



T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BORONİK ASİT İÇERİKLİ POLİMETİLMETAKRİLAT NANOPARÇACIK ÜRETİMİ VE KARBONHİDRAT SENSÖRÜ OLARAK KULLANILMASI

Hüseyin ŞAKALAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Anabilim Dalı

Ocak-2015
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

YÜKSEK LİSANS

BORONİK ASİT İÇERİKLİ POLİMETİLMETAKRİLAT NANOPARÇACIK ÜRETİMİ VE KARBONHİDRAT SENSÖRÜ OLARAK KULLANILMASI

Hüseyin ŞAKALAK

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Mustafa Selman YAVUZ

2015, 55 Sayfa

Jüri
Doç. Dr. Murat ÇITIR
Doç. Dr. Mesut UYANER
Doç. Dr. Mustafa Selman YAVUZ

Vinil fenil boronik asit fonksiyonlu polimetilmetakrilat nanoparçacığı tek aşamada yüzey aktif madde kullanılmadan emülsiyon polimerizasyonu yöntemiyle sentezlendi. Sentezlenen nanoparçacıklar SEM ve DLS ile karakterize edildi. Nanoparçacığın yapısındaki bor ise EDX analizi ile ispatlandı. Polimerizasyon işlemlerinde birçok farklı monomer oranları kullanıldı ve optimum parçacık boyutu belirlendi. Çözücü içindeki aseton oranı ve toplam monomer konsantrasyonunun ortalama hidrodinamik çapı ve PDI değerine etkileri araştırıldı. Ayrıca monomer karışımındaki boronik asit konsantrasyonunun parçacık boyutu ve dağılımına etkileri raporlandı. Boronik asit içeren nanoparçacığa alizarin kırmızısı boyası bağlandı. Bu parçacıklar nanosensör davranışı göstermektedir. Bu parçacıkların kolay bir şekilde glikoz ya da fruktoz sensörü olarak kullanılmaları araştırıldı. Boya bağlı nanoparçacıklar glikoz ya da fruktoz ile yer değiştirme reaksiyonu göstermektedirler. Glikoz ya da fruktoz içeriği ayrıca UV-Vis spektrofotometre cihazı ile izlendi. Daha sonra sitotoksisite çalışmaları yapıldı. Boronik asit taşıyan polimetilmetakrilat nanoparçacıkları 3T3 hücrelerinde yürütüldü ve herhangi bir etkinin olmadığı görüldü. Yani parçacıkların toksik bir etkisinin olmadığı anlaşıldı.

Anahtar Kelimeler: Diol sensörü, Emülsiyon polimerizasyonu, Fruktoz, Glikoz, Nanosensör, Polimetilmetaktilat nanoparçacık.

ABSTRACT

MS THESIS

ONE-POT SYNTHESIS OF SUB-100 nm SCALE BORONIC ACID FUNCTIONALIZED NANOPARTICLES FOR FLUORESCENT DIOL SENSING

Hüseyin ŞAKALAK

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN METALLURGY AND MATERIALS ENGINEERING

Advisor: Assoc.Prof.Dr. Mustafa Selman YAVUZ

2015, 55 Pages

Jury
Assoc.Prof.Dr. Murat ÇITIR
Assoc.Prof.Dr. Mesut UYANER
Assoc.Prof.Dr. Mustafa Selman YAVUZ

Poly(methyl methacrylate) nanoparticles containing 4-vinylphenyl boronic acid were synthesized in one pot by surfactant-free emulsion polymerization. The nanoparticles were characterized by scanning electron microscopy and dynamic light scattering. Boron content in the nanoparticles was confirmed by electron-dispersive X-ray spectroscopy. In polymerization process, several co-monomer ratios were studied in order to obtain optimum nanoparticle size. Average hydrodynamic diameter and polydispersity index of nanoparticles versus variation of acetone percentage in the solvent mixture and total monomer concentration were investigated. The effect of boronic acid concentration in the monomer mixture on nanoparticle size and size distribution was also reported. Without further functionalization to the nanoparticles, the catechol dye, alizarin red S, was bound to boronic acid-containing nanoparticles. These nanoparticles behave as a nanosensor by which glucose or fructose can be easily detected. Dye-containing nanoparticles were undertaken displacement reaction by glucose or fructose. The glucose or fructose content was also monitored by UV– Visible spectrophotometer. Furthermore, cytotoxicity studies of boronic acid-carrying poly(methyl methacrylate) nanoparticles were carried out in 3T3 cells, which showed no toxicity effect on the cells.

Keywords: Diol sensing, Nanosensors, Poly(methyl methacrylate) nanoparticles, Surfactant-free emulsion polymerization, Glucose, Fructose.

ÖNSÖZ

Günlük hayatta diyabet hastalığının tanısı ve teşhisi çok fazla önem arz etmektedir. Diabet (şeker hastalığı) kalp damar hastalığı, körlük ve kanser gibi sağlık problemlerine yol açmaktadır. Diabette kandaki şeker seviyesi sürekli olarak izlenebilmelidir. Bu yaptığımız projenin amacı sentezlenen nanoparçacık sayesinde kandaki şeker oranını tespit edebilmektir. Projenin nihai hedefi şeker seviyesini hızlı bir şekilde tespit edip erken teşhis için avantaj sağlamaktır.

Bu tez çalışmasında kandaki şeker seviyesini fonksiyon gruplu nanoparçacıklarla ölçebilmektir. Literatürde iki aşamada üretilebilen nanoparçacıklar, tek aşamalı ve yenilenebilir bir şekilde kolaylıkla üretildi. Literatüre sağlayacağımız en büyük kazanç bu olacaktır. Ayrıca çalışmamızda nanoparçacık kullanmamız bize birçok avantaj sağlamaktadır. En önemlisi parçacığın çöktürülebilmesi ve bu sayede rahatlıkla saflaştırılabilmesidir. Özellikle şeker sensöründe kullanılan malzemelerin biyo uyumlu olması ayrıca önem arz etmektedir.

Yüksek lisans eğitimim ve çalışmalarım sürecinde bana destek olup yurt içindeki eğitimlerimi destekleyen her zaman sabırla yaklaşıp kendimi geliştirmem konusunda bende çok emeği olan, bu yorucu çalışmamız boyunca her zaman bilgi ve tecrübelerini aktaran saygıdeğer hocam ve danışmanım sayın Doç. Dr. Mustafa Selman YAVUZ'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar çalışmalarım boyunca her türlü desteğini esirgemeyen, kendisini örnek aldığım sayın hocam Halit ÇAVUŞOĞLU'na, değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Mehmet ULAŞAN'a, değerli kardeşlerim, Burak BÜYÜKBEKAR'a ve Yasin AKKOÇ'a, laboratuvar arkadaşlarım Ekrem GÖREN, Ayşenur ERDOĞAN ve Mehmet Şahin ATAŞ'a da en içten teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca her zaman maddi manevi sabırla, özveriyle, güvenle yanımda olarak destekleriyle bu günlere gelmemi sağlayan canım aileme en içten sevgilerimi iletip en büyük teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde maddi destek Tübitak'a (112M096, COST TD 1004 nolu proje) katkılarından dolayı teşekkür ederim. Ayrıca bu tez çalışmasının çıktılarıyla ''Journal of Nanoparticle Research'' dergisinde 2014 yılında yayın yapılmıştır.

Hüseyin ŞAKALAK
KONYA- 2015

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iv**

ABSTRACT ..... **v**

ÖNSÖZ ..... **vi**

İÇİNDEKİLER ..... **vi**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **ix**

1. GİRİŞ **1**

1.1. Nanoteknoloji **2**
1.1.1. Nanoteknoloji nedir? **2**
1.1.2 Dünden bugüne nanoteknoloji **3**
1.2. Nanoparçacıklar **4**
1.2.1. Nanoparçacıkların analitik amaçlı kullanım alanları **5**
1.3 Polimerizasyon Mekanizması **5**
1.3.1 Başlama **5**
1.3.2 Büyüme **6**
1.3.3 Sonlanma **6**
1.4. Polimerizasyon Türleri **6**
1.4.1 Katılma polimerizasyonu **6**
1.4.1.1 Radikalik katılma polimerizasyonu **6**
1.4.1.2 İyonik katılma polimerizasyonu **8**
1.4.2. Kondenzasyon (Katılma) polimerizasyonu **9**
1.5. Polimerizasyon Yöntemleri **10**
1.5.1 Kütle (Bulk) polimerizasyonu **10**
1.5.2 Çözelti polimerizasyonu **11**
1.5.3 Süspansiyon polimerizasyonu **12**
1.5.4 Emülsiyon polimerizasyonu **13**
1.6. Biyosensörler **14**
1.6.1. Biyosensörlerin Kısa Tarihçesi **14**
1.6.2 Sensör ve biyosensör tanımları **15**
1.6.3 Biyosensörün ana gövdesini oluşturan parçalar **15**
1.6.3.1 Biyoreseptörler **16**
1.6.3.2 Dönüştürücüler **16**
1.6.4. Biyosensörler Uygulamaları **17**

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **18**

3. MATERYAL VE YÖNTEM **21**

3.1 Kullanılan Kimyasallar **21**
3.1.1. MMA (Metil Metakrilat) **21**
3.1.2 VPBA (Vinil Fenil Boronik Asit) **21**
3.1.3 ARS (Alizarin Kırmızısı Boyası) **22**
3.1.4 APS (Amonyum Per Sülfat) **22**

3.1.5 Glikoz **23**
3.1.6 Fruktoz **23**
3.1.7. Çözücüler **24**
3.2 Boronik Asit Fonksiyonlu Polimetilmetakrilat Nanoparçacık Sentezi **24**
3.3 Boronik Asit Fonksiyonlu Nanoparçacığa ARS Boyası Bağlanması **25**
3.4 Glikoz Sensörü **26**
3.5 Fruktoz Sensörü **26**
3.6 Sitotoksisite Deneyleri **26**
3.7 Karakterizasyonda Kullanılan Cihazlar **26**
3.7.1 UV-VIS (Ultraviyole ve görünür ışık absorpsiyon spektroskopi) Cihazı ve Çalışma Prensibi **26**
3.7.2 SEM (Taramalı elektron mikroskobu) Cihazı ve Çalışma Prensibi **27**
3.7.3 DLS (Parçacık boyut analiz cihazı) ve Çalışma Prensibi **28**
3.8 Boronik Asit Fonksiyonlu PMMA Nanoparçacığın Karakterizasyonu İçin Numune Hazırlanması **29**
3.9 ARS (Alizarin Kırmızısı Tuzu) Bağlı Polimer Nanoparçacık Hazırlanması **29**

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA 31

4.1 Tek Aşamada Boronik Asit Fonksiyonlu PMMA Nanoparçacık Sentezi ve Karakterizasyonu **31**
4.2. Glikoz ve Fruktoz Sensörü **35**

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 38

5.1 Sonuçlar **38**
5.2 Öneriler **39**

KAYNAKLAR 40

ÖZGEÇMİŞ 46

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler	**Açıklamalar**
°C	: Santigrat derece
µL	: Mikrolitre
mL	: Mililitre
mg	: Miligram
nm	: Nanometre

Kısaltmalar

APS	: Amonyum Per Sülfat
MMA	: Metil Metakrilat
PDI	: Poli Dispersity Index (Çoklu Dağılma Değeri)
VPBA	: Vinil Fenil Boronik Asit
DLS	: Dinamik ışık saçılımı
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
UV-Vis	: Ultraviyole Görünür Bölge

1. GİRİŞ

Tıp, çevre, ilaç ve gıda analizlerinde en büyük önemi biyomoleküllerin tayini belirlemektedir. Birçok araştırma grubu hedef biyomolekül tayinini, biyolojik tanıma mekanizmalarından, antijen-antikor, enzim substrat vb. yararlanarak gerçekleştirilmesi çalışmalarına devam etmektedir. Biyomoleküllerin seçici bir şekilde tayini için hızlı, düşük tayin sınırlarına sahip, yüksek hassasiyetli, yeni analitik yöntemlerin bulunması ve geliştirilmesi gerekmektedir. Biyolojik ajan tayininde bir sensöre ihtiyaç duyulmaktadır. Bu sensör biyolojik molekülün bağlandığı ve tayin edilebilir bir sinyal oluşumu sağlayan sensör olmalıdır. Sensör ile hedef ajanın etkileşmesi ile kütle, kapasitans, iletkenlik, yüzey plazmon rezonansında gözlenen fiziksel değişmeler platform tasarımına bağlı olarak kolaylıkla takip edilebilmektedir (Seçkin, 2011). Son yıllarda sensör uygulamaları için nano malzemeler üstün özellikleri sebebiyle yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

Nano yapıdaki malzemeler bazı özelliklerinin değişmesi (optik, elektronik, manyetik, termal özellikler) ve yüzey alanlarının hacimlerine göre oldukça büyük olmasından dolayı, nanoparçacıklarla ilgili deneysel ve teorik çalışmalar günümüzde potansiyel olarak daha yararlı yeni malzemelerin sentezi olarak halen devam etmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, nano boyutta sentezlenen malzemelerin özellikle tıp, ilaç, elektronik gibi çeşitli araştırma alanlarında uygulamaya dönük olarak yapılmaktadır. Örneğin, metal nanoparçacıkların yapısı, boyutu, şekilleri ve yüzey özellikleri uygun kimyasal yöntemlerle kontrol edilebilir. Ayrıca yüzeylerine farklı fonksiyonel gruplar takılarak yeni özellikler kazandırılabilir. Nano yapıların bu eşsiz özellikleri sayesinde çeşitli analizlerin miktar tayinleri yapılmıştır. Genellikle bu çalışmalar karbonhidratların tayini konusunda hız kazanmıştır. Günümüzde kandaki glikozun kantitatif tayini aktif bir araştırma konularından biridir ve geniş ilgi görmektedir.

Glikoz miktarının tespitinde optik rotasyon, yakın kızıl ötesi spektroskopisi, floresan, kolorimetrik spektroskopisi ve nanoparçacıklara dayalı enzimatik algılama ve elektrokimyasal da dahil olmak üzere literatürde pek çok glikoz algılama yöntemi vardır. Algılama yöntemleri arasında, floresan spektroskopisi büyük avantajlara sahiptir. Bu yöntemlerin dışında bir diğer glikoz sensörü tipi ise tercihen, cis-1,2 ya da cis-1,3 diolleri yapılarına sahip şeker ile boronik asit arasında tersine boronat ester oluşumuna

dayanan yöntem olarak göze çarpmaktadır. Bu çalışmamızda bu yöntemi esas alarak karbonhidrat sensörü geliştirmeyi hedeflendi.

Bu çalışmada, bildiğimiz kadarıyla ilk kez yüzey aktif madde kullanmadan tek seferde glikoza bağlı boronik asit fonksiyonlu poli metil metakrilat nanoparçacığı sentezlendi. Çözücü karışımındaki aseton su oranının etkisi, toplam monomer konsantrasyonu ve monomer karışımı içindeki boronik asit içeriğine bağlı ortalama hidrodinamik çapı çok yönlü dağılma indeksi (PDI) incelenmiştir. Sensörde belirteç görevini alizarin kırmızısı üstlenmiştir. Nanoparçacıklara bağlanan alizarin kırmızısı glikoz ve früktoz için iyi bir belirteç olmuştur (Cannizzo ve arkadaşları, 2005; Huang ve arkadaşları, 2010). Nanosensor için glikoz veya fruktoz bağlanma kapasitesi yer değiştirme reaksiyonu sonucu çıkan boyanın miktarı ile izlenmiştir. Nanoparçacık süspansiyonu içindeki renk değişimi ve UV-Vis spektrumunudaki kayma glikoz ve früktoz varlığını iyi bir şekilde kanıtlamış ve tanımlamıştır. Boronik asit fonksiyonlu poli metil metakrilat nanoparçacıklarının biyo-uyumlu olması NIH 3T3 Mus musculus fare fibroblast hücreleri kullanılarak test edilmiştir. (Sheikh ve arkadaşları, 2013; Catauro ve arkadaşları, 2013; Yang ve arkadaşları, 2013; Yavuz ve arkadaşları, 2011). Daha sonra XTT hücre canlılığı değerlendirilerek nanoparçacıkların zehirli olmadığı ispatlanmıştır.

1.1. Nanoteknoloji

1.1.1. Nanoteknoloji nedir?

Nano milyarda bir anlamına gelmektedir ve nano metrik bir sistemin içinde bir ölçü birimi olarak kullanılır. "Nano" kelimesi ayrıca Yunanca'dan ve Latince'den alınmış bir sözcüktür ve anlamı çok küçük ya da cüce demektir. Nanoteknolojinin tam manasıyla bir tanımı bulunmamakla birlikte genel görüşe göre 1 ile 100 nanometre boyutlarda maddelerin anlaşılması, kontrol edilebilir olması ve atomsal seviyede değiştirilip işlevsel hale getirilmesi olarakta tanımlanabilir. Nanoteknoloji ölçü birimi nanometredir ve kısa şekli nm olarak kullanılır. Her bir nm sadece üç ile beş atom genişliğindedir. Örneğin ortalama bir insanın saç telinin kalınlığı yaklaşık 90,000 nm civarındadır (Nano, 2014).

