu ilerleyen parçacıklara çarpar ve dalga boyunda değişikliğe uğrar. Bir sıvı içerisindeki parçacıklar rastgele hareket ederler ve bu hareketlerinin hızları büyüklüklerine bağlıdır. Buna göre, küçük moleküller daha hızlı, büyük moleküller daha yavaş hareket ederler. 100 μ s gibi küçük bir zaman diliminin başlangıç ve bitişinde çekilen iki fotoğraf parçacıkların ne kadar hızlı hareket ettiğini ve sonuçta ne kadar büyük olduğunu verecektir.



Şekil 4.11. Küçük ve büyük parçacıkların Brown hareketi

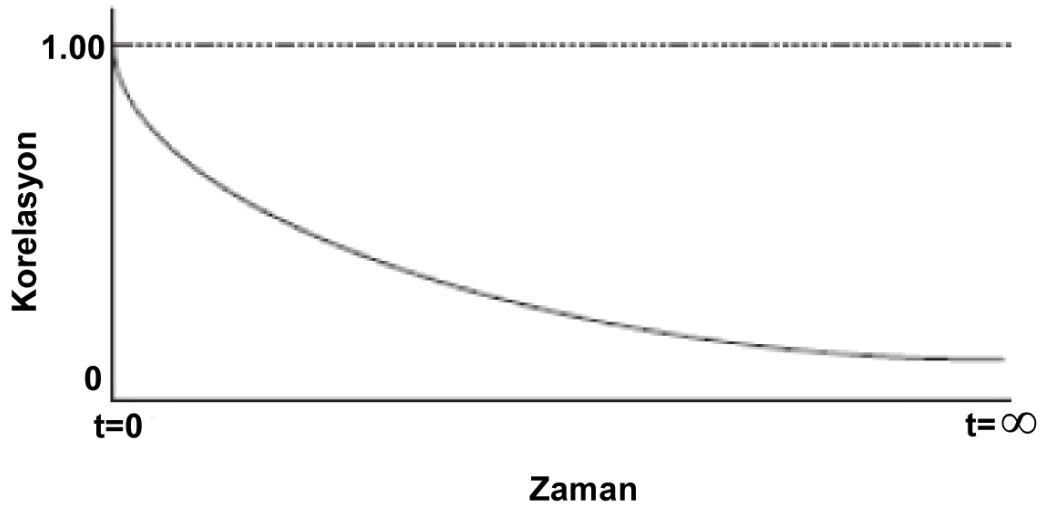
DLS yönteminde parçacık boyutu dolaylı olarak hesaplanır (Şekil 4.11). Yani ilk elde edilen veri ölçülen ışık şiddetidir. Işık şiddeti dağılımının zamanla değişmesinden korelasyon fonksiyonu hesaplanır, bu fonksiyondan difüzyon katsayısı bulunur ve Stokes-Einstein denklemi kullanılarak parçacık boyutu hesaplanır. O halde DLS tekniği için parçacık boyutunun anlamı, parçacığın ölçülen hızıyla difüze olan kürenin çapıdır. Bu çap difüzyon katsayısından hesaplandığından, difüzyonu etkileyen faktörler, sonucu da etkiler. Örneğin parçacık yüklüyse, çözücü ortamındaki parçacık yüzeyine zıt yüklü bir miktar iyon tutunur ve bir elektriksel çift tabaka oluşur; ölçülen çapa elektriksel çift tabaka da dahildir.

4.7.1. Verilerin değerlendirilmesi

Saçılan ışığın şiddetini ölçen parçacık dijital korelatör olarak adlandırılmaktadır. Korelatör temel olarak belirli bir zaman periyodunda 2 sinyal arasındaki benzerliğin derecesini ölçmektedir.

Bir t zamanında ölçülen sinyalin şiddeti ile çok kısa bir süre sonraki sinyalin şiddeti ($t+\delta t$) birbirine çok benzemektedir veya çok güçlü bir şekilde korele

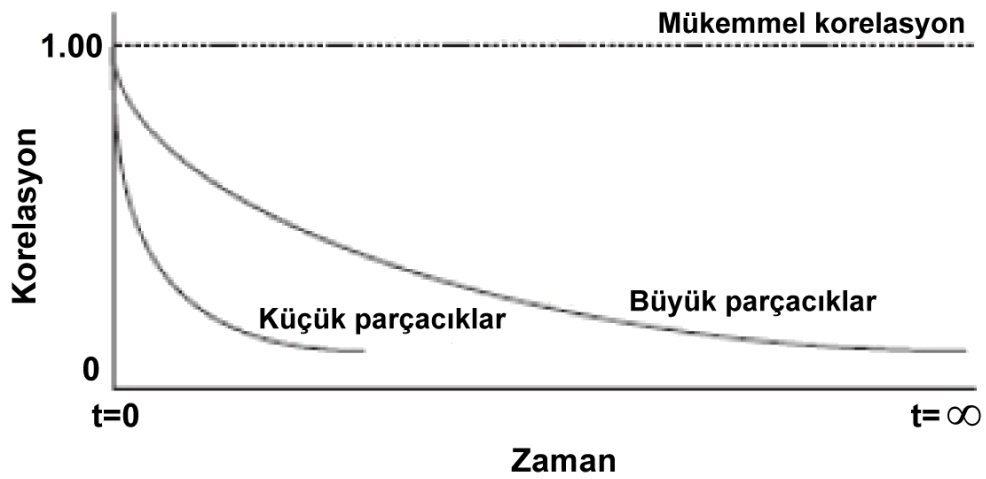
olmaktadır (ilişkili olmaktadır). Eğer ilk sinyalden çok daha uzun bir süre sonra ikinci sinyal alınıyorsa ($t+2\delta t$) bu iki sinyal arasında ancak $t+\delta t$ anındaki kadar olmasada hala uygun bir ilişki vardır. Korelasyon, zamandaki artışla azalmaktadır. Yani t anındaki sinyalin şiddeti ile çok daha uzun zaman sonraki sinyalin şiddeti arasında bir ilişki yoktur. Kısaca parçacıkların rasgele yönlerde yaptıkları Brown hareketlerinden dolayı bu iki sinyal arasında bir ilişki yoktur. Burada bu iki sinyal arasında bir korelasyon olmadığı söylenmektedir. Dinamik ışık saçılımı ile çok kısa bir zaman aralığında çalışılmaktadır. Tipik saçılmada korelasyonu sıfıra düşürmek için gereken süre 1 saniye ile milisaniyenin onda biri arasında olmalıdır. “Kısa bir süre sonra” (δt) ise nanosaniye veya mikrosaniye aralığında olacaktır. t anında şiddetleri özdeş olan sinyaller arasında mükemmel bir korelasyon vardır. Mükemmel korelasyonda sinyal şiddeti 1 iken, eğer korelasyon yok ise sinyal şiddeti 0’dır. Eğer ($t+3\delta t$), ($t+4\delta t$), ($t+5\delta t$), ($t+6\delta t$) vs. anlarındaki sinyal şiddetleri ölçülmeye devam edilirse korelasyon sıfıra ulaşacaktır. Tipik bir korelasyon-zaman eğrisi Şekil 4.12’de gösterilmektedir.



Şekil 4.12. Tipik bir korelasyon-zaman eğrisi

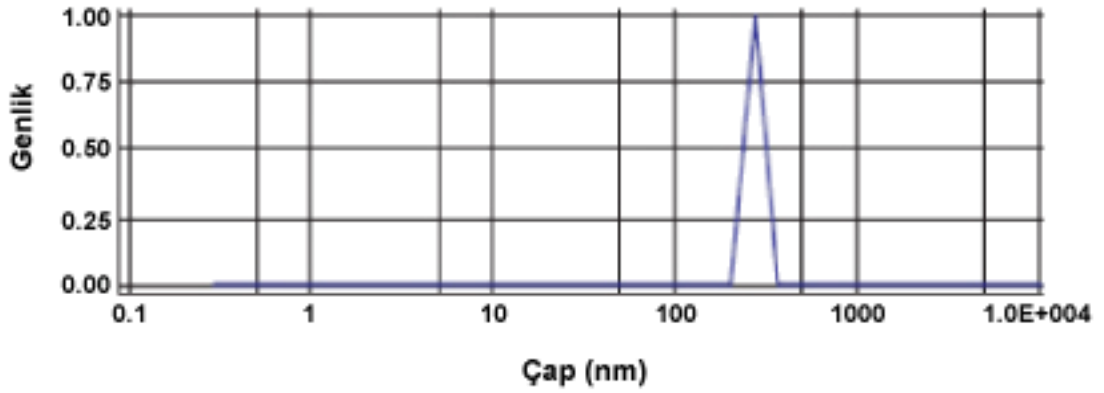
4.7.2. Korelasyon fonksiyonunun kullanılması

Parçacık boyutu ile parçacık hareketi arasındaki ilişki Brown hareketi ile açıklanmaktadır (Stokes-Einstein eşitliği). Büyük parçacıklar yavaş hareket ederlerken, daha küçük parçacıklar çok daha hızlı hareket ederler. Şekil 4.13 küçük ve büyük parçacıklar üzerine korelasyon fonksiyonunun etkisini göstermektedir. Grafikten görüldüğü gibi, küçük parçacıkların korelasyonu büyük parçacıklara göre daha hızlı sıfıra doğru azalmaktadır.



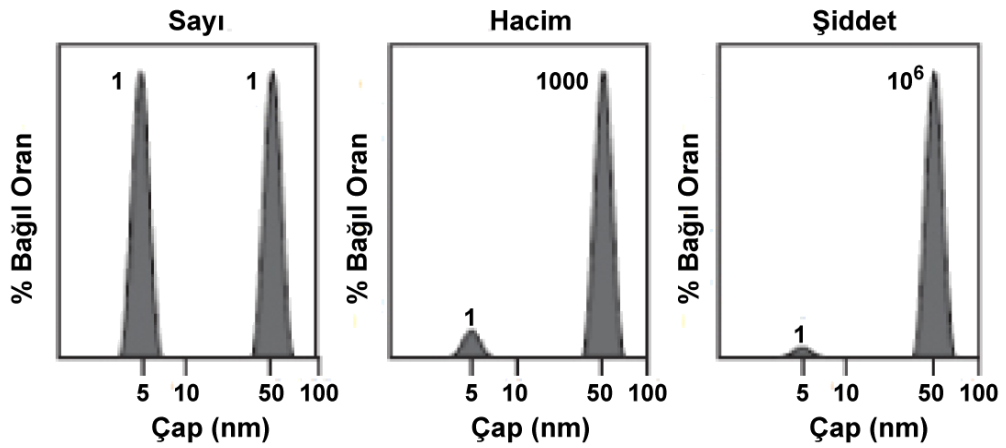
Şekil 4.13. Küçük ve büyük parçacıklar üzerine korelasyon fonksiyonunun etkisi

Korelasyon fonksiyonu boyut dağılımının hesaplanmasında kullanılmaktadır. Tipik bir boyut dağılım grafiği Şekil 4.14'deki gibidir.



Şekil 4.14. Tipik bir boyut dağılım grafiği

4.7.3. Şiddet, hacim ve sayı dağılımları



Şekil 4.15. Sayı, hacim ve şiddet dağılım grafikleri

Şekil 4.15'de gösterilen ilk grafik sayı dağılımı sonucunu göstermektedir. İki pikin aynı boyutta olması (1:1) parçacıkların eşit sayıda olduğunu göstermektedir. İkinci grafik hacim dağılımını göstermektedir. 50 nm'lik parçacıklara ait pikin altında kalan alanın 5 nm'lik parçacıklara ait pikin altında kalan alandan 1000 kere daha büyük olduğu görülmektedir. Bu durum, 50 nm'lik parçacıkların hacminin 5 nm'lik parçacıkların hacminden 1000 kere daha büyük olmasının bir sonucudur (kürenin hacmi $\frac{4}{3}\pi r^3$ 'e

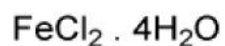
eşittir). Üçüncü grafik ise, şiddet dağılımını göstermektedir. 50 nm'lik parçacıklara ait pikin altındaki alan 5 nm'lik parçacıklara ait pikin altında kalan alandan 1000000 kere daha büyük olduğu grafikten görülmektedir. Bu durum, 50 nm'lik parçacıklardan saçılan ışığın şiddetinin 5 nm'lik parçacıklardan saçılan ışık şiddetinden 1000000 kere daha büyük olmasının bir sonucudur [139,140].

5. DENEYSEL KISIM

5.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

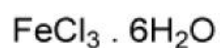
Bu çalışmada manyetik nanotaneciklerin sentezinde kullanılan demir(II) klorür tetrahidrat ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, % 99,99) ve demir(III) klorür hekzahidrat ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\geq$ % 99,0) Aldrich firmasının ürünleridir. Sentezlenen manyetik nanotaneciklerin modifikasyonlarında kullanılan tetraetilortosilikat (TEOS, % 99,999), (3-aminopropil)trioksisilan (APTES, % 99,0), amonyum hidroksit çözeltisi (NH_4OH , % 28,0 $\text{NH}_3:\text{H}_2\text{O}$, m:m, % 99,99), dopamin hidroklorür (% 95,0), 2-amino-2(hidroksimetil)-1,3-propandiol (Tris bazı) (primer standart ve tampon, $\geq$ % 99,9), glikoz ($\geq$ %99,0), gümüş nitrat (% 99,9999), amonyak (NH_3 , susuz, % 99,99), polivinilprolidon (PVP10), 11-merkaptoundekanoik asit (MUA, % 98,0), hidroklorik asit (HCl , % 36,5-38,0), sodyum hidroksit (NaOH , % 99,99), mutlak etanol (susuz, $\geq$ % 99,5) ve aseton (HPLC saflığında, $\geq$ 99,9) Aldrich firmasından temin edilmiştir. Manyetik nanotaneciklerin immünosensör platformları olarak hazırlanabilmesi için anti-immünoglobülin G (anti-IgG), anti-ferritin, immünoglobülin G (IgG), ferritin antikor ve antijenleri kullanılmıştır. Hazırlanan immünosensörlerin seçiciliklerini ve özgül antijen bağlama ilgilerini araştırmak amacıyla fibrinojen (Fbg), hemoglobin (Hb), miyoglobin (Mb) ve lizozim (Lys) proteinleri kullanılmıştır. Bu biyomoleküllerin her biri Sigma firmasından temin edilmiştir. Biyomoleküllerin kovalent bağlanması için kullanılan 1-etil-3-(3-dimetilamino-propil) karbodiimid hidroklorür (EDC, % 99,0) ve N-hidroksisüksinimit (NHS, % 98,0) Aldrich firmasından satın alınmıştır. İmmünosensör çalışmaları fosfat tampon çözeltisinde (PBS, pH=7,4) gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla Aldrich firmasından satın alınan fosfat tampon tabletleri kullanılmıştır. Kullanılan bütün kimyasal maddeler analitik saflıktadır ve hiçbir saflaştırma işlemine tabi tutulmamışlardır. Ayrıca çalışmaların her aşamasında deiyonize su kullanılmıştır.

Kullanılan maddelerin kimyasal yapıları aşağıda gösterilmiştir:



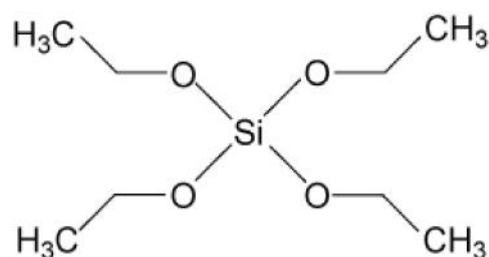
Demir(II)klorür tetrahidrat

Mol kütlesi : 198,81 g/mol



Demir(III)klorür hekzahidrat

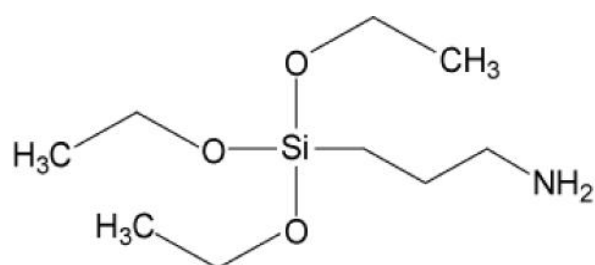
Mol kütlesi : 270,30 g/mol



Tetraetilortosilikat
(TEOS)

Mol kütlesi: 208,33 g/mol

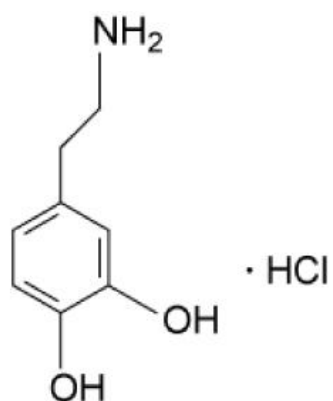
ρ : 0,933 g/mL



(3-aminopropil)trietoksisilan
(APTES)

Mol kütlesi: 221,37 g/mol

ρ : 0,946 g/mL

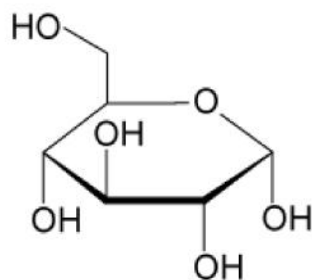


Dopamin hidroklorür

Mol kütlesi : 189,64 g/mol



2-amino-2-(hidroksimetil)-1,3-propandiol
(TRIS)
Mol kütlesi : 189,64 g/mol

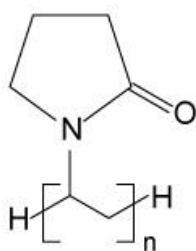


D-(+)-Glikoz
Mol kütlesi : 180,16 g/mol

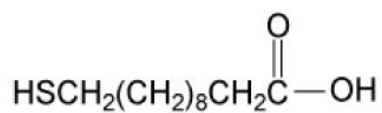


Gümüş nitrat

Mol kütlesi : 169,87 g/mol

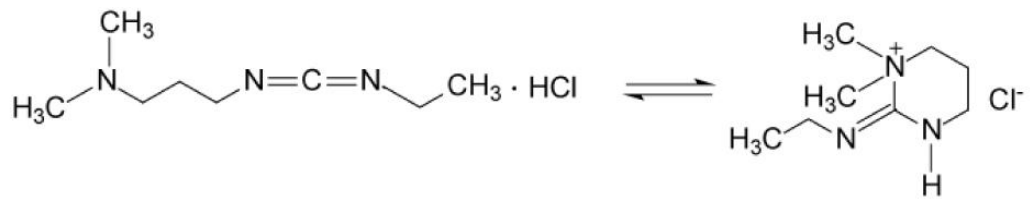


Polivinilpirolidon
(PVP)
Ortalama mol kütlesi : 10000 g/mol



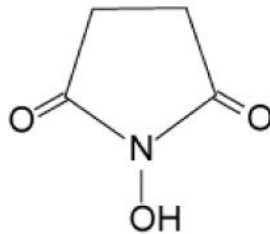
11-merkaptoundekanoik asit
(MUA)

Mol kütlesi : 218,36 g/mol



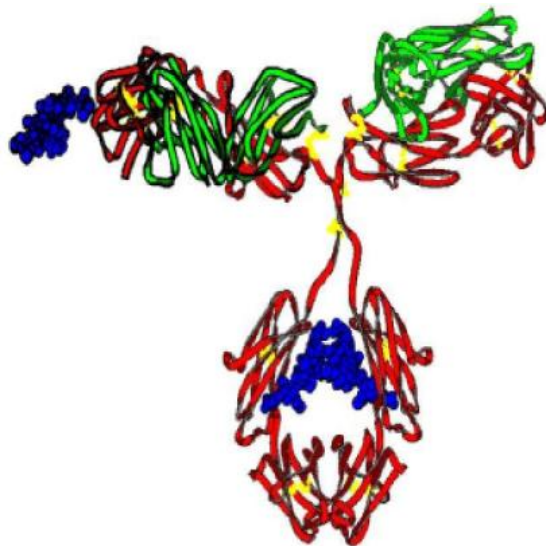
N-(3-Dimetilaminopropil)-*N'*-etilkarbodiimid hidroklorür
(EDC)

Mol kütlesi : 191,70 g/mol



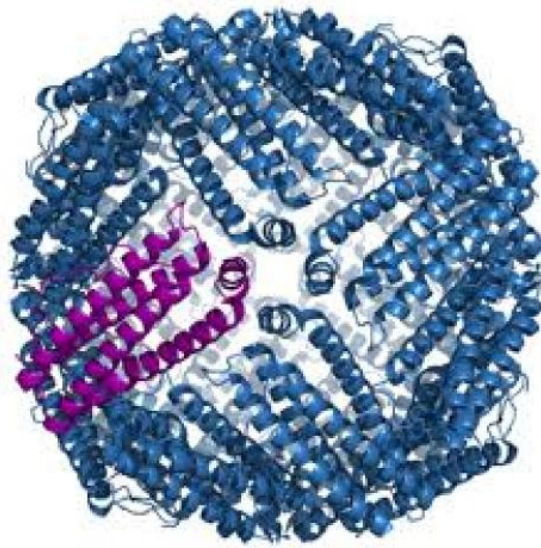
N-Hidroksisüksinimit
(NHS)

Mol kütlesi : 115,09 g/mol



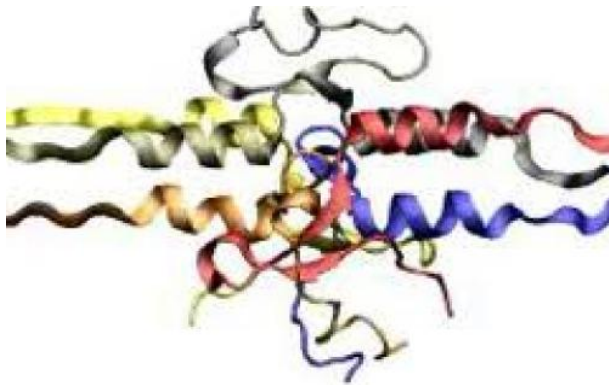
IgG (antikör)
Mol kütlesi : 160 kDa

IgG (antijen)
Mol kütlesi : 156 kDa

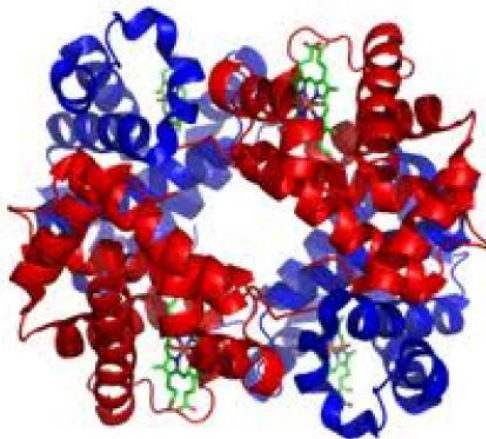


Ferritin (antikor)
Mol kütlesi : 65 kDa

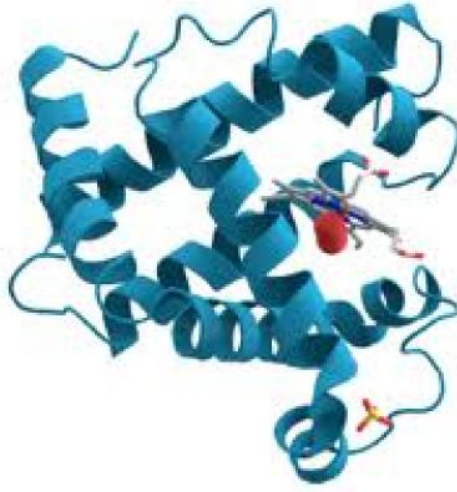
Ferritin (antijen)
Mol kütlesi : 21 kDa



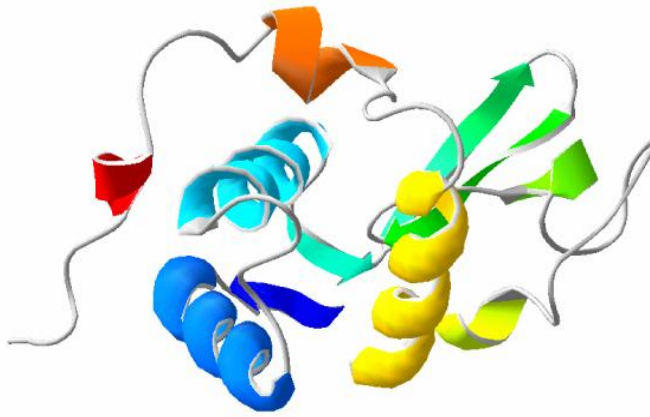
Fibrinogen
(Fbg)
Mol kütlesi : 340 kDa



Hemoglobin
(Hb)
Mol kütlesi : 65 kDa



Miyoglobin
(Mb)
Mol kütlesi : 17 kDa



Lizozim
(Lys)
Mol kütlesi : 14 kDa

5.2. Manyetik Nanotaneciklerin Sentezi

2M Fe^{2+} ve 1M'lık Fe^{3+} çözeltileri $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ve $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 'ın 25 mL ultra saf su içinde çözülmesiyle hazırlandı. Manyetik nanotanecikler, 50 °C' da 1 mL/dak. akış hızındaki $\text{N}_2(\text{g})$ atmosferinde 1,5 M NaOH çözeltisinin bir büretten damla damla çözeltiye eklenmesiyle sentezlendi. Çözeltinin çok hızlı bir şekilde karıştırılması sonucunda siyah renkli manyetik nanotaneciklerin hemen oluştuğu gözlemlendi. Hazırlanan manyetik nanotanecikler mutlak etanol ve ultra saf su ile yıkandıktan sonra etanolde yeniden dağıtıldılar. Yıkama işlemi boyunca manyetik nanotanecikler sürekli

bir manyetik alan uygulanarak toplandı ve 50 °C vakum etüvünde 12 saat kurutuldu.

5.3. Silika Kaplı Manyetik Nanotaneciklerin Sentezi

20 mg Fe_3O_4 nanotanecik, 80 mL etanol, 20 mL ultra saf su ve 5 mL tetraetilortosilikat (TEOS) 250 mL' lik 3 boyunlu tepkime balonuna konulduktan sonra karışım 20 dakika boyunca ultrasonik dalgaya tabi tutularak dağıtıldı. Hazırlanan bu karışıma kütlece % 28' lik NH_4OH çözeltisi damla damla ilave edildikten sonra 850 rpm hızla oda sıcaklığında 12 saat boyunca karıştırıldı. Elde edilen silika kaplı manyetik nanotanecikler dış manyetik alan uygulanmasıyla toplanarak mutlak etanol ile yıkandı ve 50 °C vakum etüvünde 12 saat kurutuldu.

5.4. APTES Modifiyeli Manyetik Nanotaneciklerin Sentezi

Amino fonksiyonel uçlu silika kaplı manyetik nanotanecikler silanlama ajanı olarak (3-aminopropil) trietoksisilan (APTES)'in kullanılmasıyla hazırlandı. Bu amaçla, 20 mg/mL derişime sahip olacak şekilde silika kaplı nanotanecikler 50 mL' lik 3 boyunlu balon içerisine konulduktan sonra 30 dakika boyunca etanol içerisinde ultrasonik dalgaya tabi tutularak dağıtıldı. Silanlama ajanı olan APTES (APTES-nanotanecik, m:m, 0,35:1) eklendikten sonra 50 °C'da 24 saat boyunca yüksek hızla karıştırıldı. Hazırlanan amin modifiyeli silika kaplı manyetik nanotanecikler etanol ve aseton ile yıkandıktan sonra bir mıknatıs yardımıyla toplandı ve 50 °C vakum etüvünde 12 saat kurutuldu.

5.5. Polidopamin Kaplı Manyetik Nanotaneciklerin Sentezi

Öncelikle dopamin derişimi 2 mg/mL olacak şekilde, Tris-HCl (10 mM, pH=8,5) tampon çözeltisinde çözüldü ve 5 mg manyetik nanotanecik 100 mL dopamin çözeltisinde dağıtıldı. Ardından bu çözelti oda sıcaklığında 24

saat boyunca yüksek hızla karıştırıldı. Dopaminin manyetik nanotaneciklerin yüzeyinde kendiliğinden polimerleşmesinin ardından nanotanecikler mıknatıs yardımıyla toplandı ve ultra saf su ile oda sıcaklığında 12 saat boyunca karıştırıldı ve 50 °C vakum etüvünde 12 saat kurutuldu.

5.6. Gümüş Kaplı Manyetik Nanotaneciklerin Sentezi

Gümüş kaplı manyetik nanotanecikler, gümüş iyonlarının PDA kaplı nanotaneciklerin yüzeyinde indirgenmesiyle hazırlandı. Bu amaçla öncelikle AgNO₃ (30 g/L, 100 mL) çözeltisi içerisine %28'lik amonyak çözeltisinin damla damla ilave edilmesiyle amonyaklı gümüş nitrat çözeltisi hazırlandı. PDA kaplı manyetik nanotanecikler renksiz amonyaklı gümüş nitrat çözeltisi içine eklenerek 20 dakika boyunca ultrasonik dalgaya tabi tutularak dağıtıldı. [Ag(NH₃)₂]⁺ iyonlarını indirgemek amacıyla bu karışıma 100 mL 1 M glikoz çözeltisi eklendi. Burada AgNO₃:glikoz arasındaki oran kütlece 2:1 olarak belirlendi. Amonyaklı gümüş nitrat ve glikoz çözeltisinden oluşan karışıma kütlece % 0,02 etanol ve % 0,02 PVP eklendi. Akımsız kaplama olarak adlandırılan bu işlemten sonra gümüş kaplı manyetik nanotanecikler birkaç defa ultra saf su ile yıkandı ve mıknatıs yardımıyla toplandı ve 50 °C vakum etüvünde 12 saat kurutuldu.

5.7. MUA Modifiyeli Gümüş Kaplı Manyetik Nanotaneciklerin Sentezi

Öncelikle 11-merkaptoundekanoik asitin (MUA) 20 mL etanol içerisinde farklı derişimlerde (1 mM, 2 mM, 3 mM, 4 mM, 5 mM) çözeltileri hazırlandı. Her bir çözeltiliye 5 mg gümüş kaplı manyetik nanotanecikler eklendi ve 50 mL/dak. akış hızındaki N₂(g) atmosferinde 6 saat boyunca karıştırıldı. Gümüş tabakası ile MUA yapısındaki -SH grubu arasındaki ligand değişiminden sonra karboksillenmiş gümüş kaplı manyetik nanotanecikler, tepkimeye girmeyen tiyollerin uzaklaştırılması için etanol ve ultra saf su ile yıkandı. Mıknatıs yardımıyla toplanan nanotanecikler 50 °C vakum etüvünde 12 saat kurutuldu.

5.8. Manyetik Nanotaneciklere Antikor Bağlanması

APTES kullanılarak amin grubu ile fonksiyonelleştirilen manyetik nanotaneciklere antikor bağlanmasında kullanmak üzere öncelikle, fosfat tampon çözeltisinde (PBS, pH=7,4) 0,1 mg/mL derişimli anti-IgG ve anti-ferritin çözeltileri hazırlandı. Antikor çözeltilerine (anti-IgG ve anti-ferritin) 1-etil-3-(3-dimetilamino-propil) karbodiimid hidroklorür/N-hidroksisüksinimit (EDC/NHS, m:m, 1:1) eklendikten sonra karboksilli asit gruplarının aktivasyonu için 1 saat boyunca düşük hızda karıştırıldı. APTES ile modifiye edilen manyetik nanotaneciklerin pH=7,4 olan PBS'de hazırlanan 1 mg/mL derişimli 1mL'lik çözeltisi 20 dakika ultrasonik dalgaya tabi tutularak dağıtıldıktan sonra üzerine EDC/NHS ile karboksilli asit grupları aktifleştirilen antikor (anti-IgG ve anti-ferritin) çözeltileri eklendi ve bu karışımlar 2 saat boyunca düşük hızda karıştırıldı. IgG ve ferritin antikorlarının kovalent bağlandığı APTES modifiyeli manyetik nanotanecikler dış manyetik alan uygulanmasıyla toplanarak birkaç defa tampon çözelti ile yıkandı. Ardından yıkama çözeltisi ve kalan serbest antikor (anti-IgG ve anti-ferritin) çözeltileri birleştirilerek UV-Vis spektrofotometresi ile absorbansları ölçüldü ve nanotanecik yüzeyine kovalent bağlanan antikor miktarları tayin edildi. Dış manyetik alan uygulanarak toplanan antikor kaplı nanotanecikler non-spesifik protein adsorpsiyonunun engelenebilmesi için kütlece % 0,1 BSA çözeltisi içinde 30 dakika ultrasonik dalgaya tabi tutularak yeniden dağıtıldı ve +4°C'da bekletildi.

Karboksilli asit fonksiyonel uçlu gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin biyofonksiyonelleştirilmesi için ilk olarak, nanotaneciklerin fosfat tampon çözeltisinde (pH=7,4) hazırlanan 1mL'lik çözeltileri (1 mg/mL) 20 dakika ultrasonik dalgaya tabi tutularak dağıtıldıktan sonra bu çözeltilere EDC/NHS (m:m, 1:1) eklenerek karboksilli asit gruplarının aktivasyonu gerçekleştirildi. Üzerine PBS (pH=7,4) içinde hazırlanan 0,1 mg/mL derişimli anti-IgG ve anti-ferritin çözeltileri eklendi ve karışımlar 2 saat boyunca düşük hızda

karıştırıldı. Anti-IgG ve anti-ferritin kovalent bağlandığı MUA modifiyeli gümüş kaplı manyetik nanotanecikler mıknatıs ile toplanarak birkaç defa tampon çözelti ile yıkandı. Yıkama çözeltisi ve serbest antikor (anti-IgG ve anti-ferritin) çözeltileri birleştirildikten sonra absorbansları ölçüldü. Böylece gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin yüzeyine kovalent bağlanan antikor miktarları tayin edildi. Manyetik alan ile toplanan antikor kaplı nanotanecikler non-spesifik protein adsorpsiyonunun engellenebilmesi için kütlece % 0,1 BSA çözeltisi içinde 30 dakika ultrasonik dalgaya tabi tutularak yeniden dağıtıldı ve +4°C'da bekletildi.

Dopaminin nanotanecik yüzeyinde kendiliğinden polimerleşmesi ile hazırlanan PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin biyofonksiyonelleştirilmesi için ise, nanotaneciklerin fosfat tampon çözeltisinde (pH=7,4) hazırlanan 1mL'lik çözeltileri (1 mg/mL) 20 dakika ultrasonik dalgaya tabi tutularak dağıtıldıktan sonra bu çözeltilere PBS (pH=7,4) içinde hazırlanan 0,1 mg/mL'lik anti-IgG ve anti-ferritin çözeltileri eklendi ve karışımlar 2 saat boyunca düşük hızda karıştırıldı. Anti-IgG ve anti-ferritin kovalent bağlandığı PDA kaplı manyetik nanotanecikler mıknatıs ile toplanarak birkaç defa tampon çözelti ile yıkandı. Yıkama çözeltisi ve serbest antikor (anti-IgG ve anti-ferritin) çözeltileri birleştirildikten sonra absorbansları ölçüldü. Böylece PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin yüzeyine kovalent bağlanan antikor miktarları tayin edildi. Dış manyetik alanın uygulanmasıyla ile toplanan biyofonksiyonel nanotanecikler non-spesifik protein adsorpsiyonunun engellenebilmesi için kütlece % 0,1 BSA çözeltisi içinde 30 dakika ultrasonik dalgaya tabi tutularak yeniden dağıtıldı ve +4°C'da bekletildi.

5.9. Manyetik Nanotaneciklerde Antikor-Antijen Bağlanma Kinetiği

Antikor-antijen etkileşimlerini incelemek amacıyla, anti-IgG ile biyofonksiyonelleştirilen manyetik nanotanecikler derişimi 1 mg/mL olacak şekilde 1 mL PBS (pH=7,4) içinde dağıtıldı ve üzerine 0,1 mg IgG antijeni

eklendi. Aynı şekilde, anti-ferritin ile biyofonksiyonelleştirilen manyetik nanotanecekler derişimi 1 mg/mL olacak şekilde 1 mL PBS (pH=7,4) içinde dağıtıldı ve üzerine 0,1 mg ferritin antijeni eklendi. Elde edilen karışımlar 1 saat boyunca düşük hızda karıştırıldı. 60 dakika boyunca her 5 dakikada bir serbest antijen çözeltisinin UV-Vis spektrofotometresi ile absorbansı ölçülerek antikora özgül olarak bağlanan antijen miktarı ve antikor-antijen reaksiyon süresi belirlendi.

5.10. Manyetik Nanotaneceklerde Antikor-Antijen Komplekslerinin Ayrışma Sabitleri

Antikor-antijen etkileşimlerini incelemek amacıyla, anti-IgG ile biyofonksiyonelleştirilen manyetik nanotanecekler derişimi 1 mg/mL olacak şekilde 1 mL PBS (pH=7,4) içinde dağıtıldı ve üzerine 5 farklı derişimde hazırlanan (0,1, 0,05, 0,025, 0,0125 ve $6,25 \times 10^{-3}$ mg/mL) IgG çözeltileri eklendi. Aynı şekilde, anti-ferritin ile biyofonksiyonelleştirilen manyetik nanotanecekler derişimi 1mg/mL olacak şekilde 1 mL PBS (pH=7,4) içinde dağıtıldı ve üzerine 5 farklı derişimde hazırlanan (0,1, 0,05, 0,025, 0,0125 ve $6,25 \times 10^{-3}$ mg/mL) ferritin çözeltileri eklendi. Elde edilen karışımlar 1 saat boyunca düşük hızda karıştırıldı. 60 dakikanın sonunda her bir çözeltinin UV-Vis spektrofotometresi ile absorbansı ölçülerek antikora özgül olarak bağlanan antijen miktarı belirlenerek antikor-antijen komplekslerinin ayrışma sabitleri hesaplandı.

5.11. Hedef Proteine Seçicilik

Anti-IgG ve anti-ferritin bağlı manyetik nanotaneceklerin hedef proteine seçicilik çalışmaları Lizozim (Lys), Miyogloblin (Mb), Hemogloblin (Hb) ve Fibrinojen (Fbg) gibi farklı plazma proteinleri kullanılarak gerçekleştirildi. Bu amaçla öncelikle, antikora özgül antijeni ve bu proteinlerden birini içeren protein karışımları hazırlandı. Bu protein karışımları, anti-IgG ile biyofonksiyonelleştirilen manyetik nanotanecekler için Lys/IgG, Mb/IgG,

Hb/IgG ve Fbg/IgG iken, anti-ferritin bağılı manyetik nanotanecekler için Lys/ferritin, Mb/ferritin, Hb/ferritin ve Fbg/ferritin şeklindeydi. Anti-IgG ve anti-ferritin ile biyofonksiyonelleştirilen manyetik nanotanecekler (1 mg/mL) pH= 7,4 olan PBS içinde hazırlanan 0,1 mg/mL'lik farklı protein-antijen karışımlarına eklendi ve 1 saat boyunca düşük hızda karıştırıldı. Bu sürenin sonunda nanotanecekler protein-antijen karışımlarından mıknatıs yardımıyla toplandı ve PBS ile yıkandı. Serbest protein-antijen çözeltilerinin absorbanları UV-Vis spektrofotometresi ile ölçüldü. Antikor bağılı nanotaneceklerin adsorpsiyon kapasiteleri okunan absorban değerleri kullanılarak belirlendi.

5.12. Nanotaneceklerin Karakterizasyonu

5.12.1 Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR)

Nanotaneceklerin ATR-FT-IR spektrumları, Thermo Nicolet 6700 marka spektrometre kullanılarak elde edildi. 2 cm^{-1} çözünürlük ve 128 tarama ile spektrumlar alındı

5.12.2. X-ışınları fotoelektron spektroskopisi (XPS)

Nanotaneceklerin kimyasal analizi SPECS ESCA marka Mg/Al çift anotlu XPS sistemi ile monokromatik Al K α uyarılması kullanılarak yapıldı. Nanotaneceklerin yüzey taraması 160 eV geçiş enerjisi ile 15 kV ve 10 mA'lık akımla gerçekleştirildi. Örnek yüzey alanı 5x5 mm² olarak tutuldu. Elementlerin bağlanma enerjileri 285 eV' daki C-C1s fotoelektronları referans alınarak belirlendi.

5.12.3. X-ışınları difraktometresi (XRD)

Nanotaneceklerin kristaliniteleri ve kristal yapıları Bruker D8-Discover marka X-ışınları difraktometresi kullanılarak belirlendi.

5.12.4. Geçirimli elektron mikroskobu (TEM)

TEM görüntüleri için JEOL JEM 2100F STEM sistemi kullanıldı. Öncelikle 10 µL etanolde dağıtılan nanotanecikler karbon film ile kaplı bakır grid üzerine biriktirildi ve çözücü olarak kullanılan etanol grid üzerinden oda sıcaklığında buharlaştırıldıktan sonra alan emisyon tabancalı (FEG), 80-200 kV aralığında hızlandırıcı voltaj altında çalışan TEM ile nanotanecikler karakterize edildi.

5.12.5. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

SEM görüntüleri için JEOL JSM-6060 LV sistemi kullanıldı. Öncelikle 10 µL etanolde dağıtılan nanotanecikler stamp üzerine biriktirildi ve etanol 50 °C vakum etüvünde buharlaştırıldıktan sonra nanotanecikler altın ile kaplandı. Elektron kaynağı olarak K-tipi tungsten filamanın kullanıldığı 30 kV hızlandırıcı voltajı ve 8 mm çalışma aralığı koşullarında 3,5 nm çözünürlükle SEM görüntüleri elde edildi.

5.12.6. Dinamik ışık saçılımı (DLS)

Nanotaneciklerin dinamik boyut dağılımları Malvern Zetasizer Nano ZS marka dinamik ışık saçılması ölçüm cihazı ile belirlendi. Ölçümler için nanotaneciklerin deiyonize suda 0,1 g/L derişimde dispersiyonları hazırlandı. Ardından her bir dispersiyon 30 dakika süresince ultrasonik dalgaya tabi tutuldu ve oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Ölçümler 4 mW He-Ne laser ($\lambda = 633$ nm) kullanılarak oda sıcaklığında gerçekleştirildi.

5.12.7. Manyetometre

Nanotaneciklerin manyetik ölçümleri 25 °C' da 7T manyetik alan uygulanarak süperiletken kuantum girişim manyetometresi (Cryogenic Limited PPMS sistem) kullanılarak gerçekleştirildi.

