



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

METAL-ORGANİK KAFESLERDE FARKLI
KÖKENLERDEN LİPAZLARIN
MEKANOKİMYASAL YÖNTEMLE
ENKAPSÜLASYONU, STABİLİTE VE
ENANTİOSEÇİMLİLİĞİNİN İNCELENMESİ

Özge ÇAĞLAR
DOKTORA TEZİ
Kimya Anabilim Dalı

Temmuz-2024
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Özge ÇAĞLAR tarafından hazırlanan “Metal-Organik Kafeslerde Farklı Kökenlerden Lipazların Mekanokimyasal Yöntemle Enkapsülasyonu, Stabilité ve Enantioseçimliliğinin İncelenmesi” adlı tez çalışması ../.../...tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof. Dr. Erol PEHLİVAN

.....

Danışman

Prof. Dr. Elif ÖZYILMAZ

.....

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Egemen FOTO

.....

Üye

Doç. Dr. Arzu UYANIK

.....

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Pembegül UYAR ARPACI

.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Ömer Faruk YÜKSEL
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından 123Z127 nolu 1002-B Acil Destek Projesi ve Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi tarafından 21211010 numaralı doktora tez projesi, TÜBİTAK Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı kapsamında yürütülen 2211/C Öncelikli Alanlara Yönelik Yurt İçi Öncelikli Alanlar Doktora Burs Programı ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Özge ÇAĞLAR

Tarih:

ÖZET

DOKTORA TEZİ

METAL-ORGANİK KAFESLERDE FARKLI KÖKENLERDEN LİPAZLARIN MEKANOKİMYASAL YÖNTEMLE ENKAPSÜLASYONU, STABİLİTE VE ENANTİOSEÇİMLİLİĞİNİN İNCELENMESİ

Özge ÇAĞLAR

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Elif ÖZYILMAZ

2024, 224 Sayfa

Jüri

Danışmanın Prof. Dr. Elif ÖZYILMAZ

Prof. Dr. Erol PEHLİVAN

Doç. Dr. Arzu UYANIK

Dr. Öğr. Üyesi Egemen FOTO

Dr. Öğr. Üyesi Pembegül UYAR ARPACI

Metal organik kafesler (MOF'lar), eşsiz özellikleri ile son yılların önemli araştırma konuları arasında yer alan, metal iyonu/metal kümesi veya organik ligandların koordinasyon etkileşimi ile oluşan, istenilen özelliklerle ve boyutta tasarlanabilen, gözenekli, hibrit yapıları malzemelerdir. Lipazlar biyoteknoloji ve endüstride en sık rastlanılan, geniş uygulama alanlarına sahip önemli bir enzimdir. Sık kullanılan enzimler arasında yer alsalar da lipazlar, zorlu koşullar altında konformasyonel yapılarını koruyamamaktadırlar. Bu durumun önlenmesi için immobilizasyon gibi tekniklerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. MOF'lar eşsiz özellikleri ile enzim immobilizasyonu teknikleri için ideal destek materyali olarak düşünülmektedir. Mekanokimyasal yöntem de MOF sentez yöntemlerinden birisidir. Modern, ekonomik, olağanüstü reaktivitesi ve seçicilikleri ile etkili, çevre dostu ve solvent içermeyen bir yöntemdir. Bu çalışmada, mekanokimyasal yöntem kullanılarak, immobilizasyon için yeni bir yöntemin geliştirilmesi amaçlanmıştır.

2 çinko bazlı (ZIF-8, Zn-MOF-74), 1 zirkonyum bazlı (UiO-66-NH₂) ve 1 bakır bazlı (Cu-MOF) olmak üzere toplam 4 farklı MOF sentezlenmesi ve sentezlenen MOF'ların farklı orjinli 2 farklı lipaz türünün (*Candida rugosa* lipaz (CRL) ve *Porcine pankreatik* lipazın (PPL)) immobilizasyonunda kullanılması amaçlandı. İmmobilize enzimlerin (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}, ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}, ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek} ve Cu-MOF@PPL_{mek}) immobilizasyon parametreleri, immobilize ve serbest enzimlerin (CRL, PPL) enzim kinetikleri, enzim immobilizasyonunda yüzey aktif maddelerin aktiviteye etkisi incelendi. Ayrıca immobilize enzimlerin (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}, ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}, ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek} ve Cu-MOF@PPL_{mek}) rasemik naproksen metil esterinin enantioseçimli hidroliz reaksiyonunda kullanılması amaçlandı.

Candida rugosa lipazın (CRL) pH:7'de maksimum aktiviteye sahip olduğu bulundu. İmmobilize enzimlerin (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek} ve Cu-MOF@CRL_{mek}'in) sonuçları incelendiğinde, pH stabilitelelerinin daha geniş aralıkta kararlılık gösterdiği belirlendi. Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek} ve Cu-MOF@CRL_{mek}'in pH:6'da, ZIF-8@CRL_{mek}'in ise pH 8.5'de maksimum aktiviteye sahip olduğu belirlendi.

Candida rugosa lipazın (CRL) optimum sıcaklık değeri 35°C maksimum aktiviteye sahip olduğu belirlendi. İmmobilize enzimlerin ise sırasıyla, Zn-MOF-74@CRL_{mek}'in 45°C, ZIF-8@CRL_{mek} ve UiO-66-NH₂@CRL_{mek}'nin 40 °C ve Cu-MOF@CRL_{mek}'in ise 30 °C'de maksimum aktiviteye sahip olduğu belirlendi. Rasemik naproksen metil esterinin enantioseçimli hidroliz reaksiyonu sonuçlarında en iyi dönüşüm (x=48) UiO-66-NH₂@CRL_{mek}'te bulundu.

İmmobilize lipazlar (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek} ve UiO-66-NH₂@PPL_{mek}) pH 8'de, Cu-MOF@PPL_{mek}'in pH 6'da, PPL'nin ise pH:5'te maksimum aktiviteye sahip olduğu belirlendi. İmmobilize lipazlar (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}) ve PPL'nin termal stabiliteleri incelendi. 120 dakika 60 °C'de inkübasyon sonucu en yüksek aktivite UiO-66-NH₂@PPL_{mek}'de belirlendi. İmmobilize lipazların (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}) depolama stabiliteleri incelendi. En iyi depolama kararlılığı, Zn-MOF-74@PPL_{mek}'te bulundu. Rasemik naproksen metil esterinin enantioseçimli hidroliz reaksiyonu sonuçlarında en iyi dönüşüm (x=46.5) Cu-MOF@PPL_{mek}'te bulundu.

İmmobilize lipazlar (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}) ve serbest PPL'nin de enzim kinetiği incelendi. UiO-66-NH₂@PPL_{mek} ve Zn-MOF-74@PPL_{mek}'in daha iyi afiniteye sahip olduğu belirlendi. Cu-MOF@CRL_{mek} ve ZIF-8@PPL_{mek}'in birbirine daha yakın afiniteye sahip olduğu görüldü. Yüzey aktif madde etkisini incelemek için SDS, p-sülfokaliks[4]aren ve L-prolinin enzim aktivitesindeki etkisi incelendi.

Anahtar Kelimeler: *Candida rugosa* lipaz, enzim immobilizasyonu, naproksen, mekanokimyasal reaksiyon, metal organik kafes, *Porcine pankreatik* lipaz

ABSTRACT

Ph.D THESIS

ENCAPSULATION, STABILITY AND ENANTIOSELECTIVITY OF LIPASES FROM DIFFERENT ORIGINS IN METAL-ORGANIC FRAMEWORKS BY MECHANOCHEMICAL METHOD

Özge ÇAĞLAR

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
SELÇUK UNIVERSITY
DOCTOR OF SCIENCE IN CHEMISTRY

Advisor: Prof. Dr. Elif ÖZYILMAZ

2024, 224 Pages

Jury

Advisor: Prof. Dr. Elif ÖZYILMAZ

Prof. Dr. Erol PEHLİVAN

Assoc. Dr. Arzu UYANIK

Assist. Prof. Egemen FOTO

Assist. Prof. Pembegül UYAR ARPACI

Metal organic frameworks (MOFs) are porous, hybrid structured materials that are formed by the coordination interaction of metal ions/metal clusters or organic ligands and can be designed with desired properties and sizes, and are among the important research topics of recent years with their unique properties. Lipases are the most common and important enzymes in biotechnology and industry with a wide range of applications. Although they are among the most frequently used enzymes, lipases are unable to maintain their conformational structure under harsh conditions. In order to prevent this situation, techniques such as immobilization need to be developed. MOFs are considered as ideal support materials for enzyme immobilization techniques with their unique properties. Mechanochemical method is one of the MOF synthesis methods. It is a modern, economical, efficient, environmentally friendly and solvent-free method with outstanding reactivity and selectivity.

In this study, we aimed to develop a new method for immobilization using mechanochemical method. We aimed to synthesize a total of 4 different MOFs, 2 zinc-based (ZIF-8, Zn-MOF-74), 1 zirconium-based (UiO-66-NH₂) and 1 copper-based (Cu-MOF) and to use the synthesized MOFs in the immobilization of 2 different lipase species of different origin (*Candida rugosa* lipase (CRL) and Porcine pancreatic lipase (PPL)).

The immobilized enzymes (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}, ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}, ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek} and Cu-MOF@PPL_{mek}) immobilization parameters, enzyme kinetics of immobilized and free enzymes (CRL, PPL), and the effect of surfactants on activity in enzyme immobilization were investigated.

In addition, immobilized enzymes (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}, ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}, ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek} and Cu-MOF@PPL_{mek}) in the enantioselective hydrolysis reaction of racemic naproxen methyl ester.

Candida rugosa lipase (CRL) was found to have maximum activity at pH:7. When the results of the immobilized enzymes (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek} and Cu-MOF@CRL_{mek}) were examined, it was determined that their pH stability showed stability in a wider range. Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek} and Cu-MOF@CRL_{mek} were found to have maximum activity at pH:6 and ZIF-8@CRL_{mek} at pH 8.5.

Candida rugosa lipase (CRL) was found to have a maximum activity at an optimum temperature of 35°C. The immobilized enzymes were found to have maximum activity at 45°C, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, ZIF-8@CRL_{mek} and UiO-66-NH₂@PPL_{mek} at 40°C and Cu-MOF@CRL_{mek} at 30°C, respectively. In the results of the enantioselective hydrolysis reaction of racemic naproxen methyl ester, the best conversion ($x=48$) was found in UiO-66-NH₂@CRL_{mek}.

The immobilized lipases (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek} and UiO-66-NH₂@PPL_{mek}) had maximum activity at pH 8, Cu-MOF@PPL_{mek} at pH 6 and PPL at pH 5. Thermal stability of immobilized lipases (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}) and PPL were investigated. After incubation at 60 °C for 120 min, the highest activity was determined in UiO-66-NH₂@PPL_{mek}. The storage stability of immobilized lipases (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}) was investigated. The best storage stability was found in Zn-MOF-74@PPL_{mek}. In the results of enantioselective hydrolysis reaction of racemic naproxen methyl ester, the best conversion ($x=46.5$) was found in Cu-MOF@PPL_{mek}.

The enzyme kinetics of immobilized lipases (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}) and free PPL were also examined. UiO-66-NH₂@PPL_{mek} and Zn-MOF-74@PPL_{mek} were found to have better affinity. Cu-MOF@CRL_{mek} and ZIF-8@PPL_{mek} were found to have closer affinity to each other. To investigate the surfactant effect, the effect of SDS, *p*-sulfocalix[4]arene and L-proline on enzyme activity was examined.

Keywords: *Candida rugosa* lipase, enzyme immobilization, naproxen, mechanochemical reaction, metal organic framework, *Porcine pancreatic* lipase.

ÖNSÖZ

Kimya ve Biyokimya Anabilim Dalında yoğun bir akademik sürecin sonuna gelirken, doktora eğitimim boyunca desteğini esirgemeyen, tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Elif ÖZYILMAZ' a çok teşekkür ederim. Doktora eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini bizlere aktararak iyi bir akademisyen olabilmem için yol gösteren Kıymetli Hocam Prof. Dr. Mustafa YILMAZ'a çok teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince desteklerini esirgemeyen, Kıymetli Hocalarım Prof. Dr. Mustafa YILMAZ, Prof. Dr. Necmiye CANACANKATAN, Prof. Dr. Esra MALTAŞ ÇAĞIL, Doç. Dr. Serkan SAYIN, Doç. Dr. Arzu UYANIK, Doç. Dr. Enes AKYÜZ, Doç. Dr. Mustafa ÜNAL, Dr. Öğr. Gör. Pembegül UYAR ARPACI, Dr. Öğr. Gör. Efsun ANTMEN'e her daim motivasyonum için destek olan Dr. Selda ÇALIŞKAN, Uzm. Bio. Kübra KARGILI, Nezahat GÜLTEKİN, Ümmü SEZEN, Özlem PEKGÜZELSU, Vet. Serhat AYAN, Ecz. N. Miraç ÜNLÜKAPLAN, Dr. Öğr. Gör. Şeyma YİĞİT UZUNALI, Arş. Gör. Dr. Alper UZUNALI, Dr. Öğr. Üyesi Esra Kaya, Dr. Öğr. Üyesi Gizem YILDIZ, Arş. Gör. Mustafa Barış KOÇER ve Gıda Yüksek Mühendisi Büşra Deniz DUMAN'a her daim yanımda olduklarını hissettirdikleri için, Lab. arkadaşım Yüksek lisans öğrencisi Mukaddes SAKLAN'a tüm destekleri için çok teşekkür ederim.

Sunmakta olduğum tez çalışmamı 21211010 nolu proje olarak destekleyen Selçuk Üniversitesi Rektörlüğü ve Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimi'ne, Doktora eğitimim boyunca Öncelikli Alanlar Doktora Bursumu destekleyen, Yüksek Öğrenim Kurumu'na (YÖK), hem 2211-C Öncelikli Alanlar Doktora Bursumu destekleyen ve hem de tezimin bir kısmını 123Z127 proje numarası ile 1002-B Acil Destek Modülü Kapsamında destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK'a) ayrıca teşekkür ederim.

Doktora eğitimim süresince gerek maddi gerekse manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen canım babam Mehmet ÇAĞLAR ve annem Şaziye ÇAĞLAR başta olmak üzere tez sürecim boyunca hep benimle olan biricğim canım kedim TARÇIN'a, ablam Özlem ÇAĞLAR AYMAN, çalışırken en büyük motivasyon kaynaklarım Nurcan, Eylül, Ela ve Ada'ya, lisansüstü eğitimime başladığımda sen başarırırsın, asla pes etme diyen rahmetli amcam Selahattin ÇAĞLAR ve yengem Safiye ÇAĞLAR' a destekleri için teşekkür ederim.

Özge ÇAĞLAR

KONYA-2024

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
ÖNSÖZ.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Metal Organik Kafesler.....	1
1.2. MOF'ların Fiziko-kimyasal Özellikleri.....	7
1.3. Metal Organik Kafeslerin Çeşitleri.....	9
1.3.1. Liganda Göre Metal Organik Kafesler.....	10
1.3.2. Metal İyonuna Göre Metal Organik Kafesler.....	11
1.3.2.1. Çinko Bazlı Metal Organik Kafesler.....	12
1.3.2.1.1. ZIF-8.....	13
1.3.2.1.2. Zn- MOF-74.....	14
1.3.2.2. Zirkonyum Bazlı Metal Organik Kafesler.....	15
1.3.2.2.1. UiO-66-NH ₂	16
1.3.2.3. Bakır Bazlı Metal Organik Kafesler.....	17
1.3.2.4. Kobalt Bazlı Metal Organik Kafesler.....	19
1.3.2.5. Nikel Bazlı Metal Organik Kafesler.....	21
1.4. Metal Organik Kafeslerin Sentez Yöntemleri.....	22
1.4.1. Sonokimyasal Yöntem.....	23
1.4.2. Elektrokimyasal Yöntem.....	24
1.4.3. Solvotermal ve Hidrotermal Sentezi.....	24
1.4.3.1. Solvotermal Sentez.....	25
1.4.3.2. Hidrotermal Sentez.....	25
1.4.4. Birlikte Çökeltme Yöntemi.....	25
1.4.5. Mikrodalga Yöntemi.....	26
1.4.6. Mekanokimyasal Yöntem.....	27
1.5. Metal Organik Kafeslerin Kullanım Alanları.....	30
1.5.1. Antibakteriyel.....	31
1.5.2. Sentez ve Fonksiyonlandırma.....	32
1.5.3. İlaç Salınımı.....	33
1.5.4. Enantiyoseçimli Reaksiyonlarda Kullanımı.....	34
1.5.4.1. Naproksen.....	35
1.5.5. Biyokataliz.....	37
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	43
2.1. Mekanokimyasal Yöntem İle Metal Organik Kafeslerin Enzim İmmobilizasyonunda Kullanımları.....	43
2.2. Mekanokimyasal Yöntem İle Enzim İmmobilizasyonu Çalışmaları.....	43
2.3. Metal Organik Kafes-Yüzey Aktif Madde Çalışmaları.....	49
2.4. Metal Organik Kafes-Enantiyoselektivite Çalışmaları.....	54
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	58
3.1. Çalışmada Kullanılan Cihazlar.....	58
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	58
3.3. Mekanokimyasal Yöntem ile Farklı Metal Organik Kafeslerin Sentezleri.....	59
3.3.1. ZIF-8'in Sentezi.....	59
3.3.2. Zn-MOF-74'ün Sentezi.....	60
3.3.3. Zirkonyum oksohidroksimetakrilat ve UiO-66-NH ₂ 'nin Sentezi.....	60
3.3.3.1. Zirkonyum oksohidroksimetakrilatın Sentezi.....	61

3.3.3.2. UiO-66-NH ₂ 'nin Sentezi.....	61
3.3.4. Cu-MOF'un Sentezi	62
3.4. Mekanokimyasal Yöntem ile Lipaz İmmobilizasyonu Çalışmaları.....	62
3.4.1. Metal Organik Kafeslerin <i>Candida Rugosa</i> Lipazın İmmobilizasyonunda Kullanımı	63
3.4.1.1. ZIF-8@CRL _{mek} 'in Hazırlanması.....	63
3.4.1.1. Zn-MOF-74@CRL _{mek} 'in Hazırlanması.....	63
3.4.1.3. UiO-66-NH ₂ @CRL _{mek} 'in Hazırlanması.....	64
3.4.1.4. Cu-MOF@CRL _{mek} 'in Hazırlanması.....	64
3.4.2. Metal Organik Kafeslerin <i>Porcine Pankreatik</i> Lipazın İmmobilizasyonunda Kullanımı	65
3.4.2.1. ZIF-8@PPL _{mek} 'in Hazırlanması.....	66
3.4.2.1. Zn-MOF-74@PPL _{mek} 'in Hazırlanması.....	65
3.4.2.3. UiO-66-NH ₂ @PPL _{mek} 'in Hazırlanması.....	66
3.4.2.4. Cu-MOF@PPL _{mek} 'in Hazırlanması.....	67
3.5. Mekanokimyasal Yöntem ile Enzim İmmobilizasyonu Çalışmaları	68
3.5.1. İmmobilize Lipazların Aktivite Tayini	68
3.5.2. İmmobilize Lipazların Protein Tayini.....	69
3.5.3. pH stabilitesi	71
3.5.4. Optimum Sıcaklık Tayini.....	72
3.5.5. Termal Stabilite.....	72
3.5.6. Tekrar Kullanım.....	72
3.5.7. Depolama Stabilitesi	72
3.6. Enzim Kinetiği Çalışmaları.....	73
3.7. Yüzey Aktif Madde Etkisi Çalışmaları	73
3.7.1. Yüzey Aktif Maddelerin Hazırlanması.....	73
3.7.2. Yüzey Aktif Madde@Lipaz@MOF Hazırlanması	74
3.8. HPLC Çalışmaları	75
3.8.1. Naproksen Metil Ester Türevinin Sentezi.....	75
3.8.2. (S)-Naproksen'in Rasemleştirilmesi.....	75
3.8.3. (R/S)-Naproksen Metil Ester Sentezi	75
3.8.4. İmmobilize Lipazlar (MOF@Lipaz) ile Rasemik Naproksen Metil Esterlerinin Enantiyoseçimli Hidrolizi	76
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA	78
4.1. Mekanokimyasal Yöntem ile Metal Organik Kafeslerin Sentez ve Karakterizasyonları	78
4.1.1. ZIF-8'in Sentezi ve Karakterizasyonu	78
4.1.2. Zn-MOF-74'ün Sentezi ve Karakterizasyonu.....	82
4.1.3. UiO-66-NH ₂ 'nin Sentezi ve Karakterizasyonu	85
4.1.4. Cu-MOF'un Sentezi ve Karakterizasyonu.....	89
4.2. Hazırlanan Metal Organik Kafeslerin Lipaz İmmobilizasyonunda Kullanılması.....	95
4.2.1. Hazırlanan Metal Organik Kafeslerin <i>Candida Rugosa</i> Lipazın İmmobilizasyonunda Kullanılması	95
4.2.1.1. İmmobilize Lipazların Aktivite ve Protein Tayini.....	95
4.2.1.2. pH stabilitesi.....	99
4.2.1.3. Optimum Sıcaklık Tayini.....	103
4.2.1.4. Termal stabilite.....	106
4.2.1.5. Tekrar Kullanım.....	109
4.2.1.6. Depolama Stabilitesi.....	113

4.2.2. Hazırlanan Metal Organik Kafeslerin <i>Porcine Pankreatik</i> Lipazın İmmobilizasyonunda Kullanılması.....	117
4.2.2.1. İmmobilize Lipazların Aktivite ve Protein Tayini.....	117
4.2.2.2. pH stabilitesi.....	118
4.2.2.3. Optimum Sıcaklık Tayini.....	121
4.2.2.4. Termal stabilite.....	125
4.2.2.5. Tekrar Kullanım.....	128
4.2.2.6. Depolama Stabilitesi.....	130
4.3. Yüzey Aktif Maddelerin Rolünün İncelenmesi	134
4.4. Enzim Kinetiği.....	159
4.5. Enantiyoselektivite Çalışmaları.....	160
4.5.1. İmmobilize Lipazlar ile (R/S)-Naproksen Metil Ester'in Enantiyoseçimli Hidrolizi.....	160
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	165
5.1 Sonuçlar	165
5.2 Öneriler	168
KAYNAKLAR	169
ÖZGEÇMİŞ	216

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

C	Santrigrat
g	Gram
mg	Miligram
M	Molarite
mL	Mililitre
mmol	Milimol
°	Derece
%	Yüzde işareti

Kısaltmalar

abtc	3,3',5,5'-azobenzene-tetracarboxylate
bptc	3,3',5,5'-biphenyltetracarboxylate
BDC	1,4-benzendikarboksilik asit
BTC	Benzen-1,3,5- trikarboksilik asit
CDT	Kemodinamik Terapi
CUK-1	Cambridge Üniversitesi KRICT
C_R	R enantiyomerinin konsantrasyonu
C_S	S enantiyomerinin konsantrasyonu
CRL	<i>Candida rugosa</i> lipaz
Cu-MOF	Bakır Bazlı Metal- Organik Kafes
DMSO	Dimetil sülfoksit
ee_s	Kalan substratın enantiyomerik fazlalığı
ee_p	Oluşan ürünün enantiyomerik fazlalığı
EDX	Enerji dağılımlı spektrometre
FTIR	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
GSH	Glutasyon
HKUST-1	Hong Kong Bilim ve Teknoloji Üniversitesi
ITQMOF	Instituto de Tecnología Química metal-organic framework
JUC	Jilin University China
K_m	Michaelis sabiti
LIC-	Leiden Institute of Chemistry
LP	L-prolin
L-prol	L-proline
MIL-53	Materials Institute Lavoisier
MIL-101	Materials Institute Lavoisier
2-mIM	2-metilimidazol
MOF	Metal- Organik Kafes
PBS	Fosfat tamponu
PDT	Fotodinamik terapi
PF-127	Pluronic F 127
PPL	<i>Porcine Pankreatik</i> lipaz
p-NPP	p-nitrofenil palmitat
p-NP	p-nitrofenol

PTT	Fototermal terapi
POST	Pohang Bilim ve Teknoloji Üniversitesi
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SDT	Sonodinamik terapi
TEM	Taramalı elektron mikroskobu
TGA	Termal gravimetrik analizi
TÜBİTAK	Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
tptc-(Me)₂	2',5'-dimethyl-[1,1':4',1''-terphenyl]-3,3'',5,5''-tetracarboxylate
TX-100	Triton X-100
s-kal-4	p-sülfokaliks[4]aren
SDS	Sodyum dodesilsülfat
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
SNU	Seul Ulusal Üniversitesi
UiO-66,	Oslo Üniversitesi
UiO-67,	Oslo Üniversitesi
UiO-68	Oslo Üniversitesi
UV	Ultraviyole visible spektroskopisi
V_{max}	Maksimum hız
XRD	X-Işını Difraktometresi
WSU-5	Washington Eyalet Üniversitesi
YÖK	Yüksek Öğretim Kurumu
ZIF	Zeolitik İmidazolat Kafes
ZnO	Çinko oksit



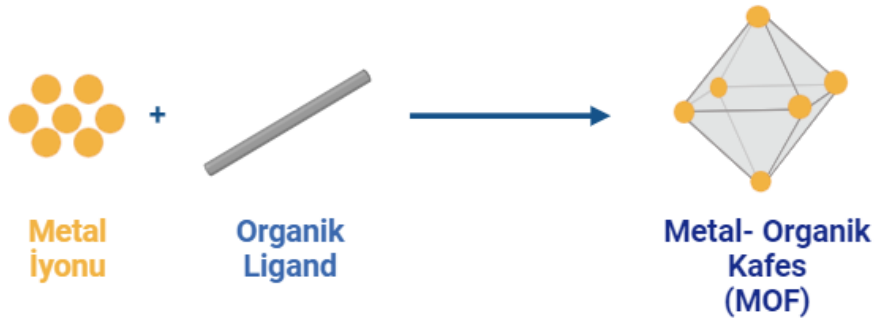
1. GİRİŞ

Doğal ve yapay gözenekli malzemeler, sahip oldukları potansiyel özellikler ve geniş gözenek yapıları ile araştırmalarda büyük ilgi çeken, geniş bir malzeme sınıfını oluşturmaktadır (Morris ve Wheatley, 2008; Li ve ark., 2021; Mallakpour ve ark., 2022). Gözenekli malzemeler, son yıllarda kimya, fizik, biyokimya ve malzeme bilimi gibi alanlarda büyük ilgi gören malzemelerdir (Li ve ark., 2021).

Geleneksel olarak gözenekli malzemeler organik veya inorganik malzemeler olarak sınıflandırılmaktadır. Organik malzemeler, seçenekleri arasında aktif karbon en yaygın kullanılan gözenekli malzemedir (Manocha, 2003; Gatou ve ark., 2023). İnorganik gözenekli malzemeler, zeolitler tarafından örneklendirilen, iyi organize edilmiş düzenlemeler sergilemektedir. Bu malzemelerin sentezi, sentez işlemi sırasında inorganik kafes ile güçlü etkileşimler kuran bir inorganik veya organik maddenin kullanımını içermektedir (Férey, 2008; Gatou ve ark., 2023).

1.1. Metal Organik Kafesler

Gözenekli malzeme grubunda yer alan, metal-organik kafesler (MOF'lar), gözenekli koordinasyon polimerleri olarak da adlandırılmaktadır (Kim ve ark., 2022). Son yıllarda hem organik hem de inorganik gözenekli malzemelerin avantajlı özelliklerini birleştirmek için tasarlanan gözenekli hibrit malzemeleri oluşturan MOF'ların geliştirilmesine ve kapsamlı bir şekilde araştırılmasına büyük önem verilmektedir. MOF'lar, destek görevi gören organik ligandlar ve düğüm görevi gören koordineli metal iyonları/iyon kümelerinin bir, iki veya üç boyutlu genişletilmiş koordinasyon ağları ile etkileşimiyle oluşturulan yeni hibrit yapıları malzemelerdir (Yaghi ve ark., 1996; Kitagawa ve ark., 2004; Du ve ark., 2022; Anyama ve ark., 2023; Gatou ve ark., 2023).



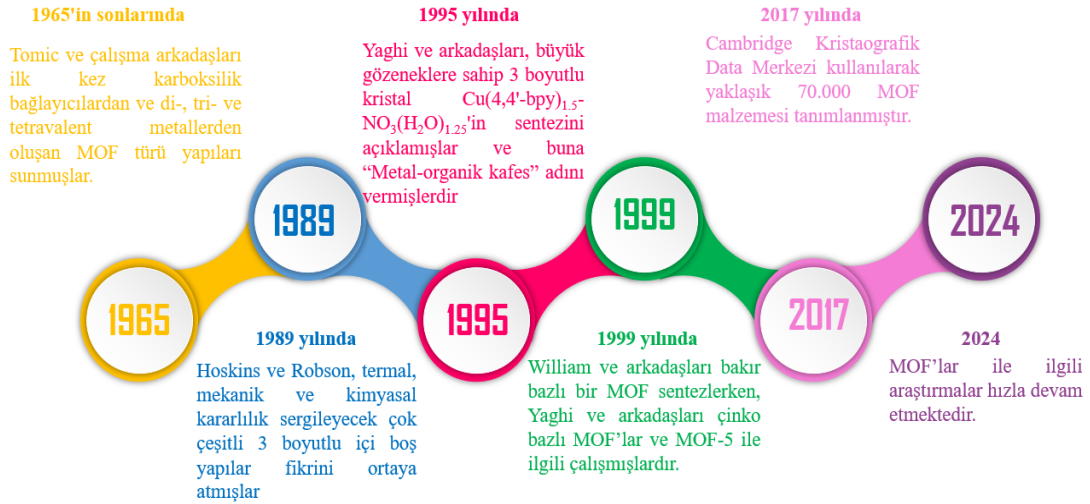
Şekil 1.1. Metal organik kafeslerin yapısının oluşumu

Metal düğümler ve organik ligandlar arasındaki olası kombinasyonların geniş dizisi değiştirilerek, farklı özelliklere sahip MOF'lar kolaylıkla sentezlenebilmektedir. Bu özellikler arasında çok çeşitli gözenek boyutları (mikro gözeneklerden, mezo veya makro gözeneklere kadar), sert veya esnek iskeletler ve ayarlanabilir yüzey afiniteleri yer almaktadır ve bunların tümü MOF'ların özelliklerini büyük ölçüde etkilemektedir (Li ve ark., 2021; Gatou ve ark., 2023). Ayrıca parçacık morfolojisi, boyut dağılımı ve kimyasal özellikler gibi faktörler, farklı uygulamalar için MOF yapılarının oluşturulmasında şekillenmesinde büyük önem taşımaktadır. Kolay sentez, istenilen şekilde özelleştirilebilir gözenek boyutları ve yapısı, çok sayıda aktif bölge, çeşitli fonksiyonel gruplar, değişken yapılar, yüksek yüzey alanları ve yükleme kapasiteleri, biyouyumluluk ve biyobozunabilirliğin yanı sıra dikkate değer mekanik ve termal stabilite gibi avantajlı özelliklerinden yararlanarak MOF tabanlı sistemler çok farklı uygulama alanlarında kullanılmaktadır (Tchinsa ve ark., 2021; Gatou ve ark., 2023).

Kristal malzemelerin dizaynı, iyi tanımlanmış malzemeler yaratmak için oldukça önemlidir, bu sayede elde edilen film veya kristaller en az bir kristalografik eksen boyunca hizaya sahiptir (Walther ve Muller, 2013; Feng ve ark., 2019; Liu ve Zhang, 2020; Khalil ve ark., 2023). Bu kristal malzemelerin düzenlenme stratejisi sırasında oluşturulan nanoarayüzler, malzemenin sadece morfolojisini etkilemekle kalmaz, ortam koşullarındaki değişiklikler (kusur girişini de hızlandırabilir ve yük aktarımı, toplu taşıma, katalitik aktivite ve elektronik durum vb. değişimler) ile arayüz gerilmesine neden olabilmektedir. Bu etkiler de malzemelerin özelliklerini belirlemede önemli bir etkiye sahiptir (Gilroy ve ark., 2016; Wu ve ark., 2016; Lee ve ark., 2017; Khalil ve ark., 2023). Bu etki de dikkate alınarak, MOF'ların yapılarının oluşumunda rol alan güçlü metal iyonları ve organik liganlar arasındaki geometrik koordinasyon etkileşimi, MOF'ların boyutlarının ve özelliklerinin belirlenmesinde oldukça önemli olduğu düşünülmektedir (Ma ve ark., 2020; Jin ve Shang, 2021). Örneğin, kafes yapısındaki metallerin varlığı kataliz için aktif bölgelere katkıda bulunurken, yapıda yer alan organik ligandlar ise, elektriksel ve termal etkilerin yanı sıra kimyasal modifikasyon için bol miktarda fonksiyonel gruplar sağlamaktadır (Niu ve ark., 2020; Xu ve ark., 2021; Du ve ark., 2022).

MOF'lar, ultra yüksek gözeneklilik, 6000 m²'nin ötesine uzanan muazzam iç yüzey alanına sahip kapsamlı bir kristal malzeme sınıfıdır. Diğer gözenekli malzemelerden, doğadaki minerallerden türetilen topolojik olarak çeşitli ve estetik açıdan hoş yapıları ile ayrılmaktadır (Zhou ve ark., 2012).

MOF'lar fonksiyonel moleküler materyaller olarak değişen çeşitleri, şekilleri, boyutları ve gözenek yapılarıyla bir dizi yapısal çeşitliliklere sahiptirler. Bu özellikleri de MOF'ların hem akademik hem de endüstriyel alanlarda önemli ilgi görmelerine yol açmaktadır (Gascon ve Kapteijn, 2010; Umemura ve ark., 2011; Furukawa ve ark., 2012; Howarth ve ark., 2016; Li ve ark., 2016; Zhao ve ark., 2023).



Şekil 1.2. MOF'ların tarihçesi (Hoskins ve Robson, 1990; Yaghi ve Li, 1995; Chui ve ark., 1999; Moghadam ve ark., 2017; Fatima ve ark., 2023; Łuczak ve ark., 2023).

1965'in sonlarında, Tomic ve çalışma arkadaşları ilk kez karboksilik bağlayıcılardan ve di-, tri- ve tetravalent metallere oluşan MOF türü yapıları incelemişlerdir. Termal kararlılık, metal iyonlarının değerliliği ve bağlayıcılar üzerindeki koordinasyon bölgeleri arasındaki ilişkiyi incelemek için koordineli polimerler üzerinde çalışmalar yapmışlardır (Hoskins ve Robson, 1990; Fatima ve ark., 2023). Daha sonra 1989 yılında Hoskins ve Robson, termal, mekanik ve kimyasal kararlılık sergileyecek çok çeşitli 3 boyutlu içi boş yapılar fikrini ortaya atmışlar. Ayrıca kataliz ve iyon değişimi gibi uygulamaları da öngörmüşlerdir (Hoskins ve Robson, 1990; Fatima ve ark., 2023).

1990'larda MOF'ların keşfine kadar, belirli özelliklere ve işlevlere sahip hedef bir yapı tasarlamak, malzeme bilimcileri için sonsuz bir özlemi temsil etmekteydi (Zhou ve ark., 2012). 1995 yılına gelindiğinde Yaghi ve arkadaşları, büyük gözeneklere sahip 3 boyutlu kristal $\text{Cu}(4,4'\text{-bpy})_{1.5}\text{-NO}_3(\text{H}_2\text{O})_{1.25}$ 'in sentezini açıklamışlar ve buna "Metal-organik kafes" adını vermişlerdir (Yaghi ve Li, 1995; Fatima ve ark., 2023).

Temel düzeyde MOF'lar, kimyasal yapıların güzelliği ve genellikle farklı olarak kabul edilen iki disiplin olan organik ve inorganik kimyayı birleştirmenin gücünü

özetlemektedir. MOF'ların keşfi ile birlikte, kimyanın bu alanı neredeyse benzersiz bir büyüme yaşamıştır (Zhou ve ark., 2012). MOF'lar özellikle son yıllarda kimya, fizik, biyokimya ve malzeme bilimi gibi alanlarda önemli bir araştırma konusu arasında yer almaktadır (Li ve ark., 2021).

Güzel yapıları doğal yapısının tersine mühendislik kullanılarak sentezlerini yapmak için ilk adım, altta yatan geometrik ilkelerini anlamaktır. O'Keeffe ve Yaghi yaptıkları araştırmalarla, MOF'lerin kristal yapılarını altta yatan topolojik ağlarına göre ayırarak böyle bir yaklaşımı açıklamış ve böylece diğer MOF yapılarının daha sonra tanımlanması ve tasarımı için bir temel oluşturmuşlardır (Zhou ve ark., 2012).

William ve arkadaşları 1999 yılında yaptıkları bir çalışmada, benzen trikarboksilat bağlayıcıları olan bakır bazlı bir MOF sentezlemişlerdir (Chui ve ark., 1999; Fatima ve ark., 2023).

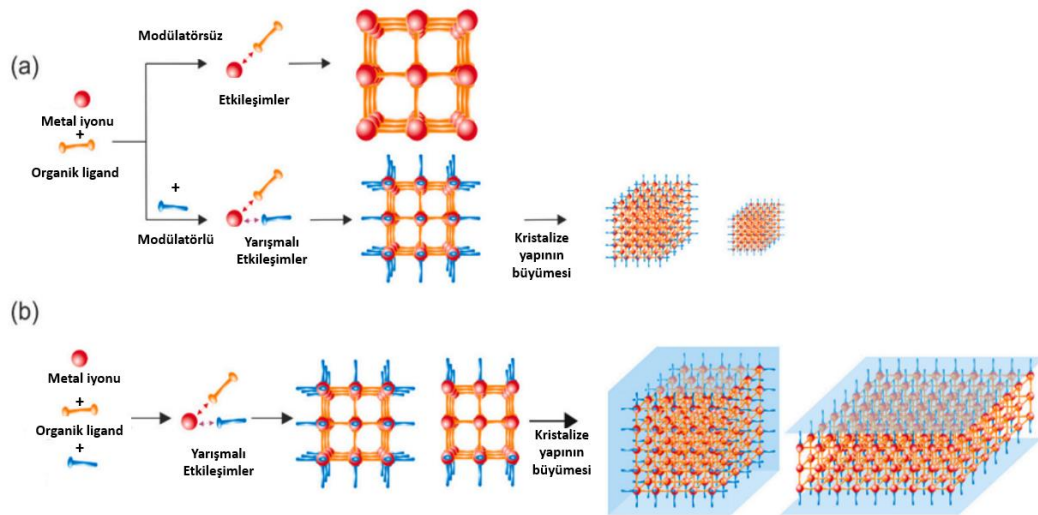
Aynı yıl, Yaghi ve ekibi rekor kıran, yaklaşık 4000 m²/g yüzey alanına sahip, çinko bazlı kümeler ve MOF-5 adı verilen benzendikarboksilat bağlayıcılara sahip oldukça gözenekli başka bir MOF yapısını çalışmışlardır (Li ve ark., 1999; Fatima ve ark., 2023). MOF'lar daha önce yapılan çalışmalarda, MOF-2, MOF-5, MOF-9, MOF-253 vb. gibi keşif sırasına göre numaralandırılmaktalardı. Yapılan araştırmaların artması ile numaralandırma sistemi değişmiş ve keşif sırası yerine, Oslo Üniversitesi (UiO-66, UiO-67, UiO-68, vb.), Materials Institute Lavoisier (MIL-53, MIL-101, vb.), Hong Kong Bilim ve Teknoloji Üniversitesi (HKUST-1, vb.), Instituto de Tecnología Química metal-organic framework (ITQMOF), Leiden Institute of Chemistry (LIC-), Seul Ulusal Üniversitesi (SNU), Jilin University China (JUC), Cambridge Üniversitesi KRICT (CUK-1), Washington Eyalet Üniversitesi (WSU-5) ve Pohang Bilim ve Teknoloji Üniversitesi (POST) gibi keşfedildikleri yere göre adlandırılmaya başlamıştır (Fatima ve ark., 2023). Diğer MOF türleri ise, Zeolitik imidazolat kafesler (ZIF'ler gibi) gibi adlandırılırken, organik kafesler ise kristal yapılarının adını almıştır (Reddy ve ark., 2020; Zhou ve ark., 2022).

2002 yılında, Gérald Férey'in grubu, metal merkezi olarak görev yapan krom(III)(Cr⁺³) ve bağlayıcı olarak BDC bazlı ligandlar ile MIL (MIL = Matériaux de l'Institute Lavoisier) kafeslerinin sentezini açıklamışlardır (Pham ve Dinu, 2023). 2002'de, MOF ailesi, günümüzde zeolitik imidazol kafesler (ZIF'lar) olarak bilinen imidazolat bazlı bileşiklere genişletilmiştir (Tian ve ark., 2002; Park ve ark., 2006; Stock ve Biswas, 2012).

2004 yılında, Férey ve ark. MIL-100(Cr)'nin sentezini ve yapısını ilk kez açıklamışlardır. 2005 yılında, MIL-101(Cr) de aynı grup tarafından açıklanmıştır (Férey ve ark., 2004; Férey ve ark., 2005; Jiao ve ark., 2019).

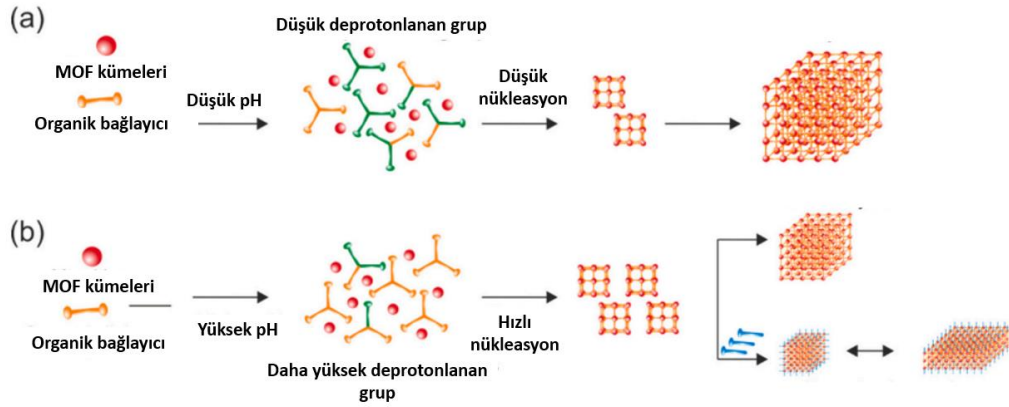
IUPAC görev grubu Koordinasyon Polimerleri ve Metal Organik Çerçeveler: Terminoloji ve İsimlendirme Kılavuzu 2009 yılından bu yana bu alandaki araştırmacılarla sürekli diyalog halinde mevcut uygulamaları belgelemiş, analiz etmiş ve değerlendirmiştir. Bu, söz konusu grubun nihai raporudur (Batten ve ark., 2013).

2017 yılında, Cambridge Kristalografik Data Merkezi kullanılarak yaklaşık 70.000 MOF malzemesi tanımlanmıştır (Moghadam ve ark., 2017; Łuczak ve ark., 2023). Bu tür yapılarda, organik bağlayıcılar, bileşenlerin sertliği ve yönlülüğü nedeniyle kolayca yaratılan serbest boşluklar sağlayan metalik düğümler (genellikle ikincil yapı birimler olarak anılır) için bir destek oluşturmaktadır (Łuczak ve ark., 2023).



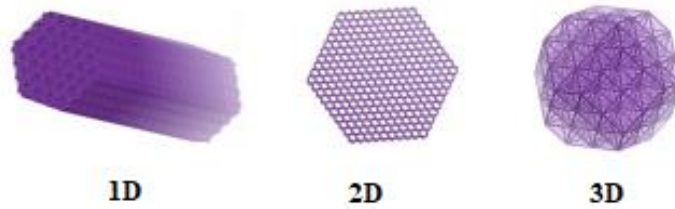
Şekil 1.3. MOF yapılarının farklı şekillerde oluşumları (Łuczak ve ark., 2023).

Bu tür gözenekli yapılar ayrıca post-sentetik olarak da modifiye edilerek malzemeye yeni işlevsellikler eklenebilmektedir.



Şekil 1.4. Metal-organik çerçevelerin morfolojisini kontrol etmek için kullanılan protonasyon/deprotonasyon mekanizması (Łuczak ve ark., 2023).

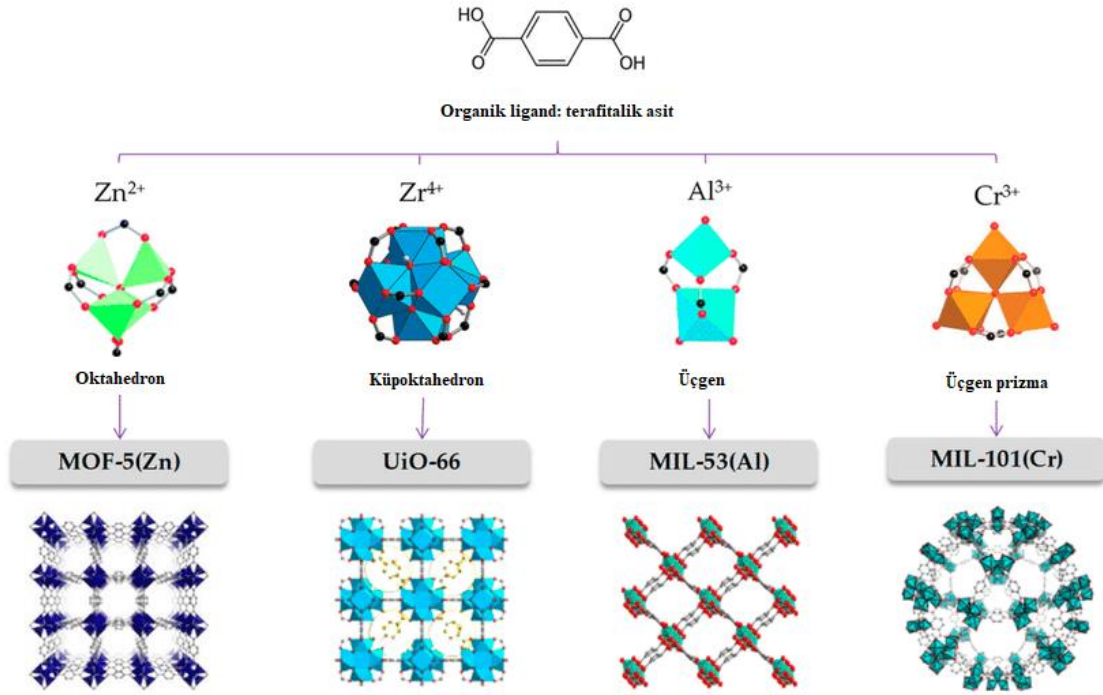
MOF'lar, morfolojik olarak farklı biçimlerde bulunabilir. IUPAC, MOF'ların morfolojilerini "yüksek polimerler, polimer karışımları, kompozitler ve kristaller gibi maddelerdeki faz alanlarının şekli, optik görünümü veya formu" olarak tanımlamaktadır (Work ve ark., 2004; Łuczak ve ark., 2023). Bu bağlamda, morfoloji terimi, fiziksel boyut, düzlük, yuvarlaklık, küresellik, liflerin görünümü, parçacıkların en boy oranı vb. içerikleri belirtmektedir. Morfolojileri göz önüne alındığında, nanomalzemeler olarak MOF'lar, geometrik özelliklerine bağlı olarak sıfır boyutlu (0D), tek boyutlu (1D), iki boyutlu (2D) ve üç boyutlu (3D) olarak sınıflandırılmıştır (Feng ve ark., 2019).



Şekil 1.5. Geometrik özellikleri ve boyutlarına göre MOF yapıları (Feng ve ark., 2019).

MOF'lerin anizotropik doğası, MOF kristal boyutlarının kontrolünü sağlayan belirli kristal yüzlerin kontrollü büyümesine izin vermektedir. Bugüne kadar, literatürde küreler, küpler, küpoktahedron, oktahedron, çubuklar, tabakalar ve karmaşık hiyerarşik

yapılar (örneğin çiçekler) da dahil olmak üzere birçok MOF yapısal olarak tarif edilmiştir (McGuire ve Forgan, 2015; Łuczak ve ark., 2023).



Şekil 1.6. Literatürde yer alan farklı yapıda MOF örnekleri (Rocio-Bautista ve ark., 2019).

MOF'lar sadece metal ligand etkileşimi ile oluşturulan yapıları ile sınırlı değildir. Amaca uygun olarak kullanımları için, temel olarak yüzey adsorpsiyonu, kovalent bağlanma, gözeneklerin kapsüllenmesi ve yapı taşı olarak fonksiyonel moleküller gibi dört strateji kullanılarak MOF yapılarına, köprü ligandlarının omurgasına piridil, metil, bromür, hidroksil, etilen ve amino gibi ikame edici işlevsel grupların eklenmesi de yapılabilmektedir (Cai ve ark., 2020; Fatima ve ark., 2023).

1.2. MOF'ların Fiziko-kimyasal Özellikleri

Metal organik kafesler (MOF'lar) yüzey alanı, kiralite, kristallik, gözeneklilik, yapı ayarlanabilirliği ve lüminesans gibi eşsiz fizikokimyasal özelliklere sahiptir (şekil 1.7) (Kuang ve ark., 2014; Butova ve ark., 2016; Yang ve Yan, 2016; Redfern ve Farha, 2019; Zhang ve ark., 2019; Kabtamu ve ark., 2020; Moosavi ve ark., 2020; Singh ve ark., 2023).



Şekil 1.7. MOF'ların Fizikokimyasal özellikleri (Kuang ve ark., 2014; Butova ve ark., 2016; Yang ve Yan, 2016; Redfern ve Farha, 2019; Zhang ve ark., 2019; Kabtamu ve ark., 2020; Moosavi ve ark., 2020; Singh ve ark., 2023).

✓ **Yüzey alanı:**

Metal iyonu ve organik ligandın arasındaki bağlanma ile kafesin oluşumu, MOF'ların geniş bir yüzey alanını ve içeriden içi boş bir yapı oluşturmaktadır (Moosavi ve ark., 2020; Singh ve ark., 2023). Yüzey açısından zengin MOF'lar, algılama potansiyeli ile oldukça ilgi çekmektedir. Oluşan yapılar, olağanüstü gaz adsorpsiyonu ve ayırma yeteneklerinden dolayı membran olarak da kullanılabilirler (Singh ve ark., 2023).

✓ **Kiralite:**

Kiral MOF'ların sentezi, asimetric heterojen kataliz için oldukça önemlidir. Kiralite MOF sentezinde, kiral bağlayıcılar kullanılarak MOF'lara bağlanabilmektedir (Moosavi ve ark., 2020; Singh ve ark., 2023). MOF'lar, çeşitli uygulamalarda kiral tanıma, kiral ayırma ve kiral katalizi içerdiğinden moleküler elek benzeri malzemeler olarak kabul edilebilirler (Kuang ve ark., 2014; Singh ve ark., 2023).

✓ **Gözeneklilik:**

MOF'lara katalizde en avantaj kazandıran özelliklerden biri, sentez sürecini ve kimyasal öncüleri değiştirerek gözenek boyutunun kontrol edilebilmesidir (Redfern ve Farha, 2019; Singh ve ark., 2023). Bununla birlikte, şimdiye kadar açıklanan MOF'ların çoğu, kütle transferini yavaşlatan ve daha ağır moleküllerin iç yüzeylerine erişimini kısıtlayan mikro gözenek yapısına sahiptir (Kabtamı ve ark., 2020; Singh ve ark., 2023).

✓ **Yapı ayarlanabilirliği ve Lüminesans:**

MOF'lar, gözenekli ve polimerik kafes benzeri ağları nedeniyle oldukça ayarlanabilir hibrit yapılı malzemelerdir. MOF'ların sentetik ayarlanabilirliği, çok işlevli katalitik sistemler için elverişlidir (Butova ve ark., 2016; Redfern ve Farha, 2019; Singh ve ark., 2023).

MOF'ların en ayırt edici özelliklerinden biri, uyarılmış moleküllerden ışığın salınmasını içeren "lüminesans"tır. Bu sadece MOF'ların bileşimindeki metal tipi ile ilişkili değildir, aynı zamanda lüminesans için mükemmel kromoforlar sağlayan organik ligandlar tarafından potansiyelize edilebilmektedir (Yang ve Yan, 2016; Singh ve ark., 2023).

✓ **Kristallik:**

MOF'ların kristal özelliği vardır, çünkü MOF'ların sentezi kristalleşmenin kilit sürecini içermektedir. Enerji ve çevre ile ilgili alanlarda büyük miktarda potansiyele sahip olan, kristalize çerçevelerden gelen eşsiz özellikleri nedeniyle, yüksek oranda kristalli mezogözenekli tasarımlar olan MOF'lar özellikle ümit vericidir (Zhang ve ark., 2019; Singh ve ark., 2023).

1.3. Metal Organik Kafeslerin Çeşitleri

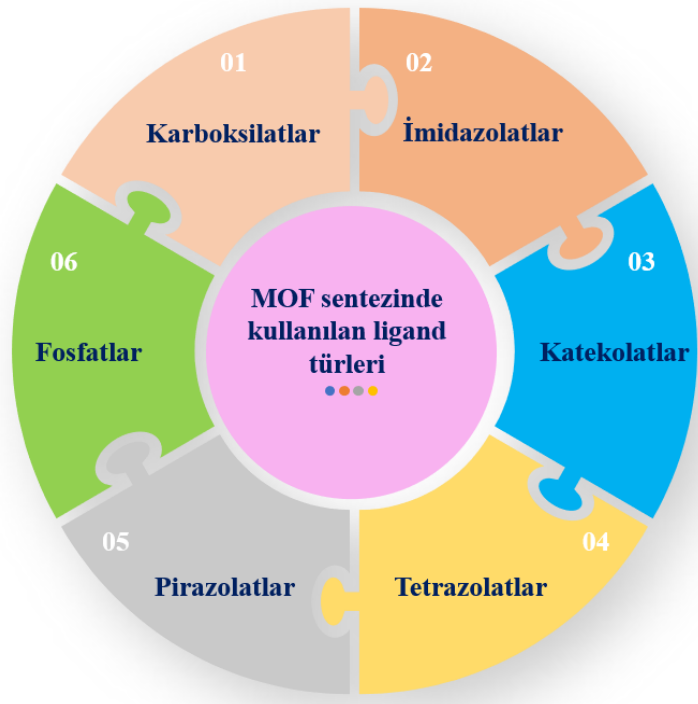
Metal organik kafesler (MOF'lar) eşsiz özellikleri ile son yıllarda popüler araştırma konuları arasında yer alan hibrit yapılı malzemelerdir. MOF'lar ile yapılan çalışmalar hızla artmaktadır. Keşiflerinden günümüze kadar yapılan çalışmalarda, yapıyı oluşturan metal iyonu veya ligand türlerine göre farklı geometrilerde ve türlerde MOF'lar tasarlanabildiği belirlenmiştir. Yapılarının araştırıldığı çalışmalarda, kafes yapısını oluşturan ligand uzunluğunun tasarımı, çoklu fonksiyonel gruplar konumsal izomerizim ve fonksiyonel MOF'ların geometrisi ve farklı alanlarda uygulamaları

incelenmektedir (Kirchon ve ark., 2018; Pullen ve Clever, 2018; Hu ve ark., 2021; Kim ve Hong, 2021; Sun ve ark., 2023b).

Süreç içinde MOF'ların ligand tasarımı ile ilgili farklı araştırmalar da yapılmıştır. Örneğin, Morsali ve arkadaşları, farklı fonksiyonel grup tiplerinin ligandlar üzerindeki etkilerini, MOF'ların yapısı, konuk-konak kimyası ve uygulamaları üzerinde etkisini araştırırken (Razavi ve Morsali, 2019; Sun ve ark., 2023b), Hong ve arkadaşları, MOF'ların organik ligandlarındaki çoklu fonksiyonel grupların konumsal regioizomerizmini, yapı ve fonksiyonlardan derinlemesine araştırmışlardır (Kim ve ark., 2021; Sun ve ark., 2023b), Maji ve ark., ise esnek MOF'ların geometrisine ve farklı fonksiyonel uygulamalarına odaklanarak, farklı boyutlarda çok işlevli MOF'lar oluşturmak için karışık ligandların kullanımı hakkında fikir vermiştir (Kim ve Hong, 2021; Bhattacharyya ve Maji, 2022; Sun ve ark., 2023b).

1.3.1. Liganda Göre Metal Organik Kafesler

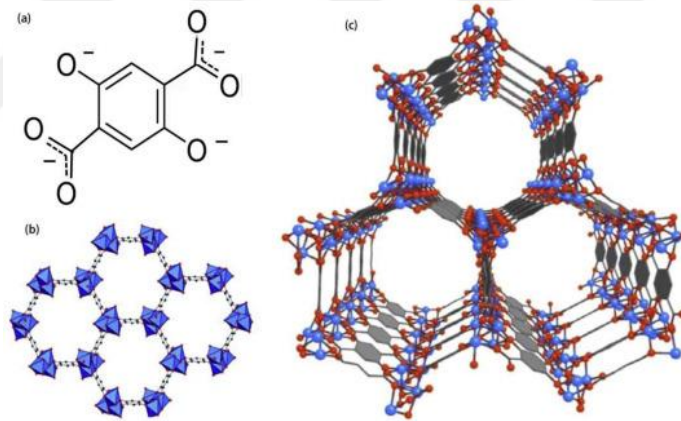
Yapılan araştırmalarda, karboksilatlar, fosfatlar, pirazolatlar, tetrazolatlar, katekolatlar ve imidazolatlar gibi polidentat organik bağlayıcıların, inorganik yapı birimleri genişletilmiş kafes yapılarında birleştirmek için kullanıldığı görülmektedir (şekil 1.8) (Yaghi ve ark., 2019; Łuczak ve ark., 2023).



Şekil 1.8. MOF sentezinde kullanılan ligand türleri (Yaghi ve ark., 2019; Łuczak ve ark., 2023).

MOF'lar ligandın türüne göre karboksil ligand, bir siklodekstrin ligand, piridin ve bir nitrojen içeren heterosiklik ligand olarak 3 farklı şekilde de sınıflandırılabilirler (Sharmin ve Zafar, 2016). Bu türler arasında karboksilatlar kullanılarak oluşturulan MOF'lar en büyük grubu oluşturmaktadır. Karboksilat yapısının büyük çeşitliliği, sonsuz sayıda iki veya üç boyutlu organik-inorganik yapıların oluşumunu sağlayabilmektedir (Yaghi ve ark., 2019; Łuczak ve ark., 2023).

Yapılan diğer araştırmalarda organik ligand olarak kullanılan 2,5-dioksido-1,4-benzendikarboksilat veya 2,5-dihidroksiterafilat'ın MOF yapısında çok önemli katkılar sağladığı belirlenmiştir. MOF-74'ün yapısında yer alan bu ligand, bir boyutlu $[\text{MO-COOX}_u\text{-OH}]_n$ zinciri, bir metal katyonun beş O'ya bağlandığı tek boyutlu altıgen kanal ağı oluşturan üç boyutlu bir petek bal yapısına dönüştürülmüştür. Bu MOF yapısında yer alan metal iyonları ve ligandın, düz sonsuz sarmal ikincil yapı birimleri oluşturduğu gözlenmiştir. Şekil 1.9'da MOF-74'ün yapısı görülmektedir (Xiao ve Liu, 2019).



Şekil 1.9. MOF-74'ün yapısı ((a) Ligandın yapısı, b ve c) MOF-74'ün yapısı) (Xiao ve Liu, 2019).

1.3.2. Metal İyonuna Göre Metal Organik Kafesler

MOF'ların yapılarında çinko (Zn^{+2}), magnezyum (Mg^{+2}), kobalt (Co^{+2}), kadmiyum (Cd^{+2}), mangan (Mn^{+2}), demir (Fe^{+2}), veya nikel (Ni^{+2}) gibi geçiş metali katyonları yer almaktadır. Bu metal katyonları ile farklı türlerde MOF'lar sentezlenebilmektedir (Sun ve ark., 2023b).



Şekil 1.10. Metal İyonlarına Göre Metal-Organik Kafes Türleri (Chen ve ark., 2018; Shen ve ark., 2018; Ozyilmaz ve ark., 2021c; Liu ve ark., 2022a; Song ve ark., 2022; Ozyilmaz ve ark., 2023).

1.3.2.1. Çinko Bazlı Metal Organik Kafesler

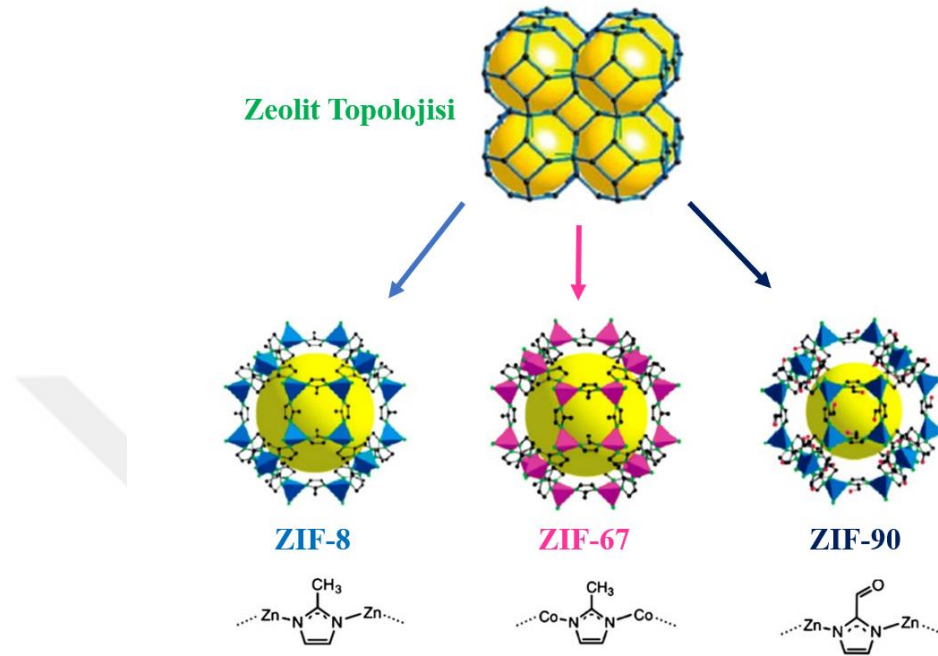
MOF'lar, hem etkili ilaç yüklemesini en üst düzeye çıkarmak ve hızlı salınım oranını sağlamak hem de insan vücudundaki istilacılığı en aza indirmek için günlük diyetle (Cu, Mg, Fe veya Zn) bulunan metal merkezlerini içermelidir (Lawson ve ark., 2020). Zn önemli biyolojik işlevlere sahiptir ve teranostik uygulamalar için güvenli olduğu düşünülen biyoMOF bileşimi için uygun metallerden biri olarak belirtilmektedir (Bahrani ve ark., 2019; Sun ve ark., 2023b). Düşük toksisite, biyolojik olarak parçalanabilirlik ve çok yönlü işlevsellikleri ile birlikte yukarıda belirtilen özelliklere sahip çinko bazlı MOF'ler, nanokapsülörlerin hazırlanması, gelişmiş dağıtım sistemleri yoluyla ilacın kontrollü salınımı ve ilaç taşınması için de ideal adaylar olarak düşünülmektedirler (Horcajada ve ark., 2006; Keskin ve Kızılel, 2011; Agostoni ve ark., 2013; Bahrani ve ark., 2018; Bahrani ve ark., 2019; Moharramnejad ve ark., 2022).

➤ Zeolitik İmidazolat Kafesler

Zeolitik imidazolat kafesler (ZIF'lar), zeolit topolojilerine benzeyen 3B tetrahedral kafesler oluşturabilen, geçiş metali iyonları (Zn^{+2} ve Co^{+2} metal iyonları) ve imidazolat bağlayıcılardan oluşan, gözenekli ve kristalli MOF malzemelerinin bir alt sınıfıdır (Park

ve ark., 2006; Khan ve ark., 2013; Zhang ve ark., 2014a; Ighalo ve ark., 2022; Ganiyu ve ark., 2023).

Şekil 1.11’de bazı zeolitik imidazolat kafes örnekleri yer almaktadır (Zhang ve ark., 2020).



Şekil 1.11. Zeolit topolojisi ve birkaç ZIF topoloji örneği (Zhang ve ark., 2020).

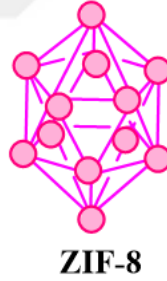
ZIF’lar, yapısal açıdan MOF’ların avantajlarını göstermelerinin yanı sıra, diğer MOF türlerine kıyasla mükemmel mekanik stabiliteye ve kimyasal stabiliteye sahiptir ve yapıları daha esnektir. Bu özellikleri ile ZIF’lar, diğer MOF türlerine göre daha kararlılardır, zayıf termal ve kimyasal kararlılık gibi zayıflıklarının da üstesinden gelmektedirler (Banerjee ve ark., 2008; Phan ve ark., 2009; Cheng ve ark., 2018; Hassan ve ark., 2020; Pouramini ve ark., 2023).

1.3.2.1.1. ZIF-8

Zn iyonları toksik değildir, antiinflamatuardır ve antibakteriyeldir (Plum ve ark., 2010; Wang ve ark., 2011; Bahrani ve ark., 2018; Farhadi ve ark., 2021; Ozyilmaz ve Caglar, 2023). Zn ile nanokristallerin oluşumu nanotıp gibi farklı uygulamalarda büyük ilgi görmektedir, çünkü çeşitli Zn kompleksleri pratik olarak yaygın durumlarda da bulunmaktadır (Ozyilmaz ve Caglar, 2023). Zeolitik imidazolat kafesler (ZIF’lar), zeolitlerin izomorfik topolojileri ve MOF’ların koordinatif bileşimine sahip bir MOF alt sınıfıdır (Li ve ark., 2024). ZIF-8, ZIF ailesinin bir üyesidir (Ozyilmaz ve Caglar, 2023).

2-metilimidazol (2-mIM) ligandları ile bağlanan çinko atomlarının tetrahedral koordinasyonundan oluşan ZIF-8 kristalleri, basit ve zengin sentez stratejisi nedeniyle uygulamalar için en çok araştırılan imidazol kafes malzemeleridir (Nie ve ark., 2017; Dong ve Koenig, 2020; Lu ve ark., 2020; Dong ve ark., 2021; Sun ve ark., 2023c; Li ve ark., 2024)

ZIF-8'in kimyasal mimarisi, organik bir ligand/parça ile usulüne uygun olarak koordine edilen çinko metalinden oluşmaktadır ve bu etkileşim, eşsiz gözenekliliğe sahip kafes benzeri üç boyutlu bir ağ ile sonuçlanmaktadır (Khan ve ark., 2013; Ighalo ve ark., 2022; Jadhav ve ark., 2022; Ozyilmaz ve ark., 2022b; Ganiyu ve ark., 2023). ZIF-8'in içi boş ve gözenekli yapısı nedeniyle ondan hazırlanan kompozitler birçok alanda iyi uygulama olanakları sunmaktadır. Boş ZIF-8 ile karşılaştırıldığında yeni kompozit bileşikler, gaz depolama veya gelişmiş algılama (katalitik, optik, elektrokimyasal, iletim) yetenekleri açısından faydalar sunabilmektedir (Li ve ark., 2024). ZIF-8, eşsiz bir mimari ve fizikokimyasal özellik nedeniyle, son zamanlarda gaz depolama, biyokataliz, elektrokimyasal algılama, ilaç dağıtımı, sensör gibi çeşitli uygulamalarda önemli araştırma konuları arasında yer almaktadır (Ozyilmaz ve ark., 2021a; Ozyilmaz ve ark., 2021b; Paul ve ark., 2022).

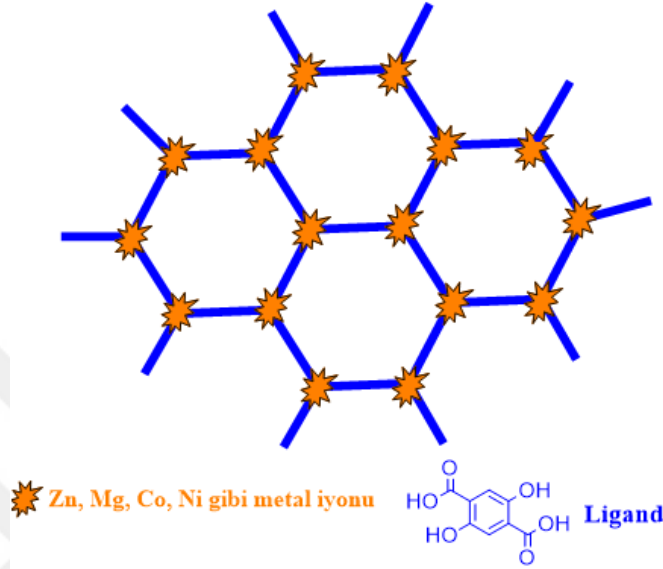


Şekil 1.12. ZIF-8'in yapısı (Ozyilmaz ve Caglar, 2023).

1.3.2.1.2. Zn-MOF-74

M-MOF-74 ise, iki değerli geçiş metalleri (M: Co, Fe, Ni, Mg ve Mn) ve 2,5-dihidroksitereftalik asit arasındaki koordinasyon etkileşimibile oluşturulmaktadır (Wang ve ark., 2018c; Karimi-Maleh ve ark., 2021). Özellikle MOF-74'ün tek boyutlu kanallarının yapısal özellikleri, 2,5-dihidroksitereftalik asit ile bağlanma mukavemetleri, tatmin edici iletkenlik ve kimyasal kararlılık sensör uygulamalarında önemli elektrokatalitik etki sağlayabilmektedir (Muratović ve ark., 2020; Karimi-Maleh ve ark., 2021). Yapılan çalışmalarla bu malzemelerin farklı oksidasyon reaksiyonlarında heterojen katalizörler olarak yüksek verime sahip olduğu açıklanmıştır (Ruano ve ark.,

2015; Flores ve ark., 2023). MOF-74'teki metal katyonları, kristalografik eksen boyunca çubuk benzeri oksometalik zincirler oluşturur, bunlar arasında karmaşık bir etkileşim vardır. Bu etkileşimler, kataliz için açık koordinasyon merkezi ve konuk molekül koordinasyonun sağlanmasında da avantaj sağlamaktadır (Rosi ve ark., 2005; Stolar ve ark., 2021).



Şekil 1.13. MOF-74'ün temsili yapısı (Kim ve Hong, 2021).

1.3.2.2. Zirkonyum Bazlı Metal Organik Kafesler

Zirkonyum (Zr) doğada ve tüm biyolojik sistemlerde yaygın olarak bulunmaktadır. Zr ile yapılan deneysel ve klinik araştırmalarda biyouyumlu malzemeler olduğu açıklanmıştır (Lee ve ark., 2010).

Zirkonyum bazlı metal-organik kafesler (Zr-MOF), çeşitli reaksiyonlar için umut verici heterojen katalizörler olarak kabul edilmektedir. Yapılan araştırmalarda bağlayıcıların eksikliğinden kaynaklanan kafes yapısındaki kusurlu bölgelerin, reaksiyon aktif bölgeleri olarak hareket edebildiği kanıtlanmıştır (Ozyılmaz ve ark., 2023). Zr'nin zengin içeriği ve düşük toksisitesi, Zr-MOF'ların geliştirilmesini ve uygulanmasını daha da kolaylaştırmaktadır (Lee ve ark., 2010; Bai ve ark., 2016a; Bai ve ark., 2016b).

Zirkonyum (Zr) bazlı MOF'lar, oldukça kararlı ve sağlam malzemelerin oluşumunu sağlayan Zr-O bağının olağanüstü gücü nedeniyle 2008'deki keşiflerinden günümüze artan ilgi görmekte ve bu bağ sayesinde olağanüstü stabilite sergilemektedir (Cavka ve ark., 2008; Feng ve ark., 2012; Qiao ve ark., 2020; Yuan ve ark., 2021;

Gimeno-Fonquernie ve ark., 2024). Tipik Zr kümesi, 12'ye kadar karboksilat grubunu koordine edebilen bir oktahedron oluşturan altı Zr atomundan oluşur ve bu da 4, 5, 6, 8, 10 ve 12 bağlantılı kümelerle çok çeşitli topolojilere neden olur (Chen ve ark., 2019; Gimeno-Fonquernie ve ark., 2024).

Zr-MOF nanokristalleri iyi topolojiler ve hidrofobiklikler ile yüksek su/termal stabiliteler sergilemektedir (Huang ve ark., 2017). Olağanüstü performansları, üstün termal ve kimyasal kararlılıkları, zengin yapı tipleri ve işlevleri nedeniyle oldukça ilgi çeken MOF türleri arasında yer almaktadır (Zou ve Liu, 2019; Yuan ve ark., 2021).

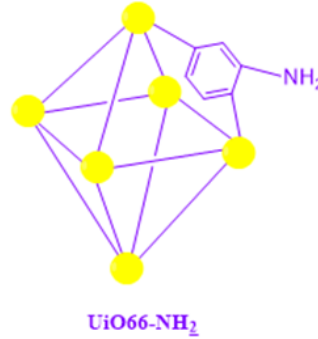
1.3.2.2.1. UiO-66-NH₂

Zr-O tek bağının güçlü etkileşiminden kaynaklanan bu MOF türleri, çok çeşitli ortamlarda kararlıdır. UiO-66, Zr⁺⁴ ve tereftalik asit (TA) bağlayıcısı arasındaki koordinasyondan üretilen zirkonyum bazlı bir MOF'tur (Keramatnia ve ark., 2024). Zr⁺⁴ metali ile karbonil grubu arasındaki güçlü sert asit-sert baz türü koordinasyon bağlarına sahip zirkonyum (IV)-karboksilat MOF (Zr-MOF) ailesinin olağanüstü kimyasal ve su stabilitesine sahip olduğu şu ana kadar yapılan araştırmalarda geniş çapta açıklanmıştır (Liu ve ark., 2015; Li ve ark., 2022).

UiO-66, çok yüksek yüzey alanına ve yüksek termal stabiliteye sahip bir MOF'tur. Kararlılığın, 1,4-benzendikarboksilik asit (BDC) koordinasyonu için 12 uzatma noktasına izin veren kübiktahedral metal oksit düğümünden kaynaklandığı bulunmuştur. Bu ve büyük ölçüde hem eksik küme hem de eksik bağlayıcı kusurlarının kusur kontrolünden kaynaklanan olağanüstü ayarlanabilirliği ve işlevselliği özellikleri ile, UiO-66 bilimsel araştırmalar için oldukça dikkat çekerek popülerlik kazanmıştır. Bu özelliklerin birleşimi, birçok farklı uygulamaya uyarlanabilen çok yönlü bir malzemeye olanak sağlamıştır (Winarta ve ark., 2019). UiO-66 ve türevleri, Zr-MOF ailesinin bir üyesidir. Hidrofilik yapıları sayesinde sulu ortamda kimyasal ve termal kararlılık göstererek enzim aktivitesinin korunmasına yardımcı olmaktadır. Bu nedenle, UiO-66 ve türevleri, enzim immobilizasyonu araştırmalarında enzim stabilitesini arttırmak için umut verici bir destek malzemeleri olarak kabul edilmektedir (He ve ark., 2014; Lázaro ve ark., 2017; Arcuri ve ark., 2018; Liang ve ark., 2019; Chen ve ark., 2020; Farboudi ve ark., 2020; Yang ve Yang, 2020; Cheng ve ark., 2021).

