


**FEN BİLİMLERİ VE
MATEMATİK ALANINDA
ARAŞTIRMA VE
DEĞERLENDİRMELER**



Kitap Adı	: Fen Bilimleri ve Matematik Alanında Araştırma ve Değerlendirmeler
İmtiyaz Sahibi	: Gece Kitaplığı
Genel Yayın Yönetmeni	: Doç. Dr. Atilla ATİK
Kapak&İç Tasarım	: Melek ZORLUSOY
Sosyal Medya	: Arzu ÇUHACIOĞLU
Yayına Hazırlama	: Gece Akademi  Dizgi Birimi
Yayıncı Sertifika No	: 15476
Matbaa Sertifika No	: 34559
ISBN	: 978-605-7631-46-6

Editör (ler)

Prof. Dr. Rıdvan KARAPINAR

The right to publish this book belongs to Gece Kitaplığı. Citation can not be shown without the source, reproduced in any way without permission. Gece Akademi is a subsidiary of Gece Kitaplığı.

Bu kitabın yayın hakkı Gece Kitaplığı'na aittir. Kaynak gösterilmeden alıntı yapılamaz, izin almadan hiçbir yolla çoğaltılamaz. Gece Akademi, Gece Kitaplığı'nın yan kuruluşudur.

Birinci Basım/First Edition ©Mart 2019/Ankara/TURKEY ©copyright



Gece Publishing

ABD Adres/ USA Address: 387 Park Avenue South, 5th Floor, New York, 10016, USA

Telefon/Phone: +1 347 355 10 70

Gece Akademi

Türkiye Adres/Turkey Address: Kocatepe Mah. Mithatpaşa Cad. 44/C Çankaya, Ankara, TR

Telefon/Phone: +90 312 431 34 84 - +90 555 888 24 26

web: www.gecekitapligi.com — www.gecekitap.com

e-mail: geceakademi@gmail.com

İÇİNDEKİLER

CHAPTER 1:	Dopamin Agonistlerinin Voltametrik Yöntemlerle Tayinleri FATMA AĞIN	5
CHAPTER 2:	Kovandaki Mucize: Bal SEMİRAMİS KARLIDAĞ, MERVE KESKİN, SELİM ERDOĞAN, ŞABAN KESKİN...21	
CHAPTER 3:	Grafen Temelli Sensörler ve Biyosensörler OĞUZ ÇAKIR	31
CHAPTER 4:	Topolojinin Varoluşu ve Gelişimi Hakkında Bir Araştırma GÜZİDE ŞENEL	53
CHAPTER 5:	Programlanmış Hücre Ölümü Apoptoz ve Kansere Tedavisinde Apoptoz Regülasyonunu Hedef Alan Bazı Güncel Stratejiler BERNA KAVAKCIOĞLU YARDIMCI	59
CHAPTER 6:	Karbon Nanotüplerin ve Altın Nanopartiküllerin Elektrokimyadaki Kullanımları ve Biyo-Algılama Uygulamaları OĞUZ ÇAKIR	73
CHAPTER 7:	Mekansal Otokorelasyon İndislerinin Önemi GÜZİDE MİRAY PERİHANOĞLU, OKAN YELER.....	91
CHAPTER 8:	Elektromanyetik Alanın Biyolojik Etkileri DİLEK SAĞIR, ZEYNEP HATİCE OKUR.....	101
CHAPTER 9:	Alıç Bitkisinin Yaprak Özütü Kullanılarak AgNP'erin Yeşil Sentezi ve Anti Mikrobiyal Aktivitelerinin Değerlendirilmesi MEHMET FIRAT BARAN.....	111

Dopamin Agonistlerinin Voltametrik Yöntemlerle Tayinleri

Fatma AĞIN¹

CHAPTER 1

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

1. GİRİŞ

Voltametrik yöntemlerin elektrokimyasal olarak aktif maddelerin tayininde son dönemlerde yaygın olarak kullanılmaya başlanması dikkat çekmektedir. Bu yöntemlerin avantajları arasında kolay uygulanabilmesi, daha az kimyasal maddeye ihtiyaç duyulması, gerekli sistemlerin ucuza kurulabilmesi, ayrıca numune için bir ön ayırma işlemine gerek duyulmaması vardır ve bunlar bu yöntemlerin ilaç analizlerindeki kullanımını artırmaktadır (İpekçi, 2014).

Parkinson hastalığı (PH), ilk defa 1817 yılında titrek felç olarak İngiliz hekim James Parkinson tarafından tanımlanmıştır. PH sıklıkla görülen kronik nörodejeneratif bir hastalıktır. Dopaminerjik nöronların yaklaşık %60-65'inin kaybedilmesi sonucunda dopamin seviyesinde gerçekleşen %80-85'lik azalma motor fonksiyonların bozulmasına yol açar. İstirahat tremoru, kaslarda sertlik, bradikinezi ve duruş bozukluğu gibi semptomların meydana gelmesine sebep olan bozukluklardır (Çeliker, 2015).

PH tedavisinde amaç hastanın bağımsız, kendi başına işini yapabilecek hale gelmesini sağlamaktır. Hastalar doğru tedavi ile normal hayatlarını uzun yıllar sürdürebilmektedir (Doğan, 2016).

Levodopa, dopaminin öncül maddesidir ve PH tedavisinde standart tedaviyi oluşturmaktadır. Ancak Parkinson hastalarında uzun süreli olarak levodopa kullanımının sonucunda motor dalgalanma ve diskinezi gibi yan etkiler ortaya çıkmaktadır.

Dopamin agonistlerinin kullanımına ilk kez 1970'lerde başlanmıştır. Dopamin agonistleri hafif ve orta derecede ilerlemiş Parkinson hastalarında levodopa kadar etkili olmakta ve levodopaya bağlı olarak meydana gelen komplikasyonları beş yıl kadar geciktirebilmektedir (Benbir vd., 2008).

Bu bölümde dopamin agonistlerinin voltametrik analizlerini konu alan çalışmalar seçilip derlenerek bir araya getirilmiştir. Dopamin agonistlerinden elektrokimyasal olarak aktif olan apomorfin, bromokriptin, kabergolin, pramipeksol ve ropinirol etkin maddeleri incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

Analitik kimya, maddenin bileşenlerinin tanımlanması ve miktar tayini ile uğraşan bir anabilim dalıdır. Analitik kimya nitel ve nicel analiz olmak üzere iki temel gruba ayrılır. İncelenen örneğin bileşenlerinin tanımlanması nitel analiz, bileşenlerinin miktar tayini ise nicel analiz olarak tanımlanır (Demirci ve Alsancak Özkan, 1998).

Elektroanalitik kimya, nicel ve nitel analitik yöntemleri kapsayan bir elektrokimyasal hücredeki analit çözeltisine elektriksel etkinin uygulanmasıyla elektrot-çözelti sisteminin buna karşı verdiği cevapların incelendiği alandır (URL-1, 2018; Tekin, 2008). Elektroanalitik kimya voltmetri, potansiyometri, kulometri yöntemlerinden oluşmaktadır. Bu yöntemler duyarlılık, hızlilik, numune hazırlama kolaylığı, seçicilik, düşük tayin sınırı ve ekonomik olması gibi özelliklerinden dolayı son yıllarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Yılmaz, 2012).

2.1. Voltmetri

Voltmetri, çeşitli ortamlardaki çözeltileri elde edilen elektroaktif organik ve inorganik maddelerinin, akım şiddeti voltamogramları (potansiyel eğrilerinin) arasındaki ilişkileri inceleyen ve değerlendiren elektroanalitik yöntemler grubudur (Yanık, 2014).

Eser miktardaki analitin belirlenmesine olanak sağlaması, geniş bir doğrusal çalışma aralığına sahip olması, yükseltgenen ve/veya indirgenen türlere karşı seçici olması, düşük maliyetli analiz yapılabilmesi voltametrik yöntemlerin üstün özellikleri olarak kabul edilebilir (Talay Pınar, 2013).

Günümüzde tıp, eczacılık, biyokimya ve çevre gibi alanlarda birçok farklı voltametrik yöntem yaygın olarak kullanılmaktadır (Talay Pınar, 2013).

2.1.1. Doğrusal Taramalı Voltametri

Doğrusal taramalı voltametri (DTV), elektrokimyasal hücreye belirli bir süre uygulanan doğrusal akım potansiyelinin doğrusal olarak artırıldığı voltametri yöntemidir. Potansiyele karşı elde edilen akım değerleri zamanın bir fonksiyonu olarak kaydedilir. Elde edilen potansiyel-akım cevap eğrisine “doğrusal voltamogram” denir (Asıladağ, 2006).

2.1.2. Dönüşümlü Voltametri

Dönüşümlü voltametri (DV) elektroanalitik kimyada sıklıkla kullanılan önemli bir yöntemdir. Dönüşümlü voltametrimin kullanım alanı değişik koşullar altında elektrokimyasal süreçlerle ilgili nitel bilgi sağlar. DV’de önce bir yönde sonra tersi yönde potansiyel uygulanır ve bu potansiyele karşı akım ölçülür. Böylelikle potansiyel-akım grafiği elde edilir (Skoog vd., 2004). Bu grafikten elde edilen eğriye dönüşümlü voltamogram denir (Süslü, 2004).

Negatif potansiyellerde yapılan taramaya ileri tarama; pozitif potansiyellerde yapılan taramaya ise geri tarama adı verilir. Dönüşümlü voltametri de pik akımının tarama hızı ile değişmesinden yola çıkarak akım karakteri (adsorpsiyon, difüzyon) saptanabilir (Kaya, 2014). DV ile çalışılan maddenin pikinin anodik ya da katodik olduğu anlaşılabilir ve DV elektrokimyasal reaksiyonun tersinirliğini anlamak için de kullanılır (Duman, 2014; Kaya, 2014).

2.1.3. Puls Voltametrisi

Puls yöntemleri doğrusal taramalı voltametri ile ilgili birçok sınırlamaya çözüm bulmuştur. Bu yöntemdeki temel esas, istenen faradayik eğri ile girişim yapan yüklem akımı arasındaki farkın fazla olduğu bir anda akımı ölçmektir ve bu sayede analizin duyarlılığını artırmaktır (Skoog vd., 2013).

Puls voltametri yöntemlerini üç gruba ayırarak incelemek mümkündür.

2.1.3.1. Normal Puls Voltametri

Normal puls voltametri (NPV) sabit bir doğru akım potansiyeline, giderek artan genlikli pulslar uygulanır. Uygulanan potansiyel pulsların süreleri yaklaşık 40–60 ms ile sınırlıdır. Pulslar arasında akım her zaman başlangıç değerine döner. Kapasitif akımın etkisi, akım ölçümü her puls süresinin sonuna doğru yapıldığından minimumdur. Voltamogram ise sigmoid eğri şeklindedir (Karabudak, 2013; Erdoğan Kablan, 2015).

2.1.3.2. Diferansiyel Puls Voltametri

Diferansiyel puls voltametrisi (DPV) organik ve inorganik türlerin eser analizinde kullanılan ve puls yöntemleri arasında en çok tercih edilen yöntemdir (Talay Pınar, 2013).

Çalışma elektrotuna sabit büyüklükte puls uygulayarak doğrusal olarak artan gerilim basamaklarının üzerine yerleştirilmesiyle gerçekleştirilir. Akımlar arasındaki farkın gerilime karşı grafiğe geçirilmesiyle elde edilen eğri pik şeklindedir (Talay Pınar, 2013).

Bu yöntemin iki temel avantajı vardır. İlk olarak yaklaşık 0.05 V’luk pik potansiyeli farkına sahip olan maddelerin bile pik maksimumları elde edilebilmektedir. Yani her bir analitin piklerinin birbirinden kolayca ayırt edilebilmesini ve tek bir voltamogramda birden fazla elektroaktif maddenin tespit edilmesini sağlar. İkinci olarak ise bu yöntemin duyarlılık sınırı 10^{-7} - 10^{-8} M dolayındadır ve bu da duyarlılığın DV’ye oranla daha yüksek olduğu anlamına gelir. Bunun nedeni ise ölçümün faradayik akımın en yüksek, kapasitif akımın en düşük olduğu anda yapılmasından kaynaklanır (Talay Pınar, 2013; Öztürk ve Çelik, 2017).

2.1.3.3. Kare Dalga Voltametri

Kare dalga voltametri (KDV), diğer voltametrik yöntemlere göre birçok avantaja sahiptir. Bunun başında duyarlılığı yüksek bir puls yöntemi olması gelir. Aynı zamanda voltamogramın tamamı 10 ms'den daha kısa sürede elde edilir. Bu veri de ayrıca bu yöntemin hızlı olduğunu da gösterir. Son yıllarda pahalı ve uzun süren analizlere neden olan kromatografik yöntemlere alternatif bir yöntemdir (Skoog vd., 2013).

Bu yöntemde pulsar farklı şekillerde uygulanabilir. *Barker*, *Osteryoung* ve *Kalousek* teknikleri sıklıkla kullanılan teknikler arasında sayılabilir. En çok kullanılan KDV tekniği ise *Osteryoung* voltametrisidir. Bu teknik uygulanan puls periyodunun, yarı puls yüksekliğinin ve uygulanan her puls sonunda gerilimin artması gibi özellikler bakımından diğer tekniklerden farklılık gösterir (Talay Pınar, 2013).

2.1.4. Sıyırma Yöntemleri

Sıyırma yöntemleri, başlangıç basamağı ortak ve kendine özgü olan birçok elektro-kimyasal yöntemi içerir. Bu işlemlerin hepsinde analit, genellikle karıştırılan bir çözeltide öncelikle bir çalışma elektrotunda biriktirilir. Hassas ölçülen süre sonunda elektroliz ve karıştırma durdurulur. Biriken analit başka bir voltametrik yöntem ile tayin edilir. Analitin çalışma elektrotu yüzeyinden çözülmesi veya sıyırılması analiz için ikinci basamağında gerçekleştirilir. Bu yüzden bu yöntemlere sıyırma yöntemleri denir.

Sıyırma yöntemleri, eser element tayininde kayda değer yer tutar. Çünkü eser miktardaki bir analit önderiştirme basamağı sayesinde uygun bir doğrulukla tayin edilebilir. Böylelikle bu kolay ve hızlı yöntemlerle 10^{-6} – 10^{-9} M aralıktaki çözeltilerin analizi mümkün olur (Skoog vd., 2013).

Sıyırma voltametrisinde önemli olan, madde elektrot yüzeyinde biriktirilirken uygulanacak potansiyelin hangi yönde taranması gerektiğidir. Sıyırma anotta gerçekleştirilecekse potansiyel anodik, katotta gerçekleştirilecekse katodik yönde taranır (Kaya, 2014).

Sıyırma voltametri, anodik sıyırma voltametri (ASV), katodik sıyırma voltametri (KSV) ve adsorptif sıyırma voltametri (AdSV) olarak üç gruba ayrılır (Kırkinci, 2016). Anodik sıyırma voltametrisinde çalışma elektrotu biriktirme basamağı sırasında katot olarak, analitin ilk haline yükselttiği sıyırma basamağında anot olarak davranır. Katodik sıyırma voltametrisinde ise çalışma elektrotu biriktirme basamağında anot, sıyırma basamağında katot gibi davranır. AdSV ise anodik ve katodik sıyırma voltametrisine çok benzerdir. AdSV yönteminde çalışma elektrotu, analitin karıştırılan çözeltisine birkaç dakika süreyle batırılır. Sonrasında elektrot yüzeyinde analitin birikimi elektrolitik olarak değil de fiziksel adsorpsiyonla oluşur. Yeterli analit biriktirildikten sonra karıştırma durdurulur. Biriken madde doğrusal taramalı veya puls voltametri metodlarıyla tayin edilir. AdSV, oldukça düşük derişimlerdeki çeşitli organik olmayan katyonların tayinlerinde de kullanılmaktadır (Skoog vd., 2013).

2.2. Parkinson Hastalığı

Parkinsonizm, klinik bir sendrom olarak tremor, rijidite, brakinezi, akinezi ve postüral anormallikler gibi belirtiler ile karakterizedir. Parkinson hastalığı (PH) yavaş ilerleyici nörodejeneratif bir beyin hastalığıdır. Hareket bozukluğu grubu hastalıkları arasında esansiyel tremordan sonra en sık görülen hastalıktır. Parkinson, ortalama 50-60 yaşlarda başlayıp, yaklaşık 10-20 yıllık bir zaman diliminde progresif olarak ilerlemektedir (Çakmur, 2010).

Normal olarak insan beyininde belli bölgelerde dopamin üreten nöronlar vardır. Bu hücreler beyin substantia nigra olarak adlandırılan yerde yoğunlaşmış halde bulunurlar. Dopamin, substantia nigra ile vücut hareketlerini kontrol eden ve diğer beyin bölgeleri arasında mesajlar ileten bir nörotransmitterdir (URL-3, 2018).

2.2.1. Parkinson Hastalığının Tanı ve Tedavisi

Dopamin üreten hücrelerin %60 ila %80'i kayba uğradığında yeterli miktarda dopamin üretilmez ve Parkinson hastalığının motor belirtileri ortaya çıkar. Bu belirtiler sinsi bir şekilde başlar ve yıllar içinde giderek ağırlaşır. Bu dönem zarfında halsizlik, kişilik değişiklikleri bunun yanı sıra motor belirtiler dediğimiz yazma zorluğu, inkoordinasyon, güçsüzlük hissi de oluşur. Hastalığın 4 temel belirtisi olarak;

- I. Tremor
- II. Bradikinezi olarak adlandırılan hareketlerde yavaşlama
- III. Rijidite
- IV. Posturalinstabilite ve yürüme güçlüğü

sayılabilir. Hastalığın ana başlangıcı ise %50 oranında tremor belirtisi şeklindedir. Hastalarda zamanla cilt yağlanması ve bunama da görülebilir. Belirtilerin şiddeti hastadan hastaya değişmektedir (URL-3, 2018; Çakmur, 2010).

Parkinson hastalığının klinik tanısı, hastanın anamnezinin değerlendirilmesi ve nörolojik muayene yapılarak konulur. Tanıyı destekleyen veya kesinleştiren herhangi bir laboratuvar veya radyoloji yöntemi bulunmamaktadır (Schulte vd., 2002).

Hastayı aktif, bağımsız ve kendi başına işini yapabilen hale gelmesini sağlamak bu hastalığın tedavisinin temel amacıdır. PH tedavi yaklaşımlarını dört ana başlıkta toplamak mümkündür.

- Semptomatik tedavi
 - Farmakolojik tedavi
 - Cerrahi yöntemler
- Nöroprotektif tedavi
 - Primer: Oluşumunu önleme
 - Sekonder: Hastalığın ilerlemesinin durdurulması
- Kullanılan ilaçlara bağlı ortaya çıkan komplikasyonların önlenmesi
- Restoratif yaklaşım

Parkinson hastalığında semptomlar motor ve otonomik olmak üzere ikiye ayrılır. Dopamin eksikliğine bağlı semptomlarda tedavi olarak dopamin replasman tedavisi uygulanır. Non-dopaminerjik ilaçlar, motor semptomlara yönelik yeni tedavi seçenekleri içinde yeni yaklaşım imkânları sunmaktadır. Motor olmayan semptomların tedavisinde ise doğal olarak non-dopaminerjik etkili ilaçlar kullanılmaktadır (Erer ve Zarifoğlu, 2008).

2.2.2. Antiparkinson İlaçlar

Günümüzde farmakolojik tedavide antiparkinson ilaç olarak dopamin etkinliğini artıran ilaçlar ve santral etkili antikolinergik ilaçlar kullanılmaktadır. Santral etkili antikolinergik ilaçlar PH'nın semptomatik tedavisinde ilk seçenektir ve kullanımı halen sürdürülen ilaçlardır. Tremor üzerine çok etkilidirler. Biperiden, bornaprin, triheksifenidil gibi ilaçlar PH tedavisinde kullanılan antikolinergiklerden bazılarıdır (Erer ve Zarifoğlu, 2008; URL-4, 2018).

Dopamin etkinliğini artıran ilaç gruplarının başında ise dopamin prekürsörü olan levodopa gelmektedir. Levodopa, PH tedavisinde halen en güvenilir ve en etkili ilaç olma özelliğini sürdürmektedir. Bunun yanında periferik dekarboksilaz inhibitörleri (Karbidoopa, benserazid), monoaminoksidad-B (MAO-B) inhibitörleri (selejinil, rasajilin), katekolamin-O- metil transferaz (KOMT) inhibitörleri (tolkapon, entakapon), dopamin agonistleri gibi gruplar ve amantadin etken maddesi dopaminerjik etkinliği artırıcı ilaç olarak kullanılmaktadır (URL-4, 2018; Cacabelos, 2017).

2.2.3. Dopamin Agonistleri

Dopamin reseptör agonistleri, santral sinir sistemine (SSS)'ne geçerek buradaki post-sinaptik reseptörlerin uyarılmasıyla etkilerini gösteren ilaçlardır. Bu ilaç grubunun iki önemli özelliği vardır. Birincisi levodopadan sonra PH tedavisinde kullanılan en etkili ilaç grubudur. İkincisi ise levodopaya göre daha az motor komplikasyona neden olmaları nedeniyle PH tedavisinde çok tercih edilirler. (Çakmur, 2010).

Dopamin agonistleri tedavide iki amaçla kullanılırlar:

- Özellikle genç hastalarda hastalığın erken dönemlerinde verildiklerinde tedavide levodopaya başlanma süresini 3-5 yıl geciktirirler.
- Hastalığın ilerleyen zamanlarında levodopayla birlikte verildiklerinde ise levodopanın neden olduğu *on-off* (açılma-kapanma) dalgalanmalarını azaltırlar (URL-3, 2018).

Dopamin agonistlerine baktığımızda genel olarak oral yoldan kullanılabilirler. İstisna olarak apomorfin, parenteral ve rotigotin transdermal flaster olarak kullanılır. Dopamin agonistleri yapısal olarak ergot alkaloidi türevi olup olmamasına göre ikiye ayrılmaktadır. Bromokriptin, lisurid, kabergolin ve pergolid ergot alkaloidi türevi; apomorfin, pramipeksol, rotigotin ve ropinirol ise ergot alkaloidi türevi olmayan dopamin agonistleridir (Çakmur, 2010).

2.2.3.1. Apomorfin

Apomorfin (APM), morfin türevi bir dopamin agonisti ilaçtır. Genellikle hemihidrat formunda küçük kristaller şeklinde bulunur. Bu kristaller ışık ve hava etkisiyle yeşil renge dönüşebilirler. Bu nedenle ışık ve hava geçirmeyen kaplarda saklanmalıdır.

Güçlü emetik etkisi vardır ve bundan dolayı bir dönem akut zehirlenmelerde kusturucu olarak kullanılmıştır. Klinik ve farmakolojik olarak levodopaya benzer ancak ondan daha hızlı etki gösterir. Parkinson hastalarının levodopa tedavisine dirençli olup olmadığını belirlemek için teşhis amaçlı kullanılır. İlerlemiş PH hastalarında sabah erken saatlerde görülen motor disfonksiyonun tedavisi için orfan ilaç olarak kullanılmıştır. Ayrıca levodopa tedavisinde öngörülemeyen off (kapanma) dönemleri ortaya çıkan ileri evredeki hastaların stabilize edilmesinde kullanılır (RxMediaPharma, 2018; URL-4, 2018).

2.3.3.2. Bromokriptin

Bromokriptin, ergot alkaloidi türevi bir sentetik dopamin agonistidir. Bromokriptin SSS'de D_2 reseptörlerini stimüle ederken, D_1 reseptörleri üzerine de antagonist etki göstermektedir. Oral yoldan uygulandığında biyoyararlanım yaklaşık %30 civarındadır. Karaciğerde önemli ölçüde presistemik eliminasyona uğrar. Metabolitleri safra yoluyla atılır (RxMediaPharma, 2018).

2.2.3.3. Kabergolin

Kabergolin (CAB), ergolin yapılı sentetik bir dopamin agonistidir. Beyaz toz halinde bulunur. Ön hipofizdeki dopamin D_2 reseptörleri üzerine agonistik etki gösterir. Prolaktin düzeyini doza bağımlı olarak suprese eder. Kabergolin bromokriptine göre dopamin D_2 reseptörleri üzerine 7 kat daha fazla etki eder. Oral yoldan uygulanır ve absorpsiyonunu takiben karaciğerde önemli derecede presistemik eliminasyona uğrar. Plazmada doruk konsantrasyon düzeyine 1-3 saatte ulaşır. Plazmayla karşılaştırıldığında önemli bir kısmı hipofizde bulunmaktadır (RxMediaPharma, 2018).

2.2.3.4. Pramipeksol

Pramipeksol (PRM), diaminerget alkaloidi yapısı taşımayan D_2 ve D_3 dopamin reseptörlerine bağlanan bir dopamin agonistidir. Bromokriptin ve pergolid ile karşılaştırıldığında D_3 dopamin reseptörlerine olan afinitesi daha fazladır. Oral yoldan kullanılır. Mak-

simum konsantrasyona 2 saatte ulaşır. Mutlak biyoyararlanımı %90'dan fazladır. Vücutta yaygın bir şekilde dağılır ve proteinlere bağlanma oranı %15 civarındadır.

PRM, Parkinson hastalığında tek başına veya levodopayla birlikte kullanılır. Çoğu zaman tedavi başlangıcından 2-3 hafta içinde, hastanın motor performansını artırır ve günlük yaşam aktivitesini iyileştirir. Levodopaya bağlı on-off periyodunun süresini kısaltır ya da daha az görülür. Huzursuz bacak sendromunun tedavisinde de kullanılır (RxMediaPharma, 2018; URL-2, 2018).

2.2.3.5. Ropinirol

Ropinirol (ROP), ergot alkaloidi yapısı taşımayan bir dopamin agonistidir. ROP, D₂ ve D₃ dopamin reseptörleri üzerine agonist etki gösterir. D₃ reseptörlere afinitesi daha fazladır. Oral yoldan kullanılır ve hızla absorbe olur. Maksimum plazma konsantrasyonuna 1-2 saat arasında ulaşır. Oral biyoyararlanımı %55 tir (RxMediaPharma, 2018).

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Burada sadece elektroaktif özellik gösteren apomorfin, bromokriptin, kabergolin, pramipeksol ve ropinirolun literatürde yer alan bazı voltametrik çalışmaları ele alınmıştır. Bazı kalibrasyon verileri Tablo 1 de listelenmiştir.

3.1. Apomorfin

Dopamin agonistlerinden biri olan APM'nin oksidasyon yönündeki davranışı, Nafion film modifiyeli camı karbon elektrot (NFCKE) ile adsorptif sıyırma kare dalga voltametri (AdSKDV) yöntemiyle incelenmiştir. Referans elektrot olarak ise Ag/AgCl elektrotu kullanılmıştır. Bu yöntemde yaklaşık 3 dakikalık bir biriktirme süresi kullanılmıştır. Biriktirme potansiyeli daha pozitif yönde arttıkça pik akımının azaldığını göstermiştir. pH 6.0 fosfat tampon (FT) çözeltisi içinde APM için doğrusal bir kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. Doğrusal aralık $3 \times 10^{-8} \text{ M} - 4 \times 10^{-7} \text{ M}$ arasında bulunmuştur. Yakalama alt sınırı (YAS) $3 \times 10^{-9} \text{ M}$, tayin alt sınırı (TAS) değeri $9.9 \times 10^{-9} \text{ M}$ ve korelasyon katsayısı 0.999 olarak tespit edilmiştir. Eğim $1.14 \mu\text{A}/\mu\text{M}$ olarak bulunmuştur (Cheng ve Sun, 2001).

Cheng ve arkadaşlarını yaptığı bir çalışmada APM'nin elektrooksidasyonu karbon pasta elektrot (KPE) kullanılarak DPV yöntemi ile incelenmiştir. Referans elektrot olarak doymuş kalomel elektrot, karşıt elektrot olarak platin tel elektrot kullanılmıştır. Çalışılan tampon ortamı FT'dur (pH:7.00). Doğrusal aralık $10^{-6}-10^{-7} \text{ M}$ bulunmuştur. YAS değeri 10^{-9} M , TAS değeri $3.3 \times 10^{-9} \text{ M}$ bulunmuştur (Cheng vd., 1982).

3.2. Bromokriptin

Dopamin agonisti ilaç etken maddesi olan bromokriptinin CKE elektrokimyasal olarak oksidasyonu DV, DTV ve DPV kullanarak pH 2.0-11.0 aralığında Britton-Robinson tampon (BRT) ortamında incelenmiştir. Oksidasyon prosesi tersinmez ve difüzyon kontrollü davranış göstermiştir. Bu yöntemler içinde DPV ile elde edilen pik akım değerleri DV ve DTV ile elde edilen değerlerden daha büyüktür. Analitik amaçlar için pH 5.0 BRT kullanılmıştır. Pik potansiyeli 0.72 V'ta görülmüştür. DPV yöntemiyle doğrusallık $0.04 \mu\text{g mL}^{-1}$ ile $5.00 \mu\text{g mL}^{-1}$ aralığında, YAS $0.011 \mu\text{g mL}^{-1}$ ve TAS $0.033 \mu\text{g mL}^{-1}$ bulunmuştur. Korelasyon katsayısı 0.999 tespit edilmiştir. DPV ile $0.1 \mu\text{g mL}^{-1}$ bromokriptin içeren tabletlerde %1.44'lük bir bağıl standart sapma ile bromokriptin tayin edilmiştir. Tekrarlanabilirlik $1.0 \mu\text{g mL}^{-1}$ bromokriptin çözeltisinde beş bağımsız çalışma için hesaplanmış ve oldukça kesin sonuçlar alınmıştır (Radi vd., 2004).

3.3. Kabergolin

Dopamin agonisti ilaç etken maddelerinden olan CAB tayini magemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) nanopartikül (NP) modifiye KPE ve nikel modifiye KPE kullanılarak yapılmıştır. $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{NP}/\text{KP}$ elektrotu kabergolinin oksidasyonu üzerinde olağanüstü bir katalitik etkiye sahip olduğu bu çalışmada görülmüştür. Çalışmalar için farklı pH (3.0 ve 8.0 aralığında) değerleri olan FT çözeltileri (0.10 mol L^{-1}) kullanılmıştır. Kabergolinin elektrooksidasyonu tersinmez ve difüzyon kontrollüdür. Doğrusal aralık DV kullanılarak yapılan tayinde $5 - 2700 \mu\text{mol L}^{-1}$ olarak tespit edilmiş, YAS $2.0 \mu\text{mol L}^{-1}$ bulunmuştur. DPV ile yapılan tayinlerde ise doğrusal aralık $0.1-35.0 \mu\text{mol L}^{-1}$, YAS $0.03 \mu\text{mol L}^{-1}$ ve TAS $0.099 \mu\text{mol L}^{-1}$ olarak bulunmuş ayrıca 0.73 V 'da anodik pik gözlenmiştir. Tekrar edilebilirlik çalışmasında %3.6'lık bir BSS tespit edilmiştir. Geri kazanım açısından incelendiğinde ise plazma 1'de ($5 \mu\text{mol L}^{-1}$ kabergolin eklendiğinde) %97, plazma 2'de ($0.5 \mu\text{mol L}^{-1}$ kabergolin eklendiğinde) %96, plazma 3'te ($20 \mu\text{mol L}^{-1}$ kabergolin eklendiğinde) %102.15 geri kazanım elde edilmiştir. Cabaser® tabletlerinde ise 2 mg kabergolin içerenlerde %97.5, 0.5 mg kabergolin içerenlerde %104 ve 1 mg kabergolin içerenlerde ise %105 geri kazanım tespit edilmiştir (Hasanpour vd., 2017).

Tajik ve ark. CAB'in ve levodopanın oksidatif davranışı 1-(4-bromobenzil)-4-ferrorenil-1H-[1,2,3]-triazole/ionic likid modifiye grafen nanosheet pasta elektrot (1,4-BBFT/IL/GPE) kullanarak DV ve SWV yöntemleriyle incelenmiştir. Referans elektrot olarak Ag/AgCl/KCl (3.0 M) kullanılmıştır ve çalışmada FT çözeltisi (pH 7.0) kullanılmıştır. Levodopa için 385 mV 'de, kabergolin için ise 770 mV 'de maksimum anodik pik gözlenmiştir. Kabergoline için kalibrasyon çalışmasında eğim 0.038, korelasyon katsayısı 0.998 tespit edilmiştir. Doğrusallık 5.0×10^{-8} ile $8.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ aralığında elde edilmiştir. Kabergolin için YAS $1.5 \times 10^{-8} \text{ M}$, TAS $4.5 \times 10^{-8} \text{ M}$ bulunmuştur. Cabergoline® tablet (her tablet 0.5 mg CAB içerir) kullanılarak yapılan CAB tayininde %BSS 3.1 bulunmuştur. İnsan serum ve idrar örnekleri kullanılarak yapılan CAB tayininde % geri kazanım dört farklı konsantrasyon için sırası ile 98.5-101.2 ve 97.5-102.0 aralığında belirlenmiştir. Bu verilere göre hazırlanan modifiye elektrot ile kabergolinin tayini fizyolojik numunelerden ve dozaj formlarından memnun edici sonuçlarla yapılmıştır (Tajik vd., 2014).

Kabergolin için yapılan çalışmaların bir diğesinde ise CAB'in oksidasyon yönündeki davranışını incelemek için grafen modifiye camı karbon elektrotu (GR/CKE) geliştirilmiştir. Etil alkoldeki BRT'u pH 4.5 ortamında DV ve KDV teknikleri kullanılmıştır. Referans elektrot olarak Ag/AgCl (3 M KCl), yardımcı elektrot olarak da grafit çubuk kullanılmıştır. Reaksiyon tersinmez ve difüzyon kontrollüdür. Optimize koşullar altında, KDV ile doğrusallık $0.2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ile $5.2 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyon aralığında, ($r=0.996$) 5.441 ng mL^{-1} YAS, $18.137 \text{ ng mL}^{-1}$ TAS ile belirlenmiştir. Eğim $0.293 \mu\text{g mL}^{-1}$ bulunmuştur. Cabergolin ticari tablet formu kullanılarak yapılan gerikazanım çalışmasında %98.6 ile %100.8 arasında memnun edici sonuçlarla kabergolin tayini yapılmıştır (Jain ve Sinha, 2014).

3.4. Pramipeksol

Dopamin agonisti etken maddelerden biri olan PRX, DV ve DPV yöntemleri kullanılarak incelenmiştir. Çalışma elektrotu olarak TiO_2 nanopartikül modifiye KPE, yardımcı elektrot olarak platin tel ve referans elektrotu olarak da Ag/AgCl/KCl (3 mol L^{-1}) kullanılmıştır. Optimize edilmiş deneysel koşullar altında modifiye edilmiş elektrot, PRX'in elektrooksidasyonu için pH 5.0 FT'unda mükemmel elektrokatalitik etki ile 0.9 V 'da hassas bir oksidasyon piki göstermiştir. Difüzyon kontrollü ve tersinmez bir oksidasyon reaksiyonu olduğu tespit edilmiştir. Doğrusal aralık $0.46 - 100 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($r=0.994$), YAS $0.14 \mu\text{mol L}^{-1}$, TAS $0.46 \mu\text{mol L}^{-1}$, bulunmuştur. Bu çalışmada modifiye elektrotun tekrar edilebilirliğinin iyi olduğu bulunmuştur. 0.35 mg PRX içeren tabletlerde %97.67, 0.7 mg PRX içeren tabletlerde %102.32 geri kazanım sağlanmıştır. 0.35 mg PRX içeren tabletlerde %BSS %3.86

iken, 0.7 mg PRX içeren tabletlerde %3.23 bulunmuştur. İnsan serum numunelerinde ise $15 \mu\text{mol L}^{-1}$ PRX eklendiğinde %99.33 geri kazanım elde edilmiştir. Önerilen yöntem basit, hızlı ve ucuz ve ayrıca PRX için iyi seçicilik ve duyarlılık gösterdiği tespit edilmiştir (Hasanijad-Darzi ve Shajie, 2017).

Bir başka çalışmada PRX'in oksidasyon yönündeki davranışı fonksiyonlu ÇDKNT ile modifiye edilmiş CKE (f-ÇDKNT/CKE) ve çıplak CKE ile DV, DPV ve AdSDPV yöntemleriyle incelenmiştir. Reaksiyon tersinmezdir ve adsorpsiyon kontrollüdür. Çalışma elektrotu olarak CKE ve f-MWCNT/CKE, referans elektrot olarak Ag/AgCl elektrotu, yardımcı elektrot olarak platin tel elektrot kullanılmıştır. En iyi pik şekilleri ve tekrarlanabilir sonuçlar, çıplak CKE için pH 2.0 BRT içinde ve f-ÇDKNT/CKE için pH 3.0 FT çözeltisinde elde edilmiştir. Biriktirme süresi ve potansiyeli çıplak CKE için 0.0 V, 60 s ve f-ÇDKNT/CKE için ise 0.1 V ve 150 s olarak belirlenmiştir. Doğrusal aralık çıplak CKE için 8.0×10^{-9} - 4.0×10^{-7} M, f-MWCNT/CKE için 1.32×10^{-8} - 6.60×10^{-7} M bulunmuştur. YAS çıplak CKE için 2.38×10^{-10} M, f-MWCNT/CKE için 1.06×10^{-10} M, TAS çıplak CKE için 7.93×10^{-10} M f-MWCNT/CKE için 3.52×10^{-10} M bulunmuştur. % Geri kazanım çıplak CKE için %100.84, f-MWCNT/CKE için %100.17 bulunmuştur. Pik akımı ve pik potansiyeli için yapılan gün içi ve günlerarası tekrarlanabilirlik çalışmalarında son derece başarılı sonuçlar alınmıştır. Geliştirilen yöntemler PRX'in farmasötik dozaj formlarına (Ramipex® tabletler) uygulanmış ve oldukça memnun edici sonuçlar alındığı görülmüştür (Bozal Palabiyik ve Uslu, 2016).

Bir başka çalışmada PRX tespiti için 1,1,3,3-tetrametildisilazan ve olan fonksiyonel-leştirilmiş çok duvarlı karbon nanotüp camısı karbon elektrot (TMDS-ÇDKNT/CKE) kullanılmıştır. Referans elektrot olarak Ag/AgCl/KCl (3M), yardımcı elektrot olarak platin tel kullanılmıştır. PRX'in oksidasyon reaksiyonu tersinmez ve difüzyon kontrollüdür. Analitik çalışmalar için FT ortamı pH 6.00 seçilmiştir. DPV yöntemi ile doğrusallık 0.8 ile 600 μM aralığında, YAS 0.2 μM ve TAS 0.66 μM belirlenmiştir. Ayrıca TMDS-ÇDKNT/CKE, tabletler ve insan kan serum örneklerinde PRX tespiti için kullanılmıştır. Geliştirilen yöntem ile PRX'in tablet dozaj formlarından ekspiyanlar ile herhangi bir etkileşim olmadan, PRX'in miktarının belirlenmesi başarıyla gerçekleştirilmiştir. Tabletler kullunılarak yapılan geri kazanım çalışmasında %gerikazanım ve BSS değerleri sırasıyla %96 ve 1.4'tür. İnsan kan serumuna bilinen miktarda saf PRX eklenmiştir ve elde edilen %geri kazanım ve BSS sırasıyla %92.0 - 96.0 ve %1.4 - 2.8 aralığında bulunmuştur. Sonuçlar, önerilen yöntemin çözeltilerdeki ilaç konsantrasyonundaki küçük değişiklikleri doğru bir şekilde belirleyebildiğini ortaya koymuştur (Amirighadi vd., 2017).

3.5. Ropinirol

Dopamin agonistlerinden biri olan ROP'u farmasötik ve biyolojik numunelerden analiz etmek için yüksek seçicilik sunan nanoyapılı bir elektrokimyasal sensör olan karbon nanotüp - nafion polimer filmi modifiye camısı karbon elektrot (KNT/NAF/CKE) geliştirilmiştir. Çalışmada CV, KDV ve AdSKDV yöntemi kullanılmıştır. Referans elektrot olarak Ag/AgCl (3M KCl) ve karşıt elektrot olarak platin tel elektrot kullanılmıştır. ROP'un oksidasyon reaksiyonu tersinmez ve adsorpsiyon kontrollüdür. AdSKDV için optimum biriktirme pik potansiyeli ve süresi 0.0 V ve 240 s olarak belirlenmiştir. Doğrusal aralık AdSKDV yöntemi ile 1×10^{-7} M - 1.5×10^{-6} M, KDV yöntemi ile 1×10^{-6} M - 5×10^{-5} M olarak bulunmuştur. YAS değeri AdSKDV yöntemi ile 1.6×10^{-8} M, KDV yöntemi ile 2.6×10^{-7} M; TAS değeri AdSKDV yöntemi ile 5.5×10^{-8} M, KDV yöntemi ile 8.7×10^{-7} M bulunmuştur. KNT/NAF/CKE kullanılarak serum numunelerinden geri kazanım çalışmasında %gerikazanım KDV yöntemi ile 99.2 ve AdSKDV yöntemiyle 99.6 bulunmuştur. Farmasötik dozaj şekillerinde %BSS, KDV yöntemi ile 1.16 bulunmuştur. Bu çalışma geliştirilen elektrokimyasal sensörün, ROP'un voltametrik tayini için yüksek duyarlı ve seçici analitik bir sensör olduğunu göstermiştir (Sadikovic vd., 2014).

Dopamin agonistlerinden biri olan ROP'un elektrooksidatif davranışı DPV ile araştırılmıştır. Çalışma elektrotu olarak KPE, sezyum ile doplanmış KPE kullanılmıştır. Platin tel yardımcı elektrot olarak, Ag/AgCl referans elektrot olarak kullanılmıştır. Reaksiyon tersinmez ve difüzyon kontrollüdür. pH taramasında çalışma ortamı olarak BRT için pH 7.0 seçilmiştir. DPV ile sezyum ile doplanmış KPE kullanılarak doğrusal aralık, 0.6×10^{-7} - 1.6×10^{-4} M olarak bulunmuştur. YAS ve TAS değerleri sırasıyla 9.30×10^{-9} M ve 3.10×10^{-8} M bulunmuştur. Eğim 0.0824 ve korelasyon katsayısı 0.999'tir. DPV yöntemi, Tremodect® tabletindeki ROP tespiti için başarıyla uygulanmıştır ve %geri kazanım ve %BSS 99.80 ve 0.733 olarak elde edilmiştir. Alkol katılan idrar ortamındaki doğrusallık 5×10^{-6} - 1.6×10^{-4} M ($r=0.999$) aralığında elde edilmiştir. YAS ve TAS sırasıyla 6.12×10^{-7} ve 2.04×10^{-6} M bulunmuştur. Sonuçlardan, geniş bir konsantrasyon aralığında DPV yöntemi ile ROP'un tayin edilebileceği görülmüştür (Salama vd., 2017).

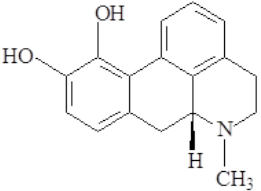
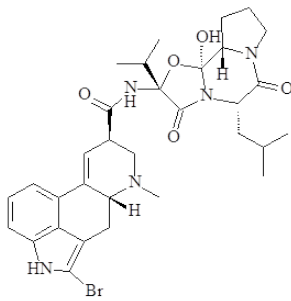
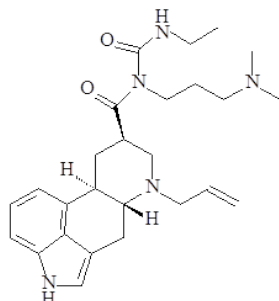
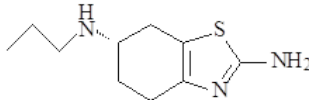
Nigovic ve arkadaşları ropinirolün oksidasyon davranışını, DV, KDV ve DPV yöntemleri ile CKE kullanılarak araştırmışlardır. Reaksiyon tersinmez ve difüzyon kontrollüdür. +1.27 V'de iyi tanımlanmış anodik bir pik gözlenmiştir. En iyi cevap alınan tampon ortamı 0.1 M H₂SO₄ olarak belirlenmiştir. KDV kullanılarak yapılan çalışmalarda doğrusal aralık 1×10^{-6} - 2×10^{-5} M, YAS 2.5×10^{-7} M, TAS 8.3×10^{-7} M elde edilmiştir. Tekrarlanabilirlik için % BSS 2.35 ve tekrar elde edilebilirlik için % BSS 2.63 olarak bulunmuştur. DPV kullanılarak yapılan çalışmalarda doğrusal aralık 5×10^{-7} - 2×10^{-5} M, YAS 1.1×10^{-7} M, TAS 3.7×10^{-7} M elde edilmiştir. Tekrarlanabilirlik için % BSS 1.75 ve tekrar elde edilebilirlik için %BSS 2.26 olarak bulunmuştur. Çalışmalar için kullanılan tabletlerde (Requip® film kaplı tabletler) geri kazanım KDV'de %99.6, DPV'de % 99.4 bulunmuştur (Nigovic vd., 2012).

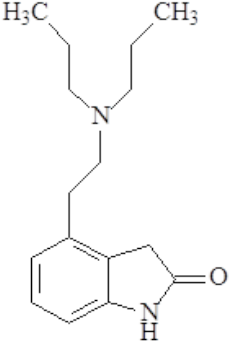
4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu araştırma projesi kapsamında yapılan literatür taraması sonucu elektroaktif özellik gösteren antiparkinson ilaç grubunun bir alt grubu olan dopamin agonisti etken maddelerin modifiye edilmiş/edilmemiş elektrotlar kullanılarak voltametrik yöntemlerle analizlerinin yapıldığı makaleler incelenmiştir. Bu makalelerde analiz edilen etken maddeler, apomorfin, bromokriptin, kabergolin, pramipeksol ve ropinirol'dür. Makalelerde incelenen voltametrik yöntemler ise; doğrusal taramalı voltametri, dönüşümlü voltametri, diferansiyel puls voltametri, kare dalga voltametri, adsorptif sıyırma diferansiyel puls voltametrisi ve adsorptif sıyırma kare dalga voltametrisidir.

İncelediğimiz ilaç etken maddelerinin literatürdeki yapılan ayrıntılı miktar tayininde kullanılan voltametrik yöntemler, bu yöntemlerde kullanılan çalışma elektrotları, uygulanan yöntemlerin doğrusal çalışma aralıkları, yakalama alt sınırları, tayin limitleri, geri kazanım çalışmaları bakımından incelenmiş, sonuçlar birbiriyle kıyaslanarak yorumlanıp ortaya konulmuştur.

Makalelerde incelenen ilaç etken maddelerin analizi en fazla DPV yöntemi kullanıldığı görülmüştür. İncelenen çalışmalarda da görüldüğü gibi çok düşük miktarlarda biyolojik numune veya farmasötik dozaj formuna ait numunelerin miktar tayini edilmesine olanak sağlaması ve herhangi bir ayırma işlemi yapılmadan direk numuneden miktar tayini işlemi yapabilmesi voltametrik yöntemten en büyük avantajlarından. Çalışma elektrotunun modifiye edilmesi ile yöntemin duyarlılığı ve seçiciliğinin arttığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak, voltametrik yöntemler basit uygulanabilir, duyarlı, doğru, seçici ve düşük maliyetli oluşu açısından diğer analitik yöntemlerle (örneğin; HPLC, GC-MS vb.) kıyaslanabilir olduğu ve alternatif olarak kullanılabileceği açıktır.