6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

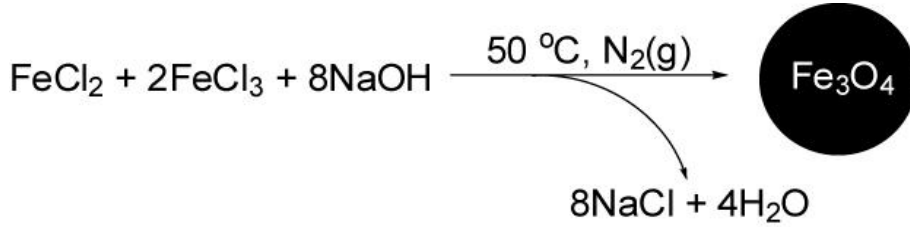
6.1. Manyetik, Silika Kaplı ve Amin Modifiyeli Manyetik Nanotaneciklerin Sentezi ve Karakterizasyonu

Fe_3O_4 veya $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanotaneciklerin sentezlenmesinde en çok kullanılan yöntemlerden birisi ikili çöktürmedir. Bu yöntem ile manyetik nanotanecikler oda sıcaklığında veya yüksek sıcaklıklarda oldukça bazik çözeltilerde demir (III) ve demir (II) iyonlarının 2:1 mol oranlarında karıştırılmasıyla elde edilmektedir. Demir oksit nanotaneciklerinin şekli ve boyutu kullanılan tuz türüne (örneğin, klorürler, sülfatlar, nitratlar, perkloratlar, vs), demir (III) ve demir (II) iyonları oranına, ortamın pH değerine, ortamın iyonik şiddetine, tepkime sıcaklığına ve diğer tepkime parametrelerine (karıştırma hızı, eklenen bazın damlama hızı) bağlıdır [141,142].

Modifiye edilmemiş manyetik nanotanecikler aralarındaki manyetik dipolar etkileşimler nedeniyle kümelenme, topaklanma davranışı gösterirler ve bu durum tek etki alan modeliyle nanotaneciklerin kendilerine özgü üstün özelliklerini engeller. Manyetik nanotaneciklerin kümelenmesi kararlaştırıcı olarak bir yüzey aktif madde (bazı organik moleküller veya polimerler) kullanılması [143], elektrostatik bir çift tabaka oluşturulması [144] veya sitrik asit ve silika kaplama ile izoelektronik noktasının değiştirilmesi suretiyle önlenabilir [145,146]. Genellikle manyetik nanotaneciklerin silika tabakası ile kaplanması sıvı içindeki kümelenmelerini engellerken fiziksel kararlılığını artırmaktadır. Aynı zamanda, manyetik nanotaneciklerin yüzeylerine spesifik biyo-ligandları kovalent bağlamak için silanol yüzeyler ara bağlayıcılarla (amin, karboksilik asit, aldehit uç grupları içeren organosilan molekülleri) fonksiyonel hale getirilebilir [143].

Bu bilgiler ışığında Bölüm 5.2’de anlatıldığı şekilde $\text{Fe}^{3+}:\text{Fe}^{2+}$ (2:1) iyonlarından ikili çöktürme yöntemi ile alkali ortamda demir tuzları oluşturulmuş ve bu tuzların kontrollü bir şekilde yükseltgenmesiyle manyetik

nanotanecikler elde edilmiştir. Fe(III)/Fe(II) türleri ile NaOH arasındaki kimyasal tepkime ile manyetik nanotaneciklerin oluşumu Şekil 6.1’de şematize edilmiştir.

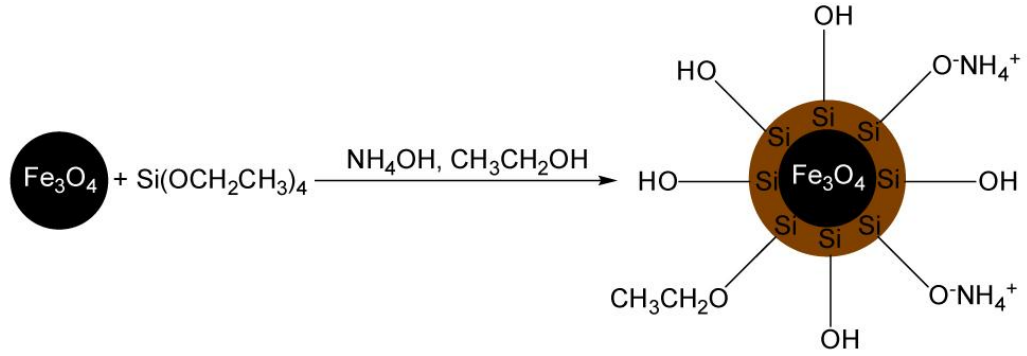


Şekil 6.1. Manyetik nanotaneciklerin ikili çöktürme yöntemiyle bazik ortamda sentezi

50 °C’da bazik ortamda ikili çöktürme yöntemiyle sentezlenen manyetik nanotanecikler Bölüm 5.3’de anlatıldığı gibi silika kaplanmıştır. Tetraetilortosilikatın (TEOS) etanol ve katalizör olarak kullanılan NH₄OH çözücü karışımı içerisinde gerçekleştirilen kondenzasyon ve hidroliz tepkimeleri sonucunda silika kaplı manyetik nanotanecikler hazırlanmıştır. Genellikle hidroliz tepkimesini tek başına hidrolize olabilen TEOS monomeri vermektedir (Eşitlik 6.1). Bu hidroliz tepkimesi sonucu meydana gelen ara ürün, kondenzasyon tepkimesi sonucunda silika kaplı manyetik nanotanecikleri oluşturmaktadır (Eşitlik 6.2).

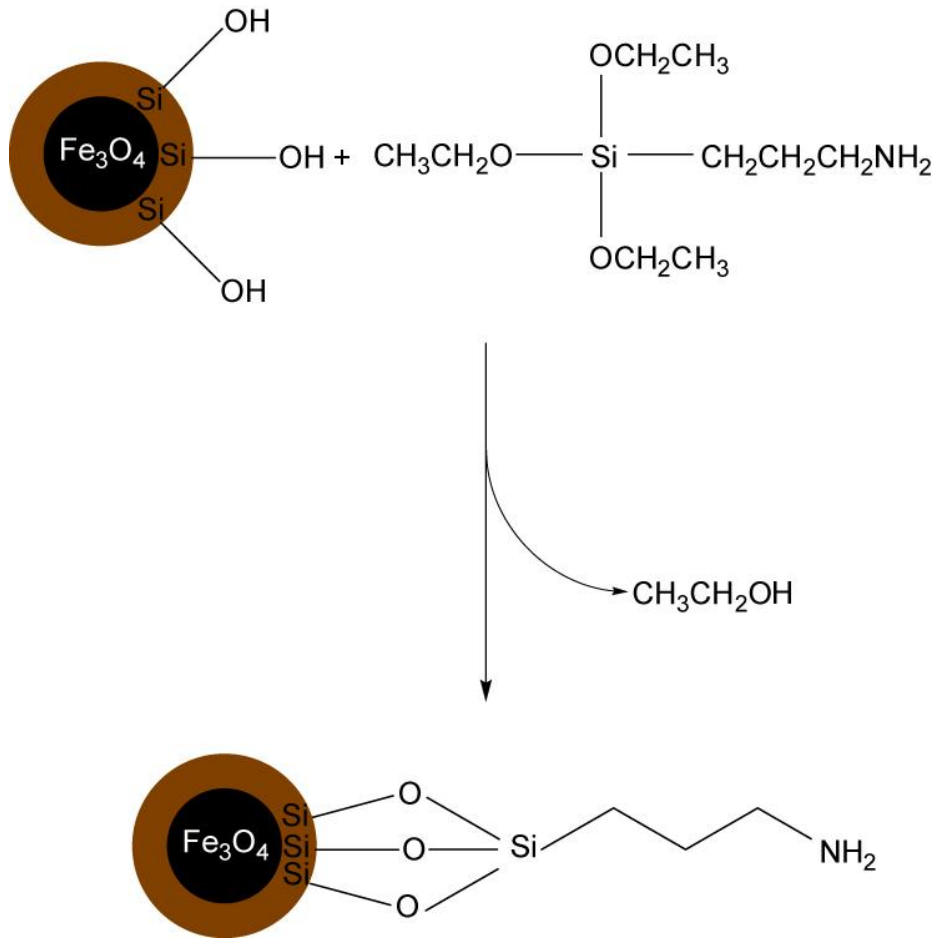


Oluşan silika kaplı manyetik nanotanecikler çözücü ortamındaki amonyum (NH₄⁺) iyonlarından dolayı ortaya çıkan elektrostatik itme kuvvetleri sebebiyle kararlı hale gelmektedirler [147]. TEOS’un kontrollü hidrolizi ile manyetik nanotanecikler etrafında silika tabakasının oluşumu Şekil 6.2.’de gösterilmiştir.



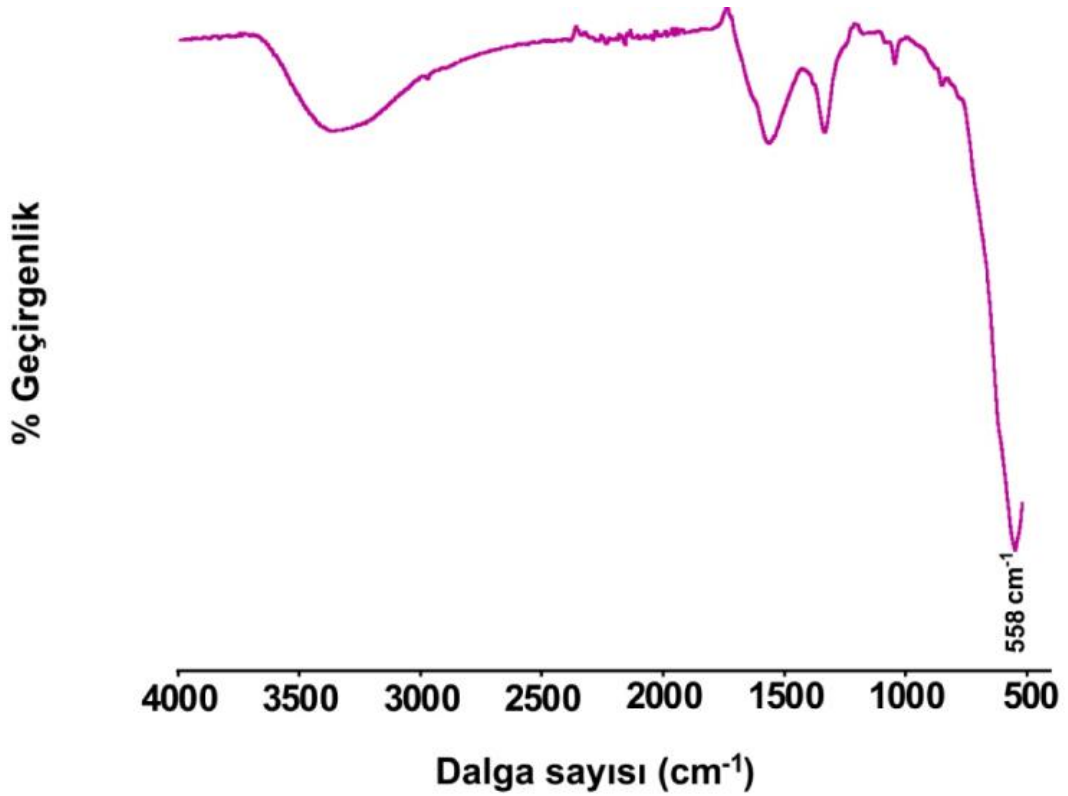
Şekil 6.2. Silika kaplı manyetik nanotaneciklerin sentezi.

Hazırlanan silika kaplı manyetik nanotanecikler, yüzeylerindeki hidroksil gruplarından dolayı polimerler veya organik moleküllerle kolaylıkla fonksiyonelleştirilerek biyomoleküllerin bağlanabilmesi için uygun hale getirilmektedir. Hidroksil gruplarınca zengin olan silika kaplı manyetik nanotaneciklerde biyolojik moleküllerin kovalent bağlanabileceği aktif uçların olmaması nedeniyle silika kaplı manyetik nanotanecikler Bölüm 5.4’de anlatıldığı şekilde 3-aminopropiltrietoksisilan (APTES) ile modifiye edilmiştir. Modifikasyon sonucunda silika kaplı manyetik nanotaneciklerdeki silanol grupları ile aminosilan molekülleri arasındaki kondenzasyon tepkimesi sonucunda organosiloksan bağları (Si-O-Si) oluşturulmuş ve nanotanecik yüzeylerine amino grupları kovalent bağlanmıştır [148]. Bu modifikasyon için önerilen mekanizma Şekil 6.3’de verilmiştir.



Şekil 6.3. Silika kaplı manyetik nanotaneçiklerin APTES ile modifikasyon mekanizması

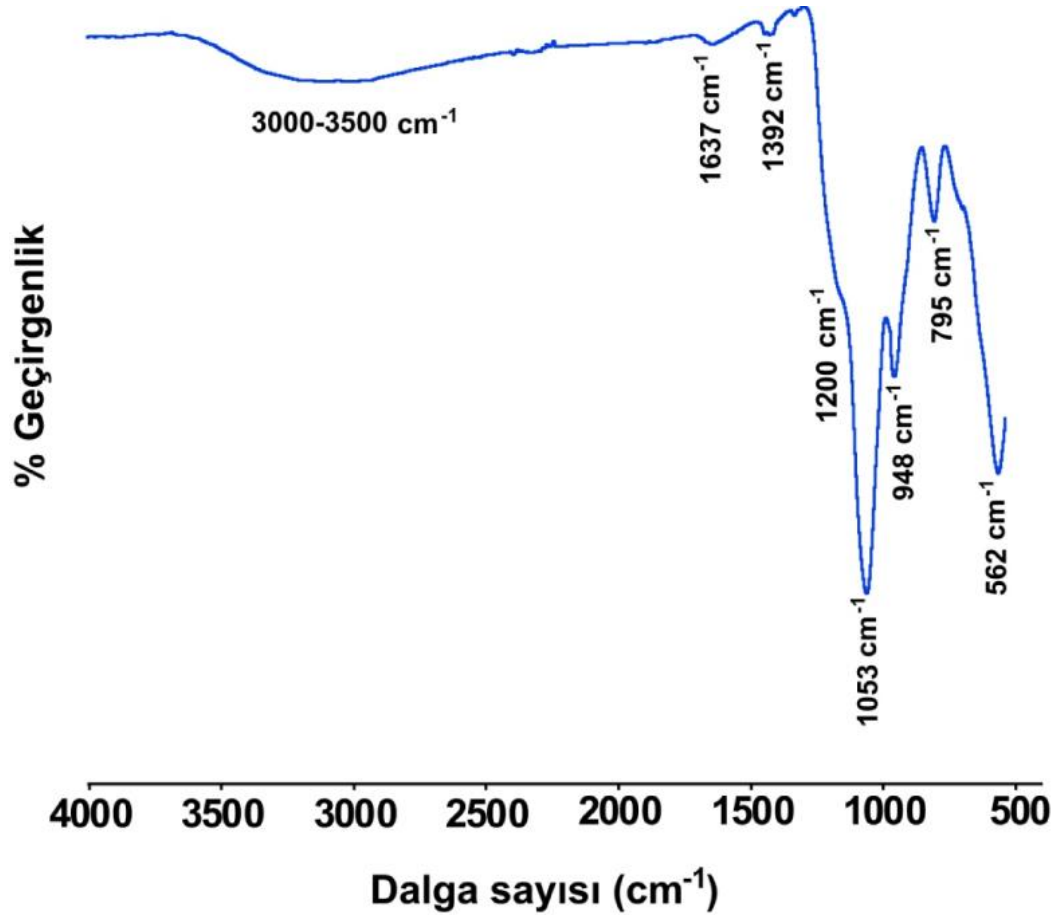
Hazırlanan manyetik, silika kaplı ve amin modifiyeli silika kaplı manyetik nanotaneçiklerin yapısal karakterizasyonu ATR-FT-IR spektroskopisi ile gerçekleştirilmiştir. Bu nanotaneçiklere ait FT-IR spektrumları Şekil 6.4, 6.5 ve 6.6'da verilmiştir. Literatürde bildirilen FT-IR spektrumlarıyla karşılaştırılarak fonksiyonel gruplar tespit edilmiştir.



Şekil 6.4. Manyetik nanotaneceklerin FT-IR spektrumu

Fe_3O_4 nanotaneceklerine ait FT-IR spektrumunda (Şekil 6.4), 558 cm^{-1} de gözlenen band Fe-O gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. Bu band manyetik nanotaneceklerin oktahedral bölgelerindeki Fe-O gerilimini gösteren karakteristik bir banddır. Fe-O gerilme titreşimi ile ilgili karakteristik bandlar 630 , 580 ve 440 cm^{-1} civarında gözlenmektedir. Yığın halindeki manyetik nanotaneceklerin yapısındaki Fe-O bağının karakteristik absorpsiyon bandlarının 570 ve 375 cm^{-1} de gözlendiği bilinmektedir [149]. Nanotaneceklerin sınırlı boyutlarının etkisiyle yüzey atomlarındaki çok sayıda bağ kırılmaktadır. Bu da parçacık yüzeyindeki elektronların tekrar düzenlenmesiyle sonuçlanır ve kristal yapısında bazı sınırlamalar oluşur. Sonuç olarak, manyetik nano boyuta inildiğinde FT-IR spektrumunda absorpsiyon bandları daha yüksek dalga boylarına kayar ve bu nedenle Fe-O bağlarının karakteristik bandlarında bir miktar kayma gözlenir [150].

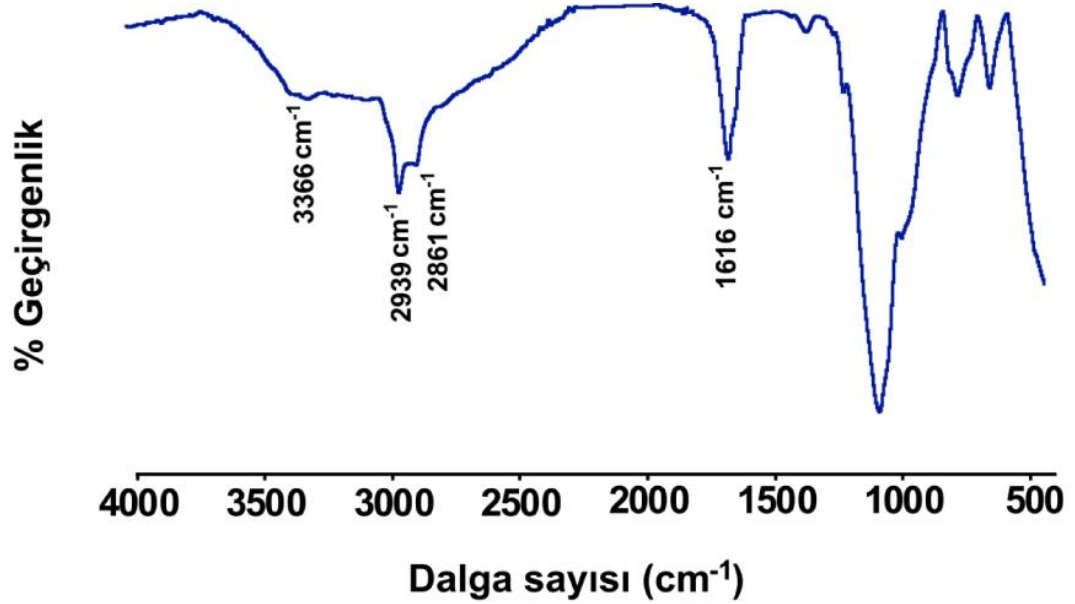
Spektrumda 3351 cm^{-1} deki geniş band ise nanotaneciklerin yapısındaki serbest su moleküllerine aittir.



Şekil 6.5. Silika kaplı manyetik nanotaneciklerin FT-IR spektrumu

Silika ile kaplı Fe_3O_4 nanotaneciklere ait FT-IR spektrumunda (Şekil 6.5), 562 cm^{-1} 'de gözlenen band Fe-O gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. Bu band manyetik nanotaneciklerin oktahedral bölgelerindeki Fe-O gerilimini gösteren karakteristik bir bandır ve saf manyetik nanotaneciklere ait FT-IR spektrumunda bu band 558 cm^{-1} 'de gözlenmiştir. Bu bandın daha yüksek dalga sayısına kayması manyetik nanotaneciklerin TEOS ile kaplanmasından kaynaklanmaktadır [151]. Spektrumda 1053 , 948 ve 795 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bandları SiO_2 'ye ait gerilme ve deformasyon titreşimlerine ait bandlardır. Bununla birlikte,

yaklaşık 584 cm^{-1} 'de gözlenmesi gereken Fe -O-Si bağlarına ait bandı Fe-O titreşimlerine ait band kapattığı için FT-IR spektrumunda gözlenmez. 1200 cm^{-1} 'de gözlenen band Si-O-Si (siloksan) asimetrik gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. 1392 cm^{-1} 'de gözlenen band Si-CH₂ eğilme titreşimlerinden ortaya çıkmıştır. 1637 cm^{-1} 'deki bandın ise yapıdaki çözücünden kaynaklanan H-OH gruplarına ait bükülme titreşimlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. $3000\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlenen geniş band ise silanol (Si-OH) ve H-OH gruplarına ait gerilme titreşimlerine aittir [152-154]. FT-IR spektrumlarında gözlenen bu absorpsiyon bandlarından, manyetik nanotaneciklerin başarılı bir şekilde silika tabakasıyla kaplandığı açıkça görülmektedir.

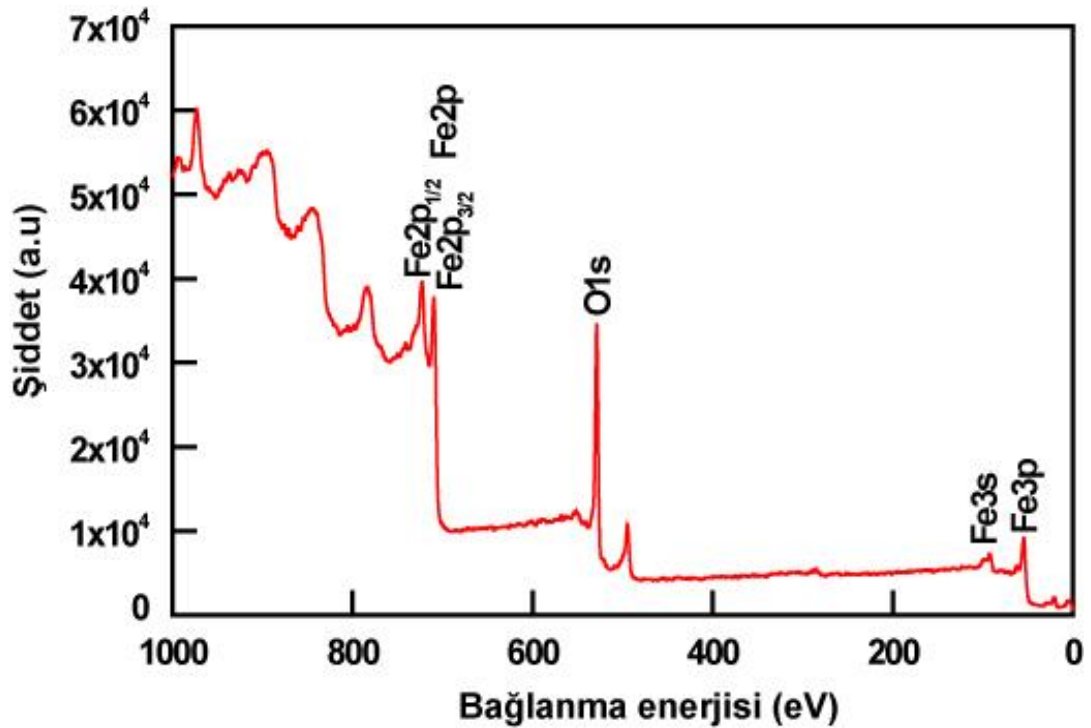


Şekil 6.6. APTES modifiyeli manyetik nanotaneciklerin FT-IR spektrumu

APTES ile modifiye edilen silika kaplı Fe₃O₄ nanotaneciklere ait FT-IR spektrumunda (Şekil 6.6.), 1616 cm^{-1} 'de gözlenen band alifatik amin gruplarına ait bükülme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. 2861 cm^{-1} 'deki bandın APTES yapısındaki metilen (-CH₂-) gruplarına ait simetrik gerilme titreşimlerine ait olduğu düşünülmektedir. 2939 cm^{-1} 'deki band ise -CH₂-

gruplarına ait asimetric gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. 3366 cm^{-1} de gözlenen geniş band ise alifatik amin gruplarına ait gerilme titreşimlerinden ortaya çıkmıştır. Ayrıca SiO_2 'ye ait gerilme ve deformasyon titreşim bandlarının 1069, 965 ve 801 cm^{-1} e ve siloksan asimetric gerilme titreşim bandının 1207 cm^{-1} e kayması silika kaplı manyetik nanotaneciklerin APTES ile modifiye edildiğine dair açık bir kanıt olabilir. Sonuç olarak, FT-IR spektrumlarında gözlenen karakteristik bandlar silika kaplı manyetik nanotaneciklerin APTES ile fonksiyonel hale getirildiğini göstermektedir [155,156].

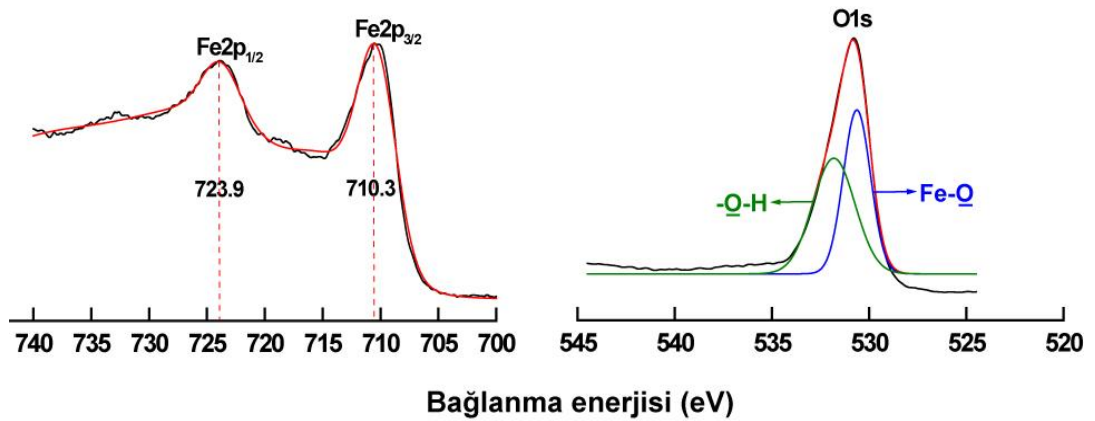
ATR-FT-IR spektroskopisi ile yapılan yapısal karakterizasyonun ardından manyetik nanotaneciklerin kimyasal karakterizasyonu ise XPS ile gerçekleştirilmiştir. Manyetik nanotaneciklerin XPS spektrumları Şekil 6.7'de verilmiştir.



Şekil 6.7. Manyetik nanotaneciklerin XPS spektrumu

Manyetik nanotaneciklerin XPS spektrumundan (Şekil 6.7), Fe3p, Fe3s, O1s, Fe2p_{3/2} ve Fe2p_{1/2} elementlerine ait bağlanma enerjilerinin yaklaşık olarak sırasıyla 53 eV, 91,4 eV, 532 eV, 710 eV ve 720 eV oldukları belirlenmiştir. Bağlanma enerjisi, her elementin her elektronu için sabit bir değer olduğu için spektrumda gözlenen oksijen ve demir elementlerine ait pikler manyetik nanotaneciklerin oluştuğuna dair en somut kanıttır. Bu bileşenlerden O1s ve Fe2p_{3/2}'nin % bağıl oranları ise sırasıyla 65,9 ve 34,1'dir. O1s'in atomik miktarının oldukça yüksek olması manyetik nanotaneciklerin oksitlenmesi ve sentez esnasında manyetit yapının (Fe₃O₄) magemit yapısına (γ -Fe₂O₃) dönüşmüş olmasından kaynaklanıyor olabilir. Wang ve grubu yaptıkları bir çalışmada, manyetik nanotaneciklerin XPS ile kimyasal karakterizasyonunu gerçekleştirmiş ve O1s ve Fe2p_{3/2}'nin bağıl oranlarının sırasıyla % 79,59 ve % 20,41 olduğunu rapor etmişlerdir. Oksijen miktarının çok fazla olmasının sentezlenen nanotaneciklerin yüksek oranda magemit içermesinden kaynaklandığını bildirmişlerdir [157].

Şekil 6.8. manyetik nanotaneciklerin yapısında bulunan Fe2p ve O1s atomlarına ait yüksek çözünürlüklü XPS spektrumlarını göstermektedir.

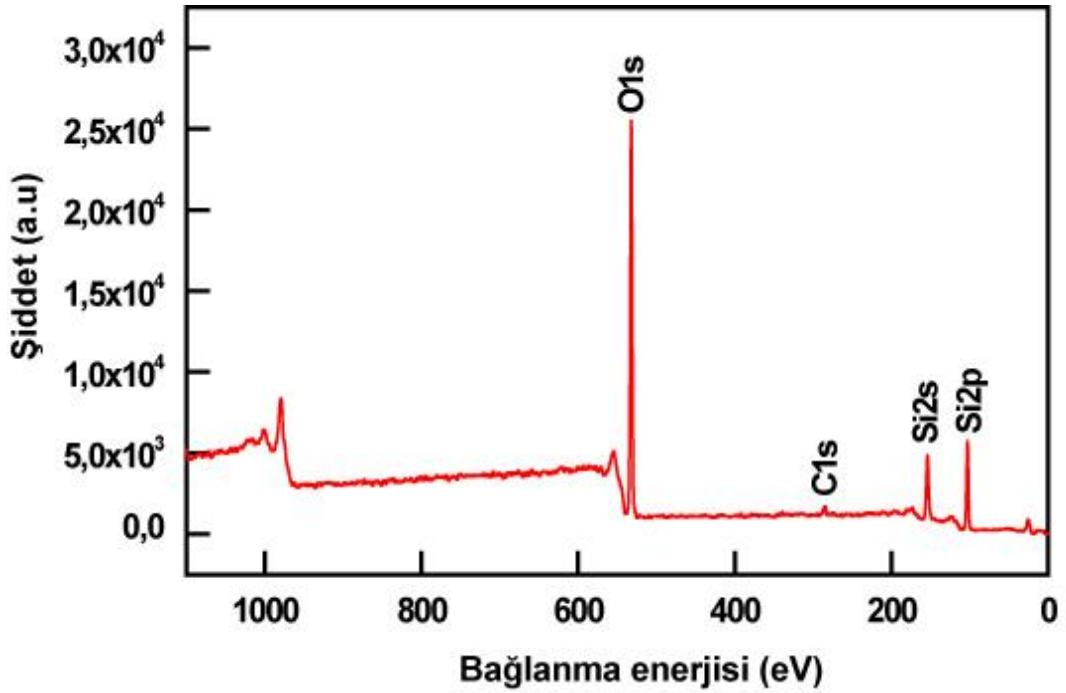


Şekil 6.8. Manyetik nanotaneciklerin Fe2p ve O1s atomlarının yüksek çözünürlüklü XPS spektrumları

İkili çöktürme yöntemiyle bazik ortamda sentezlenen manyetik nanotaneciklerin yüksek çözünürlüklü XPS spektrumlarından görüldüğü gibi

(Şekil 6.8), biri 723,9 eV bağlanma enerjisinde $\text{Fe}2p_{1/2}$ ve diğeri 710,3 eV bağlanma enerjisinde $\text{Fe}2p_{3/2}$ olmak üzere iki farklı kimyasal çevreye sahip $\text{Fe}2p$ atomu bulunmaktadır. Chen ve grubu silika kaplı manyetik nanotaneciklerin sentezi ve karakterizasyonuna yönelik yaptıkları bir çalışmada, ikili çöktürme yöntemiyle sentezlenen manyetik nanotaneciklerin $\text{Fe}2p_{3/2}$ ve $\text{Fe}2p_{1/2}$ atomlarına ait bağlanma enerjilerinin sırasıyla 710,2 ve 723,8 eV olduğu ve bu değerlerin literatürle uyumlu oldukları belirlenmiştir [158]. Yang ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ise, bazik ortamda ikili çöktürme yöntemiyle sentezlenen manyetik nanotaneciklerin $\text{Fe}2p_{3/2}$ ve $\text{Fe}2p_{1/2}$ atomlarına ait bağlanma enerjilerinin sırasıyla 710 ve 720 eV olduğu bildirilmiştir. Ayrıca yapılan bu çalışmada $\text{Fe}2p_{3/2}$ elementinin Fe^{3+} iyonlarından, $\text{Fe}2p_{1/2}$ elementinin ise Fe^{2+} iyonlarından kaynaklandığı belirtilmiştir [159]. Manyetik nanotaneciklerin iki farklı kimyasal çevreye sahip O1s atomunun yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu incelendiğinde, Fe_3O_4 yapısındaki demir atomlarına bağlı O1s (kafes yapısındaki O^{2-}) pikinin bağlanma enerjisinin 530 eV, nanotanecik yüzeyindeki hidroksil gruplarında bulunan oksijen atomlarından kaynaklanan O1s pikinin bağlanma enerjisinin ise 532 eV olduğu belirlenmiştir. Yang ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, bazik ortamda ikili çöktürme yöntemiyle sentezlenen manyetik nanotaneciklerin 4 farklı kimyasal çevreye sahip oksijen atomu olduğu bildirilmiştir. Bu oksijen atomlarından ilki Fe_3O_4 yapısındaki demir atomlarına bağlı O^{2-} (530 eV), diğeri bağlanma hidroksil gruplarındaki O atomu (532, eV), bir diğeri nanotanecik yüzeyine fiziksel adsorbe olan organik türlerden ($-\text{CH}_2-\text{O}$) kaynaklanan O atomu (533,7 eV) ve sonuncusu karbonat türlerindeki (CO_3^{2-}) O atomudur (531,6 eV) [159]. Chen ve grubunun yaptıkları çalışmada ise, manyetik nanotaneciklerin yapısında sadece Fe_3O_4 yapısındaki demir atomlarına bağlı O^{2-} atomunun olduğu ve bağlanma enerjisinin 529,6 eV olduğu belirtilmiştir [158].

Silika kaplı manyetik nanotaneciklerin kimyasal karakterizasyonu XPS ile gerçekleştirilmiş ve Şekil 6.9'da verilmiştir.

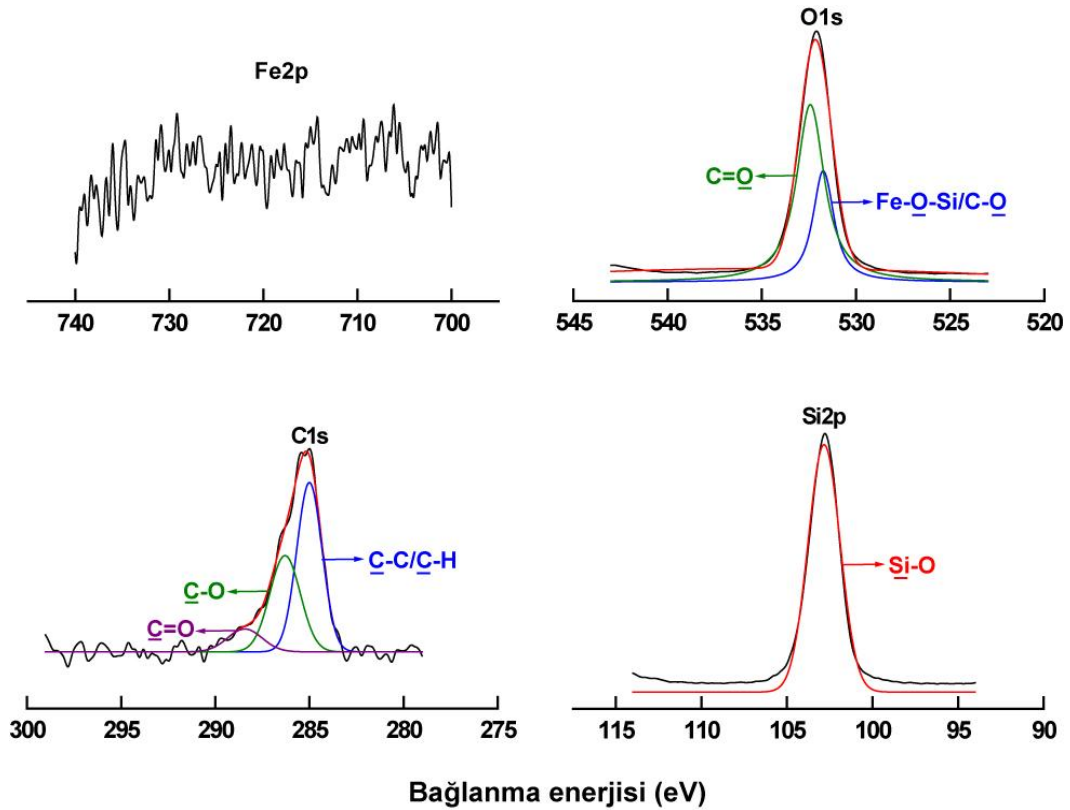


Şekil 6.9. Silika kaplı manyetik nanotaneciklerin XPS spektrumu

Silika kaplı manyetik nanotaneciklerin XPS spektrumundan (Şekil 6.9), Si2p, Si2s, C1s ve O1s elementlerine ait bağlanma enerjilerinin yaklaşık olarak sırasıyla 103 eV, 153eV, 285 eV ve 532 eV oldukları belirlenmiştir. Bu bileşenlerden O1s, Si2p ve C1s'in % bağıl oranları sırasıyla 69,1, 27,2 ve 3,7'dir. Si2p pikinin varlığı manyetik nanotaneciklerin silika ile kaplandığına açık bir kanıt olabilir. Ayrıca yüzeydeki Fe2p_{3/2}'nin % bağıl oranının manyetik nanotaneciklerin yapısındaki Fe2p_{3/2}'nin miktarına göre sıfıra düşmesi de yani silika kaplı nanotaneciklere ait XPS spektrumunda Fe2p_{3/2} pikinin gözlenmemesi yüzeyin tamamen silika ile kaplandığına dair bir kanıttır. Ek olarak, zayıf bir sinyal veriyor olsa da C1s pikinin varlığı muhtemelen silika kaplı manyetik nanotaneciklerin yüzeyindeki eser miktardaki karbon kirliliğinden veya adsorplanan karbondioksitten (CO₂) kaynaklanmaktadır [160,161]. Xu ve grubunun yaptıkları bir çalışmada, manyetik nanotanecikler silika ile kaplanmış ve XPS ile kimyasal karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. XPS spektrumundan, silika kaplı manyetik nanotaneciklerin yapısındaki Fe2p_{3/2}'nin % bağıl oranının 3,88

olduğu belirlenmiştir [157]. Düşükte olsa bir miktar Fe2p içermesi literatürde sıkça karşılaşılan bir durumdur [162]. Bu çalışmada ise, Fe2p_{3/2}'nin bağlı oranının sıfıra düşmesi manyetik nanotaneciklerin çok yoğun ve kalın bir silika tabakasıyla kaplanmasının bir sonucu olabilir. Ek olarak, XPS ile 10 nm kalınlığın altında ölçüm yapılamamasında dolayı Fe2p piki gözlenmemiş olabilir [162].

Şekil 6.10. TEOS molekülünün alkali ortamda hidrolizi sonucunda silika tabakası ile kaplanan manyetik nanotaneciklerin yapısındaki Fe2p, O1s, C1s ve Si2p atomlarının yüksek çözünürlüklü XPS spektrumlarını göstermektedir.

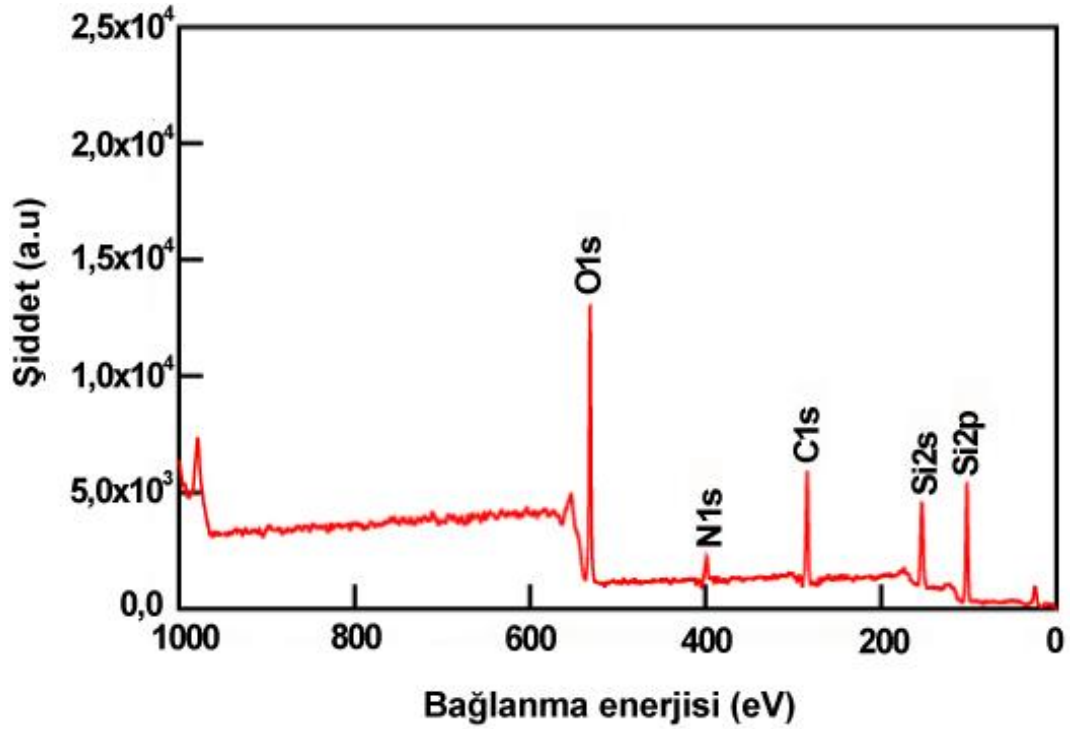


Şekil 6.10. Silika kaplı manyetik nanotaneciklerin Fe2p, O1s, C1s ve Si2p atomlarının yüksek çözünürlüklü XPS spektrumları

Şekil 6.10 incelendiğinde, Si2p'ye ait spektrumda 103 eV bağlanma enerjisine sahip Si-O ve ayrıca O1s'e ait spektrumda 532 eV'luk bağlanma enerjisindeki Si-O piklerinin gözlenmesi manyetik nanotaneciklerin etrafında silika tabakasının oluştuğunun göstergesidir. Bununla birlikte demir atomlarına (Fe2p_{1/2} ve Fe2p_{3/2}) ait karakteritik piklerin (724 ve 710 eV) silika kaplı manyetik nanotaneciklerin XPS spektrumunda gözlenmemesi ise, demir nanotaneciklerin silika tabakası ile kaplanmasından ve karakterizasyonda kullanılan X-ışınlarının en fazla 10 nm kadar giriciliğe sahip olmasından kaynaklanmaktadır [158]. O1s atomuna ait yüksek çözünürlüklü XPS spektrumundan üç farklı kimyasal çevreye sahip O atomunun olduğu belirlenmiştir. 531,7 eV ve 532,4 eV bağlanma enerjilerindeki pikler silika kaplı manyetik nanotanecikler tarafından adsorplanan organik kirliliklerden ve CO₂'den (sırasıyla C-O ve C=O) kaynaklanmaktadır. Bir diğer O1s piki ise 531,7 eV bağlanma enerjisine sahip demir ve silisyum atomlarına bağlı O atomuna aittir. Manyetik nanotaneciklere ait O1s piki ile karşılaştırıldığında demir atomuna bağlı oksijen atomunun bağlanma enerjisi 530 eV iken, silika ile kaplandıktan sonra bu atomun bağlanma enerjisi 531,7 eV'a kaymıştır. Bağlanma enerjisindeki artışın sebebi Fe-O-Si kimyasal bağının oluşumudur. Silisyum atomunun elektronegatifliği demir atomuna göre daha yüksek olduğu için, Fe yüzeyinin elektronik yoğunluğu daha düşük olmaktadır. Demir atomundaki bu elektron yoğunluğundaki düşüş ile birlikte oksijen atomu bir yoğunluk sağlar ve böylece silika kaplı manyetik nanotanecikler için O1s'in bağlanma enerjisi 1,7 eV'luk bir kimyasal kaymaya sahip olur. Chen ve grubunun yaptıkları çalışmada, silika kaplı manyetik nanotaneciklerin yapısında 104,2 eV bağlanma enerjisine sahip Si2p (Si-O), 531,9 eV bağlanma enerjisine sahip O1s (Fe-O-Si) atomunun olduğu belirlenmiştir [158]. Şekil 6.10'daki C1s spektrumu incelendiğinde ise, 285 eV bağlanma enerjisinde alifatik karbon gruplarındaki, 288 eV'da karbonil grubundaki (CO₂'den kaynaklanan) ve 286 eV'da C-O yapısındaki (organik kirliliklerden kaynaklanan) C1s piklerinin gözlenmesi analiz sırasında silika kaplı

manyetik nanotaneceklerin ortamdaki karbondioksit ve/veya diğer organik kirlilikleri fiziksel adsorpladığını göstermektedir [159].