Nanoteknoloji birçok alanı kapsayan bir bilim dalıdır. Aygıt fiziği, malzeme bilimi, elektronik, kimya, biyoloji gibi dallardan bilim araştırmacıları, nanoteknoloji

çalışmaları yapmaktadır. Nanoteknolojinin etkileri üzerinde çok tartışma olmuştur. Nanoteknolojinin tıp, elektronik ve enerji üretimi gibi alanlarda uygulanma potansiyeli vardır. Bunun yanında, her yeni teknolojide olduğu gibi, nanomalzemelerin de sağlık ve çevre üzerindeki etkileri merak edilmektedir (Nanoteknoloji, 2014).

Nanoteknoloji kelimesini ilk defa kullanan Tokyo Bilim Üniversitesi'nden Norio Taniguchi olmuştur. 1974'de yayınlanan bir makalede Taniguchi'nin tanımı şöyledir: "'Nanoteknoloji' genel olarak malzemelerin atom ya da molekül işlenmesi, ayrılması, birleştirilmesi ve bozulmasıdır." Nanoteknoloji kelimesinin ortaya çıkmasından önce, fikir olarak dile getirilmiştir. Bunlardan en erkeni Richard Feynman'ın "Aşağıda Daha Çok Yer Var" adlı konuşmasıdır. Feynman bu konuşmasında atomları ve molekülleri kontrol etmeyi becerebileceğimizden, bunu yapabilmek için de yeni aletlere ihtiyacımız olduğundan bahsetmiştir. Atomik seviyede yer çekimi kuvvetinin öneminin azalacağına, Van der Waals gibi zayıf kuvvetlerin öneminin artacağını da belirtmiştir. Feynman'ın yanında bir başka bir bilim adamı ise Eric Drexler'dır. 1986'da yayınladığı "Yaratma Motorları: Nanoteknolojin Yaklaşan Devri" ve "Nanosistemler: Moleküler Mekanizmalar, Üretim ve Hesaplama" kitaplarında istediğimiz maddeyi atom atom dizerek oluşturan nanorobotların varolabileceğini ispat etmeye ve bu teknolojinin etkilerini ortaya çıkarmaya çalışmıştır. Ayrıca "Yaratma Motorları: Nanoteknolojin Yaklaşan Devri" yayınlanan ilk nanoteknoloji kitabıdır. Nanoteknolojinin gelişmesini sağlayan buluş ise Tarama Tünelleme Mikroskobu'nun keşfedilmesidir. Bu mikroskop sayesinde iletken bir yüzeydeki atomların yerleri değiştirilebiliyordu. Bu gelişmeyi 1986'da fullerinelerin ve karbon nanotüplerin keşfi izledi. 2000' de ABD' nin nanoteknolojiye yatırım yapması sonucu tüm Dünya' nın birçok ülkesinde nanoteknoloji araştırmaları başlamış oldu.

1.1.2. Dünden Bugüne Nanoteknoloji

Nanoteknoloji kavramını ilk defa dile getiren Amerika Birleşik Devletleri'nden Eric Drexler'dir. Nanoteknoloji üzerine yoğunlaşan Foresight Enstitüsü'nün kurucusu olan Drexler, MIT laboratuarındaki çalışmaları sırasında, biyolojik sistemlerden esinlenerek, moleküler makineler yapılabileceğini önermiştir. Böylece, nanoteknoloji kavramı ortaya çıkmıştır.

Nanoteknoloji vizyonunun ortaya çıkışını, 1959 yılında fizikçi Richard Feynman'ın malzeme ve cihazların moleküler boyutlarda üretilmesi ile

başarılabilecekleri üzerine yapmış olduğu “There's Plenty of Room at the Bottom” başlıklı ünlü konuşmasına kadar dayandırabiliriz. Nanoteknolojinin önemini “2000'li yıllarda insanlar geriye dönüp baktıklarında neden 1960'lara kadar bu konu ile ilgili ciddi çalışmaların başlamadığını merak edecekler” sözleriyle açıklayan Feynman, minyatürize edilmiş enstrümanlar ile nanoyapıların ölçülebileceği ve yeni amaçlar doğrultusunda kullanılabileceğinin altını çizmiştir. Feynman’ın başlattığı bu akım, günümüze kadar müthiş bir hız ve bilgi birikimi ile devam etmiştir. Bu gelişmeleri 2000 yılında Amerikan Ulusal Nanoteknoloji Gurubu kurulmuş ve nanoteknolojiye verilen maddi destek 2005 yılında milyar dolara yaklaşmıştır. 2000 yılında Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüleri Biyomühendislik Konsorsiyumu “Nanobilim ve Nanoteknoloji: Biyomedikal araştırmaların şekillendirilmesi” başlığı ile yapılmıştır. Bu konsorsiyumun en önemli faydası nanoteknolojinin tıp ve biyolojideki kullanım alanlarının daha iyi anlaşılması olmuştur.

Nanoteknoloji alanında başta NASA olmak üzere dünyanın pek çok büyük araştırma merkezleri ve önde gelen teknoloji enstitüleri milyonlarca dolarlık bütçelerle araştırmalarını büyük bir hızla sürdürüyorlar.

Nanoteknoloji; savunma, ulaşım, çevre, iletişim, kimyasallar, tüketici ürünleri alanlarında ve en fazla olarak da biyomedikal ve tıp alanında kullanılmaktadır. Biyomedikal ve tıp alanlarında kullanılan nanobiyoteknoloji ise, yapıtaşları olarak biyolojik malzemeleri kullanan, nanoteknolojinin bir alt dalıdır.

1.2. Nanoparçacıklar

Yüz yıllardır kolloid yapıların sentezleri için birçok metodun olduğu bilinmektedir. Fakat özellikle son 20 yıldır kolloid ile ilgili çalışmalar nanoparçacık, nanomalzeme ve nanoyapı gibi isimler ile nanoteknoloji bilimini ilgi odağı haline getirmiştir. Bu malzemelerin boyutları nanometre mertebesindedir. Bu malzemeler oldukça etkileyici bir çeşitliliğe ve tasarım tekniklerine sahiptir. Bu alandaki araştırmalar yeni yapılara ve yeni yüzey fonksiyonlarına sahip malzemelerin geliştirmesi konusunda yoğun bir şekilde sürdürülmektedir. Örneğin iki boyutlu kolloid yapıların çalışılması, üç boyutlu olan daha karmaşık yapıların sentezlenmesine yardımcı olmaktadır. Yani üç boyutlu kolloid yapıların sentezlenme metotları için olanak sağlamaktadır. Parçacıkların oldukça kararsız olması çözelti içinde topaklanmasına neden olmaktadır. Topaklanmanın engellenmesi içinde farklı yöntemler geliştirilmiştir.

Yüzey aktif maddeler topaklanmayı engelleyen önemli çözümlerden biridir. Ayrıca sitrat, polivinilpirolidon gibi kimyasallarda parçacık etrafını sararak topaklanmayı engelleyen yöntemlerdendir. Bunlar genelde sentez aşamasında kullanılırlar (Seçkin, 2011).

1.2.1. Nanoparçacıkların analitik amaçlı kullanım alanları

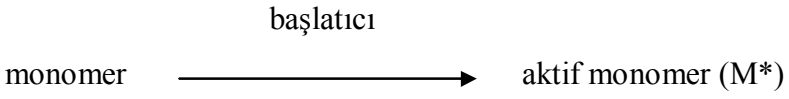
Nanoparçacıkların birçok analitik uygulamaları söz konusudur. Bunlar temel malzeme bilimlerinden biyomedikal uygulamalara kadar birçok kullanım alanı olarak sayılabilir. Son yıllarda özellikle optik özelliklerinden faydalanarak nanoparçacıkların sensör uygulamaları dikkat çekmektedir. Geliştirilen sensörler gıda ve su ürünlerindeki bakteri tespitinde, metal, protein, DNA ve virüs analizlerinde kullanılabilmektedir. Ayrıca çeşitli yüzey fonksiyonlandırma işlemleri sayesinde biyosensör olarak kullanılmaktadır. Özellikle bu şekilde kullanılan biyosensörler kolay, ucuz ve hızlı olmalarından dolayı ilgi odağı olmuştur (Seçkin, 2011).

1.3. Polimerizasyon Mekanizması

Monomer birimlerinin bir araya gelerek oluşturduğu moleküllere polimer denir. Monomerlerden polimerlere doğru giden reaksiyonlara polimerizasyon reaksiyonları denir. Polimerizasyon başlama, çoğalma ve sonlanma olmak üzere üç aşamadan meydana gelir.

1.3.1. Başlama

Bu aşama monomerlerin başlatıcılar vasıtasıyla etkilenmesiyle başlamaktadır. Monomerin atomları başka atomlarla bağ kuracak hale geldikten sonra uygun kimyasallarla polimerleşecek duruma gelir.



1.3.2. Büyüme

Oluşan aktif monomer diğer monomerlerle birleşerek polimer zincirlerini oluşturur. Sırasıyla;

$$\text{Aktif Monomer}^* \xrightarrow{\text{Monomer}} \text{Polimer}^*$$

1.3.3. Sonlanma

Monomer zincirindeki aktif uçların aktifliğini kaybetmesiyle yapının kararlı hale geçmesinden sonra polimerizasyon sonlanır.

$$\text{Polimer}^* + \text{M}^* \longrightarrow \text{—MMMMMM —}$$

Farklı tür polimerizasyon yöntemleri kullanılarak farklı polimerler elde edilebilir.

1.4. Polimerizasyon Türleri

Polimerizasyon yöntemleri katılma ve kondenzasyon (basamaklı) polimerizasyonu olmak üzere iki grupta incelenebilir.

1.4.1. Katılma polimerizasyonu

Bu yöntemde aktif olan merkeze monomerler tek tek eklenerek polimer zincirini oluşturur. Polimerizasyon süresinin zincir büyüklüğüne herhangi bir etkisi yoktur. Monomerler polimer moleküllerine doğrudan doğruya zincir reaksiyonlarıyla girerler. Radikalik ve iyonik olmak üzere iki çeşit başlatma yöntemi vardır (Baysal, Ankara, 1994).

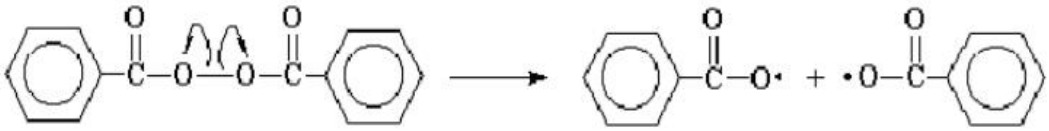
1.4.1.1. Radikalik katılma polimerizasyonu

Bu yöntemde çiftleşmemiş elektrona sahip bileşiklerden faydalanılır. Bu serbest radikaller birkaç yolla elde edilir. Genellikle katalizör veya başlatıcı görevi yapan

maddeler bazen de fiziksel etkenlere maruz bırakılarak (ısı, ışın gibi) kararsız hale getirilen maddelerin parçalanması ile oluşurlar.

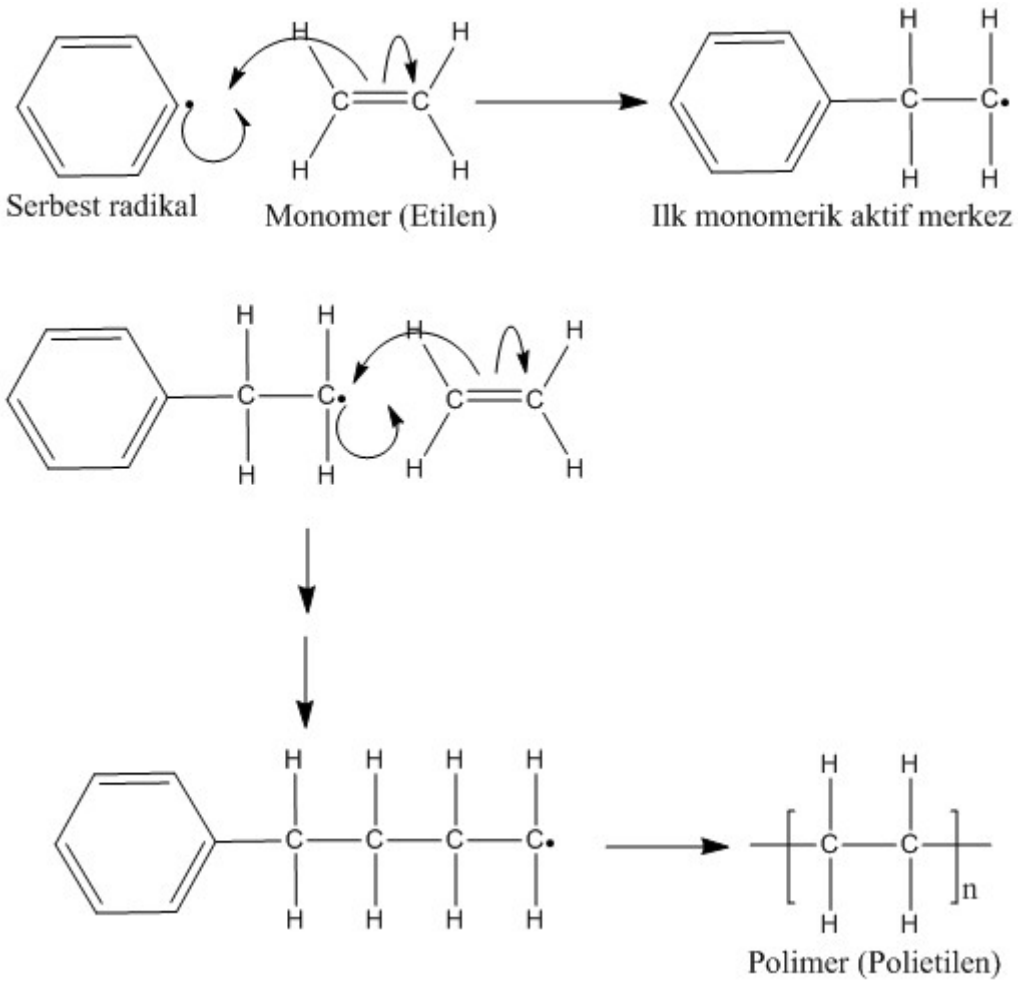
Ortamda bulunan serbest radikaller vinil monomerindeki çift bağa saldırarak reaksiyona girer ve serbest radikaller ortaya çıkarır. Polimerizasyon süresince monomerler bu şekilde bağlanarak polimer zincirinin büyümesini sağlarlar. Reaksiyon sonunda iki radikal birleşerek polimeri meydana getirir.

Buna örnek olarak Şekil 1.1' de gösterilen benzoil peroksit verilebilir. Bu başlatıcı toluen ve benzen gibi çözücülerde hazırlanır ve 70-80 °C' ye kadar ısıtıldıklarında parçalanarak serbest radikaller ortaya çıkarırlar (Saçak, Polimer kimyası, Ankara, 2002).



Şekil 1.1 Benzoil peroksit parçalanma mekanizması (Saçak, Polimer Kimyası, Ankara, 2002)

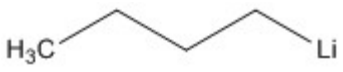
Bir vinil monomeri ve benzoil oksi radikali aynı ortamda bulunduğu anda monomer pi elektronlarının birisinin üzerinden monomerle birlşerek ilk monomerik radikali meydana getirir. Reaksiyon bu şekilde devam eder ve polimer zincirini oluşturur. Sonlanma reaksiyonuyla aktif polimer zincirlerin aktifliklerini yitirir ve reaksiyon tamamlanır. Şekil 1.2' de reaksiyon mekanizması gösterilmiştir.