UiO-66-NH₂, Zr-MOF ailesinin bir üyesidir ve Zr-MOF'lar arasında, yapısında yer alan amino gruplarının etkisi diğer üyelere göre oldukça dikkat çekmektedir. UiO-66-NH₂'nin amino grubu, aldehit grubu, anhidrit, epoksi grubu vb. gibi diğer birçok

grupla reaksiyonlar için büyük bir aktiviteye sahiptir (Guo ve ark., 2021). UiO-66-NH₂ sinerjik etkisi, yüksek performanslı bir katalizör oluşturmada oldukça önemlidir (Huang ve ark., 2022).



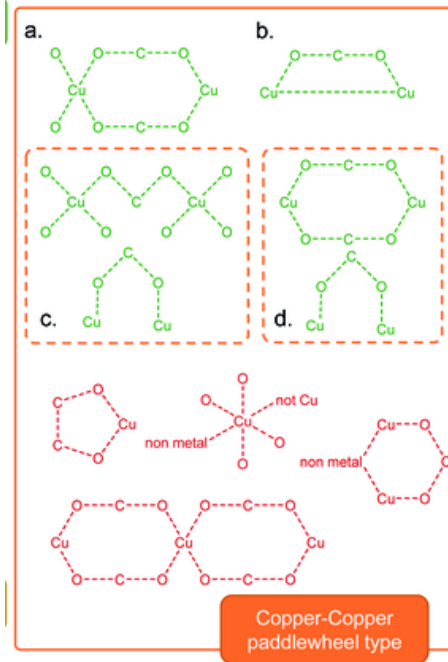
Şekil 1.14. UiO-66-NH₂'nin yapısı

1.3.2.3. Bakır Bazlı Metal Organik Kafesler

Bakır bazlı MOF'lar (Cu-MOF'lar), MOF'lar arasında mükemmel fizikokimyasal özelliklere sahiptir (Ambundo ve ark., 1999; Cun ve ark., 2022). Cu-MOF'lar, bakırın biyolojik rollerinin daha fazla tanınmasıyla artan bir ilgi görmektedir. Bakır mineral bir besin maddesidir ve solunum, metabolizma, hücre sinyalizasyonu ve benzeri çeşitli biyolojik süreçlere katılmaktadır (Ishida ve ark., 2013; Su ve ark., 2018; Cun ve ark., 2022). Cu^{2+/+}'nın benzersiz redoks kimyası, fotokimyasal ve elektriksel özelliği ve katalitik aktivitesi sayesinde ve çeşitli alanlarda ve biyomedikal uygulamalarda son zamanlarda oldukça ilgi görmektedir (Ambundo ve ark., 1999; Cun ve ark., 2022). Cu-MOF'lerdeki Cu⁺², kanser hücrelerinde önemli bir antioksidan molekül olan glutatyonu (GSH) oksitleyerek GSH içeriğini tüketebilir (Cun ve ark., 2022). Bu arada, bakır homeostazı organizmaların sağlığı için esastır; çok yüksek veya çok düşük bakır içeriği çeşitli hastalıklarla iç içedir. Lezyon bölgelerindeki anormal bakır seviyeleri ve metabolizmalar, kanser gibi bozuklukların tedavisi için ümit verici bir hedef olarak tanımlanmaktadır (Denoyer ve ark., 2015; Shao ve ark., 2019; Shanbhag ve ark., 2021; Cun ve ark., 2022). İndirgenmiş Cu⁺ ayrıca kanser hücrelerinde H₂O₂ ile reaksiyona girerek Fenton benzeri reaksiyonlar yoluyla kanser öldürücü ·OH üretebilir. İlk yapılan araştırmalarda, Cu-MOF'ların yüzeyindeki reaktif grupların (NH₂ veya COOH), gelişmiş fizyolojik kararlılığa veya diğer biyolojik işlevlere sahip kompozitler oluşturmak için diğer malzemelerle kimyasal olarak değiştirilebilecekleri belirtilmiştir. Son çalışmalarda da, aktif bölge metabolik kofaktöründen sinyal metali ve metalloallosterik düzenleyiciye kadar biyolojik işleve sahip olduğunu belirlenmiştir

(Krishnamoorthy ve ark., 2016; Xiao ve ark., 2018; Cun ve ark., 2022; Ge ve ark., 2022). Ayrıca, bazı bakır bazlı organik kompleksler doğal olarak biyoaktiftir, bu da biyolojik ligandlar tarafından hazırlanan biyoaktif Cu-MOF'ların büyük bir potansiyelini akla getirmektedir (Santini ve ark., 2014; Cun ve ark., 2022; Lu ve ark., 2022). Genel olarak, bakırın bu biyolojik özellikleri, Cu-MOF'lerin farklı biyomedikal amaçlara yönelik sağlam bir platform oluşturmalarını sağlamaktadır (Wang ve ark., 2021; Cun ve ark., 2022).

Bazı Cu-MOF'lar da enzim benzeri olağanüstü katalitik aktivite sergileyerek onları katalitik tümör tedavisi ve biyolojide cazip hale getirmektedir. Antikanser, antibakteriyel, biyosensör, biyokataliz, yara iyileşmesi, tümör tedavisi ve biyolojide de dahil olmak üzere biyomedikal uygulamalarda kullanılmaktadır. Buna ek olarak, Cu-MOF'lar orta derecede manyetik özelliklere ve iyi fototermal dönüşüm yeteneğine sahiptir, bu da manyetik rezonans görüntüleme ve fototermal tedavide potansiyel uygulamalarını belirlemektedir (Cun ve ark., 2022). Cu-MOF'un sinerjik etkisi, yüksek performanslı bir katalizör oluşturmada oldukça önemlidir (Amirzehni ve ark., 2021). Cu-MOF'ların tek başına biyomedikal uygulamadaki karmaşık ihtiyaçları karşılaması zordur. Örneğin, fizyolojik koşullardaki nispeten düşük stabilite, bunların doğrudan kanser tedavisi için kullanılmalarını zorlaştırmaktadır; çoğu Cu-MOF'un düşük elektro iletkenliği, yüksek verimli elektrokimyasal analizlerde doğrudan kullanımını sınırlamaktadır (Cun ve ark., 2022; Liu ve ark., 2022a; Zheng ve ark., 2022). Bu nedenle, Cu-MOF ve diğer malzemelerin, örneğin polimerin kompozitleri genellikle avantajlarını birleştirmek için üretilmektedir (Zhu ve Xu, 2014; Cun ve ark., 2022).



Şekil 1.15. Cu-MOF yapısı (Moghadam ve ark., 2020)



Şekil 1.16. Cu-MOF'un temsili yapısı

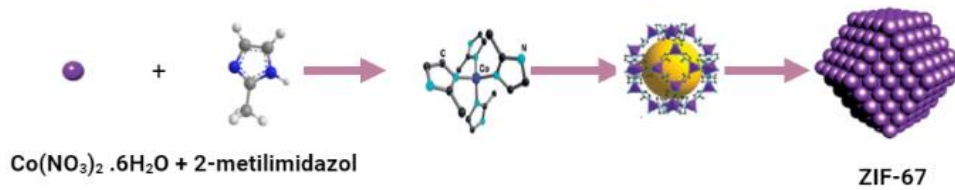
1.3.2.4. Kobalt Bazlı Metal Organik Kafesler

Geçiş metali bazlı MOF'lar, birçok araştırma grubu tarafından sıklıkla iyi özelliklere sahip, biyouyumlu malzemeler olarak incelenmektedir (Zhang ve ark., 2014b; Yang ve ark., 2017; Zheng ve ark., 2017; Hua ve ark., 2019). Kobalt bazlı metal-organik kafesler (Co-MOF'lar), son yıllarda araştırmacılar tarafından dikkat çeken inorganik malzeme sınıfıdır. Co-MOF'lar, kolaylıkla hazırlanabilmeleri, yüksek gözeneklilik ve ayarlanabilir yapılarının avantaj sağlamaları ile oldukça dikkat çekmektedir. Bununla birlikte, zayıf iletkenlikleri, bozulmamış Co-MOF'ların daha

geniş alanda kullanımının önündeki en büyük engellerden biri olarak belirtilmektedir (Zhou ve ark., 2022). Pratik uygulamalarda, Co-MOF tabanlı türevler, bozulmamış Co-MOF'ler ve bunların bileşiklerinden daha popüler görünmektedir. Öncül olarak kullanıldıklarında, Co-MOF'lar yaygın olarak Co-ilişkili oksitler, sülfürler veya farklı morfolojilere sahip diğer bazı formlar halinde sentezlenirler (Meng ve ark., 2013; Xu ve ark., 2016; Liu ve ark., 2017; Zou ve ark., 2017; He ve ark., 2018; Weng ve ark., 2018; Hua ve ark., 2019).

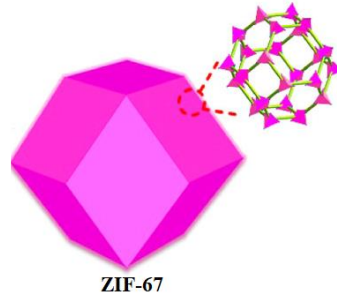
Co-MOF'ler ve bunların kompozitleri, genellikle malzemelerin genel özelliklerini iyileştirmek için diğer aktif bileşenlerle birlikte şablon rolü oynar (Hua ve ark., 2019).

ZIF-67, MOF'ların metal iyonuna göre Co-MOF'tur. Aynı zamanda ZIF ailesinin bir üyesidir. Co^{+2} iyonları ve imidazolün etkileşimi ZIF-67'nin yapısını oluşturmaktadır. Yapısını oluşturan kobalt iyonları kristal bir yapıya sahiptir (Gupta ve Murthy, 2022).



Şekil 1.17. ZIF-67'nin yapısının oluşumu

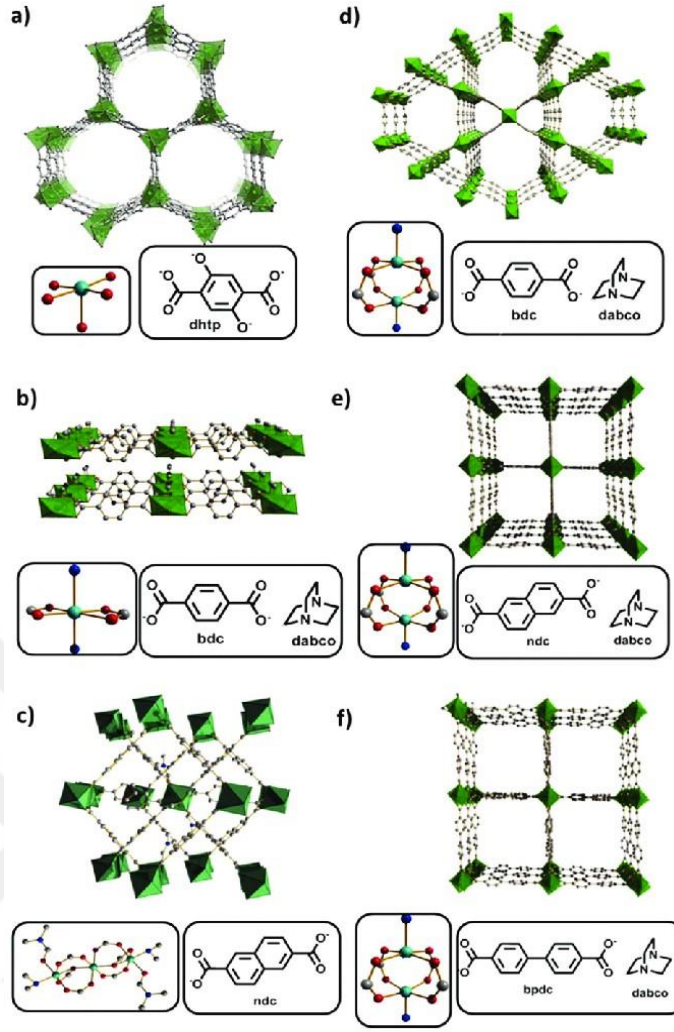
ZIF-67'nin yapısında sırasıyla yaklaşık 11,6 Å ve 3,4 Å gözenek açıklığı ve boşluğu gözlenmektedir (Lashgari ve ark., 2021). ZIF-67'nin yarı kararlı koordinat bağları nedeniyle, ligand değişimi, iyon değişimi veya kimyasal aşındırma reaksiyonları yoluyla diğer türler tarafından kolayca işlevselleştirilebilmektedir. Yüzey aktif bölgeleri de, yüzey özelliği ile yüksek oranda ilişkili olduğundan, ZIF-67'nin yüzey işlevselleştirmesi, ZIF-67'nin elektro-katalitik aktivitesini artırabilmekte (Sun ve ark., 2020a; Hu ve ark., 2023), geniş yüzey alanı, mikro gözeneklilik, kristallik, zengin yapısal çeşitliliği, çok çeşitli uygulamalar için olağanüstü termal ve kimyasal kararlılık gibi eşsiz özellikleri ile enzim immobilizasyonu için de büyük umutlar verdiği düşünülmektedir (Abdelhamid, 2021; Behera ve ark., 2022; Du ve ark., 2022; Ozyilmaz ve ark., 2022b).



Şekil 1.18. ZIF-67'nin yapısı (Tang ve ark., 2015).

1.3.2.5. Nikel Bazlı Metal Organik Kafesler

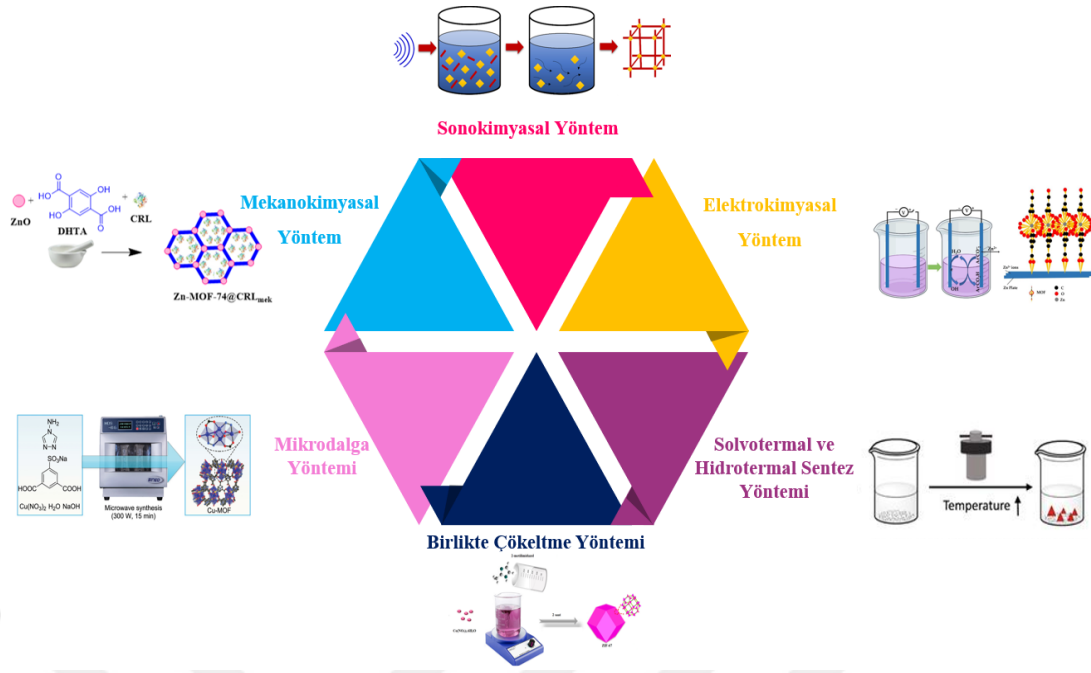
Nikel bazlı metal-organik kafeslerin (Ni-MOF'lar), yapısını oluşturan nikel (II) iyonları, düşük maliyetleri, iyi bollukları, daha iyi katalitik aktiviteleri ve elektrokimyasal özellikleri nedeniyle yaygın olarak bulunabilen bir geçiş metali iyonudur. Ni-MOF'lar, son yıllarda araştırmacılar tarafından dikkat çeken inorganik malzeme sınıfıdır (Chen ve ark., 2011; Wu ve ark., 2019; Liu ve ark., 2022b). Ni-MOF'lar, yüksek özgül yüzey alanı, yapısal çeşitlilik, ayarlanabilir çerçeve vb. gibi avantajlar sunarlar. Bu çeşitli malzeme sınıfı, katalitik aktivite sergilemekte, elektrokimyasal özelliklerinden dolayı da elektrokimyasal algılama, elektrik enerjisi depolama, elektrot yüzey değiştiricileri ve elektrokatalizör olarak kullanılmakta, elektrokataliz alanlarında da geniş uygulama kabiliyeti göstermektedir (Sheikh-Mohseni ve Nezamzadeh-Ejhi, 2014; Pourtaheri ve Nezamzadeh-Ejhi, 2015; Ahmadi ve Nezamzadeh-Ejhi, 2017; Li ve ark., 2022). Diğer Ni bazlı malzemelerle karşılaştırıldığında, çok boyutlu koordinasyon modellerine ve çeşitli yapılara, yüksek spesifik yüzey alanına ve büyük gözenek boyutuna sahip Ni-MOF'lar, hedef maddelerin difüzyonuna ve elektron transferine ve bol gözenek kanallarına ve katalitik aktif bölgelere elverişlidir. Hedeflenen madde için hızlı yanıtı yönelik olarak uygundur (Du ve ark., 2018; Liu ve ark., 2022b).



Şekil 1.19. Karşılık gelen metal kümeleri ve organik bağlayıcıları olan Ni-bazlı MOF yapıları (Arrozi ve ark., 2019)

1.4. Metal Organik Kafeslerin Sentez Yöntemleri

MOF'lar farklı metotlar kullanılarak sentezlenebilirler. MOF'lar sonokimyasal yöntem, elektrokimyasal yöntem, mikrodalga destekli yöntem, birlikte çökeltme yöntemi, mekanokimyasal yöntem, solvotermal ve hidrotermal yöntem gibi farklı teknikler kullanılarak sentezlenmektedir (Taghipour ve ark., 2018; Tajik ve ark., 2020; Vaitsis ve ark., 2020; Jadhav ve ark., 2022; Jasim ve ark., 2022; Zhang ve ark., 2022; Nath, 2024; Wen ve ark., 2024).



Şekil 1.20. MOF sentez yöntemleri (Liu ve ark., 2022a; Mohamed ve ark., 2022; Gatou ve ark., 2023; Ozyilmaz ve Caglar, 2023; Surya Babu ve ark., 2024)

1.4.1. Sonokimyasal Yöntem

Son 40 yılda sonokimya, ultrason etkisi ve akustik kavitasyon etrafında dönen iyi tanımlanmış bir teknik haline gelmiştir. Ultrasonlar, insan işitme sınırının (20 kHz) üzerindeki frekansları içermektedir. Kimya ve sentezde tipik değerler 1 MHz'e kadar çıkarken, tıpta cihazlar maksimum 20 Mhz'e kadar çalışmaktadır. Bu teknoloji, kimyasal sentez, biyoloji (mikrobiyal/enzim (in)aktivasyonu) ve tıptan, çevre korumaya (su arıtma, toprak dekontaminasyonu), gıda endüstrilerine ve kozmetiklere (örneğin emülsifikasyon) kadar geniş bir alana yayılmıştır (Vaitsis ve ark., 2020). Sonokimyasal reaksiyonlar üç farklı bölgede gerçekleşebilir. İlk bölge, aşırı sıcaklık (>5000 K) ve basınç koşulları (>1000 atm) tarafından dikte edilen bir mikro/nanoreaktör olarak görselleştirilebilen kabarcığın iç kısmıdır. İkinci bölge, kabarcık ile yığın çözücü arasındaki arayüzdür. Uçucu olmayan çözücülerin bu bölgede reaksiyona girme konusundaki göreceli verimlilikleri, gaz-sıvı arayüzünde birikme kabiliyetlerini belirleyen hidrofobikliklerine bağlıdır. Üçüncü bölge ise, yığın çözeltinin ortam sıcaklığında olduğu ve sıcak bölgelerde serbest radikallerin olduğu kabarcık çevresidir (Henglein, 1987; Vaitsis ve ark., 2020). Ayrıca, sonokimyasal süreçlerin verimini ve yönünü etkileyebilecek birkaç harici parametre vardır. Bu süreçler, helyum ve argon, kavitasyon için bir çekirdek görevi gördüklerinden, çözünmüş gaz kabarcıklarından

faaydalanabilir. Ultrasonların kimyasal süreçlerin çeşitli yönlerinde yaygın olarak kullanılması, MOF araştırmalarındaki muazzam artışla birlikte, daha kısa reaksiyon süreleri, faz seçiciliği ve ekil kontrolü elde etmek için MOF'ların sonokimyasal sentezini bir adım daha yaklaştırmıştır (Vaitsis ve ark., 2020).

Sonokimyasal teknikler, kısa reaksiyon süresi, düşük çalışma sıcaklığı ve basıncı, kontrol kolaylığı ve yüksek kaliteli ürünler dahil olmak üzere birçok olağanüstü özellik sağlamaktadır (Taghipour ve ark., 2018; Wang ve ark., 2020; Bhasha ve Balamurugan, 2021). MOF araştırmalarında ultrasonların uygulanması, esas olarak yüksek sıcaklıklara ve uzun reaksiyon sürelerine ihtiyaç duyan geleneksel yöntemlerin aksine, daha hafif koşullarla daha küçük partikül boyutuna olan ihtiyaın giderilmesine katkı sağlamıştır ve MOF'ların sentezinde de basit, etkili ve yaygın olarak kullanılan bir stratejidir. Homojen ve hızlı çekirdeklenmeye dayalı sonokimyasal yaklaşımlar kullanılarak, geleneksel solvotermal yaklaşımdan daha kısa bir kristalleşme süresi gerçekleşmekte ve ayrıca çok daha küçük parçacık boyutu da üretebilmektedir (Vaitsis ve ark., 2020).

1.4.2. Elektrokimyasal Yöntem

Özellikle, elektrot ve elektrolit arayüzünde gerçekleşen redoks reaksiyonları olarak tanımlanan elektrokimyasal reaksiyonlar, ilgili n gerilimdeki modifikasyonlar yoluyla reaksiyon hızının basitleştirilmiş kontrolü ve reaksiyon ürünlerinin yarı reaksiyonlardan uygun şekilde ayrılması gibi avantajlar nedeniyle umut vaat etmektedir (Tajik ve ark., 2020). Sonuç olarak, araştırmacılar elektrokimyasal sistemleri elektrokimyasal sensörler, süperkapasitörler, elektrokataliz, yakıt hücreleri, piller ve elektrokromik cihazlar da dahil çeşitli fonksiyonel uygulamalarda kullanmışlardır (Bard ve Fox, 1995; Steele ve Heinzl, 2001; Tarascon ve Armand, 2001; Simon ve Gogotsi, 2008; Benson ve ark., 2009; Mortimer, 2011; Anantharaj ve ark., 2016; Shao ve ark., 2016; Hwang ve ark., 2018; Tajik ve ark., 2020).

1.4.3. Solvotermal ve Hidrotermal Sentez Yöntemi

Metal, organik bağlayıcı, solvent konsantrasyonu, sıcaklık ve reaksiyon süresi gibi diğer reaksiyon koşulları, metal organik kafeslerin (MOF'ların) morfolojik ve yapısal özelliklerini belirlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu nedenle, kristallerin çekirdeklenmesi ve büyümesi, metal iyonlarının ve organik ligandın molar oranı, çözücü ve reaksiyon koşulları değiştirilerek MOF'ların gözenek boyutları ve özellikleri kontrol edilebilmektedir. Solvotermal ve hidrotermal sentez, MOF'ların sentezinde iyi

bilinen bir yöntemler arasında yer almaktadır (Farha ve Hupp, 2010; Jadhav ve ark., 2022).

1.4.3.1. Solvothermal Sentez

Solvothermal yöntem, hidrotermal yönteme benzerlik gösterse de sentetik prosedürde su yerine organik çözücülerin kullanılması ile hidrotermal yöntemden ayrılmaktadır. Yöntemde, reaksiyon ortamı olarak alkol ve gliserol kullanıldığı için reaksiyonlar sırasıyla alkolothermal ve glikothermal olarak adlandırılmaktadırlar. Bu sentez yöntemi, iyi kristal özelliklere sahip nano boyutta kristallerin hazırlanması için önemlidir (Zhong ve ark., 2011).

1.4.3.2. Hidrotermal Sentez

Hidrotermal yöntem, kristal tozların, kaplamaların ve tek kristallerin nispeten düşük sıcaklıklarda doğrudan çözeltiden elde edilebildiği bir işlemdir. Hidrotermal sentetik yöntem inorganik malzemelerin sentezlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Zheng ve ark., 2019; Zhang ve ark., 2020; Zheng ve ark., 2020; Zhang ve ark., 2022). Ham maddeleri çözelti haline getirmek için çözücüler seçilir, bunlar hidrotermal kazanda paketlenir ve 100-200°C'ye ısıtılır. Hidrotermal koşullar altında sentezlenen malzemeler mükemmel özellikler sergilemektedir (Cao ve ark., 2020; Zhang ve ark., 2020; Zhang ve ark., 2022). Reaksiyon işlemi sırasında, sistemdeki hidrotermal kazan kendi kendine oluşan belirli bir basıncı korur ve dengesiz hidrotermal sistemdeki su fazı yeniden reaksiyonu genellikle gözenekli nanomalzemeler üretebilir (Yang ve ark., 2022; Zhang ve ark., 2022). Bu yöntem kullanılarak, yüksek saflık, faz stabilitesi (stokiyometri) kontrollü parçacık boyutu ve dar boyut dağılımı ve kontrol edilebilir morfolojiler gibi üstün toz özelliklerine erişim sağlanmaktadır. Bu nedenle hidrotermal sentez, araştırmacıların/üreticilerin bazı teknolojik zorlukların üstesinden gelmelerine ve sürdürülebilir bir büyüme için yeni teknolojiler geliştirmelerine yardımcı olabilen önemli bir yöntemdir (Zhang ve ark., 2022; Gatou ve ark., 2023).

1.4.4. Birlikte Çökeltme Yöntemi

21. yüzyılın başlarında geliştirilen birlikte çökeltme yöntemi, en basit, uygun ve etkili bir yaklaşım olmasından dolayı birçok MOF'un sentezinde kullanılan en önemli yöntemlerden birisidir (Laurent ve ark., 2008; Jasim ve ark., 2022). Yöntem üç ana adımda gerçekleşir. Bu adımlar, doygunluk, çekirdeklenme ve büyümedir ve bu adımlar

sentezlenen malzemenin şeklini belirlemektedir. Yöntemde kullanılan tuzlar, çözeltinin pH'ı, ortam sıcaklığı ve iyonik kuvvet ise üretilen parçacıkların boyutunu, şeklini ve bileşimini etkilemektedir (Roostae ve Sheikhshoaie, 2020; Jasim ve ark., 2022). Birlikte çökeltme yöntemi iki basamaktan oluşmaktadır. İlk basamakta tür konsantrasyonu süperkritik doygunluğa yaklaştığında gerçekleşmektedir ve küçük çekirdekler yaratılmaktadır. İkinci basamakta ise, çözünen maddelerin kristal yüzeyine difüzyonu nedeniyle kristalin büyümesi gerçekleşmektedir (Roostae ve Sheikhshoaie, 2020; Jasim ve ark., 2022). Bu tekniği kullanmanın temel avantajı, çok sayıda nanoparçacık üretmesidir, ancak kinetik ajan kristal büyümesiyle düzenlendiğinden dolayı parçacık boyutu dağıtım kontrolü sınırlıdır (Dong ve Koenig, 2020; Jasim ve ark., 2022).

1.4.5. Mikrodalga Yöntemi

Alternatif bir ısıtma teknolojisi olan mikrodalga ısıtma, son yıllarda yaygın olarak kullanılmaya başlanan bir yöntemdir (Lin ve ark., 2011; Bu ve ark., 2018; Fei ve ark., 2018; Głowniak ve ark., 2021; Li ve ark., 2021; Qiao ve ark., 2021; Kishimoto ve ark., 2023; Wen ve ark., 2024)

Verimsiz bir ısı iletim sürecine (ekipmandan numuneye) dayanan geleneksel elektrikli ısıtma tekniğinin tam aksine, mikrodalgalar numuneler tarafından doğrudan adsorbe edilebilmekte ve dipol dönüşü ve iyonik iletim mekanizmaları yoluyla ısıya dönüştürülebilmektedir (Głowniak ve ark., 2021; Jia ve ark., 2021; Qiao ve ark., 2021; Wen ve ark., 2024) (Farklı ısıtma prensipleri göz önüne alındığında, mikrodalga destekli ısıtma kısa bir süre içinde (birkaç saniye / dakika) hızlı ısıtma sağlamaktadır, bu da tek atomlu katalizörlerin hazırlanması sırasında metal atomlarının göçünü ve toplanmasını etkili bir şekilde engellemektedir (Jia ve ark., 2021; Qiao ve ark., 2021; Wen ve ark., 2024) Hızlı kristal çekirdeklenme ve büyüme kinetiği, çok az ikincil ürün veya hiç ikincil ürün olmadan izole edilebilen, istenilen ürünlerin yüksek verimle elde edilmelerini sağlamaktadır. Mikrodalga ısıtma kullanılarak, MOF'lerin hazırlanması için hem ekonomik olarak hem de uygun süreler boyunca büyük miktarlarda izolasyonlarına yol açan iyi karakterize edilmiş materyallerin sentezleri yapılmaktadır. Bu teknikle ayrıca fonksiyonel cihazlarda doğrudan uygulama bulabilecek nano-boyutlu kristalitlerin büyümesi sağlanmaktadır (Klinowski ve ark., 2011).

1.4.6. Mekanokimyasal Yöntem

MOF sentezi için akademik araştırmalarda genellikle, düşük uzay-zaman verimi sunan ve genellikle pahalı organik çözücüler gerektiren, endüstriyel üretim için de uygun olmayan solvotermal yöntemlerin yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir. MOF'ların istenilen ölçekte ve maliyette üretilmesi, bu malzemelerin yeni teknolojilerde kullanılması için önemlidir (Stolar ve ark., 2021).

Mekanik kuvvetin aracılık ettiği kimyasal reaksiyonları kapsayan bir kimya dalı olan mekanokimya, olağandışı reaktivitesi, sentez süresi, yüksek ürün kalitesi ve sürdürülebilir üretim için güçlü potansiyeli nedeniyle son zamanlarda kimyasal sentezin ön saflarında yer alan önemli bir tekniktir (James ve ark., 2012; Tan ve ark., 2016; Do ve Frišćić, 2017; Frišćić ve ark., 2020; Ardila-Fierro ve Hernández, 2021; Stolar ve ark., 2021; Brekalo ve ark., 2022; Puccetti ve ark., 2022; Pourmadadi ve ark., 2023).

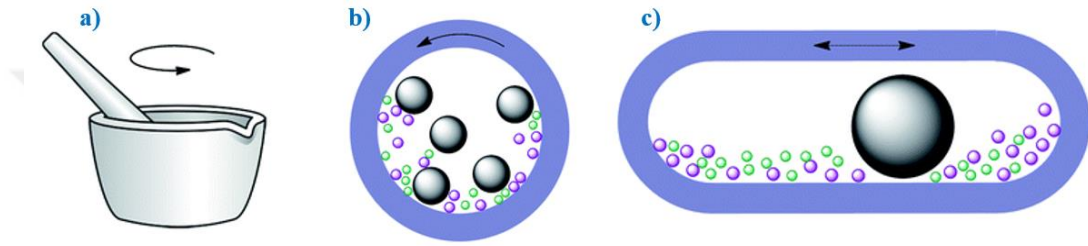
International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) mekanokimyasal reaksiyonu, “mekanik enerjinin doğrudan emilmesiyle indüklenen bir kimyasal reaksiyon” olarak adlandırmaktadır (McNaught ve Wilkinson, 1997; Tan ve Frišćić, 2018). Mekanokimyayı, "dünyamızı değiştirecek on kimyasal yenilikten" biri olarak adlandırmaktadır (Gomollón-Bel, 2019; Yang ve ark., 2024).

Mekanokimyayı diğer sentetik tekniklerden ayıran ve onu canlı bir araştırma alanı haline getiren şey, olağanüstü reaktivitesidir. Mekanokimyasal dönüşümler benzeri görülmemiş düzeyde bir seçicilik ve ürünün stokiyometrik bileşimi üzerinde kontrol sunar ve sadece öğütme ekipmanı ile doğrudan katalize odaklanan bir dal hızla gelişmektedir (Braga ve ark., 2007; Howard ve ark., 2018; Martinez ve ark., 2020; Martinez ve ark., 2023).

Mekanokimya, katı katalizörlerin sentezinde yaygın olarak uygulanan bir tekniktir. Yüksek yüzey alanı, düzgün gözenek boyutu, yüksek oranda dağılmış aktif metale ve hatta tek atomlu metale sahip katalizör, mekanokimyasal yaklaşımla sentezlenebilmektedir. Mekanik çalkalama, katalizöre, katalitik performansı üzerinde önemli etkiye sahip olan kusur oluşumu, yapısal düzenleme ve modifiye etkileşime yansıyan benzersiz özellikler kazandırabilmektedir. Mekanokimyasal yöntemle hazırlanan katalizörlerin eşsiz yapıları, olağanüstü katalitik aktiviteye ve katalitik reaksiyonda mükemmel stabiliteye yol açmaktadır (Yang ve ark., 2024).

Mekanokimyasal yöntem çevre dostu, basit, hızlı, atomik olarak ekonomik bir yöntemdir (James ve ark., 2012; Do ve Frišćić, 2017; Do ve Frišćić, 2017; Tan ve Frišćić, 2018; Ardila-Fierro ve Hernández, 2021; Stolar ve ark., 2021; Brekalo ve ark.,

2022; Puccetti ve ark., 2022). Yüksek verimlidir ve çok az solvent gerektirir veya hiç gerektirmez. Bu özellikler, mekanokimyayı sürdürülebilir ve çevre açısından faydalı, özünde yeşil bir sentetik yöntem yapmaktadır (Brekalo ve ark., 2022). İyi verim, hızlı sentez süresi ve yüksek ürün kalitesi, solvent içermeyen, çevre dostu mekanokimyasal tekniğin özellikleridir (Klimakow ve ark., 2010; Julien ve ark., 2016; Pourmadadi ve ark., 2023). Koordinasyon bağlarının mekanosentezinde, basit öğütme, sıvı yardımıyla öğütme sırasında tavlama, sıvı destekli öğütme ve iyon gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (Pourmadadi ve ark., 2023).



Şekil 1.21. Kimyasal reaksiyonların mekanik aktivasyonunun üç ana modunun şematik gösterimi: (a) harç ve havan tokmağıyla öğütme (''öğütme taşı'' aktivasyonu); (b) planeter bilyalı frezeleme; (c) bir karıştırıcı değirmende yüksek hızlı titreşimli öğütme (Leonardi ve ark., 2018)

Sürtünmeyi arttırmak için, özellikle sıvı başlangıç malzemeleri için, mekanik enerjinin transferine izin veren bir katının dahil edilmesi gerekli olabilmektedir (Leonardi ve ark., 2018).

Mekanokimyasal teknikler arasında en dikkate değer ve yaygın olarak kullanılan sıvı destekli öğütme tekniğidir. Bu teknikte küçük miktarlarda sıvı mekanokimyasal reaktiviteyi hızlandırmak, yönlendirmek veya genel olarak optimize etmek için katkı sağlamaktadır (Frišćić ve ark., 2006; Kaabel ve ark., 2020).

Genel olarak, MOF kompozitlerini mekanokimyasal olarak sentezlemenin üç yolu vardır:

- i) MOF öncülerinden fonksiyonel malzemelerle doğrudan sentez;
- ii) MOF'lerin ve fonksiyonel malzemelerin ayrı ayrı hazırlanması ve bunları mekanokimyasal olarak birleştirmeleri;
- iii) MOF'lerin substrat (kaplama) üzerinde birikmesi (Wang ve ark., 2023a).

Mekanokimya son 30 yılda, dökme katıların yeşil sentezi ve dönüşümü için yaygın olarak kullanılan ve güçlü bir araç haline gelmiştir (James ve ark., 2012; Boldyreva, 2013; Do ve Frišćić, 2017; Martinez ve ark., 2020; Michalchuk ve ark., 2021; Mannias ve ark., 2022; Martinez ve ark., 2023).

Heterojen katalizörler veya reaktifler, çevresel iyileştirme teknolojilerinde çok önemli bir rol oynamaktadır. Islak kimyasal çökeltme gibi geleneksel sentez yöntemleri ve hidrotermal sentez, uzun reaksiyon süreleri, enerji tüketen koşullar (örneğin, yüksek sıcaklık) ve büyük miktarda çözücüye ihtiyaç duyma gibi birçok dezavantaja sahiptir, bu da onları ne ekonomik ne de çevreci kılar. Mekanokimyasal sentez, aksine, yüksek düzeyde çok yönlülüğü, basitliği ve çevre dostu olması nedeniyle öne çıkmıştır. Çözücü, kimyasalların taşınmasında anahtar bir rol oynadığı için, sıvı fazda çözünme ve enerji dağılımı, kütle ve enerji taşınması, geleneksel kimyasal sentezde engellenebilmektedir. Buna karşılık, yüksek enerjili öğütme, katılar veya katılaşmış reaktifler arasındaki reaksiyonların solventsiz koşullarda gerçekleşmesini sağlayan karıştırma işleminde etkili bir araç olarak görev yapmaktadır (Rodríguez ve ark., 2007; Yin ve ark., 2022).

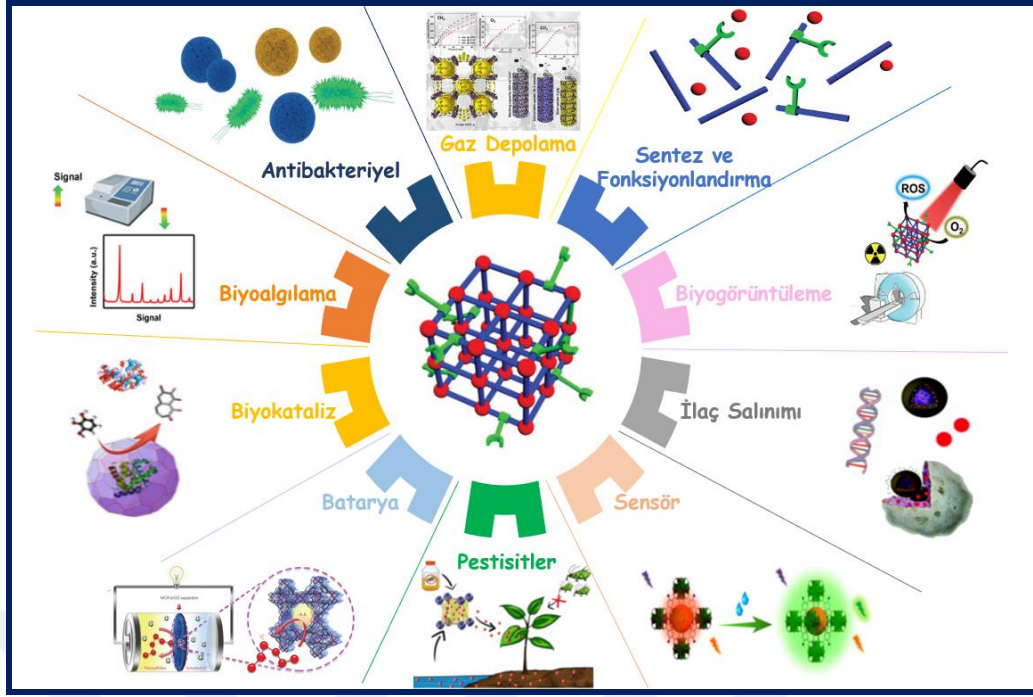
Yapılan araştırmalarda mekanokimyasal yöntemin yeşil kimya ilkelerine dayalı olarak, farklı biyokatalizörlerin uygulanmalarında sadece hedef ürünler üretip yan etkileri azaltmakla kalmayıp, aynı zamanda seçiciliği ve aktiviteyi de arttırdığı belirtilmiştir. Ayrıca enzim bazlı biyokatalizörlerin, yüksek katalitik performanslarının, çevre dostu reaksiyon sistemleri ve seçicilikleri nedeniyle çok ilgi çekici olduğu vurgulanmıştır. İmmobilizasyon, enzimlerin stabilitesini ve tekrar kullanılabilirliğini geliştirmek için uygun bir yaklaşım olarak gösterilmiştir (Gan ve ark., 2021). Mekanokimya, metalurjide yoğun bir şekilde uygulanan bir yöntemdir (Suryanarayana, 2001; Amrute ve ark., 2021). Ancak son zamanlarda organik, organometalik, inorganik kimya ve malzeme mühendisliği dahil olmak üzere birçok farklı yönden araştırmacıları kendine çekmiştir (James ve ark., 2012; Amrute ve ark., 2021).



Şekil1.22. Yaygın olarak kullanılan öğütme ekipmanı. (a) Havan ve tokmak, (b) otomatik havan, (c) dikey titreşimli mini değirmen, (d) titreşimli mikro değirmen, (e) titreşimli bilyalı değirmen, (f) sıcaklık kontrollü titreşimli bilyalı değirmen, (g) gezegen bilyeli değirmen, (h) çoklu numune alma değirmeni ve (i) sürekli mekanokimyasal sentez için çift vidalı değirmen (Wang ve ark., 2023a).

1.5. Metal Organik Kafeslerin Kullanım Alanları

Metal organik kafesler (MOF'lar), eşsiz özellikleri ile birçok uygulama için oldukça dikkat çeken gözenekli malzemelerdir. Sahip olduğu özellikleri ile son yılların önemli araştırma konuları arasında yer almaktadır. Antibakteriyel, gaz depolama, biyogörüntüleme, ilaç salınımı, batarya, sensör, pestisit araştırmaları ve biyokataliz gibi birçok alanda da kullanılmakta ve araştırmalar devam etmektedir (Alezi ve ark., 2015; Bai ve ark., 2016a; Yang ve Yang, 2020; Zheng ve ark., 2020; Al Sharabati ve ark., 2022; Mahmoud ve ark., 2022) (şekil 1.23)



Şekil.1.23. MOF'un kullanım alanları (Alezi ve ark., 2015; Bai ve ark., 2016a; Yang ve Yang, 2020; Zheng ve ark., 2020; Al Sharabati ve ark., 2022; Mahmoud ve ark., 2022)

1.5.1. Antibakteriyel

Bakteriyel enfeksiyonlar insan hastalık ve ölümlerinin ana nedenidir. Her yıl milyonlarca ölüme neden olmaktadır. Bakteriyel enfeksiyon, insan yaşamının her alanında insan sağlığını ciddi şekilde tehlikeye atmaktadır ve dünyanın karşı karşıya olduğu en ciddi tehditlerden biridir (Guo ve ark., 2020; Guo ve ark., 2024). Antibiyotiklerin keşfinden bu yana, bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde geniş spektrumlu etkilere sahip çok sayıda antibiyotik kullanılmıştır. Ancak geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın kullanımıyla birlikte bakterilerin ilaç direnci giderek artmış ve antibakteriyel tedavi ciddi bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir (Guo ve ark., 2024).

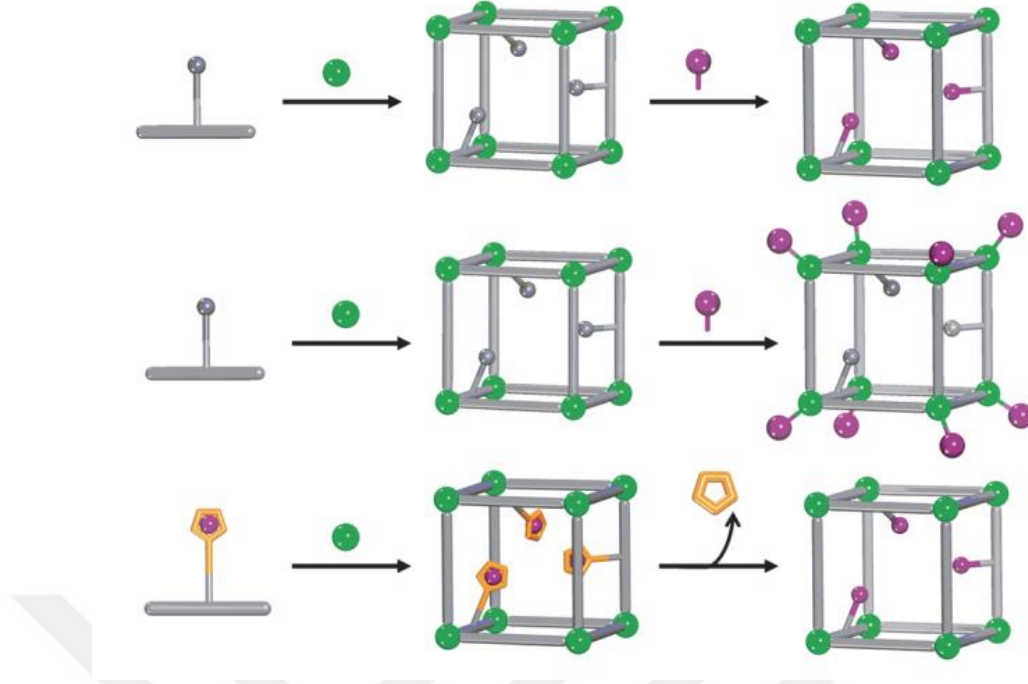
Antibiyotiklerin yaygın kullanımıyla birlikte giderek daha ciddi bakteriyel direnç sorunlarına yol açan antimikrobiyal tedavi, küresel bir endişe haline gelmiştir. MOF'lar, proteinler ve polisakkaritler gibi biyomakromoleküllerle kompozit malzemeler oluşturabilen, metal iyonları ve organik ligandların etkileşimleri ile oluşan düşük yoğunluklu gözenekli koordinasyon malzemeleridir. Son yıllarda MOF'lar ve türevleri antibakteriyel alanda etkili antibakteriyel ajanlar olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Guo ve ark., 2024).

Geleneksel antibakteriyel ilaçlarla karşılaştırıldığında, MOF bazlı antimikrobiyal malzemelerin aşağıdaki özelliklere sahip oldukları belirlenmiştir:

1. Daha yüksek spesifik yüzey alanı ve gözenekliliklerinden dolayı, MOF'lar metal iyonları veya bakterisidal fonksiyona sahip antibakteriyel ilaçlarla yüklenebilmekte ve stimülasyonla (pH ve lazer ışınlaması gibi) yavaşça salınabilmektedir (Guo ve ark., 2020; Wang ve ark., 2020; Guo ve ark., 2024).
2. Çeşitli metaller ve bağlayıcılar kullanılabildiğinden dolayı, yüksek düzeyde biyouyumlu MOF'lar için toksik olmayan veya daha az toksik öncüller seçilebilmektedir (Ma ve ark., 2021; Guo ve ark., 2024).
3. Yapılarında yer alan bol yüzey aktivite grupları, MOF'ların değiştirilme ve bakteriyel enfeksiyon bölgelerine hedeflenme ve yüklü antibakteriyel ilaçları serbest bırakma yeteneğine sahip olmasını sağlamaktadır (Cao ve ark., 2022; Guo ve ark., 2024).
4. İlk olarak, gözenekli yapı antibakteriyel ajanların (örneğin, metal/metal oksit nanopartiküller, antibiyotikler, antibakteriyel peptitler ve doğal antibakteriyel maddeler) etkili bir şekilde kapsüllenmesi için faydalıdır ve duyarlı bozunabilir yapı, gerektiğinde metal iyonlarının, organik ligandların ve antibakteriyel ajanların kontrollü veya yavaş salınımını sağlamaktadır. İkinci olarak, kolay modifikasyon ve işlevselleştirme özellikleri biyouyumluluğu ve biyolojik olarak parçalanabilirliği artırmaktadır. Buna ek olarak, yeni simüle edilmiş katalizör aktivitesi, kemodinamik terapi (CDT) veya fotodinamik terapi (PDT) yoluyla reaktif oksijen türleri (ROS) üretebilir, böylece patojenlere oksidatif stres oluşturabilir ve MOF'lar ayrıca fototermal terapi (PTT), PDT, CDT ve sonodinamik terapi (SDT) dahil olmak üzere kombine antibakteriyel özellikler de uygulayabilmektedir (Terzopoulou ve ark., 2020; Guo ve ark., 2024).

1.5.2. Sentez ve Fonksiyonlandırma

MOF'ların bir başka ilginç yönü de MOF'ları fonksiyonel gruplarla birleştirmektir. Bu fonksiyonel gruplar, MOF sentezi sırasında veya sonrasında organik bağlayıcılara bağlanır. Bu bağlanma, verimli ve özelliğe özgü MOF'ların sentezine yol açar. MOF'ların fonksiyonlandırılması temel olarak yüzey adsorpsiyonu, kovalent bağlanma, gözeneklerin kapsüllenmesi ve yapı taşı olarak fonksiyonel moleküller gibi dört stratejiyi içermektedir (Fatima ve ark., 2023). MOF'ların fonksiyonlandırılması ile, köprü ligandlarının omurgasına piridil, metil, bromür, hidroksil, etilen ve amino gibi ikame fonksiyonel gruplarının eklenmesiyle yapılabilmektedir (Cai ve ark., 2020; Fatima ve ark., 2023).



Şekil 1.24. MOF'ların post-sentetik modifikasyonu (Carreon ve Venna, 2020)

1.5.3. İlaç Salınımı

Hastalıkların tedavisine yönelik ilaçlar, insan vücuduna girdikten sonra kontrolsüz bir şekilde yayılma ve salınma eğilimi gösteren çeşitli faktörlerden etkilenmektedir (Xing ve ark., 2024). İlaç dağıtım sistemleri üzerine yapılan çalışmalar, geleneksel formülasyonların olağan dezavantajlarının üstesinden gelmeyi amaçlamıştır. Geleneksel formülasyonlarla ilgili sorunlar arasında sürekli ilaç uygulaması, seçicilik eksikliği ve vücuttaki biyolojik engelleri aşmanın zorluğu yer almaktadır (Piazza ve ark., 2024). MOF'lar, bu faktörlerin etkisinin giderilmesinde duyarlı sistemin geliştirilmesinde, kontrollü salınımında önemli etkilere sahiptir (Xing ve ark., 2024).

MOF'lar, sundukları çeşitli metal öncülleri ve organik ligandlardan dolayı ilaç dağıtımı için tercih edilen önemli malzemelerdir. Organik ligandlar supramoleküler düzenleyiciler olarak görev alırlar ve aynı zamanda fizikokimyasal özellikleri de önemli ölçüde etkilemektedirler. Karboksilat, fosfat, sülfat ve çeşitli heterosiklik bileşikler gibi ligandların kullanımı, çeşitli fonksiyonel grupları ve kimyasal özellikleri nedeniyle büyük önem taşımaktadır ve MOF'ların özel özelliklere sahip tasarımını ve sentezini mümkün kılmaktadır (Lu ve ark., 2014; Simon-Yarza ve ark., 2018; Benny ve ark., 2024). MOF'lar fonksiyonel grupları değiştirme ve gözenek boyutunu ayarlama yeteneğine sahiptir, bu nedenle ideal ilaç dağıtım malzemeleri olarak düşünülebilir. İlaçlar genellikle MOF'lara tek kap sentezi, yüzey adsorpsiyonu, sentetik sonrası

kapsülleme ve kovalent bağlantı dahil olmak üzere çeşitli yollarla dahil edilir (Lawson ve ark., 2020; Wang ve ark., 2020). Tek-kap sentezinde, MOF ve ilaç molekülleri sentez işlemi sırasında birleştirilir. Bu teknik kullanarak, MOF'un gözenek boyutundan daha büyük ilaçları hapsedmek ve zamanından önce sızmalarını önlemek mümkündür. Yüzey adsorpsiyonları, ilaç moleküllerinin bir MOF yüzeyine doğrudan reaksiyon karışımı içinde bağlanmasıyla gerçekleştirilebilir. Diğer tekniklerin aksine, yüzey yüklemesi sıklıkla daha düşük ilaç yüklemesine ve ilacın MOF'tan hızlı bir şekilde salınmasına yol açar. Ayrıca, sentez sonrası kapsülleme, ilaç moleküllerinin sentezden sonra MOF'ların gözenekleri içine yüklenmesini içeren en esnek ve etkili teknik olarak kabul edilmektedir (Sun ve ark., 2020b).

İlaçların kovalent bağlarla MOF'a bağlanması, oldukça seçici kanser gibi hastalıkların hedeflenmesi için başka bir stratejidir. Ancak, yalnızca benzersiz fonksiyonel gruplar ($-SO_3H$, $-COOH$, $C=O$ gibi) içeren sınırlı ilaç molekülleri kovalent bağ yoluyla güçlü etkileşimler oluşturabilir. En son bulgular, ilaçların düzenlenmiş koşullar altında yerel olarak verilebileceğini, bunun da tedavi etkinliğini artırabileceğini ve yan etkileri en aza indirebileceğini göstermektedir (Fatima ve ark., 2023).

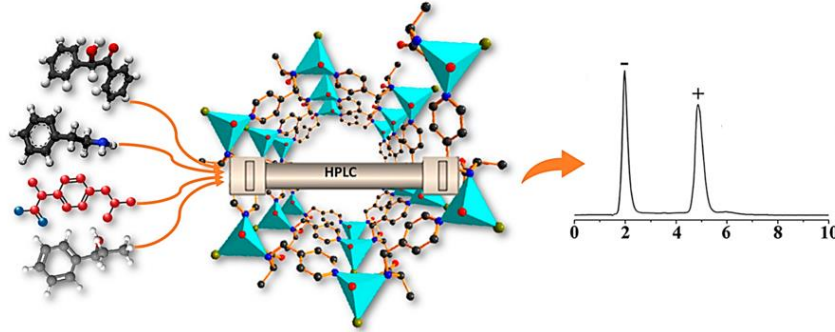
1.5.4. Enantiyoseçimli Reaksiyonlarda Kullanımı

Kiralite doğanın en temel özelliklerinden biridir. Kiral moleküler enantiyomerler birbirlerinin örtüşmeyen ayna görüntüleridir (Aizawa ve ark., 2023; He ve ark., 2023; Miao ve ark., 2024). Kiralite, bir molekülün ayna görüntüsünün kendisiyle çakışmaması ve bu ayna molekül çiftinin zıt optik dönüşlere sahip olması anlamına gelir; bu durumda bunlara toplu olarak enantiyomerler denir (Fan ve ark., 2024). Enantiyomerler, çok benzer fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olmalarına rağmen genellikle biyolojik aktivite, farmakolojik etkiler vb. açısından büyük farklılıklar veya zıtlıklar gösterirler (Basheer ve Ali, 2018; Suttipat ve ark., 2020; Fan ve ark., 2024)

Kiral fenil aromatik bileşikler doğada yaygın olarak bulunur. Tipik kiral özelliklere sahiptir ve bunların enantiyomerleri arasında biyolojik aktivite ve uygulama açısından önemli farklılıklar vardır (Miao ve ark., 2024).

Hormonlar, proteinler, amino asitler ve kiral ilaçlar da dahil olmak üzere en önemli biyolojik bileşikler kiraldır ve birçok biyolojik ve metabolik süreç, yukarıda bahsedilen belirli kiral moleküler sistemler tarafından yakından düzenlenmektedir (Zhou ve ark., 2015; Xing ve ark., 2021; Fan ve ark., 2024). İlaç pazarındaki ilaçların da

neredeyse yarısı kiraldır; bir formu güvenilir ve emniyetliken, diğer formu ise mutajenik, etkili olmayan ve hatta zehirlidir (Mane, 2016; Bukhari, 2023).



Şekil 1. 25. Kiral Algılama ve Ayırma için Metal-Organik Çerçevesel Tabanlı Analitik Cihazlar (Hassanpour ve ark., 2022) .

1.5.4.1. Naproksen

Steroid olmayan antiinflatuar ilaçlar (NSAID'ler), analjezik, antipiretik veya antiinflatuar etkileri olan bir farmasötik sınıftır (Liang ve ark., 2021b; Mo ve ark., 2021; Kim ve ark., 2024). Naproksen, insanların ve hayvanların tedavisinde yaygın olarak kullanılan, diklofenak, ibuprofen vb. dahil olmak üzere, steroid olmayan anti-inflatuar bir ilaçtır (NSAID) (Todd ve Clissold, 1990; Ríos ve ark., 2022; Wang ve ark., 2023b) Ucuzdur, reçetesiz satılmaları ve yan etkilerinin az olmasından dolayı sıklıkla kullanılmaktadır (Ghazali ve ark., 2024).

Naproksen, birçok ülkede reçetesiz satıldığı için de dünyada en çok tüketilen ilaçlardan birisidir (Ríos ve ark., 2022). İlaç, romatoid artrit, osteoartrit, ankilozan spondilit ve eklem dışı romatizma gibi birçok romatizmal hastalıkta, akut travmatik yaralanmalarda ve migren, gerilim tipi baş ağrısı, ameliyat sonrası ağrı, doğum sonrası ağrı ve çeşitli jinekolojik prosedürlerle ilişkili ağrı gibi akut ağrıların tedavisinde ve profilaksisinde etkilidir (Todd ve Clissold, 1990). α -metil-6-metoksi-2-naftilasetik asit, (S)-(+)-2-(6-metoksi-2-naftil)-propiyonik asit (Naproksen) 2-aril propiyonik asit türevlerinin grubunda yer almaktadır (Li ve ark., 2023a). Düşük toksisitesi, nispeten az komplikasyonu ve iyi tolere edilebilirliği nedeniyle Naproksen, dünyadaki en baskın ve en çok satan ilaçlardan biri haline gelmiştir (Han ve Küçüküzgel, 2020; Li ve ark., 2023a) Günde bir veya iki kez uygun bir dozda kullanılarak ağızdan veya rektal yoldan uygulanabilmektedir (Todd ve Clissold, 1990) Naproksen ayrıca birincil veya ikincil

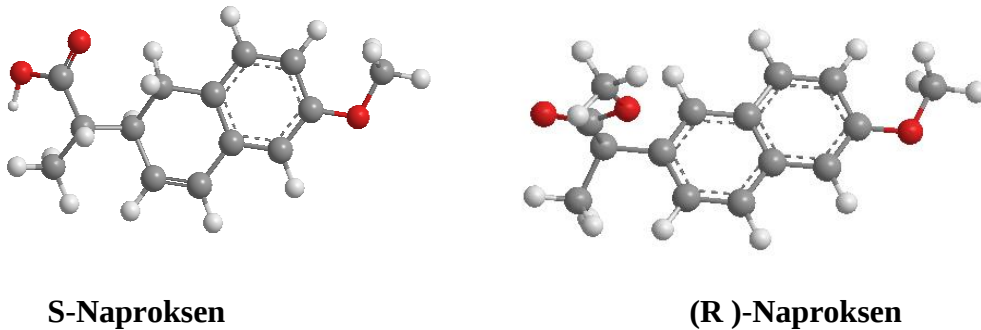
dismenorenin ağrısı ve ilişkili semptomların tedavisinde de etkilidir ve menorajisi olan hastalarda aşırı kan kaybını azaltmaktadır. Naproksenin yan etki profili incelendiğinde, özellikle birçok yeni NSAİİ ile karşılaştırıldığında, iyi belirlenmiş ve ilacın iyi tolere edildiği gözlenmiştir (Todd ve Clissold, 1990). Aynı zamanda diğer anti-inflamatuar ilaçlardan farklı olarak düşük vasküler risk oluşturduğu için yüksek kardiyovasküler riski olan hastalarda osteoartrit tedavisinde kullanılabilecek bir ilaçtır (Angiolillo ve Weisman, 2017; Dilekoglu ve Yapici, 2023).

Enantiyoseçimlilik, birçok ilacın kiral bileşikler olması ve bunların enantiyomerlerinin farklı farmakolojik ve/veya farmakokinetik etkiler sergileyebilmesi nedeniyle farmasötik endüstrisinin kritik bir yönüdür. Örneğin bir enantiyomer istenen terapötik etkiye sahip olabilirken diğeri olumsuz yan etkilere neden olabilmekte ve hatta toksik olabilmektedir (Hancu ve Modroiu, 2022; Orlandini ve ark., 2022; Dobó ve ark., 2023). Etkisiz enantiyomerler sadece ilaçların etkinliğini etkilemekle kalmayacak, aynı zamanda vücutta olumsuz yan etkilere veya toksisiteye de neden olacaktır (Tokunaga ve ark., 2018; Yang ve ark., 2019; Seebauer ve ark., 2022; Li ve ark., 2023a).

Naproksen'in, etkinliğinin farklı optik izomerler arasında önemli ölçüde değiştiği iyi bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda, (S)-naproksen enantiyomerinin, ağrıyı azaltmak için yaralanma bölgesindeki prostaglandin üretimini azalttığı, (R)-naproksen izomerinin ise karaciğer için toksik olduğu belirlenmiştir (Todd ve Clissold, 1990; Naghdi ve Fakhari, 2022)

Yapılan araştırmalarda, S- Naproksen'in antiinflamatuar aktivitesinin, R- Naproksen'in yaklaşık 28 katı olduğu belirlenmiştir (Han ve Küçükgülzel, 2020; Li ve ark., 2023a)

Şekilde Naproksenin 2 formu ve üç boyutlu molekül gösterimi yer almaktadır.



Şekil 1.26. Naproksenin üç boyutlu molekül dizilimi

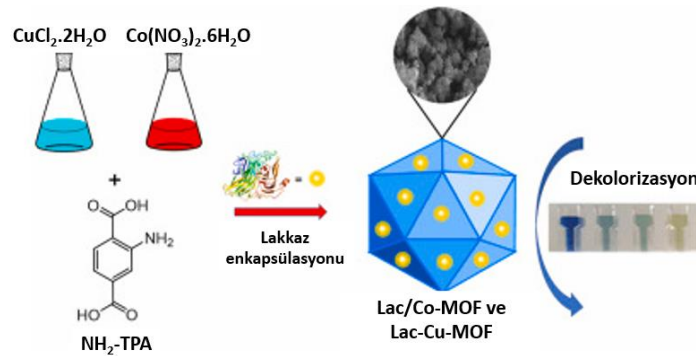
(S)-Naproksenin endüstriyel üretimi klasik rezulasyon prosesi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Harrington ve Lodewijk, 1997).

1.5.5. Biyokataliz

Biyomakromoleküllerin ve hatta tüm hücrelerin katalize ettiği biyotransformasyonu kolaylaştırabilen biyokataliz, kataliz endüstrilerinin vazgeçilmez bir parçasıdır (Schmid ve ark., 2001; Benkovic ve Hammes-Schiffer, 2003; Liu ve ark., 2018; Fan ve ark., 2024).

Biyokatalizörlerin nanomalzemelerle immobilizasyonu, biyokatalizin gelişimini önemli ölçüde teşvik etmiş ve günümüzde onu kataliz endüstrilerinin vazgeçilmez bir parçası haline getirmiştir. Organik bağlayıcılar ve metal iyonları veya kümelerinden oluşturulan MOF'lar, son yıllarda biyokatalizörlerin immobilizasyonuna yönelik önemli ilgi uyandırmıştır (Liu ve ark., 2021b).

MOF'lar yüksek yüzey alanları, ayarlanabilir gözenek boyutları ve katalitik aktiviteleri nedeniyle biyokatalizde büyük potansiyel göstermiştir. MOF'lar enzimleri kapsüllemek, zorlu ortamlardan korumak ve enzim stabilitesini ve aktivitesini geliştirmek için kullanılmıştır (Feng ve ark., 2022; Felix Sahayaraj ve ark., 2023).



Şekil 1.27. Tekstil boyalarının biyokatalitik olarak uzaklaştırılması için lakkaz-metal-organik kafes hibrit yapıların tasarımı (Birhanlı ve ark., 2022) .

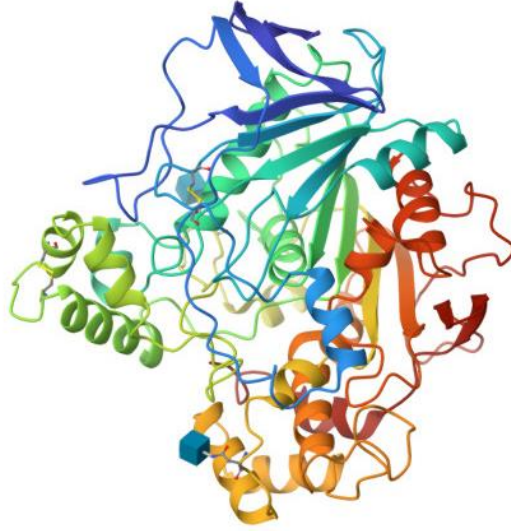
Enzimler, reaksiyonların aktivasyon enerjisini azaltan ve böylece organizmalardaki tüm biyokimyasal reaksiyonları etkileyen katalitik proteinlerdir. En yaygın olanları polimerazlar, karbonhidrazlar, nükleazlar, lipazlar ve proteazlar olan enzimler bitkilerde, hayvanlarda ve mikroorganizmalarda bulunur (Bullo ve ark., 2024). Yüksek enantioseçicilikleri nedeniyle esas olarak enantiyopür organik bileşiklerin

sentezinde kullanılırlar, bu da daha az yan ürün ve rasemik karışım oluşumu ile üretim süreci gerektiren oldukça spesifik maddelerin üretilmesini mümkün kılarlar (Hauer, 2020; Bullo ve ark., 2024).

Enzimler ayrıca olağanüstü ürün seçicilikleri, yüksek verimleri ve düşük enerji maliyetlerine yol açan daha hafif reaksiyon koşullarında çalışma kapasiteleri nedeniyle endüstriyel proseslerde geniş uygulama alanı bulmaktadır (Gog ve ark., 2012; Chapman ve ark., 2018; Bullo ve ark., 2024). Günümüzde, kimyasal kullanımını azaltmaya yönelik artan ihtiyaç, enzimlerin biyolojik olarak parçalanabilirliği ve ekolojik özellikleri ile birleştiğinde, bu malzemeleri endüstriyel pazarda umut verici alternatifler haline getirmektedir (Bullo ve ark., 2024).

Lipazlar (EC 3.1.1.3), sulu olmayan ortamlardaki reaksiyonları katalize etme yetenekleri nedeniyle endüstriyel alanda öne çıkan bir enzim sınıfıdır (Bullo ve ark., 2024). Bu enzimler triaçilgliserollerin gliserol ve yağ asitlerine hidrolizini ve su-lipit ara yüzeyinde mono- ve diaçilgliserolleri katalize ederler (Stergiou ve ark., 2013; Thangaraj ve Solomon, 2019; Chandra ve ark., 2020; Bullo ve ark., 2024). Hidroliz, alkoliz, esterleşme, transesterleşme, asidoliz ve aminoliz de dahil birçok farklı reaksiyonu katalize etmek için kullanılan önemli enzimlerdir (Bornscheuer, 2003; Dhake ve ark., 2011; Verdasco-Martin ve ark., 2016; Yıldız ve ark., 2017; Ozyilmaz ve Eski, 2020; Ozyilmaz ve ark., 2021b; Ozyilmaz ve ark., 2022b).

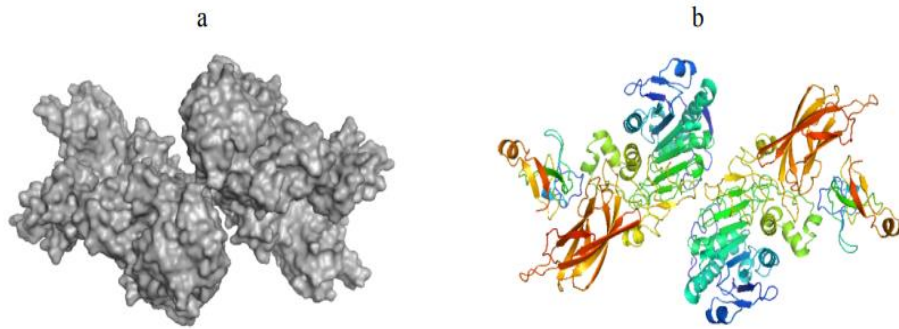
Candida rugosa lipaz (CRL, EC 3.1.1.3), geniş spesifikliğe, seçiciliğe, stabiliteye ve esterifikasyon, transesterifikasyon ve hidroliz gibi endüstriyel biyotransformasyon reaksiyonlarını katalize etme kapasitesine sahip mikrobiyal lipazlardır (Boudrant ve ark., 2020; Sharma ve ark., 2024).



Şekil 1.28. *Candida rugosa* lipazın yapısal durumu (Grochulski ve ark., 1994)

CRL, katalitik glutamin, histidin ve serin (Glu-His-Ser) üçlüsüne sahip bir kapak ile 31 amino asitten oluşan aktif bir bölgeye sahiptir (Yılmaz ve ark., 2009; Ozyilmaz ve ark., 2022b). Kapağın iç yüzeyi hidrofilik, dış yüzeyi ise hidrofobik olup açık ve kapalı olmak üzere iki farklı yapıya sahip olabilir (Mathesh ve ark., 2016; Ozyilmaz ve Eski, 2020; Ozyilmaz ve ark., 2022b) CRL katalitik etkilerini heterojen reaksiyon sistemlerinin substrat-su arayüzünde gerçekleştirir (Mosmuller ve ark., 1993; Ozyilmaz ve Eski, 2020; Ozyilmaz ve ark., 2022b) Genellikle lipazların açık formu, hidrofobik yüzeylerin varlığında kapağın hareket etmesiyle oluşur ve enzim aktivitesi artar (Manoel ve ark., 2016; Ozyilmaz ve ark., 2022b).

Porcine Pankreatik lipaz (PPL), diğer ticari mikrobiyal ve hayvan lipazlarıyla karşılaştırıldığında daha ucuz olan, biyotransformasyon reaksiyonlarında en yaygın kullanılan lipazlardan biridir. *Porcine Pankreatik* lipaz, 449 amino asitin yer aldığı tek bir zincirden oluşmaktadır (De Caro ve ark., 1981).



Şekil 1.29. *Porcine pankreatik* lipazın 3D görüntüsü ve yapısal durumu

PPL'den elde edilen ham ekstrakt preparasyonu, kirletici maddeler olarak önemli sayıda başka hidrolaz (esterazlar, amilazlar ve proteazlar) içermektedir. Ancak bu lipazın yarı saflaştırılmış formunun fiyatı yüksektir (Faber ve Faber, 2004; Mendes ve ark., 2012). PPL'nin ayrıca erişilebilirliği (uluslararası pazarda çeşitli tedarikçiler tarafından ticarileştirilmektedir), yüksek stabilitesi ve doğal olmayan substratların biyotransformasyonuna yönelik geniş özgüllüğü nedeniyle endüstriyel uygulamalar için çok çekici olduğu düşünülmektedir (Bagi ve ark., 1997; Bagi ve Simon, 1999; Paula ve ark., 2007; Caballero ve ark., 2009; Mendes ve ark., 2012). PPL'nin yüksek seçiciliği, solventlere karşı büyük toleransı, yüksek katalitik aktivitesi ve düşük su konsantrasyonlarında yüksek sıcaklıkta termal stabilitesi nedeniyle organik ortamda mikrobiyal lipazlardan daha avantajlı olduğu bildirilmektedir (Zaks ve Klivanov, 1985; Mendes ve ark., 2012)

Önemli reaksiyonların katalizlerinde kullanılsalar da lipazların düşük operasyonel stabilitesi ve tekrar kullanılabilirliğinin zorluğundan dolayı, endüstriyel uygulamalarında problemler ile karşılaşmaktadır (Facin ve ark., 2019; Ozyilmaz ve ark., 2021d).

Enzimlerin konformasyonel yapılarının korunması, tekrar kullanılabilirliklerinin sağlanması için uygun maliyetli, çevreye duyarlı yeni yöntemlere ihtiyaç gün geçtikçe artmaktadır (Sheldon ve Brady, 2022).

Serbest lipazların endüstrilerde kullanımı yeniden kullanılabilirlik eksikliği, düşük geri kazanım oranı ve daha az operasyonel, termal ve depolama stabilitesi gibi dezavantajlarından dolayı sınırlıdır. Bu da onları maliyetli hale getirmektedir (Rodríguez-Salarichs ve ark., 2021; Sharma ve ark., 2024). Ayrıca serbest formdaki enzimler, substratlar ve hatta ürünler tarafından kolaylıkla inhibe edilebilmektedir (Sharma ve ark., 2024). İmmobilizasyon yöntemi ile, lipaz termal strese karşı dirençli hale getirerek ve konformasyonel bozulmasını önleyerek bu dezavantajların üstesinden gelinebilmektedir. Yeşil ve sürdürülebilir ürünlerin sentezi için lipaz immobilizasyonu için kapsülleme, kovalent bağlama ve çapraz bağlama gibi farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bununla birlikte, immobilizasyondan sonra CRL, difüzyon sınırlaması ve sterik engelleme nedeniyle aktivitesini etkileyen biyokimyasal, kimyasal ve kinetik özelliklerde birçok değişikliğe uğramaktadır (Arana-Peña ve ark., 2021; Sharma ve ark., 2024). Enzim immobilizasyonu, enzimin geri kazanımı ve yeniden kullanımı problemini çözmek ve ayrıca süreçlerin daha basit kontrolünü sağlamak için geliştirilen önemli bir yöntemdir (DiCosimo ve ark., 2013; Liese ve

Hilterhaus, 2013; Sampaio ve ark., 2022). Bir biyoprosesin uygulanmasında enzim immobilizasyonu gerekli bir adım olabileceğinden, birçok araştırmacı bu gerekliliği diğer enzim sınırlamalarına çözümle üretmeye çalışmıştır (Sampaio ve ark., 2022) Endüstriyel lipazların performansını iyileştirmek için de immobilizasyon teknikleri gibi tekniklerin kullanımı oldukça önemlidir (Ozyilmaz ve ark., 2022b).

Enzim gibi biyomoleküllerin serbest durumları, immobilize enzimler ile karşılaştırıldığında, elde edilen kompozitlerin, önemli ölçüde geliştirilmiş termal, kimyasal ve hatta mekanik stabiliteye sahip olması ve böylece endüstride çalışma koşullarının önemli ölçüde genişletilmesi, in vitro ve in vivo potansiyel uygulamalarda kullanım alanlarını genişletmesi düşünülmektedir (An ve ark., 2019).