APTES modifiyeli silika kaplı manyetik nanotaneceklerin kimyasal karakterizasyonu XPS ile gerçekleştirilmiş ve Şekil 6.11’de verilmiştir.

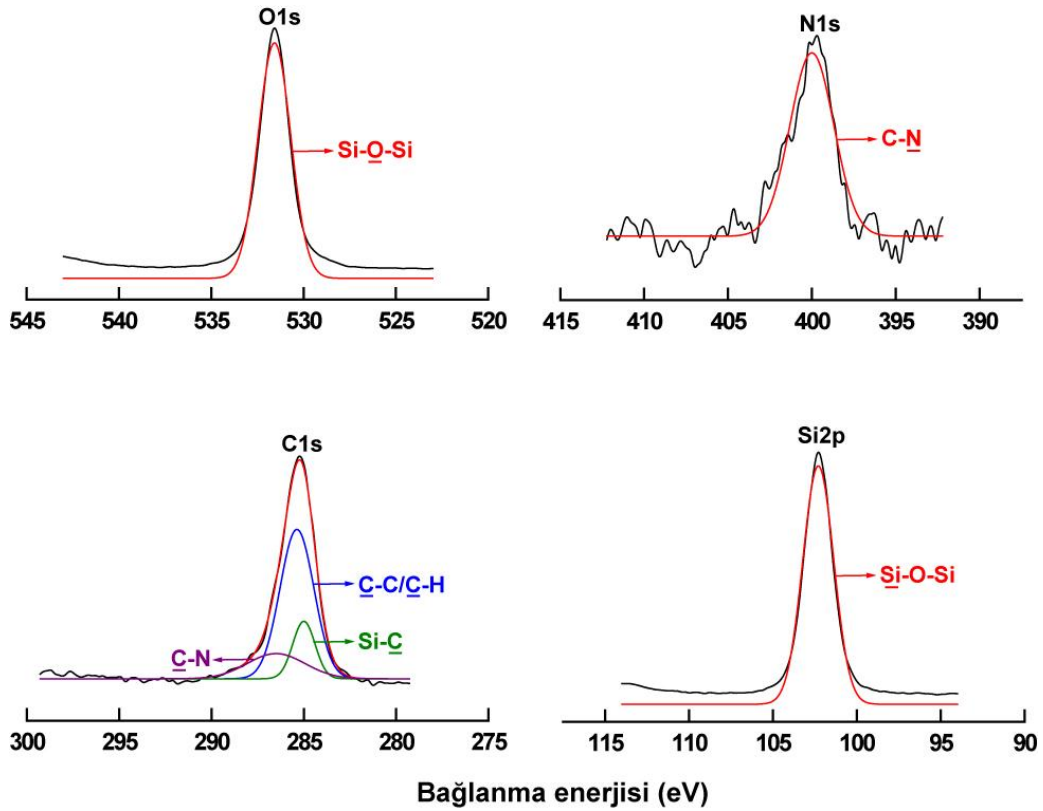


Şekil 6.11. APTES modifiyeli manyetik nanotaneceklerin XPS spektrumu

APTES, silika tabakasındaki hidroksil gruplarına kovalent bağlandığı bilinen bir silanlama ajanıdır [163,164]. Silika kaplı manyetik nanotaneceklerin yapılarındaki hidroksil grupları ile silan molekülleri arasında siloksan bağları oluşmaktadır [165,166]. APTES modifiyeli silika kaplı manyetik nanotaneceklerin XPS spektrumu olan Şekil 6.11 incelendiğinde, Si2p, C1s, O1s ve N1s elementlerine ait bağlanma enerjilerinin yaklaşık olarak sırasıyla 102 eV, 285 eV, 532 eV ve 400 eV oldukları görülmektedir. Bu bileşenlerin % bağıl oranları ise sırasıyla 24,9, 34,2, 34,3 ve 6,6’dır. Si2p ve Si2s pikleri hem silika kaplı manyetik nanotaneceklerden hem de APTES yapısındaki Si elementinden dolayı yüksek miktarda ortaya çıkmıştır.

Yaklaşık 400 eV bağlanma enerjisindeki N1s pikinin varlığı, silika kaplı manyetik nanotaneceklerin APTES ile modifiye edildiğini göstermektedir. Nanotaneceklerin yüzeyindeki yüksek azot miktarı, silika tabakası ile silanlama ajanı arasındaki uyumdan dolayı APTES molekülünün yüzeye güçlü siloksan bağları ile kovalent bağlandığını göstermektedir. Bu mükemmel uyum, siloksan gruplarının esnekliğinin fazla olmasından kaynaklanmaktadır [167]. Amin gruplarının miktarının yüksek olması nanotaneceklerin hidrofiliğini artırmaktadır ve dolayısıyla taneciklerin suda dağılma özellikleri iyileşmektedir [167]. 532 eV bağlanma enerjisinde ortaya çıkan O1s piki, APTES molekülü ile silika tabakası arasındaki Si-O-Si bağlarından kaynaklanmaktadır.

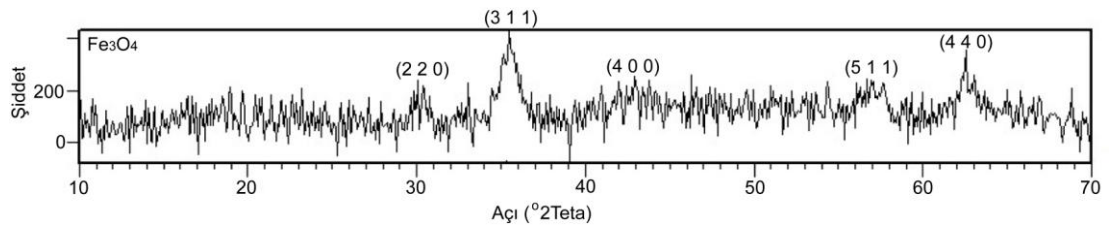
APTES molekülü modifiye edilen silika kaplı manyetik nanotaneceklerin yüksek çözünürlüklü XPS spektrumları Şekil 6.12’de verilmiştir.



Şekil 6.12. APTES modifiyeli manyetik nanotaneceklerin O1s, N1s, C1s ve Si2p atomlarının yüksek çözünürlüklü XPS spektrumları

Manyetik nanotanecikler silika tabakası ile kaplandıktan sonra taneciklerin yüzeyi hidroksil gruplarınca zenginleşmektedir. Bu gruplar sayesinde APTES molekülü ile silika tabakası arasındaki kondenzasyon tepkimesi sonucunda nanotanecikler amin gruplarıyla fonksiyonelleştirilmektedirler. Silika tabakası ile APTES molekülü arasındaki kondenzasyon tepkimesinin en somut kanıtı 400 eV bağlanma enerjisinde ortaya çıkan birincil amin grubundaki N1s pikidir. APTES molekülü ile silika arasındaki güçlü siloksan bağlarından dolayı ortaya çıkan O1s ve Si2p atomlarına ait piklerin bağlanma enerjileri sırasıyla 532 eV ve 102 eV olarak belirlenmiştir. C1s'e ait XPS spektrumunda, 284,4 eV bağlanma enerjinde gözlenen Si-C piki silika kaplı manyetik nanotaneciklerin APTES ile modifiye edildiğini destekler niteliktedir [168]. Ayrıca APTES yapısındaki alifatik karbon atomlarının bağlanma enerjisi 285 eV iken, birincil amin grubuna bağlı C atomunun bağlanma enerjisinin 286,5 eV olduğu belirlenmiştir.

İkili çöktürme yöntemi ile sentezlenen manyetik nanotaneciklerin kristal yapıları X-ışınları kırınımı (XRD) belirlenmiştir. Manyetik nanotaneciklere ait XRD spektrumları Şekil 6.13'de verilmiştir.



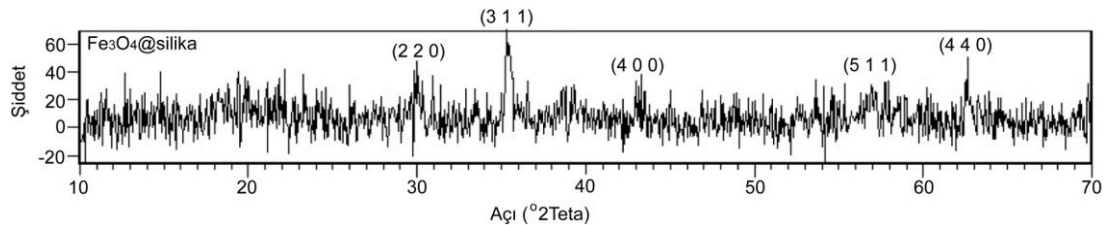
Şekil 6.13. Manyetik nanotaneciklerin XRD deseni

Manyetik nanotaneciklerin XRD deseni incelendiğinde, (2 0 0), (3 1 1), (4 0 0), (5 1 1) ve (4 4 0) yüzey merkezli kübik (fcc) faz düzeylerine dayanarak 2θ değerleri sırasıyla 30,4°, 35,6°, 43,3°, 57,3° ve 62,8° olarak belirlenmiştir. Bütün bu gözlenen kırınım pikleri, manyetik nanotaneciklerin yüzey merkezli kübik yapıda olduğunu göstermektedir [169,170].

Manyetik nanotaneciklerin XRD deseninden yola çıkılarak nanokristallerinin ortalama kristal büyüklüğü Debye-Scherrer eşitliğinden hesaplanmıştır [171].

Manyetik nanotaneciklerin (3 1 1) faz düzeyindeki en şiddetli karakteristik kırınım pikine karşılık gelen 2θ değeri kullanılarak ortalama çapı 33,65 nm olarak hesaplanmıştır. Ayrıca XRD deseninde herhangi bir safsızlık piki gözükmemektedir. Bu sonuçlar manyetik nanotaneciklerin kristalinitesinin yüksek olduğunu göstermektedir. Wu ve grubunun yaptıkları bir çalışmada, hidrotermal yöntemle sentezlenen manyetik nanotaneciklerin XRD karakterizasyonu sonucunda ortalama tanecik boyutunun 100 nm olduğu bildirilmiştir [172]. Wang ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ise, ikili çöktürme yöntemiyle hazırlanan manyetik nanotaneciklerin boyutu Debye-Scherrer eşitliği ile 12,09 nm olarak bulunmuştur [157]. Sıcaklık, çözücü, karıştırma hızı gibi faktörler nanotanecik çapını doğrudan etkilemektedir. Dolayısıyla farklı yöntemlerle hazırlanan manyetik nanotaneciklerin çapları da birbirinden farklı olmaktadır.

Aynı şekilde TEOS'un kontrollü hidrolizi ile hazırlanan silika kaplı manyetik nanotaneciklerin kristal yapıları da XRD ile incelenmiştir. Silika kaplı manyetik nanotaneciklerin XRD deseni Şekil 6.14'de verilmiştir.

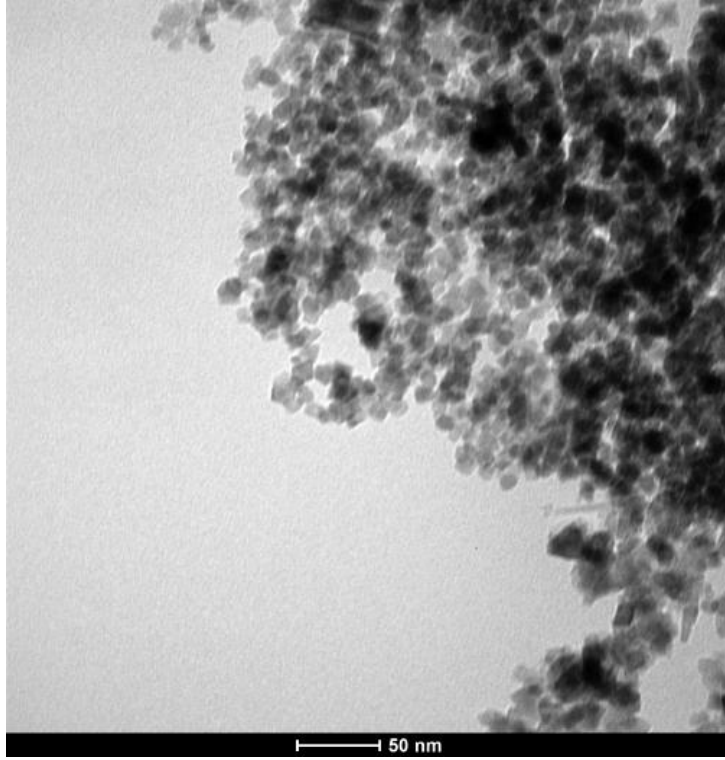


Şekil 6.14. Silika kaplı manyetik nanotaneciklerin XRD deseni

Şekil 6.14 incelendiğinde, manyetik nanotaneciklerin (2 0 0), (3 1 1), (4 0 0), (5 1 1) ve (4 4 0) karakteristik kırınım pikleri aynı şekilde silika kaplı manyetik nanotaneciklerin XRD deseninde de gözlenmiştir. Bu durum, silika

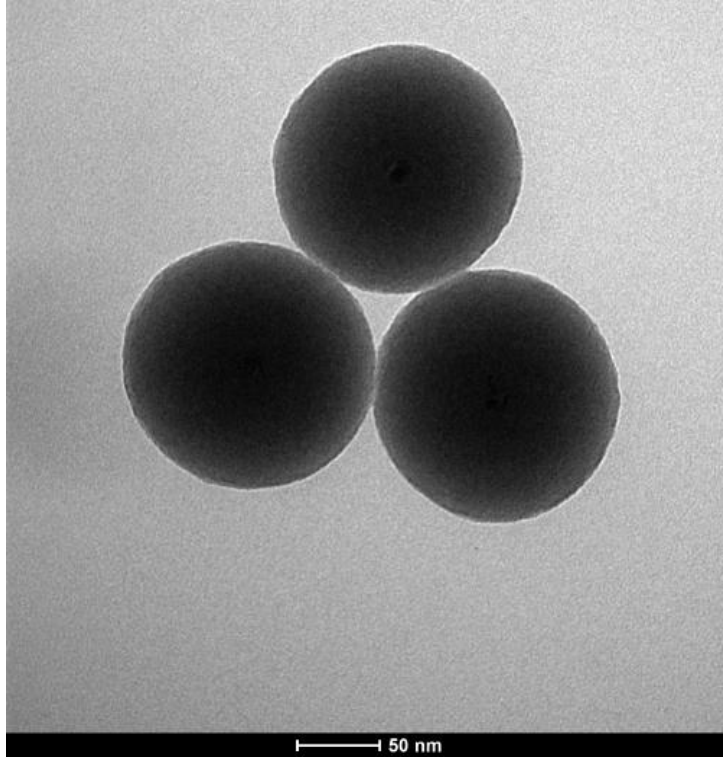
kaplama sırasında Fe_3O_4 nanotaneceklerin kristal faz kararlılığını göstermektedir. Sonuç olarak, amorf silika fazı hiç kırınım piki vermemiştir. Silika kaplı manyetik nanotaneceklerin (3 1 1) faz düzeyindeki en şiddetli karakteristik kırınım pikine karşılık gelen 2θ değeri kullanılarak ortalama çapı 147,90 nm olarak hesaplanmıştır. Wang ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, 80 °C'da ikili çöktürme ile hazırlanan manyetik nanotanecekler farklı bir yöntemle silika ile kaplanmıştır. XRD ile nanotaneceklerin kristal yapılarını inceleyerek silika kaplı manyetik nanotaneceklerin XRD spektrumlarının saf manyetik nanotaneceklerin spektrumuyla aynı olduğunu ve amorf fazdaki silikanın hiçbir kırınım piki vermediğini gözlemlemişlerdir. Ayrıca Debye-Scherrer eşitliği ile manyetik nanotaneceklerin çapını 12,09 nm, silika kaplı manyetik nanotaneceklerin çapını ise 13,02 nm olarak hesaplamışlardır [157]. Daha önce de belirtildiği gibi, manyetik nanotaneceklerin silika ile kapsüllenme şartlarının farklı olması (sıcaklık, tepkime süresi, çözücü, karıştırma hızı vb.) nanotanecek boyutunu doğrudan etkilemektedir.

Manyetik ve silika kaplı nanotaneceklerin yapıları TEM ile incelenmiştir. Manyetik ve silika kaplı nanotaneceklerle ait TEM görüntüleri Şekil 6.15 ve 6.16'da görülmektedir.



Şekil 6.15. Manyetik nanotaneceklerin TEM görüntüsü

Şekil 6.15 incelendiğinde, demir nanotaneceklerin tipik kübik Fe_3O_4 tanecik yapısında olduğunu söylemek mümkündür. Süperparamanyetik özelliklerinden dolayı tanecikler bir arada bulunmaktadır. Ortalama tanecik çapı ise 22,5 nm olarak belirlenmiştir. Wang ve grubunun yaptıkları çalışmada, farklı pH ve sıcaklıkta sentezlenen manyetik nanotaneceklerin TEM karakterizasyonu sonucunda ortalama çapını 13,4 nm olarak bulmuşlardır [157]. Lu ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ise, yine farklı koşullarda hazırlanan manyetik nanotaneceklerin ortalama çapı 10 nm olarak bulunmuştur [169].



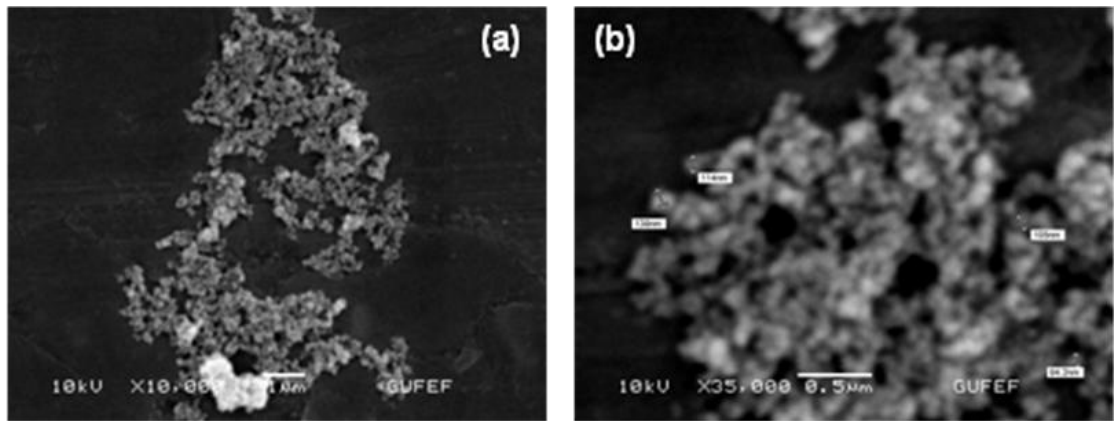
Şekil 6.16.Silika kaplı manyetik nanotaneciklerin TEM görüntüsü

Silika kaplı manyetik nanotaneciklerin tipik bir çekirdek-kabuk yapısına (manyetik çekirdek koyu renkli, silika kabuk ise açık renklidir) sahip olduğu TEM görüntüsünden açıkça görülmektedir (Şekil 6.16). Bu görüntüden manyetik nanotaneciklerin silika tabakasıyla tamamen ve pürüzsüz kaplandığını söylemek mümkündür. TEM görüntüsünden ortalama tanecik çapı ise 132,3 nm olarak belirlenmiştir. Wang ve grubu, farklı bir yöntemle silika ile kapsüllenmiş manyetik nanotaneciklerin TEM ile ortalama nanotanecik çapını 16,6 nm olarak bulmuşlardır [157]. Bu tez kapsamında yapılan çalışmada, ortalama çapın literatürden farklı olmasının sebebi manyetik nanotanecik oluşma ve silika ile kapsüllenme mekanizmalarını ortam koşullarının (pH, sıcaklık, derişim, karıştırma hızı vb.) direkt olarak etkilemesidir.

Manyetik ve silika kaplı manyetik nanotaneciklerin XRD spektrumlarındaki en şiddetli karakteristik kırınım piklerine karşılık gelen Bragg kırınım

açıların Debye-Scherrer eşitliğinde yerine konulmasıyla belirlenen ortalama çaplarının TEM karakterizasyonu sonucunda belirlenen ortalama çaplardan daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu fark, TEM ile belirlenen ortalama çapın gerçek nanotanecik çapı olması, XRD ile belirlenen ortalama çapın ise bir yaklaşımdan yola çıkılarak hesaplanan bir çap olmasından kaynaklanmaktadır [173].

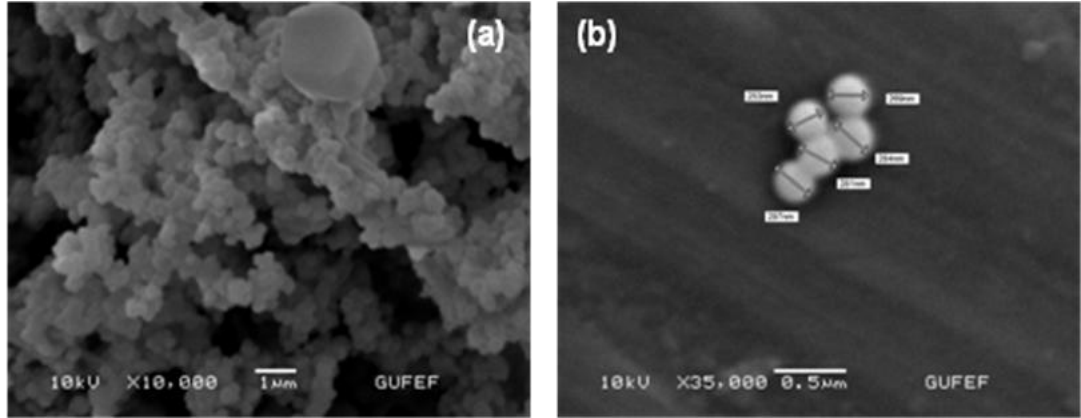
Manyetik ve silika kaplı nanotaneciklerin yüzey morfolojileri SEM ile incelenmiştir. Manyetik ve silika kaplı nanotaneciklere ait SEM görüntüleri Şekil 6.17 ve 6.18’de verilmiştir.



Şekil 6.17. Manyetik nanotaneciklerin SEM görüntüsü
(a) 10000 büyütme (b) 35000 büyütme

Yüksek manyetik moment sebebiyle manyetik nanotaneciklerin kümelenme davranışı gösterdiği Şekil 6.17’de verilen SEM görüntülerinden açıkça görülmektedir. SEM görüntüleri nanotaneciklerin yüzey morfolojileri hakkında bilgi vermektedir. Hazırlanan nanotaneciklerin genel olarak kübik yapıda olduğu söylenebilir. 35000 büyütme ile alınan SEM görüntüsünden ortalama nanotanecik çapının 120 nm olduğu belirlenmiştir. Girginova ve grubunun yaptığı bir çalışmada, manyetik nanotaneciklerin yüzey morfolojileri SEM ve TEM ile incelenmiştir. SEM karakterizasyonu sonucunda kübik yapıli manyetik nanotaneciklerin ortalama çapının 120 nm

olduğunu, TEM ile belirlenen ortalama çapın ise 80 nm olduğunu bildirmişlerdir [174].



Şekil 6.18.Silika kaplı manyetik nanotaneciklerin SEM görüntüsü
(a) 10000 büyötmeli (b) 35000 büyötmeli

Silika kaplı manyetik nanotaneciklerin SEM görüntüleri incelendiğinde, bu nanotaneciklerin düzgün küresel geometride olduğu açıkça görölmektedir. 35000 büyötmeye ile alınan SEM görüntüsünden ortalama nanotanecik çapı 260 nm olarak belirlenmiştir. Rosenzweig ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, silika kaplı manyetik nanotaneciklerin SEM ile yüzey morfolojileri incelenmiştir. SEM karakterizasyonu sonucunda düzgün küresel geometriye sahip silika kaplı manyetik nanotaneciklerin ortalama çapının 250 nm olduğu bildirilmiştir. Yüksek çözünürlüklü TEM ile yaptıkları inceleme sonucunda ise ortalama nanotanecik çapının 30-40 nm aralığında olduğunu belirtmişlerdir.

TEM ve SEM'den belirlenen çaplar arasındaki fark, SEM'in hassasiyetinin daha düşük olmasından ve SEM ile sadece yüzey morfolojisi incelenirken, TEM ile tek bir nanoparçacığın bile kristal yapısının incelenebilmesinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca SEM ile yapılan karakterizasyon çalışmalarında örnek miktarının TEM çalışmalarında kullanılan örnek miktarına oranla daha fazla olması sebebiyle örnekler daha çok kümelenme davranışı göstermektedirler [175]. Sonuç olarak, manyetik ve silika kaplı manyetik

nanotaneciklerin SEM görüntüleri karşılaştırıldığında yüzey merkezli kübik yapıdaki manyetik nanotaneciklerin kapsüllenme işlemi sonrasında geometrisinin küresel olarak değiştiğini dolayısıyla bu nanotaneciklerin çok düzgün bir şekilde silika ile kaplandığının söylemek mümkündür.

İkili çöktürme yöntemiyle hazırlanan manyetik ve TEOS'un kontrollü hidroliziyle hazırlanan silika kaplı manyetik nanotaneciklerin boy ve boyut dağılımları da belirlenmiştir. Bu amaçla Zeta-Sizer cihazı kullanılmıştır. Cihaz, ölçüm yöntemi olarak dinamik ışık saçılmasını (DLS) kullanmaktadır. Dinamik ışık saçılması, mikro saniyenin onda biri ile mili saniye zaman aralığında, örnek çözeltinin küçük bir kısmından saçılan ışığın zamanla değişiminin ölçülmesidir. Sentez sonrası yıkanıp, santrifüjlenen tanecikler ultra saf su ile seyreltilmiş ve yaklaşık 3 mL hacimli örnek çözeltisi polistiren küvet içerisine konulmuştur. Deneyler, sıcaklık kontrollü bir bölme içerisine yerleştirilen polistiren küvetin içerisindeki çözeltiden 633 nm'lik kırmızı lazer ışığının geçirilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Örnek içerisinden geçirilen lazer ışığından saçılan ışık dedektör tarafından ölçülmüştür. Dedektörde ölçülen ışık şiddeti, elektronik sinyallere dönüştürülüp korelatöre gelmektedir. Korelatörde küçük zaman aralıklarında saçılan ışık şiddeti değerleri karşılaştırılır ve ışık şiddetinin değişim hızı belirlenmektedir. Saçılan ışığın şiddetindeki değişimler, çalışılan bölgenin içinde ve dışındaki moleküllerin difüzyon hızıyla ilgilidir (Brown hareketi) ve analiz edilen veriler direkt olarak ışık saçılmasına neden olan taneciklerin difüzyon katsayılarını vermektedir. Difüzyon ile tanecik büyüklüğü arasındaki ilişki, küresel tanecikler için Einstein tarafından geliştirilen ve Brown hareketi ile açıklanan teorik Stokes-Einstein denkliğiyle açıklanmaktadır. Bu denklikten, küresel taneciklere ait difüzyon katsayıları fonksiyonlaştırılıp, hidrodinamik çap hesaplanmaktadır. Manyetik ve silika kaplı nanotaneciklerin boy ve boyut dağılım indeksleri Çizelge 6.1'de verilmiştir.

Çizelge 6.1. Manyetik ve silika kaplı manyetik nanotaneçiklerin boy ve boyut dağılımları

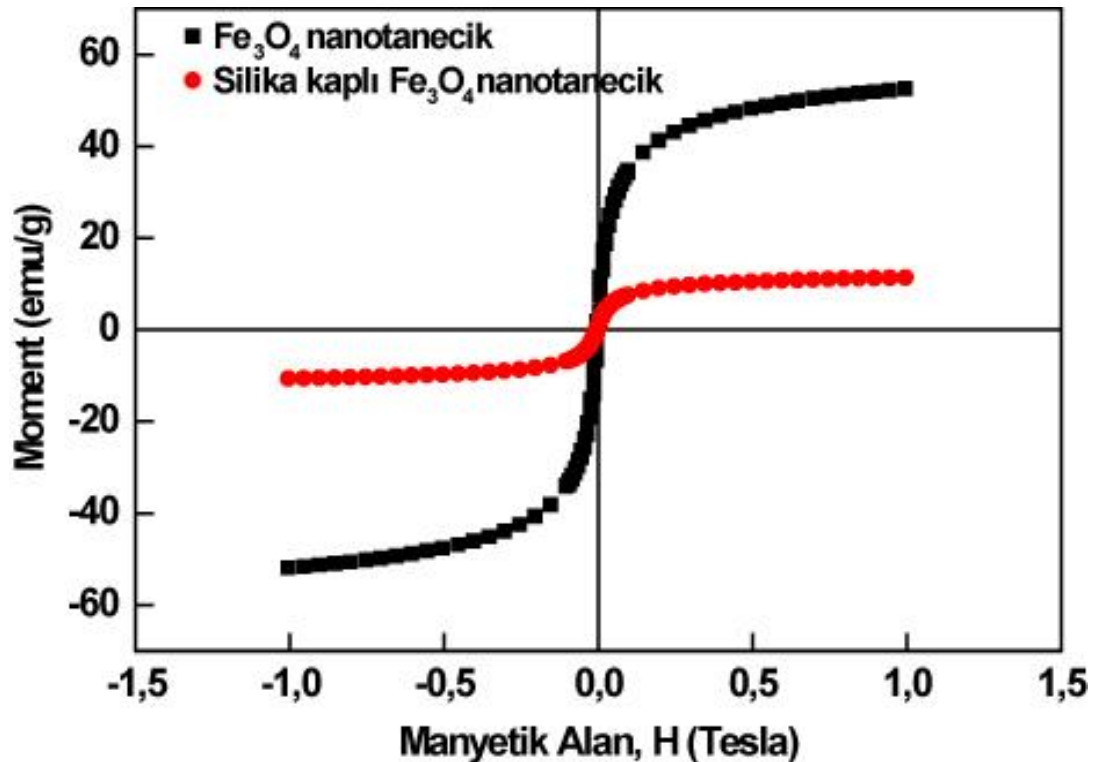
Nanotaneçik türü	Z-ortalama hidrodinamik çap (nm)	PDI
Manyetik	79,6±5,8	0,192
Silika kaplı manyetik	257,3±21,3	0,171

İkili çöktürme yöntemi ile hazırlanan manyetik nanotaneçiklerin ortalama hidrodinamik çapı 79,6±5,8 nm olarak belirlenmiştir. Çözeltideki hidratlaşmış molekülün etkin çapı olarak bilinen ortalama hidrodinamik çapın yüksek çıkması, manyetik nanotaneçiklerin çözücü içerisinde yüksek manyetik moment sebebiyle kümelenmesinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca nanotaneçiklerin boyut dağılım indeksinin 0,192 olması hazırlanan nanotaneçiklerin su ortamında oldukça kararlı ve homojen bir şekilde dağılabildiğini göstermektedir [176]. Kavaz ve arkadaşları bir çalışmada, ikili çöktürme yöntemi ile hazırlanan manyetik nanotaneçiklerin ortalama hidrodinamik çapını 125,00±2,16 nm, boyut dağılım indeksini ise 1,429 olarak belirlemişlerdir. Çöktürme ajanının zayıf baz (NH₃) olduğu, 1000 devir/dakika'lık karıştırma hızı ile oda sıcaklığında hazırlanan bu nanotaneçiklerin çok yüksek kümelenme davranışı gösterdiklerini ve bu yüksek kümelenme davranışının yüksek manyetik momentin etkisiyle olduğunu ve hidrodinamik çapın karıştırma hızı, kullanılan çöktürme ajanı ve sıcaklık ile değişebileceğini bildirmişlerdir [177].

Silika kaplı manyetik nanotaneçiklerin DLS yöntemiyle ortalama hidrodinamik çapı 257,3±21,3 nm olarak belirlenmiştir. Boyut dağılım indeksinin 0,171 olması silika kaplı manyetik nanotaneçiklerin su ortamında çok iyi bir şekilde dağılabildiğini göstermektedir. Wang ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ise, silika kaplı manyetik nanotaneçiklerin ortalama hidrodinamik çapının 124±15 nm olduğu bildirilmiştir [178]. Aynı yöntemle aynı sıcaklıkta fakat farklı sürelerde hazırlanan silika kaplı manyetik nanotaneçiklerin

ortalama hidrodinamik çap larının birbirinden farklı olması kaplanan silika tabakalarının farklı kalınlıklarda olmasından kaynaklanıyor olabilir. Hem manyetik hem de silika kaplı manyetik nanotaneceklerin DLS yöntemiyle belirlenen ortalama hidrodinamik çap larının TEM ve XRD ile belirlenen çap lardan daha yüksek çıkmasının sebebi, manyetik nanotanecekler ve silika kaplı manyetik nanotaneceklerin etrafındaki hidroksil gruplarından dolayı ortaya çıkan elektriksel çift tabakanın da ölçülen çap a dahil olması olabilir.

Hazırlanan manyetik ve silika kaplı nanotaneceklerin manyetik karakterizasyonu oda sıcaklığında VSM ölçümleri ile incelenmiştir. Manyetik ve silika kaplı manyetik nanotaneceklerle ait manyetizasyon eğrileri Şekil 6.19'da görülmektedir.

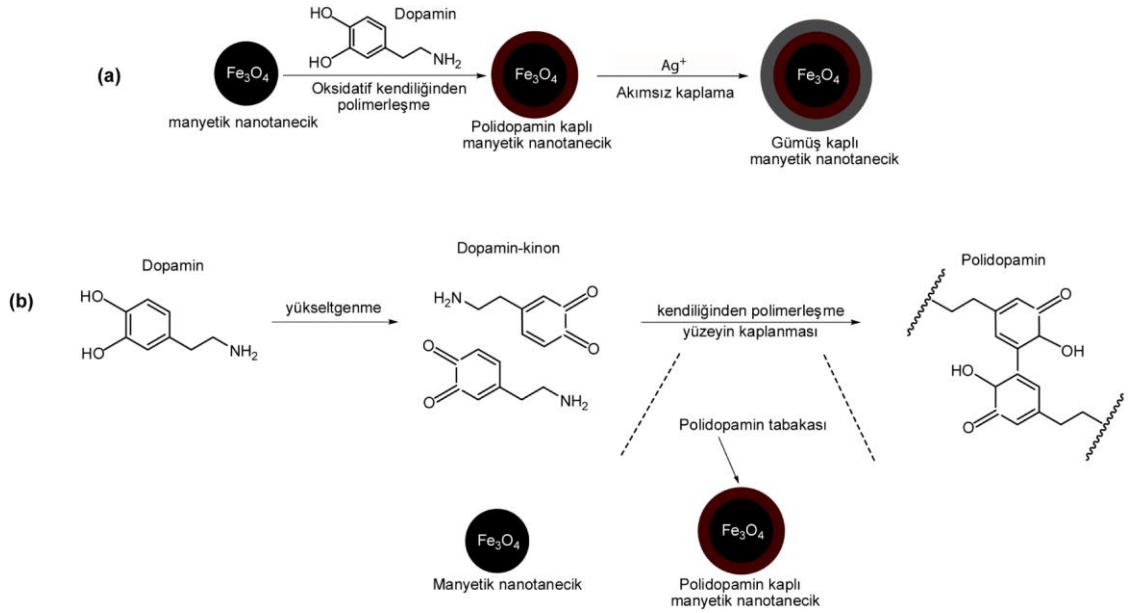


Şekil 6.19. Manyetik ve silika kaplı manyetik nanotaneceklerin histerezis eğrileri

Manyetik ve silika kaplı manyetik nanotaneçiklere ait manyetizasyon eğrileri Şekil 6.19'da karşılaştırılmıştır. Her iki nanotaneçiğinde manyetik alan içerisinde (manyetik alan uygulandığında) histerezis göstermediği açıkça görölmektedir. Bunun sonucunda manyetik ve silika kaplı manyetik nanotaneçiklerin oda sıcaklığında süperparamanyetik karakterde oldukları belirlenmiştir. Bu sıcaklıkta manyetik nanotaneçiklerin doygun mıknatıslanma değeri 52,2 emu/g iken, silika kaplı manyetik nanotaneçiklerin doygun mıknatıslanma değerinin 11,1 emu/g olduğu belirlenmiştir. Bu değerlerden manyetik nanotaneçiklerin manyetik özelliğinin silika kaplı manyetik nanotaneçiklere oranla yaklaşık 5 kat daha fazla olduğunu söylemek mümkündür. Bu farkın sebebi, silika tabakasıyla kaplanan nanotaneçiklerin manyetik özelliklerinin azalmasıdır [157]. Sonuç olarak, manyetik nanotaneçikler silika tabakası ile kaplanarak yüksek yüzey alanı/hacim oranı azaltılmış dolayısıyla su içerisindeki kararlılığı artırılmıştır. Yapılan bir çalışmada, ortalama çapı 13,4 nm olan manyetik nanotaneçiklerin doygun mıknatıslanma değeri 68 emu/g ve ortalama çapı 16,6 nm silika kaplı manyetik nanotaneçiklerin doygun mıknatıslanma değeri ise 36,2 emu/g olarak bulunmuştur [157]. Başka bir çalışmada ise, ortalama çapı 10 nm olan manyetik nanotaneçiklerin doygun mıknatıslanma değeri 68,9 emu/g ve ortalama çapı 75 nm silika kaplı manyetik nanotaneçiklerin doygun mıknatıslanma değeri ise 33,4 emu/g olarak belirlenmiştir [169]. Bizim çalışmamızdaki mıknatıslanma değerleri ile literatürdeki bu değerler arasındaki bu fark taneçik çapının daha yüksek olmasından kaynaklanıyor olabilir. Nanotaneçiklerin ortalama çapı azaldıkça yüzey alanı artmakta ve dolayısıyla taneçik başına düşen demir miktarı da artmaktadır. Demir miktarındaki bu artış nanotaneçiklerin manyetik karakterinin yükselmesine sebep olmaktadır.

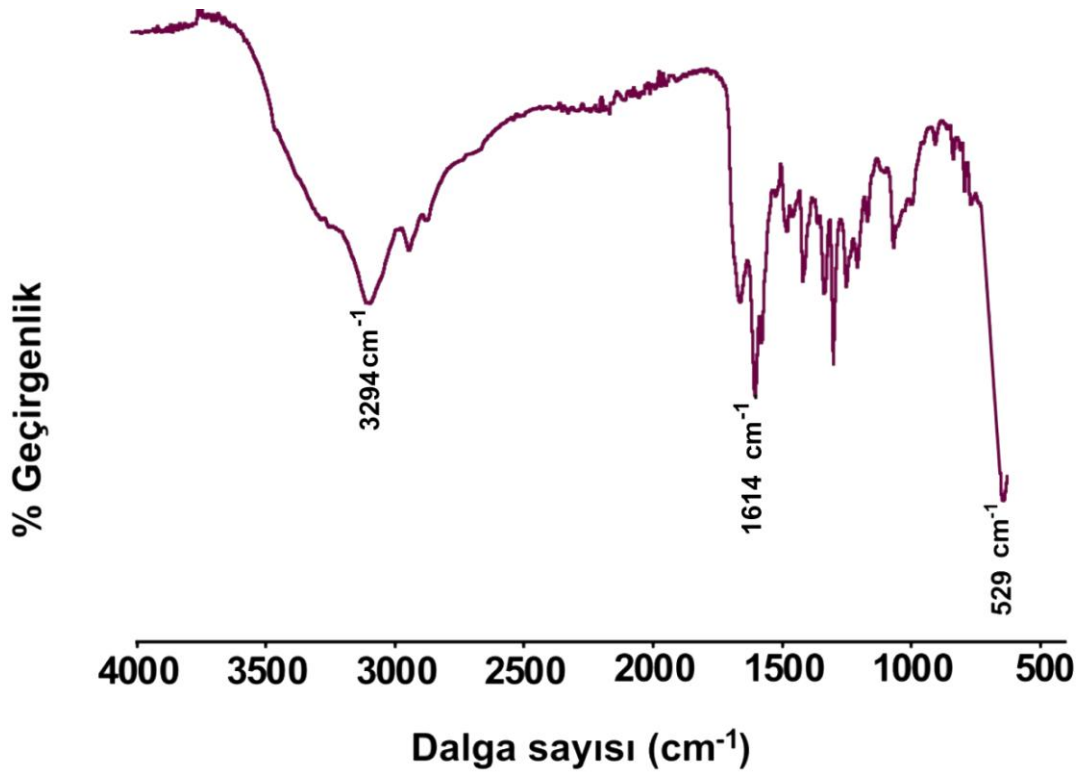
6.2. Polidopamin Kaplı, Gümüş Kaplı ve Karboksilli Asit Modifiyeli Manyetik Nanotaneciklerin Sentezi ve Karakterizasyonu

Polidopamin destekli akımsız gümüş kaplama ile manyetik-gümüş çekirdek-kabuk nanotaneciklerinin hazırlanması için gerekli işlemler Şekil 6.20a' da gösterilmiştir. Dopamin çözeltisi hazırlandığında renksiz ve şeffaftır. Dopaminin oksidatif kendiliğinden polimerleşmesi boyunca şeffaf ve renksiz olan dopamin çözeltisinin rengi katekolün benzokinona yükseltgenmesinden dolayı hızlı bir şekilde pembeye döner ve ardından pembe renkli çözelti yavaş yavaş koyu siyaha döner. Bu durum, polimerleşmenin tıpkı melanin oluşumu gibi takip edilebilir olduğunu göstermektedir [179]. Bununla birlikte, dopaminin kendiliğinden gerçekleşen polimerleşme mekanizması açıkça anlaşılamamaktadır. Bu amaçla, dopaminin oksidatif kendiliğinden polimerleşmesi için önerilen olası reaksiyon mekanizması Şekil 6.20b'de gösterilmektedir. Ayrıca PDA ile nanotanecik arasındaki etkileşimlerin fizikokimyasal ayrıntılarının da anlaşılması güçtür. Ancak dopamin ile organik bir yüzey arasında geri dönüşü olmayan güçlü bir kovalent bağlanmanın olduğu düşünülmektedir [180,181]. Bu yaklaşımla, bir midyenin yapışkanlık özelliğinden esinlenilerek PDA kaplı düz yüzeyler oluşturulmuştur ve adhezyon kuvvetleri incelenmiştir [179]. Lee ve arkadaşları, midyenin yüzeylere yapışmasından esinlenerek tek-molekül mekanizmasını incelemiştir. Midyenin salgıladığı sıvı ile yüzey arasındaki kuvvetler gözününe alınarak dopaminin oksidatif kendiliğinden polimerleşmesiyle yüzey ile PDA arasında tersinmez ve güçlü kovalent bağların oluştuğunu bildirmişlerdir [182].



