SENTETIK RESEPTÖRLERE DAYALI NANO ALGILAMA SISTEMLERI

Aytaç GÜLTEKIN

Doktora Tezi

TRAKYA ÜNIVERSITESI FEN-EDEBIYAT
FAKÜLTESI KIMYA BÖLÜMÜ
Danisman
Prof. Dr. Ridvan SAY

EDIRNE-2009

TRAKYA ÜNIVERSITESI
FEN BILIMLERI ENSTITÜSÜ

SENTETIK RESEPTÖRLERE DAYALI NANO ALGILAMA SISTEMLERI

Aytaç GÜLTEKIN

DOKTORA TEZI

KIMYA ANABILIM DALI

Danisman

Prof. Dr. Ridvan SAY

EDIRNE 2009

SENTETİK RESEPTÖRLERE DAYALI

NANO ALGILAMA SİSTEMLERİ

AYTAÇ GÜLTEKİN

DOKTORA TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

Bu tez 26 /01/2009 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Tarafından Kabul Edilmiştir.

Prof.Dr. HİLMİ İBAR
Üye

Prof. Dr. ADİL DENİZLİ
Üye

Prof.Dr. TİMUR KIRGIZ

Üye

Doç.Dr. YASEMİN BAKIRCIOĞLU KURTULUŞ
Üye

Prof. Dr. RIDVAN SAY
Danışman

ÖZET

Doktora Tezi

SENTETIK RESEPTÖRLERE DAYALI NANO ALGILAMA SISTEMLERI

Aytaç GÜLTEKIN

TRAKYA Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dali

Danisman: Prof. Dr. Ridvan SAY
2009, 126 sayfa

Bu çalismada, dipikolinik asit (DPA) belleklere sahip Au ve Au-Ag nanosensörlerin moleküler baskilama (MIP) temelli sentezlenmesi ve *bacillus anthracis* sporlarinin dedekte edilmesinde kullanilmasi incelenmistir. Ayrica, 8-OHdG belleklere sahip QCM elektrotun (MIP) temelli sentezlenmesi ve hasarli DNA tayininde kullanilmasi, arastirilmistir. Çalismanin DPA nanosensör bölümünde, Au, Au-Ag nanopartiküllerin sentezlenmesi ve karakterizasyonu, metakrilamidosistein (MAC), metakriliminodiasetik asit (MAIDA), MAIDA-Cr, MAIDA-Cr-DPA monomer sistemlerinin sentezlenmesi ve karakterizasyonu, MIP temelli DPA belleklere sahip Au, Au-Ag nanosensörlerin sentezi ve karakterizasyonu yapilmis ve bu nanosensörlerin *bacillus anthracis* sporlarinin tayininde kullanilabilirligi arastirilmistir. Çalismanin 8-OHdG QCM nanosensör bölümünde, Metakrilamidoantipirin (MAAP), MAAP-Fe(III), Metakrilamidohistidin (MAH), MAH-Pt(II) monomer sistemlerinin sentezi ve karakterizasyonu gerçeklestirilmistir. MAH-Pt(II)-8-OHdG-MAAP-Fe(III) ön organize monomer sistemi kullanilarak hasarli DNA nin baglanma bölgelerini taniyan belleklerin QCM elektrot yüzeyinde olusturulmasi çalismalari yapilmistir.

Anahtar Kelimeler: Molekül Baskilanmis Polimerler (MIP), Kuvars Kristal Mikroterazi (QCM), DPA bazli sentetik reseptörler, Au, Au-Ag nanopartiküller,8-OHdG bazli sentetik reseptörler,

ABSTRACT

PhD Dissertation

NANO PERCEPTIONAL SYSTEMS BASED ON SYNTHETIC RECEPTOR

Aytaç GÜLTEKIN

Trakya University
Graduate School of Sciences
Chemistry Program

Supervisor: Prof. Dr. Ridvan SAY
2009, 126 pages

In this study, the synthesizing of Au and Au-Ag nanosensors having dipicolinic acid (DPA) memories based on molecular imprinting method (MIP) and the usage in *bacillus anthracis* spores recognition have been investigated. Also, 8-OHdG memories have been synthesized on the quartz crystal microbalance (QCM) electrode based on molecular imprinting method and has used for the determination of damaged DNA. In the DPA nanosensor stage of the study; synthesis and characterization of Au, Au-Ag nanoparticles, synthesis and characterization of methacrylolycystein (MAC), methacryloyl iminodiacetic acid (MAIDA), MAIDA-Cr, MAIDA-Cr-DPA monomersystems, synthesis and characterization of Au and Au-Ag nanosensors having nanoshells with DPA based on MIP method have been applied and using these nanosensors in the determination of *bacillus anthracis* spores have been investigated. In the 8-OHdG nanosensor stage of the study; synthesis and caracterization of methacryloyl aminoantipyrine (MAAP), MAAP-Fe(III), methacryloyl histidine (MAH), MAH-Pt(II) monomers have been realized Besides, the memories which recognizes the binding site of damaged DNA have been developed on QCM electrode using MAH-Pt(II)-8-OHdG-MAAP-Fe(III) pre-organized monomer system.

Keywords: Molecularly Imprinted Polymers (MIP), Quartz Crystal Microbalance (QCM), DPA Synthetic Receptors, Au, Au-Ag nanoparticles,8-OHdG Synthetic Receptors,

TESEKKÜR

Nanoteknoloji alaninda çalismam için Anadolu Üniversitesine görevli olarak gönderilmemi saglayan ve her an ilgisini eksik etmeyen hocam Prof. Dr. Hilmi IBAR'a

Bu tezin planlanmasinda ve gerçeklestirilmesinde, teorik bilgi birikiminden pratik uygulamalara dek bütün süreçlerde bilgi ve tecrübesinden yararlandigim, bana büyük bir ilgi ve anlayisla yaklasan Danisman Hocam Sayin Prof. Dr. Ridvan SAY'a,

Deneysel çalismalarim boyunca ilgi ve yardimiyla her zaman yanimda olan, yol göstericiligi ve degerli katkilarindan dolayi Sayin Doç. Dr. Arzu ERSÖZ'e

Tez çalismalarimda yardimlarini eksik etmeyen ve deneysel çalismalarima katkida bulunan Yrd. Doç. Dr. Sibel Emir DILTEMIZ, Yrd. Doç. Dr. Ayça ÖZCAN ve Yrd. Doç. Dr. Deniz HÜR'e

Çalismalarim boyunca destegini ve ilgisini eksik etmeyen Sayin Prof. Dr. Adil DENIZLI'ye,

Manevi destekleriyle her zaman yanimda olan Annem, Babam, Kardesim ve Nisanlima

sonsuz tesekkürlerimi sunarim.

Aytaç GÜLTEKIN

Ocak-2009

IÇINDEKILER

Sayfa

ÖZET		**i**
ABSTRACT		**ii**
TESEKKÜR		**iii**
IÇINDEKILER		**iv**
SEKILLER DIZINI		**viii**
ÇIZELGELER DIZINI		**xi**
SIMGELER VE KISALTMALAR DIZINI		**xii**
1.	**GIRIS**	1
1.1.	*Bacillus Anthracis* Infeksiyonu (Sarbon)	3
1.1.1.	Mikrobiyolojik özellikler	3
1.1.2.	Epidemiyoloji	5
1.1.3.	Klinik belirtiler	6
1.1.4.	Biyolojik silah amaciyla sarbon kullanimi	8
1.1.5.	Biyolojik savasin tarihçesi	9
1.1.6.	Dipikolinik Asit	12
1.2.	8-OHdG (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine)	13
1.3.	Moleküler Baskilanmis Polimerler (MIP)	16
1.3.1.	Moleküler baskilanmis polimer hazirlama teknikleri	18
1.3.2.	Farkli MIP hazirlama yöntemlerinin avantaj ve dezavantajlari	21
1.3.3.	Moleküler baskili polimer hazirlamada kullanilan fonksiyonel monomerler	23
1.3.4.	Moleküler baskili polimer hazirlamada kullanilan çapraz baglayicilar	24
1.3.5.	Moleküler baskili polimer hazirlamada kullanilan çözücüler	26
1.3.6.	Moleküler baskilanmis polimerlerin uygulama alanlari	27

1.4.	Kuvars Kristal Mikroterazi	27
1.4.1.	Sensörler	27
1.4.2.	Gravimetrik sensörler	29
1.4.3.	Piezoelektrik etki	29
1.4.4.	Sauerbrey esitligi	32
1.4.5.	Sicakligin rezonans frekansina etkisi	34
1.4.6.	Kuvars kristal mikroterazi uygulamalari	34
1.5.	Nanopartiküller	36
1.5.1.	Nanopartiküllerin özellikleri	37
1.5.2.	Nanopartikül hazirlama yöntemleri	39
1.5.3.	Nanopartiküllerin karakterizasyonu	42
1.5.4.	Nanopartiküller ile yapilan uygulamalar	43
1.5.5.	Nanopartiküllerle optik algilama	44
1.6.	Moleküler Lüminesans Spektroskopisi	46
1.6.1.	Floresans, Fosforesans, Kemilüminesans	46
1.6.2.	Floresans ve Fosforesans	47
1.6.3.	Floresans ve fosforesansi etkileyen degiskenler	51
1.6.4.	Floresans ve fosforesans ölçümü için cihazlar	53
1.6.5.	Analitik Uygulamalari	55
2.	**MATERYAL VE YÖNTEM**	**57**
2.1.	Materyal	57
2.1.1.	Kullanilan kimyasal maddeler	57
2.1.2.	Kullanilan cihazlar	58
2.2.	Yöntem	58
2.2.1.	Metakriliminodiasetik asit (MAIDA) monomerinin sentezi	58
2.2.2.	Metakriliminodiasetik-Cr(III) [MAIDA-Cr(III)] metal selat monomeri sentezi	60
2.2.3.	Metakriliminodiasetik-Cr(III)-Dipikolinik asit [MAIDA-Cr(III)-DPA] metal-selat monomerinin ön organizasyonu sentezi	60
2.2.4.	Metakrilamidosistein (MAC) monomerinin sentezi	60

2.2.5.	Altin nanopartikül sentezi (Au-MAC)	61
2.2.6.	Dipikolinik asit baskilanmis altin nanopartikül sentezi	61
2.2.7	DPA baskilanmis Au nanopartiküllerin luminesans ölçümleri	63
2.2.8.	DPA baskilanmis Au-nanopartiküllerle seçicilik çalismalari	63
2.2.9.	DPA baskilanmis Au nanopartiküllerle gerçek numunelerde dipikolinik asit miktar tayini	63
2.2.10.	Altin-Gümüs nanoküme sentezi (Au-Ag-MAC)	63
2.2.11.	Dipikolinik asit baskilanmis altin-gümüs nanoküme sentezi	64
2.2.12.	DPA baskilanmis Au-Ag nanokümelerin luminesans ölçümleri	66
2.2.13.	DPA baskilanmis Au-Ag nanokümelerle seçicilik çalismalari	66
2.2.14.	DPA baskilanmis Au-Ag nanokümelerle gerçek numunelerde dipikolinik asit miktar tayini	66
2.2.15.	Metakrilamidohistidin (MAH) monomerinin sentezi	67
2.2.16.	Metakrilamidohistidin-Pt(II) [MAH-Pt(II)] metal-selat monomeri sentezi	67
2.2.17.	Metakrilamidoantipirin (MAAP) monomerinin sentezi	67
2.2.18.	Metakrilamidoantipirin-Fe(III) [MAAP-Fe(III)] metal-selat monomeri sentezi	68
2.2.19.	Metakrilamidohistidin-Pt(II)-8-Hidroksideoksiguanizin Metakrilamidoantipirin-Fe(III) [MAH-Pt(II)-8-OHdG-MAAP-Fe(III)] metal-selat monomerinin ön organizasyonu	68
2.2.20.	8-OHdG baskilanmis QCM elektrodun hazirlanmasi	68
2.2.21.	8-OHdG baskilanmis QCM elektrot ile sensör ölçümleri	69
2.2.22.	8-OHdG baskilanmis QCM elektrot ile seçicilik çalismalari	69
2.2.23.	8-OHdG baskilanmis QCM elektrot ile gerçek numunelerde 8-OHdG miktar tayin	70
3.	**BULGULAR**	**72**
3.1.	DPA baskilanmis Au-nanopartiküller ile yapilan çalismalar	72
3.1.1.	MAIDA monomerinin karakterizasyonu	72
3.1.2.	MAIDA-Cr(III) ve MAIDA-Cr(III)-DPA metal-selat monomerlerinin karakterizasyonu	74

3.1.3.	MAC monomerinin karakterizasyonu	75
3.1.4.	DPA baskilanmis Au-nanopartiküllerin FTIR ve TEM karakterizasyonlari	78
3.1.5.	DPA baskilanmis Au-nanopartiküllerin luminesans ölçümleri	80
3.1.6.	DPA baskilanmis Au-nanopartiküllerle seçicilik çalismalari	81
3.1.7.	DPA baskilanmis Au nanopartiküllerle gerçek numunelerde dipikolinik asit miktar tayini	81
3.1.8.	DPA baskilanmis Au nanopartiküllerin adsorpsiyon izotermleri	82
3.2.	DPA baskilanmis Au-Ag nanokümelerle yapilan çalismalar	85
3.2.1.	DPA baskilanmis Au-Ag nanokümelerin RAMAN ve TEM karakterizasyonlari	85
3.2.2.	DPA baskilanmis Au-Ag nanokümelerin luminesans ölçümleri	89
3.2.3.	DPA baskilanmis Au-Ag nanokümelerin seçicilik çalismalari	90
3.2.4.	DPA baskilanmis Au-Ag nanokümelerle gerçek numunelerde dipikolinik asit miktar tayini	90
3.2.5.	DPA baskilanmis Au-Ag nanokümelerin adsorpsiyon izotermleri	91
3.3.	(8-Hidroksideoksiguanizin) baskilanmis QCM elektrot için yapilan çalismalar	94
3.3.1.	MAH ve MAH-Pt(II) monomerlerinin karakterizasyonu	94
3.3.2.	MAAP ve MAAP-Fe(III) monomerlerinin karakterizasyonu	99
3.3.3.	8-OHdG baskili QCM elektrotun yüzey karakterizasyonu	101
3.3.4.	Ligand etkilesimi araciligiyla 8-OHdG baskili QCM sensörlerin baglama etkilesimlerinin ölçümü	103
3.3.5.	(8-OHdG) baskilanmis QCM elektrodun seçiciligi	106
3.3.6.	(8-OHdG) baskilanmis QCM elektrot ile gerçek numunelerde 8-OHdG miktar tayini	107
3.3.7.	(8-OHdG) baskilanmis QCM elektrodun analitik performansi	107
4.	**TARTISMA, SONUÇ VE ÖNERILER**	**109**
	KAYNAKLAR	114
	ÖZGEÇMIS	126

SEKILLER DIZINI

		Sayfa
1.1.	*Bacillus anthracis*	4
1.2.	*Bacillus anthracis*	11
1.3.	Dipikolinik Asit	12
1.4.	Hidroksil radikali ile guanin bazinin reaksiyonu	14
1.5.	C8-OH ürün radikalinden, guanin son ürünlerinin olusum mekanizmasi	14
1.6.	DNA sarmali üzerinde 8-OHdG'nin olusumunun gösterimi	15
1.7.	Moleküler baskili polimer hazirlama asamalari	18
1.8.	Kovalent ve kovalent olmayan moleküler baskilama yönteminin sematik görünümü	19
1.9.	AIBN'in termal bozunma reaksiyonu	20
1.10.	Radikal polimerizasyonunda oksijen ile baslatici radikal reaksiyonlari	20
1.11.	Moleküler baskilanmis polimerlerde kalip-fonksiyonel monomer etkilesimleri	22
1.12.	Kovalent olmayan molekül baskilanmis polimer hazirlamada kullanilan metakrilik asit (MAA) yapisi	24
1.13.	Sensörlerin genel gösterimi	28
1.14.	Piezoelektrik etkinin sematik gösterimi	31
1.15.	AT-kesim kuvars kristal düzlemi	30
1.16.	Kuvars kristal mikroterazinin basitlestirilmis bir modeli	32
1.17.	Kuvars kristal elektrot sekli	35
1.18.	Kuvantum nokta nonopartiküllerin büyüklügünün diger materyallerle kiyaslanmasi	37
1.19.	Farkli büyüklükteki nanopartiküllerin farkli dalga boylarinda isigi yaymasi	38
1.20.	Polimerik nanopartikül olusum asamalari	41
1.21.	Zaman ve derisime bagli olarak çekirdeklesme, büyüme ve agregerasyon	42
1.22.	Fotolüminesans molekülünün kismi bir enerji seviyesi diyagrami	49
1.23.	Fotolüminesans cihazinin akis semasi	54

2.1.	MAIDA' nin sentezi	60
2.2.	DPA baskili Au nanopartiküllerin sematik gösterimi	62
2.3.	DPA baskili Au-Ag nanocluster'in sematik gösterimi	65
2.4.	QCM sensör yüzeyindeki 8-OHdG bellek olusumu	71
3.1	Metakrilamidodiasetik asit monomerinin molekül formülü	72
3.2	Metakrilamidodiasetik asit 1H- NMR spektrumu	72
3.3	Metakrilamidodiasetik asit 13C- NMR spektrumu	73
3.4	MAIDA' nin FTIR spektrumu	73
3.5.a.	MAIDA-Cr (III)' ün FTIR spektrumu	74
3.5.b.	MAIDA-Cr (III)-DPA'nin FTIR spektrumu	74
3.6.	MAIDA-Cr(III) ve MAIDA-Cr-DPA çözeltilerinin renkleri	75
3.7.	Metakrilamidosistein monomerinin molekül formülü	75
3.8.	MAC monomerinin NMR spektrumu	76
3.9.	MAC monomerinin FT-IR spektrumu	76
3.10.	MAC monomerine ait Raman spektrumu	77
3.11.a.	DPA FTIR spektrumu	78
3.11.b.	DPA'li Au-MIP Nanopartiküllerin FTIR spektrumu	78
3.11.c.	DPA çikmis Au-MIP Nanopartiküllerin FTIR spektrumu	78
3.12.a.	MAC modifiyeli Au nanopartiküller	79
3.12.b.	DPA kalibi çikarilmis Au-MIP Nanopartiküller	79
3.13.	DPA'nin konsantrasyon artisi ile DPA baskili Au nanosensörün.floresans siddetindeki azalm	80
3.14.	SternVolmer grafigi	81
3.15.	Au nanosensörlerin Langmuir adsorpsiyon analizi	84
3.16.	Au nanosensörlerin Scatchard analizi	84
3.17.a.	DPA' nin raman spektrumu	85
3.17.b.	DPA'li Au-Ag-MIP Nanoclusterlarin raman spektrumu	86
3.17.c.	DPA çikarilmisAu-Ag-MIP Nanoclusterlarin raman spektrumu	86
3.17.d.	Bacillus sporlu Au-Ag-MIP Nanoclusterlarin raman spektrumu	86
3.18.a.	MAC ile kaplanmis Au-Ag nanopartiküllerin TEM görüntüsü	87

3.18.b.	MAC ile kaplanmis Au-Ag nanopartiküllerin DPA kalip uzaklastirilmadan önce TEM görüntüsü.	88
3.18.c.	MAC ile kaplanmis Au-Ag nanopartiküllerin DPA kalip uzaklastirildiktan sonra TEM görüntüsü	88
3.19.	DPA' nin konsantrasyon artisi ile DPA baskili Au-Ag nanosensörün (Sensor Specificity-Adsorption Isotherm).floresans siddetindeki azalma	89
3.20.	SternVolmer grafigi	90
3.21.	Au-Ag nanosensörlerin Langmuir adsorpsiyon analizi	93
3.22.	Au-Ag nanosensörlerin Scatchard analizi	93
3.23.	Metakrilamidohistidin monomerinin molekül formülü	94
3.24.	MAH monomerinin ^{1}H-NMR spektrumu	95
3.25.	MAH-Pt(II) monomerinin FT-IR spektrumu	95
3.26.	MAH-Pt matriks 2,5-dihidroksibenzoik asit oldugunda MALDI-TOF-MS kütle spektrumu	97
3.27.	MAH-Pt matiks a-Cyano-4-hidroksicinnamic acid oldugunda MALDI-TOF-MS kütle spektrumu	98
3.28.	MAAP monomerinin FTIR spektrumu	99
3.29.	MAAP monomerinin ^{1}H-NMR spektrumu	100
3.30.	Metakroilamido antipirin MAAP-Fe(III) kompleksinin FTIR spektrumu	100
3.31.	QCM elektrotun altin yüzeyinin AFM görüntüsü	101
3.32.	Allil merkaptan ile modifiye edilmis QCM elektrotun altin yüzeyinin AFM görüntüsü	102
3.33.	Polimerlestirildikten sonra QCM elektrotun altin yüzeyinin AFM görüntüsü	102
3.34.	8-OHdG baskili ve baskisiz sensörün frekans degerleri	104
3.35.	8-OHdG baskili polimerin Scatchard egrisi	105
3.36.	8-OHdG baskili polimerin Langmuir egrisi	106
3.37.	8-OHdG sensör için kalibrasyon grafigi	108

ÇIZELGELER DIZINI

Sayfa

1.1.	Moleküler baskili polimer sentezinde kullanilan bazi fonksiyonel monomerler (Dmitrienko ve ark. 2004).	23
1.2.	Moleküler baskili polimer hazirlarken kullanilan baslica çapraz baglayicilar	25
1.3.	AT-kesimli (35° 10´) kuvars kristal rezonatörün sicaklik etkisiyle frekans kayma degerleri	34
3.1.	Spor konsantrasyonuna ($CFUml^{-1}$) karsi sensörün DPA konsantrasyonu olarak cevabi (mol L^{-1})	82
3.2.	DPA baskili nanokristallerin Langmuir ve Scatchard analizlerinin karsilastirilmasi	84
3.3.	Spor konsantrasyonuna (CFU ml^{-1}) karsi sensörün DPA konsantrasyonu olarak cevabi (mol L^{-1})	91
3.4.	DPA baskili nanokümelerin Langmuir ve Scatchard analizlerinin karsilastirilmasi	93
3.5.	8-OHdG baskili QCM sensörün Langmuir ve Scatchard analizlerinin karsilastirilmasi	106
3.6.	8-OHdG baskili polimerin seçiciligi	107

SIMGELER VE KISALTMALAR DIZINI

AIBN : 2,2'-azobisizobütironitril

DNA : Deoksiribonükleik asit

DPA : Dipikolinik asit

EDMA : Etilenglikoldimetakrilat

MAIDA : Metakriliminodiasetik asit

MAIDA-Cr(III) : Metakriliminodiasetik-Cr(III)

MAIDA-Cr(III)-DPA: Metakriliminodiasetik-Cr(III)-Dipikolinik asit

MAAP : Metakrilamidoantipirin

MAAP-Fe(III) : Metakrilamidoantipirin-Fe(III)

MAH : Metakrilamidohistidin

MAH-Pt(II) : Metakrilamidohistidin-Pt(II)

MAH-Pt(II)-MAAP-Fe(III)- 8-OHdG

:Metakrilamidohistidin-Pt(II) Metakrilamidoantipirin-Fe(III)
8 hidroksi 2 deoksiguanizin

MAC : Metakrilamidosistein

MIP : Molekül baskilanmis polimerler

N,N´-MBAA : N,N´-metilbisakrilamid

8-OHdG : 8 hidroksi 2 deoksiguanizin

QCM : Kuvars kristal mikroterazi

1. GIRIS

Bacillus anthracis sarbon hastaliginin etkenidir. *Bacillus anthracis* sporlari en olumsuz çevre kosullarindaki uzun ömürleri ve insanlar üzerindeki ölümcül etkilerinden dolayi biyolojik savas ajanlari olarak bilinirler. Son antrax saldirilari, bu biyolojik savas ajanlarina karsi doganin izlenmesi için ucuz, dogru, hizli ve saglam bir yönteme ihtiyaç oldugunun önemini göstermistir. *Bacillus anthracis'*in evrensel ve özel bir bileseni olan dipikolinik asit (DPA), kuru spor agirliginin 5-14 %' ünü olusturmaktadir. Dolayisiyla DPA'nin tespiti *Bacillus anthracis* sporlarinin dedekte edilmesinde anahtar rol üstlenmektedir.

Geçen yirmi yil içerisinde sensör teknolojisi alaninda oldukça fazla sayida çalisma gerçeklestirilmistir. Biyosensörler yüksek seçicilikleri ve spesifiklikleri nedeniyle oldukça ilgi çekmektedirler. Kimyasal sensörler, bir çok engel yapici türler varliginda hedef molekülün taninmasi imkanini saglayarak geleneksel teknolojilere alternatif olan kuvvetli ve ucuz bir yöntemdir. Yöntem bir çok farkli hedef türler için gelistirilmistir. Örnegin anestetikler, toksikler, sinir gazlari, çesitli metabolik moleküller (glukoz, üre, hormon, steroid), agir metaller ve iyonlar, proteinler ve mikroorganizmalar (bakteri, virüs, parazit) için gelistirilmis sensörler bulunmaktadir. Bununla birlikte biyosensörler kolay bozulan biyolojik tanima elementlerine (enzim veya antibadiler gibi) dayandigi için, kararliliklarinin az olmasi ve cihazlarin depolanmasi gibi sorunlar ortaya çikmistir. Bu nedenle de biyosensörler beklenen ticari basariya ulasamamistir.

Bir alternatif saglamak amaciyla ortaya çikan yeni bir teknoloji "Moleküler Baskilama" olarak adlandirilmistir. Bu teknikte seçici moleküler tanima özelliklerine sahip olan oldukça kararli sentetik polimerler hazirlanmaktadir. Hazirlanan bu polimer matrikslerindeki tanima yerleri, analitin fonksiyonel gruplarinin biçim ve konumlarini tamamlayici niteliktedir. Bu polimerlerin bazilari monoklanal antibadiler ve reseptörler gibi dogal tanima sistemleriyle karsilastirilabilir ölçüde yüksek seçicilik ve afiniteye sahiptirler, bu da onlari analitik kimya için oldukça uygun bir kimyasal sensör üyesi yapmaktadir. Sentetik reseptörler için kullanilan pek çok polimerin kaotik yapisi, heterojen gözenek büyüklügü dagilimi ve baglama bölgelerinin kati materyal boyunca bulunmasi genellikle kütle aktarimini yavaslatir. Her zaman problem olmamasina karsin

bu özellikler molekül baskilanmis polimerlerin genel uygulamalarda dogal reseptörlerin yerini almalarini önlerler. Bu problemi asmak için nanoyapilar devreye sokulmaya baslanmistir.

Nano boyutlu malzemeler, son yillarda boyutlarina bagli optik, elektriksel, fiziksel ve kimyasal özellikleri nedeniyle olduk büyük ilgi uyandirmaktadirlar (Hodak ve ark. 2000). Bu malzemeler gelecekte daha ucuz, küçük, hizli ve akilli olmasi beklenilen nanoelektronik cihazlar için potansiyel parçalar olarak dizayn edilmektedir (Rao ve ark 2001). Nanopartiküller, biyomedikal, optik ve elektronik alandaki genis uygulama alani nedeniyle ve yigin malzemeler ile atomik ya da molekülar yapilar arasinda bir köprü olduklari için çok büyük ilgi uyandirmaktadir.

MIP ve nanopartiküllerin kombinasyonu ile moleküllerin seçici tanimlanmasina yönelik literatürde çok az çalisma bulunmaktadir. (Diltemiz ve ark. 2008; Lin ve ark. 2004; Mattoussi ve ark. 2004). Diltemiz ve ark. (2008) yapmis olduklari çalismada DNA tayini için guanozin baskilanmis CdS-MIP nanopartikülleri sentezlemislerdir. Literatürde baskilanmis nanopartiküller ile DPA tayinine yönelik çalisma bulunmamaktadir.

Dipikolinik asitin tespiti, sarbon hastaliginin etkeni olan *bacillus anthracis* sporlarinin dedekte edilmesinde anahtar rol üstlenmektedir. Tezin ilk bölümünde moleküler baskilama temelli dipikolinik asit belleklere sahip nanosensörler gelistirilmistir.

Mitokondri, lökosit, peroksisom ve sitokrom p450 sistemleri reaktif oksijen türleri üretir. Normal fizyolojik kosullarda dis kaynakli oksidanlarla antioksidanlar arasindaki sözkonusu olan denge UV-isinlari, radyasyon ve çesitli kimyasallarla artan oksidan miktariyla oksidatif stres olarak anilan normal olmayan bir durumla karsilasilir. Bu durumda lipid, protein, nükleik asit ve DNA biyolojik molekülleri oksidatif zarar görür. Oksidatif zararin kanser, Alzheimer, Parkinson, Rheumatoid artiritis, Aatherosclerosis, Diabet, Down sendromu gibi önemli klinik hastaliklara neden oldugu önemli çalismalarda ortaya konulmustur. Bu yüzden, özellikle DNA'nin oksidatif zararin tanisi ve izlenmesi önemlidir. Oksidatif stresin belirlenmesi ve antioksidan girisinin saglanarak hastaliklara zamaninda müdahale büyük önem kazanmaktadir. Bu nedenle 8-hidroksi-2'-deoksiguanozinin (8-OHdG) basit ve dogru bir sekilde tayini insanligin ve ülkemizin ekonomik girdisi açisindan çok önem tasimaktadir. 8-OHdG

tayini sivi kromatografi ve elektrokromatografi yöntemleriyle gerçeklestirilmistir. Bununla birlikte tayini, ucuz ve kolay olarak yapabilecek çip ve sensör sistemleri bulunmamaktadir. 8-OHdG ilk defa 1984 yilinda Kasai ve Nishimura tarafindan oksidatif DNA hasarinin bir belirteci olarak tespit edilmistir (Yokus ve ark. 2002).

Moleküler baskilanmis polimer ile kuvartz kristal mikrobalans (QCM)'nin birlestirilmesiyle yapilan sensör dizayni ilk olarak Mosbach ve ark. (1997) tarafindan bildirilmistir. Bu tip QCM sensörleri altin elektrotlar üzerinde baskilanmis polimer tabakasi içerirler. QCM direkt moleküler tanima tayinlerinde oldukça kullanisli bir nicel tekniktir. QCM aparatlari elektrot üzerindeki kütle degisimine göre frekans degisimi gösterirler. Bu nedenle bu teknik moleküler baskili polimerle yapilan tanima islemini, sensör sinyaline dönüstürmek için oldukça uygundur. Baskilanmis polimerlerle birlestirilmis QCM sensörleri biyomimetik ve kimyasal alanlarda uygulanmaktadir.

Literatürde kuvartz kristal mikrobalans ile pek çok molekül için çalisma yapilmasina ragmen 8-OHdG tayinine yönelik çalisma bulunmamaktadir. Tezin bu ayaginda da moleküler baskilama temelli 8-OHdG belleklere sahip QCM elektrot üzerinde nanofilm gelistirilmistir.

1.1. *BACILLUS ANTHRACIS* INFEKSIYONU (SARBON)

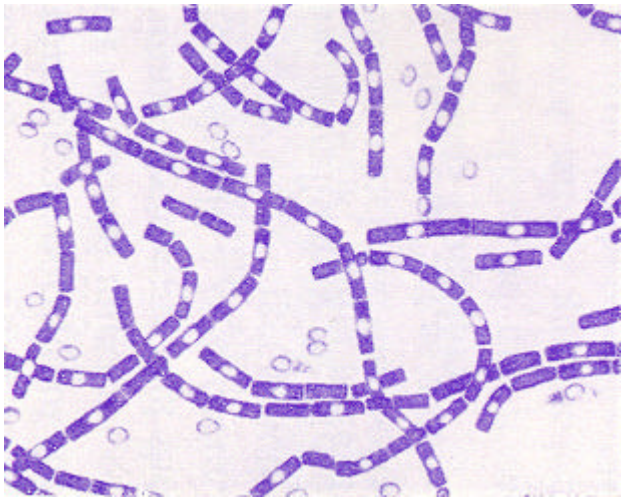
Bacillus anthracis sarbon hastaliginin etkenidir. Bu hastalik esas olarak ot yiyen hayvanlarin hastaligidir ve insanlara infekte hayvanlardan bulasan bir zoonozdur. Robert Koch (1876) hastaligin etkenini bulmus ve Pasteur (1881) ise bu hastaliga karsi ilk bakteriyel asiyi hazirlamistir. Insanlarda ve hayvanlarda bilinen en eski hastaliklardan biri olmasina karsin sarbon hala güncelligini korumaktadir.

1.1.1. Mikrobiyolojik özellikler

Bacillus anthracis, gram pozitif, aerop veya fakültatif anaerop, endospor olusturan 1,2-10µm uzunlugunda ve 0,5-2,5µ kalinliginda olabilen bir basildir. Vasattan yapilan preparatlarda, mikroskop altinda bakteriler genellikle zincir seklinde görülür. Kan, doku veya lezyon sivisindan yapilan preparatlarda ikili veya daha fazla bakteriden

olusan zincirler olusturur. *B.anthracis*'in vejetatif sekillerinin uçlari köseli sonlanir ve uzun basiller seklinde görülür. Her zaman bu görünüm bariz olmayabilir. Serbest oksijen varliginda, her bakteri elipsoid görünümünde bir spor olusturur. Spor genellikle bakterinin ortasinda, bazen de subterminal yerlesir ve spor bakteriyi sisirmez. Bakterinin spor formlari vejatatif formun aksine, isi, soguk, ultraviyole, kuruluk, yüksek ve düsük pH, kimyasal dezenfektanlar ve diger bakterilerin metabolik ürünlerine son derece dayaniklidirlar. *B.anthracis* sporlari 140 ºC'de 30 dakikada, 180 ºC'de 2 dakikada inaktivite olur. Pratikte kullanilan dezenfektanlara dirençlidir. Ancak yüksek konsantrasyonlarda formaldehid (%5 -10), gluteraldehit, hidrojen peroksit ve perasetik asit etkilidir.

B. anthracis, rutin laboratuarlarda kullanilan besi yerlerinde; kanli agar, nutrient agar gibi, 37 ºC de kolayca ürer. Izolasyon için uygun klinik örneklerin kanli besi yerlerine ekilmesi ve bir gece inkübasyonu yeterlidir. Klinik örnek disinda kalan materyaller; toprak, toz, kil gibi, *B. anthracis* izolasyonu amaciyla seçici besi yerlerine ekilmelidir. Bu amaçla "polymyxin-lizozyme-ETDA-thallousacetate (PLET)" besi yeri olarak kullanilir.



Sekil 1.1. ***Bacillus anthracis.***

B. anthracis, nutrient agar veya kanli agarda kolayca taninan koloniler olusturur. Kolonilerin görünümü *B. Cereus* kolonilerine benzer fakat daha küçük tür. Koloniler mat görünümünde, düz, yapiskan, kanli agarda beyaz veya gri-beyaz renkte ve kenarlarinda dalgali çikintilar olusturur. Hemoliz yapmazlar veya zayif hemoliz olustururlar.

B.anthracis hareketsizdir, penisilin ve gamma faja duyarlidir (Sekil 1.1). Süpheli kolonilerde yukaridaki özelliklerin bulunmasi, kanda veya bikarbonatli besi yerinde kapsul olusturmasinin gözlenmesi B.anthracis olarak izole edilmesi için yeterlidir.

1.1.2. Epidemiyoloji

Sarbon dünyada gittikçe azalan infeksiyon hastaliklarindan biridir. Henüz tamamen yok edilememistir. Dünyada halen her yil 20000 -100000 arasinda insan sarbonu görüldügü tahmin edilmektedir. Bati dünyasinda son 20 yil içinde sarbon oldukça azalmistir. Avrupa'da 1971 -1980 yillari arasinda toplam 10793 insan sarbonu bildirilmistir. Bu vakalarin %52'sinin Türkiye'den bildirildigi, %91'inin ise 6 Akdeniz ülkesinden (Türkiye, Ispanya, Yunanistan, Italya, Bulgaristan, Yugoslavya) bildirildigi belirtilmektedir. Sarbon hala bazi Latin Amerika, Afrika, ve Asya ülkelerinde endemik olarak görülmektedir. 1978-1980 yillari arasinda Zimbabwe'de büyük sarbon epidemisi yasandi. Bu epidemide 9711 insan sarbonu görüldü ve 151'i ölümle sonuçlandi.

Sarbon ülkemizde endemik bir hastaliktir. Görülme sikligi gittikçe azalmaktadir. Türkiye'de 1960-1969 yillari arasinda 10724 insan sarbonu, 1970-1979 yillari arasinda 5377, 1980-1989 yillari arasinda 4423 insan sarbonu bildirilmistir. 1990'li yillarda her yil bildirilen vaka sayisi 300 insan sarbonunun altina düsmüstür.

Infeksiyon insanlara infekte hayvanlardan direk yolla veya indirek yolla bulasir. Bulasma kaynaklarina göre infeksiyon; endüstriyel, tarimsal, laboratuar kaynakli olabilir. Endüstriyel kökenli sarbon *B. anthracis* sporlari ile bulasmis hayvansal ürünlerin; keçi kili, yün, deri, post ve kemik gibi, sanayide islenmesi esnasinda olusur. Sporlarin deriye bulasmasi ile deri sarbonu veya solunumu ile akciger sarbonu olusur. Gelismis ülkelerde bildirilen sarbon olgulari, genellikle infeksiyonun endemik bulundugu ülkelerden ithal edilen hayvansal ürünlerden kaynaklanmaktadir. Hayvansal ürünlere uygulanan dezenfektasyon islemleri ile enfeksiyon riski oldukça azalmistir. Ülkemizde endüstriyel kökenli sarbon olgusu bildirilmemistir. Enfeksiyonun endemik oldugu ülkemizde, endüstriyal kaynakli sarbon olgularinin görülmemesi düsünülemez. Bu olgularin rapor edilmedigi veya gözden kaçtigi düsünülmektedir.

Tarimsal kökenli sarbon, infekte hayvanlarla direk temas sonunda gelisir. Ölen hastalikli hayvanlarin kesilmesi, derisinin yüzülmesi, etinin kiyilmasi sonucu direk

temasla deri sarbunu veya infekte etlerin yenilmesi ile gastrointestinal sistem sarbonu gelisir. Ülkemizde görülen sarbon olgulari genellikle tarimsal kökenlidir. Hayvancilikla ugrasanlar, kasap ve veteriner hekimler sarbon yönünden risk gruplari olusturmaktadir.

Infeksiyon sineklerle de mekanik olarak bulasabilir. Zimbabwe'de 1979-1980 yillarinda çikan büyük epidemide ahir ve at sineklerinin de büyük rol oynadigi belirtilmektedir. Insandan insana bulasmasi çok nadirdir. Infekte yara ve akinti ile direk ve endirek temas sonucu infeksiyonun bulasma riski vardir.

Laboratuvarda bulasmasi nadirdir. Dikkatsizlik sonucu infeksiyon gelisebilir. Oldukça tehlikelidir. Nisan 1979'da Sverdlovsk (Rusya) sehrinde çikan 64 kisinin ölümü ile sonuçlanan, 96 kisiyi kapsayan sarbon salgininin, biyolojik silah etkeni olarak çalisilan bir laboratuarda kaza sonucu ortaya çiktigi tahmin edilmektedir. Bu tahmin Ruslar tarafindan dogrulanmamistir

Bu hastalik her yas ve cinste görülebilir. Tarim kesiminde çalisan orta yas grubu bu infeksiyona daha sik yakalanmaktadir. Sarbon, endemik ülkelerde her mevsimde görülebilir. Ülkemizde vaka sayisi yaz ve sonbaharda en fazla olmaktadir (Infeksiyon hastaliklari ve mikrobiyoloji kitabi Topçu A. W. 2002 2.cilt 2.baski).

1.1.3. Klinik belirtiler:

Inhalasyon (akciger) sarbonu: Hastalik grip benzeri bir tabloyla baslar. Ates, basagrisi, adale agrisi ve kuru öksürük görülür. Takiben 1-2 günlük kisa süreli bir iyilik hali sonrasi siddetli solunum yetmezligi gelisir. Akciger filminde mediastinal genisleme görülmesi karakteristiktir. Bu görüntü mediastinal lenfadenopati ve hemorajik mediastinite isaret eder. Hastaligin baslangicindan 2-3 gün sonra kan kültürlerinde bakteri saptanabilir. Erken dönemde antibiyotik tedavisi basarisi yüksektir. Ancak belirtiler bas gösterdikten sonra tedavi hastanin ölümünü engellemez. Hastalarin yaklasik yarisinda menenjit tablosu gelisir.

Deri sarbonu: En sik el, önkol ve basta rastlanir. Temas sonrasi deriden kabarik, kasintili ve kizarik lezyonlar gelisir. Takiben papül ve vezikül gelisimi gözlenir. 2-6 gün sonra siyah renkli kabuklu karakteristik lezyon ortaya çikar. Lezyon etrafinda ödem görülmesi karakteristiktir. Kabuklu lezyon 1-2 haftada kendiliginden iz birakamadan iyilesir. Agiz yoluyla alinan antibiyotiklere iyi yanit verir. Nadiren

bakteremi ve menenjit gelisir. Insanda vakalarin %95'i deriden çizik ve yaralardan sarbon sporlarinin girmesiyle olusan deri sarbonu biçimindedir. Günümüzde ülkemizde yilda yaklasik 100 civarinda deri sarbonu olgusuna rastlanmaktadir.

Gastrointestinal sarbon: Hastaligin en nadir formudur. Ciddi karin agrisi, kanli ishal ve bulanti-kusma ile karakterlidir. Siklikla bakteremiye yol açar ve ölümle sonuçlanir.

Bulasma: Sarbon sporlari dis ortama çok dayaniklidir. 1/10 oraninda sulandirilmis (evde kullanilan) sodyum hipoklorit suyu sporlarin çevreden temizlenmesi için en etkili ajandir. Insandan insana sarbon bulasmasi söz konusu degildir. Insanlarda sarbon, bakteri veya sporlarin alinma yoluna göre deri, inhalasyon ve mide-barsak (gastrointestinal) sarbonu biçiminde kendini gösterir.

Infekte edici doz: ID50 (sporlari soluyan kisilerin %50'sinin hastalanmasi için gereken doz) yaklasik olarak 10.000 spor olarak belirlenmistir.

Kuluçka dönemi: Deri yoluyla bulasma halinde 3-7 gün, solunum yoluyla bulasma halinde 1-6 gün, agiz yoluyla bulasma halinde 1-7 gün olarak saptanmistir. Muhtemelen alinan spor sayisiyla iliskili olarak solunum yolu sarbonunun, bulasmadan yaklasik 1,5 ay sonra bile ortaya çikabilecegi bilinmektedir

Tedavi:

Biyoterörist atak sonucu ortaya çikan sarbon tedavisine iliskin öneriler 26 Ekim 2001 tarihinde CDC (centers for disease control and prevention) tarafindan yeniden gözden geçirilerek yayinlanmistir (CDC. Update 2001). Etkin tedavi için hastaligin erken dönemde tedavisine baslamak son derecede önemlidir.

Klasik deri sarbonunda tedavi 7 gün süreyle 2 X 500 mg oral siprofloksasin ile yapilir. Tedavi süresi biyoterörizm sonucu ortaya çikan deri sarbonunda, hastanin aerosol halinde sarbon sporuna maruz kalma riskini de gözönünde bulundurarak iki ay olarak önerilmektedir (Inglesby ve ark. 1999, CDC. Update 2001, PHLS-CDSC 2001). Antibiyotik tedavisi deri sarbonunda lezyonun ilk 24 saatte steril hale gelmesini saglar, ancak tekrar gelismini engellemez.

Inhalasyon sarbonunda mortalitenin çok yüksek olmasi nedeniyle, insanlarda yapilmis kontrollü çalismalar olmamasina karsin, siprofloksasin veya doksisikline ek olarak bir veya iki ilacin tedaviye eklenmesi önerilmektedir. Halen ABD'de inhalasyon sarbonu nedeniyle tedavi altinda olan hastalarda kullanilan kombinasyonlar

siprofloksasin, rifampin ve vankomisin ile siprofloksasin, rifampin ve klindamisindir. Sefalosporinler ve trimethoprim-sulfametoksazol sarbon tedavisinde kullanilmamalidir.

Yaygin ödem, menenjit ve ciddi solunum sikintis olan hastalarda kortikosteroit uygulanabilir (Dixon ve ark.1999).

Korunma:

Temas sonrasi profilaksi de tedavi amaciyla kullanilan antibiyotiklerle yapilir. Ancak bu durumda antibiyotiklerin agiz yoluyla alinmasi yeterlidir. Eriskinlerde siprofloksasin 2 X 500 mg, alternatif olarak amoksisilin 3 X 500 mg veya doksisiklin 2 X 100 mg kullanilabilir. Profilaksi süresi 2 aydir. Çocuklarda ve hamilelerde doksisiklin önerilmemektedir. Immünsüpresif hastalarda uygulanacak tedavi biçimi diger hastalarda oldugu gibidir (Inglesby ve ark. 1999, PHLS-CDSC 2001, CDC. Update 2001) .

Sarbon asisi:

ABD'de insanlar için üretilen sarbon asisi (anthrax vaccine adsorbed, AVA) 1970 yilinda FDA tarafindan onaylanmistir. Bu asi 1999 yilindan itibaren Amerikan askerlerine rutin olarak uygulanmaktadir. Asi 0,2, 4. haftalarda takiben 6, 12 ve 18. aylarda toplam 6 doz uygulanir. Takiben her yil yeni bir doz rapel gerekir. Asi 18-65 yas arasindaki eriskinlerde kullanmak üzere ruhsatlanmistir. Asinin yaygin olarak toplumun tüm kesimlerine uygulanmasi henüz önerilmemektedir (Inglesby ve ark 1999, Freidlander ve ark. 1999).

1.1.4. Biyolojik silah amaciyla sarbon kullanimi:

Çok sayida mikroroganizma biyolojik silah amaciyla kullanilabilir. 1925 yilinda Cenevre Protokolü ile biyolojik ve kimyasal silah kullanimi tüm dünyada yasaklanmissa da, günümüzde en az 17 ülkenin elinde bu tür silahlarin oldugu ve zaman zaman kullanildigi da bilinmektedir (Christopher ve ark. 1997, Ruoff 1998). Sarbon (*Bacillus anthracis*) sporlari en olumsuz çevre kosullarindaki uzun ömürleri ve insanlar üzerindeki ölümcül etkilerinden dolayi biyolojik savas ajanlari olarak bilinirler. Sarbon sporlari kuruluga, isiya, UV isigina, gama isinlamasina ve çogu dezenfektana dirençlidir. Son günlerde basta Amerika Birlesik Devletleri (ABD)'nde olmak üzere çesitli ülkelerde biyoterorizm amaciyla kullanilmaktadir.

Sarbon sporlarinin büyük miktarlarda aerosol olarak kullanimi sonucu ölümcül akciger sarbonu tablosu ortaya çikar. Ancak sarbonu bu sekilde silah olarak hazirlamak için belli ölçüde teknolojiye gerek vardir. Hazirlanacak aerosol içinde partikül büyüklügünün 1-5 mikron boyutunda olmasi gereklidir (Inglesby ve ark 1999).

1.1.5. Biyolojik savasin tarihçesi:

Biyolojik savasin bilinen en eski örneklerini, düsmanlarin içme suyu elde etmek için kullandiklari kuyu ve rezervuarlarin insan ve hayvan ölüleri ile "kirletilmesi" teskil eder. 14. yüzyilda simdiki Ukrayna sinirlari içinde kalan Kaffa'yi kusatan Tatarlar, vebadan ölmüs insan cesetlerini mancinikla sehrin surlarindan içeri atarak salgin olusturmaya çalismislardi (Christopher ve ark. 1997). 18. yüzyilda Kuzey Amerika'daki Ingiliz kuvvetlerinin komutani olan Sir Jeffrey Amherst, çiçek virüsü ile kontamine olmus battaniyeleri kizilderililere vererek çiçek salginina neden olmustu (Poupard ve ark. 1992).

