



**ANTİKOR BASKILANMIŞ MANYETİK NANOTANECİKLERİN
HAZIRLANMASI VE KULLANILABİLİRLİĞİ**

Sercan GÜRLEYİK

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2020

Sercan GÜRLİYİK tarafından hazırlanan “ANTİKOR BASKILANMIŞ MANYETİK NANOTANECİKLERİN HAZIRLANMASI VE KULLANILABİLİRLİĞİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Kimya Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Hayrettin TÜMTÜRK
Kimya Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Başkan: Prof. Dr. Meral KARAKIŞLA ŞAHİN
Kimya Ana Bilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Üye: Doç. Dr. Yavuz DEDE
Kimya Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

Tez Savunma Tarihi: 17/01/2020

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....
Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Sercan GÜRLEYİK

17/01/2020

ANTİKOR BASKILANMIŞ MANYETİK NANOTANECİKLERİN HAZIRLANMASI VE KULLANILABİLİRLİĞİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Sercan GÜRLEYİK

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2020

ÖZET

Yüzeyde baskılama yönteminde, antikora seçici polimerler sentezlemek için kalıp olarak antikor, antijen gibi proteinler kullanılabilir. Bu çalışmada, ferritin antikorlarının (anti-ferritin) spesifik olarak tanınması ve ayrılması için manyetik baskılı nanotanecikler (MIP-MNP'ler) kullanıldı. MIP-MNP'ler yüzeyde baskılama yöntemiyle hazırlandı. MNP'ler $\text{Fe}^{2+} : \text{Fe}^{3+}$ alkalın ortamında çökeltme yöntemiyle sentezlendi. MNP'lerin yüzeyinde atom transfer radikal polimerizasyonunun (ATRP) başlatıcısı olarak (3-Bromopropil) trimetoksisilan (BPTS) kullanıldı. Katalizör sistemi olarak $\text{Cu(I)Br} / \text{Cu(II)Br}_2$ kullanılmıştır. Fonksiyonel monomer ve çapraz bağlayıcı olarak 2-hidroksietilmetakrilat (HEMA) ve etilenglikoldimetakrilat (EGDMA) kullanıldı. MIP-MNP'ler yüzeyde başlatılan ATRP ve yüzeyde baskılama yönteminin kombinasyonu ile 2 saat içerisinde hazırlandı. Hazırlanan MIP-MNP'ler anti-ferritin antikorlarına karşı seçicilik gösterdi. Ayrıca kan eşdeğer numunesinde hedef antikorlar MIP-MNP'ler tarafından hızlıca tanındı ve kolayca ayrıldı.

Bilim Kodu : 20107

Anahtar Kelimeler : Antikor, Moleküler baskılama, Anti-ferritin baskılanmış manyetik nanotanecikler.

Sayfa Adedi : 81

Danışman : Prof. Dr. Hayrettin TÜMTÜRK

THE PREPARATION AND USABILITY OF ANTIBODY IMPRINTED
MAGNETIC NANOPARTICLES

(M. Sc. Thesis)

Sercan GÜRLLEYİK

GAZİ UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

January 2020

ABSTRACT

In the surface imprinting method, a protein such as antibody, antigen can be used as the template to produce antibody-selective polymers. In this study, antibody imprinted magnetic nanoparticles (MIP-MNP's) were prepared via surface imprinting method onto the surface of the magnetic nanoparticles for specific recognition and separation of ferritin antibodies (anti-ferritin). Magnetic nanoparticles were synthesized by precipitation method in alkaline medium of $\text{Fe}^{2+} : \text{Fe}^{3+}$. (3-Bromopropyl) trimethoxysilane (BPTS) was used atom transfer radical polymerization (ATRP) initiator which was attached surface of the MNP's. $\text{Cu(I)Br/Cu(II)Br}_2$ were used as catalyst system. 2-droxyethylmethacrylate (HEMA) and ethyleneglycoldimethacrylate (EGDMA) were chosen as functional monomer and crosslinking-agent, respectively. The MIP-MNP's were prepared within 2h by the combination of surface-initiated atom transfer radical polymerization and surface imprinting method. The prepared MIP-MNP's showed selective affinity to target anti-ferritin antibodies. Moreover, the target antibodies in the whole blood sample were quickly recognized and easily separated by MIP-MNP's.

Science Code : 20107

Key Words : Antibody, Anti-ferritin imprinted magnetic nanoparticles, Surface initiated atom transfer radical polymerization.

Page Number : 81

Supervisor : Prof. Dr. Hayrettin TÜMTÜRK

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca benden destek ve ilgilerini esirgemeyen, beni yönlendiren, kıymetli tecrübelerinden faydalandığım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Hayrettin TÜMTÜRK'e sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Deneyisel çalışmalarım sırasında engin bilgileriyle her zaman yardımcı olan ve çalışmalarım konusunda tecrübeleriyle beni yönlendiren değerli hocam Sayın Doç. Dr. Eylem TURAN'a teşekkür ederim.

Maddi ve manevi desteğini her zaman hissettiğim, hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan, benim bu günlere gelmemde büyük emekleri olan sevgili annem Belgin GÜRLEYİK, babam İbrahim GÜRLEYİK ve kardeşim Ayça GÜRLEYİK'e en içten sevgilerimi sunarım.

Manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan çok değerli arkadaşlarım Doğukan DOYDUK, Osman HALİLOĞLU, Süleyman Koray DUMAN ve Mehmet UĞURPAKKAN'a teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	9
2.1. Manyetik Nanotanecikler	9
2.2. Manyetik Nanotaneciklerin Uygulama Alanları.....	10
2.3. Doygunluk Mıknatıslığı.....	16
2.4. Paramanyetizma.....	18
2.4.1. Süperparamanyetizma	19
2.5. Histerezis Eğrisi.....	21
2.5.1. Curie sıcaklığı	22
2.6. Ferrosıvılar	23
2.7. Manyetik Nanotaneciklerin Sentezi.....	24
2.7.1. İkili çöktürme yöntemi	24
2.7.2. Termal bozunma yöntemi.....	25
2.7.3. Mikroemülsiyon yöntemi	26
2.7.4. Hidrotermal sentez yöntemi	27
2.8. Manyetik Nanotaneciklerin Kararlılığı.....	28
2.8.1. Organik moleküllerle yüzey modifikasyonu	30

	Sayfa
2.8.2. Yüzey aktif maddelerle yüzey modifikasyonu.....	30
2.8.3. Polimerlerle yüzey modifikasyonu.....	30
2.8.4. Biyolojik moleküller	31
2.8.5. İnorganik moleküllerle yüzey modifikasyonu.....	31
3. MOLEKÜLER BASKILAMA	33
3.1. Moleküler Baskılı Polimerlerin Sentezlenmesi	35
3.1.1. Çapraz bağlayıcılar.....	37
3.1.2. Başlatıcılar.....	37
3.1.3. Çözücüler	38
3.1.4. Hedef moleküller.....	38
3.1.5. Fonksiyonel monomerler.....	39
3.2. Moleküler Baskılama Yöntemleri	40
3.2.1. Kovalent baskılama	40
3.2.2. Kovalent olmayan baskılama	40
3.3.3. Yarı kovalent baskılama.....	42
3.3.4. Moleküler baskılı polimerlerin uygulama alanları	42
4. DENEYSEL KISIM	45
4.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	45
4.2. Manyetik Nanotaneciklerin Sentezi.....	47
4.2.1. Brom fonksiyonel manyetik nanotaneciklerin sentezi	47
4.2.2. Antikor baskılanmış manyetik nanotaneciklerin sentezi.....	48
4.3. Anti-ferritin Baskılanmış Manyetik Nanotaneciklere Anti-ferritin Adsorpsiyon Çalışmaları	48
4.4. Kullanılan Cihazlar.....	49
4.4.1. Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM)	49
4.4.2. Titreşen Örnek Magnetometresi (VSM)	49

	Sayfa
4.4.3. Dinamik Işık Saçılımı (DLS)	50
4.4.4. X-Işınları Fotoelektron Spektroskopisi (XPS)	50
5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	51
5.1. Baskılanmış Manyetik Nanotaneciklerin Hazırlanması ve Adsorpsiyon Çalışmaları.....	51
5.2. Adsorpsiyon Kapasitesine Başlangıç Anti-ferritin Değişimi Etkisi.....	55
5.3. Adsorpsiyon Kinetiği.....	57
5.4. Hedef Antikora Seçicilik	57
5.5. Baskılanmış Manyetik Nanotaneciklerin Yeniden Kullanılabilirliği	59
5.6. Baskılanmış Manyetik Nanotaneciklerin Analitik Performansı.....	60
5.7. Baskılanmış Manyetik Nanotaneciklerin Kirletilmiş Sentetik Kan Numunelerindeki Uygulanabilirliği	61
6. SONUÇ	63
KAYNAKLAR	65
EKLER.....	79
EK-1. Kongre Katılım Belgesi.....	80
ÖZGEÇMİŞ	81

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Başlıca çapraz bağlayıcılar ve yapıları	37
Çizelge 5.1. Manyetik, Br-fonksiyonel, NIP ve MIP manyetik nanotaneciklerin hidrodinamik çapları ve dispersite özellikleri	53
Çizelge 5.2. NIP ve MIP manyetik nanotaneciklerin K_d ve Q_{max} değerleri ($R^2 = 0,9994$).....	56
Çizelge 5.3. MIP ve NIP manyetik nanotaneciklerin baskılama faktörleri ve seçicilik katsayıları	59
Çizelge 5.4. Anti-ferritinin MIP manyetik nanotanecikler ile kirletilmiş sentetik kan numunelerinden geri kazanımı ($n = 4$).	61

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Çeşitli nanotaneciklerin şekilleri. (a) küreler, (b) dikdörtgen diskler, (c) çubuklar, (d) silindirik, (e) yassı elips, (f) diskler, (g) mantar şekilli ve (h) dairesel disk yapılar	1
Şekil 1.2. Nanotüp yapılar	1
Şekil 1.3. Moleküler baskılanmış polimerlerin hazırlanması	3
Şekil 1.4. Moleküler baskılanmış manyetik karbon nanotüplerin sentezi	4
Şekil 1.5. Levofloksasin eksraksiyonunda kullanılan moleküler baskılanmış manyetik karbon nanotüplerin SEM (A) ve TEM (B, C) görüntüleri	4
Şekil 1.6. Antibiyotikler üzerinde çalışmak için tasarlanan MIP reseptörler	5
Şekil 1.7. İmmobilize edilmiş antikorların farklı yüzeylerdeki moleküler görüntüleri ..	6
Şekil 1.8. Au-SPE'lerin AFM görüntüleri	8
Şekil 2.1. Agregasyon	9
Şekil 2.2. Yapıştırıcı ve onarıcı özellikteki nanotanecikler	11
Şekil 2.3. Biyofonksiyonelleştirilmiş gümüş nanotaneciklerin yara iyileşme aktivitesi	13
Şekil 2.4. Kanser tedavisinde kullanılan manyetik nanotaneciklerin şematik gösterimi	15
Şekil 2.5. Manyetik alan yönlendirmeli kaplama	17
Şekil 2.6. Ferromanyetik maddeler.	18
Şekil 2.7. Paramanyetik maddeler	19
Şekil 2.8. Biyosensör olarak kullanılan süperparamanyetik nanotanecikler	20
Şekil 2.9. Histerezis eğrisi	21
Şekil 2.10. Mıknatıslanma eğrileri Fe_3O_4 (a), PDOP kaplı Fe_3O_4 (b) ve SiO_2 kaplı Fe_3O_4 (c)	22
Şekil 2.11. Ferrosıvılar	23
Şekil 2.12. Ters misel yapısı	27
Şekil 2.13. Manyetit için Eh – pH diyagramı	29
Şekil 2.14. Sulu ortamdaki bir manyetitin farklı pH değerlerindeki yapıları	29

Şekil	Sayfa
Şekil 2.15. Silika nanotanecikler (a,b) ve PDA kaplı silika nanotanecikler (c,d)	33
Şekil 3.1. Kovalent ve kovalent olmayan baskılama	42
Şekil 4.1. Anti-TPO antikorunun yapısı, mol kütlesi 103 kDa.....	46
Şekil 4.2. Anti-IgG antikorunun yapısı, mol kütlesi 160 kDa	46
Şekil 4.3. Anti-ferritin antikorunun yapısı, mol kütlesi 65 kDa	47
Şekil 5.1. Baskılanmış manyetik nanotaneciklerin sentezi.....	51
Şekil 5.2. Manyetik nanotaneciklerin XPS spektrumları.....	52
Şekil 5.3. (a) Manyetik, (b) Br-fonksiyonel, (c) NIP ve (d) MIP manyetik nanotaneciklerin TEM görüntüleri	53
Şekil 5.4. Manyetik, Br-fonksiyonel, NIP ve MIP manyetik nanotaneciklerin manyetizasyon eğrileri.....	54
Şekil 5.5. MIP ve NIP manyetik nanotaneciklerin adsorpsiyon kapasitesine başlangıç anti-ferritin derişimi etkisi	55
Şekil 5.6. MIP ve NIP manyetik nanotaneciklerin adsorpsiyon kinetiği.....	57
Şekil 5.7. MIP ve NIP manyetik nanotaneciklerin hedef antikora seçiciliği	58
Şekil 5.8. MIP ve NIP manyetik nanotaneciklerin yeniden kullanılabilirliği.....	60
Şekil 5.9. Kalibrasyon grafiği	61

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler

Açıklamalar

°C	Derece Celcius
kPa	Kilopaskal
emu g ⁻¹	Manyetik moment
μL	Mikrolitre
mg	Miligram
U/mL	Mililitre başına birim

Kısaltmalar

Açıklamalar

AFM	Atomik kuvvet mikroskobu
Anti-IgG	Anti-immunoglobulin G
Anti-TPO	Anti-mikrozomal antikorlar
Au-SPE	Altın ekran baskılı nanotanecikler
Br-MNP	Brom fonksiyonel manyetik nanotanecikler
BPTS	(3-Bromopropil) trimetoksisilan
CA-125	Karbonhidrat 125 antijeni
cTnI	Kardiyak troponin I antikor
DLS	Dinamik ışık saçılması
DVB	p-divinilbenzen
EGDMA	Etilen glikol dimetilakrilat
XPS	X-Işını fotoelektron spektroskopisi
HEMA	2-Hidroksil metakrilat
MAA	Metakrilik asit
MIP	Manyetik nanotanecik

Kısaltmalar**Açıklamalar****MNP**

Manyetik nanotanecik

NIP

Baskılanmamış manyetik nanotanecik

PDA

Polidopamin

PDI

Çoklu dağıtkanlık indisi

PMDETA

N,N,N',N'',N''-Pentametildietilentriamin

SEM

Taramalı elektron mikroskobu

SPE

Katı faz eksraksiyonu

TEM

Geçirimli elektron mikroskobu

Tc

Curie sıcaklığı

TEOS

Tetraetilortosilikat

UV-GB

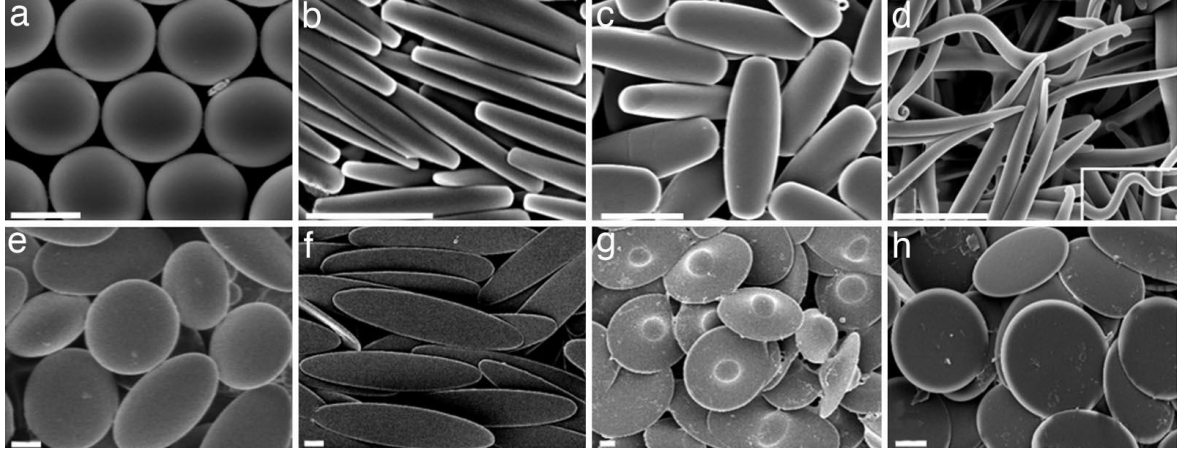
Ultraviyole-görünür bölge

VSM

Titreşen örnek manyetometresi

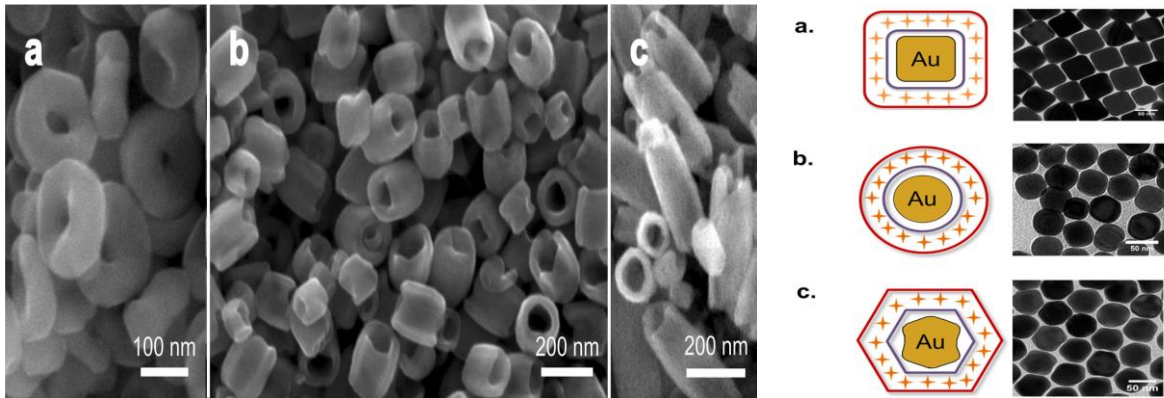
1. GİRİŞ

Nanotanecikler 1-100 nm arasındaki tanecikleri tanımlamak için kullanılır. Manyetik nanotanecikler birçok materyalden, farklı yöntemlerle sentezi ve farklı alanlardaki kullanılabilirliğinden dolayı son zamanlarda nanokimyanın ilgi odağı olmuştur [1]. Nanotanecikler metaller, metal oksitler, biyomoleküller ve silikatlar gibi farklı yapıya sahip materyallerden üretilir. Şekil olarak çekirdek-kabuk, tüp, küre, kafes, silindir gibi yapılarda olabilirler [2]. Julie ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada bazı nanotaneciklerin şekilleri incelenmiştir (Şekil 1.1) [3].



Şekil 1.1. Çeşitli nanotaneciklerin şekilleri. (a) küreler, (b) dikdörtgen diskler, (c) çubuklar, (d) silindirik, (e) yassı elips, (f) diskler, (g) mantar şekilli ve (h) dairesel disk yapılar [3]

Dias ve arkadaşları tarafından hazırlanan manyetik nanotüplerin yapıları aşağıda (Şekil 1.2) verilmiştir.



Şekil 1.2. Nanotüp yapılar [4]

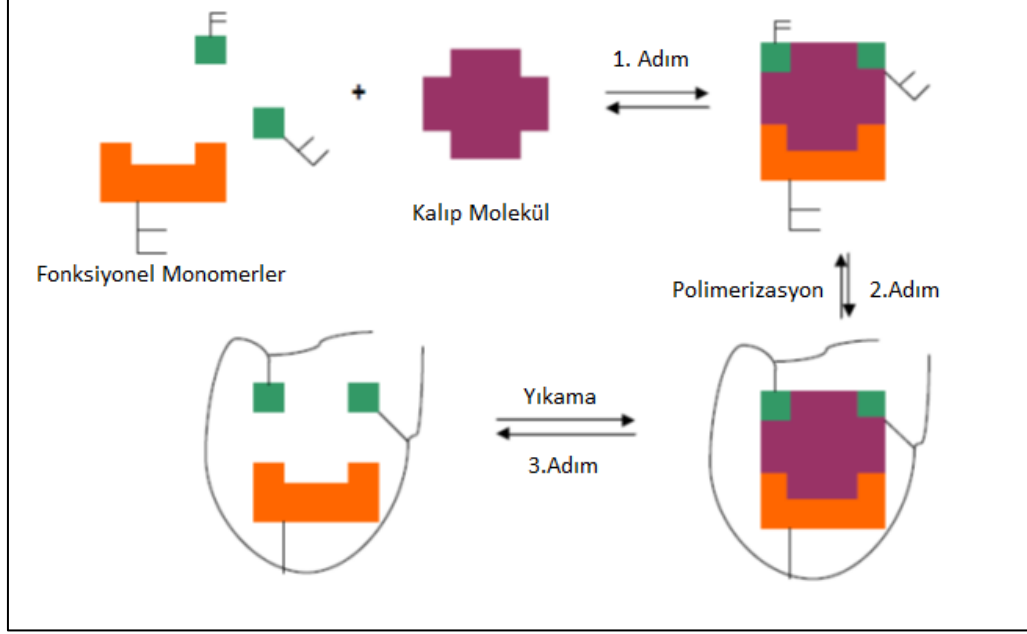
Nanotanecekler yapılarındaki çeşitlilik, şekilleri, bulundukları ortama uygunlukları ve ortamda dağılma şekilleri gibi spesifik özellikleri nedeniyle birçok uygulama alanında aktif olarak kullanılmaktadır [5].

Son yıllarda manyetik nanotanecekler geniş uygulama alanları sayesinde büyük bir ilgi görmektedir. Özellikle nanoteknolojinin de gelişmesiyle, ilk kez keşfedilen araştırma alanları, yeni malzemeler ve birçok yeni fırsat sunan bilim alanları oluşmuştur. Nano ölçekli manyetik malzemeler spesifik birçok avantajı nedeniyle ilaç sektörü, biyomedikal uygulamalar gibi çoğu biyoteknolojik alanda kullanılırlar [6]. Nanometre bazında boyutları kontrol edilebilen, moleküler baskılama sayesinde hafıza özelliği kazandırılan, fonksiyonel grupları sayesinde istenilen özelliğe sahip olan bu tanecekler, manyetik özelliği sayesinde de kolayca ayrıştırılabilirler. Bu özellikleri birçok uygulamada büyük avantaj sağlar. Manyetik nanotanecekler biyolojik uygulamalarda ayırma işleminde kullanılırlar. Bu işlem oldukça basit ve kolay bir tekniktir. Burada nanotaneceklerin manyetik özelliğinden yararlanılır. Dışarıdan uygulanan manyetik alan sayesinde tanecekler mıknatıslanır ve ayırma işlemi yapılabilir. Uygulanan manyetik alan kaldırılırsa nanotanecekler ortamda dispers olur [7].

Moleküler baskılama, doğal tanıma sistemlerinin kimyasal yapılara aktarılması yöntemidir. Moleküler baskılanmış polimerlerde antijen antikör, enzim substrat gibi doğal tanıma mekanizmalarının polimerik yapılara aktarılmasıyla oluşmuş bir alandır. Bu yöntem sayesinde farklı matrislerden ayrılabilen iyonların, çeşitli yapıdaki organik moleküller ve biouyumlu akıllı polimerlerin sentezlenmesi ve bu polimerlerin çok geniş bir uygulama alanında kullanımı sağlanmıştır [8]. Moleküler baskılama genellikle kovalent ve non-kovalent etkileşimlerle hedef yapının fonksiyonel grup içeren moleküllere uygun olarak bağlanması temeline dayanır. Daha sonra hedef molekül yapıdan uzaklaştırılarak spesifik bağlanma noktaları oluşturulur [9].

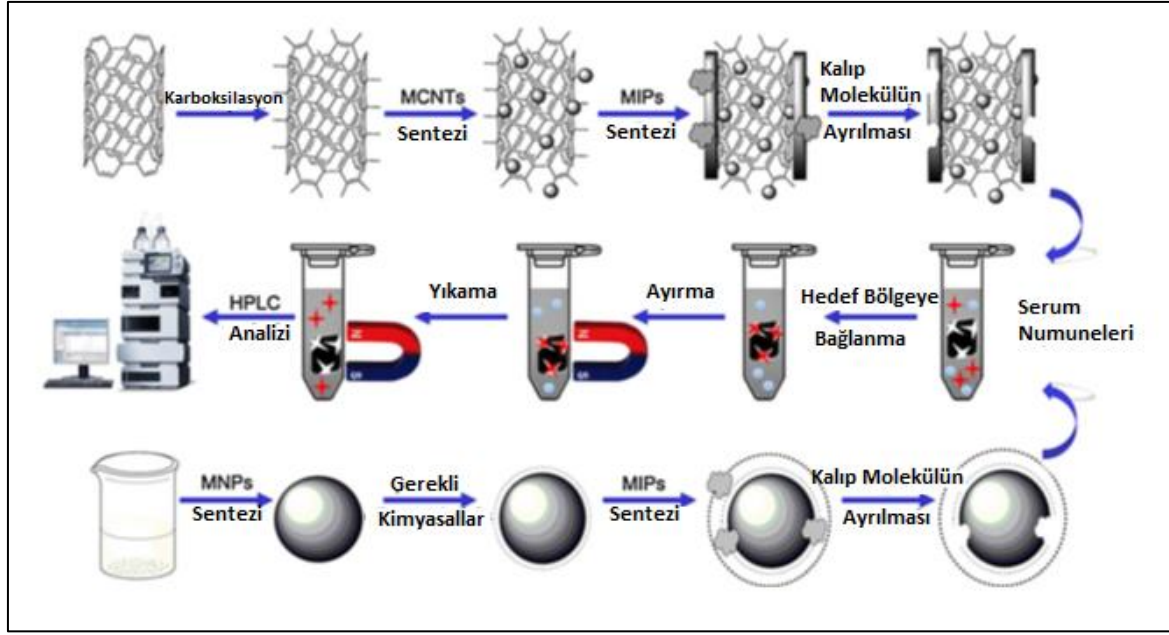
Moleküler baskılanmış polimerler hedef yapıya yüksek seçicilik göstermesi sebebiyle oldukça önemli bir yere sahiptir. Bu yöntem bir polimerizasyon mekanizması gibi çalışır ve yapay ligand işlevi gören spesifik boşluklar üretir. Bu polimerler ısı ve basınç dirençleri, fiziksel sağlamlıkları, düşük maliyetleri, yüksek seçiciliğe sahip olmaları, asit, baz, metal iyonları ve organik çözücüler gibi ortamlardaki yüksek kararlılıkları nedeniyle oldukça geniş bir kullanım alanına sahiptirler. Birkaç yıl performanslarında herhangi bir

değişiklik olmadan saklanabilirler [10]. Moleküler baskılanmış polimerler ayırma işlemlerinde kromatografik destek malzemesi olarak, katalitik aktiviteye sahip polimer olarak, yapay enzim olarak, sentetik biyoreseptör ve biyosensör olarak kullanılmaktadır [11].

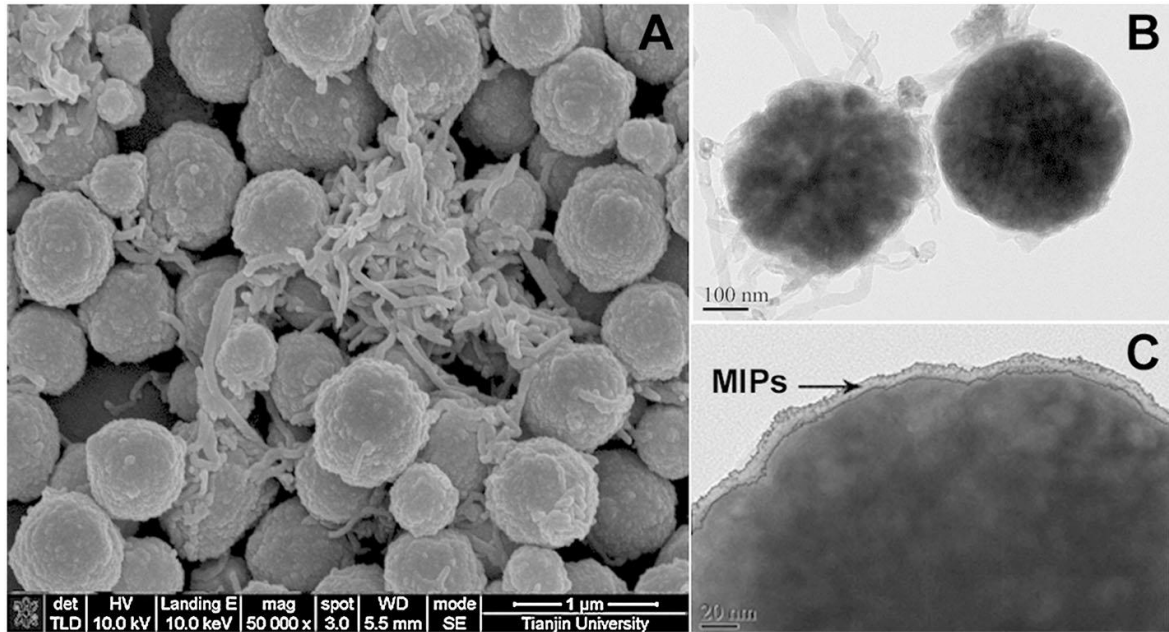


Şekil 1.3. Moleküler baskılanmış polimerlerin hazırlanması

Xiao ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada moleküler baskılanmış manyetik karbon nanotüpler hazırlanmış ve serum örneklerinden levofloksasinin çıkarılması için bu nanotüpler kullanılmıştır. Burada kalıp molekül olarak levofloksasin, fonksiyonel monomer olarak metakrilik asit ve çapraz bağlayıcı olarak da etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) kullanılarak nanotüpler sentezlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda bu nanotüplerin kalıp molekül olan levofloksasine yüksek seçicilik gösterdikleri belirlenmiştir. Levofloksasinin ekstraksiyonu sonucu geri kazanımın ilk olarak %75 düzeyinde olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda optimum şartlar sağlanarak bu geri kazanım %85 düzeyine çıkarılmıştır. Bu çalışma sonucunda serum numunesinden manyetik nanotüpler kullanılarak başarılı bir şekilde levofloksasin ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Bu ekstraksiyon sonucunda da eser miktardaki farmasötik kimyasalların, biyomatrislerden çıkarılması için bu yöntemin umut verici bir alternatif olabileceği öne sürülmüştür (Şekil 1.4. ve Şekil 1.5.) [12].



