

**T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**RENK DEĞİŞİMİ TABANLI NANOBİYOSENSÖRLERİN  
ÜRETİMİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ŞEYMA GÖNER**

**DENİZLİ, MAYIS - 2023**

**T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**



**RENK DEĞİŞİMİ TABANLI NANOBİYOSENSÖRLERİN  
ÜRETİMİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ŞEYMA GÖNER**

**DENİZLİ, MAYIS - 2023**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

**ŞEYMA GÖNER** tarafından hazırlanan “**RENK DEĞİŞİMİ TABANLI NANOBIYOSENSÖRLERİN ÜRETİMİ**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 29.05.2023 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman

Doç. Dr. Şükrü Gökhan ELÇİ

.....

Üye

Doç. Dr. Aslı SEMİZ

Pamukkale Üniversitesi

.....

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Sema Demirci UZUN

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi

.....

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun  
..... tarih ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....

Prof. Dr. Yusuf ÖNER

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

**Bu tez çalışması Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2021FEBE075 nolu proje ile desteklenmiştir.**

**Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.**

**ŞEYMA GÖNER**

## ÖZET

### RENK DEĞİŞİMİ TABANLI NANOBİYOSENSÖRLERİN ÜRETİMİ

#### YÜKSEK LİSANS TEZİ

ŞEYMA GÖNER

### PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

#### BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. ŞÜKRÜ GÖKHAN ELÇİ )

DENİZLİ, MAYIS 2023

Günümüzde sanayi ve tarımsal faaliyetlerin hızla gelişmesiyle birlikte çevresel atıkların birikimi de artmaktadır. İnsan popülasyonundaki artış, çeşitli kimyasal ve ilaçların kullanımının artması çevrede ağır metal birikimine neden olmaktadır. Ağır metaller çevre ve canlı yaşamı üzerinde olumsuz etkilere sahiptir ve besin zinciri yoluyla insan vücudunda kolayca birikerek toksik etkilere neden olurlar. Su, hava, toprak ortamlarında birikerek canlı sistemini tehdit eden ağır metal iyonları arasında en önemli toksik etki cıvaya aittir.  $Hg^{2+}$  iyonu, suda çözünürlüğünün yüksek olması nedeniyle su kirliliğine neden olur. Deniz mahsulleri tüketimi ile insan vücudunda kolayca birikebilir ve insan sağlığını tehdit eder. Ağır metallerin toksik etkilerinden dolayı ekolojik ve biyolojik numunelerde tespit edilerek, seviyelerinin belirlenmesi önemlidir. Ağır metal tespiti geleneksel olarak cihaz tabanlı yöntemler ile gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemler istenilen metali hassas ve seçici bir şekilde tespit edebilmektedir ancak bu yöntemlerin pahalı, portatif olmaması, zaman alıcı olmaları ve eğitimli personel gerektirmesi gibi sebepleri nedeniyle hızlı ve kolay yeni yöntemlere ihtiyaç doğmuştur. Biyosensörler çeşitli uygulamalarda kullanılan, analit tespitini ve hastalık durumlarının izlenmesini kolaylaştıran sistemlerdir. Bu nedenle, çoğu konuda olduğu gibi ağır metal tespiti için de popüler olan yeni bir tespit yöntemidir. Bu tez çalışmasındaki amacımız, cıva iyonlarını tespit edebilen bir nanosensör sistemi üretmektir. Gümüş ve altın nanoparçacıkların sahip oldukları geniş renk skalası, araştırmacıların kolorimetrik sensör üretmesine olanak sağlar. Gümüş ve altın nanoparçacık yüzeyleri sitrat, sistin ve sistein yüzey grupları ile modifiye edilerek ağır metallere tepkileri incelendi. Etkileşimden kaynaklanan renk değişimleri hem çıplak gözle hem de UV-Visible Spektrofotometre ile gözlemlendi. Bu sonuçlardan elde edilen kalibrasyon eğrisine göre test edilen konsantrasyonlarda nanoparçacığın doğrusal bir yanıt verdiği ( $y = 0,00005x + 0,01394$ ,  $R^2 = 0,98249$ ) gözlemlendi. LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 14,4 nM ve 43,2 nM olarak hesaplandı. Nanosensör sistemi gerçek sistemler üzerinde test edildi ve elde edilen geri kazanım değerleri çeşme suyu için %106, göl suyu için %121,5, endüstriyel atık suyu için %112 ve deniz suyu için %98 olarak hesaplandı. Tüm sonuçlar sentezlenen CA-AgNP'nin  $Hg^{2+}$  iyonuna spesifik olarak yanıt verdiğini ve gerçek örneklerde  $Hg^{2+}$  iyonunu tespit edebileceğini göstermektedir.

**ANAHTAR KELİMELER:** Gümüş nanoparçacık, altın nanoparçacık, kolorimetrik sensör, ağır metaller, cıva, sitrat, sistin, sistein.

## ABSTRACT

### PRODUCTION OF COLORIMETRIC NANOBIOSENSORS

MSC THESIS

ŞEYMA GÖNER

PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

BIOMEDICAL ENGINEERING

(SUPERVISOR: ASSOC. PROF. ŞÜKRÜ GÖKHAN ELÇİ)

DENİZLİ, MAY 2023

Nowadays, environmental waste accumulation increases with the rapid development of industrial and agricultural activities. The increase in the human population and the increase in the use of various chemicals and drugs cause heavy metal accumulation in the environment. Heavy metals have adverse effects on the environment and living life, and they accumulate easily in the human body through the food chain leading to toxic effects. Among the heavy metal ions that accumulate in water, air, and soil environments, mercury threatens the living system due to its high toxicity.  $Hg^{2+}$  ion causes water pollution due to their high solubility in water. The consumption of seafood leads to the accumulation of mercury, thus threatening human health. Due to the toxic effects of heavy metals, it is critical to determine their levels by detecting them from ecological and biological samples. The conventional methods for heavy metal detection are based on the use of instruments. These instrumental methods can analyze the desired metal sensitively and selectively, but these methods are expensive, not portable, time-consuming, and require trained personnel. For these reasons, a rapid and easy method is required for the analysis of these metals. Biosensors are systems used in various applications, facilitating analyte detection, and monitoring of disease states. Therefore, it is a popular new detection method for heavy metal detection, as in most subjects. Our aim in this thesis is to produce a nanosensor system to detect mercury ions. Silver and gold nanoparticles were investigated because of their special properties for the nanosensor system. The wide color scale of these particles allows researchers to produce colorimetric sensor systems. Silver and gold nanoparticle surfaces were modified with citrate, cystine, and cysteine surface groups, and their response to heavy metals was examined. Color changes resulting from the interaction were observed both with the naked eye and a UV-Visible Spectrophotometer. According to the calibration curve obtained from these results, a linear response of the nanoparticle was observed at the tested concentrations ( $y = 0.00005x + 0.01394$ ,  $R^2 = 0.98249$ ). LOD and LOQ values were found to be 14.4 nM and 43.2 nM, respectively. The nanosensor system was tested on real systems, and the recovery values obtained were 106% for tap water, 121.5% for lake water, 112% for industrial water, and 98% for seawater. All results showed that the synthesized CA-AgNP responds specifically to the  $Hg^{2+}$  ion and can detect the  $Hg^{2+}$  ion in real samples.

**KEYWORDS:** Silver nanoparticle, gold nanoparticle, colorimetric sensor, heavy metals, mercury, citrate, cystine, cysteine.

# İÇİNDEKİLER

Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iii</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....	<b>v</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b> .....	<b>vi</b>
<b>KISALTMALAR LİSTESİ</b> .....	<b>vii</b>
<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>ix</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1 Nanoteknoloji Hakkında Temel Bilgiler .....	1
1.1.1 Nanoteknolojinin Tarihçesi .....	3
1.1.2 Nanoteknolojide Altın ve Gümüş Kullanımı .....	6
1.1.3 Altın ve Gümüş Nanoparçacık Tarihi .....	7
1.1.4 Altın ve Gümüş Nanoparçacığın Özellikleri .....	8
1.1.5 Altın ve Gümüş Nanoparçacığın Üretimi .....	10
1.2 Sitrat, Sistin ve Sistein Hakkında Genel Bilgiler .....	11
1.2.1 Sistein.....	11
1.2.2 Sistin .....	12
1.2.3 Sitrat.....	13
1.3 Ağır Metaller .....	14
1.3.1 Ağır Metallerin Geleneksel Tespit Yöntemleri .....	17
1.4 Biyosensörler .....	20
1.4.1 Kolorimetrik Sensörler .....	21
1.5 Tezin Amacı .....	23
<b>2. YÖNTEM</b> .....	<b>24</b>
2.1 Altın ve Gümüş Nanoparçacık Sentezi.....	24
2.1.1 Kullanılan Kimyasallar .....	24
2.1.2 Kullanılan Cihazlar .....	24
2.1.3 Sitrat Kaplı Gümüş Nanoparçacık Sentezi .....	24
2.1.4 Sistin Kaplı Gümüş Nanoparçacık Sentezi .....	25
2.1.5 Sitrat Kaplı Altın Nanoparçacık Sentezi .....	26
2.1.6 Sistin Kaplı Altın Nanoparçacık Sentezi .....	26
2.2 Nanoparçacıkların Yüzey Modifikasyonu.....	26
2.3 Parçacık Karakterizasyonu .....	27
<b>3. BULGULAR</b> .....	<b>28</b>
3.1 Metal Taraması .....	28
3.1.1 Sitrat İçeren Parçacıkların Metal Taraması .....	29
3.1.2 Sistin İçeren Parçacıkların Metal Taraması .....	31
3.2 Cıva Konsantrasyonu Ölçümleri .....	33
3.3 Yöntemin Analitik Performansı .....	35
3.3.1 Kalibrasyon Eğrisi .....	35
3.3.2 LOD ve LOQ Değerleri .....	36



3.4 Cıvanın Gerçek Örneklerde Tespiti.....	37
<b>4. TARTIŞMA .....</b>	<b>39</b>
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>44</b>
<b>6. KAYNAKLAR.....</b>	<b>47</b>
<b>7. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>64</b>

## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 1.1: Bazı biyomoleküller ve nano yapılar için nano boyut grafiği. ....	2
Şekil 1.2: Lycurgus kupası..... <b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b>	4
Şekil 1.3: Nanoparçacıkların cam/vitray renklerinin görünümüne etkisi .....	5
Şekil 1.4: Sistein amino asitinin yapısı .....	12
Şekil 1.5: Sistin peptidinin yapısı .....	13
Şekil 1.6: Trisodyum sitrat bileşiğinin yapısı .....	14
Şekil 1.7: Biyosensörü oluşturan bileşenler .....	20
Şekil 2.1: Sitrat modifiyeli gümüş nanoparçacık (CA-AgNP) sentezinin şematik gösterimi.....	25
Şekil 2.2: Farklı boyutlardaki AgNP'ler ile farklı yüzey modifikasyonuna sahip AuNP'lerin eppendorf içindeki renklerinin görüntüsü.....	27
Şekil 2.3: 30 nm CA-AgNP'ye ait TEM görüntüleri .....	27
Şekil 3.1: CA-AgNP kolorimetrik sensörüne seçilen ağır metallerin eklenmesi sonucu oluşan; a) renk değişimleri, b) UV-Visible absorbans grafiği .....	30
Şekil 3.2: 96'lık plaka üzerinde farklı boyutlardaki CA-AgNP kolorimetrik sensörlerinin ağır metallerle karşı oluşan renk değişimi sonuçları ve ölçüm şablonu. ....	31
Şekil 3.3: 96'lık plaka üzerinde sentezlenen; 1) Cyt-AuNP 2) Cyt-AgNP kolorimetrik sensörlerinin ağır metallerle karşı oluşan renk değişimi sonuçları. 3) Ölçüm şablonu metal çözeltilerinin eklenme sırasını ifade etmektedir.....	32
Şekil 3.4: 96'lık plaka üzerinde Cyt-AgNP kolorimetrik sensöründe ağır metallerle karşı oluşan renk değişimi sonuçlarına göre UV- Visible absorbans grafiği .....	32
Şekil 3.5: Cyt-AuNP kolorimetrik sensörüne seçilen ağır metallerin eklenmesi sonucu oluşan renk değişimleri. ....	33
Şekil 3.6: 30 nm CA-AgNP kolorimetrik sensörü içine farklı konsantrasyonlarda Hg <sup>2+</sup> eklenmesi sonucu oluşan; a) renk değişimleri, b) UV-Visible absorbans grafiği .....	34
Şekil 3.7: 30 nm CA-AgNP kolorimetrik sensörünün Hg <sup>2+</sup> ile etkileşiminden elde edilen kalibrasyon eğrisi.....	36
Şekil 3.8: 30 nm CA-AgNP kolorimetrik sensörünün eklemeye içermeyen ve içeren gerçek örnekler üzerinde test edilmesi sonucu oluşan; a) UV-Visible absorbans grafiği, b) Hg <sup>2+</sup> geri kazanım değerleri .....	38

## TABLO LİSTESİ

### Sayfa

Tablo 2.1: Farklı boyutlarda CA-AgNP sentezi için gereken oranlar.....	25
Tablo 4.1: Cıva tespitine yönelik literatürde kullanılmış Ag ve AuNP sistemleri .....	40
Tablo 4.2: Ağır metal tespitine yönelik literatürde kullanılmış sitrat kaplı AgNP'ler.. ..	42

## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>µl</b>	:	Mikrolitre
<b>µM/ uM</b>	:	Mikromolar
<b>AAS/AES:</b>	:	Atomik Absorpsiyon/Emisyon Spektrofotometre
<b>AFM</b>	:	Atomik Güç Mikroskopu
<b>AES</b>	:	Atomik Floresans Spektrofotometre
<b>AgNO<sub>3</sub></b>	:	Gümüş Nitrat
<b>AgNP</b>	:	Gümüş Nanoparçacık
<b>ANSI</b>	:	Amerikan Ulusal Standartlar Enstitüsü
<b>ANSI-NSP:</b>	:	Amerikan Ulusal Standartlar Enstitüsü – Nanoteknoloji Standartları Paneli
<b>As</b>	:	Arsenik
<b>ASTM:</b>	:	Amerikan Test ve Malzeme Kurumu
<b>AuNP</b>	:	Altın Nanoparçacık
<b>Ba</b>	:	Baryum
<b>CA</b>	:	Sitrat
<b>Ca</b>	:	Kalsiyum
<b>Cd</b>	:	Kadmiyum
<b>CDC</b>	:	Hastalık Kontrol Merkezi
<b>Co</b>	:	Kobalt
<b>Cr</b>	:	Krom
<b>CTEM</b>	:	Yüksek Kontrastlı Geçirimli Elektron Mikroskopu
<b>Cu</b>	:	Bakır
<b>CuNP</b>	:	Bakır Nanoparçacık
<b>Cys</b>	:	Sistein
<b>Cyt</b>	:	Sistin
<b>EPA</b>	:	Amerikan Çevre Koruma Ajansı
<b>EQS</b>	:	Çevre Kalite Standartları
<b>FAO</b>	:	Ortak Gıda ve Tarım Örgütü
<b>Fe</b>	:	Demir
<b>HAuCl<sub>4</sub></b>	:	Kloraurik Asit
<b>Hg</b>	:	Cıva
<b>HgCl<sub>2</sub></b>	:	Cıva Klorür
<b>HPLC</b>	:	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
<b>IBM</b>	:	Uluslararası İş Makineleri Şirketi
<b>ICP-MS</b>	:	İndüktif Eşleşmiş Plazmon-Kütle Spektrofotometre
<b>ICP-OES:</b>	:	İndüktif Eşleşmiş Plazmon-Optik Emisyon Spektrofotometre
<b>IEEE</b>	:	Elektrik ve Elektronik Mühendisleri Enstitüsü
<b>ISE</b>	:	İyon Seçici Elektrot
<b>ISO</b>	:	Uluslararası Standardizasyon Örgütü
<b>K</b>	:	Potasyum
<b>LOD</b>	:	Tespit Limiti
<b>LOQ</b>	:	Ölçüm Limiti
<b>LSPR</b>	:	Lokalize Yüze Plazmon Rezonans
<b>Mg</b>	:	Magnezyum
<b>ml</b>	:	Mililitre
<b>Mn</b>	:	Manganez

<b>Na</b>	:	Sodyum
<b>NAA</b>	:	Nötron Aktivasyon Analizi
<b>NaBH<sub>4</sub></b>	:	Sodyum Borohidrür
<b>NaOH</b>	:	Sodyum Hidroksit
<b>Ni</b>	:	Nikel
<b>nm</b>	:	Nanometre
<b>nM</b>	:	Nanomolar
<b>Pb</b>	:	Kurşun
<b>ppb</b>	:	Milyarda bir (parts per billion)
<b>SEM</b>	:	Taramalı Tünel/Elektron Mikroskopu
<b>SPM</b>	:	Taramalı Prob Mikroskopu
<b>STM</b>	:	Taramalı Tünelleme Mikroskopu
<b>TEM</b>	:	Geçirimli Elektron Mikroskopu
<b>TSC</b>	:	Trisodyum Sitrat
<b>UV-Vis</b>	:	UV-Visible Spektrofotometre
<b>WHO</b>	:	Dünya Sağlık Örgütü
<b>XRF</b>	:	X-Işını Floresans Spektrofotometre
<b>Zn</b>	:	Çinko

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca akademik bilgisini ve deneyimlerini benimle paylaşan, her konuda her zaman benimle ilgilenip bana yardımcı olan, desteğini esirgemeyen sevgili danışman hocam Doç. Dr. Şükrü Gökhan ELÇİ'ye; tez çalışmalarım sırasında laboratuvarımı bizlere açan Kimya Bölüm Başkanlığına ve Analitik Kimya Anabilim Dalı Başkanlığına; tez çalışması için maddi destek sağlayan Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne; uzaktan da olsa her koşulda bana destek olan sevgili arkadaşlarım Kutay Bulut, Fatma Nur Bedeloğlu, Fatma Kurul, Feryal Sunar, Eda Karataş, Cansu Oğuzhan ve Aysu Yiğit'e; hayatım boyunca her kararında beni destekleyen, en zor anlarımda ayağa kalkmamı sağlayan, sonsuz sevgilerini her zaman hissettiren canım aileme sonsuz teşekkür ederim.

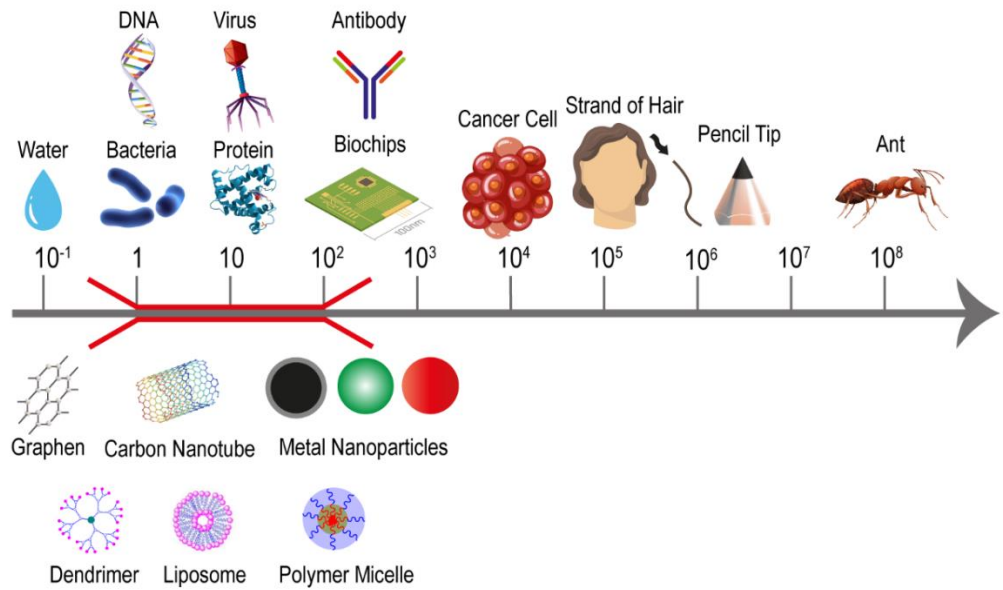
# 1. GİRİŞ

## 1.1 Nanoteknoloji Hakkında Temel Bilgiler

Nanobilim, nanoteknoloji ve nanomalzeme günümüzde hem bilimsel alanda hem de günlük yaşamda sıklıkla karşılaştığımız terimlerdir. Nanomalzemelerin tarihi Big Bang (Büyük Patlama) sonrasına kadar dayanır. Bu olay sonrası birçok nanoyapı meydana gelmiştir. Yakın zamanda nanomalzemeler araştırmacıların dikkatini çekmiş ve nanoteknoloji alanında çalışmalar başlamıştır (Sudha ve diğerleri, 2018).

Nanomalzeme ve nanoparçacık için birden fazla tanımlama mevcuttur. Nanoteknoloji standartlarıyla ilgilenen birçok uluslararası kuruluş bulunmaktadır. IEEE (Elektrik ve Elektronik Mühendisleri Enstitüsü) gibi diğer kuruluşlar bu alana katılmış olsa da, ISO (Uluslararası Standardizasyon Örgütü) ve ASTM'nin (Amerikan Test ve Malzeme Kurumu) önemli bir rol oynadığı kabul edilmektedir. ISO tarafından nanomalzeme ve nanoparçacık için tanımlamalar yapılmıştır. Buna göre nanomalzeme herhangi bir boyutu (dış yapı, iç yapı veya yüzey yapısı) nano ölçekte (1-100 nm) olan nanoyapılara; nanoparçacık ise üç boyutu birden nano ölçekte (1-100 nm) olan nanoyapılara verilen isim olarak tanımlanmıştır. ANSI (Amerikan Ulusal Standartlar Enstitüsü) tarafından bir dizi öncelik grubu bildiren Nanoteknoloji Standartları Paneli (ANSI-NSP) yapılmıştır. Nanoteknoloji standardizasyonu için bu öncelik grupları dört başlık altında toplanmıştır. Bunlar: malzeme bileşimi ve özellikleri için terminoloji; nanobilim ve teknoloji için terminoloji; analiz metrolojisi ve standart test yöntemleri; toksisite etkileri, çevresel etkiler ve risk değerlendirmesi şeklindedir. ANSI standart terminolojileri de dört ana gruba ayırmış ve bu bileşenler, terimleri bileşim ve özelliklere göre düzenlemek; nanobilim ve nanoteknoloji için evrensel sözlükler; analiz teknikleri ve zararlı etkiler; risk değerlendirmesi olarak sınıflandırılmıştır. Tüm bunlara göre nanoteknoloji terimleri için uluslararası kabul görmüş tek bir tanım mevcut değildir (Sudha ve diğerleri, 2018).

Bu durumu basit ve genel bir deyiş indirmek gerekirse nanoyapılar, nano boyutta olan maddelere verilen isimdir. Nano boyut metrenin bir milyarda biri olan ölçektir. Nanomalzeme terimi bir boyutu 100 nm altında olan malzemeler için kullanılırken; nanoparçacık ise her üç boyutu da 100 nm'nin altında olan nanomalzemeler için kullanılan isimdir. Karşılaştırma için gerçek hayattan örnekler verilirse insan saç telinin 1 tanesi 60000 nm (Şekil 1.1), DNA çift sarmalının çapı ise 2,5 nm boyutundadır (Bayda ve diğerleri, 2019).



**Şekil 1.1:** Bazı biyomoleküller ve nanoyapılar için nano boyut grafiği (Şekil üzerindeki öğeler <https://www.vecteezy.com> ve <https://www.freepik.com> (15.04.2023) sitelerinden alınmıştır.).

Nanoteknoloji 21.yüzyılın en önemli teknolojisidir. Ortaya atılmış nanobilim teorilerinin faydalı ve kullanılabilir uygulamalara dönüşebilmesi için maddeyi nanometre ölçeğinde gözlemlemek, ölçmek, modifiye etmek, birleştirmek, kontrol etmek ve üretmek gerekmektedir (Bayda ve diğerleri, 2019). Malzemeler nano boyuta geçince farklı spesifik özellikler kazanır. Nanomalzemelerin bu özelliklerine örnek olarak optik, mekanik, manyetik, iletkenlik vb. verilebilir. Aynı malzemeye ait farklı boyutlarda bile kazanılan özellikler değişebilir. Nanoparçacıkların özelliklerini daha iyi anlamak, gelecekteki kullanımlarının önünü açmak ve yaşam standartlarını arttıracak potansiyelinin değerlendirilmesi açısından oldukça önemlidir (Sudha ve diğerleri, 2018).



Nanoteknoloji, malzemelerin herhangi bir alanda, istenilen şekilde modifiye edilerek spesifik ve karakteristik özelliklere ulaşmak için malzemelerin atomik/nano düzeyde hazırlanmasını içerir. Doğal süreçlerin çoğu nano düzeyde gerçekleşir. Nanoteknolojinin ve biyolojinin kombinasyonu ile tıbbi sorunlar ve hastalıkların tanı tedavisindeki çoğu sorun çözülmüştür. Sağlık ve tıp alanı için büyük bir devrim niteliğinde olan nanoteknolojide nanoparçacıkların önemi büyüktür. Nanoteknoloji daha çok görüntüleme, algılama, ilaç iletimi, gen taşıma sistemleri ve yerleşik implantlarda kullanılmaya başlanmıştır. Bahsedilen spesifik işlemler için küçük malzemeler gerektiğinden nanoparçacıklar büyük önem kazanmıştır (Shrivastava ve diğerleri, 2007).