2. Dünya Savasi sirasinda 1939-1942 yillari arasinda Japon kuvvetleri Mançurya'da sarbon, veba, çiçek, tularemi, ruam, kolera, kizil, menenjit, tüberküloz, salmonellozis, tetatnus, hemorajik ates ve difteri gibi çesitli infeksiyon hastaliklarini esirler üzerinde deneyip, çok sayida ölüme neden olmuslardi (Harris 1992). Ayni yillarda Ingilizler Iskoçya açiklarindaki Gruinard adasinda sarbonla çok sayida deneme yapmislar ve ada topraklarinin takibeden 36 yil boyunca sarbon sporlari ile kontamine kalmasina neden olmuslardi. Adanin dekontamine edilmesine 1979 yilinda baslanmis ve 280 ton formaldehit kullanildiktan sonra ancak 1987 yilinda tam anlamiyla temizlenebilmisti (Manchee ve ark. 1998).

1950'li yillarin basinda Amerikan ordusu biyolojik bir silahi taklit amaciyla San Fransisco kentine *Serratia marcescens* isimli bir bakteriyi yaydi. Normalde bu bakterinin solunum yoluyla bulasarak hastalik yapmasi söz konusu degildi. Bu denemenin amaci gerçek bir biyolojik silahin kullanilmasi halinde meteorolojik kosullarin etkisini arastirmakti. Bu deneme 1970 yilinda The Washington Post gazetesi tarafindan yayinlanincaya kadar halktan gizlendi. Ordunun yaptigi denemeden hemen sonra sehirdeki Stanfor Üniversitesi hastanesinde *S. marcescens*'e bagli bir nozokomiyal üriner sistem infeksiyonu salgini oldu ve bir hasta endokardit nedeniyle

yasamini yitirdi. Salginin ordunun yaptigi denemeyle olan ilgisi hala bilinmemektedir (Christopher ve ark. 1997, Ruoff 1998).

1972 yilinda 100'den fazla ülkenin katilimi ile imzalanan "Bakteriyolojik ve Toksin Silahlarinin Gelistirilmesi, Üretimi ve Depolanmasi ve Imhasi"na dair anlasma yürürlüge girdi. Buna karsin basta eski Sovyetler Birligi olmak üzere bu silahlarin üretimi günümüze kadar süregeldi. Sovyet Savunma Bakanligina bagli bir kurulus olan "Biopreparat"in biyolojik silah üretimi amaciyla 1980-1990 yillari arasinda 55.000 bilim adami ve teknisyeni istihdam ettigi bilinmekteydi. Bu kisilerin bugünkü Rusya sinirlari içinde yasadiklari bilinmektedir (Christopher ve ark. 1997, Ruoff 1998). 1979 yilinda, simdiye dek biline en büyük akciger (inhalasyon) sarbonu salgini eski Sovyetler Birligi sinirlari içindeki Sverdlovsk sehrinde saptandi (Meselson ve ark. 1994). Devlete ait bir biyolojik silah fabrikasinin filtresindeki bir bozukluk nedeniyle havaya karisan sarbon sporlari 79 kiside hastaligin ortaya çikmasina ve bunlarin en az 68'nin ölümüne neden oldu. Gerçek hasta ve ölüm sayisinin resmi olarak açiklanan bu sayidan çok daha yüksek oldugu da iddia edildi.

Tokyo'da 1995 yilinda bir metro istasyonuna sarin gazi ile saldiri düzenleyerek çok sayida kisinin ölümüne neden olan terörist örgüt Aum Shinrikyo'nun, ayni sehirde en az 8 defa sarbon ve botulismus ile saldiri düzenledigi ancak bilinmeyen nedenlerle basarili olamadigi saptandi (WuDunn ve ark. 1998).

1970 yilinda Dünya Saglik Örgütü'nün bir uzmanlar kurulunun yaptigi tahmine göre, 5 milyon nüfusa sahip bir sehir üzerine uçakla 50 kg sarbon basili aerosol halinde atildigi takdirde 250.000 kiside sarbon görülecegi ve bunlardan 100.000 kisinin tedavisiz birakildigi takdirde ölecegi hesaplandi. ABD'deki Hastalik Kontrol ve Önleme Merkezleri'inin (CDC) tahminine göre hastalikla temas eden 100.000 kisi için toplam maliyet 26.2 milyar USD olacakti (Inglesby ve ark. 1999).

11 Eylül 2001 tarihinde ABD'nin çesitli sehirlerindeki terörist saldirilar sonrasi degisik kuruluslara gönderileren mektuplar içinde toz halinde sarbon sporlari saptanmis ve 24 Ekim itibariyle yedisi inhalasyon, kalani deri sarbonu olmak üzere toplam 15 kiside hastalik tespit edilmistir. Bu tarih itibariyle ABD disinda simdiye kadar sarbona yaklanan kisi bildirilmemistir.

Son antrax saldirilari, bu biyolojik savas ajanlarina karsi doganin izlenmesi için ucuz, dogru, hizli ve saglam bir yönteme ihtiyaç oldugunun önemini göstermistir. B.

anthracis sporlarinin tespiti, dogada birbirine yakin birkaç Bacillus türü oldugu için çok zahmetlidir. Nükleik asit bazli tespit sistemleri ve hizli bagisiklik analizinin dahil oldugu geleneksel mikrobiyolojik metotlar 2001 den beri B. Anthracis sporlarinin tespiti için gelistirilmektedir (Ivnitski ve ark. 2003, Peruski ve ark. 2003). Ancak bu teshis prosedürleri hem tamamlanmasi genellikle 24-48 saat sürmekte hem de basarisiz duyarlilikla sonuçlanmaktadir. Ilaveten dogada bulunan diger bacillus türleri ile karsi karsiya geldiginde, pozitif ve negatif tespit hatalarina sebebiyet verebilmektedir (Papaparaskevas ve ark. 2004). Diger elenen metotlar ya oldukça pahali ya da alan uygulamasi için oldukça yavastir (Kaplan ve ark. 2003). Biyoterorizme karsi korunmak için gerekli olan tehdit ajanlarina karsi çevre sürekli izlenirken, immunoassay ve biyosensor bazli tespit sistemleri bugün için en iyi ihtimaldir, çünkü bu sistemler yalnizca basit bir sensör platformuna ve pathogen için seçici, özel ve kararli bir diagnostic probe ihtiyaç duyarlar (Wan ve ark. 2007).

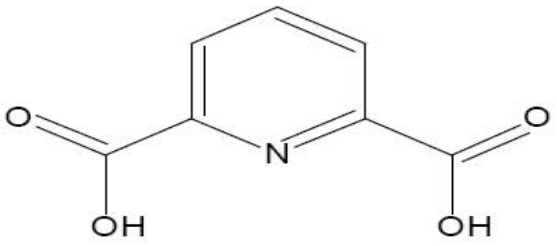


Sekil 1.2. ***Bacillus anthracis.***

1.1.6. Dipikolinik Asit

Bakteriyal endosporlarin tespiti için kimyasal teknikler genellikle dipikolinik asit'in (DPA, 2,6 piridin dikarboksilik asit) saptanmasina dayanir. Bacillus anthracis evrensel ve özel bir bileseni olan DPA (Powell 1953), kuru spor agirliginin 5-14%' ünü olusturmaktadir (Murrell ve Warth 1965, Murrell 1969). Dolayisiyla dipikolinik asitin tespiti Bacillus anthracis sporlarinin dedekte edilmesinde anahtar rol üstlenmektedir.

Dipikolinik asit (DPA olarak kisaltilan 2,6 piridindikarboksilik asit yada $C_5H_3N(COOH)_2$ spor çekirdeginde lokalize olmustur ve katyonlarla selat seklinde bulunmaktadir (Setlow ve ark. 1969). DPA' nin spor ceketinin yirtilmasiyla, spor çekirdeginden serbest kaldigi düsünülür (Sekil 1.3). Biyolojik sistemlerde ilk kez 1936 yilinda kesfedilmis (Udo 1936) olan dipikolinik asitin simdi bacillus anthracis'in (Sekil 1.2) baslica bileseni oldugu bilinmektedir (Edgecombe ve ark. 1994).



Molecular Formula: $C_7H_5NO_4$

Molecular Weight: 167.12

Sekil 1.3. Dipikolinik Asit

DPA 'nin dogru ve kesin ölçümüne yönelik daha farkli analiz yöntemleri de denenmistir. Zhou ve ark. (2004) dipikolinik asit için potansiyometrik sensör gelistirmislerdir. Moring ve ark. (2002) dipikolinik asit için moleküler baskilama temelli polimer sensör hazirlamislardir. Farquharson ve ark. (2003) Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) yöntemi ile DPA tespiti için yöntem gelistirmislerdir. Fichtel ve ark. (2007) nanomolar seviyedeki dipikolinik asit tespiti için yüksek duyarlikta HPLC yöntemi gelistirmislerdir. He ve ark.(2003) kapiler zone elektroforez yöntemiyle

dipikolinik asit tespit eden bir yöntem gelistirmislerdir. Guingab ve ark. (2007) Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) yöntemiyle dipikolinik asit tespiti için yöntem gelistirmislerdir.

1.2. 8-OHdG (8-hidroksi-2'-deoxyguanozin)

Hücreler, metabolik prosesin bir parçasi olarak sürekli serbest radikaller ve süperoksit anyon, peroksil, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri gibi reaktif oksijen türleri (ROS) üretirler. Bu serbest radikaller katalaz, süperoksitdismutaz, gluthation peroksidaz gibi enzimler ve Vitamin A, E ve C gibi nonenzimatik oksidanlardan olusan bir antioksidant savunma sistemi ile nötralize edilirler. Eger serbest radikaller bu savunma sisteminin yeterli kalamayacagi sekilde artarsa lipidler, proteinler ve DNA gibi biyolojik makromoleküller üzerine saldirip bu hücresel bilesenler üzerinde degisiklikler olusturarak hücre hasarina neden olurlar (Maria ve ark. 2003). Bu sekilde, oksidan olusumu andioksidan savunma arasindaki dengenin oksidanlar yönüne bozulmasi vücutta " Oksidatif Stres" olarak adlandirilan duruma yol açar (Atalay ve ark. 2002).

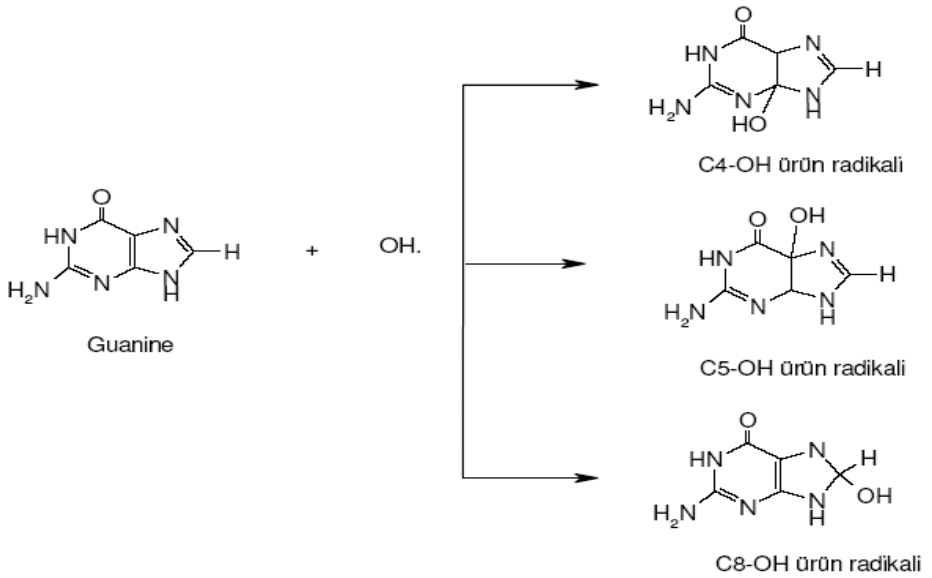
DNA' da ROS tarafindan olusan oksidatif hasar yaslanma, kanser, kardiyovasküler hastaliklar, diabet, immun sistem hastaliklari, dejeneratif hastaliklar gibi doku fonksiyonlarinin bozulmasi ile ortaya çikan hastaliklarin baslica nedeni ve göstergesi olarak görülmektedir. (Farinati ve ark. 1998, Halliwell ve ark. 1996)

2'-deoxyguanosin(dG)'in oksidatif ürünü olan 8-OHdG, ROS'un DNA'da yaptigi yaklasik 23 tane baz hasar ürününden en önemlisi ve biyolojik sistemlerdeki oksidatif DNA hasarinda mutajenitesi en iyi bilinenidir. 8-OHdG ilk defa 1984 yilinda Kasai ve Nishimura tarafindan oksidatif DNA hasarinin bir belirteci olarak tespit edilmistir (Yokus ve ark. 2002)

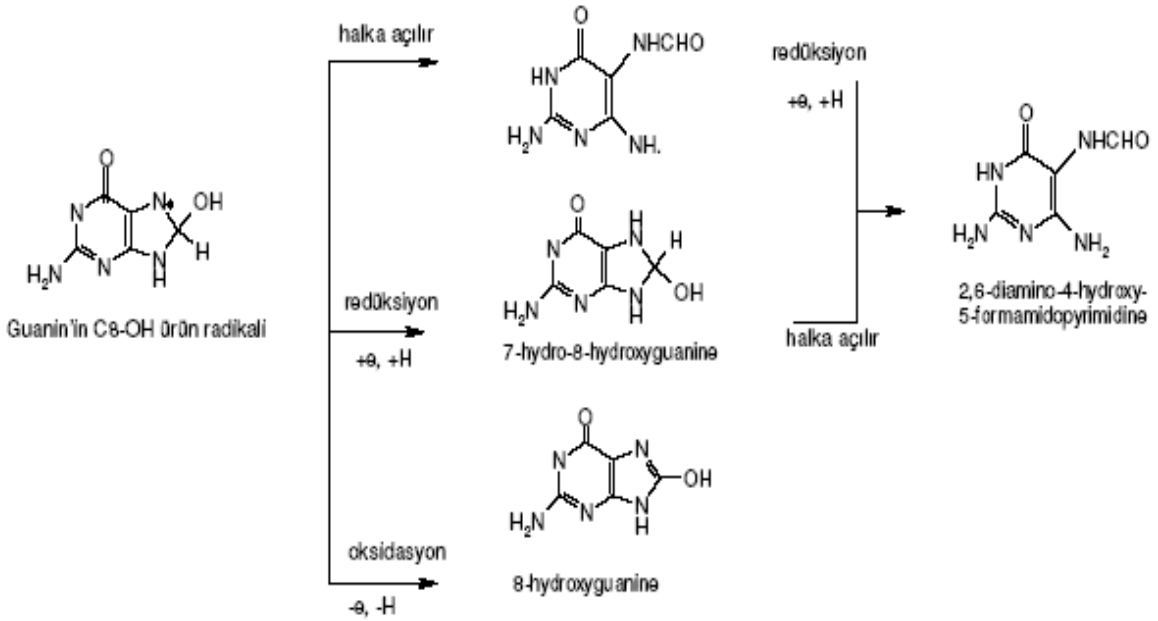
DNA'yi olusturan nükleik asit bazlari arasinda oksidatif hasara en hassas olan Guanin'dir (Chiou ve ark. 2003). Bu nedenle reaktif oksijen türlerinin (ROS) baslica hedefi konumundadir. DNA replikasyonu sirasinda GC'den AT'ye dönüsüme neden olarak mutasyona egilimi arttirir. Bu nedenle 8-OHdG'nin ölçümü DNA'daki oksidatif hasarin dogrudan göstergesi olarak kabul edilmekte ve oksidatif DNA hasarini belirlemede en sik kullanilan yöntem olarak uygulanmaktadir.

Sekil 1.4’de görülecegi gibi, vücutta normal oksidatif metabolizma sirasinda üretilen reaktif oksijen türlerinden. OH radikali, guaninin 4,5 ve 8. pozisyonlarindaki karbon atomlari ile reaksiyona girer ve DNA ürün radikallerinin olusmasina neden olurlar.

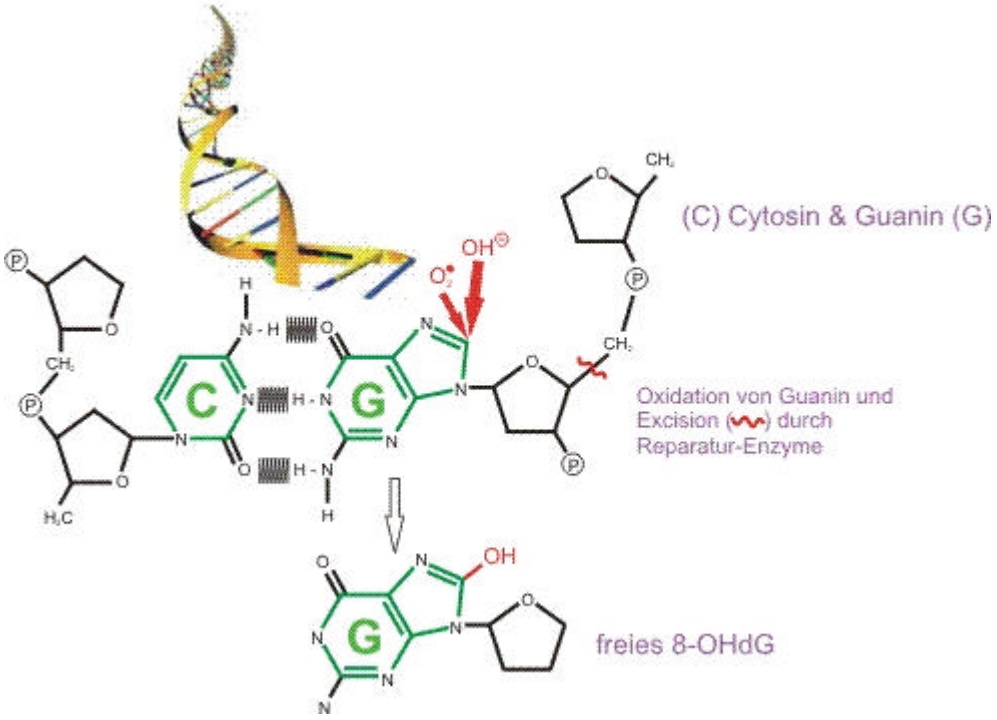
DNA ürün radikalleri son ürün olusturmak için farkli mekanizmalarla daha fazla reaksiyon verirler (Sekil 1.5). Sekil 1.6’ da DNA sarmali üzerinde guanin’ in 8-OhdG’ ye dönüsümü görülmektedir.



Sekil 1.4. Hidroksil radikali ile guanin bazinin reaksiyonu (Yokus ve ark.2002)



Sekil 1.5. C8-OH ürün radikalinden, guanin son ürünlerinin olusum mekanizmasi (Yokus ve ark.2002)



Sekil 1.6. DNA sarmali üzerinde 8-OHdG'nin olusumu nun gösterimi

8-OHdG, 8-Hidroksiguanin(8-OHGua)'in deoksiriboza baglanmis hali olan bir modifiye nükleosit olup ekzonükleazlar olarak adlandirilan enzimlerin oksidatif hasara ugramis, DNA'yi onardiklarinda ekstrakte edilen bir baz modifikasyonudur. 8-OHdG normal oksidatif metabolizma sirasinda üretilen ve reaktif oksijen türlerinden kaynaklanan, DNA'da sekillenen bir mutajendir (Yokus ve ark. 2002).

Giderek artan sayida deneysel ve klinik arastirmada 8OHdG'nin kanserde arttigini göstermektedir. Böbrek kanseri (Yamaguchi ve ark. 1996), akciger kanseri (Ichinose ve ark. 1997), mide kanseri (Farrinati ve ark. 1998), karaciger kanseri (Faux ve ark. 1992), gibi kanserlerde ve siroz (Denda ve ark. 1996), kronik hepatit (Shimoda ve ark. 1994), sistematik lupus eritematozus (Lunec ve ark. 1994), Alzheimer hastaligi (Mecocci ve ark. 1998) gibi hastaliklarda 8-OHdG düzeyi yüksek bulunmustur.

Oksidatif DNA hasari çesitli yöntemlerle tespit edilebilmektedir. Elektrokimyasal detektörlü yüksek basinç sivi kromatografisi (HPLC-EC) (Shigenaga ve ark. 1994, Andican ve ark. 2000), sivi kromatografisi kütle spektrofotometrisi (LC-MS), gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) (Dizdaroglu ve ark. 1991) bu teknikler arasinda yer almaktadir.

Uygulanan bu teknikler arasinda GC-MS'in in vitro ya da in vivo hasara ugramis DNA'da ve direkt olarak kromatinin kendisinde, 4 bazda da olusan hasar ürünlerinin genis bir bant seklinde belirlenmesine olanak saglayan oldukça önemli ve avantajli bir yöntemdir. GC-MS'in dezavantaji ise türevlendirme islemi esnasinda Guanin'inde aralarinda bulundugu bazlarin bir bölümünde yapay oksidasyonlarin olusmasidir (Yokus ve ark. 2002).

GC-MS ve LC-MS ile 8-OHdG ölçümünün karsilastirilmasinda GC-MS'in daha hassas oldugu belirtilmistir (Rodriguez ve ark.2000).

8-OHdG'nin dogru ve kesin ölçümüne yönelik daha farkli analiz yöntemleri de denenmistir. DNA hasar ürünlerinin spesifik türlerinin kantitatif analizi için immunoassay yöntemler gelistirilmistir. Immunohistokimyasal yöntemin sinirli bilgi verdigi belirtilmistir. Bu yöntemde 8-OHdG boyanmasi, monoklonal antikorlar kullanilarak yapilir ve 8-OHdG düzeyi boyamanin yogunluguna bagli olarak degerlendirilir, ancak hasarin kantitatif düzeyini göstermez (Yokus ve ark. 2002). Poliklonal ve monoklonal antikorlari içeren benzer bir yaklasim olan immunoafinite yöntemi 1991'de Degan tarafindan gelistirilmistir. Bu yöntem ile üriner 8-OHdG ölçümünde, kolonda bulunan poliklonal antikorlarin yüksek seçiciligi sayesinde, kati faz ekstraksiyonu sirasinda gözlenebilen üriner kontaminantlarin etkisinin azaldigi belirtilmistir (Degan ve ark. 1991).

1.3. Moleküler Baskilanmis Polimerler (MIP)

Moleküler etkilesim kavrami oldukça eski bir kavram olup ilk kez 1894'de Fischer'in enzim-substrat etkilesimini ortaya koyan ünlü "anahtar-kilit" modelini ortaya atmasiyla birlikte konuyla ilgili modern fikirler ortaya çikmaya baslamistir. Bu tanima göre enzim molekülünün yüzeyinde substrat molekülünün seklini tamamlayan ve bu sekle uygun yapilar bulunmaktadir. Böylece substrat bir anahtar gibi enzimin aktif bölgeleriyle etkilesir. Moleküler etkilesim kavraminin en yeni ve büyük çapta ilgi gören uygulamalarindan biride moleküler baskilama yöntemidir. Moleküler baskilama (bellekleme) yöntemi farkli matrikslerden iyonlar, organik molekülller ve biyomoleküllerin seçiciligi yüksek olarak ayrilmasi için akilli polimer elde edilmesi ve

bunun farkli uygulamalarda kullanilmasini yayginlastiran yeni bir malzeme gelistirme yöntemidir.

Moleküler baskilamada, hedef molekül çevresi ile etkilesen bir kalip olarak davranir, çapraz bagli monomerler hedef molekül çevresinde düzenlenir ve kalip benzeri bir tabaka olusturmak üzere birlikte polimerlesirler. Temel olarak monomerler kovalent veya non-kovalent etkilesimler yoluyla yuva molekül ile bir kompleks olusturur. Polimerizasyondan sonra yuva molekül uzaklastirilir ve baglanma bölgeleri yuva moleküle büyüklük, sekil ve fonksiyonel gruplarin yerlesimi olarak tamamlayicidir. Böylece esas olarak yuva molekülü seçici olarak tekrar baglayabilen polimer üzerine bir moleküler 'bellek' baskilanmistir. Moleküler baskilanmis polimerler biyolojik reseptörlerin en önemli iki özelligine yani tanima yetenegi ve spesifik hedef molekülleri baglama yetenegine sahiptirler. Fakat moleküler baskilanmis polimerler biyolojik reseptörlerden su açilardan farklidirlar.

- Moleküler baskilanmis polimerler çok büyük, kati ve çözünmezdirler.
- Buna karsin bunlarin dogal karsiliklari olan biyolojik reseptörler daha küçük, esnek ve çogu durumlarda çözünürdürler.
- Büyüklüklerine bagli olarak moleküler baskilanmis polimerler binlerce veya milyonlarca baglanma bölgesine sahiptirler.
- Buna karsin biyolojik reseptörler çok az veya sadece bir tane baglanma bölgesine sahiptirler.
- Ilave olarak moleküler baskilanmis polimerlerdeki baglama bölgelerinin popülasyonu heterojendir.

Ayrica baskilama için kullanilan pek çok polimerin karmasik yapisi, heterojen gözenek büyüklügü dagilimi ve baglama bölgelerinin kati materyal boyunca bulunmasi genellikle kütle aktarimini yavaslatir. Her zaman problem olmamasina karsin bu özellikler moleküler baskilanmis polimerlerin genel uygulamalarda dogal reseptörlerin yerini almalarini önlerler.

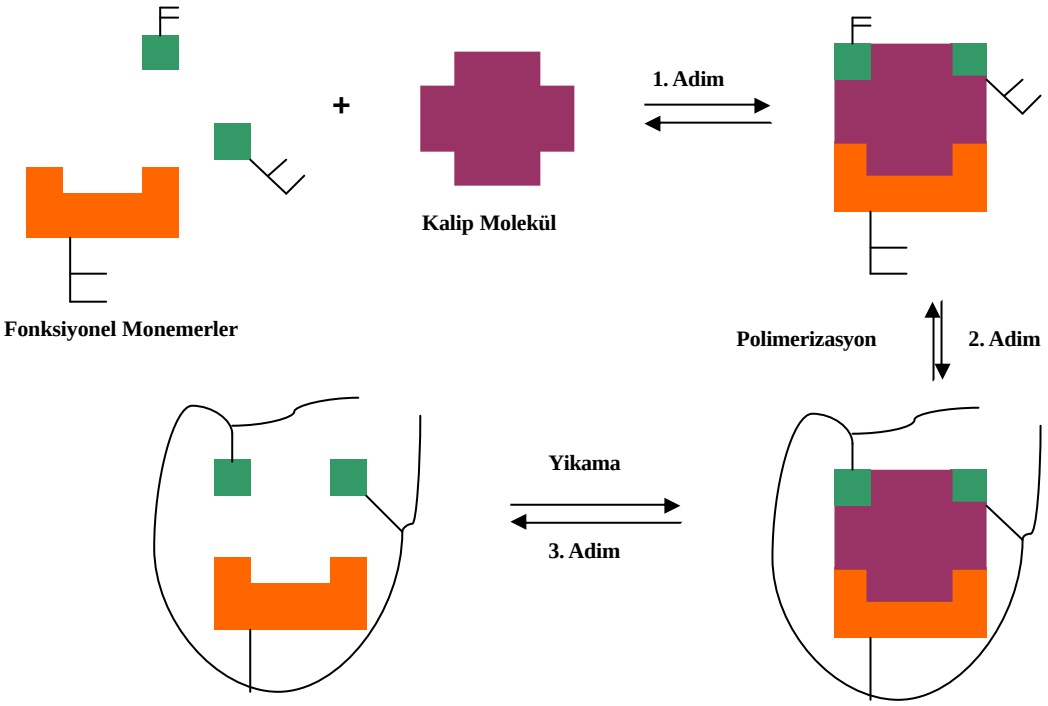
Moleküler baskilanmis polimerler yüksek mekanik dayanikliliklari, isiya ve basinca olan dirençleri, fiziksel saglamliklari, asitler, bazlar metal iyonlari ve organik çözücüler gibi zorlayici sartlarin varliginda yüksek kararliliklari sebebiyle oldukça

dayaniklidirlar. Birkaç yil boyunca performansinda degisim olmaksizin saklanabilir. Ayrica MIP'ler yapay afinite ortami olarak düsünülebilirler.

1.3.1. Moleküler baskilanmis polimer hazirlama teknikleri

Moleküler baskilanmis polimer hazirlama yöntemi genellikle üç basamaktan olusur:

1- Fonksiyonel monomerler ve kalip molekül arasinda bir baglanma gerçeklestirilir.
2- Çapraz baglayici ajanlarla olusturulan fonksiyonel monomer-kalip kompleksi polimerlestirilir.
3- Uygun bir yikama ajani ile kalip molekülün polimerden uzaklastirilmasi saglanir.
Sekil 1.7'de MIP hazirlama asamalari gösterilmistir.

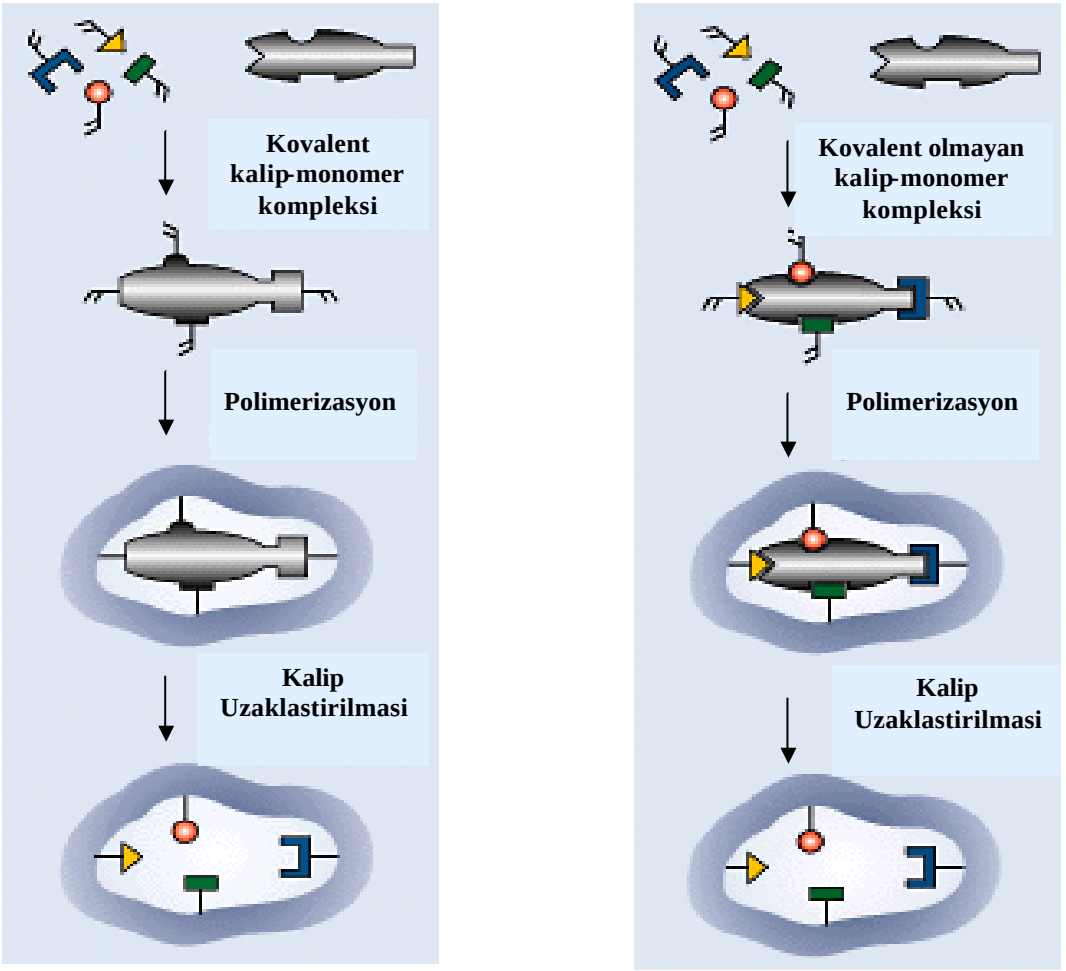


Sekil 1.7. Moleküler baskili polimer hazirlama asamalari

Moleküler baskili polimerleri hazirlamak için kalip molekül ve fonksiyonel monomerler arasindaki etkilesime göre iki farkli yaklasim kullanilir. Bunlardan biri Wulff ve ark. (1977) tarafindan gelistirilen ön-organizasyon yöntemidir. Bu yöntemde

kalip molekül ve fonksiyonel monomerler birbirlerine kovalent baglanma ile baglanirlar ve polimerizasyon boyunca bu kompleks yapi kararliligini korur (Sekil 1.8a).

Diger yaklasim Mosbach ve ark. (1981) tarafindan gelistirilmis olan kovalent baglanma yerine kalip molekül ve fonksiyonel monomerler arasinda hidrojen baglari, hidrofobik etkilesimler, van der Waals etkilesimleri ve iyonik gruplar arasinda gerçeklesen Coulomb etkilesimleri gibi etkilesimleri içine alan kovalent olmayan yaklasimdir (Sekil 1.8b) (Vlatakis ve ark. 1993).

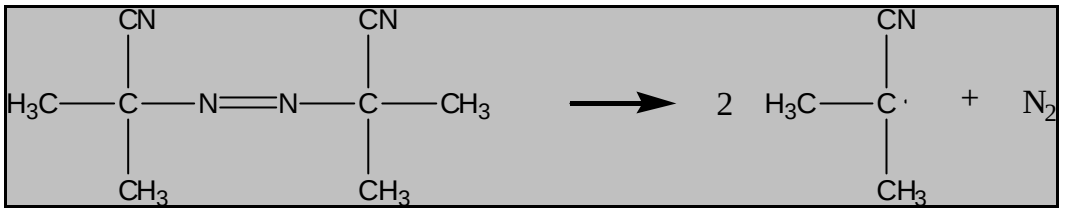


(a) (b)

Sekil 1.8. (a) Kovalent ve (b) kovalent olmayan moleküler baskilama yönteminin sematik görünümü

Serbest radikal polimerizasyonu, çok yönlü uygulamalari ve deneysel kolayliginin yaninda ekonomik bir yöntem oldugu için MIP'lerin hazirlanmasinda en çok kullanilan tekniktir. Günümüzde endüstride en çok bu teknik tercih edilir

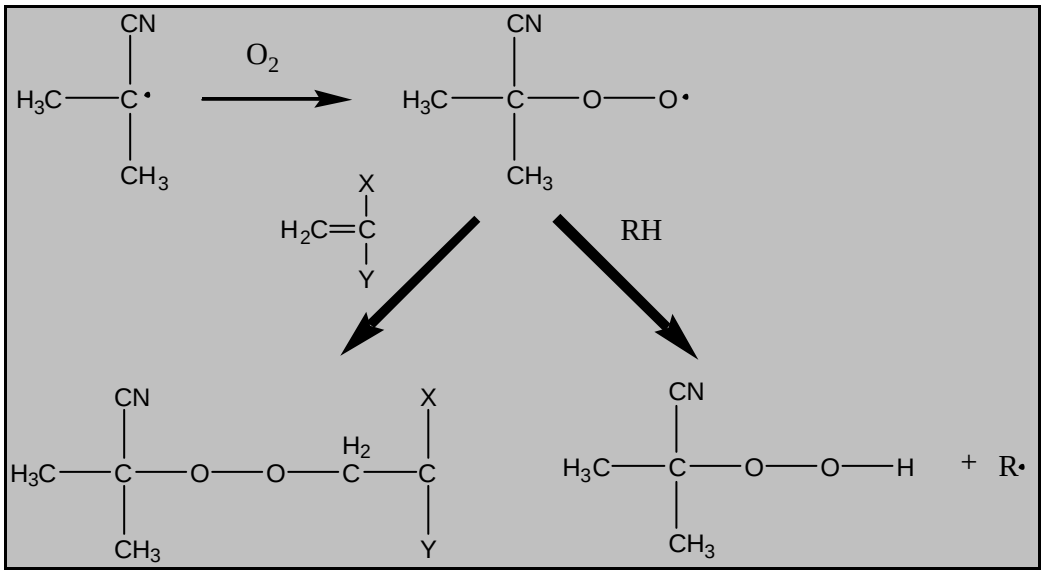
(Komiyama ve ark. 2002). Polimerizasyon 2,2'-azobis(izobutironitril) (AIBN) gibi bir radikal baslaticinin termal bozulmasiyla baslatilabilir (Sekil 1.9).



Sekil 1.9. AIBN'in termal bozunma reaksiyonu

Serbest radikaller elde etmenin bir diger yolu da foto baslaticilar kullanmaktir. Özellikle yüksek sicakliklarda kalip ve fonksiyonel monomerler arasinda kararsiz non-kovalent baglanmalar olmasi durumunda kullanilirlar. Fotokimyasal polimerizasyon baslaticilarinin kullanildigi polimerizasyon islemlerinde, polimerizasyon UV isiginin yogunluguna, isik kaynagindan uzakliga ve radikal ürünün içine ulastigi mesafeye baglidir.

Serbest radikal polimerizasyonunda oksijenin ortamdan uzaklastirilmasi son derece önemlidir. Çünkü oksijen serbest radikale peroksi radikal formunda baglanir. Bunun sonucunda da ya bu peroksi radikal baslatici bir baska baslatici molekülü ile etkilesir ya da ortamda bulunan polimer, monomer ve diger bilesenlerle reaksiyona girer (Sekil 1.10). Ortamdaki oksijeni uzaklastirmak için azot veya argon gazi kullanilabilir.



Sekil 1.10. Radikal polimerizasyonunda oksijen ile baslatici radikal reaksiyonlari

Bu zamana kadar yapilan pek çok moleküler baskilanmis polimer çalismasi radikal polimerizasyonu ile hazirlanan organik polimerleri açiklamaya yöneliktir.

Organik polimerlerin hazirlanmasinda kullanilan monomerler:

- Bazik (vinilpiridin)
- Asidik gruplar (metakrilik asit)
- Yüklü gruplar (3-akrilamidopropiltrimetilamonyum klorür)
- Hidrofobik (sitiren)
- Hidrojen bagi gösteren (akrilamit) vb sayilabilir.

Moleküler baskilanmis polimer hazirlamak için kullanilan yöntemlerin baslicalari:

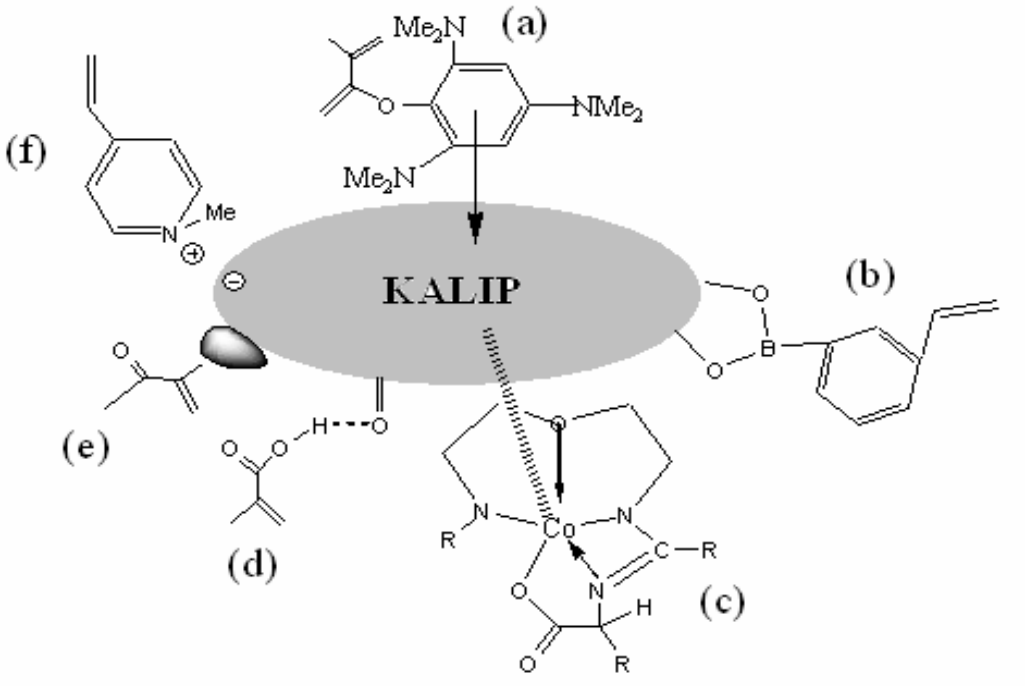
- Yigin polimerizasyonu
- Süspansiyon polimerizasyonu
- Kimyasal grafting
- Yumusak litografi
- Moleküllerin kendilerini yönlendirmesi yaklasimi
- Elektropolimerizasyondur.

1.3.2. Farkli MIP hazirlama yöntemlerinin avantaj ve dezavantajlari

Kovalent ve kovalent olayan baskilama yöntemlerinin her ikiside avantaj ve dezavantajlara sahiptir (Haupt ve ark. 2002). Günümüzde pek çok arastirmaci baskilanmis polimer hazirlamak için kovalent olmayan yaklasimi kullanmaktadir (Kriz ve ark. 1997; Zhong ve ark. 2001). Kovalent olmayan yaklasim polimerizasyon öncesinde non-kovalent etkilesimlerle kalip molekül etrafinda fonksiyonel monomerlerin düzenlenmesine imkan tanidigindan basit ve sorunsuzdur. Kalip molekülün kovalent modifikasyonuna gerek yoktur ve kalip-monomer kompleksi olusturmak için farkli baglanma etkilesimleri kullanilabilir. Kovalent olmayan baglanma kinetigi kovalent baglanmayla kiyaslandiginda enzim-substrat baglanmalarina benzer (Sellergren 1988). Baskilanmis polimerler, kalip molekülün yapisi ve reaktivitesi hakkinda spesifik bilgi gerektirmeksizin hazirlanabilir. Bununla birlikte kovalent olmayan baskilamada kalip molekül ve fonksiyonel monomerler arasindaki etkilesimler

spesifik degildir. Kovalent olmayan polimerlerde baglanma bölgelerinin dagilimi heterojendir ve bu da non-spesifik baglanmalara ve kalip molekülün zayif moleküler taninmasina neden olur (Katz ve Davis 1999; Dong ve ark. 2002). Eger hazirlanan polimer kromatografi çalismalarinda kullanilacaksa pik genislemesi meydana gelebilir (Malik ve ark. 1994; Yoshizako ve ark. 1998).

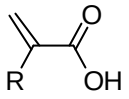
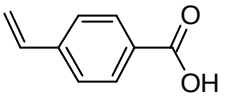
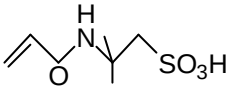
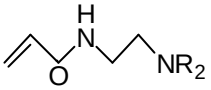
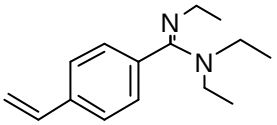
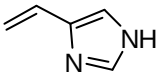
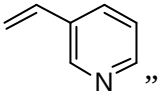
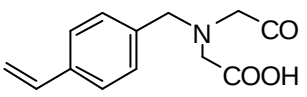
Kovalent yaklasimda baskilama islemi öncesinde kararli kalip-monomer kompleksi olusturuldugu için baglanma bölgelerinin homojen dagilimi saglanir (Ikegami ve ark. (2004). Bununla birlikte dezavantajlarinin çoklugu nedeniyle kovalent yaklasimin kullanimi daha sinirlidir. Kovalent yaklasimda polimer ag örgüsü içindeki monomer-kalip molekül arasindaki kovalent baglari kirip kalibin polimerden uzaklastirilmasi islemi oldukça zordur (Kriz ve ark. 1997; Sellergren 1988). Ayrica polimeri kullanarak kalip tanima basamaginda kalip ile polimer arasinda kovalent bag olusumu genellikle yavas bir basamakta gerçeklestigi için ve kromatografik ayirmalarda polimer sabit fazi ve analit arasinda hizli bir etkilesim gerçeklestiginden zayif kromatografik sonuçlar elde edilir (Steinke ve ark. 1995; Caro ve ark. 2002). MIP hazirlama yönteminde kullanilan farkli kalip-monomer etkilesimleri sekil 1.11'da görülmektedir.



Sekil 1.11. Moleküler baskilanmis polimerlerde kalip-fonksiyonel monomer etkilesimleri: (a) p-p etkilesimi, (b) kovalent etkilesim, (c) metal-ligand etkilesimi, (d) hidrojen bagi ile etkilesim, (e) hidrofobik ya da van der Waals etkilesimi, (f) iyonik etkilesim

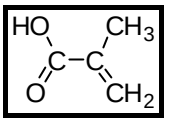
1.3.3. Moleküler baskili polimer hazirlamada kullanilan fonksiyonel monomerler

Moleküler baskili polimerlerde kalip molekül ile fonksiyonel monomerler arasindaki geri-baglanma basamagi çok önemli oldugu için fonksiyonel monomerlerin seçimi kritiktir. Fonksiyonel monomer için anahtar eleman, etkilesimin gerçeklesmesi için uygun baglanma bölgelerinin sayisidir. MIP'lerin sentezinde en çok kullanilan fonksiyonel monomerlerin listesi Çizelge 1.1'de verilmistir.

Fonksiyonel Monomer	**Monomerin Yapisal Formülü**
Akrilik asitler (R=H, CH_3, CF_3, CH_2COOH)	
Vinilbenzoik asitler	
Akrilamidosülfonik asitler	
Aminometakril amidler	
N,N'-Dietil-4-vinilbenzamin	
Vinilimidazoller	
Vinilpiridinler	
4-(Vinilbenzil)iminodiasetik asit	

Çizelge 1.1. Moleküler baskili polimer sentezinde kullanilan bazi fonksiyonel monomerler (Dmitrienko ve ark. 2004)

Kovalent olmayan moleküler baskilamada hidrojen bagi olusturma özelligine sahip olmasi nedeniyle metakrilik asit yapisinda da bulunan karboksilik asit gruplari kullanilir (Lanza ve Sellergren 1999; Takeuchi ve ark. 1999). Sekil 1.12'de metakrilik asit yapisi görülmektedir.



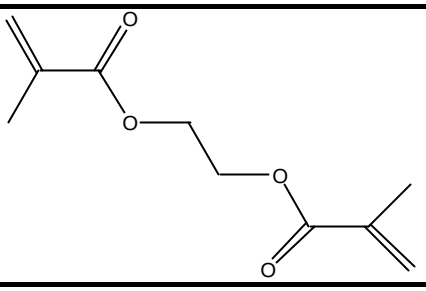
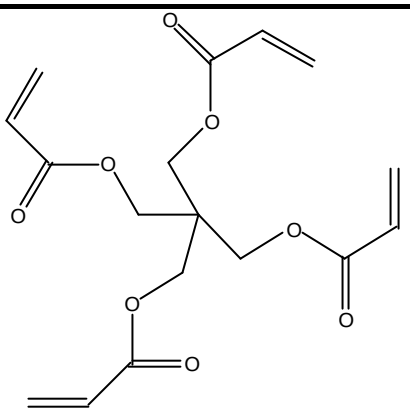
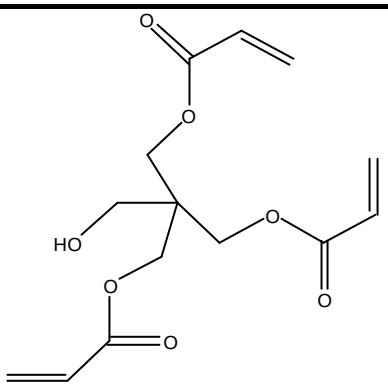
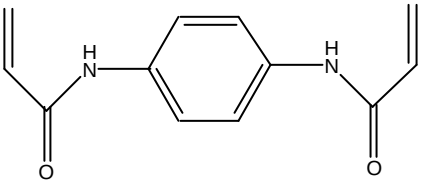
Sekil 1.12. Kovalent olmayan moleküler baskilanmis polimer hazirlamada kullanilan metakrilik asit (MAA) yapisi

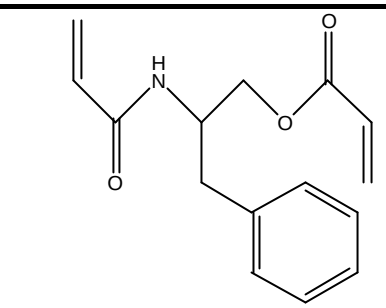
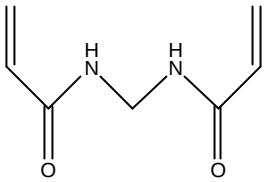
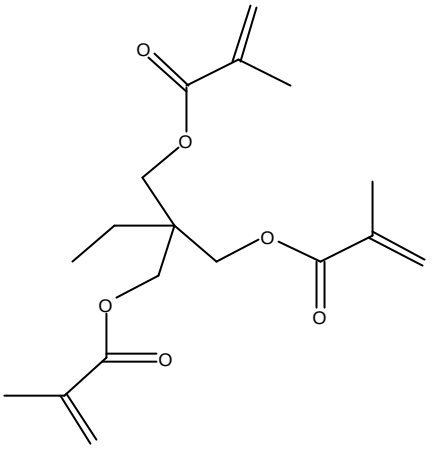
Metakrilik asit hidrojen bagi olustururken donör ve akseptör olarak davranabilmektedir ve bu özelligi geri-baglanma çalismalarinda pek çok analitin tutulmasi için avantaj saglamaktadir (Andersson ve ark. 1994; Sellergren 2000). MAA temel fonksiyonel gruplarla güçlü etkilesimler yapabilmesine karsin, polar çözücülerde hidrojen bagi olusturma yetenegi çok güçlü degildir. Bu nedenle asetonitril gibi kloroformdan daha polar çözücülerde gerçeklestirilen moleküler baskilamalarda fonksiyonel monomer olarak MAA yerine akrilamid monomerleri tercih edilir. Akrilamid, MAA'dan daha az asidik olmasina karsin daha polardir ve kalipla polar ortamda güçlü hidrojen bagi olusturur.

