

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZİK ANABİLİM DALI**

**OPTİMUM DOYUM MANYETİZASYONLU SÜPERPARAMANYETİK
NANOPARÇACIKLARIN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU ve ENZİM
İMMOBİLİZASYON UYGULAMASI**

DOKTORA TEZİ

Öznur KARAAĞAÇ

Balıkesir, Haziran-2011

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZİK ANABİLİM DALI**

**OPTİMUM DOYUM MANYETİZASYONLU SÜPERPARAMANYETİK
NANOPARÇACIKLARIN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU ve ENZİM
İMMOBİLİZASYON UYGULAMASI**

DOKTORA TEZİ

Öznur KARAAĞAÇ

Balıkesir, Haziran-2011

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZİK ANABİLİM DALI

OPTİMUM DOYUM MANYETİZASYONLU SÜPERPARAMANYETİK
NANOPARÇACIKLARIN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU ve ENZİM
İMMOBİLİZASYON UYGULAMASI

DOKTORA TEZİ

Öznur KARAAĞAÇ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hakan KÖÇKAR

Sınav Tarihi: 20.06.2011

Jüri Üyeleri: Prof. Dr. Ali GENCER (AÜ)

Prof. Dr. Vural BÜTÜN (EOÜ)

Prof. Dr. Ali TEKE (BAÜ)

Prof. Dr. Hakan KÖÇKAR (Danışman-BAÜ)

Doç. Dr. Mustafa GÖKTEPE (BAÜ)

Enstitü Yönetim Kurulunun tarih sayılı oturumunun
nolu kararı ile Mezun olmuştur.

Balıkesir, Haziran-2011

“Bu alışma Balıkesir Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
BAP 2010/35 nolu araştırma projesi tarafından desteklenmiştir.”

ÖZET

OPTİMUM DOYUM MANYETİZASYONLU SÜPERPARAMANYETİK NANOPARÇACIKLARIN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU ve ENZİM İMMOBİLİZASYON UYGULAMASI

Öznur KARAAĞAÇ

Bahkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik Anabilimdalı

(Doktora Tezi / Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hakan KÖÇKAR)

Bahkesir, 2011

Bu çalışmanın amacı, optimum doyum manyetizasyonuna sahip süperparamanyetik nanoparçacıkları ortak çöktürme metoduyla sentezlemek, karakterize etmek ve biyoteknolojide potansiyel olarak uygulanabilirliğini göstermektir. Hidrojenle indirgeme yöntemi ile demir oksitten elde edilen demir nanoparçacıklar da karakterize edilmiştir. Bu amaç doğrultusunda insan karbonik anhidraz II (H CAII) enzimi, sentezlenen nanoparçacıklara immobilize edilmiştir.

İlk olarak, süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıklar açık hava ortamında ortak çöktürme yöntemiyle sentezlenmiştir. Titreşimli numune magnetometresi ile yapılan manyetik analizler, $[Fe^{+2}]/[Fe^{+3}]$ oranı 1/2'den 1/1'e arttığında, numunelerin süperparamanyetik olduğunu ve doyum manyetizasyonu, M_s 'in 37.63 emu/g'dan 58.37 emu/g'a yükseldiğini göstermektedir. X-ışını kırınımı desenlerinden hesaplanan kristal boyutları, parçacık boyutları 11 nm'den daha küçük olduğunda numunelerin süperparamanyetik olduğunu ortaya koymaktadır. Toplam demir iyon konsantrasyonunun 750 mM'in üstünde olduğu sentezlerde süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıklar elde edilmiş ve iyon konsantrasyonu arttıkça M_s değeri 63.71 emu/g'a yükselmiştir. Baz konsantrasyonu sentez şartlarına göre uygun bir değer üstünde olduğunda, demir oksit nanoparçacıkların M_s değerleri baz konsantrasyonu azaldıkça artmaktadır. Karıştırma hızı ve reaksiyon sıcaklığının, demir oksit nanoparçacıkların yapısal ve manyetik özelliklerini, diğer parametrelerle karşılaştırıldığında, önemli ölçüde değiştirmediği görülmüştür. Reaksiyon süresi arttıkça nanoparçacıkların süperparamanyetik olduğu ancak M_s değerlerinin azaldığı görülmektedir.

İkinci olarak, ortogonal dizayn yöntemi kullanılarak açık hava ortamında ortak çöktürme ile optimum M_s 'e sahip süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıklar sentezlenmiştir. Elde edilen nanoparçacıkların M_s değeri 69.83 emu/g olarak ölçülmüştür. Düşük (10 K) ve yüksek (300 K) sıcaklıkta fiziksel özellikler ölçüm sistemi (PPMS) ile yapılan manyetik ölçümler, nanoparçacıkların süperparamanyetik olduğuna işaret etmektedir. Geçirmeli elektron mikroskobu analizi, optimize edilen numunenin parçacık boyutunun 7.0 ± 2.2 nm olduğunu göstermektedir.

Üçüncü olarak, optimum M_s 'e sahip süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıklar, hidrojen gazı kullanılarak, yüksek sıcaklıkta, demir nanoparçacıklara indirgenmiştir. Demir nanoparçacıkların M_s ve koersivitesi, sırasıyla 204.40 emu/g ve 12 Oe olarak ölçülmüştür.

Çalışmanın son kısmında, demir oksit ve demir nanoparçacıklar, biyoteknolojideki potansiyel kullanımını göstermek için enzim (H CAII) immobilizasyonunda kullanılmıştır. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi ile yapılan yapısal analize göre, H CAII'nin demir oksit nanoparçacıklara bağlandığı söylenebilir. PPMS sonuçlarına göre, H CAII bağlı demir oksit nanoparçacıkların M_s değeri demir oksit nanoparçacıklara göre yaklaşık %19 daha düşüktür ve nanoparçacıklar süperparamanyetik özelliğini korumaktadır. Optimize edilmiş nanoparçacıklar kullanılarak kontrol edilebilir nanoparçacık-enzim sistemi elde edilebileceği sonucuna varılmıştır.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: süperparamanyetik / demir oksit nanoparçacıklar / enzim immobilizasyonu / optimizasyon / indirgeme / ortak çöktürme

ABSTRACT

SYNTHESIS and CHARACTERIZATION of SUPERPARAMAGNETIC NANOPARTICLES WITH OPTIMIZED SATURATION MAGNETIZATION and THEIR APPLICATION of ENZYME IMMOBILIZATION

Oznur KARAAGAC

Balikesir University, Institute of Science, Physics Department

(Ph. D Thesis / Supervisor: Prof. Dr. Hakan KOCKAR)

Balikesir, 2011

The aim of this work is to synthesize and characterize the co-precipitated superparamagnetic nanoparticles with optimized saturation magnetization and to show the potential applicability of these nanoparticles in biotechnology. The iron nanoparticles obtained from iron oxide by hydrogen reduction were also characterized. For the purpose of the study, human carbonic anhydrase II (H CAII) was immobilized to the synthesized nanoparticles.

Firstly, superparamagnetic iron oxide nanoparticles were synthesized by co-precipitation method in air atmosphere. Magnetic analysis made by vibrating sample magnetometer showed that the samples are superparamagnetic and their saturation magnetization, M_s increases from 37.63 emu/g to 58.37 emu/g as the $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ ratio increases from 1/2 to 1/1. The crystal sizes calculated from the x-ray diffraction patterns disclosed that the samples are superparamagnetic when their particle sizes were below 11 nm. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles were synthesized at above 750 mM of total iron ion concentration and M_s increased to 63.71 emu/g as the iron ion concentration increased. If the base concentration is above a critical concentration to the synthesis conditions, M_s of the iron oxide nanoparticles increases as the base concentration decreases. It was observed that stirring rate and reaction temperature have not significantly altered the structural and magnetic properties of iron oxide nanoparticles as compared with the above parameters. It was seen that the nanoparticles were superparamagnetic but their M_s decreased as the reaction time increased.

Secondly, superparamagnetic iron oxide nanoparticles with optimum M_s were co-precipitated in air atmosphere by using orthogonal design. Their M_s was measured as 69.83 emu/g. The magnetic measurements done by physical properties measurement system (PPMS) at low (10 K) and high (300 K) temperatures indicated that the nanoparticles are superparamagnetic. The transmission electron microscope analysis revealed that particle size of the optimized sample is 7.0 ± 2.2 nm.

Thirdly, the optimized superparamagnetic iron oxide nanoparticles were reduced to iron nanoparticles at high temperature using hydrogen gas. The M_s and coercivity of iron nanoparticles were measured as 204.40 emu/g and 12 Oe, respectively.

In the final part of the study, iron oxide and iron nanoparticles were used in enzyme (H CAII) immobilization to show its potential usage in biotechnology. According to structural analysis made by fourier transform infrared spectroscopy it can be said that H CAII was bound to the iron oxide nanoparticles. To the PPMS results, M_s of H CAII bound iron oxide is about % 19 lower than M_s of iron oxide nanoparticles and it keeps the superparamagnetic character. It can be concluded that controllable nanoparticle-enzyme system can be obtained by using optimized nanoparticles.

KEYWORDS: superparamagnetic / iron oxide nanoparticles / enzyme immobilization / optimization / reduction / co-precipitation

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET, ANAHTAR SÖZCÜKLER	ii
ABSTRACT, KEYWORDS	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SEMBOL LİSTESİ	vi
ŞEKİL LİSTESİ	viii
ÇİZELGE LİSTESİ	xvi
ÖNSÖZ	xvii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL BİLGİ	5
2.1 Manyetizmanın Temel Kavramları	5
2.2 Maddelerde Manyetik Düzen	7
2.3 Küçük Parçacık Manyetizması	16
2.3.1 Domain Yapısı ve Oluşumu	17
2.3.2 Tek-domain Boyutu	18
2.3.3 Süperparamanyetizma	21
2.4 Demir ile Demir Oksitin Yapısı ve Özellikleri	24
2.5 Nanoparçacık Sentez Teknikleri	29
2.5.1 Ortak Çöktürme	31
2.5.2 Hidrojen ile İndirgeme	32
2.6 Ortogonal Dizayn Yöntemi ile Optimizasyon	34
3. DENEYSEL TEKNİKLER	38
3.1 Ortak Çöktürme ile Demir Oksit Nanoparçacıkların Sentezi	38
3.2 Nanoparçacıkların Hidrojen ile İndirgenmesi	40
3.3 X-Işını Kırınımı	41
3.4 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi	42
3.5 Geçirmeli Elektron Mikroskobu	43
3.6 Titreşimli Numune Magnetometresi	45
3.7 Fiziksel Özellikler Ölçüm Sistemi	48
3.8 Enzim İmmobilizasyonu	49

4. BULGULAR ve TARTIŞMA	52
4.1 Ortak Çöktürme Yöntemi ile Süperparamanyetik Demir Oksit Nanoparçacıkların Sentezi ve Karakterizasyonu	52
4.1.1 Demir Oksit Nanoparçacıkların Sentez Şartları	53
4.1.2 Yapısal Karakterizasyon	55
4.1.2.1 X-Işını Kırınımıyla Analiz	55
4.1.2.2 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisiyle Analiz	72
4.1.2.3 Geçirmeli Elektron Mikroskopuyla Analiz	79
4.1.3 Manyetik Karakterizasyon	87
4.2 Optimizasyon Yöntemiyle Yüksek Doyum Manyetizasyonuna Sahip Süperparamanyetik Demir Oksit Nanoparçacıkların Sentezi	103
4.2.1 Demir Oksit Nanoparçacıkların Optimizasyonu	103
4.2.2 Optimizasyon Analizi Yapılan Nanoparçacıkların Yapısal ve Manyetik Karakterizasyonu	108
4.2.3 Optimum Doyum Manyetizasyonuna Sahip Nanoparçacıkların Yapısal ve Manyetik Karakterizasyonu	114
4.2.4 Optimum Doyum Manyetizasyonuna Sahip Nanoparçacıkların Sıcaklığa Bağlı Manyetik Davranışı	117
4.3 Demir Oksit Nanoparçacıkların Hidrojenle İndirgenmesi	118
4.3.1 Yapısal Karakterizasyon	119
4.3.2 Manyetik Karakterizasyon	122
4.4 Manyetik Nanoparçacıkların Enzim İmmobilizasyon Uygulaması	123
4.4.1 Manyetik Nanoparçacıkların Enzim İmmobilizasyonu ve Yapısal Karakterizasyonu	123
4.4.2 Manyetik Karakterizasyon ve Enzim İmmobilizasyonunun Analizi	129
5. SONUÇ	133
KAYNAKLAR	139

SEMBOL LİSTESİ

Simge Adı

M	Manyetizasyon
m	Net manyetik moment
V	Hacim
H	Manyetik alan
B	Manyetik indüksiyon
μ	Manyetik geçirgenlik
μ_0	Boşluğun manyetik geçirgenliği
χ	Manyetik alınganlık
μ'	Diferansiyel geçirgenlik
χ'	Diferansiyel alınganlık
E	Enerji
θ	Açı
k_B	Boltzman sabiti
T	Sıcaklık
$\mathfrak{Z}(x)$	Langevin fonksiyonu
C	Curie sabiti
μ_B	Bohr magnetonu
g	Lande yarıлма faktörü
J	Spin ve yörünge kuantum sayısı
$B_j(x)$	Brilliouin fonksiyonu
M_s	Doyum manyetizasyonu
M_r	Kalıcı manyetizasyon
H_c	Koersivite
H_s	Doyum alanı
T_C	Curie sıcaklığı
T_N	Neel sıcaklığı
D	Parçacık çapı
D_T	Tek domain boyutu
E_a	Anizotropi enerjisi
K	Anizotropi sabiti
E_p	Potansiyel enerji
E_{top}	Toplam enerji
μ_p	Parçacığın momenti
τ	Zaman
τ_0	Parçacık momentinin enerji bariyerini aşması için gereken süre
V_{sp}	Süperparamanyetik hacim
T_B	Bloklama sıcaklığı
d_{hkl}	(hkl) düzlemine ait düzlemler arası mesafe
2θ	Kırınım açısı
λ	Dalgaboyu

t	Kristal büyüklüğü
B	Düzleme ait pikin yarı yükseklikteki pik genişliği
ε	Elektromotor kuvvet
N	Sarım sayısı
Φ	Manyetik akı
A	Alan
d_{MAG}	Manyetik parçacık boyutu
σ_{MAG}	Manyetik parçacık boyutunun standart sapması
χ_i	Başlangıç alınganlığı

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil numarası	Adı	Sayfa No
Şekil 1.1:	Disiplinlerarası etkileşimi örnekleyen şematik gösterim [4].	2
Şekil 2.1:	Diyamanyetik maddelerin tipik M-H grafiği [27].	8
Şekil 2.2:	Düşük ve orta alanda paramanyetik maddelerin tipik M-H grafiği [27].	9
Şekil 2.3:	Fe'in birim hücresindeki manyetik momentlerin yerleşimi [23].	12
Şekil 2.4:	Ferromanyetik bir maddeye ait tipik histeresis eğrisi [29].	13
Şekil 2.5:	MnO'te Mn ⁺² iyonlarının spin sıralanışı (O ⁻² iyonları gösterilmemiştir.) [30].	14
Şekil 2.6:	GdCo ₅ 'ın birim hücresindeki manyetik momentlerin yerleşimi. [26].	15
Şekil 2.7:	Farklı manyetik maddelerde bireysel manyetik momentlerin yönelimlerinin şematik gösterimi ve manyetik alınganlıkların sıcaklığa bağlı değişimi [26, 29, 31].	16
Şekil 2.8:	Kolay eksene antiparalel ve dik uygulanan manyetik alanda ortaya çıkan histeresis eğrileri (paralel, ⊥ dik) [28].	20
Şekil 2.9:	H _c 'ye karşı parçacık çapı (D _S : Süperparamanyetik boyutu, D _T : Tek domain boyutu) [28].	23
Şekil 2.10:	Süperparamanyetik bir malzemeye ait tipik manyetizasyon eğrisi [28].	23
Şekil 2.11:	Magnetit kristalinin yapısı [29].	26
Şekil 2.12:	Magnetitin (a) Oktahedral ve (b) Tetrahedral bölgelerindeki spinlerin yerleşiminin şematik gösterimi [30].	27
Şekil 3.1:	Ortak çöktürme ile demir oksit sentezinde kullanılan sistem.	39
Şekil 3.2:	Reaksiyon sonrası (a) çöktürülmüş numune, (b) kurutulmuş numune.	40

Şekil 3.3:	Hidrojen ile indirgeme için kullanılan sistem.	40
Şekil 3.4:	İndirgeme reaksiyonu sonucunda elde edilen numune.	41
Şekil 3.5:	Elde edilen nanoparçacıkların asidik dispersiyonu.	45
Şekil 3.6:	VSM'in titreşim ünitesinin şematik gösterimi [26].	46
Şekil 3.7:	Enzimin nanoparçacığa bağlanması için kullanılan prosedür [81].	50
Şekil 3.8:	Enzimin nanoparçacığa bağlanma prosedürü sırasında (a) 30 dakika sonifikasyondan sonraki halinin, (b) aynı numunenin mıknatısla ayrılmış halinin, (c) numunenin ayrılan üst fazının, (d) I-İlk yıkamadan sonra, II-Tampon A ile yıkamadan sonra, III-Tampon B ile yıkamadan sonra üst fazların ve mıknatıs üzerinde bulunan son halde üst ve alt fazların fotoğrafları.	51
Şekil 4.1:	Farklı $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranlarında sentezlenen nanoparçacıkların XRD desenleri. (O1: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 1/2$, O2: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, O4: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 1$, O5: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/1$, O6: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 4/1$, O7: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 1/-$ 'dir. Diğer parametreler; demir iyon konsantrasyonu=1000 mM, baz konsantrasyonu = 6.7 M, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.)	56
Şekil 4.2:	Toplam demir iyonu konsantrasyonu değiştirilerek sentezlenen nanoparçacıkların XRD desenleri. (I1: 1000 mM Fe^{+2} , 1500 mM Fe^{+3} , I2: 800 mM Fe^{+2} , 1200 mM Fe^{+3} , I3: 600 mM Fe^{+2} , 900 mM Fe^{+3} , I4: 400 mM Fe^{+2} , 600 mM Fe^{+3} , I5: 300 mM Fe^{+2} , 450 mM Fe^{+3} , I6: 200 mM Fe^{+2} , 300 mM Fe^{+3} , I7: 100 mM Fe^{+2} , 150 mM Fe^{+3} , I8: 50 mM Fe^{+2} , 75 mM Fe^{+3} , tür. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, baz konsantrasyonu = 6.7 M, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.)	59
Şekil 4.3:	Farklı baz konsantrasyonları kullanılarak sentezlenen nanoparçacıkların XRD desenleri. (P1: 6.7 M NH_3 , P2: 5.3 M NH_3 , P3: 4.0 M NH_3 , P4: 2.7 M NH_3 'tür. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.) FeOOH faza ait pikler, A: (110), B: (130), C: (021), D: (210), E: (140), F: (221), G: (151), H: (002), K: (061), L: (132).	63

- Şekil 4.4:** Farklı karıştırma hızlarında sentezlenen nanoparçacıkların XRD desenleri. (R1: 100 rpm, R2: 300 rpm, R3: 700 rpm, R4: 1100 rpm, R5: 1500 rpm, R6: 1800 rpm'dir. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, baz konsantrasyonu = 4.0 M, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.) 65
- Şekil 4.5:** Farklı sıcaklıklarda sentezlenen nanoparçacıkların XRD desenleri. (T1: 20 °C, T2: 40 °C, T3: 60 °C, T4: 80 °C, T5: 85 °C'dir. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, baz konsantrasyonu = 4.0 M, karıştırma hızı = 1500 rpm ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.) 68
- Şekil 4.6:** Farklı sürelerde sentezlenen nanoparçacıkların XRD desenleri. (S1: 2 dakika, S4: 5 dakika, S5: 15 dakika, S6: 30 dakika, S9: 90 dakika'dır. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, baz konsantrasyonu = 4.0 M, karıştırma hızı = 1500 rpm ve reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C olarak sabit tutulmuştur.) 70
- Şekil 4.7:** Farklı $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranlarında sentezlenen nanoparçacıklara ait FT-IR spektrumu. (O1: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 1/2$, O2: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, O3: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 5/6$, O4: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 1$, O5: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/1$, O6: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 4/1$, O7: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 1/-$ 'dir. Diğer parametreler; demir iyon konsantrasyonu = 1000 mM, baz konsantrasyonu = 6.7 M, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.) 73
- Şekil 4.8:** Toplam demir iyonu konsantrasyonu değiştirilerek sentezlenen nanoparçacıklara ait FT-IR spektrumu. (I1: 1000 mM Fe^{+2} , 1500 mM Fe^{+3} , I2: 800 mM Fe^{+2} , 1200 mM Fe^{+3} , I3: 600 mM Fe^{+2} , 900 mM Fe^{+3} , I4: 400 mM Fe^{+2} , 600 mM Fe^{+3} , I5: 300 mM Fe^{+2} , 450 mM Fe^{+3} , I6: 200 mM Fe^{+2} , 300 mM Fe^{+3} , I7: 100 mM Fe^{+2} , 150 mM Fe^{+3} , I8: 50 mM Fe^{+2} , 75 mM Fe^{+3} , tür. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, baz konsantrasyonu = 6.7 M, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.) 74
- Şekil 4.9:** Farklı baz konsantrasyonlarında sentezlenen nanoparçacıklara ait FT-IR spektrumu. (P1: 6.7 M NH_3 , P2: 5.3 M NH_3 , P3: 4.0 M NH_3 , P4: 2.7 M NH_3 'tür. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, karıştırma hızı = 1500 rpm,

- reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.) 76
- Şekil 4.10:** Farklı karıştırma hızlarında sentezlenen nanoparçacıklara ait FT-IR spektrumu. (R1: 100 rpm, R2: 300 rpm, R3: 700 rpm, R4: 1100 rpm, R5: 1500 rpm, R6: 1800 rpm'dir. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, baz konsantrasyonu = 4.0 M, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.) 77
- Şekil 4.11:** Farklı sıcaklıklarda sentezlenen nanoparçacıklara ait FT-IR spektrumu. (T1: 20 °C, T2: 40 °C, T3: 60 °C, T4: 80 °C, T5: 85 °C'dir. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, baz konsantrasyonu = 4.0 M, karıştırma hızı = 1500 rpm ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.) 78
- Şekil 4.12:** Farklı sürelerde sentezlenen nanoparçacıklara ait FT-IR spektrumu. (S1: 2 dakika, S2: 3 dakika, S3: 4 dakika, S4: 5 dakika, S5: 15 dakika, S6: 30 dakika, S7: 45 dakika, S8: 60 dakika, S9: 90 dakika'dır. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, baz konsantrasyonu = 4.0 M, karıştırma hızı = 1500 rpm ve reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C olarak sabit tutulmuştur.) 79
- Şekil 4.13:** Farklı $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranları ile sentezlenen (a) O1, (b) O4 ve (c) O6 numunelerine ait TEM fotoğrafları. (O1: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 1/2$, O4: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 1$, O6: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 4/1$ 'dir. Diğer parametreler; demir iyon konsantrasyonu = 1000 mM, baz konsantrasyonu = 6.7 M, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.) (Skala çizgileri 20 nm'dir.) 81
- Şekil 4.14:** Farklı demir iyon konsantrasyonlarında sentezlenen (a) I1, (b) I2 ve (c) I6 numunelerine ait TEM fotoğrafları (Oklar yan ürünleri göstermektedir) (I1: 1000 mM Fe^{+2} , 1500 mM Fe^{+3} , I2: 800 mM Fe^{+2} , 1200 mM Fe^{+3} , I6: 200 mM Fe^{+2} , 300 mM Fe^{+3} , tür. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, baz konsantrasyonu = 6.7 M, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.) (Skala çizgileri 20 nm'dir.) 82
- Şekil 4.15:** Farklı konsantrasyonlarda baz kullanılarak sentezlenen (a) P1 ve (b) P3 numunelerine ait TEM fotoğrafları. (P1: 6.7 M NH_3 , P3: 4.0 M NH_3 'tür. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, karıştırma

- hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.) (Skala çizgileri 20 nm'dir.) 84
- Şekil 4.16:** Farklı karıştırma hızlarında sentezlenen numunelerden (a) ve (b) R1 numunesine ait TEM fotoğrafları, (c) R3 numunesine ait TEM fotoğrafı, (d) R3 numunesine ait elektron kırınımı deseni. (R1: 100 rpm, R3: 700 rpm'dir. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, baz konsantrasyonu = 4.0 M, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.) (Skala çizgisi (a) ve (c) şıklarında 20 nm, (b) şıkında 2 nm'dir.) 85
- Şekil 4.17:** T5 numunesine ait TEM fotoğrafı. ($[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, baz konsantrasyonu = 4.0 M, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 85 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakikadır.) (Skala çizgisi 20 nm'dir.) 86
- Şekil 4.18:** (a) S1, (b) S4 ve (c) S9 numunelerine ait TEM fotoğrafları. (S1: 2 dakika, S4: 5 dakika, S9: 90 dakika'dır. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, baz konsantrasyonu = 4.0 M, karıştırma hızı = 1500 rpm ve reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C olarak sabit tutulmuştur.) (Skala çizgileri 20 nm'dir.) 87
- Şekil 4.19:** Farklı $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranlarında sentezlenen demir oksit nanoparçacıkların (a) ± 20 kOe aralığında, (b) ± 200 Oe aralığında manyetizasyon eğrileri (O1: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 1/2$, O2: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, O3: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 5/6$, O4: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 1$), c) ± 200 Oe aralığında manyetizasyon eğrileri (O5: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/1$, O6: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 4/1$, O7: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 1/-$). (Diğer parametreler; demir iyon konsantrasyonu = 1000 mM, baz konsantrasyonu = 6.7 M, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.) 89
- Şekil 4.20:** Toplam demir iyonu konsantrasyonu değiştirilerek sentezlenen demir oksit nanoparçacıkların (a) ± 20 kOe aralığında (b) ± 200 Oe aralığında manyetizasyon eğrileri. (I1: 1000 mM Fe^{+2} , 1500 mM Fe^{+3} , I2: 800 mM Fe^{+2} , 1200 mM Fe^{+3} , I3: 600 mM Fe^{+2} , 900 mM Fe^{+3} , I4: 400 mM Fe^{+2} , 600 mM Fe^{+3} , I5: 300 mM Fe^{+2} , 450 mM Fe^{+3} , I6: 200 mM Fe^{+2} , 300 mM Fe^{+3} , I7: 100 mM Fe^{+2} , 150 mM Fe^{+3} , I8: 50 mM Fe^{+2} , 75 mM Fe^{+3} 'tür. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, baz konsantrasyonu = 6.7 M, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.) 92

- Şekil 4.21:** Farklı baz konsantrasyonları kullanılarak sentezlenen demir oksit nanoparçacıkların (a) ve (b) ± 20 kOe aralığında (c) ± 200 Oe aralığında manyetizasyon eğrileri. (P1: 6.7 M NH_3 , P2: 5.3 M NH_3 , P3: 4.0 M NH_3 , P4: 2.7 M NH_3 , P5: 0.7 M NH_3 'tür. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.) 94
- Şekil 4.22:** Farklı karıştırma hızlarında sentezlenen demir oksit nanoparçacıkların (a) ± 20 kOe aralığında (b) ± 200 Oe aralığında manyetizasyon eğrileri. (R1: 100 rpm, R2: 300 rpm, R3: 700 rpm, R4: 1100 rpm, R5: 1500 rpm, R6: 1800 rpm'dir. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, baz konsantrasyonu = 4.0 M, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.) 96
- Şekil 4.23:** Farklı sıcaklıklarda sentezlenen demir oksit nanoparçacıkların (a) ± 20 kOe aralığında (b) ± 200 Oe aralığında manyetizasyon eğrileri. (T1: 20 °C, T2: 40 °C, T3: 60 °C, T4: 80 °C, T5: 85 °C'dir. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, baz konsantrasyonu = 4.0 M, karıştırma hızı = 1500 rpm ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.) 98
- Şekil 4.24:** Farklı sürelerde sentezlenen demir oksit nanoparçacıkların (a) ± 20 kOe aralığında (b) ± 200 Oe aralığında manyetizasyon eğrileri (S1: 2 dakika, S2: 3 dakika, S3: 4 dakika, S4: 5 dakika, S5: 15 dakika, S6: 30 dakika, S7: 45 dakika, S8: 60 dakika, S9: 90 dakika'dır. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, baz konsantrasyonu = 4.0 M, karıştırma hızı = 1500 rpm ve reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C olarak sabit tutulmuştur.) 100
- Şekil 4.25:** Çıkış değerlerinin giriş parametre seviyelerine karşı grafikleri (a) $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranı, (b) toplam demir iyon konsantrasyonu, (c) baz konsantrasyonu, (d) reaksiyon süresi. 107
- Şekil 4.26:** Optimizasyon deneylerinden elde edilen bazı numunelere ait XRD desenleri. (D6 numunesinde, demir oksihidroksitlere ait olduğu düşünülen pikler "*" ile gösterilmektedir.) 110
- Şekil 4.27:** Optimizasyon deneylerinden elde edilen numunelere ait FT-IR spektrumu. 111

Şekil 4.28:	(a) D1, (b) D4, (c)-(e) D6 ve (f) D8 numunelerine ait TEM fotoğrafları. (Skala çizgisi (a), (b), (d) ve (e)'de 20 nm, (c)'de 100 nm, (f)'de 2 nm'dir.)	112
Şekil 4.29:	Optimizasyon çalışması sonucunda elde edilen numunelere ait (a) ± 20 kOe aralığındaki, (b) ± 200 Oe aralığındaki manyetizasyon eğrileri.	113
Şekil 4.30:	Optimum M_s 'e sahip numunenin XRD deseni.	115
Şekil 4.31:	Optimum M_s 'e sahip numunenin FT-IR spektrumu.	115
Şekil 4.32:	Optimum M_s 'e sahip numunenin (a) TEM görüntüsü (Skala çizgisi 20 nm'dir.), (b) birkaç nanoparçacığına ait TEM görüntüsü (Skala çizgisi 2 nm'dir.), $d_1 = 0.297$ nm, $d_2 = 0.252$ nm olarak ölçülmüştür, (c) elektron kırınımı deseni.	116
Şekil 4.33:	Optimum M_s 'e sahip demir oksit nanoparçacığına ait manyetizasyon eğrisi.	117
Şekil 4.34:	OP1 numunesinin 300 K ve 10 K'de ölçülen (a) ± 35 kOe, (b) ± 2000 Oe aralığındaki manyetizasyon eğrileri.	118
Şekil 4.35:	İndirgeme ile elde edilen numunenin (F1) ve optimum M_s 'e sahip demir oksit numunenin (OP1) XRD deseni.	121
Şekil 2.36:	İndirgeme ile elde edilen numunenin (F1) ve optimum M_s 'e sahip demir oksit numunenin (OP1) FT-IR spektrumu.	121
Şekil 4.37:	İndirgeme ile elde edilen numuneye ait (a) 20 nm skalasında, (b) 10 nm skalasında, (c) 5 nm skalasında TEM fotoğrafları.	122
Şekil 4.38:	İndirgeme ile elde edilen demir (F1) numune ve optimum M_s 'e sahip demir oksit (OP1) numuneye ait manyetizasyon eğrileri.	123
Şekil 4.39:	Karbodimid aktivasyonu ile amid bağı oluşumu [114]. Proteindeki karboksilik asit kesikli çizgilerle, nanoparçacık üzerindeki amin grubu düz çizgiyle çevrenip gösterilmektedir.	125
Şekil 4.40:	F1 ve OP1 numunelerine ait FT-IR spektrumu.	125
Şekil 4.41:	(a) H CAII bağı OP1 numunesinin bağlanmadan hemen sonraki, (b) H CAII bağı OP1 numunesinin aktivite bittiği andaki (c) H CAII bağı F1 numunesinin bağlanmadan	

	hemen sonraki, (d) H CAII bağlı F1 numunesinin aktivite bittiği andaki fotoğrafları.	127
Şekil 4.42:	(a) H CAII, (b) OP1, (c) bağlanmadan hemen sonra nanoparçacığa (OP1) immobilize enzim ve (d) enzim aktivitesinin bittiği anda nanoparçacığa (OP1) immobilize enzimin FT-IR spektrumu.	128
Şekil 4.43:	(a) H CAII, (b) F1, (c) bağlanmadan hemen sonra nanoparçacığa (F1) immobilize enzim ve (d) enzim aktivitesinin bittiği anda nanoparçacığa (F1) immobilize enzimin FT-IR spektrumu.	129
Şekil 4.44:	(a) ± 20 kOe ve (b) ± 2000 Oe aralığında OP1 numunesinin, bağlanmadan hemen sonra nanoparçacığa (OP1) immobilize enzim (H CAII) ve enzim aktivitesinin bittiği anda nanoparçacığa (OP1) immobilize enzimin (H CAII) manyetizasyon eğrileri.	130
Şekil 4.45:	F1 numunesinin, bağlanmadan hemen sonra nanoparçacığa (F1) immobilize enzim (H CAII) ve enzim aktivitesinin kaybolduğu anda nanoparçacığa (F1) immobilize enzimin (H CAII) manyetizasyon eğrileri.	131

ÇİZELGE LİSTESİ

Cizelge numarası	Adı	Sayfa No
Tablo 2.1:	Küresel parçacıklar için tahmin edilen tek-domain boyutları.	18
Tablo 2.2:	Bazı minerallerin manyetik özellikleri [37].	28
Tablo 2.3:	Magnetit, maghemit ve hematitin bazı özellikleri [38].	29
Tablo 2.4:	Bazı ortogonal tablolar [70].	36
Tablo 2.5:	Dört parametrelili üç seviyeli bir sisteme ait ortogonal dizayn tablosu [31].	37
Tablo 2.6:	L_93^4 ortogonal tablosu için çıkış parametrelerinin ortalamalarının ve farklarının hesaplanmasında kullanılan formüller [31].	37
Tablo 4.1:	Ortak çöktürme ile elde edilen demir oksit nanoparçacıkların sentez şartları.	54
Tablo 4.2:	Sentez parametrelerine bağlı olarak elde edilen parçacık boyutları ve manyetik sonuçlar	101
Tablo 4.3:	Optimizasyon için belirlenen giriş parametreleri ve seviye değerleri.	104
Tablo 4.4:	L_93^4 ortogonal tablosuna göre yapılan deneylerin sonuçları ve verilerin analizi.	105

ÖNSÖZ

Doktora çalışmamın her aşamasında bilgi ve tecrübelerini paylaşan, her konuda desteğini esirgemeyen ve deneyimleri ile bana yol gösteren değerli danışmanım Prof. Dr. Hakan KÖÇKAR'a çok teşekkür ederim.

Tez İzleme dönemlerinde bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşıp yorumları ile yol gösterici olan Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Kimya Bölümünden Prof. Dr. Vural BÜTÜN ve Balıkesir Üniversitesi Fizik Bölümünden Doç. Dr. Mustafa GÖKTEPE'ye çok teşekkür ederim. Enzim immobilizasyonu çalışmasında enzim saflaştırılması ve aktivite ölçümlerinde yardımlarını esirgemeyen Balıkesir Üniversitesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Anabilimdalından Prof. Dr. Feray KÖÇKAR ve Araş. Gör. Sümeyye AYDOĞAN TÜRKÖĞLU'na teşekkür ederim. Laboratuvar imkanlarından faydalandığım İstanbul Teknik Üniversitesi Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümünden Prof. Dr. Sebahattin GÜRME'ne ve laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımcı olan Araş. Gör. Burçak EBİN'e teşekkür ederim. Ayrıca bu çalışmanın ilk kısımlarında bilgi ve yorumlarıyla katkıda bulunan Balıkesir Üniversitesi Kimya Bölümünden Yrd. Doç. Dr. Taner TANRISEVER ve Yrd. Doç. Dr. Seda BEYAZ'a teşekkür ederim.

Numunelerin XRD ölçümleri ve TEM analizleri için Bilkent Üniversitesi Ulusal Nanoteknoloji Araştırma Merkezi, UNAM'a, bazı numunelerin XRD ölçümleri için Eskişehir Anadolu Üniversitesi Malzeme Mühendisliği Bölümü'ne ve Balıkesir Üniversitesi Kimya Bölümünden Doç. Dr. Halil GÜLER'e, FT-IR ölçümleri için Balıkesir Üniversitesi Kimya Bölümü'ne teşekkür ederim. Bazı numunelerin PPMS ölçümlerinin yapılması aşamasındaki yardımlarından dolayı Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Fizik Bölümünden Prof. Dr. Bekir AKTAŞ, Yrd. Doç. Dr. Numan AKDOĞAN ve Araş. Gör. Mustafa ÖZTÜRK'e teşekkür ederim. VSM ile ilgili teknik sorunlardaki yardımlarından ötürü Uzm. Mehmet UÇKUN'a ve bu çalışma süresince bana destek olan çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

BAP 2010/35 nolu proje ile bazı kimyasal-sarf malzemelerin alınmasında ve numunelerin yapısal analizlerinin yapılmasında destek sağlayan Balıkesir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne ve 2211-Yurt İçi Doktora Burs Programı kapsamında doktora çalışmam boyunca maddi destek sağlayan TÜBİTAK'a teşekkür ederim. Ayrıca, VSM sisteminin alınmasına 2005K120170 nolu proje ile destek olan Devlet Planlama Teşkilatı'na teşekkür ederim.

Her zaman olduğu gibi, bu çalışma süresince de yanımda olan ve beni hep destekleyen, bana benden çok inanan aileme sonsuz teşekkürler.

Balıkesir, 2011

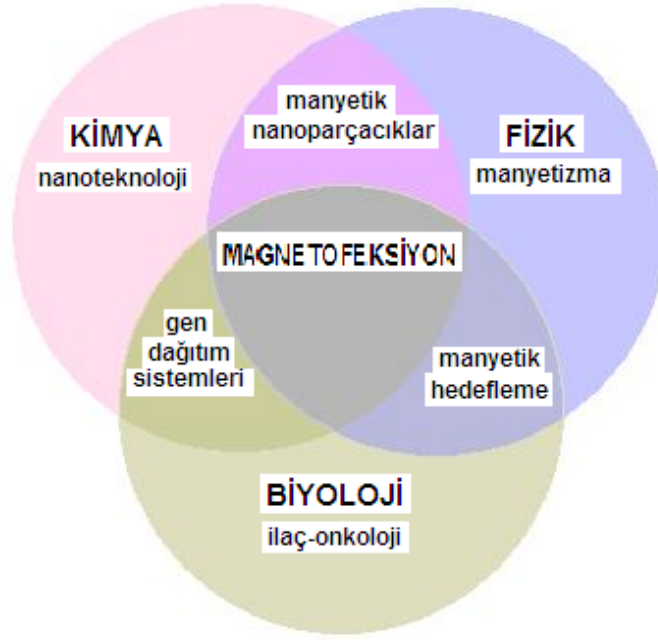
Öznur KARAAĞAÇ

1. GİRİŞ

Son yıllarda nanobilim ve nanoteknolojideki hızlı gelişim, nanomalzemelerin sentezi, karakterizasyonu ve uygulamasına olan ilgiyi arttırmaktadır. Nano boyuttaki parçacıkların fiziksel ve kimyasal özellikleri bulk eşdeğerleri ile farklılık gösterir. Kuantum boyut etkileri malzemede önemli değişikliklere neden olur. Nanoteknoloji, bu değişiklikleri göz önüne alarak nanoyapılı malzemeler tasarlayıp sentezlemeyi, sentezlenen bu malzemelere işlevsellik kazandırmayı ya da bir işlev için kullanmayı amaçlar [1].

Nanobilim ve nanoteknolojinin gelişiminde tipik olarak 1 nanometre ile birkaç mikrometre arasında değişen boyutlardaki parçacıklar önemli rol oynamaktadır [2, 3]. Kendini temizleyebilen nanoyapılı malzemeler, katalitik etki gösteren nanoparçacıklar, vücut içi görüntüleme yöntemlerinde kullanılan nanoparçacıklar, nanoelektronik aygıtlar, nanomanyetik malzemeler gibi pek çok şekilde nanoteknolojinin uygulamalarını görmek mümkündür [1].

Nanoteknolojideki gelişim farklı disiplinlerin birlikte çalışması ile son yıllarda daha etkin olarak ortaya çıkmaktadır. Şekil 1.1’de verilen şemada görüldüğü gibi disiplinler arası etkileşim ile yeni alanlar ortaya çıkmakta ve gelişmektedir. Fizik, kimya ve biyolojinin kendilerine özgü ilgi alanlarının kesişimi ile yeni konular doğmaktadır. Bunlardan biri olan ve Şekil 1.1’de gösterilen magnetofeksiyonda, manyetik nanoparçacıklar, gen dağıtım sistemleri ve manyetik hedefleme ortak bir çalışma ile manyetik alan tarafından yönlendirilip istenen bölgeye toplanabilme ve spesifik olarak etki gösterebilme yeteneği kazanmış yapılar kullanılmaktadır [4].



Şekil 1.1: Disiplinlerarası etkileşimi örnekleyen şematik gösterim [4].

Manyetik nanoparçacıkların uygulama alanları oldukça geniştir. Her uygulama farklı özellikler gerektirir, örneğin manyetik kayıta kullanılacak yapıların yüksek kalıcı manyetizasyona sahip olması istendiği gibi bu yapılarda parçacık boyutunun giderek küçültülmesi ile daha küçük boyutu ve daha yüksek yoğunluklu kayıt imkanı doğmaktadır. Bununla birlikte boyutun küçülmesi ile ortaya çıkan geniş yüzey alanı, süperparamanyetik karakter, kalıcı manyetizasyonun olmaması gibi özellikleri ise manyetik nanoparçacıkları farklı uygulamalar için uygun kılmaktadır. Özellikle süperparamanyetik nanoparçacıkların biyomedikal ve biyoteknolojik uygulamaları son yıllarda giderek artmaktadır [5-7]. Süperparamanyetik özellik gösteren demir oksit nanoparçacıklar manyetik özelliklerinden, biyo-uyumlu olmalarından ve insan vücuduna toksik etki göstermemelerinden dolayı biyoteknolojik alandaki potansiyel uygulamalarıyla oldukça ilgi çekmektedir [8, 9]. Özellikle yakın zamanda nanoparçacıkların biyoteknolojik ve biyomedikal uygulamalarına olan ilginin artması ile demir oksit (Fe_3O_4 ve $\gamma-Fe_2O_3$) gittikçe önem kazanmıştır [10-12].

Demir oksit nanoparçacıklar ortak çöktürme, hidrotermal sentez, termal parçalama, mikroemülsiyon gibi yöntemlerle elde edilebilir. Bunların içinde en kullanışlı, en basit, en çok ürün elde edilen ve oda sıcaklığında sentez yapılabileni ortak çöktürme yöntemidir. Bu yöntem demir tuzlarının bazik ortamda çöktürülmesine dayanır. Fe^{+2} ve Fe^{+3} iyonlarının bulunduğu bir çözeltinin inert gaz ortamında yeterince kuvvetli karıştırma altında bir baz çözeltisine ilavesiyle demir oksit nanoparçacıkları ilk kez Massart tarafından sentezlenmiştir [13].

Son dönemlerde demir oksit nanoparçacıklar ilaç taşıma sistemleri [14, 15], tıbbi tanı [16, 17], hipertermia tedavisi [17, 18], hücre ayırma ve etiketleme [19, 20] gibi alanlarda kullanılmaya başlanmıştır. Ayrıca son yıllarda manyetik nanoparçacıkların suların temizlenmesi [21] gibi çevresel uygulama alanları için çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Manyetik nanoparçacıklara enzim immobilizasyonu da biyoteknolojik uygulamalar açısından önemlidir. Serbest enzimlerin biyoteknolojik uygulamaları bazı kısıtlamalar içerir. Şöyle ki kullanıldıktan sonra reaksiyon ortamından ayrılıp geri kazanılamazlar. Bu da her kullanım için yeni enzim gerektiren maliyeti artırıcı bir sürece neden olur. Oysa manyetik nanoparçacıklara immobilize olmuş enzim kullanıldığı ortamda işlevi bittikten sonra uygun bir manyetik alan yardımıyla ortamdaki uzaklaştırılıp toplanabilir ve başka yerlerde kullanılabilir. Enzim immobilizasyonunda kullanılan manyetik nanoparçacıkların süperparamanyetik yapısı ve doyum manyetizasyonunun yüksekliği uygulamalar için önem teşkil etmektedir. Süperparamanyetik özellikteki nanoparçacıklar kullanım sırasında topaklanmaz (aglomere olmaz), yüksek doyum manyetizasyonuna sahip olduklarında ise ortamdaki uzaklaştırılmaları daha kolaydır.

Bu nedenle bu çalışmanın ana amacı, yüksek doyum manyetizasyonuna sahip biyoteknolojik uygulamalar için uygun süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıklar elde etmek ve bunların enzim immobilizasyon uygulamasını yapmaktır. Bunu yapmak için aşağıdaki sıra izlenmiştir:

- Demir oksit nanoparçacıklar, ortak çöktürme yöntemiyle açık havada sentezlenmiştir. İnert gaz kullanılan sistemlere göre daha ucuz ve basit bir yöntemle kapalı bir sistem gerektirmeden sentez yapılmıştır. Açık hava ortamında süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıkların özelliklerini

etkileyen parametreler incelenmiş ve elde edilen parçacıkların karakterizasyonu yapılmıştır.

- Optimum doyum manyetizasyonuna sahip süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıklar, ortak çöktürme yöntemi ile açık hava ortamında, bildiğimiz kadarıyla bu çalışmada ilk defa ortogonal dizayn yöntemi kullanılarak sentezlenmiştir.
- Optimum demir oksit nanoparçacıklar yüksek sıcaklıkta hidrojen ile indirgenerek demir nanoparçacıklar elde edilmiş ve karakterizasyonu yapılmıştır.
- Elde edilen demir oksit ve demir nanoparçacıklar ile ilk defa H CAII kullanılarak enzim immobilizasyonu yapılmış ve biyoteknolojik uygulama potansiyeline sahip, kontrol edilebilir nanoparçacık-enzim sistemi elde edilebileceği gösterilmiştir.

Çalışma; Giriş, Kuramsal Bilgi, Deneysel Teknikler, Bulgular ve Tartışma, Sonuç olmak üzere beş bölümden oluşmaktadır. İlk bölümde, manyetik nanoparçacıkların kullanım alanları ve sentezi ile ilgili genel bilgi verilmektedir. Ayrıca çalışmanın amacı, içeriği ve bölümleri tanıtılmaktadır. Giriş bölümünü takip eden Kuramsal Bilgi bölümünde, yapılan çalışmada gerekli olan teorik bilgiler verilmektedir. Üçüncü bölümde, demir oksit ve demir nanoparçacıkların elde edilişi anlatılmakta ve numunelerin özelliklerinin incelenmesinde kullanılan teknikler hakkında bilgi verilmektedir. Burada enzim immobilizasyonunda kullanılan prosedür de açıklanmaktadır. Dördüncü bölüm olan Bulgular ve Tartışma'da, çalışmada elde edilen veriler ve analiz sonuçları ile bu sonuçların yorumları yer almaktadır. Son olarak Sonuç bölümünde ise yapılan çalışmalar ve elde edilen bulgular özetlenmektedir.

2. KURAMSAL BİLGİ

2.1 Manyetizmanın Temel Kavramları

Maddelerin manyetik özelliklerinin kaynağı atomik manyetik momentlerdir. Atomların manyetik momentleri elektronların yörünge ve spin hareketinden kaynaklanır. Bir elektronun spin hareketi sonucu sahip olduğu manyetik momente benzer şekilde elektronun çekirdek etrafındaki yörüngesel hareketinden kaynaklanan bir manyetik moment de tanımlanır. Bir elektronun sahip olduğu net manyetik moment, elektronun yörünge etrafındaki hareketinden kaynaklanan manyetik moment ile spin hareketinden kaynaklanan manyetik momentin bileşkesidir [22-24].

Maddenin manyetizasyonunun kaynağında manyetik moment kavramı vardır ve manyetizasyon, maddenin birim hacmindeki net manyetik moment olarak tanımlanır:

$$M = \frac{m}{V} \quad (2.1)$$

M manyetizasyon, m net manyetik moment, V maddenin hacmidir. Manyetik alan, H hareketli elektrik yükleri tarafından oluşturulur ve manyetizmanın temel kavramlarından biridir. Manyetik alan bir mıknatıstan veya bir iletkenin geçen kararlı elektrik akımından kaynaklanabilir. Manyetik indüksiyon (manyetik akı yoğunluğu), B manyetik alan tarafından oluşturulur ve ortamın manyetik alana karşı davranışını ifade eder. H ve B birbirine manyetik geçirgenlik, μ ile bağlıdır. Manyetik indüksiyon ile manyetik alan ilişkisi aşağıdaki bağıntı ile verilebilir [23-25]:

$$B = \mu H \quad (2.2)$$

Maddenin manyetizasyonu manyetik indüksiyonu etkiler. Madde bir dış alana maruz kalırsa toplam ya da net manyetik indüksiyon,

$$B = \mu_0(H + M) \quad (2.3)$$

ifadesiyle de verilebilir. Burada $\mu_0 = 4 \pi \times 10^{-7}$ Wb/Am olup serbest uzayın manyetik geçirgenliğidir.

Manyetik alınganlık, χ da maddelerin manyetik özelliklerini açıklamakta kullanılan önemli bir kavramdır. χ , maddenin uygulanan manyetik alana gösterdiği tepkinin bir ölçüsüdür. SI birim sisteminde boyutsuz bir büyüklüktür,

$$\chi = \frac{M}{H} \quad (2.4)$$

ile ifade edilir. μ de manyetik alınganlık gibi manyetik maddelerin karakteristik bir özelliğidir,

$$\mu = \frac{B}{H} \quad (2.5)$$

ifadesiyle verilir. M ve B'nin H'ın doğrusal fonksiyonu olmadığı durumlarda (ferromanyetik, ferrimanyetik maddeler için) χ' ve μ' diferansiyel alınganlık ve geçirgenlik tanımlanır ve aşağıdaki ifadelerle verilir [23-25]:

$$\chi' = \frac{dM}{dH} \quad (2.6)$$

$$\mu' = \frac{dB}{dH} \quad (2.7)$$

2.2 Maddelerde Manyetik Düzen

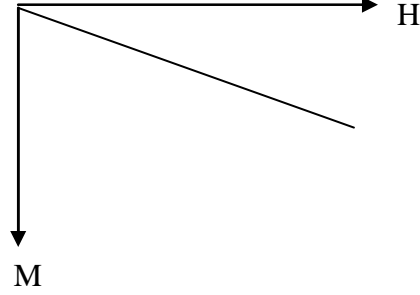
Manyetik maddelerdeki atomların manyetik momentlerinin kaynağı üç tanedir. Bunlar, elektron spinleri, elektronların yörüngesel hareketi ve bir dış manyetik alan etkisiyle elektronların yörüngesel hareketlerindeki değişiktir [23]. Manyetik momenti meydana getiren bu davranışların bir veya birkaçı farklı manyetik özelliklerin ve manyetik malzeme sınıflarının ortaya çıkmasına neden olur. Malzemeler aşağıda verilen farklı özellikteki manyetik gruplar içinde incelenebilir:

- Diyamanyetizma
- Paramanyetizma
- Ferromanyetizma
- Antiferromanyetizma
- Ferrimanyetizma

Bu konularla ilgili özet bilgi aşağıda verilmektedir, ayrıntılı bilgi başka kaynaklardan elde edilebilir [23- 27].

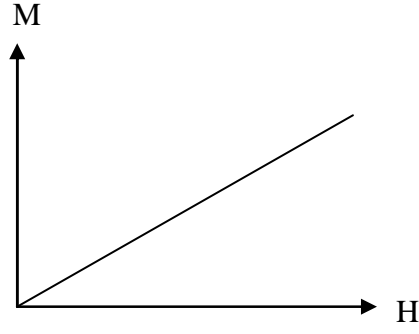
Diyamanyetizma: Diyamanyetik malzemeler sürekli net bir manyetik momenti olmayan yapılardır. Net manyetik momentleri dış manyetik alan olmadığında sıfırdır. Bir dış manyetik alan uygulandığında elektronların yörüngesel hareketinde bir değişiklik olur. Bu değişiklik dış alana zıt yönde bir manyetizasyona sebep olur. Oluşan bu alan dış alandan daha küçüktür. Diyamanyetizma, uygulanan alana zıt yönde çok zayıf bir manyetizasyona yol açar. Dış manyetik alan kaldırıldığında ise malzeme eski durumuna döner. Diyamanyetik alınganlık, manyetik alanın etkisiyle madde içinde elektron yörüngelerinin yeniden sıralanmasından kaynaklanır. Bu nedenle diyamanyetik alınganlıklar negatiftir ve SI birim sisteminde $\chi \sim -10^{-5}$, -10^{-6} mertebesindedir. Diyamanyetik maddelerin manyetik alınganlıkları sıcaklıktan bağımsızdır, manyetik geçirgenlikleri manyetik alanın fonksiyonu olarak sabittir. Diamanyetik maddelerin manyetizasyonları uygulanan manyetik alanla Şekil 2.1'deki gibi değişir [27]. Periyodik tablodaki birçok element örneğin, Cu, Au, Ag, Be ve Bi gibi yarı metaller, su ve organik maddelerin çoğu diyamanyetikler [23, 28]. Hepsı diyamanyetik olarak adlandırılmasa da tüm maddeler bir diyamanyetik

alınanlık gösterir. Ancak diyamanyetik etki çok zayıf olduğundan genellikle paramanyetik ve ferromanyetik etkiler tarafından bastırılır [23].



Şekil 2.1: Diyamanyetik maddelerin tipik M-H grafiği [27].

Paramanyetizma: Bir paramanyetik maddede atomların veya iyonların sürekli manyetik momentleri vardır. Ancak bunlar zayıf şekilde etkileşir ve bir dış manyetik alanın yokluğunda rastgele yönelirler, böylece net manyetizasyon sıfır olur. Alan uygulandığı zaman momentler alan boyunca sıralanmaya başlar ancak sıralanma termal uyarılma tarafından engellenir. Uygulanan dış manyetik alan yüksek ve sıcaklık düşük olduğunda manyetik momentler alan yönünde sıralanır. Elektronun hem spini hem de yörüngesel hareketi manyetizasyona katkı sağlar ve pozitif manyetik alınanlığa yol açar. Paramanyetiklerin alınanlıkları SI birim sisteminde tipik olarak $\chi \sim 10^{-3}$ - 10^{-5} mertebesindedir. Paramanyetik maddeler dış manyetik alan kaldırıldığında eski hallerine geri dönerler. Düşük alanlarda manyetizasyon manyetik alan ile orantılıdır ancak manyetizasyonun doyuma gittiği çok yüksek alanlarda orantılılıktan sapmalar meydana gelir. Paramanyetik maddelerin manyetizasyonları düşük ve orta şiddette manyetik alanlarda Şekil 2.2'deki gibi değişir [27]. Al, Pt, Na ve W ile lantanitlerin tuzları ve oksitleri ayrıca oksijen paramanyetiktir [23, 28].



Şekil 2.2: Düşük ve orta alanda paramanyetik maddelerin tipik M-H grafiği [27].

Paramanyetizmanın Langevin Teorisi

Langevin teorisi iyonik katıların sıcaklığa bağlı manyetizasyonunu açıklayan bir model olup manyetik momentlerin etkileşmediğini kabul eder ve klasik Boltzman istatistiği kullanır.