İyi tanımlanmış gözenek ve kristal yapısı, uygun biyouyumluluk ve son derece yüksek yüzey alanı gibi eşsiz özellikleri ile MOF'ların enzimlerin stabilitelerinin artırılması için gerekli olan immobilizasyon işleminde, immobilize enzimin yeni ideal destek maddeleri olması beklenmektedir (An ve ark., 2019; Du ve ark., 2022; Li ve ark., 2022). Yüksek spesifik yüzey alanı ve esnek gözenek boyutu ayarı özellikleri, MOF'ları immobilize enzimler için mükemmel taşıyıcılar haline getirir. MOF-enzim biyokompozitlerinin bir diğer dikkate değer avantajı, gelişmiş stabilite ve yeniden kullanılabilirlik ile birlikte mükemmel biyokatalitik özellikler sergileyebilmeleridir (Xia ve ark., 2024).

Enzimlerin gözenekli katılar içerisinde immobilizasyonu sadece yapısal stabilizasyon sağlamakla kalmaz, aynı zamanda enzim inaktivasyonunun temel nedenlerine karşı ilgi çekici koruyucu etkiler de sağlamaktadır (Le ve Compton, 2021; Degórska ve ark., 2023; Mirsalami ve ark., 2024). Enzimlerin üç boyutlu yapısının stabilizasyonu, stabil enzim ile destek materyali arasında çoklu bağların kurulması yoluyla sağlanmaktadır (Zhao ve ark., 2023; Mirsalami ve ark., 2024). Enzimler düzgün bir şekilde dağıldığında ve gözenekli katı dış katmana güçlü bir şekilde bağlandığında, reaksiyon karışımına katılan organik çözücülerin neden olduğu yoğunluğun yanı sıra aşırı pH koşullarının ve diğer faktörlerin olumsuz etkilerinden korunmaktadırlar. Ayrıca, bozulma etkileşimlerine yol açabilecek hidrofobik arayüzlerin varlığı, çözünmeyen içerikler veya hava/oksijen cepleri, özellikle hafif çalkalama hızlarında biyokatalizörlerin geçirgen gözenekli kombinasyonunda engellerle karşılaştığından en aza indirilmektedir (Mirsalami ve ark., 2024).

Enzimlerin immobilizasyonu için fiziksel adsorpsiyon, kovalent bağlanma, dahil olmak üzere farklı yöntemleri kullanılmaktadır (Saddique ve ark., 2024).

Destek materyali olarak kullanılan malzemenin lipazın aktivitesinin yanında kinetik özellikleri üzerinde de önemli bir etkisi bulunmaktadır. Bu nedenle immobilizasyon yönteminde, ideal destek materyalinin seçimi immobilizasyon için önemli bir parametredir (Sharma ve ark., 2024). Destek materyalinin özellikleri, enzimlerin mikroçevrelerine duyarlılığı ve destek materyali ve enzimlerin arasındaki etkileşimler, enzimlerin aktivitesini derinden etkilenmektedir (Liu ve ark., 2022a; Weng ve ark., 2024). Son yıllarda özellikleri ile oldukça dikkat çeken MOF'lar enzimlerin immobilizasyonu için ideal destek malzemeleri olarak düşünülmektedir (Saddique ve ark., 2024).



2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

21. yüzyılın harika malzemesi olan metal organik kafesler (MOF'lar), keşiflerinden günümüze, geniş spesifik yüzey alanları, yüksek gözeneklilikleri, esnek boyutları, kolay yapısal modifikasyonları ve çeşitli işlevsellikleri gibi eşsiz özellikleri, farklı sentez metotları, farklı disiplinler ve farklı uygulamalarda kullanımları ile özellikle son yıllarda oldukça dikkat çeken hibrit yapılı, gözenekli malzemelerdir (Li ve ark., 2024; Nath, 2024).

2.1. Metal Organik Kafeslerin Enzim İmmobilizasyonunda Kullanımları

Yüksek verimli biyokatalizörler olarak enzimler, ılımlı koşullar altında olağanüstü aktivite ve seçici özelliklerle çeşitli reaksiyonları katalize etmede mükemmeldirler. Bununla birlikte, bunların geniş uygulamaları, düşük termal stabilite, sınırlı pH toleransı ve organik çözücülere ve denatürantlara karşı hassasiyet dahil olmak üzere doğal kırılganlıkları nedeniyle engellenmektedir. Enzimlerin MOF'lar içinde kapsüllenmesi, onları bu zorlu ortamlarda denatürasyondan koruyabilmektedir. Ancak bu genellikle enzim aktivitesinin bozulmasına yol açar. Son yıllarda, MOF'lar içindeki enzimatik aktiviteyi arttırmaya yönelik kapsamlı araştırma çabaları sarfedilmiş olup, bu çabalar yalnızca katalitik potansiyellerini korumakla kalmayıp aynı zamanda serbest muadillerinden daha iyi performans gösteren yeni enzim-MOF kompozitlerinin geliştirilmesine yol açmıştır (Weng ve ark., 2024).

2.2. Mekanokimyasal Yöntem ile Enzim İmmobilizasyonu Çalışmaları

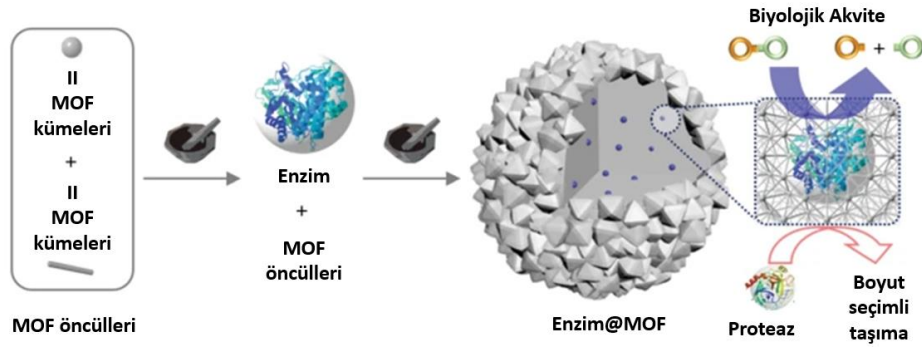
Son yıllarda gözenekli malzemeler kimya, fizik, biyokimya ve malzeme bilimi gibi alanlarda büyük ilgi görmektedir (Li ve ark., 2021). MOF'lar, gözenekli koordinasyon polimerleri olarak da adlandırılan, reaksiyona giren birimlerin kendi kendine birleşmesi temelinde inorganik ve organik türler arasındaki koordinasyon bağıyla oluşturulan kristal yapılı gözenekli malzemelerdir (Kim ve ark., 2022). MOF'ların yapılarını oluşturan güçlü metal iyonları ve organik liganlar arasındaki geometrik koordinasyon etkileşim boyutlarını ve özelliklerinin belirlenmesinde oldukça önemlidir (Ma ve ark., 2020; Jin ve Shang, 2021). MOF'lar farklı yöntemler kullanılarak sentezlenebilmektedir. Mekanokimyasal yöntem de bu sentez yöntemlerinden birisidir (Nath, 2024).

Mekanokimyasal sentez, yeni malzemeler elde etmek, maliyetleri ve süreleri sınırlamak için güçlü bir yaklaşımdır (Sala ve ark., 2024). Mekanokimyasal sentez, bir

kimyasal reaksiyonu başlatmak için solventsiz öğütmeyi içerir. Çoğunlukla koordinasyon polimerleri ve MOF'lar olmak üzere birkaç hibrit malzeme ailesinin yeşil ve verimli oluşumu için kullanılan bir yöntemdir (McHugh ve ark., 2022). Son yıllarda yapılan çalışmalar, mekanokimyasal yaklaşımın, MOF'ların ve bunların kompozitlerinin büyük miktarlarda ve düşük maliyetle sentezine olanak tanıyan çevre dostu bir sentetik süreç olduğunu ortaya koymaktadır (Nath, 2024).

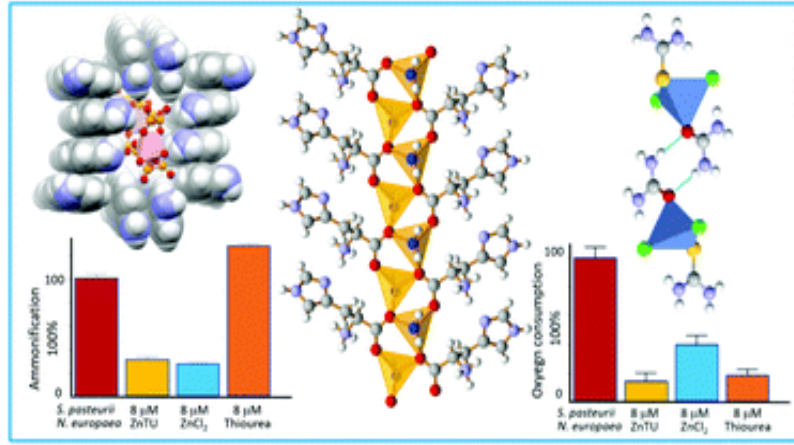
Metal-organik çerçeveler (MOF'ler) son zamanlarda çekici bir katı substrat olarak dikkat çekmeye başlamıştır çünkü yüksek oranda ayarlanabilir MOF çerçevesi yalnızca inert bir konakçı olarak hizmet etmekle kalmaz, aynı zamanda enzimlerin seçiciliğini, stabilitesini ve/veya aktivitesini de arttırmaktadır (Ozyilmaz ve Caglar, 2023).

Wei ve ark., yaptıkları araştırmada, enzimleri sağlam MOF'lara kapsüllemek için mekanokimyasal bir strateji kullanmanın avantajlarını göstermek istemişler ve P-glukosidaz, invertaz, p-galaktosidaz ve katalaz gibi bir dizi enzimi, bilyalı öğütme işlemi yoluyla ZIF-8, UiO-66-NH₂ veya Zn-MOF-74 içinde kapsüllemişlerdir. Katı hal mekanokimyasal stratejisi hızlı olduğunu ve sentez sırasında organik çözücülerin ve güçlü asitlerin kullanımını en aza indirerek, enzimatik biyolojik aktiviteyi korurken enzimlerin üç prototip sağlam MOF'ye kapsüllenmesine olanak tanıdığı belirtmişlerdir. İmmobilize enzimin aktivitesi gösterilmiş ve asidik koşullar altında bile proteazlara karşı artan direnç gösterdiği bulunmuştur. Bu çalışmanın çeşitli endüstriyel işlemlerde uygulanmak üzere MOF içinde biyomolekül içeren bir kompozit paketinin oluşturulmasına yönelik bir adımı temsil ettiği belirtilmiştir (Wei ve ark., 2019).



  kil. 1.30. Biyokatalizörlerin sağlam metal-organik   r  velere hızlı mekanokimyasal enkapsülasyonu (Wei ve ark., 2019).

Grepioni ve ark., 2022 yılında yaptıkları araştırmada mekanokimyasal solvent içermeyen veya bulamaç yöntemleriyle elde edilmiş ve katı hal teknikleri kullanarak, alkali ve geçiş metal halojenürleri gibi inorganik tuzların, amino asitler,   re, tiyoüre ve kuaterner amonyum tuzları gibi organik bileşiklerle birlikte kristalleştirilmesi gerçekleştirmiş, katı hal teknikleri kullanılarak da karakterize etmişlerdir. Bunları (1) rasemik bileşiklerden kiral çözünürlük ve konglomera oluşumu, (2)   re ayrışmasını ve   vre kirliliğini azaltmak için toprak enzim aktivitesinin inhibisyonu ve (3) antimikrobiyal direncin üstesinden gelmek için yeni ajanların hazırlanması gibi amaçlar için başarıyla kullanılabileceği bir dizi örnek aracılığıyla göstermişlerdir. Çalışmanın temel fikrinin, organik ve inorganik bileşikler arasındaki moleküller arası etkileşimlerin (koordinasyon ve hidrojen bağları) seçimine dayanan bir kristal mühendisliği yaklaşımının, farklı ve genellikle ayrı bileşenlerinkinden çok daha üstün kolektif özelliklere sahip malzemelerin elde edilmesine olanak sağlaması olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, bu stratejinin başarısının, bu yeni materyallerin biyoinorganik, mikrobiyoloji ve kiralite uygulama odaklı geliştirmeleri alanlarında uzman bilim insanlarıyla disiplinler arası sinerjik alışverişe önemli ölçüde bağlı olduğu da gösterilmiştir (Grepioni ve ark., 2022).

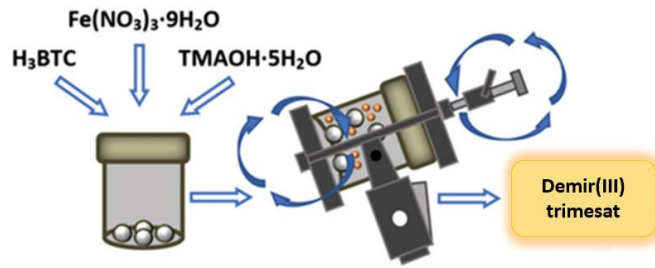


Şekil 1.31. Doğadan ilham alan inorganik kristal mühendisliğine doğru adımlar (Grepioni ve ark., 2022).

Issaka ve ark. 2023 yılında yaptıkları araştırmada, katalizör olarak yaygın doğa, verimlilik ve seçicilik, enzimleri kimyasal sentezlerde ve ilaç dağıtımında vazgeçilmez kıldığını belirtmişler, enzimin kullanımının, kırılğan doğaları ve yüksek maliyetleri nedeniyle engellendiği ve bu nedenle bunların MOF'ler içine kapsüllenmesinin, enzim aktivitesinin maksimum düzeyde tutulmasını sağlamak ve analitlerin enzim aktif bölgelerine ve enzim aktif bölgeleri için dağılımını garanti etmek için çok önemli bir strateji olduğunu vurgulamışlardır. Yaptıkları çalışmada, ZIF-8'in verimli katalitik aktivitesi, yüksek termal ve kimyasal stabilitesi nedeniyle biyosensör ve biyokataliz için çekici bir enzim taşıyıcısı olduğu belirtilmiştir. ZIF-8 genel olarak bir solvotermal prosedür yoluyla üretildiği, ancak mikrodalga, mikrodalga destekli, iyonotermal, mekanokimyasal, buhar destekli ve sonokimyasal sentez gibi diğer sentez yöntemlerinin de kullanıldığı açıklanmıştır. Oda sıcaklığında sentezin daha çevre dostu bir yöntem olması ve bu nedenle harika uygulamalara sahip olduğu belirtilmiştir. Issaka ve ark., yaptıkları araştırmada, ZIF-8'in sentezlenmesinde yer alan çeşitli mekanizmaların ana hatlarını çizmiş, adı geçen yöntemleri karşılaştırmış ve kolorimetrik analizler için ZIF-8@enzim taklitlerinin kullanımını tartışmışlardır. Metalloenzimlerin, doğal enzimlere göre daha üstün oldukları için dikkat çektiği, demir porfirin türevi hem, hemeproteinlerin aktif bölgesini içerdiği, bu aktif bölgenin peroksidaz benzeri aktiviteyi taklit ettiği, hem merkezinin, kristaller oluşturmak ve onları korumak için ZIF-8 ile kapsüllendiği belirtilmiştir. Bu stratejinin, doğal peroksidazda görülen katalitik aktiviteleri taklit etmedeki mükemmel nitelikleri nedeniyle yaygın olarak kullanıldığı açıklanmıştır. Görsel kolorimetrik biyokatalitik algılama için daha büyük katalitik

aktivite sağlayan protein-ZIF-8 hibrit amalgamları, ZIF-8'in bir enzim immobilizasyon matrisi ve floresan söndürücü olarak kullanılmasıyla artan ilgiyi çekmiştir (Issaka ve ark., 2023).

Mannias ve ark. yaptıkları araştırmada, demir(III)trimesat metal-organik kafesin biyo-dostu koşullara istisnai bir uyarlanabilirliğine işaret etmişlerdir. Bu, yapının biyomedikal uygulamalar için biyomoleküllerin tek kap immobilizasyonu açısından özellikle cazip olduğu, sentezin oda sıcaklığında sadece 1 saat içinde ek çözücüler olmadan yeşil, biyouyumlu koşullar altında mekanokimyasal yaklaşımla gerçekleştirildiğı belirtilmiştir. Çalışmada çözelti bazlı yöntemlerin aksine, kafesi oluşturmak için çözücülerin gereksiz olduğı kanıtlanmıştır. Malzemenin mikro yapısı ve termal kararlılığının pH'dan etkilenmediğı, tersine, dokusal özellikler sadece baz miktarı değiştirilerek ayarlanabileceğı açıklanmıştır (Mannias ve ark., 2023).



Şekil. 1.32. MOF'ları Biyomedikal Uygulamalara Uyarlamak: Bir Hayalet mi yoksa Somut Bir Gerçeklik mi? Biyo-dostu Mekanosentez ile Fe-BTC'nin Vaka Çalışması (Mannias ve ark., 2023).

MOF'ların sentezi sırasında enzimlerin mekanokimyasal kapsüllenmesinin, desteklenen enzimatik katalizörlerin sentezlenmesinde doğal, ekonomik, yeni ve çevre dostu bir adım olduğı düşünülmektedir. Ozyılmaz ve Caglar, yaptıkları çalışmada ilk kez *Candida rugosa* lipazının (CRL) immobilizasyonu için mekanokimyasal teknik kullanmış ve çinko bazlı iki MOF tipi (Zn-MOF-74 ve ZIF-8) sentezlemişlerdir. Hazırlanan immobilize enzimlerin (Zn-MOF-74@CRL ve ZIF-8@CRL) enzim kinetiğı ve immobilizasyon parametreleri (pH, sıcaklık, termal stabilite ve tekrar kullanılabilirlik) incelenmiştir. Hazırlanan immobilize enzimler FTIR, SEM ve XRD teknikleri ile karakterize edilmiş. Zn-MOF-74@CRL'nin katalitik aktivitesinin ZIF-8@CRL'ninkinden altı kat daha yüksek olduğı belirlenmiş. Beş kez tekrar kullanımdan sonra Zn-MOF-74@CRL ve ZIF-8@CRL'nin aktivitelerinin sırasıyla %81 ve %73

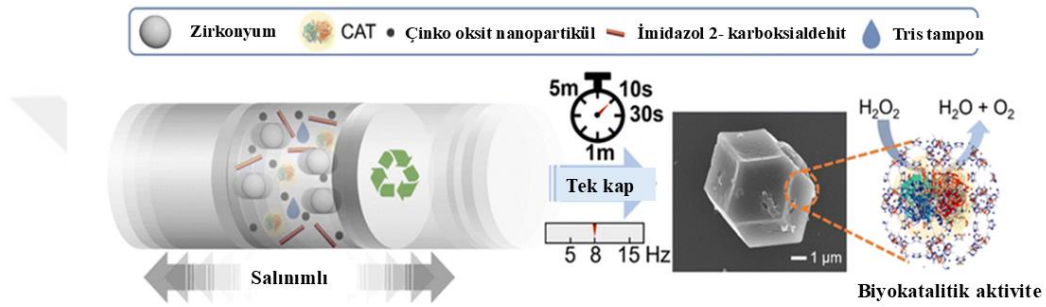
korunduğu bulunmuş. 120 dakika süreyle 60°C'ye tabi tutulduktan sonra ZIF-8@CRL ve Zn-MOF-74@CRL, aktivitelerini sırasıyla %65 ve %73'te koruduğu belirlenmiştir. Ayrıca rasemik naproksen metil esterin enantiyoseçici hidroliz reaksiyonu, model reaksiyon olarak seçilmiş. Zn-MOF-74@CRL'nin ZIF-8@CRL'den ($E = 136$) daha iyi enantiyoseçiciliğe ($E = 245$) sahip olduğunu gözlenmiştir. Bu çalışma ile, mekanokimyasal yöntemle üretilen MOF'ları kullanarak ilaç endüstrisi için mükemmel katalitik özelliklere sahip biyokatalizörler oluşturmanın mümkün olduğunu belirtilmiştir (Ozyilmaz ve Caglar, 2023).



Şekil 1.33. Mekanokimyasal yöntem ve iki çinko bazlı metal organik kafes (ZIF-8 ve Zn-MOF-74) kullanılarak, immobilize enzimlerin Rasemik Naproksen metil esterinin enantiyoselektif hidroliz reaksiyonunda kullanımı (Ozyilmaz ve Caglar, 2023).

Sürdürülebilir ve verimli bir yaklaşım olan mekanokimya, artık MOF'lar (enzim@MOF'lar) içindeki enzimler gibi biyokatalizörleri kapsüllemek için kullanılmaktadır. Bununla birlikte, biyokatalizör ve endüstriyel MOF üretiminin iyileştirilmesini azaltma potansiyeline sahip, ultra hızlı, çevre dostu ve yüksek verimli enzim@MOF sentezinin elde edilmesi zorlu olmaya devam etmektedir. Lam ve ark. yaptıkları araştırmada, bir MOF alt ailesi olan zeolitik imidazolat çerçeve-90 (ZIF-90) içindeki tek kapta mekanik kapsülleme enzimini incelemişlerdir. Az miktarda (~100 ul) Tris tampon çözeltisinin yardımıyla, 8 Hz veya daha düşük frekanslarda yalnızca 10 saniyede önemli bir verim (yaklaşık %80) elde edilmiş, hidrojen peroksitin parçalanmasından sorumlu olan kapsüllenmiş katalaz (CAT) enzimi, mekanik işlemten sonra biyoaktivitesini korumuş, ek olarak enzimin boyut koruma etkisine bağlı olarak sindirime karşı koruma (örneğin proteinaz K) kazandığı görülmüş. Enerji aktarımı

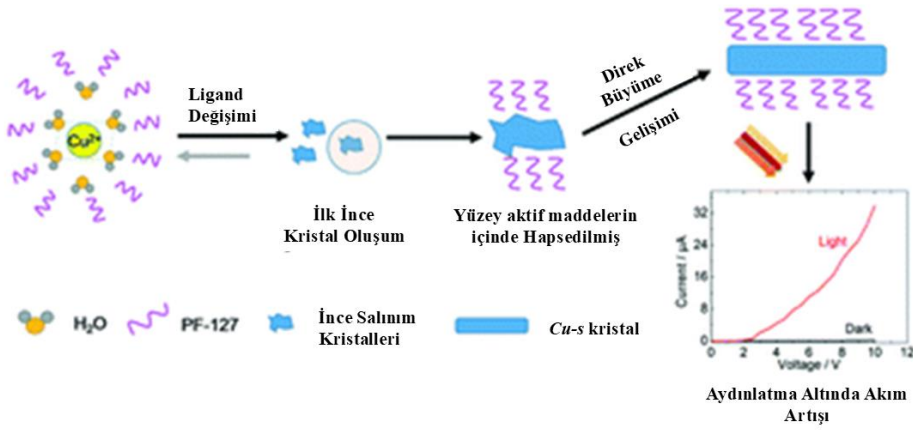
simülasyonları ve deneysel bulgular, birincil aminler içeren bir tampon çözeltisinin, bağlayıcı deprotonasyonunu etkilediğini, dolayısıyla ultra hızlı öğütme reaksiyonları sırasında ZIF-90 enzimi kristallerinin iyi tanımlanmış bir 3 boyutlu yapısının hızlı oluşumunu kolaylaştırdığını ortaya koyduğu belirtilmiştir. Çalışmada, ZIF-90'da sığır serum albümini ve *Escherichia coli*'yi kapsülleyerek mekanik yaklaşımlarını daha da göstermişler ve bu yöntemin çeşitli endüstriyel uygulamalarda MOF biyokompozitlerinin işlenmesinde çok yönlülüğünü vurgulamışlardır (Lam ve ark., 2023).



Şekil.1.34. Lam ve ark. yaptıkları araştırmada, bir MOF alt ailesi olan zeolitik imidazolat kafes-90 (ZIF-90) içindeki tek kaptaki mekanik kapsülleme enzimini incelemişlerdir (Lam ve ark., 2023).

2.3. Metal Organik Kafes- Yüzey Aktif Madde Çalışmaları

Sun ve ark., 2019 yılında yaptıkları araştırmada, bir etanol-su karışımı çözeltisinde bir sürfaktan Pluronik F 127 (PF-127) yardımıyla büyük tek Cu-BTC MOF kristallerini (Cu-s) sentezlemek için bir yöntem keşfetmiş, uzun çubuklar görünümündeki Cu-s'nin kimyasal formülünü belirlemiş ve büyüme mekanizmasını incelemişlerdir. PF-127 sürfaktanının eklenmesinin, Cu^{+2} iyonları ile a ekseni boyunca Cu-s büyümesini destekleyen benzen-1,3,5-trikarboksilik asit (BTC) ligandları arasındaki teması etkili bir şekilde engelleyebileceğini bulmuş ve gözenekli Cu-BTC MOF'lerin (HKUST-1) hızlı oluşumunu bastırdığını belirlemişlerdir. Cu-s'nin fotoaktif özelliklerini ve nispeten büyük boyutunu (~3 mm'ye kadar ortalama uzunluk) göz önünde bulundurarak, aydınlatma altında mükemmel foto-algılama özellikleri gösteren basit bir foto-algılayıcı cihaz oluşturmuşlardır (Sun ve ark., 2019).



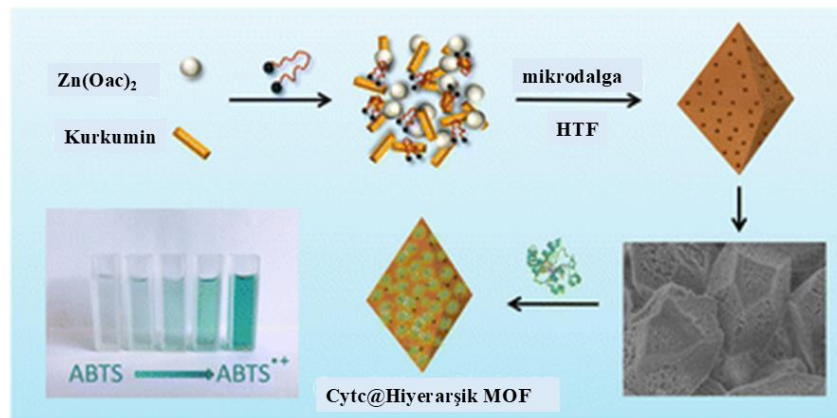
Şekil 1.35. Sun ve ark., 2019 yılında yaptıkları araştırmada, bir etanol-su karışımı çözeltisinde bir sürfaktan Pluronik F 127 (PF-127) yardımıyla büyük tek Cu-BTC MOF kristallerini (Cu-s) sentezlemek için bir yöntem keşfetmiş, uzun çubuklar görünümündeki Cu-s'nin kimyasal formülünü belirlemiş ve büyüme mekanizmasını incelemişlerdir. Cu-s'nin fotoaktif özelliklerini ve nispeten büyük boyutunu (~3 mm'ye kadar ortalama uzunluk) göz önünde bulundurarak, aydınlatma altında mükemmel foto-algılama özellikleri gösteren basit bir foto-algılayıcı cihaz oluşturmuşlardır (Sun ve ark., 2019).

Vaidya ve ark., (2020) enzim aktivitesinin, çoğunlukla immobilizasyon prosedürü sırasında meydana gelen olumsuz konformasyonel değişiklikler nedeniyle MOF içinde enzimin immobilizasyonundan sonra azaldığını dikkate alarak yüksek derecede aktif bir enzim elde etmek için yaptıkları araştırmada, lipazı sürfaktanlar tarafından aktive edilmiş, ardından tek kap yöntemiyle zeolitik imidazolat çerçevesi (ZIF-8) içinde kapsüllemişlerdir. Hazırlanan biyokompozit, X-ışını kırınımı (XRD), Fourier dönüşümü kızılötesi (FT-IR) ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak karakterize edilmiş ve analiz edilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, hazırlanan lipaz-SDS ZIF-8'in, serbest lipaza kıyasla %250 arttırılmış aktivite sergilediği, immobilize lipaz biyokompoziti için termo-stabilite, yarı ömür açısından iki kattan fazla gelişmiş stabilite gösterdiği, sıcaklığın 50-70 °C aralığında olduğu belirlenmiştir. Ayrıca immobilize lipazın, altı kez tekrar kullanımından sonra bile aktivitesinin %76'sını koruduğu ve yirmi günlük uzun süreli depolamanın ardından %91 hala aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Son olarak, lipaz-SDS ZIF-8, serbest lipaza kıyasla mükemmel stabilite gösteren polar denatüre edici çözücülerde kimyasal stabilite açısından test edilmiştir (Vaidya ve ark., 2020).

Kontrollü protein hidrolizi, proteomik uygulamalarda önemli bir prosedürdür ve protein yapısı ve fonksiyonunun anlaşılmasına yardımcı olmak için kullanılmaktadır.

Hidrofobik proteinlerin hidrolizinde genellikle doğal enzimleri inaktive eden sürfaktanların kullanılması gerekmektedir, bunların zayıf çözünürlükleri nedeniyle, özellikle zordur. Doğal enzimlerin bu tür sınırlamaları, proteinlerin seçici hidrolizi için kimyasal katalizörlerin geliştirilmesine yol açmıştır. Simms ve ark., 2022 yılında yaptıkları araştırmada, Zr_6O_8 bazlı bir metal organik çerçeve olan MOF-808'in nanozimatik potansiyeli, yapı ve polarite bakımından farklılık gösteren çeşitli sürfaktanların varlığında protein hidrolizine yönelik olarak araştırılmıştır. İyonik sodyum dodesil sülfat (SDS), nötr Triton X-100 (TX-100) ve zitteriyonik Zw3-12 (n-dodesil-N,N-dimetil-3-amonyo-1-propansülfonat) ve CHAPS'ın (3-[(3-kolamidopropil)dimetilamonyo]-1-propansülfonat) etkisi yüzey aktif maddelerin MOF-808 varlığında at kalbi miyoglobininin hidrolizi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, SDS'nin varlığının protein açılımı ve artan protein-MOF etkileşimi nedeniyle gözlemlenen peptit fragmanlarının sayısını arttırdığı, zwitter iyonik ve nötr yüzey aktif madde kullanımının, büyük olasılıkla verimli protein-MOF etkileşimini engelleyerek hidrolitik etkinliği azalttığı belirlenmiştir (Simms ve ark., 2022).

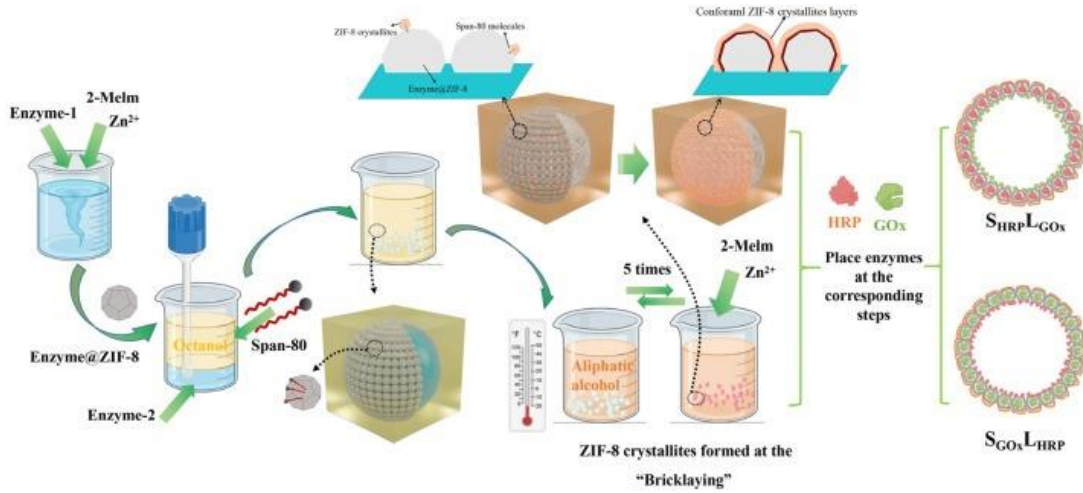
Feng ve ark., 2023 yılında yaptıkları araştırmada hiyerarşik bir medi metal-organik kafes olan H-mMOF-1, MOF başlangıç reaktifleri ve bir triblok kopolimer yüzey aktif madde F127'nin bir araya getirilmesiyle başarıyla sentezlenmiştir. Elde edilen H-mMOF-1, mikro gözenekli yapısını korumuş, ancak aynı zamanda 3 ila 10 nm boyut aralığında mezo gözenekler de sergilemiştir. Mezogözenekler, 160 mg/g yükleme kapasitesiyle protein Cyt c'yi barındırabilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde hiyerarşik MOF'ların yüzey aktif madde destekli sentezinin, enzim immobilizasyonu için umut verici uygulamalar sağladığı belirtilmiştir (Feng ve ark., 2023).



Şekil 1.36. Feng ve ark., 2023 yılında yaptıkları araştırmada hiyerarşik bir medi metal-organik kafes olan H-mMOF-1, MOF başlangıç reaktifleri ve bir triblok kopolimer yüzey aktif madde F127'nin bir araya getirilmesiyle başarıyla sentezlenmiştir (Feng ve ark., 2023).

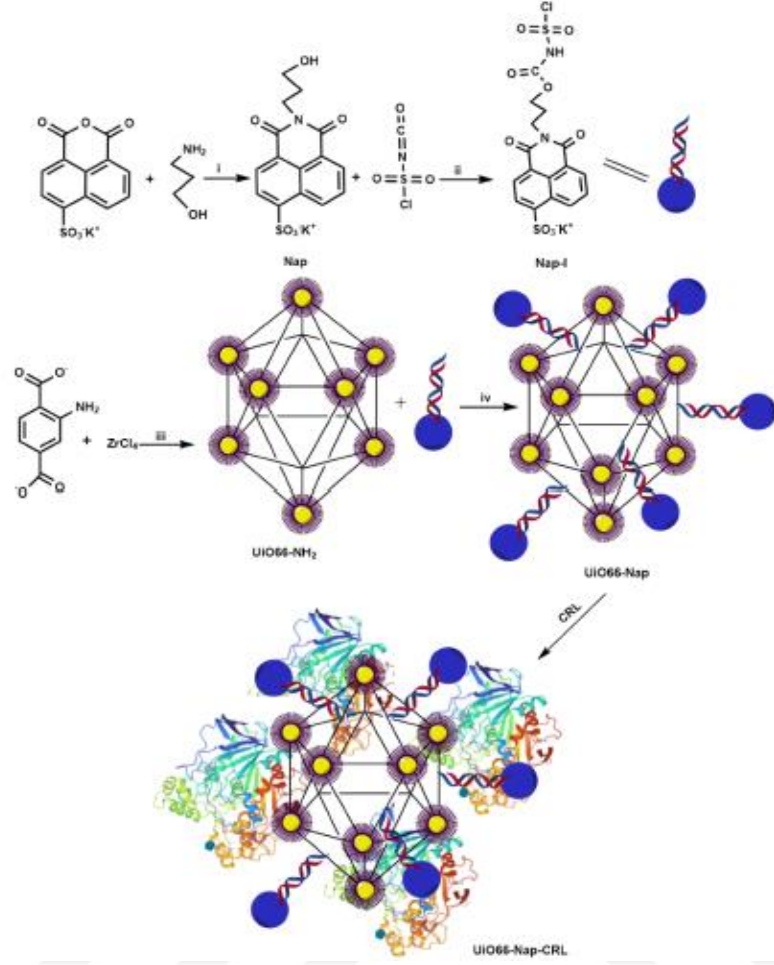
Qi ve ark., 2023 yılında yaptıkları araştırmada, sorbitan monooleat (Span-80) kullanarak, yaban turpu peroksidaz/glikoz oksidaz bienzim sisteminin zeolitik imidazolat kafes-8 (ZIF-8) bazlı kolloidozomlar içerisinde konumsal montajını gerçekleştirmek için yeni bir strateji geliştirilmiştir. Kendiliğinden adsorpsiyon özelliğine sahip Span-80, yağ içinde su Pickering emülsiyon şablonlarının oluşumunda enzim yüklü ZIF-8'e (enzim@ZIF-8) uygun ıslanabilirlik kazandırmak için yardımcı stabilizatör olarak kullanılmış ve bundan yararlanılarak, bienzimlerin kolloidozomların lümeninde ve kabuğunda eşzamanlı immobilizasyonu sağlanabilmiştir. Bu arada Span-80'in, ZIF-8 kristalitlerinin enzim@ZIF-8 katmanları üzerinde aşırı büyümesini teşvik etmek ve kontrol etmek için bir aracı olarak görev yaptığı bulunmuş; bu sayede kabuk hazırlığı için bir "tuğla örme" katılaştırma protokolü oluşturulmuştur. Ortaya çıkan kolloidozomlar, bienzimlerin esnek konumsal değişimini mümkün kılmış; kabuğu, artan kompaktlığa ve homojenleştirilmiş mikro gözeneklere sahip tek katmanlı bir yapı sergilemiştir. Ayrıca çoklu enzim basamaklı reaksiyonu, o-fenilendiaminin oksitlenmesiyle örneklenmiştir. Derinlemesine bir araştırma, bienzimlerin toplanma stratejilerinin, basamak reaksiyonları arasındaki H_2O_2 ara ürününün kullanım verimliliğini etkileyerek biyokatalitik verimliliklerini önemli ölçüde etkilediğini göstermiştir. Elde edilen sonuçlar ışığında bu çalışmanın, çoklu enzim biyokatalizörünün oluşturulması için kolay bir sentetik yola yönelik bir fikir verdiği belirtilmiştir (Qi ve ark., 2023).





Şekil 1.37’de Qi ve ark., 2023 yılında yaptıkları araştırmada, sorbitan monooleat (Span-80) kullanarak, yaban turpu peroksidaz/glikoz oksidaz bienzim sisteminin zeolitik imidazolat kafes-8 (ZIF-8) bazlı kolloidozomlar içerisinde konumsal montajını gerçekleştirmek için yeni bir strateji geliştirilmiştir. Geliştirilen model ve şema şekil 1.37’de görülmektedir (Qi ve ark., 2023).

Metal-organik kafesler (MOF’lar), benzersiz özellikleri sayesinde ideal destek malzemeleri olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda özellikle enzim immobilizasyon çalışmalarında ilgi odağı haline gelmişlerdir. Özyılmaz ve ark., (2023) yaptıkları araştırmada, *Candida rugosa* lipazın (CRL) katalitik aktivitesini ve stabilitesini arttırmak için UiO-66’dan türetilen yeni bir floresan bazlı MOF (UiO-66-Nap) sentezlemiş, sentezlenen malzemelerin yapılarını, FTIR, 1H NMR, SEM ve PXRD gibi spektroskopik tekniklerle doğrulamışlardır. Ardından CRL, UiO-66-NH₂’de immobilize edildi ve UiO-66-Nap adsorpsiyon tekniği ile UiO-66-Nap@CRL’nin immobilizasyon ve stabilite parametreleri incelenmiştir. Immobilize lipazlardan UiO-66-Nap@CRL, UiO-66-NH₂@CRL’den daha yüksek katalitik aktivite sergilemiştir. UiO-66-Nap@CRL’nin yapısındaki sülfonat grupları, yüzey aktif maddenin polar grupları ile protein yüzeyindeki belirli yüklü konumlar arasındaki güçlü iyonik etkileşimler göstermektedir. Bu da UiO-66-Nap@CRL’deki sürfaktan gruplarından (Nap) daha yüksek aktiviteye sahip olmasında etkilidir. Elde edilen sonuçlar, yeni sentezlenen floresan bazlı MOF türevinin (UiO-66-Nap) enzim immobilizasyonu için ideal bir destek materyali olabileceğini ve enzimlerin aktivitelerini korumak ve arttırmak için başarıyla kullanılabileceğini göstermektedir (Ozyılmaz ve ark., 2023).



Şekil 1.39. UiO-66-Nap-CRL'nin sentezi (i) H₂O, 4 h, 90 °C (ii) DMF, 2.5 h, RT (iii) DMF, 24 h, 120 °C (iv) DMF, 24 h, 50 °C. (Ozyilmaz ve ark., 2023).

2.4. Metal Organik Kafes-Enantiyoselektivite Çalışmaları

Kiralite, maddenin her seviyesinde her yerde bulunan, doğanın temel bir özelliğidir. Moleküler düzeyde, bir molekül ayna görüntüsüyle çakışmadığında kiral bir molekül olarak adlandırılmaktadır. Kiral bir molekül ve ayna görüntüsü birbirinin enantiyomerleridir. Kirallik aynı zamanda yaşamın tipik bir özelliğidir ve yaşamın oluşumunda ve evriminde kilit bir rol oynamaktadır (Sojo, 2015; Michaeli ve ark., 2016; Cheng ve ark., 2023).

Kiralite bir özelliktir, asimetrik karbona bağlı atoma sahip olan bir moleküle kiral denilmektedir. Asimetrik ve üst üste binemeyen enantiyomerik formlarda bulunmaktadır. Bu moleküllerin atomları ve bağları açısından hiçbir kimyasal farklılıkları yoktur ancak uzaydaki düzenleri farklıdır (H Brooks ve ark., 2011; Ali ve ark., 2024). Enantiyomerler genellikle farklı etkiler gösterirler. Bazı durumlarda, belirli

bir konfigürasyondaki enantiyomerler canlı hücreler üzerinde geri dönüşü olmayan bir etkiye bile sahip olabilir (Niu ve ark., 2022). İlaç pazarındaki ilaçların neredeyse yarısı kiraldir; bir formu güvenilir ve emniyetliken, diğer formu ise mutajenik, etkili olmayan ve hatta zehirlidir (Mane, 2016; Bukhari, 2023). Kiral çözünürlük, farmasötik, terapötik, adli tıp ve gıda analizi dahil olmak üzere çeşitli bilimsel disiplinlerde çok önemlidir (Liu ve ark., 2019; Teixeira ve ark., 2019; Bukhari, 2023). Kiralite, yaşam sistemlerinin evrensel bir olgusudur. DNA, protein, aminoasitve nükleik asit gibi biyomoleküllerin tümü kiralite özelliklerine sahiptir (Niu ve ark., 2022; Li ve ark., 2023a). MOF'lar, eşsiz özellikleri ile çok farklı umut verici uygulamalara sahip mükemmel bir gözenekli hibrit yapılı malzemelerdir (Gatou ve ark., 2023; Li ve ark., 2023a; Ozyilmaz ve Caglar, 2023). Ortaya çıkan gözenekli malzemelerin kiral çözünürlük yeteneğini artırabilen ve çevrenin korunmasına katkıda bulunabilen ön işlem maddeleri veya işlevselleştirici maddeler olarak kullanılabilirler (Yu ve ark., 2020; Li ve ark., 2023a). MOF'ların önemli bir özelliğide, organik ligandların boyutunu ve tipini seçip ayarlayarak farklı topolojilere ve gözenek boyutlarına sahip malzemelerin sentezini kontrol edebilme, böylece işlevsellik ve sentetik esneklik sağlama yeteneğidir (He ve ark., 2021; Li ve ark., 2023c; Nath, 2024). MOF'lar, yapıdaki kiral organik bağlayıcılar veya katı içindeki bileşenlerin kiral düzenlemesi nedeniyle kiraldir (Zhao ve ark., 2017; Berijani ve ark., 2019; Shang ve ark., 2020; Sun ve ark., 2023a). Böylece MOF'lara amino asitlerin ligand olarak dahil edilmesiyle uygulamaya aktif bağlanma bölgelerine ve fonksiyonel gruplara sahip çevre dostu kiral gözenekli malzemeler elde edilebilir. Destek materyali olarak kullanımlarında ortamda iyonik sıvı veya metal ligand etkileşimleri ile, enzimlerin aktif merkezleri ile de etkileşim göstererek stabiliteyi sağlayabilirler. Kiral tanıma yeteneklerini de artmasına yardımcı olabilirler (Li ve ark., 2023d; Qiu ve ark., 2023). Kiral gözenekli MOF'lar kiral analitlere seçici olarak girebilen açık kanalları veya boşlukları nedeniyle özellikle enantiyoseçimli kataliz ve ayırma olmak üzere birçok alanda kullanılmaktadırlar (Antil ve ark., 2021; Weng ve ark., 2021; Li ve ark., 2023d).

Zhong ve ark., 2020 yılında yaptıkları araştırmada, DNAzimlerin umut verici bir biyoilhamlı katalizör sınıfı olduğu, ancak yapısal istikrarsızlıklarının potansiyellerini sınırladığı açıklanmaktadır. Burada, DNAzimleri metal-organik bir çerçeve (MOF) konakçısında kapsülleyerek stabilize etmeye yönelik bir yöntem bildirilmektedir. Bu biyomimetik mineralizasyon süreci, DNAzimleri daha geniş bir koşullar altında aktif hale getirmektedir. Konsept, hemin-G-dörtlü kompleksin (Hemin-G4) zeolitik

imidazolat çerçeve-90 (ZIF-90) içine kapsüllenmesiyle gösterilmiştir; bu, gerçekten de DNAzimin yapısal stabilitesini arttırmaktadır. Stabilize edilmiş DNAzimler, Eksonükleaz I, organik çözücüler veya yüksek sıcaklık varlığında aktivite göstermektedir. Yüksek stabilitesi ve heterojen doğası nedeniyle, sürekli akış koşulları altında kataliz gerçekleştirmek mümkündür ve DNAzim, K^+ 'nın eklenmesiyle yerinde yeniden etkinleştirilebilmektedir. Ayrıca kapsüllenmiş DNAzimin, tioanizolün (S)-metil fenil sülfoksite sülfoksidasyonu ile gösterilen yüksek enantiyomer seçiciliğini koruduğu bulunmuştur. DNAzimleri stabilize etmeye yönelik bu konsept, kimya endüstrisindeki potansiyel uygulamalarını genişletmektedir (Zhong ve ark., 2020).

Amino asit (AA) enantiyomerlerinin kiral olarak tanınması ve miktarlarının belirlenmesi biyoloji ve biyotıp gibi birçok alanda büyük önem taşımaktadır. Yang ve ark. 2021 yaptıkları çalışmada, bu hedefe ulaşmak için genel bir enzim güdümlü floresan algılama modeli önerilmektedir. Tasarlanan floresan probler üç bileşenden oluşmaktadır: enantioselektif ve kemoselektif tanıma için doğal bir enzim, floresan yanıt raportörü olarak borat ester bazlı bir floresan molekül ve bir enzim ile floresan raportörün kaskad yanıt sistemi olarak entegrasyonu için sıralı bir mezogözenekli Ce bazlı MOF (OMUiO-66(Ce)). L-AA oksidaz varlığında, duyuşal platform bir dizi yaygın AA'ya karşı yüksek verimli L-tipi enantioseçicilik sergilemiş ve enantioseçici güçlendirme oranları (ef veya $\Delta IL/\Delta ID$) fenilalanin (Phe) için 212, lösin için 213, triptofan için 194 ve benzerlerine ulaşmıştır. Ayrıca, yüksek enantioseçicilik ve kemoseçicilik ile çok sayıda serbest amino asit arasında L-glutamatın (L-Glu) hızlı bir şekilde ölçülmesini sağlamak için L-glutamat oksidazın spesifik bir AA oksidazının kullanılması da örneklenmiştir. Probların AA enantiyomerini tanımaya yönelik özgülüğü, muhtemelen bir arada bulunan diğer girişimci türler tarafından neredeyse hiç bozulmamıştır. Simüle edilmiş vücut sıvısı örneklerinde karışık AA enantiyomerlerinden L-Phe ve L-Glu'nun doğrudan kontrolü başarıyla gerçekleştirilmiş, bu da karmaşık biyolojik örneklerde spesifik kiral AA'ların yüksek verimli taranması için büyük potansiyellerini göstermiştir (Yang ve ark., 2021).

Fan ve ark., 2023 yılında yaptıkları araştırmada, MOF'lar ile immobilize edilmiş bir lipaz, ilk olarak organik ortamda açıl donörü olarak vinil asetat kullanılarak transesterifikasyon reaksiyonu ile mandelik asit enantiyomerlerinin kinetik çözünürlüğü için kullanılmıştır. Özellikle, taşıyıcının biyoyumluluğunun ve lipazın katalitik performansının, NH_2 -Ni-MOF'un polivinilpirolidon ile modifikasyonu yoluyla önemli ölçüde geliştirilebileceği belirlenmiş, enzimatik sürecin kapsamlı bir şekilde

taranmasının ardından, enzim katalizli transesterifikasyon reaksiyonu için optimum enantiyoselektif çözünürlük koşulları ve mükemmel sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca, geri kazanılan immobilize lipaz, immobilizasyondan sonra olağanüstü bir tekrar kullanılabilirlik sergilemiştir (Fan ve ark., 2023).



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Çalışmada Kullanılan Cihazlar



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan cihazlar

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler ve çözücüler analitik saflıkta olup, temin edilen firmalar ve kimyasalların isimleri tablo 3.1’de yer almaktadır.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve temin edilen firma isimleri

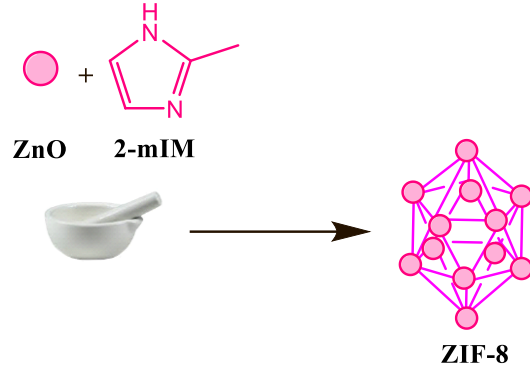
Kimyasal Adı	Firma adı
<i>Candida rugosa</i> lipaz (CRL, E.C.3.1.1.3, Type VII), <i>Porcine pankreatik</i> lipaz (PPL) Bradford reaktifi S-Naproksen	Sigma
2,5-dihidroksiterafitalik asit 2-aminoterafitalik asit 2-Metilimidazol	Sigma-Aldrich
Bakır klorür dihidrat ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) 2-propanol İzooktan DMSO NaOH	Merck
<i>p</i> -nitrofenil palmitat (<i>p</i> -NPP) ($\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{NO}_4$)	Alfa aesar
Sodyum fosfat dibazik dodekahidrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	Fluka
4,4-dipiridil	Acros
Etanol	Isolab

Miilipore Milli-Q Plus su arıtma cihazında saflaştırılan saf su, çalışmada tüm sulu çözeltilerin hazırlanmasında kullanıldı.

3.3. Mekanokimyasal Yöntem ile Farklı Metal Organik Kafeslerin Sentezleri

3.3.1. ZIF-8'in Sentezi

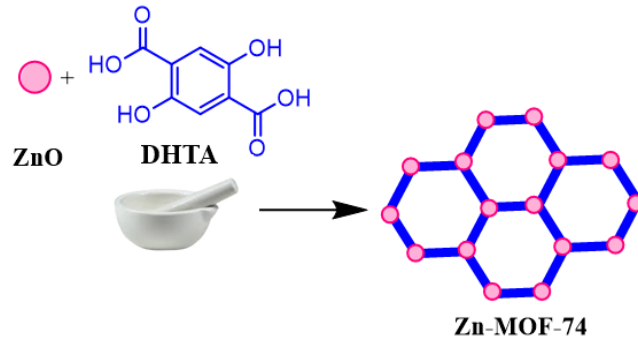
ZIF-8, zeolitik imidazolat kafes yapısı Zn iyonları ve 2-metilimidazol'den (2-mIM) oluşan, sodalit tipi bir yapı sergileyen tipik bir ZIF çeşididir. ZIF-8'in mekanokimyasal sentezi için çinko oksit ve 2-metilimidazol havana alındı, üzerine etanol ilave edildi. Karışım 2.5 dk öğütüldü. Su ve etanol ile yıkandı ve 4000 rpm'de 5 dk santrifüj yapıldı. Liyofilizatörde kurutuldu (Wei ve ark., 2019).



Şekil 3.2. Mekanokimyasal yöntem ile ZIF-8'in sentezi (Wei ve ark., 2019).

3.3.2. Zn-MOF-74'ün Sentezi

Zn-MOF-74, mekanokimyasal yöntemlerden birisi olan havanda öğütme tekniği kullanılarak, tek basamakta sentezlendi. Çinko oksit (36 mg, 0.44 mmol) havana alındı, 1 mL distile su ilave edildi ve öğütüldü. Üzerine 2,5- dihidroterafitalik asit (H4dhta) (44 mg, 0.22 mmol) ve 50 μL DMSO ilave edildi. Son karışım 2,5 dakika öğütüldü ve santrifüj yapıldı. Son olarak 5 mL distile su ile 3 kez yıkandı. Liyofilizatörde kurutuldu. 4 $^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı (Wei ve ark., 2019).



Şekil 3.3. Mekanokimyasal yöntem ile Zn-MOF-74'ün sentezi (Wei ve ark., 2019).

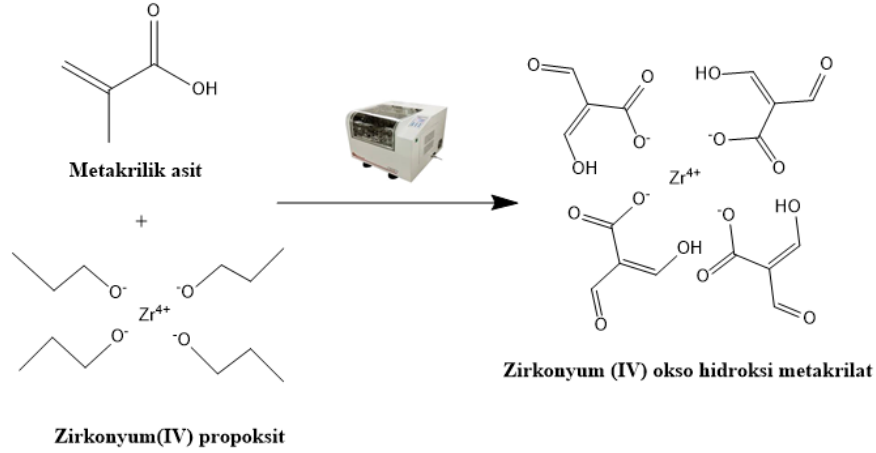
3.3.3. Zirkonyum oksohidroksimetakrilat ve UiO-66-NH₂'nin Sentezi

Metal organik kafesler metal iyonu/ metal kümesi ve organik ligandın koordinasyon etkileşimi ile oluşan gözenekli malzemelerdir.

Zirkonyum bazlı MOF ailesinin üyesi olan UiO-66-NH₂'nin yapısının mekanokimyasal yöntemle sentezlenebilmesi için öncelikle metal kümesi olarak kullanılan zirkonyum okso hidroksi metakrilat sentezlendi (Wei ve ark., 2019).

3.3.3.1. Zirkonyum oksohidroksimetakrilatın Sentezi

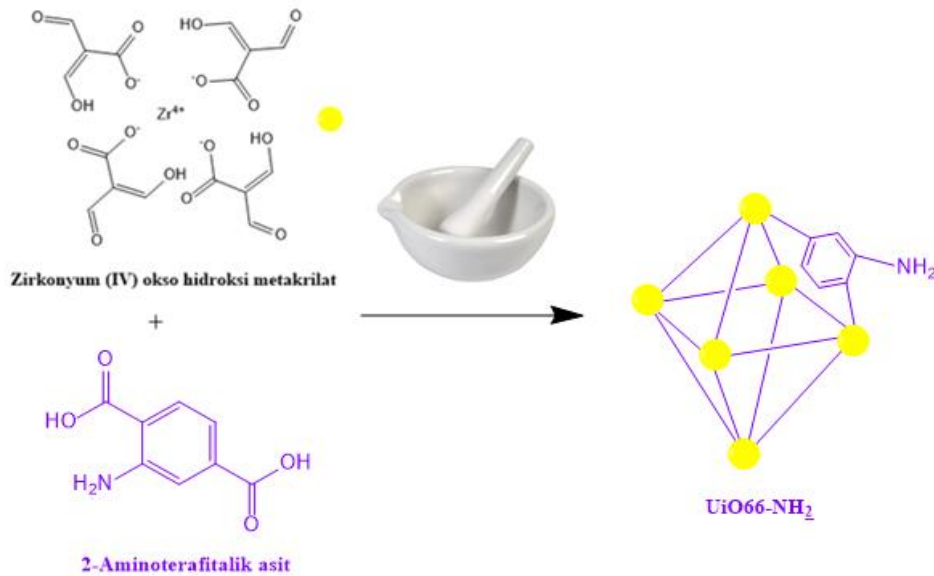
Metakrilik asit (1.4 mL, 2 mL) Zirkonyum propoksit ($\text{Zr}(\text{OPr})_4$) çözeltisine ilave edilerek reaksiyon karışımı, 72 saat 60 °C'de inkübe edildi. Oluşan renksiz katı, vakum altında süzüldü ve 2 mL 2-propanol ile yıkandı (Wei ve ark., 2019).



Şekil 3.4. Zirkonyum(IV)oksohidroksi metakrilatın sentezi (Wei ve ark., 2019).

3.3.3.2. UiO-66-NH₂'nin Sentezi

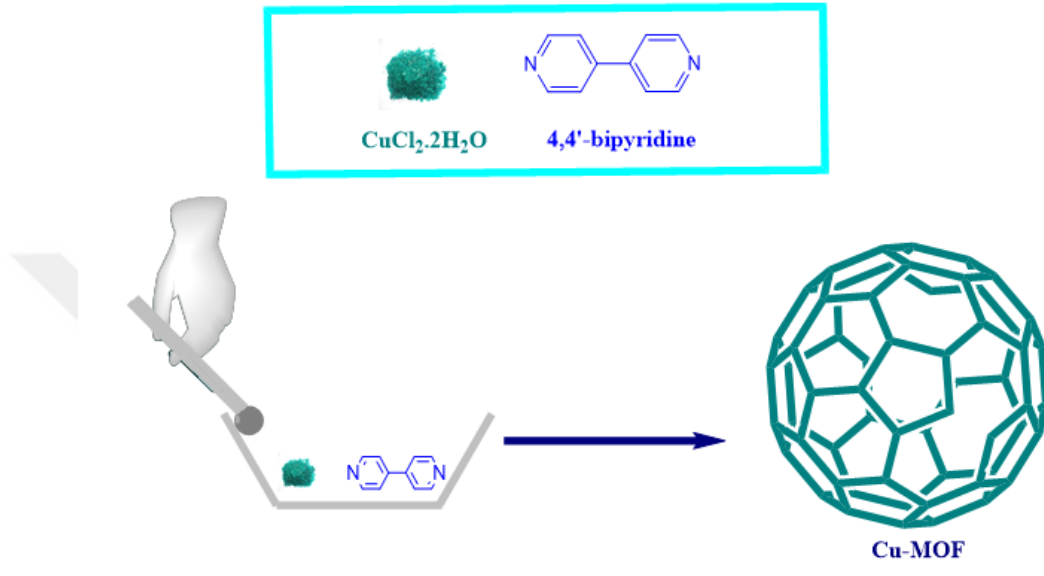
Sentezlenen Zirkonyum (IV) oksohidroksimetakrilat (25 mg) ve 2-aminotereftalik asit (16 mg) havana alındı. Öğütmede yardımcı sıvı olarak 41 µL etanol eklendi. 5 dakika öğütüldükten sonra santrifüj yapıldı. 3 kez 500 µL deiyonize su ile yıkama yapıldı ve liyofilizatörde kurutuldu (Wei ve ark., 2019).



Şekil 3.5. Mekanokimyasal yöntem ile UiO-66-NH₂'nin sentezi (Wei ve ark., 2019).

3.3.4. Cu-MOF'un Sentezi

Cu-MOF, CuCl_2 sulu çözeltisi ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (3.9 mM, 1 mL), etanol ve H_2O (h/h = 50: 50) karışımı içinde çözölen 4,4'-bipiridin (15.6 mM, 1 mL) oda sıcaklığında basit bir şekilde karıştırılarak hazırlandı. Reaksiyon, hafifçe karıştırılarak 15 dk boyunca gerçekleştirildi. Bundan sonra ürünler santrifüjleme (4000 rpm, 5 dakika) ile toplandı ve üç kez ultra saf su ile yıkandı (Wang ve ark., 2018a).



Şekil 3.6. Mekanokimyasal yöntem ile Cu-MOF'un sentezi (Wang ve ark., 2018a).

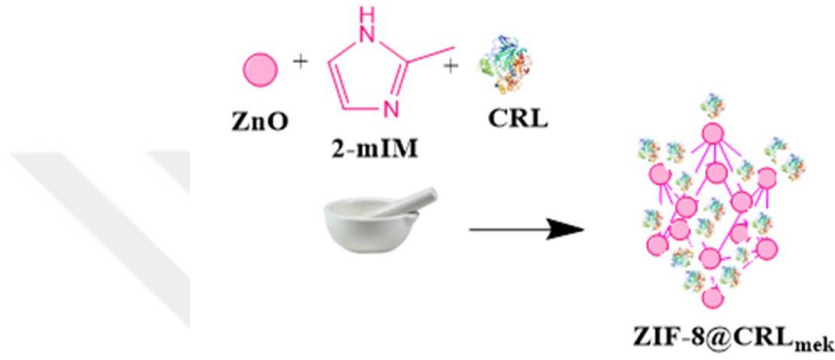
3.4. Mekanokimyasal Yöntem ile Lipaz İmmobilizasyonu Çalışmaları

Mekanokimyasal yöntem kullanılarak, 4 farklı MOF sentezlendi. Sentezlenen MOF'lar karakterize edildi. MOF'ların sahip oldukları eşsiz özellikleri ve biyoyumlulukları ile *Candida rugosa* lipaz ve *Porcine pankreatik* lipazın immobilizasyonlarında iyi bir destek materyali olarak kullanılabileceği düşünöldü.

3.4.1. Metal Organik Kafeslerin *Candida Rugosa* Lipazın İmmobilizasyonunda Kullanımı

3.4.1.1. ZIF-8@CRL_{mek}'in Hazırlanması

İmmobilizasyon için öncelikle çinko oksit (ZnO), 2-metilimidazol (2-mIM) ve farklı miktarlarda (5-20 mg) CRL havana alındı, üzerine etanol ilave edilerek karışım 2.5 dk öğütüldü. Elde edilen son karışım su:etanol ile yıkandı. Ardından 4000 rpm'de 5 dk santrifüj yapıldı. Liyofilizatörde kurutuldu (Wei ve ark., 2019).



Şekil 3.7. ZIF-8@CRL_{mek}'in hazırlanması

3.4.1.2. Zn-MOF-74@CRL_{mek}'in Hazırlanması

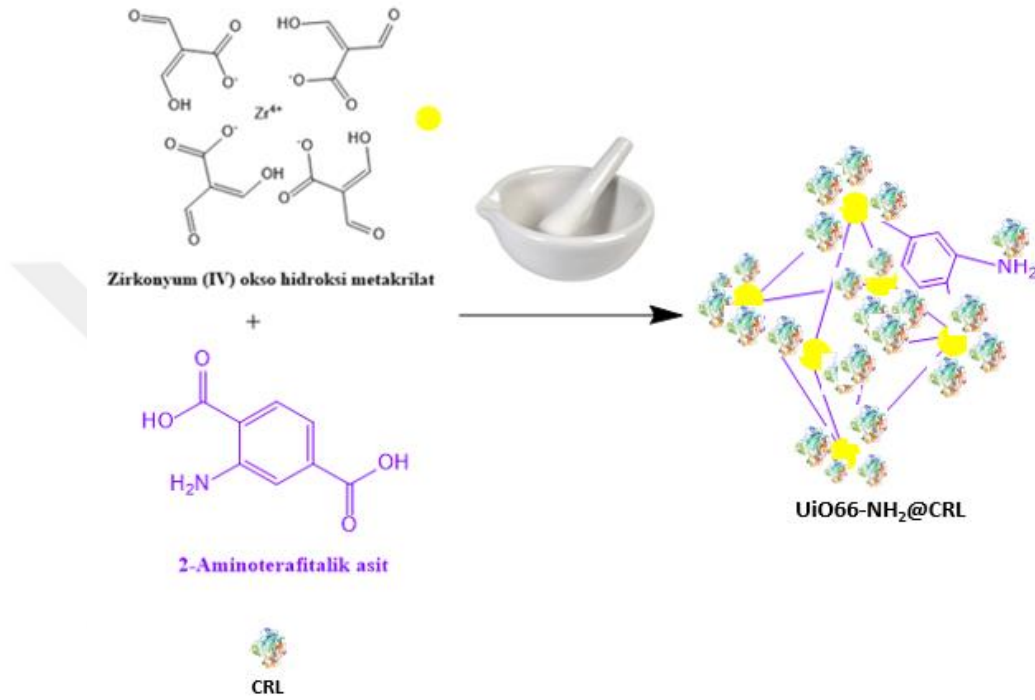
Çinko oksit (36 mg, 0.44 mmol) ve farklı miktarlarda (5-25 mg) CRL havana alındı, distile su ile öğütüldü. Üzerine 2,5- dihidroterafitalik asit (44 mg, 0.22 mmol) ve 50 µL DMSO ilave edildi. Son karışım 2,5 dakika öğütüldü ve santrifüj yapıldı. Son olarak distile su ile 3 kez yıkandı. Liyofilizatörde kurutuldu. 4 °C'de saklandı (Wei ve ark., 2019).



Şekil 3.8. Zn-MOF-74@CRL_{mek}'in hazırlanması

3.4.1.3. UiO-66-NH₂@CRL_{mek}'in Hazırlanması

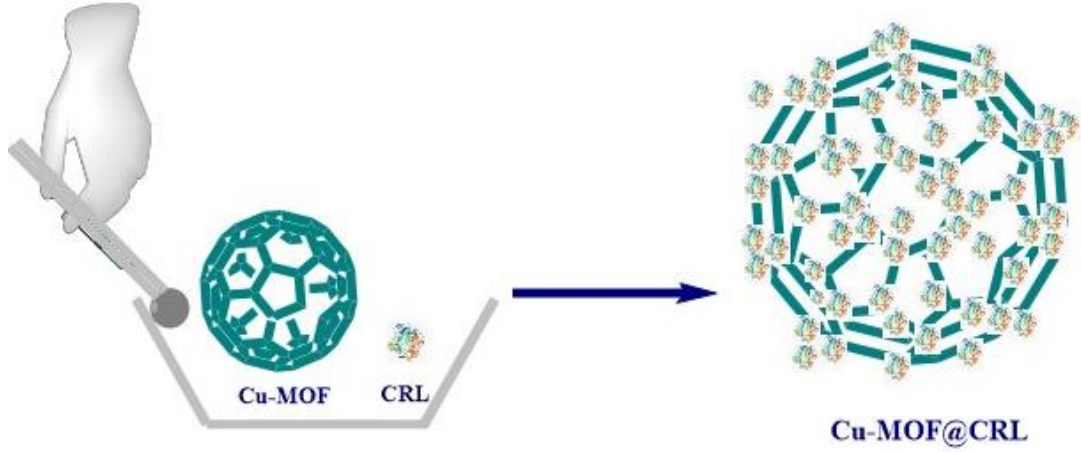
Sentezlenen zirkonyum (IV) okso hidroksi metakrilat (25 mg), 2-aminotereftalik asit (16 mg) ve daha sonra 10 mg CRL havana ilave edildi. Öğütmede yardımcı sıvı olarak 41 µL etanol eklendi. 2,5 dakika öğütüldükten sonra santrifüj yapıldı. 3 kez 500 µL deiyonize su ile yıkama yapıldı. Santrifüj yapıldı ve liyofilizatörde kurutuldu (Wei ve ark., 2019).



Şekil 3.9. UiO-66-NH₂@CRL_{mek}'in hazırlanması

3.4.1.4. Cu-MOF@CRL_{mek}'in Hazırlanması

Hazırlanan Cu-MOF ve 30 mg CRL havana alındı. Karışıma etanol:su (50:50) ilave edildi. Son karışım 2,5 dakika öğütüldü. Son karışım 2,5 dakika öğütüldü ve santrifüj yapıldı. Son olarak distile su ile 3 kez yıkandı. Liyofilizatörde kurutuldu. 4 °C'de saklandı (Wang ve ark., 2018a).



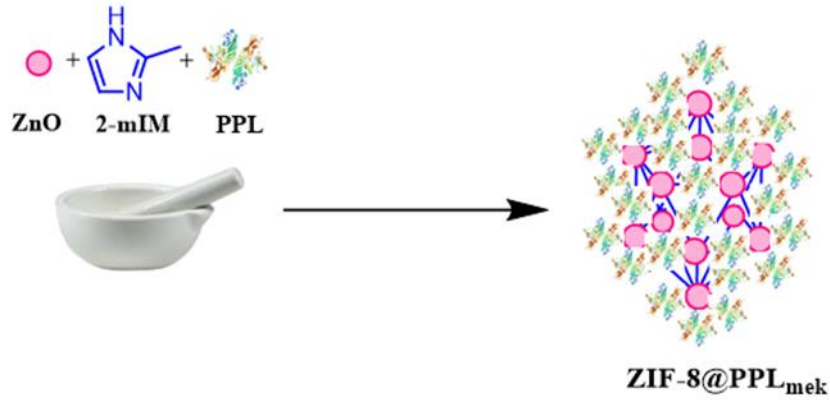
Şekil 3.10. Cu-MOF@CRL_{mek}'in Hazırlanması

3.4.2. Metal Organik Kafeslerin *Porcine Pankreatik Lipazın* İmmobilizasyonunda Kullanımı

Pankreas lipazları, hidroliz için suda çözünmeyen substratlara erişmek, trigliserit substratlarını insan sindirim sisteminde monogliseritlere ve serbest yağ asitlerine dönüştürmek için yağ-su arayüzlerinde aktive edilebilen ara yüzey enzimleridir (Zhang ve ark., 2019).

3.4.2.1. ZIF-8@PPL_{mek}'in Hazırlanması

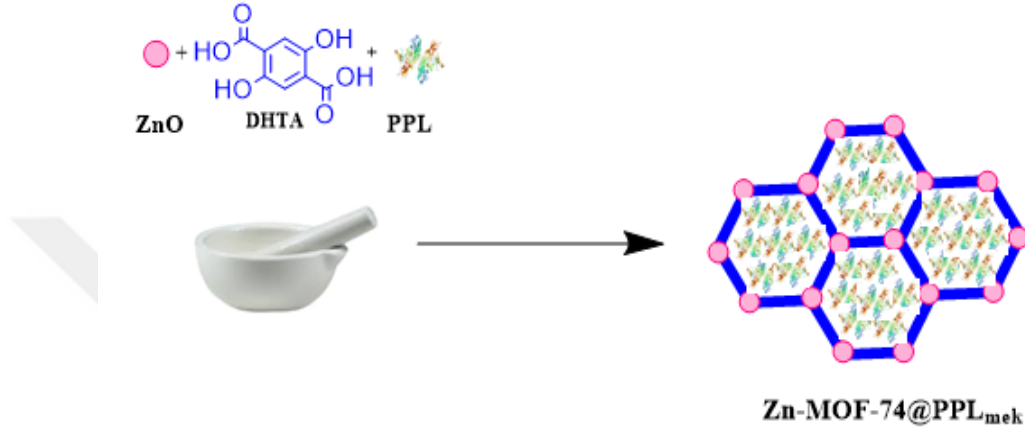
İmmobilizasyon için öncelikle çinko oksit, 2-metilimidazol (2-mIM) ve 10 mg PPL havana alındı, üzerine etanol ilave edildi. Karışım 2.5 dk öğütüldü. Elde edilen son karışım su:etanol ile yıkandı ve ardından 4000 rpm'de 5 dk santrifüj yapıldı. Liyofilizatörde kurutuldu (Wei ve ark., 2019).



Şekil 3.11. ZIF-8@PPL_{mek}'nin hazırlanması

3.4.2.2. Zn-MOF-74@PPL_{mek}'in Hazırlanması

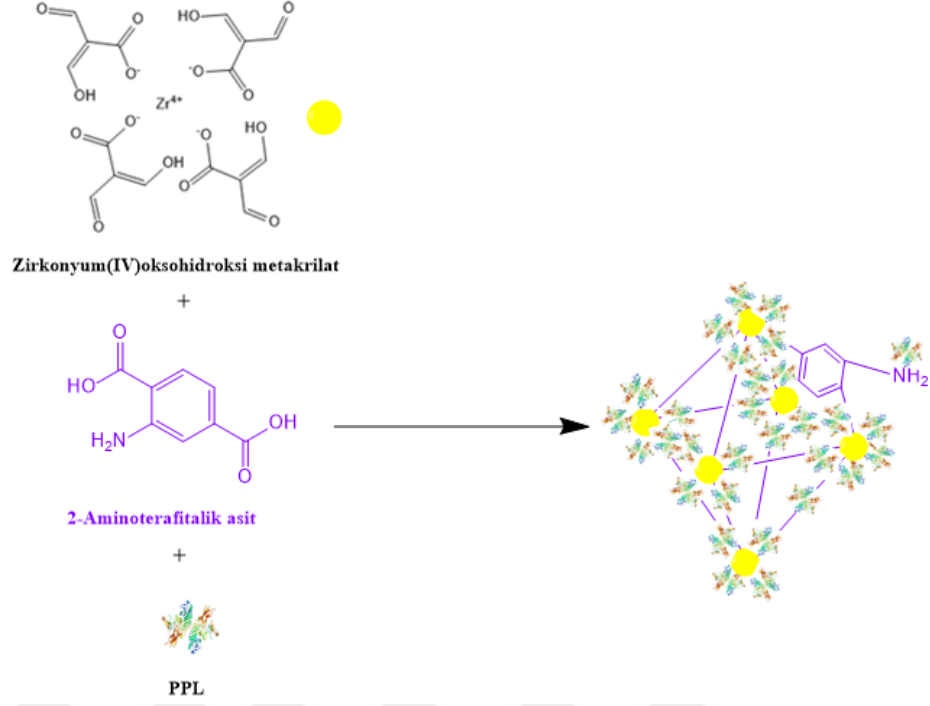
Çinko oksit (36 mg, 0.44 mmol) ve 20 mg PPL havana alındı, distile su ile öğütüldü. Üzerine 2,5- dihidroterafitalik asit (44 mg, 0.22 mmol) ve 50 µL DMSO ilave edildi. Son karışım 2,5 dakika öğütüldü ve santrifüj yapıldı. Son olarak distile su ile 3 kez yıkandı. Liyofilizatörde kurutuldu. 4 °C'de saklandı (Wei ve ark., 2019).



