



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MANYETİK POLİMERLERİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU
VE AYIRMA İŞLEMLERİNDE KULLANIMININ İNCELENMESİ**

Eren YILDIRIM

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Kimyasal Teknolojiler Programı

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Tülin Banu İYİM**

**II. DANIŞMAN
Doç. Dr. Serkan EMİK**

Serkan Emik
Tülin Banu İyim

Kasım, 2017

İSTANBUL

Bu çalışma, 10.11.2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Kimyasal Teknolojiler Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

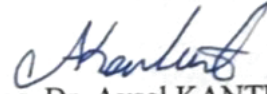
Tez Jürisi



Prof. Dr. Tülin Banu İYİM(Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi



Prof. Dr. Saadet Kevser PABUCCUOĞLU
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi



Doç. Dr. Aysel KANTÜRK
Yıldız Teknik Üniversitesi
Kimya-Metalurji Fakültesi



Doç. Dr. Solmaz AKMAZ
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi



Doç. Dr. Tuncer YALÇINYUVA
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi



20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi’nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 23031 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, beni her daim destekleyen saygıdeğer hocam Prof. Dr. Tülin Banu İYİM'e teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Hem tez çalışmalarım konusunda hem de sosyal yaşantım konusunda çekinmeden danışabildiğim, bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren ikinci danışmanım Doç. Dr. Serkan EMİK'e teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Özellikle tezin yazılma sürecindeki yardımları ve bana olan güvenlerinden dolayı Prof. Dr. Saadet Kevser PABUCCUOĞLU ve Prof. Dr. Işıl ACAR'a teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Kimyasal Teknolojiler Anabilimdalı'nın değerli öğretim üyelerine tez çalışmalarım sırasındaki katkılarından dolayı teşekkür ederim.

DLS ölçümlerindeki yardımlarından dolayı Yard. Doç. Dr. Mehtap ŞAFAK BORAOĞLU ve DNA analizlerinin gerçekleştirilmesindeki yardımlarından dolayı Doç. Dr. Neslihan TURGUT KARA ve Doç. Dr. Özgür ÇAKIR'a teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, her ihtiyaç duyduğumda yanımda olan Oğuz YÜCEL, Ayça ERGÜN ve Gamze ÇETİN'e teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan ve beni destekleyen A. Doğucem MARANGOZ, Yıldız USTABAŞ ve Serhad TİLKİ'ye teşekkür ederim.

Her zaman yanımda görmek istediğim ailemden biri olarak bildiğim yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen H. Gürkan İPEK'e teşekkür ederim.

Hayatım boyunca her kararımdaya beni destekleyen, bana daima güvenen ve inanan aileme verdikleri sonsuz sevgi ve emekten dolayı teşekkür ve minnetlerimi sunarım.

Bu tez babamın anısına atfedilmiştir...

Kasım 2017

Eren YILDIRIM

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	vii
TABLO LİSTESİ.....	ix
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	x
ÖZET	xi
SUMMARY	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL KISIMLAR.....	3
2.1. MANYETİZMA	3
2.1.1. Diyamanyetizma.....	4
2.1.2. Paramanyetizma	4
2.1.3. Ferromanyetizma.....	4
2.1.4. Ferrimanyetizma.....	5
2.2.5. Antiferromanyetizma.....	5
2.2. CURİE SICAKLIĞI.....	5
2.3. MANYETİK PARTİKÜLLER	6
2.3.1. Demir Oksitler	6
2.3.3.1. Hematit	7
2.3.3.2. Magnetit.....	7
2.3.3.3. Maghemit	8
2.4. MANYETİK DEMİR OKSİT PARTİKÜLLERİN ÜRETİM YÖNTEMLERİ.....	10
2.4.1. Birlikte Çöktürme Yöntemi	10
2.4.2. Hidrotermal Bozunma	12
2.4.3. Mikroemülsiyon Yöntemi	13
2.5. MANYETİK PARTİKÜLLERİN UYGULAMA ALANLARI	14
2.5.1. Çevresel Uygulamalar	14
2.5.2. Biyomedikal Uygulamalar.....	16
2.5.2.1. İn Vivo Uygulamalar	16
2.5.2.2. İn Vitro Uygulamalar	18

2.6. NÜKLEİK ASİTLER İÇİN SAFLAŞTIRA VE AYIRMA METOTLARI	19
2.6.1. Geleneksel Manyetik Olmayan Yöntemler	21
2.6.1.1 Sıvı Faz	21
2.6.1.2. Katı faz.....	21
2.6.2. Manyetik Ayırma.....	22
2.6.3. Nükleik Asit Ayrımı İçin Manyetik Parçacıkların Hazırlanması	22
2.6.4. Ticari Manyetik Parçacıklar	24
2.6.5. Manyetik Ayırıcılar	26
2.7. POLİMER KAPLI MANYETİK PARTİKÜLLER.....	26
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	29
3.1. KİMYASAL MALZEMELER	29
3.2. KULLANILAN CİHAZ VE ALETLER	31
3.2.1. Ürünlerin Karakterizasyonu	31
3.2.1.1. Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FT-IR) Analizi.....	31
3.2.1.2. Termal Gravimetrik Analiz (TGA).....	31
3.2.1.3. Ortalama Partikül Boyutu Dağılımının Belirlenmesi.....	31
3.2.1.4. DNA Adsorpsiyon ve Desorpsiyon Miktarlarının Belirlenmesi.....	32
3.3. YÖNTEMLER	32
3.3.1. Oleik Asit Kaplı Fe ₃ O ₄ Kürelerin Sentezlenmesi.....	32
3.3.1.1. Tek Tabaka Kaplama	32
3.3.1.2. İkinci Tabaka Oleik Asit Kaplamaları	33
3.3.2. Oleik Asit Kaplı Fe ₃ O ₄ Kürelerin Poliakrilamid İle Kaplanması.....	35
3.3.3. Polimer Kaplı Manyetik Partiküllerin Yüzey Modifikasyonları	36
3.3.4. İndikatör ile Asit-Baz Titrasyonu ile Amin İndisi (AI) Tayini	37
3.3.5. DNA Adsorpsiyon ve Desorpsiyon Çalışmaları.....	37
4. BULGULAR.....	39
4.1. FT-IR ANALİZLERİ	39
4.2. PARTİKÜL BOYUTU VE AMİN İNDİSİ ANALİZLERİ.....	45
4.3. TGA ANALİZLERİ.....	54
4.4. DNA İZOLASYON ÇALIŞMALARI.....	62
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	64
KAYNAKLAR.....	67
ÖZGEÇMİŞ	76

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Hematit, menyetit ve maghemitin kristal yapıları ve kristalografik verileri (Siyah topraklar Fe^{+2} , kırmızı topraklar Fe^{+3} ve mavi topraklar O^{2-} iyonlarını göstermektedir) [5].	7
Şekil 2.2: Uluslararası x-ışını kırınımı difraktometresi kütüphanesinde (JCPDS) mevcut standart toz $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (33-0664), Fe_3O_4 (19-0629) ve $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (39-1346)'ün x-ışını kırınımı (XRD) tepe çizgilerini göstermektedir [10].	8
Şekil 2.3: Manyetik partiküllerin üretim yöntemleri.	10
Şekil 2.4: Birlikte çöktürme yönteminin şematik gösterimi.	12
Şekil 2.5: Çeşitli manyetik nanopartiküllerin adsorpsiyon ve indirgeme mekanizmaları	15
Şekil 2.6: Manyetik partiküllerle DNA izolasyonunun şematik gösterimi.	22
Şekil 2.7: Manyetik nanopartiküllerin yüzey kaplamalarının farklı morfolojileri [9].	27
Şekil 3.1: (a) Oleik asit ile tek tabaka kaplı Fe_3O_4 manyetik partikülü, (b) oleik asit ile çift tabaka kaplanmış Fe_3O_4 manyetik partikülü [103].	34
Şekil 4.1: MDO – 1 ürününe ait FT – IR spektrumu.	39
Şekil 4.2: Laboratuvar ortamında sentezlenen oleik asit kaplı manyetik demir oksit partiküllerine ait FT-IR spektrumları.	40
Şekil 4.3: MDO-1 ve S-MDO-1 ürünlerine ait FT-IR spektrumları.	41
Şekil 4.4: MDO ve S-MDO ürünlerine ait FT-IR spektrumları.	42
Şekil 4.5: AAM-07 ürününe ait FT-IR spektrumu.	43
Şekil 4.6: PAAM kaplı çekirdek kabuk yapıdaki manyetik ürünlere ait FT-IR spektrumları.	43
Şekil 4.7: AAM-07 ve EDA-AAM-07 kodlu manyetik ürünlere ait FT-IR spektrumları	44
Şekil 4.8: Amino fonksiyonel polimer kaplı manyetik ürünlere ait FT-IR spektrumları.	45
Şekil 4.9: Laboratuvar şartlarında sentezlenen saf manyetik Fe_3O_4 partikül boyut ve dağılımı grafiği.	46
Şekil 4.10: S-MDO-1 manyetik demir oksit süspansiyonuna ait partikül boyut ve dağılımı grafiği.	47

Şekil 4.11: S-MDO-2 manyetik demir oksit süspansiyonuna ait partikül boyut ve dağılımı grafiği.	47
Şekil 4.12: S-MDO-3 manyetik demir oksit süspansiyonuna ait partikül boyut ve dağılımı grafiği.	48
Şekil 4.13: S-MDO-5 manyetik demir oksit süspansiyonuna ait partikül boyut ve dağılımı grafiği.	48
Şekil 4.14: AAM-07 ürününe ait partikül boyut ve dağılımı grafiği.	49
Şekil 4.15: EDA-AAM-03 ürününe ait partikül boyut ve dağılımı grafiği.	50
Şekil 4.16: EDA-AAM-05 ürününe ait partikül boyut ve dağılımı grafiği.	50
Şekil 4.17: EDA-AAM-07 ürününe ait partikül boyut ve dağılımı grafiği.	51
Şekil 4.18: EDA-AAM-10 ürününe ait partikül boyut ve dağılımı grafiği.	51
Şekil 4.19: EDA-AAM-15 ürününe ait partikül boyut ve dağılımı grafiği.	52
Şekil 4.20: Ticari MDO'ya ait TGA-DTA grafiği.	54
Şekil 4.21: Laboratuvar şartlarında sentezlenmiş MDO'ya ait TGA-DTA grafiği.	55
Şekil 4.22: MDO-1 ürününe ait TGA-TDA grafiği.	56
Şekil 4.23: MDO-2 ürününe ait TGA-DTA grafiği.	56
Şekil 4.24: MDO-3 ürününe ait TGA-DTA grafiği.	57
Şekil 4.25: MDO-4 ürününe ait TGA-DTA grafiği.	57
Şekil 4.26: MDO-5 ürününe ait TGA-DTA grafiği.	58
Şekil 4.27: AAM-03 ürününe ait TGA-DTA grafiği.	60
Şekil 4.28: AAM-05 ürününe ait TGA-TDA grafiği.	60
Şekil 4.29: AAM-07 ürününe ait TGA-DTA grafiği.	61
Şekil 4.30: AAM-10 ürününe ait TGA-DTA grafiği.	61
Şekil 4.31: AAM-15 ürününe ait TGA-DTA grafiği.	62

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Manyetik davranışların farklı şekilleri.	3
Tablo 2.2: Demiroksit, demiroksohidroksit, sülfid, metaller ve alaşımların özellikleri.....	9
Tablo 2.3: Manyetik demiroksit nanopartiküllerin üretiminde kullanılan kimyasal yöntemlerin karşılaştırması.	14
Tablo 2.4: Hibrid polimerik MNP'lerin son gelişmeleri ve potansiyel biyomedikal uygulamaları.	18
Tablo 2.5: DNA, RNA ve pDNA ayırmada kullanılan ticari manyetik partiküller.....	25
Tablo 3.1: Denemelerde kullanılan kimyasal maddelerin özellikleri.	30
Tablo 3.2: Fe ₃ O ₄ manyetik kürelerin oleik asit ile kaplanması.....	33
Tablo 3.3: Tek tabaka kaplı Fe ₃ O ₄ manyetik kürelerin ikinci tabaka oleik asit ile kaplanması.	34
Tablo 3.4: Oleik asit kaplı manyetik demir oksit (Fe ₃ O ₄ /OA) kürelerin enkapsüle edilmesi.....	35
Tablo 3.5: Polimer kaplı manyetik demir oksit kürelerin (Fe ₃ O ₄ /OA-AAm) yüzey modifikasyonları.	36
Tablo 4.1: EDA-AAm ürünlerine ait ortalama partikül boyutu ve amin indisi değerleri	53
Tablo 4.2: pH 5’de DNA konsantrasyonunun zamanla değişimi.	63

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
M	: Manyetik malzemenin mıknatıslanma vektörleri
H	: Manyetik alan şiddeti
X	: Manyetik duyarlılık
K	: Kelvin
θ	: Temas açısı
σ	: Oda sıcaklığındaki mıknatıslanma doygunluğu
T_C	: Curie sıcaklığı
T_N	: Neel sıcaklığı

Kisaltmalar	Açıklama
AI	: Amin indisi
MDO	: Manyetik demir oksit
PVA	: Poli(vinil alkol)
EDA	: Etilen diamin
NMBA	: N,N'-metilenbisakrilamid
S-MDO	: Manyetik demir oksit süspansiyonu
AAM	: Akrilamid kaplı manyetik polimer
MPP	: Manyetik polimer partikül
MDO	: Manyetik demir oksit
PAAM	: Poli(akrilamid)
TEMED	: N,N,N',N'-tetrametiletildiamin
OA	: Oleik asit
TGA	: Termal gravimetrik analiz
FTIR	: Fourier transform infrared spektroskopisi
DLS	: Dinamik ışık saçılımı

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MANYETİK POLİMERLERİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE AYIRMA İŞLEMLERİNDE KULLANIMININ İNCELENMESİ

Eren YILDIRIM

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Tülin Banu İYİM

II. Danışman : Doç. Dr. Serkan EMİK

Son yıllarda, özellikle biyomedikal alanlardaki çalışmalarda dikkat çeken manyetik temelli partiküllerin en büyük avantajlarından biri mikro ve nano boyutlu olarak üretilebiliyor olmasıdır. Buna karşın toksisite ve oksidasyona karşı savunmasız olmalarından dolayı yüzey modifikasyonu çalışmaları hız kazanmıştır. Ayrıca yüzey modifikasyon işlemi kullanım alanına göre malzemeye spesifik ve üstün özellikler kazandırmaktadır.

Bu tez kapsamında, birlikte çöktürme yöntemi kullanılarak sentezlenen Fe_3O_4 nano partiküllerinin yüzeyleri, su bazlı ferro –akışkan elde etmek amacı ile iki tabakalı olarak oleik asit ile kaplanmıştır. Daha sonra çapraz bağlayıcı olarak kullanılan NMBA ve farklı oranlarda kullanılan (0.375, 0.50, 0.75, 1.0, 1.5) akrilamid monomeri ile ters emülsiyon polimerizasyonu gerçekleştirilerek, çekirdek-kabuk yapıda manyetik polimerik partiküller (MPP) sentezlenmiştir. DNA saflaştırılması işlemlerinde kullanılması planlanan MPP'lerin yüzeyleri modifiye edilerek amino fonksiyonel özellik kazandırılmıştır. Son olarak, nihai ürünler olan modifiye MPP'ler pH 5'de DNA adsorpsiyonu ve pH 10'da DNA desorpsiyonu çalışmalarında kullanılmıştır.

Analiz çalışmaları ışığında elde edilen veriler göz önün alındığında, partikül boyutu 180 nm ($\sim 0,2\mu m$) olan, amino fonksiyonel poli(akrilamid) ile kaplanmış, çekirdek kabuk yapısında manyetik partikülün başarıyla sentezlendiği ve bu partiküllerin DNA izolasyonunda kullanabileceğini belirlenmiştir.

Kasım 2017, 90 sayfa.

Anahtar kelimeler: Magnetit, Manyetik demir oksitler, DNA izolasyonu.



SUMMARY

M.Sc. THESIS

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF MAGNETIC POLYMERS, AND INVESTIGATION OF THEIR USAGE IN SEPERATION PROCESS

Eren YILDIRIM

İstanbul University

Institute of Graduate Studies in Science and Engineering

Department of Chemical Engineering

Supervisor : Prof. Dr. Tülin Banu İYİM

Co-Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Serkan EMİK

In recent years, one of the greatest advantages of magnetically-based particles, which are particularly noteworthy in studies in biomedical fields, is that they can be produced in micro- and nano-dimensions. However, due to their vulnerability to toxicity and oxidation, surface modification studies have been accelerated. In addition, the surface modification process gives specific and superior properties to the material according to the usage area.

In this thesis, the surfaces of Fe_3O_4 nanoparticles, which produced by co-precipitation method, were coated with oleic acid bilayer due to the aim of obtaining a water-based ferro-fluid. Then, core-shell type magnetic polymeric particles (MPP) were synthesized by performing the inverse emulsion polymerization of acrylamide monomer at different ratios (0.375, 0.50, 0.75, 1.0, 1.5) in the presence of crosslinker NMBA. For using in DNA purification procedures, the surfaces of the MPPs were modified to gain amino functional properties. Finally, the final products, modified MPPs, were used for DNA absorption at pH 5 and DNA desorption at pH 10.

Considering the data obtained from this study, it can be said that the magnetic particles were successfully synthesized in the core shell structure coated with amino functional poly (acrylamide) with a particle size of 180 nm ($\sim 0.2\mu\text{m}$). The DNA isolation studies carried out indicate that these particles can be used for DNA isolation.

November 2017, 90 pages.

Keywords: Magnetite, Magnetic iron oxide particles, DNA isolation.



1. GİRİŞ

M.Ö. 200'lere kadar dayanan köklü bir geçmişe sahip olan manyetik malzemeler üzerine yapılan çalışmalar özellikle 19. yy' dan itibaren bilimsel bir nitelik kazanmıştır. Birçok türü olduğu bilinen manyetik malzeme sınıfının oldukça önemli bir üyesi olan demir esaslı (demir oksit ve demir oksihidroksitler) malzemeler, manyetik alan uygulamaları kapsamında tıbbi ve biyolojik uygulamalar vb. gibi birçok alanda yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Bu malzemelerin, mikro ve nano boyutta da üretilebiliyor olması bu alanlarda etkin bir şekilde kullanımlarına olanak sağlamıştır.

Bilinen sekiz demir oksit bileşikleri arasında hematit (α -Fe₂O₃), magnetit (Fe₃O₄) ve maghemit (γ -Fe₂O₃), sıcaklığın indüklediği faz geçişini içeren polimorfizmlerinden dolayı bilimsel çalışmalar kapsamında oldukça yaygın kullanılan manyetik malzemelerdir.

Manyetik demir oksit nano-partikülleri sentezlemek için fiziksel, kimyasal ve biyolojik olmak üzere üç temel yöntem kullanılmaktadır. Bunlar arasında literatürde en yaygın sentez yöntemi olarak kimyasal sentez yöntemleri dikkat çekmektedir. Kimyasal yöntemleri birlikte çöktürme, termal bozunma, sonakimyasal, hidrotermal, elektrokimyasal ve mikroemülsiyon olmak üzere altı alt sınıfta incelenmektedir. Birlikte çöktürme yöntemi laboratuvar ölçekli üretim için en kolay ve uygun sentez yöntemi olarak karşımıza çıkmaktadır. Birlikte çöktürme yöntemi; Fe²⁺ ve Fe³⁺ sulu tuz çözeltilerine oda sıcaklığında veya farklı sıcaklıklarda baz eklenmesi prensibine dayanır. Oluşan çökelti siyah renktedir.

Manyetik malzemeler hem çevresel hem de biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Çevresel uygulamaları arasında özellikle sudaki kirlilikleri giderme amacı ile yüzeyleri modifiye edilerek spesifik temizleme ajanları olarak kullanılmaktadır. Manyetik nanoparçacıkların biyomedikal uygulamaları arasında ise, tanılama, ayırma, katalitik uygulamalar, terapötik (hipertermi ve ilaç hedefleme) ve diagnostik uygulamalar (nükleer manyetik rezonans (NMR) görüntüleme) sayılabilmektedir.

Manyetik nanopartiküller (NP) ile ilgili iki temel problem söz konusudur. Bunlardan bir tanesi küçük NP'lerin toplanma eğilimi gösterdiği ve yüzey enerjisini düşürmek için büyük partiküller oluşturduğu dağılabilirlik kaybı bir diğeri ise; çıplak demir oksit NP'lerin (özellikle Fe₃O₄ ve γ -

Fe_2O_3) yüksek kimyasal aktiviteleri nedeniyle havada kolayca oksitlenmesinden kaynaklı manyetizma kaybıdır. Bu nedenlerden dolayı nanopartiküllerin ileriki uygulamaları sırasında veya sonrasında alabilecekleri hasara karşı uygun bir koruma stratejisi geliştirmek önemlidir. Bu amaçla dört temel strateji üzerinde durulmuştur. Bunlar: çekirdek – kabuk yapısı, dambıl ve janus tipi hetero yapılar, çekirdek- kabuk- kabuk yapısı ve fırça tipi yapılarıdır.

Çekirdek-kabuk (core-shell) yapılar, merkezde demir oksit partiküllerin çekirdeği oluşturması ve bu manyetik çekirdeğin üzerinin uygulama alanına göre seçilmiş olan $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$, $-\text{COOH}$, $-\text{SH}$ vb. uç gruplar içeren bir ligand, silika gibi inorganik veya fonksiyonel gruplar içeren polimer gibi bir partikülün kabuk kısmını oluşturmasıyla elde edilir.

Son yıllarda yapılan çalışmalar tek tabakalı yüzey aktifle kaplanan partiküller yüksek molekül ağırlıklı hidrokarbonlar içerisinde stabilize edildiğini, su bazlı ferro-akışkanlar elde etmek için ise çift tabaka kaplama yapılması gerektiğini ortaya koymuştur. Ayrıca oleik asidin uzun alkil zincirleri Fe_3O_4 nanopartiküllerini (MNP) stabilize ederek koagülasyonunu engellemekle kalmaz aynı zamanda Fe_3O_4 nanopartiküllerin polimerizasyon sırasında monomerine olan afinitesini arttırmırlar.

Bu tez kapsamında ferro-akışkan elde etmek amacı ile Fe_3O_4 çift tabaka oleik asit ile kaplanan MNP'ler çekirdek–kabuk tipinde (core-shell) poliakrilamid (PAAm) ile enkapsüle edilmiş, kabuk kısmı oluşturan PAAm yapıları amino uç grupları içerecek şekilde etilendiamin (EDA) ile modifiye edilmiştir. Daha sonra elde edilen modifiye MNP'ler ile pH 5'de DNA absorpsiyon ve pH 10'da DNA desorpsiyon çalışmaları yapılmıştır.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. MANYETİZMA

Manyetizmanın kökeni elektronların yörüngesel hareketleri, spin hareketleri ve elektronların birbirleriyle olan etkileşimlerine bağlıdır. Bazı malzemelerde toplam atomik manyetik moment etkileşimi yoktur, oysa diğer malzemelerde, atomik manyetik momentleri arasında çok güçlü bir etkileşim vardır. Bu durum manyetik malzemelerin ayırımını yapmada önemli bir rol oynamaktadır. Harici olarak uygulanan bir manyetik alanın varlığında, elektronların yörüngesel hareketi tarafından oluşturulan atomik akım döngüleri, uygulanan alana karşı tepki vermektedir. Bir materyaldeki manyetik momentlerin yönlendirmelerinin açıklamaları, doğada gözlemlenen manyetizmanın farklı biçimlerini tanımlamaya yardımcı olmaktadır. Dış uyarana karşı verdikleri bu tepkiye göre Tablo 2.1’de de gösterildiği gibi, diyamanyetik, paramanyetik, ferromanyetik, ferrimanyetik ve antiferrimanyetik olmak üzere beş temel sınıfta incelenmektedirler [1,2,3].

Tablo 2.1: Manyetik davranışların farklı şekilleri.

Manyetizma sınıfları	Örnekler	Net manyetizasyon	Duyarlılık	Bağıl Manyetik Geçirgenlik	Manyetik moment hizalanması	Manyetik davranış
Diamanyetizma	Ag, Cu	0	Küçük ve Negatif $-1 < \chi < 0$	$\mu < 1$	$H=0$ 	
Paramanyetizma	Mg, Sodyum	0	Küçük ve Pozitif $0 < \chi < \epsilon$	$\mu > 1$	$H=0$ 	
Ferromanyetizma	Fe	✓	Büyük ve Pozitif $\chi \gg 1$	$\mu \gg 1$	$H=0$ 	
Ferrimanyetizma	Fe_3O_4 , $BaFe_{12}O_{19}$	✓	Büyük ve Pozitif $\chi \gg 1$	$\mu \gg 1$	$H=0$ 	
Anti-Ferrimanyetizma	Krom	0	Küçük ve Pozitif $0 < \chi < \epsilon$	$\mu > 1$	$H=0$ 	

Paramanyetik ve diyamanyetik maddelerin mıknatıslanma vektörleri (M), manyetik alan şiddeti (H) ile orantılıdır.

$$M= \chi .H \quad (2.1)$$

Burada χ manyetik duyarlılığı (süseptibilite) göstermektedir [3,4].

2.1.1. Diyamanyetizma

Diyamanyetizm bütün maddelerin ortak özelliğidir. Diyamanyetik maddeler net manyetik momente sahip olmayan atomlardan oluşur. Yörüngesel kabukların tümü doludur ve çiftleşmemiş elektronlar yoktur. Ancak, bir dış manyetik alana maruz kaldığında negatif bir manyetizasyon gösterirler ve bu durum diyamanyetik malzemelerin duygunluğu (χ) negatif olmasına neden olur. Uygulanan dış manyetik alan kaldırıldığında indüklenme alanı da ortadan kalkar [1,3,4].

2.1.2. Paramanyetizma

Diyamanyetizma dışında kalan tüm manyetik davranış türleri, çoğunlukla her bir atomun 3d veya 4f orbitallerinde bulunan eşleşmeyen elektronlardan kaynaklanır [1]. Paramanyetik maddeler, bir dış manyetik alan etkisi altında zayıf ve pozitif yönlü bir duyarlılık gösterirler. Bu duyarlılık, sürekli manyetik dipol momenti olan atom ya da iyonların varlığından kaynaklanır. Bu momentler birbirleri ile zayıf etkileşim içerisindedirler ve dış bir manyetik alan içerisinde olmadıkları zaman geliştiği güzel dağılım gösterirler [1,2,3].

2.1.3. Ferromanyetizma

Paramanyetik materyallerin aksine, demir, nikel, manyetit gibi materyallerin içindeki atom momentleri çok güçlü etkileşimler sergiler. Bu etkileşimler elektronik değişim kuvvetleri tarafından üretilir ve atomik momentlerin paralel veya antiparalel hizalanmasına neden olur. Değişim kuvvetleri, 1000 Tesla civarında bir alana eşdeğer ya da dünya manyetik alan gücünün yaklaşık 100 milyon katı kadar büyüktür. Değişim kuvveti, iki elektronun spinlerinin göreceli yönelimi nedeniyle bir kuantum mekanik fenomendir. Ferromanyetik malzemeler momentlerin paralel hizalanmasından dolayı manyetik alan bulunmaması durumunda dahi net manyetizasyona sahiptirler [1,2,4].

2.1.4. Ferrimanyetizma

Bu manyetizma türü, saf elementler yerine kompleks yapılara sahip bileşiklerde gözlenebilir. Örneğin demir oksitler, manyetik özellikleri elektron etkileşimlerine ve metal iyonlarına bağlı olan ferrimanyetik materyalleri üretmek için Mn, Ni veya çinko gibi en az bir geçiş metali ile alaşım hâline getirilirler. Manyetik alan yokluğunda ferrimanyetik yapı, oksijenle ayrılmış iki manyetik alt kafes içerir. Bu kafeslerdeki manyetik momentler birbirlerine eşit değildir. Bir yöndeki manyetik moment zıt yöndeki manyetik momentten büyük olduğu için net manyetizasyon gösterir. Ferrimanyetik malzemeler Curie sıcaklığına verdiği tepki, histerezis ve net manyetizasyon gibi özellikleri bakımından ferromanyetik malzemelere benzer özellik göstermelerine rağmen birbirlerinden çok farklı manyetik sıralanmaları vardır. Ferrimanyetik malzemeler Curie sıcaklığının altında paramanyetik davranış göstermelerine rağmen, Curie sıcaklığının üzerinde ferromanyetik özellik gösterirler [1,3,4].

2.2.5. Antiferromanyetizma

Ferrimanyetik malzemelerde olduğu gibi farklı iki manyetik kafese sahip olan yapılarda zıt yönlere manyetik momentler birbirlerine eşit olduklarında net manyetik moment sıfır olur. Bu tür malzemelere antiferromanyetik malzemeler denir. Antiferromanyetizma Neel sıcaklığı denilen ve ferrimanyetizmadaki Curie sıcaklığına eş değer, kritik bir sıcaklık üzerindeki duyarlılık durumudur. Neel sıcaklığı üzerinde malzeme paramanyetik davranış gösterir [2].