Etken Madde	Yöntem	Çalışma Elektrotu	Doğrusal Aralık (M)	LOD (M)	LOQ (M)	Kaynak
Apomorfin 	AdSKDV	NFCKE	$3 \times 10^{-8} - 4 \times 10^{-7}$	3×10^{-9}	9.9×10^{-9}	(Cheng ve Sun, 2001)
	DPV	KPE	$10^{-6} - 10^{-7}$	10^{-9}	3.3×10^{-9}	(Cheng vd., 1982)
Bromokriptin 	DPV	CKE	$1.09 \times 10^{-7} - 1.37 \times 10^{-5}$	2.74×10^{-8}	9.05×10^{-8}	(Radi vd., 2004)
Kabergolin 	DV	γ -Fe ₂ O ₃ NP/ KPE	$5 \times 10^{-6} - 27 \times 10^{-4}$	2×10^{-6}	6.6×10^{-6}	(Hasanpour vd., 2017)
	DPV		$0.1 \times 10^{-6} - 35 \times 10^{-6}$	0.03×10^{-6}	0.099×10^{-6}	
	KDV	1,4- BBFT/ GPE	$5 \times 10^{-8} - 8.0 \times 10^{-4}$	1.5×10^{-8}	4.5×10^{-8}	(Tajik vd., 2014)
	KDV	Grafen modifiye CKE	$4.4 \times 10^{-7} - 1.1 \times 10^{-5}$	1.2×10^{-8}	4.0×10^{-8}	(Jain ve Sinha, 2014)
Pramipeksol 	DPV	TiO ₂ NP/KPE	$0.46 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-4}$	0.14×10^{-6}	0.46×10^{-6}	(Hassaninejad-Darzi ve Shajie, 2017)
	AdSDPV	CKE	$8.0 \times 10^{-9} - 4.0 \times 10^{-7}$	2.38×10^{-10}	7.93×10^{-10}	(Bozal Palabiyik ve Uslu, 2016)
		f-MWCNT / CKE	$1.32 \times 10^{-8} - 6.6 \times 10^{-7}$	1.06×10^{-10}	3.52×10^{-10}	
DPV	TMDS-ÇDKNT/CKE	$8 \times 10^{-7} - 6 \times 10^{-4}$	2.0×10^{-7}	6.6×10^{-7}	(Amirighadi vd., 2017)	

<p>Ropinirol</p> 	AdSKDV	KNT-NAF/ CKE	$1 \times 10^{-7} \text{M} - 1.5 \times 10^{-6}$	1.6×10^{-8}	5.5×10^{-8}	(Sadikovic vd., 2014)
	KDV			$1 \times 10^{-6} \text{M} - 5 \times 10^{-5}$	2.6×10^{-7}	
	DPV	Sezyum ile doplanmış KPE	$0.6 \times 10^{-7} - 1.6 \times 10^{-4}$	9.30×10^{-9}	3.10×10^{-8}	(Salama vd., 2017)
	KDV	CKE	$1 \times 10^{-6} - 2 \times 10^{-5}$	2.5×10^{-7}	8.3×10^{-7}	
DPV	$5 \times 10^{-7} - 2 \times 10^{-5}$		1.1×10^{-7}	3.7×10^{-7}	(Nigovic vd., 2012)	

Tablo 1. Etken maddelerin ve voltametrik yöntemlere ait verileri

5. KAYNAKLAR

- Amirighadi, S., Raof, J., B., Chekin, F. ve Ojani, R., 2017. A Sensitive Voltammetric Detection of Pramipexole Based on 1,1,3,3-Tetramethyldisilazane-carbon Nanotube Modified Electrode, Elsevier B.V. Materials Science and Engineering C, 75, 784-790.
- Asıladağ, M., 2006. Laktik Asidin Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ç.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Benbir, G., Demirkök, S., S. ve Ertan, S., 2008. Dopamin Agonistlerinin Önemli Bir Yan Etkisi: Akciğer Fibrozu, Solunum, 10, 147-152.
- Bozal Palabiyik, B. ve Uslu, B., 2016. Comparative Study for Voltammetric Investigation and Trace Determination of Pramipexole at Bare and Carbon Nanotube-Modified Glassy Carbon Electrodes, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Ionics, 22, 2519-2528.
- Cacabelos, R., 2017. Parkinson's Disease: From Pathogenesis to Pharmacogenomics, International Journal of Molecular Sciences, 18, 551, 1-28.
- Cheng, H., L. ve Sun, I., W., 2001. Square-Wave Voltammetric Detection of Apomorphine on a Nafion Film Modified Glassy Carbon Electrode, Electroanalysis, 13, 18, 1544-1546.
- Cheng, H., Y., Falat, L. ve Li, R., L., 1982. Preconcentration of Phenanthrenequinone-like Compounds for Electrochemical Determination at a Carbon Paste Electrode via Spontaneous Adsorption, Analytical Chemistry, 54, 1984-1388.
- Çakmur, R., 2010. Parkinson Hastalığı ve Medikal Tedavisi, Klinik Gelişim Dergisi, 1, 53-60.
- Çeliker, Ö., 2015. İdiopatik Parkinson Hastalığında STN ve GPİ Derin Beyin Stimülasyonunun Motor Semptomlar, Non-motor Semptomlar ve Denge Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi, Uzmanlık Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Denizli.
- Demirci, Ş. ve Alsancak Özkan, G., 1998. Analitik Kimya Temel Kavramlar, A.Ü.F.F Döner Sermaye İşletmesi Yayınları, No. 34, Ankara, 1 s.
- Doğan, B., 2016. Parkinson Hastalığında Tanıda Kullanılabilecek Genetik Markerler (Belirteçler), Yüksek Lisans Tezi, Turgut Özal Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

12. Duman, E., 2014. Sodyum Siklamat Yokluğunda ve Varlığında Okzasilinin Cu(2) ve Co(2) İyonları ile Etkileşiminin Voltametrik İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, O.M.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
13. Erdoğan Kablan, S., 2015. Sefuroksim Aksetil' in Voltametrik Davranışlarının İncelenmesi ve Elektroanalitik Yöntemlerle Farmasötik Preparatlardan Analizi, Yüksek Lisans Tezi, H.Ü., Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
14. Erer, S. ve Zarifoğlu, M., 2008. Parkinson Hastalığında Güncel Medikal Tedavi Yaklaşımları, Parkinson Hastalığı ve Hareket Bozuklukları Dergisi, 11, 1, 45-56.
15. Hasanpour, F., Taei, M., Banitaba, S., H. ve Heidari, M., 2017. Template Synthesis of Maghemite Nanoparticle in Carboxymethyl Cellulose and Its Application for Electrochemical Cabergoline Sensing, Elsevier B.V. Materials Science and Engineering C, 76, 88-93.
16. Hassaninejad-Darzi, S., K. ve Shajie, F., 2017. A Sensitive Voltammetric Determination of Anti-Parkinson Drug Pramipexole Using Titanium Dioxide Nanoparticles Modified Carbon Paste Electrode, Journal of Brazilian Chemical Society, 28, 4, 529-539.
17. Jain, R. ve Sinha, A., 2014. A Graphene Based Sensor for Sensitive Voltammetric Quantification of Cabergoline, Journal of The Electrochemical Society, 161, 314-320.
18. Kaya, B., 2014. Antipsikotik İlaç Ketiapin Fumaratın Karbon Nanotüp Modifiyeli Camısı Karbon Elektrot ile Elektrokimyasal Analizi, Yüksek Lisans Tezi, K.T.Ü., Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
19. Kırkinci, Y., S., 2016. Sakkarin Varlığında ve Yokluğunda Mefenamik Asit ile Cd(2) ve Cu(2) İyonları Arasındaki Etkileşimin Voltametrik Yöntemle İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, On Dokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
20. Nigovic, B., Juric, S., Mornar, A. ve Malenica, I., 2012. Electrochemical Studies of Ropinirole, an Anti-Parkinson's Disease Drug, Indian Academy of Sciences, 125, 5, 1197-1205.
21. Öztürk, K. ve Çelik, Z., 2017. Voltametrik Yöntemlerde Kullanılan Katı Elektrotlar ve Antihipertansif İlaçların Tayininde Kullanımı, Araştırma Projesi, K.T.Ü., Eczacılık Fakültesi, Trabzon.
22. Radi, A., El-Shahawi, M., S. ve Elmogy, T., 2004. Differential Pulse Voltammetric Determination of the Dopaminergic Agonist Bromocriptine at Glassy Carbon Electrode, Elsevier B.V. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 37, 195-198.
23. RxMediaPharma, 2018.
24. Sadikovic, M., Nigovic, B., Juric, S. ve Mornar, A., 2014. Voltammetric Determination of Ropinirole in the Presence of Levodopa at the Surface of A Carbon Nanotubes Based Electrochemical Sensor in Pharmaceuticals and Human Serum, Elsevier Journal of Electroanalytical Chemistry, 733, 60-68.
25. Salama, N., N., Zaazaa, H., E., Azab, S., M., Atty, S., A., El-Kosy, N., M. ve Salem, M., Y., 2017. A Novel Cesium Modified Carbon Paste Electrode for Rapid Selective Determination of Ropinirole in Presence of Co-administered and Interference Substances, Sensors and Actuators B, 240, 1291-1301.
26. Schulte, T., Schöls, L., Müller, T., Voitalla, D., Berger, K. ve Krüger, R., 2002. Polymorphisms in the Interleukin-1 Alpha and Beta Genes and the Risk for Parkinson's Disease, NeurosciLett., 326, 70, 2-5.
27. Skoog, D., A., West, D., M., Holler, F., J. ve Crouch, S., R., 2004. Analitik Kimya Temel İlkeler (Fundamentals of Analytical Chemistry), Bilim Yayıncılık, Sekizinci Baskı, Cilt No. 1, Ankara, 694 s.

28. Skoog, D., A., Holler, F., J. ve Crouch, S., R., 2013. Enstrümantal Analiz İlkeleri (Principles of Instrumental Analysis), Bilim Yayıncılık, Altıncı Baskı, Ankara, 748 s.
29. Süslü, İ., 2004. Astım Tedavisinde Kullanılan Zafirlukastın Elektrokimyasal ve Kromatografik Yöntemler ile Farmasötik Preparatlardan ve Biyolojik Materyallerden Analizi, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
30. Tajik, S., Taher, M., A. ve Beitollahi, H., 2014. First Report for Electrochemical Determination of Levodopa and Cabergoline: Application for Determination of Levodopa and Cabergoline in Human Serum, Urine and Pharmaceutical Formulations, *Electroanalysis*, 26, 796-806.
31. Talay Pınar, P., 2013. Bazı Nörokimyasal Bileşiklerin Beyin Dokusundan Voltametri Yöntemiyle Tayini, Doktora Tezi, Y.Y.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
32. Tekin, S., 2008. Platin Elektrot Yüzeylerine Tutturulmuş Organik Moleküllerin Elektrokimyasal Tekniklerle pKa Değerlerinin Tayini, Yüksek Lisans Tezi, A.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
33. Yanık, S., 2014. Naproksen'in Voltametri ve Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Teknikleri ile İlaç Dozaj Formlarından Miktarının Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ç.O.M.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
34. Yılmaz, S., 2012. Uygulama Örnekleriyle Elektroanalitik Kimya, Kriter Yayınları, İkinci Baskı, İstanbul, 204 s.
35. URL-1, <http://www.analitik.hacettepe.edu.tr/Demolar/elektrokim.pdf>. 28.03.2018.
36. URL-2, www.drugbank.ca/drugs/DB00413. 20.12.2018.
37. URL-3, www.parkinsonderneği.com/parkinson-nedir/. 22.12.2018.
38. URL-4, www.slideshare.net/yasindogan338/parkinson-26827958. 22.12.2018.

Kovandaki Mucize: Bal

Semiramis KARLIDAĞ¹
Merve KESKİN²
Selim ERDOĞAN³
Şaban KESKİN⁴

CHAPTER 2

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Malatya, Türkiye

² Dr., Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Bilecik, Türkiye

³ Prof. Dr., İnönü Üniversitesi, Malatya, Türkiye

⁴ Dr., Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Bilecik, Türkiye

GİRİŞ

Bal, bitkilerin çiçeklerinde bulunan nektarın ya da bazı bitkilerin üzerinde yaşayan böceklerin çıkardığı tatlı salgıların bal arıları tarafından toplanıp, değişime uğratılarak petek gözlerinde depoladığı, tatlı ve insanlar tarafından doğal olarak tüketilen bir gıdadır (Tutkun, 2006; Tuzen ve ark., 2007).

Balın bileşimini etkileyen en önemli faktör bitkinin kaynağı olmakla birlikte bu bileşim mevsime ve iklim şartlarına bağlı olarak ta değişmektedir (Hasan, 2013). Bal, kaynağına göre çiçek veya salgı balı olarak sınıflandırılır. Salgı balı, çam ağaçlarında beslenen bitki emici böceklerin (*Marchalina hellenica*) salgılarından bal arıları tarafından üretilmektedir. Türkiye’de salgı balı üretimi, toplam çiçek bal üretiminin bir kısmını oluşturmaktadır (Turhan ve ark., 2008).

Bal iki monosakkaritin (glukoz ve fruktoz) yoğunlaşmış bir karışımı olmakla birlikte 25 farklı oligosakkarit içermektedir. Aynı zamanda çeşitli mineraller, proteinler, vitaminler, organik asitler, flavonoidler, fenolik asitler, enzimler ve diğer bileşenlerden oluşmaktadır (Bertoncelj ve ark., 2007; Karadal ve Yıldırım, 2012).

Farklı botanik kaynaklardan elde edilen ballarda farklı renk, tat ve kompozisyonlar gözlenebilmektedir (Karadal ve Yıldırım, 2012). Türkiye’de unifloral ve multifloral bal üretimi çok yaygın olup, farklı işleme metotları balın kalitesini etkilemektedir. Depolama şartları ve süresi, hasat ve süzme işlemleri ile ısıtma balın yapısını değiştirebilmektedir. Aynı bölgeden hasat edilen balların bile kimyasal yapısı depolama süresine bağlı olarak farklılaşabilmektedir (Kolaylı ve ark., 2008; Silici, 2004).

Balda Kristalizasyon

Balın en önemli fiziksel kalite kriteri kristalize olmasıdır. Kristalizasyon doğal bir süreçtir ve kristalize bal ile sıvı bal arasında besin değeri açısından bir farklılık yoktur. Bal içerisinde glukoz ve fruktoz eşit oranlarda bulunur. Glukozun düşük çözünürlüğü kristalleşmesine olanak sağlamaktadır. Glukoz 50 °C’nin altında α -D- glukoz mono hidrat kristalleri, 50-80 °C arasında susuz formda ve 80 °C’nin üzerinde ise β susuz formu ile kararlı haldedir (Khalil, Sulaiman, & Gan, 2010; CastroVázquez, Díaz-Maroto, González-Viñas, De La Fuente, & Pérez-Coello, 2008). Fruktoz ile doyurulmuş çözeltilerde, glukoz mono hidratın susuz forma geçişinin 30 °C’nin altında olduğu tespit edilmiştir (Doner, 1977). Bununla birlikte bal 30 °C’nin altında kristalleşmektedir. Baldaki glukozun kristalleşmesi seyreltilmiş amorf çözeltide çözünür katı eksilmesine ve su aktivitesinin artmasına neden olur (Venir ve ark., 2010). Aslında çözünme olduğunda, glukoz mono hidrat formunda beş hidroksil grubu da su ile etkileşime geçer ve her glukoz molekülü sadece bir su molekülü ile etkileşir ve böylelikle su aktivitesi kritik dönüm noktası olan ve mikrobiyal kararlılığın sağlandığı 0,60 civarına yükselebilir (VandDemark ve Batzing, 1987).

Balda kristalizasyona birçok faktör etki eder. Balın nem ve dekstrin içeriği, su aktivitesi, bal içinde mikro kristallerin varlığı, muhafaza sıcaklığı ve önceden uygulanan ısı işlemleri bunlardan bazılarıdır. Süzme sırasında bal içerisinde kalan partiküller ve hava kabarcıkları kristalizasyonu arttırıcı faktörlerdir (Tosi ve ark., 2004). Glukoz/su oranı ve fruktoz/glukoz oranı da kristalizasyonu etkiler. Fruktoz/glukoz 1.0-1.2 arasıdayken kristalizasyon çabuk olurken, bu oran 1.3 veya daha fazlaysa kristalizasyon gecikmektedir (Ruoff, 2006).

Isıl İşlem ve Hidroksimetil Furfural (HMF)

Balda bulunan mikroorganizmaları yok etmek (Turkmen ve ark., 2006) ve balın işlenmesi sırasında, balı kristalizasyon ve fermantasyondan korumak, ekstraksiyon ve filtrasyonu kolaylaştırmak ve balın viskozitesini arttırmak için ısı işlem uygulanması gerekmektedir. Isıl işleminin süresi ve derecesi kontrol edilmelidir. Isıl işlem baldaki enzimlerin

kaybına ve hidroksimetil furfural (HMF) miktarının artmasına, dolayısıyla balın tazeliğini kaybetmesine sebep olmaktadır (Tosi ve ark., 2004). Depolama sırasında balın koyulaşması, Maillard reaksiyonundan, fruktoz karamelizasyonundan ve polifenollerin reaksiyonlarından kaynaklanabilmektedir. Koyulaşma derecesi, sıcaklığa ve/veya depolama zamanına bağlı olarak değişmektedir (Bertoncelj ve ark., 2007).

Balda bulunan kalite belirleyici maddeler arasında en ilginç olanı çeşitli enzimlerdir. Isıya karşı duyarlı olmalarından dolayı enzimler özellikle beslenme açısından bal kalitesinin belirleyicisi olarak kullanılırlar. Saf ve hiçbir şekilde ısıtılmamış balda enzim miktarı oldukça fazladır. Özellikle diyastaz enzimi ısıya karşı dayanıksız olduğundan balda yapılabilecek herhangi bir ısıl işlem veya tağşiş, bu enzim miktarında meydana gelen azalma ile belirlenebilir (Tutkun, 2006).

Bala ısıl işlem genellikle balın ya 4-7 gün süreyle 45-50 °C'de hava-soğutmalı odalarda ya da sıcak su içinde tutulması şeklinde iki farklı yolla uygulanmaktadır. HMF, pişirme ya da sterilizasyon esnasında gıdalara uygulanan ısı işlemleri sonucu, indirgen şekerlerin aminoasitlerle oluşturduğu, enzimatik olmayan esmerleşme (Maillard) reaksiyonu ya da heksozların asit katalizörlüğünde dehidrasyonu sonucunda oluşan bir üründür. Bu reaksiyon ürünlerinin mutagenik veya antimutagenik olduğu bilinmemektedir (Turkmen ve ark., 2006).

Balın bileşiminde var olan fruktozun parçalanması ile açığa çıkan bir bileşik olan HMF'nin miktarı balın kalitesi hakkında gerçek bir ölçüt özelliğini taşımaktadır. Çünkü hasat sonrası bala uygulanan ısıl işlem sonrasında fruktozun parçalanması hızlanmakta ve HMF miktarı artmaktadır. Dolayısı ile HMF miktarının artması balın kalitesinin düştüğünün göstergesidir. HMF balda 40 mg/kg sınırını aşmamalıdır (Tosi ve ark., 2001; Tutkun, 2006).

Antioksidan aktivite değişim kinetiklerini tespit etmek amacıyla 12 gün boyunca farklı sıcaklıklarda (50, 60 ve 70 °C) ısıtılmış balda DPPH radikal ve kahverengi pigment oluşumu (BPF) değerlendirilmiş ve antioksidan aktivite ile BPF'nin, ısıl işlem ve zamana bağlı olarak arttığı belirlenmiştir (Turkmen ve ark., 2006). Letonya'nın farklı bölgelerinden toplanan çiçek ballarına depolamanın ve ısıl işlem uygulamasının balın kalitesine etkisini incelemek amacıyla yapılan bir başka çalışmada (Diminš ve ark., 2006), indirgen şeker (%73,7-82,8), sakaroz (%0,8-3,5), nem (%15,8-20,02), prolin (211-1843 mg.kg⁻¹), HMF (7,1-15,0 mg.kg⁻¹), invertaz enzim aktivitesi (41,4-171,1 IU), glukoz oksidaz enzim aktivitesi (32-125 mg.kg⁻¹), toplam asitlik (11-37 mval.kg⁻¹), pH (3,95-4,62) ve yükseltgeme-indirgeme potansiyeli (70-183 mv) bulunmuştur. Yapılan bu çalışmada kullanılan balların kalitesinin yüksek, doğal ve olgunlaşmış olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca hem ısıl işlem ve hem de balın depolanması esnasında HMF'nin arttığı, invertaz ve glukoz oksidaz enzim aktivitelerinin ise azaldığı bildirilmiştir.

Yüksek ısı kısa zaman uygulamalarının balda oluşabilecek kristalizasyonu geciktirdiği ancak bu durumun balın glukoz, fruktoz ve su oranlarına bağlı olduğu bildirilmiştir. Bu amaçla yapılan bir çalışmada HMF içeriği, diyastaz aktivitesi, kristalleşme başlangıç zamanı, nem, fruktoz, glukoz ve asitlik belirlenmiştir. Kısa zaman ve izotermal ısıl işlem 60 ile 15 s ve 30 ile 10 s süreyle 140 °C ve 80 °C'de ısıl işlem uygulanmış ve ısıya en duyarlı parametrenin diyastaz sayısı olduğu belirtilmiştir (Tosi ve ark., 2004).

Mutedil sıcaklıklarda salgı ve çiçek ballarına izotermal ısıl işlem uygulanmasının HMF içeriğine etkisini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada (Turhan ve ark., 2008), su içeriği, formol sayısı, toplam asitlik, pH değeri ve mineral miktarları her iki bal tipinde belirlenmiş ve HMF oranının artmasının ısıl işlemde ziyade depolama şartlarına bağlı olabileceği vurgulanmıştır.

Irak'ın farklı üç bölgesinden (Haj-Umran, Shaqlawa, Sedacan) toplanan ballarda ısıl işlem ve depolama şartlarının diyastaz sayısı, invertaz sayısı ve HMF üzerine etkisini be-

lirmek amacıyla başka bir çalışma yapılmıştır (Hasan, 2013). Taze balın fiziko-kimyasal özelliklerinin ortalama değerleri HMF 3,916 mg/kg, diyastaz sayısı 17,66, invertaz sayısı 17,27, prolin 707 mg/Kg, indirgen şeker % 64,59, sukroz % 5,07, nem % 17,593, kül % 0,204, pH 3,9, toplam asitlik 28,763 mg/Kg ve E.C. 0,287 ms/cm olarak tespit edilmiştir. Üç bal tipi 5, 15, 20, 25 dk süreyle 55, 65, 75 °C'de ısıtılmıştır. Daha sonra bal örnekleri oda sıcaklığına (20-23 °C) alınmış ve değerlendirmek için 26 hafta bu ortam sıcaklığında depolanmış ve HMF, diyastaz sayısı, invertaz içeriğindeki değişiklikler gözlemlenmiştir. Bala uygulanan ısı işlemi, depolama zamanının etkisi dışında diyastaz ve invertaz sayısı üzerinde etkili olmamıştır. Bal örneklerinin HMF içeriği ise depolama süresinden ve ısı işleminden önemli olarak etkilenmiştir.

Silici (2004) tarafından yapılan bir çalışmada, Bursa marketlerinde satılan ve Türkiye'nin farklı bölgelerine ait 49 bal örneklerinde nem, kül, invert şeker içeriği, sukroz, asidite, HMF ve diyastaz aktivitesi araştırılmış, bölgesel ortalama değerler bal örneklerinin kaliteli olduğunu gösterirken, 49 bal örneğinin 26'sı (%55) incelenen kriterler bakımından düşük bulunmuştur.

İsrail'de, bal örnekleri kalite açısından incelenmiştir. Analiz sonuçlarına göre pH 3,71-4,19, su miktarı %15-17,8, invert şeker %70,1-79,2, glukoz %35,9-42,1, HMF 0,32-1,8 mg/kg, diyastaz sayısı 5-15 olarak tespit edilmiştir (Dag ve ark., 2005). Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde hasat edilen 45 bal örneği incelenmiştir. Kimyasal analiz sonuçlarına göre; nem %16,0, invert şeker %70,3, kül %0,1, diyastaz sayısı 14,6, HMF 3,3 mg/kg, serbest asit 22,3 meq/kg olarak bulunmuştur (Yılmaz ve Küfrevioğlu, 2001).

Tosi ve arkadaşları (2002) tarafından yapılan bir çalışmada, kısa zaman ve izotermal ısı işlem uygulamalarının HMF içeriğine etkileri araştırılmıştır. Analiz başlangıçta HMF değerleri 3,9 ve 26,6 mg HMF/kg olan iki bal örneğine uygulanmıştır. Kısa zaman 14 ve 60 s arasında olmuş ve ısı işlemin son sıcaklığı 100 ve 160 °C arasında devam etmiştir. Bu çalışma başlangıç HMF konsantrasyonu onun oluşum kinetiklerini etkilemediğini ortaya çıkarmıştır. Isıl işlemin izotermal safhası esnasında HMF içeriği değişimi, geçici safhanın final sıcaklığında ve muamele 90 s'ye çıktığı zaman belirlenmiştir ve o birinci dereceden sahte bir kinetik modeli takip etmiştir. Birinci dereceden oran, Arrhenius-tipi eşitlik tarafından sıcaklık ile ilişkili bulunmuştur. Böylece sabit frekansın ve aktivasyon enerjinin değerleri elde edilmiştir.

Sahinler ve Gul (2005), Hatay yöresinde üretilen yayla balında yaptıkları biyokimyasal analiz sonuçlarına göre ortalama %0,13 kül, %15,23 su, %66,2 invert şeker, %0,91 protein, 32,3 meq/kg toplam asitlik, 5,73 mg/kg HMF, 17,9 diyastaz sayısı ve 6,36 pH tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada ayçiçeği balının da bazı özellikleri belirlenmiş ve bu balda; %0,5 kül, %18,01 su, %69 invert şeker, %0,9 protein saptanırken, toplam asitlik 40,9 meq/kg, HMF değeri 2,17 mg/kg, diyastaz sayısı 17,9 ve pH 5,6 olarak belirlenmiştir.

Sicilya'da üretilen portakal, okaliptüs ve kestane ballarında belirli sıcaklık aralıklarında balların HMF değerleri ölçülmüştür. Bal numuneleri 50-70-100°C'da 1 hafta bekletildikten sonra HMF değerlerinin sıcaklığın artmasıyla beraber arttığı gözlenmiştir (Zappala ve ark 2005).

Brezilya'da 12 farklı orijinde üretilen bal örneklerinin bazı kimyasal özelliklerinin belirlendiği bir çalışmada, tüm örneklerin su miktarı %20'nin altında belirlenmiştir. HMF değeri ise 2,15-4,12 mg/kg değerleri arasında değişmiştir. Bu sonuca bağlı olarak bal örneklerinin yüksek ısı ileme tabi tutulmadığının kanısına varılmıştır (Azaredo ve ark 2002).

Balda Antioksidanlar ve Aroma Bileşenler

Doğal ve sentetik antioksidanlar gıda koruyucu olarak uzun yıllardır kullanılmaktadır. Antioksidanlar, hem her iki enzimi (katalaz, glukoz oksidaz) ve hem de enzimatik olmayan

maddeleri (örneğin organik asitler, Maillard reaksiyon ürünleri, amino asitler, proteinler, flavonoidler, fenolikler, α -tocopherol, flavonollar, kateşinler, askorbik asit ve karotenler) içermektedir (Meda ve ark., 2005). Bileşiklerin miktarı balın flora ve coğrafi orijine bağlı olarak değişmektedir. Balın antioksidan kapasitesi, içerdiği bitkisel kaynaklı polifenolik bileşikler olan flavonoidlere ve C vitamini miktarına bağlıdır. Yapılan çalışmalar koyu renkli balların yüksek miktarda fenolik içeriğe ve antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Tutkun, 2006; Bertoncelj ve ark., 2007). Son yıllarda balın antioksidan özelliğinden yararlanılarak başta insan sağlığı ile ilgili yaşlanmayı önleme (antiaging), dejeneratif kalp ve sinir sistemi hastalıkları ve gıdaların oksitlenmesinden korunması gibi çalışmalar yoğunlaşmıştır (Tutkun, 2006).

Malezya'da en çok tüketilen üç bal tipi (tualang, gelam ve akasya balı) üzerinde yapılan bir çalışmada (Chua ve ark., 2013), bal örneklerinin antioksidan aktiviteleri üç farklı yöntem (serbest radikal süpürücü, indirgen kuvvet ve ağartma inhibisyon) ile incelenmiştir. Örneklerin antioksidan kapasitelerinin, toplam fenolik madde içeriği, toplam flavonoid içeriği ve toplam suda çözünebilir vitamin (B1, B2, B3, B9, B12 ve vitamin C) içeriği gibi biyokimyasal içerikleri karşılaştırılmıştır. Toplam flavonoid içeriği ile 3 farklı yöntemle saptanan antioksidan aktive değerleri arasında güçlü bir korelasyon ($r = 0.9276-0.9910$) bulunmuştur. Diğer taraftan, toplam suda çözünebilir vitamin içerikleri ile serbest radikal süpürücü aktivite arasındaki korelasyonun ($r = 0.8226$) iyi olduğu saptanmıştır. Vitamin B3, toplam vitamin içeriğinin %69-80'ini kapsayarak en yüksek miktarı oluşturmuştur. Balın şekerini uzaklaştırmaksızın UPLC-MS/MS kullanımıyla yapılan analiz sonucunda beş fenolik asit, üç flavonoid ve iki organik asitin varlığı tespit edilmiştir.

Slovenya'da 7 bal örneğinin incelenmesi sonucunda bal tipleri arasında toplam fenolik içeriği, antioksidan aktivite ve renk parametreleri yüksek farklılık göstermiştir. Fenolik içerik, akasya balında 44,8 mg/kg'dan köknar balında 241,4 mg/kg'a kadar oranlanmış galik asit eşdeğeri olarak ifade edilmiştir. Antioksidan aktivite, açık renkli olan akasya ve ıhlamur ballarında en az olurken, köknar, ladin ve orman koyu renkli ballarda en yüksek bulunmuştur (Bertoncelj ve ark., 2007).

Balların doğal olup olmadıkları flavonoid bileşiklerin varlığı ile tespit edilmektedir. Balda bulunan önemli flavonoid bileşikler; Myricetin, tricetin, quercetin, luteolin, kaempferol, pinocembrin, isorhamnetin ve pinobanksin'dir (Tutkun, 2006). Aroma maddeleri iz miktarlarda bulunduğu için, bu maddelerin belirlenmesinde güvenilir ve çok duyarlı analiz yöntemleri kullanılmalıdır. Bir gıda maddesi yüzlerce aroma maddesi bulundurabilir ancak bunlardan çok az bir kısmı o gıdanın karakteristik aromasının oluşumunda rol oynamaktadır. Karakteristik aromanın oluşumundan sorumlu bileşiklere aroma-aktif bileşikler denir (Uçkun, 2011).

Balın gerek tadı ve gerekse aroması tamamen ham madde olan nektardan gelir. Genellikle balın tadını şekerler, glukonik asit ve prolin belirlemektedir. Bala koku ve aromayı veren maddeler ise ketonlar, aldehytlar, alkoller, asit ve esterlerdir. Bunların bir kısmı uçucu olduğu için gerek saklama süresi ve gerekse ısıtma esnasında kaybolmaları çok kolaydır. Balın severek yenebilmesi bakımından tat ve aroma önemlidir. Uygun şekilde ve kapalı saklanan ballarda tat ve aromanın bekleme ile iyileştiği kabul edilmektedir (Tutkun, 2006).

Zhou ve ark. (2002) karabuğday balının karakteristik aroma bileşenlerini duyuşsal ve enstrümantal teknikler yardımıyla araştırmışlardır. Uçucu bileşenlerin aroma yoğunluğu aroma ekstrakt seyreltme analizi (AEDA) uygulanarak gaz kromatografisi-olfaktometri tekniği (GCO) ile belirlenmiştir. Araştırma sonuçlarına göre, 3-metil bütanal belirgin malt aromasından sorumlu başlıca bileşik olmakla birlikte, 3-hidroksi-4,5-dimetil-2(5H)-furanon ve (*E*)- β -damasenon karabuğday balında en etkili aroma bileşikler olduğu tespit edilmiştir. Diğer önemli aroma-aktif bileşikler metil propanal, 2,3-bütandion, fenil asetalde-

hit, 3-metil butirik asit, maltol, vanilin, metional, kumarin ve *p*-kresol olarak saptanmıştır.

Alissandrakis ve arkadaşları (2007) Yunan narenciye balının aromasını, SPME-GC/MS yardımıyla analiz etmişlerdir. Lilak aldehitlerin Yunan narenciye balında baskın aldehit bileşikler olduğunu vurgulamışlar ve toplam 61 bileşik tanımlamışlardır. Lilak aldehitin narenciye balında güçlü marker olabileceğini açıklamışlardır. Diğer taraftan, iki izomerik dehidroksi linaloksidad, levandel lakton, dill eter, 1-*p*-menthen-9-*al*'ın dört izomeri, metil antranilat ve nerolidol botanik ayırma yardım edebileceğini bildirmişlerdir.

Yapılan başka bir çalışmada (Castro-Vázquez ve ark., 2007) İspanyol narenciye balında GC-MS vasıtasıyla 66 uçucu bileşik tespit edilmiştir. Linalol, (*Z*)-(*E*)-linalol oksit, α -terpinol, terpinol, lilak alkol ve lilak aldehit gibi özellikle yüksek konsantrasyonlarda terpenler ve türevleri olan bazı bileşikler, bu çiçek kaynağından elde edilen ballarda karakteristik olarak belirlenmiştir. Bu bileşikler sahip oldukları koku aktiflik değerleriyle (OAV) narenciye ballarında karakteristik aromaya güçlü bir katkı sağlamıştır.

Kayseri iline ait çiçek balının aroma maddeleri bileşimini tespit etmek amacıyla yapılan bir çalışmada (Uçkun ve Selli, 2012), gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) kullanılmıştır. Analiz sonuçlarına göre çiçek balında 11 adet asit, 5 adet alkol, 5 adet aldehit, 4 adet keton, 3 adet terpen, 3 adet lakton, 3 adet fenol, 3 adet ester, 3 adet piran ve 1 adet norisoprenoid olmak üzere toplam 41 adet aroma maddesi tespit edilmiştir. Aroma maddelerinin toplam miktarı 11295,9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ olarak belirlenmiştir.

Avustralya'da balların uçucu bileşenlerini tespit etmek amacıyla yapılan bir çalışmada (Darcy ve ark., 1997), norisoprenoidler, monoterpenler, benzen türevleri, alifatik bileşikler ve Maillard reaksiyonu ürünleri içeren 55 bileşik tespit edilmiş olup; dört izomerik 3,4-dihidro-3-okzoaktinidol, 8,9-dehidrotheaspiro, iki izomerik 3-okzoretro- α -ionol, megastigm-4-en-3,9-dion, 1-fenilbutan-2,3-diol, 1-fenilbutan-2,3-dion, 18-hidroksi oleik asit lakton, 3,5-dihidroksi-2-metil-4H-piran-4-on, ve 2,5-dimetil-2,4-dihidroksi-3(2H)-furanon bileşikler balda ilk kez tanımlanmıştır.

Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan 25 bal örneği numunesinde iz element içeriklerini değerlendirmek için bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmanın amacı Türkiye'nin farklı bölgelerinden bal örneklerinde kadmiyum (Cd), kurşun (Pb), demir (Fe), manganez (Mn), bakır (Cu), nikel (Ni), krom (Cr), çinko (Zn), alüminyum (Al) ve selenyum (Se)'ün seviyelerini belirlenmiştir. İz element içerikleri, kül-kurutma, mikrodalga sindirim ve ıslak-sindirimden sonra bir alev ve grafit fırın atomik absorbsiyon spektrometre tekniği tarafından belirlenmiştir. Metodun güvenilirliği standart referans materyali NIST-SRM 1515 Apple seviyeleri tarafından doğrulanmıştır. Bal örneklerinde iz elementlerin içeriği, sırasıyla Cu, Mn, Zn, Fe, Pb, Ni, Cr, Cd, Al ve Se için 0.23-2.41 $\mu\text{g g}^{-1}$, 0.32-4.56 $\mu\text{g g}^{-1}$, 1,1-12,7 $\mu\text{g g}^{-1}$, 1,8-10,2 $\mu\text{g g}^{-1}$, 8,4-105,8 $\mu\text{g kg}^{-1}$, 2,6-29,9 $\mu\text{g kg}^{-1}$, 2,4-37,9 $\mu\text{g kg}^{-1}$, 0,9-17,9 $\mu\text{g kg}^{-1}$, 83-325 $\mu\text{g kg}^{-1}$ ve 38-113 $\mu\text{g kg}^{-1}$ oranında olmuştur. Bu çalışılan Türk balları arasında kadmiyum en az element iken, demir en fazla element olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar göstermiştir ki farklı bölgelerde ki ballarda iz element konsantrasyonları genel olarak çevrenin iz element buluşıklık derecesiyle ilgilidir (Tuzen ve ark., 2007).

Burkina Faso'dan bal örnekleri (27) radikal süpürme aktivitesi olan toplam fenolik, flavonoid, ve prolin içeriklerini belirlemek için analiz edilmiştir. Bu örnekler, *Vitellaria*, *Acacia* ve *Lannea* bitki türleri Combretaceae'nin çiçeklerinden 18 multifloral, 2 salgı balı ve 7 unifloral ballarından oluşmuştur. Salgı balında toplam fenolik içerikleri en yüksek bulunmuştur. Diğer taraftan, en yüksek prolin içeriğine sahip olan *Vitellaria* balında, toplam flavonoid ve prolin içeriğinde büyük miktarda varyasyon görülmüştür. *Vitellaria* balı, en yüksek antioksidan aktivitesi ve içeriğine de sahip olduğu bulunmuştur. Radikal süpürme aktivitesi ve prolin içeriği arasında ki korelasyon, toplam fenolik bileşiklerinkinden daha yüksek olmuştur. Balın antioksidan aktivitesi belirlendiğinde amino asit içeriğinin önemli olduğu vurgulanmıştır (Meda ve ark., 2005).

SONUÇ

Yüksek besin içeriğine sahip olan balın kristalleşmesi doğal bir süreçtir ve pastörizasyon amacıyla uygulanan ısıl işlemin HMF oluşumu açısından dikkatli yapılması gerekmektedir. İçerdiği yüksek miktardaki fenolik bileşenler ve vitamin C ile yüksek antioksidan özellik sergileyen ve antimikrobiyal olan bal, bu özelliklerinden ötürü apiterapide önemli yeri olan bir arı ürünüdür. Balın yaşlanmayı önleme (antiaging), dejerenatif kalp ve sinir sistemi hastalıkları, gıdaların korunması ve yara iyileştirici olarak kullanılması gibi birçok özelliği yapılan bilimsel çalışmalar ile ortaya koyulmuştur. Balın kimyasal kompozisyonu üretildiği bölgenin bitkisel florası ile doğrudan ilişkilidir. Kimyasal kompozisyonu ise onun biyolojik aktivitesini belirleyen önemli bir parametredir.

KAYNAKLAR

1. Alissandrakis, E., Tarantilis, P.A., Harizanis, P.C., Polissiou, M., 2007. Aroma investigation of unifloral Greek citrus honey using solid-phase microextraction coupled to gas chromatographic-mass spectrometric analysis. *Food Chemistry*, 100, 396-404.
2. Azeredo, C., Dutra, V. 2002. Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. *Food Chemistry*, 80: 249-254.
3. Bertonec, J.; Doberšek, U.; Jamnik, M.; Golob, T., 2007. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chemistry*, 105: 822-828.
4. Castro-Vázquez, L.; Díaz-Maroto, M.C.; Pérez-Coello, M.S., 2007. Aroma composition and new chemical markers of Spanish citrus honeys. *Food Chemistry* 103: 601-606.
5. Castro-Vázquez, L., Díaz-Maroto, M. C., González-Viñas, M. A., De La Fuente, E., & Pérez-Coello, M. S. S. (2008). Influence of storage conditions on chemical composition and sensory properties of citrus honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 1999–2006. (<https://doi.org/10.1021/jf072227k>).
6. Chua, L. S.; Rahaman, N. L. A.; Adnan, N. A.; Tan, T. T. E., 2013. Antioxidant activity of three honey samples in relation with their biochemical components. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 8 p, Article ID 313798.
7. Dag, A. 2005. Physical, chemical and alynological characterization of avocado honey in Israel. *International Journal of Food Science and Technology*, 41: 387-394.
8. Darcy, B.R.; Rintoul, G.B.; Rowland, C.Y.; Blackman, A.J., 1997. Composition of Australian honey extractives.1. Norisoprenoids, monoterpenes, and other natural volatiles from blue gum (*Eucalyptus leucoxydon*) and yellow box (*Eucalyptus melliodora*) honeys. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 1834-1843.
9. Diminš, F.; Kūka, P.; Kūka, M.; Čakste, I., 2006. The criteria of honey quality and its changes during storage and thermal treatment. *LLU Raksti*, 16(311): 73-78.
10. Doner, L.W., 1977. The sugars of honey-a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 28, 5.
11. Hasan, S. H., 2013. Effect of storage and processing temperatures on honey quality. *Journal of Babylon University / Pure and Applied Sciences*, 6(21): 2244-2253.
12. Karadal, F.; Yıldırım, Y., 2012. Balın kalite nitelikleri, beslenme ve sağlık açısından önemi. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg* 9(3): 197-209.
13. Khalil, M. I., Sulaiman, S. A., & Gan, S. H. (2010). High 5-hydroxymethylfurfural concentrations are found in Malaysian honey samples stored for more than one year. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8–9),2388–2392. (<https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.05.076>).

14. Kolaylı, S., Aliyazıcıoğlu, R., Ulusoy, E. ve Karaoğlu, Ş., 2008. Antimicrobial and antioxidant activity of selected Turkish honeys, Hacettepe Journal of Biology and Chemistry, 36 (2), 163-172.
15. Meda, A.; Lamien, C. E.; Romito, M.; Millogo, J.; Nacoulma, O. G., 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. Food Chemistry, 91: 571-577.
16. Ruoff, K., 2006. Authentication of the Botanical Origin of Honey. DISS. ETH NO. 16857. http://www.inframiel.ch/PhD_K_Ruoff_Net.pdf.
17. Sahinler, N ve Gul, A., 2005. Effect of Heating and Storage on Honey Hydroxy Methylfurfural and Diastase Activity. J. of Food Technology 3(2): 152-155.
18. Silici, S., 2004. Türkiye'nin farklı bölgelerine ait bal örneklerinin kimyasal ve palinolojik özellikleri. Mellifera, 4-7: 12-18.
19. Tosi, E., Ciappini, M., Lucero, H. 2001. Honey thermal treatment effects on HMF content. Food Chemistry, 77: 71-74.
20. Tosi, E.; Ciappini, M.; Ré, E.; Lucero, H., 2002. Honey thermal treatment effects on hydroxymethylfurfural content. Food Chemistry, 77: 71-74.
21. Tosi, E.A.; Ré, E.; Lucero, H.; Bulacio, L., 2004. Effect of honey high-temperature short-time heating on parameters related to quality, crystallisation phenomena and fungal inhibition. Lebensm.-Wiss. u.-Technol., 37: 669-678.
22. Turhan, I.; Tetik, N.; Karhan, M.; Gurel, F.; Tavukcuoglu, H.R., 2008. Quality of honeys influenced by thermal treatment. LWT 41: 1396-1399.
23. Turkmen, N.; Sari, F.; Poyrazoglu, E.S.; Velioglu, Y.S., 2006. Effects of prolonged heating on antioxidant activity and colour of honey. Food Chemistry, 95: 653-657.
24. Tutkun, E., 2006. Arıcılık Tekniği. Önder Matbaacılık Ltd. Şti., Kızılay – Ankara, 320.
25. Tuzen, M.; Silici, S.; Mendil, D.; Soylak, M., 2007. Trace element levels in honeys from different regions of Turkey. Food Chemistry, 103: 325-330.
26. Uçkun, O., 2011. Narenciye ve Geven Ballarının Aroma ve Aroma Aktif Bileşiklerinin Belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Adana, 77 S.
27. Uçkun, O.; Selli, S., 2012. Kayseri ili çiçek balının aroma maddeleri bileşimi. Gıda, 37 (3): 157-164.
28. VanDemark, P. J., & Batzing, B. L. (1987). The microbes. An introduction to their nature and importance. Menlo Park, CA: The Benjamin/Cummings Publishing Company Inc.
29. Venir, E., Spaziani, M., ve Maltini, E., 2010. Crystallization in "Tarassaco" Italian Honey Studied by DSC, Food Chemistry, 122, 410-415.
30. Yılmaz, H., & Kufrevioglu, I. (2001). Composition of honeys collected from eastern and south-eastern Anatolia and effect of storage on hydroxymethylfurfural content and diastase activity. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 25, 347-349.
31. Zappala, M., Fallico, B., Arena, E., Verzera, A. 2005. Methods for the determination of HMF in honey a comparison. Food Control, 16: 273-277.
32. Zhou, Q., Wintersteen, C.L.; Cadwallader, K.R., 2002. Identification and quantification of aroma-active components that contribute to the distinct malty flavor of buckwheat honey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2016-2021.

Grafen Temelli Sensörler ve Biyosensörler

Oğuz ÇAKIR¹

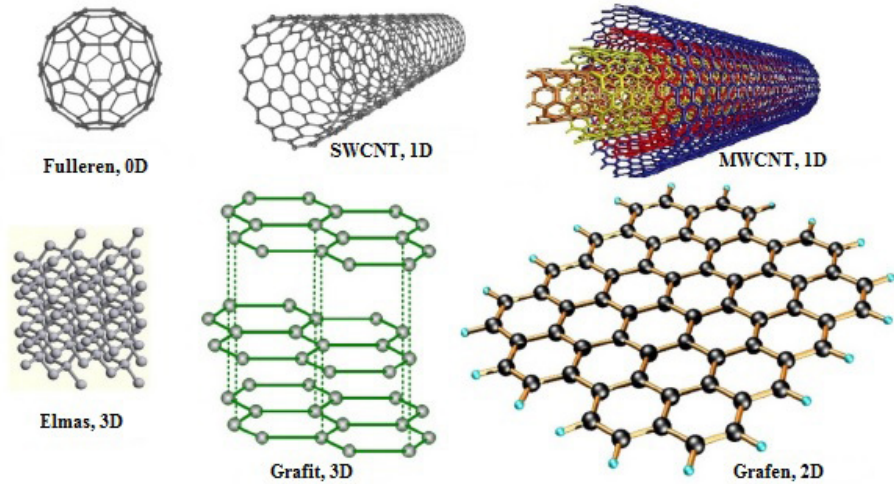
CHAPTER 3

¹ Dr., Arş. Gör., Dicle Üniversitesi, Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Diyarbakır, Türkiye

1. GİRİŞ

Son yıllarda sensörler ve biyosensörlerin yapımı metallere (Ni, Cu, Au, Pt, vb.) sentezlenen nanoteller, metal oksitler (ZnO , SnO_2 , Fe_2O_3), silisyum/indiyum/galyum yarı iletkenler (Si, InP, GaN), karbon nanotüpler (CNT) (CdSe, CdTe veya CdSeTe'e dayalı) ve metal nanopartiküller (Au, Cu, Pd, Co, Ag veya Pt'ye dayalı) gibi iletkenlik özellikleri, yüksek yüzey/hacim oranı ve iyi biyo-uyumluluk özelliklerine sahip çeşitli nanomalzemelerin dahil edilmesiyle geliştirilmiştir [1-3].