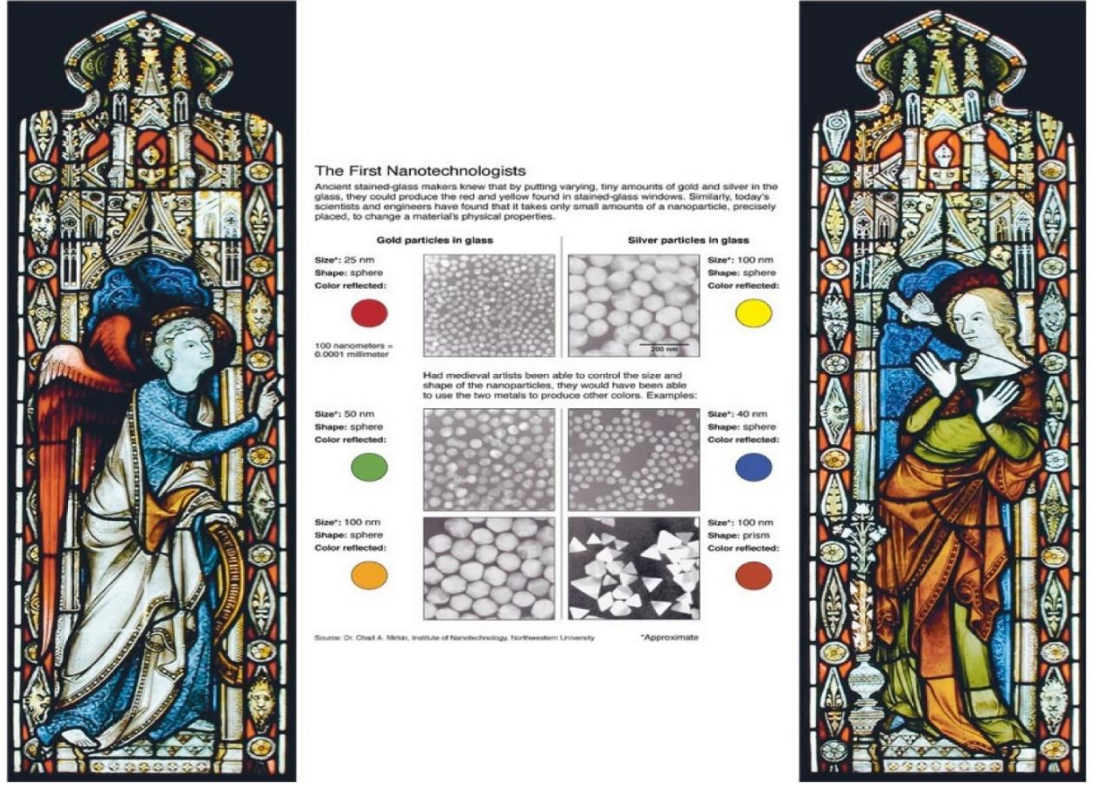
### **1.1.1 Nanoteknolojinin Tarihçesi**

Nanobilimin keşfi M.Ö. 5. yüzyıla Yunanlara ve Democritus'a kadar dayanır (Bayda ve diğerleri, 2019). Nanoteknoloji, nanobilim, nanoparçacık gibi terimlerde geçen nano kelimesi Yunanca "çok kısa adam/cüce" anlamına gelen "nannos" kelimesinden gelmektedir (Sudha ve diğerleri, 2018). İngiliz Müzesi'nde bulunan Lycurgus kupası (Şekil 1.2) antik dönemden kalan en önemli objelerden biridir. En eski ve en popüler dikronik bardak örneğidir. Dikronik bardaklar iki ayrı cam özelliği bulundurur; bu sayede ışığın yönelimine göre bardak renk değiştirir. Kısaca bu bardak iki farklı renkte görülmektedir; bardağa doğrudan ışık geldiğinde yeşil renkli görünürken ışığı doğrudan almadığı durumlarda kırmızı-mor renkte görünür (Bayda ve diğerleri, 2019).



**Şekil 1.2:** Lycurgus kupası (Sudha ve ark. 2018, <https://www.amusingplanet.com/2016/12/lycurgus-cup-piece-of-ancient-roman.html> sitesinden alınmıştır.).

Bilim adamları tarafından bardağın dikronik özelliğinin araştırılması 1990 yılında TEM kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İki renkli dikronik bardaktan elde edilen sonuçlara göre bardağı oluşturan nanoparçacıkların 50-100 nm boyutunda olduğu bulunmuştur. X-Ray analizi ise bardağın büyük çoğunluğunu gümüş-altın nanoparçacıkların oluşturduğunu, bu parçacıkların 7:3 (Ag: Au) oranında bulunarak, bardak matriksinde %10 oranında bakır nanoparçacık (CuNP) bulunduğunu göstermiştir. Altın nanoparçacıktan (AuNP) kaynaklanan kırmızı renk için absorptans değeri yaklaşık 520 nm değerinde bulunmuştur. Kırmızı-mor renk daha büyük boyutlu parçacıklarının absorpsiyonuna bağlı olup; yeşil renk boyutu 40 nm'den küçük olan gümüş nanoparçacıklarının (AgNP) koloidal dispersiyonlarının absorpsiyonundan kaynaklanır (Bayda ve diğerleri, 2019).



**Şekil 1.3:** Nanoparçacıkların cam/vitray renklerinin görünümüne etkisi (The New York Times 2005, [https://archive.nytimes.com/www.nytimes.com/imagepages/2005/02/21/science/20050222\\_NANO1\\_GRAPHIC.html](https://archive.nytimes.com/www.nytimes.com/imagepages/2005/02/21/science/20050222_NANO1_GRAPHIC.html)).

Vitray sanatı 9. ve 17. yüzyıllar arasında İslam dünyasında, sonrasında ise Avrupa'da devam eden ve popüler hale gelen bir sanattır (Şekil 1.3). Vitray sanatında camda istenilen renklerin elde edilmesi Ag, Cu veya farklı nanoparçacıklar ile sağlanmıştır. Rönesanstan sonra İtalya'da da nanoparçacık kullanımı devam etmiş ve Osmanlı tekniklerinden esinlenilmiştir. Şam kılıç bıçaklarının üretiminde güç, esneklik ve keskin bir kenar tutma yeteneği sağlamak için sementit nanoteller ve karbon nanotüpler kullanılmıştır (Reibold ve diğerleri, 2006). Bu renkler ve malzeme özellikleri yüzyıllardır üretilmelerine rağmen bu nedenlerin etkileri yıllar sonra anlaşılmıştır (Bayda ve diğerleri, 2019).

Faraday 1857 yılında kolloidal süspansiyon özelliği gösteren Ruby altını hazırlamıştır. Ruby, eşsiz elektronik ve optik özellikleri ile en çok ilgi çeken nanoparçacık haline gelmiştir. Faraday AuNP'nin ışık kaynağı altında farklı renklerde çözeltiler oluşturabildiğini keşfetmiştir (Bayda ve diğerleri, 2019).

Nanoteknolojide modern teknikler 1981 yılında IBM (Uluslararası İş Makineleri Şirketi) Zurich Araştırma Laboratuvarı'ndan fizikçi Gerd Binnig ve

Heinrich Rohrer'in tasarladığı STM'nin (Taramalı Tünelleme Mikroskobu) Feynman tarafından kullanılmasıyla başlamıştır. Bu cihazın tasarımı, AFM (Atomik Kuvvet Mikroskobu) ve SPM (Taramalı Prob Mikroskobu) gibi cihazların üretimine ışık tutmuştur. Karbon tabanlı nanomalzemeler (karbon nanotüp, karbon küreler, fullerenler (buckyball)) 1985 yılında; boyutları 10 nm'den daha küçük olan C-dot'lar (karbon noktacıkları) ve grafen ise 2004 yılında keşfedilmiştir. C-dot'lar boyutları, düşük toksisite seviyesi ve biyolojik uyum özellikleri sayesinde oldukça ilgi gören biyogörüntüleme, biyosensör ve ilaç taşınımı gibi alanlarda kullanılabilecek favori malzeme haline gelmiştir. Grafenin keşfi ile karbon tabanlı malzemeler bilim ve mühendisliğin her alanında temel malzeme haline gelmiştir (Bayda ve diğerleri, 2019).

Nanoteknoloji ve nanomalzeme biliminin gelişmesiyle birlikte çevresel ve biyomedikal uygulamalarda nanoparçacıklar (NP'ler)(Howes ve diğerleri, 2014; Shetti, Bukkitgar ve diğerleri, 2019a, 2019b; W. Zhang ve diğerleri, 2017), kuantum noktaları (QD'ler) (Dai ve diğerleri, 2015), karbon nanotüpler ve karbon nano elyaflar (CNT'ler/CNF'ler) (Wooten ve diğerleri, 2014, Shetti ve diğerleri, 2019; Z. Wang ve diğerleri, 2019;), nanoteller (Ho ve diğerleri, 2017), grafen (L. Wang ve diğerleri, 2017, 2018) gibi çeşitli fonksiyonel nanomalzemeler ile diğer iki boyutlu (2D) nanomalzemeler sensör tasarımlarında kullanılmaya başlanmıştır (Anichini ve diğerleri, 2018; Kumar ve diğerleri, 2019; B. Liu ve diğerleri, 2020; Shetti ve diğerleri, 2019).

### **1.1.2. Nanoteknolojide Altın ve Gümüş Kullanımı**

Günümüzde nanoteknoloji, yeni yöntemlerin keşfi için bilimsel araştırmalarda en çok ilgi çeken, kullanılan ve yatırım alan alanlardan biridir. 1 ila 100 nm boyut aralığındaki nanoyapılar nanoparçacık olarak tanımlanır ve madde nano boyutlara indirildiğinde, makro ve mikro boyutlarından farklı olarak spesifik fiziksel özellikler göstermeye başlar (ASTM E2456-06(2020), 2020). Bu fiziksel özellikler, nanoparçacıkların bulunduğu ortamın boyutundan, şeklinden ve doğasından etkilenir. Bu durum nanoparçacıkların çeşitli alanlardaki uygulamalarda modifiye edilerek kullanımına zemin hazırlar (Dreaden ve diğerleri, 2011; Eustis & El-Sayed, 2006; Huang ve diğerleri, 2007; B. Liu ve diğerleri, 2020). Biyolojik uygulamalarda AuNP

ve AgNP'ler toksik olmama, biyoyumluluk, kolay sentezlenme, boyut ve şekil ayarlanabilirliği gibi spesifik özelliklerinden dolayı diğer nanoparçacıklara göre daha çok ilgi görmüştür (El-Sayed, 2001; Jain ve diğerleri, 2006; Shukla ve diğerleri, 2005). Günümüzde bu nanoparçacıkların genomik, gen, DNA, antijen, bağışıklık tahlili, klinik çalışmalar, mikroorganizmaların ve kanser hücrelerinin tespiti ve fototermolizi, spesifik ilaç dağıtımları, biyogörüntüleme ve biyosensör gibi alanlarda çeşitli uygulamaları bulunmaktadır (Kalidasan ve diğerleri, 2013; Shah ve diğerleri, 2014). Özellikle kanser tedavisi ve ilaç dağıtım uygulamalarındaki potansiyel kullanımı ile tıp biliminde büyük ses getiren yeni yöntemlerdir (Arvizo ve diğerleri, 2010; Badwaik & Dakshinamurthy, 2012; Shah ve diğerleri, 2014; Yucai Wang ve diğerleri, 2013).

### **1.1.3. Altın ve Gümüş Nanoparçacık Tarihi**

Altın ve gümüş nanoparçacık günümüzde en çok incelenen iki nanoparçacıktır. AuNP'ler, camı renklendirmek için kolloidal altının kullanıldığı Roma döneminden beri kullanılmaktadır. Yüzyıllardır kullanılmasına rağmen Faraday'ın 1857'deki çalışmasına kadar, kolloidal altının gösterdiği farklı renklerin nedenini kimse anlayamamıştır. Richard Adolf Zsigmondy tarafından 1898'de ilk kez seyreltik çözeltide kolloidal altın hazırlanmıştır. Caltech'te çalışan fizikçi Richard P. Feynman'ın 1959'da gelecekteki yenilik ve teknolojinin anahtarının maddeyi nanoboyuta indirgemek olduğunu öne süren sunumundan sonra nanoparçacık çalışmalarına olan ilgi artmıştır (Bayda ve diğerleri, 2019).

AuNP'lerin öneminin ve bu parçacıklarla yapılabilecek çalışmaların anlaşıldığı bilim dünyasında araştırmacılar, bu parçacıkların özelliklerini ve uygulama alanlarını araştırmaya devam etmektedir. Bu sebeple son yıllarda altın nanoparçacıklar ile ilgili çalışmaların artış gösterdiği görülmektedir (Shah ve diğerleri, 2014).

AuNP'de olduğu gibi AgNP'ler de 100 yılı aşkın bir süredir farkına varılmadan fotoğrafçılık, boya ve pigment, yara tedavisi, iletken/antistatik kompozitler, katalizörler, biyositler gibi çeşitli uygulamalarda birçok alanda kullanılmakta ve ticari olarak satılmaktadır. Yıllardır terminolojideki değişiklikler bilim adamları arasında kafa karışıklığına yol açmış olsa da günümüzde nanoparçacıklar bilinmektedir. AgNP'nin bilinen en eski kullanımı Roma döneminde üretilmiş olan ve günümüze

kadar korunan Lycurgus kupasıdır. Yıllardır kullanımını sebebiyle son 120 yılda nano boyuttaki gümüşün yani AgNP'nin kimyasına yönelik literatürde birçok araştırma bulunmaktadır (Nowack ve diğerleri, 2011).

Günümüzde özellikle biyolojik uygulamalarda ve tıpta kullanımını artan AuNP ve AgNP'nin en önemli kullanım alanlarından biri de kanser tanı ve tedavisidir. Kanser terapötiklerinin bir parçası olarak nanoparçacıkların geliştirilmesi, yeni bir araştırma alanı olan kanser nanotıpını doğurmuştur. Geleneksel anti-kanser ilaçlarına kıyasla nanoparçacıklar, istenmeyen etkileri önleyen hedefe yönelik bir yaklaşım sağlar. Kanser nanotipinde altın ve gümüş nanoparçacıkların rolü oldukça önemlidir (Chugh ve diğerleri, 2018).

#### **1.1.4. Altın ve Gümüş Nanoparçacığın Özellikleri**

Altın ve gümüş nanoparçacıkların spesifik özellikleri, başta biyolojik uygulamalar olmak üzere çok sayıda uygulamanın temelini oluşturur. Bu nanoparçacıklar geleneksel yani makro boyutlardaki metallerine kıyasla benzersiz fiziksel ve kimyasal özellikler sergiler (Nowack ve diğerleri, 2011). AuNP ve AgNP'nin bilinçli olarak kullanımını diğer teknolojilere göre oldukça yeni olduğu için çevre ve canlılar üzerindeki etkileri çok net bilinmemektedir. Son çalışmalar metal nanoparçacıkların doğası gereği reaktif oksijen türlerinin üretimini indükleyerek oksidatif strese ve toksik etkiye neden olduğu yönündedir. Metal nanoparçacık kaynaklı oksidatif stres, hücrel biyomolekülleri bozarak, biyolojik ve metabolik süreçlerde dengesizliğe neden olabilir (Ulhasan ve diğerleri, 2023). Altın ve gümüş, nano boyuta indirildiğinde antibakteriyel özellik kazanır; bu özellikleri sayesinde biyolojik uygulamalarda ve tıp alanındaki çalışmalarda AgNP başta olmak üzere en çok tercih edilen nanoparçacıklardır (Nowack ve diğerleri, 2011).

AuNP ve AgNP'lerin antibakteriyel özellikleri antik çağlardan beri kullanılmakta fakat nedeni bilinmemektedir. Au, Ag veya Cu gibi metal nanoparçacıkların kolloidal çözeltileri, bakterileri yok edici özelliklere sahiptir. AgNP'lere dayalı antimikrobiyal ajanların kullanımını tıpta iyice yerleşmiştir. Gümüşün bakterisidal özellikleri, nanoparçacıkların yavaş oksidasyonu ve Ag<sup>+</sup> iyonlarının salınımı ile ilişkilidir (Krutyakov ve diğerleri, 2008). Düşük konsantrasyonlarda

AgNP, çoğu virüs ve bakteriye karşı etkilidir; Ag<sup>+</sup> iyonları hücrelerde büyük protein moleküllerine saldırdığı için mikroorganizmaların mutasyon sürecinde gümüş direnci kazanması olası değildir. Antibiyotik direncine sahip çok sayıda bakteri olduğu için bu özellikleri oldukça önemlidir (Tran ve diğerleri, 2013). Nanoparçacıklar, makro boyutlarına göre daha geniş bir yüzey alanına sahiptir. Parçacık ne kadar küçükse o kadar iyi antibakteriyel özellik sergileyebilir (Singaravelu ve diğerleri, 2007). Bu durum daha fazla zar geçirgenliği sağlayarak hücre içi süreçleri etkileyebilir (Dibrov ve diğerleri, 2002). Nanoparçacıkların antibakteriyel etkisi, boyutlarına, şekillerine ve farklı parçacık şekilleri için farklı şekilde ortaya çıkan DNA replikasyonunun inhibisyonuna bağlıdır (Pal ve diğerleri, 2007). Daha da önemlisi, daha küçük nanoparçacıklar daha iyi antibakteriyel özellikler sergiler (Slepička ve diğerleri, 2019).

Parçacıkların stabilizasyonu, yüzey kimyasına eklenen fonksiyonel grup veya ligandların fiziko-kimyasal parametrelerine, konsantrasyonuna, nanoparçacıkların yüzeyine, adsorpsiyonuna, sıvı ortamdaki çözünürlüğüne bağlıdır (Valueva ve diğerleri, 2010). Nanoparçacıkların farklı kristal yüzeyleri stabilize edilerek şekilleri kontrol edilebilir (Deori ve diğerleri, 2014; Reznickova ve diğerleri, 2017; Xia ve diğerleri, 2009; Yu & Yam, 2004). AuNP ve AgNP'lerde, nanoparçacık agregalarının oluşumunun antibakteriyel özelliği azalttığı görülmüştür. Yani antibakteriyel özellik parçacık boyutuna bağlıdır (Lok ve diğerleri, 2007; Slepička ve diğerleri, 2019).

Şimdiye kadar, birçok farklı özelliğe ve farklı kullanım alanına sahip AuNP ve AgNP şekilleri başarıyla üretilmiştir. En yaygın olan nanoparçacık küresel şekilde olup; ayrıca üçgen, çubuk, küp, yıldız, tel, çiçek vb. şekillerde de nanoparçacık üretimi yapılabilmektedir. Aynı parçacığın farklı özellikler ve farklı şekiller almasına üretim esnasında kullanılan maddelerin miktarı ve konsantrasyonu, sıcaklık, inkübasyon süresi vb. gibi reaksiyon koşulları neden olmaktadır (Compagnini ve diğerleri, 2019; Jain ve diğerleri, 2006; Kneipp ve diğerleri, 2002; Schultz, 2003). AuNP'lerin su içindeki hali yani altının kolloidal dispersiyonlarının rengi, parçacıkların şekline ve boyutuna bağlı olarak kırmızıdan maviye; AgNP'lerde ise renk geniş bir aralıkta sarıdan maviye değişir (Compagnini ve diğerleri, 2019). AuNP ve AgNP'lerin renk ve optik özellikleri, lokalize yüzey plazmon rezonansından (LSPR) kaynaklanır ve lokal dielektrik ortamlarına duyarlıdır (Sharma ve diğerleri, 2009).

Herhangi bir boyutta, belirli bir dalga boyundaki ışık metal bir yüzeye çarptığında, ışık dalgasının bir kısmı metal yüzey boyunca bir yüzey plasmonuna neden olur; yani, bir grup yüzey iletken elektronlar metal/dielektrik arayüze paralel yönde yayılır. Makro boyutlardaki bir metalde plasmon oluştuğunda elektronlar malzemede serbestçe hareket edebilir ve hiçbir etki kaydedilmez. Nanoparçacıklarda ise yüzey plasmon çok daha küçük boyutlarda lokalize olur ve küçük bir alanda senkronize bir şekilde ileri-geri salınır; bu etki LSPR olarak adlandırılır. Bu salınımın frekansı, gelen ışığın frekansı ile aynı olduğunda, plazmon ışıkla rezonans içindedir. LSPR sadece metal nanoparçacıklarda görülen bir özelliktir. LSPR, malzemenin ve çevrenin dielektrik fonksiyonuna ve nanoparçacığın şekline ve boyutuna duyarlıdır. Metal nanoparçacığın yüzeyinin bir fonksiyonel grup veya ligand ile modifiye edilmesi sonucu parçacığın LSPR enerjisi değişir. Bu özellik sayesinde parçacıklar farklı özellikler kazanır (Ding & Chen, 2016). Farklı şekil ve boyutlarda metal nanoparçacıkların spesifik özellikler kazanması, farklı uygulamalarda ve farklı alanlarda kullanımına olanak sağlar. Biyogörüntüleme, tanı, tespit, kanser tedavisi vb. uygulamalar için farklı şekil ve boyutlarda AuNP ve AgNP kullanımına başlanmıştır. Belirli uygulamalar için belirli bir şekil ve boyutta AuNP ve AgNP üretmek için çeşitli sentez yöntemleri kullanılır (Shah ve diğerleri, 2014).

### **1.1.5. Altın ve Gümüş Nanoparçacığın Üretimi**

Nanoparçacık hazırlamanın fiziksel, kimyasal, fotokimyasal ve biyolojik yöntemleri vardır. Kimyasal yöntemlerde, istenen AuNP'leri oluşturmak üzere altın iyonlarının indirgenmesi ve kaplanması için farklı kimyasal maddeler kullanılırken; fiziksel yöntemler lazer ablasyon ve elektron ışını litografisi gibi çeşitli teknikleri içermektedir. AuNP ve AgNP'lerin sentezinde "Bottom up" ve "Top down" metotları kullanılmaktadır (Lu ve diğerleri, 2016). Bottom up (aşağıdan yukarıya) yönteminde atomların istenilen büyüklüğe ulaşılan kadar bir araya toplanması; top down (yukarıdan aşağıya) yönteminde ise istenen nanoyapıyı elde etmek için toplu maddeden materyalin çıkarılması işlemi yapılır. AuNP ve AgNP sentezi için mevcut olan tüm sentez işlemleri, yukarıdaki iki yöntemden herhangi birine dayanmaktadır. Literatürde sıkça kullanılan Turkevich yöntemi, boyutları indirgeyici ajan konsantrasyonuna ve stabilize ettiği ligandın boyutuna bağlı olarak değişen tek



dağılımlı nanoparçacıklar ile sonuçlanır (Kimling ve diğerleri, 2006). Diğer yöntemlerle nanoparçacıkların stabilizasyonu, büyüme yüzeyi üzerinde organik bir tek tabaka oluşturarak, indirgeyici ajan ve stabilizatörün konsantrasyonu ile boyut ve şekil kontrol edilerek gerçekleştirilmektedir (Slepička ve diğerleri, 2019). Nanoparçacık üretimi için yukarıda verilen yöntemler ne kadar verimli ve geleceğe dönük olsa da bu sentetik yöntemler sırasında toksik reaktiflerin kullanımı ile toksik yan ürünlerin salınması, çevresel ve biyolojik güvenlik endişelerini artırarak, nanoparçacık sentezinde daha güvenilir, yeşil ve çevre dostu yöntemlerin araştırılmasını gerektirmektedir. Bu durum, AuNP ve AgNP'leri daha çevre dostu bir şekilde sentezlemek için bitkiler, meyveler, mikroorganizmalar gibi çeşitli biyolojik kaynakların kullanılması; bunlardan elde edilen biyomoleküllerin ve biyobileşenlerin farklı kombinasyonlar ile farklı spesifik özelliklerde AuNP'ler oluşturmasını amaçlar (De ve diğerleri, 2012; Migowski & Dupont, 2007; Shah ve diğerleri, 2014; Torimoto ve diğerleri, 2006).

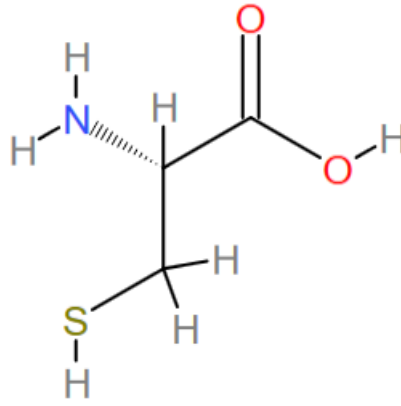
## **1.2 Sitrat, Sistin ve Sistein Hakkında Genel Bilgiler**

Bu çalışmada literatürde rastlanmamış olunmasından dolayı sistein amino asidinden oluşan ve dimeri olan sistin ile çalışıldı. TSC (Trisodyum Sitrat) çoğu AgNP üretiminde yaygın olarak kullanıldığı için de sitrat hakkında da kısa bir bilgi verilmek istenilmiştir.

### **1.2.1 Sistein**

Sistein, insanlarda sistin ile ilgili, esansiyel olmayan kükürt içeren bir amino asittir. Sistein, adını mesane anlamına gelen Yunanca kustis kelimesinden gelen sistinden almıştır. Sistein, protein sentezi, detoksifikasyon ve çeşitli metabolik fonksiyonlar için önemlidir. Tırnaklarda, deride ve saçtaki ana protein olan  $\beta$ -keratinde bulunan sistein, cilt elastikiyeti ve dokusu kadar kollajen üretiminde de önemlidir. Amino asit taurinin üretiminde de gerekli olan sistein, antioksidan glutatyonun bir bileşenidir ve koenzim A, heparin ve biyotin gibi temel biyokimyasalların metabolizmasında rol oynar. L-sistein, L konfigürasyonuna sahip optik olarak aktif bir

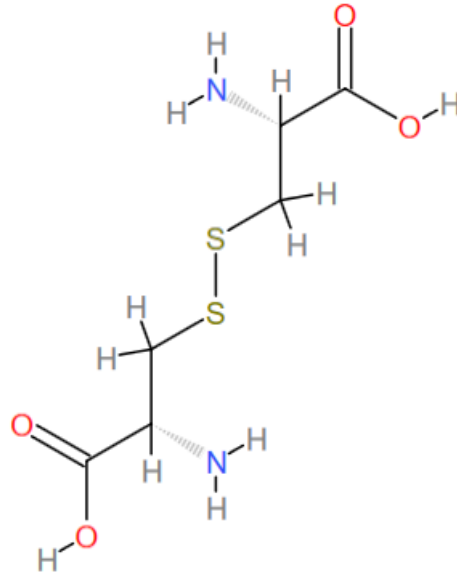
sistein formudur. Sistein, yalnızca küçük miktarlarda olmasına rağmen çoğu proteinde bulunan, doğal olarak oluşan, kükürt içeren bir amino asittir. Sistein, bir tiyol grubu içerdiğinden, yirmi doğal amino asit arasında benzersizdir (Şekil 1.4). Tiyol grupları redoks (oksidasyon/redüksiyon) reaksiyonlarına girebilir; sistein oksitlendiğinde, bir disülfid bağı ile birleştirilen iki sistein kalıntısı olan sistini oluşturabilir. Bu reaksiyon tersine çevrilebilir: bu disülfür bağına indirgenmesi iki sistein molekülünü yeniden oluşturur. Sistinin disülfid bağları, birçok proteinin yapısını tanımlamak için çok önemlidir (Mihara & Esaki, 2002; National Center for Biotechnology Information, 2023).