Şekil 3.12. Zn-MOF-74@PPL_{mek}'in hazırlanması

3.4.2.3. UiO-66-NH₂@PPL_{mek}'in Hazırlanması

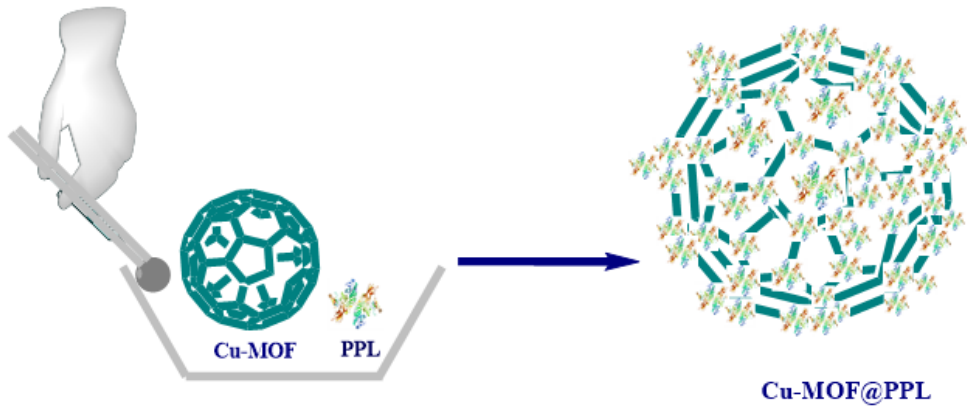
Sentezlenen zirkonyum (IV) okso hidroksi metakrilat (25 mg) ve 2-aminotereftalik asit (16 mg) havana alındı. Daha sonra 10 mg PPL havana ilave edildi. Öğütmede yardımcı sıvı olarak 41 µL etanol eklendi. 5 dakika öğütüldükten sonra santrifüj yapıldı. 3 kez 500 µL deiyonize su ile yıkama yapıldı. Santrifüj yapıldı ve liyofilizatörde kurutuldu (Wei ve ark., 2019).



Şekil 3.13. UiO-66-NH₂@PPL_{mek}'in hazırlanması

3.4.2.4. Cu-MOF@PPL_{mek}'in Hazırlanması

Hazırlanan Cu-MOF ve 30 mg CRL havana alındı. Karışıma etanol:su (50:50) ilave edildi. Son karışım 2,5 dakika öğütüldü. Son karışım 2,5 dakika öğütüldü ve santrifüj yapıldı. Son olarak distile su ile 3 kez yıkandı. Liyofilizatörde kurutuldu. 4 °C'de saklandı (Wang ve ark., 2018a).

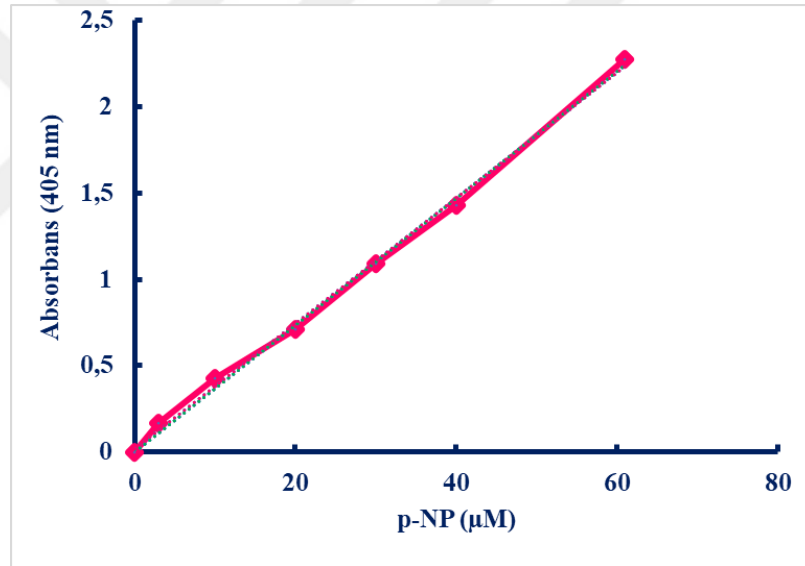


Şekil 3.14. CuMOF@PPL_{mek}'nin hazırlanması

3.5. Mekanokimyasal Yöntem ile Enzim İmmobilizasyonu Çalışmaları

3.5.1. İmmobilize Lipazların Aktivite Tayini

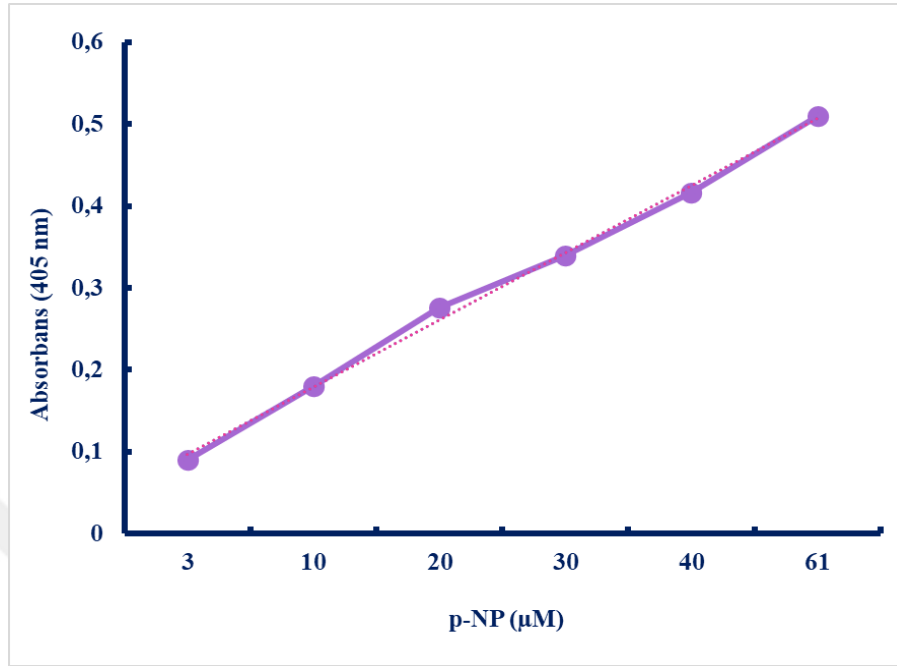
İmmobilize lipaz (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}) ve serbest lipazın (CRL) aktivite ölçümleri için *p*-nitrofenil palmitat (*p*-NPP)'ın hidroliz reaksiyonu uygulandı (Ozyılmaz ve ark., 2021c). İmmobilize ve serbest lipazlardan belirli miktarda alınarak, üzerine 1mL PBS (pH:7) tampon ilave edildi. 1 mL 14.4 mM *p*-NPP çözeltisi ile etkileştirildi. Oda sıcaklığında 5 dakika karıştırıldı. Ardından 2 mL 0.025 M Na₂CO₃ ilave edilerek reaksiyon durduruldu. Santrifüj yapıldı. Açığa çıkan *p*-nitrofenol (*p*-NP) UV-Vis spektrofotometresinde 410 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı ve kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak enzim aktiviteleri hesaplandı (şekil 3.15) (Hung ve ark., 2003; Chiou ve Wu, 2004). Tüm aktivite deneyleri üç kez tekrarlandı.



Şekil 3.15. CRL için standart *p*-NP (*p*-nitrofenol)- absorbans grafiği ($\lambda_{max}=410$ nm)

İmmobilize lipaz (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}) ve serbest lipazın (PPL) aktivite ölçümleri için *p*-nitrofenil palmitat (*p*-NPP)'ın hidroliz reaksiyonu uygulandı (Ozyılmaz ve ark., 2021c). İmmobilize ve serbest lipazlardan belirli miktarda alınarak, üzerine 250 μL DMSO ve 750 μL PBS (pH:7) tampon ilave edildi. 1 mL 14.4 mM *p*-NPP çözeltisi ile etkileştirildi. Oda sıcaklığında 5 dakika karıştırıldı. Ardından 2 mL 0.025 M Na₂CO₃ ilave edilerek reaksiyon durduruldu. Santrifüj yapıldı. Açığa çıkan *p*-nitrofenol (*p*-NP) UV-Vis spektrofotometresinde 410 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı ve kalibrasyon

grafiğinden yararlanılarak enzim aktiviteleri hesaplandı (şekil 3.16) (Hung ve ark., 2003; Chiou ve Wu, 2004). Tüm aktivite deneyleri üç kez tekrarlandı.



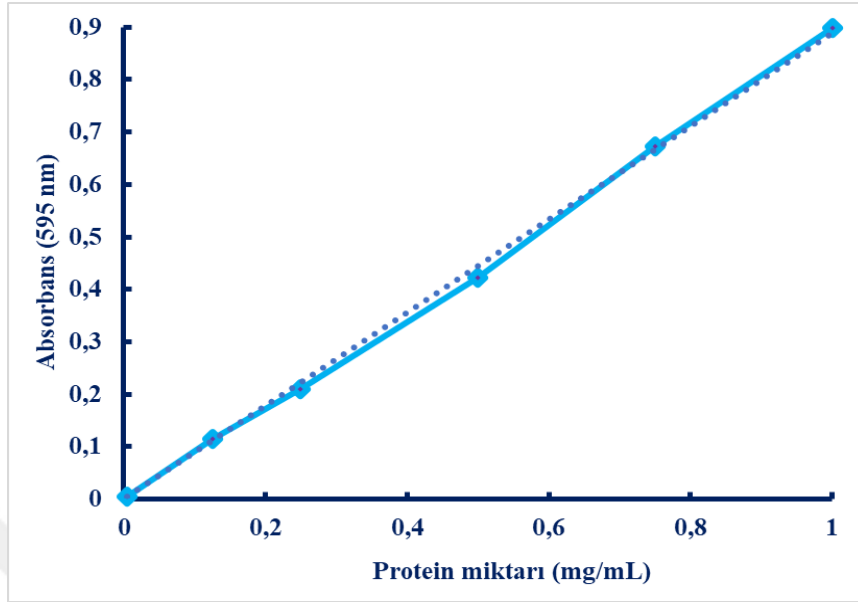
Şekil 3.16. PPL için standart p-NP (p-nitrofenol)- absorbens grafiği ($\lambda_{max}=410$ nm)

3.5.2. İmmobilize Lipazların Protein Tayini

Bradford yöntemi, Coomassie Blue G250 boyasının proteine bağlanmasına dayanan protein tayininde kullanılan önemli bir yöntemdir (Bradford, 1976; Kruger, 2009). Yapılan araştırmalarda serbest boyanın dört farklı iyonik formda bulunabileceğini belirtilmiştir (Chial ve ark., 1993; Kruger, 2009). Asidik test reaktif çözeltisinde baskın olan boyanın üç yüklü formundan, daha katyonik olan kırmızı ve yeşil formlar sırasıyla 470 nm ve 650 nm'de absorbens maksimumlarına sahiptir. Buna karşılık, proteine bağlanan boyanın daha anyonik olan mavi formu, 590 nm'de bir absorbens maksimumuna sahiptir. Bu nedenle, protein miktarı, mavi iyonik formdaki boya miktarını belirleyerek tahmin edilebilmektedir. Bu genellikle çözeltinin absorbensinin 595 nm'de ölçülmesiyle elde edilmektedir (Kruger, 2009).

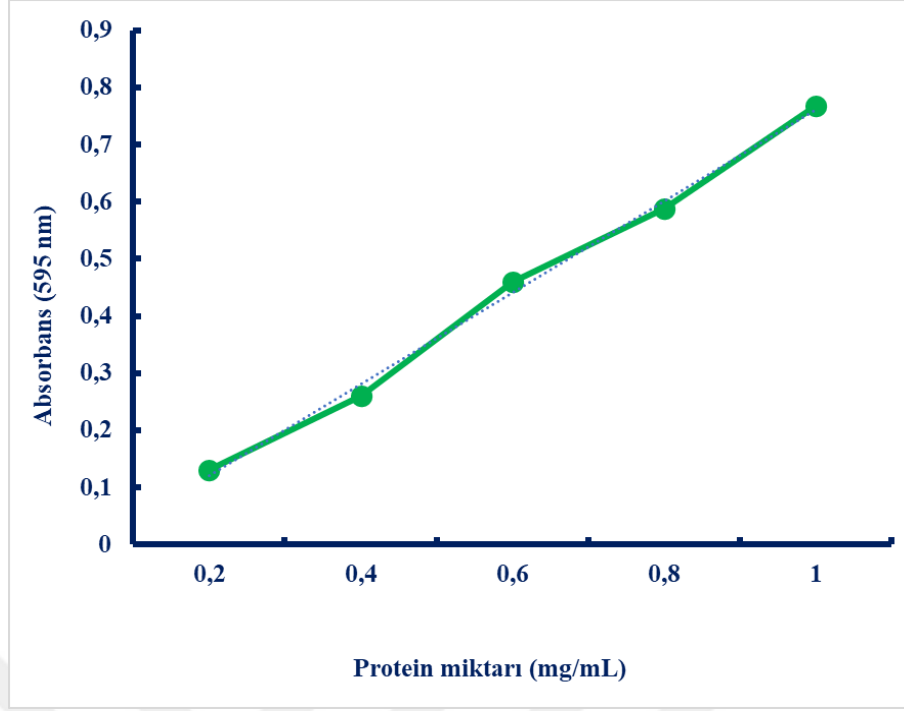
İmmobilize lipaz (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}) ve serbest lipazın (CRL) içerisindeki protein miktarı Bradford yöntemine göre belirlendi (Bradford, 1976). İmmobilize lipaz (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}) ve serbest lipazın (CRL) 595 nm dalga boyundaki absorbensleri ölçüldü. Standart olarak, absorbens-

protein miktarı (mg/mL) grafiği çizildi ve yapılan bütün protein çalışmalarında bu grafik referans alındı (şekil 3.17) (Bradford, 1976).



Şekil 3.17. CRL için standart protein miktarı (mg/mL)- absorbans grafiği ($\lambda_{max} = 595$ nm)

İmmobilize lipaz (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}) ve serbest lipazın (PPL) içerisindeki protein miktarı Bradford yöntemine göre belirlendi (Bradford, 1976). İmmobilize lipaz (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}) ve serbest lipazın (PPL) 595 nm dalga boyundaki absorbansları ölçüldü. Standart olarak, absorbans-protein miktarı (mg/mL) grafiği çizildi ve yapılan bütün protein çalışmalarında bu grafik referans alındı (şekil 3.18) (Bradford, 1976).



Şekil 3.18. PPL için standart protein miktarı (mg/mL)- absorbans grafiği ($\lambda_{max} = 595 \text{ nm}$)

3.5.3. pH stabilitesi

İmmobilize lipaz (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}) ve serbest lipazın (CRL) pH stabilitesini incelemek için, belirli miktarda tartılan lipazlar tüplere alındı. Üzerine ve farklı pH aralıklarında (4.0-9.0) 1 mL PBS tampon ilave edildi. Lipaz aktiviteleri *p*-nitrofenil palmitat (*p*-NPP)'ın hidroliz reaksiyonu ile belirlendi. Tüm aktivite deneyleri üç kez tekrarlandı (Ozyilmaz ve ark., 2021c).

İmmobilize lipaz (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}) ve serbest lipazın (PPL) pH stabilitesini incelemek için, belirli miktarda tartılan lipazlar tüplere alındı. Üzerine 250 μ L DMSO ilave edildi ve farklı pH aralıklarında (4.0-9.0) 750 μ L PBS tampon ile etkileştirildi. Lipaz aktiviteleri *p*-nitrofenil palmitat (*p*-NPP)'ın hidroliz reaksiyonu ile belirlendi. Tüm aktivite deneyleri üç kez tekrarlandı (Ozyilmaz ve ark., 2021c).

3.5.4. Optimum Sıcaklık Tayini

Belirli miktarlarda tartılan immobilize lipazlar (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}, ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}) ve serbest lipazlar (CRL, PPL) 30°C-60°C arasında değişen sıcaklıklarda 15'er dakika süreyle inkübe edildi. Lipaz aktiviteleri *p*-nitrofenil palmitat (*p*-NPP)'ın hidroliz reaksiyonu ile belirlendi. Tüm aktivite deneyleri üç kez tekrarlandı (Ozyilmaz ve ark., 2021c).

3.5.5. Termal Stabilite

İmmobilize lipazlar (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}, ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}) ve serbest lipazlar (CRL, PPL) termal stabilitesini ölçmek için, enzim çözeltileri 20-120 dk zaman aralıklarında 60 °C'de inkübe edildi. Aktivite ölçümleri *p*-nitrofenil palmitat (*p*-NPP)'ın hidroliz reaksiyonu ile belirlendi. Tüm aktivite deneyleri üç kez tekrarlandı (Ozyilmaz ve ark., 2021c).

3.5.6. Tekrar Kullanım

İmmobilize lipazların (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}, ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}) tekrar kullanımını ölçmek için, aktivite ölçümleri *p*-nitrofenil palmitat (*p*-NPP)'ın hidroliz reaksiyonu incelendi. Enzim çözeltileri PBS ile yıkanarak aktivite ölçümleri 5 kez tekrarlandı (Ozyilmaz ve ark., 2021c).

3.5.7. Depolama Stabilitesi

Enzimlerin, uzun süreli saklanmaları zordur. Bu nedenle uzun süre saklanmalarında aktivite kaybının giderilmesi önemli bir araştırma konusudur. Serbest enzimlerin aktiviteleri korumaları oldukça zordur. Bu nedenle enzimlerin depolama kararlılığını sağlamak onları endüstride daha geniş alanda kullanımları için oldukça önem taşımaktadır.

Depolama stabilitesini incelemek için tüm immobilize lipazlar (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}, ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}) 10 gün boyunca +4 °C'de muhafaza edildi. 2 şer gün aralıklarla aktivite ölçümleri *p*-nitrofenil palmitat (*p*-NPP)'ın hidroliz reaksiyonu ile incelendi.

3.6. Enzim Kinetiği Çalışmaları

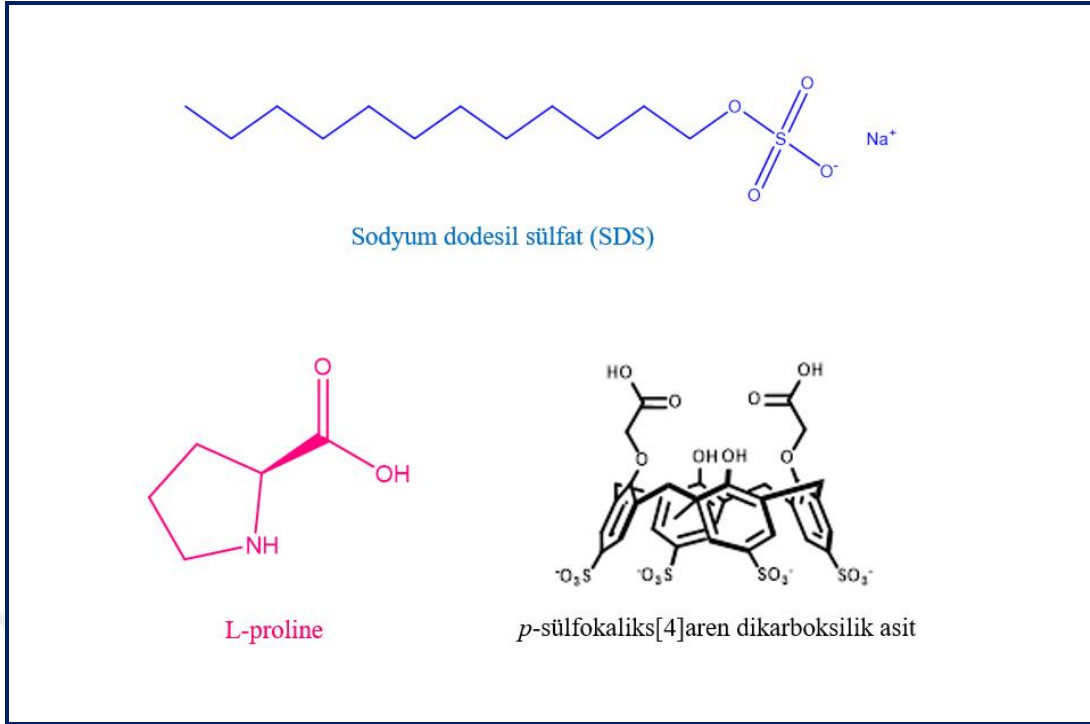
Enzim reaksiyon hızının yarı V_{max} olduğu substrat konsantrasyonu, Michaelis sabiti K_m olarak tanımlanır. V_{max} ve K_m değeri, enzim ve substrat arasındaki afiniteyi göstermektedir (Chen ve ark., 2017; Ozyilmaz ve ark., 2023) İmmobilize lipazın performansını değerlendirmek için enzimatik kinetik parametreler (K_m ve V_{max}) incelenmiştir.

Serbest CRL, serbest PPL ve immobilize lipazların (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}, ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek} ve Cu-MOF@PPL_{mek}) V_{max} ve K_m değerlerini belirlemek için substratımız olan *p*-nitrofenil palmitat (*p*-NPP) 14,4 μ M, 11 μ M, 5,5 μ M, 2,75 μ M, 1,375 μ M ve 0,687 μ M konsantrasyonlarında hazırlandı. Hazırlanan *p*-NPP'lar serbest CRL ve PPL ve immobilize lipazların aktivite tayinlerinde kullanıldı. Lipazların aktivite ölçümleri *p*-nitrofenil palmitat (*p*-NPP)'ın hidroliz reaksiyonu ile incelenerek ve kinetik parametreler belirlendi (Ozyilmaz ve ark., 2021c).

3.7. Yüzey Aktif Madde Etkisi Çalışmaları

3.7.1. Yüzey Aktif Maddelerin Hazırlanması

Tez çalışmamda, sodyum dodesil sülfat (SDS), L-prolin ve *p*-sülfokaliks[4]aren yüzey aktif madde olarak kullanıldı. Sodyum dodesil sülfat (SDS) ve L-prolin (L-prol) ticari olarak temin edildi. *p*-sülfokaliks[4]aren (s-kal-4) sentezlendi (Collins ve ark., 1991; Ozyilmaz ve Sayin, 2013).



Şekil 3.19. Bu çalışmada kullanılan yüzey aktif maddelerin yapıları

3.7.2. Yüzey Aktif Madde@Lipaz@MOF Hazırlanması

Yüzey aktif madde@Lipaz@MOF immobilize enzimlerini elde edebilmek için, öncelikle MOF@Lipaz_{mek} hazırlama yöntemleri dikkate alındı (Wang ve ark., 2018a; Wei ve ark., 2019; Ozyilmaz ve Caglar, 2023). Yüzey aktif madde olarak SDS, L-prolin ve *p*-sülfokaliks[4]aren kullanıldı.

Enzim miktarı 10 mg olarak kullanıldı. Bu miktar sabit tutularak enzim ile aynı anda yüzey aktif madde miktarları 5, 10, 20 mg olacak şekilde havana eklendi. İmmobilize enzimlerin aktivite ölçümleri *p*-nitrofenil palmitat (*p*-NPP)'ın hidroliz reaksiyonu ile incelendi (Ozyilmaz ve ark., 2023).

3.8. HPLC Çalışmaları

3.8.1. Naproksen Metil Ester Türevinin Sentezi

Naproksen metil esteri sentezi için, S-naproksen rasemleştirilerek (R/S)-Naproksen rasematına dönüştürüldü. Fischer esterleşme metodu kullanılarak metanol ile asidik ortamda etkileştirildi ve (R/S)-Naproksen metil ester türevi elde edildi.

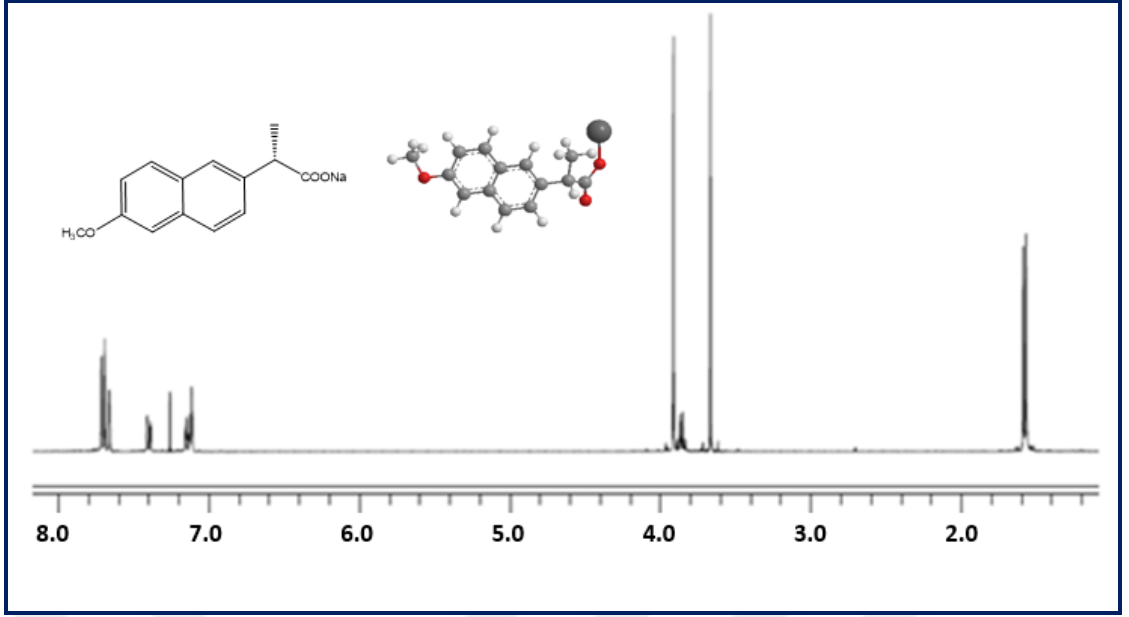
3.8.2. (S)-Naproksen'in Rasemleştirilmesi

2 g (S)-Naproksen ve 1.78 g sodyum hidroksit (NaOH), 15 mL etilen glikol içerisinde 6 saat 175 °C'de karıştırılarak kaynatıldı. Reaksiyon sonrasında karışım üzerine distile su ilave edildi ve pH 4.0'e ayarlandı. Oluşan ürün süzülerek su ile yıkandı ve vakum altında kurutuldu. Rasemleşme HPLC sisteminde, yaklaşık olarak aynı alana sahip piklerin varlığı ile doğrulandı (Wu ve Liu, 2000).

3.8.3. (R/S)-Naproksen Metil Ester Sentezi

30 mL metanol içerisinde 4 mmol (R/S)-Naproksen çözüldü. Üzerine 1 mL H₂SO₄ ilave edildi ve karıştırılarak kaynatıldı. 2 saat sonra reaksiyon ortamına distile su ilave edildi ve oluşan ürün çöktürüldü. Çöktürülen ürün kloroform ile ekstraksiyon yapıldı ve organik faza alındı. Organik faz MgSO₄ ile kurutuldu. Organik fazın vakum altında uzaklaştırıldı ve (R/S)-Naproksen metil ester türevi elde edildi.

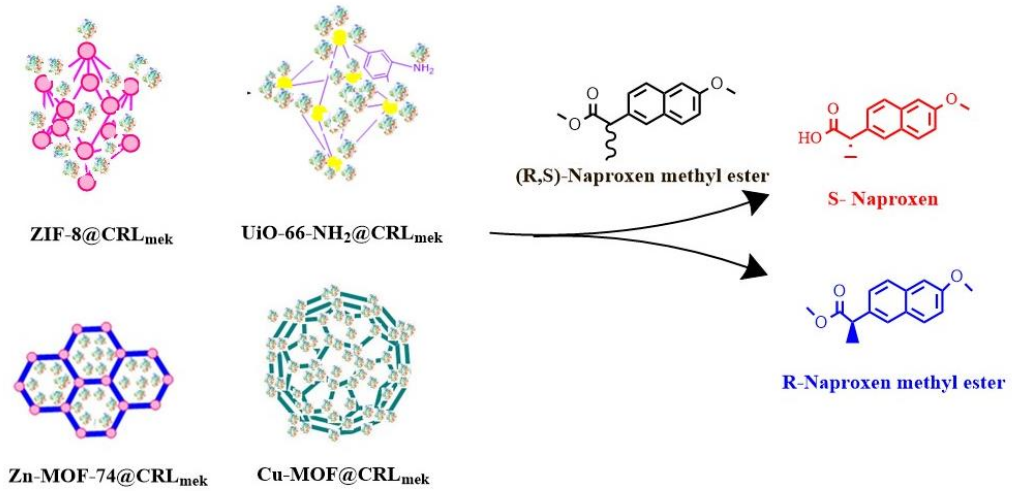
Verim % 90, ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃); δ=1.6 (3H,d, J=7.4 Hz), 3.63 (3H, s), 3.86 (1H, q, J=7.0 Hz), 3.92 (3H, s) 7.15 (2H, m), 7.4 (1H, m), 7.65 (3H, m), ¹³C-NMR (400 MHz, CDCl₃), 18.82, 45.17, 52.13, 55.73, 105.93, 119.33, 126.15, 126.40, 127.39, 129.14, 129.48, 133.91, 135.88, 157.92, 175.32 (Şekil 3.20).



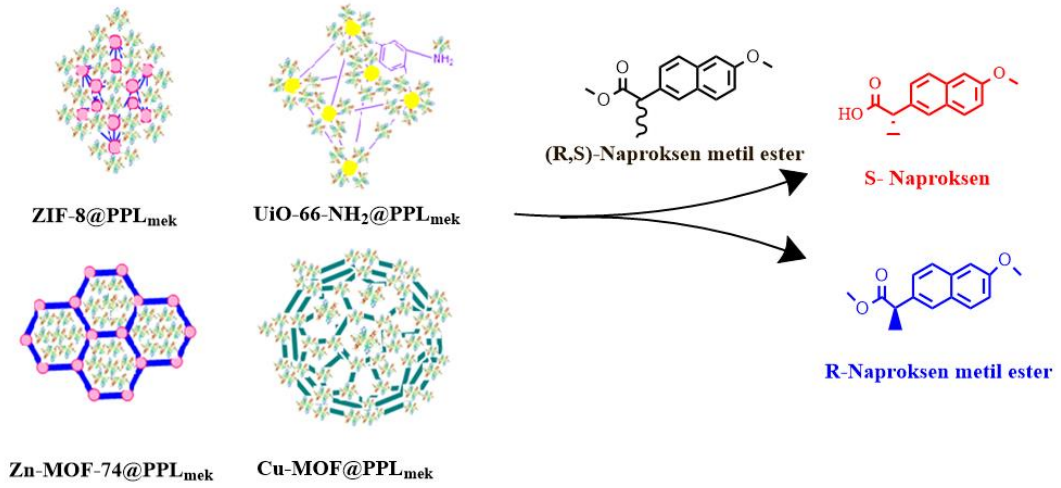
Şekil 3.20. (R/S)- Naproksen metil ester türevinin ¹H-NMR spektrumu

3.8.4. İmmobilize Lipazlar (MOF@Lipaz) ile Rasemik Naproksen Metil Esterlerinin Enantiyoseçimli Hidrolizi

5 mL'lik vial şişe içerisine 2 mL lipaz çözeltisi (pH 7.0, 0,05 M fosfat tamponu) ya da serbest lipaz'a eşdeğer Unit'de immobilize lipaz konuldu. Daha sonra üzerine 100 µL Rasemik Profen Metil Esterlerinin izooktandaki çözeltisi (20 mM) ilave edildi. 24 saat 35 °C de çalkalamalı inkübatör içerisinde karıştırıldı. Daha sonra karışım üzerine 2 mL izooktan konularak ekstraksiyon yapıldı. İzooktan fazındaki numune, HPLC cihazına verilerek analizi yapıldı.



Şekil. 3.21a İmmobilize lipazların (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}) ile Rasemik Naproksen Metil Esterlerinin Enantiyoseçimli Hidrolizi



Şekil. 3.21b İmmobilize lipazların (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}) ile Rasemik Naproksen Metil Esterlerinin Enantiyoseçimli Hidrolizi

İmmobilize lipazların (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}, ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek} ve Cu-MOF@PPL_{mek}) rasemik naproksen metil esterlerinin enantiyoseçimli hidroliz reaksiyonları incelendi (şekil 3.21a ve şekil 3.21b).

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Çalışma temel olarak 5 ayrı basamakta değerlendirildi.

- Öncelikle, ekonomik, hızlı, çevre dostu olan mekanokimyasal yaklaşım ve bu teknik kullanılarak, 2 farklı çinko bazlı (ZIF-8, Zn-MOF-74), 1 zirkonyum bazlı (UiO-66-NH₂) ve 1 bakır bazlı (Cu-MOF) olmak üzere toplam 4 farklı MOF'un sentezi başarıyla tamamlandı.
- Sentezlenen MOF'lar *Candida rugosa* lipaz (CRL) ve *Porcine pankreatik* lipazın (PPL) immobilizasyonunda destek materyali olarak kullanıldı.
- İmmobilize lipazlar ve serbest lipazların enzim kinetikleri incelendi.
- İmmobilize lipazlar, rasemik naproksen metil esterinin enantiyoseçimli hidroliz reaksiyonunda kullanıldı.
- Enzim immobilizasyonunda yüzey aktif madde etkisi araştırıldı.

4.1. Mekanokimyasal Yöntem ile Metal Organik Kafeslerin Sentez ve Karakterizasyonları

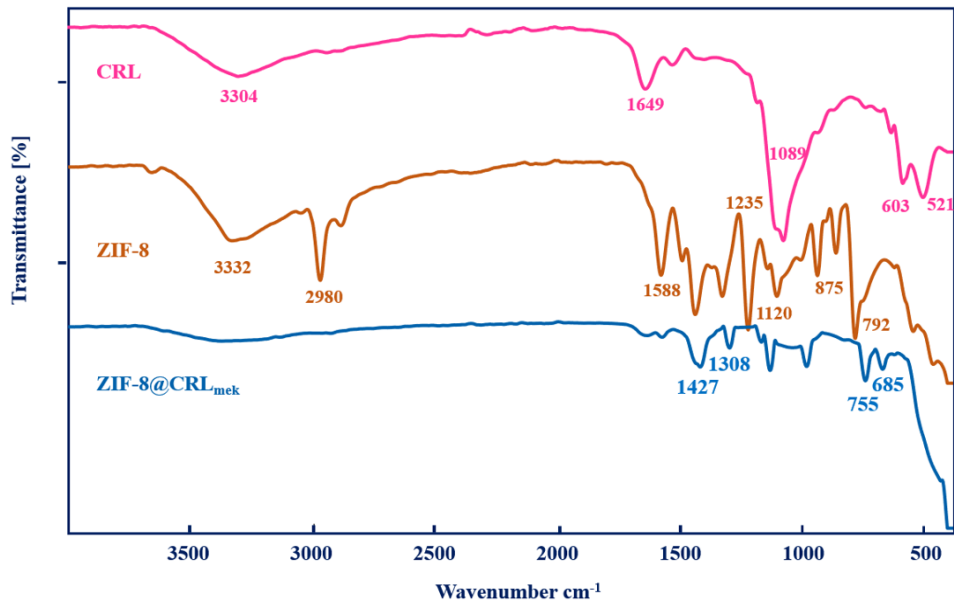
Metal organik kafes (MOF) kompozitlerinin benzersiz özellikleri ve biyokataliz uygulamalarında yaygın kullanımı, son birkaç yılda çok büyük ilerlemeler sağlamıştır.

Son zamanlarda popüler olan mekanokimyasal yöntem modern, hızlı, basit, solvent içermeyen, ekonomik ve çevre dostu bir yöntemdir (Karadeniz ve ark., 2019; Wei ve ark., 2019; Effaty ve ark., 2021; Tsuzuki, 2021; Puccetti ve ark., 2022; Ozyilmaz ve Caglar, 2023; Nath, 2024).

4.1.1. ZIF-8'in Sentezi ve Karakterizasyonu

ZIF-8'in mekanokimyasal sentezinin mekanizması Şekil 3.2'de gösterilmektedir. ZIF-8, çinko oksit, 2-metilimidazol (2-mIM) ve çok küçük miktarda etanolün havana ilave edilip 2.5 dk öğütülmesi ile hazırlandı. Elde edilen son karışım su:etanol ile yıkandı ve ardından 4000 rpm'de 5 dk santrifüj yapıldı. Liyofilizatörde kurutuldu (Wei ve ark., 2019).

ZIF-8'in yapısında yer alan fonksiyonel gruplar, FTIR spektrumları incelenerek aydınlatıldı. Morfolojisini incelemek için SEM analizi, kristalize yapısını açıklamak için de XRD spektrumu kullanıldı.

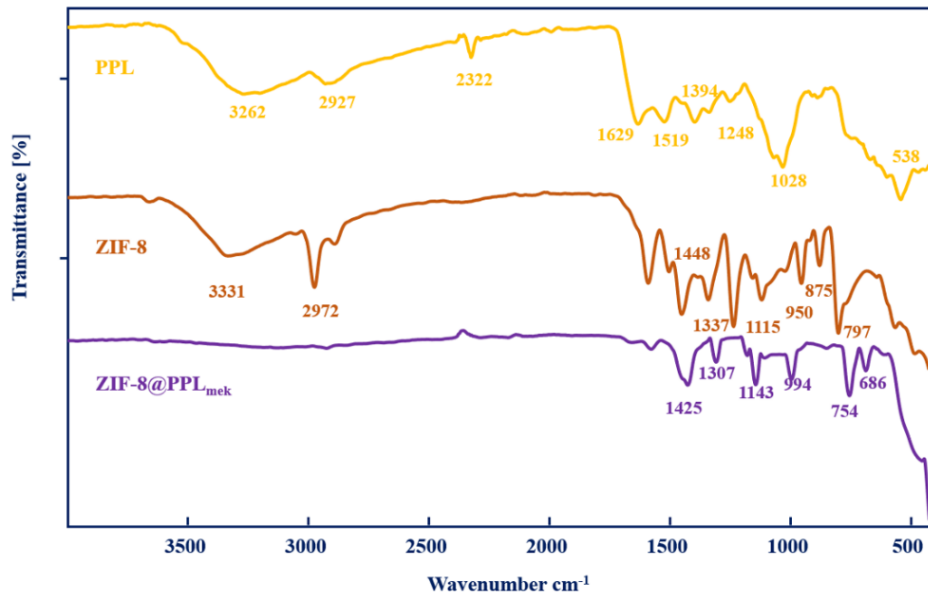


Şekil 4.1.a. CRL, ZIF-8 ve ZIF-8@CRL_{mek}'in FT-IR spektrumu

3332 cm⁻¹ ve 2980 cm⁻¹'deki pikler ZIF-8'in C-H'sinin gerilme titreşimini gösterir. İmidazol halkasının C=N bandı ve Zn-N gerilme titreşimi için karakteristik absorpsiyon bantları sırasıyla 1588 cm⁻¹ ve 480 cm⁻¹'de bulunmuştur. C=N'nin gerilme titreşiminin 1588 cm⁻¹'deki bantta olduğu doğrulanmıştır. Aromatik C-N'nin gerilme modu 1120 cm⁻¹'deki banda karşılık gelmiştir (Zhang ve ark., 2018; Ozyilmaz ve Caglar, 2023). Bu pikler aromatik halka yapısına bağlı oksijenli-fonksiyonel grupların varlığına işaret etmektedir. Öte yandan, ZIF-8'in 420, 792, 1120, 1235-1300, 1350-1500, 1580 ve 2971/3332 cm⁻¹'deki sarmal bantları, sırasıyla, Zn-N düzlem dışı bükülme, imidazol halkasının düzlem içi bükülmesi, tüm halka, germe, imidazol halkasının C=N ve alifatik/aromatik C-H bağlarını doğrulamaktadır (Tanaka ve Miyashita, 2017; Ozyilmaz ve Caglar, 2023).

CRL'nin spektrumunda, 3100-3500 cm⁻¹ aralığındaki amin bandı ve CO-NH₂'den kaynaklanan 1364 cm⁻¹ ve 1649 cm⁻¹'deki bantlar görülebilir. CRL'nin amid I ve amid II'si 1649 cm⁻¹ ve 1540 cm⁻¹'dedir (Xie ve Huang, 2018; Iuliano ve ark., 2020).

Hem CRL ve ZIF-8 hem de ZIF-8@CRL_{mek} için 1100 cm⁻¹ civarında görülen karakteristik pikler, CRL'nin ZIF-8'e başarılı bir şekilde yerleştirildiğini göstermektedir (Zou ve ark., 2020a). ZIF-8@CRL_{mek}'de amid I pikinde hafif bir kayma vardır, bu da Zn⁺² ile enzim üzerindeki karbonil grupları arasındaki koordinasyon nedeniyle doğrudan enzim-MOF etkileşimini doğrulamaktadır (Şekil 4.1.a) (Qi ve ark., 2019; Karimian ve ark., 2023).



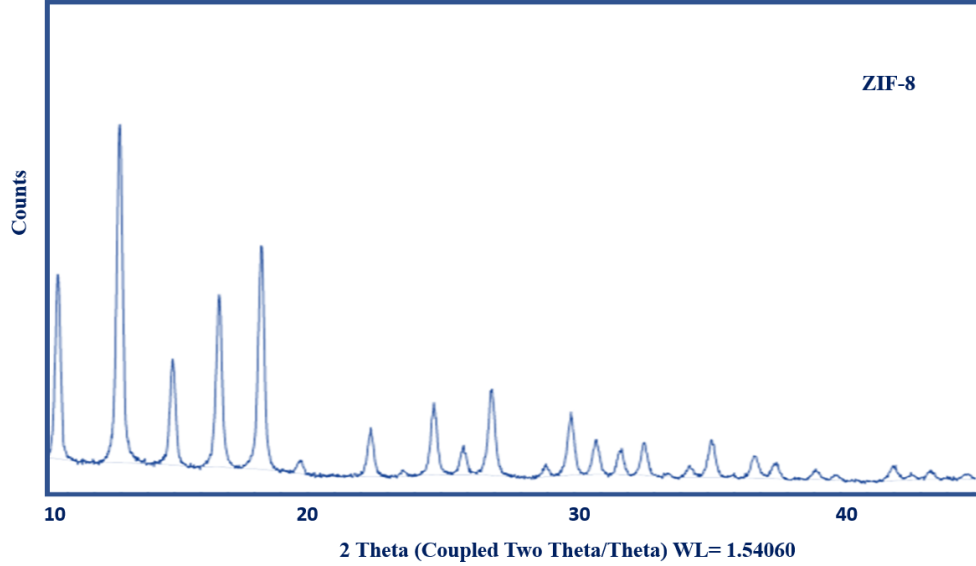
Şekil 4.1.b. PPL, ZIF-8 ve ZIF-8@PPL_{mek}'in FT-IR spektrumu

1629, 1519 ve 1456 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bantları, PPL'nin karakteristik piklerini göstermektedir. Ayrıca 1629 ve 3362 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bantları, sırasıyla amid I bağlarında CO ve NH esneme titreşimine karşılık gelmektedir (Şekil 4.1.b) (Zhu ve ark., 2014).

Spektrumdaki 3331 cm^{-1} ve 2972 cm^{-1} 'deki pikler ZIF-8'in C-H'sinin gerilme titreşimini gösterir. İmidazol halkasının C=N bandı ve Zn-N gerilme titreşimi için karakteristik absorpsiyon bantları sırasıyla 1588 cm^{-1} ve 480 cm^{-1} 'de bulunmuştur. C=N'nin gerilme titreşiminin 1588 cm^{-1} 'deki bantta olduğu doğrulanmıştır. Aromatik C-N'nin gerilme modu 1120 cm^{-1} 'deki banda karşılık gelmiştir (Zhang ve ark., 2018; Ozyılmaz ve Caglar, 2023). Bu pikler aromatik halka yapısına bağlı oksijenli-fonksiyonel grupların varlığına işaret etmektedir. Öte yandan, ZIF-8'in 420, 792, 1120, 1235-1300, 1350-1500, 1580 ve 2971/3332 cm^{-1} 'deki sarmal bantları, sırasıyla, Zn-N düzlem dışı bükülme, imidazol halkasının düzlem içi bükülmesi, tüm halka, germe, imidazol halkasının C=N ve alifatik/aromatik C-H bağlarını doğrulamaktadır (Tanaka ve Miyashita, 2017; Ozyılmaz ve Caglar, 2023).

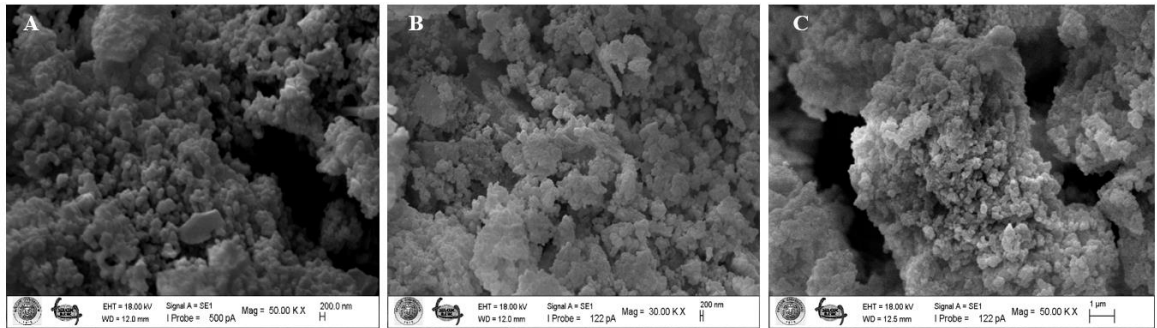
ZIF-8@PPL_{mek}'in FTIR spektrumunda, PPL'nin karakteristik olan 1629, 1519 ve 1456, 1394 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bantlarının ve ZIF-8'nin yapısı için karakteristik olan 1448, 1337, 1235 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bantlarının PPL ve ZIF-8 ile etkileşimi ile bir miktar kayarak değişikliğe uğradığı görülmektedir. ZIF-8@PPL_{mek}'in amid I pikinde hafif bir kayma vardır, bu da Zn^{+2} ile enzim üzerindeki karbonil grupları arasındaki

koordinasyon nedeniyle doğrudan enzim-MOF etkileşimini doğrulamaktadır (Şekil 4.1.a) (Zhu ve Xu, 2014; Qi ve ark., 2019; Karimian ve ark., 2023)



Şekil 4.2. ZIF-8'in XRD spektrumu

Sentezlenen ZIF-8'in 2θ 'da = 7,2 °, 10,6 °, 12,9 °, 14,9 °, 16,6 °, 18,2 °, 19,7°, 22,3°, 24,7°, 25,4°, 26,9°, 30,8° ve 31,7° karakteristik pikleri olduğu belirlendi. Bu çalışmada sentezlenen ZIF-8'in XRD modeli, diğer çalışmalar ile kıyaslandığında, ZIF-8'nin kristal yapısının oluşumu doğrulandı (Wang ve ark., 2018b; Zou ve ark., 2020a; Ozyilmaz ve Caglar, 2023). Bu sonuç bize ZIF-8'nin başarılı bir şekilde sentezlendiğini göstermektedir (Şekil 4.2).



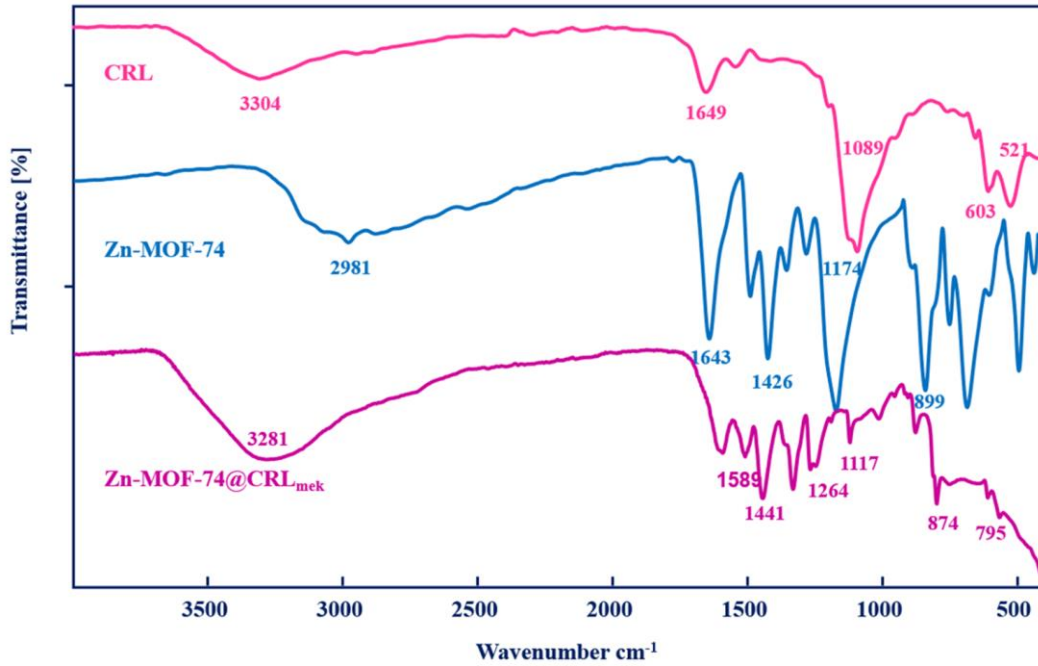
Şekil 4.3. A) ZIF-8 ve B) ZIF-8@CRL_{mek}, ZIF-8@PPL_{mek}'in SEM analizi

Şekil 4.3’de ZIF-8, ZIF-8@CRL_{mek} ve ZIF-8@PPL_{mek}’in SEM görüntüleri gösterilmektedir. ZIF-8’in yüzey morfolojisi, SEM analizi ile doğrulandı. ZIF-8@CRL_{mek} ve ZIF-8@PPL_{mek}’in SEM görüntüsünde ise dış morfolojisinde immobilizasyon sonrası enzimin yoğun agregasyon oluşturduğu ve MOF yapılarının önemli ölçüde değiştiği gözlenmiştir (Julien ve ark., 2016; Stolar ve ark., 2021; Ozyilmaz ve ark., 2022b; Ozyilmaz ve Caglar, 2023).

4.1.2. Zn-MOF-74’ün Sentezi ve Karakterizasyonu

Zn-MOF-74’ün mekanokimyasal sentezinin mekanizması Şekil 3.3’de gösterilmektedir. Zn-MOF-74, mekanokimyasal yöntemlerden birisi olan havanda öğütme tekniği kullanılarak, tek basamakta sentezlendi (Wei ve ark., 2019).

Yapısında yer alan fonksiyonel gruplar, FTIR spektrumu incelenerek aydınlatıldı. Morfolojisini incelemek için SEM analizi kullanıldı. Zn-MOF-74’ün kristalize yapısını açıklamak için de XRD spektrumu kullanıldı.

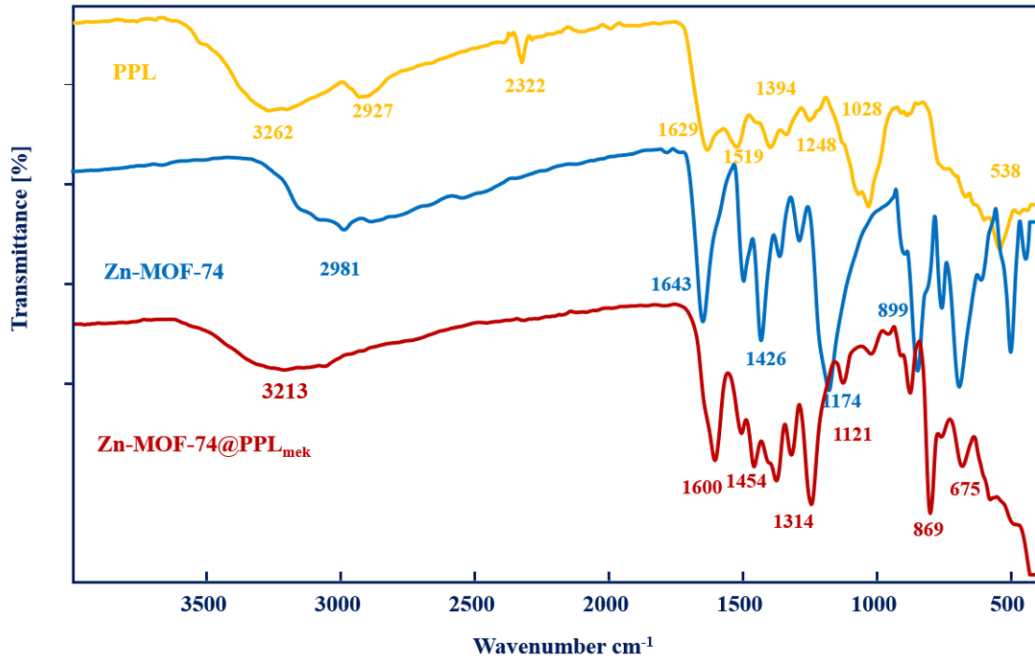


Şekil 4.4.a. CRL, Zn-MOF-74 ve Zn-MOF-74@CRL_{mek}’in FT-IR spektrumu

CRL’nin spektrumunda, 3100-3500 cm⁻¹ aralığındaki amin bandı ve CO-NH₂’den kaynaklanan 1364 cm⁻¹ ve 1649 cm⁻¹’deki bantlar görülebilir. CRL’nin amid I ve amid II’si 1649 cm⁻¹ ve 1540 cm⁻¹’de görülmektedir (Xie ve Huang, 2018; Iuliano ve ark., 2020).

Zn-MOF-74'ün FTIR spektrumunda, 2981 cm^{-1} 'deki güçlü bant Zn ve O arasındaki gerilme titreşimini göstermektedir. 1643 cm^{-1} 'deki güçlü bant, 1426 cm^{-1} 'de aromatik halkanın varlığını gösterir. 1174 cm^{-1} 'deki güçlü bant C-O tek bağı gösterir. Aromatik halkanın para pozisyonunu 846 cm^{-1} 'de, 899 cm^{-1} 'de gösterir. Bu pikler aromatik halka yapısına bağlı oksijenli-fonksiyonel grupların varlığını göstermektedir (Ozyilmaz ve Caglar, 2023).

Zn-MOF-74@CRL_{mek}'in FTIR sepktumunda, Zn-MOF-74'ün 2981 cm^{-1} 'deki Zn-O etkileşimine güçlü bandının CRL ile etkileşimi sonucu 3281 cm^{-1} 'e kaydığı ve burada daha güçlü olduğu bant oluşturduğu görülmektedir. Zn-MOF-74'ün FTIR spektrumundaki, 1643 cm^{-1} 'deki güçlü bant ve 1426 cm^{-1} 'de aromatik halkanın varlığını, 1174 cm^{-1} 'deki güçlü bant C-O tek bağı göstermektedir. İmmobilizasyon sonucu bantların, 1589 cm^{-1} , 1441 cm^{-1} , 1117 cm^{-1} ve 874 cm^{-1} 'deki bantlar ile amid I ve amid II bağları ve CRL'nin başarılı bir şekilde Zn-MOF-74'e yüklendiği görülmektedir (Ozyilmaz ve Caglar, 2023).

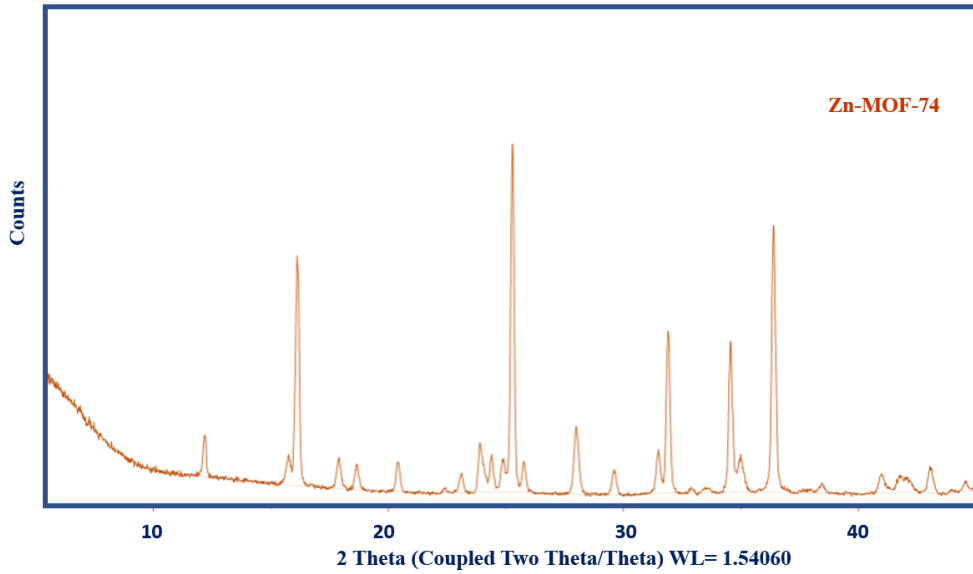


Şekil 4.4.b PPL, Zn-MOF-74 ve Zn-MOF-74@PPL_{mek}'in FT-IR spektrumu

PPL'nin FTIR spektrumunda, 1629, 1519 ve 1456 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bantları, PPL'nin karakteristik piklerini göstermektedir. Ayrıca 1629 ve 3362 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bantları, sırasıyla amid I bağlarında CO ve NH esneme titreşimine karşılık gelmektedir (Şekil 4.4.b) (Zhu ve ark., 2014).

Zn-MOF-74'ün FTIR spektrumunda, 2981 cm^{-1} 'deki güçlü bant Zn ve O arasındaki gerilme titreşimini göstermektedir. 1643 cm^{-1} 'deki güçlü bant, 1426 cm^{-1} 'de aromatik halkanın varlığını gösterir. 1174 cm^{-1} 'deki güçlü bant C-O tek bağı gösterir. Aromatik halkanın para pozisyonunu 846 cm^{-1} 'de, 899 cm^{-1} 'de gösterir. Bu pikler aromatik halka yapısına bağlı oksijenli-fonksiyonel grupların varlığını göstermektedir (Ozyilmaz ve Caglar, 2023).

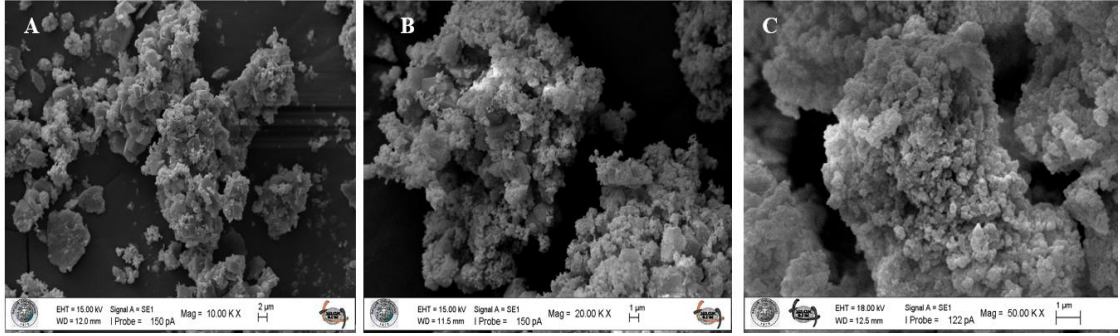
Zn-MOF-74@PPL_{mek}'in FTIR spektrumunda, Zn-MOF-74'ün 2981 cm^{-1} 'deki Zn-O etkileşimine güçlü bandının PPL ile etkileşimi sonucu 3213 cm^{-1} 'e kaydığı ve burada geniş bir alanda daha güçlü olduğu bant oluşturduğu görülmektedir. Zn-MOF-74'ün FTIR spektrumundaki, 1643 cm^{-1} 'deki güçlü bant ve 1426 cm^{-1} 'de aromatik halkanın varlığını, 1174 cm^{-1} 'deki güçlü bant C-O tek bağı göstermektedir. İmmobilizasyon sonucu bantların, 1600 cm^{-1} , 1454 cm^{-1} , 1314 cm^{-1} , 1121 cm^{-1} ve 869 cm^{-1} 'deki bantlar ile amid I bağlarındaki CO ve NH esneme titreşimini göstermektedir. Bu pikler PPL'nin başarılı bir şekilde Zn-MOF-74'e yüklendiği doğrulamaktadır (Zhu ve ark., 2014; Ozyilmaz ve Caglar, 2023).



Şekil 4.5. Zn-MOF-74'ün XRD spektrumu

Zn-MOF-74'ün XRD kırınım deseni Şekil 4.5'de gösterilmektedir. Sentezlediğimiz Zn-MOF-74'ün karakteristik pikleri 12.1 °, 15.7 °, 16.1 °, 17.8 °, 20.4 °, 22.4 °, 23.1 °, 23.9°, 24.3 °, 24.9 °, 25.2 °, 25.7 °, 27.9 °, 29.6 °, 31.4 °, 31.7 °, 34.9 ° ve 36.3 °de görülmektedir. Bu çalışmada sentezlenen Zn-MOF-74'ün XRD kırınım desenini diğer çalışmalarda yer alan MOF-74 ile karşılaştırıldığında Zn-MOF-74'ün

karakteristik piklerinin doğrulandığı görülmektedir. Bu da yüksek kristallığe sahip MOF-74'ün başarılı bir şekilde sentezlendiğini göstermektedir (Wei ve ark., 2019; Stolar ve ark., 2021).

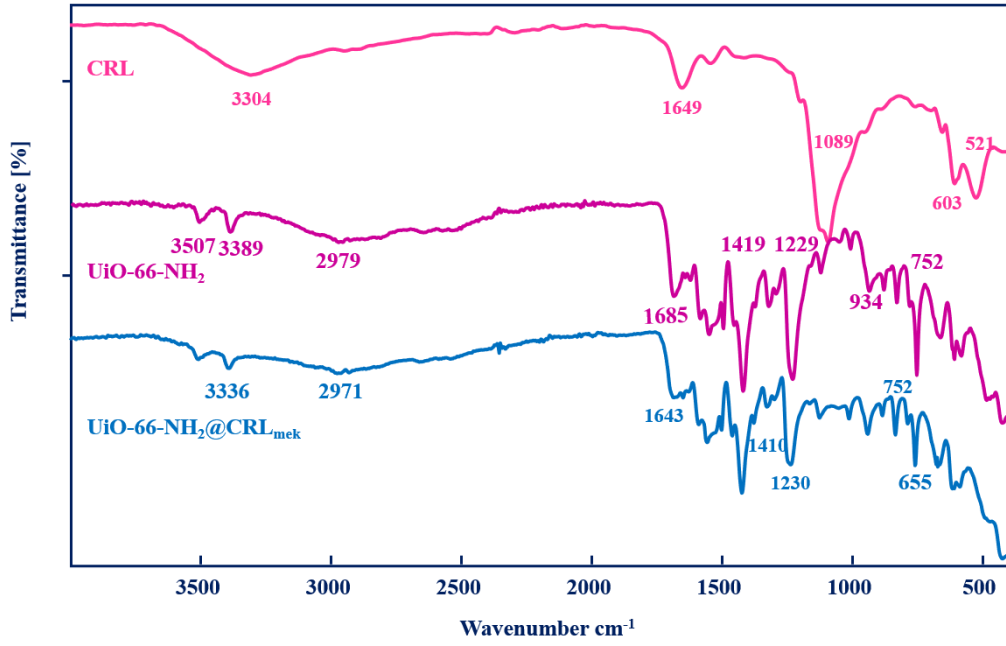


Şekil 4.6. A) Zn-MOF-74 ve B) Zn-MOF-74@CRL_{mek} ve C) Zn-MOF-74@PPL_{mek}'in SEM analizi

Zn-MOF-74, Zn-MOF-74@CRL_{mek} ve Zn-MOF-74@PPL_{mek}'nin SEM görüntüleri Şekil 4.6'da gösterilmektedir. Zn-MOF-74'ün yüzey morfolojisi, SEM analizi ile doğrulandı. Zn-MOF-74@PPL_{mek}'nin SEM görüntüsünde Zn-MOF-74'ün dış morfolojilerinde immobilizasyon sonrası enzimin yoğun agregasyon oluşturduğu ve MOF yapılarının önemli ölçüde değiştiği gözlemlendi (Julien ve ark., 2016; Stolar ve ark., 2021; Ozyılmaz ve ark., 2022b; Ozyılmaz ve Caglar, 2023).

4.1.3. UiO-66-NH₂'nin Sentezi ve Karakterizasyonu

Sentezlenen zirkonyum (IV) okso hidroksi metakrilat, 2-amino terafitalik asit ve etanol havana alındı. 5 dakika öğütüldükten sonra santrifüj yapıldı. 3 kez deiyonize su yıkama yapıldı. Santrifüj yapıldı ve liyofilizatörde kurutuldu (Wei ve ark., 2019). Yapısında yer alan fonksiyonel gruplar, FTIR spektrumu incelenerek aydınlatıldı. Morfolojisini incelemek için SEM analizi kullanıldı. UiO-66-NH₂'nin kristalize yapısını açıklamak için de XRD spektrumu kullanıldı.

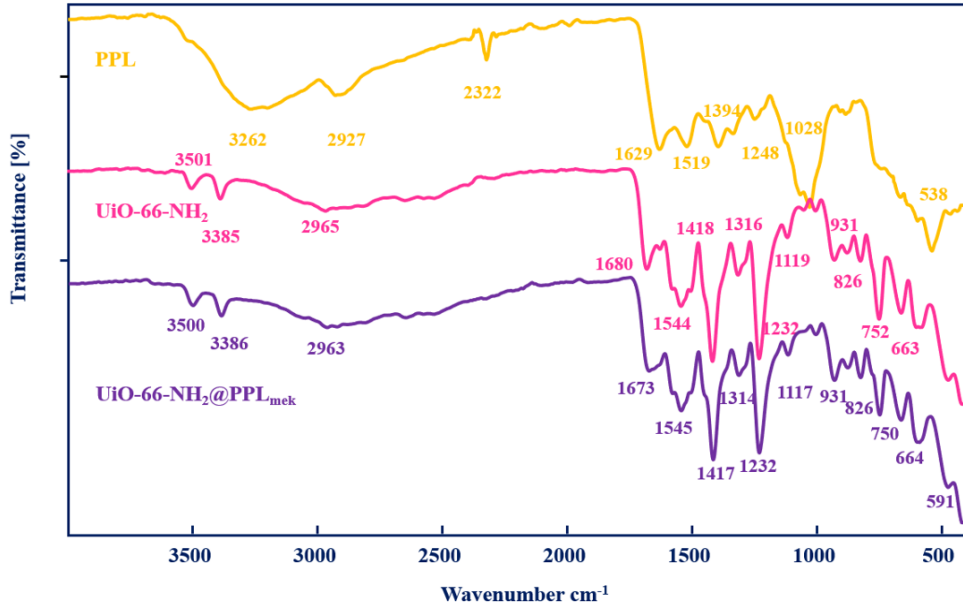


Şekil 4.7.a. CRL, UiO-66-NH₂ ve UiO-66-NH₂@CRL_{mek}'in FT-IR spektrumu

CRL'nin spektrumunda, 3100-3500 cm⁻¹ aralığındaki amin bandı ve CO-NH₂'den kaynaklanan 1364 cm⁻¹ ve 1649 cm⁻¹'deki bantlar görülebilir. CRL'nin amid I ve amid II'si 1649 cm⁻¹ ve 1540 cm⁻¹'dedir (Xie ve Huang, 2018; Iuliano ve ark., 2020).

UiO-66-NH₂'nin FTIR spektrumunda, 1700–1200 cm⁻¹ bölgesinde karboksilat grupları ve fenil halka deformasyonlarından kaynaklanan çok yoğun bantlar gözlemlendi. 2965 cm⁻¹ merkezli geniş bir bant H-bağlı OH gruplarını, 3501 ve 3385 cm⁻¹'deki NH₂ bantları göstermektedir. 1316 ile 1680 cm⁻¹ arasındaki bantlar UiO-66-NH₂'nin karakteristik zirvelerini gösterirken, 1680 cm⁻¹ ve 1544 cm⁻¹'deki zirveler, 2-aminotereftalik asit ligandının yapısındaki aromatik ve karboksilik gruplardaki simetrik ve asimetrik COO germe bağlarını göstermektedir (Samui ve ark., 2016; Ozyilmaz ve ark., 2023).

UiO-66-NH₂@CRL_{mek}'nin FTIR spektrumunda da, hem UiO-66-NH₂'nin karakteristik bantları, hem de CRL'nin amid I ve amid II bantları 1643 cm⁻¹ ve 1540 cm⁻¹'de yoğun şekilde görülmektedir. Bu da bize CRL'nin UiO-66-NH₂'ye başarılı bir şekilde yüklendiğini göstermektedir (Ozyilmaz ve ark., 2023).

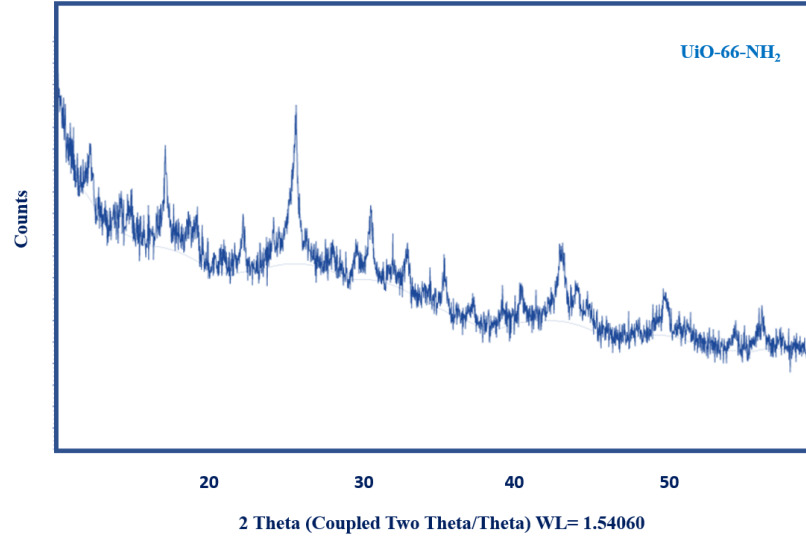


Şekil 4.7. b. PPL, UiO-66-NH₂ ve UiO-66-NH₂@PPL_{mek}'in FT-IR spektrumu

PPL'nin FTIR spektrumunda, 1629, 1519 ve 1456 cm⁻¹'deki absorpsiyon bantları, PPL'nin karakteristik piklerini göstermektedir. Ayrıca 1629 ve 3362 cm⁻¹'deki absorpsiyon bantları, sırasıyla amid I bağlarında CO ve NH esneme titreşimine karşılık gelmektedir (Zhu ve ark., 2014).

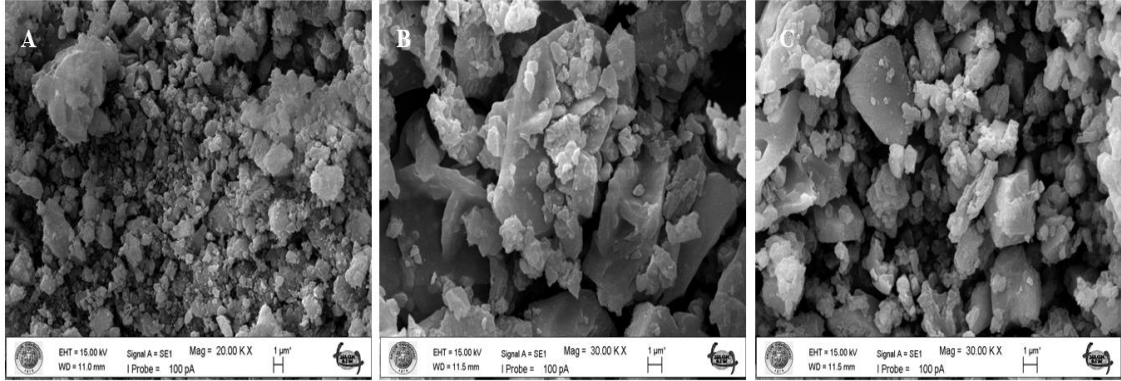
UiO-66-NH₂'nin FTIR spektrumunda, 1700–1200 cm⁻¹ bölgesinde karboksilat grupları ve fenil halka deformasyonlarından kaynaklanan çok yoğun bantlar gözlemlendi. 2965 cm⁻¹ merkezli geniş bir bant H-bağlı OH gruplarını, 3501 ve 3385 cm⁻¹'deki NH₂ bantları göstermektedir. 1316 ile 1680 cm⁻¹ arasındaki bantlar UiO-66-NH₂'nin karakteristik zirvelerini gösterirken, 1680 cm⁻¹ ve 1544 cm⁻¹'deki zirveler, 2-aminotereftalik asit ligandının yapısındaki aromatik ve karboksilik gruplardaki simetrik ve asimetrik COO germe bağlarını göstermektedir (Samui ve ark., 2016; Ozyilmaz ve ark., 2023).

UiO-66-NH₂@PPL_{mek}'in FTIR spektrumunda, 2963 cm⁻¹'deki adsorpsiyon bandı UiO-66-NH₂ yapısındaki C-H gerilim frekansını doğrularken, 1680, 1544 absorpsiyon bantları, sırasıyla amid I bağlarında CO ve NH esneme titreşimine karşılık gelmektedir. 3500 ve 3386 cm⁻¹'deki bantlar NH₂ bantları gösterir. Tüm spektrumlar birlikte değerlendirildiğinde, UiO-66-NH₂'nin yapısı ve UiO-66-NH₂@PPL_{mek}'nin başarılı bir şekilde elde edildiği söylenebilir (Şekil 4.7.b) (Ozyilmaz ve ark., 2023).



Şekil 4.8. UiO-66-NH₂'nin XRD spektrumu

UiO-66-NH₂'nin XRD spektrumu incelendiğinde, 14.7°, 17.4°, 22.2°, 25.7°, 30.6°, 31.1°, 35.9°, 37.7°, 40.1°, 43.6'da 12 ana kırınım gösterdiği görülmektedir (Şekil 4.8). Bu çalışmada sentezlenen UiO-66-NH₂'nin XRD kırınım desenini diğer çalışmalarda yer alan UiO-66-NH₂ ile karşılaştırıldığında karakteristik piklerinin doğrulandığı görülmektedir. Bu da yüksek kristalliğe sahip UiO-66-NH₂'nin başarılı bir şekilde sentezlendiğini göstermektedir (Wei ve ark., 2019; Ozyilmaz ve ark., 2023).