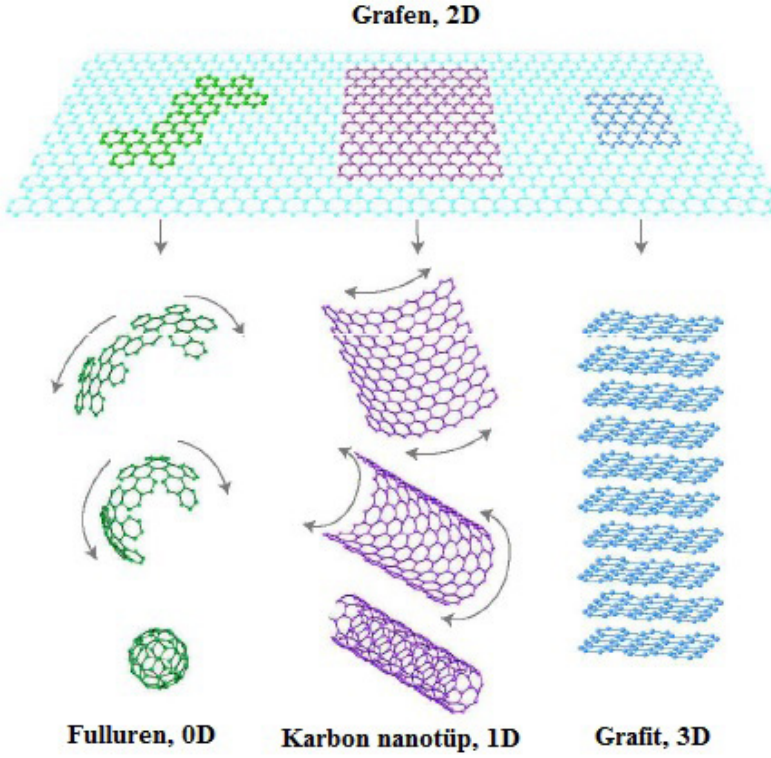
Karbon, yaşam kimyasında önemli bir rol oynayan bol miktarda bulunan bir elementtir [4]. Karbon bazlı elektrotların avantajları, geniş potansiyel alanları, oldukça inert elektrokimya ve birçok redoks reaksiyonu için iyi bir elektrokatalitik aktivite içermektedir [5]. Elmas (karbon atomları bir tetrahedral kafes düzeninde birbirine bağlanır, 3D), grafit (karbon atomları bir altıgen kafes örgüsünde birbirine bağlanır, 3D), grafen (2D), karbon nanotüpler (tek duvarlı karbon nanotüpler (SWCNT), 1D), çok duvarlı karbon nanotüpler (MWCNT, 1D) ve fullerener (karbon atomları küresel, tübüler veya elipsoidal formasyonlarda birbirine bağlanır, 0D) dahil olmak üzere çeşitli karbon allotropları birbirinden çok farklı fiziksel ve elektrokimyasal özelliklere sahiptir (Şekil 1 ve Tablo 1) [5-8]. Fullerenerler, karbon nanotüpler ve iletken elmas gibi sp^2 ve/veya sp^3 hibritleştirilmiş yapıların ortaya çıkması yüzey modifikasyonu için bir olanak sağlar, ve elektrokimyasal araştırmalara, özellikle de elektrokataliz için oldukça faydalıdır [5]. Eski 3D allotropları bilinen ve yaygın olarak kullanılanlardır, ancak fullerenerler ve nanotüpler sadece son yirmi yılda keşfedildi ve çalışıldı. Elmas hariç, fullerenerler, nanotüpler ve grafitin aynı altıgen sp^2 karbon atomu dizisinden, yani grafenden oluşturulmuş farklı yapılar olarak düşünmek mümkündür [6,8].



Şekil 1. Karbonun farklı allotropları [8].

Grafen, bir bal peteği örgüsünde birbiriyle bağlanan tek bir karbon atomu tabakasından oluşur ve sp^2 bağlı karbonun 2D katmanıdır. Diğer tüm boyutlardaki grafit malzemeler için temel yapı taşıdır [7]. Grafen, 0D fullerenerler oluşturmak için küresel bir şekle sarılabilir, 1D nanotüpler oluşturmak için silindirik bir şekle getirilebilir veya Şekil 2'de gösterildiği gibi 3D grafit oluşturmak için katmanlar halinde istiflenebilir [8-11]. Grafen levhaların elektronik yapısı, grafit katmanları, ilk olarak 1947'de Wallace tarafından

tartışılmıştır [5]. Boehm ve arkadaşları, 1962’de grafit oksidin ısıtılması ve kimyasal indirgenmesiyle ince karbon tabakalarını ayırmışlardır [10]. 2004 yılına kadar grafitin tek katmanlarının ortam koşulları altında termodinamik olarak kararsız olduğuna inanılırdı [5,10]. Nobel Fizik Ödülü sahibi Andre Geim ve Konstantin Novoselov tarafından 2004’te tek tabaka grafinin tarihsel gözlemlenmesinden bu yana, atomik ince karbon filmler artarak daha fazla ilgi görmeye başlamış ve yoğun ilgi çeken madde fiziğinde hızla “yükselen bir yıldız” haline gelmiştir [12-14]. Bu devrimsel keşif, fizik, kimya, biyoteknoloji ve malzeme bilimi alanlarında yeni bir araştırma boyutu kazandırmıştır [10]. Bilim adamları tarafından grafinin bazı oluşumlarını hızla farkedilmiş, cihazların ve malzemelerin içerisine uygulamanın yollarını araştırmaya başlanmıştır [6].



Şekil 2. Tüm grafit formların temeli [8].

Boyut	0D	1D	2D	3D
İzomer	Fulleren	Nanotüp	Grafen	Elmas
Hibritleşme	sp ²	sp ²	sp ²	sp ³
Yoğunluk (g/cm ³)	1.72	1.2-2.0	2.26	3.515
Bağ uzunluğu (Å)	1.40 (C=C) 1.46 (C-C)	1.44 (C=C)	1.42 (C=C)	1.54 (C-C)
Elektronik özellikler	Yarı iletken E _g = 1.9 eV	Meta/yarı iletken E _g = ~0.3-1.1 eV	Sıfır-boşluk yarı iletken	Yalıtkan

Table 1. Farklı boyutlardaki karbon malzemelerinin önemli parametreleri [8].

Grafen ailesine ait diğer ilgili malzemeler, grafen oksit (GO) ve indirgenmiş grafen oksit (rGO)'tir [1]. GO, levhanın kenarında ve yüzeyinde yaklaşık 3:1 karbon/oksijen oranı olan epoksitler, karboksiller, hidroksiller ve alkoller gibi oksijen fonksiyonel grupları içeren katmanlı ve oksijenli grafen tabakalarıdır [15]. Grafen yüzeyinde oksijen fonksiyonel gruplarının varlığı, heterojen elektronu ve şarj transfer hızını artırabilir ve GO'nun suda çözünür ve biyolojik olarak uyumlu hale gelmesini sağlayabilir [16]. İndirgenmeden sonra, GO, sübstitüe edilmiş iletken polimerlere kıyasla yüksek ısı iletkenliği sağlayarak bazı kalıntı oksijen ve yapısal kusurlarla rGO'ya dönüşür [17].

Grafen, düzlemsel şekil ve kimyasal yapısı nedeniyle sensörlerin ve biyosensörlerin yapımına kıyasla diğer malzemelerle karşılaştırıldığında çeşitli avantajlara sahiptir. Örneğin, grafen tabakanın atomik kalınlığı ve aşırı yüksek yüzey/hacim oranı bu tür malzemeyi yerel çevre koşullarının değişmesine karşı oldukça hassas kılar. Bu durum, tüm karbon atomlarının doğrudan analitlerle etkileşime girmesinden, silikon nanotel-lerden veya karbon nanotüplerden daha yüksek duyarlılığı teşvik etmesinden algılama alanında önemli bir avantaj sunar [1]. Bu nedenle gelişmiş elektrokimyasal sensörlerin ve biyosensörlerin üretimine katkıda bulunur [18-19]. Grafen, karbon nanotüplere kıyasla elektrokimyasal sensörler ve biyosensörlerde uygulanmasına ilişkin π - π istifleme, hidrofobik etkileşimler yoluyla biyomoleküllere kolayca bağlanabilme, düşük gürültü oranı, kolay işlevselleştirme, çözelti işlenebilirlik ve biyo-uyumluluk gibi avantajlara sahiptir [16,18-19]. Son yıllarda, grafenin bu üstün özellikleri sayesinde bir grup araştırmacı genel sensörler ve biyosensörler [20-23], elektrokimyasal sensörler ve biyosensörler [18-19,24-28], optik sensörler [16,29], ağır metaller [15] ve glukoz [30] gibi grafen tabanlı sensörler ve biyosensörler üzerine farklı çalışmışlar yapmaya başlamışlardır.

2. GRAFEN VE GRAFEN İLE İLGİLİ MATERYAL TABANLI SEN-SÖRLER VE BİYOSENSÖRLER

Son yıllarda, grafen ve grafen ile ilgili materyal (GO ve rGO) odaklı sensörler ve biyosensörlerin büyük bir grubu klinik, çevre ve gıda bilimleri gibi çeşitli çalışma alanlarında bildirilmiştir. Sensörlerin ve biyosensörlerin çoğunluğu elektrokimyasal transdüksiyon prensibine sahip olsa da, aşağıdaki alt bölümlerde anlatıldığı gibi optik ve piezoelektrik sensörler ve biyosensörler de üretilmiştir. Sensörlerin ve biyosensörlerin analitik performansı, sonuçların kalitesini sağlayacak bir analitik metodun validasyonunda yaygın kullanılan hassasiyet, gözlenebilirlik sınırı, tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik gibi çeşitli

analitik hesaplamalar ile değerlendirilmiştir [31]. Sensörlerin transdüksiyon mekanizması ve morfolojik özellikleri onların hassasiyetlerini ve gözlenebilme sınırını etkileyebilir ve bu değerlerin sırasıyla, sensörlerin analitik güvenilirlik ve kapasitesini belirlemek için değerlendirilmesi gerekmektedir [31].

2.1. Grafen

Grafenli sensörler ve biyosensörler klinik uygulamalarda (glikoz, kolesterol, dopamin, askorbik asit, ürik asit ve trombin tayini), çevresel uygulamalarda (metil paration, klorpirifos ve karbofuran gibi pestisitler ve metal iyon (Cd^{2+} ve Pb^{2+}) tayini) ve gıda uygulamalarında (eritromisin, triptamin ve *staphylococcus aureus* tayini) kullanılmıştır. Grafen levhaların polivinilpirolidon (PVP) [32] veya nanopartiküller [33-35] ile kombinasyonu sensörlerin ve biyosensörlerin hassasiyetlerini [33,35], gözlenebilme sınırını [36] ve tekrarlanabilirliğini [36] geliştirerek onların analitik tepkisini artırabilir. Tablo 1, grafen ile üretilmiş sensörlerin ve biyosensörlerin analitik parametrelerini göstermektedir ve Tablo 1'de listelenen bazı örneklerin analitik performansı da alt bölümlerde tartışıldı ve karşılaştırıldı.

2.1.1. Klinik uygulamalar

Glikozun tayininde, bakır nanopartiküller ve grafen ile camı karbon elektrot (GCE) bazlı bir elektrokimyasal sensör geliştirilmiştir [34]. Bu tür nanomalzemelerin kombinasyonu, grafen içermeyen aynı sensörlerden çok daha iyi analitik performans sağlamıştır. Yani, elektrokimyasal sensörün sadece bakır nanopartiküllü sensör ile karşılaştırıldığında çok daha iyi elektrokatalitik özellik gösterdiği belirlenmiştir.

Kolesterolün tayini için, grafit elektrotları [37] üzerine bir grafen elektrokimyasal enzimatik biyosensör ve GCE [38] üzerine bir platin-palladyum-kitosan-grafen hibrit nanokompozit bazlı bir elektrokimyasal enzimatik biyosensör üretilmiştir. Grafen hibrit nanokompozit biyosensörün analitik performansı (0.75 mM gözlenebilme sınırı ve 2.2-520 mM çalışma aralığı) [38] grafen biyosensöründen (5 mM gözlenebilme sınırı ve 50-300 mM çalışma aralığı) daha iyi olduğu gözlenmiştir [37]. Eşsiz katalitik aktivite ve bimetalik nanopartiküllerin kimyasal seçiciliği ile birlikte hibrit nanokompozitin varlığı, redoks enziminin elektrot yüzeyine doğrudan elektron transferini hızlandırmakla kalmayıp, aynı zamanda hareketsiz kolesterol oksidaz miktarını da arttırmaktadır. Böylece onun elektrokimyasal özellikleri ve sonuç olarak kolesterol tayini için analitik performansı da artmaktadır. Son zamanlarda, yeni bir grafen-PVP-GO/polianilin (PANİ) nanokompozit kullanılarak bir kağıt odaklı kolesterol biyosensör geliştirilmiştir. Nanokompozitlerde PVP'nin (2 mg/mL) az miktarda oluşu grafenlerin dağılılırliğini önemli ölçüde iyileştirebileceğini ve elektrotların iletkenliğini artırabileceğini doğrulamaktadır [39]. Kolesterol 1 mM gözlenebilme sınırı ile 10-50 mM çalışma aralığında tayin edilmiştir. Buna ilaveten, grafen-PVP-PANİ elektrodu biyotanıma sisteminin yüksek hassasiyetini gösteren modifiye edilmemiş bir elektrod ile karşılaştırıldığında mevcut sinyalin üç kat arttığı görülmüştür. Kağıt tabanlı biyosensörlerin uygulanabilirliği de insan serumu içerisine farklı konsantrasyonlarda (0.05, 0.10, 0.25, 1.00 ve 5.00 mM) kolesterol eklenerek test edilmiş olup, geri kazanım yüzdeleri %100-102 (%5'ten az RSD) aralığında bulunduğundan kabul edilebilir bir doğruluk ve yüksek sensör doğruluğu gözlemlenmiştir.

Bir diğer çalışmada, dopamin, askorbik asit ve ürik asit insan metabolizmasındaki fizyolojik işlemler için önemli moleküllerdir. Bu moleküllerin eş zamanlı tayini tanısal araştırmadaki önemi nedeniyle biyosensörlerin geliştirilmesi ile ilgili çalışmaların çoğunda gözlenmektedir. Ek olarak, dopamin, askorbik asit ve ürik asit, sadece elektrot yüzeyindeki oksidasyon tepesi potansiyellerinde farklılık gösteren benzer elektrokimyasal özelliklere sahiptir [40]. Askorbik asit, dopamin ve ürik asidin eşzamanlı tayini için elektrokimyasal algılama platformlarının hazırlanması son zamanlarda rapor edilmiş ve bu çalışma, grafen

levhalar üzerindeki fonksiyonel Fe_3O_4 nanopartiküller (gözlenebilir sınırları: dopamin için 0.05 mM, askorbik asit için 0.15 mM ve ürik asit için 0.39 mM) [40] ve grafen (dopamin için 2.00 mM, askorbik asit için 6.45 mM ve ürik asit için 4.82 mM) üzerine odaklıdır [41]. Düşük gözlenebilir sınırların, bu biyomoleküllere karşı fonksiyonelleştirilmiş Fe_3O_4 nanopartikül/grafen tabakalarının mükemmel elektrokatalitik aktivitesi ve biyo-uyumluluğundan kaynaklandığı söylenebilir. Dopamin için, grafen tabakalarına ve PVP odaklı bir başka sensör, düşük gözlenebilir sınırı (0.2 nM) ve iyi bir doğrusallık (5×10^{-10} - 1×10^{-3} M) göstermiştir [42] (Tablo 1). Grafen-PVP sensöründen dopamine karşı yüksek seçicilik, PVP'nin dopamin içindeki fenolik bileşiklere güçlü adsorpsiyon özelliği ile açıklanabilir. Elektrot yüzeyinde PVP'nin kararlı kombinasyonu ve adsorpsiyon özellikleri, iyi tekrarlanabilirliğe (%2.16 RSD) ve kararlılığa (elektrot 10 gün boyunca 4 °C'de tutulduğunda tepe akımları başlangıç değerlerinin %90.1'inin üzerinde kalması) neden olabilir [42].

Trombin, fizyolojik ve patolojik kan pıhtılaşması gerçekleştiğinde kanda ve dokularda üretildiği için çeşitli patolojik durumlarda önemli bir rol oynayan spesifik bir serin proteazdır [43]. Tablo 1'de, trombin tayini için iki optik biyosensör rapor edilmiştir ve aptamer ve grafen bir nanokompozit [44] ve bir floresan rezonans enerji transfer (FRET) aptasensöre [45] dayanmaktadır. Aptamer ve grafen nanokompozitinin kombinasyonu üzerine odaklı optik biyosensör, grafen rolüne bağlı olarak geliştirilmiş iyi seçicilik, 0.45 fM düşük gözlenebilir sınırı, yüksek hassasiyet ve 100 fM'ye kadar doğrusal cevap tepkisi ile iyi bir analitik performans sergilemiştir [44].

2.1.2. Çevresel uygulamalar

Grafen temelli biyosensörler pestisit tayininde de kullanılmaya başlanmıştır. Bir elektrokimyasal biyosensör metil paration, klorpirifos ve karbofuran tayini için NiO nanopartikül-karboksilik grafen-nafion ile modifiye edilmiş GCE üzerine asetilkolinesteraz enziminin immobilizasyonu yoluyla üretilmiştir [46] (Tablo 1). Biyosensör, ilk elektrokimyasal tepkisinin %91'ini korur ve bu 30 günlük bir saklama süresinden sonra kabul edilebilir kararlılığını göstermektedir. Musluk suyu ve göl suyu örnekleri gibi gerçek örneklere uygulandığında, biyosensör tarafından gözlemlenen geri kazanımlar %93.0-105.2 aralığında hesaplanmıştır [46].

Pb^{2+} ve Cd^{2+} gibi ağır metal iyonlar da grafen bazlı sensörler tarafından tayin edilmiştir [47-49]. Örneğin, SPE temelli tek kullanımlık bir grafen sensörü bu iyonları iyi bir hassasiyet ve doğrusallıkta (0.5-120 $\mu\text{g/L}$) tayin etmek için geliştirilmiştir, bu da negatif yüklü sodyum 4-stirensülfonatın grafenin işlevselliği ile ilişkilidir ve böylece daha fazla absorbe edici alan sağlanmış olur [47].

Analit	Sensör tipi	Elektrod materyali	Alglama malzemeleri	Çalışma aralığı	LOD	Ek bilgi	Ref.
Klinik uygulamalar							
Glikoz	Elektrokimyasal sensör	GCE	Grafen-bakır NP	0.4-5.0 mM	0.5 µM	$r = 0.9958$	[34]
Kolesterol	Elektrokimyasal biyosensör	Grafit	Grafen	50-300 µM	5 µM	$r = 0.9972$	[37]
Kolesterol	Elektrokimyasal biyosensör	GCE	Platin-palladyum-kitosan-grafen	2.2-520 µM	0.75 µM	$r = 0.998$	[38]
Kolesterol	Elektrokimyasal biyosensör	SPCE	Grafen-PVP-PANI	50 µM-10 mM	1 µM	$r = 0.9993$	[39]
Dopamin	Elektrokimyasal sensör	GCE	Grafen ve PVP	$5 \times 10^{-10} - 1 \times 10^{-3} M$	0.2 nM	$r = 0.999$	[42]
Dopamin	Elektrokimyasal sensör	GCE	Grafen-nanopartikül (Fe_3O_4)	0.2-38 µM	0.126 µM		[40]
Dopamin	Elektrokimyasal sensör	GCE	Grafen	5.00-710 µM	2.00 µM	$r^2 = 0.9964$	[41]
Askorbik asit	Elektrokimyasal sensör	GCE	Grafen-nanopartikül (Fe_3O_4)	5-1600 µM	0.074 µM		[40]
Askorbik asit	Elektrokimyasal sensör	GCE	Grafen	9.00-2314 µM	6.45 µM	$r^2 = 0.9964$	[41]
Ürik asit	Elektrokimyasal sensör	GCE	Grafen-nanopartikül (Fe_3O_4)	1-850 µM	0.056 µM		[40]
Ürik asit	Elektrokimyasal sensör	GCE	Grafen	6-1330 µM	4.82 µM	$r^2 = 0.9992$	[41]
Trombin	Optik biyosensör	GCE	Aptamer ve grafen nanokompozit	1-100 fM	0.45 fM	$r^2 = 0.9963$	[44]
Trombin	Optik aptasensör		Grafen	62.5-187.5 pM	31.3 pM	$r^2 = 0.993$	[45]

Table 1. Grafen temelli sensörler ve biyosensörlerin analitik parametreleri [1].

GCE: camı karbon elektrot; SPCE: ekran baskılı karbon elektrot; SPE: ekran baskılı elektrot; MIP: moleküler baskılanmış polimer; LOD: gözlenebilir sınırlar; NP: nanopartikül; MWCNT: çok duvarlı karbon nanotüpler; PANI: polianilin; PVP: polivinilpirolidon; RSD: relatif standart sapma.

Çevresel uygulamalar						
Pb ²⁺	Elektrokimyasal sensör	SPE	Grafen-poli(sodyum 4-sitirensülfonat) kompozit	0.5-120 µg L ⁻¹	0.089 µg L ⁻¹	[47]
Pb ²⁺	Elektrokimyasal sensör	GCE	Grafen-poli(kristal viyole)	2.00 x 10 ⁻⁸ - 1.95 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹	1.0 x 10 ⁻⁸ mol L ⁻¹	[48]
Pb ²⁺	Elektrokimyasal sensör	SPCE	Grafen-Nafion	0.1-100 ng L ⁻¹	0.08 ng L ⁻¹	[49]
Cd ²⁺	Elektrokimyasal sensör	SPE	Grafen-poli(sodyum 4-sitirensülfonat) kompozit	0.5-120 µg L ⁻¹	0.042 µg L ⁻¹	[47]
Cd ²⁺	Elektrokimyasal sensör	GCE	Grafen-poli(kristal viyole)	9.00 x 10 ⁻⁸ - 5.58 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹	1.0 x 10 ⁻⁸ mol L ⁻¹	[48]
Cd ²⁺	Elektrokimyasal sensör	SPCE	Grafen-Nafion	0.1-100 ng L ⁻¹	0.06 ng L ⁻¹	[49]
Analit	Sensör tipi	Elektrod materyali	Alglama malzemeleri	Çalışma aralığı	LOD	
Metil paration	Elektrokimyasal biyosensör	GCE	Karboksilik grafen-NiO	10 ⁻¹³ -10 ⁻⁸ M	5 x 10 ⁻¹⁴ M	
Klorpirifos	Elektrokimyasal biyosensör		NP-Nafion			
Karbofuran	Elektrokimyasal biyosensör			10 ⁻¹² -10 ⁻⁸ M	5 x 10 ⁻¹³ M	
Gıda Uygulamaları						
Eritromisin	Elektrokimyasal sensör	Altın elektrot	Grafen-MIP-Altın NP-kitosan-platin NP	7.0 x 10 ⁻¹⁸ - 9.0 x 10 ⁻⁵ M	2.3 x 10 ⁻⁸ M	RSD = %3.8 (n = 6), r = 0.998
Triptamin	Elektrokimyasal sensör		Grafen-MIP-MWCNT	9.0 x 10 ⁻¹⁸ - 7.0 x 10 ⁻⁵ M	7.4 x 10 ⁻⁸ M	RSD = %4.8 (n = 3), r = 0.992
<i>Staphylococcus aureus</i>	Piezoelektrik sensör	Altın elektrot	Grafen-aptamer	4.1 x 10 ¹ -4.1 x 10 ⁵ cfu mL ⁻¹	41 cfu mL ⁻¹	r = 0.9879

Table 1. Devamı

2.1.3. Gıda uygulamaları

Grafen bazlı sensörler eritromisin [50] ve triptamin [51] 'in elektrokimyasal sensörler yoluyla ve *staphylococcus aureus*'un bir piezoelektrik sensör [52] ile tayini rapor edilmiştir. Eritromisinin tayini için bildirilen elektrokimyasal sensör, kitosan-platin nanopartikülleri ve grafene-altın nanopartikülleri tarafından oluşturulan bir nanokompozit ile modifiye edilmiş altın elektrot üzerinde moleküler baskılanmış polimer (MIP)'e dayanmaktadır [50]. Grafen-altın nanopartiküllerin eklenmesiyle, grafen ve altın nanopartiküllerin iyi elektriksel iletkenliğinin sinerjik etkilerinden dolayı daha yüksek akım tepkisi gözlenmiştir [50]. Düşük bir gözlenebilme sınırı (2.3×10^{-8} M) elde edilmiş ve bunun da asetilen nanopartikülleri (8×10^{-8} M) kullanılarak grafen bazlı olmayan bir elektrokimyasal biyosensör ile elde edilenden daha iyi olduğu belirlenmiştir [53]. Eritromisin analogları (kanamisin sülfat, neomisin sülfat ve spiramisin) biyosensör içerisine eklendiğinde, eritromisine verilen mevcut cevap diğer üç müdahale edici türden çok daha yüksektir ve bu durum, biyosensörün eritromisine karşı yüksek seçiciliğini göstermektedir [50]. Süt ve bal numunelerini eklendikten sonra, bu sensörün geri kazanımı %95.8-103.0 aralığında değişmektedir ve bu durum gerçek numunelerde eritromisini tayini için geliştirilen sensörün kullanılabilirliğini göstermektedir [50].

Peynir ve laktobasil içecek örneklerinde triptamin tayini için MIP, sülfonatlı grafen ve hyaluronik asit MWCNT kompozitine dayanan bir elektrokimyasal sensör geliştirilmiştir [51]. Sensör yüzeyi sülfonlanmış grafen tabakası ile modifiye edildiğinde, grafen levhalarının yüksek iletkenliğinden dolayı oluşabilecek redoks pik akımında bir artışı gözlenmiştir. Elde edilen geri kazanımlar %91,5-103 aralığında ve sensörün gerçek örneklerde triptamin tayinine uygulanabileceği belirtilmiştir. Bunun yanı sıra, sensör iki haftalık saklamadan sonra mevcut yanıtın % 87'sini koruduğundan ve PBS ile yeniden üretilebildiğinden uzun süreli bir kararlılığa sahip olduğu belirlenmiştir.

Son zamanlarda, sütte *staphylococcus aureus*'un hızlı ve spesifik tayini için grafen ve aptamerlerin konjugasyonu ile bir piezoelektrik sensör geliştirilmiştir [52]. Grafenin dahil edilmesi, grafenin iyi elektronik iletkenliği nedeniyle, sensör elektrodunun elektriksel özelliklerinin belirgin bir şekilde değişmesine izin vermekte ve böylece hassas bir sensör cevabı açığa çıkmaktadır. Geliştirilen sensör 41 cfu/mL gözlenebilme sınırı 101-105 cfu/mL bakteri konsantrasyonları ile rezonans frekans kaymaları arasında doğrusal bir ilişki olduğu göstermiştir. Sensör elektrotu asetonytril ve aseton ile yıkanarak ve aptamerleri grafene yeniden bağladıktan sonra tekrar kullanılabilir. *Staphylococcus aureus* tayininin frekans kayması başlangıç sensörüne oldukça yakın çıkmıştır, on tekrardan sonra frekans kayması %5'ten daha az azalmakta ve bu da sensörün en az on kez tekrar kullanılabilirliğini göstermektedir [52].

2.2. Grafen oksit (GO)

GO içeren sensörler ve biyosensörler klinik uygulamalar için glikoz ve DNA tayini ve çevresel uygulamalar için amonyak ve formaldehit tayininde kullanılmıştır. GO [54-55] veya GO'nun nanopartiküllerle [56] birleştirilmesi, sensörlerin ve biyosensörlerin analitik tepkisini artırabilir, temel olarak hassasiyetlerini [56] ve gözlenebilme sınırı [55] geliştirebilir.

Tablo 2, GO ile üretilen sensörlerin ve biyosensörlerin analitik parametrelerini göstermektedir ve Tablo 2'de listelenen bazı örneklerin analitik performansı da bu alt bölümde tartışılmakta ve karşılaştırılmaktadır.

2.2.1. Klinik uygulamalar

Glikoz tayini için platin nanopartikülleri ve GO'nun kombinasyonu ile bir elektrokimyasal biyosensör geliştirilmiştir [56]. Burada, elektrokatalitik aktivite GO içermeyen biyosensörlerle kıyaslandığında 12 kat artmıştır (H_2O_2 'ye karşı amperometrik hassasiyet açısından karakterize edilmiştir). Platin nanopartiküller ve GO'nun hibrit nanokompozitine dayanan biyosensörlerin etkili yüzey alanı, elektron transferinde bir artış ile birlikte bir platin biyosensöründen önemli ölçüde daha yüksektir. Glikoz tayini uygulandığında, platin/GO biyosensörüne duyarlılık, platin biyosensöre kıyasla 25 kat artmıştır.

DNA'nın seçici ve hassas tayini hem klinik tanıda hem de gen ekspresyon analizinde çok önemlidir. Hızlı ve düşük maliyetli biyosensörler potansiyel analitik cihazlar olarak önerilmektedir. Örneğin, DNA tayini için bir kemilüminesans biyosensör GO ve sıklıkla algılama platformlarında yükseltici etiketler olarak kullanılan, katalitik nükleik asitler olan bir yaban turpu peroksidazı taklit eden DNazimler [57] kullanılarak geliştirilmiştir. GO, sensörün kemilüminesans emisyon yoğunluğunun geliştirilmesine yol açabilen yüksek su verme etkinliği nedeniyle bu optik biyosensörde kullanılmış ve iyi bir gözlenebilme sınırı (34 pM) elde edilmiştir. Başka bir optik biyosensör (flüoresans), hassas DNA tayininde geleceğe vaat eden bir amplifikasyon tekniği olarak izotermal bir dairesel sarmal-yer değiştirme polimerizasyon reaksiyonu içermektedir, bu da daha iyi bir gözlenebilme sınırına (4 pM) yol açmıştır [55]. GO, floresan tepe yoğunluğunun hedeften (10 nM) boşluğa olan oranı olarak tanımlanan algılama platformunda etkin bir sinyal/arka plan oran arttırıcı olarak görev yapmaktadır. GO yokluğunda, bu oran GO eklendikten sonra 4.879'den 17.83'e yükselmiştir, bu da önerilen floresan DNA biyosensörünün hassas DNA tayini için kullanılabileceğini göstermektedir [55].

2.2.2. Çevresel uygulamalar

Tablo 2'de ayrıca, kuvars kristal mikrobals (QCM) ile amonyakın tayini için piezoelektrik sensörlerin üretimini bildiren iki çalışma gösterilmektedir [58-59]. Örneğin, GO'lu bir amonyak sensörü piezoelektrik sensörün kalite faktörünün GO tabakası ve tabakası olmaksızın yapılan ölçümlerle analiz edildiği bildirilmiştir. GO tabakası ile, kalite faktörünün tüm tayin aralığında (100-1700 ppm) GO olmaksızın aynı sensörden yaklaşık iki kat daha büyük olduğu görülmüştür. Kalite faktörü, QCM'nin yüzey enerji kaybının basılanmasını ve GO'nun izolasyon katmanı olarak kullanılmasını önleyen yüksek elastikiyet modülünü tarif etmektedir ve izolasyon katmanı olarak GO kullanımı, QCM'ye dayanan yüksek kararlılıktaki piezoelektrik sensörleri gerçekleştirmek için basit bir yol sağlamaktadır. Son zamanlarda, başka bir QCM sensör pozitif yüklü polietilenimin ve negatif yüklü GO'nun selüloz asetat nano liflerinin yüzeylerine monte edilmiş amonyak için önerilmiştir [59]. İyi bir gözlenebilme sınırı (1 ppm) ve yüksek hassasiyet (9 Hz) gözlenmiştir [59]. Bu, selüloz asetat nano lifleri/polietilenimin/GO kompozitinin 3D yapısından ve GO'nun sensör yüzeyinde iyi dağılmasından kaynaklanmakta; 3D yapı ayrıca amonyak gazı difüzyonu için yüksek yayılma kanalları sağlamaktadır.

Son zamanlarda, GO kullanarak bir QCM sensör formaldehit tayini için üretilmiştir [60] (Tablo 2). Böyle bir GO-QCM sensörünün (en azından 100 güne kadar) iyi kararlılığı, onların hidrojens bağlarının kopmasından açığa çıkan GO ve formaldehit fonksiyonel grupları arasındaki adsorpsiyon-desorpsiyon işlemlerinin geri dönüşümünden kaynaklanabilir [60]. Sensör etanol, aseton, kloroform, benzen ve toluen gibi çeşitli uçucu kimyasallara maruz bırakıldığında, formaldehit için daha yüksek frekans kayması elde edilmiştir.

Analit	Sensör tipi	Elektro-rod ma-teriyali	Algılama malzemeleri	Çalışma aralığı	LOD	Ek bilgi	Ref.
Klinik uygulamalar							
Glikoz	Elektrokimyasal biosen-sör		GO-platin NP	1 µM-2 mM	1 µM	$r = 0.999$	[56]
Glikoz	Optik enzimatik biyo-sensör		GO-gümüş NP-altın NP	2-5 mM	0.33 mM	$r^2 = 0.993$	[61]
Glikoz	Elektrokimyasal sensör	GCE	GO-altın NP	0.2-13.4 mM	0.05 µM		[62]
DNA	Optik sensör		GO-yabanturpu peroksidad DNA	0.1-3.0 n M	34 pM	$r^2 = 0.9914$	[57]
DNA	Optik sensör		GO	0.1-10 nM	4 pM		[54]
Çevresel uygulamalar							
Amonyak	Piezoelektrik sensör (QCM)		GO	100-1700 ppm			[58]
Amonyak	Piezoelektrik sensör (QCM)		GO-polietilenimin	1-50 ppm		$r^2 = 0.97$	[59]
Formaldehit	Piezoelektrik sensör (QCM)		GO	0.5-3.5 ppm	0.06 ppm		[60]
Formaldehit	Piezoelektrik sensör (QCM)		GO-amin fonksiyonelleştirilmiş silika NP	$2.5 \times 10^{-9} - 5.0 \times 10^{-6} M$	$0.04 \text{ Hz } \mu\text{g}^{-1} \text{ ppm}^{-1}$		[63]

Table 2. Grafen oksit (GO) temelli sensörler ve biosensörlerin analitik parametreleri [1].

GCE: camı karbon elektrot; GO: grafen oksit; QCM: kuvars kristal mikrobalsans; LOD: gözlenebilme sınırı; NP: nanopartikül.

2.3. İndirgenmiş grafen oksit (rGO)

rGO içeren sensörler ve biyosensörler klinik uygulamalar için glikoz, H_2O_2 , askorbik asit, dopamin ve ürik asit tayini, çevresel uygulamalar için 17β -estradiol ve bisfenol A tayini ve gıda uygulamaları için nitrit, karbonfuran ve karbaril tayininde kullanılmıştır. rGO'nun [64] varlığı veya rGO'nun nanopartiküller [65] ve polimerler [66] ile birlikte kullanılması, sensörlerin ve biyosensörlerin analitik tepkisini ve temel olarak hassasiyetlerini artırabilmektedir.

Tablo 3, rGO temelli sensörlerin ve biyosensörlerin analitik parametrelerini göstermektedir ve Tablo 3'te listelenen bazı örneklerin analitik performansı da bu alt bölümde tartışılmakta ve karşılaştırılmaktadır.

2.3.1. Klinik uygulamalar

Glikozun tayini için, Tablo 3'te gösterildiği gibi, son yıllarda rGO'lu çeşitli elektrokimyasal sensörler ve biyosensörler rapor edilmiştir. Örneğin, rGO, polipirol (PPy) ve altın nanopartiküller ile bir elektrokimyasal biyosensör geliştirilmiştir [67]. Bildirilen yüksek duyarlılık ($123.8 \mu A \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-2}$), sadece rGO'nun geniş yüzey alanı ve iletkenliğinden dolayı değil aynı zamanda rGO yüzeyine homojen olarak dağılan altın nanopartiküllerden elektron transferi oluşumundan kaynaklandığı bildirilmiştir. Ayrıca, biyo-uyumlu nano-kompozit içerisinde, glukoz oksidazın, enzim ve elektrot arasında nispeten düşük bir bariyerle hızlı elektron transferini kolaylaştıran, altın nanopartikülleri, PPy ve rGO ile iyi temas ettiği sonucuna varılabilir. Bu da çok yönlü elektrokimyasal biyosensörleri ve diğer cihazların geliştirilmesinde ileriye dönük bir yöntem olduğunu göstermektedir [67].

rGO-multi-duvarlı CNT (MWCNT)-platin nanopartikül kompozit üzerindeki miyoglobinin elektrokatalizine dayanan H_2O_2 biyosensörleri geliştirilmiş ve 6 pM gözlenebilir sınıırı elde edilmiştir. rGO-MWCNT (3D) hibrid özelliklerinin platin nanopartikülleri iyi elektrokatalitik özelliği ve çok miktarda elektroaktif miyoglobin varlığı kombinasyonu bu düşük saptama sınırını açıklamaktadır [68].

Askorbik asit, dopamin ve ürik asidin eşzamanlı tayini için, son zamanlarda hemin işlevli rGO'ya dayanan bir elektrokimyasal biyosensör dizayn edilmiştir [69] ve bu biyosensör iyi bir analitik performans sergilemiştir (Tablo 3). rGO'nun geniş yüzey alanı, elektrokimyasal biyosensör tepkisine, yani yüksek elektrokatalitik etkinliğine, mükemmel elektrik iletkenliğine, katyon- π veya π - π istifleme yoluyla hemin katalitik aktivitesini ve stabilitesini daha da arttırma potansiyeline sahiptir.

2.3.2. Çevresel uygulamalar

Çevre araştırmalarında, rGO'lu sensörler ve biyosensörler 17β -estradiol ve bisfenol A tayinlerinde uygulanmıştır (Tablo 3). Suda 17β -estradiol tayini, rGO, MIP ve manyetik nanopartiküller (Fe_3O_4 nano-boncuklar) temelli bir elektrokimyasal sensör vasıtasıyla gerçekleştirilmiştir [70]. Fe_3O_4 nano-boncuklar/grafen kompleksinin neden olduğu tepki akımının yükselmesinden kaynaklanabilecek düşük bir saptama sınırı (0.819 nM) elde edilmiştir [70]. Ayrıca bisfenol A, bisfenol A'nın elektrokatalitik oksidasyonu için etkili bir elektron promotörü görevi gördüğü rGO, kitosan ve manyetik nanopartiküller odaklı bir elektrokimyasal sensör ile tayin edilmiştir ve manyetik nanopartiküllerin ve rGO'nun kompoziti ile oluşturulan elektrot bisfenol A'nın aşırı yüklenme oksidasyonunu azaltabilir, bu da tayin etme duyarlılığını artırır [71]. İyi bir analitik performans $1.7 \times 10^{-8} \text{ mol/L}$ gözlenebilir sınıırı ve %2.69 RSD ile doğrulanmış ve böylece iki hafta sonrasında iyi bir tekrarlanabilirlik, ilk yanıtın %92,3'ü korunmuş ve iyi bir sensör stabilitesi olduğunu kanıtlanmıştır [71].

Analit	Sensör tipi	Elektrod materyali	Algılama malzemeleri	Çalışma aralığı	LOD	Ek bilgi	Ref.
Klinik uygulamalar							
Glukoz	Elektrokimyasal enzimatik biosensör	GCE	rGO-PPy-altın NP	0.2-1.2 mM	1 μ M	RSD = %4.1; $n = 8$	[67]
Glukoz	Elektrokimyasal sensör	SPE	rGO-platin NPCuO NP	0-12 mM	0.01 μ M	$r = 0.9991$	[72]
Glukoz	Optik sensör		rGO	1 nM - 10 mM	1 nM		[73]
H ₂ O ₂	Elektrokimyasal biosensör		rGO-MWCNT-platin NP-miyoglobin	10 pM - 0.19 mM 0.25 nM - 2.24 μ M	6 pM	RSD = %3.3; $n = 5$	[68]
Dopamin	Elektrokimyasal biosensör	GCE	Hemin işlevli rGO	0.5-40 μ M	0.17 μ M	$r^2 = 0.9988$	[69]
Askorbik asit	Elektrokimyasal biosensör	GCE	Hemin işlevli rGO	1-100 μ M	0.3 μ M	$r^2 = 0.9989$	[69]
Ürik asit	Elektrokimyasal biosensör	GCE	Hemin işlevli rGO	0.5-50 μ M	0.17 μ M	$r^2 = 0.9948$	[69]
Çevresel uygulamalar							
17 β -estradiol	Elektrokimyasal sensör		rGO-MIP-Fe ₃ O ₄ NP	0.05-10 μ M	0.819 nM		[70]
Bisfenol A	Elektrokimyasal sensör	GCE	rGO-manyetik NP-kitosan	6.0 x 10 ⁻⁸ - 1.1 x 10 ⁻⁵ mol/L	1.7 x 10 ⁻⁸ mol/L	RSD = %2.69; $n = 5$, $r = 0.9977$	[71]
Gıda Uygulamaları							
Nitrit	Elektrokimyasal sensör	GCE	rGO-Fe ₃ O ₄ NP	1.0 x 10 ⁻⁶ - 9.2 x 10 ⁻⁵ M	3 x 10 ⁻⁷ M		[74]
Karbofuran	Elektrokimyasal sensör	GCE	rGO-CoO NP	0.2-70 μ M	4.2 μ g/L	$r = 0.9996$	[75]
Karbaril	Elektrokimyasal sensör	GCE	rGO-CoO NP	0.5-200 μ M	7.5 μ g/L	$r = 0.9995$	[75]

Table 3. İndirgenmiş grafen oksit (rGO) temelli sensörler ve biyosensörlerin analitik parametreleri [1].

GCE: camlı karbon elektrot; rGO: indirgenmiş grafen oksijen; SPE: ekran baskılı elektrot; MIP: moleküler baskılanmış polimer; LOD: gözlelenebilir sınırlar; NP: nanopartikül; MWCNT: çok duvarlı karbon nanotüpler; PPy: polipiro; RSD: relatif standart sapma.

2.3.3. Gıda uygulamaları

Gıda araştırması alanında, rGO'lu sensörler ve biyosensörler Tablo 3'te bildirildiği gibi nitrit, karbonfuran ve karbaril tayininde uygulanmıştır. Nitrit, rGO ve Fe_3O_4 manyetik nanopartikül temelli hassas bir elektrokimyasal sensör ile tayin edilmiştir [74]. Fe_3O_4 nanopartikülleri ve elektrot yüzeyi arasında elektron transferinin desteklenmesi için rGO'nun elektron taşıyıcısı olarak yüksek kabiliyetinden yararlanılarak büyük miktarda heterojen elektron transfer sabiti elde edilmiştir. Sensörün iyi performans göstermesi için sensöre gerçek sosis örnekleri uygulanmış ve sensörden elde edilen değerler ile referans yöntem ve ayrıca standart eklenmiş örnekler arasında iyi bir uyum olduğu tespit edilmiştir [74]. Karbofuran ve karbaril rGO ve CoO nanopartikülleri kullanılarak grafen sensörler tarafından tayin edilmiştir [75]. CoO'nun katalitik performansının verimliliği rGO'nun kombinasyonundan dolayı artmıştır. Üretilen elektrokimyasal sensörün pratik uygulamasını değerlendirmek için meyve ve sebzeler (üzüm, portakal, domates ve lahanaya) gibi gerçek örnekler kullanılmıştır. Elde edilen geri kazanımlar (%96-104) gerçek numune analizi için sensörün kararlılığını ve hassasiyetini doğrulamış ve sensörün analitik sonuçlarının bir referans yöntemi (HPLC) ile elde edilenlerle uyum içinde olduğu için iyi bir doğruluk gösterdiği de rapor edilmiştir [75].

3. SONUÇLAR

Grafen ve grafen temelli malzemeler, geniş spesifik yüzey alanına, iyi elektrik iletkenliğine, sağlanan yüksek elektron transfer hızına ve enzimlerin hareketsiz hale getirme kapasitelerine bağlı olarak elektrokimyasal prensipleri takip eden sensörler ve biyosensörlerde kullanılmaktadır.

Bu derleme, klinik analizde, çevresel izlemede veya gıda kalitesi kontrolünde, sensörler ve biyosensörlerde grafen ve grafen temelli materyallerin uygulanması ile ilgili çalışmaları bildirmektedir. Çeşitli algılama sistemlerinin analitik performansı karşılaştırılmış ve bu tür malzemelerin analitik yanıtın iyileştirilmesindeki rolü ve böylece sensörlerin ve biyosensörlerin performansları tartışılmaktadır.

Bu alandaki en yeni ilerleme, grafen veya grafen temelli malzemeleri metal nanopartiküller gibi diğer bileşiklerle birleştiren nanokompozitlerin sentezine ve elektrokimyasal sensörlerin ve biyosensörlerin geliştirilmiş analitik performansla üretilmesine izin verilmesine karşılık gelir. Çünkü nanokompozit bileşenlerin elektriksel özelliklerinin kombinasyonu bu tür algılama platformlarına entegre edilmesi grafen veya grafen temelli malzemeleri avantajlı kılar. Analit tanıma uygulamalarında, grafen temelli malzemeler doğru, hızlı, seçici, hassas ve hatta tek moleküler algılama potansiyellerini göstermektedir.

Gelecekteki araştırma alanları, karbon nanotüp biyosensörleri için daha önce olduğu gibi, grafen ve grafen temelli materyallere dayanan taşınabilir algılama platformlarının geliştirilmesini ve analitlerin eşzamanlı çoklu algılanmasını içerecektir. Grafen sensörlerinin ve biyosensörlerin, yerinde daha iyi klinik tanıya veya çevresel analiz için algılama platformları olarak öne sürebilecek cihazlar olarak üretilmesi de gelecekteki araştırmalarda yapılması planlanabilir. Ayrıca, uygulanan sensörlerin ve biyosensörlerin analitik performansını arttırmak için, analit ve grafen-MIP'nin doğrudan temasından yararlanarak, MIP ile grafen kombinasyonu daha fazla çalışmalıdır. Grafen ve nanopartiküller ve organik polimerler gibi element odaklı diğer kompozitlerin üretimi, yeni grafen bazlı sensörlerin ve biyosensörlerin bir gelişimi olarak tanımlanmıştır ve araştırma, temel olarak gerçek zamanlı analizin yanı sıra tekrarlanabilirlik ve tespit limiti açısından analitik performanslarını iyileştirmek için yönlendirilmelidir.