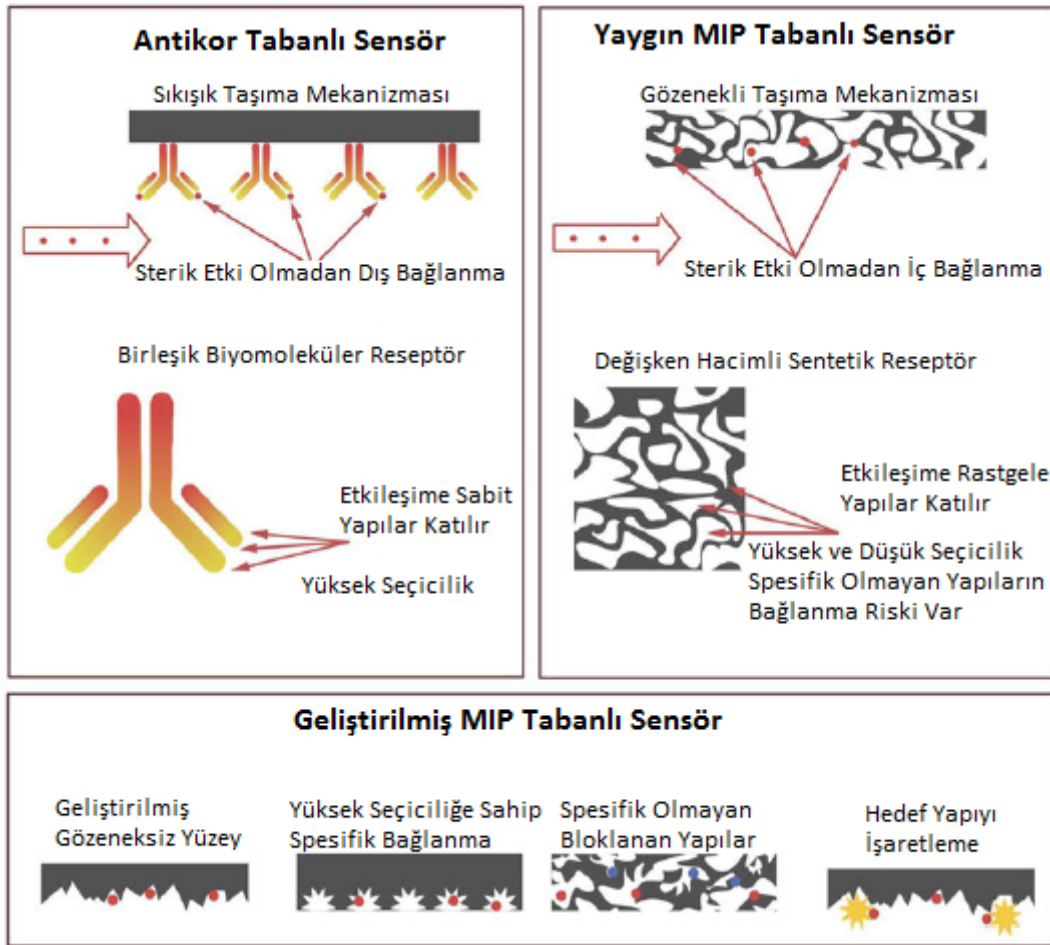
Şekil 1.4. Moleküler baskılanmış manyetik karbon nanotüplerin sentezi [12]



Şekil 1.5. Levofloksasin ekstraksiyonunda kullanılan moleküler baskılanmış manyetik karbon nanotüplerin SEM (A) ve TEM (B, C) görüntüleri [12]

Son yıllarda medikal tedavilerde ve hayvan yetiştiriciliğinde aşırı antibiyotik kullanımı göze çarpmaktadır. Bu nedenle, antibiyotiklerle ilgili potansiyel riski belirlemek ve kontrol etmek için hızlı, ucuz ve sürdürülebilir tekniklerin gerekliliği ortaya çıkmıştır. Aslında bağışıklık tahlilleri bu amaç için geniş uygulamalara sahiptir. Enzimatik, floresans, nanodispers ve diğer izleyicilere sahip geliştirilmiş tahlil formatları tekniğin etkinliğini

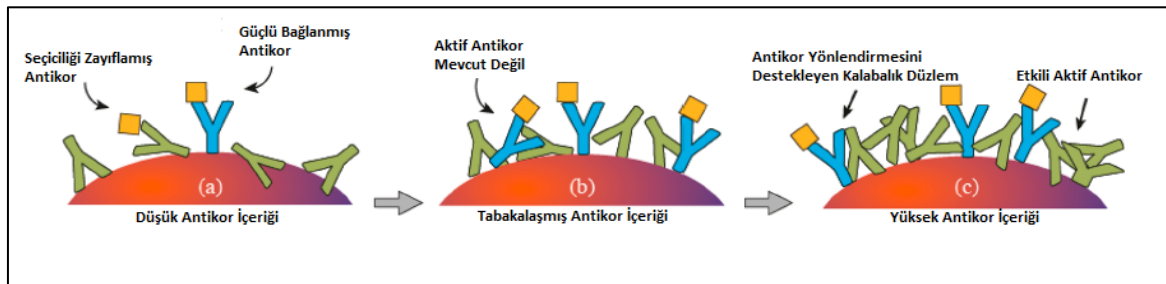
artırmış olsada antikorların protein doğasından dolayı bu tekniğin bazı eksikliği göze çarpmaktadır. Bunun sonucunda moleküler baskılama teknolojisi, doğal antikorlara benzer bağlanma özelliklerine sahip moleküler tanıma için büyüyen yapay analitik reseptör olarak geliştirilmiştir [13]. Son zamanlarda moleküler olarak baskılanmış polimerler, bu tekniklerdeki antikorların yerine kullanılmaya başlamıştır. Tarannum ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, manyetik nanotanecek (MNP) bazlı analizlerin gıda ve çevre örneklerinde antibiyotiklerin tespitinde uygulanması araştırılmıştır (Şekil 1.6.) [14].



Şekil 1.6. Antibiyotikler üzerinde çalışmak için tasarlanan MIP reseptörler [14]

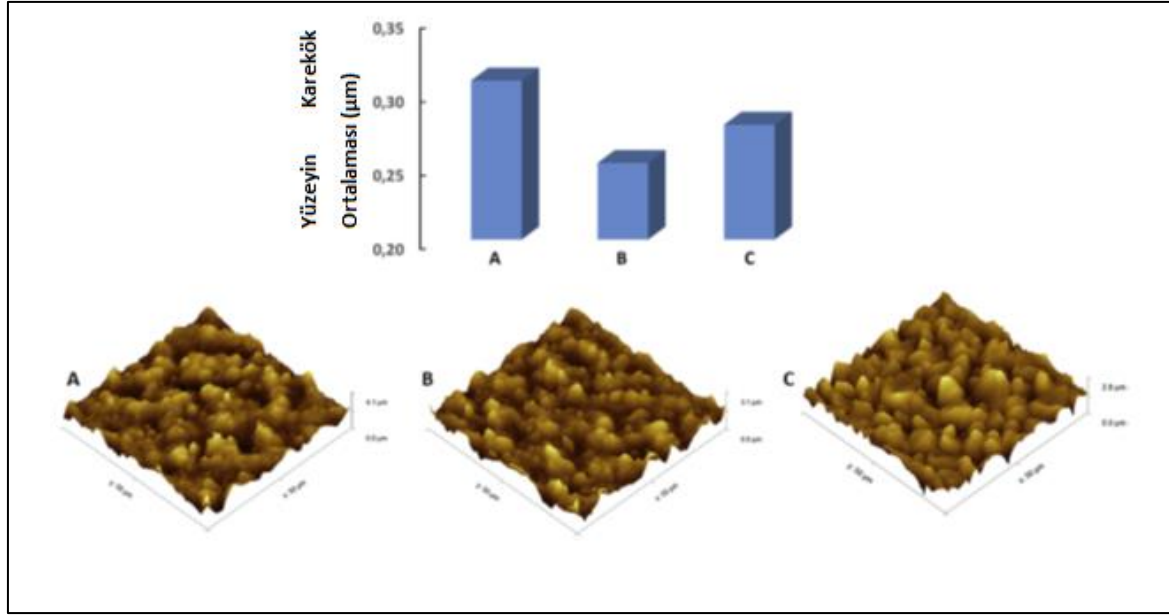
Antikor kaplı nanotaneceklerin antijen yakalama aktivitesi, afinite bazlı biyoanalitik uygulamalar için çok önemlidir. Saha ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada moleküler baskılanmış bir yüzey üzerinde yönlendirilmemiş şekilde hareketsizleştirilmiş antikorların antijen yakalama aktivitesi hakkında kapsamlı bir araştırma yapılmıştır. Süper paramanyetik nanotanecekler, kardiyak troponin I'e (cTnI) karşı farklı miktarlarda monoklonal antikorlarla kovalent şekilde işlevselleştirilmiştir. Düşük bir antikor yüzey

kaplamasında, hareketsizleştirilmiş antikorların %4'üne kadarı antijen moleküllerini çözeltiden alabilirken, yüksek antikor içeriğinde (nanotanecik başına $\geq 50 \times 10^2$ antikor, yani μm^2 başına $\geq 64 \times 10^2$ antikor), antijen yakalama antikorlarının fraksiyonu %4'ün altına düşmüş ve aktif antikor sayısı nanotanecik başına yaklaşık 120 olarak gözlemlenmiştir. Aktif antikorların oranı düşük olmasına karşın, şaşırtıcı bir şekilde ayrılma sabitleri de düşüktür. Ek olarak, antikor kaplı nanotaneciklerin yüzey bağlama aktivitesi, seyreltilmemiş kan plazmasında cTnI ölçen bir optomanyetik immünolojik test biyosensöründe analiz edilmiştir. Veriler, immünolojik test sinyallerinin başlangıçta artan ve daha yüksek antikor yoğunluklarında doygun hale gelen aktif antikor sayısı ile ölçeklendiğini göstermiştir. Aşağıdaki şekilde (Şekil 1.7.) düşük antikor içeriğinde (a) yönlendirilmemiş şekilde hareketsizleştirilmiş antikorlar mavi ile gösterilmiştir. Serbest yüzey alanının mevcudiyeti nedeniyle, antikorlar nanoparçacık yüzey ile çoklu bozulmalara neden olabilir, bu da dağılma ve denatüre (yeşil) neden olabilir ve bu durum da antijene olan afiniteyi etkiler. Antikorların daha yüksek bir çözelti konsantrasyonu ile çalışıldığında (b), yüzey kapsamı, tam bir tek tabakaya yaklaşır ve yandan antikor yönlendirmesi ve antikor denatüre edilmesi için daha az yüzey bulunur. Sonuç olarak, toplam aktif antikor sayısı artar. Aktif antikorların tümü, immünolojik testlerdeki bir sensör yüzeyine bağlanamaz. Daha da yüksek konsantrasyondaki antikor çözeltisiyle çalışıldığında (c), immobilizasyon kapasitesi hesaplanan tek tabakalı kapsama alanından geçer ve toplam aktif antikor sayısı stabilize olur. Artan antikor yoğunluğu bir yandan antikor – antikor sterik etkilerinden dolayı düzlem dışı bir antikor yönlendirmesini destekleyebilir, ancak diğer taraftan kaplama etkileriyle antikorların erişilememesine de neden olabilir. Düzlem dışı antikor yönlendirmesi, nanotaneciklerin bir algılama yüzeyine antikor bağlanması için elverişlidir [15].



Şekil 1.7. İmmobilize edilmiş antikorların farklı yüzeylerdeki moleküler görüntüleri [15]

Son zamanlarda MIP tabanlı biyosensörlerin geliştirilmesi hızlanmıştır. Rebelo ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada özellikle Avrupa bölgesindeki kadınlarda yumurtalık kanserinde artışlar görülmüş buna bağlı olan karbonhidrat 125 antijeni (CA-125) üzerinde araştırmalar yapılmıştır. Yapılan bu çalışmada CA-125 hedef protein olarak seçilmiştir. CA-125 biyosensör tanıma için altın elektrot yüzeyinde moleküler baskılayıcı polimerlerin kullanılmasıyla geliştirilmiştir. CA-125 baskısının hazırlanması, büyük moleküler tanıma kabiliyetine sahip oldukça seçici malzemeler elde etmek için siklik voltametri kullanılarak pirol monomerinin elektrolizlenmesiyle elde edilmiştir. CA-125 biyosensörünün geliştirilmesinde kullanılan elektrokimyasal ve optik transdüksiyonun performans değerlendirmesine devam etmek için duyarlılık, doğrusal tepki aralığı ve tespit limiti gibi çeşitli analitik parametreler belirlenmiştir. Elektrokimyasal transdüksiyona dayanan biyosensör 0,01 ve 500 U / mL arasında lineer konsantrasyon aralığı sağlayan iyi bir seçicilik ve 0.01 U / mL'lik bir tespit limiti sağlayan analitik parametreleri sağlamıştır. Çalışmada yüzey karakterizasyonu doğrudan yüzey üzerinde yapılmıştır. Altın ekran baskılı taneciklerin (Au-SPE) AFM görüntüleri temiz Au-SPE'den elde edilmiştir (Şekil 1.8.). Temiz Au-SPE'ler (A) 0,308 mm karekök ortalama yüzey alanına sahiptir ve bu yüzey Au-SPE elektrotlarının üretiminde kullanılan altın renkli mürekkep filmlerinde karakteristiktir. Elektropolimerizasyon işleminden sonra, yüzeyin karekök ortalamasının değeri 0,252 mm (B) 'ye düşer. Bu da elektrot yüzeyinde yüzey düzleşmesine katkıda bulunan bir polimerik ağın oluşumu olarak yorumlanabilir. Son olarak, polimerin CA-125 şablonunun dodesil sülfat çözeltisi ile ekstraksiyonundan sonra, yüzeyin ortalama karekök değeri 0,278 mm (C) 'ye yükselir. Bu da CA-125'in polimer ağından çıkarılmasıyla indüklenen film pürüzlülüğündeki bir artış olarak yorumlanabilir [16].



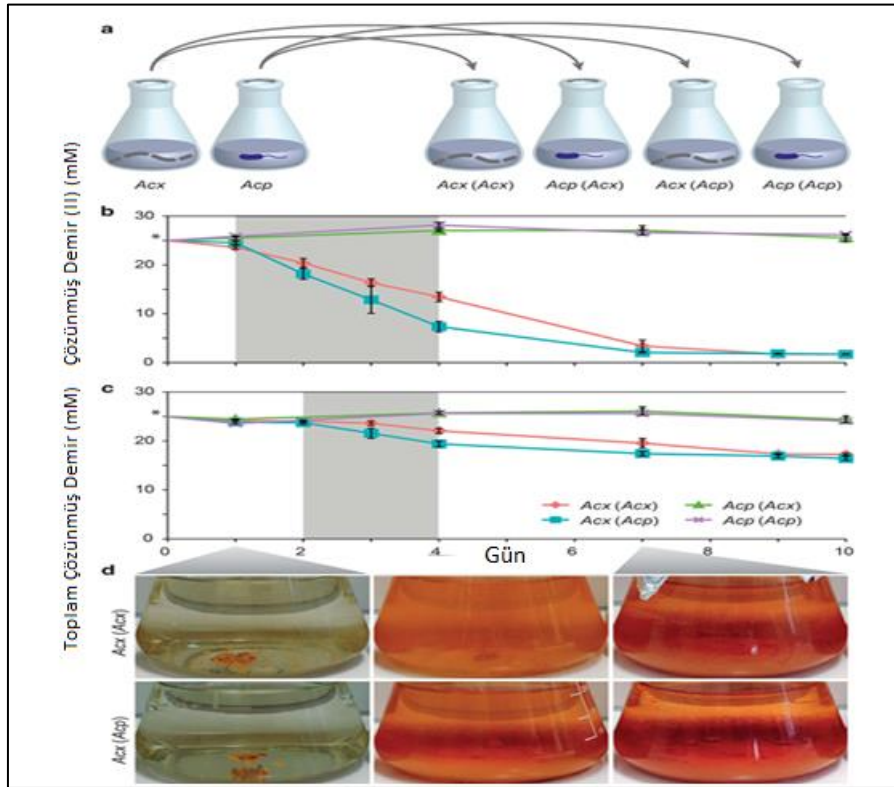
Şekil 1.8. Au-SPE'lerin AFM görüntüleri [16]

Yapılan detaylı literatür çalışmasının ışığında bu tez çalışmasının amacı; karmaşık matrislerden kendilerine özgü anti-ferritin antikollarını yüksek seçicilik ve ilgiyle ayırabilme özelliğine sahip moleküler baskılanmış, biyouyumlu manyetik nanotaneceklerin yüzeyde baskılama yöntemiyle hazırlanması ve uygulanabilirliğinin araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Manyetik Nanotanecikler

Nanotaneciklerin yapısı, doğaları ve sahip olabileceği özellikler nedeniyle, son otuz yıl içerisinde daha fazla ilgiyi üzerine çekmiştir [17]. Bununla birlikte blok yapıların çeşitliliği, raporlanmış tasarımlar ve yapılandırma teknikleri etkileyici olmuştur. Bu araştırmalar kolloitlerin sentezlenmesine, yeni maddelere ve yeni yüzey fonksiyonlarına dayanmaktadır. İki boyutlu kolloit dizilerin yapısı iyice belirlendikten sonra bu yapılardan yola çıkarak üç boyutlu sistemlere geçilmiştir. Son zamanlarda ise kolloit yapıları dışına çıkılarak özel nanotanecikler, nanomalzemeler ve nanoyapılar sentezlenmeye başlanmıştır [18]. Nanotanecikler oldukça kararsızdır ve bu yüzden kümeler oluşturmalarını ve çözelti içinde çökmelerini engellemek için özel önlemler alınır. Cam örtü, ayıraç çözeltiler, çözücüler ve yüzey aktif maddeler agregasyonu engelleyen çözümlerdir. Bazen de çözüm olarak stabilizatörler kullanılmıştır. Bu ajanlar nanotanecikler süspansiyon halindeyken, nanotaneciklerin yüzeyleriyle etkileşerek yapının kararlı kalmasını sağlar ve agregasyonu önler [19].



Şekil 2.1. Agregasyon [20]

Organik ve inorganik yapılardan oluşabilen manyetik nanotanecikler, yüksek manyetik duyarlılık, süperparamanyetik özellik, düşük Curie sıcaklığı, yüksek koersivite gibi spesifik özelliklere sahiptir. Curie sıcaklığı ferromanyetik özellikteki maddelerin (kalıcı olarak mıknatıslanabilen) bu özelliğini kaybettiği sıcaklıktır. Manyetik alan sıfır olduğundaki manyetizasyon değerine koersivite denir. Oda sıcaklığında süperparamanyetik özellik gösteren nanotaneciklerin koersivitesi sıfırdır [21].

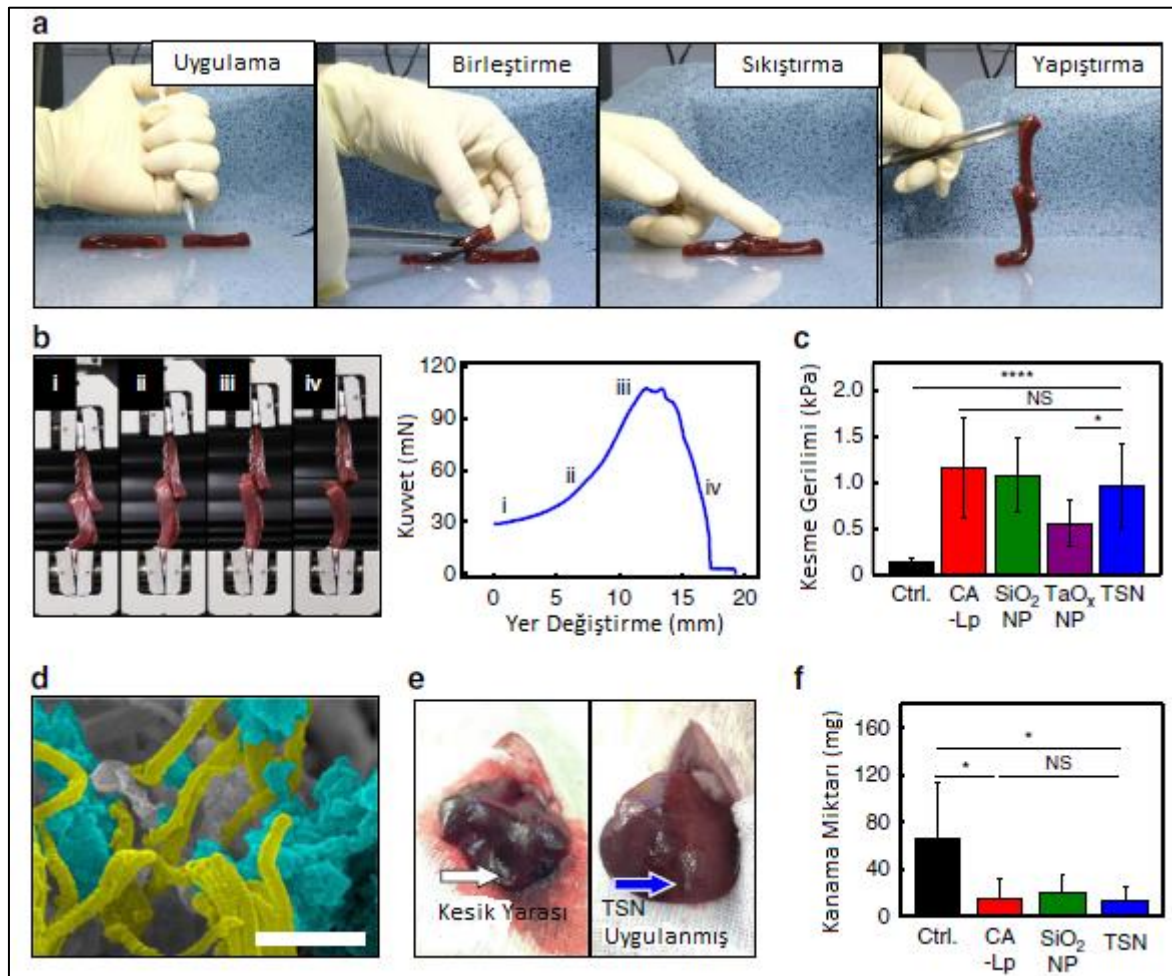
Nanotaneciklerin kolay üretilebilir olması, farklı şekillerde üretilebilmesi ve bu şekillere göre manyetik duyarlılığının değişmesi avantajlarından bazılarıdır. Yeni tasarlanan ürünlerde manyetik nanotaneciklerin kullanımıyla birlikte çevre dostu, spesifik özellikleri olan sağlam ve hafif malzemelerin üretimi sağlanmış olacaktır [22].

2.2. Manyetik Nanotaneciklerin Uygulama Alanları

Nanotanecikler çok geniş bir uygulama alanına sahiptir. Son zamanlarda sıklıkla kullanılmaya başlanmış ve yeni birçok alanda da kullanımı söz konusudur [23]. Manyetik nanotanecikler düşük toksisitelerinden dolayı birçok biyomedikal uygulamalarda kullanılabilir. Bununla birlikte karışık matrislerden uzaktan manyetik alan sayesinde kolayca ayrıştırılabildikleri için hastalıkların teşhis ve tedavisinde, ilaç dağıtım-salınım, tıbbi görüntüleme, biyomoleküllerin saflaştırılması ve ayrılması gibi birçok tıp ve biyolojik alanda kullanılmaktadır. Ayrıca nanotanecikler atık bitkisel yağlardan biyoyakıt üretiminde nano-katalizör olarak kullanılabilirler [24].

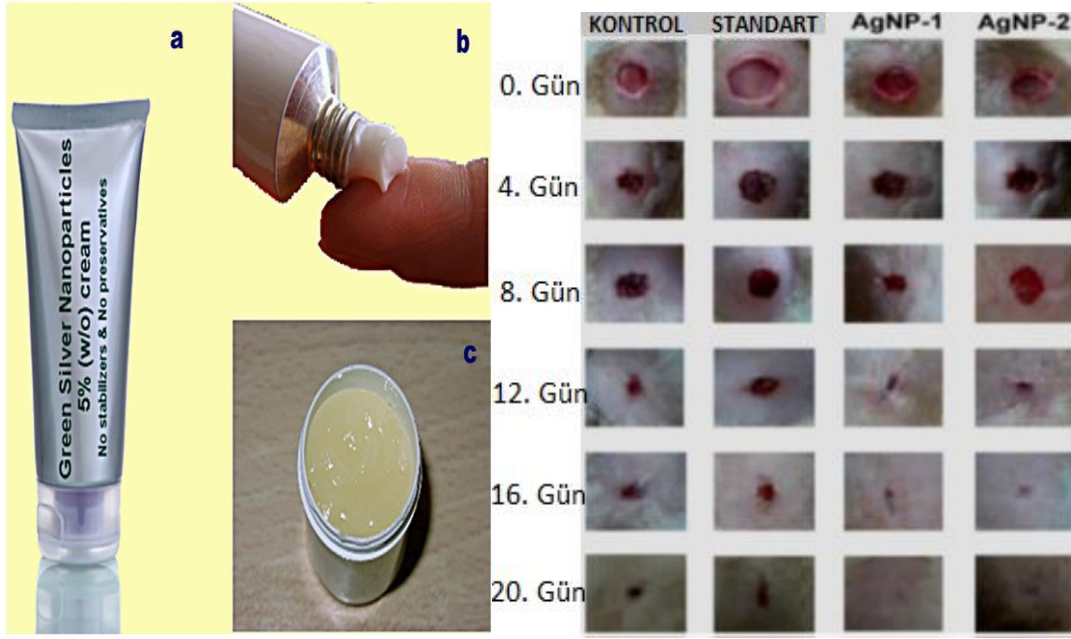
Doku yapıştırıcıları cerrahi ya da travma sonrası yara kapanması ve yaralı dokuların yeniden bağlanması için dikişlere ve zımbalara alternatif olarak ortaya çıkmıştır. Kolaylık ve etkinliklerinden dolayı, bu yapıştırıcılar üzerilerine ilgi çekmiştir. Güvenli ve doğru uygulamalar için, doku yapıştırıcıları klinik görüntüleme yöntemleri ile tespit edilebilir ve biyoyumlu olmalıdır. Çok az sayıda yapıştırıcı koşulları sağlamaktadır [25]. Shin ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada biyoyumlu tantal oksit bazlı silika çekirdek-kabuk yapılı nanotaneciklerin (TSN) gerçek zamanlı görüntüleme için sadece yüksek kontrast etkisi sergilemediği ve aynı zamanda güçlü yapışkan özellikler gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca biyoyumlu TSN'lerin klinik olarak kullanılan, görüntülenebilir doku yapıştırıcılarından çok daha az hücresel toksisiteye ve enflamasyona neden olduğu gözlemlenmiştir [25]. Aşağıdaki şekilde karaciğer delinme modelinde TSN'lerin yapışma

gücü ve hemostatik etkisi gösterilmiştir (Şekil 2.2.). Karaciğer şeritlerinin biyolojik dokulardaki, yapıştırıcıların ve yapışkan kuvvetini analiz etmek için birleştirilmesini gösteren fotoğraflar (a) yapıştırıcıyı uygulamak, yapıştırıcının uygulandığı bölgedeki şeritleri üst üste bindirmek suretiyle yapıştırmak, şeride hafifçe bastırmak ve analiz edilecek olan şeridin kaldırılması ve hareket ettirilmesi. TSN'ler tarafından tutturulmuş karaciğer şeritlerinin çekme testinin (b) temsili bir kuvvet-yer değiştirme eğrisini gösteren fotoğraflar: (i) alt şeridi kaldırmak, (ii) kuvvet uygulanması, (iii) nihai gerilme noktası (iv) kayma. Kontrol, siyanoakrilat-lipiodol bazlı yapıştırıcı, silika bazlı yapıştırıcı, radyo opak tantal oksit bazlı yapıştırıcı, tantal oksit bazlı silika çekirdek-kabuk yapılı yapıştırıcıların (c) kesme gerilimi. TSN'ler (mavi) ve şeritler (sarı) arasındaki etkileşimin SEM görüntüsü (d). Karaciğerdeki bir kesik yarasının doğrudan basınç ve TSN ile tedavisi (e). Kesik yarasına uygulanan yapıştırıcılar sırasındaki kanama miktarı (f).



Şekil 2.2. Yapıştırıcı ve onarıcı özellikteki nanotanecikler [25]

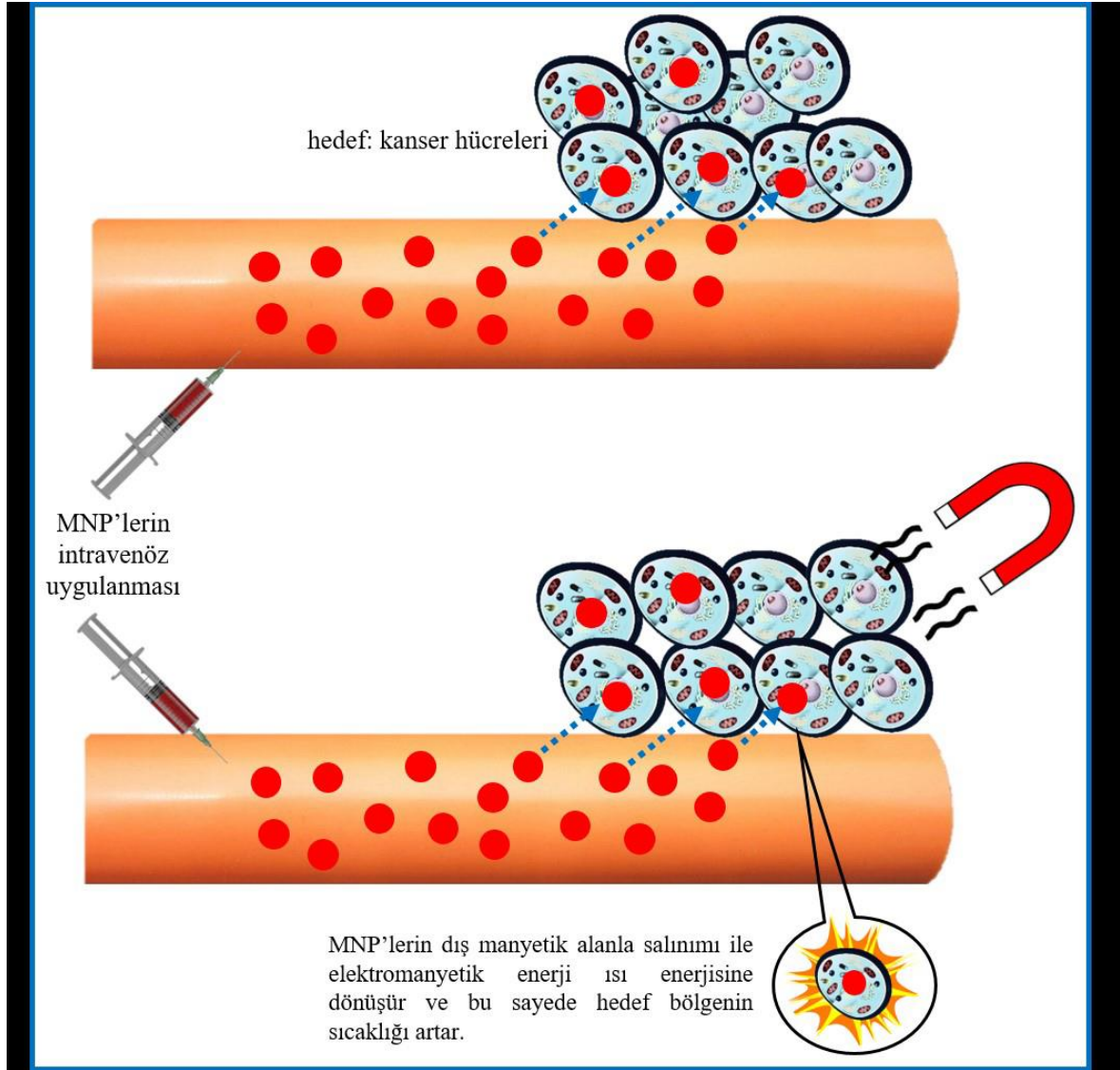
Vücuttaki yaraların iyileşmesi, yaralanmanın başlangıcında başlayan ve tamamen iyileşene kadar devam eden karmaşık bir süreçtir. Parveen ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada nanoteknolojinin ortaya çıkışıyla, yaraların tedavisinde gümüş nanopartiküllere yeni bir tedavi şekli üzerine çalışılmıştır. Burada önemli olan bu gümüş nanotaneciklerin biyouyumluluğunu sağlayabilmektir. Gümüş nanotaneciklerin biyosentezi, mikrodalga altında sulu karanfil ekstresi ve gümüş nitrat çözeltisi kullanılarak yapılmıştır. Sentezlenen nanotanecikler büyüklük olarak 30-60 nm arasında ve kabaca küre şeklindedir. Bu çalışma biyouyumlu gümüş nanotaneciklerin yara iyileşme sürecinde etkinliği üzerine odaklanmıştır. Bu çalışma, gelişmiş sağlık teknolojileri için krem formülasyonu olarak yara tedavisine biyosentezlenmiş gümüş nanotaneciklerin eklenmesini desteklemiştir. Orijinal yara bölgesinin kapanma yüzdesi, farklı zaman aralıklarında hesaplanmıştır. Yara, sırasıyla AgNP %3 (AgNP-1) ve %5 (AgNP-2) ile tedavi edilen hayvanlarda 46 gün ve 28 gün içerisinde iyileşmiştir. Böylece, %5 AgNP, %3 AgNP'den oldukça etkili bulunmuştur. Yara iyileşmesinin ilerlemesi zamana göre izlenmiş ve yara iyileşme oranı diğer tüm formülasyonlara göre % 5 daha hızlı bulunmuştur. 20. günde kontrol grubu $28,45 \pm 1,30\text{mm}^2$ (%94,25) yara kapanması gösterirken, AgNP-2 $5,1 \pm 3,28\text{mm}^2$ (%98,76) gibi önemli bir yara kapanması göstermiştir. AgNP-1 ile tedavi edilen grubun ortalama yara kapanması, kontrol grubu $28,45 \pm 1,30\text{mm}^2$ (%94,25) iken AgNP-1 $14,63 \pm 1,81\text{mm}^2$ (%97,06) gibi bir alanı iyileştirmiştir. Açıkça görüldüğü gibi gümüş nanotanecikler birim zamanda iyileşme sürecini azaltmasının yanında daha yüksek iyileşmenin olmasını sağlamıştır [26].