Şekil 4.9. A) UiO-66-NH₂, B) UiO-66-NH₂@CRL_{mek} ve C) UiO-66-NH₂@PPL_{mek}'in SEM analizi

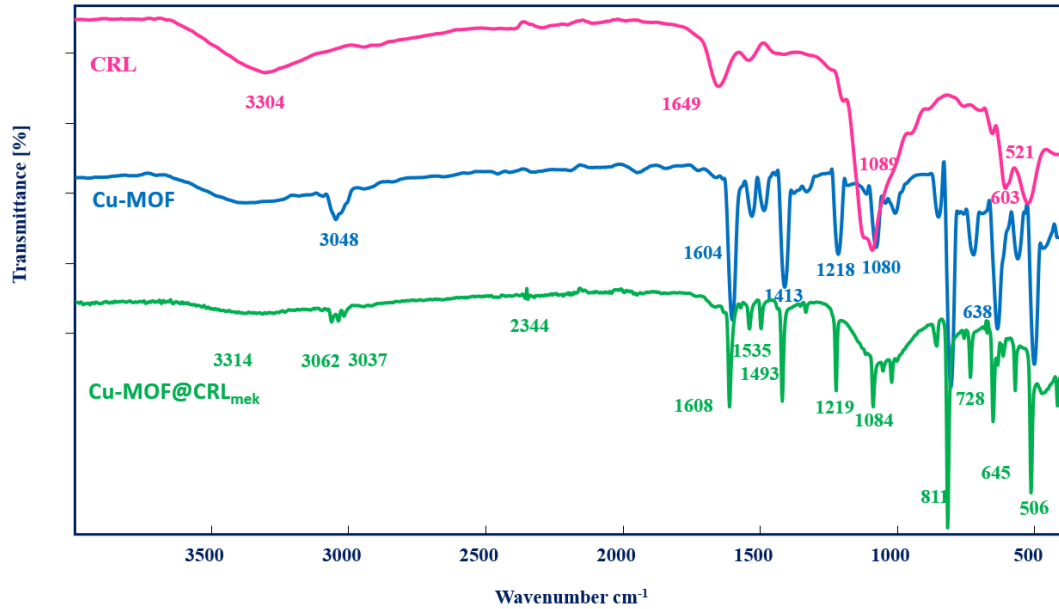
Şekilde UiO-66-NH₂, UiO-66-NH₂@CRL_{mek} ve UiO-66-NH₂@PPL_{mek}'in SEM görüntüleri yer almaktadır. UiO-66-NH₂'nin yüzey morfolojisi, SEM analizi ile doğrulandı (Şekil 4.9). UiO-66-NH₂@CRL_{mek} ve UiO-66-NH₂@PPL_{mek}'nin SEM görüntüsünde UiO-66-NH₂'nin dış morfolojilerinde immobilizasyon sonrası gözenek boyutunun büyüdüğü, enzimin yoğun yüklendiği ve MOF yapılarının önemli ölçüde

değiştii gözlendi (Julien ve ark., 2016; Stolar ve ark., 2021; Ozyilmaz ve ark., 2022b; Ozyilmaz ve Caglar, 2023).

4.1.4. Cu-MOF'un Sentezi ve Karakterizasyonu

Cu-MOF, CuCl₂ sulu çözeltisi, 4,4'-bipiridin, etanol ve su (h/h = 50: 50) karışımının havana eklenmesi ve öğütülmesi ile oda sıcaklığında basit bir şekilde karıştırılarak hazırlandı. Elde edilen karışım santrifüjlendi, yıkandı ve kurutuldu (Wang ve ark., 2018a).

Cu-MOF'un yapısında yer alan fonksiyonel gruplar, FTIR spektrumu incelenerek aydınlatıldı. Morfolojisini incelemek için SEM analizi, kristalize yapısını açıklamak için de XRD spektrumu kullanıldı.



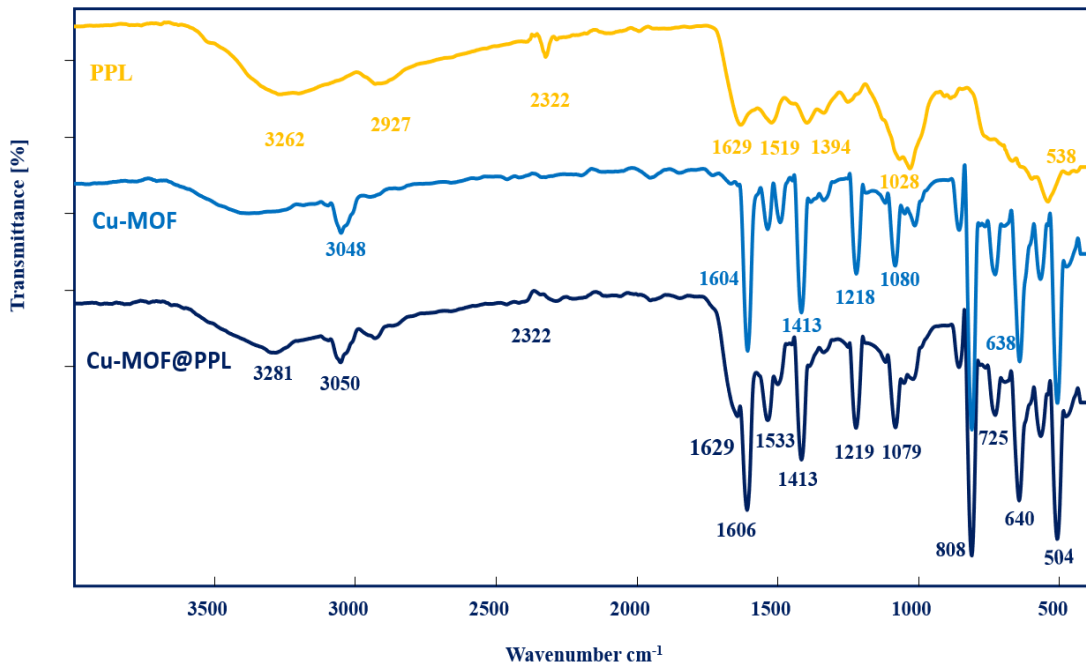
Şekil 4.10.a. CRL, Cu-MOF ve Cu-MOF@CRL_{mek}'in FT-IR spektrumu

CRL'nin spektrumunda, 3100-3500 cm⁻¹ aralığındaki amin bandı ve CO-NH₂'den kaynaklanan 1364 cm⁻¹ ve 1649 cm⁻¹'deki bantlar görülebilir. CRL'nin amid I ve amid II'si 1649 cm⁻¹ ve 1540 cm⁻¹'dedir (Xie ve Huang, 2018; Iuliano ve ark., 2020).

Cu-MOF'un FTIR spektrumunda, 3305 cm⁻¹'deki yoğun absorpsiyon bandı aromatik C-H gerilme frekansını göstermektedir. 1604-1413 cm⁻¹ bölgesindeki bantlar, C=N, C=C gerilme titreşim bantlarını göstermektedir. Cu-MOF'un yapısında yer alan bu bantlar literatür ile de uyumludur (Ahamad ve ark., 2019).

Cu-MOF@CRL_{mek}'in FTIR spektrumu incelendiğinde, Cu-MOF'un FTIR spektrumundaki, 3305 cm⁻¹'deki aromatik C-H gerilme frekansını işaret eden yoğun absorpsiyon bandının ve 3048'deki güçlü bandının ve CRL'nin FTIR spektrumunda görülen 3304 cm⁻¹'deki güçlü bantların, Cu-MOF ve CRL arasındaki etkileşimi ile bir miktar kayma gösterdiği ve 3314, 3062 ve 3037'de daha küçük bantlara kaydığı görülmektedir.

CRL'nin karakteristik amid bantları ve Cu-MOF'un 1604-1413 cm⁻¹ bölgesindeki C=N, C=C gerilme titreşim bantları, Cu-MOF ve CRL arasındaki etkileşimi ile 1608-1415 cm⁻¹ bölgesinde yine yoğun bir şekilde görülmektedir. Cu-MOF@CRL_{mek}'in FTIR spektrumu bizlere Cu-MOF ve CRL arasındaki etkileşimin iyi bir şekilde tamamlandığını ve Cu-MOF@CRL_{mek}'in başarılı bir şekilde elde edildiğini göstermektedir (Şekil 4.10.a) (Xie ve Huang, 2018; Ahamad ve ark., 2019; Iuliano ve ark., 2020).



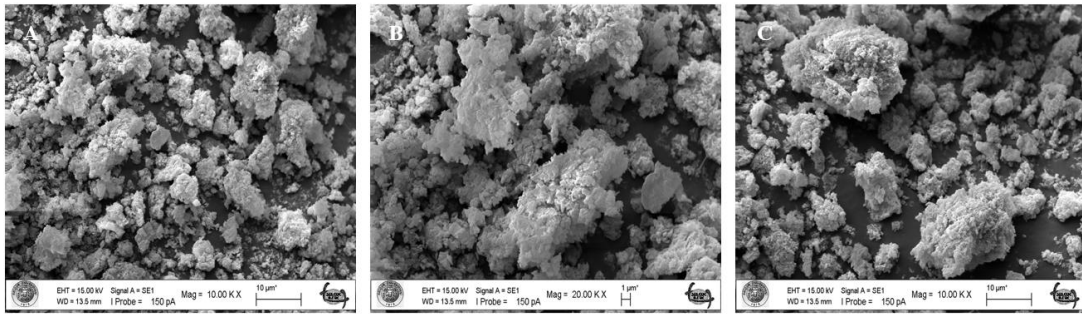
Şekil 4.10.b. PPL, Cu-MOF ve Cu-MOF@PPL_{mek}'in FT-IR spektrumu

PPL'nin FTIR spektrumunda, 1629, 1519 ve 1456 cm⁻¹'deki absorpsiyon bantları, PPL'nin karakteristik piklerini göstermektedir. Ayrıca 1629 ve 3362 cm⁻¹'deki absorpsiyon bantları, sırasıyla amid I bağlarında CO ve NH esneme titreşimine karşılık gelmektedir (Zhu ve ark., 2014).

Cu-MOF'un FTIR spektrumunda, 3305 cm⁻¹'deki yoğun absorpsiyon bandı aromatik C-H gerilme frekansını göstermektedir. 1604-1413 cm⁻¹ bölgesindeki bantlar,

C=N, C=C gerilme titreşim bantlarını göstermektedir. Cu-MOF'un yapısında yer alan bu bantlar literatür ile de uyumludur (Ahamad ve ark., 2019).

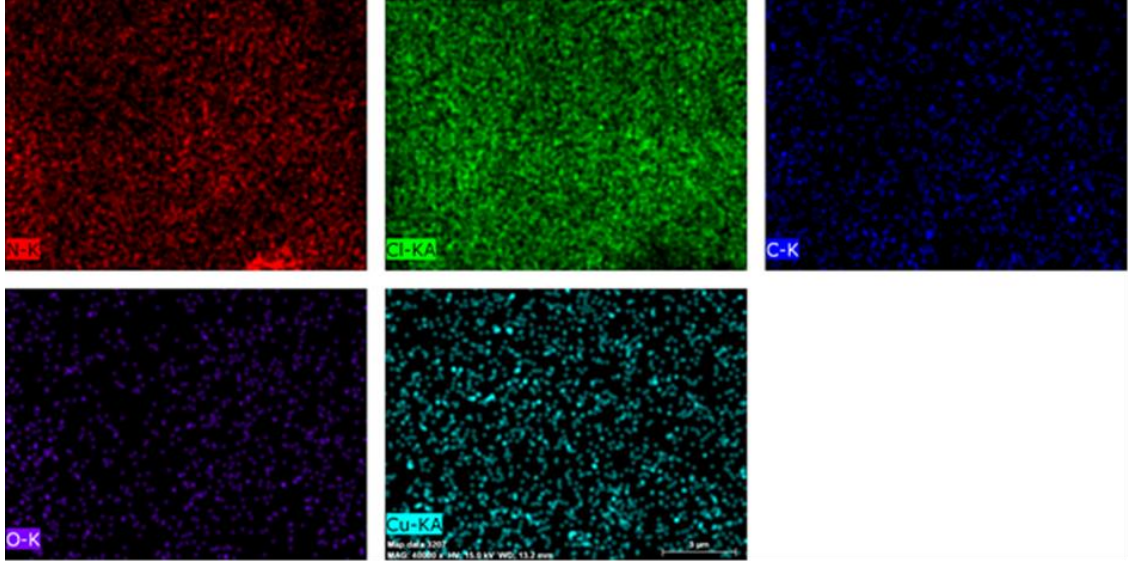
Cu-MOF@PPL_{mek}'in FTIR spektrumunda, 3050 cm⁻¹'deki adsorpsiyon bandı Cu-MOF'un yapısındaki C-H gerilim frekansını doğrularken, 1629, 1606 ve 3281 cm⁻¹'deki absorpsiyon bantları, sırasıyla amid I bağlarında CO ve NH esneme titreşimine karşılık gelmektedir. Tüm spektrumlar birlikte değerlendirildiğinde, Cu-MOF'un yapısı ve Cu-MOF@PPL_{mek}'nin başarılı bir şekilde elde edildiği söylenebilir (Şekil 4.10.b) (Zhu ve ark., 2014; Ahamad ve ark., 2019).



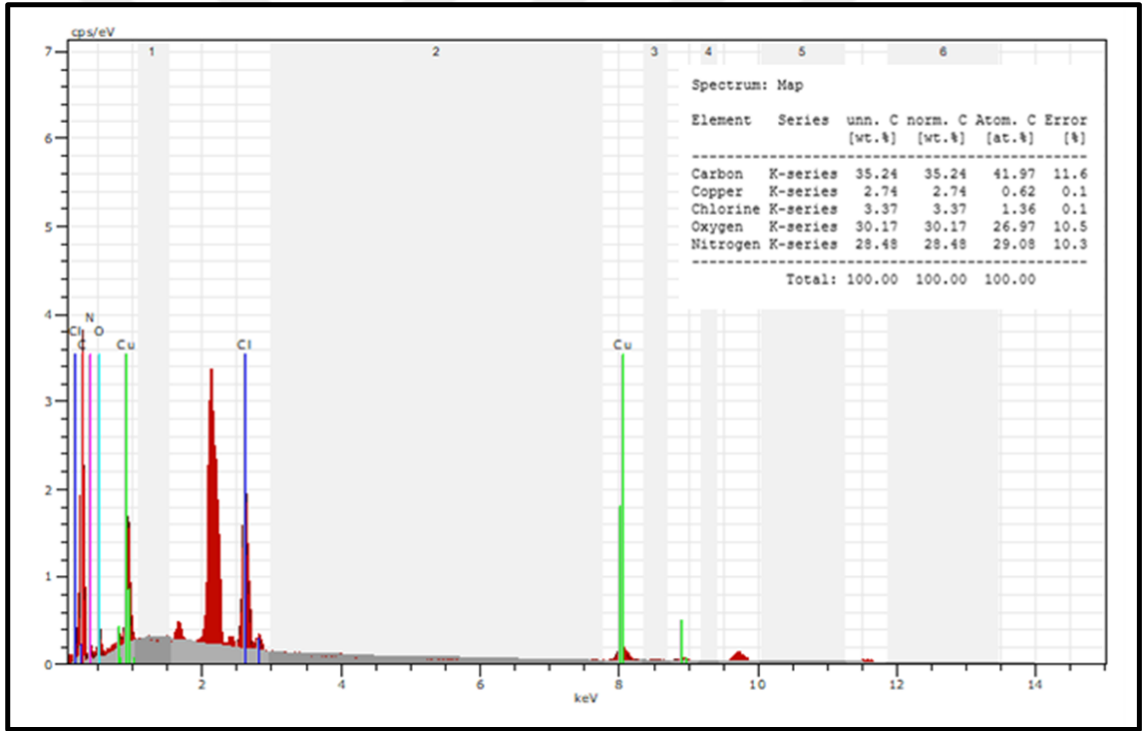
Şekil 4.11. A) Cu-MOF, B) Cu-MOF@CRL_{mek} ve C) Cu-MOF@PPL_{mek}'in SEM analizi

Cu-MOF, Cu-MOF@CRL_{mek} ve Cu-MOF@PPL_{mek}'nin SEM görüntüleri Şekil 4.11'de gösterilmektedir. Cu-MOF@CRL_{mek} ve Cu-MOF@PPL_{mek}'nin SEM görüntüsünde Cu-MOF'un dış morfolojilerinde immobilizasyon sonrası enzimin yoğun agregasyon oluşturduğu ve MOF yapılarının önemli ölçüde değiştiği gözlemlendi (Julien ve ark., 2016; Stolar ve ark., 2021; Ozyilmaz ve ark., 2022b; Ozyilmaz ve Caglar, 2023).

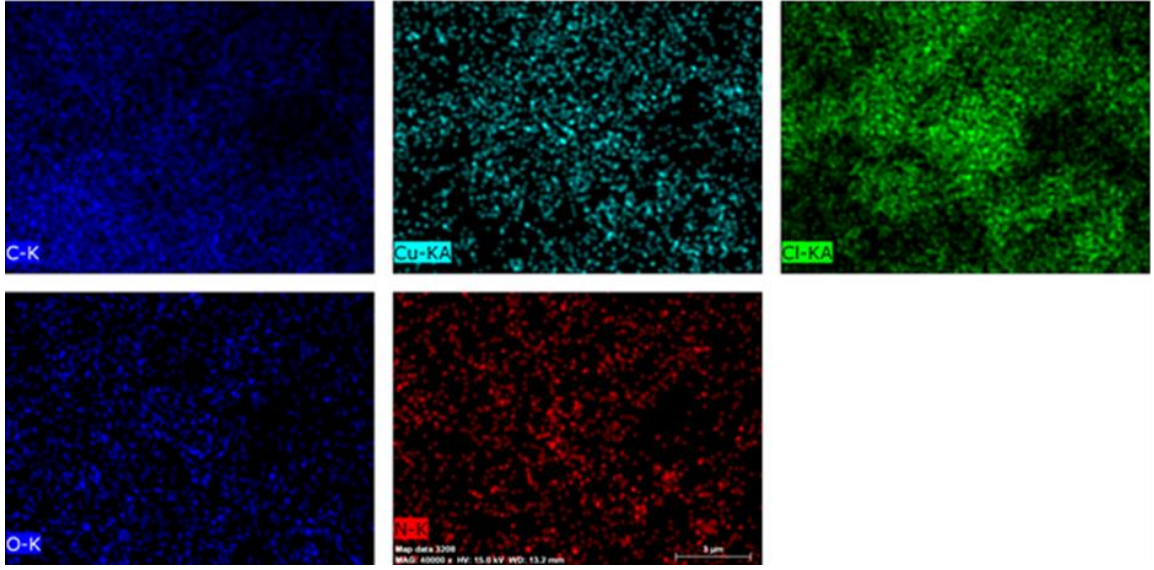
Sentezlenen Cu-MOF'un yapısında yer alan elementlerin yüzey dağılımını ve bakır yoğunluğunu incelemek için Enerji Dağılımlı Yayıgın X-Işını Analizi (EDX) spektrumları ve incelendi.



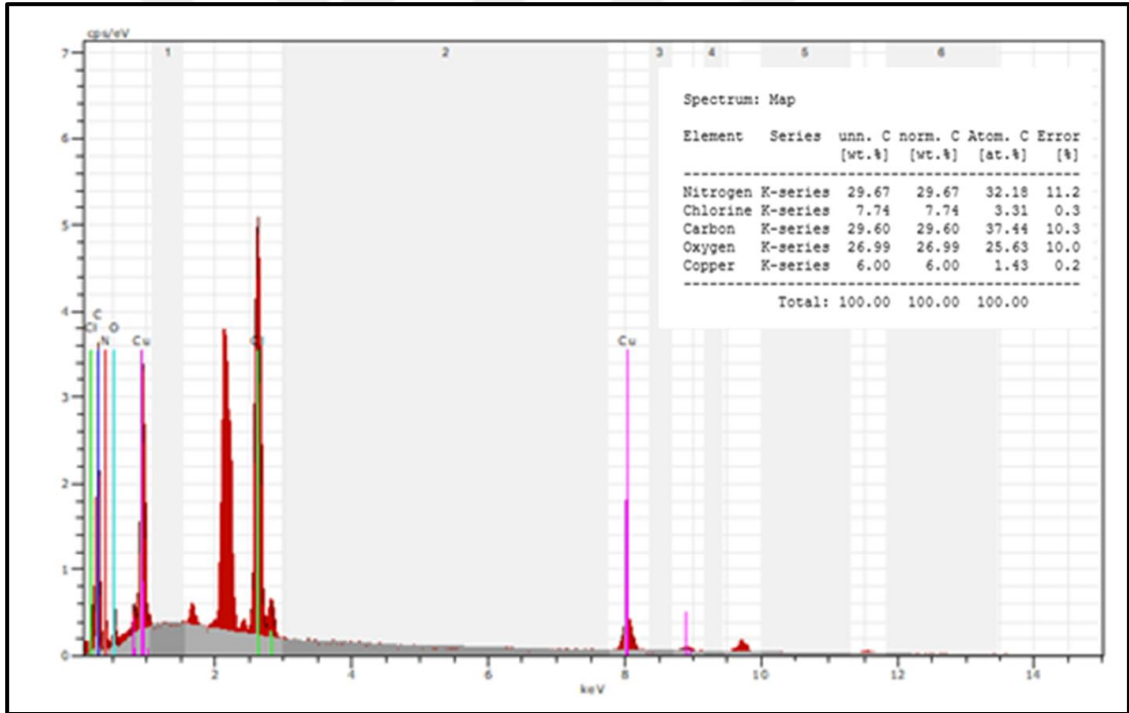
Şekil 4.12a Cu-MOF'un EDX analizinde elementlerin harita görüntüleri



Şekil 4.12b. Cu-MOF'un EDX analizinde elementlerin yüzde analizleri



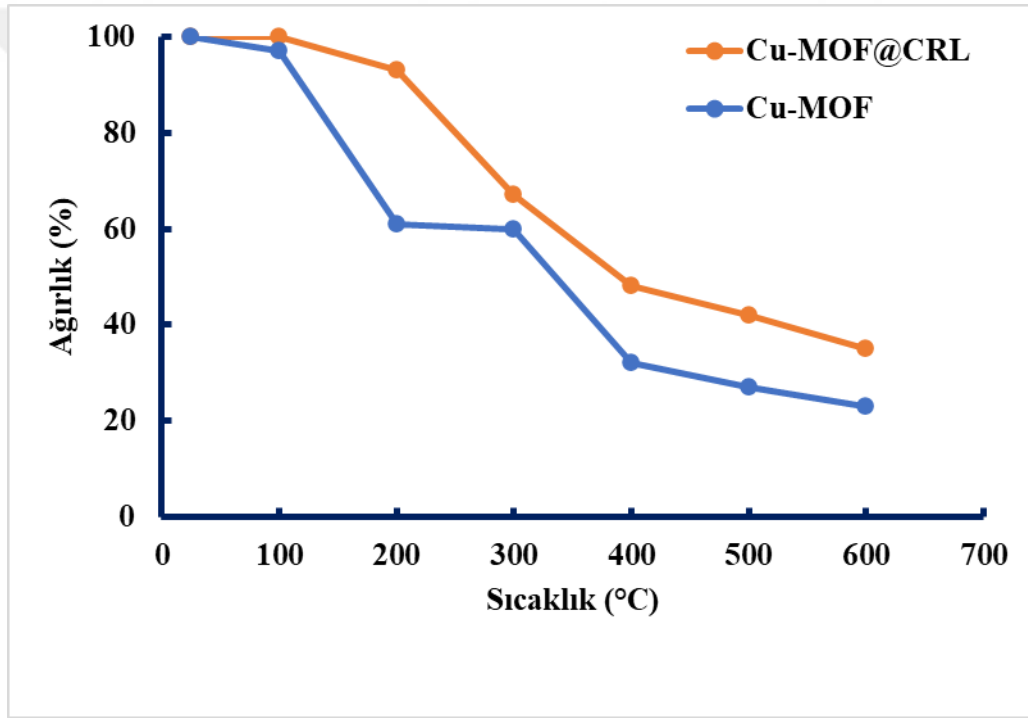
Şekil 4.12c. Cu-MOF'un EDX analizinde elementlerin harita görüntüleri



Şekil 4.12d. Cu-MOF'un EDX analizinde elementlerin yüzde analizleri

EDX haritalaması Cu, Cl, N, O ve C elementlerinin varlığını gösterir ve bu da onların Cu-MOF nanokristalleri içindeki temel bileşenler olarak rollerini göstermektedir (Shi ve ark., 2017; Aliyari ve ark., 2023). Sonuç olarak, EDX analizi ile Cu-MOF'un yapısını oluşturan bakır gibi elementlerin yoğunluğu açıklandı (Şekil 4.12a-d)

Şekil 4.12a ve şekil 4.12c’de elementlerin haritadaki yoğunlukları görülmektedir. Şekil 4.12b ve şekil 4.12d’de yapıda yer alan elementlerin yüzde olarak oranları görülmektedir. EDX haritalaması yapıda yer alan elementlerinin varlığını ve bu da onların Cu-MOF nanokristalleri içindeki temel bileşenler olarak rollerini göstermektedir (Shi ve ark., 2017; Aliyari ve ark., 2023). Çalışmada, SEM-EDX analizi kullanıldı. SEM analizi ile morfoloji belirlenirken, EDX analizi kullanılarak Cu-MOF’un yapısını oluşturan bakır gibi elementlerin yoğunluğu bulundu. SEM ve EDX analizleri kullanılarak son yıllarda eşsiz özellikleri ile oldukça ilgi çeken MOF’ların yapılarında morfolojiyi oluşturan elementlerin yoğunluğu açıklanmaktadır.



Şekil 4.13. Cu-MOF@CRL_{mek} ve Cu-MOF’un TGA analizi

Cu-MOF@CRL_{mek} ve CRL’nin TGA sonuçları Şekil 4.13’de verilmiştir. Sonuçlar, suyun uzaklaştırılması nedeniyle ilk ağırlık kaybının 100-200 °C’de meydana geldiğini göstermiştir.

Şekil 4.13’de gösterildiği gibi, tüm numuneler en azından ~100 °C’ ye kadar termal olarak kararlıydı. Cu-MOF’un 200 °C’ye ısıtıldığında ağırlığının %39’unu ve Cu-MOF@CRL’nin ağırlığının %7’sini kaybettiği bulunmuştur. Cu-MOF’un ağırlığını neredeyse koruduğu ve Cu-MOF@CRL’nin 200 ila 300 °C arasında ısıtıldığında ağırlığının %26’sını kaybettiği bulunmuştur. Cu-MOF’un 300 ila 400 °C arasında

ısıtıldığında ağırlığının %19'unu, Cu-MOF@CRL'nin ise ağırlığının %9'unu kaybettiği gözlenmiştir. 400-600 °C arasında ısıtıldığında Cu-MOF'un ağırlığının %13'ünü, Cu-MOF@CRL'nin ise ağırlığının %9'unu kaybettiği tespit edilmiştir.

Enzim immobilizasyonu, biyoteknoloji ve endüstride çok çeşitli uygulamalara sahip önemli bir tekniktir. Enzimlerin katı bir destek veya matris üzerine immobilize edilmesi, enzim stabilitesini ve aktivitesini artırabilir, reaksiyon verimliliğini ve ürün saflığını iyileştirebilir ve enzim replasmanı ile ilişkili maliyetleri azaltabilir. Immobilize edilmiş enzimler birden çok kez yeniden kullanılabilir ve bu da onları çeşitli uygulamalar için daha sürdürülebilir ve uygun maliyetli bir seçenek haline getirir. Immobilizasyon, stabil ve koruyucu bir mikro çevre sağlayarak enzimlerin üç boyutlu yapısını koruyabilir. Bir enzim immobilize edildiğinde, denatürasyona ve aktivite kaybına neden olabilecek zorlu çevre koşullarından koruyabilen katı bir desteye veya matrise bağlanır. Bu teknik, enzim katalizinin kritik bir rol oynadığı ilaç, gıda ve kimyasalların üretiminde özellikle önemlidir. Genel olarak, enzim immobilizasyonu, enzimlerin stabilitesini ve işlevselliğini iyileştirmek için önemli bir araçtır ve bu da onu çeşitli endüstriyel ve biyomedikal uygulamalar için çekici bir yaklaşım haline getirmektedir (Wang ve ark., 2020; Liu ve ark., 2021a; Eser ve Aydemir, 2023). Enzimler, sıcaklık, pH, iyon konsantrasyonu ve denatürasyon gibi bozulmaya ve çevresel faktörlere karşı hassastır ve bu da kullanımlarıyla ilişkili riskleri artırır. Stabilitelerini ve güvenilirliklerini sağlamak için enzim immobilizasyonu gereklidir (Eser ve Aydemir, 2023). MOF@enzim biyokompozitleri MOF'ların eşsiz özellikleri ile birlikte stabilitelerinin artırılmasına önemli katkılar sağlamaktadır (Du ve ark., 2022).

4.2. Hazırlanan Metal Organik Kafeslerin Lipaz Immobilizasyonunda Kullanılması

4.2.1. Hazırlanan Metal Organik Kafeslerin *Candida Rugosa* Lipazın Immobilizasyonunda Kullanılması

Candida rugosa lipaz (CRL, EC 3.1.1.3), geniş spesifikliğe, seçiciliğe, stabiliteye ve esterifikasyon, transesterifikasyon ve hidroliz gibi endüstriyel biyotransformasyon reaksiyonlarını katalize etme kapasitesine sahip mikrobiyal lipazlardır (Boudrant ve ark., 2020; Sharma ve ark., 2024). Serbest CRL'nin endüstrilerde kullanımı sayısız dezavantajlarından dolayı sınırlıdır: yeniden kullanılabilirlik eksikliği, düşük geri kazanım oranı ve daha az operasyonel, termal ve depolama stabilitesi, bu da onları

maliyetli hale getirir (Rodríguez-Salarichs ve ark., 2021; Sharma ve ark., 2024). Ayrıca serbest formdaki enzimler, substratlar ve hatta ürünler tarafından kolaylıkla inhibe edilebilir. İmmobilizasyon, CRL'yi termal strese karşı dirençli hale getirerek ve konformasyonel bozulmasını önleyerek bu dezavantajların üstesinden gelebilir (Homaei ve ark., 2013; Sharma ve ark., 2024). Yeşil ve sürdürülebilir ürünlerin sentezi için CRL immobilizasyonu için tuzaklama, kapsülleme, kovalent bağlama ve çapraz bağlama gibi farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bununla birlikte, immobilizasyondan sonra CRL, difüzyon sınırlaması ve sterik engelleme nedeniyle CRL aktivitesini etkileyen biyokimyasal, kimyasal ve kinetik özelliklerde birçok değişikliğe uğramaktadır (Arana-Peña ve ark., 2021; Sharma ve ark., 2024). Destek matrisi olarak kullanılan malzemenin CRL'nin kinetik özellikleri üzerinde önemli bir etkisi vardır. Bu nedenle uygun destek matrisinin seçimi immobilizasyon için önemli bir parametredir (Sharma ve ark., 2024). MOF'lar sahip olduğu özellikler ile immobilizasyon için ideal destek malzemesi olarak düşünülmektedir (Ozyilmaz ve ark., 2021c).

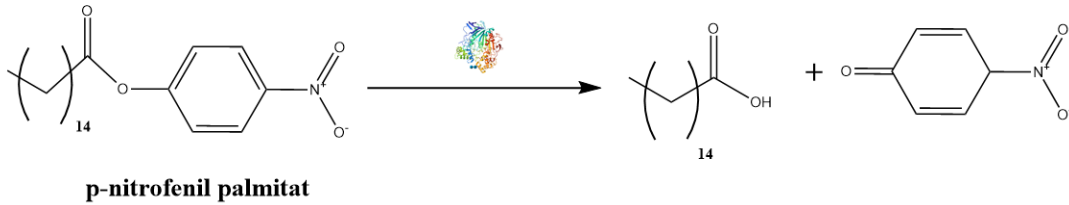
4.2.1.1. İmmobilize Lipazların Aktivite ve Protein Tayini

Mekanokimyasal yaklaşım tekniği kullanılarak, 2 farklı çinko bazlı (ZIF-8, Zn-MOF-74), 1 zirkonyum bazlı (UiO-66-NH₂) ve 1 bakır bazlı (Cu-MOF) olmak üzere toplam 4 farklı MOF'un sentezi başarıyla tamamlandı. Sentezlenen MOF'lar *Candida rugosa* lipaz (CRL) immobilizasyonunda destek materyali olarak kullanıldı.

Tablo 4.2.1.1. İmmobilize enzimlerin aktivite ve protein tablosu

	Lipaz Aktivitesi (U/g destek maddesi)	Yüklenen Protein (mg/g)
ZIF-8@CRL _{mek}	27 U/g	4.9
Zn-MOF-74@CRL _{mek}	163.25 U/g	14.86
UiO-66-NH ₂ @CRL _{mek}	172.63 U/g	9.2
Cu-MOF@CRL _{mek}	323 U/g	1.445

Tablo 4.2.1.1.'de görüldüğü gibi immobilize lipazların (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}) p-nitrofenil palmitat (p-NPP)'ın hidroliz reaksiyonu ile aktivite tayinleri yapıldı.

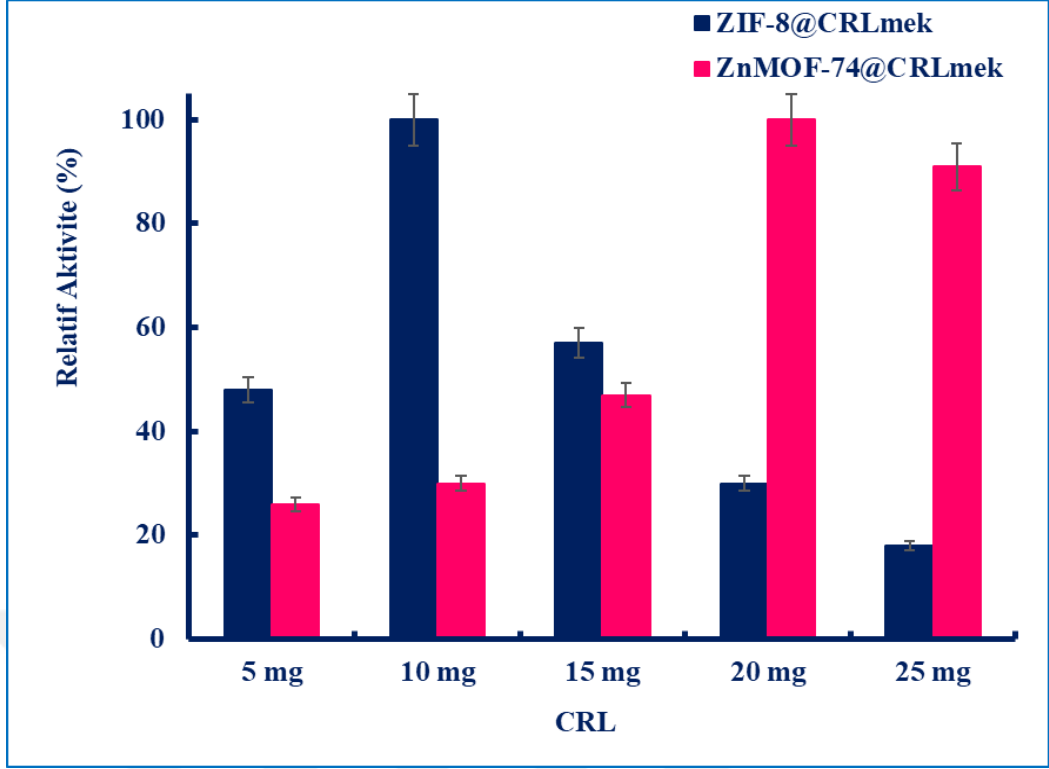


Şekil 4.14. p-nitrofenilpalmitatın hidroliz reaksiyonu

$$\text{Lipaz aktivitesi (U/g support)} = \frac{\text{immobilize lipazın aktivitesi}}{\text{immobilize lipazın miktarı}}$$

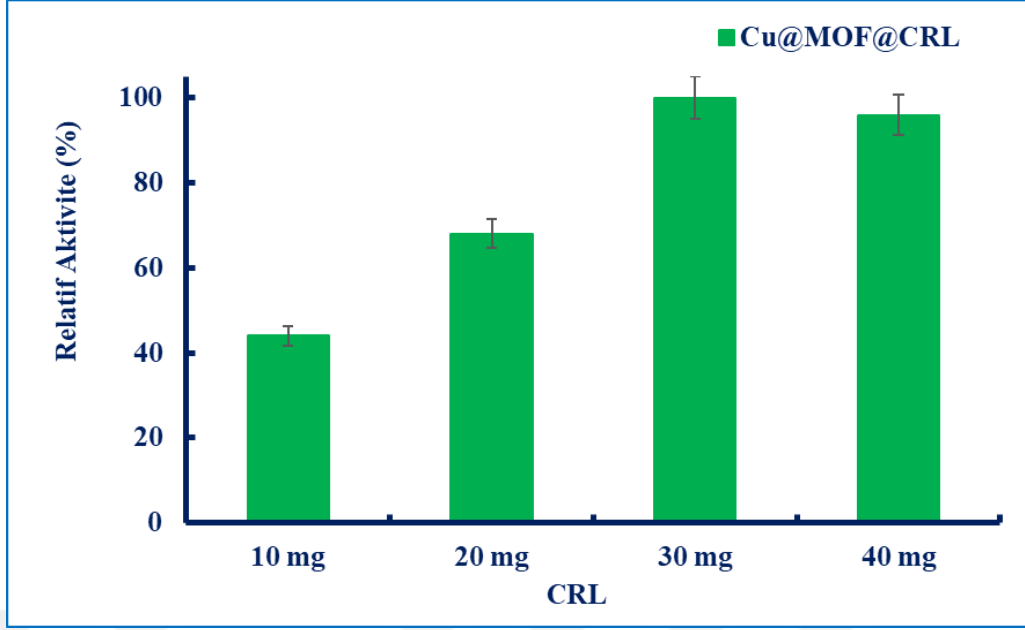
ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}'in lipaz aktiviteleri sırasıyla, 27; 163.25; 83.63; 323 U/g bulundu.

Bradford metodu kullanılarak immobilize lipazların (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}) yüklenen protein miktarları hesaplandı. Yüklenen protein miktarları sırasıyla, 4.9; 14.86; 9.2; 1.445 mg/g olarak hesaplandı.



Şekil 4.15. CRL miktarının ZIF-8@CRL_{mek} ve Zn-MOF-74@CRL_{mek}'in aktivitesinde etkisinin incelenmesi

CRL'nin immobilizasyonunda destek materyali olarak ZIF-8 kullanıldığında ve enzim miktarı 10 mg alındığında, ZIF-8@CRL_{mek}'in maksimum aktiveye sahip olduğu belirlendi. CRL'nin immobilizasyonunda destek materyali olarak Zn-MOF-74 kullanıldığında ve enzim miktarı 20 mg alındığında, Zn-MOF-74@CRL_{mek}'in maksimum aktiveye sahip olduğu belirlendi (şekil 4.15).



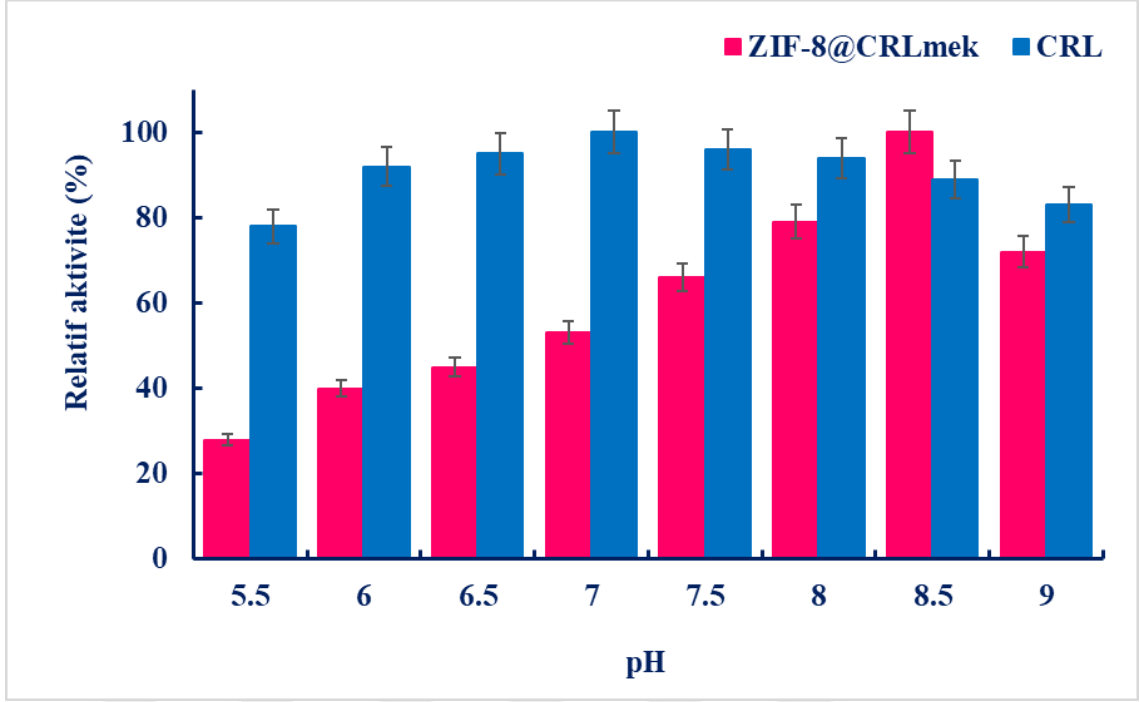
Şekil 4.16. CRL miktarının Cu-MOF@CRL_{mek}'nin aktivitesinde etkisinin incelenmesi

CRL'nin immobilizasyonunda destek materyali olarak Cu-MOF kullanıldığında ve enzim miktarının etkisini incelemek için CRL'den 10-40 mg alınıp immobilizasyon yapıldı. Cu-MOF@CRL_{mek}'in immobilizasyonda 30 mg CRL kullanıldığında maksimum aktiveye sahip olduğu belirlendi (şekil 4.16).

4.2.1.2. pH stabilitesi

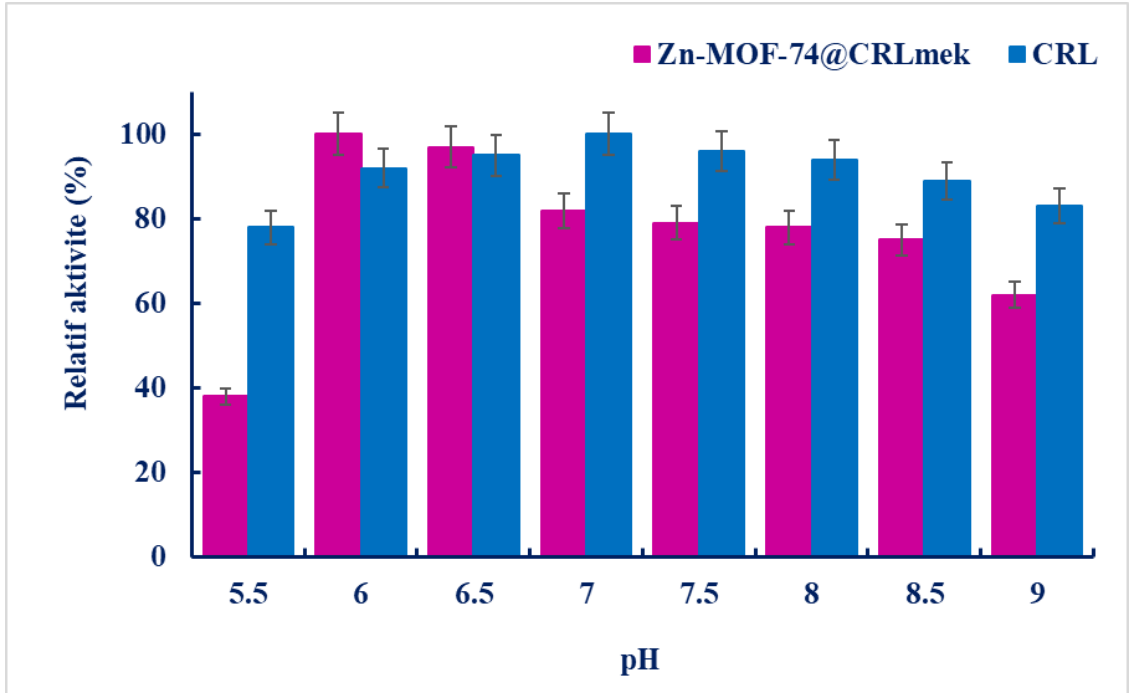
Enzimler, canlı organizmalarda enerji dönüşümü ve metabolizma gibi yaşam süreçlerini sürdürmek için hemen hemen tüm biyokatalitik reaksiyonlara katılan önemli biyokatalizörlerdir. Enzimler, ılıman koşullar altında (oda sıcaklığı, atmosferik basınç ve pH) sulu çözeltilerde son derece yüksek katalitik aktivite ve seçicilik sergilemektedirler. Ancak enzimlerin aktivitesi ve stabilitesi reaksiyon sistemindeki solventler, pH ve sıcaklık gibi faktörlerden kolaylıkla etkilenir (T. sriwong ve Matsuda, 2022; Xu ve ark., 2024). Enzimatik aktivite pH'dan büyük ölçüde etkilenmektedir, ancak pH'a bağlı enzimatik aktivitenin dinamik mekanizmasının mantığı tam olarak anlaşılmamıştır. Yapılan araştırmalarda enzimlerin optimum pH koşulları altında stabiliteyi ve işlevi optimize ettiği hem yapı hem de dinamiklerin etkilendiği belirlenmiştir (Wang ve ark., 2024).

Enzim immobilizasyon tekniklerini kullanmanın temel amacı hem stabiliteyi hem de enzimin yeniden kullanılabilirlik potansiyelini arttırmaktır (Atıroğlu ve ark., 2024).



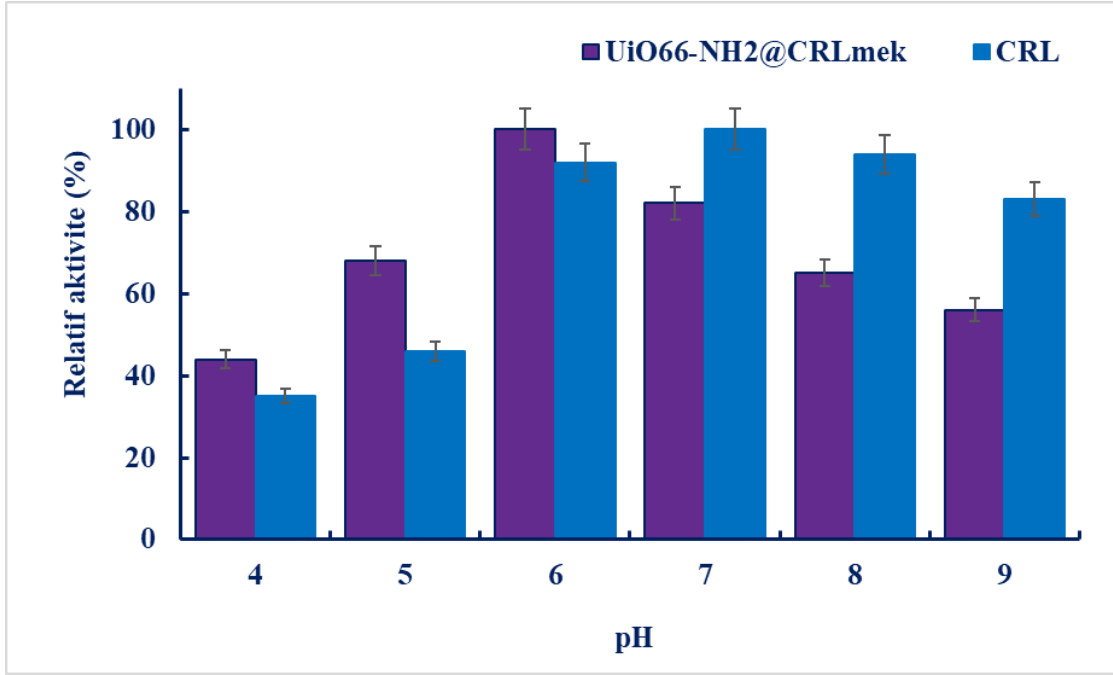
Şekil. 4.17. İmmobilize lipaz (ZIF-8@CRL_{mek}) ve serbest lipazın (CRL) pH stabilitesi

ZIF-8 ile immobilize lipazın (ZIF-8@CRL_{mek}) ve serbest lipazın (CRL) pH stabilitesini incelemek için pH 5.5 ve 9 aralığında aktiviteleri incelendi. İmmobilize lipazın (ZIF-8@CRL_{mek}) pH 8.5'te maksimum aktiviteye sahip olduğu ve bazık bölgede de kararlılık gösterdiği, CRL'nin ise pH:7'de maksimum aktiviteye sahip olduğu görüldü (Şekil 4.17).



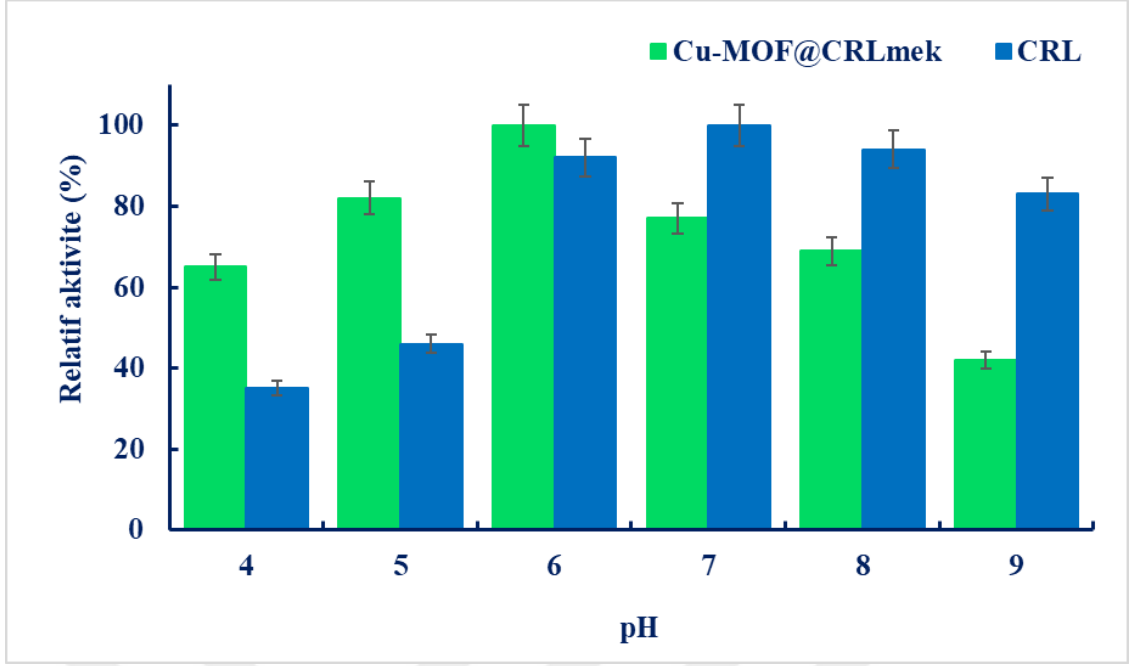
Şekil 4.18. İmmobilize lipaz (Zn-MOF-74@CRL_{mek}) ve serbest lipazın (CRL) pH stabilitesi

Zn-MOF-74 ile immobilize lipazın ($\text{Zn-MOF-74@CRL}_{\text{mek}}$) ve serbest lipazın (CRL) pH stabilitesini incelemek için pH 5.5 ve 9 aralığında aktiviteleri incelendi. Immobilize lipazın ($\text{Zn-MOF-74@CRL}_{\text{mek}}$) pH 6'da maksimum aktiviteye sahip olduğu ve daha geniş pH aralığında kararlılık gösterdiği, CRL'nin ise pH:7'de maksimum aktiviteye sahip olduğu görüldü (Şekil 4.18).



Şekil 4.19. Immobilize lipaz ($\text{UiO-66-NH}_2\text{@CRL}_{\text{mek}}$) ve serbest lipazın (CRL) pH stabilitesi

UiO-66-NH₂ ile immobilize lipazın ($\text{UiO-66-NH}_2\text{@CRL}_{\text{mek}}$) ve serbest lipazın (CRL) pH stabilitesini incelemek için pH 4 ve 9 aralığında aktiviteleri incelendi. Immobilize lipazın ($\text{UiO-66-NH}_2\text{@CRL}_{\text{mek}}$) pH 6'da maksimum aktiviteye sahip olduğu, asidik bölgede ve daha geniş pH aralığında kararlılık gösterdiği, CRL'nin ise pH:7'de maksimum aktiviteye sahip olduğu görüldü (Şekil 4.19).



Şekil 4.20. İmmobilize lipaz (Cu-MOF@CRL_{mek}) ve serbest lipazın (CRL) pH stabilitesi

Cu-MOF ile immobilize lipazın (Cu-MOF@CRL_{mek}) ve serbest lipazın (CRL) pH stabilitesini incelemek için pH 4 ve 9 aralığında aktiviteleri incelendi. İmmobilize lipazın (Cu-MOF@CRL_{mek}) pH 6'da maksimum aktiviteye sahip olduğu, asidik bölgede ve daha geniş pH aralığında kararlılık gösterdiği, CRL'nin ise pH:7'de maksimum aktiviteye sahip olduğu görüldü (Şekil 4.20).

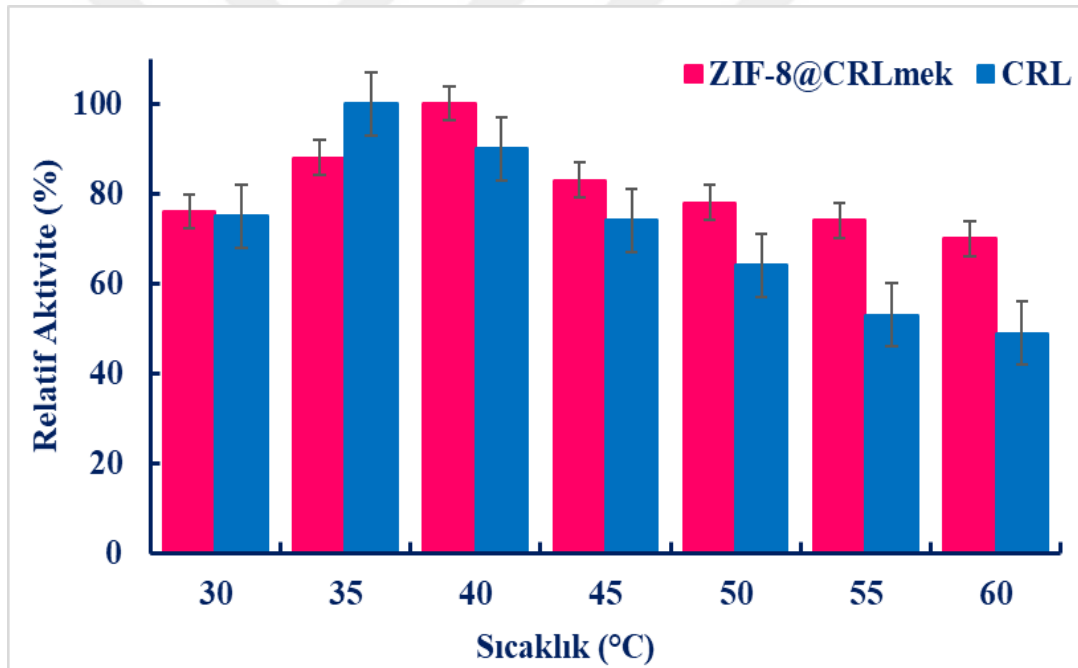
Candida rugosa lipazın immobilizasyonunda kullanılan destek materyalleri ile pH stabiliteyi incelendiğinde serbest lipaza göre, asidik ve bazik bölgelere doğru kayma ve daha geniş pH aralığında aktivitelerinde kararlılıklar olduğu görülmektedir. Serbest lipazın (CRL) pH:7'de, immobilizasyonda ZIF-8 kullanıldığında immobilize enzimin (ZIF-8@CRL_{mek}) pH:8.5'te, Zn-MOF-74, UiO-66-NH₂ ve Cu-MOF kullanıldığında ise immobilize enzimlerin (Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek} ve Cu-MOF@CRL_{mek}) pH:6'da maksimum aktiviteye sahip olduğu belirlendi.

Enzimlerin mikrokafeslerine duyarlılığı ve destek malzemeleriyle etkileşimleri göz önüne alındığında, enzimlerin etkinliği bu desteklerden derinden etkilenmektedir (Liu ve ark., 2022a; Weng ve ark., 2024). pH stabilite sonuçlarındaki bu farklılık mekanik sistemde katı destek materyalinin enzim ile arasında kovalent olmayan etkileşimlerin etkileri, oluşan MOF@enzim kompozitlerinin zorlu koşullara karşı koruyucu özellik kazanmasından kaynaklanmaktadır (Ozyilmaz ve ark., 2021c; Du ve ark., 2022; Ozyilmaz ve Caglar, 2023; Ozyilmaz ve ark., 2023; Weng ve ark., 2024).

4.2.1.3. Optimum Sıcaklık Tayini

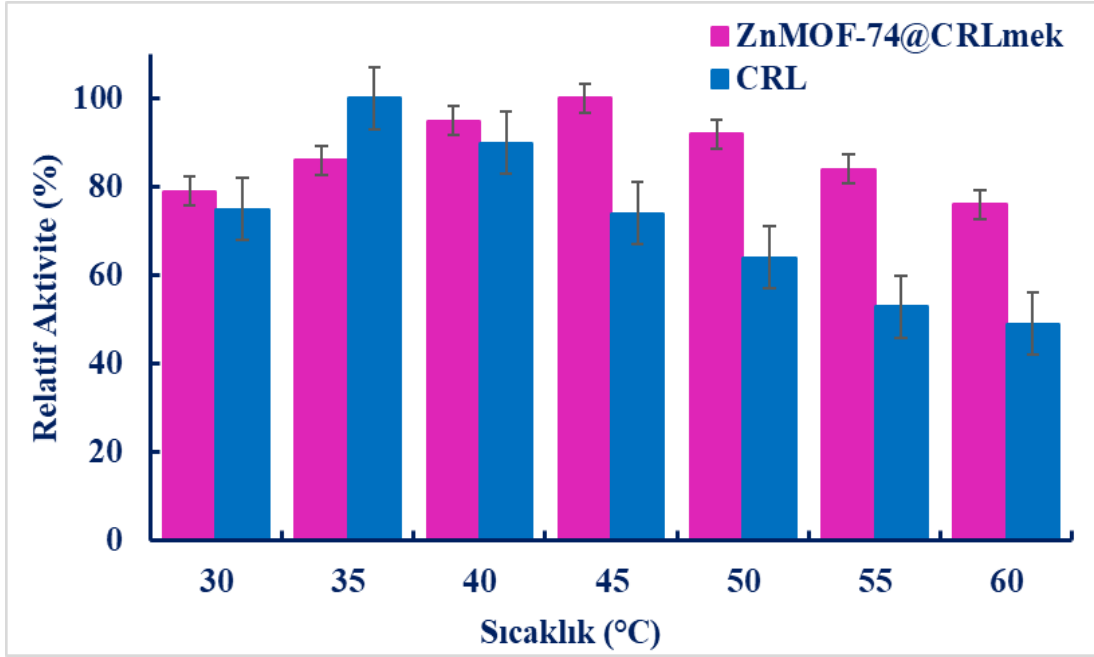
Katı MOF yapısı, yüksek sıcaklıklar gibi olumsuz koşullar altında enzimlerin kapalı konformasyonel konfigürasyonlarından salınmasını önler (Liang ve ark., 2015; Chen ve ark., 2018; Chen ve ark., 2020; Ozyilmaz ve Caglar, 2023). Düzenli kafes yapısının enzimin konformasyonel yapısını korumasından dolayı, immobilizasyon ile elde edilen MOF@enzim kompozitleri, yüksek sıcaklık altında stabilite, pH ayarları, depolama stabilitesi ve yeniden kullanım açısından olağanüstü katalitik özelliklere sahiptir (Xu ve ark., 2021; Du ve ark., 2022; Ozyilmaz ve Caglar, 2023).

Belirli miktarlarda tartılan immobilize lipazlar (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}) ve serbest lipaz (CRL) 30 °C-60 °C arasında değişen sıcaklıklarda 15'er dakika süreyle inkübe edildi. Lipaz aktiviteleri *p*-nitrofenil palmitat (p-NPP)'ın hidroliz reaksiyonu ile belirlendi.



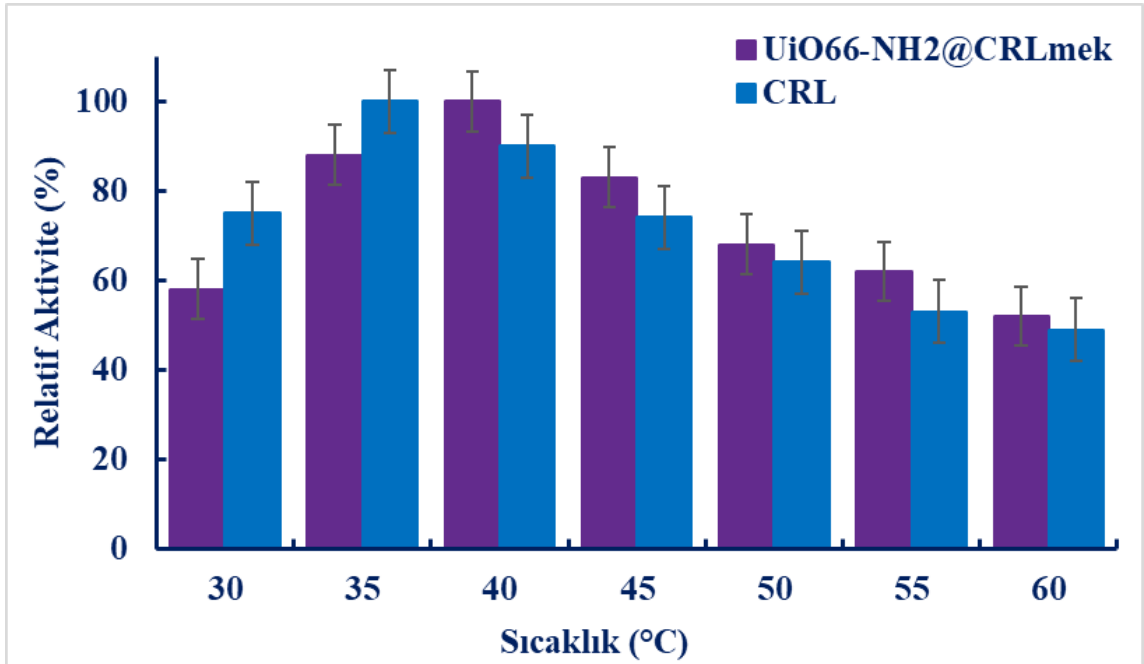
Şekil 4.21. İmmobilize lipaz (ZIF-8@CRL_{mek}) ve serbest lipazın (CRL) optimum sıcaklık tayini

İmmobilize lipaz (ZIF-8@CRL_{mek}) ve serbest lipaz (CRL) ve optimum sıcaklık tayinini incelemek için farklı sıcaklıklar kullanılarak aktivite tayinleri incelendi. ZIF 8@CRL_{mek}'in ise 40 °C'de, serbest lipaz'ın (CRL) ise maksimum aktivitesine 35 °C'de maksimum aktiviteye sahip olduğu belirlendi. (Şekil 4.21).



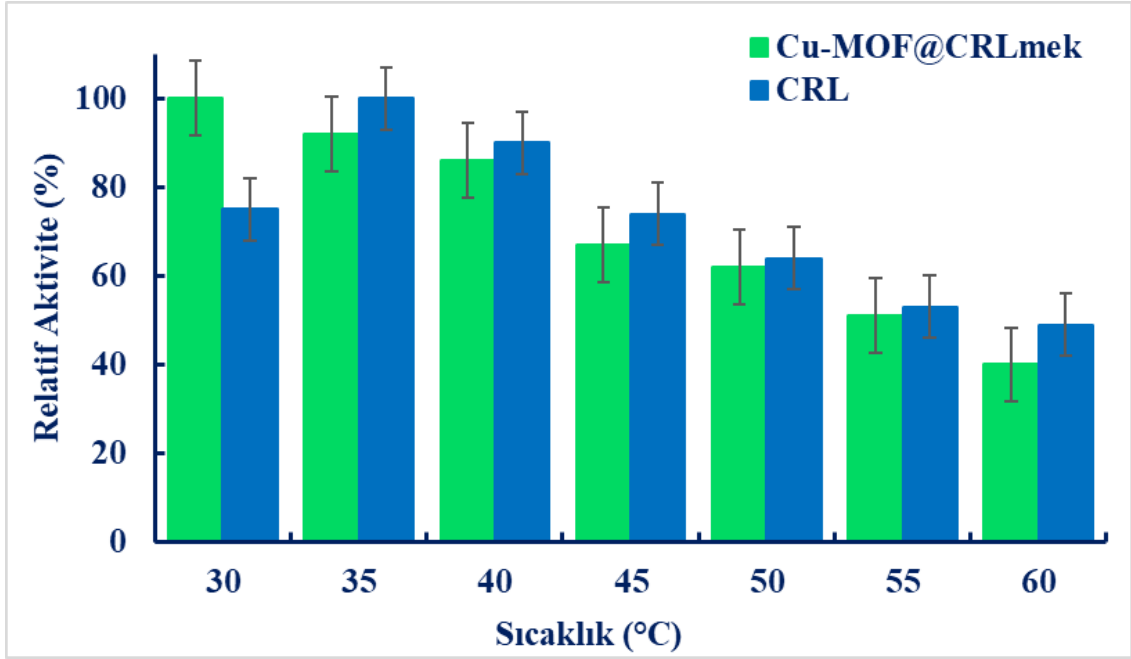
Şekil 4.22. İmmobilize lipaz (Zn-MOF-74@CRL_{mek}) ve serbest lipazın (CRL) optimum sıcaklık tayini

İmmobilize lipaz (Zn-MOF-74@CRL_{mek}) ve serbest lipazın (CRL) optimum pH tayini için farklı sıcaklıklar kullanılarak aktivite tayinleri incelendi. İmmobilize lipazın (Zn-MOF-74@CRL_{mek}) 45 °C’de, serbest lipaz’ın (CRL) ise 35 °C’de, maksimum aktiviteye sahip olduğu belirlendi (Şekil 4.22).



Şekil 4.23. İmmobilize lipaz (UiO-66-NH₂@CRL_{mek}) ve serbest lipazın (CRL) optimum sıcaklık tayini

Zirkonyum bazlı bir MOF türü olan UiO-66-NH₂ immobilizasyonda kullanılarak elde edilen immobilize lipazın ve serbest lipazın (CRL) optimum pH tayini için farklı sıcaklıklar kullanılarak aktivite tayinleri incelendi. Immobilize lipazın (UiO-66-NH₂@CRL_{mek}) 40 °C’de, serbest lipaz’ın (CRL) ise 35 °C’de maksimum aktiviteye sahip olduğu belirlendi (Şekil 4.23).



Şekil 4.24. Immobilize lipaz (Cu-MOF@CRL_{mek}) ve serbest lipazın (CRL) optimum sıcaklık tayini

İmmobilize lipaz (Cu-MOF@CRL_{mek}) ve serbest lipaz (CRL) ve optimum pH tayini için farklı sıcaklıklar kullanılarak aktivite tayinleri incelendi. Immobilize lipazın (Cu-MOF@CRL_{mek}) 30 °C’de, serbest lipaz’ın (CRL) ise 35 °C’de maksimum aktiviteye sahip olduğu belirlendi (Şekil 4.24).

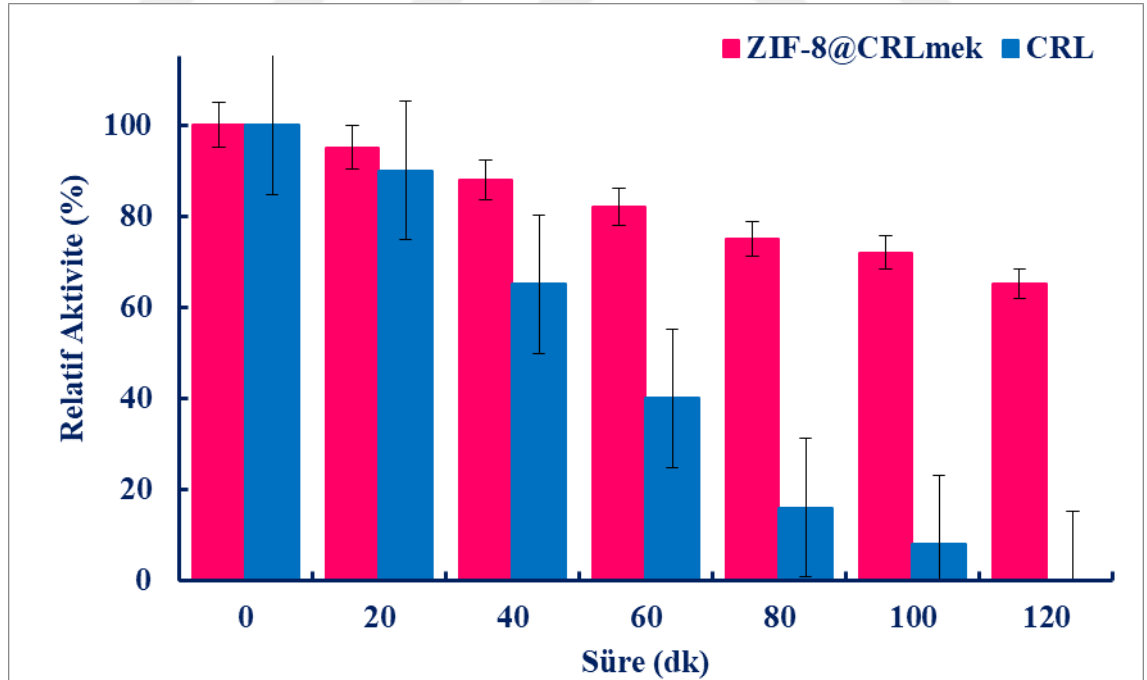
Enzim immobilizasyonunda hidrofobik ve Van der Waals etkileşimlerinin varlığı, enzimin taşıyıcısından salınmasını önleyerek çevresel faktörler tarafından bozulmaya karşı duyarlılığını azaltmaktadır (Eser ve Aydemir, 2023).

4.2.1.4. Termal stabilite

Enzimlerin daha iyi kararlılık göstermesi için immobilizasyon önemli ve etkili bir yöntemdir (Du ve ark., 2022). Yapılan araştırmalarda immobilizasyon yöntemi kullanılarak elde edilen MOF@enzim kompozitlerinin enzimin zorlu karşı yapısını koruyucu özelliğe sahip olduğunu belirlenmiştir (Du ve ark., 2022; Ozyılmaz ve Caglar, 2023).

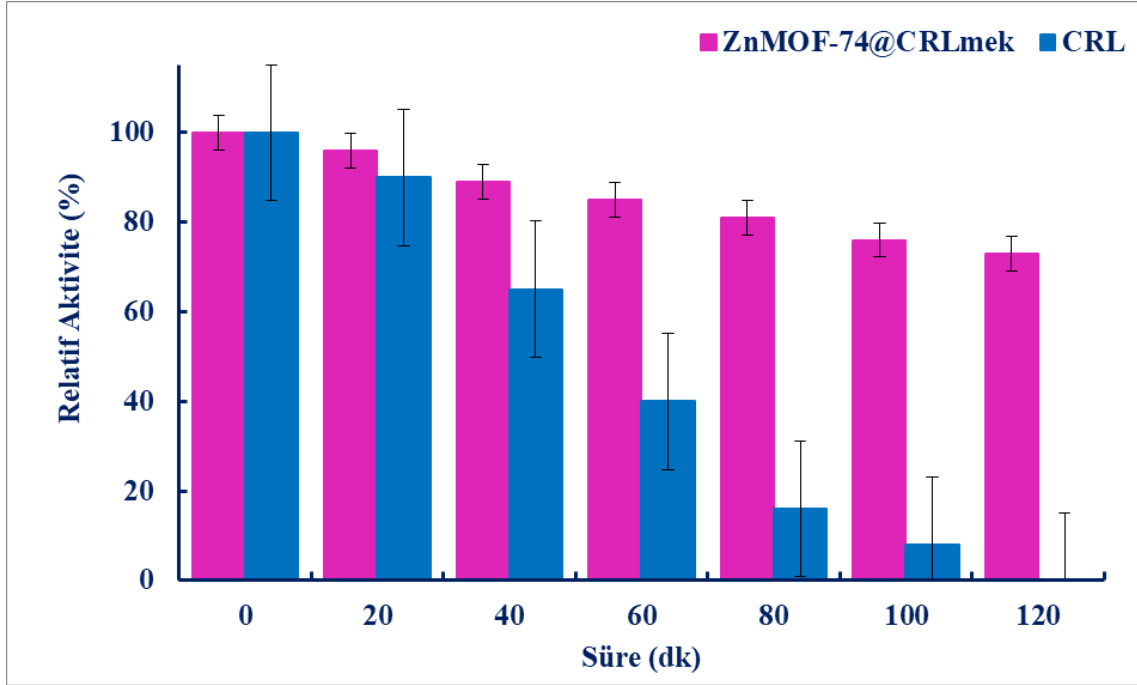
İmmobilize lipazların daha geniş pH aralığında da aktivitesini koruyabilmesi, bazık koşullarda da hala aktiviteye sahip olması, mekanokimyasal reaksiyonda katalizör ve substratlar arasındaki kovalent olmayan etkileşimlerin güçlendirilmesiyle ilişkili olabileceğini göstermektedir (Ozyılmaz ve ark., 2021d; Du ve ark., 2022; Ozyılmaz ve Caglar, 2023).

İmmobilize lipaz (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}) ve serbest lipazın (CRL) termal stabilitesini ölçmek için, enzim çözeltileri 20-120 dk zaman aralıklarında 60 °C'de inkübe edildi ve 20'şer dakika aralıklar ile enzim aktivitesi ölçüldü.



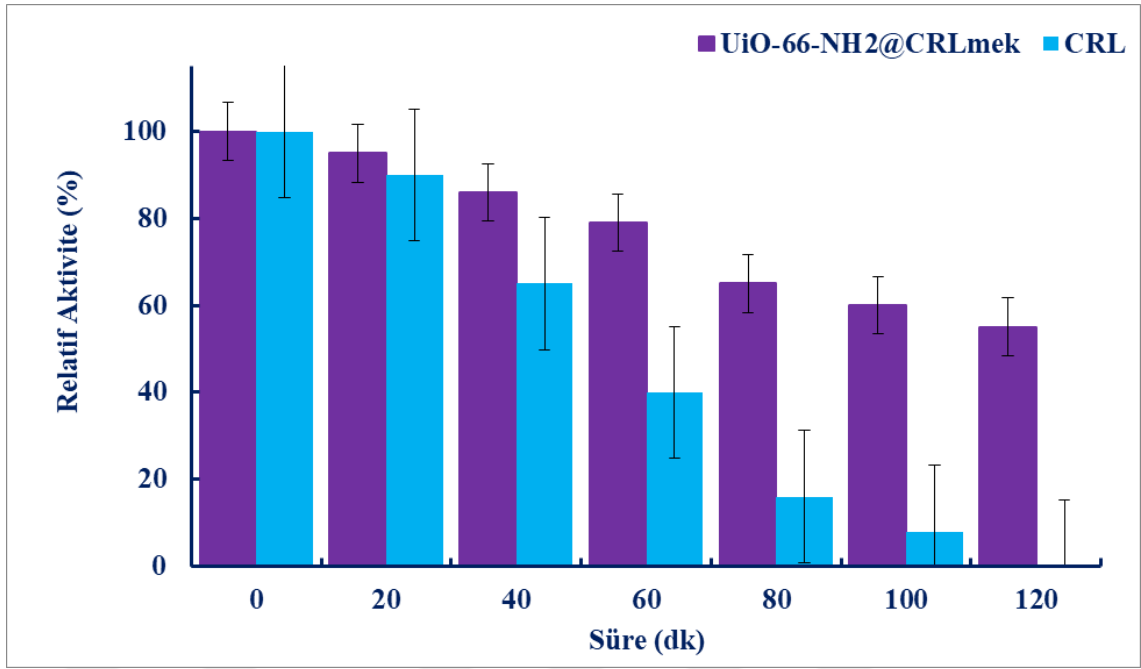
Şekil 4.25. İmmobilize lipaz (ZIF-8@CRL_{mek}) ve serbest lipazın (CRL) termal stabilitesi

120 dakikanın sonunda, immobilizasyonda enzime destek materyali olarak ZIF-8 kullanıldığında, immobilize enzimin aktivitesini %65 oranında koruduğu, serbest lipazın (CRL) aktivitesini tamamen kaybettiği belirlendi (Şekil 4.25).



