



T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FOSFAT İYONLARINI TAYİN EDEBİLEN ELEKTROKİMYASAL APTASENSÖR GELİŞTİRİLMESİ

ELİF ESRA ALTUNER

DOKTORA TEZİ

Kimya Anabilim Dalı

Aralık - 2020
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

DOKTORA TEZİ

FOSFAT İYONLARINI TAYİN EDEBİLEN ELEKTROKİMYASAL APTASENSÖR GELİŞTRİLMESİ

Elif Esra ALTUNER

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Veli Cengiz ÖZALP

2020, 98 Sayfa

Jüri
Prof. Dr. Veli Cengiz ÖZALP
Prof. Dr. S. Beniz GÜNDÜZ
Prof. Dr. Haluk BİNGÖL
Doç. Dr. Bilge TANER
Dr.Öğr. Üyesi Fatih DURMAZ

Biyosensörler tarımda, ilaç kimyasında, doku kimyasında ve daha birçok dalda kullanılmakta olan yüksek seçiciliğe sahip aygıtlardır. Aptasensörler ise, aptamerlerin afinite molekülü olarak kullanıldığı biyosensörlerdir. Sensörlerde enzimler katalizleyici rol yapmakta olup enzimlerin pahalılığı ve belli şartlarda dayanıklı olmaması nedeniyle yapay enzim arayışına gidilmiştir. Bu çalışmada fosfat miktarını tayin edebilen ve peroksidaz aktiviteye bağlı olarak sinyal verebilen bir aptasensör geliştirilmiştir. Bunun için bu çalışmada kullanılan aptasensör formatına en uygun niteliği sağlayacak yapay enzim arayışına gidilmiştir. İlk önce kitosan-kobalt (II) (CTS-Co(II)), sonra ayrı ayrı ölçümlerle kobalt iyonu ile kitosanda denenmesiyle istenilen sonuç alınamaması üzerine en son ticari temin edilen paladyum karbon (Pd/C) üzerinde çalışılarak peroksidaz (HRP) aktiviteleri incelenmiştir. En uygun peroksidaz enzimatik sonuçlar Pd/C da elde edilmiştir. Pd/C nun HRP enzimini taklit etmesi üzerine aptasensör çalışmasına başlanılmıştır. Çalışmalarda 3,3'5,5' tetrametilbenzidin (TMB) substrat olarak seçilmiştir. Önce mesoporöz silika nano parçacıklar (MSNPs) sentezlenmiştir. MSNPs içine TMB hapsedilerek kovalent bağlarla fosfat iyonları tutturulmuştur. Böylece fosfat iyonları varlığında TMB salınımı hızlanmıştır. Aptasensör ölçümlerinde karakterizasyon analizlerinde transmisyon elektron mikroskopi (TEM) ile ekran görüntüsüne ve DLS&ELS ile partikül boyutlarına bakılmıştır. CTS-Co(II) ve CTS ile ticari Pd/C için FTIR, ICP-OES, ve TGA'dan yardım alınmıştır. Bunun yanı sıra elektrokimyasal uygulamalarda döngüsel voltametri (CV), teşhis sınırı (LOD), tayin alt sınırı (LOQ) ile sensör geliştirmeye yönelik çalışmalar yapılarak fosfat duyarlılığına dayanan bir aptasensör geliştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyosensör, yapay enzim, Pd/C, CTS-Co(II), TMB (ox), aptamer, MSNPs.

ABSTRACT

PH.D THESIS

DEVELOPMENT OF THE ELECTROCHEMICAL APTASENSOR WHICH CAN DETERMINE PHOSPHATE IONS

Elif Esra ALTUNER

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY IN SCIENCE

Advisor: Prof.Dr. Veli Cengiz ÖZALP

2020, 98 Pages

Jury
Prof. Dr. Veli Cengiz ÖZALP
Prof. Dr. S. Beniz GÜNDÜZ
Prof. Dr. Haluk BİNGÖL
Assoc.Prof. Dr. Bilge TANER
Assist. Prof. Dr. Fatih DURMAZ

Biosensors are highly selective devices used in agriculture, pharmaceutical chemistry, tissue chemistry, and many other branches. Aptasensors are biosensors in which aptamers are used as affinity molecules. Enzymes act as catalysts in sensors, and artificial enzymes have been sought due to their high cost and lack of stability under certain conditions. In this study, an aptasensor that can determine the amount of phosphate and give a signal depending on the peroxidase activity has been developed. For this purpose, an artificial enzyme has been searched to provide the most appropriate quality to the aptasensor format used in this study. First, chitosan-cobalt (II) (CTS-Co (II)), and then when the cobalt ion was tested with chitosan with separate measurements, the desired result could not be obtained, and the last commercially available palladium carbon (Pd / C) was studied and peroxidase (HRP) activities were examined. The most favorable peroxidase enzymatic results were found in Pd/C. After Pd/C imitates the HRP enzyme, aptasensor study was started. In the studies, 3.3'5.5 'tetramethylbenzidine (TMB) was chosen as the substrate. First, mesoporous silica nanoparticles (MSNPs) were synthesized TMB is confined in MSNPs and attached with phosphate ions by covalent bonds. Thus, TMB release was accelerated in the presence of phosphate ions. In the characterization analysis of aptasensor measurements, the screen image with transmission electron microscopy (TEM) and particle sizes with DLS & ELS were examined. Assistance was received from FTIR, ICP-OES, and TGA for CTS-Co (II) and CTS and commercial Pd/C. Also, studies were carried out to develop sensors with cyclic voltammetry (CV), detection limit (LOD), limit of quantification (LOQ) in electrochemical applications, and an aptasensor based on phosphate sensitivity was developed.

Keywords: Biosensor, artificial enzyme, Pd/C, CTS-Co (II), TMB (ox), aptamer, MSNPs.

ÖNSÖZ

Çalışmalarım boyunca değerli bilgi ve katkılarıyla beni yönlendiren danışman hocam Prof. Dr. Veli Cengiz ÖZALP'a, tezimi yazmam konusunda bana yardımları dokunan Prof. Dr. Semahat KÜÇÜKKOLBAŞI'na, çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Mahmut Deniz YILMAZ'a , fikirleriyle bana yön gösteren tez izleme komitesi ve jüri üyelerim Prof. Dr. Haluk BİNGÖL , Prof Dr. S. Beniz GÜNDÜZ, Doç. Dr. Bilge TANER ve Dr. Öğr. Ü. Fatih DURMAZ'a ve manevi destekleri ile beni yalnız bırakmayan aileme çok teşekkür ederim.

Elif Esra ALTUNER
KONYA-2020

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iii**

ABSTRACT ..... **iv**

ÖNSÖZ ..... **v**

İÇİNDEKİLER ..... **vi**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **viii**

1. GİRİŞ **1**

1.1. Biyosensör Nedir? 2
1.1.1. Biyosensör tarihçesi 3
1.2. Biyosensörlerin Yapısı 4
1.3. Biyosensör Çeşitleri 6
1.3.1. Biyoaffinite esaslı biyosensörler 6
1.3.2. Biyokatalitik esaslı biyosensörler 7
1.3.3. İmmobilize esaslı biyosensörler 7
1.3.4. Transmembran esaslı biyosensörler 7
1.4. Biyoaktif Tabaka İletim ve Ölçümlerine Dayalı Biyosensörler 8
1.4.1. Elektrokimyasal esaslı biyosensörler 8
1.4.1.1. Amperometrik ve voltametrik biyosensörler 9
1.4.1.2. Potansiyometrik biyosensörler 9
1.4.2. Optik esaslı biyosensörler 10
1.4.2.1. Emilim ve yansıma biyosensörleri 10
1.4.2.2. Işınım biyosensörler 11
1.4.2.3. SPR biyosensörler 12
1.4.3. Pizoelektrik biyosensörler 12
1.4.4. Kalorimetrik biyosensörler 13
1.4.5. Manyetik biyosensörler 13
1.5. Biyosensörlerin Tasarımı 13
1.6. Performans Kriteri 14
1.7. Çalışma Koşulları 15
1.8. Mevcut Yeni Teknolojiler 15
1.9. Tarım, Gıda ve Çevrede Biyosensör Uygulamaları 15
1.10. Sensörlerde horsedish peroksidaz (HRP) enzimi ve onu taklit eden materyaller 16
1.10.1. Horsedish peroksidaz enzimi (HRP) 16

1.10.2. Peroksidaz enzimini taklit eden materyaller 17
1.11. Kitosan (CTS) ve Ürünleri 18
1.12. Biyosensörlerin Kullanım alanları 22
1.13. Biyosensörlerin Kullanım alanları 22

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI 23

3. MATERYAL VE YÖNTEM 49

3.1. Cihazlar ve Malzemeler 50
3.2. Kullanılan Cihazlar 49
3.2.1. Elektrokimyasal analizler 50
3.2.2. Absorbans ölçüm cihazı 49
3.3. Kullanılan Kimyasal Mazemeler ve Özellikleri 51
3.4. Tampon Çözeltisinin Hazırlanması 52
3.4. Hidrojen Peroksit Çözeltisinin Hazırlanması 52
3.5. Kitosan-Kobalt Sentezi 52
3.6. Mesoporus Silika Nano Parçacıkların (MSNPs) Sentezi ve Aptamer kapılar ile tutuklanması 52
3.7. Elektrokimyasal Analizler 53
3.8. Elektrokimyasal Analizlerde Çevrim Sayısının Etkisi 53

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA 54

4.1. Karakterizasyon Ölçümleri 57
4.1.1. Kitosan-kobalt karakterizasyonları 57
4.1.2. Paladyum karbon ICP-OES karakterizasyon sonucu 67
4.1.3. MSNPs sentezi karakterizasyon sonuçları 68
4.2. HRP ile Ölçümler 70
4.2.1. Kolorimetrik ölçümler 70
4.2.2. HRP ile elektrokimyasal ölçümler 71
4.3. Kitosan-Kobalt(II) Partikülü 75
4.3.1. Kitosan ile elektrokimyasal ölçümler 75
4.3.2. Kobalt ile elektrokimyasal ölçümler 76
4.3.3. Kitosan-Kobalt ile elektrokimyasal ölçümler 77
4.4. Paladyum Karbon 80
4.4.1. Pd/C ile elektrokimyasal ölçümler 80
4.3.3. Pd/C ile kolorimetrik ölçümler 84
4.5. MSNPs Sentezi Analiz Sonuçları 85
4.6. Fosfat Biyosensörü 86

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 89

5.1 Sonuçlar 89
5.2 Öneriler 90

KAYNAKLAR 91

ÖZGEÇMİŞ 96

SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltmalar

-CTS: Kitosan

-Co(II): Kobalt iyonları

-CTS-Co(II): Kitosan-Co(II)

-Pd/C: Paladyum karbon

-MSNPs: Mesoporous silika nano partiküller

-TMB: 3,3', 5,5' tetrametil benzidin

-TMB(ox): Okside olmuş 3,3', 5,5' tetrametil benzidin

-HRP: Horsedish peroksidaz

-H_2O_2 : Hidrojen peroksit

-ATP: Adenozin trifosfat

-KCl: Potasyum Klorür

-$CoCl_2$: Kobalt Klorür

-TEM: Tranmisyon elektron mikroskop

-ICP-OES: Endüktif eşleşmiş plazma emisyon spektroskopisi

-TGA: Termal gravimetrik analiz

-CV: Dönüşümlü voltametri

-LSV: Lineer süpürme voltametri

-LOD: Teşhis sınırı

-LOQ: Tayin alt sınırı

1. GİRİŞ

Enzimler, canlıların hayatlarını sürdürmesi için hücresel fonksiyonlarında kimyasal reaksiyonları katalizleyen yada düzene koyan biyoaktif katalizörlerdir. Reaksiyonları hızlandırarak canlıların yapısındaki moleküllerin yapımını, yıkımını sağlarlar. Böylece canlılar hayati fonksiyonlarını sürdürürler. Canlılar yaşamlarını sürdürmek için, kas hareketleri, solunum vs gibi hayati görevlerini yerine getirmede enzimler büyük rol oynarlar (Esin, et al. 2004) .

Enzimlerin bu karakteristik özellikleri, biyokimyasal ve analitik alanlarda geniş araştırma konusu olarak teşkil etmektedir. Endüstriyel alanlarda enzimler cazip hale gelmektedir. Bu nedenle proteaz, amilaz gibi bazı enzimlerin küf peynir yapımında endüstriyel alanında önemine dair incelemeler yapılmıştır (Akkara and Tosun 2014).

Enzimlerin kimyasal reaksiyonlara hızlı cevap vermesi nedeniyle biyoanalitik alanlarda enzimlere dayalı sayısız sensör çalışmaları yapılmıştır. Çünkü sensörler, maliyet açısından hesaplı, enzimlerin yerine kullanılan ve geniş parametrelerde (sıcaklık, pH, zaman vs) tarımda, gıdada, tıpta, askeri alanda ve çeşitli alanlarda kullanılabilmektedir (Gençdağ Şensoy 2017).

Doğal enzimler yüksek molekül kütlesine sahip proteinlerdir. Ancak bilim insanları enzimler solüsyon halindeyken kendi kararlılıklarını yitirmesi, reaksiyon mekanizmalarını yürütmekte zor cevap vermesi ve çabuk bozunması nedeniyle analitik ve biyolojik uygulamalarda enzim taklidi gören materyallerin araştırılması yöntemine gitmişlerdir (Esin, et al. 2004).

Enzimler aşağıda belirtilen özellikleri nedeniyle çok kuvvetli katalizörlerdir:

-Enzimler reaksiyon substratına sepesifikliğine kolayca uyum sağlarlar. Böylece az istenmeyen ürünler ortaya çıkar.

-Kontrol edici mekanizmaları vardır. Bu nedenle reaksiyona girebilecek küçük molekül enzimlerin aktifliğini azaltabileceğinden küçük moleküller istenmemektir.

-Enzimlerin uygun olduğu pH aralıklarında enzim taklidi gören materyallere göre 10^8 - 10^{11} kat daha hızlıdır. Fakat pH, sıcaklık, basınç açısıdan hassastır. Bu hassasiyet sebebiyle sensör araştırmalarında enzim taklidi gören materyallere gidilmiştir. Örneğin, Haber prosesine azot bağlamak için 200-1000 atm basınç ve 500^0C sıcaklığa ihtiyaç vardır. Fakat ilgili enzime taklit etmek için azot bağlayan bir bakteri denenirse bu işlemi basınca ve yüksek sıcaklığa ihtiyaç duyulmadan zahmetsiz bir şekilde yapabilmektedir (Yeşiller 2014).

Sensör çalışmalarında enzimler reaksiyonun başlaması için yada enzimatik taklit gösteren materyaller aktivasyon enerjisini düşürürler. Bu nedenle substrat yüzeyi arttıkça aktiflik daha da çok artar. Bu çalışmamızda, enzimlerden yola çıkarak sensör çalışmalarına yoğunlaşılarak horsedish peroksidaz (HRP) enzimini taklit edebilen materyallerin sensörsel cevapları ölçümüne bakılmıştır. Horsedish peroksidaz (HRP) enzimini taklit eden materyaller araştırılarak aptasensör çalışmaları ve çeşitli materyallerin sensör akım cevaplarına bakılmıştır.

1.1. Biyosensör Nedir?

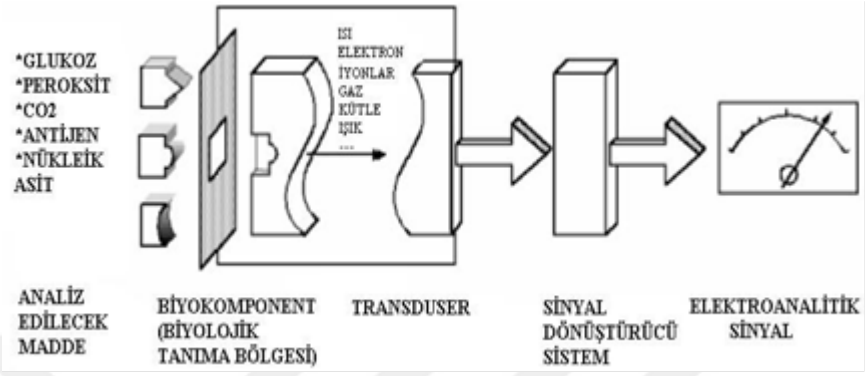
Bütün yaşayan varlıklar, hayatlarına uyum sağlayıp devam edebilmek için farklılıklara ayak uydurmaya çalışırlar. Bu biyosensörlerin invitro durumunu oluşturur. Varlıklar bilim adamlarının dahi düşünemeyeceği hassasiyet sergilerler. Mesela köpeklerin koku almaları bizlerden yüz bin kere daha öndedir. Yılan balıkları yüzbinlerce kilogram suya eklenen damlacıklı yabancı materyalleri fark ederler. Kelebekler eşlerinin salgıladığı tanecikli feromonları dahi fark ederler. Yosunlar toksiklere hassastır (Bulut 2011) (Şenel 2013).

Biyosensörler (biyoalgılayıcılar), yapısında biyolojik alıcıya sahip fizikokimyasal transdüserle yani bir çevirici ile bütünleştirilmiş analitik cihazlar sistemidir. Bir biyosensörün hedefi bir yada bir grup analitin (analiz edilecek madde) sayısıyla ilişkili ve daima sayısal elektrik veriler üretmektir (Otlu 2011).

Bu mekanizma için üç esas komponent vardır. Seçici tanıma mekanizmasına sahip "biyomolekül, biyoajan" gözlemlenen materyalle ilişkiye girmesi neticesi sinyalleri elektriksel vb. verilere çeviren transdüseri ile elektronik kısımlarıdır. Bu üç önemli komponent (biyomolekül, transdüser, elektronik veri) tayin edilecek maddeye karşı son derece seçimli fakat tersinir bir şekilde etkileşime giren duyarlı biyolojik ajandır. Varlıklar, bu verileri algılamayı mümkün kılan biyolojik materyallerin analiz mekanizmalarıyla biyosensörleri oluşturmuştur. Biyosensör bilimi o kadar hızlı gelişmektedir ki, *International Union of Pure and Applied Chemistry* tarafından oluşturulan *Biyosensörleri Sınıflandırma ve Adlandırma Komisyonu* kurulmuştur (Güngör 2019).

Bir biyosensör için fizikokimyasal analitik sistemler ile biyokimyasal materyallerin bütünleşmesi şarttır (şekil 1.1). Biyosensörlerde biyolojik mekanizmanın ileri derece özgüllüğüyle fiziksel analiz mekanizmasının tayin hassasiyeti bütünleştirilmiştir.

Genelde biyoorganik tanecik bazende anorganik taneciklerin ölçümünde kullanmak niyetiyle pek çok biyosensör geliştirilmiştir. Hayatımızda biyosensörler, özellikle sağlık sahası en önde olmak şartıyla; çevresel ölçümlerde , askeri alanda, besin, farmakoloji ve kimya sanayilerinde tercih sebebidir.



Şekil 1.1. Mekanizmanın komponentleri (Kökbaş, et al. 2013; Türkmen 2015).

1.1.1. Biyosensörlerin tarihçesi

Canlı yaşamın önemli unsurlarından olan görme, işitme, koklama, tat alma, dokunma gibi algılama mekanizmaları doğal ve en mükemmel biyosensörik sistemler olarak düşünüldükleri için biyosensör çalışmalarına güzel örnekler oluşturmaktadırlar (Şenel 2013).

Biyosensörlerin tarihi 1950'de L.C. Clark'ın, Cincinnati Hastanesi'nde (Ohio,ABD) tıbbi operasyon esnasında kandaki oksijen miktarını bir elektrotla takip etmesiyle başlamıştır (Özoğlu 2019). 1962 yılında Clark ve Lyons Glukozoksidaz (GOD) enzimini O_2 elektrodu ile birleştirerek kanın glikozunu saptadı. Böylece yeni bir analitik sistem oluştu. Bu sistem bir yandan biyolojik sistemin yüksek spesifisikliğini (enzim) belirlemede, diğer taraftan ise fiziksel sistemin (elektrot) tayin duyarlılığını birleştirmiş ve geniş spektrumlu bir uygulama olanağı sergilemiştir (Özoğlu 2019). Biyolojik akışkan özelliklere sahip numunede, glikoz ve çözünmüş oksijen elektrot çevresinde membranı aşarak elektrot yüzeyine vardığında şeker okside olarak glukonik aside dönüşür. Bu esnada oksijen harcanır. Örnekteki glikoz bittiğinde oksijen elektroduyla baştaki reaksiyon neticesi çözünen oksijen ölçülür. Bir biyolojik sıvıdaki glikoz ve çözünmüş oksijen elektrot etrafındaki membranı geçerek elektrot yüzeyine ulaştığında glikoz oksitlenerek glukonik aside dönüşür ve bu sırada O_2 harcanır. Ortamdaki glikoz bittiğinde O_2 elektrodu ile başlangıçtaki ve reaksiyon sonundaki

çözünmüş O_2 ölçülür. Aradaki fark ortamdaki glikozun oksidasyonu için harcanan O_2 olup buradan biyolojik sıvıdaki glukoz miktarı hesaplanır (Özoğlu 2019) .

Biyosensörler çalışmaları, çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Tarım, gıda, tıp operasyonları, farmakolojik aplikasyonlar bunlara örnektir (Burçin, et al.)

Birinci nesil sensörler, enzim elektrotlarına dayanan çalışmalardır. Oksitleyici-redükleyici enzim, platin (Pt) elektroduna ilaveten membran sandiviç içerisindedir. –0,7 voltta polarizasyona uğramış Pt katot materyalle enzim reaksiyon sonucu perokside tepkime oluşturmuştur

Glikoz+ O_2 +H_2O + glikoz oksidaz → glikonik asit + H_2O_2 (Güngör 2019).

Elektrotda gerçekleşen reaksiyon ise şöyledir:

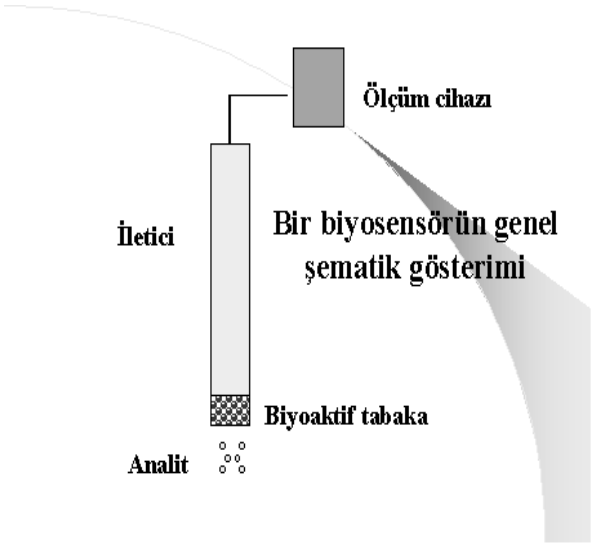
O_2 +2 e^- + 2 H^+ → H_2O_2 (Güngör 2019).

Böylece, enzimlerle sensör çalışmaları başlamıştır. Sonrasında glikoz tayini için GOD enzimlerinden yararlanılmıştır (Ahmed, et al. 2017) (Briceno, et al. 2017). Bu çalışmalar birinci ve ikinci nesil sensör çalışmalarıdır. Elektrokimyasal olarak platin tel ve gümüş elektroduna gelen akım şiddeti oksijeni indirger. Üçüncü nesil biyosensörler, bir cihazın bir analitin sensörik özelliğine ölçümü ile detektöre bağlı kesin bir sayısal veri alınmasına dayanır. Yüzey plasmon rezonans, kit çalışmaları, voltametrik elektrokimyasal çalışmalar bunlara örnek gösterilebilir. Yüzey plasmon rezonans biyosensörlerde ajan, algılayıcının komponenti durumuna dönüşür (Türkmen 2015). Dördüncü nesil sensörler ise daha çok mikro ve nano yapıdaki sensörik çalışmaları kapsar. “MEMS, NEMS, BioNEMS” olarak adlandırmaları vardır. Bu adlandırmalar “mikro elektromekanik, nano elektromekanik, biyonano elektromekanik” sistemlerin adlandırmalarıdır (Kökbaş, et al. 2013; Türkmen 2015). Çok hassas yapıda olup son teknolojik çalışmaları kapsamaktadır.

1.2. Biyosensörlerin Yapısı

Biyosensörler, analiz yapılacak numune ile etkileşime giren aktif bileşenin, temas neticesi ile meydana gelen sinyali gönderen bir iletken mekanizmayla kombine edilmesi ile elde edilen sistemlerdir. (Erdoğan 2013). Biyosensörlerin kombine edilmiş sistem şeması şekil 1.2 de gösterilmiştir.

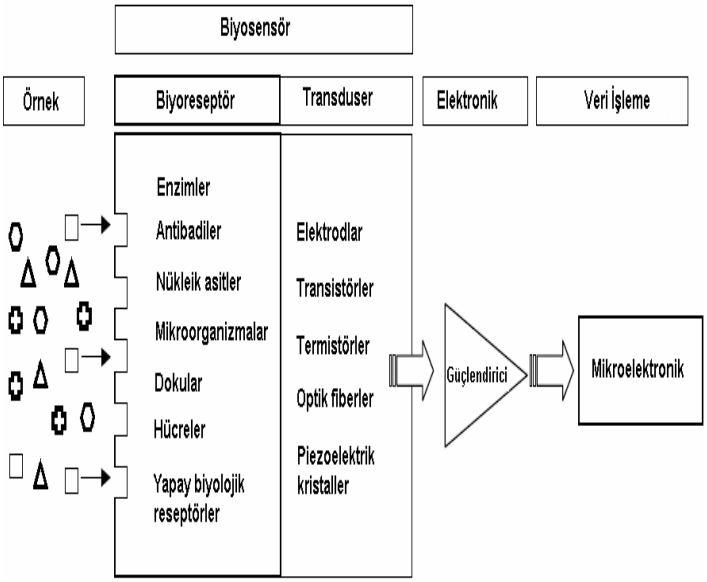
.



Şekil 1.2. Biyosensörlerin şematik gösterimi (Burçin, et al. ; Güngör 2019).

Biyosensör mekanizması oluşturmak için tepkime ve sinyal veri şarttır. Biyo komponentler biyoresptörler olarak adlandırılır. Nükleik asit ve enzim çalışmaları en sık tercih edilen çalışmalardır (Erdoğan 2013).

Enzimler, bakteri ve mikroplar, organeller, hücre dokular, antikorlar, nükleik asitler biyolojik membrandaki reseptörler biyokomponenttir (şekil 1.3). En çok enzimler tercih edilmektedir fakat hızlı bozunduğundan dolayı bazen bakteriler kullanılabilir (Erdoğan 2013).



Şekil 1.3. Biyosensörlerin yapısal işleyiş mekanizması (Burçin, et al. ; Otlu 2011)

Chen W. ve arkadaşları enzime dayanan denemelere el atmıştır (Chen, et al. 2009). Bakır katyonlarının (Cu^{+2}) glutatyon kaplı altın nano partiküller ile indüklenmesiyle tayin limiti 3.6 nM olan bir floresans sensörü oluşturmuşlardır (Chen, et al. 2009).

1.3. Biyosensör Çeşitleri

Çalışma durumlarına göre biyosensörleri dört kısıma ayırırız:

Bunlar;

-Biyoafinite esaslı

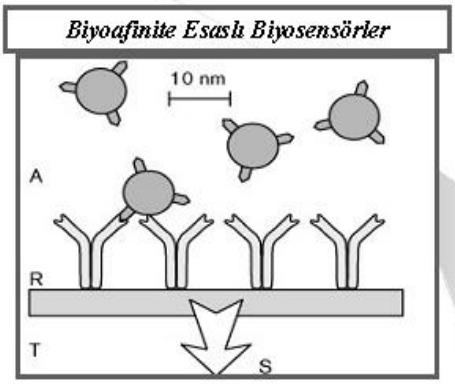
-Biyokatalitik esaslı

-İmmobilize hücre esaslı

-Transmembran esaslı sensörlerdir (Kökbaş, et al. 2013).

1.3.1. Biyoafinite esaslı biyosensörler

Hassas ve duyarlı tayin çalışmalarını kapsamaktadır. Makromoleküller analiz edilecek madde ile reaksiyonuna dayanan sensörlerdir (Kökbaş, et al. 2013). Canlı dokusu, organizmasıyla yapılan tayinleri içerir. Mesela, iletici bir sistem üzerinde antikor immobilizasyonu ile antijenlerin tayini bu sensör çeşidine örnek olarak gösterilebilir (Kökbaş, et al. 2013). Biyoafinite esaslı biyosensörler sistem şeması şekil 1.4 te gösterilmiştir.



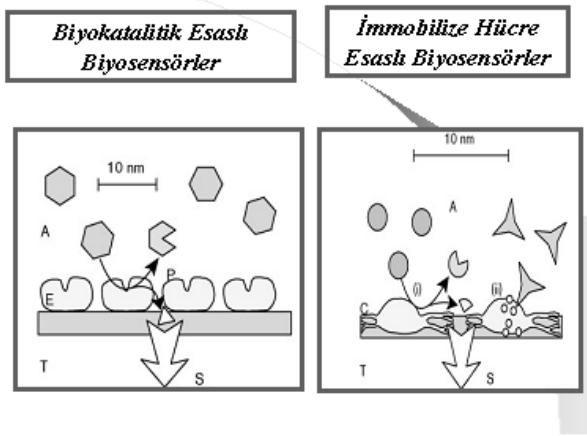
Şekil 1.4. Biyoaffinite esaslı biyosensörlerin işleyiş mekanizması (Kökbaş, et al. 2013).

1.3.2. Biyokatalitik esaslı biyosensörler

İletici sistem üzerinde enzim immobilizasyonuyla enzimin substratı, inhibitörü, aktivatörü yada koenzimi olan farklı tayinlerdir (Bulut 2011). Bu sensör çalışmalarında bir katalizleyici materyalin aktivasyon özelliği ölçülür ve bu tür biyosensör çalışmalarında daha detaylı sayısal verilere inilmesi öngörülür. İnhibitör, aktivatör yada koenzimlerle yapılan çalışmalar bu gruptadır.

1.3.3. İmmobilize hücre esaslı biyosensörler

Hücrelerle yapılan sensör çalışmalarını kapsayan sensör çeşididir. Örneğin; iletici sistem üzerinde hücrelerin immobilizasyonuyla o hücreler tarafından metabolize edilen çeşitli maddelerin tayinler bu gruba örnektir (Kökbaş, et al. 2013).



Şekil 1.5. Biyokatalitik ve immobilize hücre esaslı biyosensörlerin kesiti (Güngör 2019; Kökbaş, et al. 2013).

1.3.4. Transmembran esaslı biyosensörler

Farklı moleküllere spesifik alıcılarla yada farklı membran proteinlerini içeren hücre membranlarının iletici sistem üzerinde immobolizasyonuyla, söz konusu moleküllerin seçimli tayinlerini kapsayan sensör çeşitleridir (Derkus and Acar Bozkurt 2018).

1.4. Biyoaktif Tabaka İletim ve Ölçümlere göre Biyosensörler

Biyoaktif tabakası iletim ve ölçümlerine göre biyosensörler beş çeşide ayrılır. Bunlar:

a) Elektrokimyasal esaslı (Amperometri, potansiyometri)

b) Optik esaslı (Fotometri, florimetri, biyolüminesans)

c) Piezoelektrik esaslı (Kuartz kristal mikro balans, mikrokantilevarlar)

d) Kalorimetri esaslı (Termistörler)

e) Manyetik biyosensörler şeklindedir (Derkus and Acar Bozkurt 2018).

1.4.1. Elektrokimyasal esaslı biyosensörler

Elektrokimyasal biyosensörler diğer çeşitlerle karşılaştırıldığında en aktif ve tercih edilen sensörlerdir. İlk biyosensör çalışmaları, enzimlere karşı duyarlı, özellikle klinik glukoz analizi için geliştirilen enzim elektrotlarıyla yapılan ölçümlere dayanmaktaydı (Aykut and Temiz 2006). Heinemann ve arkadaşları, enzim ile ilgili elektrokimyasal türlerin duyarlılığının geliştirmesini amaçlayan imünoelektrokimyasal çalışmalar yapmışlardır (Aykut and Temiz 2006). Elektrokimyasal biyosensörler amperometrik/ voltametrik, potansiyometrik ve iletkenlik, kapasitans, impedans biyosensörler olarak ayrılabilir. Bizim bu çalışmamızda, bu aşamadan yararlanılmıştır. 3,3', 5,5' tetrametilbenzidinin kitosan-kobalt (II) ve Pd/C bazlı sensör çalışmaları yapılmıştır. Önceki yapılan çalışmalarda 3,3', 5,5' tetrametilbenzidinin enzim olarak horseadish peroksidaz bazlı sensör çalışmaları yapılmıştır (Volpe, et al. 1998) (Lan, et al. 2014). 3,3', 5,5' tetrametilbenzidin (TMB) horsedish peroksidaz için elektrokimyasal substrat olarak araştırıldı. HRP aktivitesi, 0.1 mol/L sitrat-fosfat tamponunda (pH 5) +100 mV'de Ag / AgCl'ye karşı polarize edilmiş camsı karbonlu bir çalışma elektrodunda akış enjeksiyon analizi kullanılarak tayin edildi. Bu çalışmada optimum konsantrasyonlar $2x10^{-4}$ mol/L TMB ve 0.001 mol/L H_2O_2 olarak bulunmuştur. 15 dakika inkübasyondan sonra elde edilen tayin limiti amperometrik methodlarla $8,5x10^{-14}$ mol/L bulunmuştur (Volpe, et al. 1998).

1.4.1.1. Amperometrik ve voltametrik biyosensörler

Amperometrik ve voltametrik biyosensörler elektrokimyasal sistemle kendi akım potansiyel ilişkilerine göre türlendirilebilir. Amperometrik sensörler, voltametrik sensörlerin bir alt sınıfı şeklinde görülebilir. Amperometrik sensörlerde elektrokimyasal sabit bir potansiyel uygulanan sensör çeşididir. Sonrasında ortam ile ilişkili bir akım indirgenme veya oksidasyon reaksiyonuna bağlı olarak elde edilen veriler üzerinde durulur (Aykut and Temiz 2006). Voltametrik bir sensör ise, doğrusal veya döngüsel modlarla çalışabilen sensörlerdir. Bunun sonucu her mod için ayrı bir akım veya gerilim farkı oluşacaktır ve birbirinden farklı olacaktır (Aykut and Temiz 2006).

Genellikle amperometrik biyosensörler, konsantrasyon bağımlı biyolojik olarak aktif materyalle kaplı elektrokimyasal elektrot aracılığıyla ölçümlere dayanır. Amperometrik sensörlerde; dönüştürme, oksidasyon ve elektro aktif çeşitlerin elektrot üzerinde indirgenmesi esası referans alınır (Aykut and Temiz 2006; Özalp 2011). Elektron dönüştürmesi için şimdiye kadar bir çok çalışma yapılmıştır. Dördüncü nesil amperometrik biyosensörlerde; elektrot yüzeyinde oksidasyon ve indirgeme ile biyolojik reaksiyonlar geliştirilmiş; elektronlar, substrastı indirgedikten yada oksitledikten sonra enzimden elektrota aracı tanecikler kullanılarak transfer edilmiş; elektrot yüzeyi de taneciklerle temas neticesi sonrası, doğrudan enzimin elektrot oksidasyonuna yada tepkimesine girmesi sağlanmış olup elektrodu kendi boyutunda mikro yada nano haline getirilerek veya birbirine geçmiş dizilişli içice mikro ölçümlerle çalışmalar yapılabilir (Türkmen 2015). Rahman ve arkadaşları bu method ile pirüvik oksidaz vasıtasıyla fosfat sensörü oluşturmuşlardır (Rahman, et al. 2006). Akter ve arkadaşlarının enzimsiz voltametrik sensörler üzerine immunosensör geliştiren çalışmaları literatürlerde yerini almaktadır (Akter, et al. 2013).

1.4.1.2. Potansiyometrik biyosensörler

Potansiyometrik ölçümler net akım akışı olmayan ve faradik olmayan bir elektrot sürecinden oluşur. Elektrot üzerinde önemli miktarda gerilim oluşumu ile sonuçlanan, elektrot yüzeyinde yük yoğunluğu birikimi prensibi üzerineolan çalışmaları kapsamaktadır. Potansiyometrik biyosensörler uygun biyoreseptörler ve uyumlu transdüserler kullanılarak, bir iyonun iyonofora bağlanmasından kaynaklanan elektriksel gerilimdeki değişiklikleri takip eder. Potansiyometrik tayin, biyolojik algılama elementi içeren bir elektrokimyasal hücre içerisinde çoğunlukla bir ürünün etkinliği yada elektrokimyasal hücre içersinde bir ürünün aktivitesi yada

elektrokimyasal reaksiyondaki tepkinin etkinlik gerilimini hesaplar. Bu ölçümlerde üre gibi gübre gibi duyarlılıklar da ölçülebilir (Türkmen 2015).