Şekil 2.3. Biyofonksiyonelleştirilmiş gümüş nanotaneçiklerin yara iyileşme aktivitesi [26]

Manyetik nanotaneçikler, spesifik fiziksel özellikleri, moleküler ve hücresel biyoyumluluğu sayesinde, hipertemi tedavisi, kanser hücrelerinin MRI ile görüntülenmesi ve ilaç salınımı gibi biyomedikal alanlarda önemli boyutlarda kullanılmaktadır. Manyetik nanotaneçiklerin kullanılma nedenleri, yüksek manyetik duyarlılık, biyoyumluluk ve çeşitli sentez yöntemlerinin kullanılabilirliği gibi özellikleri sayesinde [27]. Ayrıca manyetik nanotaneçikler uygulanan dış manyetik alan ile rahatlıkla ortamdan uzaklaştırılırlar ki bu antikanser materyalin belirli bir alanda ve belirli bir hızda vücuda verilmesini sağlar. Ayrıca biyoyumlu olan bu materyaller hastalıkların teşhisinde, ilaç taşınması ve etkileşimlerinin izlenmesi gibi uygulamalarda kullanılmaktadır. Biyoygulamalarda nanotaneçiklerin olduğu dokulara enjekte edilen ilaç, taneçiklerin manyetik özelliği ve dışarıdan uygulanan manyetik alan sayesinde istenilen bölgeye taşınır. Tedavi bitince ilaç tekrar aynı yöntemle uzaklaştırılır. Yine kemoterapi uygulamalarına alternatif bir tedavi olarak kullanılacağı düşünülmektedir. Uygulanan dış manyetik alanlar nedeniyle nanotaneçikler histerisis kayıplarından dolayı ısınır. Kanserli hücreler de 40 °C üzerinde bozunmaya başlarlar. Bu özellik sayesinde kanserli hücrelerin nanotaneçiklerin ısınmasından dolayı bozunmaya uğrayacakları düşünülmektedir. Ayrıca gıda sektöründe eser miktarda ve analizi zor olan kimyasalların, bakteri ve virüs gibi yapıların analizi için nanosensörler tasarlanmaktadır [28].

Erdoğan ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada hipertermiden (ısı oluşumu) yararlanılarak kanser tedavisi üzerinde araştırmalar yapılmıştır. Manyetik nanotanecikler burada ısı oluşturmak için kullanılmıştır. Dış bir manyetik alanın etkisiyle, kanser hücrelerinde gezinen manyetik nanotanecikler, uygulanan alandan enerjiyi absorblayarak titreşirler. Bu titreşim sonucunda elektromanyetik enerjiyi ısıya dönüştürerek lokal sıcaklığı artırırlar. Bunun sonucunda kanser hücreleri yok olmuştur ya da gerilemeler gözlemlenmiştir. Nanopartikülleri kullanmanın avantajı diğer tedavi yöntemlerine göre çok düşük toksisiteye sahip olması, eşzamanlı olarak kanser hücrelerini tanımak için de kullanılması ve tedavi süresince çevredeki sağlıklı dokunun ısınmasını önlemektir. Böylece sağlıklı dokular zarar görmemiş olur [29]. Mondol ve arkadaşları 2017 yılında yaptıkları çalışmada hidroksiapatit kaplı demir oksit nanotanecikler sentezlemiş ve bu yöntemle kanser tedavisi üzerinde çalışmışlardır. Hidroksiapatit kaplı demir oksit nanotaneciklerle yapılan hipertermi çalışması MG-63 osteosarkom hücreleri üzerinde mükemmel hipertermik etki göstermiştir. 45 °C'lik hipertermi sıcaklığına 3 dakikada ulaşılmış ve 30 dakikalık maruz kalma süresinde hemen hemen tüm deneysel MG-63 osteosarkom hücreleri ölmüştür [29].



Şekil 2.4. Kanser tedavisinde kullanılan manyetik nanotaneciklerin şematik gösterimi [29]

Demir oksit bazlı nanotanecikler yeryüzünde kayalarda ve deniz diplerinde doğal olarak bulunabilir ve laboratuvarlarda yapay olarak istenilen özellik, şekil ve boyutta sentezlenilebilirler. En yaygın olarak kullanılan demir oksit tanecikler $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (magemit), Fe_3O_4 (manyetit) ve $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (hematite)'tir. Kimyasal olarak manyetik nanotanecik sentezlemek kolaydır. Bu nanotanecikleri istenilen şekilde sentezlemek için pH, $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ oranı ve iyonik şiddet gibi faktörler kullanılır [30].

Manyetit yapısındaki $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ stokiyometrik olarak 0,5' dir. Manyetit ortamdaki oksijene ve yapısındaki Fe^{2+} iyonu miktarına göre oksidasyona uğrar. Okside olmuş manyetit $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ oranı düşer ve bu yapıya non-stokiyometrik manyetit denir [31]. Non-

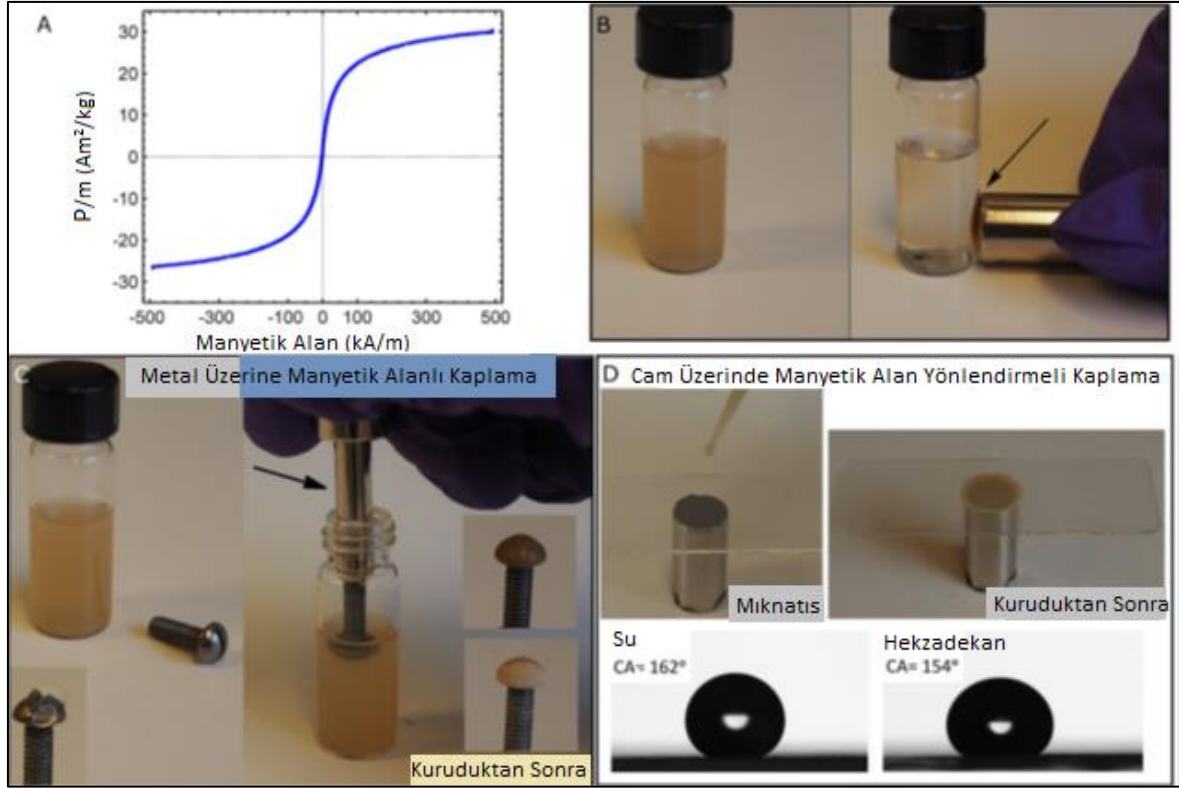
stokiyometrik manyetit $\text{Fe}_3\text{-}\delta\text{O}_4$ şeklinde gösterilir. Tam oksidasyona uğramış manyetite ise magemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) denir [32].

Manyetik nanotanecikler yüksek yüzey hacim alanına ve yüksek manyetik özelliklerinden dolayı metaller için adsorpsiyon kapasitesine sahiptir. Ayrıca manyetik nanotanecikler kurşun, civa ve çinko gibi ağır metallerin sulu ortamdan ayrılması işleminde kullanılır. Bu toksik etkiye sahip ağır metaller bir dış manyetik alanla birlikte başka bir yöntemle gerek kalmadan basit ve hızlıca ayrıştırılır. Burada manyetik nano tanecikler ağır metaller üzerinde adsorban etkisi gösterir [33].

2.3. Doygunluk Mıknatıslığı

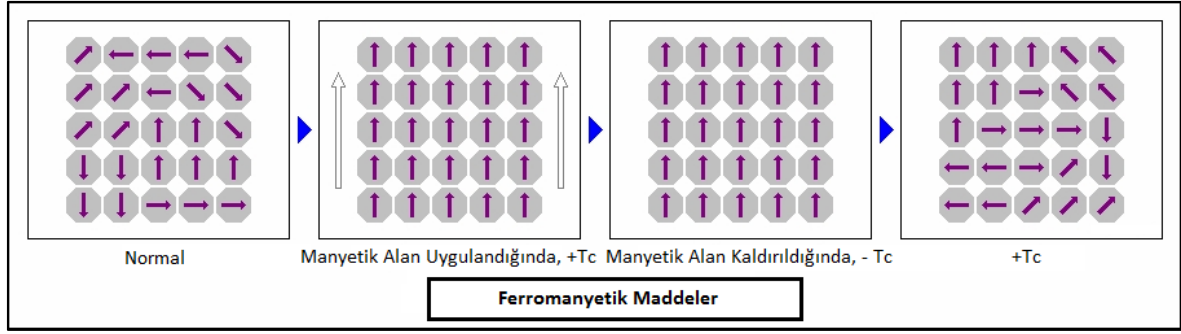
Manyetik alanların yakınında manyetik momentlerin farkından kaynaklanan enerji fazlalığı, mıknatıs içinde alan çizgilerinin hapsolmesi sonucunda dengeye ulaşır. Kendiliğinden mıknatıslanmanın da farklı yönelimler içinde ve küçük alanlarda olduğu bilinmektedir. Ferromanyetik bir maddeye manyetik alan uygulandığında, alana paralel mıknatıslanma önce tersinir, sonra tersinmez biçimde büyür [34]. Bu kuvvetler başka alanların yönelim dengesini bozar. Kuvvetli bir manyetik alanda genelleşen bu sıralanma, mıknatıslanmanın doyumluğa erişmesine yol açar. Kısaca küçük boyuttaki manyetik alanları belirli bir doğrultuya yönelmiş mıknatıstır [35].

Iwaki ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada kapsül yapısına sahip nanotaneciklerin düzenlenebilir yüzeyleri nedeniyle eğri bir geometri üzerinde harici bir manyetik alan uygulanarak mükemmel süperofobik kaplama katmanı oluşturulmuştur [36]. Bu çalışma su ve düşük yüzey gerilimine sahip hekzadekan ile yapılmıştır. Su kullanılarak yapılan kaplamada daha yüksek statik temas açısı elde edilmiştir. Aşağıdaki şekilde (Şekil 2.5.) kullanılan nanotaneciklerin oda sıcaklığındaki histerezis eğrisi (a), nanotaneciklerin manyetik özelliği (b), nanotaneciklerle kaplanan vidanın önceki ve sonraki hali (c), cam üzerinde yapılan manyetik alan yönlendirmeli kaplama (d) gösterilmiştir [36].



Şekil 2.5. Manyetik alan yönlendirmeli kaplama [36]

Ferromanyetik maddeler de paramanyetik maddeler gibi ortaklaşmamış elektron çiftine sahiptir ve paramanyetik maddelerden farklı olarak bu elektron çiftleri manyetik dipollerde organize olurlar ve birçok iyon veya atomun elektronlarından oluşurlar. Boyutu 100 nm' den küçük olan manyetik dipol manyetik alanı oluşturur. Denge halindeki ferromanyetik maddelerde manyetik dipoller düzensiz şekilde dizilir ve dışarıdan bir manyetik alan uygulanırsa dipoller aynı yönde pozitif değerde dizilir ve bu alan kaldırıldığında ferromanyetik maddenin termal enerjisi az olduğu için bu düzen bozulmaz. Ferromanyetik maddelere nikel, kobalt, demir ve manyetit örnek verilebilir ve tüm daimi mıknatıslar bu materyallerden üretilir [37].



Şekil 2.6. Ferromanyetik maddeler

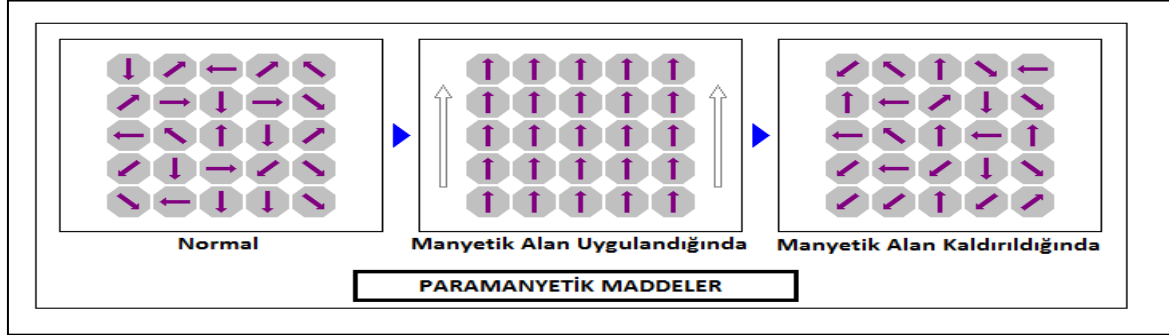
Başlangıç konumundaki ferromanyetik madde Histerezis eğrisine göre mıknatıslanmamıştır. Burada manyetik indüksiyon dışarıdan uygulanan manyetik alanın yönünde artar. Manyetik alanın yeterince artması sonucunda mıknatıs doyma noktasına ulaşır. Bu nokta M_s olarak adlandırılır. Bu noktada uygulanan manyetik alan yönünde madde içerisindeki tüm manyetik momentler düzenli hale gelir. Doygunluk mıknatıslığı birim hacimdeki atom sayısına ve atomik boyuttaki manyetik momentlerin büyüklüğüne bağlıdır [38].

2.4. Paramanyetizma

Eşleşmemiş elektron çifti bulunduran atomların dış elektron katmanları da dolu değildir. Bunların sonucu olarak bu atomlar sıfırdan farklı bir momente sahiptir. Bu tür maddelerin manyetik alana girmesi sonucu, maddenin atomları üzerine manyetik momentleri, uygulanan manyetik alan doğrultusunu almaya zorlayacak şekilde bir kuvvet oluşturur. Maddenin termik hareketleri bu tür manyetik yönelimlere karşı koysalar dahi bazı maddelerin manyetik momentleri manyetik alan etkisiyle kısmi yönelmeler gösterir bu tür maddelere paramanyetik maddeler denir [39]. Bu maddelerde net manyetik moment sıfırdır. Dışarıdan manyetik alana maruz kaldıklarında bu alan kaldırılırsa kalıcı manyetizasyon göstermezler [40].

Eşleşmemiş elektron sayısı arttıkça paramanyetik özellik artar. Bu tür manyetizasyon görülen maddelerde, manyetizasyon kaynağı ortaklaşmamış elektronların spinleridir. Manyetik momentlerin yönelimi de bu spinlerden kaynaklanır ve bu yönelimler maddelerin termal enerjilerinden dolayı farklılık gösterir. Dışarıdan bir manyetik alan uygulandığında,

bu alana göre yönelme eğiliminde olurlar. Böylece manyetik alan yönünde zayıf da olsa bir manyetizasyon görülür [41].



Şekil 2.7. Paramanyetik maddeler

2.4.1. Süperparamanyetizma

Bir parçacığın sıcaklığı bloklama sıcaklığının üstündeyse ve parçacık boyutu tek bir manyetik alan haline gelene kadar küçüldüğünde parçacık süperparamanyetik hale gelir. Süpermanyetizma sadece nano yapılara özgü spesifik bir özelliktir. Parçacık bu haldeyken koersivitesi (M_s) ve kalıcı manyetizasyon (M_r) değerleri sıfırdır [42]. Yine bu durumda parçacığın küçülmesinden dolayı termal ve manyetik enerji denge halinde olur ve parçacık içerisindeki momentlerin tamamı düzensiz haldedir [43].

Süperparamanyetik maddeleri doygunluk değerine ulaştırmak için dışarıdan yüksek manyetik alan uygulanması gerekmektedir. Bu durumda maddenin tüm spinleri aynı yöne yönelmiştir [44].

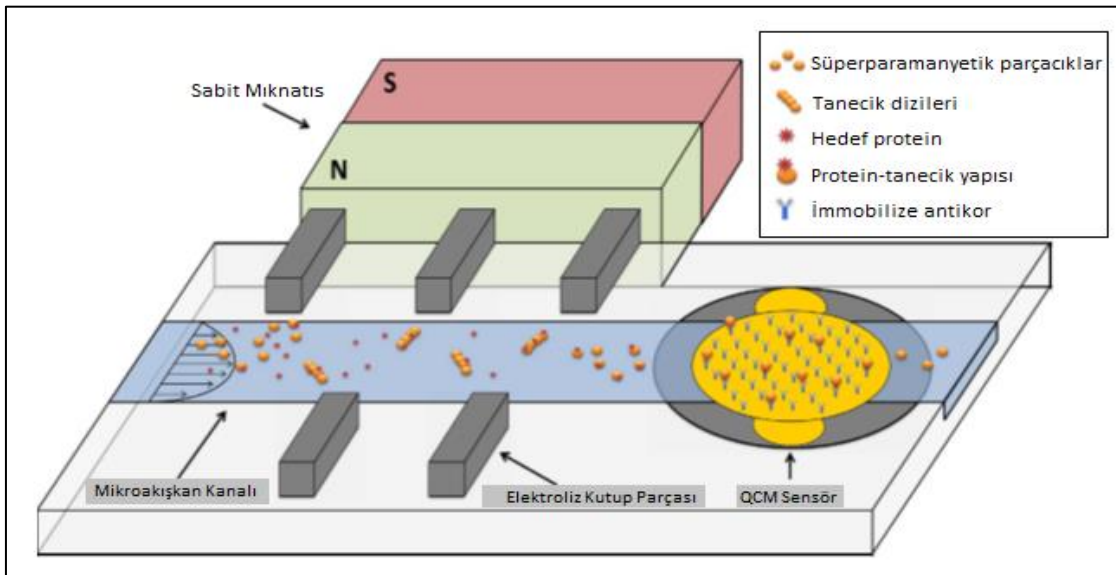
Süperparamanyetik maddelerin koersivitesi sıfır olduğu için dış manyetik alan kaldırılırsa spinlerin sahip olduğu termal enerji, dış bir demanyetizasyon uygulanmadan tekrar serbest düzene geçebilir. Eğer bu termal enerji azalırsa, madde belirli bir koersivite değeri gösterir. Bu limit sıcaklık değerine “bloklama sıcaklığı” denir [45]. Madde bloklama sıcaklığında ise maksimum doygunluk değeri gösterir.

Süperparamanyetik maddeler paramanyetik özelliklere sahiptir ancak paramanyetik maddelerden farklı özellikler de gösterir. Ayrıca ferromanyetik yapıların sahip olduğu yüksek manyetizasyon değerine de sahiptirler. Manyetik alan yeterli termal enerji

barındırdığında süpermanyetik etki ortaya çıkar ve bu etki nanotanecikler arasındaki manyetik bağlantı kuvvetlerinden güçlüdür [46].

Manyetik nanotaneciklerin manyetik özellikleri yüzey etkileriyle değişebilir. Örneğin sıcaklık yükseldiğinde nanotaneciklerin net mıknatıslığı yığın malzemeye göre çok daha fazla düşer. Bunun nedeni yığın malzemenin yüzey alanının daha küçük olmasıdır. Ayrıca manyetik nanotaneciklere uygulanan yüzey modifikasyonları ve yüzey kaplama işlemleri, yüzey etkisiyle manyetik özelliklerin değişimine engel olabilir [47].

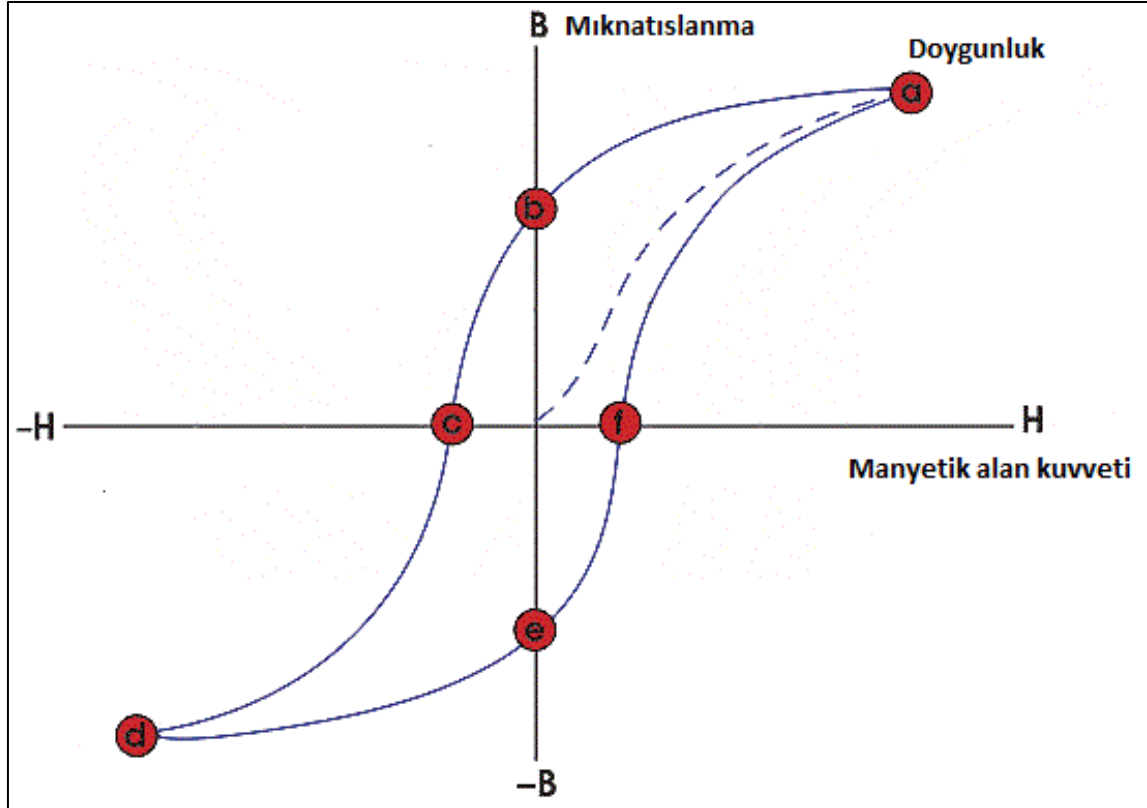
Son yıllarda sentezlenen ürünlerin yüksek saflıkta olmasından ve daha hassas teşhislerin istenmesinden dolayı süperparamanyetik nanotaneciklerin bu alanlarda kullanılmasının yolu açılmıştır [48]. Burgei ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada süperparamanyetik nanotaneciklerin biyosensör olarak kullanılması araştırılmıştır. Burada hedef analit olarak antijen kullanılmış ve fonksiyonelleştirilmiş altın süperparamanyetik taneciklerle mikroakışkan kanal içerisinde toplanmıştır. Buradan QCM (kuvars kristal elektrot) elektroduna gelen tanecikler yüzeye bağlanmış immobilize antikorlar tarafından tutulmuştur. QCM’de tutulan parçacıklar diğer sistemlere göre daha yüksek sinyaller oluşturmuştur bu da sensörün hassasiyetini arttırmıştır [49]. Ayrıca, istenildiği zaman dışarıdan bir manyetik alan uygulanarak nanotanecikler elektrottan rahatlıkla uzaklaştırılmış ve bu manyetik alan sayesinde ölçüm sinyali de istenildiği gibi değiştirilebilmiştir. (Şekil 2.8.)



Şekil 2.8. Biyosensör olarak kullanılan süperparamanyetik nanotanecikler [49]

2.5. Histerezis Eğrisi

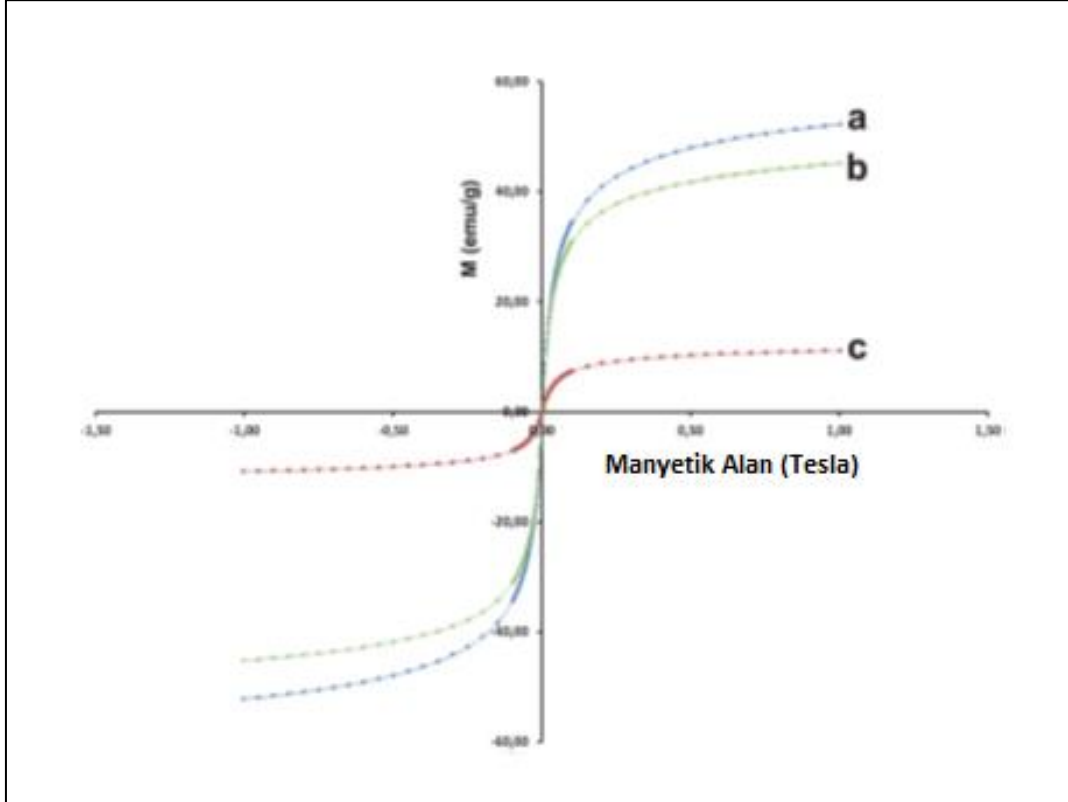
Histerezis eğrisi bir maddeye uygulanan manyetik alana karşı maddenin davranışını gösterir. Manyetik alan şiddeti arttırıldıkça mıknatıslanma da artar ve doygunluk seviyesine ulaşır. Bir maddenin ne tür bir manyetik özelliğe sahip olduğuna histerezis eğrisine bakarak karar verebiliriz [50].



Şekil 2.9. Histerezis eğrisi

A noktasında mıknatıslanma doygunluğa ulaşmıştır ve manyetik alan bu noktadan sonra artırılmaya devam edilirse çok az bir değişim görülür. A noktasında tüm dipoller birbirine paralel dizilir. Maddedeki manyetik alanlar mıknatıslandıktan sonra manyetik alan kaldırılırsa maddenin sıfır mıknatıslığına dönüşü artık zordur. Uygulanan manyetik alan sıfır olsa bile madde içerisinde bir mıknatıslanma vardır ve bu mıknatıslanmaya kalıcı mıknatıslanma denir [51]. Manyetik alan kuvveti sıfır değerine ulaştığında mıknatıslanma a ve b noktalarını takip eder. Bunun sebebi madde de mıknatıslanma olduğunda madde içindeki bazı manyetik alanların düzeninin bozulmasıdır. B noktasında maddeye uygulanan manyetik alan kaldırılırsa maddede geriye kalan mıknatıslığı gösterir. Madde içerisindeki mıknatıslanma değerini sıfır yapan manyetik alan kuvvetine koersivite denir [51].

Histerezis eğrisinde uygulanan manyetik alanın sıfırlanması durumunda, eğri kalan mıknatıslığı gösteren b veya e noktalarından ve maddedeki koersif kuvveti gösteren c veya f noktalarından değil de orijinden geçerse bu bize maddenin süperparamanyetik olduğunu gösterir [51].



Şekil 2.10. Mıknatıslanma eğrileri Fe₃O₄ (a), PDOP kaplı Fe₃O₄ (b) ve SiO₂ kaplı Fe₃O₄ (c) [52]

2.5.1. Curie sıcaklığı

Kalıcı olarak mıknatıslanabilen maddelerin bu özelliklerini kaybettikleri sıcaklığa Curie sıcaklığı denir [53]. Bu noktada mıknatıslık özelliğinin kaybolmasının nedenini kısaca açıklarsak ferromanyetik maddelerin atomlarının her biri küçük bir mıknatıs olarak düşünülebilir ve bu atomların mıknatıslıkları elektronlarının spinleri ve hareketlerinden dolayıdır. Atomların düzensiz hareketleri sıcaklıkla alakalıdır. Sıcaklık arttığında atomların ortalama enerjisi artar ve bu atomun doğrultuları oynamaya başlar. Sıcaklık Curie sıcaklığını geçtiğinde atomların enerjisi doğrultularını aynı yöne yöneltmeye çalışan

kuvveti geride bırakacak kadar artar. Bu noktada maddenin bütün atomlarının doğrultuları düzensizleşir ve maddenin mıknatıslığı kaybolur [54].

2.6. Ferrosıvılar

Ferrosıvılar manyetik özelliği olan nanotanecikler ile yüzey aktif maddelerin belirli oranda karışmasıyla oluşur. Çok kolay mıknatıslanırlar ve yüksek manyetik duyarlılığa sahiptirler. Kararlı yapıdaki bir ferrosıvı süperparamanyetik tanecikler, yüzey aktif madde ve taşıyıcı sıvı içerir. Bu kararlı dispersiyon üç temel enerji kuvvetinin dengelenmesi sonucu sağlanmaktadır. Bunlar yerçekimi, manyetik çekim ve Van der Waals kuvvetleridir [55]. Bu sıvılara dış bir manyetik alan uygulandığında taneciklerin manyetik dipolleri birbirini çeker ve dispersiyondaki tanecikler sıvı ile birlikte uygulanan manyetik alan yönünde hareket eder.