**Şekil 1.4.** Sistein amino asitinin yapısı (Pubchem, Cysteine Compound, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cysteine>).

### 1.2.2 Sistin

Sistin, sistein amino asitinin tiyol yan zincirlerinin oksidasyonundan elde edilen; diğer bir deyişle bir disülfid bağı yoluyla bağlanan iki sistein molekülünün birleşmesi ile elde edilen kükürt içeren bir türevidir (Şekil 1.5). Antioksidan görevi görür ve dokuları radyasyona ve kirliliğe karşı koruyarak yaşlanma sürecini yavaşlatır. Aynı zamanda protein sentezine yardımcı olur. Sistin, iskelet dokularının ve derinin birçok proteininde bol miktarda bulunur ve insülin ve sindirim enzimleri kromotripsinojen A, papain ve tripsinojende bulunur. Sistin ilk olarak böbrek taşlarından izole edilmiştir (National Center for Biotechnology Information, 2023).



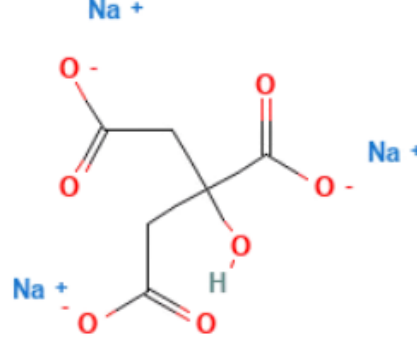
**Şekil 1.5.** Sistin peptidinin yapısı (Pubchem, Cystine Compound, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cystine>).

Kükürt biyolojik olarak aktif bir elementtir. Kükürt ve kükürt içeren bileşikler, ağır metallerin uzaklaştırılması, radikallerin yakalanması, antimikrobiyal aktivite, antioksidan ve antitümör aktivite gibi çeşitli biyolojik aktiviteler göstermiştir (Komarnisky ve diğerleri, 2003; Xie ve diğerleri, 2009). Kükürt parçacıklarının şekli ve boyutu, özelliklerini ve kullanımlarını etkileyen önemli faktörlerdir. Tiyol grubu içeren sistein amino asidi ve sistin de bu nedenle önemlidir (Xie ve diğerleri, 2009). Ayrıca, Au ve Ag gibi metal nanoparçacıkların yüzeyine kolayca bağlanabildikleri bilinmektedir.

### 1.2.3 Sitrat

Sitrat, sitrik asidin bir tuzu veya esteridir (National Center for Biotechnology Information, 2023). Trisodyum sitrat (TSC) kısaca "sodyum sitrat" olarak anılır, ancak sodyum sitrat, sitrik asidin üç sodyum tuzundan herhangi biri de olabilir (Şekil 1.6). Kimyasal formülü  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ 'dir (*Trisodium Citrate*, n.d.). Tuzlu, hafif ekşi bir tada sahiptir ve hafif bir alkalidir. Sodyum sitrat esas olarak bir gıda katkı maddesi olarak, genellikle lezzet veya koruyucu olarak kullanılır (*E331*, n.d.). Sitrik asidin metabolizmada önemli bir ara madde olduğu bilinmektedir. Sitrik asit bitki ve hayvan materyallerinde yaygın olarak bulunur (Moellering & Gruber, 1966). Au ve Ag

nanoparçacık sentezinde sıklıkla elektrostatik olarak parçacığın kararlı hale getirilmesinde kullanılır.



**Şekil 1.6.** Trisodyum Sitrat bileşiğinin yapısı (Pubchem, Sodium Citrate, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sodium-citrate>).

### 1.3 Ağır Metaller

Ağır metaller canlı sistemlerde önemli roller oynayan, besin zinciri yoluyla canlı vücudu içinde kolayca birikebilen ve çevre üzerinde ciddi toksik etkileri olan metallerdir (Ali & Khan, 2018; Ayangbenro & Babalola, 2017; Kulshreshtha, 2019; Malik ve diğerleri, 2019a)(Ali & Khan, 2018; Ayangbenro & Babalola, 2017; Kulshreshtha, 2019; Malik et al., 2019b). Sanayi ve tarımın hızla gelişmesi ve çeşitli sentetik ilaçların insan yaşamında yüksek oranda kullanımı ile su, hava ve toprak ortamları ağır metal iyonları, anyonlar, organikler, bileşikler, boyalar, ilaçlar, pestisitler, bakteriler, virüsler, gazlar vb. birçok toksik kirleticiden etkilenmektedir (Hoffman & Hennig, 2017; B. Liu ve diğerleri, 2020; West ve diğerleri, 2016). Cd, Pb, As ve Hg gibi ağır metal iyonlarının sağlık ve çevre üzerindeki potansiyel tehlikeleri nedeniyle yüksek hassasiyet ve seçicilikte tayini oldukça önemlidir (Moses OLADE, 1988; Valeur, 2000). Cd'a maruz kalma sonucunda insan böbrek, akciğer, kemik ve sinir sisteminde ciddi hasarlar oluşabilir, bu da böbrek fonksiyonlarında ve kalsiyum metabolizmasında bozulmalara, belirli kanser türlerinin görülme sıklığının artmasına neden olur (World Health Organization, 1992). Asya, Afrika ve Güney Amerika gibi kıtalar olmak üzere çeşitli ülkelerde As'ya maruz kalma sonucu oluşan

akut toksisite önemli bir sorun hale gelmiştir (Bhattacharya ve diğerleri, 2002; Smedley & Kinniburgh, 2002).  $As^{3+}$ 'ün çözünür inorganik formu, organik formundan daha yaygın ve toksiktir (Brinkel ve diğerleri, 2009).  $As^{3+}$ 'ün yeraltı sularında izin verilen arsenik seviyesi 10 ppb'dir (Shankar ve diğerleri, 2014; toshev ve diğerleri, 2019). Benzer şekilde, Pb pillerde, benzinde ve pigmentlerde geniş dağılımı ve kullanımı nedeniyle çevremizde en çok bulunan ağır metaller arasında ikinci sıradadır (Domaille ve diğerleri, 2008; Valeur, 2000). Kurşuna düşük düzeyde maruz kalmak bile sinir, üreme, kardiyovasküler ve gelişimsel sistemlerde bozukluklara neden olabilir (Needleman, 2009). Demir metabolizmasındaki genlerin mutasyona uğraması sonucu çocuklar kurşun emilimine ve birikimine karşı daha duyarlı olabilir (Hopkins ve diğerleri, 2008). Dünya Sağlık Örgütü bir içme suyunda izin verilen maksimum kurşun miktarının 10 mg/l içinde olması gerektiğini şart koşan 1996 tarihli içme suyu kılavuzunu yayınlamıştır (Vinod Kumar & Anthony, 2014; World Health Organization, 1992).

Havada, suda ve toprakta bulunan, çevreye yaygın olarak dağılmış en yaygın toksik elementlerden biri olan Hg canlıların sağlığını tehdit eden başlıca ağır metallerden biridir. Metalik, organik, inorganik olmak üzere farklı formlarda bulunan cıva fizyolojik olarak canlı yaşamını tehdit eder (Soomro ve diğerleri, 2014). Sağlık açısından risk oluşturmayan etil cıva bazı aşılarda koruyucu olarak kullanılır (WHO, 2017). Metalik cıva buharları ve organik cıva türevleri -örneğin metil cıva ( $CH_3Hg$ )-beynin birçok farklı bölgesini ve bunlarla ilişkili işlevleri etkiler; inorganik cıva kalp, böbrek, mide ve bağırsaklara zarar verebilir (Eustis & El-Sayed, 2006; Smitha ve diğerleri, 2008). İnorganik cıvanın en kararlı hali olan cıva iyonu ( $Hg^{2+}$ ), suda çözünürlüğünün yüksek olması nedeniyle çoğunlukla yüzey sularında bulunur;  $Hg^{2+}$ 'nin protein ve enzimlerdeki tiyol gruplarına yüksek afinitesi cilt, göz, beyin, böbrek ve merkezi sinir ve endokrin sistemlerindeki hücrelerde bozulmaya ve işlev kaybına yol açar (Farhadi ve diğerleri, 2012; Sung ve diğerleri, 2013; Tchounwou ve diğerleri, 2003; Vinod Kumar & Anthony, 2014). Anne karnında bebeğin gelişimini tehdit eder. Cıva bileşiklerini solumak, yutmak veya dermal olarak maruz kalmak nörolojik ve davranışsal bozukluklara sebebiyet verebilir. Semptom olarak titreme, uykusuzluk, baş ağrısı, hafıza kaybı, nöromusküler etkiler, bilişsel ve motor işlev bozukluğu örnekleri verilebilir (WHO, 2017). Bu nedenle hem çevresel hem de biyolojik numunelerdeki  $Hg^{2+}$  seviyesini yüksek hassasiyet ve seçicilikle, diğer metal

iyonlarının müdahalesi olmadan tespit edebilmek ve ölçebilmek çok önemlidir (Farhadi ve diğerleri, 2012).  $Hg^{2+}$  iyonlarının saptanması ve miktarının belirlenmesi, günlük hayatta, ekolojik dengenin korunmasında, gıda endüstrisi gibi daha birçok alanda önemlidir (Chai ve diğerleri, 2010; Farhadi ve diğerleri, 2012; Sun ve diğerleri, 2011; Sung ve diğerleri, 2013; S.-H. Wu & Chen, 2004). Son zamanlarda, ağır metal iyonlarının tayininde yaygın olarak kullanılan kemosensörler, seçici ve hassas olmaları nedeniyle büyük ilgi görmektedir (Eustis & El-Sayed, 2006; Kazuma & Tatsuma, 2013; Smitha ve diğerleri, 2008; S.-H. Wu & Chen, 2004; ZHU ve diğerleri, 2008).

Ağır metallerle ilgili bu durum, metal konsantrasyonlarını izin verilen aralıkta sınırlayarak tespitini yapabilmek, ekosistemi ve canlı yaşamını kurtarabilmek için hızlı, ucuz ve yüksek performanslı, tespit edilmek istenen metallere spesifik kolay bir izleme sisteminin geliştirilmesini gerekli kılmaktadır. Metallerin düşük konsantrasyonlarda ölçümü her ne kadar atomik absorpsiyon spektroskopisi, atomik floresans spektroskopisi, endüktif olarak eşleşmiş plazma kütle spektroskopisi vb. gibi geleneksel analitik tekniklerle oldukça hassas ve yüksek performanslı bir şekilde yapılsa da, çok maliyetlidir ve laboratuvarında yüksek düzeyde eğitilmiş personel gerektirir (Yogarajah & Tsai, 2015). Gelişmekte olan ülkelerde bu cihazları ve eğitilmiş personeli temin edebilmek için uygun altyapı bulunmamaktadır. Bu sebeple, basit ama etkili ağır metal tayini için portatif, düşük maliyetli, stabilitesi yüksek problemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Nanoteknoloji alanındaki son gelişmeler, ultra hassas algılama ve görüntüleme yöntemlerinin geliştirilmesi, nanomalzemelerin ve nanoparçacıkların uygulamaları için oldukça elverişli alanlar oluşturmuştur (Nozik, 2010; Rosi & Mirkin, 2005; Shirai ve diğerleri, 2006; Vinod Kumar & Anthony, 2014). Analitik yöntemler arasında kolorimetrik tespit, zaman ve maliyet tasarrufu olarak kullanıcılar arasında en popüler görünmektedir. Son zamanlarda, nanoparçacıklar kullanılarak yapılan problemler, piyasada bulunan ticari tespit kitlerine göre spesifik optik özelliklere sahip olmaları, düşük konsantrasyonlardaki metal iyonlarını analiz edebilme yetenekleri gibi eşsiz yeteneklerinden dolayı araştırmacılar tarafından büyük ilgi görmüştür (Moghimi ve diğerleri, 2015). Hedeflenen ağır metal iyonları ile etkileşime bağlı nanoparçacık agregasyonu oluşumu, nanoparçacık solüsyonunun orijinal rengini değiştirebilir. Bu renk değişimi, nanoparçacıklar tarafından metal iyonlarının kolorimetrik tespitinin temel prensibidir (Priyadarshini & Pradhan, 2017; C.-C. Wang ve diğerleri, 2013). Özellikle, AgNP ve AuNP bazlı kolorimetrik sensörler, bu metal

nanoparçacıkların güçlü lokalize yüzey plazmon rezonansı ve spesifik optik özellikleri nedeniyle diğer metallere oranla artan bir ilgi görmektedir (Malinsky ve diğerleri, 2001; Rosi & Mirkin, 2005; Talapin ve diğerleri, 2010; toshev ve diğerleri, 2019; Vinod Kumar & Anthony, 2014; Xiaoyang Xu ve diğerleri, 2010; X. Zhang ve diğerleri, 2020).

### 1.3.1 Ağır Metallerin Geleneksel Tespit Yöntemleri

Ağır metal iyonları çoğunlukla suda olmak üzere doğal kaynaklarda kirliliğe neden olan ve büyüyen bir çevresel sorunu oluşturan mikro kirleticilerden biridir. Ağır metal kirliliğine neden olan başlıca kaynaklara örnek olarak kozmetikler ve yan ürünleri, endüstriyel ve evsel atıklardan üretilen kimyasallar verilebilir (Callender, 2003). Çevreye salınan ağır metal iyonları biyolojik olarak parçalanamaz. Bu nedenle yüzyıllarca salındığı ortamda bulunmaya devam eder (Gong ve diğerleri, 2016). Canlı organizmalara alındığında birikme eğilimi gösterirler; biyolojik sistemlerde uzun süreli hasara neden olurlar, hücresel düzeyde biyolojik olayları bozarak kanserojen etki gösterirler ve oksidatif hasara neden olurlar (Knecht & Sethi, 2009); küçük dozları bile sinir, bağışıklık, üreme, sindirim sistemi gibi vücudun temel sistemlerinde ve organlarında çeşitli bozukluklara ve hastalıklara neden olur (Afkhami ve diğerleri, 2013; Aragay & Merkoçi, 2012; Gumpu ve diğerleri, 2015; Tag ve diğerleri, 2007; Turdean, 2011). Ağır metal iyonlarına genellikle havadan, sudan ve yiyeceklerden maruz kalan insanlarda birikimi en çok olan metal cıvadır, birikmenin ana kaynağı denizlerdeki cıva kirliliğini bünyesinde biriktiren balıkların sık tüketilmesidir (Medeiros ve diğerleri, 2011; Pujol ve diğerleri, 2014). Pb, Hg, As ve Cd başta olmak üzere bazı ağır metaller eser seviyelerde bile insan sağlığı için oldukça toksik ve tehlikelidir (B. K. Bansod ve diğerleri, 2017; Cui ve diğerleri, 2015).

İnsan ve canlı sağlığına ciddi toksik etkileri bulunan bu metal iyonlarının tespiti için hızlı, doğru ve güvenilir tekniklere gerek vardır. Özellikle doğal kaynaklarda ve içme sularında tespit edilerek miktarının belirlenmesi oldukça önemlidir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Ortak Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), ABD Çevre Koruma Ajansı (EPA), Hastalık Kontrol Merkezi (CDC) ve Avrupa Birliği gibi birçok uluslararası kuruluş, ağır metalleri öncelikli maddeler olarak nitelemiştir; çevresel kalite

standartlarını (EQS) izleyerek sudaki konsantrasyonları için izin verilen belirli limitleri izlemiş ve kan, serum, tükürük gibi biyolojik numuneler, doğal ve atık su, gıda, hava ve toprak gibi çeşitli sistemlerde ağır metal iyonlarının seviyelerinin belirlenmesi için oldukça hassas ve seçici yöntemlerin geliştirilmesi gereklidir (APHA, 2012.; Bansod ve diğerleri, 2017; The European Parliament And Of The Council, 2013.; U.S., 2009; World Health Organization, 2011).

Ağır metallerin ve spesifik olarak cıvanın tespiti için literatürde açıklanan çeşitli geleneksel yöntemler bulunmaktadır. Ağır metal iyonlarının tespiti için kullanılan teknikler; spektroskopik algılama teknikleri, elektrokimyasal algılama teknikleri ve optik algılama teknikleri olarak üç ana kategoriye ayrılabilir (Malik ve diğerleri, 2019a). Ağır metal iyonu tespiti için spektroskopik yöntemlere örnek olarak, atomik absorpsiyon spektrometrisi/atomik emisyon spektrometrisi (AAS/AES) (de Castro Maciel ve diğerleri, 2003; Suddendorf ve diğerleri, 1981; Q. Yang ve diğerleri, 2005), indüktif eşleşmiş plazma-kütle spektrometrisi (ICP-MS) (Fong ve diğerleri, 2007; Karunasagar ve diğerleri, 1998), atomik floresan spektrometrisi (AFS) (Nevado ve diğerleri, 2005), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) (Ichinoki ve diğerleri, 2004), iyon seçici elektrot (ISE) ve alev fotometrisi (Farhadi ve diğerleri, 2012; Kuswandi ve diğerleri, 2007), X-ışını floresans spektrometresi (XRF) (Sitko ve diğerleri, 2015), nötron aktivasyon analizi (NAA) ve endüktif olarak eşleşmiş plazma-optik emisyon spektrometrisi (ICP-OES) (B. K. Bansod ve diğerleri, 2017; Losev ve diğerleri, 2015) verilebilir.

Elektrokimyasal yöntemler amperometri, voltammetri, potansiyometri, elektrokimyasal empedans ve elektrokimyasal luminesans ölçümü gibi yöntemleri içerir (C. Zhu ve diğerleri, 2015). Spektroskopik yöntemlere göre maliyeti daha düşük, zamandan tasarruf sağlayan, kullanıcı dostu, güvenilir portatiftir. Yüksek seçicilik, taşınabilirlik, düşük maliyet, hızlı analiz etme ve mükemmel hassasiyete sahip Anodik Sıyırma Voltammetrisi, düşük seviyelerdeki ağır metal iyonlarının analizi için yaygın olarak kullanılmaktadır (Z.-G. Liu ve diğerleri, 2014; R.-X. Xu ve diğerleri, 2013; Yao ve diğerleri, 2014; Q.-X. Zhang ve diğerleri, 2015; Y. Zhu ve diğerleri, 2012). İki teknik kıyaslandığında elektrokimyasal teknikler basit prosedürlere izin verir kısa analiz süresi ile avantajlıdır. Optik algılama yöntemleri ise metal iyonları, geleneksel absorpsiyon, yansıma veya luminesans spektrometresi gibi yöntemleri içerir. Seçici



kromojenik reaktifler ve indikatör boyalar, genellikle belirli bir metal iyonu ile reaksiyona girdikleri optik algılama yöntemlerinde kullanılır. Ek olarak optik fiberler, bütünleşmiş optikler, kılcal tip cihazlar metal iyonlarının tespitine yardımcı olur (Malik ve diğerleri, 2019b).

Ağır metal iyonlarının tespitinin yanında özellikle en çok buldukları sulu ortamlar gibi ortamlardan uzaklaştırılması için bazı yöntemler kullanılır. Toksikitesi oldukça yüksek olan bu metallerin sulu sistemlerden uzaklaştırılması verimli ve özel yöntemler gerektirir. Çökeltme, flokülasyon, membran ayırma, iyon değişimi, buharlaştırma gibi uzaklaştırma işlemleri için kullanılacak birçok yöntem vardır. Etkinlik, duyarlılık, seçicilik ve spesifiklik/özgüllük açısından her yöntemin kendine özgü avantajları ve sınırlamaları vardır (Crini & Lichtfouse, 2019; Pujol ve diğerleri, 2014). Adsorpsiyon; düşük maliyeti, basit tasarımı ve güçlü işletilebilirliği, özellikle seyreltik çözeltilerden yüksek ayırma verimliliği nedeniyle en çok tercih edilen yöntemdir (X. Wang ve diğerleri, 2013). Bu yöntemlerde verimliliği artırmak için malzemelerin yüzeyi değiştirilebilir (Elfeky ve diğerleri, 2017; Malik ve diğerleri, 2019b; Ojemaye ve diğerleri, 2017).

Geleneksel yöntemler ağır metal iyon konsantrasyonunun eş zamanlı olarak belirlenmesi açısından çok yönlüdür; ayrıca femtomolar ( $10^{-6}$  nM) aralıkta çok düşük algılama limitleri sunar (B. Bansod ve diğerleri, 2017). Geleneksel yöntemler Hg ve diğer ağır metal iyonlarının tayini için güçlü, mükemmel sonuçlar elde edilen teknikler olmasına rağmen pahalı enstrümantasyon, uğraştırıcı ve zaman alan numune hazırlama ve zenginleştirme prosedürleri gibi nedenle alternatif teknik arayışını ve yeni yöntemlerin bulunmasını gerektirir. Bu nedenle, enstrümantal analitik araçların yerine uygun, seçici ve hassas Hg<sup>2</sup> iyon sensörlerinin kullanımına olan ilgi artmaktadır (Fan et ve diğerleri, 2010; Farhadi ve diğerleri, 2012). Ayrıca bu yöntemler sadece kantitatif analiz için uygundur ve metal iyonu türleşmesini gerçekleştirmek için diğer kromatografik yöntemlerle birleştirilmesi gerekir (Feldmann ve diğerleri, 2009). Bu durum ise depolama ve işleme sırasında numune stabilitesinin korunamayıp, değişim riskine yol açabilir (B. Bansod ve diğerleri, 2017).

Son yıllarda ağır metal iyonu tespiti için altın ve gümüş nanoparçacıklar, manyetik nanoparçacıklar, grafen ve nanokompozit gibi nanomalzemeler, duyarlılığı ve seçiciliği artırmak için sensörlerde uygulanmakta; elektrokimyasal, spektrometrik

ve kolorimetrik biyosensör araştırmalarını ilgi odağı haline getirmektedir (Y. Liu ve diğerleri, 2017).

#### 1.4 Biyosensörler

Geleneksel yöntemler ile analitlerin tespiti mükemmel doğruluk ve hassasiyet ile yapılır. Fakat bu yöntemler oldukça maliyetli, karmaşık, eğitimi ekip gerektiren ve hızlı olmayan sistemlerdir. Analitlerin, yüksek hassasiyet ve seçicilikle, hızlı tespitinin yapılabilmesi için sensör teknolojisi geliştirilmiştir (Piriya V.S ve diğerleri, 2017). Biyosensörler kısaca tespit edilmek istenen analiti, uygun bir reseptör aracılığıyla ölçerek, elde edilen sinyalin dönüştürücü yardımıyla okunabilecek hale gelmesi işlemini yaparlar (Bhalla ve diğerleri, 2016).

Biyosensörlerin tasarımı ve üretimi alanındaki araştırmalar, biyolojik bilimlerden mühendisliğe büyük ilgi uyandırmıştır. Bir biyosensör, biyolojik olarak ilgili bir hedef türü yüksek derecede kesinlik ve doğrulukla tespit edebilir (Borisov & Wolfbeis, 2008; Länge ve diğerleri, 2008; Rosi & Mirkin, 2005). Genel olarak kontrollü bir bağlanma etkileşimi ile hedeflenen türlerin saptanması, daha sonra okunabilir bir sinyal olarak iletilir. Biyosensör uygulamaları için floresans/lüminesans (Doleman ve diğerleri, 2007; Knecht & Sethi, 2009), kemilüminesans (Zhan & Bard, 2007), elektrokimyasal yöntemler (Chow ve diğerleri, 2008), kolorimetrik yöntemler gibi çeşitli sinyalleşme yöntemleri kullanılır. Analit, maliyeti düşük, basit, spesifik, hassas, kısa sürede ölçüm yapabilen bir biyosensör tarafından analiz edilebilmelidir. Biyosensörler günlük hayatta da kullanılabilceği gibi, biyolojik savaş ajanlarının savaş alanında tespitine ve ekonomik olarak sıkıntılı bölgelerde biyomedikal teşhis uygulamalarına bir yanıt olarak günümüzün modern analitik tekniklerinin yerine geçebilecek yeni sistemlerdir (Knecht & Sethi, 2009).



Şekil 2.7: Biyosensörü oluşturan bileşenler.

İdeal bir sensör seçicilik, hassasiyet, stabilite, doğruluk, kesinlik, minimum hata, tekrar üretilebilirlik, doğrusallık gibi belirli özellikleri karşılamalıdır. Bu nedenle ideale yakın, etkili bir sensör geliştirmenin zorlukları bulunmaktadır. Sensör istenilen özelliklerde tasarlanırken maliyetinin düşünülmesi de gerekir. Günümüzde mevcut teknoloji farklı üretim yöntemleri ile belirtilen zorlukları karşılamaktadır (Piriya V.S ve diğerleri, 2017).

### 1.4.1 Kolorimetrik Sensörler

Biyosensörlerin üretiminde kullanılan yöntemlerden kolorimetrik algılama yönteminde, analitin tespiti için kullanılacak sinyal, reaksiyon ortamındaki bir renk değişikliği yoluyla gerçekleştirilir (Ghosh & Pal, 2007). Bu renk değişimi gözle görülebildiği için kolorimetrik sensörler, diğer sensör tiplerine göre dönüştürücü, işleme birimi, algılama birimi gibi karmaşık birimlere ihtiyaç duymaz, bu nedenle daha avantajlıdır (Piriya V.S ve diğerleri, 2017). Kolorimetrik algılama yöntemleri, taşınabilir, basit, hızlı, yüksek hassasiyet, düşük maliyet ve ölçüm kolaylığı gibi birçok avantaja sahiptir. Nanoparçacıkların yüzey modifikasyonları, metal iyonları için nanoparçacık tabanlı kolorimetrik sensörlerin geliştirilmesinde kritik bir rol oynar (Ma ve diğerleri, 2011; Vinod Kumar & Anthony, 2014; Zhou ve diğerleri, 2012). Kolorimetrik sensörler, çeşitli analitlere karşı yüksek hassasiyet ve seçici olma özelliğindedir. Protein, DNA, patojen gibi biyomoleküller ile ağır metal iyonları, toksik gazlar ve organik bileşikler gibi kimyasal bileşiklerin tespiti için kolorimetrik sensörler kullanılır.