2.2. CURİE SICAKLIĞI

Manyetik malzemelerin termal özellikleri ilk olarak Pierre Curie (1859 – 1906) tarafından incelenmiştir. Curie, manyetizasyon (M) ve uygulanan manyetik alan (H) arasında sıcaklığa bağlı bir ilişkiyi,

$$X = \frac{C}{T} \quad (2.2)$$

X= duyarlılık, C= Curie sabiti ve T= Kelvin cinsinden sıcaklık şeklinde tanımlamıştır [6,7]. Curie, aynı zamanda dış manyetik alan olmadığında ferromanyetik malzemelerin gösterdiği doğal manyetizasyonu da inceleyerek, sıcaklık belli bir değere yaklaştığında manyetizasyonun hızla düştüğünü görmüştür. Bu noktada ısısal hareketlilik enerjisi spontan manyetizasyon enerjisini yener ve manyetiklik ortadan kalkar. Malzemelerin manyetizasyonlarında değişim

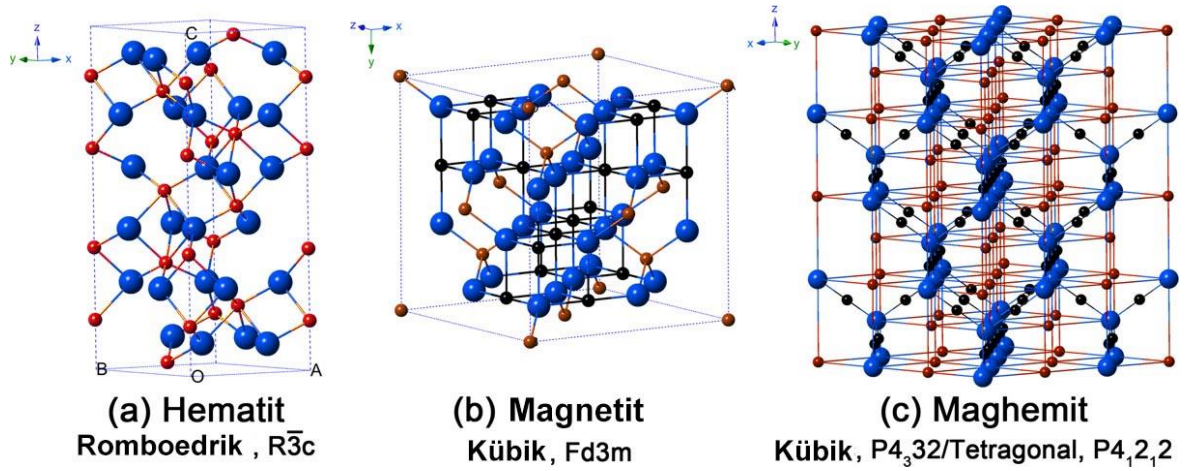
gözlenen bu sıcaklık değerine Curie sıcaklığı (T_C) denir. Curie sıcaklığı her malzeme için farklıdır ve ferro ve ferri manyetik malzemeler Curie sıcaklığı üzerinde paramanyetik davranış sergilerler. Antiferromanyetikler için bu geçiş sıcaklığı Neel Sıcaklığı (T_N) olarak adlandırılır [7,8].

2.3. MANYETİK PARTİKÜLLER

Antik çağlardan beri manyetotaktik bakteriler tarafından, jeomanyetik alanlar boyunca uygun yaşam alanı bulmak için kullanılan (30-100 nm) manyetik parçacıklar, insanlık tarihine M.Ö. 200'lerde dahil olmuştur. Fal taşı, yön bulma aletleri vb. olarak kullanılan manyetik malzemeler üzerine yapılan çalışmalar özellikle 19. yy' dan itibaren bilimsel bir nitelik kazanmıştır. Bilinen bazı manyetik malzemeler Tablo 2.2'de gösterilmiştir. Manyetik malzeme sınıfının çok önemli bir üyesi olan demir esaslı (demir oksit ve demir oksihidroksitler) malzemeler, manyetik alan uygulamaları kapsamında tıbbi ve biyolojik uygulamalar vb. gibi birçok alanda yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Bu malzemelerin, mikro ve nano boyutta da üretilebiliyor olması bu alanlarda etkin bir şekilde kullanımlarına olanak sağlamıştır [4].

2.3.1. Demir Oksitler

Sekiz çeşit demir oksit bilinmektedir (Tablo2.2) [1]. Bu demir oksitler arasında hematit (α - Fe_2O_3), manyetit (Fe_3O_4) ve maghemit (γ - Fe_2O_3), sıcaklığın indüklediği faz geçişini içeren polimorfizmlerinden dolayı umut verici ve popüler adaylardır. Bu üç demir oksidin her biri, spesifik teknik ve biyomedikal uygulamalar için uygunluk sağlayan benzersiz biyokimyasal, manyetik, katalitik ve diğer özelliklere sahiptir [5,20].



Şekil 2.1: Hematit, menyetit ve maghemitin kristal yapıları ve kristalografik verileri (Siyah toplar Fe^{+2} , kırmızı toplar Fe^{+3} ve mavi toplar O^{2-} iyonlarını göstermektedir) [5].

2.3.3.1. Hematit

Çevre şartlarında en kararlı demir oksit ve 2.2 eV bant aralığına sahip n-tipi yarı iletken olan hematit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$), düşük maliyet ve korozyona karşı yüksek direnç nedeniyle katalizörler, pigmentler ve gaz sensörlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır [1,5]. Hematit rombohedral bir yapıya sahiptir. Bu yapıda sıkı istif düzende yerleşmiş oksijen iyonlarından oluşan kafes ile çevrelenmiş, neredeyse ideal altıgen yapısında olan oktahedral bölgelerin üçte ikisini Fe^{+3} iyonları oluşturur. Hematit oda sıcaklığında zayıf ferromanyetik özellik sergilemesine rağmen Morin sıcaklığı (T_M) adı verilen yaklaşık 260 K sıcaklık değerinde faz geçişine uğrayarak antiferromanyetik özellik kazanır. Cruie sıcaklığı ($T_C > 950$ K) üzerinde ise paramanyetik özellik kazanır. Parçacık boyutunun 8 nm'den az olması durumunda oda sıcaklığında süper paramanyetik özellik sergiler. Kristalinitenin azalması da faz geçiş sıcaklığını önemli ölçüde düşürebilir. Bundan da anlaşılacağı gibi hematitin manyetik özellikleri Curie ve Morin sıcaklık geçişlerinin yanı sıra partikül boyutuna, basınca, dış manyetik alanlara, ortamda bulunan yabancı madde varlığına, kafes kusurlarına, iyon değişimine bağlı olarak değişiklik gösterir [1,5,10,11].

2.3.3.2. Magnetit

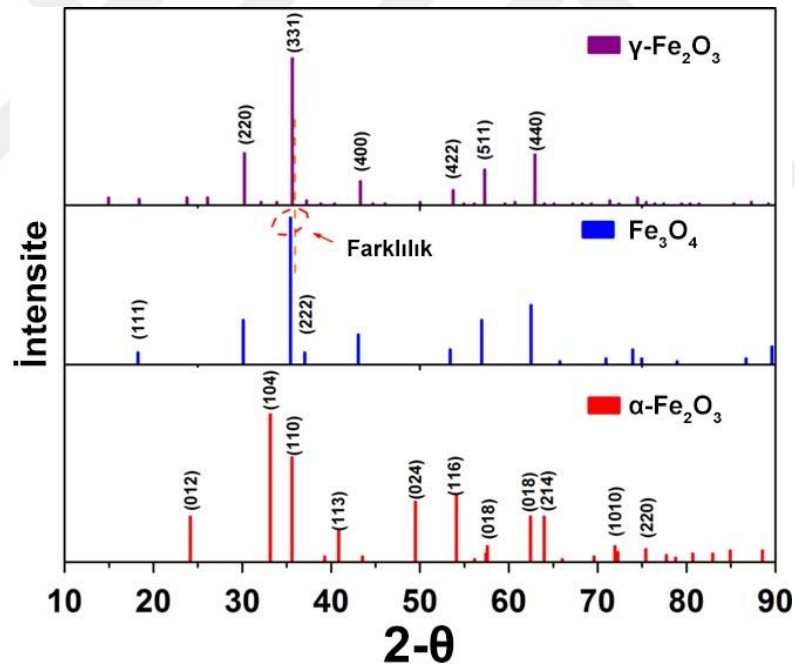
Magnetit, 32 O^{2-} iyonundan oluşan sıkı istif kübik yapı içerisinde oktahedral ve tetrahedral bölgeler arasında rasgele dağılan Fe^{3+} iyonları ve oktahedral bölgelerdeki Fe^{2+} iyonlarından oluşan kübik ters spinel yapıya sahiptir. Magnetit yapısında bulundurduğu Fe^{2+} iyonlarının tamamını veya bir kısmını diğer iki değerlikli iyonlarla (Co, Mn, Zn, vb.) değiştirebildiği için

hem n-tipi hem de p-tipi yarı iletken olabilirler. Ayrıca küçük bant aralığı nedeniyle (0.1 eV) demir oksitler arasında en düşük direnci gösteren demir oksit tipidir [1,12,17,21].

Magnetitin Curie sıcaklığı 850 K'de görülür. Curie sıcaklığının altında, ferrimanyetik olarak davranır. Bu nedenle oda sıcaklığında ferrimanyetiktir. Sıcaklıklar Curie sıcaklığına ulaştığında ise süperparamanyetik davranış gösterir [5,6,13,19].

2.3.3.3. Maghemit

Demir iyonları tetrahedral bölgelere (birim hücre başına sekiz Fe iyonu) ve oktahedral sitelere (geri kalan Fe iyonları ve boşlukları) dağıtılırken, oksijen anyonları sıkı istif kübik bir dizi oluşturur. Bu nedenle, maghemit tamamen oksitlenmiş manyetit olarak düşünülebilir ve 2.0 eV'lik bir bant aralığı ile n-tipi bir yarı iletkendir [11,12,21].



Şekil 2.2: Uluslararası x-ışını kırınımı difraktometresi kütüphanesinde (JCPDS) mevcut standart toz α - Fe_2O_3 (33-0664), Fe_3O_4 (19-0629) ve γ - Fe_2O_3 (39-1346)'ün x-ışını kırınımı (XRD) tepe çizgilerini göstermektedir [10].

Şekil 2.2'den görüldüğü üzere Fe_3O_4 ve γ - Fe_2O_3 benzer kristal yapıları sahiptir. γ - Fe_2O_3 'ün kübik formunun yüksek açılar doğrultusundaki difraksiyon pikindeki küçük kayma γ - Fe_2O_3 'ün karakteristik pikidir ve Fe_3O_4 'den ayırmada kullanılmaktadır [10,11,14].

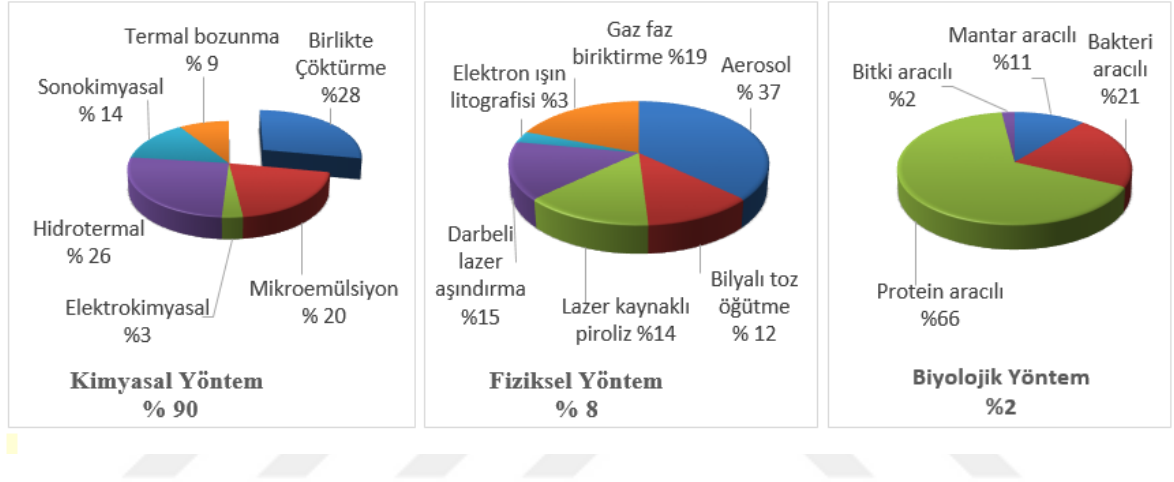
Tablo 2.2: Demiroksit, demiroksohidroksit, sülfid, metaller ve alaşımların özellikleri.

Mineral	Bileşik	Manyetik sınıf	T _c (°C)	σ _s (Am ² /kg)
Magnetit	Fe ₃ O ₄	Ferrimanyetik	575 – 585	0-92
Ulvospinel	Fe ₃ TiO ₂	Antiferromanyetik	-153	0.4
Hematit	α Fe ₂ O ₃	Zayıf antiferromanyetik	675	
İlmenit	FeTiO ₂	Antiferromanyetik	-233	
Maghemit	γ Fe ₂ O ₃	Ferrimanyetik	~ 600	~ 80
Jakopsit	MnFe ₂ O ₄	Ferrimanyetik	300	77
Trevorit	NiFe ₂ O ₄	Ferrimanyetik	585	51
Magnezoferrit	MgFe ₂ O ₄	Ferrimanyetik	440	21
Geotit	α FeOOH	Antiferromanyetik,	~ 120	<1
Lepidokrosit	γ FeOOH	Antiferromanyetik	-196	
Feroksit	δ FeOOH	Ferrimanyetik	~ 180	<1
Pirotin	Fe ₇ S ₈	ferrimanyetik	320	~ 20
Greigit	Fe ₃ S ₄	ferrimanyetik	~ 333	~ 25
Troilit	FeS	antiferromanyetik	305	
Demir	Fe	Ferromanyetik	770	
Nikel	Ni	Ferromanyetik	358	55
Kobalt	Co	Ferromanyetik	1131	161
Avarul	Ni ₃ Fe	Ferromanyetik	620	120
Wairauite	CoFe	Ferrimanyetik	986	235

Tablo 2.2’de, T_c Curie veya Neel sıcaklıklarını belirtmektedir. σ_s ise oda sıcaklığındaki mıknatıslanma doygunluğunu göstermektedir

2.4. MANYETİK DEMİR OKSİT PARTİKÜLLERİN ÜRETİM YÖNTEMLERİ

Manyetik demir oksit nano-partikülleri üretmek için çok çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bunlar fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak 3 ana sınıfta incelenebilmektedir. Genel olarak literatürlerdeki en yaygın sentez yöntemleri kimyasal yöntemlerdir [24].



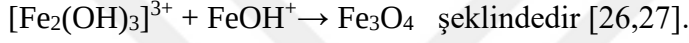
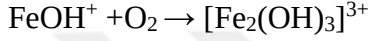
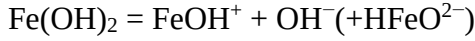
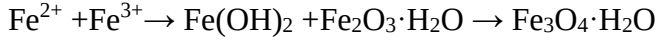
Şekil 2.3: Manyetik partiküllerin üretim yöntemleri.

Bu yöntemler arasında düşük üretim maliyeti ve yüksek verimlilik sebebiyle en çok kimyasal yöntemler tercih edilir. En çok tercih edilen yöntemler arasında olan birlikte çöktürme yöntemi bu tezde de kullanılmıştır.

2.4.1. Birlikte Çöktürme Yöntemi

İlk olarak 1981’de Massart tarafından bazik ortamda manyetik partiküllerin üretimi için kullanılan yöntem, günümüzde de hala yaygın olarak manyetik nanopartiküllerin sentezi için kullanılmaktadır [24,25,26]. Genel olarak birlikte çöktürme yöntemi; Fe^{2+} ve Fe^{3+} sulu tuz çözeltilerine oda sıcaklığında veya farklı sıcaklıklarda baz eklenmesi prensibine dayanır. Oluşan çökelti siyah renktedir. Laboratuvar ölçekli üretim için en kolay ve uygun sentez yöntemi olarak bilinmesine rağmen gerçekleşen kimyasal reaksiyon mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Fakat reaksiyon mekanizması demir oksit partiküllerin morfolojisini, kristal yapısını ve boyutunu kontrol etmede önemli rol oynamaktadır. Bu bağlamda Ahn ve arkadaşları [27] tarafından kompleks bir reaksiyon şeması önerilmiş. Bu şemaya göre Fe_3O_4 yapısını elde

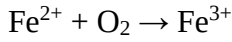
etmek için karışım karıştırılmaya başlandığı andan itibaren ("akaganeit → goetit → (hematit → maghemit) → manyetit" ve "demir hidroksit → lepidokrosit → (maghemit) → manyetit" olmak üzere iki çekirdekleşme süreci başlatılır. Bu farklılık, homojen olarak karıştırılmadan önce ortamdaki pH farklılığından kaynaklanmaktadır. Birçok çöktürme reaksiyonunda bu magnetit oluşum yolları bir arada bulunur ancak baskın süreç goetitin Fe_3O_4 'e topotaktik dönüşümü şeklindedir. Bu bağlamda gerçekleşen kimyasal reaksiyon:



Basit olarak bu reaksiyon şu şekilde yazılabilir:

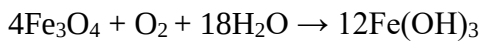


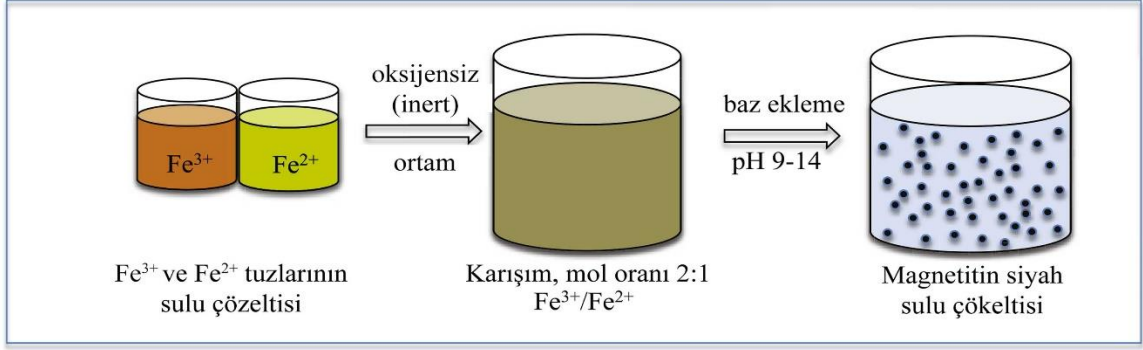
Bu reaksiyona göre; Fe^{2+} : Fe^{3+} çözeltilerinin mol oranları 1: 2 şeklinde olmalıdır. Fakat reaksiyon hava ortamında gerçekleştirilirse Fe^{2+} katyonları oksitlenerek Fe^{3+} katyonlarına dönüşür.



Hava ile oksitlenerek Fe^{3+} oluşum hızının demirli iyon konsantrasyonundan hemen hemen bağımsız olduğu ve bu nedenle oksitlenme reaksiyonunun neredeyse tamamlanabileceği bilinmektedir. Dolayısıyla hava ortamında hazırlanan 2:1 oranındaki çözelti konsantrasyonunu korumak zordur. Bu nedenle reaksiyon inert (N_2) ortamda gerçekleştirilir [28]. Reaksiyonun inert ortamda yapılması oksitlenmeyi önlemekle kalmaz aynı zamanda partikül boyutlarını da küçültür [28,29].

Bu yöntemle hem magnetit hem de maghemit üretilebilmektedir. Ortam inert bir ortam değilse ortam koşullarında stabil olmadığı için magnetit oksitlenerek maghemit oluşturur. Bazı durumlarda magnetit kasıtlı bir şekilde oksidasyonla bazik ve asidik ortamda kimyasal olarak kararlı olan maghemite dönüştürülür [28,29,30].





Şekil 2.4: Birlikte çöktürme yönteminin şematik gösterimi.

2.4.2. Hidrotermal Bozunma

Hidrotermal sentez yüksek sıcaklık ($T > 200\text{ }^{\circ}\text{C}$) ve yüksek basınç ($P > 2.000\text{ psi}$) altında bir otoklav içerisinde ilk oluşan öncül yapıların sudaki çözünürlüğüne bağlı olan bir kristal sentez yöntemidir. Metal tuzların dehidrasyonu ve oksitlerin sulu fazda düşük çözünürlüğü ortamı doymuş hale getirir. Diğer sentez yöntemleriyle karşılaştırıldığında basitliği ve uygulama kolaylığı ile öne çıkar. Bu yöntem erime noktasında dengesiz olan nanokristalleri sentezlemek için de kullanılabilir [29,30].

Hidrotermal sentez yöntemi şekil, boyut ve bileşim kontrolü bakımından demir oksit bileşiklerinin üretimi için en ideal yöntemler arasındadır. Hidrotermal sentezle üretilen demir oksit nanopartiküllerin boyutları ve şekilleri; reaksiyon süresine, sıcaklığa, öncül yapıların konsantrasyon ve cinsine, eklenen yüzey aktiflere, metal iyonlarına bağlıdır. Yapılan çalışmalar partikül boyutunda reaksiyon süresinin, metal öncüllerin konsantrasyonundan daha çok etkili olduğunu göstermiştir. Bu yöntemle $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$, $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ve Fe_3O_4 demir oksitlerinin dislokasyonsuz tekli kristal parçacıklarının üretimi yapılabilir [30]. Bu yöntemle oluşturulan parçacıkların kristallikleri diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında oldukça iyi olduğu görülür. Monodispers yapılar genellikle kısa süreli reaksiyonlarla elde edilmektedir [31].

Hidrotermal sentez, herhangi bir tavlama veya sinterleme işlemi olmaksızın $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 'ü hazırlamak için kullanılan üretim yöntemidir. Yapılan çalışmalar kullanılan iyonların cinsinin üretilen $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ şeklinde önemli etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Örneğin tetragonal şekillerin sentezi için; $\text{Zn}^{2+}/\text{Cu}^{2+}$, dodekahedral ve octodekahedral şekillerin sentezi için; F^- ,

baca benzeri gözenekli morfolojinin sentezi için Ni^{2+} ve iğne benzeri şekillerin sentezi için; H_2PO_4^- kullanılmıştır [33,34,35].

2.4.3. Mikroemülsiyon Yöntemi

Mikroemülsiyonlar (ME), başlangıçta karışmayan iki sıvının (tipik olarak su ve yağ) yüzey aktif madde moleküllerinin varlığı nedeniyle aynı fazda bir arada bulunduğu, berrak ve termodinamik olarak stabil kolloidal dispersiyonlar olarak tanımlanmaktadır. Yağ ve su oranına ve yüzey aktif maddenin hidrofilik-lipofilik dengesine bağlı olarak, direkt olarak (suda dağılmış yağ, Y/S), tersine (yağda dağılmış su, S/Y) formları manyetik partikülleri sentezlemek için kullanılmaktadır [36,37].

Bu sistemde, sulu faz metal tuzları veya başka bileşenleri ihtiva ederken yağ fazı farklı hidrokarbonların ve olefinlerin kompleks bir karışımı olabilir. Bis (2- etilheksil) sülfosukinat (AOT), sodyum dodesil sülfat (SDS) ve setiltrimetilamonyum bromür (CTAB) manyetik partikül üretiminde yaygın olarak kullanılan yüzey aktif malzemelerdir [38,39].

Demir oksit nanopartiküllerin ME sentezinde, suyun, yağın ya da yüzey aktif maddelerin molar oranına, alkali konsantrasyonuna, sıcaklığa, başlangıçtaki toplam demir konsantrasyonuna ve yaşlanma süresine dayanan birkaç faktör, ürünlerin morfolojisini ve boyutunu etkileyebilir [38].

Bu yöntemin dezavantajları sistem için stabilizasyon prosedürü gerektirmesi, monodispers demir oksit nanopartiküllerin hazırlanmasındaki zorluk ve elde edilen ürünlerin sonraki uygulamalarda kullanılmadan önce birkaç yıkama ve saflaştırma işleminden geçmesini gerektirmesidir [40,41].

Tablo 2.3: Manyetik demiroksit nanopartiküllerin üretiminde kullanılan kimyasal yöntemlerin karşılaştırması.

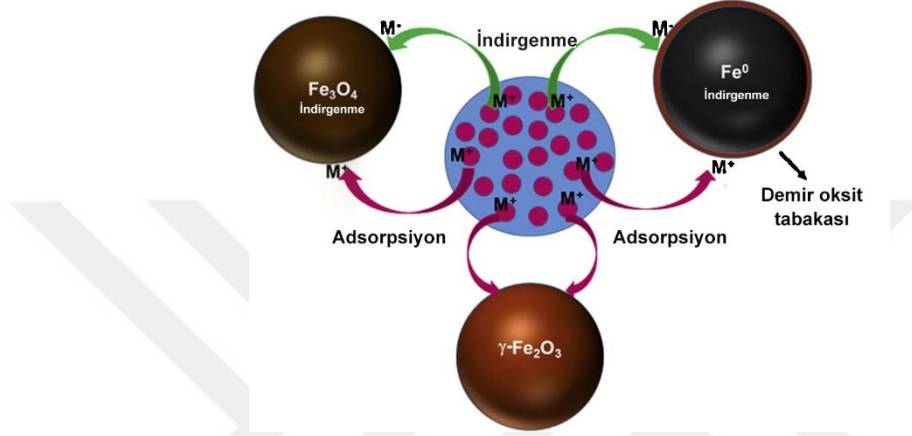
Yöntem	Reaksiyon ve koşullar	Reaksiyon sıcaklığı (°C)	Reaksiyon süresi	Boyut dağılımı	Şekil kontrolü	Verim
Birlikte Çöktürme	Oldukça basit, ortam koşulları	20-150	Dakika	Nispeten dar	İyi değil	Yüksek/ Arttırılabilir
Termal Bozunma	Karmaşık, atmosferik şartlar	100-350	Saat/Gün	Oldukça dar	Çok iyi	Yüksek/ Arttırılabilir
Hidrotermal Sentezleme	Basit, yüksek basınç	150-220	Saat/Gün	Oldukça dar	Çok iyi	Yüksek/ Arttırılabilir
Mikroemülsiyon Yöntem	Oldukça basit, ortam koşulları	20-80	Saat	Dar	İyi	Düşük
Sonokimyasal Yöntem	Oldukça basit, ortam koşulları	20-50	Dakika	Dar	Kötü	Orta
Elektrokimyasal Yöntem	Karmaşık, ortam koşulları	Oda sıcaklığı	Saat/Gün	Orta	Orta	Orta

2.5. MANYETİK PARTİKÜLLERİN UYGULAMA ALANLARI

2.5.1. Çevresel Uygulamalar

Demir, özellikle klorlu çözücülerdeki çok çeşitli organik ve inorganik kirleticilerin daha az zararlı maddelere indirgenmesini sağlayan güçlü bir indirgeyici ajandır. Birçok çalışma, polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) ve böcek ilacı gibi bazı kalıcı kirleticilerin bozunabileceğini göstermiştir [42,43,44].

Buna ek olarak, Cr (VI) giderme süreçleri için havayla veya suyla temasa girdikten sonra demir oksit/hidroksit kabuklarının oluşması nedeniyle kirliliklerin çökmesi de ortaya çıkabilmektedir. Şekil 2.5'te farklı manyetik demir parçacıklarının mekanizmaları gösterilmiştir [45,46,47].



Şekil 2.5: Çeşitli manyetik nanopartiküllerin adsorpsiyon ve indirgeme mekanizmaları.

Metal giderimi için manyetik Fe_3O_4 nanopartiküllerin kullanılması, metal nanoparçacıkların yüzey-hacim oranının yüksek adsorpsiyon kapasitesine izin verdiğini göstermiştir [48].

Manyetik alanlar uygulayarak ağır metal giderimi için seçici yüzey modifikasyonuna sahip poli (metil metakrilat) ve süperparamanyetik demir oksit nanopartikülleri gibi hibrit manyetik nanopartiküller geliştirilmiştir. Sulu çözeltilerde Pb (II), Hg (II), Cu (II) ve Co (II) için ağır metal giderimi için hibrit nanopartiküllerin etkinliği araştırılmıştır. Giderim verimliliğinin metal iyonlarının, amin grubu içeren yüzeyde adsorpsiyon sürecine bağlı olduğunu gösterilmiştir [48].

Li ve ark. tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, biyosorpsiyon ve manyetik ayırma teknikleri bir araya getirilmiş ve metal iyonlarının adsorpsiyonu, çevre dostu özellikler ve ekonomik olarak uygulanabilir, düşük işletme maliyeti avantajları rapor edilmiştir [49].

Farklı bir çalışmada, farklı parçacık boyutlarına sahip manyetik Fe_3O_4 nanopartiküllerin yanı sıra yüzeyi modifiye Fe_3O_4 nanopartiküllerini kullanarak laboratuvarında hazırlanan atık suyun Cd^{2+} , Cr^{6+} , Cu^{2+} ve Ni^{2+} arıtımı için araştırma yapılmıştır. Adsorpsiyon mekanizmasının esas

olarak elektrostatik çekim olduğu ve Fe_3O_4 nanopartiküllerinin adsorpsiyon kapasitesinin, atık sudaki partikül yüzey alanına, pH ve sıcaklığa bağlı olduğu belirtilmiştir [50].

Oda sıcaklığında ve pH 4'te, ortalama partikül boyutu 8 nm olan Fe_3O_4 nanopartiküllerin, atık suyun içindeki dört çeşit toksik iyonun adsorbe edilmesi için etkili bir şekilde kullanılabilirliği incelenmiştir. Çalışmada, CM- α -CD'yı kullanarak bakır iyonlarının sulu çözeltiden uzaklaştırılması için nanoadsorbent, Fe_3O_4 nanopartikülleri (CM-CD MNP'ler) karbodiimid yöntemi ile sentezlenmiştir. Sonuçlar, Fe_3O_4 nanopartikülleri üzerindeki aşılınmış CM- β -CD'nin, CM- β -CD'deki çoklu hidroksil ve karboksil gruplarının metal iyonlarını adsorbe etme kabiliyetinden dolayı parçacıkların adsorpsiyon kapasitesini arttırdığı tespit edilmiştir. (CM- α -CD Carboxymethyl- α -cyclodextrin) [51].