Diyamanyetik olmayan yani çiftlenmemiş elektronu bulunan maddelerde net bir sürekli manyetik moment vardır. Net manyetik moment spin ve yörünge manyetik momentlerinin vektörel toplamıdır. Bu net momentin manyetik alandaki enerjisi,

$$E = -\mu_0 \vec{m} \vec{H} \quad (2.8)$$

şeklindedir. Manyetik momentlerin E enerji seviyesini işgal etme olasılığı yukarıda belirtildiği gibi klasik Boltzman istatistiği kullanılarak hesaplanır. İzotropik bir malzemenin herhangi bir durumda bulunma olasılığı şöyle verilebilir:

$$dn = C 2\pi \sin \theta d\theta \exp\left(\frac{\mu_0 m H \cos \theta}{k_B T}\right) \quad (2.9)$$

Burada dn, θ ile $\theta+d\theta$ açısı arasında kalan manyetik moment sayısı ve $k_B T$ termal enerjidir. Bu ifade yarımküre üzerinden integre edilir ve birim hacimdeki toplam manyetik moment sayısı N olan malzeme için manyetizasyon eşitliği bulunur:

$$M = Nm \left[\coth \left(\frac{\mu_0 m H}{k_B T} \right) - \frac{k_B T}{\mu_0 m H} \right] \quad (2.10)$$

Bu ifade Langevin fonksiyonunu içerecek biçimde aşağıdaki gibi yazılabilir:

$$M = Nm \mathfrak{L} \left(\frac{\mu_0 m H}{k_B T} \right) \quad (2.11)$$

$\mathfrak{L}(x)$ Langevin fonksiyonudur ve değeri -1 ile +1 arasındadır. Eğer fonksiyon seriye açılır ve alınganlık hesaplanırsa paramanyetik alınganlık,

$$\chi = \frac{M}{H} = \frac{N \mu_0 m^2}{3 k_B T} = \frac{C}{T} \quad (2.12)$$

olur. Yani Langevin modeli sıcaklığa bağlı paramanyetik alınganlık önerir. Paramanyetizmayı kuantum teorisi ile inceleyecek olursak başlangıçtaki enerji ifadesinde manyetik moment tanımını tekrar yapmak gerekir. Elektronun spininden kaynaklanan manyetik moment spin kuantum sayısının -1/2 ve +1/2 durumları için iki farklı değere sahip olabilir. Yani çiftlenmemiş elektronlar için iki durum söz konusudur. Boltzman istatistiği kullanılırsa manyetizasyon,

$$M = NgJ\mu_B \tanh \left(\frac{\mu_0 gJ\mu_B H}{k_B T} \right) \quad (2.13)$$

veya,

$$M = Nm \tanh \left(\frac{\mu_0 m H}{k_B T} \right) \quad (2.14)$$

olarak bulunur. Burada N birim hacimdeki atom sayısı, m atom başına düşen manyetik moment, g Lande yarımla faktörü, J spin ve yörünge kuantum sayısı ve μ_B Bohr magnetonudur. Kuantum sayısı J olan bir atomun enerjisi manyetik alanda

2J+1 düzeye ayrışır. Bu durumda manyetizasyonu Brillouin fonsiyonuna, $B_j(x)$ bağı olarak verilir:

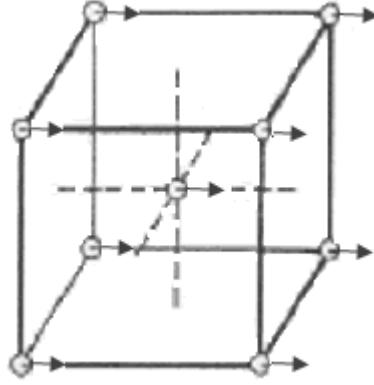
$$M = NgJ\mu_B B_j(x) \quad (2.15)$$

Kuantum teorisine göre paramanyetik alınganlık,

$$\chi = \frac{Nm^2\mu_0}{k_B T} \quad (2.16)$$

olarak bulunur [23, 28].

Ferromanyetizma: Ferromanyetik maddelerde, dış bir manyetik alan olmadığı durumda bile madde içinde domain adı verilen bölgelerde kendiliğinden bir manyetizasyon vardır. Bir ferromanyetik maddede bütün hacim aynı yönde mıknatıslanmış bulunmaz fakat domain bölgeleri kendi içinde homojen bir manyetizasyona sahiptir. Manyetik alan yokluğunda bu bölgeler rastgele yönelmiştir. Dış manyetik alanın uygulanması ile domainler manyetik alan yönünde yönelir ve manyetize olur. Ferromanyetik maddelerdeki kendiliğinden manyetizasyon sıcaklıkla değişir. Manyetizasyon 0 K'de maksimum olur. Curie sıcaklığında maddenin manyetik geçirgenliği aniden düşer, koersivitesi ve kalıcı manyetizasyonu sıfır olur. Curie sıcaklığının üstündeki sıcaklıklarda termal enerjinin sıralanma enerjisini aşması sonucu momentlerin yönelimi düzensizleşir ve madde paramanyetik hale gelir. Ferromanyetik malzemeler, manyetik alınganlıkları SI birim sisteminde $\chi \sim 50-10000$ civarında olan maddelerdir. Bunların manyetizasyonları uygulanan manyetik alanla aynı yönlüdür. Fe, Ni, Co, Gd ve Dy kendilerine ait Curie sıcaklıklarının altında ferromanyetik maddelerdir [23, 28]. Şekil 2.3'te Fe atomunun birim hücreindeki manyetik momentlerin yönelimi [23] görülmektedir.

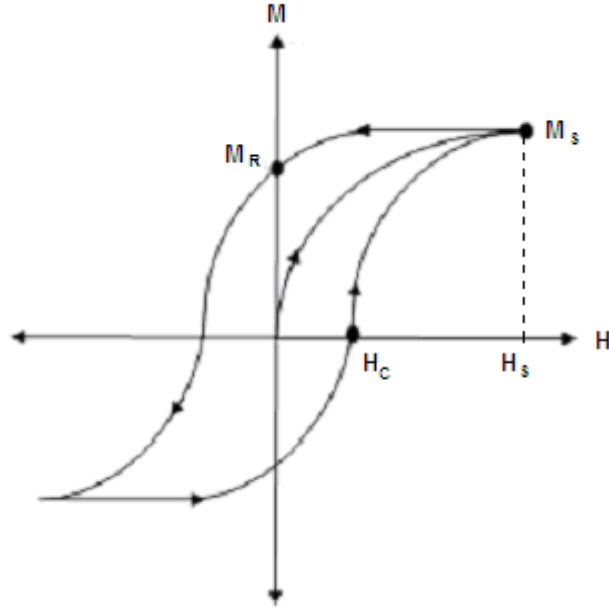


Şekil 2.3: Fe'in birim hücreindeki manyetik momentlerin yerleşimi [23].

Bir ferromanyetik malzemenin manyetik özelliklerini ortaya koyan tipik bir histerisis eğrisi [29] Şekil 2.4'te verilmektedir. Bir manyetik alan içindeki ferromanyetik malzemede bütün manyetik momentler alan yönünde sıralandığında maksimum manyetizasyona ulaşır. Buna doyum manyetizasyonu denir ve M_s ile gösterilir:

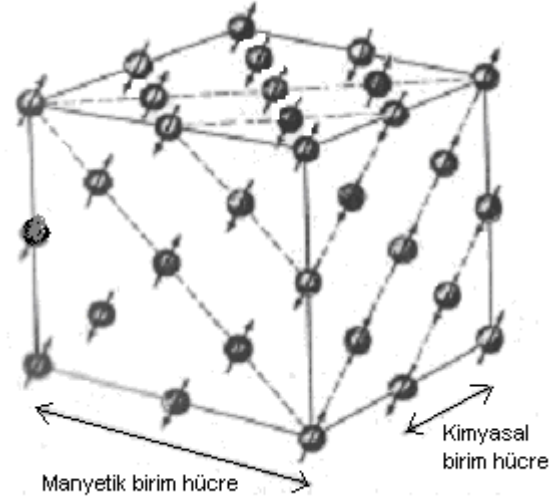
$$M_s = nm \quad (2.17)$$

Burada n maddenin birim hacmindeki atom sayısı, m atomik manyetik momentlerin büyüklüğüdür. Histerisis eğrisi üzerinde gösterilen doyum manyetizasyonu, bu eğrinin elde edildiği sıcaklıktaki doyum manyetizasyonudur. Teorik olarak madde içindeki tüm manyetik momentlerin aynı yönde sıralandığı durum 0 K sıcaklığındaki doyum manyetizasyonudur. Bir ferromanyetik madde mıknatıslandıktan sonra manyetik alan sıfıra indirildiğinde kalan manyetizasyon kalıcı manyetizasyondur ve M_r ile gösterilir. Bir ferromanyetik maddenin manyetizasyonunu sıfıra indirmek için ters yönde uygulanan manyetik alan şiddetine koersivite, H_c denir. Doyum alanı tüm manyetik momentlerin uygulanan manyetik alan doğrultusunda yönelmesi için gerekli manyetik alandır ve H_s ile gösterilir [23-27].



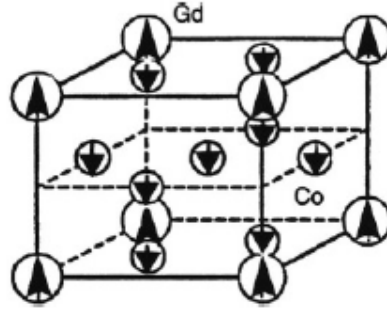
Şekil 2.4: Ferromanyetik bir maddeye ait tipik histeresis eğrisi [29].

Antiferromanyetizma: Bir antiferromanyetik madde, iç içe iki manyetik örgü olarak düşünülebilir. Bu yapıda, farklı alt örgülere ait iki manyetik moment antiparalel halde bulunur. Bu manyetik momentler aynı büyüklükte ve zıt yönlü olduğu için toplam manyetizasyon sıfırdır. Örneğin MnO’te negatif oksijen iyonu her iki tarafta mangan iyonu ile çevrelenmiştir. Şekil 2.5’te MnO’e ait manyetik moment yerleşimi [30] verilmiştir. Bu durumda pozitif iyonların manyetik momentleri antiparalel sıralanır. Çünkü her biri sistemin en düşük enerji konfigürasyonunda oksijen iyonun zıt yönelmiş elektron spinlerinden biriyle çiftlenir. Bu nedenle bu tür maddelerde dış manyetik alanda çok küçük bir manyetizasyon gözlenir. Yeterince yüksek sıcaklıklarda manyetik momentler arası etkileşim kaybolur. Neel geçiş sıcaklığının, T_N üstünde antiferromanyetik maddeler paramanyetik özellik gösterir [23, 30]. Cr, Mn gibi bir kısım metaller [23] ve MnO, MnS, FeCl₂, FeO, CoCl₂, CoO, NiCl₂, NiO gibi bazı kristaller antiferromanyetikdir [30].



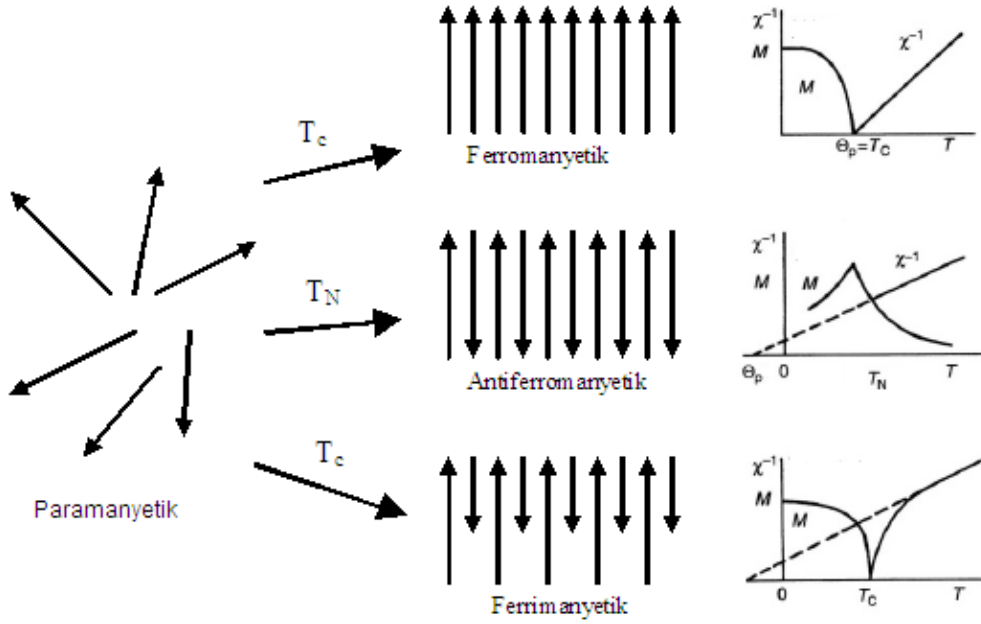
Şekil 2.5: MnO'te Mn^{+2} iyonlarının spin sıralanışı (O^{-2} iyonları gösterilmemiştir.) [30].

Ferrimanyetizma: Ferrimanyetizma, antiferromanyetizmanın özel bir durumudur. Ferrimanyetik maddelerde iki farklı çeşit manyetik iyon mevcuttur. Manyetik iyonlar yapıda farklı örgü noktalarında ve farklı kristalografik çevrelerde bulunurlar. Farklı türdeki manyetik moment sayıları veya farklı türdeki manyetik momentlerin büyüklükleri farklı olduğundan net manyetik moment sıfır değildir. Örneğin $NiFe_2O_4$ 'te Ni^{+2} ve Fe^{+3} iyonları mevcuttur. Bu iyonların manyetik momentleri antiferromanyetizmada olduğu gibi antiparalel sıralanır fakat farklı büyüklükte oldukları için net manyetizasyon sıfır değildir. Ferrimanyetik maddeler makroskopik ölçekte ferromanyetizma ile benzerlik gösterdiğinden aralarındaki fark yıllarca fark edilememiştir. Ferrimanyetik sıralanma, ferritlerin davranışını açıklamak üzere ilk kez 1948'de Neel tarafından önerilmiştir. Geçiş sıcaklığının üstünde manyetik momentler arası etkileşim kaybolur, düzenli yapıdan düzensiz yapıya geçiş olur. Bazı ferrimanyetik malzemeler; Fe_3O_4 , $MO.Fe_2O_3$ [M: Mn, Ni, Co, Zn, Mg], $BaO.6(Fe_2O_3)$, $5Fe_2O_3.3Y_2O_3$, Gd-Co bileşikleri olarak sıralanabilir [23, 26, 28]. Şekil 2.6'da $GdCo_5$ 'e ait ferrimanyetik spin sıralanması şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.6: $GdCo_5$ 'ın birim hücreindeki manyetik momentlerin yerleşimi. [26].

Sıcaklığa Bağlı Manyetizma: Ferromanyetik, antiferromanyetik ve ferrimanyetik malzemeler manyetik olarak düzenli yapılardır ve atomik manyetik momentleri arasında kuvvetli etkileşim vardır. Bu yapılar yukarıda da bahsedilen manyetik özelliklerini her biri için belirli geçiş sıcaklıkları altında gösterirler. Ferromanyetik malzemeler Curie sıcaklığı, T_C olarak tanımlanan bir sıcaklığın üstünde, antiferromanyetik maddeler ise Neel sıcaklığı, T_N olarak adlandırılan geçiş sıcaklığının üstünde paramanyetik özellik gösterirler. Ferrimanyetikler için de T_C tanımlanmıştır. Bu kritik sıcaklıkların üstünde termal enerji manyetik momentler arası etkileşim enerjisini aşar ve yapı paramanyetik özellik gösterir. Şekil 2.7'de geçiş sıcaklıklarının altında düzenli yapıya geçen manyetik malzemelerin manyetik momentlerinin dizilişi ve bu malzemelerin manyetik alınganlıklarının sıcaklıkla değişim grafikleri verilmektedir [26, 29, 31].



Şekil 2.7: Farklı manyetik maddelerde bireysel manyetik momentlerin yönelimlerinin şematik gösterimi ve manyetik alınganlıkların sıcaklığa bağlı değişimi [26, 29, 31].

2.3 Küçük Parçacık Manyetizması

Şimdiye kadar manyetik özellik gösteren malzemelerin sınıflandırılması ile ilgili bilgi verildi. Makro ölçekte ferromanyetik özellik gösteren maddelerin mikronaltı parçacık boyutunda manyetik özellikleri farklılık gösterir [28]. Küçük ferromanyetik parçacıkların (1 μ m ve daha küçük) manyetizması iki önemli etki tarafından yönetilir:

1. Belli bir boyutun altındaki numune domainlere ayrılarak daha tercih edilir bir enerji durumu elde edemez ve tek domain olarak kalır.
2. Yeterince küçük boyutlarda termal enerji parçacıktaki manyetizasyonu çözebilir böylece süperparamanyetizma ortaya çıkar [28].

Bu iki etki iki kritik boyut ortaya çıkarır. Bunlardan biri tek-domain boyutu diğeri ise süperparamanyetik boyutudur. Bu iki etkiyi incelemeye geçmeden önce konunun daha iyi anlaşılması için domain yapısı ve oluşumu anlatılacaktır.

2.3.1 Domain Yapısı ve Oluşumu

Ferromanyetik/ferrimanyetik malzemelerde atomik manyetik momentler madde içine domain olarak adlandırılan bölgelerde paralel sıralanmış olarak bulunur. Bir domain tipik olarak 10^{12} - 10^{15} manyetik momentin oluşturduğu bir yapıdır [23]. Domain içinde yaklaşık olarak doyuma ulaşmış bir manyetizasyon mevcuttur. Fakat domainler madde içinde rastgele yöneldiğinden dış manyetik alan olmadığında madde manyetize değildir. Dış bir manyetik alan ile domainlerin alan yönüne yönlendirilmesiyle madde manyetize olur.

Atomik manyetik momentler arasındaki etkileşim (değiş-tokuş etkileşmesi) enerjisi domain içinde manyetik momentlerin düzenli sıralanmasına neden olur. Domainlerin varlığı sistemin enerji minimizasyonunun bir sonucudur. Tek bir domain halindeki malzeme büyük bir magnetostatik enerjiye sahiptir. Manyetizasyonun bölgelere yani domainlere ayrılması magnetostatik enerjiyi azaltır. Oluşan domainlerin büyüklüğünde ise domain duvar enerjisi etkilidir. Domainler arasında manyetik momentlerin (veya spinlerin) yeniden sıralandığı geçiş bölgeleri bulunur, bu bölgeler domain duvarı olarak adlandırılır. Domain duvarını etkileyen iki enerji değiş-tokuş ve anizotropi enerjisidir. Değiş-tokuş enerjisi, iki komşu atomik manyetik momentin etkileşmesini ifade eder, düzenli yapılar için çok önemli bir enerjidir. Anizotropi enerjisi, manyetik malzemenin kristal yapısına bağlı olarak manyetizasyonun tercihli bir yönelime sahip olması sonucu ortaya çıkar. Değiş-tokuş enerjisi spinler paralel sıralandığında minimum olur ve domain duvarını kalınlaştırıcı yönde etki yapar. Oysa anizotropi enerjisi spinler antiparalel sıralandığında minimum olur ve bu nedenle domain duvarını inceltici yöndedir. Domain duvarının genişliği, duvar enerjisinin minimum değerine karşılık gelen genişliktir. Domainler ve domain duvarları ile ilgili daha geniş bilgi çeşitli kaynaklarda [23-27] bulunabilir.

2.3.2 Tek-domain Boyutu

Bir ferromanyetik malzemenin magnetostatik enerjisi, malzeme içinde domain oluşumu ile azaltılabilir. Bununla birlikte domain oluşumu sırasında ortaya çıkan domain duvarları enerjii artırır. Öyle bir minimum domain boyutu vardır ki bu boyutun altında domain oluşumu için gerekli enerji, magnetostatik enerjinin azalması ile karşılanamaz. Tek bir parçacığın boyutu, minimum domain boyutu civarında olduğunda malzeme domainlere ayrılmaz.

Parçacık boyutu (çapı) D olan bir parçacık için magnetostatik enerji $M_s^2 D^3$ ile orantılıdır. Domain duvar enerjisi ise γD^2 ile verilir. γ , birim alandaki domain duvar enerjisidir. Bu iki enerjinin eşit olduğu durumda domain oluşmaz. Domain oluşumunun gerçekleşmediği bu kritik boyut tek-domain boyutudur, D_T ve büyüklüğü aşağıdaki ifade ile verilebilir [28]:

$$D_T \approx \frac{\gamma}{D^2} \quad (2.18)$$

D_T için tipik değerler 10-100 nm arasında değişir. Tablo 2.1'de küresel parçacıklar için farklı iki referansta [5, 28] bulunan tek-domain boyutları verilmektedir.

Tablo 2.1: Küresel parçacıklar için tahmin edilen tek-domain boyutları.

Malzeme	D_T (nm) [5]	D_T (nm) [28]
Fe	15	14
Co hcp	15	70
Co fcc	7	70
Ni	55	55
Fe ₃ O ₄	128	128
γ -Fe ₂ O ₃	-	166
SmCo ₅	720	-

Tek-domainli parçacıklarda hareket edecek bir domain duvarı bulunmadığından manyetizasyon dönmesi spin dönmesiyle gerçekleşir. Bu nedenle, tek-domainli parçacıklarda koersivite çok domainli parçacıklara nazaran daha büyüktür çünkü manyetizasyonu (spini) yönlendirmek domain duvarını yönlendirmekten daha zordur.

Eğer spinler birlikte eş zamanlı olarak hareket ederse toplu olarak M_s ile temsil edilebilir. M_s 'in uygulanan alana tepkisi anizotropi (kristal, şekil, stres veya başka bir anizotropi) tarafından engellenir. Eş zamanlı dönme ilk kez Stoner ve Wolfarth [23-27] tarafından ortaya konmuştur. Anizotropi enerjisindeki en basit ve en düşük mertebeli terim,

$$E_a = K \sin^2 \theta \quad (2.19)$$

dır. Burada K anizotropi sabiti, θ parçacığın manyetik momenti ile uygulanan manyetik alan arasındaki açıdır. Uygulanan alanın sağladığı potansiyel enerji ise,

$$E_p = -\vec{M}_s \cdot \vec{H} \quad (2.20)$$

ile verilir. \vec{M}_s 'in denge doğrultusu, toplam enerjinin ($E_{top} = E_a + E_p$) minimum olduğu durumdur. Bu da,

$$\frac{dE_{top}}{d\theta} = 0 \quad (2.21)$$

olması durumuna karşılık gelir. Uygulanan alanın kolay eksene dik olduğu durumda,

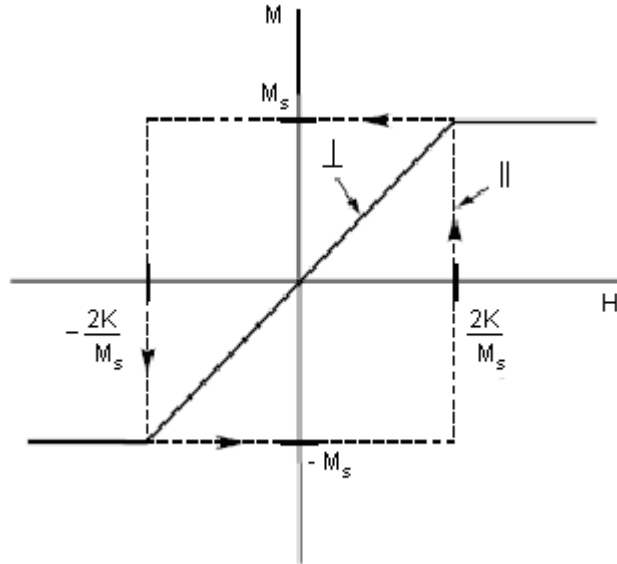
$$\sin \theta = \frac{M_s H}{2K} \quad (2.22)$$

değeri elde edilir. M_s 'in H'a paralel bileşeni, H ile orantılıdır. Bu durumda manyetizasyonu yönlendirmek kolaydır. H, M_s 'e antiparalel yönde uygulanırsa

başlangıçta H manyetik momente tork uygulamaz ve M_s yavaşça bile dönmez. H'ın artmasıyla dönme için manyetik enerji ($M_s H$) minimum toplam enerjiyi çevirecek kadar artar ve toplam enerjinin minimum değeri orijinal M_s 'i antiparalelden paralele döndürür. Sistem bu atlamayı yaparken kare histeresis eğrisi meydana gelir ve aşağıdaki eşitlikte verildiği gibi bir koersivite ortaya çıkar:

$$H_c = \frac{2K}{M_s} \quad (2.23)$$

H, M_s 'e kolay eksen boyunca dik veya antiparalel değil de diğer başlangıç doğrultularında ise benzer şekilde enerjinin minimum olması durumu aranır. İki uç durumda (H'a antiparalel ve dik) Şekil 2.8'de verilen histeresis eğrileri [28] ortaya çıkar. Kolay eksenin alan dik olduğu durumda tam kapalı bir histeresis ortaya çıkar yani histeresis oluşmaz. Kolay eksenin alana antiparalel olduğu durumda ise tam açık (yani kare) bir histeresis ortaya çıkar.



Şekil 2.8: Kolay eksene antiparalel ve dik uygulanan manyetik alanda ortaya çıkan histeresis eğrileri (|| paralel, \perp dik) [28].

2.3.3 Süperparamanyetizma

T_c 'nin altında bir ferromanyetik/ferrimanyetik malzemenin tüm spinleri çiftlenir ve büyük bir toplam moment oluşturur. Bu moment bir veya daha fazla anizotropi etkilerinden dolayı parçacığa bağlıdır. Bu bağın enerjisi KV'dir. V, parçacığın hacmidir. Parçacık boyutunun azalması ile KV azalır ve termal enerji $k_B T$, toplam momentin parçacığa bağlılığını aşar. Böylece moment serbestçe hareket edebilir ve parçacıktan bağımsız olarak uygulanan alana cevap verebilir. Bu moment, parçacığın momentine eşittir,

$$\mu_p = M_s V \quad (2.24)$$

ile verilir ve oldukça büyüktür. Uygulanan alan bu devasa momenti yönlendirmeye çalışır fakat $k_B T$ paramanyetik malzemelerde olduğu gibi bu yönelmeye karşı koyar. Bu fenomen süperparamanyetizma olarak adlandırılır [28].

Eğer anizotropi sıfır veya çok zayıfsa toplam moment μ_p herhangi bir doğrultuda olabilir yani Langevin fonksiyonuna uyar. Eğer K sıfırdan oldukça büyükse μ kolay eksen boyunca iki yönde bulunabilir yani Brillouin fonksiyonu uygulanabilir. İkisi de (Langevin ve Brillouin) bir süperparamanyetik malzeme için M-H yaklaşımıdır. Çünkü parçacıklar sistemi polidisperstir yani μ_p değerlerinin bir dağılımından ve parçacıkların gelişigüzel yöneliminden ve böylece gelişigüzel kolay eksenden bahsedilebilir. M'in H'a karşı tarifi net olmasa da süperparamanyetik bir sistemde; histeresis bulunmaz ve farklı sıcaklıklardaki M'in H/T'ye olan grafikleri üst üste çakışır [28].

Süperparamanyetizma, termal enerjinin rastlantıya bağlı doğasından dolayı zamana bağlıdır. Anizotropi enerjisi KV, toplam spinlerin yeniden düzenlenmesi için bir enerji bariyeri verir. Bu enerji bariyerini aşma olasılığı Boltzman faktörü ($e^{-KV/k_B T}$) ile orantılıdır. τ_0 , μ_p momentinin KV enerji bariyerini aşması için gereken zaman ölçeği ise,

$$\tau = \tau_0 e^{-KV/k_B T} \quad (2.25)$$

ile verilir. Zaman ölçeği 10^{-9} s civarındadır. Magnetometre, ölçümü 10-100 s arasında alırken M_s bu deneysel süreden daha kısa zamanda dönüyorsa sistem süperparamanyetikdir. $\tau \approx 100$ s ve $\tau_0 \approx 10^{-9}$ s olursa kritik hacim,

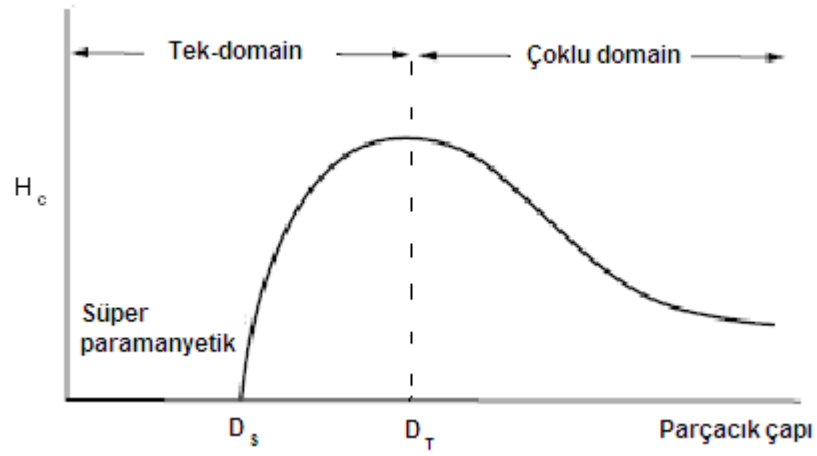
$$V_{sp} = 25 \frac{k_B T}{K} \quad (2.26)$$

dır. Eğer parçacık boyutu bu kritik boyuttan daha küçükse 100 s'lik deneysel ölçüm skalasında süperparamanyetik özellik gösterir. Küresel parçacıklar için süperparamanyetiklik boyutları 300 K'de demir ve kobalt nanoparçacıklar için sırasıyla 16 ve 7.6 nm olarak verilmiştir [28].

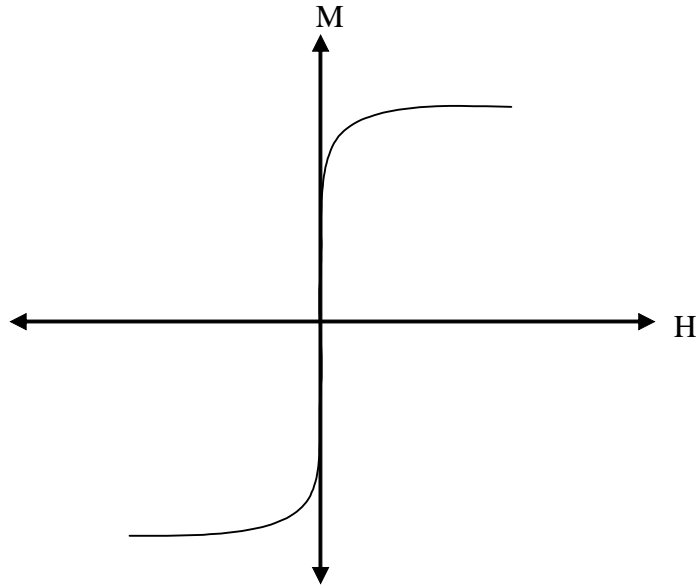
Ferromanyetik/ferrimanyetik bir malzemede zayıf dış manyetik alanda, domain içindeki spinlerin yönü değişmezken domain duvarı içindeki spinler yön değiştirir. Duvar içindeki spinler manyetik alan şiddeti arttıkça alan yönüne hafifçe döner. Böylece domain duvar hareketi ile alan yönündeki domainler genişler ve büyür, ters yöndekiler küçülür. Kuvvetli bir dış manyetik alanda domainler manyetik alan yönünde döner. Çok saf, homojen ve manyetizasyonu iyice yönlenmiş bir malzeme kullanılırsa kolay eksen doğrultusunda uygulanan manyetik alan altında domain duvarının hareketi kolaylaşır ve düşük H_c gözlenir. Oysa domain duvarı olmayan tek domain yapıdaki malzemelerde domain içindeki tüm spinleri manyetik alan boyunca döndürmek daha zordur ve yüksek koersivite görülür [23, 28].

Ortalama alan parametresi SI birim sistemine göre 400 ise doyum manyetizasyonu 1.7×10^6 A/m olan Fe için bir domain içindeki manyetik alanın büyüklüğü 6.8×10^8 A/m'dir. Bu da 885 T gibi bir manyetik indüksiyona karşılık gelir. Bu nedenle domaini yönlendirmek için çok yüksek manyetik alan uygulamak gerekir [23]. Koersivite parçacık boyutunun bir fonksiyonu olarak ifade edilebilir. Büyük parçacıklarda domain duvarları vardır, bundan dolayı manyetizasyon dönmesi domain duvar hareketi tarafından domine edilir yani bağıl olarak daha kolaydır ve koersivite düşüktür. Tek-domaini manyetizasyon yönünde döndürmek göreceli

olarak daha zordur ve bu boyutta en yüksek koersiviteye ulaşılır. Bu boyutun altında ise anizotropi bariyerini aşan termal aktivasyondan dolayı H_c düşer, süperparamanyetik boyutta $H_c=0$ olur ve süperparamanyetizma gözlenir. Parçacığın boyutuna göre koersivitenin değişimi [28] Şekil 2.9'da verilmektedir. Şekil 2.10'da ise süperparamanyetik bir malzemeye ait manyetizasyon eğrisi [28] görülmektedir, bu eğri histeresis eğrisinden farklı olarak M_r ve H_c içermez.



Şekil 2.9: H_c 'ye karşı parçacık çapı (D_s : Süperparamanyetik boyutu, D_f : Tek domain boyutu) [28].



Şekil 2.10: Süperparamanyetik bir malzemeye ait tipik manyetizasyon eğrisi [28].

Ferromanyetik, ferrimanyetik ve antiferromanyetik maddelerde olduğu gibi süperparamanyetik nanoparçacıkların da manyetik özelliklerinin değiştiği bir kritik sıcaklık, T_B değeri vardır. Bu sıcaklığın üstünde termal enerji parçacıklar arası etkileşimi yenecek kadar kuvvetlidir ve nanoparçacıklar M_r ve H_c göstermezler, süperparamanyetik karakterdedirler. Oysa bu sıcaklığın altında termal enerjinin düşmesiyle birlikte nanoparçacıklar arası etkileşim enerjisi etkin hale gelir ve parçacıklar süperparamanyetik özelliklerini kaybederler [28].

2.4 Demir ile Demir Oksitin Yapısı ve Özellikleri

Demirin kimyasal sembolü (Fe) Latince ‘ferrum’ dan gelir [32]. Atom numarası 26, kütle numarası 55.85’tir. Yoğunluğu 7.87 g/cm^3 , erime sıcaklığı $1539 \text{ }^\circ\text{C}$, kaynama sıcaklığı $2740 \text{ }^\circ\text{C}$ ’dir. Fe elementi -2’den +6’ya kadar farklı değerliğe sahip olabilir ancak en yaygın olarak bulunan Fe^{+2} ve Fe^{+3} ’tür. Hava ortamında çoğu Fe(II) bileşikler daha kararlı olan ve daha yaygın bulunan Fe(III)’lü türlere dönüşür [33]. Fe gümüş gri renktedir fakat hava ortamında oksitlenir ve demir oksit oluşturur. Fe’in α , γ ve δ olarak bilinen üç allotropik formu mevcuttur. Soğutulup $1539 \text{ }^\circ\text{C}$ ’de kristalleşince taban merkezli kübik (base centered cubic, bcc) yapıda δ -Fe oluşur, daha da soğutulursa $1394 \text{ }^\circ\text{C}$ ’de yüzey merkezli kübik (face centered cubic, fcc) yapıda γ -Fe’e dönüşür. $910 \text{ }^\circ\text{C}$ ’de kristal yapı tekrar değişir ve bcc α -Fe oluşur [34]. α -Fe oda sıcaklığında en kararlı demir formudur. Curie sıcaklığı olan $770 \text{ }^\circ\text{C}$ ’nin altında Fe ferromanyetik olur. [23, 35]. Demirin manyetik özellikleri Tablo 2.2’de verilmiştir.

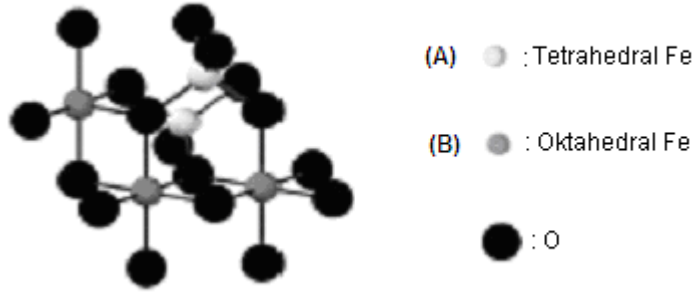
Fe dünyadaki en yaygın metallere biridir. Tek başına kullanılabildiği gibi çelikte olduğu gibi alaşım yapmak için başka metallere de karıştırılabilir. Oldukça reaktiftir ve elementel halde bulunmaz. Doğada diğer elementlerle birlikte demir filizi halinde bulunur. Demir içeren en önemli maden filizleri hematit, magnetit ve siderittir, aynı zamanda markazit içinde de bulunur. Demir, maden filizinin karbonca zengin bir yakıt olan kömürle yakılmasıyla elde edilir. Kömürdeki karbon demir filizindeki oksijen ile reaksiyona girerek karbon dioksit oluşturur ve geriye yumuşak ve süngerimsi demir ile bazı safsızlıkların bir karışımı kalır [32].

Fe insan vücudu için büyük öneme sahip bir elementtir. Oksijen taşınmasında görevli olan, kırmızı kan hücrelerindeki hemoglobinin yapısında Fe bulunur. Her hemoglobin molekülü dört Fe atomu içerir. Hemoglobin dokulara oksijen taşınması ve karbondioksitin dokulardan uzaklaştırılması görevini yapar. Hemoglobin oksijenin çok olduğu bölgeden az olduğu bölgeye giderken şekil değiştirerek oksijeni absorbe eder veya salar. Vücutta Fe eksikliği anemi hastalığına neden olur. [32].

Fe hem elektron alıcısı ve hem de vericisi gibi çalışabildiğinden ötürü bakteriler ve insanlar da dahil olmak üzere dünyadaki bir çok hayat formu için önemli bir elementtir. Bununla birlikte vücut içinde toksik etki gösterebilir. Serbest halde bulunan Fe elektron alıcı karakterinden dolayı hidrojen peroksitin hücreye zarar verecek serbest radikallere dönüşümünü katalizleyebilir. Bunu engellemek için Fe canlılarda çeşitli proteinlere bağlı biçimde bulunur. Böylece zararlı etkinin de önüne geçilmiş olur [36].

Fe, oksijenle üç bileşik yapar. Birincisi, FeO (Fe(II) oksit veya wüstit (wüstit)) siyah bir tozdur ve oda sıcaklığında kararsızdır. İkincisi, Fe₂O₃ (Fe(III) oksit)'tir, pas olarak da bilinir. Üçüncü bileşik, Fe₃O₄ (Fe(II)(III) oksit veya magnetit (magnetite)) siyah renktedir ve hem Fe⁺² hem de Fe⁺³ iyonlarını içerir. Kimyasal formülü bazen FeO.Fe₂O₃ şeklinde de verilebilir [32].

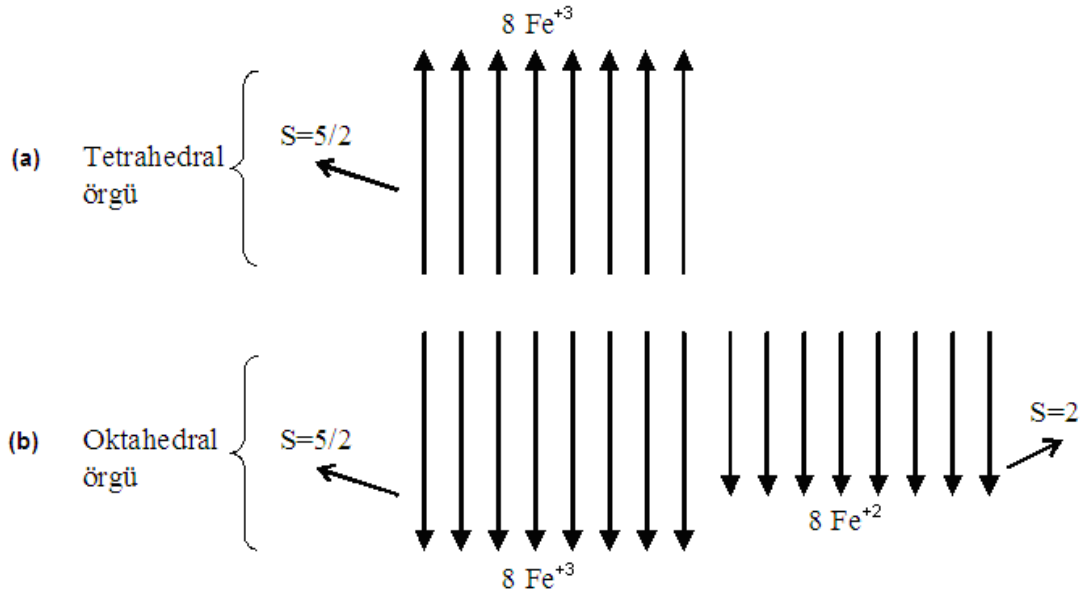
Demir oksitin iki ana formu magnetit (Fe₃O₄) ve maghemit (γ -Fe₂O₃)'tir. Magnetit kübik spinel yapıda kristallenir. Oksijen iyonları kübik yapıda sıralanırken Fe iyonları aradaki boşluklara yerleşir. Şekil 2.11'de magnetite ait kristal yapı [29] gösterilmektedir. Fe iyonları şekilde görüldüğü gibi tetrahedral düzende (A) 4 tane oksijen ile oktahedral düzende (B) 6 tane oksijen ile sarılmıştır. Tetrahedral ve oktahedral düzenler örgü içinde iki örgü meydana getirir. Bu örgülerde spinler birbirine zıt yönelmiş durumdadır. Bu iki farklı kristal örgü oluşumu Fe iyonlarının birbirleriyle ve A ile B durumları arasında farklı değiş-tokuş etkileşimleri meydana getirir. A ve B örgülerindeki bu yerleşim ters spinel yapıyı ortaya çıkarır [29].



Şekil 2.11: Magnetit kristalinin yapısı [29].

Maghemit de magnetit ile aynı yapıya sahip bir demir oksit türüdür. Fe^{+2} boşluğu (\square) olan magnetit gibi düşünülebilir. Maghemitte magnetitten farklı olarak Fe^{+2} iyonlarının yerinde boşluklar vardır ve yapı Fe^{+3} iyonlarından oluşur. Fe_3O_4 'in yapısı, $[\text{Fe}^{+3}]_{\text{Td}} [\text{Fe}^{+3}\text{Fe}^{+2}]_{\text{Oh}} \text{O}_4$ ve $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 'in yapısı $0.75 [\text{Fe}^{+3}]_{\text{Td}} [\text{Fe}_{5/3}^{+3} \square_{1/3}]_{\text{Oh}} \text{O}_4$ şeklindedir. Boşluklar 8 tetrahedral ve 16 oktahedral bölgede rastgele veya düzenli dağılmış olabilir [6].

Magnetitin ferrimanyetik yapısının spin düzenine bağlı şematik gösterimi [30] Şekil 2.12'de verilmektedir. Eğer tüm spinler paralel olsaydı Fe_3O_4 molekülü başına μ_B sayısı $5+5+4=14$ olmalıydı. Görüldüğü gibi tetrahedral düzendeki Fe^{+3} iyonlarının spin yönelimleri ile oktahedral düzendeki Fe^{+3} ve Fe^{+2} iyonlarının spin yönelimleri birbirine terstir. Aynı büyüklükte ve zıt yöndeki spinler birbirinin etkisini yok edeceğinden yalnızca Fe^{+2} iyonlarından ileri gelen bir net manyetik moment oluşur [30]. Bu oluşum 'Ferrimanyetizma' bölümünde anlatılan yapıyı göstermektedir.



Şekil 2.12: Magnetitin (a) Oktahedral ve (b) Tetrahedral bölgelerindeki spinlerin yerleşiminin şematik gösterimi [30].

Magnetit ve maghemit dışında, oksihidroksitler ve Fe'in diğer elementlerle yaptığı bileşiklerin manyetik özellikleri de [37] Tablo 2.2'de verilmiştir. Fe'in doyum manyetizasyonuna yakın değere sahip malzemeler bulunsada bunların tümü biyomedikal uygulamalar için uygun değildir. Magnetit, maghemit ve hematit toksik etkileri bulunmadığından [8, 9] biyomedikal uygulamalar için en uygun Fe içerikli malzemelerdir. Tablodan da görüldüğü gibi en yüksek doyum manyetizasyonuna sahip oksitler magnetit ve maghemittir. Magnetit geçiş sıcaklığının altında ferrimanyetik ve doyum manyetizasyonu $90\text{-}92 \text{ Am}^2/\text{kg}$ 'dır. Maghemit ise $600 \text{ }^\circ\text{C}$ civarındaki geçiş sıcaklığının altında ferrimanyetik özellik gösterir ve yaklaşık $80 \text{ Am}^2/\text{kg}$ doyum manyetizasyonuna sahiptir.

Tablo 2.2: Bazı minerallerin manyetik özellikleri [37].

Mineral	Kompozisyon	Manyetik Düzen	T _g (°C)	M _s (Am ² /kg)
Oksitler				
Magnetit (Magnetite)	Fe ₃ O ₄	Ferrimanyetik	575-585	90-92
Ulvospinel (Ulvospinel)	Fe ₂ TiO ₂	AFM	-153	-
Hematit (Hematite)	α-Fe ₂ O ₃	Çapraz AFM	675	0.4
İlmenit (Ilmenite)	FeTiO ₂	AFM	-233	-
Maghemit (Maghemite)	γ-Fe ₂ O ₃	Ferrimanyetik	~600	~80
Jakobsit (Jacobsite)	MnFe ₂ O ₄	Ferrimanyetik	300	77
Trevorit (Trevorite)	NiFe ₂ O ₄	Ferrimanyetik	585	51
Magnezyoferrit (Magnesioferrite)	MgFe ₂ O ₄	Ferrimanyetik	440	21
Sülfitler				
Pirhotit (Pyrrhotite)	Fe ₇ S ₈	Ferrimanyetik	320	~20
Greigit (Greigite)	Fe ₃ S ₄	Ferrimanyetik	~333	~25
Troilit (Troilite)	FeS	AFM	305	-
Oksihidroksitler				
Geothit (Geothite)	α-FeOOH	AFM, zayıf FM	~120	<1
Lepidokrosit (Lepidocrocite)	γ-FeOOH	Ferrimanyetik	-196	-
Feroksit (Feroxyhyte)	δ-FeOOH	AFM	~180	<10
Metaller ve alaşımlar				
Demir (Iron)	Fe	FM	770	218
Nikel (Nickel)	Ni	FM	358	55
Kobalt (Cobalt)	Co	FM	1131	161
Avaruit (Awaruite)	Ni ₃ Fe	FM	620	120
Vaiaruit (Wairauite)	CoFe	FM	986	235

T_g: Curie/Neel Sıcaklığı, M_s: Doyum manyetizasyonu (oda sıcaklığında), AFM: Antiferromanyetik, FM: Ferromanyetik

Bir başka kaynakta [38] magnetit, maghemit ve hematit için verilen bilgiler Tablo 2.3'teki gibidir. Bu tabloda yoğunluk, erime noktası gibi fiziksel özelliklerin yanında manyetik özellikleri de verilmektedir. Geçiş sıcaklıkları ve doyum manyetizasyonu değerleri Tablo 2.2'de verilen değerlerle uyumludur.

Tablo 2.3: Magnetit, maghemit ve hematitin bazı özellikleri [38].

Özellik	Magnetit	Maghemit	Hematit
Molekül formülü	Fe ₃ O ₄	γ-Fe ₂ O ₃	α-Fe ₂ O ₃
Yoğunluk (g/cm ³)	5.18	4.87	5.26
Erime sıcaklığı (°C)	1583-1597	-	1350
Magnetizma tipi	Ferrimanyetik	Ferrimanyetik	Zayıf ferromanyetik veya antiferromanyetik
Curie sıcaklığı (K)	850	820-986	956
300 K'deki M _s (Am ² /kg)	92-100	60-80	0.3
Yapı tipi	Ters spinel	Boşluklu spinel	Korundum

2.5 Nanoparçacık Sentez Teknikleri

Nanoparçacık sentezi için kullanılan yöntemler iki ana başlık altında toplanabilir. Bunlar gaz-fazı ve sıvı-fazı sentez yöntemleridir. Kimyasal buhar depozisyonu, metalo-organik kimyasal buhar depozisyonu ve spreylazer piroliz gaz-fazı yöntemleri arasında sayılabilir. Sıvı-fazı sentez yöntemlerinden bazıları ise mikroemülsiyon, hidrotermal sentez, termal parçalama ve ortak çöktürmedir. Bunlardan termal parçalama yüksek sıcaklık reaksiyonları başlığı altında da incelenebilir. Burada sıvı-fazı yöntemleri ile ilgili bilgi verilmektedir. İlk olarak bu yöntemlerden mikroemülsiyon, hidrotermal sentez ve termal parçalama ile ilgili bilgi verilecek ardında ortak çöktürme ve hidrojen ile indirgeme anlatılacaktır.

Mikroemülsiyon: Mikroemülsiyon, sürfaktant moleküllerinin oluşturduğu bir arayüzey ile birbirinden ayrılan ve birbiri içinde çözünmeyen iki sıvının oluşturduğu kararlı izotropik bir dispersiyondur [39]. Yağ içinde su mikroemülsiyonlarında sulu faz, sürfaktant moleküllerinin bir tabakası tarafından oluşturulan, çapı tipik olarak 1-50 nm aralığındaki mikrodamlarılar içinde dispers olur. Su içinde yağ mikroemülsiyonlarında oluşan mikrodamlarılar 'misel', yağ içinde su mikroemülsiyonlarında oluşan mikrodamlarılar 'ters misel' olarak adlandırılır. Oluşan ters misellerin boyutu su miktarının sürfaktant miktarına oranına bağlıdır [40]. Bir mikroemülsiyon nanoparçacık oluşturmak üzere bir nanoreaktör olarak kullanılabilir. İstenen reaktantları içeren benzer iki yağ içinde su mikroemülsiyonu

karıştırılırsa mikrodamları sürekli olarak çarpışır, birleşir, yeniden parçalanır ve sonunda miseller çökler [41]. Uygun çözücünün eklenmesiyle, çökelti karışımından filtreleme ya da santrifüjleme ile uzaklaştırılır. Mikroemülsiyon yöntemi kullanılarak farklı tiplerde manyetik nanoparçacıklar kontrollü bir şekilde sentezlenebilse de parçacık boyutu ve şekli görece olarak geniş bir aralıkta değişir. Bununla birlikte mikroemülsiyonda elde edilen ürün, termal parçalama ve ortak çöktürme gibi diğer tekniklerle karşılaştırıldığında oldukça azdır. Anlamlı miktarda malzeme elde edebilmek için fazla miktarda çözücüye ihtiyaç vardır. Bundan dolayı çok etkin bir yöntem değildir ve bol miktarda ürün elde etmek zordur [5].

Hidrotermal Sentez: Hidrotermal şartlarda geniş bir skalada nano yapı malzeme üretmek mümkündür. Katı-sıvı-çözelti reaksiyonu ile farklı nanokristaller sentezlemek için genel bir metod Wang ve ark [42] tarafından önerilmiştir. Reaksiyonlar sıvı, katı ve çözelti fazlarının ara yüzeylerinde sentez boyunca sürer. Yöntem şu ana dek tam anlamıyla açıklanamasa da çok bileşenli bu yaklaşım, doğrudan istenen malzemenin oluşumu açısından etkindir. Yüksek basınçlı hidrotermal metodlar, yükseltilmiş basınç ve sıcaklıkta metal tuzlarının hidroliz ve dehidratasyonuna dayanır. Basınç, sıcaklık ve reaksiyon süresi gibi parametreler yüksek çekirdeklenme hızını sabitlemek ve büyümeyi kontrol etmek için ayarlanabilir. Bu yöntemde, işlemler organik çözücü içermediğinden veya üretim sonrası bir işlem gerektirmediğinden çevrecidir [5]. Fakat bu yöntem ile elde edilen ürün miktarı oldukça az olup [5] parçacık kristallerinin büyümesi ihtimali ile süperparamanyetiklikten uzaklaşma söz konusu olabilir [43].

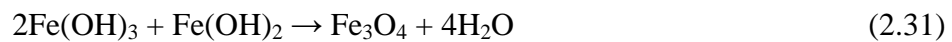
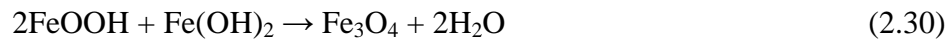
Termal Parçalama: Bu yöntemle susuz ortamda sentezlenen yüksek kaliteli yarıiletken kristaller ve oksitlerden esinlenerek parçacık boyutunun ve şeklinin kontrol edilebildiği manyetik nanoparçacık sentezi için benzer bir metod geliştirildi [44]. Organometalik bileşenlerin sürfaktant içeren yüksek kaynama sıcaklığına sahip organik çözücü ortamında parçalanmasıyla monodispers manyetik nanokristaller sentezlenebilir [45]. Manyetik nanoparçacıkların boyut ve morfoloji kontrolü başlangıçtaki organometalik bileşik, sürfaktant ve çözücü oranlarına bağlıdır. Reaksiyon sıcaklığı, reaksiyon süresi ve bekleme süresi de boyut ve morfoloji kontrolü için kritik olabilir. Organometalik öncü metal asetilasetonat, metal

kupferronat veya karbonil olabilir. Eğer öncü maddedeki metal sıfır değerli ise öncelikli metal oluşumu gerçekleşir fakat iki-basamaklı prosedürlerle de oksit nanoparçacık oluşumu gerçekleştirilebilir. Termal parçalamada temelde aynı mantıkla çalışmakla birlikte farklı öncü madde, sürfaktant ya da çözücü kullanılarak ve basamaklar farklılaştırılarak özelleşmiş yöntemler önerilebilir. Termal parçalamada genellikle organik çözücüde dispers olan nanoparçacıklar sentezlenir. Fakat biyoteknolojik uygulamalarda suda çözünebilir manyetik nanoparçacıklar tercih edilir [5].

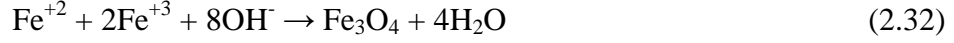
2.5.1 Ortak Çöktürme

Manyetik nanoparçacık sentezi için kullanılan yöntemlerden en çok kullanılanı, en etkin, basit ve ekonomik olanı ortak çöktürmedir. Diğer tekniklere göre reaksiyon süresi daha kısadır ve daha çok ürün verir [5]. Reaksiyon inert gaz veya açık hava ortamında gerçekleşebilir.

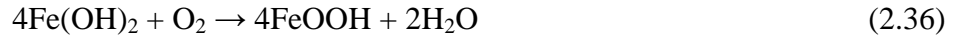
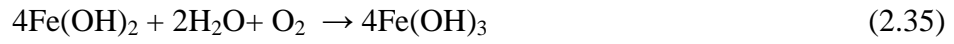
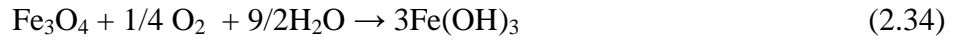
Ortak çöktürme yöntemiyle demir oksit nanoparçacıklar (Fe_3O_4 , $\gamma\text{-Fe}_3\text{O}_2$), Fe^{+2} ve Fe^{+3} iyonları karışımının bazik ortamda çöktürülmesiyle elde edilir. Reaksiyonun gerçekleşebilmesi için ortamın pH'ı 8 ile 14 arasında olmalıdır. Oksidasyon olmayan ortamda $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranı 1/2 olarak seçilirken O_2 'li ortamda Fe^{+2} 'nin Fe^{+3} 'e dönüşmesi ile bu oran değişeceğinden 2/3 oranı tercih edilir [46]. Ortak çöktürme sırasında son ürün elde edilene dek birçok ara basamak gerçekleşebilir [47, 48]. Bu reaksiyonlar,



ya da kısaca,



olarak verilebilir. Reaksiyonlardan da anlaşılacağı gibi demir oksit oluşabilmesi için baz konsantrasyonu tüm reaksiyonların oluşmasına yeterli olmalıdır. $[\text{OH}^-]$ değeri yeterli olmadığında demir oksit oluşumu sınırlı kalmaktadır. Ayrıca O_2 'li ortamda [47-49],



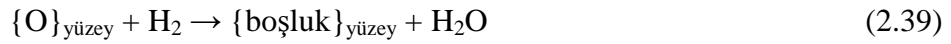
reaksiyonları da gerçekleşebilir. Ortak çöktürmenin ana avantajı oldukça fazla miktarda ürün elde edilebilmesidir. Fakat parçacık boyutunun kontrolü sınırlıdır. Çünkü bu yöntemde kristallerin oluşumu iki basamak içerir [5, 50]. Birinci basamak çekirdeklenmedir. Çözelti konsantrasyonu kritik doyuma ulaştığında nanoparçacık çekirdekleri oluşmaya başlar. İkinci basamak olan büyümede ise oluşan çekirdekler büyür ve kristaller oluşur. Elde edilen nanoparçacıkların monodispers olması bu iki basamağın birbirinden ayrılmasına bağlıdır [51]. Bu ise sentezi etkileyen parametrelerin kontrolü ile sağlanabilir. Bu yöntemde, parçacık boyutunu, manyetik özellikleri ya da yüzey özelliklerini etkileyen faktörler, $\text{Fe}^{+2}/\text{Fe}^{+3}$ konsantrasyon oranı, çözelti pH'ı, Fe iyon konsantrasyonu, karıştırma hızı, reaksiyon sıcaklığı, reaksiyon süresi olarak sayılabilir [52-55].

2.5.2 Hidrojen ile İndirgeme

Hidrojen gazı (H_2) yaygın olarak kullanılan bir indirgeyici maddedir. Örneğin, gümüş nanoparçacıkların elde edilmesi için gümüş sülfat ve polivinil alkol içeren sıcak çözeltiden kaynama noktası civarında H_2 geçirilmiştir [56]. Yine bir başka çalışmada [57] doymuş gümüş oksit çözeltisinden H_2 gazı geçirilerek 29 nm ile 136

nm arasında değişen çaplarda gümüş nanoparçacıklar elde edilmiştir. Burada işaret edilmesi gereken bir nokta H₂'nin bir indirgeyici madde olarak sistem üzerinde kalıcı kimyasal bir etkisinin bulunmamasıdır [57].