Ferrosıvıları oluşturan nanotaneciklere süperparamanyetik özellik kazandırılırsa bu, dispersiyonlar tanecikler arası etkileşim enerjisini yener ve dolayısıyla tanecikler arası manyetik etkileşim de azalır. Böylece kolloidal kararlılık korunmuş olur [56]. Eğer tanecikler arası uzaklık azalırsa etkileşim enerjisi artar. Enerjinin artması agregasyona neden olan Van der Waals kuvvetlerinden kaynaklanır. Kararlı bir kolloidal dispersiyon hazırlamak için bu kuvvetlerin engellenmesi gerekir. Agregasyonu önlemek için elektrostatik ve sterik itme kuvvetlerinden faydalanılır. Tanecik yüzeyinde elektrostatik bir stabilizasyon sağlamak için yük taşıma tekniği kullanılır [57]. Bu teknik, pH'a duyarlı bir metottur. Bu da tekniğin biyomedikal uygulamalarda kullanımını kısıtlamıştır. Ayrıca nanotaneciklerin birbirine uzaklığı belirli bir sınırın altına indiğinde bu tanecikler birbirini iter ve birbirinden uzaklaşırlar. Bu sterik etkiden faydalanmak için genellikle uzun zincirli yüzey aktif maddeler kullanılmaktadır. [58].



Şekil 2.11. Ferrosıvılar [59]

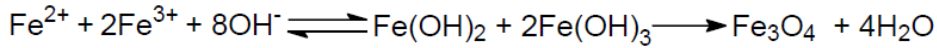
2.7. Manyetik Nanotaneciklerin Sentezi

Manyetik nanotaneciklerin istenilen özelliklerde sentezlenmesi için birçok çalışma yapılmıştır. Bunun sonucu olarak farklı yöntemler bulunmuştur. En çok kullanılan yöntemler ikili çöktürme, termal bozunma, mikroemülsiyon ve hidrotermal sentezdir [60].

2.7.1. İkili çöktürme yöntemi

Bu yöntem manyetik nanotaneciklerin sentezi için en çok tercih edilen yöntemdir. Diğer yöntemlere göre uygulanabilirliği kolay, maliyeti ucuz ve ürün dağılımı iyidir. Ayrıca bu yöntemin basit olması ve sentezde toksik kimyasalların kullanılmamasından ötürü biyomedikal uygulamalarda sıklıkla tercih edilir [61]. İkili çöktürme yönteminde uygun oranlarda karıştırılan Fe^{2+} ve Fe^{3+} iyonları içeren sulu ortama yüksek sıcaklıkta veya oda sıcaklığında baz eklenmesiyle manyetik nanotanecikler elde edilir. Tam çökmenin gerçekleşmesi için pH'ın 9-12 aralığında olması gerekir [62].

İkili çöktürme yöntemiyle nanotanecik sentezi için kimyasal reaksiyon aşağıdaki gibidir.



Bu yöntemle elde edilen taneciklerin boyutu ve şekilleri, $\text{Fe}^{3+} / \text{Fe}^{2+}$ iyonlarının oranına, tepkime sıcaklığına, karıştırma hızına, baz çözeltisinin eklenme hızına, kullanılan tuzun türüne (klorürler, nitratlar, perkloratlar, sülfatlar) ve ortamın pH'ı gibi parametrelere bağlıdır [63]. Ayrıca bu yöntemle çok geniş boyut aralığında sentez yapılabilir. Bunun için bloklama sıcaklığı etkilidir. Bloklama sıcaklığı kalıcı olarak mknatıslanabilen materyalin bu özelliğini kaybettiği sıcaklıktır. Bloklama sıcaklığı nanotaneciklerin boyutuna bağlıdır. Ayrıca bu yöntemle aynı tip ve homojen nanotaneciklerin sentezlenebilmesi için pH değeri çok iyi ayarlanmalıdır [64].

Bu metotla yüzey aktif madde olmaksızın ortalama 8 – 10 nm çapa sahip homojen, tekdüze ve düşük parçacık boyut dağılımına sahip Fe_3O_4 nanotanecikler sentezlenmiştir. Bu taneciklerden, oksijen atmosferinde doğrudan oksidasyon ile $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanotnecikler elde edilmiştir [65].

İkili çöktürme metoduyla sentezlenen nanotaneciklerin boyutu 10-30 nm ve manyetik doyumluğu 50-90 emu g⁻¹ aralığında değişir [66]. Bu yöntem nano boyuttaki taneciklerin fiziksel ve kimyasal özelliklerini etkiler. Nanotaneciklerin yığın fazdaki mıknatıslanma değerleri, doyumluk mıknatıslanma değerine göre bir hayli büyüktür. Genel olarak sentezlenen nanotaneciklerin 100 emu g⁻¹ doyumluk mıknatıslanma değerine sahip yığın fazına oranla manyetik duyarlılığının daha düşük olduğu bilinmektedir [67].

Manyetik nanotanecikler havadan oksitlendikleri için oksijensiz ortamda sentezlenmelidirler. Fe₃O₄ nanotanecikler ortam koşullarında çok kararlı değildirler ve kolaylıkla γ -Fe₂O₃ yapısına oksitlenirler veya asidik ortamda çözünürler [84]. Bundan dolayı Fe₃O₄ nanotaneciklerden oksijen atmosferinde γ -Fe₂O₃ nanotaneciklerini elde etmek veya bunları oksijen atmosferinde sertleştirmek mümkündür. γ -Fe₂O₃ nanotanecikler asidik veya bazik ortamda kararlı olduğu için oksidasyondan etkilenmezler [68].

2.7.2. Termal bozunma yöntemi

Bu yöntem yüksek sıcaklıkta çok küçük boyutlarda nanotanecik sentezlemek için kullanılır. Yöntem, yüksek kaynama noktalı organik çözücülerde demir komplekslerinin, yüksek sıcaklıkta yüzey aktif maddeler varlığında karıştırılmasına dayanır [69]. Burada demir (III) N-nitrozofenilhidroksilamin (Fe(cup)₃, cup=N-nitrozofenilhidroksilamin), demir (III) asetilasetonat (Fe(acac)₃, acac=asetilasetonat) veya pentakarbonildemir (Fe(CO)₅) komplekslerinin yüksek sıcaklıkta parçalanmasıyla, yüksek kalitede ve tekdüze demir oksit nanotanecikler sentezlenmektedir. Termal bozunma yöntemi yüksek sıcaklık gerektirir ve işlem basamakları daha uzun ve karmaşıktır [70]. Ayrıca nanotaneciklerin susuz ortamda boyut ve şekillerinin kontrolünü sağlamak için kullanılan bir yöntemdir. Daha küçük boyutta nanotanecik sentezlemenin dayandığı esas, yüzey aktif madde içeren ve yüksek kaynama noktasına sahip organik çözücüler içerisinde organometalik maddelerin termal olarak parçalanmasına dayanır [71]. Yüzey aktif madde olarak genellikle hekzadesilamin, oleik asit ve yağ asidi kullanılır. Burada organometalik komplekslerin oranı, yüzey aktif madde çeşidi, çözücü çeşidi, reaksiyon sıcaklığı ve reaksiyon süresi sentezlenen nanotaneciklerin şekil ve boyutları üzerinde etkilidir [72]. Yapılan çalışmalarda Fe(acac)₃ kompleksleri fenil eter çözültisi içerisinde oleilamin, oleik asit ve alkol varlığında 265 °C sıcaklıkta termal bozunma yöntemiyle nanotanecik

oluşturur. $\text{Fe}(\text{acac})_3$ komplekslerinden sentezlenen bu nanotanecikler homojen yapıya sahip olup, şekil ve boyutları da kontrol edilebilmektedirler [73].

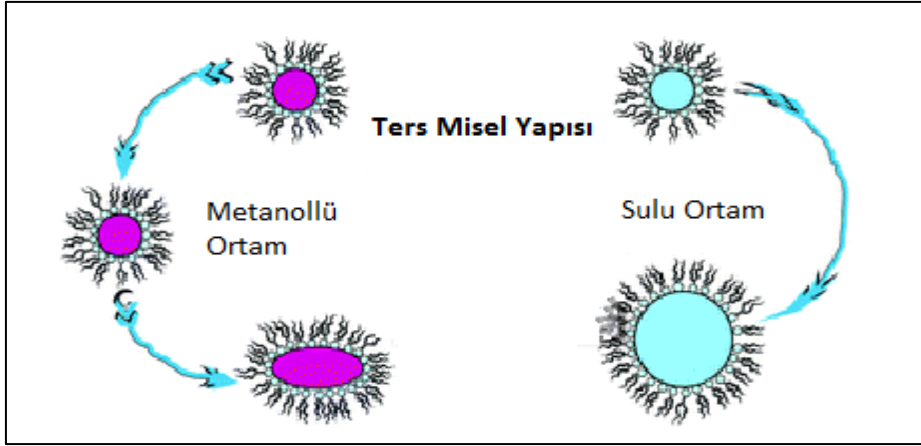
Yine yapılan çalışmalarda termal bozunma yöntemiyle $\text{Fe}(\text{CO})_5$ kompleksi $100\text{ }^\circ\text{C}$ sıcaklıkta oktil eter, trietilamin oksit ve oleik asit içeren ortamda parçalanır. Termal bozunma sonucu $10 - 15\text{ nm}$ boyutlarında $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanotanecikler sentezlenir [74].

Bu yöntemle sentezlenen nanotanecikler küçük boyut dağılımına ve oldukça homojen yapıya sahip olmalarına karşın, sadece apolar organik çözücülerde çözünmesi nedeniyle fazla tercih edilmemektedirler [75].

2.7.3. Mikroemülsiyon yöntemi

Mikroemülsiyon; yağ, su gibi birbirine karışmayan iki sıvının yüzey aktif madde ortamındaki karışımından oluşan, termodinamik olarak kararlı, optik olarak izotropik, tek faz görünümlü ve saydam olan dispers sistemlerdir [76]. Yüzey aktif madde bu iki faz arasında tek bir tabaka oluşturur. Yüzey aktif maddelerin hidrofilik baş kısımları sulu fazda, hidrofobik kısımları ise yağ fazında çözünür [77]. Bu sistemde su ile yüzey aktif maddenin molar oranı değiştirilerek ters misel yapılmaktadır. Bu sistemlerde çöken nanotanecikler misellerin içinde oluşmaktadır. Sisteme etanol veya aseton gibi çözücülerin eklenmesiyle oluşan çökelek santrifüj edilerek ekstrakte edilir. Bu yöntemde mikroemülsiyonlar nanotaneciklerin oluşumu için nanoreaktör olarak kullanılır [78]. Mikroemülsiyonların şekli kullanılan yüzey aktif maddenin şekline göre değişir. Böylece istenilen şekil ve boyutta nanotanecik sentezlemek mümkündür.

Mikroemülsiyonlarda organik faz ve su yüzey aktif maddelerle kararlı hale getirilir. Bu maddelerin kararlı hale getirilmesiyle su ve organik faz yüzeyinde nano boyutlarda su küreleri oluşur. Bu küreler surfaktan, su oranına göre farklılaşırlar. Bu oran 15 'in üzerinde ise mikroemülsiyon, altında ise yapılar ters misel olarak tanımlanır [79]. Su küreleri burada nanotanecik sentezi için mikro reaktör olarak davranır. Bu kürelerin boyutu sentezlenen nanotaneciklerin boyutu ile ilişkilidir [80].



Şekil 2.12. Ters misel yapısı

Yapılan çalışmalarda $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ nanotanecekler bu metotla sentezlenmiştir. Küresel tanecikler oleik asitle kaplanarak boyutları 2 – 5 nm arasında olan tanecikler sentezlenmiştir. Yapılan incelemelerde oleik asit tanecik yüzey modifikasyonunda ve tanecikleri çöktürmede kullanılırken, sikloheksilamin kullanıldığında agregasyonu engellemediği ve sadece tanecikleri çöktürdüğü anlaşılmıştır [81].

2.7.4. Hidrotermal sentez yöntemi

Hidrotermal sentez yöntemiyle nano malzemelerin büyük bir kısmı sentezlenebilir [82]. Bu yöntemde yapıyı kristallendiren kimyasal yöntemler uygulanır. Ayrıca bu yöntemin avantajlarından biri diğer metotlara göre daha iyi kristal form yapılar elde ediliyor olmasıdır. Sistem genel olarak hidrotermal şartlarda, farklı tepkime sıcaklıklarında katı faz olarak metal kompleks, sıvı faz olarak etanol-linoik asit ve solüsyon fazında da etanol, su karışımı içerir. Bu yöntemde FeCl_3 , sodyum asetat, etilen glikol ve polietilen glikol otoklav gibi kapalı bir sistemde karıştırılarak $200\text{ }^\circ\text{C}$ sıcaklıkta, en az 8 saat süre ile buhar basıncına (0,3 - 4 MPa) maruz bırakılır [83]. Böylece düşük boyut dağılımında, kontrollü şekil ve bileşime sahip nanotanecekler sentezlenir. Burada polietilen glikol yüzey aktif madde, etilen glikol çözücü ve sodyum asetat ise agregasyonu önleyici madde olarak kullanılır [83]. Yapılan çalışmalarda Fe_3O_4 nanotanecek sentezinde hidrotermal sentez metodu kullanılmıştır. 25 - 30 nm boyutunda tanecikler sentezlenmiş ve bu sentezde surfaktan olarak sodyum bis (2-etilheksil) sulfosuksinat kullanılmıştır. Sentezlenen bu nanotanecekler oda sıcaklığında supermagnetik özellik göstermiştir [84].

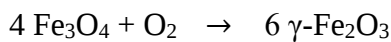
Yapılan başka bir çalışmada ise Fe^{2+} ve Fe^{3+} iyonları ve tetra metil amonyum hidroksit kullanılarak ikili çöktürme yöntemi ile nanotanecikler sentezlenmiştir. Daha sonra sistem hidrotermal şartlara getirilmiş ve 10 - 15 nm boyutunda nanotanecikler sentezlenmiştir. Bu metot çoğunlukla demir oksit oyuk küreler ve demir oksit nano küpler küreler sentezlemek için kullanılır [85].

2.8. Manyetik Nanotaneciklerin Kararlılığı

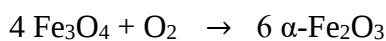
Manyetik nanotanecikler birçok alanda kullanılmasına karşın, bu alanlarda tamamıyla kullanılabilmesi nanotaneciklerin kullanılan ortamdaki kararlılığına bağlıdır [86]. Nanotaneciklerin parçacık boyutu 20 nm altında olduğu zaman genellikle optimum kararlılıkta olurlar. Bu kararlılıkta tanecikler tek bir tanecik gibi davranır [87]. Bu tip taneciklerin manyetik duyarlılığı çok yüksektir. Bu özellikteki paramanyetik nanoparçacıklar düşük sıcaklıklarda agregasyona uğramadıkları için biyomedikal uygulamalarda kullanılabilmektedirler. Bir süre sonra tanecikler yüksek enerjilerini agregasyona uğrayarak düşürürler. Yüzey modifikasyonu yapılmamış taneciklerin manyetik duyarlılığı daha fazla olsa da bu olaydan dolayı kullanılabilirliği sınırlıdır. Bu yüzden manyetik nanotaneciklere yüzey modifikasyonları uygulanarak ortamda daha fazla kararlı kalmaları ve agregasyona uğramamaları sağlanır[88].

Bu yüzden manyetik nanotaneciklerin organik moleküller, yüzey aktif maddeler, polimerler, biyolojik moleküller, silika ve metaller kullanılarak yüzey modifikasyonları gerçekleştirilir [89]. Bu uygulamalar nanotaneciklerin sıvı içerisinde iyi dağılmasını, daha kararlı yapılar oluşturmalarını ve kullanılabilirliklerinin artmasını sağlar. Ayrıca bu modifikasyonlar sayesinde nanotanecikler farklı yapılarla modifiye edildiğinden yeni işlevsellikler kazanır. Yüksek manyetik duyarlılıkları sayesinde ortamdan kolayca ayrıştırılabilen bu tanecikler kataliz, ilaç salınımı gibi uygulamalarda kullanılarak hem maliyet hem de reaksiyon süresi önemli ölçüde düşürülmektedir [90].

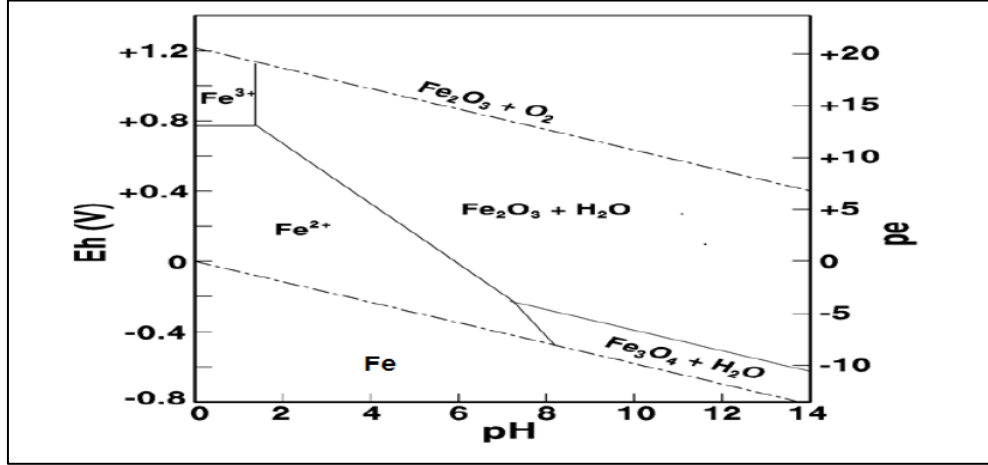
Manyetit havadan oksidasyona uğrar ve kolayca kahverengi olan maghemite dönüşür [91].



Sıcaklık 300 °C üzerine çıktığında hematit oluşumu gözlenir [91].

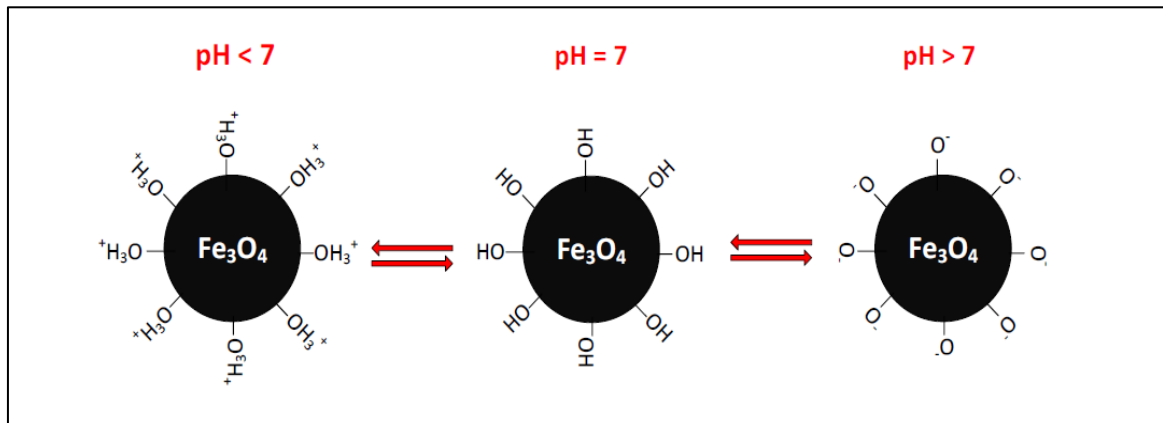


Eh-pH diyagramına bakılarak manyetit nanotaneçiklerin sulu ortamda hangi formda olduğu hakkında bilgi sahibi olabiliriz [92].



Şekil 2.13. Manyetit için Eh – pH diyagramı [92]

Manyetit nanotaneçiklerin sulu ortamda kararlı olarak kalabilmesi için ortamın pH değeri 7 – 14 aralığında olması ve ortamın potansiyelinin düşük olması gerekmektedir [93]. Yüksek pH aralığında ve potansiyelin sıfır ve üzerinde olduğu noktalarda hematit formu gözlenir. Manyetit nano taneçiklerin stabilizasyonu sterik ve elektrostatik etkilerle sağlanabilir [94]. Biyolojik uygulamalar gibi pH değişimine duyarlı uygulamalar için geniş kullanım alanına sahip değillerdir. pH değeri 6,8 olduğu manyetitin izoelektrik noktası gözlemlenir ve bazı yüzey modifikasyonlarıyla bu nokta değişebilir [95].



Şekil 2.14. Sulu ortamdaki bir manyetitin farklı pH değerlerindeki yapıları [95]

2.8.1. Organik moleküllerle yüzey modifikasyonu

Manyetik nanotaneciklerin sentezinde agregasyonu önlemek için organik moleküller kullanılabilir. Yüzey modifikasyonları ile manyetik nanotanecikler hidrofobik özellik kazanabilir. Bu etkiden dolayı nanotanecikler arasında agregasyon oluşabilir bundan dolayı parçacık büyüklüğü de artabilir [96].

2.8.2. Yüzey aktif maddelerle yüzey modifikasyonu

Yüzey aktif maddelerle yüzey modifikasyonu yapılan nanotanecikler, hem hidrofobik hem de hidrofilik özellik gösteren yapılar oluşturur. Hidrofobik özellik gösteren bu uyarlanmış yapılar fenol, alkil ve yağ asidi gibi gruplardan meydana gelir. Hidrofilik özellik gösteren yapılar lisin ve amonyum tuzu gibi solvent ortamda kuvvetli etkileşimler oluşturabilen yapılardan oluşur [97]. Manyetit nanotanecikler baz alındığında yağda dağılan uyarlanmış yapılar daha uygundur. Bunun nedeni manyetit taneciklerin sentezinde agregasyonu önlemesi, homojen taneciklerin oluşması ve yapının kararlı yapıda olmasıdır. 5 – 10 nm çapındaki manyetit nanotaneciklerin yüzey modifikasyonlarının gerçekleşmesi için laurik asit, oleik asit ve dodesil fosfanat gibi organik maddeler kullanılmıştır [98]. Yine termodinamik olarak kararlı nanotaneciklerin sentezlenmesindeyse diheksadesil fosfat ve alkil fosfanat gibi organik maddeler kullanılmıştır [99].

2.8.3. Polimerlerle yüzey modifikasyonu

Nanotaneciklerin sentezinde polimerler genellikle agregasyonu engellemek için kullanılır. Polimerler manyetik nanotaneciklerin üzerinde katman oluşturarak fiziksel veya kimyasal olarak taneciklere bağlanır ve böylece sterik itme kuvveti oluştururlar. Böylece topaklanma önlenmiş ve kararlı bir nano yapı oluşturulmuş olur [100].

Polimerlerle yapılan yüzey modifikasyonları ile fonksiyonel gruplar sayesinde nanotaneciklere spesifik özellikler kazandırılabilir. Böylece polimer kaplı modifiye bu yapılar ilaç salınımı, manyetik rezonans görüntüleme gibi çalışmalarda çoğunlukla kullanılmaktadır [101]. Polimerlerle yapılan yüzey modifikasyonu sonucu nanotaneciklerin manyetik doygunluğu azalır. Polimer yüzey kaplamaları manyetik nanotaneciklerin oksidasyonunu engelleyecek bir katman oluşturamazlar. Bunun için polimer kaplamalar

manyetik nanotaneçiklerin stabilizasyonu için yetersizdir [102]. Ayrıca polimerlerin yüksek sıcaklıkta kararsız olması yine nanotaneçiklerin stabilizasyonu için bir engeldir.

2.8.4. Biyolojik moleküller

Manyetik nanotaneçikler polipeptit, antikor, protein, biyotin ve avidin gibi biyolojik moleküllerle kimyasal yollarla kaplanır. Böylece uyarlanmış bu yapılar hedef noktaya spesifik hale gelir. Bu biyofonksiyonel yapıların nanotaneçiklere bağlanmasıyla yapıların biyoyumluluğu artar. Yapılan bir çalışmada maghemit nanotaneçiklerin streptavidin proteiniyle biyofonksiyonelleşmesi sonucu spesifik olarak biyotin işaretli oligonükleotitleri tanıması için araştırmalar yapılmıştır. Öncelikle suda iyi çözünen karboksilli asit gruplar manyetik nanotaneçiklere bağlanmış ve $C_8H_{17}N_3$ ile aktifleştirilmiştir [103]. Sonuç olarak maghemit nanotaneçiklerin yüzeyine streptavidin proteini bağlanmış. Maghemit nanotaneçiklerin biyotin işaretli oligonükleotitleri, streptavidin ile biyotin arasındaki hedef nokta ilişkisiyle, molekülleri kolaylıkla ve spesifik olarak tanımaktadır [104].

2.8.5. İnorganik moleküllerle yüzey modifikasyonu

İnorganik moleküller ile yüzey modifikasyonu yapılan nanotaneçikler daha kararlı yapılar oluşturarak oksidasyondan korunurlar. Bu yüzey modifikasyonları ile fonksiyonellenen yapılar yeni kullanım alanları oluşturur. Bu tür yüzey kaplamaları için genellikle metal, silika, sülfürler ve metal oksitler kullanılır [105].

Manyetik nanotaneçiklerin yüzey kaplaması için en fazla silika kullanılır. Bu kaplama sayesinde agregasyon önlenir, taneçikler arası etkileşim engellenir ve yapı daha kararlı bir hale gelir. Ayrıca silika kaplı nanotaneçikler biyoyumludur. Silika kaplı nanotaneçiklerin sentezinde en çok sol-jel tekniği kullanılır [106].

Sol-jel tekniğinde yüzeye kaplanan silikanın genişliği kontrol edilebilmektedir. Bu sudaki amonyak ve tetraetilortosilikat (TEOS) derişimiyle ilişkilidir [107]. Yapılan çalışmalarda ferrosivılara yüzey modifikasyonu yapılmış ve yüzey silika ile kaplanmıştır. Ferrosivılar 2-propanol ile seyreltilmiş ve ortama TEOS eklenmiştir. Yapılan bu modifikasyon sonucu silika kaplanan yüzeydeki silikanın genişliğinin eklenen TEOS miktarıyla ilişkili olduğu gözlemlenmiştir [108].

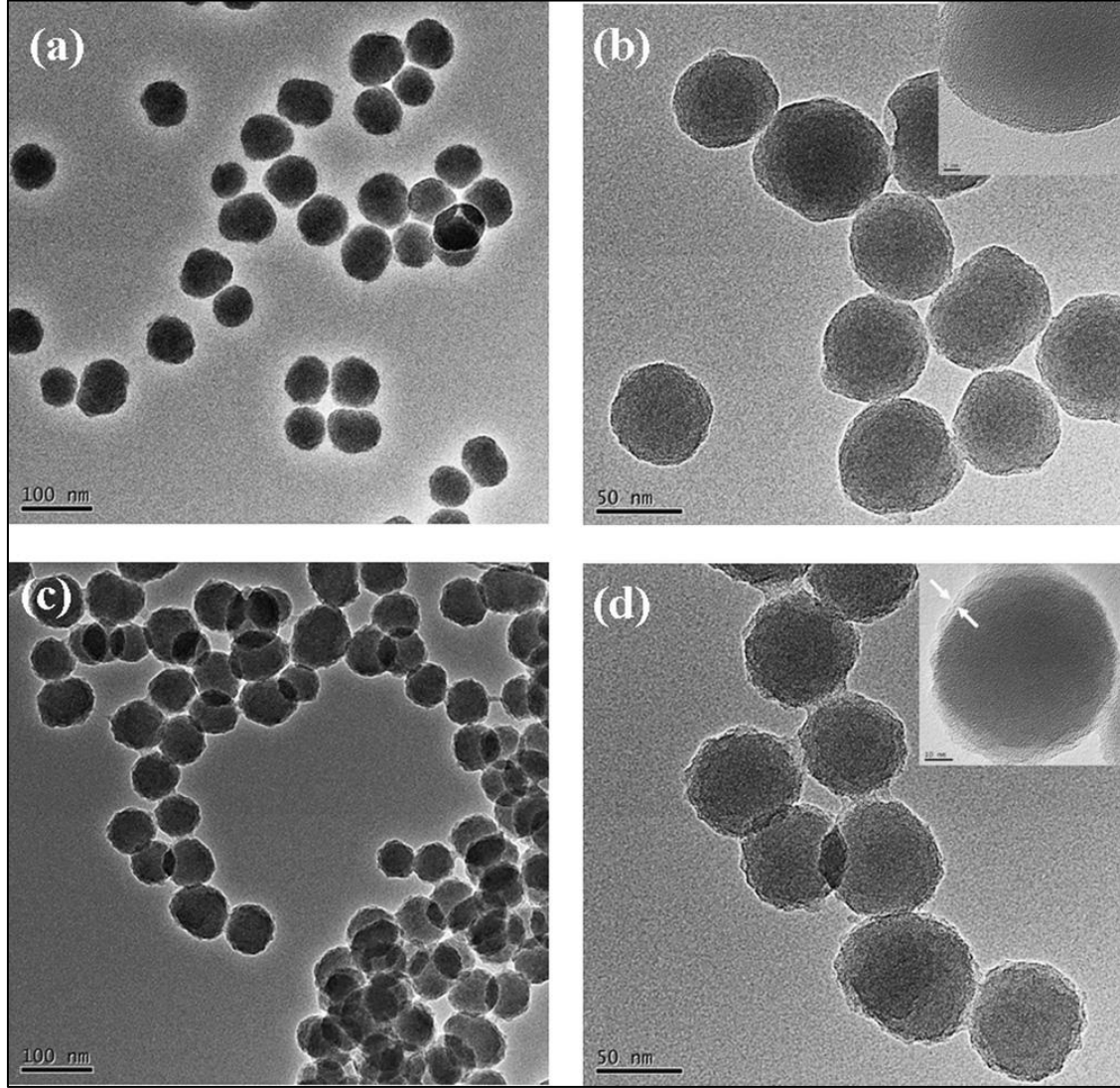
Manyetit nanotaneciklerin oksidasyondan korunmasını sağlamak ve daha kararlı yapılar oluşturmaları için platin, karbon, altın, paladyum, gümüş ve demir gibi ametaller ve saf metaller de yüzey modifikasyonları için kullanılabilir.

Nanotanecik yüzeyine uygulanan altın kaplama nanotaneciklerin hem stabilizasyonunu hem de tiyol (-SH) gruplarının yüzeye bağlanmasıyla biyouyumluluğunu sağlar [109]. Yüzeye uygulanan bu modifikasyonlardan altın ve gümüş gibi kaplamalar nanotaneciklerin doyumluk mıknatıslığını düşürürken, platin paladyum ve bakır gibi maddelerle yapılan uyarlamalar kütleyle bağlı olarak doyumluk mıknatıslanma değerini arttırmıştır [110]. Ayrıca metal ve ametallerle yapılan yüzey uygulamalarında nanotaneciklerin çapları ayarlanabilmektedir.

Manyetit nanotaneciklerin metaller ile yüzey modifikasyonu için sıklıkla iki teknik kullanılır. Bunların birincisi, metal iyonlarının yüzeyde indirgenmesidir. Yapılan çalışmalarda Au^+ iyonlarının nanotanecik yüzeyinde indirgenmesiyle çekirdek-kabuk yapılar ortaya çıkmıştır. Sentezlenen bu çekirdek-kabuk yapılarda nanotaneciklerin kararlılığı artmasına karşın, manyetik duyarlılığı azalmıştır [111].