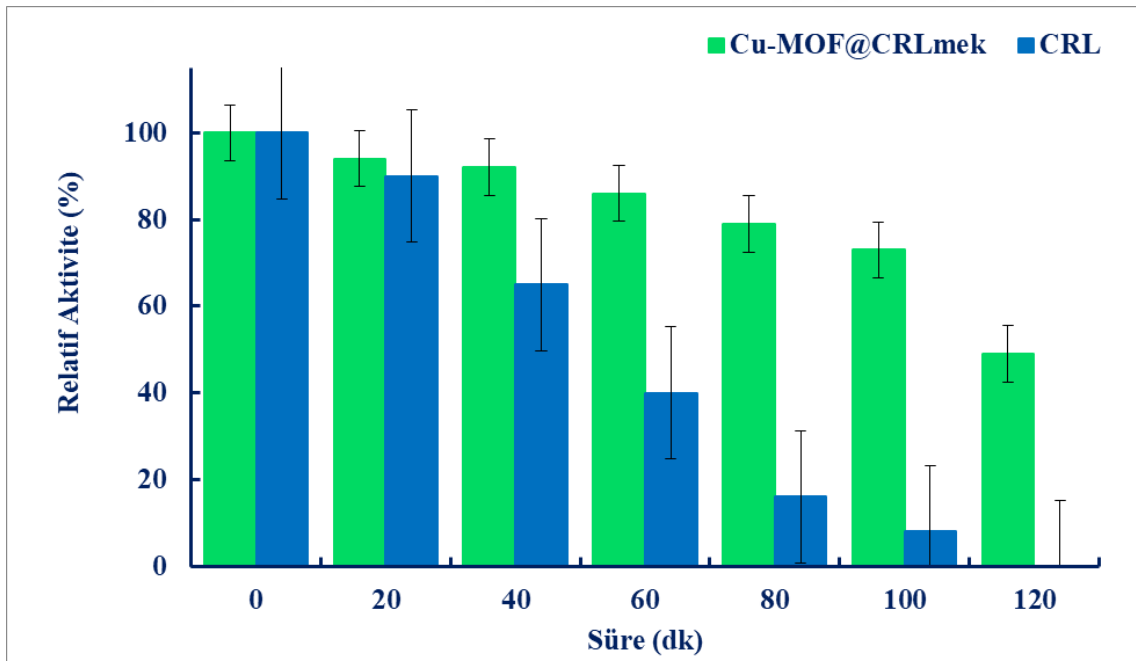
Şekil 4.26. İmmobilize lipaz (Zn-MOF-74@CRL_{mek}) ve serbest lipazın (CRL) termal stabilitesi

120 dakikanın sonunda, immobilizasyonda enzime destek materyali olarak Zn-MOF-74 kullanıldığında, immobilize enzimin aktivitesini %73 oranında koruduğu, serbest lipazın (CRL) aktivitesini tamamen kaybettiği belirlendi (Şekil 4.26).



Şekil 4.27. İmmobilize lipaz (UiO-66-NH₂@CRLmek) ve serbest lipazın (CRL) termal stabilitesi

120 dakikanın sonunda, immobilizasyonda enzime destek materyali olarak UiO-66-NH₂ kullanıldığında aktivitesini %55 oranında koruduğu, serbest lipazın (CRL) aktivitesini tamamen kaybettiği belirlendi (Şekil 4.27).



Şekil 4.28. İmmobilize lipaz (Cu-MOF@CRLmek) ve serbest lipazın (CRL) termal stabilitesi

120 dakikanın sonunda, immobilizasyonda enzime destek materyali olarak Cu-MOF kullanıldığında aktivitesini %49 oranında koruduğu, serbest lipazın (CRL) aktivitesini tamamen kaybettiği belirlendi (Şekil 4.28).

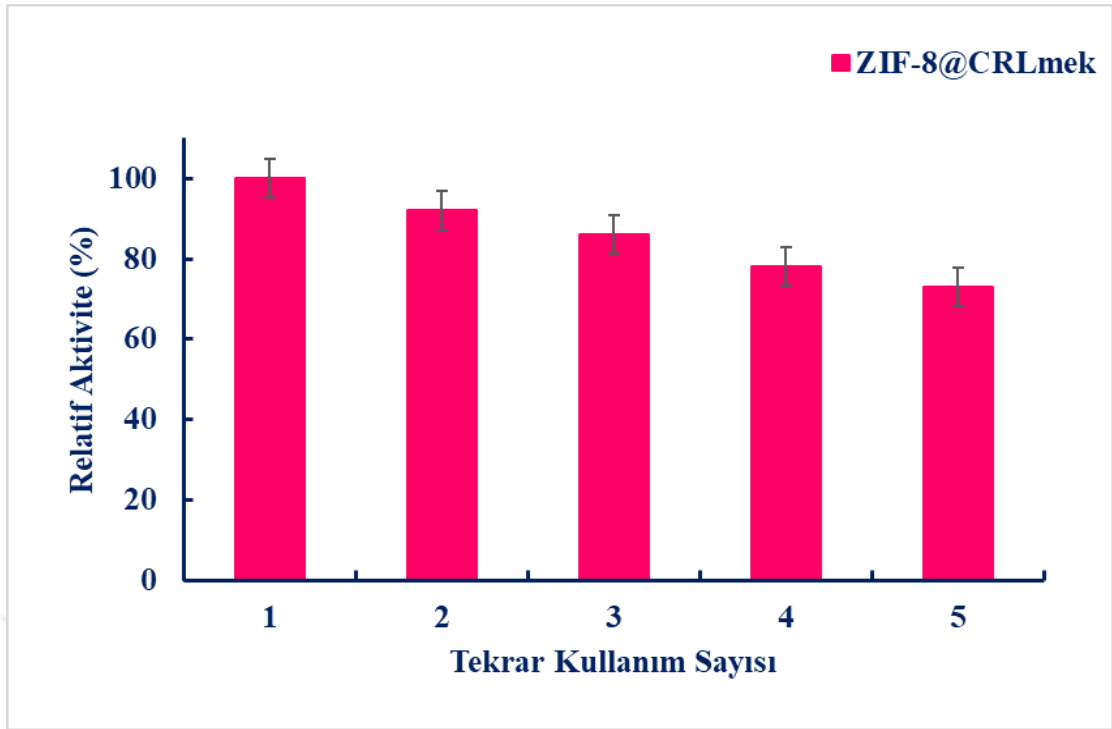
Mekanoenzimoloji, düşük solventli veya solventsiz karışımlarda enzimatik reaksiyonları sürdürmek için mekanik karıştırmanın kullanıldığı yeni keşfedilen ve son yıllarda araştırmacıların oldukça ilgisini çeken bir alandır. Bu yöntem, geleneksel reaksiyonların aksine, solventsizdir, ya da çok az miktarda solvent içermektedir. Çözünürlük sorunlarından kaçınma, minimum hacimde ilerleme ve solvent atıklarını azaltma, potansiyel olarak reaksiyon verimliliğini artırma ve yeni reaktiviteye erişme avantajlarına sahiptir (Arciszewski ve Auclair, 2022). Mekanoenzimolojinin immobilizasyon için kullanımı, MOF'ların eşsiz özellikleri ile bir araya geldiğinde, enzimlerin olumsuz koşullara karşı daha kararlı oldukları görülmektedir (Ozyilmaz ve Caglar, 2023).

4.2.1.5. Tekrar Kullanım

Enzimler yeşil kimyada biyoteknoloji, tıp, enerji ve gıda endüstrileri gibi alanları etkileyen önemli bir rol oynayan, bu alanların geliştirilmesi ve sürdürülebilirlik için güçlü araçlardır (Atıroğlu ve ark., 2024). Ancak lipazlar gibi doğal enzimlerin uygulamaları düşük çalışma stabilitesi, tekrar kullanımlarının zorluğu, zayıf stabilite ve operasyonel koşullar altında kararlılıklarının zorluğu nedeniyle sınırlıdır (Ozyilmaz ve ark., 2018; Zhong ve ark., 2021; Zhang ve ark., 2022; Ozyilmaz ve ark., 2023).

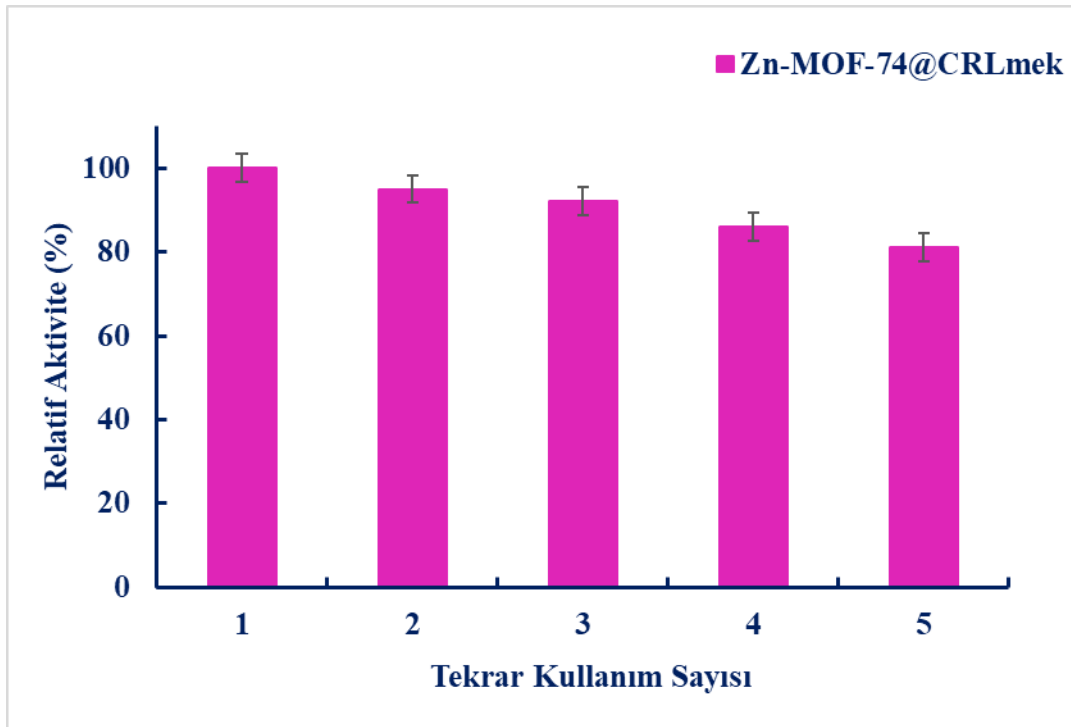
İmmobilizasyon yöntemi kullanılarak bu sınırlamaların üstesinden gelinebilmektedir. İmmobilize enzimler, stabil ve tekrar kullanılabilir bir enzim sistemi sağlayan bir destek matrisi veya yüzeyine sabitlenmiş veya sınırlandırılmış biyokatalizörlerdir. İmmobilizasyon, enzimlerin stabilitesini, aktivitelerini ve seçiciliğini artırırken aynı zamanda substrat reaksiyonunu katalize ettikten sonra enzimin ayrılmasını ve geri kazanılmasını kolaylaştırmaktadır (Al-Harbi ve Almulaiky, 2024).

İmmobilize lipazların (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}) tekrar kullanımını ölçmek için, aktivite ölçümleri *p*-nitrofenil palmitat (*p*-NPP)'ın hidroliz reaksiyonu incelendi. Enzim çözeltileri PBS ile yıkanarak aktivite ölçümleri 5 kez tekrarlandı (Ozyilmaz ve ark., 2021c).



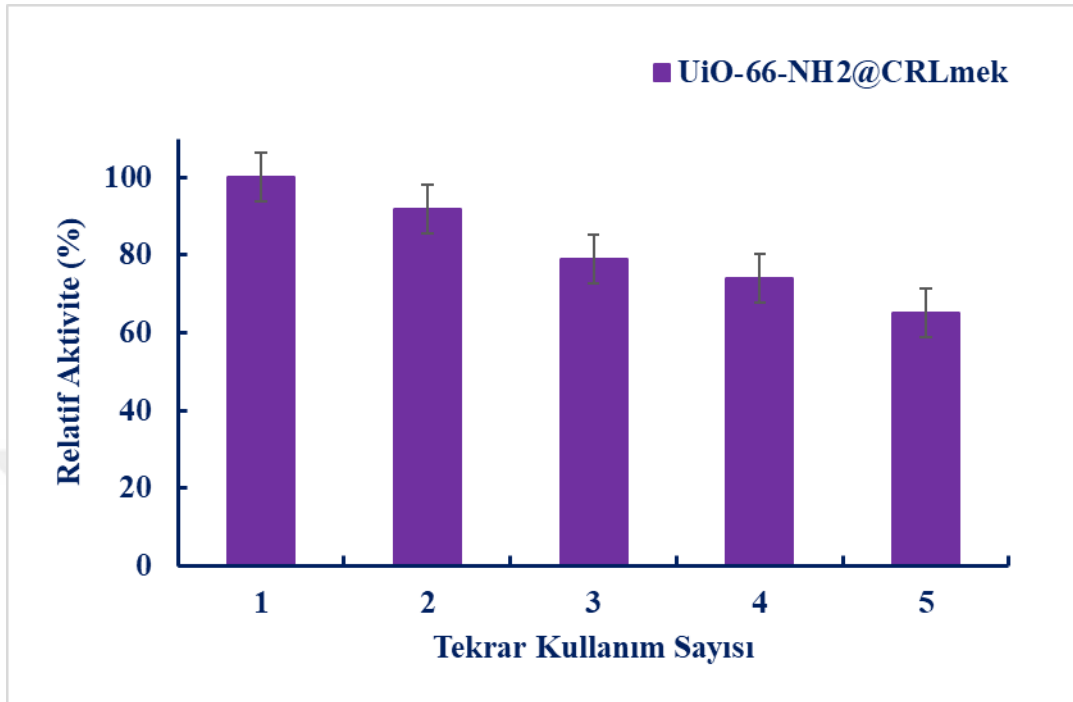
Şekil 4.29. İmmobilize lipazın (ZIF-8@CRL_{mek}) tekrar kullanımı

İmmobilize lipaz (ZIF-8@CRL_{mek}) 5 kez tekrar kullanıldığında aktivitesinin %73 oranında hala koruduğu belirlendi (şekil 4.29).



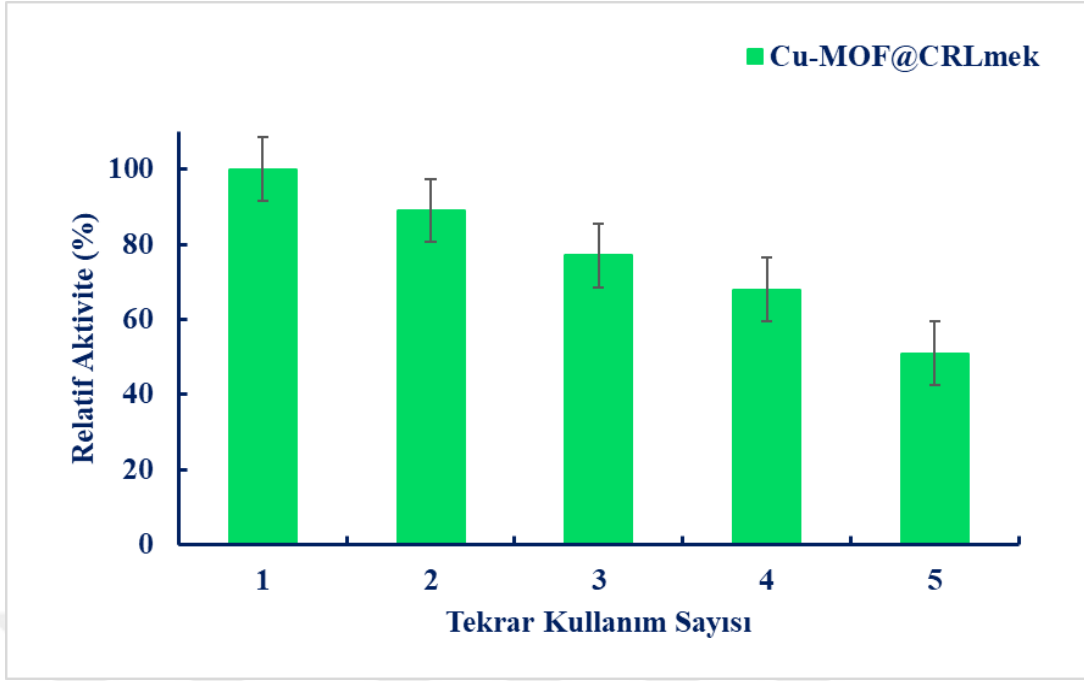
Şekil 4.30. İmmobilize lipazın (Zn-MOF-74@CRL_{mek}) tekrar kullanımı

İmmobilize lipaz ($\text{Zn-MOF-74@CRL}_{\text{mek}}$) 5 kez tekrar kullanıldığında aktivitesinin %81 oranında hala koruduğu belirlendi (şekil 4.30).



Şekil 4.31. İmmobilize lipazın ($\text{UiO-66-NH}_2\text{@CRL}_{\text{mek}}$) tekrar kullanımı

İmmobilize lipaz ($\text{UiO-66-NH}_2\text{@CRL}_{\text{mek}}$) 5 kez tekrar kullanıldığında aktivitesinin %65 oranında hala koruduğu belirlendi (şekil.4.31).



Şekil 4.32. İmmobilize lipazın (Cu-MOF@CRL_{mek}) tekrar kullanımı

İmmobilize lipaz (Cu-MOF@CRL_{mek}) 5 kez tekrar kullanıldığında aktivitesinin %51 oranında hala koruduğu belirlendi (şekil 4.32).

Enzimler yeşil kimyada biyoteknoloji, tıp, enerji ve gıda endüstrileri gibi alanları etkileyen önemli bir rol oynamaktadır. Sürdürülebilirlik için güçlü araçlardır ve çeşitli uygulamalarda önemli iyileştirmeler sağlarlar (Atiroğlu ve ark., 2024). Ancak enzimlerin, zorlu çevre koşullarına maruz kaldıklarında orijinal yapılarını kaybetme eğiliminde olmaları nedeniyle sınırlamaları vardır. Etkili enzim aktivitesi için uygun ortamı sağlamak amacıyla şirketler çeşitli alternatifler araştırmaktadırlar (Mohamed ve ark., 2014; Al-Harbi ve Almulaiky, 2024).

İmmobilizasyon yöntemi ile bu sınırlamaların üstesinden gelebilmektedir. İmmobilize enzimler, stabil ve yeniden kullanılabilir bir enzim sistemi sağlayan bir destek matrisi veya yüzeyine sabitlenmiş veya sınırlandırılmış biyokatalizörlerdir. İmmobilizasyon, enzimlerin stabilitesini, aktivitelerini ve seçiciliğini artırırken aynı zamanda substrat reaksiyonunu katalize ettikten sonra enzimin ayrılmasını ve geri kazanılmasını kolaylaştırmaktadır. İmmobilize enzimler, yiyecek ve içecek, ilaç ve biyoyakıt üretimi gibi çeşitli endüstriyel uygulamalarda yaygın kullanım alanı bulmuştur (Al-Harbi ve Almulaiky, 2024).

Enzim immobilizasyonu, enzimi belirli bir alanda tutarak veya reaksiyon ortamından ayırarak enzim kararlılığını ve depolama süresini artırmaktadır. Bu yöntem,

kapsülleme, mikrokapsülleme veya enzimi adsorpsiyon, kovalent bağlama veya çapraz bağlama yoluyla katı destek malzemelerine bağlama yoluyla elde edilebilen enzimlerin mekanik olarak tutulumunu içermektedir (Sheldon, 2007; Homaei ve ark., 2013; Jangi ve ark., 2020; Sahin ve ark., 2024).

İmmobilize edilmiş enzimler, atık su arıtımında organik kirleticilerin daha az zararlı formlara dönüştürülmesi, gıda işlemede raf ömrünün korunması ve uzatılması, biyodizel üretimi, toksik ve kirleticilerin biyosensör olarak tespiti ve immünolojik testlerde antikorların tanımlanması dahil olmak üzere çok sayıda uygulamaya sahiptir (Lai ve ark., 2017; Sybesma ve ark., 2017; Jangi ve Akhond, 2021; Sahin ve ark., 2024).

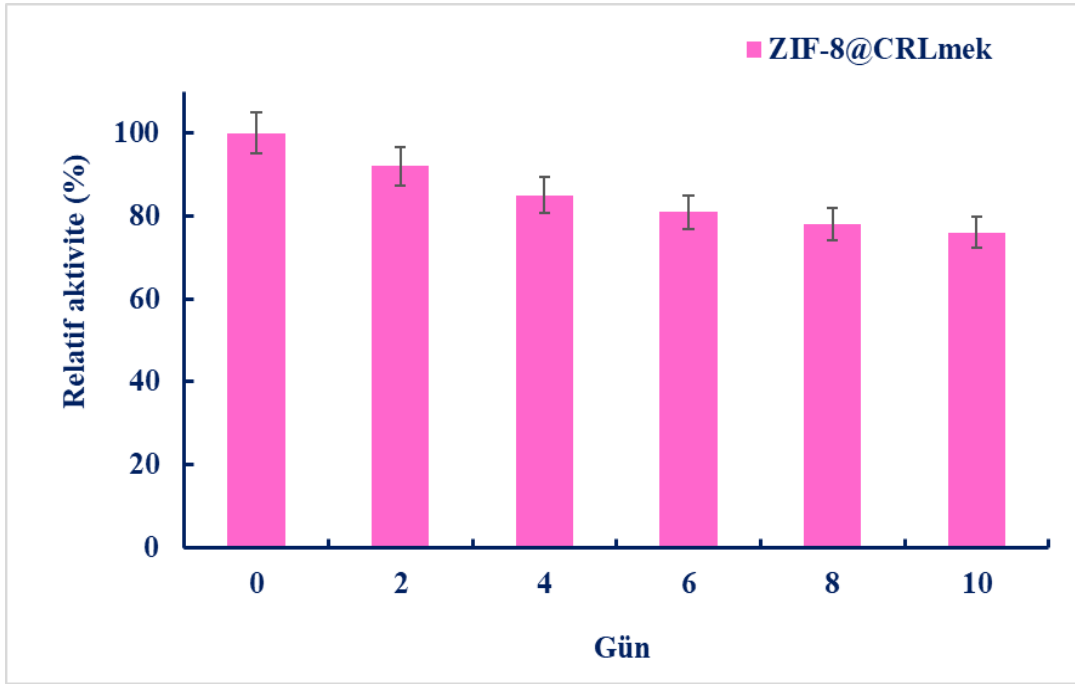
Yapılan araştırmalar ile immobilize edilen enzimlerin pH, sıcaklık ve iyonik güçteki değişikliklerden daha az etkilendiği, serbest enzim formuna kıyasla kararlılıklarını, depolama ömürlerini ve yeniden kullanılabilirliklerini koruduğu belirlenmiştir (Sheldon, 2007; Homaei ve ark., 2013; Hu ve ark., 2018; Jangi ve ark., 2020; Jangi ve Akhond, 2021; Sahin ve ark., 2024).

Katalizörün yeniden kullanılabilirliği, süreçler yalnızca ekonomik açıdan değil, aynı zamanda kaynak verimliliği ve sürdürülebilirlik açısından da dikkate alındığında önemli bir konudur. Bu aynı zamanda mekanoenzimatik reaksiyonlardaki biyokatalizörler için de geçerlidir. Bu nedenle bilyalı değirmenlerde ve ekstrüderlerde immobilize enzim formülasyonları da uygulanmış ve taşıyıcının etkisi ve bütünlüğü konusunda farklı gözlemler yapılmıştır. Bu nedenle polimer destekli öğütme, zorlu öğütme koşullarına karşı enzim sağlamlığını artırmak için güçlü bir seçenek olarak görülmektedir. Ayrıca enzim formülasyonunun ve immobilize enzimlerin destek malzemesinin öğütme sırasındaki enzim stabilitesi üzerinde etkisi vardır (Hollenbach ve Ochsenreither, 2023).

4.2.1.6. Depolama Stabilitesi

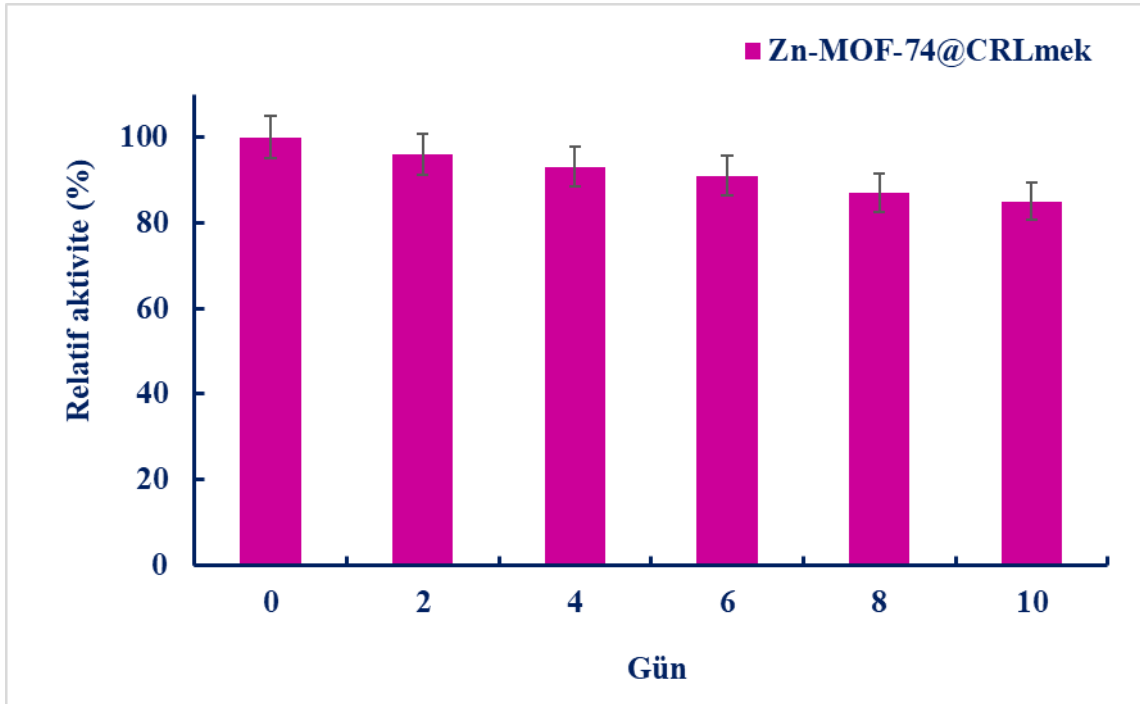
Enzimler biyokataliz ve endüstride yaygın kullanılsalar da tekrar kullanım ve uzun süreli saklanmalarında aktivitelerinde kayıplar yaşanmaktadır. Bu nedenle endüstriyel uygulamalar için depolama stabilitelerinin incelenmesi büyük önem taşımaktadır (Aghaei ve ark., 2022).

Belirli miktarlarda tartılan immobilize lipazlar (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}) 10 gün boyunca 2 şer gün arayla lipaz aktiviteleri incelendi. Aktiviteleri *p*-nitrofenil palmitat (*p*-NPP)'ın hidroliz reaksiyonu ile belirlendi.



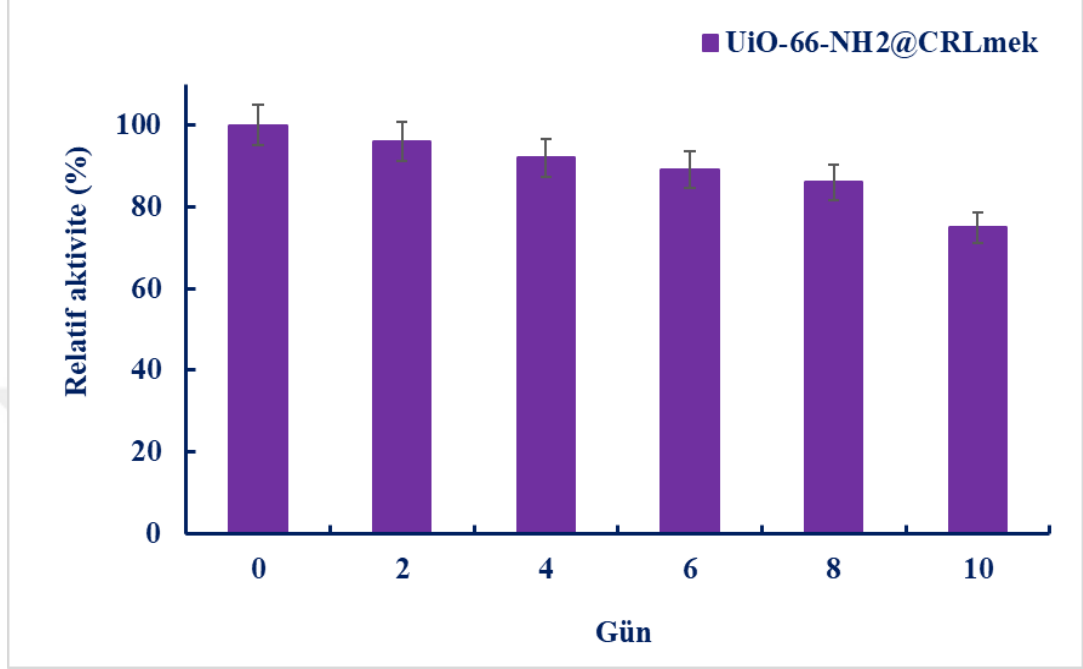
Şekil 4.33. İmmobilize lipazın (ZIF-8@CRL_{mek}) depolama stabilitesi

ZIF-8@CRL_{mek}'in 10. Günde hala aktivitesini %76 oranında koruduğu belirlendi (şekil 4.33).



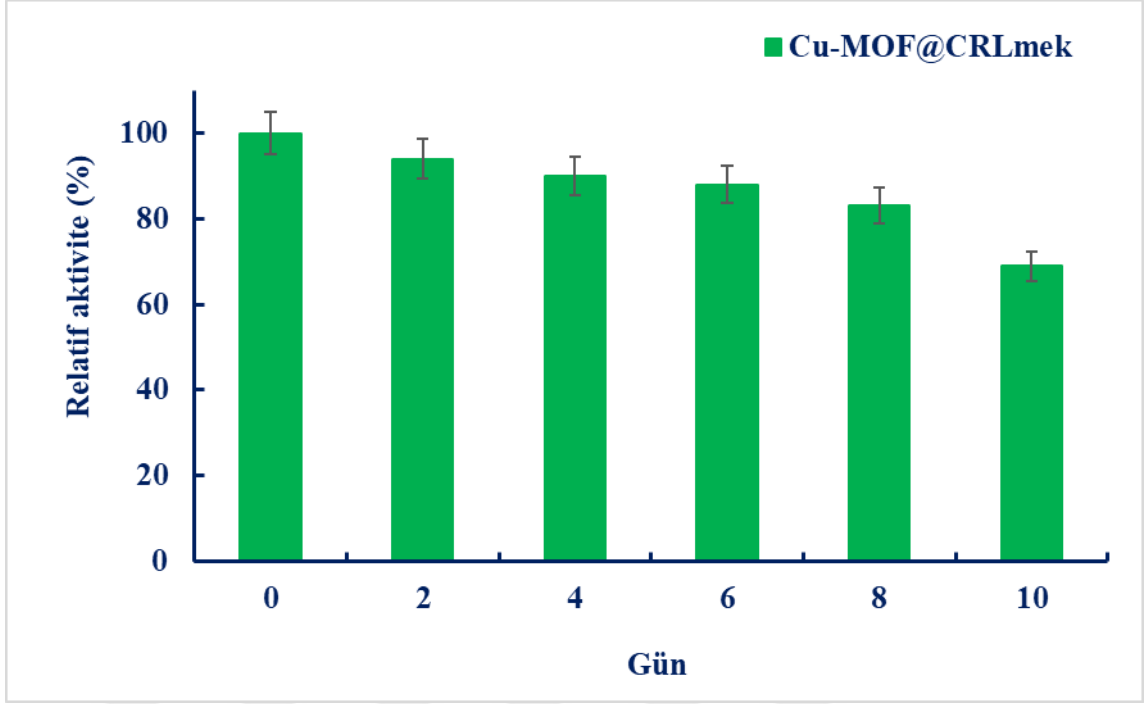
Şekil 4.34. İmmobilize lipazın (Zn-MOF-74@CRL_{mek}) depolama stabilitesi

Zn-MOF-74@CRLmek'in 10. günde hala aktivitesini %85 oranında koruduğu belirlendi (şekil 4.34).



Şekil 4.35. İmmobilize lipazın (UiO-66-NH₂@CRL_{mek}) depolama stabilitesi

UiO-66-NH₂@CRL_{mek}'in 10. günde hala aktivitesini %75 oranında koruduğu belirlendi (şekil 4.35).



Şekil 4.36. İmmobilize lipazın (Cu-MOF@CRL_{mek}) depolama stabilitesi

Cu-MOF@CRL_{mek}'in 10. günde hala aktivitesini %69 oranında koruduğu belirlendi (şekil 4.36).

Metal-organik kafesler (MOF'lar), organik ligandlar ve metal düğümlerinin koordinasyon etkileşimi ile bir araya gelmesiyle oluşan, 3 boyutlu, ağa benzer yapıya sahip, hibrit yapı malzemelerdir (Liang ve ark., 2015; Chen ve ark., 2020; Liang ve ark., 2021a; Liu ve ark., 2021b; Du ve ark., 2022). MOF'lar, tasarlanabilir ultra yüksek gözeneklilik, yüksek yüzey alanı, kristalografik yapı, mükemmel yapısal, termal ve kimyasal stabilite gibi son derece önemli özelliklere sahip kristal gözenekli malzemelerdir, gözenekli yapıları, hızlı kütle transferi için zengin yüzeyler sunmakta, spesifik gözenek boyutu, hedeflerin yüklenmesi ve tutunmasına katkı sağlamaktadır (Chen ve ark., 2020; Du ve ark., 2022; Ozyilmaz ve ark., 2022b; Yao ve ark., 2022). MOF'ların yapılarını meydana getiren organik ligandlar ise elektriksel ve termal etkilerin yanı sıra kimyasal modifikasyon için bol miktarda fonksiyonel gruplar sağlamaktadır. Kafes yapıdaki metallerin varlığı, kataliz için olası aktif bölgelere katkıda bulunmaktadır (Niu ve ark., 2020; Xu ve ark., 2021). Katı MOF yapısı, kapsüllenmiş enzimlerin konformasyonel yapısının açılmasını sınırlandırarak yüksek sıcaklık, pH gibi zorlu koşullar altında organik çözücülerde sabit kalmasına izin vermektedir (Liang ve ark., 2015; Wu ve ark., 2017; Chen ve ark., 2018; Chen ve ark.,

2020). Oluşan MOF@enzim kompozitleri MOF'ların eşsiz özelliklerinden yararlanılarak enzimin düzenli kafes yapıları ile korunmasından dolayı stabilite (pH, sıcaklık, kimyasal ve termal stabilite) gibi stabilite, depolama kararlılığı, tekrar kullanım açısından benzersiz katalitik performanslar sergilemektedir (Nadar ve ark., 2020; Xu ve ark., 2021).

4.2.2. Hazırlanan Metal Organik Kafeslerin *Porcine Pankreatik Lipazın İmmobilizasyonunda Kullanılması*

Mekanokimyasal yaklaşım tekniği kullanılarak, 2 farklı çinko bazlı (ZIF-8, Zn-MOF-74), 1 zirkonyum bazlı (UiO-66-NH₂) ve 1 bakır bazlı (Cu-MOF) olmak üzere toplam 4 farklı MOF'un sentezi başarıyla tamamlandı. Sentezlenen MOF'lar *Porcine pankreatik lipazın* (PPL) immobilizasyonunda destek materyali olarak kullanıldı.

Tablo 4.2.2.1. İmmobilize enzimlerin aktivite ve protein tablosu

	Lipaz Aktivitesi (U/g destek maddesi)	Yüklenen Protein (mg/g)
ZIF-8@PPL _{mek}	4.76	73.8
Zn-MOF-74@PPL _{mek}	7.27	97.6
UiO-66-NH ₂ @PPL _{mek}	2.34	37.6
Cu-MOF@PPL _{mek}	9.27	131.8

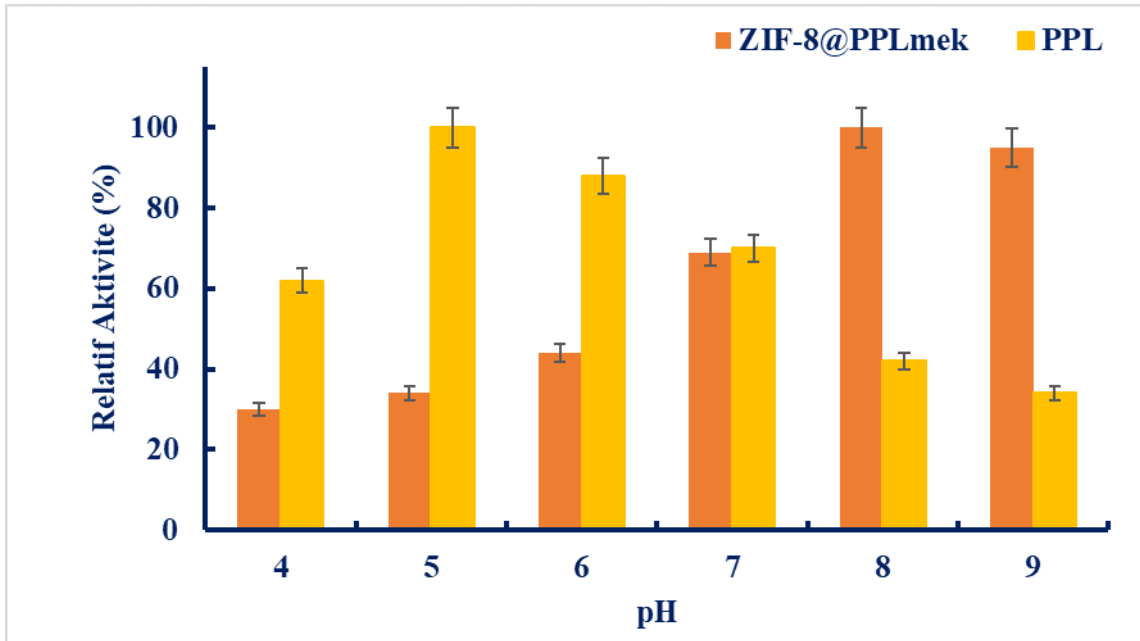
Tablo 4.2.2.1.'de görüldüğü gibi immobilize lipazların (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}) p-nitrofenil palmitat (p-NPP)'ın hidroliz reaksiyonu ile aktivite tayinleri yapıldı. ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}'in lipaz aktiviteleri sırasıyla, 4.76; 7.27; 2.34; 9.27 U/g bulundu.

Bradford metodu kullanılarak immobilize lipazların (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}) yüklenen protein miktarları hesaplandı. Yüklenen protein miktarları sırasıyla, 73.8; 97.6; 37.6; 131.8 mg/g olarak hesaplandı.

4.2.2.2. pH stabilitesi

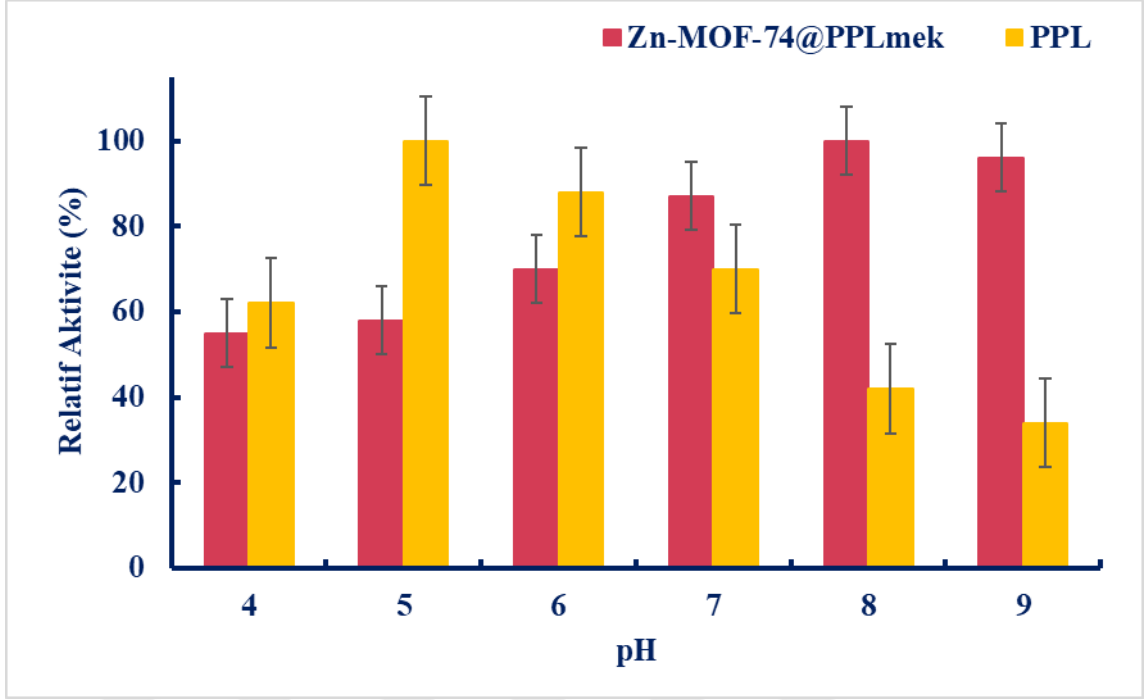
Enzimlerin serbest formları ortam koşullarından etkilendiklerinde konformasyonel yapıları değişikliğe uğramaktadır. Dolayısıyla enzimlerin yapılarını zorlu koşullara karşı korumak oldukça önemlidir. Bu durumun üstesinden gelebilmek için immobilizasyon işlemi oldukça önemlidir. Enzimlerin immobilizasyonu farklı teknikler ile yapılabilmektedir (Du ve ark., 2022; Ozyilmaz ve ark., 2022b).

Katı MOF yapısı, yüksek sıcaklıklar gibi olumsuz koşullar altında enzimlerin kapalı konformasyonel konfigürasyonlarından salınmasını önlemekte ve enzim immobilizasyonu için ideal destek maddesi olarak düşünülmektedirler (Liang ve ark., 2015; Chen ve ark., 2018; Chen ve ark., 2020; Ozyilmaz ve Caglar, 2023).



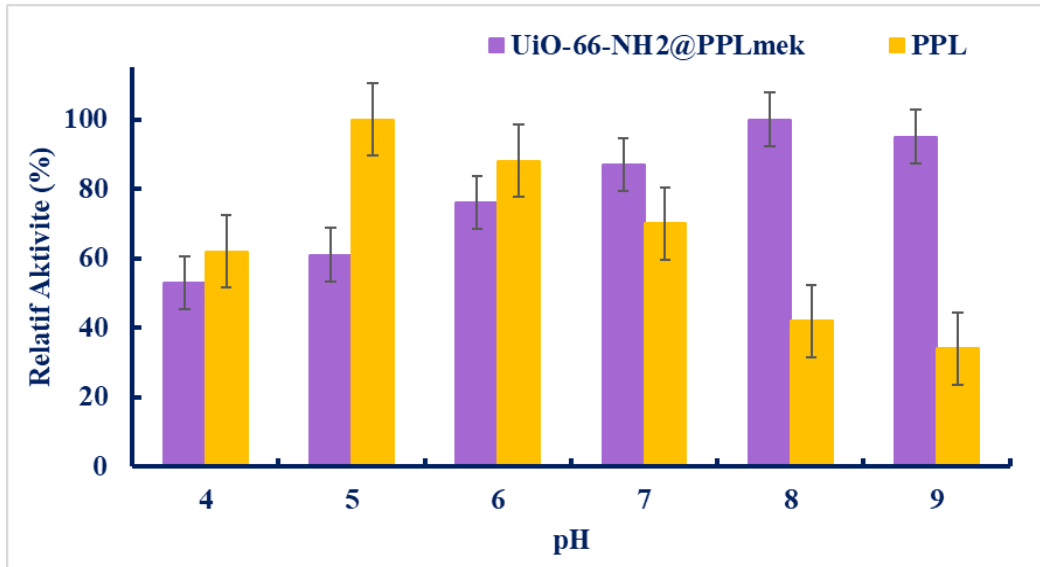
Şekil. 4.37. İmmobilize lipaz (ZIF-8@PPL_{mek}) ve serbest lipazın (PPL) pH stabilitesi

Porcine pankreatik lipazın maksimum aktivite gösterdiği pH değeri pH:5 iken, ZIF-8 ile immobilize edildiğinde pH stabilitesinin bazik bölgede de kararlılık gösterdiği ve ZIF-8@PPL'nin pH:8'de maksimum aktivite gösterdiği belirlendi (Şekil 4.37).



Şekil 4.38. İmmobilize lipaz (Zn-MOF-74@PPL_{mek}) ve serbest lipazın (PPL) pH stabilitesi

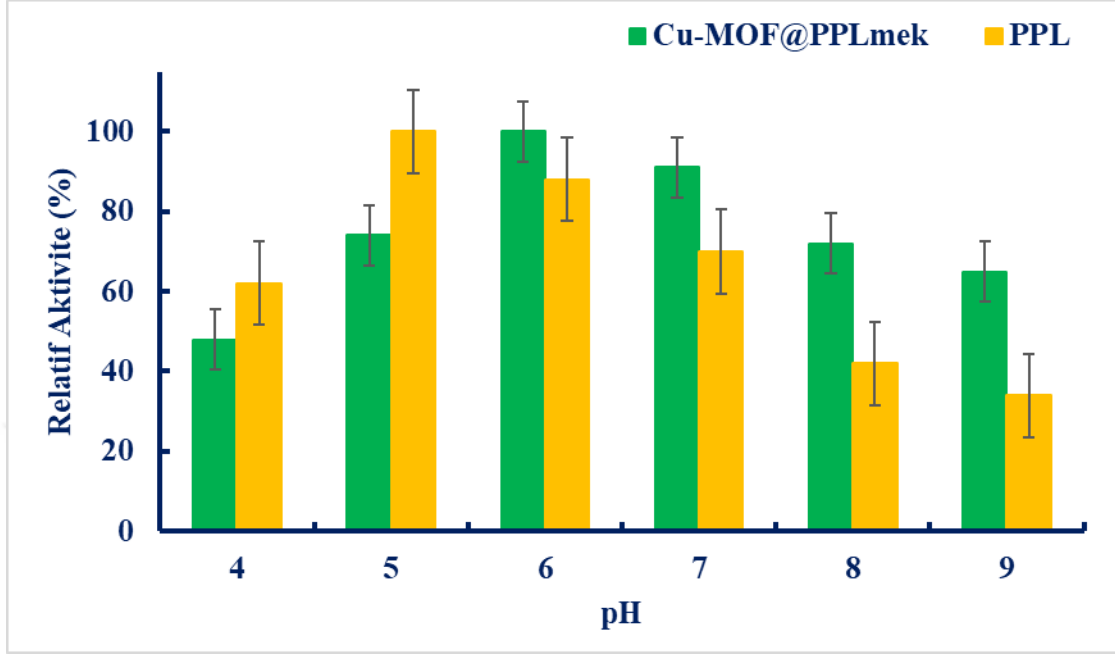
Porcine pankreatik lipazın maksimum aktivite gösterdiği pH değeri pH:5 iken, Zn-MOF-74 ile immobilize edildiğinde pH stabilitesinin daha geniş pH aralığında kararlılık gösterdiği ve Zn-MOF-74@PPL'nin pH:8'de maksimum aktivite gösterdiği belirlendi (Şekil 4.38).



Şekil 4.39. İmmobilize lipaz (UiO-66-NH₂@PPL_{mek}) ve serbest lipazın (PPL) pH stabilitesi

Porcine pankreatik lipazın maksimum aktivite gösterdiği pH değeri pH:5 iken, UiO-66-NH₂ ile immobilize edildiğinde pH stabilitesinin çok daha geniş pH aralığında

kararlılık gösterdiği ve UiO-66-NH₂@PPL_{mek}'nin pH:8'da maksimum aktivite gösterdiği belirlendi (Şekil 4.39).



Şekil 4.40. İmmobilize lipaz (Cu-MOF@PPL_{mek}) ve serbest lipazın (PPL) pH stabilitesi

Porcine pankreatik lipazın maksimum aktivite gösterdiği pH değeri pH:5 iken, Cu-MOF ile immobilize edildiğinde pH stabilitesinin daha geniş pH aralığında kararlılık gösterdiği ve Cu-MOF@PPL_{mek}'nin pH:6'da maksimum aktivite gösterdiği belirlendi (Şekil 4.40).

Enzim molekülleri fizyolojik olmayan ortamda hassas veya kararsızdır, enzimin kendini koruma yeteneğini teşvik ederek veya ekstra taşıyıcılarla enzimin kararlılığını artırarak veya hız sınırlayıcı adımda zayıf biyolojik enzimlerin yerini almak için metal enzimler kullanarak ek koruma gerektirmektedir (Cao, 2005; Boudrant ve ark., 2020; Du ve ark., 2022; Liu ve ark., 2022a). İmmobilizasyon tekniği ile olumsuz durumlar avantaja dönüştürülmektedir. İmmobilizasyon için ideal destek olarak kullanılan materyallerin özellikleri önemlidir. Enzimlerin maksimum aktivitesini sürdürme yeteneğine sahip olmalı ve uygulamalar sırasında yeniden kullanımlarını sağlamak için enzim moleküllerini korumak için tatmin edici stabiliteye sahip olmalıdır (Zhang ve ark., 2018; Nadar ve ark., 2020; Du ve ark., 2022).

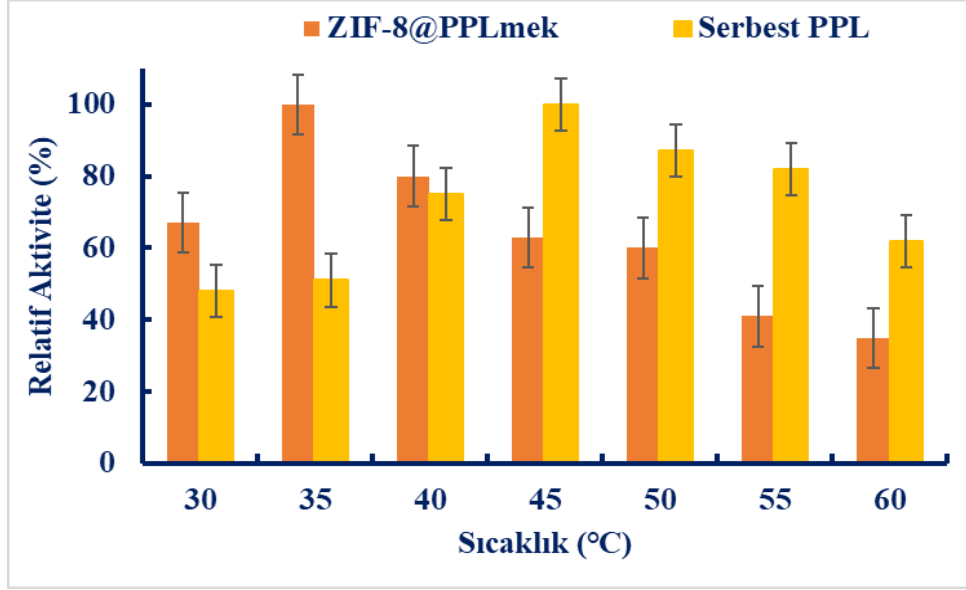
Son yıllarda nanomateriyaller, enzim immobilizasyonunda, optimal biyokataliz için destekler ve enzimler arasında uygun bir mikro ortamın inşasını sağlayabilen eşsiz

avantajlar sunmaktadır (Bilal ve ark., 2019; Bilal ve Iqbal, 2019; Ren ve ark., 2023). MOF'lar, eşsiz özelliklere, mükemmel biyoyumluluk ve stabiliteye sahiptir ve enzim immobilizasyonu için iyi konakçılar olduğu bilinmektedir (Ren ve ark., 2023).

pH stabilite sonuçlarını incelediğimizde, sonuçlar bize immobilizasyon ile elde edilen MOF@enzim kompozitlerinin enzimin zorlu karşı yapısını koruyucu özelliğe sahip olduğunu gösterdi (Du ve ark., 2022). İmmobilize lipazların daha geniş pH aralığında da aktivitesini koruyabilmesi, bazik koşullarda da hala aktiviteye sahip olması, mekanokimyasal reaksiyonda katalizör ve substratlar arasındaki kovalent olmayan etkileşimlerin güçlendirilmesiyle ilişkili olabileceğini göstermektedir (Ozyilmaz ve ark., 2021c; Du ve ark., 2022; Ozyilmaz ve Caglar, 2023).

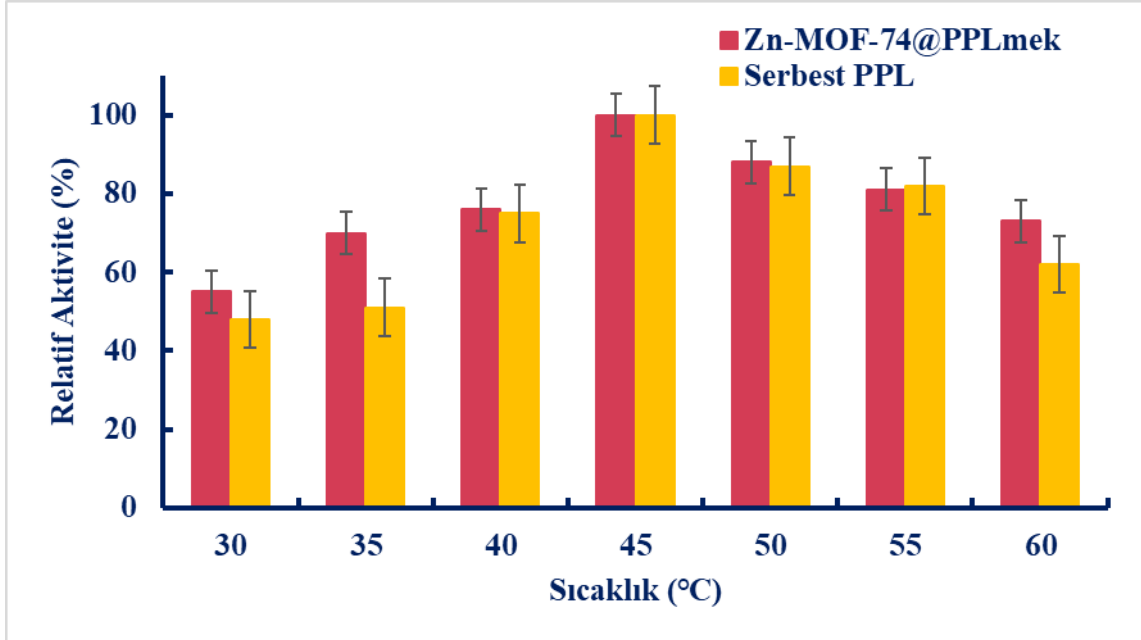
4.2.2.3. Optimum Sıcaklık Tayini

Katı MOF yapısı, yüksek sıcaklıklar gibi olumsuz koşullar altında enzimlerin kapalı konformasyonel konfigürasyonlarından salınmasını önler (Liang ve ark., 2015; Chen ve ark., 2018; Chen ve ark., 2020; Ozyilmaz ve Caglar, 2023). Düzenli kafes yapısının enzimin konformasyonel yapısını korumasından dolayı, immobilizasyon ile elde edilen MOF@enzim kompozitleri, yüksek sıcaklık altında stabilite, pH ayarları, depolama stabilitesi ve yeniden kullanım açısından olağanüstü katalitik özelliklere sahiptir (Xu ve ark., 2021; Du ve ark., 2022; Ozyilmaz ve Caglar, 2023). Belirli miktarlarda tartılan immobilize lipazlar (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}) ve serbest lipaz (PPL) 30°C-60°C arasında değişen sıcaklıklarda 15'er dakika süreyle inkübe edildi. Lipaz aktiviteleri *p*-nitrofenil palmitat (p-NPP)'ın hidroliz reaksiyonu ile belirlendi.



Şekil 4.41. İmmobilize lipaz (ZIF-8@PPL_{mek}) ve serbest lipazın (PPL) optimum sıcaklık tayini

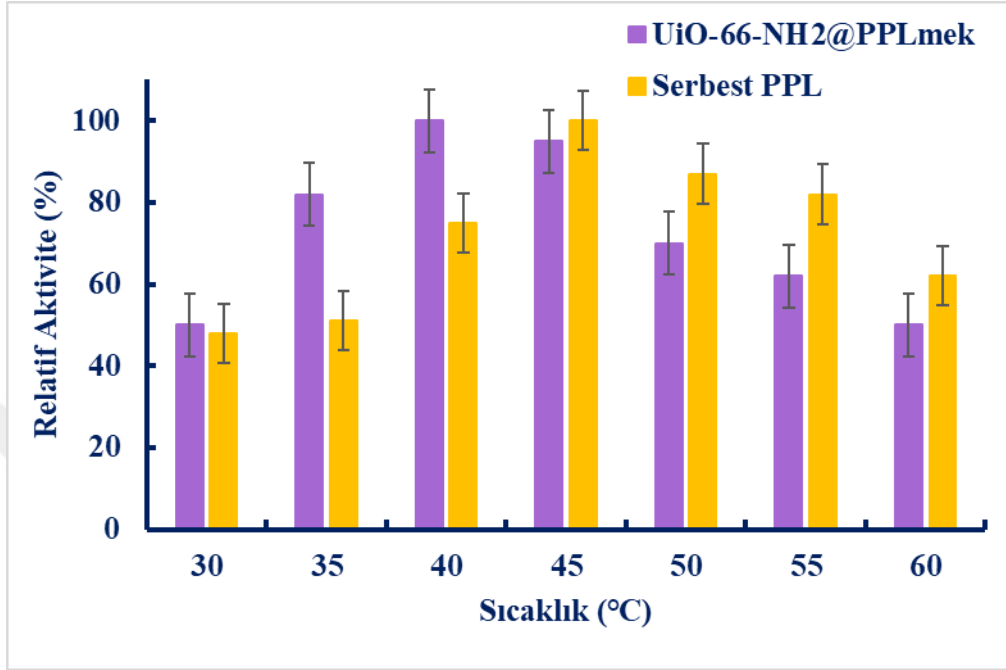
Serbest lipaz (PPL) ve immobilize lipazın (ZIF-8@PPL_{mek}) optimum pH tayini için farklı sıcaklıklar kullanılarak aktivite tayinleri incelendi. Serbest lipaz'ın (PPL) maksimum aktivitesine 45 °C'de sahip olduğu belirlendi. ZIF-8@PPL_{mek}'in ise 35 °C'de maksimum aktivitesine sahip olduğu belirlendi (Şekil 4.41).



Şekil 4.42. İmmobilize lipaz (Zn-MOF-74@PPL_{mek}) ve serbest lipazın (PPL) optimum sıcaklık tayini

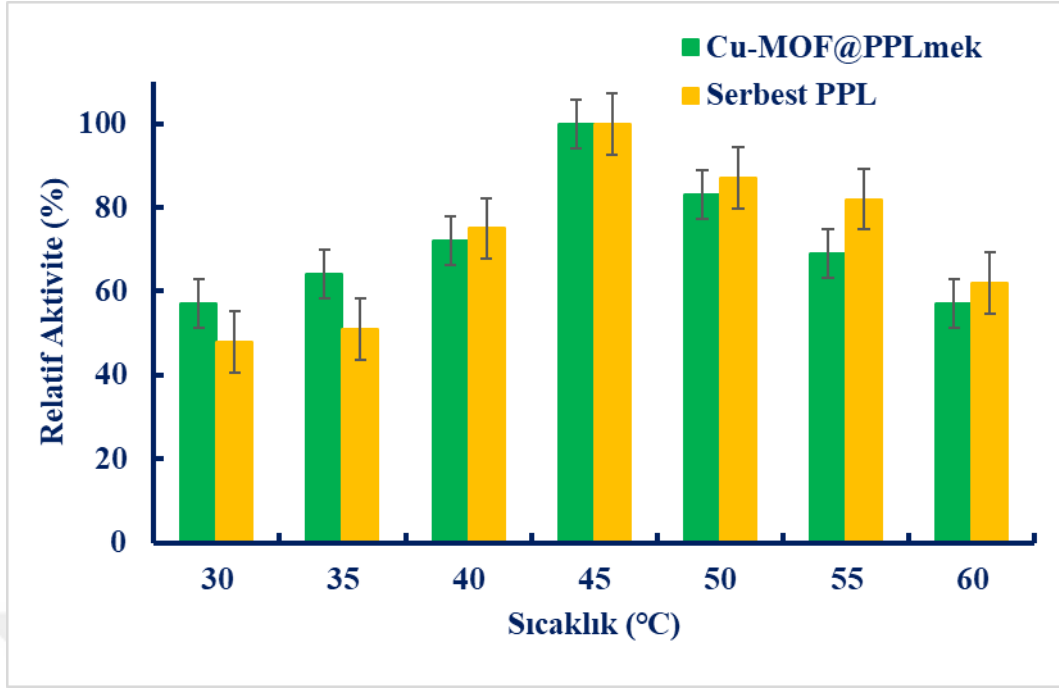
İmmobilize lipaz (Zn-MOF-74@PPL_{mek}) ve serbest lipazın (PPL) optimum pH tayini için farklı sıcaklıklar kullanılarak aktivite tayinleri incelendi. Hem serbest lipaz'ın

(PPL) hem de immobilize lipazın ($\text{Zn-MOF-74@PPL}_{\text{mek}}$) 45 °C’de maksimum aktiviteye sahip olduğu belirlendi (Şekil 4.42).



Şekil 4.43. İmmobilize lipaz ($\text{UiO-66-NH}_2\text{@PPL}_{\text{mek}}$) ve serbest lipazın (PPL) optimum sıcaklık tayini

Zirkonyum bazlı bir MOF türü olan UiO-66-NH_2 immobilizasyonda kullanılarak elde edilen immobilize lipazın ve serbest lipazın (PPL) optimum pH tayini için farklı sıcaklıklar kullanılarak aktivite tayinleri incelendi. Serbest lipaz’ın (PPL) maksimum aktivitesine 45 °C’de sahip olduğu belirlendi. UiO-66-NH_2 ’nin ise 40 °C’de maksimum aktivitesine sahip olduğu belirlendi (Şekil 4.43).



Şekil 4.44. İmmobilize lipaz (Cu-MOF@PPL_{mek}) ve serbest lipazın (PPL) optimum sıcaklık tayini

Serbest lipaz (PPL) ve immobilize lipazın (Cu-MOF@PPL_{mek}) optimum pH tayini için farklı sıcaklıklar kullanılarak aktivite tayinleri incelendi. Hem serbest lipaz'ın (PPL) hem de immobilize lipazın (Cu-MOF@PPL_{mek}) 45 °C'de maksimum aktiviteye sahip olduğu belirlendi (Şekil 4.44).

Çeşitliliği ve özgülülüğü nedeniyle enzimler, son zamanlarda büyük ilgi görmekte ve tıp, biyosensör ve endüstriyel üretim gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Bununla birlikte, pratik uygulamalar düzenli olarak daha yüksek sıcaklık, organik çözücü ve aşırı pH değerleri içermektedir, bu koşullar enzimin kararsızlığına ve hatta inaktivasyonuna yol açmaktadır. Ayrıca serbest enzimin reaksiyon çözeltisinden geri kazanılması nispeten zordur, bu da doğrudan maliyeti arttırmaktadır ve kaynak israfına yol açmaktadır (Adlercreutz, 2013; Wang ve ark., 2023a). Bu durumu önlemek için son yıllarda önemli araştırmalar yapılmaktadır. Araştırmalarda, malzeme-biyo-arayüz mühendisliğinin, burada malzemelerin stabiliteyi, geri dönüştürülebilirliği ve verimliliği artırmak için etkileşime girmesi sağlandığı belirlenmiştir. Burada ideal malzemenin kullanımı ve seçimi önem kazanmaktadır. Destek malzemeleri olarak silika, hidrojeller, MOF'lar ve polimer mikrokapsüller yer alırlar (Lee ve ark., 2018; Ayoubi-Joshaghani ve ark., 2020; Li ve ark., 2023d).

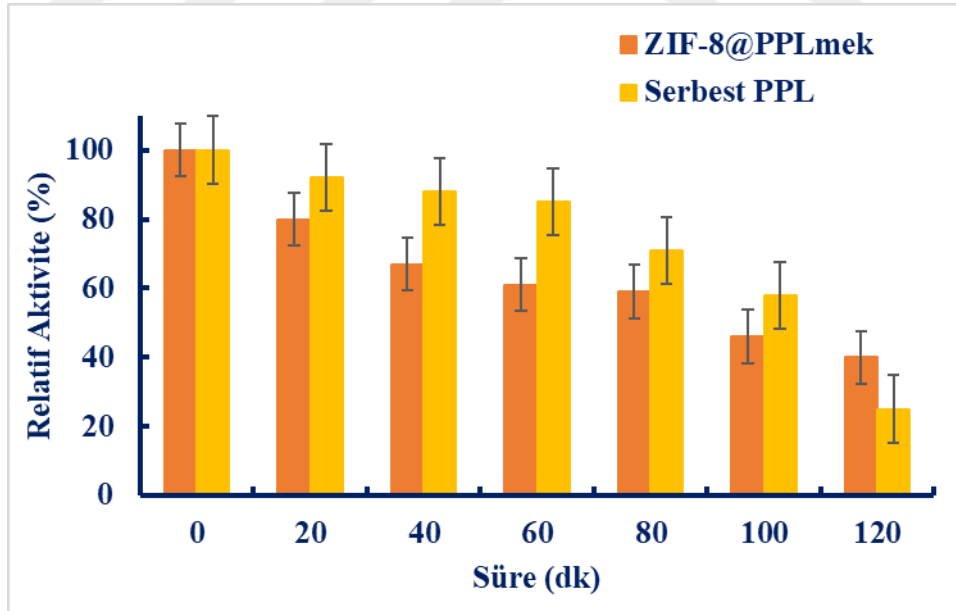
MOF'lar yüksek gözeneklilik, geniş yüzey alanı ve kolay sentezlenmeleri nedeniyle diğer materyallere göre üstünlük sergilerler (Hasan ve Jhung, 2015; Chai ve ark., 2022; Li ve ark., 2023c). MOF yüzeyindeki aktif bölgeler sıklıkla enzimlerin

katalitik aktivitesini etkiler. Genellikle MOF'lar yalnızca tek tür aktif bölge içerir ve bu da aktiviteyi sınırlamaktadır (Li ve ark., 2023c).

İmmobilize lipazların (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}) sıcaklıklardaki farklılıklar, MOF'ların yapısını oluşturan metal iyonu ve ligandların, enzimin konformasyonel yapısı ile etkileşiminin farklı olmasından kaynaklanmaktadır (Hu ve ark., 2018; Du ve ark., 2022; Ozyilmaz ve ark., 2022b; Ozyilmaz ve Caglar, 2023). İmmobilize enzimlerin daha sert doğası veya proteinin termal denatürasyona karşı direnç geliştirilmesi ile lipazın konformasyonel yapısında sınırlamaların oluşmasıyla da açıklanabilmektedir (Ozyilmaz ve Sayin, 2013; Du ve ark., 2022; Ozyilmaz ve Caglar, 2023).

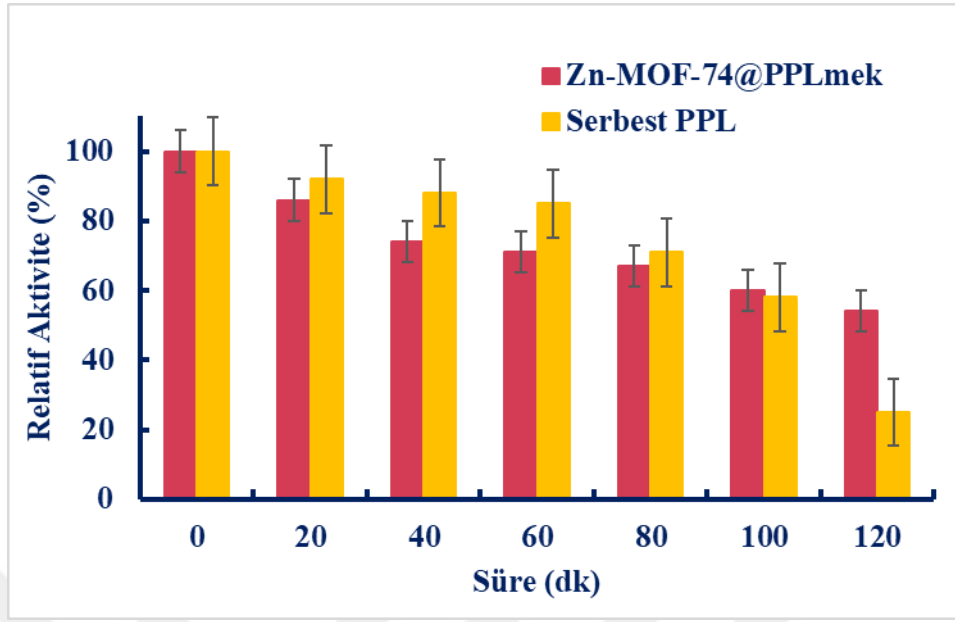
4.2.2.4. Termal stabilite

İmmobilize lipaz (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}) ve serbest lipazların (PPL) termal stabilitesini ölçmek için, enzim çözeltileri 20-120 dk zaman aralıklarında 60 °C'de inkübe edildi ve 20'şer dakika aralıklar ile enzim aktivitesi ölçüldü.



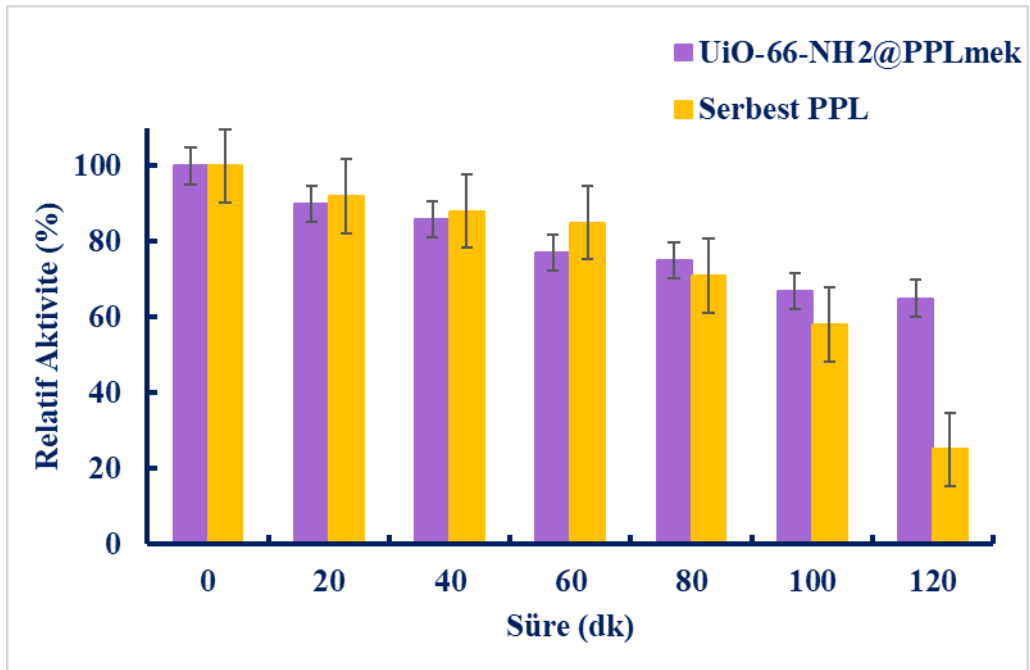
Şekil 4.45. İmmobilize lipaz (ZIF-8@PPL_{mek}) ve serbest lipazın (PPL) termal stabilitesi

120 dakikanın sonunda, serbest serbest lipazın (PPL) aktivitesini %25 oranında hala koruduğu belirlenirken, immobilizasyonda enzime destek materyali olarak ZIF-8 kullanıldığında ise aktivitesini %40 oranında hala aktiviteye sahip olduğu aktivitesini koruduğu belirlendi (Şekil 4.45).



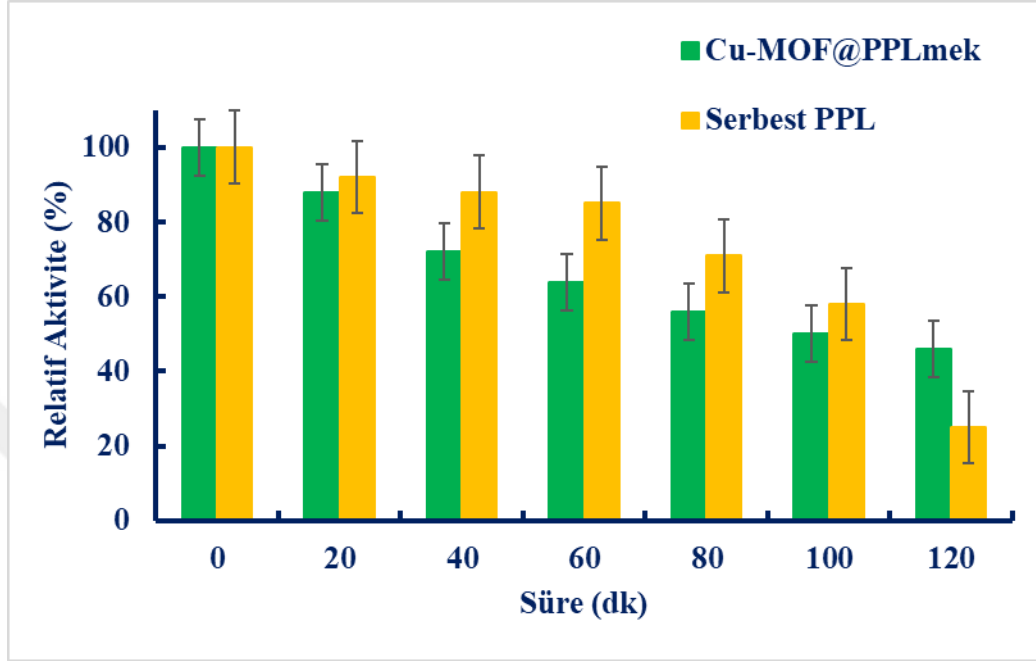
Şekil 4.46. İmmobilize lipaz (Zn-MOF-74@PPL_{mek}) ve serbest lipazın (PPL) termal stabilitesi

120 dakikanın sonunda, serbest serbest lipazın (PPL) aktivitesini %25 oranında hala koruduğu belirlenirken, immobilizasyonda enzime destek materyali olarak Zn-MOF-74@PPL kullanıldığında aktivitesinin %54 oranında koruduğu belirlendi (Şekil 4.46).