KAYNAKLAR

1. Justino, C.I.L., Gomes, A.R., Freitas, A.C., Duarte, A.C., Rocha-Santos, T.A.P. (2017). Graphene based sensors and biosensors. *Trends Anal. Chem.* 91, 53-66. doi:10.1016/j.trac.2017.04.003
2. Justino, C.I.L., Rocha-Santos, T.A.P., Duarte, A.C. (2013). Advances in point-of-care technologies with biosensors based on carbon nanotubes. *Trends Anal. Chem.* 45, 24-36. doi:10.1016/j.trac.2012.12.012
3. Fenz, C., Hirsch, T., Baeumner, A.J. (2016). Nanomaterials as versatile tools for signal amplification in (bio)analytical applications. *Trends Anal. Chem.* 79, 306-316. doi:10.1016/j.trac.2015.10.018
4. Deshpande, A., LeRoy, B. (2012). Scanning probe microscopy of graphene. *Physica E.* 44, 743-759. doi:10.1016/j.physe.2011.11.024
5. Tang, L., Wang, Y., Li, Y., Feng, H., Lu, J., Li, J. (2009). Preparation, structure, and electrochemical properties of reduced graphene sheet films. *Advanced Functional Materials*, 19, 2782-2789. doi:10.1002/adfm.200900377
6. Soldano, C., Mahmood, A., Dujardin, E. (2010). Production, properties and potential of graphene. *Carbon*, 48, 2127-2150. doi:10.1016/j.carbon.2010.01.058
7. Arco, L., Zhang, Y., Zhou, C. (2011). Large scale graphene by chemical vapor deposition: synthesis, characterization and applications. In: Gong J, editor. *Graphene-synthesis, characterization, properties and applications*. Croatia: InTech; ss. 161-184.
8. Atta, N.F., Galal, A. and El-Ads, E.H. Graphene-A platform for sensor and biosensor applications. *Biosensors-micro and nanoscale applications*, Licensee InTech. IntechOpen. ss. 38-39.
9. Shao, Y., Wang, J., Wu, H., Liu, J., Aksay, I., Lin, Y. (2010). Graphene based electrochemical sensors and biosensors: A review. *Electroanalysis*, 22, 1027-1036. doi:10.1002/elan.200900571
10. Kuila, T., Bose, S., Mishra, A., Khanra, P., Kim, N., Lee, J. (2012). Chemical functionalization of graphene and its applications. *Progress in Materials Science*, 57, 1061-1105. doi:10.1016/j.pmatsci.2012.03.002
11. Fan, Y., Liu, J., Lu, H., Zhang, Q. (2011). Electrochemical behavior and voltammetric determination of paracetamol on Nafion/TiO₂-graphene modified glassy carbon electrode. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 85, 289-292. doi:10.1016/j.colsurfb.2011.02.041
12. Li, F., Li, J., Feng, Y., Yang, L., Du, Z. (2011). Electrochemical behavior of graphene doped carbon paste electrode and its application for sensitive determination of ascorbic acid. *Sensors and Actuators B*, 157, 110-114. doi:10.1016/j.snb.2011.03.033
13. Odahara, G., Ishikawa, T., Fukase, K., Otani, S., Oshima, C., Suzuki, M., Yasue, T., Koshikawa, T. (2011). Self-standing graphene sheets prepared with chemical vapor deposition and chemical etching. In: Gong J, editor. *Graphene-synthesis, characterization, properties and applications*. Croatia: InTech; pp. 3-20. doi:10.5772/1742.ch1
14. Wang, Y., Li, Y., Tang, L., Lu, J., Li, J. (2009). Application of graphene-modified electrode for selective detection of dopamine. *Electrochemistry Communications*, 11, 889-892. doi:10.1016/j.elecom.2009.02.013
15. Chang, J., Zhou, G., Christensen, E.R., Heideman, R., Chen, J. (2014). Graphene-based sensors for detection of heavy metals in water: a review. *Anal. Bioanal. Chem.* 406, 3957-3975. doi:10.1007/s00216-014-7804-x

16. Deng, X., Tang, H., Jiang, J. (2014). Recent progress in graphene-material-based optical sensors. *Anal. Bioanal. Chem.* 406, 6903-6916. doi:10.1007/s00216-014-7895-4
17. Bao, Q., Loh, K.P. (2012). Graphene photonics, plasmonics, and broadband optoelectronic devices. *ACS Nano*, 6, 3677-3694. doi:10.1021/nn300989g
18. He, Q., Wu, S., Yin, Z., Zhang, H. (2012). Graphene-based electronic sensors. *Chem. Sci.* 3, 1764-1772. doi: 10.1039/C2SC20205K
19. Pumera, M., Ambrosi, A., Bonanni, A., Chng, E.L.K., Poh, H.L. (2010). Graphene for electrochemical sensing and biosensing. *Trends Anal. Chem.* 29, 954-965. doi:10.1016/j.trac.2010.05.011
20. Liu, Y., Dong, X., Chen, P. (2012a). Biological and chemical sensors based on graphene materials. *Chem. Soc. Rev.* 41, 2283-2307. doi:10.1039/c1cs15270j
21. Kochmann, S., Hirsch, T., Wolfbeis, O.S. (2012). Graphenes in chemical sensors and biosensors. *Trends Anal. Chem.* 39, 87-113. doi:10.1016/j.trac.2012.06.004
22. Liu, M., Zhang, W., Chang, D., Zhang, Q., Brennan, J.D., Li, Y. (2015). Integrating graphene oxide, functional DNA and nucleic-acid-manipulating strategies for amplified biosensing. *Trends Anal. Chem.* 74, 120-129. doi:10.1016/j.trac.2015.03.027
23. Sundramoorthy, A.K., Gunasekaran, S. (2014). Applications of graphene in quality assurance and safety of food. *Trends Anal. Chem.* 60, 36-53. doi:10.1016/j.trac.2014.04.015
24. Bollella, P., Fusco, G., Tortolini, C., Sanzo, G., Favero, G., Gorton, L., Antiochia, R. (2017). Beyond graphene: electrochemical sensors and biosensors for biomarkers detection. *Biosens. Bioelectron.* 89, 152-166. doi:10.1016/j.bios.2016.03.068
25. Bahadır, E.B., Sezgintürk M.K. (2015). Applications of graphene in electrochemical sensing and biosensing. *Trends Anal. Chem.* 76, 1-14. doi:10.1016/j.trac.2015.07.008
26. Bonanni, A., Loo, A.H., Pumera, M. (2012). Graphene for impedimetric biosensing. *Trends Anal. Chem.* 37, 12-21. doi:10.1016/j.trac.2012.02.011
27. Tran, T.T., Mulchandani, A. (2016). Carbon nanotubes and graphene nano field-effect transistor-based biosensors. *Trends Anal. Chem.* 79, 222-232. doi:10.1016/j.trac.2015.12.002
28. Meng, F.L., Guo, Z., Huang, X.J. (2015). Graphene-based hybrids for chemiresistive gas sensors. *Trends Anal. Chem.* 68, 37-47. doi:10.1016/j.trac.2015.02.008
29. Zhao, Y., Li, X.G., Zhou, X., Zhang, Y.N. (2016). Review on the graphene based optical fiber chemical and biological sensors. *Sens. Actuators B*, 231, 324-340. doi:10.1016/j.snb.2016.03.026
30. Carbone, M., Gorton, L., Antiochia, R. (2015). An overview of the latest graphene based sensors for glucose detection: the effects of graphene defects. *Electroanalysis*, 27, 16-31. doi:10.1002/elan.201400409
31. Justino, C.I.L., Rocha-Santos, T.A., Duarte, A.C. (2010). Review of analytical figures of merit of sensors and biosensors in clinical applications. *Trends Anal. Chem.* 29, 1172-1183. doi:10.1016/j.trac.2010.07.008
32. Lin, C.T., Loan, P.T.K., Chen, T.Y., Liu, K.K., Chen, C.H., Wei, K.H., Li, L.J. (2013). Label-free electrical detection of DNA hybridization on graphene using hall effect measurements: revisiting the sensing mechanism. *Adv. Funct. Mater.* 23, 2301-2307. doi:10.1002/adfm.201202672

33. Singal, S., Srivastava, A.K., Biradar, A.M., Mulchandani, A., Rajesh, (2014). Pt nanoparticles-chemical vapor deposited graphene composite based immunosensor for the detection of human cardiac troponin I. *Sens. Actuators B*, 205, 363-370. doi: 10.1016/j.snb.2014.08.088
34. Luo, J., Jiang, S., Zhang, H., Jiang, J., Liu, X. (2012). A novel non-enzymatic glucose sensor based on Cu nanoparticle modified graphene sheets electrode. *Anal. Chim. Acta*, 709, 47-53. doi:10.1016/j.aca.2011.10.025
35. Song, H., Ni, Y., Kokot, S. (2013). A novel electrochemical biosensor based on the hemin-graphene nano-sheets and gold nano-particles hybrid film for the analysis of hydrogen peroxide. *Anal. Chim. Acta*, 788, 24-31. doi:10.1016/j.aca.2013.06.016
36. Wu, L.D., Deng, D.H., Jin, J., Lu, X.B., Chen, J.P. (2012). Nanographene-based tyrosinase biosensor for rapid detection of bisphenol A. *Biosens. Bioelectron.* 35, 193-199. doi:10.1016/j.bios.2012.02.045
37. Manjunatha, R., Suresh, G.S., Melo, J.S., D'Souza, S.F., Venkatesha, T.V. (2012). An amperometric bienzymatic cholesterol biosensor based on functionalized graphene modified electrode and its electrocatalytic activity towards total cholesterol determination. *Talanta*, 99, 302-309. doi:10.1016/j.talanta.2012.05.056
38. Cao, S., Zhang, L., Chai, Y., Yuan, R. (2013). Electrochemistry of cholesterol biosensor based on a novel Pt-Pd bimetallic nanoparticle decorated graphene catalyst. *Talanta*, 109, 167-172. doi:10.1016/j.talanta.2013.02.002
39. Ruecha, N., Rangkupan, R., Rodthongkum, N., Chailapakul, O. (2014). Novel paper-based cholesterol biosensor using graphene/polyvinylpyrrolidone/polyaniline nanocomposite. *Biosens. Bioelectron.* 52, 13-19. doi:10.1016/j.bios.2013.08.018
40. Wu, D., Li, Y., Zhang, Y., Wang, P., Wei, Q., Du, B. (2014). Sensitive electrochemical sensor for simultaneous determination of dopamine, ascorbic acid, and uric acid enhanced by amino-group functionalized mesoporous Fe₃O₄-graphene sheets. *Electrochim. Acta*, 116, 244-249. doi:10.1016/j.electacta.2013.11.033
41. Qi, S., Zhao, B., Tang, H., Jiang, X. (2015). Determination of ascorbic acid, dopamine, and uric acid by a novel electrochemical sensor based on pristine graphene. *Electrochim. Acta*, 161, 395-402. doi:10.1016/j.electacta.2015.02.116
42. Liu, Q., Zhu, X., Huo, Z., He, X., Liang, Y., Xu, M. (2012b). Electrochemical detection of dopamine in the presence of ascorbic acid using PVP/graphene modified electrodes. *Talanta*, 97, 557-562. doi:10.1016/j.talanta.2012.05.013
43. Loo, A.H., Bonanni, A., Pumera, M. (2012). Impedimetric thrombin aptasensor based on chemically modified graphene. *Nanoscale*, 4, 143-147. doi:10.1039/c1nr10966a
44. Wang, Y., Xiao, Y., Ma, X., Li, N., Yang, X. (2012). Label-free and sensitive thrombin sensing on a molecularly grafted aptamer on graphene. *Chem. Commun.* 48, 738-740. doi:10.1039/C1CC15429J
45. Chang, H.X., Tang, L.H., Wang, Y., Jiang, J.H., Li, J.H. (2010). Graphene fluorescence resonance energy transfer aptasensor for the thrombin detection. *Anal. Chem.* 82, 2341-2346. doi:10.1021/ac9025384
46. Yang, L., Wang, G., Liu, Y., Wang, M. (2013). Development of a biosensor based on immobilization of acetylcholinesterase on NiO nanoparticles-carboxylic graphene-nafion modified electrode for detection of pesticides. *Talanta*, 113, 135-141. doi:10.1016/j.talanta.2013.03.025

47. Huangfu, C., Fu, L., Li, Y., Li, X., Du, H., Ye, J. (2013). Sensitive stripping determination of cadmium (II) and lead (II) on disposable graphene modified screen-printed electrode. *Electroanalysis*, 25, 2238-2243. doi:10.1002/elan.201300239
48. Chen, M., Chao, M., Ma, X. (2014). Poly(crystal violet)/graphene-modified electrode for the simultaneous determination of trace lead and cadmium ions in water samples. *J. Appl. Electrochem.* 44, 337-344. doi:10.1007/s10800-013-0641-3
49. Chaiyo, S., Mehmeti, E., Zagar, K., Siangproh, W., Chailapakul, O., Kalcher, K. (2016). Electrochemical sensors for the simultaneous determination of zinc, cadmium and lead using a nafion/ionic liquid/graphene composite modified screen-printed carbon electrode. *Anal. Chim. Acta*, 918, 26-34. doi:10.1016/j.aca.2016.03.026
50. Lian, W., Liu, S., Yu, J., Xing, X., Li, J., Cui, M., Huang, J. (2012). Electrochemical sensor based on gold nanoparticles fabricated molecularly imprinted polymer film at chitosan-platinum nanoparticles/graphene-gold nanoparticles double nanocomposites modified electrode for detection of erythromycin. *Biosens. Bioelectron.* 38, 163-169. doi:10.1016/j.bios.2012.05.017
51. Xing, X., Liu, S., Yu, J., Lian, W., Huang, J. (2012). Electrochemical sensor based on molecularly imprinted film at polypyrrole-sulfonated graphene/hyaluronic acid-mul-tiwalled carbon nanotubes modified electrode for determination of tryptamine. *Biosens. Bioelectron.* 31, 277-283. doi:10.1016/j.bios.2011.10.032
52. Lian, Y., He, F., Wang, H., Tong, F. (2015). A new aptamer/graphene interdigitated gold electrode piezoelectric sensor for rapid and specific detection of *Staphylococcus aureus*. *Biosens. Bioelectron.* 65, 314-319. doi:10.1016/j.bios.2014.10.017
53. Hu, X., Wang, P., Yang, J., Zhang, B., Li, J., Luo, J., Wu, K. (2010). Enhanced electrochemical detection of erythromycin based on acetylene black nanoparticles. *Colloids Surf. B*, 81, 27-31. doi:10.1016/j.colsurfb.2010.06.018
54. Loo, A.H., Bonanni, A., Pumera, M. (2012). Impedimetric thrombin apta-sensor based on chemically modified graphene. *Nanoscale* 4, 143-147. doi: 10.1039/C1NR10966A
55. Li, Z., Zhu, W.P., Zhang, J.W., Jiang, J.H., Shen, G.L., Yu, R.Q. (2013). A label-free amplified fluorescence DNA detection based on isothermal circular strand displacement polymerization reaction and graphene oxide. *Analyst* 138, 3616-3620. doi: 10.1039/C3AN00421J
56. Shi, J., Zhang, H., Snyder, A., Wang, M.X., Xie, J., Porterfield, D.M., Stanciu, L.A. (2012). An aqueous media based approach for the preparation of a biosensor platform composed of graphene oxide and Pt-black. *Biosens. Bioelectron.* 38, 314-320. doi:10.1016/j.bios.2012.06.007
57. Luo, M., Chen, X., Zhou, G., Xiang, X., Chen, L., Ji, X., He, Z. (2012). Chemiluminescence biosensors for DNA detection using graphene oxide and a horseradish peroxidase-mimicking DNAzyme. *Chem. Commun.* 48, 1126-1128. doi: 10.1039/C2CC16868E
58. Li, X., Chen, X., Yao, Y., Li, N., Chen, X. (2014). High-stability quartz crystal microbalance ammonia sensor utilizing graphene oxide isolation layer. *Sens. Actuators B* 196, 183-188. doi:10.1016/j.snb.2014.01.088
59. Jia, Y., Yu, H., Zhang, Y., Dong, F., Li, Z. (2016). Cellulose acetate nanofibers coated layer-by-layer with polyethylenimine and graphene oxide on a quartz crystal microbalance for use as a highly sensitive ammonia sensor. *Colloids Surf. B* 148, 263-269. doi:10.1016/j.colsurfb.2016.09.007

60. Yang, M., He, J. (2016). Graphene oxide as quartz crystal microbalance sensing layers for detection of formaldehyde. *Sens. Actuators B*, 228, 486-490. doi:10.1016/j.snb.2016.01.046
61. Gupta, V.K., Atar, N., Yola, M.L., Eryılmaz, M., Torul, H., Tamer, U., Boyacı, I.H., Ustundag, Z. (2013). A novel glucose biosensor platform based on Ag@AuNPs modified graphene oxide nanocomposite and SERS application. *J. Colloid Interf. Sci.* 406, 231-237. doi:10.1016/j.jcis.2013.06.007
62. Kong, F.Y., Li, X.R., Zhao, W.W., Xu, J.J., Chen, H.Y. (2012). Graphene oxideethionineeAu nanostructure composites: preparation and applications in nonenzymatic glucose sensing. *Electrochem. Commun.* 14, 59-62. doi:10.1016/j.elecom.2011.11.004
63. Wang, Z., Yang, M., He, J. (2014). Sensing properties of GO and amine-silica nanoparticles functionalized QCM sensors for detection of formaldehyde. *Int. J. Nanosci.* 13, 1460011. doi:10.1142/S0219581X14600114
64. Unnikrishnan, B., Palanisamy, S., Chen, S.M. (2013). Simple electrochemical approach to fabricate a glucose biosensor based on grapheneeglucose oxidase biocomposite. *Biosens. Bioelectron.* 39, 70-75. doi:10.1016/j.bios.2012.06.045
65. Lin, D., Wu, J., Wang, M., Yan, F., Ju, H. (2012). Triple signal amplification of graphene film, polybead carried gold nanoparticles as tracing tag and silver deposition for ultrasensitive electrochemical immunosensing. *Anal. Chem.* 84, 3662-3668. doi: 10.1021/ac3001435
66. Kumar, S., Kumar, S., Srivastava, S., Yadav, B.K., Lee, S.H., Sharma, J.G., Doval, D.C., Malhotra, B.D. (2015). Reduced graphene oxide modified smart conducting paper for cancer biosensor. *Biosens. Bioelectron.* 73, 114-122. doi:10.1016/j.bios.2015.05.040
67. Xue, K., Zhou, S., Shi, H., Feng, X., Xin, H., Song, W. (2014). A novel amperometric glucose biosensor based on ternary gold nanoparticles/polypyrrole/reduced graphene oxide nanocomposite. *Sens. Actuators B* 203, 412-416. doi:10.1016/j.snb.2014.07.018
68. Mani, V., Dinesh, B., Chen, S., Saraswathi, R. (2014). Direct electrochemistry of myoglobin at reduced graphene oxideemultiwalled carbon nanotubeseplatinum nanoparticles nanocomposite and biosensing towards hydrogen peroxide and nitrite. *Biosens. Bioelectron.* 53, 420-427. doi:10.1016/j.bios.2013.09.075
69. Zou, H.L., Li, B.L., Luo, H.Q., Li, N.B. (2015). A novel electrochemical biosensor based on hemin functionalized graphene oxide sheets for simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid. *Sens. Actuators B*, 207, 535-541. doi:10.1016/j.snb.2014.10.121
70. Li, Y., Zhao, X., Li, P., Huang, Y., Wang, J., Zhang, J. (2015). Highly sensitive Fe₃O₄ nanobeads/graphene-based molecularly imprinted electrochemical sensor for 17β-estradiol in water. *Anal. Chim. Acta* 884, 106-113. doi:10.1016/j.aca.2015.05.022
71. Zhang, Y., Cheng, Y., Zhou, Y., Li, B., Gu, W., Shi, X., Xian, Y. (2013). Electrochemical sensor for bisphenol A based on magnetic nanoparticles decorated reduced graphene oxide. *Talanta* 107, 211-218. doi:10.1016/j.talanta.2013.01.012
72. Dhara, K., Stanley, J., Ta, R., Nair, B.G., Babu, S., Ga, T. (2014). Pt-CuO nanoparticles decorated reduced graphene oxide for the fabrication of highly sensitive non-enzymatic disposable glucose sensor. *Sens. Actuators B* 195, 197-205. doi:10.1016/j.snb.2014.01.044

73. Sridevi, S., Vasu, K.S., Sampath, S., Asokan, S., Sood, A.K. (2016). Optical detection of glucose and glycated hemoglobin using etched fiber Bragg gratings coated with functionalized reduced graphene oxide. *J. Biophot.* 9, 760-769. doi:10.1002/jbio.201580156
74. Teymourian, H., Salimi, A., Khezrian, S. (2013). Fe₃O₄ magnetic nanoparticles/reduced graphene oxide nanosheets as a novel electrochemical and bioelectrochemical sensing platform. *Biosens. Bioelectron.* 49, 1-8. doi:10.1016/j.bios.2013.04.034
75. Wang, M.Y., Huang, J.R., Wang, M., Zhang, D.E., Chen, J. (2014). Electrochemical nonenzymatic sensor based on CoO decorated reduced graphene oxide for the simultaneous determination of carbofuran and carbaryl in fruits and vegetables. *Food Chem.* 151, 191-197. doi:10.1016/j.foodchem.2013.11.046

Topolojinin Varoluđu ve Gelişimi Hakkında Bir Araştırma

Güzide ŞENEL¹

CHAPTER 4

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Amasya Üniversitesi

1. GİRİŞ

Geometrinin ortaya çıkışı insanlık tarihi kadar eskidir. Geometri, insanların şekilleri tanımlaması ve bunları karşılaştırmasına bağlı olarak bilinçaltı kavramları olarak doğmuştur. Kaynaklar, M.Ö. 600 yılına kadar olan dönemde geometrik şekiller üzerine yapılan çalışmalardaki araçların, tümevarım ve deneysel yöntemler olduğunu göstermektedir (Özkın, K., 1991). Günlük hayat içinde yapılan gözlemlerden elde edilen bağıntılar bir araya getirildiğinde, alanlar, hacimler ve çeşitli şekiller arasındaki bağlantılar kümesi ortaya çıkmıştır. Bu bilgi kümesini bugün Öklid geometrisi olarak bilinen akılcı bir disipline dönüştürenler Eski Yunanlılardır. Bu dönüşümün tamamlanması yaklaşık üç yüzyıl sürerek M.Ö. 300 dolaylarında Öklid'in "Elements" adlı eseriyile zirveye ulaşmıştır (Özkın, K., 1991). Öklid'in bu eserindeki katı yöntemlerin zorlamasından uzak yeni kavramların geliştirilmesi sonucunda, matematiğin tamamında ve özellikle de geometride anlaşılabilirlik artmıştır. Bu derlemenin amacı, geometrinin bir dalı olan topolojinin nasıl doğduğu ve geliştiğini araştırmaktır. Bu amaçla çeşitli kavramların tanımlamaları yapılacak, topolojinin doğuşu ve gelişimi hakkında bilgi verilmeye çalışılacaktır.

2. GELİŞME

Öklid'in "Elements" adlı eserinin en dikkat çeken kavramı eşleşimdir. Eşleşim, düzlemde bulunan iki geometrik şeklin sadece düzlemde işgal ettikleri yer bakımından birbirinden farklı olmalarıdır. Başka bir ifadeyle, düzlemde öteleme, dönme gibi katı hareketlerle bu iki geometrik şekil çakıştırılabilirse, bu iki cisme "eşleşiktir" denir (Özkın, K., 1991). Elements serisinin 4. Kitabında, eşlenik geometrik şekillerden ziyade "benzer" geometrik şekiller incelenmiştir. Benzerlik tanımı kabaca, aynı biçimde fakat farklı ölçülerde olan herhangi iki geometrik şekil benzerdir biçiminde yapılabilir. Bu aşamadan sonra "düzlem Öklidyen benzerlik geometrisi" bir geometrik şeklin, sahip olduğu bir takım özelliklere, bu şekle benzer olan diğer tüm geometrik şekillerin de benzer olması durumudur. Geometrik şekillerin benzerlik dönüşümleri altındaki biçim değişikliğinin izometrilere göre daha etkin olduğu açıktır. Fakat geometrik şekillerin biçim değişikliğine sebep olabilen dönüşümler altında değişmez kalan özelliklerin incelenmesi istendiğinde topolojinin varlığı fark edilmeye başlanır. Riemann'ın karmaşık fonksiyonlar teorisindeki çalışmalarının önemini anlayarak bunları değerlendiren Klein, bir geometrik şekilde yeni noktalar oluşturmadan veya mevcut noktaları çakıştırmadan geometrik şeklin biçiminin bozulması durumunda şeklin değişmez kalan özellikleri ile ilgilenen, geometrinin yeni bir dalı olan **topolojiyi** ilk fark edenlerdendir (Özkın, K., 1991).

Topolojinin bir başka ortaya çıkış öyküsü de şu şekilde literatürde yer almaktadır: Euler'in 1736'da yazdığı bir makalede Königsberg isimli bir şehirdeki yedi köprüyü hepsinden sadece tam bir kez geçmek koşuluyla dolaşmanın mümkün olmadığı gösterilmiştir (Özbağcı, B., 2003). Bu soru topolojik bir sorudur; çünkü köprülerin büyüklüğünün ya da birbirlerinden uzaklıklarının sorunun çözümüyle hiçbir ilgisi yoktur, önemli olan köprülerin ve onları birbirine bağlayan yolların şehir içindeki konumu olarak görülmüştür. Euler'in bu makalesi, Leibniz'in bir tür vektör kalkülüs olarak görülebilecek konum geometrisi çalışmalarından, detaylı hesaplama içermemesinden dolayı farklılaştığı için, matematikçiler tarafından topolojinin ilk tarihsel izi olarak kabul görmektedir.

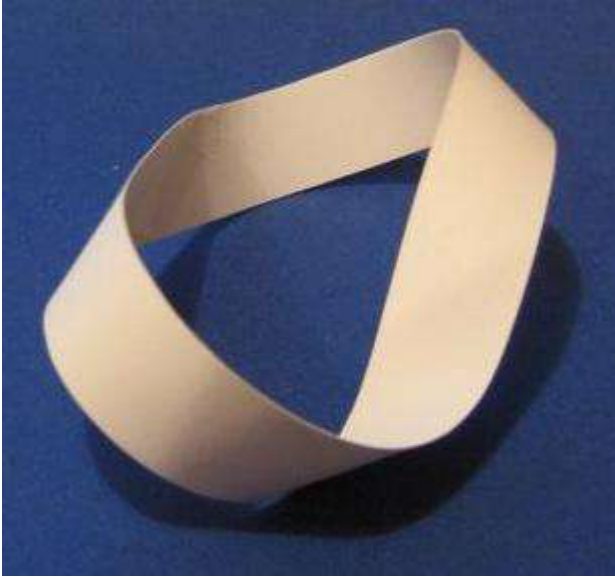
Matematik tarihinde topoloji adına diğer bir gelişme yine Euler'e aittir (Özbağcı, B., 2003). Bir dışbükey çokyüzlü için

Euler,1752'de şu formülü yayımlamıştır: "köşelerin sayısı - kenarların sayısı + yüzlerin sayısı = 2".

Bu formül topolojik bir yapının değişmez bir özelliğinin ilk örneğidir (Özbağcı, B., 2003).

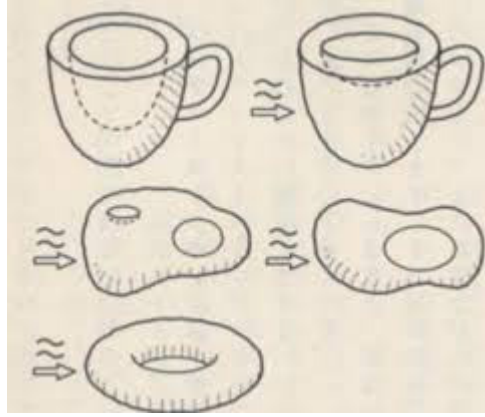
Topoloji hakkında bir önseziye de Gauss sahipti. Manyetizma üzerine yaptığı çalışmalarda, günümüzde geçişme sayısı olarak bilinen bir topolojik değişmez gösterdi. Bu sayı, kapalı bir eğrinin bir başkasının üzerine nasıl sarıldığını belirler. Ancak topolojinin gelişmesinde Gauss'un etkisi, öğrencisi olan Johann Listing ve asistanı Augustus Möbius'a bağlıdır. 1834'te Listing "Topoloji İçin Ön Çalışma" adlı eserinde Yunanca'da yüzey veya uzay anlamına gelen topos ve bilim anlamına gelen logos kelimelerinden türetilen topoloji kelimesini ilk olarak kullandı.

Listing'in topolojik fikirleri Gauss sayesinde gelişmesine rağmen Gauss bu konuda yayın yapmamıştır. Yine 1861'de Listing, yüzeylerin bağlantılı olup olmadığı hakkında yazdığı makalede Möbius şeridinden (Möbius'den dört yıl önce) söz etmiştir. Möbius şeridinden bahsetmeden önce yüzeyin tek yüzlü olmasının ne anlama geldiğinden bahsetmek faydalı olacaktır: Normalde bir yüzeyin iki tarafı vardır. Bir topun dışıyla içi farklı yüzlerdir; bir yüzden öbürüne geçmek için delik açmak gerekir ki topolojide bu gibi işlemlere izin yoktur (çekmek serbesttir ama kesmek yoktur). Tek taraflı bir yüzeyin nasıl olabileceğini ilk başta aklımız almasa da Alman matematikçi ve gökbilimci August Möbius, 19. yüzyılda böyle bir şekil keşfetti. Bu şekli elde etmek için yapmanız gereken bir kağıt şeridi alıp bir ucunu bir tur döndürerek diğer ucuyla birleştirmektir. Oluşan tek taraflı ve tek kenarlı kıvrık şekle "Möbius şeridi" denir. Aşağıdaki şekilde de görüleceği gibi elde edilen Möbius şeridi, uzun ince bir şeridin iki ucunu, uçlardan sadece birini 180 derece kıvrıp karşı uca yapıştırarak elde edilen yüzeyin ismidir.



Möbius şeridinde bir kalemle ortasından çizmeye başlarsanız, başlangıç noktasına dönebilirsiniz. Bu yüzeyin özelliği tek yüzlü olmasıdır ve bu da topolojik bir özelliktir.

Topolojinin ne olduğunu anlatmak için değişmezliği anlamak gerekir. Değişmezlik için verilen tipik örnek, saplı bir kahve kupasının dış yüzeyiyle bir simidin dış yüzeyinin bir anlamda aynı olduğudur. Eğer kahve kupası ıslak kilden yapılmış olsaydı, sapına fazla dokunmadan kalan kısmını rahatlıkla eğip büküp düzleştirerek kupanın tümünü bir simit şekline sokabilirdik. Topoloji için önemli olan nokta, karşılaştırdığımız bu iki yüzeyin her ikisinde de sadece bir delik olmasıdır (Özbağcı, B., 2003).



Ancak yine de 19.yy ortalarına kadar topoloji kendi kimliğini ve gücünü ortaya koyup matematiğin bir dalı haline gelememiştir. Başta Henri Poincare'in araştırmaları ile birlikte topoloji 1960'lı yıllarda zirve yapmış ancak giderek daha soyut bir hal almaya başlamıştır. Yüz yıldan uzun bir süre boyunca topolojideki en meşhur sorulardan biri, adını Henri Poincare'den alan Poincare sanıydı. Bu, cebirle topoloji arasındaki bağı kuran sanıdır.

Yunancada konum bilimi anlamına gelen topoloji, matematiğin, uzam veya şekil değişikliklerinden etkilenmeyen konum özellikleriyle ilgilenen dalıdır. Temel nesnelere, düğümler, yüzeyler ve manifoldlardır. Topolojik özellikleri tanımlamanın belki de en kolay yolu, gerilme veya bükülme gibi deformasyonlara rağmen aynı kalan geometrik özellikler olduklarını söylemektir.



Topoloji, bu deformasyonlar altındaki biçimsel tutarlılıkla ilgilenir, geometri ile arasındaki en temel niteliksel fark budur ve bu bağlamda geometrinin bir soyutlamasıdır.

Yukarıda verilen örnekler sadece yüzeylerle (iki boyutlu) ilgili olduğu için anlaşılması nispeten kolaydır. Topolojinin esas problemleri üç ve daha büyük boyutlarda ortaya çıkmaktadır. Hatta sonlu boyuttaki bir topoloji problemi bazen sonsuz boyutlu uzayların analizi sayesinde çözülebilmektedir. Örneğin 1982'de Donaldson dört boyutlu Öklid uzayında sonsuz tane değişik diferansiyel yapı olduğunu bu yolla göstermiştir.

Günümüze en yakın gelişmelerden birisi yukarıda bahsedilen Poincare sanısı ile ilgilidir. Sanının son döneme kadar her türlü çözülemeyen kısmı kapalı 3 manifoldlarla ilgisidir. Kimse Poincare sanısını 3-manifoldlar için ispatlayamamıştı. Ta ki 2002'de St. Petersburg'daki Steklov Enstitüsünden Grigori Perelman doğru ispatı yapana kadar. Matematikteki diğer büyük problemlerde olduğu gibi bu ispat da kendi dışındaki alanların, örneğin ısı difüzyonuyla ilgili bir tekniğin yardımını gerektiriyordu. Buradan da topolojinin disiplinler arası bağlantı kurmadaki önemi anlaşılabilir.

3. SONUÇ

Yukarıda verilen paragraflarda yapılan açıklamaları dikkate aldığımızda "Topoloji nedir?" sorusunun yanıtı, "Geometrik topoloji nedir?" ve "Genel topoloji nedir?" sorularının yanıtlarının içerisinde olacaktır. Her ne kadar bu iki kavram birbirlerinden oldukça farklı olsalar da, ortak çıkış noktaları süreklilik kavramıdır. Dolayısıyla topolojinin ne olduğunun yanıtını, "süreklilik nedir?" sorusunun içerisinde aramak çok daha genel bir yaklaşım olabilecektir.

Süreklilik dünyamızın temel özelliklerinden birisidir ve süreklilik derinlemesine incelendiğinde bizi topolojiye götürür. Kaos kavramını günümüzde bir miktar anlayabilmemiz yine topoloji sayesinde. Topolojiden kuantum alanında çalışma yapanlar da faydalanmaktadır. DNA molekülündeki burğu ve dönüşlerin tanımlanması ve analizinde de topolojik düşünceler gerektiği için topoloji, moleküler biyolojinin de içindedir.

Kısacası topoloji uzunluk gibi nicel özelliklerin yerine nitel özelliklerle ilgilenir. Bu yüzden ki günümüzde matematikçilerin en çok ilgisini çeken bir dal haline almıştır.

Yazıda yer alan temel kavramların kimlere ait olduğuna ilişkin açıklayıcı bilgiler verilmeye hem metin içinde hem de referanslarda verilmeye özen gösterilmiştir. Bu veriler üzerinden okur, konu hakkında detaylı bilgi edinebilmek için iz sürebilir. Bu yönüyle bu yazı, çok kapsamlı olmasa da bir referans literatür taraması yapan açıklayıcı bir metindir.

KAYNAKLAR

1. Leonard Euler – *Solutio problematis ad geometriam situs pertinentis*, *Commentarii Academiae Scientiarum Imperialis Petropolitanae* 8, 128-140, 1736.
2. J. R. Newman (ed.), *The World of Mathematics*, Vol. 1, Part 4.4, Simon and Schuster, New York, 1956.
3. L. Euler - *Pis'ma k ucenym*, *Izd. Akademii Nauk SSSR, Moscow-Leningrad*, 1963.
4. B. Hopkins and R. Wilson. *The truth about Königsberg*, *College Math. J.*, 35: 198 - 207, 2004.
5. İ. Kaya Özkin, *Öklid Uzaylarında Topoloji*, *Bilim ve Teknik Dergisi*, 1991.
6. Zafer Ercan, *Topoloji*, Nesin Yayıncılık, <https://studylibtr.com/doc/658886/topoloji-zafer-ercan>.
7. Burak Özbağcı, *Topoloji Nedir*, *Matematik Dünyası Dergisi*, 2003.
8. http://www.history.mcs.stand.ac.uk/history/Miscellaneous/other_links/Konigsberg.html
9. <https://www.gmanetwork.com/news/scitech/science/583886/when-is-a-coffee-mug-a-donut-topology-explains-it/story/>
10. <http://bilimveaydinlanma.org/konigsbergin-yedi-koprusu-ve-topolojinin-dogusu/>
11. <https://www.muhendisbeyinler.net/topoloji-nedir/>
12. <https://www.matematiksel.org/topoloji-nedir/>

Programlanmış Hücre Ölümü Apoptoz ve Kanser Tedavisinde Apoptoz Regülasyonunu Hedef Alan Bazı Güncel Stratejiler

Berna KAVAKCIOĞLU YARDIMCI¹

CHAPTER 5

¹ Dr. Öğretim Üyesi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Biyokimya ABD

GİRİŞ

Kanser, kontrolsüz büyümeye neden olacak şekilde sinyal iletim yollarında meydana gelen bozukluklarla karakterize edilen bir grup hastalık olarak tanımlanır. Fizyolojik koşullar altındaki sağlıklı hücreler, oldukça sıkı gelişimsel kontrol altında bulunur. Örneğin, embriyogenez sırasında sağlıklı fonksiyon gösterebilen organizmanın oluşumu için hücreler farklılaşmalı, çoğalmalı, göç etmeli ve hatta ölmelidir. Yetişkin bireylerde, bağırsak epitel, kemik iliğinin kan oluşturan dokuları ve saç folikülleri gibi belirli dokular proliferasyona devam ederken, pek çok yetişkin vücut hücresi kalıcı olarak proliferasyonlarını durdurmuşlardır. Kanserli hücreler ise gelişimsel kontrollerini kaybeden ve gereğinden çok daha fazla proliferasyon yapan hücrelerdir. Kontrolsüz proliferasyon sonucu oluşan tümörler benign ve malign olmak üzere iki farklı tipte olabilir. İyi huylu olarak da adlandırılan benign tümörler, büyüme hızları yavaş ve yayılımları sınırlı olan, genellikle bir kapsülle çevrili ve bu nedenle de komşu dokularla doğrudan bağlantıda olmayan tümörlerdir. Benign tümörler, kardeş tümör yani metastaz oluşturmazlar. Bununla birlikte malign yani kötü huylu tümörlerin ön basamağı da olabilirler. Benign tümörlerin aksine malign tümörler, invazif yani saldırgan/yayılımcı büyüme gösterirler. Malign tümör bir kez hücrelerde oluşmaya başladığında vücudun diğer dokularına da sızmaya ve bu dokularda da yayılmaya başlar.

Yaklaşık son 30 yıldır yürütülen temel kanser araştırmaları, kanser biyolojisi ve kanser genetiği anlayışımızda dikkate değer gelişmeler sağlamıştır (Cavenee, 2002). En önemli gelişmelerden biri de, programlanmış hücre ölümü apoptozun ve bu mekanizmayı kontrol eden genlerin malign fenotipte büyük bir etkisinin olduğunun anlaşılmasıdır. Günümüzde, bazı onkogenik mutasyonların apoptotik hücre ölümünü engellediği ve dolayısıyla tümör başlangıcına, progresyonuna ya da metastaza neden olduğu bilinmektedir. Tam tersine, diğer bazı onkogenik değişimlerin apoptotik hücre ölümünü indüklediği ve böylece çok aşamalı karsinogenez sırasında bu hücre ölüm türünü bloke etmek amacıyla selektif bir baskı üretebildiği gösterilmiştir. Son olarak, tümör gelişimi sırasında apoptozu baskılayan bazı mutasyonlar tedavinin duyarlılığını da azalttığından, bu hücre ölüm tipinin, kanser terapisi ve kanser genetiğini ilişkilendirmek için kavramsal bir çerçeve sunduğu söylenebilir. Diğer bir deyişle, apoptotik hücre ölümünde meydana gelen herhangi bir kusur, hem tümör oluşumu hem de ilaç direncine zemin hazırlamakta ve dolayısıyla kemoterapiyi genellikle başarısız kılmaktadır (Lowe & Lin, 2000).

HÜCRE ÖLÜMÜ VE HÜCRE ÖLÜM TÜRLERİNE GENEL BAKIŞ

En basit tanımıyla **hücre ölümü**, biyolojik bir hücrenin fonksiyonlarını yerine getirememesi ya da programlı olarak fonksiyonlarını durdurması durumudur. Hücre ölümü; embriyonik gelişim ve yaşlanmakta olan hücrelerin yeni hücrelerle değiştirilmesi gibi gelişim ve yaşamın doğal proseslerin sonucu gerçekleşebileceği gibi, çeşitli hastalıklar, lokal yaralanma veya söz konusu hücrelerin parçası olduğu organizmanın ölümü gibi farklı faktörler nedeniyle de gerçekleşebilir.

Hücre ölümü çoklu mekanizmalar ile meydana gelir. Bununla birlikte, hücre ölüm türlerinin sınıflandırılması, temelde hücre ölümünün gösterdiği morfolojik özellikler ile ölen hücre ve fragmentlerinin ortamdaki nasıl elimine edildiğine dayanmaktadır. Hücre ölüm türleri, gösterdikleri morfolojik değişimlere göre **apoptotik**, **otofajik** ve **nekrotik hücre ölümü** olmak üzere temelde üç sınıfta incelenirler (Green & Llamby, 2015).

Apoptotik hücre ölümü; hücre büzülmesi, kromatin kondenzasyonu, nükleer fragmentasyon, plazma membranında oluşan çıkıntılar ve debrisin komşu fagositler tarafından temizlenmesi ile karakterize edilir (Kerr, Wyllie & Currie, 1972). Apoptotik hücre ölümü, DNA hasarı gibi intrasellüler bir uyarıcı ile başlatılan intrinsik yolak ve ekstrasellüler ölüm reseptörleri ile başlatılan ekstrinsik yolak olmak üzere iki moleküler mekanizma

tarafından kontrol edilir. Her iki yolak sisteine bağımlı aspartat proteaz enzimleri olan kaspazların aktivasyonları ile sonuçlanır (Galluzzi vd., 2018; Shi, 2002). **Otofajik hücre ölümü**; sitoplazmik vakuolizasyon, otofagozom oluşumu ve otofagozomların lizozomlar tarafından sindirimi ile ayırt edilmektedir (De Duve & Wattiaux, 1966). **Nekrotik hücre ölümü** ise organellerin şişmesi ve lizisi, enflamasyon ve intrasellüler içeriğin çevreye salınımı ile sonuçlanır. Apoptoz ve otofajinin aksine, nekrotik ölüm genellikle hücreler patolojik durumlara maruz kaldığında gerçekleşir (Proskuryakov, Konoplyannikov & Gabai, 2003). Son zamanlarda yapılan araştırmalar, bu farklı hücre ölüm türlerinin arasında oldukça kompleks bir etkileşim olduğunu ve bu nedenle bir hücre ölüm türünü diğer türden tam anlamıyla ayırmanın oldukça zor olduğunu göstermektedir (Denton, Nicolson & Kumar, 2012). Hücrenin, hangi mekanizma üzerinden ölüm yolağına gireceği; hücre türüne, uyarana, hücre ve çevresinin fizyolojik durumuna göre değişiklik göstermektedir.

APOPTOTİK HÜCRE ÖLÜMÜ

Apoptozis terimi, hücre ölümünün morfolojik olarak belirgin farklara sahip bir formunu tanımlamak amacıyla ilk kez 1972 yılında Kerr, Wyllie ve Currie tarafından yapılan çalışmada kullanılmıştır (Kerr, Wyllie & Currie, 1972). Memeli hücrelerinde apoptoz sürecindeki mekanizmaların anlaşılması, nematod (yuvarlak solucan) *Caenorhabditis elegans*'ın gelişimi sırasında meydana gelen programlanmış hücre ölümlerinin araştırılmasına dayanmaktadır (Horvitz, 1999). Bu organizmada, yetişkin solucanın oluşumu sırasında üretilen 1090 somatik hücrenin 131'i programlanmış hücre ölümü apoptozise uğramaktadır. Nematodlar arasında değişmeksizin, belirtilen 131 hücre, gelişim prosesinin belirli noktalarında ölmekte ve bu durum sistemdeki dikkate değer doğruluk ve kontrolü göstermektedir.

Programlanmış hücre ölümü apoptozis, diğer tüm metazoalar için de esansiyel olan, genetiksel ve biyokimyasal yollar aracılığıyla regüle edilen enerjiye bağımlı bir mekanizmadır. Apoptotik hücre ölümü, başarılı bir embriyonik gelişim ve doku homeostazisinin sürdürülmesi için şarttır. Diğer bir deyişle, embriyonik gelişim sırasındaki apoptotik hücre ölümü, normal/sağlıklı organogenez ve kompleks çok hücreli dokuların üretilmesi için gereklidir. Apoptozis, embriyonik gelişimin yanı sıra bağışıklık sisteminin uygun gelişimi ve işleyişi, hormona bağımlı atrofi ve normal hücresel homeostazinin sürdürülmesi gibi proseslerde de rol alır. Apoptotik ölüm, herhangi bir hastalık ya da tehlikeli bir ajana maruziyet sonrası hücrelerde hasar oluştuğunda bir savunma mekanizması olarak da ortaya çıkabilir (Norbury & Hickson, 2001). Apoptotik hücre ölümünün belirtilen fonksiyonları özellikle uzun yaşam sürelerine sahip ve dolayısıyla patolojik ölüm sinyallerinin yanı sıra çoklu fizyolojik sinyalleri entegre etmesi gereken memeliler için kritiktir. Bir hücrenin yaşamı ya da ölümü modüle edebilme yeteneği, o hücrenin eşsiz terapötik potansiyeli olarak görülmektedir. Günümüze kadar yapılan çalışmalar, yetersiz apoptotik hücre ölümünün kanser veya otoimmünite, hızlandırılmış hücre ölümünün ise akut ve kronik dejeneratif hastalıklar, immun yetmezliği ve infertilite ile sonuçlanabileceğini açıkça göstermektedir (Feuerstein & Young, 2000; Friedlander, 2003; Koff, Ramachandiran & Bernal-Mizrachi, 2015).

Apoptotik Hücre Ölümünde Morfoloji

Apoptotik hücre ölümü sırasında hücrede çeşitli morfolojik değişimlerin meydana geldiği, ışık ve elektron mikroskobu çalışmaları ile belirlenmiştir (Hacker, 2000). Apoptotik hücre ölümünün erken döneminde, hücre büzüşmesi ve piknoz ışık mikroskobu ile görülebilmektedir. Hücre büzüştüğünde, boyutu küçülür, sitoplazması yoğunlaşır ve organelleri daha sıkı paketlenir. Piknozis kromatin kondenzasyonunun bir sonucu olup apoptotik hücre ölümünün en karakteristik özelliğidir. Hematoksilin ve eozin boyamaları ile yapılan histolojik incelemeler, apoptotik ölümün tek hücreleri veya küçük hücre kümele-

rini içerdiğini göstermiştir. Apoptotik bir hücre, koyu eozinofilik sitoplazma ve yoğun mor nükleer kromatin fragmentleri ile yuvarlak ya da oval bir kitle halinde görülür. Diğer yandan, elektron mikroskobu çalışmaları ile hücre içi değişimler daha iyi tanımlanabilmıştır. Kromatin kondenzasyonu fazının erken evresinde, elektronca yoğun nükleer materyal nükleer membranın altında periferik olarak agregatlaşır. Plazma zarı boyunca hücre yüzeyinde çıkıntılar meydana gelir. Bu durumu karyoreksi ve tomurcuklanma "budding" olarak da adlandırılan hücre fragmentlerinin apoptotik cisimciklere ayrılması izler. Apoptotik cisimcikler, nükleer fragmentli ya da fragmentsiz ancak sıkıca paketlenmiş organelere sahip sitoplazmadan oluşur. Dolayısıyla apoptotik cisimciklerde organel bütünlüğü hala korunmakta ve tüm yapı intak plazma membranı ile çevrilmiş halde bulunmaktadır. Bu cisimcikler daha sonra makrofajlar, parankimal veya neoplastik hücreler tarafından fagosite edilir ve fagolizozomlar içinde parçalanır. Apoptotik hücreleri hapseden ve sindiren makrofajlar "yapışkan vücut makrofajları" olarak adlandırılır ve çoğunlukla lenfoid foliküllerin rejeneratif germinal merkezlerinde ve bazen de timik kortekste bulunur. Apoptotik proses ve apoptotik hücrelerin elimine edilmesi sırasında, hücreler içeriklerini kendilerini çevreleyen arayer dokulara salmadıkları, çok hızlı bir şekilde fagosite oldukları ve engüle hücreler sitokin üretmedikleri için herhangi bir enflamasyon gözlenmez (Savill & Fadok, 2000).

Programlanmış hücre ölümünün; ölüm ve yutulma proseslerini kontrol eden pek çok gen tanımlanmış olup bu proseslerin altında yatan moleküler mekanizmaların evrimsel olarak korunduğu kanıtlanmıştır (Metzstein, Stanfield & Horvitz, 1998). Yakın zamana kadar, apoptoz, hücreyi ölüme götüren kaspaz aktivasyonu ve ölü hücrelerin atılımını sağlayan yutulma prosesinden sorumlu genler nedeniyle tersinmez bir süreç olarak değerlendiriliyordu. Bununla birlikte, apoptotik hücrelerin makrofajlar tarafından yutulması ve eliminasyonunun, hücre debrisinin uzaklaştırılması dışında başka fonksiyonları da barındırdığı düşünülmüştür. Hoepner ve arkadaşları, apoptotik cisimciklerin yutulmasından sorumlu genlerin bloklandığı *C. elegans* embriyonik hücrelerini zayıf pro-apoptotik sinyallere maruz bırakmışlar ve beklenilen aksine hücre canlılığında artış gözlemlemişlerdir (Hoepner, Hengartner & Schnabel, 2001). Reddien ve arkadaşları tarafından yapılan bir diğer çalışmada, hücre ölümünden sorumlu genlerin fonksiyonunda kısmi kayıplara neden olan mutasyonların, apoptoza programlanmış hücrelerde canlılığa neden olduğu ve hücrenin yutulmasından sorumlu genlerde yapılan mutasyonların ise bu canlılık oranını arttırdığı gösterilmiştir. Ayrıca, sadece hücrenin yutulmasından sorumlu genlerdeki mutasyonlar, apoptotik ölüme giren bazı hücrelerde canlılığa ve farklılaşmaya sebep olmuştur (Reddien, Cameron & Horvitz, 2001). Tüm bu bulgular, ölmüş hücrelerin atılımından sorumlu genlerin ayrıca hücre ölümünden de sorumlu olduğunu düşündürmüştür. Omurgalılarda da, makrofajların, bazı dokularda ölümü desteklediğine yönelik bulgular mevcuttur. Buna bir örnek, sıçan gözünün ön kamarasındaki makrofajların ortadan kaldırılması ile normalde apoptoza uğrayan vasküler endotelial hücrelerin hayatta kalmasıdır (Diez-Roux & Lang, 1997).