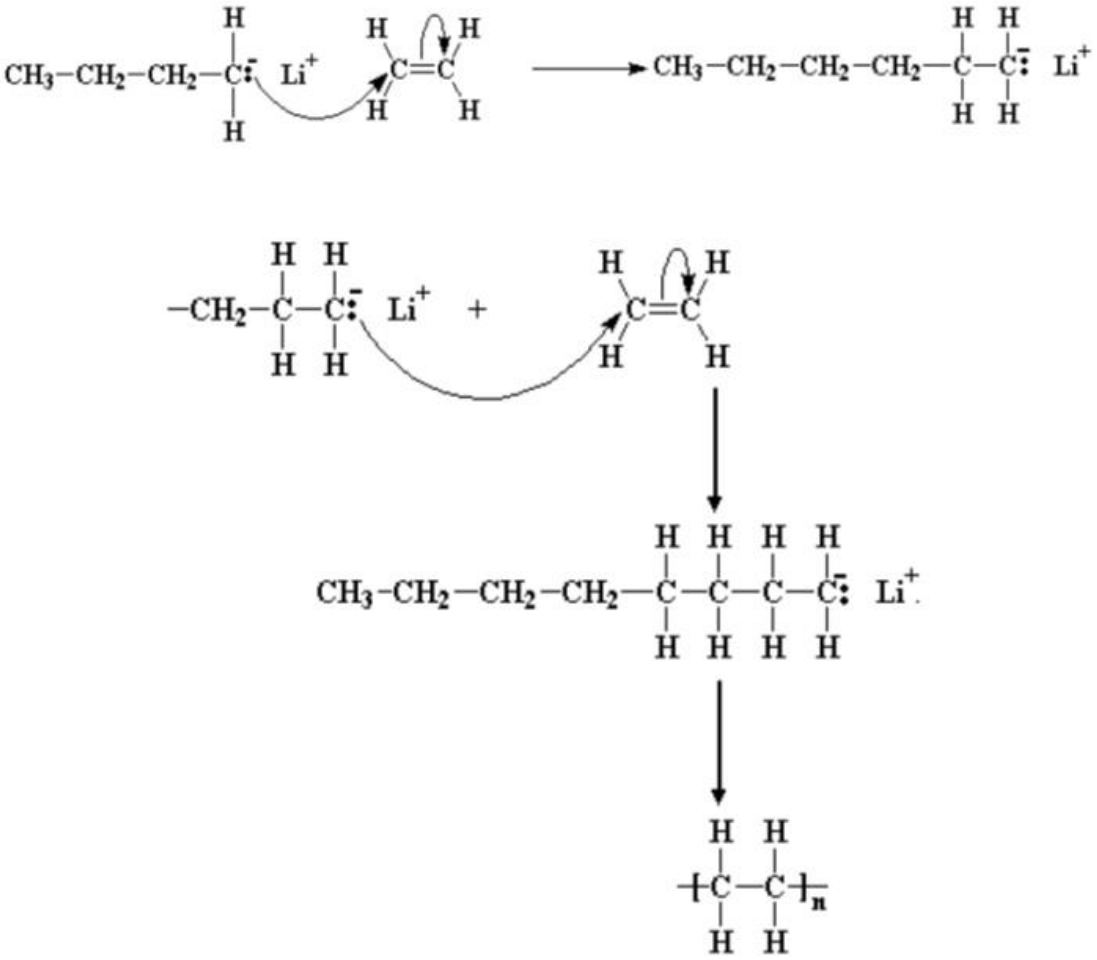
Şekil 1.2 Radikalik katılma polimerizasyonu mekanizması

1.4.1.2. İyonik katılma polimerizasyonu

Bu polimerizasyonda iyonik karakterdeki aktif merkezler büyük rol oynar. Zincir büyümesini anyon veya katyon aktif merkez olarak üstlenebilir. Katyonik polimerizasyonda katyon, anyonik polimerizasyonda ise anyon merkezi sorumludur. Anyonik merkezli iyonik polimerizasyonunda genellikle n-bütil lityum kullanılır (Polimer Eldesi, Ankara, 2008). Şekil 1.4' de anyonik katılma reaksiyonuna örnek gösterilmiştir.



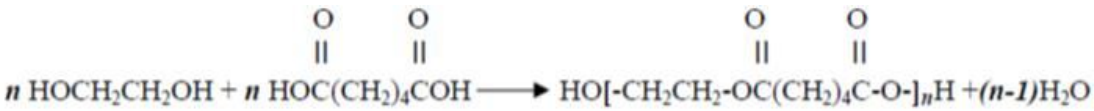
Şekil 1.3 n-bütil lityum' un kimyasal yapısı (N-Bütil Lityum)



Şekil 1.4. Anyonik radikalik polimerizasyon basamakları (Saçak, Polimer Teknolojisi, Ankara, 2008)

1.4.2. Kondenzasyon (Basamaklı) polimerizasyonu

Kondenzasyon polimerizasyonunda aynı veya farklı monomerlerin reaksiyona girmesiyle küçük bir molekülün çıkması sonucu polimerler elde edilir. Bu polimerizasyonda H_2O, HCl, alkol v.b. gibi küçük moleküller çıkarken polimerler meydana gelirler.



Şekil 1.5 Adipik asit ile etilen glikol monomerlerinin polikondenzasyonu (Polimer Eldesi, Ankara, 2008)

Şekil 1.5' deki reaksiyonda adipik asit ile etilen glikol monomerleri polikondenzasyona uğramıştır. Bu polimerizasyonu gösterilen poliesterin formülünde köşeli parantez içindeki kısmı yinelenmektedir ve bundan dolayı yinelenen birim adı verilir. Yinelenen birim reaksiyona giren monomerlerden farklıdır. Bu reaksiyon denge reaksiyonudur ve fonksiyon grupları tükenene kadar reaksiyon devam eder.

Basamaklı reaksiyonda polimer kütlesi yavaş yavaş artar ve reaksiyon süresi reaksiyon derecesini doğrudan etkilediği için istenilen polimer kütlesine uygun reaksiyon süresi kadar devam ettirilerek ulaşılabilir. Reaksiyonun sonlanması reaksiyona giren maddelerden birinin tükenmesi ve her iki yönde de aynı fonksiyon gruplarının bütün zincirlerde sonlanması ile sağlanır (Hazar, Polimer Kimyası, Ankara, 2008).

1.5. Polimerizasyon Yöntemleri

Polimerlerizasyon yöntemleri genellikle kütle (bulk) polimerizasyonu, çözelti polimerizasyonu, süspansiyon polimerizasyonu ve emülsiyon polimerizasyonu gibi fiziksel yöntemlerle elde edilir.

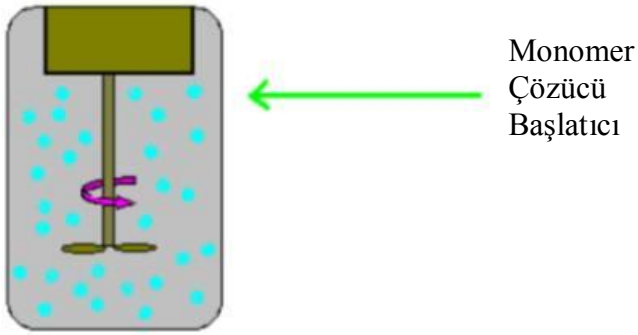
1.5.1. Kütle (Bulk) polimerizasyonu

Bu polimerizasyonda ortamda sadece monomer ve başlatıcı bulunur. Başlatıcının fiziksel etkenler sayesinde aktifleştiği ve polimerizasyonu oluşturduğu yöntemdir. Katı, sıvı ve gaz halindeki monomerler için kullanılabilir fakat sıvı monomerler için tercih edilir. Çünkü ortamda sadece saf monomer ve başlatıcı vardır.

Viskozite polimerizasyon ilerledikçe artacağı için ısı aktarımı ve karıştırma zorlaşır. Bundan dolayı büyük ölçekli polimerizasyon için kullanımı kısıtlar. Özellikle laboratuvar ortamlarında kullanılan bir tekniktir. Reaksiyon sonunda tepkimeye girmeyen monomerler arındırılmalıdır. Saflaştırması kolaydır. Etilen stiren ve metil metakrilat bu yöntemle sentezlenebilir. Ayrıca naylon 6,6' da bu yöntemle sentezlenebilir.

Bu yöntemin diğerlerine göre bazı üstünlükleri vardır. Bunlar ekonomik olması, uygulama kolaylığı, temiz polimer eldesi, polimerizasyonun hızlı olması ve sentezlenen polimerin doğrudan işlenebilmesi şeklinde sayılabilir. (Polimer Eldesi, Ankara, 2008)

1.5.2. Çözelti polimerizasyonu



Şekil 1.6. Çözelti polimerizasyonu (Polimer Eldesi, Ankara, 2008)

Şekil 1.6' da gösterilen çözelti polimerizasyonu yönteminde ortamda monomer, başlatıcı ve çözücü bulunur. Ortamdaki çözücü viskoziteyi düşürerek karıştırmayı kolaylaştırır. Ortam seyreltik olduğu için ısı transferi etkin bir şekilde gerçekleşir.

Homojen ve heterojen olmak üzere iki şekilde yürür. Eğer çözücü hem monomeri hem de başlatıcıyı çözerse reaksiyon homojen bir şekilde başlar, yürür ve sonlanır. Fakat çözücü monomeri çözer polimeri çözmezse oluşan polimer ortamda bulunur ve homojenlikten bahsedilemez.

Bu polimerizasyonda çözücü seçimi çok önemlidir. Kaynama ve erime noktası gibi fiziksel özelliklerine dikkat edilmelidir. Polimerden uzaklaştırılabilmesi, pahalı ve sağlıksız olmaması gerekir. Daha çok alifatik ve aromatik hidrokarbonlar, esterler, alkoller ve eterler kullanılır. Su da çözücü olarak kullanılabilir ancak kullanılan monomerin su da çözünebilmesi gerekir. Örneğin poli (metil metakrilat) su da sentezlenebilir. Bunun dışında vinil asetat, akrilonitril ve akrilik asit esterleri bu yöntemle sentezlenir.

Bu yöntemin avantajları arasında sıcaklık kontrolünün sağlanması, viskozitenin düşük olması ve oluşan polimerin hemen kullanılabilir olması (boya, yapıştırıcı gibi) sayılabilir. Bunların dışında bazı dezavantajları da vardır. Bunlar seçilen çözücünün yanlış seçilmesi durumda çevreye verilen kirlilik, çözücünün ortamdan alınıp polimeri saflaştırma aşamasının maliyeti artırması ve karışımın mol kütlesini düşürmesi söylenebilir (Saçak, Polimer Teknolojisi, Ankara, 2005).

1.5.3. Süspansiyon polimerizasyonu

Bu polimerizasyonda amaç monomerin çözücü içinde dağılıp askıda kalmasını sağlamaktır. Bunun için de genellikle çözücü olarak su kullanılır. Çünkü monomerler genellikle organik bazlıdır ve suda çözünmezler.

Oluşan polimer parçacıklarının birbirlerine yapışıp kümeleşmesini engellemek gerekir. Bunun içinde ortama stabilizatör denilen maddelerin eklenmesi gerekir. Bu maddelere örnek olarak kaolin, jelatin pudra verilebilir. Ayrıca mekanik karıştırma ile damlaların birbirine yapışması engellenir. Polimerizasyon başlatıcısı olarak monomerde (organik fazda) çözünen başlatıcılar kullanılmaktadır. Polimerizasyon sonunda elde edilen toz polimer sudan süzülerek ayrılır ve kurutulur. Polimer granül halinde üretilir. Stiren, metil metakrilat, vinil klorür, vinil asetat bu yöntemlerle polimerleştirilebilir. Elde edilen en son ürüne bakılarak bu tür polimerizasyona inci veya tane polimerizasyonu da denir.

Süspansiyon polimerizasyonunun avantajları:

- ✓ Isı aktarımı kolaydır.
- ✓ Sıcaklık kontrolü kolaydır.
- ✓ Ürün yapıştırıcı ve boya olarak kullanılabilir.
- ✓ Organik çözücü kullanılmaz.
- ✓ Yığın ve çözelti polimerizasyonundan daha emniyetlidir.

Çözelti polimerizasyonunun dezavantajları:

- ✓ Daha çok kesikli üretime uygundur.
- ✓ Ortamdaki maddelerden kaynaklanan polimer kirlenmesi oluşur.
- ✓ Suyun ve stabilizatörün polimerden uzaklaştırılması, kurutulması gibi yan işlemler gerektirmesi bunun ekonomik açıdan yük oluşturması.

Akrilik asit, metakrilik asit, metil metakrilat, stiren, vinil asetat, vinil klorür, tetraflor etilen, klortrifloretilen monomerleri bu yöntemle polimerleştirilir. Süspansiyon polimerizasyonu endüstride çok sık kullanılan bir polimerizasyon yöntemidir (Baysal, Polimer Kimyası, Ankara, 1994).

1.5.4. Emülsiyon polimerizasyonu

Uygun emülsiyon yapıcılar yardımı ile su içinde çok ince dağılmış monomerin polimerleştirilmesi yöntemidir. Su ortamında, yüzey aktif bir madde ve suda çözünen bir başlatıcı bulunur. Monomer emülsiyon yapıcı bir madde yardımıyla ortama dağılmış haldedir. Polimerizasyon başlatıcısı suda çözünen bir maddedir. Ortam devamlı karıştırılarak monomerin çok küçük parçacıklar halinde dağılarak elde edilmesi sağlanır.

Emülsiyon polimerizasyonunda, ortamda; su, monomer, misel yapıcı ve başlatıcılar bulunmaktadır. Monomer yüzey aktif bir madde (sabun gibi) ile kararlı hale getirilir ve bu damlacıklara misel denilir. Misellerin bir ucu hidrofobik diğer ucu hidrofiliktir. Polimerleşme misellerde çabuk ve oldukça düşük sıcaklıklarda yapılır. Yapılan ölçümler misellerin çubuk şeklinde olduğunu göstermiştir. Her misel 50-100 emülsiyon yapıcı molekülden oluşur. Miseli oluşturan bu moleküllerin, hidrokarbon kuyrukları miselin içine, iyonik uçları ise suya doğru dönük durmaktadır (Saçak, Polimer Kimyası, Ankara, 2002).

Emülsiyon polimerizasyonunun başlangıcında misel yapıcı ve su karıştırılır. Karışımda bulunan misellerin bir kısmı suda çözünür, bir kısmı da bir araya toplanarak küresel miseller oluşturur.

Su içerisinde miseller çözüldükten sonra karıştırılarak ortama monomer katılır.

- Monomerin bir kısmı suda çözünür.
- Bir kısmı misellerin içine girerek onları şişirir.
- Diğerleri de monomer damlaları halinde suda dağılır.

Emülsiyon yapıcı madde ortamda bulunan monomerlere tutunur ve polimerizasyon gerçekleşir. Ortamdaki polimerlere sarılarak polimerizasyon işlemi sonlanmış olur. Emülsiyon polimerizasyonunun tekniği özellikle sentetik kauçuğun üretiminde kolaylık sağlar. Endüstride stiren-bütadien kauçuğun (SBR) üretiminde kullanılmaktadır. SBR özellikle lastik endüstirisinde kullanılan önemli bir polimerdir.

Emülsiyon polimerizasyonunun avantajları:

- Polimerizasyon hızı yüksektir.
- Yüksek mol kütleli polimer elde edilebilir.
- Sıcaklık kontrolü kolaydır.
- Viskozite düşüktür.
- Kütle ve çözelti polimerizasyonuna göre daha emniyetlidir.

- Organik çözücü kullanılmaz.

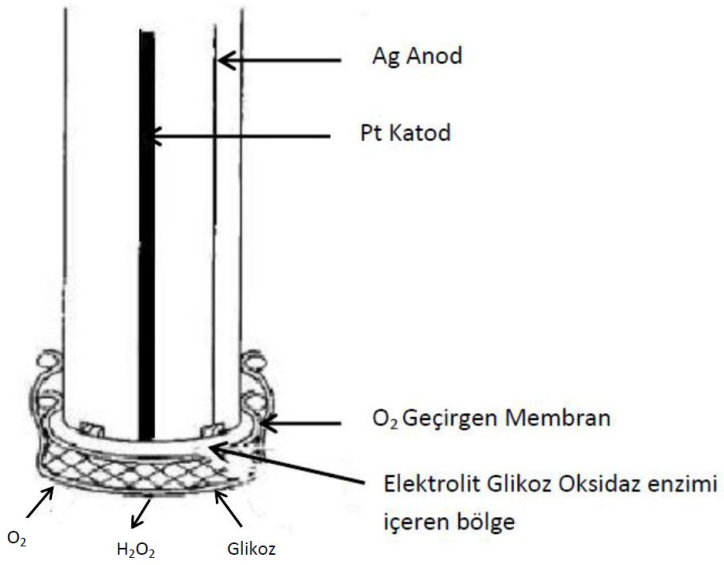
Emülsiyon polimerizasyonunun dezavantajı:

- Polimerden miseli uzaklaştırmak zordur (Saçak, Polimer Teknolojisi, Ankara, 2005).

1.6. Biyosensörler

1.6.1. Biyosensörlerin Kısa Tarihçesi

Clark ve Lyons (1962) ilk defa biyosensör terimini ifade etmişlerdir. Enzim-elektrot kompleksini imal eden ikili, bu kompleksi glikoz sensörü olarak kullanmışlardır. Kullanıdıkları metot Şekil 1.7' de gösterilmektedir. Sensör, oksido-reduktaz enzim olan glikoz oksidazın pletanyum elektroduna immobilize olmasından ibarettir. Pletenyum elektrod enzim tarafından üretilen H_2O_2 tarafından +0.6 V'da polarize olur. İşte basitçe bu prensibe göre çalışan tarihin ilk biyosensörü 1974 yılında piyasada Yellow Spirngs Instrument (YSI) olarak görülmüştür.