Nanoteknoloji, sensör teknolojisinde önemli bir rol oynamaktadır. Metal parçacıkların boyutu nano boyuta indirildiğinde, metal yüzeyinde iletken bant elektronunun kolektif salınımı nedeniyle güçlü bir UV-Visible uyarma bandı gözlenir. Alıyılmış UV-Visible bandının aksine, metal nanoparçacıkların nano boyutta kazandığı Lokalize Yüzey Plazmon Rezonans (LSPR) özelliği nedeniyle, incelenen metalin şekline, boyutuna ve bileşimine karşı aşırı hassasiyet gösterir (Kazuma & Tatsuma, 2013; Soomro ve diğerleri, 2014). Kolorimetrik sensörlerin tasarımında nano boyutta kazandıkları bu spesifik özelliklerinden dolayı özellikle Au, Ag, Cu, Fe gibi

metal nanoparçacıklar kullanılır; Au ve Ag nanoparçacıklarının optik özelliği olan LSPR özelliğinden faydalanılarak parçacık boyutu, yüzey kimyası, parçacık-analit etkileşimi, parçacık dağılımı ve agregasyonu gibi özelliklere bağlı renk değişimleri elde edilir (Piriya V.S ve diğerleri, 2017). Basit sentez tekniklerine ve çeşitli yüzey modifikasyonlarına sahiptir, bu nedenle bu nanoparçacıklar nanosensörlerde en sık kullanılan iki metaldir (Knecht & Sethi, 2009). LSPR, görünür bölgeden gelen ışıkla rezonans nedeniyle serbest elektronların toplu salınımının meydana geldiği durumdur (ZHU ve diğerleri, 2008).

Yüzey plazmon rezonansı tarafından kontrol edilen optik/kolorimetrik özellik, nanoparçacığın boyutuna, parçacıklar arası mesafeye, agregasyona, yüzeyinde bulunan fonksiyonel gruplara güçlü bir şekilde bağlıdır. Altın ve gümüş nanoparçacıkların agregasyonu kullanılarak kolorimetrik biyosensörler geliştirilebilir. Nanoparçacıkların yüzeyindeki ligandlar/fonksiyonel gruplar tarafından agregasyon kontrol edilir. Spesifik bir analit eklendiğinde, nanoparçacıklar yüzey modifikasyonu sayesinde bu analiti tanır ve analite spesifik bir bağlanma meydana gelir. Bağlanma sonucu parçacık farklı boyutlarda çökelti oluşturup, buna bağlı olarak çözelti rengi değişimi gerçekleşir (Knecht & Sethi, 2009).

Altın nanoparçacığın boyut farkına göre daha küçük nanoparçacıklar yakut kırmızısı görünürken, büyük parçacıklar veya küçük parçacıkların agregatları koyu maviden mora değişim gösterirler. Gümüş nanoparçacıkta ise küçük parçacıklar uçuk bir sarı renginde görünürken, büyük parçacıklar veya küçük parçacıkların agregatları mavimsi bir siyah gibi görünür (Daniel & Astruc, 2004; Knecht & Sethi, 2009). Örneğin 10–60 nm boyut aralığındaki Au, Ag ve Cu gibi metal nanoparçacıkları mor, sarı ve kırmızı kolloidal renklerle sırasıyla 520 nm, 400 nm ve 570 nm civarında LSPR bandı sergilerler (Eustis & El-Sayed, 2006; Smitha ve diğerleri, 2008; Soomro ve diğerleri, 2014; Sun ve diğerleri, 2011; S.-H. Wu & Chen, 2004). Bu renk değişimi etkisi, birbirine yakın parçacıklar arasındaki yüzey plazmon rezonanslarının eşleşmesinin sonucudur. Parçacıklar arasındaki mesafe azaldıkça, plazmonik eşleşmenin etkisi artar, böylece UV-Visible spektrumda plazmon bandının kırmızıya kaymasına ve çözelti renginde bir değişikliğe neden olur (Ghosh & Pal, 2007; Knecht & Sethi, 2009).

Metal nanoparçacık tabanlı kolorimetrik sensör sistemleri nispeten ucuz, üretimleri basit ve genelde belli bir analite spesifik olmaları nedeniyle gelecekte çoğu alanda kullanılabilir sistemler olarak umut vaat etmektedir (Knecht & Sethi, 2009).

## 1.5 Tezin Amacı

Bu tez çalışmasının amacı, ağır metal iyonlarının, geleneksel yöntemlere kıyasla basit, hızlı, maliyeti düşük, portatif olan kolorimetrik sensörler ile tespitinin yapılabilmesidir. Üretilen kolorimetrik sensörde reseptör olarak farklı fonksiyonel gruplar ile yüzey kimyası değiştirilen Au ve Ag metal nanoparçacıkları kullanılacaktır. Tez çalışmasında AuNP ve AgNP seçilmesine neden olarak, AgNP'nin üretim maliyetinin düşük; iki nanoparçacık için ortak özellik olarak sentezin kolay, LSPR özelliği sayesinde geniş bir renk skalasına sahip olması verilebilir. Parçacıkların sahip oldukları geniş renk skalasına ait renk değişimlerinin çıplak gözle gözlenebildiği literatürdeki çalışmalarda bildirilmiştir. Sitrata, sistein ve sistin yüzey kimyasında modifiye edilecek gruplar olarak belirlendi. Sistin grubu kaplı nanoparçacıklar da bu tez çalışmasında ilk kez sentezlenecektir.

## 2. YÖNTEM

### 2.1 Altın ve Gümüş Nanoparçacık Sentezi

#### 2.1.1 Kullanılan Kimyasallar

AgNO<sub>3</sub> ve CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, Isolab'tan; TSC, NaCl, HgCl<sub>2</sub>, BaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.3H<sub>2</sub>O, (CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>Cd.2H<sub>2</sub>O, MnSO<sub>4</sub>.4H<sub>2</sub>O, Ni(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> Merck'ten; HAuCl<sub>4</sub>, L-Sistin, L-Sistein, NaBH<sub>4</sub>, KCl, FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, CrN<sub>3</sub>O<sub>9</sub>.9H<sub>2</sub>O, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O ve Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O ABD, Sigma Aldrich'ten satın alınmıştır.

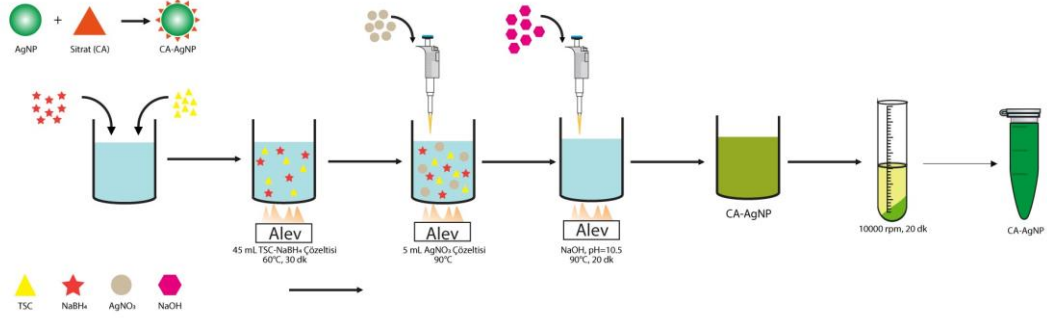
#### 2.1.2 Kullanılan Cihazlar

Nanoparçacık sentezi sırasında ısıtıcılı manyetik karıştırıcı ve santrifüj cihazı kullanıldı. Parçacık analizi ve karakterizasyonu için Shimadzu UV-1601 UV-Visible spektrofotometre cihazı ile ODTÜ merkez laboratuvarı bünyesinde yer alan FEI Tecnai G2 Spirit BioTwin CTEM markalı geçirimli elektron mikroskopu (CTEM) kullanıldı.

#### 2.1.3 Sitrat Kaplı Gümüş Nanoparçacık Sentezi

Sitrat kaplı AgNP'lerin (CA-AgNP) sentezi, kimyasal yöntemle gerçekleştirildi. Karanlık bir ortam içerisinde, ilk olarak 0,0916113 g TSC ve 0,003783 g NaBH<sub>4</sub> 100 ml'lik saf suya eklendi. Çözeltinin 90 mL'si behere aktarıldı. Bu karışımın ısıtılırken, 0,0067948 g AgNO<sub>3</sub> 10 ml'lik saf suya eklendi ve balon joje alüminyum folyo ile kapatılarak karanlık bir yere kaldırıldı. Karışımın sıcaklığı 60°C'ye getirildi ve 30 dk boyunca karıştırıldı. Bu çözeltiliye, karanlıkta 10 ml AgNO<sub>3</sub> damla damla ilave edildi ve sıcaklık 90°C'ye çıkarıldı. Karışımın, 90°C'ye gelmesiyle birlikte 0,1 M NaOH (yaklaşık 2,3 ml) eklenerek karışımın pH'ı 10,5'a getirildi. Bu koşullar altında, 20 dk daha 90°C'de karıştırma işlemine devam edildi (Agnihotri ve

diğerleri , 2014). İşlem sonunda hazırlanan CA-AgNP oda sıcaklığına getirildi. Gözlenen yeşilimsi renk, AgNP'lerinin oluşumunu gösterir. Çözelti 10000 rpm'de, 20 dk boyunca santrifüjlendi. Çökelti kısmı, saf su kullanılarak eppendorf tüpüne aktarıldı (Şekil 2.1).



**Şekil 2.1:** Sitrata kaplı gümüş nanoparçacık (CA-AgNP) sentezinin şematik gösterimi.

Benzer şekilde, 7 nm, 50 nm ve 63 nm'lik CA-AgNP sistemlerine ait sentezler literatüre (Agnihotri ve diğerleri, 2014) göre Tablo 2.1'de belirtilen miktarlar kullanılarak aynı yöntem ile sentezlendi. 30 nm için yapılan işlemler ve incelemeler bu parçacıklar için de uygulandı.

**Tablo 2.1:** Farklı boyutlarda CA-AgNP sentezi için gereken oranlar.

Parçacık Boyutu (nm)	AgNO <sub>3</sub> (g)	NaBH <sub>4</sub> (g)	TSC (g)	pH	Reaksiyon Sıcaklığı(°C)
7	0,0016987	0,007566	0,09161485	10,5	60-90
30	0,0067948	0,003783	0,09161485	10,5	60-90
50	0,002072414	0,0018915	0,051614	10,5	60-90
63	0,0033974	0,0018915	0,09135678	10,5	60-90

#### 2.1.4 Sistin Kaplı Gümüş Nanoparçacık Sentezi

Sistin kaplı AgNP (Cyt-AgNP) sentezi için CA-AgNP'ler L-sistin ile reaksiyona sokularak yüzey grupları yer değiştirildi. Sentez için 100 µl,  $2 \times 10^{-4}$  M'lık L-sistin çözeltisi 5 ml'lik CA-AgNP çözeltisine eklendi ve oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı üzerinde 2 saat boyunca karıştırılarak senteze devam edildi. Süre sonunda çözelti 10000 rpm'de 20 dk boyunca santrifüjlendi. Pelet kısmı saf su kullanılarak eppendorf tüpüne alındı.

### **2.1.5 Sitrat Kaplı Altın Nanoparçacık Sentezi**

CA-AuNP'lerin sentezi, kimyasal yöntemle gerçekleştirildi. İlk olarak 1 mM HAuCl<sub>4</sub> 250 ml'lik saf suda çözdürülerek, çözelti ısıtıcılı karıştırıcıda kaynama noktasına getirildi. Kaynama noktasına gelen çözeltiye 38,8 mM TSC içeren 25 ml'lik çözelti hızlıca eklendi. TSC'nin eklenmesiyle reaksiyon renginin önce sarıdan renksiz, ardından şarap kırmızısına döndüğü gözlemlendi. Çözelti reflux altında 15 dk daha ısıtıldı. İşlemden sonra karıştırıcıdan alınarak oda sıcaklığına getirildi (Chai ve diğerleri, 2010).

### **2.1.6 Sistin Kaplı Altın Nanoparçacık Sentezi**

Sistin kaplı AuNP (Cyt-AuNP) sentezi için CA-AuNP'ler L-sistin ile reaksiyona sokularak yüzey modifikasyonu değiştirildi. Sentez için 100 µl,  $2 \times 10^{-4}$  M'lık L-sistin çözeltisi 5 ml'lik CA-AuNP'a eklendi ve oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı üzerinde 2 saat boyunca karıştırılarak senteze devam edildi. Süre sonunda çözelti 10000 rpm'de ve 20 dk boyunca santrifüjlendi. Çökelti kısmı eppendorf tüpüne alındı.

## **2.2 Nanoparçacıkların Yüzey Modifikasyonu**

Sitrat içeren nanoparçacıkların yüzey modifikasyonu için sitratlı nanoparçacıkların yanında sentez ortamına  $2 \times 10^{-4}$  M L-sistin veya  $2 \times 10^{-4}$  M L-sistein'den 100 µl eklendi ve 2 saat boyunca çözelti karıştırıldı (Chai ve diğerleri, 2010). Bu sentez ile CA-AgNP ve CA-AuNP'nin yüzeyindeki fonksiyonel grup değiştirildi. Farklı boyutlarda ve farklı yüzey kimyasına sahip nanoparçacıklarda farklı renkler gözlemlendi (Şekil 2.2).

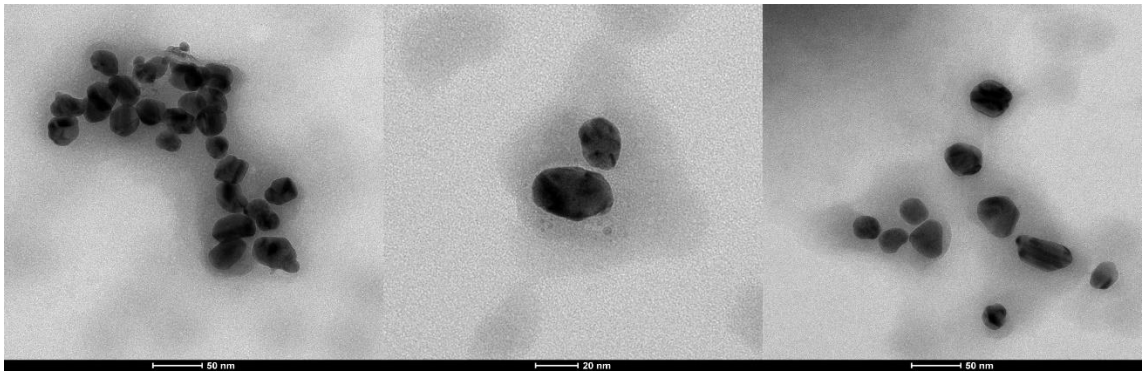




**Şekil 2.2:** Farklı boyutlardaki AgNP'ler ile farklı yüzey modifikasyonuna sahip AuNP'lerin eppendorf içindeki renklerinin görüntüsü.

### 2.3 Parçacık Karakterizasyonu

Hazırlanan AgNP'lerin ön analizi ve boyutların kontrolü için UV-Visible Spektrofotometre kullanıldı. Parçacıkların yüzey durumu, morfolojisi ve yapısı için CTEM (FEI Tecnai G2 Spirit BioTwin CTEM Mikroskop) kullanıldı. CTEM sonuçlarına göre sentezlenen parçacık boyutunun yaklaşık 30 nm olduğu belirlendi (Şekil 2.3).



**Şekil 2.3:** 30 nm CA-AgNP'ye ait TEM görüntüleri.

### 3. BULGULAR

#### 3.1 Metal Taraması

Nanoparçacıkların kolorimetrik sensör olarak ağır metal iyonlarını tespit edebilmesini incelemek amacıyla sentezlenen nanoparçacıklar ve analiz edilecek ağır metaller hazırlanarak viallerde ve plakalarda kolorimetrik sensör sistemleri kuruldu. Sensör sisteminde analit olarak metaller, reseptör olarak ise sentezlenen nanoparçacıklar kullanıldı.

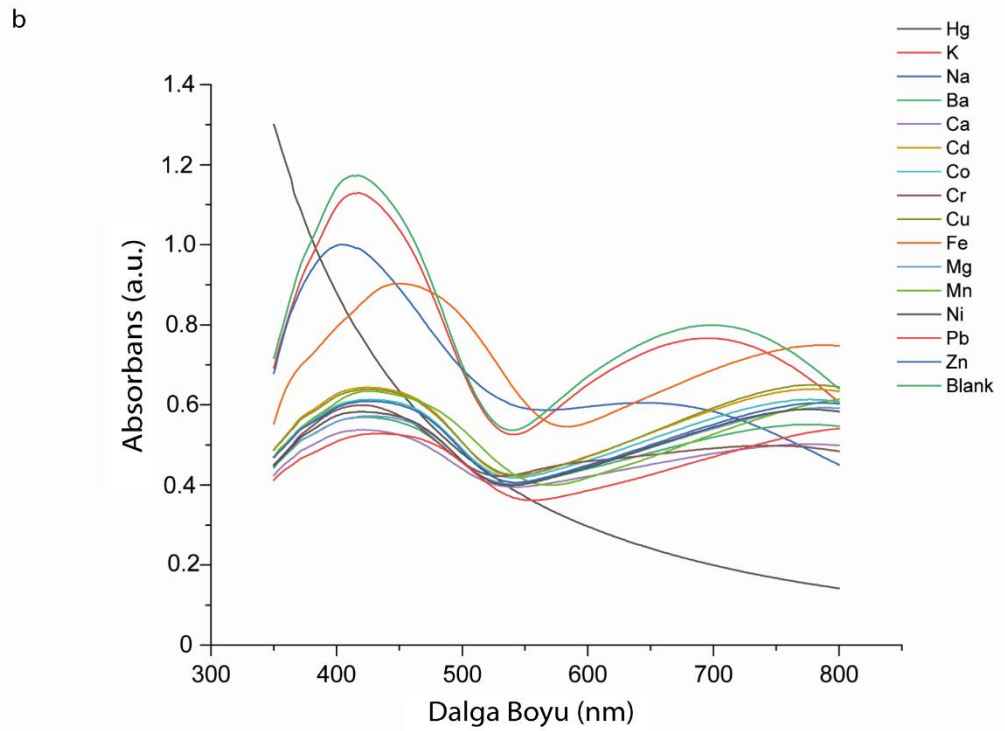
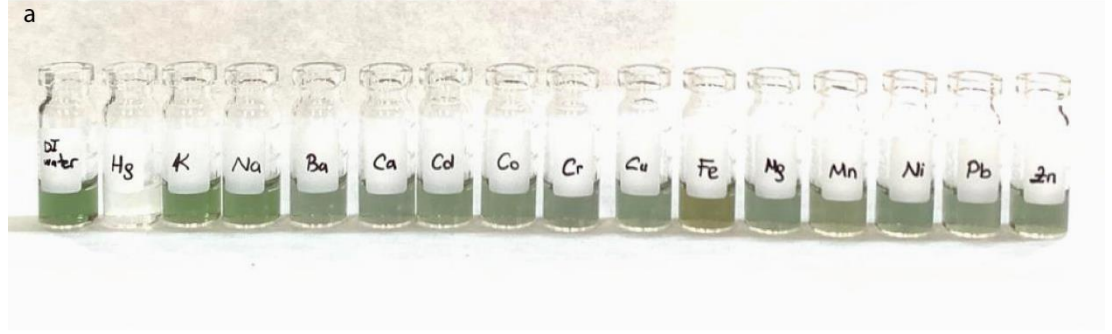
Analit olarak Na, K, Hg, Pb, Co, Fe, Cr, Mg, Cu, Mn, Ni, Ca, Ba, Zn ve Cd metalleri (bahsedilen metaller KCl, NaCl, HgCl<sub>2</sub>, FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.3H<sub>2</sub>O, CrN<sub>3</sub>O<sub>9</sub>.9H<sub>2</sub>O, Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, (CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>Cd.2H<sub>2</sub>O, CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, Ni(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, BaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, ve MnSO<sub>4</sub>.4H<sub>2</sub>O tuzları kullanılarak 20 µM olacak şekilde hazırlandı) seçildi. Reseptör olarak ise sentezlenen CA-AgNP, CA-AuNP, Cyt-AgNP ve Cyt-AuNP kullanıldı.

Viallere veya plakalara, ilk önce test örneği (nanoparçacık + saf su eklenerek hazırlanan blank çözeltisi) olacak şekilde toplamda 16 adet örnek hazırlandı. Önce gözle görülür bir renk değişimi olup olmadığı gözlemlendi. Bir veya az sayıda metale karşı renk değişimi olduğu görülen kolorimetrik nanosensör sistemlerinde UV-Visible Spektrofotometre cihazı ile absorbans grafiği incelenerek sistemin etkileşime girdiği metal ile etkileşime girmediği metal arasındaki fark incelendi. Cihazdan alınan sonuçlar ile kalibrasyon eğrisi çizdirilerek LOD ve LOQ değerleri bulundu. Ardından gerçek örnek incelemeleri ve hesaplanan geri kazanım değerleri ile sistemin doğruluğu kanıtlandı.

### 3.1.1 Sitrat İçeren Parçacıkların Metal Taraması

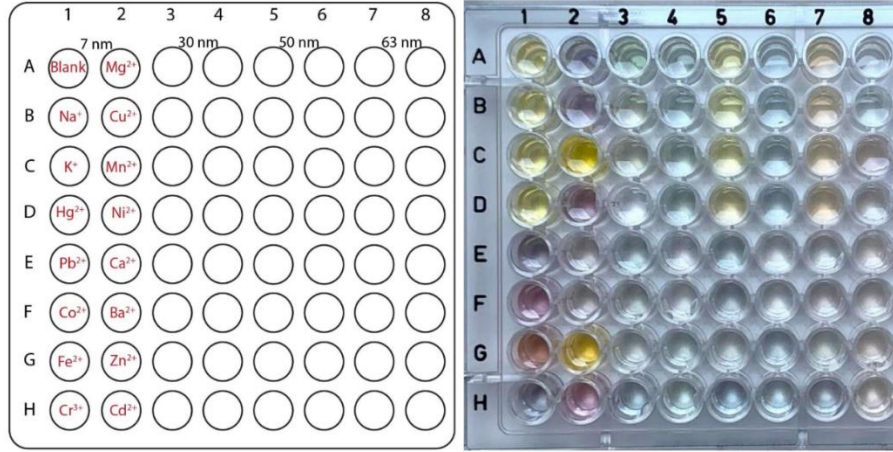
Sentezlenen sitrat nanoparçacıkların metallere etkileşimine bakmak için metal taraması yapıldı. İlk olarak nanoparçacıkların absorban değerleri UV-Visible Spektroskopisi ile ayarlandı. Sonrasında viallere ya da plakalara hacimce 1:1 oranında NP:Metal eklendi.

CA-AgNP'nin metallere karşı etkisini incelemek için viallere hacimce 1:1 oranında NP:Metal iyonu eklenerek incelendi. Viallere 500 µl AgNP ve 500 µl metal çözeltisi (20 µM) ilave edildi. Bir süre beklendikten sonra kolorimetrik sensör sistemindeki renk değişimleri incelendi. İnceleme sonucunda parçacığın yeşil renginin Hg<sup>2+</sup> ile etkileşimi sonucu renksiz, Fe<sup>2+</sup> ile etkileşimi sonucu sarıya döndüğü, diğer metallere etkileşimi sonucu ise hiç renk değiştirmediği gözlemlendi. Parçacığın Fe<sup>2+</sup> ile renk değişimi Fe<sup>2+</sup>'nin kendi sarımsı turuncu rengine bağlanırken; Hg<sup>2+</sup> ile olan renksiz dönmeye ise parçacığın Hg<sup>2+</sup>'ya spesifik olduğu şeklinde yorumlandı. Kolorimetrik incelemenin doğrulanması amacıyla UV-Visible Spektroskopi ile her bir vialdeki NP+Metal karışımının absorban pikleri incelendi. İnceleme sonucunda nanoparçacığın sadece Hg<sup>2+</sup> ile spesifik bir pik verdiği görüldü (Şekil 3.1).



**Şekil 3.1:** 30 nm CA-AgNP kolorimetrik sensörüne seçilen ağır metallerin eklenmesi sonucu oluşan; a) renk değişimleri, b) UV-Visible absorbans grafiği.

Laboratuvarında CA-AgNP 7, 30, 50 ve 63 nm boyutlarında da üretildi. Farklı boyutlardaki bu parçacıklar arasında sadece 30 nm boyutundaki CA-AgNP'nin  $Hg^{2+}$ 'ya spesifik olduğu görüldü (Şekil 3.2). Bu durumda gerçek örneklerde  $Hg^{2+}$  tespit etmek amacıyla CA-AgNP ile bir kolorimetrik nanosensör sentezlenebileceği sonucuna varıldı.



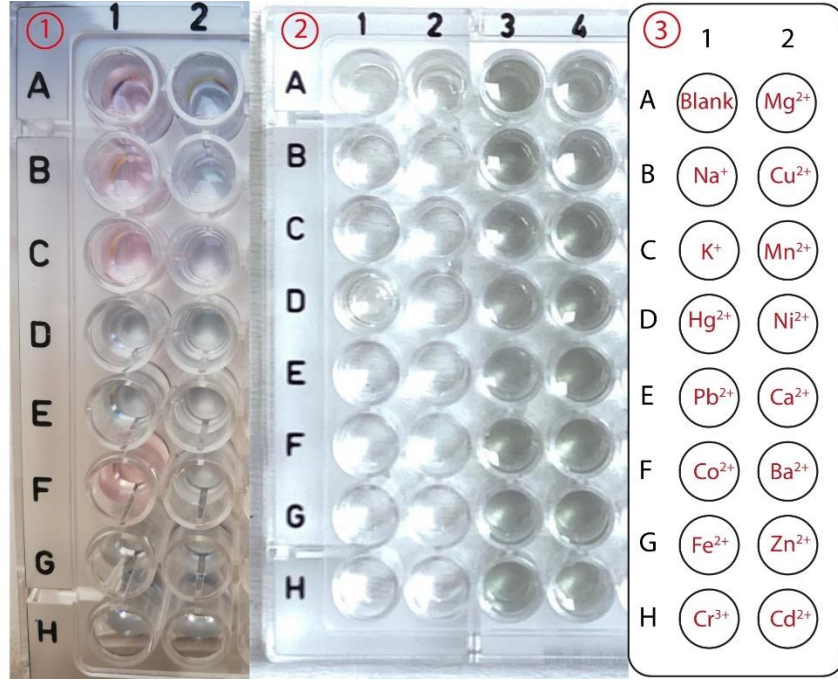
**Şekil 3.2:** 96'lık plaka üzerinde farklı boyutlardaki CA-AgNP kolorimetrik sensörlerinin ağır metallere karşı oluşan renk değişimi sonuçları ve ölçüm şablonu.