Şekil 6.20. (a) Polidopamin destekli akımsız gümüş kaplama ile manyetik-gümüş çekirdek-kabuk nanotaneceklerinin hazırlanma yöntemi
(b) Dopaminin oksidatif kendiliğinden polimerleşmesi için olası mekanizma

Bölüm 5.5’de anlatıldığı şekilde dopaminin oksidatif kendiliğinden polimerleşmesi ile hazırlanan PDA kaplı manyetik nanotaneceklerin yapısal karakterizasyonu ATR-FT-IR spektroskopisi ile gerçekleştirilmiştir. Bu nanotaneceklerin FT-IR spektrumu Şekil 6.21’de verilmiştir.



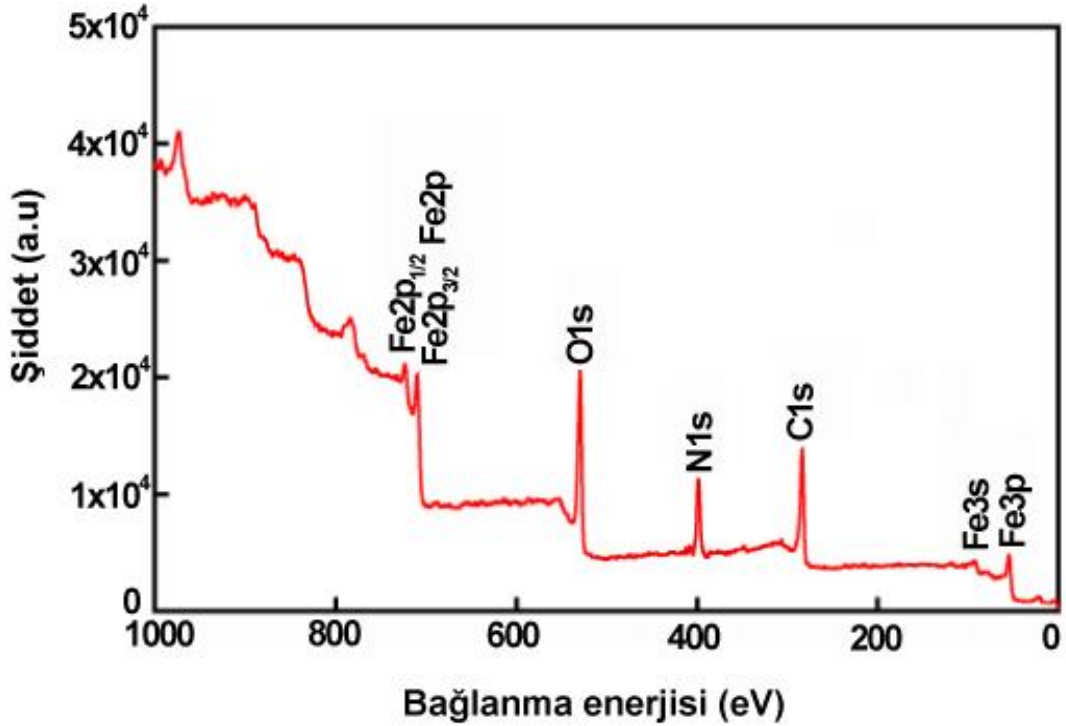
Şekil 6.21. PDA-kaplı manyetik nanotaneciklerin FT-IR spektrumu

Şekil 6.21 incelendiğinde, 3294 cm^{-1} 'de gözlenen geniş band dopamin yapısındaki katekol (cis hidroksil) gruplarından kaynaklanmaktadır. 1614 cm^{-1} civarındaki band ise polidopamin yapısındaki aromatik halkaya aittir. Bu değerler literatürle uyum sağlamaktadır [183]. 529 cm^{-1} 'deki band ise Fe-O gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. Bu bandın manyetik nanotaneciklere göre daha düşük dalga sayısına (daha düşük enerjiye) kaymış olması dopamin ile Fe_3O_4 yapısındaki hidroksil grupları arasındaki güçlü kovalent bağlarından kaynaklanmaktadır. Bu bandların varlığı manyetik nanotaneciklerin polidopamin tabakası ile kaplandığını açıkça göstermektedir. Ancak 529 cm^{-1} 'deki Fe-O gerilme titreşimlerine ait band manyetik nanotaneciklerin ince bir PDA tabakası ile kaplandığına kanıt olabilir. Wang ve grubu tarafından manyetik nanotaneciklerin yüzeyinde dopaminin kendiliğinden polimerleşmesi ile PDA tabakası oluşturularak iki fonksiyonlu biyosensörler hazırlanmıştır. Hazırlanan sensörün yapısal karakterizasyonu FT-IR spektroskopisi ile gerçekleştirilmiş ve 3420 cm^{-1} 'deki

geniş bandın dopamin yapısındaki cis yapısındaki hidroksil gruplarından ve 1615 cm^{-1} 'de gözlenen bandın ise aromatik halkadan kaynaklandığını bildirmişlerdir. Manyetik nanotaneciklere ait karakteristik Fe-O gerilme titreşimlerine ait olan bandın 589 cm^{-1} 'den 572 cm^{-1} 'e polidopamin ile Fe_3O_4 arasındaki kovalent bağlardan dolayı kaydığını belirtmişlerdir [184].

Azot içeren grupların bulunduğu polidopaminin metal bağlayıcı özelliği sayesinde manyetik nanotaneciklerin yüzeyinin düzgün bir şekilde gümüş metali ile kaplanmıştır. Akımsız kaplama işleminde amonyaklı gümüş nitrat çözeltisi gümüş kaynağı ve glikoz çözeltisi ise indirgeme ajanı olarak seçilmiştir. PVP ise akımsız kaplama ile düzgün bir gümüş tabakasının oluşabilmesi için dağıtıcı olarak kullanılmıştır. Bütün akımsız gümüş kaplama işlemi çevre kirliliğini azaltmak ve kaplama etkinliğini artırmak için Pd^{2+} veya Sn^{2+} olmaksızın yapılmıştır [180].

Hazırlanan PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin kimyasal karakterizasyonu ise XPS ile gerçekleştirilmiştir. Bu nanotaneciklere ait XPS spektrumu Şekil 6.22'de verilmiştir.

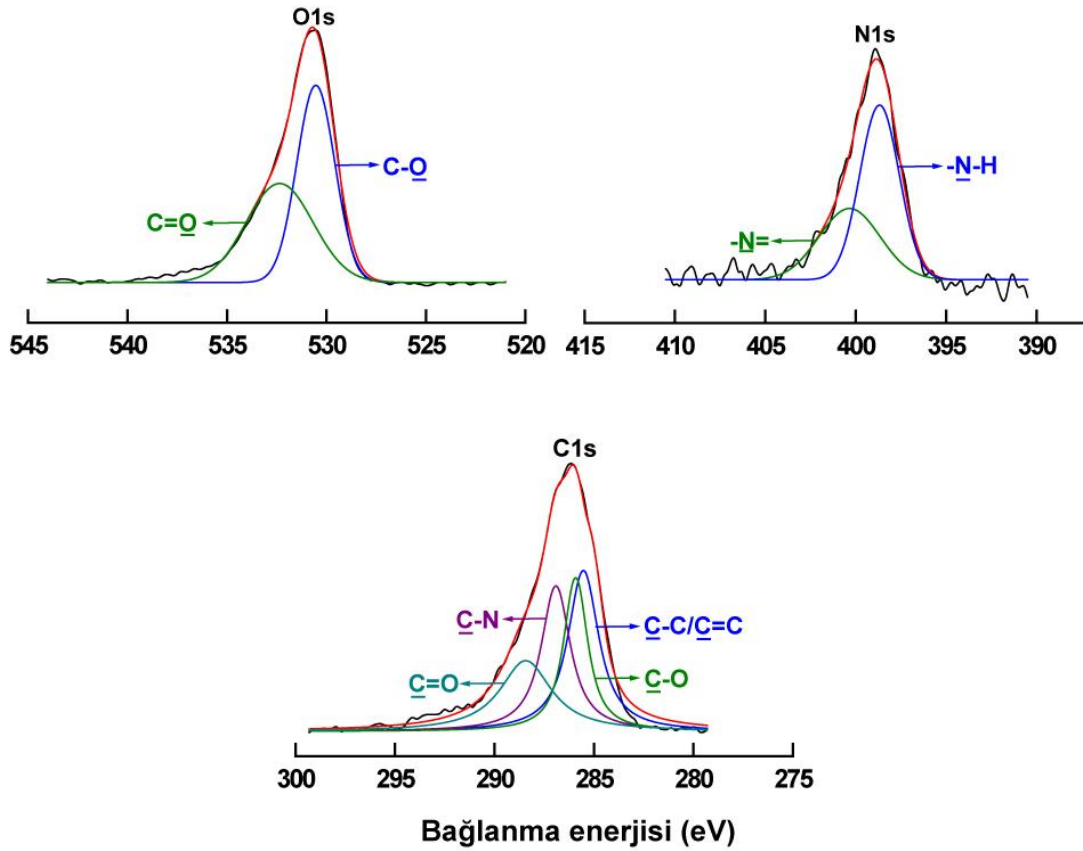


Şekil 6.22. PDA kaplı manyetik nanotaneceklerin XPS spektrumu

Polidopamin modifiyeli manyetik nanotaneceklerin XPS spektrumu incelendiğinde (Şekil 6.22), Fe3p, Fe3s, C1s, N1s, O1s, Fe2p_{3/2} ve Fe2p_{1/2} elementlerine ait bağlanma enerjilerinin yaklaşık olarak sırasıyla 99 eV, 153eV, 285 eV, 400 eV, 532 eV, 710 eV ve 720 eV oldukları belirlenmiştir. Bu değerlerin literatürle uyum içerisinde oldukları belirlenmiştir [105,180]. Bu bileşenlerden C1s, N1s, O1s ve Fe2p_{3/2}'nin % bağıl oranları ise sırasıyla 42,2, 20,7, 34,8 ve 2,3'dür. N1s pikinin varlığı manyetik nanotaneceklerin polidopamin tabakası ile kaplandığına kanıt olarak gösterilebilir [185]. O1s piki polidopamin yapısındaki katekol (cis) hidroksil gruplarından ortaya çıkmıştır [181,186]. Ayrıca yüzeydeki Fe2p_{3/2}'nin % bağıl oranının manyetik nanotanecek yapısındaki demir elementinin bağıl oranına göre 2,3'e düşmesi de yani PDA kaplı nanotanecekler için XPS spektrumunda Fe2p_{3/2} pikinin gözlenmesi PDA'nın yüzeyde ince bir tabaka halinde kaplandığına dair bir kanıt olabilir [182]. Bunun yanı sıra saf manyetik nanotaneceklerin XPS spektrumunda 285 eV bağlanma

enerjisinde gözlenmeyen C1s karakteristik pikinin PDA kaplı manyetik nanotaneceklerin XPS spektrumunda gözlenmiş olması da bu nanotaneceklerin PDA tabakasıyla kaplandığına açık bir kanıt olabilir. Messersmith ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, dopaminin oksidatif kendiliğinden polimerleşmesi ile hazırlanan PDA kaplı manyetik nanotaneceklerin XPS ile kimyasal karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Manyetik nanotaneceklerin XPS spektrumuna göre 399,5 eV bağlanma enerjisinde ortaya çıkan pikin N1s'a ait olduğunu ve bu pikin varlığının nanotaneceklerin PDA tabakasıyla kaplandığını açıkça gösterdiğini bildirmişlerdir [187].

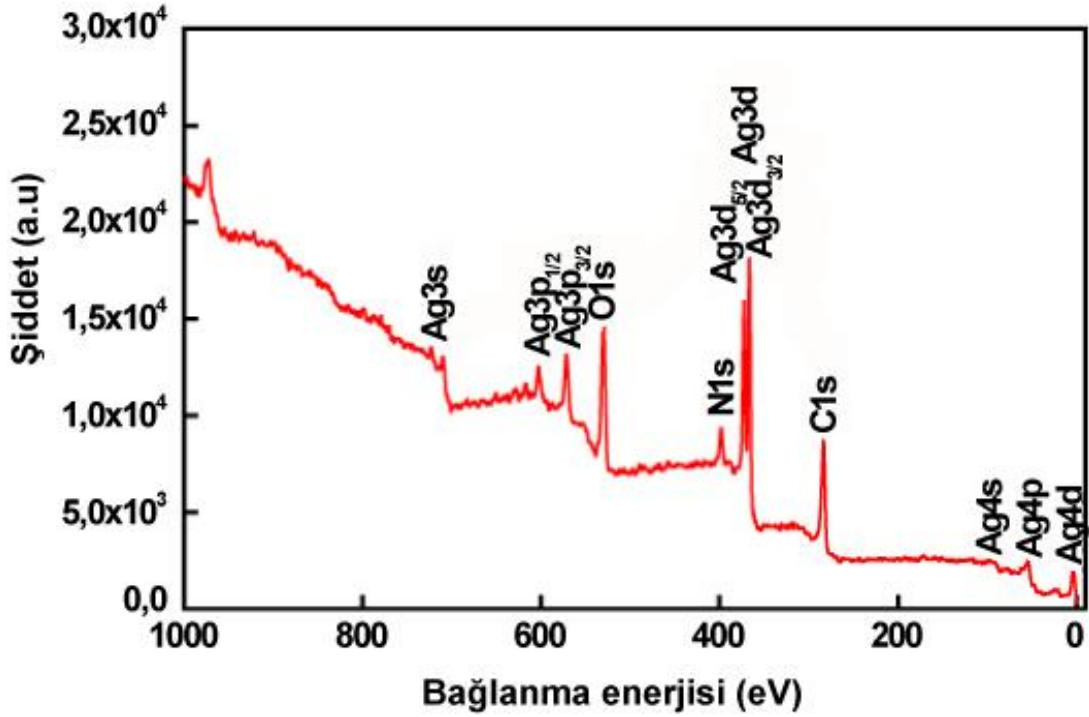
Şekil 6.23 PDA kaplı manyetik nanotaneceklerin yüksek çözünürlüklü XPS spektrumlarını göstermektedir.



Şekil 6.23. PDA kaplı manyetik nanotaneceklerin O1s, N1s ve C1s atomlarının yüksek çözünürlüklü XPS spektrumları

Dopaminin nanotanecik yüzeyinde oksidatif kendiliğinden polimerleşmesi sonucunda hazırlanan PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin O1s spektrumu incelendiğinde (Şekil 6.23), iki farklı kimyasal çevreye sahip oksijen atomunun bulunduğu belirlenmiştir. Polidopamin yapısında bulunan katekol gruplarındaki oksijen atomunun ($C-O$) bağlanma enerjisi 530,5 eV iken, yine polidopamin yapısındaki kinon grupları oksijeninin ($C=O$) bağlanma enerjisi 532,3 eV olarak belirlenmiştir. [188]. Dört farklı kimyasal çevreye sahip C atomu olan PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin C1s spektrumunda gözlenen 285 eV bağlanma enerjisindeki C1s sinyali C-C/C=C gruplarından, 285,9 eV'daki sinyal katekol ($C-O$) gruplarındaki karbon eter bağından, 287 eV'daki sinyal C-N gruplarından ve 288,5 eV bağlanma enerjisindeki sinyal kinon gruplarındaki ($C=O$) C atomlarından dolayı ortaya çıkmıştır. Katekol ve kinon gruplarına ait C1s ve O1s sinyallerinin gözlenmesi manyetik nanotaneciklerin PDA tabakası ile kaplandığını kanıtlar niteliktedir [181,188]. Manyetik nanotaneciklerin yüzeyinde biriken polidopamin yapısındaki azot atomlarının varlığı, N-H türleri için 399 eV bağlanma enerjisinde ve $-N=$ türleri için 400 eV bağlanma enerjisinde gözlenen 2 farklı sinyalden anlaşılmaktadır. Buradaki N-H türleri dopamin yapısındaki amin gruplarından, $-N=$ türleri ise dopaminin kendiliğinden polimerleşmesi sırasında yapı içerisinde oluşmaktadır [181]. Ayrıca amin, amit, nitril, üre ve aromatik halkaya bağlı azot içeren organik bileşiklerin XPS spektrumlarından N1s atomunun bağlanma enerjisinin 399-400 eV aralığında olduğu bildirilmektedir [133,189,190]. Dolayısıyla bu grupları içeren organik bileşiklerdeki azot atomlarının bağlanma enerjileri birbirine çok yakın çıkmaktadır.

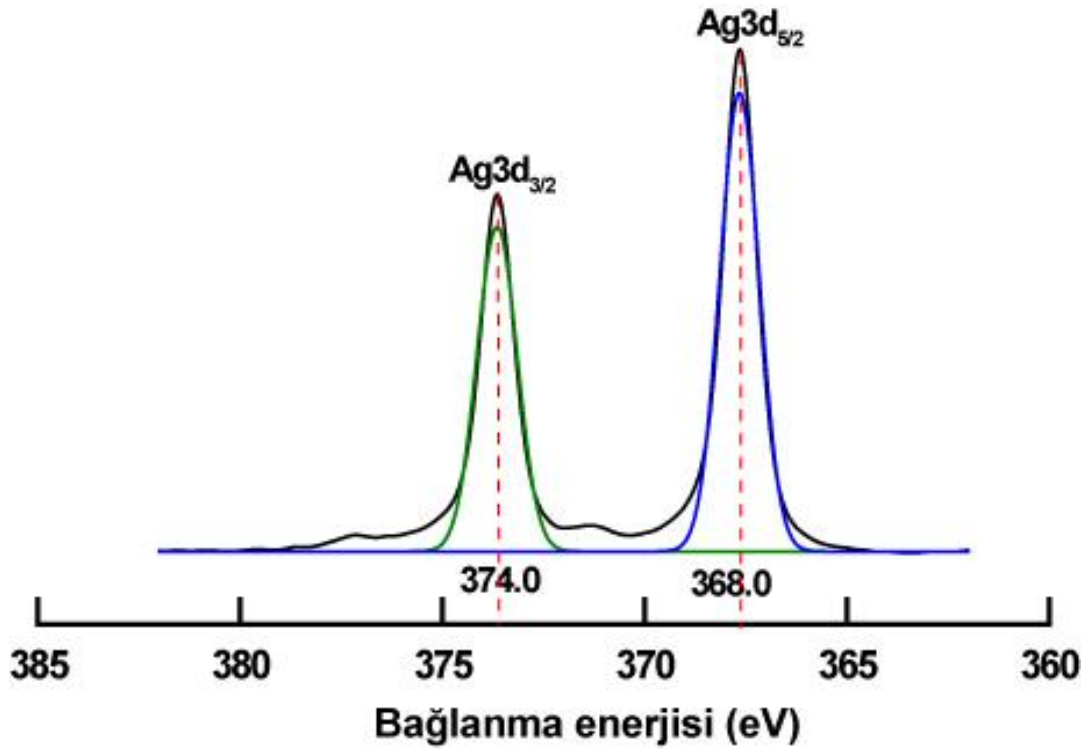
Bölüm 5.6'da anlatıldığı gibi, PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin yüzeyinde gümüşün indirgenmesiyle hazırlanan gümüş kaplı manyetik nanotaneciklere ait XPS spektrumu Şekil 6.24.'de ve Ag3d atomunun yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu Şekil 6.25.'de verilmiştir.



Şekil 6.24. Gümüş kaplı manyetik nanotaneceklerin XPS spektrumu

PDA kaplı manyetik nanotaneceklerin yüzeyinde akımsız kaplama ile hazırlanan Ag modifiyeli manyetik nanotaneceklerin XPS spektrumu incelendiğinde (Şekil 4.18), Ag4d, Ag4p, Ag4s, C1s, Ag3d_{3/2}, Ag3d_{5/2}, N1s, O1s, Ag3p_{3/2}, Ag3p_{1/2}, ve Ag3s elementlerine ait bağlanma enerjilerinin yaklaşık olarak sırasıyla 22 eV, 53 eV, 91,4 eV, 285 eV, 369,8 eV, 374,4 eV, 400 eV, 532 eV, 573 eV, 598 eV ve 720 eV oldukları belirlenmiştir. Literatürdeki değerlerle uyum içerisinde olan bu piklerin varlığı PDA tabakası ile kaplanmış olan manyetik nanotaneceklerin yüzeyinde gümüşün indirgendiğine açık bir kanıt olabilir [180]. Bu bileşenlerden C1s, N1s, O1s, Ag3d % bağıl oranları ise sırasıyla 36,1, 7,8, 24,5 ve 31,6'dır. Yaklaşık 370 eV bağlanma enerjisindeki güçlü Ag3d sinyali, PDA kaplı manyetik nanotaneceklerin gümüş ile kaplandığını göstermektedir. Liao ve grubunun yaptığı bir çalışmada, poliimid filmler dopaminin oksidatif kendiliğinden polimerleşmesi ile PDA tabakası ile kaplanmış ve bu filmler üzerinde akımsız kaplama ile gümüş tabakası biriktirilmiştir. XPS ile yapılan kimyasal karakterizasyon sonucunda, 370 eV bağlanma enerjisinde çok güçlü sinyal

veren Ag3d pikinin gözlenmesinin ve 400 eV bağlanma enerjisine sahip N1s pikinin gözlenmemiş olmasının PDA kaplı PI filmlerin tamamen ve homojen bir şekilde gümüş ile kaplanmasından kaynaklandığını belirtmişlerdir [181]. Wang ve arkadaşlarının yaptıkları bir başka çalışmada ise, silika nanotanecikler öncelikle PDA tabakası ile kaplanmış ve ardından akımsız kaplama ile gümüş tabakası ile kaplanmıştır. Hazırlanan gümüş kaplı silika nanotaneciklerin kimyasal karakterizasyonu XPS ile gerçekleştirilmiştir. 370 eV bağlanma enerjisindeki güçlü Ag3d sinyalinin varlığı ile PDA kaplı silika nanotaneciklerin gümüş ile kaplandığını ileri sürmüşlerdir [180].

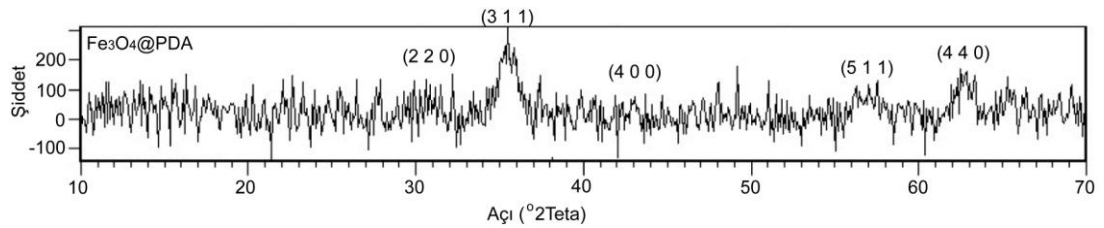


Şekil 6.25. Gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin yapısındaki Ag3d atomunun yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu

Gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin yapısında bulunan Ag3d atomunun yüksek çözünürlük XPS spektrumunda 368,0 eV ve 374,0 eV bağlanma enerjilerinde Ag3d_{5/2} and Ag3d_{3/2} pikleri Ag⁰ türlerinden kaynaklanmaktadır. Dolayısıyla bu piklerin varlığı PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin

yüzeyinin iyi şekilde metalik gümüş ile kaplandığını göstermektedir [191,192].

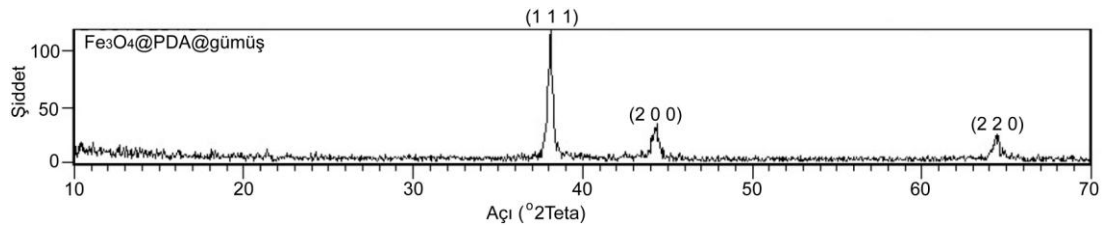
İkili çöktürme yöntemi ile sentezlenen manyetik nanotaneceklerin yüzeyinde dopaminin oksidatif kendiliğinden polimerleşmesi ile hazırlanan PDA kaplı manyetik nanotaneceklerin ve bu nanotaneceklerin yüzeyinde akımsız kaplama yöntemiyle gümüş metalinin biriktirilmesi sonucunda hazırlanan gümüş kaplı manyetik nanotaneceklerin kristal yapıları XRD ile incelenmiştir. PDA kaplı manyetik nanotanecekler için XRD spektrumları Şekil 6.26'da verilmiştir.



Şekil 6.26. PDA kaplı manyetik nanotaneceklerin XRD deseni

PDA kaplı nanotanecekler için XRD deseni incelendiğinde, manyetik nanotanecekler için XRD deseni ile birebir örtüştüğü gözlenmiştir. (2 2 0), (3 1 1), (4 0 0), (5 1 1) ve (4 4 0) yüzey merkezli kübik (fcc) faz düzeylerine dayanarak 2θ değerlerinin sırasıyla $30,4^\circ$, $35,6^\circ$, $43,3^\circ$, $57,3^\circ$ ve $62,8^\circ$ olduğu belirlenmiştir [16]. PDA kaplı nanotanecekler için kırınım piklerinin saf manyetik nanotaneceklerin kırınım pikleriyle aynı olması PDA tabakasının XRD desenini etkilemediğini dopaminin oksidatif kendiliğinden polimerleşmesi esnasında manyetik nanotaneceklerin kristal faz kararlılığının değişmediğini göstermektedir [180,193]. Ayrıca PDA kaplı manyetik nanotanecekler için belirgin bir kırınım pikinin gözlenmemesi, manyetik nanotaneceklerin ince bir tabaka halinde PDA ile kaplanmasından ve kullanılan polimerleşme yönteminde elde edilen polidopaminin amorf kristalinitesinden kaynaklanıyor olabilir. PDA kaplı manyetik

nanotaneciklerin (3 1 1) faz düzeyindeki en şiddetli karakteristik kırınım pikine karşılık gelen 2θ değeri kullanılarak Debye-Scherrer eşitliğinden ortalama çapı 43,73 nm olarak hesaplanmıştır. Yang ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, dopaminin oksidatif kendiliğinden polimerleşmesi ile hazırlanan PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin kristal yapıları XRD ile incelenmiş ve PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin XRD spektrumlarının saf manyetik nanotaneciklerin spektrumuyla aynı olduğunu ve polimer tabakasının hiçbir kırınım piki vermediği gözlemlenmiştir. Ayrıca Debye-Scherrer eşitliği ile manyetik nanotaneciklerin ortalama çapını 200 nm, PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin ortalama çapını ise 230 nm olarak hesaplamışlardır [16]. Manyetik nanotaneciklerin yüzeyinde kendiliğinden polimerleşen dopamin çözeltisinin derişimindeki farklılıklar hazırlanan PDA tabakasının kalınlığını doğrudan etkilemektedir.

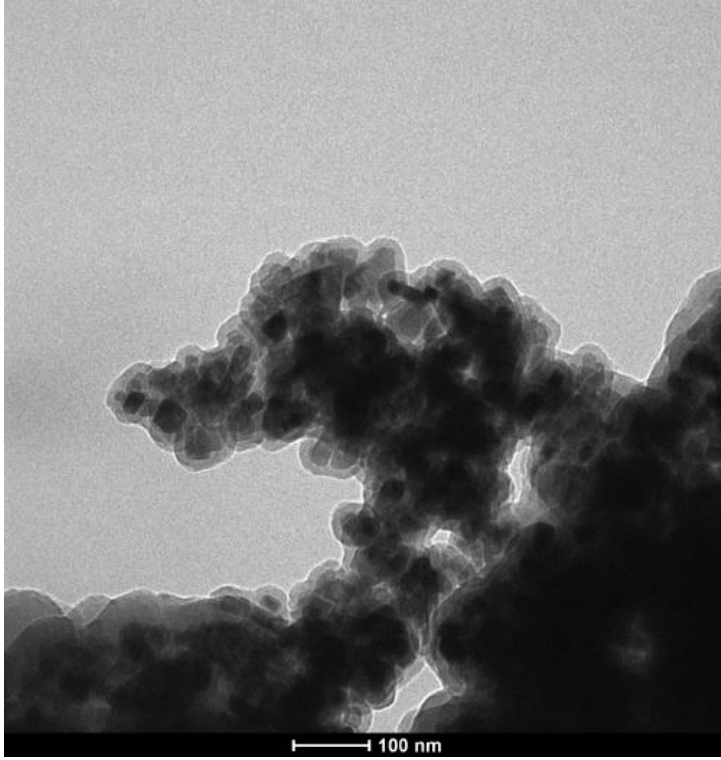


Şekil 6.27. Gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin XRD deseni

Gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin XRD deseni incelendiğinde ise (Şekil 6.27), (1 1 1), (2 0 0) ve (2 2 0) fcc faz düzeylerine dayanarak 2θ değerleri sırasıyla $38,2^\circ$, $44,4^\circ$ ve $64,6^\circ$ olarak belirlenmiştir [180]. Ek olarak, XRD deseninde hiçbir safsızlık pikine rastlanmamıştır. Bütün bu kırınım piklerinin varlığı, PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin yüzeyinde yüksek kristaliniteki gümüşün varlığına ve nanotaneciklerin Ag metali ile tekdüze bir şekilde kaplandığına dair açık bir kanıttır [180]. Gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin (1 1 1) faz düzeyindeki en şiddetli karakteristik kırınım pikine karşılık gelen 2θ değeri kullanılarak ortalama çapı 113,96 nm olarak hesaplanmıştır. Wang ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada,

silika nanotanecikler öncelikle dopaminin kendiliğinden polimerleşmesi ile PDA tabakası kaplanmış ve ardından akımsız kaplama ile gümüşün yüzeyde indirgenmesi sağlanmıştır. Hazırlanan gümüş kaplı nanotaneciklerin XRD ile karakterizasyonu gerçekleştirilmiş ve (1 1 1), (2 0 0) (2 2 0) ve (3 1 1) fcc faz düzeylerine dayanarak 2θ değerlerini sırasıyla $38,2^\circ$, $44,4^\circ$, $64,6^\circ$ ve $77,6^\circ$ olarak belirlemişlerdir. Ayrıca (1 1 1) faz düzeyindeki en şiddetli karakteristik kırınım pikine karşılık gelen 2θ değerini kullanarak ortalama nanotanecik çapını 18 nm olarak hesaplamışlardır [180]. Daha önce de belirtildiği gibi, manyetik nanotaneciklerin PDA ile kaplanması sırasında dopamin monomer çözeltisinin derişimindeki farklılıklar ve tepkime şartlarının farklı olması (sıcaklık, tepkime süresi, karıştırma hızı vb.) nanotanecik boyutunu doğrudan etkilemektedir.

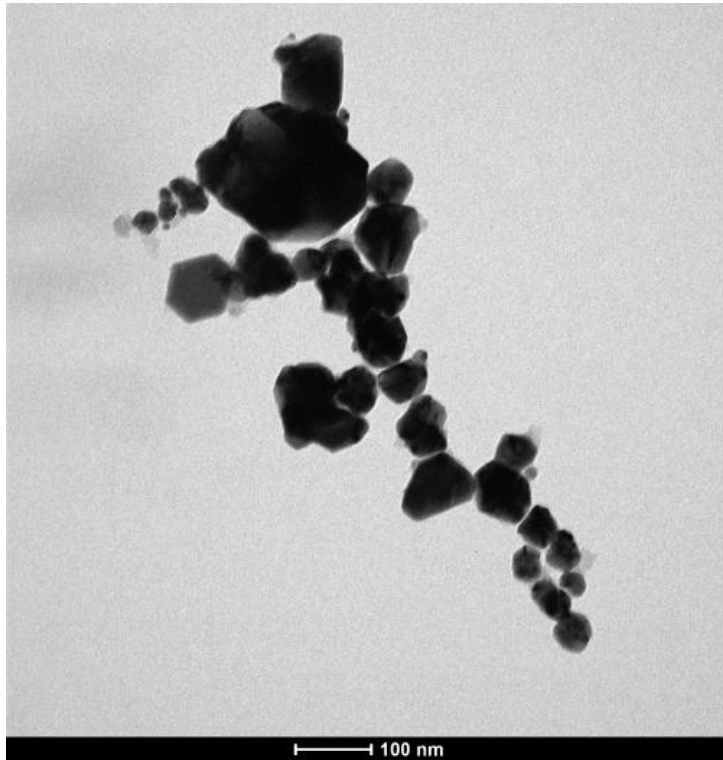
PDA ve gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin yapıları TEM ile incelenmiştir. PDA ve gümüş kaplı manyetik nanotaneciklere ait TEM görüntüleri Şekil 6.28 ve 6.29'da verilmiştir.



Şekil 6.28. PDA kaplı manyetik nanotaneceklerin TEM görüntüsü

Şekil 6.28'den manyetik nanoçekirdeklerin PDA tabakasıyla düzgün bir şekilde kaplandığı açıkça görülmektedir. PDA kaplı manyetik nanotaneceklerin kabuk aglomerasyonu olmaksızın bakır grid üzerinde çok iyi bir şekilde dağıldıkları anlaşılmaktadır. Ortalama nanotanecek çapı ise 41,2 nm olarak belirlenmiştir. Yang ve grubunun yaptığı bir çalışmada, manyetik nanotanecekleri farklı derişimlerde kullanılan dopaminin oksidatif kendiliğinden polimerleşmesi ile PDA tabakası ile kaplamış ve yüzey morfolojisini TEM ile incelemişlerdir. Nanotaneceklerin PDA tabakası ile oldukça iyi bir şekilde kaplandığını ve koyu renkli manyetik nanoçekirdeklerin etrafında açık renkli PDA tabakasını TEM karakterizasyonu ile göstermişlerdir. Farklı derişimlerde dopamin kullanılarak hazırlanan PDA kaplı manyetik nanotaneceklerin ortalama çaplarının ise 10-15 nm aralığında değiştiğini bildirmişlerdir [16]. Wang ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada ise, manyetik nanotanecekler dopaminin kendiliğinden polimerleşmesi ile PDA tabakası ile kaplanmış ve

nanotaneciklerin yapısı TEM ile incelenmiştir. TEM ile PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin ortalama çapını ise 10 nm olarak belirlemişlerdir [193]. Sonuç olarak PDA kaplı nanotaneciklerin ortalama çapı, dopaminin kendiliğinden polimerleşme süresi ve kullanılan dopamin monomer çözeltisinin derişimi ile değıştirilebilmektedir [182,193].

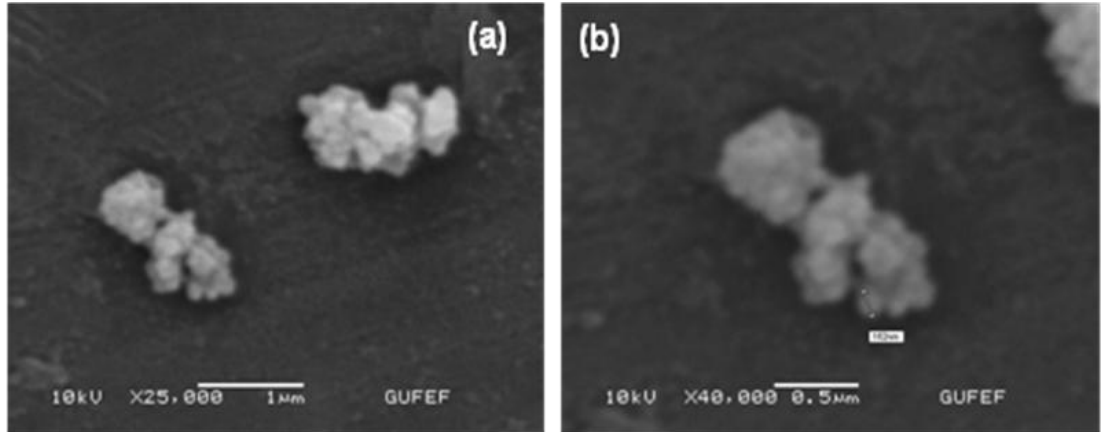


Şekil 6.29. Gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin TEM görüntüsü

Akımsız kaplama yöntemiyle PDA kaplı nanotaneciklerin yüzeyine kaplanan gümüş tabakası Şekil 6.29'da verilen TEM görüntüsünden net bir şekilde görülmektedir. Bu görüntüden manyetik nanotaneciklerin gümüş metaliyle tekdüze bir şekilde kaplandığını söylemek mümkündür. TEM görüntüsünden nanotaneciklerin ortalama çapı ise 67,9 nm olarak belirlenmiştir. Bu değer ile PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin ortalama çapı arasındaki farktan gümüş tabakasının kalınlığı 26,7 nm olarak hesaplanabilir. Raston ve grubunun yaptığı bir çalışmada, süperparamanyetik nanotanecikler öncelikle PDA tabakası ile kaplanmış ve

ardından yüzeyde gümüşün indirgenmesi ile gümüş kaplı süperparamanyetik nanotanecikler hazırlanmıştır. Bu nanotaneciklerin TEM ile yapıların karakterizasyonu sonucunda gümüş tabakasının kalınlığının 16 nm olduğu bildirilmiştir. Gümüş ile kaplanan manyetik nanotaneciklerdeki bu tabakanın kalınlığının 18-30 nm arasında değişiklik gösterdiğini ve bu farklılığın polimerik yapıdaki PDA tabakasının kalınlığı ile ilgili olduğunu belirtmişlerdir [194]. Daha önce de belirtildiği gibi, TEM ile belirlenen ortalama çapın gerçek nanotanecik çapı olması, XRD ile belirlenen ortalama çapın ise bir yaklaşımdan yola çıkılarak hesaplanan bir çap olması sebebiyle, PDA ve gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin XRD spektrumlarından belirlenen ortalama çapları ile TEM karakterizasyonu sonucunda belirlenen ortalama çapları birbirinden farklıdır.

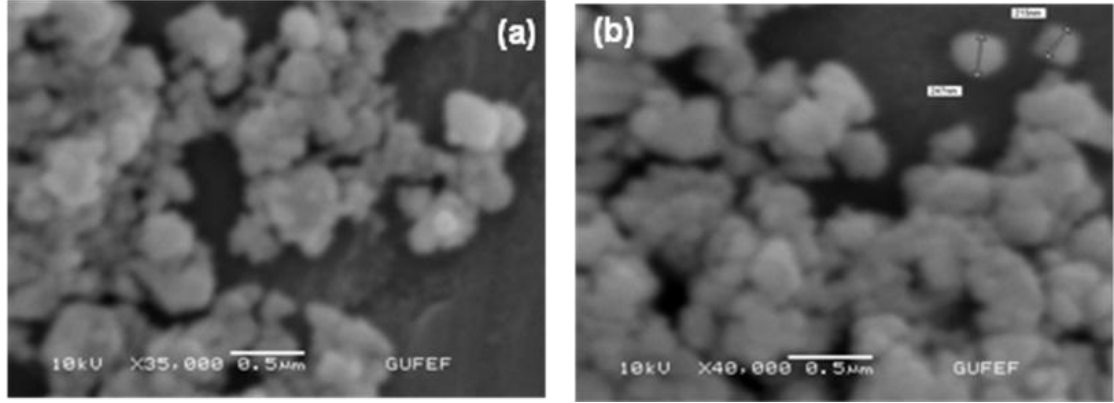
PDA ve gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin yüzey morfolojileri SEM ile incelenmiştir. Manyetik ve silika kaplı nanotaneciklere ait SEM görüntüleri Şekil 6.30 ve 6.31’de verilmiştir.



Şekil 6.30. PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin SEM görüntüsü
(a) 25000 büyütme (b) 40000 büyütme

PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin SEM görüntüleri incelendiğinde, bu nanotaneciklerin küresel geometride olduğu açıkça görülmektedir. PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin 40000 büyütme ile alınan SEM

görüntüsünden ortalama nanotanecik çapı yaklaşık 160 nm olarak belirlenmiştir.



Şekil 6.31. Gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin SEM görüntüsü
(a) 35000 büyütmeli (b) 40000 büyütmeli

Şekil 6.31 incelendiğinde, gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin manyetik nanotaneciklerin geometrilerinden farklı bir şekilde küresel bir geometriye sahip oldukları anlaşılmaktadır. Gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin 40000 büyütme ile alınan SEM görüntüsünden ortalama nanotanecik çapı 200 nm olarak belirlenmiştir.

PDA ve gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin SEM ve TEM görüntüleri ve bu karakterizasyonlar sonucunda belirlenen ortalama çaplar arasındaki farklar, SEM yönteminin sadece yüzey morfolojisini incelemeye olanak vermesi dolayısıyla ölçüm hassasiyetinin daha düşük olmasından ve TEM yönteminin ise daha yüksek hassasiyetle nanotaneciklerin atomik yapılarının dahi incelenebilmesine imkan vermesinden kaynaklanmaktadır.

Dopaminin oksidatif kendiliğinden polimerleşmesi ile hazırlanan PDA kaplı ve PDA tabakası üzerinde gümüşün indirgenmesi ile hazırlanan gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin boy ve boyut dağılımları DLS yöntemiyle belirlenmiştir. Bu nanotaneciklerin boy ve boyut dağılım indeksleri Çizelge 6.2’de verilmiştir.