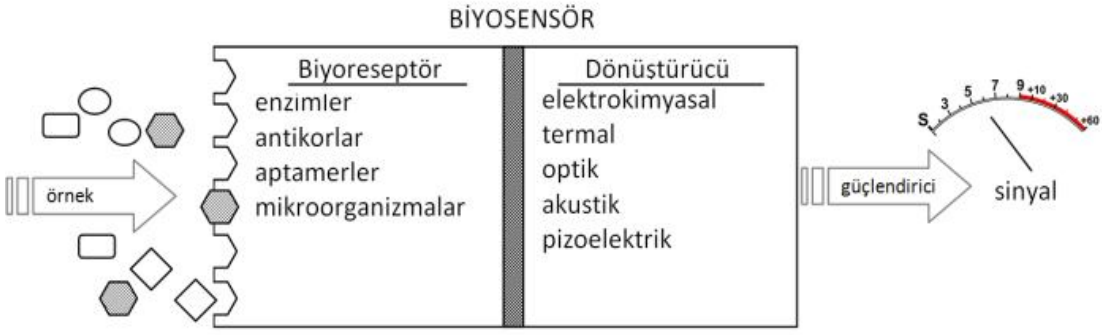


Şekil 1.7. Clark' ın enzim metodu (Abasıyanık, 2008)

1.6.2. Sensör ve biyosensör tanımları

Sensörler fiziksel olguları elektrik sinyallerine dönüştüren cihazlardır. Mekanik duyu organları da diyebileceğimiz bu cihazlar, çalışma şekillerine göre ve dönüştürücü (ing: tranducer) adı verilen yapılarına göre çeşitlere ayrılmaktadır. Termal, mekanik, kimyasal, akustik, radyoaktif sensörler ve biyosensörler bunlardan bazılarıdır. İlgi alanımıza giren biyosensörler genel olarak, biyolojik yapıdaki analitleri hisseden sensörler veya reseptör birimi biyomoleküler yapıda olan sensörlerdir. (Abasıyanık, 2008)

Biyonsörler; sıklıkla biyolojik analizler için kullanılan bir çeşit özel sensördür ve "International Union of Pure and Applied Chemistry" (IUPAC) tarafından, "kimyasal bir bileşiğe karşı verilen biyolojik yanıtı optik, termal ya da elektriksel sinyallere dönüştüren cihazlar" olarak tanımlanmaktadır. Son yıllarda mikroelektronik alanındaki gelişmeler ve biyolojik moleküllerin olağanüstü duyarlılıktaki yanıt verme kapasitelerinin keşfedilmesi, biyosensör teknolojilerinin hızla gelişmesine neden olmuştur. Bunun sonucunda; tıp, eczacılık, gıda güvenliği, çevre kirliliği, askeri uygulamalar gibi bir çok alanda kullanılmak üzere farklı tipte biyosensörler geliştirilmiştir (Otlu, 2011).

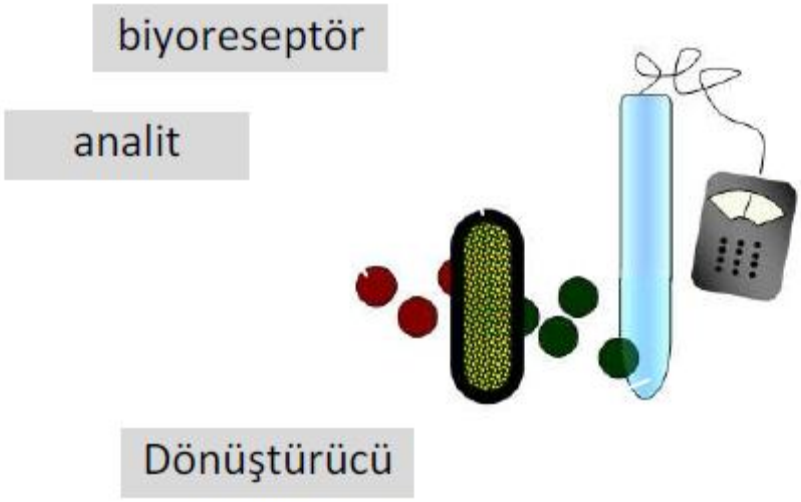


Şekil 1.8. Biyosensörün çalışma mekanizması (Otlu, 2011)

1.6.3. Biyosensörün ana gövdesini oluşturan parçalar

Biyosensörler birçok sensör gibi reseptör ve dönüştürücü olmak üzere iki ana yapıdan ibarettir (Şekil 1.8). Eğer reseptör biyomoleküler bir yapıda ise buna biyoreseptör adı verilir. Biyoreseptörler analiti fark edebilen biyomoleküllerdir. Dönüştürücüler ise biyoreseptörün analiti fark ettiği esnada ürettiği kimyasal veya

fiziksel sinyali elektrik sinyallerine dönüştüren yapılardır. Şekil 1.9' da konfigürasyonu gösterilen biyosensörler sayesinde normalde uzun tahliller gerektiren analizler daha kısa sürede yapılabilmektedir. Mesela glikoz biyosensörleri kandaki glikoz seviyesini kısa sürede ölçebilmektedir. Aynı ölçüm normalde geleneksel yöntemlerle daha uzun sürede yapılabilmektedir. Kısa sürede sonuca ulaştırması ve uygulama kolaylığı biyosensörlerin en önemli avantajlarındandır.



Şekil 1.9. Bir biyosensörün konfigüreasyonu (Abasıyanık, 2008)

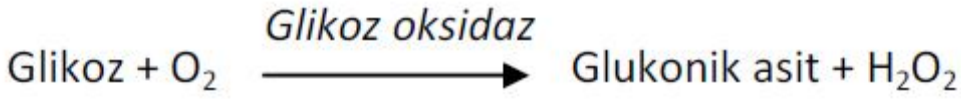
1.6.3.1. Biyoreseptörler

Biyoreseptör olarak değişik biyomoleküller kullanılabilmektedir. Bu biyomoleküllerden en çok kullanılanı enzimlerdir. Enzimler hedef moleküllere karşı oldukça özgüldür. Binlerce farklı analit içinden hedef analiti seçip reaksiyon oluşturabilen bu biyokatalizatörlerin dönüştürücülere bir şekilde immobilize edilmesi yani yapıştırılması gerekmektedir. (Abasıyanık, 2008)

1.6.3.2. Dönüştürücüler

Biyoreseptörün analiti tanıdıktan sonra ortamda oluşan fiziksel veya kimyasal değişimi algılayıp bunu ölçülebilir dijital sinyallere dönüştüren cihazlardır. Mesela, glikoz biyosensörleri kandaki glikoz konsantrasyonunun tesbitinde kullanılmaktadır. Bu durumda analit glikoz iken glukoz oksidaz enzimi biyoreseptör olarak kullanılır.

Aşağıdaki reaksiyon şemasında görüldüğü gibi iki yeni ürün reaksiyon sonucunda oluşur.



Burada kullanılacak dönüştürücü, üç farklı kimyasala odaklanabilen üç farklı dönüştürücüden biri olabilir.

1. Oksijen sensörü: Ortamda kullanılan oksijen miktarını ölçer ve bunu anlaşılabilir sinyal olan elektrik akımına dönüştürür.

2. pH sensörü: Glukonik asit ortamın pH'ını düşürür. Bir pH sensörü olan dönüştürücü ortamın pH'ına bakarak yıkılan glikoz miktarını tesbit edebilir. Dönüştürücü ile pH değişimi voltaj değişimine sebep olur.

3. H_2O_2 sensörü: Dönüştürücü ortamdaki H_2O_2 konsantrasyonunu ölçer ve elektrik akımına dönüştürür (Abasıyanık, 2008).

1.6.4. Biyosensör uygulamaları

Biyosensörler tıp (metabolitlerin ölçülmesi, insulin eksikliği belirtilerinin ölçülmesi vb.), endüstri (endüstriyel proses kontrollerinde), çevresel denetim, askeri ve sivil savunma (askeri ve sivil savunma alanında kullanılmak üzere bir çok sensör ve biyosensör dizaynı ve imalatı) olmak üzere birçok alanda kullanılmaktadır (Elçin, 2008).

Sonuç olarak biyosensörler, örnek alımı ve sonuç verme arasındaki süreyi oldukça kısaltmaktadırlar. Nanolitre veya daha az örnek gerektirmeleri ve aynı zamanda yüksek düzeyde duyarlılık ve özgüllüğe sahip olmaları en önemli avantajlarıdır. Ölçüm sistemlerinin otomasyona uygun ve taşınabilir olması değişik alanlarda kullanımlarına imkan vermektedir. Buna karşın biyosensörlerin geleceğini maliyet-etkin olmaları belirleyecektir (Otlu, 2011).

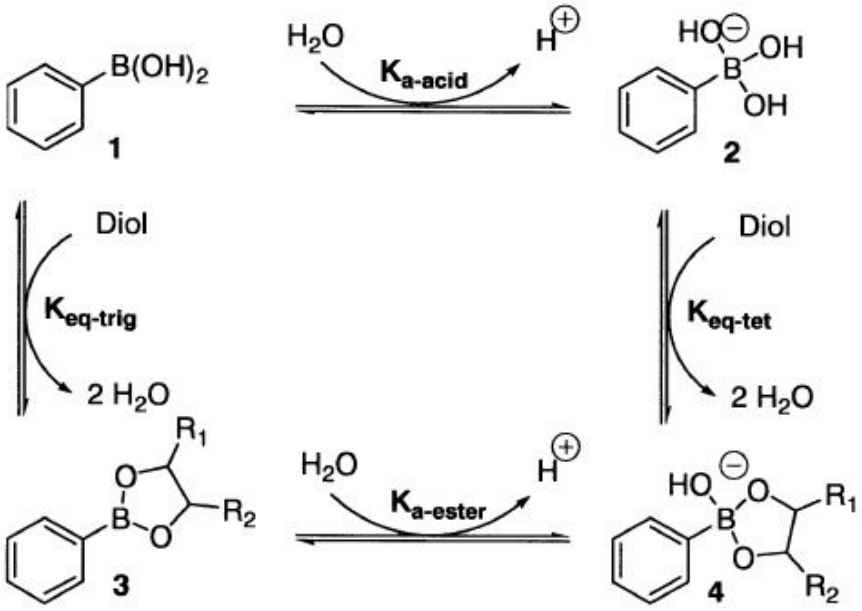
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Diyabet (şeker hastalığı) kalp damar hastalığı, körlük ve kanser gibi sağlık problemlerine yol açmaktadır (Diabets, 1997). Diyabette kandaki şeker seviyesi sürekli olarak izlenebilmektedir. Literatürde çoğu glikoz sensörü metotları elektrokimya (N Engl. Med., 1993), optik çevirme, yakın kızıl ötesi spektroskopisi, floresans ve renk ölçümsel yöntemleri içermektedir (Claremont ve ark., 1986). Bu metotlar arasında floresans spektrometresi bazı avantajlara sahip olmaktadır (Yokowama ve ark., 1989). Bu teknik tek bir molekülü tespit edebilmek için bile son derece hassasiyet göstermektedir. Bununla birlikte ana sisteme çok az ya da hiç zarar vermeyecek şekilde (March ve ark., 1982) istenilen biyomoleküler yapıyı floresans ile tanımlayabilmektedir (Rabinowitch ve ark., 1982). Floresans bazlı glikoz sensörler, concavanalin A, glukoz oksidaz ve dehidrojenaz, heksokinaz / glukokinaz, bakteriyel glikoz bağlayıcı proteinler ve boronik asit türevleri olarak sınıflandırılabilmektedir. Özellikle son yıllarda karbonhidrat sensörleri için nanoparçacıkların kullanımı son derece artış göstermiştir. Bunun en önemli nedeni nanoparçacıkların yüksek yüzey alanı ve düşük boyutlara sahip olmasıdır. Bunun yanında saflaştırma açısından nanoparçacıkların çöktürülebilme ozellikleri büyük avantaj sağlamaktadır. Nanoparçacıklar birçok sentez metotları ile sentezlenebilmektedir. Bu metotlar arasında ise en önemli yöntem emülsiyon polimerizasyonu olarak göze çarpmaktadır. Emülsiyon polimerizasyonu tekniği tek seferde ve kolay sentezlenebilir olması sebebiyle tercih edilmektedir. Yüzey aktif madde içermeden parçacık boyut aralığı 50 nm ile 500 nm arasında sağlam ve çok küçük nanoparçacıklar oluşturmak için bu yöntem başarılı bir şekilde uygulanmaktadır (Heise ve ark., 1994). Karbonhidrat sensörü olarak boronik asit ve türevleri yaygın bir şeklide kullanılmaktadır. Boronik asit türevlerindeki hidroksi (-OH) grupları, ortamın pH değerine bağlı olarak boronat ester meydana getirmek üzere, bir tersinir reaksiyonu ile dioller bağlanabilmektedir (Schier ve ark., 1998). Boronik asit fonsiyonlu polimerik malzemeler karbonhidratların optiksel algılanmasında da kullanılabilmektedir (Clarke ve ark., 1998). Literatürde, polimerik malzemeler boronik asit türevlerini kopolimerizasyon ile sentezlenebilmekte, ya da bir polimerik malzeme bir boronik asit türevi ile fonksiyonlandırılabilmektedir (Pickup ve ark., 2005). Fakat fonksiyonlandırma işlemleri zaman alıcıdır ve iş yükü gerektirmektedir. Buna ek olarak yüzey aktif madde kullanılarak yapılan polimerizasyon tercih edilen bir yol değildir, saflaştırma gerektirmektedir.

Fotonik kristal kombinasyonlarına şablon oluşturucu ve moleküler bağlama tekniğini temel alan yöntemleri kullanarak Xue ve arkadaşları glikoz algılama malzemelerini göstermişlerdir. Bu çalışma için kovalent bağlı fotonik kristaller üzerine çalışmalar yapmışlardır (Xue ve ark., 2013).

İnsülin ile ipek fibroin nanoparçacıklarının biyosentezinin ve ilaç taşıma sistemlerine in-vitro olarak değerlendirilmesi üzerine Yan ve arkadaşları çalışmalar yapmışlardır. İpek böceğinden türetilen doğal insülin ile biyosentezle üretilen İnsülin-ipek fibroin nanoparçacıklarının in-vitro olarak insanlar üzerindeki yarı ömürlerinin karşılaştırılmasını yapmışlardır (Yan ve ark., 2009).

Boronik asit ile diol yapılarının kompleks oluşturmasını ayrıntılı olarak incelenmesi üzerine Springsteen ve arkadaşları çalışmalar yapmışlardır. Şema 2.1' de boronik asit ile diol ester arasındaki ilişkiyi şematik olarak açıklamışlardır. Yaptıkları çalışmanın sonucunda bağlanma işleminin mekaniğine ait çıkarım yapıldığında boronik asit bazlı karbonhidrat sensörleri ve yapay sensörlerin tasarımının daha büyük bir öneme sahip olduğunu açıklamışlardır (Springsteen ve ark., 2002).

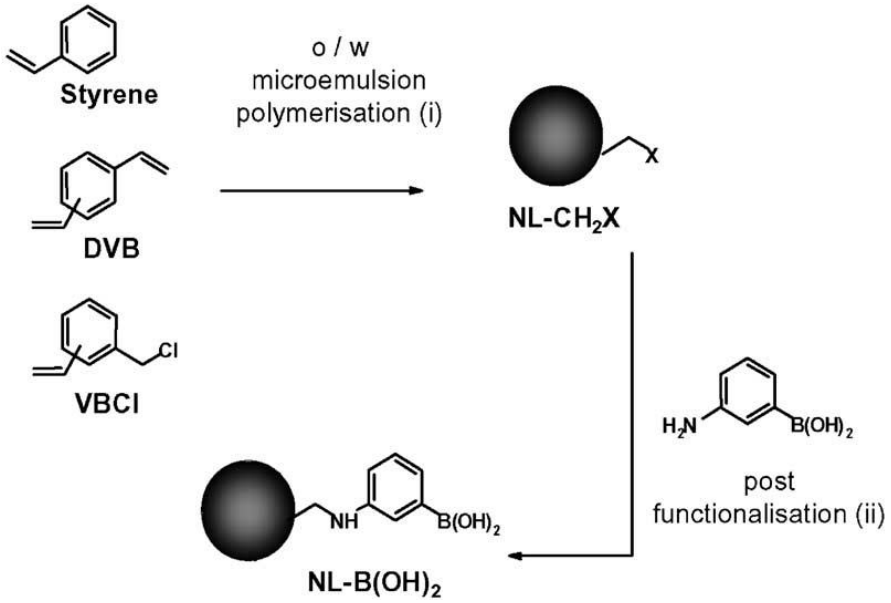


Şema 2.1. Boronik asit ile diol ester arasındaki ilişki (Springsteen ve arkadaşları, 2002)

Doğal polimerlerden faydalanarak ilaç yüklü nanokapsülleme için en önemli hazırlama yöntemleri üzerine Reis ve arkadaşları çalışmışlardır. Çalışmalarında belirli bir uygulamaya bağlı olarak, uygun bir nanokapsülleme yönteminin seçimini kolaylaştırmak için avantaj ve dezavantajlarını araştırmışlardır (Reis ve ark., 2005).

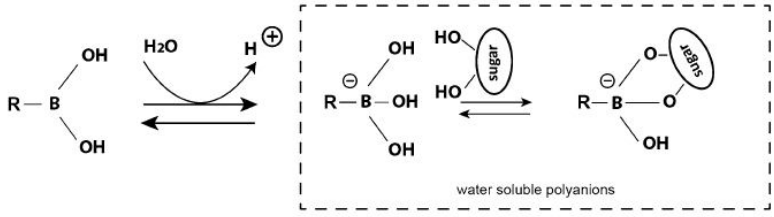
Güdümlü ilaç taşınımında asidik pH değerleri ve cis-diollerine tepki veren, çapraz bağlı tersinir boronat nanotaşıyıcıları tanımlamaya yönelik çalışmalar üzerine Li ve arkadaşları araştırmalar yapmışlardır (Li ve ark., 2012).

Cannizzo ve arkadaşları, Şekil 2.2' de sentez aşaması görülmekte olan çalışmasında, ilk aşamada negatif yüklü vinil benzen klorit içeren polimerik malzemelerini mikroemülsiyon polimerizasynonu kullanarak sentezlemiştir. İkinci aşamada, bu malzemeleri 2-amino benzen boronik asit ile fonksiyonlandırmıştır. Daha sonra bu malzemeleri karbonhidratlar için optik nanosenör olarak kullanmayı amaçlamışlardır (Cannizzo ve ark., 2005).