Diğer teknik ise; polimerin küçük moleküller veya silika ile uyarlanmış yapıların yüzeyinde metal iyonlarının indirgenmesidir. Silika ile modifiye edilmiş nanotanecikler düşük pH değerlerinde bile negatif yüklüdür. Bu durumda sterik etkiler nedeniyle yüzeyin fonksiyonelleşmesi güçtür. Yüzeyin fonksiyonelleşmesi için pozitif yüklenmesi gereklidir [112]. Bunu gidermek için sıklıkla amin grupları kullanılır. Yapılan çalışmalarda yüzeye polidopamin (PDA) kaplanarak işlevselleştirilmiştir. Yapılan çalışmalarda PDA kaplı nanotanecikler, proteinleri yüzeye bağlama ve proteinleri tanıma gibi özellikleri nedeniyle birçok biyolojik uygulamada kullanılmıştır [113]. Yapılan başka bir çalışmada ise silika nanotaneciklerin ve PDA kaplı silika nanotaneciklerin yapıları incelenmiştir. Aşağıdaki şekilde (a) ve (b) olarak gösterilen TEM görüntülerinde silika nanotaneciklerin yapıları incelenmiştir ve nanotaneciklerin yaklaşık çapının 68 nm olduğu tespit edilmiştir. PDA kaplı nanotanecikler PDA'nın alkali bir çözeltide oda sıcaklığında 12 saat süresince kendiliğinden polimerizasyonu ile hazırlanmıştır (c,d). Silika ve PDA kaplı nanotanecikleri TEM görüntülerinden ayırt etmek zor olsa da PDA kaplı nanotaneciklerde dış katmanın biraz daha kalınlaştığı ve yüzeyin pürüzlülüğünün arttığı gözlemlenmiştir. PDA kaplı nanotaneciklerinin çapının yaklaşık olarak 78 nm olduğu belirlenmiştir. Yaklaşık bu 5 nm

kalınlığındaki artış PDA'nın silika nanotaneçiklere başarıyla bağlandığını göstermiştir [113].



Şekil 2.15. Silika nanotaneçikler (a,b) ve PDA kaplı silika nanotaneçikler (c,d) [114]

3. MOLEKÜLER BASKILAMA

Moleküler baskılama tekniği, hedef molekül için seçici alanlar içeren, çapraz bağlayıcı ve kalıp molekül kullanılarak, hedef moleküle seçici olan ağ yapılı polimerlerin sentezlenmesi işlemine dayanır. Son yıllarda moleküler baskılama geniş çalışma alanı sayesinde birçok çalışmanın ilgi odağı olmuştur [115]. Bu teknikte çapraz bağlayıcılar yapıya kararlılık ve mekanik sağlamlık kazandırır. Fonksiyonel bir monomer kullanılarak hedef moleküle kovalent veya kovalent olmayan yaklaşımlarla, çapraz bağlayıcı varlığında polimerizasyon gerçekleşir. Moleküler baskılamada polimerizasyon işlemi tamamlandığında hedef molekül çözücüyle ortamdan uzaklaştırılır. Böylece geriye spesifik tanıma alanları kalır.

Moleküler baskılı polimerler özellik olarak antikorlara benzemektedir. Moleküler baskılı polimerler antikorlara göre daha çok kullanım alanına sahiptir. Moleküler baskılı polimerler antikorlara göre daha kararlı, sentezlenmesi basit ve daha ekonomiktir. Moleküler baskılı polimerlerin sentezinde hedef molekül olarak ilaçlar, hormonlar, proteinler, nükleotid bazlar ve antikorlar gibi birçok materyal kullanılabilir [116]. Bu da sentezlenen baskılı polimerlere oldukça fazla spesifik özellik ve kullanım alanı sağlar. Moleküler baskılama tekniğinin temeli moleküler tanımadan gelir. Moleküler tanımaya enzim-substrat, antijen-antikor, reseptör-ligant gibi yaklaşımlar örnek olarak verilebilir. Bu gibi yaklaşımlar baz alınarak yapay reseptörler sentezlenmiştir. Yapay reseptörler hedef molekül kullanılarak sentetik tanıma bölgeleri oluşturulan yapılardır. Yapay reseptörler doğal reseptörlere göre oldukça kararlı, kolayca ve ekonomik olarak üretilebilirler [117]. Buna karşın bazı yapay reseptörlerde heterojen bağlanma bölgeleri, tanıma bölgelerine bağlanmadaki sıkıntılar, hedef molekülün uzaklaştırılmasındaki sıkıntılar ve düşük bağlanma kapasitesi gibi sorunlar da mevcuttur.

3.1. Moleküler Baskılı Polimerlerin Sentezlenmesi

Moleküler baskılı polimerlerin sentezlenmesinde ilk kullanılan yöntem yığın polimerizasyon tekniğidir. Bu teknikle sentezlenen baskılanmış polimerlere istenilen boyutlardaki parçacıkların elde edilmesi için öğütme, eleme gibi işlemler uygulanır. Bu teknik oldukça basit ve ekonomik olmasına karşın düşük bağlanma performansı, düşük kütle transferi ve hedef molekülün uzaklaştırılmasının zor olması nedeniyle yeni baskılama teknikleri kullanılmaya başlanmıştır [118]. Yüzey baskılama tekniği buna örnek olarak

verilebilir. Yüzey baskılama tekniğinde hedef molekül yüzey veya yüzeye yakın bir yere bağlandığından dolayı hedef molekülün uzaklaştırılması çok daha kolaydır [119]. Böylece yüksek bağlanma ve hızlı kütle transferi sağlanmış olur.

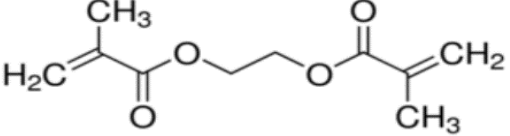
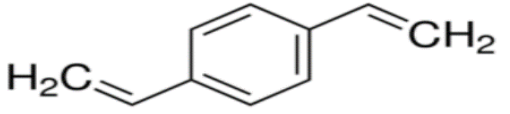
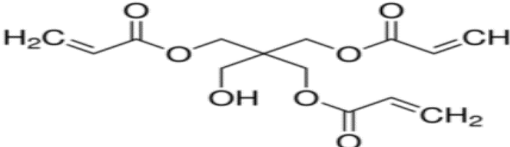
Moleküler baskılı polimerler üzerinde birçok çalışma yapılmıştır. Moleküler baskılı polimerler doğal reseptörler kadar spesifik seçiciliği, yüksek kararlılıkta olması, kolayca sentezlenebilmeleri, düşük maliyette olmaları ve farklı birçok sisteme uyarlanabilmeleri nedeniyle son zamanlarda araştırma ve çalışmalara sıklıkla konu olmuştur [120]. Ayırma, kataliz, kimyasal tayin, sentetik enzim, tıbbi ilaçlar ve kimyasal reseptör uygulamaları başlıca kullanım alanlarındandır. Biyolojik reseptörler kararsız, düşük mekanik dayanım, küçük molekül yapısı ve yüksek çözünürlüğe sahiptirler. Buna karşın moleküler baskılanmış polimerler en az bir yıl kararlılığa, düşük çözünürlüğe ve büyük molekül yapısına sahiptir. Baskılanmış polimerlerde hedef molekülün büyük boyutta olması istenmez. Büyük boyuttaki bir hedef molekülün baskılanma işleminin ardından polimerden uzaklaştırılması güçtür [121]. Ayrıca düşük esnekliğe sahip olması tanıma bölgeleri oluşurken zorluğa sebep olur ve bağlanma kinetiğini de yavaşlatır.

Moleküler baskılı polimerler sentezlemek için hedef molekül, çapraz bağlayıcı, fonksiyonel monomer, başlatıcı ve çözücüye ihtiyaç vardır. Burada hedef molekülün yapısı, çözünürlüğü ve boyutu, baskılamada uygun bir yöntem seçimi için önemlidir. Hedef molekül, fonksiyonel monomer oranı sentezlenen spesifik bağlanma bölgelerinin kararlılığı için önemlidir. Çapraz bağlayıcı, çözücü, sıcaklık, başlatıcı ve pH moleküler baskılanmış polimerlerin kararlılığını ve yapısını etkileyen diğer önemli faktörlerdir. Fonksiyonel monomerler kovalent veya kovalent olmayan etkileşimlerle baskılanacak yüzeye tutunur. Hedef molekül polimerizasyon işleminde kalıp olarak kullanılır ve spesifik bölgelerin oluşumu sağlanır. Hedef molekül ve monomerin etkileşimi sonucu kendiliğinden kompleks yapı oluşur. Ardından çapraz bağlayıcıyla birlikte polimerizasyon sonucu çapraz bağlar oluşur. Çözücü yardımıyla oluşan ağ yapı yıkanır ve ortamdan hedef molekül uzaklaştırılır. Hedef molekülün yapıdan uzaklaşmasıyla yapıda, spesifik ve yüksek afiniteye sahip bölgeler kalır. Sentezlenen bu bölgeler polimer yapı sayesinde korunur [122].

3.1.1. Çapraz bağlayıcılar

Moleküler baskılı polimerlerin sentezlenmesinde çapraz bağlayıcılar kullanılır ve bunlar sentez ortamında yüksek miktarda bulunur. Manyetik nanotaneceklerde çapraz bağ oranı en az %75' in üzerindedir. Manyetik nanotaneceklerdeki bu yüksek oranda çapraz bağ polimer yapısına yüksek mekanik dayanım kazandırır ve hedef molekülün uzaklaşmasıyla oluşan bağlanma bölgelerinin kararlılığını artırır [123]. Ayrıca çapraz bağlayıcılar sentezlenen ağ yapıların morfolojisi üzerinde etkilidir. Yapıdaki çapraz bağ oranına göre yapı makroforoz, mikrojel toz ve jel tipi gibi morfolojilere sahip olabilir. İstenilen oranda çapraz bağlayıcı kullanılması polimer içindeki hedef molekülün yapıdan uzaklaşmasını kolaylaştırırken, fazla miktarda kullanılan çapraz bağlayıcılar sonucunda hedef molekülün yapıdan uzaklaşması zorlaşmaktadır. Bu da polimerin seçiciliğinin düşmesine neden olur. En çok kullanılan çapraz bağlayıcılara Etilen glikol dimetakrilat (EGDMA), ve pentaeritrol tetraakrilat örnek verilebilir [124].

Çizelge 3.1. Başlıca çapraz bağlayıcılar ve yapıları

Çapraz Bağlayıcı	Çapraz Bağlayıcının Yapısı
Etilen glikol dimetakrilat	
p-Divinilbenzen	
Pentaeritrol tetraakrilat	

3.1.2. Başlatıcılar

Moleküler baskılı polimerlerin sentezinde polimerizasyon safhasında başlatıcılar kullanılır. Burada genelde radikalik polimerizasyon gerçekleşir ve radikallerin oluşup, tepkimelerin

başlaması için başlatıcılar kullanılmaktadır. Radikallerin oluşumu ışık, ısı, elektrokimyasal yöntemler ve yüksek enerjili ışınlar gibi etkenlerle gerçekleşir. Başlatıcıların kullanılması için en önemli etken bozunma sıcaklığıdır [125]. Bazı monomerler kendiliğinden polimerleşebilir. Stiren, metil metakrilat, vinil klorür ve izopren gibi çok sayıda monomer iyonlaştırıcı ışınlar sayesinde polimerleşir ve çapraz olarak bağlanabilirler. Polimerizasyonun başlaması için kullanılan başka bir yöntem ise çözücü veya monomerlerin yüksek enerjili ışınlarla radikallerinin oluşturulmasıdır. Bu radikaller radikalik zincir polimerizasyonunu başlatır. Baskılama işleminde termal başlatıcılar da kullanılır [126]. Bu yöntem oldukça basit ve ekonomiktir ancak termal kararlılığı düşük olan hedef moleküller kullanılırsa, aktivasyon enerjisi düşeceği için baskılama işlemi olumsuz etkilenir.

3.1.3. Çözücüler

Moleküler baskılanmış polimerde çözücünün türü ve miktarı gözenekli ağ yapısının oluşmasında büyük bir rol oynamaktadır. Polimerizasyonda çözücünün çeşitli görevleri vardır. Bunlardan ilki fonksiyonel monomer, hedef molekül, çapraz bağlayıcı ve başlatıcıyı çözmektir. İkincisi hedef molekül ile fonksiyonel monomer arasındaki kompleks oluşumunun kararlılığını sağlamaktır. Üçüncüsü ise, gözenek oluşumunu sağlamaktır. Baskılanmış polimerde çözücü polimerizasyon öncesinde, sırasında ve sonrasında hedef molekül ile fonksiyonel monomer arasında oluşan kompleksin kararlılığını etkilemektedir. Özellikle kovalent olmayan baskılamada çözücünün polaritesinin kompleksin polimerizasyon öncesinde kararlılığı üzerindeki etkisi oldukça önemlidir. Kloroform, benzen gibi polaritesi düşük olan çözücüler, Le Chatelier ilkesine göre kompleks oluşumunu artırır ve hidrojen bağı, elektrostatik etkileşim gibi polar olmayan etkileşimleri kolaylaştırır. Polaritesi yüksek olan çözücüler, fonksiyonel monomer ile hedef molekül arasındaki etkileşimi azaltıp, kovalent olmayan etkileşimleri ayrıştırma eğilimindedir. Bu durumda zayıf bağlanma bölgelerinin oluşmasına neden olmaktadır. Yapılan bir çalışmada çözücünün polaritesinin artmasıyla beraber seçiciliğin azaldığı görülmüştür [127].

3.1.4. Hedef moleküller

Hedef molekülün şekli, boyutu ve kimyasal fonksiyonallitesi baskılamada önemli bir rol oynamaktadır. Hedef molekülü seçerken maliyeti, organik çözücülerdeki çözünürlüğü,

monomerlerle güçlü etkileşiminin dikkate alınması gerekmektedir [128]. Kovalent olmayan baskılamada, hedef molekül ile fonksiyonel monomer arasındaki etkileşim zayıf olduğu için, hedef molekülün birden fazla fonksiyonel gruba sahip olması gerekmektedir. Hedef molekül ağ yapı içinden uzaklaştırıldıktan sonra, hedef molekülü fiziksel ve kimyasal olarak tanımlayan bağlanma bölgeleri oluşmaktadır. Hedef molekülün yapısında meydana gelen herhangi bir değişiklik, seçiciliğin azalmasına neden olmaktadır. Hedef molekülün maliyeti ve ulaşılabilirliği nedeniyle hedef moleküle fiziksel ve kimyasal olarak özellikleri benzeyen sahte (dummy) moleküller kullanılmaktadır. Kovalent olmayan baskılamada hedef molekülün ağ yapısından tamamen uzaklaştırılması gerekmektedir [129]. Tamamen uzaklaştırılmadığı durumlarda, geri bağlanma sırasında ağ yapı içinden hedef molekül sızıntı yapar. Bu problemi ortadan kaldırmak için de sahte hedef molekül kullanılabilir.

3.1.5. Fonksiyonel monomerler

Fonksiyonel monomer ile hedef molekül arasında kararlı bir kompleks oluşması için bu iki yapı arasında kuvvetli etkileşimler olabilmesi açısından monomer seçimi son derece önemlidir. Kovalent baskılamada, fonksiyonel monomer/hedef molekül oranı önemli değildir [130]. Çünkü polimerizasyon öncesinde hedef molekül ile fonksiyonel monomer arasındaki kompleksin oluşumu bir dengeye bağlı değildir. Kovalent olmayan baskılamada ise fonksiyonel monomer/hedef molekül oranı önemlidir. Çünkü polimerizasyon öncesi kompleks oluşumu denge tepkimesine dayanmaktadır [131]. Le Chatelier prensibine göre dengeyi kompleks oluşumu yönüne kaydırmak için monomerin fazlasının eklenmesi gerekmektedir. Bu durum da özgül olmayan bağlanma bölgelerinin oluşmasına neden olmaktadır. Kovalent olmayan moleküler baskılamada çoğunlukla hidrojen bağı oluşturma potansiyeli nedeniyle metakrilik asit kullanılmaktadır [132]. Metakrilik asit (MAA) hidrojen bağı oluştururken donör ve akseptör olarak davrandığı için geri bağlanma çalışmalarında pek çok analitin tutulmasını sağlamaktadır.

MAA'nın hedef molekül ile daha güçlü etkileşime girebilmesi için polar olmayan çözücülerin kullanılması gerekmektedir. Daha polar çözücüler kullanılacağı zaman fonksiyonel monomer olarak akrilamid monomerlerinin tercih edilmesi gerekmektedir. Akrilamid, metakrilik asitten daha polar olduğu için, hedef molekül ile polar ortamda güçlü hidrojen bağı oluşturmaktadır [133].

3.2. Moleküler Baskılama Yöntemleri

Moleküler baskılama yöntemi hedef molekül ile monomer arasındaki etkileşim türüne göre kovalent ve kovalent olmayan baskılama olmak üzere iki ana gruba ayrılır [134].

3.2.1. Kovalent baskılama

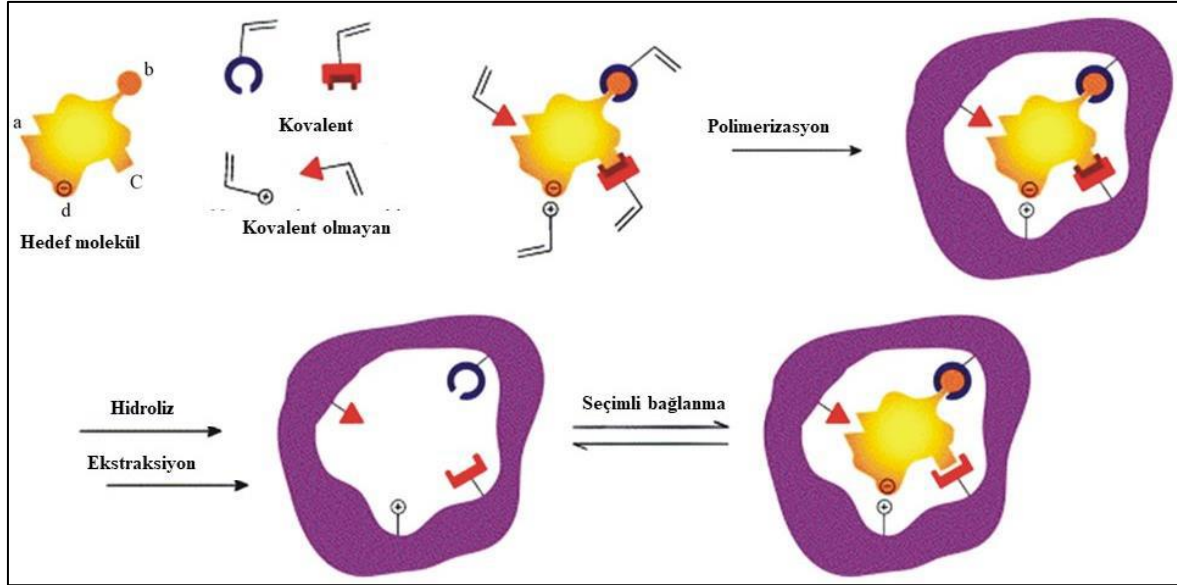
Kovalent baskılama, hedef molekül ile monomer arasındaki tersinir kovalent etkileşimine dayanan bir yöntemdir [135]. Wulff ve arkadaşları tarafından ilk kovalent baskılama çalışmasında, p-vinil-benzen boronik asit ile 4-nitrofenil- α -Dmannopiranositin kovalent birleşimi ile oluşan etilen glikol dimetakrilat ile polimerleştirilmiştir. 1970’lerde Wulff ve arkadaşları cis-diol fonksiyonel grubu içeren konuk molekülün boronat esterlerin köprüleri ile kovalent immobilizasyonuna dayalı bir baskılama yöntemi geliştirdi. Bu yöntemde, hedef molekülün hidroliz yoluyla ağ yapısı içinden uzaklaştırılması sağlanır. Bu şekilde oluşan bağlanma bölgeleri hedef molekül için yüksek seçicilik göstermektedir. Kovalent baskılamada hedef molekülün ağ yapısı içinden uzaklaştırılmasında ve bağlanmasında su molekülünün katılması ve ayrılması gerektiği için hedef molekül ortamda bulunan suya karşı duyarlıdır. Bu yüzden, baskılı polimerler hazırlanırken emülsiyon veya süspansiyon polimerizasyon yöntemi daha çok tercih edilmektedir. Kovalent baskılamada, tersinir kovalent bağları sadece hedef molekül ile fonksiyonel monomer arasında oluşur [136]. Bu sebeple fonksiyonel monomer ile hedef molekül stokiometrik olarak reaksiyona girmektedir. Bu durum da özgül ve homojen bağlanma bölgelerinin oluşmasını sağlamaktadır [137]. Bu teknik, fonksiyonel monomer-hedef molekül arasındaki kararlı kompleks oluşumu nedeniyle dış koşullardan (yüksek sıcaklık, yüksek veya düşük pH) daha az etkilenmektedir. Hedef molekülün bağlanması ve uzaklaştırılması işlemi yavaş ve uzun olması kromatografik ayırmalar için uygun değildir. Kovalent baskılamada kullanılan hedef molekülün sınırlı sayıda olması da bu yöntemin dezavantajlarından [138].

3.2.2. Kovalent olmayan baskılama

Mosbach ve arkadaşları moleküler baskılı polimerlerin fonksiyonel monomer ile hedef molekül arasında kovalent olmayan ikincil etkileşimler ile de yapılabileceğini kanıtlamıştır [139]. Bu yöntem fonksiyonel monomer ile hedef molekül arasında iyonik etkileşimler,

hidrojen bağı, elektrostatik, dipol-dipol etkileşimlerinin kullanıldığı bir yöntemdir. Kovalent olmayan baskılama yöntemi, sentez sürecinin kolay ve daha basit olması nedeniyle daha sık kullanılmaktadır [140]. Ayrıca hedef molekülün ağ yapısı içinden kolayca uzaklaştırılması ve yeniden bağlanması, kovalent baskılamaya göre çok daha kolay ve hızlı gerçekleşmesinden dolayı yüksek performanslı sıvı kromatografilerinde daha fazla tercih edilmektedir. Kovalent olmayan baskılamada, çok farklı hedef molekül ve fonksiyonel monomerlerin kullanılması mümkündür. Asidik monomer olan metakrilik asit (MAA) ve bazik monomerler içinde 4-vinil piridin en yaygın olarak kullanılanlardır [141].

Kovalent olmayan baskılama yönteminde fonksiyonel monomer-hedef molekül arasında çoğunlukla hidrojen bağı etkileşimi kullanılmaktadır [142]. Bunun sebebi, genellikle fonksiyonel monomer olarak kullanılan akrilik asit ve metakrilik asidin karboksil gruplarının hidrojen bağı oluştururken hem donör hem de akseptör gibi davranmasıdır. Kovalent olmayan baskılamada, fonksiyonel monomer ile hedef molekül arasında zayıf etkileşimler olduğu için bağlanma sabiti daha zayıftır. Bu etkiyi gidermek için fonksiyonel monomerin fazlasının eklenmesi gerekmektedir. Monomerin fazlasının eklenmesi dengeyi kompleks oluşumu yönüne kaydırmaktadır. Fakat fazla miktarda eklenen fonksiyonel monomer ağ yapısı içinde farklı bağlanma bölgelerinin oluşmasına neden olacaktır [143]. Bu durum da özgül olmayan bağlanmalara neden olur. Polimerizasyon öncesinde hedef molekül ile fonksiyonel monomer arasında oluşacak olan kompleksi kararlı kılmak için sıcaklık, pH, çözücü gibi faktörler de önemlidir.



Şekil 3.1. Kovalent ve kovalent olmayan baskılama [144]

3.3.3. Yarı kovalent baskılama

Yarı-kovalent baskılama ilk olarak Whitcombe ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Yarı kovalent baskılamada, polimerizasyon sırasında hedef molekül ile fonksiyonel monomer kovalent olarak bağlanır, ağ yapıdan uzaklaştırılması ve hedef molekülün geri bağlanması ise kovalent olmayan bağlanma ile gerçekleşmektedir. Bu yöntem hem kovalent baskılama hem de kovalent olmayan baskılamanın avantajlarını içermektedir. Yarı kovalent baskılama, iki farklı teknik ile gerçekleşmektedir [145]. Birincisi, hedef molekülün fonksiyonel monomere doğrudan bağlanmasıdır. İkinci olarak, bağlanma bir aralayıcı üzerinden gerçekleşmektedir. Aralayıcı kullanılmasının nedeni ise bağlanmayı kolaylaştırmaktır.

3.3.4. Moleküler baskılı polimerlerin uygulama alanları

Moleküler baskılı polimerler, kendine özgü özellikleri nedeniyle farklı uygulamalarda kullanılmaktadır. Afinite ayırmaları, katı faz ekstraksiyonları, ilaç salım sistemleri, biyosensörler bu uygulamalardan bazılarıdır [146]. Moleküler baskılı polimerler, seçici moleküler tanıma özelliği nedeniyle kromatografik ayırma için son derece uygun malzemelerdir. Son zamanlarda ilaçların enantiyometrik ayırmalarında sıklıkla kullanılmaktadırlar [147]. Moleküler baskılı polimerler kolon dolgu maddeleri olarak

kullanıldığında ticari kolonlara göre daha fazla avantaja sahiptir. Bunun nedeni hedef molekül için seçici olarak davranmasıdır. Son yıllarda moleküler baskılı polimerler doğal antikorların yapay taklitçileri olarak kullanılmaktadır [148]. Bu alanlarda çeşitli yöntemlerle hazırlanan baskılanmış polimerler başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Moleküler baskılı polimerler, HPLC ile aminoasit ve ilaç gibi rasemik çözeltilerin enantiyometrik ayrımlarında kolon dolgu malzemesi olarak kullanılmaktadır [149]. Kempe ve Mosbach tarafından, moleküler baskılı polimerler sıvı kromatografisinde sabit faz olarak aminoasit türevlerini ayırt etmek için kullanılmıştır. Bunun öncesinde Sellergren tarafından D-fenilalanin ve L-fenilalanin enantiyometrik ayrımı için kovalent olmayan moleküler baskılı polimerler hazırlanmıştır. Moleküler baskılanmış polimerler, kapiler elektroforez yönteminde de kullanılmaktadır. Bu yöntem kısa sürede daha yüksek performans göstermesine rağmen düşük tekrarlanabilirlik ve duyarlılık açısından olumsuz özelliklere sahiptir [150]. Moleküler baskılı polimerlerin diğer en önemli uygulamalarından biri de katı faz ekstraksiyonudur (SPE). SPE uygulamalarının en büyük dezavantajı konuk molekülün uzaklaştırılmasıdır. Moleküler baskılı SPE, çevrim içi veya çevrim dışı olarak kullanılmaktadır. Başka bir çalışmada nikotinamid için yığın polimerizasyon tekniği kullanılarak hazırlanmış baskılı polimer katı faz ekstraksiyonunda adsorban olarak kullanılmıştır [151]. Moleküler baskılı katı faz ekstraksiyonu ilk olarak Sellergren tarafından pentamidin'in seçicilik çalışmasında kullanılmıştır.

Başka bir çalışmada ise melamin için yığın polimerizasyon tekniği ile hazırlanmış baskılı polimerler HPLC ile birleştirilmiş katı faz ekstraksiyonunu kullanarak analizinde başarılı sonuçlar elde edilmiştir [152]. Saraji ve arkadaşları tarafından hazırlanan Nikel baskılı sorbentler, sudan Nikel iyonlarını başarılı bir şekilde ayırma işlemini gerçekleştirmişlerdir. Başka bir çalışmada terbütillazin baskılanmış polimeri katı faz ekstraksiyonunda farklı çözücüler kullanarak bağlanma üzerine etkisi incelenmiştir [153]. Son yıllarda analitik kimya alanında, moleküler baskılı polimerlerin kullanıldığı kimyasal sensörler ve biyosensörler konusunda yapılan çalışmaların sayısı giderek artmaktadır. Moleküler baskılanmış polimer kararlılığı, suda çözünmeme özelliği, organik çözücülerin kullanılmasına olanak sağlaması, düşük derişimlerde yüksek seçicilik özellikleri nedeniyle yapay sensörlerde sıkça kullanılmaktadır. İlk kullanılan moleküler baskılanmış polimer sensörü, monolit baskılı polimer olarak sentezlenmiştir. Peng ve ark. tarafından atropin algılayabilmesi için QCM-MIP sensörü geliştirilmiştir. Elde edilen MIP sensörü insan serum ve idrarındaki atropinin algılanmasında başarı ile kullanılmıştır [154]. Tan ve

arkadaşları tarafından parasetamol ve nikotin miktarını belirlemek için polimer kaplı sensörler elde edilmiştir [155]. Parasetamol baskılı polimerler pizoelektronik kuvarz kristal yüzeye modifiye edilmiştir. Haupt ve ark. tarafından Spropranolol kirallerini algılayabilmek için politrimetil propan trimetakrilat- metakrilik asit (TRIM-ko-MAA) bazlı moleküler baskılı polimerler altın kaplı yüzey kullanarak hazırlanmıştır. Başka bir çalışmada atrazin algılayabilmek için baskılı polimer membranlar hazırlanmıştır [156]. Hazırlanan membranlar kondüktometri yöntemiyle atrazinin algılanmasında başarı ile kullanılmıştır. Moleküler baskılanmış polimerin diğer bir uygulama alanı da katalitik çalışmalardır. Bu polimerler yüksek sıcaklık ve basınçta, asidik ve bazik reaksiyon koşullarında, organik çözücü varlığında yüksek seçicilik göstermektedir [157]. Baskılanmış polimerler, bu nedenle biyomoleküller (enzim, antikor...) için geniş bir uygulama alanına sahiptir. Moleküler baskılı polimerler aldol kondenzasyonu, Diels-Alder ve β -eliminasyonu gibi çeşitli organik reaksiyonlarda katalizör olarak da kullanılmıştır. Ayrıca bazı ilaçların sentezinde kullanılan bazı inhibitörler de baskılı polimerlerin nano boşlukları içinde sentezlenmiştir. Enzimin aktif bağlanma bölgesini taklit eden baskılı polimerlerin boşluklarında bir seri Kallikrein inhibitörü de sentezlenmiştir [158]. Moleküler baskılanmış polimerler, yüksek seçici biyoaktif molekülleri bağlamak için uygun bir yöntemdir. Son yıllarda moleküler baskılanmış polimer teknolojisi terapötik ajanlar ve ilaç taşıma sistemlerinde kullanılmaktadır [159]. İlaç taşıma sistemlerinde moleküler baskılanmış polimerlerin kullanılmasının sebebi, hedef molekül olmadığı zaman gözenekli ağ yapısını koruması, geri bağlanma kinetiğinin hızlı olmasıdır. Bu uygulama alanında kovalent olmayan baskılamada geri bağlanma kinetiği hızlı olduğu için daha fazla tercih edilmektedir. Kolesterolün algılanabilmesi için, metakrilat esaslı polietilen glikol yüksek derecede çapraz bağ içeren moleküler baskılı hidrojeller hazırlanmıştır. Baskılı hidrojeller yüksek derecede seçicilik göstermiştir [160].