Çizelge 6.2. PDA ve gümüş kaplı manyetik manyetik nanotaneceklerin boy ve boyut dağılımları

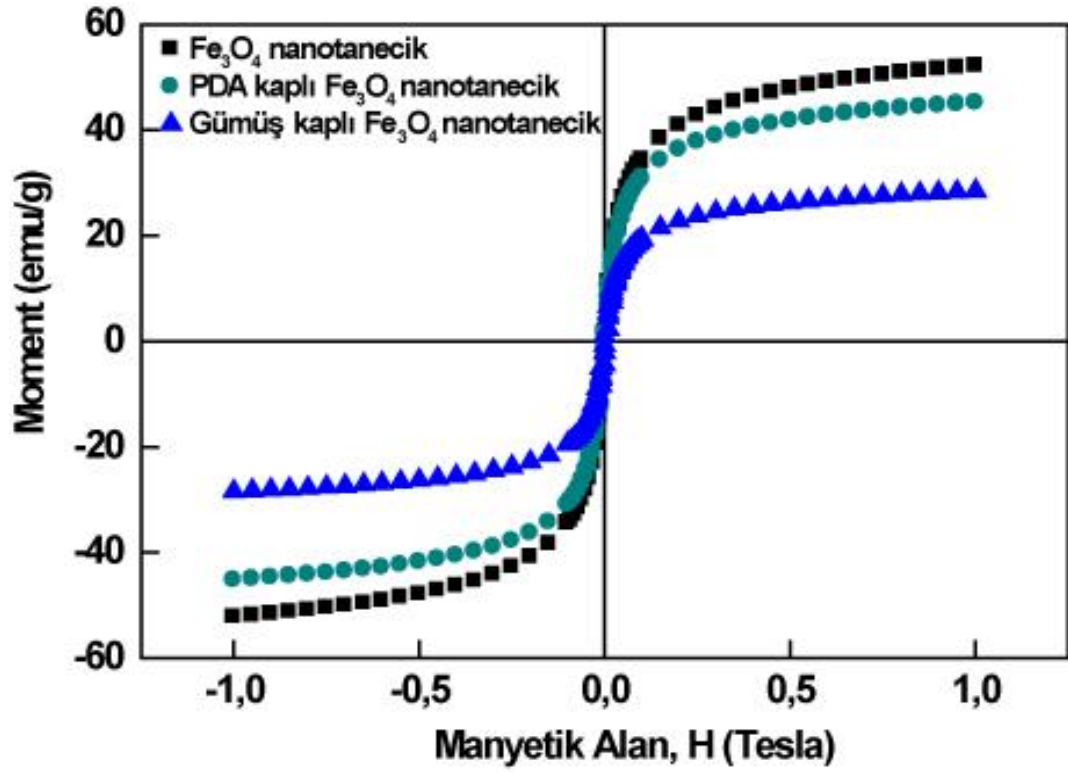
Nanotanecek türü	Z-ortalama hidrodinamik çap (nm)	PDI
PDA kaplı	110,7±6,4	0,201
Gümüş kaplı	159,8±12,1	0,216

PDA kaplı manyetik nanotaneceklerin DLS yöntemiyle ortalama hidrodinamik çapı 110,7±6,4 nm olarak belirlenmiştir. Boyut dağılım indeksinin 0,201 olması PDA kaplı manyetik nanotaneceklerin su ortamında çok iyi bir şekilde dağılabildiğini göstermektedir. PDA kaplı manyetik nanotaneceklerin DLS yöntemiyle belirlenen ortalama hidrodinamik çapının TEM ve XRD ile belirlenen çaplardan daha yüksek çıkmasının sebebi, PDA yapısındaki amin gruplarının pH=7,0-7,2 civarında pozitif yüklenmesi nedeniyle ortaya çıkan elektriksel çift tabakanın da ölçülen çapa dahil olması olabilir.

Gümüş kaplı manyetik nanotaneceklerin DLS yöntemiyle ortalama hidrodinamik çapı ise 159,8±12,1 nm olarak belirlenmiştir. Boyut dağılım indeksinin 0,216 olması gümüş kaplı manyetik nanotaneceklerin aynı şekilde su ortamında oldukça kararlı ve homojen bir şekilde dağılabildiğini göstermektedir. Çözeltideki hidratlaşmış molekülün etkin çapı olarak bilinen ortalama hidrodinamik çapın yüksek çıkması TEM ve XRD ile belirlenen ortalama çaplara göre daha yüksek çıkması, gümüş kaplı manyetik nanotaneceklerin çözücü içerisinde yüksek manyetik moment sebebiyle kümelenmesinden kaynaklanıyor olabilir.

Hazırlanan manyetik, PDA ve gümüş kaplı nanotaneceklerin manyetik karakterizasyonu oda sıcaklığında gerçekleştirilen VSM ölçümleri ile

incelenmiştir. Manyetik temelli nanotaneçiklere ait manyetizasyon eğrileri Şekil 6.32’de verilmiştir.

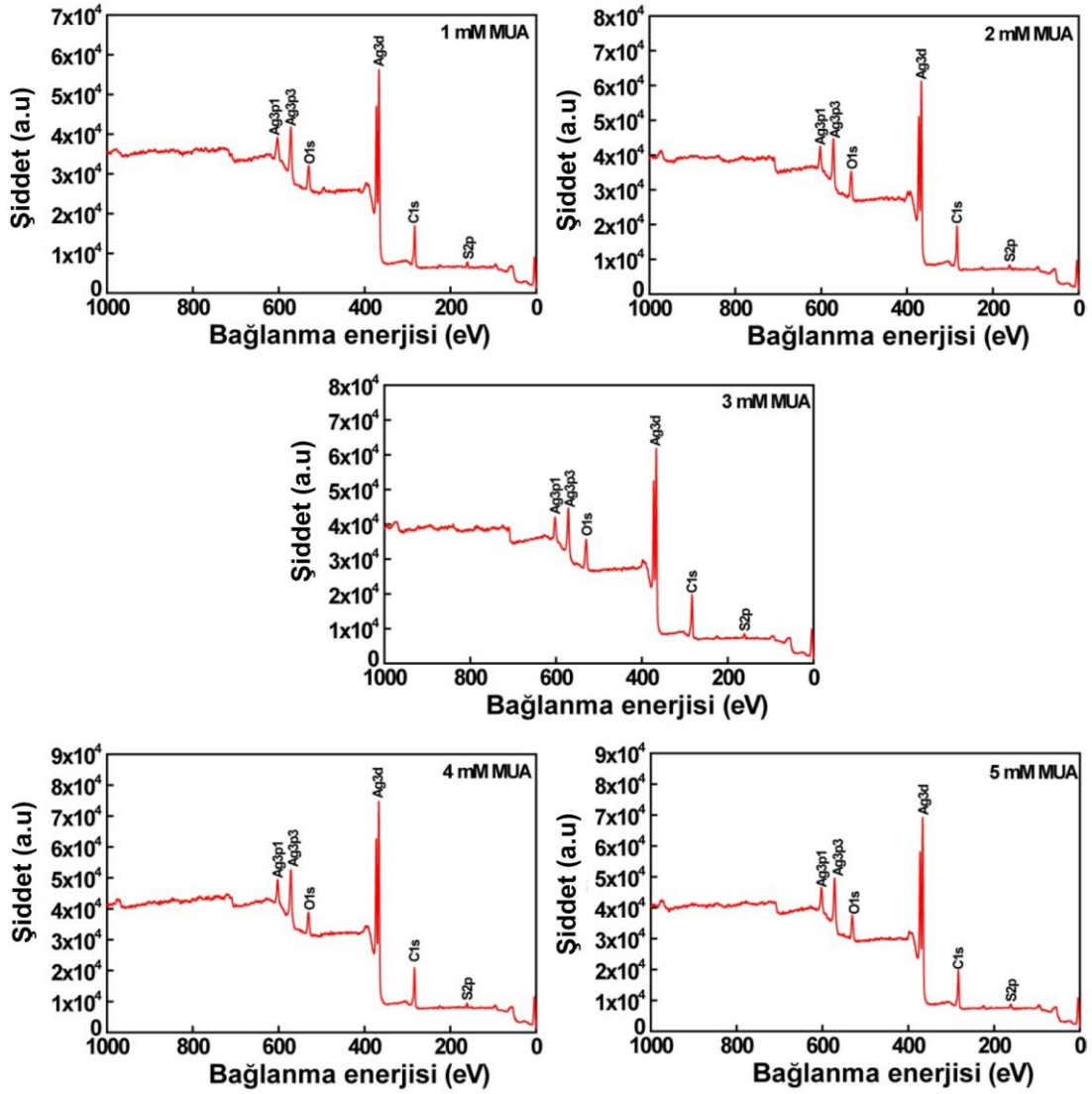


Şekil 6.32. Manyetik, PDA kaplı ve gümüş kaplı manyetik nanotaneçiklerin histerezis eğrileri

Şekil 6.32’de manyetik, PDA ve Ag tabakası ile kaplanan manyetik nanotaneçiklerin oda sıcaklığındaki manyetizasyon eğrileri gösterilmiştir. Bütün nanotaneçiklerin, bir dış manyetik alan uygulandığında histerezis göstermediği eğrilerden anlaşılmaktadır. Ayrıca manyetik, PDA ve gümüş kaplı manyetik nanotaneçiklerin oda sıcaklığında süperparamanyetik karakterde oldukları sonucuna ulaşılmıştır [180,193]. Oda sıcaklığında, manyetik, PDA ve gümüş kaplı manyetik nanotaneçiklerin doymuş mıknatıslanma değerleri sırasıyla 52,2 emu/g, 45,2 emu/g ve 28,5 emu/g olarak belirlenmiştir. Bu değerlerden en yüksek manyetik karaktere sahip olan taneciklerin manyetik nanotaneçikler olduğu, en düşük manyetik karaktere sahip olan taneciklerin ise gümüş kaplı manyetik nanotaneçikler

olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Nanotaneciklerin ortalama çapının artmasıyla manyetik özelliğinin azalmasından dolayı tabaka kalınlığı arttıkça doygun mıknatıslanma değerleri azalmıştır. Ayrıca 45,2 emu/g mıknatıslanma değerine sahip PDA kaplı nanotaneciklerin doygun mıknatıslanma değerinin saf manyetik nanotaneciklerin mıknatıslanma değerine yakın olması PDA'nın ince bir tabaka halinde kaplanmış olmasından kaynaklanıyor olabilir. Wang ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, 10 nm kalınlığında PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin doygun mıknatıslanma değerini 73,2 emu/g olarak bulmuşlardır [193]. Bu süperparamanyetik özellikler, hazırlanan manyetik, PDA kaplı ve gümüş kaplı nanotaneciklerin oldukça kısa sürede güçlü bir mıknatıs tarafından ortamdan ayrılabilceğini göstermektedir.

Akımsız kaplama ile hazırlanan gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin karboksilli asit ile fonksiyonelleştirilmesi için Bölüm 5.7'de anlatıldığı gibi beş farklı derişimdeki (1-5 mM) MUA çözeltisi ile etkileştirilen nanotaneciklerin kimyasal karakterizasyonu XPS ile gerçekleştirilmiştir. Gümüş tabakası ile MUA yapısındaki tiyol grubu arasındaki ligand değişimi ile hazırlanan -COOH modifiyeli manyetik nanotaneciklere ait XPS spektrumları Şekil 6.33'de verilmiştir.



Şekil 6.33. MUA modifiyeli manyetik nanotaneceklerin XPS spektrumları

PDA tabakası üzerine gümüş kaplandıktan sonra elde edilmiş olan çekirdek-kabuk-kabuk üçlü sisteminin üzerine gümüş ve tiyol molekülleri arasındaki ligand değişimi ile manyetik nanotanecekler farklı derişimlerde MUA ile modifiye edilmiştir. Modifikasyonun gerçekleştiğinin en güçlü göstergesi yaklaşık 162 eV bağlanma enerjisinde gözlenen S2p sinyali (Şekil 6.33). Altın, gümüş gibi yüzeylere bağlanan kükürt atomlarının bağlanma enerjisi 162 eV'dur [195-199].

Karboksilli asit modifiyeli gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin bağlanma enerjilerinin ve % bağıl oranlarının MUA derişimi ile değişimi Çizelge 6.3'de verilmiştir.

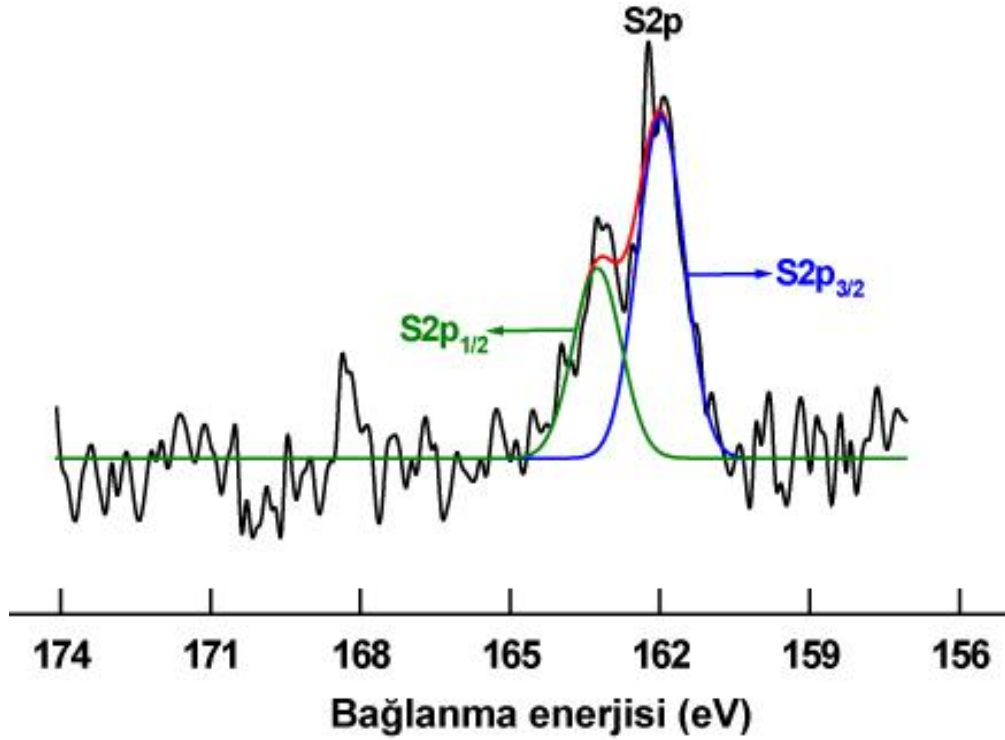
Çizelge 6.3. Karboksilli asit modifiyeli manyetik nanotaneciklerin bağlanma enerjilerinin ve bağıl oranlarının MUA derişimi ile değişimi ile değişimi

	C1s	O1s	Ag3d	S2p
1 mM MUA				
% Bağıl oran	57,1	22,5	17,9	2,5
Bağlanma enerjisi (eV)	285	532	370	162
2 mM MUA				
% Bağıl oran	58,4	22,4	16,9	2,3
Bağlanma enerjisi (eV)	285	532	370	162
3 mM MUA				
% Bağıl oran	56,3	22,5	17,0	4,2
Bağlanma enerjisi (eV)	285	532	370	162
4 mM MUA				
% Bağıl oran	59,2	19,9	18,2	2,7
Bağlanma enerjisi (eV)	285	532	370	162
5 mM MUA				
% Bağıl oran	56,6	21,4	19,3	2,7
Bağlanma enerjisi (eV)	285	532	370	162

Şekil 6.33 ve Çizelge 6.3 birlikte incelendiğinde, -COOH grubu ile modifiye edilen gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin yüzeyindeki 162 eV bağlanma enerjisine sahip S2p' nin % bağıl oranının en yüksek değerinin 3 mM MUA ile modifiye edilen nanotaneciklerde olduğu açıkça görölmektedir. Bu durumun sonucunda, biyomoleküllerin kovalent bağlanması çalışmalarında kullanılmak üzere bu nanotaneciklerin seçilmesi uygun

görülmüştür. Çünkü kendiliğinden düzenlenme sürecinin henüz tam olarak anlaşılamamış olmasından ötürü düzenli tek tabakanın oluşumu derişim, sıcaklık, bağlanan molekülün türü, süre, nem, çözücü gibi birçok değışkene bağlıdır. Bu nedenle düzgün bir şekilde istiflenmiş tek tabaka oluşumu için optimizasyon çalışmaları gerekmektedir. Literatürde aynı yüzey üzerine aynı molekülün kendiliğinden düzenlenen tek tabaka oluşumu farklılıklar göstermektedir. Chen ve grubunun yaptığı bir çalışmada, 0,4 mM derişimli MUA çözeltisinde altın nanotanecikler 18 saat boyunca düşük hızda karıştırılmış ve sonuçta bu nanotaneciklerin yüzeyindeki 163,5 eV bağlanma enerjili S2p bileşeninin bağıl oranını XPS ile 0,38 olarak bulunmuştur [199]. Ivanov ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ise, 10 mM derişimli MUA çözeltisinde altın nanotanecikler 60 saat boyunca 500 rpm hızla karıştırılmış ve sonuçta bu nanotaneciklerin yüzeyindeki 163,2 eV bağlanma enerjili S2p bileşeninin bağıl oranını XPS ile 0,96 olarak bulmuşlardır [200]. Ayrıca yaklaşık 370 eV bağlanma enerjisindeki Ag3d sinyalinin varlığı yüzeylerin tamamen MUA ile fonksiyonelleştirilemediğini göstermektedir. Bu durum, -SH grubu ile Ag arasındaki ligand değişiminin -SH grubu ile Au metali arasındaki kadar güçlü ve etkin olmadığına dair bir kanıt olabilir [201].

3 mM MUA ile modifiye edilen gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin yapısında bulunan S2p atomunun yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu Şekil 6.34'de verilmiştir.



Şekil 6.34. 3 mM MUA ile modifiye edilen manyetik nanotaneçiklerdeki S2p atomunun yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu

MUA ile modifiye edilen gümüş kaplı manyetik nanotaneçiklerin yapısında bulunan kükürt atomunun XPS sinyali altın yüzeyinde kendiliğinden düzenlenme ile oluşturulan 11-merkaptoundekanoik asidin yapısındaki kükürt atomu ile altın yüzey arasındaki tiyolat bağının verdiği sinyale benzemektedir [202]. Şekil 6.34’de verilen karboksilli asit ile modifiye edilmiş olan gümüş kaplı manyetik nanotaneçiklerin S2p spektrumunda 163 eV bağlanma enerjisinde gözlenen S2p_{1/2} ve 162 eV bağlanma enerjisinde gözlenen S2p_{3/2} piklerinin varlığı bir gümüş-kükürt bağının varlığını teyit eder niteliktedir. Ayrıca bu piklerin alanları oranının 1/2 olması ve yüksek bağlanma enerji bölgesinde (164-174 eV) herhangi bir pikin gözlenmemesi nanotaneçik yüzeyi üzerinde fiziksel olarak adsorplanmış serbest tiyol gruplarının olmadığı bir göstergesidir [203].

6.3. Biyofonksiyonel Manyetik Nanotanecikler

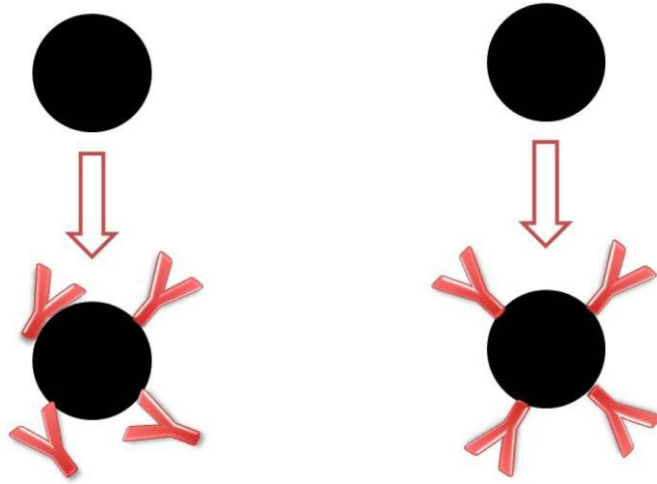
Biyolojik koşullar altında, polimer nanotaneciklerin sulu ortamlarda çok iyi dağılabilmeleri ve büyük yüzey alanına sahip olmalarından dolayı, spesifik bir biyomolekülün bir karışımdan ayrılması ve analizi mümkündür. Nanotaneciklerin hazırlanması sırasında, özellikle hidrofilitiklik gibi yüzey özellikleri, nanotaneciklerin sulu ortamda dağılabilmeleri için önemli olabilir. Ayrıca biyolojik ilgiyi kullanarak spesifik ayırmayı geliştirebilmek için nanotaneciklere antikörlerin kovalent bağlanmasıyla biyolojik aktiviteye sahip moleküllerin spesifik ayrılması gerçekleştirilebilir. Ayrıca, biyofonksiyonel nanotanecikler özgül olmayan protein adsorpsiyonunu engellemek için de kullanılabilmektedir. Bu nedenle, ılımlı koşullarda antikör immobilizasyonu ile özgül olmayan protein adsorpsiyonuna dirençli yüzeylere sahip nanotanecikler hazırlandı. Çalışmanın ilk bölümünde nanotanecikler antikörlerin kovalent bağlanabileceği gruplarla modifiye edildi. APTES ile fonksiyonelleştirilen nanotaneciklerin yapısındaki amin grupları ile antikörlerin yapısındaki karboksilli asit grupları arasındaki ve MUA modifiyeli nanotaneciklerin yapısındaki karboksil grupları ile antikörlerin yapısındaki amin grupları arasında oluşan amit bağları ile antikörler nanotaneciklerin yüzeyine kovalent bağlandı. PDA kaplı manyetik nanotanecikler ise, katekol ve kinon grupları ile biyomoleküllerin yapısındaki primer amin grupları arasındaki güçlü adhezyon kuvvetleri aracılığıyla biyofonksiyonel hale getirilmiştir. Bu tez çalışmasında, farklı tabakalarla kaplı manyetik nanotanecikler kullanılarak hastalıkların teşhis ve tedavisinde kullanılabilecek immünosensörlerin kullanımı araştırılmıştır.

6.3.1. Manyetik nanotaneciklere antikör bağlanması

Nanotanecik yüzeyine biyofonksiyonel molekülün bağlanması üç farklı yolla gerçekleşebilir. Bunlardan ilki, nanotaneciklerin polimer tabakası ile kaplanması ve biyofonksiyonel molekül ile polimer zincirleri arasında kovalent bağlanmanın gerçekleştirilmesidir. Bu yöntem çok kullanılmasına

rağmen polimer tabakasının özgül olmayan protein adsorpsiyonuna olanak sağlaması ve protein ayrılmasında seçiciliğin azalması gibi dezavantajları vardır. Diğer metotlar ise birbirine oldukça benzemektedir. Bunlardan ilki, nanotanecik yüzeyinde biyomoleküllerle kovalent bağ yapabilecek fonksiyonel grupların kendiliğinden düzenlenmesi ve ardından biyofonksiyonel moleküllerin bu gruplarla kovalent bağlar oluşturmalarıdır. Bu yöntem oldukça kolay olmakla birlikte kararlı ve çok amaçlı nanotaneciklerin hazırlanmasına olanak vermektedir. Bir diğer yöntem ise, biyomoleküllerin nanotanecik yüzeyinde kendiliğinden düzenlenmesine olanak sağlayacak şekilde fonksiyonelleştirilmesidir. Bu yöntemle ise iyi tanımlanmış tek tabakalar hazırlanabilirken, biyomoleküllerin fonksiyonelleştirilmesi çok büyük zorluklar getirebilmektedir [30,204-208]. Bu çalışma kapsamında ise, biyofonksiyonel moleküllerin nanotaneciklerin yüzeyine kovalent bağlanması için anlatılan yöntemlerden ilk ikisi seçilmiştir.

Nanotanecik yüzeyine kovalent bağlanan anti-IgG, anti-ferritin gibi antikorlar protein yapısındadırlar ve hedef antijene yüksek seçicilikle bağlanmaktadır. Bu yüksek seçicilik, farklı yüzeylere bağlanan antikorların, immünosensör, hastalık tanı testleri ve protein saflaştırılması gibi birçok alanda kullanılmasını sağlamaktadır. Bununla birlikte antikorlar bir yüzeye adsorbe oldukları zaman, aktiviteleri sulu fazdaki çözünür antikorlara göre daha düşük olmaktadır. Aktivitedeki bu düşüşün sebeplerinden biri, moleküllerin yüzeyde sterik olarak engellenmesidir. Bir diğer sebep ise, antikorun yüzeyde gelişigüzel yönelmesi olabilir. Bu nedenle antikorların adsorbe oldukları yüzeyde gösterdikleri yönelme davranışı, immünosensörlerin duyarlılığı ve seçiciliği açısından çok önemlidir [209-211]. Protein yapısındaki antikorlar, fiziksel adsorpsiyon veya kovalent bağlanma ile nanotanecik yüzeylerinde düzenlenirler (Şekil 6.35) [212].



Fiziksel adsorpsiyon

Kovalent bağlanma

Şekil 6.35. Antikoru nanotanecek yüzeyine fiziksel ve kovalent adsorpsiyonu

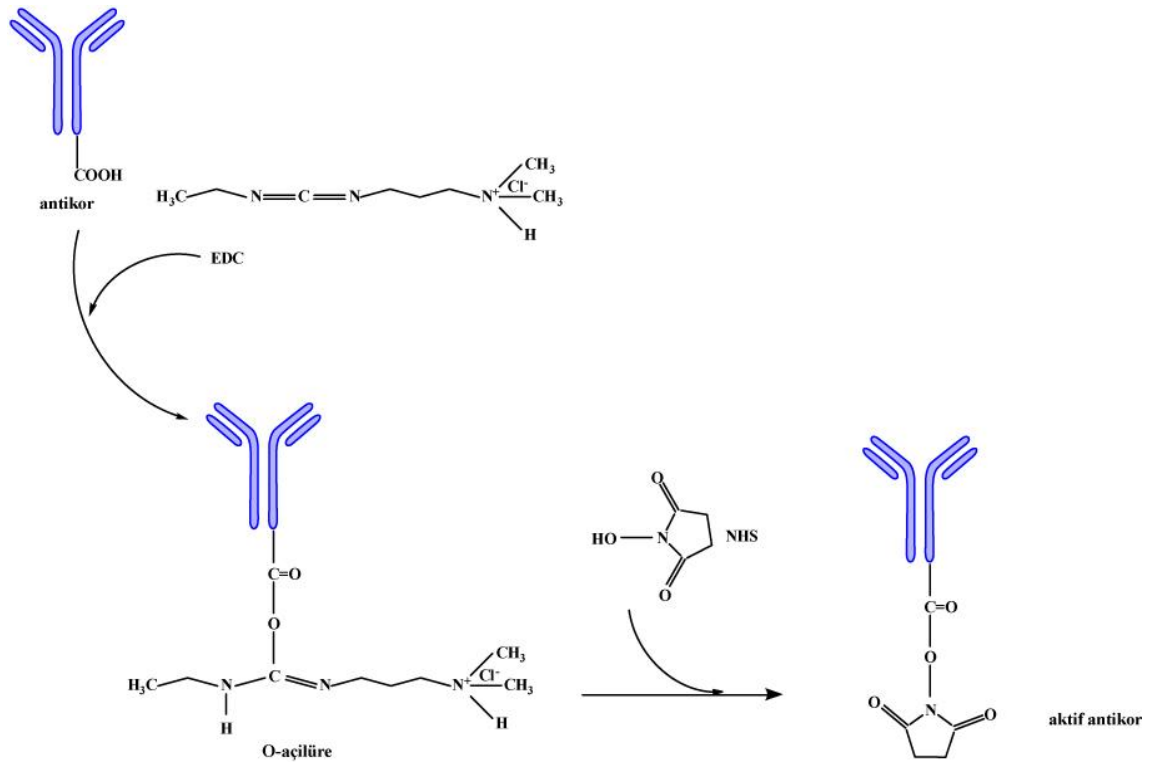
Proteinlerin denatürasyonundan dolayı fiziksel adsorpsiyon basit olmasına karşın tekrarlanabilirliği düşük olduğu için az kullanılmaktadır [213]. Proteinlerin daha güçlü ve spesifik adsorpsiyonu kovalent bağlanma ile gerçekleştirilmektedir [212]. Bu yöntemde, uygun bağlayıcılar kullanılarak antikörlerin nanotanecek yüzeylerine daha kolay bağlanması sağlanmaktadır (Şekil 6.35). Kovalent bağlanmayı sağlayan ara bağlayıcılar sayesinde yüzey kaplama, desenleme, aktif bölge yönlenmesi, kararlılık, raf ömrü ve morfoloji gibi özellikler kontrol edilebilmektedir [214-216].

Puertas ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, manyetik nanotaneceklerle anti-peroksidaz antikörlerinin kovalent immobilizasyonuna reaktif amin ve karboksilli asit gruplarının, negatif ve pozitif yüklü grupların etkilerini incelemişlerdir. Sonuç olarak, antikörlerin biyolojik aktivitesine yoğunluğun ve yönlenmenin etkisi olduğunu belirlemişlerdir. İyonik immobilizasyon sonucunda özgül olmayan protein adsorpsiyonun fazla olduğu ve antikörlerin biyolojik aktivitesinin düştüğü, kovalent bağlanma sonucunda antikörlerin biyolojik aktivitesinin korunduğu sonucuna

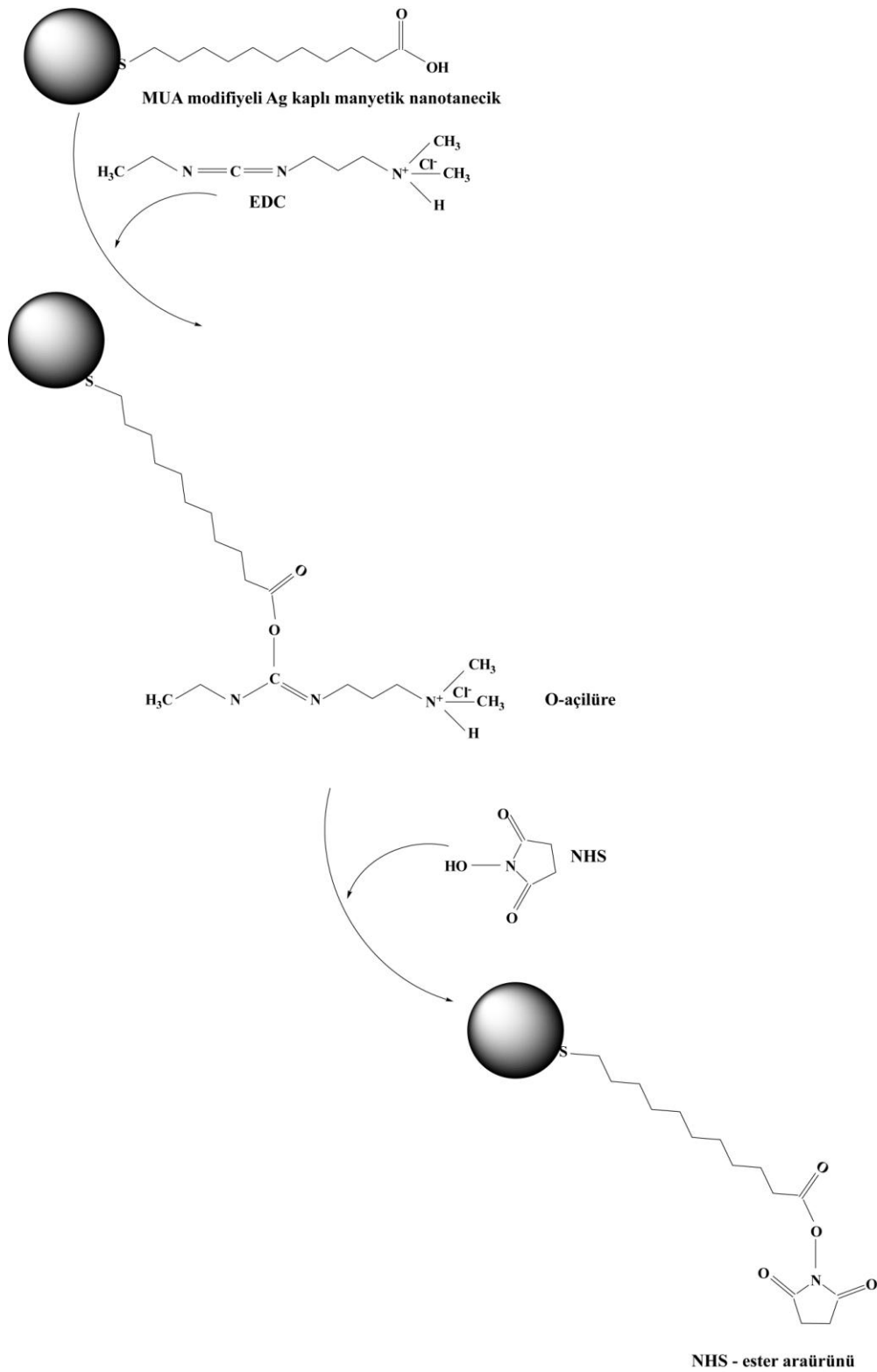
ulaşmışlardır. Ayrıca reaktif amin ve karboksilli asit grupları aracılığıyla yapılan kovalent bağlanmada daha fazla antikorun nanotanecek yüzeyine adsorbe olduğunu belirlemişlerdir. [217].

Santamaria ve grubunun yaptığı bir çalışmada ise, suda dağılabilen süperparamanyetik nanotanecekler biyofonksiyonelleştirilmiştir. Bu amaçla, trietilenglikol ile nanotanecekler kaplanmış ve amidasyon-karboksilasyon reaksiyonu ile nanotanecekler karboksilli asit sonlu hale getirilmişlerdir. EDC/NHS ile aktiveleştirilen karboksilli asit grupları ile antikorların yapısındaki amin grupları arasındaki amitleşme reaksiyonu sonucunda antikorlar nanotanecek yüzeyine kovalent bağlanmıştır. Biyofonksiyonel hale getirilen süperparamanyetik nanotanecekler enzim-etiketli immünosorbent testlerinde (ELISA) kullanılmıştır. Karboksilli asit grupları ile modifiye edilen süperparamanyetik nanotaneceklerle spesifik hedefleme işlevselliği olan model antikorların güçlü kovalent bağlarla bağlandığı ve 6 ay süreyle biyolojik etkinliğini yitirmediği gözlenmiştir [218].

Tez çalışmasının amacı doğrultusunda, APTES modifiyeli, MUA modifiyeli ve PDA kaplı manyetik nanotaneceklerle anti-IgG ve anti-ferritin ayrı ayrı kovalent bağlanmıştır. Bu amaçla, APTES ile fonksiyonelleştirilen manyetik nanotaneceklerle antikorların kovalent bağlanması için biyomoleküllerin karboksilli asit grupları EDC/NHS ile aktiveleştirilmiştir. MUA ile fonksiyonelleştirilen manyetik nanotaneceklerle biyolojik aktiviteye sahip moleküllerin kovalent bağlanabilmesi için ise, öncelikle nanotaneceklerin karboksil grupları EDC/NHS ile aktiveleştirilmiştir. Bu aktiveleşmelerin mekanizması Şekil 6.36 ve 6.37’de şematize edilmiştir.



Şekil 6.36. Anti-ferritin ve anti-IgG'nin -COOH gruplarının EDC/NHS ile aktifleşmesi



Şekil 6.37. MUA modifiyeli gümüş kaplı manyetik nanotaneceklerin -COOH gruplarının EDC/NHS ile aktifleşmesi

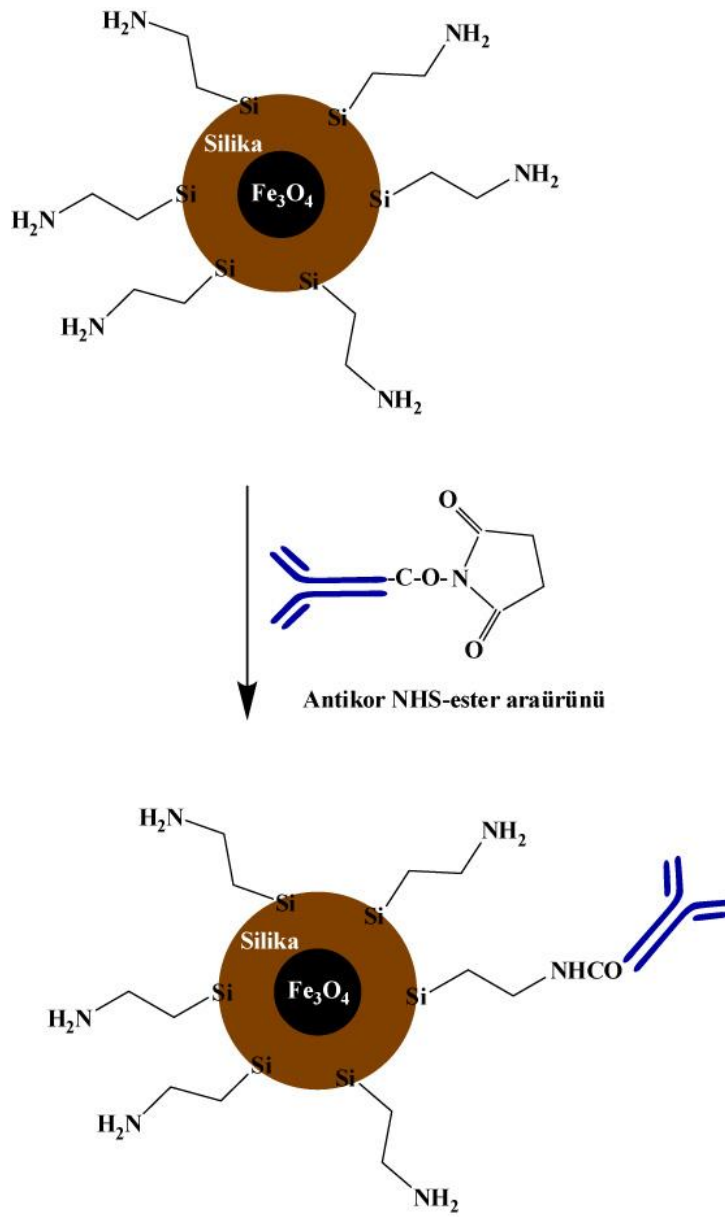
EDC/NHS ile moleküler aktivasyon mekanizması genellikle Şekil 6.36 ve Şekil 6.37’de gösterildiği gibidir. İlk olarak, karbodiimidin eklenmesiyle karboksilik asitten O-açilüre kararsız ara ürünü oluşur ve ardından ortama eklenen N-hidroksisüksinimidin O-açilüreye nükleofilik atak yapması sonucunda yaklaşık % 100 verimle ara ürün olan NHS-esterleri oluşur. Bu ara ürünler oldukça kararlıdır ve primer amin grupları ile tepkimeye girerek amit bağları oluşturarak tek bir ürün elde edilir [219,220].

EDC ve NHS, peptit sentezinde sıkça kullanılan amin grupları ile karboksil grupları arasında kovalent amit bağı oluşumunu katalizler. EDC/NHS aktivasyon yaklaşımının yüksek dönüşüm etkinliği, ılıman tepkime koşulları, hedef moleküllerin biyoaktivitesine çok az etkisi olan mükemmel biyoyumluluk, glutaraldehit ve formaldehit gibi diğer çapraz bağlayıcılara oranla daha temiz ürünler verebilmesi gibi bilinen pek çok yararları vardır. Bu avantajlardan dolayı, karboksilik asitlerin EDC/NHS ile aktivasyonu ve takip eden amidasyon tepkimesi, proteinlerin, peptitlerin, DNA’ların vb. polimer kaplı yüzeyler, metaller, nanotanecekler, nanotüpler vb. substratlara bimoleküler konjugasyonu ve immobilizasyonunda sıklıkla kullanılmaktadır [221].

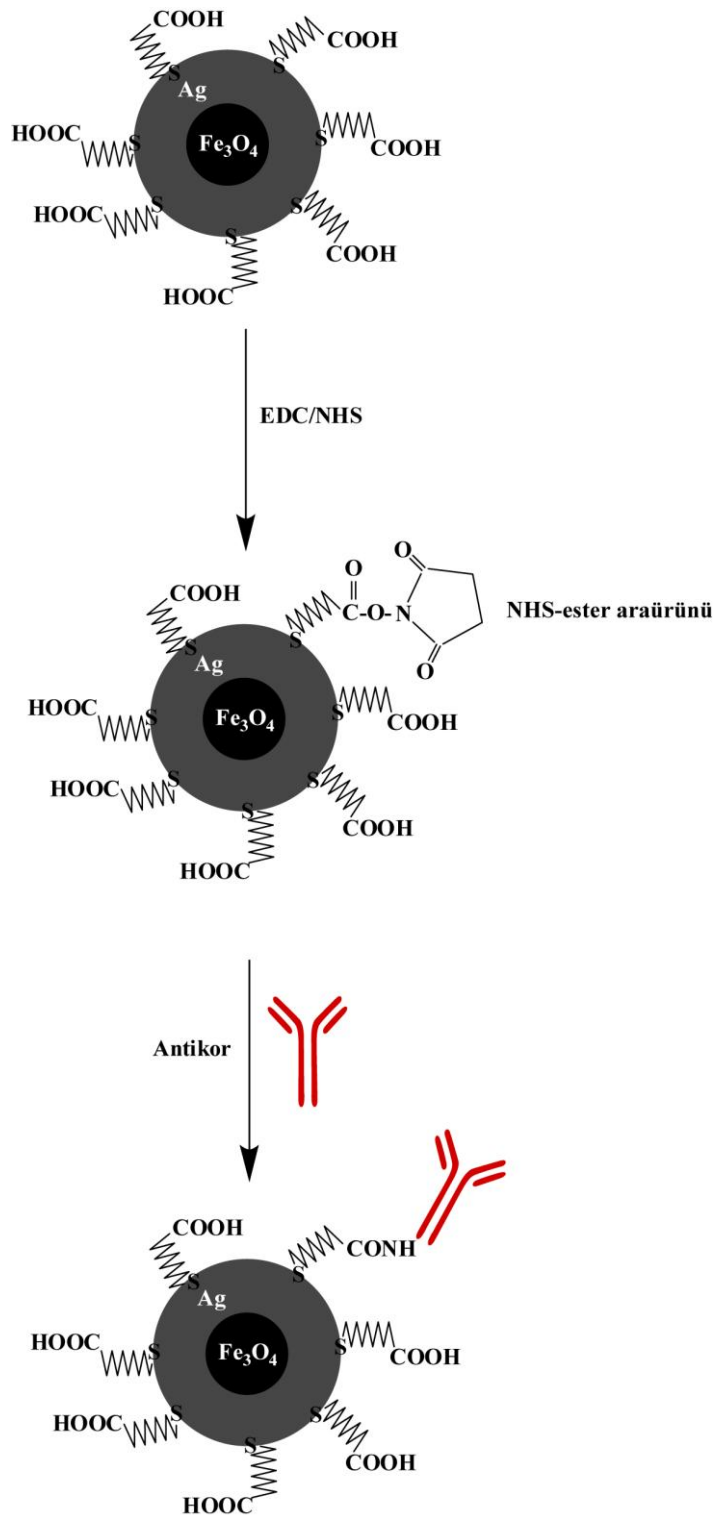
EDC/NHS ile karboksil grupları aktif hale gelen antikorlar (anti-IgG ve anti-ferritin) primer amin grupları içeren APTES modifiyeli manyetik nanotanecekler ile seçici bir şekilde amit bağları oluşturmak üzere hazır hale getirilmiştir. Aynı şekilde, MUA modifiyeli gümüş kaplı manyetik nanotaneceklerin karboksilli asit grupları EDC/NHS ile aktifleştirilerek anti-IgG ve anti-ferritin antikorlarının yapısındaki primer amin grupları ile amit bağları oluşturmak üzere hazır durumdadır.