1.3.4. Moleküler baskili polimer hazirlamada kullanilan çapraz baglayicilar

MIP hazirlarken bir diger önemli nokta çapraz baglayicinin seçimidir. Çapraz baglayici, kalibin polimerden uzaklastirilmasindan sonra kararli ve analiti hafizasinda tutan polimer ag örgüsü olusturmak için kullanilir (Idziak ve ark. 2001). Çizelge 1.2'de yaygin olarak kullanilan çapraz baglayicilarin listesi verilmistir. Etilen glikol dimetakrilat (EDMA) en çok kullanilan çapraz baglayicidir.

Çizelge 1.2. Moleküler baskili polimer hazirlarken kullanilan baslica çapraz baglayicilar

Çapraz Baglayici	Çapraz Baglayicinin Moleküler Yapisi
Etilen glikol dimetakrilat (EDMA)	
p-Divinilbenzen	
Pentaeritrol tetraakrilat	
Pentaeritrol triakrilat	
N,N'-1,4-fenilendiakrilamid	

N,O-bisakriloil-L-fenilalaninol	
N,N'-metilendiakrilamid	
Trimetilolpropan trimetakrilat (TRIM)	

Çizelge 1.2. (Devam) Moleküler baskili polimer hazirlarken kullanilan baslica çapraz baglayicilar

MIP'lerde polimer ag-örgüsü içinde analite seçici oyuk olusumu uygun çapraz baglayici ve çapraz baglayici / fonksiyonel monomer derisim oranina baglidir. Farkli çapraz baglayici / fonksiyonel monomer derisim oranlari moleküler baskili polimerlerdeki farkli sayida baglanma bölgelerinin olusumuna neden olur ve bu da seçiciligi etkiler (Dickert and Hayden 1999).

1.3.5. Moleküler baskili polimer hazirlamada kullanilan çözücüler

Genellikle MIP'ler çözücü bazli ortamlarda hazirlanir ve kullanilir. Bu nedenle MIP'lerin sentezinde önemli bir nokta da çözücü seçimidir. Çözücü polimerizasyon bilesenlerini çözmesine, tüm bilesenlerin tek fazda bulunmasina ilaveten gözenek olusumunu ve sicaklik dagilimini saglar. Genellikle sentez için polar olmayan organik çözücülerin kullanildigi MIP'ler polar organik çözücülerin kullanildigi MIP'lerden daha

iyi seçicilige sahiptir (Yu ve Mosbach 1997). Hazirlanan polimerin analite seçiciligi için olusan kavitenin analite tam uygun boyutta olmasi yani ne çok dar ne de çok gevsek olmasi çözücü seçimine baglidir. Ayrica MIP'ler farkli çözücülerde farkli sisme özellikleri gösteririler. Sisme fonksiyonel gruplarin üç boyutlu yapisini degistirdigi için ve bu MIP'in seçiciliginin degismesine yol açtigindan analit tanima basamaginda daha zayif baglanmalar olusmaktadir.

1.3.6. Moleküler baskilanmis polimerlerin uygulama alanlari

Moleküler baskilanmis polimerler farmakolojik, analitik ve biyolojik seçici moleküler tanima alanlarinda siklikla kullanilmaktadirlar (Zhong ve ark. 2001). Sivi kromatografi, kapiler elektroforez, kapiler elektrokromatografi ve kati faz ekstraksiyon gibi analitik tekniklerde MIP'lerin kullanimina yönelik çalismalar sürekli artmaktadir (Andersson 2000; Haupt 2001). Bir diger uygulama alani ise sensörlerde tanima elemani olarak kullanimlaridir (Spégel ve ark. 2002). Moleküler baskilamayla hazirlanan polimerler amino asit türevleri, ilaçlar ve seker türevlerinin siral ayrimi için, antibadi-reseptör benzeri olarak steroidler, proteinler ve protein analoglari için, organik reaksiyonlarda enzim benzeri olarak ve iyon seçici absorbanlar olarak basariyla kullanilmaktadir (Yu ve Mosbach 1997). MIP bazli siral-sabit faz ayirmalarinda saf enantiyomerik kalip molekül kullanilarak kovalent ya da non-kovalent baskilama teknigi ile seçiciligi oldukça yüksek polimerler elde edilebilir. Daha sonra polimer ezilip parçalanir ve kolono uygun boyut için elenerek kromatografik kolona doldurulur (Ikegami ve ark. 2004).

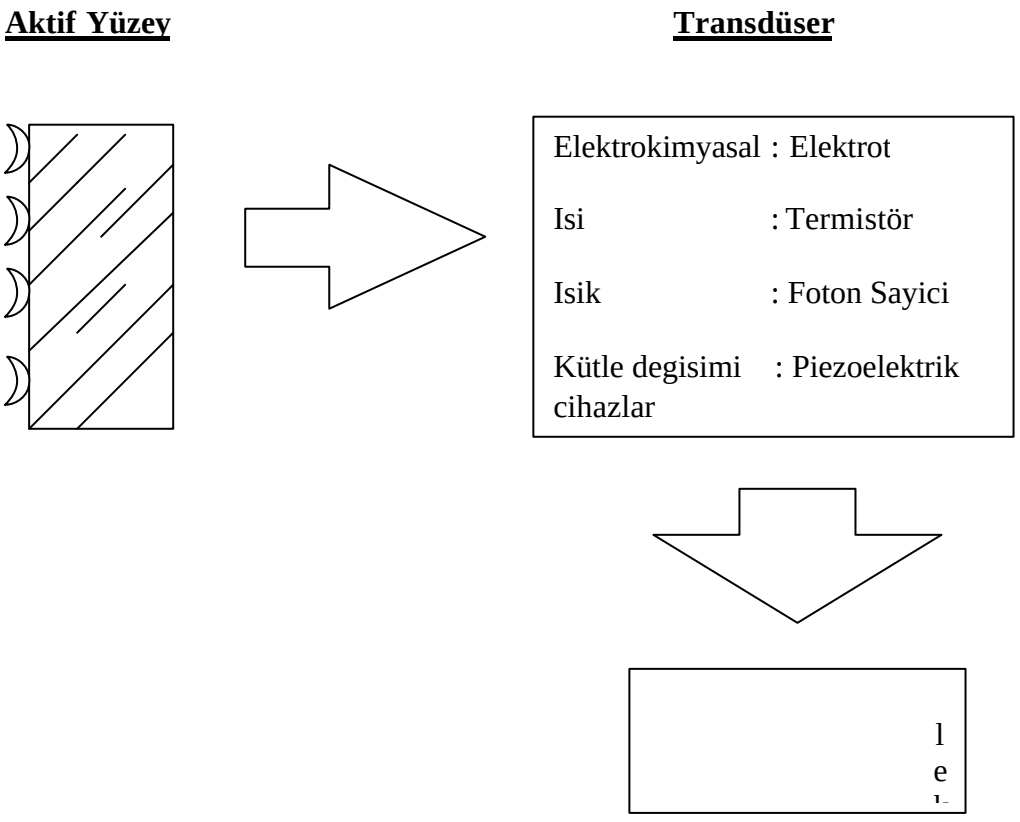
1.4. Kuvars Kristal Mikroterazi (QCM)

1.4.1. Sensörler

Endüstri, çevre mühendisligi ve ilaç alanindaki gelismeler, her geçen gün yeni yöntemler ve yüksek hassasiyet gerektiren yöntemlere olan ihtiyaci arttirmaktadir. Bu yeni yöntemlerden birisi de yüksek seçicilige sahip sensörlerin kullanilmasidir. Genel anlamda sensörler, kimya, biyoloji, fizik, mühendislik gibi pek çok bilim alaninin bilgi

birikiminden yararlanip moleküllerin veya sistemlerin seçimlilik özellikleri ile modern elektronik tekniklerin birlestirilmesiyle gelistirilen analitik cihazlar olarak tanimlanabilir. Sensörler analiz edilen madde ile seçimli bir sekilde etkilesime giren aktif bir bilesenin, bu etkilesim sonucunda ortaya çikan sinyali ileten bir iletici sistemle birlestirilmesi ve bunlarin bir ölçüm sistemiyle kombinasyonuyla olusturulur (Wang 1997). Bir sensörün genel gösterimi Sekil 1.13'de verilmistir.

Sensörlerin dogasi, girdi miktarina yanit olarak gelen sinyalleri üretmektir. Çikis sinyali genellikle elektrikseldir, dijital voltaj pulslarini veya girdi miktarinin degerini frekansi halinde gösteren olasi titresen voltaji içerir. Belirli bir analiz için kullanilan sensörlerin uygunluguna katkida bulunan faktörler sicaklik ve basinç gibi fiziksel parametreler ya da örnek matriksinden dogan kimyasal girisimler içerebilir. Sensörlerin hepsi idealden az ya da çok sapmaktadir. Ayrica kabul edilebilir karakteristikler genellikle uygulama fonksiyonlaridir. Bu nedenle, verilen matrikste bulunan belirli bir analiti saptamak için iyi bir performansa sahip sensör farkli kosullarda ayni analiti saptamak için uygun olmaz.



Sekil 1.13. Sensörlerin genel gösterimi

1.4.2. Gravimetrik sensörler

Gravimetrik sensörler, sensör yüzeyindeki nanogram seviyelerinde kütle degisimini ölçebilen son derece hassas yüzey sensörleridir. Kütle duyarli bu sensörlerin çalisma prensibinin temeli asimetrik kristallerin sahip olduklari "piezoelektirik etki" özelligine dayanmaktadir (Ralf ve ark. 2000).

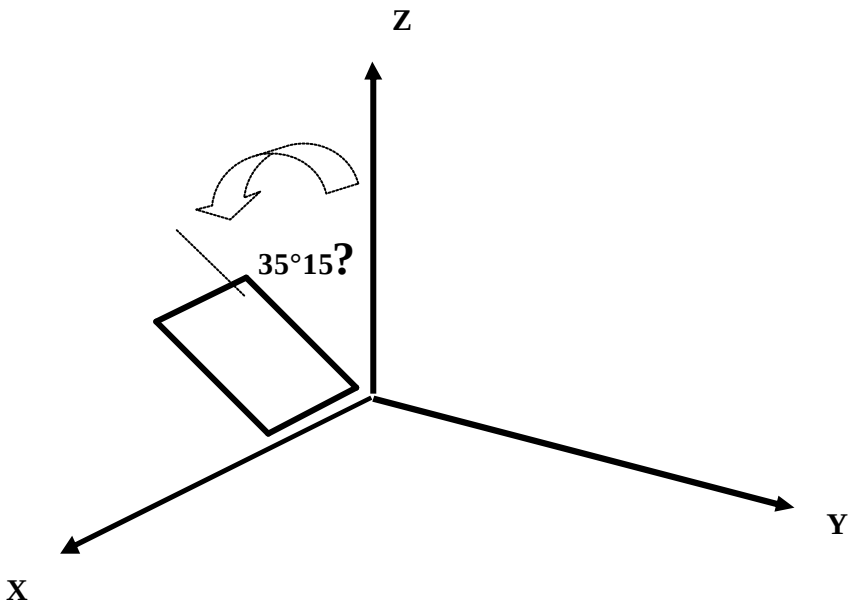
1.4.3. Piezoelektrik etki

Piezoelektrik etki, bir elektrik potansiyelinin uygulanmasiyla asimetrik bir kristalin deformasyonudur ve bu özellik oldukça duyarli kütle sensörlerinin yapilmasinda kullanilir. Piezoelektrik etkiye sahip bir kristal mekanik olarak deforme oldugunda, yüzeyinde elektiriksel bir potansiyel olusur. Bunun tersine kristalin yüzeyine potansiyel uygulandigi zaman kristal deforme olur. Bu özellige sahip bir kristal uygun bir elektrik devresine baglanirsa kristalin kütlesine ve sekline bagli olan sabit bir frekansta titresim yapar (Yao 1997).

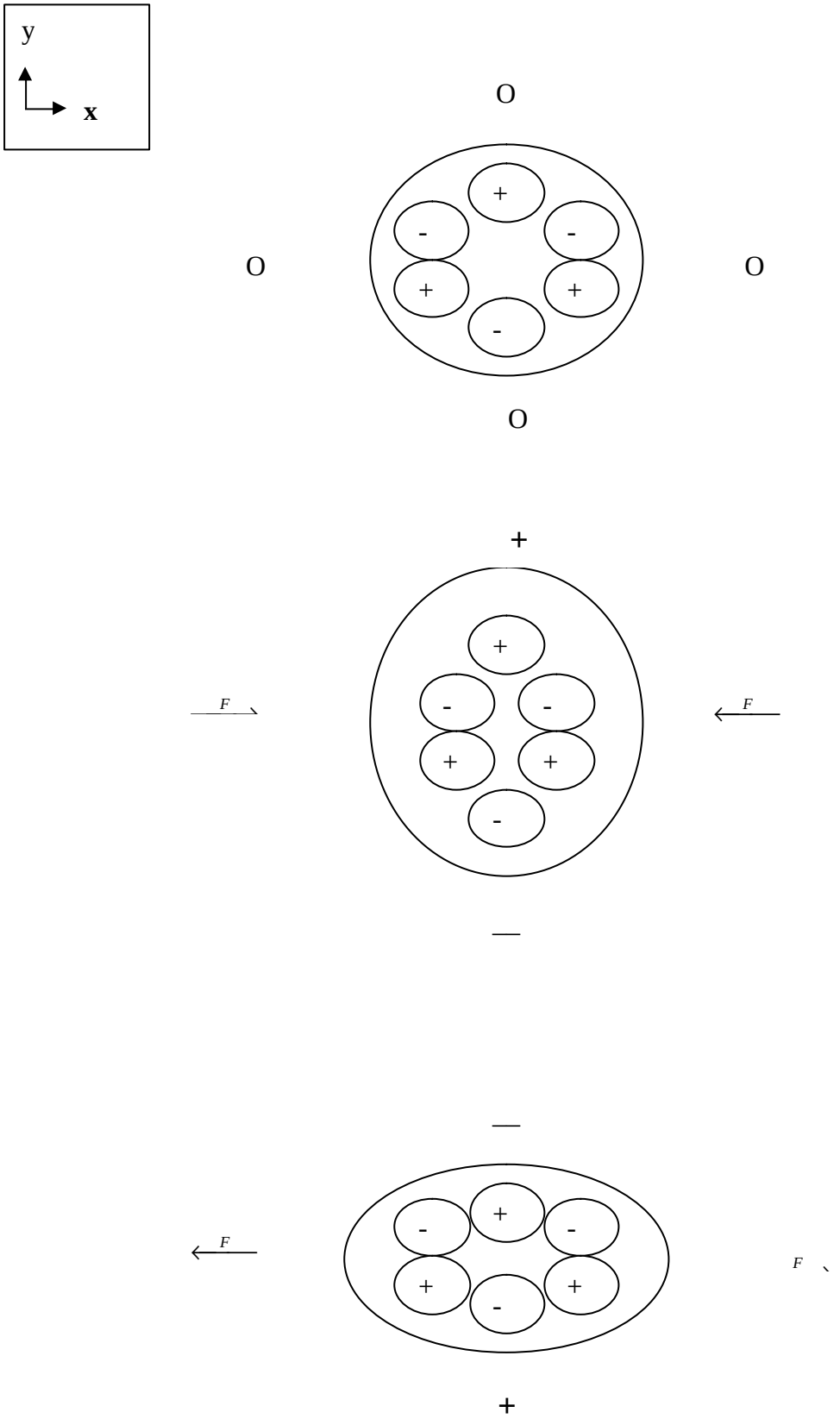
Sekil 1.14'de piezoelektrik etkiye sahip kuvars kristalinin x-ekseni dogrultusunda uygulanan itme veya çekme kuvvetleri ile deformasyonu ve y-ekseni dogrultusunda olusan yük degisimi gösterilmistir. Kuvars kristallerin bu özelliginden pek çok dogru ve duyarli analitik cihaz yapilmasinda yararlanilmaktadir. Piezoelektirik sensörlerin en önemli uygulamasi ise "Kuvars Kristal Mikroterazi" (QCM) dir.

Kuvars kristali, silikon ve oksijenden elde edilir ve SiO_2 kimyasal formülüne sahiptir. Kuvars sadece SiO_2'nin olusturdugu bir mineral degildir. SiO_2 kumun ana bilesenlerinde de çok miktarda bulunmaktadir. Kuvars kristali dogada bulunabilmesine ragmen, yüksek fiyati kuvars endüstrisinin gelisimini arttirmistir. Piezoelektrik ve mikroelektroniklerin kombinasyonuyla cihaz tasarimlari 1960'larda baslamistir. Ticari olarak kullanilan baslica piezoelektrik maddesi kristalin kuvarsidir (silikon oksit). Üç boyutlu simetrik bir eksene sahiptir ve merkezi bir simetriye sahip degildir. Gerilimden yoksun olmasi oksijen ve silikon atomlarinin hareketine neden olur. Bu deformasyon, sarj merkezlerinin ve elektrik polarizasyonunun ayrilmasi ile sonuçlanir. Kuvars kristal elektriksel, mekanik ve kimyasal özellikleri nedeni ile ticari piezoelektrik malzemelerin en kullanislisidir (Lu ve Czanderna 1984).

Kuvars kristal, kimyasal dogasina, sekline, boyutuna ve kütlesine bagli olan dogal bir titresim frekansina sahiptir. Kristalin kirilmasinin rezonans frekansi üzerinde bir etkisi vardir (Heising 1946). AT-kesimli bir kristal, uzunluk yönü olarak (x-ekseni) 35 derece 15 dakika açisinda kuvars bir kristalin kesilmesi ile olusur. AT-kesim kuvars kristal düzlemi Sekil 1.15'de gösterilmistir.



Sekil 1.15. AT-kesim kuvars kristal düzlemi



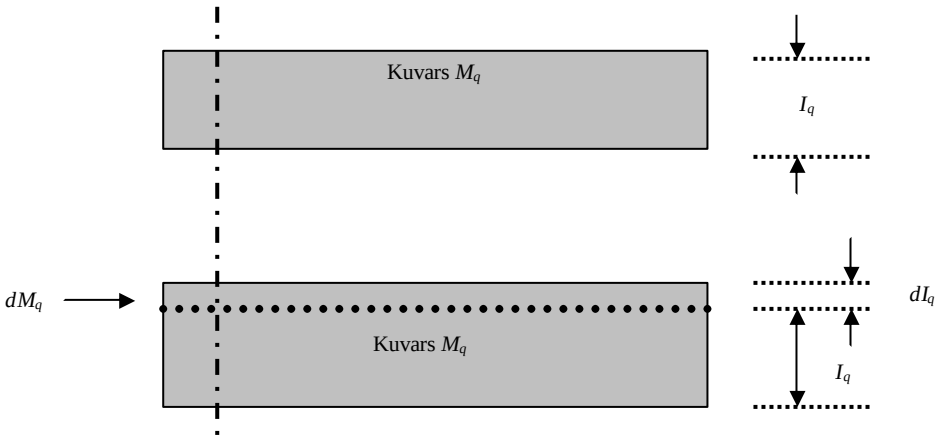
Sekil 1.14. Piezoelektrik etkinin sematik gösterimi

Kristollagrafik eksene bagli olan kuvars kristal düzleminin yönlenimindeki küçük bir degisiklik, rezonans türünü degistirmez. Bununla birlikte kristallografik yönlenim ve rezonans frekansi isi ve gerilimin etkisine karsi asiri duyarlidir (Lu ve Czanderna 1984). Standart AT-kesimli kuvars kristalinin avantaji oda sicakligi civarindaki sicakliklarda neredeyse sifir frekans degisimine sahip olmasidir. Bu oda sicakliginda islem yapilabilmesi için rezonatör gerektiren uygulamalar için oldukça fazla tercih edilen bir özelliktir.

Kuvars kristali, karsilikli olarak mekanik enerjiyi elektrik enerjisine dönüstürme yetenegine sahiptir. Bir piezoelektrik kuvars kristal rezonatörü, kuvarsin tek kristalinden kesilmis bir parçadir. Kuvars kristal birimine periyodik bir voltaj uygulandiginda kuvars kristal varolan voltajin frekansinda titresim yaratabilir.

1.4.4. Sauerbrey esitligi

Nicel kütle ölçümleri için piezoelektrik kuvars rezonatörlerinin uygulanmasi için, bagil bosluk ve rezonans frekans ile eklenen kütle boslugu arasindaki nicel iliskinin gelistirilmesi gereklidir. 1959'dan önce, frekans boslugunu kapsayan bu kütlenin anlasilmasi sadece nitel bir bazda olmustur. Ama Sauerbrey (1959) kuvars kristal bir rezonatörün frekans boslugunun eklenen kütle ile direkt orantili oldugunu göstermistir. Sauerbrey'in çalismasi genel olarak bilimde büyük bir bulus ve çok küçük kütlelerin ölçülmesinde yeni bir nicel araç olarak kabul edilebilir. Kuvars plaka kütlesindeki bir artis, rezonans frekansinda bir düsüse neden olmaktadir.



Sekil 1.16. Kuvars kristal mikroterazinin basitlestirilmis bir modeli

Sekil 1.16'de verilen kuvars kristal mikroterazinin basit seklinde M_q kütlede ve I_q kalinligindaki titresimli kuvars kristalinin isleyis prensibi görülmektedir. Temel durumda, kuvars bir kristal levhanin salinmasi için rezonans frekansi su sekilde tanimlanir: (Lu ve Czanderna 1984)

$$f_q = \frac{n_q}{l_q} = \frac{n_q}{2l_q} \tag{1.1}$$

Bu esitlikte;

f_q :rezonans frekansi

Vq :dalga hizinin kirilmasi

l_q :dalga boyudur ve $2l_q$ ye esittir.

Kristal kalinligindaki çok az bir degisim (dI_q), titresim frekansinda kaymaya (df_q) neden olur.

$$\frac{df_q}{f_q} = -\frac{dl_q}{l_q} \tag{1.2}$$

M_q kütleli kuvars kristal için dM_q kütle degisimi asagidaki esitlikle verilir.

$$\frac{df_q}{f_q} = -\frac{dM_q}{M_q} \tag{1.3}$$

Esitlik (1.2) ve(1.3)'ün birlestirilmesiyle esitlik (1.4) elde edilir.

$$\Delta f_q = -\left(\frac{2 f_q^{\,2}}{r_q}\right)\frac{\Delta M_q}{A} \tag{1.4}$$

Burada;

$?f_q$: frekans degisimi

f_q : degisiklikten önceki rezonatörün rezonans frekansi

$?M_q$: kütle degisimi

A : ossilasyon altindaki kuvars düzlemin alani

r_q : kuvarsin yogunlugudur.

1.4.5. Sicakligin rezonans frekansina etkisi

Sicaklik degisimi birçok maddenin fiziksel sabitlerini etkilediginden kuvars kristal mikroterazi cihazlari üzerinde de önemli etkilere sahiptir. Üretim yönü ve kesimi farkli piezoelektrik malzemeler sicaklik degisikliklerinde farkli özellik gösterirler (Thompson ve Stone 1997). Bu nedenle, sicaklik sensörlerini baz alan ve pek çok kuvars kristallerinin gelistirilmesine olanak saglayan, spesifik sicaklik özelliklerine sahip kuvars kristal rezonans cihazlari gelistirmek mümkündür. (Hauden ve ark. 1981; Neumeister ve ark. 1990; Viens ve Cheeke 1990).

Sicakligin rezonans frekansina olan etkisinin kristallografik yönlenime duyarli oldugu bulunmustur (Lu ve Czanderna 1984). Standart bir AT-kesimli kuvars kristali rezonatörü için rezonans frekansi oda sicakligindaki sicaklik degisimlerine daha az duyarlidir. Çizelge 1.3'de AT-kesimli (35° 15´) kuvars kristal rezonatörünün frekans kaymasinin sicaklik degisimine bagimliligi verilmistir (Lu ve Czanderna 1984).

Çizelge 1.3. AT-kesimli (35° 10´) kuvars kristal rezonatörün sicaklik etkisiyle frekans kayma degerleri

T (°C)	**$?f/f$ (ppm)**
20	0
30	0
60	4
80	18
100	45

1.4.6. Kuvars kristal mikroterazi uygulamalari

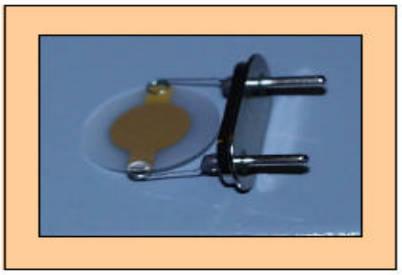
Kuvars kristal mikroterazi (QCM), kütlesel degisiklikleri, bir elektrik sinyaline çevirebilen mükemmel bir yaklasimdir. Çünkü oldukça hassastir ve frekansin çikis sinyaline dönüsümü kolaydir. QCM elektrokimyada çokça kullanilan piezoelektrik bir transdüserdir. Ilk kullanimi 18. yüzyilin baslarina dayanir. Bu cihazlar bir elektrokimyasal islem sirasinda meydana gelen kütle degisimlerini, kolayca ölçülebilen bir sinyal olan, rezonans frekansinda sapmaya dönüstürürler. Cihazlarin en önemli özelligi çalismalarda bir elektrokimyasal reaksiyon süresince yüksek kütle hassasiyeti göstermesidir.

QCM özel bir biçimde kesilmis kuvars kristaller içerir. Bu kuvars kristal piezoelektrik etkiye sahiptir. QCM aparatlari genellikle kuvars elektrot, ossilatör ve PC yüzeyler arasi frekans sayicidir. Alternatif, yüksek akimli bir elektrik alan uygulanmasiyla, QCM mekanik rezonans modunda salinim yapar. Kütle hassasiyeti kristalin toplam kütlesi üzerindeki osilasyon frekansina bagli olarak ortaya çikar. Çözelti ile temas eden resonatör (ki bu genellikle kuvars kristaldir) oldukça kararli sinyal veren bir elektronik devreye baglidir. Rezonatör üzerindeki herhangi bir degisiklik osilasyon frekansinda ani bir degisime neden olur. Elektrot üzerindeki kütle birikiminin neden oldugu frekans degisimi Sauerbrey (1959) esitliginden elde edilir.

QCM sensörleri bir örnek ve bir referans olmak üzere iki adet kuvars kristal içerirler. Elektrik akimi uygulandiginda her bir kristal yaklasik 15 MHz'lik (kristal sicakligina bagli olarak) bir rezonans frekansina sahip olur. Örnek kristal, referans elektrottan yaklasik olarak 1kHz den asagi frekansta yerlestirilmistir. Kristaller optik olarak parlatilmis ve bir metal (genellikle altin veya gümüs) ile kaplanmistir. Örnek kristali üzerinde madde birikirken rezonant frekansi da degisir ve Sauerbrey esitliginde de görüldügü gibi bu frekans degisikligi direkt olarak, kütle degisimi ile orantilidir. Yöntemin hassasligi çok küçük sicakliklara bagimli özel kesim kristaller ve referans kuvars kristallerin kullanimiyla saglanmaktadir.

QCM'in yönteme adini veren en yaygin uygulamasi, sensör elektrotlari üzerindeki kütle birikimlerinin ölçümüdür. Kimyasal maddelerin veya biyomoleküllerin spesifik tayinleri için yapilan uygulamalarda kristal elektrotlar,

moleküllerin baglanmasi veya adsorbsiyonu için ince filmlerle kaplanir. QCM için kullanilan kuvars elektrot Sekil 1.17'da görülmektedir.



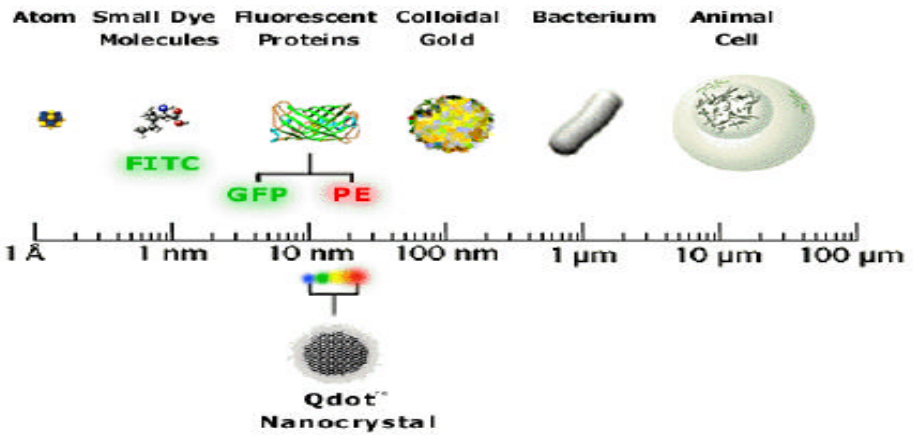
Sekil 1.17. Kuvars kristal elektrot sekli

QCM'in kimyadaki uygulamalari oldukça genistir. Örnegin toksik gaz sensörü olarak, modifiye metal yüzeylerinde, antijen/antibadi etkilesimleriyle spesifik molekül tayinlerinde kullanimi son zamanlarda oldukça popüler hale gelmistir. QCM uygulamalari içinde kütlenin yani sira yogunluk, elastiklik, viskozite ve kayralite tayinleri de yer alir. Genellikle sivi ortamda gerçeklestirilen QCM sensör uygulamalarinda, analiz edilecek sivinin yogunlugu ve viskozitesi titresen kristalin rezonant davranisini etkiler ve böylelikle sensör tarafindan ölçüm gerçeklestirilmis olur (Behling ve ark. 1998).

1.5. Nanopartiküller

Nanopartikül, boyutu dispers edilmesiyle degisen ve 10-100 nm boyutunda olan, dogal yada sentetik yapidaki, sekilsiz veya yari kristal yapilardir. Nanopartiküller literatürde nanoküme olarak da geçmektedir. Fakat aradaki fark nanoküme'lar küçük düzenli yapidaki moleküler kafeslere verilen addir. Yari iletken malzemelerden yapilan nanopartiküller quantum dot olarak adlandirilir ve boyutlari 10 nm civarindadir (Fahlman 2007). Nanopartiküller biyomedikal, optik ve elektronik alandaki genis uygulama alani nedeniyle ve yigin malzemeler ile atomik ya da molekülar yapilar arasinda bir köprü olduklarindan dolayi çok büyük ilgi uyandirmaktadir. Bir bulk malzeme boyutu farketmeksizin sabit fiziksel özellikler gösterir. Fakat nanoboyutta bu durum sik sik degisir. Boyuta bagli özellikler, yari iletken partiküllerin kuantum kapama etkisi, bazi metal parçaciklarin yüzey plazma rezonans ve manyetik malzemelerin süperparamanyetizmasi gibi olaylarla gözlemlenir. Nanopartiküller hacime göre çok

yüksek bir yüzey alanina sahiptir. Bu difüzyon için muazzam bir güç demektir. Sinterleme düsük sicakliklarda büyük partiküller için olandan daha kisa zamanda olabilir. Bu durum, teorikte az zorlukla ve komplike malzemeleri kümelestirmek için nanopartiküllerin egilimi vasitasiyla sonuç ürünün yogunlugunu etkilemez. Bu büyük yüzey alani /hacim orani nanopartiküllerin erime sicakligini düsürür (Buffat ve ark.). Böylesine küçük yapilar (yigin malzemeler ile kiyaslandiginda Bohr yariçapindan daha küçük veya yakin) kuvantum kapama etkisi nedeniyle yigin katilardan farkli davranis gösterirler (Alivisatos 1996; Murphy ve Coffer 2002). Kuvantum nokta nanopartiküller yüksek emisyon kuvantum verimleri, boyutlari ile ayarlanabilir emisyon profilleri ve dar spektral bantlari ile önemli optielektronik özelliklere sahiptirler (Murphy ve Coffer 2002; Weller 1993). Bu özellikleri nedeniyle bilim ve teknolojide yeni uygulamalara yön vermektedirler.

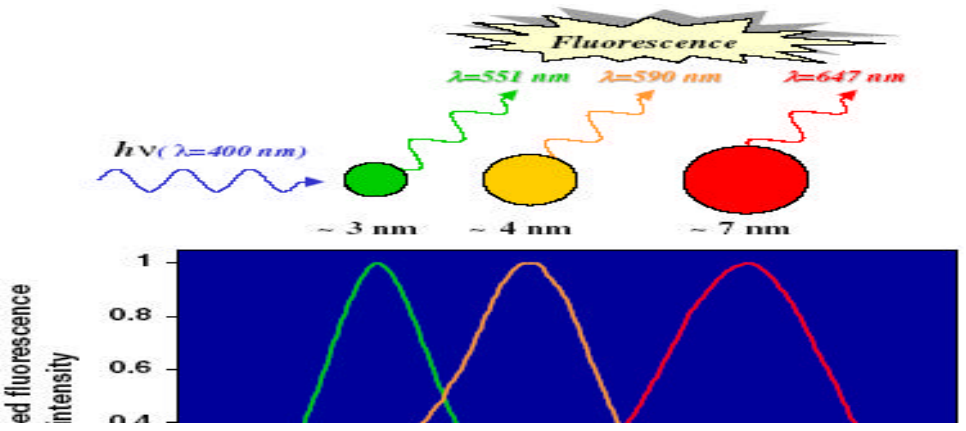


Sekil 1.18. Kuvantum nokta nonopartiküllerin büyüklügünün diger materyallerle kiyaslanmasi (GFP: Yesil floresans protein, PE: Phycoerythrin, FITC: Floresans izotiyosiyonat)

1.5.1. Nanopartiküllerin özellikleri

- Kararlilik: Nanopartiküller çok kararlidir. Basit inorganik bilesiklerden olusan nanopartiküller kimyasal olarak inerttir, dis kabuklari fotokimyasal hasara karsi dayaniklidir. Nanopartiküller kolloidal süspansiyonlari çok kararlidir ve zamanla çökmezler.
- Çevresel duyarlilik: Nanopartiküller ligandlar ile kaplanmasi ile çevresel sartlara bagli olarak degisime duyarsizdir.

- Emisyon spektrumu: Organik boyalara göre kiyaslandiginda emisyon spektrumlari daha dardir. Tekli nanopartiküller partikül boyutu 12 nm'den daha küçük olabilir. Nanopartiküllerin emisyon dalga boyu büyüklügüne baglidir, bu nedenle ayarlanabilir.
- Uyarilma spektrumu: Uyarilma spektrumu çok genistir. Bu nanopartiküller için avantajlidir, böylelikle nanopartiküller emisyon pikinden daha düsük herhangi bir dalga boyunda uyarilabilirler. Farkli emisyon piklerine sahip nanopartikül karisimi, tek dalga boyuna sahip isinla etkili bir sekilde uyarilabilir ve bu sekilde eszamanli olarak tayini, görüntülemeyi ya da kantitatif tayini kolaylastirir. Nanopartiküller çok parlak floresans yayarlar. Uyarilma ve emisyon dalgaboylari arasindaki fark yüksektir, bu sayede uyarilma ve emisyon isini daha kolay ayrilir ve saçilmadan dolayi gürültü azalir.
- Floresans ömrü: Nanopartiküller, organik boyalar (1-5 ns) ve hücresel otofloresanslara (2-3 ns) göre uzun floresans ömrüne sahiptirler (10 ns). Bu nedenle floresans ömür deneylerinde diger floresans kaynaklarindan ayirt edilebilir.
- Üretim teknikleri genel olarak basit ve kolaydir.
- Yüzey kimyasi: Nanopartiküller farkli kaplama gruplari ile kaplanmasi ile yüzey kimyasi çalismalari genisletilebilir. Belirli biyolojik moleküllerle spesifik olarak baglanabilirler (Knight ve ark. 2004). Nanopartiküllerin özelliklerini kontrol edebilmek için nanopartiküllerin yüzeyi kontrol edilebilmeli ve modifiye edilebilmelidir. Bu yüzey modifikasyonu kimyasal yöntemlerle gerçeklestirilebilir. Yariiletken kuvantum nokta nanopartiküller degerlik ve iletken elektron bandlari arasindaki band araligina bagli olarak karakterize edilebilir. Nanopartiküllerin büyüklügü azaldikça yariiletken nanokristallerin bant araligi artar. Kuvantum nokta nonopartiküllerin büyüklügü degistiginde bant araligi ve kuvantum sinirlama enerjileri degistigi için yayilan isin rengi degisir (Sekil 1.19). Materyalin türüne ve büyüklügüne bagli olarak kuvantum nokta nonopartiküller gönderilen isigi farkli dalga boylarinda yayarlar. Örnegin 4-5 nm büyüklügündeki CdSe UV isiginda tutuldugunda yüksek floresans özellik gösterir (José ve ark. 2006).



-

Sekil 1.19. Fakli büyüklükteki nanopartiküllerin farkli dalga boylarinda isigi yaymasi

1.5.2. Nanopartikül Hazirlama Yöntemleri

Genel olarak nanopartiküllerin hazirlanmasinda, aktif madde, ya sentetik veya dogal bir polimer içine hapsedilmekte (nanokapsül) ya da hazirlanan nanopartikül yüzeyine adsorbe ettirilmekte veya polimer yapi içinde çözünerek bir matriks yapisi olusturmaktadir (nanoküre). Hazirlanmalarinda kullanilan polimerler;

1-Dogal polimerler

a-Proteinler (albumin,jelatin)

b-Polisakkaritler (aljinat, kitozan, dekstran)

2-Sentetik polimerler

a- Önceden sentezlenenler (polianhidrit, polikaprolakton (PECL), polilaktik asit (PLA), polilaktik-ko-glikolik asit (PLGA))

b- Nanopartiküllerin hazirlanmasi sirasinda sentezlenenler (polisiyano-akrilat (PACA), polibütil-siyano-akrilat (PBCA)) seklinde siniflandirilabilir.

Ilk nanopartiküller, albumin gibi dogal ve poli (akrilamit), poli (metil metakrilat) gibi biyolojik olarak parçalanmayan sentetik polimerlerden hazirlanmistir. Protein bazli polimerlerin sakincasi bunlara karsi gelisen antijenik yanitlar iken biyolojik olarak parçalanmayan sentetik polimerlerin en önemli sakincalari ise toksisite riskleridir. Hazirlama sirasinda sentezlenen polimerler, toksik özellikte olan monomerlerin kalabilme olasiligi nedeniyle bir risk tasimaktadirlar. Son zamanlarda peptit, protein ve

nükleik asitlerin nanopartiküller ile tasinmasinda ise polisakkaritlerden yararlanilmaktadir. Nanopartikül hazirlama yöntemleri en genel sekliyle sunlardir (Calvo ve ark. 2001, Constantino ve ark 2005, Gelperinave ark. 2002, Koziara ve ark. 2004, Lu ve ark. 2005, Sun ve ark. 2004, Tosi ve ark. 2005, Wang ve ark. 2002).

1- Misel Polimerizasyonu
2- Emülsiyon Polimerizasyonu
3- Emülsiyon-Çözücü Buharlastirma Yöntemi
4- Nanopresipitasyon Teknigi
5- Yüzeylerarasi Polimerizasyon
6- Aktif Maddenin Nanopartiküllere Adsorpsiyonu
7- Su/Yag Emülsiyonunda Isi Denatürasyonu ve Çapraz Baglanma
8- Sicak Mikroemülsiyon Prekürsörleri ile Hazirlama

Misel yöntemi genellikle su/yag emülsiyonunda gerçeklestirilir. Ters misel içindeki su fazi istenen nanokristalin tuzunu içerir. Nanokristaller karsi iyonun eklenmesi ile misel içerisinde çöktürülür. Biyoanalitik uygulamalar için bu yöntem uygulanabilir. Bu yöntemin avantaji basit olmasidir. Dezavantaji ise nanopartikül monodispers olarak elde edilemez, bunun sonucunda genis spektral çizgi olusur (Riegler ve Nann 2004).

Organometalik yaklasimin kullanilmasiyla yüksek oranda monodispers lüminesans nanokristaller sentezlenebilir. Organometalik termoliz yönemi trioktilfosfin, trioktilfosfin oksit, hekzadesilamin gibi organik çözücüler içerisinde yüksek sicakliklarda gerçeklestirilir. Çözücüde çözülen dimetilkadmiyum gibi öncü kadmiyum kaynagi sicak çözücüye hizla eklenir. Kuvantum nokta nonopartikül hemen çekirdeklesmeye baslar, istenen büyüklükte nanopartikül elde etmek için ise eklenen öncü maddenin miktari ve zaman ayarlanir. Iyi kalitede ve verimli olarak nanopartikül elde etmek için hizli karistirma, yüksek sicaklik ve nemin ve oksijenin uzaklastirilmasi gerekir. Sicakliga, büyüme zamanina göre farkli büyüklüklerde nanopartikül elde edilir. Sicakligin ayarlanmasi ile dar büyüklük dagilimli partikül elde edilir. Organometalik sentezle kaliteli nanopartiküller elde edilse de dimetilkadmiyum gibi organometalik öncünün pirolizi pahali, karmasik, zaman harcayici ve çevresel olarak zararlidir. Elde edilen nanokristaller surfaktan maddelerle kapli oldugundan hidrofobiktir. Surfaktan

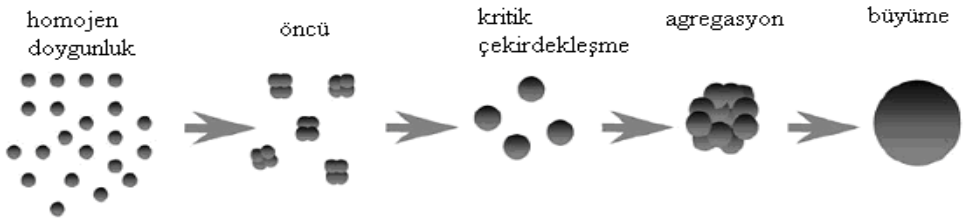
molekülleri kuvantum nokta nonopartiküllerin aglomerasyonunu önler. Sulu çözeltilerde ise tiyol gruplari stabilize edici ajan olarak kullanilabilir, stabilizör olarak merkapto alkol ve merkaptoasitlerin (merkapto etanol, 1-tiyogliserol, tiyoglikolik asit) kullanilmasiyla suda çözünebilir nanopartiküller hazirlanabilir (José ve ark 2006; Merkoçi ve ark. 2005; Riegler ve Nann 2004).

Çözücü, nanopartikül büyürken nanokristallerin yüzeyini stabilize etmek için kullanilir ve nanopartikülün topaklanmasini önler, bunun için genellikle trioktilfosfin oksit (TOPO) ve hekzadesilamin kullanilir. Bu bilesikler nanokristallerin kaplanmasinda önemli rol oynar ve nanokristallerin çözünürlük ve diger özellikleri üzerine etkilidir. Nanokristali suda çözünür hale getirmek için merkaptokarboksilik asitler yer degistirici kaplama gruplari olarak kullanilabilir. Bu bilesikler çift fonksiyonludur, polar grubu ile nanokristali çözünür hale getirirken merkapto grubu ile nanokristal yüzeyine kuvvetli bir sekilde baglanir. Chan ve Nie'nin grubu merkaptoasetik asit kullanarak nanokristali suda çözünür hale getirmistir ve çapraz baglayici ajanlarin kullanilmasi ile nanokristale protein moleküllerinin baglanmasi gerçeklestirilmistir.

Nanopartikül olusum dinamigi türlerin çözücüde çözünmesine dayali olarak çözücünün dielektrik sabitine, sicaklik ve çözeltilerin derisimine baglidir. Seyreltik çözeltiler kullanildiginda partiküller arasi çarpisma azalacagindan aglomerasyon ve çökelme gerçeklesmez. Ligand büyüdükçe partikülün büyüklügünde de azalma olur ve pH ayarlanmadiginda zincir uzunlugunun artisi ile kuvantum verim etkinliginde azalma gözlenmistir. pH Na_2S ile 8.2'ye ayarlandiginda ise ligand zincir uzunlugunun artisi ile floresans siddeti artar. Nanopartiküllerin pH'a bagli büyüklük kaymasi ligand derisimine de bagli olarak degisir (Winter ve ark. 2005).

Floresans standardi olarak kullanimi için hazirlanacak nanopartiküller çok yakin büyüklükte ya da monodispers olmalidir. Monodispers nanopartikül üretimi için asiri doygun çözeltiden nanokristallerin çekirdeklesmesini yavas büyüme fazi takip eder. Tüm nanokristaller es zamanli olarak çekirdeklesmisse hepsi benzer büyüme hizina sahip olacaklardir ve olusan nanokristallerin popülasyonu dar büyüklük dagilimi gösterecektir. Nanokristallerin büyüklügü büyüme fazinin süresine bagli olarak degisir. Çekirdeklesme olayi basladiginda büyüme baslar ve derisim çekirdeklesme esiginin

altina düser. Çekirdeklesme fazi boyunca çok az büyüme gerçeklesirse büyüklük dagilim orani az olur ve monodispers nanokristaller elde edilir (Sekil 1.20).

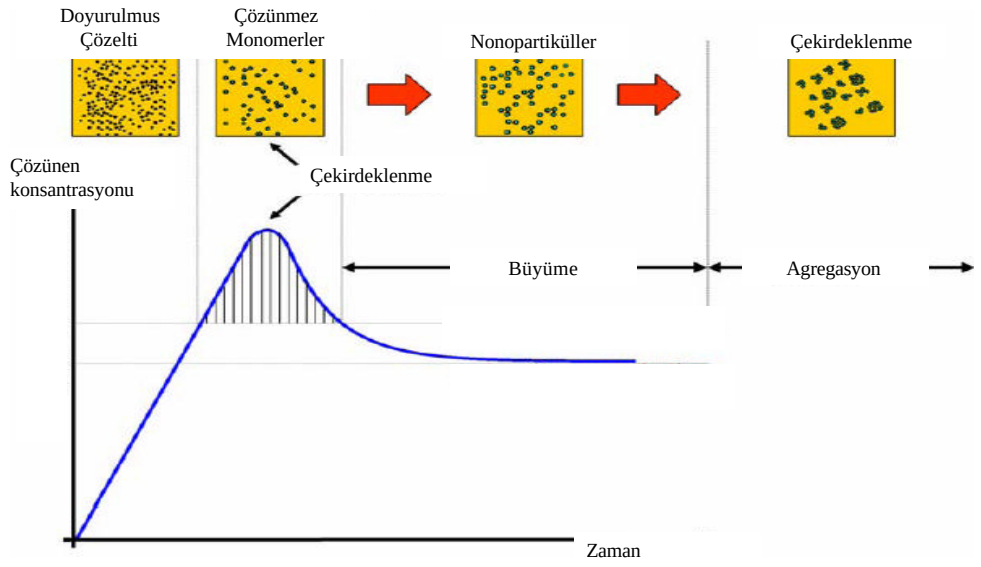


Sekil 1.20. Polimerik nanopartikül olusum asamalari

Partikül büyüklügünü etkileyen etmenler; dogal olmayan partiküllerin varligi (partiküllerin büyümesine neden olur), elektrostatik enerji bariyeri (koloidal partiküller yüklü olabilir, benzer yüklü partiküllerin birbirini itmesi ile koagülasyon önlenebilir) ve sterik itmedir (surfaktan eklenmesi ile kolloidler stabilize edilebilir, nanopartiküller için tercih edilen bir yöntemdir ve nanopartiküllerin optoelektronik özelliklerini etkiler).