4. DENEYSEL KISIM

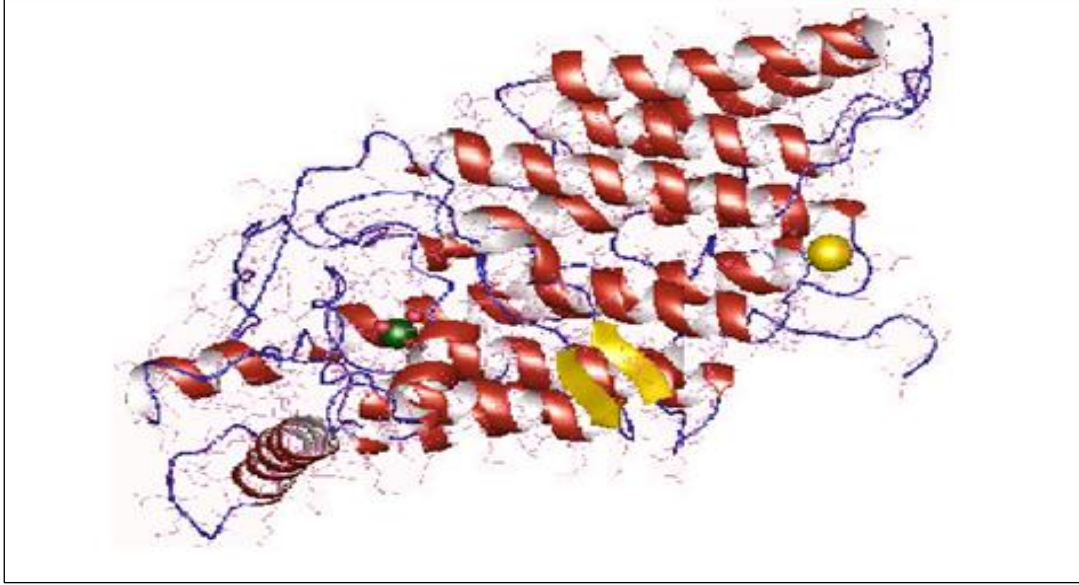
4.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmamızda Sigma Aldrich marka demir(II) klorür tetrahidrat ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, %99,99) ve demir(III) klorür hekzahidrat ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\geq$ %99,0) kullanılarak manyetik nanotanecekler sentezlendi. Kullanılan sodyum hidroksit (NaOH , $\geq$ %99,99), mutlak etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ susuz, $\geq$ %99,5), asetik asit ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$, $\geq$ %99,85), metanol (CH_3OH , $\geq$ %99,8) ve toluen ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$, $\geq$ 99,8) Sigma Aldrich firmasından satın alınmıştır. Brom fonksiyonel manyetik nanotaneceklerin hazırlanmasında Sigma marka (3-Bromopropil)trimetoksisilan (BPTS, $\text{C}_6\text{H}_{15}\text{BrO}_3\text{Si}$, $\geq$ %97,0) kullanıldı. Atom transfer radikal polimerizasyonu için etilenglikoldimetakrilat (EGDMA, $\geq$ %98,0), 2-Hidroksietil metakrilat (HEMA, $\geq$ %98,0), bakır(I) bromür (Cu(I)Br , $\geq$ %98,0) ve N,N,N',N'',N''-Pentametildietilentriamin (PMDETA, $\geq$ %99,0) kullanıldı. Bu kimyasallar Aldrich firmasından temin edildi. Manyetik nanotaneceklerin immünosensör platformları olarak hazırlanabilmesi için anti-immünoglobülin G (anti-IgG), anti-ferritin ve anti-mikrozomal (anti-TPO) antikorları kullanılmıştır. Bu biyomoleküllerin her biri Sigma firmasından temin edilmiştir. Kullanılan bütün kimyasal maddeler yüksek saflıkta olup, hiçbir saflaştırma işlemi uygulanmamıştır. Bu çalışmanın tamamında deiyonize su kullanılmıştır.

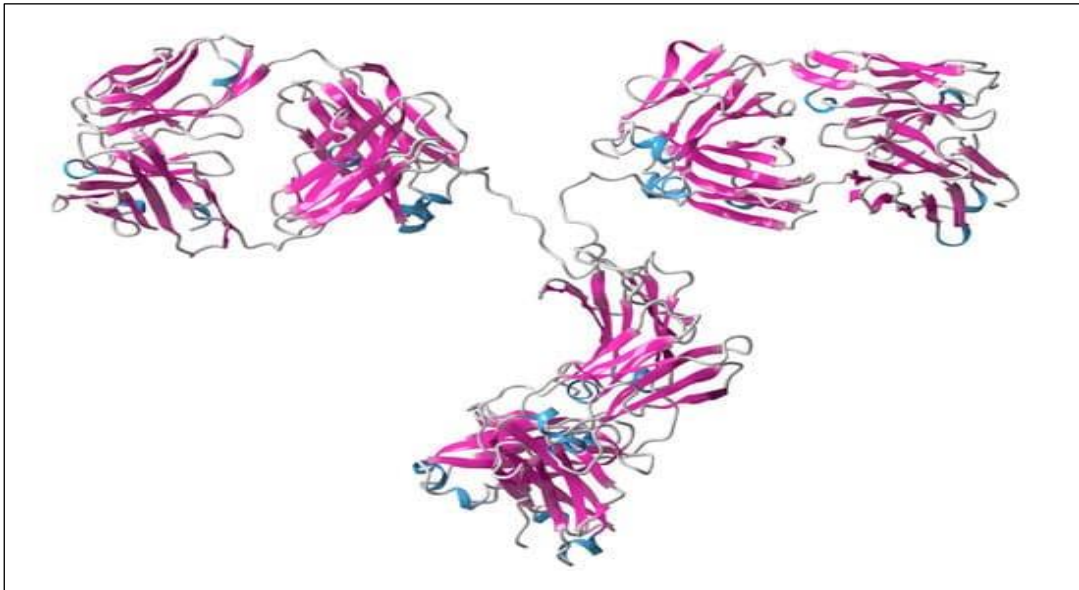
Kullanılan maddelerin kimyasal yapıları aşağıda gösterilmiştir:

$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Demir(II)klorür tetrahidrat Mol kütlesi: 198,81 g/mol
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Demir(III)klorür hekzahidrat Mol kütlesi: 270,30 g/mol
Cu(I)Br	Bakır(I)bromür Mol kütlesi : 143,45 g/mol
BPTS	(3-Bromopropil)trimetoksisilan ($\text{C}_6\text{H}_{15}\text{BrO}_3\text{Si}$) Mol kütlesi: 243,17 g/mol

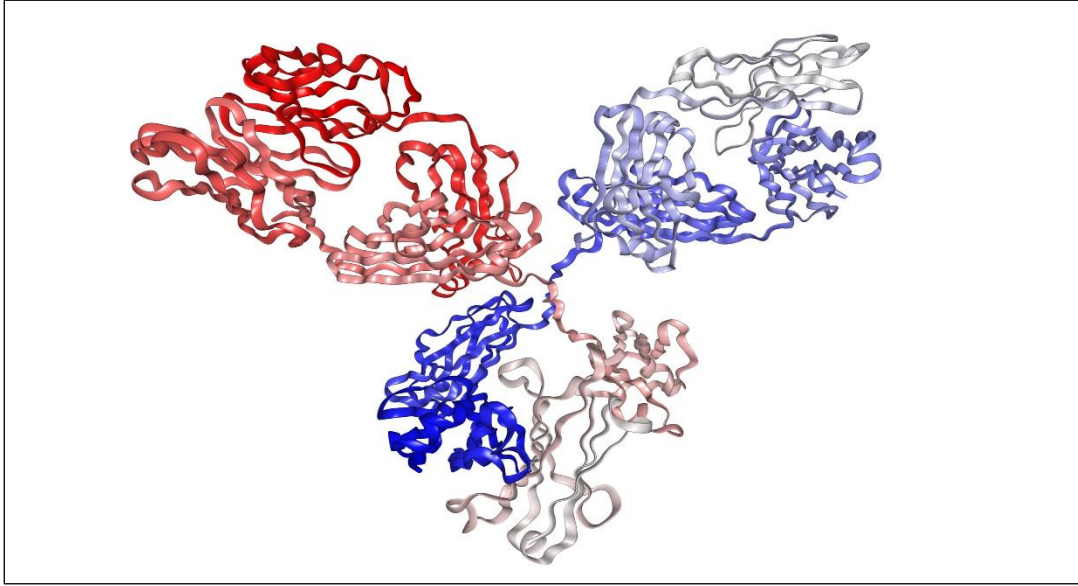
EGDMA	Etilenglikoldimetakrilat ($C_{10}H_{14}O_4$) Mol kütlesi: 198,22 g/mol
PMDETA	Pentametildietilentriamin ($C_9H_{23}N_3$) Mol kütlesi: 173,3 g/mol



Şekil 4.1. Anti-TPO antikorunun yapısı, mol kütlesi 103 kDa



Şekil 4.2. Anti-IgG antikorunun yapısı, mol kütlesi 160 kDa



Şekil 4.3. Anti-ferritin antikorunun yapısı, mol kütlesi 65 kDa

4.2. Manyetik Nanotaneciklerin Sentezi

2M Fe^{2+} ve 1M'lık Fe^{3+} çözeltileri $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ve $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 'ın 25 mL ultra saf su içinde çözülmesiyle hazırlandı. Manyetik nanotanecikler, 50 °C' da 50 mL/dak. akış hızındaki N_2 (g) atmosferinde 1,5 M NaOH çözeltisinin bir büretten damla damla çözeltiye eklenmesiyle sentezlendi. Çözeltinin çok hızlı bir şekilde karıştırılması sonucunda siyah renkli manyetik nanotaneciklerin hemen oluştuğu gözlemlendi. Hazırlanan manyetik nanotanecikler mutlak etanol ve ultra saf su ile yıkandıktan sonra etanolde yeniden dağıtıldılar. Yıkama işlemi boyunca manyetik nanotanecikler sürekli bir manyetik alan uygulanarak toplandı. Ayrıca, etanol içerisinde dağıtılan manyetik nanotanecikler kararlılığın sağlanması amacıyla 5 mg/mL sodyum sitrat ile 30 dakika boyunca yüksek hızda karıştırıldı. Ardından manyetik nanotanecikler ultra saf suda yeniden dağıtıldılar. Sentezlenen nanotanecikler 50 °C vakum etüvünde 12 saat kurutuldu.

4.2.1. Brom fonksiyonel manyetik nanotaneciklerin sentezi

Hidrofilik manyetik nanotanecikler yüzeyde atom transfer radikal polimerizasyonunun yürütülmesi için BPTS ile fonksiyonelleştirilmiştir. Bunun için alınan 50 mg manyetik nanotanecikler 25 mL toluen içinde dispers edildi ve üzerine 75 μL BPTS damla damla eklendi ve mekanik karıştırıcıda 12 saat boyunca reflux edilerek BPTS bağlandı. Tepkime

sonunda Br fonksiyonel manyetik nanotanecikler (Br-MNP) mıknatıs yardımıyla toplandı ve aseton ile yıkandıktan sonra vakum etüvde kurutuldu.

4.2.2. Antikor baskılanmış manyetik nanotaneciklerin sentezi

Baskılanmış manyetik nanotaneciklerin sentezi için, ferritin antikoru (anti-ferritin) baskılama molekülü, 2-hidroksietilmetakrilat fonksiyonel monomer, etilenglikoldimetakrilat (EGDMA) çapraz bağlayıcı ve Br-fonksiyonel manyetik nanotanecikler (Br-MNP) ise çekirdek olarak kullanıldı. HEMA'nın yüzeyde başlatılan atom transfer radikal polimerizasyonu (SI-ATRP) Br-fonksiyonel manyetik nanotaneciklerin yüzeyinde yürütüldü. Bu amaçla, HEMA (1 mL), EGDMA (0,073 mL), anti-ferritin (0,1 mg), Cu(I)Br (0,027 mg), PMDETA (0,039 mL) ve 25 mL toluen 50 mL'lik 3 boyunlu balonda azot atmosferinde 30 dakika boyunca karıştırıldı. Ardından bu karışıma 50 mg Br-MNP eklendi ve ATRP başlatıldı. 30 dakika süren polimerizasyonun ardından nanotanecikler mıknatıs yardımıyla toplandı ve etanol ile yıkandıktan sonra 45 dakika boyunca baskılama molekülünün yapıdan uzaklaştırılması için metanol:asetik asit (9:1, v/v) ile muamele edildi ve sonuçta antikor baskılanmış manyetik nanotanecikler elde edildi. Hazırlanan baskılanmış manyetik nanotanecikler (MIP-MNP) etanol ile yıkandıktan sonra vakum etüvünde kurutuldu.

Adsorpsiyon çalışmalarında kontrol amaçlı kullanılan baskılanmamış manyetik nanotanecikler (NIP-MNP) ise aynı yöntemde ancak tepkime ortamında baskılama molekülü olmaksızın hazırlandı.

4.3. Anti-ferritin Baskılanmış Manyetik Nanotaneciklere Anti-ferritin Adsorpsiyon Çalışmaları

5 mg MIP-MNP (veya kontrol numunesi NIP-MNP) farklı derişimlerdeki anti-ferritin çözeltilerinde dispers edildikten sonra 1 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. Ardından nanotanecikler mıknatıs yardımıyla toplandı ve 45 dakika boyunca baskılama molekülünün yapıdan uzaklaştırılması için metanol:asetik asit (9:1, v/v) ile muamele edildi. Eluentin absorbansı UV-GB spektrofotometresi ile ölçüldü ve antikorlara özgü boşluklara adsorbe olan anti-ferritin miktarı (veya NIP-MNP yüzeylerine adsorbe olan) Lambert-Beer kanunu uyarınca belirlendi.

MIP veya NIP-MNP' lere adsorbe olan anti-ferritin miktarı ($Q \text{ mg g}^{-1}$) aşağıdaki eşitlik ile belirlendi:

$$Q = \frac{(C_o - C)V}{M}$$

Burada,

C_o başlangıç anti-ferritin derişimi (mg mL^{-1}),

C adsorpsiyon sonrası anti-ferritin derişimi (mg mL^{-1}),

V anti-ferritin çözeltisinin hacmi (mL),

M MIP veya NIP-MNP'lerin kütlesi (g).

Adsorpsiyon kinetiğı belirlenen başlangıç anti-ferritin derişiminde 0-60 dakika aralığında 5 dakikada bir nanotaneciklere adsorbe olan anti-ferritin miktarının UV-GB spektrofotometresi ölçölmesiyle incelendi.

Anti-ferritin baskılanmış manyetik nanotaneciklerin hedef antikora seçiciliğı anti-IgG ve anti-TPO yarışmacı antikorları kullanılarak belirlenen başlangıç derişiminde ve adsorpsiyon süresinde incelendi.

4.4. Kullanılan Cihazlar

4.4.1. Geçirimli Elektron Mikroskobu (TEM)

TEM görüntölteri için JEOL marka JEM 2100F STEM cihazı kullanıldı. Manyetik nanotaneciklerin üzerine 10 μL etanol eklendi. Bu nanotanecikler karbon kaplı bakır plakanın üzerinde toplandı ve çözöcü olan etanol uçuruldu ve sonra TEM görüntölteri çekildi.

4.4.2. Titreşen Örnek Magnetometresi (VSM)

Bu cihaz bir maddeye dışarıdan bir manyetik alan uygulanması sonucu o maddenin verdiğı tepkiyi gösterir. Bu tepki bize o maddenin manyetik duyarlığı hakkında bilgi verir. Bu

Çalışmada manyetik alan ölçüm sonuçları Cryogenic Limited PPMS marka magnetometre kullanılarak elde edilmiştir.

4.4.3. Dinamik Işık Saçılımı (DLS)

Nanotaneciklerin karakterizasyonu için dinamik boyut dağılımları Malvern Zetasizer Nano ZS marka DLS cihazı ile tayin edildi. Bu cihaz seyreltik olarak hazırlanan numunelere gönderilen ışığın saılımındaki şiddetin değişimini esas olarak alır. DLS ortam sıcaklığına, çözeltinin vizkozitesine ve tanecik boyutuna bağlıdır. Bu teknik çözelti içerisindeki taneciklerin yapısının belirlenmesinde yardımcı olur.

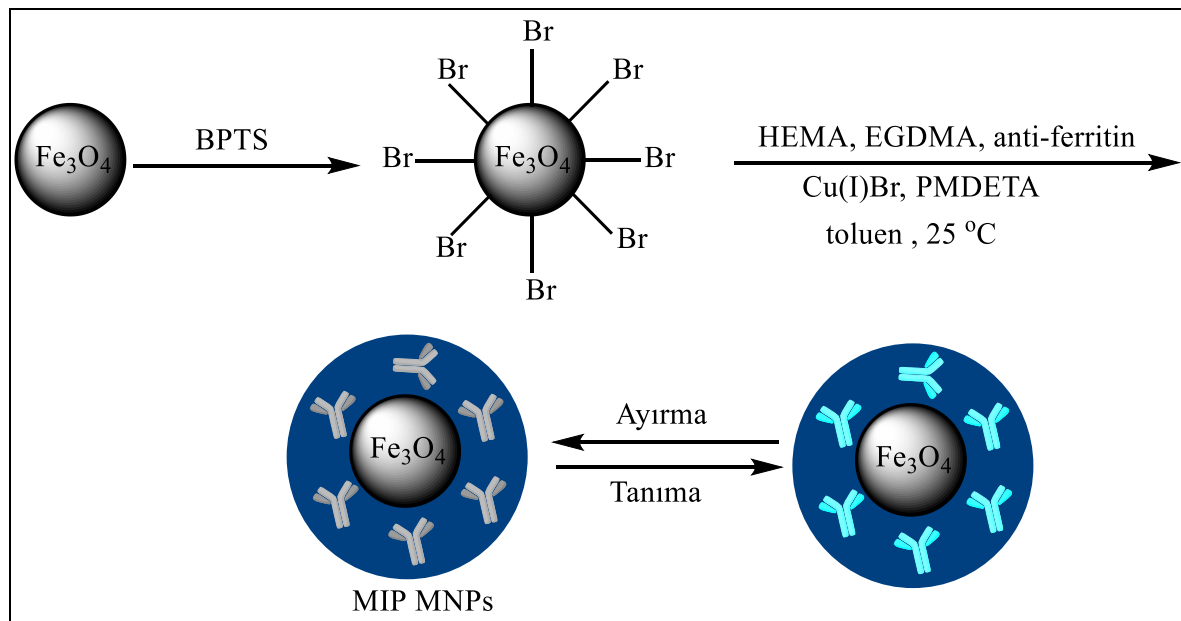
4.4.4. X-Işınları Fotoelektron Spektroskopisi (XPS)

Sentezlenen nanotaneciklerin karakterizasyonu için XPS-PHI Versa Probe 3 cihazı kullanıldı. X-Işını fotoelektron spektroskopisi, katı malzemelerin yüzeyleri hakkında kimyasal bilgi elde etmek için kullanılan gelişmiş bir yüzey analiz tekniğidir.

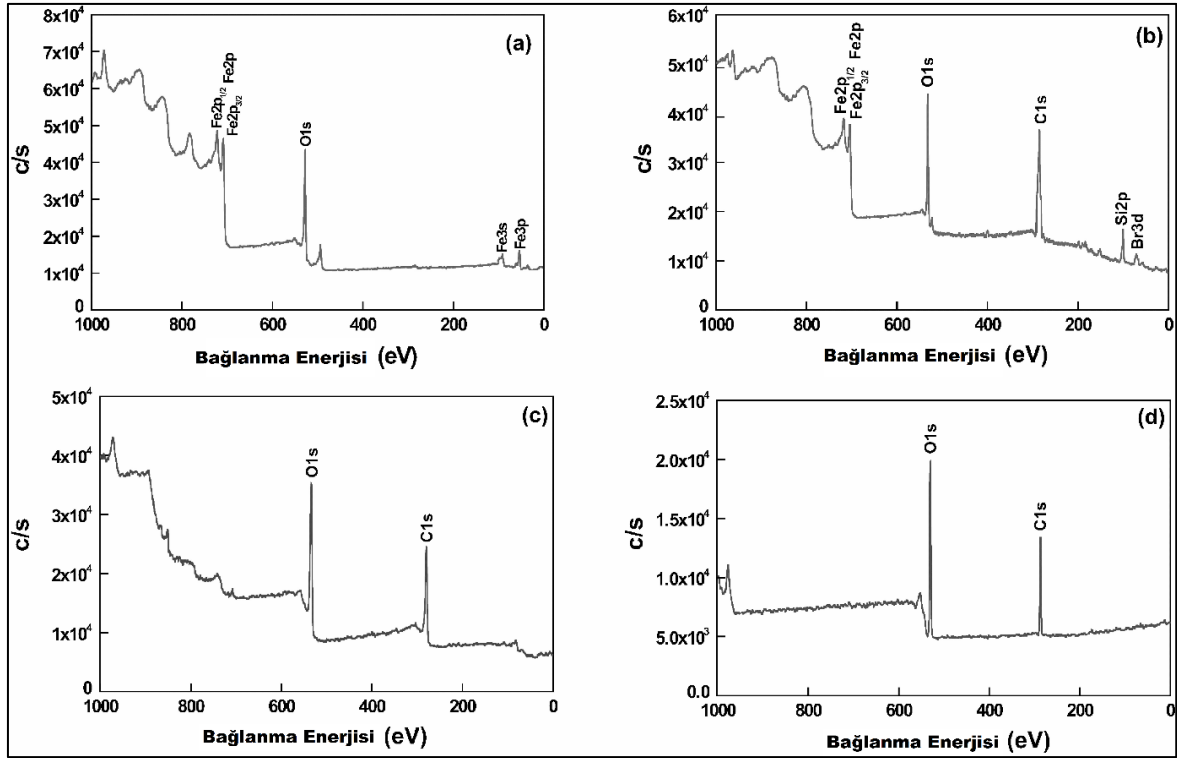
5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

5.1. Baskılanmış Manyetik Nanotaneciklerin Hazırlanması ve Adsorpsiyon Çalışmaları

Anti-ferritin manyetik nanotanecikler Şekil 5.1.' de gösterildiği gibi yüzeyde başlatılan atom transfer radikal polimerizasyonu ile sentezlendi. Sentez prosedürüne göre, HEMA fonksiyonel monomer, EGDMA çapraz bağlayıcı, Br-fonksiyonel manyetik nanotanecikler polimerizasyon başlatıcısı ve ferritin antikoru (anti-ferritin) baskılama molekülü olarak kullanıldı. İlk olarak, hidroksil gruplarıyla aktif olan hidrofilik manyetik nanotaneciklerin yüzeyi ATRP başlatıcısı olan BPTS ile fonksiyonelleştirildi. Br-fonksiyonel manyetik nanotanecikler HEMA ve EGDMA içeren toluende karıştırıldıktan sonra çözeltiye anti-ferritin eklendi. Br-fonksiyonelleştirilmiş manyetik nanotaneciklerin yüzeyinde PHEMA tabakası yüzeyde başlatılan ATRP ile sentezlendi. Aynı anda, anti-ferritin yapısındaki -COOH ve -NH₂ grupları ile HEMA yapısındaki -OH grupları arasında güçlü hidrojen bağları oluşturularak baskılama molekülü PHEMA tabakası içine gömüldü. Ardından bu nanotanecikler elüsyon çözeltisi olan metanol:asetik asit çözücü karışımı ile muamele edilerek baskılama molekülü olan anti-ferritinin yapıdan uzaklaştırılmasıyla antikora özgü boşluklara sahip olan baskılanmış manyetik nanotanecikler elde edildi (Şekil 5.1.). Aynı yöntemle ortamda baskılama molekülü olmaksızın NIP-MNP' ler sentezlendi.



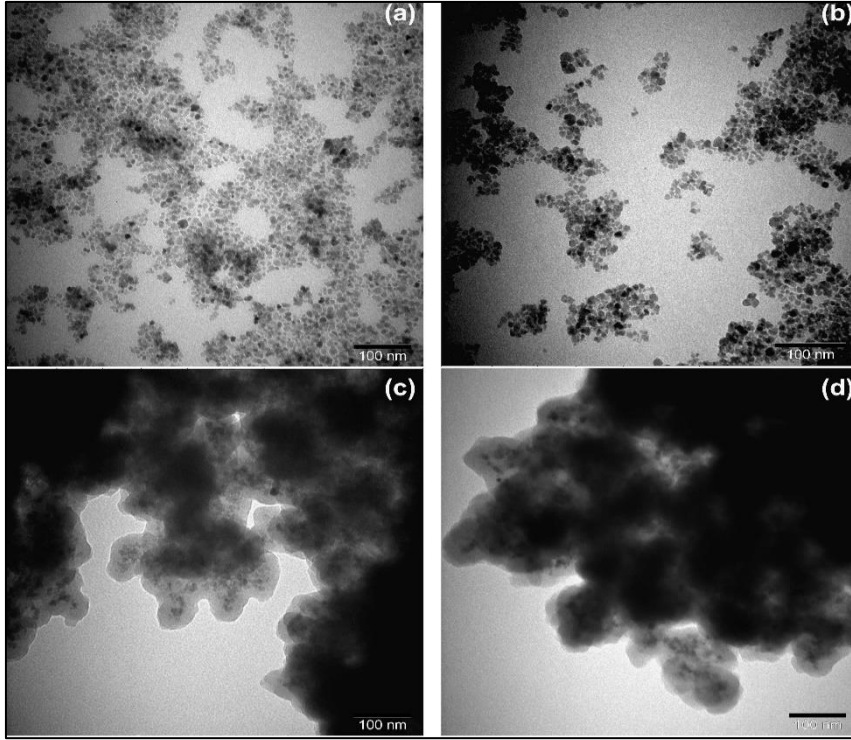
Şekil 5.1. Baskılanmış manyetik nanotaneciklerin sentezi



Şekil 5.2. Manyetik nanotaneçiklerin XPS spektrumları

Şekil 5.2.a'da 710,720 ve 530 eV daki kuvvetli pikler Fe2p_{3/2}, Fe2p_{1/2} ve O1s den kaynaklanmaktadır. Bu pikler kaplamasız, çok ince (çıplak) manyetik nanotaneçikler için kanıt sağlamaktadır. Şekil 5.2.b'de gösterilen spektrum, brom fonksiyonel manyetik nanotaneçikleri gösterir. 285 eV'deki pik alifatik karbon atomlarının spesifik bağlanma enerjisine aittir. 70 eV'deki pik (Br3d) bize manyetik nanotaneçiklerin yüzeyindeki brom fonksiyonel tabakaların oluşumunu göstermektedir. Ek olarak 103 eV'deki pik (Si2p) BPTS'nin kovalent immobilizasyonunu doğrulamaktadır. Çıplak nanotaneçiklerde 530,6 eV olan O1s'in bağlanma enerjisi brom fonksiyonelleştirilmiş manyetik nanotaneçiklerde 0,6 eV daha fazladır. Bu pikteki kimyasal kayma Fe-O-Si kimyasal bağının oluşumundan kaynaklanmaktadır. Baskılanmış ve baskılanmamış nanotaneçiklerin XPS spektrumlarında PHEMA katmanı üzerinde ortaya çıkan O1 (532,0 eV) ve C1s (285,0 eV) ortak pikleri gözlemlenmiştir (Şekil 5.2c, d). Ayrıca Fe2p, Br3d ve Si2p pikleri, kalın polimer tabakası nedeniyle kaybolmuştur.

Manyetik, Br-fonksiyonel, NIP ve MIP manyetik nanotaneçikler TEM, DLS ve VSM analizleri ile karakterize edildi. Hazırlanan bütün nanotaneçiklerin TEM görüntüleri Şekil 5.3.'de verildiği gibidir.



Şekil 5.3. (a) Manyetik, (b) Br-fonksiyonel, (c) NIP ve (d) MIP manyetik nanotaneceklerin TEM görüntüleri

Manyetik ve Br-fonksiyonel manyetik nanotaneceklerin TEM görüntüleri incelendiğinde (Şekil 5.3.a ve 5.3.b), bu nanotaneceklerin agregasyon davranışı gösterdikleri ve tekdüze bir boyuta sahip olmadıkları açıkça görülmektedir. Manyetik ve Br-fonksiyonel manyetik nanotaneceklerin TEM ortalama çapları 8 nm olarak belirlendi. NIP ve MIP manyetik nanotaneceklerin TEM görüntülerinden (Şekil 5.3.c ve d) nanotaneceklerin polimer tabakası ile kaplandığı ve agregasyonun oldukça fazla olduğu belirlendi. Hem NIP hem de MIP-MNP'lerin ortalama polimer tabakası kalınlığı ise 34 nm olarak ölçüldü.

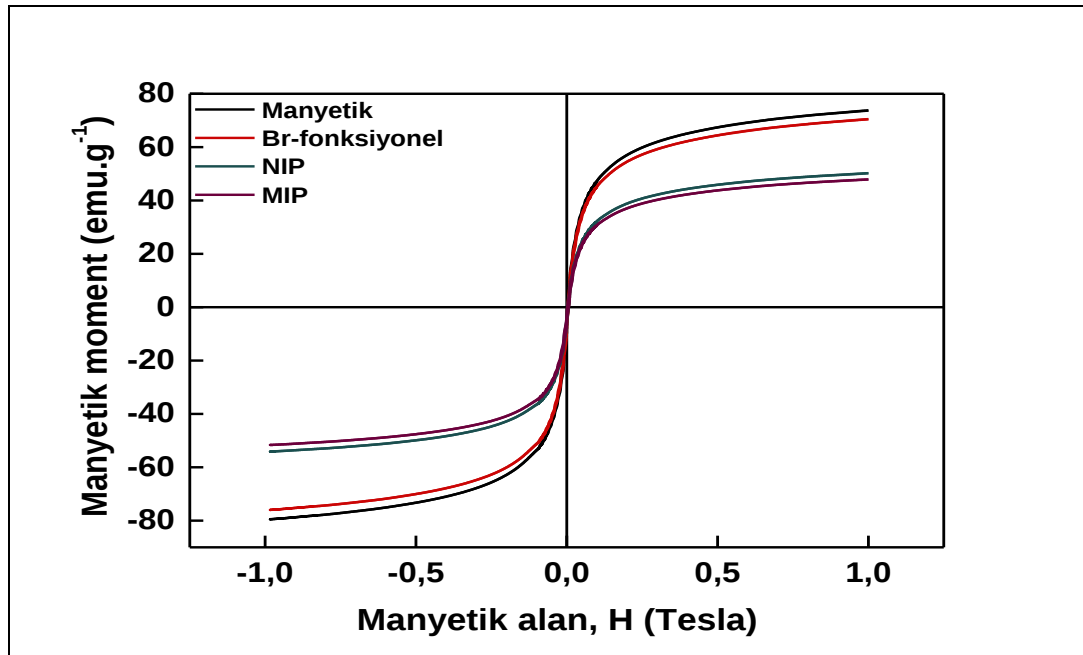
Manyetik, Br-fonksiyonel, NIP ve MIP manyetik nanotanecekler ayrıca dinamik ışık saçılımı (DLS) ile karakterize edildi ve sonuçlar Tablo 5.1.'de özetlendi.

Çizelge 5.1. Manyetik, Br-fonksiyonel, NIP ve MIP manyetik nanotaneceklerin hidrodinamik çapları ve dispersite özellikleri

MNP	Hidrodinamik çap (nm)	PDI
Manyetik	11	0.176
Br-fonksiyonel	13	0.192
NIP	109	0.198
MIP	113	0.204

DLS ile ölçülen ortalama hidrodinamik çapların TEM ile ölçülen ortalama çaplardan daha büyük olması hidrofilik nanotaneçiklerin yüzeylerindeki su tabakasının varlığından kaynaklanmaktadır. Br-fonksiyonel manyetik nanotaneçiklerin yaklaşık 13 nm (PDI = 0,192) olan ortalama hidrodinamik çapı elektron geçirgenliği olan küçük organik molekül olan BPTS'nin TEM ile görüntülenememesinden dolayı TEM ile ölçülen ortalama çaptan büyüktür. NIP ve MIP manyetik nanotaneçiklerin ortalama hidrodinamik çapları sırasıyla 109 ve 113 nm olarak belirlendi. TEM ile ölçülen ortalama çap değerlerinden çok daha büyük olmaları manyetik nanotaneçiklerin yüzeyindeki polimer tabakasının suda şişme davranışı göstermesinden kaynaklanmaktadır. Bütün nanotaneçiklerin sulu çözeltide mükemmel homojenite gösterdikleri PDI değerlerinden açıkça anlaşılmaktadır.

Manyetik, Br-fonksiyonel, NIP ve MIP manyetik nanotaneçiklerin manyetik özellikleri titreşen örnek magnetometresi (VSM) ile oda sıcaklığında analiz edildi. Nanotaneçiklere ait manyetik histerezis eğrileri Şekil 5.4.' de gösterildi.