1.4.2. Optik biyosensörler

Optik yöntemler, biyolojik ve kimyasal reaksiyona girenlerin, duyargaç teknolojileri arasında en erken ve en gelişmiş teknolojik çalışmaları dahilindedir. Biyosensörlerin üretiminde farklı optik teknikleri kullanılmıştır. Kendine özgü optik bir biyosensör bir ışık kaynağından belli özelliklerde ışık tayfası oluşturmak için bir grup optik bileşen ve bu ışığı yönlendirme veya değiştirme etkeni, bir dönüştürülmüş algılama başı (boyalar ve proteinler ve fonksiyonel kimyasal gruplarla dönüştürülmüş, optik fiber veya antikorlarla kaplanmış kristaller) ve bir ışık detektörüyle oluşur (Ragavan, et al. 2018). İki çeşit optik esaslı biyosensör bilinir . Bunlar doğrudan yada dolaylı olarak yapılan tayinlerdir (Bulut 2011). Doğrudan yapılan tayinlerde; analit, dalga kılavuzunun optik özelliklerini doğrudan etkiler; örneğin gözden çabuk kaybolan dalgalar (ışık içerisinde yansıtıldığı zaman, optik dalga kılavuzu dışında, aracı içinde üretilen elektromanyetik dalgalar) veya yüzey plazmon titreşimi (dalga kılavuzu yüzeyine yerleştirilmiş ince bir filmde çabuk kaybolan bir dalga) şeklindedir. Işıma metal partiküller veya nanopartiküller gibi optik etiketler, hedef analite optik sinyaller üretmek için kullanılır (Bulut 2011). Dolaylı yapılan tayinlerde, ışık birtakım fonksiyonel gruplara sahip moleküllerle uyarımı sonrasında numuneye gönderilir (Bulut 2011). Optik biyosensörler, yüzeye tutunma, ışıma, fosforesans, ışıma, polarizasyon, rotasyon, engelleme veya harmonik proses gibi optik olgular kapsamı dahilinde tasarlanabilir (Bulut 2011; Cardenas-Trivino, et al. 2017).

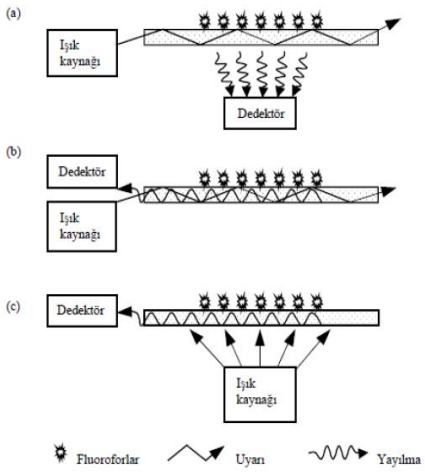
1.4.2.1. Emilim ve yansıma biyosensörleri

Absorbans esnasında optik cevap, Lambert-Beer Kanununa göre olup bir numuneden geçen ışın miktarı, ışığın katettiği yol ve numune konsantrasyonu ile logaritmik olarak ters orantılı, absorplanan ışık miktarı ile doğru orantılıdır. Bu da düzenli bir aracı birim tarafından yayılan ışının yoğunluğunun optiksel özellikleri, kimyasal konsantrasyondan etkilendiklerine dair bir ışık fonksiyonu olarak sınıflandırılırlar (Bulut 2011). Absorbans ve yansıma çeviricileri aracılığıyla, biyosensörlerde enzimler, antikorlar ve gözlem amaçlı emilme biyosensörü geliştirmeye yönelik, et ve süt gıdalarında penisilin kalıntılarının tayini ve böylece

penisiline bağlı olarak süt ürünlerinde bakteri varlığının olup olmadığına dair taiynler yapılmıştır (Delwiche, et al. 2000).

1.4.2.2. Işıma biyosensörleri

Işıma, taneciklerin numuneyi uyarımı sonrası, asıl hallerine tekrar geçerlerken foton saldıkları doğal haline denilmektedir. Fotonların asıl hallerine geçerken yaydıkları ışıma esasına sensör gruplarına ışıma sensörler denir. Kimyasal ışıma ile biyolojik ışıma biyosensörler ve de hücre tabanlı biosensörler enzim, antikor, DNA probu gibi çeşitli çalışmalarda kullanılmışlardır. Kimyasal ışımada; foton emisyonu, kimyasal reaksiyon ile belli olurken, biyolojik ışımada canlı varlıkların (bakteri, balık, haşaratlar ve mantarlar) enzimlerle katalize edilen reaksiyonları ile belli olur. Işıma biyosensöründe, tutturulmuş biyo-duyargaçlara sahip algılayıcı katmanlar, numunedeki belli bir analiti tayin etmektedir. Foton saçılımı başlamasının ardından, foton dalga kılavuzu ile foton dedektörüne yollanır. Bu sensör grubuna yönelik yapılan çalışmalarda, H_2O_5 foton algılama katmanında 10^{-8} mol/L sınır tayini kısa sürede yapılmıştır ve de benzer şekilde sınır tayini ATP ve NADH için sırasıyla 10^{-11} ve 10^{-9} mol/L olmuştur (Ye, et al. 2016a; Ye, et al. 2016b). Kimyevi ışıma sinyalleri çok hızlı bozulabildiğinden, ışık dedektörünün sinyali kaydetmesi için uygun bir bant genişliğinin olması önemlidir. Şekil 1.6 da ışıma biyosensörlerinin yapısı gösterilmiştir.



Şekil 1.6. Gözden çabuk kaybolan dalga kullanan ışıma biyosensörlerin üç farklı (a) dalga kılavuzu ile uyarılma, (b) dalga kılavuzu ile uyarılma ve yayma ve (c) dalga kılavuzu ile yayılımın toplanması (Bulut 2011).

1.4.2.3. SPR biyosensörler

Yüzey plazmon rezonans (SPR) sensörü materyallerin ara yüzeyleri bulunan, üstündeki ince biyolojik filmlerinin optik yansıma indeksindeki farklılıkları tanımada tercih edilirler. Çeşitli biyokimyasal analitlerin basit, hızlı ve etiketsiz analizi için bir immünosensör formatına başarıyla dahil edilmiştir. Proteinler, kompleks konjugatlar, toksinler, alerjenler, ilaçlar ve pestisitler, algılama elemanı olarak yüksek hassasiyet ve seçiciliğe sahip doğal antikorlar veya sentetik reseptörler kullanılarak bu yöntem ile doğrudan belirlenebilir (Mullett, et al. 2000).

Plasmon rezonans sensörler , önemli ölçüde iletici metal ve dielektrik materyal arasında ara yüz boyu bir alanın uyarılması ile çalışır. Şartlar, metal ve örnek materyallerin geçirimine, dalga skalasına ve alanın uyarılmasına bağlıdır. Değişiklik sensör yüzeyinde devam eden biyokimyasal tepkimeyle de alakalıdır (Mullett, et al. 2000).

Sensör yüzeyindeki elektriksel yükler; diğer parametreler sabit tutulurken, ani ışımaların dalga boylarındaki açısının yansıma yoğunluğunun ve örneklerin yansıma indeksiyle değişmesine bağlı olarak yansıma fazı değişikliklerin ölçülmesiyle çeşitli şekillerde belirlenebilir (Homola 2003). Küçültülmüş bir SPR sensör çalışması için, E.Coli O157:H7[100]'nin tayinine yönelik çalışmalar yapılmıştır ve bir SPR biyosensörü karideslerde thiamphenicol, florofenikol, florofenikol amin ve kloramfenikol kalıntılarının tayini için kapsamlandırılmıştır (Ragavan, et al. 2018) (Homola 2003).

1.4.3. Piezoelektrik biyosensörler

Pizoelektrik sensörler, elektrik, ağırlık ve detayları temel alan sensörlerdir. Böylece ticari bulunabilen kuartz kristal mikro balans vs cihazlardan yararlanılmaktadır. Bunlar, diğer tiplere nazaran duyarlılık, çok yönlü uygulama, az maliyet ve ucuzluk açısından üstünlük göstermekte ve etiletsizdirler (Aykut and Temiz 2006). Bazı materyallere mekanik bir kuvvet uygulandığında elektrik dipol yükü oluştururlar. Bu elektrik dipolu oluşturan materyaller piezolektrik materyaller olarak adlandırılırlar. Bu materyallere alüminyum fosfat, alüminyum nitrit, galyum ortofosfat, rochelle tuzu, poliaktik asit, kuartz, poliamidler, selüloz, kolojen vs gibi moleküller örnek olarak

gösterilebilirler. Bu moleküller piezoelektrik biyosensör çalışmalarında kullanılırlar (Pirinçci 2018)

1.4.4. Kalorimetrik biyosensörler

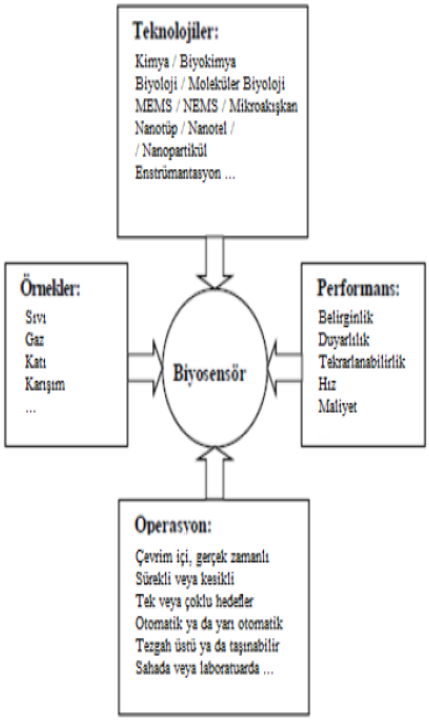
Termal sensörler olarak adlandırılırlar. Bunlar bir biyoalgılama materyalinin (enzim, organel, mikro organizma bitki veya hayvan hücresi yada doku) termometre, termopil, termistör gibi çeviriciyle birleştirilmesiyle oluşan sensörlerdir (Aykut and Temiz 2006; Kökbaş, et al. 2013). Analitin uygun bir biyomolekül ile etkileşmesi sonucu ortaya çıkan ısı değişimlerine dayanan sensörlerdir (Erdoğan 2013).

1.4.5. Manyetik biyosensörler

Günümüzde manyetik sensörler büyük bir öneme sahiptirler. Analitik mikro borular içinde manyetizma ile oluşan dirence bağlı çalışmalara dayanan sensörlerdir. Mikro borular vasıtasıyla akışkan numune, manyetik mikro veya nano parçacıkların magnetik direnciyle çalışmalar gelecekte daha da geliştirilmeye çalışılmaktadır. Numuneye iniş esnasında , tayin bir kartuşta bir araya getirilerek tayin, otomatik dedektörler tarafından yapılmaktadır. Manyetik parçacıklara ilaveten mikro borularla da destek sağlanır (TÜYLEK 2017).

1.5. Biyosensörlerin Tasarımı

Biyosensörlerin tasarım mekanizmasında temel şu esasa dayanır: örnekler, işlevsel şartlar, çalışma şartları ve yeni teknolojilerdir. Biyosensörlerin tasarımı esnasında teknolojik özelliklere, materyalin ve numunenin yapısına, çalışma şartlarına ve performans kriterlerine bakılır. Bir biyosensörün analitle ve biyoalgılama materyalinin etkileşimi önemlidir (TÜYLEK 2017).



Şekil 1.7. Bir biyosensör tasarımında önemli hususlar (Korkut, et al. 2018).

Örneğin bir biyosensör tasarımı için, Tu ve arkadaşları manyetik hücreler içinde analitin doğru biyoreseptörlerce algılanabilmesi için bir manyetik sahada çalışmayı tercih ederlerken, Cybulski ve arkadaşları gıdalarda membran kalıntılarına dayalı sensör çalışmaları için uygun bir dizayn tasarımına elverişli bir ortam hazırlayabilmek için gıdalar üzerinde E.Coli O157:H7 bakterisi sensörik olarak biyoalgılayıcı materyal seçilmiştir (Cybulski, et al. 2010).

1.6. Performans Kriteri

Hassasiyet ve duyarlılık, bir sensörün işleyişinin ölçülmesinde en önemli faktördür. Analiz edilecek numunenin çalışmalarda özgünlüğü hassasiyet için önemli olup performans kriteri için en önemli hususdur. Analitin özgünlüğüne göre hassasiyet belirlenir. Spesifik özellikleriyle analitin sensörik performans kriterlerinde olumlu sonuç alınabilirken, benzer şekilde negatif sonuçlar da alınabilir (TÜYLEK 2017). Hassasiyet ölçümlerinde sonuçlardaki değişimin, analitin derişimiyle doğru orantılı olacak şekilde bir sonuç gözlemlenir. Performans kriter ölçümlerinde, sensörün hassaslığının sürekli sabit kalması ve güvenilir olması için sayısal neticelerin kesin ve sürekli olması istenir. Biyoalgılama maddeleri zamanla ısıdan, nemden, pH ve çeşitli

faktörlerden etkilenerek bozulur. Bu nedenle bir biyosensörün standart numune örneklerindeki farklılıkların, cevap sinyali kullanılan biyoalgılama materyallerine bağlı olarak aylar, günler yada hatta saatlerle değişebilir (TÜYLEK 2017).

1.7. Çalışma Koşulları

Biyosensörler; tarım, gıda ve çevre uygulamalarında, çevrim içi veya çevrim dışı, sürekli veya süreksiz, kesikli olarak, sahada veya laboratuvarda kullanılabilirler (Erdoğan 2013). Ayrıca, biyosensörler tezgah üstü veya taşınabilir yapıda olabilir. Kendi başlarına veya bir cihaza bağlı şekilde çalışabilir ve tamamen otomatik veya yarı otomatik olabilirler. Biyosensörlerin klinik tayinler ile ilaç tarama uygulamalarındaki kullanımlarına kıyasla, çevre uygulamaları biyosensörler gıda işleme fabrikaları, çiftlikler veya sahada kullanıldıkları zaman ciddi ısı farklılıklarına, sarsıntıya, elektromanyetik alana ve toza maruz kalacaklarından, bozunabilirler. Günümüzde biyosensörlerin laboratuvar ve sahada kullanımları arasında büyük farklılık bulunmaktadır (TÜYLEK 2017).

1.8. Mevcut Yeni Teknolojiler

Biyosensörlerin gelişimi, fen, mühendislik ve farklı çalışma alanlarını dahil etmektedir. Tarımda, tıpta, çevre analizlerinde, gıda analizlerinde ve çeşitli alanlarda biyosensör çalışmalarından yararlanılmaktadır. Özalp tarafından yapılan çalışmalarda sensörlere yönelik aptamer temelli çalışmalar vardır. Aptamerler kullanılarak küçük moleküllerin nicel tayinleri için dual polarizasyon interferometresi geliştirilmiştir. Burada küçük mülekül olarak arjin amin kullanılarak interferometri esaslı yöntem oluşturulmuştur (Özalp 2011). Trivino ve arkadaşları bakteriler üzerinde anti toksisite özellik gösterebilen sensör geliştirmişlerdir (Cardenas-Trivino, et al. 2017). Bu çalışmamızda aptamer temelli işlevselleştirilmiş fosfat iyonlarını tayin edebilen palladyum destekli aptasensör çalışmalarına yer verilmiştir.

1.9. Tarım, Gıda ve Çevrede Biyosensör Uygulamaları

Tarımda, biyosensörler çoğunlukla böcek ilacı, yapay gübre, kötü koku ve hayvan hastalıkları ölçümlerinde uygulanmaktadır. Biyosensörler sayesinde toprak ve bitkilerde hastalıkların teşhisi, pestisitlerin veya zehirli maddelerin belirlenmesi, sudaki organik kirliliklerin ölçülmesi, toksik maddelerin, ağır metallerin, patojenlerin tespiti kısa sürede gerçekleşmektedir. Böylece erken müdahale ile hastalıklar ileri safhalara geçmeden

tedaviye başlamak mümkün olmaktadır (Burçin, et al.). Enzimler, antikorlar ve hücre temelli amperometrik, potansiyometrik, emilim ve ışıma dönüştürme yöntemlerine yönelik biyosensörler tarım alanında zararlılarla mücadelede tercih edilen metotlardır.

Son yıllarda, farklı tür biyosensörler üzerinde, Listeria monocytogenes, E.Coli O157:H7 ve Salmonella typhimurium de dahil gıda kaynaklı patojenlerin hızlı, hassas, belirli, düşük maliyetli tayini için çalışmalar yapılmıştır (Kim and Park 2003) (Lakshmanan, et al. 2007). Üre hidroliz prosesinin sonucu olarak pH varyasyon belirleyen biyosensör biyolojik alıcı (üreaz) ve potansiyometrik sensörden (metalik pH elektrodu-tungsten) oluşur (Korkut, et al. 2018). Düşük fiyata sahip ve limit tayinini geliştirmek için amperometrik üre tayini biyosensör kullanımına yönelik çeşitli çalışmalar vardır (Wahono, et al. 2012).

1.10. Sensörlerde Horsedish Peroksidaz (HRP) Enzimi ve Onu Taklit Eden Materyaller

1.10.1. Horsedish peroksidaz (HRP) enzimi

Peroksidaz enzimi doğada bitkilerde ve canlıların vücudunda bulunan naturel bir enzimdir. Peroksit oksidasyonu yardımıyla reaksiyonu hızlandırıcı katalizör özelliğine sahiptir (Davulcu 2008). Genel olarak reaksiyon mekanizması şöyledir:

$AH_2 + ROOH \rightarrow A + ROOH + H_2O$ (Davulcu 2008).

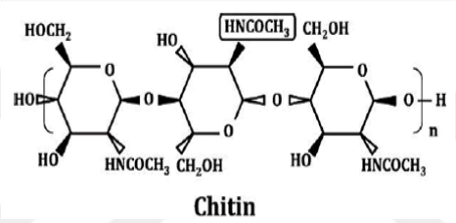
Peroksidaz enziminin kolay katalizleme, reaksiyonları hızlandırma, substrata özgünlük gibi etkilerinin yanı sıra diğer naturel enzimlerde de olduğu gibi kolay bozunma, yüksek maliyet ve zahmetli reaksiyon koşulları sebebiyle dezavantajları vardır. Peroksidaz enziminin sensör özelliğinin araştırılmasında çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Volpe, et al. 1998) (Lieberman, et al. 1997). TMB/HRP bazlı denemelerde amperometrik çalışmalar önceden Balodo P.F ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (Fanjul-Bolado, et al. 2005).

1.10.2. Peroksidaz enzimini taklit eden materyaller

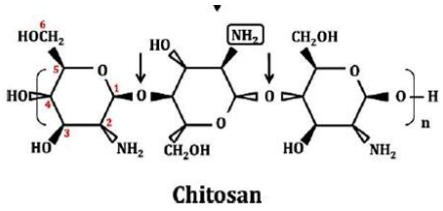
Özellikle geçiş metalleri üzerinde perokidaz enziminin sensör görevi gösterip göstermediği üzerinde akademik çalışmalar yapılmıştır (Pomogailo, et al. 2014). Nanopartiküllerin sentezi ile peroksidaz taklidini incelenmiştir (Liu, et al. 2019) (Ahmed, et al. 2017). Fosfat enziminin pirüvat oksidazı taklit ettiğine dair çalışmalar Rahman ve arkadaşları tarafından rapor edilmiştir (Rahman, et al. 2006). Gümüş ile enzim taklidine yönelik çalışmalar yapılmıştır (Derkus and Acar Bozkurt 2018; Jiang, et al. 2012; Turunc, et al. 2017). Kitosan ile alakalı sensör çalışmalarda elektrokimyasal ölçümlere dayalı analitik uygulamalar da sensörik çalışmalarda yerini almıştır (Jiang, et al. 2012) (Deng, et al. 2019). Altın elementinin sensörik çalışmalarında enzim özelliği gösterdiği rapor edilmiştir (Narwal, et al. 2017) ve altın metalinin palladyum ile kıyaslaması literatürlerde rapor edilmiştir (Nangia, et al. 2012). Daha sonra Jiang ve ekibi kitosan-altın kompleksini sentezleyerek glukoz tayinine yönelik sensörik çalışmalar yapmışlardır (Jiang, et al. 2017). Silva ve ekibi kitosan-altın kompleksinin sensörik özellikleriyle beraber supramoleküler düzeyde de film incelemeleri yapmışlardır (Silva, et al. 2013). Bu tür çalışmalarda daha çok geçiş elementleri bu çalışmalar dahil olmuştur. Titanyumun, bakırın, altının, demirin ve rutenyumun nano enzimatik işlev gösterip göstermediğine bakılmıştır. Cheng ve arkadaşları bakırın kolorimetrik olarak enzimatik özelliğini gösterdiğini rapor etmişlerdir (Cheng, et al. 2016). Rutenyum metalinin enzimatik özelliğine dair çalışmalar da Liao ve arkadaşları tarafından rapor edilmiştir (Liao and Chou 2008). Bununla beraber demir metalinin enzimatik özellikleri de rapor edilmiştir (Liu, et al. 2014). Altın, platin, paladyum gibi çeşitli metallerin sensörik özelliklerinin karşılaştırılması literatürlerde yerini almaktadır (O'Neill, et al. 2004). Buradan çıkarılan sonuçlara göre günümüze kadar rutenyum, molibden, altın, demir, gümüş ve mangan vs elementler enzim yerine denenerek sensörik çalışmalarda tercih edilmiştir. Altın metalinin paladyuma ile kullanılması sonucu çalışmalar lieteratürlerde yerini almaktadır (Nangia, et al. 2012). Denemelerimizde enzimatik işlev görmesi açısından paladyum metali tercih edilmiş olup fosfat tayinine yönelik sensör çalışmaları yapılmıştır. Liu ve arkadaşlarının (Liu, et al. 2019) yaptıkları altın-nanopartikül çalışmaları ile Cao ve arkadaşlarının ferromanyetik çalışmalarının enzimatik özellik gösterdiği literatürlerde rapor edilmiştir (Cao, et al. 2017).

1.11. Kitosan (CTS) ve Ürünleri

Kitosan böcek ilacı olarak da kullanılan bir maddedir. Böceklerin dış kabuğu kitin tabakasından ede edilir. Ticari saflık dereceleri vardır (% 70 gibi % 80 gibi). Kitosan, böceklerin dış kabuğu olan kitin tabakasının bir bölümünün yahut bütününün deasetilasyon vasıtasıyla elde edilir. Doğal yollarla üretilmesi ve de yüksek mekanizmalı canlılara zarar vermemesi nedeniyle kaliteli bir pestisit olarak kabul edilir (Maranescu, et al. 2017). Yüksek mekanizmalı canlılara zarar vermeyişi ile bitkilere ve toprağa zarar veren toksik özellik gösteren mikro organizmaları etkisiz hale getirmesi nedeniyle tarımda kullanımı tercih edilmeye başlanmıştır (Maranescu, et al. 2017). Şekil 1.8 ve şekil 1.9 da kitin ve kitosanın yapısı verilmiştir.



Şekil 1.8. Kitinin moleküler yapısı (Maranescu, et al. 2017).



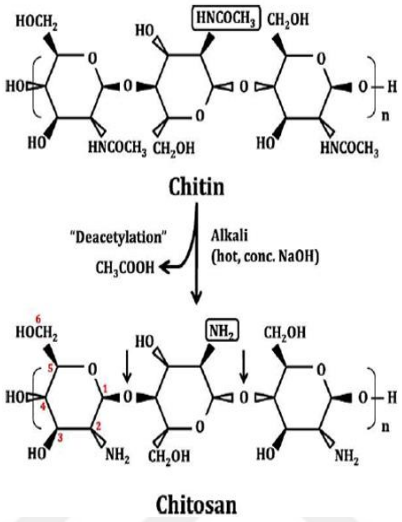
Şekil 1.9. Kitosanın moleküler yapısı (Maranescu, et al. 2017)

Kitosanın kapalı formülü [($C_6H_{11}NO_4$)$_n$ ($C_8H_{13}NO_4$)$_m$] dır. 1811 de Branconnot tarafından keşfedilmiştir ve Branconnot kitosanın kitinden (β-1,4 poli- N- asetil- D-glukozamin) kısmen yada hepten deasetilasyon ile elde edildiğini bulmuştur (Adlim and Bakar 2010).

Kitinin deasetilasyon derecesi, deasetile edilecek olan amino gruplarının mevcut (-NH_2) sayısının, asetil amino grupları (-NH-CO-CH_3) sayısına oranı şeklinde tanımlanır (şekil 1.10). Dhillon ve arkadaşları kitosanın izolasyonunun sadece kabuklu hayvanların kitininden değil aynı zamanda mantarlardan da elde edileceğini ileri

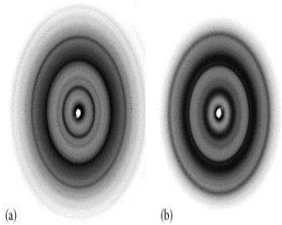
sürmüştür (Dhillon, et al. 2013) (Kocak, et al. 2011). Bu süreçte ekstraksiyon, izolasyon, demineralizasyon ve deasetilasyon metotlarını ortaya sürmüştür.

FTIR karakterizasyonu ile Maranescu B. ve arkadaşları stransiyum iyonlarının ayrılımıyla kobalt ve aminofosfonik gruplarla kitosan kullanımı rapor etmişlerdir (Maranescu, et al. 2017).



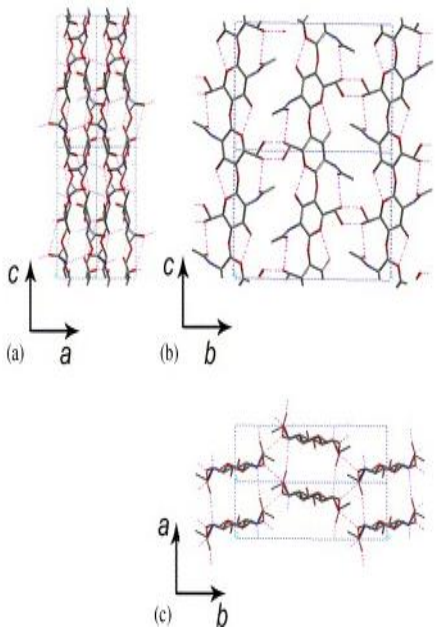
Şekil 1.10. Kitinden kitosan eldesi (Maranescu, et al. 2017)

Kitin yeryüzünde en çok ikinci bulunan naturel polimerdir. Kitin en çok dünyada yengeç, karides ve kabuklu hayvanlarda bulunmaktadır (Adlim and Bakar 2010)**.** Kitin yani [β-(1_ 4) –N- asetil D glokozamin] önemli bir glikoz polisakkarittir. İlk defa 1884'te tanımlanmıştır. α , β ve ϒ olmak üzere çeşitleri vardır. ϒ kitin olan günümüze yakın bir zaman diliminde açıklanmıştır ve aynı zamanda α türünün alt çeşididir. Doğada en çok α grubu kitin türü vardır. β kitin kalamar proteinlerinde ve pogonophoran ve vestimeferan solucanlarının tüplerinden oluşturulur (Rinaudo 2006). Kitosanın karakterizasyonu ve üre tabletlerinin kaplanmalarıyla ilgili çalışmalar vardır (Adlim, et al. 2018) (Rinaudo 2006). α kitin, enzim polimerizasyonundan ve de invitro biyosentez çalışmalarından sistematik rekristalizasyon metoduyla elde edilir (Rinaudo 2006). Solusyon olarak yada in vitro biosentez çalışmalarından β kitinin üretilmesi imkansızdır (Rinaudo 2006). Kitinin kritallenmesiyle yengeç kabuğundan α kitin ve kalamardan β kitinin X-ray diyagramlarının analizi alınmıştır (Rinaudo 2006). Kitosanın bakır gibi çeşitli metalleri kaplama metodu ile dair çalışmalar mevcuttur (Cardenas-Trivino, et al. 2017).

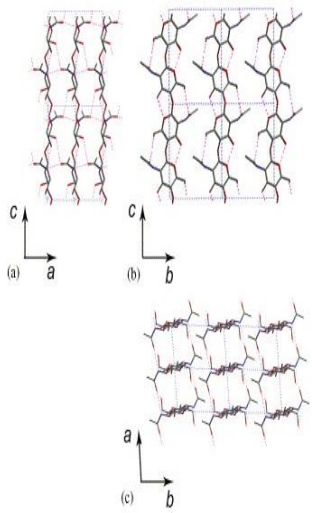


Şekil 1.11. X-ray diferaksiyon diyagramları. (a) Yengeç kabuğundan elde edilen α kitin (b) Kalamardan elde edilen β kitin (Maranescu, et al. 2017).

-α- kitin X-ray diferaksionlarına 0,338 nm, β kitin ise 0,324 nm dir. β kitin hidratlaşmaya duyarlı olup -α- kitin duyarlı değildir. Yüksek kristallerin diferaksiyon şekillerinin elektron analizi ile alfa ile beta kitin kristalleri oluşur (Rinaudo 2006).



Şekil 1.12. -α- kitin yapısı: (a) ac projeksiyonu (b) bc projeksiyonu (c) ab projeksiyonu (Rinaudo 2006).



Şekil 1.13. -β-kitin yapısı (-α-) ac projeksiyonu (b) bc projeksiyonu (c) ab projeksiyonu (Rinaudo 2006)

Kitosan radikalleri içinde yer alıp, amin ve hidroksil grupları aracılığıyla bir radikal teşkil etmektedir. Böylece kompleks yapabilme özelliği vardır. Patojenik fungi bitki hastalıkları tarım ve ziraatte sık karşılaşılan sorunlardan biridir. Kimyasal özelliklere sahip fungisitlerin uzun zamanlı aplikasyonları, büyük oranda antibiyotiğe dayanıklı durumları ile çevre problemlerin oluşmasına sebep olur ve bu durum etkin, güvenilir vasıflara sahip araştırmalara yönelmeye sebebiyet vermiştir (Yu, et al. 2016). Kitosanın özellikleri literatürlere geniş olarak anlatılmıştır (An, et al. 2017). Günümüzde bazı naturel bileşikler, önemli antifungi performansları ile doğa dostu vasıfları ile dikkat çekmiştir, kitosan da bunlardan biridir (Yu, et al. 2016). Naturel amino polisakkarit olan kitosanın bitki hastalıklarını büyük ölçüde azalttığı gözlemlenmiştir (Ou, et al. 2010; Yu, et al. 2016). Kitosan dünyada en çok bulunan ikinci biyopolimerdir (Dhillon, et al. 2013). Yapısındaki amin ve hidroksil grupları aracılığıyla kitosan biyolojik vasıflarıyla avantaja sahip olan bir polimerdir. Kitosan-metal kompleksleri ile yapılan çalışmalar, literatürlerde rapor edilmiştir (Ahmed, et al. 2017; Pinto, et al. 2017). Bu literatürlerde, kitosan-metal komplekslerin bitkilerde patojenik hastalıklar üstündeki kontrol edici bir özelliği vardır (Jing, et al. 2015). Adlim ve arkadaşları çalışmalarında gözlemlerde kitosanın civa kirliğine dayanan sensör olup olmayacağına çalışmıştır (Adlim and Bakar 2010; Adlim, et al. 2018). Shabani ve arkadaşları kitosan-kobalt kompleksini çeşitli metotlarla karakterize etmiş ve alkil arenler ile alkollerle oksidasyonuna yönelik çalışmalar yapmışlardır (Shaabani, et al. 2015). Kitosan-bakır(II) Fusarium graminearum gelişiminin inhibe olmasında önemli

bir etkinliğe sahiptir (Yu, et al. 2016). Kitosana gümüş bağlanarak peroksidaz enzimine yönelik ölçümler literatürlerde yerini almaktadır (Liu, et al. 2019).

1.12. Biyosensörlerin Kullanım Alanları

Biyosensörler; tıp, eczacılık, gıda, çevre kirliliği, savunma ve birçok endüstriyel aktivitede özellikle otomasyon, kalite kontrolü, durum tespit ve enerji saklanmasında çok önemli rol oynarlar (Kökbaş, et al. 2013).

Biyosensörlerin uygulama alanları şöyledir:

a. Biyomedikal alan
b. Proses alan
   -Biyoreaktör kontrol
   - Gıda üretim ve analizi
c. Tarla ile hayvancılık
d. Bakteri-virüs
e. Sanayide atık su
f.Çevre koruma ve kirlilik su kontrolü
g. Maden ve işletmelerinde toksik gaz analizleri
h.Askeri uygulamalar şeklindedir (Nangia, et al. 2012).

1.13. Sonuç ve Gelecekte Beklentiler

Süregelen bir periyotta biyosensörik klasik fizikokimyasal ölçü aletleri yanında sensör teknolojisi aşağıda belirtilen üstünlüklere sahip olupbirçok yeni uygulamaya olanak sağlayacaktır (Kökbaş, et al. 2013). Bunlar:

a. Yüksek duyarlık
b. Kısa ölçüm zamanı
c. İhtiyacagöre işlem akışı
d. Otomatik ölçüm ve ayar sistemlerinin devreye sokulması
e. Otomatik ölçüm ve ayar sistemlerinin devreye sokulması şeklindedir (Kökbaş, et al. 2013).

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Kitosan, kolloidal olarak elde edilen nano altın partiküllerine, titanyum desteğiyle beraber hem stabilizör hemde indirgeyici özelliklerine bu çalışmada incelenmiştir. Kitosan ile altın parçacıklarının kompleks sentezi yapılarak indirgenme özelliklerine bakılmıştır. Bizim verilerimizde kitosana kobalt bağlandığı için Adlim ve ekibi tarafından kitosan ile yapılan bu makaleden yardım alınmıştır (Adlim and Bakar 2010).

Kitosan ile ilgili araştırmalarda Adlim tarafından yapılan kitosan ve üre araştırmalarında, ürenin çevreye verdiği kirlilik ve zarardan dolayı kitosandan yardım alnarak bunun önüne geçilmek istenmiştir. Üreye kitosan kaplaması yapılmıştır. Bu sayede üre uzun ve yavaş salınımlı hale gelmiştir. Böylece çevreye üre tarafından verilen zarar azaltılmış olmaktadır (Adlim, et al. 2018).

Grafen-altın nanoparçacıklarının melez bir yapısı, kolorimetrik immünoanalizler için yeni bir nanoprob olarak tasarlanmıştır. Bu hibrit yapı, kloroaurik asit, sodyum format kullanılarak hazırlanır . Altın nanopartiküller grafen yüzeyine kuvvetle bağlanır ve boyutları, sodyum format konsantrasyonu değiştirilerek kontrol edildi. Grafen-altın nanoparçacıkları hibritlerinin raman yoğunluğu ile altın nanoparçacıklar ve grafen arasındaki elektronik etkileşim nedeniyle bozulmayıp grafen ile karşılaştırıldığında 1567 cm^{-1} ve 2730 cm^{-1}de önemli ölçüde artmıştır. Hibrid bir yapıya sahip grafen-altın nanoparçacıklar, peroksidaz substratı 3,3,5,5-tetrametilbenzidin (TMB) ile H_2O_2'nin oksidasyonunu katalize ederek mavi bir renk geliştirdi. Bu testin duyarlılığı ayrıca ticari bir teşhis kitinden 41 kat daha fazladır. Grafen-altın nanoparçacıkların seçiciliği diğer virüslerle test edildi ve hiçbir renk değişikliği gözlemlenmemiştir. Bu çalışma bize sensörik çalışmalarda nanoparçacıklar hahkkında fikir edinmemize yardımcı olmuştur (Ahmed, et al. 2017).

Akter ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada gözenekli karbon nanokompozit üzerinde yetiştirilen kitosan ve N-katkılı grafen, tartrazin tayini için yeni bir sensör platformu olarak ultrasonik yöntem ile çalışmalar yapılmıştır. CEA antibadi üzerinde

immoblize olmuş platform olarak altın nanopartikül depositeli polydopamine film filmi kullanılarak non-enzimatik etikete dayalı stabil ve hassas elektrokimyasal karsinoembriyonik antijen immuosensor üretilmiştir. İmmunosensor prop, SEM de karakterize edilerek ve elektrokimyasal impedans spektroskopide karakterize edilmıştir. Diferansiyel pulse voltametri kullanılarak 10 ila -0.6 pg/mL kadar düşük bir duyarlıkta tayin edilmiştir. (Akter, et al. 2013)

An ve arkdaşlarının yaptığı çalışmada gözenekli karbon (N-PC-G/CS) nanokompozit üzerinde doğal olarak yetiştirilen kitosan ve N-katkılı grafen, tartrazin (TT) tayini için yeni bir sensör platformu olarak ultrasonik yöntemle elde edilmiştir. Hazırlanan nanokompozit, suda iyi dağılabilirliğe ve mükemmel iletkenliğe sahiptir. N-PC-G / CS nanokompozit; taramalı elektron mikroskopisi (SEM), transmisyon elektron mikroskopisi (TEM), azot adsorpsiyon-desorpsiyonu, fourier dönüşüm kızılötesi (FTIR) ve elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS) ile karakterize edilmiştir. Tartrazin (TT) tayini için N-PC-G / CS uygulaması kronocoulometri (CC), çevrim voltametri (CV) ve diferansiyel uyarım voltametrisi (DPV) ile araştırılmıştır. Optimize edilmiş koşullar altında, sensör 0.05–15.0 μmol/L geniş konsantrasyon aralığında TT'ye duyarlı bir tepki gösterdi, tayin sınırları 0.036 μmol/L'dir (S/N = 3). Ayrıca bu nanokompozit, alkolsüz içeceklerde tartrazin tayini için uygulanabilir. Bu çalışma kitosanlı çalışmamızda bize fikir vermiştir (An, et al. 2017).