UV-Visible Spektroskopi ile CA-AuNP'nin absorpsiyon spektrumlarına bakılarak parçacığın sentezinin kontrolü yapıldı fakat bu parçacığın kolorimetrik sensör olarak incelemesi gerçekleştirilmedi. Bu şekilde CA-AuNP'nin doğru sentezlendiği ve Cyt-AuNP sentezi için kullanılabilceği sağlanmıştır.

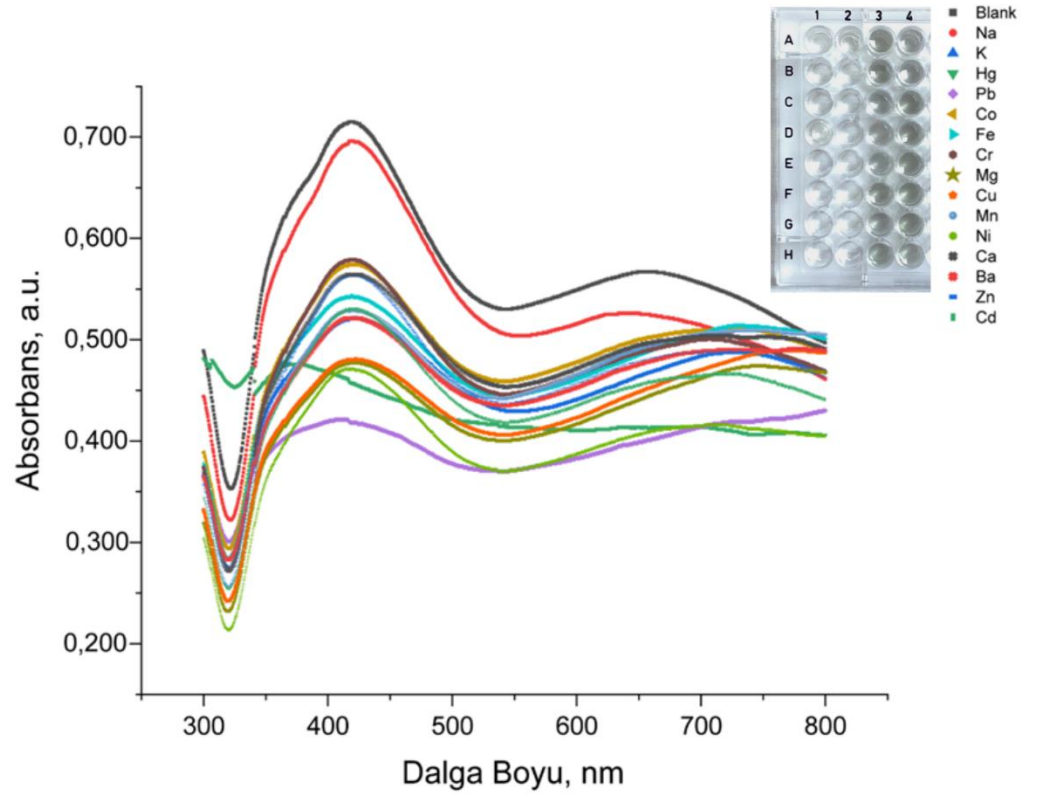
### 3.1.2 Sistin İçeren Parçacıkların Metal Taraması

Sitrat kaplı nanoparçacıklarda yapılan işlemler, sistin kaplı nanoparçacıklar için de tekrarlandı.

Cyt-AgNP'nin metallere karşı etkisini incelemek için 96'lık plakaya hacimce 1:1 oranında NP:Metal iyonu eklenerek incelendi. Viallere 150 µl AgNP ve 150 µl metal çözeltisi (20 µM) ilave edildi. Bir süre beklendikten sonra kolorimetrik sensör sistemindeki renk değişimleri incelendi. İnceleme sonucunda parçacığın grimsi renginin hiçbir metalle renk değiştirmediği gözlemlendi (Şekil 3.3). Gözle görünmeyen bir etkileşim olup olmadığının anlaşılması ve kolorimetrik incelemenin doğrulanması amacıyla UV-Visible Spektroskopi ile her bir kuyudaki NP+Metal karışımının absorpsiyon pikleri incelendi. İnceleme sonucunda parçacığın hiçbir metalle spesifik pik vermediği görüldü (Şekil 3.4).



Şekil 3.3: 96'lık plaka üzerinde sentezlenen 1) Cyt-AuNP, 2) Cyt-AgNP kolorimetrik sensörlerinin ağır metallere karşı oluşan; renk değişimi sonuçları. 3) Ölçüm şablonu metal çözeltilerinin eklenme sırasını ifade etmektedir.



Şekil 3.4: 96'lık plaka üzerinde Cyt-AgNP kolorimetrik sensöründe ağır metallere karşı oluşan renk değişimi sonuçlarına göre UV- Visible absorbans grafiği.



Cyt-AuNP'nin metallere karşı etkisini incelemek için 96'lık plakaya hacimce 1:1 oranında NP:Metal iyonu eklenerek incelendi. Viallere 150 µl AgNP ve 150 µ metal çözeltisi (20 µM) ilave edildi. Bir süre beklendikten sonra kolorimetrik sensör sistemindeki renk değişimleri incelendi. İnceleme sonucunda parçacığın mavi-mor renginin Blank, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ve Co<sup>2+</sup> dışındaki tüm metaller ile renk değiştirdiği gözlemlendi (Şekil 3.5). Parçacığın çok fazla metalle etkileşime girmesi seçici ve spesifik bir sistem olmadığı, bu nedenle kolorimetrik nanosensör olarak kullanılamayacağı şeklinde yorumlandı. Kolorimetrik incelemenin doğrulanması amacıyla UV-Visible Spektroskopi ile her bir kuyudaki NP+Metal karışımının absorbans pikleri incelendi. İnceleme sonucunda nanoparçacığın farklı pikler verdiği gözlemlendi.



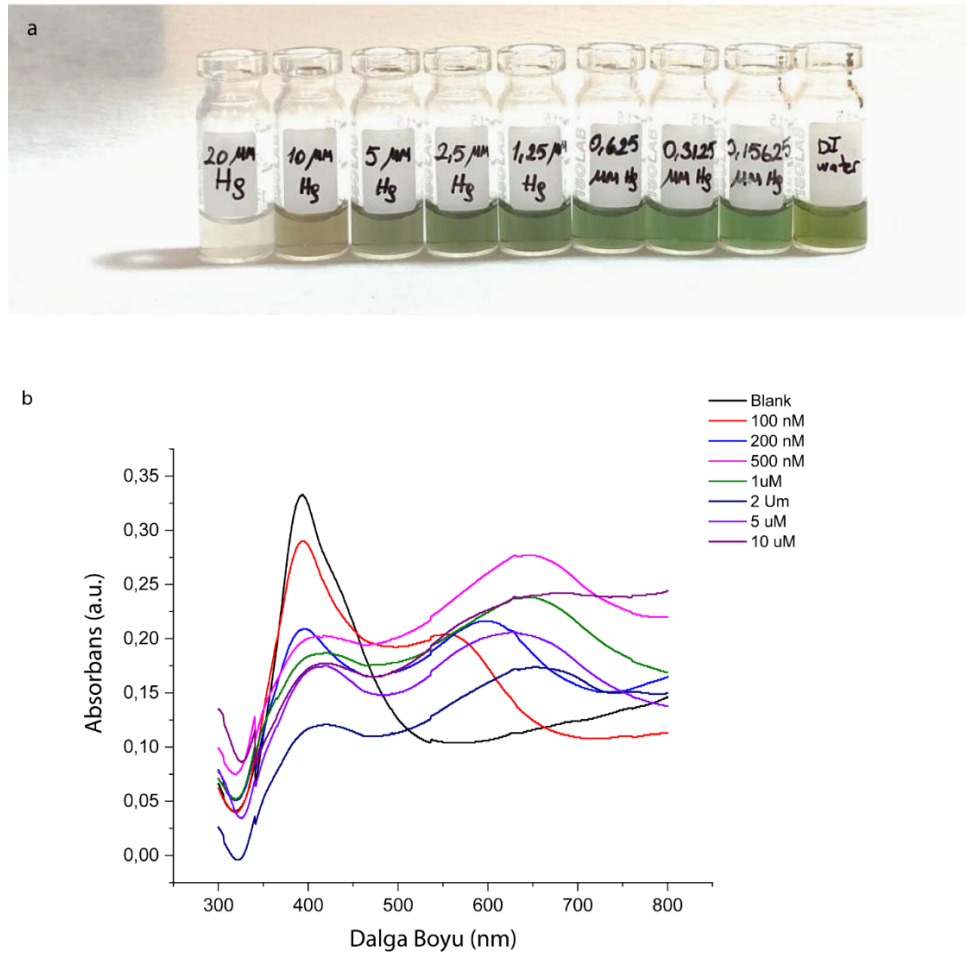
Şekil 3.5: Cyt-AuNP kolorimetrik sensörüne seçilen ağır metallerin eklenmesi sonucu oluşan renk değişimleri.

### 3.2 Cıva Konsantrasyonu Ölçümleri

Hg<sup>2+</sup>'ya spesifikliği bulunan nanoparçacıklar (CA-AgNP) için benzer bir deney, NP:HgCl<sub>2</sub> oranı sabit tutularak ve HgCl<sub>2</sub> konsantrasyonu (10 µM ile 100 nM) değiştirilerek tekrarlandı ve UV-Visible absorpsiyon spektrumları kaydedildi.

Sistemin doğru çalışması için her bir vialdeki ve plakadaki NP:HgCl<sub>2</sub> 5 dk inkübe edilerek okuması yapıldı. Hassasiyet, UV-Visible Spektroskopisi ile 300-800 nm aralığında kaydedildi.

CA-AgNP'nin absorbans spektrumu incelendiğinde, Hg<sup>2+</sup> konsantrasyonu arttıkça absorpsiyon piklerinin yoğunluğunda bir azalma olduğu görüldü. Hg<sup>2+</sup> konsantrasyonu arttıkça yoğunluğun düşmesi, nanoparçacığın Hg<sup>2+</sup> ile etkileşime girdiğini gösterir. Ayrıca Hg<sup>2+</sup> konsantrasyonu arttıkça nanoparçacık daha küçük boyutlara ayrıldı. UV-Visible spektrumunda dalga boyu mavi bölgeye doğru kayarak blue shift etkisi görüldü. Bu sayede 30 nm CA-AgNP ile cıvanın tespiti basit ve hızlı bir şekilde yapıldı (Şekil 3.6). Sistemin doğrulunun kanıtlanması için analitik performansı incelendi.



Şekil 3.6: 30 nm CA-AgNP kolorimetrik sensörüne farklı konsantrasyonlarda Hg<sup>2+</sup> eklenmesi sonucu oluşan; a) renk değişimleri, b) UV-Visible absorbans grafiği.



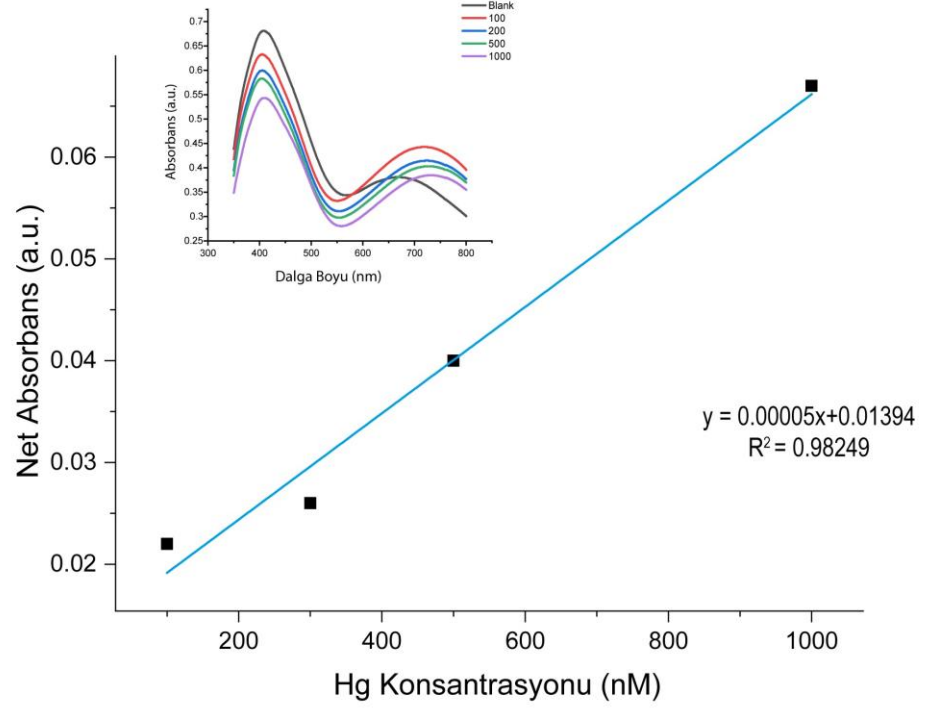
### 3.3 Yöntemin Analitik Performansı

Cıva hassasiyetine bakılan CA-AgNP için standartlara ait (belirlenen  $Hg^{2+}$  konsantrasyonları) UV-Visible absorban spektrumu grafiğinden 407 nm'de bulunan maksimum absorban değerleri kullanılarak bir kalibrasyon eğrisi çizildi. Kalibrasyon eğrişinin hesaplanması için üç ölçüm ortalamasından elde edilen veriler kullanıldı. Bu eğri yardımı ile sistemdeki lineer ilişki, LOD, LOQ değerleri incelendi. İnceleme sonucunda sistemin doğruluğu hakkında net bir karara varıldı.

Lineer ilişkiye göre seçilen gerçek örnekler üzerinde kolorimetrik sensörün cıva tespit edebilme yeteneği incelendi. Bu incelemeden alınan geri dönüşlere göre cıvanın geri kazanım değeri hesaplandı ve bu kazanıma ait tablo oluşturuldu. Bu adım ile sentezlenen kolorimetrik sensörün tayin sınırı da belirlenerek seçicilik, duyarlılık, hassasiyet, ölçüm aralığı ve süresi gibi ideal biyosensör özelliklerine sahip olup olmadığı test edilerek bulundu.

#### 3.3.1 Kalibrasyon Eğrisi

30 nm CA-AgNP'nin belirlenen  $Hg^{2+}$  konsantrasyonları ile standart değer okuması yapıldı. Bu okuma için 100, 200, 500 ve 1000 nM  $Hg^{2+}$  konsantrasyonları kullanıldı. Absorbans spektrumundan alınan sonuçlar ile kalibrasyon eğrisi çizdirildi ve test edilen konsantrasyonlarda nanoparçacığın lineer bir yanıt verdiği ve  $Hg^{2+}$  konsantrasyonları ile AgNP absorbanı arasında 407 nm'de bir doğrusal ilişki ( $y = 0,00005x + 0,01394$ ,  $R^2 = 0,98249$ ) gözlemlendi (Şekil 3.7).



**Şekil 3.7:** 30 nm CA-AgNP kolorimetrik sensörünün  $Hg^{2+}$  ile etkileşiminden elde edilen kalibrasyon eğrisi.

### 3.3.2 LOD ve LOQ Değerleri

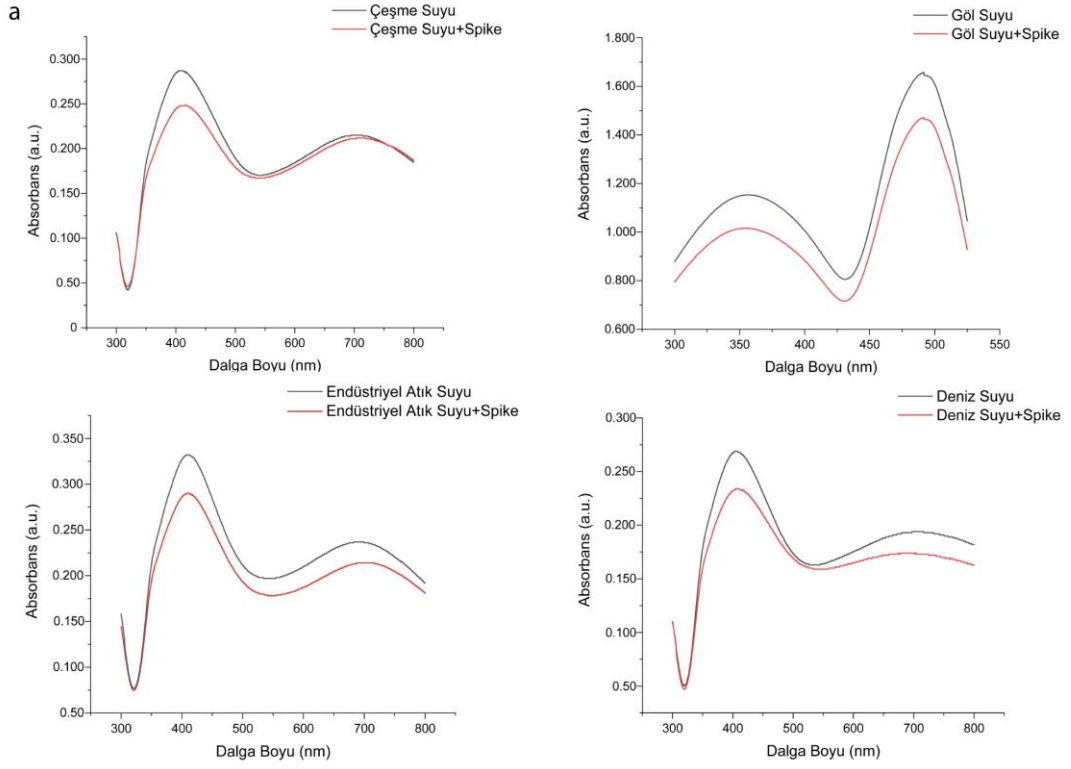
Lineer yanıt verdiği kanıtlanan nanosensörün duyarlılığını belirlemek için kalibrasyon eğrisinden yola çıkılarak LOD (saptama sınırı/algılama limiti) ve LOQ (tayin sınırı) değerleri bulundu.

Bir önceki başlıkta da belirtildiği gibi nanoparçacık test edilen konsantrasyonlarda lineer bir yanıt verdi ve kalibrasyon eğrisinde doğrusal ilişki ( $y = 0,00005x + 0,01394$ ,  $R^2 = 0,98249$ ) gözlemlendi (Şekil 3.7). Bu ilişkiden yola çıkılarak LOD ve LOQ'un hesaplanması için Blank ölçümleri tekrarlı bir şekilde yapılmış ve elde edilen standart sapma değerleri kullanılmıştır. Buna göre LOD = 14,4 nM, LOQ = 43,2 nM olarak bulunmuştur. Sonuçlar, tasarlanan nanosensörün istenilen özelliklerde olduğunu kanıtlamaktadır.

### 3.4 Cıvanın Gerçek Örneklerde Tespiti

Son adım olarak  $Hg^{2+}$  iyonunu spesifik tespit edebilen 30 nm CA-AgNP kolorimetrik sensörünün etkinliği gerçek örnekler üzerinde test edildi. Gerçek örnek olarak çevremizde en çok etkileşime girdiğimiz, insan sağlığını en çok etkileyebilecek gerçek örnekler seçildi. Bu örnekler sırasıyla çeşme suyu, göl suyu, atık suyu ve deniz suyudur.

Kolorimetrik inceleme için örneklerin yarısına sadece nanoparçacık eklendi; diğer yarısına nanoparçacık ve konsantrasyonu bilinen miktarda Hg çözeltisi eklendi. Yapılan ekleme ile gerçek örneklerin içerisinde 1  $\mu M$  cıva olması sağlandı. Hazırlanan örnekler 5 dk inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda UV-Visible absorpsiyon spektrumlarına bakıldı. Ekleme yapılan ve yapılmayan çözeltilerin maksimum absorbans değerleri kullanılarak her bir gerçek örneğe ait geri kazanım değerleri eklenmiş miktar ile gözlemlenen miktarın orantılanması kullanılarak hesaplandı. Elde edilen lineer kalibrasyon eğrisi ve düşük LOD değeri ile 30 nm CA-AgNP'lerin gerçek örneklerdeki  $Hg^{2+}$  iyonu için kolorimetrik test olarak kullanılabilmesi ve düşük hacimli örneklerde basit prosedürlerle potansiyel uygulamalar sergilediği görüldü (Şekil 3.8).



b

Analit	Örnek	Spike Miktarı (μM)	Bulunan Miktar (μM)	Geri Kazanım Değeri (%)
CA-AgNP	Çeşme Suyu	1	1,06	106
	Göl Suyu	1	1,21	121,5
	Endüstriyel Atık Suyu	1	1,12	112
	Deniz Suyu	1	0,98	98

**Şekil 3.8:** 30 nm CA-AgNP kolorimetrik sensörünün eklemeye içermeyen ve içeren gerçek örnekler üzerinde test edilmesi sonucu oluşan; a) UV-Visible absorbans grafiği, b)  $Hg^{2+}$  geri kazanım değerleri.

## 4. TARTIŞMA

Literatürde yapılmış birçok kolorimetrik sensör çalışması bulunmaktadır. Bu çalışmalarda farklı fonksiyonel gruplarla modifiye edilmiş AuNP ve AgNP'ler kullanılmış ve farklı analitler tespit edilmiştir (Tablo 2.1). Küçük organik ve biyomakromoleküllerin uygun kombinasyonlarda seçilmesiyle fonksiyonel hale getirilen AgNP'ler, farklı ağır metal iyonlarının seçici kolorimetrik algılamasını sergilemiştir. Son zamanlarda, bitki özü bazlı kimyasal işlevsellikler, geniş pH aralığında sulu çözeltilerde Hg, Zn ve Pb'un seçici kolorimetrik algılaması için AgNP'lerin çevre dostu yeşil sentezinde başarıyla kullanılmıştır (Karthiga & Anthony, 2013; Ravi ve diğerleri, 2013; Vinod Kumar & Anthony, 2014). Kromoforlara, floroforlara (Coronado ve diğerleri, 2005; Lee ve diğerleri, 2007), organik bileşiklere (Chiang ve diğerleri, 2008; Yoon ve diğerleri, 2005), polimerlere (Kim & Bunz, 2006; X. Liu ve diğerleri, 2007; Zhao & Zhong, 2006), oligonükleotidlere (S.-J. Liu ve diğerleri, 2009; Z. Zhu ve diğerleri, 2009), DNA'ya (J. Liu & Lu, 2007), proteinlere (Wegner ve diğerleri, 2007) dayalı Hg<sup>2+</sup> tespiti için nanoparçacıklar ve nanoçubuklar kullanılarak tasarlanmış çeşitli sensör sistemleri bildirilmiştir (Chen ve diğerleri, 2007; Lee ve diğerleri, 2007; Rex ve diğerleri, 2006). Yang ve arkadaşları rodamin boyasına dayanan Hg<sup>2+</sup> için seçici, çoklu sinyalleme optik-elektrokimyasal kemosensör bildirmiştir (H. Yang ve diğerleri, 2007). Liu ve arkadaşları kromoforik rutenyum kompleksi ile modifiye edilmiş nanofosfor (N719-UCNP) dayalı hücre içi cıva iyonlarının lüminesans algılaması için seçici bir suda çözünür prob bildirmiştir (Q. Liu ve diğerleri, 2011). Rothberg ve arkadaşları, nanoparçacıklar üzerine adsorbe edilen farklı DNA yapılarının ayırt edilmiş kararlı etkilerine dayanan, değiştirilmemiş AuNP'lerin kolorimetrik algılamasını kullanan yeni bir DNA biyosensörü bildirmiştir (Huixiang Li & Rothberg, 2004). Daha sonra birçok araştırmacı, değiştirilmemiş yöntemlerin bu hedefini küçük moleküller (J. Zhang ve diğerleri, 2008), metal iyonları (Apyari ve diğerleri, 2014; Zhan & Bard, 2007) ve protein (Wei ve diğerleri, 2007) gibi çeşitli analitlere genişletmiştir. Bu konuya odaklanan araştırmaların neredeyse tamamı, AgNP ve AuNP'lerin kullanımına odaklanmıştır (Kanjanaarut & Su, 2009; Soomro ve diğerleri, 2014; Su & Kanjanaarut, 2009; Yong Wang ve diğerleri, 2010; Xiaowen Xu ve diğerleri, 2009; S. Zhang ve diğerleri, 2014). Mevcut çalışmalarda proteinler, bakteriler (D. Li ve diğerleri, 2015), mikroorganizmalar (B. Li ve diğerleri, 2017), organofosfat pestisitler (Fahimi-Kashani & Hormozi-Nezhad, 2016), nitramin

bileşikleri (Üzer ve diğerleri, 2014), çoklu ağır metal iyonları (Sener ve diğerleri, 2014) gibi analitlerin çıplak gözle tespiti için çeşitli metalik (Au/Ag) tabanlı kolorimetrik sensörler başarıyla üretilmiştir (B. Liu ve diğerleri, 2020).