Şekil 4.47. İmmobilize lipaz (UiO-66-NH₂@PPL_{mek}) ve serbest lipazın (PPL) termal stabilitesi

120 dakikanın sonunda, serbest serbest lipazın (PPL) aktivitesini %25 oranında hala koruduğu belirlenirken, immobilizasyonda enzime destek materyali olarak UiO-66-NH₂ kullanıldığında aktivitesinin %65 oranında koruduğu belirlendi (Şekil 4.47).



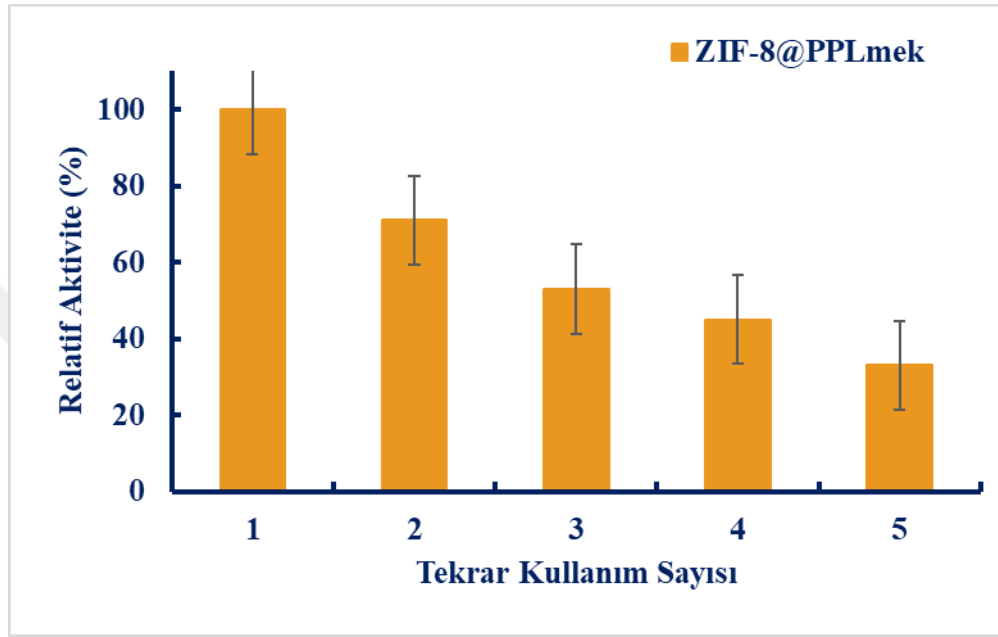
Şekil 4.48. İmmobilize lipaz (Cu-MOF@PPL_{mek}) ve serbest lipazın (PPL) termal stabilitesi

120 dakikanın sonunda, serbest serbest lipazın (PPL) aktivitesini %25 oranında hala koruduğu belirlenirken, immobilizasyonda enzime destek materyali olarak Cu-MOF kullanıldığında aktivitesinin %46 oranında koruduğu belirlendi (Şekil 4.48).

Bu sonuçlar bize immobilizasyon ile elde edilen MOF@enzim kompozitlerinin enzimin yüksek sıcaklıkta ve uzun şartlara karşı yapısını koruyucu özelliğe sahip olduğunu gösterdi. İmmobilize lipazlar için, yüksek sıcaklığa rağmen katalitik aktivitesini koruyabilmesi, mekanokimyasal reaksiyonda, MOF'ların yapısındaki aktif merkez ve enzim arasındaki etkileşimler ile enzimin konformasyonel yapısını koruması, katalizör ve substratlar arasındaki kovalent olmayan etkileşimlerin güçlendirilmesiyle bağlantılı olduğu düşünülmektedir (Ozyilmaz ve ark., 2021c; Du ve ark., 2022; Ozyilmaz ve Caglar, 2023).

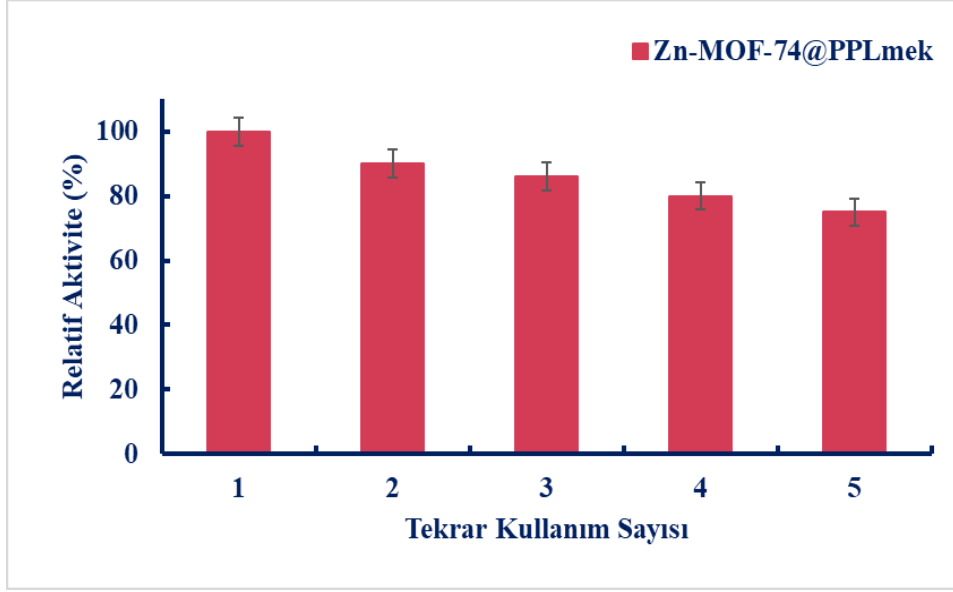
4.2.2.5. Tekrar Kullanım

İmmobilize lipazların (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}) tekrar kullanımlarını incelemek için 5 kez arka arkaya lipaz aktiviteleri incelendi. Aktiviteleri *p*-nitrofenil palmitat (*p*-NPP)'ın hidroliz reaksiyonu ile belirlendi.



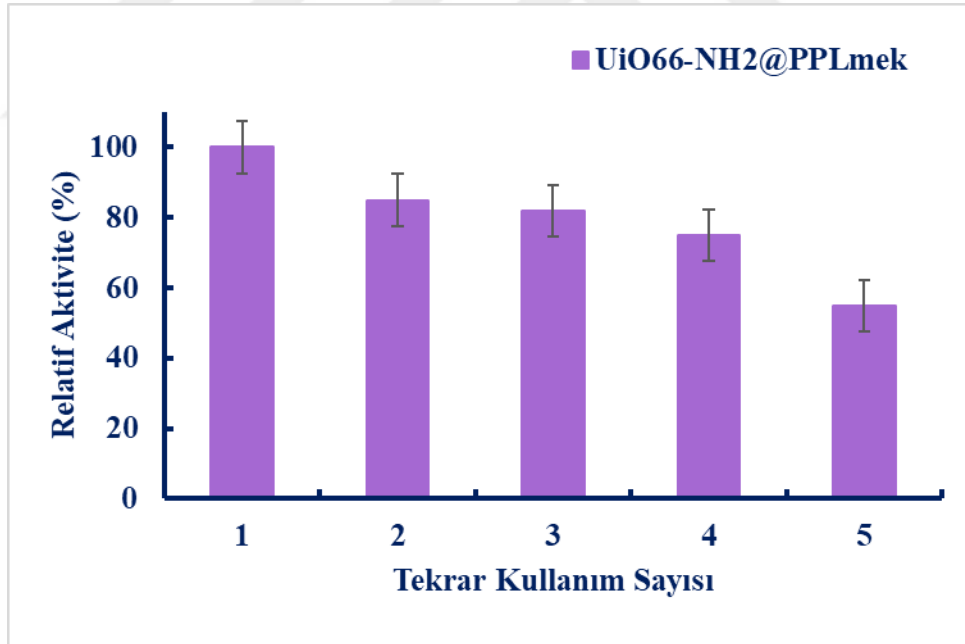
Şekil.4.49 İmmobilize lipazın (ZIF-8@PPL_{mek}) tekrar kullanımı

İmmobilize lipaz (ZIF-8@PPL_{mek}) 5 kez tekrar kullanıldığında aktivitesinin %33'ünü hala koruduğu belirlendi (Şekil. 4.49).



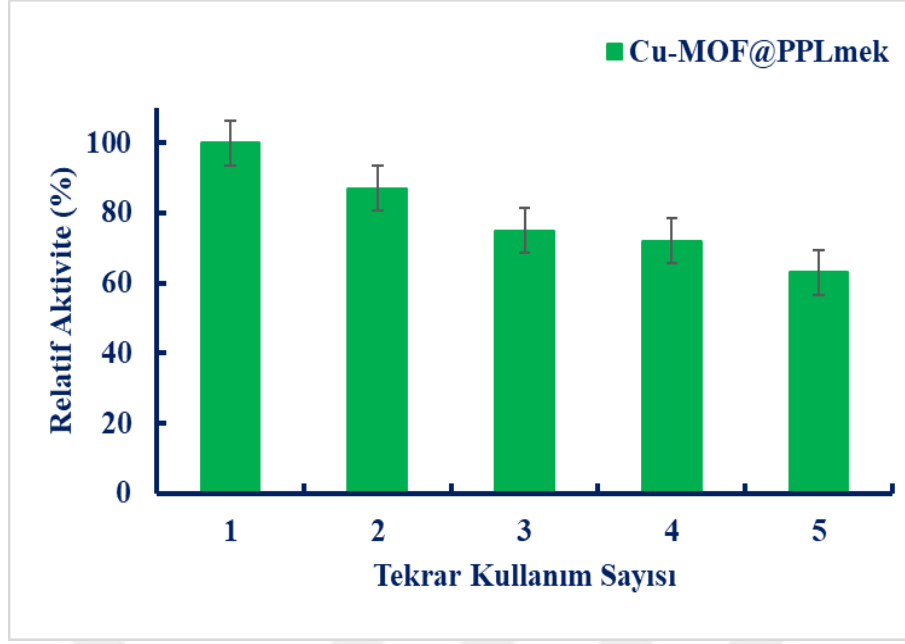
Şekil.4.50 İmmobilize lipazın (Zn-MOF-74@PPL_{mek}) tekrar kullanımı

İmmobilize lipaz (Zn-MOF-74@PPL_{mek}) 5 kez tekrar kullanıldığında aktivitesinin %75'ini hala koruduğu belirlendi (Şekil. 4.50)



Şekil.4.51 İmmobilize lipazın (UiO-66-NH₂@PPL_{mek}) tekrar kullanımı

İmmobilize lipaz (UiO-66-NH₂@PPL_{mek}) 5 kez tekrar kullanıldığında aktivitesinin %55'ini hala koruduğu belirlendi (Şekil. 4.51)



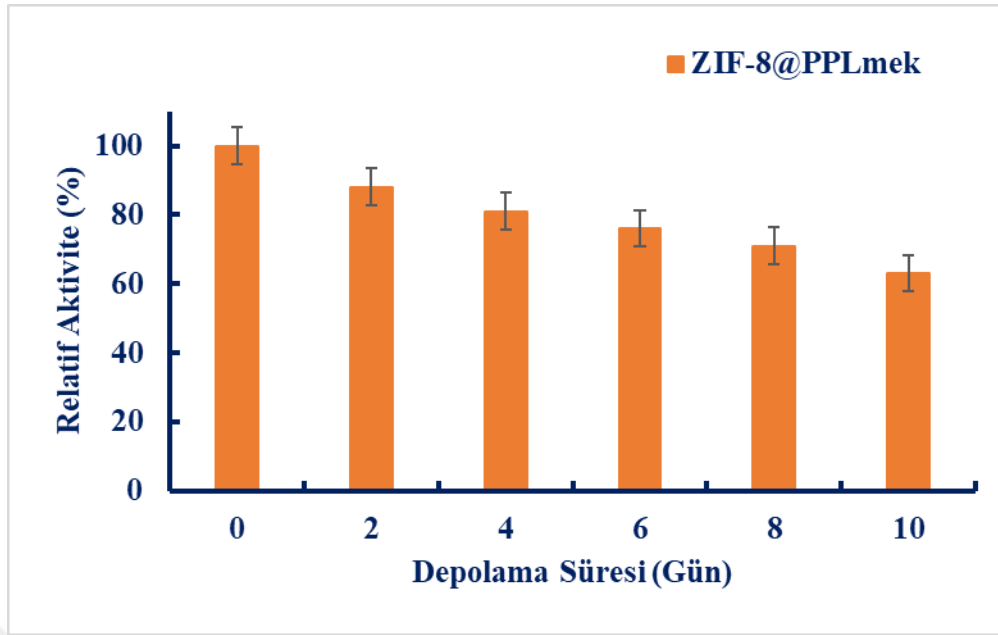
Şekil.4.52 İmmobilize lipazın (Cu-MOF@PPL_{mek}) tekrar kullanımı

İmmobilize lipaz (Cu-MOF@PPL_{mek}) 5 kez tekrar kullanıldığında aktivitesinin %63'ünü hala koruduğu belirlendi (Şekil. 4.52).

Enzim immobilizasyonu, enzimin geri kazanımı ve yeniden kullanımı problemini çözmek ve ayrıca süreçlerin daha basit kontrolünü sağlamak için geliştirilen önemli bir tekniktir (DiCosimo ve ark., 2013; Liese ve Hilterhaus, 2013; Sampaio ve ark., 2022). Enzimlerin MOF tarafından korunması, immobilize enzimleri olumsuz koşullar karşı dirençli hale getirmektedir (Wei ve ark., 2019; Ozyilmaz ve Caglar, 2023). Mekanoenzimatik reaksiyonlar, daha sürdürülebilir süreçlerin tasarlanması için umut verici bir stratejidir.

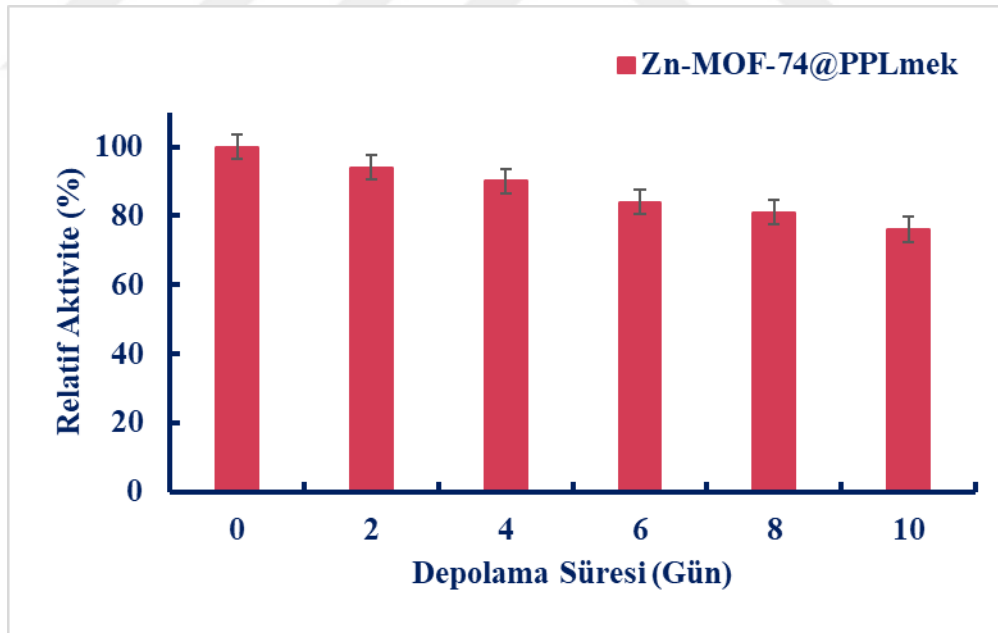
4.2.2.6. Depolama Stabilitesi

Enzimler biyokataliz ve endüstride yaygın kullanılsalar da tekrar kullanım ve uzun süreli saklanmalarında aktivitelerinde kayıplar yaşanmaktadır. Bu nedenle endüstriyel uygulamalar için depolama stabilitelerinin incelenmesi büyük önem taşımaktadır (Aghaei ve ark., 2022). Belirli miktarlarda tartılan immobilize lipazlar (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}) 10 gün boyunca 2 şer gün arayla lipaz aktiviteleri incelendi. Aktiviteleri *p*-nitrofenil palmitat (*p*-NPP)'ın hidroliz reaksiyonu ile belirlendi.



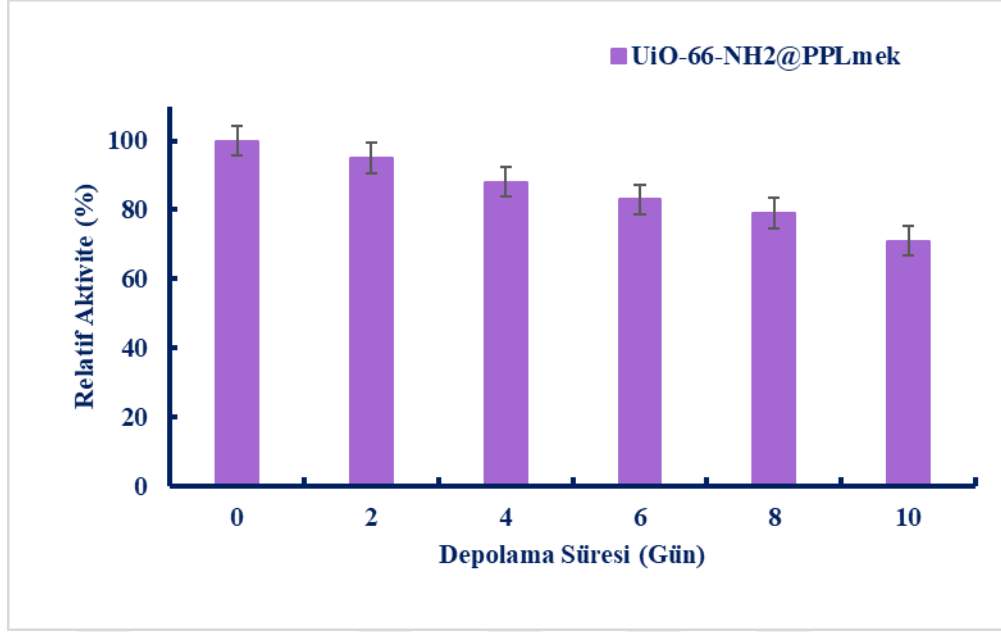
Şekil 4.53. İmmobilize lipazın (ZIF-8@PPLmek) depolama stabilitesi

ZIF-8@PPLmek'in 10. Günde hala aktivitesini %63 oranında koruduğu belirlendi (şekil 4.53).



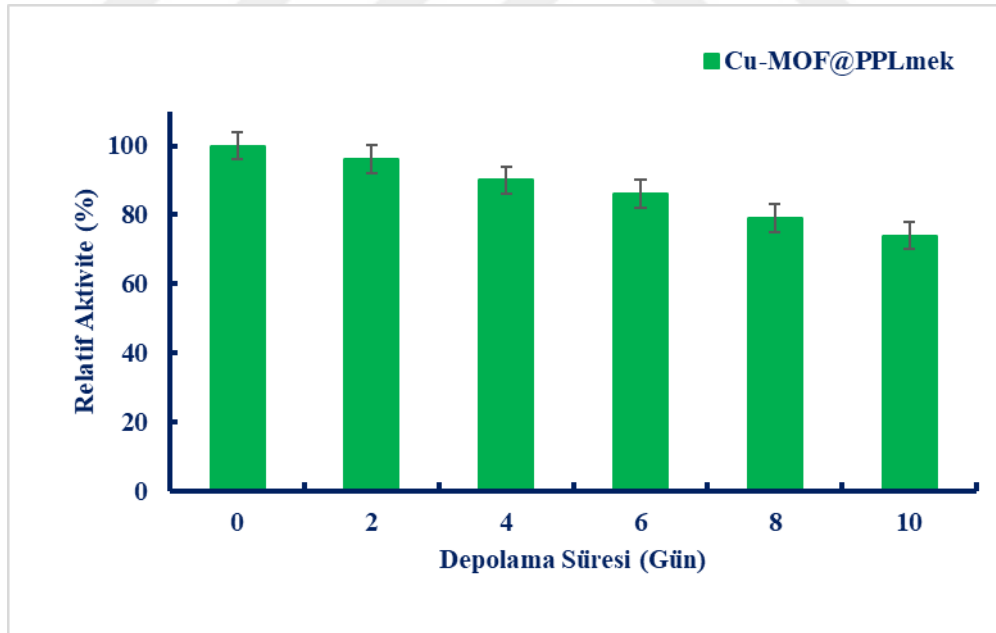
Şekil 4.54. İmmobilize lipazın (Zn-MOF-74@PPLmek) depolama stabilitesi

Zn-MOF-74@PPLmek'in 10. günde hala aktivitesini %76 oranında koruduğu belirlendi (şekil 4.54).



Şekil 4.55. İmmobilize lipazın (UiO-66-NH₂@PPL_{mek}) depolama stabilitesi

UiO-66-NH₂@PPL_{mek}'in 10. günde hala aktivitesini %71 oranında koruduğu belirlendi (şekil 4.55).



Şekil 4.56. İmmobilize lipazın (Cu-MOF@PPL_{mek}) depolama stabilitesi

Cu-MOF@PPL_{mek}'in 10. günde hala aktivitesini %74 oranında koruduğu belirlendi (şekil 4.56).

MOF'lar farklı yöntemlerle sentezlenebilmektedir. Mekanik kuvvetler yoluyla reaktifler arasında bir reaksiyonun başlatılması olan mekanokimya, kısmen düşük enerji tüketimi ve minimum solvent ihtiyacı nedeniyle son yıllarda oldukça dikkat çekmektedir (Arciszewski ve Auclair, 2022). Enzimlerin seçiciliği, yeşil proseslerin tasarlanması ve yan ürünlerin oluşumunun önlenmesi açısından önemli bir özelliktir (Hollenbach ve Ochsenreither, 2023). Mekanokimyasal stratejisi hızlıdır ve sentez sırasında enzimatik aktiviteyi korurken enzimlerin bozulmamış MOF içinde kapsüllenmesine izin verir (Wei ve ark., 2019). Böylece lipazın tersiyer yapısı korunmuş olur. Katı MOF yapısı, enzimlerin konformasyonel yapısının yüksek sıcaklık gibi olumsuz koşullar altında açılmasını önleyerek kararlılıklarını sağlar (Wei ve ark., 2019). Enzimlerin MOF tarafından korunması, immobilize enzimleri olumsuz koşullar karşı dirençli hale getirmektedir (Wei ve ark., 2019; Ozyilmaz ve Caglar, 2023). Mekanoenzimatik reaksiyonlar, daha sürdürülebilir süreçlerin tasarlanması için umut verici bir stratejidir. Biyokatalizin avantajlarının, mekanokimya ile kombinasyon halinde daha da genişletilebileceği düşünülmektedir. Bu bağlamda solventsiz enzimatik prosesler mümkün hale gelmektedir ve bu da solvent kullanımının azaltılması veya tamamen ortadan kaldırılması ve atık oluşumunun önlenmesi yoluyla sürdürülebilirliğin daha da geliştirilmesine yol açmaktadır (Hollenbach ve Ochsenreither, 2023) MOF ligand uzunlukları yapılarını oluşturan metal-ligand etkileşimi ile değişiklik gösterebilir, terminal fonksiyonel gruplarını, yoğunluklarını ve grup-metal grup koordinasyonunu korumaktadır (Du ve ark., 2022).

Uzun vadeli depolama stabilitesi çalışmaları incelendiğinde, enzimin minimum düzeyde yapısal bozunma gösterdiği ve depolama koşulları altında aktif yapısını koruduğu belirlendi. ZIF-8, Zn-MOF-74, UiO-66-NH₂ ve Cu-MOF'un yüksek kimyasal ve yapısal stabiliteleri, kapsüllenmiş enzimler için koruyucu bir etki sağladığı görülmektedir (Wu ve ark., 2017; Salehipour ve ark., 2021; Ozyilmaz ve Caglar, 2023). Depolama kararlılığı sonuçları bizlere, enzim immobilizasyonunda mekanokimyasal reaktivitenin çok güçlü bir etki sağladığını göstermektedir (Wei ve ark., 2019; Ozyilmaz ve Caglar, 2023).

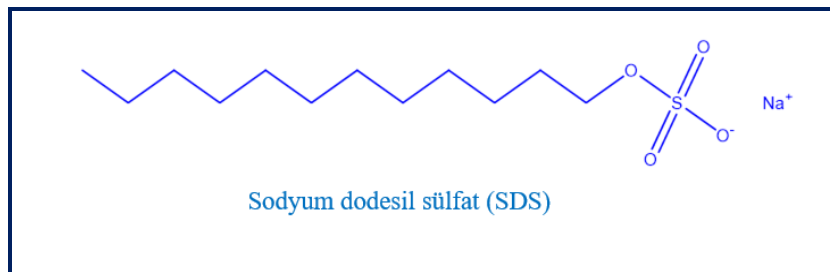
4.3. Yüzey Aktif Maddelerin Aktivitede Rolünün İncelenmesi

Lipazların katalitik mekanizması kendine özgüdür ve onların biyolojik işlevlerini (suda neredeyse çözünmeyen bir substrat olan yağların hidrolizi) yerine getirmelerine izin verir. Lipazlar kapaklı veya düz olarak adlandırılan bir polipeptit zinciri ile ortamdan izole edilmiş aktif merkeze sahiptirler. Lipazın açık formu büyük bir hidrofobik cep sunmaktadır ve sulu homojen bir ortamda stabil değildir. Bu hidrofobik lipaz cebi, trigliserit damlacıklarının dış yüzeyine adsorbe edilir ve bu şekilde lipazlar onlarla etkileşime girebilir. Bu mekanizmaya arayüzey aktivasyonu denilmektedir (Schmid ve Verger, 1998; Schmid ve ark., 2001; Dragoi ve Dumitriu, 2005; Aloulou ve ark., 2006; Reis ve ark., 2009; Abellanas-Perez ve ark., 2024).

SDS

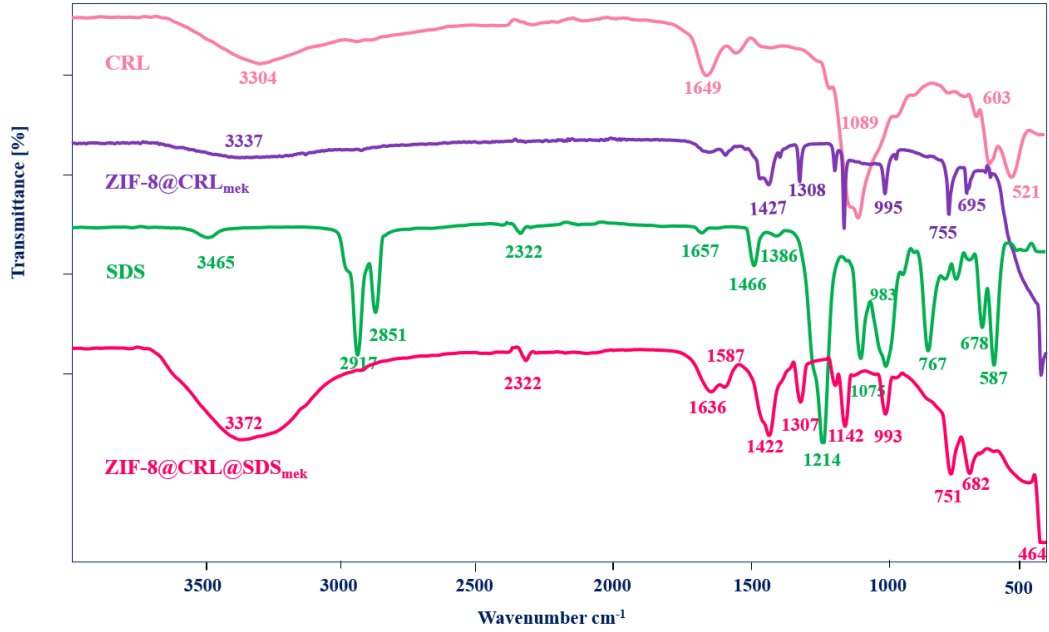
Proteinler ve yüzey aktif maddeler arasındaki etkileşim, bu malzemelerin deterjanlar, kozmetikler ve son zamanlarda biyotıp alanındaki geniş uygulama yelpazesi nedeniyle ticari açıdan büyük ilgi çekmektedir (Hirlekar ve ark., 2019) Zhang ve ark., 2024). Bu maddeler endüstride çok çeşitli gıda, ilaç ve kozmetik sistemlerinin ana bileşenleridir. Çözeltideki ve arayüzeylerdeki etkileşimleri, bu tür sistemlerin fiziksel özelliklerini ve kolloidal yapısını kontrol etmede önemli bir rol oynamaktadır (Goddard ve Ananthapadmanabhan, 1993; Lad ve ark., 2003).

Buna ek olarak, deterjanlar gibi yüzey aktif maddeler de proteinleri yüzeye adsorpsiyon yoluyla ve proteine elektrostatik ve/veya hidrofobik bağlanma yoluyla yüzeylerden uzaklaştırır. Anyonik yüzey aktif maddeler söz konusu olduğunda, proteinler ve yüzey aktif madde arasındaki etkileşim güçlüdür ve genellikle büyük komplekslerin oluşmasına ve proteinin denatürasyonuna yol açar (Lad ve ark., 2003).



Şekil.4.3.1. SDS'nin yapısı

Sodyum dodesil sülfonat (SDS), polar bir gruba ve proteinler içindeki hidrofobik ve elektrostatik etkileşimlere müdahale ederek moleküller arası bağların bozulmasına yol açan hidrofobik bir karbon kuyruk yapısına sahip tipik bir amfoterik yüzey aktif madde molekülüdür (Wang ve Wu, 2012; Zhang ve ark., 2024). Proteinin konformasyonun bozulması, katlanmaması ve denatüre olmasına neden olur (Yu, Xu, Jiang ve Xia, 2017; Zhang ve ark., 2024).



Şekil.4.3.2. CRL, ZIF-8@CRL_{mek}, SDS ve ZIF-8@CRL@SDS_{mek}'in FTIR spektrumu

CRL'nin spektrumunda, 3100-3500 cm⁻¹ aralığındaki amin bandı ve CO-NH₂'den kaynaklanan 1364 cm⁻¹ ve 1649 cm⁻¹'deki bantlar görülebilir. CRL'nin amid I ve amid II'si 1649 cm⁻¹ ve 1540 cm⁻¹'dedir (Xie ve Huang, 2018; Iuliano ve ark., 2020).

3332 cm⁻¹ ve 2980 cm⁻¹'deki pikler ZIF-8'in C-H'sinin gerilme titreşimini gösterir. İmidazol halkasının C=N bandı ve Zn-N gerilme titreşimi için karakteristik absorpsiyon bantları sırasıyla 1588 cm⁻¹ ve 480 cm⁻¹'de bulunmuştur. C=N'nin gerilme titreşiminin 1588 cm⁻¹'deki bantta olduğu doğrulanmıştır. Aromatik C-N'nin gerilme modu 1120 cm⁻¹'deki banda karşılık gelmiştir (Zhang ve ark., 2018; Ozyılmaz ve Caglar, 2023). Bu pikler aromatik halka yapısına bağlı oksijenli-fonksiyonel grupların varlığına işaret etmektedir. Öte yandan, ZIF-8'in 420, 792, 1120, 1235-1300, 1350-1500, 1580 ve 2971/3332 cm⁻¹'deki sarmal bantları, sırasıyla, Zn-N düzlem dışı bükülme, imidazol halkasının düzlem içi bükülmesi, tüm halka, germe, imidazol halkasının C=N ve

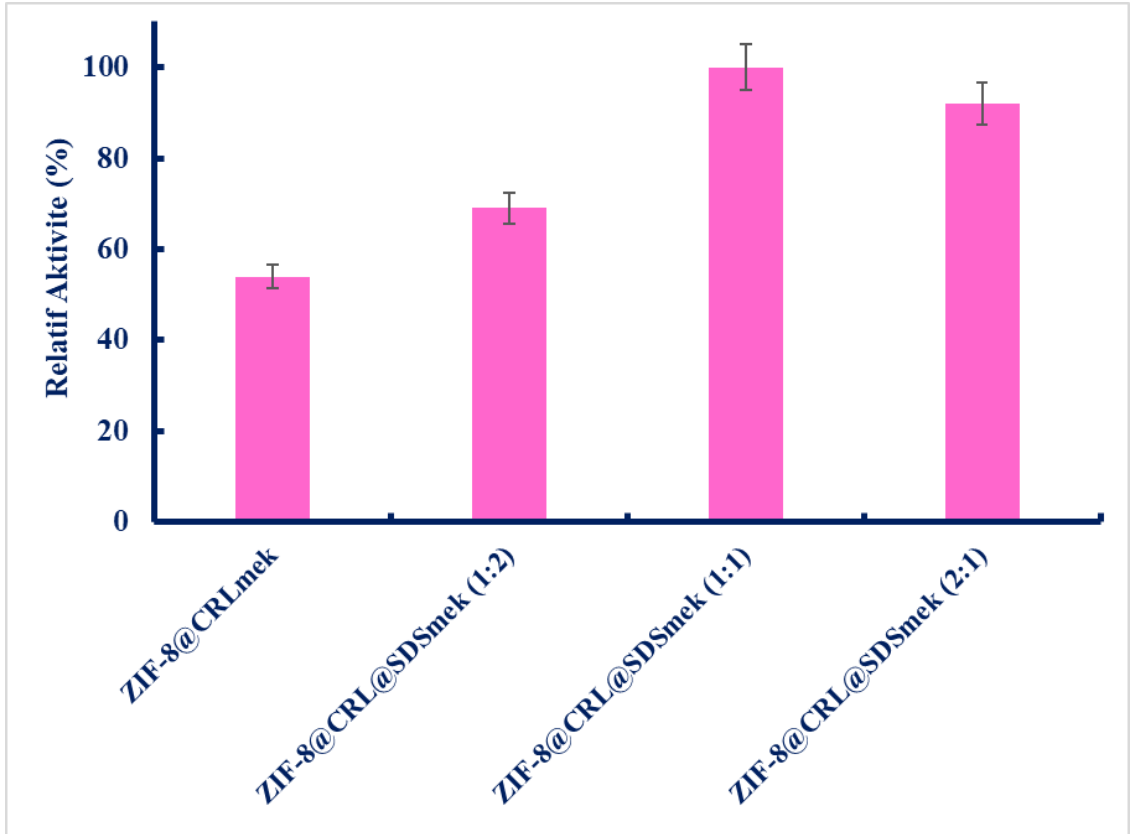
alifatik/aromatik C-H bağlarını doğrulamaktadır (Tanaka ve Miyashita, 2017; Ozyilmaz ve Caglar, 2023).

Hem CRL ve ZIF-8 hem de ZIF-8@CRL_{mek} için 1100 cm⁻¹ civarında görülen karakteristik pikler, CRL'nin ZIF-8'e başarılı bir şekilde yerleştirildiğini göstermektedir (Zou ve ark., 2020). ZIF-8@CRL_{mek}'de amid I pikinde hafif bir kayma vardır, bu da Zn⁺² ile enzim üzerindeki karbonil grupları arasındaki koordinasyon nedeniyle doğrudan enzim-MOF etkileşimini doğrulamaktadır (Şekil 4.3.2.) (Qi ve ark., 2019; Karimian ve ark., 2023).

SDS'nin FTIR spektrumunda, 3465 cm⁻¹'deki bant adsorbe edilen sudan kaynaklanmaktadır (Wypych ve ark., 2004; Lun ve ark., 2014). SDS'nin yapısındaki -CH₂- gruplarının asimetrik ve simetrik gerilmesi sırasıyla 2917 ve 2851 cm⁻¹'deki güçlü bantlar ile görülmektedir (Zhao ve Gao, 2004; Allahbakhsh ve Mazinani, 2015). 2322 cm⁻¹ 'de görülen bant -OH germe titreşimini göstermektedir. 1466 cm⁻¹'deki bant, SDS'nin yapısındaki C-H bağlarının asimetrik bükülmesine karşılık gelmektedir (Allahbakhsh ve Mazinani, 2015). 1214 cm⁻¹'deki absorpsiyon bandı SO₄ gruplarının S-O germe titreşimlerinin karakteristik bandını göstermektedir (Zhao ve Gao, 2004; Mo ve ark., 2005; Allahbakhsh ve Mazinani, 2015). 1075 cm⁻¹'de gözlenen bant S=O bağlarının simetrik gerilme titreşiminden kaynaklanmaktadır. 983 cm⁻¹'deki bant C-O-S bağlarının asimetrik gerilme titreşiminden kaynaklanmaktadır (Zhao ve Gao, 2004; Allahbakhsh ve Mazinani, 2015).

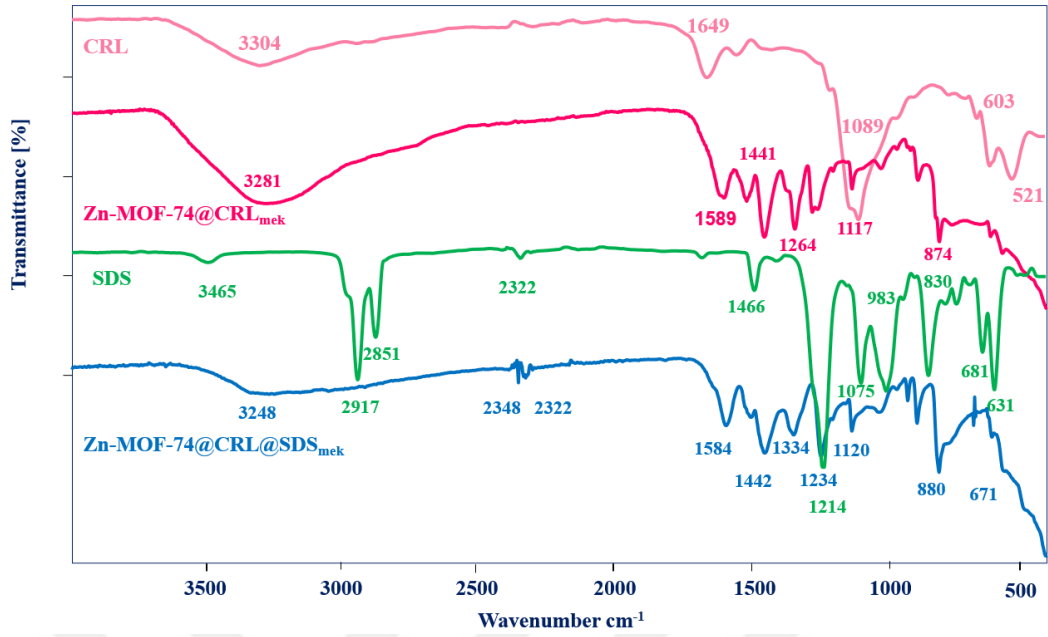
ZIF-8@CRL@SDS_{mek}'in FTIR spektrumunda 3372 cm⁻¹ civarında görülen karakteristik pikler, CRL'nin SDS ile birlikte ZIF-8'e başarılı bir şekilde yerleştirildiğini göstermektedir. 2322 cm⁻¹ 'de görülen bant -OH germe titreşimini göstermektedir (Wang ve ark., 2011; Allahbakhsh ve Mazinani, 2015). 1636 ve 1587 cm⁻¹ dalga sayılarında gözlenen iki bant keton (-C=O) gruplarının titreşimlerini ve CRL'deki amid bağı ile etkileşimi göstermektedir (Allahbakhsh ve Mazinani, 2015). 1214 cm⁻¹'deki absorpsiyon bandı SO₄ gruplarının S-O germe titreşimlerini göstermekteydi, bu bandın CRL ve ZIF-8 ile etkileşimleri ile kaymaya uğradığı görülmektedir (Zhao ve Gao, 2004; Mo ve ark., 2005; Allahbakhsh ve Mazinani, 2015). SDS'de 1075 cm⁻¹'de gözlenen bant S=O bağlarının simetrik gerilme titreşiminden kaynaklanmaktadır. 983 cm⁻¹'deki bant C-O-S bağlarının asimetrik gerilme titreşiminden kaynaklanmaktadır (Zhao ve Gao, 2004; Allahbakhsh ve Mazinani, 2015). Bu bantların, CRL ve ZIF-8 ile etkileşimleri ile 1142 cm⁻¹ ve 993 cm⁻¹'e kaydığı görülmektedir. ZIF-8'in 420, 792, 1120, 1235-1300, 1350-1500, 1580 ve 2971/3332 cm⁻¹'deki sarmal bantları, sırasıyla, Zn-N düzlem dışı

bükülme, imidazol halkasının düzlem içi bükülmesi, tüm halka, germe, imidazol halkasının C=N ve alifatik/aromatik C-H bağlarının da CRL ve SDS ile etkileşimleri sonrası 2322, 1587, 1422, 1307, 1178, 1142, 751, 464 cm^{-1} 'de olduğu görüldü. Bu bantlar ZIF-8, CRL ve SDS'nin başarılı bir şekilde etkileştiğini göstermektedir (Tanaka ve Miyashita, 2017; Ozyilmaz ve Caglar, 2023).



Şekil 4.3.3. İmmobilizasyonda (ZIF-8@CRL@SDS_{mek}) farklı oranda enzim:SDS oranının aktiviteye etkisinin incelenmesi

İmmobilizasyon için farklı oranlarda enzim:SDS'nin aktiviteye etkisi incelendi. CRL'nin immobilizasyonunda destek malzemesi olarak ZIF-8 kullanıldı. Bir de immobilize enzimin hazırlanmasında enzim miktarı sabit tutulup, SDS miktarı değiştirilerek yüzey aktif madde etkisi incelendi. Bunun için, 5 mg SDS:10mg CRL; 10mg SDS:10 mg CRL; 20mg SDS:10 mg CRL immobilizasyonda kullanıldı. İmmobilize enzimlerin (ZIF-8@CRL_{mek}; ZIF-8@CRL@SDS_{mek} (1:2); ZIF-8@CRL@SDS_{mek} (1:1) ve ZIF-8@CRL@SDS_{mek} (2:1) aktiviteleri incelendi. SDS'nin etkisi değerlendirildiğinde en iyi oranın, 1:1 olduğunda yani immobilizasyonda 10 mg CRL ve 10 mg SDS aynı anda eklendiğinde olduğu belirlendi.



Şekil.4.3.4. CRL, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, SDS ve Zn-MOF-74@CRL@SDS_{mek}'in FTIR spektrumu

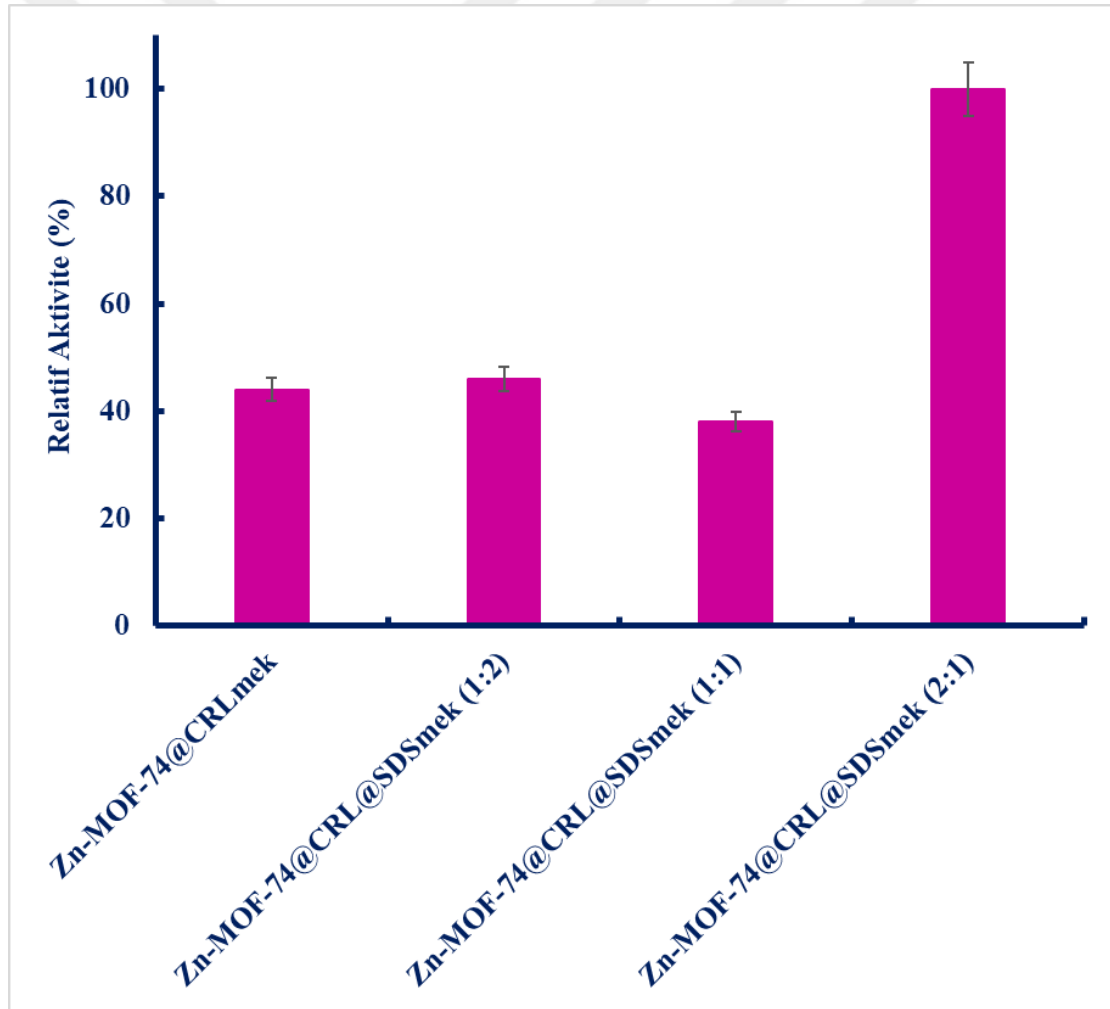
CRL'nin spektrumunda, 3100-3500 cm⁻¹ aralığındaki amin bandı ve CO-NH₂'den kaynaklanan 1364 cm⁻¹ ve 1649 cm⁻¹'deki bantlar görülebilir. CRL'nin amid I ve amid II'si 1649 cm⁻¹ ve 1540 cm⁻¹'dedir (Xie ve Huang, 2018; Iuliano ve ark., 2020).

Zn-MOF-74@CRL_{mek}'in FTIR spektrumunda, Zn-MOF-74'ün 2981 cm⁻¹'deki Zn-O etkileşimine güçlü bandının CRL ile etkileşimi sonucu 3281 cm⁻¹'e kaydığı ve burada daha güçlü olduğu bant oluşturduğu görülmektedir. Zn-MOF-74'ün FTIR spektrumundaki, 1643 cm⁻¹'deki güçlü bant ve 1426 cm⁻¹'de aromatik halkanın varlığını, 1174 cm⁻¹'deki güçlü bant C-O tek bağı göstermektedir. İmmobilizasyon sonucu bantların, 1589 cm⁻¹, 1441 cm⁻¹, 1117 cm⁻¹ ve 874 cm⁻¹'deki bantlar ile amid I ve amid II bağları ve CRL'nin başarılı bir şekilde Zn-MOF-74'e yüklendiği görülmektedir.

SDS'nin FTIR spektrumunda, 3465 cm⁻¹'deki bant adsorbe edilen sudan kaynaklanmaktadır (Wypych ve ark., 2004; Lun ve ark., 2014). SDS'nin yapısındaki -CH₂- gruplarının asimetrik ve simetrik gerilmesi sırasıyla 2917 ve 2851 cm⁻¹'deki güçlü bantlar ile görülmektedir (Zhao ve Gao, 2004; Allahbakhsh ve Mazinani, 2015). 2322 cm⁻¹ 'de görülen bant -OH germe titreşimini göstermektedir. 1466 cm⁻¹'deki bant, SDS'nin yapısındaki C-H bağlarının asimetrik bükülmesine karşılık gelmektedir (Allahbakhsh ve Mazinani, 2015). 1214 cm⁻¹'deki absorpsiyon bandı SO₄ gruplarının S-O germe titreşimlerinin karakteristik bandını göstermektedir (Zhao ve Gao, 2004; Mo ve ark., 2005; Allahbakhsh ve Mazinani, 2015). 1075 cm⁻¹'de gözlenen bant S=O

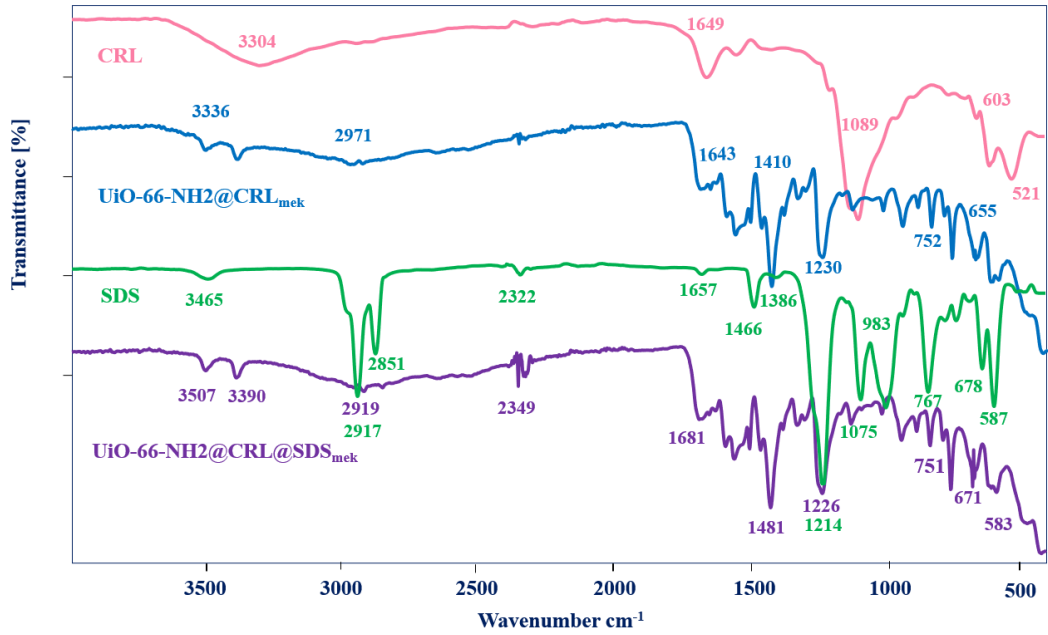
bağlarının simetrik gerilme titreşiminden kaynaklanmaktadır. 983 cm^{-1} 'deki bant C-O-S bağlarının asimetrik gerilme titreşiminden kaynaklanmaktadır (Zhao ve Gao, 2004; Allahbakhsh ve Mazinani, 2015).

Zn-MOF-74@CRL@SDS_{mek}'in FTIR spektrumunda, Zn-MOF-74@CRL_{mek}'in FTIR spektrumunda, Zn-MOF-74'ün 2981 cm^{-1} 'deki Zn-O etkileşimine güçlü bandının CRL ve SDS ile etkileşimi sonucu 3248 cm^{-1} 'e kaydığı ve burada daha geniş ve güçlü bir bant oluşturduğu görülmektedir. İmmobilizasyon sonucu bantların, 1584 cm^{-1} , 1442 cm^{-1} , 1120 cm^{-1} ve 880 cm^{-1} 'deki bantlar ile amid I ve amid II bağları, CRL'nin SDS etkileşimi ile başarılı bir şekilde Zn-MOF-74'e yüklendiği görülmektedir (Allahbakhsh ve Mazinani, 2015; Ozyilmaz ve Caglar, 2023).



Şekil.4.3.5. İmmobilizasyonda (Zn-MOF-74@CRL@SDS_{mek}) farklı oranda enzim:SDS oranının aktiviteye etkisinin incelenmesi

İmmobilizasyon için farklı oranlarda enzim:SDS'nin aktiviteye etkisi incelendi. CRL'nin immobilizasyonunda destek malzemesi olarak Zn-MOF-74 kullanıldı. Bir de immobilize enzimin hazırlanmasında enzim miktarı sabit tutulup, SDS miktarı değiştirilerek yüzey aktif madde etkisi incelendi. Bunun için, 5 mg SDS:10mg CRL; 10 mg SDS:10mg SDS; 20 mg SDS:10mg CRL immobilizasyonda kullanıldı. İmmobilize enzimlerin (Zn-MOF-74@CRL_{mek}; Zn-MOF-74@CRL@SDS_{mek} (1:2); Zn-MOF-74@CRL@SDS_{mek} (1:1) ve Zn-MOF-74@CRL@SDS_{mek} (2:1) aktiviteleri sırasıyla incelendi. En iyi oranın 20 mg SDS:10 mg CRL'ye ait olduğu belirlendi.



Şekil.4.3.6. CRL, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, SDS ve UiO-66-NH₂@CRL@SDS_{mek}'in FTIR spektrumu

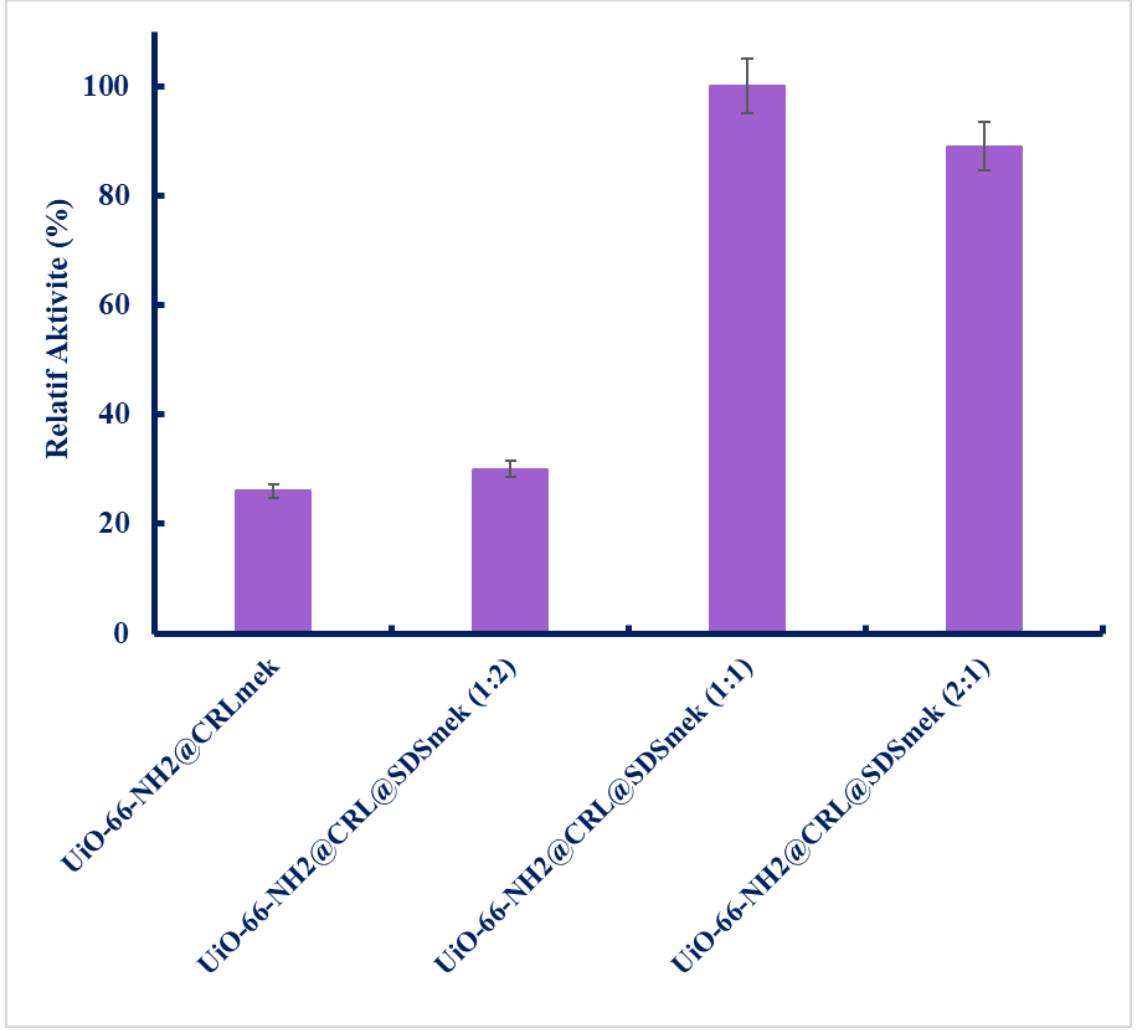
CRL'nin spektrumunda, 3100-3500 cm⁻¹ aralığındaki amin bandı ve CO-NH₂'den kaynaklanan 1364 cm⁻¹ ve 1649 cm⁻¹'deki bantlar görülebilir. CRL'nin amid I ve amid II'si 1649 cm⁻¹ ve 1540 cm⁻¹'dedir (Xie ve Huang, 2018; Iuliano ve ark., 2020).

UiO-66-NH₂'nin FTIR spektrumunda, 1700–1200 cm⁻¹ bölgesinde karboksilat grupları ve fenil halka deformasyonlarından kaynaklanan çok yoğun bantlar gözlemlendi. 2965 cm⁻¹ merkezli geniş bir bant H-bağlı OH gruplarını, 3501 ve 3385 cm⁻¹'deki NH₂ bantları göstermektedir. 1316 ile 1680 cm⁻¹ arasındaki bantlar UiO-66-NH₂'nin karakteristik zirvelerini gösterirken, 1680 cm⁻¹ ve 1544 cm⁻¹'deki zirveler, 2-aminotereftalik asit ligandının yapısındaki aromatik ve karboksilik gruplardaki simetrik ve asimetrik COO germe bağlarını göstermektedir (Samui ve ark., 2016; Ozyilmaz ve ark., 2023).

UiO-66-NH₂@CRL_{mek}'nin FTIR spektrumunda da, hem UiO-66-NH₂'nin karakteristik bantları, hem de CRL'nin amid I ve amid II bantları 1643 cm⁻¹ ve 1540 cm⁻¹'de yoğun şekilde görülmektedir. Bu da bize CRL'nin UiO-66-NH₂'ye başarılı bir şekilde yüklendiğini göstermektedir (Ozyilmaz ve ark., 2023).

SDS'nin FTIR spektrumunda, 3465 cm⁻¹'deki bant adsorbe edilen sudan kaynaklanmaktadır (Wypych ve ark., 2004; Lun ve ark., 2014). SDS'nin yapısındaki -CH₂- gruplarının asimetrik ve simetrik gerilmesi sırasıyla 2917 ve 2851 cm⁻¹'deki güçlü bantlar ile görülmektedir (Zhao ve Gao, 2004; Allahbakhsh ve Mazinani, 2015). 2322 cm⁻¹ 'de görülen bant -OH germe titreşimini göstermektedir 1466 cm⁻¹'deki bant, SDS'nin yapısındaki C-H bağlarının asimetrik bükülmesine karşılık gelmektedir (Allahbakhsh ve Mazinani, 2015). 1214 cm⁻¹'deki absorpsiyon bandı SO₄ gruplarının S-O germe titreşimlerinin karakteristik bandını göstermektedir (Zhao ve Gao, 2004; Mo ve ark., 2005; Allahbakhsh ve Mazinani, 2015). 1075 cm⁻¹'de gözlenen bant S=O bağlarının simetrik gerilme titreşiminden kaynaklanmaktadır. 983 cm⁻¹'deki bant C-O-S bağlarının asimetrik gerilme titreşiminden kaynaklanmaktadır (Zhao ve Gao, 2004; Allahbakhsh ve Mazinani, 2015).

UiO-66-NH₂@CRL@SDS_{mek}'te hem UiO-66-NH₂, CRL hem de SDS'nin karakteristik bantları, 3507 cm⁻¹, 3390 cm⁻¹, 2322 cm⁻¹, 2917 cm⁻¹'deki güçlü bantlar ile CRL'nin amid I ve amid II'si 1681 cm⁻¹ ve 1540 cm⁻¹'de görülmektedir (Wypych ve ark., 2004; Lun ve ark., 2014; Allahbakhsh ve Mazinani, 2015; Xie ve Huang, 2018; Iuliano ve ark., 2020). Bu da bize CRL ve SDS'nin UiO-66-NH₂'ye başarılı bir şekilde yüklendiğini göstermektedir (Wypych ve ark., 2004; Allahbakhsh ve Mazinani, 2015; Ozyilmaz ve ark., 2023).

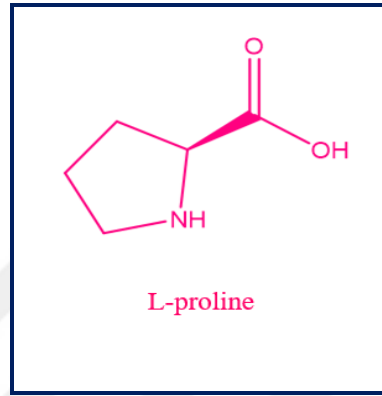


Şekil.4.3.7. İmmobilizasyonda (UiO-66-NH₂@CRL@SDS_{mek}) farklı oranda enzim:SDS oranının aktiviteye etkisinin incelenmesi

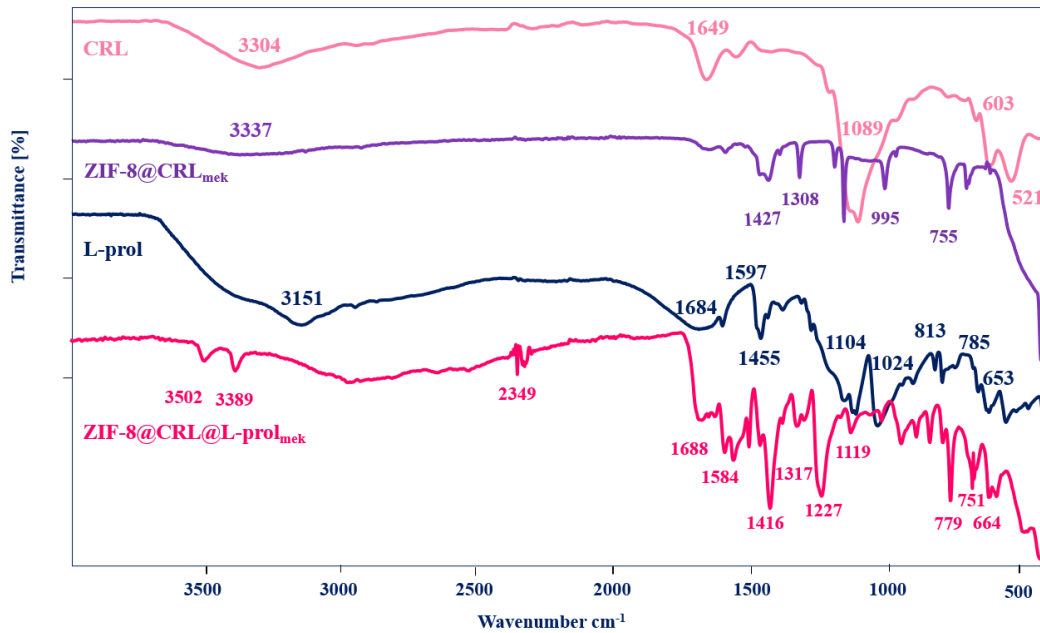
İmmobilizasyon için farklı oranlarda enzim:SDS'nin aktiviteye etkisi incelendi. CRL'nin immobilizasyonunda destek malzemesi olarak UiO-66-NH₂ kullanıldı. Bir de immobilize enzimin hazırlanmasında enzim miktarı sabit tutulup, SDS miktarı değiştirilerek yüzey aktif madde etkisi incelendi. Bunun için, 5 mg SDS:10mg CRL; 10 mg SDS:10mg CRL; 20 mg SDS:10mg CRL immobilizasyonda kullanıldı. En iyi oranın 10 mg CRL: 10 mg SDS'ye ait olduğu belirlendi.

L-proline (L-prol)

L-prolin (LP), proteinojenik bir amino asittir, yani protein sentezinde merkezi bir rol oluşturur (Moradi ve ark., 2022; Abdelnour ve ark., 2024). Ek olarak hücresel yapıları ve enzimleri stabilize etmek, ozmoprotektan olarak görev yapmak, reaktif oksijen türlerini (ROS'u) temizlemek ve olumsuz koşullar altında redoks dengesizliğini kontrol etmek gibi başka temel rollere de sahiptir (Meena ve ark., 2019; Abdelnour ve ark., 2024).



Şekil.4.3.8. L-prolinin yapısı



Şekil.4.3.9. CRL, ZIF-8@CRL_{mek}, L-prol ve ZIF-8@CRL@L-prol_{mek}'in FTIR spektrumu

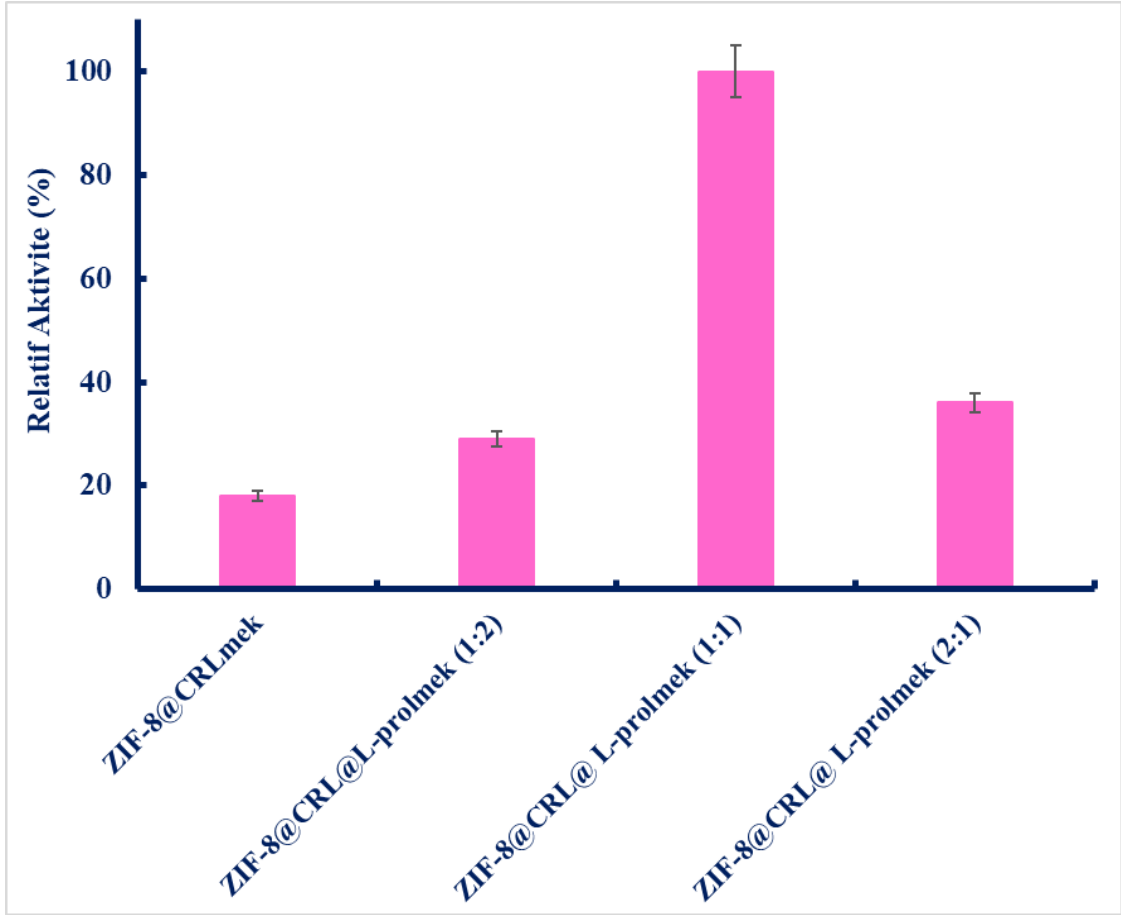
CRL'nin spektrumunda, 3100-3500 cm^{-1} aralığındaki amin bandı ve CO-NH₂'den kaynaklanan 1364 cm^{-1} ve 1649 cm^{-1} 'deki bantlar görülebilir. CRL'nin amid I ve amid II'si 1649 cm^{-1} ve 1540 cm^{-1} 'dedir (Xie ve Huang, 2018; Iuliano ve ark., 2020).

3332 cm^{-1} ve 2980 cm^{-1} 'deki pikler ZIF-8'in C-H'sinin gerilme titreşimini gösterir. İmidazol halkasının C=N bandı ve Zn-N gerilme titreşimi için karakteristik absorpsiyon bantları sırasıyla 1588 cm^{-1} ve 480 cm^{-1} 'de bulunmuştur. C=N'nin gerilme titreşiminin 1588 cm^{-1} 'deki bantta olduğu doğrulanmıştır. Aromatik C-N'nin gerilme modu 1120 cm^{-1} 'deki banda karşılık gelmiştir (Zhang ve ark., 2018; Ozyilmaz ve Caglar, 2023). Bu pikler aromatik halka yapısına bağlı oksijenli-fonksiyonel grupların varlığına işaret etmektedir. Öte yandan, ZIF-8'in 420, 792, 1120, 1235-1300, 1350-1500, 1580 ve 2971/3332 cm^{-1} 'deki sarmal bantları, sırasıyla, Zn-N düzlem dışı bükülme, imidazol halkasının düzlem içi bükülmesi, tüm halka, germe, imidazol halkasının C=N ve alifatik/aromatik C-H bağlarını doğrulamaktadır (Tanaka ve Miyashita, 2017; Ozyilmaz ve Caglar, 2023).

Hem CRL ve ZIF-8 hem de ZIF-8@CRL_{mek} için 1100 cm^{-1} civarında görülen karakteristik pikler, CRL'nin ZIF-8'e başarılı bir şekilde yerleştirildiğini göstermektedir (Zou ve ark., 2020b). ZIF-8@CRL_{mek}'de amid I pikinde hafif bir kayma vardır, bu da Zn⁺² ile enzim üzerindeki karbonil grupları arasındaki koordinasyon nedeniyle doğrudan enzim-MOF etkileşimini doğrulamaktadır (Qi ve ark., 2019; Karimian ve ark., 2023) (Şekil 4.1.a).

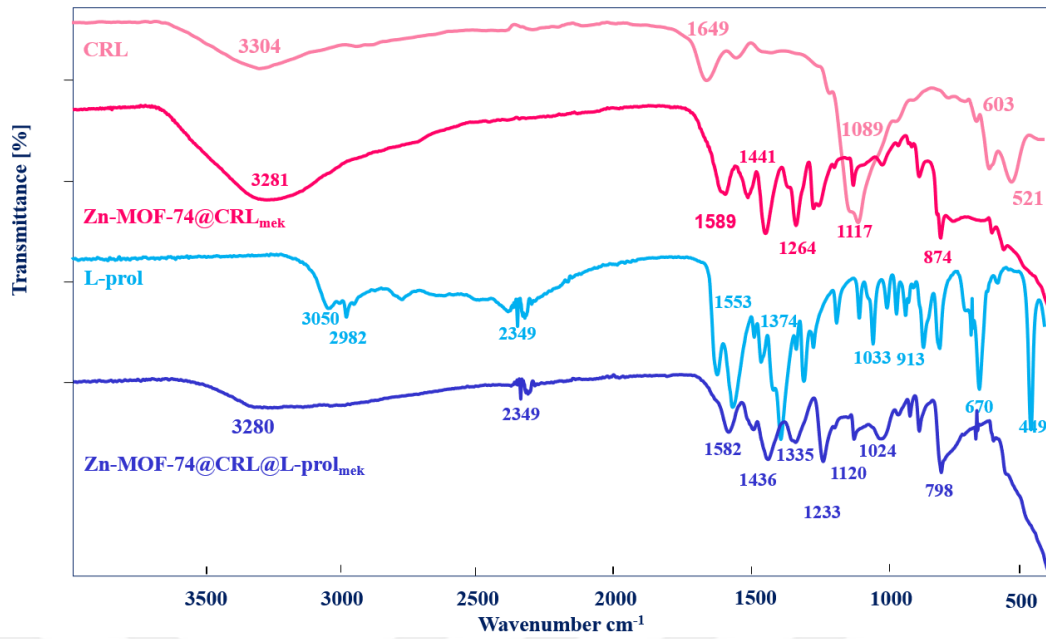
L-proline'in FTIR spektrumunda, 3151 cm^{-1} civarında görülen geniş ve güçlü bir bant karboksilik asit grubundaki O-H gerilmesini göstermektedir. 3100-3500 cm^{-1} civarında, orta ile güçlü arasında görülen bant amin grubundaki N-H gerilmesini göstermektedir. 1684 cm^{-1} 'de görülen güçlü bant karboksilik asit grubundaki C=O gerilmesini göstermektedir. 1455 cm^{-1} aralığında görülen güçlü bant -CH₂ grubunu göstermektedir. 1350-1000 cm^{-1} aralığında görülen güçlü bant karboksilik asit grubundaki C-N gerilmesini göstermektedir (Mary ve ark., 2009).

ZIF-8@CRL@L-prol_{mek} FTIR spektrumunda, ZIF-8'in 420, 792, 1120, 1235-1300, 1350-1500, 1580 ve 2971/3332 cm^{-1} 'deki karakteristik piklerinin CRL ve L-prol ile etkileşimi ile 3151 cm^{-1} , 1688 cm^{-1} , 1227-1584 cm^{-1} bölgesinde yoğun bantlar oluşturduğu görüldü (Tanaka ve Miyashita, 2017; Ozyilmaz ve Caglar, 2023).



Şekil 4.3.10. İmmobilizasyonda (ZIF-8@CRL@L-prol_{mek}) farklı oranda enzim:L-prol oranının aktiviteye etkisinin incelenmesi

CRL'nin immobilizasyonunda destek malzemesi olarak ZIF-8 kullanıldı. Bir de immobilize enzimin hazırlanmasında enzim miktarı sabit tutulup, L-prol miktarı değiştirilerek yüzey aktif madde etkisi incelendi. En iyi etkileşimin 10 mg L-prolin: 10 mg CRL eklendiğinde olduğu belirlendi.