Nanopartiküllerin büyüklük dagilimini gelistirmek için;

- Hizli çekirdeklesmeyi yavas büyüme takip etmelidir,
- Belirli bir reaksiyon ortami saglanmalidir (sicaklik egilimi, reaksiyon ortamindaki kimyasal bilesim degisimi ayarlanarak),
- Homojen reaksiyon ortami elde etmek için reaktiflerin hizli karistirilmasi gerekir,
- Karistirma reaksiyon süresinden daha kisa zamanda olmalidir ve
- Reaksiyon sisesinde termal homojenlik saglanmalidir.



Sekil 1.21. Zaman ve derisime bagli olarak çekirdeklesme, büyüme ve agregerasyon

1.5.3. Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

Nanopartikül karakterizasyonu, nanopartiküllerin sentezini ve uygulamalarinin kontrolünü ve dogrulugunu kanitlamak için gereklidir. Karakterizasyon farkli teknikler kullanilarak yapilir. Bu teknikler TEM ve SEM elektron mikroskoplari, atomik force mikroskobu [AFM], Dinamik isik saçicisi [DLS], X-ray fotoelektron mikroskobu [XPS], toz xray difraktometresi [XRD], fourier transform infrared spektroskopisi [FTIR], matrix-assisted lazer- desorpsiyon uçus zamanli kütle spektroskopisi [MALDI-TOF], ve ultraviyole spektroskopisi [UV] dir.

1.5.4. Nanopartiküller ile Yapilan Uygulamalar

Nanopartiküllerin çesitli surfaktanlarla kaplanmasina yönelik ilk çalismalar 1990'li yillarda gerçeklesmistir. Bu alanda çalisilan ilk molekül ise opioid aktiviteye sahip bir Leu-enkefalin analogu olan hekzapeptit dalargindir. Periferal uygulamayi takiben kan beyin engelinden geçemeyen dolayisiyla hiçbir terapötik aktiflik gösteremeyen bu aktif madde, poli(butilsiyanoakrilat) nanopartiküllerin yüzeyine adsorbe ettirilip polisorbat 80 ile kaplandiklarinda kan beyin engelinden geçislerini

takiben uygulamadan 45 dakika sonra analjezik etki göstermislerdir (Borchard ve ark. 1989, Friese ve ark. 2000). Steiniger ve ark. 2004 yilinda yapilan bir çalismada doksorubisin yüklü polisorbat 80 kapli nanopartiküllerin beyin tümörlerine karsi olan aktifligi incelenmistir. Glioblastomali ratlar üzerinde yapilan kemoterapi çalismalari sonucunda polisorbat 80 kapli nanopartiküllerin kan beyin engelinden geçebildigini ve tasidiklari doksorubisinin beyinde terapötik konsantrasyonlara ulasabildigi belirlenmistir. Gelperina ve ark. (2002) ise yaptiklari bir çalismada doksorubisinin akut toksisitesinin, polisorbat 80 kapli nanopartiküler yapi içinde verilmesiyle azaldigini kanitlamislardir. Beyin tümörleri ve Alzheimer gibi çesitli santral sinir sistemi hastaliklarinin aktif tedavisine yönelik gelistirilen bir diger yaklasim ise PEG (polietilen glikol) ile konjuge edilmis nanopartiküler ilaç tasiyici sistemlerdir. Bu teknolojide, PEG, kopolimerin hidrofobik bloguna kovalan olarak baglanmaktadir. Hidrofobik çekirdegin yüzeyindeki PEG zincirleri ile partiküller, in-vivo ortamda çok daha uzun dolasim özelligi göstermektedirler (Brigger ve ark. 2001).

Metal nanopartiküller biyosensör alaninda basariyla uygulanmaktadir. Foxx ve ark. (2007) karbon destekli Pd nanopartiküllerden polimerizasyon sonucu glukoz biosensörü hazirlamislardir. Fang ve ark (2005) metal nanopartikül bazli DNA biyosensörleri hazirlamislardir. Nathaniel L. Rosi ve ark. (2005) hücrelerdeki proteinin kontrolü için hücre içi gen ayarlama ajani olarak oligonükleotid bazli altin nanopartiküller sentezlemislerdir. Zhu ve ark. (2007) glukoz biosensörü için dendrimer kapli Pt nanopartikül sentezlemislerdir.

Yariiletken nanopartiküllerin yüzey aktifliginin fazla olmasi ve biyolojik moleküllerle etkilesimi sayesinde kuvantum nokta nonopartikül biyokonjugeleri hazirlanabilir. (Li ve ark. 2003). CdS nanopartikülleri streptavidin, biyotin, antibodi, oligonükleotit gibi moleküllerle konjuge etmek olasidir ve bu moleküllerin spesifik moleküler tanima özellikleri sayesinde biyolojik analizlerde biyoorganik dedektör olarak kullanilabilmektedir. Nanopartiküllerin bu uygulamalari sayesinde organik floroforlarin kullanimi azalmistir. Kuvantum nokta nonopartiküller organik florofor gruplari ile kiyaslandiginda dar, ayarlanabilir ve simetrik emisyon spektrumu, genis bandli uyarilma, yüksek fotoagarma esigi ve kimyasal kararliliginin iyi olmasindan dolayi avantajlidir. CdS nanopartiküllerle konjuge edilen antibodilerle proteinlerin etkilesimlerine bagli olarak proteinlerin kantitatif tayini çoklu olarak gerçeklestirilebilir.

Son zamanlarda nanokristallerin protein moleküllerinin konjugasyonu üzerine çalismalar yapilmis, bunun yaninda oligonükleotitlerle ve nükleik asitlerle baglanmasina yönelik uygulamalar da yaygin olarak çalisilmistir. Bunun yaninda CdS ve CdSe gibi nanopartiküllerinin yüzeyi immunoglobin G (IgG) ve streptavidin ile konjuge edilmesi sonucunda canli sisteminde kanserli hücrelerin görüntülemesinde ve teshisinde kullanilmistir (Merkoçi ve ark. 2005; Riegler ve Nann. 2004; Wang. 2005; Mattoussi ve ark. 2004; Arya ve ark 2005). Kuvantum nokta nonopartiküllerin biyolojik moleküllerle baglanmasi kovalent etkilesimle, elektrostatik etkilesimle, hidrojen bagi ve hidrofobik kuvvetlerle olabilir (Lin ve ark. 2003). Yariiletken nanopartiküllerin yüzeylerinin çesitli stabilize edici maddelerle kaplanmasi sonrasinda Cu, Zn, Ag gibi çesitli iyonlarin seçici olarak ayrimi gerçeklestirilebilmektedir (Chen ve Rosenzweig 2002; Chen ve Zhu 2005; Xie ve ark 2004).

1.5.5. Nanopartiküllerle optik algilama

Biyolojik tanimlama uygulamalarinda ilk olarak kararli luminesans sensörlerin amaçlanmasindan bu yana bes yildan fazla bir süre geçmistir. Bu konuda yapilan ilk çalismalardan birinde, Alivisatos ve ark. (1998) biyolojik isaretlemede nano kristallerin kullanimini saglamak, onlari biyo uyumlu ve suda çözünebilir yapmak için yüzeyi ilave bir kat silika ile kaplanmis ve CdS/ZnS çekirdek ile CdSe kabuk ve biyomoleküller arasinda bir bag oldugunu bildirmislerdir. Ayni zamanda, Chan ve Nie (1998) tek bir nanokristal seviyesinde hassas belirleme için merkaptoasetik asit ile yüzeyi modifiye edilmis suda çözünebilir biyo uyumlu nanokristalleri biyomoleküllere baglamislardir. Nano parçaciklarin luminesans emisyonunun ölçülmesiyle spesifik antibadi veya antijenlerin tanimlanmasi için uygun immuno moleküllerle nanokristallerin birlesiminin kullanilabilecegini göstermislerdir.

Josel ve ark. (2007) streptavidin ile modifiye edilmis altin nanopartiküller sentezleyerek biotin seçici sensörler elde etmislerdir. Sensörlerin biotinle etkilesmelerini fotolüminesans ile incelemisler ve nanopartiküllerin floresansinin biotinle etkilesmesi ile derisim artisiyla orantili bir sönümlenme (quenching) görmüslerdir.

Pek çok çalismada nanokristal biyo bilesiklerin geleneksel organik boyalara göre, foto agarma ve daha dar spektral bant genisligiyle karsilastirildiginda daha yüksek parlaklik, yüksek kararlilik gibi, belirgin avantajlari vurgulanmistir. Bununla birlikte, kuvantum nokta nanokristaller biyolojik tanimlama uygulamalarinda daha yavas bir sekilde kendini belli etmektedir. Bunun nedeni kismen kararli kuvantum nokta nanokristal-biyomolekül komplekslerini üretmekteki zorluklardir. Gelismeler, protein ve DNA immuno tayin için tanimlayici olmasi yoluyla biyoanaliz ve teshiste tanimlama için luminesans nanokristallerin gelistirilmesinde uygun yüzey modifikasyonunun önemini vurgulamaktadir. Çok sayida çalisma luminesans kuvantum nokta nanokristallerin bu tür biyokimyasal uygulamalar için kullanimini özetlemektedir (Sutherland 2002; Chan ve ark. 2002; Smith ve Nie 2004; Riegler ve Nann 2004). Daha da ötesi nanokristallerin sentezindeki hizli gelisme ve iyilesmeler, analitik kimyacilarin henüz kesfedilmemis bir potansiyel olan luminesans esasli yeni nesil optik sensörler için bu nano malzemelerin gelistirilmesini arastirmaya yeni baslamislardir.

1.6. Moleküler Lüminesans Spektroskopisi

1.6.1. Floresans, Fosforesans, Kemilüminesans

Bu yöntemlerin her birinde, analit molekülleri, emisyon (floresans, fosforesans ve kemilüminesans) spektrumlari kalitatif veya kantitatif bilgiler saglayacak sekilde uyarilir.

Floresans ve fosforesans, uyarilmanin fotonlarin absorpsiyonu ile olmasi bakimindan benzerdirler. Bunun bir sonucu olarak, bu iki olay, siklikla daha genel bir terim olan fotolüminesans ile ifade edilir. Floresans, floresanstan sorumlu elektronik enerji aktariminin elektronun spininde bir degisiklik olusturmamasi ile fosforesanstan ayrilir. Bunun bir sonucu olarak, floresans hemen yok olan ($<10^{-5}$s) bir lüminesans olup,

kisa ömürlüdür. Buna karsilik fosforesans emisyonlari ile iliskili elektron spinindeki bir degisme, isinlamanin bitmesinden sonra kolayca tespit edilebilir bir süre kadar, genellikle birkaç saniye veya daha uzun, isimanin sürmesine sebep olur. Birçok durumda, floresans veya fosforesans olarak fotolüminesans emisyonu, onu uyarmak için kullanilan isimaninkinden daha uzun dalga boyundadir.

Lüminesansin üçüncü tipi olan kemilüminesans, bir kimyasal reaksiyon sonucu olusan uyariImis bir türün emisyon spektrumuna dayanir. Bazi durumlarda, uyariImis tür, analit ve uygun bir reaktif (ozon veya hidrojen peroksit gibi kuvvetli bir yükseltgen) arasindaki bir reaksiyonun ürünüdür. Bu durumda sonuç, analitin kendisinden çok, analitin veya reaktifin yükseltgenme ürününün karakteristik bir spektrumudur. Diger durumlarda, analit kemilüminesans reaksiyonunda dogrudan yer almaz; bunun yerine, analitin bir kemilüminesans reaksiyonuna olan yavaslatici veya katalitik etkisi analitik parametre olarak is görür. Fotolüminesans veya kemilüminesansin siddetinin ölçümü, eser miktarlardaki önemli bazi inorganik veya organik türün kantitatif tayinini mümkün kilar. Günümüzde, florimetrik yöntemlerin sayisi, fosforesans ve kemilüminesans yöntemlerinin uygulamalarinin sayisindan önemli ölçüde daha fazladir.

$NO + O_3 \rightarrow NO_2^* + O_2$

$NO_2^* \rightarrow NO_2 + h\,l$ (600 - 2800 nm)

1.6.2. Floresans ve Fosforesans

Floresans basit veya karmasik gaz, sivi ve kati kimyasal sistemlerde meydana gelir. Floresansin en basit tipi, seyreltik atomik buharlarin gösterdigi floresanstir. Örnegin, buhar halindeki sodyum atomlarinin 3s elektronlari, 589,6 ve 589 nm lik dalga boylarindaki isinlarin absorpsiyonu ile *3p* enerji seviyesine uyarilabilir. 10^{-5} - 10^{-8} s sonra, elektronlar temel duruma geri döner ve her yöne dogru, ayni iki dalga boyunda isin yayar. Frekansta degisiklik olmaksizin absorplanan isinin yeniden yayilmasini kapsayan floresansin bu tipi rezonans isimasi veya rezonans floresansi olarak bilinir.

Birçok moleküler tür, rezonans floresansi da gösterir. Bununla beraber çok sik olarak, moleküler floresans veya fosforesans bantlari rezonans çizgisinden daha uzun

dalga boylarinda merkezlenmis olarak bulunur. Bu uzun dalga boylarina veya düsük enerjilere kayma *stokes kaymasi* olarak ifade edilir.

Uyarilmis elektronik; halin enerji kaybetmesi, fosforesans yoluyla da olabilir. Triplet bir halde sistemler arasi geçisten, sonra, iç veya dis dönüsüm veya fosforesans ile biraz daha sönüm olabilir. Bir triplet → singlet geçisi singlet→singlet dönüsümüne göre çok daha az mümkündür; bu nedenle, uyarilmis triplet halin ortalama ömrü, emisyona göre 10^{-4} s'den 10s‘ ye veya daha fazla süreye kadar olabilir. Böylece, böyle bir geçisten kaynaklanan emisyon, isinlanma kesildikten sonra biraz daha sürebilir.

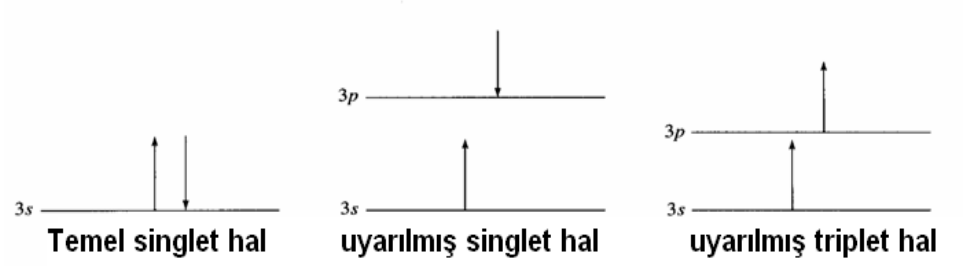
- Elektron Spini

Pauli disarlama prensibi, bir atomdaki iki elektron için dört kuantum sayisinin hepsinin birden ayni olamayacagini belirtir. Bu sinirlama, bir orbitalde iki elektrondan daha fazla elektron bulunmamasini ve ayrica iki elektronun da zit spinli olmasini gerektirir. Bu sartlar altinda, spinler eslesmistir. Spin eslesmesi sebebiyle, moleküllerin çogu net manyetik alan göstermez ve bu yüzden *diamanyetik* olarak adlandirilir. Yani bunlar, durgun manyetik alan tarafindan ne çekilir ne de itilirler. Buna karsilik, eslesmemis elektronlar içeren serbest radikallerin bir manyetik momenti vardir ve bunun sonucu olarak bir manyetik alan tarafindan çekilir. Bu yüzden serbest radikaller *paramanyetik* olarak adlandirilir.

- Singlet/ TripIet uyariImis Haller

Bütün elektron spinlerinin eslesmis oldugu bir moleküler *elektronik* hal; bir singlet hal olarak adlandirilir ve molekül bir manyetik alana maruz birakildiginda elektronik enerji seviyelerinde hiçbir yarilma meydana gelmez. Diger taraftan, bir serbest radikal için temel hal bir *dublet* halidir. Çünkü, tek elektronun bir manyetik alan içinde, sisteme çok az farkli enerjilerde katki yapan iki yönlenmeye sahip oldugu kabul edilebilir.

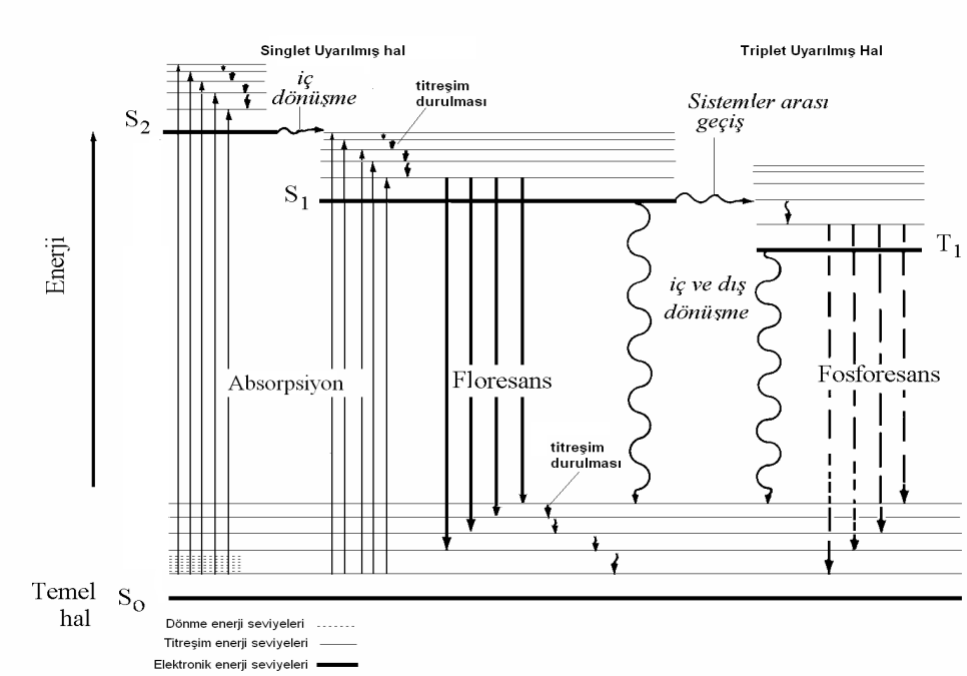
Bir molekülün bir çift elektronundan biri daha yüksek bir enerji seviyesine uyarilirsa ya bir singlet ya da bir *triplet* hal meydana gelir. Uyarilmis singlet halde, uyarilmis elektronun spini hala temel haldeki elektron ile eslesmis durumda, bununla beraber, triplet halde, iki elektronun spinleri eslesmemis durumda ve böylece paralel durumdadirlar.



Uyarilmis triplet haldeki bir molekülün özellikleri, uyarilmis singlet halindekinden önemli derecede farklidir. Örnegin, bir molekül triplet halde paramanyetik iken, singlet halde diamanyetiktir. Bununla beraber, daha da önemlisi, elektronun halindeki bir degismeyi de kapsayan, singlet triplet geçisinin, karsi gelen, singlet singlet geçisine göre önemli derecede daha az mümkün olmasi gerçegidir. Bunun sonucu olarak uyarilmis triplet halinin ortalama ömrü 10^{-4}s den birkaç saniyeye kadar uzayabilir. Bir uyarilmis singlet halin ortalama ömrü ise 10^{-5}, 10^{-8}s kadardir. Ayrica, temel haldeki bir molekülün isinla, bir uyarilmis triplet hale uyarilmasi, düsük olasiliga sahiptir ve bu islem sonucu olusan absorpsiyon piklerinin siddeti, benzer sekilde singlet-singlet geçisine karsi gelenlerinkinden bir kaç kat ondalik mertebesi daha düsüktür. Bazi moleküllerin, bir uyarilmis singlet halinden bir uyarilmis triplet "hale geçebilmesiyle fosforesans olusur.

Sekil 1.22 Bir fotolüminesans molekülünün kismi bir enerji seviyesi diyagramidir. En alttaki koyu yatay çizgi, normal olarak singlet haldeki molekülün temel hal enerjisini göstermekte olup, So ile gösterilmistir. Oda sicakliginda, bu hal, bir çözeltideki moleküllerin hemen hemen tamaminin enerjisini gösterir. En üstteki koyu çizgiler, üç uyarilmis elektronik halin temel titresim halleri için enerji seviyelerini göstermektedir. Soldaki iki çizgi, birinci (S1) ve ikinci (S2) elektronik singlet hallerini gösterir. Sagdaki tek çizgi *(T1)* birinci elektronik triplet halinin enerjisini gösterir. Normal olarak, birinci uyarilmis triplet halin enerjisi, karsi gelen singlet halin enerjisinden daha düsüktür. Daha ince yatay çizgilerle gösterilen çok sayidaki titresim enerji seviyesi, dört elektronik halin her biri ile iliskilidir. Bu molekülün uyarilmasi, biri uzun dalga boyunda (So→S1) ve ikincisi de daha kisa dalga boyu) (So→S2) civarinda merkezlenmis iki isin bandin absorpsiyonu ile meydana gelebilir. Uyarilma isleminin, molekülün çok sayida uyarilmis titresim halinden herhangi birine dönüsü ile sonuçlandigina dikkat ediniz. Triplet hale dogrudan uyarilma da gösterilmemistir.

Çünkü bu islem, multiplisitede bir degismeyi gerektirir ve önceden de bahsedildigi gibi bu geçisin olma olasiligi düsüktür bu tip düsük olasilikla bir geçise yasaklanmis denir.



Sekil 1.22. Fotolüminesans molekülünün kismi bir enerji seviyesi diyagrami

Absorpsiyon ve Emisyon Hizlari

Bir isin fotonunun absorplanma hizi çok büyüktür. Bu islem 10^{-14} - 10^{-15} s mertebesinde tamamlanir. Diger taraftan, floresans emisyonu önemli derecede daha yavas hizda olusur. Burada, uyarilmis halin ömrü, uyarilma islemine karsilik gelen absorpsiyon pikinin molar absorptivitesi ile ters orantilidir. Bu nedenle, 10^{3} - 10^{5} araligindaki molar absorptiviteler için uyarilmis hallerin ömrü 10^{-7} - 10^{-9} s'dir. Geçis olasiliginin daha küçük oldugu zayif absorpla yici sistemler için ömür, 10^{-6} - 10^{-5} s kadar uzun olabilir. Önceden de belirttigimiz gibi, tripletten singlete geçisin ortalama hizi, buna karsilik gelen singlet-singlet geçisininkinden daha azdir. Bu nedenle, Fosforesans emisyonu 10^{-4} -10 s veya daha fazla bir süre gerektirir.

Uyarilmis bir molekül temel haline birkaç mekanik basamagin bir birlesimi yoluyla dönebilir. Sekil 1.22'de düz düsey oklarin gösterdigi gibi, bu basamaklarin ikisi, bir isin fotonunun yayimini içeren floresans ve fosforesanstir. Dalgali oklarla gösterilen diger sönüm basamaklari isimasiz olaylardir. Temel hale geçiste en tercih edilen yol,

uyarilmis halin ömrünü en az yapan yoldur. Bu yüzden, isimasiz geçislere göre floresans ile sönüm hizli ise, bir emisyon gözlenir. Diger taraftan, eger bir isimasiz yol daha büyük hiz sabitine sahipse, floresans ya yoktur ya da çok düsük siddettedir.

- Titresimsel Durulma

Sekilde görüldügü gibi, elektronik uyarilma sirasinda bir molekül birçok titresim seviyesinden herhangi birine uyarilabilir. Bununla beraber, çözeltide, asiri titresim enerjisi, uyarilmis türlerin molekülleri ile çözücü molekülleri arasindaki çarpismalar sonucu hemen kaybedilir; sonuç, bir enerji aktarimi ve çözücü sicakligindaki çok az bir artistir. *Titresim* enerji seviyeleri bakimindan uyarilmis bir molekülün ortalama ömrü 10^{-12} s veya daha az olup, bu süre *elektronik* olarak uyarilmis bir halin ortalama ömründen önemli derecede daha kisa oldugundan, durulma islemi çok etkilidir. Sonuç olarak, çözeltiden floresans oldugu zaman, bu floresans daima *uyarilmis bir elektronik halin en düsük titresim seviyesinden* bir geçis ile ilgilidir. Bununla beraber, elektron, *temel halin titresim seviyelerinden herhangi birine* dönebilecegi için, birbirine yakin birçok pik olusur. Daha sonra, daha fazla titresimsel durulma ile elektron, hizla temel elektronik halin en düsük titresim seviyesine dönecektir.

- Iç Dönüsüm

Iç dönüsüm terimi, bir molekülün, isin yaymadan daha düsük bir *elektronik* enerji seviyesine geçmesi ile ilgili molekül içi olaylari ifade eder. Bu olaylar, ne tam olarak tanimlanmis ne de tam olarak anlasilmistir; fakat bagil olarak çok az bilesigin floresans göstermesi bunlarin genellikle çok etkili olduklarinin açik göstergesidir.

- Dis Dönüsüm

Uyarilmis bir elektronik halin sönümlenmesi, uyarilmis molekül ve çözücü veya diger çözünenler arasindaki etkilesimi ve enerji aktarilmasini içerebilir. Bu olaylara topluca *dis dönüsüm* veya *çarpisma ile sönüm* denir. Dis dönüsüm için delil, çözücünün floresans siddeti üzerindeki, kuvvetli etkisini içerir; ayrica tanecilikler arasindaki çarpisma sayisini azaltan kosullar (düsük sicaklik ve yüksek viskozite) genellikle floresansi azaltir.

Dis ve iç dönüsümler, fosforesans ile o kadar basarili bir, sekilde rekabet ederler ki, normal olarak bu tür emisyo n, sadece düsük sicakliklarda; çok viskoz ortamlarda veya kati yüzeyle absorplanmis moleküllerde gözlenir.

- Sistemler Arasi Geçis

Sistemler arasi, geçis, uyarilmis bir elektronun spininin ters döndügü bir olaydir ve molekülün multiplisitesinde bir degisme olur.

iç dönüsümde oldugu gibi, eger iki halin titresim seviyeleri, örtüsürse/bu geçisin olasiligi artar. Sekil de gösterilen singlet/triplet geçisi buna bir örnektir; burada, en düsük singlet titresim seviyesi, daha yüksek triplet titresim seviyelerinin biri ile örtüsmektedir ve böylece spin halinde bir degisme daha muhtemeldir. Sistemler arasi geçis, iyot veya brom gibi agir atomlari içeren moleküllerde çok yaygindir.

1.6.3. Floresans ve Fosforesansi Etkileyen Degiskenler

Bir maddenin lüminesans yapip yapmayacagina, hem moleküler yapi hem de kimyasal çevre etki eder; lüminesans olurken bu faktörler, emisyon siddetini de belirler.

- Kuantum Verimi

Floresans veya fosforesans için *kuantum verimi veya kuantum verimi orani* basit olarak lüminesans yapan moleküllerin sayisinin toplam uyarilmis molekül sayisina oranidir. Floresein gibi oldukça floresans bir molekül için bazi sartlar altindaki kuantum verimi bire yaklasir. Önemli derecede, floresans yapmayan kimyasal türler sifira yakin verimlere sahiptir.

Floresansta 250 nm'den daha küçük dalga boylarindaki ultraviyole isinlarin absorpsiyonun sonucu floresansin nadiren oldugunu bilmek önemlidir. Çünkü, bu tür isimalar, önayrisma ve ayrisma ile uyarilmis halin sönümüne sebep olmaya yetecek kadar enerjilidir. Örnegin, 200 nm'lik bir isin yaklasik 140 kcal/mol'e karsilik gelir; birçok organik molekül bu büyüklükteki enerjiler ile kopartilabilecek bazi baglara sahiptir. Sonuç olarak, $\sigma \rightarrow \sigma^*$ geçisi sebebiyle olan floresans nadiren gözlenir; bunun yerine, böyle emisyon, daha az enerjili $\pi \rightarrow \pi^*$ ve $n \rightarrow \pi^*$ geçisleri ile sinirlidir.

- Kuantum Verimi ve Geçis Tipi

Floresansin en düsük enerjili geçisi $\pi \rightarrow \pi^*$ tipi olan bilesiklerde, en düsük enerjili geçisi $n \rightarrow \pi^*$ tipi olan bilesiklerden daha fazla oldugu gözlenmistir; yani, $\pi \rightarrow \pi^*$ geçisi için kuvantum verimi daha büyüktür. $\pi \rightarrow \pi^*$ geçisi ile ilgili olan daha büyük kuantum verimi iki yolla gerçeklesebilir. Birincisi, bir $\pi \rightarrow \pi^*$ geçisin molar absorpsiyon katsayisinin normal olarak bir $n \rightarrow \pi^*$ geçisininkinden 100 ile 1000 kat daha büyük olmasidir. Bu büyüklük her iki yöndeki geçis olasiliginin bir ölçüsünü gösterir. Böylece, $\pi \rightarrow \pi^*$ geçisi ile ilgili ömür daha kisa (bir $n \rightarrow \pi^*$ geçisi için olan 10^{-5} - 10^{-7} s ile karsilastirildiginda 10^{-7} - 10^{-9} s kadar) ve Esitlik 'deki *kf* daha büyüktür.

- Floresans ve Yapi

En siddetli ve en faydali floresans, düsük enerjili $\pi \rightarrow \pi^*$ geçislerine sahip aromatik fonksiyonel gruplan içeren bilesiklerde görülür. Alifatik ve alisiklik karbonil gruplarin veya fazla sayida konjüge çift bagli yapilar içeren bilesikler de floresans gösterebilir, ancak bunlarin sayisi aromatik sistemlerin sayisi ile karsilastirildiginda daha azdir.

- Derisim etkisi

Floresans siddeti F, düsük derisimlerde derisim ile orantilidir.

F=KC

Yüksek derisimlerde kendi kendine sönüm ve kendi kendine absorpsiyon nedeniyle negatif sapma gösterir. Bir uyarma spektrumu, uyarma dalga boyu degistirilirken, sabit dalga boyunda lüminesansin ölçülmesiyle elde edilir. (ayni sartlarda elde edilen absorpsiyon spektrumu ile aynidir). Floresans ve fosforesans spektrumlari dalgaboyunun bir fonksiyonu olarak emisyon siddeti kaydedilirken sabit dalgaboyunda uyarilmayi kapsar.

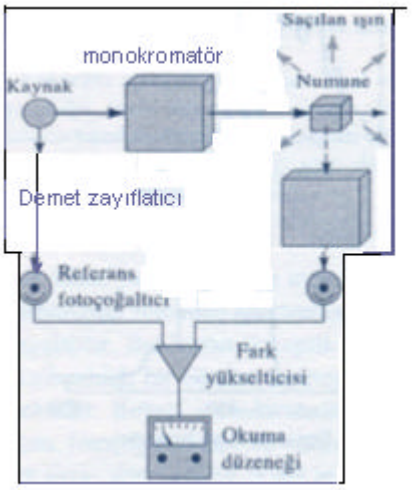
Fotolüminesans genellikle uyarma dalga boyundan daha uzun dalga boylarinda olur. Ayrica fosforesans bantlari floresans bantlarindan daha uzun dalga boylarinda olur. Çünkü triplet uyarilmis enerji seviyesi genelde singlet uyarilmis enerji seviyesinden daha düsük enerjilidir.

1.6.4. Floresans Ve Fosforesans Ölçümü Için Cihazlar

Fotolüminesans ölçülmesi için kullanilan cihazlarin çesitli bilesenleri, ultraviyole görünür bölge fotometreleri veya spektrofotometrelerinde bulunanlarla benzerdir. Sekil 1.22'de *florimetreler* ve *spektroflorometrelerde*ki bu bilesenlerin tipik bir dizilisi görülmektedir. Hemen hemen bütün floresans cihazlarinda güç kaynagindaki dalgalanmalari dengelemek (etkisini gidermek) için çift-isinli optik sistem kullanilir. Numuneden gelen *isin,* önce floresans uyaracak isinlari geçiren fakat floresans emisyonunun dalga boyundaki isinlari disarida tutan veya sinirlayan bir uyarilma filtresinden veya bir monokromatörden geçer. Floresans numuneden bütün yönlere dogru olur, fakat en uygun sekilde floresans uyarma isinina dik açidan gözlenir; diger açilarda çözeltiden ve hücre duvarlarindan olusan saçilma, siddet ölçümünde büyük hatalara sebep olabilir. Yayilan isin, ölçme için floresansi ayiran ikinci bir filtreden veya monokromatörden geçtikten sonra bir dedektöre ulasir. Referans isin demeti ise, isigin gücünü yaklasik olarak floresans isinlarinkine azaltan bir azalticidan geçer (güç azaltilmasi ekseriya 100 kat veya daha fazladir). Referans ve numune fotoçogaltici tüplerden gelen sinyaller, sonra çiktiyi bir metreye veya kaydedici ile gösteren bir fark yükselticisine gönderilir.

- Isik Kaynaklari;

Filtreli florometreler için en yaygin kullanilan kaynak, erimis silika pencereli, düsük basinçli Civa buhar lambasidir. Bu kaynak, 254, 302, 313, 546, 578,691 ve 773 nm'deki uyarma floresansinda faydali çizgiler meydana getirir. Herbir çizgi, uygun absorpsiyon veya girisim filtreleri ile digerlerinden ayrilabilir. Floresans yapan birçok bilesikte, floresans çesitli dalga boylariyla saglanabildiginden, civanin en azindan bir çizgisi normal olarak bu is için uygun olur.



Sekil 1.23. Fotolüminesans cihazinin akis semasi

- Filtreler ve Monokromatörler

Hem uyarma demetinin hem de olusan floresans isininin dalga boyunun seçilmesi için, florometrelerde girisim ve absorpsiyon filtrelerinin her ikisi de kullanilmistir. Spektroflorometrelerin çogu, en az bir ve bazen iki optik agli monokromatör ile donatilmistir.

- Dedektörler

Tipik lüminesans sinyali düsük siddetlidir; ölçülebilmeleri için yükseltilmeleri gerekir. Duyarli floresans cihazlarda fotoçogaltici tüpler en yaygin kullanilan dedektörlerdir. Bunlar, genellikle, artirilmis sinyal/gürültü oranlari elde etmek için foton sayim modunda çalistirilirlar. Sinyal/gürültü oranlarini artirmak için bazen dedektörlerin sogutulmasi da gerekir.

- Hücreler ve Hücre Bölmeleri

Floresans ölçmeleri için cam veya silisden yapilmis hem silindirik hem de dikdörtgen prizmasi seklindeki hücreler kullanilir.

Fosforesans ölçümünde florometrelere uyarma ile fosferansin aralikli olarak ölçülmesini saglayacak düzenek eklenir. Fosforimetre ile florometre arasindaki fark budur.

1.6.5. Analitik Uygulamalari

Floresans ve fosforesans yöntemleri absorbansa dayali spektrofotometrik ölçümlerden daha düsük derisim araliklarina uygulanabilir. Yüksek duyarlik isik kaynaginin gücünü artirmak suretiyle saglanabilir. Ancak fotolüminesans yöntemlerinin kesinlik ve dogrulugu absorpsiyona dayali spektrofotometrik yöntemlerden daha düsüktür. Floresans olusturan kompleks olusturarak metal iyonlarinin emisyonu ölçülebilir. Florometik analizin organik ve biyokimyasal türlere çok sayida uygulamasi vardir. Florometrenin en önemli uygulamalari, gida ürünleri, ilaç, klinik numuneler ve dogal ürünlerin analizidir. Fosforesans ve floresans yöntemleri birbirlerini tamamlama egilimindedirler. Çünkü, kuvvetli floresans yapan bilesikler zayif fosforesans, kuvvetli fosforesans yapan bilesikler de zayif floresans yaparlar. Örnegin, bitisik halkali aromatik hidrokarbonlar arasinda, halojenler veya sülfür gibi daha agir atomlari içerenler, genellikle kuvvetli olarak fosforesans yaparlar; diger taraftan, agir atom içermeyen ayni tip bilesikler fosforesanstan daha çok floresans yapma egilimindedir.
Fosforimetri, nükleik asitler, amino asitler; pirin ve pirimidin, enzimler, petrol hidrokarbonIari ve pestisitler gibi maddeleri de kapsayan çok çesitli organik ve biyokimyasal türlerin tayini için kullanilmistir. Bununla beraber, bu yöntem, florometri kadar yaygin kullanim alani bulmamistir. Bunun sebebi, düsük sicakliklara ihtiyaç duyulmasi ve fosforesans ölçmelerindeki daha zayif kesinlik olabilir. Diger taraftan, fosforesans islemlerinin potansiyel olarak daha yüksek seçiciligi cezbedicidir. Davranistaki bu farkin sebebi, etkili fosforesansin uyarilmis triplet haldeki molekül sayisini artirmak için hizli sistemler arasi geçise ihtiyaç duymasi, dolayisiyla uyarilmis singlet derisimini ve böylece de fosforesans siddetini azaltmasidir.

Lüminesans yöntemlerinin en cezbedici özelliklerinden birisi, absorpsiyon spektroskopide karsilasilan bir ile üç ondalik mertebesinden daha küçük gözlenebilme sinirlan saglayan kendilerine özgü duyarliklaridir. Pik gözlenebilme sinirlari milyarda bir (ppb) mertebesindedir. Fotolüminesans yöntemlerin diger bir üstünlügü, onlarin genis dogrusal derisim araligi olup, bu da genellikle absorpsiyon yöntemleriyle karsilasilanlardan önemli derecede daha büyüktür. Yüksek duyarliklari sebebiyle, kantitatif lüminesans yöntemleri, siklikla numune matriksinden kaynaklanan ciddi girisim etkilerine maruz kalirlar. Bu sebepten dolayi, lüminesans ölçmeleri genellikle çok iyi kromatografik ve elektroforez ayirma teknikleri ile birlikte kullanilir. Floresans

dedektörler, sivi kromatografi ve kapiler elektroforez için dedektör olarak, fevkalade duyarliklari sebebiyle, özellikle degerlidir.

Genel olarak, lüminesans yöntemleri, kantitatif analizde absorpsiyon yöntemlerinden daha az uygulanir. Çünkü, ultraviyole/görünür isini absorplayan türler, spektrumun bu bölgesinde isinin absorpsiyonu sonucu olusan fotolüminesans gösterenlerden çok daha fazladir. (Ens. Ana. Ilk. Douglas, Skoog)

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

Sunulan çalisma kapsaminda yapilan deneysel çalismalari su ana basliklar altinda toplamak mümkündür:

1. Metakriliminodiasetik asit (MAIDA) ve Metakriliminodiasetik-Cr(III) [MAIDA-Cr(III)] monomeri ile MAIDA-Cr(III)-Dipikolinik asit [MAIDA-Cr(III)-DPA] ön organize monomerinin sentezi ve karekterizasyonu,
2. MAIDA-Cr(III)-DPA ön organize monomeri kullanarak, DPA belleklerle donatilan nanokabuklara sahip, Au nanopartikül ve Au-Ag nanoküme nanosensörlerin hazirlanmasi, bacillus sporlarini tanimasi açisindan degerlendirilmesi ve seçicilik çalismalari
3. Metakrilamidoantipirin (MAAP), metakrilamidohistidin (MAH), metakrilamidoantipirin-Fe(III) [MAAP-Fe(III)] ve metakrilamidohistidin-Pt(II) [MAH-Pt(II)] monomerlerinin sentezi ve karekterizasyonu,
4. MAH-Pt(II)-MAAP-Fe(III)-8hidroksideoksiguanizin [MAH-Pt(II)-MAAP-Fe(III)-8-OHdG], ön organize monomer sistemini kullanarak QCM biyosensör çipinin hazirlanmasi ile DNA'nin baglanti bölgelerini taniyan belleklerin QCM elektrot yüzeyinde olusturulmasi,
5. Kendi organize olabilen QCM elektrotlarin hasarli DNA tayininde kullanilmasi ve tasarlanilan moleküler baskilanmis (MIP) malzemelerin moleküler tanimlama açisindan degerlendirilmesi ve seçicilik çalismalari

2.1.1. Kullanilan kimyasal maddeler

Azobisizobutironitril (AIBN), $Cr(NO_3)_3.9H_2O$, dipikolinik asit (DPA), etilenglikoldimetakrilat (EDMA), guanozin, guanin, Fluka AG (Buchs, Switzerland) firmasindan alinmis ve etilenglikoldimetakrilat hidrokinonin inhibitörü ile vakum altinda distile edilerek kullanilmadan önce 4°C'da saklanmistir. 8-OHdG, N-N/-Metilenbisacrylamide, Sodium metabisulfite ($Na_2S_2O_5$), Potasyum peroxidisülfat ($K_2S_2O_8$) ve glisin Aldrich (Milwaukee, WI, USA) firmasindan alinmistir. Sistein, histidin, metakrilklorür, platin (II) klorür, civa (II) klorür, 2 propen 1 tiol (alil merkaptan) ve poliguanilikasit Aldrich (Milwaukee, WI, USA) firmasindan temin

edilmistir. Diger bütün kimyasallar ve biyokimyasallar analitik saflikta olup, Merck AG (Darmstadt, Almanya) firmasindan saglanmistir.

Deneylerde kullanilan su; yüksek akisli selüloz membranli Barnstead (Dubuque, IA) Ropure LP® ters ozmoz ünitesinde isleme tabi tutulduktan sonra Barnstead D3804 NANOpure® organik/kolloidal uzaklastirma ve dolgulu iyon degisim sistemi kullanilarak saflastirilmistir. Elde edilen saf suyun iletkenligi 18 megaohm/cm'dir.

2.1.2. Kullanilan cihazlar

Bu çalismada mikrogravimetrik ölçümler icin 9 MHz, teflon tutturucuda AT-cut kuartz kristaller ve QC 922 (Seiko EG&G) kuartz kristal analizör kullanilmistir. DPA baskili Au, Au-Ag nanokristallerin uyarilma ve emisyon dalgaboylari arasindaki ayirim için floresans ölçümleri Varian Cary Eclipse marka spektroflorometre kullanilarak gerçeklestirilmistir. AFM görüntüleri (Q-Scope 250, Quesant Instruments, CA, USA) ile alinmistir. ^{1}H ve ^{13}C NMR spectrumlari DMSO-*d6'li* TMS de Bruker 500 MHz NMR cihazi ile, Transmission Emission Mikroskobu (TEM) görüntüleri FEI-Tecnai^{TM} G^{2} Sprit transmission electron microscope (20-120 kV) ile, Fourier Transform Infrared (FTIR) spektrumlari FTIR (Spectrum 100, Perkin Elmer, USA) ile. Raman spektrumlari (Bruker Senterra Dispersive Raman Microscope, Germany) raman spektrofotometresi ile elde edilmistir.

2.2. Yöntem

2.2.1. MAIDA (2,2'-[(2-methylacryloyl)imino]diacetic acid) monomerinin sentezi

a) IDA(OMe)$_2$.HCl hazirlanisi (HCl salt of dimethyl 2,2'-iminodiacetate)

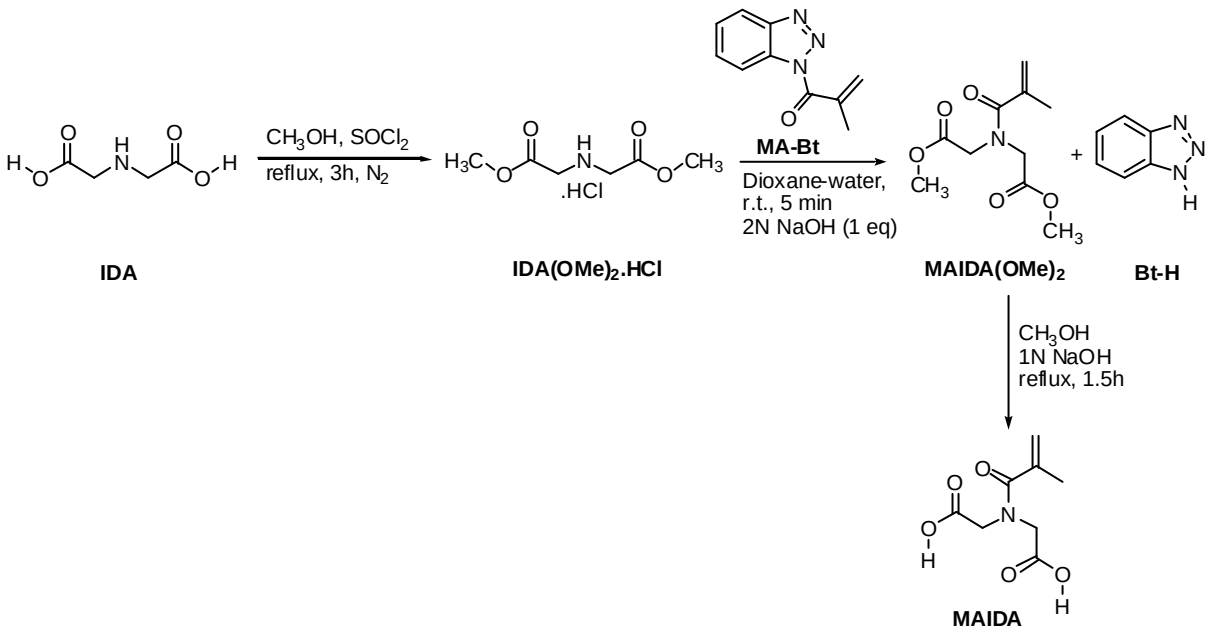
Thionyl chloride ($SOCl_2$, 2eq) **IDA'nin** (1eq, 25mL susuz metanol içerisinde), süspansiyon çözeltisine ilave edildi ve ilave ile IDA çözülmeye basladi. Reaksiyon karisimi 3 saat azot ortaminda reflux edildi. Çözücü vakum ortaminda uçuruldu. Ürün **IDA(OMe)$_2$.HCl** %96'lik verimle beyaz kristaller halinde elde edildi.

b) MAIDA(OMe)$_2$; (dimethyl 2,2'-[(2-methylacryloyl)imino]diacetate) (Deniz Hür, Sultan F. Ekti, and Ridvan Say, Letters in Organic Chemistry, 2007, 4, 585-587.) prosedürüne göre sentezlenmistir.

b-1) MA-Bt (A.R. Katritzky, Y. Zhang, S.K. Singh, Synthesis 18 (2003) 2795–2798.) prosedürüne göre sentezlenmistir.

IDA(OMe)$_2$.HCl 20 ml su içerisinde çözüldü, 2N NaOH (1eq) bu çözeltinin içerisine ilave edildi. Ilaveden sonra çözelti yavas yavas sariya döndü. The solution of MA-Bt çözeltisi (1 eq in 1,4-dioxane 10mL içerisinde hazirlanmis) reaksiyon karisiminin içerisine damla damla ilave edildi. Reaksiyon karisimi oda sicakliginda, TLC de **1*H*-Benzotriazole (Bt-H)** ve **MA-Bt** farki belirinceye kadar karistirildi. (5 min.). Bt-H' i çikarmak için elde edilmis karisima etil asetat ilave edildi. Su fazi 1N H_2SO_4 çözeltisi kullanilarak pH 6-7'ye nötralize edildi. Water was removed under vacuum to get **MAIDA(OMe)$_2$** elde etmek için su fazi vakum altinda çikarildi ve %87'lik verimle beyaz mikrokristaller elde edildi.

MAIDA(OMe)$_2$ metanol (50ml) içerisinde azot atmosferi altinda çözüldü. 1N NaOH asirisi çözelti ortamina ilave edildi ve reaksiyon karisimi 1,5 saat reflux edildi ve nötralize edildi. Çözücü, **MAIDA** eldesi için vakum altinda uçuruldu ve %72'lik verimle ürün elde edildi.