**Tablo 4.1:** Cıva tespitine yönelik literatürde kullanılmış Ag ve AuNP sistemleri.

Nanosensör Özellikleri		Tespit Edilen Metal(ler)	LOD Değerleri	Referans
Nanoparçacık Türü	Yüzey Modifikasyon Grubu			
Au/Ag bimetalik NPlar	Sitrat, Tannik Asit	Hg <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup>	5x10 <sup>-9</sup> M Hg <sup>2+</sup> 1.4x10 <sup>-9</sup> M Pb <sup>2+</sup>	(Xing ve diğerleri, 2018)
AgNP	Sitrat, Melamin	Hg <sup>2+</sup> , Cr <sup>3+</sup>	0.52x10 <sup>-6</sup> M Cr <sup>3+</sup> 1.80x10 <sup>-6</sup> M Hg <sup>2+</sup>	(Kailasa ve diğerleri, 2018)
AgNP	Sitrat	Cr <sup>3+</sup> , Cr <sup>4+</sup>	0.441x10 <sup>-6</sup> M Cr <sup>3+</sup>	(Elavarasi ve diğerleri, 2014)
AgNP	Sitrat	As <sup>3+</sup>	6 ppm	(Toshev ve diğerleri, 2019)
AgNP	Sitrat	Hg <sup>2+</sup>	4x10 <sup>-9</sup> M	(Amirjani & Haghshenas, 2019)
Ag/Cu bimetalik NPlar	Sitrat	Hg <sup>2+</sup>	0.51x10 <sup>-9</sup> M	(S. Li ve diğerleri, 2018)
AgNP	N-(2-hidroksibenzil)-valin (VP) ve N-(2-hidroksibenzil)-izolösin (ILP)	Cd <sup>2+</sup> , Hg <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup>	-	(Vinod Kumar & Anthony, 2014)
CuNP	Sistin	Hg <sup>2+</sup>	4.3x10 <sup>-8</sup> M	(Soomro ve diğerleri, 2014)
AgNP	Sitrat	Thiophanate-methyl (TM)	0.12x10 <sup>-6</sup> M	(Zheng ve diğerleri, 2018)
AgNP	-	Hg <sup>2+</sup>	2.2x10 <sup>-6</sup> M	(Farhadi ve diğerleri, 2012)
AgNP	Cıva spesifik oligonükleotitler (MSO)	Hg <sup>2+</sup>	17x10 <sup>-9</sup> M	(Yong Wang ve diğerleri, 2010)
AgNP	Sistein Amid triazol	Hg <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup>	18x10 <sup>-9</sup> M Hg <sup>2+</sup> 20x10 <sup>-9</sup> M Cd <sup>2+</sup>	(Praveen Kumar ve diğerleri, 2016)
AuNP	Sistein	Hg <sup>2+</sup>	1.0x10 <sup>-7</sup> M	(Chai ve diğerleri, 2010)

AgNP	Glutasyon	Ni <sup>2+</sup>	7.5x10 <sup>-5</sup> M	(Haibing Li ve diğeri, 2009)
AgNP	Polivinilpirolidon (PVP) ve Metiyonin	Hg <sup>2+</sup>	20-200 mg/L	(Balasurya ve diğeri, 2020)
AgNP	Jelatin	Hg <sup>2+</sup>	25 x10 <sup>-9</sup> M	(Jeevika & Shankaran, 2016)
AuNP	Tween 20 and Sitrat	Hg <sup>2+</sup> , Ag <sup>+</sup>	-	(Lin ve diğeri, 2010)
AgNP	Portakal ( <i>Citrus sinensis</i> ) Kabuğu Ekstraktı	Hg <sup>2+</sup>	1.24x10 <sup>-6</sup> M (0.25 ppm)	(Aminu & Oladepo, 2021)
AgNP	N-asetil-L-sistein	Fe <sup>+3</sup>	8x10 <sup>-8</sup> M	(Gao ve diğeri, 2015)
AgNP	Elma suyunun sulu meyve ekstraktı ( <i>Syzygium aqueum</i> )	Hg <sup>2+</sup>	8.5x10 <sup>-7</sup> M	(Firdaus ve diğeri, 2017)
AgNP	B-siklodekstrin	Cys	4.65x10 <sup>-9</sup> M	(Rajamanikandan & Ilanchelian, 2018)
AgNP	Merkaptoundekanoik asit (11-MUA)	Ni <sup>2+</sup>	2.15x10 <sup>-6</sup> M	(Rossi ve diğeri, 2021)
AgNP	Sitrat	Ni <sup>2+</sup>	0.75x10 <sup>-3</sup> M 1.52x10 <sup>-3</sup> M	(Almaquer ve diğeri, 2019)
AgNP	Sitrat	Cr <sup>4+</sup>	1.0x10 <sup>-9</sup> M	(Ravindran ve diğeri, 2012)
AgNP	Sitrat	Hg <sup>2+</sup>	-	(Fu ve diğeri, 2021)
AgNP	Sitrat, 3,5-Dimetoksi-4-(6'-azobenzotriazol)fenol	Hg <sup>2+</sup> , Cu <sup>2+</sup>	1.0x10 <sup>-12</sup> M Hg <sup>2+</sup> 1.0x10 <sup>-11</sup> M Cu <sup>2+</sup>	(F. Li ve diğeri, 2013)
AgNP	Sitrat	Hg <sup>2+</sup> , H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1.0x10 <sup>-8</sup> M H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> - Hg <sup>2+</sup>	(G. L. Wang ve diğeri, 2012)
AgNP	Sülfür kaplı gCN Quantum noktacıkları	Hg <sup>2+</sup>	0.13x10 <sup>-6</sup> M	(Pattnayak ve diğeri, 2022)
AgNP	Sitrat	Hg <sup>2+</sup> , H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.06 ppm	(Jarujamrus ve diğeri, 2015)

Literatürde Ag veya AuNP tabanlı kolorimetrik sensör çalışmalarında tiyol (SH) gruplarının Hg<sup>2+</sup> ile etkileşiminin incelendiği örnek sayısı oldukça azdır. Sitrat kaplı AgNP çalışmalarından (Tablo 4.2) Amirjani ve arkadaşları tarafından yapılmış çalışmada, sitrat kaplı gümüş nanoüçgenler (CA-AgTrngs) üretilmiştir (Amirjani & Haghshenas, 2019). Çalışmada nanoparçacık sentezi oda sıcaklığında gerçekleştirilerek, 30-40 nm boyutlarında ve mavi renkli CA-AgTrngs'ler üretilmiştir.

Çalışmada parçacığın  $Hg^{2+}$  ile etkileşiminden sonra mavi renginin menekşeye döndüğü bildirilmiş fakat bu renk değişimi ile ilgili bir görsel eklenmemiştir. Bu nedenle tez çalışmasında ısıtma işlemiyle sentezlenmiş 30 nm boyutundaki küresel CA-AgNP'ler kullanılarak ağır metal tespiti yapılmak istendi.

**Tablo 4.2:** Ağır metal tespitine yönelik literatürde kullanılmış sitrat kaplı AgNP'ler.

Nanoparçacık Türü	AgNP Boyutu (nm)	Yüzey Modifikasyon Grubu	Tespit Edilen Metal	LOD Değeri	Referans
Au/Ag bimetalik NP	26-59	Sitrat, Tannik asit	$Hg^{2+}$ , $Pb^{2+}$	$5 \times 10^{-9}$ M $Hg^{2+}$ $1,4 \times 10^{-9}$ M $Pb^{2+}$	(Xing ve diğerleri, 2018)
AgNP	29,9-44,5	Sitrat, Melamin	$Hg^{2+}$ , $Cr^{3+}$	$0,52 \times 10^{-6}$ M $Cr^{3+}$ $1,80 \times 10^{-6}$ M $Hg^{2+}$	(Kailasa ve diğerleri, 2018)
AgNP	10-20	Sitrat	$Cr^{3+}$ , $Cr^{4+}$	$0,441 \times 10^{-6}$ M $Cr^{3+}$	(Elavarasi ve diğerleri, 2014)
AgNP	1,5-8	Sitrat	$As^{3+}$	6 ppm	(Toshev ve diğerleri, 2019)
AgNP	30-40	Sitrat	$Hg^{2+}$	$4 \times 10^{-9}$ M	(Amirjani & Haghshenas, 2019)
Ag/Cu bimetalik NP	5-8	Sitrat	$Hg^{2+}$	$0,51 \times 10^{-9}$ M	(S. Li ve diğerleri, 2018)
AgNP	8	Sitrat	Thiophanate-methyl (TM)	$0,12 \times 10^{-6}$ M	(Zheng ve diğerleri, 2018)
AgNP	$10,4 \pm 4,5$	Sitrat	$Ni^{2+}$	$0,75 \times 10^{-3}$ M $1,52 \times 10^{-3}$ M	(Almaquer ve diğerleri, 2019)
AgNP	10-15	Sitrat	$Cr^{4+}$	$1,0 \times 10^{-9}$ M	(Ravindran ve diğerleri, 2012)
AgNP	11,1-88	Sitrat	$Hg^{2+}$	0,1-2 ppb	(Fu et ve diğerleri, 2021)
AgNP	20	Sitrat, 3,5-Dimetoksi-4-(6'-azobenzotriazol)fenol	$Hg^{2+}$ , $Cu^{2+}$	$1,0 \times 10^{-12}$ M $Hg^{2+}$ $1,0 \times 10^{-11}$ M $Cu^{2+}$	(F. Li ve diğerleri, 2013)
AgNP	-	Sitrat	$Hg^{2+}$ , $H_2O_2$	$1,0 \times 10^{-8}$ M $H_2O_2$ - $Hg^{2+}$	(G.-L. Wang ve diğerleri, 2012)



AgNP	8,3±1, 4	Sitrat	Hg <sup>2+</sup> , H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0,06 ppm	(Jarujamus ve diğeri, 2015)
AgNP	30	Sitrat	Hg <sup>2+</sup>	14,4x10 <sup>-9</sup> M	Bu çalışma

Renk değişiminin gözle görünür bir şekilde gerçekleşmesi, LOD değerinin oldukça düşük çıkması ve geri kazanım değerlerinin %98-112,5 aralığında olması bu çalışmada üretilen sensör sisteminin doğru bir şekilde, kısa bir ölçüm süresinde düşük konsantrasyonlarda bile Hg<sup>2+</sup> iyonunu spesifik bir şekilde ölçebileceğini gösterdi. Üretilen sensör gelecekteki çalışmalarda günlük hayatta rahatça kullanılabilir bir kağıt tabanlı kolorimetrik sensör haline getirildiğinde, düşük üretim maliyeti ve portatif olması gibi özelliklerle daha avantajlı bir ağır metal tespit yöntemi olacaktır.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Günümüz çevre koşullarında, çeşitli kirleticilerin içme sularını tehdit ettiği, biyolojik bazı türlerin ölümcül sonuçlar doğurabildiği görülmektedir. Hg, As, Cd, Ni, Pb gibi çeşitli metal iyonları çevrede doğal olarak bulunur, ancak düzensiz pestisit kullanımı, kentleşme, fosil yakıtların yanması ve endüstriyel faaliyetler nedeniyle bu metallerin kalıntıları ekosistemde hızla artar (Y. Wu ve diğerleri, 2019). Bu metal iyonlarının kalıntıları ve metabolitleri oldukça toksiktir, kanserojendir, biyolojik olarak parçalanamaz, hayvanlar ve insanların gıdaları ile birikme eğilimi yüksektir (Khoshbin ve diğerleri, 2018). Toksik metal iyonları ile ilişkili zehirlenme toplumda en yaygın sorun haline gelmiştir. Ekosistemde hava, toprak ve suya dağılmış halde bulunan cıva (Hg) metali, günümüzde çevre ve canlı sağlığını tehdit eden en önemli toksik elementlerden biridir. İnorganik formu suda oldukça fazla bulunan ve besin zinciri yoluyla insan vücudunda kolayca birikebilen  $Hg^{2+}$  iyonunun gıda ve su numunelerinden hızlı, basit, ucuz, spesifik bir şekilde tespitinin yapılabilmesi oldukça önemlidir (S. Wang ve diğerleri, 2013).

Fizikçi Richard P. Feynman'ın 1959 yılında yaptığı sunumunda gelecekteki yenilik ve teknolojinin anahtarının maddeyi nanoboyuta indirgemek olduğunu öne sürmesinin ardından nanoparçacık çalışmalarına olan ilginin artmasıyla, nanoparçacıklara dayalı kolorimetrik yaklaşımlar, çeşitli çalışmalarda metal iyonlarının basit ve hızlı belirlenmesi için muazzam bir potansiyel göstermiştir (Bayda ve diğerleri, 2019). Bu sistemler, metal iyonlarının tanınması için herhangi bir pahalı enzim veya herhangi bir floresan boya gerektirmez ve elde edilen sonuçlar çıplak gözle bile gözlemlenebilme kolaylığına sahiptir (G. Wu ve diğerleri, 2015).

Metal nanoparçacıklar, LSPR ile ilişkili olarak farklı renklerde bulunma, parçacık boyutu, şekil ve yüzey modifikasyonlarının çeşitliliği, ortamın dielektrik özellikleri, parçacıklar arasındaki mesafe, adsorbe edilen türler gibi özellikleri sebebiyle büyük ilgi gören nanoparçacık türleridir. Özellikle parçacık boyutunun kolay ayarlanabilir ve üretim maliyetinin düşük olduğu AgNP'ler, en popüler metal nanoparçacıktır (Sönnichsen ve diğerleri, 2005).

Günümüzde herhangi bir özel enstrümantasyon gerektirmeyen kolorimetrik sensörler, Hg'nın doğal bir dedektör yardımıyla, hızlı, basit, pratik, ucuz olma gibi avantajlarla görsel tespiti için önem kazanmış yöntemdir (Chang ve diğerleri., 2019).

Bu yüksek lisans tez projesi kapsamında toksik metal iyonlarının ve miktarının belirlenmesi için farklı nanoparçacıklar ve yüzey modifikasyonları kullanılarak kolorimetrik tabanlı nanosensör sistemleri üretilerek incelenmiştir. Sensör sisteminin tasarımı için öncelikle CA-AgNP ve CA-AuNP sentezlendi. Her bir nanoparçacık için farklı yüzey grupları ile modifikasyonundan önce UV-Visible Spektrofotometrisi ile sentezin doğruluğu kontrol edildi. Sonrasında parçacıklar sistin ve sistin grupları ile modifiye edilip bu parçacıkların da sensör özellikleri incelendi.

Sentezlenen nanoparçacıklar 15 farklı analit/ağır metal iyonu ile etkileşime sokuldu ve bu analitlere karşı renk değişimleri gözlemlendi. Renk değişimi sonuçları, sistin grupları ile kaplanmış olan Cyt-AgNP ve Cyt-AuNP nanosensörlerinin ağır metal tespitinde kullanılamayacağını gösterdi. 30 nm CA-AgNP nanosensörünün Hg<sup>2+</sup> iyonu ile etkileşimi sonucu renginin yeşilden renksiz; literatürde de bulunan CA-AuNP sentezi sonucunda bu parçacığında Hg<sup>2+</sup> iyonu ile etkileşimi sonucu renginin kırmızıdan maviye döndüğü görüldü. Renk değişimlerine göre bu iki parçacığın Hg<sup>2+</sup> iyonunu spesifik olarak tespit edebildiği anlaşıldı. CA-AgNP nanosensörünün farklı Hg<sup>2+</sup> konsantrasyonları ile renk değişimi etkileşimlerine bakılarak gözle görünen ve UV-Visible Spektroskopisi ile gözlenen en düşük Hg<sup>2+</sup> sınırı tespit edildi. 1.25 µM'a kadar gözle gözlemlenebilen CA-AgNP'nin UV-Visible Spektroskopi sonuçlarına bakıldığında, elde edilen kalibrasyon eğrisine göre test edilen konsantrasyonlarda nanoparçacığın lineer bir yanıt verdiği ve Hg<sup>2+</sup> konsantrasyonları ile AgNP absorbansı arasında 407 nm'de bir doğrusal ilişki ( $y = 0,00005x + 0,01394$ ,  $R^2 = 0,98249$ ) gözlemlendi. Cihazdan elde edilen sonuçlar ile elde edilen kalibrasyon eğrisine göre LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 14,4 nM ve 43,2 nM olarak bulundu. CA-AgNP içme suyu, göl suyu, atık suyu ve deniz suyu üzerinde test edildi. Eklemeli ve eklemesiz değerlerden elde edilen geri kazanım değerlerine göre CA-AgNP'nin gerçek örneklerden Hg<sup>2+</sup> iyonunu tespit edebildiği ve gelecek uygulamalarda Hg<sup>2+</sup> iyonunu spesifik olarak tespit edebilen bir sensör olarak kullanılabileceği anlaşıldı.

Üretimi basit, hızlı, kullanımı rahat ve portatif olan kağıt tabanlı kolorimetrik sensörlerin; tez çalışmamızda hazırlanan nanoparçacıklarla birleştirilerek kullanılabilmesi ve günlük kullanıma uygun hale getirilebileceği düşünüldü. Üretilen CA-AgNP kolorimetrik nanosensörünün günlük hayatımızda kullanımı için kâğıt tabanlı bir kolorimetrik sensör olarak üretilebileceği; kullanılan numunede cıva iyonu bulunup bulunmadığını anlamının kağıt tabanlı sensör ile kolayca tespit edilebileceği düşünüldü.

Sonuç olarak, metalik nanoparçacıklar, özellikle AgNP ve AuNP'ler, kolorimetrik sensör olarak kullanmaya elverişli parçacıklardır; minimum malzeme tüketimi ile hassas algılama sağlar. Özellikle ekosistemdeki metalik katyon-anyonlar, küçük moleküller, ilaçlar, biyomoleküller, bakteriler gibi toksik kirleticilere yönelik kolorimetrik algılama mekanizmalarının tasarlanması; bu sensörlerde kullanılacak nanoparçacıkların türü, yapısı ve işlevi, kolorimetrik sensörlerin algılama performansını iyileştirmek oldukça önemlidir. Her ne kadar günümüzde kolorimetrik biyosensörler, biyolojik çalışmalar başta olmak üzere birçok uygulamada hızla tercih edilen ve büyük ölçüde başarılı olan yöntemler haline gelmiş olsa da araştırmalara göre kolorimetrik sensörler çoğu pratik kullanımda düşük hassasiyet gibi dezavantajlar göstermekte ve bazı durumlarda uygulamalar sulu ortamlarda kararlı veya işlevsel olmamaktadır. Bu ufak dezavantajına rağmen literatürde farklı örnekleri bulunan ve hala gelişmeye devam eden kolorimetrik sensör teknolojisi, analitik kimya, biyomedikal, çevre ve gıda gibi alanda toksisiteyi izlemek için büyük potansiyel ve umut verici pratik uygulamalar sergilemiştir.

## 6. KAYNAKLAR

- Afkhami, A., Soltani-Felehgari, F., Madrakian, T., Ghaedi, H., & Rezaeivala, M. (2013). Fabrication and application of a new modified electrochemical sensor using nano-silica and a newly synthesized Schiff base for simultaneous determination of Cd<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> and Hg<sup>2+</sup> ions in water and some foodstuff samples. *Analytica Chimica Acta*, 771, 21–30. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.02.031>
- Agnihotri, S., Mukherji, S., & Mukherji, S. (2014). Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5–100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy. *RSC Adv.*, 4(8), 3974–3983. <https://doi.org/10.1039/C3RA44507K>
- Ali, H., & Khan, E. (2018). Bioaccumulation of non-essential hazardous heavy metals and metalloids in freshwater fish. Risk to human health. *Environmental Chemistry Letters*, 16(3), 903–917. <https://doi.org/10.1007/s10311-018-0734-7>
- Almaquer, F. E. P., Ricacho, J. S. Y., & Ronquillo, R. L. G. (2019). Simple and rapid colorimetric sensing of Ni(II) ions in tap water based on aggregation of citrate-stabilized silver nanoparticles. *Sustainable Environment Research*, 29(1), 23. <https://doi.org/10.1186/s42834-019-0026-3>
- Aminu, A., & Oladepo, S. A. (2021). Fast Orange Peel-Mediated Synthesis of Silver Nanoparticles and Use as Visual Colorimetric Sensor in the Selective Detection of Mercury(II) Ions. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 46(6), 5477–5487. <https://doi.org/10.1007/s13369-020-05030-3>
- Amirjani, A., & Haghshenas, D. F. (2019). Facile and on-line colorimetric detection of Hg<sup>2+</sup> based on localized surface plasmon resonance (LSPR) of Ag nanotriangles. *Talanta*, 192, 418–423. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.09.079>
- Anichini, C., Czepa, W., Pakulski, D., Aliprandi, A., Ciesielski, A., & Samorì, P. (2018). Chemical sensing with 2D materials. *Chemical Society Reviews*, 47(13), 4860–4908. <https://doi.org/10.1039/C8CS00417J>
- APHA. (n.d.). *Standard methods for the examination of water & wastewater*. <https://www.standardmethods.org>
- Apyari, V. V., Arkhipova, V. V., Dmitrienko, S. G., & Zolotov, Y. A. (2014). Using gold nanoparticles in spectrophotometry. *Journal of Analytical Chemistry*, 69(1), 1–11. <https://doi.org/10.1134/S1061934814010031>
- Aragay, G., & Merkoçi, A. (2012). Nanomaterials application in electrochemical detection of heavy metals. *Electrochimica Acta*, 84, 49–61. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2012.04.044>
- Arvizo, R., Bhattacharya, R., & Mukherjee, P. (2010). Gold nanoparticles: opportunities and challenges in nanomedicine. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 7(6), 753–763. <https://doi.org/10.1517/17425241003777010>
- ASTM E2456-06(2020). (n.d.). *Standard Terminology Relating to Nanotechnology*.
- Ayangbenro, A., & Babalola, O. (2017). A New Strategy for Heavy Metal Polluted Environments: A Review of Microbial Biosorbents. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(1), 94. <https://doi.org/10.3390/ijerph14010094>
- Badwaik, V. D., & Dakshinamurthy, R. (2012). Single-Step Bacterial Detection by Simultaneous Synthesis and Integration of Gold Nanoparticles and Its Application in Intracellular Delivery. *ECS Transactions*, 41(20), 49–55.

- <https://doi.org/10.1149/1.3687437>
- Balasurya, S., Syed, A., Thomas, A. M., Marraiki, N., Elgorban, A. M., Raju, L. L., Das, A., & Khan, S. S. (2020). Rapid colorimetric detection of mercury using silver nanoparticles in the presence of methionine. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 228, 117712.  
<https://doi.org/10.1016/j.saa.2019.117712>
- Bansod, B. K., Kumar, T., Thakur, R., Rana, S., & Singh, I. (2017). A review on various electrochemical techniques for heavy metal ions detection with different sensing platforms. In *Biosensors and Bioelectronics* (Vol. 94, pp. 443–455).  
<https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.03.031>
- Bansod, B., Kumar, T., Thakur, R., Rana, S., & Singh, I. (2017). A review on various electrochemical techniques for heavy metal ions detection with different sensing platforms. *Biosensors and Bioelectronics*, 94, 443–455.  
<https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.03.031>
- Bayda, S., Bayda, S., M, A., Tuccinardi, T., Cordani, M., & Rizzolio, F. (2019). The History of Nanoscience and Nanotechnology: From Chemical–Physical Applications. In *Mdpi*.
- Bhalla, N., Jolly, P., Formisano, N., & Estrela, P. (2016). Introduction to biosensors. *Essays in Biochemistry*, 60(1), 1–8. <https://doi.org/10.1042/EBC20150001>
- Bhattacharya, P., Jacks, G., Ahmed, K. M., Routh, J., & Khan, A. A. (2002). Arsenic in Groundwater of the Bengal Delta Plain Aquifers in Bangladesh. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 69(4), 538–545.  
<https://doi.org/10.1007/s00128-002-0095-5>
- Borisov, S. M., & Wolfbeis, O. S. (2008). Optical Biosensors. *Chemical Reviews*, 108(2), 423–461. <https://doi.org/10.1021/cr068105t>
- Brinkel, J., Khan, M., & Kraemer, A. (2009). A Systematic Review of Arsenic Exposure and Its Social and Mental Health Effects with Special Reference to Bangladesh. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 6(5), 1609–1619. <https://doi.org/10.3390/ijerph6051609>
- Callender, E. (2003). Heavy Metals in the Environment—Historical Trends. In *Treatise on Geochemistry* (pp. 67–105). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B0-08-043751-6/09161-1>
- Chai, F., Wang, C., Wang, T., Ma, Z., & Su, Z. (2010). L-cysteine functionalized gold nanoparticles for the colorimetric detection of Hg<sup>2+</sup> induced by ultraviolet light. *Nanotechnology*, 21(2), 025501. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/21/2/025501>
- Chang, C.-C., Chen, C.-P., Wu, T.-H., Yang, C.-H., Lin, C.-W., & Chen, C.-Y. (2019). Gold Nanoparticle-Based Colorimetric Strategies for Chemical and Biological Sensing Applications. *Nanomaterials*, 9(6), 861.  
<https://doi.org/10.3390/nano9060861>
- Chen, J., Zheng, A., Chen, A., Gao, Y., He, C., Kai, X., Wu, G., & Chen, Y. (2007). A functionalized gold nanoparticles and Rhodamine 6G based fluorescent sensor for high sensitive and selective detection of mercury(II) in environmental water samples. *Analytica Chimica Acta*, 599(1), 134–142.  
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.07.074>
- Chiang, C.-K., Huang, C.-C., Liu, C.-W., & Chang, H.-T. (2008). Oligonucleotide-Based Fluorescence Probe for Sensitive and Selective Detection of Mercury(II) in Aqueous Solution. *Analytical Chemistry*, 80(10), 3716–3721.  
<https://doi.org/10.1021/ac800142k>
- Chow, K.-F., Mavr e, F., & Crooks, R. M. (2008). Wireless Electrochemical DNA

- Microarray Sensor. *Journal of the American Chemical Society*, 130(24), 7544–7545. <https://doi.org/10.1021/ja802013q>
- Chugh, H., Sood, D., Chandra, I., Tomar, V., Dhawan, G., & Chandra, R. (2018). Role of gold and silver nanoparticles in cancer nano-medicine. In *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology* (Vol. 46, Issue sup1, pp. 1210–1220). <https://doi.org/10.1080/21691401.2018.1449118>
- Compagnini, G., Condorelli, M., Fragalà, M. E., Scardaci, V., Tinnirello, I., Puglisi, O., Neri, F., & Fazio, E. (2019). Growth Kinetics and Sensing Features of Colloidal Silver Nanoplates. *Journal of Nanomaterials*, 2019, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2019/7084731>
- Coronado, E., Galán-Mascarós, J. R., Martí-Gastaldo, C., Palomares, E., Durrant, J. R., Vilar, R., Gratzel, M., & Nazeeruddin, M. K. (2005). Reversible Colorimetric Probes for Mercury Sensing. *Journal of the American Chemical Society*, 127(35), 12351–12356. <https://doi.org/10.1021/ja0517724>
- Crini, G., & Lichtfouse, E. (2019). Advantages and disadvantages of techniques used for wastewater treatment. *Environmental Chemistry Letters*, 17(1), 145–155. <https://doi.org/10.1007/s10311-018-0785-9>
- Cui, L., Wu, J., & Ju, H. (2015). Electrochemical sensing of heavy metal ions with inorganic, organic and bio-materials. *Biosensors and Bioelectronics*, 63, 276–286. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.07.052>
- Dai, B., Li, D., Xi, W., Luo, F., Zhang, X., Zou, M., Cao, M., Hu, J., Wang, W., Wei, G., Zhang, Y., & Liu, C. (2015). Tunable assembly of amyloid-forming peptides into nanosheets as a retrovirus carrier. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(10), 2996–3001. <https://doi.org/10.1073/pnas.1416690112>
- Daniel, M.-C., & Astruc, D. (2004). Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. *Chemical Reviews*, 104(1), 293–346. <https://doi.org/10.1021/cr030698+>
- de Castro Maciel, C. J., Miranda, G. M., de Oliveira, D. P., de Siqueira, M. E. P. B., Silveira, J. N., Leite, E. M. A., & da Silva, J. B. B. (2003). Determination of cadmium in human urine by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 491(2), 231–237. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(03\)00820-1](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(03)00820-1)
- De, S., Kundu, R., & Biswas, A. (2012). Synthesis of gold nanoparticles in niosomes. *Journal of Colloid and Interface Science*, 386(1), 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2012.06.073>
- Deori, K., Gupta, D., Saha, B., & Deka, S. (2014). Design of 3-Dimensionally Self-Assembled CeO<sub>2</sub> Nanocube as a Breakthrough Catalyst for Efficient Alkylarene Oxidation in Water. *ACS Catalysis*, 4(9), 3169–3179. <https://doi.org/10.1021/cs500644j>
- Dibrov, P., Dzioba, J., Gosink, K. K., & Häse, C. C. (2002). Chemiosmotic Mechanism of Antimicrobial Activity of Ag<sup>+</sup> in *Vibrio cholerae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(8), 2668–2670. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.8.2668-2670.2002>
- Ding, M., & Chen, D. (2016). Lanthanide Ions Doped Upconversion Nanomaterials: Synthesis, Surface Engineering, and Application in Drug Delivery. In *Nanoarchitectonics for Smart Delivery and Drug Targeting* (pp. 227–260). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-47347-7.00009-4>
- Doleman, L., Davies, L., Rowe, L., Moschou, E. A., Deo, S., & Daunert, S. (2007). Bioluminescence DNA Hybridization Assay for *Plasmodium falciparum* Based