Şema 2.2. Boronik asit fonksiyonlu nanoparçacık sentez prosedürü (Cannizo ve arkadaşları, 2005)

Boronik asitlerin suda çözünürlüğünden dolayı pH ya da diol konsantrasyonundaki değişikliklerin döndürülebilir olduğunu ve bu özelliği ile benzersiz olduğunu Marek W. Urban çalışmasında açıklamıştır. Şekil 2.3' de ise bunu şematik olarak göstermiştir (Urban, 2011).

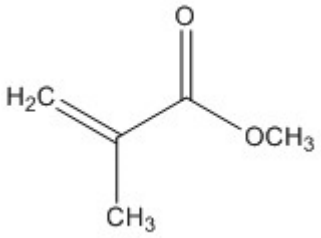


Şekil 2.3. Şeker molekülü ile boronik asit' in etkileşimi (Urban, 2011)

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasallar

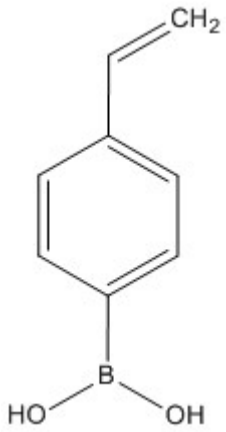
3.1.1. MMA (Metil Metakrilat)



Şekil 3.1. Metil metakrilat kimyasal yapısı

Metil metakrilat (MMA), Şekil 3.1' de gösterildiği gibi $CH_2=C(CH_3)COOCH_3$ formülüne sahip bir organik bileşiktir. Renksiz ve sıvıdır. Büyük ölçekli poli (metilmetakrilat) üretimi için metakrilik asit (MAA) ve metil ester kullanılan monomerlerdir. Kaynama noktası 100 °C, donma noktası -48 °C' de olup özkütlesi 0.936 g/mL ve moleküler ağırlığı 100.12 g/mol' dür. (Metilmetakrilat, 2014)

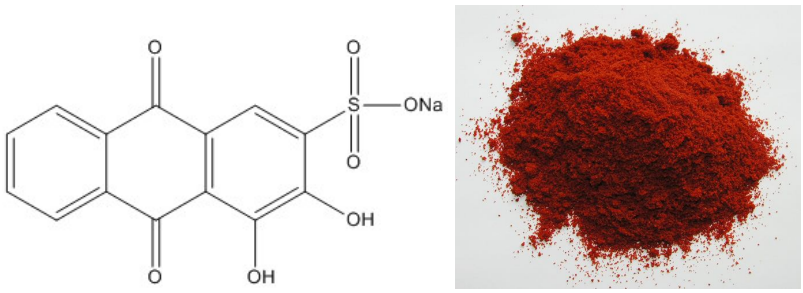
3.1.2. VPBA (Vinil Fenil Boronik Asit)



Şekil 3.2. VPBA (Vinil fenil boronik asit) kimyasal yapısı

Katı toz haldedir. Beyaz renktedir. Şekil 3.2' de görüldüğü gibi yapısındaki vinil grubu sayesinde monomer olarak kullanılabilmektedir. Erime noktası 190-193 °C' dir. Moleküler ağırlı 147.97 g/mol ve özkütlesi 1.09 g/mL' dir (Vinilfenilboronikasit, 2014).

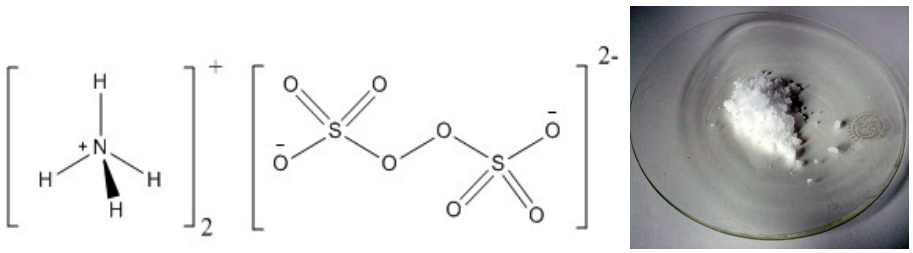
3.1.3. ARS (Alizarin Kırmızı Boyası)



Şekil 3.3. Alizarin kırmızı boyası (ARS) kimyasal yapısı (solda) ve görünüşü (sağda)

Alizarin kırmızı boyası adını Türk kırmızısından almaktadır. Şekil 3.3' de görülen kimyasal formülüne sahip bir boyadır. Moleküler ağırlığı 342.26 g/mol' dür ve su içinde çözünürlüğü 1 mg/mL' dir. Kırmızı renktedir ve katı granül haldedir (Alizarin Kırmızı Tuzu, 2014).

3.1.4. APS (Amonyum Per Sülfat)



Şekil 3.4. APS (Amonyum per sülfat) kimyasal yapısı (solda), görünüşü (sağda)

APS (Amonyum per sülfat) Şekil 3.4' de görüldüğü gibi kimyasal formüle sahip inorganik bir bileşiktir ve $(NH_4)_2S_2O_8$ kimyasal formülü ile gösterilir. Beyaz renkte ve katı formdadır. Suda çözünürlüğü 80 g/mL (25 °C)' dir. Molekül ağırlığı 228.2 g/mol ve parçalanma sıcaklığı 68 °C' dir. Polimer kimyasında güçlü bir oksitleyici, temizleyici ve ağartma maddesi olarak kullanılır. Peroksidisülfat tuzları, genellikle belirli alkenler polimerizasyonunda radikal başlatıcılar olarak kullanılır. Ticari olarak önemli polimerler stiren-bütadien kauçuk ve politetraflüoroetilen persülfatlar kullanılarak hazırlanmıştır (Amonyum Per Sülfat).

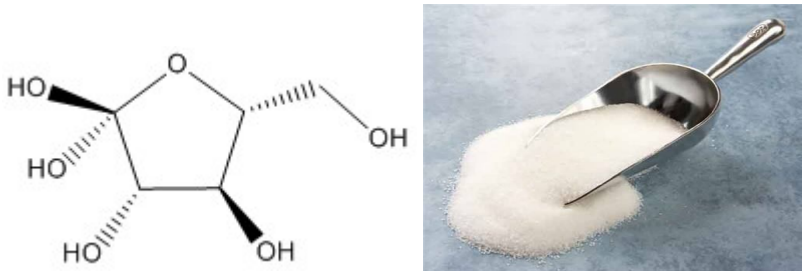
3.1.5. Glikoz



Şekil 3.5. Glikoz kimyasal yapısı (solda) ve görünüşü (sağda)

Basit bir şeker (veya monosakkarit) olan ve Şekil 3.5' de gösterildiği gibi kimyasala formülüne sahip glikoz (veya glukoz veya glükoz) yaşam için en önemli karbonhidratlardan biridir. Hücreler onu bir enerji kaynağı ve metabolik reaksiyonlarda bir ara ürün olarak kullanırlar. Glukoz fotosentezin ana ürünlerinden biridir ve hücresel solunumu onunla başlar. Doğal biçimine (D-glukoz) gıda sanayisinde dekstroz olarak da değinilir. Bu maddede glikozun D-biçimine değinilmektedir (molekülün ayna görüntüsü L-glikoz olarak adlandırılır. Glikoz altı karbon atomu ve bir aldehit grubuna sahip olduğu için aldoheksoz olarak sınıflandırılır. Glikoz molekülü açık halkalı (asiklik) veya halkalı (siklik) biçimli olabilir. Halkalı hali aldehitli C atomu ile C-5 hidroksil grubu arasında molekül içi bir reaksiyon ile bir hemiasetal oluşumunun sonucudur. Suda her iki biçim birbiriyle dengededir ve pH 7'de halkalı biçim çoğunluktadır. Molekül ağırlığı 180.16 g/mol' dür (Glikoz).

3.1.6. Fruktoz



Şekil 3.6. Fruktoz kimyasal yapısı (solda) ve görünüşü (sağda)

Fruktoz (en sık izomeri levüloz) Şekil 3.6' da kimyasal formülü ile gösterilen ve birçok besin maddesinde bulunan bir monosakkarittir. Beyaz katı bir görünüme sahip olan fruktozun suda çözünürlüğü 3750 g/L (20 °C)' dir. Bal, ağaç meyveleri, kavun ve karpuzun da dahil olduğu familyadaki meyveler, dutsu meyveler (berry) ve bazı kök sebzeleri, kayda değer miktarlarda fruktoz içeren sükroz (çay şekeri) içerir. Sükroz, glukoz ve fruktozun bir araya gelmesiyle meydana gelen bir disakkarittir. Dünya çapında her yıl doğal olarak 240.000 ton fruktozun ototrof canlılar aracılığıyla üretildiği tahmin edilmektedir. Fruktoz sık sık sağlık sorunlarına yol açabildiği iddia edilen bir şekerdir. Öyle ki fruktozun alkol ürünlerinin gösterdiği hasarın bir benzerini insan vücudunda gösterdiği belirtilmektedir. Bunun yanında insan karaciğeri de devamlı olarak fruktozu yağa çevirdiğinden dolayı metabolik sendrom riskini arttırmaktadır. Fruktoz bir altı karbonlu polihidroksiketondur. Glukozun izomeri olan molekülün kimyasal formülü $C_6H_{12}O_6$ şeklindedir. Molekül ağırlığı 180.16 g/mol' dür (Fruktoz).

3.1.7. Çözücüler

Aseton (chromasolv Plus, for HPLC, ≥99.9 %), ultra saf su (millipore 18.2 mΩ) çözücü olarak kullanılmıştır.

3.2. Boronik Asit Fonksiyonlu Polimetilmetakrilat Nanoparçacık Sentezi

925 mg MMA ve 75 mg VPBA 20 mL' lik vial içinde 4 mL aseton 6 mL ultra saf su karışımında çözüldü. Ortama 30 dakika boyunca azot gazı verildi. Son olarak ortama başlatıcı olarak 25 mg APS eklendi ve reaksiyon başlatıldı. Vialin kapağı ortamdaki asetonun kaynama noktasının düşük olmasından dolayı sıkı bir şekilde kapatıldı. Reaksiyon 70 °C' de su banyosu içinde 3 saat boyunca yürütüldü. Reaksiyon başladıktan 30 dakika sonra süt rengini almaya başladı. Reaksiyon tamamlandıktan sonra oluşan nanoparçacıklar santrifüj ile çöktürme işlemi yapılarak 2 kez ultra saf su ile saflaştırıldı. Saflaştırılan nanoparçacıklar 10 mL ultra saf su içinde dağıtıldı (**Stok çözelti 1**). Bu deneyler farklı parametreler kullanılarak tekrarlandı ve farklı büyüklükte nanoparçacıklar sentezlendi. Oluşan nanoparçacıklar Tablo 1' de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Farklı monomer, çözücü ve başlatıcı miktarlarına göre nanoparçacıkların çapı ve PDI değerleri tablosu

Deney kodu	MMA (mg)	4-Vinylphenyl boronic acid (mg)	Aseton (mL)	Su (mL)	APS (mg)	dH (nm)	PDI (dimensionless)
MV1	1000	0	4	6	25	86	0.073
MV2	975	50	4	6	25	77	0.056
MV3	950	50	4	6	25	94	0.118
MV4	925	75	4	6	25	87	0.077
MV5	900	100	4	6	25	97	0.119
MV6	975	25	2	8	25	458	0.111
MV7	975	25	3	7	25	73	0.064
MV8	975	25	5	5	25	123	0.173
MV9	975	25	1	9	25	410	0.081
MV10	975	25	0	10	25	392	0.035
MV11	975	25	4	6	12.5	94	0.048
MV12	975	25	4	6	50	-[a]	-[a]
MV13	975	25	4	6	75	-[a]	-[a]
MV14	486.72	12.5	4	6	25	67	0.255
MV15	731.02	18.75	4	6	25	77	0.200
MV16	1218.67	31.25	4	6	25	74	0.164
MV17	243.36	6.25	4	6	25	374	0.04
MV18	1462.5	37.5	4	6	25	99.4	0.353

[a] **jel formunda**

3.3. Boronik Asit Fonksiyonlu Nanoparçacığa Alizarin Kırmızısı Boyası Bağlanması

0.48 mM (3.3 mg) ARS boyası 20 mL pH 8.2' deki tampon çözelti içinde hazırlandı (**Stok çözelti 2**). Alizarin bulunan stok çözelti 2' den 2 mL alındı ve üzerine bononik asit fonksiyonlu nanoparçacığın bulunduğu stok çözelti 1' den 275 µL eklendi. Ani bir şekilde rengin kırmızıdan turuncuya değiştiği gözlemlendi. Karıştırılan çözelti çalkalayıcı yardımıyla oda sıcaklığında 200 rpm' de 1 saat süreyle çalkalandı. Daha sonra santrifüj kullanılarak 2 kez ultra saf su ile yıkandı. Son olarak boya bağlı nanoparçacık 5 mL ultra saf su içine dağıtıldı (**Stok çözelti 3**).

3.4. Glikoz Sensörü

Stok çözelti 3' den 2 mL alındı ve üzerine 45 mg glikoz eklendi. 0.1 M fosfat tampon çözelti kullanılarak pH 8.2' ye ayarlandı. Karışım çalkalayıcı yardımıyla oda sıcaklığında 1 saat boyunca karıştırıldı. Karışımın rengi turuncudan kırmızıya değişti. UV-Vis spektrofotometresi kullanılarak nanoparçacığın glikoz eklendikten sonra ve öncesindeki absorbans değerleri 400-600 nm arasında analiz edildi. Bu denemeler pH 7.5, 8.2 ve 8.5 için tekrarlandı.

3.5. Fruktoz Sensörü

Fruktoz sensörü içinde 3.4' deki prosedür aynen uygulandı. Yapılan denemeler yine aynı pH değerleri kullanıldı ve UV-Vis spektrofotometresi ile 400-600 nm arasındaki absorbans değerlerine bakıldı.

3.6. Sitotoksisite Deneyleri

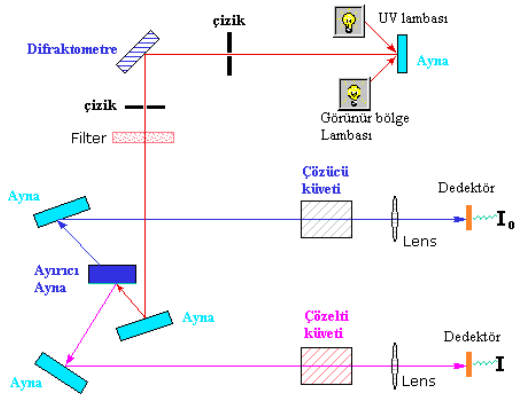
Boronik asit fonksiyonlu PMMA nanoparçacıklarının canlılığı 3T3 hücreleri üzerinde XTT deneyi ile değerlendirilmiştir. 3T3 fibroblast hücreleri (600 hücre/oyuk) %10 fetal bovine serum içeren DMEM ve %1 penisilin içeren 96 oyuklu bir mikro yüzeyde kültürlenmiştir. Plakanın 1 sırası kontrol olarak kullanılmıştır. Hücreler PMMA nanoparçacığı (MV1) ve boronik asit fonksiyonlu PMMA nanoparçacığına(MV5) maruz bırakılmıştır. Daha sonra 37 °C' de 24 ve 48 saat ayrı ayrı bekletildi ve XTT çözeltisi ilave edildi. Hücre canlılığı, 460 nm'de formazan emicilik ile ölçülmüştür.

3.7. Karakterizasyonda Kullanılan Cihazlar

3.7.1. UV-VIS (Ultraviyole ve görünür ışık absorpsiyon spektroskopi) cihazı ve çalışma prensibi

Şekil 3.7' de çalışma mekanizması gösterilen UV-Vis Spektrofotometre cihazında öncelikle ışık demetleri bir prizmadan geçirilerek içerdiği dalga boylarına

ayrılmaktadır. Her bir monokromatik (tek dalga boyu) ışın bir ayna ile eşit iki parçaya ayrılmaktadır. Bu demetlerden biri sadece çözücü içeren UV geçirgen bir küvetten geçirilmektedir. Diğeri ise eş değer küvette, aynı çözücüde örnek madde ile oluşturulmuş çözeltiden geçirilmektedir. Burada amaç küvet ve çözücüden gelen etkileşmeleri fark alarak ortadan kaldırmaktır. Bu sayede sadece ve sadece numunenin etkileşimleri ortaya çıkacaktır. Referans diye adlandırılan ve sadece çözücü içeren küvetten geçen ışık şiddetine I_0 numunenin olduğu küvetten geçen ışık şiddeti ise I diye adlandırılmaktadır. Her ikisi de elektronik detektörlerce okunarak değerlendirilmektedir. Bu işlem hem UV (200-400 nm) hem de görünür bölge (400-800 nm) monokromatografik ışınları için taranmaktadır. Her bir madde kendi özelliklerine ve geçiş enerjilerine bağlı olarak farklı absorbanslar vermektedir. Absorbans sabit bir nokta (dalga boyu) aralığında gözlenmektedir (UV-Vis Spektrofotometre).