Apoptotik Hücre Ölümünde Ekstrinsik ve İntrinsik Yolaklar

Apoptotik hücre ölümü, daha önce de belirtildiği gibi oldukça karmaşık ve kompleks yolaklar üzerinden yürümektedir. Günümüzde, **ekstrinsik (ölüm reseptörlerine bağlı yolak) ve intrinsik (mitokondriyal yolak)** olmak üzere başlıca iki apoptotik hücre ölüm yolağının olduğu bilinmektedir. Tıpkı farklı hücre ölüm türlerinin birbirleriyle etkileşim halinde olduğu gibi apoptozun bu iki temel yolağı da birbiriyle bağlantılı ve etkileşim halindedir (Igney & Krammer, 2002).

Apoptotik hücre ölümünün ekstrinsik sinyal iletimi yolağı, transmembran reseptörleri aracılı etkileşimleri içerir. Bu reseptörler, tümör nekrozis faktör (TNF) reseptörleri süperfamilyasının üyelerini kapsar. TNF reseptör süperfamilyasının üyeleri, sistein açıl-

sından zengin ekstrasellüler domain ile ölüm domaini olarak da adlandırılan ve yaklaşık 80 aminoasitten oluşan sitoplazmik domain ile benzer yapıları paylaşırlar (Ashkenazi & Dixit, 1998; Locksley, Killeen & Lenardo, 2001). Günümüze kadar en iyi tanımlanmış reseptörler ve ilgili ligandları; FasR/FasL, TNFR1/TNF- α , DR3/Apo3L, DR4/Apo2L ve DR5/Apo2L olarak sıralanabilir (Chicheportiche vd., 1997; Ashkenazi & Dixit, 1998; Suliman, Lam, Datta & Srivastava, 2001; Rubio-Moscardo vd., 2005). FasR/FasL ve TNFR1/TNF- α , apoptozun ekstrinsik yolağında izlenen kaskadın en iyi karakterize edildiği modellerdir. Bu modellere göre, reseptörler kümelenir ve homolog trimerik ligandı ile bağlanır. Reseptör – ligand etkileşimi üzerine sitoplazmik adaptör proteinler, reseptörlere bağlanan ölüm domainleri özelliği gösterecek şekilde toplanırlar. Fas ligandının Fas reseptörü ile etkileşmesi adaptör protein FADD'ın bağlanmasıyla, TNF ligandının TNF reseptörü ile etkileşmesi ise FADD ve RIP proteinlerinin ve devamında adaptör protein TRADD'ın bağlanmasıyla sonuçlanır (Hsu, Shu, Pan & Goeddel, 1996; Wajant, 2002). Kaskadın devamında, adaptör protein FADD ölüm efektör domaini aracılığıyla prokaspaz-8 ile etkileşir ve bu noktada ölüm indükleyici sinyal iletimi kompleksi (DISC) oluşturulmuş olur. DISC oluşumu prokaspaz-8'in otokatalitik aktivasyonu ile sonuçlanır ve kaspaz* kaskadı başlatılmış olur (Kischkel vd., 1995) (*Memelilerde bilinen 14 farklı kaspaz enzimi vardır. Tüm kaspazlar hücrede zimojen olarak bulunur ve uygun uyarana cevaben aktifleşir. Apoptotik hücre ölümünde rol alan kaspazlar başlatıcı (kaspaz-2, -8, -9 ve -10) ve ölümcül (kaspaz-3, -6 ve -7) olmak üzere iki grupta incelenirler).

Mitokondriyal ya da mitokondri aracılı yolak olarak da bilinen **intrinsik yolak**; reseptör aracılı olmayan çeşitli uyarıların hücre içindeki hedeflerini doğrudan etkilemesiyle mitokondriyal olarak başlatılan olaylar dizisini kapsar. Apoptotik hücre ölümünün intrinsik yolağını stimüle edebilen herhangi bir molekülün hücre içi sinyaller ürettiği bilinmelidir. Kemoterapik ilaçlar, radyasyon, çeşitli toksinler, hipoksi, hipertemi, viral enfeksiyonlar ve serbest radikaller gibi faktörler intrinsik apoptozu başlatabilen uyarılardan bazılarıdır. Tüm bu uyarılar temelde mitokondriyal transmembran potansiyelinde azalmalara neden olan mitokondriyal geçirgenlik porlarının açılmasına neden olur. Mitokondriyal geçirgenlik porlarının açılması, zarlar arası boşlukta yer alan bazı pro-apoptotik proteinlerin sitozole salınımını sağlar (Saelens vd., 2004). Mitokondriden sitozole salınan başlıca pro-apoptotik proteinler; **sitokrom c**, **Smac/DIABLO** (Second Mitochondria-derived Activator of Caspases/Direct IAP-Binding protein with Low PI), **serin proteaz HtrA2/Omi** (High-temperature-requirement A2), **AIF** (Apoptosis inducing factor) ve **endonukleaz G**'dir.

Sitokrom c, Smac/DIABLO ve serin proteaz HtrA2/Omi proteinlerinin kaspazlara bağımlı intrinsik yolağı indüklediği bilinmektedir. Bu proteinler arasından en iyi araştırılan sitokrom c, mitokondriden sitozole salınımı üzerine, Apaf-1 ve prokaspaz-9 ile apoptozom adı verilen kompleksi oluşturarak prokaspaz-9'u aktifleştirir (Chinnaiyan, 1999). Smac/DIABLO ve HtrA2/Omi proteinleri ise apoptoz proteinlerinin inhibitörü olarak adlandırılan anti apoptotik IAP proteinini inhibe ederek apoptozu stimüle eder (van Loo vd., 2002; Schimmer, 2004).

Sitokrom c, Smac/DIABLO ve HtrA2/Omi'nin aksine AIF ve endonukleaz G proteinleri kaspazlardan bağımsız fonksiyon gösteren ve mitokondriyal salınımları üzerine çekirdeğe transloke olan proteinlerdir. AIF, yaklaşık 50-300 kilobazlık DNA fragmentasyonuna ve nükleer kondenzasyonun erken formu* olarak da adlandırılan periferik nükleer kromatin kondenzasyonuna neden olurken, endonukleaz G, nükleer kromatini oligonükleozomal DNA fragmentleri oluşturmak üzere hidrolizler (*Burada değinilmemiş olan kromatin kondenzasyonunun geç formuna, yine mitokondriden çekirdeğe transloke olan CAD (Caspase-activated DNase) enzimi neden olur) (Joza vd., 2001; Susin vd., 2000).

Mitokondri aracılı apoptotik yolların kontrolü ve regülasyonu Bcl-2 familyası olarak adlandırılan bir grup protein tarafından yürütülür (Cory & Adams, 2002). Bcl-2 familyasının üyeleri pro-apoptotik ya da anti-apoptotik fonksiyon gösterebilir. Bu familyanın bazı anti-apoptotik üyelerine Bcl-2, Bcl-x, Bcl-XL, Bcl-XS, Bcl-w ve BAG proteinleri örnek verilebilirken, Bcl-10, Bax, Bak, Bid, Bad, Bim, Bik ve Blk pro-apoptotik fonksiyon gösteren proteinlerdendir. Bcl-2 familyası proteinlerinin temel fonksiyonu, mitokondriyal membran geçirgenliğinde değişikliklere sebep olarak sitokrom c salınımı regüle etmektedir.

KANSER TEDAVİSİNDE APOPTOTİK HÜCRE ÖLÜM REGÜLATÖRLERİNİ HEDEF ALAN YAKLAŞIMLAR

Daha önce belirtildiği gibi, programlanmış hücre ölümü apoptoz mekanizmasında meydana gelen defektler tümör patogenezinde oldukça önemli rol oynamaktadır. Apoptotik mekanizmada görülen bu kusurların; neoplastik hücrelerin normalden çok daha uzun ömürlü olmasına, ekzojen yaşam faktörlerine olan ihtiyacın ortadan kalkmasına, tümör kitlesi genişledikçe hipoksi ve oksidatif strese karşı korumanın sağlanmasına ve tümör progresyonu sırasında hücre proliferasyonunun deregüle edilmesi, farklılaşmanın engellenmesi, anjiyogenezin indüklenmesi ile hücre hareketliliği ve yayılımı gibi proseslere izin verdiği uzun zamandır bilinmektedir (Reed, 1999). Hücre bölünmesini yönlendiren pek çok deregüle onkoprotein apoptozu da indüklediğinden, bu hücre ölüm türünde meydana gelen defektler proto-onkogen aktivasyonunun önemli bir tamamlayıcısı olarak görülmektedir (Green & Evan, 2002). Apoptotik mekanizmada meydana gelen hasarlar; epitel hücrelerinin suspanse halde yaşamalarına izin vererek metastazı kolaylaştırmakta ve ayrıca immün sisteme karşı direnç geliştirmelerini sağlamaktadır (Tschopp, Martinon, & Hofmann, 1999; Frisch & Screaton, 2001). Son olarak, apoptotik hücre ölümünde meydana gelen kanser-ilişkili defektler kemorezistans ve radyorezistansta rol oynar ve tedavi etkinliği için uygulanması gereken dozun artmasına neden olur (Makin & Hickman, 2000). Tüm bu nedenlerden ötürü, kusurlu apoptoz regülasyonu kanser biyolojisinin önemli bir yönünü oluşturur. Dolayısıyla, ilaç indüklü apoptoz katkıda bulunan moleküler mekanizmaların ve tümör hücrelerinin apoptotik ölümden kaçmayı nasıl başardığının anlaşılması, kanser genetiği ile uygulanan tedavinin duyarlılığı arasındaki ilişkinin anlaşılmasında önemli bir örneklem oluşturmakta ve yeni antikanser ilaçlarının tasarlanmasına zemin hazırlamaktadır.

Bcl-2 Familyası

Bcl-2 proteini, apoptotik hücre ölümünün ilk keşfedilmiş inhibitörüdür (Vaux, Cory & Adams, 1988). Bu proteini ekspresse eden gen, insan foliküler lenfomayı karakterize eden t(14;18) kromozom translokasyonu ile immünooglobulin ağır zincir gen lokusuna bağlıdır (Adams & Cory, 2018, s. 28).

Omurgalı hayvanlarda Bcl-2 protein familyası, 1 ile 4 arasında Bcl-2 Homoloji (BH) domaini taşıyan Bcl-2 ilişkili üyelerden oluşur. Bu üyeler, fonksiyonel açıdan 3 farklı grup altında sınıflandırılırlar. Bu familyada, Bcl-2 proteinin en yakın akrabalarını oluşturan iki grup, fonksiyonları mitokondriyal membran permabilizasyonu üzerinden hücre ölümünü indüklemek olan ve pro-apoptotik efektörler olarak adlandırılan BAX ve BAK üyeleri ile bu iki proteinin fonksiyonunu bloke eden ve yaşam bekçileri olarak adlandırılan Bcl-XL, Bcl-W, Mcl-1, A1/Bfl-1 ve Bcl-B üyelerinden oluşur. Diğer yandan, pro-apoptotik başlatıcılar olarak adlandırılan, fonksiyonları yaşam bekçilerini bloke etmek olan ve sadece BH3 domaini içeren BIM, BID, PUMA, NOXA, BAD, HRK, BMF ve BIK proteinleri, Bcl-2 proteinin daha uzak akrabalarıdır.

Bcl-2 protein familyasının bu üç farklı grubu, hücrenin apoptozu girip girmeyeceğine karar vermek üzere birbirleri ile etkileşir. Proses, sadece BH3 domaini içeren üyelerin,

çeşitli stres sinyalleri aracılığıyla (sitokin ya da besin yoksunluğu, DNA hasarı, onkogen aktivasyonu) upregüle edilmesiyle başlatılır. Upregüle edilmiş pro-apoptotik BH3 proteinleri, hücrel yaşama destekleyen Bcl-2, Bcl-XL, MCL-1 gibi anti-apoptotik üyelerin yüzeylerindeki oluğa bağlanır ve bu proteinlerin pro-apoptotik etkilerden BAX ve BAK'ı bloke etmelerini engeller. Ayrıca, sadece BH3 domaini içeren proteinlerden belli başlıları, özellikle BIM ve BID ve belki PUMA, BAX ve BAK'ın homo-oligomerizasyonlarını tetikleyerek bu proteinleri doğrudan aktive de edebilir. BAX ve BAK'ın aktivasyonu, dış mitokondriyal membran permeabilizasyonu aracılı apoptozu indükler.

Pek çok tümör hücresinde, sadece BH3 domaini içeren pro-apoptotik proteinlerin upregülasyonlarındaki bozukluk veya anti-apoptotik Bcl-2 proteinlerinin over ekspresyonu nedeniyle apoptotik aktivasyonda kusur görülmektedir. Diğer yandan, intrinsik apoptozun başlıca regülatörü olan Bcl-2 protein ailesinin üyelerinin yapılarının ve birbirleriyle olan etkileşimlerinin anlaşılması geleneksel kemoterapiye alternatif olabilecek yeni nesil BH3 mimetiği ajanların geliştirilmesini sağlamıştır. İlk başarılı BH3 mimetiği ABT-737, NMR spektroskopisi, yapısal biyoloji ve tıbbi kimya gibi araştırma alanlarının yardımıyla uzun uğraşlar sonucu Abbott laboratuvarları tarafından geliştirilmiştir (Oltersdorf vd., 2005, s. 677). Klinik için üretilen ve ağız yoluyla alımı mümkün olan türevi ABT-263'e (navitoclax) benzer şekilde, ABT-737 de, Bcl-2, Bcl-XL ve BCL-W proteinlerine karşı düşük nanomolar düzeyinde, MCL-1 ve A1/BFL-1 proteinleri için ise ihmal edilebilir düzeyde afiniteye sahiptir (Tse vd., 2008, s. 3422). Bununla birlikte Bcl-X_L proteini trombositopeniye neden olduğu görülmüş (Roberts vd., 2012; Wilson vd., 2010) ve Bcl-2'ye spesifik ABT-199 (venetoclax) geliştirilmiştir (Souers vd., 2013). Bir diğer Bcl-2 spesifik S55746, Bcl-XL spesifik WEHI-53978 ve daha etkili türevleri A-1155463 ile A-1331852 ve son olarak daha yakın zamanda geliştirilen MCL-1 spesifik S64315, AMG176 ile AZD5991 inhibitörleri de BH3 mimetikleri arasındadır (Ashkenazi, Fairbrother, Levenson & Souers, 2017; Lessene vd., 2013; Levenson vd., 2015).

Tümör Baskılayıcı Protein p53

Tümör protein 53 olarak da bilinen p53, tümör baskılayıcı gen TP53 tarafından kodlanan, en iyi araştırılmış tümör baskılayıcı proteinlerden biridir. Bu protein, 53 kDa'lık moleküler ağırlığına dayalı olarak adlandırılmıştır (Levine, Momand & Finlay, 1991). İlk tanımlandığı yıllarda, p53 proteininin zayıf-onkogenik özellik gösterdiği düşünülmüştür. Ancak süregelen çalışmalar, bu proteinin onkogenik özelliklerinin mutasyon kaynaklı olduğunu diğer bir deyişle uğradığı mutasyonlar sonucunda onkogenik fonksiyon kazandığını göstermiştir (Bai & Zhu, 2006). Günümüzde, p53 tümör baskılayıcı gen defektlerinin insan tümörlerinin %50' sinden daha fazlası ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Tal vd., 2016). p53 proteininin, hücre siklusunun regülasyonu, hücrel gelişim, hücrel farklılaşma, gen amplifikasyonu, DNA rekombinasyonu, kromozomal segregasyon, hücrel yaşlanma ve apoptotik hücre ölümünün indüksiyonu gibi proseslerde rol aldığı düşünüldüğünde bu durum şaşırtıcı olmamaktadır (Wang vd., 2009; Whibley, Pharoah & Hollstein, 2009; Chen, Wang & El-Deiry, 2010; Suzuki & Matsubara, 2011; Muller & Vousden, 2014).

Pek çok farklı hücrel süreçte önemli rollere sahip olması nedeniyle "Genomun Koruyucusu" olarak da adlandırılan p53 proteininin (Lane, 1992; Oren & Rotter, 1999) tümör hücrelerindeki ekspresyonu, retinoblastoma (Rb) ya da fosfataz ve tensin homoloğu (PTEN) gibi diğer tümör baskılayıcı faktörlerin aksine işlev gösterememesine rağmen genellikle devam etmektedir. Bu durum, p53 aktivasyonunun sağlanması için farklı stratejilerin araştırılmasına yol açmıştır. Başlıca iki yaklaşımdan ilki, stabil p53 taşıyan tümörlerde, küçük moleküller aracılığıyla p53 protein katlanmasının stabilize edilmesini ve böylece reaktivasyonunun sağlanması ya da mutant p53'ün elimine edilmesidir (Selivanova & Wiman, 2007). Diğeri ise, doğal tip p53 taşıyan tümörlerde, Mdm2 ve MdmX gibi p53 inhibitörlerinin bloke edilmesi yaklaşımıdır (Zawacka-Pankau & Selivanova, 2015).

p53 mutantlarının pek çoğu DNA'daki yanıt elementlerine bağlanma yetilerini kaybettiklerinden transkripsiyonel aktivite ve tümör baskılayıcı fonksiyon gösteremezler. Bununla birlikte, çeşitli sentetik peptitler yardımıyla, mutant p53'ün sekans spesifik olarak DNA'ya bağlanması ve dolayısıyla reaktivasyonu sağlanabilir. Tanımlanmış ilk p53 reaktif ve edici bileşen CP-31398'dir (Foster, Coffey, Morin & Rastinejad, 1999). Bu bileşen, mutant p53'ün çekirdek domainindeki sistein rezidülerine bağlanarak doğal tip p53 konformasyonunun stabilize olmasını ve dolayısıyla transkripsiyonel aktivitenin korunmasını sağlar (Zache vd., 2008). CP-31398'in türevi STIMA-1'in yanı sıra PRIMA-1, NSC652287, ketomin, PK7088 ve stiktik asit mutant p53'ün reaktivasyonunu sağlayan diğer bileşenlerden bazılarıdır.

p53 mutasyonu taşımayan tümör tiplerinde ise bu proteinin fonksiyonu, çoğunlukla, başlıca iki p53 inhibitörü olan Mdm2 ve homologu MdmX aktivitelerindeki artış ile engellenmektedir. Bununla birlikte, p53'ün Mdm2/X tarafından inhibe edilmesini engelleyen bir takım küçük moleküller geliştirilmiştir (Maslon & Hupp, 2010; Wade, Li & Wahl, 2013). Bu küçük moleküller, p53 inhibitörlerindeki hidrofobik yarık ile etkileşen p53 peptidinin mimetikleridir ve dolayısıyla sterik engel oluşturarak etki ederler. Bu tür moleküller, nutlinleri, spiro oksindol bileşikleri ve benzodiazepin dionları kapsamaktadır (Vassilev vd., 2004; Grasberger vd., 2005; Ding vd., 2006).

IAP Familyası

Apoptozis proteinlerinin inhibitörleri (IAPs), apoptoz, sitokinez ve sinyal iletimini regüle eden, yapısal ve fonksiyonel açıdan benzer bir grup proteindir. Bu protein familyası, bakulovirüs IAP tekrar (BIR) protein domainlerinin varlığıyla karakterize edilir (LaCasse vd., 2008). IAP'ler, kaspazların endojen inhibitörleridir. Bu inhibitör proteinler, kaspazların aktivite göstermelerini degradasyonlarını indükleyerek ve/veya substratlarından uzak tutarak engellerler (Wei, Fan & Yu, 2008).

Pek çok kanser türünde, IAP'lerin ekspresyonlarında regülasyon bozuklukları görüldüğünden (Vucic, Stennicke, Pisabarro, Salvesen & Dixit, 2000; Ashhab, Alian, Polliack, Panet & Yehuda, 2001; Lopes, Gangeswaran, McNeish, Wang & Lemoine, 2007; Krepela vd., 2009; Small, Keerthivasan, Huang, Gurbuxani & Crispino, 2010), bu familya yeni nesil ilaç tasarımı çalışmalarının hedefi haline gelmiştir. IAP familyası üyeleri arasında özellikle XIAP'nin apoptotik hücre ölümünün en güçlü inhibitörü olduğu bildirilmiştir (Wong, 2011). Bu protein, kaspaz-9, -3 ve -7 enzimlerini inhibe ederek apoptozu hem intrinsik hem de ekstrinsik yollar üzerinden bloke eder (Dai, Lawrence & Xu, 2009). XIAP'yı hedef alan bazı stratejiler, antisens oligonükleotidlerinin ve short interfering RNA (siRNA) moleküllerinin kullanımını kapsamaktadır. Bu yaklaşımlar kemoterapi ve radyoterapi gibi geleneksel tedavi yöntemleri ile kombinlendiğinde akciğer ve karaciğer kanserlerinin tedaviye daha duyarlı hale geldiği gösterilmiştir (Hu vd., 2003; Yamaguchi vd., 2005; Ohnishi vd., 2006).

SONUÇ

Programlı hücre ölümü apoptoz, malign hücrelerin hayatta kalmasını ve yayılmasını engelleyen doğal bir bariyerdir. Bununla birlikte kanser hücreleri apoptozdan kaçmak için bu ölüm yolağındaki regülatörleri hedef alan genetik mutasyonlar ve/veya epigenetik modifikasyonlar gibi çeşitli stratejiler geliştirmişlerdir. Apoptotik yolların altında yatan karmaşık mekanizmalar ve bu mekanizmaların kanserli hücrelerde hangi yollarla disreğüle edildikleri anlaşıldıkça, bu tür spesifik mekanizmaları hedefleyen etkili tedaviler tasarlama becerimiz artmaktadır. Apoptotik hücre ölüm regülatörlerini hedef alan yeni pek çok terapötik, doz sınırlayıcı etkileri veya hücrenin hayal kırıklığı yaratan biyokimyasal cevapları nedeniyle pre-klinik aşamada kalsada, umut vaat eden sonuçlar heyecan uyan-

dırmakta ve dolayısıyla daha olumlu sonuçların alınması adına bu kapsamdaki araştırmalara odaklanılması gerektiği sonucuna varılmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Adams, J. M., & Cory, S. (2018). The BCL-2 arbiters of apoptosis and their growing role as cancer targets. *Cell death and differentiation*, 25(1), 27.
2. Ashhab, Y., Alian, A., Polliack, A., Panet, A., & Yehuda, D. B. (2001). Two splicing variants of a new inhibitor of apoptosis gene with different biological properties and tissue distribution pattern. *FEBS letters*, 495(1-2), 56-60.
3. Ashkenazi, A., & Dixit, V. M. (1998). Death receptors: signaling and modulation. *science*, 281(5381), 1305-1308.
4. Ashkenazi, A., Fairbrother, W. J., Levenson, J. D., & Souers, A. J. (2017). From basic apoptosis discoveries to advanced selective BCL-2 family inhibitors. *Nature Reviews Drug Discovery*, 16(4), 273.
5. Bai, L., & Zhu, W. G. (2006). p53: structure, function and therapeutic applications. *J Cancer Mol*, 2(4), 141-153.
6. Cavenee, W. K. (2002). Genetics and new approaches to cancer therapy. *Carcinogenesis*, 23(5), 683-686.
7. Chen, F., Wang, W., & El-Deiry, W. S. (2010). Current strategies to target p53 in cancer. *Biochemical pharmacology*, 80(5), 724-730.
8. Chicheportiche, Y., Bourdon, P. R., Xu, H., Hsu, Y. M., Scott, H., Hession, C., ... & Browning, J. L. (1997). TWEAK, a new secreted ligand in the tumor necrosis factor family that weakly induces apoptosis. *Journal of Biological Chemistry*, 272(51), 32401-32410.
9. Chinnaiyan, A. M. (1999). The apoptosome: heart and soul of the cell death machine. *Neoplasia*, 1(1), 5-15.
10. Cory, S., & Adams, J. M. (2002). The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nature Reviews Cancer*, 2(9), 647.
11. Dai, Y., Lawrence, T. S., & Xu, L. (2009). Overcoming cancer therapy resistance by targeting inhibitors of apoptosis proteins and nuclear factor-kappa B. *American journal of translational research*, 1(1), 1.
12. De Duve, C., & Wattiaux, R. (1966). Functions of lysosomes. *Annual review of physiology*, 28(1), 435-492.
13. Denton, D., Nicolson, S., & Kumar, S. (2012). Cell death by autophagy: facts and apparent artefacts. *Cell death and differentiation*, 19(1), 87.
14. Diez-Roux, G., & Lang, R. A. (1997). Macrophages induce apoptosis in normal cells in vivo. *Development*, 124(18), 3633-3638.
15. Ding, K., Lu, Y., Nikolovska-Coleska, Z., Wang, G., Qiu, S., Shangary, S., ... & Roller, P. P. (2006). Structure-based design of spiro-oxindoles as potent, specific small-molecule inhibitors of the MDM2- p53 interaction. *Journal of medicinal chemistry*, 49(12), 3432-3435.
16. Feuerstein, G. Z., & Young, P. R. (2000). Apoptosis in cardiac diseases: stress-and mitogen-activated signaling pathways. *Cardiovascular research*, 45(3), 560-569.
17. Foster, B. A., Coffey, H. A., Morin, M. J., & Rastinejad, F. (1999). Pharmacological rescue of mutant p53 conformation and function. *Science*, 286(5449), 2507-2510.
18. Friedlander, R. M. (2003). Apoptosis and caspases in neurodegenerative diseases. *New England Journal of Medicine*, 348(14), 1365-1375.

19. Frisch, S. M., & Screaton, R. A. (2001). Anoikis mechanisms. *Current opinion in cell biology*, 13(5), 555-562.
20. Galluzzi, L., Vitale, I., Aaronson, S. A., Abrams, J. M., Adam, D., Agostinis, P., ... & Annicchiarico-Petruzzelli, M. (2018). Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death & Differentiation*, 1.
21. Grasberger, B. L., Lu, T., Schubert, C., Parks, D. J., Carver, T. E., Koblisch, H. K., ... & Maquire, D. (2005). Discovery and cocrystal structure of benzodiazepinedione HDM2 antagonists that activate p53 in cells. *Journal of medicinal chemistry*, 48(4), 909-912.
22. Green, D. R., & Evan, G. I. (2002). A matter of life and death. *Cancer cell*, 1(1), 19-30.
23. Green, D. R., & Llambi, F. (2015). Cell death signaling. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 7(12), a006080.
24. Häcker, G. (2000). The morphology of apoptosis. *Cell and tissue research*, 301(1), 5-17.
25. Hoepfner, D. J., Hengartner, M. O., & Schnabel, R. (2001). Engulfment genes cooperate with ced-3 to promote cell death in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 412(6843), 202.
26. Horvitz, H. R. (1999). Genetic control of programmed cell death in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Cancer research*, 59(7 Supplement), 1701s-1706s.
27. Hsu, H., Shu, H. B., Pan, M. G., & Goeddel, D. V. (1996). TRADD-TRAF2 and TRADD-FADD interactions define two distinct TNF receptor 1 signal transduction pathways. *Cell*, 84(2), 299-308.
28. Hu, Y., Cherton-Horvat, G., Dragowska, V., Baird, S., Korneluk, R. G., Durkin, J. P., ... & LaCasse, E. C. (2003). Antisense oligonucleotides targeting XIAP induce apoptosis and enhance chemotherapeutic activity against human lung cancer cells in vitro and in vivo. *Clinical cancer research*, 9(7), 2826-2836.
29. Igney, F. H., & Krammer, P. H. (2002). Death and anti-death: tumour resistance to apoptosis. *Nature Reviews Cancer*, 2(4), 277.
30. Joza, N., Susin, S. A., Daugas, E., Stanford, W. L., Cho, S. K., Li, C. Y., ... & Ferri, K. F. (2001). Essential role of the mitochondrial apoptosis-inducing factor in programmed cell death. *Nature*, 410(6828), 549.
31. Kerr, J. F., Wyllie, A. H., & Currie, A. R. (1972). Apoptosis: a basic biological phenomenon with wideranging implications in tissue kinetics. *British journal of cancer*, 26(4), 239.
32. Kischkel, F. C., Hellbardt, S., Behrmann, I., Germer, M., Pawlita, M., Krammer, P. H., & Peter, M. E. (1995). Cytotoxicity-dependent APO-1 (Fas/CD95)-associated proteins form a death-inducing signaling complex (DISC) with the receptor. *The EMBO journal*, 14(22), 5579-5588.
33. Koff, J. L., Ramachandiran, S., & Bernal-Mizrachi, L. (2015). A time to kill: targeting apoptosis in cancer. *International journal of molecular sciences*, 16(2), 2942-2955.
34. Krepela, E., Dankova, P., Moravcikova, E., Krepelova, A., Prochazka, J., Cermak, J., ... & Benkova, K. (2009). Increased expression of inhibitor of apoptosis proteins, survivin and XIAP, in non-small cell lung carcinoma. *International journal of oncology*, 35(6), 1449-1462.
35. LaCasse, E. C., Mahoney, D. J., Cheung, H. H., Plenchette, S., Baird, S., & Korneluk, R. G. (2008). IAP-targeted therapies for cancer. *Oncogene*, 27(48), 6252.
36. Lane, D. P. (1992). Cancer: p53, guardian of the genome. *Nature*, 358, 15-16.

37. Lessene, G., Czabotar, P. E., Sleeb, B. E., Zobel, K., Lowes, K. N., Adams, J. M., ... & Flygare, J. A. (2013). Structure-guided design of a selective BCL-X L inhibitor. *Nature chemical biology*, 9(6), 390.
38. Levenson, J. D., Phillips, D. C., Mitten, M. J., Boghaert, E. R., Diaz, D., Tahir, S. K., ... & Lowes, K. N. (2015). Exploiting selective BCL-2 family inhibitors to dissect cell survival dependencies and define improved strategies for cancer therapy. *Science translational medicine*, 7(279), 279ra40-279ra40.
39. Levine, A. J., Momand, J., & Finlay, C. A. (1991). The p53 tumour suppressor gene. *nature*, 351(6326), 453.
40. Locksley, R. M., Killeen, N., & Lenardo, M. J. (2001). The TNF and TNF receptor super-families: integrating mammalian biology. *Cell*, 104(4), 487-501.
41. Lopes, R. B., Gangeswaran, R., McNeish, I. A., Wang, Y., & Lemoine, N. R. (2007). Expression of the IAP protein family is dysregulated in pancreatic cancer cells and is important for resistance to chemotherapy. *International journal of cancer*, 120(11), 2344-2352.
42. Lowe, S. W., & Lin, A. W. (2000). Apoptosis in cancer. *Carcinogenesis*, 21(3), 485-495.
43. Makin, G., & Hickman, J. A. (2000). Apoptosis and cancer chemotherapy. *Cell and tissue research*, 301(1), 143-152.
44. Maslon, M. M., & Hupp, T. R. (2010). Drug discovery and mutant p53. *Trends in cell biology*, 20(9), 542-555.
45. Metzstein, M. M., Stanfield, G. M., & Horvitz, H. R. (1998). Genetics of programmed cell death in *C. elegans*: past, present and future. *Trends in genetics*, 14(10), 410-416.
46. Muller, P. A., & Vousden, K. H. (2014). Mutant p53 in cancer: new functions and therapeutic opportunities. *Cancer cell*, 25(3), 304-317.
47. Norbury, C. J., & Hickson, I. D. (2001). Cellular responses to DNA damage. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 41(1), 367-401.
48. Ohnishi, K., Scric, Z., Schiestl, R. H., Okamoto, N., Takahashi, A., & Ohnishi, T. (2006). siRNA targeting NBS1 or XIAP increases radiation sensitivity of human cancer cells independent of TP53 status. *Radiation research*, 166(3), 454-462.
49. Oltersdorf, T., Elmore, S. W., Shoemaker, A. R., Armstrong, R. C., Augeri, D. J., Belli, B. A., ... & Joseph, M. K. (2005). An inhibitor of Bcl-2 family proteins induces regression of solid tumours. *Nature*, 435(7042), 677.
50. Oren, M., & Rotter, V. (1999). Introduction: p53—the first twenty years. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 55(1), 9-11.
51. Proskuryakov, S. Y., Konoplyannikov, A. G., & Gabai, V. L. (2003). Necrosis: a specific form of programmed cell death?. *Experimental cell research*, 283(1), 1-16.
52. Reddien, P. W., Cameron, S., & Horvitz, H. R. (2001). Phagocytosis promotes programmed cell death in *C. elegans*. *Nature*, 412(6843), 198.
53. Reed, J. C. (1999). Dysregulation of apoptosis in cancer. *Journal of clinical oncology*, 17(9), 2941-2941.
54. Roberts, A. W., Seymour, J. F., Brown, J. R., Wierda, W. G., Kipps, T. J., Khaw, S. L., ... & Cui, Y. (2012). Substantial susceptibility of chronic lymphocytic leukemia to BCL2 inhibition: results of a phase I study of navitoclax in patients with relapsed or refractory disease. *Journal of Clinical Oncology*, 30(5), 488.

55. Rubio-Moscardo, F., Blesa, D., Mestre, C., Siebert, R., Balasas, T., Benito, A., ... & Karran, E. L. (2005). Characterization of 8p21. 3 chromosomal deletions in B-cell lymphoma: TRAIL-R1 and TRAIL-R2 as candidate dosage-dependent tumor suppressor genes. *Blood*, 106(9), 3214-3222.
56. Saelens, X., Festjens, N., Walle, L. V., Van Gurp, M., van Loo, G., & Vandenabeele, P. (2004). Toxic proteins released from mitochondria in cell death. *Oncogene*, 23(16), 2861.
57. Savill, J., & Fadok, V. (2000). Corpse clearance defines the meaning of cell death. *Nature*, 407(6805), 784.
58. Schimmer, A. D. (2004). Inhibitor of apoptosis proteins: translating basic knowledge into clinical practice. *Cancer research*, 64(20), 7183-7190.
59. Selivanova, G. A., & Wiman, K. G. (2007). Reactivation of mutant p53: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Oncogene*, 26(15), 2243.
60. Shi, Y. (2002). Mechanisms of caspase activation and inhibition during apoptosis. *Molecular cell*, 9(3), 459-470.
61. Small, S., Keerthivasan, G., Huang, Z., Gurbuxani, S., & Crispino, J. D. (2010). Overexpression of survivin initiates hematologic malignancies in vivo. *Leukemia*, 24(11), 1920.
62. Souers, A. J., Levenson, J. D., Boghaert, E. R., Ackler, S. L., Catron, N. D., Chen, J., ... & Huang, D. C. (2013). ABT-199, a potent and selective BCL-2 inhibitor, achieves antitumor activity while sparing platelets. *Nature medicine*, 19(2), 202.
63. Suliman, A., Lam, A., Datta, R., & Srivastava, R. K. (2001). Intracellular mechanisms of TRAIL: apoptosis through mitochondrial-dependent and-independent pathways. *Oncogene*, 20(17), 2122.
64. Susin, S. A., Daugas, E., Ravagnan, L., Samejima, K., Zamzami, N., Loeffler, M., ... & Brothers, G. (2000). Two distinct pathways leading to nuclear apoptosis. *Journal of Experimental Medicine*, 192(4), 571-580.
65. Suzuki, K., & Matsubara, H. (2011). Recent advances in p53 research and cancer treatment. *BioMed Research International*, 2011.
66. Tal, P., Eizenberger, S., Cohen, E., Goldfinger, N., Pietrovski, S., Oren, M., & Rotter, V. (2016). Cancer therapeutic approach based on conformational stabilization of mutant p53 protein by small peptides. *Oncotarget*, 7(11), 11817.
67. Tschopp, J., Martinon, F., & Hofmann, K. (1999). Apoptosis: silencing the death receptors. *Current Biology*, 9(10), R381-R384.
68. Tse, C., Shoemaker, A. R., Adickes, J., Anderson, M. G., Chen, J., Jin, S., ... & Roberts, L. (2008). ABT-263: a potent and orally bioavailable Bcl-2 family inhibitor. *Cancer research*, 68(9), 3421-3428.
69. van Loo, G., Saelens, X., Van Gurp, M., MacFarlane, M., Martin, S. J., & Vandenabeele, P. (2002). The role of mitochondrial factors in apoptosis: a Russian roulette with more than one bullet. *Cell death and differentiation*, 9(10), 1031.
70. Vassilev, L. T., Vu, B. T., Graves, B., Carvajal, D., Podlaski, F., Filipovic, Z., ... & Fotouhi, N. (2004). In vivo activation of the p53 pathway by small-molecule antagonists of MDM2. *Science*, 303(5659), 844-848.
71. Vaux, D. L., Cory, S., & Adams, J. M. (1988). Bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells. *Nature*, 335(6189), 440-442.

72. Vucic, D., Stennicke, H. R., Pisabarro, M. T., Salvesen, G. S., & Dixit, V. M. (2000). ML-IAP, a novel inhibitor of apoptosis that is preferentially expressed in human melanomas. *Current Biology*, 10(21), 1359-1366.
73. Wade, M., Li, Y. C., & Wahl, G. M. (2013). MDM2, MDMX and p53 in oncogenesis and cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*, 13(2), 83.
74. Wajant, H. (2002). The Fas signaling pathway: more than a paradigm. *Science*, 296(5573), 1635-1636.
75. Wang, S. P., Wang, W. L., Chang, Y. L., Wu, C. T., Chao, Y. C., Kao, S. H., ... & Li, K. C. (2009). p53 controls cancer cell invasion by inducing the MDM2-mediated degradation of Slug. *Nature cell biology*, 11(6), 694.
76. Wei, Y., Fan, T., & Yu, M. (2008). Inhibitor of apoptosis proteins and apoptosis. *Acta biochimica et biophysica Sinica*, 40(4), 278-288.
77. Whibley, C., Pharoah, P. D., & Hollstein, M. (2009). p53 polymorphisms: cancer implications. *Nature Reviews Cancer*, 9(2), 95.
78. Wilson, W. H., O'Connor, O. A., Czuczman, M. S., LaCasce, A. S., Gerecitano, J. F., Leonard, J. P., ... & Cui, Y. (2010). Navitoclax, a targeted high-affinity inhibitor of BCL-2, in lymphoid malignancies: a phase 1 dose-escalation study of safety, pharmacokinetics, pharmacodynamics, and antitumour activity. *The lancet oncology*, 11(12), 1149-1159.
79. Wong, R. S. (2011). Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 30(1), 87.
80. Yamaguchi, Y., Shiraki, K., Fuke, H., Inoue, T., Miyashita, K., Yamanaka, Y., ... & Nakano, T. (2005). Targeting of X-linked inhibitor of apoptosis protein or survivin by short interfering RNAs sensitize hepatoma cells to TNF-related apoptosis-inducing ligand-and chemotherapeutic agent-induced cell death. *Oncology reports*, 14(5), 1311-1316.
81. Zache, N., Lambert, J. M., Rökaeus, N., Shen, J., Hainaut, P., Bergman, J., ... & Bykov, V. J. (2008). Mutant p53 targeting by the low molecular weight compound STIMA-1. *Molecular oncology*, 2(1), 70-80.
82. Zawacka-Pankau, J., & Selivanova, G. (2015). Pharmacological reactivation of p53 as a strategy to treat cancer. *Journal of internal medicine*, 277(2), 248-259.

Karbon Nanotüplerin ve Altın Nanopartiküllerin Elektrokimyadaki Kullanımları ve Biyo-Algılama Uygulamaları

Oğuz ÇAKIR¹

CHAPTER 6

¹ Dr. Arş. Gör., Dicle Üniversitesi, Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi

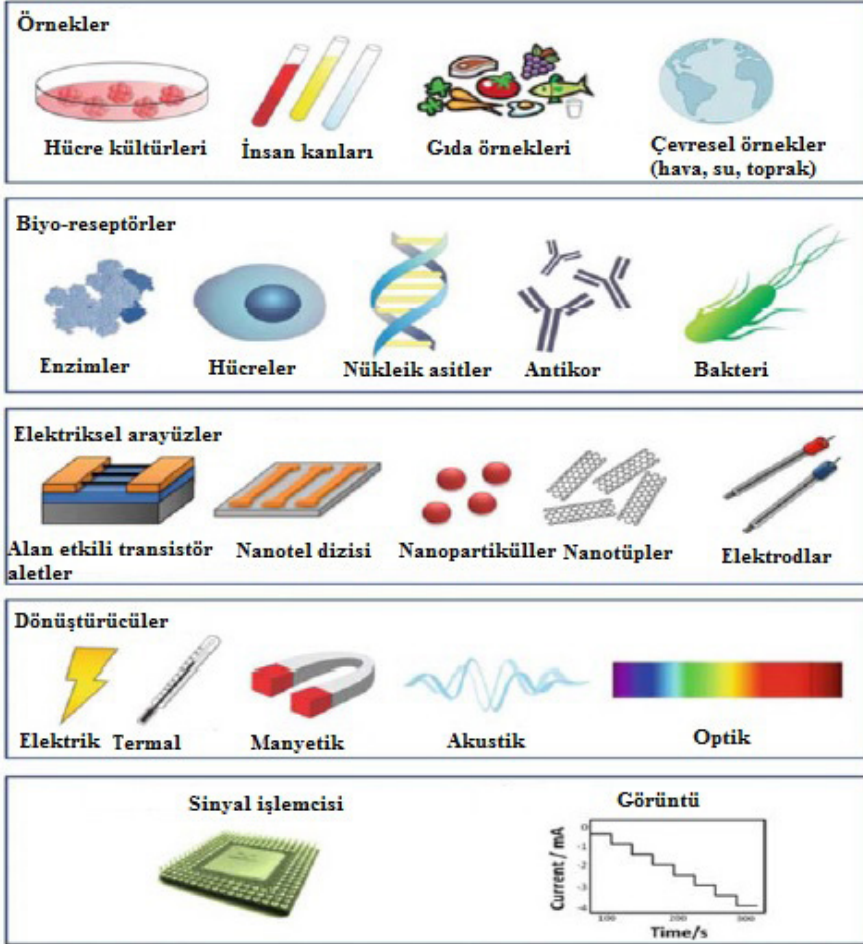
1. GİRİŞ

Günümüzde teknoloji, insanoğlunun ihtiyaçlarını karşılamak için sürekli gelişmektedir. Bu gelişmelerden biri de boyutların küçültülmesiyle başlayan ve malzemelerin özelliklerini iyileştirmeye yönelik olan nanoteknoloji'dir. Mikroteknolojiden daha küçük teknoloji olarak da adlandırılan nanoteknoloji, atomik ölçekte gerçekleştirilen işleme teknolojisidir [1]. Nanoteknoloji ile ilgili çalışmalar malzemelerin geliştirilmesi için de büyük önem taşımaktadır. Atomik seviyede görüntüleme, ölçme ve işleyebilme sayesinde istenilen özellikler verilerek malzemelerin geliştirilmesi de sağlanabilir. Bu işlemler sayesinde boyutları 1 ile 100 nm (milimetrenin milyonda biri) arasında değişen, gelişmiş özellikli malzemeler ortaya çıkmaktadır. Bu yapılar, elektrokimyanın bir parçası olarak ve biyosensörlerin geliştirilmesinde kullanılabilen önemli malzemelerdir. Bunlar arasında karbon nanotüpler (KNT) ve altın nanopartiküller (AuNP) algılama, ayırt etme ve görüntüleme gibi farklı uygulamalarda birleştirilebilecek istisnai özellikleri nedeniyle bilim adamları ve araştırmacıların oldukça üzerinde durduğu nanomalzemelerdir [2]. Bu nanomalzemeler üzerinde yapılan araştırmalar, onların sentezlenmeleri, oluşum mekanizmaları, yapıları, özelliklerini etkileyen unsurlar üzerinde yoğunlaşırken, bu araştırmalardan sağlanan verilerle birlikte özellikleri geliştirilmiş ve kontrol edilebilen, ucuz ve seri üretilen bu yapılar birçok alanda kullanılmaktadır. Geçtiğimiz on yıl boyunca, KNT'ler ve AuNP'ler biyosensörlerde, teşhislerde, doku mühendisliğinde, hücre takibi ve etiketlemede ve ilaçların ve biyomoleküllerin iletiminde en yaygın kullanılan nanomalzemelerdir.

Bu derlemede, biyosensörlerin analitik performansının iyileştirilmesinde KNT ve AuNP odaklı materyallerin biyo-algılamadaki rolü incelenmektedir. Aynı zamanda klinik, çevre ve gıda bilimleri araştırmalarında uygulama için analitik performanslarını ve bu alanda gelecekteki ilginç araştırma eğilimleri hakkındaki yorumları karşılaştırarak, KNT ve AuNP odaklı materyallere genel bir bakış sunmaktadır.

2. NANOTEKNOLOJİ TABANLI BİYOSENSÖRLER

Nanobiosensörler temel olarak nanomalzemelerden oluşan sensörlerdir. Nanomalzemelerin boyut sınırlamaları, yüzeylerinde veya yakınında bulunan bileşenli atomların varlığı ve yığın ölçeğinde aynı malzemedeki oldukça farklı fizikokimyasal özelliklere sahip olmaları onları bilim dünyası için oldukça özel kılmaktadır. Ayrıca, biyo-algılama teknolojisinin algılama mekanizmasında çok etkili rol oynarlar. Elektrik sistemlerine sahip nanomalzemelerin entegre cihazları, elektriksel iletim mekanizmalarında çok daha aktif olan nanoelektromekanik sisteme neden olurlar [3]. Birkaç nanomateryal onların gelişmiş biyolojik sinyal ve iletim mekanizmalarında kullanımları için elektronik ve mekanik özelliklerinin mekanizması üzerine araştırılmıştır. Nanotüpler, nanoteller, nanorotlar, nanopartiküller ve kristalin maddeden yapılmış ince filmler yaygın olarak kullanılan bu tür malzemelerden bazılarıdır. Bunlar, glikozun enzimatik tespiti için amperometrik cihazların kullanılması, bağlanma tespiti için floresan maddeler olarak kuantum noktalarının kullanılması ve hatta spesifik biyomoleküler tespit için biyo-konjuge nanomalzemelerin kullanılması kadar çeşitli olabilmektedir. Ayrıca, metal bazlı nanopartiküller, optoelektronik özelliklerinden yararlanılarak nükleik asit sekanslarının tespiti için etkili bir şekilde kullanılabilen elektronik ve optik uygulamalar için oldukça uyumlu malzemelerdir. Şekil 1.'de tipik bir biyosensörün bileşenleri gösterilmektedir [3].

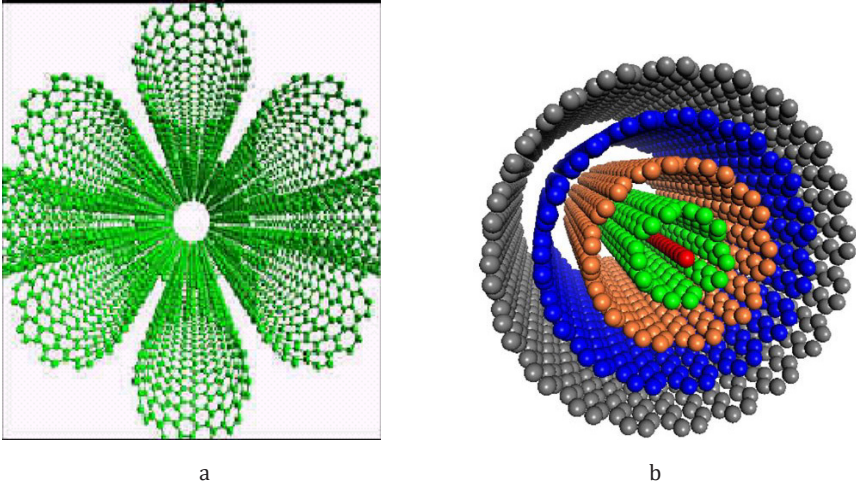


Şekil 1. Tipik bir biosensörün bileşenleri [3].