Son yıllarda karbon karası; ilginç elektroanalitik özellikleriyle, tedavi gereksiniminin olmaması, maliyet etkinliği (c.a. 1 € / Kg) ve kararlı dispersiyonların hazırlanmasındaki kolaylık sayesinde elektrokimyasal (biyo) sensörlerin tasarımında keşfedilmiştir. Elektrokimyasal (biyo) sensörler, hızla gelişen bu alandaki mevcut eğilimleri ve olası zorlukları vurgulayarak, sensör ve biyosensörlerin gerçekleştirilmesinde karbon karası bazlı elektrotların üretimine özel bir odaklanma durumunu getirmiştir (Arduini, et al. 2020).

Bu makalede biyosensörlerin genel çalışma prensiplerine ve biyosensörlerin gıdalarla olan ilişkisine dikkat çekilmiştir. Biyosensörler, biyolojik algılayıcı elementin seçiciliği ile hedef analitin konsantrasyonuyla orantılı olarak sinyal üreten, transduserin kombinesinden oluşan cihazlardır. Biyosensörlerin spesifik ve hassas sonuçları kısa sürede elde ederler, kullanımları kolaydır, kullanım için fazla eğitim

gerektirmemektedirler. Bundan dolayı gelecekte yoğun bir şekilde kullanılabileceklerdir (Aykut and Temiz 2006).

Kobalt asetat ve nanopartiküllerinin sulu ve su-alkol çözeltilerini içeren kitosan çözeltilerinin reolojik özellikleri araştırılmıştır. Bu çözeltilerden kompozit kitosan filmler kobalt nanoparçacıkları hazırlanmıştır. Elde edilen filmlerin morfolojik özellikleri, enerji dağıtıcı mikroanaliz ile taramalı elektron mikroskopisi kullanılarak incelenmiş ve bileşimleri belirlenmiştir. Kitosan ve kobalt çalışmalarında bu makaleden yardım alınmıştır (Bochek, et al. 2015).

Kitosan ($CoFe_2O_4$ / CS) içeren kobalt ferrit içi boş küreler, solvotermal yöntem kullanılarak iki farklı yaklaşımla sentezlenmiştir. İlk yaklaşım, solvotermal reaksiyona (M1) $FeCl_3$: 6 H_2O ve $CoNO_3$: 6 H_2O'nun yerinde dahil edilmesini içerir ve ikinci yaklaşımda önceden hazırlanmış $CoFe_2O_4$ nanopartiküllerinin (NP'ler) içi boş küreleri oluşturmak üzere solvotermal reaksiyona yerleştirilmiştir (M2). Numunelerin yapısal tanımlanması, Fourier dönüşümü kızılötesi spektrumları (FTIR), toz X ışını kırınımı (XRD), taramalı elektron mikroskopisi (SEM), transmisyon elektron mikroskopisi (TEM), termogravimetrik analizler (DSC-TGA) ve enerji dağıtıcı X ile karakterize edilmiştir. Manyetik özellikler titreşimli bir numune manyetometre (VSM) kullanılarak değerlendirilmiştir. İçi boş küre üzerinde kitosan varlığı FTIR tarafından doğrulanmıştır. XRD analizleri ile, sentezlenen numunelerin spinel yapılı kobalt ferrit olduğu kanıtlanmıştır. Yüzeyin yapısı ve kürelerin ortalama partikül büyüklüğü, $CoFe_2O_4$ bileşeninin nano ölçeğini gösteren SEM ve TEM ile gözlenmiştir (Briceno, et al. 2017).

Saf kitosan nanojelleri üretilmiş, bakırı (II) adsorbe etmek için kullanılmış ve antimikrobiyal aktiviteleri değerlendirilmiştir. Bakırın (II) kitosan solüsyonları ve dispersiyonları ile kompleksleşmesi UV-vis spektrometresi kullanılarak incelenmiştir. Kitosan nanojellerinin adsorpsiyon kapasitesi, kitosan çözeltileriyle karşılaştırılabilir düzeydeydi, ancak bakır (II) yüklü nanojeller daha kararlıydı (yani, kitosan çözeltileri yüksek bakır konsantrasyonunda makroskopik jelleşme gösterirken hiçbir topaklanma gözlenmedi) ve kullanımı daha kolay olmuştur. Bakır (II) 'nin kitosan üzerine adsorpsiyon izotermleri oluşturulmuş ve pH'ın bakır (II) salınımı üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bakır (II) - kitosan kompleksinin oluşumu güçlü bir şekilde pH'a bağlıdır. Bu nedenle, bakır (II) salınımı pH'daki bir düşüşle (yani kitosan amino gruplarının

protonlanması) tetiklenebilir. Ayrıca, kitosan nanohidrojellerinin, kitosan hidrolitik enzimler için uygun bir substrat olduğu gösterilmiştir. Son olarak, kitosan ve bakır arasında Fusarium graminearum büyümesinin engellenmesinde güçlü bir sinerjistik etki gözlemlendi. Bu bakır (II) - kitosan kolloidlerin yeni nesil bakır bazlı biyo-pestisitler olarak uygunluğu, yani biyo uyumlu, biyoaktif ve pH'a duyarlı bir dağıtım sistemi olarak tartışılmaktadır (Brunel, et al. 2013).

Biyosensörler fizikokimyasal detektörlerdir ve biyolojik bir bileşen ile birleştirilmiştir. Biyosensörler çeşitli alanlarda analitik amaçlar için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu derlemede, biyosensörler ve genel biyosensörlerin özellikleri özetlenmiştir (Bulut 2011).

Biyosensörler, yapısında biyolojik bir reseptörü bulunan ve bir fizikokimyasal çeviriciyle birleştirilmiş olan analitik cihazlar olarak tanımlanmaktadır. Bir biyosensör temel olarak biyoreseptör, dönüştürücü ve elektronik kısımdan oluşmaktadır. Biyoreseptör olarak en çok enzimler olmak üzere, nükleik asitler, mikroorganizmalar, organeller ve antikorlar gibi değişik biyomoleküller trcih edilirler. Çevirici olarak en çok; elektrotlar, optik fiberler, transistörler, termistörler ve piezoelektrik kristaller tercih edilirler. Biyosensörlerin, eczacılık, tıp, tarımsal üretim, gıda işleme ve çevresel izleme faaliyetleri, askeri savunma sanayi gibi pek çok alanda uygulanma imkânı vardır. Biyosensörler, insanlarda, bitkilerde, hayvanlarda, gıdalarda, toprak, hava ve suda; pestisitler, antibiyotikler, patojenler, hastalıklar, toksinler, proteinler ve daha fazlasının spesifik, hassas ve hızlı ölçümünü sağlarlar. Biyosensörler düşük maliyet, hızlı sonuç ve yerinde analize imkân sağladığından özellikle çevresel analizlerde ve proses kontrollerinde diğer klasik analiz yöntemlerine göre önemli bir avantaj sunmaktadır (Burçin, et al.).

Geçiş elemanı metal - enzim benzeri katalizörlerin araştırılmasında önemli ilerlemeler kaydedilmiş olsa da, rutenyum nanopartiküllerinin (RuNP) uygulamalarını taklit eden enzim hakkında nadir raporlar da vardır. Bu çalışmada Cao ve arkadaşları RuNP'lerin peroksidazı (HRP) ve oksidaz mimetik aktivitesini araştırılmıştır. Rutenyum (Ru) HRP'yi taklit etmiştir. NP'ler, 3,3,5,5-tetrametilbenzidin (TMB), o-fenilendiaminin substratlarının oksidasyonunu katalize edebilir (OPD) ve dopamin hidroklorür (DA) eksojen olarak ilave edilen H_2O_2 varlığında sırasıyla mavi, sarı ve turuncu renklere

sahip ürünlerdir. Ayrıca rutenyum partikülleri, TMB ve sodyum L-askorbatın oksitlenmesini katalizleyebilen intrinsik oksidaz benzeri aktiviteye sahiptir. Ru partiküllerinin konsantrasyonları katalitik mekanizma elektron spin rezonans spektroskopisi ile analiz edilmiştir. Rutenyum partiküllerinin aktivitelerini taklit eden enzimi, substratlar ile H_2O_2 veya O_2 arasında hızlanan elektron transferinin karakteristiğini gösterir (Cao, et al. 2017).

Bakır, nikel ve kobaltın nanoparçacıkları (NP) kullanılarak 2 - propanol içindeki metal kolloidler; kimyasal sıvı biriktirme (CLD) yöntemi ile hazırlanmıştır. Elde edilen kolloidal dispersiyonlar, iletim elektron mikroskopisi (TEM) ile karakterize edilmiştir. Kolloidler kitosanda desteklenmiştir. Daha sonra, kitosan ile yakalanmış veya şelatlanmış nanopartiküllerin (NP) bakterisit ve bakteriyostatik aktivitesini belirlemek için E. coli ve S. aureus kullanılarak mikrobiyolojik deneyler yapılmıştır. Son olarak, metal kolloidler bakır (Cu), nikel (Ni) ve kobaltın (Co) toksisitesi test edilmiştir. Biyo-tahliller üç farklı hayvan türünde gerçekleştirilmiştir (Cardenas-Trivino, et al. 2017).

21 CHB hastasından HBcAg - darbeli DCler üretildi. HBcAg sed darbeli DC aşısının, IFN - γ ve IL-4 üretmek için CD4 + ve CD8 + T hücrelerini uyarma kapasitesi, hücreler arası sitokin boyama ve HBcAg - darbeli DC'lerin 10 humam lökosit antijeni (HLA) -A2 + CHB'den türetilmiştir. Hastalar, pentamer boyama ile otolog T hücrelerinden HBV'ye özgü CTL'lerin indüksiyonu açısından test edilmiştir. Bu CTL'lerin sitotoksisitesi in vitro olarak akış sitometrisi ile değerlendirilmiştir (Chen, et al. 2009; Cheng).

Yeni bir üre elektrokimyasal sensörü, üre varlığında kitosanın potansiyostatik elektrodepozisyonu ve ardından 0.1 M KCl ile seyreltilerek hazırlanan kitosan moleküler olarak baskılı filmlere dayanılarak inşa edilmiştir. Moleküler baskılı polimer (MIP) filmlerin oluşumunu ve sensörün performansını araştırmak için çeşitli teknikler uygulanmıştır. Beklentilerimize göre, üre MIP elektrokimyasal sensörü yapısal benzerlikler arasında üre için en iyi seçicilik, 1.0×10^{-8} ila 4.0×10^{-5} M aralığında bir üre sınırında yüksek üre duyarlılığı göstermiştir. Ayrıca, iyileşme oranı % 96.3 ila % 103.3 arasında değişmiştir ve bu nedenle klinik tanı uygulamaları için büyük bir potansiyel sunmaktadır (Chen, et al. 2011).

Termosensörler her türlü yaşamda bulunan her yerde bulunan integral membran proteinlerdir. Membran yeniden modellenmesi, kemotaksi, dokunma ve ağrı da dahil olmak üzere birçok fizyolojik rolde rol oynarlar. Böylece termal adaptasyonun TM aracılı girdi-çıktı kontrol mekanizmasını araştırmak için izlenebilir bir sistem olduğu belirlenmiştir (Cybulski, et al. 2010).

Katekolün, kitosan korumalı platin nanopartiküllerin (Chit-PtNP'ler) Ch-PtNP'lerin aktif bölgesi için substratla rekabet ederek, oksidaz taklit edici aktivitesini inhibe ettiği bulunmuştur. Katekolün inhibisyon mekanizması, ne O_2 ile reaksiyona girmemesi yada oksitlenmiş 3,3′ 5,5′-tetrametilbenzidin (TMB) azaltmaması bakımından askorbik asitten farklıdır. Tirozinaz (Tyrase), katekolün oksidasyonunu katalize eder, böylece oksidazı taklit eden Chit-PtNP'lerin aktivitesini belirgin hale getirir. Chit-PtNP, katekol ve TYRase etkileşimlerini TMB'nin oksitlenmesi ile sarı bir diamin (450 nm'de maksimum absorbans) oluşturmak üzere birleştirerek TYRase belirleme ve inhibitör taraması için kolorimetrik bir analitik yöntem geliştirilmiştir. Test 0.5 ila 2.5 U · mL-1 TYRase aktivite aralığında çalışır ve saptama limiti 0.5 U · mL-1'dir. Bizim algılamamız gereği, bu yeni test biyolojik örneklerde TYRase aktivitesinin belirlenmesi için güçlü bir yaklaşımı temsil etmektedir (Deng, et al. 2019).

Derkuş ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada platin (Pt), titanyum (Ti) ve gümüş (Ag) katkılı grafen oksit (GO) nanoyapılar nanokimyasal sentezde nispeten yeni bir teknik olan sonokimyasal teknik kullanılarak sentezlenen ve ayrıntılı olarak karakterize edilmiştir. Sentezlenen nanomalzemeler transmisyon elektronu kullanılarak karakterize edilmiştir. Bu çalışmada ilk kez çok katmanlı bir grafen oksit-gümüş nanoparçacıkları (M-GOAgNP'ler) nano yapısı sentezlenmiştir ve elektrokimyasal performansı GO-AgNP'lerle karşılaştırılmıştır. Elektrokimyasal çalışmanın bir sonucu olarak, GO-AgNP'lerin ve M-GO-AgNP'lerin modifiye edilmiş elektrotları sırasıyla ksanodik = 6.62 s^{-1} ve ksanodik = 6.78 s^{-1} olarak bulunmuştur. Sonunda, yeşil kimya sentez tekniği olan sonokimyasal teknikle elde edilen M-GO-AgNPs nano yapısı elektrokimyasal sensör matrisi olarak kullanım için uygun olduğu bulunmuştur (Derkus and Acar Bozkurt 2018).

Antibiyotik kalıntılarından kaçınmak, güvenli et ve süt ürünleri üretiminde önemli bir unsurdur. Bu araştırmadaki hedef, laktam penisilinler için bir enzim

immünolojik testi geliştirmek ve bu testi uygulamak için otomatik bir sensör tasarlamak ile tayin performansını değerlendirmektir. 13-15 dakikalık bir test süresiyle polistiren küvetler içinde çalışmak üzere antijen rekabet deneyi ile bir antikor yakalama geliştirilmiştir. Bir optik kafa, elektronik / akışkan kart ve kontrol bilgisayarından oluşan bir fotometrik sensör daha sonra bu testi uygulamak için tasarlanmıştır. Fosfat tamponlu salin içinde ampisilin üzerinde yapılan manuel test testlerinden elde edilen sonuçlar, 100 ng / mL'de optik yoğunlukta hafif bir azalma ve 200 ng / mL için% 21'lik önemli bir azalma göstermiştir. Sensör kalibrasyon testleri, algılama kimyasının başarıyla otomatikleştirildiğini gösteren benzer sonuçlar vermiştir. ABD ve Avrupa Topluluğu kalıntı limitlerini saptamak için daha yüksek afinite veya avidite antikorlarına ihtiyaç vardır.(Delwiche, et al. 2000).

Kitosan, glukozamin ve N-asetil glukozaminin kopolimeri esas olarak kabukluların hücre duvarlarında ve mantarlar gibi diğer mikroorganizmalarda bulunan kitinden türetilir. Kitosan, farklı alanlarda geniş bir uygulama yelpazesine sahip önemli bir biyopolimer olarak ortaya çıkmaktadır. Ticari ölçekte kitosan esas olarak mantar kaynaklarından ziyade kabuklu kabuklardan elde edilir. Kitosanın ekstraksiyonu için kullanılan yöntemler birçok dezavantaja sahiptir. Mantar biyokütlesinden kitosan üretmenin alternatif seçenekleri, aslında üstün fiziko-kimyasal özelliklerle mevcuttur. Dünyanın dört bir yanındaki araştırmacılar kitosan üretimini ve mantar kaynaklarından ekstraksiyonu ticarileştirmeye çalışıyorlar. Mantar kaynaklarından ekstrakte edilen kitosan, kabuklulardan türetilmiş kitosanın yerini tamamen alma potansiyeline sahiptir. Bu bağlamda, bu derleme, çeşitli biyoteknolojik endüstrilerden kaynaklanan veya negatif / düşük maliyetli tarımsal ve endüstriyel atıklar ve bunların yan ürünleri üzerinde ucuz bir kitosan kaynağı olarak yetiştirilen mantar biyokütlesinin potansiyelini tartışmaktadır. Biyolojik olarak türetilmiş mantar kitosan, farklı fizikokimyasal özelliklere göre kabuklu kabuklardan elde edilen kitosan üzerinde ümit verici avantajlar sunmaktadır. Mantar kitosan ekstraksiyon yöntemlerinin farklı yönleri ve kitosan verimi üzerinde etkili olan çeşitli parametreler ayrıntılı olarak tartışılmaktadır. Bu derlemede, farklı alanlarda yüksek katma değerli uygulamalar için kitosanın temel özellikleri ele alınmaktadır (Dhillon, et al. 2013).

Bu çalışmada enzimler konusunun temel kavram ve olayları ile ilgili üniversite öğrencilerinin oluşturdukları analojiler ve kavram yanılgıları belirlenmeye çalışılmış ve analoji yönteminin anlamlı öğrenmede etkili olup olmadığı araştırılmıştır. Öğrencilerin enzimler konusunu anlama düzeylerini ve konu ile ilgili analojileri belirlemek amacıyla 10 sorudan oluflan yazılı yoklama türü bilgi testi geliştirilmiştir. Uygulamaya H.Ü. Eğitim Fakültesinde okuyan 50 Biyoloji öğretmenliği öğrencisi katılmıştır. Kontrol ve deney olarak rastgele iki gruba ayrılan öğrencilere konu düz anlatım ve analoji yöntemi ile anlatıldıktan sonra bilgi testi, ön test ve son test olarak uygulanmştır. Kontrol grubundaki öğrencilerin enzimler konusunu anlama düzeyleri her iki testte de düşüktür (Xön=8,00; Xson=8,05). Deney grubu ö¤rencileri ise son testte ön test sonuçlar›na göre daha yüksek bir başarı sağlamışlardır (Xön=4,87; Xson=10,81) (Esin, et al. 2004).

Nanoyapılı malzemeler üzerinde protein spektro ve elektrokimya araştırma alanındaki farklı yönler ele alınmaktadır. Bir yandan bu çalışma, elektroaktif enzimlerin hareketsizleştirilmesi için bir platform olarak nano yapılı şeffaf ve iletken metal oksitlerin araştırılmasıyla ilgilidir. Öte yandan, bu çalışmanın ikinci kısmı, sülfit oksidazın altın nanopartiküller ile modifiye edilmiş elektrot üzerinde immobilizasyonuyla ilgilidir. Son olarak, Rhodobacter capsulatus'tan ksantin dehidrojenaz ve yüksek homologları fare aldehit oksidaz homologu 1 gibi yüksek yapı karmaşıklığına sahip doğrudan ve aracılı spektroelektrokimya proteinine yönelik çalışmalar yapılmıştır (Frasca 2012).

Destek materyali olarak kullanılan monodispers gözenekli formda silika manyetik silika mikroküreler çok basamaklı hidroliz-kondenzasyon yöntemi ile sentezlenmiştir. Manyetik mikrokürelerin yüzeyi tekrar silika kabuk yapısıyla kaplanmıştır. Silika ve yüzeyi silika kaplanmış manyetik silika mikrokürelere Türkevich metodu ile sentezlenen altın nanopartiküller immobilize edilmiştir (Güngör 2019).

Yaklaşık 2 x 10 (14) farklı rasgele dizili tek sarmallı DNA moleküllerinden oluşan bir havuzdan adenosin / ATP bağlayıcı DNA dizilerini izole etmek için in vitro seçimi kullanılmıştır. Bu aptamerlerden biri karakterize edilmiştir ve 6 +/- 3 mikroM'lik bir ayrılma sabiti ile çözelti içinde adenosini bağlamıştır ATP analogları ile yapılan deneyler, hem baz hem de ATP şekerindeki fonksiyonel grupların ligand / aptamer etkileşimine dahil olduğunu göstermektedir. Bu aptamerin bağlanma alanı, silme analizi

ile 42 bazlık bir diziye lokalize edilmiştir. Bu sekansın mutasyona uğratılmış versiyonlarının bir havuzu daha sonra sentezlendi ve fonksiyonel adenosin bağlanma sekansları için taranmıştır; seçilen varyantların karşılaştırılması, iki yüksek oranda korunmuş guanozin bakımından zengin bölge, iki değişmez adenosin kalıntısı ve ağırlıklı olarak Watson - Crick ortak değişkenli iki bölge ortaya çıkarmıştır. Bu veriler bizi, iki yığılmış G-dörtlüsünden oluşan kararlı bir çerçeveye dayanan bir ATP-bağlayıcı DNA yapısı modeli önerilmesine yol açmıştır. Yüksek oranda korunmuş iki adenosin kalıntısı, üst G-kuartet ile iki kısa gövde arasında yığılabilir ve adenosin veya ATP ligandının bağlandığı bir cep oluşturmuştur. Bölgeye yönelik mutagenez, temel analog ikame çalışmaları ve oldukça farklı ancak fonksiyonel dizilerin tasarımı bu model için destek sağlamıştır (Huizenga and Szostak 1995).

Glukoz üzerinde horsedish peroksidaz enzimi yerine kitosan-altın denenmiştir. Kitosan-altının peroksidaz aktivitesi gösterdiği gözlemlenmiştir. Aynı zamanda başka bir makalede horsedish peroksidaz enzimi yerine kitosan-gümüş kullanılarak kitosana bağlanan gümüşünde enzim aktivitesi gösterdiği gözlemlenmiştir (Jiang, et al. 2012) (Jiang, et al. 2017).

Kitosan stabilize gümüş nanopartiküller (Ch-Ag NP'ler), tek aşamalı bir yöntemle başarılı bir şekilde sentezlendi ve tipik bir renk reaksiyonu üretmek için H2O2 gibi intrinsik peroksidaz benzeri aktiviteye sahip olduğu, TMB ve OPD gibi substratları katalitik olarak okside edebildiği bulundu. TMB için renksizden maviye ve OPD için renksizden kırmızıya. Sonuçlarımız, Ch-Ag NP'lerin HRP'den daha yüksek termal ve pH dayanıklılığı sergilediğini göstermektedir, bu nedenle çok çeşitli zorlu koşullarda uygun olabilir. Elektron paramanyetik rezonans (ESR) sonuçları, Ch-Ag nanoyapılarının kataliz-mimmetik aktivitesinin, H_2O_2'nin ˙OH radikallerine ayrışmasını etkili bir şekilde katalize ettiğini göstermektedir. Bu bulguya dayanarak, substrat olarak TMB ile basit, hassas ve seçici bir görsel ve kolorimetrik yöntem glikoz oksidaz (GOx) ile birleştirildiğinde glikoz tespiti için tasarlanmıştır. Bu kolorimetrik yöntem, 100 nM kadar düşük bir tespit limiti ve 5.0×10^{-6} ila 2.0×10^{-4} M dinamik aralığı olan biyolojik numunelerde glikozun saptanması için kullanılabilir (Jing, et al. 2015).

Kitosan nanoparçacıkları (CHN), mikrodalga ışınlaması altında düşük molekül ağırlıklı kitosan ve sodyum tripolifosfat (TPP) arasındaki iyonotropik jelasyona göre

hazırlanmıştır. CHN'nin karakterizasyonu için parçacık boyutu, zeta potansiyeli ve FT-IR teknikleri kullanılmıştır. Reaksiyon süresinin nanoparçacık büyüklüğü dağılımı üzerindeki etkisi araştırıldı ve sonuçlar, mikrodalga ışıması yönteminin geleneksel yöntem üzerindeki reaksiyon sürelerini ve partikül boyutunu belirgin bir şekilde azalttığını göstermiştir. Mikrodalga ışıması altında CHN sentezlenen zeta potansiyel ölçümlerinin sonuçları net bir şekilde daha homojen kararlı bir yapı gösterir (Kocak, et al. 2011).

Biyosensörler biyolojik sistemler ile kombine edilmiş sensör sistemleridir. Temel olarak ikikısımdan oluşmaktadırlar; bunlardan birincisi biyolojik algılayıcı, diğeri ise fizikokimyasal dönüştürücüdür. Biyolojik algılayıcı eleman hedef analit ile seçici olarak etkileşimde bulunan biyokatalizörler (enzim, mikroorganizma, doku malzemeleri) veya biyoligandlar (antikor, nükleik asit, lektin) olabilmektedir. Dönüştürücü ise hedef analit ile biyolojik algılayıcı arasındaki etkileşime bağlı olarak ortaya çıkan fiziksel cevabı ölçülebilir bir sinyale dönüştürmektedir. Biyolojik ve sentetik süreçlerin izlenebilme ve anlaşılabilme olanağı sağlayan biyosensörler, tıbbi ölçüm ve analizlerin yanında, çevresel gözlem ve kontrollerde, savunma sanayinde, tarım, gıda ve ilaç endüstrilerindeki kullanım alanlarıyla hayatta önemli bir role sahip olmaktadırlar. Bu derleme makalede tıbbi ölçüm ve analizlerde kullanılan biyosensörlerin karakteristikleri tanımlanmış ve literatürde yer alan değişik sınıflandırmalara yer verilmiştir (Kökbaş, et al. 2013).

Üre tayini için altın nanoparçacık gömülü poli (propilen-ko-imidazol) bazlı yeni bir amperometrik üre biyosensörü geliştirilmiştir. Polimerik film üzerine adsorbe edilen üreaz ürenin amonyum ve bikarbonat iyonlarına hidrolizini katalize etti ve daha sonra amonyum, altın nanoparçacıkların +0.2 V'de Ag / AgCl'ye karşı diferansiyel uyarım voltametrisi kullanılarak elektro oksitlenmiştir. Biyosensör, üre konsantrasyonuna 0.1-30 mM arasında olan doğrusal bir akım yanıtı, 36 uM'lik bir saptama limiti, % 2.43'lük (n = 18) bir bağıl standart sapma ve mükemmel depolama stabilitesi sağlamıştır, çünkü akım azalması sadece % 3'ten sonra olmuştur. Biyosensörün çalışması, Türkiye'deki Zonguldak şehri arıtma tesisinin giriş borusundan toplanan belediye kanalizasyon atıksularının analizi ile değerlendirilmiştir. Olası interferanların etkileri de karakterize edilmiştir (Korkut, et al. 2018).

Paladyumun kitosan ile kompleksleri birlikte çökeltme ve adsorpsiyon gibi farklı yöntemlerle hazırlanmıştır ve EXAFS, FTIR ve X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) ile çalışılmıştır. Birlikte çökeltme tipi kompleks durumunda, şelat yapısının olası bir paladyum durumu olduğu bulunmuştur. Adsorpsiyon tipi sistem durumunda paladyum, şelatizasyon olmaksızın iki kitosan NH_2 grubu tarafından koordine edilir. EXAFS ve XPS verilerinden, komplekslerin yapısının paladyum indirgeme sürecinde değiştiği açıktır. Birlikte çökeltme ile hazırlanan kompleks durumunda, Pd (0) atomları muhtemelen bir polimer matris içinde trimerler oluşturur; dimerik yapıların oluşumu, adsorpsiyon kompleksinin en tipik hali gibi görünmektedir. XPS verileri, kitosan matrisi üzerinde hareketsizleştirilmiş paladyumun tersine çevrilebilir redoks dönüşümlerinin olasılığını göstermektedir. Hazırlanan kompleksler, potansiyel oksidasyon katalizörleri olarak kabul edilebilir (Kramareva, et al. 2004).

Salmonella typhimurium'un saptanması için faj tabanlı bir manyeto elastik sensör bildirilmiştir. Bakterilerin sensör yüzeyine spesifik ve seçici bağlanmasını sağlamak için, S. typhimurium'a özgü filamentöz bakteriyofaj, bir biyolojik tanıma elemanı olarak kullanılmıştır. Faj, fiziksel adsorpsiyon ile sensörlerin yüzeyine hareketsizleştirildi. Faj immobilize edilmiş manyetoelastik sensörler, 5x101 ila 5x108 cfu / ml arasında değişen farklı konsantrasyonlarda S. typhimurium kültürlerine maruz bırakıldı ve sensörün rezonans frekans yanıtındaki ilgili değişiklikler incelenmiştir. Deneysel olarak manyetoelastik sensörlerin hassasiyetinin, daha küçük fiziksel boyutlara sahip sensörler için daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Hassasiyette 2 mm'lik bir sensör için 159 Hz / on yıldan 1 mm'lik bir sensör için 770 Hz / on yıla kadar bir artış gözlenmiştir. Daha önce test edilen biyosensörlerin taramalı elektron mikroskopisi (SEM) analizi, sensör yüzeyinde hareketsiz hale getirilen fajlara S. typhimurium bağlanmasının neden olduğu frekans değişikliklerinin görsel olarak doğrulanmasını sağlamıştır. 1 × 0.2 × 0.015 mm boyutlarında bir sensör için 103 cfu / ml mertebesinde tespit limiti elde edilmiştir (Lakshmanan, et al. 2007).

pH dizi sensörleri için hidrojen iyonu seçici elektrotların (ISE) algılama katmanı olarak rutenyum oksit (RuO_2) ince film kullanılmıştır. RuO_2 algılama zarı, radyo frekans püskürtme teknolojisi kullanılarak bir silikon gofret substrat üzerine bırakılmıştır. Bir iletken tel ile bir MOSFET'e bağlanan ve farklı tamponlarda pH tampon çözeltilerine batırılmış bir Keithley 236 aleti kullanılarak RuO_2 algılama

membranlarının IDS-VG eğrileri ölçülmüştür. Sonuçlar, ISE cihazları için c algılama zarının pH hassasiyetini yaklaşık 55.64 mV / pH'da elde etmiştir. İdeal olmayan karakteristik deney sonuçlarından, RuO_2 ISE cihazının sürüklenme oranı pH 7'de 0.38 mV / s'de elde edilmiştir. RuO_2 ISE cihazının histeretik genişlikleri pH 7–10 da 4.36 mV ve 2.2 mV idi. RuO_2 ISE, dört tekli sensörün ölçüm hatasını ve test süresini azaltmak için pH dizi sensörleri yapısı için kullanılmıştır. Ve RuO_2 dizi sensörlerinin tekrarlanabilirliği, kararlılığı, seçiciliği ve tepki süresi araştırıldı. PH dizi sensörleri için gerçek zamanlı bir ölçüm sistemi elde edilmiştir (Liao and Chou 2008).

Biyosensörler için, uzun bir süre boyunca sabit bir aktiviteye sahip enzimlerle çalışmak çok yararlıdır. Bu amaçla 3,3 ', 5,5'-tetrametilbenzidin (TMB), luminol, tamponun argon doygunluğu, sığır serum albümini (BSA) ve Tween 20'yi, yaban turpu peroksidazı üzerindeki stabilize edici etkileri üzerinde test sağlamıştır. TMB ve luminolün enzimi çok verimli bir şekilde stabilize ettiği bulunmuştur. Çözeltilerin karanlıkta depolanması, 0.1 mM'nin altındaki stabilizatör konsantrasyonlarında bile, 12 hafta boyunca önemli bir aktivite kaybı gözlenmemiştir. Gün ışığında bu stabilizatörlerle aktivite altı hafta içinde başlangıç aktivitesinin % 80 e düştü. Karanlıkta tamponun argon doygunluğuna gerek yoktur. Diğer tarafta, numuneler gün ışığında saklanırsa, tamponun argon ile doymasıyla enzimin deaktivasyonu kuvvetle azaltılır. Literatürde genellikle stabilizatörler olarak önerilen BSA veya Tween 20 gibi katkı maddelerinde stabilize edici bir etki gözlenmemiştir. Stabilize edilmiş enzim, kullanılan stabilize edici reaktif maddeden bağımsız olarak kolorimetrik veya kemilüminesans saptama için kullanılabilir (Lieberman, et al. 1997).

Tümör tespiti için kolorimetrik immüno-tahliller, basitlikleri ve yüksek verimleri nedeniyle büyük ilgi görmüştür. Nanoteknoloji ve nanobilimdeki başarılarla, nanomalzemelere dayalı kolorimetrik immüno analizlerin geleneksel kolorimetrik enzime bağlı immünoanalizlere ümit verici alternatifler olduğu gösterilmiştir. Bu derlemede; kromojenik reaksiyonları katalizlemek için nanomateryal bazlı yapay enzimler, nanomateryaller, enzim mimetik hareketliliğin yüklenmesi için taşıyıcılar olarak analit kaynaklı agregasyonlar ve nanomalzemelerden salınan bileşen elementlerin neden olduğu kromojenik reaksiyonlar ele alınmıştır (Liu, et al. 2019).

Stronsiyum (Sr) adsorpsiyonu, pH, temas süresi ve başlangıç stronsiyum konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak incelenmiştir. Denge verilerini farklı konsantrasyonlarda analiz etmek için Langmuir, Freundlich, Dubinin-Radushkevich ve Temkin gibi adsorpsiyon izotermleri kullanılmıştır. Sr^{+2} sorpsiyon kinetiği, sahte birinci dereceden ve sahte ikinci dereceden kinetik modeller kullanılarak analiz edildi. Sonuçlar, aminofosfonik gruplar ve kobalt içeren kitosan kompleksinin, Sr^{+2} iyonlarını sulu çözeltilerden emme kapasitesi açısından etkili bir adsorban olduğunu açıkça göstermektedir (Maranescu, et al. 2017).

Antikorla modifiye edilmiş paladyum-altın metalleri (Pd@Au) nanoyapısının peroksidaz, 3- (4-dihidroksi fenil) propiyonik asit için bir florojenik substratın dimerizasyonunu katalize ettiği bir immünoanaliz geliştirilmiştir. Bensülfuron-metile karşı spesifik antikorlar, bir immünojen olarak iyi karakterize edilmiş bir bensülfuron-protein konjugatı kullanılarak üretilmiştir ve Pd@Au nanoyapısının sekonder bağlı olduğu bir immüno-deney formatında gerçekleştirilmiştir. Peroksidaz benzeri aktivite gösteren antikor tayin edilmeye çalışılmıştır. Geliştirilen immünoanaliz herbisit bensülfüron-metil için 0.01 ng ml^{-1} (n = 3) saptama limiti ile 0.001 ila 100 ng ml^{-1} dinamik tepki aralığı gösteren mükemmel bir hassasiyet sergilemiştir. Yeni sentezlenen bimetalik nanoyapı düşük maliyetli, kolay sentez ve ayarlanabilir katalitik aktivitenin avantajları, farklı uygulamalarda enzim peroksidazın umut verici çaışmalara öncü olmasını sağlar (Nangia, et al. 2012).

Yüzey plazmon rezonansı (SPR), çeşitli biyokimyasal analitlerin basit, hızlı ve etiketlenmemiş analizi için bir immünosensör formatına başarıyla dahil edilmiştir. Proteinler, kompleks konjugatlar, toksinler, alerjenler, ilaçlar ve pestisitler, algılama öğesi olarak yüksek hassasiyet ve seçiciliğe sahip doğal antikorlar veya sentetik reseptörler kullanılarak doğrudan belirlenebilir. İmmünosensörler, antijen-antikor reaksiyonunu gerçek zamanlı izleme yeteneğine sahiptir. Alt limitler 10^{-9}M ve 10^{-13}M arasında değişen çok çeşitli moleküller tayin edilebilir. SPR immünosensörlerinin birçok başarılı ticari geliştirmesi mevcuttur ve web sayfaları teknik bilgiler açısından zengindir. Bu gözden geçirme, SPR tabanlı immünolojik testteki birçok yeni gelişmeyi, altın yüzeyin işlevselleştirilmesini, moleküler tanımada yeni reseptörleri ve duyarlılığı artırmaya yönelik gelişmiş teknikleri vurgulamaktadır. Dahası, mevcut sorunların

zorluklarını açıklamaktadır ve gelecekteki teknolojilere yönelik bazı içgörüler sağlamaktadır (Mullett, et al. 2000).