Uygun oksit malzemenin hidrojen ile indirgenmesi sırasında hidrojen molekülleri yüzeydeki oksijen atomları ile aşağıda verilen reaksiyonda olduğu gibi etkileşir ve reaksiyon sonucunda yüzeydeki oksijen atomları yerinde boşluk kalır [58]:



Eğer oksit numune demir oksit (Fe₃O₄ ve Fe₂O₃) ise uygun şartlarda hidrojen ile indirgeme reaksiyonlarının aşağıdaki basamaklara göre gerçekleştiği önerilmiştir [58]:



Bu reaksiyonlara göre başlangıç maddesi olarak Fe₃O₄ ve Fe₂O₃ kullanılarak uygun şartlarda H₂ ile indirgeme sonucu metalik Fe'e ulaşılabilir. Reaksiyon şartlarına göre Denklem (2.40) ile Denklem (2.43) arasındaki reaksiyonlar kısmen veya tamamen gerçekleşebilir. Elde edilen son ürün buna bağlı olarak değişiklik gösterir. Hidrojen ile indirgenme reaksiyonunu etkileyen en önemli parametreleri reaksiyon sıcaklığı ve reaksiyon süresidir [59-61].

Demir oksitin H₂ ile metalik demire indirgenmesi ile ilgili çalışmalar genellikle demir oksitin farklı şartlarda demire dönüşme yüzdesi ve bunun kinetik açıklamaları ile ilgilidir [58, 62, 63]. Örneğin, Munteanu ve ark.'ın çalışmasında [58] α -Fe₂O₃ ve Au/ α -Fe₂O₃'in indirgenme kinetiği ve indirgenme basamakları üzerinde durulmuştur. Sastri ve ark. [62] hematitin H₂ ile indirgenmesi ile ilgili kinetik inceleme ve indirgenme yüzdesi hesabı yapmıştır. Bir başka çalışmada [63] yine hematitin H₂ ile

indirgenme yüzdesi zamana ve reaksiyon sıcaklığına bağlı olarak araştırılmış ve yüzey morfolojisi incelenmiştir. İndirgeme sonucu elde edilen ürünlerin manyetik özelliklerinin incelendiği çalışmalar sınırlı sayıdadır.

2.6 Ortogonal Dizayn Yöntemi ile Optimizasyon

En genel anlamda optimizasyon yöntemi bir sürece ait optimum çıkış değerlerini veren giriş parametreleri serisinin bulunmasını içerir. Süreç optimizasyonu için en basit yöntem tek boyutlu yaklaşımdır. Bu yöntemde bir parametre dışında diğer giriş parametreleri sabitlenir ve değişken parametre için en iyi sonucun elde edildiği değer bulunur. Bu değer sabitlenir ve diğer bir parametre için aynı işlem yapılarak devam edilirse tüm parametreler için en iyi sonuçların alındığı bir giriş parametreleri serisi elde edilir [31].

Optimizasyon yöntemine başka bir yaklaşım da “tam faktöriyel dizayn” olarak bilinir ve giriş parametrelerinin mümkün tüm kombinasyonlarını içeren bir deneyler dizisi sunar. Yani 4 değişken parametrelili bir sistemde her bir parametrenin 3 farklı değeri mümkünse $3 \times 3 \times 3 \times 3 = 81$ tane deney yapmak gerekir. Bu deneylerden elde edilen sonuçların analiz edilmesiyle giriş parametrelerinin sürece olan etkileri ve birbirleriyle etkileşimleri hakkında bilgi edinilebilir. Deney tasarımı ilk kez 1920’lerde İngiliz istatistikçi Sir Ronald Fisher tarafından tarım araştırmaları yaparken bulunup geliştirilmiştir [64]. Fisher ayrıca deney verilerinin analizi için “varyans analizi” (analysis of variance, ANOVA) yöntemini geliştirmiştir. Bu yöntem ABD’de tarım sektöründe oldukça etkili olmuş fakat imalat sektöründeki uygulamaları kısıtlı kalmıştır [64]. Süreç optimizasyonu için kullanılacak çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Bu yöntemlerle ilgili geniş bilgi çeşitli kaynaklarda bulunabilir [65-67]. Bir başka yaklaşım da “kısmi faktöriyel dizayn”dır. Bu yaklaşımda tam faktöriyel dizaynda kullanılan deney setlerinden bir kısmı kullanılarak sonuca ulaşılır. Ortogonal dizayn, bu anlamda kullanılan yöntemlerden biridir. Ortogonal dizaynın çıkışı Latin karesidir [68]. “Ortogonal dizi” terimi ilk kez 1952’de K. A. Bush ve R. C. Bose tarafından kullanılmıştır [69]. 1950’lerde Japonya’da Genichi Taguchi ortogonal dizayn yöntemini geliştirmiştir. Japonya’da

deney tasarımının kalite düzeyine katkısı 1960'lerden itibaren hızlı şekilde artmıştır ve bundan sonra tüm dünyada deney tasarımı yöntemleri uygulanmaya başlamıştır [64]. Ortogonal dizaynın ince film üretim cihazları, plazma koparma, fotorezist işlemleri ve optik set geliştirilmesi gibi çeşitli alanlarda uygulamaları yapılabilir [31].

Ortogonal dizaynın amacı giriş parametreleri ile çıkış verileri arasındaki ilişkiyi ortaya koymaktır. Ortogonal tabloları kullanılarak en az sayıda deneme ile süreç hakkında en fazla bilgi elde edilebilir. Sonuçların istatistiksel analizi her bir giriş parametresinin çıkış verilerine etkisini ortaya koyar. Örneğin 3 seviyeye sahip 4 faktörün (giriş parametresinin) ortogonal tablosuna göre tam faktöriyel dizaynda olduğu gibi 81 deney yapmak yerine 9 deney yaparak çok boyutlu uzayda optimum şartlara ulaşılabilir [69].

Bir ortogonal tablo ya da matris giriş parametrelerini içeren sütun ve her bir giriş parametresinin seviye değerlerini gösteren satırlardan oluşur. Her satırdaki parametre değerleri bir deneye karşılık gelir. Bir ortogonal matriste her sütundaki seviye değeri sayısı eşit olmalıdır. Her bir seviye değeri için eşit sayıda deney sonucu bulunmalıdır. Ortogonal matriste verilen sütun sayısı yani parametre sayısı için en az sayıda deney tasarlanmalıdır. Bütün bu özellikleri sonucunda bir ortogonal matris tam faktöriyel dizaynla karşılaştırıldığında yapılmayan deneyleri olsa da istatistiksel olarak hesap yapmaya imkan sağlar [31].

Ortogonal tablolar $L_x Z^y$ şeklinde ifade edilir. Burada y giriş parametrelerinin sayısı, Z seviye değerlerinin sayısı ve x de yapılacak deney sayısıdır. Ancak belli sayıda giriş parametreleri ve seviye değerleri için ortogonal matris oluşması mümkündür. Ortogonal dizayn uygulanacak sistemin parametrelerine ve seviye değerlerine uygun bir ortogonal tablo seçilerek kullanılır. Tablo 2.4'te şu anda kullanılan ortogonal tablolardan bazıları verilmiştir. Bu tablolardan 4 parametrelilik ve 3 seviye değerine $L_9 3^4$ ortogonal matrisi [31] Tablo 2.5'te görülmektedir. Bu tabloda 1' ve 1" deneyleri ortogonal tabloda bulunmayıp daha sonra yapılacak analizde kullanılmak üzere tabloya yerleştirilmiş tekrar deneyleridir. Bu deneylerin sonuçlarından hesaplanan standart sapma değerleri daha sonra açıklanacağı gibi parametrelerin etkisini analiz etmede kullanılacaktır. Bu tablo her birinin 3 seviye

değeri olan 4 giriş parametresi içerir. Matrisi tamamlamak için 9 deney gerekmektedir. Görüldüğü gibi tablo ortogonallik şartlarını sağlamaktadır. Daha önce de bahsedildiği gibi ortogonallik elde edilen sonuç verileri ile istatistiksel yorum yapmaya imkan sağladığından aynı sistemin tam faktöriyel analizi ile karşılaştırıldığında eksik deneylerin yerini doldurur. Bir giriş parametresi için bir dizi deneyin sonuç verilerinin ortalaması alındığında diğer parametrelerin birinci dereceden etkileri ihmal edilir. Çünkü diğer deney parametreleri için seviye değerleri bu deney dizisi içinde aynı frekanstadır. Yani giriş parametrelerinin seviye değerleri ile sonuç verileri arasındaki birinci dereceden ilişki tam faktöriyel analizde olduğu gibi çok sayıda deney yapmak zorunda kalmadan elde edilebilir [31].

Tablo 2.4: Bazı ortogonal tablolar [70].

$L_4 2^3$	$L_8 2^7$	$L_{16} 4^5$	$L_{16}(4 \times 2^{12})$
$L_{12} 2^{11}$	$L_{20} 2^{19}$	$L_{64} 4^{21}$	$L_{16}(4^3 \times 2^6)$
$L_{16} 2^{15}$	$L_{32} 2^{31}$	$L_8(4 \times 2^4)$	$L_{32}(4^9 \times 2^4)$
$L_9 3^4$	$L_{12}(4^1 \times 2^4)$		$L_{123}(4^{41} \times 2^4)$
$L_{18}(3^7 \times 2^1)$	$L_{18}(6^1 \times 3^6)$	$L_{25} 5^6$	$L_{50}(5^{11} \times 2^1)$
$L_{24}(3^1 \times 2^{16})$	$L_{24}(3^1 \times 4^1 \times 2^{13})$	$L_{50}(5^{19} \times 10^1)$	$L_{125} 5^{31}$
$L_{27} 3^{13}$	$L_{36}(2^1 \times 6^2 \times 3^5)$	$L_{49} 7^8$	$L_{98}(7^{15} \times 2^1)$
$L_{36}(3^3 \times 6^3)$	$L_{54}(3^{25} \times 2^1)$	$L_{98}(7^{14} \times 14^1)$	
$L_{54}(6^1 \times 3^{24})$	$L_{81} 3^{40}$	$L_{54} 8^9$	$L_{27}(9 \times 3^9)$
$L_{81}(3^4 \times 9^1)$		$L_{16}(8 \times 2^8)$	$L_{81} 9^{10}$
		$L_{121} 11^{12}$	$L_{169} 13^{14}$

Tablo 2.5'te belirlenen deneylerden elde edilen sonuçların analiz edilmesi için Tablo 2.6'daki hesaplamalar kullanılır [31]. Parametrelerin sistem üzerine etkisini tayin edebilmek için her bir giriş parametresinin çıktı değerlerinin ortalaması tabloda verilen şekilde hesaplanır ve bu ortalamaların en yüksek ve en düşük değerleri arasındaki fark bulunur. Her giriş parametresi için bulunan bu farklar yukarıda tanımlanan standart sapma değeri ile karşılaştırılarak o parametrenin sistem üzerine etkisi hakkında yorum yapılır.

Tablo 2.5: Dört parametrelü üç seviyeli bir sisteme ait ortogonal dizayn tablosu [31].

L_93^4	Giriş Parametreleri			
Deney	A	B	C	D
1	1	1	1	1
2	1	2	2	2
3	1	3	3	3
4	2	1	2	3
5	2	2	3	1
1'	1	1	1	1
6	2	3	1	2
7	3	1	3	2
8	3	2	1	3
9	3	3	2	1
1''	1	1	1	1

Tablo 2.6: L_93^4 ortogonal tablosu için çıkış parametrelerinin ortalamalarının ve farklarının hesaplanmasında kullanılan formüller [31].

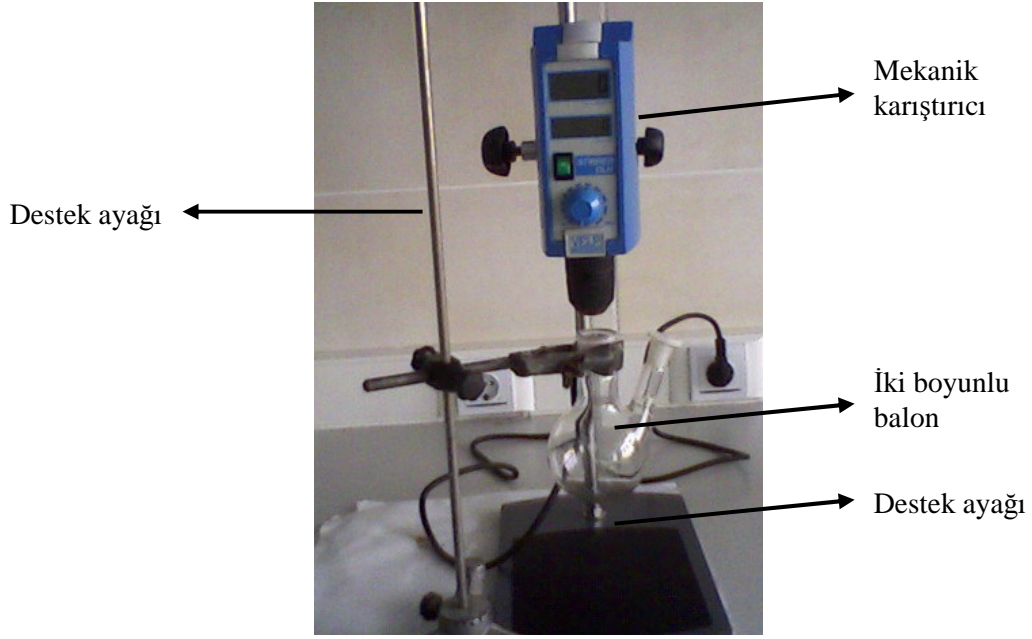
$M_{A_1} = \frac{(M_1 + M_2 + M_3)}{3}$	$M_{B_1} = \frac{(M_1 + M_4 + M_7)}{3}$	$M_{C_1} = \frac{(M_1 + M_6 + M_8)}{3}$	$M_{D_1} = \frac{(M_1 + M_5 + M_9)}{3}$
$M_{A_2} = \frac{(M_4 + M_5 + M_6)}{3}$	$M_{B_2} = \frac{(M_2 + M_5 + M_8)}{3}$	$M_{C_2} = \frac{(M_2 + M_4 + M_9)}{3}$	$M_{D_2} = \frac{(M_2 + M_6 + M_7)}{3}$
$M_{A_3} = \frac{(M_7 + M_8 + M_9)}{3}$	$M_{B_3} = \frac{(M_3 + M_6 + M_9)}{3}$	$M_{C_3} = \frac{(M_3 + M_5 + M_7)}{3}$	$M_{D_3} = \frac{(M_3 + M_4 + M_8)}{3}$
$\Delta M_A = M_{A_{MAX}} - M_{A_{MIN}}$	$\Delta M_B = M_{B_{MAX}} - M_{B_{MIN}}$	$\Delta M_C = M_{C_{MAX}} - M_{C_{MIN}}$	$\Delta M_D = M_{D_{MAX}} - M_{D_{MIN}}$

3. DENEYSEL TEKNİKLER

Bu bölümde manyetik nanoparçacıkların sentezlendiği sistemler ve elde edilen ürünlerin karakterizasyonu için kullanılan teknikler yer almaktadır. İlk olarak, demir oksit nanoparçacıkların ortak çöktürme yöntemi ile sentezlendiği sistem ve kullanılan kimyasal maddeler verilecektir. Ardından demir parçacıkların elde edilmesi için hidrojen ile indirgeme yönteminde kullanılan sistem tanıtılacaktır. Bundan sonra, elde edilen manyetik nanoparçacıkların karakterizasyonunda kullanılan teknikler hakkında kısaca bilgi verilecektir. Sentezlenen nanoparçacıkların yapısal özelliklerini incelemek için x-ışını kırınımı (x-ray diffraction, XRD) ve fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR) kullanılmıştır. Geçirmeli elektron mikroskobu (transmission electron microscope, TEM) ile parçacık boyutları belirlenmiştir. Numunelerin manyetik karakterizasyonu titreşimli numune magnetometresi (vibrating sample magnetometer, VSM) ve fiziksel özellikler ölçüm sistemi (physical properties measurement system, PPMS) ile yapılmıştır. Bu bölümde son olarak enzim immobilizasyonu için kullanılan yöntem açıklanmaktadır.

3.1 Ortak Çöktürme ile Demir Oksit Nanoparçacıkların Sentezi

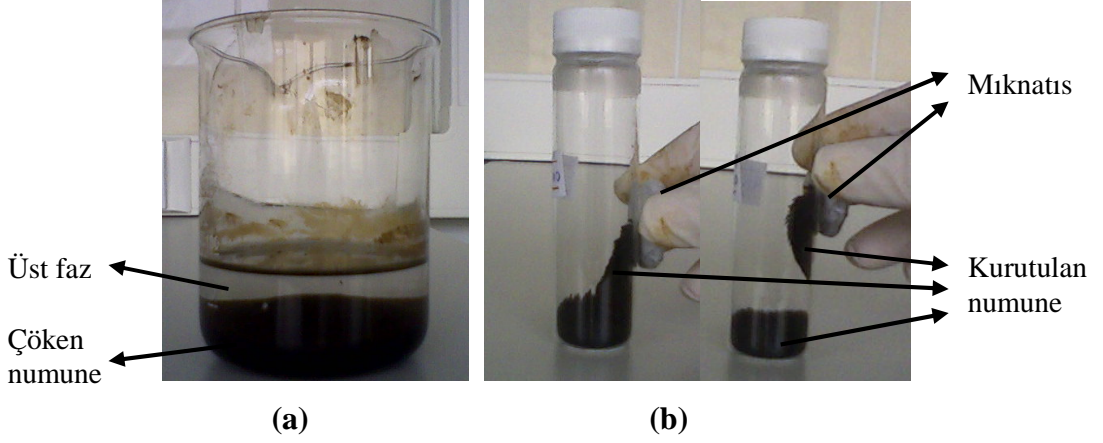
Demir oksit nanoparçacıkların sentezi açık hava ortamında ortak çöktürme yöntemi ile yapılmıştır. Ortak çöktürme için kullanılan sistem 0-2000 rpm karıştırma aralığında çalışan VELP Scientifica marka mekanik karıştırıcı, cam karıştırma ucu, 250 ml'lik iki boyunlu balon ile mekanik karıştırıcı ve balon için sabitleyici ayaklardan oluşmaktadır. Sisteme ait bir fotoğraf Şekil 3.1'de verilmektedir. Farklı sıcaklıklarda çalışmak için balon, Polyscience 70 model sirkülasyonlu ısıtıcı su banyosu içine yerleştirilir.



Şekil 3.1: Ortak çöktürme ile demir oksit sentezinde kullanılan sistem.

Sentez için demir (II) klorür tetrahidrat ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, Merck > 99%), demir (III) klorür heksahidrat ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Merck > 99%) ve amonyak çözeltisi (NH_4OH , Merck 25%) kullanılmıştır.

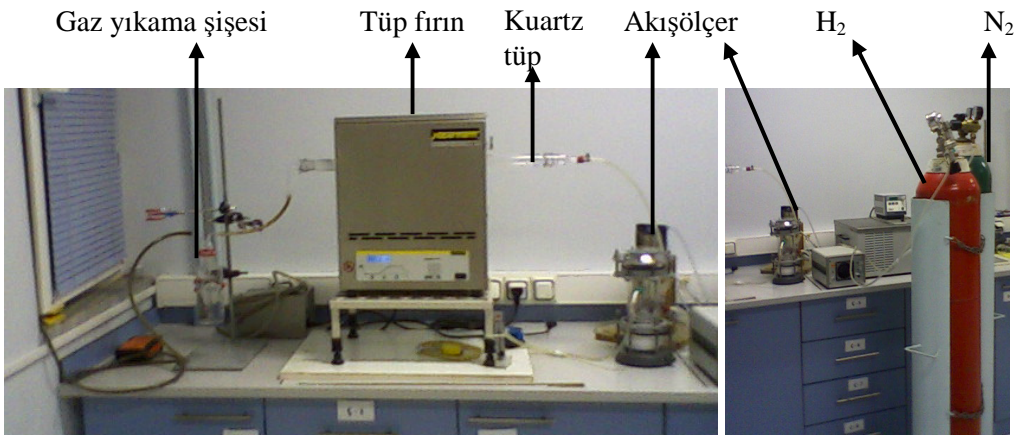
İstenen miktarda tartılan (Sartorius marka GD603-0CE model 4 hane duyarlıklı terazi ile) $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ve $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 'nin çözeltisi hazırlanarak balona alınır. İstenen karıştırma hızına çıkıldıktan sonra amonyak çözeltisi hızlıca tek seferde ilave edilir. Reaksiyon sonunda behere alınan ürün mıknaatıs altında çöktürülür ve üst fazı ayrılarak pH ölçümü yapılır. Kalan çökelti birkaç defa deiyonize saf su ile yıkanır ve ölçümler için kuru halde elde etmek amacıyla $60\text{ }^\circ\text{C}$ 'de Nüve FN 055 marka etüvde kurutulur. Şekil 3.2 (a) ve (b)'de sırasıyla reaksiyon sonrasında çöktürülmüş ve kurutulmuş numuneye ait fotoğraflar görülmektedir.



Şekil 3.2: Reaksiyon sonrası (a) çöktürülmüş numune, (b) kurutulmuş numune.

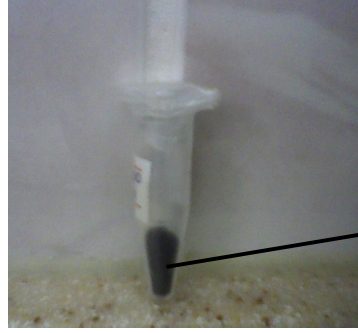
3.2 Nanoparçacıkların Hidrojen ile İndirgenmesi

Ortak çöktürme ile elde edilen toz haldeki demir oksit nanoparçacıklara hidrojen ile indirgeme yöntemi uygulanmıştır. İndirgeme sistemi, Nabertherm marka boru tipi fırın, kuartz tüp (çap: 2 cm, boy: 70 cm) ve Agilent marka akış ölçerden oluşmaktadır. Reaksiyon için gerekli N_2 ve H_2 gazları akış ölçerden geçerek reaksiyon ortamına verilmektedir. Reaksiyon sırasında gazlar gaz yıkama şişesinden geçerek sistemden dışarı verilir. Şekil 3.3'te sisteme ait bir fotoğraf görülmektedir. Sentez için İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümünde bulunan ekipman kullanılmıştır.



Şekil 3.3: Hidrojen ile indirgeme için kullanılan sistem.

Hidrojen ile indirgemedede, ortak çöktürmeyle elde edilmiş optimum doyum manyetizasyonlu toz haldeki demir oksit nanoparçacıklar uygun miktarda alınarak seramik kayıkçıklara konur. Hazırlanan numune fırın içindeki kuartz tüp içine yerleştirilir ve sistem bağlantıları yapılır. Reaksiyon sıcaklığı, süresi ve fırının ısınma hızı istenen şekilde ayarlanır. Fırının çalıştırılmasıyla sistemden akış ölçerden kontrol edilerek istenen hızda N₂ gazı geçirilir. İstlenen şartlara ulaşıldığında N₂ geçişi kapatılıp H₂ geçişi açılarak reaksiyon başlatılır. Reaksiyon bittikten sonra H₂ gazı kapatılır, N₂ gazı açılır ve fırının soğuması beklenir. Reaksiyon sonunda elde edilen ürün ölçüm yapılana kadar vakumlu kapta saklanır. Reaksiyon sonrası toz halde elde edilen numunenin fotoğrafı Şekil 3.4'te verilmiştir.



İndirgeme reaksiyonu sonucu elde edilen numune

Şekil 3.4: İndirgeme reaksiyonu sonucunda elde edilen numune.

3.3 X-Işını Kırınımı

X-ışını kırınımı (x-ray diffraction, XRD) kristal yapı tayininde kullanılan önemli bir tekniktir. Bu teknikte örneğe zarar vermeden [71] örgü noktalarındaki atomların cinsleri ve kristal düzlemleri ile düzlemler arası mesafeler bulunabilir. Kristalin yapısına ve kristalle etkileşen ışının dalgaboyuna bağlı olarak değişik kırınım desenleri meydana gelir. Kırınım, periyodik yapıdaki maddenin farklı tabakalarından yansıyan ışınların girişimi sonucu oluşur. Kırınımın gerçekleşmesi için gereken şart, Bragg Yasası ile verilir:

$$2d_{hkl} \sin \theta = n \lambda \quad n = 1, 2, 3, \dots \quad (3.1)$$

dır. Burada d_{hkl} kristal düzlemleri arası mesafe, θ gönderilen ışının düzlemle yaptığı gelme açısı, n kırınımın mertebesi, λ gönderilen ışının dalgaboyudur [30, 71]. Elde edilen kırınım deseninden, örneğe ait kristal düzlemleri ve d_{hkl} , Bragg yasası (Denklem 3.1) kullanılarak bulunur. Örnekteki kristal düzlemlerine ait kristal büyüklükleri ise, aşağıdaki Scherrer formülü ile tayin edilir:

$$t = \frac{0.9\lambda}{B \cos \theta} \quad (3.2)$$

Burada t kristal büyüklüğü, B incelenen düzleme ait pikin yarı yükseklikteki pik genişliği (FWHM) değeri, θ incelenen düzleme ait pikin ortaya çıktığı açının yarısıdır [71].

Bu çalışmada numunelerin XRD ölçümleri, Balıkesir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi'nde ve Bilkent Üniversitesi Malzeme Bilimi ve Nanoteknoloji Enstitüsü'nde (UNAM) bulunan aynı marka Philips PANalytical's X'Pert PRO marka XRD cihazları ve Eskişehir Anadolu Üniversitesi Malzeme Mühendisliği Bölümündeki Rigaku rint marka XRD cihazı ile yapılmıştır. Ölçüm için, Bölüm 3.1'de anlatıldığı gibi kurutularak toz halde elde edilen numuneler kullanılmıştır. Toz numuneler demir ve demir oksite ait karakteristik piklerin görüldüğü 20° - 80° aralığında 0.15406 nm dalgaboylu CuK_α ışını ile taranmıştır. Kristal boyutu hesapları Scherrer eşitliği kullanılarak XRD desenlerinde görülen en şiddetli pike göre yapılmıştır.

3.4 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi

Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisinde (fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR) IR radyasyonu numune üzerine gönderilir. Bu radyasyonun bir kısmı numune tarafından soğurulurken bir kısmı da geçirilir. Böylece ortaya moleküllere ait soğurma ve geçirme spektrumları çıkar. Bu soğurma/geçirme spektrumları numunedeki moleküllere ait karakteristik spektrumlardır ve malzemeye ait soğurma/geçirme pikleri tanımlar. Bu pikler, malzemedeki atomlar arası bağlara

ait titreşim frekanslarına karşılık gelmektedir. Her malzeme farklı bir atom kombinasyonuna ve bileşimine sahip olduğundan birbirinden farklı FT-IR spektrumu verir. Spektrumda piklerin ortaya çıktığı dalgaboyu atomlar arası bağları tanımladığı gibi piklerin şiddetleri de madde miktarı ile ilgili bilgi verir. Bu nedenle FT-IR spektroskopisi malzemeyi karakterize etmede kullanışlı bir yöntemdir. FT-IR spektroskopisiyle, bilinmeyen malzemeler tanımlanabilir, bir numunede bulunan maddeler belirlenebilir ya da bir karışımın nelerden oluştuğu anlaşılabilir [72].

FT-IR spektroskopisi ile numuneye zarar vermeden, hızlı biçimde ve yüksek hassasiyette ölçüm yapılabilir. Mekanik olarak kullanımı basittir ve ekstra kalibrasyon gerektirmez. Cihaz, ölçülen sinyali Fourier dönüşümü ile işleyen bir yapıya sahiptir. Numuneden ölçülen sinyal işlenir ve frekans spektrumuna dönüştürülür [73].

Bu çalışmada numunelerin FT-IR analizi için Balıkesir Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümünde bulunan Perkin Elmer marka FT-IR cihazı kullanılmıştır. Ölçümler disk haline getirilen katı numunelerle yapılmıştır. Yardımcı madde olarak KBr kullanılmıştır. Disk hazırlamak için önce numune iyice ezilerek toz hale getirilir ve buna KBr eklenir. Homojen hale getirilen bu karışımdan uygun miktarda alınıp preslenir ve ölçümde kullanılacak disk elde edilir.

3.5 Geçirmeli Elektron Mikroskobu

En genel anlamda elektron mikroskobu, cisimden saçılan elektronların görüntülenmesi esasına dayanır. Maddeyle etkileşen elektronların dalgaboyu bu görüntülemenin nanometre boyutlarında yapılmasına olanak sağlar. Bu tip mikroskoplar, elektron enerjisine ve çalışma metoduna göre çeşitlilik gösterir. Bunlardan bir tanesi geçirmeli elektron mikroskobu (transmission electron microscope, TEM)'dur.

TEM, bir elektron demetinin çok ince bir numunenin içinden geçtiği bir mikroskopi yöntemidir. Elektron demeti numunenin içinden geçerken numune ile

etkileşir ve bu etkileşimler bir görüntü olarak bir floresan ekran veya fotoğraf filmi üzerine düşürülebilir ya da bir sensörle dedekte edilebilir. TEM’i ışık (görünür bölge) mikroskoplarından ayıran özelliği elektronların küçük de Broglie dalgaboyundan dolayı yüksek çözünürlüğe sahip olmasıdır. Bu kabiliyet tek sıra dizilmiş atomları bile detaylı şekilde inceleyebilme avantajı sağlar. TEM ile ışık mikroskoplarından onbinlerce defa daha küçük boyutta inceleme yapılabilir. Bu özelliğinden ötürü TEM fizik, biyoloji, kimya, malzeme bilimi gibi bir çok bilim dalında kullanılan bir analiz metodu haline gelmiştir [74, 75].

TEM’in görüntüleme sisteminde operatörün doğrudan gözlem yaptığı, 10-100 μm boyutlarında ZnS parçacıklardan oluşmuş ekran bulunmaktadır. X-ışını difraksiyonunun tersine burada elektron demeti numunenin içinden geçeceği için numune birkaç yüz nanometreden daha kalın olmamalıdır. En uygun numune kalınlığı elektronların ortalama serbest yolu ile aynı mertebede ($<100\text{ nm}$) olduğu kalınlıktır. İncelenecek numunenin hazırlanması zor bir prosedür olabilir ancak örneğe göre farklılık gösterebilir. Eğer malzeme elektronlar için geçirgen ise (örneğin, tozlar ya da nanotüpler) numunenin seyreltilmiş bir miktarını grid ya da film üzerine yerleştirmek yeterli olur [74, 75].

Bu çalışmada numunelerin TEM analizi, Bilkent Üniversitesi Ulusal Nanoteknoloji Araştırma Merkezi, UNAM’da bulunan FEI Tecnai G² F30 marka TEM ile yapılmıştır. TEM analizi için numunelerin seyreltik dispersiyonu grid üzerine damlatılarak kurutulmuştur. Bunun için sentezden sonra bir miktar numune ayrılarak TEM analizi için 2.0 M HClO₄ (Merck %60) çözeltisi ile Massart’ın çalışmasında [13] olduğu gibi muamele edilmiş ve asidik dispersiyonları hazırlanmıştır. Şekil 3.5’te elde edilen asidik dispersiyona bir örnek görülmektedir. Elde edilen TEM fotoğraflarındaki parçacıkların boyutları ImageJ programı ile ölçülmüştür.



Şekil 3.5: Elde edilen nanoparçacıkların asidik dispersiyonu.

TEM ile numunelere ait elektron kırınımı desenleri de elde edilebilir. X-ışını ile kırınımında olduğu gibi elektronlar kristal düzlemlerinden yansır ve kırınıma uğrar. Böylece koyu renk ekran üzerinde düzlemlere karşılık gelen parlak çemberler gözlenir. Elde edilen görüntüden XRD desenlerinde olduğu gibi Bragg yasası kullanılarak düzlemler arası mesafeler hesaplanabilir. Bunun için $L\lambda=rd$ eşitliği halinde ifade edilen Bragg yasası kullanılır. Burada L kamera uzaklığı, λ elektronların dalga boyu, r desen üzerinden ölçülen çemberin yarıçapı ve d hesaplanan düzleme ait düzlemler arası mesafedir [31]. Bazı numunelerin elektron kırınımı desenlerinde kristal düzlemleri gösterilmiştir.

3.6 Titreşimli Numune Magnetometresi

Titreşimli numune magnetometresi (vibrating sample magnetometer, VSM) Faraday yasasına göre çalışır. Buna göre bir kapalı devredeki manyetik akı değişimi, devrede bir indüksiyon elektromotor kuvvet (e.m.k.) oluşturur. Oluşan bu e.m.k,

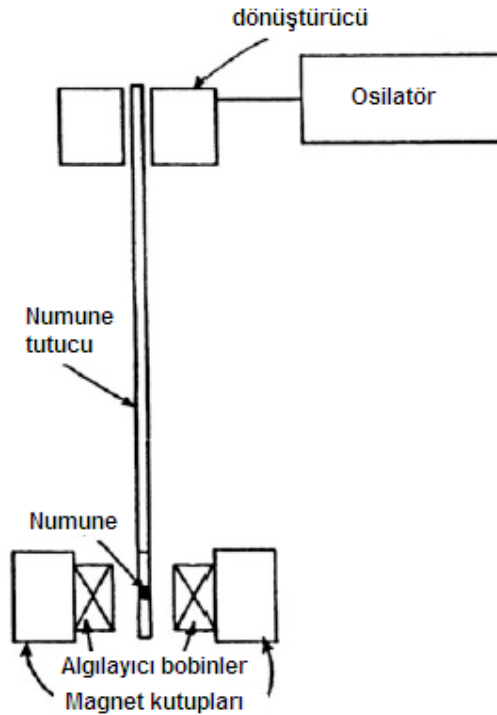
$$\varepsilon = -N \frac{d\Phi}{dt} \quad (3.3)$$

ile verilir. N manyetik akının geçtiği bobinin sarım sayısı ve Φ manyetik akıdır.

Manyetik akı,

$$\Phi = BA \sin \theta \quad (3.4)$$

ifadesi ile verilir. Burada B, manyetik indüksiyon, A manyetik indüksiyonun incelendiği kapalı devrenin alanı ve θ , B ve A arasındaki açıdır. İndüksiyon e.m.k.'nın oluşabilmesi için manyetik akının zamanla değişmesi gerekir. Akı değişimi; manyetik indüksiyonun değişimi, kapalı devrenin alanının veya yönünün değişimi gibi farklı şekillerde sağlanabilir. VSM'in çalışması, manyetik alanda titreşen numune ile manyetik akı değişimi oluşturulması ve bu manyetik akı değişimi sonucu oluşan indüksiyon e.m.k.'nın ölçülmesine dayanır. İndüklenen e.m.k. titreşen numunenin manyetizasyonu ile orantılı olduğundan bu yöntemle örneğin manyetizasyonu ölçülebilir [23, 24, 26]. Şekil 3.6'da VSM'de numunenin yerleştirildiği ve manyetik alanın uygulandığı titreşim ünitesinin şematik bir gösterimi verilmektedir.



Şekil 3.6: VSM'in titreşim ünitesinin şematik gösterimi [26].

VSM ile manyetizasyonun direkt ölçümü yapılır. Algılayıcı bobinler, arasındaki boşlukta numune varken ve numune yokken ölçülen manyetik indüksiyon arasındaki fark hesaplanır [23]. Bu ölçüm sonucu elde edilen veriler uygulanan manyetik alana göre manyetizasyonun nasıl değiştiğini verir. Bu değerler bir standarda göre değerlendirilip hesaplandıktan sonra numunenin gerçek manyetizasyon değeri ortaya konur. Sistem, manyetik moment değeri bilinen nikel (Ni) standart ile kalibre edilir. Ni standardın bilinen manyetik moment değerinin, VSM ile ölçülen manyetik moment değerine oranı kalibrasyon sabiti olarak ölçümlerde kullanılır ve numuneler için gerçek manyetik moment değerleri hesaplanır. Ayrıca her ölçümden önce sistem ölçüm yapılan şartlara uygun hale getirmek, numuneyi algılayıcı bobinler arasında en sağlıklı ölçüm alınacak konuma yerleştirebilmek, ölçümlerin duyarlılığını ve ölçüm sonuçlarından çıkarılacak katkıları belirlemek için kalibre edilir. Kalibrasyon için ölçümde kullanılan pyreks kutular kullanılarak sistem ölçümden önce Ni standart ile kalibre edilir. Ölçümler için kapaklı pyreks kaplar kullanılmıştır. Toz haldeki nanoparçacıklar kütlesi tartılarak bu kaplara konur ve numune tutucunun ucuna tutturulur. Numune tutucu ise titreştiricinin ucuna takılır. İstenen değerler arasında istenen aralıklarla uygulanan manyetik alana karşı ölçülen manyetik moment değerleriyle numunenin manyetizasyon eğrisi elde edilir.

Numunelerin manyetik ölçümleri Balıkesir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi'nde bulunan ADE EV9 Model VSM ile yapılmıştır. Ölçümler için kullanılan elektromagnet ± 20 kOe manyetik alan aralığında çalışabilmektedir. Numune titreştiricinin titreşim frekansı 75 Hz'dir. Sistem yazılımı, VSM'in çalışmasını kontrol eder, sistemin kalibrasyonunda, dataların toplanıp kaydedilmesinde görev yapar ve istenen manyetik özelliklerin gösterilmesini sağlar.

Süperparamanyetik nanoparçacıkların manyetik boyutları Chantrell ve ark. [76] yaklaşımı kullanılarak hesaplanmıştır. Bu yaklaşım parçacıkların log-normal dağılıma sahip olduğunu kabul eder. Buna göre parçacık boyutu (d_{MAG}) ve standart sapma (σ_{MAG}) sırasıyla;

$$d_{MAG} = \left[\frac{18k_B T}{\pi m_s} \sqrt{\frac{\chi_i}{3M_s H_o}} \right]^{1/3} \quad (3.5)$$

$$\sigma_{MAG} = \frac{1}{3} \left[\ln \left(\frac{3\chi_i H_o}{M_s} \right) \right]^{1/2} \quad (3.6)$$

eşitlikleriyle hesaplanır [77]. Bu ifadeler polidispers parçacıklar için uygundur [78]. Burada m_s ve M_s sırasıyla bulk fazın ve manyetik nanoparçacıkların doyum manyetizasyonudur. M_s , demir oksitin yoğunluğunu 5.18 g/cm^3 [38] alınarak hesaplanmıştır. χ_i başlangıç alınganlığıdır ve $\chi_i = (dM / dH)_{H \rightarrow 0}$ şeklinde hesaplanır. H_o ise M ile $1/H$ 'ın doğrusal ilişkisinin olduğu yüksek alanlarda M'in sifıra ekstrapolasyonu ile bulunur [78]. k_B Boltzman sabiti ve T sıcaklığı 298.15 K'dir. Manyetik parçacık boyutları hem magnetit hem de maghemite ait bulk doyum manyetizasyonu değerleri kullanılarak hesaplanmış ve parçacık boyutlarında küçük farklılıklarla aynı değişimin olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle Bölüm 4'te magnetit faza ait bulk doyum manyetizasyonu değeri kullanılarak yapılan hesaplamaların sonuçları verilecektir.

3.7 Fiziksel Özellikler Ölçüm Sistemi

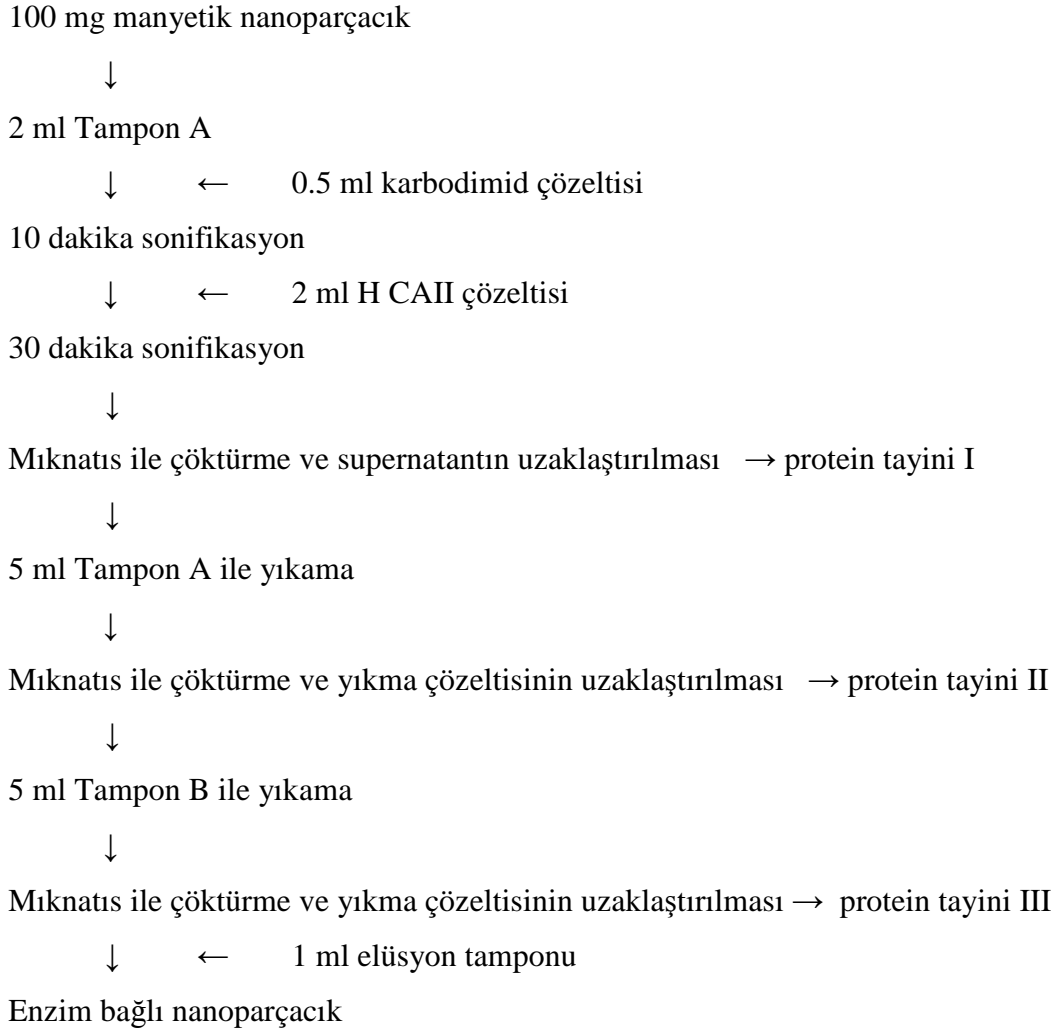
Fiziksel özellikler ölçüm sistemi (physical properties measurement system, PPMS) numunenin ısı kapasitesi, ısı iletimi, manyetizasyonu ve elektrik iletkenliği gibi farklı özelliklerinin ölçülebildiği çok işlevli bir sistemdir. PPMS ile yapılan magnetometrik analiz ile AC alınganlık ve DC manyetizasyon ölçülebilir. PPMS magnetometri bobin setinde numune koymak için bir bölme ile birlikte manyetik olmayan bir termometre bulunur. Bobin seti, AC sürücü bobin, kalibrasyon bobini, algılama bobini ve dengeleme (sigorta) bobininden oluşur [79]. Ayrıca PPMS ile soğutucu He ünitesi kullanılarak sıcaklığa bağlı manyetizasyon ölçümleri de yapılabilir.

3.8 Enzim İmmobilizasyonu

Demir oksit nanoparçacıkların biyoteknolojik uygulamalar için kullanılmasının sebeplerinden biri biyomoleküllerin demir oksit yüzeyine tutunabilme özelliğidir. Enzim, protein ve antibadi gibi biyoaktif maddeler yüzey adsorpsiyonu, kovalent bağlanma, iki işlevi olan reaktiflerle çapraz bağlama gibi şekillerde demir oksit nanoparçacığa tutunabilir [80]. Son yıllarda daha çok çalışılan karbodimid aktivasyonu ile bağlama yöntemi de basitliği ve yüksek verimi nedeniyle popüleritesi giderek artan bir yöntemdir [12, 18, 81].

Enzim immobilizasyonu için literatürdeki [81] karbodimid aktivasyonu yoluyla bağlanma prosedürü kullanılmıştır. Bu yöntemde kullanılan tampon çözeltilerin içerikleri şöyle sıralanabilir. Tampon A, pH = 6'da 0.003 M fosfat çözeltisi ve 0.1 M NaCl çözeltisinden, Tampon B, pH = 8'de 0.1 M Tris ve 0.1 M NaCl çözeltisinden oluşmaktadır. Karbodimid (carbodiimide) çözeltisi Tampon A içinde ml başına 0.025g karbodimid ile hazırlanır. H CAII çözeltisi ise yine Tampon A içinde 1 ml enzim ile hazırlanmıştır. Enzimin saklandığı elüsyon tamponu pH = 5.6'da 0.1 M NaCH₃COO ve 0.5 M NaClO₄ ile hazırlanır. Çalışmanın bu aşamasında kullanılan enzimin (H CAII) saflaştırılması Balıkesir Üniversitesi Moleküler Biyoloji Anabilimdalı'nda Prof. Dr. Feray Köçkar ve Araş. Gör. Sümeyye Aydoğan Türkoğlu tarafından yapılmıştır.

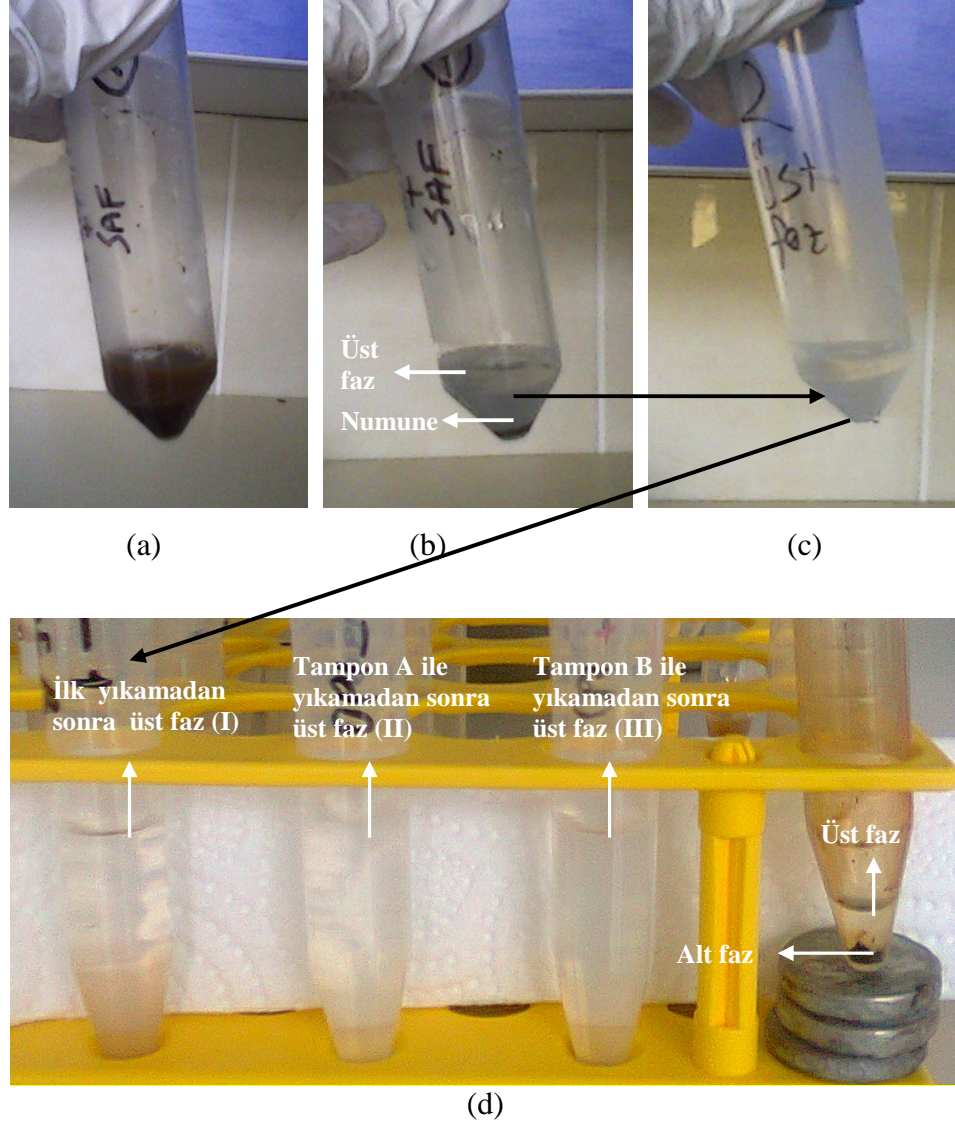
Aşağıdaki Şekil 3.7'de şematik olarak gösterilen prosedüre göre 100 mg manyetik nanoparçacık 2 ml Tampon A'ya ilave edilir ve üzerine 0.5 ml karbodimid çözeltisi eklenerek 10 dakika sonifikasyon yapılır. Daha sonra 2 ml H CAII çözeltisi eklenerek 30 dakika daha sonifikasyon yapılır. Elde edilen ürün mıknatıs altında toplanır ve üst fazında protein tayini yapılır. Kalan çökelti önce 5 ml Tampon A ile yıkanır ve üst fazı ayrılır, daha sonra 5 ml Tampon B ile yıkanır ve üst fazı yine ayrılır. Üst fazlarda protein tayini yapılır. Kalan çökelti 1 ml elüsyon tamponunda saklanır.



Şekil 3.7: Enzimin nanoparçacığa bağlanması için kullanılan prosedür [81].

Prosedürün ilk kısmında 30 dakika sonifikasyon yapıldıktan sonra mıknatisle ayrılan numunenin üst fazı ile Tampon A ve Tampon B ile yapılan her bir yıkamadan sonra ayrılan üst fazlarda enzim (H CAII) aktivitesine Biyoloji Bölümü'nde bakılarak prosedürün her basamağında enzim ile nanoparçacığın etkileşimi kontrol edilmiştir. Şekil 3.7'de gösterilen bu protein tayinleri sırasıyla I, II ve III olarak isimlendirilmiştir ve bundan sonra bu şekilde anlatılacaktır. Literatürde protein tayini için uv-spektrofotometri de [81, 82] kullanılmaktadır. Bu çalışmada da aynı yol izlenmiş fakat enzim aktivitesi ile protein tayininin daha sağlıklı sonuçlar verdiği görülmüştür, bu nedenle enzim aktivitesi ölçümleri tercih edilmiştir. Son aşamada

ise elde edilen ürünler mıknatısla ayrılarak manyetik nanoparçacık içermeyen üst faz ve manyetik nanoparçacıkların olduğu alt fazlarda protein tayini (enzim aktivitesi ölçümü) yapılmıştır. Şekil 3.8’de protein tayini yapılan bütün fazların fotoğrafları verilmektedir.



Şekil 3.8: Enzimin nanoparçacığa bağlanma prosedürü sırasında (a) 30 dakika sonifikasyondan sonraki halinin, (b) aynı numunenin mıknatısla ayrılmış halinin, (c) numunenin ayrılan üst fazının, (d) I-İlk yıkamadan sonra, II-Tampon A ile yıkamadan sonra, III-Tampon B ile yıkamadan sonra üst fazların ve mıknatıs üzerinde bulununan son halde üst ve alt fazların fotoğrafları.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu bölümde, yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar ve bunların açıklaması yer almaktadır. İlk kısımda, ortak çöktürme yöntemi ile açık hava ortamında sentezlenen süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıkların yapısal ve manyetik özellikleri ile parçacık boyutları, bu sentezi etkileyen parametrelere bağlı olarak incelenmiştir. İkinci kısımda, ortogonal dizayn yöntemi kullanılarak, yüksek doyum manyetizasyonuna sahip süperparamanyetik nanoparçacıkların nasıl elde edildiği açıklanmaktadır. Üçüncü kısımda ise, elde edilen optimum doyum manyetizasyonuna sahip süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıkların doyum manyetizasyonunu daha da artırmak için hidrojen ile indirgeme yönteminin uygulanması anlatılmaktadır. Son kısımda ise elde edilen manyetik nanoparçacıkların uygulaması olarak insan karbonik anhidraz II (H CAII) enzimine bağlanması, Balıkesir Üniversitesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Anabilimdalı ile ortak çalışma sonucu yapılmıştır. Elde edilen ürünün yapısal ve manyetik özellikleri tarafımızdan incelenmiş ve bu çalışma kapsamında sunulmuştur.

4.1 Ortak Çöktürme Yöntemi ile Süperparamanyetik Demir Oksit Nanoparçacıkların Sentezi ve Karakterizasyonu

Bu kısımda ortak çöktürme yöntemi ile açık hava ortamında sentezlenen süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıkların yapısal ve manyetik özellikleri Bölüm 3'te verilen teknikler kullanılarak incelenmiştir. İlk olarak sentezlenen nanoparçacıkların yapısal analizi verilmektedir. Bunu takiben elektron mikroskopu ile parçacık boyutlarının belirlenmesi yer almaktadır. Son olarak da manyetik özellikleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.2'de listelenmiştir.

4.1.1 Demir Oksit Nanoparçacıkların Sentez Şartları

Süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıklar ortak çöktürme yöntemi ile açık hava ortamında aşağıdaki parametreler göz önüne alınarak sentezlenmiştir ve sentez şartları Tablo 4.1’de verilmektedir.

$[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranı, inert atmosferde çalışıldığında 1/2 olarak kullanılırken oksijenli ortamda Fe^{+2} , nin Fe^{+3} ,e dönüşmesi sebebiyle bu oran korunamaz [47, 49]. Literatürde O_2 ’li ortamda yapılan sentezlerde $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranı 2/3 [46] olarak seçilmiştir. Bu çalışmada $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranı, inert ortam için kullanılan 1/2 değerinden yalnızca Fe^{+2} iyonu içeren demir çözeltisi elde edene kadar değiştirilmiş ve Tablo 4.1’de verilen diğer sentez şartlarıyla çalışılmıştır.

Demir oksit nanoparçacıkların yapısal ve manyetik özellikleri üzerine etkisini incelemek amacıyla $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranı literatürdeki [46] gibi 2/3 alınarak toplam demir iyon konsantrasyonu değiştirilmiştir. Tablo 4.1’de verilen demir iyon konsantrasyonları, toplam çözeltinin 100 ml olduğu düşünülerek hesaplanmıştır.

Ortak çöktürmede kullanılan bazlar stok çözeltiden (%25’lik NH_4OH çözeltisi) seyreltilerek hazırlanmıştır. Reaksiyonlarda kullanılan en yüksek konsantrasyondaki baz çözeltisi doğrudan stok çözeltiden alınmıştır. Baz konsantrasyonları da toplam çözeltinin 100 ml olduğu düşünülerek hesaplanmıştır.

Sentez için sınırları 0-2000 rpm olan sistemde 100-1800 rpm karıştırma hızı aralığında çalışılmıştır. Ortam sıcaklığı sirkülasyonlu su banyosu kullanılarak 20 °C ile 85 °C arasında değiştirilmiştir. Reaksiyon süresi 2 dakikadan mekanik karıştırıcının sorunsuz şekilde çalışabildiği 90 dakikaya kadar çıkarılmıştır.

Tablo 4.1: Ortak çöktürme ile elde edilen demir oksit nanoparçacıkların sentez şartları.