Çeşitli nanomateryaller biosensörlerin özelliklerini ve son uygulamalarını analiz etmek için araştırılmıştır. Biosensör teknolojisindeki araştırmalar, çoklu algılama kabiliyetlerini ve hassasiyetlerini arttırmak amacıyla, dönüştürücülere veya reseptörlere uygulanacak olan çeşitli nanomalzemelerle ilgili olarak sürekli bir artış göstermektedir. Bu nanomalzemeler, biyo-tanımaya elemanına veya dönüştürücüye veya her ikisine de katkıda bulunabilir. Nanosensörler, nanoprobolar ve diğer nano sistemler kimyasal ve biyolojik analiz alanlarında, in vivo olarak birden fazla maddenin hızlı analizini sağlamak için devrim yaratmıştır. Son yıllarda, küçük ebat, yüksek hızlar, elektronların hareket etmesi için daha küçük mesafeler, daha düşük güç ve daha düşük voltajlar gibi farklı özelliklere sahip çok çeşitli nanoparçacıklar, elektrot/elektrolit ara yüzünde meydana gelen biyokatalitik olayların elektrokimyasal sinyallerini iyileştirmek için metal nanopartiküller, oksit nanopartikülleri, manyetik nanomalzemeler ve karbon malzemeleri gibi nanomalzemelerin kullanımına yol açmıştır. Biyolojik moleküllere (örneğin peptitler, proteinler, nükleik asitler) bağlanan fonksiyonel nanoparçacıklar, biosensörlerde tayin amaçlı kullanılması için geliştirilmiştir.

3. KARBON NANOTÜPLER

Nano teknolojinin en önemli konularından biri karbon nanotüplerdir. Karbon, dünya-
daki en bol ve en etkileyici bileşenlerin arasında yer almaktadır. Genel olarak olağanüstü
özelliklere sahip birkaç farklı yapı veya allotropta görülür [2]. Bu allotroplar arasında
değerli bir taş, grafit ve amorf karbon bulunur. Yeni karbon allotroplarının veya karbon
nanoyapılarının açığa çıkarılması, mekanik çıkarları nedeniyle ciddi bir şekilde ele alın-
mıştır [4]. Bu yapılar üstün yapısal ve fiziksel özellikler sergilemektedir. Nanotüpler ilk
olarak 1991 yılında ortaya çıkmıştır. Grafen düzlemi dediğimiz örülü yapının bir silindir
şekline sarılması ve uçlarının küresel bir silindir kapağı şeklinde kapatılmasıyla oluştu-
rulur (Şekil 2). Çok hafif olması, mükemmel elektriksel ve mekanik özelliklere, yüksek ısı
iletkenliğine, yüksek kimyasal kararlılığa, olağanüstü elektrokatalitik aktiviteye, minimum
yüzey kirliliğine, düşük gerilim ve yüksek en boy oranına (yüzey/hacime) sahip olması ve
bilinen en dayanıklı fiber olması ihtimalleri, KNT'in en önemli özelliklerindedir [2]. Bu-
nun yanı sıra, tüpler arası çekim enerjisi sayesinde KNT'lerin yapısı çeşitli çözücülerde
çözünmeyecek yeterli kararlılığa sahiptir. Ayrıca, KNT'lerin çözünürlüğü, biyosensörleri
geliştirmek için KNT'lerin hazırlanmasında oldukça önemlidir [5].



Şekil 2. a) Tek katmanlı b) Çok katmanlı nanotüp yapıları [6]

KNT'lerin hidrofobikliğinden dolayı, polimerlerin, konuk partiküllerin veya yan du-
var yer değiştirici duvar yüzeyinin işlevselliği KNT'lerin biyo-uyumluluğunu artırmak için
önemlidir [7]. İşlevselleştirilmiş KNT'ler, yüksek katalitik verim, büyük kenar düzlemi,
yüksek yüzey aktivitesi ve daha işlevsel gruplar gibi birçok gelişmiş özelliğe sahiptir.
İşlevselleştirilmiş KNT'ler ile geliştirilen biyosensörler, geleneksel katı hal karbon
biyosensörlerine kıyasla daha yüksek hassasiyet, daha fazla kararlılık, daha hızlı tepki ve
daha geniş algılama aralığına sahiptir. KNT'lerin işlevselleştirilmesi hem fiziksel hem de
kimyasal yöntemlerle sağlanabilir, oysa fiziksel yaklaşımlar, KNT'lerin yüzeyini ve yüzey
yapılarını değiştirerek aktive etmek için ultrasonik, frezeleme, kırma ve sürtünme gibi
mekanik araçlardan yararlanır [8].

Günümüzde, KNT tabanlı biyosensörler ve teşhisleri, sağlık hizmetlerinde, endüstri-
lerde, çevresel izlemede ve gıda kalitesi analizlerinde oldukça hassas analit tespiti için
kullanılmıştır. KNT'ler ağırlıklı olarak elektrokimyasal biyo-algılamada özellikle glikoz,
fruktoz, galaktoz, bakteri, nörokimyasallar, aminoasitler, albumin, insülin, protein, kanser,
DNA ve diğer biyomoleküllerin tayininde kullanılmaya başlanmıştır.

3.1. Biyo-Algılamada Karbon Nanotüplerin Uygulanması

KNT temelli biyosensörler, yüksek hassasiyet, daha hızlı tepki süresi, daha fazla kararlılık, redoks reaksiyonunun daha düşük potansiyeli gibi belirgin avantajlar sağladığından, yüksek hassasiyete sahip biyo-algılama sistemleri için yeni nesil bir yapı bloğu olarak kabul edilmektedir [5]. Tablo 1, biyosensörlerin geliştirilmesi için KNT temelli yöntemlerin karşılaştırılmasını göstermektedir ve Tablo 1'de listelenen bazı örneklerin analitik performansını da alt bölümlerde tartışıldı ve karşılaştırıldı.

KNT'lerin, glikoz, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve metal iyon biyosensörleri, immüno-sensörler, gaz sensörleri, vb. gibi farklı biyosensörlerin geliştirilmesi için birçok potansiyel uygulama arasında gelecek vaat edici olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, redoks proteininin aktif enzim alanından veya enzimlerin elektrot yüzeyine doğrudan elektron transferinin, biyosensörün geliştirilmesinin en büyük dezavantajı olan KNT'lerin kullanımı nedeniyle teşvik edildiği bulunmuştur. Bunun yanı sıra, farklı formlardaki KNT'lerin kullanılması veya başka malzemelerle birleştirilmesi, biyosensörün duyarlılığını, seçiciliğini ve kararlılığını arttırmaktadır [2].

KNT'ler, son yıllarda glikoz biyosensörlerinin gelişimi için yaygın olarak kullanılmaktadır. Kismen açılmamış karbon nanotüp, modifiye camı karbon elektrotunun yüzeyine kendiliğinden monte edilen glikoz oksidazın doğrudan elektron transferine dayanan bir amperometrik glikoz biyosensörünü üretmek için kullanılmıştır. Böylece biyosensörün duyarlılığı ve kararlılığı, KNT'lerin kullanımı sayesinde büyük ölçüde artmıştır [9]. Glikoz biyosensörü geliştirilmesi için karbon nanoçipler ve KNT'lerin birlikte kullanılması gerektiği ileri sürülmüştür. Sentezlenen materyaller toplu üretim kapasitesine sahiptir ve enzim bazlı sistemlerin biyo-izleme gibi başarısız olduğu optimum çevresel koşullarda kararlı ve sağlam bir yapı ortaya koymuştur [10]. Bir diğer çalışmada, grafen-KNT ile çinko oksit nanopartiküllerinin sentezi ve bu kompozitin glikoz oksidazın immobilize edilmesiyle glikoz biyo-algılamasında kullanımı gerçekleştirilmiştir [11]. Son zamanlarda KNT'lerin varlığına bağlı olarak glikozun biyo-algılamasında dikkate değer bir performans sergileyen yüksek hizalanmış KNT iskele içine nikel hidroksit nanotabakalarının eklenmesiyle glikozun nonenzimatik tespiti için hassas bir fiber mikroelektrot üretilmiştir [12]. KNT'lerin glikoz sensöründe bir başka kullanımını, kovalent olmayan fonksiyonelleştirilmiş nanotüp'ün glikoz tespitinde kullanılabilirliği ile ilgilidir [13].

Etkili şarj aktarımı için mükemmel bir iletken ağ sunan azot katkılı Co-KNT'lerin azot katkılı grafen levhalar üzerinde yeni bir 3D nanokompozitini başarıyla sentezlenmiştir. Bu nanokompozit, düşük bir potansiyelde H_2O_2 'nin azalmasına doğrudan tepki göstermiştir [14]. H_2O_2 biyosensörünün hazırlanmasında KNT'ü kullanarak yeni, kolay ve etkili bir yöntem sunulmuştur [15]. Bir başka etkili ve basit yaklaşım ise, bir amperometrik H_2O_2 biyosensörünü Pt nanopartikülleri yükleyen çok duvarlı karbon nanotüpler (MWKNT) ile geliştirmek için MWKNT'ler önce bir anyonik yüzey aktif cismi, sodyum dodesil sülfat (SDS) ile fonksiyonelleştirilmiş, daha sonra Pt nanopartikülleri elektro-ayırıştırma ile MWKNT-SDS'ye yüklenmiştir. Bu çalışmadaki geliştirilen biyosensör, MWKNT'lerin ve PtNP'lerin avantajlarını birleştirerek H_2O_2 'in amperometrik tayininde önemli bir yer edinmiştir [16]. Başka bir çalışmada, mikroperoksidad-11 (MP-11) ile birlikte MWKNT'ler ve bakteri selüloz (BC) odaklı H_2O_2 'nin elektrokimyasal tayini için esnek nanokompozit film deneyisel bir çalışmasını bildirilmiştir. Bu doğrultuda, esnek bir iletken film sunan BC'yi işlevselleştirmek için MWKNT'ler kullanılmış ve BC, MWKNT'lerin biyo-uyumluluğunu arttırmıştır [17]. Son dönemlerde yapılan çalışmalarda ise, Au elektrot üzerine karbonil işlevselli tek duvarlı karbon nanotüpler (SWKNT) ile hemoglobin immobilizasyonu [18] ve tiyol modifiye edilmiş Au elektrot üzerine KNT ile onun immobilizasyonu yapılarak KNT'lerin yaban turpu peroksidad'dan yüksek elektron transferini kazanmadaki rolü tartışılmıştır [19].

Analit	Algılama malzemeleri	LOD	Ref.
Virüs H5N1	KNT'lerin yan duvarlarına kovalent olmayan şekilde bağlanmış DNA-prob dizileri	0.00002-0.02 µM	[20]
Dang virüsü	Heparin ile kovalent olmayan modifikasyon	8.4 x 10 ² TCID ₅₀ /mL	[21]
Protein C	Dendrimer modifiye edilmiş 8 kanal ekran baskılı elektrokimyasal dizi	0.035 µM	[22]
Serotonin	NiO/KNT/PEDOT'un elektrokimyasal çökeltme	0.063 µM	[23]
Miyogloblin	Moleküler baskılı polimerize iyonik sıvı ile modifikasyon	0.0097 µM	[24]
Dopamin	Grafen köpüğünün AuNP'ler ve KNT'ler ile birleşimi	0.00136 µM	[25]
Glikoz	Pt mikroküre dekorasyon ile karbonize ipek kumaş ile kaplanmış KNT'ler	50 µM	[26]
Glikoz	Nikel (II)-terftalik asit temelli tek katlı KNT	4.6 nM	[27]
Triamin	AuNP ile modifiye edilmiş cam karbon elektrot	0.71 nM	[28]
Enzim	SiO ₂ mikropartikül temelli çok katlı KNT	-	[29]
DNA/gen	Karboksil modifiyeli KNT'lerin elektroforetik birikimi	-	[30]
Bakteri	KNT ile birleştirilmiş anti- <i>E. coli</i> O157:H7	1 CFU mL ⁻¹	[31]
Ksantin	Poli(GMA-co-VFc) kopolimer filminde KNT'ler	0.12 µM	[32]
Kolesterol	Prusya mavisi modifiye edilmiş KNT'ler	3 µM	[33]
Kanser bio-marker	Polietilenimin modifiye edilmiş KNT'ler	0.35 U/mL	[34]
Nitrik oksit	Rekombinant ipek modifiye edilmiş KNT'ler	0.002 µM	[35]

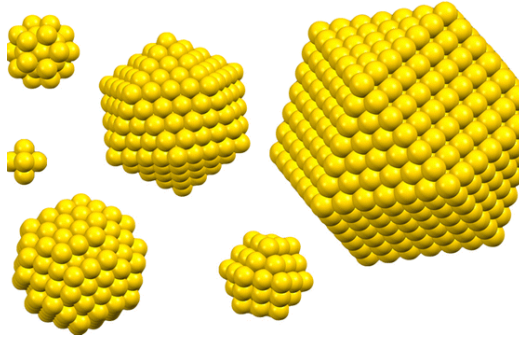
Tablo 1. Biyosensörlerin geliştirilmesi için karbon nanotüp temelli yöntemlerin karşılaştırılması [2].

KNT'ün bir diğer uygulamasında MWCNT'ler, guaninin oksidasyon sinyalini izleyerek miRNA-24'ün tespiti için bir biyosensör geliştirmek için kullanılmıştır. miRNA-24 ile tamamlayıcı olan sentetik DNA, kovalent çapraz bağlama yöntemiyle MWCNT ile modifiye edilmiş cam karbon elektrotlarının yüzeyine immobilize edilmiştir [36]. Son yapılan çalışmalarda, spesifik hedef DNA'yı tespit etmek için yeni ve hassas elektrokimyasal biyosensörler üretilmiştir [37,38].

Metal iyonlarının tespiti için elektrostatik etkileşimler yoluyla mısır püskülü çok duvarlı karbon nanotüp (MT-MWCNT) üzerinde immobilize edilmiş yaban turpu peroksidazına dayanan bir biyosensör geliştirilmiştir. Bu biyosensör için herhangi bir karmaşık immobilizasyon prosedürü gerektirmediği ve metal iyonlarının o biyosensör tarafından düşük tayin limitleri ile ölçüldüğü görülmüştür [39]. 2014 yılında, ilk defa Mn (II) karbon yapılandırılmış elektrotları üzerine odaklı yeni bir MWCNT ile biyosensör geliştirilmiştir. Bu deneyde modifiye karbonlu elektrotlar, potasyum tetra kis[p-kolorofenil] borat, karbon tozu ve o-NPOE bileşimlerinin matriks kompozitleri tarafından hazırlanmıştır [40]. Son zamanlarda, süperoksit radikalini saptamak için 3D Enzim/KNT iletken ağları sentezlenmiştir ve sentezlenen 3D ağların süperoksit radikaline tepki gösterdiği görülmüştür [41].

4. ALTIN NANOPARTİKÜLLER

Nanometre ve mikrometre boyutundaki partiküller eşsiz optik ve diğer üstün özelliklerinden dolayı biyolojik uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu partiküller afinite ligandları ile işlevsel hale getirildikten sonra analiz ve teşhis uygulamalarında önemli görevler almaktadırlar. Bu amaç için kullanılan ilk örnekler polimerik lateksler ve AuNP'ler dir. Nanoteknolojide son yıllardaki hızlı gelişmeler sonucu manyetik nanopartiküller ve kuantum noktalar gibi yeni malzemeler kullanılmaya başlanmış ve nanopartikül temelli biyolojik uygulamalar çarpıcı bir şekilde artmıştır. Nano ve mikropartiküllerin kullanım alanlarına, hassasiyeti artırılmış ELİSA yöntemleri, katı faz analizleri, polimeraz zincir tepkimesi, manyetik ayırma sistemleri ve biyosensörler örnek olarak verilebilir. Biyolojik uygulamalarda kullanılan nanopartiküller değişik geometrik şekillerde, yapılarında ve boyutlarda hazırlanabilmektedir [42] (Şekil 3).



Şekil 3. Farklı yapılarıdaki altın nanopartiküller [43]

AuNP'ler immuno-histokimyasal boyama ve teşhis amaçlı işaretleyici olarak uzun süredir kullanılmaktadır. AuNP'lerin ilgi çekici olmasının bir diğer sebebi ise bu nanopartiküllere immobilize edilen biyomoleküllerin biyo-aktivitelerini koruması, redoks proteinler ve yığın elektrot malzemesi arasındaki elektron aktarımına doğrudan izin vermesi ve yüksek yüzey/hacim oranı sağlamasıdır. Dolayısıyla, AuNP teşhis kitlerinde yüksek hassasiyet elde etmek amacıyla kullanılmıştır. 20. yüzyılın ilk 10 yılında kimyasal olarak kararlı 10 nm'nin altında koloidal çözeltiler üretilmiştir [44]. İnorganik süspanسیونların protein işaretleme uygulamaları, 1971'de immünoaltın boyama işlemi keşfedilene kadar gerçekleşmemiştir. Sonrasında hedeflenen moleküllerin özellikle proteinlerin AuNP'ler ile işaretlenmesi, hücre veya doku bileşenlerinin elektron mikroskoplarıyla görüntülenmesinde devrim yaratmıştır [45]. Günümüzde AuNP'lerin biyo-algılama uygulamaları giderek artmaktadır.

4.1. Biyo-Algılamada Altın Nanopartiküllerin Uygulanması

AuNP, herhangi bir biyosensörün geliştirilmesi için önemli bir fayda sağlayan biyolojik aktivitelerini koruyarak, biyomoleküllerin (redoks proteini veya enzim) sabit bir immobilizasyonunu temsil eder. Ayrıca, AuNP'ler redoks proteinlerinin aktif bölgesi veya KNT'ler gibi doğrudan elektron transferine izin vermektedir, bu durum ise elektron transferi için herhangi bir ara etken gerekmesiz elektrokimyasal biyo-algılamaya izin vermektedir. Farklı biyosensör cihazların geliştirilmesindeki son uygulamaların duyarlılık, seçicilik ve tekrarlanabilirliğin geliştirilmesinde önemli bir rol üstlendiği bilinmektedir. Tablo 2'de, biyosensörlerin geliştirilmesi için AuNP temelli yöntemlerin karşılaştırılmasını göstermektedir ve Tablo 2'de listelenen bazı örneklerin analitik performansını da alt bölümlerde tartışıldı ve karşılaştırıldı.

AuNP'ler ile glikoz tayini çalışmasında, AuNP/sığır serum albümin (BSA)/Fe₃O₄ (AuNP/BSA/Fe₃O₄) kompozit nanopartikülleri üzerine odaklı yeni bir elektrokimyasal glikoz biyosensörünün sentezini ve karakterizasyonunu yapılmıştır. AuNP'lerin yerinde immobilizasyonu, bu deneyde kullanılan glikoz oksidaz enziminin elektron transferini önemli ölçüde arttırmıştır [46]. İndirgenmiş grafen oksit (rGO) yüzeyinde dağılmış AuNP'ler ile sentezlenen üçlü bir nanokompozit rGO/polipirrol (PPy), rGO ve PPy ile karşılaştırıldığında O₂ azaltma yönünde parlak elektrokatalitik özellik gösteren bir bağlayıcı olan poliprol kullanarak kolay ıslak-kimyasal yollar ile sentezlenmiştir. Bu kombinasyonlar tarafından üretilen sensör, glikoz konsantrasyonuna karşı uzun bir doğrusallık sergilemiştir [47]. Son yıllarda, glikozun kalorimetrik tayininde plazmonik bir algılama platformu oluşturmak için gümüş nanopartiküller (AgNP) ile AuNP'ler kullanılmıştır. Bu sistemde, küçük AuNP'ler, solüsyondaki renk değişikliklerine öncülük etmek üzere AgNP'leri çözen H₂O₂ üreterek oksijen varlığında glikozun katalitik olarak oksitlenmesi için glikoz oksidaz enziminin taklidi olarak görev yapmıştır [48]. Yine son yıllarda yapılan bir diğer çalışmada ise, MoS₂ nano tabakalarına dayanan AuNP'ler ile yeni bir biyosensörün üretilmesini ve basit, ucuz, hassas seçici ve kararlı iki boyutlu bir biyosistem kullanarak metal partiküllerin nano yapılanmasının etkisi gösterilmiştir [49].

Enzimatik olmayan bir H₂O₂ biyosensörünün üretilmesi için fotoelektrokimyasal basıkl düzlemsel GaN ile elde edilen gözenekli GaN elektrodu üzerine AuNP'lerin elektron birikimi üzerine çalışılmıştır. AuNP/gözenekli GaN elektrodu, arttırılmış hassasiyetle H₂O₂'nin enzimatik olmayan saptanmasına yönelik iyi bir elektrokatalitik aktivite sergilemiştir [50]. AuNP'lerin başka bir uygulamasında, 4-merkaptopiridin ve 6-merkaptot-1-heksanol ile modifiye edilmiş AuNP'ler, camısı karbon elektrotları modifiye etmek için kullanılan Ag:4,40-bipirid nanobordları ile yeni bir hibrit nanomateryali geliştirilmesinde koordinasyon ajanı olarak kullanılmıştır. Böylece, H₂O₂ için yaban turpu peroksidaz esaslı bir mediatör olmayan amperometrik biyosensör tasarlanmış olup bu biyosensörün picomolar seviyelerde analiti tespit edebildiği belirtilmiştir [51]. Son yıllarda, biyo-algılamada SnS₂/AuNP sentezlenmiş ve sentezlenen bu nanopartiküllerin H₂O₂ tayininde kabul edilebilir bir performans sergilediği rapor edilmiştir [13].

Yakın bir zamanda, AuNP'ler, *Arowana* balığının cinsiyet sınıflandırması için kapa-karragenan-poliprol-AuNP nano-biyokompozit odaklı geliştirilmiş bir DNA biyosensörünün hazırlanmasında ve karakterizasyonunda kullanılmıştır. Bu çalışmada, tiyol ile modifiye edilmiş *Arowana* balığı DNA dizisinin immobilizasyonu, nano-biyo-kompozit zarın yüzeyindeki altının kovalent bağlanmasıyla başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir [52]. Başka bir çalışmada ise, DNA'nın serbest terminalinde yüksek iletkenli AuNP'ler üzerine dayanan bir ultra-duyarlı elektrokimyasal DNA biyosensörü tasarlanmıştır ve biyosensörün yüksek seçicilik, kararlılık ve yenilenme özelliğine sahip olduğu tespit edilmiştir [53]. Başka bir hassas elektrokimyasal DNA biyosensörü, diferansiyel puls voltametriyi ile *Helicobacter pylori* tayini için AuNP'ler kullanılarak geliştirilmiştir. Bu çalışmada, tek sarmallı DNA probu grafen oksit/AuNP/camsı karbon elektrodu ile immobilize edilmiş ve sonuçların yüksek hibridizasyon seçiciliğe ve kararlılığa sahip olduğu belirlenmiştir [54].

Analit	Algılama malzemeleri	LOD	Ref.
Virüs	Sialik asit temelli AuNP	0.156 % hacim	[55]
Karbofuran	AuNP'ler ile birleştirilmiş grafen oksit	0.72 μM	[56]
Triptofan	AuNP/amin işlevli silika nanopartikül	0.00026 μM	[57]
Miyogloblin	AuNP/arjinin-glisin-aspartik/karboksilatlanmış grafen	26.3 ng/mL	[58]
Dopamin	İyonik sıvı işlevselleştirilmiş grafen oksit tabanlı AuNP	0.0023 μM	[59]
Glikoz	2D-MoS ₂ ile modifiye edilmiş AuNP	0.042 μM	[60]
DNA/gen	Dekstrin kaplı AuNP	2.9 x 10 ⁻⁹ μM	[61]
mRNA	AuNP/grafen oksit nanokompozit destekli elektrokatalitik amplifikasyon	1.5 fM	[62]
Bakteri	AuNP üzerine modifiye edilmiş <i>E. coli</i> B40	0.5 $\mu\text{g/L}$	[63]
Protein	Poliglutamik asit modifiyeli AuNP	0.135 $\mu\text{g/mL}$	[64]
Akrilamid	FAM etiketli dsDNA ile AuNP	0.5 μM	[65]
Askorbik asit	Grafen hidrojel modifiyeli AuNP	0.0028 μM	[66]
Ksantin	Poliprol fonksiyonelleştirilmiş AuNP	0.25 μM	[67]
Kolesterol	AuNP üzerine gümüş biriktirme	3 $\mu\text{g/mL}$	[68]
İlaç	İndirgenmiş grafen oksit/polianilin kaplı AuNP	0.00029 μM	[69]

Tablo 2. Biyosensörlerin geliştirilmesi için altın nanopartikül temelli yöntemlerin karşılaştırılması [2].

Poliyetenimin ve AuNP'lere dayanan Pb⁺² için duyarlı, seçici ve hızlı bir kolorimetrik aptasensör geliştirilmiştir. Geliştirilen sensör ile daha fazla hassasiyetle yüksek bir seçicilik ve düşük tespit limiti ortaya konmuştur [70]. Başka bir çalışmada, timin ile modifiye edilmiş AuNP/indirgenmiş grafen oksit nanokompozitlerine dayanan civa iyonlarının (Hg⁺²) belirlenmesi için hassas, seçici ve yeniden kullanılabilir bir elektrokimyasal biyosensör rapor edilmiştir. Önerilen biyosensörün Hg⁺² 'nin tespiti için oldukça hassas olduğu belirlenmiştir [71]. Pb⁺² için bir başka yeni elektrokimyasal algılama sistemi, tipik bir ikosaedral AuNP modifikasyonu ve geliştirilmiş yuvarlanma halkası amplifikasyonu temel alınarak geliştirilmiştir [72]. Sitrat kaplı AuNP'ler ile lizin amino asiti arasındaki etkileşimden yararlanılarak içme suyundaki Hg²⁺ iyonunun basit, yüksek seçicilikte ve duyarlılıkta tayini gerçekleştirilmiştir [73].

Elektron pozisyonundaki grafen-altın nanokompozit/fonksiyonel iletken polimer/AuNP/iyonik sıvı kompozit filmi temel alan mikrosistin-LR'nin hassas tayini için elektrokimyasal immünosensörler geliştirilmiştir. Bu sistemin, % 96.3-105.8 aralığında geri kazanım ile su örneklerinde mikrosistin tayininde başarılı bir şekilde uygulanabileceği bildirilmiştir [74].

Elektrokatalitik özellikte AuNP'ler kullanarak kıyılmış sığır eti ve sularda *Escherichia coli* O157:H7'nin yüksek hassasiyette ve hızlı tayini ile ilgili çalışılmıştır. Tayin limitlerinin

tüm durumlarda 102-105 CFU/mL geniş bir saptama aralığı ile tampon çözelti, kıyılmış sığır eti ve musluk suyu örneklerinde sırasıyla 148, 457 ve 309 CFU/mL olarak hesaplanmıştır. Hassasiyet, tekrarlanabilirlik ve tayin limitlerini ticari bir kit ile karşılaştırdıklarında elektrokimyasal yöntemin performansının çok daha avantajlı olduğunu belirlenmiştir [75].

Bir diğer çalışmada, üç insan hücre dizisinin (HaCaT, LA-N-1, SK-N-AS) lizatlarında ve kültür ortamlarında paratroid hormon benzeri hormonun hızlı ve kolay tespiti için AuNP kullanılarak bir yanal akış algılama sistemi geliştirilmiştir. Bu sistemin, üç hücre dizisinin lizatlarında, kültür ortamında ve insan serum örneklerinde başarılı performans sergilediği ve bu metodolojinin teşhis için olduğu kadar paratroid hormon benzeri hormonun üretiminde rol oynayan mekanizmaların gelecekteki in vitro ve in vivo çalışmalarında da yararlı bir araç olabileceği bildirilmiştir [76].

5. ÖNERİLER VE SONUÇLAR

İleri teknoloji ürünü malzemeler üretiminin bir parçası olan karbon nanotüpler ve altın nanopartiküller, sahip oldukları üstün özellikler nedeniyle üzerinde en çok çalışılan malzemeler arasında yer almaktadır. Birçok yöntemle sentezlenerek geniş kullanım alanı bulmaktadırlar. Altın nanopartiküllerin kullanım alanlarıyla ilgili yapılan birçok çalışmanın başarıya ulaşması sayesinde çok dayanıklı malzemelerden iletkenliği isteğe bağlı olarak düzenlenmiş elektronik parçalarına kadar birçok gelişme mümkün olacaktır. Nanotüpler ile ilgili son yıllarda potansiyele sahip olan ve ultra hassas biyo-algılama zorluklarının üstesinden gelmek için bu nanomalzemenin işlevselleştirilmesinde daha fazla değişiklik ve ilerleme gerektiren az sayıda araştırmanın olduğu söylenebilir. Her ne kadar kullanım alanları açısından cevabı verilmemiş birçok soruyu, aydınlanmamış birçok sırrı barındırırsa da, bu küçük yapıların günlük hayatımızda önemli bir yere varacağını şimdiden söyleyebilmek mümkündür.

Bu kapsamda, öncelikli olarak yüksek seçicilik ve hassasiyet ile çok kısa bir zamanda, farklı analitlerin biyo-algılaması için farklı boyutlarda çok işlevli karbon nanotüpler ve altın nanopartiküller geliştirilmelidir. Ardından, bu iki nanomalzemenin, onlara farklı türlerdeki diğer nanomalzemelerin eklenebileceği şekilde işlevlendirilmesi ve biyo-algılama-daki sinerjik etkisi incelenmelidir. Bu iki yeni nanomalzemenin daha da ilerlemesi, yakın gelecekte nanomalzemeye dayalı biyosensörün geliştirilmesinde uygun olabilecek daha yeni özelliklerin elde edilmesi için büyük bir araştırma alanı oluşturulmalıdır.

Sonuç olarak, karbon nanotüpler ve altın nanopartiküller, biyo-algılama için analitik stratejileri ilerletmede olağanüstü bir nanoplatformu temsil eder ve birçok araştırma grubu, bu nanomalzemelerinin bileşiklerden doğal örneklerle kadar uzanan çok çeşitli tayin yöntemleri için kullanılabilirliğini göstermişlerdir. Bu iki nanomalzemenin düşük toksisite, yüksek yüzey alanı, zengin yüzey işlevselleştirme kimyası ve kolloidal kararlılığının kombinasyonu, in vitro ve in vivo olarak farklı analitlerin tayini için bir biyosensör sistemine güvenle dahil olmasına izin vermektedir. Önümüzdeki birkaç yıl içerisinde farklı yönlerde tanı amaçlı uygulamaların yanı sıra terapötik amaçlı karbon nanotüpler ve altın nanopartikül bazı biyosensör cihazlarının geliştirilmesinde büyük bir büyüme olacağını söylemek mümkündür.

KAYNAKLAR

1. Akdoğan, A., Küçükylıdırım, B.O. (2006). Nanomalzemeler ve Uygulamaları. *Makina-Tek.*, 99, 114-117.
2. Alim, S., Vejayan, J., Yusoff, M.M., Kafi, A.K.M. (2018). Recent uses of carbon nanotubes & gold nanoparticles in electrochemistry with application in biosensing: A review. *Biosens. and Bioelectron.* 121, 125-136. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.08.051>

3. Pandit, S., Dasgupta, D., Dewan, N., Ahmed, P. (2016). Nanotechnology based biosensors and its application. *The Pharma Innovation Journal*, 5, 18-25.
4. Dresselhaus, M.S., Dresselhaus, G., Eklund, P.C. (1996). Science of carbon nanotubes: Their properties and applications. *Academic Press*.
5. Yang, N., Chen, X., Ren, T., Zhang, P., Yang, D. (2015). Carbon nanotube based biosensors. *Sens. Actuators B: Chem.* 207, 690-715. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.10.040>
6. Hatem, A. (2015). Karbon nanotüpler. Mühendislik fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği.
7. Barsan, M.M., Ghica, M.E., Brett, C.M. (2015). Electrochemical sensors and biosensors based on redox polymer/carbon nanotube modified electrodes: A review. *Anal. Chim. Acta* 881, 1-23. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.02.059>
8. Fujigaya, T., Nakashima, N. (2008). Methodology for Homogeneous Dispersion of Single-walled Carbon Nanotubes by Physical Modification. *Polym. J.* 40, 577. <https://doi.org/10.1295/polymj.PJ2008039>
9. Hu, H., Feng, M., Zhan, H. (2015). A glucose biosensor based on partially unzipped carbon nanotubes. *Talanta*, 141, 66-72. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.03.057>
10. Singh, B., Dempsey, E., Laffir, F. (2014). Carbon nanochips and nanotubes decorated PtAuPd-based nanocomposites for glucose sensing: Role of support material and efficient Pt utilisation. *Sens. Actuators B: Chem.* 205, 401-410. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.08.034>
11. Hwa, K.Y., Subramani, B. (2014). Synthesis of zinc oxide nanoparticles on graphene-carbon nanotube hybrid for glucose biosensor applications. *Biosens. Bioelectron.* 62, 127-133. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.06.023>
12. Qian, Q., Hu, Q., Li, L., Shi, P., Zhou, J., Kong, J., Zhang, X., Sun, G., Huang, W. (2018). Sensitive fiber microelectrode made of nickel hydroxide nanosheets embedded in highly-aligned carbon nanotube scaffold for nonenzymatic glucose determination. *Sens. Actuators B: Chem.* 257, 23-28. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.10.110>
13. Yan, S., Fu, L., Li, K., Wang, B., Xu, X., Xiao, L. (2017). Solvothermal Synthesis of SnS₂/Gold Nanoparticle Hybrids and Their Application in Non-Enzymatic Hydrogen Peroxide Sensing. *Nanosci. Nanotechnol. Asia* 7, 51-57. <https://doi.org/10.2174/2210681206666161013112933>
14. Balamurugan, J., Thanh, T.D., Karthikeyan, G., Kim, N.H., Lee, J.H. (2016). A novel hierarchical 3D N-Co-CNT/NG nanocomposite electrode for non-enzymatic glucose and hydrogen peroxide sensing applications. *Biosens. Bioelectron.* 89, 970-977. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.09.077>
15. Kong, F.Y., Li, W.W., Wang, J.Y., Fang, H.L., Fan, D.H., Wang, W. (2015). Direct electrolytic exfoliation of graphite with hemin and single-walled carbon nanotube: Creating functional hybrid nanomaterial for hydrogen peroxide detection. *Anal. Chim. Acta*, 884, 37-43. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.05.016>
16. Li, X., Liu, X., Wang, W., Li, L., Lu, X., (2014). High loading Pt nanoparticles on functionalization of carbon nanotubes for fabricating nonenzyme hydrogen peroxide sensor. *Biosens. Bioelectron.* 59, 221-226. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.03.046>
17. Zhang, B., Zhou, J., Li, S., Zhang, X., Huang, D., He, Y., Wang, M., Yang, G., Shen, Y. (2015). Hydrogen peroxide biosensor based on microperoxidase-11 immobilized on flexible MWCNTs-BC nanocomposite film. *Talanta* 131, 243-248. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.07.027>

18. Kafi, A.K.M., Naqshabandi, M., Yusoff, M.M., Crossley, M.J. (2018). Improved peroxide biosensor based on Horseradish Peroxidase/Carbon Nanotube on a thiol-modified gold electrode. *Enzym. Microb. Technol.* 113, 67-74. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2017.11.006>
19. Kafi, A., Yam, C., Azmi, N., Yusoff, M.M. (2018). Carbonyl Functionalized Single-Walled Carbon Nanotube-Hb Crosslinked Network: A Novel Platform for Studying Bio-Electrochemistry and Electrocatalysis of Hemoglobin. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 18, 2422-2428. <https://doi.org/10.1166/jnn.2018.14327>
20. Fu, Y., Romay, V., Liu, Y., Ibarlucea, B., Baraban, L., Khavrus, V., Oswald, S., Bachmatuk, A., Ibrahim, I., Rummeli, M. (2017). Chemiresistive biosensors based on carbon nanotubes for label-free detection of DNA sequences derived from avian influenza virus H5N1. *Sens. Actuators B: Chem.* 249, 691-699. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.04.080>
21. Wasik, D., Mulchandani, A., Yates, M.V. (2017). A heparin-functionalized carbon nanotube-based affinity biosensor for dengue virus. *Biosens. Bioelectron.* 91, 811-816. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.01.017>
22. Silva, M., Dias, A.C., Silva, B.V., Gomes Filho, S.L., Kubota, L.T., Goulart, M.O., Dutra, R.F. (2015). Electrochemical detection of dengue virus NS1 protein with a poly(allylamine)/carbon nanotube layered immunoelectrode. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 90, 194-200. <https://doi.org/10.1002/jctb.4305>
23. Sun, D., Li, H., Li, M., Li, C., Dai, H., Sun, D., Yang, B. (2018). Electrodeposition synthesis of a NiO/CNT/PEDOT composite for simultaneous detection of dopamine, serotonin, and tryptophan. *Sens. Actuators B: Chem.* 259, 433-442. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.12.037>
24. Wang, Y., Han, M., Ye, X., Wu, K., Wu, T., Li, C. (2017). Voltammetric myoglobin sensor based on a glassy carbon electrode modified with a composite film consisting of carbon nanotubes and a molecularly imprinted polymerized ionic liquid. *Microchim. Acta*, 184, 195-202. <https://doi.org/10.1007/s00604-016-2005-2>
25. Huang, B., Liu, J., Lai, L., Yu, F., Ying, X., Ye, B.C., Li, Y. (2017). A free-standing electrochemical sensor based on graphene foam-carbon nanotube composite coupled with gold nanoparticles and its sensing application for electrochemical determination of dopamine and uric acid. *J. Electroanal. Chem.* 801, 129-134. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2017.07.029>
26. Chen, C., Ran, R., Yang, Z., Lv, R., Shen, W., Kang, F., Huang, Z.H. (2018). An efficient flexible electrochemical glucose sensor based on carbon nanotubes/carbonized silk fabrics decorated with Pt microspheres. *Sens. Actuators B: Chem.* 256, 63-70. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.10.067>
27. Wang, F., Chen, X., Chen, L., Yang, J., Wang, Q. (2019). High-performance non-enzymatic glucose sensor by hierarchical flower-like nickel(II)-based MOF/carbon nanotubes composite. *Mater. Sci. Eng. C* 96, 41-50. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.11.004>
28. Da Silva, W., Ghica, M.E., Ajayi, R.F., Iwuoha, E.I., Brett, C.M.A. (2019). Tyrosinase based amperometric biosensor for determination of tyramine in fermented food and beverages with gold nanoparticle doped poly(8-anilino-1-naphthalene sulphonic acid) modified electrode. *Food Chemistry*, 282, 18-26. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.104>
29. Kumar, A., Park, G.D., Patel, S.K.S., Kondaveeti, S., Otari, S., Anwar, M.Z., Kalia, V.C., Singh, Y., Kim, S.C., Cho, B.K., Shon, J.H., Kim, D.R., Kang, Y.C., Lee, J.K. (2019). SiO₂ microparticles with carbon nanotube-derived mesopores as an efficient support for enzyme immobilization. *Chem. Eng. J.* 359, 1252-1264. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.11.052>

30. Ghreera, A.S., Pandey, C.M., Malhotra, B.D. (2018). Multiwalled carbon nanotube modified microfluidic-based biosensor chip for nucleic acid detection. *Sens. Actuators B: Chem.* 266, 329-336. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.03.118>
31. Li, T., Zhu, F., Guo, W., Gu, H., Zhao, J., Yan, M., Liu, S. (2017). Selective capture and rapid identification of *E. coli* O157:H7 by carbon nanotube multilayer biosensors and microfluidic chip-based LAMP. *RSC Adv.* 7, 30446-30452. <https://doi.org/10.1039/C7RA04583B>
32. Dervisevic, M., Custiuc, E., Çevik, E., Şenel, M. (2015). Construction of novel xanthine biosensor by using polymeric mediator/MWCNT nanocomposite layer for fish freshness detection. *Food Chem.* 181, 277-283. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.104>
33. He, Y., Niu, X., Shi, L., Zhao, H., Li, X., Zhang, W., Pan, J., Zhang, X., Yan, Y., Lan, M. (2017). Photometric determination of free cholesterol via cholesterol oxidase and carbon nanotube supported Prussian blue as a peroxidase mimic. *Microchim. Acta* 184, 2181-2189. <https://doi.org/10.1007/s00604-017-2235-y>
34. Thapa, A., Soares, A.C., Soares, J.C., Awan, I.T., Volpati, D., Melendez, M.E., Fregnani, J.H.T.G., Carvalho, A.L., Oliveira Jr, O.N. (2017). Carbon Nanotube Matrix for Highly Sensitive Biosensors To Detect Pancreatic Cancer Biomarker CA19-9. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 9, 25878-25886. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b07384>
35. Musameh, M.M., Dunn, C.J., Uddin, M.H., Sutherland, T.D., Rapson, T.D. (2018). Silk provides a new avenue for third generation biosensors: Sensitive, selective and stable electrochemical detection of nitric oxide. *Biosens. Bioelectron.* 103, 26-31. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.12.019>
36. Li, F., Peng, J., Wang, J., Tang, H., Tan, L., Xie, Q., Yao, S. (2014). Carbon nanotube-based label-free electrochemical biosensor for sensitive detection of miRNA-24. *Biosens. Bioelectron.* 54, 158-164. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2013.10.061>
37. Chen, M., Hou, C., Huo, D., Yang, M., Fa, H. (2016). An ultrasensitive electrochemical DNA biosensor based on a copper oxide nanowires/single-walled carbon nanotubes nanocomposite. *Appl. Surf. Sci.* 364, 703-709. <https://doi.org/10.1016/j.apusc.2015.12.203>
38. Benvidi, A., Rajabzadeh, N., Mazloum-Ardakani, M., Heidari, M.M. (2015). Comparison of impedimetric detection of DNA hybridization on chemically and electrochemically functionalized multi-wall carbon nanotubes modified electrode. *Sens. Actuators B: Chem.* 207, 673-682. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.10.043>
39. Moyo, M., Okonkwo, J.O., Agyei, N.M. (2014). An amperometric biosensor based on horseradish peroxidase immobilized onto maize tassel-multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode for determination of heavy metal ions in aqueous solution. *Enzym. Microb. Technol.* 56, 28-34. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2013.12.014>
40. Ali, T.A., Mohamed, G.G. (2014). Determination of Mn(II) ion by a modified carbon paste electrode based on multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) in different water samples. *Sens. Actuators B: Chem.* 202, 699-707. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.05.137>
41. Kafi, A., Azmi, N., Yusoff, M.M., Crossley, M.J. (2017). Superoxide Radical Biosensor Based on a 3D Enzyme/Carbon Nanotube Conductive Networks. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 17, 5896-5899. <https://doi.org/10.1166/jnn.2017.13860>
42. Denizli, A. (2006). *Afinite Temelli Biyosensörler: 1. Baskı ve cilt*, ISBN: 978-605-88783-1-0, Hacettepe Üniversitesi, Kimya Bölümü, Ankara.