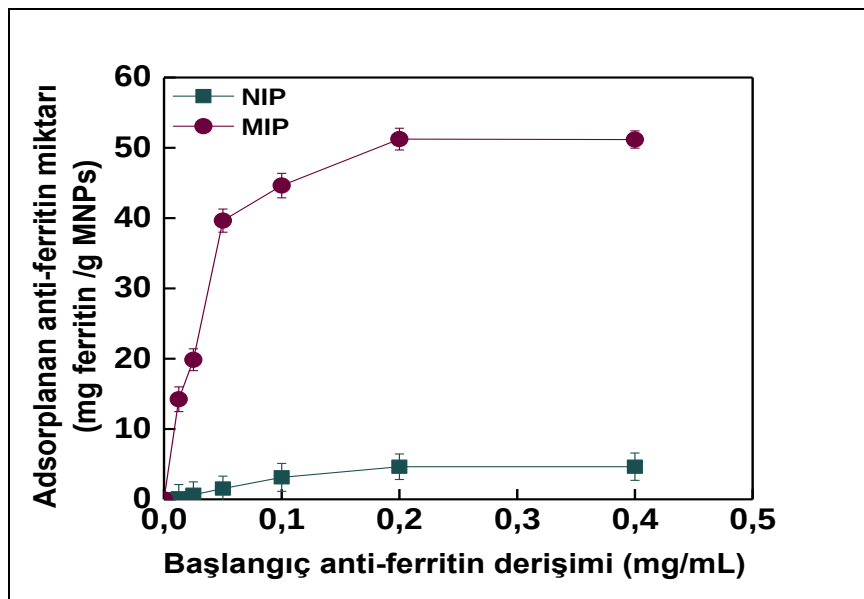
Şekil 5.4. Manyetik, Br-fonksiyonel, NIP ve MIP manyetik nanotaneçiklerin manyetizasyon eğrileri

Şekil 5.4. incelendiğinde, sentezlenen nanotaneçiklerin hiçbirisi histerezis göstermemektedir ve süperparamanyetik özelliktedirler. Manyetik, Br-fonksiyonel, NIP ve MIP manyetik nanotaneçiklerin doygunluk mıknatıslanma değerleri sırasıyla 78,9, 68,4, 47,4, ve 44,8 emu g⁻¹ olarak belirlendi. Manyetik nanotaneçiklerin teorik doygunluk mıknatıslanma

değeri $92,2 \text{ emu g}^{-1}$ olarak bilinmektedir. Sentezlenen bütün nanotaneciklerin doygunluk mıknatıslanma değerlerinin $92,2 \text{ emu g}^{-1}$ değerinden daha düşük olması nanotaneciklerin manyetik olarak aktif olmayan tabakalar ve lineer olmayan rotasyonlar gibi yüzey etkilerinden kaynaklanmaktadır. NIP ve MIP manyetik nanotaneciklerin doygunluk mıknatıslanma değerlerinin modifiye edilmemiş manyetik nanotaneciklerin doygunluk mıknatıslanma değerinden çok daha düşük olması nanotaneciklerin başarılı bir şekilde polimer tabakası ile kaplandığına kanıt olarak öne sürülebilir. Ayrıca NIP manyetik nanotaneciklerin doygunluk değerinin MIP manyetik nanotaneciklere oranla azda olsa daha yüksek olması baskılanmış manyetik nanotaneciklerin yapısındaki boşluklardan kaynaklanıyor olabilir. Sonuç olarak, MIP manyetik nanotanecikler süperparamanyetik ve yüksek doygunluk mıknatıslanma özelliklerinden dolayı bir mıknatıs yardımıyla herhangi bir çözelti ortamında hızlı ve kolay bir şekilde ayrılabilir. Bu özellik antikorların manyetik ayrılması için mükemmel bir özelliktir.

5.2. Adsorpsiyon Kapasitesine Başlangıç Anti-ferritin Derişimi Etkisi

Adsorpsiyon çalışmaları $0-0,4 \text{ mg mL}^{-1}$ başlangıç derişim aralığındaki anti-ferritin çözeltilerinde yürütüldü. Baskılanmış manyetik nanotaneciklerin adsorpsiyon kapasiteleri baskılanmamış manyetik nanotaneciklerin adsorpsiyon kapasiteleri ile karşılaştırıldı. Elde edilen verilerle çizilen adsorpsiyon izotermi Şekil 5.5.' de gösterildi.



Şekil 5.5. MIP ve NIP manyetik nanotaneciklerin adsorpsiyon kapasitesine başlangıç anti-ferritin derişimi etkisi

Belirtilen derişim aralığında, baskılanmış manyetik nanotaneciklerin yapısındaki anti-ferritine özgü boşlukların oluşmasından dolayı bu nanotaneciklerin adsorpsiyon kapasitelerinin kontrol numunesi olan NIP manyetik nanotaneciklerin adsorpsiyon kapasitelerinden daha yüksek olduğu belirlendi. MIP manyetik nanotaneciklerin adsorpsiyon kapasitesi düşük derişimlerde doğrusal bir şekilde hızla artarken derişim 0,05 mg mL⁻¹ olduğunda bu artış yavaşlamaktadır ve son olarak derişim 0,2 mg mL⁻¹ olduğunda plato bölgesi başlamaktadır. Bu noktada, adsorpsiyon kapasitesinin 51,2 mg anti-ferritin/ g MIP-MNP değerine ulaştığı gözlemlendi. Benzer şekilde, baskılanmamış manyetik nanotaneciklerin adsorpsiyon kapasitesi değeri ise 4,6 mg anti-ferritin/ g NIP-MNP olarak belirlendi. Baskılanmış manyetik nanotaneciklerin adsorpsiyon özellikleri Scatchard eşitliği kullanılarak değerlendirildi. Scatchard eşitliği aşağıdaki gibidir:

$$\frac{Q}{C_e} = \frac{Q_{max}}{K_d} - \frac{Q}{K_d}$$

Burada,

Q (mg g⁻¹) MIP ve NIP manyetik nanotaneciklere adsorplanan anti-ferritin miktarını,

Q_{max} (mg g⁻¹) MIP ve NIP manyetik nanotaneciklere adsorplanan maksimum anti-ferritin miktarını,

C_e (mg mL⁻¹) baskılama molekülünün denge derişimini,

K_d (mg mL⁻¹) ayrılma (bağlanma) sabitini göstermektedir.

Ayrılma (bağlanma) sabiti ve MIP ve NIP manyetik nanotaneciklerin maksimum adsorpsiyon kapasiteleri lineer Scatchard eğrilerinden elde edildi. Elde edilen veriler Tablo 5.2.' de özetlendi.

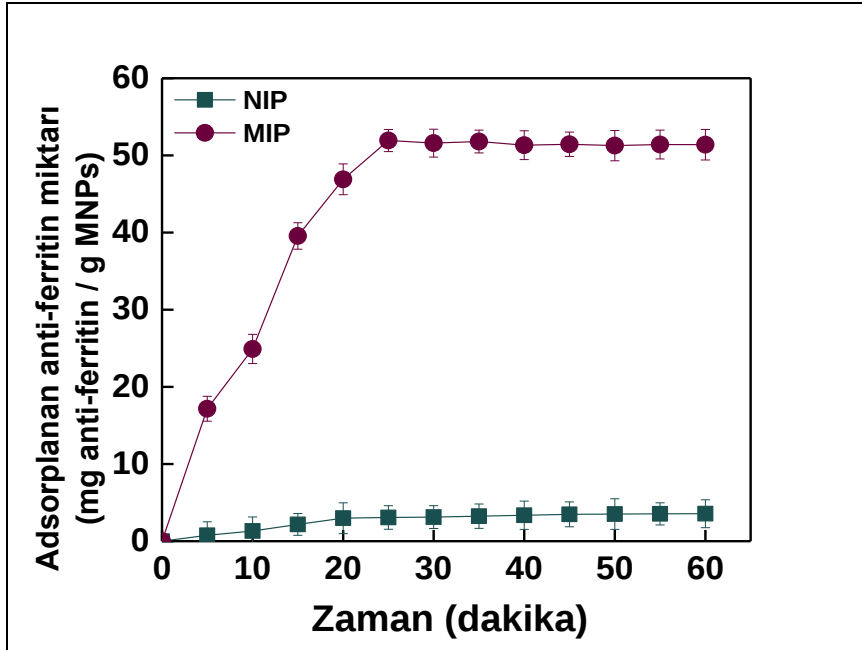
Çizelge 5.2. NIP ve MIP manyetik nanotaneciklerin K_d ve Q_{max} değerleri (R² = 0,9994)

MNP's	K _d (mg mL ⁻¹)	Q _{max} (mg g ⁻¹)
NIP	0,413	10,62
MIP	0,107	62,70

Sonuçlar, baskılanmış manyetik nanotaneciklerin anti-ferritine karşı yüksek bir ilgi ve seçicilikle adsorbe olduğunu göstermektedir.

5.3. Adsorpsiyon Kinetiği

Adsorpsiyon kinetiği çalışmaları $0,2 \text{ mg mL}^{-1}$ başlangıç anti-ferritin derişiminde 0'dan 60 dakikaya değişen farklı inkübasyon zamanlarında yürütüldü ve elde edilen adsorpsiyon kinetik eğrileri Şekil 5.6.' de gösterildi.



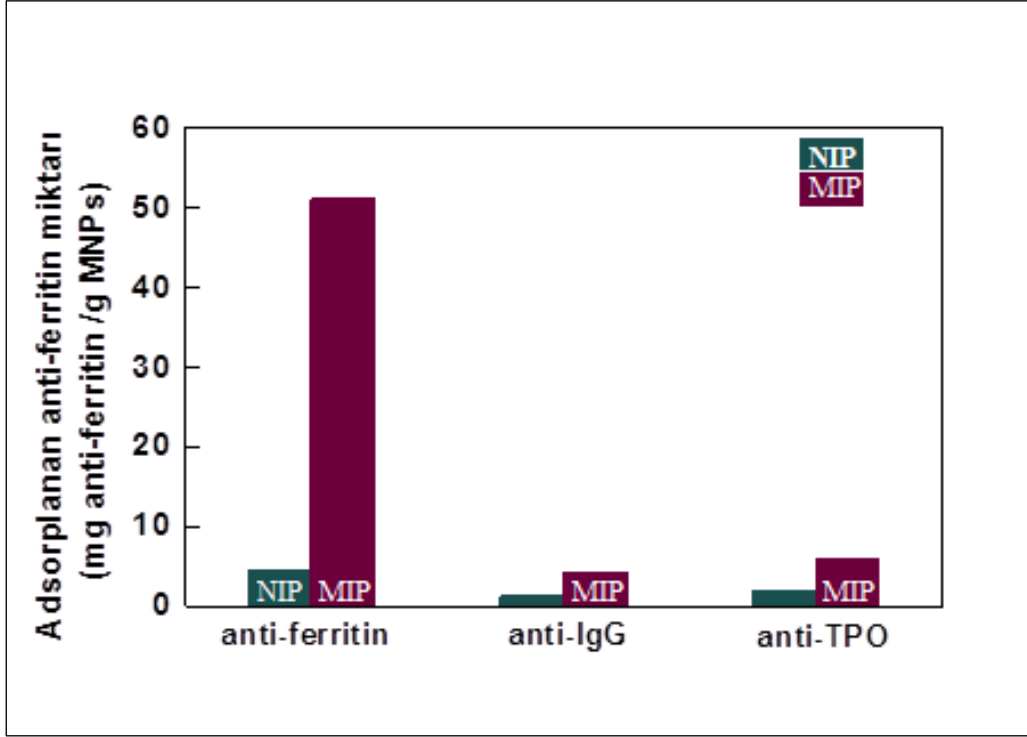
Şekil 5.6. MIP ve NIP manyetik nanotanciklerin adsorpsiyon kinetiği

MIP ve NIP manyetik nanotanciklere anti-ferritin adsorpsiyonu 1 saatten az sürmüştür. İlk 20 dakikada baskılanmış manyetik nanotanciklere anti-ferritin adsorpsiyonunun zamanla doğrusal arttığı ve 25. Dakikada plato bölgesinin başladığı baskılanmış manyetik nanotanciklere ait adsorpsiyon kinetik eğrisinden belirlendi. Sonuç olarak, baskılanmış manyetik nanotanciklerin 25 dakika içinde doygunluk değerine ulaştığı ve antikora özgü boşlukların tamamen dolduğu düşünülmektedir. Ayrıca, adsorpsiyon süresinin bu kadar hızlı olması antikör baskılanmış manyetik nanotanciklerin pratik uygulamalarda kullanılabilirliğini göstermektedir.

5.4. Hedef Antikora Seçicilik

Anti-IgG ve anti-TPO antikörleri kullanılarak anti-ferritin baskılanmış manyetik nanotanciklerin hedef antikora seçiciliği incelendi. Seçicilik çalışmaları, oda sıcaklığında 25 dakika boyunca baskılanmış ve baskılanmamış manyetik nanotanciklerin başlangıç

derişimi $0,2 \text{ mg mL}^{-1}$ olan farklı antikorlar ile muamale edilmesi ile gerçekleştirildi. Elde edilen sonuçlar şekil 5.7.' da gösterildi.



şekil 5.7. MIP ve NIP manyetik nanotaneciklerin hedef antikora seçiciliği

Baskılanmış manyetik nanotaneciklerin anti-IgG ($4,3 \text{ mg g}^{-1}$) ve anti-TPO ($5,8 \text{ mg g}^{-1}$) antikorlarına oranla en yüksek anti-ferritin adsorpsiyon kapasitesine ($51,1 \text{ mg g}^{-1}$) sahip olduğu belirlendi. Diğer yandan, anti-IgG ve anti-TPO antikorlarının MIP ve NIP manyetik nanotanecikler adsorpsiyonu tamamen seçici olmayan adsorpsiyon olarak düşünülebilir. Ayrıca, NIP manyetik nanotanecikler baskılama molekülü olan anti-ferritine özgü boşluklara sahip olmadığı için çok düşük adsorpsiyon kapasitelerine ulaşıldığı düşünülmektedir. Sonuç olarak, baskılanmış manyetik nanotaneciklerin yüzeyinde anti-ferritin antikorlarında özgü boşlukların olduğu ve baskılama molekülünün spesifik olarak bu boşluklara seçici bir şekilde geri bağlandığını söylemek mümkündür.

Ek olarak, MIP ve NIP manyetik nanotaneciklerin baskılama faktörü (BF) ve seçicilik katsayıları (SK) hesaplanarak bu nanotaneciklerin baskılama molekülüne karşı seçicilik özellikleri belirlendi. Sonuçlar Tablo 5.3.'de listelendi.

$$BF = Q_{MIP}/Q_{NIP}$$

$$SK = BF_{TEMP} / BF_{NONTEMP}$$

Burada,

Q_{MIP} ve Q_{NIP} ($mg\ g^{-1}$) MIP ve NIP manyetik nanotaneciklerin anti-ferritin adsorpsiyon kapasitesini,

BF_{TEMP} ve $BF_{NONTEMP}$ baskılama molekülü ile diğer antikorların baskılama faktörlerini göstermektedir.

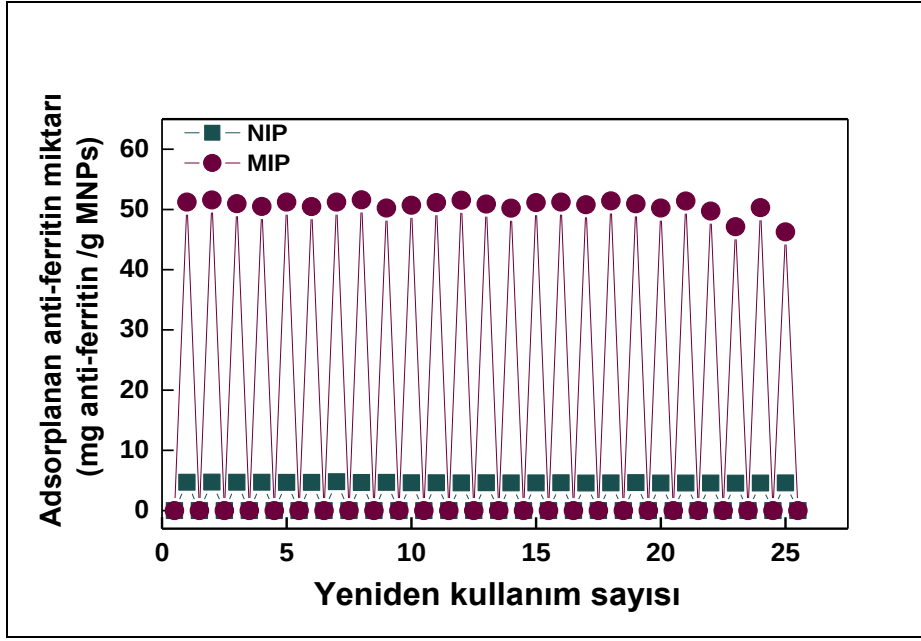
Çizelge 5.3. MIP ve NIP manyetik nanotaneciklerin baskılama faktörleri ve seçicilik katsayıları

Antikor	Q_{MIP} ($mg\ g^{-1}$)	Q_{NIP} ($mg\ g^{-1}$)	BF	SK
Anti-ferritin	51,1	4,4	11,61	-
Anti-TPO	5,8	1,9	3,05	3,81
Anti-IgG	4,3	1,2	3,58	3,24

Bu sonuçlara göre, baskılama süreci boyunca MIP manyetik nanotaneciklerin yüzeyinde anti-ferritine özgü tanıma boşluklarının oluştuğu ve anti-ferritinin yüksek bir ilgi ve seçicilikle bu nanotaneciklere geri bağlandığı belirlendi.

5.5. Baskılanmış Manyetik Nanotaneciklerin Yeniden Kullanılabilirliği

Baskılanmış manyetik nanotaneciklerin yeniden kullanılabilirliği hedef antikorun karmaşık ortamlardan spesifik tanınması ve ayrılması için çok önemli bir özelliktir. Bu sebeple, baskılanmış manyetik nanotaneciklerin yeniden kullanılabilirliği 25 defa adsorpsiyon/desorpsiyon döngüsünde incelendi ve sonuçlar Şekil 5.8.' de gösterildi.

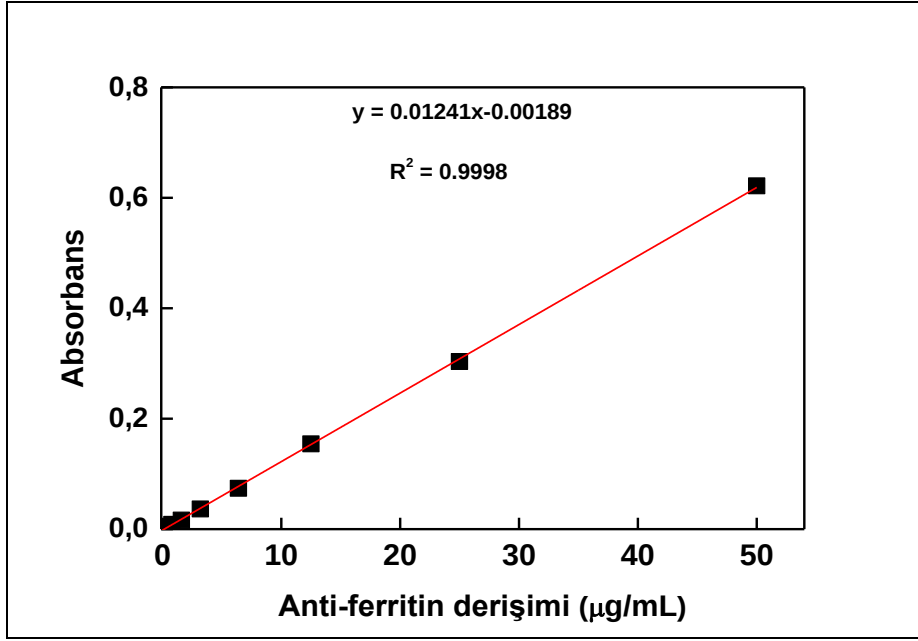


Şekil 5.8. MIP ve NIP manyetik nanotaneciklerin yeniden kullanılabilirliği

Baskılanmış manyetik nanotaneciklerin 21 adsorpsiyon/desorpsiyon döngüsünde adsorpsiyon kapasitesinde herhangi bir azalma olmaksızın kararlı kaldığı ve 22. Kullanım itibariyle anti-ferritin tanıma boşluklarının deformasyonu sebebiyle adsorpsiyonunda azalmalar meydana geldiği sonucuna ulaşıldı. Sonuç olarak, baskılanmış manyetik nanotaneciklerin 21 adsorpsiyon/desorpsiyon döngüsünde yüksek kararlılık ve yeniden kullanılabilir olduğu gözlemlenmiştir.

5.6. Baskılanmış Manyetik Nanotaneciklerin Analitik Performansı

Baskılanmış manyetik nanotaneciklerin lineer çalışma aralığı, duyarlılığı, LOD ve LOQ değerleri 0,1-50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ anti-ferritin derişim aralığında çizilen kalibrasyon grafiği kullanılarak belirlendi (Şekil 5.9.).



Şekil 5.9. Kalibrasyon grafiği

Baskılanmış manyetik nanotanciklerin lineer çalışma aralığı $0,1-50 \mu\text{g mL}^{-1}$ derişim aralığıdır. LOD değeri $0,244 \text{ mg mL}^{-1}$ iken, LOQ değeri $0,814 \text{ mg mL}^{-1}$ olarak belirlendi. Anti-ferritin baskılanmış manyetik nanotanciklerin duyarlılığı $0,01241 \mu\text{L mg}^{-1}$ olarak hesaplandı.

5.7. Baskılanmış Manyetik Nanotanciklerin Kirletilmiş Sentetik Kan Numunelerindeki Uygulanabilirliği

Önerilen yöntemin doğruluğunu ve güvenilirliğini kanıtlamak için, senteki kan numuneleri $2,5, 5,0, 10,0$ ve $20,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ derişiminde olacak şekilde anti-ferritin ile kirletilerek MIP manyetik nanotancikler ile bu çözeltilerden anti-ferritin geri kazanımı belirlendi. Elde edilen sonuçlar Tablo 5.4.' de özetlendi.

Çizelge 5.4. Anti-ferritin MIP manyetik nanotancikler ile kirletilmiş sentetik kan numunelerinden geri kazanımı ($n = 4$).

Eklenen anti-ferritin ($\mu\text{g/mL}$)	Bulunan anti-ferritin ($\mu\text{g /mL}$)	Geri kazanım (%)	R.S.D. (%)
2,5	$2,47 \pm 0,09$	98,8	3,64
5,0	$4,94 \pm 0,15$	98,8	3,04
10,0	$9,96 \pm 0,63$	99,6	6,33
20,0	$19,8 \pm 0,54$	99,0	2,73

Kirletilmiş sentetik kan numunelerinden anti-ferritinin MIP manyetik nanotanecikler ile geri kazanımı %98,8 ile %99,6 aralığında değişmektedir. Bu sonuçlara göre, anti-ferritin baskılanmış manyetik nanotanecikler yüksek bir ilgi, seçicilik ve adsorpsiyon kapasitesi ile gerçek numunelerden anti-ferritin ekstraksiyonu için tercih edilebilir. Ayrıca, bu nanotanecikler iyi bir afinite malzemesi olarak kullanılabilir.

6. SONUÇ

Tüm sonuçlar incelendiğinde MIP-MNP'lerin kan eşdeğer maddedeki antikorların belirlenmesinde kullanmak için iyi bir potansiyele sahip olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte MNP'lerin sentezinin kolay ve basit yöntemlerle modifiye edilebilir olması nedeniyle MNP'ler günümüzde sıklıkla kullanılmaktadır. MNP'ler sensörlerde, çiplerde kullanılan altın, silisyum ve cam gibi yüzeylere iyi bir alternatif olabilecek biyouyumlu malzemelerdir. Günümüzde hedef molekül tayini genellikle biyomolekül temelli (DNA, RNA, antikor, enzim, aptamer) biyosensörler ile gerçekleştirilmektedir. Bu çalışmada moleküler baskılama tekniği kullanarak hem maliyet düşürülmüş hem de yüksek hassasiyete sahip bir tanı kiti hazırlanmıştır.

Özetle, anti-ferritine özgü PHEMA bazlı manyetik nanotanecekler yüzeyde başlatılan ATRP ve yüzeyde baskılama metotlarının kombinasyonuyla sentezlenmiştir. HEMA monomeri bu amaç için SI-ATRP vasıtasıyla ortam sıcaklığında polimerize edilmiştir. Hazırlanan antikor baskılanmış MNP'lerin spesifik bağlanma noktaları yüksek adsorpsiyon kapasitesi, hassas seçicilik ve yeniden kullanılabilirlik özelliklerini sergilemiştir. Bu noktalar baskılanmış kalıp molekülü tamamlayıcı fiziksel şekillere sahiptir.

MIP-MNP'ler anti-ferritini kan eşdeğer maddeden 25 dakika içerisinde adsorplamıştır. Ayrıca, MIP-MNP'ler harici bir manyetik alan uygulanarak hızlı ve kolayca hedef molekülü teşhis edebilir. Antikor baskılanmış MNP'ler kullanılarak kan eşdeğer numunelerinden anti-ferritinin ekstraksiyonu başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Bundan yola çıkarak hazırlanan MIP-MNP'lerin yüksek adsorpsiyon, yüksek geri kazanım ve hassas seçicilik özellikleri nedeniyle gerçek numunelerde antikorların teşhisinde kullanılabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak; maliyetli ve zaman alan diğer metotlara kıyasla avantaj sağlayan bu yöntem, anti-ferritin ölçümü için iyi bir alternatif olabilir.

KAYNAKLAR

1. Wu, W., Wu, Z., Yu, T., Jiang, C., and Kim, W. S. (2015). Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, surface functional strategies and biomedical applications. *Science and Technology of Advanced Materials*, 16(2), 493-501.
2. Bulte, J. W., Hoekstra, Y., Kamman, R. L., Magin, R. L., Webb, A. G., Briggs, R. W., and De Leij, L. (1992). Specific MR imaging of human lymphocytes by monoclonal antibody-guided dextran-magnetite particles. *Magnetic Resonance in Medicine*, 25(1), 148-157.
3. Julie, A. C., Yogesh, K., and Samir, M. (2007). Making polymeric micro- and nanoparticles of complex shapes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(29), 11901-11904.
4. Dias, C. S., Hanchuk, T. D., Wender, H., Shigeyosi, W. T., Kobarg, J., Rossi, A. L., and Garcia, F. (2017). Shape tailored magnetic nanorings for intracellular hyperthermia cancer therapy. *Scientific reports*, 7(1), 14843
5. Sivapalan, S. T., DeVetter, B. M., Yang, T. K., Schulmerich, M. V., Bhargava, R., and Murphy, C. J. (2013). Surface-enhanced Raman spectroscopy of polyelectrolyte-wrapped gold nanoparticles in colloidal suspension. *The Journal of Physical Chemistry C*, 117(20), 10677-10682.
6. Sun, C., Lee, J. S. and Zhang, M. (2008). Magnetic nanoparticles in MR imaging and drug delivery. *Advanced drug delivery reviews*, 60(11), 1252-1265.
7. Hsu, C. Y., Huang, J. W. and Lin, K.J., High sensitivity and selectivity of human antibody attachment at the interstices between substrate-bound gold nanoparticles, *Chem. Commun.*, 47: 872-874 (2011).
8. Gao, J., Gu, H. and Xu, B. (2009). Multifunctional magnetic nanoparticles: design, synthesis, and biomedical applications, *Accounts of Chemical Research*, 42: 1097-1107.
9. Enpuku, K., Tanaka, T., Matsuda, T., Dang, F., Enomoto, N., Hojo, J., Yoshinaga, K., Ludwig, F., Ghaffari, F., Heim, E., and Schilling, M. (2007). Properties of magnetic nanoparticles in the Brownian relaxation range for liquid phase immunoassays, *Journal of Applied Physics*, 102: 054901-7.
10. Akbarzadeh, A., Samiei, M., and Davaran, S. (2012). Magnetic nanoparticles: preparation, physical properties, and applications in biomedicine. *Nanoscale Research Letters*, 7(1), 144.
11. Lu, A. H., Salabas, E. E., and Schüth, F. (2007). Magnetic nanoparticles: synthesis, protection, functionalization, and application. *Angewandte Chemie International Edition*, 46(8), 1222-1244.

12. Xiao, D., Wang, C., Dai, H., Peng, J., He, J., Zhang, K., and He, H. (2015). Applications of magnetic surface imprinted materials for solid phase extraction of levofloxacin in serum samples. *Journal of Molecular Recognition*, 28(5), 277-284.
13. Qi, J., Li, B., Zhou, N., Wang, X., Deng, D., Luo, L., and Chen, L. (2019). The strategy of antibody-free biomarker analysis by in-situ synthesized molecularly imprinted polymers on movable valve paper-based device. *Biosensors and Bioelectronics*, 142, 111533.
14. Tarannum, N., Hendrickson, O. D., Khatoon, S., Zherdev, A. V., and Dzantiev, B. B. (2019). Molecularly imprinted polymers as receptors for assays of antibiotics. *Critical reviews in analytical chemistry*, 1-20.
15. Saha, B., Evers, T. H., and Prins, M. W. (2014). How antibody surface coverage on nanoparticles determines the activity and kinetics of antigen capturing for biosensing. *Analytical chemistry*, 86(16), 8158-8166.
16. Rebelo, T. S., Costa, R., Brandão, A. T., Silva, A. F., Sales, M. G. F., and Pereira, C. M. (2019). Molecularly imprinted polymer SPE sensor for analysis of CA-125 on serum. *Analytica chimica acta*, 1082, 126-135.
17. Tang, D., Yuan, R., and Chai, Y. (2006). Magnetic core-shell Fe₃O₄@ Ag nanoparticles coated carbon paste interface for studies of carcinoembryonic antigen in clinical immunoassay. *The Journal of Physical Chemistry B*, 110(24), 11640-11646.
18. Porter, L. A., Ji, D., Westcott, S. L., Graupe, M., Czernuszewicz, R. S., Halas, N. J., and Lee, T. R. (1998). Gold and silver nanoparticles functionalized by the adsorption of dialkyl disulfides. *Langmuir*, 14(26), 7378-7386.
19. Pankhurst, Q. A., Connolly, J., Jones, S. K., and Dobson, J. (2003). Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *Journal of physics D: Applied physics*, 36(13), R167.
20. Mori, J. F., Ueberschaar, N., Lu, S., Cooper, R. E., Pohnert, G., and Küsel, K. (2017). Sticking together: inter-species aggregation of bacteria isolated from iron snow is controlled by chemical signaling. *The ISME journal*, 11(5), 1075.
21. Chou, P. H., Chen, S. H., Liao, H. K., Lin, P. C., Her, G. R., Lai, A. C. Y., and Chen, Y. J. (2005). Nanoprobe-based affinity mass spectrometry for selected protein profiling in human plasma. *Analytical chemistry*, 77(18), 5990-5997.
22. Schoonen, L., and van Hest, J. C. (2014). Functionalization of protein-based nanocages for drug delivery applications. *Nanoscale*, 6(13), 7124-7141.
23. Benito-Peña, E., Moreno-Bondi, M. C., Aparicio, S., Orellana, G., Cederfur, J., and Kempe, M. (2006). Molecular engineering of fluorescent penicillins for molecularly imprinted polymer assays. *Analytical chemistry*, 78(6), 2019-2027.
24. Cormack, P. A., and Elorza, A. Z. (2004). Molecularly imprinted polymers: synthesis and characterisation. *Journal of chromatography B*, 804(1), 173-182.