Su kirlilikleri için manyetik demir oksit nanopartikülleri ve protein fonksiyonlu nanopartiküller kullanmanın verimliliği incelenmiştir. Yapılan çalışmada, bir mikroemülsiyon tekniği kullanılarak hazırlanan manyetik demir oksit nanopartiküllerinin, düşük NTU (nefelometrik bulanıklık birimi) seviyelerinde 1 saat içinde su bulanıklığını azaltmada çok etkili olduğu görülmüştür. Bakır ve fosfat miktarı ise sudaki manyetik nanopartiküller kullanılarak azaltılmıştır [52].

2.5.2. Biyomedikal Uygulamalar

Manyetik nanoparçacıkların biyomedikal uygulamaları, vücut içindeki veya dışındaki uygulamalarına (in vivo, in vitro) göre sınıflandırılabilir. İn vitro uygulamalarda, temel kullanımı, tanılama, ayırma ve katalitik uygulamalar iken; in vivo uygulamalarda ise terapötik (hipertermi ve ilaç hedefleme) ve diagnostik uygulamalar (nükleer manyetik rezonans (NMR) görüntüleme) sayılabilmektedir. [53,54,55].

2.5.2.1. İn Vivo Uygulamalar

Boyut ve yüzey işlevselliği bu parçacıkların in vivo kullanımları için önemli bir rol oynamaktadır. Süperparamanyetik demir oksit nanopartiküllerin çapları yüzey ligandlarının biyolojik dağılımını büyük ölçüde etkiler. Çok küçük SPIO'lar dahil olmak üzere 10 ila 40 nm arası çaplara sahip parçacıklar, uzun süreli kan dolaşımı için önemlidir [56].

Hipertermi, süperparamanyetik demir oksit partiküller üzerine yüksek frekanslı bir dış manyetik alan uygulanması ile partiküllerin mıknatıslanma vektörlerinden kaynaklanan manyetik enerjilerini ısı formunda dışarı vermesidir. Bu da canlı ortamda kullanılabilen bir özelliktir. Tümör hücreleri, sıcaklığa, sağlıklı hücrelerden daha duyarlıdır. Hipertermi ile tümör dokularının sıcaklığı arttırılarak patolojik hücreler yok edilmektedir. [57,58].

2000’li yıllarda gerçekleştirilen çalışmalarda, manyetik katyonik lipozomal nanopartiküllerin [59] hücre radyasyonunda hipertermi tedavisi için tümör hücrelerinin sıcaklığını etkili bir şekilde arttırdığı gösterilmiştir. Bu durumun gelecekte başarılı olabilecek bir kanser tedavisinin temel yaklaşımlarından biri olma potansiyeline sahip olduğu belirtilmiştir [60].

Manyetik hiperterminin avantajı, ısıtmanın tümör bölgesinde kısıtlanmasıdır. Hipotermide mikron boyutlu parçacıkların yerine nanometre boyutlu parçacıklar tercih edilir; bunun nedeni parçacık boyutuna ve şekline doğrudan bağlı olan manyetik alanlarda [61,62] küçük parçacıklar daha iyi titreşebilir ve böylece sıcaklık kontrolü hasas bir şekilde sağlanabilir.

İlaç hedefleme, ilaç taşınımında modern teknolojilerden biri olarak ortaya çıkmıştır. İlaç hedeflemesinde demir oksit manyetik nanopartiküllerin uygulama olanakları son yıllarda önemli ölçüde artmıştır [62]. MNP'lerin, harici manyetik alan ve/veya manyetize olabilen implantlarla kombinasyon halinde, parçacıkların istenen hedef bölgeye ulaşması sağlanmaktadır. [63].

İlacın belirli bir bölgeye taşınması, ilacın istenmeyen yan etkilerini ortadan kaldırabilir ve gerekli dozajı da azaltabilir. Genellikle bu parçacıkların yüzeylerini biyolojik olarak uyumlu hale getirmek için organik polimerler ve inorganik metaller veya oksitler ile modifiye edilip, çeşitli biyoaktif moleküllerin eklenmesiyle ileri işlevselleştirme için yapı uygun hale getirilebilir [64,81].

Tablo 2.4’te son yıllarda gerçekleştirilmiş manyetik yapıların kullanıldığı bazı biyomedikal uygulamalar listelenmiştir.

Tablo 2.4: Hibrid polimerik MNP'lerin son gelişmeleri ve potansiyel biyomedikal uygulamaları.

Hibrit Polimerik Manyetik Nanopartiküller	Biyomedikal Uygulamalar
Kitosan işlevselleştirilmiş manyetit katkı nanopartiküller [66].	Akciğer kanseri için paclitaxel'in hedefe yönelik verilmesi.
Gliko-polimer modifiye manyetik mezo-gözenekli silika nanopartiküller [67].	Manyetik rezonans görüntüleme ve kontrollü ilaç salımı.
3-metakriloksi propil trimetoksi silan kaplı manyetik nanopartiküller [68]	Antikanser ilacın(5-fluorourasil) kontrollü salımı.
Manyetik-Altın hibrid nanopartiküller [69].	Antikanser ilacın (doxorubicin) hedeflendirilmesi.
RGD-functionalized PEG-coated magnetic hydrogel [70].	
Hibrid Fe_3O_4 -karboksimetil kitosan nanopartikülleri [71].	Tümör hedeflendirmeli Rapasin kullanımı.
N-gliserintinik asit-Polietilen glikol (PEG) - Kitosan-manyetik nanopartiküller NGPC- Fe_3O_4 [72].	Hepatosit-mitokondriyal hedeflenmiş Brusini kullanımı.

2.5.2.2. *İn Vitro Uygulamalar*

Biyomedikal çalışmalarda, genellikle analiz için biyolojik varlıkların (ör. DNA'lar, proteinler ve hücreler) doğal ortamlarından ayrılması gereklidir. Süperparamanyetik kolloidler, manyetik alana sahip biyomalzemelerin taşınmasını sağlayan harici bir manyetik alana sahip olan ve olmayan hareketsiz manyetizasyon özelliklerinden dolayı bu uygulama için idealdir. Genel prosedürde ayrılma için, biyolojik yapılar süperparamanyetik kolloidler ile etkileşir ve daha sonra harici bir manyetik alanla ayırtırmaya tabi tutulur [73].

Süper paramanyetik demir oksit partikülleri gibi nanometre boyutlu manyetik parçacıklar, biyoproseslerde hücrelerin ve biyomoleküllerin ayrılması ve saflaştırılması için yoğun şekilde kullanılmaktadır [74,75]. Küçük boyutları ve yüksek yüzey alanları nedeniyle, MNP'ler, iyi dağılılabilirlik, biyomoleküllerin hızlı ve etkili bir şekilde bağlanması ve tersine çevrilebilir ve kontrol edilebilir flokülasyon gibi biyoayırıştırma uygulamaları için klasik mikrometre boyutlu reçineler veya boncuklara kıyasla, birçok üstün özelliğe sahiptir. Bu konudaki eğilimlerden biri, hedeflenen türlerin yüzeyinde eşleşen antijenlerine spesifik olarak bağlanabilen son derece hassas antikolar sağlamak için antikoları kullanarak manyetik ayırma işlemidir [76].

Bunun dışında MNPlerin; ayırma ve seçim uygulaması, manyetik relaksometri ve manyetik rezonans uygulaması gibi uygulamaları mevcuttur [76].

Son yıllarda, heterojen katalizör sistemlerinin geliştirilmesi için MNP'ler tarafından desteklenen katalizörler yaygın şekilde kullanılmıştır. Manyetik olarak tetiklenen ayırıştırıcılar, özellikle katalizörler nanometreye yakın boyut aralıklarında olduklarında sıvı faz reaksiyonlarından katalizörlerin geri kazanılması çapraz akışlı filtrasyon ve santrifüj kullanmaya göre çok daha basit hale gelmektedir [76].

Bu tür küçük ve manyetik olarak ayrılabilir katalizörler, yüksek dağılım ve reaktivitenin avantajlarını kolay ayırma ile birleştirebilir. Pahalı katalizörler veya ligandların geri dönüştürülmesi açısından, bu aktif türlerin MNP'ler üzerinde hareketsiz kılınması, sistemdeki katalizörlerin kolay ayrılmasına neden olur [76]. Son zamanlarda ortaya çıkan MNP'lere aşılana katalitik sistemleri kullanarak geçiş metali ile katalize edilen reaksiyonların çeşitli türleri arasında karbon-karbon çapraz bağlanma reaksiyonları, hidroformilasyon [77], hidrojenasyon ve polimerizasyon [78] reaksiyonları bulunmaktadır.

2.6. NÜKLEİK ASİTLER İÇİN SAFLAŞTIRMA VE AYIRMA METOTLARI

Manyetik ayırma, mikrometre büyüklüğünde ferromanyetik parçacıkların kimyasal veya biyolojik süspansiyonlardan etkin şekilde ayrılması için manyetizma kullanma teknolojisidir. Nükleer santrallerde düşük dereceli demir cevherinin zenginleştirilmesi, büyük hacimdeki kazan suyundan ferromanyetik safsızlıkların uzaklaştırılması veya kaolin kilinden zayıf manyetik renkli kirlerin uzaklaştırılması, sanayide manyetik ayırmanın tipik örnekleridir. Bu tekniklerin biyosistemler için uygulanması 1970'li yıllara kadar kısıtlı idi. Biyolojik olarak aktif bileşiklerin (nükleik asitler, proteinler, vb.), Hücrelerin ve hücre organellerinin arındırılması

için manyetik ayırma tekniklerinin kullanılması fikri, son on yıl içinde ilgi çeken konulardan bir olmuştur. Bu alanlardaki karmaşık ayırma işlemleri için gelişmiş özelliklere sahip yeni manyetik parçacıklar geliştirilmiştir [79,80,81].

Nükleik asitlerin manyetik ayrılması, aynı amaca yönelik diğer tekniklerle karşılaştırıldığında çeşitli avantajlara sahiptir. Nükleik asitler, kan, doku homojenatı, kültür ortamı, su vb. gibi ham numune malzemelerinden doğrudan izole edilebilir [80].

Katı malzemelerin manyetik özelliklerinin düzenlenebilir olması nedeniyle, viskoz numunelerin süspansiyonlarından bile kolayca ve seçici olarak ayrılabilirler. Aslında manyetik ayırma, biyolojik kirleticilerin varlığında küçük parçacıkların (çapları yaklaşık 0.05-1 μm) geri kazanılması için uygulanabilir olan yöntemlerden biridir. Ayrıca, özellikle büyük ölçekli arıtmalar için manyetik ayırmanın etkinliği uygundur [81].

Bu ayırma tekniği aynı zamanda zamandan ve maliyetten tasarruf etmeye yarayan, yüksek verimli işlemlerin temelini oluşturmaktadır. Yöntemin içeriğinden santrifüj adımlarından kaçınılabilir ve geleneksel yöntemler kullanıldığında kontaminasyon riski düşüktür. Nükleik asit ayırımı için manyetik parçacıkların çeşitli türleri piyasada ticari olarak bulunmaktadır. Nükleik asit izolasyonu için geleneksel ve manyetik ayırma yöntemlerinin kısa bir açıklaması aşağıda verilmiştir [79,80].

DNA veya RNA izolasyonu, birçok biyokimyasal tanı işlemi öncesinde önemli bir adımdır. Algılama, klonlama, sıralama, büyütme, hibridizasyon, DNA sentezi, vb. gibi birçok uygulama, ham numune materyali ile gerçekleştirilemez. Karmaşık karışımlarda büyük miktarda hücrel materyal veya diğer bulaşıcı materyaller, (proteinler ya da karbonhidratların), çoğu zaman sonraki reaksiyonların ve tekniklerin çoğunu engellemektedir. Buna ek olarak istenmeyen maddeler, DNA RNA preparatları için kirletici olabilir. Bu nedenle, kompleks karışımlardan nükleik asitlerin etkin, güvenilir ve tekrarlanabilir izolasyonu için kullanılan yöntemler, devam süreçlerde kullanılacak birçok yöntem için gereklidir [81].

2.6.1. Geleneksel Manyetik Olmayan Yöntemler

2.6.1.1 Sıvı Faz

Sıvı fazdaki nükleik asitlerin izolasyonu için bir dizi yöntem bilinmektedir, ancak genellikle bu çökelme ve yıkama adımlarının karmaşık serilerine dayanır. Bu yöntemi gerçekleştirmek zaman alır ve zahmetlidir. Bu nedenle, kan ya da dokular gibi karmaşık başlangıç maddelerinden nükleik asitlerin izolasyonu, biyolojik maddenin protein bozucu enzimlerin varlığında parçalanmasını ve bunu takiben de fenol, kloroform veya etanol gibi oldukça toksik organik çözücülere alınması şeklinde kullanılır. Bununla ilgili bir çalışmada proteinlerin nükleik asitlerden tamamen çıkarılması sodyum perklorat [82] ilavesi ile başarılabilmektedir. RNA'nın DNA'dan ayrılması, LiCl ile seçici çöktürme basamakları veya guanidinyum hidroklorid veya guanidinyum tiosiyanat ile spesifik bir nükleazdan bağımsız izolasyon, fenol ekstraksiyonu ve etanolla çöktürme [83] ile kombinasyon gerektirir. Bu tür yöntemler yalnızca zaman alıcı ve karmaşık olmakla kalmaz aynı zamanda çok sayıda örnek de aynı anda işlendiğinde bozulma, numune kaybı veya kontaminasyon riskini arttırır. Ayrıca RNA izolasyonu durumunda DNA kontaminasyonu riski nispeten yüksektir.

2.6.1.2. Katı faz

Zahmetli ve zaman alıcı geleneksel yöntemlerin yanı sıra, alternatif ayırma teknikleri geliştirilmiştir. (a) sulu koşullar altında bir anyon değiştirici vasıtasıyla iyonik değişim, (b) afinite ve (c) boyut uzaklaştırma mekanizmaları DNA saflaştırması için kullanılmıştır.

Bu taşıyıcılar, DNA izolasyonu veya saflaştırılması için yüksek konsantrasyonlu kaotropik tuz çözeltileri (örn., Sodyum iyodür, sodyum perklorat, guanidinyum tiyosiyanat) ile birlikte uygulanır.

Örneğin bir patentte (US 5 075 430) (BioRad), diatomlu toprağın bir taşıyıcı malzeme olarak kullanımı anlatılmıştır. Yine, bağlanma bir kaotropik tuz varlığında gerçekleşir. Diğer yaklaşımlarda, nükleik asit bağlayıcı malzeme (EP 0 796 327 B1, Dynal) ile birlikte yüzey aktif malzeme veya polietilen glikol ile birleştirilen DNA, işlevsel grupları bağlama ve yüksek konsantrasyonlarda kaotropik tuzlar ile katı bir taşıyıcının kullanılmasına dayanmaktadır.

2.6.2. Manyetik Ayırma

Biyokimyasal ve moleküler biyoloji süreçlerinde manyetik katı taşıyıcıların artan kullanımı, manyetik olmayan ayırma işlemlerine kıyasla birçok avantaja sahiptir. Bir manyetik momente sahip olan parçacıklar, bir manyetik alanda (kalıcı bir mıknatıs kullanarak) hareket ettirilebilir. Nükleik bağlanma veya elüsyon adımından sonra parçacıkların ayrılması için hızlı, basit ve etkili bir tekniktir (Şekil 2.6). Santrifüjleme gibi bozulmaya neden olabilecek kuvvetleri üreten geleneksel tekniklerden çok daha titiz bir yöntemdir [84].



Şekil 2.6: Manyetik partiküllerle DNA izolasyonunun şematik gösterimi.

Biyopolimerden hazırlanan ligandlara sahip olan veya hedef nükleik aside afinite sergileyen manyetik taşıyıcılar izolasyon işlemi için kullanılır. Manyetik taşıyıcılar piyasada mevcuttur, ayrıca laboratuarda da hazırlanabilmektedirler. Bu malzemeler, farklı sentetik polimerlerden, biyopolimerlerden, gözenekli camlardan veya yüzey modifiye edilmiş demir oksit gibi inorganik manyetik malzemelere dayanan manyetik parçacıklardan üretilen manyetik parçacıklardır. Manyetik alan yokluğunda birbirleri arasında etkileşmeyen superparamanyetik parçacıklar bu işlem için özellikle uygundur. Bu parçacıklar güçlü bir manyetik alan altında manyetize olur, ancak alandan çıkarıldıklarında kalıcı manyetizmayı korumaktadırlar. Parçacıkların manyetik toplanması ve topaklaşması reaksiyon sırasında engellendiğinde, parçacıkların kolay süspansiyon haline getirilmesi ve düzgün nükleik asit ekstraksiyonunu mümkün kılmaktadır [84,85].

2.6.3. Nükleik Asit Ayrımı İçin Manyetik Parçacıkların Hazırlanması

Laboratuarda, kolloidal manyetit Fe_3O_4 (veya maghemit $\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3$ veya ferritler gibi benzer manyetik materyal) parçacıkları genellikle silanizasyon ile yüzey modifiye edilir. Çıplak demir oksit (Fe_3O_4), DNA'yı adsorbe etme kapasitesine sahiptir [84], ancak etkin kuvvetler nedeniyle agregasyonlar, adsorpsiyon için kullanılabilecek yüzey alanını azaltır.

Karboksil grupları ile türevlendirilen manyetite bağlı silan bileşimlerinin, PEG içeren solüsyonlarda DNA ekstraksiyon yeteneğine sahip olduğu bilinmektedir [85]. Yoza ve ark. [86] DNA ekstraksiyonu için amino silan bileşikler ve aşırı dallı poliamidoamin dendrimer varlığında değiştirilmiş bakteriyel manyetit parçacıkları kullanmıştır [86,87]. Prodelalova ve ark. tarafından yüksek sodyum klorür ve PEG konsantrasyonları altında DNA izolasyonu için modifiye manyetik kobalt ferrit parçacıkları araştırılmıştır [88].

Manyetik nanoparçacıkların alkoksisilanlarla [89,90,91], veya polietilenimin ile [91,92], yüzey modifikasyonu da mevcuttur. Yukarıda bahsedilen manyetik kolloidlerin klasik mıknatıslarla ayrılması kolay değildir. Bunun nedeni Brown hareket kuvvetlerinin, uygulanan manyetik gücün üzerinde olduğu küçük parçacık boyutundan kaynaklanmaktadır. Faz ayrımını arttırmak için, nükleik asitlerle etkileşebilecek çeşitli manyetik lateksler hazırlanmaktadır [90,92].

Manyetik mikro küreler çeşitli şekillerde hazırlanabilir, ancak genellikle manyetik olarak hassas parçacıklar (örneğin demir oksit) sentetik veya biyolojik polimerler ile kaplanır. Elaissari ve ark. [94], nükleik asitlerin ve farklı polimerlerin etkileşimini tanımlamaktadır. Agaroz, kitosan, k-karagenin ve alginat gibi biyopolimerler, manyetik bir formda kolayca hazırlanabilir. En basit durumda bile biyopolimer çözeltisi manyetik parçacıklarla karıştırılır ve toplu jel oluşumundan sonra oluşan manyetik jel ince parçacıklara bölünür [95,96].

Alternatif olarak, küresel partikülleri oluşturmak için yağ fazında biyopolimer, su fazında manyetit içeren yağ içinde su süspansiyon yöntemi kullanılabilir. Nükleik ayırma için temel olarak aynı işlem, hidrofobik polistiren [97] ve hidrofilik poliakrilamid [98] veya poli (vinil alkol) gibi sentetik polimerlerden manyetik parçacıkların hazırlanması için kullanılabilir [99].

Mikro boyutlu parçacıkları sentezlemeye yönelik ilk yaklaşım Ugelstad ve ark. [100] tarafından yayımlanmıştır. Bu araştırmacılar çeşitli biyomedikal uygulamalarda incelenen, monosize polistiren manyetik mikroküreleri yönlendiren ilginç bir metodoloji geliştirdiler. Bu parçacıklar mükemmel boyut dağılımına ve küresel şekle sahiptir, ancak yüzeyleri çok hidrofobiktir ve parçacık yüzeyinde spesifik olmayan protein bağlanmasına neden olmaktadır [100].

2.6.4. Ticari Manyetik Parçacıklar

Nükleik asit ayrıştırması için uygun olan piyasada bulunan manyetik parçacıklar, çeşitli şirketlerden edinilebilir. Çoğunlukla, matrisler silika, gözenekli cam, selüloz, agaroz, polistiren ve silan esaslıdır (Tablo: 2.5). Yalnızca nükleik asit ayrımı için değil ayrıca, manyetik taşıyıcıların sentezini tanımlayan bazı önemli patentler mevcuttur. Parçacık sentezinin ilk patentlerinden biri, EP 0 003 905 B2, US 5,459,378 ve US 4,530,956 (SINTEF) 'de tarif edilen' Ugelstad polimerizasyon prosesi 'dir. Bu patente göre birkaç şişme ve polimerizasyon kademesi ile monodisperse manyetik parçacıklar elde edilebilir.

WO/1992/016581 (Cornell Research Foundation) numaralı patentte monodisperse parçacıkların, özellikle de makrogözenekli polimer boncuklarının hazırlanması tarif edilmektedir. Önerilen proses, çözünür polimer parçacıkları, bir monomer fazı ve su içeren üç fazlı bir emülsiyondur.

Manyetik boncuklar kullanan nükleik asit ayrımı, Alderton ve ark. [101] ve WO / 1991 / 012079'da ve ayrıca USPAT 5,523,231 (Amersham) 'da açıklanmıştır. Bu yaklaşımlar, sadece nükleik aside özgü değildir. Diğer bir deyişle manyetik boncuklar, diğer biyo-maddeleri de nükleik aside paralel olarak adsorbe edebilir. Bu özelliği de yöntemlerin dezavantajları olarak gözükmektedir.

Bir başka monodisperse manyetik boncuklar WO / 1998/012717 (Merck) 'de tarif edilmektedir. Bunlar, bir ferrik-oksit kaplama ile manyetik özellikler verilen bir SiO₂ ekirdeğinden oluşur. Demir oksit kaplamanın müteakip bir silanizasyondan sonra, oluşan partiküller nükleik asitleri bağlayabilir durumdadır.

Mika veya polistiren esaslı, manyetik bir oksit ile kaplı manyetik boncuklar, yüksek yoğunluğa ulaşırlar ve bu da hızlı sedimentasyona neden olur. Bu nedenle, ek mekanik karıştırma gereklidir. Silanizasyonuna rağmen kaplanmış parçacıkların temel dezavantajı, metal oksitlerin analitik zeltilemlerle doğrudan temas edebilmesidir. Son teknoloji yaklaşımlara rağmen manyetik boncukların üretimi zahmetlidir. Bu sorunun üstesinden gelmek için ABD patentlerinde (USPAT 6,204,033) ve (USPAT 6,514,688) (kimya Biopolimer Technologie AG) ters süspansiyon polimerizasyonu kullanılarak kısa vadede üretilebilen polivinil alkol parçacıklarına dayanan küresel, manyetik polimer parçacıklar anlatılmaktadır [102].

Tablo 2.5: DNA, RNA ve pDNA ayırmada kullanılan ticari manyetik partiküller.

Ürün	Boyut (µm)	Bileşim	Nükleik asit türü	Üretici Firma
AGOWA [®] mag ^a	5-10	Bilinmiyor	DNA, RNA	AGOWA, Berlin, Almanya
Dynabeads [®] DNA ^a	1.05 – 2.80	Polisitiren	DNA	Dynal, Oslo, Norveç
Geno Prep TM DNA manyetik küreler ^a	Bilinmiyor	Silika	DNA	GenoVision, Oslo, Norveç
MagaZorb ^{®a}	1-10	Selüloz	DNA/RNA/pDNA	Cortex biochem san Leonardo CA, USA
MagneSil ^a	5-8.5	Silanlanmış demir oksit	DNA/RNA/pDNA	Promega, Madison, WI, USA
MagPrep [®] Silica parttikülleri ^b	1	Silanlanmış demir oksit	DNA	Merck KgaA, Almanya
MagSi ^b	1-2-5	Bilinmiyor	DNA/RNA	MagnaMedics, Aachen, Almanya
MGP ^c	Bilinmiyor	Porsuz cam kabuk	DNA/RNA	Roche Diagnostic
M-PVA ^a	0.5-1, 1-3, 5-8	Polivinil alkol	DNA/RNA/pDNA	Chenmagen biopolymeru technology, Almanya
Sicastar [®] -M ^b	1.5 - 6	Sitiren maleik asit kopolimeri	DNA/RNA/pDNA	Micromod partikeltechnologie, Almanya
SİMAG ^a	0.5, 0.75 - 1	Silanlanmış demir oksit	DNA/RNA/pDNA	Chemicell, Berlin, Almanya
SPHERO manyetik partiküller ^c	1-2	polisitiren	DNA	Spherotech, Libertyville, IL, USA

a: kit ve protokol mevcut **b:** kit ve protokol yok **c:** sadece kit mevcut.

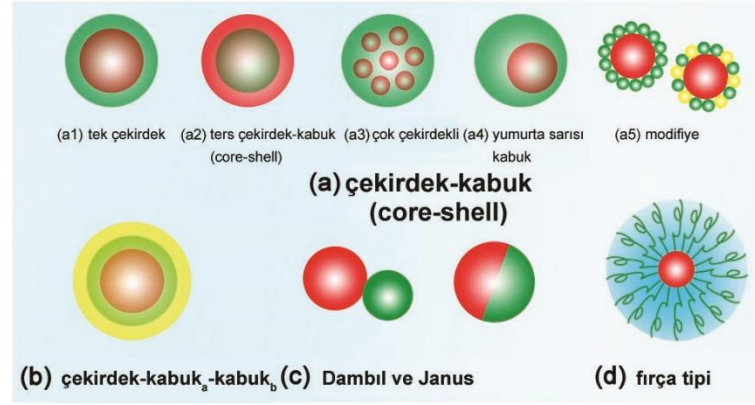
2.6.5. Manyetik Ayırıcılar

Manyetik ayırıcılar genellikle çeşitli mikro tüp veya tüp miktarlarını tutmak için tasarlanmış güçlü nadir mıknatıslardan yapılır. Piyasada çok basit konsantratörlerden, komple otomatik cihazlara kadar değişen özelliklerde çeşitli manyetik ayırıcılar mevcuttur. Nükleik asitlerin izolasyonu çoğunlukla, piyasada bulunan laboratuvar ölçekli manyetik ayırıcılar (partikül konsantratörleri) kullanılarak toplu modda gerçekleştirilebilmektedir.

1 μm 'den daha büyük bir çapa sahip parçacıklar basit manyetik ayırıcılar kullanılarak kolaylıkla ayrılabilirken, daha küçük parçacıkların (manyetik kolloidlerin parçacık boyutu on ila yüz nanometre arasında değişen) yüksek gradyanlı manyetik ayırıcıların kullanılmasını gerekebilmektedir.

2.7. POLİMER KAPLI MANYETİK PARTİKÜLLER

Manyetik nanopartiküller ile ilgili iki temel problem söz konusudur. Bunlardan bir tanesi küçük NP'lerin toplanma eğilimi gösterdiği ve yüzey enerjisini düşürmek için büyük partiküller oluşturduğu dağılabilirlik kaybı bir diğeri ise; çıplak demir oksit NP'lerin (özellikle Fe_3O_4 ve $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) yüksek kimyasal aktiviteleri nedeniyle havada kolayca oksitlenmesinden kaynaklı manyetizma kaybıdır. Bu nedenlerden dolayı NP'lerin ileriki uygulamaları sırasında veya sonrasında alabilecekleri hasara karşı uygun bir koruma stratejisi geliştirmek önemlidir. Bu amaçla dört temel strateji üzerinde durulmuştur. Bunlar: çekirdek – kabuk yapısı, dambıl ve janus tipi hetero yapılar, çekirdek- kabuk- kabuk yapısı ve fırça tipi yapılardır [9].



Şekil 2.7: Manyetik nanopartiküllerin yüzey kaplamalarının farklı morfolojileri [9].

Bu yapılar göz önüne alındığında bu tez kapsamında çekirdek- kabuk (Core-Shell) yapıları incelenmiştir. Çekirdek-kabuk yapıları; merkezde demir oksit partiküllerin çekirdeği oluşturması ve bu manyetik çekirdeğin üzerinin uygulama alanına göre seçilmiş olan $-NH_2$, $-OH$, $-COOH$, $-SH$ vb. uç gruplar içeren bir ligand, silika gibi inorganik veya fonksiyonel gruplar içeren polimer gibi bir partikülün kabuk kısmını oluşturmasıyla elde edilir. MNP'lerin yüzeylerinin kaplanması ile elde edilen kompozit yapılar, malzemenin saf hallerine göre daha üstün özellikli bir yapıya dönüşürler [9].

Bu tez kapsamında MNP'lerin yüzeyleri oleik asit ile modifiye edilmiştir. D. Matiy ve D.C. Agrawal [110] yaptıkları çalışmada sentezlenen Fe_3O_4 partiküllerin partikül boyutlarının enkapsüle edilmemiş Fe_3O_4 partiküllerine göre daha büyük ve oksitlenmeye açık olduğunu göstermişlerdir. Çalışmanın bir diğer sonucu ise tek tabakalı yüzey aktifle kaplanan partiküller kerosen ve dodekan gibi yüksek molekül ağırlıklı hidrokarbonlar içerisinde stabilize edilirken su bazlı ferro-akışkanlar elde etmek için çift tabaka kaplama yapılması gerekliliğidir.

Oleik asidin uzun alkil zincirleri Fe_3O_4 nanopartiküllerini stabilize ederek koagülasyonunu engellemekle kalmaz aynı zamanda Fe_3O_4 nanopartiküllerin polimerizasyon sırasında monomerine olan afinitesini artırırlar. Biyolojik uygulamalar göz önüne alındığında enkapsülasyon sayesinde toksisite ve oksidasyon önlenmiş olur [110].