Sentez Parametreleri							
Numune	$\frac{[Fe^{+2}]}{[Fe^{+3}]}$	Fe ⁺² (mM)*	Fe ⁺³ (mM)*	NH ₄ OH (M)*	Karıştırma hızı (rpm)	Reaksiyon sıcaklığı (°C) (±2)	Reaksiyon süresi (dak.)
O1	1/2	333	667				
O2	2/3	400	600				
O3	5/6	455	545				
O4	6/6	500	500	6.7	1500	20	30
O5	2/1	667	333				
O6	4/1	800	200				
O7	1/-	1000	-				
I1		1000	1500				
I2		800	1200				
I3		600	900				
I4	2/3	400	600	6.7	1500	20	30
I5		300	450				
I6		200	300				
I7		100	150				
I8		50	75				
P1				6.7			
P2				5.3			
P3	2/3	600	900	4.0	1500	20	30
P4				2.7			
P5				0.7			
R1					100		
R2					300		
R3	2/3	600	900	4.0	700	20	30
R4					1100		
R5					1500		
R6					1800		
T1						20	
T2						40	
T3	2/3	600	900	4.0	1500	60	30
T4						80	
T5						85	
S1							2
S2							3
S3							4
S4							5
S5	2/3	600	900	4.0	1500	20	15
S6							30
S7							45
S8							60
S9							90

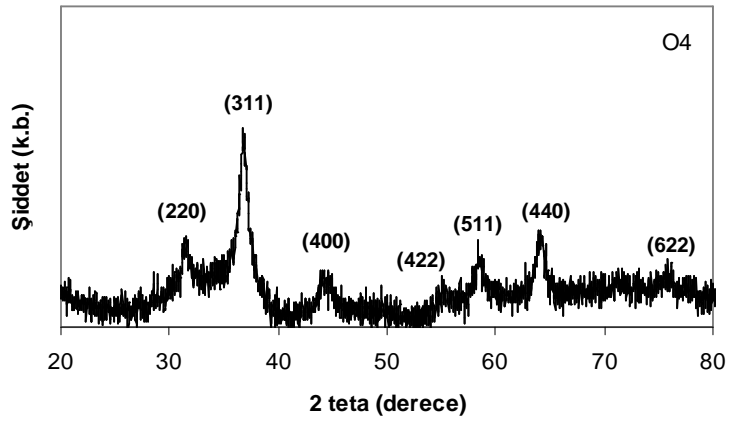
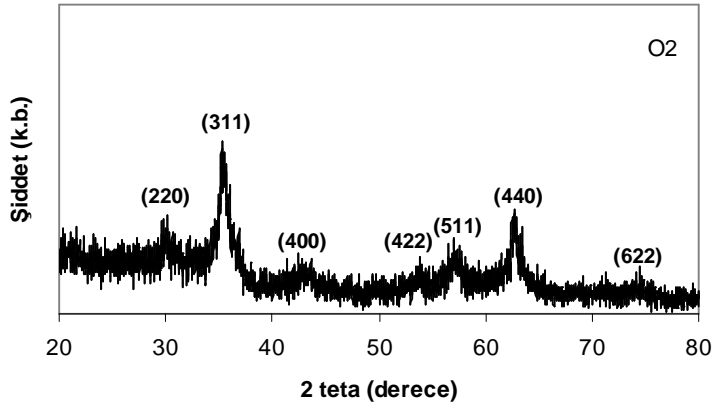
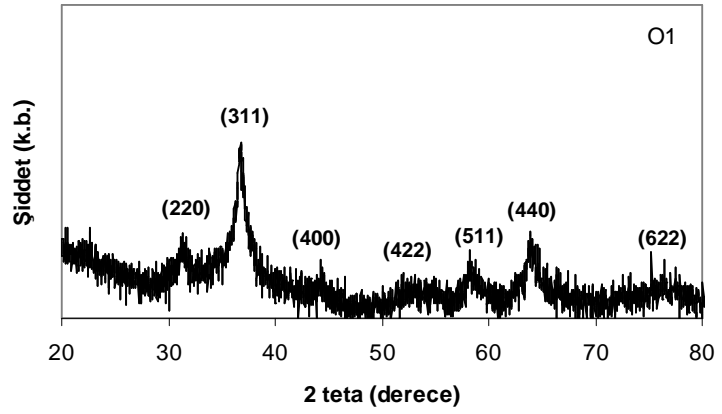
* Toplam çözelti miktarı 100 ml'dir.

4.1.2 Yapısal Karakterizasyon

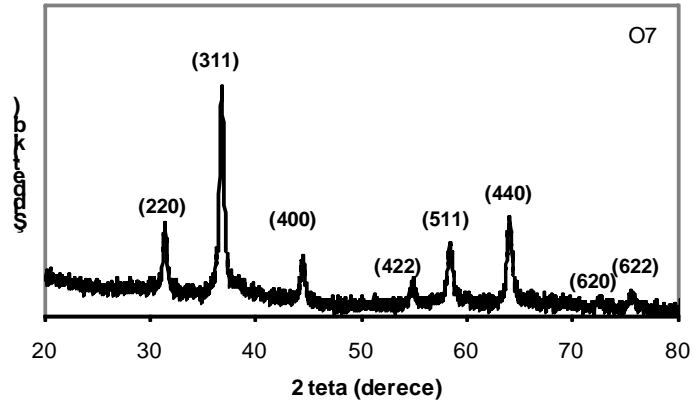
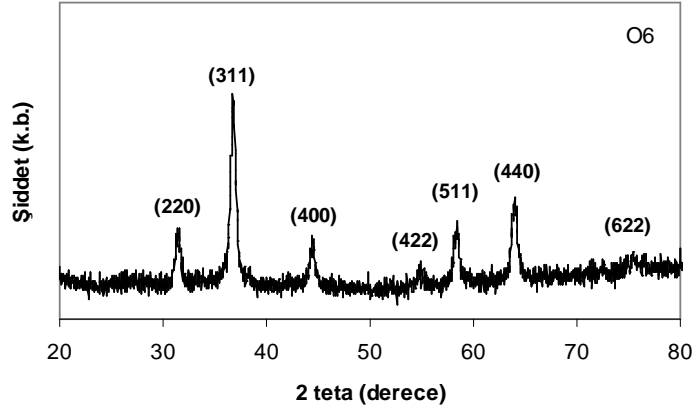
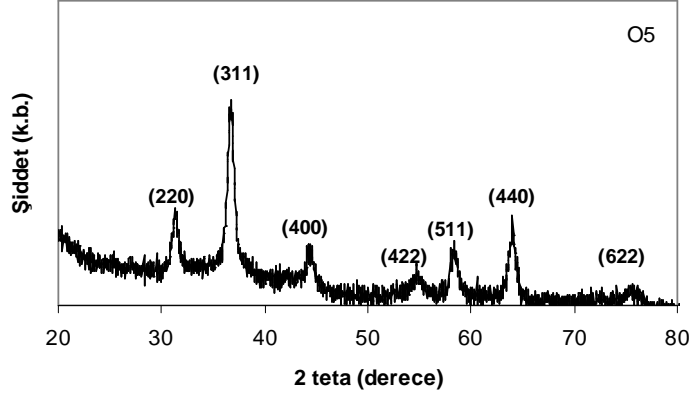
İncelenen parametrelerine göre sentezlenen numunelerin yapısal karakterizasyonu yapıldı. Öncelikle x-ışını kırınımı (x-ray diffraction, XRD) ile kristal yapı tayini yapıldı, ardından fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR) ile yapısal analize devam edildi. Son olarak da parçacıkların fiziksel boyutları geçirmeli elektron mikroskobu (transmission electron microscope, TEM) kullanılarak elde edilen fotoğraflardan belirlenerek yapısal analiz tamamlandı. Seçilen bir numune için TEM ile elde edilen elektron kırınımı deseni ile XRD kırınım deseni karşılaştırılarak kristal yapı analizi desteklendi.

4.1.2.1 X-Işını Kırınımıyla Analiz

İlk parametre olarak $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranının ürünün özellikleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Şekil 4.1’de O1’den O7’ye kadar bazı numunelere ait XRD desenleri verilmiştir. Kübik spinel yapıya ait (220), (311), (400), (422), (511), (440) ve (622) pikleri sırasıyla $2\theta \approx 30^\circ, 35^\circ, 43^\circ, 53^\circ, 57^\circ, 63^\circ$ ve 75° civarında görülmektedir. Şekildeki O7 numunesine ait XRD deseninde 72° civarında (620) piki ortaya çıkmıştır. Magnetit ve maghemite ait piklerin birbirine çok yakın açılarda ortaya çıkmasından dolayı XRD desenlerine göre faz ayrımı yapmak mümkün olmayabilir [38]. JCPDS no. 19-0629 ve JCPDS no. 39-1346 kartlarına göre numunelerin demir oksit olduğu anlaşılmaktadır. Oksijenli ortamda $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranının 1/2’den 2/3’e kadar değiştirildiği bir çalışmada [83], $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranının azalmasıyla magnetit/maghemit fazın yanında 33° ’de $\epsilon\text{-Fe}_2\text{O}_3$ faza ait olabileceği düşünülen bir pikin ortaya çıktığı belirtilmektedir. Yaptığımız çalışmada yukarıda belirtilen kartlara göre indislenmiş pikler dışında başka bir faza ait pike rastlanmamıştır. $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranı arttıkça kristalliğin arttığı ve piklerin şiddetlenip keskinleştiği görülmektedir. Numunelerin XRD desenlerinde en şiddetli pikin 35° civarındaki (311) piki olduğu görülmektedir.



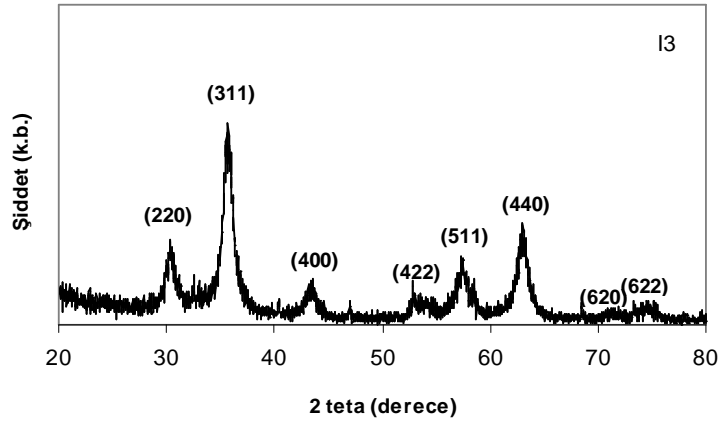
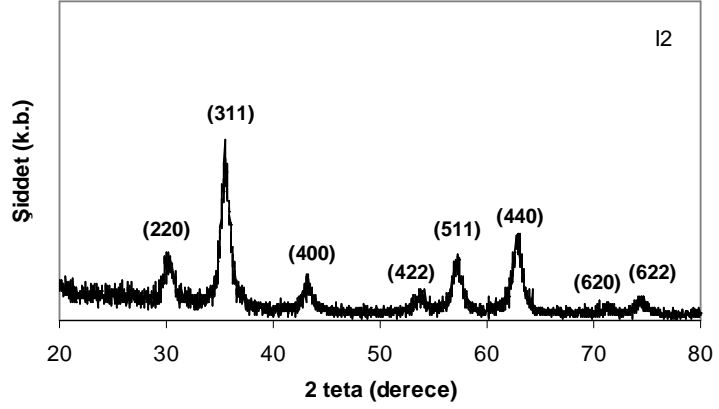
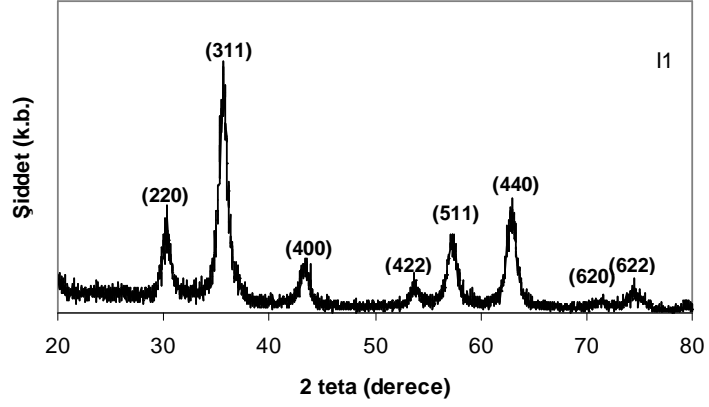
Şekil 4.1: Farklı $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranlarında sentezlenen nanoparçacıkların XRD desenleri. (O1: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 1/2$, O2: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, O4: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 1$, O5: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/1$, O6: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 4/1$, O7: $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 1/-$ 'dir. Diğer parametreler; demir iyon konsantrasyonu=1000 mM, baz konsantrasyonu = 6.7 M, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.)



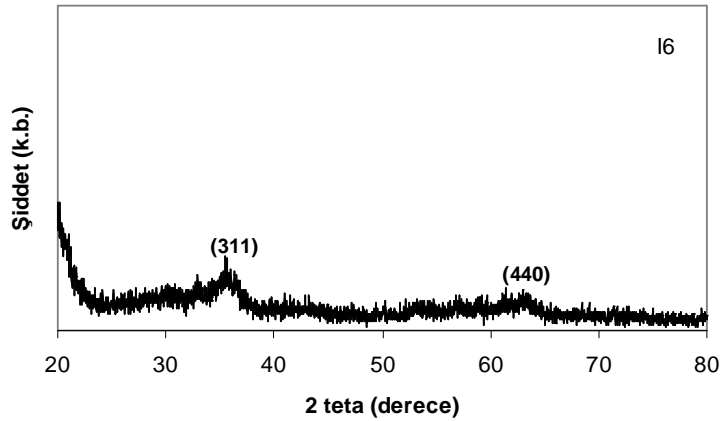
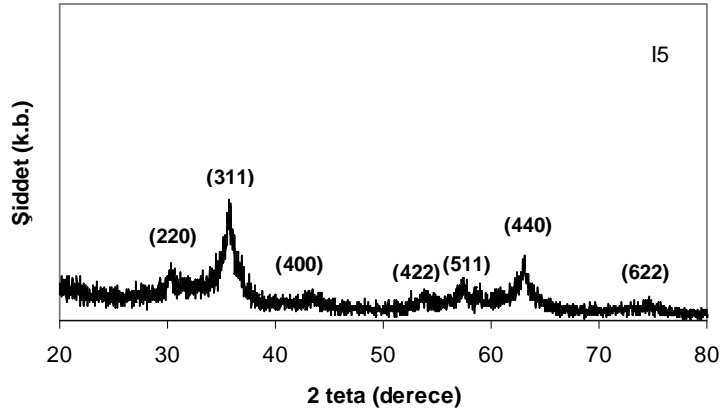
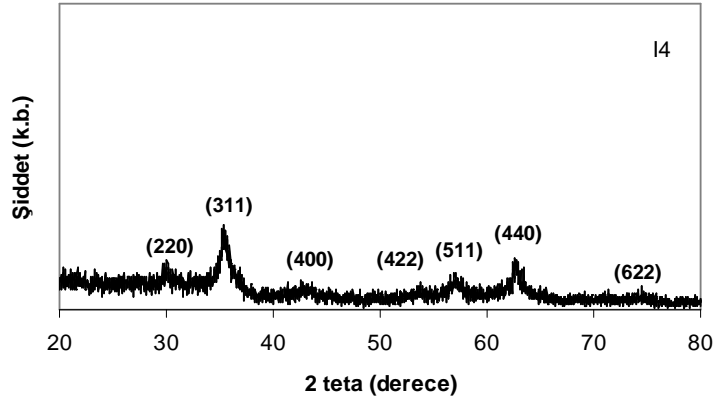
Şekil 4.1'in devamı: Farklı $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}]$ oranlarında sentezlenen nanoparçacıkların XRD desenleri. (O1: $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}] = 1/2$, O2: $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}] = 2/3$, O4: $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}] = 1$, O5: $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}] = 2/1$, O6: $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}] = 4/1$, O7: $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}] = 1/-$ 'dir. Diğer parametreler; demir iyon konsantrasyonu = 1000 mM, baz konsantrasyonu = 6.7 M, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.)

Tüm numunelerde kristal boyutları Scherrer formülüne [71] göre (311) pikine ait yarı yükseklikteki pik genişliği (full width of half maximum, FWHM) kullanılarak hesaplanmıştır. Numunelerin kristal boyutları O1'den O7'ye kadar sırasıyla 7.0, 7.1, 7.6, 8.3, 10.6, 14.0 ve 17.5 nm olarak bulunmuştur. $[Fe^{+2}]/[Fe^{+3}]$ oranı arttıkça kristal boyutları belirgin şekilde artmaktadır.

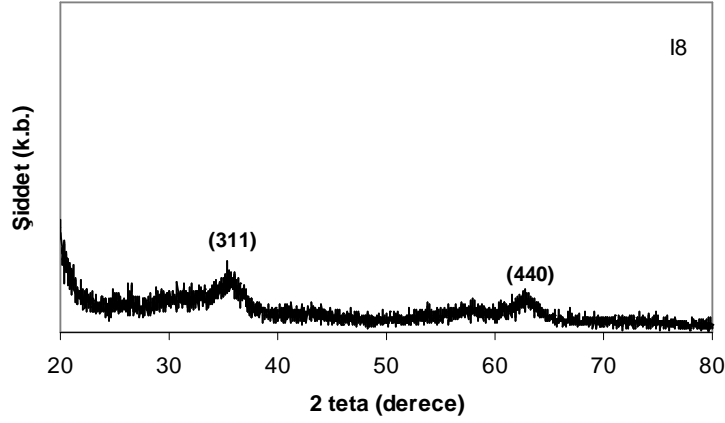
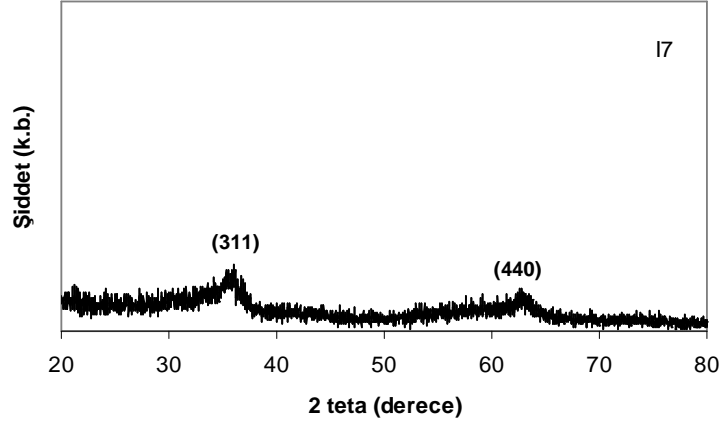
İkinci parametre olan demir iyon konsantrasyonuna göre Tablo 4.1'de belirtilen ve XRD ölçümleri yapılan numunelerin (I1-I8) desenleri Şekil 4.2'de gösterilmektedir. I1'den I3'e kadar numunelerin XRD desenlerinde yüzey merkezli kübik spinel yapıya ait (220), (311), (400), (422), (511), (440), (620) ve (622) pikleri sırasıyla $2\theta \approx 30^\circ, 35^\circ, 43^\circ, 53^\circ, 57^\circ, 63^\circ, 72^\circ$ ve 75° civarında görülmektedir. Toplam demir iyonu konsantrasyonunun azalmasıyla pik şiddetlerinde azalma meydana geldiği görülmektedir. I4 ve I5 nolu numunelerde 72° civarındaki (620) piki kaybolmuş ve diğer piklerin şiddetleri oldukça zayıflamıştır. Şiddette meydana gelen azalma numunedeki demir oksit miktarının azalması şeklinde yorumlanabilir. I6, I7 ve I8 nolu numunelerde en şiddetli iki pik olan (311) ve (440) dışındaki pikler kaybolmuştur. I1'den I8'e kadar hesaplanan kristal boyutları sırasıyla 8.7, 7.7, 7.3, 7.5, 7.7, 5.7, 4.1 ve 4.4 nm'dir. I1-I5 numunelerinde demir iyon konsantrasyonunun azalması ile parçacık boyutlarında az miktarda değişim gözlenirken I6 numunesinden itibaren parçacık boyutlarında belirgin bir düşüş meydana geldiği görülmektedir. Bu değişimin I6 numunesinden itibaren amorf yapıya gidişi gösterdiği söylenebilir. Öyle ki, Bölüm 4.1.2.3'teki Şekil 4.14 (c)'de verilen I6'ya ait TEM fotoğrafında da amorf yapıya işaret eden yapılar gözlenmektedir. N_2 atmosferinde yapılan sentezlerde demir iyon konsantrasyonu 10 mM'dan 30 mM'a arttıkça demir oksit nanoparçacıkların parçacık boyutunun arttığını gösteren çalışmayla [52] benzer şekilde çalışmamızda açık hava atmosferinde demir iyon konsantrasyonu arttıkça kristal boyutu artmaktadır.



Şekil 4.2: Toplam demir iyonu konsantrasyonu değiştirilerek sentezlenen nanoparçacıkların XRD desenleri. (I1: 1000 mM Fe²⁺, 1500 mM Fe³⁺, I2: 800 mM Fe²⁺, 1200 mM Fe³⁺, I3: 600 mM Fe²⁺, 900 mM Fe³⁺, I4: 400 mM Fe²⁺, 600 mM Fe³⁺, I5: 300 mM Fe²⁺, 450 mM Fe³⁺, I6: 200 mM Fe²⁺, 300 mM Fe³⁺, I7: 100 mM Fe²⁺, 150 mM Fe³⁺, I8: 50 mM Fe²⁺, 75 mM Fe³⁺, tür. Diğer parametreler; [Fe²⁺]/[Fe³⁺] = 2/3, baz konsantrasyonu = 6.7 M, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20±2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.)



Şekil 4.2'nin devamı: Toplam demir iyonu konsantrasyonu değiştirilerek sentezlenen nanoparçacıkların XRD desenleri. (I1: 1000 mM Fe⁺², 1500 mM Fe⁺³, I2: 800 mM Fe⁺², 1200 mM Fe⁺³, I3: 600 mM Fe⁺², 900 mM Fe⁺³, I4: 400 mM Fe⁺², 600 mM Fe⁺³, I5: 300 mM Fe⁺², 450 mM Fe⁺³, I6: 200 mM Fe⁺², 300 mM Fe⁺³, I7: 100 mM Fe⁺², 150 mM Fe⁺³, I8: 50 mM Fe⁺², 75 mM Fe⁺³, tür. Diğer parametreler; [Fe⁺²]/[Fe⁺³] = 2/3, baz konsantrasyonu = 6.7 M, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20±2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.)



Şekil 4.2'nin devamı: Toplam demir iyonu konsantrasyonu değiştirilerek sentezlenen nanoparçacıkların XRD desenleri. (I1: 1000 mM Fe⁺², 1500 mM Fe⁺³, I2: 800 mM Fe⁺², 1200 mM Fe⁺³, I3: 600 mM Fe⁺², 900 mM Fe⁺³, I4: 400 mM Fe⁺², 600 mM Fe⁺³, I5: 300 mM Fe⁺², 450 mM Fe⁺³, I6: 200 mM Fe⁺², 300 mM Fe⁺³, I7: 100 mM Fe⁺², 150 mM Fe⁺³, I8: 50 mM Fe⁺², 75 mM Fe⁺³, tür. Diğer parametreler; [Fe⁺²]/[Fe⁺³] = 2/3, baz konsantrasyonu = 6.7 M, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20±2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.)

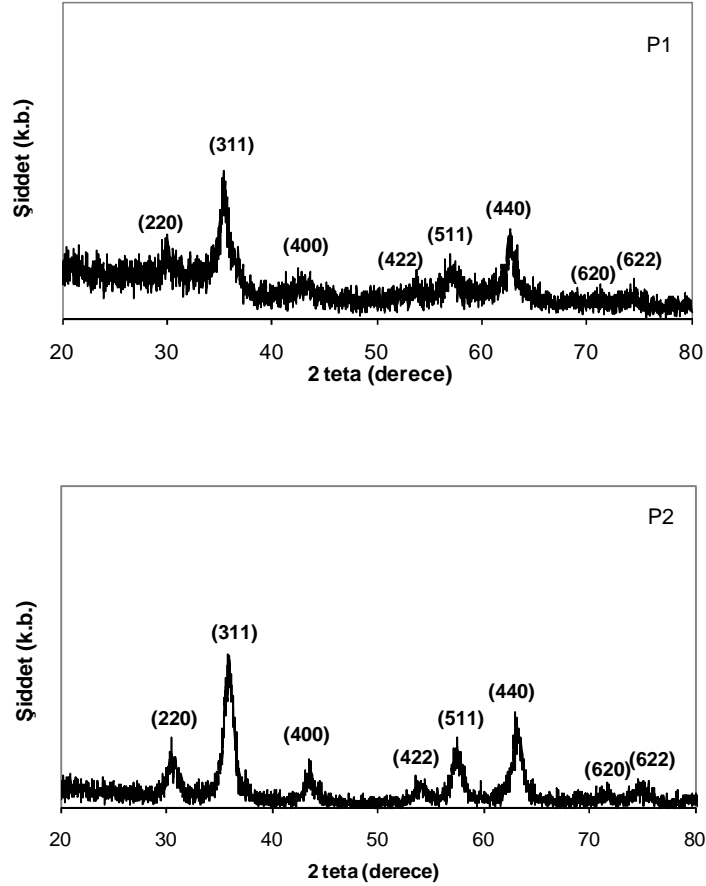
Nanoparçacıkların boyutu kristallerin büyüme mekanizmasına bakılarak tahmin edilebilir. İlk kez sülfür kolloidlerin oluşumunu açıklayan klasik LaMer mekanizmasına [50] göre çekirdeklenmenin ve difüzyonla büyümenin gerçekleştiği kritik bir süperdoym konsantrasyonu vardır. Difüzyonla büyümenin yanında küçük parçacıkların birleşmesi ile de daha büyük parçacıklar oluşur [51, 84, 85]. Çekirdeklenme ancak söz konusu iyonların belli bir konsantrasyona yani süperdoyma ulaşmasından sonra gerçekleşir ve parçacıklar folükülasyon ve agregasyonla daha büyük parçacıklar oluşturur [51]. Düşük demir iyon

konsantrasyonu çekirdeklenme ve büyüme basamakları için yeterli parçacık sayısına ulaşmayı önlediği için ortamda demir oksit oluşumu sınırlı kalabilir. Böylece son ürün amorf yapılar içebilir [48]. Düşük demir iyon konsantrasyonlarında, I6, I7 ve I8 numunelerinin XRD desenlerinde (Şekil 4.2) ve I6 numunesinin TEM fotoğrafında (Şekil 4.14 (c)) görüleceği gibi numunelerde amorf yapılar ortaya çıkmaktadır.

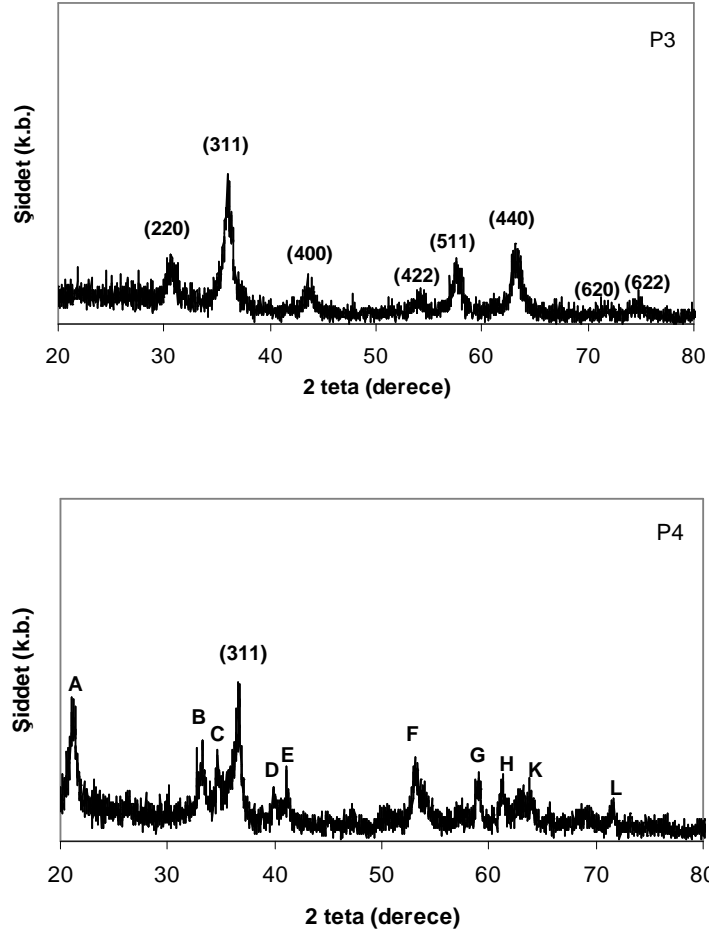
Tablo 4.1’de üçüncü parametre olarak verilen, farklı baz konsantrasyonları kullanılan sentezlerden elde edilen numunelerden P1’den P3’e kadar olanlar Fe_3O_4 ’e özgü [86] siyah renkte çökelti halde elde edilirken P4 numunesi diğer numunelerin aksine açık kahverengi renkte elde edilmiştir ve bunlar kurutularak analizler için toz hale getirilmiştir. P5 numunesinde ise çökme gözlenmemiştir.

P1, P2 ve P3 numuneleri Şekil 4.3’te verilen XRD desenlerine göre kübik spinel demir oksit yapısındadır. $2\theta \approx 30^\circ, 35^\circ, 43^\circ, 53^\circ, 57^\circ, 63^\circ, 72^\circ$ ve 75° civarında sırasıyla (220), (311), (400), (422), (511), (440), (620) ve (622) pikleri görülmektedir. P4 numunesinin deseni ise şekilde görüldüğü gibi demir oksit yapıya ait (311) pikine ilave olarak demir oksihidroksit fazına (JCPDS no. 81-0464) ait pikler içermektedir. Ortak çöktürmede demir oksitin elde edilebilmesi için ortam pH’ının Bölüm 2’de bahsedildiği gibi 8 ile 14 arasında olması gerekir. Reaksiyon sonrası ölçülen ortam pH’ları P1’den P4’e kadar sırasıyla 9.5, 9.8, 9.3 ve 4.7’tür. P1’den P3’e kadar reaksiyon sonrası ortam pH’larının değerlerine göre reaksiyon sırasında pH’ın demir oksit elde edilmesi için uygun olduğu söylenebilir ancak P4 numunesine ait son pH değeri ortak çöktürmenin tam gerçekleşmediğini düşündürmektedir. P4 numunesinin siyah renkli çökelti halde elde edilemeyeşine ve XRD desenlerine göre P4 numunesi için kullanılan baz konsantrasyonunun bu şartlarda ortak çöktürme için uygun olmadığı söylenebilir. XRD desenlerindeki en şiddetli piklerden hesaplanan kristal boyutları P1, P2, P3 ve P4 numuneleri için sırasıyla 7.3, 7.5, 8.4 ve 14.4 nm’dir. Baz konsantrasyonunun değişiminin parçacık boyutlarında P1-P3’e kadar az miktarda bir artış ve bunu takip eden P4 numunesinde ise büyük bir artış meydana getirdiği görülmektedir. N_2 atmosferinde yapılmış bir çalışmada [87], baz (TMAOH) konsantrasyonunun sistem üzerine çok az etki gösterdiği ya da etki göstermediği belirtilmektedir. Açık hava atmosferinde yapılan çalışmamızda, P4 numunesindeki belirgin boyut artışının düşük baz

konsantrasyonunda numunenin demir oksihidroksit yapıda olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

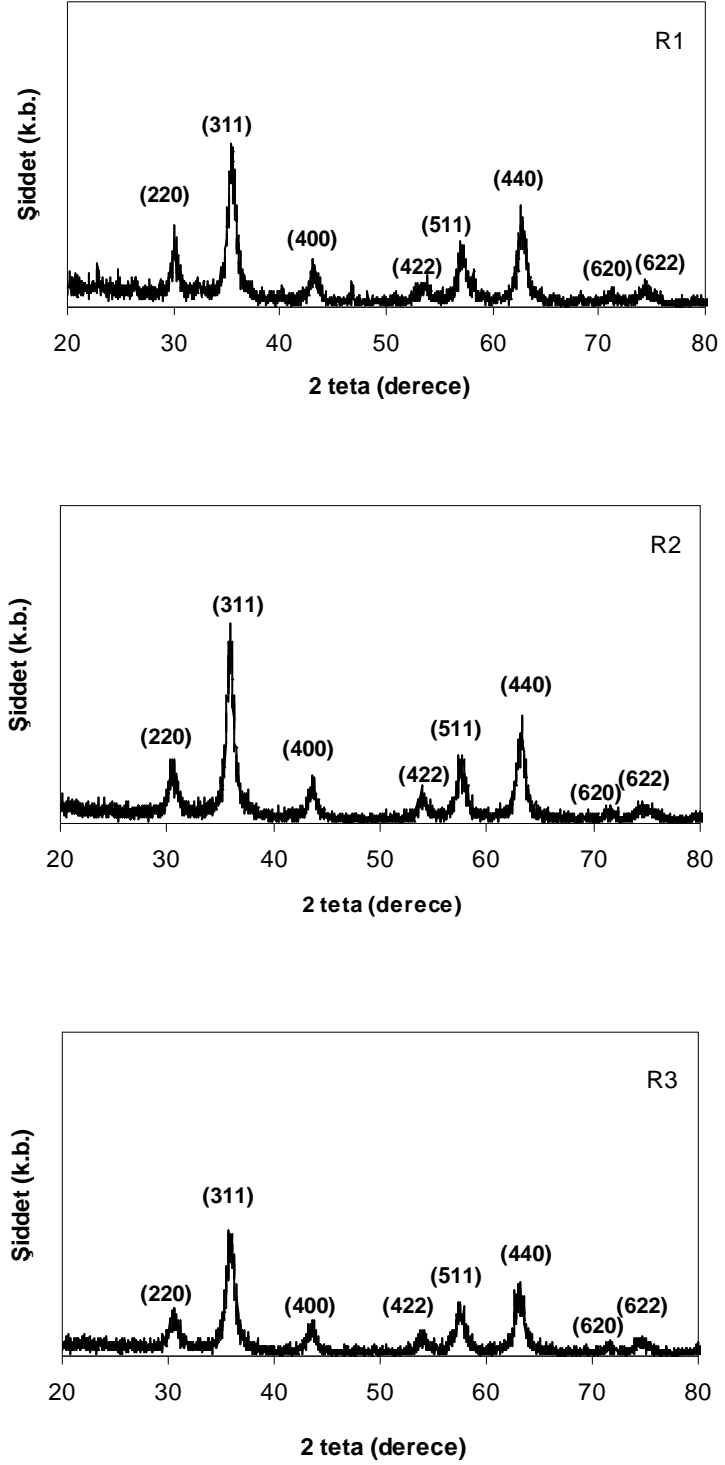


Şekil 4.3: Farklı baz konsantrasyonları kullanılarak sentezlenen nanoparçacıkların XRD desenleri. (P1: 6.7 M NH₃, P2: 5.3 M NH₃, P3: 4.0 M NH₃, P4: 2.7 M NH₃'tür. Diğer parametreler; [Fe⁺²]/[Fe⁺³] = 2/3, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20±2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.) FeOOH faza ait pikler, A: (110), B: (130), C: (021), D: (210), E: (140), F: (221), G: (151), H: (002), K: (061), L: (132).

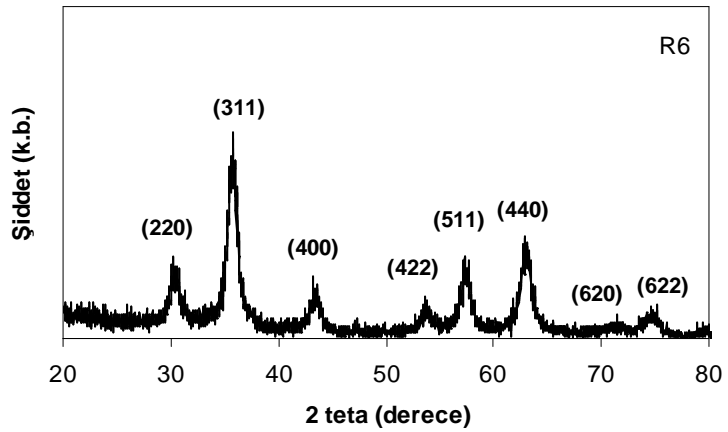
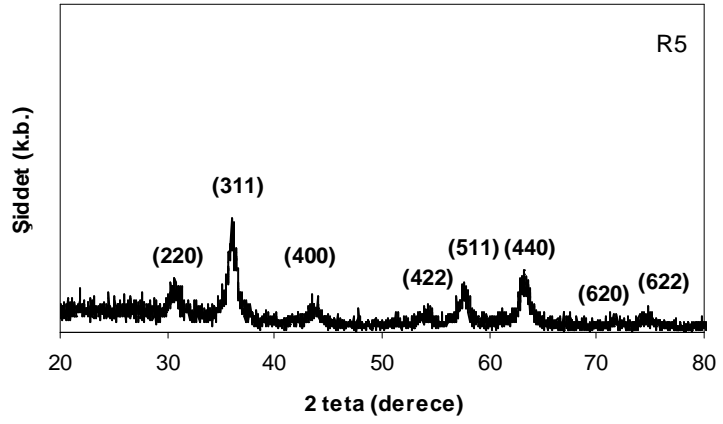
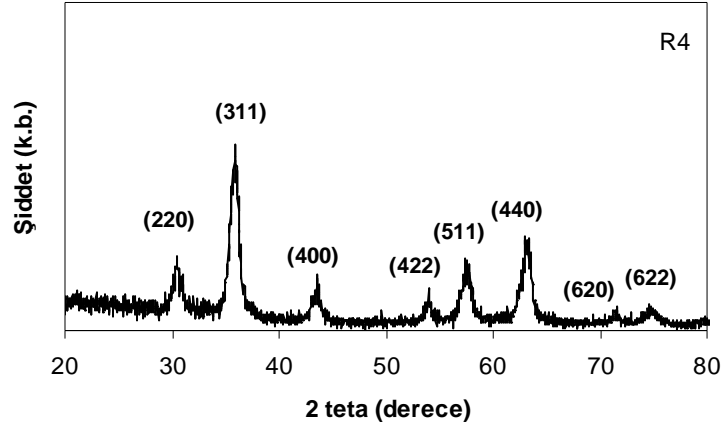


Şekil 4.3'ün devamı: Farklı baz konsantrasyonları kullanılarak sentezlenen nanoparçacıkların XRD desenleri. (P1: 6.7 M NH_3 , P2: 5.3 M NH_3 , P3: 4.0 M NH_3 , P4: 2.7 M NH_3 'tür. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.) FeOOH faza ait pikler, A: (110), B: (130), C: (021), D: (210), E: (140), F: (221), G: (151), H: (002), K: (061), L: (132).

Tablo 4.1'de dördüncü parametre olarak verilen farklı karıştırma hızlarında sentezlenen numunelere ait XRD desenleri Şekil 4.4'te verilmektedir. XRD desenlerinde belirgin bir farklılık görülmemektedir. Desenlerde $2\theta \approx 30^\circ, 35^\circ, 43^\circ, 53^\circ, 57^\circ, 63^\circ, 72^\circ$ ve 75° civarında sırasıyla (311), (400), (422), (511), (440), (620) ve (622) pikleri ortaya çıkmıştır.



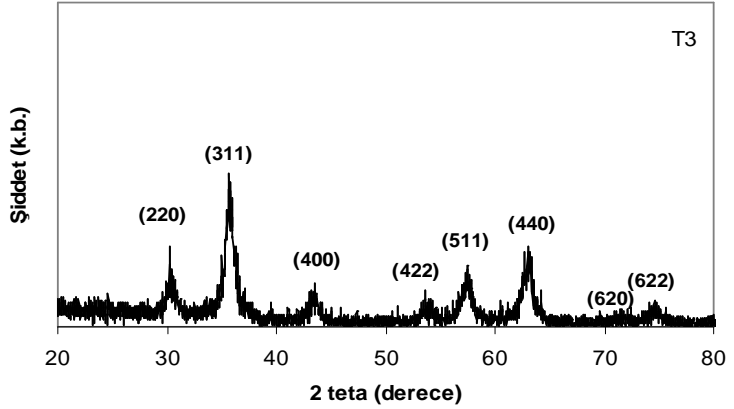
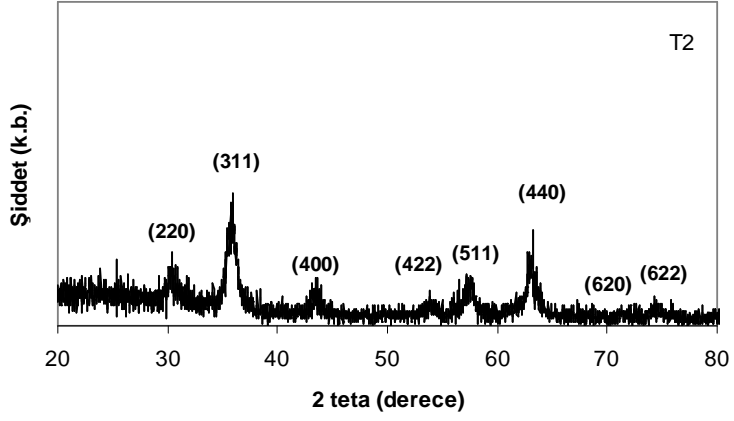
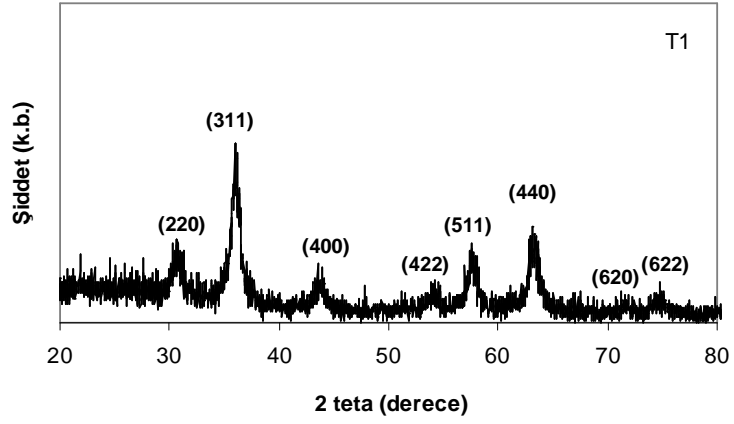
Şekil 4.4: Farklı karıştırma hızlarında sentezlenen nanoparçacıkların XRD desenleri. (R1: 100 rpm, R2: 300 rpm, R3: 700 rpm, R4: 1100 rpm, R5: 1500 rpm, R6: 1800 rpm'dir. Diğer parametreler; $[Fe^{2+}]/[Fe^{3+}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, baz konsantrasyonu = 4.0 M, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.)



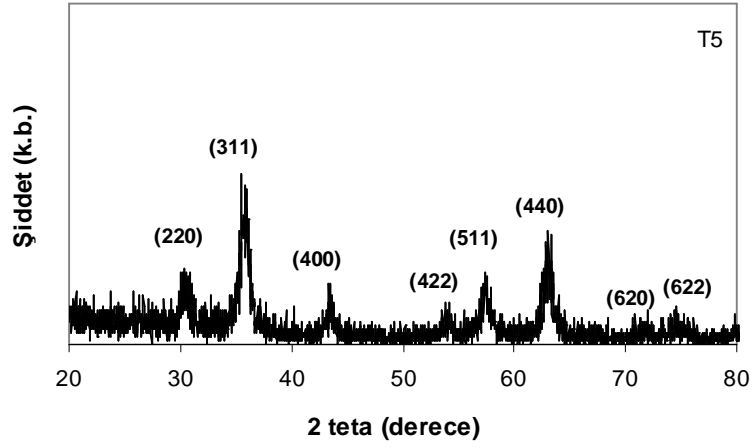
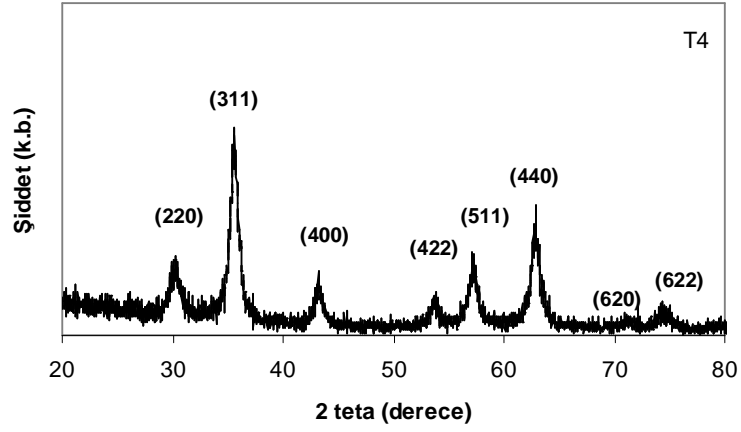
Şekil 4.4'ün devamı: Farklı karıştırma hızlarında sentezlenen nanoparçacıkların XRD desenleri. (R1: 100 rpm, R2: 300 rpm, R3: 700 rpm, R4: 1100 rpm, R5: 1500 rpm, R6: 1800 rpm'dir. Diğer parametreler; $[Fe^{+2}]/[Fe^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, baz konsantrasyonu = 4.0 M, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.)

Numunelerin kristal boyutları R1'den R6'ya kadar sırasıyla 10.2, 10.2, 9.2, 9.0, 8.4 ve 9.7 nm olarak hesaplanmıştır. Kristal boyutları 100 rpm'den 1500 rpm karıştırma hızına kadar bir miktar azalmış 1800 rpm'de biraz artmış, genel anlamda çok az bir değişim gözlenmiştir. R. Valenzuela ve ark. çalışmasında [53], N₂ atmosferinde 10000-25000 rpm gibi yüksek hızlarda, karıştırma hızının artması ile parçacık boyutunun küçüldüğü görülmektedir. Bununla beraber aynı çalışmada yüksek hızlarda manyetik olmayan fazların oluştuğu da belirtilmektedir. Bizim çalışmamızda da bu çalışmaya benzer şekilde karıştırma hızı arttıkça parçacık boyutları az miktarda küçülmüştür fakat karıştırma hızına bağlı olmaksızın XRD desenlerinde demir oksit dışında herhangi bir faza ait pik görülmemektedir. Çalışmamızda karıştırma hızı, bu çalışmadaki [53] kadar yüksek olmadığından boyut değişiminin aynı çalışmada [53] olduğu gibi belirgin şekilde ortaya çıkmadığı düşünülebilir.

Tablo 4.1'deki beşinci parametre olan sentez sıcaklığı değiştirilerek elde edilen numunelerin XRD desenleri Şekil 4.5'te gösterilmiştir. T1'den T5'e kadar numunelerin XRD desenlerinde $2\theta \approx 30^\circ, 35^\circ, 43^\circ, 53^\circ, 57^\circ, 63^\circ, 72^\circ$ ve 75° civarında sırasıyla (220), (311), (400), (422), (511), (440), (620) ve (622) pikleri görülmektedir. Buna göre numunelerin demir oksit yapıda olduğu söylenebilir. Hesaplanan kristal boyutları T1 numunesinden T5 numunesine kadar sırasıyla 8.4, 8.2, 8.2, 9.5 ve 9.3 nm'dir. Z. L. Liu ve ark. [54], N₂ ortamında ortak çöktürme yöntemiyle elde edilen demir oksite ait XRD desenlerinde sıcaklığın 30 °C'den 90 °C'ye artışı ile pik genişliklerinde belirgin bir düşüşün yani parçacık boyutlarında artışın meydana geldiğini ortaya koymuştur. Bununla birlikte yine N₂ atmosferinde L. Babes ve ark. [87], 20-50 °C arasında değişen sıcaklıkların sistem üzerine çok az etki gösterdiğini ya da etki göstermediğini ancak 20 °C ile 65 °C arasında belirgin farklılıkların gözlemlendiğini söylemektedir. Bir başka çalışmada da buna benzer bir sonuç verilmiş, 20-50 °C arasında parçacık boyutlarının değişmediği 60 °C ve üstünde boyutlarda artış meydana geldiği açıklanmıştır [52]. Bizim çalıştığımız 20-85 °C aralığındaki farklı sıcaklıklarda sentezlenen demir oksit nanoparçacıkların kristal boyutlarının sıcaklıktan çok az etkilendiği görülmektedir.

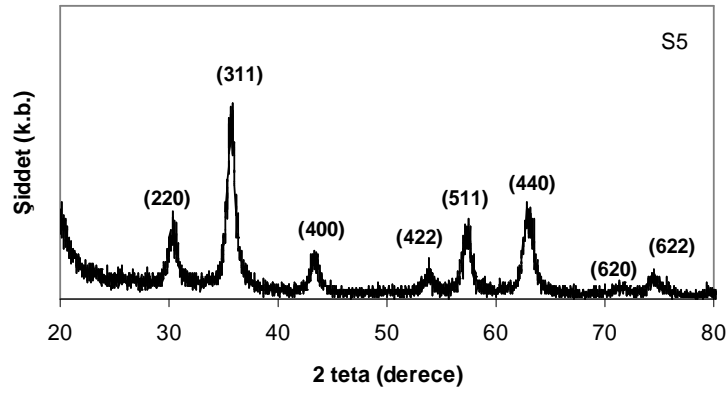
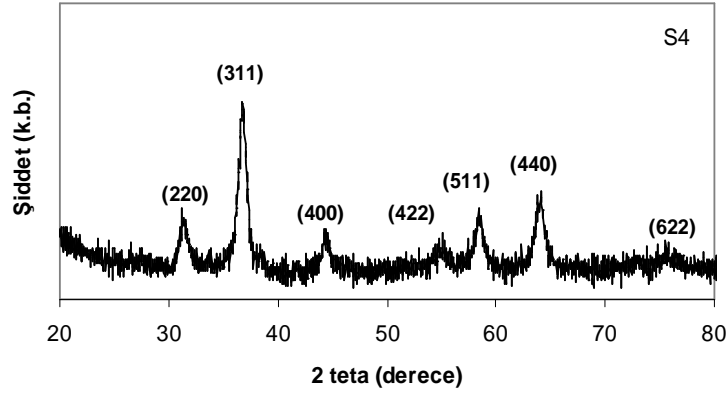
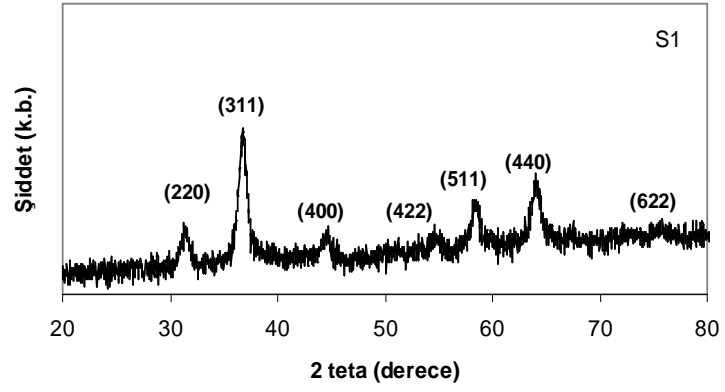


Şekil 4.5: Farklı sıcaklıklarda sentezlenen nanoparçacıkların XRD desenleri. (T1: 20 °C, T2: 40 °C, T3: 60 °C, T4: 80 °C, T5: 85 °C'dir. Diğer parametreler; $[Fe^{+2}]/[Fe^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, baz konsantrasyonu = 4.0 M, karıştırma hızı = 1500 rpm ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.)

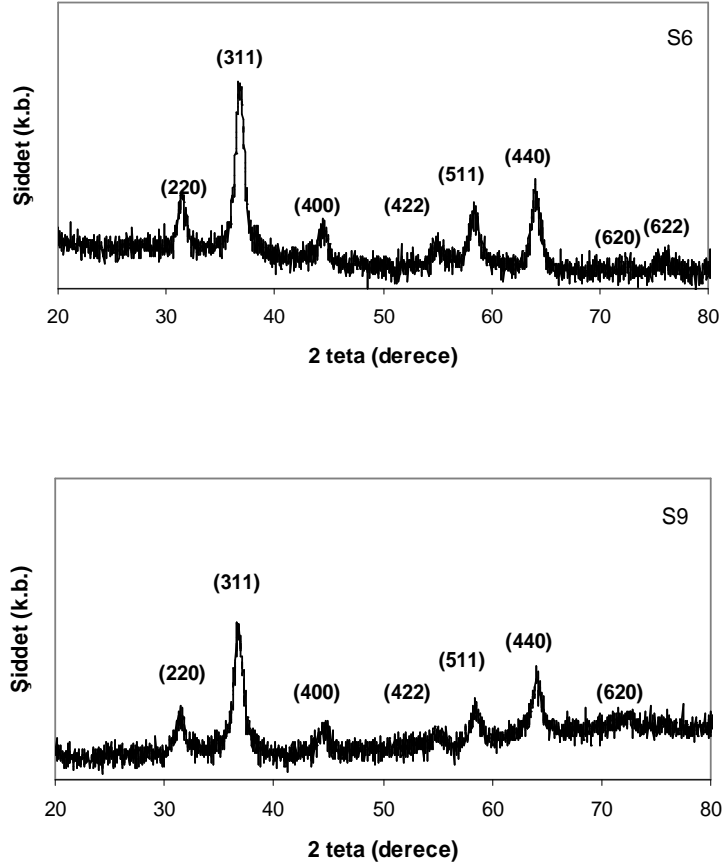


Şekil 4.5'in devamı: Farklı sıcaklıklarda sentezlenen nanoparçacıkların XRD desenleri. (T1: 20 °C, T2: 40 °C, T3: 60 °C, T4: 80 °C, T5: 85 °C'dir. Diğer parametreler; $[Fe^{+2}]/[Fe^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, baz konsantrasyonu = 4.0 M, karıştırma hızı = 1500 rpm ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.)

Tablo 4.1'deki son parametre olan reaksiyon süresinin incelenmesi için farklı reaksiyon sürelerince sentezlenen numunelerin Şekil 4.6'da verilen XRD desenlerine göre numuneler kübik spinel yapıya ait pikleri içermektedir. S1 ve S4 numunelerinde $2\theta \approx 31^\circ, 36^\circ, 44^\circ, 54^\circ, 58^\circ, 63^\circ$ ve 75° civarında sırasıyla (220), (311), (400), (422), (511), (440) ve (622) pikleri görülmektedir. S5 ve S6 numunelerinde bu piklere 72° civarında ortaya çıkan (620) piki eklenmiştir. S9 numunesinde ise 75° civarındaki (622) piki kaybolmuştur.



Şekil 4.6: Farklı sürelerde sentezlenen nanoparçacıkların XRD desenleri. (S1: 2 dakika, S4: 5 dakika, S5: 15 dakika, S6: 30 dakika, S9: 90 dakika'dır. Diğer parametreler; $[Fe^{+2}]/[Fe^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, baz konsantrasyonu = 4.0 M, karıştırma hızı = 1500 rpm ve reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C olarak sabit tutulmuştur.)



Şekil 4.6'nın devamı: Farklı sürelerde sentezlenen nanoparçacıkların XRD desenleri. (S1: 2 dakika, S4: 5 dakika, S5: 15 dakika, S6: 30 dakika, S9: 90 dakika'dır. Diğer parametreler; $[Fe^{+2}]/[Fe^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, baz konsantrasyonu = 4.0 M, karıştırma hızı = 1500 rpm ve reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C olarak sabit tutulmuştur.)

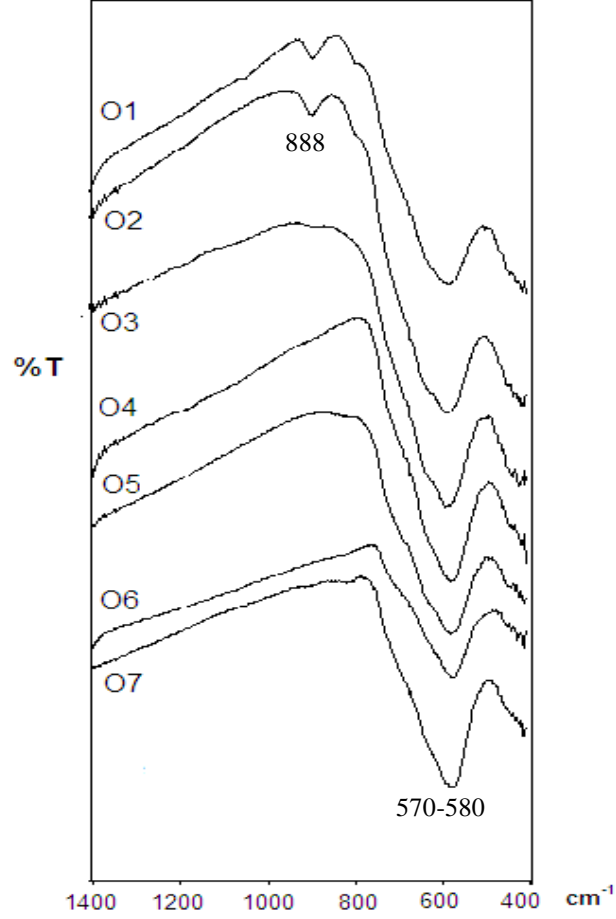
Hesaplanan kristal boyutları S1, S4, S5, S6 ve S9 için sırasıyla 8.8, 8.1, 8.5, 8.4 ve 10.0 nm'dir. N_2 ortamında 2, 5 ve 10 dakika sürelerde yapılan sentezlerin incelendiği bir çalışmada [55], parçacık boyutları arasında önemli farklılık gözlenmemiştir, boyutlar sırasıyla 30, 36 ve 34 nm olarak bulunmuştur ve XRD desenlerinde 10 dakika süren sentezlerde lepidokrosite ait pikler gözlenmiştir. Yaptığımız çalışmada, XRD desenlerinde başka bir faza ait herhangi bir pik gözlenmezken parçacık boyutları 30 dakikadan uzun süren sentezlerde (S6'dan sonra) reaksiyon süresinin artışıyla beraber hafifçe artmaktadır. Reaksiyon başlangıcında oluşan kristallerin boyutunun reaksiyon süresinin artmasıyla orantılı olarak arttığı düşünülebilir.