Hemoglobin (Hb) nanopartikülleri (NP'ler) desolvasyon yöntemi ile hazırlanmıştır. Transmisyon elektron mikroskopisi (TEM), UV spektroskopisi ve Fourier dönüşümü IR (FTIR) spektroskopisi ile karakterize edilmiştir. Amperometrik H_2O_2 biyosensörü, HbNP'lerin bir polikristalin Au elektroduna (AuE) kovalent olarak immobilize edilmesiyle oluşturulmuştr. HbNP'ler/AuE, HbNP'lerin immobilizasyonundan önce ve sonra taramalı elektron mikroskopisi (SEM), çevrim voltametri (CV) ve elektrokimyasal empedans spektrumları (EIS) ile karakterize edildi. HbNP'ler/AuE, Ag/AgCl'ye karşı –0.2 V'de çalıştırıldığında 30 °C'de 100 uM H_2O_2 içeren 0.1 M sodyum fosfat tamponunda (PB) 2.5 saniye içinde pH 6.5'te optimum tepki göstermiştir. HbNP / AuE, görünür michaelis-menten sabiti (Km) 0.1 ± 0.01 mM ile 5.161 ± 0.1 μA cm^{-2} Vmax sergilemiştir. Biyosensör, önceki biyosensörlere kıyasla H_2O_2 için daha düşük tayin limiti (1.0 μM), yüksek hassasiyet (129 ± 0.25 μA cm^{-2} mM^{-1}) ve daha geniş doğrusal aralık (1.0-1200 μM) göstermiştir. Serumda (0.5 ve 1.0 uM) ilave edilen H_2O_2'nin analitik geri kazanımları sırasıyla % 97.77 ve % 98.01 idi, parti varyasyon katsayıları (CV) içinde ve arasında sırasıyla % 3.16 ve % 3.36 idi. Standart enzimatik kolorimetrik yöntemle elde edilen H_2O_2 değerleri ile mevcut biyosensör arasında iyi bir korelasyon vardır (korelasyon katsayısı, R_2 = 0,99). Biyosensör, görünüşte sağlıklı kişilerin ve diyabet tip II'den muzdarip kişilerin serumlarında H_2O_2 seviyesini ölçmüştür. HbNP'ler / AuE, düzenli kullanımdan sonra 4 °C'de kuru depolandığında başlangıçtaki aktivitesinin % 10'unu kaybetmiştir (Narwal, et al. 2017).

Dört elektrot malzemesi: platin (Pt), altın (Au), paladyum (Pd) ve camsı karbon (GC), iki farklı glutamat biyosensörü sınıfının geliştirilmesinde substrat olarak uygunluklarını araştırmak için araştırılmıştır. Poli (o-fenilendiamin) üzerine çapraz bağlanmış glutamat oksidaz, nispeten yüksek uygulanan potansiyellerde H_2O_2'yi doğrudan elektrot yüzeyinde tespit etmek için permselektif eleman olarak PPD içeren tip 1 biyosensör (PPD / GluOx) olarak seçilmiştir. GluOx ve yaban turpu peroksidaz / redoks polimer modifiyeli elektrotlar (Os2 + PVP / HRP / GluOx), daha düşük uygulanan potansiyellerde enzim katalizli H_2O_2 saptamasına dayanan tip 2 biyosensörler olarak kullanılmıştır (O'Neill, et al. 2004).

Mikroelektrik alanındaki gelişmeler ve biyolojik moleküllerin yüksek duyarlılıklı yanıt kapasitesinin keşfi, bilimin birçok alanında biyosensör teknolojisinde hızlı ilerlemelere yol açmıştır. Biyosensörler basitçe bir kimyasal bileşik tarafından üretilen biyolojik yanıtı optik, termal ve elektrik sinyallerine dönüştürebilen cihazlar olarak tanımlanır. Biyosensörlerin çoğu, biyo-reseptör (ligand) ve dönüştürücü (dönüştürücü) dahil olmak üzere iki bölümden oluşur. Biyo-reseptörler, hedeflenen moleküllerin yakalanması için biyolojik bağlanma alanlarıdır. Dönüştürücü, reseptörün elektronik uyarana bağlanmasından kaynaklanan biyokimyasal / fizyokimyasal etkileşimleri ölçebilen ve dönüştürebilen kısımdır. Biyo-reseptör molekülleri, analiz edilen materyal ile seçici olarak etkileşime giren oldukça hassas biyolojik bileşiklerdir. Biyo reseptör olarak kullanılacak moleküller ile ilgili en kritik konu, tespit edilmesi amaçlanan moleküle yüksek afinite ve özgüllükte olmasıdır. Enzimler, antikorlar, aptamerler ve mikroorganizmalar biyo-reseptörler olarak en sık kullanılan biyolojik kaynaklardır (Otlu 2011).

Kitosan-kobalt kompleksinin azottaki farklı ısıtma hızlarında termal bozulması, 30-800 ° C sıcaklık aralığında termogravimetrik analiz (TGA) ile incelenmiştir. Kitosan-kobalt kompleksinin mikro-yapısını belirlemek için Fourier dönüşüm-kızılötesi (FTIR) ve X-ışını difraktogram (XRD) analizleri kullanılmıştır. Sonuçlar azotta kitosan-kobalt kompleksinin termal bozulmasının iki aşamalı bir reaksiyon, karakteristik sıcaklıklar ve ısıl bozulmanın maksimum reaksiyon hızının ısıtma hızının artmasıyla arttığını göstermektedir. Kinetik parametreler Friedman ve Flynn – Wall – Ozawa yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir. Muhtemel bozunma mekanizmasını tartışmak için Coats – Redfern yöntemi kullanılmıştır. Sonuçlar, iki kinetik yöntemden kaynaklanan kompleksin aktivasyon enerjisinin benzer değişken bir eğilime sahip olduğunu ve spontan olmayan ilk bozunma aşamasında katı hal ayrışmasının çekirdeklenme ve büyümeyi içeren bir mekanizmaya gittiğini göstermiştir (Ou, et al. 2010) .

Küçük bir molekül olan argininamidin tayini için interferometriye dayalı bir yöntem geliştirilmiştir. Argininamidin miktarının belirlenmesi, avidin-biyotin bağlanması yoluyla silikon oksinitrid sensör yüzeyi üzerinde hareketsizleştirilen aptamerler kullanılarak gösterilmiştir. Aptamerler, yüzeye çok noktalı bağlantının

moleküler konumlandırması ile tutarlı olarak, 1,2 nm kalınlığa karşılık gelen avidin katmanı üzerinde ince bir film oluşturdu. Arjininamidin bağlanması, aptamer filmin kalınlığında önemli bir değişikliğe neden olmamıştır, bu da spesifik bağlamanın, aptamer moleküllerinin uyarlamalı yeniden düzenlenmesinden sonra aptamer moleküllerinin genel konformasyonunu etkilemediğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, bağlanma, kütle birikimi ve yapısal değişikliklerle belirlenen çoklu parametrelerden hesaplanan kütle içinde açıkça saptanabilir değişikliklerle sonuçlanır. Geliştirilen sensörün tespit limiti 5 μM olarak belirlenmiştir. Sensör, argininamid konsantrasyonlarındaki gerçek zamanlı değişiklikleri yüksek güvenilirlik ve hassasiyetle izleyebilir. Model sistemi, interferometri tabanlı tekniklerle yapısal ve kütle değişikliklerini dikkate alan birleşik bir ölçümün, küçük kütle analitlerinin gerçek zamanlı izlenmesi ile ilişkili en büyük sorunlardan birini aşabileceğini göstermiştir (Özalp 2011) (Ozalp 2012).

DNA aptamerlerinin yapısal değişikliklerinin boyutu kontrollü olarak dağıtım nano cihazlarında uyarıcıya duyarlı kapı bekçileri olarak kullanılabilen, küçük boyutlu bir hedef olan adenozin 50-monofosfatın (AMP) moleküler olarak tanınması üzerine akustik dalga bazlı sensörler tarafından belirlenmiştir (Özalp and Schäfer 2011).

Laktat (laktik asit), doğal olarak laktik asit bakterileri tarafından üretilmekte; yoğurt, turşu ve şarap vs fermente besin maddelerinde bulunmaktadır. Bu sebeple besinlerin izlenmesinde, raf ömrünün, tazeliğinin ve kalite özelliklerinin belirlenmesinde önemli parametredir. Ek olarak laktat, anaerobik metabolizmanın temel metaboliti olup insanlarda yorgunluğun ve hidratlaşmanın, septik şok hastalarında çoklu organ yetmezliği ve ölümün, felç ve laktik asidozun göstergesidir. Bu sebeple laktat düzeyinin belirlenmesi ve izlenmesi; gıda endüstrisinde sürdürülebilir tarım açısından besin güvenliğinin sağlanması, sağlık alanında ise hasta sağlığının kontrolü ile hızlı müdahale açısından oldukça büyük bir öneme sahiptir. Bu amaçla; laktat seviyelerinin belirlenmesi ve izlenmesi için hızlı, kolay uygulunabilir, hassas ve ekonomik analitik cihazlar olan biyosensörler, geleneksel yöntemler yerine oldukça tercih edilmektedir. Laktat tayinine yönelik kullanılan ticari ve laboratuvar ölçekli biyosensörlerin büyük bir çoğunluğu enzim temelli ve amperometrik transduserli biyosensörlerdir. Bu bilgiler doğrultusunda, 31-350 μM tayin aralığına sahip; yani oldukça düşük miktarlardaki laktat miktarlarını belirleyebilen gıda ve sağlık alanında

kullanıma uyumlu enzim temelli ve amperometrik transduserli laktat biyosensörü bu çalışmada incelenmiştir. Bu amaçla, öncelikle optimum şartlar ön denemelerle belirlenmiştir. Ardından; nafyon (%5 wt) ile çalışma elektrot yüzeyine immobilize edilmiş laktat oksidaz enziminin, laktadı oksitlemesi sonucu oluşan H_2O_2'den kaynaklı elektronun, elektrot yüzeyine ulaşmasıyla meydana gelen akım sayesinde laktat miktarını belirleyen biyosensör tasarlanmıştır. Bu biyosensör; camsı karbon elektrot, Ag/AgCl referans elektrot ve platin karşıt elektrot olmak üzere üçlü elektrot sisteminden oluşmaktadır. Daha sonra; üretilen bu biyosensör ile Ankara'nın farklı bölgelerinden temin edilen peynir, sucuk ve kefir numunelerinden izole edilen ve Gram pozitif oldukları belirlenen 23 laktik asit bakterisinin ürettiği laktik asit miktarı tespit edilmiştir. Aynı örnekler için HPLC analizleri yapılarak sonuçlar karşılaştırılmış ve üretilen biyosensörün gerçek örneklerdeki ölçüm sonuçları incelenmiştir (Özoğlu 2019).

Nanokompozit gaz algılama malzemeleri üretmek için yeni bir yaklaşım önerilmiştir: Co (II), Cd (II), Zn (II) ve Pb (II) akrilamidin frontal polimerizasyonu yoluyla bir polimer matrisinin ve metal sülfid veya oksit nanopartiküllerinin yerinde hazırlanmasına dair kompleksler üzerinedir. Nanocom'un bileşimi ve yapısıyla elde edilen pozitler, X ışını kırınımı, tarama ve transmisyon elektron mikroskobu ve Raman spektroskopisi kullanılarak belirlenmiştir. Nanokompozitler, oda sıcaklığında sıvılaştırılmış petrol gazı sensörleri olarak test edilmiştir (Pomogailo, et al. 2014).

Günümüzde, farklı nano yapı türlerinin "yeşil sentezi", (bitki özlerini kullanan metalik nanopartiküller ile (NP'ler)) mevcut bitkilerin çeşitliliği nedeniyle güçlü, sürdürülebilir ve ekonomik bir tasarım aracı olarak ortaya çıktmıştır. Bununla birlikte, ortaya çıkan bu alandaki temel zorluk, bu daha temiz sentetik metodolojilerin geniş ölçekte uygulanması için temel olan NP'lerin morfolojisinin (şekillerinin) ve boyutlarının hala sıkı kontrolüdür. Model ekstresi olarak kabuk sulu ekstraktı kullanılmıştır ve farklı reaksiyon parametrelerinin, yani sıcaklık, pH, ekstrakt konsantrasyonu ve reaksiyon süresinin altın NP'lerin morfolojisi ve boyutu üzerindeki etkisini Ultraviyole görünür (UV-vis) spektroskopi ile sistematik olarak araştırılmıştır. Transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ve dinamik ışık saçılması (DLS) ile karakterizasyonlar alınmıştır. Elde edilen sonuçlar, özüt konsantrasyonunun altın NP'lerin boyutunda önemli bir role sahip olduğunu (ilginç bir şekilde çok düşük konsantrasyonlar için bir "boyut platosuna" ulaşılabileceğini) ve ortamın pH'ının

morfolojilerini biraz etkilediğini göstermiştir. Sıcaklık, küresel nanoyapıların hem boyutunda hem de morfolojisinde önemli bir etki göstermez, ancak anizotropik yapıların boyutunda net bir etki olduğu kanıtlanmıştır. Tepkime süresinin, özüt konsantrasyonunun değişmesi dışında, NP'lerin hem boyutunda hem de morfolojisinde zayıf bir etkisi vardır. Bu çalışma, ilk kez, nihai uygulamaları göz önüne alınarak hazırlanan altın NP'lerin boyutunu ve morfolojisini kontrol etmek için seçilmesi gereken bu çevre dostu yaklaşımların indirgeme koşullarının kesin ve net bir şekilde oluşturulmasını sunmaktadır (Pinto, et al. 2017).

Toksinler, pesitisitler, organik toksik kimyasallar ve farmasötikler olarak günlük hayatta sıkça karşımıza çıkmakta olan küçük moleküllerin (analit), sağlık ve çevre üzerindeki zararlı etkileri nedeniyle izlenmelerine yönelik düzenlemeler yapılmıştır. Bu tür moleküllerin insan ve hayvan sağlığı ve çevre üzerine olumsuz etkilerinin önüne geçilmesi için etkin bir şekilde izlenmelerinde kullanılan rutin analitik sistemlere kıyasla, biyosensörler alanda hassas, kolay ve hızlı tarama imkânları sunabilmektedirler. Biyosensörlerin sağlayacakları olumlu sonuçlara bağlı olarak yaygınlaştırılmaları amacıyla analitik yöntemlerle karşılaştırıldıklarında, özellikle küçük moleküllerin tespitinde duyarlık açısından sınırlılıkları olduğu görülmektedir. Bu nedenle küçük moleküler yapıya sahip analitlerin, laboratuvar odaklı analitik cihazlara bağımlılığın azalarak yerinde hızlı bir şekilde tespitine yönelik biyosensör geliştirme çalışmaları analizlerin sıklaşması ve izlemenin yaygınlaşması açısından önem taşımaktadır. Bu çalışmada, önemli gıda kirleticileri olan küçük kimyasal yapılı mikotoksinlerin, gıda ve yem örnekleri laboratuvara taşınmadan yerinde tespitine yönelik piezoelektrik immünobiyosensörlerle duyarlılığı artırabilecek yöntem geliştirilmesi hedeflenmiştir. Yöntem: Yöntem geliştirme çalışmaları kapsamında antikor immobilizasyonu, analit-protein konjugatı immobilizasyonu ve analitin kovalent olarak immobilizasyonu stratejileri değerlendirilmiştir. Ardından duyarlık geliştirilmesi amacıyla antikorun PBM321 dendronuna konjugasyonu ile ağırlaştırılması ve valensisinin artırılması ile 5 MHz QCM'e göre daha yüksek frekansta ölçüm yapabilen 120 MHz Love wave ölçüm platformu kullanılması stratejileri değerlendirilmiştir. Çalışmada, mikotoksinler içinde en yüksek toksisiteye sahip AFB1 ve OTA küçük analit modeli olarak seçilmiş ve Anti-AFB1 ve Anti-OTA antikorları kullanılarak tespit edilmelerine yönelik yöntem geliştirilmiştir. Bulgular: Ölçüm platformu olarak 5 MHz QCM kullanılarak 17,2 ppb hassasiyetle OTA immünosensörü geliştirilmiştir. Küçük analitlerin tespitinde

duyarlılığın artırılmasına yönelik gerçekleştirilen diğer çalışmada ise, Ertekin ve arkadaşları (2016) tarafından 5 MHz QCM ile 1,25 ppb olarak geliştirilen AFB1 belirleme duyarlılığı, 120 Mhz Love wave ölçüm platformu kullanılarak 0,25 ppb'ye, PBM321 konjugasyonu ile 0,0002 ppb'ye kadar düşürülmüştür. Sonuç: AFB1 gibi küçük bir kimyasalın piezoelektrik biyosensörlerle tespitinde 6250 kat daha yüksek duyarlığa ulaşılmıştır. Bu çalışma TÜBİTAK MAM tarafından "Çoklu Toksin Deteksiyonu Sağlayan Biyosensör Geliştirilmesi (MAMBİYOSENS 5133101) Projesi" ile desteklenmiştir (Pirinçci 2018).

Bir enzimatik biyosensör, piruvat oksidazın (PyO) poli-5,2 ′: 5 ', 2 5-tiyofen-3p-karboksilik asit, poli-TTCA (nano-CP) içeren kovalent immobilizasyonu ile üretilmiştir. Fosfat iyonlarının amperometrik tayini için camsı bir karbon elektrot (GCE) üzerine katman oluşturulmuştur. Hareketsiz kılınmış PyO'nun nano-CP tabakaları üzerindeki doğrudan elektron transfer reaksiyonu araştırılmış ve elektron transfer hızı sabiti 0.65 s-1 olarak belirlenmiştir. Elektrokimyasal olarak hazırlanan nano-CP, bir fosfat çözeltisi içinde PyO tarafından enzimatik olarak oluşturulmuş bir H_2O_2'nin oksidasyon potansiyelini (Ag / AgCl'ye karşı +0.40 V) düşürdü. Biyosensörlerin hassasiyetini etkileyen, kofaktör miktarları, pH, uygulanan potansiyel ve sıcaklık gibi deneysel parametreler optimize edilmiştir. 1.0 uM ve 100 uM arasında fosfat iyonunun saptanması için doğrusal bir tepki gözlendi ve saptama sınırının yaklaşık 0.3 uM olduğu belirlenmiştir. Biyosensörlerin tepki süresi yaklaşık 6 s idi. Biyosensör, karışan diğer anyonlara karşı iyi bir seçicilik göstermiştir. Fosfat biyosensörünün uzun süreli saklama stabilitesi incelenmiş ve sensör, fosfat iyonlarının saptanması için bir insan serum örneğine uygulanmıştır (Ragavan, et al. 2018).

Vektör kaynaklı hastalıklar, küresel olarak insan sağlığı için, özellikle de dünyanın yoğun nüfuslu, az gelişmiş, tropik bölgelerindeki sıtma için büyük bir endişe kaynağıdır. Sıtma, insan hayatının kaybına ve ekonomik zarara neden olur ve gezginler aracılığıyla yeni bölgelere yayılabilir. Sıtmanın etkili tedavisi ve tedavisi için yeterli terapötik olmasına rağmen, milyonlarca insanı enfekte eder ve her yıl binlerce insanın hayatını kaybettiğini iddia eder. Enfeksiyonun erken teşhisi potansiyel olarak hastalığın yayılmasını önleyebilir, hayat kurtarabilir ve finansal etkiyi azaltabilir. Sıtma teşhisi için geleneksel analitik teknikler yaygın olarak kullanılmaktadır, ancak düşük duyarlılık ve seçiciliğe sahiptir. Sıtma salgınlarının sıklıkla meydana geldiği kötü kaynak

ortamları nedeniyle, geleneksel tanı yöntemlerinin çoğu uygun değildir ve bu nedenle enfeksiyonun yayılmasını saptama ve kontrol etmede etkili değildir. Bununla birlikte, biyosensörler uygun sıtma teşhisinin kapsamını geliştirmiştir. Biyoteknoloji ve nanoteknolojideki gelişmeler, yeni tanıma materyalleri ve dönüştürücü elemanları, geliştirilmiş özelliklere sahip uygun fiyatlı biyosensör platformlarının üretilmesine izin veren keşifler sağlamıştır. Mevcut çalışma sıtmaya giriş ile biyosensörlerin ilerlemesini, ardından sıtma teşhisi, sıtma belirteçleri, yeni tanıma elemanları ve biyosensör prensibini takip etmektedir. Son olarak, potansiyel biyomedikal uygulamalarla proaktif bir rol ve gelişmiş biyosensör platformları üzerine bir perspektif tartışılmaktadır (Rahman, et al. 2006).

Kitin dünyadaki en önemli ikinci doğal polimerdir. Sömürülen ana kaynaklar iki deniz kabukluları, karides ve yengeçlerdir. Amaç, bu polisakkarit ile ilgili son teknolojiyi değerlendirmektir: doğal katı haldeki morfolojisi, tanımlama ve karakterizasyon yöntemleri ve kimyasal modifikasyonların yanı sıra seçilen uygulamalar için kullanım ve işlemedeki zorluklardır. Kitinin en önemli türevi olan kitosan, onu karakterize etmek için en iyi tekniklerin ve kullanımında karşılaşılan temel sorunların ana hatları bu makalede açıklanmaktadır. Asidik sulu ortamlarda çözünür kitosan birçok uygulamada (gıda, kozmetik, biyomedikal ve farmasötik uygulamalar) kullanılır. Kısaca, çeşitli sentezlerin geçici olarak önerildiği, ancak henüz endüstriyel ölçekte geliştirilmediği bir alan olan kitosanın kimyasal modifikasyonlarını kısaca açıklanmıştır. Bu derleme, bu materyallerin tıp ve kozmetikteki yüksek katma değerli uygulamaları hakkındaki son makaleleri vurgulamaktadır (Rinaudo 2006).

Manyetik heterojen katalizör olarak yeni ve biyolojik olarak bozunabilir bir kobalt-kitosan sentezlenmiştir. ve XPS, FT-IR, EDX ve TEM ile karakterize edilir. Kobaltitozanın katalitik performansı alkil arenlerin ve alkollerin aerobik oksidasyonu. Sonuçlar, katalizörün mükemmel dönüşüm gösterdiğini göstermektedir (Shaabani, et al. 2015).

Enstrümental analiz uygulamalarına yönelik kapsamlı bilgiler verilmiştir. Bu ndenle FTIR karakterizasyonunun yorumlanmasında bu kaynaktan yardım alınmıştır. Organik fonksiyonel grupların (C═O, CH_3 , C≡C gibi) IR ışını absorbladıkları yaklaşık frekanslar, atomların kütleleri ve aralarındaki bağın sabiti ile hesaplanabilir. Bunlara,

(moleküldeki herhangi bir fonksiyonel grubun varlığını veya yokluğunu saptamaya olanak veren) "grup frekansları" denir. Bu frekanslar FTIR karakterizasyon yöntemiyle incelenir (Skoog and West 1981).

Silva ve arkdaşları kitosan (Chit) ile stabilize edilmiş altın nanopartiküllerinin (AuNP) sentezini ve karakterizasyonunu ve bu materyalin kobalt (II) tetrasülfonatlanmış ftalosiyanin (CoTsPc) ile çok katmanlı filmler oluşturma kabiliyetini bildirmiştir. Chit-AuNPs ve CoTsPc'ye dayanan yeni hibrid malzeme çeşitli tekniklerle karakterize edilmiştir ve Chit-AuNP'ler ve CoTsPc ile modifiye edilmiş bir ITO (indiyum kalay oksit) elektrodunun elektrokimyasal özellikleri araştırılmıştır. Chit, aylar boyunca stabil olan bir koloidal süspansiyon oluşturarak AuNP'lerin (6.0 nm çapında) toplanmasını önlemiştir. AuNP'ler ve Chit molekülleri arasındaki etkileşim esas olarak Chit'ten CH_2 ve NH_3 (+) grupları yoluyla gerçekleşir. Chit-AuNPs / CoTsPc'nin çok tabakalı filmleri için supramoleküler etkileşim gözlemlenmiştir ve AuNP'ler CoTsPc'nin redoks özelliklerini etkilemiştir. Nanoparçacıkların varlığı sadece elektrotların elektroaktif alanını arttırmakla kalmamıştır, aynı zamanda yük aktarım hızını da artırmış, bu da bu malzemenin elektrokimyasal cihazlardaki diğer uygulamalar için çok umut verici bir aday olduğunu düşündürmüştür (Silva, et al. 2013).

1,3-difenil-1H-pirazol-4-karboksaldehit ve 4-amino-5-merkapto-3-metil / H-1,2,4-triazolün [HL1–2] iki yeni schiff bazı ve bunların Kobalt, Nikel Bakır ve Çinko kompleksleri sentezlenmiş ve elementel analizler, spektral (UV-vis, IR, 1H NMR, Floresans) çalışmalar, termal teknikler ve manyetik ölçümler ile karakterize edilmiştir. Cu (II) için kare düzlemsel geometri ve Co (II), Ni (II) ve Zn (II) kompleksleri için oktahedral geometri önerilmiştir. Schiff bazlarının biyolojik aktivitesini değerlendirmek ve metal iyonunun biyolojik aktivite üzerindeki rolünü değerlendirmek için, pirazol Schiff bazları ve metal kompleksleri Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa ve antifungallere karşı in vitro antibakteriyel olarak incelenmiştir. Aspergillus niger ve Aspergillus flavus'a karşı çoğu durumda, metal iyonları ile koordinasyon üzerine daha yüksek aktivite sergilenmiştir (Singh, et al. 2007).

Doğadaki tüm varlıklar hayatlarını sürdürmek için çevrelerindeki değişimleri hızla algılayıp bunlara uyum sağlamak zorundadır. Canlıların etraflarında ya da kendi

içlerinde meydana gelen değişimleri algılama gücü, bilim insanlarının ilgisini çeken ve onlara ilham veren önemli bir unsur olmuştur. Şenel "Bilim ve Teknik" dergisinde biyosensörlerin açıklamalarını detaylı bir şekilde kaleme almıştır (Şenel 2013).

İmmüno-manyetik boncuklar (IMB), anti-Escherichia coli O157 antikorları ve bir streptavidin kaplama, aktif karboksil grupları veya tosilatlanmış yüzeyler içeren iki farklı boyutta (1 mm, 2.6 mm ve 2.8 mm) manyetik boncuklar kullanılarak sentezlenmiştir. Sentezlenen IMB, ticari olarak temin edilebilen bir IMB ile birlikte, farklı E. coli O157: H7 ve E. coli O157: NM suşlarını yakalamak için kullanılmıştır. E. coli yakalaması, daha önce 4.5 saatlik zenginleştirmeden sonra 1 CFU / g hassasiyete sahip olduğunu gösterdiğimiz bir sandviç deneyi kullanılarak, zamanla çözünen floresan (TRF) yoğunluğu ile ölçülmüştür. Ölçülen TRF yoğunluğu ve belirlenen antikor yüzey konsantrasyonu analizleri, daha büyük taneciklerin daha küçük taneciklerden daha yüksek yanıt sinyalleri sağladığını ve saf kültür ve kıyma ile ilgilenilen hedefi yakalamada daha etkili olduğunu göstermiştir. Ek olarak, her bir IMB tipi, E. coli O157: H7'nin farklı olumlu yakalanmasını gösterirken, streptavidin kaplı IMB, ortalama olarak en yüksek yanıtı ortaya çıkarmıştır. Streptavidin kaplı IMB ayrıca analiz başına 0,50 dolardan daha az maliyetli bir ekonomik fayda sağlamıştır. Sonuçlar, E. coli O157: H7 için tespit süreçlerinin geliştirilmesinde uygulamalar için uygun IMB seçimine rehberlik etmek için kullanılabilir (Tu, et al. 2009).

Glukozun biyoelektrokimyasal tayini için elektrokimyasal olarak platin nanopartikül biriktirilmiş polivinilferrosenyum perklorat filmi üzerine o-fenilendiamin içeren enzim çözeltisi kullanılarak glikoz oksidazın immobilizasyonuna dayanan yeni bir glikoz biyosensörü hazırlanmıştır. İlk olarak, polivinilferrosenyum perklorat kaplı platin elektrot Ag/AgCl elektroduna karşı + 0,7 V'da polivinilferrosenin elektrokimyasal oksidasyonuyla hazırlanmıştır. Daha sonra platin nanopartiküller polivinilferrosenyum perklorat kaplı platin elektrot üzerine elektrokimyasal biriktirme yöntemiyle kaplanmıştır. Son olarak, glikoz oksidaz + 0,7 V'da modifiye platin elektrot üzerine o-fenilendiaminin elektrokimyasal polimerizasyonu ile eş zamanlı olarak immobilize edilmiştir. Hazırlanan biyosensörün akım cevapları enzimatik olarak ortaya çıkan H_2O_2'in elektrokimyasal oksidasyonuna dayanmaktadır. Biyosensör 17,40 μAmM-1cm-2 seçiciliği ve 0,018 mM gözlenebilme sınırı ile 0,06 mM – 9,64 mM arasında bir lineer aralık göstermiştir. Ayrıca, biyosensörün akım cevabı üzerine uygulama potansiyelinin,

polimer film kalınlığının, o-fenilendiamin konsantrasyonunun, enzim konsantrasyonunun, elektrokimyasal polimerizasyon süresinin ve sıcaklığın etkileri incelendi. Biyosensörün performansını belirleyen lineer aralık, cevap süresi, seçicilik, tekrarlanabilirlik, yinelenebilirlik ve kararlılık gibi faktörler tanımlandı. Ayrıca, hazırlanan biyosensör kan serumundaki glikoz konsantrasyonunun belirlenmesi için gerçek numune analizine uygulanmıştır (Türkmen 2015).

Gümüş ve paladyum nanopartikülleri (NP'ler) UV-Görünür spektroskopi, endüktif olarak bağlanmış Plazma Kütle Spektrometresi, X-ışını kırınımı, tarayıcı elektron mikroskopisi ve enerji dağıtıcı X-ışını analizi ile karakterize edildi. Biyosentezlenmiş gümüş nanoparçacıkların UV-Vis spektrumları 425 nm'de bir absorpsiyon bandı göstermiştir. Paladyum nanopartiküllerinin oluşumu, 410 nm'de kaybolan emilim bandı ile teyit edilmiştir. Taramalı elektron mikroskopi analizi gümüş (Ag), AgPd küresel ve paladyum (Pd) nanoparçacık morfolojisinin çubuk şeklinde olduğunu göstermiştir. Ag, Pd ve AgPd alaşımlı nanoparçacıkların elektrokimyasal davranışı, çevrim voltametri ile araştırılmıştır. Modifiye camsı karbon elektrotlar Ag, Pd ve AgPd nanoparçacıkları kullanılarak oluşturulmuştur ve 100 mV / Ag / AgCl'de 0.0 ve -0.8 V potansiyel aralığında fosfat tamponu ortamında (pH = 6.5) hidrojen peroksidin elektrokatalitik indirgenmesinde kullanılmıştır. AgPdNPs-GCE tabanlı sensör, 0,02–5,0 mM doğrusal aralıktaki H_2O_2'yi 0,52 μM'lik bir algılama limiti ile tayin edebilir. AgPdNPs-GCE, H_2O_2'nin saptanması için iyi bir tekrarlanabilirlik ve stabilite göstermiştir. Ayrıca, glikoz, askorbik asit ve ürik asit gibi bazı biyolojik türlerle herhangi bir etkileşim göstermemiştir (Turunc, et al. 2017).

Bilim dünyasınca geliştirilen teknolojinin önderliğinde, doğadaki olaylar moleküler boyutta inceleme olanağı kazanmıştır. Bilim dünyasının gelişen olayları giderek daha küçük boyutta gözlemleme ve tanımlama imkânına kavuşması, fizyolojinin ve patolojinin moleküler temellerinin aydınlatılmasını sağlamıştır. Bilim adamları, moleküler düzeyde biyolojik işlevlere müdahale etme imkânlarını araştırmaktadır. Günümüz bilim dünyasındaki en yeni kavramlardan biri olan biyosensörler, insan sağlığına yeni bir sıçrama imkânı getirmektedir. Bu biyosensörler, biyolojik sistemler ile birleştirilen sensör sistemlerini kapsar. Bu biyosensörler iki ana bölümden oluşur. Bunların birincisi biyolojik algılayıcı elemandır. Diğeri ise fizikokimyasal dönüştürücüdür. Yaşam ortamında meydana gelen değişiklikleri

algılama ve bunlara cevap verme işleyişi, biyosensörlerin gelişiminin temelini oluşturmuştur. Mikroelektronikteki son gelişmeler ve biyolojik moleküllerin olağanüstü duyarlılıktaki yanıt verme kapasitelerinin keşfedilmesi, biyosensör teknolojilerinin hızla gelişmesine neden olmuştur. Nanoteknoloji, tıbbi görüntüleme, farmakoloji, mikrobiyoloji, yara iyileşmesi, dokuların yenilenmesi, bazı kronik hastalıkların tedavisi, aşı ve genetik alanında uygulamaya girmiştir. Nanoteknolojik ürünler; hızlı teşhis ve tanı işlemlerini gerçekleştirmek, kanserin erken safhasında tanılanması, patojenlerin belirlenmesi, detaylı görüntüleme ve enfeksiyonların önlemesi için fayda sağlamaktadır. Neticede; tıp, eczacılık, gıda güvenliği, çevre kirliliği, askeri uygulamalar gibi farklı sahalarda kullanılmak üzere farklı tipte biyosensörler geliştirilmiştir. Bu derlemede, tıbbi ölçüm ve analizlerde kullanılan biyosensörlerin özellikleri belirlenmiş ve literatür de yer alan farklı özelliklere göre sınıflandırmalara yer verilmiştir (TÜYLEK 2017).

HRP için elektrokimyasal bir substrat olarak 3,3 5, 5,5 p-tetrametilbenzidin (TMB) kullanımı araştırılmıştır. HRP aktivitesi, 0.1 mol l-1 sitrat-fosfat tamponunda (pH 5.0) Ag / AgCl'ye karşı +100 mV'de polarize edilmiş camsı bir karbon çalışan elektrotta akış enjeksiyon analizi kullanılarak tespit edilmiştir. Optimum konsantrasyonlar 2 x 10^{-4} M TMB ve 10^{-3} M H_2O_2 idi. 15 dakikalık inkübasyondan sonra elde edilen tayin sınırı, amperometrik yöntemle 8.5 x 10^{-14} M HRP idi. Bu sınır HRP substratı olarak hidrokinon kullanılarak elde edilen sınırdan daha düşüktü ve p-aminofenil fosfat-alkalin fosfataz sistemi ile karşılaştırılabilir. Bir model olarak tavşan immünoglobulin G için rekabetçi bir ELISA'da TMB kullanılarak spektrofotometrik saptamadan daha iyi performans elde edilmiştir (Volpe, et al. 1998).

Biyosensörlerin anestezi uygulanan sıçanların prefrontal korteksinde glutamat nakil engelleyici DL-TBOA'nın modülasyonlu glutamat konsantrasyonları üzerindeki etkisini izleme yeteneğini araştırılmıştır. Optimize edilmiş biyosensörler, hücre dışı glutamatta hızlı bir 35 kat artış kaydedilmiştir ve in vivo daha ileri araştırmalar için uygun kabul edilmiştir (Wahono, et al. 2012).

Ye ve arkadaşları Rutenyum (Ru) nanoframlarının doğal peroksidaz benzeri özelliklerini bildirmektedir. Paladyum (Pd) tohumları ile şablonlama işleminden sonra, oktahedral şekilli Ru nanoframlar, ortalama kenar uzunluğu 6.2 nm ve kalınlığı 1.8 nm, yüksek saflıkta (>% 95) ve iyi bir homojenlikte sentezlendi. Bir model katalitik

reaksiyon olarak H_2O_2 ile 3,3 8, 5,5p-tetrametilbenzidin (TMB) oksidasyonu kullanılarak Ru çerçevelerinin, renkli ürünlerin oluşumunu katalize ederken doğal peroksidazlardan yaklaşık üç kat daha aktif olduğu gösterilmiştir. Doğal muadillerine kıyasla Ru çerçeveleri, TMB'ye daha güçlü bir bağlanma afinitesinin yanı sıra kataliz sırasında hidrojen peroksite daha zayıf bir bağlanma afinitesine sahiptir. Peroksidaz taklitleri olarak Ru çerçevelerinin kimyasal ve termal olarak kararlı olduğu kanıtlandı. Bu çalışma Ru nanoyapı temelli peroksidaz taklitlerinin ilk tanıtımını temsil etmektedir ve bu nedenle Ru nanomalzemelerinin biyo-uygulamaları üzerine gelecekteki araştırmalara ilham vermesi beklenmektedir (Ye, et al. 2016a).

İntegre elektrot substratı üzerinde azaltılmış grafen oksit / titanyum dioksit (rGO / TiO_2) tabakalı film birikimi, formaldehitin (HCHO) oda sıcaklığında iz tespiti için basit termal işlemle geliştirilmiştir. Katmanlı film, UV-vis spektroskopisi, Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) ve taramalı elektron mikroskopisi ile karakterize edildi ve rGO / TiO_2 tabakalı filmin formaldehit algılama performansları, 0.1 ppmv'den 0.5 ppmv'ye kadar düşük tespit konsantrasyonları üzerinde araştırıldı. Isıtma işlemi sırasında rGO tabakalarının ilginç bir ani davranışı gözlemlenmiş ve tartışılmıştır. Bununla birlikte, tGO petek ağının ayrılması, TiO_2 nanoparçacıkları ve grafen tabakaları arasındaki sinerjik etkileşimle indüklenebilen yüksek sıcaklıkta rGO / TiO_2 tabakalı film için önlenmiştir. Algılama testi sonuçları, rGO / TiO_2 sensörünün hızlı tepki, mükemmel seçicilik, iyi tekrarlanabilirlik ve 0,8 ppmv − 1'lik kayda değer duyarlılık sergilediğini ve bu da rGO bazlı olandan daha yüksek olduğunu gösterdi (0,5 ppmv − 1). Ayrıca formaldehit algılama mekanizması, katalitik reaksiyonların kombinasyonuna ve TiO_2 nanoparçacıklarının destek fonksiyonuna dayanılarak analiz edilmiştir (Ye, et al. 2016b).