Sekil 2.1. MAIDA monomerinin sentezi

2.2.2. Metakriliminodiasetik-Cr(III) [MAIDA-Cr(III)] metal selat monomeri sentezi

MAIDA-Cr(III), MAIDA ve $Cr(NO_3)_3.9H_2O$ kullanilarak hazirlandi. MAIDA (0.1mmol) ve $Cr(NO_3)_3.9H_2O$ (0.1 mmol) 5.0 mL etanol içerisinde çözüldü ve çözelti 24 saat karistirildi.

2.2.3. Metakriliminodiasetik-Cr(III)-Dipikolinik asit [MAIDA-Cr(III)-DPA] metal-selat monomerinin ön organizasyonu

Metakriliminodiasetik-Cr(III)-Dipikolinik asit [MAIDA-Cr(III)-DPA] monomerinin sentezi için, hazirlanan MAIDA-Cr(III) metal selat monomeri (1.0 mmol) 5 mL etanol içerisinde çözülmüs ve hedef molekül olan dipikolinik asit (1 mmol) çözeltisi ile 4 saat karistirilarak (1:1) monomerin önorganizasyonu gerçeklestirilmistir.

2.2.4. Metakrilamidosistein (MAC) monomerinin sentezi

2-metakriloamidosistein monomerinin sentezi için uygulanan yöntemde; 5.0 g L-sistein ve 0.2 g $NaNO_2$, 30 mL K_2CO_3 (% 5, v/v) çözeltisi içerisinde çözülmüstür. Çözelti 0ºC'a sogutulmus ve 4.0 mL metakrilklorür, yavasça bu çözeltinin üstüne dökülmüstür. Karisim azot atmosferi altinda, manyetik karistirici ile 2 saat oda sicakliginda karistirilmistir. Bu sürenin sonunda, çözeltinin pH'i 7.0'ye ayarlanmis ve etilasetat ile ekstrakte edilmistir. Sulu faz, döner buharlastiricida uzaklastirilmis ve kalan kisim (MAC), etanol ve etilasetat ile kristallendirilmistir.

2.2.5. Altin nanopartikül sentezi (Au-MAC)

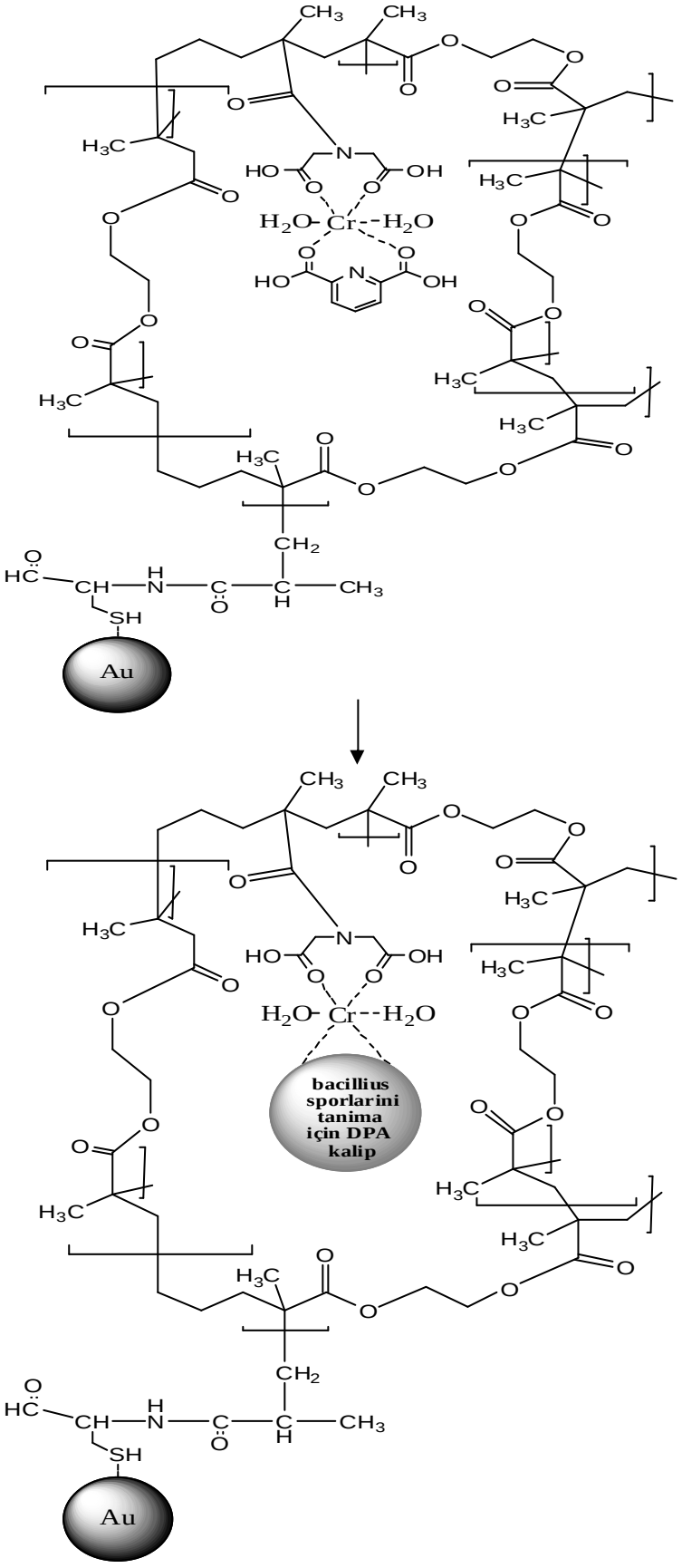
Altin nanopartiküller Brust ve arkadaslarinin gerçeklestirmis olduklari çalismalara göre hazirlanmislardir (Brust ve ark. 2008). Bu yöntemde, azot gazi ortaminda, 0.01 M sulu $NaBH_4$ çözeltisi esit hacimde amonyak çözeltisinde hazirlanmis 0.5 mM $HAuCl_4$ (pH ca. 7.8) ile karistirilmistir ve etanolde hazirlanmis 1mM MAC ile

siddetli bir sekilde karistirma islemine tabi tutulmustur. Olusan Au–MAC nanopartikülleri ortamdan ayrilmis ve su toluen ile yikanmistir. Nanopartiküller dimetil sülfoksitte (DMSO) dispers edilmistir.

2.2.6. Dipikolinik asit baskilanmis altin nanopartikül sentezi

Dipikolinik asit baskilanmis altin nanopartikül sentezi için, metakril ile aktive edilmis altin nanopartiküller, DMSO da çözülmüs, 0,05 mmol MAIDA-Cr(III)/DPA monomeri, 0,4 mmol EDMA çapraz baglayicisi ve yaklasik %1 olacak sekilde etanolde hazirlanmis AIBN radikalik reaksiyon baslaticisi ortaminda MIP temelli polimerizasyon islemine tabi tutulmusturlar. Bunun için çözelti 600rpm hizla manyetik karistirici ortaminda 365nm dalga boyunda UV lamba altinda 4 saat tutulmustur. Polimerizasyondan sonra DPA nano kabuklar içeren altin nanopartiküller polimerizasyon ortamindan uzaklastirilmistir. Kalip molekül olan DPA'in uzaklastirilmasi için 10 ml (3/1, v/v) metanolik fosforik asit çözeltisi ile 24 saat karistirilmistir.

Nonimprinted (NIP) Au nanopartiküllerde, kalip molekül olan DPA kullanmadan, yukaridaki anlatildigi gibi hazirlanmistir.



Sekil 2.2. DPA baskili Au nanopartiküllerin sematik gösterimi

2.2.7. DPA baskilanmis Au nanopartiküllerin luminesans ölçümleri

DPA baskilanmis Au nanopartikül sensörlerin DPA tanima kapasitesi dipikolinik asit kullanilarak floresans spektrofotometresi ile belirlenmistir. Farkli derisimlerdeki dipikolinik asit çözeltileri 600 rpmlik manyetik karistirici ortaminda 5dk süreyle karistirilmistir. Ardindan DPA baskili altin nanosensörlerin maksimum emisyon için, uyarilma daldaboyu 310 nm'de, emisyon dalgaboyu 620 nm'de belirlenmistir.

2.2.8. DPA baskilanmis Au-nanopartiküllerle seçicilik çalismalari

DPA baskilanmis Au-nanopartikül sensörlerin seçicilik çalismalari, molekül geometrisi DPA'ya benzedigi için ftalik asit kullanilarak floresans spektrofotometresi ile belirlenmistir. Ftalik asit çözeltisi DPA baskilanmis Au-nanopartikül sensörlerle 600 rpmlik manyetik karistirici ortaminda 5dk süreyle karistirilmistir. Ardindan karisim 310 nm'de uyarilmis ve 620 nm'deki emisyon siddetleri belirlenmistir.

2.2.9. DPA baskilanmis Au nanopartiküllerle gerçek örneklerde dipikolinik asit miktar tayini

DPA baskilanmis Au nanopartikül sensörlerin gerçek örneklerde DPA tanima kapasitesi, Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü tarafindan [Fernández ve ark. 2001, Zhang ve ark. 2006, Mazas ve ark. 1995, Dang ve ark. 2001, He ve ark. 2003] hazirlanmis bacillus sporlari kullanilarak floresans spektrofotometresi ile belirlenmistir. Farkli derisimlerdeki bacillus sporlari, DPA baskilanmis Au nanopartikül sensörlerle 600 rpmlik manyetik karistirici ortaminda 5dk süreyle karistirilmistir. Ardindan karisim 310 nm'de uyarilmis ve 620 nm'deki emisyon siddetleri belirlenmistir.

2.2.10. Altin-Gümüs nanoküme sentezi (Au-Ag-MAC)

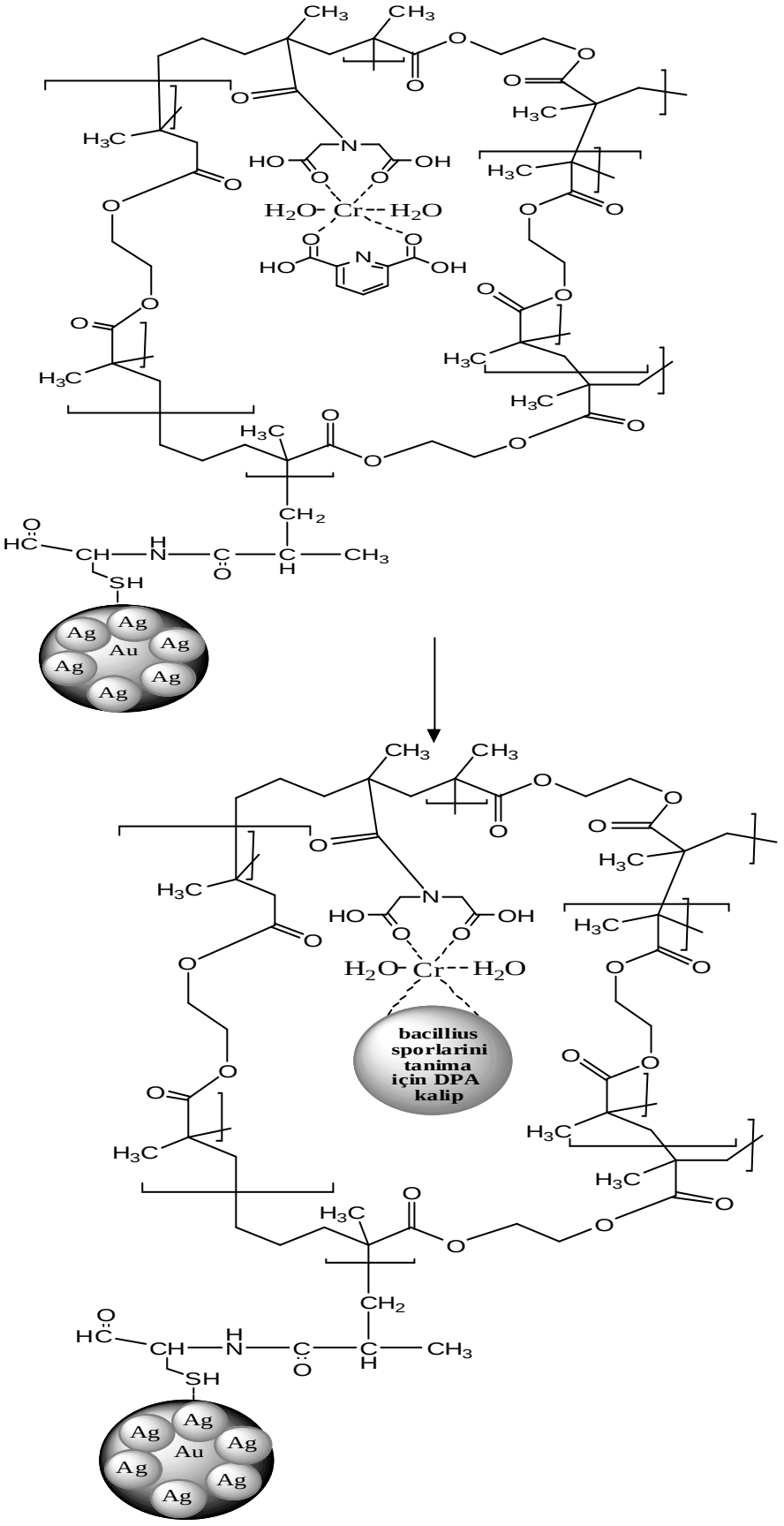
Altin-Gümüs nanokümeler Brust ve arkadaslarinin gerçeklestirmis olduklari çalismalara göre hazirlanmislardir (Brust ve ark. 2008). Bu yöntemde azot gazi

ortaminda, 0.01 M sulu $NaBH_4$ çözeltisi esit hacimde amonyak çözeltisinde hazirlanmis 0.5 mM $HAuCl_4$ (pH ca. 7.8) ile karistirilmistir ve etanolde hazirlanmis 1mM MAC ile siddetli bir sekilde karistirma islemine tabi tutulmustur. 20 ml Au–MAC üzerine esit hacimde 0.5 mM $AgNO_3$ ilave edilmistir. Olusan Au–Ag-MAC nanokümeler ortamdan ayrilmis ve birkaç kez su toluen karisimi ile yikanmistir. Nanoküme'ler dimetil sülfoksitte (DMSO) dispers edilmistir.

2.2.11. Dipikolinik asit baskilanmis altin-gümüs nanoküme sentezi

Dipikolinik asit baskilanmis altin-gümüs nanoküme sentezi için, metakril ile aktive edilmis altin-gümüs nanokümeler, DMSO da çözülmüs 0,05 mmol MAIDA-Cr(III)/DPA monomeri, 0,4 mmol EDMA çapraz baglayicisi ve yaklasik %1 olacak sekilde etanolde hazirlanmis AIBN radikalik reaksiyon baslaticisi ortaminda MIP temelli polimerizasyon islemine tabi tutulmusturlar. Bunun için çözelti 600rpm hizda manyetik karistirici ortaminda 365nm dalga boyunda UV lamba altinda 4 saat tutulmustur. Polimerizasyondan sonra DPA nano kabuklar içeren altin nanopartiküller polimerizasyon ortamindan uzaklastirilmistir. Kalip molekül olan DPA uzaklastirilmasi için 10 ml (3/1, v/v) metanolik fosforik asit çözeltisi ile 24 saat karistirilmistir.

Nonimprinted (NIP) Au-Ag nanoküme sensor'de, kalip DPA kullanmadan, yukarida anlatildigi gibi hazirlanmistir.



Sekil 2.3 DPA baskili Au-Ag nanokümenin sematik gösterimi

2.2.12. DPA baskilanmis Au-Ag nanokümelerin luminesans ölçümleri

DPA baskilanmis Au-Ag nanoküme sensörlerin DPA tanima kapasitesi dipikolinik asit kullanilarak floresans spektrofotometresi ile belirlenmistir. Farkli derisimlerdeki dipikolinik asit çözeltileri 600 rpmlik hizda manyetik karistirici ortaminda 5dk, maksimum emisyona ulasildigi tespit edildigi için, karistirilmistir. Bunun devaminda DPA baskili altin-gümüs nanosensörlerin maksimum emisyon için, uyarilma daldaboyu 260 nm'de ve emisyon dalgaboyu 520 nm'de belirlenmistir.

2.2.13. DPA baskilanmis Au-Ag nanokümelerle seçicilik çalismalari

DPA baskilanmis Au-Ag nanoküme sensörlerin seçicilik çalismalari molekül geometrisi DPA'ya benzedigi için ftalik asit kullanilarak floresans spektrofotometresi ile belirlenmistir. Ftalik asit çözeltisi DPA baskilanmis Au-Ag nanocluster sensörlerle 600 rpmlik hizda manyetik karistirici ortaminda 5dk süreyle karistirilmistir. Ardindan karisim 260 nm'de uyarilarak ve 520 nm'deki emisyon siddetleri belirlenmistir.

2.2.14. DPA baskilanmis Au-Ag nanokümelerle gerçek örneklerde dipikolinik asit miktar tayini

DPA baskilanmis Au-Ag nanoküme sensörlerin gerçek örneklerde DPA tanima kapasitesi, Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü tarafindan [Fernández ve ark. 2001, Zhang ve ark. 2006, Mazas ve ark. 1995, Dang ve ark. 2001, He ve ark. 2003] hazirlanmis bacillus sporlari kullanilarak floresans spektrofotometresi ile belirlenmistir. Farkli derisimlerdeki bacillus sporlari, DPA baskilanmis Au-Ag nanoküme sensörlerle 600 rpmlik hizda manyetik karistirici ortaminda 5dk süreyle karistirilmistir. Ardindan karisim 260 nm'de uyarilmis ve 520 nm'deki emisyon siddetleri belirlenmistir.

2.2.15. Metakrilamidohistidin (MAH) monomerinin sentezi

2-metakrilamidohistidin monomerinin sentezi için uygulanan yöntemde; 5.0 g histidin ve 0.2 g $NaNO_2$, 30 mL K_2CO_3 (% 5, v/v) çözeltisi içerisinde çözülmüstür. Çözelti 0°C'a sogutulmus ve 4.0 mL metakrilklorür, yavasça bu çözeltiye ilave edilmistir. Karisim azot atmosferi altinda, manyetik karistirici ile 2 saat oda sicakliginda karistirilmistir. Kimyasal reaksiyonun sonunda, çözeltinin pH'i 7.0'ye ayarlanmis ve etilasetat ile ekstrakte edilmistir. Sulu faz, döner buharlastirici kullanilarak uzaklastirilmis ve kalan kisim (MAH), etanol ve etilasetat ile kristallendirilerek saflastirilmistir.

2.2.16. Metakrilamidohistidin-Pt(II) [MAH-Pt(II)] metal-selat monomeri sentezi

Metakrilamidohistidin-Pt(II) metal-selat monomeri [MAH-Pt(II)], MAH ve platin (II) klorür bilesiklerinin etkilestirilmesi ile sentezlenmistir. Bunun için 0,266g (1 mmol) platin (II) klorür ve 0,223g (1 mmol) MAH monomeri 20 ml aseton-su karisiminda çözülmüs ve kahverengi MAH-Pt(II) metal-selat monomeri etanol/etilasetat ile kristallendirilerek saflastirilmistir.

2.2.17. Metakrilamidoantipirin (MAAP) monomerinin sentezi

MAAP monomerinin sentezi için uygulanan yöntemde; 0.5 g (2.463 mmol) antipirin ve 0.2 mL (2.46 mmol) piridin, kuru kloroform (100 mL) çözücüsü içerisinde çözülmüstür. Çözelti 0 ºC'a sogutulmus ve 0.26 mL (2.46 mmol) metakrilklorür yavasça çözeltiye ilave edilmistir. Bu çözelti azot atmosferi altinda manyetik karistirici ile oda sicakliginda 2 saat karistirilmistir. Kimyasal reaksiyon sonunda, çözelti 50 mL seyreltik HCl ve sonra 50 mL seyreltik NaOH ile yikanmistir. Daha sonra organik faz döner buharlastirici kullanilarak uzaklastirilmis ve kalan kisim (MAAP), petrol benzini ve etil asetat ile kristallendirilerek saflastirilmistir (Ersöz ve ark. 2004).

2.2.18. Metakrilamidoantipirin-Fe(III) [MAAP-Fe(III)] metal-selat monomeri sentezi

MAAP-Fe(III) kompleksini sentezlemek için uygulanan yöntemde; 0.271 g (1.0 mmol MAAP) 20 mL etil alkolde çözünmüstür. Bu çözeltiye oda sicakliginda 0,270 g ($FeCl_3.6H_2O$) (1 mmol) ilave edilmistir. Çözelti koyu kirmiziya dönünceye kadar oda sicakliginda 12 saat süre ile reaksiyona devam edilmistir. Daha sonra olusan MAAP-Fe(III) monomer kompleksi çökertilip, süzülmüs % 99'luk etanol (300 mL) çözeltisi ile yikanmis ve vakum etüvünde 60 ^oC'de 48 saat kurutulmustur.

2.2.19. Metakrilamidohistidin-Pt(II)-8-Hidroksideoksiguanizin Metakrilamidoantipirin-Fe(III) [MAH-Pt(II)-8-OHdG-MAAP-Fe(III)] metal-selat monomerinin ön organizasyonu

MAH-Pt(II)-8-OHdG-MAAP-Fe(III) metal selat monomerini sentezlemek için 0,25 mmol MAH-Pt(II) içeren aseton-su çözeltisi ile $7x10^{4-}$ g (0,25 mmol) 8-OHdG 3 saat süreyle karistirilmistir. Üzerine 0,25 mmol MAAP-Fe(III) içeren asetonitrildeki çözeltisi ilave edilmis ve karistirma islemi 24 saat devam ettirilmistir.

2.2.20. (8-OHdG) baskilanmis QCM elektrodun hazirlanmasi

Polimerizasyon öncesinde altin elektrotlar 1:1:5 oraninda deiyonize su (%33), H_2O_2 (%33) ve NH_3 (%33) içeren kaynayan çözelti ile temizlenmislerdir. Kristaller 10 dakika süreyle çözelti içine daldirilmis ve deiyonize su ile yikandiktan sonra bir gün süreyle kurutulmustur. QCM'in temizlenmis altin yüzeyi 2 propen 1 tiol (allil merkaptan) içeren etanol/su (4:1, v/v) çözeltisinde 24 saat süreyle tutulmustur. Tiyol gruplarinin asirisini uzaklastirmak için kristal, etanol ve deiyonize su ile yikanmistir. Polimerizasyon için metakril ile aktive edilmis kristaller, metal-selat (MAH-Pt(II)-8OHdG-MAAP-Fe(III) monomer (0.25 mM), çapraz baglayici (N,N´-MBAA) (5 mM) ve polimerizasyon baslatici ($Na_2S_2O_5/K_2S_2O_8$) içeren çözeltiye ilave edilmistir. Daha sonra reaksiyon karisimi, QCM yüzeyinin üzerine damlatilmistir. Oksijen varliginda polimerizasyon engellendigi için reaksiyon azot atmosferi altinda gerçeklestirilmistir.

Polimerizasyon azot atmosferi altinda 150 dakika boyunca UV isigi ile oda sicakliginda gerçeklestirilmistir. Referans olarak kullanilmak üzere baskilanmamis polimer kapli QCM elektrotlarda MAH-Pt(II)-8OHdG-MAAP-Fe(III) ile benzer sekilde hazirlanmistir. Kullanimdan önce kuartz kristalleri 15 dakika etanol ile yikanmis ve kurutulmustur. Kalip uzaklastirilmasi için elektrotlar 0.1 M glisin-HCl ve fosfat tamponuyla yikanmistir.

2.2.21. (8-OHdG) baskilanmis QCM elektrot ile sensör ölçümleri

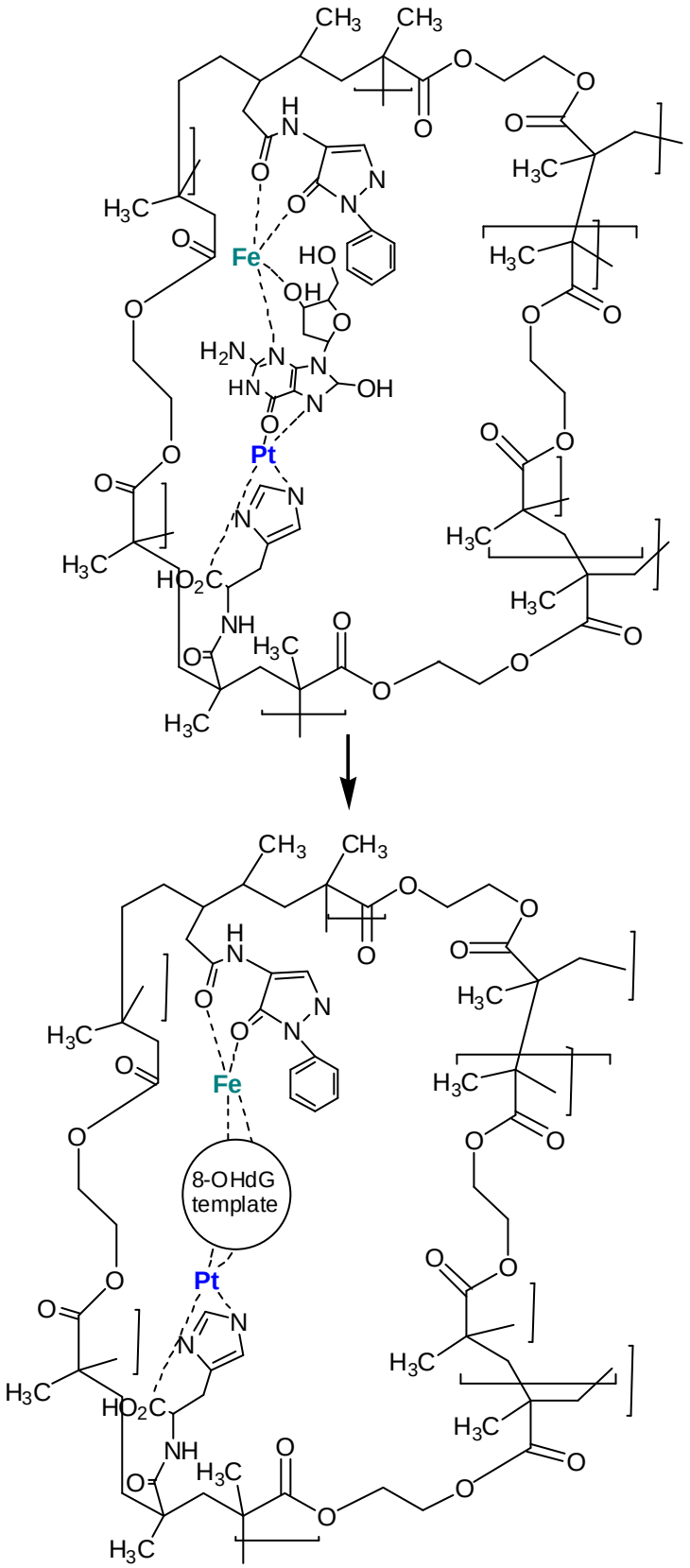
8-OHdG baskili kristaller ilk olarak 0.05 M fosfat tamponu (pH:10.0) ile oda sicakliginda kararli hale getirilmis ve sabit rezonans frekansi (F_0) belirlenmistir. Daha sonra fosfat tamponu içindeki (2.0 µL) 8-OHdG standart çözeltisi QCM çiplerinin üzerine damlatilmis ve 24 saat süre ile etkinlestirilmistir. Sensörün frekansi kararli hale gelene kadar (F_1) izlenmistir. (8-OHdG) herbir konsantrasyonu için frekans kaymasi, $\Delta F=F_0 - F_1$ esitliginden hesaplanmistir. Her bir ölçümden sonra (8-OHdG) önce 0.1 M glisin-HCl çözeltisi ile daha sonra üç kez fosfat tamponu ile yikanarak uzaklastirilmistir. Sensörün frekansi yaklasik olarak F_0 degerine kadar geri elde edilmistir.

2.2.22. (8-OHdG) baskilanmis QCM elektrot ile seçicilik çalismalari

8-OHdG baskilanmis QCM elektrot ile seçicilik çalismalari için guanozin ve guanin kullanilmistir. 8-Hidroksideoksiguanizin baskili kristaller ilk olarak 0.05 M fosfat tamponu (pH:10.0) ile oda sicakliginda kararli hale getirilmis ve sabit rezonans frekansi (F_0) belirlenmistir. Daha sonra fosfat tamponu içindeki (2.0 µL) guanozin'in standart çözeltisi QCM çiplerinin üzerine damlatilmis ve 24 saat süre ile etkinlestirilmistir. Sensörün frekansi kararli hale gelene kadar (F_1) izlenmistir. Guanizinin için frekans kaymasi, $\Delta F=F_0 - F_1$ esitliginden hesaplanmistir. Sensörün frekansi yaklasik olarak F_0 degerine kadar geri elde edilmistir. Bu islem guanozin ve guanin içinde tekrarlanmistir.

2.2.23. 8-OHdG baskilanmis QCM elektrot ile gerçek numunelerde 8-OHdG miktar tayin

Gerçek numunelerde analiz için Eskisehir Osmangazi Üniversitesi Arastirma ve Uygulama Hastanesi Biyokimya Laboratuarindan incebagirsak kanseri olan bir hastadan kan numunesi alinmistir. Kati faz ekstraksiyonuyla kan numunesinin hazirlanmasi isleminde 1ml plazma alinarak esit hacimde asetonitril ilavesiyle plazma proteinleri çöktürülmüstür. 4G hizda santrifüjle 15 dk santrifüj edilmis ve sivi faz alinmistir. Ardindan 4 hacim suyla seyreltilmistir..



Sekil 2.4. QCM sensör yüzeyindeki 8-OHdG bellek olusumu

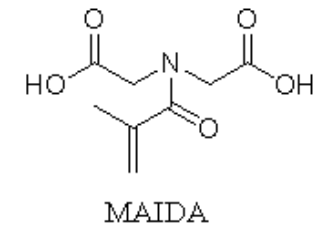
3. BULGULAR

3.1. DPA baskilanmis Au-nanopartiküller ile yapilan çalismalar

3.1.1. MAIDA monomerinin karakterizasyonu

MAIDA monomerinin karakterizasyonu FT-NMR ve FTIR ile yapilmistir.

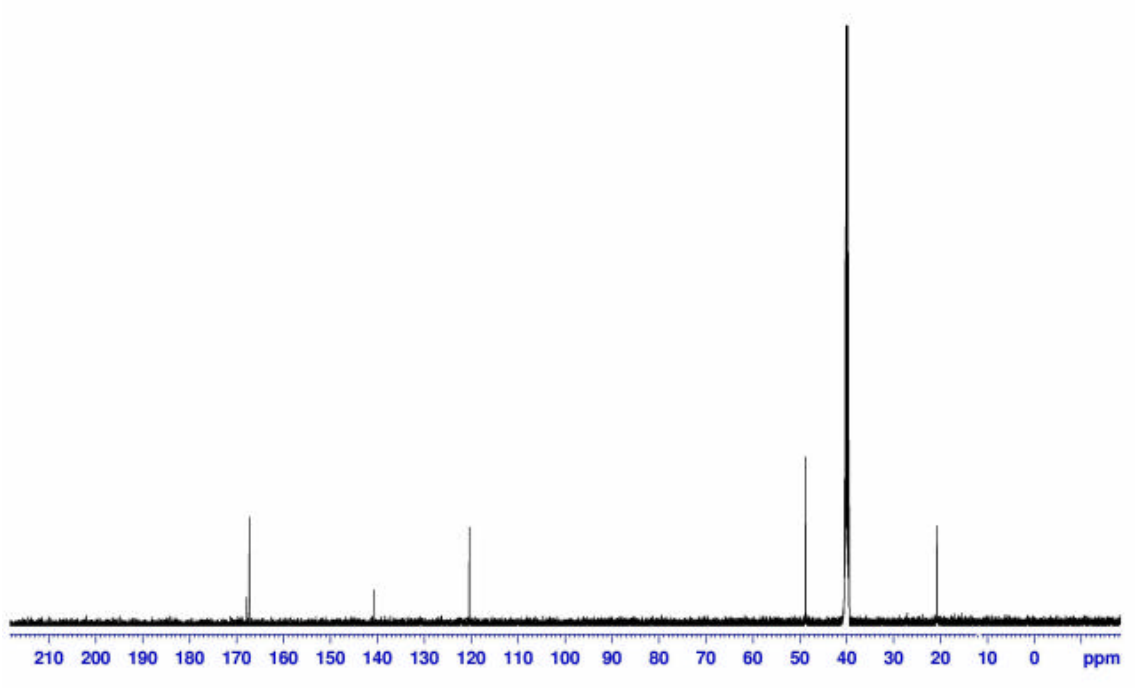
Sekil 3.1. Metakrilamidodiasetik asit monomerinin molekül formülü



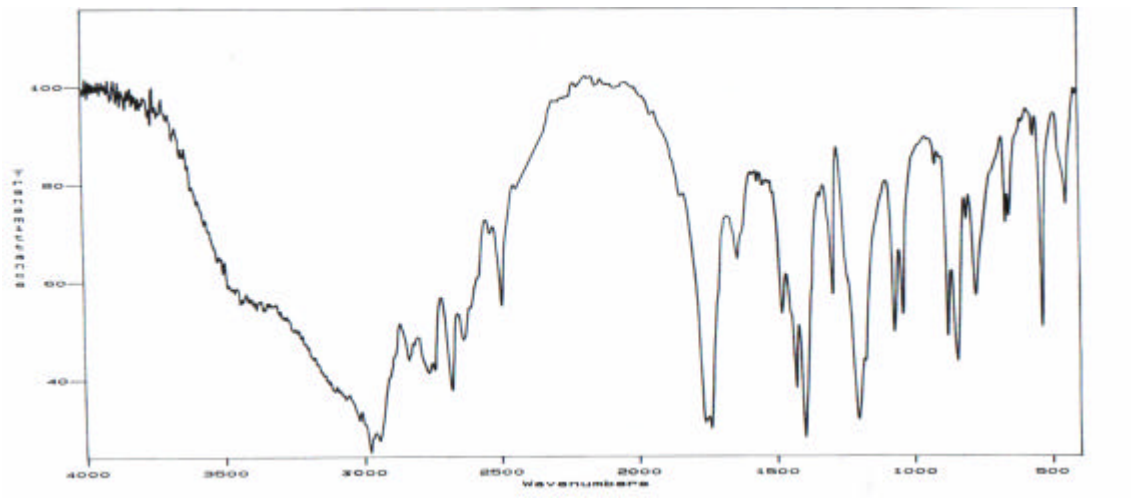
Sekil 3.2. Metakrilamidodiasetik asit 1H-NMR spektrumu

MAIDA: 1H (500 MHz, DMSO- d6); 2.20 (t, 3H, -CH_3, J= 7.28 Hz), 3.4 (s, 2H, HOOCCH$_2$NCH$_2$COOH), 4.06 (s, 4H, HOOCCH$_2$NCH$_2$COOH), 5.28 (s, H, H$_2$C=C(CH_3)-) 5.6 (m, H, H$_2$C=C(CH_3)-)

^{13}C NMR (125 MHz, DMSO –d6); 20, 40.7, 46.9, 120.1, 141.2, 166.3, 168.2



Sekil 3.3. Metakrilamidodiasetik asit 13C-NMR spektrumu

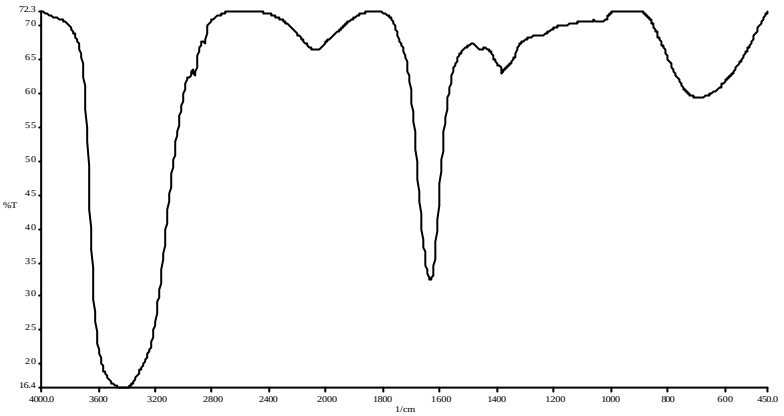


Sekil 3.4. MAIDA' nin FTIR spektrumu

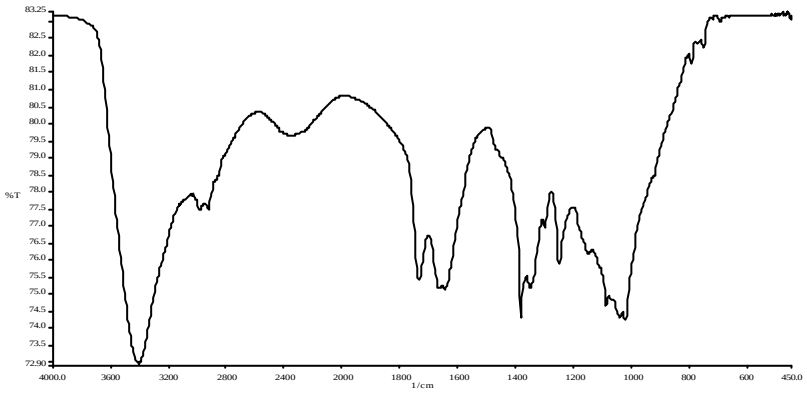
MAIDA'nin FTIR spektrumunda karakteristik 3. amit bandi titresim gerilmeleri 1300 cm^{-1}'de, 1730 cm^{-1}'de karbonil bandi, 1650 cm^{-1} ve 890 cm^{-1}'de alken bantlari görülmektedir.

3.1.2. MAIDA-Cr(III) ve MAIDA-Cr(III)-DPA metal-selat monomerlerinin karakterizasyonu

MAIDA-Cr(III) ve MAIDA-Cr-DPA FTIR spektrofotometresiyle karakterize edilmistir.



Sekil 3.5.a. MAIDA-Cr (III)' ün FTIR spektrumu



Sekil 3.5.b. MAIDA-Cr (III)-DPA'nin FTIR spektrumu

Sekil 3.5.a'daki FTIR spektrumu MAIDA-Cr(III) metal-selat monomerinin sentezlendigini dogrulamaktadir. 1637 cm^{-1} deki karbonil bandi Cr'un MAIDA ile baglandigini göstermektedir. 1700 cm^{-1} de çikmasi gereken karbonil bandi metal etkilesimi nedeniyle 1637 cm^{-1} ye kaymistir.

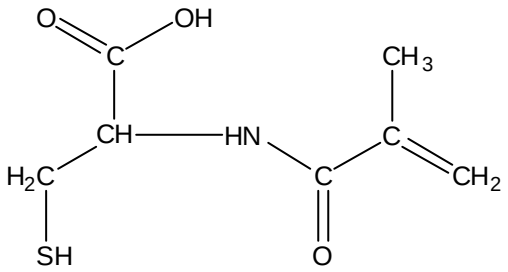
Ligand degistirici monomer, MAIDA-Cr(III)-DPA' nin FTIR spektrumu DPA' da bulunan piridin halkasina ait 1384 ve 1351cm^{-1}'deki titresim bantlarini

göstermektedir (Sekil 3.5.b). Buda DPA'nin yapida oldugunu göstermektedir. MAIDA-Cr(III) çözeltisinin yesil renginin DPA ile etkilesiminden sonra mora dönüsmesi DPA'nin baglandiginin bir kanitidir (Sekil 3.6).



Sekil 3.6. MAIDA-Cr(III) ve MAIDA-Cr-DPA çözeltilerinin renkleri

3.1.3. MAC monomerinin karakterizasyonu

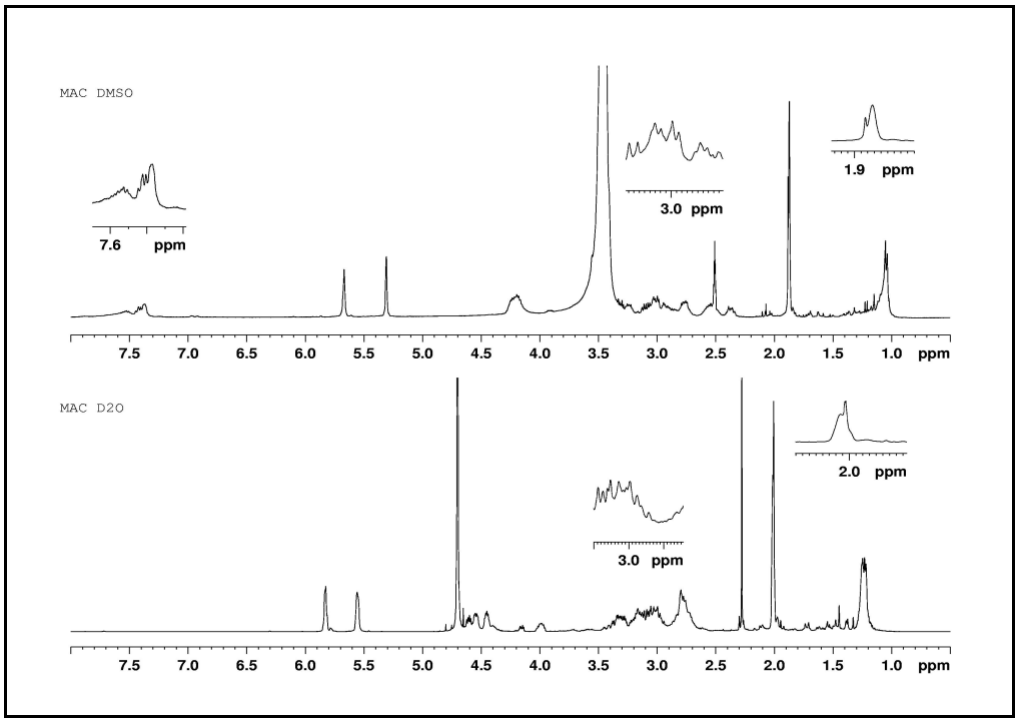


metakrilamidosistein

Sekil 3.7. Metakrilamidosistein monomerinin molekül formülü

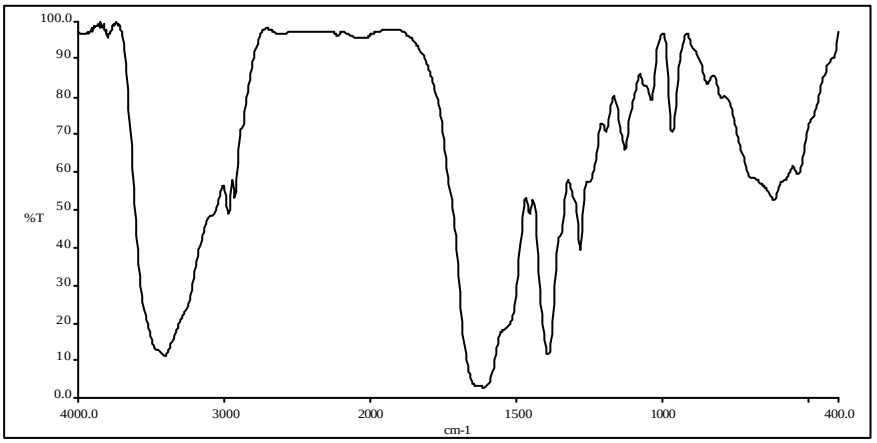
Sekil 3.7'de açik yapisi verilen MAC monomerinin karakterizasyonu için iki farkli çözücüde (DMSO-D_6 ve D_2O) ^{1}H-NMR spektrumlari alinmistir. Sekil 3.8. NMR spektrumlarini göstermektedir. Karakteristik pikler su sekildedir; 7.67-7.36 ppm

arasindaki pikler -SH ve -NH protonlarina ait olup suda bu piklerin gözlenmemesi hareketli proton olmalarindan kaynaklanmaktadir. 5.67 ve 5.31 ppm de etilen protonlari gözlenmektedir. 4.16 ppm'de -CH, 1.88 ppm'de -CH_3 pikleri gözlenmektedir



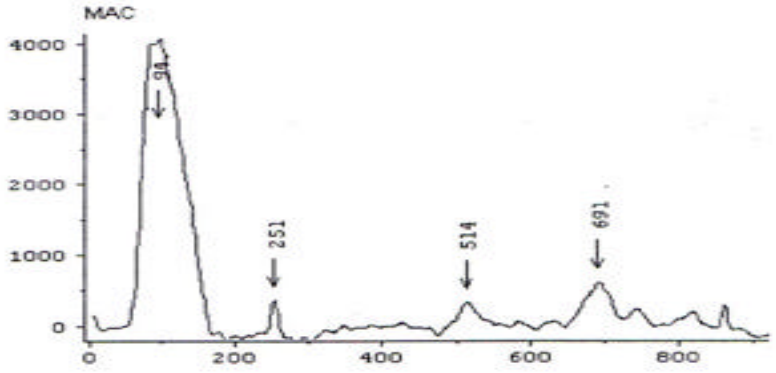
Sekil 3.8. MAC monomerinin NMR spektrumu

Sekil 3.9'de görülen FTIR spekturumundan MAC yapisinda bulunan karbonil gruplarinin agirlikli 1615 cm^{-1}'de, bagli N-H gerilmelerinin 3414 cm^{-1}'de, C-S gerilmelerinin ise 706 ve 622 cm^{-1}'de band olusturdugu söylenebilir.



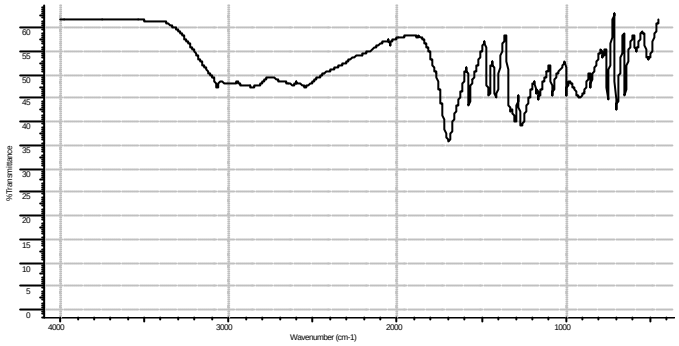
Sekil 3.9. MAC monomerinin FT-IR spektrumu

Sekil 3.10’da verilen MAC monomerine ait Raman spektrumu incelendiginde 691 cm^{-1}’de C-S gerilme titresimine ait bant gözlenmektedir. MAC monomerindeki sistein yapisinda bulunan karbon (C-C-C) gruplarina ait egilme bandi ise 514 cm^{-1} gözlenmektedir.