- on the Photoprotein Aequorin. *Analytical Chemistry*, 79(11), 4149–4153.  
<https://doi.org/10.1021/ac0702847>
- Domaille, D. W., Que, E. L., & Chang, C. J. (2008). Synthetic fluorescent sensors for studying the cell biology of metals. *Nature Chemical Biology*, 4(3), 168–175.  
<https://doi.org/10.1038/nchembio.69>
- Dreaden, E. C., Mackey, M. A., Huang, X., Kang, B., & El-Sayed, M. A. (2011). Beating cancer in multiple ways using nanogold. *Chemical Society Reviews*, 40(7), 3391. <https://doi.org/10.1039/c0cs00180e>
- E331. (n.d.). <https://www.justgotochef.com/ingredients/permitted-emulsifying-salt-e331#:~:text=Description,as white crystals or powder>.
- El-Sayed, M. A. (2001). Some Interesting Properties of Metals Confined in Time and Nanometer Space of Different Shapes. *Accounts of Chemical Research*, 34(4), 257–264. <https://doi.org/10.1021/ar960016n>
- Elavarasi, M., Rajeshwari, A., Alex, S. A., Nanda Kumar, D., Chandrasekaran, N., & Mukherjee, A. (2014). Simple colorimetric sensor for Cr(III) and Cr(VI) speciation using silver nanoparticles as a probe. *Analytical Methods*, 6(14), 5161. <https://doi.org/10.1039/c4ay00877d>
- Elfeky, S. A., Mahmoud, S. E., & Youssef, A. F. (2017). Applications of CTAB modified magnetic nanoparticles for removal of chromium (VI) from contaminated water. *Journal of Advanced Research*, 8(4), 435–443.  
<https://doi.org/10.1016/j.jare.2017.06.002>
- Eustis, S., & El-Sayed, M. A. (2006). Why gold nanoparticles are more precious than pretty gold: Noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes. *Chem. Soc. Rev.*, 35(3), 209–217. <https://doi.org/10.1039/B514191E>
- Fahimi-Kashani, N., & Hormozi-Nezhad, M. R. (2016). Gold-Nanoparticle-Based Colorimetric Sensor Array for Discrimination of Organophosphate Pesticides. *Analytical Chemistry*, 88(16), 8099–8106.  
<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b01616>
- Fan, A., Ling, Y., Lau, C., & Lu, J. (2010). Direct colorimetric visualization of mercury (Hg<sup>2+</sup>) based on the formation of gold nanoparticles. *Talanta*, 82(2), 687–692. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.05.033>
- Farhadi, K., Forough, M., Molaei, R., Hajizadeh, S., & Rafipour, A. (2012). Highly selective Hg<sup>2+</sup> colorimetric sensor using green synthesized and unmodified silver nanoparticles. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 161(1), 880–885.  
<https://doi.org/10.1016/J.SNB.2011.11.052>
- Feldmann, J., Salaün, P., & Lombi, E. (2009). Critical review perspective: elemental speciation analysis methods in environmental chemistry - moving towards methodological integration. *Environmental Chemistry*, 6(4), 275.  
<https://doi.org/10.1071/EN09018>
- Firdaus, M. L., Fitriani, I., Wyantuti, S., Hartati, Y. W., Khaydarov, R., Mcalister, J. A., Obata, H., & Gamo, T. (2017). Colorimetric Detection of Mercury(II) Ion in Aqueous Solution Using Silver Nanoparticles. *Analytical Sciences*, 33(7), 831–837. <https://doi.org/10.2116/analsci.33.831>
- Fong, B. M. W., Siu, T. S., Lee, J. S. K., & Tam, S. (2007). Determination of Mercury in Whole Blood and Urine by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Journal of Analytical Toxicology*, 31(5), 281–287.  
<https://doi.org/10.1093/jat/31.5.281>
- Fu, L.-M., Hsu, J.-H., Shih, M.-K., Hsieh, C.-W., Ju, W.-J., Chen, Y.-W., Lee, B.-H., & Hou, C.-Y. (2021). Process Optimization of Silver Nanoparticle Synthesis



- and Its Application in Mercury Detection. *Micromachines*, 12(9), 1123.  
<https://doi.org/10.3390/mi12091123>
- Gao, X., Lu, Y., He, S., Li, X., & Chen, W. (2015). Colorimetric detection of iron ions (III) based on the highly sensitive plasmonic response of the N-acetyl-l-cysteine-stabilized silver nanoparticles. In *Analytica Chimica Acta* (Vol. 879, pp. 118–125). <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.04.002>
- Ghosh, S. K., & Pal, T. (2007). Interparticle Coupling Effect on the Surface Plasmon Resonance of Gold Nanoparticles: From Theory to Applications. *Chemical Reviews*, 107(11), 4797–4862. <https://doi.org/10.1021/cr0680282>
- Gong, T., Liu, J., Liu, X., Liu, J., Xiang, J., & Wu, Y. (2016). A sensitive and selective sensing platform based on CdTe QDs in the presence of l -cysteine for detection of silver, mercury and copper ions in water and various drinks. *Food Chemistry*, 213, 306–312. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.091>
- Gumpu, M. B., Sethuraman, S., Krishnan, U. M., & Rayappan, J. B. B. (2015). A review on detection of heavy metal ions in water – An electrochemical approach. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 213, 515–533.  
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.02.122>
- Ho, M. D., Ling, Y., Yap, L. W., Wang, Y., Dong, D., Zhao, Y., & Cheng, W. (2017). Percolating Network of Ultrathin Gold Nanowires and Silver Nanowires toward “Invisible” Wearable Sensors for Detecting Emotional Expression and Apexcardiogram. *Advanced Functional Materials*, 27(25), 1700845.  
<https://doi.org/10.1002/adfm.201700845>
- Hoffman, J. B., & Hennig, B. (2017). Protective influence of healthful nutrition on mechanisms of environmental pollutant toxicity and disease risks. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1398(1), 99–107.  
<https://doi.org/10.1111/nyas.13365>
- Hopkins, M. R., Ettinger, A. S., Hernández-Avila, M., Schwartz, J., Téllez-Rojo, M. M., Lamadrid-Figueroa, H., Bellinger, D., Hu, H., & Wright, R. O. (2008). Variants in Iron Metabolism Genes Predict Higher Blood Lead Levels in Young Children. *Environmental Health Perspectives*, 116(9), 1261–1266.  
<https://doi.org/10.1289/ehp.11233>
- Howes, P. D., Chandrawati, R., & Stevens, M. M. (2014). Colloidal nanoparticles as advanced biological sensors. *Science*, 346(6205).  
<https://doi.org/10.1126/science.1247390>
- Huang, X., Jain, P. K., El-Sayed, I. H., & El-Sayed, M. A. (2007). Gold nanoparticles: interesting optical properties and recent applications in cancer diagnostics and therapy. *Nanomedicine*, 2(5), 681–693.  
<https://doi.org/10.2217/17435889.2.5.681>
- Ichinoki, S., Kitahata, N., & Fujii, Y. (2004). Selective Determination of Mercury(II) Ion in Water by Solvent Extraction Followed by Reversed-Phase HPLC. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 27(11), 1785–1798. <https://doi.org/10.1081/JLC-120037371>
- Jain, P. K., Lee, K. S., El-Sayed, I. H., & El-Sayed, M. A. (2006). Calculated Absorption and Scattering Properties of Gold Nanoparticles of Different Size, Shape, and Composition: Applications in Biological Imaging and Biomedicine. *The Journal of Physical Chemistry B*, 110(14), 7238–7248.  
<https://doi.org/10.1021/jp057170o>
- Jarujamrus, P., Amatatongchai, M., Thima, A., Khongrangdee, T., & Mongkontong, C. (2015). Selective colorimetric sensors based on the monitoring of an unmodified silver nanoparticles (AgNPs) reduction for a simple and rapid

- determination of mercury. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, *142*, 86–93. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.01.084>
- Jeevika, A., & Shankaran, D. R. (2016). Functionalized silver nanoparticles probe for visual colorimetric sensing of mercury. *Materials Research Bulletin*, *83*, 48–55. <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2016.05.029>
- Kailasa, S. K., Chandel, M., Mehta, V. N., & Park, T. J. (2018). Influence of ligand chemistry on silver nanoparticles for colorimetric detection of Cr<sup>3+</sup> and Hg<sup>2+</sup> ions. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, *195*, 120–127. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.01.038>
- Kalidasan, K., Neo, J. L., & Uttamchandani, M. (2013). Direct visual detection of Salmonella genomic DNA using gold nanoparticles. *Molecular BioSystems*, *9*(4), 618. <https://doi.org/10.1039/c3mb25527a>
- Kanjanawarut, R., & Su, X. (2009). Colorimetric Detection of DNA Using Unmodified Metallic Nanoparticles and Peptide Nucleic Acid Probes. *Analytical Chemistry*, *81*(15), 6122–6129. <https://doi.org/10.1021/ac900525k>
- Karthiga, D., & Anthony, S. P. (2013). Selective colorimetric sensing of toxic metal cations by green synthesized silver nanoparticles over a wide pH range. *RSC Advances*, *3*(37), 16765. <https://doi.org/10.1039/c3ra42308e>
- Karunasagar, D., Arunachalam, J., & Gangadharan, S. (1998). Development of a ‘collect and punch’ cold vapour inductively coupled plasma mass spectrometric method for the direct determination of mercury at nanograms per litre levels. *J. Anal. At. Spectrom.*, *13*(7), 679–682. <https://doi.org/10.1039/A802132E>
- Kazuma, E., & Tatsuma, T. (2013). Localized surface plasmon resonance sensors based on wavelength-tunable spectral dips. *Nanoscale*, *6*(4), 2397–2405. <https://doi.org/10.1039/C3NR05846H>
- Khoshbin, Z., Housaindokht, M. R., Verdian, A., & Bozorgmehr, M. R. (2018). Simultaneous detection and determination of mercury (II) and lead (II) ions through the achievement of novel functional nucleic acid-based biosensors. *Biosensors and Bioelectronics*, *116*, 130–147. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.05.051>
- Kim, I.-B., & Bunz, U. H. F. (2006). Modulating the Sensory Response of a Conjugated Polymer by Proteins: An Agglutination Assay for Mercury Ions in Water. *Journal of the American Chemical Society*, *128*(9), 2818–2819. <https://doi.org/10.1021/ja058431a>
- Kimling, J., Maier, M., Okenve, B., Kotaidis, V., Ballot, H., & Plech, A. (2006). Turkevich Method for Gold Nanoparticle Synthesis Revisited. *The Journal of Physical Chemistry B*, *110*(32), 15700–15707. <https://doi.org/10.1021/jp061667w>
- Knecht, M. R., & Sethi, M. (2009). Bio-inspired colorimetric detection of Hg<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> heavy metal ions using Au nanoparticles. In *Analytical and Bioanalytical Chemistry* (Vol. 394, Issue 1, pp. 33–46). <https://doi.org/10.1007/s00216-008-2594-7>
- Kneipp, K., Haka, A. S., Kneipp, H., Badizadegan, K., Yoshizawa, N., Boone, C., Shafer-Peltier, K. E., Motz, J. T., Dasari, R. R., & Feld, M. S. (2002). Surface-Enhanced Raman Spectroscopy in Single Living Cells Using Gold Nanoparticles. *Applied Spectroscopy*, *56*(2), 150–154. <https://doi.org/10.1366/0003702021954557>
- Komarnisky, L. A., Christopherson, R. J., & Basu, T. K. (2003). Sulfur: its clinical and toxicologic aspects. *Nutrition*, *19*(1), 54–61. <https://doi.org/10.1016/S0899->

9007(02)00833-X

- Krutuyakov, Y. A., Kudrinskiy, A. A., Olenin, A. Y., & Lisichkin, G. V. (2008). Synthesis and properties of silver nanoparticles: advances and prospects. *Russian Chemical Reviews*, 77(3), 233–257. <https://doi.org/10.1070/RC2008v077n03ABEH003751>
- Kulshreshtha, S. (2019). Removal of pollutants using spent mushrooms substrates. *Environmental Chemistry Letters*, 17(2), 833–847. <https://doi.org/10.1007/s10311-018-00840-2>
- Kumar, S., Bukkitgar, S. D., Singh, S., Pratibha, Singh, V., Reddy, K. R., Shetti, N. P., Venkata Reddy, C., Sadhu, V., & Naveen, S. (2019). Electrochemical Sensors and Biosensors Based on Graphene Functionalized with Metal Oxide Nanostructures for Healthcare Applications. *ChemistrySelect*, 4(18), 5322–5337. <https://doi.org/10.1002/slct.201803871>
- Kuswandi, B., Nuriman, Dam, H. H., Reinhoudt, D. N., & Verboom, W. (2007). Development of a disposable mercury ion-selective optode based on trityl-picolinamide as ionophore. *Analytica Chimica Acta*, 591(2), 208–213. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.03.064>
- Länge, K., Rapp, B. E., & Rapp, M. (2008). Surface acoustic wave biosensors: a review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 391(5), 1509–1519. <https://doi.org/10.1007/s00216-008-1911-5>
- Lee, J.-S., Han, M. S., & Mirkin, C. A. (2007). Colorimetric Detection of Mercuric Ion (Hg<sup>2+</sup>) in Aqueous Media using DNA-Functionalized Gold Nanoparticles. *Angewandte Chemie International Edition*, 46(22), 4093–4096. <https://doi.org/10.1002/anie.200700269>
- Li, B., Li, X., Dong, Y., Wang, B., Li, D., Shi, Y., & Wu, Y. (2017). Colorimetric Sensor Array Based on Gold Nanoparticles with Diverse Surface Charges for Microorganisms Identification. *Analytical Chemistry*, 89(20), 10639–10643. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b02594>
- Li, D., Dong, Y., Li, B., Wu, Y., Wang, K., & Zhang, S. (2015). Colorimetric sensor array with unmodified noble metal nanoparticles for naked-eye detection of proteins and bacteria. *The Analyst*, 140(22), 7672–7677. <https://doi.org/10.1039/C5AN01267H>
- Li, F., Wang, J., Lai, Y., Wu, C., Sun, S., He, Y., & Ma, H. (2013). Ultrasensitive and selective detection of copper (II) and mercury (II) ions by dye-coded silver nanoparticle-based SERS probes. *Biosensors and Bioelectronics*, 39(1), 82–87. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2012.06.050>
- Li, Haibing, Cui, Z., & Han, C. (2009). Glutathione-stabilized silver nanoparticles as colorimetric sensor for Ni<sup>2+</sup> ion. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 143(1), 87–92. <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2009.09.013>
- Li, Huixiang, & Rothberg, L. (2004). Colorimetric detection of DNA sequences based on electrostatic interactions with unmodified gold nanoparticles. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(39), 14036–14039. <https://doi.org/10.1073/pnas.0406115101>
- Li, S., Wei, T., Tang, M., Chai, F., Qu, F., & Wang, C. (2018). Facile synthesis of bimetallic Ag-Cu nanoparticles for colorimetric detection of mercury ion and catalysis. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 255, 1471–1481. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.08.159>
- Lin, C.-Y., Yu, C.-J., Lin, Y.-H., & Tseng, W.-L. (2010). Colorimetric Sensing of Silver(I) and Mercury(II) Ions Based on an Assembly of Tween 20-Stabilized Gold Nanoparticles. *Analytical Chemistry*, 82(16), 6830–6837.

- <https://doi.org/10.1021/ac1007909>
- Liu, B., Zhuang, J., & Wei, G. (2020). Recent advances in the design of colorimetric sensors for environmental monitoring. In *Environmental Science: Nano* (Vol. 7, Issue 8, pp. 2195–2213). <https://doi.org/10.1039/d0en00449a>
- Liu, J., & Lu, Y. (2007). Rational Design of “Turn-On” Allosteric DNAzyme Catalytic Beacons for Aqueous Mercury Ions with Ultrahigh Sensitivity and Selectivity. *Angewandte Chemie International Edition*, 46(40), 7587–7590. <https://doi.org/10.1002/anie.200702006>
- Liu, Q., Peng, J., Sun, L., & Li, F. (2011). High-Efficiency Upconversion Luminescent Sensing and Bioimaging of Hg(II) by Chromophoric Ruthenium Complex-Assembled Nanophosphors. *ACS Nano*, 5(10), 8040–8048. <https://doi.org/10.1021/nn202620u>
- Liu, S.-J., Nie, H.-G., Jiang, J.-H., Shen, G.-L., & Yu, R.-Q. (2009). Electrochemical Sensor for Mercury(II) Based on Conformational Switch Mediated by Interstrand Cooperative Coordination. *Analytical Chemistry*, 81(14), 5724–5730. <https://doi.org/10.1021/ac900527f>
- Liu, X., Tang, Y., Wang, L., Zhang, J., Song, S., Fan, C., & Wang, S. (2007). Optical Detection of Mercury(II) in Aqueous Solutions by Using Conjugated Polymers and Label-Free Oligonucleotides. *Advanced Materials*, 19(11), 1471–1474. <https://doi.org/10.1002/adma.200602578>
- Liu, Y., Deng, Y., Dong, H., Liu, K., & He, N. (2017). Progress on sensors based on nanomaterials for rapid detection of heavy metal ions. In *Science China Chemistry* (Vol. 60, Issue 3, pp. 329–337). <https://doi.org/10.1007/s11426-016-0253-2>
- Liu, Z.-G., Chen, X., Jia, Y., Liu, J.-H., & Huang, X.-J. (2014). Role of Fe(III) in preventing humic interference during As(III) detection on gold electrode: Spectroscopic and voltammetric evidence. *Journal of Hazardous Materials*, 267, 153–160. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.12.054>
- Lok, C.-N., Ho, C.-M., Chen, R., He, Q.-Y., Yu, W.-Y., Sun, H., Tam, P. K.-H., Chiu, J.-F., & Che, C.-M. (2007). Silver nanoparticles: partial oxidation and antibacterial activities. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 12(4), 527–534. <https://doi.org/10.1007/s00775-007-0208-z>
- Losev, V. N., Buyko, O. V., Trofimchuk, A. K., & Zuy, O. N. (2015). Silica sequentially modified with polyhexamethylene guanidine and Arsenazo I for preconcentration and ICP–OES determination of metals in natural waters. *Microchemical Journal*, 123, 84–89. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2015.05.022>
- Lu, J., Elam, J. W., & Stair, P. C. (2016). Atomic layer deposition—Sequential self-limiting surface reactions for advanced catalyst “bottom-up” synthesis. *Surface Science Reports*, 71(2), 410–472. <https://doi.org/10.1016/j.surfrep.2016.03.003>
- Ma, Y., Niu, H., Zhang, X., & Cai, Y. (2011). Colorimetric detection of copper ions in tap water during the synthesis of silver/dopamine nanoparticles. *Chemical Communications*, 47(47), 12643. <https://doi.org/10.1039/c1cc15048k>
- Malik, L. A., Bashir, A., Qureshi, A., & Pandith, A. H. (2019a). Detection and removal of heavy metal ions: a review. In *Environmental Chemistry Letters* (Vol. 17, Issue 4, pp. 1495–1521). <https://doi.org/10.1007/s10311-019-00891-z>
- Malik, L. A., Bashir, A., Qureshi, A., & Pandith, A. H. (2019b). Detection and removal of heavy metal ions: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 17(4), 1495–1521. <https://doi.org/10.1007/s10311-019-00891-z>
- Malinsky, M. D., Kelly, K. L., Schatz, G. C., & Van Duyne, R. P. (2001). Chain

- Length Dependence and Sensing Capabilities of the Localized Surface Plasmon Resonance of Silver Nanoparticles Chemically Modified with Alkanethiol Self-Assembled Monolayers. *Journal of the American Chemical Society*, 123(7), 1471–1482. <https://doi.org/10.1021/ja003312a>
- Medeiros, A., Maria, L., & Farias, A. (2011). Biosensor for Environmental Applications. In *Environmental Biosensors*. InTech. <https://doi.org/10.5772/20154>
- Migowski, P., & Dupont, J. (2007). Catalytic Applications of Metal Nanoparticles in Imidazolium Ionic Liquids. *Chemistry - A European Journal*, 13(1), 32–39. <https://doi.org/10.1002/chem.200601438>
- Mihara, H., & Esaki, N. (2002). Bacterial cysteine desulfurases: Their function and mechanisms. In *Applied Microbiology and Biotechnology* (Vol. 60, Issues 1–2, pp. 12–23). <https://doi.org/10.1007/s00253-002-1107-4>
- Moellering, H., & Gruber, W. (1966). Determination of citrate with citrate lyase. In *Analytical Biochemistry* (Vol. 17, Issue 3, pp. 369–376). [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(66\)90172-2](https://doi.org/10.1016/0003-2697(66)90172-2)
- Moghimi, N., Mohapatra, M., & Leung, K. T. (2015). Bimetallic Nanoparticles for Arsenic Detection. *Analytical Chemistry*, 87(11), 5546–5552. <https://doi.org/10.1021/ac504116d>
- Moses OLADE. (1988). *Lead, Mercury, Cadmium and Arsenic in the Environment*. [https://www.academia.edu/75780799/Lead\\_Mercury\\_Cadmium\\_and\\_Arsenic\\_in\\_the\\_Environment](https://www.academia.edu/75780799/Lead_Mercury_Cadmium_and_Arsenic_in_the_Environment)
- National Center for Biotechnology Information. (n.d.). *National Center for Biotechnology Information 2023*. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cysteine>
- Needleman, H. (2009). Low Level Lead Exposure: History and Discovery. *Annals of Epidemiology*, 19(4), 235–238. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2009.01.022>
- Nevado, J. J. B., Martín-Doimeadios, R. C. R., Bernardo, F. J. G., & Moreno, M. J. (2005). Determination of mercury species in fish reference materials by gas chromatography-atomic fluorescence detection after closed-vessel microwave-assisted extraction. *Journal of Chromatography A*, 1093(1–2), 21–28. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.07.054>
- Nowack, B., Krug, H. F., & Height, M. (2011). 120 years of nanosilver history: Implications for policy makers. In *Environmental Science and Technology* (Vol. 45, Issue 4, pp. 1177–1183). <https://doi.org/10.1021/es103316q>
- Nozik, A. J. (2010). Nanoscience and Nanostructures for Photovoltaics and Solar Fuels. *Nano Letters*, 10(8), 2735–2741. <https://doi.org/10.1021/nl102122x>
- Ojemaye, M. O., Okoh, O. O., & Okoh, A. I. (2017). Surface modified magnetic nanoparticles as efficient adsorbents for heavy metal removal from wastewater: Progress and prospects. *Materials Express*, 7(6), 439–456. <https://doi.org/10.1166/mex.2017.1401>
- Pal, S., Tak, Y. K., & Song, J. M. (2007). Does the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Depend on the Shape of the Nanoparticle? A Study of the Gram-Negative Bacterium *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(6), 1712–1720. <https://doi.org/10.1128/AEM.02218-06>
- Pattnayak, S., Sahoo, U., Choudhury, S., & Hota, G. (2022). Silver nanoparticles embedded sulfur doped graphitic carbon nitride quantum dots: A fluorescent nanosensor for detection of mercury ions in aqueous media. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 648, 129377.