İki doğal polisakaritten (hiyalüronik asit ve kitosan) oluşan polielektrolit çok katmanlı (PEM) filmler, biyouyumlu mezoporöz silika nanopartiküllerinin (MSNP'ler) üzerine katman katman (LbL) düzeneği yoluyla bırakılmıştır. Polielektrolit çok katmanlı kaplamalı mezoporöz silika nanopartiküller (PEM-MSNP'ler) zayıflatılmış toplam yansıma – fourier dönüşüm kızılötesi spektroskopisi (ATR – FTIR), transmisyon elektron mikroskobu (TEM), taramalı elektron mikroskopisi (SEM), azot adsorpsiyon-desorpsiyon izotermleri, UV kullanılarak karakterize edilmiştir (Vis ve floresans spektrofotometre). Ticari olarak temin edilebilen ve endüstriyel olarak kullanılan bir

optik parlatıcı olan 4,4'-distirilbifenil sülfonat sodyum tuzu (CBSX), pH'a duyarlı salım için kullanımlarını değerlendirmek üzere nano-kaplara (CBSX @ PEM-MSNP'ler) yüklenmiştir. PH değerine yanıt olarak nanocontainer'lardan CBSX'in kontrollü salınımı, su içinde UV-vis ve floresan spektrofotometre kullanılarak izlenir ve kapsüllenmiş CBSX'in neredeyse tamamı, pH 7'de 2 saat içinde serbest bırakılır. Bir selüloz kumaş üzerindeki pH 7, selüloz kumaşların optik ağartılması için nano-kaplayıcıların pH'a duyarlı beyazlatıcı maddeler olarak büyük bir potansiyel sergilemektedir (Yilmaz 2016).

Kitosan-kobalt (II) kompleksi (CTS-Co), kitosanın kobalt (II) iyonları ile kompleksleştirilmesiyle hazırlanmıştır Fourier dönüşümü kızılötesi spektrumları, kitosanın amin ve sekonder -OH gruplarının Co (II) iyonları ile kompleksleşmeye karıştığını göstermiştir. Elde edilen CTS-Co, termogravimetrik analize göre kitosandan biraz daha düşük termal stabilite sergilemiştir. Kitosan ile karşılaştırıldığında, CTS-Co çok daha güçlü in vitro antifungal aktiviteye sahiptir. Üç patojenik mantarlara karşı minimum inhibitör CTS-Co konsantrasyonları, mantar türlerine bağlı olarak 250-500 ug / mL idi. CTS – Co (II), hücre zarının bütünlüğündeki bozulmanın CTS – Co'nun olası bir antifungal etkisi olduğunu gösteren hücre içi bileşenlerin ciddi sızıntısına neden olmıştur. Ayrıca, CTS – Co(II) tedavisi, salatalık fidelerinde hastalık sönümleme insidansını önemli ölçüde azalttı ve nispi kontrol etkisi, 21 günlük ekimden sonra% 72.2-74.3'e ulaştı. Ek olarak, düşük moleküler ağırlıklı CTS-Co, salatalık fidelerinin büyümesini teşvik etti. Sonuçları, CTS – Co'nun olası bir antifungal ajan olduğunu ve bitkisel üretimde patojenik hastalıkların kontrolü üzerinde umut verici potansiyele sahip olduğunu göstermektedir (Yu, et al. 2016).

Bu çalışmada, paladyum / karbon nokta kompozitleri (Pd-CD'ler), etandiamin kullanılarak bir yüz hidrotermal yolla üretildi. Elde edilen Pd-CD'ler mükemmel bir intrinsik peroksidaz benzeri aktivite gösterdi. 3,3′5,5′-tetrametilbenzidinin hidrojen peroksit (H_2O_2) yardımıyla oksitlenmesini katalize ettiğine dair sonuçlar alınmıştır. 652 nm'de ortaya çıkan bir absorpsiyon zirvesi ile birlikte renk değişimi içindedir. Böyle bir yanıt H_2O_2 konsantrasyonuna bağlıdırve 0,03 μM saptama sınırı ile 0,1 ila 30 μM aralığında H_2O_2 testine izin verir. Eş zamanlı olarak, glikozun enzimatik oksidasyonu ile glikoz oksidaz ve Pd-CD katalitik reaksiyonun kombinasyonu ile, yüksek seçicilik ve hassasiyetle (0.2 μM kadar düşük tespit limiti) glikoz tayini için bir kolorimetrik

algılama platformu da inşa edildi. Ek olarak, önerilen yöntem, biyokimyasal analizde potansiyel uygulama olasılıklarını gösteren tatmin edici geri kazanım (% 98.5-103) ile gerçek numunelerde (meyve suyu) glikoz tayini kabiliyetini sergilemiştir (Zhuo, et al. 2020).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Cihazlar ve Malzemeler

Bu çalışmada gerçekleştirilen ve hizmet alımı yoluyla elde edilmeyen tüm deneyler Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi Kitargem binasında bulunan cihazlarla gerçekleştirilmiştir. Elektrokimyasal ölçümler potansiyometre analiz cihazı (Gamry E1010); spektroskopik absorbans ölçümlerinde ise mikroplaka okuyucu cihazı (Biotek Epoch 2) kullanılmıştır. Fosfat iyonlarına bağlanan aptamer Oligomer (Ankara) şirketi tarafından sentezlenmiştir. Kullanılan aptamer dizisi 3’ ucunda amino işaretli olan ve aşağıda verilen bulunan dizidir (Huizenga and Szostak 1995; Özalp and Schäfer 2011):

5’-CACCTGGGGGAGTATTGCGGAGGAAGGTTCCAGGTG-NH_2-3.

3.2. Kullanılan Cihazlar

Deneylerde; pH ölçümlerinde ORION marka pH iyon metre, çözeltileri daha homojenize hale getirmek için Q-SONICA marka sonikatör, numune alımlarında hassas tartım yapabilmek için 0.1 mg duyarlılıkta ACCULAB marka cihaz, çözeltileri daha iyi homojenize elde edebilmek için DAIMAH SCIENTIFIC V 10 marka voltex cihazı kullanılmıştır.

Karakterizasyon ölçümlerinde ise; FTIR ve TGA ölçümü Ortadoğu Teknik Üniversitesi bünyesinde yapılıp Perkin Elmer 400 cihazı kullanılmıştır. ICP-OES analizleri Düzce Üniversitesi bünyesinde yapılmış olup Perkin Elmer Avio 500 cihazı kullanılmıştır. Hazırlanan silika partiküllerin görüntü şekillerini anlayabilmek için Jeol 2100F HRTEM marka cihaz ile TEM fotoğrafları alınmıştır. Ölçümler Selçuk Üniversitesi İltek biriminde yapılmıştır. Partikül boyutunu ve ebatı gözlemleyebilmek için Malvern marka DLS&ELS Zetasizer sistemi kullanılmıştır.

3.2.1. Elektrokimyasal analizler

Elektrokimyasal ölçme işlemlerinde Gamry potentiostat interface E1010 marka cihaz kullanılmıştır (Şekil 3.1). Referans elektrot olarak SKU 930- 00003 no'lu kalomel civa elektrot, karşıt elektrot olarak SKU 935- 00056 no'lu platin tel ve çalışma elektrodu olarak SKU 932-00022 no'lu olarak ise 12 mm^2 yüzey alanlı camsı karbon elektrot kullanılmıştır. Elektrokimyasal deneyler Dr. Bob hücresinde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1. Elektrokimyasal ölçümlerin alındığı hücre sistemi

3.2.2. Absorbans ölçüm cihazı

Absorbans ölçümlerinde EPOCH 2 mikro plaka okuyucu (Biotek) marka cihaz kullanılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Absorbans ölçümlerinin alındığı mikro plaka okuyucu cihazı

3.3. Kullanılan Kimyasal Malzemeler ve Özellikleri

Tablo 3.1. de kullanılan kimyasal malzemeler ve özellikleri gösterilmiştir.

Kimyasal Madde	Saflık Dereceleri	Temin Edildiği Firma
Kitosan (CTS)	-	Clariant
Potasyum klorür(KCl)	% 99	Sigma & Aldrich
Kobalt klorür ($CoCl_2$)	-	Sigma & Aldrich
Hidroklorik asit (HCl)	% 99	VWR chemicals
Tetraetilortosilikat	% 37	Sigma & Aldrich
Hekzadesiltrimetilamonyumbromid	-	Sigma & Aldrich
3,3’ 5,5’tetrametilbenzidin (TMB)	% 98	Sigma & Aldrich
Sodyum hidroksit (NaOH)	-	Fluka
Paladyum Karbon (Pd/C)	-	Sigma & Aldrich
Sülfürük asit (H_2SO_4)	-	VWR chemicals
Metanol	% 95	VWR chemicals
Etil asetat	-	VWR chemicals
Kloroform	-	VWR chemicals
Sodyum fosfat tribasic dodekahidrat	-	Sigma & Aldrich
Sodyum sitrat dihidrat	% 98	Merck
5’ adenozin trifosfat disodyum tuzu (ATP)	% 99	Sigma & Aldrich
Etanol (C_2H_5OH)	% 99	Sigma & Aldrich
Asetik asit (CH_3COOH)	% 99	Sigma & Aldrich
Alümina suspension	% 97	Metkon

Tablo 3.1. Kullanılan kimyasal malzemeler ve özellikleri

3.4. Tampon Çözeltisinin Hazırlanması

Reaksiyonların gerçekleşeceği 0.1 M KCl+sitrat+fosfat tampon çözeltisi hazırlamak için 3.7 g KCl alınarak 500 ml ye tamamlanmıştır. Hazırlanan KCl çözeltisine 0.15 g sodyum sitrat dihidrattan eklenmiştir. Sodyum dihidrojenfosfatmonohidrat ve disodyumhidrojenfosfatdihidrattan fosfat konsantrasyonu 0.1 M olması için gereken miktarlarda hazırlanmıştır. Bu solüsyon pH metrede 8.23 çıkmaktadır. pH (v/v) 1:10 olacak şekilde hazırlanan HCl solüsyonu vasıtasıyla pH 5.5 e ayarlanmıştır.

3.5. Hidrojen Peroksit Çözeltisinin Hazırlanması

% 30 (w/w) 0.2 mM H_2O_2 çözeltisinden 50 ml hazırlanmıştır. H_2O_2 solüsyonu oksitleyici solüsyonu olarak kullanılır. H_2O_2 solüsyonundan hazırlanması için 300 g alınan H_2O_2 8.8 M'a denk gelir ve 0.2 mM olarak 50 ml hazırlanmamız gerektiğinden 1 µl numune, 50 µl ye tamamlanmıştır. Hacimler farklılaştırılmak istenirse, hacimsel değişmeler orantısal olarak değiştirilir.

3.6. Kitosan-Kobalt Sentezi

1 g CTS (v/v) % 0.5 olan 60 ml lik CH_3COOH ile çözünmüştür. 120 ml 12.8 mmol/L $CoCl_2$ karışıma ilave edilmiştir. Reaksiyon için 1 gün beklenilmiştir. Bir gün süresince magnetik karıştırıcıda tepkimeye girmesi sağlanmıştır. Reaksiyondan sonra sonra 10 mol/L NaOH ile pH 8' e getirilmiştir. Renk gri-siyaha dönüşerek CTS-Co(II) kompleks çökeleklerin oluşumu sağlanmıştır. 1 gün reaksiyona girmesi için bekletilmiştir (Yu, et al. 2016). Sonra, numuneyi 4˚C de iki saat bekletilerek süzülmüştür. Süzülen CTS-Co kompleksi (v/v) % 50 etil alkol ile üç kere yıkanmıştır. Üç gün oda şartlarında kuruması beklenilmiştir (Yu, et al. 2016).

3.7. Mesoporus Silika Nano Parçacıkların (MSNPs) Sentezi ve Aptamer kapılar ile tutuklanması

400 mg NaOH 5 ml saf suda çözünerek homojenleştirilir. 1g hekzadesiltrimetilamonyumbromid ilave edilir. 3.5 ml hazırlanan 2 M NaOH solüsyonundan eklenir. Isı 70^0C ye altında 15 dk zamanlamalarla 22.4 mM tetraetilortosilikattan 5 ml ilave edilerek tepkimenin tümden beyaza dönüşmesi için 2

saat ısı altında tutulur. Ardından vakum ile beş kez metanol ve saf sudan geçirilerek safsızlıklar uzaklaştırılır (Yilmaz 2016).

MNSP'lere TMB yüklemesi ve aptamer kapılar ile kaplaması için daha önce yayınlanmış prosedürler takip edilmiştir (Ozalp, 2011). MSNP'ler öncelikle bir gün boyunca 1 g/ml TMB solüsyonu içerisinde bekletilerek yükleme yapılmıştır. En az üç kere PBS tamponuyla yıkama sonrasında partiküllerin yüzeyi epoksi grupları ile fonksiyonlaştırılmıştır. Son olarak amino işaretli fosfat iyonuna bağlanan aptamer dizileri pH=9.1 bikarbonat tamponunda bir gece bekletilerek epoksi grupları ile amino grupları arasında kovalent bağların kurulması sağlanmıştır. En az üç kere PBS ile yıkama sonucunda partiküller kurutularak kullanım zamanına kadar +4 derecede saklanmıştır. TMB salımı spekroskopik olarak peroksidaz varlığında incelenmiştir. Bu incelemelerde ölçümler 0.2 M KCl + sitrat tampon çözeltide 0.2 mM H_2O_2 varlığında yapılmıştır. Absorbans ölçümlerinde 5.5 pH aralığı seçilmiştir. HRP için Pd/C çalışmaları için ortalama 20 dakika zaman aralığı belirlenmiştir.

3.8. Elektrokimyal Analizler

Ölçümlerde elektrotların hidrojen perokside oksidasyon için duyarlılığı araştırılırken, peroksidin yükseltgenebilmesi ve substratı aktifleştirmesi için uygun potansiyelin belirlenmesi amacıyla çeşitli çalışma aralıklarında potansiyel ölçümler alınmıştır. Bu potansiyeller şöyledir: -0.4 V- +0.4 V, -0.5- +0.5 V, -0.5 V- +0.6 V, 0- 0.8 V. Deneylerde -0.6 ve +0.8 V arasındaki potansiyelin kullanılmasına karar verilmiştir.

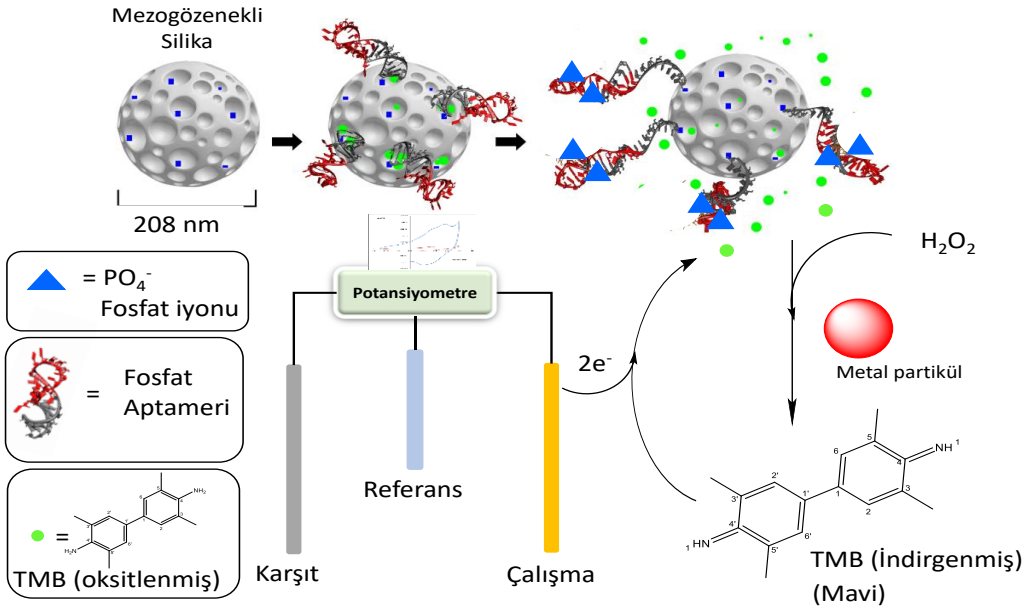
3.9. Elektrokimyasal Analizlerde Çevrim Sayısının Etkisi

Literatürlerde elektrot alanları ile devreden geçen yük miktarının çevrim sayısı ile ilişkili olduğu belirtilmektedir. Ancak kullanılan cihazda yük saymak mümkün olmadığından çevrim döngüsü değiştirilerek ölçüm alınmıştır. Hazırlanan elektrotlar için 1, 3 ve 10 çevrim alınarak deneyler yapılmıştır. Kitosan-kobalt (II), kobalt ve kitosan için 1 çevrim alınırken Pd/C ve aptamerler için 3 ve 10 çevrim sayısı alınmıştır.

Ölçümlerde daha iyi ve güvenilir sonuçlar alabilmek için ve karşılaştırmak için farklı tarama hızlarında taramalar yapılmıştır. 50, 80 ve 100 V/s tarama hızları seçilerek genelde 50 V/s tarama hızında ölçüm yapılmıştır.

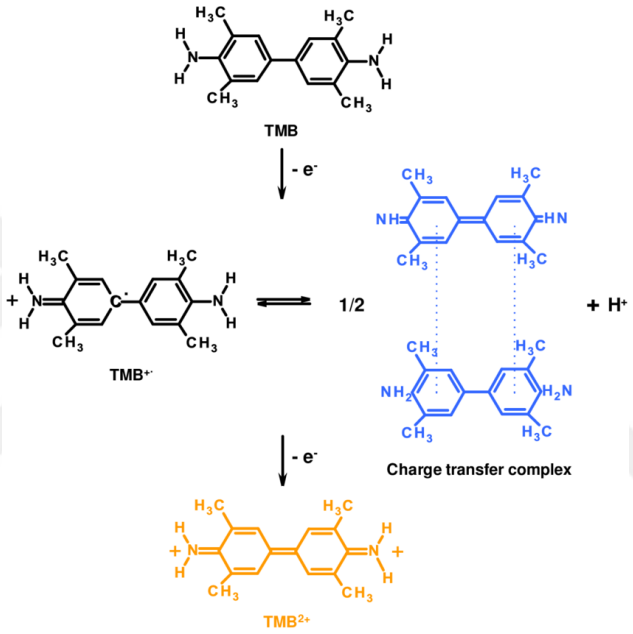
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Bu çalışmada 3,3' 5,5' tetrametilbenzidin (TMB) kullanılarak fosfat iyonlarını tayin edebilen elektrokimyasal bir biyosensör geliştirilmesi amaçlanmıştır. Şekil 4.1'de bu çalışmada gerçekleştirilen fosfat biyosensörünün çalışma prensibi anlatılmıştır. Geliştirilecek biyosensör hedefe spesifik (fosfat iyonu, PO_4^-) aptamer dizileri ile hedef molekül fosfat iyonunun bağlanma afinitesinin elektrokimyasal sinyale dönüştürülmesi prensibine dayanmaktadır. Aptamerler moleküler kapı yapıları olarak kullanılmış ve mezo gözenekli silika nanopartikülleri içerisine TMB moleküllerinin hapsedilmeleri için kullanılmıştır. Aptamer-fosfat iyonu arasındaki etkileşim aptamerlerin moleküler konformasyonlarının değişmesine neden olmakta ve gözeneklerdeki TMB molekülleri dışarıya doğru salınmaktadır. Böylece peroksidaz aktivitesi bulunan metal nano materyaller ile etkileşerek oksitlenmektedir. Ortamda bulunan TMB çalışma elektron yüzeyine reaksiyonun ortamının karıştırılması yoluyla ulaşmakta ve elektron akışı sağlayarak bir indirgenme sinyali üretmektedir. Bu biyosensör düzeneğinin en önemli avantajı protein gibi oda sıcaklığında uzun süreli saklanamayan moleküller içermediğinden raf ömrünün antikor ile geliştirilen benzer sistemlere göre çok uzun olmasıdır.



Şekil 4.1. Bu çalışmada geliştirilen fosfat elektro aptasensörünün çalışma prensibi.

Bu amaçla TMB'yi aptamere hapsederek yapay enzimlerle fosfat tayinine yönelik aptasensör geliştirilmesi amaçlanmıştır. TMB peroksidaz enzimleriyle çalışılan kolorimetrik gözle görülür renk değişimi sebebiyle çok tercih edilen kromonojik substrat vazifesini üstlenir. Gözle görülür renk değişimi performansı sebebiyle elisa / mikroplaka kit çalışmalarında genelde kullanılır. TMB, H_2O_2 ile oksidasyon yaparak elektron ayrılması ile radikalik deneysel tepkimeleri görme durumuna açık hale gelir (şekil 4.2). Enzim gibi radikalik katalizörlerin süreci çabuklaştırmasıyla renk maviye değişir.



Şekil 4.2. TMB'nin oksitlenme reaksiyonu (Frasca 2012)

Bu çalışmada, TMB redüksiyonunda sıklıkla kullanılan enzim olan peroksidazın (HRP) yerine kullanıbileceği literatürde gösterilmiş metal partiküllerinden kobalt ve Pd/C üzerinden çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar elektrokimyasal potansiyostat – galvonastat ve mikro plaka kit mikro tabaka ölçümleri üzerinden yapılmıştır. Sensör ölçümlerinde enzimler düşük sıcaklıklarda, belli konsantrasyon aralıklarında ve özel şartlarda düşük pH aralıklarında çalışır ve düşük stabilite gösterir. Bu nedenden biyosensör uygulamalarında bir dezavantajdır. Bu sebeple enzim yerine kullanılabilecek materyaller araştırılmıştır. Geçmiş çalışmalarda; altın, demir, rutenyum, kitosan, gümüş vs gibi materyaller enzimleri taklit ettiği gözlemlenmiştir (Cao, et al. 2017; Jiang, et al. 2012; Nangia, et al. 2012; O'Neill, et al. 2004; Ye, et al. 2016a).

Bu çalışmada, ilk olarak kitosan-kobalt peroksidaz (HRP) enzimi yerine TMB redüksiyonuna bağlı bir sistem geliştirmek için incelenmiştir. Fakat hedeflenen verimlilikte peroksidaz aktivitesi görülemediğinden Pd/C peroksidaz aktivitesi için incelenmiş ve daha iyi sonuç alındığı sonucuna varılmıştır.

Aptamerler daha önce elektrokimyasal biyosensör geliştirmek için kullanılmıştır. Bu çalışmaların büyük bölümü aptamerlerin çalışma elektrotuna sabitlenmesi ve hedef moleküllerle bağlanma sonrasında oluşan elektrokimyasal değişikliklerin ölçülmesi yoluyla yapılmıştır (Derkus and Acar Bozkurt 2018). Bu çalışmada kullanılan fosfat iyonuna bağlanan aptamer Huizenga ve ekibi tarafından yayınlanmış ve geliştirilen aptasensörlerinin büyük kısmında ilk kullanılan aptamer dizisi olmuştur (Huizenga and Szostak 1995). Bu çalışmada fosfat varlığını tayin edebilen bir elektrokimyasal aptasensör geliştirilmesi hedeflenmiştir. Fakat, genellikle çalışmalarda sıklıkla kullanılan enzim yerine (HRP) olmadan HRP'nin peroksidaz aktivitesini taklit eden metal partikülleri kullanılmıştır.

Bu durumu daha iyi anlayabilmek ve karşılaştırma veriler arasında karşılaştırma yapabilmek için öncelikle yerini taklit edilmesi istenen HRP'nin katalizleyici analitik ölçümleri alınmıştır. Ardından HRP'yi taklit edip etmediğini anlayabilmek amacıyla sentezlediğimiz kitosan-kobalt(II) (CTS-Co(II)), ayrı ayrı kobalt iyonu ve kitosan (Co(II), CTS) incelenmiştir. Bu deneylerde istenen sonuçlara ulaşılamaması nedeniyle yine literatürde peroksidaz aktivitesi gösterdiği bilinen paladyum karbon ticari olarak temin edilerek analitik uygulamalarına bakılmıştır. Bu materyallerin analitik ölçüm sonuçları birbiriyle kıyaslanarak CTS-Co(II), CTS ve Co(II) ın uygun enzim görevi üstlenemeyeceğini ama Pd/C'un bunu yerine getirdiğini gözlemlenerek yapay enzim

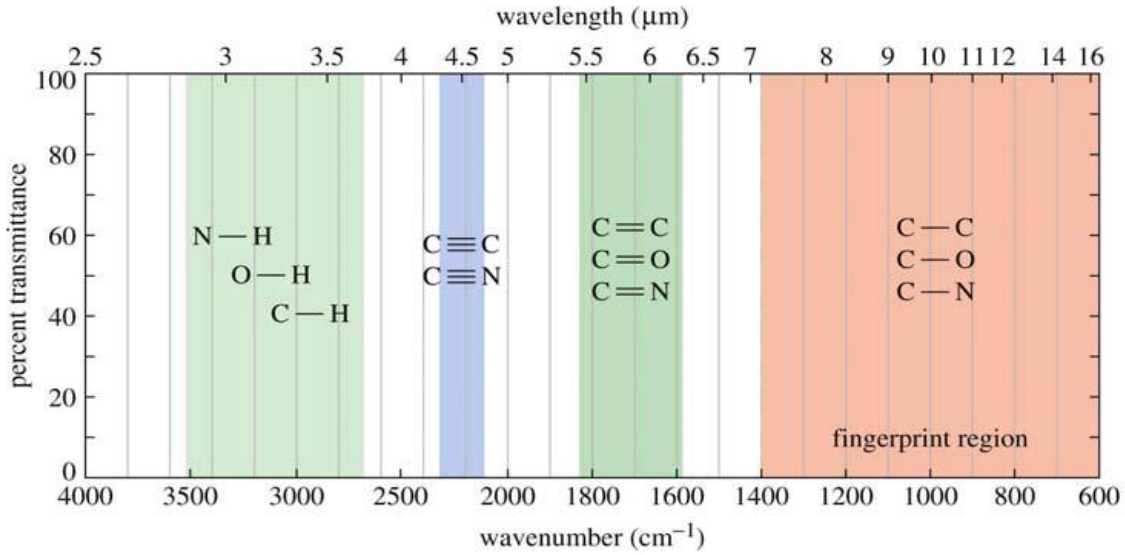
Pd/C destekli aptamere TMB hapsedilerek aptasensör geliştirilmiştir. Fosfata yönelik bir aptasensörün elde edilmesine yönelik analitik çalışmalar yapılmıştır.

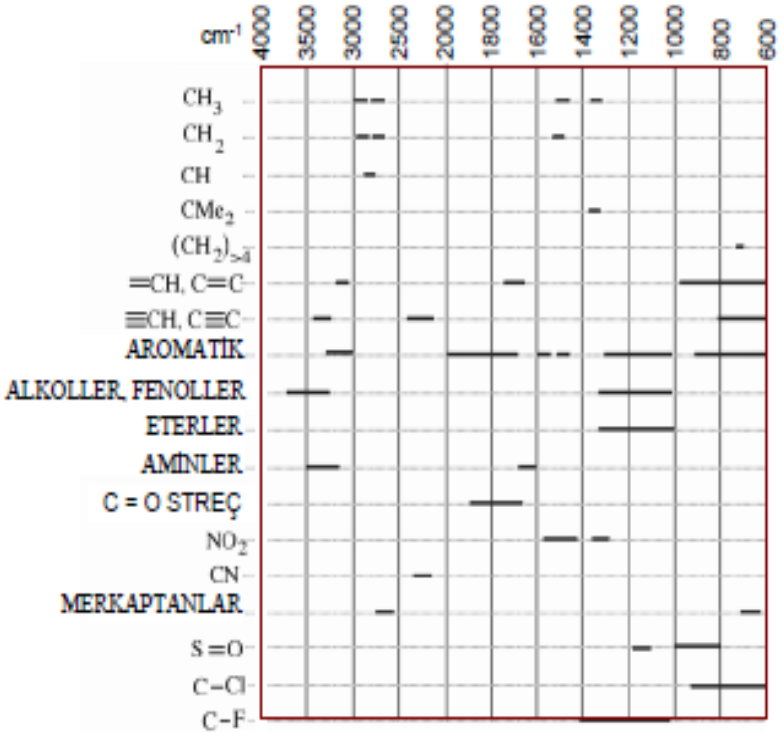
4.1. Karakterizasyon Ölçümleri

Aptasensör çalışmaları ve elektrokimyasal uygulamalardan önce karakterizasyon ölçümleri alınmıştır. CTS-Co(II) partikülleri için, FTIR, TGA ve ICP-OES ölçümleri alınırken, Pd/C için içeriğinde paladyum miktarını desteklemek amacıyla ICP-OES, aptamer çalışmaları için sentezlenen MSNPs şekil ve görüntüleri için TEM ve partikül büyüklüğü, zeta potansiyeli ölçümleri için DLS&ELS karakterizasyonları alınmıştır.

4.1.1. Kitosan-kobalt karakterizasyonları

Sentezlenen kitosan-kobalt kompleks oluşumu öncelikle FTIR analizi ile karakterize edilmiştir. Selçuk Üniversitesi İleri teknoloji ve Araştırmak Merkezi (İltek) tarafından yapılan FTIR analiz sonuçlarına göre, 2300-1800 cm^{-1} aralığında olan küçük sinyaller ATR kristaline aittir ve önemsenmemiştir. CTS-Co(II) kompleksinin FTIR analiz sonucu şekil 4.2 de gösterilmiştir. FTIR spektroskopi sonuçlarında gerek CTS nin gerek sentezlenen CTS-Co(II) kompleksinde genellikle benzer dalga skalalarında sinyaller görülmüştür. Bu benzerlik iki numuneninde kitosan içerdiğini göstermektedir. Ayrıca kobalt varlığına işaret eden piklerde mevcuttur. CTS ve CTS-Co(II)'a ait çeşitli fonksiyonel grupların FTIR karakterizasyonu sonucu absorblandıkları frekans aralıklarını literatürde verilen "frekans çizelge ilişki" tablosuna göre değerlendirilmiştir (Skoog and West 1981).



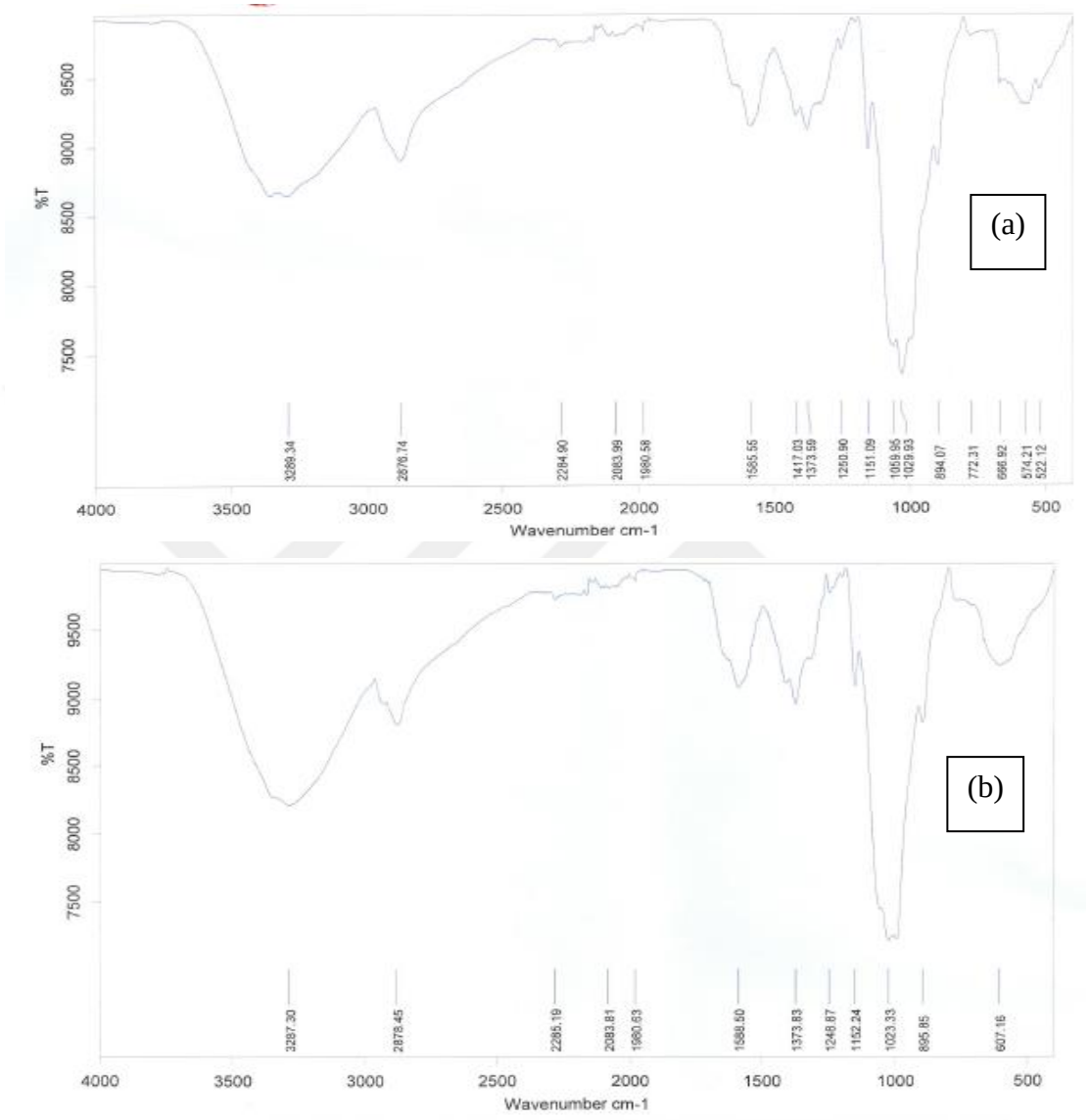


Tablo 4. 1. IR spektra ilişki çizelgesi (Skoog and West 1981)

Bağ	Bileşiğin Tipi	Dalga Sayısı (cm^{-1})	Şiddeti
C-H	Alkan	2850-2970	k
C-H	Alken (>C=C<)	3010-3095; 675-995	o, k
C-H	Alkin (-C≡H)	3300	k
C-H	Aromatik halka	3010-3100; 690-900	o, k
O-H	Monomerik alkol, fenol	3590-3650	d
	H- bağlı alkol, fenol	3200-3600	d
	Monomerik karboksilik asit	3500-3650	o
	H-bağlı karboksilik asit	2500-2700	g
N-H	Amin, amid	3300-3500	o
C=C	Alken	1610-1680	d
	Aromatik halka	1500-1600	d
C≡C	Alkin	2100-2260	d
C-N	Amin, amid	1180-1360	k
C≡N	Nitril	2100-2260	k
C-O	Alkol, eter, karboksilik asit,ester	1050-1300	k
C=O	Aldehit, keton, karboksilik asit, ester	1690-1760	k
NO_2	Nitro bileşikleri	1500-1570, 1300-1370	k
k: kuvvetli, o: orta, d: değişken, g: geniş			

Tablo 4.2. Organik grupların FTIR karakterizasyonu frekans aralıkları (Skoog and West 1981).

Tablo 4.1'e göre IR spektra ilişki çizelgesi bandına göre, IR karakterizasyonlarından elde edilen frekans sonuçları, bandın sol tarafına doğru gittikçe bazik, sağ tarafına doğru gittikçe asidik bir özellik gösterir. Tablo 4.2'de organik grupların FTIR karakterizasyonu band frekans skala aralıkları gösterilmiştir (Skoog and West 1981).