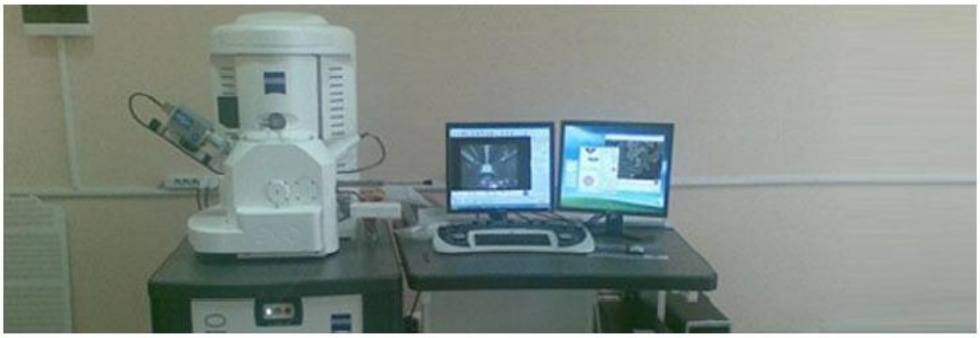
Şekil 3.7. UV-VIS cihazının çalışması (UV-Vis Spektrofotometre, 2014)

3.7.2. SEM (Taramalı elektron mikroskobu) cihazı ve çalışma prensibi

Taramalı elektron mikroskobu optik kolon, numune nücresi ve görüntüleme sistemi olmak üzere üç temel kısımdan oluşmaktadır. Optik kolon kısmında; elektron demetinin kaynağı olan elektron tabancası, elektronları numuneye doğru hızlandırmak için yüksek gerilimin uygulandığı anot plakası, ince elektron demeti elde etmek için yoğunlaştırıcı mercekler, demeti numune üzerinde odaklamak için objektif merceği, bu merceğe bağlı çeşitli çapta delikler ve elektron demetinin numune yüzeyini taraması için tarama bobinleri yer almaktadır. Mercek sistemleri elektromanyetik alan ile elektron demetini inceltmekte veya numune üzerine odaklamaktadır. Tüm optik kolon ve numune 10^{-4} Pa gibi bir vakumda tutulmaktadır.

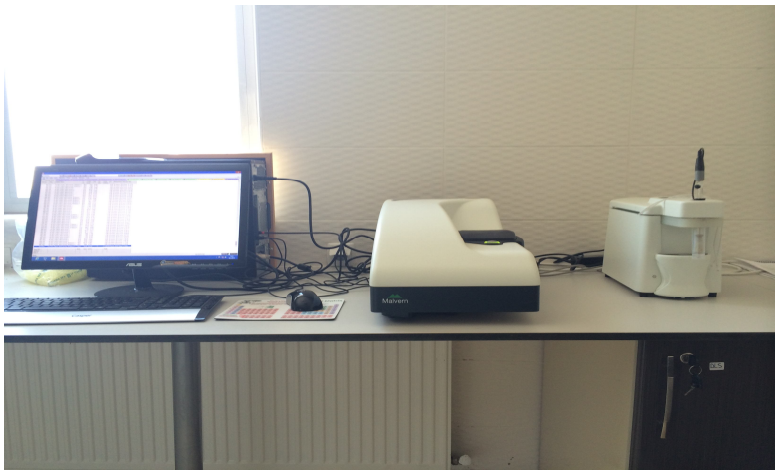
Görüntü sisteminde, elektron demeti ile numune girişimi sonucunda oluşan çeşitli elektron ve ışımaları toplayan dedektörler, bunların sinyal çoğaltıcıları ve numune yüzeyinde elektron demetini görüntü ekranıyla senkronize tarayan manyetik bobinler bulunmaktadır

Numunelerimizin ölçümünde kullandığımız SEM (taramalı elektron mikroskobu) EVO 1510 ZEISS marka cihazın görüntüsü Şekil 3.8' de görülmektedir.



Şekil 3.8. SEM cihazının görünümü (Dinç, 2013)

3.7.3. DLS (Dinamil Işık Saçınımı) cihazı ve çalışma prensibi



Şekil 3.9. DLS cihazı görünümü

Şekil 3.9' da gösterilen Malvern Zeta Sizer ZS modeli DLS cihazıyla parçacıkların hidrodinamik çapları ve PDI değerleri ölçülebilmektedir. Cihazdan numuneye gelen lazer ışınları çarptığı parçacığın çapını ölçerek ortalama almaktadır.

3.8. Boronik Asit Fonksiyonlu PMMA Nanoparçacığın Karakterizasyonu İçin Numune Hazırlanması

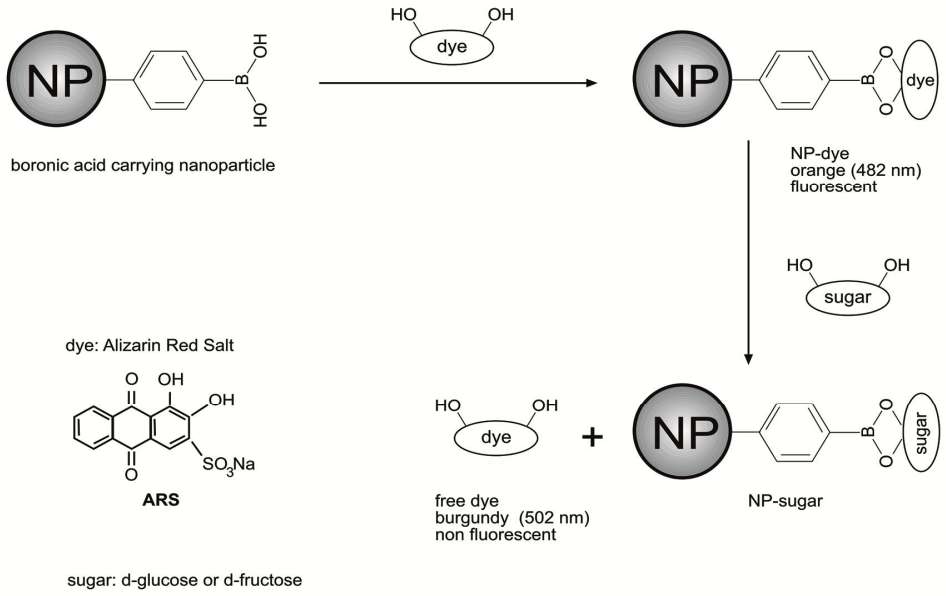
Yeni hazırlanmış boronik asit fonksiyonlu PMMA nanoparçacığı (MV5) ultra saf su içinde seyreltildi. Nanopaçacık çözeltisi SEM aparatına damlatıldı ve gece boyunca oda sıcaklığında uçması bekletildi. SEM aparatına Cressington Spliter Coater (model 108) cihazıyla altın kaplandı ve Scanning Electron Microscopy (SEM) Zeiss Evo Ls10 cihazıyla karakterize edildi. Ortalama hidrodinamik çapı ve PDI değeri Malvern Zeta Sizer ZS marka parçacık boyut analiz cihazıyla ölçüldü. Yeni hazırlanmış nanoparçacık çözeltisinden 20 µL alındı ve 3 mL 10 mM NaCl çözeltisi içine konuldu. Tek bir numune için her 30 saniyede ölçüm almak koşulu ile 6 kez bu işlem yapıldı. Daha sonra bu 6 ölçümün ortalaması parçacık boyutunu belirledi. Bu analiz 3 kez tekrarlandı. Bu işlemler diğer numuneler içinde tekrarlandı. UV-Vis spektrumları UV Biochrom Libra spectrophotometry marka cihazıyla bakıldı.

3.9. ARS (Alizarin Kırmızısı Tuzu) Bağlı Polimer Nanoparçacık Hazırlanması

ARS tampon çözeltilerde şekerin saptanması için uygun bir optik işaretçidir. ARS boronat ester oluşturmak üzere boronik asit bağlandığında, ARS' in rengi portakaldan kırmızıya değişmektedir ve floresan yoğunluğu artmaktadır. Bu nedenle ARS bağlı boronik asit taşıyan nanoparçacıklar şeker sensörleri tespiti için nanosensör olarak kullanılabilmektedir. Bundan önceki çalışmalar boronik asit afinitesinin pH' a bağlı olduğunu göstermiştir. İyonize tetrahedral yapıda yüksek pH önerilirken ARS bağlı boronik asit taşıyan nanomalzemeler düşük pH değerinde ayrışmaktadır.

Genel olarak boronik ester boronik asite göre daha güçlü Lewis asidi olduğu için su molekülünün ilavesi tetrahedral boronat ester oluşumuna neden olmaktadır. Biz değişen pH değerlerinde (7.2-8.5) ARS bağlı polimer nanoparçacık için UV-Vis absorbans değerlerini ölçümleri yapıldı ve pH 8.2 değerinde ARS karşı glikoz afinitesinin tercih edildiği sonucuna varıldı. pH 8.2' de hazırlanmış ARS çözeltisine boronik asit taşıyan polimer nanoparçacıklar eklendi ve çalkalayıcıda 2 saat boyunca karıştırıldı. Rengin turuncudan kırmızıya değişmesi etkin bir bağlanmanın olduğunu göstermektedir. Ayrıca ARS bağlı polimer nanoparçacık UV-Vis spektrofotometre ile de tespit edilebilmektedir (ARS çözeltisi için λ_{max}= 502 nm, ARS bağlı polimer nanoparçacık için λ_{max}= 480 nm). Şeker sensör mekanizması Şema 3.1' de çizilmiştir.

Ani renk değişimi şeker sensörleri için nanoparçacıkların erişilebilirliğini kanıtlamaktadır. Benzer davranışın karmaşık metal nanoparçacıklar içinde olduğu literatürde görülmektedir.

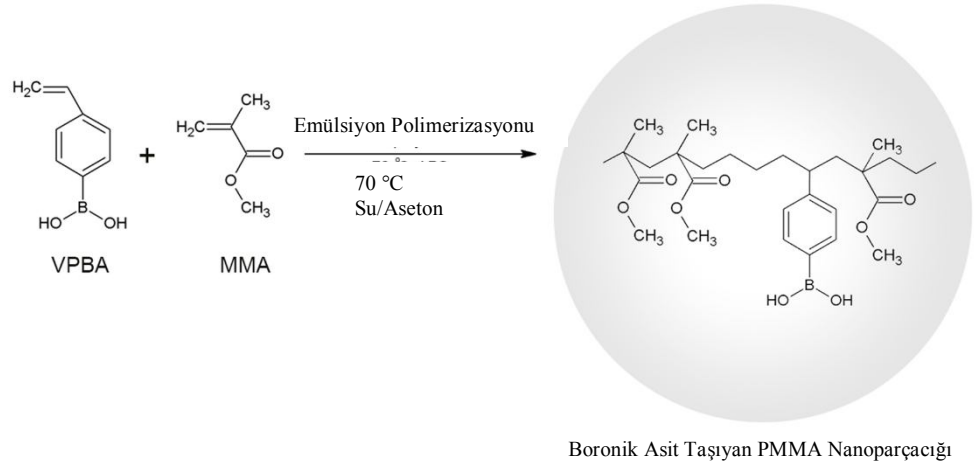


Şema 3.1. ARS bağlı polimer nanoparçacık hazırlanması ve boya ile şekerin yer değiştirmesi mekanizması

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Tek Aşamada Boronik Asit Fonksiyonlu PMMA Nanoparçacık Sentezi ve Karakterizasyonu

Boronik asit fonksiyonlu PMMA nanoparçacık sentezi Şema 4.1' de sentez prosedürü gösterilen şekilde yüzey aktif madde kullanılmadan emülsiyon polimerizasyonu kullanılarak başarılı bir şekilde sentezlendi.

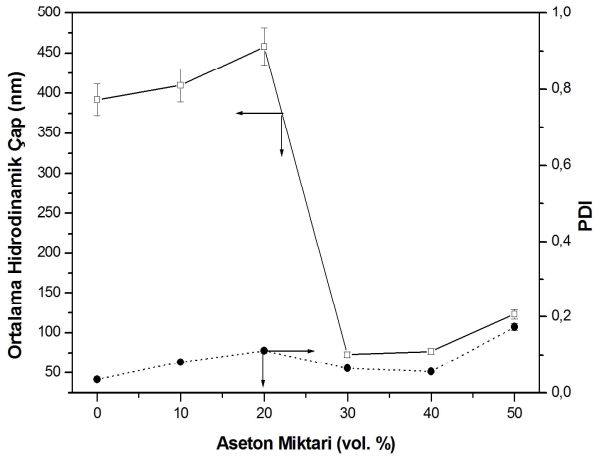


Şema 4.1. Boronik asit fonksiyonlu PMMA nanoparçacık sentez prosedürü

Şeker sensörleri için literatürde birçok boronik asit içeren malzemelerin sentez metotları bulunmaktadır. Ancak bu malzemeler arasında sadece birkaç metot nanoparçacık bazlı kullanılmıştır. Cannizo ve arkadaşları nanolatex'e boronik asit bağlanması için boronik asit türevinin bir amin grubu ile reaksiyona girebilen ve halojen grubu içeren polimerik bir nanolatex elde etmeye çalışmışlardır. Böyle fonksiyonlandırma prosedürleri hem zaman alıcı (5 gün gibi) hem de birkaç aşama gerektirmektedir. Kaldı ki bu işlevselleştirme işleminde polimer zincirinde arzu edilen boronik asit oranını düzenlemek oldukça zordur. Bizim bu çalışmamızda boronik asit fonksiyonlu PMMA nanoparçacıkları tek aşamada ve homojen bir şekilde elde edildi. Boronik asit fonksiyonlu PMMA nanoparçacıklarının üretiminde yüzey aktif maddeye ihtiyaç duyulmadan sentez yapıldı. Farklı parametreler (farklı monomer oranları, çözücü kombinasyonları ve başlatıcı konsatrasyonları) kullanıldı ve parçacık boyutları ve PDI değerlerine etkisi incelendi. Tablo 3.1' de elde edilen parçacık boyutları ve PDI değerleri verilmiştir. Boronik asit fonksiyonlu PMMA nanoparçacıklarının homojen bir şekilde sentezi için en uygun çözücü ortamı aseton ve su karışımı kombinasyonudur. Bu

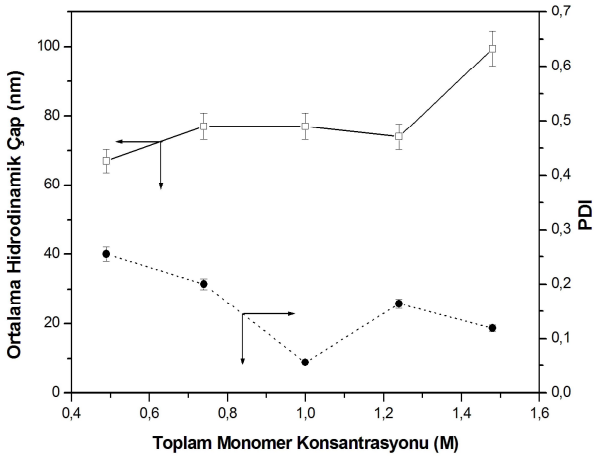
reaksiyon karışımı başlangıçta renksiz ve şeffaftır. 30 dakika sonra karışım süt rengini almaya başlamış ve 3 saat sonra reaksiyon tamamlanmıştır. Karışım süt renginde elde edilmiştir. Reaksiyondaki fazla monomer ve kirlilik santrifüj ile atılarak saflaştırma işlemine tabi tutulmuştur. Saflaştırma işleminde santrifüjün üst kısmı atılmış ve çöken kısım ultra saf su ile vorteks yardımıyla homojen bir şekilde dağıtılmıştır. Bu işlem 3 kez tekrarlanmıştır.

Tablo 3.1' den faydalanarak Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3 çizilmiştir. Grafiklere göre farklı parametrelerin parçacık boyutuna ve PDI değerine etkileri incelenmiştir.



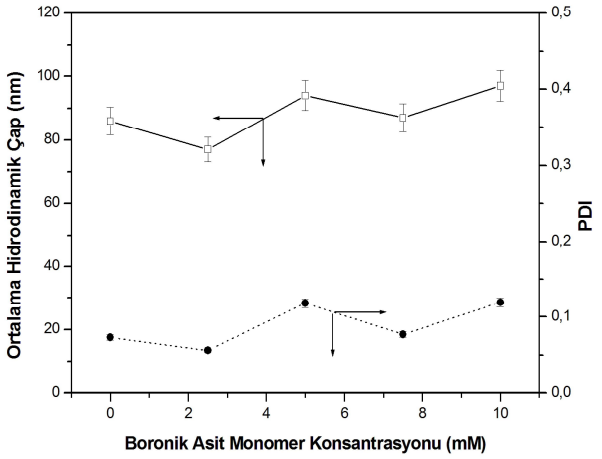
Şekil 4.1. Çözücü karışımındaki hacimce aseton oranına göre ortalama hidrodinamik çap ve PDI değerleri

Şekil 4.1' deki grafiğe göre çözücü karışımındaki aseton oranının ortalama hidrodinamik çap ve PDI değerlerine açıkça etki ettiğini söyleyebilmektedir. Çözücü karışımındaki aseton oranının %30 ya da daha fazla olması durumunda ortalama hidrodinamik çapta önemli ölçüde düşüş olduğu gözlemlenmektedir. Bu düşüşün 400-450 nm'den 25-75 nm'ye kadar olduğu şekil 4.1' den anlaşılmaktadır. Özellikle %30 aseton oranında nanoparçacıkların homojen bir şekilde ve düşük PDI değerinde üretildiği görülmektedir. Su üzerine aseton eklenmesi sürekli fazın dielektrik katsayısında bir azalmaya ve monomerlerin daha iyi çözündürülmesine neden olmaktadır. Bu etkileşim 100 nm altı ölçekli MMA bazlı nanoparçacıklarının tek dağılımlı bir şekilde sentezlenmesine fırsat vermektedir.