4.1.2.2 Fourier Dönüştümlü Kızılötesi Spektroskopisiyle Analiz

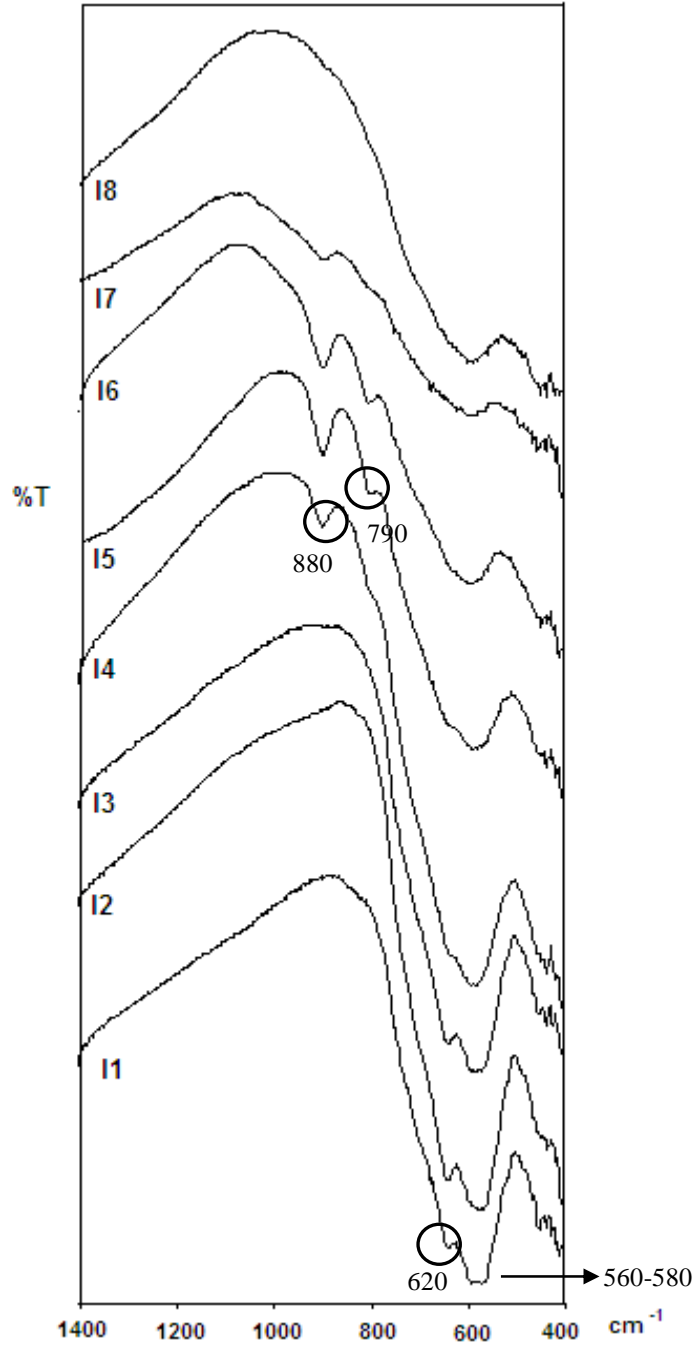
Bu kısımdaki tüm sentez şartları Tablo 4.1’de verildiği gibidir. Farklı $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranları ile sentezlenen O1’den O7’ye kadar numunelere ait FT-IR spektrumu Şekil 4.7’de verilmektedir. Numunelerin spektrumunda 570 cm^{-1} civarında ortaya çıkan pik demir oksit yapısında Fe-O bağının oluştuğunu göstermektedir [88, 89]. FT-IR spektrumunda ortaya çıkan tetrahedral Fe-O titreşimine karşılık gelen pikin magnetit için 580 cm^{-1} ’de, maghemit için 560 cm^{-1} ve 580 cm^{-1} ’de ortaya çıktığı bilinmektedir [38]. Tüm numunelerde $570\text{-}580 \text{ cm}^{-1}$ aralığında ortaya çıkan pikler bulunduğundan demir oksit fazlarını ayırt etmenin mümkün olmadığı düşünülmektedir. Buna ek olarak O1 ve O2 numunelerinde 888 cm^{-1} ’de ortaya çıkan zayıf pik demir oksihidroksit faza ($\alpha\text{-FeOOH}$) atfedilebilir [90-94]. Literatürde [95], küçük $x = [\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranlarında ($x = 0.3$ gibi) $\alpha\text{-FeOOH}$ oluşumu meydana geldiği öne sürülmektedir ve inert ortamda sitokiyometrik oran $1/2$ olarak belirlenmiştir. Hava ortamında yaptığımız çalışmada ise $1/2$ ve $2/3$ oranları ile sentezlenen nanoparçacıkların FT-IR spektrumunda ortaya çıkan 888 cm^{-1} piki, bu oluşumun hava ortamında inert ortama göre daha yüksek $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranlarında da ortaya çıkabileceğinin düşünülmesine neden olmaktadır. Hava ortamında Fe^{+2} , nin Fe^{+3} ,e dönüşümü ile başlangıç demir konsantrasyonları oranı korunmaz, $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranı azalır. FT-IR analizine göre küçük $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranlarında numune ortak çöktürme reaksiyonlarında ortaya çıkan demir oksihidroksitler gibi yan ürünleri de içerebilmektedir.

Şekil 4.8’de farklı demir iyon konsantrasyonlarında sentezlenen numunelerin (I1’den I8’e kadar) FT-IR spektrumu verilmektedir. Tüm numunelerde, $560\text{-}580 \text{ cm}^{-1}$ aralığında görülen transmittans bandı literatüre [88, 89] göre demir oksit oluşumunu ifade etmektedir. Ayrıca, I1-I5 numunelerinde 620 cm^{-1} civarında omuz piki şeklinde ortaya çıkan transmittans pikinin numunelerdeki maghemit faza [83] işaret ettiği düşünülebilir. I4, I5, I6 ve I7 numunelerinde 880 cm^{-1} civarında ortaya çıkan pik ile buna ek olarak I5 ve I6 numunelerinde 790 cm^{-1} civarında ortaya çıkan pikler bu numunelerin ortak çöktürmenin yan ürünlerini (demir oksihidroksit) [89-94] içerdiği şeklinde yorumlanabilir. XRD desenlerindeki pik şiddetlerinin azalmasına benzer şekilde FT-IR spektrumunda da demir iyonu konsantrasyonu azaldıkça Fe-O

bağına ait transmittans bandı zayıflamakta ve genişlemektedir. I1 numunesinden I4 numunesine kadar demir oksite ait pikler gözlenirken I4 numunesinden itibaren spektrumda oksihidroksitlerin oluştuğunu düşündüren pikler de ortaya çıkmıştır.



Şekil 4.7: Farklı [Fe²⁺]/[Fe³⁺] oranlarında sentezlenen nanoparçacıklara ait FT-IR spektrumu. (O1: [Fe²⁺]/[Fe³⁺] = 1/2, O2: [Fe²⁺]/[Fe³⁺] = 2/3, O3: [Fe²⁺]/[Fe³⁺] = 5/6, O4: [Fe²⁺]/[Fe³⁺] = 1, O5: [Fe²⁺]/[Fe³⁺] = 2/1, O6: [Fe²⁺]/[Fe³⁺] = 4/1, O7: [Fe²⁺]/[Fe³⁺] = 1/-'dir. Diğer parametreler; demir iyon konsantrasyonu = 1000 mM, baz konsantrasyonu = 6.7 M, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20±2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.)

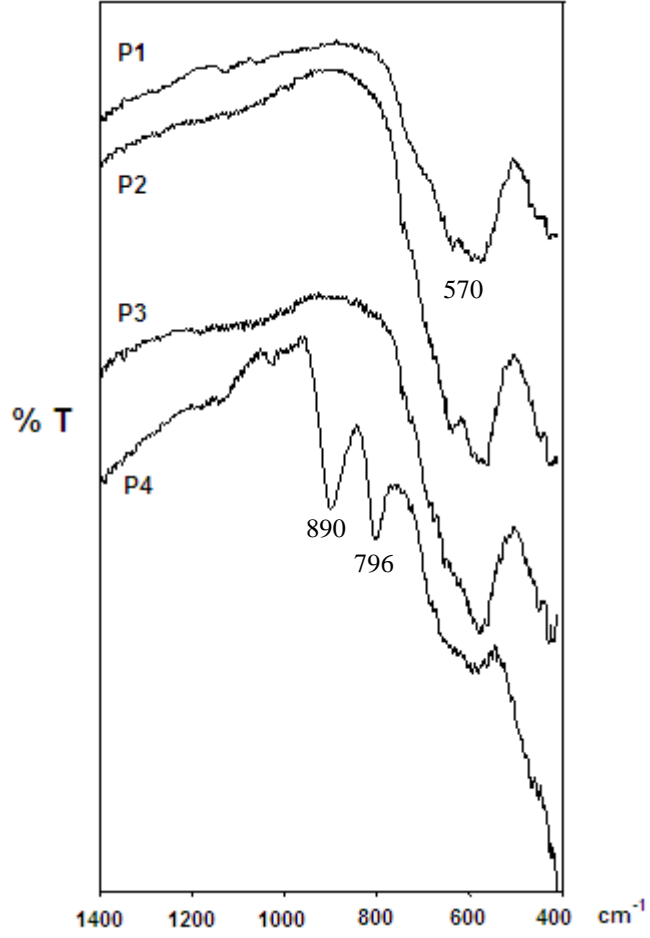


Şekil 4.8: Toplam demir iyonu konsantrasyonu değiştirilerek sentezlenen nanoparçacıklara ait FT-IR spektrumu. (I1: 1000 mM Fe⁺², 1500 mM Fe⁺³, I2: 800 mM Fe⁺², 1200 mM Fe⁺³, I3: 600 mM Fe⁺², 900 mM Fe⁺³, I4: 400 mM Fe⁺², 600 mM Fe⁺³, I5: 300 mM Fe⁺², 450 mM Fe⁺³, I6: 200 mM Fe⁺², 300 mM Fe⁺³, I7: 100 mM Fe⁺², 150 mM Fe⁺³, I8: 50 mM Fe⁺², 75 mM Fe⁺³, tür. Diğer parametreler; [Fe⁺²]/[Fe⁺³] = 2/3, baz konsantrasyonu = 6.7 M, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20±2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.)

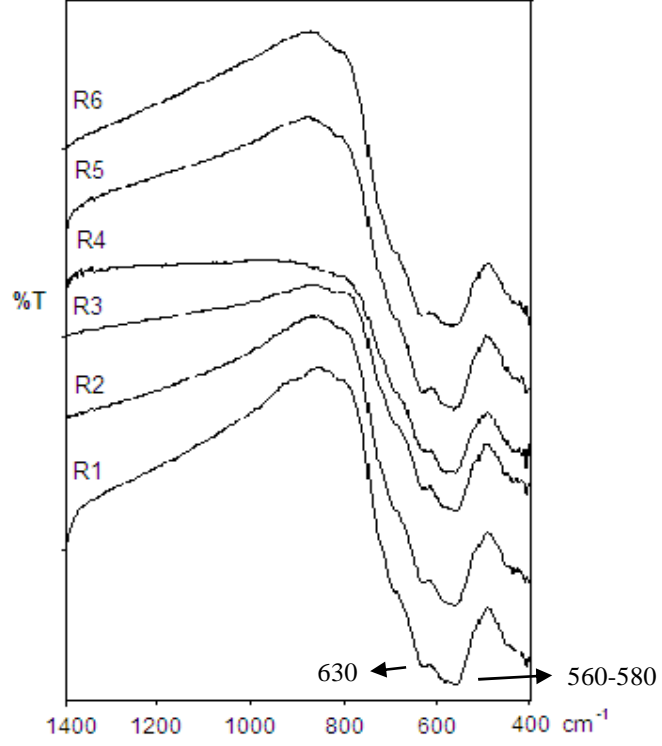
Farklı konsantrasyonlarda baz kullanılarak sentezlenen numunelerin Şekil 4.9'da verilen FT-IR spektrumunda P1, P2 ve P3 numunelerinde 570 cm^{-1} civarında ortaya çıkan ve demir oksit oluşumunu gösteren [88, 89] Fe-O bağına ait pik P4 nolu numunede iyice genişlemiştir. Bu numunede 796 ve 890 cm^{-1} 'de yeni iki pik görülmektedir ki bu pikler XRD desenlerinde de ortaya çıkan demir oksihidroksit fazını [90-94] doğrulamaktadır. Bölüm 2.5.1'de açıklandığı gibi ortak çöktürme reaksiyonlarında demir oksit oluşabilmesi için ortam pH'ı tüm reaksiyonların oluşmasına yeterli olmalıdır. Baz konsantrasyonu azaldıkça çözelti pH'ı azalmaktadır. P1, P2, P3, P4 ve P5 numunelerinin sentezlerinden sonra ölçülen ortam pH'ları sırasıyla 9.5, 9.8, 9.3, 4.7 ve 2.0'dır. $[\text{OH}^-]$ değeri yeterli olmadığından P4 numunesinde demir oksit oluşumunun sınırlı kaldığı, P5 numunesinde ise demir oksit oluşumunun gerçekleşmediği düşünülmektedir. Bölüm 4.1.2.1'de açıklandığı gibi P4'ün açık kahverengi olarak elde edilmesi ve P5'in çökmemesi bu düşüncüyü desteklemektedir.

Şekil 4.10'da farklı karıştırma hızlarında sentezlenen R1'den R6'ya kadar numunelere ait FT-IR spektrumu görülmektedir. Her bir numunenin spektrumunda $560-580\text{ cm}^{-1}$ civarında ortaya çıkan pik Fe-O bağına yani demir oksit oluşumunu [88, 89] ifade etmektedir. Bununla beraber 630 cm^{-1} civarında ortaya çıkan omuz piki literatüre göre [83], maghemit faza atfedilebilir. FT-IR spektrumlarında da XRD desenlerinde olduğu gibi demir oksit dışında bir faz gözlenmemiştir. FT-IR spektrumları ile XRD desenleri uyum içindedir.

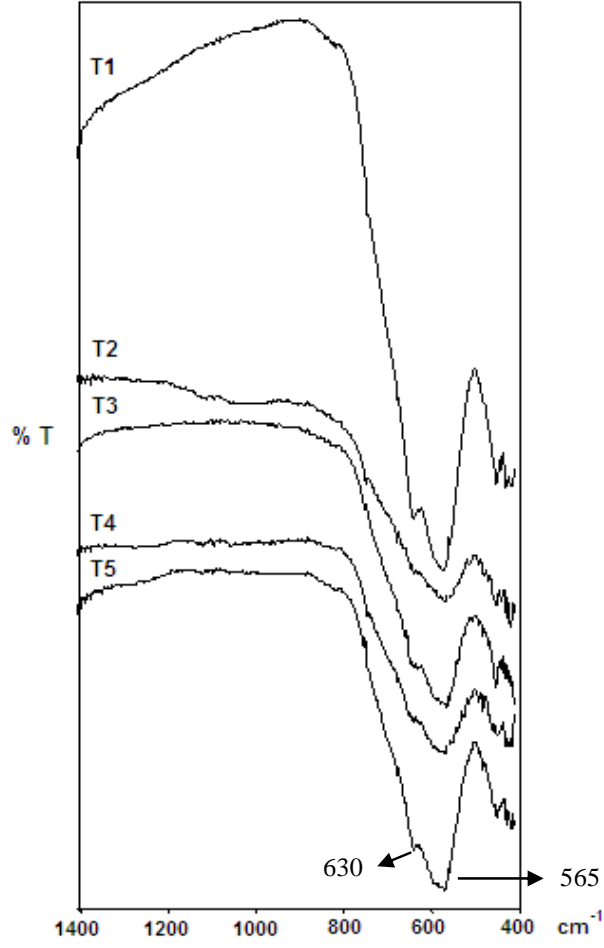
Farklı sıcaklıklarda sentezlenen numunelere ait FT-IR spektrumu T1'den T5'e kadar Şekil 4.11'de verilmektedir. T1'den T5'e kadar tüm numunelerin spektrumunda 565 cm^{-1} civarında ortaya çıkan ve demir oksit yapısını ifade eden [88, 89] transmits piki ile beraber 630 cm^{-1} 'de görülen ve maghemit yapısına atfedilen [83] omuz pikine göre numunelerin demir oksit olduğu söylenebilir. Spektrumlarda başka fazlara ait herhangi bir pik gözlenmemektedir. FT-IR spektrumları ve Bölüm 4.2.1.1'de verilen XRD desenlerine göre reaksiyon sıcaklığının numunenin yapısı üzerinde çok etkin olmadığı düşünülebilir.



Şekil 4.9: Farklı baz konsantrasyonlarında sentezlenen nanoparçacıklara ait FT-IR spektrumu. (P1: 6.7 M NH₃, P2: 5.3 M NH₃, P3: 4.0 M NH₃, P4: 2.7 M NH₃'tür. Diğer parametreler; [Fe⁺²]/[Fe⁺³] = 2/3, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20±2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.)

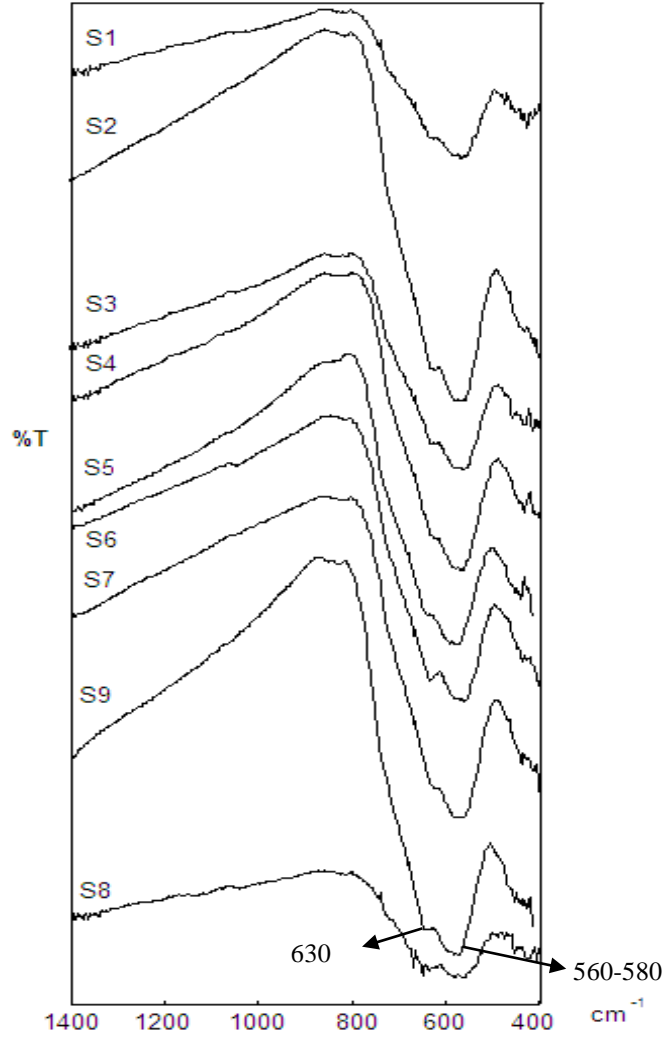


Şekil 4.10: Farklı karıştırma hızlarında sentezlenen nanoparçacıklara ait FT-IR spektrumu. (R1: 100 rpm, R2: 300 rpm, R3: 700 rpm, R4: 1100 rpm, R5: 1500 rpm, R6: 1800 rpm'dir. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, baz konsantrasyonu = 4.0 M, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.)



Şekil 4.11: Farklı sıcaklıklarda sentezlenen nanoparçacıklara ait FT-IR spektrumu. (T1: 20 °C, T2: 40 °C, T3: 60 °C, T4: 80 °C, T5: 85 °C'dir. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, baz konsantrasyonu = 4.0 M, karıştırma hızı = 1500 rpm ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.)

Şekil 4.12'de görülen farklı reaksiyon sürelerinde sentezlenen numunelere (S1-S9) ait FT-IR spektrumunda 560-580 cm^{-1} civarında magnetit yapısına işaret eden [88, 89] transmittans piki ortaya çıkmıştır. Bununla birlikte 625 cm^{-1} 'de omuz piki olarak ortaya çıkan ve maghemit yapısına atfedilen [83] pike göre numunelerin demir oksit yapıda olduğunu söylenebilir. Hem XRD desenleri hem FT-IR spektrumları ile ortaya konduğu gibi numunelerde demir oksit fazı dışında herhangi bir faza ait pik görülmemektedir.



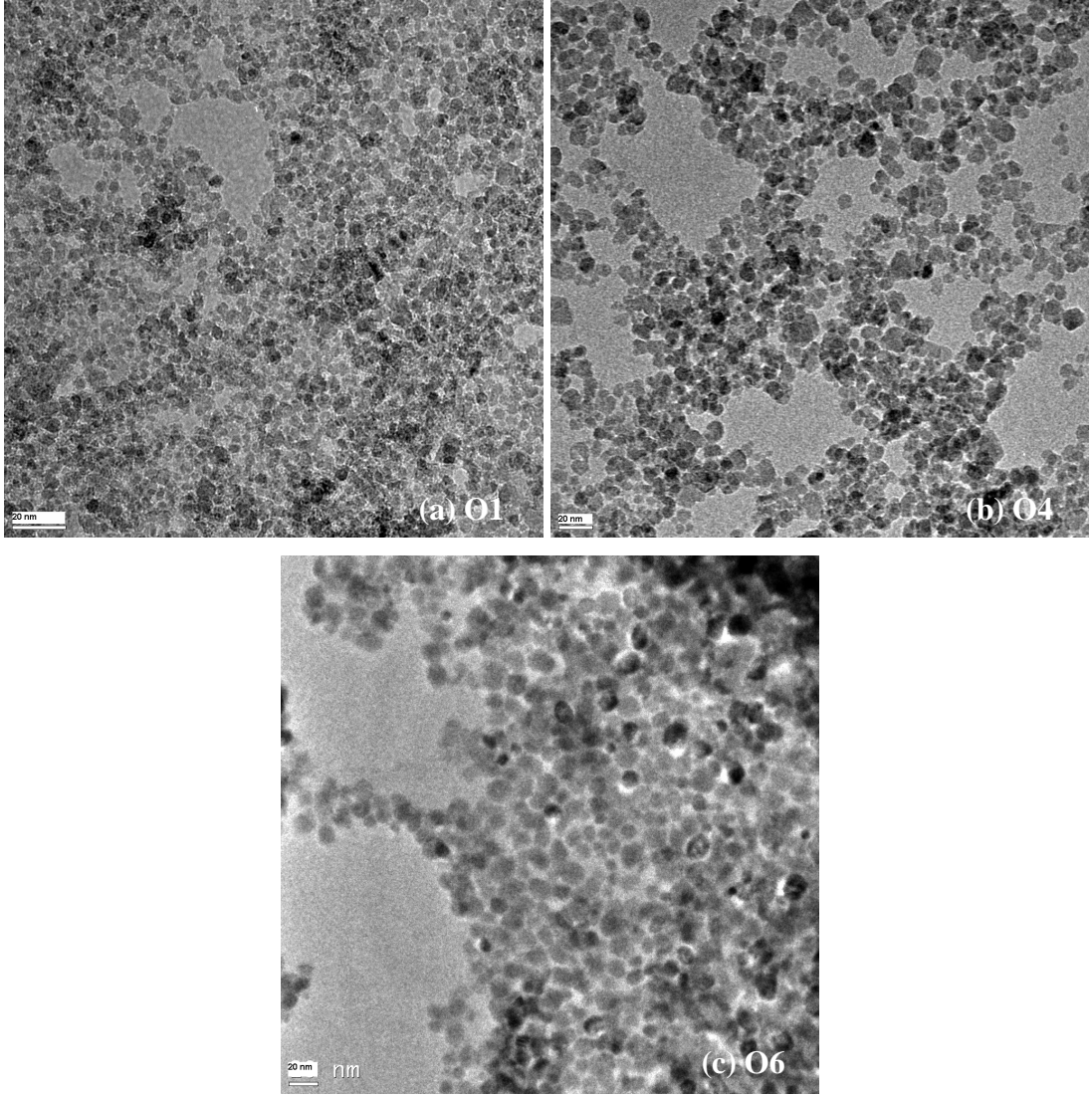
Şekil 4.12: Farklı sürelerde sentezlenen nanoparçacıklara ait FT-IR spektrumu. (S1: 2 dakika, S2: 3 dakika, S3: 4 dakika, S4: 5 dakika, S5: 15 dakika, S6: 30 dakika, S7: 45 dakika, S8: 60 dakika, S9: 90 dakika'dır. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, baz konsantrasyonu = 4.0 M, karıştırma hızı = 1500 rpm ve reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C olarak sabit tutulmuştur.)

4.1.2.3 Geçirmeli Elektron Mikroskopuyla Analiz

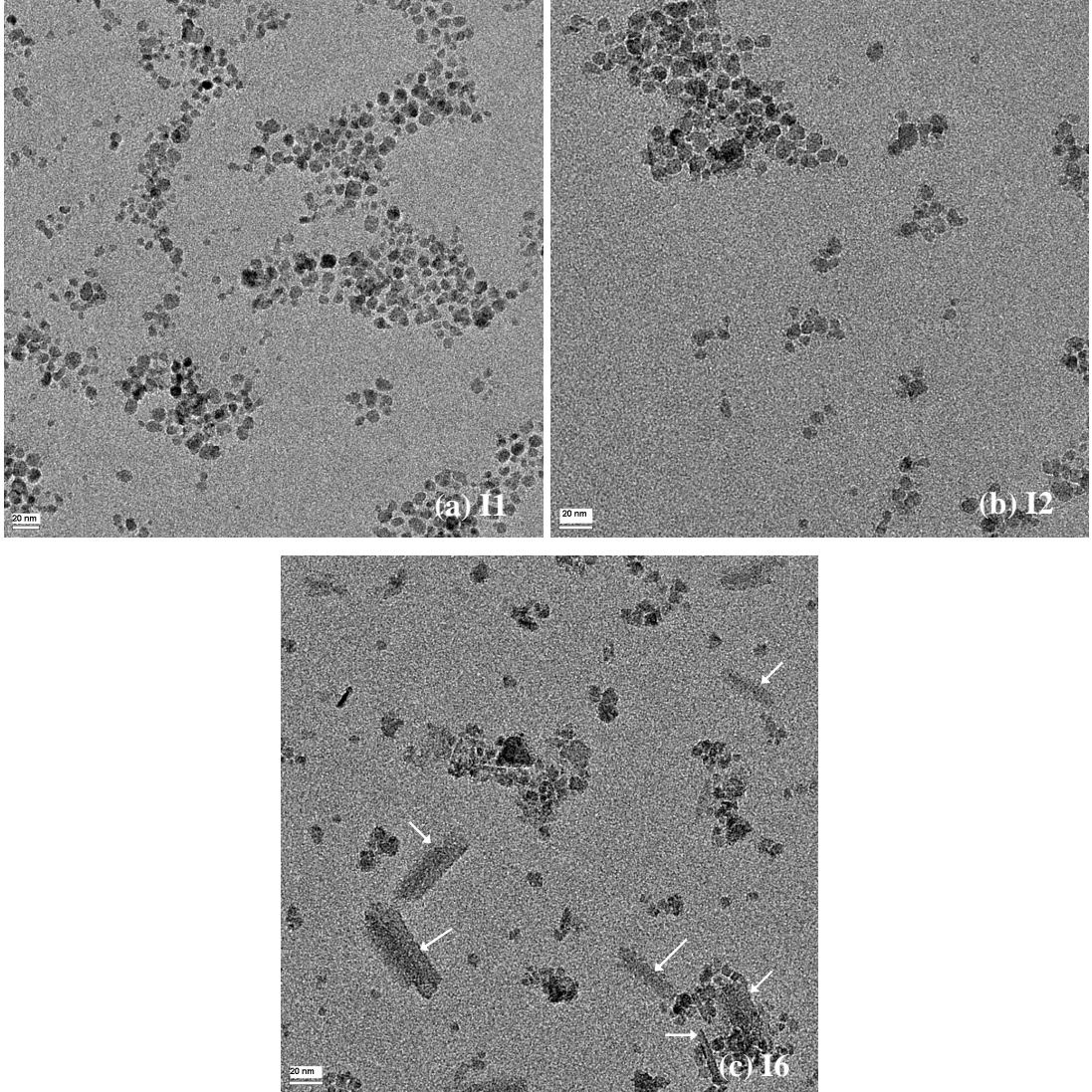
Demir oksit nanoparçacıkların fiziksel boyutları geçirmeli elektron mikroskobu (transmission electron microscope, TEM) ile ölçülmüş ve parçacık boyutları TEM cihazında kullanılan ImageJ programı ile belirlenmiştir. Tablo 4.2'de bazı numunelere ait TEM görüntülerinden elde edilen fiziksel parçacık boyutları verilmektedir.

Tablo 4.1’de verilen ilk parametre olan $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranına göre sentezlenen numunelerden O1, O4 ve O6’ya ait TEM fotoğrafları Şekil 4.13’te verilmiştir ve bu analizden elde edilen parçacık boyutları sırasıyla 5.3 ± 1.6 , 7.9 ± 2.7 ve 11.7 ± 3.4 nm’dir. Literatürde $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranı arttıkça sentezlenen demir oksit nanoparçacıkların parçacık boyutlarının arttığı ortaya konmaktadır [47]. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar S. Alibeigi ve ark. [47] bulguları ile uyumludur. Numunelerde $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranı arttıkça parçacık boyutlarının belirgin şekilde arttığı görülmektedir. Bölüm 4.1.2.1’de hesaplanan kristal boyutlarında da gözlenen bu değişim, TEM fotoğraflarıyla da ortaya konmaktadır. Bölüm 4.1.3’te parçacık boyutlarındaki bu değişimin manyetik özellikler üzerine etkisi ele alınacaktır.

Şekil 4.14’te farklı demir iyon konsantrasyonlarında sentezlenen I1, I2 ve I6 numunelerine ait TEM görüntüleri verilmektedir. I1, I2, I3 ve I6 numunelerine ait parçacık boyutları sırasıyla 7.6 ± 2.0 , 7.6 ± 2.5 , 7.2 ± 2.4 ve 6.4 ± 2.3 nm olarak ölçülmüştür. I6 numunesi için parçacık boyutu ölçümü amorf yapılar olarak işaretlenen büyük parçacıklar dışında kalan parçacıklardan yapılmıştır. TEM ile ölçülen parçacık boyutları ve XRD ile hesaplanan kristal boyutları arasında uyum olduğu Tablo 4.2’de görülmektedir. Bölüm 4.1.2.1’de bahsedildiği gibi demir iyon konsantrasyonu azaldıkça ortaya çıkan, ortak çöktürmeye ait yan ürünler I6 numunesinin Şekil 4.14 (c)’de verilen TEM fotoğrafında görülmektedir. Fotoğrafta reaksiyona ait yan ürünler oklarla gösterilmiştir. Literatüre göre yüksek iyonik şiddet parçacıkların yüzey yüküne etki ettiği için daha küçük parçacık boyutuna neden olmaktadır [96]. Demir tuzlarının konsantrasyonunu arttırmak iyonik şiddeti arttıracığından sistemi etkileyeceği düşünülebilir. Reaksiyon sonrası elde edilen pH değerleri I1 numunesinden I8 numunesine doğru sırasıyla 9.2, 9.5, 9.9, 10.4, 10.6, 10.9, 10.9 ve 11.6’dır. Reaksiyona girecek demir iyon konsantrasyonu azaldıkça ortamın reaksiyon sonrası pH’ı artmaktadır. Ortam pH’ının artmasının parçacıkların daha küçük olmasına neden olduğu aynı çalışmada [96] ifade edilmektedir. Burada hem iyonik şiddetin arttığı hem de pH’ın düştüğü ve bu iki etkinin birbirini dengelemesi sonucu parçacık boyutlarının az miktarda değiştiği düşünülebilir.



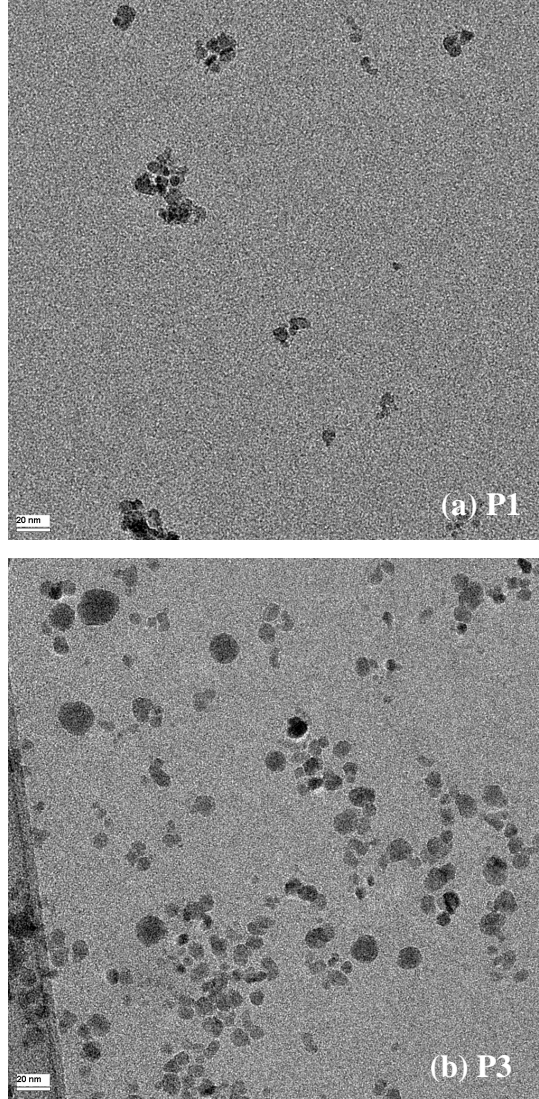
Şekil 4.13: Farklı $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}]$ oranları ile sentezlenen (a) O1, (b) O4 ve (c) O6 numunelerine ait TEM fotoğrafları. (O1: $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}] = 1/2$, O4: $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}] = 1$, O6: $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}] = 4/1$ 'dir. Diğer parametreler; demir iyon konsantrasyonu = 1000 mM, baz konsantrasyonu = 6.7 M, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.) (Skala çizgileri 20 nm'dir.)



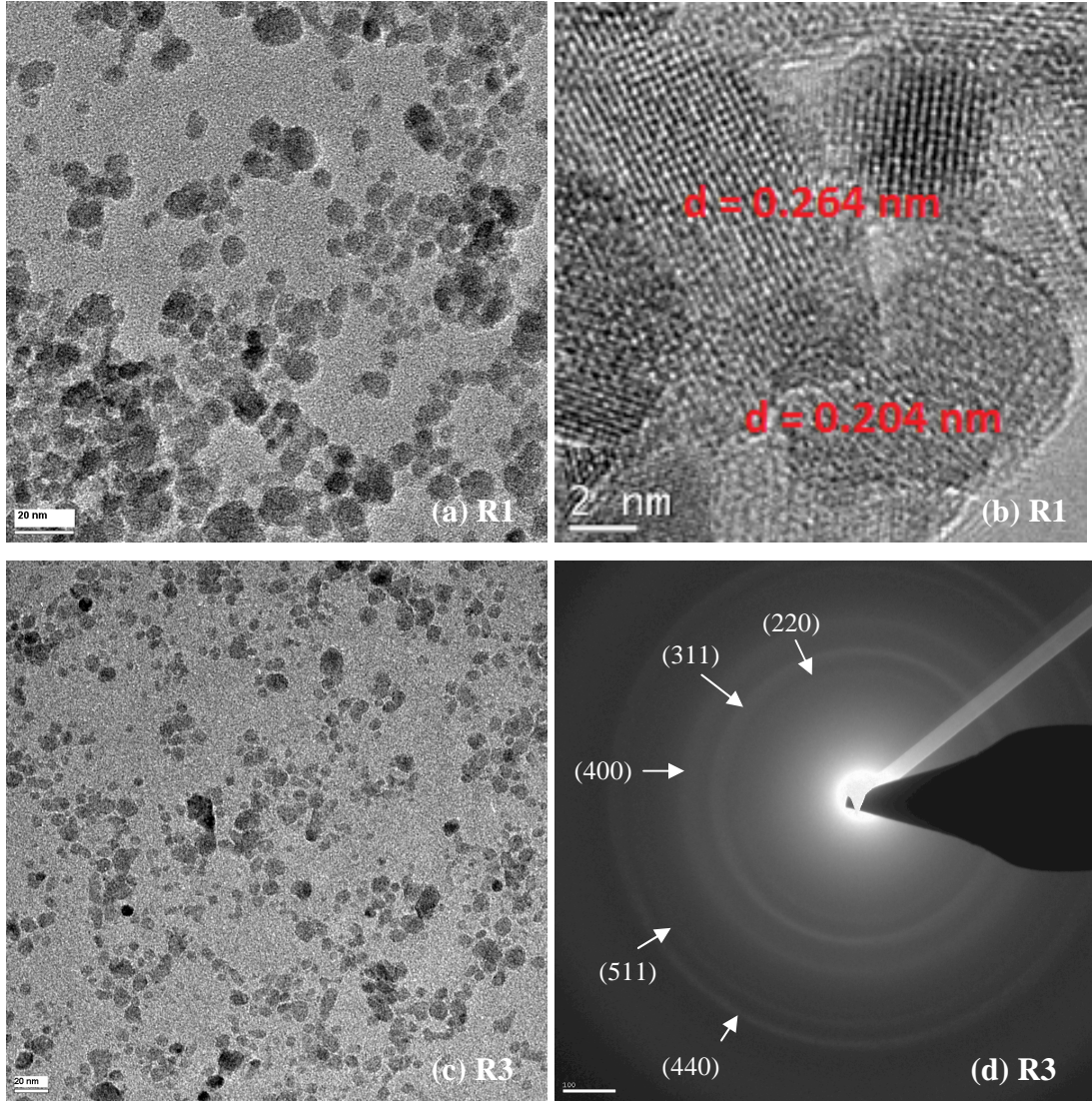
Şekil 4.14: Farklı demir iyon konsantrasyonlarında sentezlenen (a) I1, (b) I2 ve (c) I6 numunelerine ait TEM fotoğrafları (Oklar yan ürünleri göstermektedir) (I1: 1000 mM Fe^{+2} , 1500 mM Fe^{+3} , I2: 800 mM Fe^{+2} , 1200 mM Fe^{+3} , I6: 200 mM Fe^{+2} , 300 mM Fe^{+3} , tür. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, baz konsantrasyonu = 6.7 M, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.) (Skala çizgileri 20 nm'dir.)

Tablo 4.1’de verilen farklı baz konsantrasyonlarında sentezlenen P1 ve P3 numunelerine ait TEM fotoğrafları Şekil 4.15’te verilmektedir. P1 ve P3 numunelerine ait parçacık boyutları sırasıyla 7.2 ± 2.4 ve 8.3 ± 3.5 nm’dir. Bölüm 4.1.2.1’de XRD analizinden elde edilen kristal boyutlarına göre baz konsantrasyonunun azalmasının, boyutlarda az miktarda artış meydana getirdiği söylenmiştir. TEM analizinden elde edilen sonuçlara göre baz konsantrasyonu azaldıkça parçacık boyutlarının bir miktar arttığı ve boyut dağılımının genişlediği görülmektedir (bakınız Tablo 4.2). Başlangıçtaki OH⁻ konsantrasyonu ile orantılı olan pH değerinin azalması ile parçacık boyutları artmaktadır. Bu sonucun ortam pH’ının artışının parçacık boyutunu küçülttüğünü öne süren çalışma [96] ile uyumlu olduğu görülmektedir.

Farklı karıştırma hızlarında Tablo 4.1’de verilen şartlarda sentezlenen numunelerden R1 numunesine ait TEM fotoğrafları Şekil 4.16 (a) ve (b)’de, R3 numunesine ait TEM fotoğrafı Şekil 4.16 (c) ’de verilmektedir. Şekil 4.16 (d)’de R3 numunesine ait elektron kırınımı deseni görülmektedir. R1, R3 ve R5 numunelerine ait parçacık boyutları sırasıyla 6.9 ± 2.5 , 7.0 ± 2.5 ve 8.3 ± 3.5 nm olarak ölçülmüştür. Karıştırma hızının artışı ile parçacık boyutu az miktarda artmıştır. Karıştırma hızı arttıkça parçacık boyutunun ve boyut dağılımının küçüldüğünü ifade eden çalışmalar mevcuttur [53, 97]. N₂ atmosferinde 10000-25000 rpm gibi yüksek hızlarda yapılan çalışmada [53], karıştırma hızının artması ile parçacık boyutunun küçüldüğü görülmektedir. Diğer çalışmaların aksine karıştırma hızının artışının O₂’nin ortamda daha rahat hareketini sağladığından daha büyük demir oksit kristallerinin oluşmasına yol açtığı yorumu yapılabilir. Şekil 4.16 (b)’de R1 numunesine ait bir parçacığın kristal düzlemleri görülmektedir. İki parçacık için Image J programı ile ölçülen düzlemler arası uzaklıklar $d_1 = 0.264$ nm ve $d_2 = 0.204$ nm’dir ve bunların sırasıyla (311) ve (400) düzlemlerine karşılık geldiği söylenebilir. XRD analizi ile kristal yapısı ortaya konan numunelerden R3’ün Şekil 4.16 (d)’deki elektron kırınımı deseninde (220), (311), (400), (511) ve (440) düzlemlerine ait yansımalar görülmektedir. Bu yansımalar Şekil 4.4’te XRD desenlerinde ortaya çıkan kristal yapıyı desteklemektedir.

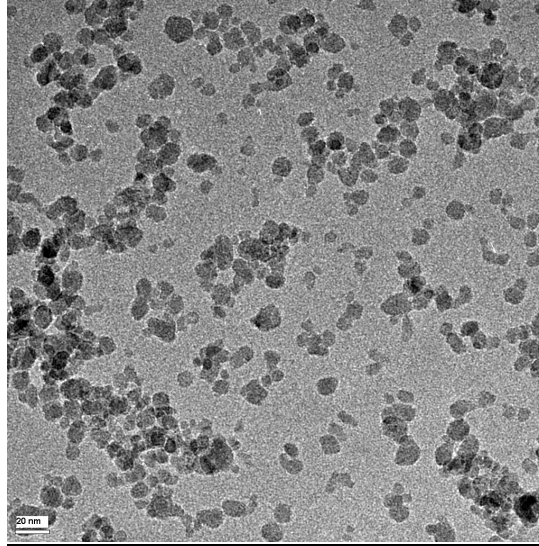


Şekil 4.15: Farklı konsantrasyonlarda baz kullanılarak sentezlenen (a) P1 ve (b) P3 numunelerine ait TEM fotoğrafları. (P1: 6.7 M NH_3 , P3: 4.0 M NH_3 'tür. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.) (Skala çizgileri 20 nm'dir.)



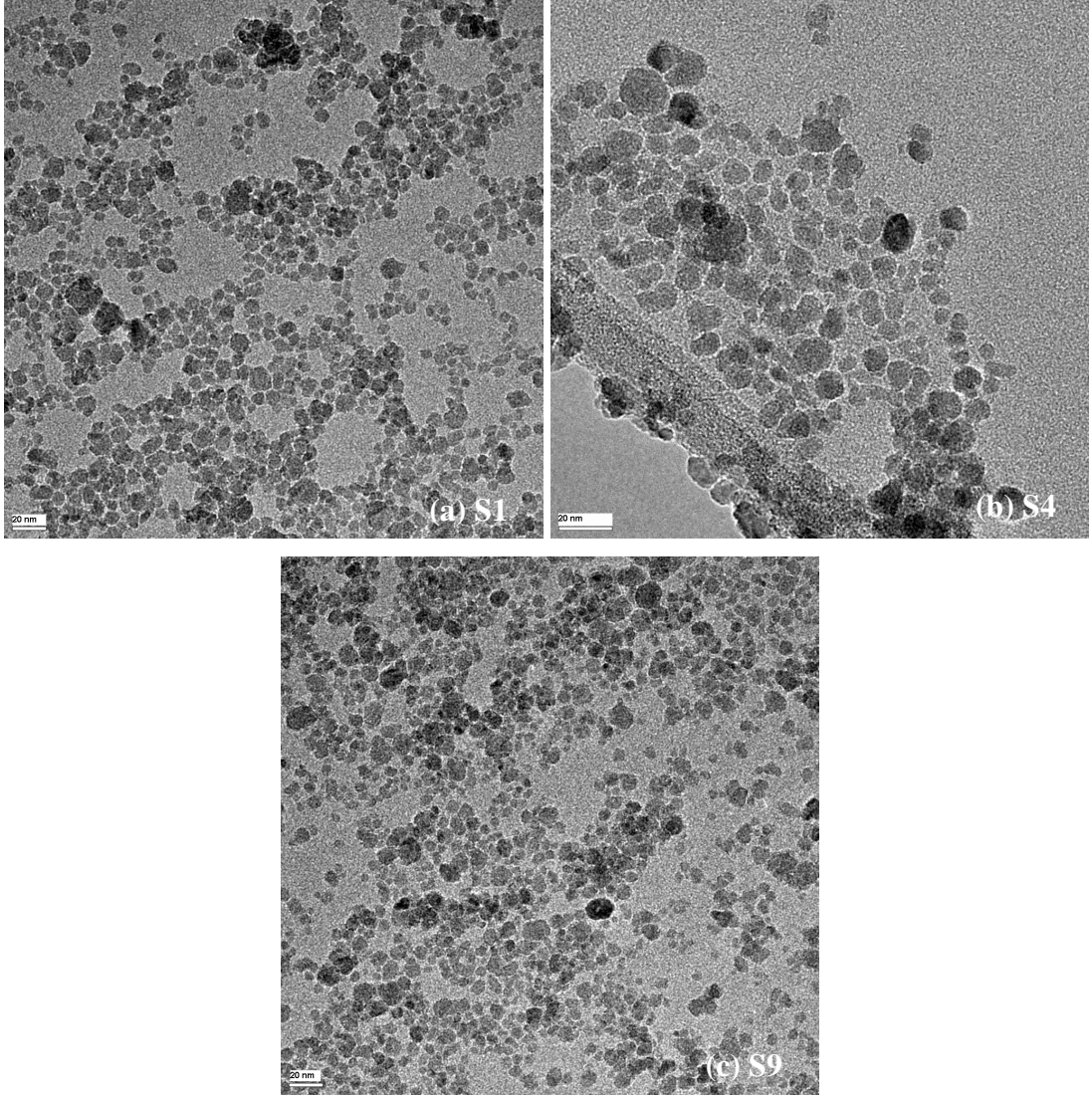
Şekil 4.16: Farklı karıştırma hızlarında sentezlenen numunelerden (a) ve (b) R1 numunesine ait TEM fotoğrafları, (c) R3 numunesine ait TEM fotoğrafı, (d) R3 numunesine ait elektron kırınımı deseni. (R1: 100 rpm, R3: 700 rpm'dir. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, baz konsantrasyonu = 4.0 M, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.) (Skala çizgisi (a) ve (c) şıklarında 20 nm, (b) şıkında 2 nm'dir.)

Tablo 4.1’de verilen şartlarda 85 °C’de sentezlenen T5 numunesine ait TEM fotoğrafı Şekil 4.17’de verilmiştir. T1 ve T5 numunelerinin fiziksel parçacık boyutları sırasıyla 8.3 ± 3.5 ve 8.7 ± 2.7 nm olarak ölçülmüştür. Parçacık boyutlarının sıcaklıkla belirgin şekilde değişmediği görülmektedir. Literatürde N₂ ortamında sıcaklık artışının daha büyük parçacıkların oluşumuna neden olduğu belirtilmektedir [54]. İnert atmosferde yapılan bir başka çalışmada ise sıcaklığın parçacık boyutu üzerinde etkin olmadığı söylenmektedir [87]. Açık hava ortamında yapılan çalışmamızda farklı sıcaklıklarda sentezlenen numunelere ait parçacık boyutlarının hemen hemen aynı olduğu görülmektedir.



Şekil 4.17: T5 numunesine ait TEM fotoğrafı. ($[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, baz konsantrasyonu = 4.0 M, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 85 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakikadır.) (Skala çizgisi 20 nm’dir.)

Şekil 4.18’de S1, S4 ve S9 numunelerine ait TEM fotoğrafları görülmektedir. Ölçülen fiziksel parçacık boyutları S1, S4, S6 ve S9 için sırasıyla 6.5 ± 1.7 , 7.8 ± 2.9 , 8.3 ± 3.5 ve 8.0 ± 2.3 nm’dir. Reaksiyon süresinin artması ile parçacık boyutları S6 numunesine kadar artmış, daha sonra yaklaşık sabit kalmıştır. XRD desenlerinden hesaplanan kristal boyutları S6’dan S9’a kadar yaklaşık 1.5 nm artış göstermektedir, fiziksel parçacık boyutları ise S1’den S6’ya kadar az miktarda (~1.5 nm) artmaktadır.

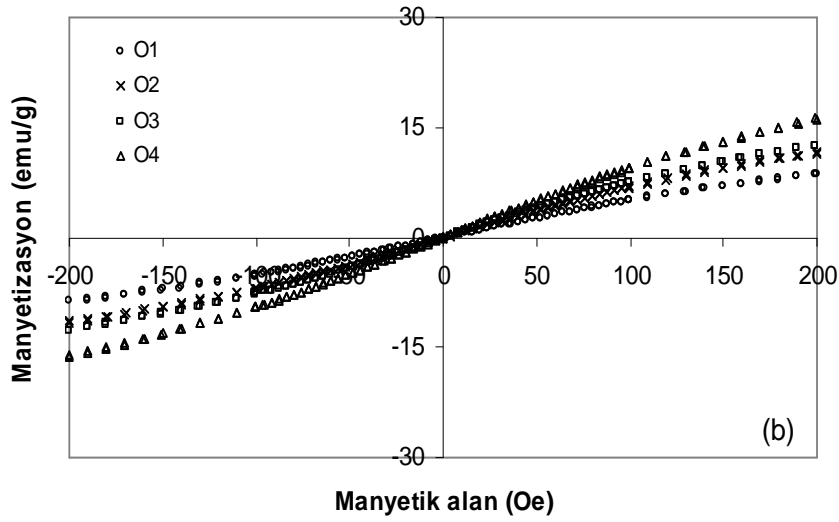
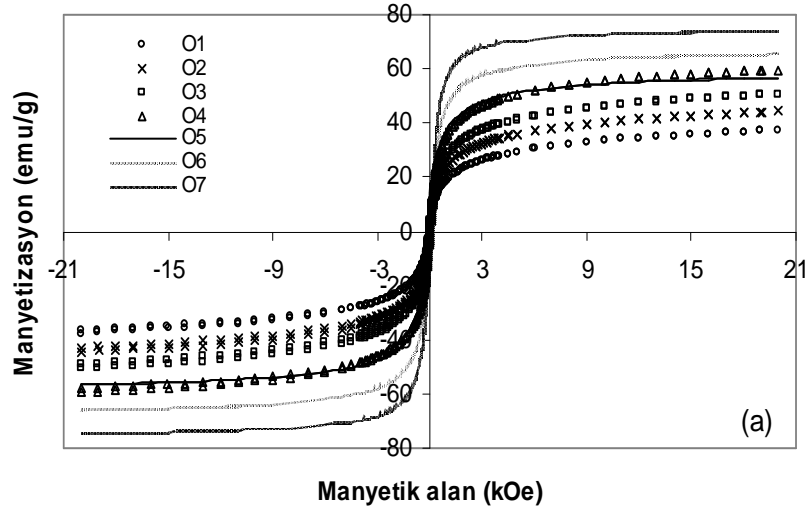


Şekil 4.18: (a) S1, (b) S4 ve (c) S9 numunelerine ait TEM fotoğrafları. (S1: 2 dakika, S4: 5 dakika, S9: 90 dakika'dır. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, baz konsantrasyonu = 4.0 M, karıştırma hızı = 1500 rpm ve reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C olarak sabit tutulmuştur.) (Skala çizgileri 20 nm'dir.)

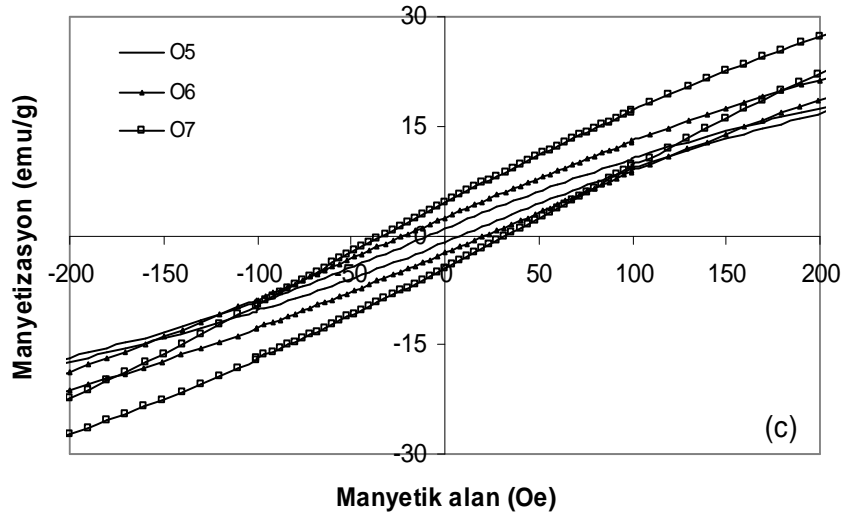
4.1.3 Manyetik Karakterizasyon

Numunelerin manyetik ölçümleri titreşimli numune magnetometresi (vibrating sample magnetometer, VSM) ile gerçekleştirildi. Tablo 4.1'de verilen farklı $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranları ile sentezlenen numunelerin (O1-O7) manyetizasyon eğrileri Şekil 4.19'da verilmektedir. Şekil 4.19 (a)'da ± 20 kOe gösterilen eğriler Şekil 4.19 (b) ve (c)'de ± 200 Oe aralığında gösterilmiştir. Bu grafiklerden de görüldüğü gibi

O1-O4 numuneleri sıfır H_c koersivite, H_c değerine sahip olduğundan süperparamanyetiktir. Oysa O5, O6 ve O7 numuneleri sırasıyla 8, 22 ve 33 Oe H_c 'ye sahiptir. Doyum manyetizasyonu, M_s değerleri O1 numunesinden O7 numunesine kadar sırasıyla 37.63, 43.99, 50.78, 59.37, 56.83, 65.64 ve 74.34 emu/g'dır. Süperparamanyetik nanoparçacıklar içinde en yüksek M_s değeri (59.37 emu/g) $[Fe^{+2}]/[Fe^{+3}]$ oranı 6/6 (1/1) olan numuneye aittir. H_c gösteren nanoparçacıklar için $[Fe^{+2}]/[Fe^{+3}]$ oranı 1/- olan numune yani yalnızca Fe^{+2} iyonları içeren demir çözeltisi kullanılarak sentezlenen numune 74.34 emu/g M_s değerine sahiptir (Tablo 4.2'ye bakınız). O1'den O4'e kadar numunelerin manyetik boyutları Bölüm 3.5'de anlatıldığı gibi Chantrell yaklaşımı [76-78] kullanılarak standart sapma değerleriyle birlikte sırasıyla 6.4 ± 0.7 , 6.5 ± 0.7 , 6.6 ± 0.7 ve 7.0 ± 0.6 nm olarak hesaplanmıştır. Numunelerin manyetik ölçüm sonuçları ve manyetik boyutları Tablo 4.2'de verilmiştir. XRD desenlerinde en şiddetli pikten hesaplanan kristal boyutlarındaki, TEM fotoğraflarından elde edilen fiziksel parçacık boyutlarındaki ve manyetik verilerden hesaplanan manyetik boyutlardaki değişim birbiri ile uyumludur. M_s değerleri de parçacık boyutlarının artması ile uyumlu şekilde artmaktadır. Bu sonuç, belli bir boyutun altındaki nanoparçacıklarda M_s ile parçacık boyutu arasındaki orantılı ilişki ile uyumludur [98]. O5 numunesinden itibaren gözlenen H_c değeri parçacık boyutunun artışının bir göstergesidir. O5'ten O7'ye kadar parçacık boyutunun artışı ile birlikte H_c değerinde de (8 Oe'ten 33 Oe'e) artış görülmektedir. Bölüm 2.3.2 ve Bölüm 2.3.3'te açıklandığı gibi süperparamanyetik parçacık boyutu sınırından büyük parçacıklarda H_c gözlenir. Bu bilgiye dayanarak ~11 nm değeri bu çalışmada elde edilen demir oksit numunelerin H_c gösterdiği değer için yaklaşık bir sınır olarak değerlendirilebilir. O1-O7 numuneleri için, $[Fe^{+2}]/[Fe^{+3}]$ oranı arttıkça doyum alanı, H_s değerleri H_c göstermeyen numunelerde 15021 Oe'ten 11531 Oe'e, H_c gösteren numunelerde ise 8836 Oe'ten 5037 Oe'e değişmektedir. $[Fe^{+2}]/[Fe^{+3}]$ oranı arttıkça H_s değerleri azalmaktadır yani elde edilen daha yüksek M_s 'e sahip numuneyi manyetize etmek kolaylaşmaktadır.



Şekil 4.19: Farklı $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}]$ oranlarında sentezlenen demir oksit nanoparçacıklarının (a) ± 20 kOe aralığında, (b) ± 200 Oe aralığında manyetizasyon eğrileri (O1: $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}] = 1/2$, O2: $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}] = 2/3$, O3: $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}] = 5/6$, O4: $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}] = 1$), c) ± 200 Oe aralığında manyetizasyon eğrileri (O5: $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}] = 2/1$, O6: $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}] = 4/1$, O7: $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}] = 1/-$). (Diğer parametreler; demir iyon konsantrasyonu = 1000 mM, baz konsantrasyonu = 6.7 M, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.)