EDC/NHS ile antikorların (anti-IgG ve anti-ferritin) yapısındaki karboksil gruplarının aktifleştirilmesinden sonra oldukça kararlı ara ürün olan NHS-ester ara ürünleri primer amin grupları içeren APTES modifiyeli manyetik nanotaneceklerle ayrı ayrı muamele edilerek amit bağlarının oluşumuyla

biyomoleküllerin bu nanotanecik yüzeylerine kovalent bağlanması sağlandı. Aynı şekilde, karboksil grupları EDC/NHS ile aktiveleştirilen MUA modifiyeli gümüş kaplı manyetik nanotanecikler primer amin grupları içeren anti-IgG ve anti-ferritin antikorları ile etkileştirilerek amit bağlarının oluşumuyla antikorlar nanotaneciklere kovalent bağlanmıştır. Oluşan amit bağları primer amin grupları ile karboksil grupları arasında seçici bir bağlanmanın olduğunu göstermektedir [222]. APTES modifiyeli ve MUA modifiyeli manyetik nanotanecikler ile antikorlar arasındaki amitleşme tepkimesi Şekil 6.38 ve Şekil 6.39'da gösterilmiştir.

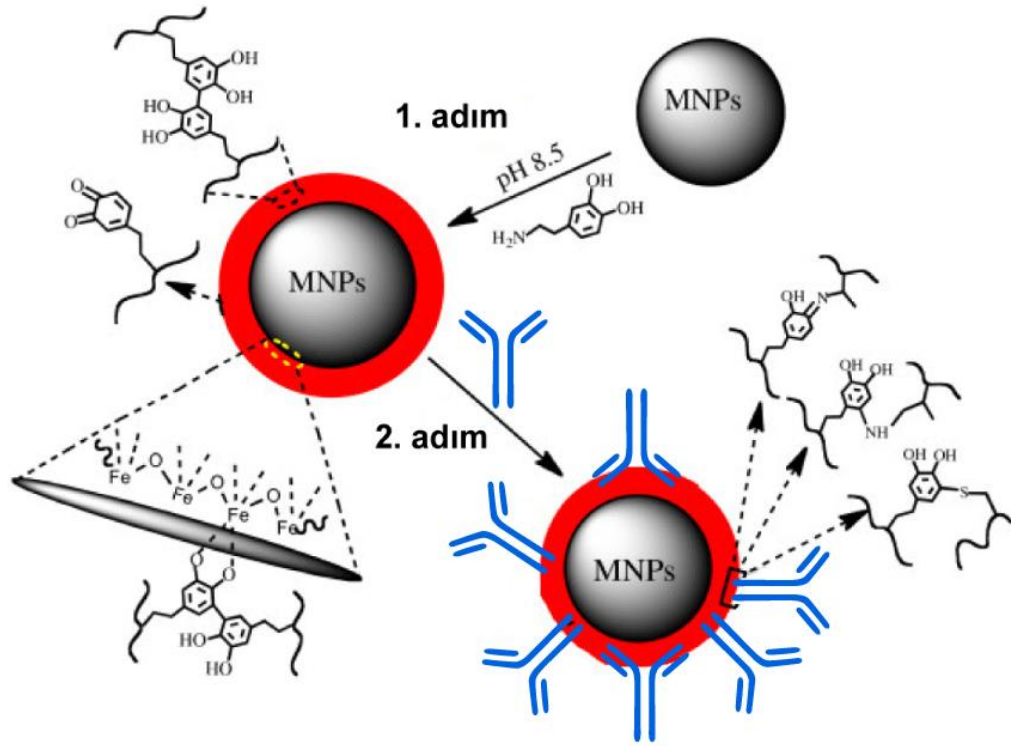


Şekil 6.38. APTES modifiyeli silika kaplı manyetik nanotaneçiklere antikorun kovalent bağlanması



Şekil 6.39. MUA modifiyeli gümüş kaplı manyetik nanotaneçiklere antikorun kovalent bağlanması

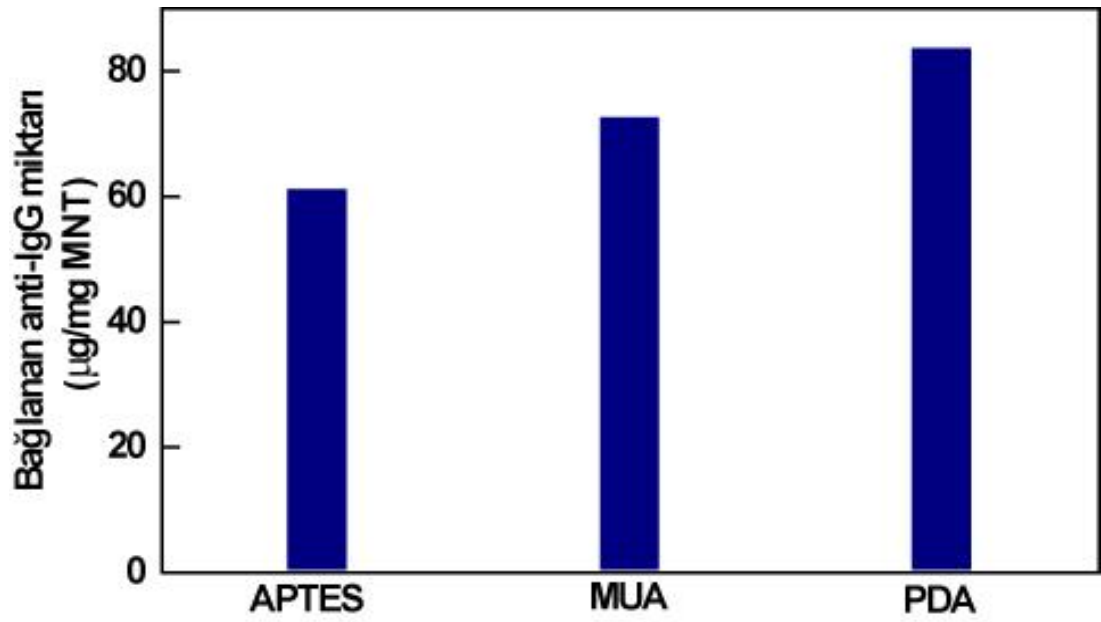
Bununla birlikte, PDA kaplı manyetik nanotaneciklere herhangi bir ara bağlayıcı (EDC/NHS) kullanmaksızın IgG ve ferritin antikoru bağlanmıştır. Çünkü hem orto dihidroksifenil (katekol) hem de primer amin gruplarını içeren dopamin tıpkı midyenin kabuğuna yapıştığı gibi (“mussel adhesive” proteinleri aracılığıyla) oksit yüzeylerine çok güçlü bir şekilde yapışmakta ve ardından bu yüzeylerde kendiliğinden polimerleşmektedir. Bu sayede biyomoleküllerin çok güçlü bir şekilde PDA tabakasına yapışması sağlanmaktadır [187,179]. Ayrıca bazik koşullarda dopamin oksitlenerek kinon yapısına dönüşmektedir ve bu yapı primer aminler gibi nükleofillere karşı son derece reaktif hale gelmektedir [223,224]. Hem kinon gruplarının hem de katekol gruplarının biyomoleküllerin yapısındaki primer amin gibi fonksiyonel gruplara çok güçlü bir şekilde yapışması sayesinde EDC/NHS gibi aktiveleştiriciler olmaksızın PDA kaplı manyetik nanotaneciklere IgG ve ferritin antikoru kovalent bağlanmıştır. Şekil 6.40’da manyetik nanotaneciklerin yüzeyinde dopaminin kendiliğinden polimerleşmesi ve antikoru PDA tabakasına kovalent bağlanması gösterilmiştir.



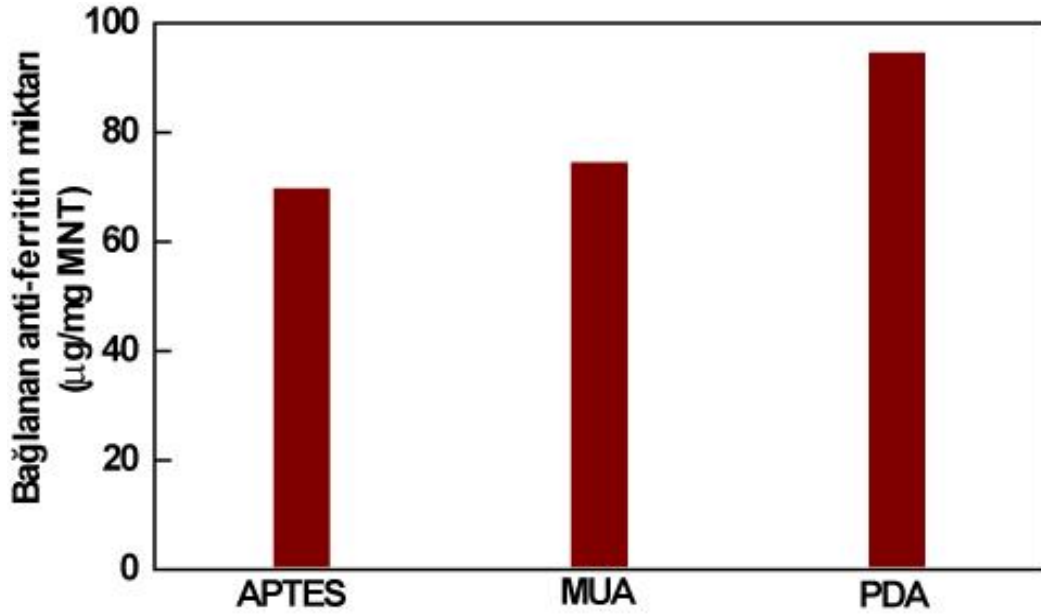
Şekil 6.40. PDA kaplı manyetik nanotaneçiklere antikorların bağlanması

Şekil 6.40'da birinci adımda gösterilen dopaminin manyetik nanotaneçik yüzeyinde kendiliğinden polimerleşmesinden sonra oluşan polidopamin tabakasının primer amin gibi nükleofilik gruplara karşı oldukça reaktif olan katekol ve kinon gruplarını içermesi sayesinde, antikorlar Michael katılması ve/veya Schiff bazı oluşumu ile polidopamin tabakasına kovalent bağlanırlar. Bu kovalent bağlanma, PDA yapısındaki aktif kinon grupları ile antikor yapısındaki primer amin yada tiyol grupları arasında olurken aynı zamanda katekol gruplarının orto veya para yönlendirmesi ile benzen halkasındaki karbon ile antikordaki primer amin azotu veya antikor yapısındaki kükürt arasında da olmaktadır. PDA kaplı manyetik nanotaneçikler ile antikorlar arasındaki bu tepkime hızlı ve kendiliğinden gerçekleşmektedir [225,226].

Hazırlanan biyofonksiyonel manyetik nanotaneciklere ayrı ayrı kovalent bağlanan anti-IgG ve anti-ferritin miktarları UV-Vis spektrofotometresi kullanılarak belirlendi. Anti-IgG'nin kovalent bağlandığı üç farklı manyetik nanotaneciğe bağlanan anti-IgG miktarı Şekil 6.41'de, anti-ferritin ile biyofonksiyonelleştirilen farklı manyetik nanotaneciklere kovalent bağlanan anti-ferritin miktarı Şekil 6.42'de verilmiştir.



Şekil 6.41. Farklı manyetik nanotaneciklere kovalent bağlanan anti-IgG miktarı



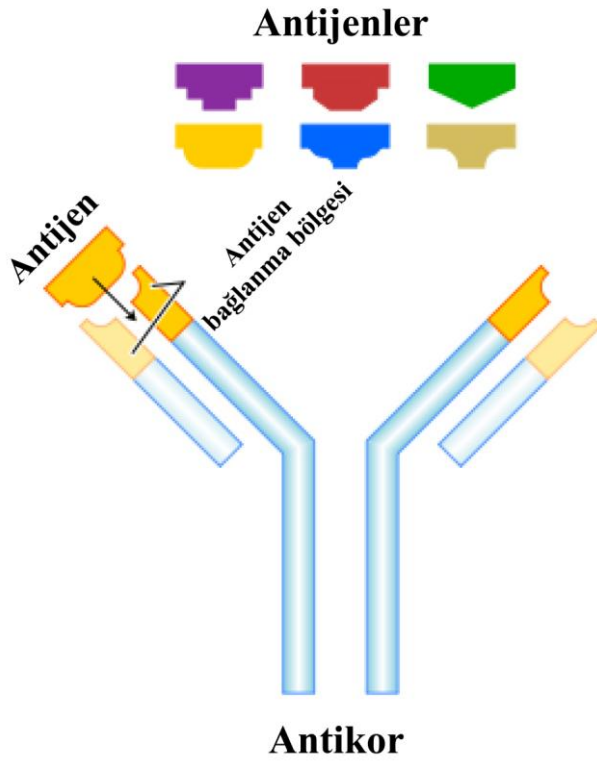
Şekil 6.42. Farklı manyetik nanotaneciklere kovalent bağlanan anti-ferritin miktarı

Şekil 6.41 ve 6.42 incelendiğinde, APTES modifiyeli manyetik nanotaneciklerin anti-IgG bağlama kapasitesi 61,26 µg/mg MNT iken, anti-ferritin bağlama kapasitesi 69,76 µg/mg MNT olarak belirlenmiştir. MUA modifiyeli gümüş kaplı manyetik nanotaneciklerin ise anti-IgG bağlama kapasitesi 72,64 µg/mg MNT iken, anti-ferritin bağlama kapasitesi 74,54 µg/mg MNT olarak bulunmuştur. PDA kaplı nanotaneciklere anti-IgG antikorunun bağlanma kapasitesinin 83,73 µg/mg MNT, anti-ferritin bağlanma kapasitesinin 94,68 µg/mg MNT olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar göz önüne alındığında, farklı fonksiyonel gruplarla etkinleştirilen manyetik nanotaneciklerin ferritin antikorlarını bağlama eğilimlerinin anti-IgG bağlama eğilimlerinden daha fazla olduğu açıkça görülmektedir. Bu durum, ferritin antikorunun ortalama mol kütlelerinin anti-IgG'nin ortalama mol kütlelerinden daha düşük olması sebebiyle hem anti-ferritin nanotanecik yüzeyine daha hızlı difüze olmasının, hem de nanotanecik yüzeyindeki sterik etkinin az olmasının sonucu olabilir. Hem anti-IgG hem de anti-ferritin kullanılarak yapılan çalışmalarda, en yüksek antikor bağlama kapasitesinin PDA kaplı manyetik nanotaneciklerde olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bu

durumun, daha önce anlatıldığı gibi PDA ile biyomoleküller arasındaki çok özel adhezyon kuvvetleri sayesinde olduğu düşünülmektedir. Ayrıca her iki antikorda APTES modifiyeli manyetik nanotanecik yüzeyine en az miktarda bağlanmıştır. Bu durum, küçük bir molekül olan APTES ile modifiye edilen nanotaneciklerde antikorların yapısındaki karboksil gruplarıyla kovalent bağlar (amit bağları) oluşturabilecek primer amin gruplarının az olmasından kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca antikorların yapısındaki –COOH gruplarının EDC/NHS ile aktive edilmesi işlemi sonucunda oluşan NHS-ester ara ürünlerinin nanotaneciklerin yüzeyindeki amin gruplarıyla sterik engeller sebebiyle etkileşmemesinden dolayı APTES modifiyeli manyetik nanotaneciklerin yüzeyine düşük miktarda antikor bağlanmış olabilir.

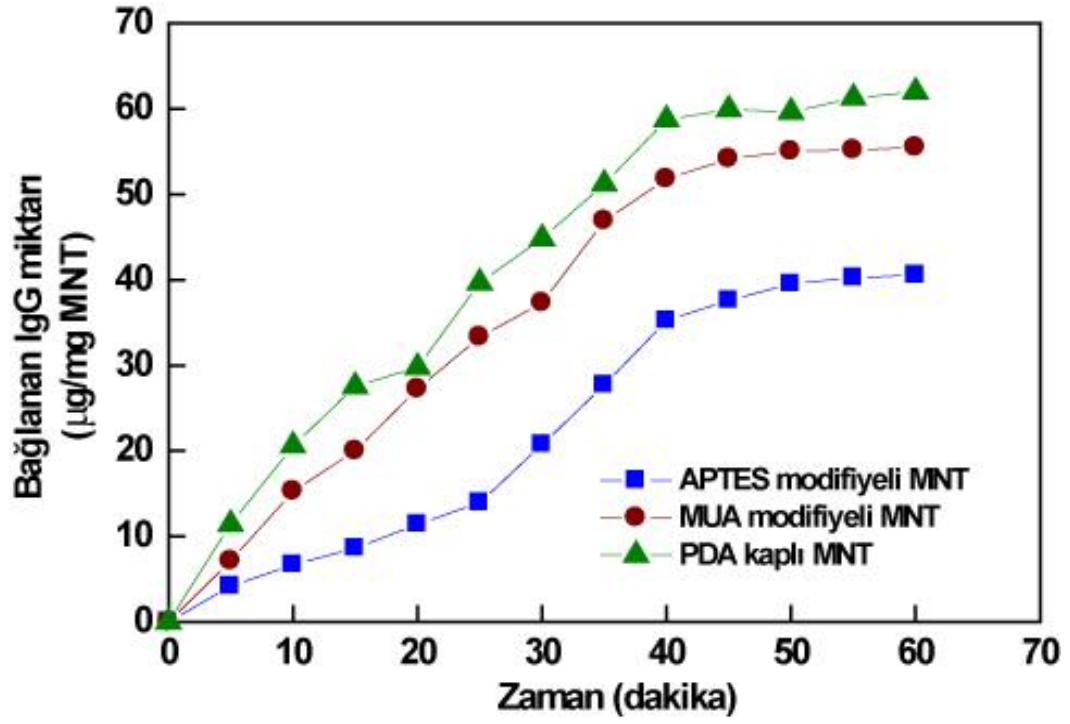
6.3.2. Manyetik nanotaneciklerde antikor-antijen bağlanma tepkimesi

Organizmaya girdiğinde kendisine karşı bağışıklık oluşmasına yol açan ve bu cevap sonucu oluşan ürün olan antikor ile spesifik olarak etkileşen antijenin birleşmesi kimyasal bir temele dayanmaktadır. Ancak antijenin tamamı bu birleşmeye katılmaz. Antijen molekülünün yüzeyinde, antikor sentezinde rol oynayan ve kendisine özgü antikor ile birleşmeyi sağlayan, molekülün çıkıntısı şeklinde, “Epitop” adı verilen basit kimyasal yapılar bulunur ve çoğu antijen kendisine uygun antikoru ile bu bölgeden etkileşerek bağlanır. Antikor-antijen birleşmesi, antijen yüzeyindeki epitop ile antikorum Fab kısmının ucundaki V bölgesi arasında olur (Şekil 6.43) [127,129].

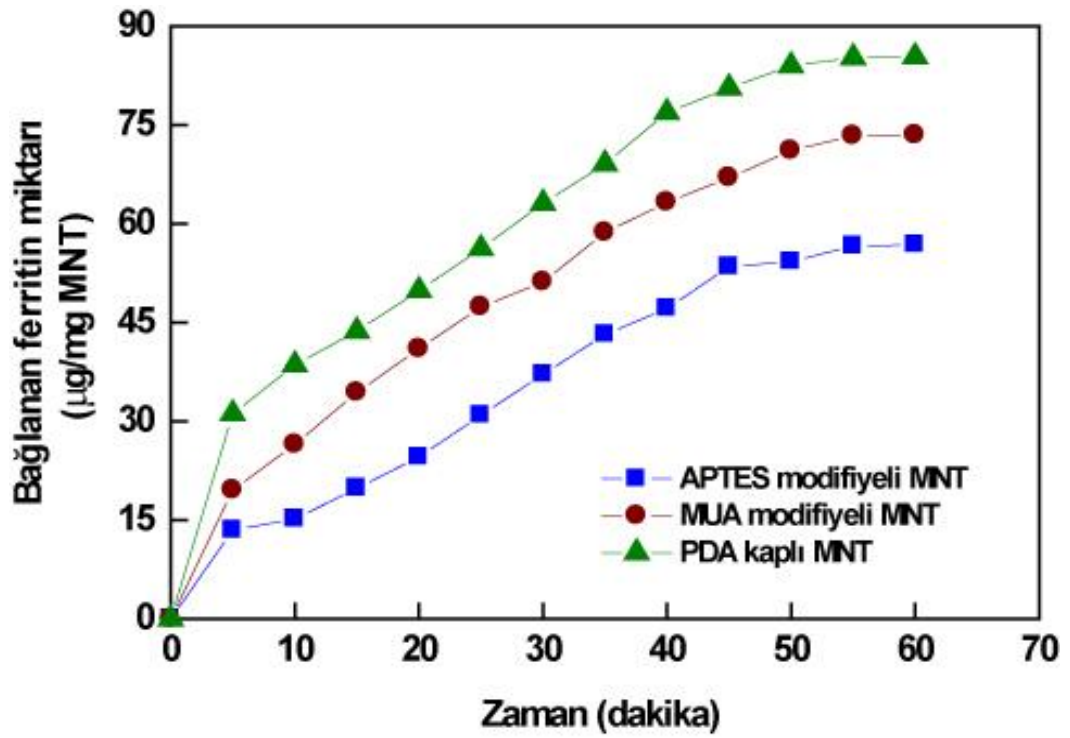


Şekil 6.43. Antikor-antijen bağlanma bölgesi

Antikor-antijen etkileşimlerini incelemek üzere, sentezlenen manyetik nanotanecekler farklı fonksiyonel tabakalarla kaplanarak her bir nanotaneceğe ayrı ayrı IgG ve ferritin antikorları (anti-IgG ve anti-ferritin) kovalent bağlanmıştır. Hazırlanan biyofonksiyonel nanotaneceklerin seçici olarak antijen bağlama kapasiteleri ve ilgileri incelenmiştir. Bu amaçla, antikorlar ile biyofonksiyonelleştirilen manyetik nanotanecekler farklı zaman aralıklarında uygun antijen çözeltilerinde bekletilerek antikorlar ile spesifik olarak etkileşen antijen miktarının zamanla değişimi incelenmiştir. Elde edilen kinetik eğrileri Şekil 6.44 ve 6.45’de verilmiştir.



Şekil 6.44. Farklı manyetik nanotaneceklerde antikor-antijen (anti-IgG-IgG) tepkimesi



Şekil 6.45. Farklı manyetik nanotaneceklerde antikor-antijen (anti-ferritin-ferritin) tepkimesi

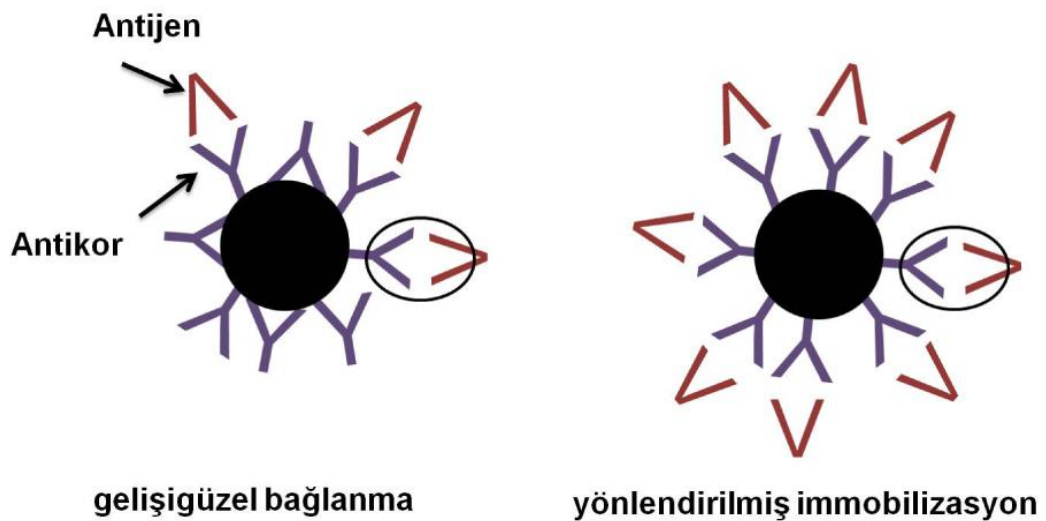
Farklı fonksiyonel gruplarla modifiye edilen manyetik nanotaneciklere kovalent bağlanan antikorların fonksiyonları ve aktiflikleri antikor-antijen tepkimeleri incelenerek değerlendirilmiştir. Şekil 6.44 anti-IgG'nin kovalent bağlandığı farklı gruplarla modifiye edilmiş manyetik nanotaneciklere spesifik antijenin seçici bağlanmasını, Şekil 6.45 ise anti-ferritin ile biyofonksiyonelleştirilen farklı manyetik nanotaneciklere ferritinin seçici bağlanmasını göstermektedir.

Anti-IgG bağlı APTES modifiyeli, MUA modifiyeli ve PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin spesifik IgG bağlama kapasitelerinin zamanla arttığı ve 1 saatin sonunda sırasıyla 41 $\mu\text{g}/\text{mg}$ MNT, 56 $\mu\text{g}/\text{mg}$ MNT ve 62 $\mu\text{g}/\text{mg}$ MNT olduğu belirlenmiştir. Anti-ferritin antikorumun kovalent bağlandığı APTES modifiyeli, MUA modifiyeli ve PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin spesifik antijen (ferritin) bağlama kapasiteleri ise sırasıyla 57 $\mu\text{g}/\text{mg}$ MNT, 74 $\mu\text{g}/\text{mg}$ MNT ve 85 $\mu\text{g}/\text{mg}$ MNT olarak bulunmuştur. IgG ve ferritin antijenlerinin spesifik bağlandığı nanotanecik yüzeylerinde 40. dakikaya kadar derişim artışı olduğu Şekil 6.44 ve Şekil 6.45'den görülmektedir. Bu durum, anti-IgG ve anti-ferritin kovalent bağlandığı nanotanecik yüzeylerinde antikor-antijen etkileşmelerinin ilk 40 dakikada gerçekleşmesinin ve bu sürenin sonunda bağlanan antijen derişiminin değişmeyerek sabit bir değere (doygunluk değeri) ulaştığı belirlenmiştir. Çünkü bu sürenin sonunda nanotanecik yüzeyinde antijenleri spesifik olarak bağlayacak aktif antikor molekülleri kalmamıştır ya da sterik etki nedeniyle bir kısım antikor antijen ile etkileşmemiştir.

Grafiklerden antikorlar ile biyofonksiyonelleştirilen PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin seçici antijen bağlama kapasitelerinin en yüksek, anti-IgG ve anti-ferritin ile biyofonksiyonelleştirilen APTES modifiyeli nanotaneciklerin seçici antijen bağlama kapasitelerinin ise en düşük olduğu belirlenmiştir. PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin yüzeyine bağlanan antikor miktarının en fazla olması sonucunda bu nanotaneciklerin spesifik

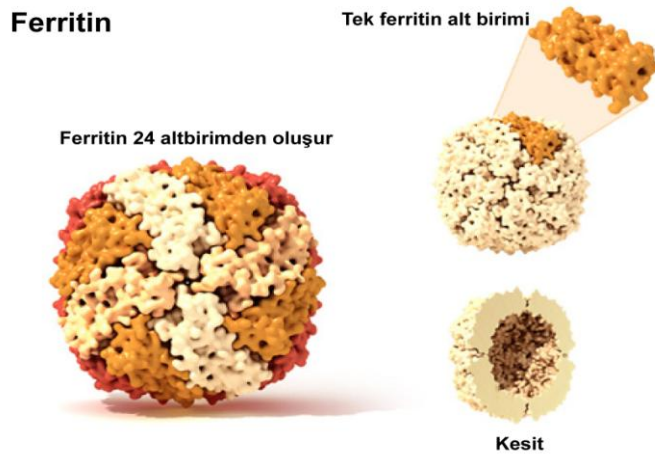
antijen bağlama kapasitelerinin yüksek olması, APTES ile modifiye edilen manyetik nanotaneceklerin yüzeyine kovalent bağlanan antikor miktarının en düşük olması nedeniyle spesifik antijen bağlama kapasitesinin en az olması beklenen bir sonuçtur.

Ayrıca antikor bağlı PDA kaplı manyetik nanotaneceklerin uygun antijenlerine çok güçlü bir ilgi gösterdiği, biyofonksiyonel APTES modifiyeli manyetik nanotaneceklerin antijenlerine karşı daha düşük ilgi gösterdiği açıkça görülmektedir. Antikorların nanotanecek yüzeyinde düzenli yönelmeleri ile antikorların spesifik antijen bağlama bölgeleri olan Fab kısımları açıkta kalmakta ve antijenlerin epitop bölgeleriyle etkileşimlere girmektedir [217,227,228]. Biyomoleküllerin nanotanecek yüzeyine EDC/NHS ile kovalent bağlanması sırasında antikorlar düzensiz yönlenebilirler [55,56]. Düzensiz yönelmeler sonucunda antikorlar aktifliklerini kaybederler ve spesifik antijen tanıma etkinlikleri azalmaktadır [217]. Bu sebeple, APTES modifiyeli nanotaneceklerle antikorların kovalent bağlanması sırasında düzensiz yönelmelerin daha baskın olduğunu ve spesifik antijen bağlama özelliklerini kısmen kaybettiklerini söylemek mümkündür (Şekil 6.46).

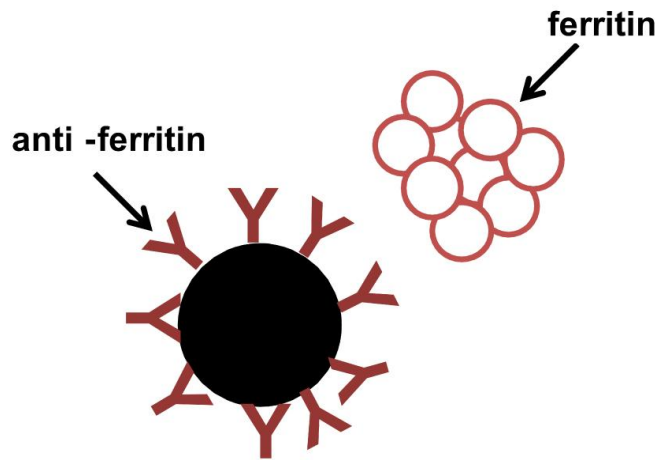


Şekil 6.46. Gelişigüzel ve yönlendirilmiş immobilizasyonla nanotaneceklerle bağlanan antikora antijenlerin spesifik bağlanması

Ferritin, küresel kabuk benzeri şekilde düzenlenmiş 24 homolog alt birimden oluşan bir demir depolama proteinidir (Şekil 6.47). Bu nedenle, her ferritin molekülü antikora bağlanabilecek çok sayıda epitop içerir. Onun çoklu epitopik doğası gereği, antikora bağlanma bölgelerinin durumu nanotanecek yüzeyinde anti-ferritin proteininin konformasyonuna/yönlenmesine IgG'ye oranla daha az bağımlıdır (Şekil 6.48) [229]. Bu sebeple, anti-ferritin bağlı nanotaneceklerde spesifik antijen bağlama kapasitesi daha yüksektir.



Şekil 6.47. Ferritinin yapısı



Şekil 6.48. Ferritin çoklu epitopik yapısı ve anti-ferritinin nanotanecek yüzeyinde düzensiz yönlenmesi

6.3.3. Nanotanecikler üzerinde antikor-antijen komplekslerinin ayrışma sabitleri

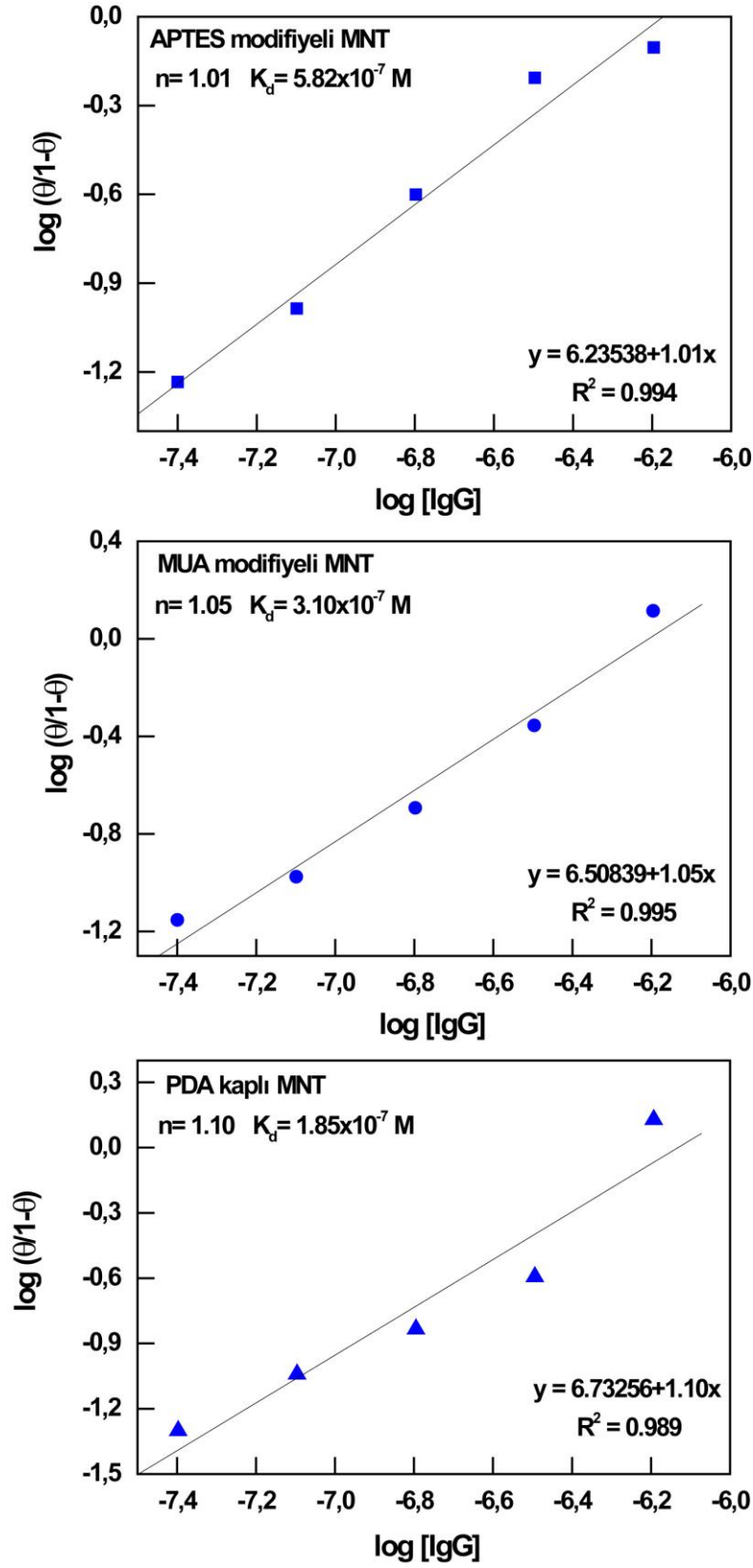
Antikor-antijen bağlanma yaklaşımında, antikor-antijen komplekslerinin denge ayrışma sabitleri, K_d , Eşitlik 6.1 ile ifade edilmektedir.

$$\theta = [Ag]^n / (K_d + [Ag]^n) \quad (6.1)$$

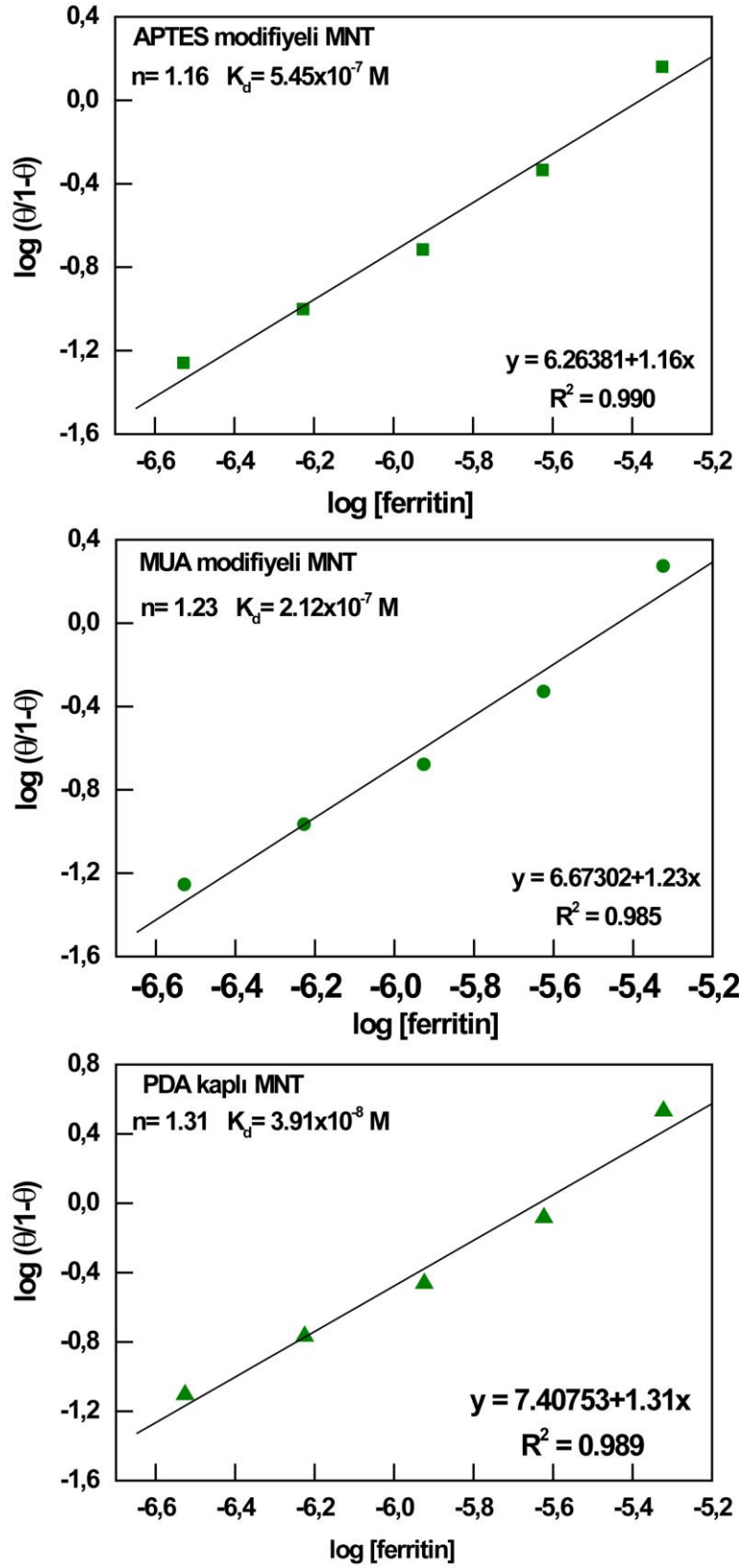
Burada, θ , antikor-antijen kompleksinin toplam antikor derişimine oranıdır. $[Ag]$, antijen derişimi iken, n Hill katsayısıdır. Eşitlik 6.1'in yeniden düzenlenmesiyle elde edilen Eşitlik 6.2 ise lineer Hill eşitliğini göstermektedir.

$$\log [\theta/1-\theta] = n \log [Ag] - \log K_d \quad (6.2)$$

$\log [\theta/1-\theta] - \log [Ag]$ grafiği çizildiğinde, eğimden Hill katsayısını, kesim noktasından antikor-antijen kompleksinin K_d ayrışma sabiti belirlenir. Antikor-antijen kompleksinin ayrışma sabiti büyük ölçüde affinite temelli ayırma, tanı ve algılama sistemlerinin performansını tanımlar [230]. Afinite nanotanecikleri olarak APTES modifiyeli, PDA kaplı ve MUA modifiyeli manyetik nanotaneciklerin performanslarını değerlendirebilmek için, bu nanotanecikler üzerindeki antikor-antijen komplekslerinin ayrışma sabitleri belirlendi. Şekil 6.49 IgG antikorunun bağlı olduğu farklı manyetik nanotanecikler ile spesifik antijenler arasındaki reaksiyonun Hill eğrilerini, Şekil 6.50 anti-ferritin ile biyofonksiyonelleştirilen APTES modifiyeli, PDA kaplı ve MUA modifiyeli manyetik nanotanecikler ile spesifik antijenler arasındaki reaksiyonun Hill eğrilerini göstermektedir. Her bir antikor-antijen kompleksinin ayrışma sabitleri bu eğrilerden hesaplanmıştır.



Şekil 6.49. Anti-IgG bağlı manyetik nanotaneceklerdeki antikör-antijen tepkimelerinin Hill eğrileri



Şekil 6.50. Anti-ferritin bağlı manyetik nanotaneceklerdeki antikor-antijen tepkimelerinin Hill eğrileri

Genellikle herhangi bir yüzeydeki antikor-antijen komplekslerinin K_d değerleri 10^{-6} - 10^{-5} mol/L aralığında değişmektedir. Bu değer serbest çözeltideki antikor-antijen çiftleri için 10^{-10} - 10^{-7} mol/L aralığında değişmektedir. Bu da çözeltideki antikorların spesifik antijenlerine olan ilgilerinin yüzeyde immobilize olan antikorların antijen bağlama ilgilerine oranla daha güçlü olduğu anlamına gelmektedir. Proteinler yüksek aktivitelerini herhangi bir yüzeye bağlandıklarında kaybederler. Bu biyoaktivite kaybı yüzeylere immobilize olan antikorların zamanla denatüre olması ve antijen bağlama bölgelerindeki sterik engellerdir [231].

Anti-IgG ile biyofonksiyonelleştirilen APTES modifiyeli, MUA modifiyeli ve PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin Hill eğrilerinden K_d değerleri sırasıyla $5,82 \times 10^{-7}$, $3,10 \times 10^{-7}$ ve $1,85 \times 10^{-7}$ M olarak bulunmuştur. Aynı şekilde, anti-ferritin bağlı APTES modifiyeli, MUA modifiyeli ve PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin Hill eğrilerinden belirlenen K_d değerleri ise sırasıyla $5,45 \times 10^{-7}$, $2,12 \times 10^{-7}$ ve $3,91 \times 10^{-8}$ M olarak belirlenmiştir. Bu değerler literatürde antikor-antijen etkileşimleri için kabul edilen aralıktadır. Bu durum, antikorların farklı fonksiyonel gruplarla modifiye edilen manyetik nanotaneciklerin yüzeyine kovalent bağlandığında aktivitelerinin çok fazla değişmemesinden kaynaklanmaktadır. Her iki antikorunda bağlı olduğu manyetik nanotanecikler için belirlenen K_d değerlerinin PDA kaplı nanotanecikler için en düşük, APTES modifiyeli nanotanecikler için en yüksek olduğu açıkça görülmektedir. Bu durum, PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin spesifik antijene karşı ilgisinin biyofonksiyonel APTES modifiyeli manyetik nanotaneciklere çok daha güçlü olduğunu göstermektedir. Bunun yanı sıra, anti-ferritin ile biyofonksiyonelleştirilen manyetik nanotaneciklerin K_d değerlerinin anti-IgG bağlı manyetik nanotaneciklerin K_d değerlerine göre daha düşük olması anti-ferritinin spesifik antijenine ilgisinin çok daha güçlü olduğunu göstermektedir. Daha önce de belirtildiği gibi ferritinin çoklu epitopik doğası gereği anti-ferritininin yüzeydeki konumu aralarındaki bağlanmayı etkilememektedir.