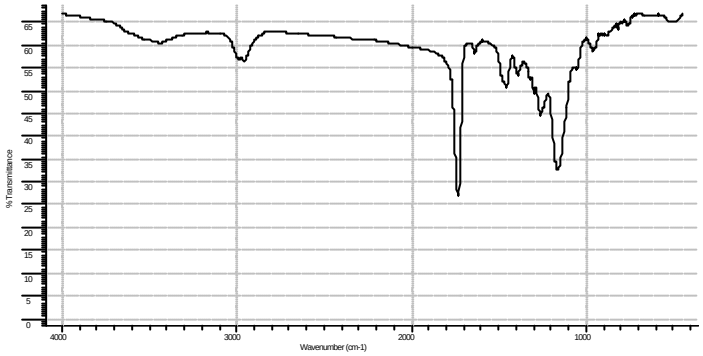


Sekil 3.10. MAC monomerine ait Raman spektrumu

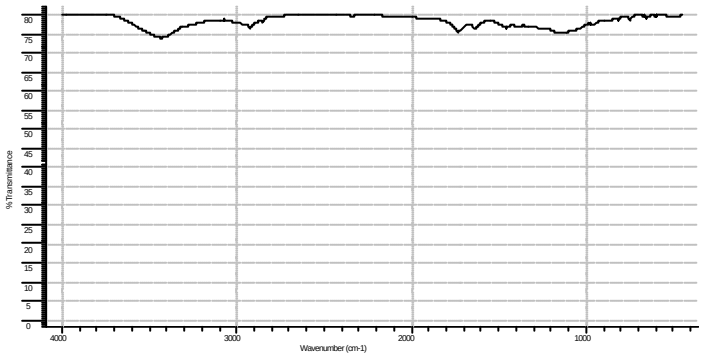
3.1.4. DPA baskilanmis Au-nanopartiküllerin FTIR ve TEM karakterizasyonlari



Sekil 3.11.a. DPA FTIR spektrumu

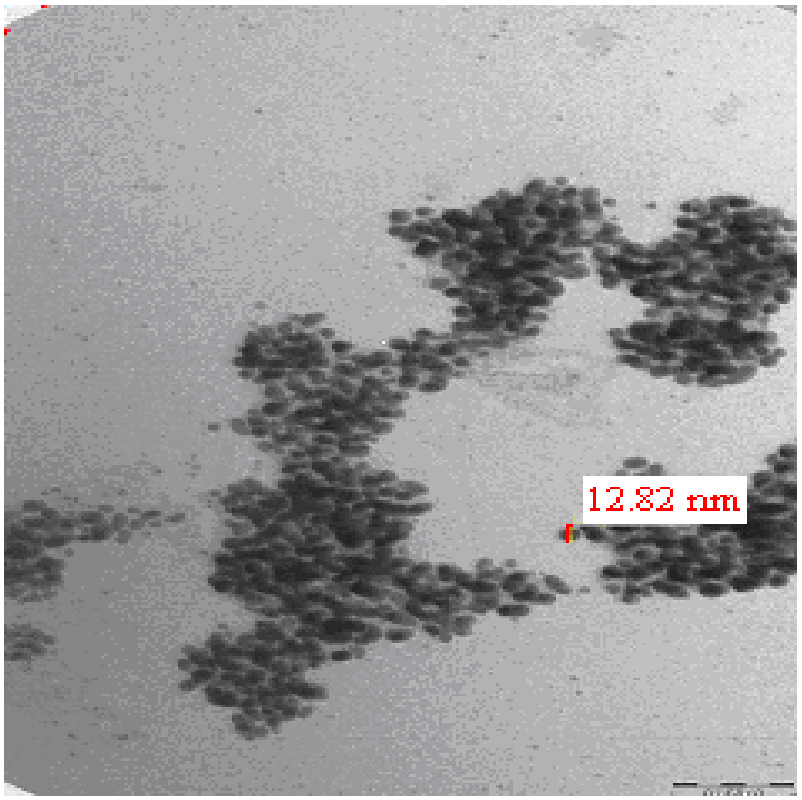


Sekil 3.11.b. DPA'li Au-MIP Nanopartiküllerin FTIR spektrumu

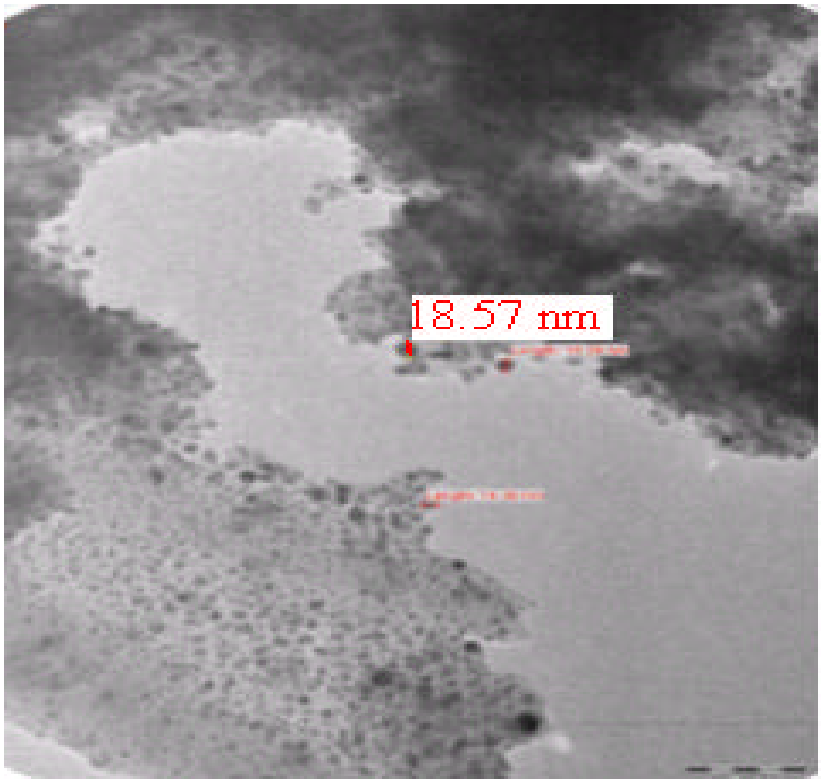


Sekil 3.11.c. DPA çikmis Au-MIP Nanopartiküllerin FTIR spektrumu

DPA baskilanmis Au-MIP nanopartiküllerin FTIR spektrumunda 1732, 1637 ve 1456 cm^{-1} deki bantlar DPA da bulunan piridin halkasina ait karakteristik bantlardir (Sekil 3.11.b). Sekil 3.11.c de görülen titresim siddetindeki azalma DPA kalibinin büyük çogunlugunun Au-MIP nanokabuktan çikarildigini göstermekte ve sonuçta DPA için belirleyici kavitenin olustugunu göstermektedir.



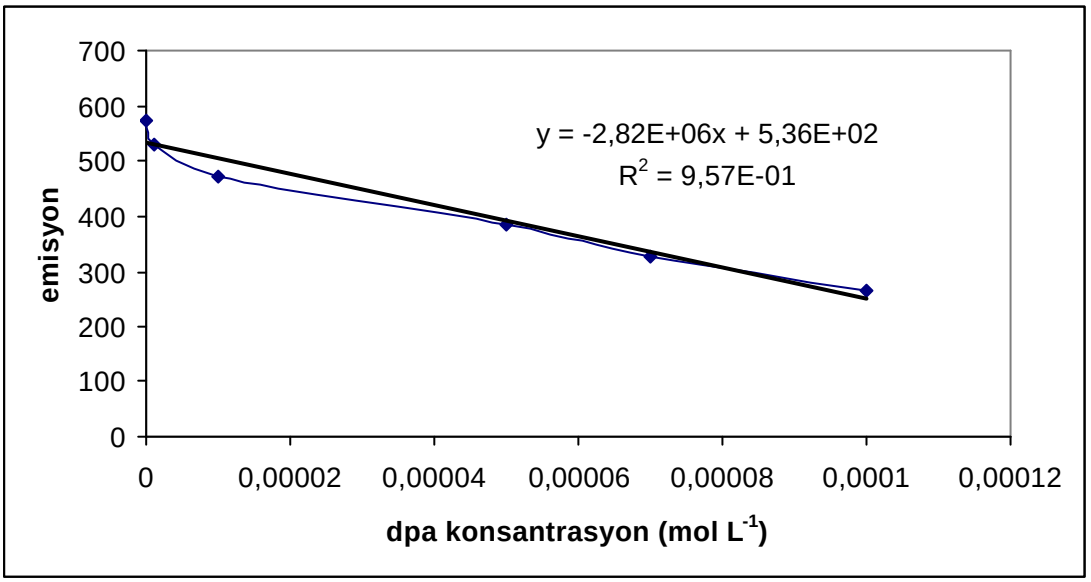
Sekil 3.12.a. MAC modifiyeli Au nanopartiküller (120 kV x 160000);



Sekil 3.12.b. DPA kalibi çikarilmis Au-MIP Nanopartiküller (120 kV x 105000).

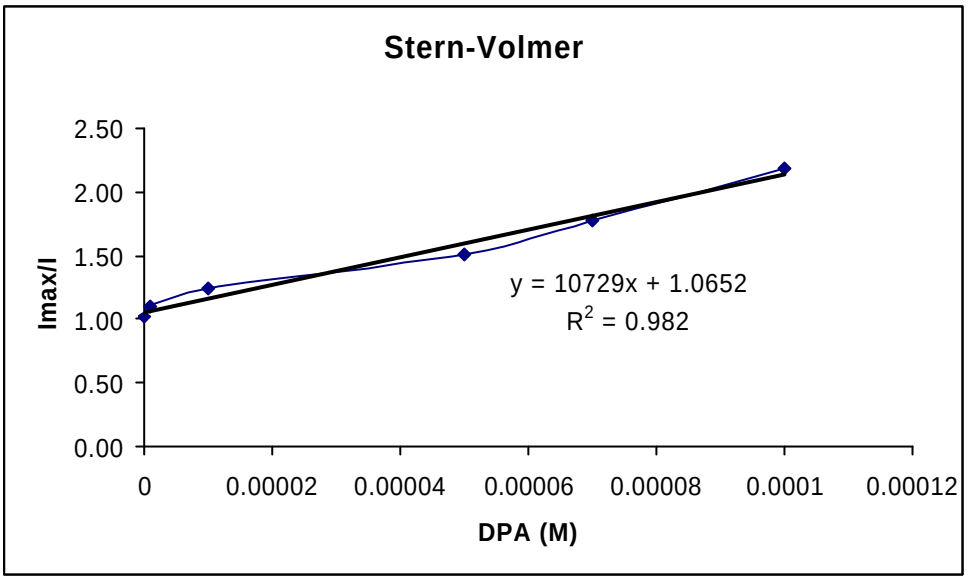
MIP baskilama yapilmadan önce MAC ile kaplanmis Au nanopartiküllerin ve, baskilandiktan sonra ve DPA kalip uzaklastirildiktan sonra Au nanopartiküllerin alinan TEM görüntüleri yukarida verilmistir. Sekil 3.12.a'da görüldügü gibi, MIP baskilama yapilmadan önce, MAC ile kaplanmis Au nanopartiküller küresel formda ve ortalama 13 nm boyutundadir. Sekil 3.12.b'deki MIP baskilama yapildiktan sonra olusan Au nanopartiküllerin, metanolik-fosforik asit (3/1, v/v) ile yikanarak DPA kalibin uzaklastirilmasindan sonra alinan TEM görüntüsünde nanopartiküllerin küresel seklini korudugu ve ortalama 19 nm boyutta olduklari görülmektedir.

3.1.5. DPA baskilanmis Au-nanopartiküllerin luminesans ölçümleri



Sekil 3.13. DPA'nin konsantrasyon artisi ile DPA baskili Au nanosensörün (Sensor Specificity-Adsorption Isotherm) floresans siddetindeki azalma

DPA baskilanmis Au nanopartiküllerin luminesans ölçümleri floresans spektrofotometresi ile 310 nm de uyarilarak yapilmis ve 620 nm de maksimum emisyon siddeti elde edilmistir. Luminesans ölçümlerinin herbiri en az üçer kere yapilmistir Sekil 3.13 görüldügü gibi DPA ilavesinin artisi floresans siddetinde önemli bir düsüse sebep olmustur. Bunun nedeni ise; DPA'nin çapraz bagli nanokabuk polimer matriksinin taninma bölgelerine spesifik olarak baglanmasiyla Au nanopartiküllerin emisyon siddetinde azalma olmasidir.



Sekil 3.14. Stern-Volmer grafigi

Sönümlenme ile sonuçlanan kalibrasyon grafiklerini egimi pozitif olan kalibrasyon dogrusuna dönüstürmek için Stern-Volmer grafigi kullanilmis ve buna göre korelasyon katsayisi 0,982 bulunmustur.

3.1.6. DPA baskilanmis Au-nanopartiküllerle seçicilik çalismalari

Ftalik asit yapisinin DPA ya benzemesi nedeniyle seçicilik çalismalarinda kullanilmistir. DPA baskilama, DPA ve ftalik asit için seçici bir oyuk olusturur. Ftalik asit ile DPA baskilanmis nanopartiküllerin etkilestirilmesinden elde edilen sonuçlara göre MIP nanosensörün DPA için seçiciliginin ftalik asit için seçiciliginden 100 kat daha fazla oldugu açiga çikmistir.

3.1.7. DPA baskilanmis Au nanopartiküllerle gerçek numunelerde dipikolinik asit miktar tayini

Gerçek numunelerde dipikolinik asit miktar tayini**,** bacillus sporlari ile DPA baskilanmis Au nanopartiküller etkilestirilmis ve emisyon siddetleri floresans spektrofotometresi ile belirlenmistir. Elde edilen emisyon siddetleri sekil 3.13 teki DPA baskilanmis Au-nanopartiküllerin luminesans ölçümlerine dayanarak olusturulmus kalibrasyon dogrusu grafigi baz alinarak sonuçlandirilmistir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Spor konsantrasyonuna ($CFUml^{-1}$) karsi sensörün DPA konsantrasyonu olarak cevabi ($mol\ L^{-1}$)

Spor konsantrasyonu ($CFU\ ml^{-1}$)	DPA konsantrasyonu ($\mu mol\ L^{-1}$)
1.8×10^{7}	$57 \pm 0{,}004$
1.8×10^{6}	$54.8 \pm 0{,}005$
1.8×10^{5}	$30.2 \pm 0{,}005$
1.8×10^{4}	$11.2 \pm 0{,}002$

Bacillus sporlarina bagli tayin siniri $3.2x10^{4}$ cfu mL-1 bulunmustur.

Literatürde bakteriyal sporlar için düsük tayin sinirli sensörler yayinlanmistir. Pellegrino ve ark. (1998) B. globigii sporlarina yönelik yaptiklari DPA sensörde $1.2x10^{5}$ cfu mL^{-1} Rosen ve ark. (1997) B. subtilis sporlarina yönelik yaptiklari DPA sensörde $4.4x10^{5}$ cfu mL^{-1} He ve ark. (2003) B. thuringiensis sporlarina yönelik yaptiklari DPA sensörde $7.2x10^{5}$ cfu mL^{-1}, tayin sinirlari bulmuslardir. Çogu immunolojik metodlar düsük tayin sinirlarina sahip olmasina ragmen çok pahali metodlardir. (Mechaly ve ark. 2008; Almeida ve ark. 2006). Sentezledigimiz bu yeni DPA nanosensör hizli, düsük tayin sinirli ve ucuz olusu nedeniyle literatürde diger sentezlenen DPA sensörlerinden daha avantajlidir.

3.1.8. DPA baskilanmis Au nanopartiküllerin adsorpsiyon izotermleri

Adsorpsiyon izotermi, her bir molekülün adsorbanlarla etkilesimlerinin karakterizasyonu için kullanilir. Adsorpsiyon izotermi, iki faz dengede iken kati faza adsorbe olan iyon miktari ve çözeltideki moleküllerin derisimi arasinda iliski kurulmasini saglar. Langmuir adsorpsiyon modeli, her biri yalniz bir molekülü tutmaya

elverisli belirli sayidaki tanimlanmis bölümlere moleküllerin adsorbe oldugunu varsayar. Bu bölümlerin enerji olarak esdeger oldugu ve yakin bölümlerdeki adsorbe olmus moleküllerle arasinda hiçbir etkilesim olmayacak kadar birbirinden uzak oldugu varsayilir.

DPA ve Au nanosensörler arasindaki baglanma denklemi 3.1 esitliginde verilmistir.

$$DPA + Au_{nanopart} \underset{k^{-1}}{\overset{k}{\rightleftharpoons}} DPA-Au_{nanopart} \quad (3.1)$$

Bu esitlikte;

DPA : çözeltideki DPA ve benzer yapidaki substratlari

$Au_{nanopart}$: DPA baskili Au nanosensörleri

DPA- $Au_{nanopart}$: DPA ve nanopartiküller arasindaki kompleks yapiyi göstermektedir.

Bu denkleme ait Scatchart esitligi 3.2'de verilmistir.

$$\frac{I}{C_0} = \frac{I_{maks}}{K_D} - \frac{I}{K_D} \quad (3.2)$$

Bu esitlikte;

K_D : ayrisma sabitini

I : floresans siddetini

I_{maks} : maksimum floresans siddetini

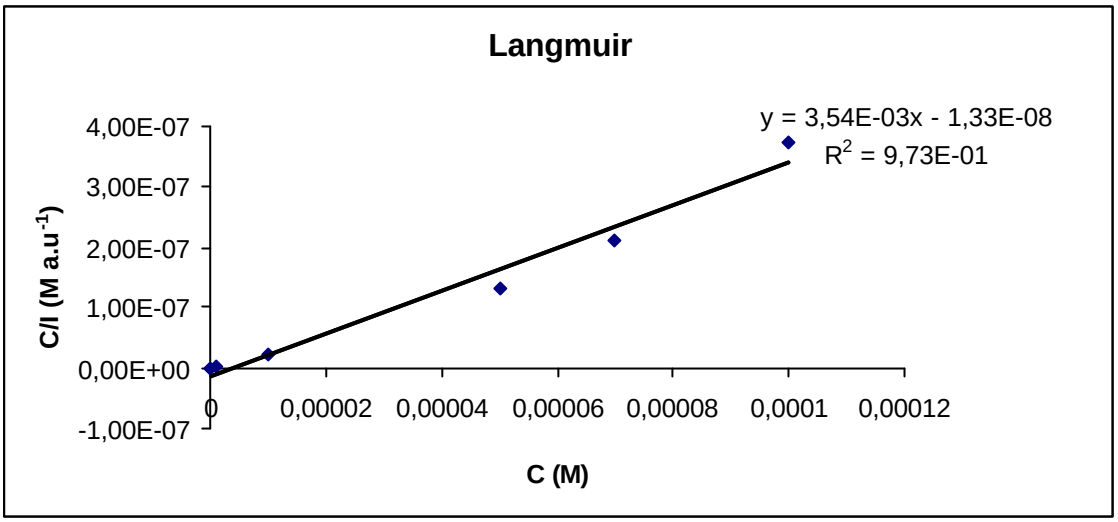
C_0 : konsantrasyonu göstermektedir.

Floresans siddetinin I/C_0'ye karsi grafige geçirilmesi sonucu elde edilen dogru egiminden her bir substrat için afinite sabitleri (K_A) hesaplanmistir.

Bulunan afinite sabitlerinin karsilastirilmasi için esitlik 3.3'de verilen Langmuir izoterm denklemi kullanilmistir.

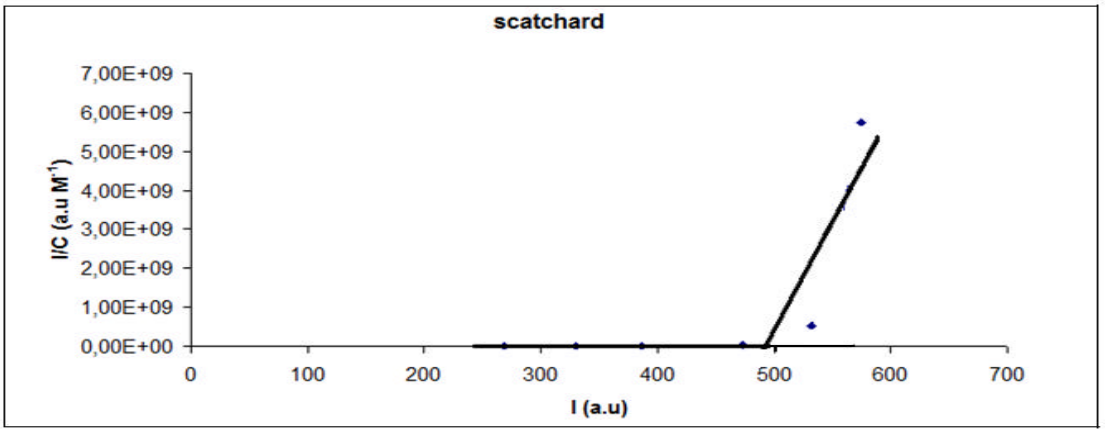
$$\frac{C_0}{I} = \frac{1}{I_{maks} Ka} + \frac{C_0}{I_{maks}} \quad (3.3)$$

DPA baskili Au nanosensörlerin Langmuir adsorpsiyon analizine iliskin grafik Sekil 3.15'de verilmistir.



Sekil 3.15. Au nanosensörlerin Langmuir adsorpsiyon analizi

Sekil 3.16'de DPA baskili nanosensörlerin DPA ile Scatchard analizine iliskin grafik verilmistir.



Sekil 3.16. Au nanosensörlerin Scatchard analizi

Çizelge 3.2. DPA baskili nanokristallerin Langmuir ve Scatchard analizlerinin karsilastirilmasi

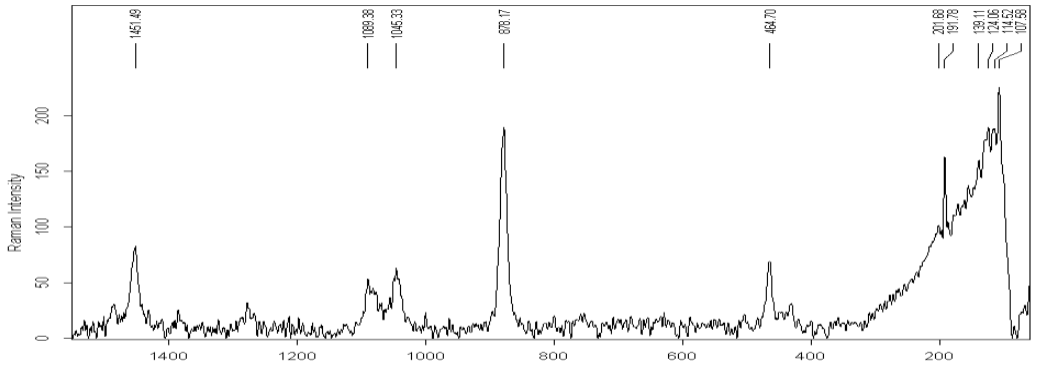
Molekül	Langmuir K_a (M^{-1})	I_{max} (a.u)	Scatchard, K_a (M^{-1})	I_{max} (a.u)
DPA	$3.5x10^5$	285	$53x10^8$ $4.25x10^4$	487 210

Gerek Langmuir gerekse Scatchard yaklasimi kullanilarak yapilan hesaplamalara iliskin bulunan afinite sabitleri çizelge 3.2'de karsilastirilmistir. Scatchard analizi ile bulunan K_A ve I_{maks} degerleri Langmuir analizi ile bulunan verilere oldukça yakindir ve nanokristallerin DPA tanima bölgeleri DPA'ya oldukça seçicidir. Scatchard grafigi (Sekil 3.16) iki ayri dogru içermektedir. Bu durum Au nanosensörlerin, DPA için iki ayri baglanma bölgesine sahip oldugunu düsündürmüstür. Gafikte birinci ve ikinci dogru için R^2 degerleri sirasiyla 0,98 ve 0,74'dur.

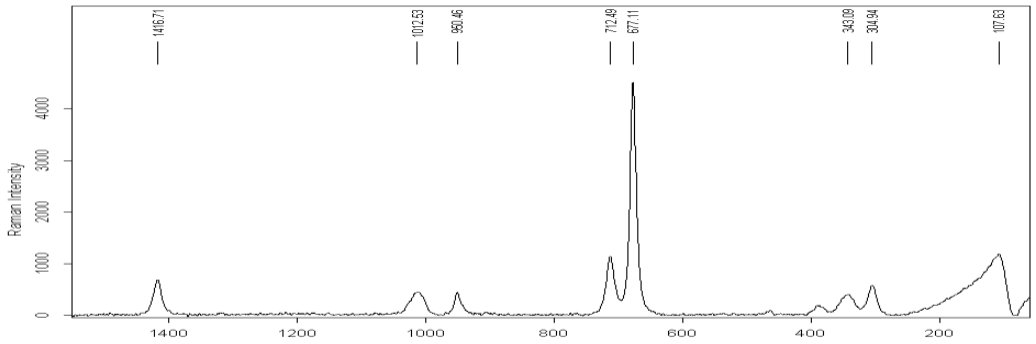
Antibadilerin baglanma sabitlerinin 10^7-10^8 M^{-1} oldugu düsünüldügünde (Blake ve ark. 1996, Yagisawa ve ark. 1986) sentezledigimiz DPA bellekli sentetik nanoreseptörlerin DPA'yi 10^6 M^{-1} degerlerinde seçici baglamasi nanokabuklarda etkin ve her bir baglanma bölgesine tek bir molekülün baglandigi homojen bir sentetik antibadi olusturdugumuz söylenebilir.

3.2. DPA baskilanmis Au-Ag nanokümelerle yapilan çalismalar

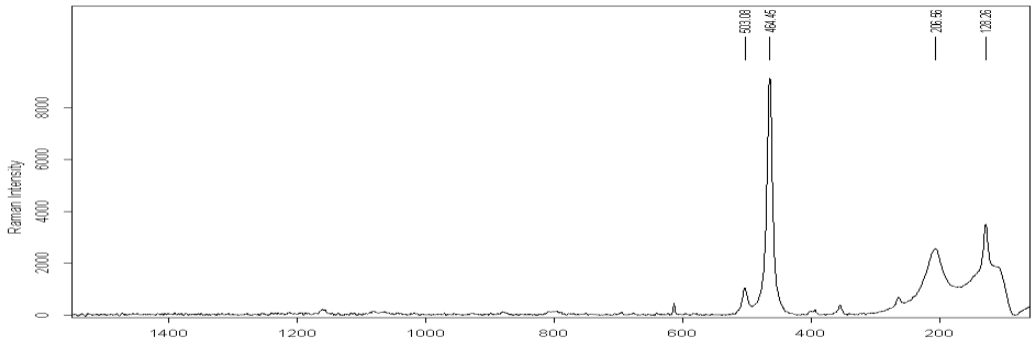
3.2.1. DPA baskilanmis Au-Ag nanokümelerin Raman ve TEM karakterizasyonlari



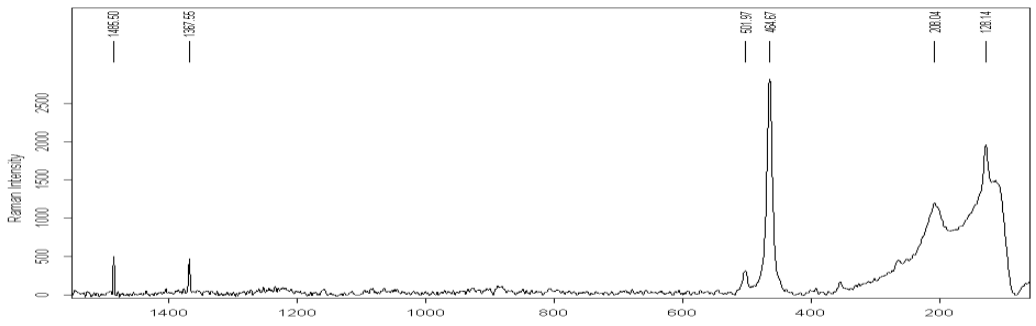
Sekil 3.17.a. DPA' nin raman spektrumu



Sekil 3.17.b. DPA'li Au-Ag-MIP Nanoküme lerin raman spektrumu



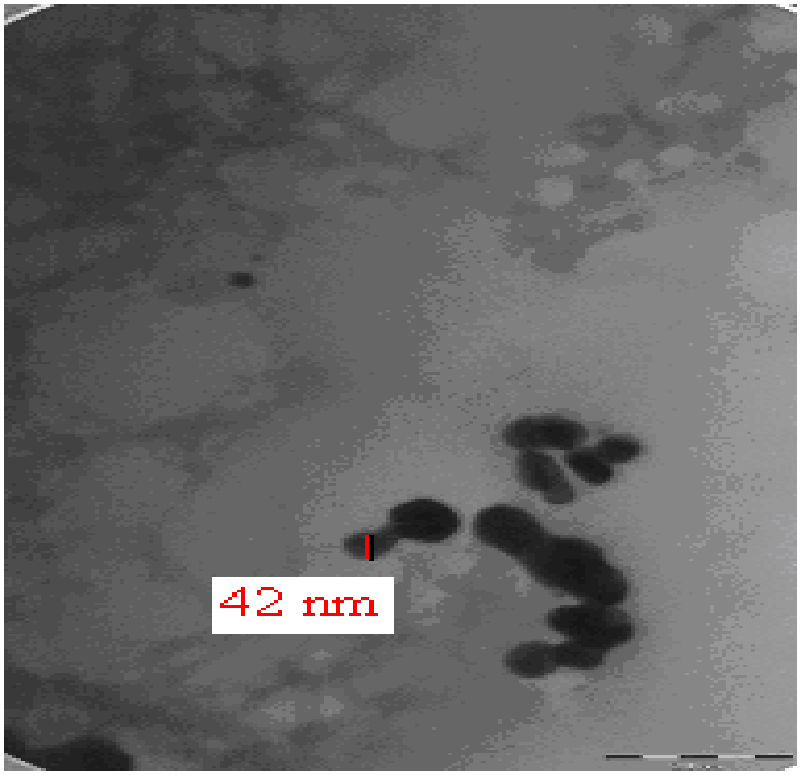
Sekil 3.17.c. DPA çikarilmis Au-Ag-MIP Nanokümele rin raman spektrumu



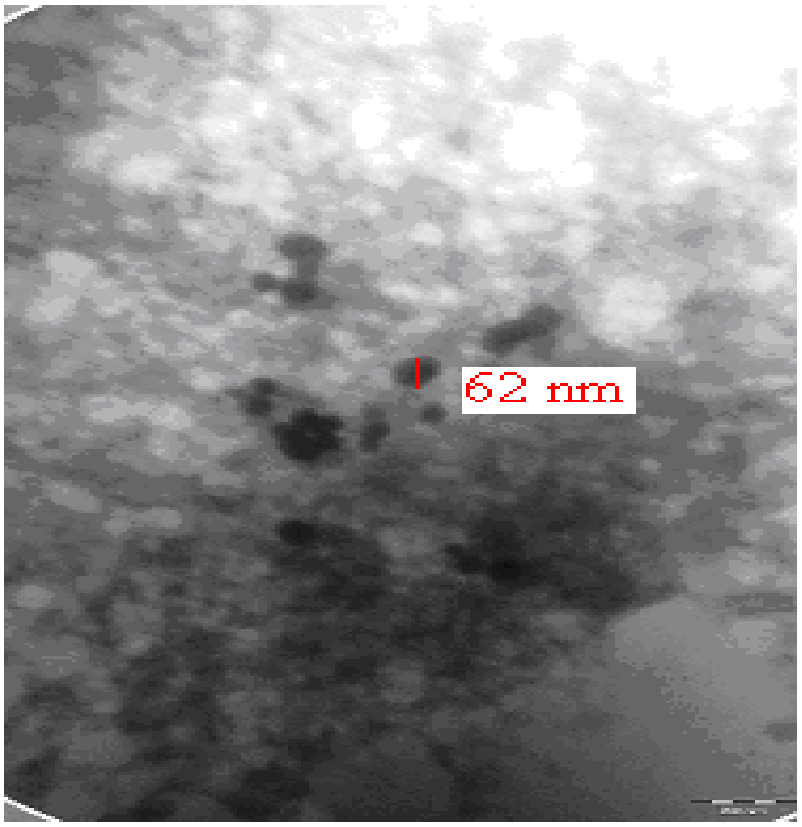
Sekil 3.17.d. Bacillus sporlu Au-Ag-MIP Nanokümelerin raman spektrumu

DPA nin sulu çözeltisinin raman spektrumu alinmistir ve (Sekil 3.17.a) 878, 1045, 1099, 1451 $cm^{-1'}$ deki karakteristik bant kaymalari elde edilmistir. DPA içeren Au-Ag-MIP nanokümelerin raman spektrumunda DPA ya ait olan 1417, 1012, 950,

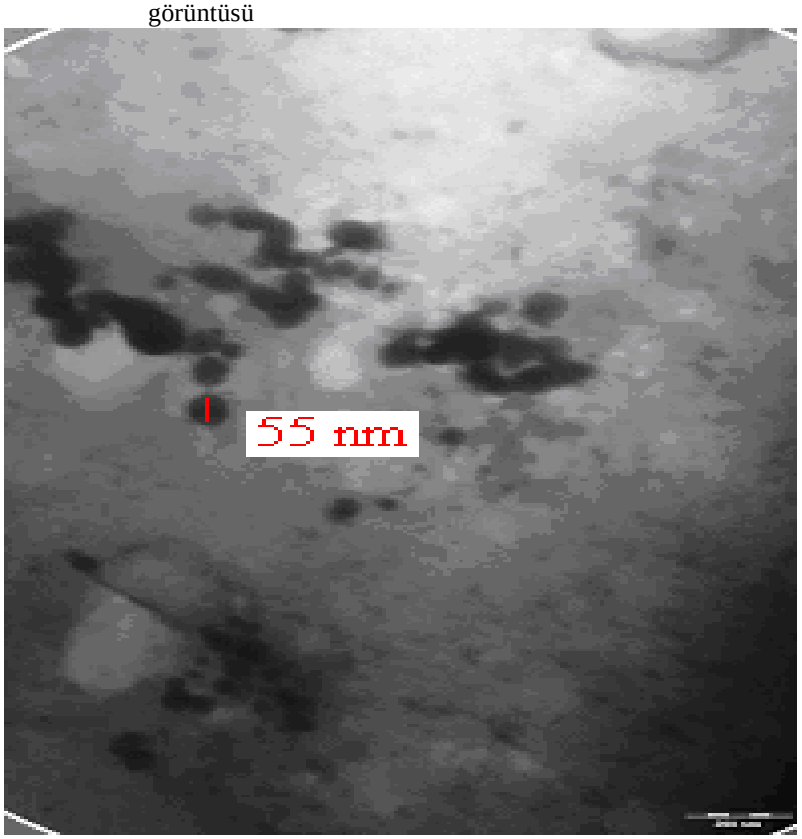
713, 677 cm^{-1} deki band kaymalari gözlenmistir. (Sekil 3.17.b). Sekil 3.17.c'deki raman spektrumunda (DPA'ya ait karakteristik band kaymalarinin) olmamasi nedeniyle DPA baskili nanokümelerden DPA kalibin çikarildigi, gözlenmistir. Bacillus sporlariyla etkilestirilmis Au-Ag-MIP nanokümelerin ramam spektrumunda yine DPA ya ait olan 1466, 1368 cm^{-1} deki bant kaymalari gözlenmistir. (Sekil 3.17.d).



Sekil 3.18.a. MAC ile kaplanmis Au-Ag nanokümelerin TEM görüntüsü



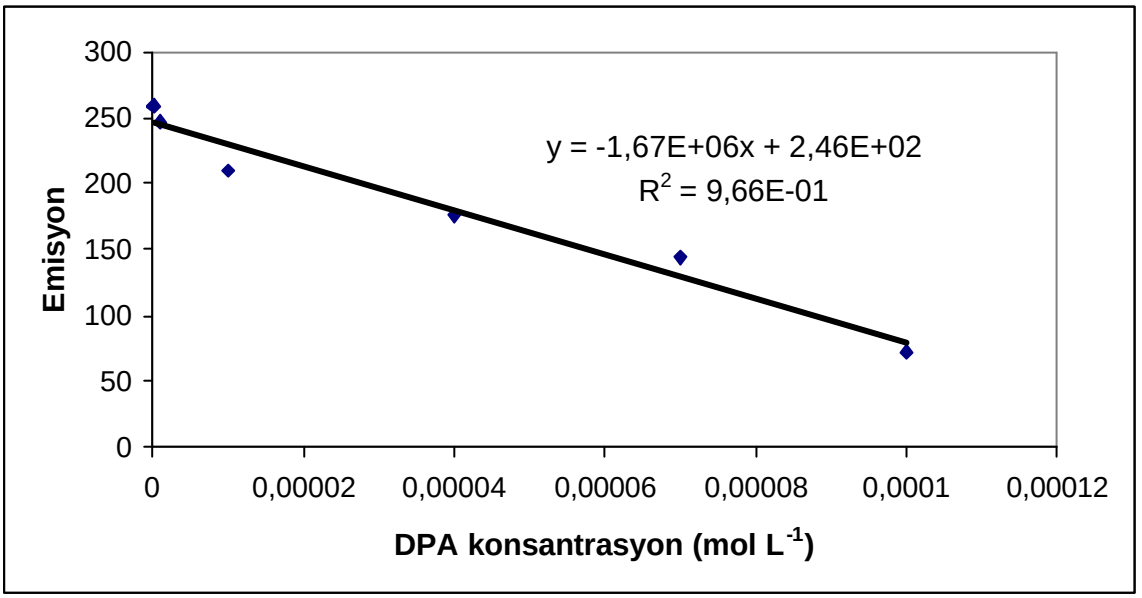
Sekil 3.18.b. MAC ile kaplanmis Au-Ag nanokümelerin DPA kalip uzaklastirilmadan önce TEM görüntüsü



Sekil 3.18.c. MAC ile kaplanmis Au-Ag nanokümelerin DPA kalip uzaklastirildiktan sonra TEM görüntüsü

MAC ile kaplanmis Au-Ag nanokümelerin, DPA kalip uzaklastirilmadan önce ve uzaklastirildiktan sonra Au-Ag nanokümelerin alinan TEM görüntüleri sekil 3.18' de verilmistir**.** Sekil 3.18.a.'da görüldügü gibi MAC ile kaplanmis Au-Ag nanokümeler küresel formda ve ortalama 42 nm boyutundadir. Sekil 3.18.b.'de Au-Ag nanokümelerin DPA kalip uzaklastirilmadan önce alinan TEM görüntüsünde ise nanokümelerin küresel formda ve ortalama 62 nm boyutta olduklari görülmektedir. Au-Ag nanokümelerin metanolik H_3PO_4 ile yikanarak DPA kalibin uzaklastirilmasindan sonra alinan TEM görüntüsünde (Sekil 3.18.c.) nanopartiküllerin küresel seklini korudugu ve ortalama 55 nm boyutta olduklari görülmektedir.

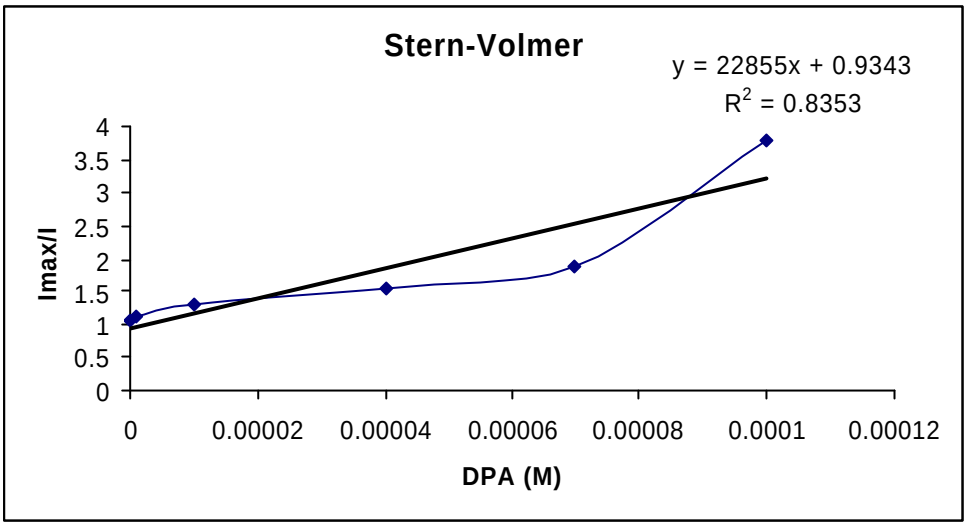
3.2.2. DPA baskilanmis Au-Ag nanokümelerin luminesans ölçümleri



Sekil 3.19. DPA' nin konsantrasyon artisi ile DPA baskili Au-Ag nanosensörün (Sensor Specificity-Adsorption Isotherm).floresans siddetindeki azalma

DPA baskilanmis Au-Ag nanokümelerin luminesans ölçümleri floresans spektrofotometresi ile 260 nm de uyarilarak yapilmis ve 520 nm de maksimum emisyon siddeti elde edilmistir. Luminesans ölçümlerinin herbiri en az üçer kere yapilmistir. Sekil 3.19.'de DPA ilavesinin floresans siddetinde önemli bir düsüse sebep oldugu görülmektedir. Bunun sebebi ise; DPA' nin çapraz bagli nanokabuk polimer matriksinin

taninma bölgelerine spesifik olarak baglanmasiyla Au-Ag nanokümelerin emisyon siddetinde azalma olmustur.



Sekil 3.20. Stern-Volmer grafigi

Sönümlenme ile sonuçlanan kalibrasyon grafiklerini egimi pozitif olan kalibrasyon dogrusuna dönüstürmek için Stern-Volmer grafigi kullanilmis ve buna göre korelasyon katsayisi 0,835 bulunmustur.

3.2.3. DPA baskilanmis Au-Ag nanokümelerin seçicilik çalismalari

DPA baskilama, DPA ve ftalik asit için seçici bir oyuk olusturur. Ftalit asit ile DPA baskilanmis nanopartiküllerin etkilestirilmesinden elde edilen sonuçlara göre MIP nanosensörün DPA için seçiciliginin ftalik asit için seçiciliginden 28 kat daha fazla oldugu açiga çikmistir.

3.2.4. DPA baskilanmis Au-Ag nanokümelerle gerçek numunelerde dipikolinik asit miktar tayini

Gerçek numunelerde dipikolinik asit miktar tayini için bacillus sporlari ile DPA baskilanmis Au-Ag nanokümeler etkilestirilmis ve emisyon siddetleri floresans spektrofotometresi ile belirlenmistir. Elde edilen emisyon siddetleri sekil 3.19' deki

DPA baskilanmis Au-Ag nanokümelerin luminesans ölçümlerine dayanarak olusturulmus kalibrasyon dogrusu grafigi baz alinarak sonuçlandirilmistir. (Çizelge 3.3)

Çizelge 3.3. Spor konsantrasyonuna (CFU ml^{-1}) karsi sensörün DPA konsantrasyonu olarak cevabi (mol L^{-1})

Spore Konsantrasyon (CFU ml^{-1})	DPA Konsantrasyon (µmol L^{-1})
1.8×10^{7}	85,3 ± 0,002
1.8×10^{6}	80,5 ± 0,003
1.8×10^{5}	75,8 ± 0,002
1.8×10^{4}	72,1 ± 0,004

Bacillus sporlarina bagli tayin siniri $2{,}1 \times 10^{4}$ cfu mL^{-1} bulunmustur.

Literatürde bakreial sporlar için düsük tayin sinirli sensörler yayinlanmistir. Pellegrino ve ark. (1998) B. globigii sporlarina yönelik yaptiklari DPA sensörde 1.2×10^{5} cfu mL^{-1} Rosen ve ark. (1997) B. subtilis sporlarina yönelik yaptiklari DPA sensörde 4.4×10^{5} cfu mL^{-1} He ve ark. (2003) B. thuringiensis sporlarina yönelik yaptiklari DPA sensörde 7.2×10^{5} cfu mL^{-1}, tayin sinirlari bulmuslardir. Çogu immunolojik metodlar düsük tayin sinirlarina sahip olmasina ragmen çok pahali metodlardir. (Mechaly ve ark. 2008; Almeida ve ark. 2006). Sentezledigimiz bu yeni DPA nanosensör hizli, düsük tayin sinirli ve ucuz olusu nedeniyle literatürde diger sentezlenen DPA sensörlerinden daha avantajlidir.

3.2.5. DPA baskilanmis Au-Ag nanokümelerin adsorpsiyon izotermleri

DPA ve Au-Ag nanosensörler arasindaki baglanma denklemi (3.4) esitliginde verilmistir.

$$DPA + (Au\text{-}Ag)_{nanocluster} \underset{}{\overset{k}{\rightleftharpoons}} DPA\text{—}(Au\text{-}Ag)_{nanocluster} \qquad (3.4)$$

Bu esitlikte;

DPA : çözeltideki DPA ve benzer yapidaki substratlari

$(Au\text{-}Ag)_{nanocluster}$: DPA baskili nanosensörleri

$DPA\text{-}(Au\text{-}Ag)_{nanocluster}$: DPA ve nanoclusterlar arasindaki kompleks yapiyi göstermektedir.

Bu denkleme ait Scatchart esitligi 3.5'de verilmistir.

$$\frac{I}{C_0} = \frac{I_{maks}}{K_D} - \frac{I}{K_D} \tag{3.5}$$

Bu esitlikte;

K_D : ayrisma sabitini

I : floresans siddetini

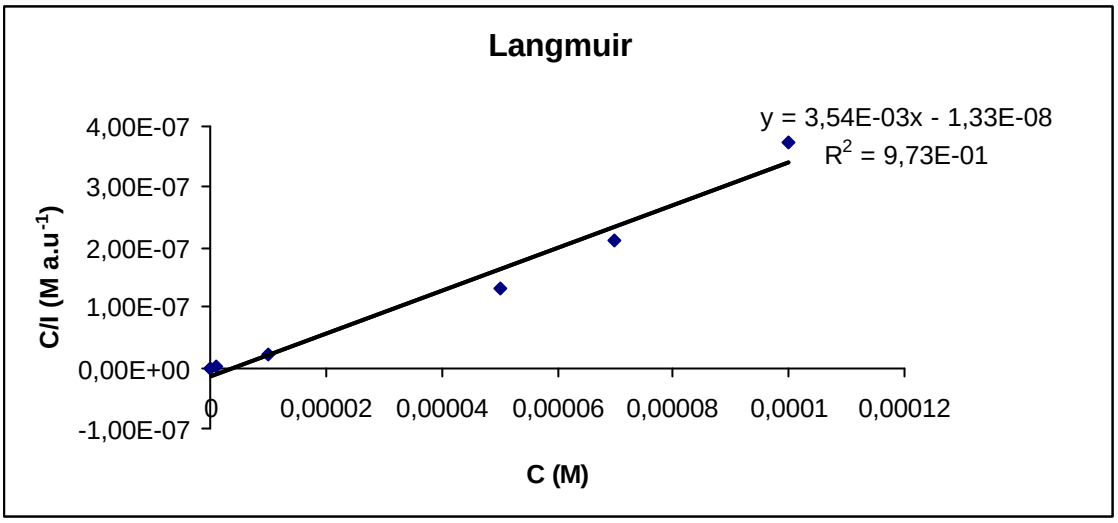
I_{maks} : maksimum floresans siddetini

C_0 . konsantrasyonu göstermektedir.

Floresans siddetinin I/C_0'ye karsi grafige geçirilmesi sonucu elde edilen dogru egiminden her bir substrat için afinite sabitleri (K_A) hesaplanmistir. Ayrica bulunan afinite sabitlerinin karsilastirilmasi için esitlik 3.6'da verilen Langmuir izoterm denklemi kullanilmistir.

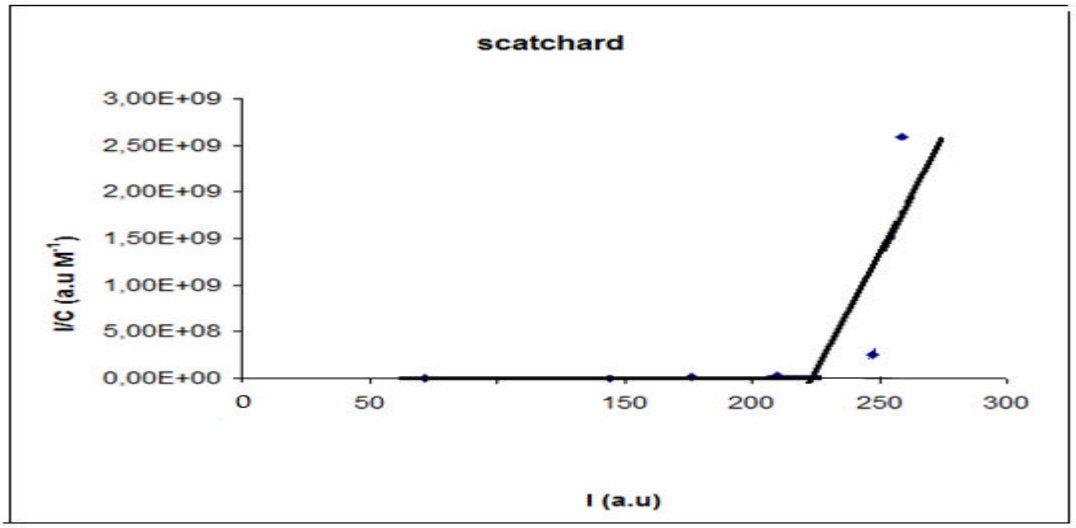
$$\frac{C_0}{I} = \frac{1}{I_{maks} Ka} + \frac{C_0}{I_{maks}} \tag{3.6}$$

DPA baskili Au-Ag nanosensörlerin Langmuir adsorpsiyon analizine iliskin dogrular sekil 3.21'da verilmistir.