25. Shin, K., Choi, J. W., Ko, G., Baik, S., Kim, D., Park, O. K., and Lee, D. J. (2017). Multifunctional nanoparticles as a tissue adhesive and an injectable marker for image-guided procedures. *Nature communications*, 8, 15807.
26. Parveen, A., Kulkarni, N., Yalagatti, M., Abbaraju, V., and Deshpande, R. (2018). In vivo efficacy of biocompatible silver nanoparticles cream for empirical wound healing. *Journal of tissue viability*, 27(4), 257-261.
27. Rodzinski, A., Guduru, R., Liang, P., Hadjikhani, A., Stewart, T., Stimphil, E., and Khizroev, S. (2016). Targeted and controlled anticancer drug delivery and release with magnetoelectric nanoparticles. *Scientific reports*, 6, 20867.
28. Xue, X., Huang, Y., Bo, R., Jia, B., Wu, H., Yuan, Y., and Yu, W. (2018). Trojan Horse nanotheranostics with dual transformability and multifunctionality for highly effective cancer treatment. *Nature communications*, 9(1), 3653.
29. Erdoğan, A. Kanser Tanı ve Tedavisinde Manyetik Nanopartikülker. Izmir Democracy University, *Natural and Applied Sciences Journal*, 1(1), 23-30.
30. Dang, F., Enomoto, N., Hojo, J., and Enpuku, K. (2010). Sonochemical coating of magnetite nanoparticles with silica. *Ultrasonics sonochemistry*, 17(1), 193-199.
31. Hiergeist, R., Andra, W., Buske, N., Hergt, R., Hilger, I., Richter, U. and Kaiser, W. (1999). Application of magnetite ferrofluids for hyperthermia, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 201:420-422.
32. Mejia-Santillan, M. E., Pariona, N., Bravo-C, J., Herrera-Trejo, M., Montejo-Alvaro, F., Zarate, A., and Mtz-Enriquez, A. I. (2018). Physical and arsenic adsorption properties of maghemite and magnetite sub-microparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 451, 594-601.
33. Rockenberger, J., Scher, E. C., and Alivisatos, A. P. (1999). A new nonhydrolytic single-precursor approach to surfactant-capped nanocrystals of transition metal oxides. *Journal of the American Chemical Society*, 121(49), 11595-11596.
34. Binh, V. T., Purcell, S. T., Semet, V., and Feschet, F. (1998). Nanotips and nanomagnetism. *Applied surface science*, 130, 803-814.
35. Ney, A., Pouloupoulos, P., Farle, M., and Baberschke, K. (2000). Absolute determination of Co magnetic moments: Ultrahigh-vacuum high-T c SQUID magnetometry. *Physical Review B*, 62(17), 11336.
36. Iwaki, T., Kakihara, Y., Toda, T., Abdullah, M., and Okuyama, K. (2003). Preparation of high coercivity magnetic FePt nanoparticles by liquid process. *Journal of applied physics*, 94(10), 6807-6811.
37. Nordenström, M., Riazanova, A. V., Järn, M., Paulraj, T., Turner, C., Ström, V., and Svagan, A. J. (2018). Superamphiphobic coatings based on liquid-core microcapsules with engineered capsule walls and functionality. *Scientific reports*, 8(1), 3647.
38. Ebert, H. (1996). Magneto-optical effects in transition metal systems. *Reports on Progress in Physics*, 59(12), 1665.

39. Huber, D. L. (2005). Synthesis, properties, and applications of iron nanoparticles. *Small*, 1(5), 482-501.
40. Farle, M. (1998). Ferromagnetic resonance of ultrathin metallic layers. *Reports on Progress in Physics*, 61(7), 755.
41. Stöhr, J. (1999). Exploring the microscopic origin of magnetic anisotropies with X-ray magnetic circular dichroism (XMCD) spectroscopy. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 200(1-3), 470-497.
42. Neuberger, T., Schöpf, B., Hofmann, H., Hofmann, M., and Von Rechenberg, B. (2005). Superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications: possibilities and limitations of a new drug delivery system. *Journal of Magnetism and Magnetic materials*, 293(1), 483-496.
43. Jun, Y. W., Choi, J. S., and Cheon, J. (2007). Heterostructured magnetic nanoparticles: their versatility and high performance capabilities. *Chemical communications*, (12), 1203-1214.
44. Mornet, S., Vasseur, S., Grasset, F., Veverka, P., Goglio, G., Demourgues, A., and Duguet, E. (2006). Magnetic nanoparticle design for medical applications. *Progress in Solid State Chemistry*, 34(2-4), 237-247.
45. Gardimalla, H. M., Mandal, D., Stevens, P. D., Yen, M., and Gao, Y. (2005). Superparamagnetic nanoparticle-supported enzymatic resolution of racemic carboxylates. *Chemical Communications*, (35), 4432-4434.
46. Patel, D., Moon, J. Y., Chang, Y., Kim, T. J., and Lee, G. H. (2008). Poly (d, l-lactide-co-glycolide) coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis, characterization and in vivo study as MRI contrast agent. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 313, 91-94.
47. Sidhu, P. S., Gilkes, R. J., Cornell, R. M., Posner, A. M., and Quirk, J. P. (1981). Dissolution of iron oxides and oxyhydroxides in hydrochloric and perchloric acids. *Clays and Clay Minerals*, 29(4), 269-276.
48. Wang, J., Zheng, S., Shao, Y., Liu, J., Xu, Z., and Zhu, D. (2010). Amino-functionalized Fe₃O₄@ SiO₂ core-shell magnetic nanomaterial as a novel adsorbent for aqueous heavy metals removal. *Journal of colloid and interface science*, 349(1), 293-299.
49. Burgei, W., Pechan, M. J., and Jaeger, H. (2003). A simple vibrating sample magnetometer for use in a materials physics course. *American Journal of Physics*, 71(8), 825-828.
50. Kronmuller, H., and Parkin, S. (2007). Handbook of Magnetism and Advanced Magnetic Materials. *Fundamentals and theory*, 1, 2143.
51. Wang, G., Huang, H., Zhang, G., Zhang, X., and Wang, L. (2011). Dual functional electrochemical sensor based on Au-polydopamine-Fe₃O₄ nanocomposites. *Analytical Methods*, 3(11), 2475-2477.

52. Sahin, F., Turan, E., Tümtürk, H., and Demirel, G. (2012). Core-shell magnetic nanoparticles: a comparative study based on silica and polydopamine coating for magnetic bio-separation platforms. *Analyst*, 137(23), 5654-5658.
53. LaConte, L., Nitin, N., and Bao, G. (2005). Magnetic nanoparticle probes. *Materials Today*, 8(5), 32-38.
54. Stevens, P. D., Fan, J., Gardimalla, H. M., Yen, M., and Gao, Y. (2005). Superparamagnetic nanoparticle-supported catalysis of Suzuki cross-coupling reactions. *Organic letters*, 7(11), 2085-2088.
55. Kim, D. K., Zhang, Y., Voit, W., Rao, K. V., and Muhammed, M. (2001). Synthesis and characterization of surfactant-coated superparamagnetic monodispersed iron oxide nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 225(1-2), 30-36.
56. Natividad, E., Castro, M., and Mediano, A. (2009). Adiabatic vs. non-adiabatic determination of specific absorption rate of ferrofluids. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 321(10), 1497-1500.
57. Susan-Resiga, D., Socoliuc, V., Bunge, A., Turcu, R., and Vékás, L. (2019). From high colloidal stability ferrofluids to magnetorheological fluids: tuning the flow behavior by magnetite nanoclusters. *Smart Materials and Structures*, 28(11), 115014.
58. Yao, J., Ma, Y., Liu, J., Liu, S., and Pan, J. (2019). Janus-like boronate affinity magnetic molecularly imprinted nanobottles for specific adsorption and fast separation of luteolin. *Chemical Engineering Journal*, 356, 436-444.
59. İnternet: Ferrofluid technology becomes a magnet for pioneering artists. URL: https://spinoff.nasa.gov/Spinoff2018/cg_3.html, Son Erişim Tarihi: 05.08.2019.
60. Hu, P., Chang, T., Chen, W. J., Deng, J., Li, S. L., Zuo, Y. G., and Volinsky, A. A. (2019). Temperature effects on magnetic properties of Fe₃O₄ nanoparticles synthesized by the sol-gel explosion-assisted method. *Journal of Alloys and Compounds*, 773, 605-611.
61. Bocanegra-Diaz, A., Mohallem, N. D., and Sinisterra, R. D. (2003). Preparation of a ferrofluid using cyclodextrin and magnetite. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 14(6), 936-941.
62. Murray, C., Norris, D. J., and Bawendi, M. G. (1993). Synthesis and characterization of nearly monodisperse CdE (E= sulfur, selenium, tellurium) semiconductor nanocrystallites. *Journal of the American Chemical Society*, 115(19), 8706-8715.
63. Peng, X., Wickham, J., and Alivisatos, A. P. (1998). Kinetics of II-VI and III-V colloidal semiconductor nanocrystal growth: "focusing" of size distributions. *Journal of the American Chemical Society*, 120(21), 5343-5344.
64. O'Brien, S., Brus, L., and Murray, C. B. (2001). Synthesis of monodisperse nanoparticles of barium titanate: toward a generalized strategy of oxide nanoparticle synthesis. *Journal of the American Chemical Society*, 123(48), 12085-12086.

65. Rockenberger, J., Scher, E. C., and Alivisatos, A. P. (1999). A new nonhydrolytic single-precursor approach to surfactant-capped nanocrystals of transition metal oxides. *Journal of the American Chemical Society*, 121(49), 11595-11596.
66. Woo, K., Hong, J., Choi, S., Lee, H. W., Ahn, J. P., Kim, C. S., and Lee, S. W. (2004). Easy synthesis and magnetic properties of iron oxide nanoparticles. *Chemistry of materials*, 16(14), 2814-2818.
67. Indira, T. K., and Lakshmi, P. K. (2010). Magnetic nanoparticles—a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology*, 3(3), 1035-1042.
68. Bee, A., Massart, R., and Neveu, S. (1995). Synthesis of very fine maghemite particles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 149(1-2), 6-9.
69. Kandori, K., Kawashima, Y., and Ishikawa, T. (1992). Effects of citrate ions on the formation of monodispersed cubic hematite particles. *Journal of colloid and interface science*, 152(1), 284-288.
70. Ishikawa, T., Takeda, T., and Kandori, K. (1992). Effects of amines on the formation of β -ferric oxide hydroxide. *Journal of materials science*, 27(16), 4531-4535.
71. Murray, C., Norris, D. J., and Bawendi, M. G. (1993). Synthesis and characterization of nearly monodisperse CdE (E= sulfur, selenium, tellurium) semiconductor nanocrystallites. *Journal of the American Chemical Society*, 115(19), 8706-8715.
72. Peng, X., Wickham, J., and Alivisatos, A. P. (1998). Kinetics of II-VI and III-V colloidal semiconductor nanocrystal growth: “focusing” of size distributions. *Journal of the American Chemical Society*, 120(21), 5343-5344.
73. O'Brien, S., Brus, L., and Murray, C. B. (2001). Synthesis of monodisperse nanoparticles of barium titanate: toward a generalized strategy of oxide nanoparticle synthesis. *Journal of the American Chemical Society*, 123(48), 12085-12086.
74. Geng, B., Liu, X., Ma, J., and Du, Q. (2007). A new nonhydrolytic single-precursor approach to surfactant-capped nanocrystals of transition metal sulfides. *Materials Science and Engineering: B*, 145(1-3), 17-22.
75. Rockenberger, J., Scher, E. C., and Alivisatos, A. P. (1999). A new nonhydrolytic single-precursor approach to surfactant-capped nanocrystals of transition metal oxides. *Journal of the American Chemical Society*, 121(49), 11595-11596.
76. Woo, K., Hong, J., Choi, S., Lee, H. W., Ahn, J. P., Kim, C. S., and Lee, S. W. (2004). Easy synthesis and magnetic properties of iron oxide nanoparticles. *Chemistry of materials*, 16(14), 2814-2818.
77. Lu, A. H., Salabas, E. E., and Schüth, F. (2007). Magnetic nanoparticles: synthesis, protection, functionalization, and application. *Angewandte Chemie International Edition*, 46(8), 1222-1244.

78. Chunfu, Z., Jinqun, C., Duanzhi, Y., Yongxian, W., Yanlin, F., and Jiajü, T. (2004). Preparation and radiolabeling of human serum albumin (HSA)-coated magnetite nanoparticles for magnetically targeted therapy. *Applied Radiation and Isotopes*, 61(6), 1255-1259.
79. Choi, J. S., Lee, E. J., Choi, Y. H., Jeong, Y. J., and Park, J. S. (1999). Poly (ethylene glycol)-block-poly (L-lysine) dendrimer: novel linear polymer/dendrimer block copolymer forming a spherical water-soluble polyionic complex with DNA. *Bioconjugate chemistry*, 10(1), 62-65.
80. Zamzow, M. J., Eichbaum, B. R., Sandgren, K. R., and Shanks, D. E. (1990). Removal of heavy metals and other cations from wastewater using zeolites. *Separation science and technology*, 25(13-15), 1555-1569.
81. Babel, S., and Kurniawan, T. A. (2003). Low-cost adsorbents for heavy metals uptake from contaminated water: a review. *Journal of hazardous materials*, 97(1-3), 219-243.
82. Chen, Y., Yuan, X., Yang, C., Lian, Y., Razzaq, A. A., Shah, R., and Deng, Z. (2019). γ -Fe₂O₃ nanoparticles embedded in porous carbon fibers as binder-free anodes for high-performance lithium and sodium ion batteries. *Journal of Alloys and Compounds*, 777, 127-134.
83. Sun, Y., Duan, L., Guo, Z., DuanMu, Y., Ma, M., Xu, L., and Gu, N. (2005). An improved way to prepare superparamagnetic magnetite-silica core-shell nanoparticles for possible biological application. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 285(1-2), 65-70.
84. Lu, P., Zhang, J. L., Liu, Y. L., Sun, D. H., Liu, G. X., Hong, G. Y., and Ni, J. Z. (2010). Synthesis and characteristic of the Fe₃O₄@ SiO₂@ Eu (DBM) 3· 2H₂O/SiO₂ luminomagnetic microspheres with core-shell structure. *Talanta*, 82(2), 450-457.
85. Ensafi, A. A., and Ghaderi, A. R. (2007). On-line solid phase selective separation and preconcentration of Cd (II) by solid-phase extraction using carbon active modified with methyl thymol blue. *Journal of hazardous materials*, 148(1-2), 319-325.
86. Chikazumi, S., Taketomi, S., Ukita, M., Mizukami, M., Miyajima, H., Setogawa, M., and Kurihara, Y. (1987). Physics of magnetic fluids. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 65(2-3), 245-251.
87. Lu, A. H., Schmidt, W., Matoussevitch, N., Bönnemann, H., Spliethoff, B., Tesche, B., and Schüth, F. (2004). Nanoengineering of a magnetically separable hydrogenation catalyst. *Angewandte Chemie International Edition*, 43(33), 4303-4306.
88. Tsang, S. C., Caps, V., Paraskevas, I., Chadwick, D., and Thompsett, D. (2004). Magnetically separable, carbon-supported nanocatalysts for the manufacture of fine chemicals. *Angewandte Chemie International Edition*, 43(42), 5645-5649.
89. Jiles, D. C. (2003). Recent advances and future directions in magnetic materials. *Acta Materialia*, 51(19), 5907-5939.

90. Chowdhury, S. R., and Yanful, E. K. (2010). Arsenic and chromium removal by mixed magnetite–maghemite nanoparticles and the effect of phosphate on removal. *Journal of Environmental Management*, 91(11), 2238-2247.
91. Gallios, G. P., and Vaclavikova, M. (2008). Removal of chromium (VI) from water streams: a thermodynamic study. *Environmental Chemistry Letters*, 6(4), 235-240.
92. Mohan, D., and Pittman Jr, C. U. (2006). Activated carbons and low cost adsorbents for remediation of tri-and hexavalent chromium from water. *Journal of hazardous materials*, 137(2), 762-811.
93. Richard, F. C., and Bourg, A. C. (1991). Aqueous geochemistry of chromium: a review. *Water research*, 25(7), 807-816.
94. Chowdhury, S. R., and Yanful, E. K. (2013). Kinetics of cadmium (II) uptake by mixed maghemite-magnetite nanoparticles. *Journal of environmental management*, 129, 642-651.
95. Sedlazeck, K. P., Höllen, D., Müller, P., Mischitz, R., and Gieré, R. (2017). Mineralogical and geochemical characterization of a chromium contamination in an aquifer-A combined analytical and modeling approach. *Applied geochemistry*, 87, 44-56.
96. Abboud, M., Turner, M., Duguet, E., and Fontanille, M. (1997). PMMA-based composite materials with reactive ceramic fillers. Part 1.—Chemical modification and characterisation of ceramic particles. *Journal of Materials Chemistry*, 7(8), 1527-1532.
97. Novakova, A. A., Lanchinskaya, V. Y., Volkov, A. V., Gendler, T. S., Kiseleva, T. Y., Moskvina, M. A., and Zezin, S. B. (2003). Magnetic properties of polymer nanocomposites containing iron oxide nanoparticles. *Journal of magnetism and magnetic materials*, 258, 354-357.
98. Gudoshnikov, S., Liubimov, B., Matveets, L., Ranchinski, M., Usov, N., Gubin, S., and Volkov, I. (2003). Magnetic properties of Fe-based nanoparticle assembly. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 258, 54-56.
99. Kang, Y. S., Risbud, S., Rabolt, J. F., and Stroeve, P. (1996). Synthesis and characterization of nanometer-size Fe_3O_4 and $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ particles. *Chemistry of Materials*, 8(9), 2209-2211.
100. Deng, J., Ding, X., Zhang, W., Peng, Y., Wang, J., Long, X., and Chan, A. S. (2002). Magnetic and conducting Fe_3O_4 –cross-linked polyaniline nanoparticles with core–shell structure. *Polymer*, 43(8), 2179-2184.
101. Thunemann, A. F., Schutt, D., Kaufner, L., Pison, U., and Mohwald, H. (2006). Maghemite nanoparticles protectively coated with poly (ethylene imine) and poly (ethylene oxide)-block-poly (glutamic acid). *Langmuir*, 22(5), 2351-2357.
102. Marutani, E., Yamamoto, S., Ninjbadgar, T., Tsujii, Y., Fukuda, T., and Takano, M. (2004). Surface-initiated atom transfer radical polymerization of methyl methacrylate on magnetite nanoparticles. *Polymer*, 45(7), 2231-2235.

103. He, H. W., Liu, H. J., Zhou, K. C., Wang, W., and Rong, P. F. (2006). Characteristics of magnetic Fe₃O₄ nanoparticles encapsulated with human serum albumin. *Journal of Central South University of Technology*, 13(1), 6-11.
104. Mikhaylova, M., Kim, D. K., Berry, C. C., Zagorodni, A., Toprak, M., Curtis, A. S., and Muhammed, M. (2004). BSA immobilization on amine-functionalized superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Chemistry of Materials*, 16(12), 2344-2354.
105. Euliss, L. E., Grancharov, S. G., O'Brien, S., Deming, T. J., Stucky, G. D., Murray, C. B., and Held, G. A. (2003). Cooperative assembly of magnetic nanoparticles and block copolypeptides in aqueous media. *Nano Letters*, 3(11), 1489-1493.
106. Liu, X., Guan, Y., Ma, Z., and Liu, H. (2004). Surface modification and characterization of magnetic polymer nanospheres prepared by miniemulsion polymerization. *Langmuir*, 20(23), 10278-10282.
107. Ulman, A. (1996). Formation and structure of self-assembled monolayers. *Chemical reviews*, 96(4), 1533-1554.
108. Lu, Y., Yin, Y., Mayers, B. T., and Xia, Y. (2002). Modifying the surface properties of superparamagnetic iron oxide nanoparticles through a sol– gel approach. *Nano letters*, 2(3), 183-186.
109. Stoeva, S. I., Huo, F., Lee, J. S., and Mirkin, C. A. (2005). Three-layer composite magnetic nanoparticle probes for DNA. *Journal of the American Chemical Society*, 127(44), 15362-15363.
110. Lu, Y., Yin, Y., Li, Z. Y., and Xia, Y. (2002). Synthesis and self-assembly of Au@SiO₂ core– shell colloids. *Nano Letters*, 2(7), 785-788.
111. Charbonnier, M., Alami, M., and Romand, M. (1998). Electroless plating of polymers: XPS study of the initiation mechanisms. *Journal of Applied Electrochemistry*, 28(4), 449-453.
112. Ramanathan, K., Ram, M. K., Malhotra, B. D., and Murthy, A. S. N. (1995). Application of polyaniline-Langmuir-Blodgett films as a glucose biosensor. *Materials Science and Engineering: C*, 3(3-4), 159-163.
113. Akemi Ooka, A., and Garrell, R. L. (2000). Surface-enhanced Raman spectroscopy of DOPA-containing peptides related to adhesive protein of marine mussel, *Mytilus edulis*. *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, 57(2), 92-102.
114. Xia, Z., Lin, Z., Xiao, Y., Wang, L., Zheng, J., Yang, H., and Chen, G. (2013). Facile synthesis of polydopamine-coated molecularly imprinted silica nanoparticles for protein recognition and separation. *Biosensors and Bioelectronics*, 47, 120-126.
115. Yan, M. (2002). Micromolding in Capillaries for the Generation of Molecularly Imprinted Polymer Filaments and Microstructures. *MRS Online Proceedings Library Archive*, 723.

116. Mayes, A. G., and Whitcombe, M. J. (2005). Synthetic strategies for the generation of molecularly imprinted organic polymers. *Advanced drug delivery reviews*, 57(12), 1742-1778.
117. Piletska, E. V., Piletsky, S. A., Subrahmanyam, S., Karim, K., and Turner, A. P. F. (2001). A new reactive polymer suitable for covalent immobilisation and monitoring of primary amines. *Polymer*, 42(8), 3603-3608.
118. Gao, R., Mu, X., Hao, Y., Zhang, L., Zhang, J., and Tang, Y. (2014). Combination of surface imprinting and immobilized template techniques for preparation of core-shell molecularly imprinted polymers based on directly amino-modified Fe₃O₄ nanoparticles for specific recognition of bovine hemoglobin. *Journal of Materials Chemistry B*, 2(12), 1733-1741.
119. Zhang, M., Zhang, X., He, X., Chen, L., and Zhang, Y. (2012). A self-assembled polydopamine film on the surface of magnetic nanoparticles for specific capture of protein. *Nanoscale*, 4(10), 3141-3147.
120. Malihe, K. S., Syed, W. H., Mohammad, S. T., Ali, M., and Parviz, A. A. (2014). Magnetite molecularly imprinted nanoparticles for selective detection of phenol in wastewater samples followed by high performance liquid chromatography. *Indian J Sci Res*, 5, 362-368.
121. Irshad, M., Iqbal, N., Mujahid, A., Afzal, A., Hussain, T., Sharif, A., and Athar, M. M. (2013). Molecularly imprinted nanomaterials for sensor applications. *Nanomaterials*, 3(4), 615-637.
122. Dirion, B., Cobb, Z., Schillinger, E., Andersson, L. I., and Sellergren, B. (2003). Water-compatible molecularly imprinted polymers obtained via high-throughput synthesis and experimental design. *Journal of the American Chemical Society*, 125(49), 15101-15109.
123. Andersson, H. S., and Nicholls, I. A. (1997). Spectroscopic evaluation of molecular imprinting polymerization systems. *Bioorganic Chemistry*, 25(3), 203-211.
124. Lu, Y., Li, C., Zhang, H., and Liu, X. (2003). Study on the mechanism of chiral recognition with molecularly imprinted polymers. *Analytica Chimica Acta*, 489(1), 33-43.
125. Pyun, J., Kowalewski, T., and Matyjaszewski, K. (2004). Polymer brushes by atom transfer radical polymerization. *Polymer Brushes: Synthesis, Characterization, Applications*, 51-68.
126. Matyjaszewski, K., Gaynor, S. G., Kulfan, A., and Podwika, M. (1997). Preparation of hyperbranched polyacrylates by atom transfer radical polymerization. 1. Acrylic AB* monomers in "living" radical polymerizations. *Macromolecules*, 30(17), 5192-5194.
127. Belder, G. F., Ten Brinke, G., and Hadziioannou, G. (1997). Influence of anchor block size on the thickness of adsorbed block copolymer layers. *Langmuir*, 13(15), 4102-4105.

128. Piletsky, S. A., Alcock, S., and Turner, A. P. (2001). Molecular imprinting: at the edge of the third millennium. *TRENDS in Biotechnology*, 19(1), 9-12.
129. Mayes, A. G., and Whitcombe, M. J. (2005). Synthetic strategies for the generation of molecularly imprinted organic polymers. *Advanced drug delivery reviews*, 57(12), 1742-1778.
130. Wulff, G., and Vietmeier, J. (1989). Enzyme-analogue built polymers, 26. Enantioselective synthesis of amino acids using polymers possessing chiral cavities obtained by an imprinting procedure with template molecules. *Die Makromolekulare Chemie: Macromolecular Chemistry and Physics*, 190(7), 1727-1735.
131. Sallacan, N., Zayats, M., Bourenko, T., Kharitonov, A. B., and Willner, I. (2002). Imprinting of nucleotide and monosaccharide recognition sites in acrylamidephenylboronic acid–acrylamide copolymer membranes associated with electronic transducers. *Analytical chemistry*, 74(3), 702-712.
132. Wulff, G., Best, W., and Akelah, A. (1984). Enzyme-analogue built polymers, 17 Investigations on the racemic resolution of amino acids. *Reactive Polymers, Ion Exchangers, Sorbents*, 2(3), 167-174.
133. Cormack, P. A., and Elorza, A. Z. (2004). Molecularly imprinted polymers: synthesis and characterisation. *Journal of chromatography B*, 804(1), 173-182.
134. Lok, C. M., and Son, R. (2009). Application of molecularly imprinted polymers in food sample analysis—a perspective. *International Food Research Journal*, 16(2), 127-140.
135. Wulff, G. (1972). The use of polymers with enzyme-analogous structures for the resolution of racemates. *Angewandte Chemie International Edition*, 11(4), 341.
136. Mayes, A. G., and Whitcombe, M. J. (2005). Synthetic strategies for the generation of molecularly imprinted organic polymers. *Advanced drug delivery reviews*, 57(12), 1742-1778.
137. Dickey, F. H. (1949). The preparation of specific adsorbents. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 35(5), 227.
138. Ikegami, T., Mukawa, T., Nariai, H., and Takeuchi, T. (2004). Bisphenol A-recognition polymers prepared by covalent molecular imprinting. *Analytica Chimica Acta*, 504(1), 131-135.
139. O'Mahony, J., Molinelli, A., Nolan, K., Smyth, M. R., and Mizaikoff, B. (2006). Anatomy of a successful imprint: Analysing the recognition mechanisms of a molecularly imprinted polymer for quercetin. *Biosensors and Bioelectronics*, 21(7), 1383-1392.
140. Shea, K. J., and Dougherty, T. K. (1986). Molecular recognition on synthetic amorphous surfaces. The influence of functional group positioning on the effectiveness of molecular recognition. *Journal of the American Chemical Society*, 108(5), 1091-1093.

141. Guyot, A. (1988). Synthesis and structure of polymer supports. Syntheses and separations using functional polymers. Wiley, 1-42.
142. Andersson, H. S., and Nicholls, I. A. (1997). Spectroscopic evaluation of molecular imprinting polymerization systems. *Bioorganic Chemistry*, 25(3), 203-211.
143. Lu, Y., Li, C., Zhang, H., and Liu, X. (2003). Study on the mechanism of chiral recognition with molecularly imprinted polymers. *Analytica Chimica Acta*, 489(1), 33-43.
144. Shahiri Tabarestani, M., Rahnama, K., Jahanshahi, M., Nasrollanejad, S., and Fatemi, M. H. (2016). Synthesis of a nanoporous molecularly imprinted polymers for dibutyl Phthalate extracted from *Trichoderma Harzianum*. *Journal of Nanostructures*, 6(3), 245-249.
145. Whitcombe, M. J., Rodriguez, M. E., Villar, P., and Vulfson, E. N. (1995). A new method for the introduction of recognition site functionality into polymers prepared by molecular imprinting: synthesis and characterization of polymeric receptors for cholesterol. *Journal of the American Chemical Society*, 117(27), 7105-7111.
146. Martin, P. D., Jones, G. R., Stringer, F., and Wilson, I. D. (2003). Comparison of normal and reversed-phase solid phase extraction methods for extraction of β -blockers from plasma using molecularly imprinted polymers. *Analyst*, 128(4), 345-350.
147. Molinelli, A., Weiss, R., and Mizaikoff, B. (2002). Advanced solid phase extraction using molecularly imprinted polymers for the determination of quercetin in red wine. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(7), 1804-1808.
148. Ansell, R. J. (2005). Molecularly imprinted polymers for the enantioseparation of chiral drugs. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57(12), 1809-1835.
149. Lin, J. M., Nakagama, T., Uchiyama, K., and Hobo, T. (1997). Capillary electrochromatographic separation of amino acid enantiomers using on-column prepared molecularly imprinted polymer. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 15(9-10), 1351-1358.
150. Kempe, M., and Mosbach, K. (1995). Molecular imprinting used for chiral separations. *Journal of Chromatography A*, 694(1), 3-13.
151. Caro, E., Marcé, R. M., Cormack, P. A., Sherrington, D. C., and Borrull, F. (2004). A new molecularly imprinted polymer for the selective extraction of naproxen from urine samples by solid-phase extraction. *Journal of chromatography B*, 813(1-2), 137-143.
152. Fichtel, J., Köster, J., Scholz-Böttcher, B., Sass, H., and Rullkötter, J. (2007). A highly sensitive HPLC method for determination of nanomolar concentrations of dipicolinic acid, a characteristic constituent of bacterial endospores. *Journal of microbiological methods*, 70(2), 319-327.

153. Lai, J. P., Niessner, R., and Knopp, D. (2004). Benzo [a] pyrene imprinted polymers: synthesis, characterization and SPE application in water and coffee samples. *Analytica chimica acta*, 522(2), 137-144.
154. Peng, H., Liang, C., Zhou, A., Zhang, Y., Xie, Q., and Yao, S. (2000). Development of a new atropine sulfate bulk acoustic wave sensor based on a molecularly imprinted electrosynthesized copolymer of aniline with o-phenylenediamine. *Analytica chimica acta*, 423(2), 221-228.
155. Tan, Y., Zhou, Z., Wang, P., Nie, L., and Yao, S. (2001). A study of a bio-mimetic recognition material for the BAW sensor by molecular imprinting and its application for the determination of paracetamol in the human serum and urine. *Talanta*, 55(2), 337-347.
156. Haupt, K., Noworyta, K., and Kutner, W. (1999). Imprinted polymer-based enantioselective acoustic sensor using a quartz crystal microbalance. *Analytical Communications*, 36(11-12), 391-393.
157. Meng, Z., and Sode, K. (2005). The molecular reaction vessels for a transesterification process created by molecular imprinting technique. *Journal of Molecular Recognition: An Interdisciplinary Journal*, 18(3), 262-266.
158. Liu, X. C., and Mosbach, K. (1997). Studies towards a tailor-made catalyst for the Diels-Alder reaction using the technique of molecular imprinting. *Macromolecular Rapid Communications*, 18(7), 609-615.
159. Hillberg, A. L., Brain, K. R., and Allender, C. J. (2005). Molecular imprinted polymer sensors: implications for therapeutics. *Advanced drug delivery reviews*, 57(12), 1875-1889.
160. Li, J., Zhang, Z., Xu, S., Chen, L., Zhou, N., Xiong, H., and Peng, H. (2011). Label-free colorimetric detection of trace cholesterol based on molecularly imprinted photonic hydrogels. *Journal of Materials Chemistry*, 21(48), 19267-19274.

EKLER

EK-1. Kongre Katılım Belgesi



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : GÜRLEYİK, Sercan
 Uyuğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 03.06.1990, Ankara
 Medeni hali : Bekar
 Telefon : 0 (535) 582 52 24
 e-mail : sgrlyk@gmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi / Kimya Bölümü	Devam ediyor
Lisans	Gazi Üniversitesi / Kimya Bölümü	2012
Lise	Bahçelievler Deneme Lisesi	2007

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2018-Halen	NEN Mühendislik	Analiz Sorumlusu

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

1. Gürleyik, S., Turan, E. and Tümtürk, H. (2017). *Antibody Imprinted Magnetic Nanoparticles*. 1.st. International Turkish World Engineering and Science Congress, Antalya.

Hobiler

Basketbol, Futbol, Yüzme



GAZİ GELECEKTİR..