Ellaisari ve ark. [105] yaptıkları çalışmada sıcaklığa duyarlı (N-izopropilakrilamit-ko-aminoetil metakrilat) (PNIPAM-co-AEMH) kaplı manyetik partiküller üzerinde DNA'nın adsorpsiyon ve desorpsiyon davranışı incelenmektedir. Sıcaklığa duyarlı manyetik hibrid parçacıklar, önceden hazırlanmış divinilbenzen (DVB) çapraz bağlanmış manyetik parçacıkların varlığında

NIPAM'ın çökeltme polimerizasyonu ile hazırlanmıştır. Başlangıçta, hazırlanan partiküllerin adsorpsiyon ve desorpsiyon davranışı pH, sıcaklık, zaman ve iyonik kuvvetin bir fonksiyonu olabileceği düşünülmüştür. DNA adsorpsiyonunda bu manyetik parçacıklara sıcaklığın belirgin bir etkisinin olduğu bulunmuştur. Düşük miktarda DNA adsorpsiyonunun, asidik pH koşullarında ve NIPAM'ın hacim faz geçiş sıcaklığının altındaki sıcaklıkta olduğu ortaya konmuştur. En yüksek desorpsiyon ise bazik pH'ta ve NIPAM'ın hacim faz geçiş sıcaklığının üzerinde bulunmuştur [105].

Perçin ve ark. [106] yaptıkları çalışmada manyetik nanoparçacıklar yüzey aktif madde içermeyen emülsiyon polimerizasyonu ile üretilmiştir. Adsorplanan plasmid DNA miktarını poly(hydroxyethyl methacrylate-N-methacryloyl-(L)-histidine) (PHEMAH) manyetik nanopartikülleri önemli ölçüde arttırmıştır. Bunun dışında adsorpsiyon kapasitesi önemli ölçüde azalmaksızın 6 kere daha bu parçacıkların kullanılabileceği gösterilmiştir [106].

Hou ve ark. [107] silika kaplı manyetik mikrokürelerin özelliklerinin incelendiği çalışmada Fe_3O_4 / SiO_2 Stöber işlemi ile modifiye edilmiştir. Silika kaplı manyetik mikroküreler, süperparamanyetizma ve iyi dağılım göstermiştir ve bunun yanı sıra elde DNA izolasyonu için edilen partiküller klasik fenol-kloroform ekstraksiyonu ile izole edilenlere göre daha iyi sonuç vermiştir [107].

Jiang ve ark. [108] çalışmalarında manyetik kompozit mikroküreler, monomerler olarak stiren (St) ve akrilik asit (AA) kullanılarak dağılım arayüz polimerizasyonu yöntemi ile karboksil-fonksiyonlu, çekirdek-kabuk şeklinde elde edilmiştir. DNA izolasyonu sonucunda Fe_3O_4 /PS-PAA mikroküreleri geleneksel fenol-kloroform ekstraksiyonuyla izole edilenlere kıyasla daha iyi sonuçlar vermiştir [108].

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. KİMYASAL MALZEMELER

Manyetik polimer partiküllerinin sentezinde monomer olarak akrilamid (AAm), manyetik partikül olarak <50nm partikül büyüklüğüne sahip demir (II,III) oksit nano tanecik ve birlikte çöktürme yöntemi ile sentezlenen demir oksit partikülleri kullanılmıştır. Demir oksit partiküllerinin sentezlenmesi amacıyla demir (III) klorür hekzahidrat ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), demir (II) klorür tetrahidrat ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) ve amonyum hidroksit çözeltisi kullanılmıştır. Sentezlenen manyetik partiküller oleik asit ile kaplanarak, sonraki adımda su ortamındaki kolloidal stabilitesi sağlanmıştır. Akrilamid polimerizasyonunda başlatıcı olarak benzoil peroksit, hızlandırıcı olarak N,N,N',N'-tetrametiletildiamin (TEMED), çapraz bağlama vasıtası olarak N,N'-metilenbisakrilamid (NMBA) ve yüzey aktif madde olarak ağırlıkça %2'lik poli(vinil alkol) (PVA) (27000 g/mol ortalama molekül ağırlığına sahip) çözeltisi kullanılmıştır. Manyetik polimer partiküllerinin, transamidasyon reaksiyonu ile modifikasyonunda etilendiamin kullanılmıştır. Denemelerde çözücü olarak toluen kullanılmış olup, saflaştırma işlemlerinde izopropil alkol ve hekzan kullanılmıştır. Saflandırma işlemleri 10000 kDA molekül ağırlıklı diyaliz membranlar kullanılarak yapılmıştır. Denemelerde kullanılan tüm kimyasal maddelerin listesi ve özellikleri Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1: Denemelerde kullanılan kimyasal maddelerin özellikleri.

Kimyasal Madde	Kısaltma	Safılık (%)	Üreticisi
Akrilamid	Aam	≥99	Merck
Demir (II,III) oksit (<50nm)	Fe ₃ O ₄		Sigma Aldrich
Demir (III) klorür hekzahidrat	FeCl ₃ .6H ₂ O	≥98-102	Sigma Aldrich
Demir (II) klorür tetrahidrat	FeCl ₂ .4H ₂ O	≥99	Sigma Aldrich
Amonyum hidroksit	NH ₄ OH	25	Merck
Benzoil peroksit	BPO	≥98	Sigma Aldrich
N,N,N',N'-tetrametiletildiamin	TEMED	≥99	Sigma Aldrich
N,N'-metilenbisakrilamid	NMBA	≥98	Merck
Etilendiamin	EDA	≥99,5	Fluka
Oleik asit	OA	65-88	Merck
Poli(vinil alkol)	PVA	≥99	Sigma Aldrich
Hekzan	-	≥99	Tekkim
Toluen	-	≥99,9	Sigma Aldrich
İzopropil alkol	IPA	≥99	Tekkim
Hidroklorik asit	HCl	37-38	Riedel de Haen
Sodyum hidroksit	NaOH	≥98	Tekkim

3.2. KULLANILAN CİHAZ VE ALETLER

Çalışma kapsamında IKA C-MAG HS 7 marka ısıtılmalı manyetik karıştırıcı, Heidolph marka RZR 2102 model mekanik karıştırıcı ve Bandelin Sonopuls homojenizatör kullanılmış, tartımlar Radwag marka AS 220/C/2 model hassas terazi kullanılarak alınmıştır. Ürünlerin kurutulmasında Elektro-Mag marka M5040P model etüv ve J.P. Selecta Vaciotem-T marka vakum etüvü kullanılmıştır. pH ölçümleri, Hanna marka HI 221 model pH metre ile yapılmıştır. Tüm denemeler süresinde çeşitli cam malzemelerden yararlanılmıştır. Denemelerde neodyum mıknatıslardan faydalanılmıştır.

3.2.1. Ürünlerin Karakterizasyonu

Ürünlerin yapısal karakterizasyonu için yapılan Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR) analizlerinde Bruker Alpha-P marka spektrofotometre kullanılmıştır. Bunların haricinde çalışma süresince çeşitli cam malzemelerden yararlanılmıştır. Termogravimetrik analizlerde Linseis STA PT 1750 model TGA cihazı kullanılmıştır. Ortalama partikül boyutu dağılımları Brookhaven BIC cihazı ile yapılmıştır.

3.2.1.1. Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FT-IR) Analizi

Örneklerin FTIR spektrumları, Bruker Alpha-P marka ATR-FTIR spektrofotometresinde 4000-450 cm⁻¹ dalga boyu aralığında elde edilmiştir.

3.2.1.2. Termal Gravimetrik Analiz (TGA)

Örneklerin termal bozunma davranışının incelenmesi amacıyla TGA analizleri yapılmıştır. Termogravimetrik analizlerde Linseis STA PT 1750 TGA cihazı kullanılmıştır. Analizler, 25-1000 °C sıcaklık aralığında, 10 °C/dak ısıtma hızı ile hava ortamında (4ml/dk hız ile) gerçekleştirilmiş ve ağırlık kayıpları belirlenmiştir.

3.2.1.3. Ortalama Partikül Boyutu Dağılımının Belirlenmesi

Dinamik ışık saçılımı (DLS) metodu ile örneklerin ortalama partikül boyutu dağılımları incelenmiştir. Analizler Brookhaven BIC cihazı ile yapılmıştır. 7 mg örnek alınıp 20 ml destile su içerisine eklenmiş ve ultrasonik prob yardımıyla ile dağıtılmış, DLS metodu ile oda sıcaklığında partikül boyutları belirlenmiştir.

3.2.1.4. DNA Adsorpsiyon ve Desorpsiyon Miktarlarının Belirlenmesi

Yapılan DNA izolasyonu çalışmalarında absorbe ve desorbe edilen DNA miktarlarının tayini için Thermo Fisher marka Nano Drop 2000/2000c spektrofotometresi kullanılmıştır. DNA ölçümlerinde kullanılan spesifik dalga boyu olan 260 nm 'de ölçüm yapılmıştır.

3.3. YÖNTEMLER

3.3.1. Oleik Asit Kaplı Fe₃O₄ Kürelerin Sentezlenmesi

3.3.1.1. Tek Tabaka Kaplama

Oleik asit kaplı manyetik partiküllerin sentezlenmesi bölüm 2.4.1 'de anlatılan birlikte çöktürme yöntemi ile yapılmıştır. Fe₃O₄ partikülleri oluşturulurken aynı zamanda oleik asit ile kaplanması sağlanmıştır. Birlikte çöktürme yöntemine göre oda sıcaklığında 150 ml FeCl₃·6H₂O (0,15M) ve 75 ml FeCl₂·4H₂O (0,15M) çözeltileri hazırlanarak 3 boyunlu 1000 ml hacimli balon reaktöre alındı (pH=1,5). Oda sıcaklığında 30 dakika boyunca N₂ atmosferinde mekanik karıştırıcı yardımı ile 200 rpmde karıştırıldı. Fe²⁺ nin oksitlenerek Fe³⁺ 'e dönüşebileceği göz önünde bulundurularak N₂ atmosferinde gerçekleştirilen reaksiyona ek önlem olarak 2:1 oranında olması gereken Fe³⁺: Fe²⁺ çözeltilerinden 1,9:1 oranında alındı. Ayrı bir kapta 25 ml NH₄OH (5M) hazırlandı. Karışan çözelti üzerine 1,5 ml Oleik Asit (C₁₈H₃₄O₂) 15 ml aseton içerisinde çözülerek eklendi (pH=2,5) ve sıcaklık 80 °C'ye yükseltildi. Takiben reaktör içerisindeki çözeltiye hazırlanmış olan amonyum çözeltisi hızlı bir şekilde eklendi (pH=10,5) ve karıştırma hızı 400 rpm'e yükseltildi. Demir oksit partiküllerinin oluşumuna bağlı olarak çözelti siyah bir görünüme büründü. Daha sonra 6 ml oleik asit bu çözeltiye 5 dakikada 1 ml olacak şekilde damla damla eklenerek reaksiyona devam edildi. Tüm oleik asit eklendikten sonra reaksiyonun tamamlanması için 1 saat boyunca karıştırmaya devam edildi.

Reaksiyon tamamlandıktan sonra mıknatıs yardımıyla oluşturulan Fe₃O₄/OA partikülleri su fazından ayrılarak dekante edildi. Daha sonra reaksiyona girmeyen bileşenler ve safsızlıklar sırasıyla aseton ve etanol/su karışımı ile yıkanarak uzaklaştırıldı. Nihai ürün, ikinci oleik asit kaplama (bilayer kaplama) ve suda dağıtma işleminde kullanılmak üzere 70 °C'de vakum etüvünde 1 gün kurutularak hazırlandı.

Tablo 3.2: Fe₃O₄ manyetik kürelerin oleik asit ile kaplanması.

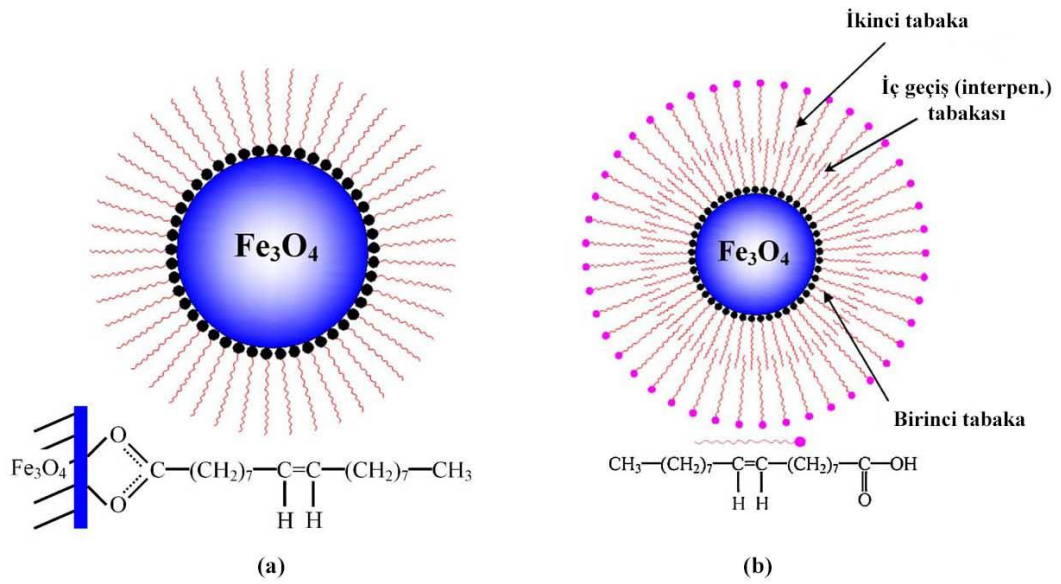
Demir Oksit Kodu	FeCl₃·6H₂O (0,15M)	FeCl₂·4H₂O (015M)	NH₄OH (5M)	Oleik Asit
	ml	ml	ml	ml
MDO-1	150	75	25	7,5
MDO-2	150	75	25	7,5
MDO-3	150	75	25	7,5
MDO-4	150	75	25	7,5
MDO-5	150	75	25	7,5

3.3.1.2. İkinci Tabaka Oleik Asit Kaplamaları

Kurutulan Fe₃O₄/OA partikülleri 2 gram tartılarak üç boyunlu 1000 ml'lik reaktöre konuldu. Üzerine 20 ml saf su ilave edildi ve 300 rpmde mekanik karıştırıcı ile karıştırıldı. Sıcaklık 60° C'ye çıkarıldı. Bir başka kapta 6 ml oleik asit üzerine 27 ml su ilave edildi. Çözelti pH'ı 10'a ayarlandı. Bu karışım reaktöre damla damla eklendi karıştırma hızı 400 rpm'e çıkarılarak 1 saat boyunca reaksiyona devam edildi. Reaksiyon sonucunda %4'lük kararlı bir Fe₃O₄ süspansiyonu hazırlandı.

Tablo 3.3: Tek tabaka kaplı Fe_3O_4 manyetik kürelerin ikinci tabaka oleik asit ile kaplanması.

Demir Oksit Süspansiyon Kodu	Kullanılan Demir Oksit Kodu	Demir Oksit	Oleik Asit	Su
		g	ml	ml
S-MDO-1	MDO -1	2	6	47
S- MDO -2	MDO -2	2	6	47
S- MDO -3	MDO -3	2	6	47
S- MDO -4	MDO -4	2	6	47
S- MDO -5	MDO -5	2	6	47

**Şekil 3.1:** (a) Oleik asit ile tek tabaka kaplı Fe_3O_4 manyetik partikülü, (b) oleik asit ile çift tabaka kaplanmış Fe_3O_4 manyetik partikülü [103].

3.3.2. Oleik Asit Kaplı Fe₃O₄ Kürelerin Poliakrilamid İle Kaplanması

Oleik asit ile kaplanmış Fe₃O₄ manyetik partiküllerin yüzeylerinin poliakrilamid ile kaplanması hedeflenmiştir. Bu bağlamda ters emülsiyon polimerizasyonu (yağ içinde su) kullanılarak NMBA ile çapraz bağlı akrilamid polimerleri sentezlenmiştir. Emülsiyon için 1:4 (su: yağ) oranında Y/S süspansiyonu hazırlanmıştır. Yüzey aktif olarak %2'lik polivinil alkol (PVA) çözeltisi hazırlanmıştır. 40 ml Fe₃O₄ süspansiyonundan ve 40 ml yüzey aktif çözeltisinden oluşan su fazına değişik miktarlarda (0.375- 0.50- 0.75- 0.1- 0.15 g) AAm monomeri, çapraz bağlayıcı olarak molce %10'luk NMBA ve hızlandırıcı olarak 20 µl TEMED eklenerek üzerine 320 ml sıvı yağ eklenmiştir. Karışım 15 dakika boyunca ultrasonik karıştırıcıyla karıştırılarak süspansiyon oluşumu beklenmiştir Daha sonra üzerinde %1'lik benzoil peroksit 1 ml toluen içerisinde çözülüp damla damla reaktöre eklenerek reaksiyon başlatılmış ve azot atmosferinde 80°C'de 700 rpm'de mekanik karıştırıcıyla karıştırılarak 1,5 saat sonunda reaksiyon sonlandırılmıştır. Elde edilen ürün sırasıyla aseton, izopropil alkol, hegzan, su/etanol karışımı ile yıkanmış ve 40°C'de vakum etüvünde 1 gün kurutulmuştur.

Tablo 3.4: Oleik asit kaplı manyetik demir oksit (Fe₃O₄/OA) kürelerin enkapsüle edilmesi.

Polimer Kodu	AAM	NMBA	BPO	Demir Süspansiyonu	PVA (%4'lük Stok çöz.)	YAĞ
	g	g	g	ml	ml	ml
AAM-03	0,375	0,081	0,014	10 (S-MDO-1)	10	80
AAM-05	0,5	0,108	0,018	10 (S-MDO-2)	10	80
AAM-07	0,75	0,162	0,028	10 (S-MDO-3)	10	80
AAM-10	1,0	0,216	0,0374	10 (S-MDO-4)	10	80
AAM-15	1,5	0,325	0,05	10 (S-MDO-5)	10	80

3.3.3. Polimer Kaplı Manyetik Partiküllerin Yüzey Modifikasyonları

Sentezlenip kurutulan çekirdek-kabuk yapılı $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OA-AAM}$ partiküllerin yüzeyleri transamidasyon reaksiyonu yöntemi kullanılarak etilen diamin (EDA) ile modifiye edilmiştir.

Transamidasyon reaksiyon, amonyak, primer amin veya sekonder aminin hidroklorürü ile formaldehit ve en az bir aktif hidrojen atomu içeren bileşiklerin kondenzasyonundan meydana gelir. Reaksiyonun temel özelliği, bir aminometil veya sübstitüye aminometil grubu ile aktif hidrojen atomunun yer değiştirmesidir [109].

Sentezlenen manyetik polimer partiküller, polimerin etilen diamine oranı 1:12 olacak şekilde tartılmış üç boyunlu 100 ml'lik reaktöre konulmuştur. Üzerine etilen diamin eklenerek geri soğutucu altında ve N_2 atmosferinde 90°C 'de 9 saat boyunca 200 rpm'de mekanik karıştırıcıyla karıştırılarak reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon sonlandıktan sonra ürünler metanol ve su ile yıkanarak diyaliz membran içerisinde 2 gün boyunca saflaştırılmıştır. Saflaştırılan modifiye manyetik polimer partiküller 30°C 'de vakum etüvünde kurutulmuştur.

Tablo 3.5: Polimer kaplı manyetik demir oksit kürelerin ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{OA-AAM}$) yüzey modifikasyonları.

Modifiye Polimer Kodu	Kullanılan Polimerin Kodu	Manyetik Polimer	Etilen Diamin (EDA)
		g	g
EDA-AAM-03	AAM-03	1	12
EDA-AAM-05	AAM-05	1	12
EDA-AAM-07	AAM-07	1	12
EDA-AAM-10	AAM-10	1	12
EDA-AAM-15	AAM-15	1	12

3.3.4. İndikatör ile Asit-Baz Titrasyonu ile Amin İndisi (AI) Tayini

Yüzey modifikasyonları yapılan polimer kaplı manyetik kürelerin amin indisi tayinleri titrasyon yöntemi ile belirlenmiş ve sonuçlar Tablo 4.1’de gösterilmiştir.

Bu amaçla 0,1 M HCl ve 0,02 M NaOH çözeltisi hazırlanmıştır. Tartılan modifiye manyetik polimer (50 mg) bir kaba konularak üzerlerine 25 ml HCl çözeltisinden eklenmiştir. Ağzıları sıkı bir şekilde kapatılarak 48 saat beklenmiştir. 48 saat sonunda her bir üründen 10 ml alınıp, üzerine 2-3 damla fenolftaleyn indikatörü eklenerek 0,02 M NaOH’a karşı titre edilmiştir. Hata oranını azaltmak amacı ile her üründen 3 farklı örnek hazırlanmış ve amin indisi sonuçların ortalaması alınarak belirlenmiştir. Amin indisi tayini hesaplamasında Denklem 3.1’den yararlanılmıştır.

$$AI(\text{mmol/g}) = \frac{(S_s - S_0) \cdot N \cdot F \cdot 2,5}{W} \quad (3.1)$$

S_s: şahit için sarf edilen çözelti miktarı (ml)

S₀: Örnek için sarf edilen çözelti miktarı (ml)

N: çözelti normalitesi

F: çözelti faktörü

W: örnek miktarı (mg)

3.3.5. DNA Adsorpsiyon ve Desorpsiyon Çalışmaları

DNA adsorpsiyon çalışmaları pH 5’de, bitki hücrelerinden izole edilmiş saf DNA kullanılarak hazırlanmış 6.6 ng/μl’lik çözeltilerde gerçekleştirilmiştir. Desorpsiyon çalışmaları ise pH 10’da gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.6). Gelecekte gerçekleştirilmesi planlanan çalışmalarda ise hedeflenen yöntem aşağıda verildiği şekildedir.

Lizis Basamağı (hücrelerin parçalanması): Gece boyu üremeye bırakılan bakteri hücreleri ve memeli hücreleri santrifuj ile toplanacak, bitki dokuları ise önce sıvı azot ile dondurulup parçalanacak, maya hücreleri ise fiziksel ön parçalama işlemine tabi tutulacaktır. Hücreler RNase ve lizozim içeren bir solüsyon ile suspense edilecektir. Hücreler 37°C de 10 dakika

bekletilecektir. Daha sonra Proteinaz K içeren lizis solüsyonu karışıma eklenecek ve 1-1,5 saat inkübasyona bırakılacaktır.

DNA'nın Bağlanması Basamağı: Proje kapsamında geliştirilen MPP'ler karışıma eklenir (40 μ L). Karışım nazıkçe alt-üst edilir. MPPler pozitif yüklü olacakları için DNA'yı bağlayacaktır. Daha sonra MPPler mıknatıs yardımıyla biraraya toplanacaktır. Süpernatant dikkatlice toplanarak atılacaktır. DNA'nın yıkanması aşamasına geçilecektir.

DNA'nın Yıkaması: DNAların kalan hücresel atıklardan ayrılması amacıyla yıkama solusyonu (10 mM Tris-HCl pH 7.5, 80% EtOH) eklenecektir. Nazıkçe yıkama solüsyonu pipetle çekilecektir. Yıkama işlemi tekrarlanır. Elüsyon basamağına geçilir.

Elüsyon Basamağı: Tüp mıknatıstan ayrılır. Elüsyon için 40°C ısıtılmış distile su kullanılacaktır. Örnekler oda sıcaklığında 5 dakika bekletilecektir. Tüp tekrar mıknatısla birleştirilecektir. DNA içeren üst sıvı temiz bir tüpe alınacaktır. DNA saklanmak üzere -20 °C'ye kaldırılacaktır.

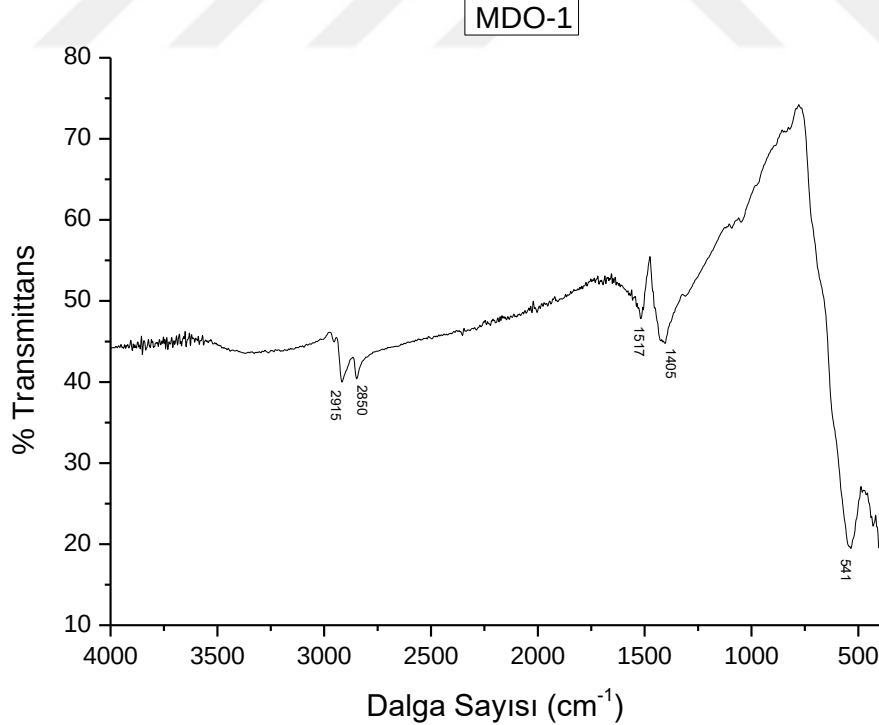
İzole edilen DNA moleküllerinin restriksiyon enzim kesimi ve PCR yöntemleri için kullanılabilecek kalite ve saflıkta elde edilebilirliği test edilecektir. Yirmi ul hacimde gerçekleştirilecek restriksiyon enzim kesiminde, ultra saf su su, enzim üreticisinin temin ettiği tampon, restriksiyon enzimi ve laboratuvarında sentezlenen EDA-PAAM'ler ile elde edilen saf DNA kullanılacaktır. Enzim kesim reaksiyonu 37°C'da bir gece boyunca gerçekleştirilecektir. Reaksiyon sonunda kesim ürünleri agaroz jel elektroforezi ile analiz edilecektir. PCR yönteminde ise ultra saf su su, enzim üreticisinin temin ettiği tampon, MgCl₂, polimeraz enzimi, DNA izolasyonunda kullanılan organizmanın genine özgü primer çifti, izole edilen saf DNA kullanılacaktır. PCR reaksiyonu temel olarak üç sıcaklık döngüsünün ortalama olarak ardışık 30 kez tekrarlanması koşulunda gerçekleştirilecek, sonuçlar agaroz jel elektroforezi ile analiz edilecektir.

4. BULGULAR

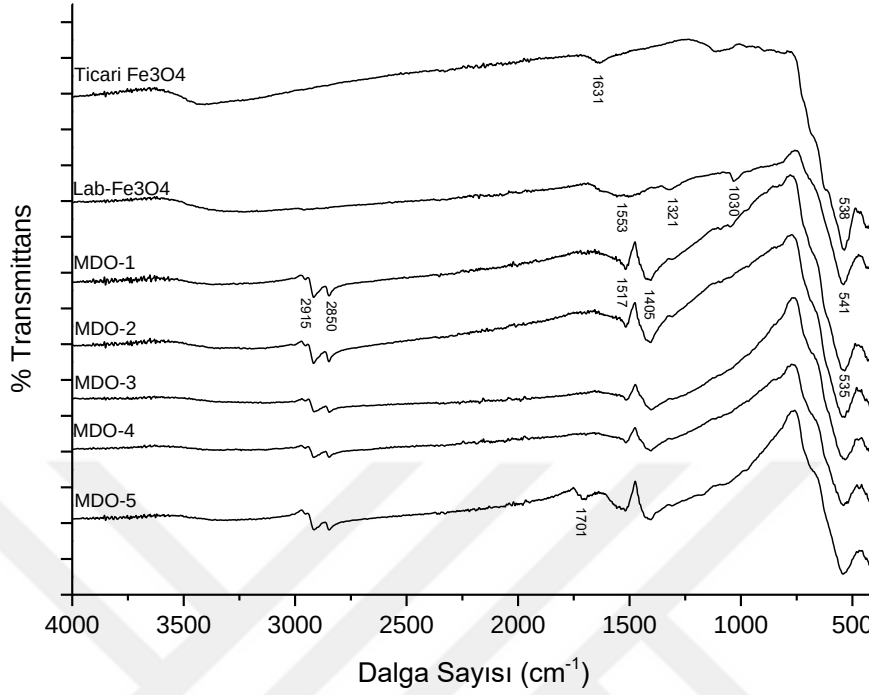
Bulgular bölümünde sırasıyla FT-IR, TGA, DLS analiz sonuçları irdelenmiş, takiben partiküllerin DNA izolasyon çalışmaları sonuçları belirtilmiştir.

4.1. FT-IR ANALİZLERİ

Tez çalışmalarında sentezlenen MDO kodlu ve tek tabaka oleik asit ile kaplı katı manyetik demir oksit partiküllerine ait FT-IR spektrumları Şekil 4.1 ve 4.2’de; MDO ürünlerinin ikinci kez oleik asit ile kaplanarak su içerisinde süspanse edilmesiyle elde edilen su bazlı ferro-akışkanlara (S-MDO) ait FT-IR spekturumları Şekil 4.3 ve 4.4’te; S-MDO sulu süspansiyonunun su fazı olarak kullanılarak yağ fazında dağıtılmasını takiben, MDO yüzeylerinin PAAM ile kaplanarak çekirdek-kabuk yapısında ürünlere (AAM-XX) ait FT-IR spektrumları Şekil 4.5 ve 4.6’da; PAAM kaplı ürünlerin transamidasyon reaksiyonu sonrası elde edilen amin modifiye ürünlere (EDA-AAM-XX) ait FT-IR spektrumları ise Şekil 4.7 ve 4.8’de verilmiştir.