Sekil 3.21. Au-Ag nanosensörlerin Langmuir adsorpsiyon analizi

Sekil 3.22'da DPA baskili nanosensörlerin DPA ile Scatchard analizine iliskin grafik verilmistir.



Sekil 3.22. Au-Ag nanosensörlerin Scatchard analizi

Çizelge 3.4. DPA baskili nanokümelerin Langmuir ve Scatchard analizlerinin karsilastirilmasi

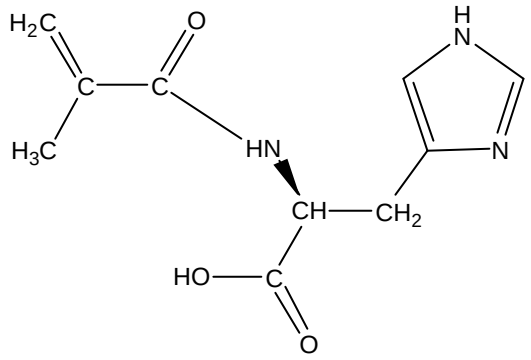
Molekül	Langmuir K_a (M^{-1})	I_{max} (a.u)	Scatchard, K_a (M^{-1})	I_{max} (a.u)
DPA	$1.4x10^5$	82	$4.15x10^7$ $3.25x\ 10^4$	216 54.2

Gerek Langmuir gerekse Scatchard yaklasimi kullanilarak yapilan hesaplamalara iliskin bulunan afinite sabitleri çizelge 3.4'te karsilastirilmistir. Scatchard analizi ile bulunan K_A ve I_{maks} degerleri Langmuir analizi ile bulunan verilere oldukça yakindir ve nanokristallerin DPA tanima bölgeleri DPA'ya oldukça seçicidir. Antibadilerin baglanma sabitlerinin 10^7-10^8 M^{-1} oldugu düsünüldügünde (Blake ve ark. 1996, Yagisawa ve ark. 1986) sentezledigimiz DPA bellekli sentetik nanoreseptörlerin DPA'yi 10^6 M^{-1} degerlerinde seçici baglamasi nanokabuklarda etkin ve her bir baglanma bölgesine tek bir molekülün baglandigi homojen bir sentetik antibadi olusturdugumuz söylenebilir.

3.3. (8-Hidroksideoksiguanizin) baskilanmis QCM elektrot için yapilan çalismalar

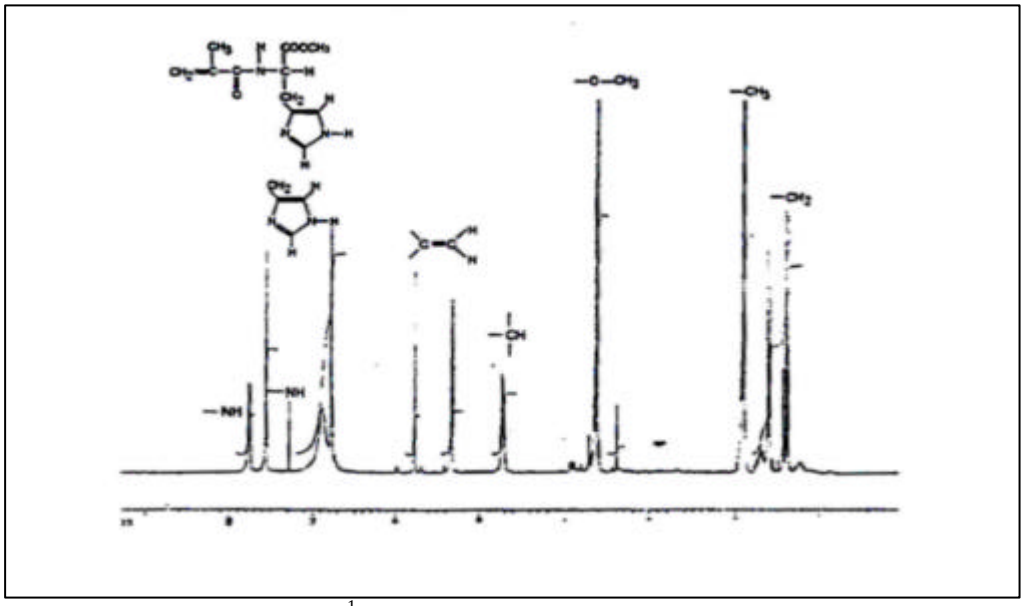
3.3.1. MAH ve MAH-Pt(II) monomerlerinin karakterizasyonu

Sekil 3.23'de açik yapisi verilen MAH monomerinin yapisinin belirlenmesinde ^{1}H-NMR kullanilmistir.



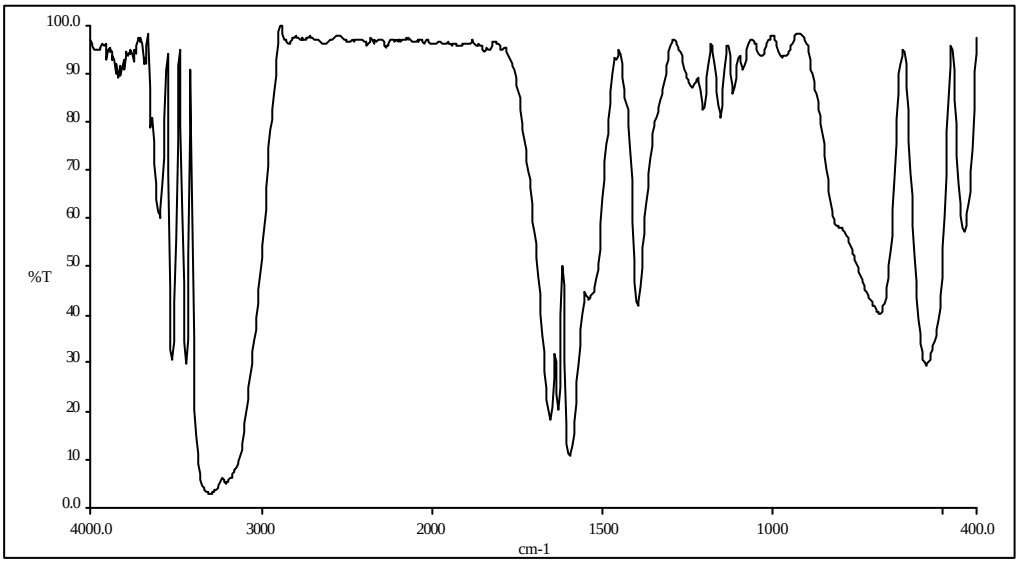
Sekil 3.23. Metakrilamidohistidin monomerinin molekül formülü

Yukarida açik yapisi görülen MAH monomerinin Sekil 3.24'de verilen ^{1}H-NMR spektrumunda MAH'da bulunan gruplara ait karakteristik pikler görülmektedir. Bu karakteristik pikler: ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): 1.99 (t; 3H, J=7.08 Hz, CH_3), 1.42 (m; 2H, CH_2), 3.56 (t; 3H, -OCH_3), 4.82-4.87 (m; 1H, metil), 5.26 (s; 1H, vinil H), 5.58 (s; 1H, vinil), 6.86 (d; 1H, J=7.4 Hz, NH), 7.82 (d; 1H, J=8.4 Hz, NH), 6.86-7.52 (m; 5H, aromatik) olarak bulunmustur.



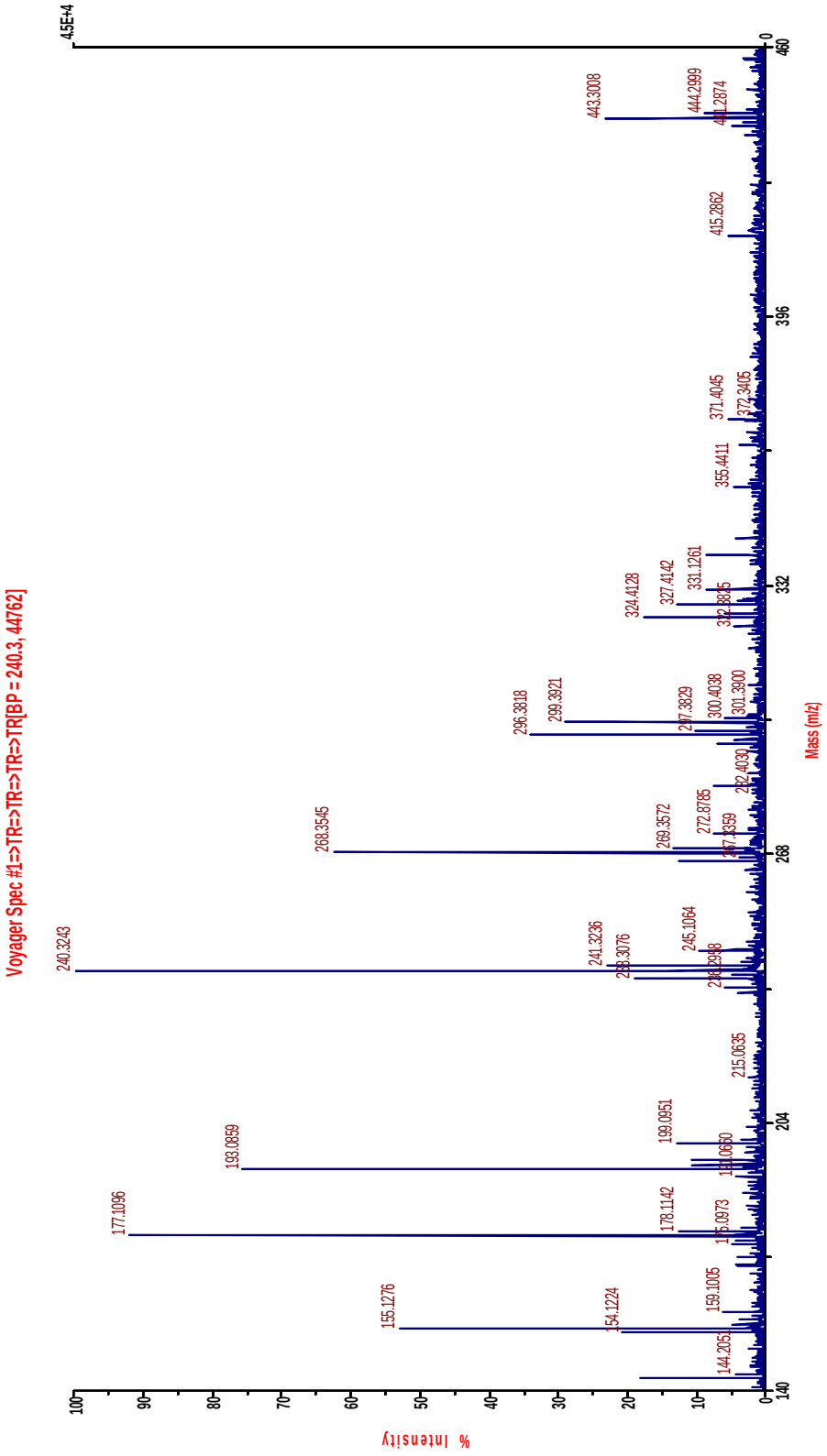
Sekil 3.24. MAH monomerinin ^{1}H-NMR spektrumu

MAH-Pt(II) monomeri FTIR ile karekterize edilmistir. Sekil 3.25'de FT-IR spektrumu incelendiginde MAH yapisina ait karakteristik karbonil bandlari 1653 ve 1629 cm^{-1}'de, amid II gerilme titresim bandi ise 1529 cm^{-1}'de görülmektedir. Ayrica Pt-N tiresimine ait bandlar 552 ve 441 cm^{-1}'de görülmektedir ki bu Pt(II) iyonlarinin MAH yapisina koordine oldugunu göstermektedir. Bu spektrum hedef metal-selat monomer yapinin sentezlendigini göstermektedir.

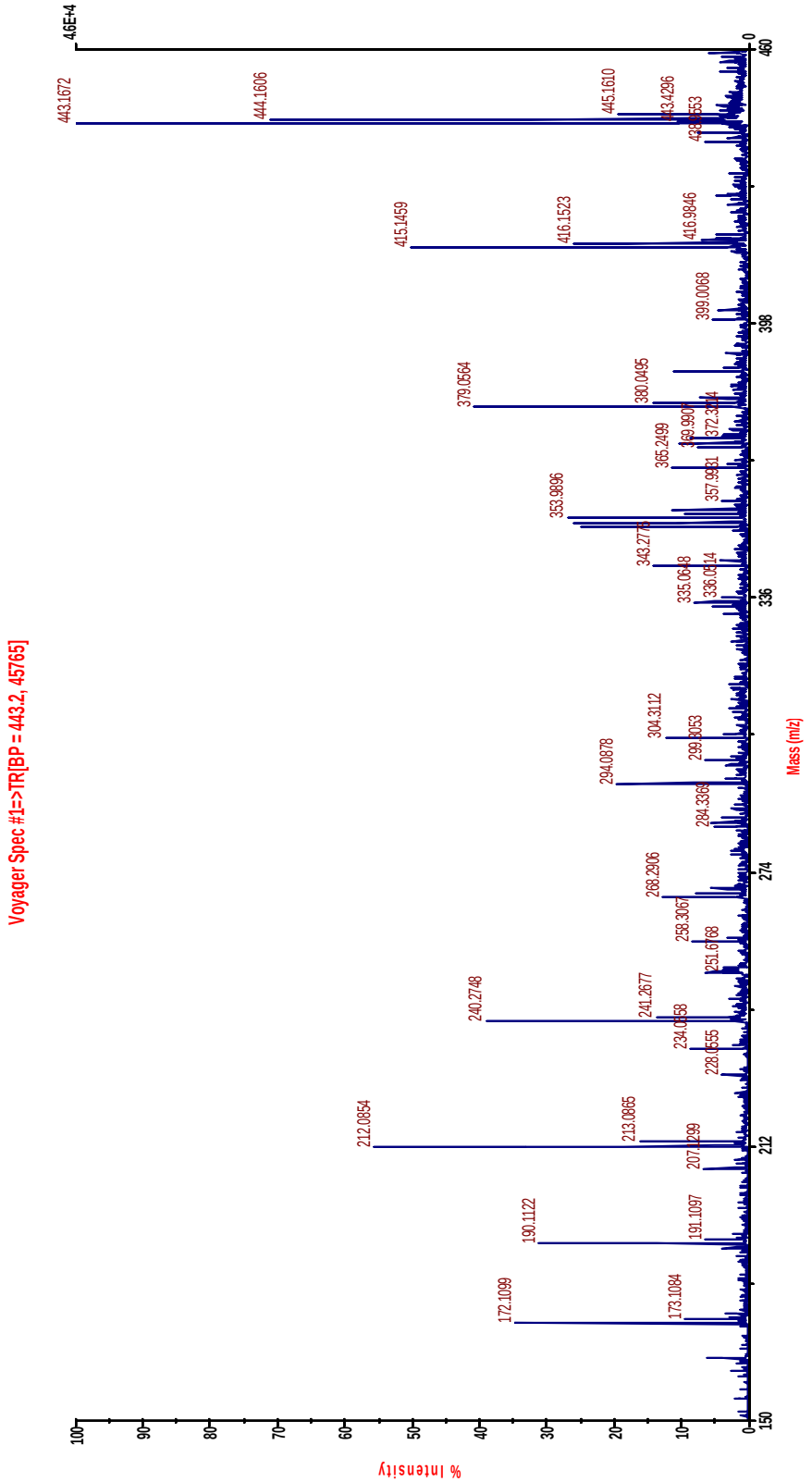


Sekil 3.25. MAH-Pt(II) monomerinin FT-IR spektrumu

Ayrica MALDI-TOF-MS ile yapilan aydinlatma çalismalari kapsaminda; kütle analizleri pozitif reflektör modunda 2,5-dihidroksibenzoik asit ve a-Cyano-4-hidroksisinnamik acid matriksleri kullanilarak gerçeklestirilmistir. Sekil 3.26 ve Sekil 3.27'deki kütle spektrumlarindan da görülecegi üzere MAH-Pt-$(H_2O)_2$ metal-selat olusumu 443 ile baslayan m/e degerlerinden de ortaya konulmustur. Kütle spektrumlarinda 415- 417 arasinda görülen pikler de platinin izotoplarini da içine alacak sekilde MAH-Pt olusumunu desteklemektedir.

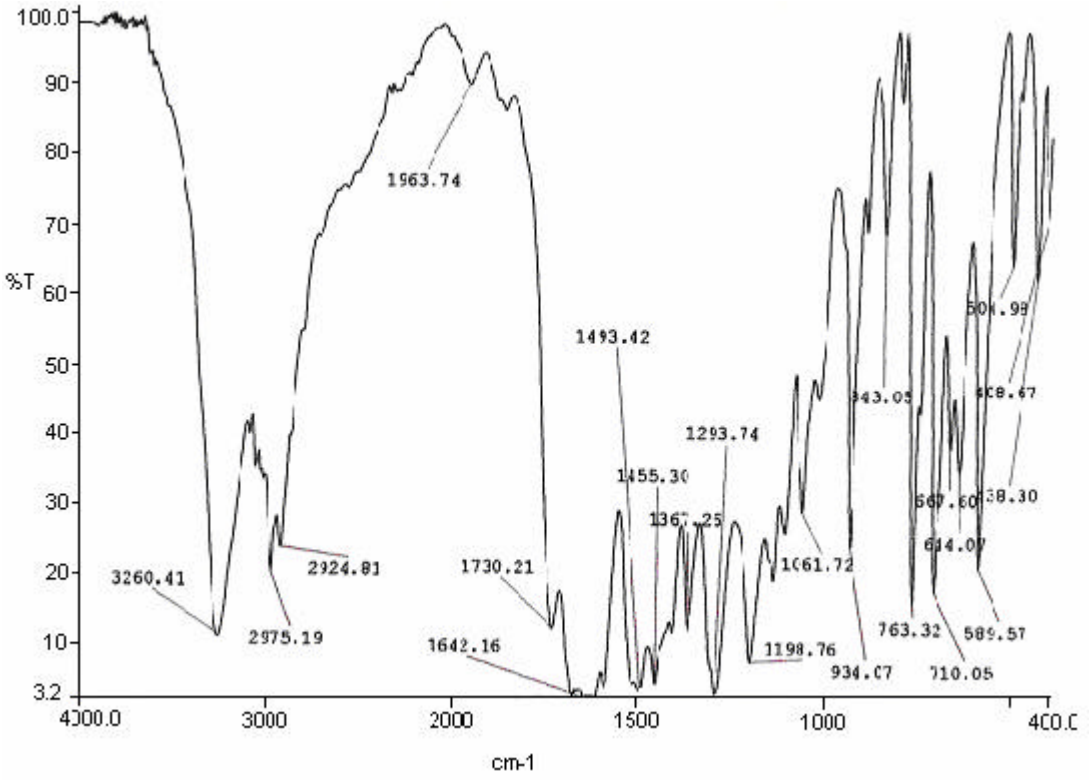


Sekil 3.26. MAH-Pt matriks 2,5-dihidroksibenzoik asit oldugunda MALDI-TOF-MS kütle spektrumu



Sekil 3.27. MAH-Pt matiks a-Cyano-4-hidroksicinnamic acid oldugunda MALDI-TOF-MS kütle spektrumu

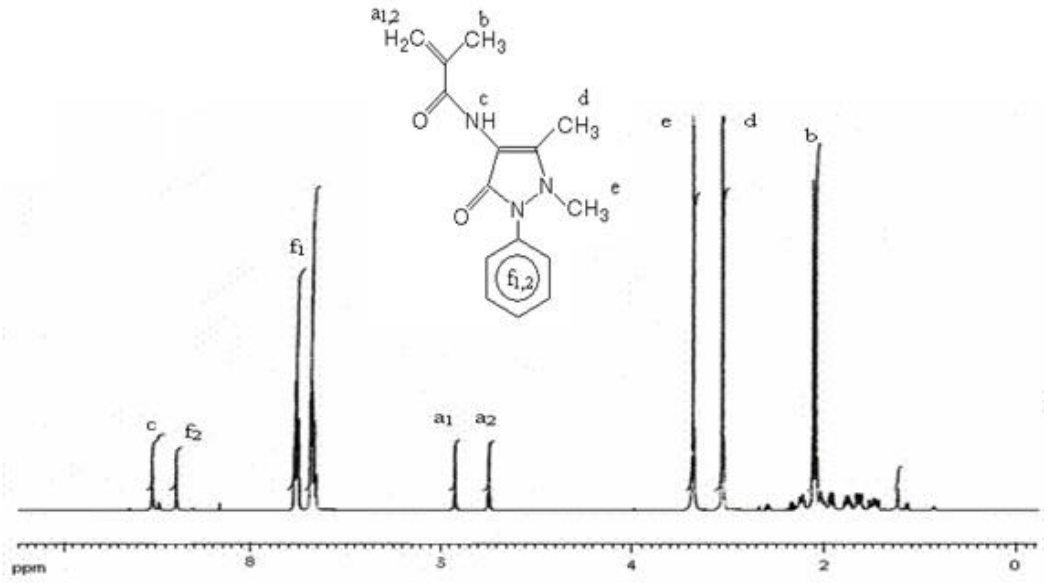
3.3.2. MAAP ve MAAP-Fe(III) monomerlerinin karakterizasyonu



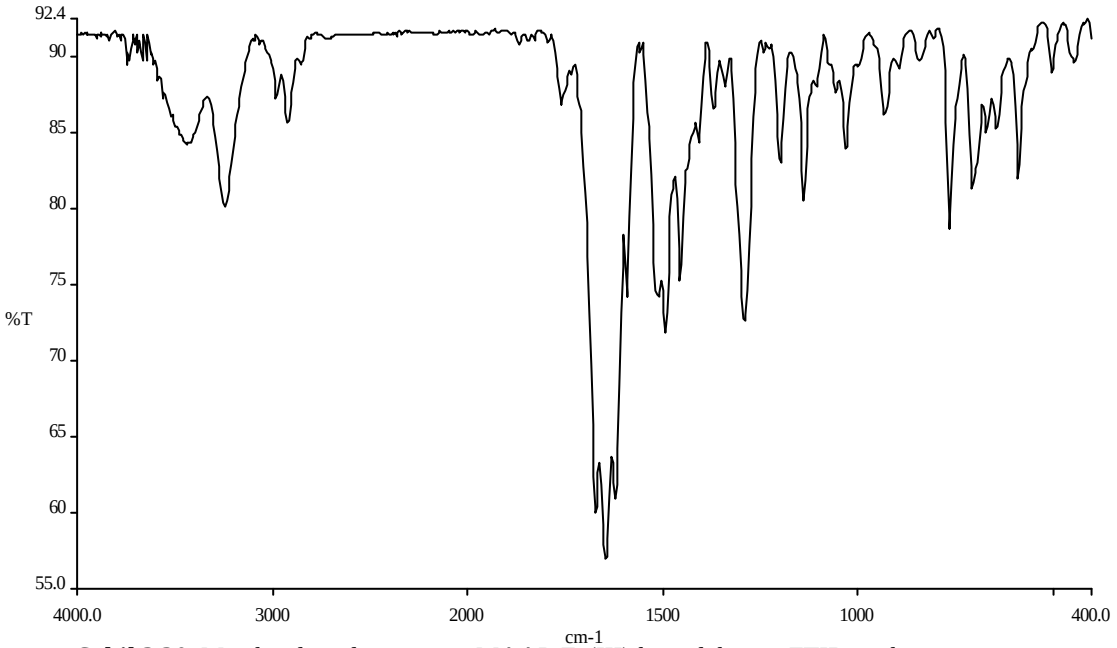
Sekil 3.28. MAAP monomerinin FTIR spektrumu

Sekil 3.28'de MAAP monomerinin karakterizasyonu için kullanilan FTIR analizlerinin karakteristik pikleri söyledir: FT-IR (KBr, cm^{-1}): 763–710 cm^{-1} (monosubstitüe benzen halkasi), 1580 ve 1500 cm^{-1} (aromatik halkadaki konjugasyon, kuvvetli iki veya üç pik), (1600 cm^{-1} (metakril çift bagi), 1642 cm^{-1} (amid karbonil piki), 1730 cm^{-1} (siklik keton pozisyonunda karbonil piki), 2975 ve 2924 cm^{-1} (C-H piki), 3260 cm^{-1} (N-H piki).

MAAP monomerinin kimyasal yapisinin belirlenmesinde ^{1}H-NMR kullanilmistir. ^{1}H-NMR spektrumunda MAAP monomerinde bulunan gruplara ait karakteristik pikler Sekil 3.29'de görülmektedir. Bu karakteristik pikler sunlardir: 2.05 ppm 3H singlet (-C=C-CH_3, vinil metil), 3.0 ppm 3H singlet (-C-CH_3), 3.35 ppm 3H singlet (-N-CH_3), 5.5 ppm 1H singlet (-CH_a=C-), 5.8 ppm 1H singlet (-CH_b=C-), 7.25–8.80 ppm 4H multiplet (aromatik, 7.3 ppm'de $CDCl_3$ pikide aromatik pikler içine karismis durumdadir), 8.80 ppm 1H singlet (aromatik), 9.1 ppm 1H singlet (N-H) seklindedir



Sekil 3.29. MAAP monomerinin ^{1}H-NMR spektrumu



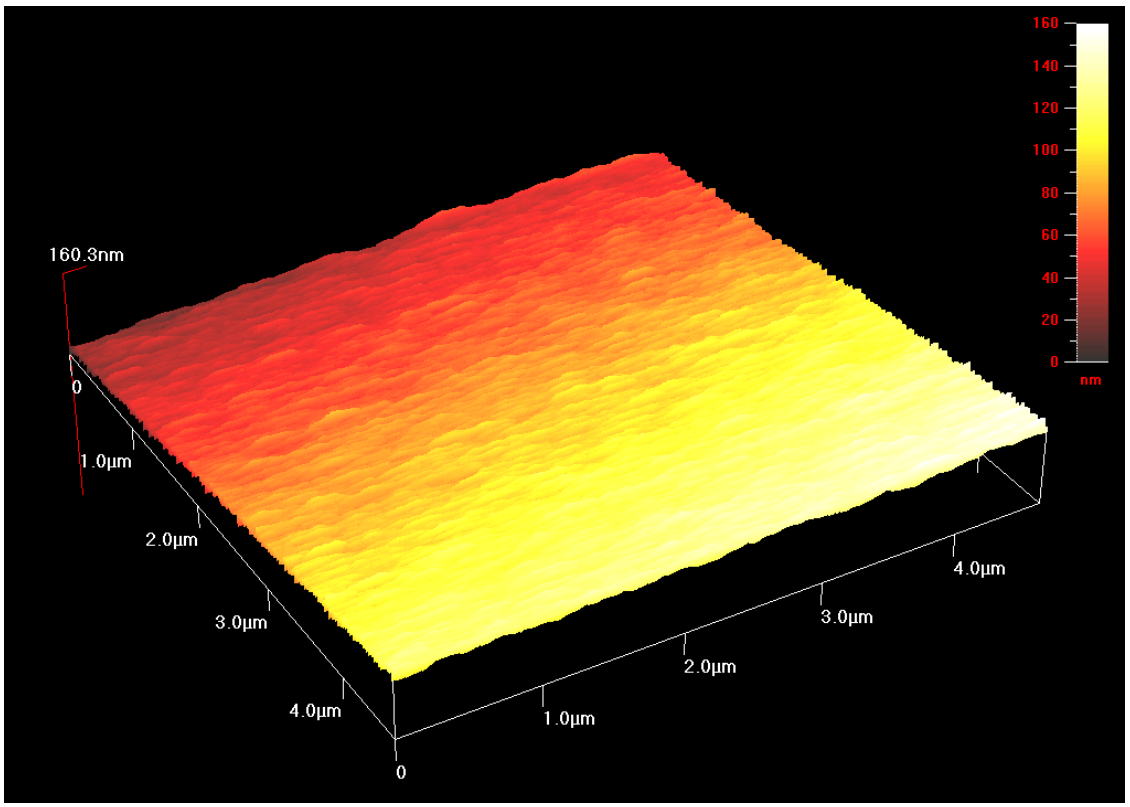
Sekil 3.30. Metakroilamido antipirin MAAP-Fe(III) kompleksinin FTIR spektrumu

Hazirlanan MAAP-Fe(III) kompleksinin FTIR (KBr, cm^{-1}) spektrumunda; 472 ve 647 cm^{-1} pikleri Fe-O piki, 768 cm^{-1} pik (monosubstitüye benzen halkasi) ait olan pik, 1642 cm^{-1} deki karbonil piki 1617 cm^{-1}'de ortaya çikmistir. 1730 cm^{-1} siklik keton pozisyonundaki karbonil piki 1672 cm^{-1}'de ortaya çikmistir. Bu sonuçlar C=O'daki oksijen atomunun metal iyonuyla koordinasyona girdigini göstermistir. Sonuç olarak

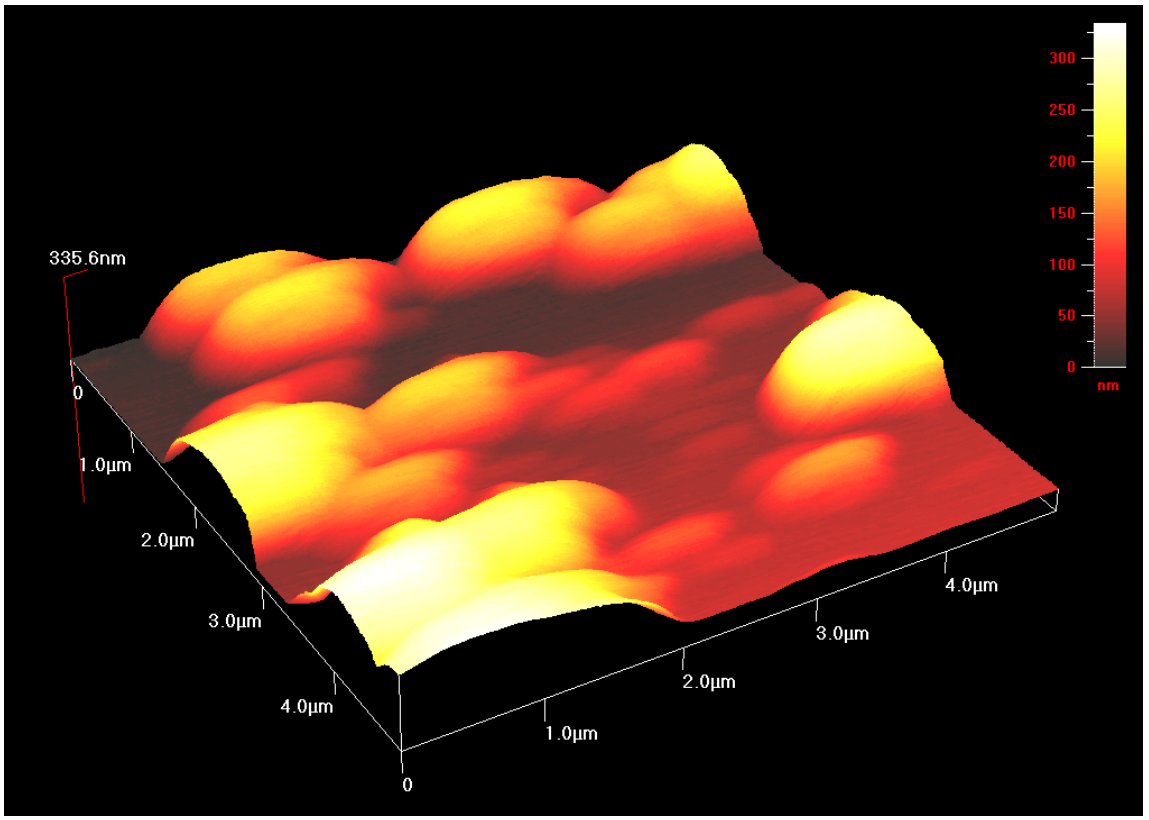
Fe(III) iyonuyla MAAP yapisindaki (C=O)'daki oksijen atomu arasinda bir etkilesimin oldugu anlasilmistir. FTIR daki önemli degisiklik C=O'daki karbonil piki üzerindeki degisikliktir. 3553 cm^{-1}'deki keskin ?(OH) piki H_2O molekülü ile Fe (III) iyonunun koordinasyona girdigini dogrulamistir. Sekil 3.30'da metakroilamido antipirin MAAP-Fe(III) kompleksinin FTIR sektrumu verilmistir.

3.3.3. 8-OHdG baskili QCM elektrotun yüzey karakterizasyonu

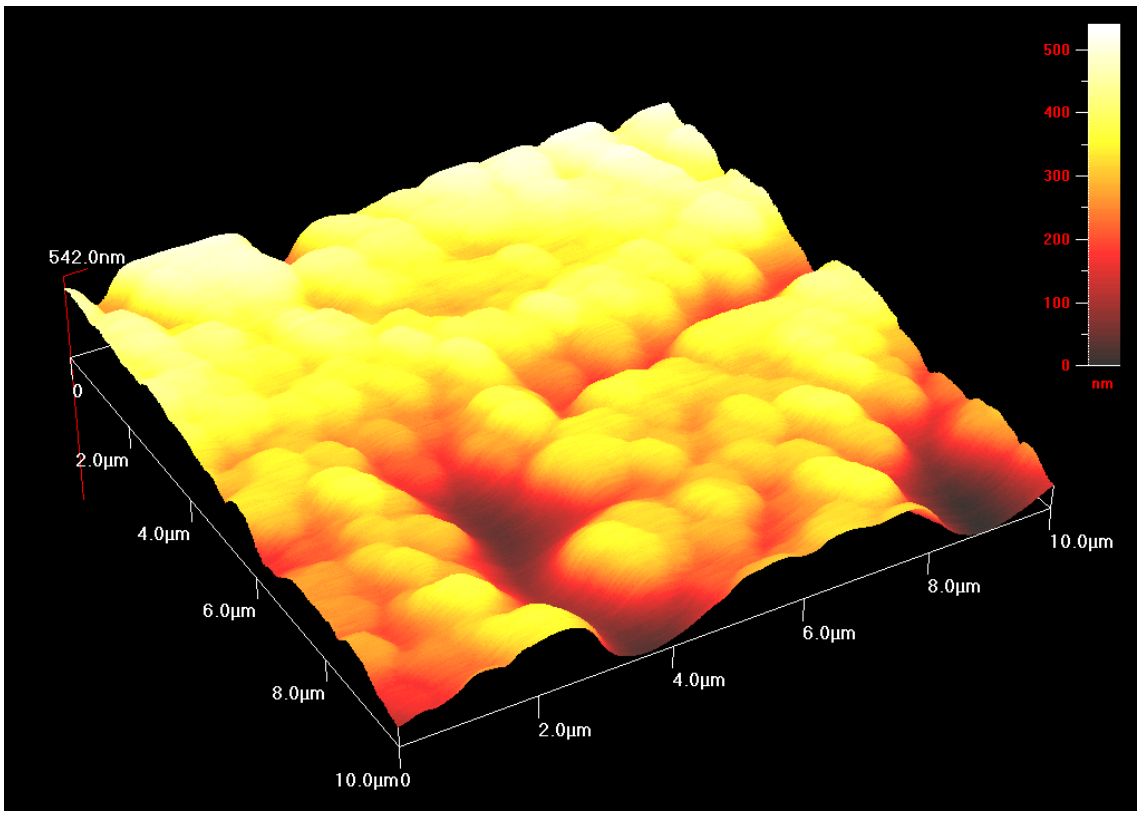
QCM elektrotun altin yüzeyinin, allil merkaptan ile modifiye edildikten sonraki Au-S halinin ve polimerlesmeden sonraki Au-S-Polimer halinin yüzey karakterizasyonu atomik güç mikroskobu (AFM) kullanilarak incelenmistir. Sekil 3.31'de Au elektrotun saf halinin AFM görüntüsü gözükmektedir. Sekil 3.32'de allil merkaptan ile modifiye edilmis Au elektrotun yüzeyi gözükmektedir. Sekil 3.33'de polimerizasyon isleminden sonra yüzeyin yapisi görülmektedir. Yüzeyin modifiye edildigi ve yüzeyde polimerizasyonun gerçeklestigi, yüzey morfolojisindeki degisikliklerden görülmektedir.



Sekil 3.31. QCM elektrotun altin yüzeyinin AFM görüntüsü



Sekil 3.32. Allil merkaptan ile modifiye edilmis QCM elektrotun altin yüzeyinin AFM görüntüsü



Sekil 3.33. Polimerlestirildikten sonra QCM elektrotun altin yüzeyinin AFM görüntüsü

3.3.4. Ligand etkilesimi araciligiyla 8-OHdG baskili QCM sensörlerin baglama etkilesimlerinin ölçümü

Altin kuartz kristaller üzerine 8-OHdG ligand-degisim metoduyla baskili polimerlerini hazirlamak için metakroil bazli yeni bir yöntem gelistirilmis ve 8-OHdG baskili MAH-Pt(II)-8-OHdG-Fe(III)-MAAP polimerinin 8-OHdG seçiciligi incelenmistir. Hedef molekülün metakroil temelli metal-selat kopolimerine baglanmasi kristalin frekansina yansiyan kütlede bir degisime (Δm) neden olmaktadir. Δm ve frekans kaymasi (ΔF_0) arasindaki iliski asagidaki esitlik ile ifade edilebilir.

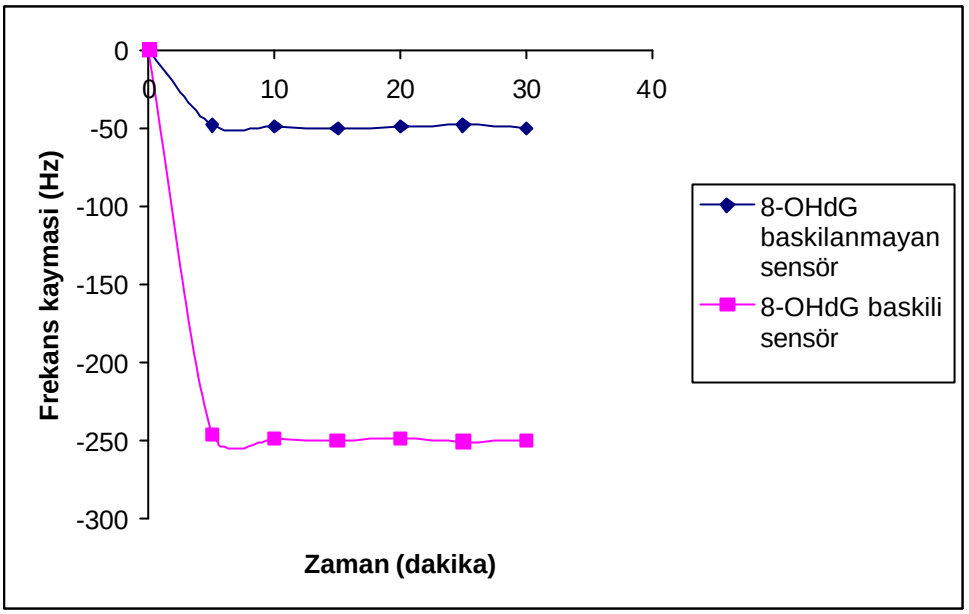
$$\Delta F = - \frac{2F_O^{\,2}\Delta m}{A\sqrt{r m}} \qquad (3.7)$$

Bu esitlikte;

F_0 : temel frekans
A : piezoelektriksel yüzey alani
ρ : Kuartzin yogunlugu
μ : Kuartzin kayma modülünü ifade etmektedir.

Fosfat tamponu içinde baskili polimer kapli sensörün frekansi kararli hale geldigi zaman 8-OHdG çözeltisi dedektör hücresinin üzerine damlatilmistir. 8-OHdG çözeltisi ilave edildikten sonra sensörün frekansi azalmistir ve 5 dakika içinde sabit bir degere ulasmistir (Sekil 3.34).

Ligand degisim reaksiyonunun oldukça çabuk dengeye geldigi görülmüstür ve bu frekans degisimleri kuartz kristal üzerindeki baskilanmis polimere 8-OHdG moleküllerinin tutundugunu göstermistir. Bunun yani sira baskilanmamis polimere 8-OHdG baglanmasinin çok daha zayif oldugu gözlenmistir.



Sekil 3.34. 8-OHdG baskili ve baskisiz sensörün frekans degerleri

Baskili polimer ve 8-OHdG kalip arasindaki baglanma etkilesimleri ve esitlikleri Scatchard analizi yöntemi ile elde edilmis ve bu yöntem MIP çalismalarinda daha önceleri de kullanilmistir. Bu analizde asagidaki esitlik kullanilmaktadir.

$$\frac{Q}{[C]} = \frac{Q_{maks}}{K_D} - \frac{Q}{K_D} \qquad (3.8)$$

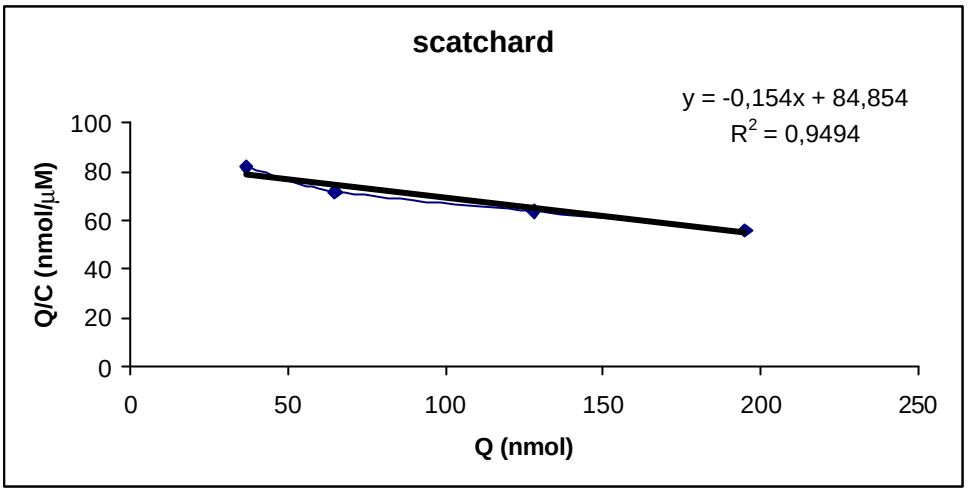
Bu esitlikte;

Q : Polimere baglanan 8-OHdG miktarini

C : Serbest 8-OHdG derisimini

Q_{max} : Baglanma bölgelerinin maksimum sayisini

K_D : Ligand-degisim temelli metal-selat kopolimerinin ayrisma sabitini ifade etmektedir.



Sekil 3.35 8-OHdG baskili polimerin Scatchard egrisi

Sekil 3.35'de 0-3.5µM araligindaki 8-OHdG çözeltisinin Scatchard grafigi görülmektedir.

$$\frac{Q}{[C]} = -0.154\ Q + 84.854 \qquad (3.9)$$

Esitlik 3.9'den MIP sensöre 8-OHdG baglanmasi için baglanma sabiti (K_a) 154000 M^{-1} ve ligand-degisim bölgelerinin sayisi, Q_{max} 551 nmol olarak bulunmustur. K_a degeri baglanma bölgelerindeki afinitenin oldukça güçlü oldugunu göstermektedir.

Baskili polimer ve 8-OHdG kalip arasindaki baglanma etkilesimleri ve esitlikleri Langmuir analizi yöntemi ile elde edilmis ve bu yöntem MIP çalismalarinda daha önceleri de kullanilmistir. Bu analizde asagidaki esitlik kullanilmaktadir.

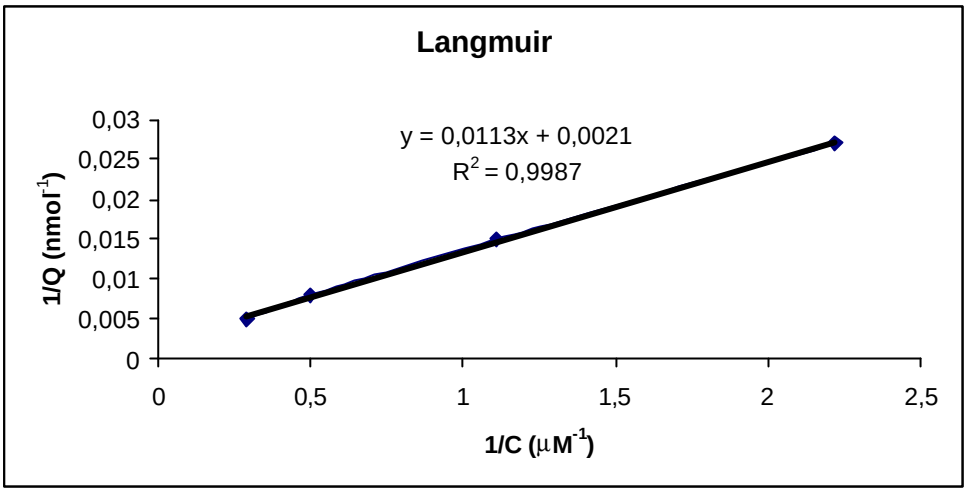
$$\frac{1}{Q} = \left(\frac{1}{[Q\max .b]} \text{ x } \frac{1}{C}\right) + \frac{1}{[Q\max]} \qquad (3.10)$$

b :Langmuir sabiti

Q : Polimere baglanan 8-OHdG miktarini

C : Serbest 8-OHdG derisimini

Q_{max} : Baglanma bölgelerinin maksimum sayisini



Sekil 3.36. 8-OHdG baskili polimerin Langmuir egrisi

Esitlik 3.10'den MIP sensöre 8-OHdG baglanmasi için Langmuir baglanma sabiti (b) 185915 M^1 ve ligand-degisim bölgelerinin sayisi, Q_{max} 476 nmol olarak bulunmustur. Yüksek (b) degeri baglanma bölgelerindeki afinitenin oldukça güçlü oldugunu göstermektedir.

Çizelge 3.5. 8-OHdG baskili QCM sensörün Langmuir ve Scatchard analizlerinin karsilastirilmasi

Molekül	Langmuir b (M^{-1})	$Q_{max\ (nmol)}$	Scatchard, K_a (M^{-1})	Q_{max} (nmol)
8-OHdG	$1.86x10^6$	476	$1.54x10^6$	551

3.3.5. (8-OHdG) baskilanmis QCM elektrodun seçiciligi

Kalip molekül ve MIP-QCM sensörün metal-selat baglanma bölgeleri arasindaki etkilesiminin seçiciliginin anlasilmasi için 8-OHdG ile benzer yapiya sahip olan guanozin ve guanin'in, baskili kuartz kristal sensör üzerine adsorpsiyonlari incelenmistir. Her maddeninde 3.5 µM'lik çözeltileri hazirlanmis ve 8-OHdG baskili polimer ile 24 saat süresince karistirilmistir. Elde edilen sonuçlar çizelge 3.6'da verilmistir. Hazirlanan polimerin yapilan kesikli sistem adsorpsiyon denemleri sonucunda diger benzer türlere karsi çok düsük bir afinite gösterdigi belirlenmistir.

Dolayisiyla 8-OHdG baskili polimerin, 8-OHdG için oldukça yüksek seçicilige sahip oldugu söylenebilir.