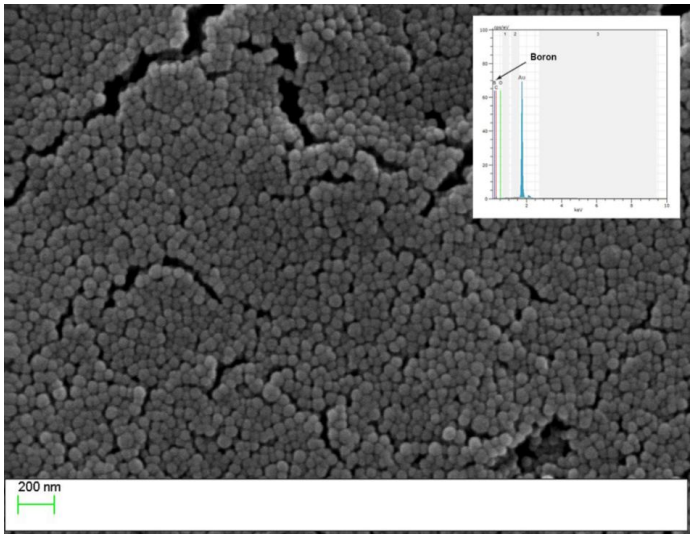
Şekil 4.2. Toplam monomer konsantrasyonu bağlı ortalama hidrodinamik çap ve PDI değerleri

Şekil 4.2' de toplam monomer konsatrasyonuna bağlı ortalama hidrodinamik çap ve PDI değerleri görülmektedir. Toplam monomer konsantrasyonun 0.4 M' dan 1.3 M' a kadar artmasıyla ortalama hidrodinamik çapın artışı farklı değildir. Bununla birlikte, yüksek bir monomer konsantrasyonunda (1.5 M), nanoparçacıklar 100 nm civarında maksimum parçacık boyutuna sahiptir. Toplam monomer konsantrasyonunun 0.5 M' dan 1.0 M' a artmasıyla nanoparçacıkların PDI değerleri 0.3' den 0.5' e kadar düşmüştür. Toplam monomer konsantrsayonu 1.0 M' ın üstüne çıktığı anda ise nanoparçacıklar daha fazla çoklu dağılım haline gelmiştir. En homojen nanoparçacıklar 1.0 M toplam monomer konsantrasyonunda üretilmiştir ve bu optimim noktada nanoparçacıkların ortalama hidrodinamik çapı 75 nm olarak bulunmuştur.



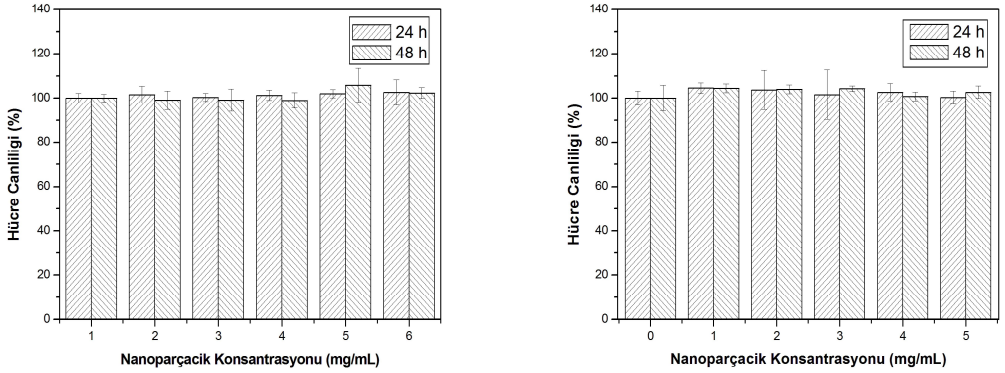
Şekil 4.3. Boronik asit monomer konsantrasyonuna bağlı ortalama hidrodinamik çap ve PDI değerleri

Şekil 4.3’ e bakıldığında monomer karışımındaki artan boronik asit miktarının (0-10 mM) ortalama hidrodinamik çap ve PDI değerlerine etkisi görülmektedir. Açıkça şunu söyleyebiliriz ki artan boronik asit miktarının hidrodinamik çap ve PDI değerlerine etkisinin olmadığını gözlemlendi. Sonuç olarak şekil 4.1, 4.2, 4.3 ve Tablo 3.1 incelendiğinde MV5 kodlu numune düşük parçacık boyutu, düşük PDI değeri ve yüksek boronik asit içeriği sebebiyle en uygun numune olarak belirlenmiştir. İleride yapılacak çalışmalarda kullanılması için en uygun malzeme olarak katkıda bulunacaktır.



Şekil 4.4. Boronik asit fonksiyonlu PMMA nanoparçacığın SEM fotoğrafı ve EDX spektrumu (resmin içinde)

Şekil 4.4’ deki SEM fotoğrafına bakıldığında boronik asit fonksiyonlu PMMA naoparçacığının homojen bir şekilde dağıldı görülmektedir. Parçacık boyutları Image J programı kullanılarak ölçüldü ve %5.6 varyasyon katsayısı ile 58 nm olarak hesaplandı. Nanoparçacıklar homojen bir şekilde tek dağılımlı kategorize edilebilmektedir. Parçacıkların dağınık tabakalar halinde olmasından dolayı DLS analizinde 87 nm olarak ölçülen parçacık boyutu SEM analizinde daha düşük yani 58 nm olarak ölçülmüştür. Nanoparçacıklar vinil fenil boronik asit içerdiklerinden dolayı moleküler yapılarında bor bulunmaktadır. Yapıdaki bor, Electron Dispersive X-ray (EDX) spektrometresi ile Şekil 4.4’ deki SEM fotoğrafının sağ üst köşesinde görüldüğü gibi ispatlanmıştır.

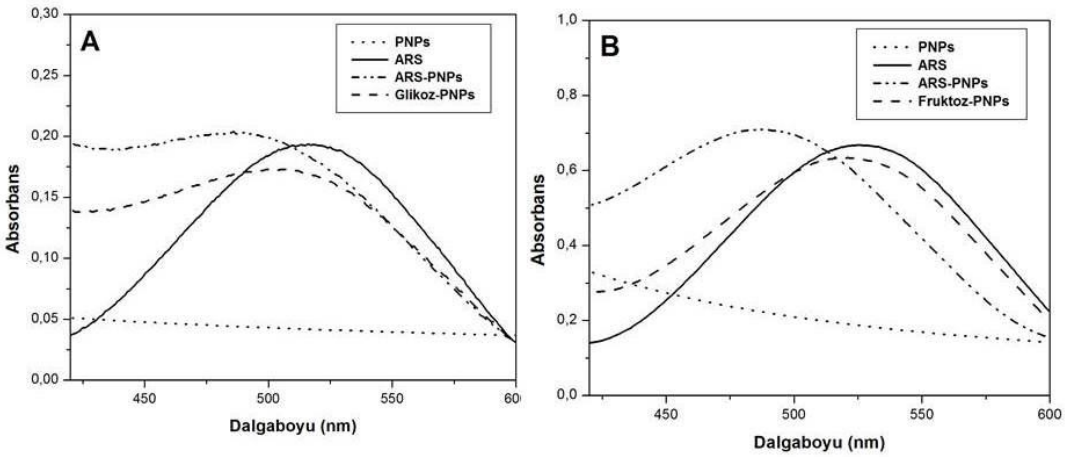


Şekil 4.5. PMMA nanoparçacık (solda) ve Boronik asit fonksiyonlu PMMA nanoparçacık (Sağda)

Şekil 4.5' de görüldüğü üzere PMMA nanoparçacık ve boronik asit fonksiyonlu PMMA nanoparçacığa 3T3 fibroblast hücreleri üzerinde yapılan sitotoksisite deneylerine göreparçacıkların toksik olmadığı ispatlanmıştır.

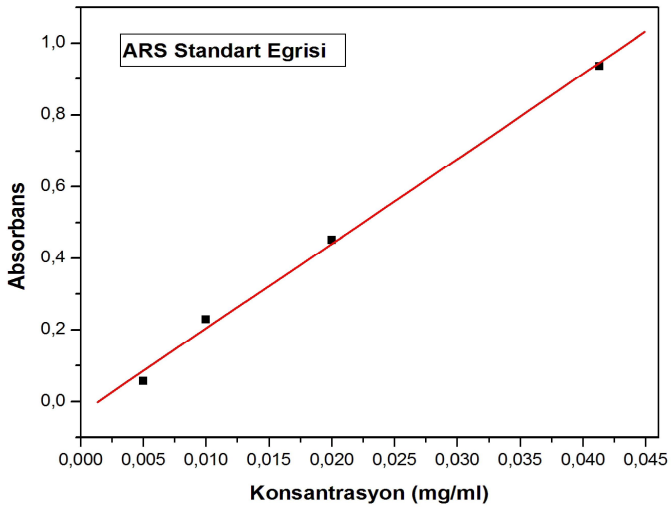
4.2. Glikoz ve Fruktoz Sensörü

ARS bağlı polimer nanoparçacık kimyasal ve kararlı parçacık yapısından dolayı nanosensör olarak kullanılabilmektedir. Şeker içeren bir diol ARS' nin nanoparçacıklardan serbest bırakıldığı yer değiştirme işlemine tabi tutulmaktadır. Bu durumda, ARS raporlayıcı olarak hareket eder ve boronik asit, bir reseptör olarak görev yapmaktadır. Şeker ve ARS arasında bağlayıcı durum tamamen kendi aralarındaki birleşme sabitlerine bağlı olmaktadır. Fenil boronik asit bazik bir ortam içinde şekere karşı yüksek bir afinite göstermektedir. Glikoz, ARS bağlı polimer nanoparçacık ile birlikte etkileşime geçtiğinde, nanoparçacık çözeltisi renginin turuncudan kırmızıya değişmesi glikoz ile ARS' nin yer değiştiğini kanıtlamaktadır. Bu renk değişimi gözle de gözlemlenebilmektedir (Görsel algılama limiti 0.2 M civarında). ARS ile glikozun yer değiştirmesi UV-Vis spektrofotometresinden de izlenebilmektedir.



Şekil 4.6. Polimer nanoparçacık, ARS, ARS bağlı polimer nanoparçacık UV-Vis absorbans pikleri ve A) Glikoz bağlı polimer nanoparçacık B) Fruktoz bağlı polimer nanoparçacık

Şekil 4.6 (A)' da ARS bağlı polimer nanoparçacık için λ_{max}= 482 nm iken glikoz bağlanan polimer nanoparçacığın λ_{max} değerinin 502 nm olduğu görülmektedir. ARS bağlı polimer nanoparçacığın glikoz ile titrasyonundan önce ve sonra alınan UV-Vis ölçümleri glikoz ile ARS' nin yer değiştirdiğinin en net kanıtıdır. Glikoz yerine fruktoz ile bu yer değiştirme reaksiyonunu tekrar ettiğimizde Şekil 4.6 (B)' de gösterildiği üzere benzer sonuçlar elde edilmiştir. Cis-1,2 diol fonksiyonel gruplu moleküler yapılara sahip hem glikoz hem de fruktoz ARS bağlı polimer nanoparçacıklara duyarlı olmaktadır.



Şekil 4.7. ARS kalibrasyon eğrisi

ARS salımının izlenmesi ayrıca bir kalibrasyon eğrisi ile de glikoz ölçümünü sağlamaktadır. Şekil 4.7' da gösterildiği gibi farklı konsantrasyonlar hazırlanarak ARS

boyasının kalibrasyon eğrisi çizildi. Çizilen bu eğriden **‘‘y=ax+b’’** formülü kullanılarak çıkan ARS boya miktarları hesaplandı. Elde edilen verilere göre Şekil 4.6 (A)’ da 0.0083 mg/ml, Şekil 4.6 (B)’ de ise 0.0283 mg/ml boyanın çıktığı gözlemlendi. Çıkan ARS miktarı ile yer değiştiren şekerin aynı miktarda olmasından dolayı ortamdaki glikoz ve fruktoz miktarları hesaplandı. Bu sonuçlara göre fruktozun glikoza göre sensör çalışmalarında da iyi bir belirteç olduğu sonucuna varıldı. Cannizo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da aynı karşılaştırma yapılmakta ve benzer bulgulara ulaşıldığı görülmektedir (Cannizo ve ark., 2005).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Bu çalışmada boronik asit fonksiyonlu PMMA nanoparçacık sentezlendi. Yüzey aktif madde kullanılmadan ve tek seferde başarılı bir şekilde emülsiyon polimerizasyonu yapıldı. Sentezlenen polimer nanoparçacıklar saflaştırma işlemine tabi tutuldu. Saflaştırıldıktan sonra SEM ve DLS analiz yöntemleriyle karakterize edildi. Yapıdaki boronik asit ise EDX analizi ile ispatlandı. Farklı monomer oranları, toplam monomer konsantrasyonu, monomer karışımındaki boronik asit konsantrasyonu ve çözücü karışımındaki aseton oranı değiştirilerek farklı boyut ve PDI değerlerinde nanoparçacıklar elde edildi. Bu nanoparçacıklardan en uygun olanı seçilerek şeker sensörü deneyinde kullanıldı. Şeker sensörü için kimyasal yapısı uygun olan alizarin kırmızısı boyası kullanıldı. Boronik asit içeren nanoparçacığa boya bağlandı ve ortama şeker olarak glikoz eklendi. Afinite farklılığından boya ile şeker yer değiştirme reaksiyonu gösterdi. Bu gözlem öncelikle renk değişimine bağlı olarak gözlemlendi. Daha sonra UV-Vis spektrofotometre cihazıyla da izlenerek ispatlandı. Yer değiştirme işlemleri farklı pH ortamlarında (7.5, 8.2 ve 8.5) denendi. Sonuçlara göre en uygun pH değerinin 8.2 olduğu UV-Vis cihazıyla elde edildi. Yer değiştirme reaksiyonunun en iyi olduğu pH değeri 8.2 olarak belirlendi. Aynı işlemler fruktoz ile de denendi ve aynı bulgulara ulaşıldı. Son olarak PMMA ve boronik asit fonksiyonlu PMMA nanoparçacığa sitotoksisite deneyi uygulandı ve nanoparçacıkların toksik olmadığı anlaşıldı. Literatürde boronik asit ile ilgili birçok sensör çalışmasının olduğu bilinmektedir. Ancak bu çalışmalar içinde nanoparçacık kullanılarak yapılan araştırmalar az sayıdadır. Buna en yakın örnek olarak Cannizo ve arkadaşlarının yaptığı çalışma verilebilmektedir. Cannizo ve arkadaşları çalışmalarında öncelikle polimer parçacığını sentezlemişler daha sonra boronik asit ile fonksiyonlandırma işlemine tabi tutumuşlardır. Bu işlemin 5 gün gibi uzun sürede olması ve %100 verimle gerçekleşmemesi yapılan çalışma için bir dezavantajdır (Cannizo, 2005). Bu çalışmamızda farklı olarak, nanoparçacıkların tek seferde ve kolay sentezlenmesi olmasıdır. Polimer parçacığı sentezlenirken aynı zamanda boronik asit fonksiyonlandırma işlemi de gerçekleşmektedir. Cannizo ve arkadaşlarının kullandığı kimyasalların toksik olması fakat bu çalışmamızda kullanılan kimyasalların ise toksik

olmaması bu çalışmanın en önemli avantajlarındandır. Çünkü biyolojik sensörler için en önemli faktör kullanılan malzemenin toksik olmamasıdır.

5.2. Öneriler

Bu çalışma şeker sensöründe kullanılan boronik asitin tek aşamada polimerik nanoparçacıklarla sentezlenmesi yeni bir yöntem oluşturmuştur. Yani tek aşamada boronik asit fonksiyonlu polimerik nanoparçacık sentezi yapılmış ve literatüre büyük bir katkı sağlamıştır. Bu yöntem fonksiyonlandırma işlemindeki iş yükünden kurtulmaya yardımcı olmaktadır. Ayrıca daha kısa sürede sentez yapmaya yani zamandan tasarruf etmeye olanak sağlamıştır. Gelecekte ise bu çalışmada kullandığımız karbonhidratların yerine benzer kimyasal yapılara sahip başka malzemelerinde kullanılabileceğine imkan vermektedir.

KAYNAKLAR

Abasıyanık, M. F. (2008). Biyosensörlere genel bir bakış ve biyosavunmada kullanılan biyosensörler. Fatih Üniversitesi.

Alizarin Kırmızı Tuz. (2009). 22 Kasım 2014 tarihinde http://www.sigmaaldrich.com /catalog/ product/sial/a5533?lang=en&region=TR adresinden erişildi.