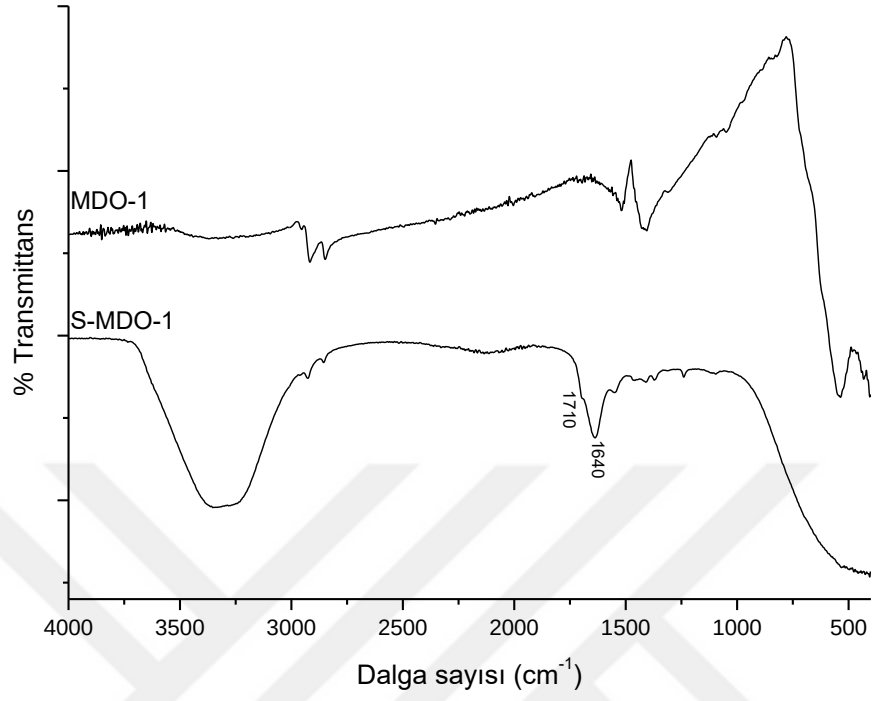


Şekil 4.1: MDO – 1 ürününe ait FT – IR spektrumu.

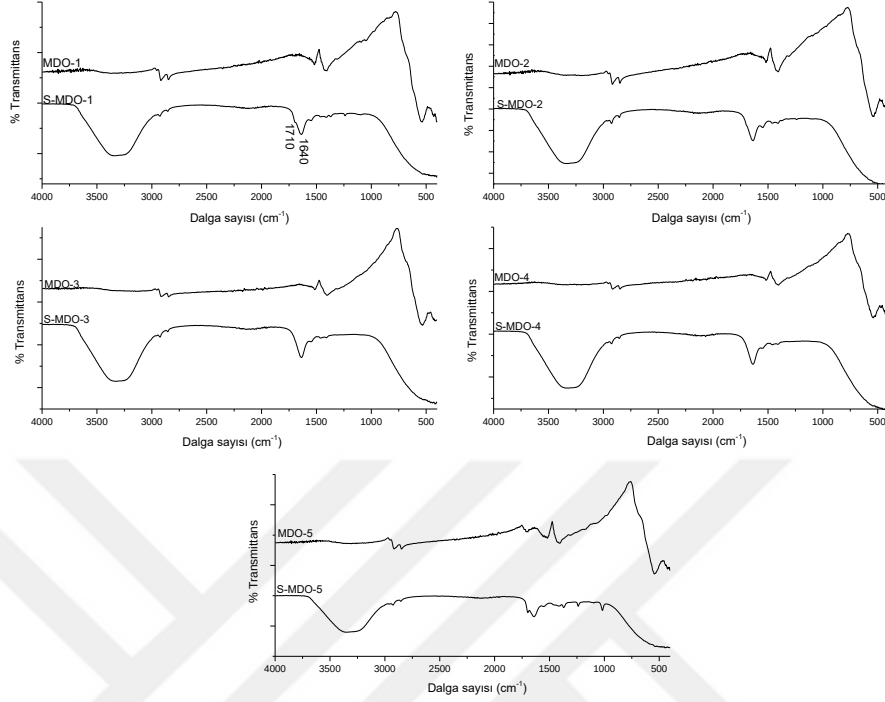


Şekil 4.2: Laboratuvar ortamında sentezlenen oleik asit kaplı manyetik demir oksit partiküllerine ait FT-IR spektrumları.

Şekil 4.1’de verilen FT-IR spektrumu incelendiğinde, manyetik özellikteki Fe_3O_4 ’e ait karakteristik Fe-O titreşimleri 541 cm^{-1} dalga sayısında gözlemlenmiştir. Spektrumdaki 1405, 1517, 2850 ve 2915 cm^{-1} dalga sayılarında izlenen pikler ise manyetik demir oksit partiküllerini monodentat olarak kaplamış bulunan oleik asite ait karakteristik pikler olup sırasıyla COO^- grubunun asimetric ve simetric C-O titreşimleri ve metil ve metilen gruplarına ait C-H titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. MDO-5 ürünüde gözlenmekte olan 1701 cm^{-1} dalga sayısındaki pik, serbest COOH grubundaki C=O titreşimlerinden kaynaklanmakta olup, bu üründe oleik asidin bidentat yapıda demir oksit partiküllerini kaplamış olduğu düşünülmektedir [104].

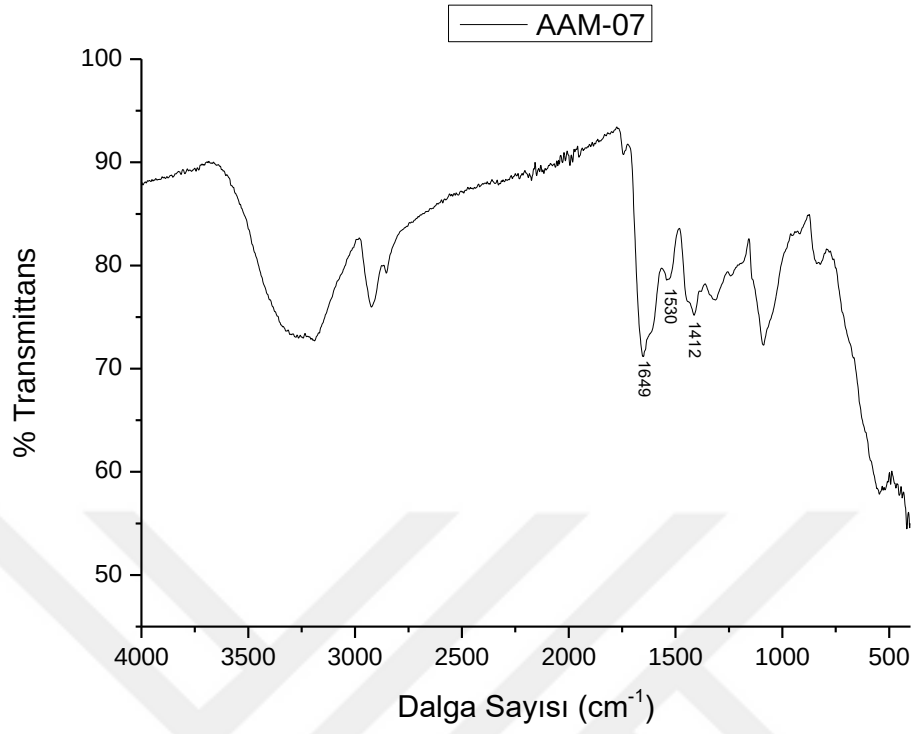


Şekil 4.3: MDO-1 ve S-MDO-1 ürünlerine ait FT-IR spektrumları.

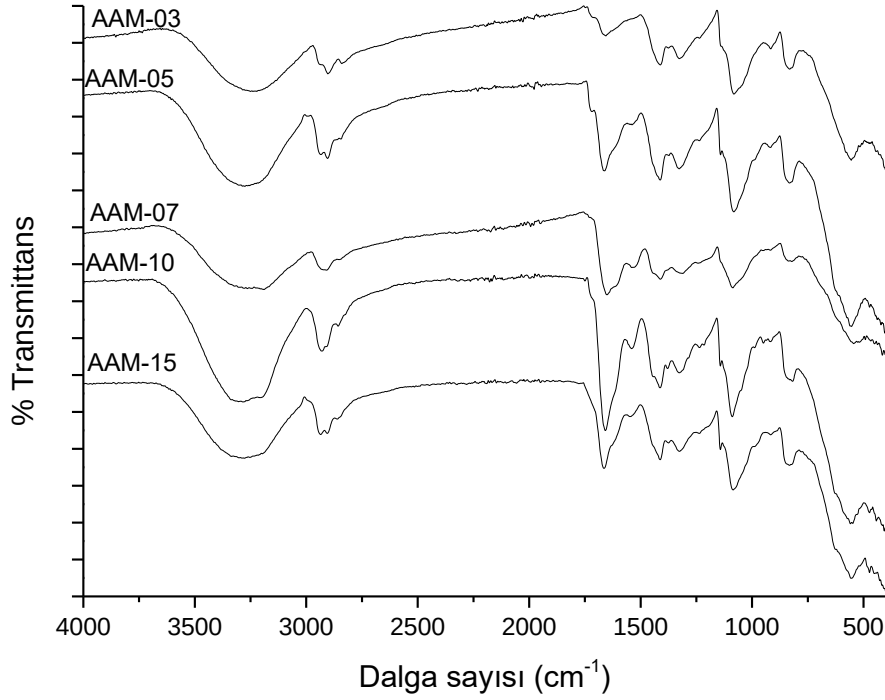


Şekil 4.4: MDO ve S-MDO ürünlerine ait FT-IR spektrumları.

Şekil 4.3 incelendiğinde, %4 civarında katı MDO-1 ile hazırlanmış su bazlı ferro-akışkandaki (S-MDO-1) baskın faz olan suya ait tüm karakteristik IR pikleri 3300 cm^{-1} ve 1640 cm^{-1} bölgelerinde izlenmektedir. 1710 cm^{-1} dalga sayısındaki pik ise bidentant olarak MDO yüzeyine kaplanmış serbest oleik asit yapılarındaki -COOH grubundaki karakteristik C=O gerilme titreşimlerinden ileri gelmektedir [104]. Bahsedilen tüm karakteristik titreşimlere ait IR pikleri Şekil 4.4'te de görüleceği gibi diğer su bazlı ferro-akışkanlarda da izlenmektedir.

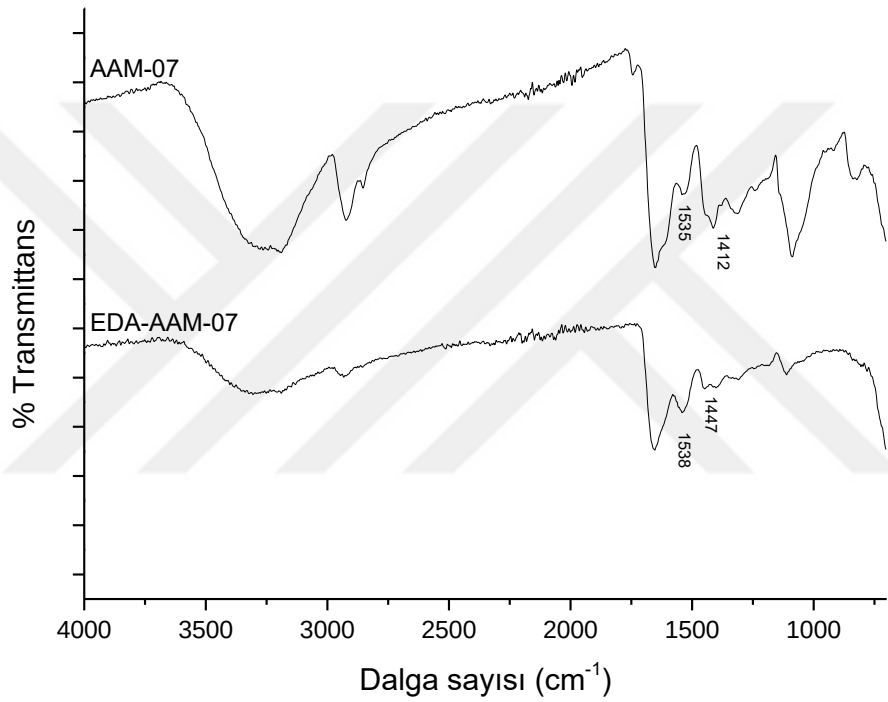


Şekil 4.5: AAM-07 ürününe ait FT-IR spektrumu.

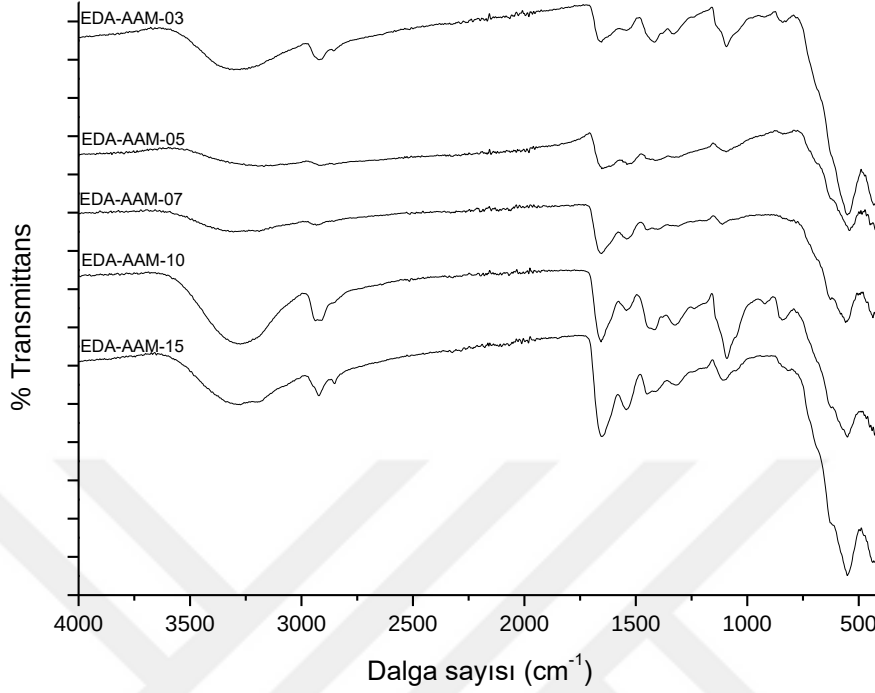


Şekil 4.6: PAAm kaplı çekirdek kabuk yapıdaki manyetik ürünlere ait FT-IR spektrumları.

Şekil 4.5'te verilen FT-IR spektrumu incelendiğinde, yüzeyi 0,75 mol akrilamid kullanılarak PAAm ile kaplanmış ürün olan çekirdek kabuk yapıdaki manyetik AAM-07 ürününün, PAAm'e ait tüm karakteristik IR piklerini içerdiği görülmektedir. Bu pikler sırasıyla (cm^{-1}): 1649 (amid I bandı, $\text{C}=\text{O}$); 1620 (amid II bandı, N-H deformasyon ve C-N gerilme); 1530 (N-H eğilme); 1412 (amid III bandı, C-N gerilme) şeklindedir. Şekil 4.6'da verilen diğer AAM-XX ürünlerine ait FT-IR spektrumlarında bu karakteristik piklerin tamamı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.7: AAM-07 ve EDA-AAM-07 kodlu manyetik ürünlere ait FT-IR spektrumları.



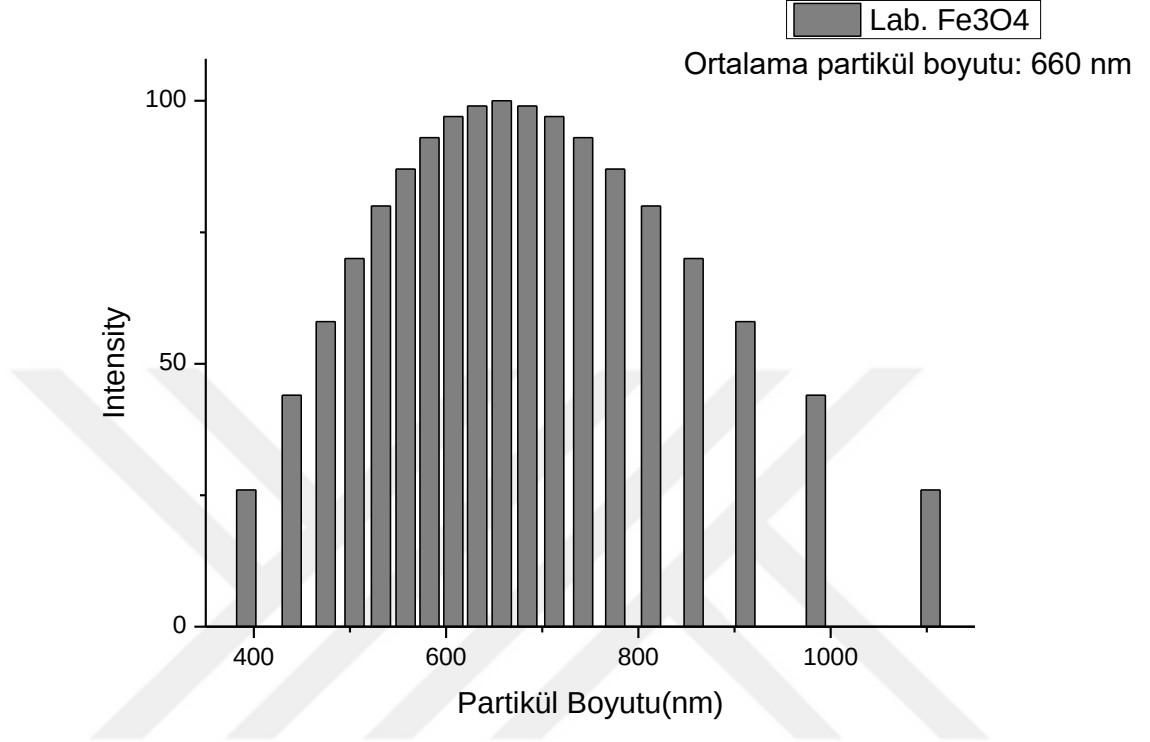
Şekil 4.8: Amino fonksiyonel polimer kaplı manyetik ürünlere ait FT-IR spektrumları.

Şekil 4.7’de verilen FT-IR spektrumu incelendiğinde, AAM-07 kodlu çekirdek kabuk yapıdaki manyetik ürününün etilendiamin (EDA) ile transamidasyon reaksiyonu sonrası, PAAM yapılarının amin modifiye yapılara dönüşmesine bağlı olarak, 1538 cm^{-1} ’deki pikin şiddetinin arttığı izlenmektedir. Bu pikteki şiddet artışı yeni oluşan amin gruplarındaki N-H deformasyon titreşimlerinden kaynaklanmaktadır [104,109]. Bir diğer değişim ise 1447 cm^{-1} civarında izlenen ve $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ grubundaki $-\text{CH}_2$ deformasyon titreşimlerine ait piktir. Bu değişimlerin tamamı Şekil 4.8’de verilen tüm amin modifiye ürünlere ait FT-IR spektrumlarında da belirlenmiştir. Nitekim bir sonraki bölümde verilen amin indisi analizi sonuçları da göz önüne alındığında, tez çalışmaları kapsamında sentezlenen tüm manyetik partiküllerin amin modifiye ürünler olduğu ve tezin uygulama çalışması olan DNA izolasyonunda kullanabilecek özelliklere sahip olduğu kanaatine varılmıştır.

4.2. PARTİKÜL BOYUTU VE AMİN İNDİSİ ANALİZLERİ

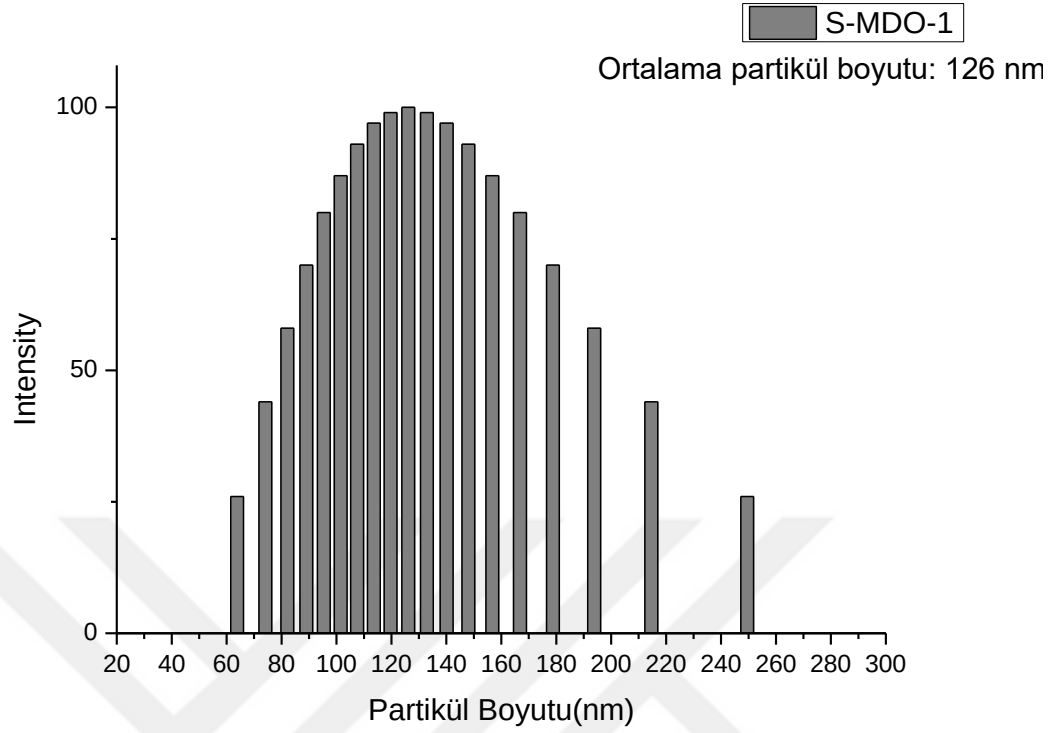
Laboratuvar şartlarında oleik asitsiz ortamda birlikte çöktürme yöntemi ile sentezlenmiş manyetik demir oksit partiküllerin DLS yöntemi kullanılarak belirlenmiş partikül boyutu ve

dağılımına ait grafik Şekil 4.9’da verilmiştir. Partiküller 400-1110 nm aralığında görece geniş bir boyut dağılımına sahip olup, ortalama partikül çapı 660 nm olarak belirlenmiştir.

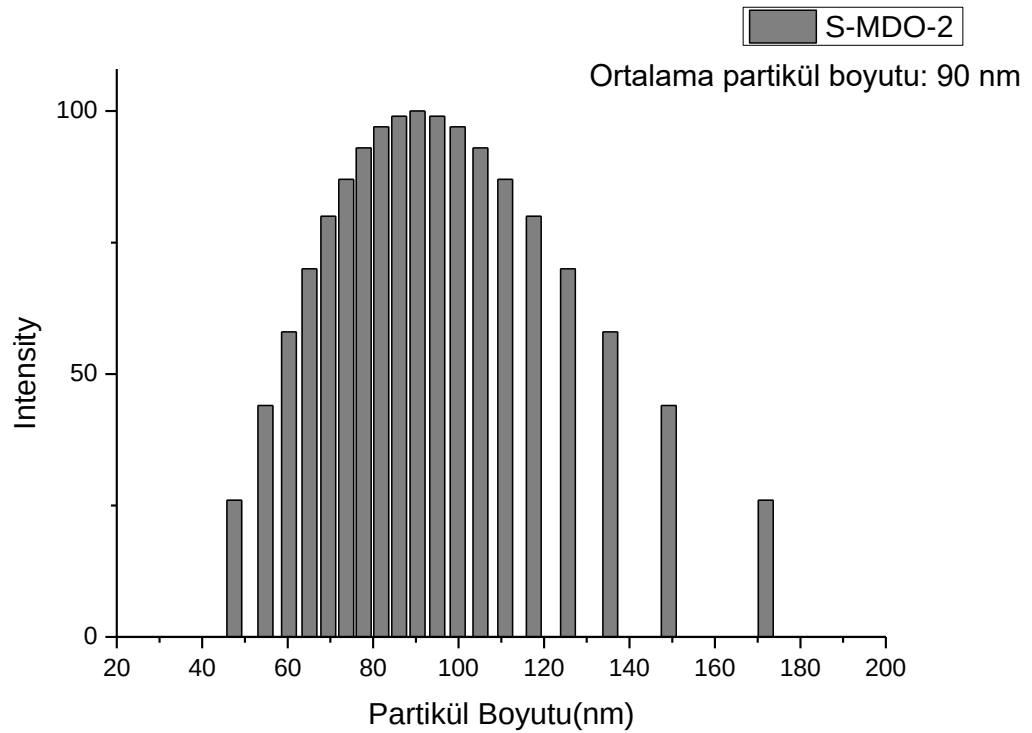


Şekil 4.9: Laboratuvar şartlarında sentezlenen saf manyetik Fe₃O₄ partikül boyut ve dağılımı grafiği.

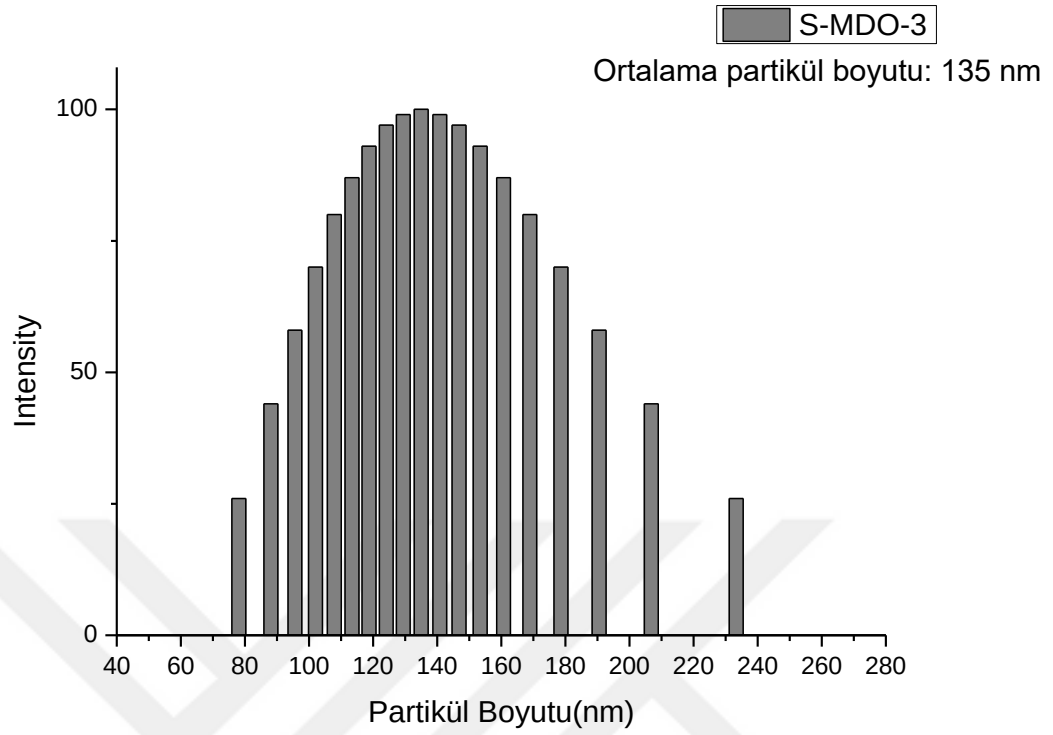
MDO ara ürünlerinin OA ile bidentant kaplanarak su içerisinde süspanse edilmesi sonucu hazırlanan manyetik ferro akışkanlara ait partikül boyut ve dağılım grafikleri Şekil 4.10-13’de verilmiştir. Şekillerden de görüleceği gibi S-MDO süspansiyonlarındaki demir oksit partiküllerinin boyutları 90-135 nm aralığındadır. Bu süspansiyonların kararlılıklarının incelenmesi amacıyla kapalı kaplarda oda sıcaklığında bekletilmiş ve süspansiyonların kararlı bir şekilde herhangi bir agregasyon görülmeden stabil kaldığı (izleme süreci 3 ay) belirlenmiştir. Bu bağlamda, tez çalışmasında kararlı yapıda boyutları 100 nm bandında olan manyetik ferro akışkanların üretimi de başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.



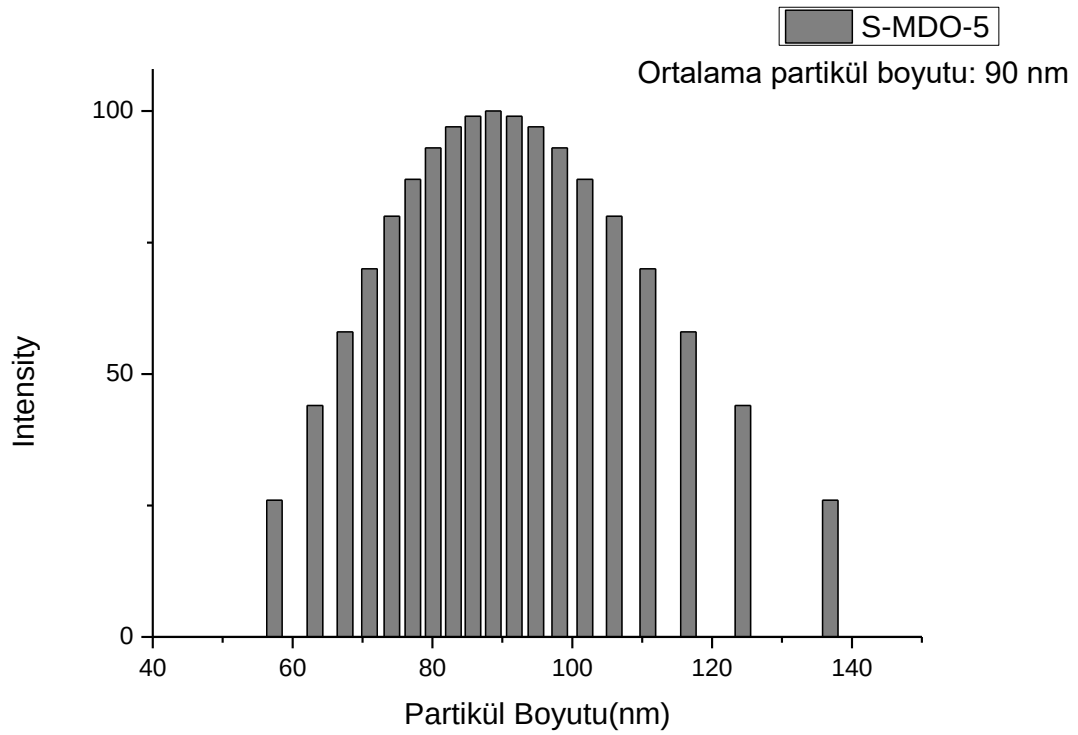
Şekil 4.10: S-MDO-1 manyetik demir oksit süspansiyonuna ait partikül boyut ve dağılımı grafiği.