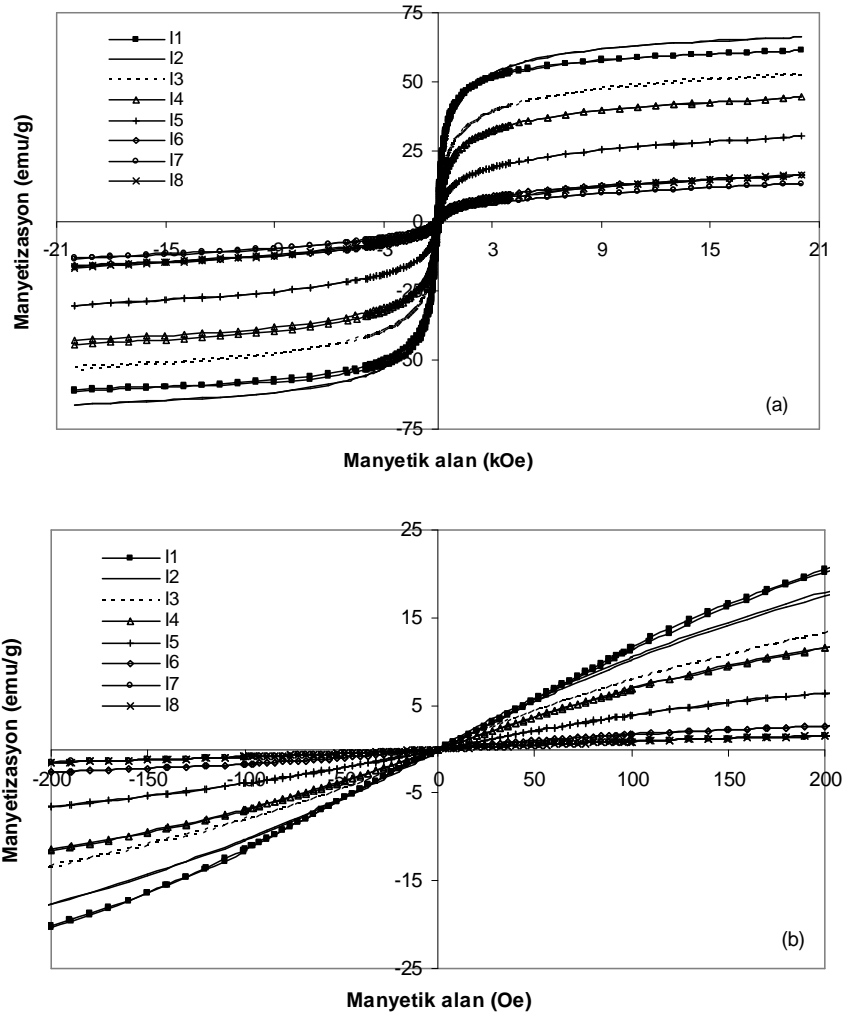


Şekil 4.19'un devamı: Farklı $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}]$ oranlarında sentezlenen demir oksit nanoparçacıkların (a) ± 20 kOe aralığında, (b) ± 200 Oe aralığında manyetizasyon eğrileri (O1: $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}] = 1/2$, O2: $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}] = 2/3$, O3: $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}] = 5/6$, O4: $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}] = 1$), c) ± 200 Oe aralığında manyetizasyon eğrileri (O5: $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}] = 2/1$, O6: $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}] = 4/1$, O7: $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{Fe}^{3+}] = 1/-$). (Diğer parametreler; demir iyon konsantrasyonu = 1000 mM, baz konsantrasyonu = 6.7 M, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.)

Farklı demir iyon konsantrasyonları ile sentezlenen numunelere ait manyetizasyon eğrileri Şekil 4.20'de verilmektedir. Şekil 4.20 (b)'den de görüldüğü gibi sıfır Oe H_c 'ye sahip olan tüm numuneler süperparamanyetik özellik göstermektedir. M_s değerleri I1 numunesinden I8 numunesine kadar sırasıyla 60.05, 63.71, 57.85, 43.99, 32.86, 15.65, 14.00 ve 16.39 emu/g'dır. M_s , toplam demir iyon konsantrasyonu 2000 mM olduğunda en yüksek değerine ulaşmıştır. Demir iyonu konsantrasyonu azaldıkça M_s azalmış 500 mM değerinden sonra sabitlenmiştir. Bu durum, I6 ve sonraki numuneler için XRD ve FT-IR analizlerinde belirtildiği gibi kristalleşmenin ve numunedeki demir oksit miktarının azalması ile uyumludur. Numunelerin manyetik boyutları standart sapma değerleriyle birlikte I1'den I8'e doğru sırasıyla 7.5 ± 0.5 , 7.0 ± 0.5 , 6.8 ± 0.7 , 6.5 ± 0.7 , 6.0 ± 0.7 , 5.7 ± 0.8 , 5.1 ± 0.8 ve 4.9 ± 0.6 nm'dir. Numunelerin manyetik ölçüm sonuçları ve manyetik boyutları, XRD desenlerinden hesaplanan kristal boyutları ve TEM fotoğraflarından ölçülen fiziksel parçacık boyutları ile birlikte Tablo 4.2'de verilmiştir. Manyetik verilerden hesaplanan manyetik boyutlar, XRD desenlerinden hesaplanan ve TEM ile

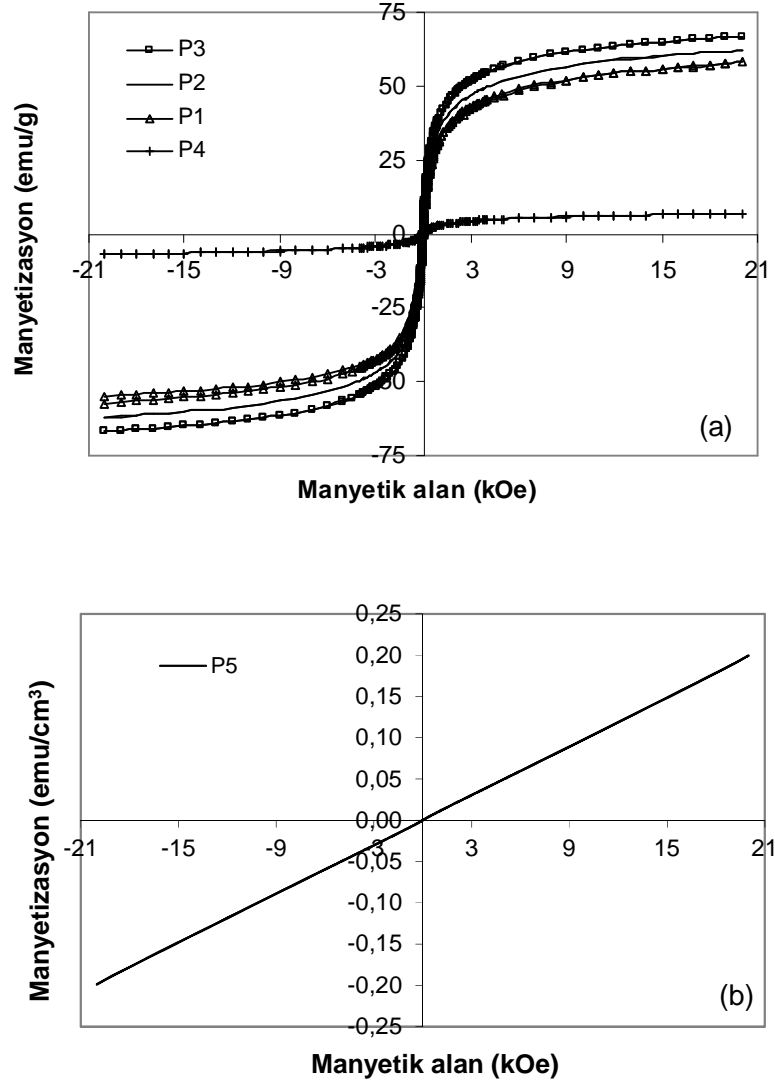
ölçülen parçacık boyutlarından küçüktür. Bu farkı açıklamak için değişik açıklamalar sunulabilir [49]. İlk açıklama olarak yüzeydeki manyetik ölü tabakanın varlığı verilebilir [99, 100]. İkinci düşünce ise nanoparçacıklarda manyetik olmayan ya da manyetizasyona katkısı daha küçük olan fazların bulunması olabilir. Nanometre mertebesindeki küçük manyetik parçacıklarda toplam spinlerin önemli bir kısmı yüzeydedir. Örneğin 2 nm'den küçük parçacıklarda spinlerin 1/3'ü yüzeyde bulunur. Sonuç olarak, böyle bir parçacığın özellikleri bulk durumdakinden farklı olur. Bu durum birçok ferrimanyetik oksit için de geçerlidir. Bu tür durumlarda yüzeydeki eksik bağlar ve kusurlar manyetik düzeni bozar ve parçacığın tümünde düzgün bir manyetizasyon elde edilemez. Yüzeydeki spinler içteki spinlere göre demanyetize durumdadır. Bu gerçek, önceleri parçacığın manyetizasyonuna hiç katkısı olmayan manyetik olarak ölü bir tabakanın varlığı şeklinde yorumlanmıştır. Daha sonra Coey [101] γ -Fe₂O₃ ferrimanyetik nanoparçacıklarda M_s'teki düşüşün rastgele yönelmiş yüzey spinlerinin alt örgüler arası antiferromanyetik etkileşmesinden kaynaklandığını öne sürmüştür ve 6 nm boyutunda parçacıklara uygulanan 5T'lık manyetik alanın parçacıktaki tüm spinleri yönlendirmeye yetmediğini görmüştür. Manyetik nanoparçacıklarda ortaya çıkan bu durum araştırılmaya devam etmektedir [102]. Parçacıkların fiziksel boyutları hemen hemen aynı olmakla birlikte manyetik boyutlardaki düşüş I1'den I8'e doğru M_s değerlerindeki düşüşü açıklayabilir. Belli bir boyutun altındaki nanoparçacıklarda M_s ile parçacık boyutu arasında orantılı ilişki vardır [98]. Buna göre parçacık boyutu azaldıkça M_s değerinin azalması literatürle uyumludur. Ancak M_s'teki belirgin düşüşün bir başka nedeninin de XRD ve FT-IR analizinden ve TEM fotoğraflarından (Şekil 4.14) görüldüğü gibi demir iyon konsantrasyonu azaldıkça I6 numunesinden itibaren ortaya çıkan demir oksit dışındaki fazlar olduğu düşünülebilir. Bölüm 4.1.2.1'de açıklanan LaMer mekanizmasına göre çözeltideki iyon miktarı belli bir konsantrasyona ulaştıktan sonra çekirdeklenme meydana gelir ve daha sonra büyüme ile parçacıklar gelişir [50, 51]. Demir iyon konsantrasyonunun düşük olduğu durumlarda çekirdeklenme ve büyüme için yeterli parçacık sayısına ulaşamazsa demir oksit oluşumu sınırlı kalabilir ve son üründe amorf yapılar bulunabilir [48]. Düşük demir iyon konsantrasyonlarında sentezlenen numunelerin XRD desenlerinde ve TEM fotoğrafında (I6) amorf yapıların gözlenmesi ile FT-IR spektrumunda demir oksihidroksite ait piklerin bulunması bu durumla uyumludur.

Toplam demir iyon konsantrasyonu arttıkça M_s 'e ulaşmak için uygulanan manyetik alan, H_s artmaktadır. I1 numunesinde I8 numunesine doğru H_s 9342 Oe'ten 18808 Oe'e değişmektedir yani numuneleri doyuma götürmek zorlaşmaktadır. Bunun sebebi ise daha büyük boyutlu manyetik nanoparçacıkların manyetik alan tarafından daha kolay yönlendirilmesi olarak düşünülebilir. Ayrıca numunede demir oksitten başka ürünlerin de bulunmasının H_s değerini yükseltmesi mümkündür.

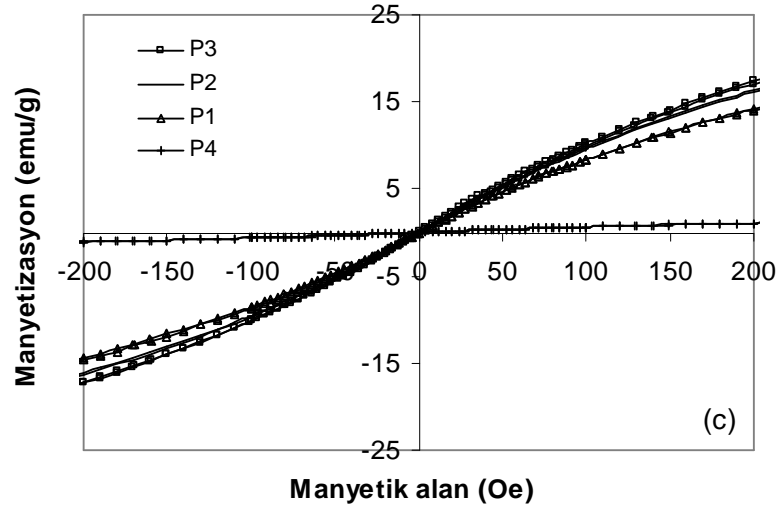


Şekil 4.20: Toplam demir iyonu konsantrasyonu değiştirilerek sentezlenen demir oksit nanoparçacıkların (a) ± 20 kOe aralığında (b) ± 200 Oe aralığında manyetizasyon eğrileri. (I1: 1000 mM Fe^{+2} , 1500 mM Fe^{+3} , I2: 800 mM Fe^{+2} , 1200 mM Fe^{+3} , I3: 600 mM Fe^{+2} , 900 mM Fe^{+3} , I4: 400 mM Fe^{+2} , 600 mM Fe^{+3} , I5: 300 mM Fe^{+2} , 450 mM Fe^{+3} , I6: 200 mM Fe^{+2} , 300 mM Fe^{+3} , I7: 100 mM Fe^{+2} , 150 mM Fe^{+3} , I8: 50 mM Fe^{+2} , 75 mM Fe^{+3} , tür. Diğer parametreler; $[Fe^{+2}]/[Fe^{+3}] = 2/3$, baz konsantrasyonu = 6.7 M, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.)

Farklı baz konsantrasyonları ile sentezlenen numunelere (P1-P5) ait manyetizasyon eğrileri Şekil 4.21'de verilmektedir. Manyetik ölçüm sonuçlarına göre P1, P2 ve P3 numuneleri sıfır O_e H_c 'ye sahip olup süperparamanyetikdir. P4 numunesi paramanyetiğe yakın özellik göstermektedir. P5 numunesi ise Şekil 4.21(c)'de görüldüğü gibi paramanyetikdir. P5 numunesi Bölüm 4.1.2.1'de anlatıldığı gibi çökelti halde elde edilemediğinden manyetik ölçümü sıvı halde yapılmıştır. Numunelerin M_s değerleri P1'den P3'e kadar sırasıyla 56.85, 62.29 ve 67.16 emu/g'dır. Baz konsantrasyonu azaldıkça M_s yükselmiştir. Bununla birlikte belli bir konsantrasyonun altında M_s 'de büyük bir düşüş görülmektedir. P4 numunesinin M_s değeri 6.93 emu/g'dır. Bölüm 2'de Tablo 2.2'den görüldüğü gibi bulk magnetit ve maghemitin M_s 'leri sırasıyla 90-92 emu/g ve 80 emu/g iken α -FeOOH'ın <1 emu/g, δ -FeOOH'ın <10 emu/g'dır [37]. XRD ve FT-IR analizlerinden de anlaşıldığı gibi P4 numunesi istenen demir oksit özelliklerinde elde edilememiştir, ürün çoğunlukla demir oksihidroksittir. Bu nedenle kristal boyutu 14.42 nm olarak hesaplanmasına rağmen P4 numunesinin M_s değerinin düşük olması demir oksit dışındaki fazlardan kaynaklanmaktadır. P4'ün sentez şartlarında tamamen demir oksit elde edilememesinin, pH değerinin uygun olmamasından kaynaklandığı Bölüm 4.1.2.1'de açıklanmıştır. H_s değerleri, baz konsantrasyonu azaldıkça 13695 Oe'ten 12154 Oe'e azalmaktadır, yani numuneler daha kolay doyuma ulaşmaktadır. P4 numunesinde ise H_s 16124 Oe olarak ölçülmüştür. Bu büyük artış P4 numunesinin paramanyetik özelliğe yakın yapısından kaynaklanmaktadır. Numunelerin hesaplanan manyetik parçacık boyutları standart sapma değerleriyle birlikte P1, P2 ve P3 için sırasıyla 6.6 ± 0.7 , 6.7 ± 0.7 ve 7.0 ± 0.6 nm'dir. Numunelerin manyetik ölçüm sonuçları ve manyetik boyutları Tablo 4.2'de verilmiştir. Manyetik boyutlar kristal boyutları ve fiziksel parçacık boyutları ile uyumlu ve onlardan daha küçüktür. Tablo 4.2 den de görüleceği gibi demir oksit fazdaki numunelerde (P1-P3) parçacık boyutu arttıkça M_s değerleri artmaktadır. Bu sonuç, literatürde [98] verilen M_s 'in parçacık boyutu ile orantılı ilişkisiyle uyumludur. Bununla birlikte parçacık boyutu azaldıkça H_s değerleri artmakta numuneyi manyetik doyuma götürmek zorlaşmaktadır.



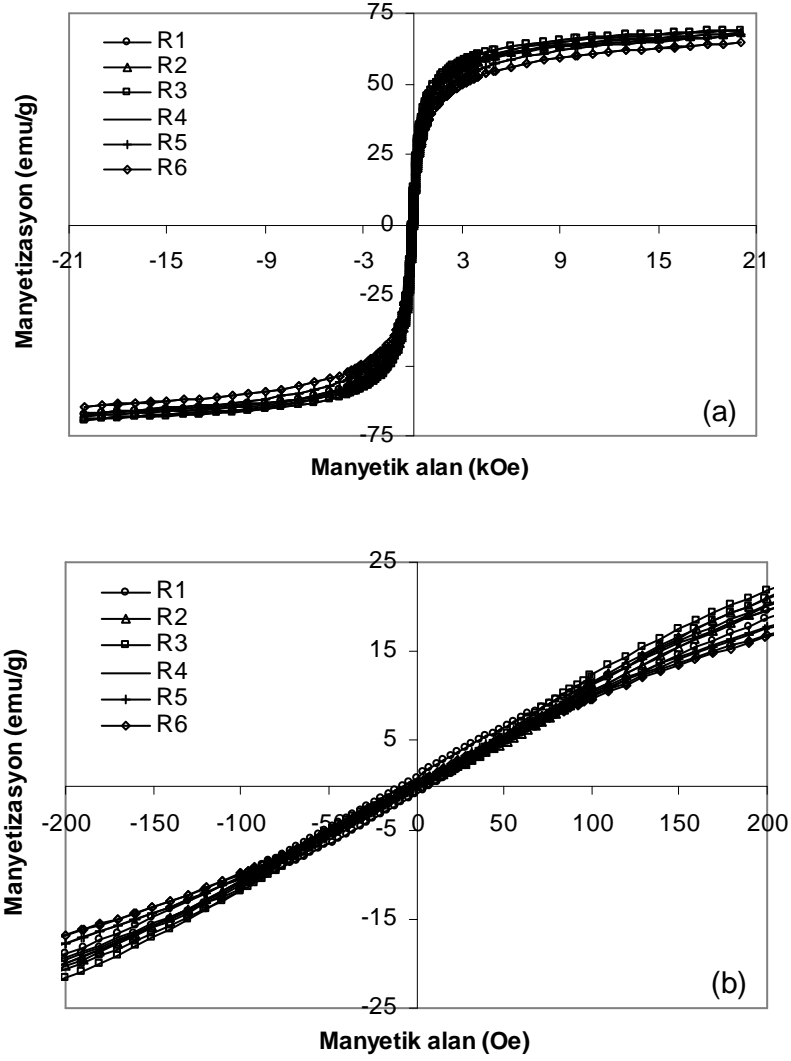
Şekil 4.21: Farklı baz konsantrasyonları kullanılarak sentezlenen demir oksit nanoparçacıkların (a) ve (b) ± 20 kOe aralığında (c) ± 200 Oe aralığında manyetizasyon eğrileri. (P1: 6.7 M NH_3 , P2: 5.3 M NH_3 , P3: 4.0 M NH_3 , P4: 2.7 M NH_3 , P5: 0.7 M NH_3 'tür. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.)



Şekil 4.21'in devamı: Farklı baz konsantrasyonları kullanılarak sentezlenen demir oksit nanoparçacıkların (a) ve (b) ± 20 kOe aralığında (c) ± 200 Oe aralığında manyetizasyon eğrileri. (P1: 6.7 M NH_3 , P2: 5.3 M NH_3 , P3: 4.0 M NH_3 , P4: 2.7 M NH_3 , P5: 0.7 M NH_3 'tür. Diğer parametreler $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, karıştırma hızı = 1500 rpm, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.)

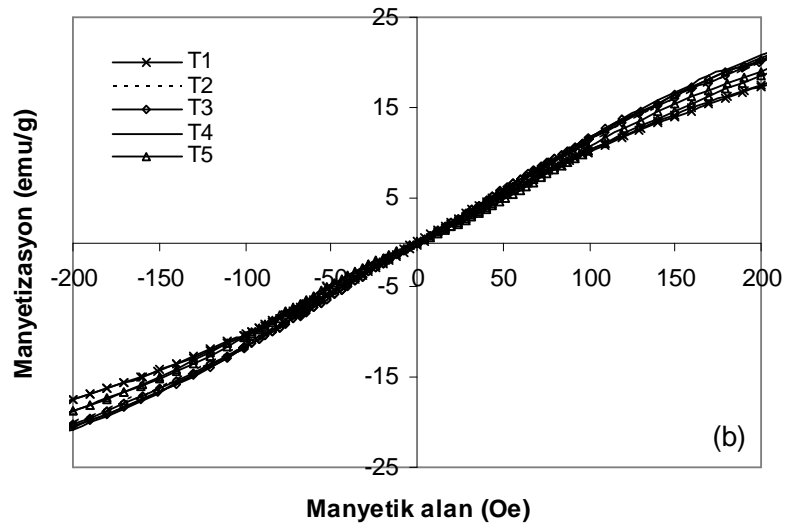
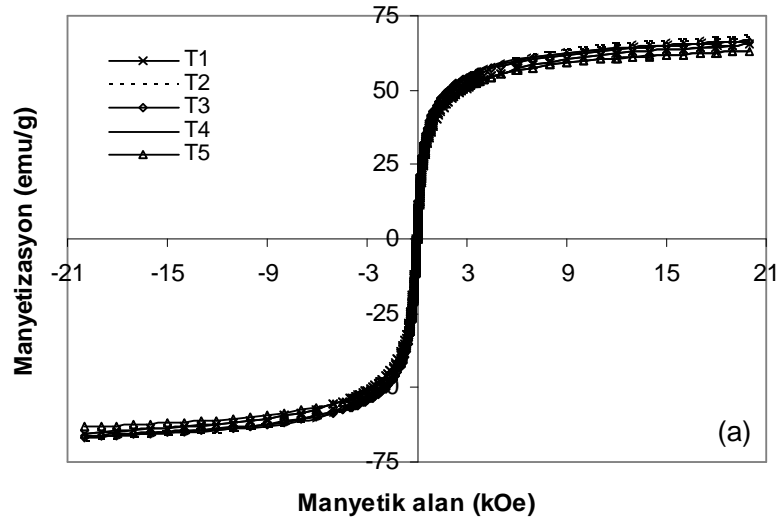
Farklı karıştırma hızlarında sentezlenen numunelerin manyetizasyon eğrileri Şekil 4.22'de verilmektedir ve tüm numuneler süperparamanyetiktir. M_s değerleri R1 numunesinden R6 numunesine kadar sırasıyla 67.20, 68.06, 69.21, 68.83, 67.16 ve 64.64 emu/g'dır. 100-1500 rpm karıştırma hızı aralığında M_s değerlerinde büyük değişiklikler meydana gelmemiştir. Karıştırma hızı arttıkça 100-700 rpm aralığında M_s az miktarda artmış, 700-1800 rpm aralığında ise azalmıştır. Karıştırma hızının 100-1800 rpm aralığında M_s 'i değiştiren etkin bir parametre olmadığı düşünülebilir. H_s değerleri 9591 Oe ile 12320 Oe arasında değişmektedir. Numunelerin hesaplanan manyetik boyutları standart sapma değerleriyle birlikte R1'den R6'ya doğru sırasıyla 6.9 ± 0.5 , 6.9 ± 0.5 , 7.0 ± 0.4 , 6.8 ± 0.4 , 7.0 ± 0.6 ve 6.8 ± 0.6 nm'dir. Numunelerin manyetik ölçüm sonuçları ve manyetik boyutları Tablo 4.2'de verilmiştir. Fiziksel parçacık boyutlarının artmasına rağmen manyetik boyutların değişmemesi parçacıklar üzerinde bulunan manyetik olarak ölü tabakanın göstergesi olarak düşünülebilir [99, 100]. Bölüm 4.1.2.3'teki TEM analizinde ortamda daha çok O_2 'in devinimi sonucu parçacık boyutlarının büyümüş olabileceği düşünülmekteydi. Karıştırma hızının artması sonucu ortamdaki O_2 sirkülasyonunun artmış olduğu ve

bu nedenle parçacıkların yüzeyinde bir tabaka oluştuğu; böylece manyetik boyutların fiziksel boyutlardan daha küçük olduğu yorumu yapılabilir.



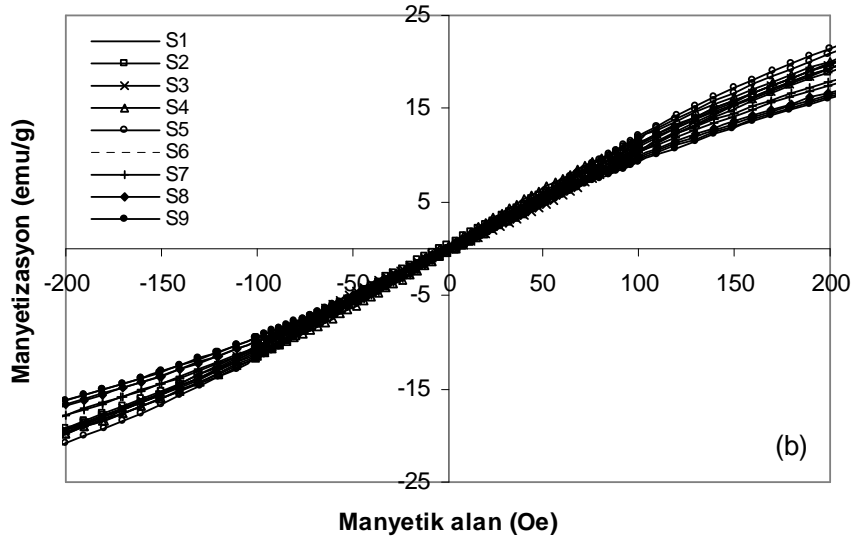
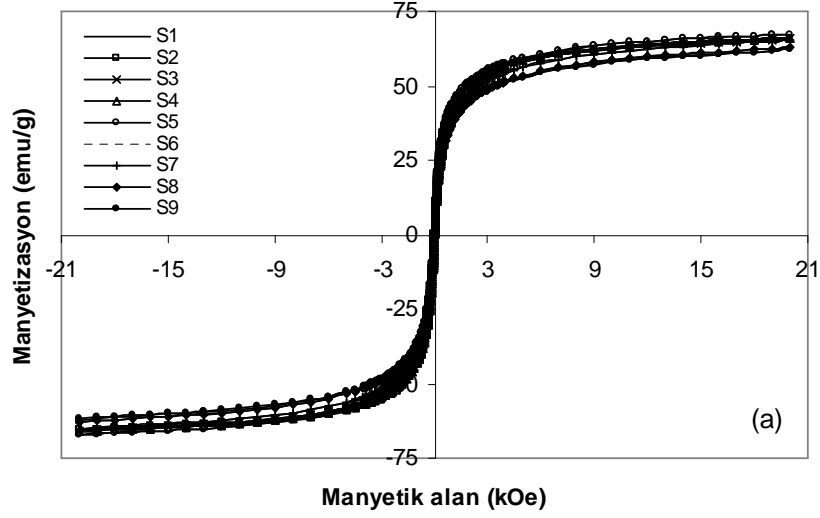
Şekil 4.22: Farklı karıştırma hızlarında sentezlenen demir oksit nanoparçacıkların (a) ± 20 kOe aralığında (b) ± 200 Oe aralığında manyetizasyon eğrileri. (R1: 100 rpm, R2: 300 rpm, R3: 700 rpm, R4: 1100 rpm, R5: 1500 rpm, R6: 1800 rpm'dir. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, baz konsantrasyonu = 4.0 M, reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.)

Tablo 4.1’de verilen şartlarda 20 °C’den 85 °C’ye kadar farklı sıcaklıklarda sentezlenen numunelerin (T1-T5) manyetizasyon eğrileri Şekil 4.23’te verilmektedir. Manyetik ölçüm sonuçlarına göre tüm numuneler süperparamanyetiktir. Sıcaklığın M_s değerlerinde büyük değişikliklere neden olmadığı Tablo 4.2’den görülmektedir. Sıcaklık arttıkça M_s değerleri bir miktar azalmış T1 için 67.16 emu/g değerinden T5 için 63.06 emu/g değerine düşmüştür. H_s değerleri 10156-12154 Oe arasında değişmektedir. Numunelerin manyetik boyutları standart sapma değerleriyle birlikte T1’den T5’e doğru sırasıyla 7.0 ± 0.6 , 7.2 ± 0.5 , 7.2 ± 0.5 , 7.1 ± 0.5 ve 7.2 ± 0.5 nm olarak hesaplanmıştır. XRD desenlerinden ve TEM fotoğraflarından elde edilen boyutlar ile manyetik ölçüm verilerinden hesaplanan parçacık boyutları Tablo 4.2’de özetlenmiştir. Bu çalışmada sıcaklık arttıkça kristal boyutlarında ve manyetik parçacık boyutlarında belirgin bir değişim olmadığı görülmektedir. M_s değerlerinin sıcaklık artışıyla az miktarda azaldığı gözlenmektedir. Kristal ve fiziksel boyutlar ile manyetik parçacık boyutları arasındaki fark manyetik olarak ölü tabakanın [99, 100] varlığı ile açıklanabilir. Tang J. Ve ark. çalışmasında [103] su ortamında farklı sıcaklıklarda Fe_3O_4 ’ün Fe_2O_3 ’e dönüşümü açıklanmıştır. Bizim çalışmamızda sıcaklık arttıkça M_s değerleri azalırken manyetik parçacık boyutlarının değişmemesi yüksek sıcaklıkta yapılan sentezlerde elde edilen numunelerin düşük sıcaklıktakilere göre daha fazla oranda maghemit faz içerdiği şeklinde yorumlanabilir [103].



Şekil 4.23: Farklı sıcaklıklarda sentezlenen demir oksit nanoparçacıkların (a) ± 20 kOe aralığında (b) ± 200 Oe aralığında manyetizasyon eğrileri. (T1: 20 °C, T2: 40 °C, T3: 60 °C, T4: 80 °C, T5: 85 °C'dir. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, baz konsantrasyonu = 4.0 M, karıştırma hızı = 1500 rpm ve reaksiyon süresi = 30 dakika olarak sabit tutulmuştur.)

Farklı sürelerde sentezlenen numunelerin (S1-S9) manyetizasyon eğrileri Şekil 4.24'te verilmektedir. Numuneler sıfır $O_e H_c$ 'ye sahiptir ve süperparamanyetik karakterdedir. M_s değerleri 65.37 emu/g ile 68.00 emu/g arasında değişmektedir. Tablo 4.2'den görüldüğü gibi, 45 dakikaya kadar yapılan sentezlerde (S1-S7) reaksiyon süresi M_s değerlerinde büyük değişikliklere neden olmamıştır. 45 dakikadan uzun süren sentezlerde M_s değerlerinde düşüş görülmektedir. 60 ve 90 dakikada yapılan sentezlerde (S8 ve S9) M_s değeri yaklaşık 62 emu/g civarına düşmüştür. H_s değerleri ise 9658 Oe ile 12065 Oe arasında değişmektedir. Reaksiyon sırasında ilk dakikalarda siyaha dönme ve demir oksit oluşumunun gerçekleştiği gözlenmiştir ki bu XRD ve FT-IR analizi sonuçlarıyla uyumludur. S1 numunesinde olduğu gibi 2 dakika gibi kısa süreli reaksiyonlarda da demir oksit yapısında numune elde edilebildiği Bölüm 4.1.2.1'de görülmüştü. Farklı reaksiyon sürelerinde sentezlenen numunelerin manyetik parçacık boyutları 6.8 ± 0.6 ile 7.2 ± 0.5 nm arasında değişmektedir. Hesaplanan manyetik boyutlar standart sapma değerleriyle birlikte Tablo 4.2'de verilmiştir. Manyetik parçacık boyutundaki değişim M_s değerlerinin değişimi ile uyumludur. Reaksiyon süresinin 30 dakikadan daha uzun olduğu numunelerde yani S6-S9 numunelerinde manyetik parçacık boyutu önemli ölçüde değişmemesine rağmen, M_s değerleri az miktarda azalmıştır. Ortak çöktürme yöntemi ile demir oksit oluşumunda farklı reaksiyonların meydana gelebileceği Bölüm 2.5.1'deki (2.27) - (2.38) denklemleri ile verilmişti. Açık hava ortamında gerçekleşen uzun süreli sentezlerde elde edilen numunelerin, kısmen ölü tabaka içerebileceği düşünülebilir.



Şekil 4.24: Farklı sürelerde sentezlenen demir oksit nanoparçacıklarının (a) ± 20 kOe aralığında (b) ± 200 Oe aralığında manyetizasyon eğrileri (S1: 2 dakika, S2: 3 dakika, S3: 4 dakika, S4: 5 dakika, S5: 15 dakika, S6: 30 dakika, S7: 45 dakika, S8: 60 dakika, S9: 90 dakika'dır. Diğer parametreler; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}] = 2/3$, demir iyon konsantrasyonu = 1500 mM, baz konsantrasyonu = 4.0 M, karıştırma hızı = 1500 rpm ve reaksiyon sıcaklığı = 20 ± 2 °C olarak sabit tutulmuştur.)

Tablo 4.2: Sentez parametrelerine bağlı olarak elde edilen parçacık boyutları ve manyetik sonuçlar

Sentez Parametreleri								Sonuçlar					
Numune	$\frac{[Fe^{+2}]}{[Fe^{+3}]}$	Fe ⁺² (mM)*	Fe ⁺³ (mM)*	NH ₄ OH (M)*	Karıştırma hızı (rpm)	Reaksiyon sıcaklığı (°C) (±2)	Reaksiyon süresi (dak.)	Parçacık boyutu			Manyetik ölçümler		
								Kristal boyutu (XRD) (nm)	Manyetik boyut (VSM) (nm±Δnm)	Fiziksel boyut (TEM) (nm±Δnm)	M _s (emu/g)	H _s (Oe)	H _c (Oe)
O1	1/2	333	667					7.0	6.4 ± 0.7	5.3 ± 1.6	37.63	15021	-
O2	2/3	400	600					7.1	6.5 ± 0.7	-	43.99	13826	-
O3	5/6	455	545					7.6	6.6 ± 0.7	-	50.78	13558	-
O4	6/6	500	500	6.7	1500	20	30	8.3	7.0 ± 0.6	7.9 ± 2.7	59.37	11531	-
O5	2/1	667	333					10.6	-	-	56.83	8836	8
O6	4/1	800	200					14.0	-	11.7 ± 3.4	65.64	6809	22
O7	1/-	1000	-					17.5	-	-	74.34	5037	33
I1		1000	1500					8.7	7.5 ± 0.5	7.6 ± 2.0	60.05	9342	-
I2		800	1200					7.7	7.0 ± 0.5	7.6 ± 2.5	63.71	11563	-
I3		600	900					7.3	6.8 ± 0.7	7.2 ± 2.4	57.85	13695	-
I4	2/3	400	600	6.7	1500	20	30	7.5	6.5 ± 0.7	-	43.99	13826	-
I5		300	450					7.7	6.0 ± 0.7	-	32.86	16469	-
I6		200	300					5.7	5.7 ± 0.8	6.4 ± 2.4	15.65	17219	-
I7		100	150					4.1	5.1 ± 0.8	-	14.00	18607	-
I8		50	75					4.4	4.9 ± 0.6	-	16.39	18808	-
P1				6.7				7.3	6.6 ± 0.7	7.2 ± 2.4	57.85	13695	-
P2				5.3				7.5	6.7 ± 0.7	-	62.29	12905	-
P3	2/3	600	900	4.0	1500	20	30	8.4	7.0 ± 0.6	8.3 ± 3.5	67.16	12154	-
P4				2.7				14.4	-	-	6.93	16124	-
P5				0.7				-	-	-	-	-	-

Tablo 4.2'nin devamı

Sentez Parametreleri								Sonuçlar					
Numune	$\frac{[Fe^{+2}]}{[Fe^{+3}]}$	Fe ⁺² (mM)*	Fe ⁺³ (mM)*	NH ₄ OH (M)*	Karıştırma hızı (rpm)	Reaksiyon sıcaklığı (°C) (±2)	Reaksiyon süresi (dak.)	Parçacık boyutu			Manyetik ölçümler		
								Kristal boyutu (XRD) (nm)	Manyetik boyut (VSM) (nm±Δnm)	Fiziksel boyut (TEM) (nm±Δnm)	M _s (emu/g)	H _s (Oe)	H _c (Oe)
R1					100			10.2	6.9 ± 0.5	6.9 ± 2.5	67.20	10352	-
R2					300			10.2	6.9 ± 0.5	-	68.06	10546	-
R3	2/3	600	900	4.0	700	20	30	9.2	7.0 ± 0.4	7.0 ± 2.5	69.21	9591	-
R4					1100			9.0	6.8 ± 0.4	-	68.83	10504	-
R5					1500			8.4	7.0 ± 0.6	8.3 ± 3.5	67.16	12154	-
R6					1800			9.7	6.8 ± 0.6	-	64.64	12320	-
T1						20		8.4	7.0 ± 0.6	8.3 ± 3.5	67.16	12154	-
T2						40		8.2	7.2 ± 0.5	-	67.01	10879	-
T3	2/3	600	900	4.0	1500	60	30	8.2	7.2 ± 0.5	-	66.38	11026	-
T4						80		9.5	7.1 ± 0.5	-	65.79	10956	-
T5						85		9.3	7.2 ± 0.5	8.7 ± 2.7	63.06	10156	-
S1							2	8.8	7.0 ± 0.5	6.5 ± 1.7	66.09	10172	-
S2							3	-	7.1 ± 0.5	-	65.60	10023	-
S3							4	-	7.0 ± 0.5	-	65.34	10155	-
S4							5	8.1	7.3 ± 0.5	7.8 ± 2.9	66.06	9658	-
S5	2/3	600	900	4.0	1500	20	15	8.5	7.2 ± 0.5	-	67.25	9991	-
S6							30	8.4	7.0 ± 0.6	8.3 ± 3.5	67.16	12154	-
S7							45	-	7.0 ± 0.6	-	65.37	11504	-
S8							60	-	6.9 ± 0.6	-	62.91	12065	-
S9							90	10.0	6.8 ± 0.6	8.0 ± 2.3	62.08	11850	-

* Toplam çözelti miktarı 100 ml'dir.

4.2 Optimizasyon Yöntemiyle Yüksek Doyum Manyetizasyonuna Sahip Süperparamanyetik Demir Oksit Nanoparçacıkların Sentezi

Bu kısımda optimum doyum manyetizasyonu, M_s elde etmek amacıyla ortak çöktürme yöntemi ile sentezlenen süperparamanyetik nanoparçacıkların ortogonal dizayn tekniği kullanılarak optimizasyonu yapılmıştır. Sırasıyla optimizasyonun uygulanması, istatistiksel hesaplamaları ve optimum M_s 'li süperparamanyetik nanoparçacık elde edilebilmesi için reçetenin belirlenmesi, ardından optimizasyon sürecinde elde edilen numunelerin yapısal ve manyetik özellikleri anlatılmıştır. Son olarak da elde edilen reçete doğrultusunda sentezlenen optimum M_s 'e sahip numunenin karakterizasyonu yapılmıştır.

4.2.1 Demir Oksit Nanoparçacıkların Optimizasyonu

Bu çalışmanın daha önceki kısmı olan Bölüm 4.1'de ortak çöktürme yöntemi ile demir oksit nanoparçacık sentezi yapılmış ve bu sürece etki eden parametreler incelenmişti. Her bir parametrenin, elde edilen demir oksit nanoparçacıkların özellikleri üzerine etkisi belirlenmişti.

Bu çalışmanın ilk kısmındaki parametre incelemesi sonucu ortak çöktürme yöntemine etki eden parametreler $[Fe^{+2}]/[Fe^{+3}]$ oranı, demir iyon konsantrasyonu, baz konsantrasyonu ve reaksiyon süresi olarak belirlenmiştir. $[Fe^{+2}]/[Fe^{+3}]$ oranı için sınırlar 1/2 ve 1/1 olarak seçilmiştir. 1/2 oranı sitokiyometrik oran olduğundan alt sınır olarak seçilmiştir. Önceki kısımda yapılan incelemede 1/1'den daha büyük değerlerde sentezlenen numunelerde H_c gözlemlendiğinden üst sınır 1/1 olarak belirlenmiştir. Çünkü çalışmanın amacı süperparamanyetik demir oksit nanoparçacık sentezlemektir. Bölüm 4.1'deki manyetik ölçüm sonuçlarına göre, M_s değerinin sabitlendiği 500 mM değeri toplam demir iyon konsantrasyonu için alt sınır, 2500 mM ise üst sınır olarak belirlenmiştir. Çalışılan sistemde demir oksit elde edilebilen en düşük baz konsantrasyonu olan 4.0 M alt sınır, kullanılabilecek en yüksek baz konsantrasyonu yani stok çözeltinin konsantrasyonu olan 6.7 M ise üst sınır olarak seçilmiştir. Reaksiyonun gerçekleşebileceği minimum süre 2 dakika, sistemin

sağlıklı çalışabildiği en uzun süre 90 dakika olduğundan reaksiyon süresi için alt ve üst sınırlar 2 dakika ve 90 dakika olarak belirlenmiştir. Nanoparçacıkların özellikleri üzerinde etkisi gözlenmeyen karıştırma hızı ve reaksiyon sıcaklığı optimizasyon çalışması için sabit alınmış ve bu değerler sırasıyla en yüksek M_s değerinin görüldüğü 700 rpm ve çalışma kolaylığı açısından 20 ± 2 °C’de olarak seçilmiştir.

Belirlenen alt ve üst sınır değerlerine göre her bir parametre için 3 seviye değeri ve optimizasyon deneyleri için giriş parametreleri oluşturulmuştur. Bu giriş parametreleri Tablo 4.3’te verilmiştir. Burada yapılacak optimizasyon çalışmasında izlenen istatistiksel yöntem en basit yaklaşım olup, daha karmaşık yaklaşımlar da mevcuttur [65-67].

Tablo 4.3: Optimizasyon için belirlenen giriş parametreleri ve seviye değerleri.

Giriş Parametreleri		Alt değer (1)	Ara değer (2)	Üst değer (3)
A	$[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranı	1/2	3/4	1/1
B	Toplam demir iyon konsantrasyonu (mM)	500	1500	2500
C	Baz konsantrasyonu (M)	4.0	5.3	6.7
D	Reaksiyon süresi (dakika)	2	15	90

Tablo 4.4’te 4 parametrelili ve 3 seviye değerine sahip sistemde yapılması gereken deneyler verilmektedir. $D1'$ ve $D1''$ deneyleri birinci deney olan $D1'$ ’in tekrarlarıdır ve sürece ait rasgele dağılım hakkında standart sapma yoluyla bilgi vermesi açısından faydalı olacaktır. Deney 1, $D1'$ ’de $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranı 1/2, toplam demir iyon konsantrasyonu 500 mM, baz konsantrasyonu 4.0 M ve reaksiyon süresi 2 dakikadır. Bu şartlarda sentezlenen numunenin M_s ’i 61.64 emu/g’dır. Benzer şekilde diğer deneyler için de elde edilen sonuçlar Tablo 4.4’te verilmiştir.

Tablo 4.4: L_93^4 ortogonal tablosuna göre yapılan deneylerin sonuçları ve verilerin analizi.

Deney no	Giriş Parametreleri				Çıkış Parametresi
	$[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranı	Toplam demir iyon konsantrasyonu (mM)	Baz konsantrasyonu (M)	Reaksiyon süresi (dakika)	M_s (emu/g)
D1	(1) 1/2	(1) 500	(1) 4.0	(1) 2	61.64
D2	(1) 1/2	(2) 1500	(2) 5.3	(2) 15	61.29
D3	(1) 1/2	(3) 2500	(3) 6.7	(3) 90	59.21
D4	(2) 3/4	(1) 500	(2) 5.3	(3) 90	44.74
D5	(2) 3/4	(2) 1500	(3) 6.7	(1) 2	66.08
D1'	(1) 1/2	(1) 500	(1) 4.0	(1) 2	56.73
D6	(2) 3/4	(3) 2500	(1) 4.0	(2) 15	7.52
D7	(3) 1/1	(1) 500	(3) 6.7	(2) 15	56.74
D8	(3) 1/1	(2) 1500	(1) 4.0	(3) 90	66.70
D9	(3) 1/1	(3) 2500	(2) 5.3	(1) 2	58.75
D1''	(1) 1/2	(1) 500	(1) 4.0	(1) 2	58.62
M_1	$M_{A_1} = 59.83$	$M_{B_1} = 53.49$	$M_{C_1} = 44.41$	$M_{D_1} = 61.28$	
M_2	$M_{A_2} = 39.45$	$M_{B_2} = 64.69$	$M_{C_2} = 54.93$	$M_{D_2} = 41.85$	
M_3	$M_{A_3} = 60.73$	$M_{B_3} = 41.83$	$M_{C_3} = 60.68$	$M_{D_3} = 56.88$	
ΔM	$\Delta M_A = 21.28$	$\Delta M_B = 22.86$	$\Delta M_C = 16.27$	$\Delta M_D = 19.43$	Std.S*=2.48

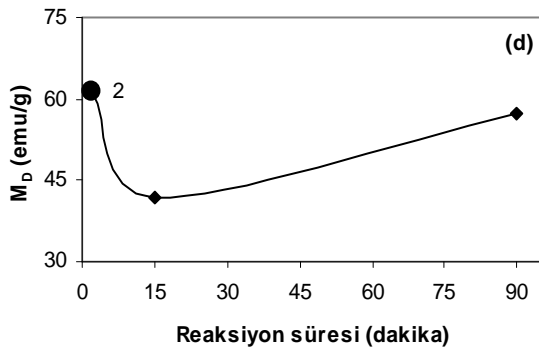
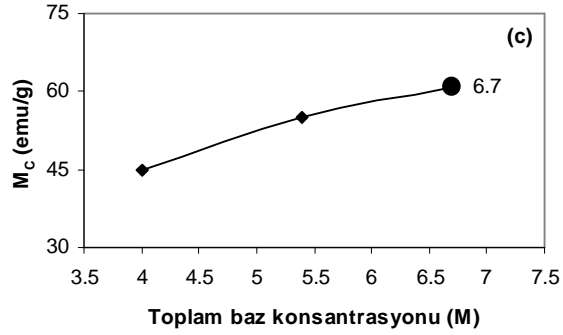
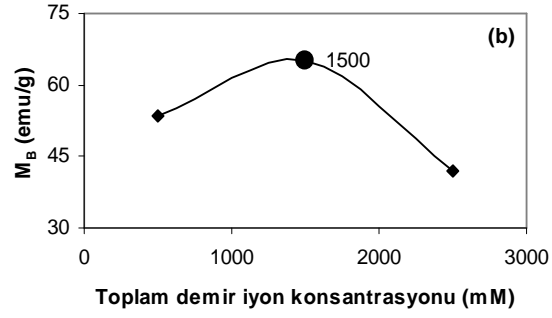
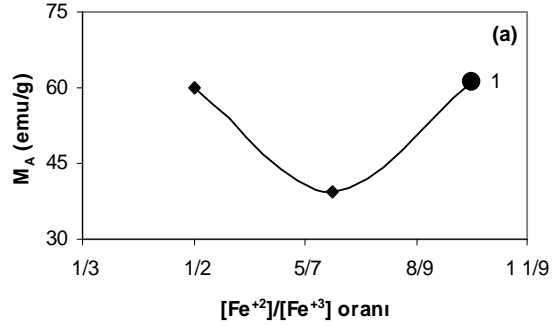
*Standart sapma

Elde edilen M_s değerlerinin analizi için öncelikle her bir giriş parametresi için çıkış değerlerinin aritmetik ortalaması alınır. Örneğin $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranının 1/2 değeri için D1, D2 ve D3'ün Tablo 4.4'te verilen çıkış değerlerinin ortalaması alınır ve $M_{A_1} = 59.83$ emu/g olarak elde edilir. Benzer şekilde bu parametrenin diğer seviye değerleri için ve diğer parametreler için de hesapları yapılırsa Tablo 4.4'ün sonunda verilen sonuçlar elde edilir. Bu hesaplamalara göre $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranı 1/2, 3/4 ve 1/1'e doğru değişirken M_s önce 59.83 emu/g'dan 39.45 emu/g'a düşer sonra 60.73 emu/g'a yükselir.

Burada M_{A_1} , M_{A_2} ve M_{A_3} , A parametresinin yani $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranının sırasıyla alt sınırına ait ortalama M_s , ara değere ait ortalama M_s ve üst sınırına ait ortalama M_s değeridir. ΔM_A ise $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ parametresine ait en büyük ortalama M_s ile en küçük ortalama M_s arasındaki farktır. Diğer ifadeler de B, C ve D parametreleri içindir.

Standart sapma, $D1$, $D1'$ ve $D1''$ deneylerine ait çıktı değerlerinden faydalanılarak hesaplanmış ve 2.48 emu/g olarak bulunmuştur. Tüm parametrelere ait farklar standart sapma değerinden büyük olduğu için tüm parametrelerin sistem üzerinde etkisi olduğu sonucu ortaya çıkmaktadır. Her bir parametreye ait fark değerlerini karşılaştırarak parametrelerin sistem üzerindeki etkileri hakkında yorum yapılabilir. En etkin parametrenin toplam demir iyon konsantrasyonu olduğu söylenebilir. Çünkü çıktı değerleri arası fark en fazla bu parametrede bulunmuştur. Sistem üzerindeki etkinliklerine göre parametreler en etkinden az etkine göre sırasıyla: Toplam demir iyon konsantrasyonu (B), $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranı (A), reaksiyon süresi (D) ve baz konsantrasyonu (C) şeklindedir.

Daha fazla bilgi, her parametreye ait ortalama M_s değerlerinin parametre seviyelerine karşı grafikleri Şekil 4.25'de görüldüğü gibi çizilerek elde edilebilir. Şekil 4.25 (a)'ya göre optimum sentez için belirlenen oran 1/1'dir ve bu orandan daha büyük değerler için daha büyük M_s değeri elde edilme ihtimali olabilir ancak Bölüm 4.1'de yapılan parametre çalışmasının sonuçlarına göre daha yüksek $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranlarında elde edilen nanoparçacıklar koersivite göstermektedir. Bu nedenle daha yüksek değerler seçilmemiştir. Benzer şekilde $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranı 1/2'den daha az olduğunda daha büyük M_s gözlenebilir ancak daha düşük değerler için sitokiyometrik oran dışına çıkılacağından bu değer çalışılabilecek minimum değerdir. Şekil 4.25 (b)'ye göre en yüksek M_s toplam demir iyon konsantrasyonunun 1500 mM olduğu durumda elde edilmektedir. Daha yüksek ve daha düşük iyon konsantrasyonları için M_s değerleri düşmektedir.



Şekil 4.25: Çıkış değerlerinin giriş parametre seviyelerine karşı grafikleri (a) $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranı, (b) toplam demir iyon konsantrasyonu, (c) baz konsantrasyonu, (d) reaksiyon süresi.

Baz konsantrasyonunun M_s 'e göre grafiğinde (Şekil 4.25 (c)) 6.7 M'dan büyük değerler için daha yüksek M_s elde edilebileceği düşünülebilir ancak bu değer stok çözeltiye ait en yüksek baz konsantrasyonudur. Benzer şekilde Şekil 4.25 (d)'de verilen grafikte en yüksek M_s değerinin gözlemlendiği reaksiyon süresi olan 2 dakika reaksiyonun gerçekleştiği minimum süredir.

Tablo 4.4'teki analiz sonuçları ve Şekil 4.25'te verilen grafiklere göre en yüksek M_s 'e sahip süperparamanyetik demir oksit nanoparçacık sentezlemek için kullanılacak optimum sentez şartları; $[Fe^{+2}]/[Fe^{+3}]$ oranı 1/1, toplam demir iyon konsantrasyonu 1500 mM, baz konsantrasyonu 6.7 M ve reaksiyon süresi 2 dakika olarak belirlenmiştir. Buna göre çalışılan sistem şartlarında optimum M_s 'e sahip süperparamanyetik demir oksit nanoparçacık sentezlemek için aşağıdaki reçete kullanılmıştır:

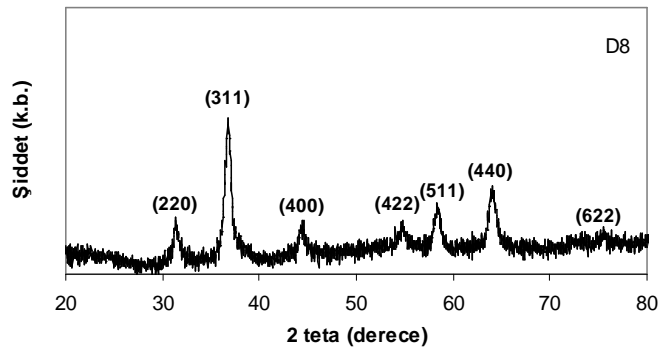
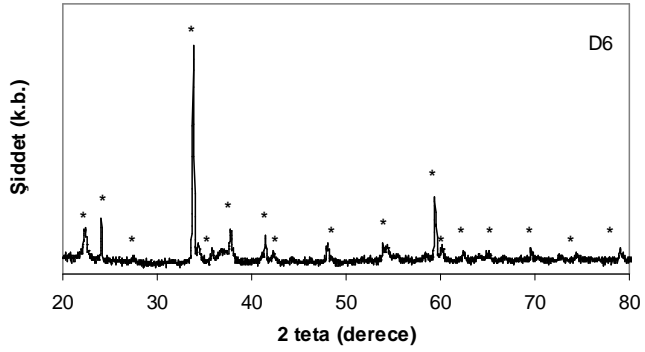
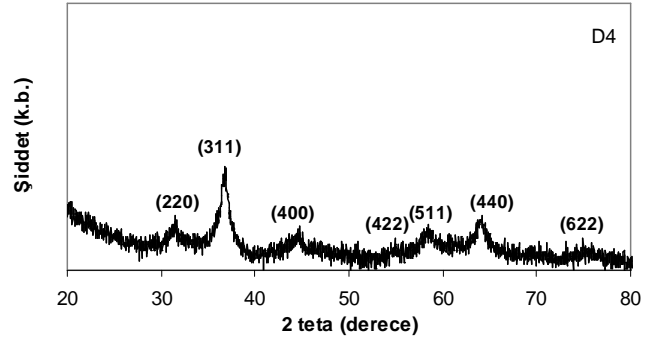
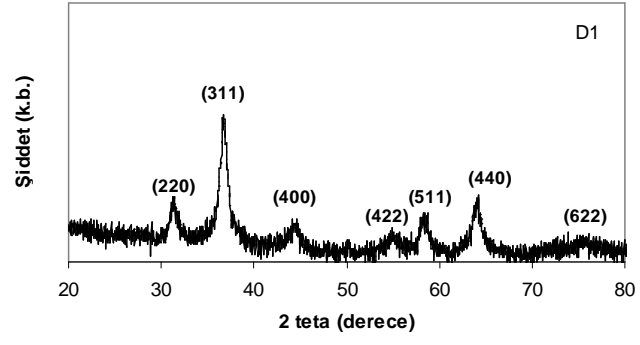
Optimum sentez şartları	3	2	3	1
-------------------------	---	---	---	---

4.2.2 Optimizasyon Analizi Yapılan Nanoparçacıkların Yapısal ve Manyetik Karakterizasyonu

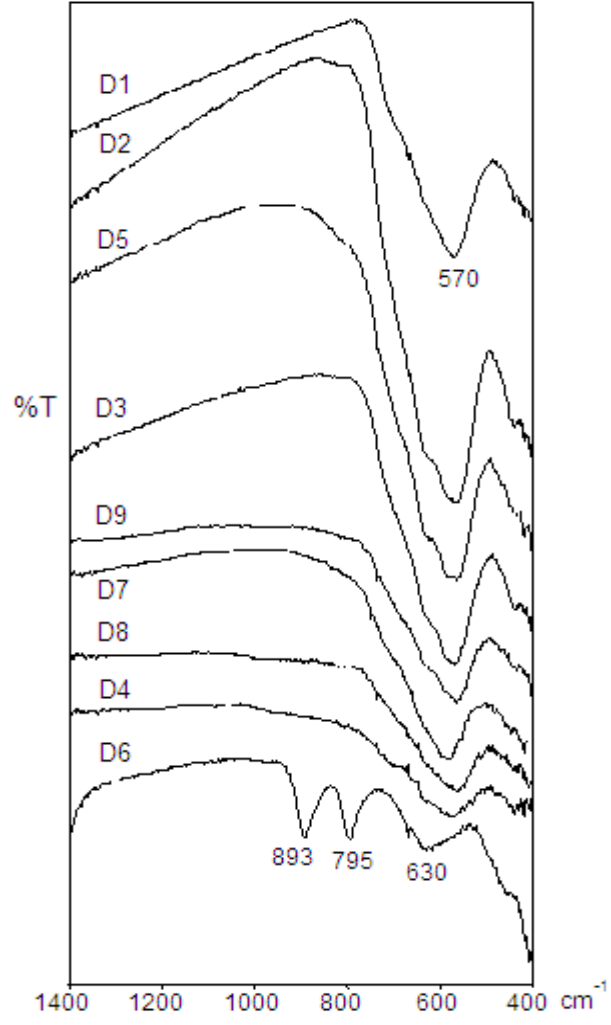
Bölüm 4.2.1'de anlatılan optimizasyon süreci sonucunda elde edilen bazı numunelere ait XRD grafikleri ve FT-IR spektrumu sırasıyla Şekil 4.26 ve Şekil 4.27'de verilmektedir. XRD desenlerine göre D1, D4 ve D8 numunelerinin kübik spinel demir oksit yapısında olduğu görülmektedir. $2\theta \approx 31^\circ, 36^\circ, 44^\circ, 54^\circ, 57^\circ, 63^\circ$ ve 75° civarında sırasıyla (220), (311), (400), (422), (511), (440) ve (622) pikleri görülmektedir. D6 numunesinin XRD deseninde demir oksihidroksit fazlara (α -FeOOH ve β -FeOOH) [104] ait olduğu düşünülen pikler görülmektedir ve '*' ile işaretlenmiştir. D6 numunesi dışındaki numunelerin FT-IR spektrumunda 570 cm^{-1} civarında demir oksit yapısına [88, 89] işaret eden transmitans piki görülmektedir. D6 numunesinin FT-IR spektrumunda ise 570 cm^{-1} 'deki pik kaybolmuş maghemit faza [83] ait olabilecek 630 cm^{-1} 'deki pik ortaya çıkmıştır. Ayrıca 795 ve 893 cm^{-1} 'de demir oksihidroksite (α -FeOOH) [90-94] ait transmitans pikleri görülmektedir. XRD desenine ve FT-IR spektrumuna göre D6 sentezi sonucunda elde edilen ürün istenen özellikte demir oksit olmadığından optimizasyon sürecindeki hesaplamalar,

M_s değeri sıfır kabul edilerek yapıldığında da elde edilen sonuç bizi optimum M_s 'e sahip süperparamanyetik demir oksit nanoparçacık sentezi için aynı reçeteye ulaştırmaktadır.