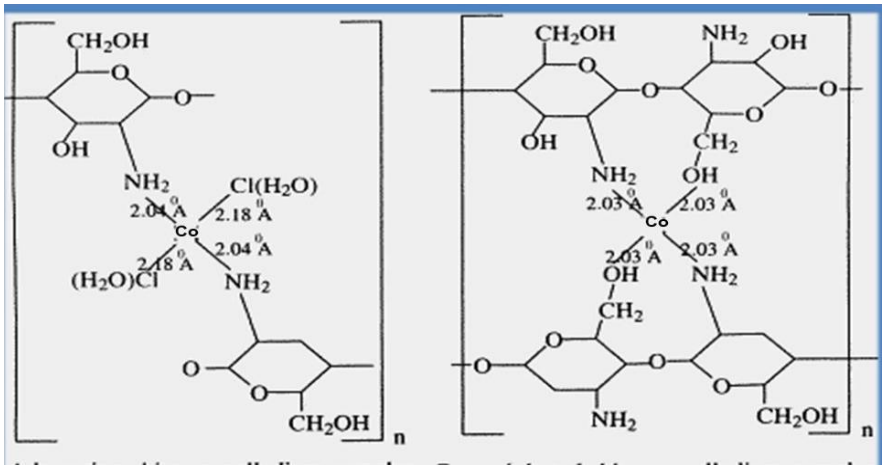


Şekil. 4.3. CTS (a) ve CTS-Co(II) (b) FTIR sonuçları

Şekil 4.3'e göre elimizdeki CTS ve sentezlediğimiz CTS-Co(II) kompleksinin sonuçları belirlenmiştir. Bu tür polimer yapılı çalışmalarda FTIR analizleri moleküllerin fizikokimyasal bazı özelliklerini belirlemek için kullanılır. CTS ve CTS-Co yapılarının FTIR spektrumları 500-4000 cm^{-1} dalga sayıları aralığında belirlenmiştir ve şekil 4.3'de CTS(a) ve CTS-Co(II) (b) şeklinde verilmiştir. CTS'nın FTIR spektrumlarında 3289 cm^{-1} de O-H ve N-H gerilim bandları geniş bir band olarak görülmektedir. Polimerik yapılarda bağ gerilim bandları çok keskin izlenemez burada da çift pikli olması gereken

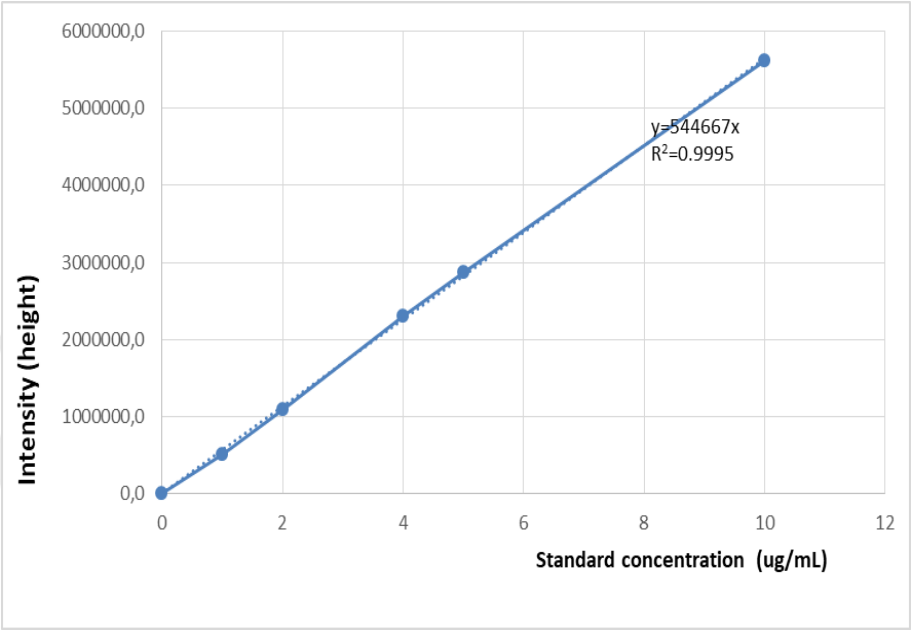
NH_2 uçların N-H gerilimleri O-H gerilimleri tarafından örtülmüştür. CTS'nın değişik amid ve asetamid uçlarında (-NH_2) bandları karakteristik olarak 1585, 1417 ve 1373 cm^{-1} de gözlenmiştir. C-O-C asimetrik gerilim titreşimleri 1151 cm^{-1} de gözlenmiştir. Sırası ile 1059, 1029 ve 894 cm^{-1} de C-O, birincil O-H ve ikincil O-H gerilme titreşimleri gözlenmiştir (Brunel, et al. 2013; Gündüz 1988; Yu, et al. 2016).

Kompleksleşme sonrasında, kompleks yapıda hidroskobik nemden dolayı özellikle kobalt (Co) grubu elementlerin komplekslerinde bandlar geniş olduğu için aynı zamanda da polimerik bir metal kompleksi olduğu için polimerik ligandan fazla değişiklik gözlenmez, fakat Co-N ve Co-O bağlanmalarından dolayı bazı düşük frekanslı kaymalar belirlenebilir. 3289 cm^{-1} deki O-H ve N-H pikleri 3287 cm^{-1}'e kaymış gözlenmektedir. Ayrıca C-O pikleri 1585 cm^{-1} den 1689 cm^{-1} e kayma göstermiştir. Bu kayma da Co-O arasındaki kompleksleşme olduğunu göstermektedir. 1417 cm^{-1} deki pikin 1373 cm^{-1}'e kayması gözlenmiş bu kayma da Co-N etkileşimi var ama zayıf olduğunu göstermektedir. Bu değerler göz önüne alınarak polimerik molekül olan kitosan yapısındaki C-OH ve C-NH_2 uçlarının Co(II) ile kompleks bir yapı oluşturduğunu göstermektedir (Singh, et al. 2007). Co(II) asidik bir yapı olduğundan kompleksleşme esnasında C-OH ve C-NH_2 uçlarındaki N ve O atomları üzerindeki serbest elektron çiftlerini bağ yapmak için çekmesi sonucunda, CTS'nın FTIR piklerinin CTS-Co(II) piklerinde bazı kaymalara yol açtığı gözlenmiştir (Kramareva, et al. 2004; Skoog and West 1981). Şekil 4.4'te CTS-Co(II) in kompleksinin yapısı gösterilmiştir (Kramareva, et al. 2004).

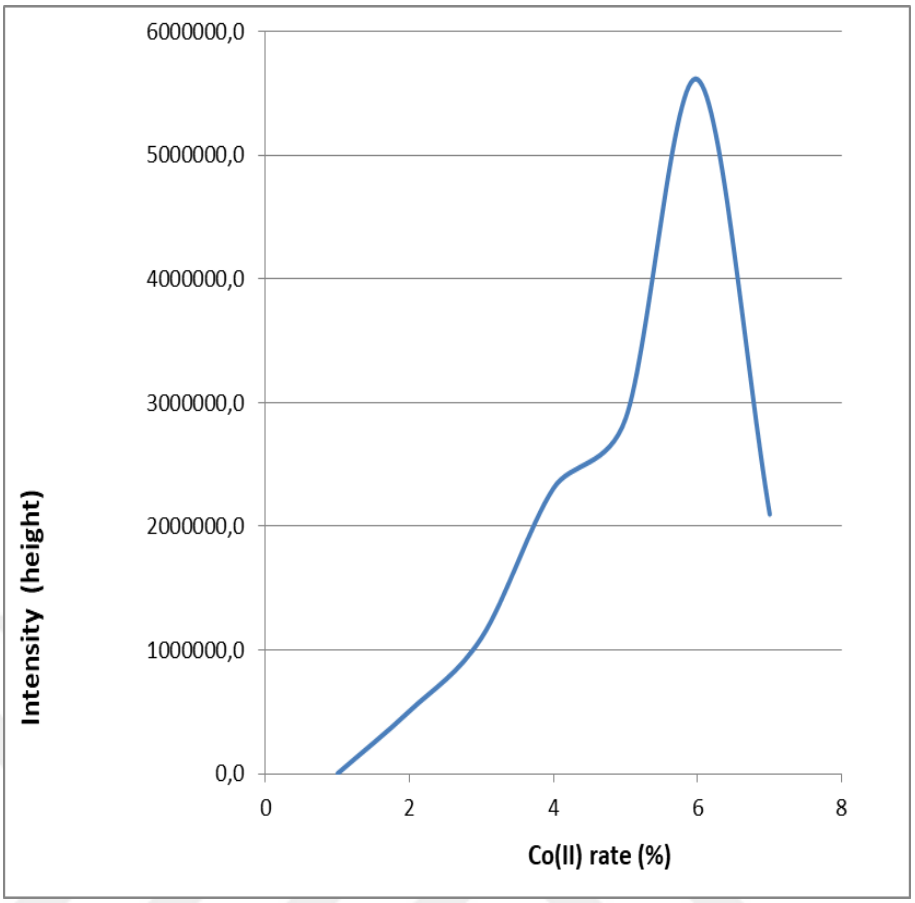


Şekil 4.4. CTS-Co(II) kompleksinin farklı boyutlarla yapısı (Kramareva, et al. 2004).

ICP-OES karakterizasyonu ne kadar kobalt miktarı olduğu belirlenmek için kullanılmıştır. Oluşturulan kalibrasyon eğrisi ile kullanılarak sentezlenen kitosan-kobalt komplexi içerisinde % 5.05 kobalt bulunduğu saptanmıştır (şekil 4.5 ve şekil 4.6).

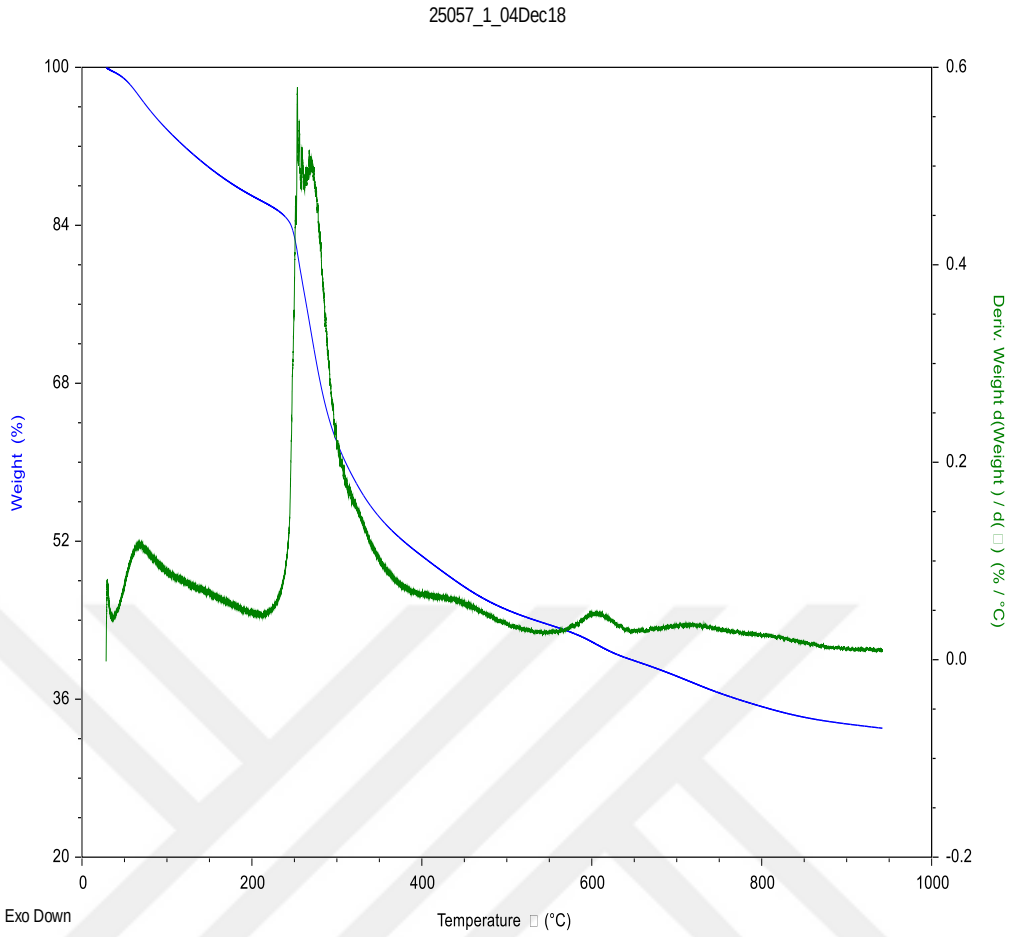


Şekil 4.5. Standart kobalt konsatrasyonu ile lineer olarak değişen yoğunluk yüzey alanına bağlı kobalt miktarı

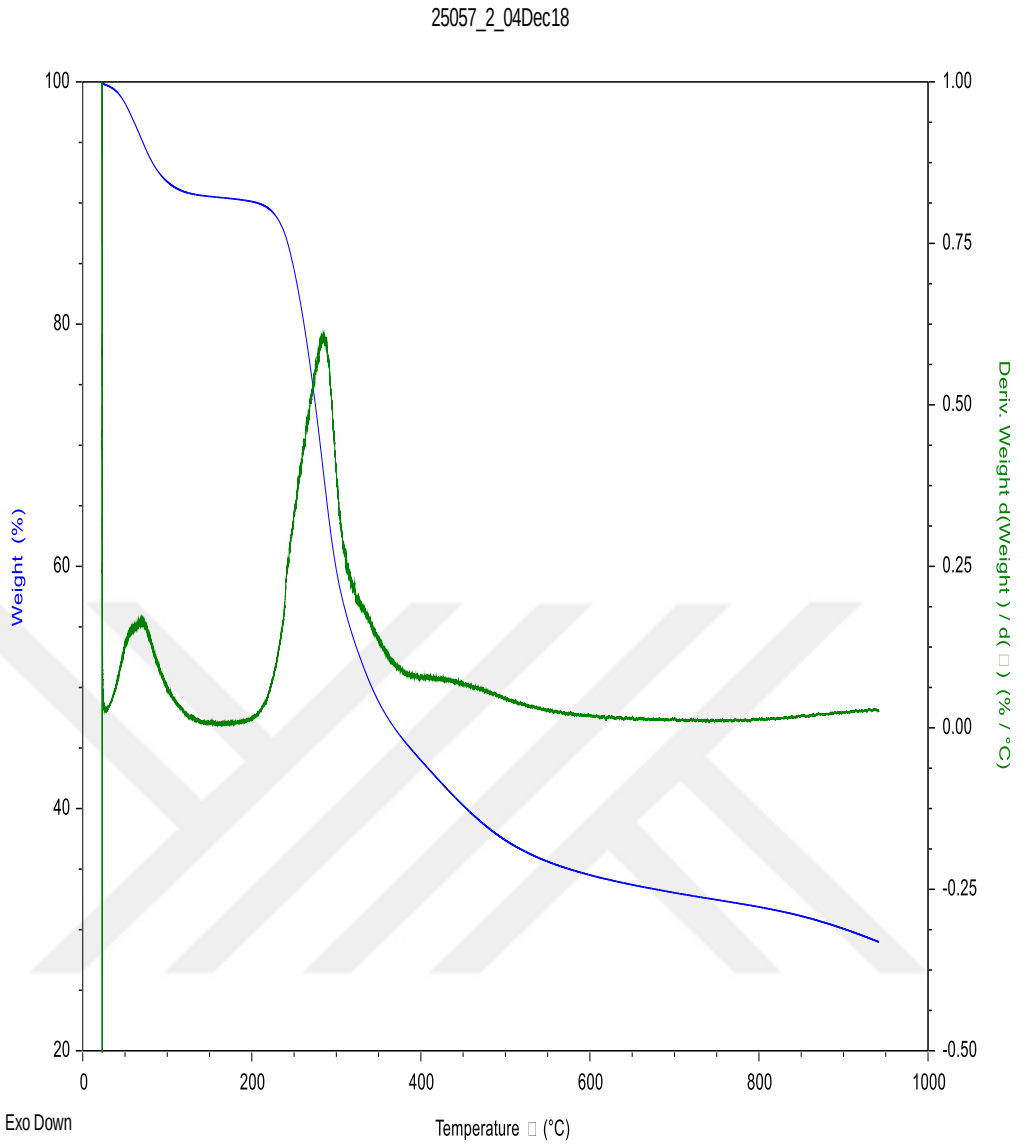


Şekil 4.6. Co(II) iyonları ICP-OES analiz sonucu % 5.05 çıkmıştır.

TGA sıcaklığın süreyle orantılı biçimde fazlalaştırılmasıyla örnekte ağırlık azalması veya artışı ölçülüp kaydedilmiştir. Ağırlığın farklılaşmasına sebep olan bozunma / yükseltgenme tepkimeleriyle buharlaşma metoduna dayanarak hesaplandı. Sentezlenen CTS-Co(II) kompleksi ve kitosan sonuçları şekil 4.7 ve şekil 4.8'te verilmiştir. Bu metotda ısının fazlalaşmasıyla su, - OH vs yapısal fonksiyonel gruplar bozunarak uzaklaşır. Bu neticeye göre CTS örneğin kütle kaybı % 71.009 dur. CTS-Co(II) örneğin ağırlık kaybı ise % 66.8 dir. Netice % 4.209'lük bir fark söz konusudur. Bu fark ısı fazlalaşmasıyla bozunmayan Co(II) dur.

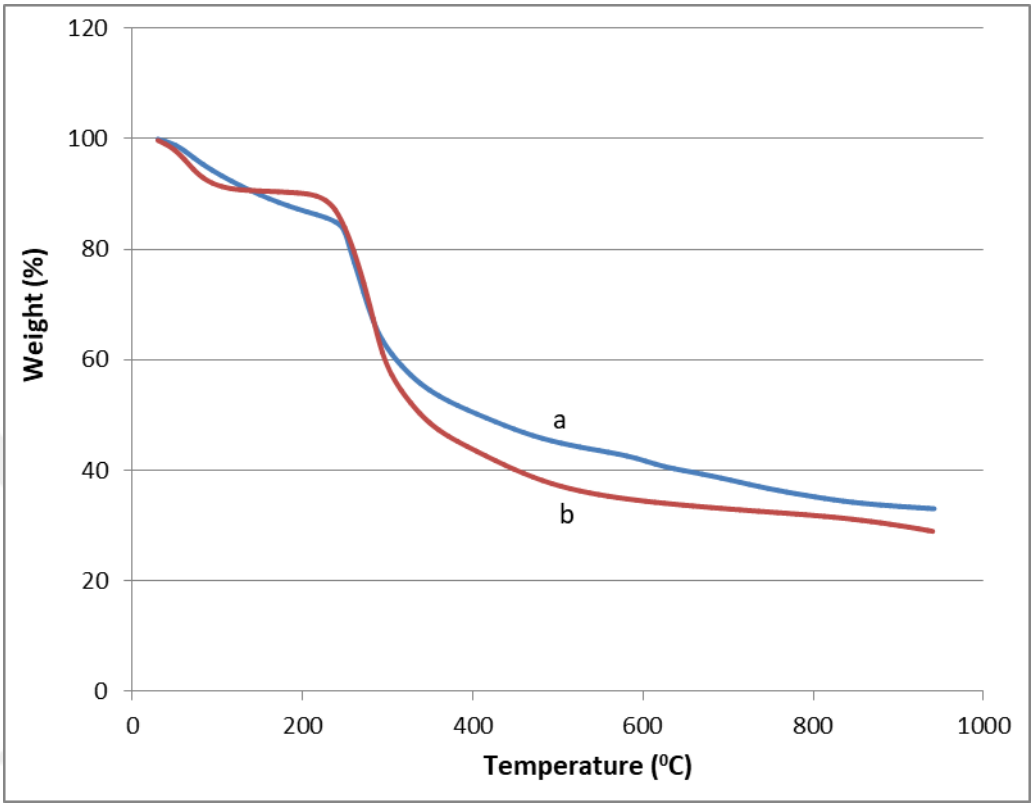


Şekil 4.7. CTS-Co(II) nin TGA sonucu % 66.800 kayıp belirlenmiştir. Grafiklerde yorumlama mavi eğrinin azalması yönünde dikkate alınır. Yeşil eğri cihazın diferansiyele ait bilgisidir.



Şekil 4.8. CTS numunesinin TGA sonucu % 71.009 kayıp olduğu görülmüştür. Grafiklerde yorumlama mavi eğrinin azalması yönünde dikkate alınır. Yeşil eğri cihazın diferansiyele ait bilgisidir.

Şekil 4.7 ve şekil 4.8'e bakıldığında son ürün olarak elde edilen CTS-Co(II) kompleksinde % 4.02 gibi bir nem kaybının olduğu ortaya çıkmıştır. Bu iki grafikteki nem kaybını daha somut görebilmek için Şekil 4.9'a çakıştırılmış olarak veriler ortaya konulmuştur.



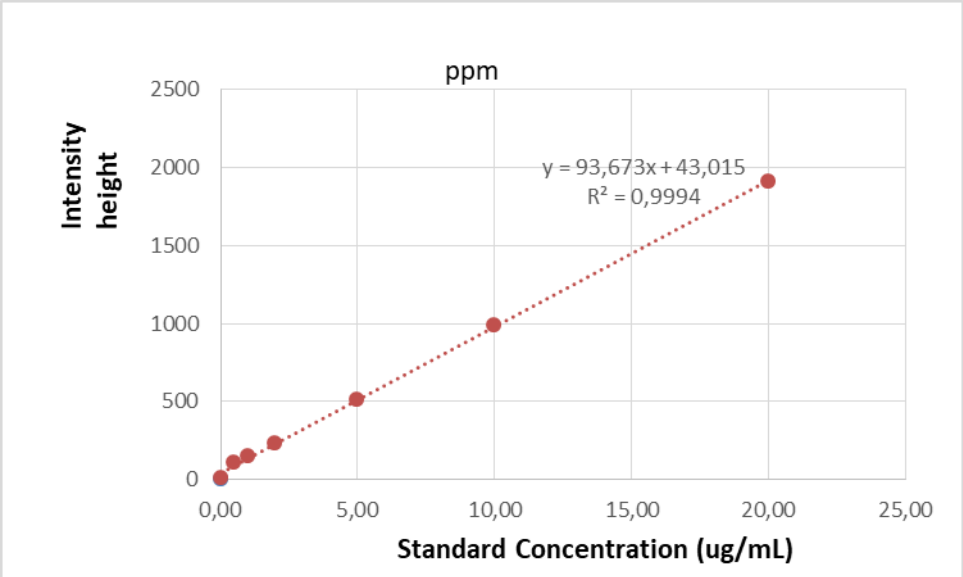
Şekil 4.9. CTS (a) ve CTS-Co(II) (b) kompleksinin TGA analizi ile belirlenen ağırlıkları.

İlk aşamada, CTS ve CTS-Co(II), ağırlıklı olarak emilen ve bağlanmış nemin buharlaşması gözlenmiştir. İkinci aşama CTS-Co(Iı) da 250 ˚C 'den başlayıp 300 ˚C, CTS için de 200 ˚C de başlayıp 250 ˚C de önemli bir ağırlık kaybı gözlenmiştir. Bu kütle kaybı, özellikle ayrışma derecesinde CTS-Co(II)'ın CTS'den daha aşağı bir termal durağanlığa sahip olduğunu gösterir. Bu kütle azalması CTS-Co(II) de 200 ˚C seyirlerindeyken kitosanda ayrışma sıcaklığında 250 ˚C civarındadır. Kitosanın amin ve hidroksil grupları, termal durumuna katkıda bulunduğundan, bu grupların Co (II) ile kompleksleşmeye müdahil olması CTS-Co(II), termal stabilitesini aşağıya çekmiştir. Numunelere 1000 ˚C'ye kadar ısı verilmiş olup, 250 ˚C de önemli bir ağırlık kaybı gözlenmiştir. CTS-Co(II) 'ın toplam ağırlık kaybı, Co (II) ile kompleksleşmesi nedeniyle CTS'den daha düşük olduğu görülmüştür. Neticede totalde CTS-Co(II) kompleksinde % 66.8 , kitosan numunesinde ise % 71.009 bir kütle azalması olduğu

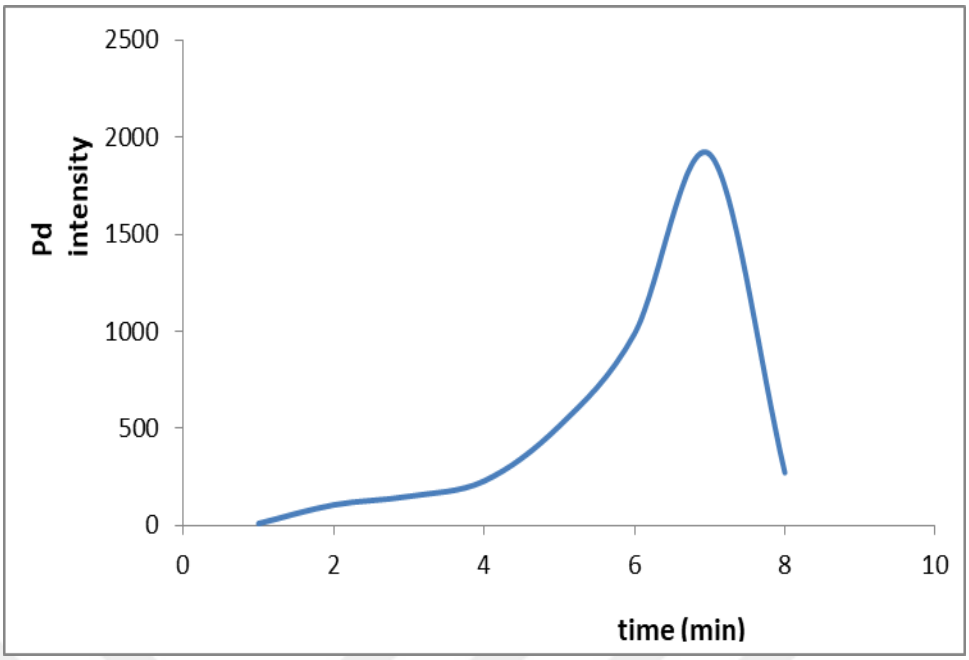
çıkmıştır ve arada % 4.209 bir stabil fark çıkmıştır. Termal gravimetrik analiz (TGA) neticelerine göre örnekte avaraj % 4.2 kobalt ve ICP-OES verilerinde de kobalt miktarı ortalama % 5.05 olarak görülmüştür. Aradaki % 0.85 kadar açıklık vardır. Yani ICP-OES analizi ile TGA neticeleri birbirine yakındır ve birbirini tasdik edicidir.

4.1.2. Paladyum Karbon ICP-OES karakterizasyon sonucu

Paladyum karbon ICP-OES ile ilgili sonuçlar şekil 4.10 ve şekil 4.11'da verilmiştir. Bu tabloya göre elimizdeki palladyum miktarı % 2.25 oranda çıkmıştır. ICP-OES analizinde sentezlenen numunede ne kadar paladyum miktarı olduğu belirlemek için kullanılmıştır. Oluşturulan kalibrasyon eğrisi kullanılarak sentezlenen kitosan-kobalt kompleksi içerisinde % 2.25 paladyum olduğu saptanmıştır (şekil 4.11).



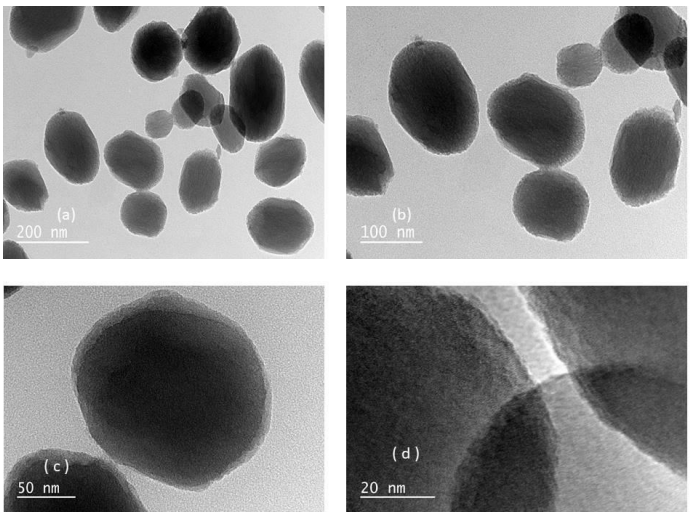
Şekil 4.10. Standart kobalt konsatrasyonu ile lineer olarak değişen yoğunluk yüzey alanına bağlı kobalt miktarı



Şekil 4.11. Pd (II) iyonları ICP-OEPS analiz sonucu % 2.25 çıkmıştır.

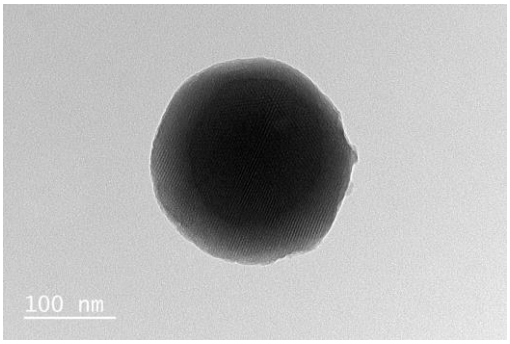
4.1.3. MSNPs sentezi karakterizasyon sonuçları

Sentezlenen MSNPs'leri TEM ve DLS&ELS analiz yöntemleri ile hem mezopor büyüklüğü, genel morfoloji ve partikül büyüklüğü açısından karakterize edilmiştir. TEM kararizasyonu ile elde edilen görüntülerde silika partiküllerinin düzeyinde hekzagonal yapılar görülebilmektedir (şekil 4.12).

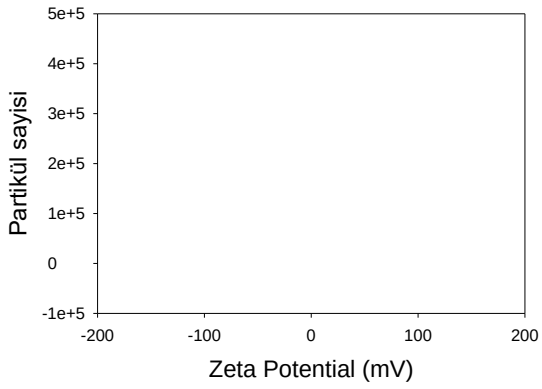


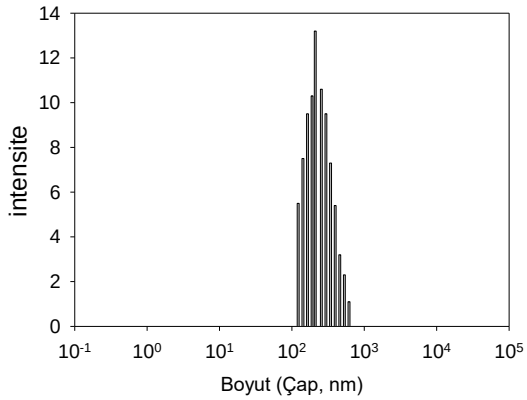
Şekil 4.12. MSNPs'lerin farklı ebatlarda TEM karakterizasyonu görüntüleri

Şekil 4.13'de görüldüğü gibi elektron mikroskop altında 208 nm büyüklüğünde yuvarlak şekilli nanopartiküllerin yüzeyinde düzenli hekzagonal gözenekler görülebilmektedir. Partiküllerin 208 nm büyüklüğünde, yaklaşık 35.2 mV zeta potansiyeline sahip olduğu, 0.8872 cP viskositede 0.0201 mS/cm konduktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.



Zeta potansiyeli (mV)	35.2 ± 5.17
Partikül boyutu (nm)	208 ± 11.13
Sıcaklık (ºC)	25
Konduktivite (mS/cm)	0.0201
Sayı Oranı (kcps)	129.3
Viskosite (cP)	0.8872





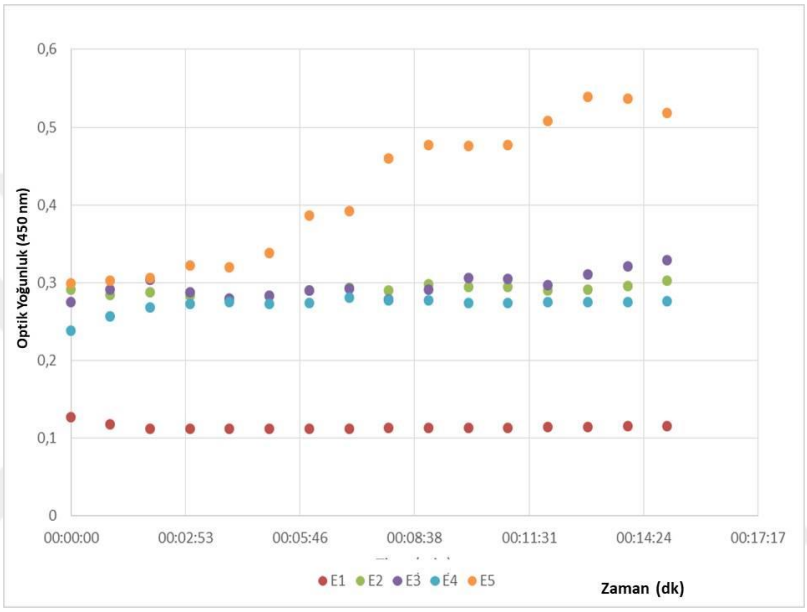
Şekil 4.13. Sentezlenen silika partiküllerin TEM, yüzey yükü ve boyut analizi sonuçları.

Karakterize edilen MSNPs TMB ile yüklenerek aptamer kapılarla nanoporlar içerisinde hapsolmaları sağlanmıştır. Böylece MSNPs leri ile fosfat tayinine yönelik aptasensör çalışmalarına geçilmiştir.

4.2. HRP ile Ölçümler

TMB ölçümlerinde kullanılacak reaksiyon çözeltisini (tampon çözeltisi, peroksit miktarı gibi) optimize etmek için öncelikle spektroskopik ölçümler yapılmıştır. Peroksidaz enzimi 5.5 pH da optimum performansı gösterdiği için sitrat tamponu kullanılmıştır. Farklı TMB konsantrasyon aralıklarında HRP aktivitesi ölçülerek elektrokimyasal deneylerde kullanılacak sistemin denemesi yapılmıştır.

4.2.1. Kolorimetrik ölçümler



Şekil 4.14. Farklı konsantrasyon aralıklarında alınan HRP ölçümleri **(E1)** blank çözeltisi **(E2)** TMB çözeltisi **(E3)** 0.1 M KCl + sitrat tampon çözeltisi + 0.2 M TMB + 0.05 unite HRP **(E4)** 0.1 M KCl + sitrat tampon çözeltisi +0.2 M TMB 0.1 unite HRP **(E5)** 0.1 M KCl +sitrat tampon çözeltisi + 0.2 M TMB 0.25 unite HRP

Şekil 4.14 de absorbans ölçümleri 5.5 pH da 15 dakikalık zaman aralığından sonra oluşan sinyallerinin (450 nm absorbans) sabit düzeye ulaşması üzerine ilk 15 dakikalık süre seçilmiştir. İlk olarak blank çözeltisinin ölçümü alınarak hiçbir sinyalin alınmadığı gözlemlenmiştir (E1). TMB tampon solüsyonunda (E2) 0.3 absorbans aralığında dalgalanmalar görülmüştür. 0.05 (E3) ve 0.1 unite HRP enzim varlığında belirgin bir TMB oksitlenmsi ve dolayısıyla absorbans yükselmesi görülmemiştir.

Fakat 0.1 M KCl + sitrat tampon çözeltisi + 0.2 M TMB ve 0.25 unite HRP varlığında (E5) absorbans sinyalleri bariz artış yapıp 0.6 düzeyini bulmuştur.

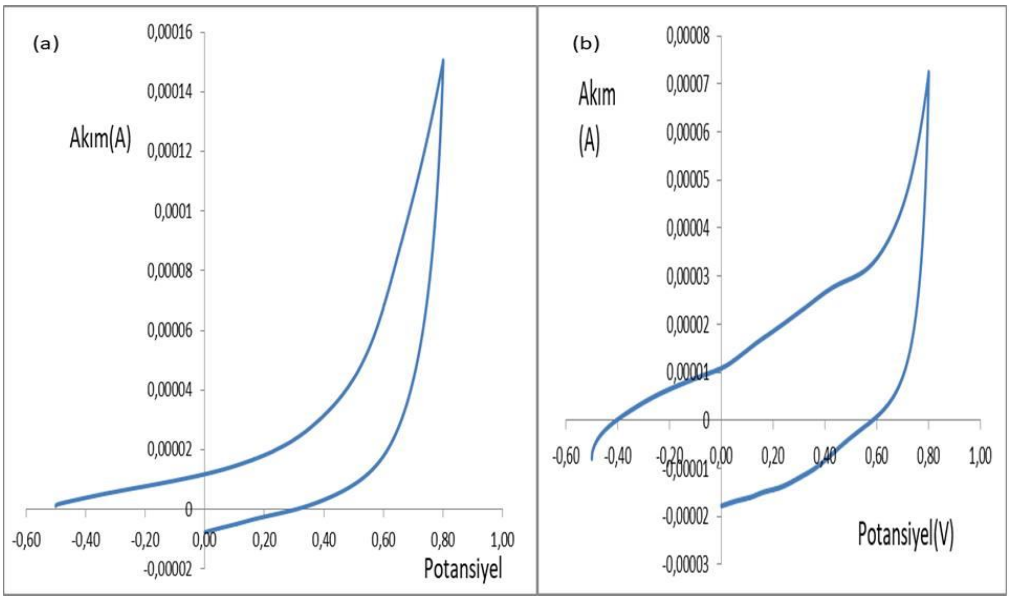
4.2.2. Horseadishperoksidaz (HRP) ile elektrokimyasal ölçümler

Yaban turpu peroksidazı (HRP) peroksidazın indirgenme reaksiyonunu katilizler. Bu reaksiyonda substrat oksitlenirken peroksit suya dönüştürülür (Denklem 1).