Hill sabiti, n , antijen bağlama ilgisini simgelemektedir. Eğer $n > 1$ ise antikorun antijeni ile spesifik etkileşimi pozitifdir. Bir başka deyişle, bir antijen, antikoruna bağlandıktan sonra aynı tür ikinci antijenin antikora bağlanması kolaylaşır. Eğer $n < 1$ ise antikorun antijeni ile spesifik etkileşimi negatifdir. Bir başka deyişle, bir antijenin antikoruna bağlandıktan sonra aynı tür ikinci antijenin antikoruna bağlanması oluşan antikor-antijen kompleksi tarafından kısıtlanmaktadır. Eğer $n = 1$ ise, antikor ile antijen arasında spesifik bir etkileşme olmaz [231-233].

Anti-IgG ile biyofonksiyonelleştirilen APTES modifiyeli, MUA modifiyeli ve PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin Hill katsayıları sırasıyla 1,01, 1,05 ve 1,10 olarak belirlenmiştir. Anti-ferritin bağlı APTES modifiyeli, MUA modifiyeli ve PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin Hill katsayıları sırasıyla 1,16, 1,23 ve 1,31 olarak bulunmuştur. Belirlenen Hill sabitlerinin 1'den büyük olması, anti-IgG ve anti-ferritin bağlı manyetik nanotaneciklerde antikor-antijen etkileşimlerinin pozitif olduğu yani antikorların antijenlerine özgül olduğu ispatlanmıştır. Nanotanecik yüzeyine kovalent bağlı antikorlardan bir tanesi kendine özgü antijeni bağladığında diğer antikorların çözeltide kalan aynı tür antijenlere olan ilgisi artmaktadır. Ayrıca anti-ferritin ile biyofonksiyonel manyetik nanotaneciklerin Hill sabitlerinin anti-IgG bağlı nanotaneciklerin Hill sabitlerine oranla daha büyük olması anti-ferritin spesifik antijenine ilgisinin daha yüksek olmasından kaynaklanmaktadır.

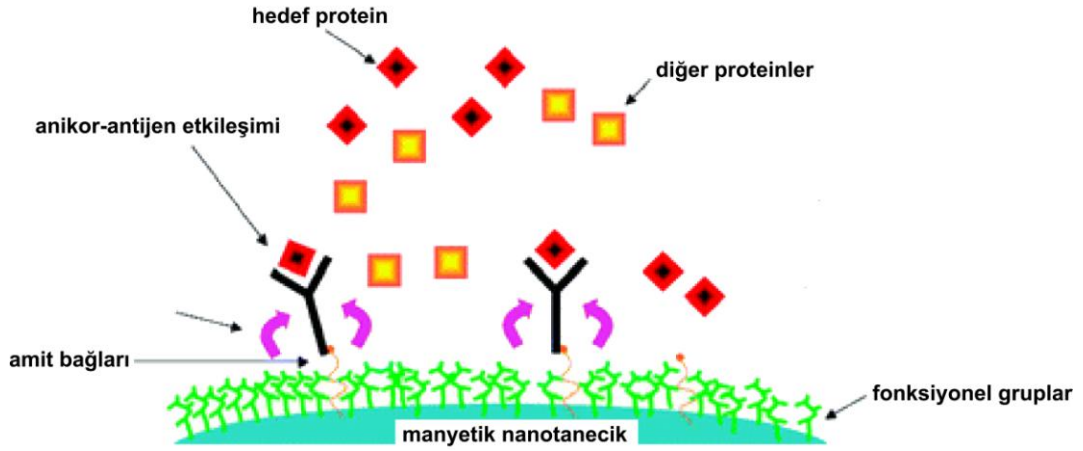
Antikor-antijen komplekslerinin ayrışma sabitlerinin uygun değer aralığında olması ve Hill katsayılarının 1'den büyük olması protein adsorpsiyon miktarını ve ayırma etkinliğini etkilemektedir. Sonuç olarak, anti-IgG ve anti-ferritin ile biyofonksiyonelleştirilen manyetik nanotaneciklerin kendilerine özgü antijen bağlama ilgilerinin yüksek olduğu ve antikorların nanotanecik yüzeylerine bağlandığında etkinliklerini kaybetmedikleri belirlenmiştir.

Goto ve grubunun yaptıkları bir çalışmada, hidrofilik fosforilkolin grupları ile modifiye edilen poli(L-laktik asit) (PLA) nanotanecikleri hazırlanmış ve

yapısındaki aktif ester grupları sayesinde anti-BSA proteininin nanotanecik yüzeyine kolaylıkla kovalent bağlanması sağlanmıştır. Anti-BSA ile biyofonksiyonelleştirilen fosforilkolin grupları ile modifiye edilmiş PLA nanotaneciklerinin yüzeyinde antikor-antijen (anti-BSA-BSA) komplekslerinin ayrışma sabiti 2.7×10^{-7} M ve Hill katsayısı 1,3 olarak belirlenmiştir. Antikor bağlı PLA nanotaneciklerinin antijene karşı çok yüksek bir ilgisinin olması nedeniyle K_d değerinin belirlenen aralıkta ve antikorların antijenlerine ilgisinin pozitif ve spesifik olması nedeniyle Hill katsayısının 1'den büyük çıktığı rapor edilmiştir [230].

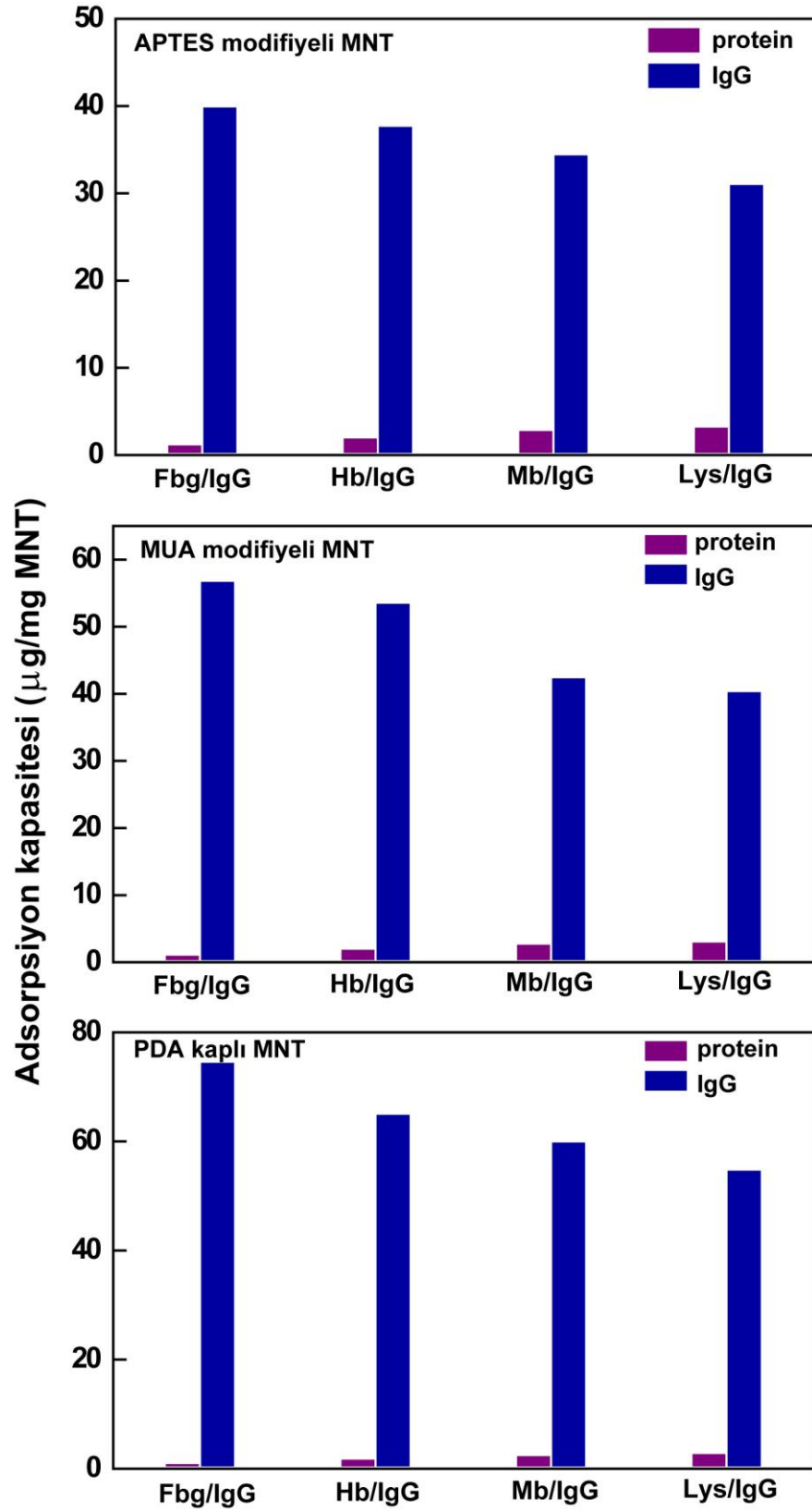
6.3.4. Hedef proteine seçicilik

Antikorlar yüzlerce aminoasitin düzenli bir sırayla bağlanmasıyla oluşan, protein yapısındaki karmaşık biyomoleküllerdir. Bu biyolojik moleküller antijen olarak adlandırılan özel yapılara bağlanabilme yeteneğine sahiptirler. Teşhis edilmesi istenen antijenin antikora bağlanması anahtar-kilit mekanizması ile açıklanabilir. Bu özel etkileşimlerden faydalanılarak tasarlanan immünosensörlerle antikora özgü antijenlerin analizi mümkündür [234]. Bu analizlerde antikorun seçici bir şekilde kendine özgü antijeni bağlama özelliği ve kapasitesi kullanılmaktadır. Antikorlar kullanılarak tasarlanan immünosensörlerin seçiciliği, ölçümün yapılacağı ortamda yalnızca teşhis edilmek istenen antijen ile etkileşime girme yeteneğidir (Şekil 6.51).

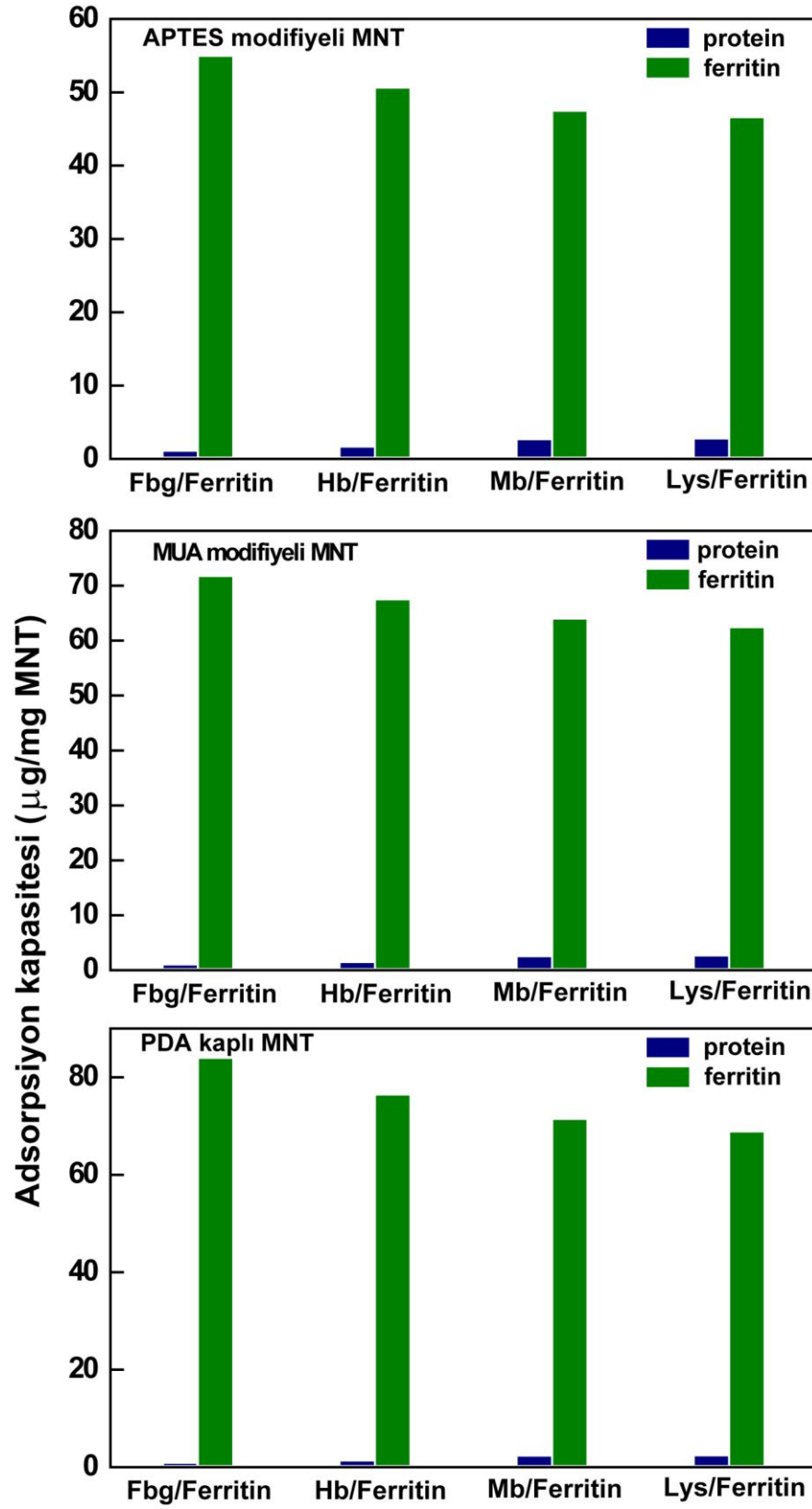


Şekil 6.51. Manyetik nanotaneceklerin hedef proteine seçiciliği

Çalışmanın amacı doğrultusunda, antikor bağlı manyetik nanotaneceklerin protein-antijen karışımından kendilerine özgü antijenleri etkili ve seçici bir şekilde bağlama kapasiteleri incelenmiştir. Şekil 6.52 ve Şekil 6.53 ve Çizelge 6.4’de farklı antikorlarla biyofonksiyonelleştirilen APTES modifiyeli, MUA modifiyeli ve PDA kaplı manyetik nanotaneceklerin plazma proteinlerine karşı antikorlara özgü antijenleri bağlama kapasiteleri verilmiştir.



Şekil 6.52. Anti-IgG bağı manyetik nanotaneceklerin hedef proteine seçiciliği



Şekil 6.53. Anti-ferritin bağlı manyetik nanotaneciklerin hedef proteine seçiciliği

Çizelge 6.4. Anti-IgG ve anti-ferritin bağlı manyetik nanotaneciklerin protein bağlama kapasiteleri

Nanotanecikler	Protein/IgG adsorpsiyon kapasitesi (µg/mg MNT)	Protein/Ferritin adsorpsiyon kapasitesi (µg/mg MNT)
APTES modifiyeli		
Fbg	1,11/39,81	0,94/54,82
Hb	1,89/37,60	1,49/50,45
Mb	2,76/34,34	2,51/47,33
Lys	3,14/30,94	2,63/46,43
MUA modifiyeli		
Fbg	0,97/56,67	0,82/71,56
Hb	1,85/53,42	1,29 /67,29
Mb	2,59/42,32	2,34/63,80
Lys	2,92/40,23	2,46/62,25
PDA kaplı		
Fbg	0,84/74,39	0,67/83,73
Hb	1,64/64,87	1,18/76,25
Mb	2,28/59,78	2,13/71,23
Lys	2,67/54,63	2,21/68,66

Anti-IgG ve anti-ferritin bağlı manyetik nanotaneciklerin her ikisinin de kendilerine özgü antijenleri Fbg, Hb, Mb ve Lys gibi plazma proteinlerine karşı seçici bir şekilde bağladıkları açıkça görülmektedir. Biyofonksiyonel

manyetik nanotaneciklerin plazma proteinlerini adsorplama kapasitelerinin antikorlara özgü antijenleri bağlama kapasitelerinden çok küçük olduğu belirlenmiştir. Anti-IgG bağlı APTES modifiyeli manyetik nanotaneciklerin IgG bağlama kapasitesinin Fbg, Hb, Mb ve Lys proteinlerini adsorplama kapasitelerinden yaklaşık olarak sırasıyla 36, 20, 12 ve 10 kat daha büyük olduğu, MUA modifiyeli manyetik nanotaneciklerin IgG bağlama kapasitesilerinin ise 58, 29, 16 ve 14 kat daha fazla olduğu ve PDA kaplı nanotaneciklerin antijen bağlama kapasitesilerinin aynı sırayla 89, 40, 26 ve 21 kat daha büyük olduğu belirlenmiştir. Aynı şekilde, anti-ferritin ile biyofonksiyonelleştirilen APTES modifiyeli manyetik nanotaneciklerin ferritin bağlama kapasitesi Fbg, Hb, Mb ve Lys proteinlerini adsorplama kapasitelerinden aynı sırayla 58, 34 19 ve 18 kat daha büyük, MUA modifiyeli manyetik nanotaneciklerin antijen bağlama kapasitesinin ise 87, 52, 27 ve 25 kat daha fazla ve PDA kaplı nanotaneciklerin antijen bağlama kapasitesi ise 125, 65, 33 ve 31 kat daha büyüktür. Bu durum, antikorların kovalent bağlandığı nanotanecik yüzeyine özgül olmayan protein adsorpsiyonunun çok zor olmasından kaynaklanmaktadır. Özgül olmayan protein adsorpsiyonu proteinin molekül ağırlığındaki artışla azalmaktadır. Fbg, Hb, Mb ve Lys proteinlerinin mol kütleleri sırasıyla 340, 65, 17 ve 14 kDa'dur. Özgül olmayan protein adsorpsiyonunun, proteinin molekül ağırlığı ile ters orantılı olduğunu söylemek mümkündür. Nanotanecik yüzeyine büyük proteinlerin adsorpsiyonu oldukça zordur [235-237]. Nanotaneciklerin yüzey alanı/hacim oranlarının yüksek olması ve sulu çözeltide oldukça iyi bir şekilde dağılmaları sebebiyle protein bağlama kapasiteleri artar. Hedef proteinler, nanotaneciklerin yüzeyine etkili ve hızlı bir şekilde bağlanırlar. Böylece proteinlerin özgül olmayan adsorpsiyonu zorlaşır. Bu da biyofonksiyonel nanotaneciklerin mikro ölçekli taneciklere göre çok daha seçici olmalarını sağlar. Biyofonksiyonel manyetik nanotaneciklerin antijenleri spesifik olarak bağlaması sebebiyle düşük derişimdeki biyomoleküllerin seçici olarak nanotanecik yüzeyine bağlanması sağlanabilmektedir [238,239]. Sonuç olarak, farklı antikorların kovalent bağlandığı manyetik nanotanecikler protein-antijen karışımındaki

kendilerine özgü antijene karşı yüksek aktivite ve güçlü bir ilgi göstermişlerdir.

Hazırlanan üç farklı manyetik nanotanecik arasında PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin en iyi özelliklere sahip olduğu sonucuna ulaşılmıştır. PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin yüzeyine, yapılarında bulunan katekol ve kinon grupları sebebiyle daha fazla antikorun kovalent bağlanması nedeniyle antijenler APTES ve MUA modifiyeli biyofonksiyonel manyetik nanotaneciklere oranla daha fazla seçici bağlanmıştır.

7.SONUÇ

Bu tez kapsamında, ikili çöktürme yöntemi ile alkali ortamda demir tuzları oluşturulmuş ve bu tuzların kontrollü bir şekilde yükseltgenmesiyle manyetik nanotanecikler elde edilmiştir. Hazırlanan manyetik nanotanecikler silika, dopamin ve gümüş tabakası ile ayrı ayrı kaplanmıştır. Silika ve gümüş kaplı manyetik nanotanecikler antikorların kovalent bağlanabilmesi amacıyla APTES ve MUA ile fonksiyonelleştirilmiştir. Hazırlanan APTES modifiyeli, MUA modifiyeli ve PDA kaplı manyetik nanotaneciklerin yapısal karakterizasyonu FT-IR spektroskopisi, kimyasal karakterizasyonu XPS, morfolojisi TEM ve SEM, kristalinitesi XRD, hidrodinamik çap ve dağılımları DLS ölçümleri ve manyetik karakterizasyonu VSM ölçümleri ile gerçekleştirilmiştir. Bu karakterizasyonlar sonucunda ikili çöktürme yöntemiyle hazırlanan manyetik nanotaneciklerin süperparamanyetik özellik gösterdiği belirlenmiş ve tabaka sayısı artıkça manyetik doygunluk değerinin azaldığı görülmüştür. Hazırlanan APTES modifiyeli, MUA modifiyeli ve PDA kaplı manyetik nanotanecikler spesifik antijen bağlamayı sağlamak amacıyla farklı antikorlar ile biyofonksiyonelleştirilmiştir. Bu amaçla APTES ve MUA modifiyeli manyetik nanotaneciklere antikorlar EDC/NHS ara bağlayıcıları yardımıyla kovalent bağlanırken, antikorlar PDA kaplı manyetik nanotaneciklere polimerin yapısındaki katekol ve kinon grupları sayesinde adheziv kuvvetler aracılığıyla kovalent bağlanmıştır. IgG ve ferritin antikorları ile biyofonksiyonelleştirilen çekirdek-kabuk manyetik nanotaneciklerin bu antikora özgü antijenleri yüksek bir ilgi ve seçicilikle bağladıkları belirlenmiştir. Biyofonksiyonel manyetik nanotaneciklerdeki antikor-antijen komplekslerinin denge ayrışma sabitleri ve Hill katsayıları bu yüksek ilgi ve spesifik bağlanmanın bir ölçüsü olarak gösterilebilir. Son olarak, antikorlar kullanılarak tasarlanan immünosensörlerin seçiciliğinin, ölçümün yapılacağı ortamda yalnızca teşhis edilmek istenen antijen ile etkileşime girme yeteneğinin bir ölçüsü olması nedeniyle, biyofonksiyonel nanotaneciklerin protein-antijen karışımından kendilerine özgü antijenleri etkili ve seçici bir şekilde bağlama kapasiteleri incelenmiş, yüksek bir

aktivite ile güçlü bir ilgi gösterdikleri belirlenmiştir. Sonuç olarak, farklı antikorların kovalent bağlanmasıyla hazırlanan immünosensörler bağışıklık sistemi hastalıklarının teşhis ve tedavisinde kullanılabileceği gibi, DNA immobilizasyonu ve/veya hibridleşmesinde, enzimlerin immobilizasyonunda, hücre kültürü çalışmalarında ve bakteriyel hastalıkların teşhisi gibi alanlarda kullanıma hazır hale getirilebilir.

KAYNAKLAR

1. Whitesides, G. M., "The Right Size: Nanobiotechnology", **Nat. Biotechnol.**, 21: 1161-1165 (2003).
2. Sun, S. H., "Recent advances in chemical synthesis, self-assembly, and applications of FePt nanoparticle ", **Adv. Mater.**, 18: 393-403 (2006).
3. Park, J., Joo, J., Kwon, S. G., Jang, Y. And Hyeon, T., "Synthesis of monodisperse spherical nanocrystals", **Angew. Chem. Int. Edit.**, 46: 4630-4660 (2007).
4. Gao, J., Gu, H. And Xu, B., "Multifunctional magnetic nanoparticles: design, synthesis, and biomedical applications", **Acc. Chem Res.**, 42: 1097-1107 (2009).
5. Hsu, C. Y., Huang, J. W. And Lin, K.J., "High sensitivity and selectivity of human antibody attachment at the interstices between substrate-bound gold nanoparticles", **Chem. Commun.**, 47: 872-874 (2011).
6. Love, J. C., Estroff, L. A., Kriebel, J. K., Nuzzo, R. G. And Whitesides, G. M., "Self-Assembled Monolayers of Thiolates on Metals as a Form of Nanotechnology", **Chem.Rev.** 105: 1103-1169 (2005).
7. Enpuku, K., Tanaka, T., Matsuda, T., Dang, F., Enomoto, N., Hojo, J., Yoshinaga, K., Ludwig, F., Ghaffari, F., Heim, E. And Schilling, M., "Properties of magnetic nanoparticles in the Brownian relaxation range for liquid phase immunoassays" **J. Appl. Phys.**, 102: 054901-7 (2007).
8. Levy, L., Sahoo, Y., Kim, K. S., Bergey, E. J. And Prasad, P. N., "Nanochemistry: Synthesis and characterization of multifunctional nanoclinics for biological applications.", **Chem. Mater.**, 14: 3715-3721 (2002).
9. Hao, L. Y., Zhu, C. L., Jiang, W. Q., Chen, C. N., Hu, Y. And Chen, Z. Y., "Sandwich Fe₂O₃@SiO₂@PPy ellipsoidal spheres and four types of hollow capsules by hematite olivary particles ", **J. Mater. Chem.**, 14: 2929-2934 (2004).
10. Sun, S., Murray, C. B., Weller, D., Folks, L. And Moser, A., "Monodisperse FePt nanoparticles and ferromagnetic FePt nanocrystal superlattices", **Science**, 287: 1989-1992 (2000).
11. Skumryev, V., Stoyanov, S., Zhang, Y., Hadjipanayis, G., Givord, D. And Nogues, J., "Beating the superparamagnetic limit with Exchange bias", **Nature**, 423: 850-853 (2003).

12. Zhao, M., Josephson, L., Tang, Y. And Weissleder, R., "Magnetic sensors for protease assays" **Angew. Chem. Int. Edit.**, 42:1375-1378 (2003).
13. Doyle, P. S., Bibette, J., Bancaud, A. And Viovy, J. L., "Self-assembles magnetic matrices for DNA separation chips", **Science**, 295: 2237 (2002).
14. Tartaj, P., Gonzalez, C. T. And Serna, C. J., "Synthesis of Nanomagnets Dispersed in Colloidal Silica Cages with Applications in Chemical Separation", **Langmuir**, 18: 4556-4558 (2002).
15. Dang, F., Enomoto, N., Hojo, J. And Enpuku, K., "Sonochemical coating of magnetite nanoparticles with silica", **Ultrason. Sonochem.**, 17:193-199 (2010).
16. Si, J. And Yang, H., "Preparation and characterization of bio-compatible Fe₃O₄@Polydopamine spheres with core/shell nanostructure", **Mater. Chem. Phys.**, 128:519-524 (2011).
17. Postma, A., Yan, Y., Wang, Y., Zelikin, A. N., Tjipto, E. And Caruso, F., "Self-Polymerization of Dopamine as a Versatile and Robust Technique to Prepare Polymer Capsules", **Chem. Mater.**, 21:3042-3044 (2009).
18. Cui, J., Wang, Y., Postma, A., Hao, J., Hosta-Rigau, L. And Caruso, F., "Monodisperse Polymer Capsules: Tailoring Size, Shell Thickness, and Hydrophobic Cargo Loading via Emulsion Templating", **Adv. Funct. Mater.**, 20: 1625-1631 (2010).
19. Wang, Y., Bansal, V., Zelikin, A. N. And Caruso, F., "Templated Synthesis of Single-Component Polymer Capsules and Their Application in Drug Delivery", **Nano Lett.**, 8: 1741-1745 (2008).
20. Lee, B. P., Dalsin, J. L. And Messersmith, P. B., "Synthesis and Gelation of DOPA-Modified Poly(ethyleneglycol) Hydrogels", **Biomacromolecules**, 3:1038-1047 (2002).
21. LaVoie, M. J., Ostaszewski, B. L., Weihofen, A., Schlossmacher, M. G. And Selkoe, D. J., "Dopamine covalently modifies and functionally inactivates parkin", **Nat. Med.**, 11:1214-1221 (2005).
22. Tang, D., Yuan, R. And Chai, Y., "Magnetic Core-Shell Fe₃O₄@Ag Nanoparticles Coated Carbon Paste Interface for Studies of Cacrinoembriyonic Antigen in Clinical Immunoassay", **J. Phys. Chem. B**, 110:11640-11646 (2006).

23. Liao, Y., Wang, Y., Feng, X., Wang, W., Xu, F. And Zhang, L., "Antibacterial surfaces through dopamine functionalization and silver nanoparticle immobilization", ***Mater. Chem. Phys.***, 121:534-540 (2010).
24. Porter, L. S., David J. J., Westcott, S. L., Graupe, M., Czernuszewicz, R. S., Halas, N. J. And Lee, T. R., "Gold and Silver Nanoparticles Functionalized by the Adsorption of Dialkyl Disulfides", ***Langmuir***, 14:7378-7386 (1998).
25. Rosi, N. L. And Mirkin, C. A., "Nanostructures in biodiagnostics", ***Chem. Rev.***, 105:1547-1562 (2005).
26. Pankhurst, Q. A., Connolly, J., Jones, S. K. And Dobson, J., "Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine", ***J. Phys. D Appl. Phys.***, 36: R167-R181 (2003).
27. Gupta, A. K. And Curtis, A. S. G., "Surface modified superparamagnetic nanoparticles for drug delivery: Interaction studies with human fibroblasts in culture", ***J. Mater. Sci.-Mater. M.***, 15:493-496 (2004).
28. Graham, D. L., Ferreira, H. A. And Freitas, P. P., "Magnetoresistive-based biosensors and biochips.", ***Trends Biotechnol.***, 22: 455-462 (2004).
29. Hiergeist, R., Andra, W., Buske, N., Hergt, R., Hilger, I., Richter, U. And Kaiser, W., "Application of magnetite ferrofluids for hyperthermia", ***J. Magn. Magn. Mater.***, 201:420-422 (1999).
30. Gu, H., Xu, K., Xu, C. And Xu, B., "Biofunctional Magnetic Nanoparticles for Protein Separation and Pathogen Detection", ***Chem. Commun.***, 9: 941-949 (2006).
31. Lin, P. C., Chou, P. H., Chen, S. H., Liao, H. K., Wang, K. Y., Chen, Y. J. And Lin, C. C., "Ethylene Glycol-Protected Magnetic Nanoparticles for a Multiplexed Immunoassay in Human Plasma", ***Small***, 2: 485-489 (2006).
32. Chou, P. H., Chen, S. H., Liao, H. K., Lin, P. C., Her, G. R., Lai, A. C. Y., Chen, J. H., Lin, C. C. And Chen, Y. J., "Nanoprobe-Based Affinity Mass Spectrometry for Selected Protein Profiling in Human Plasma", ***Anal. Chem.***, 77: 5990-5997 (2005).
33. LaConte, L., Nitin, N. And Bao, G., "Magnetic nanoparticle probes" ***Mater. Today***, 8: 32-38 (2005).

34. Patel, D., Moon, J. Y., Chang, Y., Kim, T. J. And Lee, G. H., "Poly(D,L-lactide-co-glycolide) coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis, characterization and in vivo study as MRI contrast agent" **Colloid. Surface. A.**, 313,314: 91-94 (2008).
35. Gardimalla, H. M. R., Mandal, D., Stevens, P. D., Yen, M. And Gao, Y., "Superparamagnetic Nanoparticle-Supported Enzymatic Resolution of Racemic Carboxylates", **Chem. Commun.**, 35: 4432-4434 (2005).
36. Mornett, S., Vasseur, S., Grasset, F., Veverka, P., Goglio, G., Demourgues, A., Portier, J., Pollert, E. And Duguet, E., "Magnetic nanoparticle design for medical applications", **Prog. Solid. State Ch.**, 34: 237-247(2006).
37. Stevens, P. D., Fan, J., Gardimalla, H. M. R., Yen, M. And Gao, Y., "Superparamagnetic Nanoparticle-Supported Catalysis of Suzuki Cross-Coupling Reactions", **Org. Lett.**, 7: 2085-2088 (2005).
38. Jun, Y-W., Choi, J-S. And Cheon, J., "Heterostructured magnetic nanoparticles: their versatility and high performance capabilities", **Chem. Commun.**, 12: 1203-1214 (2007).
39. Zalich, M. A., Vadala, M. L., Riffle, J. S., Saunders, M. And St. Pierre, T. G., "Structural and magnetic properties of cobalt nanoparticles encased in siliceous shells", **Chem. Mater.**, 19: 6597-6604 (2007).
40. Linuma, H., Okinaga, K., Adachi, M., Suda, K., Sekine, T., Sakagawa, T., Baba, Y., Tamura, J., Kumagai, H. And Ida, A., "Detection of tumor cells in blood using CD45 magnetic cell separation followed by nested mutant allele-specific amplification of p53 and K-ras genes in patients with colorectal cancer", **Int. J. Cancer**, 89: 337-344 (2000).
41. Goodwin, S. C., Bittner, C. A., Peterson, C. L. And Wong, G., "Single-Dose Toxicity Study of Hepatic Intra-arterial Infusion of Doxorubicin Coupled to a Novel Magnetically Targeted Drug Carrier", **Toxicol. Sci.**, 60: 177-183 (2001).
42. Gupta, A. K. And Gupta, M., "Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications", **Biomaterials**, 26: 3995-4021 (2005).
43. Gao, Y., "Nanofabrication Towards Biomedical Applications - Biofunctionalization of Nanomaterials: Techniques, Tools, Applications, and Impact, 1st ed.", Kumar, C.S.S.R., Hormes, J., Leuschner, C., **Wiley-VCH**: New York, pp 72-98 (2005).

44. Neveu, S., Bee, A., Robineau, M. And Talbot, D., "Size-Selective Chemical Synthesis of Tartrate Stabilized Cobalt Ferrite Ionic Magnetic Fluid", **J. Colloid Interf. Sci.**, 255: 293-298 (2002).
45. Grasset, F., Labhsetwar, N., Li, D., Park, D. C., Saito, N., Haneda, H., Cadot, O., Roisnel, T., Mornet, S., Duguet, E., Portier, J. And Etourneau, J., "Syntheses and Magnetic Characterization of Zinc Ferrite Nanoparticles with Different Environments: Powder, Colloidal Solution, and Zinc Ferrite-Silica Core-Shell Nanoparticles", **Langmuir**, 18: 8209-8216 (2002).
46. Sun, S. And Zeng H., "Size-Controlled Synthesis of Magnetite Nanoparticles", **J. Am. Chem. Soc.**, 124: 8204-8205 (2002).
47. Park, S-J., Kim, S., Lee, S., Khim, Z., Char, K. And Hyeon, T., "Synthesis and Magnetic Studies of Uniform Iron Nanorods and Nanospheres", **J. Am. Chem. Soc.**, 122: 8581-8582 (2000).
48. Puentes, V. F., Krishan, K. M. And Alivisatos, A. P., "Colloidal nanocrystal shape and size control: the case of cobalt", **Science**, 291:2115-2117 (2001).
49. Murray, C. B., Norris, D. J. And Bawendi, M. G., "Synthesis and characterization of nearly monodisperse CdE (E=sulfur, selenium, tellurium) semiconductor nanocrystallites", **J. Am. Chem. Soc.**, 115: 8706-8715(1993).
50. Peng, X., Wickham, J. And Alivisatos, A. P., "Kinetics of II-VI and III-V Colloidal Semiconductor Nanocrystal Growth: "Focusing" of Size Distributions", **J. Am. Chem. Soc.**, 120: 5343-5344(1998).
51. O'Brien, S., Brus, L. And Murray, C. B., "Synthesis of Monodisperse Nanoparticles of Barium Titanate: Toward a Generalized Strategy of Oxide Nanoparticle Synthesis", **J. Am. Chem. Soc.**, 123: 12085-12086 (2001).
52. Rockenberger, J., Scher, E. C. And Alivisatos, P. A., "A New Nonhydrolytic Single-Precursor Approach to Surfactant-Capped Nanocrystals of Transition Metal Oxides", **J. Am. Chem. Soc.**, 121: 11595-11596 (1995).
53. Woo, K., Hong, J., Choi, S., Lee, H-W., Ahn, J-P., Kim, C. S. And Lee, S. W., "Easy Synthesis and Magnetic Properties of Iron Oxide Nanoparticles", **Chem. Mater.**, 16: 2814-2819 (2004).
54. Indira, T. K. And Lakshmi, P. K., "Magnetic Nanoparticles - A Review", **Int. J. Pharm. Sci. Nanotech.**, 3: 1035-1042 (2010).

55. Bee, A., Massart, R. And Neveu, S., "Synthesis of very fine maghemite particles", **J. Magn. Magn. Mater.**, 149: 6-9 (1995).
56. Ishikawa, T., Kataoka, S. And Kandori, K., "The influence of carboxylate ions on the growth of β -FeOOH particles", **J. Mater. Sci.**, 28: 2693-2698 (1993).
57. Ishikawa, T., Takeda, T. And Kandori, K., "Effects of Amines on the Formation of β -Ferric Oxide Hydroxide", **J. Mater. Sci.**, 27: 4531-4538 (1992).
58. Kandori, K., Kawashima, Y. And Ishikawa, T., "Effects of citrate ions on the formation of monodispersed cubic hematite particles", **J. Colloid Interf. Sci.**, 152: 284-288 (1992).
59. Lee, J., Isobe, T. And Senna, M., "Magnetic Properties of Ultrafine Magnetite Particles and their Slurries Prepared via In-situ Precipitation", **Colloid. Surface. A.**, 109: 121-127 (1996).
60. Cornell, R. M. And Schindler, P. W., "Infrared study of the adsorption of hydroxycarboxylic acids on α -FeOOH and amorphous Fe (III) hydroxide", **Colloid Polym. Sci.**, 258: 1171-1175 (1980).
61. Willis, A. L., Turro, N. J. And O'Brien, S., "Spectroscopic Characterization of the Surface Iron Oxide Nanocrystals", **Chem. Mater.**, 17: 5970-5975 (2005).
62. Cushing, B. L., Kolesnichenko, V. L. And O'Connor, J., "Recent Advances in the Liquid-Phase Syntheses of Inorganic Nanoparticles", **Chem. Rev.**, 104: 3893-3946 (2004).
63. Binh, V. J., Purcell, S. T., Semet, V. And Feschet, F., "Nanotips and nanomagnetism", **Appl. Surf. Sci.**, 130-132: 803-814 (1998).
64. Novakova, A. A., Lanchhinskaya, V. Y., Volkov, A. V., Gendler, T. S., Kiseleva, T. Y., Moskvina, M. A. And Zezin, S. B., "Magnetic properties of polymer nanocomposites containing iron oxide nanoparticles", **J. Magn. Magn. Mater.**, 258-259: 354-357 (2003).
65. Gudoshnikov, S., Liubimov, B., Matveets, L., Ranchinski, M., Usov, N., Gubin, S., Yurkov, G., Snigirev, O. And Volkov, I., "Magnetic properties Fe-based nanoparticle assembly", **J. Magn. Magn. Mater.**, 258-259: 54-56 (2003).
66. Kang, Y. S., Risbud, S., Rabolt, J. F. And Stroeve, P., "Synthesis and Characterization of Nanometer-Size Fe_3O_4 and $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ Particles", **Chem. Mater.**, 8: 2209-2211 (1996).

67. Chikazumi, S., Taketomi, S., Ukita, M., Mizukami, M., Miyajima, H., Setogawa, M. And Kurihara, Y., "Physics of magnetic fluids", **J. Magn. Magn. Mater.**, 65: 245-251(1987).
68. Lu, A-H., Schmidt, W., Matoussevitch, N., Bönnemann, H. B., Spliethoff, B., Tesche, B., Bill, E., Kiefer, W. And Schüth, F., "Nanoengineering of a Magnetically Separable Hydrogenation Catalyst", **Angew. Chem., Int. Edit.**, 43: 4303-4306 (2004).
69. Tsang, S. C., Caps, V., Paraskevas, I., Chadwick, D. And Thompsett, D., "Magnetically Separable, Carbon-Supported Nanocatalysts for the Manufacture of Fine Chemicals", **Angew. Chem., Int. Edit.**, 43: 5645-5649 (2004).
70. Jiles, D. C., "Recent advances and future directions in magnetic materials", **Acta Mater.**, 51: 5907-5939 (2003).
71. Salata, O. V., "Application of nanoparticles in biology and medicine", **J. Nanobiotech.**, 2: 3-6 (2004).
72. Barratt, G., "Colloidal drug carriers: achievements and perspectives", **Cell. Mol. Life Sci.**, 60: 21-37(2003).
73. Neuberger, T., Schöpf, B., Hofmann, H., Hofmann, M. And Rechenberg, B. V., "Superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications: Possibilities and limitations of a new drug delivery system", **J. Magn. Magn. Mater.**, 293: 483-496 (2005).
74. Euliss, L. E., Grancharov, S. G., O'Brien, S., Deming, T. J., Stucky, G. D., Murray, G. D., Murray, C. B. And Held, G. A., "Cooperative Assembly of Magnetic Nanoparticles and Block Copolypeptides in Aqueous Media", **Nano Lett.**, 3: 1489-1493 (2003).
75. Liu, X., Guan, Y., Ma, Z. And Liu, H., "Surface Modification and-Characterization of Magnetic Polymer Nanospheres Prepared by Miniemulsion Polymerization", **Langmuir**, 20: 10278-10282 (2004).
76. Hong, R., Fischer, N. O., Emrick, T. And Rotello, V. M., "Surface PEGylation and Ligand Exchange Chemistry of FePt Nanoparticles for Biological Applications", **Chem. Mater.**, 17: 4617-4621 (2005).
77. Ma, D., Guan, J., Normandin, F., Denommee, S., Enright, G., Veres, T. And Simard, B., "Multifunctional Nano-Architecture for Biomedical Applications", **Chem. Mater.**, 18: 1920-1927 (2006).