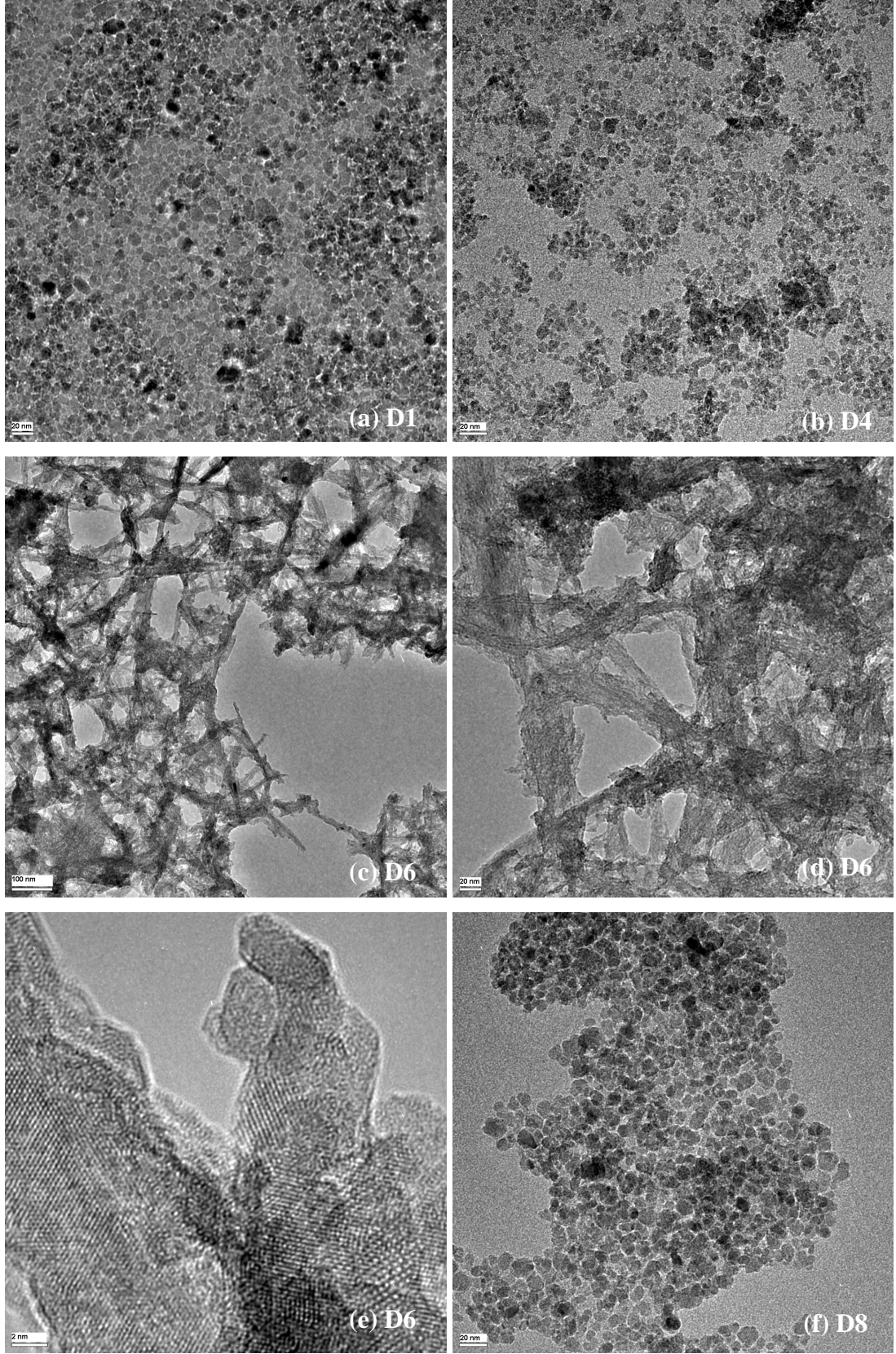
Şekil 4.28'de D1, D4, D6 ve D8 numunelerine ait TEM fotoğrafları verilmektedir. D1, D4 ve D8 numunelerine ait parçacık boyutları sırasıyla 6.8 ± 2.0 , 4.9 ± 1.7 ve 7.8 ± 2.3 nm'dir. Tablo 4.4'te verilen M_s değerleri parçacık boyutlarının değişimi ile uyumludur. Şekil 4.28 (c), (d) ve (e)'de D6 numunesine ait TEM fotoğraflarında numunenin diğer numunelerde olduğu gibi parçacık yapısında olmadığı iç içe geçmiş bir ağ yapısına benzer büyüme gösterdiği görülmektedir. Bu durum, demir oksit yapısına sahip D1, D4 ve D8 numunelerinin Şekil 4.28 (a), (b) ve (f)'deki TEM fotoğraflarından, farklılık göstermektedir. D6 numunesinin yüksek büyütme TEM fotoğrafında (Şekil 4.28 (e)), XRD deseninde ortaya çıktığı gibi kristalleşme meydana geldiği görülmektedir. Numunelerin TEM fotoğrafları, XRD ve FT-IR analizlerinden elde edilen sonuçları desteklemektedir.



Şekil 4.26: Optimizasyon deneylerinden elde edilen bazı numunelere ait XRD desenleri. (D6 numunesinde, demir oksihidroksitlere ait olduğu düşünülen pikler “*” ile gösterilmektedir.)

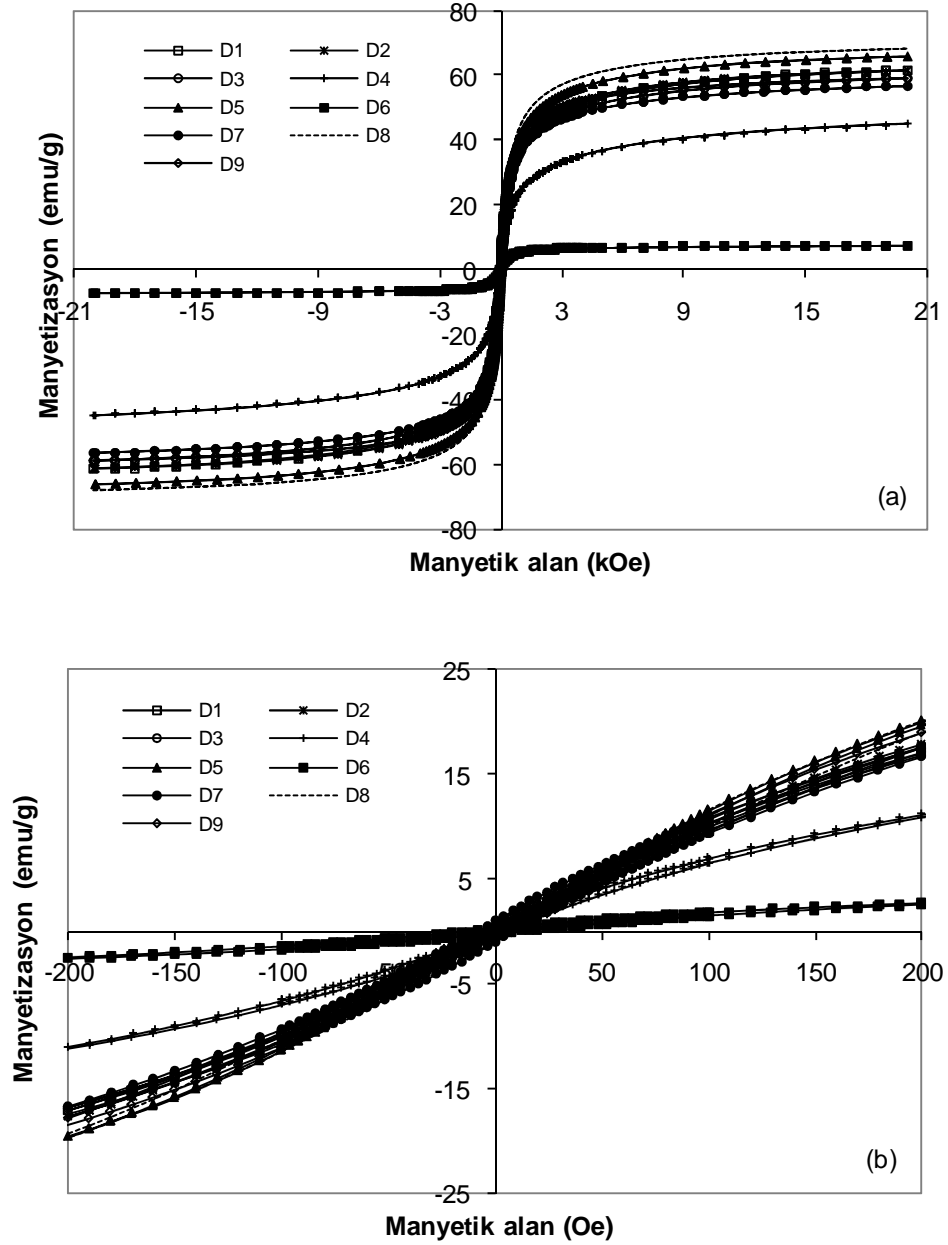


Şekil 4.27: Optimizasyon deneylerinden elde edilen numunelere ait FT-IR spektrumu.



Şekil 4.28: (a) D1, (b) D4, (c)-(e) D6 ve (f) D8 numunelerine ait TEM fotoğrafları. (Skala çizgisi (a), (b), (d) ve (e)'de 20 nm, (c)'de 100 nm, (f)'de 2 nm'dir.)

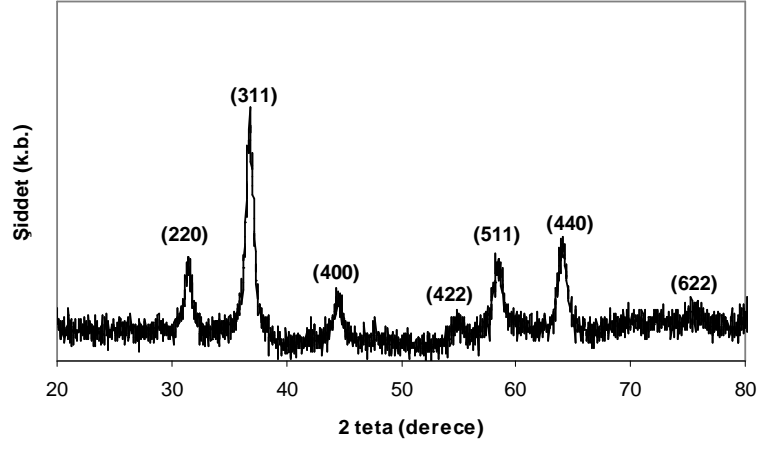
Optimizasyon çalışmasındaki numunelere ait M_s değerleri Tablo 4.4'te verilmiştir. Manyetizasyon eğrileri ise Şekil 4.29'da ± 20 kOe ve ± 200 Oe aralığında gösterilmektedir.



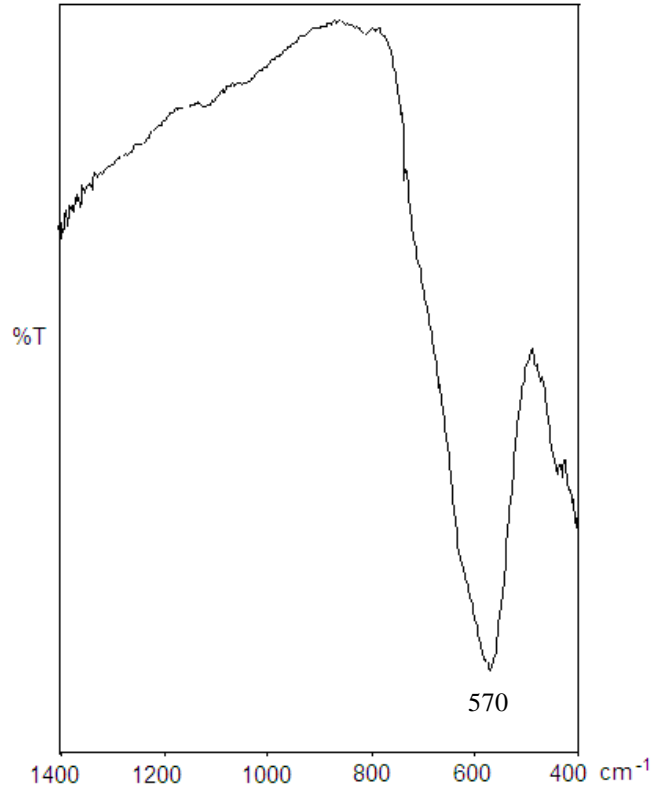
Şekil 4.29: Optimizasyon çalışması sonucunda elde edilen numunelere ait (a) ± 20 kOe aralığındaki, (b) ± 200 Oe aralığındaki manyetizasyon eğrileri.

4.2.3 Optimum Doym Manyetizasyonuna Sahip Nanoparçacıkların Yapısal ve Manyetik Karakterizasyonu

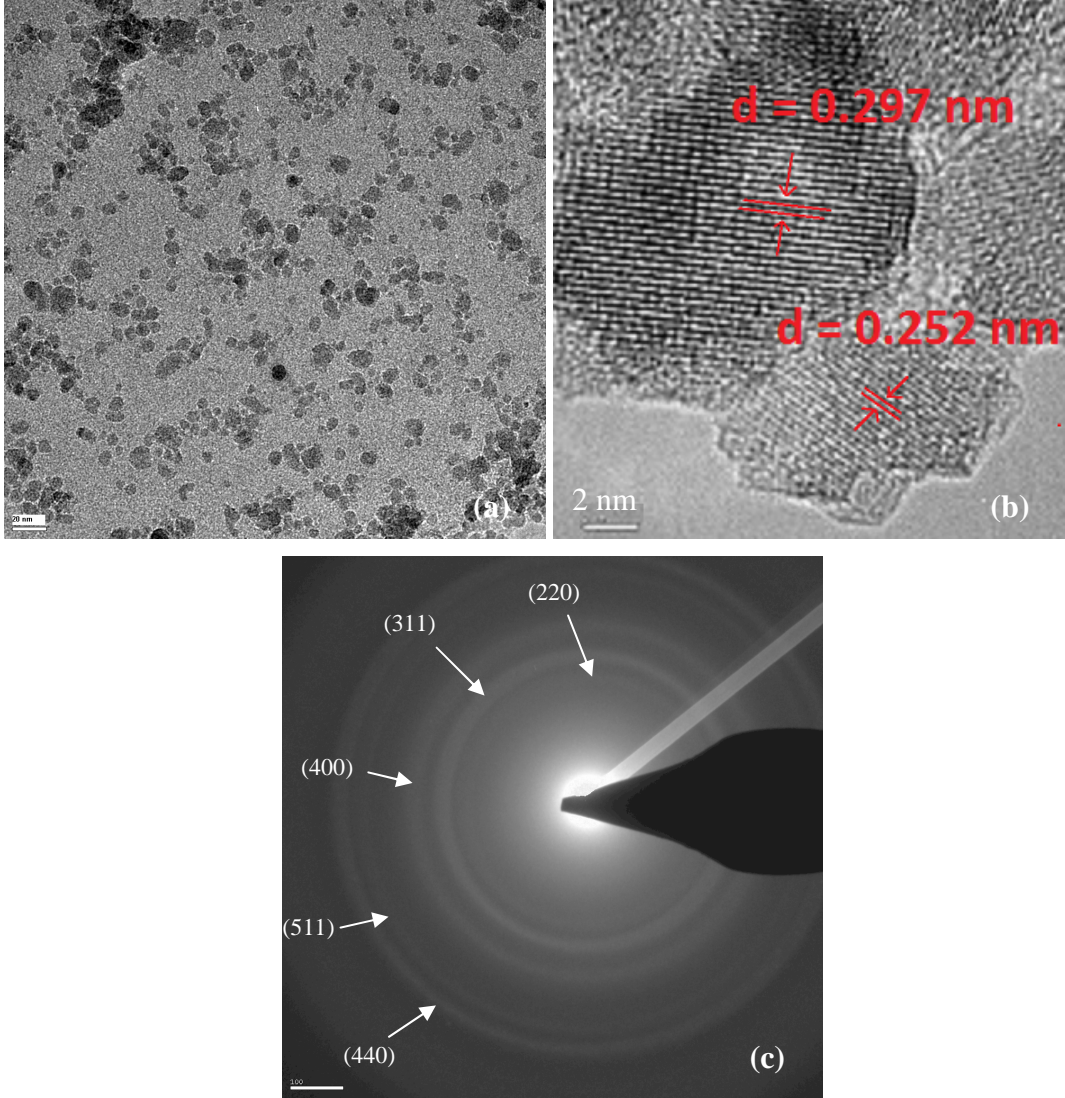
Belirlenen optimum sentez şartlarına göre yapılan sentez sonucu elde edilen numunenin (OP1), XRD deseni ve FT-IR spektrumu sırasıyla Şekil 4.30 ve Şekil 4.31'de verilmiştir. Numune, $2\theta \approx 31^\circ, 36^\circ, 44^\circ, 54^\circ, 57^\circ, 63^\circ$ ve 75° civarında kübik spinel yapıya ait (220), (311), (400), (422), (511), (440) ve (622) piklerini göstermektedir ve demir oksit yapıdadır. FT-IR spektrumunda da 570 cm^{-1} 'de demir oksit yapıya ait transmittans piki gözlenmektedir. Numuneye ait TEM fotoğrafı Şekil 4.32 (a)'da verilmiştir. TEM analizinden elde edilen fiziksel parçacık boyutu $7.0 \pm 2.2 \text{ nm}$ 'dir. Şekil 4.32 (b)'de OP1 numunesine ait parçacıkların kristal düzlemleri görülmektedir. $d_1 = 0.297 \text{ nm}$ uzaklığı (220) düzlemine, $d_2 = 0.252 \text{ nm}$ uzaklığı (311) düzlemine karşılık gelmektedir. Yani fotoğrafta (220) ve (311) düzlemlerinde kristalleşmiş nanoparçacıklar görülmektedir. Şekil 4.32 (c)'de numuneye ait elektron kırınımı deseni görülmektedir ve düzlemlere ait yansımalar şekil üzerinde gösterilmiştir. Bu kırınım deseninde gözlenen (220), (311), (400), (511) ve (440) düzlemlerine ait yansımalar XRD analizi sonucu elde edilen kırınım desenindeki düzlemlerle uyumludur. Manyetik ölçüm sonuçlarına göre, numunenin M_s 'i 69.83 emu/g ve H_c 'si sıfır Oe 'tir. OP1'e ait manyetizasyon eğrisi Şekil 4.33'te verilmiştir. Buna göre optimizasyon çalışmasında yapılan deneyler içinde en yüksek M_s 'e sahip süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıklar, elde edilen reçete ile sentezlenmiştir.



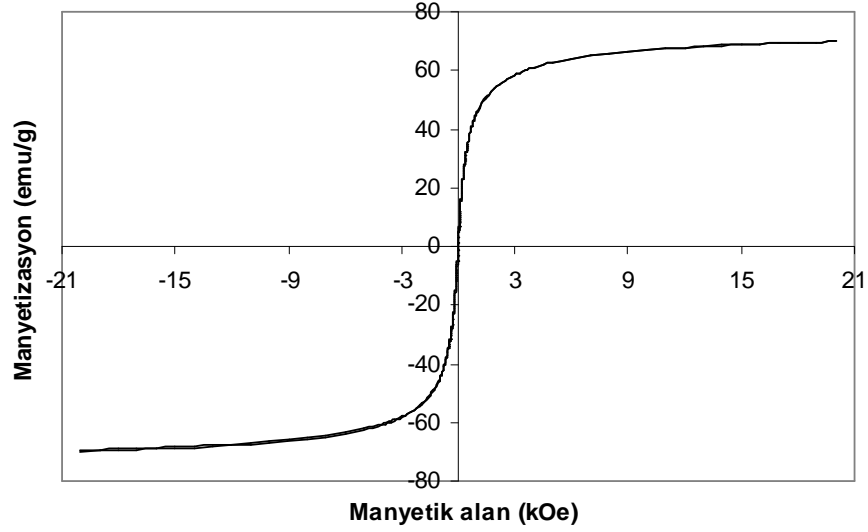
Şekil 4.30: Optimum M_s 'e sahip numunenin XRD deseni.



Şekil 4.31: Optimum M_s 'e sahip numunenin FT-IR spektrumu.



Şekil 4.32: Optimum M_s 'e sahip numunenin (a) TEM görüntüsü (Skala çizgisi 20 nm'dir.), (b) birkaç nanoparçacığına ait TEM görüntüsü (Skala çizgisi 2 nm'dir.), $d_1=0.297$ nm, $d_2=0.252$ nm olarak ölçülmüştür, (c) elektron kırınımı deseni.



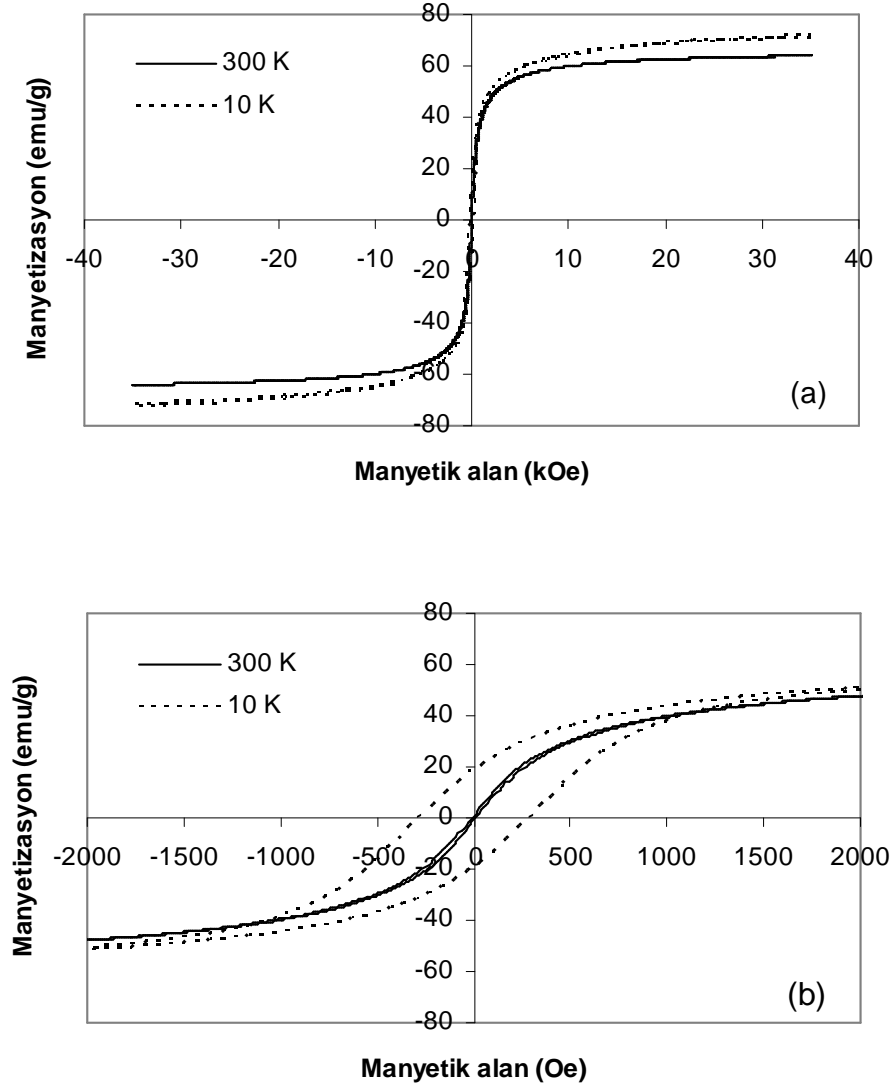
Şekil 4.33: Optimum M_s 'e sahip demir oksit nanoparçacığa ait manyetizasyon eğrisi.

4.2.4 Optimum Doyum Manyetizasyonuna Sahip Nanoparçacıkların Sıcaklığa Bağlı Manyetik Davranışı

Sentezlenen nanoparçacıkların süperparamanyetik özelliğini sıcaklığa bağlı manyetik ölçümlerle de desteklemek amacıyla, düşük sıcaklıkta (10 K) ve oda sıcaklığında (300 K) manyetizasyon ölçümleri yapıldı. Sıcaklığa bağlı manyetik ölçümler fiziksel özellikler ölçüm sistemi (physical properties measurement system, PPMS) ile gerçekleştirildi. Şekil 4.34'te OP1 numunesine ait manyetizasyon eğrileri görülmektedir.

Eğriler, Şekil 4.34 (a)'da ± 35 kOe aralığında, Şekil 4.34 (b)'de ± 2000 Oe aralığında verilmektedir. Numune 300 K'de, H_c ve kalıcı manyetizasyon, M_r göstermemektedir ve bu nedenle süperparamanyetikdir. Oysa aynı numune 10 K'de yapılan manyetizasyon ölçümünde ~ 320 Oe H_c ve ~ 20 emu/g M_r değerine sahiptir ve ferrimanyetik özellik göstermektedir. PPMS ile ölçülen M_s değeri oda sıcaklığında 64.01 emu/g iken 10 K'de 71.85 emu/g'dır. Düşük sıcaklıktaki M_s değeri diğer çalışmalarda olduğu gibi [28, 99] oda sıcaklığındaki değere göre daha yüksektir. Bununla birlikte PPMS ile yapılan ölçümlerde elde edilen M_s değeri VSM ile ölçülenden daha azdır. Örneğin; OP1 numunesinin M_s değeri VSM ile 69.83 emu/g

olarak, PPMS ile 64.01 emu/g olarak ölçülmüştür. Bunun ölçüm tekniklerinin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 4.34: OP1 numunesinin 300 K ve 10 K'de ölçülen (a) ± 35 kOe, (b) ± 2000 Oe aralığındaki manyetizasyon eğrileri.

4.3 Demir Oksit Nanoparçacıkların Hidrojenle İndirgenmesi

Önceki kısımda ortak çöktürme yöntemiyle sentezlenen süperparmanyetik demir oksit nanoparçacıkların M_s 'i optimize edilmişti. Bu kısımda ise önceki kısımda optimum şartlarda elde edilen demir oksit nanoparçacıkların, hidrojenle

indirgenmesi anlatılmaktadır. Çalışmada daha önce elde edilen en yüksek M_s değerine sahip OP1 numunesi indirgeme için başlangıç maddesi olarak kullanılarak hidrojen atmosferinde indirgenmiştir.

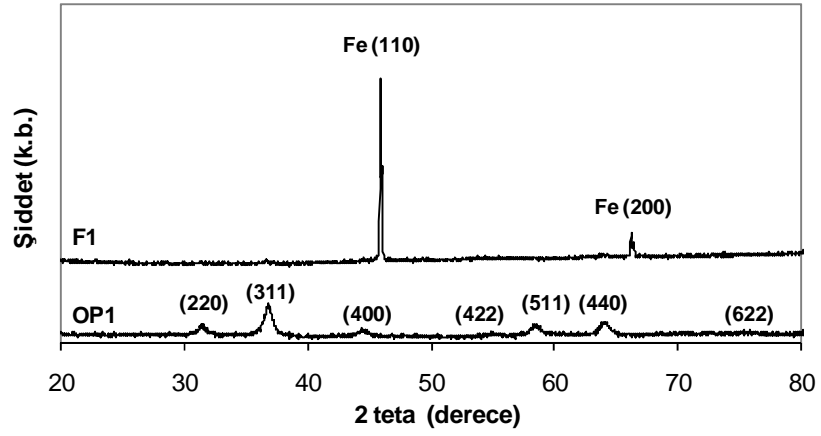
Demir oksitin H_2 veya CO ile metalik demire indirgenmesi ile ilgili çalışmalar demir oksitin farklı sıcaklıklarda demire dönüşme yüzdesi ve bunun kinetik açıklamaları ile ilgilidir [58, 62, 63, 105]. Hidrojen ile indirgeme reaksiyonunu etkileyen başlıca parametreler reaksiyon sıcaklığı, reaksiyon süresi ve gaz akış hızı olarak sayılabilir [59-61]. İndirgeme sıcaklığı reaksiyonun gerçekleşmesi için en önemli parametrelerden biridir. Örneğin, Munteanu ve ark. çalışmasında [58] α - Fe_2O_3 ve Au/α - Fe_2O_3 'ün indirgenme kinetiği ve indirgenme basamakları üzerinde durulmuştur, iki farklı sıcaklıkta dönüşümün gerçekleştiği, 350 °C civarında Fe_2O_3 'ün Fe_3O_4 'e, 627 °C civarında ise Fe_3O_4 'ün Fe'e dönüştüğü söylenmektedir. CO kullanılan bir başka çalışmada [105] ise 800-900 °C'de indirgeme yapılmıştır. Diğer bir çalışmada [106] elde edilen oleat kaplı Fe_3O_4 , 1/40 oranında NaCl ile karıştırıp 24 saat ezilerek toz hale getirilmiş ve 700 °C'de 30 dakika % 4'lük H_2 ile α -Fe'e indirgenmiştir.

Bu çalışmalar ve yapılan ön denemeler sonucunda elde edilen veriler ışığında; 800 °C sıcaklıkta, seramik kayıkçığın alabildiği maksimum madde miktarı olan 2.00 g numune kullanılarak 60 dakika reaksiyon süresince indirgeme yapıldı. İndirgeme için ön çalışmalarda en yüksek M_s 'in elde edildiği 800 °C tercih edilmiştir. Sürenin yüksek M_s 'li numune sentezine çok fazla etkisi olmaması nedeniyle reaksiyon süresi 60 dakika olarak seçilmiştir. %100 H_2 kullanılarak, sistemden kararlı gaz geçişi için minimum değer olan 125 ml/dak. gaz akış hızı ile indirgeme yapılmıştır. Belirtilen şartlarda indirgenen numunenin (F1) yapısal ve manyetik özellikleri incelenmiştir.

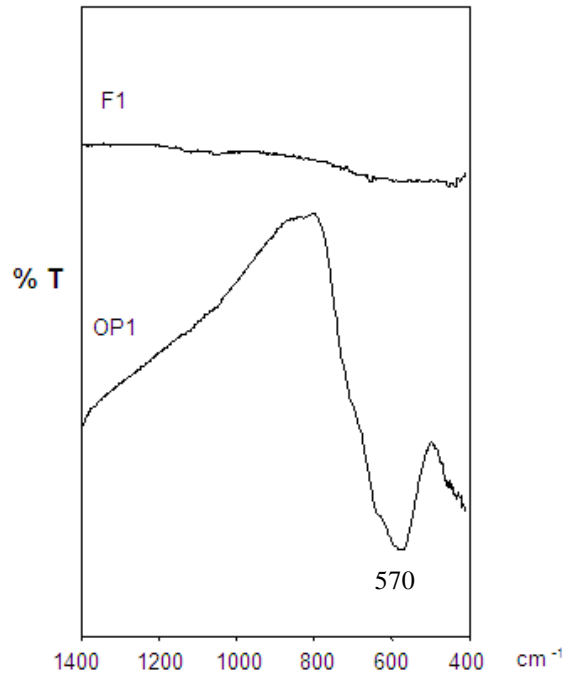
4.3.1 Yapısal Karakterizasyon

F1'e ait XRD deseni, OP1'e ait XRD deseni ile birlikte Şekil 4.35'te verilmiştir. Bölüm 4.2.3'te belirtildiği gibi OP1 numunesi demir oksite ait karakteristik pikleri göstermektedir. F1 numunesine ait XRD deseninde JCPDS no. 006-0696 kartına

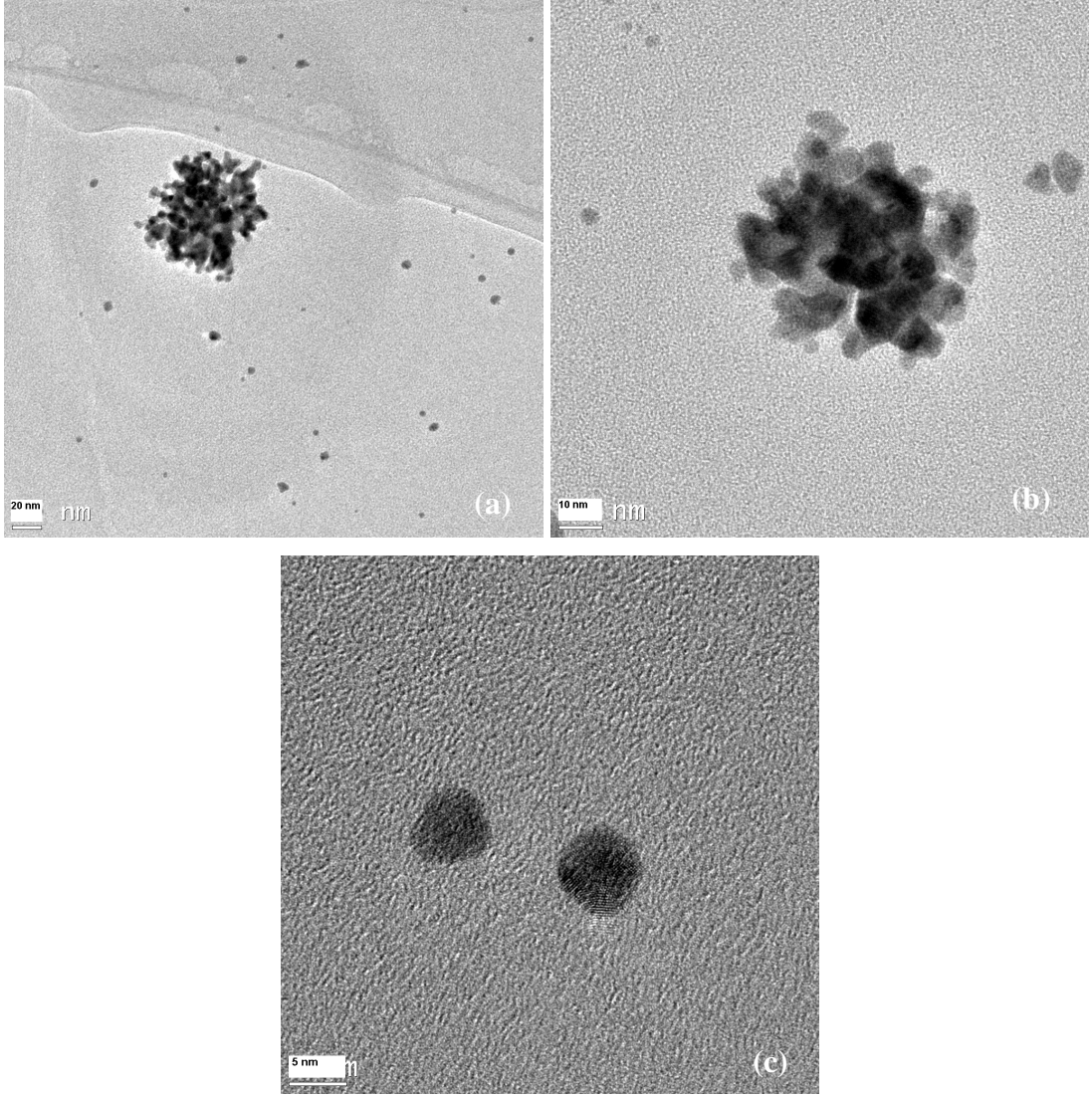
göre yalnızca α -Fe yapıya ait (110) ve (200) pikleri sırasıyla $2\theta \approx 45^\circ$ ve 65° civarında gözlenmektedir. Şekil 4.36'da bu numuneye ait FT-IR spektrumu, indirgemede başlangıç maddesi olarak kullanılan OP1'e ait spektrum ile birlikte verilmektedir. OP1'in spektrumunda 570 cm^{-1} civarında Fe-O bağımlı ifade eden bir pik görülürken indirgenmiş numunenin spektrumunda demir oksit yapısına işaret eden herhangi bir transmittans piki gözlenmemektedir. XRD ve FT-IR analizlerine göre indirgeme sonucunda Bölüm 2.5.2'de Denklem (2.40) ile Denklem (2.43) arasındaki reaksiyonlarda verilen dönüşümlerin gerçekleştiği ve Fe nanoparçacıkların elde edildiği düşünülebilir. Şekil 4.37'de F1'e ait TEM fotoğraflarında 5-10 nm boyutlarında parçacıklarla birlikte bu parçacıkların bir araya gelmesiyle oluşmuş agregat bölgeleri görülmektedir. Agregatlaşma reaksiyon sırasında yüksek sıcaklıkta oluşabileceği gibi numunenin TEM analizi için hazırlanırken iyi dispers olmamasından kaynaklanmış olabileceği de düşünülmektedir.



Şekil 4.35: İndirgeme ile elde edilen numunenin (F1) ve optimum M_s 'e sahip demir oksit numunenin (OP1) XRD deseni.



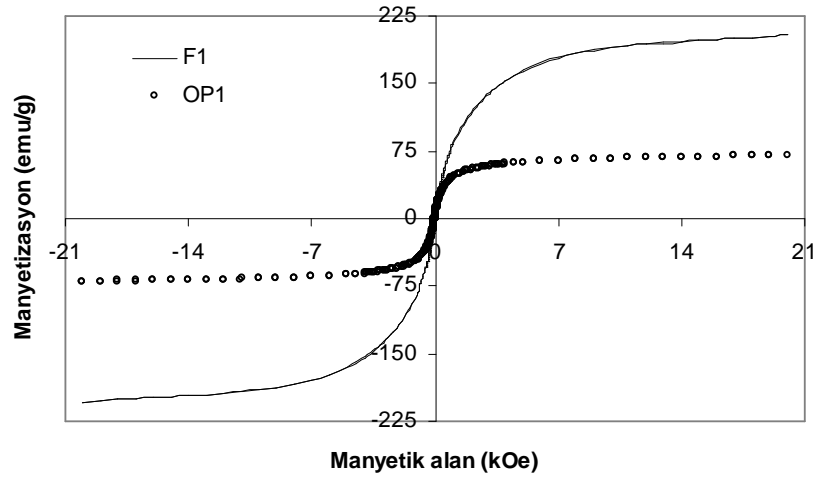
Şekil 2.36: İndirgeme ile elde edilen numunenin (F1) ve optimum M_s 'e sahip demir oksit numunenin (OP1) FT-IR spektrumu.



Şekil 4.37: İndirgeme ile elde edilen numuneye ait (a) 20 nm skalasında, (b) 10 nm skalasında, (c) 5 nm skalasında TEM fotoğrafları.

4.3.2 Manyetik Karakterizasyon

OP1 ve F1 numunelerine ait manyetizasyon eğrileri Şekil 4.38’de verilmektedir ve M_s değerleri sırasıyla 69.83 emu/g ve 204.40 emu/g’dir. F1 numunesinin oldukça yüksek olan ve Tablo 2.2’de verilen bulk Fe (218 emu/g) değerine yakın M_s değeri, elde edilen numunenin XRD analizi ile ortaya konan Fe yapısında olduğunu desteklemektedir. OP1 numunesi ile karşılaştırıldığında M_s değerlerindeki fark Şekil 4.35’te verilen XRD desenlerindeki yapı değişimi ile uyumludur. F1 numunesi 12 Oe H_c ’ye sahiptir.



Şekil 4.38: İndirgeme ile elde edilen demir (F1) numune ve optimum M_s 'e sahip demir oksit (OP1) numuneye ait manyetizasyon eğrileri.

4.4 Manyetik Nanoparçacıkların Enzim İmmobilizasyon Uygulaması

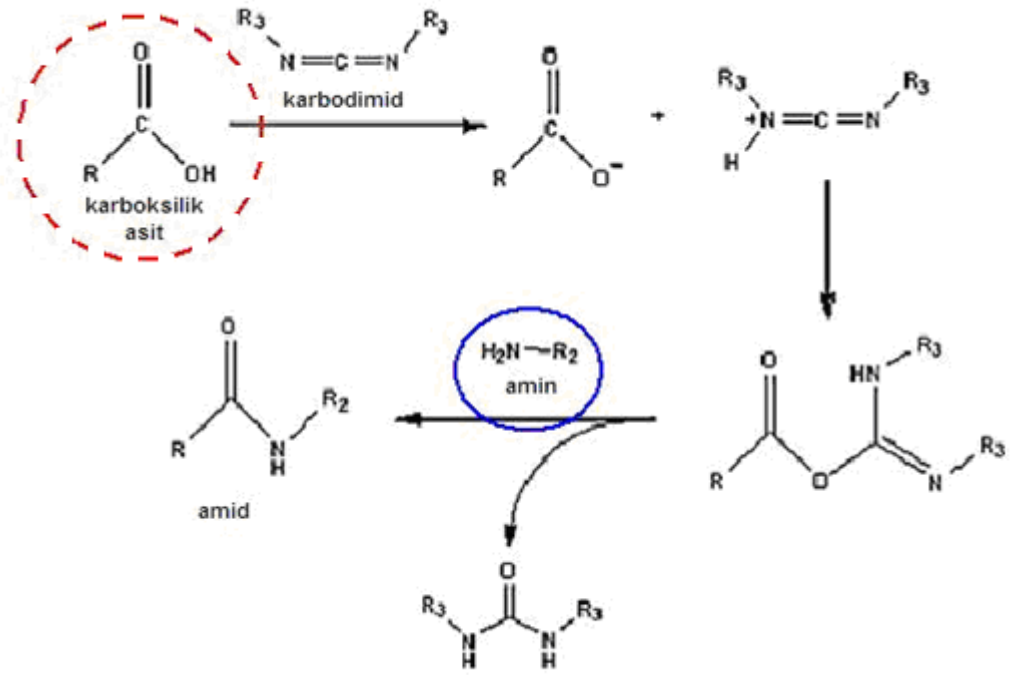
Bu kısımda elde edilen nanoparçacıkların insan karbonik anhidraz II (H CAII) enzimine bağlanması ile bağlanmadan önceki ve sonraki yapısal ve manyetik özellikleri incelenecektir. Enzim immobilizasyonu için sırasıyla Bölüm 4.2.3 ve Bölüm 4.3'te özellikleri verilen optimum M_s 'e sahip süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıklar (OP1) ve indirgeme ile elde edilen demir nanoparçacıklar (F1) kullanılmıştır.

4.4.1 Manyetik Nanoparçacıkların Enzim İmmobilizasyonu ve Yapısal Karakterizasyonu

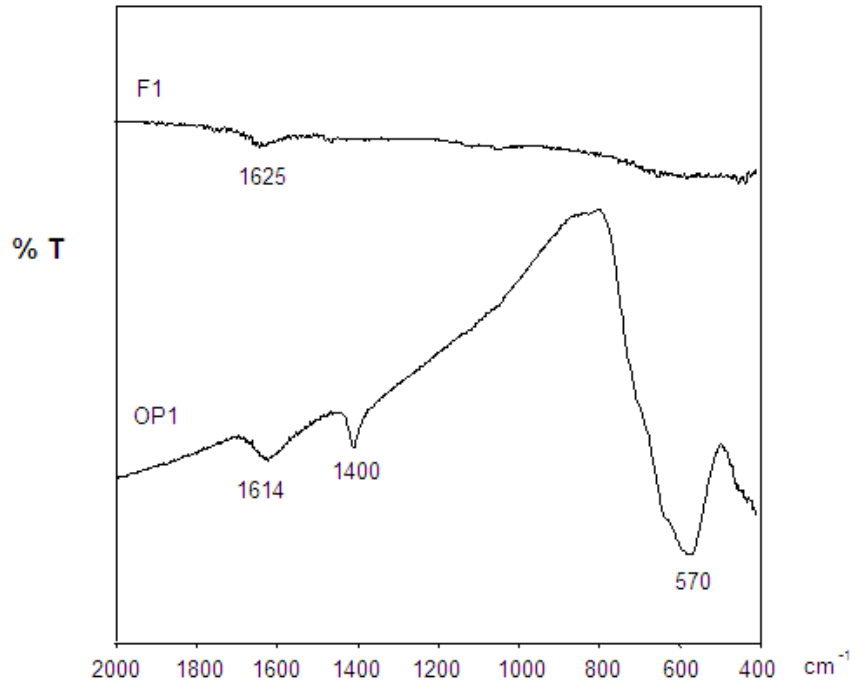
Organizmada temel görevi asit-baz dengesini düzenlemek olan karbonik anhidraz (CA), aktif bölgesinde Zn^{+2} iyonu bulunan bir metaloenzimidir. Memelilerde α -CA ailesine bağlı aktif olan 14 CA izoenzimi bulunmaktadır. CA izoenzimleri hücresel dağılımları, kinetik özellikleri ve inhibisyon profilleri açısından farklılık göstermektedirler. Ayrıca CA izoenzimlerinin doku dağılımları da farklılık göstermektedir [107-111]. CA enzimi, canlılarda CO_2 molekülünün hidratasyonunu ve HCO_3^- iyonunun dehidratasyonunu katalizler. CA enzimi, genel

olarak metabolik CO₂ iletimini sağlamanın yanı sıra, birçok dokuda H⁺ ve HCO₃⁻ birikiminde de rol oynamaktadır. Böylece vücuttaki birçok dokuda H⁺ ve HCO₃⁻ iyonlarının birikimini sağlayarak, vücut sıvılarının dengelerinin kurulmasında da önemli rolü vardır [107, 112]. Organizma için pek çok önemli reaksiyonda görev alan CA enzimlerinden H CAII'nin immobilizasyonu ortam pH'ının düzenlenmesi gibi biyoteknolojik uygulamalar için kullanımını sağlayabilir. H CAII enziminin elde edilişi bu tezin kapsamı dışında olup, geniş bilgi kaynaktan [113] öğrenilebilir. İmmobilizasyon çalışmasında H CAII enziminin saflaştırılması Balıkesir Üniversitesi Moleküler Biyoloji Anabilimdalı'nda Prof. Dr. Feray Köçkar ve Araş. Gör. Sümeyye Aydoğan Türkoğlu tarafından yapılmış, immobilizasyon prosedürü sırasında aktivite ölçümü birlikte yapılmıştır.

OP1 ve F1'in enzim immobilizasyonunda kullanılması için yapılan çalışmada karbodimid aktivasyonunun gerçekleşmesi gerekmektedir. İmmobilizasyonda kullanılan karbodimid, proteindeki (örneğin, H CAII) karboksilik asit ve nanoparçacık yüzeyindeki amin ile reaksiyona girerek amid oluşturur [114]. Bu reaksiyonlar şematik olarak Şekil 4.39'da görülmektedir. OP1 ve F1 numunelerine ait FT-IR spektrumu Şekil 4.40'ta görülmektedir. OP1 numunesinin spektrumunda 570 cm⁻¹ civarında demir oksit oluşumuna işaret eden karakteristik pikle birlikte 1614 cm⁻¹'de yüzeydeki amin grubuna işaret eden [81, 115] pik ve 1400 cm⁻¹'deki pike rastlanmıştır. F1 numunesinde ise demir oksit oluşumunu gösteren herhangi bir pik bulunmazken 1625 cm⁻¹'de amin grubuna ait oldukça zayıf bir pik gözlenmektedir.



Şekil 4.39: Karbodimid aktivasyonu ile amid bağı oluşumunu [114]. Proteindeki karboksilik asit kesikli çizgilerle, nanoparçacık üzerindeki amin grubu düz çizgiyle çevrenip gösterilmektedir.

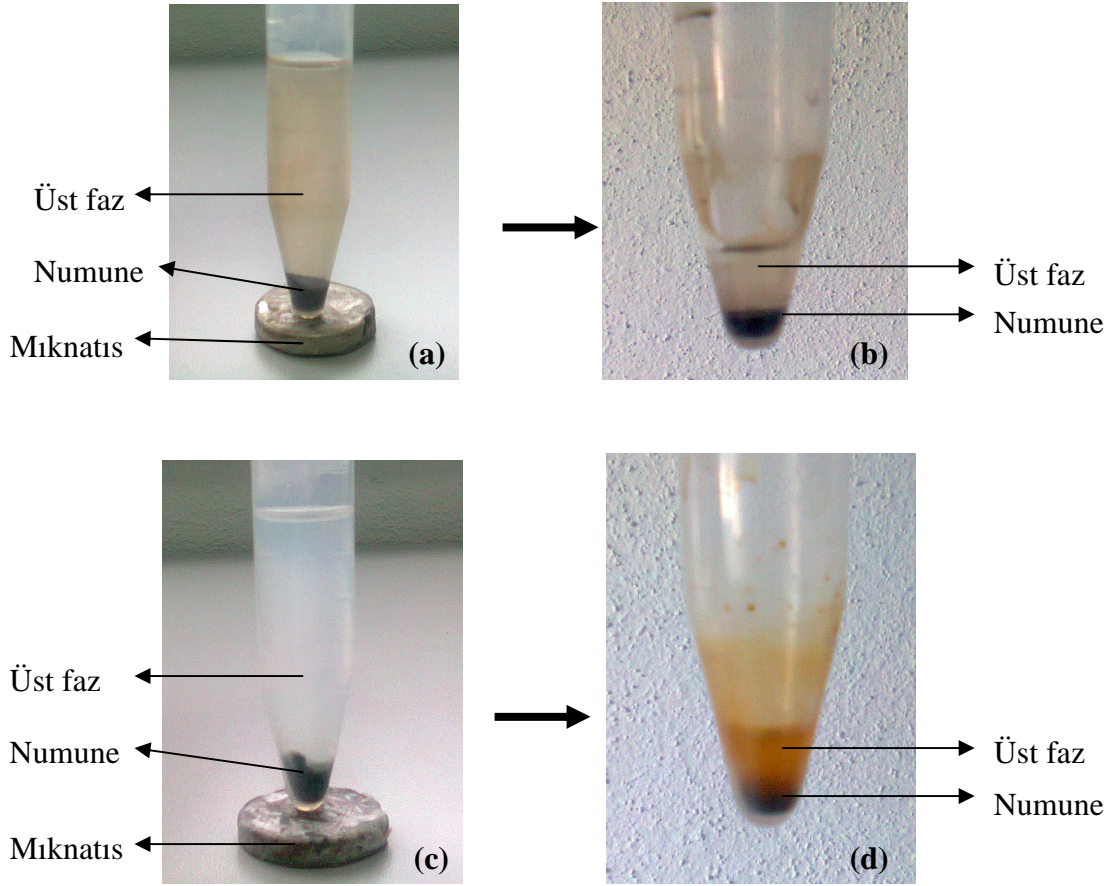


Şekil 4.40: F1 ve OP1 numunelerine ait FT-IR spektrumu.

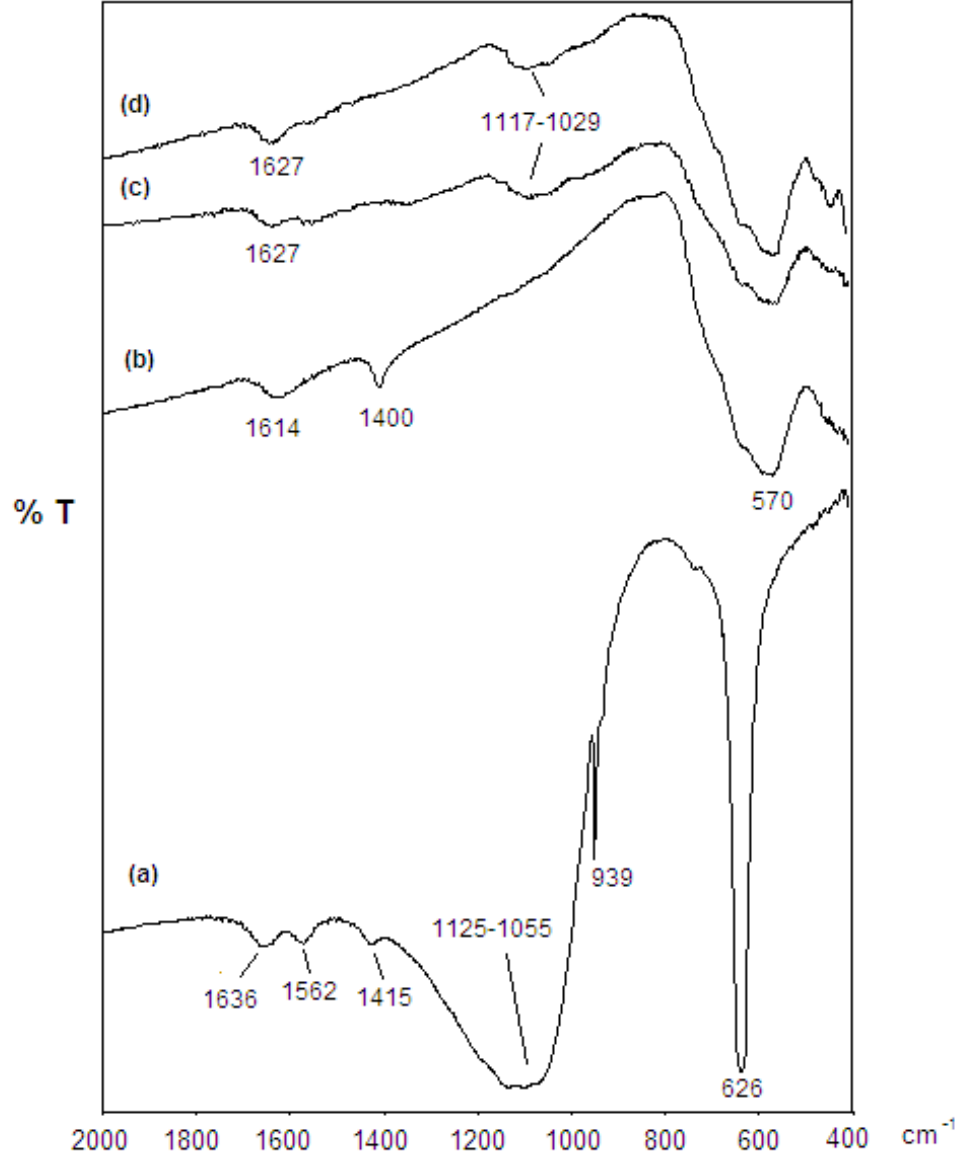
OP1 ve F1 ile yapılan immobilizasyon çalışması sırasında Bölüm 3.8’de verilen prosedürdeki protein analizleri (I, II ve III) ve son ürünlerin Şekil 3.8’de gösterilen üst ve alt fazlarında yapılan protein analizleri sonucunda, numunelerin nanoparçacık bulunmayan üst fazlarında OP1 için enzime rastlanmazken F1 için çok az miktarda rastlanmıştır. Numunelerin nanoparçacık bulunan alt fazlarında ise enzim gözlenmiştir. Aktivite ölçümlerine, nanoparçacıklara immobilize H CAII, aktivitesini kaybedene kadar devam edilmiştir. Her ölçümden sonra üst faz atılarak numune yeni tampon çözelti içine alınmıştır. Şekil 4.41’de enzim immobilizasyonu sonrasında ve enzim aktivitesi bittiğinde, H CAII bağlı OP1 ve H CAII bağlı F1 numunelerine ait fotoğraflar verilmektedir. Balıkesir Üniversitesi Moleküler Biyoloji Anabilimdalında yapılan ölçümlere göre immobilizasyondan hemen sonra OP1 numunesine bağlı H CAII % 22 aktivite gösterirken, F1 numunesine bağlı H CAII % 8 aktivite göstermektedir [116]. Bu ölçümlere göre OP1 ve F1 numunesi ile gerçekleştirilen prosedür sonucunda enzim immobilizasyonunun OP1 için gerçekleşmiş olduğu sonucuna varılmıştır. Aktivitenin % 5’in altında olduğu durumlar dikate değer olmadığından [116] F1’in bağlanma oranının çok düşük olduğu düşünülmektedir.