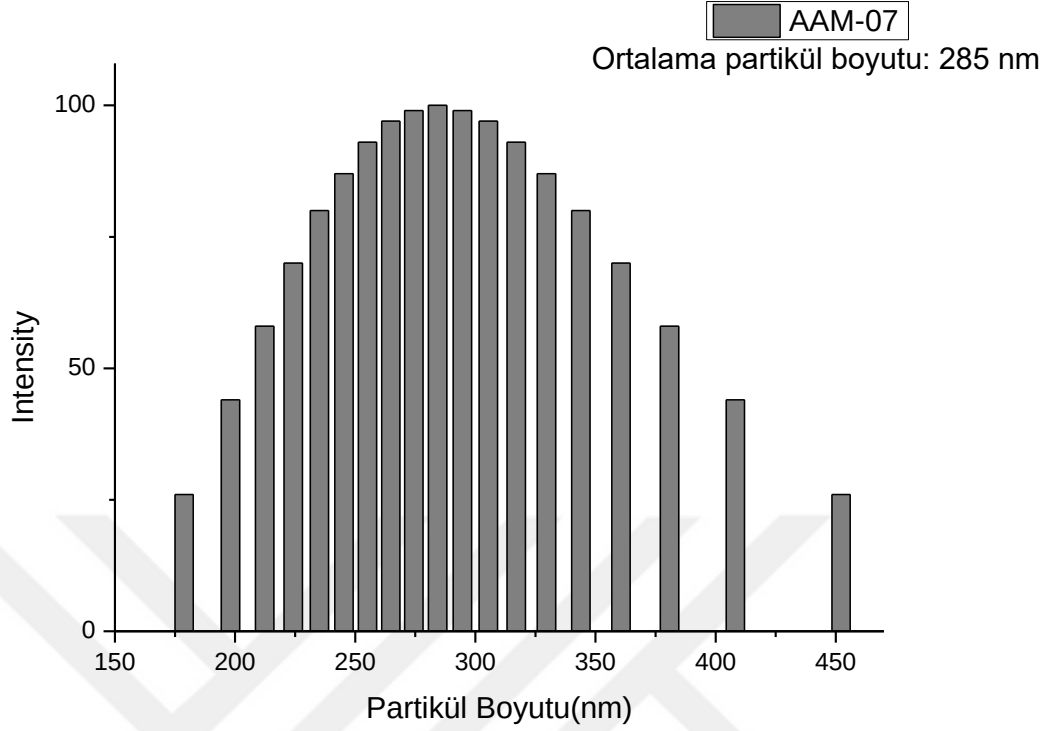
Şekil 4.11: S-MDO-2 manyetik demir oksit süspansiyonuna ait partikül boyut ve dağılımı grafiği.



Şekil 4.12: S-MDO-3 manyetik demir oksit süspansiyonuna ait partikül boyut ve dağılımı grafiği.

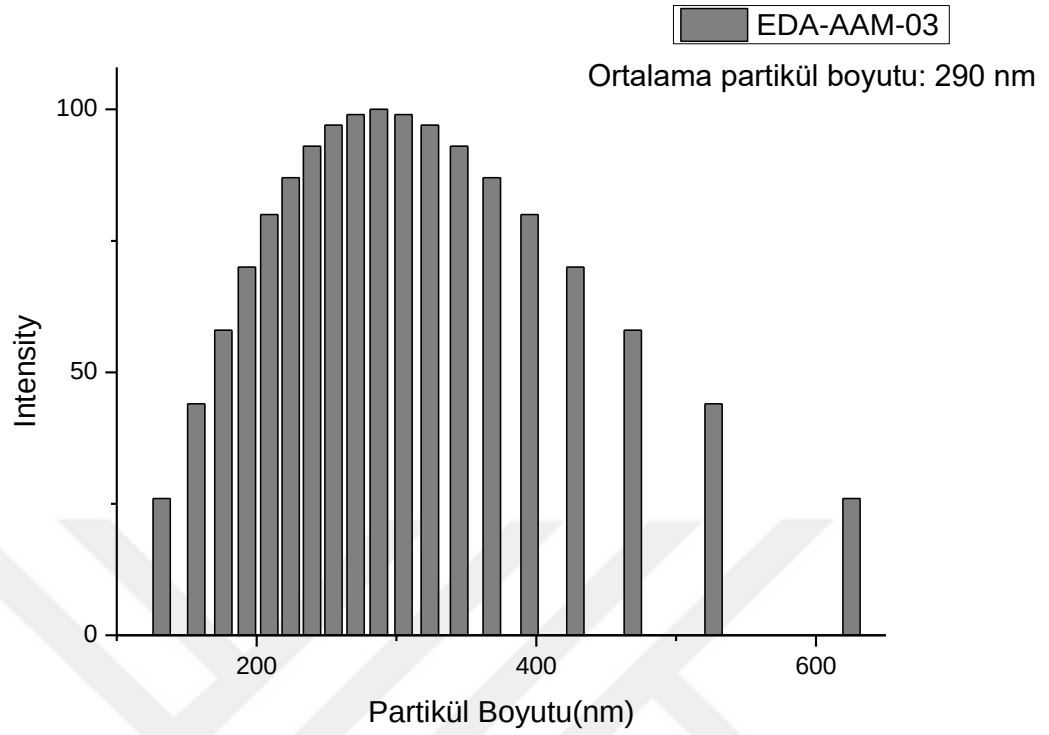


Şekil 4.13: S-MDO-5 manyetik demir oksit süspansiyonuna ait partikül boyut ve dağılımı grafiği.

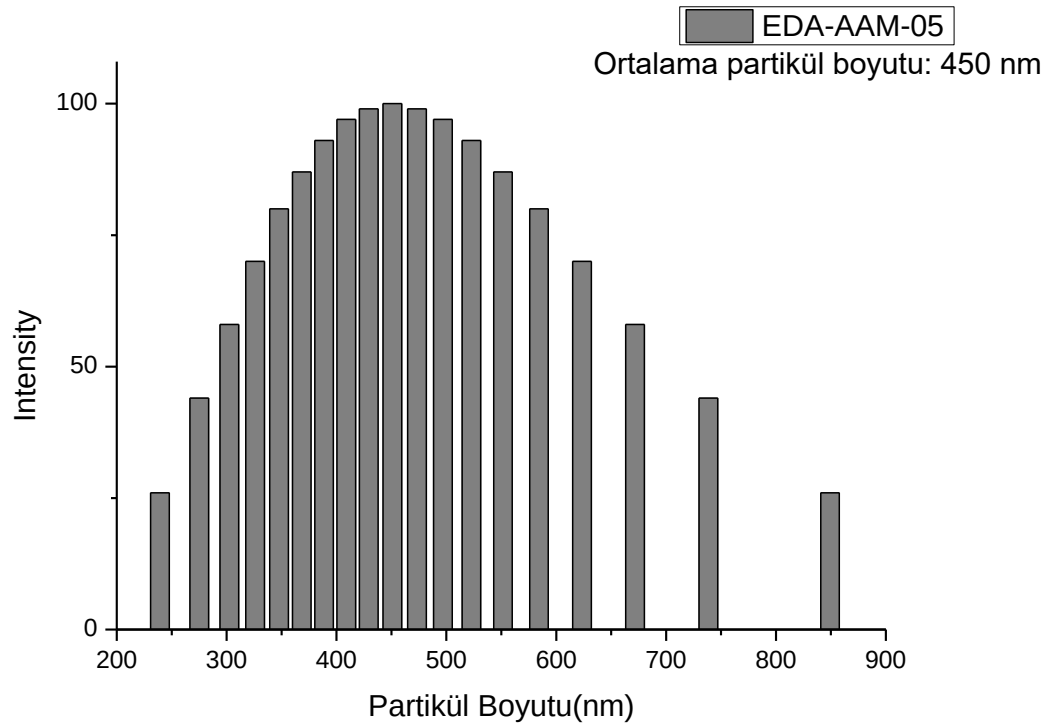


Şekil 4.14: AAM-07 ürününe ait partikül boyut ve dağılımı grafiği.

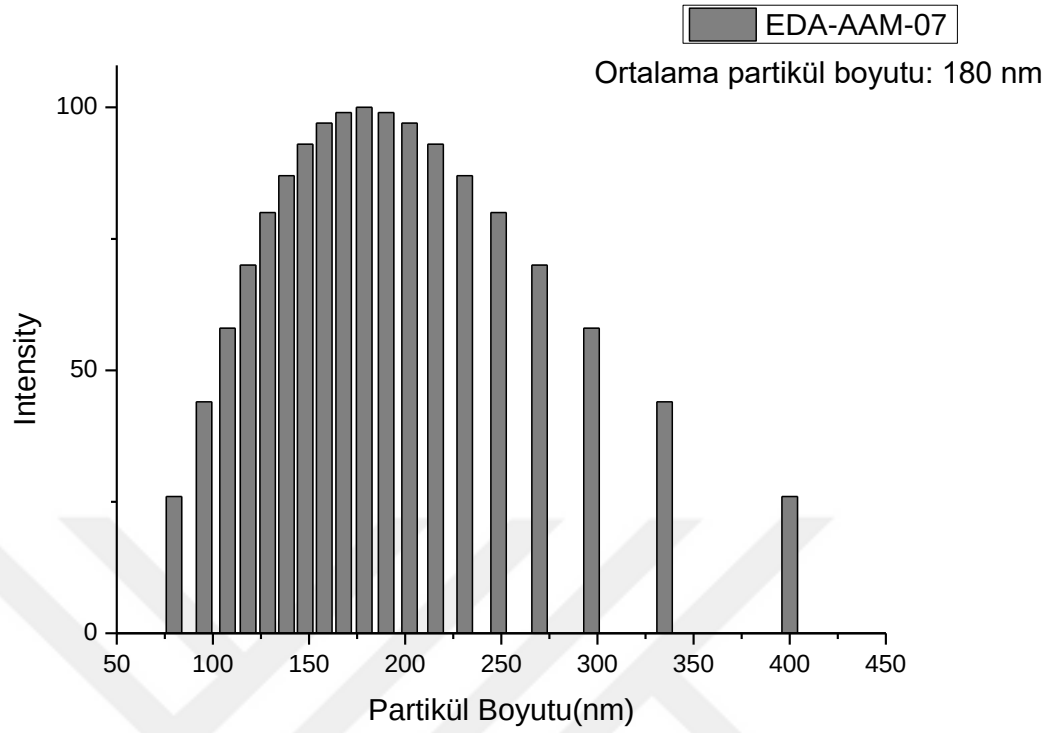
Şekil 4.14'te, S-MDO-3 manyetik süspansiyonu kullanılarak gerçekleştirilen polimerizasyon reaksiyonu sonucu elde edilen, çekirdek kabuk yapısına sahip AAM-07 ürününe ait partikül boyutu ve dağılımı grafiği verilmiştir. 0,75 mol AAm kullanılarak gerçekleştirilen polimerizasyon reaksiyonu sonrası, 135 nm olan demir partiküllerinin boyutu, 285 nm olarak belirlenmiştir. Demir oksit yüzeylerinin oldukça hidrofilik bir polimer olan PAAm ile kaplanması sonucu, partiküllerin hidrodinamik çaplarının artışı beklenen bir durum olup, bu sonuç ayrıca polimerizasyon reaksiyonu sürecinde yağ içindeki su damlacıklarının içerisinde oluşan polimer yapıların, polimerizasyon reaksiyonu ilerledikçe süspansiyonu bozmadan, stabil bir şekilde çekirdek kabuk yapısında polimer kaplı partiküllerin oluştuğunun da bir göstergesidir. Bu bağlamda herhangi bir jellenme gerçekleşmeyip, polimerizasyon reaksiyonunun, yağ içindeki su damlalarında demir oksit partiküllerinin yüzeyinin polimer ile kaplanması şeklinde ilerlediği kanaatine varılmıştır.



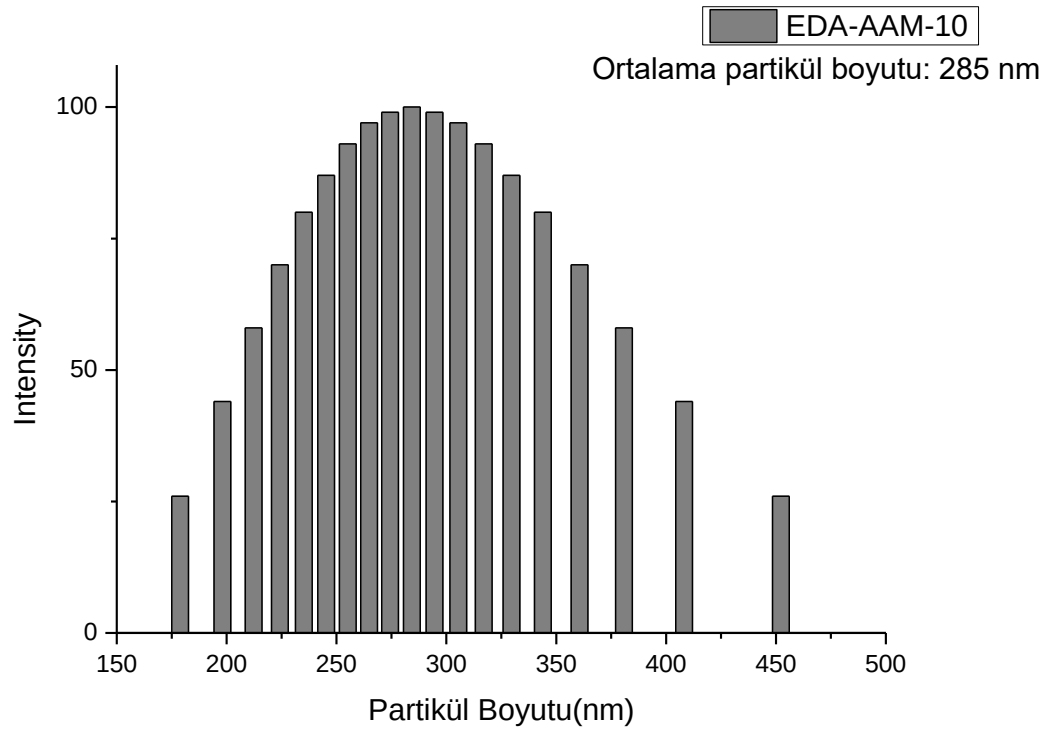
Şekil 4.15: EDA-AAM-03 ürününe ait partikül boyut ve dağılımı grafiği.



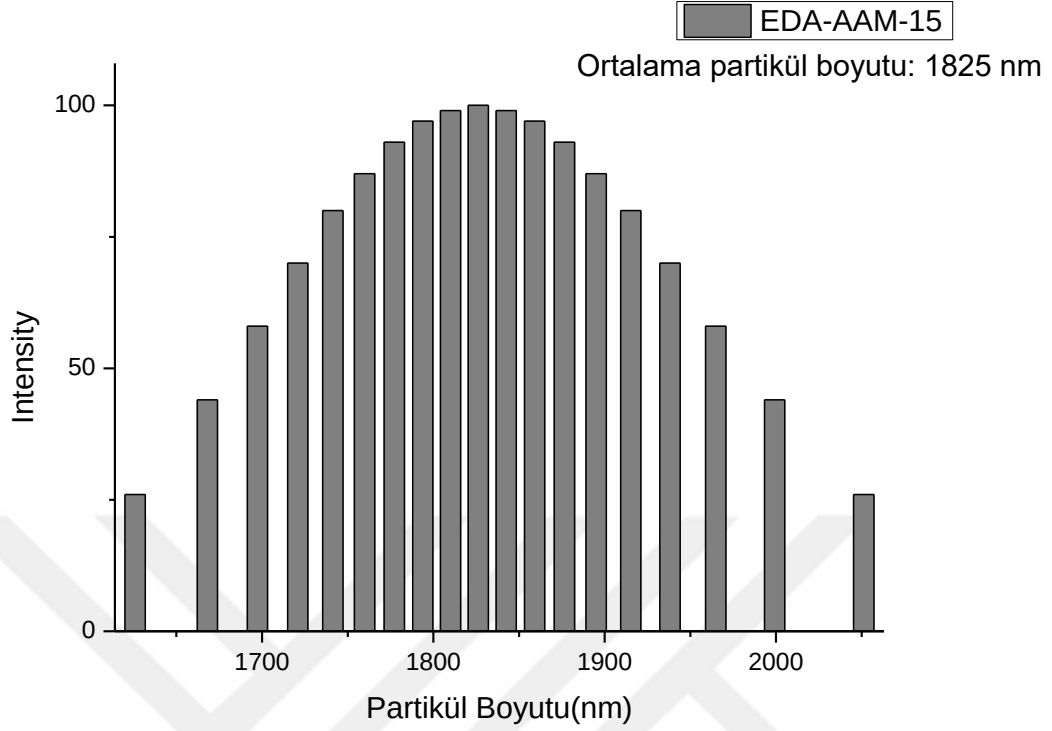
Şekil 4.16: EDA-AAM-05 ürününe ait partikül boyut ve dağılımı grafiği.



Şekil 4.17: EDA-AAM-07 ürününe ait partikül boyut ve dağılımı grafiği.



Şekil 4.18: EDA-AAM-10 ürününe ait partikül boyut ve dağılımı grafiği.



Şekil 4.19: EDA-AAM-15 ürününe ait partikül boyut ve dağılımı grafiği.

Şekil 4.15-19’da EDA-AAM-XX ürünlerine ait partikül boyutu ve dağılımlarını gösteren grafikler verilmiştir. Şekiller incelendiğinde EDA-AAM-15 ürünü hariç tüm ürünlerin boyutlarının 180-450 nm aralığında olduğu belirlenmiştir. EDA-AAM-15 ürününün ise ortalama partikül boyutu 1825 nm olarak belirlenmiştir. Bu durumun olası nedeni, en yüksek monomer besleme oranına sahip olan bu ürün sentezinde, polimerizasyon reaksiyonu süresince oluşan polimer zincirlerinin etkileşimleri sonucu, yağ içerisindeki su hücrelerinin birleşmesi dolayısıyla da oluşan polimer kaplı partiküllerin boyutlarının artması yüzünden olduğu düşünülmektedir. Tez çalışmasının en önemli hedeflerinden birisinin, DNA izolasyonunda kullanılabilir bir manyetik partikül üretimi olduğu göz önüne alınırsa, 1825 nm boyutunda olan bu partiküllerin uygun boyutlarda olmadığı açıktır. Nitekim DNA adsorpsiyonu için en önemli şartlardan biri, izolasyonda kullanılacak materyalin partikül boyutunun 1 mikrondan düşük olması gerekmektedir.

Partikül boyutu analizleri sonucunda ikinci bir dikkat çekici bir değişim de gözlenmektedir. Şekiller incelendiğinde AAM-07 için bulunan ortalama partikül boyutu 285 nm’dir, bu ara ürün kullanılarak sentezlenen amin modifiye ürün olan EDA-AAM-07 için ise ortalama partikül

boyutu daha düşük çıkmış ve 180 nm olarak belirlenmiştir. Bilindiği gibi DLS analizlerinde uygun bir sıvı içerisinde (bu çalışmada destile su) dağıtılan partiküllerin, sıvı faz içerisindeki boyutları belirlenmektedir. Dolayısıyla polimerik partiküller durumunda sulu sistemlerde ölçülen değer hidrodinamik çaptır. AAM-07 ürünü oldukça hidrofilik bir polimer olan PAAM ile kaplı iken, EDA ile modifiye edilmiş üründe, hem partikül yüzeyini kaplayan polimer zincirlerinin arasında yeni çapraz bağların oluşma olasılığı, hem de yeni oluşan amin modifiye yapılarının daha düşük hidrofilliğe sahip olmasına bağlı olarak, partikülü kaplayan polimerik yapının su içerisindeki hidrodinamik çapında düşüş olduğu düşünülmüştür. Bu bağlamda DLS analizlerinde AAM-07 ürünü için belirlenen boyutun, modifikasyondan sonra belirli oranda düşmüş olması beklenen bir durumdur.

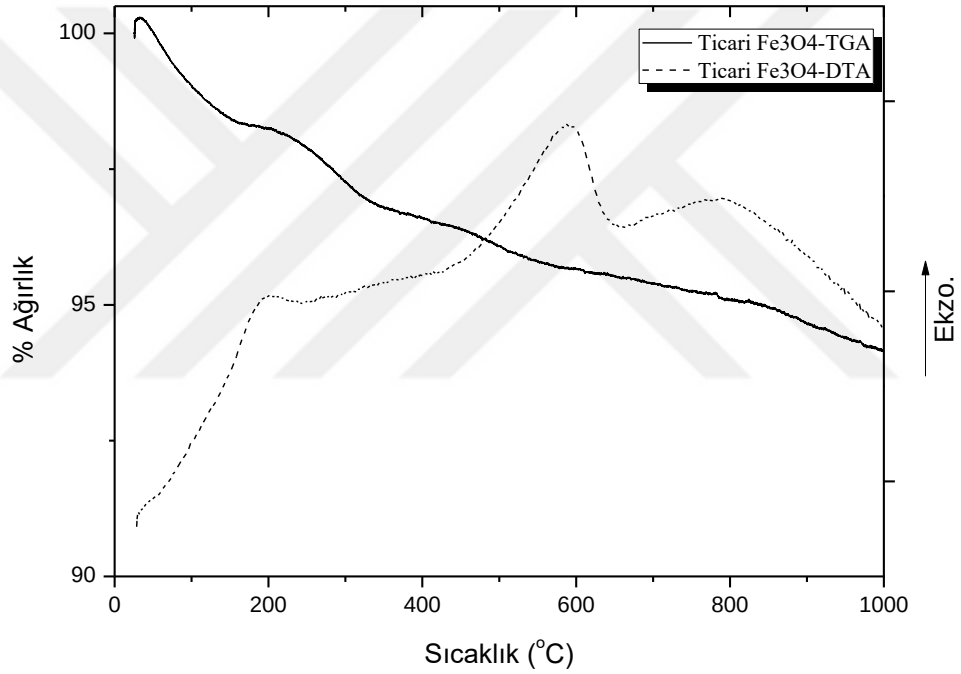
Tablo 4.1’de EDA-AAM-XX ürünlerine ait amin indisi ve ortalama boyut değerleri listelenmiştir. Tablodan da görüleceği gibi EDA-AAM-07 ürününün gerek en düşük partikül boyutuna sahip olması, gerekse de amin indisi en yüksek olan ürün olmasından dolayı, tezin uygulama çalışması olan DNA izolasyonu çalışmalarında etkin bir şekilde kullanılabileceği düşünülmüştür.

Tablo 4.1: EDA-AAM ürünlerine ait ortalama partikül boyutu ve amin indisi değerleri.

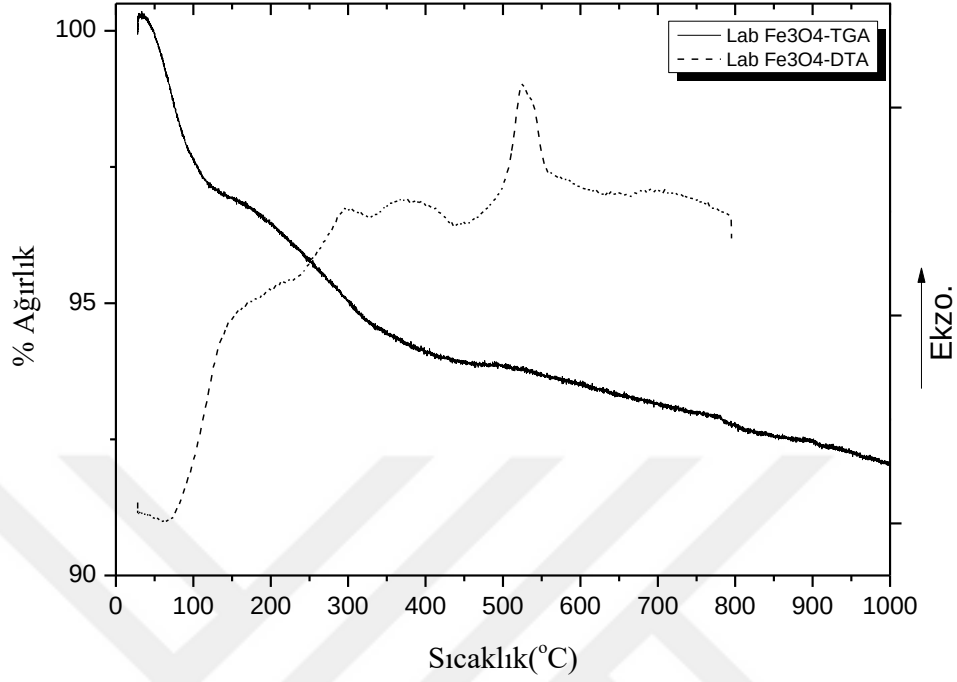
	Ortalama partikül boyutu (nm)	Amin indisi (mmol/g)
EDA-AAM-03	290	11,83
EDA-AAM-05	450	13,22
EDA-AAM-07	180	19,53
EDA-AAM-10	285	18,79
EDA-AAM-15	1825	13,87

4.3. TGA ANALİZLERİ

Şekil 4.20-21’de ticari ve laboratuvar şartlarında hazırlanmış manyetik demir oksit ürünlerine ait TGA-DTA grafikleri verilmiştir. Şekillerden de görüleceği gibi her iki ürün de benzer ısı davranışlar göstermektedir. Ticari üründe %2 civarında nem ve analiz sıcaklığı olan 1000°C’ye kadar da %4 olmak üzere toplam %6 civarında bir ağırlık kaybı söz konusudur. Laboratuvar şartlarında sentezlenmiş demir oksit için ise nem değeri %4, analiz sıcaklığı olan 1000°C’ye kadar da %4 olmak üzere toplam %8 civarında bir ağırlık kaybı söz konusudur.

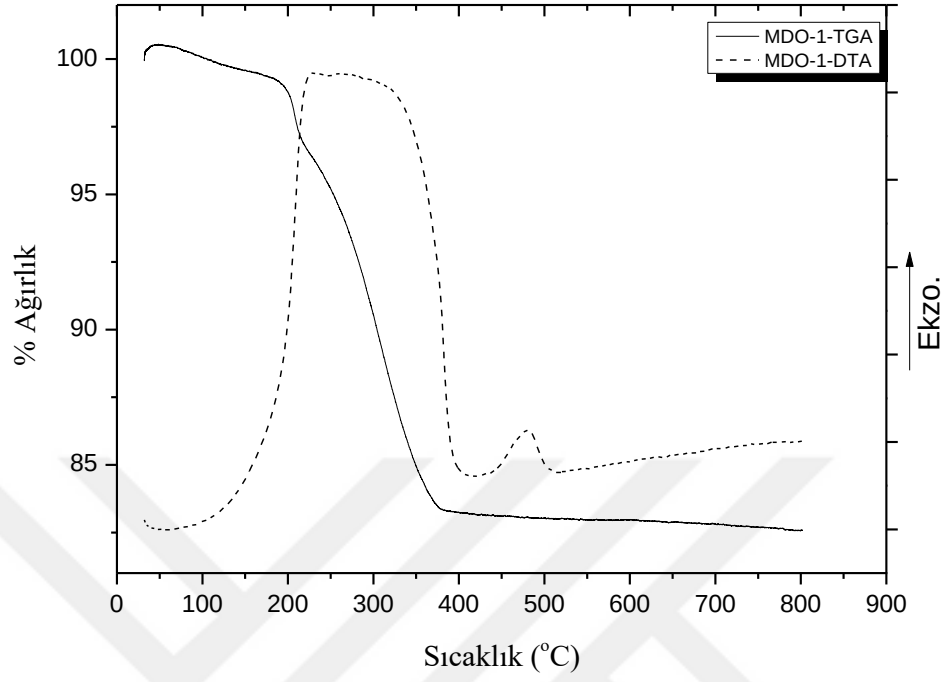


Şekil 4.20: Ticari MDO’ya ait TGA-DTA grafiği.