- <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2022.129377>
- Piriya V.S, A., Joseph, P., Daniel S.C.G., K., Lakshmanan, S., Kinoshita, T., & Muthusamy, S. (2017). Colorimetric sensors for rapid detection of various analytes. In *Materials Science and Engineering C* (Vol. 78, pp. 1231–1245). <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.05.018>
- Praveen Kumar, P. P., Kathuria, L., & Haridas, V. (2016). Cysteine-based silver nanoparticles as dual colorimetric sensors for cations and anions. *New Journal of Chemistry*, 40(10), 8382–8389. <https://doi.org/10.1039/C6NJ01486K>
- Priyadarshini, E., & Pradhan, N. (2017). Gold nanoparticles as efficient sensors in colorimetric detection of toxic metal ions: A review. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 238, 888–902. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.06.081>
- Pujol, L., Evrard, D., Groenen-Serrano, K., Freyssinier, M., Ruffien-Cizsak, A., & Gros, P. (2014). Electrochemical sensors and devices for heavy metals assay in water: the French groups' contribution. *Frontiers in Chemistry*, 2. <https://doi.org/10.3389/fchem.2014.00019>
- Rajamanikandan, R., & Ilanchelian, M. (2018). Naked eye and optical biosensing of cysteine over the other amino acids using  $\beta$ -cyclodextrin decorated silver nanoparticles as a nanoprobe. *New Journal of Chemistry*, 42(11), 9193–9199. <https://doi.org/10.1039/C7NJ05164F>
- Ravi, S. S., Christena, L. R., SaiSubramanian, N., & Anthony, S. P. (2013). Green synthesized silver nanoparticles for selective colorimetric sensing of Hg<sup>2+</sup> in aqueous solution at wide pH range. *The Analyst*, 138(15), 4370. <https://doi.org/10.1039/c3an00320e>
- Ravindran, A., Elavarasi, M., Prathna, T. C., Raichur, A. M., Chandrasekaran, N., & Mukherjee, A. (2012). Selective colorimetric detection of nanomolar Cr (VI) in aqueous solutions using unmodified silver nanoparticles. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 166–167, 365–371. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.02.073>
- Reibold, M., Paufler, P., Levin, A. A., Kochmann, W., Pätzke, N., & Meyer, D. C. (2006). Carbon nanotubes in an ancient Damascus sabre. *Nature*, 444(7117), 286–286. <https://doi.org/10.1038/444286a>
- Rex, M., Hernandez, F. E., & Campiglia, A. D. (2006). Pushing the Limits of Mercury Sensors with Gold Nanorods. *Analytical Chemistry*, 78(2), 445–451. <https://doi.org/10.1021/ac051166r>
- Reznickova, A., Slepicka, P., Slavikova, N., Staszek, M., & Svorcik, V. (2017). Preparation, aging and temperature stability of PEGylated gold nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 523, 91–97. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.04.005>
- Rosi, N. L., & Mirkin, C. A. (2005). Nanostructures in Biodiagnostics. *Chemical Reviews*, 105(4), 1547–1562. <https://doi.org/10.1021/cr030067f>
- Rossi, A., Zannotti, M., Cuccioloni, M., Minicucci, M., Petetta, L., Angeletti, M., & Giovannetti, R. (2021). Silver Nanoparticle-Based Sensor for the Selective Detection of Nickel Ions. *Nanomaterials*, 11(7), 1733. <https://doi.org/10.3390/nano11071733>
- Schultz, D. A. (2003). Plasmon resonant particles for biological detection. *Current Opinion in Biotechnology*, 14(1), 13–22. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(02\)00015-0](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(02)00015-0)
- Sener, G., Uzun, L., & Denizli, A. (2014). Colorimetric Sensor Array Based on Gold Nanoparticles and Amino Acids for Identification of Toxic Metal Ions in Water. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 6(21), 18395–18400. <https://doi.org/10.1021/am5071283>

- Shah, M., Badwaik, V. D., & Dakshinamurthy, R. (2014). Biological Applications of Gold Nanoparticles. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, *14*(1), 344–362. <https://doi.org/10.1166/jnn.2014.8900>
- Shankar, S., Shanker, U., & Shikha. (2014). Arsenic Contamination of Groundwater: A Review of Sources, Prevalence, Health Risks, and Strategies for Mitigation. *The Scientific World Journal*, *2014*, 1–18. <https://doi.org/10.1155/2014/304524>
- Sharma, V., Park, K., & Srinivasarao, M. (2009). Colloidal dispersion of gold nanorods: Historical background, optical properties, seed-mediated synthesis, shape separation and self-assembly. In *Materials Science and Engineering R: Reports* (Vol. 65, Issues 1–3, pp. 1–38). <https://doi.org/10.1016/j.mser.2009.02.002>
- Shetti, N. P., Bukkitgar, S. D., Reddy, K. R., Reddy, C. V., & Aminabhavi, T. M. (2019a). Nanostructured titanium oxide hybrids-based electrochemical biosensors for healthcare applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *178*, 385–394. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.03.013>
- Shetti, N. P., Bukkitgar, S. D., Reddy, K. R., Reddy, C. V., & Aminabhavi, T. M. (2019b). ZnO-based nanostructured electrodes for electrochemical sensors and biosensors in biomedical applications. *Biosensors and Bioelectronics*, *141*, 111417. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.111417>
- Shetti, N. P., Malode, S. J., Malladi, R. S., Nargund, S. L., Shukla, S. S., & Aminabhavi, T. M. (2019). Electrochemical detection and degradation of textile dye Congo red at graphene oxide modified electrode. *Microchemical Journal*, *146*, 387–392. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.01.033>
- Shetti, N. P., Nayak, D. S., Malode, S. J., Kakarla, R. R., Shukla, S. S., & Aminabhavi, T. M. (2019). Sensors based on ruthenium-doped TiO<sub>2</sub> nanoparticles loaded into multi-walled carbon nanotubes for the detection of flufenamic acid and mefenamic acid. *Analytica Chimica Acta*, *1051*, 58–72. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.11.041>
- Shirai, Y., Morin, J.-F., Sasaki, T., Guerrero, J. M., & Tour, J. M. (2006). Recent progress on nanovehicles. *Chemical Society Reviews*, *35*(11), 1043. <https://doi.org/10.1039/b514700j>
- Shrivastava, S., Bera, T., Roy, A., Singh, G., Ramachandrarao, P., & Dash, D. (2007). Retracted: Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. *Nanotechnology*, *18*(22), 225103. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/18/22/225103>
- Shukla, R., Bansal, V., Chaudhary, M., Basu, A., Bhonde, R. R., & Sastry, M. (2005). Biocompatibility of Gold Nanoparticles and Their Endocytotic Fate Inside the Cellular Compartment: A Microscopic Overview. *Langmuir*, *21*(23), 10644–10654. <https://doi.org/10.1021/la0513712>
- Singaravelu, G., Arockiamary, J. S., Kumar, V. G., & Govindaraju, K. (2007). A novel extracellular synthesis of monodisperse gold nanoparticles using marine alga, *Sargassum wightii* Greville. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *57*(1), 97–101. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.01.010>
- Sitko, R., Janik, P., Zawisza, B., Talik, E., Margui, E., & Queralt, I. (2015). Green Approach for Ultratrace Determination of Divalent Metal Ions and Arsenic Species Using Total-Reflection X-ray Fluorescence Spectrometry and Mercapto-Modified Graphene Oxide Nanosheets as a Novel Adsorbent. *Analytical Chemistry*, *87*(6), 3535–3542. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b00283>
- Slepička, P., Slepičková Kasálková, N., Siegel, J., Kolská, Z., & Švorčík, V. (2019).

- Methods of Gold and Silver Nanoparticles Preparation. *Materials*, 13(1), 1. <https://doi.org/10.3390/ma13010001>
- Smedley, P. ., & Kinniburgh, D. . (2002). A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry*, 17(5), 517–568. [https://doi.org/10.1016/S0883-2927\(02\)00018-5](https://doi.org/10.1016/S0883-2927(02)00018-5)
- Smitha, S. L., Nissamudeen, K. M., Philip, D., & Gopchandran, K. G. (2008). Studies on surface plasmon resonance and photoluminescence of silver nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 71(1), 186–190. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2007.12.002>
- Sönnichsen, C., Reinhard, B. M., Liphardt, J., & Alivisatos, A. P. (2005). A molecular ruler based on plasmon coupling of single gold and silver nanoparticles. *Nature Biotechnology*, 23(6), 741–745. <https://doi.org/10.1038/nbt1100>
- Soomro, R. A., Nafady, A., Sirajuddin, Memon, N., Sherazi, T. H., & Kalwar, N. H. (2014). L-cysteine protected copper nanoparticles as colorimetric sensor for mercuric ions. In *Talanta* (Vol. 130, pp. 415–422). <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.07.023>
- Su, X., & Kanjanawarut, R. (2009). Control of Metal Nanoparticles Aggregation and Dispersion by PNA and PNA–DNA Complexes, and Its Application for Colorimetric DNA Detection. *ACS Nano*, 3(9), 2751–2759. <https://doi.org/10.1021/nn9005768>
- Suddendorf, R. F., Watts, J. O., & Boyer, K. (1981). Simplified apparatus for determination of mercury by atomic absorption and inductively coupled plasma emission spectroscopy. *Journal - Association of Official Analytical Chemists*, 64(5), 1105–1110. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7287608>
- Sudha, P. N., Sangeetha, K., Vijayalakshmi, K., & Barhoum, A. (2018). Nanomaterials history, classification, unique properties, production and market. In *Emerging Applications of Nanoparticles and Architecture Nanostructures* (pp. 341–384). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-51254-1.00012-9>
- Sun, S., Kong, C., Yang, S., Wang, L., Song, X., Ding, B., & Yang, Z. (2011). Highly symmetric polyhedral Cu<sub>2</sub>O crystals with controllable-index planes. *CrystEngComm*, 13(7), 2217. <https://doi.org/10.1039/c0ce00679c>
- Sung, H. K., Oh, S. Y., Park, C., & Kim, Y. (2013). Colorimetric Detection of Co<sup>2+</sup> Ion Using Silver Nanoparticles with Spherical, Plate, and Rod Shapes. *Langmuir*, 29(28), 8978–8982. <https://doi.org/10.1021/la401408f>
- Tag, K., Riedel, K., Bauer, H.-J., Hanke, G., Baronian, K. H. R., & Kunze, G. (2007). Amperometric detection of Cu<sup>2+</sup> by yeast biosensors using flow injection analysis (FIA). *Sensors and Actuators B: Chemical*, 122(2), 403–409. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2006.06.007>
- Talpin, D. V., Lee, J.-S., Kovalenko, M. V., & Shevchenko, E. V. (2010). Prospects of Colloidal Nanocrystals for Electronic and Optoelectronic Applications. *Chemical Reviews*, 110(1), 389–458. <https://doi.org/10.1021/cr900137k>
- Tchounwou, P. B., Ayensu, W. K., Ninashvili, N., & Sutton, D. (2003). Review: Environmental exposure to mercury and its toxicopathologic implications for public health. *Environmental Toxicology*, 18(3), 149–175. <https://doi.org/10.1002/tox.10116>
- The European Parliament And Of The Council. (n.d.). *DIRECTIVES EU*. <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2013:179:0001:0021:en:PDF>
- Torimoto, T., Okazaki, K., Kiyama, T., Hirahara, K., Tanaka, N., & Kuwabata, S.



- (2006). Sputter deposition onto ionic liquids: Simple and clean synthesis of highly dispersed ultrafine metal nanoparticles. *Applied Physics Letters*, 89(24), 243117. <https://doi.org/10.1063/1.2404975>
- toshev et al. (2019). Colorimetric sensor from citrate capped silver nanoparticles for trace detection of arsenic (III) in groundwater. *Journal of Mining and Geological Sciences*, 62, 170–173.
- Tran, Q. H., Nguyen, V. Q., & Le, A.-T. (2013). Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 4(3), 033001. <https://doi.org/10.1088/2043-6262/4/3/033001>
- Trisodium Citrate*. (n.d.). [https://en.wikipedia.org/wiki/Trisodium\\_citrate](https://en.wikipedia.org/wiki/Trisodium_citrate)
- Turdean, G. L. (2011). Design and Development of Biosensors for the Detection of Heavy Metal Toxicity. *International Journal of Electrochemistry*, 2011, 1–15. <https://doi.org/10.4061/2011/343125>
- U.S. (n.d.). *National Primary Drinking Water Regulations*. <https://www.epa.gov/ground-water-and-drinking-water/national-primary-drinking-water-regulations>
- Ulhassan, Z., Yang, S., Khan, A. R., Hamid, Y., Muhammad, S., Azhar, W., Salam, A., Sheteiwy, M. S., Aftab, T., Wei, J. A., & Zhou, W. (2023). *Potential Toxic Effects of Metal or Metallic Nanoparticles in Plants and Their Detoxification Mechanisms* (pp. 67–85). [https://doi.org/10.1007/978-3-031-22269-6\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-031-22269-6_3)
- Üzer, A., Can, Z., Akın, İ., Erçağ, E., & Apak, R. (2014). 4-Aminothiophenol Functionalized Gold Nanoparticle-Based Colorimetric Sensor for the Determination of Nitramine Energetic Materials. *Analytical Chemistry*, 86(1), 351–356. <https://doi.org/10.1021/ac4032725>
- Valeur, B. (2000). Design principles of fluorescent molecular sensors for cation recognition. *Coordination Chemistry Reviews*, 205(1), 3–40. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(00\)00246-0](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(00)00246-0)
- Valueva, S. V., Kipper, A. I., Borovikova, L. N., & Matveeva, N. A. (2010). The influence of the nature of a nanoparticle and polymer matrix on the morphological characteristics of polymeric nanostructures. *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 84(12), 2110–2115. <https://doi.org/10.1134/S0036024410120186>
- Vinod Kumar, V., & Anthony, S. P. (2014). Silver nanoparticles based selective colorimetric sensor for Cd<sup>2+</sup>, Hg<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> ions: Tuning sensitivity and selectivity using co-stabilizing agents. In *Sensors and Actuators, B: Chemical* (Vol. 191, pp. 31–36). <https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.09.089>
- Wang, C.-C., Yau, H.-T., & Wang, C.-C. (2013). Chaotic and Subharmonic Motion Analysis of Floating Ring Gas Bearing System by Hybrid Numerical Method. *Mathematical Problems in Engineering*, 2013, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2013/145716>
- Wang, G.-L., Zhu, X.-Y., Jiao, H.-J., Dong, Y.-M., & Li, Z.-J. (2012). Ultrasensitive and dual functional colorimetric sensors for mercury (II) ions and hydrogen peroxide based on catalytic reduction property of silver nanoparticles. *Biosensors and Bioelectronics*, 31(1), 337–342. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2011.10.041>
- Wang, G. L., Zhu, X. Y., Jiao, H. J., Dong, Y. M., & Li, Z. J. (2012). Ultrasensitive and dual functional colorimetric sensors for mercury (II) ions and hydrogen peroxide based on catalytic reduction property of silver nanoparticles. In *Biosensors and Bioelectronics* (Vol. 31, Issue 1, pp. 337–342).

- <https://doi.org/10.1016/j.bios.2011.10.041>
- Wang, L., Wu, A., & Wei, G. (2018). Graphene-based aptasensors: from molecule–interface interactions to sensor design and biomedical diagnostics. *The Analyst*, *143*(7), 1526–1543. <https://doi.org/10.1039/C8AN00081F>
- Wang, L., Zhang, Y., Wu, A., & Wei, G. (2017). Designed graphene-peptide nanocomposites for biosensor applications: A review. *Analytica Chimica Acta*, *985*, 24–40. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.06.054>
- Wang, S., Wei, M., & Huang, Y. (2013). Biosorption of Multifold Toxic Heavy Metal Ions from Aqueous Water onto Food Residue Eggshell Membrane Functionalized with Ammonium Thioglycolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *61*(21), 4988–4996. <https://doi.org/10.1021/jf4003939>
- Wang, X., Deng, W., Xie, Y., & Wang, C. (2013). Selective removal of mercury ions using a chitosan–poly(vinyl alcohol) hydrogel adsorbent with three-dimensional network structure. *Chemical Engineering Journal*, *228*, 232–242. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.04.104>
- Wang, Yong, Yang, F., & Yang, X. (2010). Colorimetric Detection of Mercury(II) Ion Using Unmodified Silver Nanoparticles and Mercury-Specific Oligonucleotides. *ACS Applied Materials & Interfaces*, *2*(2), 339–342. <https://doi.org/10.1021/am9007243>
- Wang, Yucui, Liu, Y., Luehmann, H., Xia, X., Wan, D., Cutler, C., & Xia, Y. (2013). Radioluminescent Gold Nanocages with Controlled Radioactivity for Real-Time in Vivo Imaging. *Nano Letters*, *13*(2), 581–585. <https://doi.org/10.1021/nl304111v>
- Wang, Z., Wu, S., Wang, J., Yu, A., & Wei, G. (2019). Carbon Nanofiber-Based Functional Nanomaterials for Sensor Applications. *Nanomaterials*, *9*(7), 1045. <https://doi.org/10.3390/nano9071045>
- Wegner, S. V., Okesli, A., Chen, P., & He, C. (2007). Design of an Emission Ratiometric Biosensor from MerR Family Proteins: A Sensitive and Selective Sensor for Hg<sup>2+</sup>. *Journal of the American Chemical Society*, *129*(12), 3474–3475. <https://doi.org/10.1021/ja068342d>
- Wei, H., Li, B., Li, J., Wang, E., & Dong, S. (2007). Simple and sensitive aptamer-based colorimetric sensing of protein using unmodified gold nanoparticle probes. *Chemical Communications*, *36*, 3735. <https://doi.org/10.1039/b707642h>
- West, J. J., Cohen, A., Dentener, F., Brunekreef, B., Zhu, T., Armstrong, B., Bell, M. L., Brauer, M., Carmichael, G., Costa, D. L., Dockery, D. W., Kleeman, M., Krzyzanowski, M., Künzli, N., Liousse, C., Lung, S.-C. C., Martin, R. V., Pöschl, U., Pope, C. A., ... Wiedinmyer, C. (2016). “What We Breathe Impacts Our Health: Improving Understanding of the Link between Air Pollution and Health.” *Environmental Science & Technology*, *50*(10), 4895–4904. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b03827>
- WHO. (2017). *Mercury and health*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mercury-and-health>
- Wooten, M., Karra, S., Zhang, M., & Gorski, W. (2014). On the Direct Electron Transfer, Sensing, and Enzyme Activity in the Glucose Oxidase/Carbon Nanotubes System. *Analytical Chemistry*, *86*(1), 752–757. <https://doi.org/10.1021/ac403250w>
- World Health Organization. (n.d.-a). *Guidelines for drinking-water quality, 4th edition, incorporating the 1st addendum*.
- World Health Organization. (n.d.-b). *Guidelines for drinking-water quality. Vol. 2, Health criteria and other supporting information, 2nd ed.*

- World Health Organization. (1992). *Cadmium : environmental aspects / published under the joint sponsorship of the United Nations Environment Programme, the International Labour Organisation, and the World Health Organization*. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/39366>
- Wu, G., Dong, C., Li, Y., Wang, Z., Gao, Y., Shen, Z., & Wu, A. (2015). A novel AgNPs-based colorimetric sensor for rapid detection of Cu 2+ or Mn 2+ via pH control. *RSC Advances*, 5(26), 20595–20602. <https://doi.org/10.1039/C5RA00001G>
- Wu, S.-H., & Chen, D.-H. (2004). Synthesis of high-concentration Cu nanoparticles in aqueous CTAB solutions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 273(1), 165–169. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.01.071>
- Wu, Y., Pang, H., Liu, Y., Wang, X., Yu, S., Fu, D., Chen, J., & Wang, X. (2019). Environmental remediation of heavy metal ions by novel-nanomaterials: A review. *Environmental Pollution*, 246, 608–620. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.12.076>
- Xia, Y., Xiong, Y., Lim, B., & Skrabalak, S. E. (2009). Shape-Controlled Synthesis of Metal Nanocrystals: Simple Chemistry Meets Complex Physics? *Angewandte Chemie International Edition*, 48(1), 60–103. <https://doi.org/10.1002/anie.200802248>
- Xie, X. Y., Zheng, W. J., Bai, Y., & Liu, J. (2009). Cystine modified nano-sulfur and its spectral properties. In *Materials Letters* (Vol. 63, Issue 16, pp. 1374–1376). <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2008.12.049>
- Xing, T.-Y., Zhao, J., Weng, G.-J., Li, J.-J., Zhu, J., & Zhao, J.-W. (2018). Synthesis of dual-functional Ag/Au nanoparticles based on the decreased cavitating rate under alkaline conditions and the colorimetric detection of mercury(  $\text{Hg}^{2+}$  ) and lead(  $\text{Pb}^{2+}$  ). *Journal of Materials Chemistry C*, 6(28), 7557–7567. <https://doi.org/10.1039/C8TC01867G>
- Xu, R.-X., Yu, X.-Y., Gao, C., Liu, J.-H., Compton, R. G., & Huang, X.-J. (2013). Enhancing selectivity in stripping voltammetry by different adsorption behaviors: the use of nanostructured Mg–Al-layered double hydroxides to detect Cd(ii). *The Analyst*, 138(6), 1812. <https://doi.org/10.1039/c3an36271j>
- Xu, Xiaowen, Wang, J., Yang, F., Jiao, K., & Yang, X. (2009). Label-Free Colorimetric Detection of Small Molecules Utilizing DNA Oligonucleotides and Silver Nanoparticles. *Small*, 5(23), 2669–2672. <https://doi.org/10.1002/sml.200901164>
- Xu, Xiaoyang, Daniel, W. L., Wei, W., & Mirkin, C. A. (2010). Colorimetric Cu 2+ Detection Using DNA-Modified Gold-Nanoparticle Aggregates as Probes and Click Chemistry. *Small*, 6(5), 623–626. <https://doi.org/10.1002/sml.200901691>
- Yang, H., Zhou, Z., Huang, K., Yu, M., Li, F., Yi, T., & Huang, C. (2007). Multisignaling Optical-Electrochemical Sensor for Hg 2+ Based on a Rhodamine Derivative with a Ferrocene Unit. *Organic Letters*, 9(23), 4729–4732. <https://doi.org/10.1021/ol7020143>
- Yang, Q., Tan, Q., Zhou, K., Xu, K., & Hou, X. (2005). Direct detection of mercury in vapor and aerosol from chemical atomization and nebulization at ambient temperature: exploiting the flame atomic absorption spectrometer. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 20(8), 760. <https://doi.org/10.1039/b505298j>
- Yao, X.-Z., Guo, Z., Yuan, Q.-H., Liu, Z.-G., Liu, J.-H., & Huang, X.-J. (2014). Exploiting Differential Electrochemical Stripping Behaviors of Fe 3 O 4 Nanocrystals toward Heavy Metal Ions by Crystal Cutting. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 6(15), 12203–12213.

- <https://doi.org/10.1021/am501617a>
- Yogarajah, N., & Tsai, S. S. H. (2015). Detection of trace arsenic in drinking water: challenges and opportunities for microfluidics. *Environmental Science: Water Research & Technology*, *1*(4), 426–447. <https://doi.org/10.1039/C5EW00099H>
- Yoon, S., Albers, A. E., Wong, A. P., & Chang, C. J. (2005). Screening Mercury Levels in Fish with a Selective Fluorescent Chemosensor. *Journal of the American Chemical Society*, *127*(46), 16030–16031. <https://doi.org/10.1021/ja0557987>
- Yu, D., & Yam, V. W.-W. (2004). Controlled Synthesis of Monodisperse Silver Nanocubes in Water. *Journal of the American Chemical Society*, *126*(41), 13200–13201. <https://doi.org/10.1021/ja046037r>
- Zhan, W., & Bard, A. J. (2007). Electrogenerated Chemiluminescence. 83. Immunoassay of Human C-Reactive Protein by Using Ru(bpy) 3<sup>2+</sup> - Encapsulated Liposomes as Labels. *Analytical Chemistry*, *79*(2), 459–463. <https://doi.org/10.1021/ac061336f>
- Zhang, J., Wang, L., Pan, D., Song, S., Boey, F. Y. C., Zhang, H., & Fan, C. (2008). Visual Cocaine Detection with Gold Nanoparticles and Rationally Engineered Aptamer Structures. *Small*, *4*(8), 1196–1200. <https://doi.org/10.1002/sml.200800057>
- Zhang, Q.-X., Wen, H., Peng, D., Fu, Q., & Huang, X.-J. (2015). Interesting interference evidences of electrochemical detection of Zn(II), Cd(II) and Pb(II) on three different morphologies of MnO<sub>2</sub> nanocrystals. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, *739*, 89–96. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2014.12.023>
- Zhang, S., Ding, Y., & Wei, H. (2014). Ruthenium Polypyridine Complexes Combined with Oligonucleotides for Bioanalysis: A Review. *Molecules*, *19*(8), 11933–11987. <https://doi.org/10.3390/molecules190811933>
- Zhang, W., Lin, D., Wang, H., Li, J., Nienhaus, G. U., Su, Z., Wei, G., & Shang, L. (2017). Supramolecular Self-Assembly Bioinspired Synthesis of Luminescent Gold Nanocluster-Embedded Peptide Nanofibers for Temperature Sensing and Cellular Imaging. *Bioconjugate Chemistry*, *28*(9), 2224–2229. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.7b00312>
- Zhang, X., Wang, Y., Gu, M., Wang, M., Zhang, Z., Pan, W., Jiang, Z., Zheng, H., Lucero, M., Wang, H., Sterbinsky, G. E., Ma, Q., Wang, Y. G., Feng, Z., Li, J., Dai, H., & Liang, Y. (2020). Molecular engineering of dispersed nickel phthalocyanines on carbon nanotubes for selective CO<sub>2</sub> reduction. *Nature Energy*, *5*(9), 684–692. <https://doi.org/10.1038/s41560-020-0667-9>
- Zhao, Y., & Zhong, Z. (2006). Tuning the Sensitivity of a Foldamer-Based Mercury Sensor by Its Folding Energy. *Journal of the American Chemical Society*, *128*(31), 9988–9989. <https://doi.org/10.1021/ja062001i>
- Zheng, M., Wang, Y., Wang, C., Wei, W., Ma, S., Sun, X., & He, J. (2018). *Silver nanoparticles-based colorimetric array for the detection of Thiophanate-methyl*. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.03.038>
- Zhou, Y., Zhao, H., Li, C., He, P., Peng, W., Yuan, L., Zeng, L., & He, Y. (2012). Colorimetric detection of Mn<sup>2+</sup> using silver nanoparticles cofunctionalized with 4-mercaptobenzoic acid and melamine as a probe. *Talanta*, *97*, 331–335. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.04.041>
- Zhu, C., Yang, G., Li, H., Du, D., & Lin, Y. (2015). Electrochemical Sensors and Biosensors Based on Nanomaterials and Nanostructures. *Analytical Chemistry*, *87*(1), 230–249. <https://doi.org/10.1021/ac5039863>

- ZHU, S., LI, F., DU, C., & FU, Y. (2008). A localized surface plasmon resonance nanosensor based on rhombic Ag nanoparticle array. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 134(1), 193–198. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2008.04.028>
- Zhu, Y., Hu, J., & Wang, J. (2012). Competitive adsorption of Pb(II), Cu(II) and Zn(II) onto xanthate-modified magnetic chitosan. *Journal of Hazardous Materials*, 221–222, 155–161. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.04.026>
- Zhu, Z., Su, Y., Li, J., Li, D., Zhang, J., Song, S., Zhao, Y., Li, G., & Fan, C. (2009). Highly Sensitive Electrochemical Sensor for Mercury(II) Ions by Using a Mercury-Specific Oligonucleotide Probe and Gold Nanoparticle-Based Amplification. *Analytical Chemistry*, 81(18), 7660–7666. <https://doi.org/10.1021/ac9010809>

## 7. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Şeyma GÖNER

Doğum Yeri ve Tarihi : Melikgazi/KAYSERİ 10.09.1998

Lisans Üniversite : Pamukkale Üniversitesi

Elektronik posta :gonerseyma@gmail.com

İletişim Adresi :Çeştepe Mah. Cumhuriyet Cad. No:8/11  
Efeler/AYDIN