43. Mori, T., Hegmann, T. (2016). Determining the composition of gold nanoparticles: a compilation of shapes, sizes, and calculations using geometric considerations. *J. Nanopart. Res.* 18, 295. <https://doi.org/10.1007/s11051-016-3587-7>
44. Zsigmondy, R. (1905). *Zur Erkenntnis der Kolloide*. G Fischer, Jena, Germany.
45. Horisberger, M. (1979). Evaluation of colloidal gold as a cytochemical marker for transmission and scanning electron microscopy. *Biol. Cell* 36, 253-258.
46. He, C., Xie, M., Hong, F., Chai, X., Mi, H., Zhou, X., Fan, L., Zhang, Q., Ngai, T., Liu, J. (2016). A Highly Sensitive Glucose Biosensor Based on Gold Nanoparticles/Bovine Serum Albumin/Fe₃O₄ Biocomposite Nanoparticles. *Electrochim. Acta* 222, 1709-1715. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2016.11.162>
47. Xue, K., Zhou, S., Shi, H., Feng, X., Xin, H., Song, W. (2014). A novel amperometric glucose biosensor based on ternary gold nanoparticles/polypyrrole/reduced graphene oxide nanocomposite. *Sens. Actuators B: Chem.* 203, 412-416. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.07.018>
48. Gao, Y., Wu, Y., Di, J. (2017). Colorimetric detection of glucose based on gold nanoparticles coupled with silver nanoparticles. *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.* 173, 207-212. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2016.09.023>
49. Parlak, O., İncel, A., Uzun, L., Turner, A.P., Tiwari, A. (2017). Structuring Au nanoparticles on two-dimensional MoS₂ nanosheets for electrochemical glucose biosensors. *Biosens. Bioelectron.* 89, 545-550. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.03.024>
50. Zhang, M.R., Chen, X.Q., Pan, G.B. (2017). Electrosynthesis of gold nanoparticles/porous GaN electrode for non-enzymatic hydrogen peroxide detection. *Sens. Actuators B: Chem.* 240, 142-147. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.08.124>
51. Boujakhrou, A., Díez, P., Sánchez, A., Martínez-Ruiz, P., Pingarrón, J.M., Villalonga, R. (2016). Gold nanoparticles-decorated silver-bipyridine nanobelts for the construction of mediatorless hydrogen peroxide biosensor. *J. Colloid Interface Sci.* 482, 105-111. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2016.07.074>
52. Esmaeili, C., Heng, L.Y., Chiang, C.P., Rashid, Z.A., Safitri, E., Marugan, R.S.P.M. (2017). A DNA biosensor based on kappa-carrageenan-polypyrrole-gold nanoparticles composite for gender determination of Arowana fish (*Scleropages formosus*). *Sens. Actuators B: Chem.* 242, 616-624. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.11.061>
53. Li, S., Qiu, W., Zhang, X., Ni, J., Gao, F., Wang, Q. (2016). A high-performance DNA biosensor based on the assembly of gold nanoparticles on the terminal of hairpin-structured probe DNA. *Sens. Actuators B: Chem.* 223, 861-867. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.09.121>
54. Hajihosseini, S., Nasirizadeh, N., Hejazi, M.S., Yaghmaei, P. (2016). A sensitive DNA biosensor fabricated from gold nanoparticles and graphene oxide on a glassy carbon electrode. *Mater. Sci. Eng. C* 61, 506-515. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.12.091>
55. Lee, C., Wang, P., Gaston, M.A., Weiss, A.A., Zhang, P. (2017). Plasmonics-Based Detection of Virus Using Sialic Acid Functionalized Gold Nanoparticles. *Biosens. Biodetect.: Methods Protoc.* 109-116. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6848-0_7
56. Jirasirichote, A., Punrat, E., Suea-Ngam, A., Chailapakul, O., Chuanuwatanakul, S. (2017). Voltammetric detection of carbofuran determination using screen-printed carbon electrodes modified with gold nanoparticles and graphene oxide. *Talanta* 175, 331-337. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.07.050>
57. Hashkavayi, A.B., Raouf, J.B., Ojani, R. (2017). Construction of a highly sensitive signal-on aptasensor based on gold nanoparticles/functionalized silica nanoparticles for selective detection of tryptophan. *Anal. Bioanal. Chem.* 409, 6429-6438. <https://doi.org/10.1007/s00216-017-0588-z>

58. Li, C., Li, J., Yang, X., Gao, L., Jing, L., Ma, X. (2017). A label-free electrochemical apta-sensor for sensitive myoglobin detection in meat. *Sens. Actuators B: Chem.* 242, 1239-1245. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.09.087>
59. Li, J., Wang, Y., Sun, Y., Ding, C., Lin, Y., Sun, W., Luo, C. (2017). A novel ionic liquid functionalized graphene oxide supported gold nanoparticle composite film for sensitive electrochemical detection of dopamine. *RSC Adv.* 7, 2315-2322. <https://doi.org/10.1039/C6RA25627A>
60. Parlak, O., İncel, A., Uzun, L., Turner, A.P.F., Tiwari, A. (2017). Structuring Au nanoparticles on two-dimensional MoS₂ nanosheets for electrochemical glucose biosensors. *Biosens. Bioelectron.* 89, 545-550. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.03.024>
61. Baetsen-Young, A.M., Vasher, M., Matta, L.L., Colgan, P., Alocilja, E.C., Day, B. (2018). Direct colorimetric detection of unamplified pathogen DNA by dextrin-capped gold nanoparticles. *Biosens. Bioelectron.* 101, 29-36. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.10.011>
62. Han, Y., Qiu, Z., Nawale, G.N., Varghese, O.P., Hilborn, J., Tian, B., Leifer, K. (2019). MicroRNA detection based on duplex-specific nuclease-assisted target recycling and gold nanoparticle/graphene oxide nanocomposite-mediated electrocatalytic amplification. *Biosens. Bioelectron.* 127, 188-193. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.12.027>
63. Halkare, P., Punjabi, N., Wangchuk, J., Nair, A., Kondabagil, K., Mukherji, S. (2019). Bacteria functionalized gold nanoparticle matrix based fiber-optic sensor for monitoring heavy metal pollution in water. *Sens. Actuators B: Chem.* 281, 643-651. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.10.119>
64. Karaboğa, M.N.S., Sezgintürk, M.K. (2019). Cerebrospinal fluid levels of alpha-synuclein measured using a poly-glutamic acid-modified gold nanoparticle-doped disposable neuro-biosensor system. *Analyst* 144, 611-621. <https://doi.org/10.1039/C8AN01279B>
65. Asnaashari, M., Esmaeilzadeh Kenari, R., Farahmandfar, R., Taghdisi, S.M., Abnous, K. (2018). Fluorescence quenching biosensor for acrylamide detection in food products based on double-stranded DNA and gold nanoparticles. *Sens. Actuators B: Chem.* 265, 339-345. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.03.083>
66. Zhu, Q., Bao, J., Huo, D., Yang, M., Hou, C., Guo, J., Chen, M., Fa, H., Luo, X., Ma, Y. (2017). 3D Graphene hydrogel-gold nanoparticles nanocomposite modified glassy carbon electrode for the simultaneous determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid. *Sens. Actuators B: Chem.* 238, 1316-1323. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.09.116>
67. Dervisevic, M., Dervisevic, E., Çevik, E., Şenel, M. (2017). Novel electrochemical xanthine biosensor based on chitosan-polypyrrole-gold nanoparticles hybrid bio-nanocomposite platform. *J. Food Drug. Anal.* 25, 510-519. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.12.005>
68. Huang, Y., Cui, L., Xue, Y., Zhang, S., Zhu, N., Liang, J., Li, G. (2017). Ultrasensitive cholesterol biosensor based on enzymatic silver deposition on gold nanoparticles modified screen-printed carbon electrode. *Mater. Sci. Eng. C* 77, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.253>
69. Hashemi, P., Bagheri, H., Afkhami, A., Ardakani, Y.H., Madrakian, T. (2017). Fabrication of a novel aptasensor based on three-dimensional reduced graphene oxide/polyaniline/gold nanoparticle composite as a novel platform for high sensitive and specific cocaine detection. *Anal. Chim. Acta* 996, 10-19. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.10.035>

70. Taghdisi, S.M., Danesh, N.M., Lavaee, P., Ramezani, M., Abnous, K. (2015). An aptasensor for selective, sensitive and fast detection of lead(II) based on polyethyleneimine and gold nanoparticles. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 39, 1206-1211. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2015.04.013>
71. Wang, N., Lin, M., Dai, H., Ma, H. (2016). Functionalized gold nanoparticles/reduced graphene oxide nanocomposites for ultrasensitive electrochemical sensing of mercury ions based on thymine-mercury-thymine structure. *Biosens. Bioelectron.* 79, 320-326. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.12.056>
72. Peng, Y., Li, L., Yi, X., Guo, L. (2014). Label-free picomolar detection of Pb²⁺ using atypical icosahedra gold nanoparticles and rolling circle amplification. *Biosens. Bioelectron.* 59, 314-320. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.03.025>
73. Sener, G., Uzun, L., Denizli, A. (2014). Lysine-Promoted Colorimetric Response of Gold Nanoparticles: A Simple Assay for Ultrasensitive Mercury (II) Detection. *Ana. Chem.* 86, 514-520. <https://doi.org/10.1021/ac403447a>
74. Ruiyi, L., Qianfang, X., Zaijun, L., Xiulan, S., Junkang, L. (2013). Electrochemical immunosensor for ultrasensitive detection of microcystin-LR based on graphene-gold nanocomposite/functional conducting polymer/gold nanoparticle/ionic liquid composite film with electrodeposition. *Biosens. Bioelectron.* 44, 235-240. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2013.01.007>
75. Abdel-Azzem Hassan, A.R.H., Escosura-Muñiz, A., Merkoçi, A. (2015). Highly sensitive and rapid determination of *Escherichia coli* O157:H7 in minced beef and water using electrocatalytic gold nanoparticle tags. *Biosens. Bioelectron.* 67, 511-515. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.09.019>
76. Chamorro-Garcia, A., Escosura-Muñiz, A., Espinoza-Castañeda, M., Rodriguez Hernandez, C.J., Torres, C., Merkoçi, A. (2016). Detection of parathyroid hormone-like hormone in cancer cell cultures by gold nanoparticle-based lateral flow immunoassays. *Nanomed-Nanotechnol.* 12, 53-61. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.09.012>

Mekansal Otokorelasyon İndislerinin Önemi

Güzide Miray PERİHANOĞLU¹
Okan YELER²

CHAPTER 7

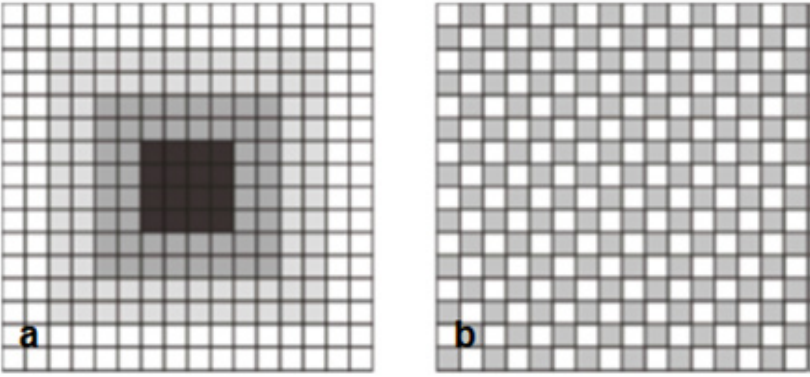
¹ Van Güvenlik Meslek Yüksekokulu, Mülkiyet Koruma ve Güvenlik Bölümü, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi

² Muradiye Meslek Yüksekokulu, Park ve Bahçe Bitkileri Bölümü, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi

GİRİŞ

Klasik istatistik, gözlemlerin bağımsız olarak seçildiğini ve mekansal olarak birbiriyle bağımsız olduğunu varsaymaktadır. Mekansal istatistik ise temeli Tobler (1970) tarafından atılmış olup, Tobler'e göre; her şeyin birbiriyle ilişkili olsa da yakın mesafedekilerin uzak mesafedekilerden daha fazla ilişkili olma eğilimindedir. Bu gözlem, coğrafi verilerin analizi için esas olup, otokorelasyon kavramını ön plana çıkarır (Salima, Bellefon 2018). Otokorelasyon kavramı; bir regresyon analizinde hata terimlerinin arasında ilişki olması olarak tanımlanır (Yavuz, 2009). Mekansal otokorelasyon ise mekansal verilerin mesafelere bağlı olarak artıp azalması olarak açıklanabilir. Mekansal otokorelasyon pozitif ve negatif otokorelasyon olarak ikiye ayrılır. Şekil 1'de pozitif ve negatif otokorelasyon örnekleri gösterilmiştir.

Pozitif otokorelasyon; incelenen değişkenin coğrafi dağılımı için, yakın objelerin benzer özellik gösterirken, negatif otokorelasyon; yakın objelerin benzer özellik göstermemesidir (Griffith, 2009).



Şekil 1. a) pozitif otokorelasyon b) negatif otokorelasyon. (G. Cao, Texas Tech University)

Mekansal otokorelasyon indisleri, uzayda farklı yerlerde aynı değişkenin değerleri arasındaki mekansal bağımlılığı değerlendirmeyi ve tanımlanan mekansal yapının önemini test etmeyi mümkün kılar. Bunu göstermek için, endeksler iki kriteri dikkate alır (Salima ve Bellefon, 2018):

- Mekansal yakınlık;
- "Değişkenin değerlerinin benzerliği veya farklılığı.

Mekansal otokorelasyonu değerlendirmek için, ilk önce iki gözlemin birbirine yakın olmasının ne anlama geldiğini tanımlaması gerekir, yani bir uzaklık ölçüsü belirlenmelidir. Bu mesafeler, ölçümlerin yapıldığı yerler arasındaki ilişkileri tanımlayan ağırlık matrisinde sunulur. Mekansal ağırlık matrisi W şeklinde gösterilip n konumları için $n \times n$ pozitif simetrik matristir. W_{ij} veya her bir konum çifti için ağırlık değerleri, konumlar arasındaki mekansal ilişkileri tanımlayan ve dolayısıyla mekansal otokorelasyon istatistiklerini belirleyen bazı önceden belirlenmiş kurallarla belirlenir. Bu kurallar komşuluk ilişkisine dayanmış olup bunlar içerisinde en sık kullanılanlar Kale ve Kraliçe ilişkileridir. Geleneksel olarak, köşegen elemanlar için $w_{ii} = 0$ 'dır (Rodrigues vd. 2016, Zhou ve Lin, 2008). Mekansal ağırlık matrisi aşağıdaki gibi gösterilir.

$$W = \begin{pmatrix} w_{11} & w_{12} & \dots & w_{1n} \\ w_{21} & w_{22} & \dots & w_{2n} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ w_{n1} & w_{n2} & \dots & w_{nn} \end{pmatrix}$$

Mekansal otokorelasyon testleri ve ölçümleri analizin içeriği veya ölçeği ile ayırt edilebilir. Genel olarak, küresel ve yerel olarak bir ayrım yapılır. Global ölçekte, W ağırlık matrisindeki tüm öğelerin mekansal otokorelasyon değerlendirmesine katıldığı anlamına gelir. Diğer bir deyişle, alanların bütün mekansal ilişkileri, mekansal otokorelasyonun hesaplanmasına dahil edilmiştir. Buna karşılık, yerel ölçekte bir veya birkaç alan birimi ile ilişkili mekansal otokorelasyonu değerlendirilir (Fischer ve Wang, 2011). Mekansal otokorelasyonu değerlendirmek için bazı indisler kullanılabilir. En yaygın teknikler Moran's I, Geary C'si ve Getis ord G'dir. Bu teknikler aşağıdaki bölümlerde açıklanmıştır.

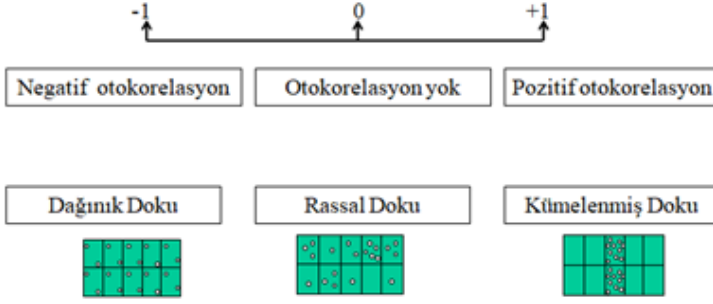
MORAN'S I

Morans' I indisi, 1950'de Patrick Alfred Pierce Moran tarafından, mekansal otokorelasyonu hesaplamak için istatistiksel bir araç olarak geliştirilmiştir. Bu indis mekansal analizlerde gözlemlerdeki anormallikleri bulmak için yaygın olarak kullanılmıştır. Gözlemlerin farklılık derecesi, benzerliklerine ve komşu gözlemlere olan yakınlıklarına bağlıdır. Bu durum yani veri gözlem komşuluk kavramını, diğer kümeleme tekniklerine göre güçlü bir araç haline getirir. Moran's I, bir komşunun gözleminin ne kadarını dikkate alacağını hesaplamak için mekansal ağırlık matrisini w_{ij} kullanır (Wong, 2017). Moran I indisi (Moran, 1948) aynı veri bağlamında Geary'ye bir alternatif sunar ve çoğu uygulamada her ikisi de yaygın olarak kullanılmaktadır. Morans'I indisinin formülünün global ve lokal olarak genel şekli aşağıda gösterildiği gibidir (Mitchell, 2005).

$$I = \frac{N \sum_i \sum_j w_{ij} (x_i - \bar{x})(x_j - \bar{x})}{\left(\sum_i \sum_j w_{ij} \right) \sum_i (x_i - \bar{x})^2}$$

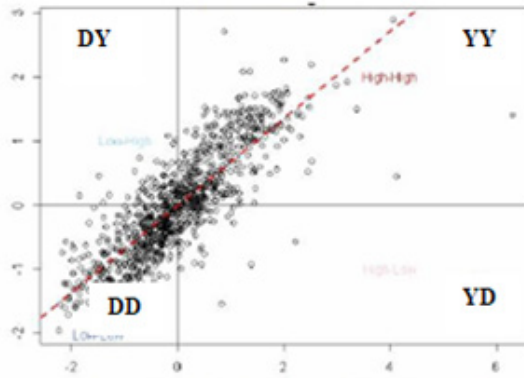
Bu eşitliğe göre; N piksel sayısının toplamını, W_{ij} ağırlık matrisini, x değişkenini ve i ve j konumlarındaki değerlerini, ise \bar{x} ortalama değerini ifade eder. Hesaplanan I değeri $[-1, 1]$ arasında değer alır. Değerin $+1$ 'e doğru yakınsadığında pozitif otokorelasyon, -1 'e doğru yakınsadığında negatif otokorelasyon, eğer ki I değeri sıfıra eşit ise orada kümelenme veya yayılma olmadığı anlaşılır (Şekil 2). Global Moran's I tüm değişkenlerin mekansal analizinde kümelenme ve yayılma olup olmadığını analiz ederken, yerel Moran's I ise piksellerin kümelenmesini analiz eder. Yerel moran's I indisinin formülü aşağıda gösterilmiştir (Zhang, Luo vd. 2008). Bu eşitlikteki S standart sapmayı ifade etmektedir.

$$I = \frac{(x_i - \bar{x})}{S} \sum_{j=1}^n w_{ij} (x_j - \bar{x})$$



Şekil 2. Moran's I İndisine Genel Bakış

Moran saçılma grafiğinde (scatterplot) Moran's I değeri regresyon çizgisinin eğimine karşılık gelir. Moran saçılma grafiği gözlemlenen bir değer'in komşu gözlemleriyle ne kadar benzer olduğunu değerlendirmemize olanak tanıyan yararlı bir görsel araçtır (Anselin, 1996). Diğer bir deyişle bu grafik gözlemler ile onların komşuları arasındaki mekansal ilişkiyi gösterir. Grafik YY (yüksek-yüksek), DD (düşük-düşük), DY (düşük-yüksek), YD (yüksek-düşük) olarak dört çeyreğe ayrılır (Şekil 3). Sağ üst (yüksek-yüksek) ve alt sol (düşük-düşük) çeyreğindeki noktalar, sırasıyla örnek ortalamasından daha yüksek ve daha düşük olan değerlerin pozitif mekansal ilişkilerini gösterir; yani, gözlemler ile komşuları arasında benzerlik olduğunu pozitif otokorelasyon olduğunu gösterir. Sağ alt (yüksek-düşük) ve üst sol (düşük-yüksek) çeyreğindeki noktalar arasında negatif otokorelasyon gözlemlenir (Goodchild 1986, Mathur 2015).



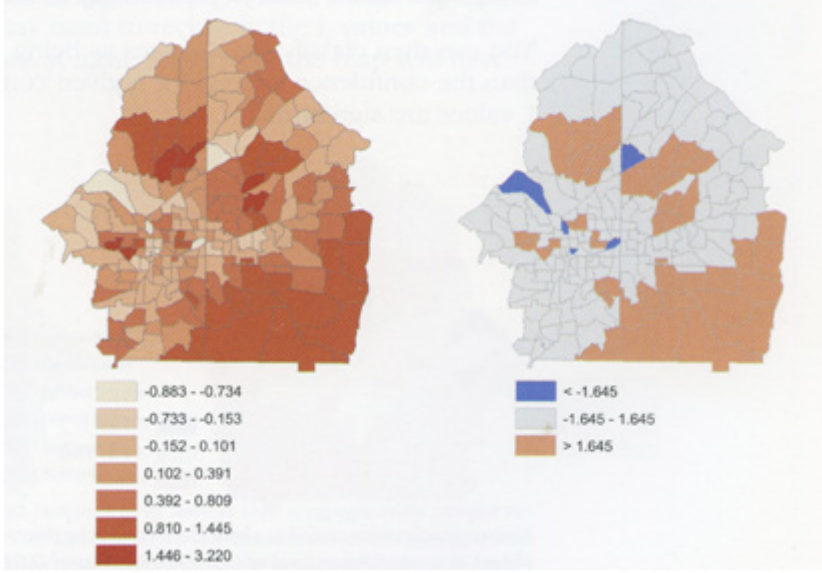
Şekil 3. Moran Saçılım Grafiğine bir örnek,

Kaynak; INSEE, Localised Tax Revenues System (RFL) 2010

Moran's I indis değerinin hesaplanmasının ardından gözlemlenen ve beklenen değerler ve buna bağlı olarak p değeri ve Z puanı hesaplanır. Hem Geary C hem de Moran's I, herhangi bir mekansal dokunun sadece şansa bağlı olmadığından ne kadar emin olabileceğimizi belirtmek için bir Z puanı hesaplanır. Z puanı; gözlemlenen değerden beklenen değer çıkarılıp bunun standart sapmaya bölünmesiyle elde edilir.

$$Z = \frac{I_0 - I_E}{S_I}$$

Beklenen değerin sıfır olması yani sıfır hipotezini kabul eder. Sıfır hipotezi her zaman mekansal bir ilişkinin olmadığı ve değişkenlerin değerlerinin test istatistiğini hesaplamak için mekansal birimlere rastgele atıldığı rassal bir dağılım olduğu şeklinde ifade edilir. Eğer sıfır hipotezi reddedilirse, yani mekansal otokorelasyon bulunursa, mekansal otokorelasyon indisini düzenleyen değer aralığını hesaplayabilir ve böylece mekansal otokorelasyonun gücü ile ilgili bilgiler elde edebiliriz. Eğer z istatistik puanı 1.96'dan büyük veya küçük ($z > 1.96$ veya $z < -1.96$) ise sıfır hipotezi reddedilir. Moran's I değeri istatistiksel açıdan anlamlı olacaktır bu durum, mekansal otokorelasyonun varlığını gösterir (Levine 2002, Mitchell, 2005). Aşağıda şekil 4'te Moran's I indisi için I değeri ve Z puanına örnek bir çalışma gösterilmiştir.



Şekil 4. Moran's I değerine ve z puanına göre kümelenme ve dağılımın gösterimi.

Kaynak; Jennie Murack, MIT Libraries, 2015

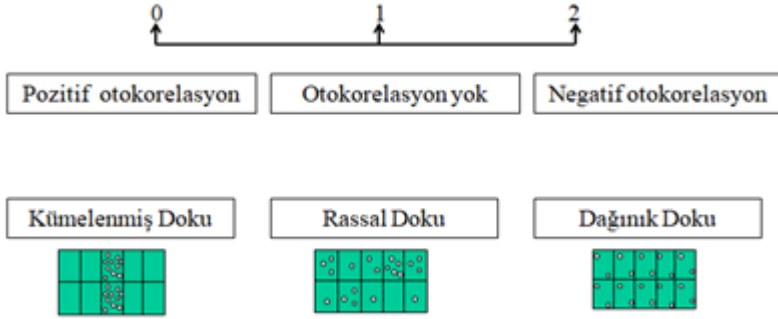
GEARY C

Mekansal analiz literatüründe Geary (1954) tarafından mekansal otokorelasyonun global bir ölçüsü tanımlandı:

$$C = \frac{N \sum_i \sum_j w_{ij} (x_i - x_j)^2}{2 (\sum_i \sum_j w_{ij}) \sum_i (x_i - \bar{x})^2}$$

Bu eşitlikte x_i ve x_j konumundaki ilgili değişkene ait değeri, \bar{x} ortalama değeri, N ; toplam gözlem sayısını, w_{ij} ; gözlemler arasındaki bağımlılığın sayısal halini gösteren bilinen mekansal ağırlık matrisini ifade eder. Geary C istatistiği Moran's I ile benzer olmasına rağmen yorumlaması farklıdır (Geary, 1954). Geary C istatistiğinde hesaplanan C değeri $[0, 2]$ aralığında değer alır.

"C" nin teorik değeri 1; yani, herhangi bir bölgenin değerleri mekansal olarak başka bir bölge ile ilişkisiz ise, o zaman "C" nin beklenen değeri 1 olacaktır. Bu durum burada mekansal otokorelasyonun olmadığını gösterir rassal bir dağılım vardır. C değeri 1'den küçük değerler (yani, 0 ile 1 arasında) alırsa pozitif mekansal otokorelasyonu gösterirken, 1'den daha büyük değerler (yani 1 ile 2 arasında) alırsa negatif mekansal korelasyonu gösterir (Anselin 2017, Levine 2013). Şekil 5'te görsel olarak kısa özeti gösterilmiştir.

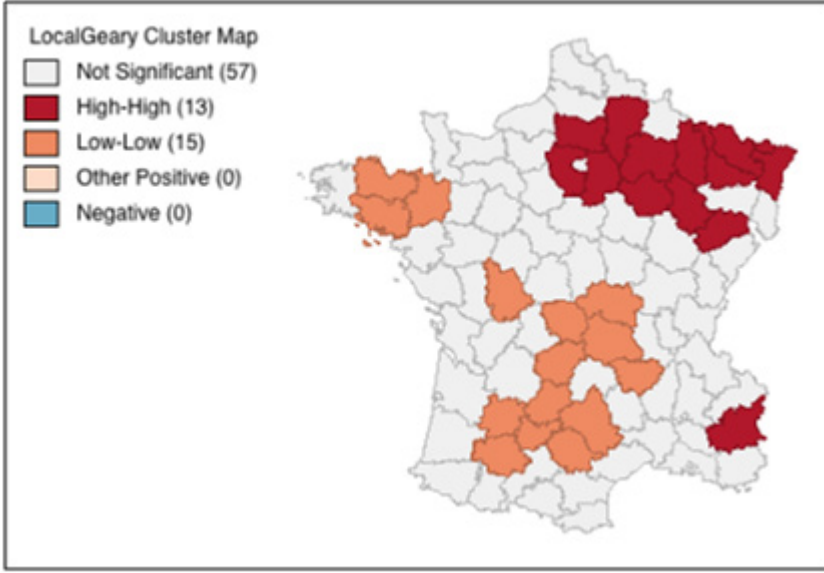


Şekil 5. Geary C indisine Genel Bakış

Bu nedenle, bu indis Moran's I ile ters orantılıdır. Aynı çıkarımı sağlamaz, çünkü Moran's I değişkenin varyansı ile konuma bağlı kovaryansın standartlaştırılması ile üretilirken; Geary C kovaryansın ölçümüne bağlı olarak değişken çiftleri arasındaki karesel farklılıklarının alınıp toplamıyla elde edilir. Moran indis değeri daha küresel bir gösterge verirken, Geary indis değeri yakın komşuluktaki farklılıklara karşı daha hassastır. Geary C indisinin önemini test etmek için Moran's I indisindeki gibi bir Z puanı hesaplanır. Bu Z puanı; gözlemlenen değerden beklenen değer çıkarılıp bunun standart sapmaya bölünmesiyle elde edilir.

$$Z = \frac{C_0 - C_E}{S_C}$$

Bir konumda gözlenen değer ile yakınındaki bölgelerde gözlenen değerler arasında ilişki olmadığını sıfır hipotezi ile ifade edilir. Yakınındaki bölgelerde ya benzer (C değeri 0'a yakın) veya farklı değerler (C değeri 1'den büyük) alternatif hipotez ile ifade edilip sıfır hipotezi reddedilir. Mekansal otokorelasyonun sıfır hipotezi altında, Geary C'nin beklenen değeri 1'dir. Geary C değeri'nin birden küçük veya Z puanının sıfırdan küçük olması ($C < 1$ veya $Z < 0$) durumu pozitif mekansal otokorelasyonu belirtirken, Geary C değeri'nin birden büyük veya Z puanının sıfırdan büyük olması ($C > 1$ veya $Z > 0$) durumu negatif otokorelasyon olduğunu gösterir (Anselin 2017, Mitchell, 2005).



Şekil 6. Geary C değerine göre kümelenme ve rassal dağılımın gösterimi.

Kaynak; Anselin (2017) A Local Indicator of Multivariate Spatial Association: Extending Geary's c

GETIS ORD G

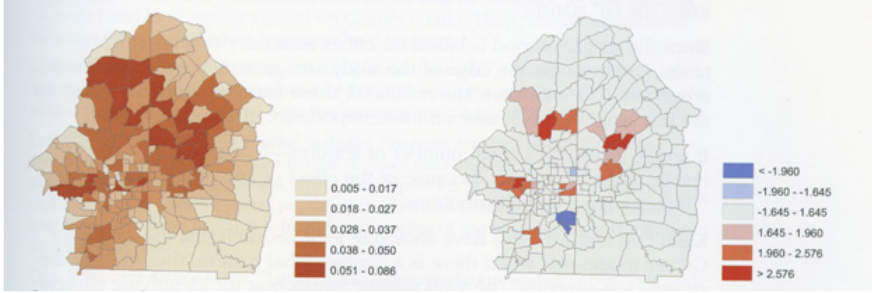
Mekânsal otokorelasyon indislerinden diğer bir tinds ise Getis-Ord G indisidir. mekansal otokorelasyon için üçüncü bir istatistik sınıfı Getis ve Ord (1992) tarafından önerilmiş ve daha sonra Ord ve Getis (1995) tarafından detaylandırılmıştır. Bir nokta dokusu analizi mantığından türetilmiştir (Ord ve Getis, 1995; Getis ve Ord, 1992). Getis ord G indisi de Moran's I ve Geary C indisinde olduğu gibi kümelenme olup olmadığını incelerken, bu iki indisden farkı ise komşuluk ilişkisine bağlı olarak istatistiksel açıdan sıcak ve soğuk nokta analizini gerçekleştirir. Getis Ord G indisinde sadece komşu olan noktaların değerleri değil, komşuluk ilişkisine ait değerlerde hesaba katılır. Ayrıca Getis Ord G indisi diğer iki indisden farklı olarak, yalnızca bölgelerin komşularına benzer değerlere sahip olduğu pozitif mekansal otokorelasyonu tanımlar. Komşularına göre farklı değerlere sahip olduğu negatif uzamsal otokorelasyonu tespit edemez (Levine 2013). Getis ord G indisinin matematiksel ifadesi aşağıdaki gibidir.

$$G_i(d) = \frac{\sum_j w_{ij} x_j}{\sum_j x_j}$$

G_i eşitliğinde w_{ij} mekansal ağırlık matrisini, x_i ve x_j konumundaki ilgili değişkene ait değerini, d ise mekansal ağırlık matrisi koşulunun sınır komşuluğunun olup olmadığını gösterir. Eğer komşuluk var ise 1, yok ise 0 atanır. Hesaplanan G değeri beklenen değerden büyük olması halinde yüksek değerler birlikte kümelendiğini yani sıcak noktaları, eğer ki G değeri beklenen değerden küçük olması halinde düşük değerler birlikte kümelendiğini yani soğuk noktaları belirtir. Getis ord G indisinin önemini test etmek için Z puanı hesaplanır. Bu Z puanı gözlemlenen değerden beklenen değer çıkarılıp bunun standart sapmaya bölünmesiyle elde edilir. Z puanı ve G 'nin beklenen değeri aşağıdaki eşitlik ile bulunur.

$$Z = \frac{G - E(G)}{S_G} \quad E(G) = \frac{W}{n(n-1)}$$

Burada Z puanına bakılarak sıcak veya soğuk noktaların durumu anlaşılabilir. Beklenen G değerine göre, pozitif bir Z değeri, yüksek değerlerin mekansal kümelenmesini yani sıcak noktalar varlığını belirtirken, negatif bir Z değeri düşük değerlerin mekansal kümelenmesini yani soğuk noktaların varlığını gösterir (Levine 2013, Mitchell 2005). Aşağıda şekil 7'de Getis Ord G indisi için G değeri ve Z puanına örnek bir çalışma gösterilmiştir.



Şekil 7. G değerine ve z puanına göre sıcak ve soğuk noktaların gösterimi.

Kaynak; Jennie Murack, MIT Libraries, 2015

SONUÇ

Mekansal otokorelasyon indisleri, önemli bir mekansal durumun varlığını ortaya çıkarmayı mümkün kılan etkin istatistiksel araçlar arasında yer almaktadır. Bu indisler ile mekansal durum küresel veya yerel düzeyde, nicel veya nitel değişkenler için hesaba katmanın farklı yöntemleri sunulur. Otokorelasyonun önemsiz olup olmadığını bilmek, aynı zamanda mekansal bağımlılık ölçeğini belirlemek için otokorelasyonun ne kadar önemli olduğunu ölçmek kadar önemlidir. Mekansal otokorelasyon uygun bir modelde herhangi bir mekansal etkileşim belirtisini göz önünde bulundurmadan önce yapılan önemli bir adım olarak ortaya konulmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, mekansal dokunun belirli önemli yönlerini ölçmek için mekansal otokorelasyon indislerinin özellikle de Moran's I, Geary C ve Getis Ord G gibi istatistiklerinin kullanılması üzerine olmuştur. Bu çalışmada; Moran's I ve Geary C gibi indislerle mekansal otokorelasyon olup olmadığını nasıl test edildiğini ve eğer otokorelasyon var ise kümelenme veya dağılımının nerede olduğunu anlamak için kullanıldığı gösterilmiştir. Ayrıca Getis Ord G indisi; yüksek ve düşük değerlerin kümelenmesini anlamlandırmak için sıcak yani sorunlu bölge ve soğuk yani sorunsuz bölge analizi gösterilmiştir. Ülkemizde mekansal otokorelasyon indislerinin temeli ile ilgili az sayıda çalışma olmasından dolayı bu çalışmanın yapılacak diğer bilimsel çalışmalara altlık oluşturabilmesi ve katkı sunması amaçlanmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Anselin, L. (1996). The Moran Scatterplot as an ESDA Tool to Assess Local Instability in Spatial Association. Fisher M., Scholten H.J., Unwin D. (Eds.), Spatial analytical perspectives on GIS in environmental and socio-economic sciences. (pp. 111-125). London: Taylor and Francis

2. Anselin, L. (2017). A Local Indicator of Multivariate Spatial Association: Extending Geary's c. *Geographical Analysis* (in Press). Center for Spatial Data Science University of Chicago.
3. Fischer, M., Wang, J. (2011). *Spatial Data Analysis Models, Methods and Techniques*. Springer
4. Geary, R. (1954). The contiguity ratio and statistical mapping. *The Incorporated Statistician*, pp.115-145).
5. Getis, A., J. K. Ord., (1992). The Analysis of Spatial Association by Use of Distance Statistics. *Geographic Analysis*, Vol. 24, No. 3, pp. 189-206.
6. Goodchild, M. F., (1986). *Spatial Autocorrelation*. *Catmog 47*, Geo Books
7. Griffith, D. A. (2009). *Spatial Autocorrelation and Spatial Filtering*. Berlin: Springer
8. Levine, N., (2013). *Spatial Autocorrelation Statistics*. Ned Levine & Associates, Houston, TX.
9. Mathur, M. (2015). Spatial autocorrelation analysis in plant population: An overview. *Journal of Applied and Natural Science* 7 (1) (pp.501 - 513)
10. Mitchell, A., (2005). *The ESRI Guide to GIS Analysis, Volume 2: Spatial Measurements*. California: ESRI press.
11. Ord, J. K., Getis A., (1995). Getis. Local Spatial Autocorrelation Statistics: Distributional Issues and an Application. *Geographic Analysis*, Vol. 27, No. 4, pp. 286-306.
12. Rodrigues, A.M., Tenedorio, J.A. (2016). The Use of Spatial Weights Matrices and the Effect of Geometry and Geographical Scale.
13. Salima, B., Bellefon, M. (2018). Spatial autocorrelation indices. *Handbook of Spatial Analysis*. (pp. 52-68).
14. Wong, R. (2017). Moran's I Spatial Auto-Correlation And Anomaly Detection Utilizing PCA And High Dimensional Feature Vectors. The University of Utah, Master Thesis.
15. Yavuz, S. (2009). Hataları Ardışık Bağımlı (otokorelasyonlu) Olan Regresyon Modellerinin Tahmin Edilmesi. *Atatürk Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Dergisi*, Cilt: 23, Sayı: 3,
16. Zhang, C. S., Luo, L., Xu, W. L., Ledwith, V. (2008). Use of Local Moran's I and GIS to identify pollution hotspots of Pb in urban soils of Galway, Ireland. *The Science of the Total Environment*, 398 (1-3), (pp.212-221)
17. Zhou, X., Lin, H. (2008). Autocorrelation, Spatial. *GeoInformatica An International Journal*, (pp.32-37)

Elektromanyetik Alanın Biyolojik Etkileri

Dilek SAĞIR¹

Zeynep Hatice OKUR²

CHAPTER

8

¹ Dr. Öğretim Üyesi, Sinop Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu

² Yüksek Lisans Öğrencisi, Sinop Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu

GİRİŞ

Teknolojik gelişmelere paralel olarak, teknolojik cihazlar günlük yaşamda daha da önem kazanmaktadır. Bugün ev ve iş yerlerinde kullanılan elektrikli cihazların yanı sıra radar, haberleşme teçhizatı, cep telefonu baz istasyonları, yüksek gerilim hatları, radyo ve televizyon vericileri ile trafo merkezlerinden çevreye geniş bir yelpazede elektromanyetik dalga yayılmaktadır (Feychting ve Ahlbom, 1993). Cep telefonları (1800 MHz – 2200 MHz), dizüstü bilgisayarlar (1000 MHz – 3600 MHz) ve günümüzde kullanılan kablosuz ağlar, yüksek frekanslı (2.45 GHz) mikrodalga radyasyonu ile çalışmaktadır (Nishiyama ve Kato, 2014). Teknolojideki bu gelişmeler hayatı kolaylaştırmasına rağmen düşük seviyelerde bile EMF'lere maruz kalmanın insan sağlığı üzerinde zararlı sonuçlara yol açabileceği endişesi giderek artmaktadır (Sienkiewicz, 1998). Yapılan pek çok çalışma ile çok düşük derecede EMF'ye maruz kalmanın bile sağlık sorunlarına neden olabileceği bildirilmiştir. Bu çalışmalarda EMF'ye maruziyetin stres, baş ağrısı, yorgunluk, anksiyete, öğrenme potansiyelinin azalması, bilişsel işlevlerde bozulma ve konsantrasyon zayıflığı gibi sorunlara neden olduğu bildirmiştir (Megha ve ark., 2012; Soderqvist ve ark., 2009; Behari, 2010). EMF'ler bu etkilerini insan vücudundaki metabolik süreçleri etkileyerek ve çeşitli mekanizmalar yoluyla hücreler üzerinde çeşitli biyolojik etkiler göstererek yapmaktadır (Gherardini ve ark., 2013).

EMF'lere maruz kalma biyolojik dokulara zarar vererek termal veya termal olmayan değişikliklere neden olabilir (Challis, 2015). Termal etkiler, vücudun elektromanyetik enerjisi tarafından ısının dönüşümü ve absorpsiyonu ile ortaya çıkabilir. Artan vücut ısısı kan dolaşımı tarafından stabilize edilir ve hafifletilir. Termal olmayan etkiler ise dokuların yapısını bozmak için vücut sıcaklığını yeterince yükseltmese de, dokulardaki serbest radikal üretiminde artışa neden olarak kendini gösterebilir (Challis, 2015; Kıvrak ve ark. 2017).

Elektriksel alan veya manyetik alanların, organizmalar üzerindeki etkilerini değerlendirmek zordur. Bunun ana nedeni ise biyolojik sistemlerin karmaşık yapısıdır. Biyolojik yapıların çoğu homojen olmadığından elektriksel veya manyetik alanlara maruz kaldıklarında önemli hücresel değişiklikler gösterir. Bu durum, elektrik ve manyetik alanlar altında moleküllerin, iyonların ve zarların cevaplarının incelenmesiyle açıklanabilir. (Goodman ve ark., 1995; Simko, 2004; Funk ve ark., 2009; Yalçın ve Erdem, 2012)

1. EMF'NİN HÜCRESEL MEMBRANLAR ÜZERİNE ETKİLERİ

Birinci derecede EMF'den etkilenen hücresel yapılar membranlardır. Membranlar, farklı parçalardan oluşan homojen olmayan yapılara sahiptirler ve elektrik alanlarından farklı şekilde etkilenebilirler. Ayrıca, membranlar, elektriksel veya kimyasal olarak uyarlıldıklarında, hücrenin gereksinimlerine göre içlerindeki iyonik kanalları değiştirebilen aktif biyokimyasal reaksiyonlar oluştururlar. Bu nedenle elektrik alanları çeşitli moleküller ve iyonlar için membranların yarı geçirgen özelliğini etkiler. Ayrıca membranın lipit ve protein konfigürasyonunu ve membran ile etkileşime giren moleküllerin etkileşim seviyelerini de değiştirirler. Aktif iyon ve molekül kanallarındaki aktivitelerinin bir sonucu olarak, hücrelerin, dokuların ve organların normal işleyişinde farklılıklar görülebilir. Kalsiyum, özellikle hücresel iletişim sisteminin önemli bir unsuru olduğundan, bu durumun bir hücrede neden olabileceği sonuçları öngörmek karmaşık değildir (Adey, 1993). EMF'nin hücresel membran yapısı üzerindeki etkileri ve transport sistemlerinin membran üzerindeki etkilerini inceleyen bazı çalışmalarda, EMF etkisinin bir sonucu olarak Physarum polycephalum'un hücresel membran yapısındaki değişiklikler kaydedilmiş ve Na, K-ATPase aktivitesinin elektrik ve manyetik alanlardan farklı şekillerde etkilendiği bulunmuştur (Goodman ve ark., 1986; Yalçın ve Erdem, 2012). Chionna ve ark. (2003) statik bir manyetik alan (MF'ler) nedeniyle insan lenfositlerinde ve U937 hücrelerinde de-

ğişiklikler olduğunu bildirmişlerdir. Hücrelerin morfolojik yapılarını transmisyon (TEM) ve taramalı (SEM) elektron mikroskobu ile incelemişler ve statik manyetik alanın hücre şeklini ve plazma membranını değiştirdiğini ve her iki hücre tipinde de antiapoptotik bir rol oynayan hücre içi Ca^{++} seviyesini arttırdığını bulmuşlardır.

2. EMF'NİN GEN VE PROTEİN EKSPRESYONU ÜZERİNE ETKİLERİ

EMF'nin küresel gen ve protein ekspresyonu üzerindeki etkileri farklı biyolojik sistemlerde araştırılmış ve çalışmaların çoğu, nispeten düşük maruz kalma yoğunluğunda (2.0 W/Kg civarında ortalama SAR) cep telefonu kullanım sıklığına (800-2000 MHz) odaklanmıştır. Bazı çalışmalar EMF maruziyetinin gen ekspresyonunu negatif etkilediğini bildirmiştir.

Mevcut literatüre dayanarak, EMF'ye maruz kalmanın, düşük yoğunluklarda bile, belirli hücrelerde gen ve/veya protein ekspresyonunu değiştirebileceği sonucuna varmak mümkündür. Bununla birlikte, proteomik ve transkriptomiklerle yapılan çalışmalarda değişen genlerin/proteinlerin çoğunun biyolojik sonuçları hala net değildir ve daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Dolayısıyla, EMF'nin gen ve protein ekspresyonu verilerine dayanarak sağlığa etkisini değerlendirmek için zamana ihtiyaç vardır.

Halen, proteomik ve transkriptominin durumu başlangıç aşamasındadır. Bu konu ile ilgili yapılmış sadece birkaç düzine çalışmanın sonuçları rapor edilmiştir. Bu çalışmaların bazıları olumlu, bazıları ise olumsuzdur. EMF araştırma topluluğu, olumlu raporlar ile olumsuz raporları eşit şekilde dikkat etmelidir. Yalnızca olumlu bulguların değil, olumsuz sonuçların da eleştirel bir şekilde değerlendirilmesi ve çoğaltılması gerekmektedir (Hardell ve Sage, 2008). EMF'nin transkripsiyon üzerindeki etkileriyle birlikte, translasyon fazındaki etkisi de sorgulanmış bir konudur. Gerçekleştirilen çalışmalarda, bulgular EMF'nin genellikle protein sentezini artırdığını göstermiştir. Örneğin, *Escherichia coli* RNA polimeraz enziminin translasyon seviyesi, 5 ila 60 dakika arasında 72 Hz ve 0.07 ila 1.1mT EMF mukavemeti arasında ölçülmüş ve düşük EMF yoğunluğunda (0.07 mT) translasyon oranının arttığı gözlenmiştir (Goodman ve ark., 1993; Yalçın ve Erdem, 2012)

3. EMF'NİN ENZİMATİK AKTİVİTE ÜZERİNE ETKİLERİ

Bir elektromanyetik alana doğrudan tepki veren bazı enzimler vardır. Bu enzimlerden biri ornitin dekarboksilazdır (ODC). Çalışmaların çoğunda, manyetik alan veya EMF'ye maruz kalan hücrelerde ODC enziminin aktivitesinde bir artış gözlemlenmiştir. Bu enzimin özellikle hızlı büyüyen hücrelerde aktif olduğu ve tümör büyümesini indüklediği düşünüldüğünde, EMF ve kanser riski arasındaki olası etkileşim için bir bağlantının mevcut olduğu düşünülebilir (Byus ve ark., 1987; Litovitz ve ark., 1991). EMF ile etkileşimi incelenen bir başka enzim de asetilkolin esteraztır. Asetilkolin esteraz aktivitesi, 30 dakika boyunca 1.4 T sabit manyetik alana maruz bırakılan sıçan kemik iliği hücrelerinde incelendiğinde, 37 °C' de statik manyetik alanın uygulandığı hücrelerin 2 saat sonra enzimatik aktivitelerinde bir azalma olduğu gözlenmiştir. 27 °C' de, aynı statik manyetik alandan 3.5 saat sonra ise enzimatik aktivitede bir artış tespit edilmiştir (Stegemann ve ark., 1993).

Bunların yanı sıra, EMF'nin özellikle hücresel iletişim sisteminde yer alan enzimler üzerindeki etkileri, kanser riskinin artmasına neden olmak açısından önemlidir (Yalçın ve Erdem, 2012).

4. EMF'İN HORMONLAR ÜZERİNE ETKİLERİ

4.1. Melatonin

İnsanlarda beyin anatomik merkezinin yakınında bulunan epifiz bezi, gözlerin bir dizi nöron tarafından epifiz bezine fonksiyonel olarak bağlanması nedeniyle görünür elektromanyetik alanlara karşı duyarlıdır. Normal koşullar altında pineal bez gün boyunca düşük miktarlarda, gece ise yüksek miktarlarda melatonin üretir. Bu ritim, geceleri gündüz olduğundan daha yüksek olan kan melatonin konsantrasyonlarına yansır. Hem insanda hem de küçük memelilerde, geceleri ışığa maruz kalmak, pineal bezin melatonin üretiminde ve kan melatonin seviyelerinde düşüşe neden olur. Benzer şekilde, memelilerin sinüzoidal elektrik ve/veya manyetik alanlara ve ayrıca darbeli statik manyetik alanlara maruz kalmaları çoğu zaman pineal melatonin üretimini azaltır. Melatoninin organizmada birçok işlevi vardır ve melatonin seviyelerinin normalden düşük olmasına neden olan herhangi bir bozulma (sadece elektromanyetik alanlar değil) önemli fizyolojik sonuçlara neden olabilir. Melatonin, güçlü bir antioksidan olduğundan, kanser başlamasını engellemesinin yanı sıra promosyona karşı da önemli bir koruma sağlayabilir. Bununla birlikte, normal elektromanyetik ortamlardan daha yüksek maruziyet ortamlarında yaşayan bireylerde bildirilen artmış kanser riskinin, bu tür saha maruziyetlerinin neden olduğu azalmış melatonin seviyeleri ile ilişkili olduğu sonucuna varmak için henüz erkendir (Reiter, 1993).

4.2. Hipofiz hormonları

EMF'nin büyüme hormonu ve FSH salgılanması üzerinde anlamlı bir etkisi bulunamamıştır (Woldanska-Okonska ve ark. 2004). 2.9 mT, 50 Hz EMF'nin kronik uygulaması LH seviyesini düşürürken, 25-80- μ T, 200 Hz EMF'ye ve 10 μ T, 40 Hz'ye (sürekli veya aralıklı) veya GSM'ye akut maruz kalmadan sonra hiçbir değişiklik gözlenmemiştir.

Woldanska-Okonska ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada EMF'nin kronik olarak uygulanmasından sonra prolaktin konsantrasyonlarında bir düşüş olduğunu (25-80 μ T, 200 Hz ve 2.9 mT, 40 Hz, 3 hafta boyunca), bununla birlikte 1 μ T, 50 Hz veya 20 μ T, 50 Hz' ye akut maruz kalmanın bu hormonun konsantrasyonlarını etkilemediğini bildirmişlerdir. Genel olarak, EMF hipofiz -tiroid eksenini tarafından salgılanan hormonları anlamlı şekilde etkilememiştir (Woldanska-Okonska ve Czernicki, 2003).

Bununla birlikte, Woldanska-Okonska ve Czernicki (2003), FT3 ve FT4 seviyelerinde, 2.9 mT, 40 Hz EMF'ye 3 hafta maruz kaldıktan sonra farklılıklar olduğunu gözlemlemiştir. Ayrıca, araştırmacılar, çalışılan hastalar arasında, TSH, FT3 ve FT4 salgılanması açısından özellikle EMF'ye hassas olan bireyleri bulmuşlardır.

Elektromanyetik alanlar ACTH sekresyonunu etkilememiştir (Akerstedt ve ark., 1999). Çalışmaların çoğunda, EMF'nin kortizol sekresyonu üzerine etkisi bulunamamıştır (Radon ve ark., 2001, Selmaoui ve ark., 1997). Bununla birlikte, dört zaman noktasında (06:00, 12:00, 16:00 ve 24:00) kortizol konsantrasyonunu inceleyen Woldanska-Okonska ve Czernicki (2003), 2.9 mT, 40 Hz EMF'ye maruziyet ile 25-80 μ T, 200 Hz EMF maruziyeti arasında farklı değişiklikler gözlemlemiştir. 2.9 mT, 40 Hz EMF'ye maruz kalma, 16:00' da kortizol seviyelerinin düşmesine neden olurken, 25-80 μ T, 200 Hz EMF'ye maruz kaldıktan sonra, 12:00 'da kortizol konsantrasyonlarında artışa neden olduğu bulunmuştur Karasek ve Woldanska-Okonska, 2004).

4.3. Gonadal Hormonlar

Erkeklerde, 2.9 mT, 40 Hz ve 25-80 μ T, 200 Hz EMF (Woldanska-Okonska ve ark. 2004) kronik uygulaması veya 1 μ T, 50 Hz (Graham ve ark., 2001) EMF'ye akut maruz kalmak testosteron konsantrasyonlarını etkilememiştir. Bununla birlikte, 25-80 μ T, 200 Hz EMF uygulaması estradiol düzeylerini düşürmüştür, ancak 2.9 mT 40 Hz EMF'nin erkeklerde etkisi olmamıştır (Woldanska-Okonska ve ark. 2004; Karasek ve Woldanska-Okonska, 2004).

4.4. EMF'nin Genotoksik Etkileri

EMF'nin DNA ve RNA üzerindeki etki mekanizması hala bilinmemektedir. İyonize olmayan EMF'nin enerji seviyesi moleküller arası kimyasal bağları kırmak için yeterli olmadığı için EMF'nin hücre içi etkileri dolaylı olarak ortaya çıkmaktadır. Bu dolaylı yollardan en belirgin olanı serbest radikallerin etkisidir. Hücrede serbest radikallerin sayısı arttığında, DNA, RNA, protein ve membran lipidleri gibi yapılar oksidatif stres nedeniyle zarar görür. EMF'nin Fenton reaksiyonu ile hücrede serbest radikal artışını tetiklediği gösterilmiştir (Lai ve Singh, 2004). Fenton reaksiyonu ile mitokondride oksidatif solunum ürünü olan hidrojen peroksit, kataliz yoluyla serbest hidroksil moleküllerine dönüştürülür.

Hücrenin genetik materyali üzerindeki etkiler, ELF'nin (extremely low frequency) hücre üzerinde genotoksik bir etkisi olup olmadığını belirlemek için en iyi göstergeler arasındadır. İn vivo ve in vitro ELF çalışmaları farklı sonuçlar bildirmekte ve ELF'in genotoksik etkilerini açıklamak için farklı mekanizmalar önermektedir (Grundler ve ark., 1992).