Substrat(H_2) (İndigenmiş) + H_2O_2 → Substrat (Okside) + 2 H_2O (Denklem 1)

Bu enzimatik aktivite sonucunda oluşan indirgeme reaksiyonu amperometrik yöntemle çalışma elektrotunda akımın azalması olarak yansır. Örneğin, karbon elektrotlarla gerçekleştirilen TMB-peroksidaz reaksiyonları çevrim voltameri (CV) ölçümleri akım farklılıkları gözlenmiştir. Bu sistemde gözlenen elektrokatodik dalgalar arasındaki fark elektrokatalitik akım olarak isimlendirilmiştir.

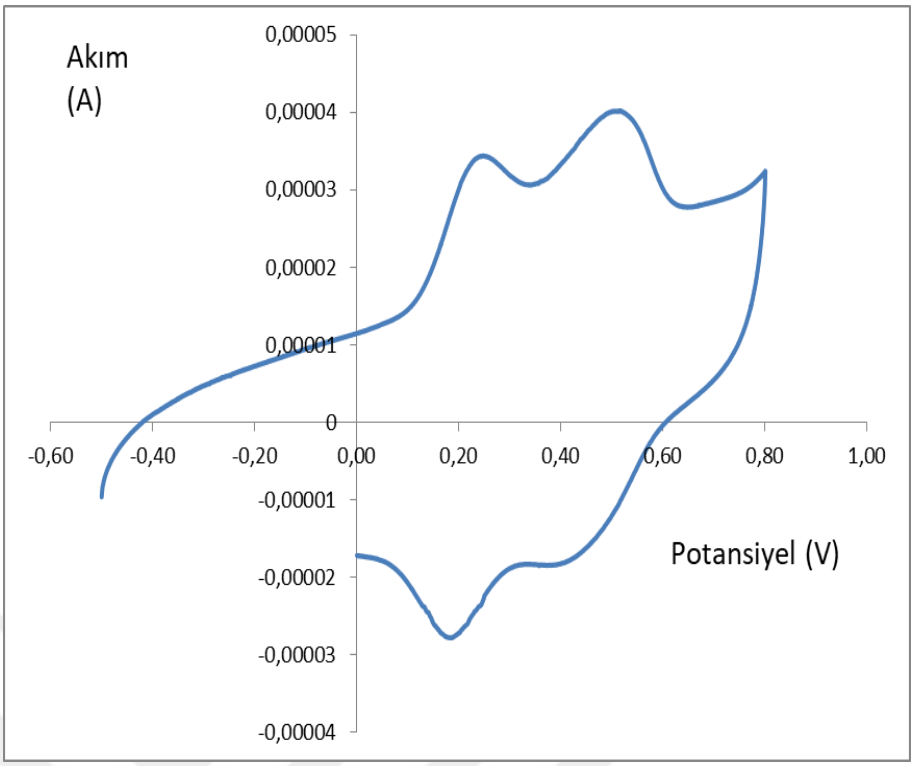
Bu çalışmada ilk olarak TMB'nin HRP ile oksidasyonu kullanılacak sistemin test edilmesi ve gerekirse optimize edilmesi amacıyla incelenmiştir. Kontrol olarak tayin reaksiyon çözeltisi KCl+ sitrat ile voltametrik analiz yapıldı. Altın çalışma elektrotlarıyla olarak -0.5 V ila +0.5 V arasında gerçekleştirilen akım ölçümlerinde beklendiği çok düşük sinyaller alındı. Tarama oranı olarak 100 seçilirken, 3 çevrimin ortalaması alınmıştır. Tampon solüsyonun alınan potansiyel ölçümünde 150 µA ın az üstü taban çizgisinin ulaştığı görülmüştür (şekil 4.14). Bu ölçümlerde reaksiyon ortamında herhangi bir kimyasal aktivite olmadığından sinyal beklenmemektedir. Burada uygulanan ölçüm parametreler bundan sonra alınan tüm ölçümlerde sabit tutulmuştur.



Şekil 4.15. (a) Reaksiyon çözeltisinin (0.1 M KCl + sitrat tamponu, pH 5.5; KCl) baseline döngüsel voltagramı voltamogram (b) KCl-sitrat tamponu (0.1 M KCl, 0.1 M sitrat, pH=5.5) çözeltisine H_2O_2 ilavesinden sonra alınan voltamogram.

Şekil 4.15 de görüldüğü gibi hidrojen peroksit eklenince taban çizgisinde -0.4 V ile 0.5 V arasında sinyal gözlenmiştir (7,000 µA üstüne kadar bir çıkış gözlemlenmiştir). Bu durum peroksitin kendiğinden katalizör olmadan suya dönüşmesinden oluşan akımı göstermektedir.

Tampon çözeltisine hidrojen peroksit (H_2O_2) ilavesi yapılmadan sadece TMB (3,3’ 5,5’ tetrametilbenzidin) ilavesi sonrasında alınan CV de (şekil 4.16) iki adet oksidasyon (0.3 ve 0.4 V arasında) ve bir adet indirgeme piki (0.6 V civarında) elde edilmektedi Son olarak hem peroksit hem de TMB sitrat-KCl tamponuna eklenerek alınan CV ile önemli bir değişiklik olmadığı, bu nedenle bu reaksiyon karışımının kararlılığının eklenecek katalizörün etkisini ölçmek için hazır olduğu gösterilmiştir (şekil 4.16). Bu deneylerde görüldüğü gibi TMB iki elektron indirgenme reaksiyonu +250 mV ve +500 mV civarında gözlenen tepe noktaları ile gözlenmektedir. Bu gözlemler daha önce literatürde yayınlanan gözlemlerle örtüşmektedir (Volpe, et al. 1998).

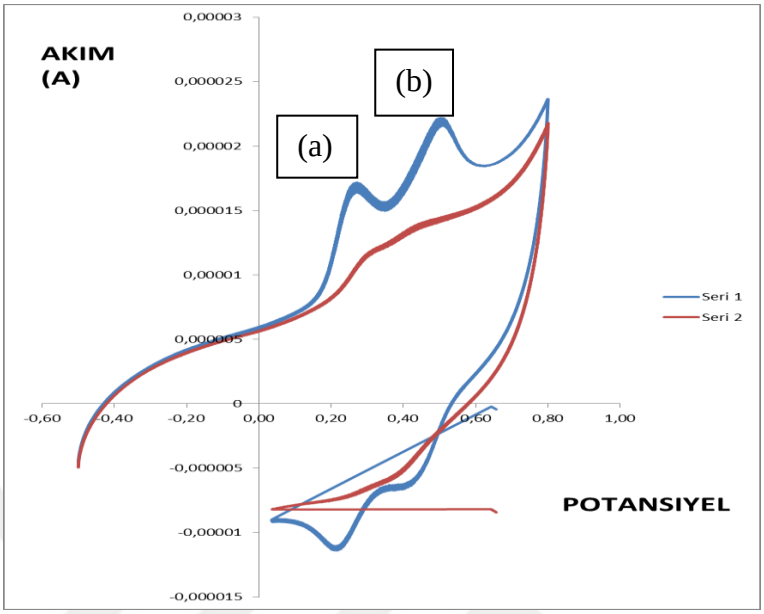


Şekil 4.16. KCl-sitrat tamponu (0.1M KCl, 0.1M sitrat, pH=5.5) çözeltisine 0.2 M TMB ilavesinden sonra alınan döngüsel voltamogram.

0.1 M KCl + 0.1 M sitrat tampon çözeltisine 1.1 µl 0.2 mM hidrojen peroksit çözeltisi ile 50 ml 0.2 mM TMB ilavesinde gözlemlenen CV ölçümünde ilk okside basamağı 0.0002 A civarlarında gözlemlenmiştir. İkinci okside basamağı 0.00015 A civarlarında gözlemlenmiştir. Gözlemlenen ilk indirgenme basamağı -0.0001 A civarlarında iken ikinci indirgenme basamağı ise -0.00015 A civarında çıkmıştır.

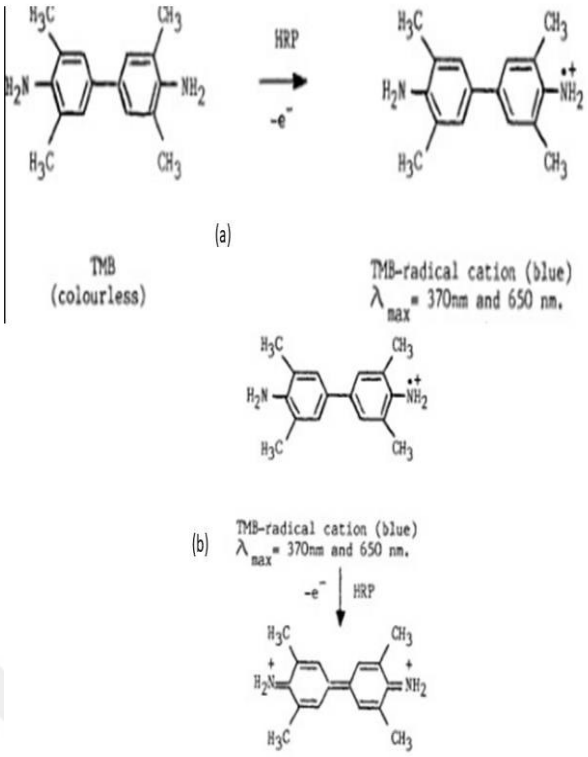
TMB ile elektrokimyasal ölçümlerde referans olarak kullanılmak üzere HRP enzimi ile ölçümler yapılmıştır (şekil 4.17). Volpe ve arkadaşları TMB-HRP-H_2O_2 ilişkisini incelemişlerdir (Volpe, et al. 1998). TMB/HRP bazlı denemelerde amperometrik tayin önceden Balodo ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada TMB- H_2O_2 ve HRP ilişkisimin sensör üzerindeki durumu gözlemlenmiştir. Bu çalışmada reaksiyon çözeltisi içerisinde TMB- H_2O_2 ve sonrasında 38 unite HRP enzimiyle CV ölçümleri alınmıştır. Alınan ölçümlerden HRP enziminin akım şiddetini düşürdüğü gözlemlenmiştir. Taramalarda 1,5000 µA ve 2,000 µA de TMB substratında okside ölçümleri verirken -0,5000 µA ila -1,000 µA aralığında indirgenme ölçümleri vermiştir. HRP enzimi ilave edildiğinde ise ölçüm 1,000 µA ila 1,500 A aralığında okside piki verirken, bu ölçüm -5,000 µA ila -1,000 µA aralığında olmuştur. Bu

sonuçlar elektrokimyasal sistemin 5 dakikalık inkübasyon zamanı ile HRP varlığında çalıştığını göstermiştir.



Şekil 4.17. HRP olmadan (seri 1) ve 38 unite HRP eklendikten sonra (seri 2) alınan döngüsel voltamogramlar.

Şekil 4.17'te de görüldüğü üzere iki adet oksidasyon ve indirgenme pikleri gözlemlenmiştir (a, b). Burada iki adet pik çıkmasının sebebi, TMB substratından iki ayrı elektron transferinin gerçekleşmesidir. Benzen halkalarına bağlı amin gruplarından bir elektron ayrılması ile TMB yapısı kararsız bir radikalik hale geçer. Her iki benzen halkalarına bağlı amin gruplarından toplamda iki elektron transferi sağlanarak, benzen halkalarında elektron açığı meydana gelir. Böylece her iki benzen halkasında radikalik özellik meydana gelir. Bu durum TMB yapısının daha kararsız bir bir hale geçmesi ile reaksiyonun hızlı bir şekilde başlamasını ve ortamdaki uygun katalizör (peroksidaz enzimi) ile reaksiyonun daha da hızlı bir şekilde gerçekleşmesini sağlar. Bu reaksiyon, şekil 4.18 de verilmiştir.



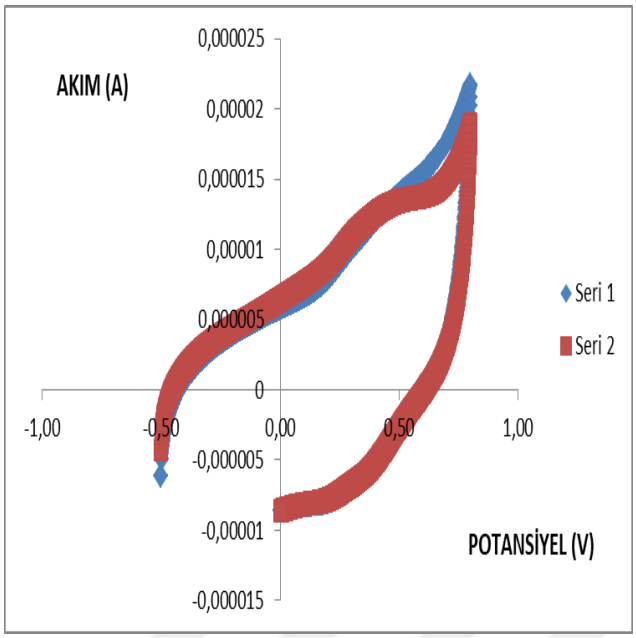
Şekil 4.18. TMB'nin benzen halkasına bağlı amin grubundan elektron transferi (a)TMB'nin benzen halkasına bağlı amin grubundan ikinci elektronun transferi (b)

4.3. Kitosan-Kobalt (II) Partikülü

İlk olarak kitosan-kobalt(II) partikülleri sentezlenerek peroksidaz aktiviteleri aptamer kapılı TMB ile yüklenmiş MSNPs'lerin fosfat belirlemede kulanılabilme potansiyelleri incelenmiştir.

4.3.1 Kitosan ile elektrokimyasal ölçümler

Kitosan-kobalt (II) kompleksinden alınan ölçümlerden önce daha iyi gözlem yapılabilmesi için kitosan ile kobalt ile ayrı ayrı ölçümler yapılmıştır. Reaksiyon tampon ve TMB ile peroksit konsantrasyonları kitosan-kobalt denemelerinde olduğu gibi kullanılarak sağlanmaya çalışılmıştır. Öncelikle 50 ml reaksiyon 0.1 M tampon solüsyonunda okside olmuş TMB ile 6 mg CTS ölçümü alınmıştır.



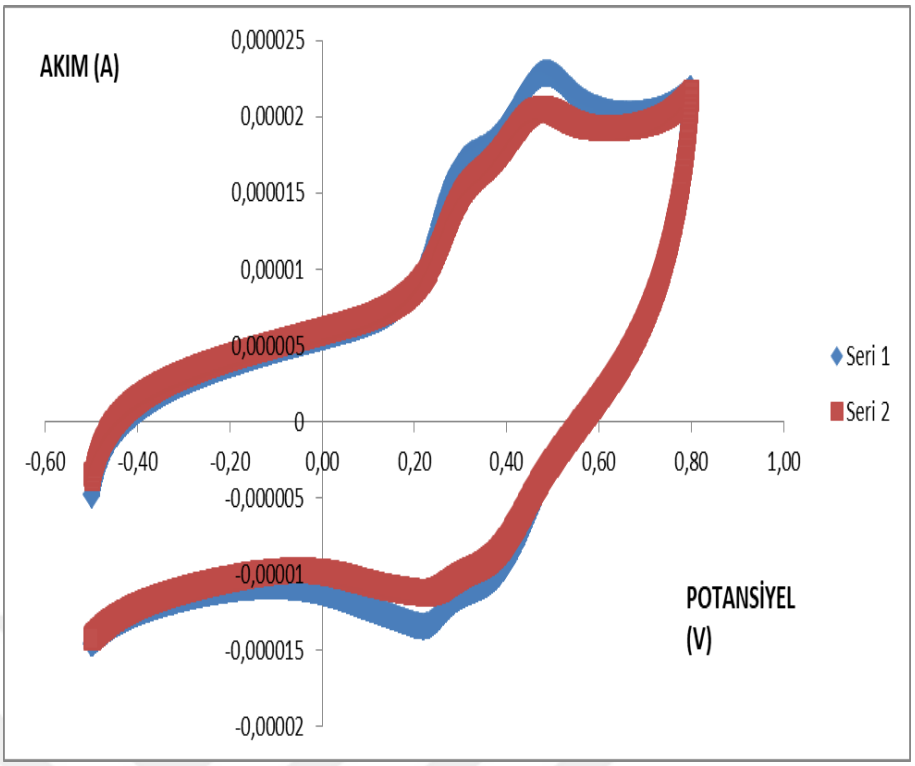
Şekil 4.19. TMB substratının ölçümü ile 6 mg kitosan ölçümünün döngüsel voltamogramlarının çakıştırılmış hali

(Seri 1: TMB(ox) + 0.1 M KCl tampon çözeltisi, seri 2: TMB(ox) + 0.1 M KCl tampon çözeltisi + 6 mg CTS).

Şekil 4.19 de gözlemlendiği gibi kitosanlı numune ile TMB içeren numune akım olarak aynı seyirde gitmiştir. Voltaj aralığı olarak -0.5 V - + 0.5 V seçilmiştir.

4.3.2. Kobalt ile elektrokimyasal ölçümler

Kitosan ölçümlerinden sonra kitosan-kobalt (II) yapısının cevabını daha iyi anlayabilmek için kobaltın TMB(ox) yi katalizleyip katalizlemediği yönünde CV döngüleri alınmıştır. Voltaj aralıkları -0.5 V ila +0.5 V aralığı seçilmiştir. Bu çalışmada TMB-H_2O_2 ve $CoCl_2$ ilişkisimin sensör üzerindeki durumu gözlemlendi. Aynı konsantrasyonlarda TMB-H_2O_2 hazırlanarak aynı konsantrasyondaki KCl tampon çözeltisine eklenerek CV ölçümleri alınmıştır (şekil 20). Sonrasında 50 µl 12.8 mM $CoCl_2$ ilave edilerek CV alınmıştır.

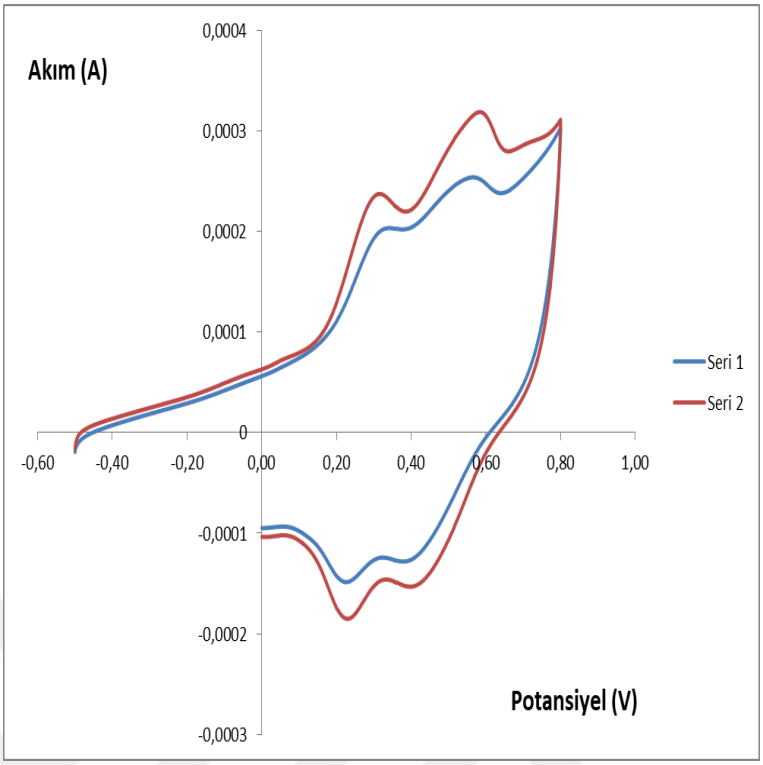


Şekil 4.20. TMB substratının ölçümü ile 50 µl 12.8 mM $CoCl_2$ döngüsel voltamogramlarının çakıştırılmış hali
(Seri 1: TMB(ox) + 0.1 M KCl tampon çözeltisi, seri 2: TMB(ox) + 0.1 M KCl tampon çözeltisi + 50 µl 12.8 mM $CoCl_2$).

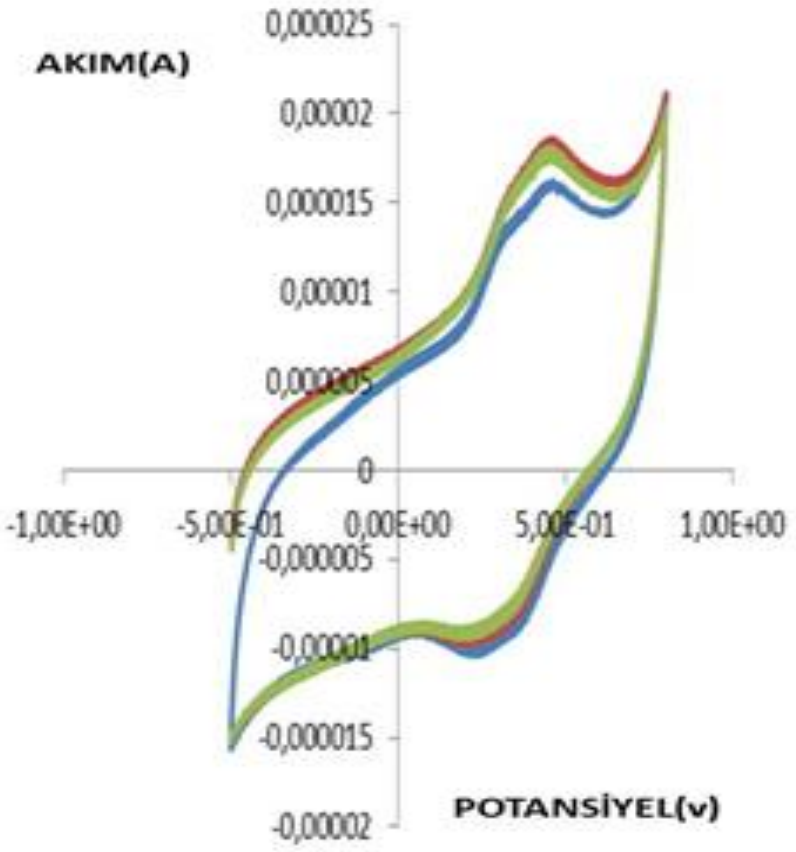
Yukarıdaki grafiklerde olduğu gibi TMB substratı 0.00015 A ile 0.00025 A skalasında okside olmuşken bu durum $CoCl_2$ ilavesinde biraz daha inmiştir. İndirgenme piklerinde ise akım -0.00001 A iken bu oran -0.000015 A e doğru kaymıştır. Buradan da kobaltın sensöre benzer görevi verdiği gözlenmektedir.

4.3.3. Kitosan-Kobalt ile elektrokimyasal ölçümler

Sentezlenen CTS-Co(II) kompleksinin kullanıldığı yeni bir sensör geliştirilebilmesi için öncelikle kompleksin peroksidaz aktivitesinin elektrokimyasal ölçümünün incelenmesi için CTS-Co(II), CTS (II), HRP (kontrol olarak) ve $CoCl_2$ ölçümleri alınarak sensör özelliğinin olup olmayacağı araştırılmıştır. Elektrokimyasal ölçümler, literatürlerde daha önce yayınlanan prosedürlere göre sensör performansını gözlemlemek için denemeler yapılmıştır (Adlim, et al. 2018; Yu, et al. 2016). CTS-Co(II) ile yapılan denemelerin sonuçlarında TMB piki olan 0.6 V civarında akım farklılıkları gözlenmiştir (şekil 4.21).



Şekil 4.21. İki farklı konsantrasyona sahip CTS-Co(II) denemelerinde elde edilen döngüsel voltamogramlar (Seri1: 1.4 mg CTS-Co(II), seri 2: 4.8 mg CTS-Co(II)).



Şekil 4.22. Farklı tampon solüsyonunda alınan farklı konsantrasyonlarda CTS-Co(II) döngüsel voltamogramları (Mavi: TMB(ox) + 0.1 M KCl tampon çözeltisi, yeşil: TMB(ox) + 0.1 M KCl tampon çözeltisi + 10 mg CTS-Co(II), Kırmızı: TMB (ox) + 0.1 M KCl tampon çözeltisi + 20 mg CTS-Co(II))

Şekil 4.21 ve şekil 4.22 de verilen ölçümlerin üç kere tekrarından elde edilen 0.6 V civarı TMB pikinin karşılaştırılması gösterilmiştir. Bu ölçümlerde CTS-Co(II) kompleksinin istatistiksel olarak kullanılan 5 dakika reaksiyon zamanında anlamlı bir değişim gösteremediği sonucuna varılmıştır. Şekil 4.21 de ise aynı tampon çözeltide ve şekil 22 de farklı çözeltilerde ise CTS-Co(II) ile farklı konsantrasyon aralıklar ölçüm alınmış olup aynı tampon ilk denemede sonuç alınamamıştır, farklı tamponlarda ise 70^0C ısı ortamında sonuç gözlemlenmiştir.

Kobalt Miktarı (µg)	Akım Değeri (mA)
0.0	0.4
1.3	0.33
4.8	0.28

Tablo 4.3. Kitosan-kobalt kompleksi ile yapılan denemelerden elde edilen CV sonuçlarının 0.6 V TMB piki akım değerlerinin karşılaştırılması.

0.6 V altında TMB akım piki ile artan kobalt iyonları konsantrasyonlarında oksitlenme akım değerleri tablo 4.3 te verilmiştir. Kobalt miktarı artıkça pik akım değerlerinde düşüş gözlemlenmiştir. 4.8 µg kobalt iyonunun oksidasyonu ile 0.28 mA ile en düşük akım değerine ulaşılmıştır.

4.4. Paladyum Karbon

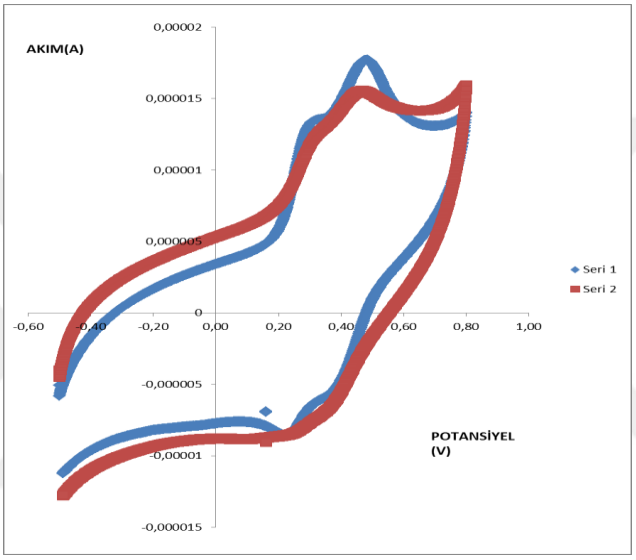
Aktive edilmiş karbon üzerinde paladyum partikülleri (Pd/C) ticari olarak elde edilmiştir (Sigma). Paladyumun peroksidaz aktivitesi gösterilmiştir (Zhuo, et al. 2020). Kitosan-kobalt partikülleri ile istenilen düzeyde peroksidaz aktivitesi elde edilememesi üzerine Pd/Ac partikülleri ile denemeler yapılmıştır.

4.4.1. Paladyum karbon ile elektrokimyasal ölçümler

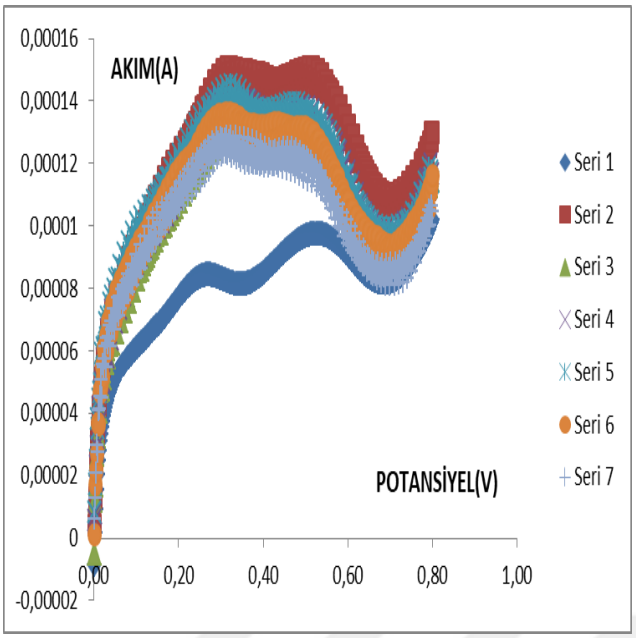
Enzimatik görev üstlenen en uygun materyali bulmak için Pd/C enzim yerine kullanılarak fosfat tayinine yönelik bir aptasensör oluşturulması hedeflenmiştir.

CTS-Co(II) ile yapılan denemeler, peroksidaz aktivitesi açısından iyi sonuç vermediğinden peroksidaz aktivitesi ile bilinen Pd/C ile denemeler kullandığımız elektrokimyasal sistemde denenmiştir. Reaksiyon tampon ve TMB ile peroksit konsantrasyonları CTS-Co(II) denemelerinde olduğu gibi kullanılarak ve yine 5 dakika gibi maksimum reaksiyon zamanı ile denemeler yapılmıştır.

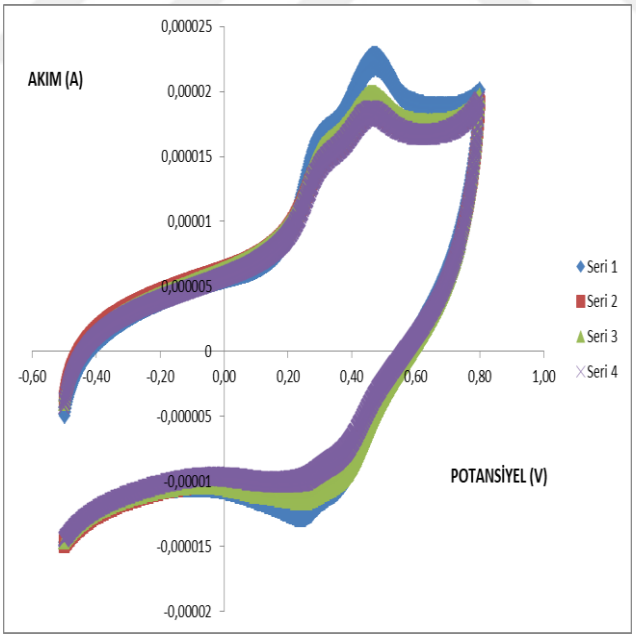
Pd/C ilavesiyle oksidasyon piklerinin azaldığı gözlemlenmiş olup indirgenme pikleri aynı seyirde devam etmiştir. Öncelikle 50 ml reaksiyon solüsyonuna 5 µg Pd/C eklenmesinden 5 dakika sonra alınan CV sinyalinde oksitlenme pikinde düşüş görülmüştür. Şekil 4.23 de görüldüğü gibi 0.4 V – 0.5 V arasındaki oksitlenme değeri 0.0398 ± 0.006227 mA akımdan 0.017 ± 0.0028 mA değerine kadar azalmıştır. Şekil 4.26 de görülebileceği gibi oksitlenme TMB konsantrasyonun 50 µg seviyesine kadar artması ile azalmaktadır. Ayrıca 5, 10, 20 ve 50 µg konsantrasyonlarında elde edilen oksitlenme pikindeki azalma standart deviasyon değerlerinden anlaşılabileceği gibi birbirinden istatistiksel olarak farklıdır (şekil 23, 24, 25, 26).



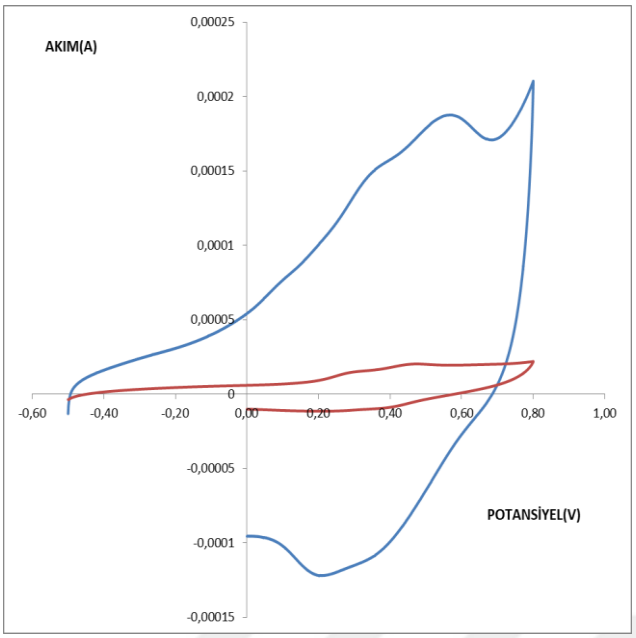
Şekil 4.23. 5 µg Pd/C -TMB (kırmızı) ve Pd/C olmadan (mavi) alınan döngüsel voltamogramları (seri 1: TMB(ox), Seri2: Pd/C ilaveli TMB(ox)).



Şekil 4.24. Zamana karşı alınan LSV değerleri (10 µg Pd/C) (Seri 1: TMB, seri2: 10 µg Pd/C +TMB(ox) - 5 dk sonra, seri 3: 10 µg Pd/C +TMB(ox) - 10 dk sonra, seri 4: 10 µg Pd/C +TMB(ox) - 15 dk sonra, seri 5: 10 µg Pd/C +TMB(ox) - 5 dk sonra, seri 6: 10 µg Pd/C +TMB(ox) – 20 dk sonra, seri 7: 10 µg Pd/C +TMB(ox) - 25 dk sonra)



Şekil 4.25. 20 µg Pd/C ve TMB olmadan (mavi) alınan döngüsel voltamogramları (Seri 1: TMB, seri 2: 20 µg Pd/C +TMB(ox) - 5 dk sonra, seri 3: 20 µg Pd/C +TMB - 20 dk sonra, seri 4: 20 µg Pd/C +TMB(ox) - 15 dk sonra).



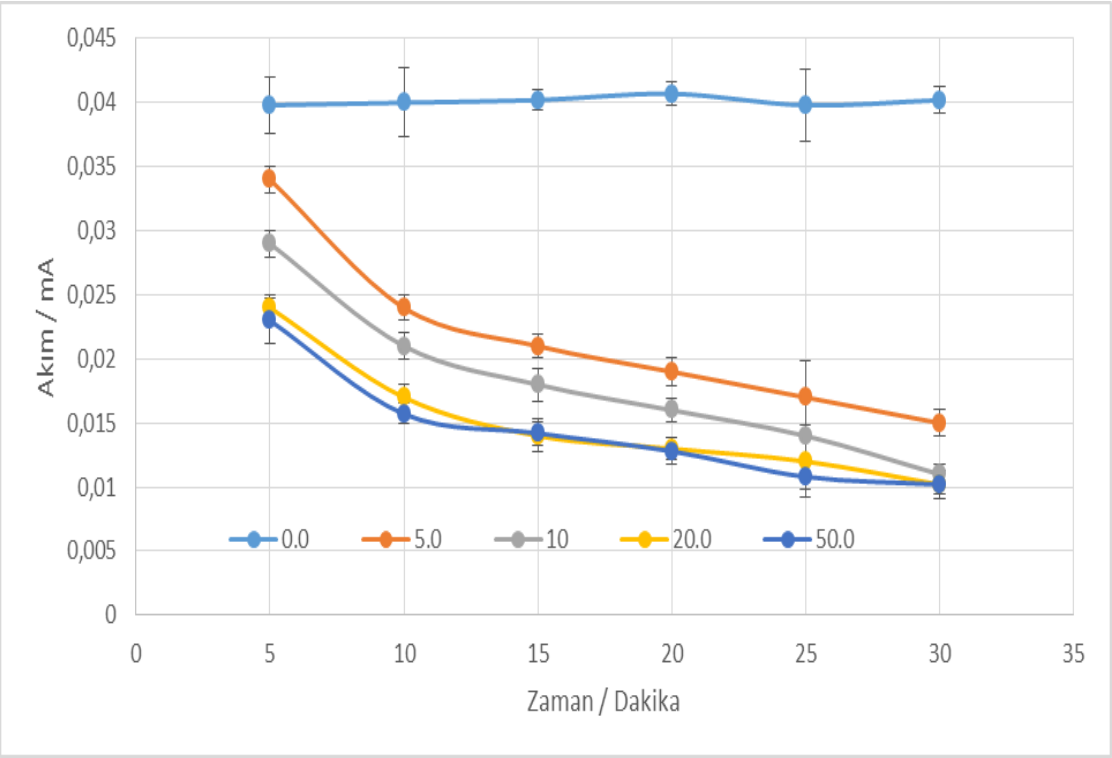
Şekil 4.26. 50 µg Pd/C (kırmızı) ve Pd/C olmadan (mavi) alınan döngüsel voltamogramları.

Şekil 4.25 te akım 0,000025 A den 0,000015 A civarına düşerken inhibisyon kısmında ise -0.000015 A den 0 -000010 A e doğru bir kayma söz konusudur. Şekil 4.24 de sadece oksidasyon kısımları alınmış olup oksitlenmiş kaymaların azalması söz konusudur. Şekil 4.26 te Pd/C konsrantrasyonu biraz daha artırılmış olup 0 A'e yakın oksidasyon ve inhibisyon eğri düşüşleri mevcuttur. Tablo 4.4 de Pd/C konsantrasyonlarında okside olmuş akım değerleri sunulmuştur.