Şekil 4.42 ve Şekil 4.34’te H CAII enzimine, manyetik nanoparçacıklara (OP1 ve F1), bağlanmadan hemen sonra nanoparçacık-enzim sistemine ve enzim aktivitesinin bittiği anda nanoparçacık-enzim sistemine ait FT-IR spektrumu verilmektedir. Şekil 4.42 (a) ve (b)’de sırasıyla H CAII’ye ve OP1’e ait FT-IR spektrumu görülmektedir. Bağlanma prosedüründen hemen sonra elde edilen ürünün Şekil 4.42 (c)’deki spektrumunda demir oksitte gözlenen 1614 cm^{-1} ve 1400 cm^{-1} pikleri kaybolmuş 1627 cm^{-1} ve $1029-1171\text{ cm}^{-1}$ civarında proteine ait transmitans bantları ortaya çıkmıştır. Enzim aktivitesinin bittiği anda yapılan FT-IR analizine ait spektrumda (Şekil 4.42 (d)), Şekil 4.42 (c)’de görülen aynı pikler (1627 cm^{-1} ve $1029-1171\text{ cm}^{-1}$) gözlenmektedir. Bu durum, prosedür sonunda nanoparçacığa bağlanan enzimin, aktivitesini kaybedene kadar nanoparçacığa bağlı durumunu koruduğunu göstermektedir. Şekil 4.43 (a) ve (b)’de sırasıyla H CAII’ye ve F1’e ait FT-IR spektrumu görülmektedir. Şekil 4.43 (c)’de bağlanma prosedüründen hemen sonra elde edilen ürünün spektrumunda ve Şekil 4.43 (d)’de enzim aktivitesinin bittiği andaki spektrumda aynı pikler görülmektedir. Burada F1 numunesinde

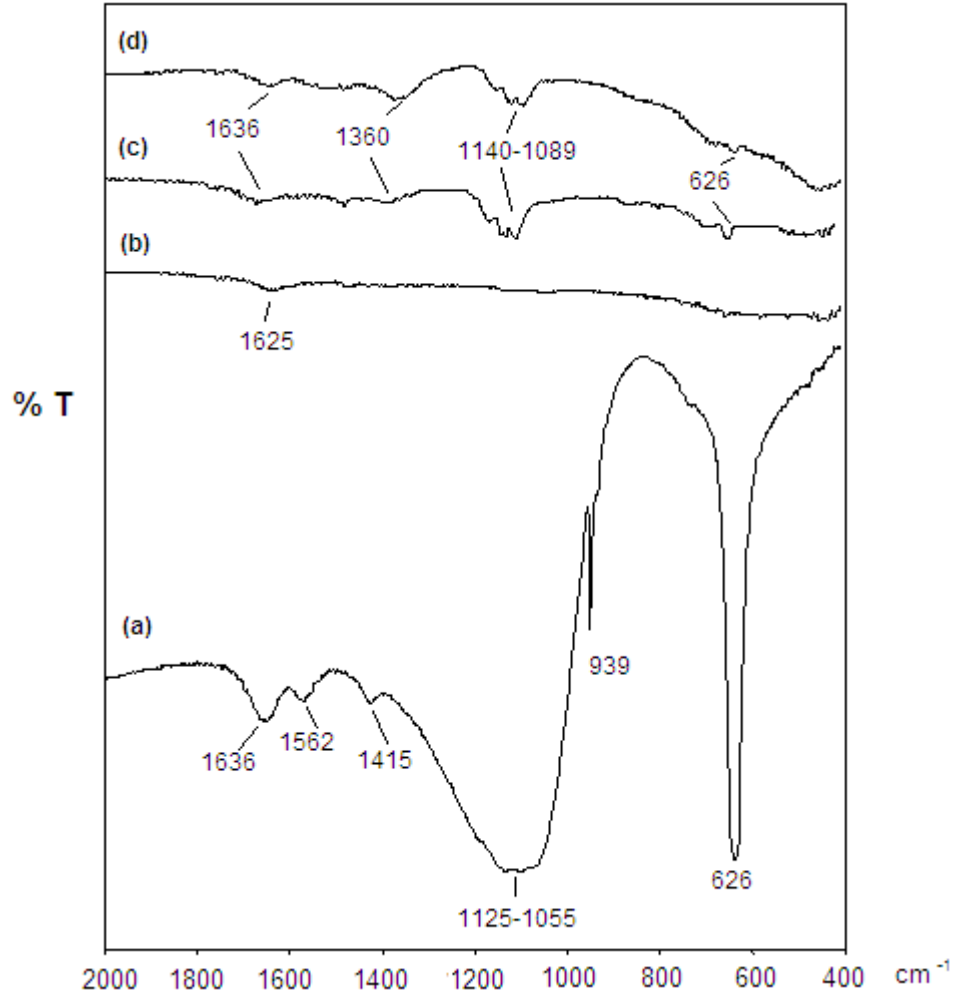
gözlenen 1625 cm^{-1} piki kaybolmuş, 1636 , 1360 , $1089-1140$ ve 626 cm^{-1} civarında proteine ait pikler ortaya çıkmıştır. Her iki spektrumun da aynı pikleri göstermesi nanoparçacığa bağlanan enzimin, aktivitesini kaybedene kadar nanoparçacığa bağlı bulunduğu şeklinde yorumlanabilir.



Şekil 4.41: (a) H CAII bağlı OP1 numunesinin bağlanmadan hemen sonraki, (b) H CAII bağlı OP1 numunesinin aktivite bittiği andaki (c) H CAII bağlı F1 numunesinin bağlanmadan hemen sonraki, (d) H CAII bağlı F1 numunesinin aktivite bittiği andaki fotoğrafları.



Şekil 4.42: (a) H CAII, (b) OPI, (c) bağlanmadan hemen sonra nanoparçacığa (OPI) immobilize enzim ve (d) enzim aktivitesinin bittiği anda nanoparçacığa (OPI) immobilize enzimin FT-IR spektrumu.

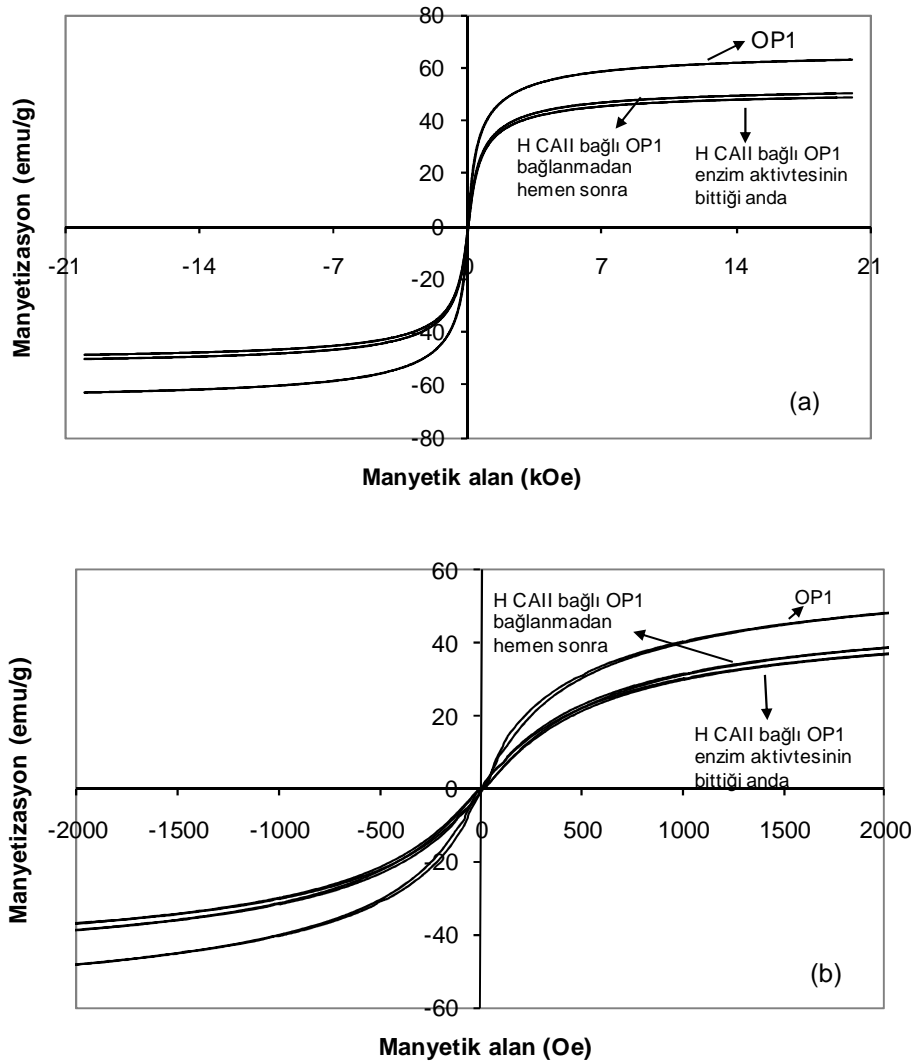


Şekil 4.43: (a) H CAII, (b) F1, (c) bağlanmadan hemen sonra nanoparçacığa (F1) immobilize enzim ve (d) enzim aktivitesinin bittiği anda nanoparçacığa (F1) immobilize enzimin FT-IR spektrumu.

4.4.2 Manyetik Karakterizasyon ve Enzim İmmobilizasyonunun Analizi

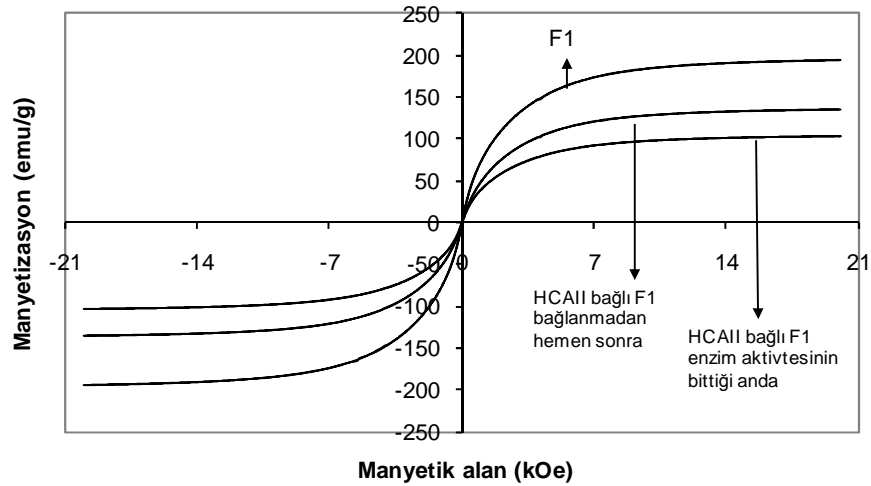
Uygulamada kullanılan numunelerin manyetik ölçümleri ile bağlanmadan hemen sonraki ve enzim aktivitesinin bittiği andaki manyetik ölçümler PPMS ile gerçekleştirildi. Şekil 4.44'te OP1 numunesi ile yapılan immobilizasyon uygulaması sonucunda elde edilen numunelerin manyetizasyon eğrileri görülmektedir. OP1 numunesinin M_s değeri 62.75 emu/g, bağlanmadan hemen sonra H CAII bağlı OP1'in M_s değeri 50.58 emu/g ve aktivitenin bittiği anda H CAII bağlı OP1'in M_s değeri 48.62 emu/g olarak ölçülmüştür. Buna göre bağlanmadan sonra OP1'in M_s değeri % 19 oranında azalmıştır. Nanoparçacığın M_s değerinin 62.75 emu/g'dan

50.58 emu/g'a azalmasının, manyetizasyona katkısı bulunmayan OP1'e bağılı durumdaki H CAII'den kaynaklandığı düşünülebilir. Bununla birlikte bağlanmadan hemen sonra ölçülen M_s ile enzim aktivitesinin bittiği andaki M_s 'in hemen hemen aynı olması H CAII'nin aktivitesini kaybettiğinde de OP1'e bağılı kaldığı şeklinde yorumlanabilir. Şekil 4.44 (b)'de ± 2000 Oe aralığında görülen manyetizasyon eğrileri OP1 numunesinin süperparamanyetik özelliğini her aşamada koruduğunu göstermektedir.



Şekil 4.44: (a) ± 20 kOe ve (b) ± 2000 Oe aralığında OP1 numunesinin, bağlanmadan hemen sonra nanoparçacığa (OP1) immobilize enzim (H CAII) ve enzim aktivitesinin bittiği anda nanoparçacığa (OP1) immobilize enzimin (H CAII) manyetizasyon eğrileri.

F1 numunesi ile yapılan enzim immobilizasyonunda elde edilen numunelere ait manyetizasyon eğrileri Şekil 4.45'te verilmektedir. F1 numunesinin M_s 'i 194.32 emu/g, bağlanmadan hemen sonra H CAII bağlı F1'in M_s 'i 134.77 emu/g, aktivitenin bittiği anda H CAII bağlı F1'in M_s 'i 102.87 emu/g olarak ölçülmüştür. Bağlanmadan hemen sonra M_s değeri % 31 oranında azalmış, enzim aktivitesinin bittiği anda ise daha fazla (yaklaşık % 47 oranında) düşmüştür. Enzim aktivitesinin % 8 olduğu göz önüne alınırsa, M_s değerindeki % 31'lik düşüş nanoparçacığa bağlı H CAII'den kaynaklanmamış olabilir. Aynı zamanda aktivite bittiğinde M_s değerinde % 47'lik bir azalma gözlenmiş olması Bölüm 2.4'te Fe'in özelliklerinde bahsedildiği gibi α -Fe yapıdaki F1 numunesinin oksitlenmeye yatkınlığından dolayı kısmen oksit yapısına dönüştüğü şeklinde yorumlanabilir. Bu nedenle zamanla F1 numunesinin M_s değerinin düştüğü düşünülebilir. Şekil 4.41'de verilen fotoğraflardan da görüldüğü gibi H CAII bağlı OP1'in ilk ile son durumları arasında belirgin bir renk farkı görülmezken H CAII bağlı F1'in ilk durumda gri olan rengi zamanla sarımtırak-kahverengiye dönüşmüştür.



Şekil 4.45: F1 numunesinin, bağlanmadan hemen sonra nanoparçacığa (F1) immobilize enzim (H CAII) ve enzim aktivitesinin kaybolduğu anda nanoparçacığa (F1) immobilize enzimin (H CAII) manyetizasyon eğrileri.

Yapısal analizlere göre hem OP1'e hem de F1'e bağlı enzim aktivitesini kaybedene dek nanoparçacıklara bağlı kalmaktadır. OP1'in M_s değerinde, bağlanmadan sonra % 19 civarında düşüş meydana gelirken bu M_s değeri enzim

aktivitesini kaybedene kadar hemen hemen aynı kalmaktadır. Ayrıca OP1, immobilizasyon süreci boyunca süperparamanyetik özelliğini korumaktadır. F1 numunesinin M_s değeri bağlanmadan sonra % 31 oranında düşmüş ve zamanla düşmeye devam etmiştir. Buna ilaveten OP1'e bağlı enzim % 22 civarında, F1'e bağlı enzim ise % 8 civarında aktivite göstermektedir. Bu verilere göre, biyoteknolojik uygulamalar için süperparamanyetik olan ve enzimin saklandığı ortamda M_s değerini koruyan OP1 numunesinin daha uygun olduğu düşünülmektedir.

5. SONUÇ

Bu çalışma, optimum doyum manyetizasyonuna sahip manyetik nanoparçacıkların sentezi, karakterizasyonu ve insan karbonik anhidraz II (Human Carbonic Anhydrase II, H CAII) enzimiyle uygulamasının sonuçlarını içermektedir. Çalışmada, açık hava ortamında ortak çöktürme yöntemiyle süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıklar sentezlenmiştir. Her bir sentez parametresinin, numunelerin yapısal ve manyetik özellikleri üzerine etkisi kapsamlı olarak bu çalışmada incelenmiştir. İlk defa bu çalışmada ortogonal dizayn yöntemi kullanılarak açık hava ortamında ortak çöktürme ile optimum doyum manyetizasyonuna sahip süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıklar sentezlenmiştir. Ardından, bu nanoparçacıklar hidrojen ile indirgenerek yüksek doyum manyetizasyonlu demir nanoparçacıklar elde edilmiştir. Son olarak da elde edilen optimum demir oksit ve demir nanoparçacıklar, ilk defa H CAII immobilizasyonu için kullanılmıştır.

Numunelerin yapısal karakterizasyonu x-ışını kırınımı (XRD), fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) ve geçirmeli elektron mikroskobu (TEM) ile yapılmıştır. XRD analizlerine göre tüm numuneler demir oksit yapısındadır ve $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranı arttıkça kristalliğin arttığı, piklerin şiddetlenip keskinleştiği görülmektedir. Kristal boyutları ise $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranı 1/2'den 1/-'ye arttıkça 7.0 nm'den 17.5 nm'ye kadar belirgin şekilde artmaktadır. FT-IR spektrumunda küçük $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranlarında ortak çöktürmenin yan ürünlerine (demir oksihidroksit) ait pikler gözlenmektedir. TEM fotoğraflarından elde edilen fiziksel parçacık boyutları da XRD desenlerinden hesaplanan kristal boyutları gibi $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranı arttıkça belirgin şekilde artmaktadır.

Numunelerin sentezinde kullanılan toplam demir iyon konsantrasyonu azaldıkça XRD desenlerinde demir oksite ait piklerin azalıp zayıfladığı ve amorf yapıya gidişin olduğu gözlenmektedir, ayrıca kristal boyutları da küçülmektedir. FT-IR

spektrumuna göre toplam demir iyon konsantrasyonu azaldıkça numunelerin ortak çöktürmeye ait yan ürünleri içermeye başladığı söylenebilir. TEM fotoğraflarında da görülen bu yan ürünler LaMer mekanizmasına göre büyüme ve çekirdeklenme basamakları için yeterli konsantrasyona ulaşamamasından kaynaklanmış olabilir.

Baz konsantrasyonu değiştirilerek yapılan sentezlerde belli bir baz konsantrasyonunun üzerinde elde edilen numuneler XRD desenlerine göre demir oksit yapıdadır. Sentez şartlarına göre 2.7 M NH₃ kullanılan numunenin XRD deseninde demir oksite ait en şiddetli pik ile beraber ortak çöktürmenin yan ürünlerine ait pikler gözlenmektedir. FT-IR analizinde belli konsantrasyondan daha düşük değerlerde demir oksihidroksitlere ait piklerin gözlenmesi ile de desteklenen bu sonuca göre ortam pH'nın uygun olduğu değerlerde elde edilen demir oksit nanoparçacıkların boyutları baz konsantrasyonu azaldıkça artmaktadır. Demir oksit elde edilebilen sınırlar içinde baz konsantrasyonu azaldıkça TEM fotoğraflarından elde edilen fiziksel parçacık boyutları bir miktar artmaktadır.

Farklı karıştırma hızlarında sentezlenen numuneler XRD ve FT-IR analizlerine göre demir oksit yapıdadır. Kristal boyutlarının karıştırma hızı ile belirgin şekilde değişmediği gözlenmiştir. TEM analizlerinde gözlenen fiziksel parçacık boyutları artan karıştırma hızı ile bir miktar artmaktadır. R1 numunesine ait TEM fotoğrafında gözlenen parçacıkların kristal düzlemleri arası uzaklıkları $d_1 = 0.264$ nm ve $d_2 = 0.204$ nm olarak ölçülmüştür, bunlar sırasıyla (311) ve (400) düzlemlerine karşılık gelmektedir. R3 numunesinin TEM ile elde edilen elektron kırınımı deseninde, XRD deseninde ortaya çıkan kristal düzlemler gözlenmiştir.

Farklı sıcaklıklarda sentezlenen numunelerin demir oksit yapıda olduğu XRD desenlerinden ve FT-IR spektrumundan görülmektedir. Kristal boyutlarının sıcaklıkla değişimi ihmal edilebilir derecededir. TEM fotoğraflarından hesaplanan parçacık boyutlarında da sıcaklıkla önemli bir değişiklik olmadığı görülmektedir. Farklı reaksiyon sürelerinde sentezlenen numuneler, XRD ve FT-IR analizlerine göre demir oksit yapıdadır. Reaksiyon süresinin artışı ile beraber kristal boyutlarında bir miktar artış gözlenmiştir. TEM fotoğraflarından ölçülen parçacık boyutlarının da 30 dakikaya kadar olan reaksiyon sürelerinde (S1-S6) arttığı görülmüştür.

Numunelerin manyetik analizi titreşimli numune magnetometresi (VSM) ile yapılmış ve manyetik boyutları manyetizasyon verileri kullanılarak hesaplanmıştır. $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranı arttıkça numunelerin doyum manyetizasyonu, M_s artmaktadır. Bununla birlikte $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranı 1/1'i geçtikten sonra koersivite, H_c gözlenmeye başlamış ve yalnızca Fe^{+2} iyonları içeren çözelti kullanılarak sentezlenen numunede H_c değeri 33 Oe'e kadar çıkmıştır. H_c göstermeyen numuneler için $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranı 1/2'den 1/1'e arttıkça hesaplanan manyetik boyutlar bir miktar artmaktadır. Belli bir $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranından sonra numunelerde H_c gözlenmesi, XRD desenlerinden hesaplanan kristal boyutlarının ve TEM analizinden elde edilen fiziksel boyutların belirgin artışı ile açıklanabilir. XRD verilerinden hesaplanan kristal boyutlarına göre yaklaşık 11 nm'den büyük numunelerin süperparamanyetik özelliğini kaybettiği görülmektedir. M_s 'teki artış da parçacık boyutlarının artışı ile uyumludur. Numuneleri manyetik doyuma götürmek için uygulanan manyetik alan, H_s değeri ise $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranı arttıkça azalmaktadır.

$[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranı sabit iken toplam demir iyon konsantrasyonunun azalması ile birlikte M_s değerlerinde düşüş meydana gelmiştir. Manyetik parçacık boyutları da bu düşüşe paralel olarak değişmektedir. Belli bir konsantrasyonun altında, M_s değerindeki düşüş yapısal analiz sonuçlarından da görüldüğü gibi numunelerin M_s değeri çok düşük olan oksihidroksit fazları içermesinden kaynaklanmaktadır. Tüm numuneler süperparamanyetik özellik göstermektedir. H_s değeri toplam demir iyon konsantrasyonu azaldıkça artmaktadır.

Farklı baz konsantrasyonları kullanılarak sentezlenen numunelerden P1 numunesinden P3 numunesine kadar baz konsantrasyonu azaldıkça manyetik boyut ve M_s artmış, H_s azalmıştır. Numuneler süperparamanyetiktir. P4 numunesinde M_s 'teki ani düşüş ve H_s 'deki ani yükseliş yapının değişmesinde kaynaklanmaktadır. Baz konsantrasyonunun düşüşü ile birlikte OH^- miktarının ortak çöktürmenin tamamlanması için yeterli olmamasından dolayı P4 numunesinin demir oksihidroksit içerdiği ve bu nedenle M_s değerinin önemli ölçüde düştüğü düşünülebilir.

Mekanik karıştırıcı ile 100-1800 rpm arasında farklı karıştırma hızlarında sentezlenen numunelerde M_s değeri karıştırma hızı 700 rpm'e kadar arttıkça artmış

daha sonra azalmıştır. Numuneler süperparamanyetikdir. Manyetik parçacık boyutları ve H_s değerleri dalgalanma göstermektedir. TEM ile belirlenen fiziksel parçacık boyutlarının artmasına rağmen manyetik boyutların değişmemesi parçacıklar üzerinde bulunan manyetik olarak ölü tabakanın göstergesi olarak düşünülebilir.

Farklı sıcaklıklarda sentezlenen süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıkların M_s değerleri sıcaklığın artması ile azalmaktadır. Fakat manyetik parçacık boyutlarında bir değişme görülmemektedir. Bu nedenle yüksek sıcaklıkta yapılan sentezlerde elde edilen numunelerin düşük sıcaklıktakilere göre daha fazla oranda maghemit faz içerdiği düşünülebilir. H_s değerleri dalgalanma göstermektedir. Farklı reaksiyon sürelerinde sentezlenen numunelerin M_s değerlerinde süreye bağlı olarak büyük değişiklik meydana gelmediği 60 ve 90 dakika süren sentezlerde (S8 ve S9) M_s değerinin düştüğü görülmektedir. Manyetik verilerden hesaplanan manyetik parçacık boyutlarında da önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. H_s değerleri farklı sıcaklıklarda olduğu gibi dalgalanma göstermektedir.

İlk kısımda sentez parametrelerinin elde edilen demir oksit nanoparçacıklar üzerine etkileri incelendikten sonra sürecin optimizasyonu ve optimum M_s 'e sahip süperparamanyetik demir oksit nanoparçacık elde etmek amacıyla ortogonal dizayn yöntemi uygulanmıştır. Sistem üzerine belirgin etkisi olan parametrelerin etkileri göz önüne alınarak optimizasyon için alt ve üst sınırlar belirlenmiştir. Süperparamanyetik demir oksit nanoparçacıkların sentezlenebildiği $[Fe^{+2}]/[Fe^{+3}]$ değerleri için alt ve üst sınırlar 1/2 ve 1/1 olarak seçilmiştir. Manyetik ölçüm sonuçlarına göre, toplam demir iyon konsantrasyonu için alt sınır 500 mM, üst sınır ise 2500 mM olarak belirlenmiştir. Baz konsantrasyonu ise 4.0 M ile 6.7 M arasında değiştirilmiştir. Reaksiyon süresi için alt ve üst sınırlar 2 dakika ve 90 dakika olarak belirlenmiştir. Sentez ürünü üzerinde etkisi çok az olan, karıştırma hızı ve sıcaklık parametreleri, sırasıyla 700 rpm ve 20 ± 2 °C olarak seçilmiştir. Belirlenen bu sınır değerlere göre $L_9 3^4$ ortogonal tablosundan elde edilen sonuçlar analiz edilmiş ve optimum M_s elde edilebilecek reçete oluşturulmuştur. En yüksek M_s 'e sahip süperparamanyetik demir oksit nanoparçacık sentezlemek için kullanılacak optimum

sentez şartları; $[\text{Fe}^{+2}]/[\text{Fe}^{+3}]$ oranı 1/1, toplam demir iyon konsantrasyonu 1500 mM, baz konsantrasyonu 6.7 M ve reaksiyon süresi 2 dakika olarak bulunmuştur.

Optimizasyon deneyleri sonucunda manyetik analiz ile birlikte seçilmiş bazı numunelerin yapısal analizi de yapılmıştır. Buna göre D6 numunesi dışındaki numuneler demir oksit yapıdadır ve M_s değerleri parçacık boyutları ile uyumlu olarak değişmektedir. D6 numunesinin XRD ve FT-IR analizleri ile TEM fotoğrafları diğer numunelerden farklılık göstermektedir ve D6'nın demir oksit yapıda olmadığını ortaya koymaktadır. Bu numunenin M_s değeri de 7.52 emu/g'dır ve diğer numunelerden oldukça düşüktür. Ortogonal dizayn yöntemi ile optimizasyonda bu numunenin demir oksit yapısında olmadığı göz önüne alınarak M_s değeri sıfır kabul edildiğinde de optimum sentez için elde edilen reçete değişmemektedir.

Belirlenen reçeteye göre yapılan sentez sonucu elde edilen numune (OP1), XRD deseni ve FT-IR spektrumuna göre demir oksittir. TEM analizinden elde edilen fiziksel parçacık boyutu 7.0 ± 2.2 nm'dir. Elektron kırınımı deseninde görülen düzlemler, XRD deseninde ortaya çıkan düzlemleri desteklemektedir. OP1 numunesinin M_s değeri 69.83 emu/g ve H_c değeri sıfır Oe'tir. Optimizasyon çalışmasında yapılan deneyler içinde en yüksek M_s 'e bu reçete ile ulaşılabilmektedir. OP1 numunesinin PPMS ile yapılan düşük (10 K) ve yüksek (300 K) sıcaklık manyetizasyon ölçümlerinde yüksek sıcaklıkta kalıcı manyetizasyon, M_r ve H_c göstermeyen numunenin düşük sıcaklıkta M_r değeri ~20 emu/g ve H_c değeri ~320 Oe olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlar numunenin oda sıcaklığında süperparamanyetik özelliğini ortaya koymaktadır.

Elde edilen optimum M_s 'e sahip demir oksit nanoparçacıklar hidrojenle indirgenerek M_s değeri daha yüksek olan demir nanoparçacıklar (F1) elde edilmiştir. Reaksiyon, 800°C sıcaklıkta, 2.00 g numune kullanılarak, 60 dakika reaksiyon süresince, 125 ml/dak. akış hızı ile %100 H_2 geçirilerek gerçekleştirilmiştir. İndirgenmiş numunenin XRD deseninde α -Fe yapısına özgü (110) ve (200) pikleri görülmektedir. FT-IR analizi sonucunda spektrumda Fe-O bağı gösteren bir pike rastlanmadığından indirgeme ile demir oksitten demire dönüşümün gerçekleştiği

düşünülebilir. Bununla birlikte manyetik ölçüm sonuçlarına göre OP1'in M_s 'i 69.83 emu/g iken indirgenmiş numunenin M_s 'i 204.40 emu/g'dır. Bu değerler yapısal analize göre demire dönüşümün büyük oranda gerçekleştiği düşüncesini desteklemektedir. OP1 süperparamanyetik iken indirgenmiş numune olan F1'in H_c değeri 12 Oe'i göstermektedir.

Çalışmanın son kısmında, elde edilen OP1 ve F1 nanoparçacıkların H CAII enzimine bağlanması ile bağlanmadan önceki ve sonraki yapısal ve manyetik özellikleri incelenmiştir. İmmobilizasyon çalışmasında H CAII enziminin saflaştırılması ve aktivitesinin ölçümü Balıkesir Üniversitesi Moleküler Biyoloji Anabilimdalı'nda Prof. Dr. Feray Köçkar ve Araş. Gör. Sümeyye Aydoğan Türkoğlu tarafından yapılırken, yapısal ve manyetik karakterizasyonu bu çalışma kapsamında yapılmıştır. Tez kapsamında bağlanma prosedürü ile bağlı nanoparçacık-enzim sisteminin yapısal ve manyetik özellikleri ele alınmıştır. Enzimin nanoparçacığa bağlanması için karbodimid aktivasyonu kullanılmıştır. Buna göre OP1 ve F1 numunelerine bağlanma prosedürü uygulanmış ve FT-IR analizi ile yapısal karakterizasyon, PPMS ile manyetik karakterizasyon gerçekleştirilmiştir. Bağlanmadan hemen sonra ve enzim aktivitesinin bittiği anda yapılan yapısal analizlere göre; OP1'e bağlı enzim aktivitesini kaybedene dek nanoparçacıklara bağlı kalmaktadır. OP1'in M_s değerinde, bağlanmadan sonra % 19 civarında düşüş meydana gelirken bu değer enzim aktivitesini kaybedene kadar hemen hemen aynı kalması yapısal analiz sonuçlarına göre enzimin aktivitesini kaybedene dek nanoparçacığa bağlı olduğu yorumunu desteklemektedir. Fakat F1 numunesinin M_s değeri bağlanmadan sonra % 31 oranında düşmüş ve bu düşüş devam ederek enzim aktivitesinin bittiği anda % 47'ye ulaşmıştır. OP1'e bağlı enzimin % 22 civarında, F1'e bağlı enzimin ise % 8 civarında aktivite gösterdiği görülmektedir. Hem manyetik sonuçlar hem de aktivite ölçümleri, biyoteknolojik uygulamalar için süperparamanyetik olan ve enzimin saklandığı ortamda M_s değerini koruyan OP1 numunesinin daha uygun olduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Bilim ve Teknik Dergisi, Yeni Ufuklara Eki, TÜBİTAK Yay., Aralık 2006.
- [2] Gates B., Xia Y., “Photonic band-gap properties of opaline lattices of spherical colloids doped with various concentrations of smaller colloids”, *Appl. Phys. Lett.* 78 (2001) 3178.
- [3] Shimomura M., Sawadaishi T., “Bottom-up strategy of materials fabrication: a new trend in nanotechnology of soft materials”, *Current Opinion in Colloid Interface Sci.* 6 (2001) 11.
- [4] Prijic S., Sersa G., “Magnetic nanoparticles as targeted delivery systems in oncology”, *Radiol. Oncol.* 45 (1) (2011) 1.
- [5] Lu A.H., Salabas E.L., Schüth F., “Magnetic Nanoparticles: Synthesis, Protection, Functionalization, and Application”, *Angewandte Chemie Int. Ed.* 46 (2007) 1222.
- [6] Laurent S., Forge D., Port M., Roch A., Robic C., Elst L.V., Muller R.N., “Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, and Biological Applications”, *Chem. Rev.* 108 (2008) 2064.
- [7] Duran J.D.G., Arias J.L., Gallardo V., Delgado A.V., “Magnetic colloids as drug vehicles”, *Journal of Pharmaceutical Sciences* 97 (8) (2008) 2948.
- [8] Tomitaka A., Hirukawa A., Yamada T., Morishita S., and Takemura Y., “Biocompatibility of various ferrite nanoparticles evaluated by in vitro cytotoxicity assays using HeLa cells,” *J. Magn. Magn. Mater.* 321 (2009) 1482.
- [9] Simioni A.R., Primo F.L., Rodrigues M.M.A., Lacava Z.G. M., Morais P.C., and Tedesco A.C., “Preparation, characterization and in vitro toxicity test of magnetic nanoparticle-based drug delivery system to hyperthermia of biological tissues,” *IEEE Trans. Magn.* 43 (6) (2007) 2459.
- [10] Rossi L.M., Quach A.D., Rosenzweig Z., “Glucose oxidase-magnetite nanoparticle bioconjugate for glucose sensing”, *Anal. Bioanal. Chem.* 380 (2004) 6341.
- [11] Jang J.H., Lim H.B., “Characterization and analytical application of surface modified magnetic nanoparticles”, *Microchem. J.* 94 (2010) 148.

- [12] Shinkai M., "Functional magnetic particles for medical applications", *Journal of Bioscience and Bioengineering* 94 (6) (2002) 606.
- [13] Massart R., "Preparation of aqueous magnetic liquids in alkaline and acidic media," *IEEE Transactions on Magnetics* 17 (2) (1981) 1247.
- [14] Jain T.K., Morales M.A., Sahoo S.K., Leslie-Pelecky D.L., and Labhasetwar V., "Iron oxide nanoparticles for sustained delivery of anticancer agents," *Mol. Pharm.* 2 (3) (2005) 194.
- [15] Mc Gill S.L., Cuylear C.L., Adolphi N.L., Osiński M., and Symth H.D.C., "Magnetically responsive nanoparticles for drug delivery applications using low magnetic field strengths," *IEEE Trans. Nanobiosci.* 8 (1) (2009) 33.
- [16] Berman S.M.C., Walczak P., Bulte J.W.M., "Tracking stem cells using magnetic nanoparticles", *WIREs Nanomedicine and Nanotechnology* 3 (2011) 343.
- [17] Mornet S., Vasseur S., Grasset F., Veverka P., Goglio G., Demourgues A., Portier J., Pollert E., and Duguet E., "Magnetic nanoparticle design for medical applications," *Progr. Solid State Chem.* 34 (2006) 237.
- [18] Jordan A., Wust P., Scholz R., Tesche B., Fähling H., Mitrovics T., Vogl T., Cervös-Navarro J., and Felix R., "Cellular uptake of magnetic fluid particles and their effects on human adenocarcinoma cells exposed to AC magnetic fields *in vitro*," *Int. J. Hyperthermia* 12 (1996) 705.
- [19] Gao Y., Biofunctionalization of magnetic nanoparticles, *Nanotechnologies for the Life Sciences*, Ed. C. Kumar, vol. 1, ch. 3, Wiley-VHC, New York (2005).
- [20] Gordon R., Hogan C. E., Neal M. L., Anantharam V., Kanthasamy A. G., Kanthasamy A., "A simple magnetic separation method for high-yield isolation of pure primary microglia", *Journal of Neuroscience Methods* 194 (2011) 287.
- [21] Liang X., Xi B., Xiong S., Zhu Y., Xue F., Qian Y., "Porous soft magnetic material: The maghemite microsphere with hierarchical nanoarchitecture and its application in water purification", *Materials Research Bulletin* 44 (2009) 2233.
- [22] Karağaç Ö., CoCu Alaşım Filmlerin Elektrodpozisyonu, Yapısal ve Manyetik Özellikleri Üzerine Depozisyon Parametrelerinin Etkisinin İncelenmesi, Y. Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik Anabilimdalı, Balıkesir (2007).
- [23] Jiles D., *Introduction to Magnetism and Magnetic Materials*, Chapman & Hall, London (1996).
- [24] Cullity B.D., *Introduction to Magnetic Materials*, Consulting Editor: Cohen M., Addison-Wesley Publishing Company, Massachusetts (1972).

- [25] Craik D. Magnetism, Principles and Applications, John Wiley & Sons, Chichester (1995).
- [26] Buschow K.H.J., De Boer F.R., Physics of Magnetism and Magnetic Materials, Kluwer Academic Publishers, New York (2004).
- [27] Chikazumi S., Physics of Magnetism (English Edition Prepared with the assistance of Charap S. H.), Robert E. Krieger Publishing Company, Malabar, Florida (1964).
- [28] Klabunde K. J., Nanoscale Materials in Chemistry, John Wiley & Sons, Inc., New York, (2001).
- [29] Teja A.S., Koh P-Y., "Synthesis, properties, and applications of magnetic iron oxide nanoparticles", Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials 55 (1-2) (2009) 22.
- [30] Kittel C., Kathal Fiziğine Giriş (İngilizce 6. Basımdan çeviri), Türkçesi: Karaoğlu B., Güven Kitap Yayın Dağıtım Ltd. Şti., İstanbul (1996).
- [31] Kockar H., Magnetic Material Production Using a Novel Rotating Cryostat and Their Magnetic and Structural Analysis, PhD. Thesis, June 1998, Wolfson Centre for Magnetism Technology, School of Engineering, University of Wales, Cardiff UK (1998).
- [32] Sparrow G., The Elements Iron, Marshall Cavendish Corporation, China (1999).
- [33] Plietker B., Iron catalysis in organic chemistry, Reactions and Applications, Wiley-VHC Verlag GmbH & Co., Weinheim (2008).
- [34] Van Vlack L.H., Malzeme Bilimine Giriş, Çeviren: Safoğlu R. A., İstanbul Teknik Üniversitesi, Birsen Yayınevi, İstanbul (1998).
- [35] <http://en.wikipedia.org/wiki/Iron> (16.01.2011)
- [36] Ball M.J., Bartlett M.A. "Dietary intake and iron status of Australian vegetarian women.", *Am. J. Clin. Nutr.* 70 (3) (1999) 353.
- [37] Hunt C.P., Moskowitz M.B., Banerjee S.K., Magnetic Properties of Rocks and Minerals, Rock Physics and Phase Relations A Handbook of Physical Constants, American Geophysical Union (1995).
- [38] Cornell R.M., Schwertmann U., The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions and Uses, second ed. Wiley-VCH, Weinheim (2003).
- [39] Langevin D., "Micelles and Microemulsions", *Annu. Rev. Phys. Chem.* 43 (1992) 341.

- [40] Paul B.K., Moulik S.P, “Uses and applications of microemulsions”, *Current Science* 80 (2001) 990.
- [41] Gupta A.K., Gupta M., “Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications”, *Biomaterials* 26 (2005) 3995.
- [42] Wang X., Zhuang J., Peng Q., Li Y., “A general strategy for nanocrystal synthesis”, *Nature* 437 (2005) 121.
- [43] Chen F.H., Gao Q., Hong G.Y., Ni J., “Synthesis and characterization of magnetite dodecahedron nanostructure by hydrothermal method”, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 320 (2008) 1775.
- [44] Murray C.B., Norris D.J., Bawendi M.G., “Synthesis and Characterization of Nearly Monodisperse CdE (E=S, Se,Te) Semiconductor Nanocrystallites”, *J. Am. Chem. Soc.* 115 (1993) 8706.
- [45] Bronstein L.M., Huang X., Retrum J., Schmucker A., Pink M., Stein B.D., Dragnea B., “Influence of Iron Oleate Complex Structure on Iron Oxide Nanoparticle Formation”, *Chem. Matter.* 19, (2007) 3624.
- [46] Khalafalla S.E., Reimers G.W., “Preparation of dilution-stable aqueous magnetic fluids”, *IEEE Transactions on Magnetics* 16 (2) (1980) 178.
- [47] Alibeigi S., Vaezi M. R, “Phase Transformation of Iron Oxide Nanoparticles by Varying the Molar Ratio of $Fe^{2+}:Fe^{3+}$ ”, *Chem. Eng. Technol.* 11 (2008) 1591.
- [48] Perez O.P., Umetsu Y., and Sasaki H., “Precipitation and densification of magnetic iron compounds from aqueous solutions at room temperature,” *Hydrometallurgy* 50 (1998) 223.
- [49] Kim D.K., Mikhaylova M., Zhang Y., Muhammed M., “Protective coating of superparamagnetic iron oxide nanoparticles”, *Chem. Mater.* 15 (2003) 1617.
- [50] LaMer V.K., Dinegar R.H., “Theory, Production and Mechanism of Formation of Monodispersed Hydrosols”, *J. Am. Chem. Soc.* 72 (1950) 4847.
- [51] Tartaj P., del P. Morales M., Veintemillas-Verdaguer S., Gonzalez-Carreno T., Serna C.J., “The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine”, *Journal of Physics D: Applied Physics* 36 (2003) 182.
- [52] Zhao Y., Qiu Z., Huang J., “Preparation and analysis of Fe_3O_4 magnetic nanoparticles used as targeted-drug carriers”, *Chinese Journal of Chemical Engineering* 16(3) (2008) 451.
- [53] Valenzuela R., Cecilia Fuentes M., Para C., Baeza J., Duran N., Sharma S.K., Knobel M., Freer J., “Influence of stirring velocity on the synthesis of magnetite nanoparticles (Fe_3O_4) by the co-precipitation method”, *Journal of Alloys and Compounds* 488 (2009) 227.

- [54] Liu, Z.L., Liu, Y.J., Yao, K.L., Ding, Z.H., Tao, J., Wang, X., "Synthesis and magnetic properties of Fe₃O₄ nanoparticles", *J. Mater. Synth. Process.* 10(2) (2002) 83.
- [55] Martínez-Mera I., Espinosa-Pesqueira M.E, Pérez-Hernández R., Arenas-Alatorre J., "Synthesis of magnetite (Fe₃O₄) nanoparticles without surfactants at room temperature", *Materials Letters* 61 (2007) 4447.
- [56] Lee P.C., Meisel D., "Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols", *J. Phys. Chem.* 86 (1982) 3391.
- [57] Evanoff Jr D.D., Chumanov G., "Size-Controlled Synthesis of Nanoparticles. 1. "Silver-Only" Aqueous Suspensions via Hydrogen Reduction", *J. Phys. Chem. B* 108 (2004) 13948.
- [58] Munteanu G., Ilieva L., Anreeva D., "Kinetic parameters obtained from TPR data for α -Fe₂O₃ and Au/ α -Fe₂O₃ systems", *Thermochimica Acta* 291 (1997) 171.
- [59] Varanda L.C., Jafelicci M., Tartaj P., O'Grady K., Gonzales-Carreno T., Morales M.P., Munoz T., Serna C.J., "Structural and magnetic transformation of monodispersed iron oxide particles in a reducing atmosphere", *J. Appl. Phys.* 92 (2002) 2079.
- [60] Varanda L.C., Goya G.F., Morales M.P., Marques R.F.C., Godoi R.H.M, Jafelicci M., Serna C.J., "Magnetic Properties of Acicular Ultrafine Iron Particles", *IEEE Transactions on Magnetics* 38 (5) (2002) 1907.
- [61] Pozas R., Morales M.P., Serna C.J., Ocana M., "Acicular iron nanoparticles protected against sintering with aluminium oxide", *Bol. Soc. Esp. Ceram.* 43 [4] (2004) 796.
- [62] Sastri M.V.C., Viswanath R.P., Viswanathan B., "Studies on the reduction of iron oxide with hydrogen", *Int. J. Hydrogen Energy* 7 (12) (1982) 951.
- [63] Wagner D., Devimse O., Patisson F., Ablitzer D., "A Laboratory Study Of The Reduction Of Iron Oxides By Hydrogen", *Sohn International Symposium San Diego Proceedings* 2 (2006) 111.
- [64] Şirvancı M., Kalite için Deney Tasarımı, Taguçi Yaklaşımı, Literatür Yay., (1997).
- [65] Taguchi G., System of Experimental Design, Engineering Methods to Optimize Quality and Minimize Costs, White Plains Quality Resources (1991).
- [66] Lochner L. H., Matar J. E., Designing for Quality: An Introduction to the Best of Taguchi and Western Methods of Statistical Experimental Design, Chapman and Hall (1990).

[67] Ross P. J., Taguchi Techniques for Quality Engineering, McGraw-Hill Book Company (1989).

[68] Kockar H., Magnetic Material Production Using a Novel Rotating Cryostat and Their Magnetic and Structural Analysis, PhD. Thesis, June 1998, Wolfson Centre for Magnetics Technology, School of Engineering, University of Wales, Cardiff UK (1998).; Tarry G. C., *R. Ass. Franc. Av. Sci.* 1 (1900) 122, Tarry G. C., *R. Ass. Franc. Av. Sci.* 2 (1901) 170.

[69] Yin G.Z., Jillie D.W., “Orthogonal Design for Process Optimization and Its Application in Plasma Etching”, *Solid State Technology*, (1987) 127; Bush K. A. , Base R. C., *Ann. Math. Stat.* 23 (1952) 508.

[70] Kockar H., Magnetic Material Production Using a Novel Rotating Cryostat and Their Magnetic and Structural Analysis, PhD. Thesis, June 1998, Wolfson Centre for Magnetics Technology, School of Engineering, University of Wales, Cardiff UK (1998).; Taguchi G., *Experimental Design*, 3rd Edition, vol.2, Maruzen Publishing Co., Tokyo, Japan (1977).

[71] Cullity B.D., Stock S.R. *Elements of X-Ray Diffraction* (Third Edition), Pearson Prentice Hall, New Jersey (2001)

[72] Douglas A. Skoog, F. James Holler, Timothy A. Nieman, *Principles of Instrumental Analysis*, Çevirenler: Kılıç E., Köseoğlu F., Yılmaz H., Fifth Edition, Saunders College Publishing, Florida (1998).

[73] *Introduction to Fourier Transform Infrared Spectrometry*, Thermo Nicolet Corporation Data Sheet (2001).

[74] http://en.wikipedia.org/wiki/Transmission_electron_microscopy (25.04.2011).

[75] <http://nobelprize.org/educational/physics/microscopes/tem/index.html> (25.04.2011).

[76] Chantrell R.W., Popplewell J., and Charles S.W., “Measurements of particle size distribution parameters in ferrofluids”, *IEEE Transactions on Magnetics* 14 (5) (1978) 975.

[77] O’Grady K. and Bradbury A., “Particle-size analysis in ferrofluids,” *J. Magn. Mater.*, 39 (1983) 91.

[78] Morales M.P., Veintemillas-Verdaguer S., Montero M.I., Serna C.J., Roig A., Casas L., Martínez B., and Sandiumenge F., “Surface and internal spin canting in gamma-Fe₂O₃ nanoparticles,” *Chem. Mater.* 11 (1999) 3058.

[79] White M.A., Johnson M., Physical properties measurement system, PPMS, Institute for Research in Materials, Dalhousie University.

- [80] Garcia III A., Oh S., Engler C.R., "Cellulase immobilization on Fe₃O₄ and characterization", *Biotechnology and Bioengineering* 33 (1989) 321.
- [81] Chen D-H, Liao M-H, "Preparation and characterization of YADH-bound magnetic nanoparticles", *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 16 (2002) 283.
- [82] Kockar F, Beyaz S, Sinan S, Kockar H, Demir D, Eryilmaz S, Tanrisever T, Arslan O, "Paraoxonase 1-Bound Magnetic Nanoparticles: Preparation and Characterizations", *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 10 (11) (2010) 7554.
- [83] Maity D., Agrawal D.C., "Synthesis of iron oxide nanoparticles under oxidizing environment and their stabilization in aqueous and non-aqueous media", *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 308 (2007) 46.
- [84] Ocaña M., Rodriguez-Clemente R., and Serna C.J., "Uniform colloidal particles in solution: Formation mechanisms," *Adv. Mater.* 7 (1995) 212.
- [85] Den Ouden C.J.J. and Thompson R.W., "Analysis of the formation of monodisperse populations by homogeneous nucleation," *J. Colloid Interface Sci.* 143 (1991) 77.
- [86] Lam U.T., Mammucari R., Suzuki K, Foster N.R., "Processing of iron oxide nanoparticles by supercritical fluids", *Industrial & Engineering Chemistry Research* 47 (3) (2008) 599.
- [87] Babes L., Denizot B., Tanguy G., Le Jeune J.J., Jallet P., "Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles Used as MRI Contrast Agents: A Parametric Study", *J. Colloid Interface Sci.* 212 (1999) 474.
- [88] Predoi D., "A Study On Iron Oxide Nanoparticles Coated with Dextrin Obtained by Coprecipitation", *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures* 2 (1) (2007) 169.
- [89] Kahani S. A., Jafari M., "A new method for preparation of magnetite from iron oxyhydroxide or iron oxide and ferrous salt in aqueous solution", *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 321 (2009) 1951.
- [90] Cambier P., "Infrared study of goethites of varying crystallinity and particle size: I. Interpretation of OH and lattice vibration frequencies", *Clay Minerals* 21 (1986) 191.
- [91] Krishnamurti G.S.R., Huang P.M., "Influence of citrate on the kinetics of Fe(II) oxidation and the formation of iron oxyhydroxides", *Clays and Clay Minerals* 39 (1) (1991) 28.
- [92] Romero M., Rincon J.Ma., "Microstructural characterization of a goethite waste from zinc hydrometallurgical process", *Materials Letters* 31 (1997) 67.

- [93] Deliyanni E.A., Bakoyannakis D.N., Zoubolis A.I., Matis K.A., Nalbandian L., "Akaganeite-type beta-FeO(OH) nanocrystals: preparation and characterization", *Microporous and Mesoporous Materials* 42 (2001) 49.
- [94] Musić S., Santana G.P., Šmit G., Garg V.K., "Fe-57 Mossbauer, FT-IR and TEM investigations of Fe-oxide powders obtained from concentrated FeCl₃ solutions", *Journal of Alloys and Compounds* 278 (1998) 291.
- [95] Laurent S., Forge D., Port M., Roch A., Robic C., Elst L.V., Muller R.N., "Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, and Biological Applications", *Chem. Rev.* 108 (2008) 2064.; J. P. Jolivet, De la Solution à l'Oxyde, InterEditions et CNRS Editions, Paris, France, 1994.
- [96] Vayssières L., Chanéac C., Tronc E., and Jolivet J.P., "Size tailoring of magnetite particles formed by aqueous precipitation: An example of thermodynamic stability of nanometric oxide particles", *Journal of Colloid and Interface Science* 205 (1998) 205.
- [97] Lee M.H., Kang Y.J., Myung S.T., Sun Y.K., "Synthetic optimization of Li[Ni_{1/3}Co_{1/3}Mn_{1/3}]O₂ via co-precipitation", *Electrochimica Acta* 50 (2004) 939.
- [98] Dolia S.N., "Size dependent magnetic behavior of nanocrystalline Ni_{0.8}Cu_{0.2}Fe₂O₄ ferrite", *Journal of Physics: Conference Series* 200 (2010) 072026.
- [99] Mikhaylova M., Kim D.K., Bobrysheva N., Osmolowsky M., Semenov V., Tsakalakos T., and Muhammed M., "Superparamagnetism of Magnetite Nanoparticles: Dependence on Surface Modification", *Langmuir* 20 (2004) 2472.
- [100] Kim D.K., Zhang Y., Voit W., Rao K.V., Muhammed M., "Synthesis and characterization of surfactant-coated superparamagnetic monodispersed iron oxide nanoparticles", *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 225 (2001) 30.
- [101] Coey J.M.D., "Spin arrangement in ultrafine ferrimagnetic crystallites.", *Phys. Rev. Lett.* 27 (1971) 1140.
- [102] Labarta A., Batlle X., Iglesias O., From finite size and surface effects to glassy behaviour in ferrimagnetic nanoparticles in Nanostructure Science and Technology, Series Editor: Lackwood D. J., Surface Effects in Magnetic Nanoparticles, Edited by Fiorani D., Springer, USA, (2005).
- [103] Tang J., Myers M., Bosnick K. A., Brus L. E., "Magnetite Fe₃O₄ nanocrystals: Spectroscopic Observation of Aqueous Oxidation Kinetics", *J. Phys. Chem. B* 107 (2003) 7501.
- [104] Waseda Y., Suzuki S., Characterization of corrosion products on steel surfaces, Springer (2006).

- [105] Mondal K., Lorethova H., Hippo E., Wiltowski T., Lalvani S.B., “Reduction of iron oxide in carbon monoxide atmosphere—reaction controlled kinetics”, *Fuel Processing Technology* 86 (2004) 33.
- [106] Han Y.C., Cha H.G., Kim C.W., Kim Y.H., Kang Y.S., “Synthesis of highly magnetized iron nanoparticles by a solventless thermal decomposition method”, *J. Phys. Chem. C* 111 (2007) 6275.
- [107] Supuran C.T., and Scozzafava A., “Carbonic Anhydrase Inhibitors”, *Curr.Med.Chem.* 1 (2001) 61.
- [108] Maren T.H., “Carbonic anhydrase; chemistry, physiology and inhibition”, *Physiol.Rev.* 47 (1967) 595.
- [109] Hewett-Emmett D., Tashian R.E., “Functional diversity, conversation, and convergence in the evolution of the α -, β -,and γ -carbonic anhydrase gene familie”. *Mol Phylogenet Evol.* 5 (1996) 50.
- [110] Lindskog S., “Structure and mechanism of Carbonic anhydrase”, *Pharmacol. Ther.* 74 (1997) 1.
- [111] Hewett-Emmett D., Chegwiddden W.R., Carter N.D., Edwards Y.H., Evolution and distribution of the carbonic anhydrase gene families, In: *The Carbonic Anhydrases New Horizons*, Birkhäuser Verlag, Basel (2000).
- [112] Chegwiddden W.R., Dodgson S.J., Spencer I.M., In *the carbonic Anhydrase New Horizons*, Birkhauser Verlag, Basel (2000).
- [113] Aydoğan S., Yönlendirilmiş Mutagenез ile Mutant HCAII Geninin Eldesi ve Mutant Proteinlerin İnhibitörlere Karşı İlgisinin Araştırılması, Y. Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilimdalı, Balıkesir (2006).
- [114] Jordan J., Kumar Challa S.S.R., Theegala C., “Preparation and characterization of cellulase-bound magnetite nanoparticles”, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 68 (2011) 139.
- [115] Gündüz T., İnrümentel Analiz, Bilge Yayıncılık, Ankara (1990).
- [116] Köçkar F., Türkoğlu S.A., Görüş alma, Balıkesir Üniversitesi (2011).