En ilginç konulardan biri ELF'in DNA zinciri kırılması yaratıp yaratmadığıdır. Bir çalışmada, hamster akciğer hücreleri, EMF'nin otofaji mekanizması üzerindeki etkilerini ortaya çıkarmak için 50 Hz ELF'e maruz bırakılmıştır. ELF'e maruz kalma, DNA'da çift sarmal kırılmalarına neden olmamış, fakat hücre yüzeyi modifikasyonlarına neden olmuş ve aktin filamentlerinin düzenini değiştirmiştir. Bu sonuçlar, ELF'nin doğrudan DNA hasarı oluşturmadığını gösterir; ancak DNA hasarı, ELF maruziyetinden kaynaklanan moleküler düzensizliklerin son ürünüdür.

Destefanis ve ark. (2015), 50 Hz ELF'in moleküler ve immünohistokimyasal yöntemler kullanarak insan lens epitel hücreleri (LEC'ler) üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Genotoksisite testleri kontrol grubu ile deney grubu arasında anlamlı bir fark göstermemiştir. Bu sonuçlar, ne kısa ne de uzun süreli ELF maruziyetinin, in vitro LEC'lerde DNA hasarına neden olmadığını göstermiştir.

Mikronükleus deneyi genellikle in vivo ve in vitro kısa süreli genotoksisite tespit testi olarak kullanılır. 2005 yılında yapılan bir çalışmada, Winker ve arkadaşları, 7-28 gün boyunca farelerin kemik iliğini sürekli olarak 50 Hz ELF'ye maruz bırakmışlardır. Araştırmacılar yaptıkları çalışma ile kontrol grubuna kıyasla ELF grubunda, mikro çekirdekli eritrosit sayısının üç kat arttığını bildirmişlerdir (Winker ve ark. 2005).

Lipid peroksidasyonu - reaktif oksijen türlerinin miktarı (ROS) - ve mikronükleus oluşumu 15, 30 ve 45 günlük periyotlarda analiz edilmiştir. MR maruziyetinden önce, deney grubu hücreleri, ROS'un potansiyel rolünü araştırmak için menadyon ve antioksidan N-asetilsistein ile tedavi edilmiştir. ELF'e 15 ila 30 gün maruz kaldıktan sonra, mikronükleus sayısı artmıştır. N-asetilsisteinin uygulanması, menadionun etkisini bastırmış ve daha sonra hücre ROS seviyeleri azalmıştır. Diğer yandan, N-asetilsistein-ELF grubunda 45 gün sonra ROS seviyelerinde artış gözlenmiştir. Lipid peroksidasyon seviyeleri, 50Hz ELF'ye maruz kaldıktan 30 ve 45 gün sonra önemli ölçüde azalmıştır. Bu sonuçlar ELF maruziyetinin genomik dengesizlik sürecini başlatabileceğini ve en az 45 gün boyunca devam edebileceğini göstermektedir.

Oksidatif stres indükleyici ajanlar ve antioksidan ajanlar kullanılarak yapılan çalışmaların karşılaştırılması, ELF'in genotoksik etkilerini ortaya çıkarmaya yardımcı olmaktadır. Bununla birlikte, diğer çalışmalarda elde edilen zıt sonuçlar, ELF'in genotoksik etkilerini açıklamayı zorlaştırmıştır. Bu tutarsızlıkların varlığında, tekrarlayan çalışmalar yaparak ELF'in genotoksik etkilerini göstermek esastır (NRPB, 1994).

5. EMF'İN ÜREME VE GELİŞME ÜZERİNE ETKİLERİ

Embriyonun ve fetusun gelişiminde, düşük frekanslı alanlara mesleki maruziyetlerinden dolayı özellikle görsel teşhir ünitelerinin (VDU'lar) operatörleri ve klinik manyetik rezonans tanılama sistemlerini çalıştıran personelle ilgili endişe edilmiştir. Bununla birlikte, VDU kullanımının hamilelik sonuçlarını üzerinde olumsuz etkilediğine dair epidemiyolojik kanıt çok azdır (Sienkiewicz, 1998).

Birçok çalışma EMF'lere maruz kalmanın üreme ve fetal gelişim üzerinde olumsuz etkileri olabileceği sonucuna varmıştır. EMF'lere kronik veya uzun süreli maruz kalma ile fetal kayıp arasında bir ilişki olduğu öne sürülmüştür. Diğer çalışmalar, EMF'lere maruz kalan sıçanlar, fareler ve insanlarda testislerin üreme, doğurganlık ve histolojileri üzerinde hiçbir olumsuz etkisi olmadığını bildirmiştir (Tablado ve ark., 2000; Elbetieha ve ark., 2002). Cep telefonlarından yayılan EMF'lerle ilgili bazı çalışmalar EMF'nin biyolojik olumsuz etkileri olduğunu bildirmiştir (Dasdag ve ark., 2003; Schirmacher ve ark., 2000). Cep telefonları tarafından yayılan EMF'lerin erkek üreme sistemi üzerinde olumsuz etkilere yol açıp açamayacağını araştırılmasına son derece dikkat edilmiş ve bazı çalışmalar cep telefonuna maruz kalmanın testis fonksiyonları veya yapısı üzerinde olumsuz bir etkisi olduğuna dair kanıt bulunmadığını bildirmiştir (Dasdag ve ark., 2003). Cep telefonuna maruz kalmanın biyolojik etkisinin, maruz kalma sürelerine, koşullarına, türlerine ve dokularına bağlı olarak değişebileceği açıktır (Özgüner ve ark., 2005).

6. EMF VE KANSER İLİŞKİSİ

Son yıllarda en önemli endişe, düşük yoğunluklu elektrik ve manyetik alanların kanserlerin gelişimini etkileyebilme olasılığı olmuştur. Karsinogenez genellikle en az üç aşamayı içermektedir:

- Başlatma: bir veya daha fazla hücrenin genetik mutasyonunu içerir
- Promosyon (Tanıtım): hasarlı hücrelerin çoğalması ve birikmesini içerir.
- İlerleme: daha fazla malignite ile sonuçlanan başka genetik anormalliklerin birikimini içerir.

Düşük yoğunluklu alanların genetik hasara neden olduğuna dair ikna edici bir kanıt yoktur ve iyonlaştırıcı radyasyondan farklı olarak, EMF'ler doğrudan DNA'ya zarar vermek için yeterli enerjiye sahiptir. Bu nedenle, kanserin başlangıcı üzerinde herhangi bir etkiye sahip olma olasılıkları çok düşüktür. Düşük frekanslı alanların karsinogenez etkilemesi durumunda, muhtemelen sadece promosyon düzeyinde olabileceği kabul edilmektedir.

Bu durum, hücre bölünmesine yol açan hücre sinyal yollarındaki çeşitli aşamalarda olası etkilerin araştırılması yoluyla hücresel ve moleküler seviyede incelenmiştir. Hücre zarından alınan uygun bir uyaran, nihayetinde bölünmeye neden olan bir dizi biyokimyasal tepkilerin oluşmasına neden olacaktır. Hücre ve düşük frekanslı alanlar, bu yollar-daki adımlardan herhangi birini etkileyebilir. Tüm tümör teşvik edici kimyasallar hücre proliferasyonunu uyarır, oysa kendiliğinden proliferasyon mutasyon oranındaki artışlarla tümörlere neden olabilir

Çevresel seviyedeki manyetik alanların, sinyal yollarının erken aşamalarında herhangi bir etkisi olmadığı açıktır, ancak 100-200 μT 'nin üzerindeki alanlar, bazı enzim sistemlerinin aktivasyonuna ve kalsiyum iyonları dahil olmak üzere spesifik haberci moleküllerin üretiminin artmasına neden olabilir (US National Research Council, 1996; Criddle, 1997). Diğer çalışmalar çekirdeğe giden sinyal yollarını takip etmiş ve kanserle ilişkili genlerin ekspresyonunu incelemiştir. Yaklaşık 100 μT 'nin altındaki alanların sinyal yolları üzerinde herhangi bir etkisi olduğuna dair tutarlı bir kanıt yoktur, ancak çok yoğun alanların (yaklaşık 20 mT'de) gen ekspresyonunu artırabildiği görülmüştür. Bununla birlikte, bu değişiklikler bile, büyüme faktörleri gibi diğer ajanların neden olduğu değişikliklere kıyasla çok küçüktür. Diğer yapılan pek çok çalışmada, EMF'ye maruz kalan hücrelerin

kültürlerinde proliferasyon oranlarını ölçülmüştür. Çok yoğun alanlar (20 mT) kullanılsa bile sürekli proliferatif tepkiler görülmemiştir. Bu sonuç, küçük yoğunluktaki EMF maruziyetlerinin sinyal yollarında oluşturduğu değişikliklerin biyolojik öneme sahip olmadığını ve basitçe geçici, spesifik olmayan bir yanıtı yansıttığını ortaya koymaktadır (Cridland, 1997).

Düşük frekanslı manyetik alanların tümör promosyonunu etkileme potansiyeli, doğrudan hayvan karsinogenez modelleri kullanılarak da incelenmiştir. Bu çalışmalarda hayvanlar, tümörleri başlatmak için kimyasal bir karsinojenin uygulanmasına maruz bırakılmışlardır. Manyetik alanların cilt tümörlerinin gelişimi üzerinde bir etkisi olmadığı ve deneysel kanıtlar çekişmeli olsa da, meme kanseri üzerinde bir miktar etkisi olduğu bildirilmiştir. Hem hayvan hem de hücresel çalışmalardan bazıları düşük frekanslı manyetik alanların, temel olarak kimyasal tümör promotörlerinin etkilerini arttırdığını bildirmişlerdir. Bununla birlikte, bu etkiler tekrarlanan çalışmalarda doğrulanmamıştır, bu nedenle kesin sonuçlara varılamamıştır.

Düşük frekanslı alanların tümörün progresyonunu etkileyip etkilemediğini araştıran az sayıda çalışma vardır. Bu çalışmaların sonuçları ise herhangi bir anlamlı etkiyi düşündürmemektedir. Manyetik alanların, bazı tümörlerin doğal bir inhibitörü olduğuna inanılan melatonin hormonunun gece sentezlenmesini baskılayarak tümör ilerlemesine neden olabileceği öne sürülmüştür. Bazı çalışmalar manyetik alanların melatoninin kültürdeki meme kanseri hücrelerinin büyümesi üzerindeki inhibitör etkilerini azaltabileceğini düşündürmektedir, ancak bu etki nispeten küçüktür. Çünkü tek başına manyetik alanlar hücre büyümesini etkilememiştir. (Sienkiewicz, 1998).

SONUÇ

Elektromanyetik alanın biyolojik sistemler üzerindeki etkileri, biyoloji, tıp ve tarım alanında çalışan birçok araştırmacının ilgisini çekmiştir. Özellikle son yıllarda birçok bilim insanı EMF'nin biyolojik sistemler üzerine etkileri ile ilgili deneysel çalışmalar yapmaya başlamıştır. Yapılan deneyler sonucunda elde edilen verilere göre, elektro manyetik alanın organizmaların biyolojik aktivitelerinde bazı değişikliklere neden olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda EMF'nin biyolojik etkilerinin, maruz kalınan manyetik alanın tipine, derecesine, maruz kalma süresine ve maruz kalan doku veya hücrenin tipine göre değişiklik gösterdiği bildirilmiştir. Ancak yapılan bu çalışmalarda da birbiriyle çelişen sonuçlar bulunmaktadır. Ayrıca EMF'nin neden olduğu biyolojik etkilerin sağlığı etkileyecek boyutta olup olmadığı, özellikle de kansere neden olup olmadığı konusunda da henüz ikna edici veya tutarlı bir kanıt bulunamamıştır. Bu nedenle de bu konuda daha çok çalışma yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Adey WR., 1993. Biological effects of electromagnetic fields. *J Cellular Biochemistry*, 51, 410-416.
2. Akerstedt T, Arnetz B, Ficca G, Paulsson L.E., and Kallner A., 1999. A 50-Hz electromagnetic field impairs sleep. *J. Sleep Res.* 8, 77-81.
3. Behari J., 2010. Biological responses of mobile phone frequency exposure. *Indian JExp Biol.* 48, 959-81.
4. Byus CV, Pieper SE, Adey WR., 1987. The effects of low-energy 60-hz environmental electromagnetic fields upon the growth-related enzyme ornithine decarboxylase. *Carcinogenesis.* 8, 1385-1390.
5. Challis LJ., 2005. Mechanisms for interaction between RF fields and biological tissue. *Bioelectromagnetics.* S98-106.

6. Chionna A., Dwikat M., Panzarini E., Tenuzzo B., Carlà EC., Verri T., Pagliara P., Abbro L., Dini L., 2003. Cell shape and plasma membrane alterations after static magnetic fields exposure. *Eur. J. Histochem.* 47(4), 299-308.
7. Cridland N.A., 1997. 'Effects of power frequency EMF exposures at the cellular level', *Radiation Protection Dosimetry*, 72, 279-290.
8. Dasdag S., Akdag MZ., Ayyıldız O., Demirtas OC., Yayla M., Sert C., 2000. Do cellular phones alter blood parameters and birth weight of rats? *Electromagnetic Biology and Medicine.* 19, 107-113.
9. Dasdag S., Akdag MZ., Aksen F., Yılmaz F., Bashan M., Dasdag MM., et al., 2003. Whole body exposure of rats to microwaves emitted from a cell phone does not affect the testes. *Bioelectromagnetics.* 24, 182-188.
10. Destefanis M., Viano M., Leo C., Gervino G., Ponzetto A., Silvagno F., 2015. Extremely low frequency electromagnetic fields affect proliferation and mitochondrial activity of human cancer cell lines. *Int. J. Rad. Biol.* 91, 964-972.
11. Elbetieha A., Al-Akhras MA., Darmani H., 2002. Long-Term exposure of male and female mice to 50 Hz magnetic field: Effects on fertility. *Bioelectromagnetics.* 23: 168-172.
12. Feychting M., Ahlbom A., 1993. Magnetic fields and cancer in children residing near Swedish high-voltage power lines. *Am J Epidemiol.* 138, 467-81.
13. Funk RHW, Monsees T, Ozkucur N., 2009. Electromagnetic effects – From cell biology to medicine, *Progress in Histochem. Cytochem.* 43, 177-264
14. Gherardini L., Ciuti, G., Tognarelli S., Cinti C., 2014. Searching for the perfect wave: the effect of radiofrequency electromagnetic fields on cells. *Int J Mol Sci.* 15, 5366-87.
15. Goodman EM., Sharpe PT., Greenebaum B., Marron MT., 1986. Pulsed magnetic fields alter the cell surface. *FEBS Lett*, 199, 275-278.
16. Goodman EM., Greenebaum B., Marron MT., 1993. Altered protein synthesis in a cell-free system exposed to a sinusoidal magnetic field. *Biochim Biophys Acta.* 1202, 107-112.
17. Goodman EM., Greenebaum B., Marron MT., 1995. Effects of electromagnetic fields on molecules and cells. *Int Rew Cytology: A survey of cell biology* (Edt.: K.W. JEAN and J. JARVIK). 158, 279338.
18. Graham C., Sastre A., Cook M.R., and Gerkovich M.M., 2001. All-night exposure to EMF does not alter urinary melatonin, 6-OHMS or immune measures in older men and women. *J. Pineal Res.* 31, 109-113.
19. Grundler W., Kaiser F., Keilmann F., Walleczek J., 1992. Mechanisms of electromagnetic-interaction with cellular-systems. *Naturwissenschaften* 79, 551-559.
20. Hardell L., Sage C., 2008. Biological effects from electromagnetic field exposure and public exposure standards. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 62, 104-109
21. Karasek M., Woldanska-Okonska M., 2004. *Electromagnetic Fields and Human Endocrine System*
22. *The Scientific World Journal.* 4(S2), 23-28
23. Kivrak EG., Yurt KK., Kaplan AA., Alkan I., Altun G., 2017. Effects of electromagnetic fields exposure on the antioxidant defense system. *Journal of Microscopy and Ultrastructure.* 5, 167-176
24. Lai H., Singh NP., 2004. Magnetic-Field-Induced DNA Strand Breaks in Brain Cells of the Rat. *Environmental Health Perspectives*, 112 (6), 687-694.
25. Litovitz TA., Krause D., Mullins JM., 1991. Effect of coherence time of the applied magnetic field on ornithine decarboxylase activity. *Biochem. Biophys. Res. Communications.* 178, 862-865.

26. Megha K., Deshmukh P.S., Banerjee B.D., Tripathi A.K., Abegaonkar, M.P., 2012. Microwave radiation induced oxidative stress, cognitive impairment and inflammation in brain of Fischer rats. *Indian J Exp Biol.* 50, 889–96.
27. Nishiyama HIM., Kato N., 2014. Relay-by-smartphone: realizing multihop device-to-device communications. *IEEE Com Mag.* 52, 56–65.
28. NRPB, 1994. 'Health effects related to the use of visual display units'. Report of an Advisory Group on Non- ionising Radiation, Documents of the NRPB. 5, (2), 1-75
29. Ozguner M., Koyu A., Cesur G., Ural M., Ozguner F., Gokcimen A., Delibas N., 2005. Biological and morfological effects on the reproductive organ of rats after exposure to electromagnetic field. *Saudi Med J.* 26 (3), 405-410
30. Sienkiewicz Z., 1998. Biological effects of electromagnetic fields. *Power Engineering Journal.*
31. Soderqvist F., Carlberg M., Hardell L., 2009. Use of wireless telephones and serumS100 B levels: a descriptive cross-sectional study among healthy Swedish adults aged 18–65 years. *Sci Total Environ.* 407, 798–805
32. Radon K., Parera D., Rose D.M., Jung D., and Vollrath L., 2001. No effects of pulsed radio frequency electromagnetic fields on melatonin, cortisol, and selected markers of the immune system in man. *Bioelectromagnetics.* 22, 280–287.
33. Reiter R.J., 1993. Electromagnetic fields and melatonin production. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 47 (10), 439-444.
34. Schirmacher A., Winters S., Fischer S., Goeke J., Galla HJ, Kullnick U., et al. 2000. Electromagnetic fields (1.8 GHz) increase the permeability to sucrose of the blood-brain barrier in vitro. *Bioelectromagnetics.* 21: 336-345.
35. Selmaoui B., Lambrozo J., and Touitou Y., 1997. Endocrine functions in young men exposed for one night to a 50Hz magnetic field. A circadian study of pituitary, thyroid and adrenocortical hormones. *Life Sci.* 61, 473–486. 42.
36. Simkó M., 2004. Induction of cell activation processes by low frequency electromagnetic fields. *Sci. World J.* 4, (S2), 4-22.
37. Stegemann S., Altman KI, Muhlensiepen H., Feinendegen LE., 1993. Influence of a stationary magnetic field on acetylcholinesterase in murine bone cells. *Radiat Environ Biophys.* 32, 65-72.
38. Tablado L., Soler C., Nunez M., Nunez J., Perez-Sanchez F., 2000. Development of mouse testis and epididymis following intrauterine exposure to a static magnetic field. *Bioelectromagnetics.* 21, 19-24.
39. US National Research Council, 1996. 'Possible health effects of exposure to residential electric and magnetic fields'. (National Academy Press, Washington)
40. Winker R., Ivancsits S., Pilger A., Adlkofer F, Rudiger H.W., 2005. Chromosomal damage in human diploid fibroblasts by intermittent exposure to extremely lowfrequency electromagnetic fields. *Mutat. Res.* 585, 43–49.
41. Woldanska-Okonska M., Karasek M., and Czernicki J., 2004. The influence of chronic exposure to low frequency pulsating magnetic fields on concentrations of FSH, LH, prolactin, testosterone and estradiol in men with back pain. *Neuroendocrinol. Lett.* 25, 201-206.
42. Woldanska-Okonska M. and Czernicki J., 2003. Effects of low frequency pulsating magnetic fields used in magnetotherapy and magnetostimulation on cortisol secretion in humans. *Med. Pracy.* 54, 29–32.
43. Yalçın S., Erdem G., 2012. Biological effects of electromagnetic fields. *African Journal of Biotechnology.* 11(17), 3933-3941.

Alıç Bitkisinin Yaprak Özütü Kullanılarak AgNP'erin Yeşil Sentezi ve Anti Mikrobiyal Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

Mehmet Fırat BARAN¹

CHAPTER 9

¹ Mardin Artuklu University, Medical Laboratory Techniques, Vocational Higher School of Healthcare Studies

GİRİŞ

1-100 nm boyutlara sahip malzemelere nano malzeme denir. Elektrokimya, kataliz, sensor, biomedikal, farmakoloji, hasta bakımı, kozmetik, yiyecek ve tekstil endüstrisi, mekanik, optik, elektronik, uzay endüstrisi, enerji bilimi, optik cihazlar, bioremidasyon gibi birçok alanda kullanılırlar (Ahmed, vd., 2017), (Swamy, vd., 2015). Bu malzemeler farklı yöntemler kullanılarak sentezlenirler. Biyolojik kaynaklı sentez yöntemleri daha ucuz, kolay ve sentez sürecinde toksik kimyasallar içermediğinden diğer yöntemler karşısında daha avantajlı konumdadır (Kanchi vd., 2018), (Ping vd., 2018). Biyolojik yöntemler için bitki, alg, bakteri, fungus vs. kullanılmaktadır (Agarwal vd., 2017), (Din, vd., 2018). Bitkisel kaynaklar herhangi bir kültür aşaması, maliyet vs. olmadığından biyolojik kaynaklar içinde avantajlı durumdadır. Bu sebeble daha fazla ilgi görmektedir (Pallela, vd., 2018).

AgNP'lerin sentezinde bitkide ki alkoller, flavanoidler, steroidler, terpenoidler, protein, amino asitler, karbohidrat, fenoller ve tanenler gibi fito kimyasallar indirgemenin sorumludur. Aynı zamanda kararlılığıda sağlarlar (Palanisamy vd., 2017). Fito kimyasallar Ag^+ iyonlarını indirgeyerek Ag^0 formunu oluştururlar (Begum vd., 2009). Gümüşün anti-mikrobiyal etkisi uzun yıllardır bilinmektedir (Brandt vd., 2012). Bu bağlamda AgNP sentezi ve bunların antibiyotik dirençliliğine sağlayacakları katkı büyük ölçüde olacaktır (Pallela vd., 2018).

Alıç bitkisine ait meyvenin sağlığa olan faydaları saymakla bitmez. Biz bu çalışmada çevre dostu, kolay ve ekonomik bir yöntemle alıç bitkisinin yapraklarından (şekil 1.) elde ettiğimiz özüt ile AgNP'leri sentezledik. Bu NP'lerin anti-mikrobiyal aktivitelerini mikro dilüsyon yöntemi ile tespit ettik.



Şekil 1. Alıç bitkisine ait yaprak ve meyvelerinin bir görüntüsü

MATERYAL VE METOD

2.1. Alıç Yapraklarından Özüt ve Gümüş Nitrat ($AgNO_3$) Çözeltisinin Hazırlanması

Alıç yaprakları yeşil formdayken Mardinin merkezinde toplandı musluk suyu ile yıkamanın ardından bir seri distile su ile yıkama işlemi yapıldı. Yapraklar kurutma işlemine tabi tutulduktan sonra ufalanarak boyutu küçültüldü. 30 gr alınıp 500 ml distile su ile karıştırılıp kaynatılarak özüt elde edildi. Daha sonra oda koşullarında soğutulmuş bir seri süzme işlemi yapıldı. Sentezde kullanılmak üzere $+4\text{ }^\circ\text{C}$ de buzdolabına alındı. Sigma-aldrich marka 99.8% saflıkta katı (gümüş nitrat) $AgNO_3$ ile 1 mM'lık çözelti hazırlandı.

2.2. Sentez ve Karakterizasyon

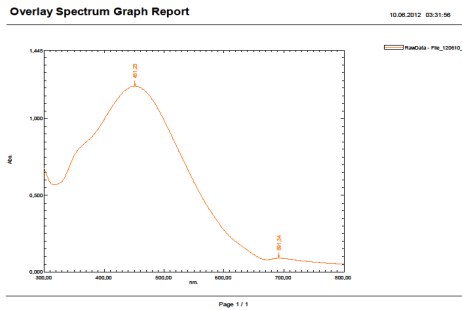
100 ml Özütle ve 500 ml AgNO_3 çözeltisi 1000 ml hacimli bir erlen de bir araya getirildi. 60 dakika içinde oluşan renk değişimi gözlemlendi. Perkin elmer one UV Visible spektrofotometre cihazı kullanılarak AgNP 'lerin oluşumu ve varlığı incelendi. Perkin Elmer Spektrum One cihazı ile FTIR özütteki indirgemeden sorumlu olan fonksiyonel gruplar kontrol edildi. Sıvı matriks OHAUS FC 5706 cihaz ile 6000 rpm de 25 dak santrifüj edilerek dipte oluşan çökelti 24 saat 75°C kurutuldu. RadB-DMAX II bilgisayar kontrollü X-ışını difraktometresi (EDX) ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) EVO 40 LEQ ile elde edilen partiküllerin görünüşleri ve element içerikleri değerlendirildi. RadB-DMAX II bilgisayar kontrollü X-ışını difraktometresi (XRD) analiziyle AgNP 'lerin kristal yapısı ve boyutu tespit edildi. Shimadzu TGA-50 cihazı kullanılarak TGA-DTA verileri kullanılarak AgNP 'lerin farklı sıcaklık aralıklarında madde miktarının bozunması belirlendi.

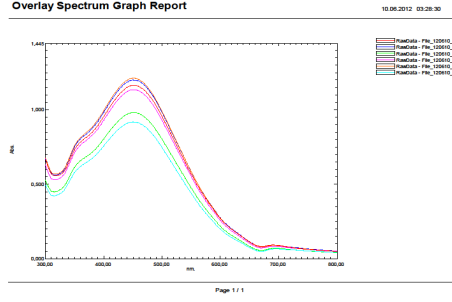
2.3. AgNP 'lerin Anti mikrobiyal Etkilerinin İncelenmesi

AgNP 'lerin mikroorganizmaların üzerindeki baskılayıcı etkileri gram negatif *Escherichia coli* ATCC 25922, gram pozitif *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 bakterileri ve *Candida albicans* mayası üzerinde incelendi. Bu Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) mikrodilüsyon ile belirlendi. Mikroplaka kuyucuklarına muller Hinton besiyeri, AgNP çözeltisinden ayarlanmış konsantrasyonlarda, Mc Farland standardı 0.5' e göre ayarlanarak hazırlanan mikroorganizma karışımından (Vishwasrao, Momin, & Ananthanarayan, 2018) konularak 37°C de bir gün üremeye bırakılıp ertesi gün sonuçlar değerlendirildi. Aynı zamanda AgNP 'lerin etkilerinin karşılaştırmasını yapmak için *S.aureus için* vankomisin, *E.coli için* colistin ve *C. albicans için* flukanazol antibiyotikleri uygulandı. 1 mM AgNO_3 sulu çözeltisinde mikroorganizmalar üzerinde ki etkilerine de bakıldı.

BULGULAR VE TARTIŞMA

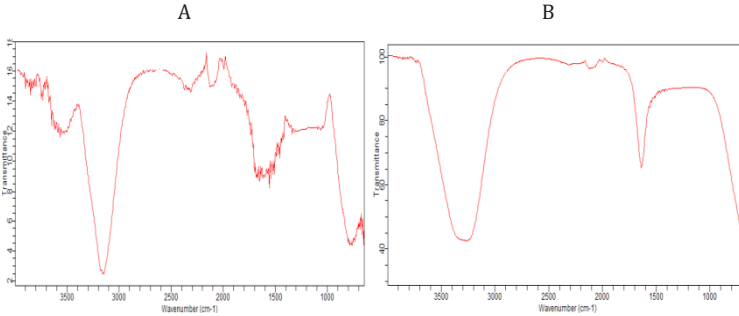
Yaprak özütü ve 1 mM'lık AgNO_3 çözeltisi erlen de karıştırıldı ve oda koşullarında herhangi bir etkiye maruz kalmadan renk değişimi gözlemlendi. 60 dak içinde koyu kahve renk değişimi meydana geldi. Bu renk değişimi plazma yüzeyindeki titreşimlerle AgNP 'lerin oluştuğunu gösteren AgNP 'lerin karakteristik aralığında ki 451.23 nm maksimum absorbanza sahip pikler bize bu tespiti yapıyor (Şekil 2.). Yapılan benzer çalışmalardaki veriler de bizim çalışmamıza benzer sonuçlar sunmaktadır (Edison ve Sethuraman, 2012), (Khan vd., 2018)environment friendly, lucrative and benign loom. The current study consists of clean and green synthesis of Silver nanoparticles (AgNPs





Şekil 2. UV-Vis. Analiz Sonucu Verileri

FTIR analizinde AgNP'lerin sentezinde indirgemedenden sorumlu fonksiyonel gruplar incelenmiştir. Belirli gruplar 3539, 3340, 2314 ve 1672 cm^{-1} de ki kaymalar indirgemedesi ile -NH-OH, -CN C=C ve C=O grupların rol aldığını düşündürmektedir (Şekil 3.)'te de görüldüğü gibi -NH pikinin kaybolduğu açıkça görülmektedir. Ayrıca -OH, -C=C ve -C=O yada birincil amid bandında yayvanlık oluşmuştur. Sonuç olarak indirgemedede rol olan basılıca gruplar diyebiliriz. AgNP'lerin sentezi için yapılan çalışmalarda benzer fonksiyonel gruplar değerlendirilmiştir (Selvam vd., 2016).



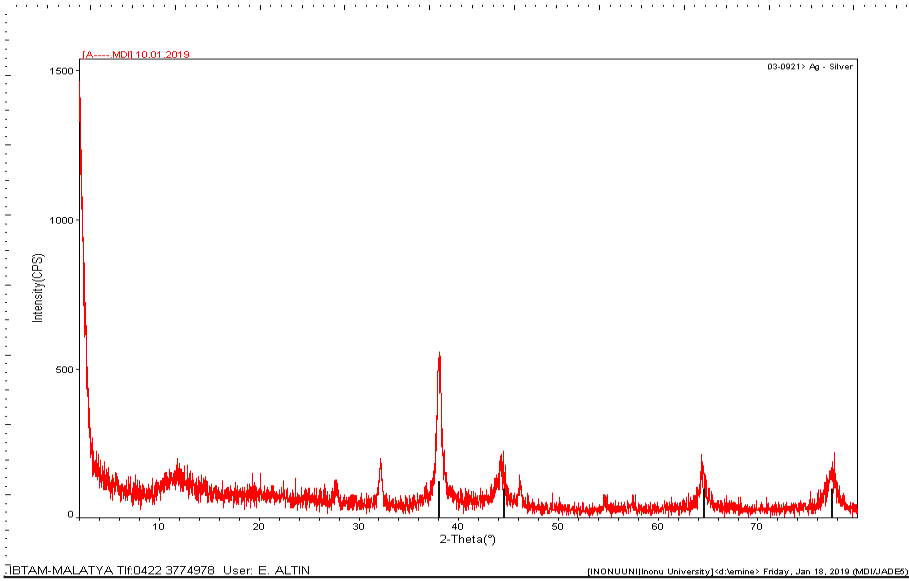
Şekil 3. FTIR Analiz Sonucu Verileri ile; A. Bitki Özütünün FTIR görünümü, B. Sentez sonrası fonksiyonel grupların değerlendirilmesi.

XRD sonuçlarında 111°, 200°, 220° ve 311° de ki piklerin gümüşün karakteristik kristal yapısına ait olduğu ve bu piklerin 2θ da değerleri sırası ile 38.08, 43.78, 64.42, ve 77.48 değerlerini verdiğini inceledik (Şekil 4). Diğer çalışmalarda ki XRD verileri de bize gümüşün karakterini sunmaktadır (Sagar & Ashok, 2012), (Palanisamy vd., 2017). Bu verilere dayanarak NP'lerin kristal tanecik boyutu Debye-Scherrer eşitliği kullanılarak hesaplanmıştır

$$D = K\lambda / (\beta \cos\theta)$$

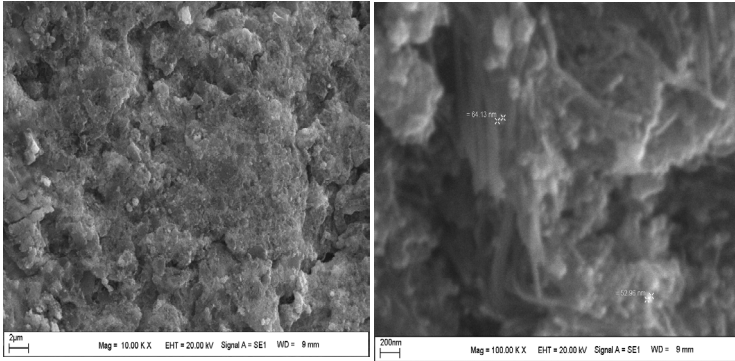
ve 16.50 nm tanecik boyutu bulunmuştur. Benzer çalışmalarda bu eşitlikten yararlanarak NP'lerin kristal tanecik boyutları hesaplanmıştır (Jogaiah, Kurjogi, Abdelrahman, Hanumanthappa, & Tran, 2018), (Narayanan & Sakthivel, 2011).

Yapılan benzer çalışmalarda aynı formül kullanılarak boyut hesaplaması yapılmıştır (Pallela vd., 2018), (Khan vd., 2018).

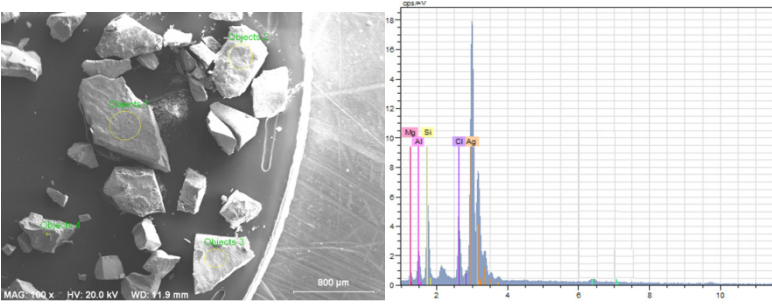


Şekil 4. AgNP'lerin XRD analizi ile kristal yapısının ve gümüş fazlarının incelenmesi.

SEM görüntülerine AgNP'lerin küresel görünümde olduğu ve 58.54 ortalama nm boyutlarda olduğu değerlendirilmiştir. Benzer çalışmaları incelendiğimizde AgNP'lerin morfolojik yapılarının küresel yapıda olduğu söylenmektedir (Pugazhendhi, vd., 2018), (Hemmati vd., 2019). EDX analiz verileri bize element kompozisyonunun büyük oranda gümüşe ait olduğunu sunmaktadır. AgNP'lerin sentezini içeren diğer çalışmalarda ki benzer EDX verileri raporlanmıştır (Jayaprakash vd., 2017).

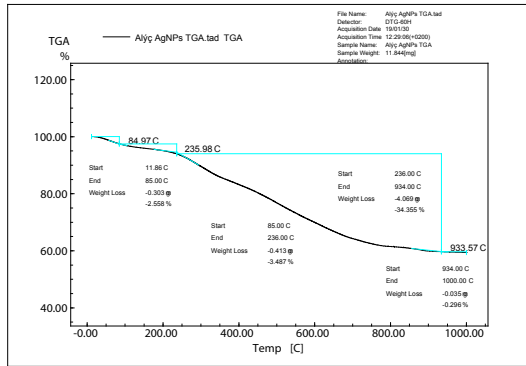
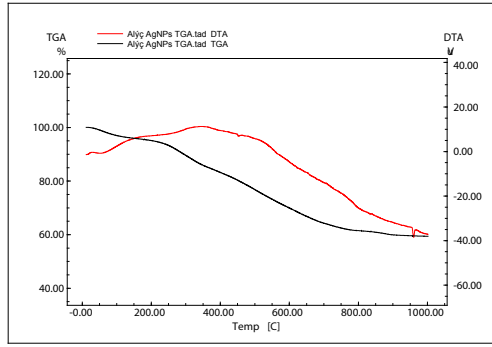


Şekil 5. SEM sonuçlarında AgNP'lerin morfolojilerinin değerlendirilmesi.



Şekil 6. AgNP'lerin EDX analizi ile element kompozisyonlarının incelenmesi

TGA-DTA sonucu incelendiğinde, AgNP'lerin 11-85 °C arasındaki kütlece yüzde 2.56'lık kütle kaybının nemden kaynaklandığını, 85-235 °C deki kütlece yüzde 3.56'lık kütle kaybının selülozik sudan kaynaklandığını, 235-934 °C kütlece yüzde 34.35'lik kütle kaybının ise artık maddenin yavaş yavaş bozunduğunu göstermektedir (Şekil 5). Bu sonucun bize sentezlediğimiz nano malzemenin ne kadar dayanıklı olduğunu göstermektedir. Benzer çalışmalarda elde ettiğimiz sonuçları desteklemektedir. (Baran, 2019);(Baran, 2018)



Şekil 7. Alıç yaprağından sentezlenen AgNP'lerin TGA –DTA verileri.

Patojen mikroorganizmaların üzerinde çoğu zaman kullanılan antibiyotikler etkisiz kalabilmektedir. Anti-mikrobiyal ajan arayışı her geçen gün daha önemli olmaktadır. AgNP'ler ROS (reaktif oksijen türlerin artışı) sağlayarak mikroorganizmaların membran yapısını, proteinlerini, lipidlerini ve DNA yapılarını bozarak mikroorganizmaların öl-

mesine neden olurlar (Palanisamy vd., 2017), (Müller vd., 2016). Bu bağlamda biyolojik kaynaklarla elde edilen AgNP'ler biyoyumlu olmasından daha etkili olduğu yapılan araştırmalarda ortaya konulmuştur (Ananda vd., 2019), (Ramkumar vd., 2017). Bizim elde ettiğimiz AgNP'lerin kullanılan organizmalar üzerinde gümüş nitrat ve antibiyotikler ile kıyaslandığında daha düşük konsantrasyonlarda anti-mikrobiyal etki gösterdiği değerlendirilmiştir (Tablo 1). AgNP'lerin anti-mikrobiyal aktivitelerinin incelendiği benzer çalışmalar bize AgNP'lerin mikroorganizmalar üremeleri üzerinde baskılayıcı bir etkiye sahip olduğunu söylemişlerdir (Pugazhendhi vd., 2018), (Ali vd., 2015), (Mankad, vd., 2018).

Organizma	AgNP	Antibiyotik	Gümüş Nitrat
<i>S. aureus</i>	0.116	0,5	0,5
ATCC29213			
<i>E. coli</i>	0.2560	0,125	1
ATCC25922			
<i>C. albicans</i>	0.0387	0,5	0,5

Tablo 1. Sentezlenmiş gümüş nanopartiküllerin (AgNP'ler) (mg mL^{-1}), gümüş nitrat çözeltisi ve vankomisin, flukonazol, colistin antibiyotiklerinin *S.aures*, *S. Albicans* ve *E. coli* mikroorganizmaları üzerinde ki MİK değerleri.

SONUÇ

Nano malzemelerin kullanım alanlarının oldukça fazla oluşu ve çevre dostu yöntemlerin her geçen gün ilgi odağı haline dönüşmesiyle biz bu sebeple atık olan alıç bitki yapraklarını kullanılarak, ekonomik, kolay ve hiçbir enerji yada özel bir koşul oluşturmadan AgNP'leri sentezledik. Bu partiküllerin 451 nm maksimum absorbanansa sahip, küresel görünümde ortalama 16.50 nm boyutlarda olduğu, büyük oranda gümüş element kompozisyonunda olduğu incelenmiştir. AgNP'lerin 934 °C'ye kadar dayanıklı olduğu tespit edilmiştir. Bu partiküllerin mikroorganizmaların üremeleri üzerinde inhibe edici etkisi olduğunu gördük.

Bu ürün biyo uyumlu olması ile geliştirilerek medical endüstrisinde kullanılabilir. Atıkların sorun olduğu günümüzde atık suların bioremediasyonunda, gıda sektöründe yiyeceklerin raf ömrünü uzatmak için paketlenme aşamasında kullanılabilir. Ayrıca AgNP'lerin geniş kullanım alanlarına geliştirilerek yansıtılabilir.

KAYNAKLAR

1. Agarwal, H., Venkat Kumar, S., & Rajeshkumar, S. (2017). A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles – An eco-friendly approach. *Resource-Efficient Technologies*. <https://doi.org/10.1016/j.reffit.2017.03.002>
2. Ahmed, S., Annu, Chaudhry, S. A., & Ikram, S. (2017). A review on biogenic synthesis of ZnO nanoparticles using plant extracts and microbes: A prospect towards green chemistry. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 166, 272–284. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.12.011>
3. Ali, K., Ahmed, B., Dwivedi, S., Saquib, Q., Al-Khedhairi, A. A., & Musarrat, J. (2015). Microwave accelerated green synthesis of stable silver nanoparticles with Eucalyptus globulus leaf extract and their antibacterial and antibiofilm activity on clinical isolates. *PLoS ONE*, 10(7), 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131178>

4. Ananda, A. P., Manukumar, H. M., Krishnamurthy, N. B., Nagendra, B. S., & Savitha, K. R. (2019). Assessment of antibacterial efficacy of a biocompatible nanoparticle PC@ AgNPs against *Staphylococcus aureus*. *Microbial Pathogenesis*, 126(October 2018), 27–39. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.10.029>
5. Baran, M.F. (2019). Synthesis, characterization and investigation of antimicrobial activity of silver nanoparticles from *Cydonia oblonga* leaf, *Applied ecology and environmental research*, 17(2), 2583–2592. DOI: http://dx.doi.org/10.15666/aeer/1702_25832592
6. Baran, M.F. (2018). *Ejona International Journal on Mathematic, Engineering and Natural Sciences*, 2(2018), 2017–2018. ISSN 2602 - 4136
7. Begum, N. A., Mondal, S., Basu, S., Laskar, R. A., & Mandal, D. (2009). Biogenic synthesis of Au and Ag nanoparticles using aqueous solutions of Black Tea leaf extracts. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 71(1), 113–118. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2009.01.012>
8. Biochemical synthesis of silver nanoparticles using filamentous fungi *Penicillium decumbens* (MTCC-2494) and its efficacy against A-549 lung cancer cell line. (2016). *Chinese Journal of Natural Medicines*, 14(8), 615–620. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(16\)30072-3](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(16)30072-3)
9. Brandt, O., Mildner, M., Egger, A. E., Groessl, M., Rix, U., Posch, M., ... Stingl, G. (2012). Nanoscale silver possesses broad-spectrum antimicrobial activities and exhibits fewer toxicological side effects than silver sulfadiazine. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 8(4), 478–488. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2011.07.005>
10. Din, M. I., Nabi, A. G., Rani, A., Aihetasham, A., & Mukhtar, M. (2018). Single step green synthesis of stable nickel and nickel oxide nanoparticles from *Calotropis gigantea*: Catalytic and antimicrobial potentials. *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management*. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2017.11.005>
11. Edison, T. J. I., & Sethuraman, M. G. (2012). Instant green synthesis of silver nanoparticles using *Terminalia chebula* fruit extract and evaluation of their catalytic activity on reduction of methylene blue. *Process Biochemistry*, 47(9), 1351–1357. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.04.025>
12. Hemmati, S., Rashtiani, A., Zangeneh, M. M., Mohammadi, P., Zangeneh, A., & Veisi, H. (2019). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Fritillaria* flower extract and their antibacterial activity against some human pathogens. *Polyhedron*, 158(May 2014), 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2018.10.049>
13. Jayaprakash, N., Vijaya, J. J., Kaviyarasu, K., Kombaiah, K., Kennedy, L. J., Ramalingam, R. J., ... Al-Lohedan, H. A. (2017). Green synthesis of Ag nanoparticles using Tamarind fruit extract for the antibacterial studies. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 169, 178–185. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.03.013>
14. Jogaiah, S., Kurjogi, M., Abdelrahman, M., Hanumanthappa, N., & Tran, L. S. P. (2018). Ganoderma applanatum-mediated green synthesis of silver nanoparticles: Structural characterization, and in vitro and in vivo biomedical and agrochemical properties. *Arabian Journal of Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.12.002>
15. Kanchi, S., Kumar, G., Lo, A. Y., Tseng, C. M., Chen, S. K., Lin, C. Y., & Chin, T. S. (2018). Exploitation of de-oiled *Jatropha* waste for gold nanoparticles synthesis: A green approach. *Arabian Journal of Chemistry*, 11(2), 247–255. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.08.006>
16. Khan, A. U., Yuan, Q., Khan, Z. U. H., Ahmad, A., Khan, F. U., Tahir, K., ... Ullah, S. (2018). An eco-benign synthesis of AgNPs using aqueous extract of Longan fruit peel: Antiproliferative response against human breast cancer cell line MCF-7, antioxidant and photocatalytic deprivation of methylene blue. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.05.007>

17. Mankad, M., Patil, G., Patel, D., Patel, P., & Patel, A. (2018). Comparative studies of sunlight mediated green synthesis of silver nanoparticles from *Azadirachta indica* leaf extract and its antibacterial effect on *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Arabian Journal of Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2018.07.016>
18. Müller, A., Behnsilian, D., Walz, E., Gräf, V., Hogeckamp, L., & Greiner, R. (2016). Effect of culture medium on the extracellular synthesis of silver nanoparticles using *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas jessinii*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 6, 107–115. <https://doi.org/10.1016/j.cbab.2016.02.012>
19. Narayanan, K. B., & Sakthivel, N. (2011). Extracellular synthesis of silver nanoparticles using the leaf extract of *Coleus amboinicus* Lour. *Materials Research Bulletin*, 46(10), 1708–1713. <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2011.05.041>
20. Palanisamy, S., Rajasekar, P., Vijayaprasath, G., Ravi, G., Manikandan, R., & Marimuthu Prabhu, N. (2017). A green route to synthesize silver nanoparticles using *Sargassum polycystum* and its antioxidant and cytotoxic effects: An in vitro analysis. *Materials Letters*, 189, 196–200. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2016.12.005>
21. Pallela, P. N. V. K., Ummey, S., Ruddaraju, L. K., Pammi, S. V. N., & Yoon, S. G. (2018). Ultra Small, mono dispersed green synthesized silver nanoparticles using aqueous extract of *Sida cordifolia* plant and investigation of antibacterial activity. *Microbial Pathogenesis*, 124(December 2017), 63–69. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.08.026>
22. Ping, Y., Zhang, J., Xing, T., Chen, G., Tao, R., & Choo, K. H. (2018). Green synthesis of silver nanoparticles using grape seed extract and their application for reductive catalysis of Direct Orange 26. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2017.09.009>
23. Pugazhendhi, S., Palanisamy, P. K., & Jayavel, R. (2018). Synthesis of highly stable silver nanoparticles through a novel green method using *Mirabilis jalapa* for antibacterial, nonlinear optical applications. *Optical Materials*, 79(March), 457–463. <https://doi.org/10.1016/j.optmat.2018.04.017>
24. Ramkumar, V. S., Pugazhendhi, A., Gopalakrishnan, K., Sivagurunathan, P., Saratale, G. D., Dung, T. N. B., & Kannapiran, E. (2017). Biofabrication and characterization of silver nanoparticles using aqueous extract of seaweed *Enteromorpha compressa* and its biomedical properties. *Biotechnology Reports*, 14, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2017.02.001>
25. Sagar, G., & Ashok, B. (2012). Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Aspergillus niger* and Its Efficacy Against Human Pathogens. *European Journal of Experimental Biology*, 2(5), 1654–1658.
26. Selvam, K., Sudhakar, C., Govarthanan, M., Thiyagarajan, P., Sengottaiyan, A., Senthilkumar, B., & Selvankumar, T. (2016). Eco-friendly biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using *Tinospora cordifolia* (Thunb.) Miers and evaluate its antibacterial, antioxidant potential. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 10(February), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2016.02.005>
27. Swamy, M. K., Akhtar, M. S., Mohanty, S. K., & Sinniah, U. R. (2015). Synthesis and characterization of silver nanoparticles using fruit extract of *Momordica cymbalaria* and assessment of their in vitro antimicrobial, antioxidant and cytotoxicity activities. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 151, 939–944. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.07.009>
28. Vishwasrao, C., Momin, B., & Ananthanarayan, L. (y.y.). Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Sapota Fruit Waste and Evaluation of Their Antimicrobial Activity. *Waste and Biomass Valorization*, 0. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0230-0>