Çizelge 3.6. 8-OHdG baskili polimerin seçiciligi

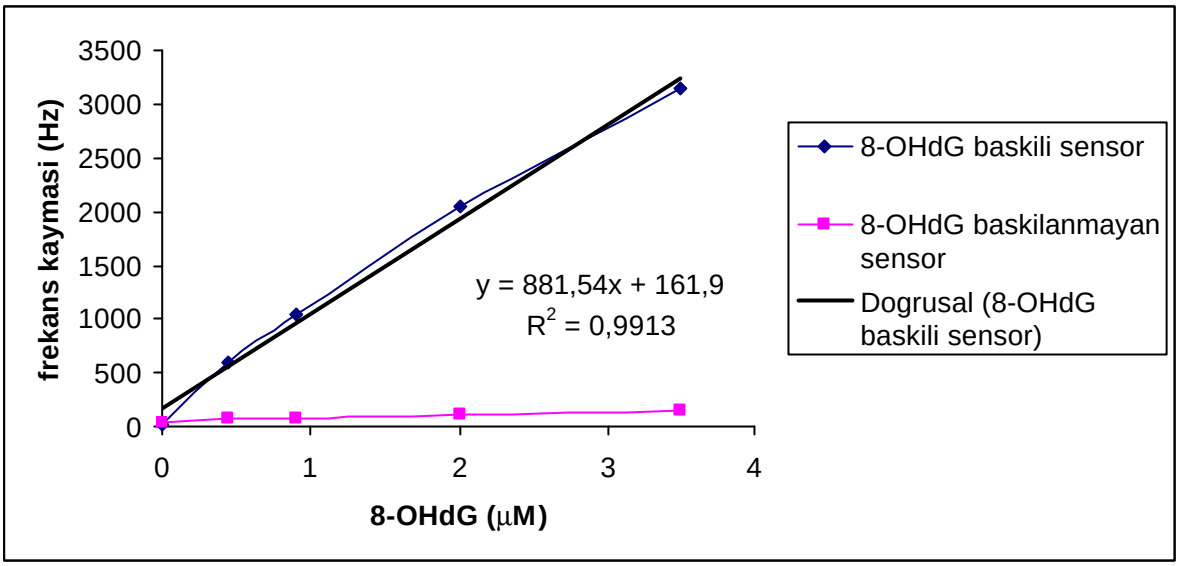
	Q(mg/g) (imprinted)	Q (mg/g) (non-imp.)	k (imprinted)	k (non-imp.)	k'
8-OHdG	195	11.2			
Guanozin	9.45	6.3	20	1.78	11.24
Guanin	6.09	5.8	32	2.17	14.75

3.3.6. (8-OHdG) baskilanmis QCM elektrot ile gerçek numunelerde 8-OHdG miktar tayini

Incebagirsak kanseri olan hastadan alinan kan numunesinin 8-OHdG baskilanmis QCM elektrot ile muamelesi sonucunda QCM elektrotun frekansinda ? f=549 Hz lik bir kayma olmus ve bununda sekil 3.37'de verilen kalibrasyon grafiginden 0.439 µM'lik 8-OHdG içerdigi tespit edilmistir.

3.3.7. (8-OHdG) baskilanmis QCM elektrodun analitik performansi

Sekil 3.37'de 8-OHdG baskili kuartz kristalin 8-OHdG derisim degerlerine karsi frekans kaymasi degerlerinden elde edilen kalibrasyon grafigi görülmektedir. 8-OHdG 0.01 ve 3.5 µM derisim araliginda dogrusal bir grafik elde edilmistir ve 8-OHdG baskili kuartz kristalin tayin siniri 0.0075 µM'dir. 8-OHdG derisimi arttikça frekans degerlerinin de arttigi görülmüstür ve elde edilen dogru egimi 882 Hz $mmol^{-1}$ olarak bulunmustur. Deneyler en az üç kez tekrar edilmistir. Her bir veri seti için ortalama degerler ve standart sapmayi hesaplamak üzere standart istatistiksel yöntemler uygulanmistir. Güven araligi % 95 tutulmustur.



Sekil 3.37. 8-OHdG sensör için kalibrasyon grafigi

4. TARTISMA, SONUÇ VE ÖNERILER

Bu tez çalismasinin birinci ayaginda altin nanopartikül ve altin-gümüs nanocluster ile MAIDA-Cr(III)-DPA ön organize monomer sistemini kullanarak moleküler baskilama temelli (MIP) nanosensör hazirlanmasi ile Bacillus anthracis sporlarini taniyan bellekler olusturularak moleküler tanimlama açisindan degerlendirilmesi çalismalari yapilmistir.

Nanopartikül ve nanokümelerin modifikasyonunda kullanilan MAC monomerinin karakterizasyonu için iki farkli çözücüde (DMSO-D_6 ve D_2O) ^{1}H-NMR spektrumlari alinmistir. Karakteristik pikler su sekildedir; 7.67- 7.36 ppm arasindaki pikler -SH ve -NH protonlarina ait olup suda bu piklerin gözlenmemesi hareketli proton olmalarindan kaynaklanmaktadir. 5.67 ve 5.31 ppm de etilen protonlari gözlenmistir. 4.16 ppm'de -CH, 1.88 ppm'de -CH_3 pikleri gözlenmistir MAC monomerinin FTIR spekturumundan MAC yapisinda bulunan karbonil gruplarinin agirlikli 1615 cm^{-1}'de, bagli N-H gerilmelerinin 3414 cm^{-1}'de, C-S gerilmelerinin ise 706 ve 622 cm^{-1}'de band olusturdugu bulunmustur.

MAIDA monomerinin yapisinin belirlenmesinde ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR ve FTIR kullanilmistir. ^{1}H-NMR spektrumunda MAIDA'da bulunan gruplara ait karakteristik pikler elde edilmistir. Bu karakteristik pikler: MAIDA: 1H (500 MHz, DMSO- d6); 2.20 (t, 3H, -CH_3, J= 7.28 Hz), 3.4 (s, 2H, $\underline{H}OOCCH_2NCH_2COO\underline{H}$), 4.06 (s, 4H, $HOOCC\underline{H_2}NC\underline{H_2}COOH$), 5.28 (s, H, $\underline{H_2}C=C(CH_3)$-) 5.6 (m, H, $\underline{H_2}C=C(CH_3)$-).

^{13}C NMR spektrumu ise ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO –d6); 20, 40.7, 46.9, 120.1, 141.2, 166.3, 168.2

MAIDA'nin FTIR spektrumunda karakteristik 3. amit bandi titresim gerilmeleri 1300 cm^{-1}'de, 1730 cm^{-1}'de karbonil bandi, 1650 cm^{-1} ve 890 cm^{-1}'de alken bantlari görülmektedir.

MAIDA-Cr(III) ve MAIDA-Cr-DPA FTIR spektrofotometresiyle karakterize edilmistir. FTIR spektrumu MAIDA-Cr(III) metal-selat monomerinin sentezlendigini dogrulamaktadir. 1637 cm^{-1} deki karbonil bandi Cr'un MAIDA ile baglandigini göstermektedir. 1700 cm^{-1} de çikmasi gereken karbonil bandi metal etkilesimi nedeniyle 1637 cm^{-1} ye kaymistir.

Ligand degistirici monomer, MAIDA-Cr(III)-DPA' nin FTIR spektrumu DPA' da bulunan piridin halkasina ait 1384 ve 1351cm^{-1}' deki titresim bantlarini göstermektedir. Buda DPA'nin yapida oldugunu göstermektedir. MAIDA-Cr(III) çözeltisinin yesil renginin DPA ile etkilesiminden sonra mora dönüsmesi DPA'nin baglandiginin bir kanitidir.

DPA, DPA baskili Au nanosensörlerin kalip uzaklastirilmadan önce ve sonra FTIR spektrumlari alinmistir. DPA baskilanmis Au-MIP nanopartiküllerin FTIR spektrumunda 1732, 1637 ve 1456 cm^{-1} deki bantlar DPA da bulunan piridin halkasina ait karakteristik bantlardir. DPA kalip uzaklastirildiktan sonraki FTIR spektrumundaki titresim siddetindeki azalma DPA kalibinin büyük çogunlugunun Au-MIP nanokabuktan çikarildigini göstermekte ve sonuçta DPA için belirleyici oyuklarin olustugunu göstermektedir. Ayrica MIP baskilama yapilmadan önce MAC ile kaplanmis Au nanopartiküllerin ve baskilanip DPA kalip uzaklastirildiktan sonra Au nanopartiküllerin alinan TEM görüntülerinde görüldügü gibi, MIP baskilama yapilmadan önce, MAC ile kaplanmis Au nanopartiküller küresel formda ve ortalama 13 nm boyutundadir. MIP baskilama yapildiktan sonra olusan Au nanopartiküllerin metanolik-fosforik asit (3/1, v/v) ile yikanarak DPA kalibin uzaklastirilmasindan sonra alinan TEM görüntüsünde nanopartiküllerin küresel seklini korudugu ve ortalama 19 nm boyutta olduklari görülmektedir.

Au nanosensörler ile DPA, bacillus sporlari ve ftalik asit ile sentetik reseptör seçicilik çalismalari floresans spektrofotometresi kullanilarak gerçeklestirilmistir. Bacillus sporlarina bagli tayin siniri $3.2x10^4$ cfu mL^{-1} bulunmus ve seçicilik çalismalarindan çizilen adsorpsiyon izotermlerinden DPA baskili nanosensörlerin ftalik asite, DPA'ya gösterdiklerinin 1/100'ü oraninda afinite gösterdigi bulunmustur. Ayrica Langmuir ve Scatchard yaklasimi kullanilarak yapilan hesaplamalar sonucunda bulunan afinite sabitleri karsilastirilmistir. Scatchard analizi ile bulunan K_A ve I_{maks} degerleri ($53x10^8$, 487; $4.25x10^4$, 210), Langmuir analizi ile bulunan verilere ($3.5\ x10^5$, 285) bulunmustur.

DPA, DPA baskili Au-Ag nanosensörlerin kalip uzaklastirilmadan önce, sonra ve Bacillus sporlariyla etkinlestirildikten sonraki Raman spektrumlari alinmistir. DPA nin sulu çözeltisinin raman spektrumu alinmistir ve karakteristik 878, 1045, 1099, 1451 cm^{-1} deki bant kaymalari elde edilmistir. DPA içeren Au-Ag-MIP nanosensörlerin

raman spektrumunda DPA ya ait olan 1417, 1012, 950, 713, 677 cm^{-1} deki band kaymalari gözlenmistir. Kalip uzaklastirildiktan sonraki raman spektrumunda DPA baskili nanosensörlerden DPA kalibin çikarildigi, DPA'ya ait karakteristik band kaymalari gözlenmedigi için, söylenir. Bacillus sporlariyla etkilestirilmis Au-Ag-MIP nanosensörlerin raman spektrumunda yine DPA ya ait olan 1466, 1368 cm^{-1} deki bant kaymalari gözlenmistir. MAC ile kaplanmis Au-Ag nanokümelerin ve DPA kalip uzaklastirilmadan önce ve uzaklastirildiktan sonra Au-Ag nanosensörlerin alinan TEM görüntülerinde MAC ile kaplanmis Au-Ag nanokümeler küresel formda ve ortalama 42 nm boyutundadir. Au-Ag nanokümelerin DPA kalip uzaklastirilmadan önce alinan TEM görüntüsünde ise nanokümelerin küresel formda ve ortalama 62 nm boyutta olduklari görülmektedir. Au-Ag nanokümelerin metanolik H_3PO_4 ile yikanarak DPA kalibin uzaklastirilmasindan sonra alinan TEM görüntüsünde nanokümelerin küresel seklini korudugu ve ortalama 55 nm boyutta olduklari görülmektedir.

Au-Ag nanokümeler ile DPA, bacillus sporlari ve ftalik asit ile sentetik reseptör seçicilik çalismalari floresans spektrofotometresi kullanilarak gerçeklestirilmistir. Bacillus sporlarina bagli tayin siniri $2.1x10^4$ cfu mL^{-1} bulunmus ve seçicilik çalismalarindan çizilen adsorpsiyon izotermlerinden DPA baskili nanosensörlerin ftalik asite DPA'ya gösterdiklerinin 1/28'i oraninda afinite gösterdigi bulunmustur. Ayrica Langmuir ve Scatchard yaklasimi kullanilarak yapilan hesaplamalar sonucunda bulunan afinite sabitleri karsilastirilmistir. Scatchard analizi ile bulunan K_A ve I_{maks} degerleri ($4.15x10^7$, 129; $3.25x10^4$), Langmuir analizi ile bulunan verilere ($1.4x10^5$, 82) bulunmustur.

Çalismanin ikinci ayaginda, MAAP-Fe(III), MAH-Pt(II) metal selat monomerleri ile MAH-Pt(II)-8OHdG-Fe(III) metal selat monomeri ön organizasyonu monomer sistemi hazirlanmis ve bu sistem kullanarak MIP temelli QCM elektrot üzerinde nanofilm olusturulmustur. DNA'nin hasarli bölgelerini taniyan bu biyosensör çipin moleküler tanimlama açisindan degerlendirilmesi çalismalari yapilmistir.

MAAP monomerinin karakterizasyonu için FTIR ve ^{1}H-NMR spektrumlari alinarak karakteristik pikler ortaya konulmustur. MAAP monomerinin karakterizasyonu için kullanilan FTIR analizlerinin karakteristik pikleri söyledir: FT-IR (KBr, cm^{-1}): 763–710 cm^{-1} (monosubstitüe benzen halkasi), 1580 ve 1500 cm^{-1} (aromatik halkadaki konjugasyon, kuvvetli iki veya üç pik), (1600 cm^{-1} (metakril çift bagi), 1642 cm^{-1} (amid

karbonil piki), 1730 cm^{-1} (siklik keton pozisyonunda karbonil piki), 2975 ve 2924 cm^{-1} (C-H piki), 3260 cm^{-1} (N-H piki). MAAP monomerinin ^{1}H-NMR spektrumunda MAAP monomerinde bulunan gruplara ait karakteristik pikler sunlardir: 2.05 ppm 3H singlet (-C=C-CH_3, vinil metil), 3.0 ppm 3H singlet (-C-CH_3), 3.35 ppm 3H singlet (-N-CH_3), 5.5 ppm 1H singlet (-CH_a=C-), 5.8 ppm 1H singlet (-CH_b=C-), 7.25–8.80 ppm 4H multiplet (aromatik, 7.3 ppm'de $CDCl_3$ pikide aromatik pikler içine karismis durumdadir), 8.80 ppm 1H singlet (aromatik), 9.1 ppm 1H singlet (N-H) seklindedir

Ayrica metakrilamido antipirin MAAP-Fe(III) kompleks monomerinin karakterizasyonu amaciyla alinan FTIR spektrumunda; 472 ve 647 cm^{-1} pikleri Fe-O piki, 768 cm^{-1} piki monosubstitüye benzen halkasina ait olan pik ve 1642 cm^{-1} deki karbonil piki 1617 cm^{-1}'de ortaya çikmistir. 1730 cm^{-1} siklik keton pozisyonundaki karbonil piki 1672 cm^{-1}'de görülmektedir. Bu pikler; C=O'daki oksijen atomunun Fe(III) iyonuyla koordinasyona girdigini ve Fe(III) iyonuyla MAAP yapisindaki (C=O)'daki oksijen atomu arasinda bir etkilesimin oldugunu ortaya koymustur. FTIR'daki önemli bir degisiklik de C=O'daki karbonil piki üzerindeki degisikliktir. 3553 cm^{-1}'deki keskin ?(OH) piki H_2O molekülülerinin Fe (III) iyonuyla bos koordinasyon kürelerine girdigini göstermistir.

MAH monomerinin yapisinin belirlenmesinde ^{1}H-NMR kullanilmistir. ^{1}H-NMR spektrumunda MAH'da bulunan gruplara ait karakteristik pikler elde edilmistir. Bu karakteristik pikler: ^{1}H-NMR ($CDCl_3$): 1.99 (t; 3H, J=7.08 Hz, CH_3), 1.42 (m; 2H, CH_2), 3.56 (t; 3H, -OCH_3), 4.82-4.87 (m; 1H, metil), 5.26 (s; 1H, vinil H), 5.58 (s; 1H, vinil), 6.86 (d; 1H, J=7.4 Hz, NH), 7.82 (d; 1H, J=8.4 Hz, NH), 6.86-7.52 (m; 5H, aromatik) olarak bulunmustur.

MAH-Pt(II) monomeri FTIR ile karekterize edilmistir. FT-IR spektrumu incelendiginde MAH yapisina ait karakteristik karbonil bandlari 1653 ve 1629 cm^{-1}'de, amid II gerilme titresim bandi ise 1529 cm^{-1}'de görülmektedir. Ayrica Pt-N tiresimine ait bandlar 552 ve 441 cm^{-1}'de görülmektedir ki bu Pt(II) iyonlarinin MAH yapisina koordine oldugunu göstermistir. Bu spektrum hedef metal-selat monomer yapinin sentezlendigini göstermektedir. Ayrica MALDI-TOF-MS ile yapilan aydinlatma çalismalari kapsaminda; kütle analizleri pozitif reflektör modunda 2,5-dihidroksibenzoik asit ve a-Cyano-4-hidroksisinnamik acid matriksleri kullanilarak

gerçeklestirilmistir. Kütle spektrumlarindan görülecegi üzere MAH-Pt-$(H_2O)_2$ metal-selat olusumu 443 ile baslayan m/e degerlerinden de ortaya konulmustur. Kütle spektrumlarinda 415-417 arasinda görülen pikler de platinin izotoplarini da içine alacak sekilde MAH-Pt olusumunu desteklemistir.

8-OHdG baskili polimer ile QCM ölçümleri sonucunda 8-OHdG baskili MIP sensöre 8-OHdG baglanmasi için Scathard baglanma sabiti (K_a) 154000 M^{-1} ve ligand-degisim bölgelerinin sayisi, Q_{max} 551 nmol olarak bulunmustur. K_a degeri baglanma bölgelerindeki afinitenin oldukça güçlü oldugunu göstermektedir Esitlik 3.10'dan MIP sensöre 8-OHdG baglanmasi için Langmuir baglanma sabiti (b) 185915 M^{-1} ve ligand-degisim bölgelerinin sayisi, Q_{max} 476 nmol olarak bulunmustur. Yüksek (b) degeri baglanma bölgelerindeki afinitenin oldukça güçlü oldugunu göstermektedir.

Kalip molekül ve MIP-QCM sensörün metal-selat baglanma bölgeleri arasindaki etkilesiminin seçiciliginin anlasilmasi için 8-OHdG ile benzer yapiya sahip olan quanozin ve guanin ile çalisilmis ve 8-OHdG baskili kuartz kristal sensör üzerine adsorpsiyonlari incelenmistir. Sentezlenen sensörün 8-OHdG için, guanozin göre 20 kat ve guanine göre 32 kat daha fazla seçici oldugu tespit edilmistir. 8-OHdG baskili kuartz kristalin tayin siniri 0.0075 µM olarak bulunmustur.

Gerçek numuneler ile yapilan çalismalar için, kan numunesinin 8-OHdG baskilanmis QCM elektrot ile muamelesi sonucunda QCM elektrotun frekansinda ? f=549 Hz lik bir kayma olmus ve bununda sekil 3.36'de verilen kalibrasyon grafiginden 0.439 µM'lik 8-OHdG içerdigi tespit edilmistir.

KAYNAKLAR

Alivisatos, A.P. (1998), 'Semiconductor nanocrystals: New materials through control of size," *Abstracts Of Papers Of The American Chemical Society*, **212**, Part 1

Alivisatos, A.P. (1996), "Semiconductor clusters, nanocrystals, and quantum dots," *Science*, **271**, 933-937.

Almeida, J.L., Wang, L., Morrow, J.B. and Cole, K.D., (2006) J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol. **111** 205-217

Andersson, L.I. (2000), "Molecular imprinting for drug bioanalysis A review on the application of imprinted polymers to solid phase extraction and binding assay," J. *Chromatography. B.*, **739**, 163-173.

Andersson, L.I., Nicholls, I.A. ve Mosbach, K. (1994), "Molecular imprinting a versatile technique for the preparation of separation materials of predetermined selectivity," *Highly Selective Separations in Biotechnology*, **9**, 207-224.

Andican Z. G. (2000) Oksidatif DNA hasarinin göstergesi olan 8-Hidroksi Deoksiguanozin'in analiz yöntemi ve STZ diabetik siçanlara uygulanmasi

Arya, H., Kaul, Z., Wadha, R., Taira, K., Hirano, T. ve Kaul, S.C. (2005), "Quantum dots in bio-imaging: Revolution by the small," *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **329**, 1173-1777.

Atalay M, Laaksonen D.E, (2002) *Diabetes, Oxidative Stres and Physical Exercise, Journal of Sport Science and Medicine*, **(1)**, 1-14.

Blake, D.A., Chakrabarti, P., Khosraviani, M., Hatcher, F.M., Wasthoff, C.M., Goebel, B. Wylie, D.E. ve Blake, R.C. (1996), "Metal binding properties of a monoclonal antibody directed towar metal-chelate complexes," *J. Biol. Chem.*, **271**, 27677.

Behling, C., Luucklum, R. ve Hauptmann, P. (1998), "Response of quartz crystal resonators to gas and liquid analyte exposure," *Sensors and Actuators A*, **68**, 388-398.

Borchard G, Audus KL, Shi F, Kreuter J. (1989) Uptake of surfactant-coated poly(methyl methacrylate)- nanoparticles by bovine brain microvessel endothelial cell monolayers. *Int J Pharm*; **110**: 29-35.

Brigger I, Morizet J, Aubert G, Chacun H, Terrier- Lacombe MJ, Couvreur P, Vassal G. (2002) Poly(ethylene glycol)-coated hexadecylcyanoacrylate nanospheres display a combined effect for brain tumor targeting. *J Pharm Exp Ther*; **303**: 928-936.

Brust, M., Bethell, D., Kiely, C.J., Schiffen, D.J., 1998, *Langmuir* **14**, 5425-5429.

Buffat, Ph. & Burrel, J.-P. (1976), "Size effect on the melting temperature of gold particles", *Physical Review A* **13** (6): 2287 - 2298,

Calvo P, Gouritin B, Brigger I, Lasmezas C, Deslys JP, Williams A, Andreux JP, Dormont D, Couvreur, P. (2001) PEGylated polycyanoacrylate nanoparticles as vector for drug delivery in prion disease. *J Neuros Methods;* **111**: 151-155.

Caro, E., Masqué, N., Marcé, R.M., Borrull, F., Cormack, P.A.G. ve Sherrington, D.C. (2002), "Non-covalent and semi-covalent molecularly imprinted polymers for selective on-line solid-phase extraction of 4-nitrophenol from water samples," *J. Chromatogr. A*, **963**, 169–178.

CDC. Update: (2001) Investigation of bioterrorism-related anthrax and interim guidelines for exposure management and antimicrobial therapy. October. *MMWR* ; **50**:909-19.

CDC. Update: (2001) Investigation of anthrax associated with intentional exposure and interim public health guidelines, *MMWR* ;**50**:889-97.

Chan, W.C.W., Maxwell, D.J., Gao X.H., Bailey, R.E., Han, M. ve Nie, S. (2002), "Luminescent quantum dots for multiplexed biological detection and imaging," *Current Opinion In Biotechnology*, **13**, 40-46.

Chan, W.C.W. ve Nie, S.M. (1998), "Quantum dot bioconjugates for ultrasensitive nonisotopic detection," *Science*, **281**, 2016-2018.

Chen, J.L. ve Zhu, C.Q. (2005), "Functionalized CdS quantum dots fluorescence probe silver ion determination," *Analytica Chimica Acta*, **546**, 147-153.

Chen, Y. ve Rosenzweig, Z. (2002) "Luminescent CdS quantum dots as selective ion probes," *Anal. Chem*., **74**, 5132-5138.

Chiou C, Chang P, Chan Err-Cheng, Wu Tsu, Tsao Kuo, Wu James T , (2003) Urinary ; 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine and its Analogs as DNA Marker of Oxidative

Stres: Development of ELISA and Measurement in Both bladder and Prostate Cancers, *Clinica Chimica Acta*, **(334**), 87-94.

Christopher GW, et al. (1997) Biological warfare: a historical perspective. *JAMA*; **278** :412-7.

Constantino L, Gandolfi F, Tosi G, Rivasi F, Vandelli MA, Forni F. (2005) Peptide-derivatized biodegradable nanoparticles able to cross the blood-brain barrier. *J Cont Rel*; **108**: 84-96

Dang, J.L., Heroux, K., Kearney, J., Arasteh, A., Gostomski, M., Emanuel, P.A., 2001, *Applied and Environmental Microbiology* **67**, 3665-3670.

Degan P, Shigenaga M, Par E, Alperin P, Ames B, (1991) Immunoafifinity Isolation of Urinary 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine and 8-Hydroxyguanine and quantitation of 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine in DNA by Polyclonal Antibodies, *Carcinogenesis*, **12(5**), 865-871.

Denda, A., Endoh, T., Kitayama, W., Tang, Q., Noguchi, O., Kobayashi, Y., Akai, H., Okajima, E., Tsujiuchi, T., Tsutsumi, M., Nakae D. and Konishi, Y. (1996) Inhibition by piroxicam of oxidative DNA damage, liver cirrhosis and development of enzyme-altered nodules caused by a choline-deficient, L- amino acid-defined diet in rats. *Carcinogenesis*; **18** (10): 1921-1930

Dickert, F.L. ve Hayden, O. (1999), "Imprinting with sensor development On the way to synthetic antibodies," *Fresenius J. Anal. Chem.*, **364**, 506-511.

Diltemiz, S. E., Say, R., Büyüktiryaki S., Hür, D., Denizli, A., Ersöz, A., (*2008*) Quantum dot nanocrystals having guanosine imprinted nanoshell for DNA recognition *Talanta*, Volume **75**, Issue 4, *30 May Pages 890-896*

Dixon TC, Meselson M, Guillemin J, Hanna PC. (1999) Anthrax. *N Engl J Med*; **341**:815-26.

Dizdaroglu M, Jaruga P, Rodriguez H, (2001) Measurement of 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosin in DNA by High-Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry: Comparison with Measurement by Gas Chromatography-Mass Spectrometry, *Nucleic Acid Research*, **(29)** 1-8.

Dizdaroglu M. (1991) Chemical determination of free radical-induced damage to DNA. *Free Radical Biology & Medicine*; **10**: 225-242

Dong, X.C., Sun, H., Lu, X.Y., Wang, H.B., Liu S.X. ve Wang, N. (2002) "Separation of ephedrine stereoisomers by molecularly imprinted polymers influence of synthetic conditions and mobile phase compositions on the chromatographic performance," *Analyst* **127**, 1427–1432.

Douglas A. Skoog, F. James Holler, Timothy A. Nieman, (1998) *Prinnciples of Instrumental Analysis* (Fifth Edition); Enstrümental Analiz Ilkeleri Birinci Baski, çeviri Editörleri; Prof. Dr. Esma Kiliç, Prof. Dr. Fitnat Köseoglu, Doç. Dr. Hamza Yilmaz

Edgecombe, K.E., Weaver, D.F. Smith V.H., Can. Jr., (1994) *J. Chem*. **72,** 1388

Ersöz, A., Denizli, A., Sener, I., Atilir, A., Diltemiz, S., Say, R., (2004) *Sep. Purif. Technol*. **38,** 173.

Fahlman, B. D. (2007) *Materials Chemistry*; Springer: Mount Pleasant, **MI**,; Vol. 1, pp 282-283.

Fang Y, Xu Y, He P, (2005) DNA Biosensors Based on Metal Nanoparticles, *Journal of Biomedical Nanotechnology* Volume **1**, Number 3, September, pp. 276-285(10)

Farinati F, Cardin R, Degan P, Rugge M, Di mario F, Bonvicini P, Naccarato R. (1998) Oxidative DNA damage accumulation in gastric carcinogenesis. *Gut*; **42**:351-356

Farquharson, S., Gift, A.D., Maksymiuk, P. and Frank E. Inscore (2003) Rapid Dipicolinic Acid Extraction from *Bacillus* Spores Detected by Surface-Enhanced Raman Spectroscopy, *Applied Spectroscopy*

Faux SP, Francis JE, Smith AG, Chipman J.K (1992) Introduction of 8-hydroxydeoxydeoxyguanosine in Ah-responsive Mouse liver by iron and Aroclor 1254. *Carcinogenesis*; **13** (2) 247-250.

Fernández, A., Ocio, M.J., Fernández, P.S., Martinez, A., (2001), *International Journal of Food Microbiology* **63**, 257-264.

Fichtel, J., Köster, J., Böttcher, B. S., Sass, H. and Rullkötter J. (2007) A highly sensitive HPLC method for determination of nanomolar concentrations of dipicolinic acid, a characteristic constituent of bacterial endospores, *Journal of Microbiological Methods*, Volume **70**, Issue 2, August, Pages 319-327

Foxx D., Kalu E.E., (2007) Amperometric biosensor based on thermally activated polymer-stabilized metal nanoparticles, *Electrochemistry Communications* **9** 584–590

Freidlander AM, Pittman PR, Parker GW. (1999) Anthrax vaccine. Evidence for safety and efficacy against inhalational anthrax. *JAMA*; **282**:2104-6.

Friese A, Seiller E, Quack G, Lorenz B, Kreuter J. (2000) Increase of the duration of the anticonvulsive activity of a novel NMDA receptor antagonist using poly(butylcyanoacrylate) nanoparticles as a parenteral controlled release system. *Eur J Pharm Biopharm*; **49**: 103-109.

Gelperina SE, Khalansky AS, Skidan IN, Smirnova ZS, Bobruskin AI, Severin SE, Turowski B, Zanella FE, Kreuter J. (2002) Toxicological studies of doxorubicin bound to polysorbate 80-coated poly(butyl cyanoacrylate) nanoparticles in healthy rats and rats with intracranial glioblastoma. *Tox Letters*; **126**: 131-141.

Guingab, J.D., Lauly, B., Smith, B.W., Omenetto N. and Winefordner J.D. (*2007)* Stability of silver colloids as substrate for surface enhanced Raman spectroscopy detection of dipicolinic acid *Talanta*, *Volume* **74,** Issue 2, 30 November, Pages 271-274

Halliwell B. (1996) Commentary oxidative stres, nutrion and healty. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Rad. Res.* **25** (1): 57-74

Harris S. (1992) Japanese biological warfare research on humans: a case study of microbiology and ethics. *Ann NY Acad Sci*; **666**:21-52.

Hauden, D., Jaillet, G. ve Coquerel, R. (1981), Temperature sensor using SAW delay lines, *IEEE Ultrason Symp*. (Proc.), **148**.

Haupt, K., Cormack, P.A.G. ve Mosbach, K. (2002), "Imprinted Polymers As Tailor-Made Stationary Phases for Affinity Separation," *Biochromatorgraphy*, **419**, 419-431.

Haupt, K. (2001), "Molecularly imprinted polymers in analytical chemistry," *Analyst*, **126**, 747-756.

He, J., Luo, X., Chen, S., Cao, L., Sun, M. and Yu, Z. (2003) Determination of spore concentration in Bacillus thuringiensis through the analysis of dipicolinate by capillary zone electrophoresis, *Journal of Chromatography A*, Volume **994**, Issues 1-2, 25 April, Pages 207-212

Heising, R.A. (1946), Quartz crystals for electrical circuits, their design and manufacture, *Van Nostrand*, New York.

Hodak, J.H.; Henglein, A.; Hartland, G.V. (2000) *J. Phys. Chem. B* **, 104**, 9954-9965.

Hür, D., Ekti, S.F., Say R., 2007, *Lett. Org. Chem*. **4**, 585-587.

Ichinose T, Yajima Y, Nagashima M, Takenoshita S, Nagamachi Y, Sagai M. (1997) Lung carcinogenesis and formation of 8-hydroxy-deoxyguanosine in mice bye diesel exhaust particles. *Carcinogenesis*; **18**(1): 185-192.

Idziak, L., Benrebouh, A. ve Deschamps, F. (2001), "Simple NMR experiments as a means to predict the performance of an anti-17 alpha-ethynylestradiol molecularly imprinted polymer," *Anal. Chim. Acta*, **435**, 137–140.

Ikegami, T., Mukawa, T., Nariai H. ve Takeuchi, T. (2004), "Bisphenol A-recognition polymers prepared by covalent molecular imprinting," *Anal. Chim. Acta.*, **504**, 131–135.

Inglesby TV, Henderson DA, Bartlett JG, et al. (1999) Anthrax as a biological weapon. Medical and public health management. *JAMA*; **281**:1735-45.

Ivnitski, D., O'Neil, D.J., Gattuso, A., Schlicht, R., Calidonna, M., Fisher, R. (2003) Nucleic acid approaches for detection and identification of biological warfare and infectious disease agents, *Biotechniques* **35** 862–869.

Josel H.-P., Markert Y., Nichtl A., and Kurzinger K., (2007) Radiative and Nonradiative Rates of Phosphors Attached to Gold Nanoparticles, *nano letters* 1941-1946N

José, M.C.F, Rosario, P.ve Alfredo, S.M. (2006), "The use of luminescent quantum dots for optical sensing," *Trends in Anal. Chem*., **3**, 217-218.

Kaplan, E.H., Patton, C.A., FitzGerald, W.P., Wein, L.M., (2003) Detecting bioterrorn attacks by screening blood donors: a best-case analysis, Emerg. *Infect. Dis*. **9,** 909–914.

Katz, A., Davis, M.E. (1999), "Investigations into the Mechanisms of Molecular Recoginition with Imprinted Polymers," *Macromolecules*, **32**, 4113-4121.

Knight, A., Gaunt, J., Davidson, T., Chechik, V. ve Windsor, S. (2004),

Komiyama, M., Takeuchi, T., Mukawa, T. ve Asanuma, H. (2002), *Molecular Imprinting: From Fundamntals to Applications*, WILEY-VCH, New York.

Koziara JM, Lockman PR, Allen DD, Mumper RJ. (2004) Paclitaxel nanoparticles for the potential treatment of brain tumors. *J Cont Rel*; **99**: 259-269.

Kriz, D., Ramstrom, O. ve Mosbach, K. (1997), "Molecular imprinting: new possibilities for sensor technology," *Anal. Chem.*, **69**, 345 A-349 A.

Lanza, F. ve Sellergren, B. (1999), "Method for synthesis and screening of large groups of molecularly imprinted polymers," *Anal. Chem.* **71**, 2092–2096.

Li, Z., Du, Y., Zhang, Z. ve Pang, D. (2003), "Preparation and characterization of CdS quantum dots chitosan biocomposite", *Reactive&Functional Polymers*, **55**, 35-43.

Lin, C.I., Joseph, A.K., Chang, C.K. ve Lee, Y.D. (2004), "Synthesis and photoluminescense study of molecularly imprinted polymers appended onto CdSe/ZnS core-shells," *Biosens. Bioelectron.*, **20**, 127-131.

Lu W, Zhang Y, Tan YZ, Hu KL, Jiang XG, Fu SK. (2005) Cationic albumin-conjugated pegylated nanoparticles as novel drug carrier for brain delivery. *J Cont Rel*; **107**: 428-448.

Lu, C. Ve Czanderna, A.W. (1984), Applications of piezoelectric quartz crystal microbalances, *Elsevier*.

Lunec J, Herbert K, Blount S, Griffiths HR, Emery P. (1994) 8 hydroxy-deoxyguanosine a markewr of oxidative DNA damage in systemic lupus erythematosus. *Febs Letters* **348**: 131-138.

Mechaly, A., Zahavy, E. and Fisher, (2008) M. Applied and Environmental Microbiology 74 818.

Mallik, S., Plunkett, S.D., Dhal, P.K., Johnson, R.D., Pack, D.W., Shnek D.R. ve Arnold, F.H. (1994) "Towards materials for the specific recognition and separation of proteins," *New Journal of Chemistry*, **18**, 299-304.

Manchee RJ, Steward WD. (1998) The decontamination of Gruinard Island. Chem Br. July; 690-1.

Mattoussi, H., Igor, L.M., Aaron, R.C., Ellen, R.G., Jyoti, K.J., Sanford, M.S. ve Matthew, J.M. (2004), "Luminescent quantum dot-bioconjugates in immunoassays, FRET, *Biosensing, and Imaging Applications*," *JALA*, 28-32.

Mazas, M., González, I., López, M., González, J., Martin, R., 1995, *International Journal of Food Science and Technology* **30**, 71-78.

Maria L.Urso, Priscilla M. Clarkson,(2003) *Oksidatif Stress, Exercise and Antioxidant Supplementation*, Toxicology, (**189**), 41-54.

Mecocci P, Polidori MC, Ingegni T, Cherubini A, Chionne F, Cecchetti R, Senin U. (1998) Oxidative damage to DNA in Iymphocytes from AD patients. *Neurology*; **51**: 1014-1017.

Merkoçi, A., Aldavert, M., Marin, S.ve Alegret, S. (2005), "New materials for electrochemical sensing V: Nanoparticles for DNA labeling,", *Trens in Anal. Chem.* **24 (4)**, 341-349.

Meselson M, et al. (1994) The Sverdlovsk anthrax outbreak of 1979. *Science*; **266**:1202-8.

Moring, S. E., Wong, O. S. and Stobaugh, J. F. (2002) *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Volume 27, Issue **5**, 1 February, Pages 719-728

Mosbach, K. ve Mayes, A.G. (1997), "Molecularly imprinted polymers: useful materials for analytical chemistry," *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **16**, 321-332.

Mosbach, K. ve. Arshady, R. (1981), "Synthesis of substrate-selective polymers by host–guest polymerization," *Makromol. Chem.*, **182**, 687–692.

Murphy, C.J. ve Coffer, J.L. (2002), "Quantum dots: A primer," *Appl. Spectrosc.*, **56** 16A-27A

Murrell, W.G., (1969). Chemical composition of spores and spore structures. In: Gould, G.W., Hurst, A. (Eds.), *The Bacterial Spore*, vol. 1. Academic Press, London, pp. 215–274.

Murrell, W.G., Warth, A.D., (1965). Composition and heat resistance of bacterial spores. In: Campbell, L.L., Halvorson, H.O. (Eds.), Spores III, *American Society for Microbiology.* Ann Arbor, Michigan, pp. 1–24.

Neumeister, J., Thum, R. ve Lüder, E. (1990), "A Saw delay-line oscillator as a high-resolution temperature sensor," *Sens. Actuators A*, **21-23**, 670.

Papaparaskevas, J., Houhoula, D.P., Papadimitriou, M. Saroglou, G., Legakis, N.J., Zerva, L. (2004) Ruling Out *Bacillus anthracis, Emerg. Infect. Dis.* **10** 732–735.

Pellegrino, P.M., Fell Jr., N.F., Rosen, D.L., Gillespie, J.B., (1998) Anal. Chem. **70** 755.

Peruski, A.H., Peruski Jr., L.F. (2003) Immunological methods for detection and identification of infectious disease and biological warfare agents, Clin. Diagn. Lab. *Immunol*. **10** 506–513.

PHLS-CDSC. Deliberate releases document update. Anthrax. Provisional PHLS guidelines for action in the event of a deliberate release. www.phls.org.uk. 12.10.2001.

Poupard JA, Miller LA. (1992) History of biological warfare: catapults to capsomeres. *Ann NY Acad Sci*; **666**: 9-20.

Powell, J.F., (1953). Isolation of dipicolinic acid (pyridine-2,6-dicarboxylic acid) from spores of Bacillus megatherium. *Biochem. J*. **54,** 210–211.

Ralf, L., Carsten, B. ve Peter H. (2000), "Gravimetric and non-gravimetric chemical quartz crystal resonators," *Sensors and Actuators B.*, **65**, 277-283.

Rao, C.N.R.; Cheetham, A.K. (2001) *J. Mater. Chem*., **11**, 2887-2894.

Riegler, J., ve Nann, T. (2004), "Application of luminescent nanocrystals as labels for biological molecules," *Anal. Bioanal. Chem*., **379**, 913-919.

Rodriguez H, Jurado J, Laval J, Dizdaroglu M, (2000) Comparison of the levels of 8-OHdG in DNA as Measured by gas Chromatography-Mass spectrometry Following Hydrolysis of DNA by Escherichia Coli Fpg Protein or Formic Acids, *Nucleic Acid Research*, **(28)** 15-75.

Rosen, D.L., Sharpless, C., McGown, L.B., (1997) Anal. Chem. **69** 1082.

Rosi NL. Giljohann D.A.,Thaxton C.S., Jean L., Han M.S., Mirkin C.A., (2006) Oligonucleotide-Modified Gold Nanoparticles for Intracellular Gene Regulation in *Science* : 1027 - 1030

Ruoff KL. (1998) Biological warfare. *Clin Microbiol Newsletter*; **20**:1736

Sauerbrey, G.Z. (1959), "Verwendung von schwingquarzen zur wägung dünner schichten und zur mikrowägung," *Zeitschrift für Physik*, **155**, 206-222.

Sellergren, B. (2000), "Imprinted polymers with memory for small molecules, proteins, or crystals," *Angew. Chem. Int. Ed.* **39**, 1031-1037.

Sellergren, B., Lepistö, M. ve Mosbach, K. (1988), "Highly enantioselective and substrate-selective polymers obtained by molecular imprinting utilizing noncovalent interactions - NMR and chromatographic studies on the nature of recognition," *J. Am. Chem. Soc.* **110**, 5853–5860.

Setlow, P., in: A. Hurst, G.W Gould (Eds.) (1969) The Bacterial Spore, Academic Pres, New York, , p. 211.)

Shigenaga MK, Gimeno CJ, Ames BN. (1994) Assays of oxidative DNA damagebiomarkers 8-Oxo-2' –deoxyguanosine and 8-Oxoguanine in nuclear DNA and biological fluids by high- performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Methods in Enzymology*; **234**: 16-32

Shimoda R, Nagashima M, Sakamoto M, Yamaguchi N, Hirohashi S, Yokota J and Kasai H, (1994) Increased Formation of Oxidative DNA Damage, 8-Hydroxydeoxyguanosine, in Human Livers with Chronic Hepatitis. *Cancer Research*; **54**:3171-3172

Smith, A.M. ve Nie, S.M. (2004), "Chemical analysis and cellular imaging with quantum dots," *Analyst*, **129**, 672-677.

Spégel, P., Schweitz, L. ve Nilsson, S. (2002), "Molecularly imprinted polymers" *Anal Bioanal Chem*., **372**, 37-8.

Steiniger SCJ, Kreuter J, Khalansky AS, Skidan IN, Bvobruskin AI, Smirnova ZS, Severin SE, Uhl R, Kock M, Geiger KD, Gelperina SE. (2004) Chemotherapy of glioblastoma in rats using doxorubicin-loaded nanoparticles. *Int J Cancer*; **109**: 759-767.

Steinke, J., Sherrington, D. ve Dunkin, I. (1995), "Imprinting of Synthetic Polymers Using Molecular Templates," *Adv. Polym. Sci*. **123**, 80-125

Sun W, Xie C, Wang H, Hu Y. (2004) Spesific role of polysorbate 80 coating on the targeting of nanoparticles to the brain. *Biomaterials*; **25,** 3065-3071.

Sutherland, A.J. (2002), "Quantum dots as luminescent probes in biological systems," *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci*., **6**, 365

Takeuchi, T., Fukuma, D. ve Matsui, J. (1999), "Combinatorial molecular imprinting: an approach to synthetic polymer receptors," *Anal. Chem.*, **71**, 285–290.

Thompson, M. ve Stone D.C. (1997), Surface-launched acoustic wave sensors: chemical sensing and thin-film characterization, *John Wiley & Sons*, New York.

Topçu, A.W., Söyletir, G., Doganay, M., (2002) infeksiyon hastaliklari ve mikrobiyoloji 2. cilt 2. baski

Tosi G, Rivasi F, Gandolfi F, Constantino L, Vandelli MA, Forni F. (2005) Conjugated poly(D,L-lactideco-glycolide) for the preparation of in vivo detectable nanoparticles. *Biomaterials*; **26**: 4189-4195.

Udo, S. (1936) *J. Agr. Chem. Soc. Jpn*. **12** 386.

Viens, M. ve Cheeke, J.D.N. (1990), Highly sensitive temperature sensor using SAW resonator oscillator, *Sens. Actuators A*, **A24**, 209

Vlatakis, G., Andersson, L.I., Müler, R. ve Mosbach, K. (1993), "Drug assay using antibody mimics made by molecular imprinting," *Nature*, **361**, 645–647.

Wan, J., Johnson, M. L., Guntupalli R., Petrenko V. A.,. Chin, B. A., (2007) Detection of *Bacillus anthracis* spores in liquid using phage-based magnetoelastic micro-resonators, *Sensors and Actuators B* accepted 9 May

Wang, Y., Tang, Z. ve Nicholas A.K. (2005), "Bioapplication of nanosemiconductors," *Nanotoday*, 20-31.

Wang JX, Sun X, Zhang ZR. (2002) Enhanced brain targeting by senthesis of 3',5'-dioctanoyl-5-fluoro-2'- deoxyuridine and incorporation into solid lipid nanoparticles. *Eur J Pharm Biopharm*; **54**:

Wang J. (1997), "Remote electrochemical sensors for monitoring inorganic and organic pollutants," *Trends Anal. Chem*., **16**, 84.

Weller, H. (1993), "Colloidal Semiconductor Q-Particles: Chemistry in the Transition Region Between Solid State and Molecules," *Angew. Chem. Int. Ed. Engl*., **32**, 41-53.

Winter, J.O., Gomez, N., Gatzert, S., Schmidt, C.E. ve Korgel,B. A. (2005), "Variation of cadmium sulfide nanoparticle size and photoluminescence intensity with altered aqueous synthesis conditions," *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, **254**, 147-157.

WuDunn S, Miller J, Broad W. (1998) How Japan germ terror alerted world. *New York Times* May **26**,:1-6.

Wulff, G., Grobe-Einsler, R., Vesper, W. ve Sahran, A. (1977), "Enzyme-analogue built polymers, 5. On the specificity distribution of chiral cavities prepared in synthetic polymers" *Makromol Chem.*, **178**, 2817-2825.

Xie, H. Y., Liang, J.G., Zhang, Z.L., Liu, Y., He, Z.K. ve Pang, D. W. (2004), "Luminescent CdSe-ZnS quantum dots as selective Cu^{2+} probe," *Spectrochimica Acta Part A*, **60**, 2527-2530.

Yagisawa, S., Tanimori, H. Ve Kitagawa, T. (1986), "Determination of an antibody-antigen binding constant by enzyme immunoassay and theory for analysis of competitive binding of two ligands to heterogeneous receptor," *J. Biochem.*, **99**, 793-802.

Yamaguchi R, Hirano T, Asami S, Chung MH, Sugita A, Kasai H. (1996) Increased 8-hydroxyguanine levels in DNA and its repair activity in rat kidney after administration of a renal carcinogen, ferric nitrilotriacetate. *Carcinogeneis*; 17(**11**): 2419-2422

Yao, S.Z. (1997), *Piezoelectric Chemistry and Biosensors*, Hunan Normal University Pres.

Yokus B, Çakir D, (2002) *Biomarker of InVivo Oxidative DNA Damage; 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine, T.Klin J.Med Sci*, (**22**), 535-543.

Yoshizako, K., Hosoya, K., Iwakoshi, Y., Kimata, K. ve Tanaka, N. (1998), "Porogen imprinting effects," *Anal. Chem.*, **70**, 386–389.

Yu, C. ve Mosbach, K. (1997), "Molecular imprinting utilizing an amide functional group for hydrogen bonding leading to highly efficient polymers," *J. Org. Chem.*, **62**, 4057–4064.

Zhang, J., Dalal, N., Gleason, C., Matthews, M.A., Waller, L.N., Fox, K.F., Fox, A., Drews, M.J., Laberge, M., An, Y.H., 2006, *The Journal of Supercritical Fluids* **38**, 268-273.

Zhong, N., Byun, H.S. ve Bittman, R. (2001), "Hydrophilic cholesterol-binding molecular imprinted polymers," *Tetrahedron Letters*, **42**, 1839-1841.

Zhou Y, Yu B, Levon K, (2005) Potentiometric sensor for dipicolinic acid, *Biosensors and Bioelectronics* **20** 1851-1855

Zhu Y, Zhu H, Yang X, Xu Li C, (2007) Sensitive Biosensors Based on (Dendrimer Encapsulated Ptnanoparticles)/Enzyme Multilayers - Electroanalysis,

ÖZGEÇMIS

1976 yilinda Istanbul'da dogdum. Ilkögrenimimi Ibrahim Alaeddin Gövsa Ilkokulu'nda, Orta ögrenimimi Çapa Ortaokulu ve Lise ögrenimimi Pertevniyal Lisesi'nde tamamladiktan sonra 1994 yilinda Hacettepe Üniversitesi Egitim Fakültesi Kimya/ögr. Bölümünü kazandim. 1999 yilinda mezun olup ayni yil Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dali'nda yüksek Lisansa basladim. 2002 yilinda yüksek lisansimi tamamlayip doktora egitimime basladim. 1999 yilindan itibaren Trakya Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesinde Arastirma Görevlisi olarak çalismaktayim.