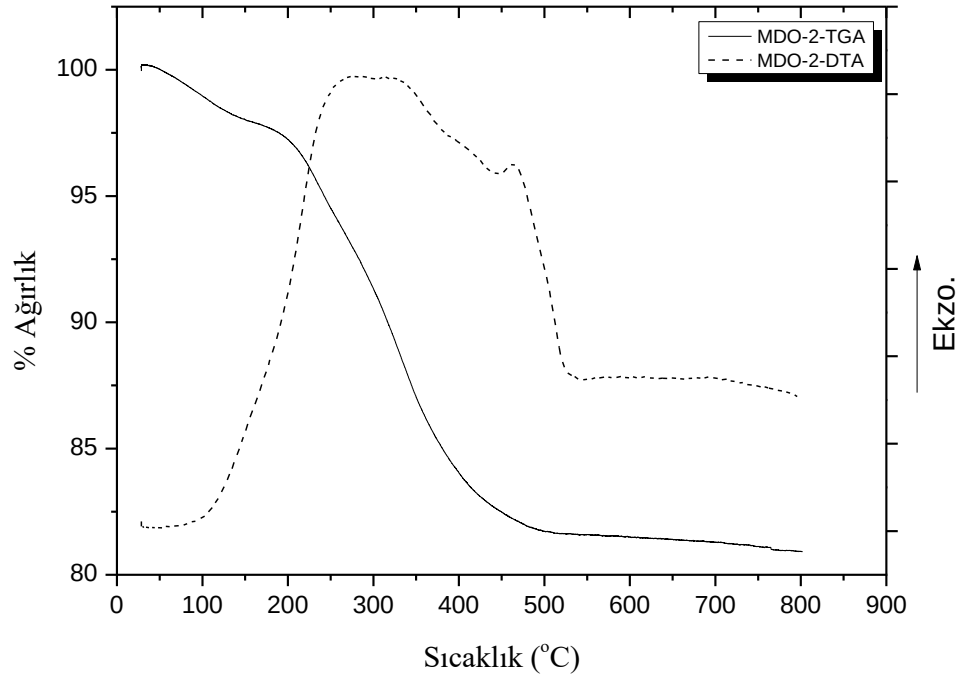


Şekil 4.21: Laboratuvar şartlarında sentezlenmiş MDO'ya ait TGA-DTA grafiği.

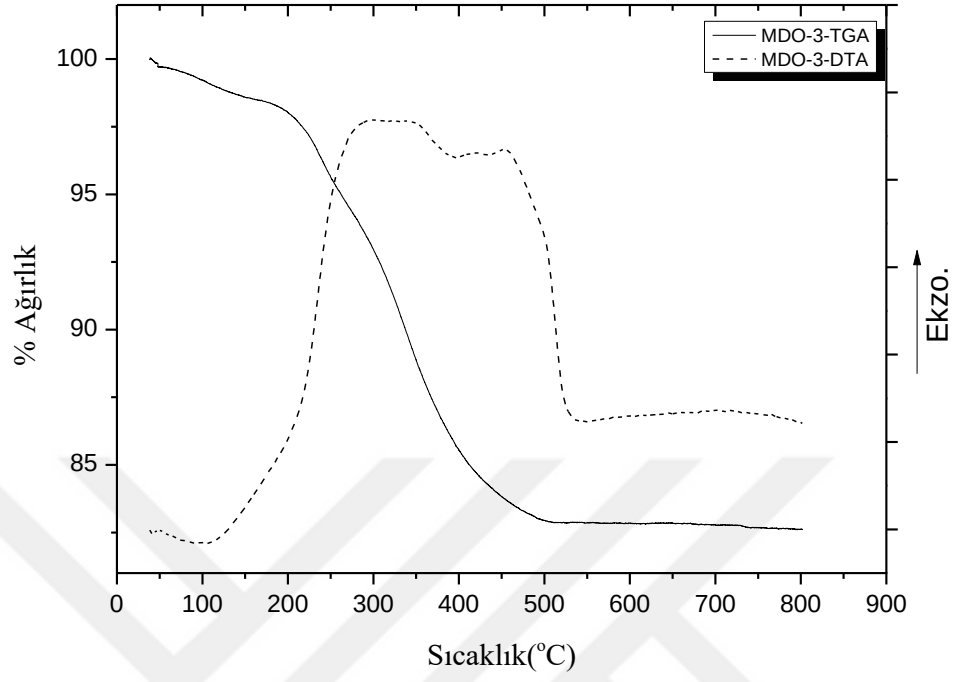
Şekil 4.22-26'da MDO-XX ürünlerine ait TGA-DTA analiz sonuçları grafik şeklinde verilmiştir. Şekiller incelendiğinde, MDO-1 ürünün %1 civarında nem içerdiği, 190-380 °C arasında ekzotermik, tek kademeli bir ısıl bozulma sonucu, toplamda %17 civarında bir ağırlık kaybı gerçekleştiği görülmektedir. Bu bağlamda saf demir oksitin %4'lük ağırlık kaybı da göz önüne alındığında, demir oksit partiküllerinin yüzeyinin ağırlıkça %13 civarında oleik asit ile kaplandığı söylenebilir. Diğer MDO-XX ürünleri de benzer bir ısıl davranış göstermiştir ve MDO-5 ürünü hariç diğer tüm ürünlerdeki oleik asit kaplanma oranı aynı bulunmuştur. MDO-5 ürünü ise toplam ağırlık kaybı %0,5 nem olmak üzere %23 civarındadır. Daha önce FT-IR analizi sonuçlarında da belirtildiği gibi, bu üründe oleik asit zincirlerinin bidentat şekilde yüzeye kaplanmış durumdadır. Bu bağlamda bu ürünlerdeki oleik asit miktarı diğer ürünlere göre daha fazladır.



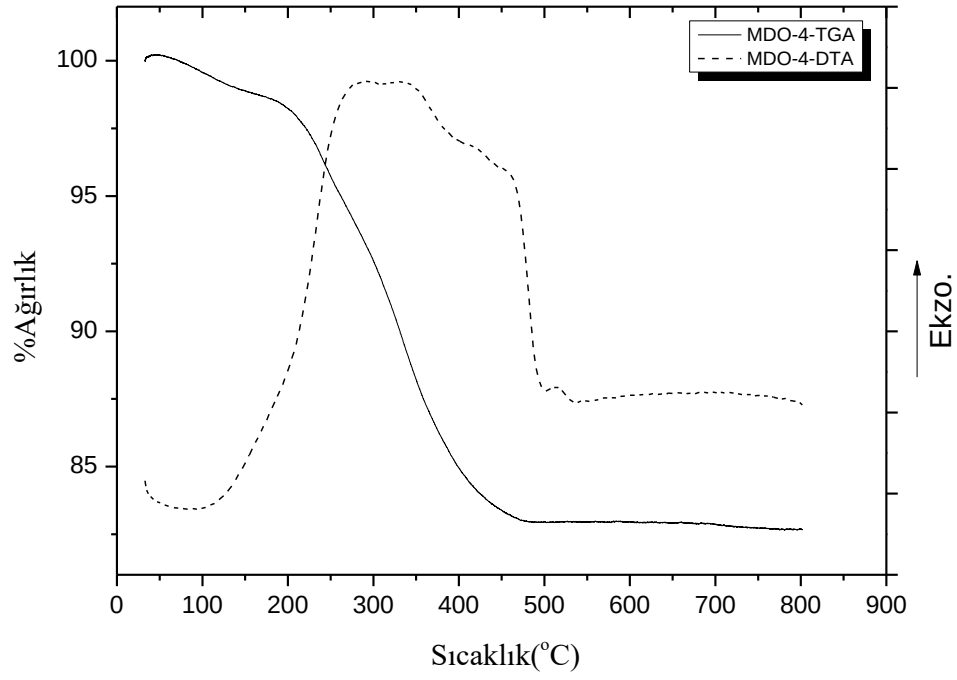
Şekil 4.22: MDO-1 ürününe ait TGA-TDA grafiği.



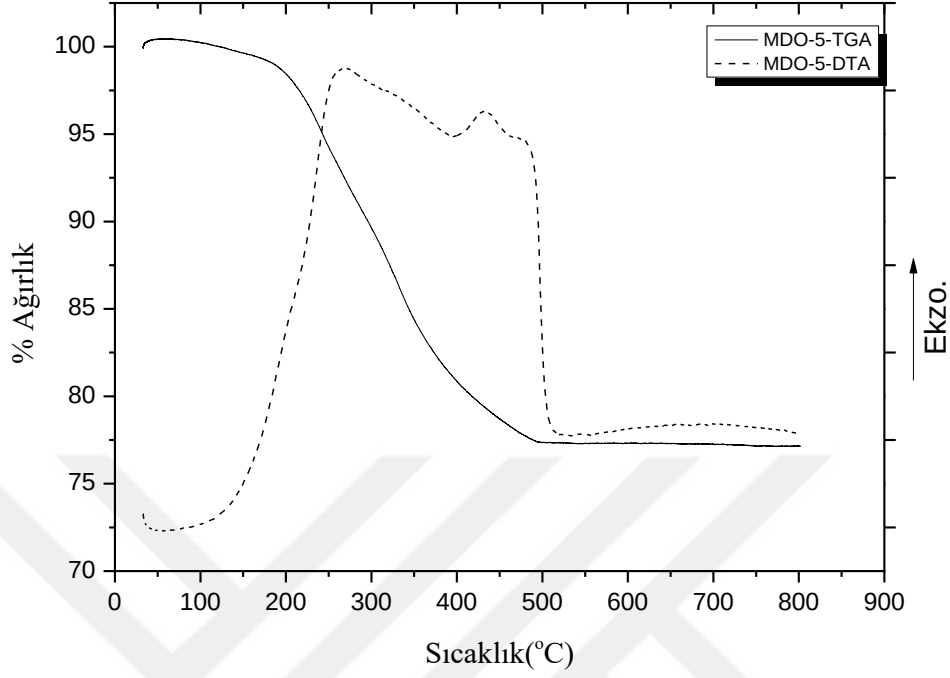
Şekil 4.23: MDO-2 ürününe ait TGA-DTA grafiği.



Şekil 4.24: MDO-3 ürününe ait TGA-DTA grafiği.



Şekil 4.25: MDO-4 ürününe ait TGA-DTA grafiği.



Şekil 4.26: MDO-5 ürününe ait TGA-DTA grafiği.

Şekil 4.27-31’de AAM-XX ürünlerine ait TGA-DTA analiz sonuçları grafik şeklinde verilmiştir. Şekil 4.27 incelendiğinde; AAM-3 ürününün %2,5 civarında serbest ve bağlı nem içerdiği, geçişleri çok net olmamak üzere 200-270, 270-420 ve 420-690 °C arasındaki üç bölgede, toplam 3 kademeli bir ısıl bozulma davranışı sergilediği görülmektedir. Bu ürün için analiz sonrası bakiye %30 civarında olup, bu sonuca göre bu ürünün ağırlıkça %69 oranında polimer ile kaplı olduğu belirlenmiştir.

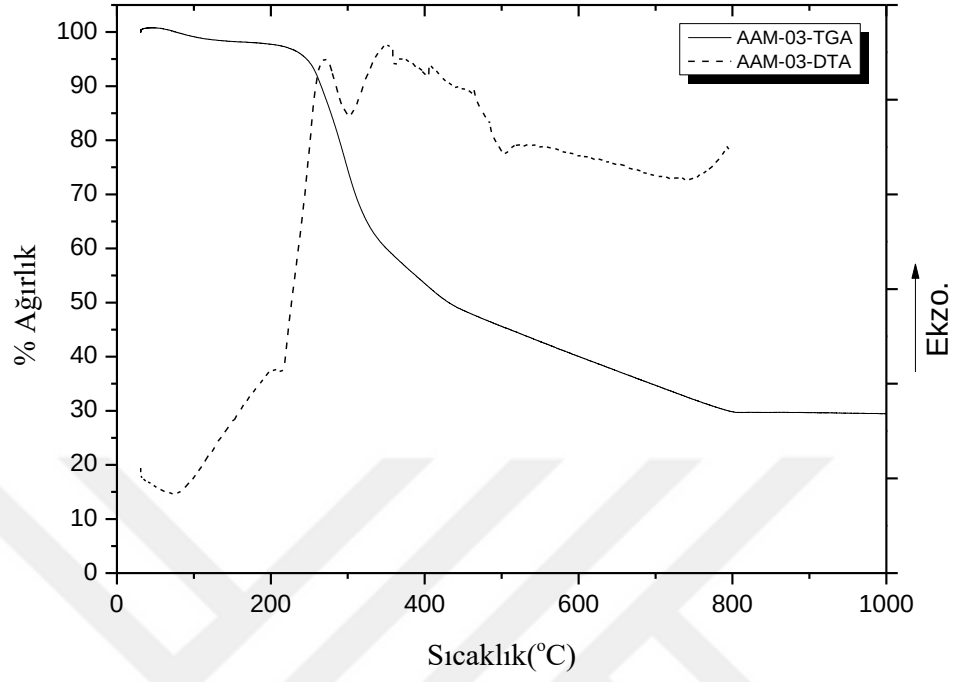
Şekil 4.28 incelendiğinde; AAM-5 ürününün %7 civarında serbest ve bağlı nem içerdiği, geçişleri net olarak gözlemlenebilen ve 240-700 °C arasındaki bölgede 3 kademeli bir ısıl bozulma davranışı sergilediği görülmektedir. Bu ürün için analiz sonrası bakiye %21 civarında olup, bu sonuca göre bu ürünün ağırlıkça %77 oranında polimer ile kaplı olduğu belirlenmiştir.

Şekil 4.29 incelendiğinde; AAM-7 ürününün %8 civarında serbest ve bağlı nem içerdiği, geçişleri çok net olmamak üzere 240-680 °C arasındaki bölgede 3 kademeli bir ısıl bozulma davranışı sergilediği görülmektedir. Bu ürün için analiz sonrası bakiye %43 civarında olup, bu sonuca göre bu ürünün ağırlıkça %53 oranında polimer ile kaplı olduğu belirlenmiştir.

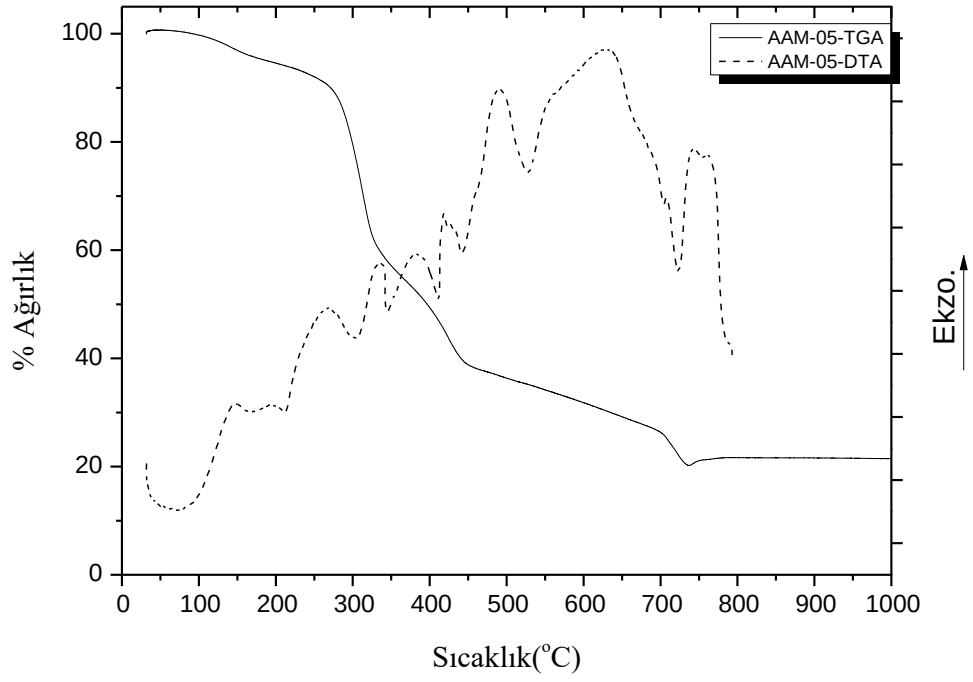
Şekil 4.30 incelendiğinde; AAM-10 ürününün %13 civarında serbest ve bağlı nem içerdiği, 230-790 °C arasındaki bölgede 3 kademeli bir ısıl bozulma davranışı sergilediği görülmektedir. Bu ürün için analiz sonrası bakiye %18 civarında olup, bu sonuca göre bu ürünün ağırlıkça %79 oranında polimer ile kaplı olduğu belirlenmiştir.

Şekil 4.31 incelendiğinde; AAM-15 ürününün %6 civarında serbest ve bağlı nem içerdiği, 220-790 °C arasındaki bölgede çok kademeli bir ısıl bozulma davranışı sergilediği görülmektedir. Bu ürün için analiz sonrası bakiye %17 civarında olup, bu sonuca göre bu ürünün ağırlıkça %82 oranında polimer ile kaplı olduğu belirlenmiştir.

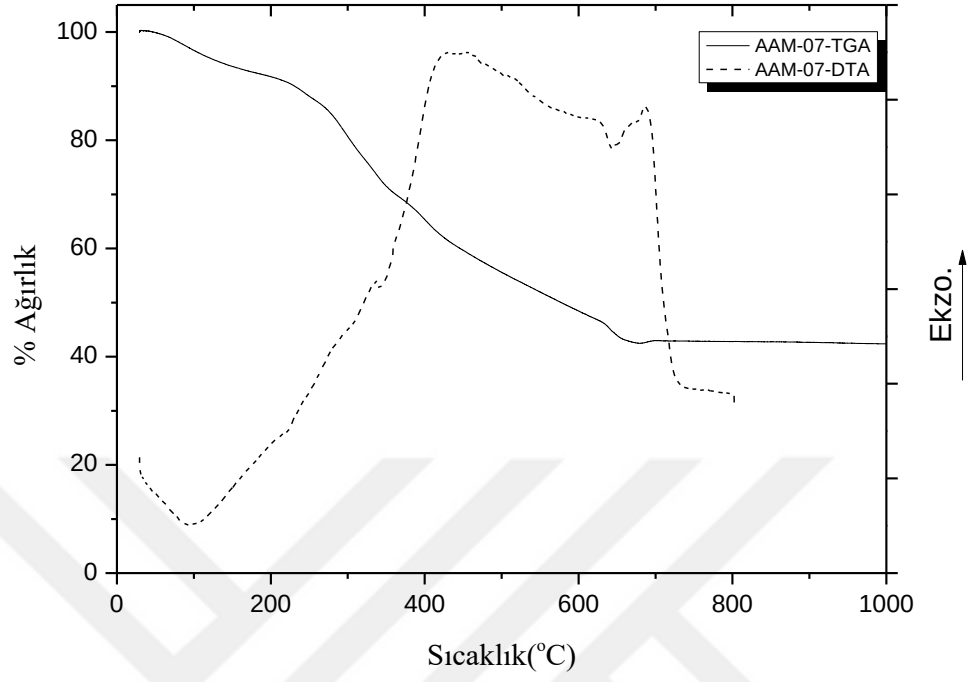
Toplu bir değerlendirme yapılacak olursa, demir oksit yüzeylerini kaplayan polimer tabakanın kalınlığının değişimine bağlı olarak bazı ısıl bozulma davranışı değişiklikleri gözlemlenmekle birlikte ürünlerin benzer ısıl bozulma davranışı sergilediği belirlenmiştir. Ağırlıkça %53 değeri ile en az kaplanma oranı AAM-07 ürününde belirlenmiştir ve bu durumdan dolayı en ince kabuk polimer katmanının bu partiküllerde olduğu kanaatine varılmıştır.



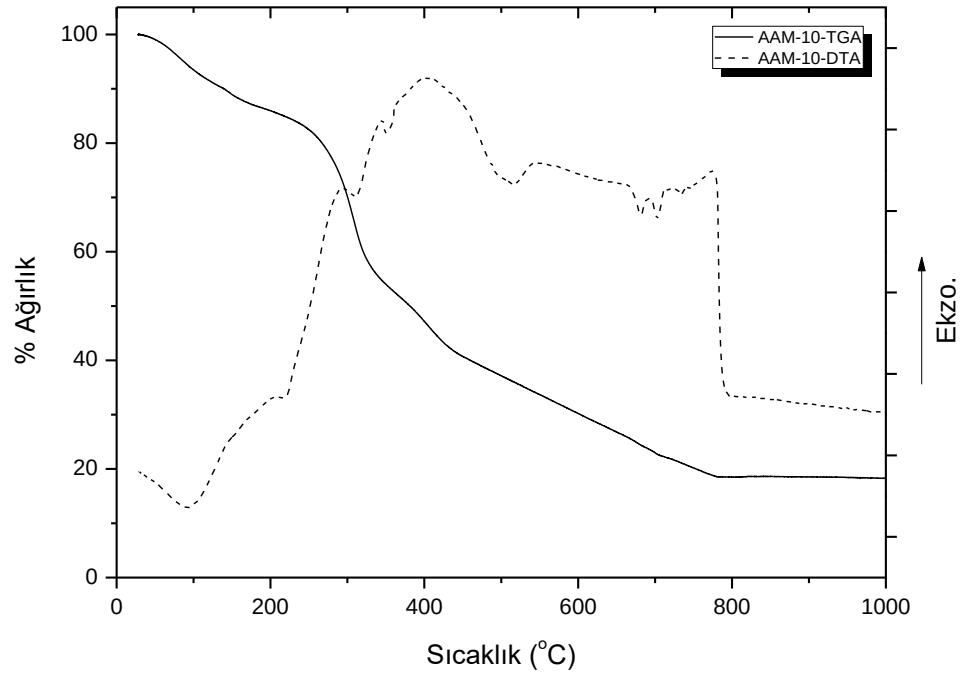
Şekil 4.27: AAM-03 ürününe ait TGA-DTA grafiği.



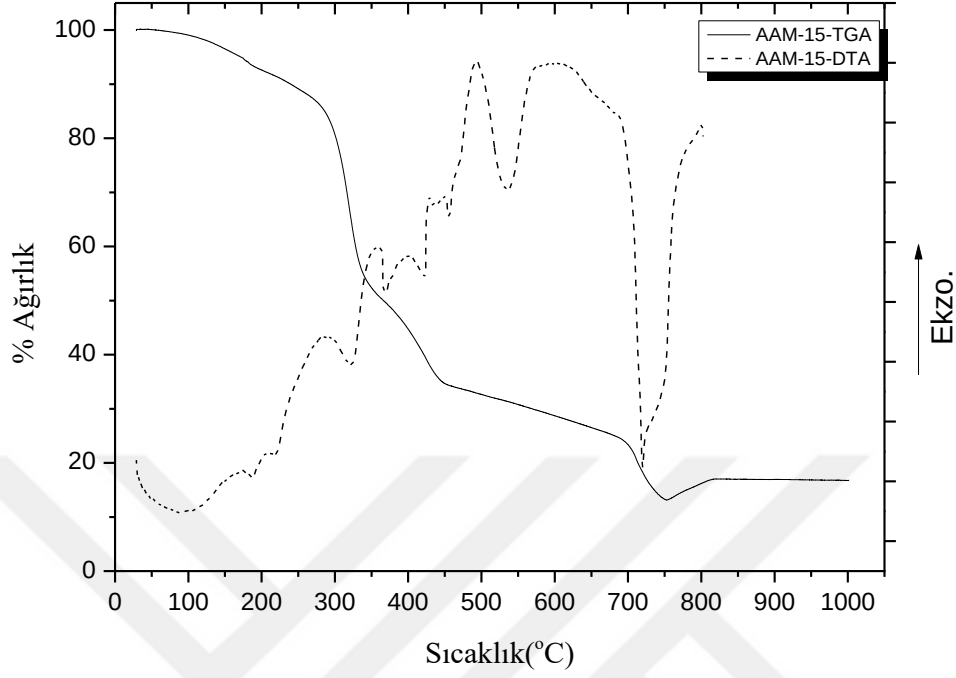
Şekil 4.28: AAM-05 ürününe ait TGA-TDA grafiği.



Şekil 4.29: AAM-07 ürününe ait TGA-DTA grafiği.



Şekil 4.30: AAM-10 ürününe ait TGA-DTA grafiği.



Şekil 4.31: AAM-15 ürününe ait TGA-DTA grafiği.

4.4. DNA İZOLASYON ÇALIŞMALARI

Tez çalışmaları kapsamında sentezlenen amin modifiye manyetik partiküllerden, amin indisi en yüksek, ortalama partikül boyutu en düşük ve TGA analizlerine göre kabuk yapısını oluşturan polimer tabakasının en ince olduğu düşünülen EDA-AAM-07 ürününün DNA izolasyon çalışmalarında kullanılmasına karar verilmiş ve pH 5 tamponunda adsorpsiyon, pH 10 tamponunda ise desorpsiyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Desorpsiyon çalışmalarında mıknatısla adsorpsiyon ortamından ayrılmış manyetik partiküller, yüzeyleri destile su ile yıkandıktan sonra, üzerlerine desorpsiyon tamponu eklenmiş ve 10 dakika 1000 rpmde santrifüj işleminde sonra çözeltideki DNA konsantrasyonu ölçülmüştür.

Adsorpsiyon çalışmalarında 6,6 ng/µl başlangıç konsantrasyonundaki DNA çözeltilerine 10 mg manyetik polimer/1 ml DNA çözeltisi olacak şekilde dozlama yapılarak, çözelti içerisindeki DNA konsantrasyonu 3, 10, 15, 30 ve 60. dakikalarda ölçülmüş ve sonuçlar Tablo 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.2: pH 5’de DNA konsantrasyonunun zamanla değişimi.

	Zaman (dak.)					
	0	3	10	15	30	60
Konsantrasyon (ng/μl)	6,6	5,6	4,5	4,3	3,8	3,7

Tablo 4.2’den de görüleceği üzere ilk 3 dakikada %15, 60. dakikada ise %44’l k bir DNA adsorpsiyon verimine ulaşılmıştır. Desorpsiyon çalışmalarında ise tutulan DNA miktarının %60 civarında geri salındığı belirlenmiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışması, İ.Ü. BAP Birim tarafından desteklenen “pH ve Sıcaklığa Duyarlı Manyetik Polimer Mikro Partiküllerin Sentezi Karakterizasyonu ve DNA İzolasyonunda Kullanımlarının Araştırılması” isimli projenin temellerini oluşturacak şekilde planlanmıştır.

Çalışmada öncelikle, suda süspanse olabilecek ve yüzeyi oleik asit ile kaplanmış manyetik özellikte demir oksit (MDO) parçacıkları boyutları 1 mikronun altında olacak şekilde sentezlenmiştir.

MDO sentezi, temel olarak Fe^{2+} ve Fe^{3+} tuzlarının bazik ortamdaki oksidasyonunu içeren, “birlikte çöktürme yöntemi” kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sentez esnasında, belirli oranda oleik asit (OA) kullanımı ile MDO partiküllerinin OA ile tek tabakalı (monolayer) olarak kaplanması sağlanmıştır. Takiben ikin bir OA ilavesi ile iki tabakalı (bilayer) olarak sentezlenen MDO partikülleri, kararlı bir manyetik kolloidal süspansiyon oluşturacak şekilde suda dağıtılmıştır. Böylece, polimerizasyon reaksiyonlarında reaksiyon ortamı olarak kullanılabilecek manyetik ferrolikit (ferro-akışkan) (S-MDO) sentezi gerçekleştirilmiştir. Polimerizasyon reaksiyonları, yağ içinde su ters emülsiyon yöntemi kullanılarak, stabilizatör olarak poli(vinil alkol) varlığında gerçekleştirilmiş ve MDO partiküllerinin yüzeyleri poli(akrilamid) (PAAm) ile kaplanmıştır. Sentezlenen bu partiküllerin (AAM-XX), pH’a duyarlı olması ve DNA izolasyonunda kullanılabilmesi için, transamidasyon reaksiyonu gerçekleştirilerek, partikülün kabuk yapısını oluşturan PAAm yapıları, amin uç grupları içerecek şekilde modifiye edilmiştir (EDA-AAM-XX).

Tez çalışması kapsamında sentezlenen ürünlerin yapıları, Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FT-IR) yöntemi ile karakterize edilmiş, ısıl davranışları ise Termal Gravimetrik Analiz (TGA) yöntemi ile belirlenmiştir. Manyetik ferro-likitlerin, polimer kaplı manyetik partiküllerin ve amin modifiye ürünlerin partikül boyutu analizleri, Dinamik Işık Saçılımı (Dynamic Light Scattering) (DLS) yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Son olarak da amin modifiye manyetik partiküllerin iki farklı pH’taki DNA izolasyon etkinlikleri incelenmiştir.

Bulgular bölümde sırasıyla FT-IR, TGA, DLS analiz sonuçları irdelenmiş, takiben partiküllerin DNA izolasyon çalışmalarının sonuçları belirtilmiştir. Bu bölümde ise, her bir ürün grubu kendi içerisinde değerlendirilmiştir.

Manyetik demir oksit (MDO) ürünleri; Laboratuvarında bazik ortamda birlikte çöktürme yöntemi kullanılarak sentezlenmiş ve bu ürünlerin sentezinde kullanılan OA'in, demir oksit yüzeylerine monodentat şekilde bağlı olduğu FT-IR analizleri ile belirlenmiştir. Monodentat bağlanmış OA'in, elde edilen partiküllere suda dağılabilme özelliği vermediği bilinen bir durumdur ve beklenildiği gibi bu ürünlerden MDO-5 ürünü hariç hiçbir su içerisinde dağıtılamamıştır. MDO-5 ürünü ise suda dağıtılabilmektedir. FT-IR analizleri bölümde de bahsedildiği gibi, bu ürüne ait FT-IR spektrumunda 1710 cm⁻¹'de bulunan pik, bu ürün yüzeyine bidentant olarak bağlı olan serbest OA moleküllerinden kaynaklanmaktadır. Bu ürüne ait DLS analiz sonucuna göre ortalama partikül boyutu 405 nm civarında belirlenmiştir.

Su içinde dağıtılmış manyetik demir oksit süspansiyonları (S-MDO); MDO ürünlerinin yüzeylerinin OA ile bidentat şekilde kaplanmasını da içeren işlemler sonucunda hazırlanan ve polimerizasyon reaksiyonlarında su fazı olarak kullanılan bu süspansiyonların, 90-135 nm arasında ortalama partikül boyutuna sahip ve oda sıcaklığında oldukça kararlı manyetik süspansiyonlar olduğu belirlenmiştir.