Amigoni-Gerbier S., Larpent C., (1999), Synthesis and Properties of Selective Metal-Complexing Nanoparticles, Macromolecules, 32(26), 9071-9073.

Amigoni-Gerbier S., Desert S., Gulik-Kryswicki T., Larpent C., (2002), Ultrafine Selective Metal-Complexing Nanoparticles: Synthesis by Microemulsion Copolymerization, Binding Capacity, and Ligand Accessibility, Macromolecules, 35(5), 1644-1650.

Amonyum Per Sülfat. (2009). Wikipedia, The Free Encyclopedia içinde 16 Kasım 2014 tarihinde http://en.wikipedia.org/wiki/Ammonium_persulfate# mediaviewer/File:Peroxodis%C3%ADran_amonn%C3%BD.JPG adresinden erişildi.

Anraku Y., Takahashi Y., Kitano H., Hakari M., (2007), Recognition of sugars on surface-bound cap-shaped gold particles modified with a polymer brush, Colloids Surf. B: Biointerfaces, 57, 61–68.

Arimori S., Ward C. J., James T. D., (2002), A d-glucose selective fluorescent assay, Tetrahedron Lett., 43(2), 303-305.

Baysal B., (1994), Polimer Kimyası, Odtü basım işliği.

Camli S. T., Buyukserin F., Balci O., Budak G. G., (2010), Size controlled synthesis of sub-100 nm monodisperse poly(methylmethacrylate) nanoparticles, using surfactant-free emulsion polymerization, J. Colloid Interface Sci., 344, 528-532.

Cannizzo C., Sonia A. G., Larpent, C., (2005), Boronic acid-functionalized nanoparticles: synthesis by microemulsion polymerization and application as a re-usable optical nanosensor for carbohydrates, Polymer, 46, 1269-1279.

Catauro M, Papale F, Roviello G, Ferone C, Bollino F, Trifuoggi M, Aurilio C. J., (2013), Synthesis of SiO_2 and CaO rich calcium silicate systems via sol-gel process: Bioactivity, biocompatibility, and drug delivery tests, Biomed. Mater. Res. Part A, doi: 10.1002/jbm.a.34978.

Choi C. H., Jung J. H., Hwang T. S., Lee C. S., (2009), In Situ Microfluidic Synthesis of Monodisperse PEG Microspheres, Macromol. Res., 17, 163-167.

Choi C. H., Jung J. H., Rhee Y. W., Kim D. P., Sthim S. E., Lee C. S., (2007), Generation of monodisperse alginate microbeads and in situ encapsulation of cell in microfluidic device, Biomed. Microdevices, 9, 855-862.

Cicek H. J., (2005), Nucleotide isolation by boronic acid functionalized hydrogel beads, Bioact. Compat. Pol., 20, 245-257.

Claremont D. J., Sambrook I. E., Penton C., Pickup J. C., (1986), Subcutaneous implantation of a ferrocene-mediated glucose sensor in pigs, Diabetologa, 29, 817-821.

Congura G., Sayar F., Erdem A., Piskin E., (2013), Voltammetric and impedimetric DNA detection at single-use graphite electrodes modified with gold nanorods, Colloids Surf. B: Biointerfaces, 112, 61–66.

Coskun A., Akkaya E. U., (2004), Three-point recognition and selective fluorescence sensing of L-DOPA, Org. Lett. 6, 3107-3109.

Cui F., Qian F., Zhao Z., Yin L., Tang C., Yin C., (2009), Preparation, Characterization, and Oral Delivery of Insulin Loaded Carboxylated Chitosan Grafted Poly(methyl methacrylate) Nanoparticles, Biomacromolecules, 10(5), 1253–1258.

Dinç H, (2013), " Polivinil borat sentezi; elektorspin yöntemiyle nanofiber hazırlanması ve karakterizasyonu", Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, 34

Elçin Ş. (2008). Biyosensörler sunum.

Elmas B., Onur M. A., Senel S., Tuncel A., (2002), Temperature controlled RNA isolation by N-isopropylacrylamide-vinylphenyl boronic acid copolymer latex, Colloid Polym. Sci., 280, 1137-1146.

Fan L., Luo C., Sun M., Qiu H., Li X., (2013), Synthesis of magnetic β-cyclodextrin–chitosan/graphene oxide as nanoadsorbent and its application in dye adsorption and removal, Colloids Surf. B: Biointerfaces, 103, 601– 607.

Fruktoz. (2009). Wikipedia, The Free Encyclopedia içinde 6 Aralık 2014 tarihinde http://tr.wikipedia.org/wiki/Fruktoz adresinden erişildi.

Gao S. H., Wang W., Wang B. H., (2001), Building fluorescent sensors for carbohydrates using template-directed polymerizations, Bioorg. Chem., 29, 308-320.

Glikoz. (2006). Wikipedia, The Free Encyclopedia içinde 6 Aralık 2014 tarihinde http://tr.wikipedia.org/wiki/Glukoz adresinden erişildi.

Goldshtein J., Margel S., (2009), Synthesis and characterization of new UV absorbing microspheres of narrow size distribution by dispersion polymerization of 2-(2′-hydroxy-5′-methacryloxyethylphenyl)-2H-benzotriazole, Polymer, 50, 3422-3430.

Hazar B., (2008), Polimer Kimyası, Ankara.

Hazot P., Delair T., Elaissari A., Chapel J. P., Pichot J., (2002), Functionalization of poly(N-ethylmethacrylamide) thermosensitive particles by phenylboronic acid, Colloid polym. Science, 280(7), 637-646.

Hazra C., Kundu D., Chatterjee A., Chaudhari A., Mishra S., (2014), Biopolymer and biosurfactant-graft-calcium sulfate/polystyrene nanocomposites: Thermophysical, mechanical and biodegradation studies, Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects, 449, 96–113.

Heise H. M., Marbach R., Koschinsky T. H., Gries F. A., (1994), Noninvasive blood glucose sensors based on near-infrared spectroscopy, Ann. Occup. Hyg., 18, 439-447.

Hoare T., Pelton R., (2007), Engineering glucose swelling responses in poly(N-isopropylacrylamide)-based microgels, Macromolecules, 40, 670-678.

Ivanov A.E., Galaev I. Y., Mattiasson B., (2005), Binding of adenosine to pendant henylboronate groups of thermoresponsive copolymer: a quantitative study, Macromol. Biosci., 5, 795-800.

Ivanov A. E., Kumar A., Nilsang S., Aguilar M. R., Mikhalovska L. I., Savina I. N., Nilsson L., I. Scheblykin I. G., Kuzimenkova M. V., Galaev I. Y., (2010), Evaluation of boronate-containing polymer brushes and gels as substrates for carbohydrate-mediated adhesion and cultivation of animal cells, Colloids Surf. B: Biointerfaces, 75, 510–519.

James T. D., (2007), Saccharide-selective boronic acid based photoinduced electron transfer (PET) fluorescent sensors, Top. Curr. Chem., 277, 107-152.

Kürner J. M., Wolfbeis O. S., Klimant I., (2002), Homogeneous luminescence decay time-based assay using energy transfer from nanospheres, Anal. Chem. 74(9), 2151-2156 doi: 10.1021/ac0111098.

Lapeyre V., Ancla C., Catargi B., Ravaine V., (2008), Glucose-responsive microgels with a core-shell structure, J. Colloid Interface Sci., 327, 316-323.

Larpent C., Amigoni-Gerbier S., de Sousa Delgado A-P. C. R., (2003), Synthesis of metal-complexing nanoparticles by post-functionalisation of reactive nanolatexes produced by microemulsion polymerisation, Chimie, 6(11-12), 1275-1283.

Li Y, Xiao W, Xiao K, Berti L, Luo J, Tseng H. P, Fung G, Lam K. S., (2012), Well-Defined, reversible boronate crosslinked nanocarriers for targeted drug delivery in response to acidic pH values and cis-diols, Angew. Chem. Int. Ed., 51, 2864-2869.

Liu Y., Zhang Y., Zhao Y., Yu J., (2014), Phenylboronic acid polymer brush-enabled oriented and high density antibody immobilization for sensitive microarray immunoassay, Colloids Surf. B: Biointerfaces, 121, 21–26.

March W. F., Rabinowitch B., Adams R., Wise J. R., Melton M. Trans., (1982), Ocular glucose sensor, Am. Soc. Artif. Intern. Organs, 28, 232-235.

Matsumoto A., Ikeda S., Harada A., Kataoka K., (2003), Glucose-responsive polymer bearing a novel phenylborate derivative as a glucose-sensing moiety operating at physiological pH conditions, Biomacromolecules, 4, 1410-1416.

MEGEP, (2008), Kimya Teknolojisi, Polimer Eldesi, Ankara

Metilmetakrilat. (2009). 20 Kasım 2014 tarihinde www.sigmaaldrich.com/catalog/ product/aldrich/m55909?lang=en&region=TR adresinden erişildi.

Nano. (2008). 15 Kasım 2014 tarihinde http://nanoteknoloji.nedir.com/# ixzz3LQ4vctq9 adresinden erişildi.

Nanoteknoloji. (2010). 15 Kasım 2014 tarihinde http://www.nanoteknolojinedir.com/? Page=nano-teknoloji-hakkinda-bilgi adresinden erişildi.

N-bütil Lityum. (2009). 23 Kasım 2014 tarihinde http://www.sigmaaldrich.com/catalog /product/aldrich/230707?lang=en&region=TR adresinden erişildi.

Niemeyer C. M., (2001), Nanoparticles, proteins, and nucleic acids: biotechnology meets materials science, Angew chem. Int. Ed., 40(22), 4128-4158.

Okasaka Y., Kitano H., (2010), Direct spectroscopic observation of binding of sugars to polymers having phenylboronic acids substituted with an ortho-phenylazo group, Colloids Surf. B: Biointerfaces, 79, 434–439.

Ormsby R., McNally T., O'Hare P., Burke G., Mitchell C., Dunne N., (2012), Fatigue and biocompatibility properties of a poly(methyl methacrylate) bone cement with multi-walled carbon nanotubes, Acta Biomaterialia, 8(3), 1201-1212.

Otlu. B. (2011). Biyosensörler: Biyoreseptör Moleküller, 6. Uluslararası İleri Tekonoloji Sempozyumu bildiriler kitabı içinde (ss. 5-7). Malatya: İnönü Üniversitesi.

Pickup J. C., Hussain, F., Evans N. D., Rolinski O. J., Birch D. J. S., (2005), Fluorescence-based glucose sensors, Biosensors and Bioelectronics, 20, 2555-2565.

Robinson M. R., Eaton R. P., Haaland D. M., Koepp G. W., Thomas E. V., Stallard B. R., Robinson P. L., (1992), Noninvasive glucose monitoring in diabetic patients: a preliminary evaluation, Clin. Chem., 38, 1618-1622.

Saçak M., (2002), Polimer Kimyası, Ankara.

Saçak M., (2005), Polimer Teknolojisi, Ankara.

Sakalak H, Ulasan M, Yavuz E, Camli S. T, Yavuz M. S., (2014), One-pot synthesis of biocompatible boronic acid functionalized nanoparticles at sub-100 nm scale for glucose sensing, J. of Nanoparticle Research, 16:2767.

Seçkin A. İ, (2011) "Polianilin /Altın nanoçubuk kompozit film elektrot tabanlı elektrokimyasal glikoz sensörünün geliştirilmesi", Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara, (14-16).

Selvin P. R., (1995), Fluorescence resonance energy transfer, Method Enzymol., 246, 300-334.

Senel S., Camli S. T., Tuncel M., Tuncel A., (2002), Nucleotide adsorption-desorption behaviour of boronic acid functionalized uniform-porous particles, J. Chromatogr. B, 769, 283–295.

Sheikh F. A., Ju H. W., Moon B. M., Park H. J., Kim J-H., Lee O. J., Park C. H. J., (2013), Facile and highly efficient approach for the fabrication of multifunctional silk nanofibers containing hydroxyapatite and silver nanoparticles, Biomed. Mater. Res. Part A, doi: 10.1002/jbm.a.35024.

Springsteen G., Wang B., (2002), Detailed Examination of Boronic Acid-Diol Complexation, Tetrahedron, 58, 5291-5300.

Springsteen G., Wand B., (2001), Alizarin Red S. as a general optical reporter for studying the binding of boronic acids with carbohydrates Chem. Commun., 17, 1608-1609.

Striegler S., (2002), Selective carbohydrate recognition by synthetic receptors in aqueous solution, Curr Org Chem., 7, 1, 82-102.

Sumner J. P., Aylott J. W., Monson E., Kopelman R., (2002), A fluorescent PEBBLE nanosensor for intracellular free zinc, Analyst. 127(1), 11-16.

Taniguchi N, (1974), On the basic concept of nano-technology, Proc. Intl. Conf. Prod. London, Part II, British Society of Precision Engineering.

The diabetes control and complications trial research group, (1993), The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus, N Engl. Med. 329(14), 977-986.

The diabetes control and complications trial research group, (1997), Hypoglycemia in the diabetes control and complications trial, Diabetes, 46, 271-286.

Uguzdogan E., Kayi H., Denkbas E. B., Patir S., Tuncel A., (2003), Stimuli-Responsive properties of aminophenylboronic acid carrying thermosensitive copolymers, Polym. Int., 52(5), 649-657.

UV-Vis Spektrofotometre. (2013). 8 Aralık 2014 tarihinde http://w3.balikesir.edu.tr/~hnamli/oya/uvvis/cihazcalisma.php adresinden erişilmiştir.

Wang S., Guo Z., (2014), Bio-inspired encapsulation and functionalization of living cells with artificial shells, Colloids Surf. B: Biointerfaces, 113, 483– 500.

Weiss S., (1999), Fluorescence spectroscopy of single biomolecules, Science, 283, 1676-1683.

Xue F, Duan T, Huang S, Wang Q, Xue M, Meng Z., (2013), A Covalently imprinted photonic crystal for glucose sensing, J of Nanoaterials, vol. 2013, 6 pages, doi: 10.1155/2013/530701.

Xuewen He, Nan Ma, (2014), An overview of recent advance of quantum dots for biomedical applications, Colloids Surf. B: Biointerfaces, doi: 10.1016/j.colsurfb.2014.06.002.

Vinilfenilboronikasit. (2009). 18 Kasım 2014 tarihinde http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search?term=4+vinylbenzene+boronic+acid&interface=All&N=0&mode=match%20partialmax&lang=en&region=TR&focus=product&lang%20en=adresinden erişildi.

Vollrath A, Pretzel D, Pietsch C, Perevyazko I, Schubert S, Pavlov G. M., Schubert U. S., (2012), Preparation, cellular internalization, and biocompatibility of highly fluorescent PMMA nanoparticles, Macromol Rapid Commun., 33(20), 1791-1797.

Yan H. B, Zhang Y. Q, Ma Y. L, Zhou L. X., (2009), Biosynthesis of insulin-silk fibroin nanoparticles conjugates and in vitro evaluation of a drug delivery system, J Nanopart Res., 11, 1937-1946.

Yan J., Springsteen G., Deeter S., Wang B., (2004), The relationship among pKa, pH, and binding constants in the interactions between boronic acids and diols-it is not as simple as it appears, Tetrahedron 60, 11205-11209.

Yang X, Bakaic E, Hoare T, Cranston E. D., (2013), Injectable polysaccharide hydrogels reinforced with cellulose nanocrystals: Morphology, rheology, degradation, and cytotoxicity, Biomacromolecules 14(12), 4447–4455.

Yavuz M. S., Buyukserin F., Zengin Z., Camli, S. T., (2011), Thermoresponsive oligo(ethylene glycol) methacrylate colloids with antifouling surface properties, J. Polym. Sci. A Polym. Chem., 49, 4800–4808.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı	**:**	Hüseyin ŞAKALAK
Uyruğu	**:**	T.C
Doğum Yeri ve Tarihi	**:**	KONYA / 10.06.1988
Telefon	**:**	0555 623 42 26
Faks	**:**	
e-mail	**:**	huseyinsakalak@selcuk.edu.tr

EĞİTİM

Derece		**Adı, İlçe, İl**	**Bitirme Yılı**
Lise	:	Meram Konya Lisesi, Meram/KONYA	2005
Üniversite	:	Afyonkocatepe Üniversitesi, Malzeme Bilimi ve Mühendisliği, AFYONKARAHİSAR	2011
Yüksek Lisans	:	Selçuk Üniversitesi Metalurji ve Malzeme mühendisliği Anabilim Dalı, Selçuklu/KONYA	2014
Doktora	:		

YABANCI DİLLER

İngilizce

YAYINLAR

Sakalak H., Ulasan M., Yavuz E., Camli S. T., Yavuz M. S., (2014), One-pot synthesis of biocompatible boronic acid-functionalized poly(methyl methacrylate) nanoparticles at sub-100 nm scale for glucose sensing. J. of Nanoparticle Research, 16:2767.

Katircioglu Z., Sakalak H., Ulasan M., Gören A. C., Yavuz M. S., (2013), Facile synthesis of "green" gold nanocrystals using cynarin in anaqueous solution. Applied Surface Science, 318, 191–198.

Erdogan H., Sakalak H., Yavuz M. S., Demirel G., (2013), Laser-Triggered degelation control of gold nanoparticle embedded peptide organogels. Langmuir, 29 (23), 6975–6982.