78. Stöber, W., Fink, A. And Bohn, E. J., "Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range", **J. Colloid Interf. Sci.**, 26: 62-69 (1968).
79. Tago, T., Hatsuta, T., Miyajima, K., Kishida, M., Tashiro, S. And Wakabayashi, K., "Novel synthesis of silica-coated ferrite nanoparticles prepared using water-in-oil microemulsion," **J. Am. Ceram. Soc.**, 85: 2188-2194 (2002).
80. Ulman, A., "Formation and Structure of Self-Assembled Monolayers", **Chem, Rev.**, 96: 1533-1554 (1996).
81. Lu, Y., Yin, Y., Mayers, B. T. And Xia, Y., "Modifying the Surface Properties of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles through A Sol-Gel Approach" **Nano Lett.**, 2: 183-186 (2002).
82. Zhao, W., Gu, J., Zhang, L., Chen, H. And Shi, J., "Fabrication of Uniform Magnetic Nanocomposite Spheres with a Magnetic Core/Mesoporous Silica Shell Structure", **J. Am. Chem. Soc.**, 127: 8916-8917 (2005).
83. Zins, D., Cabuil, V. And Massart, R., "New aqueous magnetic fluids", **J. Mol. Liq.**, 83: 217-232 (1999).
84. Shen, L., Laibinis, P. E. And Hatton, T. A., "Bilayer Surfactant Stabilized Magnetic Fluids: Synthesis and Interactions at Interfaces", **Langmuir**, 15: 447-453 (1999).
85. De Cuyper, M. And Joniau, M., "Mechanistic aspects of the adsorption of phospholipids onto lauric acid stabilized magnetite nanocolloids", **Langmuir**, 7: 647-652 (1991).
86. Stoeva, S. I., Huo, F. W., Lee, J. S. And Mirkin, C. A., "Three-Layer Composite Magnetic Nanoparticle Probes for DNA", **J. Am. Chem. Soc.**, 127: 15362-15363 (2005).
87. Siiman, O. And Burshteyn, A., "Preparation, Microscopy, and Flow Cytometry with Excitation into Surface Plasmon Resonance Bands of Gold or Silver Nanoparticles on Aminodextran-Coated Polystyrene Beads", **J. Phys. Chem., B**, 104: 9795-9810 (2000).
88. Lu, Y., Yin, Y., Li, Z. Y. And Xia, Y., "Synthesis and Self-Assembly of Au@SiO₂ Core-Shell Colloids", **Nano Lett.**, 2: 785-788 (2002).

89. Moody, R. L., Vo-Dinh, T. And Fletcher, W. H., "Investigation of Experimental Parameters for Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) Using Silver-Coated Microsphere Substrates", **Appl. Spectrosc.**, 41: 966-970 (1987).
90. Schueler, P. A., Ives, J. T., DelaCroix, F., Lacy, W. B., Becker, P. A., Li, J., Caldwell, K. D., Drake, B. And Harris, J. M., "Physical Structure, Optical Resonance, and Surface-Enhanced Raman-Scattering of Silver-Island Films on Suspended Polymer Latex-Particles ", **Anal. Chem.**, 65: 3177-3186 (1993).
91. Mayer, A. B. R., Grebner, W. And Wannemacher, R., "Preparation of Silver-Latex Composites", **J. Phys. Chem. B**, 104: 7278-7285 (2000).
92. Westcott, S. L., Oldenburg, S. J., Lee, T. R. And Halas, N. J., "Sequential Electrostatic Assembly of Amine-Derivatized Gold and Carboxylic Acid- Derivatized Silver Colloidal Particles on Glass Substrate", **Langmuir**, 16: 6921-6926 (2000).
93. Kobayashi, Y., Salgueirino-Maceira, V. And Liz-Marzan, L. M., "Deposition of Silver Nanoparticles on Silica Spheres by Pretreatment Steps in Electroless Plating", **Chem. Mater.**, 13: 1630-1633 (2001).
94. Chen, Y. J., Kang, E. T., Neoh, K. G., Zhang, Y. And Tan, K. L., "Oxidative graft polymerization of aniline on Si(100) surface modified by plasma polymerization of glycidyl methacrylate", **Polym. Eng. Sci.**, 42: 1181-1196 (2002).
95. Whaley, S. R., English, D. S., Hu, E. L., Barbara, P. F. And Belcher, A. M., "Selection of peptides with semiconductor binding specificity for directed nanocrystal assembly", **Nature**, 405: 665-668 (2000).
96. Charbonnier, M., Alami, M. And Romand, M., "Electroless plating of polymers: XPS study of the initiation mechanisms ", **J. Appl. Electrochem.**, 28: 449-453 (1998).
97. Ramanathan, K., Ram, M. K, Malhotra, B. D., Surya, A. And Murthy, N., "Application of polyaniline-Langmuir-Blodgett films as a glucose biosensor", **Materials Science and Engineering C**, 3: 159-163 (1995).
98. Ooka, A. A. And Garrell, R. L., "Surface-enhanced Raman spectroscopy of DOPA-containing peptides related to adhesive protein of marine mussel, *Mytilus edulis*", **Biopolymers**, 57: 92-102 (2000).
99. Yu, M., Hwang, J. And Deming, T. J., "Role of L-3,4-Dihydroxyphenylalanine in Mussel Adhesive Proteins", **J. Am. Chem. Soc.**, 121: 5825-5826 (1999).

100. Ohkawa, K., Fujii, K., Nishida, A., Yamauchi, T., Ishibashi, H. And Yamamoto, H., "Lysyl Oxidase-Catalyzed Cross-Linking and Insolubilization Reactions of Lys-Containing Polypeptides and Synthetic Adhesive Proteins", **Biomacromolecules**, 2: 773-779 (2001).
101. Yamada, K., Chen, T., Kumar, G., Vesnovsky, O., Topoleski, L. D. T. And Payne, G. F., "Chitosan Based Water-Resistant Adhesive. Analogy to Mussel Glue", **Biomacromolecules**, 1: 252-258 (2000).
102. Lui, K., Wei, W-Z., Zeng, J-X., Liu, X-Y. And Gao, Y-P., "Application of a novel electrosynthesized polydopamine-imprinted film to the capacitive sensing of nicotine", **Anal. Bioanal. Chem.**, 385: 724-729 (2006).
103. Bernsmann, F., Richert, L., Senger, B., Lavalle, P., Voegel, J-C., Schaaf, P. And Ball, V., "Use of dopamine polymerisation to produce free-standing membranes from (PLL-HA)_n exponentially growing multilayer films", **Soft Matter**, 4: 1621-1624 (2008).
104. Fei, B., Qian, B., Yang, Z., Liu, W. C., Mak, C. L. And Xin, J. H., "Coating carbon nanotubes by spontaneous oxidative polymerization of dopamine", **Carbon**, 46: 1795-1797 (2008).
105. Yin, X-B. And Liu, D-Y., "Polydopamine-based permanent coating capillary electrochromatography for auxin determination", **J. Chromatogr. A**, 1212: 130-136 (2008).
106. Shin, Y. M., Lee, Y. B., Kim, S. J., Kang, J. K., Park, J-C., Jang, W. And Shin, H., "Mussel-Inspired Immobilization of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) for Enhanced Endothelialization of Vascular Grafts", **Biomacromolecules**, 12: 2020-2028 (2012).
107. Dresco, P. A., Zaitsev, V. S., Gambino, R. J. And Chu, B., "Preparation and Properties of Magnetite and Polymer Magnetite Nanoparticles", **Langmuir**, 15: 1945-1951 (1999).
108. Sousa, M. H., Tourinho, F. A., Depeyrot, J., Da Silva, G. J. And Lara, M. C. F. L., "New Electric Double-Layered Magnetic Fluids Based on Copper, Nickel, and Zinc Ferrite Nanostructures", **J. Phys. Chem. B**, 105: 1168-1175 (2001).
109. Lu, A-H., Slabas, E. L. And Schüth, F., "Magnetic Nanoparticles: Synthesis, Protection, Functionalization, and Application", **Angew. Chem. Int. Edit**, 46: 1222-1224 (2007).
110. Wan, M. And Li, J., "Synthesis and electrical-magnetic properties of polyaniline composites", **J. Polym. Sci. Pol. Chem.**, 36: 2799-2805 (1998).

111. Butterworth, M. D., Bell, S. A., Armes, S. P. And Simpson, A. W., "Synthesis and Characterization of Polypyrrole- Magnetite-Silica Particles", **J. Colloid Interf. Sci.**, 183: 91-99 (1996).
112. Tartaj, P., Morales, M. P., Gonzalez-Carreno, T., Veintemillas-Verdaguer, S. And Serna, C. J., "Advances in magnetic nanoparticles for biotechnology applications", **J. Magn. Magn. Mater.**, 290-291: 28-34 (2005).
113. Deng, J., Ding, X., Zhang, W., Peng, Y., Wang, J., Long, X., Li, P. And Chan, A. S. C., "Magnetic and conducting Fe₃O₄-cross-linked polyaniline nanoparticles with core-shell structure", **Polymer**, 43: 2179-2184 (2002).
114. Harris, L. A., Goff, J. D., Carmichael, A. Y., Riffle, J. S., Harburn, J. J., St. Pierre, T. G. And Saunders, M., "Magnetite Nanoparticles Dispersions Stabilized with Triblock Copolymers", **Chem. Mater.**, 15: 1367-1377 (2003).
115. Thunemann, A. F., Schutt, D., Kaufner, L., Pison, U. And Möhwald, H., "Maghemite Nanoparticles Protectively Coated with Poly(ethylene imine) and Poly (ethylene oxide)-block-poly(glutamic acid)", **Langmuir**, 22: 2351-2357 (2006).
116. Marutani, E., Yamamoto, S., Ninjbadgar, T., Tsujii, Y., Fukuda, T. And Takano, M., "Surface-initiated atom transfer radical polymerization of methyl methacrylate on magnetite nanoparticles", **Polymer**, 45: 2231-2235 (2004).
117. Sun, Y., Ding, X., Zheng, Z., Cheng, X., Hu, X. And Peng, Y., "Surface initiated ATRP in the synthesis of iron oxide/polystyrene core/shell nanoparticles", **Eur. Polym. J.**, 43: 762-772 (2007).
118. Kim, D. K., Mikhaylova, M., Zhang, Y. And Muhammed, M., "Protective Coating of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles", **Chem. Mater.**, 15: 1617-1627 (2003).
119. He, H-W., Liu, H-J., Zhou, K-C., Wang, W. And Rong, P-F., "Characteristics of magnetic Fe₃O₄ nanoparticles encapsulated with human serum albumin", **J. Cent. South Univ. T.**, 13: 6-11 (2006).
120. Mikhaylova, M., Kim, D. K., Berry, C. C., Zagorodni, A., Toprak, M., Curtis, A. S. G. And Muhammed, M., "BSA Immobilized on Amine-Functionalized Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles", **Chem. Mater.**, 16: 2344-2354 (2004).

121. Chunfu, Z., Jinqun, C., Duanzhi, Y., Yongxian, W., Yanlin, F. And Jiajü, T., "Preparation and radiolabeling of human serum albumin (HSA)-coated magnetite nanoparticles for magnetically targeted therapy", **Appl. Radiat. Isotopes**, 61: 1255-1259 (2004).
122. Iwaki, T., Kakihara, Y., Toda, T., Abdullah, M. And Okuyama, K., "Preparation of high coercivity magnetic FePt nanoparticles by liquid process", **J. Appl. Phys.**, 94: 6807-6811 (2003).
123. Ney, A., Pouloupoulos, P., Farle, M. And Baberschke, K., "Absolute determination of Co magnetic moments: Ultrahigh-vacuum high-T_c SQUID magnetometry", **Phys. Rev. B**, 62: 11336-11339 (2000).
124. Farle, M., "Ferromagnetic resonance of ultrathin metallic layers", **Rep. Prog. Phys.**, 61: 755-826 (1998).
125. Elbert, H., "Magneto-optical effects in transition metal systems", **Rep. Prog. Phys.**, 59: 1665- 1735(1996).
126. Stöhr, J., "Exploring the microscopic origin of magnetic anisotropies with X-ray magnetic circular dichroism (XMCD) spectroscopy", **J. Magn. Magn. Mater.**, 200: 470-497 (1999).
127. Lippa, P. B., Sokoll, L. J. And Chan, D. W., "Immunosensors-Principles and Applications to Clinical Chemistry", **Clin. Chim. Acta**, 314: 1-26 (2001).
128. Rhoades, C. J., Williams, M. A., Kelsey, S. M. And Newland, A. C., "Monocyte-macrophage system as targets for immunomodulation by intravenous immunoglobulin" **Blood Rev.**, 14: 14-30(2000).
129. D'Orazio, P., "Biosensors in Clinical Chemistry", **Clin. Chim. Acta**, 334: 41-69 (2003).
130. Köhler, M. And Fritzsche, W., "Nanotechnology: An introduction to nanostructuring Techniques, 1st ed.", **Wiley-VCH**, Germany, pp 1-9 (2004).
131. Hirschmugl C. J., "Frontiers in infrared spectroscopy at surfaces and interfaces", **Surf. Sci.**, 500: 577-604 (2002).
132. Barr, T. L., "Modern ESCA: The Principles and Practice of X-Ray Photoelectron Spectroscopy, 3rd ed.", **CRC Press, Inc**, USA, pp 5-28 (1994).
133. Watts, J. F. And Wolstenholme, J., "An Introduction to Surface Analysis by XPS and AES, 1st ed.", **Wiley VCH**, UK, pp 1-164 (2003).

134. He, B. B., "Two-Dimensional X-ray Diffraction, 3rd ed.", **Wiley VCH**, United States, pp 1-23 (2009).
135. Barnes, P. R. F., Mulvaney, R., Wolff, E. W. And Robinson, K. A., "A technique for the examination of polar ice using the scanning electron microscope", **J. Microsc.**, 205: 118-124 (2002).
136. Suzuki, E., "High-resolution scanning electron microscopy of immunogold-labelled cells by the use of thin plasma coating of osmium", **J. Microsc.**, 208: 153-157 (2002).
137. Egerton, R. F., "Physical Principles of Electron Microscopy An Introduction to TEM, SEM, and AEM, 1st ed.", **Springer**, USA, pp 1-202 (2005).
138. Burgei, W., Pechan, M. J. And Jaeger, H., "A simple vibrating magnetometer for use in a materials physics course", **Am. J. Phys.** 71: 825-828 (2003).
139. Clark, N. A., Lunacek, J. H. And Benedek, G. B., "A study of Brownian Motion Using Light Scattering", **Am. J. Phys.**, 38: 575-585 (1970).
140. Internet: Cornell University "Size Theory"
<http://www.nbtc.cornell.edu/facilities/downloads/Zetasizerchapte14.pdf>
(2012).
141. Wu, W., He, Q. And Jiang, C., "Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis and Surface Functionalization Strategies", **Nanoscale Res. Lett.**, 3: 397-415 (2008).
142. Bharde, A. A., Parikh, R. Y., Baidakova, M., Jouen, S., Hannoyer, B., Enoki, T., Prasad, B. L. V., Shouche, Y. S., Ogale, S. And Sastry, M., "Bacteria-Mediated Precursor-Dependent Biosynthesis of Superparamagnetic Iron Oxide ", **Langmuir**, 24: 5787-5794 (2008).
143. Rocchiccioli-Deltcheff, C., Franck, R., Cabuil, V. And Massart, R., "Surfacted ferrofluids: interactions at the surfactant-magnetic iron oxide interface", **J. Chem. Res.**, 5: 126-127 (1987).
144. Sousa, M. H., Rubim, J. C., Sobrinho, P. G. And Tourinho, F. A., "Biocompatible magnetic fluid precursors based on aspartic and glutamic acid modified maghemite nanostructures", **J. Magn. Magn. Mater.**, 225: 67-72 (2001).
145. van Ewijk, G.A., Vroege, G. J. And Philipse, A. P., "Convenient preparation methods for magnetic colloids", **J. Magn. Magn. Mater.**, 201: 31-33 (1999).

146. Philipse, A. P., van Bruggen M. P. B. And Pathmamanoharan, C., "Magnetic silica dispersions: preparation and stability of surface-modified silica particles with a magnetic core", **Langmuir**, 10: 92-99 (1994).
147. Lu, Z., Dai, J., Song, X., Wang, G. And Yan, W., "Facile synthesis of $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ composite nanoparticles from primary silica particles", **Colloid. Surface. A.**, 317:450-456 (2008).
148. Abboud, M., Turner, M., Duguet, E. And Fontanille, M., "PMMA-based composite materials with reactive ceramic fillers. Part1.-Chemical modification and characterisation of ceramic particles", **J. Mater. Chem.**, 7: 1527-1532 (1997).
149. Waldron, R. D., "Infrared spectra of Ferrites", **Phys. Rev.**, 99: 1727-1735 (1955).
150. Ma, M., Zhang, Y., Yu, W., Shen, H-Y., Zhang, H-Q. And Gu N., "Preparation and characterization of magnetite nanoparticles coated by amino silane", **Colloid. Surface. A.**, 212: 219-226 (2003).
151. Zhang, J. L., Srivastava, R. S., Misra And R. D. K., "Core-Shell Magnetite Nanoparticles Surface Encapsulated with Smart Stimuli-Responsive Polymer: Synthesis, Characterization, and LCST of Viable Drug-Targeting Delivery System", **Langmuir**, 23: 6342-6351 (2007).
152. Davazoglou, D. And Vamvakas, V. E., "Optical dispersion analysis within the IR range of thermally grown and TEOS deposited SiO_2 films", **Microelectron. Reliab.**, 39: 285-289 (1999).
153. Monde, T., Fukube, H., Nemoto, F., Yoko, T. And Konakahara, T., "Preparation and surface properties of silica-gel coating films containing branched-polyfluoroalkylsilane", **J. Non-Cryst. Solids**, 246: 54-64 (1999).
154. Yilmaz, E. And Bengisu, M., "Drug entrapment in silica microspheres through a single step sol-gel process and *in vitro* release behavior", **J. Biomed. Mater. Res. B** 77B: 149-155 (2006).
155. Wang, H., Peng, M., Zheng, J. And Li, P., "Encapsulation of silica nanoparticles by redox-initiated graft polymerization from the surface of silica nanoparticles", **J. Colloid Interf. Sci.**, 326: 151-157 (2008).
156. Vandenberg, E. T., Bertilsson, L., Liedberg, B., Uydal, K., Erlandsson, R., Elwing, H. And Lundström, I., "Structure of 3-aminopropyl triethoxy silane on silicon oxide", **J. Colloid Interf. Sci.**, 147: 103-118 (1991).

157. Wang, J., Zheng, S., Shao, Y., Liu, J., Xu, Z. And Zhu, D., "Amino-functionalized $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ core-shell magnetic nanomateria as a novel adsorbent for aqueous heavy metals removal", **J. Colloid Interf. Sci.**, 349: 293-299 (2010).
158. Chen, F. H., Gao, Q. And Ni, J. Z., "The grafting and release behavior of doxorubicin from $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ core-shell structure nanoparticles via an acid cleaving amide bond: the potential for magnetic targeting drug delivery", **Nanotechnology**, 19: 165103-165111 (2008).
159. Yang, C., Wang, G., Lu, Z., Sun, J., Zhuang, J. And Yang, W., "Effect of ultrasonic treatment on dispersibility of Fe_3O_4 nanoparticles and synthesis of multi-core $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ core/shell nanopaticles", **J. Mater. Chem.**, 15: 4252-4257 (2005).
160. Chen, J., Liu, M., Chen, C., Gong, H. And Gao, C., "Synthesis and Characterization of Silica Nanoparticles with Well-Defined Thermoresponsive PNIPAM via a Combination of RAFT and Click Chemistry", **ACS Appl. Mater. Inter.**, 3: 3215-3223 (2011).
161. Kurokawa, Y., Hirose, H., Moriya, T. And Kimura, C., "Cleaning by Brush-Scrubbing of Chemical Mechanical Polished Silicon Surfaces Using Ozonized Water and Diluted HF", **Jpn. J. Appl. Phys.**, 38: 5040-5043 (1999).
162. Tan, B. J., Klabunde, K. J. And Sherwood, P. M. A., "X-ray photoelectron spectroscopy studies of solvated metal atom dispersed catalysts. Monometallic iron and bimetallic iron-cobalt particles on alumina", **Chem. Mater.**, 2: 186-191 (1990).
163. Pham, K. N., Fullston, D. And Sagoe-Crentsil, K., "RETRACTED: Surface modification for stability of nano-sized silica colloids", **J. Colloid Interf. Sci.**, 315: 123-127 (2007).
164. Yamaura, M., Camilo, R. L., Sampaio, L. C., Macêdo, M. A., Nakamura, M. And Toma, H. E., "Preparation and characterization of (3-aminopropyl)triethoxysilane-coated magnetite nanoparticles", **J. Magn. Mater.**, 279: 210-217 (2004).
165. Pilloni, M., Nicolas, J., Marsaud, V., Bouchemal, K., Frongia, F., Scano, A., Ennas, G. And Dubernet, C., "PEGylation and preliminary biocompatibility evaluation of magnetite-silica nanocomposites obtained by high energy ball milling", **Int. J. Pharmaceut.**, 401: 103-112 (2010).
166. Brinker, C. And Scherer, G., "Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing, 1st ed.", **Academic Press, Inc.**, New York, pp 235-297 (1990).

167. Tanaka, S., Kaihara, J., Nishiyama, N., Oku, Y., Egashira, Y. And Ueyama, K., "Incorporation of Organic Groups within the Channel Wall of Spin-On Mesoporous Silica Films by a Vapor Infiltration Technique", **Langmuir**, 20: 3780-3784 (2004).
168. Wu, W., Xiao, X., Zhang, S., Ren, F. And Jiang, C., "Facile method to synthesize magnetic iron oxides/TiO₂ hybrid nanoparticles and their photodegradation application of methylene blue", **Nanoscale Res. Lett.**, 6: 533-547 (2011).
169. Lu, P., Zhang, J-L., Liu, Y-L., Sun, D-H., Liu, G-X., Hong, G-Y. And Ni, J-Z., "Synthesis and characteristic of the Fe₃O₄@SiO₂@Eu(DBM)₃.2H₂O/SiO₂ luminescent microspheres with core-shell structure", **Talanta**, 82: 450-457 (2010).
170. Yang, T., Shen, C., Li, Z., Zhang, H., Xiao, C., Chen, S., Xu, Z., Shi, D., Li, J. And Gao, H., "Highly Ordered Self-Assembly with Large Area of Fe₃O₄ Nanoparticles and the Magnetic Properties", **J. Phys. Chem. B.**, 109: 23233-23236 (2005).
171. Palosz, B., Stelmach, S., Grzanka, E., Gierlotka, S., Pielaszek, R., Bismayer, U., Werner, S. And Palosz, W., "High pressure x-ray diffraction studies on nanocrystalline materials", **J. Phys.-Condens. Mat.**, 16: S353-S377 (2004).
172. Wu, M., Ma, Y., Liu, Y., Bi, H., Fang, Q., Niu, H. And Chen, Q., "Chainlike assembly of magnetite coated with SiO₂ nanostructures induced by an applied magnetic field", **Mater. Res. Bull.**, 43: 1321-1326 (2008).
173. Sun, Y., Duan, L., Guo, Z., Duanmu, Y., Ma, M., Xu, L., Zhang, Y. And Gu, N., "An improved way to prepare superparamagnetic magnetite-silica core-shell nanoparticles for possible biological application", **J. Magn. Mater.**, 285: 65-70 (2005).
174. Girginova, P. I., Daniel-Da-Silva, A. L., Lopes, C. B., Figueira, P., Otero, M., Amaral, V. S., Pereira, E. And Trindade, T., "Silica coated magnetite particles for magnetic removal of Hg²⁺ from water", **J. Colloid Interf. Sci.**, 345: 234-240 (2010).
175. Barnakov, Y. A., Yu, M. H. And Rosenzweig, Z., "Manipulation of the Magnetic Properties of Magnetite-Silica Nanocomposite Materials by Controlled Stöber Synthesis", **Langmuir**, 21: 7524-7527 (2005).
176. Ge, Y., Zhang, Y., He, S., Nie, F., Teng, G. And Gu, N., "Fluorescence Modified Chitosan-Coated Magnetic Nanoparticles for High-Efficient Cellular Imaging", **Nanoscale Res. Lett.**, 4: 287-295 (2009).

177. Kavaz, D., "Biyokimyasal uygulamalar için manyetik özelliğe sahip biyopolimerik nanokürelerin hazırlanması ve karakterizasyonu", Yüksek Lisans Tezi, **Hacettepe Üniversitesi**, Ankara, 37-41 (2009).
178. Guo, J., Yang, W., Wang, C., He, J. And Chen, J., "Poly(N-isopropylacrylamide)-Coated Luminescent/Magnetic Silica Microspheres: Preparation, Characterization, and Biomedical Applications", **Chem. Mater.**, 16: 5554-5562 (2006).
179. Lee, H., Dellatore, S. M., Miller, W. M. And Messersmith, P. B., "Mussel-Inspired Surface Chemistry for Multifunctional Coatings", **Science**, 218: 426-430 (2007).
180. Wang, W., Jiang, Y., Liao, Y., Tian, M., Zou, H. And Zhang, L., "Fabrication of silver-coated silica microspheres through mussel-inspired surface functionalization", **J. Colloid Interf. Sci.**, 358: 567-574 (2011).
181. Liao, Y., Wang, Y., Feng, X., Wang, W., Xu, F. And Zhang, L., "Antibacterial surfaces through dopamine functionalization and silver nanoparticle immobilization", **Mater. Chem. Phys.**, 121: 534-540 (2010).
182. Lee, H., Lee, Y. H., Statz, A. R., Rho, J. S., Park, T. G. And Messersmith, P. B., "Substrate-Independent Layer-by-Layer Assembly by Using Mussel-Adhesive-Inspired Polymers", **Adv. Mater.**, 20: 1619-1623 (2008).
183. Wu, Y., Gao, Q., Shi, L. And Gao, L., "Hemoglobin-Titanate Composite Based Biosensor for the Amperometric Determination of Hydrogen Peroxide in Acidic Medium", **Electroanal.**, 21: 904-908 (2009).
184. Wang, G., Huang, H., Zhang, G., Zhang, X. And Wang, L., "Dual functional electrochemical sensor based on Au-polydopamine-Fe₃O₄ nanocomposites", **Anal. Methods**, 3: 2475-2477 (2011).
185. Tan, K. L., Woon, L. L., Kang, E. T. And Neoh, K. G., "Surface modification of plasma-pretreated poly(tetrafluoroethylene) films by graft copolymerization", **Macromolecules**, 26: 2832-2836 (1993).
186. Du, W., Zou, H., Tian, M., Zhang, L. And Wang, W., "Electrically conductive acrylonitrile-butadiene rubber elastomers prepared by dopamine-induced surface functionalization and metallization", **Polym. Advan. Technol.**, 23: 1029-1035 (2012).

187. Ren, Y., Rivera, J. G., He, L., Kulkarni, H., Lee, D-K. And Messersmith, P. B., "Facile, high efficiency immobilization of lipase enzyme on magnetic iron oxide nanoparticles via a biomimetic coating", **BMC Biotechnol.**, 11:63-70 (2011).
188. Wei, Q., Zhang, F., Li, J., Li, B. And Zhao, C., "Oxidant-induced dopamine polymerization for multifunctional coatings", **Polym. Chem.**, 1: 1430-1433 (2010).
189. Sieval, A. B., Linke, R., Heij, G., Meijer, G., Zuilhof, H. And Sudhölter, E. J. R., "Amino-Terminated Organic Monolayers on Hydrogen-Terminated Silicon Surfaces", **Langmuir**, 17:7554-7559 (2001).
190. Briggs, D., "Surface Analyses of Polymers by XPS and Static SIMS, 3rd ed.", **Cambridge University Press**, Cambridge, pp 47-73 (1998).
191. Ghodake, V. P., Kininge, P. T., Magdum, S. P., Dive, A. S. And Pillai, M. M., "Biosynthesis of Silver Nanoparicles Using *Trichosporon beigellii* NCIM 3326 and Evaluation of Their Antimicrobial Activity", **Journal of Engineering Research and Studies**, 2: 32-36 (2011).
192. He, S., Yao, J., Xie, S., Pang, S. And Gao, H., "Investigation of passivated silver nanoparticles", **Chem. Phys. Lett.**, 343: 28-32 (2001).
193. Zhou, W-H., Lu, C-H., Guo, X-C., Chen, F-R., Yang, H-H. And Wang, X-R., "Mussel-inspired molecularly imprinted polymer coating superparamagnetic nanoparticles for protein recognition", **J. Mater. Chem.**, 20: 880-883 (2010).
194. Chin, S. F., Iyer, K. S. And Rston, C. L., "Facile and Green Approach To Fabricate Gold and Silver Coated Superparamagnetic Nanoparticles", **Cryst. Growth Des.**, 9: 2685-2689 (2009).
195. Lau, K. H. A., Huang, C., Yakovlev, N., Chen, Z. K. And O'Shea, S. J., "Direct Adsorption and Monolayer Self-Assembly of Acetyl-Protected Dithiols", **Langmuir**, 22: 2968-2971 (2006).
196. Esplandiu, M. J. And Noeske, P. L. M., "XPS investigations on the interactions of 1,6-hexanedithiol/Au(1 1 1) layers with metallic and ionic silver species", **Appl. Surf. Sci.**, 199: 166-182 (2002).
197. Rieley, H., Kendall, G. K., Zemicael, F. W., Smith, T. L. And Yang, S. H., "X-ray Studies of Self-Assembled Monolayers on Coinage Metals. 1. Alignment and Photooxidation in 1,8-Octanedithiol and 1-Octanethiol on Au", **Langmuir**, 14: 5147-5153 (1998).

198. Stapleton, J. J., Harder, P., Daniel, T. A., Reinard, M. D., Yao, Y. X., Price, D. W., Tour, J. M. And Allara, D. L., "Self-Assembled Oligo(phenylene-ethynylene) Molecular Electronic Switch Monolayers on Gold: Structures and Chemical Stability", **Langmuir**, 19: 8245-8255 (2003).
199. Lin, S. Y., Tsai, Y. T., Chen, C-C, Lin, C-M. And Chen, C-H., "Two-step Functionalization of Neutral and Positively Charged Thiols onto Citrate-Stabilized Au Nanoparticles", **J. Phys. Chem. B**, 108: 2134-2139 (2004).
200. Ivanov, M. R., "Covalently functionalized gold nanoparticles: synthesis, characterization, and integration into capillary electrophoresis", PhD Thesis, **University of Iowa**, USA, pp 99-117, (2011).
201. Huang, C-C., Liao, H-Y., Shiang, Y-C., Lin, Z-H., Yang, Z. And Chang, H-T., "Synthesis of wavelength-tunable luminescent gold and gold/silver nanorods", **J. Mater. Chem.**, 19: 755-759 (2009).
202. Appoh, F. E., Long, Y. T. And Kraatz, H. B., "Study of Peptide Dendrimers Having a Ferrocene Core Supported on Mercaptoundecanoic Acid", **Langmuir**, 22: 10515-10522 (2006).
203. Olivier, A., Raquez, J-M., Dubois, P. And Damman, P., "Semi-crystalline poly(e-caprolactone) brushes on gold substrate via "grafting from" method: New insights with AFM characterization", **Eur. Poly. J.**, 47: 31-39 (2011).
204. Gu, H. W., Yang, Z. M., Gao, J. H., Chang, C. K. And Xu, B., "Heterodimers of Nanoparticles: Formation at a Liquid-Liquid Interface and Particle-Surface Modification by Functional Molecules", **J. Am. Chem. Soc.**, 127: 34-35 (2005).
205. Gu, H. W., Ho, P-L., Tsang, K. W. T., Wang, L. And Xu, B., "Using Biofunctional Magnetic Nanoparticles to Capture Vancomycin-Resistant Enterococci and Other Gram-Positive Bacteria at Ultralow Concentration", **J. Am. Chem. Soc.**, 125: 15702-15703 (2003).
206. Gu, H. W., Ho, P-L., Tsang, K. W. T., Yu, C-W. And Xu, B., "Using biofunctional magnetic nanoparticles to capture Gram-negative bacteria at ultra-low Concentration", **Chem. Commun.**, 15: 1966-1967 (2003).
207. Lin, Y-S., Tsai, P-J., Weng, M-F. And Chen, Y-C., "Affinity Capture Using Vancomycin-Bound Magnetic Nanoparticles for the MALDI-MS Analysis of Bacteria", **Anal. Chem.**, 77: 1753-1760 (2005).

208. Gu, H. W., Ho, P. L., Tong, E., Wang, L. And Xu, B., "Presenting Vancomycin on Nanoparticles to Enhance Antimicrobial Activities", **Nano Lett.**, 3: 1261-1263 (2003).
209. Lee, W., Oh, B-K., Bae, Y. M., Paek, S-H., Lee, W. H. And Choi, J-W., "Fabrication of self-assembled protein A monolayer and its application as an immunosensor", **Biosens. Bioelectron.**, 19: 185-192 (2003).
210. Lee G. U., Kidwell, D. A. And Colton, R. J., "Sensing Discrete Streptavidin-Biotin Interactions with Atomic Force Microscopy", **Langmuir**, 10: 354-357 (1994).
211. Demirel, G., Çağlayan, M. O., Garipcan, B., Duman, M. And Pişkin, E., "Oriented immobilization of IgG on hydroxylated Si(001) surfaces via protein-A by a multiple-step process based on a self-assembly approach", **J. Mater. Sci.**, 42: 9402-9408 (2007).
212. Briand, E., Salmain, M., Compere, C. And Pradier, C-M., "Immobilization of Protein A on SAMs for the elaboration of immunosensors", **Colloid. Surface. B.**, 53: 215-224 (2006).
213. Kakuichi, T., Lida, M., Gon, N., Hobara, D., Imabayashi, S-I. And Niki, K., "Miscibility of Adsorbed 1-Undecanthiol and 11-Mercaptoundecanoic Acid Species in Binary Self-Assembled Monolayers on Au (111)", **Langmuir**, 17: 1599-1603 (2001).
214. Hong, S., Lee, D., Zhang, H., Zhang, J. Q., Resvick, J. N., Khademhosseini, A., King, M. R., Langer, R. And Karp, J. M., "Covalent Immobilization of P-Selectin Enhances Cell Rolling", **Langmuir**, 23: 12261-12268 (2007).
215. Larsen, K., Thygesen, M. B., Guillaumie, F., Willats, W. G. T. And Jensen, K. J., "Solid-phase chemical tools for glycobiology", **Carbohydr. Res.**, 341: 1209-1234 (2006).
216. Legband, D. And Langer, R., "An Approach for the Stable Immobilization of Protein", **Biotechnol. Bioeng.**, 37: 227-237 (1991).
217. Puertas, S., Batalla, P., Moros, M., Polo, E., Pino, P., Guisan, J. M., Gazu, V. And Fuente, J. M., "Taking Advantage of Unspecific Interactions to Produce Highly Active Magnetic Nanoparticle-Antibody Conjugates", **ACS NANO**, 5: 4521-4528 (2011).
218. Miguel-Sancho, N., Bomati-Miguel, O., Colom, G., Salvador, J. P., Marco, M. P. And Santamaria, J., "Development of Stable, Water-Dispersible, and Biofunctionalizable Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles", **Chem. Mater.**, 23: 2795-2802 (2011).

219. Sam, S., Touahir, L., Andresa, J. S., Allongue, P., Chazalviel, J-N., Gouget-Laemmel, A. C., de Villeneuve, C. H., Moraillon, A., Ozanam, F., Gabouze, N. And Djebbar, S., "Semiquantitative Study of the EDC/NHS Activation of Acid Terminal Groups at modified Porous Silicon Surfaces", **Langmuir**, 26: 809-814 (2010).
220. Wang, C., Yan, Q., Liu, H. B., Zhou, X. H. And Xiao, S. J., "Different EDC/NHS Activation Mechanisms between PAA and PMMA Brushes and the Following Amidation Reactions", **Langmuir**, 27: 12058-12068 (2011).
221. Dahoumane S. A., Nguyen, M. N., Thorel, A., Boudou, J.P., Chehimi, M. M. And Mangeney, C., "Protein-Functionalized Hairy Diamond Nanoparticles", **Langmuir**, 25: 9633-9638 (2009).
222. Yam, C-M., Pradier, C-M., Salmain, M., Marcus, P. And Jaouen, G., "Binding of Biotin to Gold Surfaces Functionalized by Self-Assembled Monolayers of Cystamine and Cysteamine: Combined FT-IRRAS and XPS Characterization", **J. Colloid Interf. Sci.**, 235: 183-189 (2001).
223. Lee, H., Rho, J. And Messersmith, P. B., "Facile Conjugation of Biomolecules onto Surfaces via Mussel Adhesive Protein Inspired Coatings", **Adv. Mater.**, 21: 431-434 (2009).
224. Lee, H., Scherer, N. And Messersmith, P. B., "Single-molecule mechanics of mussel adhesion", **P. Natl. Acad. Sci. USA**, 103: 12999-13003 (2006).
225. Zhu, L-P., Jiang, J-H., Zhu, B-K. And Xu, Y-Y., "Immobilization of bovine serum albumin onto porous polyethylene membranes using strongly attached polydopamine as a spacer", **Colloid. Surface. B.**, 86: 111-118 (2011).
226. Ham, H. O., Liu, Z., Lau, K. H. A., Lee, H. And Messersmith, P. B., "Facile DNA Immobilization on Surfaces through a Catecholamine Polymer", **Angew. Chem. Int. Edit.**, 50: 732-736 (2011).
227. Arruebo, M., Valladares, M. And Gonzales-Fenandez, A., "Antibody-Conjugated Nanoparticles for Biomedical Applications", **J. Nanomater.**, 2009: 1-24 (2009).
228. Scott, C. J., Marouf, W. M. And Quinn, D. J., "Immunocolloidal Targeting of the Endocytotoxic Siglec-7 Receptor Using Peripheral Attachment of Siglec-7 Antibodies to Poly(Lactide-co-Glycolide) Nanoparticles", **Pharm. Res. Dordr.**, 25: 135-146 (2008).

229. Allen, S., Chen, X., Davies, J., Davies, M. C., Dawkes, A. C., Edwards, J. C., Roberts, C. J., Sefton, J., Tendler, S. J. B. And Williams, P. M., "Detection of Antigen-Antibody Binding Events with the Atomic Force Microscope", **Biochemistry**, 36: 7457-7463 (1997).
230. Goto, Y., Matsuno, R., Konno, T., Takai, M. And Ishihara, K., "Polymer Nanoparticles Covered with Phosphorylcholine Groups and Immobilized with Antibody for High-Affinity Separation of Proteins", **Biomacromolecules**, 9: 828-833 (2008).
231. Tajima, N., Takai, M. And Ishihara, K., "Significance of Antibody Orientation Unraveled: Well-Oriented Antibodies Recorded High Binding Affinity", **Anal. Chem.**, 83: 1969-1976 (2011).
232. Liang, P-H., Wang, S-K. And Wong, C-H., "Quantitative Analysis of Carbohydrate-Protein Interactions Using Glycan Microarrays: Determination of Surface and Solution Dissociation Constants", **J.Am. Chem. Soc.**, 129: 11177-11184 (2007).
233. Ohmura, N., Lackie, S. J. And Saiki, H., "An Immunoassay for Small Analytes with Theoretical Detection Limits", **Anal. Chem.**, 73: 3392-3399 (2001).
234. Kissinger, P. T., "Biosensors-a perspective", **Biosens. Bioelectron.**, 20: 2512-2516 (2005).
235. Watanabe, J. And Ishihara, K., "Sequential Enzymatic Reactions and Stability of Biomolecules Immobilized onto Phospholipid Polymer Nanoparticles", **Biomacromolecules**, 7: 171-175 (2006).
236. Ito, T., Watanabe, J., Takai, M., Konno, T., Iwasaki, T. And Ishihara, K., "Dual mode bioreactions on polymer nanoparticles covered with phosphorylcholine group", **Colloid. Surface. B.**, 50: 55-60 (2006).
237. Konno, T., Kurita, K., Iwasaki, Y., Nakbayashi, N. And Ishihara, K., "Preparation of nanoparticles composed with bioinspired 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine polymer", **Biomaterials**, 22: 1883-1889 (2001).
238. Gebben, B., van Houwelingen, G. D. B., Zhang, W., van den Boomgaard, Th. And Smolders, C. A., "Protein separation using affinity binding 1. Polystyrene core-shell latex as ligand carrier", **Colloid. Surface. B.**, 3: 75-84 (1994).

239. Park, H-Y., Schadt, M. J., Wang, L., Lim, I. I. S., Njoki, P. N., Kim, S. H., Jang, M-Y., Luo, J. And Zhong, C-J., "Fabrication of Magnetic Core@Shell Fe Oxide@Au Nanoparticles for Interfacial Bioactivity and Bio-separation", **Langmuir**, 23: 9050-9056 (2007).

ÖZGEÇMİŞ**Kişisel Bilgiler**

Soyadı, Adı : ŞAHİN, Ferat
Uyruğu : TC
Doğum tarihi ve yeri : 10.05.1978, Ankara
Medeni Hali : Bekar
e-mail : feratsahintr@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Y.Lisans	G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü/Kimya	2005
Lisans	G.Ü. Fen-Edb. Fak./Kimya Bölümü	2001
Lise	Yenimahalle End. Meslek Lisesi	1994

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2001-2008	Gazi Üniversitesi	Uzman
2008- 2012	Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi	Kimyager
2012-	Türkiye ilaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu	Kimyager

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

1. **Şahin, F.**, Yahşi, A., Demirel, G. And Tümtürk, H., “Binary immobilization of tyrosinase by using alginate gel beads and poly(acrylamide-co-acrylic acid) hydrogels”, *Int. J. Biol. Macromol.*, 36: 253-258 (2005).
2. **Şahin, F.**, Demirel, G. And Tümtürk, H., “A novel matrix for the immobilization of acetylcholinesterase”, *Int. J. Biol. Macromol.*, 37: 148-153 (2005).
3. **Şahin, F.**, Demirel, G., Özçetin, G., Tümtürk, H., Aksoy, S. And Hasırcı, N., “Semi-interpenetrating polymer networks (IPNS) for entrapment of Glucose isomerase”, *React. Funct. Polym.*, 66: 389-394 (2006).
4. **Şahin, F.**, Somer, G., Nakışçı, A., And Kalaycı, Ş., “A new and simple method for trace element determination in brassica oleraceae var. acephale by differential pulse polarography”, *Turk. J. Chem.*, 30: 419-427 (2006).
5. **Şahin, F.**, Tümtürk, H., Demirel, G. And Karaca, N., “Preparation and application of poly(*N,N*-dimethylacrylamide-co-acrylamide) and poly(*N*-isopropylacrylamide-co-acrylamide)/κ-carrageenan hydrogels for immobilization of lipase”, *Int. J. Biol. Macromol.*, 40: 281-285 (2007).
6. **Şahin, F.**, Tümtürk, H. And Demirel, G. “A new method for immobilization of acetylcholinesterase”, *Bioproc. Biosys. Eng.*, 30: 141-145 (2007).
7. **Şahin, F.**, Akkaya, B., Demirel, G., And Tümtürk, H., “Functional polymeric supports for immobilization of cholesterol oxidase” *Biochem. Eng. J.*, 43: 333-337 (2009).

8. **Şahin, F.**, Derici, M. K., And Büzkiye H., “Kauçuk yapıda foley idrar sondalarının sitotoksitesinde çinko bileşiklerinin olası rolü”, **Türk. Hij. Den. Biyol. Derg.**, 69: 21-30 (2012).
9. **Şahin, F.**, Turan, E., Tümtürk, H. And Demirel, G., “Core-shell magnetic nanoparticles: A comparative study based on silica and polydopamine coating for magnetic bio-separation platforms” **Analyst**, 137: 5654-5658 (2012).