Çekirdek kabuk yapısında, poli(akrilamid) kaplı manyetik partiküller (AAM-XX); Yağ içinde su ters emülsiyon yöntemi kullanılarak hazırlanan AAM-XX çekirdek kabuk yapısında manyetik polimerik partiküllerin yüzeyleri yapılan FT-IR analizleri ile incelenmiş ve analizler sonucunda poliakrilamid ile başarılı bir şekilde kaplanmış olduğu belirlenmiştir. TGA analizleri sonucunda ise partiküllerin ağırlıkça %53-82 oranında polimer içerdiği belirlenmiştir.

Çekirdek kabuk yapısında amino fonksiyonel poli(akrilamid) kaplı manyetik partiküller (EDA-AAM-XX); AAM-XX partiküllerinin EDA ile modifikasyonu sonrası, transamidasyon reaksiyonu ile amino fonksiyonelleştirilmesi sonucu sentezlenen bu ürünlerin kimyasal yapıları, FT-IR analizleri ile aydınlatılmış ve amin uç gruplarının varlığı görülmüştür. Gerçekleştirilen amin indisi analizleri sonucunda, en yüksek amin indisi değerinin EDA-AAM-07 ürününe ait olduğu belirlenmiştir.

DNA izolasyon çalışmaları; Tez çalışmaları kapsamında sentezlenen amin modifiye manyetik polimerik partiküllerden (MPP), amin indisi en yüksek, ortalama partikül boyutu en düşük ve

TGA analizlerine göre, kabuk yapısını oluşturan polimer tabakasının en ince olduğu düşünölen EDA-AAM-07 ürününün DNA izolasyon çalışmalarında kullanılmasına karar verilmiş ve pH 5 tamponunda adsorpsiyon, pH 10 tamponunda ise desorpsiyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Analizler sonucu %44'lük bir adsorpsiyon verimi sağlandığı, adsorplanan DNA'nın ise %60'ının desorbe edilebileceğı belirlenmiştir.

Sonuçlar toplu olarak değerdendirildiğinde, tez çalışması kapsamında partiköl boyutu 180 nm (~0.2µm) olan, amino fonksiyonel poli(akrilamid) ile kaplanmış, çekirdek kabuk yapısında manyetik partiköller başarıyla sentezlenmiştir. Gerçekleştirilen DNA izolasyon çalışmaları, bu partiköllerin DNA izolasyonunda kullanabileceğıne işaret etmektedir. Tez çalışmaları, İ.Ü. BAP birimi tarafından desteklenen bir araştırma projesinin ilk çalışmalarını kapsamakta olup, gelecek dönemlerde, partiköllerin değışik DNA başlangıç konsantrasyonlarındaki davranışı, pH, iyonik şiddet, sıcaklık değışkenlerine bağılı olarak değışebilecek adsorpsiyon ve desorpsiyon karakteristiklerinin belirlenmesi ve takiben bitki veya mantarlardan elde edilecek örneklerden doğrudan DNA izolasyonundaki etkinliğinin belirlenmesi çalışmalarının gerçekleştirilmesi planlanmıştır.

KAYNAKLAR

- [1]. Cornell, R. M., & Schwertmann, U. (2003). *The iron oxides: structure, properties, reactions, occurrences and uses*. John Wiley & Sons.
- [2]. Spaldin, N. A., & Mathur, N. D. (2003). Magnetic Materials: Fundamentals and Device Applications. *Physics Today*, 56(12), 62-63.
- [3]. Kurnaz, M. A., & Kurnaz, A. (2017). Modern fiziğe giriş. *Pegem Atıf İndeksi*, 1-190.
- [4]. Blaney, L. (2007). Magnetite (Fe₃O₄): Properties, synthesis, and applications.
- [5]. Wu, W., Xiao, X., Zhang, S., Zhou, J., Fan, L., Ren, F., & Jiang, C. (2010). Large-scale and controlled synthesis of iron oxide magnetic short nanotubes: shape evolution, growth mechanism, and magnetic properties. *The Journal of Physical Chemistry C*, 114(39), 16092-16103.
- [6]. Murad, E. (1990). Application of ⁵⁷Fe Mössbauer spectroscopy to problems in clay mineralogy and soil science: possibilities and limitations. *In Advances in Soil Science* 12 (pp. 125-157).
- [7]. Jiles, D. (2015). Introduction to magnetism and magnetic materials. *CRC press*.
- [8]. Mattis, D. C. (2012). The theory of magnetism I: Statics and Dynamics (Vol. 17). *Springer Science & Business Media*.
- [9]. Wu, W., Jiang, C. Z., & Roy, V. A. (2016). Designed synthesis and surface engineering strategies of magnetic iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Nanoscale*, 8(47), 19421-19474.
- [10]. Boxall, C., Kelsall, G., & Zhang, Z. (1996). Photoelectrophoresis of colloidal iron oxides. Part 2.—Magnetite (Fe₃O₄). *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions*, 92(5), 791-802.
- [11]. Zhang, Z., Boxall, C., & Kelsall, G. H. (1993). Photoelectrophoresis of colloidal iron oxides 1. Hematite (α -Fe₂O₃). *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 73, 145-163.
- [12]. Yamaura, M., Camilo, R. L., Sampaio, L. C., Macedo, M. A., Nakamura, M., & Toma, H. E. (2004). Preparation and characterization of (3-aminopropyl) triethoxysilane-coated magnetite nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 279(2), 210-217.
- [13]. Levy, M., Quarta, A., Espinosa, A., Figuerola, A., Wilhelm, C., García-Hernández, M., ... & Cozzoli, P. D. (2011). Correlating magneto-structural properties to hyperthermia performance of highly monodisperse iron oxide nanoparticles prepared by a seeded-growth route. *Chemistry of Materials*, 23(18), 4170-4180.

- [14]. Guardia, P., Labarta, A., & Batlle, X. (2010). Tuning the size, the shape, and the magnetic properties of iron oxide nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry C*, 115(2), 390-396.
- [15]. Wu, W., Xiao, X. H., Ren, F., Zhang, S. F., & Jiang, C. Z. (2012). A comparative study of the magnetic behavior of single and tubular clustered magnetite nanoparticles. *Journal of Low Temperature Physics*, 168(5-6), 306-313.
- [16]. Sun, S., & Zeng, H. (2002). Size-controlled synthesis of magnetite nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society*, 124(28), 8204-8205.
- [17]. Dronskowski, R. (2001). The little maghemite story: A classic functional material. *Advanced Functional Materials*, 11(1), 27-29.
- [18]. Dar, M. I., & Shivashankar, S. A. (2014). Single crystalline magnetite, maghemite, and hematite nanoparticles with rich coercivity. *RSC Advances*, 4(8), 4105-4113.
- [19]. Klotz, S., Steinle-Neumann, G., Strässle, T., Philippe, J., Hansen, T., & Wenzel, M. J. (2008). Magnetism and the Verwey transition in Fe_3O_4 under pressure. *Physical Review B*, 77(1), 012411.
- [20]. Zboril, R., Mashlan, M., & Petridis, D. (2002). Iron (III) oxides from thermal processes synthesis, structural and magnetic properties, Mössbauer spectroscopy characterization, and applications. *Chemistry of Materials*, 14(3), 969-982.
- [21]. Kittel, C. (2005). *Introduction to solid state physics*. Wiley.
- [22]. Waychunas, G. A. (1991). Crystal chemistry of oxides and oxyhydroxides. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 25(1), 11-68.
- [23]. Laurent, S., Forge, D., Port, M., Roch, A., Robic, C., Vander Elst, L., & Muller, R. N. (2008). Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. *Chemical reviews*, 108(6), 2064-2110.
- [24]. Lee, H., Yu, M. K., Park, S., Moon, S., Min, J. J., Jeong, Y. Y., ... & Jon, S. (2007). Thermally cross-linked superparamagnetic iron oxide nanoparticles: synthesis and application as a dual imaging probe for cancer in vivo. *Journal of the American Chemical Society*, 129(42), 12739-12745.
- [25]. Massart, R. (1981). Preparation of aqueous magnetic liquids in alkaline and acidic media. *IEEE transactions on magnetics*, 17(2), 1247-1248.
- [26]. Wu, S., Sun, A., Zhai, F., Wang, J., Xu, W., Zhang, Q., & Volinsky, A. A. (2011). Fe_3O_4 magnetic nanoparticles synthesis from tailings by ultrasonic chemical co-precipitation. *Materials Letters*, 65(12), 1882-1884.
- [27]. Ahn, T., Kim, J. H., Yang, H. M., Lee, J. W., & Kim, J. D. (2012). Formation pathways of magnetite nanoparticles by coprecipitation method. *The Journal of Physical Chemistry C*, 116(10), 6069-6076.

- [28]. Salavati-Niasari, M., Mahmoudi, T., & Amiri, O. (2012). Easy synthesis of magnetite nanocrystals via coprecipitation method. *Journal of cluster science*, 23(2), 597-602.
- [29]. Amara, D., & Margel, S. (2011). Solventless thermal decomposition of ferrocene as a new approach for the synthesis of porous superparamagnetic and ferromagnetic composite microspheres of narrow size distribution. *Journal of Materials Chemistry*, 21(39), 15764-15772.
- [30]. Jensen, K. M., Andersen, H. L., Tyrsted, C., Bøjesen, E. D., Dippel, A. C., Lock, N., ... & Christensen, M. (2014). Mechanisms for iron oxide formation under hydrothermal conditions: an in situ total scattering study. *ACS nano*, 8(10), 10704-10714.
- [31]. Luna, C., Barriga-Castro, E. D., & Mendoza-Reséndez, R. (2014). The effects of aging time on the size, morphology, oriented attachment and magnetic behavior of hematite nanocrystals synthesized by forced hydrolysis of Fe III solutions. *Acta Materialia*, 66, 405-413.
- [32]. Li, H., Lu, Z., Li, Q., So, M. H., Che, C. M., & Chen, R. (2011). Hydrothermal Synthesis and Properties of Controlled α -Fe₂O₃ Nanostructures in HEPES Solution. *Chemistry–An Asian Journal*, 6(9), 2320-2331..
- [33]. Lv, B., Liu, Z., Tian, H., Xu, Y., Wu, D., & Sun, Y. (2010). Single-Crystalline Dodecahedral and Octodecahedral α -Fe₂O₃ Particles Synthesized by a Fluoride Anion–Assisted Hydrothermal Method. *Advanced Functional Materials*, 20(22), 3987-3996.
- [34]. Geng, B., Tao, B., Li, X., & Wei, W. (2012). Ni²⁺/surfactant-assisted route to porous α -Fe₂O₃ nanoarchitectures. *Nanoscale*, 4(5), 1671-1676.
- [35]. Lv, B., Xu, Y., Wu, D., & Sun, Y. (2011). Morphology evolution of α -Fe₂O₃ nanoparticles: the effect of dihydrogen phosphate anions. *CrystEngComm*, 13(24), 7293-7298.
- [36]. Wongwailikhit, K., & Horwongsakul, S. (2011). The preparation of iron (III) oxide nanoparticles using W/O microemulsion. *Materials Letters*, 65(17), 2820-2822.
- [37]. Ladj, R., Bitar, A., Eissa, M., Mugnier, Y., Le Dantec, R., Fessi, H., & Elaissari, A. (2013). Individual inorganic nanoparticles: preparation, functionalization and in vitro biomedical diagnostic applications. *Journal of Materials Chemistry B*, 1(10), 1381-1396.
- [38]. Boutonnet, M., Lögdberg, S., & Svensson, E. E. (2008). Recent developments in the application of nanoparticles prepared from w/o microemulsions in heterogeneous catalysis. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 13(4), 270-286.
- [39]. Hao, J. J., Chen, H. L., Ren, C. L., Yan, N., Geng, H. J., & Chen, X. G. (2010). Synthesis of superparamagnetic Fe₃O₄ nanocrystals in reverse microemulsion at room temperature. *Materials Research Innovations*, 14(4), 324-326.
- [40]. Zhang, G., Liao, Y., & Baker, I. (2010). Surface engineering of core/shell iron/iron oxide nanoparticles from microemulsions for hyperthermia. *Materials Science and Engineering: C*, 30(1), 92-97.

- [41]. Asuha, S., Zhao, S., Wu, H. Y., Song, L., & Tegus, O. (2009). One step synthesis of maghemite nanoparticles by direct thermal decomposition of Fe–urea complex and their properties. *Journal of Alloys and Compounds*, 472(1), L23-L25..
- [42]. Chang, M. C., & Kang, H. Y. (2009). Remediation of pyrene-contaminated soil by synthesized nanoscale zero-valent iron particles. *Journal of Environmental Science and Health Part A*, 44(6), 576-582.
- [43]. Li, L., Fan, M., Brown, R. C., Van Leeuwen, J., Wang, J., Wang, W., ... & Zhang, P. (2006). Synthesis, properties, and environmental applications of nanoscale iron-based materials: a review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 36(5), 405-431.
- [44]. Li, X. Q., Elliott, D. W., & Zhang, W. X. (2006). Zero-valent iron nanoparticles for abatement of environmental pollutants: materials and engineering aspects. *Critical reviews in solid state and materials sciences*, 31(4), 111-122.
- [45]. Fang, Z., Qiu, X., Huang, R., Qiu, X., & Li, M. (2011). Removal of chromium in electroplating wastewater by nanoscale zero-valent metal with synergistic effect of reduction and immobilization. *Desalination*, 280(1), 224-231.
- [46]. Zhang, W. X. (2003). Nanoscale iron particles for environmental remediation: an overview. *Journal of nanoparticle Research*, 5(3), 323-332.
- [47]. Scott, T. B., Popescu, I. C., Crane, R. A., & Noubactep, C. (2011). Nano-scale metallic iron for the treatment of solutions containing multiple inorganic contaminants. *Journal of hazardous materials*, 186(1), 280-287.
- [48]. Wanna, Y., Chindaduang, A., Tumcharern, G., Phromyothin, D., Porntheerapat, S., Nukeaw, J., ... & Pratontep, S. (2016). Efficiency of SPIONs functionalized with polyethylene glycol bis (amine) for heavy metal removal. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 414, 32-37.
- [49]. Li, H., Li, Z., Liu, T., Xiao, X., Peng, Z., & Deng, L. (2008). A novel technology for biosorption and recovery hexavalent chromium in wastewater by bio-functional magnetic beads. *Bioresource technology*, 99(14), 6271-6279.
- [50]. Shen, Y. F., Tang, J., Nie, Z. H., Wang, Y. D., Ren, Y., & Zuo, L. (2009). Tailoring size and structural distortion of Fe₃O₄ nanoparticles for the purification of contaminated water. *Bioresource technology*, 100(18), 4139-4146.
- [51]. Badruddoza, A. Z. M., Tay, A. S. H., Tan, P. Y., Hidajat, K., & Uddin, M. S. (2011). Carboxymethyl-β-cyclodextrin conjugated magnetic nanoparticles as nano-adsorbents for removal of copper ions: synthesis and adsorption studies. *Journal of hazardous materials*, 185(2), 1177-1186.
- [52]. Lakshmanan, R., Okoli, C., Boutonnet, M., Järås, S., & Rajarao, G. K. (2013). Effect of magnetic iron oxide nanoparticles in surface water treatment: Trace minerals and microbes. *Bioresource technology*, 129, 612-615.

- [53]. Piao, Y., Kim, J., Na, H. B., Kim, D., Baek, J. S., Ko, M. K., ... & Hyeon, T. (2008). Wrap–bake–peel process for nanostructural transformation from β -FeOOH nanorods to biocompatible iron oxide nanocapsules. *Nature materials*, 7(3), 242-247.
- [54]. Liu, C., Wu, X., Klemmer, T., Shukla, N., Weller, D., Roy, A. G., ... & Laughlin, D. (2005). Reduction of sintering during annealing of FePt nanoparticles coated with iron oxide. *Chemistry of materials*, 17(3), 620-625.
- [55]. Park, J. I., & Cheon, J. (2001). Synthesis of “solid solution” and “core-shell” type cobalt–platinum magnetic nanoparticles via transmetalation reactions. *Journal of the American Chemical Society*, 123(24), 5743-5746.
- [56]. Lu, A. H., Salabas, E. E., & Schüth, F. (2007). Magnetic nanoparticles: synthesis, protection, functionalization, and application. *Angewandte Chemie International Edition*, 46(8), 1222-1244.
- [57]. Mikhaylova, M., Kim, D. K., Bobrysheva, N., Osmolowsky, M., Semenov, V., Tsakalakos, T., & Muhammed, M. (2004). Superparamagnetism of magnetite nanoparticles: dependence on surface modification. *Langmuir*, 20(6), 2472-2477.
- [58]. Kim, J., Park, S., Lee, J. E., Jin, S. M., Lee, J. H., Lee, I. S., ... & Hyeon, T. (2006). Designed fabrication of multifunctional magnetic gold nanoshells and their application to magnetic resonance imaging and photothermal therapy. *Angewandte Chemie*, 118(46), 7918-7922.
- [59]. Wang, L., Bai, J., Li, Y., & Huang, Y. (2008). Multifunctional nanoparticles displaying magnetization and near-IR absorption. *Angewandte Chemie International Edition*, 47(13), 2439-2442.
- [60]. Green, M. (2005). Organometallic based strategies for metal nanocrystal synthesis. *Chemical communications*, (24), 3002-3011.
- [61]. Jeong, U., Teng, X., Wang, Y., Yang, H., & Xia, Y. (2007). Superparamagnetic colloids: controlled synthesis and niche applications. *Advanced Materials*, 19(1), 33-60.
- [62]. Hyeon, T. (2003). Chemical synthesis of magnetic nanoparticles. *Chemical Communications*, (8), 927-934.
- [63]. Wu, W., Xiao, X., Zhang, S., Zhou, J., Fan, L., Ren, F., & Jiang, C. (2010). Large-scale and controlled synthesis of iron oxide magnetic short nanotubes: shape evolution, growth mechanism, and magnetic properties. *The Journal of Physical Chemistry C*, 114(39), 16092-16103.
- [64]. Gupta, A. K., Naregalkar, R. R., Vaidya, V. D., & Gupta, M. (2007). Recent advances on surface engineering of magnetic iron oxide nanoparticles and their biomedical applications..
- [65]. Wu, X., Liu, H., Liu, J., Haley, K. N., Treadway, J. A., Larson, J. P., ... & Bruchez, M. P. (2003). Immunofluorescent labeling of cancer marker Her2 and other cellular targets with semiconductor quantum dots. *Nature biotechnology*, 21(1), 41-46.

- [66]. Mangaiyarkarasi, R., Chinnathambi, S., Karthikeyan, S., Aruna, P., & Ganesan, S. (2016). Paclitaxel conjugated $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{LaF}_3: \text{Ce}^{3+}, \text{Tb}^{3+}$ nanoparticles as bifunctional targeting carriers for Cancer theranostics application. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 399, 207-215.
- [67]. An, J., Zhang, X., Guo, Q., Zhao, Y., Wu, Z., & Li, C. (2015). Glycopolymer modified magnetic mesoporous silica nanoparticles for MR imaging and targeted drug delivery. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 482, 98-108.
- [68]. Anirudhan, T. S., Divya, P. L., & Nima, J. (2015). Synthesis and characterization of silane coated magnetic nanoparticles/glycidylmethacrylate-grafted-maleated cyclodextrin composite hydrogel as a drug carrier for the controlled delivery of 5-fluorouracil. *Materials Science and Engineering: C*, 55, 471-481.
- [69]. Elbially, N. S., Fathy, M. M., & Khalil, W. M. (2015). Doxorubicin loaded magnetic gold nanoparticles for in vivo targeted drug delivery. *International journal of pharmaceutics*, 490(1), 190-199.
- [70]. Nazli, C., Demirer, G. S., Yar, Y., Acar, H. Y., & Kizilel, S. (2014). Targeted delivery of doxorubicin into tumor cells via MMP-sensitive PEG hydrogel-coated magnetic iron oxide nanoparticles (MIONPs). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 122, 674-683.
- [71]. Li, G., Cao, L., Zhou, Z., Chen, Z., Huang, Y., & Zhao, Y. (2015). Rapamycin loaded magnetic $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{carboxymethylchitosan}$ nanoparticles as tumor-targeted drug delivery system: Synthesis and in vitro characterization. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 128, 379-388.
- [72]. Chen, Z., Zhang, L., Song, Y., He, J., Wu, L., Zhao, C., ... & Li, W. (2015). Hierarchical targeted hepatocyte mitochondrial multifunctional chitosan nanoparticles for anticancer drug delivery. *Biomaterials*, 52, 240-250.
- [73]. Vestal, C. R., & Zhang, Z. J. (2003). Synthesis and magnetic characterization of Mn and Co spinel ferrite-silica nanoparticles with tunable magnetic core. *Nano Letters*, 3(12), 1739-1743.
- [74]. Yi, D. K., Selvan, S. T., Lee, S. S., Papaefthymiou, G. C., Kundaliya, D., & Ying, J. Y. (2005). Silica-coated nanocomposites of magnetic nanoparticles and quantum dots. *J. Am. Chem. Soc*, 127(14), 4990-4991.
- [75]. Yi, D. K., Lee, S. S., Papaefthymiou, G. C., & Ying, J. Y. (2006). Nanoparticle architectures templated by $\text{SiO}_2/\text{Fe}_2\text{O}_3$ nanocomposites. *Chemistry of Materials*, 18(3), 614-619.
- [76]. Kim, J., Lee, J. E., Lee, J., Yu, J. H., Kim, B. C., An, K., ... & Hyeon, T. (2006). Magnetic fluorescent delivery vehicle using uniform mesoporous silica spheres embedded with monodisperse magnetic and semiconductor nanocrystals. *Journal of the American Chemical Society*, 128(3), 688-689.
- [77]. Lee, J., Lee, Y., Youn, J. K., Na, H. B., Yu, T., Kim, H., ... & Chang, H. N. (2008). Simple synthesis of functionalized superparamagnetic magnetite/silica core/shell nanoparticles

- and their application as magnetically separable high-performance biocatalysts. *Small*, 4(1), 143-152.
- [78]. Yoon, T. J., Yu, K. N., Kim, E., Kim, J. S., Kim, B. G., Yun, S. H., ... & Park, S. B. (2006). Specific targeting, cell sorting, and bioimaging with smart magnetic silica core-shell nanomaterials. *Small*, 2(2), 209-215.
- [79]. Olsvik, O., Popovic, T., Skjerve, E., Cudjoe, K. S., Hornes, E., Ugelstad, J., & Uhlen, M. (1994). Magnetic separation techniques in diagnostic microbiology. *Clinical microbiology reviews*, 7(1), 43-54.
- [80]. Šafařík, I., & Šafaříková, M. (1999). Use of magnetic techniques for the isolation of cells. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 722(1), 33-53.
- [81]. Franzreb, M., Siemann-Herzberg, M., Hobley, T. J., & Thomas, O. R. (2006). Protein purification using magnetic adsorbent particles. *Applied microbiology and biotechnology*, 70(5), 505-516.
- [82]. Wilcockson, J. (1973). The use of sodium perchlorate in deproteinization during the preparation of nucleic acids. *Biochemical Journal*, 135(3), 559-561.
- [83]. Bowtell, D. D. (1987). Rapid isolation of eukaryotic DNA. *Analytical biochemistry*, 162(2), 463-465.
- [84]. Davies, M. J., Taylor, J. I., Sachsinger, N., & Bruce, I. J. (1998). Isolation of plasmid DNA using magnetite as a solid-phase adsorbent. *Analytical biochemistry*, 262(1), 92-94.
- [85]. Hawkins, T. L., O'Connor-Morin, T., Roy, A., & Santillan, C. (1994). DNA purification and isolation using a solid-phase. *Nucleic acids research*, 22(21), 4543.
- [86]. Yoza, B., Matsumoto, M., & Matsunaga, T. (2002). DNA extraction using modified bacterial magnetic particles in the presence of amino silane compound. *Journal of biotechnology*, 94(3), 217-224.
- [87]. Yoza, B., Arakaki, A., & Matsunaga, T. (2003). DNA extraction using bacterial magnetic particles modified with hyperbranched polyamidoamine dendrimer. *Journal of biotechnology*, 101(3), 219-228.
- [88]. Pročelálová, J., Rittich, B., Španová, A., Petrová, K., & Beneš, M. J. (2004). Isolation of genomic DNA using magnetic cobalt ferrite and silica particles. *Journal of Chromatography A*, 1056(1), 43-48.
- [89]. Bruce, I. J., Taylor, J., Todd, M., Davies, M. J., Borioni, E., Sangregorio, C., & Sen, T. (2004). Synthesis, characterisation and application of silica-magnetite nanocomposites. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 284, 145-160.
- [90]. Tan, W., Wang, K., He, X., Zhao, X. J., Drake, T., Wang, L., & Bagwe, R. P. (2004). Bionanotechnology based on silica nanoparticles. *Medicinal research reviews*, 24(5), 621-638.

- [91]. Bruce, I. J., & Sen, T. (2005). Surface modification of magnetic nanoparticles with alkoxysilanes and their application in magnetic bioseparations. *Langmuir*, 21(15), 7029-7035.
- [92]. Chiang, C. L., Sung, C. S., Wu, T. F., Chen, C. Y., & Hsu, C. Y. (2005). Application of superparamagnetic nanoparticles in purification of plasmid DNA from bacterial cells. *Journal of Chromatography B*, 822(1), 54-60.
- [93]. Veyret, R., Delair, T., Pichot, C., & Elaissari, A. (2005). Amino-containing magnetic nanoemulsions: elaboration and nucleic acid extraction. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 295(2), 155-163.
- [94]. Elaissari, A., Ganachaud, F., & Pichot, C. (2003). Biorelevant latexes and microgels for the interaction with nucleic acids. *Colloid Chemistry II*, 169-193.
- [95]. Levison, P. R., Badger, S. E., Dennis, J., Hathi, P., Davies, M. J., Bruce, I. J., & Schimkat, D. (1998). Recent developments of magnetic beads for use in nucleic acid purification. *Journal of Chromatography A*, 816(1), 107-111.
- [96]. Pročelalová, J., Rittich, B., Španová, A., Petrová, K., & Beneš, M. J. (2004). Isolation of genomic DNA using magnetic cobalt ferrite and silica particles. *Journal of Chromatography A*, 1056(1), 43-48.
- [97]. Ugelstad, J., Berge, A., Ellingsen, T., Schmid, R., Nilsen, T. N., Mørk, P. C., ... & Olsvik, Ø. (1992). Preparation and application of new monosized polymer particles. *Progress in Polymer Science*, 17(1), 87-161.
- [98]. Elaissari, A., Rodrigue, M., Meunier, F., & Herve, C. (2001). Hydrophilic magnetic latex for nucleic acid extraction, purification and concentration. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 225(1), 127-133.
- [99]. Oster, J., Parker, J., & à Brassard, L. (2001). Polyvinyl-alcohol-based magnetic beads for rapid and efficient separation of specific or unspecific nucleic acid sequences. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 225(1), 145-150.
- [100]. Ugelstad, J., Mørk, P. C., Schmid, R., Ellingsen, T., & Berge, A. (1993). Preparation and biochemical and biomedical applications of new monosized polymer particles. *Polymer international*, 30(2), 157-168.
- [101]. Alderton, R. P., Eccleston, L. M., Howe, R. P., Read, C. A., Reeve, M. A., & Beck, S. (1992). Magnetic bead purification of M13 DNA sequencing templates. *Analytical biochemistry*, 201(1), 166-169.
- [102]. Berensmeier, S. (2006). Magnetic particles for the separation and purification of nucleic acids. *Applied microbiology and biotechnology*, 73(3), 495-504.
- [103]. Yang, K., Peng, H., Wen, Y., & Li, N. (2010). Re-examination of characteristic FTIR spectrum of secondary layer in bilayer oleic acid-coated Fe₃O₄ nanoparticles. *Applied surface science*, 256(10), 3093-3097.

- [104]. Socrates, G. (2001). *Infrared and Raman characteristic frequencies*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester.
- [105]. Rahman, M. M., & Elaissari, A. (2011). Temperature and magnetic dual responsive microparticles for DNA separation. *Separation and purification technology*, 81(3), 286-294.
- [106]. Perçin, I., Karakoç, V., Akgöl, S., Aksöz, E., & Denizli, A. (2012). Poly (hydroxyethyl methacrylate) based magnetic nanoparticles for plasmid DNA purification from *Escherichia coli* lysate. *Materials Science and Engineering: C*, 32(5), 1133-1140.
- [107]. Hou, Y., Han, X., Chen, J., Li, Z., Chen, X., & Gai, L. (2013). Isolation of PCR-ready genomic DNA from *Aspergillus niger* cells with Fe₃O₄/SiO₂ microspheres. *Separation and Purification Technology*, 116, 101-106.
- [108]. Jiang, H., Han, X., Li, Z., Chen, X., Hou, Y., Gai, L., ... & Fu, T. (2012). Superparamagnetic core-shell structured microspheres carrying carboxyl groups as adsorbents for purification of genomic DNA. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 401, 74-80.
- [109]. Kaşgöz, H., Özgümüş, S., & Orbay, M. (2003). Modified polyacrylamide hydrogels and their application in removal of heavy metal ions. *Polymer*, 44(6), 1785-1793.
- [110]. Maity, D., & Agrawal, D. C. (2007). Synthesis of iron oxide nanoparticles under oxidizing environment and their stabilization in aqueous and non-aqueous media. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 308(1), 46-55.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Eren YILDIRIM
Doğum Yeri	İstanbul
Doğum Tarihi	11.07.1989
Uyruğu	☒ T.C. ☐ Diğer:
Telefon	05413680599
E-Posta Adresi	aramiseren@gmail.com
Web Adresi	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Selçuk Üniversitesi
Fakülte	Mühendislik Fakültesi
Bölümü	Kimya Mühendisliği
Mezuniyet Yılı	07.06.2013

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Kimya Mühendisliği
Programı	Kimyasal Teknolojiler
Mezuniyet Tarihi	10.11.2017