Pd/C Miktarı	**Akım Değeri**
0.0 µg	0.004 mA
5.0 µg	0.003 mA
10 µg	0.028 mA
20 µg	0.002 mA
50 µg	0.018 mA

Tablo 4.4. Artan Pd/C konsantrasyonunda elde edilen oksitlenme pik değerleri.

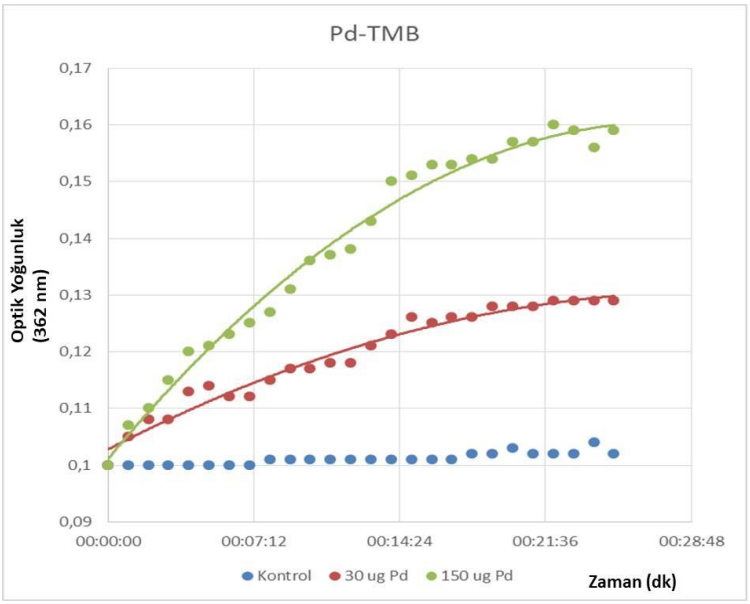
Daha sonra ölçümler sabit Pd/C miktarı için her 5 dakikada tekrarlanarak en uygun sensör zamanı belirlenmiştir. 50 ml reaksiyon tampon çözeltisine 5-50 µg arası Pd/C ile denemeler yapılmıştır (şekil 4.27).



Şekil 4.27. Zamana karşı çeşitli Pd/C miktarlarında değişen TMB oksitlenme akım değerleri.

4.4.2. Pd/C ile kolorimetrik ölçümler

Öncelikle Pd/C partiküllerinin peroksidaz aktivitesi kolorimetrik olarak incelenmiştir. 370 nm de süre olarak 20 dakikaya ayarlanmıştır. Farklı konsantrasyon aralıklarında TMB üzerinde Pd/C denemeleri alınmıştır. İlk mavi blank kontrol numunesi olup, kırmızı çizgi 30 µg, yeşil çizgi ise 150 µg Pd/C olup oksitlenme sinyallerin ortaya çıktığı gözlemlenmiştir. Bu sinyal verileri 362 nm de HRP enzim özelliğini taklit edici bir performans göstermiştir.

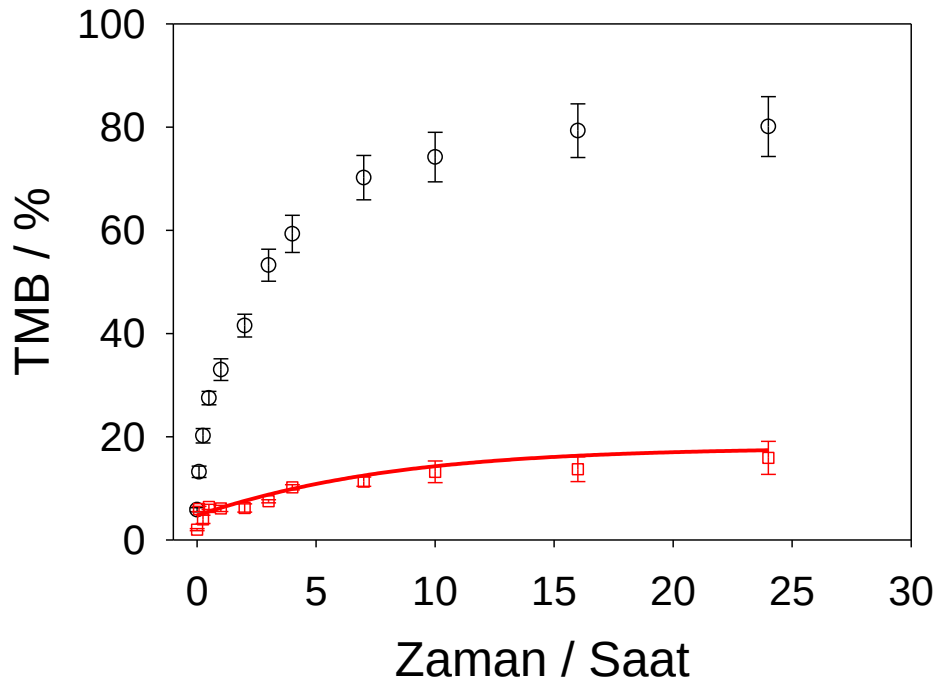


Şekil 4.28. 362 nm de Pd/C TMB substratında HRP enzimi gibi davranmıştır.
(mavi: blank numunesi, kırmızı : 30 µg Pd/C, yeşil : 150 µg Pd/C)

30 dakikalık bir zaman diliminde 362 nm dalga boyunda optik yoğunluk ölçümlerine dayalı ölçüm sonuçlarında Pd/C konsantrasyonunun artması ile piklerin daha belirginleştiği gözlemlenmiştir. Denemelerde 30 µg ve 150 µg Pd/C kullanılmıştır. Böylece, yapılan ölçümler sonucu gerek elektrokimyasal gerek mikro tabaka ölçümlerinde Pd/C HRP enzimini taklit ettiği gözlemlenmiştir. Mikro plaka ölçümlerinde özellikle 362 nm de Pd/C 0.1 ila 0.17 absorbans değerlerinde tam anlamıyla sinyal verip HRP enzimini taklit ettiği gösterilmiştir (şekil 4.28). Bu nedenle tampon solüsyonlarında bir sonraki aptamer denemelerinde HRP enzimi yerine Pd/C kullanılarak çalışmalar yapılmıştır.

4.5. MSNPs Sentezi Analiz Sonuçları

Karakterize edilen MSNPs TMB ile yüklenerek aptamer kapılarla nanoporlar içerisinde hapsolmaları sağlanmıştır. Amino işaretli aptamerler epoksi kaplı MSNPs nanopartiküllerin yüzeyine kovalent bağ ile sabitlenmiştir. Kullanılan nükleotitle işlevselleştirilmiş fosfat aptamer MSNPs kapısının işlevselliği salım deneyleri ile test edilmiştir. Şekil 4.29 de 1 mM fosfat iyonu eklendiğinde TMB salımı hızlı bir şekilde başlamaktadır. Fosfat yokken (kırmızı çizgi) TMB salımı olmazken, 1 mM fosfat eklendiğinde ilk 5 saat için TMB salımı görülürken, daha sonra azalan hızda % 74 oranında salınma 24 saat içerisinde gerçekleştirmiştir. Bu sonuçlar farklı küçük moleküller için gözlemlenmiştir. Örneğin fluorescein molekülleri MSNP içerisine fosfat iyonu aptamer kapıları ile hapsedildiğinde benzer sonuçlar vermiştir (Özalp, 2011).



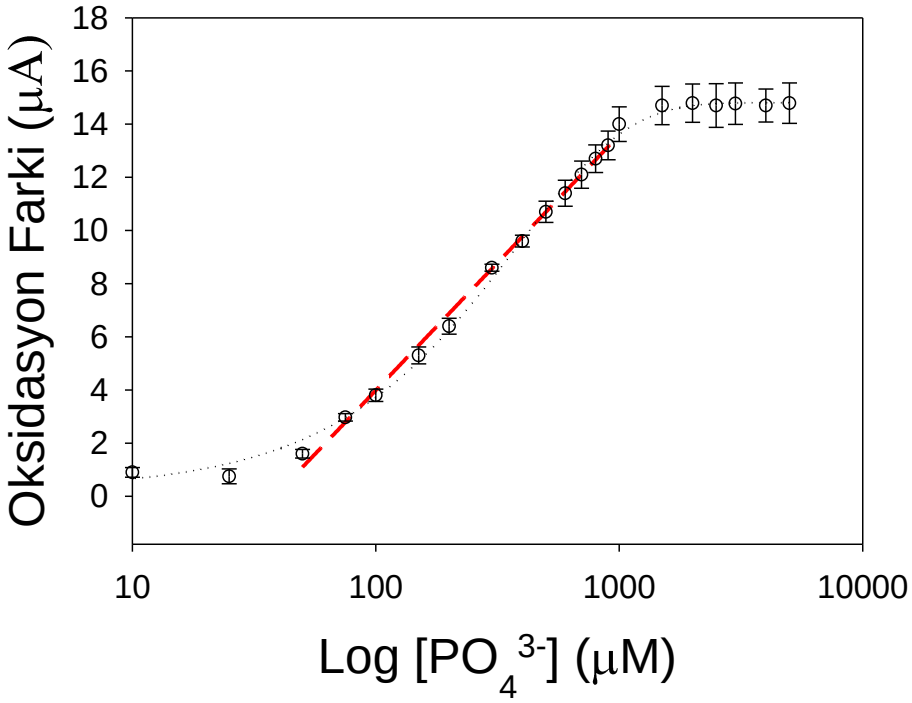
Şekil 4.29. Aptamer kapılı silika nanopartiküllerden TMB moleküllerinin fosfat yokken (siyah çizgi) ve fosfat varlığında (kırmızı çizgi) salım grafiği.

4.6. Fosfat Biyosensörü

Şekil 4.30 sonuçlarına dayanarak 5 dakika tayin zamanı olarak seçilmiştir. Oksidasyon sinyalindeki düşmelerin mutlak değer farkı, 1-5000 µM fosfat iyonu konsantrasyonu arasındaki ilişki logaritmik olarak incelenmiştir. Bu denemelerde en düşük tayin limiti (LOD) 3σ metodu ile 0.983 µM, en düşük ölçüm limiti (LOQ) 10σ metodu ile 3.276 µM olarak belirlenmiştir. Dinamik doğrusal fosfat iyonu tayin aralığı ise 50-1000 µM olarak belirlenmiştir. Bu aralıkta fosfat iyon konsantrasyonu ile oksidasyon düşme mutlak değeri arasındaki ilişki denklem 1' de verilmiştir.

$$\left|\text{oksidasyon farkı}\right| = 4.1707 \ln [PO_4^{3-}] - 15.224,\ R^2 = 0.9958 \quad \text{(Denklem 1)}$$

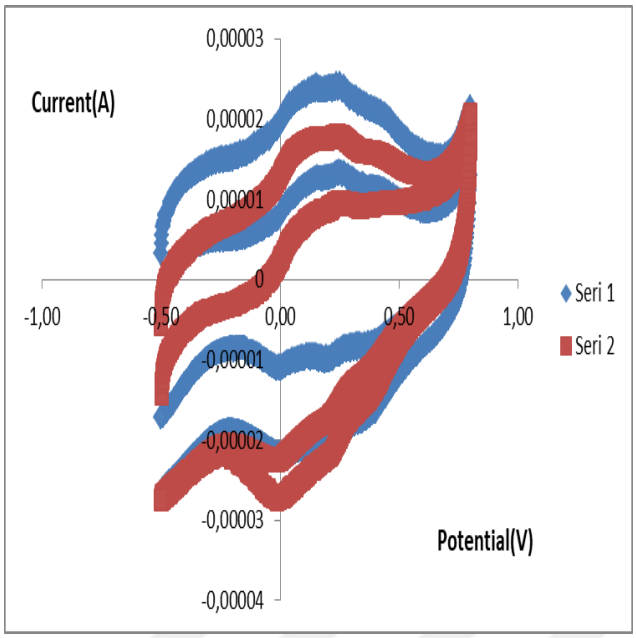
Bu deneylerde 5 dakikalık reaksiyon zamanı, 10 µg Pd/C miktarı ve 100 µg aptamer kapalı TMB silika nanopartikülleri kullanılmıştır.



Şekil 4.30. Fosfat iyonlarıyla oksidasyon farkı arasındaki 5 dakikalık tayin prosedürü sonucunda elde edilen ilişki.

Enzimatik reaksiyonlara dayalı bazı fosfat iyonu biyosensörleri geliştirilmiştir. Bunlardan piruvat oksidaz aktivitesi ile peroksidaz üretimi üzerine dayanan bir örneğinde TMB peroksidaz ile oksidasyonunun kemiluminans tayininde 0.16 µM LOD değeri rapor edilmiştir (Nakamura, 1997). Benzer bir çalışmada ise amperometrik biyosensör ile 36.3 – 1000 µM arasında doğrusal tayin elde edilmiştir (Gilbert, 2010). Bunlarda başka µM seviyesinde LOD ve tayin aralığına sahip çok şekitli biyosensörler yayınlanmıştır (Arduini, et al. 2020). Bu sonuçlar literatürde bulunan benzer LOD ve doğrusal tayin aralığına bu çalışmada protein içermeyen ve bu nedenle raf ömrü çok daha uzun bir biyosensör geliştirildiğini göstermektedir.

10 µg Pd/C miktarı ve 100 µg aptamer kapalı TMB silika nanopartiküllerinin fosfat salımı ölçükten sonra 100 mM ATP bindirilerek -0.5 V ila + 0.5 V aralığından CV ölçümleri alınmıştır.



Şekil 4.31. Pd/C ile MSNPs üzerine fonsiyonlaştırılmış fosfat döngüsel voltamogramları

(Seri 1: TMB(ox) , seri 2: TMB(ox) + MSNPs)

Şekil 4.31 de görülen CV ölçümlerinde tampon ve TMB ile peroksit konsantrasyonları önceki CV denemelerinde olduğu gibi kullanılarak ve yine 5 dakika maksimum reaksiyon zamanı ile denemeler yapılmıştır. Aptamerli Pd/C ilavesiyle oksidasyon piklerinin azaldığı gözlemlenmiş olup indirgenme pikleri aynı seyirde devam etmiştir. Elde edilen MSNPs partiküllerinden 5 mg alınarak 8 pH de 0.1 M 200 µL tris tampon ilave edilir. 10 µL TMB 100 mM aptamer olarak ATP ilave edilerek 75 µL ye tamamlanarak CV yapılmıştır. Bu örneklerde fosfat artan konsantrasyonlardaki fosfatlı numunelerde iki adet substrat (TMB ve fosfat) olduğu ölçümlerde gözlemlenmiştir. Fosfat miktarı artıkça substrat CV alanları daha belirginleşmiştir.

5.SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Bu çalışmada peroksidaz enzimini taklit eden yapay materyaller araştırılarak aptasensör geliştirilmesine yönelik çalışmalar yapılmıştır. TMB hidrojen peroksit ile bir katalizör varlığında ve optimum reaksiyon şartlarında (pH: 5.5, 25 ^{0}C sıcaklık) oksitlenmektedir. Kararlı olan bu oksitlenme molekülü çalışma elektrodu yüzeyine difüzyon ettiğinde indirgenmekte ve azalan döngüsel voltametri analizinde oksitlenme sinyallerinde azalma olarak saptanabilmektedir. HRP enzimini taklit eden materyallerin saptanması için CTS-Co(II), CTS, Co(II) ve Pd/C üzerinde denemeler yapılmıştır. Bu nedenle TMB üzerinde en iyi enzimatik sonucu veren Pd/C ile aptasensör geliştirmek için çalışmalar yapılmıştır. Bundan dolayı fosfat tayinine yönelik aptasensör ölçümlerinde enzimatik işlev olarak Pd/C tercih edilmiştir. Kronoamperometrik ölçümler ile de zamana karşı TMB'nin oksitlenmesi Pd/C artması ile beraber daha da arttığı gözlemlenmektedir.

CTS-Co(II) kompleksinin TGA, FTIR, ICP-OES karakterizasyonları alınmıştır. Pd/C numunesi ICP-OES ile karakterize edilmiştir. Bu verilerin ışığında CTS-Co(II) yapısında ICP-OES'e göre % 5.05, TGA' ya göre % 4.2 kobalt olduğu gözlemlemiştir. FTIR karakterizasyonu ise 500 – 4000 cm^{-1} frekans aralığında ölçümler alınarak C-O pikleri 1585 cm^{-1} den 1689 cm^{-1} e kayma yaparak Co-O arasında bir kompleksleşme yaptığını göstermektedir. Pd/C ise ICP-OES sonucuna göre % 2.25 ticari içeriklidir. CTS-Co(II), CTS(II), Co(II) ve Pd(II) CV ve LSV döngüleri ile mikro plaka okuyucuda absorbanslar alınarak, Pd/C ve kobalt içeren materyallerle yapılan denemeler sonucunda Pd/C, HRP taklidi olarak kobalta göre daha verimli olduğu sonucuna varılmıştır.

Sentezlenen MSNP'lerin mezopor büyüklükleri TEM, DLS&ELS ile karakterize edilmiştir. TEM sonuçlarına MSNPs lerin hekzagonal bir yapıya sahip olduğu ve ortalama 208 nm civarında olduğu gözlemlenmiştir. DLS&ELS ölçümlerine göre partiküller 35.2 mV zeta potansiyeline sahiptir.

MSNPs ler sentezlendikten sonra içine TMB'nin hapsolması aptamer kapı yapılarının epoksi grupları aracılığıyla sabitlenmesi ile fosfat varlığında TMB salımı yapan bir nanomateryal elde edilmiştir. Tampon solüsyonunda ortamda bulunan Pd/C enzim görevi göstermektedir. Bu çalışmalarda fosfatın en düşük tayin limiti (LOD) 3σ

metoduna göre 0.983 µM, en düşük ölçüm limiti (LOQ) 10σ metoduna göre fosfat 3.276 µM, ve oksidasyon farkı 0.958 olarak bulunmuştur.

Hazırlanan biyosensörlerde yapılan deneylerde (genelde -0.5 V ila +0.5 V ve pH=5.5) oda sıcaklığında kolay cevap verdiği görülmektedir. Çalışma koşullarının daha kolay olmasını sağlamak, rutin analizlerde daha kolay uygulanabilir olması ve uzun inkübasyon sürelerinde oda sıcaklığı 25^0 C seçilmiştir.

5.2. Öneriler

Bu çalışmada; TMB substrat üzerinde HRP yi gibi davranan materyallerin aptasensör formatlarına entegrasyonu araştırılmıştır. Bu çalışmada Pd/C'nun aptamer kapılarla beraber fosfat biyosensörü hazırlanmasında kullanılabileceği gösterilmiştir. Benzer sistemleri protein biyomarkörler, patojen mikroorganizmalar, kanser hücreleri gibi farklı hedefler için kullanılabilmesi gelecekte çalışmalar ile mümkün olabilecektir.

KAYNAKLAR

Adlim, Adlim, and Mohamad Abu Bakar 2010 Preparation of Chitosan-Gold Nanoparticles: Part 2. The Role of Chitosan. Indonesian Journal of Chemistry 8(3):320-326.

Adlim, M., et al. 2018 Preparation and characterization natural rubber-urea-tablets coated by chitosan. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering 380.

Ahmed, S. R., et al. 2017 Size-controlled preparation of peroxidase-like graphene-gold nanoparticle hybrids for the visible detection of norovirus-like particles. Biosens Bioelectron 87:558-565.

Akkara, Müge, and Halil Tosun 2014 Funguslardan elde edilen endüstriyel ürünler. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi 9(2):46-53.

Akter, R., C. Kyun Rhee, and M. A. Rahman 2013 A stable and sensitive voltammetric immunosensor based on a new non-enzymatic label. Biosens Bioelectron 50:118-24.

An, Zhen-Zhen, et al. 2017 Preparation of chitosan/N-doped graphene natively grown on hierarchical porous carbon nanocomposite as a sensor platform for determination of tartrazine. Chinese Chemical Letters 28(7):1492-1498.

Arduini, F., et al. 2020 Carbon black as an outstanding and affordable nanomaterial for electrochemical (bio)sensor design. Biosens Bioelectron 156:112033.

Aykut, Umut, and H Temiz 2006 Biyosensörler ve gıdalarda kullanımı. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi 3(51):51-52.

Bochek, A. M., et al. 2015 The properties of chitosan-cobalt nanoparticle solutions and related composite films. Polymer Science Series A 57(4):460-466.

Briceno, S., J. Suarez, and G. Gonzalez 2017 Solvothermal synthesis of cobalt ferrite hollow spheres with chitosan. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl 78:842-846.

Brunel, Fabrice, Nour Eddine El Gueddari, and Bruno M Moerschbacher 2013 Complexation of copper (II) with chitosan nanogels: toward control of microbial growth. Carbohydrate polymers 92(2):1348-1356.

Bulut, Y 2011 Biyosensörlerin Tanımı ve Biyosensörlere Genel Bakış. 6th International Advanced Technologies Symposium (IATS'11), 2011, pp. 16-18.

Burçin, BOZ, et al. Biyosensörler ve Tarım Alanında Kullanımı. Tarım Makinaları Bilimi Dergisi 13(3):141-148.

Cao, Gao-Juan, et al. 2017 Mimicking horseradish peroxidase and oxidase using ruthenium nanomaterials. RSC Advances 7(82):52210-52217.

Cardenas-Trivino, G., et al. 2017 Chitosan doped with nanoparticles of copper, nickel and cobalt. Int J Biol Macromol 104(Pt A):498-507.

Chen, W., et al. 2009 HBcAg-pulsed dendritic cell vaccine induces Th1 polarization and production of hepatitis B virus-specific cytotoxic T lymphocytes. Hepatol Res 39(4):355-65.

Chen, Yan-Ping, et al. 2011 Preparation and Application of Urea Electrochemical Sensor Based on Chitosan Molecularly Imprinted Films. Electroanalysis 23(6):1454-1461.

Cheng, F., et al. 2016 A highly sensitive colorimetric metalloimmunoassay based on copper-mediated etching of gold nanorods. Analyst 141(6):1918-21.

Cybulski, L. E., et al. 2010 Membrane thickness cue for cold sensing in a bacterium. Curr Biol 20(17):1539-44.

Davulcu, Asım 2008 Pamuklu kumaşların ön terbiye proseslerinin enzimatik yöntemlerle kombine edilmesi üzerine bir araştırma.

Delwiche, M, et al. 2000 A biosensor to detect penicillin residues in food. Transactions of the ASAE 43(1):153.

Deng, H. H., et al. 2019 Colorimetric tyrosinase assay based on catechol inhibition of the oxidase-mimicking activity of chitosan-stabilized platinum nanoparticles. Mikrochim Acta 186(5):301.

Derkus, Burak, and Pınar Acar Bozkurt 2018 Multilayer Graphene Oxide-Silver Nanoparticle Nanostructure as Efficient Peroxidase Mimic. Hacettepe Journal of Biology and Chemistry 2(46):159-167.

Dhillon, G. S., et al. 2013 Green synthesis approach: extraction of chitosan from fungus mycelia. Crit Rev Biotechnol 33(4):379-403.

Erdoğan, Zehra Özden 2013 Ürik asit tayini için nanopartikül temelli biyosensörler hazırlanması, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Esin, Atav, et al. 2004 Enzimler konusunun anlamlı öğrenilmesinde analojiler oluşturmanın etkisi. Hacettepe Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi 27(27).

Fanjul-Bolado, P., M. B. Gonzalez-Garcia, and A. Costa-Garcia 2005 Amperometric detection in TMB/HRP-based assays. Anal Bioanal Chem 382(2):297-302.

Frasca, Stefano 2012 Biocatalysis on nanostructured surfaces: investigation and application of redox proteins using spectro-electrochemical methods.

Gençdağ Şensoy, Kübra 2017 Fenilüre herbisitlerin tayinine yönelik voltametrik sensör geliştirilmesi ve karakterizasyonu.

Gündüz, Turgut 1988 İnstrumental analiz: Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi.

Güngör, Selen Yağmur 2019 Peroksidaz Aktivitesine Sahip Nanopartikül/Mikroküre Kompozitlerinin Sentezi ve Glutatyon Tayininde Kullanılması, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Homola, J. 2003 Present and future of surface plasmon resonance biosensors. Anal Bioanal Chem 377(3):528-39.

Huizenga, David E, and Jack W Szostak 1995 A DNA aptamer that binds adenosine and ATP. Biochemistry 34(2):656-665.

Jiang, Cuifeng, et al. 2017 Chitosan–gold nanoparticles as peroxidase mimic and their application in glucose detection in serum. RSC Advances 7(70):44463-44469.

Jiang, H., et al. 2012 Peroxidase-like activity of chitosan stabilized silver nanoparticles for visual and colorimetric detection of glucose. Analyst 137(23):5560-4.

Jing, Pei, et al. 2015 A sensitive electrochemical aptasensor based on palladium nanoparticles decorated graphene–molybdenum disulfide flower-like nanocomposites and enzymatic signal amplification. Analytica Chimica Acta 853:234-241.

Kim, Namsoo, and In-Seon Park 2003 Application of a flow-type antibody sensor to the detection of Escherichia coli in various foods. Biosensors and Bioelectronics 18(9):1101-1107.

Kocak, Nuriye, et al. 2011 Microwave Assisted Synthesis of Chitosan Nanoparticles. Journal of Macromolecular Science, Part A 48(10):776-779.

Korkut, Seyda, et al. 2018 Electrochemical determination of urea using a gold nanoparticle-copolymer coated-enzyme modified gold electrode. Instrumentation Science & Technology 47(1):1-18.

Kökbaş, Umut, Levent KAYRIN, and TULİ Abdullah 2013 Biyosensörler ve tıpta kullanım alanları. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi 22(4):499-513.

Kramareva, Natalia V, et al. 2004 Heterogenized palladium chitosan complexes as potential catalysts in oxidation reactions: study of the structure. Journal of Molecular Catalysis A: Chemical 209(1-2):97-106.

Lakshmanan, R. S., et al. 2007 Phage immobilized magnetoelastic sensor for the detection of Salmonella typhimurium. J Microbiol Methods 71(1):55-60.

Lan, Jianming, et al. 2014 Colorimetric determination of sarcosine in urine samples of prostatic carcinoma by mimic enzyme palladium nanoparticles. Analytica chimica acta 825:63-68.

Liao, Yi-Hung, and Jung-Chuan Chou 2008 Preparation and characteristics of ruthenium dioxide for pH array sensors with real-time measurement system. Sensors and Actuators B: Chemical 128(2):603-612.

Lieberman, Robert A., et al. 1997 Stabilization of horseradish peroxidase (HRP) for use in immunochemical sensors. *In* Chemical, Biochemical and Environmental Fiber Sensors IX. Pp. 332-340.

Liu, L., et al. 2019 Nanomaterials-Based Colorimetric Immunoassays. Nanomaterials 9(3).

Liu, W., et al. 2014 Graphene-palladium nanowires based electrochemical sensor using ZnFe2O4-graphene quantum dots as an effective peroxidase mimic. Anal Chim Acta 852:181-8.

Maranescu, Bianca, et al. 2017 Use of chitosan complex with aminophosphonic groups and cobalt for the removal of Sr2+ ions. Separation Science and Technology 53(7):1058-1064.

Mullett, Wayne M, Edward PC Lai, and Jupiter M Yeung 2000 Surface plasmon resonance-based immunoassays. Methods 22(1):77-91.

Nangia, Y., et al. 2012 Palladium@gold bimetallic nanostructures as peroxidase mimic for development of sensitive fluoroimmunoassay. Anal Chim Acta 751:140-5.

Narwal, V., et al. 2017 An amperometric H2O2 biosensor based on hemoglobin nanoparticles immobilized on to a gold electrode. Biosci Rep 37(4).

O'Neill, R. D., et al. 2004 Comparisons of platinum, gold, palladium and glassy carbon as electrode materials in the design of biosensors for glutamate. Biosens Bioelectron 19(11):1521-8.

Otlu, B 2011 Biyosensörler: biyoreseptör moleküller. 6th International Advanced Technologies Symposium (IATS'11), 2011, pp. 16-18.

Ou, Chun-Yan, et al. 2010 Thermal degradation kinetics of chitosan–cobalt complex as studied by thermogravimetric analysis. Carbohydrate Polymers 82(4):1284-1289.

Ozalp, V. C. 2012 Dual-polarization interferometry for quantification of small molecules using aptamers. Anal Bioanal Chem 402(2):799-804.

Özalp, Veli C, and Thomas Schäfer 2011 Aptamer-based switchable nanovalves for stimuli-responsive drug delivery. Chemistry–A European Journal 17(36):9893-9896.

Özalp, Veli Cengiz 2011 Dual-polarization interferometry for quantification of small molecules using aptamers. Analytical and Bioanalytical Chemistry 402(2):799-804.

Özoğlu, Özüm 2019 Enzim temelli amperometrik laktat biyosensörü üretimi ve tayin sınırının belirlenmesi, Bursa Uludağ Üniversitesi.

Pinto, Ricardo JB, et al. 2017Demystifying the morphology and size control on the biosynthesis of gold nanoparticles using Eucalyptus globulus bark extract. Industrial Crops and Products 105:83-92.

Pirinçci, Şerife Şeyda 2018 Küçük molekül yapılı analitlerin piezoelektrik immunobiyosensörler ile tespitinde duyarlık geliştirilmesi.

Pomogailo, DA, et al. 2014 Polymer-matrix nanocomposite gas-sensing materials. Inorganic Materials 50(3):296-305.

Ragavan, K. V., et al. 2018 Advances in biosensors and optical assays for diagnosis and detection of malaria. Biosens Bioelectron 105:188-210.

Rahman, M. A., et al. 2006 The biosensor based on the pyruvate oxidase modified conducting polymer for phosphate ions determinations. Biosens Bioelectron 21(7):1116-24.

Rinaudo, Marguerite 2006 Chitin and chitosan: Properties and applications. Progress in Polymer Science 31(7):603-632.

Shaabani, Ahmad, Mahmoud Borjian Boroujeni, and Mona Hamidzad Sangachin 2015 Cobalt-chitosan: Magnetic and biodegradable heterogeneous catalyst for selective aerobic oxidation of alkyl arenes and alcohols. Journal of Chemical Sciences 127(11):1927-1935.

Silva, Anna T. B., et al. 2013 Nano-Assembled Supramolecular Films from Chitosan-Stabilized Gold Nanoparticles and Cobalt(II) Phthalocyanine. Journal of the Brazilian Chemical Society.

Singh, Kiran, Manjeet Singh Barwa, and Parikshit Tyagi 2007 Synthesis and characterization of cobalt (II), nickel (II), copper (II) and zinc (II) complexes with Schiff base derived from 4-amino-3-mercapto-6-methyl-5-oxo-1, 2, 4-triazine. European journal of medicinal chemistry 42(3):394-402.

Skoog, DA, and DM West 1981 Principles of Instrumental Analysis, II: Ed.

Şenel, Ferda 2013 Biyosensörler. Bilim Teknik Dergisi 12:44-45.

Tu, S. I., et al. 2009 Capture of Escherichia coli O157:H7 Using Immunomagnetic Beads of Different Size and Antibody Conjugating Chemistry. Sensors (Basel) 9(2):717-30.

Turunc, Ersan, et al. 2017 Green synthesis of silver and palladium nanoparticles using Lithodora hispidula (Sm.) Griseb. (Boraginaceae) and application to the electrocatalytic reduction of hydrogen peroxide. Materials Chemistry and Physics 202:310-319.

Türkmen, Esra 2015 Glikoz tayini için bir biyosensör geliştirilmesi.

TÜYLEK, Zülfü 2017 Biyosensörler ve Nanoteknolojik Etkileşim. Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi 6(2):71-80.

Volpe, G., et al. 1998 3,3′,5,5′-Tetramethylbenzidine as electrochemical substrate for horseradish peroxidase based enzyme immunoassays. A comparative study. The Analyst 123(6):1303-1307.

Wahono, N., et al. 2012 Evaluation of permselective membranes for optimization of intracerebral amperometric glutamate biosensors. Biosens Bioelectron 33(1):260-6.

Ye, Haihang, et al. 2016a Peroxidase-like properties of Ruthenium nanoframes. Science Bulletin 61(22):1739-1745.

Ye, Zongbiao, et al. 2016b Room temperature formaldehyde sensor with enhanced performance based on reduced graphene oxide/titanium dioxide. Sensors and Actuators B: Chemical 223:149-156.

Yeşiller, Şükran 2014 Enzim Aktivitesinin Tayinine Yönelik Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi Temelli Biyosensör Geliştirilmesi, Namık Kemal Üniversitesi.

Yilmaz, M. D. 2016 Layer-by-layer hyaluronic acid/chitosan polyelectrolyte coated mesoporous silica nanoparticles as pH-responsive nanocontainers for optical bleaching of cellulose fabrics. Carbohydr Polym 146:174-80.

Yu, Xueqing, Yingjun Jing, and Wenchen Xia 2016 Antifungal properties of chitosan-cobalt(II) complex and its potential on the suppression of damping-off in cucumber seedlings. Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering 11(5):714-720.

Zhuo, Shujuan, et al. 2020 Preparation of palladium/carbon dot composites as efficient peroxidase mimics for H 2 O 2 and glucose assay. Analytical and Bioanalytical Chemistry 412(4):963-972.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Elif Esra Altuner

Uyruğu : T.C

Doğum Yeri ve Tarihi : Konya- 1987

Telefon : 05062459315

Faks :

e-mail : ee_altuner@hotmail.com

EĞİTİM

Derece		Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	:	Özel Diltaş Lisesi	2005
Üniversite	:	Selçuk Üniversitesi	2010
Yüksek Lisans	:	Selçuk Üniversitesi	2013
Doktora	:	Selçuk Üniversitesi	2020

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2008-2012	Mehmet Ali Altuner Ltd. Şti	Yönetici
2014	Turan Plastik A.Ş	Kalite Kontrol
2015	Ar-tec Kimya Ltd Şti.	Kimyager
2016-2017	Sector Tarım A.Ş	Kimyager
2017-2018	Candem Gübre Ltd.Şti.	Dış Ticaret

UZMANLIK ALANI

Analitik Kimya ABD

YABANCI DİLLER

İngilizce

YAYINLAR

-Elif Esra ALTUNER, Emine ÖZCAN. ,The Places Adhesives Used In Agrochemicals and Chemistry -Journal Chemical,Biological And Physical Sciences- India, 2015, Selçuk Üniversitesi, Konya

-Elif Esra ALTUNER, Nano Kremlerin Üretimi, Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi-Zonguldak, 2014, Selçuk Üniversitesi,Konya

- Elif Esra ALTUNER, Yener TEKELİ, Determination of Nitrogen Quantities in the Aminoacid Fertilizer with Kjeldahl Device, International journal of Advanced Engineering Management and Science,Vol-5 , Issue -2 February-2019, INDIA (Doi: 10.22161/ıjaems.5.2.1

KONGRELER

-Elif Esra ALTUNER,Veli Cengiz ÖZALP, Mahmut Deniz YILMAZ, Emine ÖZCAN, Co(II) ions based on hydrogen peroxidase mimic for 3,3' 5,5' –tetramethylbenzidine (TMB) substrate analytical applications" -2020 (International Conference on Data Science& Applications- ICON DATA)

- Elif Esra ALTUNER,Veli Cengiz ÖZALP, Mahmut Deniz YILMAZ, Emine ÖZCAN, Hydrogen peroxydase Based Enzyme Based for 3,3' 5,5' tetramethylbenzidine (TMB)"- -2020 (International Conference on Data Science& Applications- ICON DATA)

-Elif Esra ALTUNER, Veli Cengiz ÖZALP, Mahmut Deniz YILMAZ, Emine ÖZCAN, Palladyum nanokompozit tabanlı elektrokimyasal ve kolorimetrik sinyallere dayalı biyosensörlerin geliştirilmesi (oral)-2019 (ISMSIT -3rd Multidicipllinary Studies and Innovative Tecnologies)

- Elif Esra ALTUNER, Veli Cengiz ÖZALP, Mahmut Deniz YILMAZ, Emine ÖZCAN, CTS-Co(II) Nanokompozit Tabanlı Biyosensör Geliştirilmesi -2019 /INSAC--II.International Science and Academic Congress)

- Elif Esra ALTUNER, Yener TEKELİ Determination of Nitrogen Quantities in the Amino acid Fertilizer with Kjeldahl Device (oral presentation-2019(INSAC-II.International Science and Academic Congress)

- Elif Esra ALTUNER, Yener TEKELİ ,The production of Boron Fertilizer and the observation its effetcts at tea plants by AAS Spectrometer (oral presantation -2018/IMSEC-III. International Mediterranen Science and Engineering Congress)

-Elif Esra ALTUNER,The production of nano creams (VII. National Analytical Congress poster -2014)

- Elif Esra ALTUNER The production of nano creams (IV. Cosmetic Congress poster -2013)