Şekil 4.3.11. CRL, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, L-prol ve Zn-MOF-74@CRL@L-prol_{mek}'in FTIR spektrumu

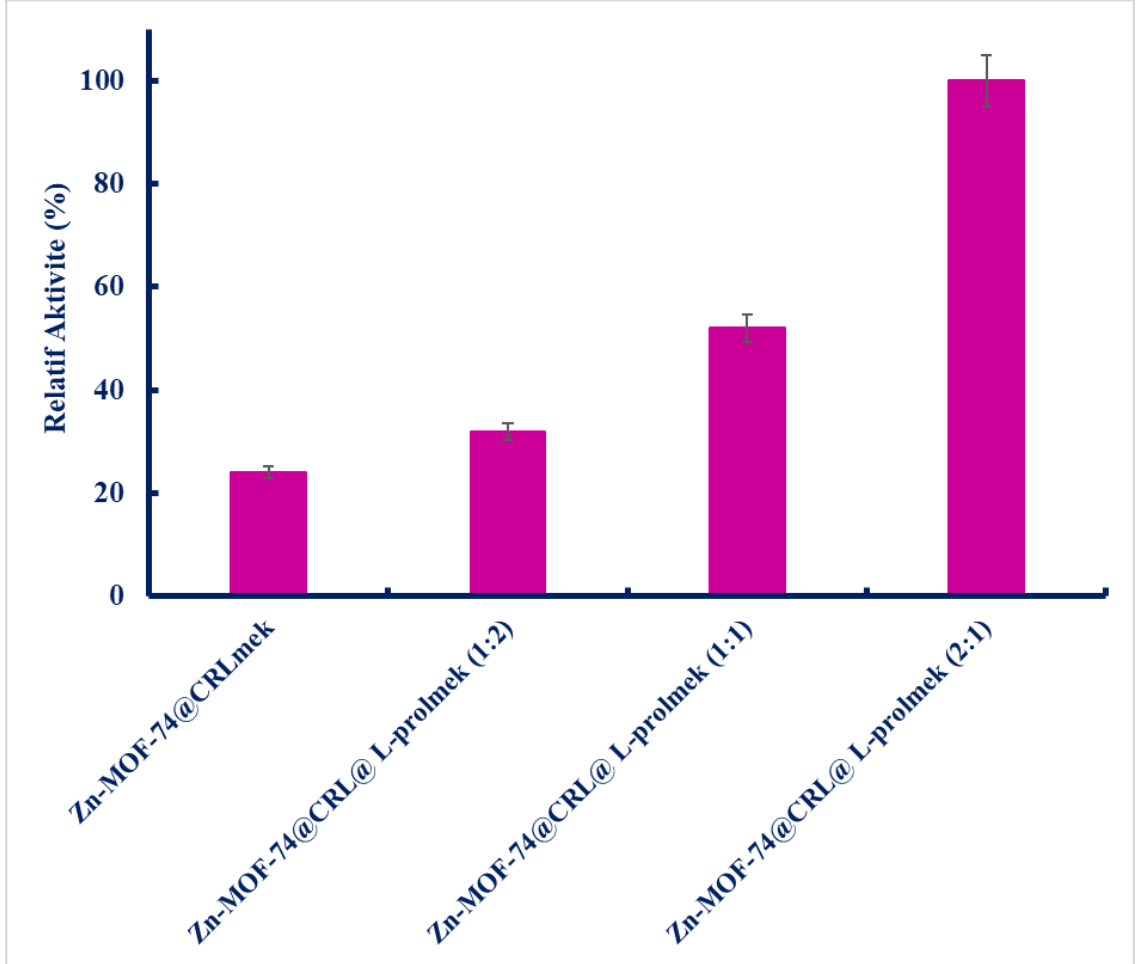
CRL'nin spektrumunda, 3100-3500 cm⁻¹ aralığındaki amin bandı ve CO-NH₂'den kaynaklanan 1364 cm⁻¹ ve 1649 cm⁻¹'deki bantlar görülebilir. CRL'nin amid I ve amid II'si 1649 cm⁻¹ ve 1540 cm⁻¹'dedir (Xie ve Huang, 2018; Iuliano ve ark., 2020).

Zn-MOF-74@CRL_{mek}'in FTIR spektrumunda, Zn-MOF-74'ün 2981 cm⁻¹'deki Zn-O etkileşimine güçlü bandının CRL ile etkileşimi sonucu 3281 cm⁻¹'e kaydığı ve burada daha güçlü olduğu bant oluşturduğu görülmektedir. Zn-MOF-74'ün FTIR spektrumundaki, 1643 cm⁻¹'deki güçlü bant ve 1426 cm⁻¹'de aromatik halkanın varlığını, 1174 cm⁻¹'deki güçlü bant C-O tek bağı göstermektedir. İmmobilizasyon sonucu bantların, 1589 cm⁻¹, 1441 cm⁻¹, 1117 cm⁻¹ ve 874 cm⁻¹'deki bantlar ile amid I ve amid II bağları ve CRL'nin başarılı bir şekilde Zn-MOF-74'e yüklendiği görülmektedir.

L-proline'in FTIR spektrumunda, 3151 cm⁻¹ civarında görülen geniş ve güçlü bir bant karboksilik asit grubundaki O-H gerilmesini göstermektedir. 3100-3500 cm⁻¹ civarında, orta ile güçlü arasında görülen bant amin grubundaki N-H gerilimini göstermektedir. 1684 cm⁻¹'de görülen güçlü bant karboksilik asit grubundaki C=O gerilmesini göstermektedir. 1455 cm⁻¹ aralığında görülen güçlü bant -CH₂ grubunu göstermektedir. 1350-1000 cm⁻¹ aralığında görülen güçlü bant karboksilik asit grubundaki C-N gerilmesini göstermektedir (Mary ve ark., 2009).

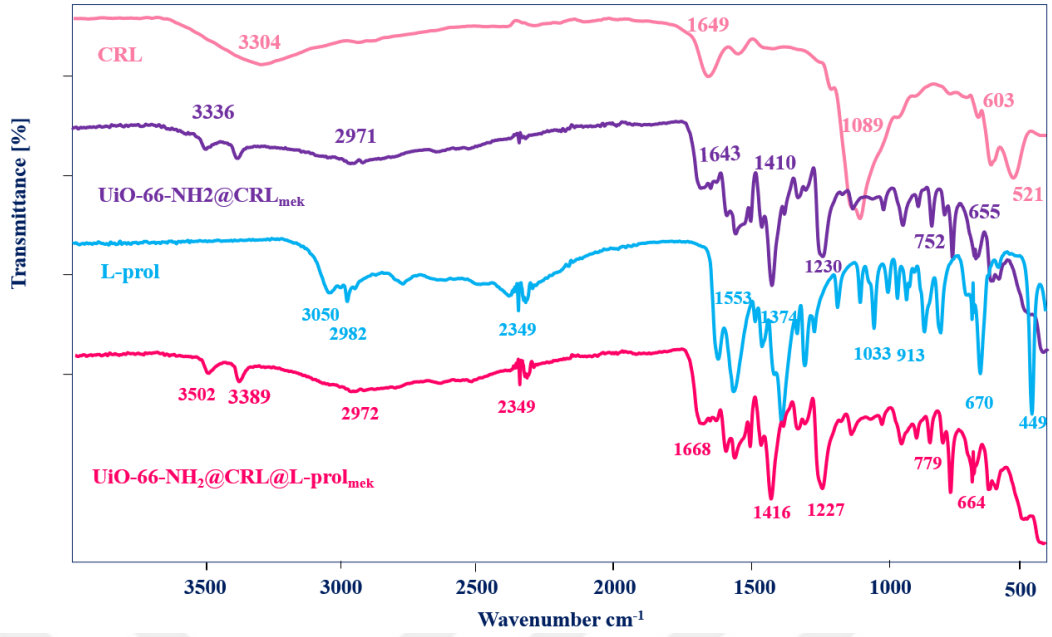
Zn-MOF-74@CRL@SDS_{mek}'in FTIR spektrumunda, hem Zn-MOF-74, CRL hem de L-prolin'in karakteristik bantları, 3280 cm⁻¹, 2249 cm⁻¹, 1582 cm⁻¹'deki güçlü bantlar

ile CRL'nin amid bantları 1582 cm^{-1} ve 1582 cm^{-1} 'de görülmektedir (Mary ve ark., 2009; Xie ve Huang, 2018; Iuliano ve ark., 2020; Ozyilmaz ve Caglar, 2023). Bu da bize CRL ve L-prolin'in Zn-MOF-74'e başarılı bir şekilde yüklendiğini göstermektedir (Ozyilmaz ve Caglar, 2023).



Şekil 4.3.12. İmmobilizasyonda (Zn-MOF-74@CRL@L-proline_{mek}) farklı oranda enzim:L-prol oranının aktiviteye etkisinin incelenmesi

CRL'nin immobilizasyonunda destek malzemesi olarak Zn-MOF-74 kullanıldı. Bir de immobilize enzimin hazırlanmasında enzim miktarı sabit tutulup, L-prolin miktarı değiştirilerek yüzey aktif madde etkisi incelendi. En iyi aktivitenin immobilizasyonda 20 mg L-prolin: 10 mg CRL ilave edildiğinde olduğu belirlendi.



Şekil.4.3.13. CRL, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, L-prol ve UiO-66-NH₂@CRL@L-prol_{mek}'in FTIR spektrumu

CRL'nin spektrumunda, 3100-3500 cm⁻¹ aralığındaki amin bandı ve CO-NH₂'den kaynaklanan 1364 cm⁻¹ ve 1649 cm⁻¹'deki bantlar görülebilir. CRL'nin amid I ve amid II'si 1649 cm⁻¹ ve 1540 cm⁻¹'dedir (Xie ve Huang, 2018; Iuliano ve ark., 2020).

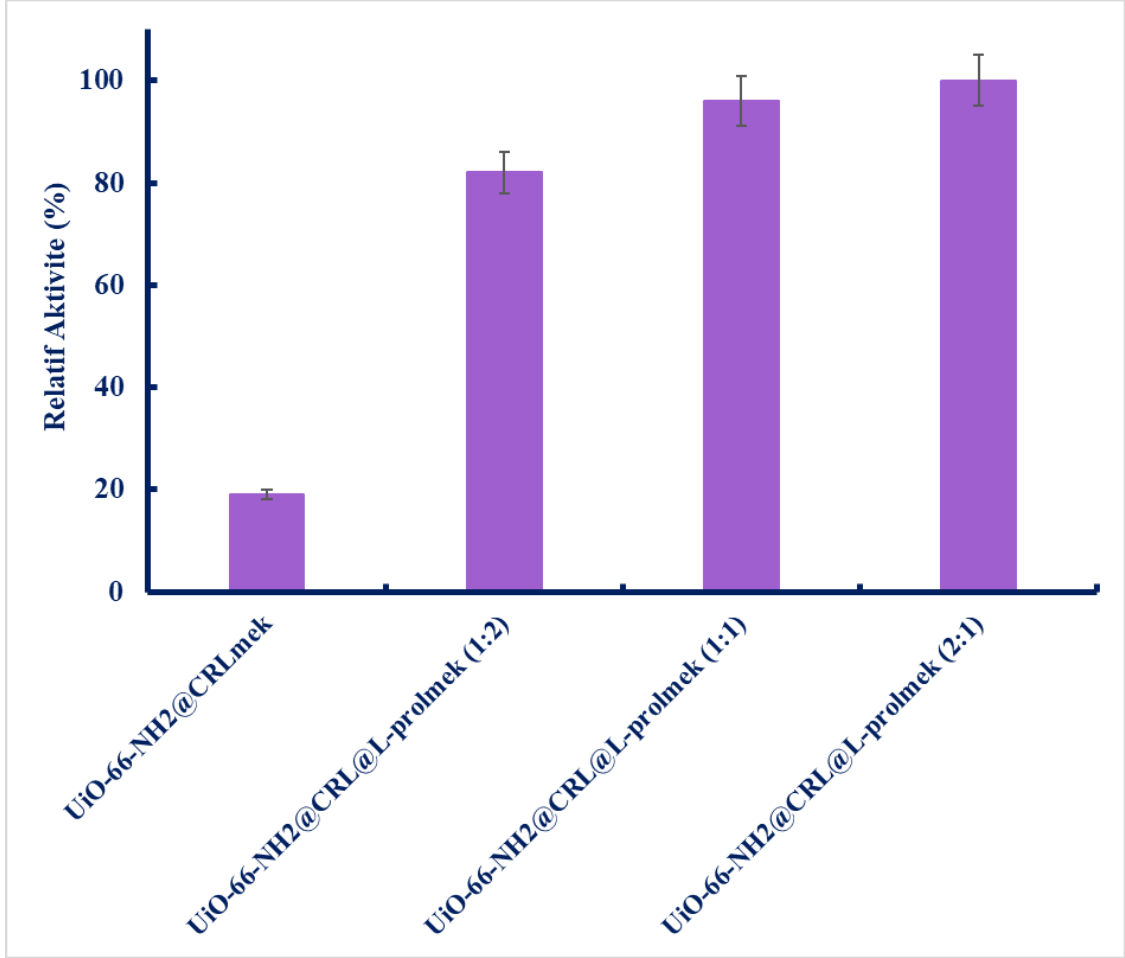
UiO-66-NH₂'nin FTIR spektrumunda, 1700–1200 cm⁻¹ bölgesinde karboksilat grupları ve fenil halka deformasyonlarından kaynaklanan çok yoğun bantlar gözlemlendi. 2965 cm⁻¹ merkezli geniş bir bant H-bağlı OH gruplarını, 3501 ve 3385 cm⁻¹'deki NH₂ bantları göstermektedir. 1316 ile 1680 cm⁻¹ arasındaki bantlar UiO-66-NH₂'nin karakteristik zirvelerini gösterirken, 1680 cm⁻¹ ve 1544 cm⁻¹'deki zirveler, 2-aminotereftalik asit ligandının yapısındaki aromatik ve karboksilik gruplardaki simetrik ve asimetrik COO germe bağlarını göstermektedir (Samui ve ark., 2016; Ozyilmaz ve ark., 2023).

UiO-66-NH₂@CRL_{mek}'nin FTIR spektrumunda da, hem UiO-66-NH₂'nin karakteristik bantları, hem de CRL'nin amid I ve amid II bantları 1643 cm⁻¹ ve 1540 cm⁻¹'de yoğun şekilde görülmektedir. Bu da bize CRL'nin UiO-66-NH₂'ye başarılı bir şekilde yüklendiğini göstermektedir (Ozyilmaz ve ark., 2023).

L-proline'in FTIR spektrumunda, 3151 cm⁻¹ civarında görülen geniş ve güçlü bir bant karboksilik asit grubundaki O-H gerilmesini göstermektedir. 3100-3500 cm⁻¹ civarında, orta ile güçlü arasında görülen bant amin grubundaki N-H gerilimini göstermektedir. 1684 cm⁻¹'de görülen güçlü bant karboksilik asit grubundaki C=O gerilmesini göstermektedir. 1455 cm⁻¹ aralığında görülen güçlü bant -CH₂ grubunu

göstermektedir. 1350-1000 cm^{-1} aralığında görülen güçlü bant karboksilik asit grubundaki C-N gerilmesini göstermektedir (Mary ve ark., 2009).

UiO-66-NH₂@CRL@L-prol_{mek}'in FTIR spektrumunda, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}'nin FTIR spektrumunda da, UiO-66-NH₂'nin karakteristik bantları ve hem de CRL'nin hem de L-prolinin FTIR spektrumu ile karşılaştırıldığında, L-prolin ve CRL'nin başarı ile yüklendiği belirlendi.

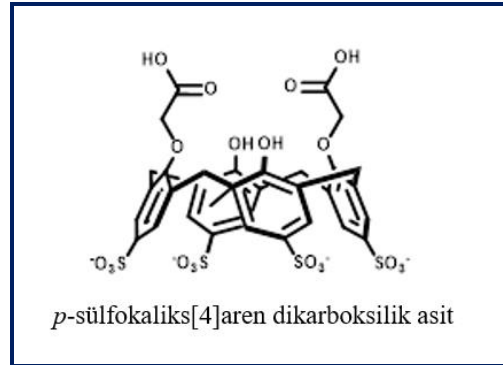


Şekil 4.3.14. İmmobilizasyonda (UiO-66-NH₂@CRL@L-prol_{mek}) farklı oranda enzim:L-prol oranının aktiviteye etkisinin incelenmesi

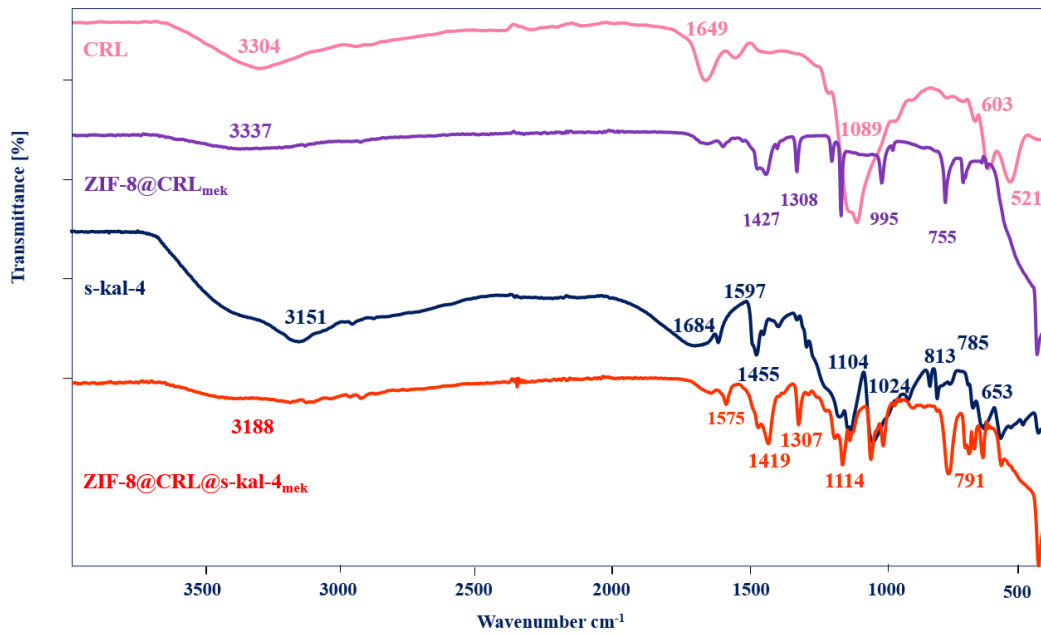
CRL'nin immobilizasyonunda destek malzemesi olarak UiO-66-NH₂ kullanıldı. Bir de immobilize enzimin hazırlanmasında enzim miktarı sabit tutulup, L-prol miktarı değiştirilerek yüzey aktif madde etkisi incelendi. Bunun için, 5 mg L-prol:10mg CRL; 10mg L-prol:10 mg CRL; 20mg L-prol:10 mg CRL immobilizasyonda kullanıldı. En yüksek aktivite 20 mg L-prolin: 10 mg CRL ilave edildiğinde belirlendi.

***p*-sülfokaliks[4]aren (s-kal-4)**

Supramoleküler bileşikler ailesinin bir üyesi olan kaliksarenler, hidrofobik boşluğun yanı sıra ayarlanabilir boyut ve konformasyona sahip muhteşem yapı özelliklerine sahiptir. Ayrıca üst ve alt kenarlarda kolaylıkla işlevsel hale getirilebilmeleri araştırmalarda giderek artan bir ilgi sağlamaktadır (Sayin ve ark., 2011; Ozyilmaz ve Sayin, 2013; Ozyilmaz ve ark., 2016; Yıldız ve ark., 2017; Troian-Gautier ve ark., 2020; Sayin, 2021; Ozyilmaz ve ark., 2022a). Bu malzemelerin özellikle üst kenarının suda çözünebilen maddelerle etkileşimi, bunlara karşılık gelen suda çözünür türevlerini sağlayabilmektedir, bu da hem hidrofobik hem de hidrofilik yanlar taşıyan bir kimyasal yapıya yol açmaktadır. Böylelikle suda çözünebilen kaliksarenlerin sulu ortamda işlem yapılmasını gerektiren çalışmalar öne çıkmaktadır. Bu anlamda, çözünebilir kaliksarenlerin katalizör, amino asitler, peptidler, şekerler, nükleik asitler ve proteinler gibi biyomoleküllerin tanıyıcıları, toksik maddeler için kemosensörler, ilaç taşıyıcı ve çözünürlüğü artırıcı ajanlar ve enzim immobilizasyonunda enzimin yüksek aktivite gösterdiğini katkı maddesi olarak yaygın şekilde kullanıldığı görülmektedir (Memon ve ark., 2004; Bhatti ve ark., 2018; Ozyilmaz ve Eski, 2020; Pan ve ark., 2021; Sayin, 2021; Ozyilmaz ve ark., 2022a).



Şekil.4.3.15. *p*-sülfokaliks[4]arenin yapısı



Şekil.4.3.16. CRL, ZIF-8@CRL_{mek}, s-kal-4 ve ZIF-8@CRL@s-kal-4_{mek}'in FTIR spektrumu

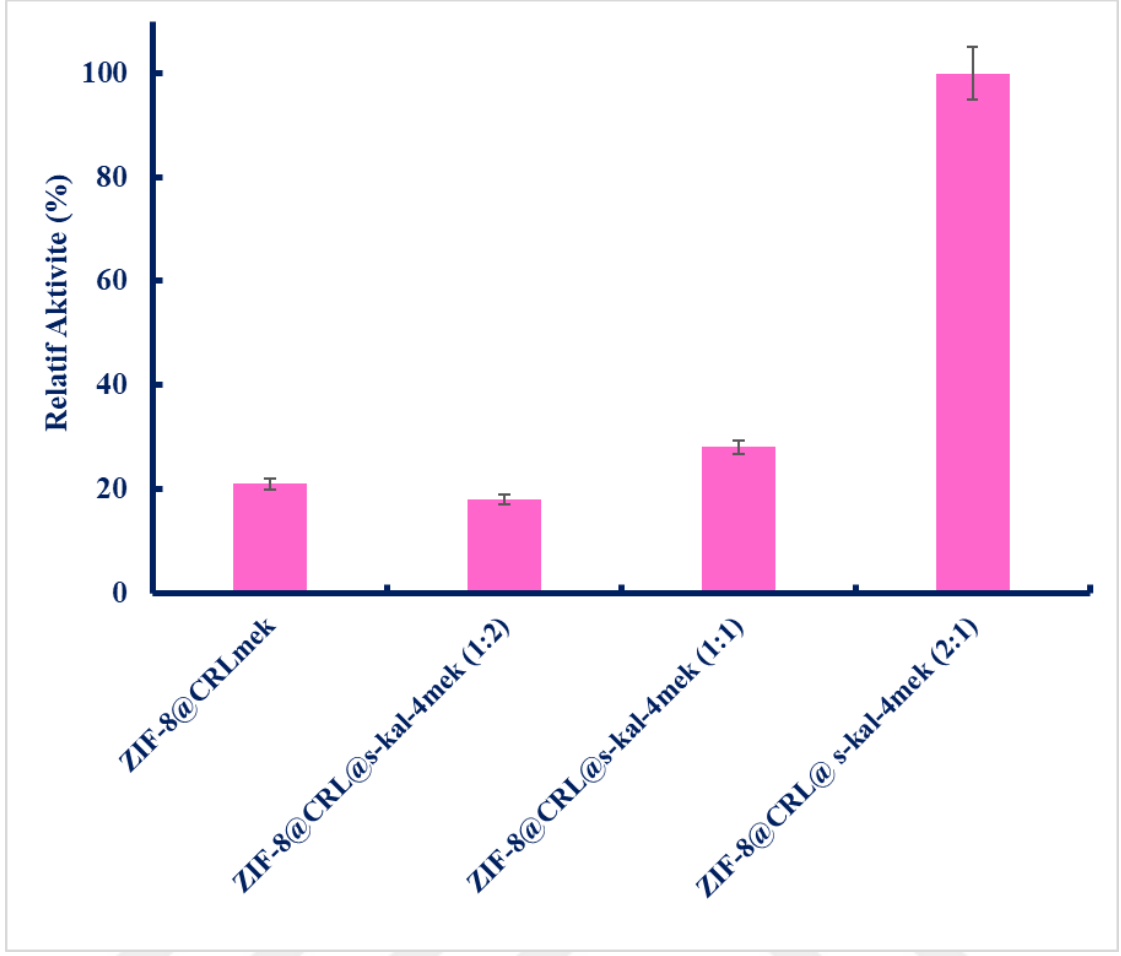
CRL'nin spektrumunda, 3100-3500 cm⁻¹ aralığındaki amin bandı ve CO-NH₂'den kaynaklanan 1364 cm⁻¹ ve 1649 cm⁻¹'deki bantlar görülebilir. CRL'nin amid I ve amid II'si 1649 cm⁻¹ ve 1540 cm⁻¹'dedir (Xie ve Huang, 2018; Iuliano ve ark., 2020).

3332 cm⁻¹ ve 2980 cm⁻¹'deki pikler ZIF-8'in C-H'sinin gerilme titreşimini gösterir. İmidazol halkasının C=N bandı ve Zn-N gerilme titreşimi için karakteristik absorpsiyon bantları sırasıyla 1588 cm⁻¹ ve 480 cm⁻¹'de bulunmuştur. C=N'nin gerilme titreşiminin 1588 cm⁻¹'deki bantta olduğu doğrulanmıştır. Aromatik C-N'nin gerilme modu 1120 cm⁻¹'deki banda karşılık gelmiştir (Zhang ve ark., 2018; Ozyilmaz ve Caglar, 2023). Bu pikler aromatik halka yapısına bağlı oksijenli-fonksiyonel grupların varlığına işaret etmektedir. Öte yandan, ZIF-8'in 420, 792, 1120, 1235-1300, 1350-1500, 1580 ve 2971/3332 cm⁻¹'deki sarmal bantları, sırasıyla, Zn-N düzlem dışı bükülme, imidazol halkasının düzlem içi bükülmesi, tüm halka, germe, imidazol halkasının C=N ve alifatik/aromatik C-H bağlarını doğrulamaktadır (Tanaka ve Miyashita, 2017; Ozyilmaz ve Caglar, 2023).

Hem CRL ve ZIF-8 hem de ZIF-8@CRL_{mek} için 1100 cm⁻¹ civarında görülen karakteristik pikler, CRL'nin ZIF-8'e başarılı bir şekilde yerleştirildiğini göstermektedir (Zou ve ark., 2020a). ZIF-8@CRL_{mek}'de amid I pikinde hafif bir kayma vardır, bu da Zn⁺² ile enzim üzerindeki karbonil grupları arasındaki koordinasyon nedeniyle doğrudan enzim-MOF etkileşimini doğrulamaktadır (Şekil 4.3.10) (Qi ve ark., 2019; Karimian ve ark., 2023).

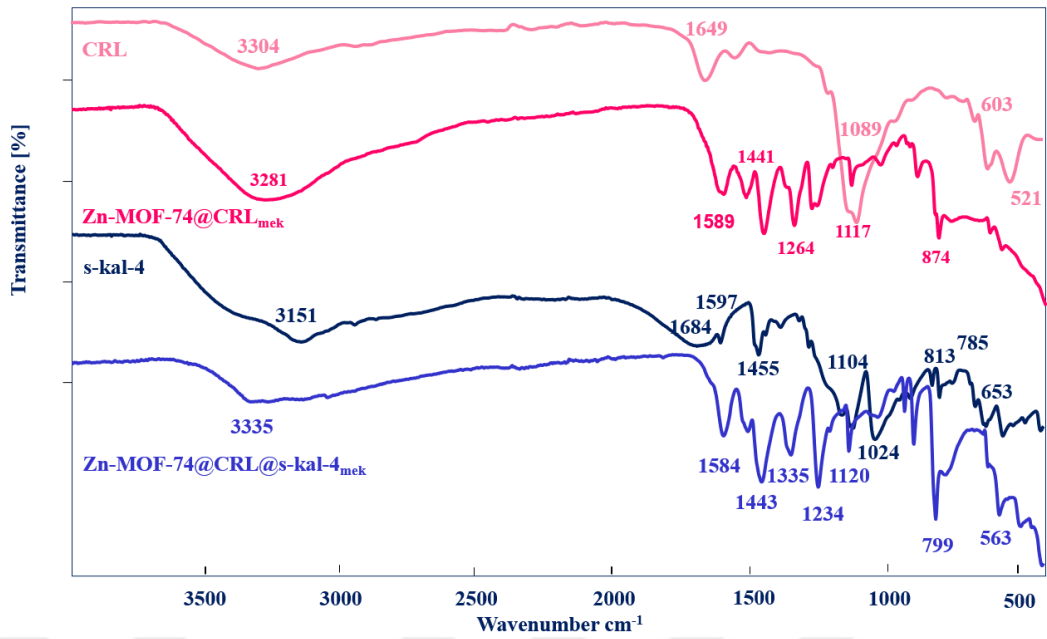
s-kal-4'ün FTIR spektrumunda, 3151 cm^{-1} 'deki karakteristik pik -OH titreşimine atfedilir. 3440 cm^{-1} 'de beliren pik, bir grup SO_3 ile hidrojen bağı olan -OH'nin gerilme titreşimini göstermektedir. 2857 cm^{-1} ve 2968 cm^{-1} 'deki pikler simetrik ve asimetrik C=C gerilme titreşimlerine karşılık gelmektedir. Ayrıca, 1374 cm^{-1} , 1455 cm^{-1} , 1597 cm^{-1} ve 1684 cm^{-1} 'de görülen pikler C=C gerilme titreşimlerine karşılık gelmektedir. Ayrıca, asimetrik ve simetrik S=O gerilme titreşimleri de 1024 cm^{-1} ve 1104 cm^{-1} 'de görülmektedir. Son olarak, C-S gerilme titreşimleri için karakteristik bant 893 cm^{-1} ve 813 cm^{-1} 'de gözlenmiştir. Bu pikler şu ana kadar yapılan son çalışmaların sonuçlarıyla karşılaştırıldığında s-kal-4'ün başarıyla sentezlendiği görülmektedir (Shinkai ve ark., 1987; Xiong ve ark., 2008; Rahimi ve ark., 2019; Mohammadi ve ark., 2023).

ZIF-8@CRL@s-kal-4_{mek}'in FTIR spektrumunda, 1114 cm^{-1} , 1575 cm^{-1} , 1307 cm^{-1} , 1684 cm^{-1} ve 3188 cm^{-1} 'de, görülen pikler ZIF-8, CRL ve s-kal-4'ün arasındaki etkileşime karşılık gelmektedir. s-kal-4'ün FTIR spektrumunda, 3151 cm^{-1} 'deki karakteristik pik, CRL etkileşimi ile 3188 cm^{-1} 'de görülmektedir. 1600 cm^{-1} ve 450 cm^{-1} 'deki pikler simetrik ve asimetrik C=C gerilme titreşimleri, amid bağları ile imidazolün karakteristik pikleri arasındaki etkileşimlere karşılık gelmektedir (Shinkai ve ark., 1987; Xiong ve ark., 2008; Tanaka ve Miyashita, 2017; Rahimi ve ark., 2019; Mohammadi ve ark., 2023; Ozyilmaz ve Caglar, 2023).



Şekil 4.3.17. İmmobilizasyonda (ZIF-8@CRL@s-kal-4_{mek}) farklı oranda enzim:s-kal-4 oranının aktiviteye etkisinin incelenmesi

CRL'nin immobilizasyonunda destek malzemesi olarak ZIF-8 kullanıldı. Bir de immobilize enzimin hazırlanmasında enzim miktarı sabit tutulup, s-kal-4 miktarı değiştirilerek yüzey aktif madde etkisi incelendi. Bunun için, 5 mg s-kal-4:10 mg CRL; 10 mg s-kal-4:10 mg CRL; 20 mg s-kal-4:10 mg CRL immobilizasyonda kullanıldı. En iyi aktivitenin immobilizasyonda 20 mg s-kal-4: 10 mg CRL ilave edildiğinde olduğu belirlendi.



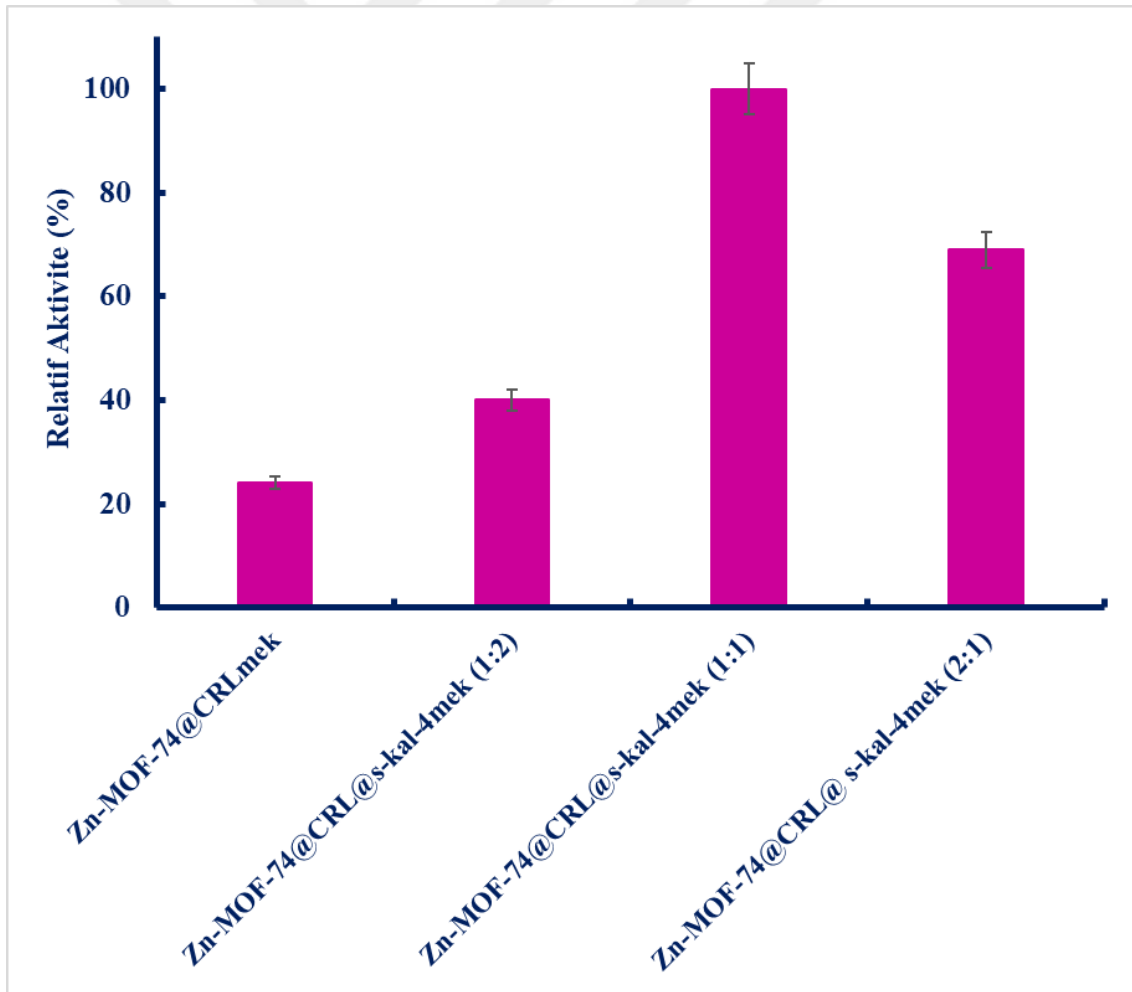
Şekil.4.3.18. CRL, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, s-kal-4 ve Zn-MOF-74@CRL@s-kal-4_{mek}'in FTIR spektrumu

CRL'nin spektrumunda, 3100-3500 cm⁻¹ aralığındaki amin bandı ve CO-NH₂'den kaynaklanan 1364 cm⁻¹ ve 1649 cm⁻¹'deki bantlar görülebilir. CRL'nin amid I ve amid II'si 1649 cm⁻¹ ve 1540 cm⁻¹'dedir (Xie ve Huang, 2018; Iuliano ve ark., 2020).

Zn-MOF-74@CRL_{mek}'in FTIR spektrumunda, Zn-MOF-74'ün 2981 cm⁻¹'deki Zn-O etkileşimine güçlü bandının CRL ile etkileşimi sonucu 3281 cm⁻¹'e kaydığı ve burada daha güçlü olduğu bant oluşturduğu görülmektedir. Zn-MOF-74'ün FTIR spektrumundaki, 1643 cm⁻¹'deki güçlü bant ve 1426 cm⁻¹'de aromatik halkanın varlığını, 1174 cm⁻¹'deki güçlü bant C-O tek bağı göstermektedir. İmmobilizasyon sonucu bantların, 1589 cm⁻¹, 1441 cm⁻¹, 1117 cm⁻¹ ve 874 cm⁻¹'deki bantlar ile amid I ve amid II bağları ve CRL'nin başarılı bir şekilde Zn-MOF-74'e yüklendiği görülmektedir.

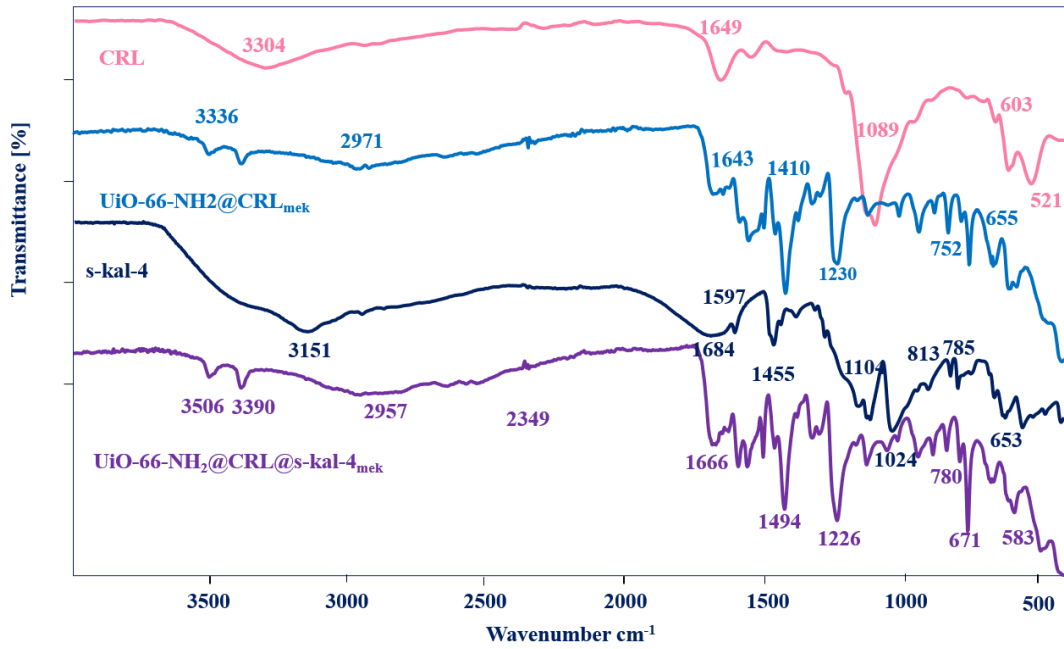
s-kal-4'ün FTIR spektrumunda, 3151 cm⁻¹'deki karakteristik pik -OH titreşimine atfedilir. 3440 cm⁻¹'de beliren pik, bir grup SO₃ ile hidrojen bağı olan -OH'nin gerilme titreşimini göstermektedir. 2857 cm⁻¹ ve 2968 cm⁻¹'deki pikler simetrik ve asimetrik C=C gerilme titreşimlerine karşılık gelmektedir. Ayrıca, 1374 cm⁻¹, 1455 cm⁻¹, 1597 cm⁻¹ ve 1684 cm⁻¹'de görülen pikler C=C gerilme titreşimlerine karşılık gelmektedir. Ayrıca, asimetrik ve simetrik S=O gerilme titreşimleri de 1024 cm⁻¹ ve 1104 cm⁻¹'de görülmektedir. Son olarak, C-S gerilme titreşimleri için karakteristik bant 893 cm⁻¹ ve 813 cm⁻¹'de gözlenmiştir. Bu pikler şu ana kadar yapılan son çalışmaların sonuçlarıyla karşılaştırıldığında s-kal-4'ün başarıyla sentezlendiği görülmektedir (Shinkai ve ark., 1987; Xiong ve ark., 2008; Rahimi ve ark., 2019; Mohammadi ve ark., 2023).

Zn-MOF-74@CRL@s-kal-4_{mek}'in FTIR spektrumu incelendiğinde, Zn-MOF-74@CRL_{mek}'in FTIR spektrumunda, 3281 cm⁻¹'de görülen güçlü bandın, CRL ve s-kal-4 ile etkileşimi ile 3335 cm⁻¹'e kaydığı görülmektedir (Shinkai ve ark., 1987; Xiong ve ark., 2008; Rahimi ve ark., 2019; Mohammadi ve ark., 2023). s-kal-4'ün FTIR spektrumunda, 1374 cm⁻¹, 1455 cm⁻¹, 1597 cm⁻¹ ve 1684 cm⁻¹'de görülen C=C gerilme titreşimlerine karşılık gelen piklerin, 1335 cm⁻¹, 1445 cm⁻¹, 1584 cm⁻¹'e kaydığı belirlendi. Ayrıca, asimetrik ve simetrik S=O gerilme titreşimleri de 1120 cm⁻¹ ve 1104 cm⁻¹'de görülmektedir. Son olarak, C-S germe titreşimleri için karakteristik bant 893 cm⁻¹ ve 799 cm⁻¹'de gözlenmiştir. Bu pikler şu ana kadar yapılan son çalışmaların sonuçlarıyla karşılaştırıldığında s-kal-4'ün başarıyla sentezlendiği görülmektedir (Shinkai ve ark., 1987; Xiong ve ark., 2008; Rahimi ve ark., 2019; Mohammadi ve ark., 2023).



Şekil 4.3.19. İmmobilizasyonda (Zn-MOF-74@CRL@s-kal-4_{mek}) farklı oranda enzim:s-kal-4 oranının aktiviteye etkisinin incelenmesi

CRL'nin immobilizasyonunda destek malzemesi olarak Zn-MOF-74 kullanıldı. İmmobilizasyon için farklı oranlarda enzim:s-kal-4'nin aktiviteye etkisi incelendi. Enzim miktarı sabit tutulup, s-kal-4 miktarı değiştirilerek yüzey aktif madde etkisi incelendi. Bunun için, 5 mg s-kal-4:10mg CRL; 10 mg s-kal-4:10mg s-kal-4; 20mg s-kal-4:10 mg CRL immobilizasyonda kullanıldı. En yüksek aktivite 10 mg s-kal-4: 10 mg CRL ilave edildiğinde görüldü.



Şekil 4.3.20. CRL, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, s-kal-4 ve UiO-66-NH₂@CRL@s-kal-4_{mek}'in FTIR spektrumu

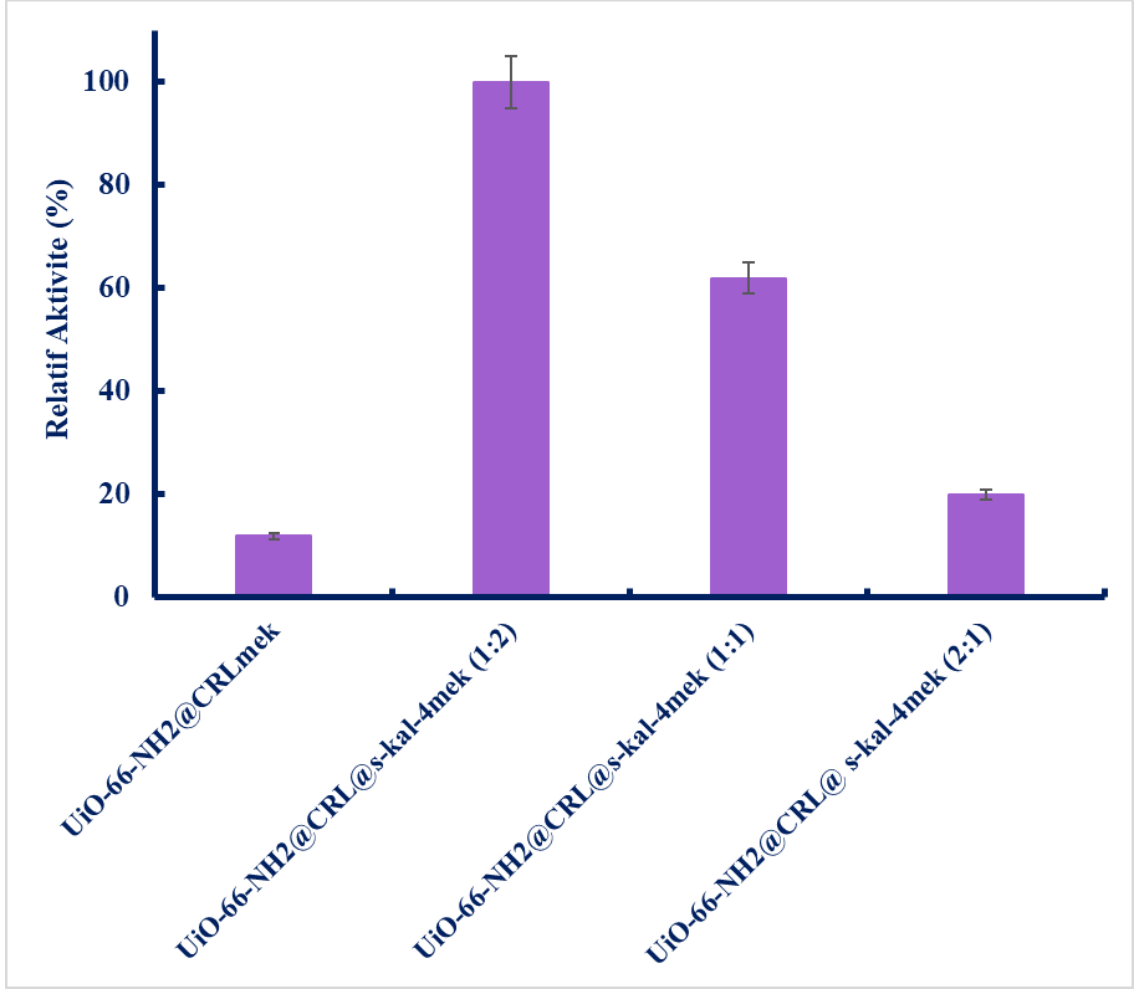
CRL'nin spektrumunda, 3100-3500 cm⁻¹ aralığındaki amin bandı ve CO-NH₂'den kaynaklanan 1364 cm⁻¹ ve 1649 cm⁻¹'deki bantlar görülebilir. CRL'nin amid I ve amid II'si 1649 cm⁻¹ ve 1540 cm⁻¹'dedir (Xie ve Huang, 2018; Iuliano ve ark., 2020).

UiO-66-NH₂'nin FTIR spektrumunda, 1700–1200 cm⁻¹ bölgesinde karboksilat grupları ve fenil halka deformasyonlarından kaynaklanan çok yoğun bantlar gözlemlendi. 2965 cm⁻¹ merkezli geniş bir bant H-bağlı OH gruplarını, 3501 ve 3385 cm⁻¹'deki NH₂ bantları göstermektedir. 1316 ile 1680 cm⁻¹ arasındaki bantlar UiO-66-NH₂'nin karakteristik zirvelerini gösterirken, 1680 cm⁻¹ ve 1544 cm⁻¹'deki zirveler, 2-aminotereftalik asit ligandının yapısındaki aromatik ve karboksilik gruplardaki simetrik ve asimetrik COO germe bağlarını göstermektedir (Samui ve ark., 2016; Ozyilmaz ve ark., 2023).

UiO-66-NH₂@CRL_{mek}'nin FTIR spektrumunda, hem UiO-66-NH₂'nin karakteristik bantları, hem de CRL'nin amid I ve amid II bantları 1643 cm⁻¹ ve 1540 cm⁻¹'de yoğun şekilde görülmektedir. Bu da bize CRL'nin UiO-66-NH₂'ye başarılı bir şekilde yüklendiğini göstermektedir (Ozyilmaz ve ark., 2023).

s-kal-4'ün FTIR spektrumunda, 3151 cm⁻¹'deki karakteristik pik -OH titreşimine atfedilir. 3440 cm⁻¹'de beliren pik, bir grup SO₃ ile hidrojen bağı olan -OH'nin gerilme titreşimini göstermektedir. 2857 cm⁻¹ ve 2968 cm⁻¹'deki pikler simetrik ve asimetrik C=C gerilme titreşimlerine karşılık gelmektedir. Ayrıca, 1374 cm⁻¹, 1455 cm⁻¹, 1597 cm⁻¹ ve 1684 cm⁻¹'de görülen pikler C=C gerilme titreşimlerine karşılık gelmektedir. Ayrıca, asimetrik ve simetrik S=O gerilme titreşimleri de 1024 cm⁻¹ ve 1104 cm⁻¹'de görülmektedir. Son olarak, C-S gerilme titreşimleri için karakteristik bant 893 cm⁻¹ ve 813 cm⁻¹'de gözlenmiştir. Bu pikler şu ana kadar yapılan son çalışmaların sonuçlarıyla karşılaştırıldığında s-kal-4'ün başarıyla sentezlendiği görülmektedir (Shinkai ve ark., 1987; Xiong ve ark., 2008; Rahimi ve ark., 2019; Mohammadi ve ark., 2023).

UiO-66-NH₂@CRL@s-kal-4_{mek} FTIR spektrumunda, 3151 cm⁻¹'deki karakteristik pik CRL s-kal-4 ile nin başarı ile etkileşimini göstermektedir.



Şekil 4.3.21. İmmobilizasyonda (UiO-66-NH₂@CRL@s-kal-4_{mek}) farklı oranda enzim:s-kal-4 oranının aktiviteye etkisinin incelenmesi

İmmobilizasyon için farklı oranlarda enzim:s-kal-4'ün aktiviteye etkisi incelendi. CRL'nin immobilizasyonunda destek malzemesi olarak UiO-66-NH₂ kullanıldı. Bir de immobilize enzimin hazırlanmasında enzim miktarı sabit tutulup, s-kal-4 miktarı değiştirilerek yüzey aktif madde etkisi incelendi. Bunun için, 5 mg s-kal-4:10mg CRL; 10mg s-kal-4:10 mg CRL; 10 mg CRL:20 mg s-kal-4 immobilizasyonda kullanıldı. En yüksek aktivite 5 mg s-kal-4: 10 mg CRL ilave edildiğinde görüldü.

4.4. Enzim Kinetiği

$V_{\max}$, enzimler substrata doyduğunda potansiyel maksimum aktiviteyi, K_m ise enzimlerin substratlara olan afinitesini göstermektedir ve $V_{\max}$ 'ın yarısı kadar substrat konsantrasyonuna eşdeğerdir (Bayranvand ve ark., 2021; Wu ve ark., 2022; Jiang ve ark., 2023) Bu çalışmada immobilize lipazlar (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}, ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}), serbest CRL ve PPL'nin enzim kinetiği incelenmiştir.

Çizelge 4.2. Immobilize lipaz ve serbest CRL'nin enzim kinetiği

	K_m (mM)	$V_{\max}$ (U/mg)
Serbest CRL	0.44	115
ZIF-8@CRL _{mek}	0.76	25.86
Zn-MOF-74@CRL _{mek}	0.34	130.88
UiO-66-NH ₂ @CRL _{mek}	0.42	352
Cu-MOF@CRL _{mek}	1,2	625
Serbest PPL	1,167	389
ZIF-8@PPL _{mek}	1.36	83
Zn-MOF-74@PPL _{mek}	1.087	95.16
UiO-66-NH ₂ @PPL _{mek}	0.89	129
Cu-MOF@PPL _{mek}	1.28	109.16

İmmobilize lipazlar (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}, ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}) ve serbest CRL ve PPL'nin enzim kinetiği incelenmiştir.

$V_{\max}$ 'ın yüksek ve K_m 'nin düşük olması daha yüksek verimlilik ve afiniteyi göstermektedir (Eldin ve Mita, 2014; Qamar ve ark., 2021; Azmi ve ark., 2023; Ozyilmaz ve ark., 2023).

İmmobilize lipazlar (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, Cu-MOF@CRL_{mek}) ve serbest CRL'nin enzim kinetiği incelendi. Zn-MOF-74@CRL_{mek} ve UiO-66-NH₂@CRL_{mek}'in serbest CRL'den daha iyi afiniteye sahip olduğu belirlendi. Bu durum, MOF yapısının ortamın iyonik dengesindeki değişikliklerden etkilenmesi, yüzey etkileşiminde enzim MOF arasındaki meydana

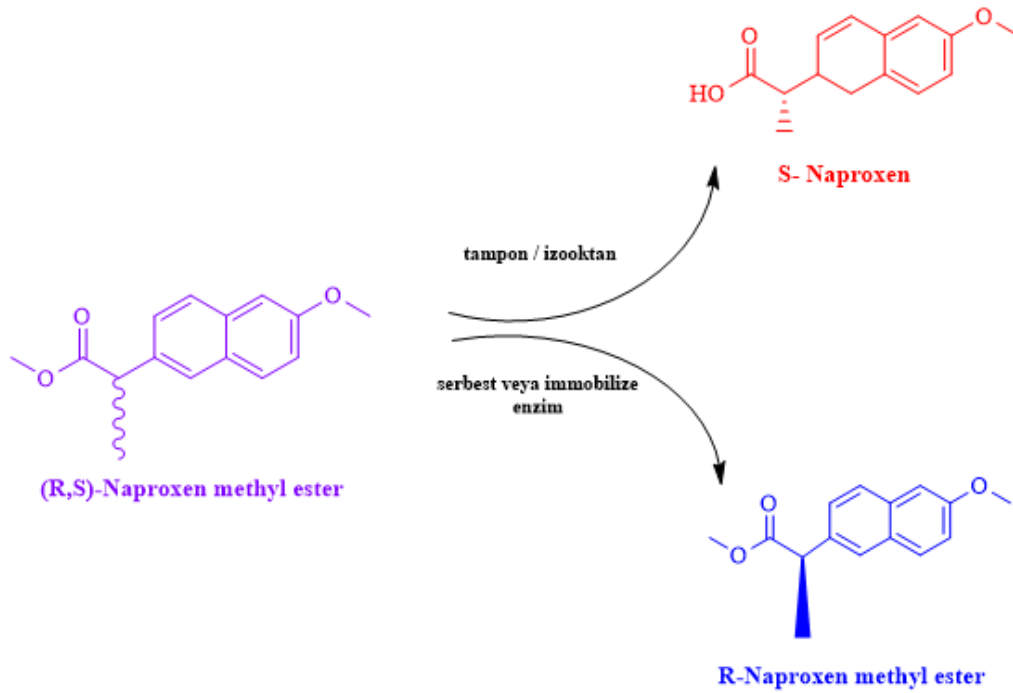
getirdiği değişikliklerden dolayı enzimin aktif bölgesiyle zayıf etkileşime neden olması olarak düşünülmektedir.

İmmobilize lipazlar (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}) ve serbest PPL'nin de enzim kinetiği incelenmiştir. UiO-66-NH₂@PPL_{mek} ve Zn-MOF-74@PPL_{mek}'in daha iyi afiniteye sahip olduğu belirlendi. Cu-MOF@CRL_{mek} ve ZIF-8@PPL_{mek}'in birbirine daha yakın afiniteye sahip olduğu görüldü.

4.5. Enantiyoselektivite Çalışmaları

4.5.1. İmmobilize Lipazlar ile (R/S)-Naproksen Metil Ester'in Enantiyoseçimli Hidrolizi

Mekanokimyasal yöntem ile elde edilen immobilize enzimler kullanılarak rasemik Naproksen metil esterinin enantiyoseçimli hidrolizi incelendi (Şema 4.3.1).



Şema 4.3.1. (R,S)-Naproksenin metil esterin enantiyoselektif hidrolizi

Elde edilen HPLC sonuçları, Chen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarındaki formüller kullanılarak hesaplandı. Enantiyomerik fazlalık (ee), dönüşüm oranı (c), enantiyoseçimlilik (E) gibi değerler aşağıdaki formüller kullanılarak hesaplanmaktadır (Chen ve ark., 1982).

$$E = \frac{\ln[(1-x)(1-ee_s)]}{\ln[(1-x)(1+ee_s)]}$$

$$x = \frac{ee_s}{ee_s + ee_p} \quad ee_s = \frac{C_R - C_S}{C_R + C_S} \quad ee_p = \frac{C_S - C_R}{C_S + C_R}$$

ee_s = Kalan substratın enantiyomerik fazlalığı ee_p = Oluşan ürünün enantiyomerik fazlalığı
 C_R = R enantiyomerinin konsantrasyonu C_S = S enantiyomerinin konsantrasyonu

Tablo 4.3.1.a ve Tablo 4.3.1.b’de immobilize lipazlarla katalizlenmiş rasemik Naproksen metil esterinin enantiyoseçimli hidrolizi sonuçları görülmektedir. Dönüşüm (x), enantiyomerik aşırılık (ee) ve enantiyomerik oran (E) (R,S)-Naproksen metil esterinin enantiyoseçimli hidrolizinde immobilize lipazlar ile gösterildi. İmmobilize lipazlar ile rasemik naproksen metil esterinin enantiyoseçimli hidrolizi sulu tampon çözelti/izooktan (ikili faz) reaksiyon sisteminde çalışıldı.

Tablo 4.3.1.a İmmobilize lipazlar kullanarak rasemik Naproksen metil esterinin kinetik rezulasyonu

	x (%)	ee _s (%)	ee _p (%)	E
ZIF-8@CRL _{mek}	25	33	>98	136
Zn-MOF-74@CRL _{mek}	45	80	>98	245
UiO-66-NH ₂ @CRL _{mek}	48	91	>98	317
Cu-MOF@CRL _{mek}	46	85	>98	270

^aHPLC (Agilent 1200 Serisi-kiral kolon (Chiralcel OD-H)) ile belirlenen enantiyomerik fazlalık (ee); HPLC mobil faz: n-hekzan/2 propanol/trifloroasetik asit, (100/1/0,1, v/v/v), t=24 saat, substrat konsantrasyonu: 20 mM; pH 7,0; sıcaklık, 35°C; akış hızı: 1 mL/dak; UV dedektör dalga boyu: 254 nm.

Tablo 4.3.1.b İmmobilize lipazlar kullanarak rasemik Naproksen metil ester kinetik rezulasyonu

	x (%)	ee _s (%)	ee _p (%)	E
ZIF-8@PPL _{mek}	36	55	>98	172
Zn-MOF-74@PPL _{mek}	40	70	>98	207
UiO-66-NH ₂ @PPL _{mek}	43.3	75	>98	224
Cu-MOF@PPL _{mek}	46.5	86	>98	276

^aHPLC (Agilent 1200 Serisi-kiral kolon (Chiralcel OD-H)) ile belirlenen entiyomerik fazlalık (ee); HPLC mobil faz: n-heksan/2 propanol/trifloroasetik asit, (100/1/0,1, v/v/v), t=24 saat, substrat konsantrasyonu: 20 mM; pH 7,0; sıcaklık, 35°C; akış hızı: 1 mL/dak; UV dedektör dalga boyu: 254 nm.

Tablo 4.3.1.a ve Tablo 4.3.1.b’de görüldüğü gibi, MOF’un yapısı ve yapısını oluşturan metal iyonları- organik ligandın enzimle etkileşimleri farklı olduğu için enantiyoseçimliliklerinde farklılıklar gözlemlendi.

ZIF-8@CRL_{mek}’in % 25 oranında dönüşüm sağladığı, Enantiyomerik oranı, E= 136 bulundu. Zn-MOF-74@CRL_{mek}’in % 45 oranında dönüşüm sağladığı, Enantiyomerik oranı, E=245 bulundu. UiO-66-NH₂@CRL_{mek}’in % 48 oranında dönüşüm sağladığı, Enantiyomerik oranı, E=317 bulundu. Cu-MOF@CRL_{mek}’in % 46 oranında dönüşüm sağladığı, Enantiyomerik oranı, E 270 olarak bulundu.

ZIF-8@PPL_{mek}’in % 36 oranında dönüşüm sağladığı, Enantiyomerik oranı, E= 172 bulundu. Zn-MOF-74@PPL_{mek}’in % 40 oranında dönüşüm sağladığı, Enantiyomerik oranı, E= 207 bulundu. UiO-66-NH₂@PPL_{mek}’in % 43.3 oranında dönüşüm sağladığı, Enantiyomerik oranı, E= 224 bulundu. Cu-MOF@PPL_{mek}’in % 46.5 oranında dönüşüm sağladığı, Enantiyomerik oranı, E 276 bulundu.

Kiralite bir özelliktir, asimetrik karbona bağlı atoma sahip olan bir moleküle kiral denilmektedir. Asimetrik ve üst üste binemeyen enantiyomerik formlarda bulunmaktadır. Bu moleküllerin atomları ve bağları açısından hiçbir kimyasal farklılıkları yoktur ancak uzaydaki düzenleri farklıdır (H Brooks ve ark., 2011; Ali ve ark., 2024). Enantiyomerler genellikle farklı etkiler gösterirler. Bazı durumlarda, belirli bir konfigürasyondaki enantiyomerler canlı hücreler üzerinde geri dönüşü olmayan bir etkiye bile sahip olabilir (Niu ve ark., 2022). İlaç pazarındaki ilaçların neredeyse yarısı kiraldır; bir formu güvenilir ve emniyetliken, diğer formu ise mutajenik, etkili olmayan ve hatta zehirlidir (Mane, 2016; Bukhari, 2023). Kiral çözünürlük, farmasötik, terapötik, adli tıp ve gıda analizi dahil olmak üzere çeşitli bilimsel disiplinlerde çok önemlidir (Liu ve ark., 2019; Teixeira ve ark., 2019; Bukhari, 2023). Kiralite, yaşam sistemlerinin

evrensel bir olgusudur. DNA, protein, aminoasit ve nükleik asit gibi biyomoleküllerin tümü kiralite özelliklerine sahiptir (Li ve ark., 2022; Niu ve ark., 2022). MOF'lar, eşsiz özellikleri ile çok farklı umut verici uygulamalara sahip mükemmel bir gözenekli hibrit yapıları malzemelerdir (Liu ve ark., 2018; Gatou ve ark., 2023; Ozyilmaz ve Caglar, 2023). Ortaya çıkan gözenekli malzemelerin kiral çözünürlük yeteneğini artırabilen ve çevrenin korunmasına katkıda bulunabilen ön işlem maddeleri veya işlevselleştirici maddeler olarak kullanılabilirler (Yu ve ark., 2020; Li ve ark., 2023b).

MOF'ların önemli bir özelliği de, organik ligandların boyutunu ve tipini seçip ayarlayarak farklı topolojilere ve gözenek boyutlarına sahip malzemelerin sentezini kontrol edebilme, böylece işlevsellik ve sentetik esneklik sağlama yeteneğidir (He ve ark., 2018; Li ve ark., 2023a; Nath, 2024). MOF'lar, yapıdaki kiral organik bağlayıcılar veya katı içindeki bileşenlerin kiral düzenlemesi nedeniyle kiraldır (Zhao ve ark., 2017; Berijani ve ark., 2019; Shang ve ark., 2020; Zhao ve Zhang, 2020; Li ve ark., 2023d). Böylece MOF'lara amino asitlerin ligand olarak dahil edilmesiyle uygulamaya aktif bağlanma bölgelerine ve fonksiyonel gruplara sahip çevre dostu kiral gözenekli malzemeler elde edilebilir. Destek materyali olarak kullanımlarında ortamda iyonik sıvı veya metal ligand etkileşimleri ile, enzimlerin aktif merkezleri ile de etkileşim göstererek stabiliteyi sağlayabilirler. Kiral tanıma yeteneklerini de artmasına yardımcı olabilirler (Li ve ark., 2023a; Qiu ve ark., 2023). Kiral gözenekli MOF'lar kiral analitlere seçici olarak girebilen açık kanalları veya boşlukları nedeniyle özellikle enantiyoseçimlikataliz ve ayırma olmak üzere birçok alanda kullanılmaktadırlar (Antil ve ark., 2021; Weng ve ark., 2021; Li ve ark., 2023a).

ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}, Cu-MOF@PPL_{mek}, ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek} ve Cu-MOF@PPL_{mek}'in enantiyoseçimliliklerindeki farklılıklar, MOF yapılarını oluşturan metal iyonu ve organik liganda ilaveten yapının oluşumunda çok az miktarda kullanılan iyonik desteğin enzimin aktif merkezi ile olan etkileşiminde yer alan bağlanmadan kaynaklanmaktadır. Reaktanların katı-katı etkileşimlerinin, ortamdaki iyonik etkinin ve enzimin aktif merkezi ile etkileşiminde ve kiraliteye etkisi detaylı şekilde açıklanmaktadır (Antil ve ark., 2021; Ozyilmaz ve ark., 2021d; Weng ve ark., 2021; Li ve ark., 2023d; Ozyilmaz ve Caglar, 2023; Qiu ve ark., 2023).

Sonuçları incelediğimizde Cu-MOF@PPL_{mek}'nin diğer immobilize enzimlere göre mükemmel enantiyoseçimliliğe sahip olduğu belirlendi, en düşük enantiyoseçimliliğin ise ZIF-8@PPL_{mek}'te olduğu belirlenmiştir. Çalışmamız sadece

lipaz katalizli enantiyoseçimli hidroliz reaksiyonlarının geliştirilmesinde önemli bir ilerleme göstermekle kalmıyor, aynı zamanda mekanokimyasal yöntemle hazırladığımız farklı MOF@enzimlerle ilgili etkileşimlerde bağlanmanın etkisini iyi şekilde anlamamızı sağlamaktadır.



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Bu tez çalışması, temel olarak 5 ayrı basamakta değerlendirildi.

- Öncelikle, mekanokimyasal yöntem kullanılarak 2 farklı çinko bazlı (ZIF-8, Zn-MOF-74), 1 zirkonyum bazlı (UiO-66-NH₂) ve 1 bakır bazlı (Cu-MOF) olmak üzere toplam 4 farklı MOF'un sentezi başarıyla tamamlandı. Hazırlanan MOF'lar ve immobilize enzimler, FTIR, SEM ve XRD analizleri kullanılarak karakterize edildi.
- Mekanokimyasal yöntem kullanılarak sentezlenen MOF'lar *Candida rugosa* lipazın (CRL) immobilizasyonunda kullanıldı.
 - Immobilize enzimlerin (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek} ve Cu@MOF@CRL_{mek}'in) ve *Candida rugosa* lipazın (CRL) pH stabiliteeleri incelendi.
 - ✓ *Candida rugosa* lipazın (CRL) pH:7'de maksimum aktiviteye sahip olduğu bulundu. Immobilize enzimlerin (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek} ve Cu@MOF@CRL_{mek}'in) sonuçları incelendiğinde, pH stabiliteelerinin daha geniş aralıkta kararlılık gösterdiği belirlendi. Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek} ve Cu@MOF@CRL_{mek}'in pH:6'da, ZIF-8@CRL_{mek}'in ise pH 8.5'de maksimum aktiviteye sahip olduğu belirlendi.
 - Immobilize enzimlerin (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek} ve Cu@MOF@CRL_{mek}'in) ve *Candida rugosa* lipazın (CRL) optimum sıcaklık tayini incelendi.
 - ✓ *Candida rugosa* lipazın (CRL) optimum sıcaklık değeri 35°C maksimum aktiviteye sahip olduğu belirlendi. Immobilize enzimlerin sonuçlarında, Zn-MOF-74@CRL_{mek}'in 45°C'de, ZIF-8@CRL_{mek} ve UiO-66-NH₂@PPL_{mek}'nin 40 °C'de ve Cu-MOF@CRL_{mek}'in ise 30 °C'de maksimum aktiviteye sahip olduğu belirlendi.
 - Immobilize enzimler (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek} ve Cu@MOF@CRL_{mek}'in) ve *Candida rugosa* lipazın (CRL) termal stabilitesi incelendi.
 - ✓ 60°C'de 120 dakika inkübasyonun sonunda, serbest serbest lipazın (CRL) aktivitesini tamamen kaybettiği belirlenirken,

- ✓ ZIF-8@CRL_{mek}'in %65, Zn-MOF-74@CRL_{mek}'in %73, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}'in %55 ve Cu-MOF@CRL_{mek}'in ise %49 oranında hala aktivitesini koruduğu belirlendi.
- İmmobilize enzimlerin (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek} ve Cu@MOF@CRL_{mek}'in) depolama stabilitesi 10 gün incelendi.
- ✓ 10. günde ZIF-8@CRL_{mek}'in % 73, Zn-MOF-74@CRL_{mek}'in % 81, UiO-66-NH₂@CRL_{mek}'in % 65 ve Cu-MOF@CRL_{mek}'in % 51 oranında hala aktivitesini koruduğu belirlendi.
- İmmobilize enzimler (ZIF-8@CRL_{mek}, Zn-MOF-74@CRL_{mek}, UiO-66-NH₂@CRL_{mek} ve Cu-MOF@CRL_{mek}) (R,S)-Naproksen metil esterinin enantiyoseçimli hidrolizinde kullanıldı.
- ✓ ZIF-8@CRL_{mek}'in % 25 oranında dönüşüm sağladığı, Enantiyomerik oranı, E= 172 bulundu.
- ✓ Zn-MOF-74@CRL_{mek}'in % 45 oranında dönüşüm sağladığı, Enantiyomerik oranı, E= 207 bulundu.
- ✓ UiO-66-NH₂@CRL_{mek}'in % 48 oranında dönüşüm sağladığı, Enantiyomerik oranı, E=317 bulundu.
- ✓ Cu-MOF@CRL_{mek}'in % 46 oranında dönüşüm sağladığı, Enantiyomerik oranı, 270 bulundu.
- Mekanokimyasal yöntem ile sentezlenen MOF'lar *Porcine pankreatik* lipazın (PPL) immobilizasyonunda da kullanıldı.
- İmmobilize enzimler (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek} ve Cu@MOF@PPL_{mek}'in) ve *Porcine pankreatik* lipazın (PPL'nin) pH stabiliteyi incelendi.
- ✓ *Porcine pankreatik* lipazın pH:5'te maksimum aktiviteye sahip olduğu bulundu. İmmobilize enzimlerin (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek} ve Cu@MOF@PPL_{mek}'in) sonuçları incelendiğinde, pH stabiliteyi daha geniş aralıkta kararlılık gösterdiği belirlendi. Cu-MOF@PPL_{mek}'in pH:6'da, ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek} ve UiO-66-NH₂@PPL_{mek}'in ise pH:8'de maksimum aktivite gösterdiği belirlendi.
- İmmobilize enzimler (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek} ve Cu@MOF@PPL_{mek}'in) ve *Porcine pankreatik* lipazın optimum sıcaklık tayini incelendi.

- ✓ *Porcine pankreatik* lipazın optimum sıcaklık değeri 45°C maksimum aktiviteye sahip olduğu belirlendi. İmmobilize enzimlerin sonuçlarında, ZIF-8@PPL_{mek}'in 35°C'de, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}'nin 40 °C'de, Zn-MOF-74@PPL_{mek} ve Cu-MOF@PPL_{mek}'in ise 45 °C'de maksimum aktiviteye sahip olduğu belirlendi.
- İmmobilize enzimler (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek} ve Cu@MOF@PPL_{mek}'in) ve *Porcine pankreatik* lipazın termal stabilitesi incelendi.
- ✓ İmmobilize enzim ve serbest enzimin termal stabilitesi incelendi. 60°C'de 120 dakika inkübasyonun sonunda, serbest serbest lipazın (PPL) aktivitesini % 25 oranında hala koruduğu belirlenirken, ZIF-8@PPL_{mek}'in %40, Zn-MOF-74@PPL_{mek}'in %54, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}'in %65 ve Cu-MOF@PPL_{mek}'in ise %46 oranında hala aktivitesini koruduğu belirlendi.
- İmmobilize enzimlerin (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek} ve Cu@MOF@PPL_{mek}'in) depolama stabilitesi 10 gün incelendi.
- ✓ 10. günde ZIF-8@PPL_{mek}'in % 63, Zn-MOF-74@PPL_{mek}'in % 76, UiO-66-NH₂@PPL_{mek}'in % 71 ve Cu-MOF@PPL_{mek}'in % 74 oranında hala aktivitesini koruduğu belirlendi.
- İmmobilize enzimler (ZIF-8@PPL_{mek}, Zn-MOF-74@PPL_{mek}, UiO-66-NH₂@PPL_{mek} ve Cu-MOF@PPL_{mek}) (R,S)-Naproksen metil esterinin enantiyoseçimli hidrolizinde kullanıldı.
- ✓ ZIF-8@PPL_{mek}'in % 36 oranında dönüşüm sağladığı, Enantiyomerik oranı, E= 172 bulundu.
- ✓ Zn-MOF-74@PPL_{mek}'in % 40 oranında dönüşüm sağladığı, Enantiyomerik oranı, E= 207 bulundu.
- ✓ UiO-66-NH₂@PPL_{mek}'in % 43.3 oranında dönüşüm sağladığı, Enantiyomerik oranı, E=224 bulundu.
- ✓ Cu-MOF@PPL_{mek}'in % 46.5 oranında dönüşüm sağladığı, Enantiyomerik oranı, E= 276 bulundu.

Bu çalışma hem YÖK ve TÜBİTAK'tan öncelikli alanlar doktora bursu ile desteklendi. Hem de çalışmanın bir kısmı 1002-B Acil Destek Modülü Kapsamında Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklendi.

5.2 Öneriler

- ✓ Mekanokimyasal yaklaşım, son yıllarda dikkat çeken, çevre dostu, ekonomik ve yeşil kimya ilkelerine uygun bir yöntemdir.
- ✓ Mekanoenzimoloji, düşük solventli veya solventsiz karışımlarda enzimatik reaksiyonları sürdürmek için mekanik karıştırmanın kullanıldığı son yıllarda oldukça dikkat çeken yeni bir alandır.
- ✓ Mekanokimyasal dönüşümler benzeri görülmemiş düzeyde bir seçicilik ve ürünün stokiyometrik bileşimi üzerinde kontrol sunar ve sadece öğütme ekipmanıyla doğrudan katalize odaklanan bir dal hızla gelişmektedir.
- ✓ Mükemmel katalitik özelliklere sahip önemli biyokatalizörlerin geliştirebilmesi, enzimoloji ve ilaç endüstrisinde enzimler için yeni ufuklar keşfedebilmek için yeni yollar açacağı düşünülmektedir.
- ✓ Yeşil kimya ilkeleri arasında yer alan hızlı, ucuz ve çevre dostu bir yöntem olan mekanokimyasal yöntemin de avantajlarından yararlanılarak, lipazın MOF üzerinde immobilizasyonu, enantiyomerlerin önemli farklılıklarından dolayı ilaç endüstrisi için kolay ve ucuz bir yol sunulmaktadır.
- ✓ Elde edilen sonuçlar ile literatüre önemli bir katkı sağlandı. Hem çevre dostu bir yöntemin geliştirilmesinde hem de hedefe yönelik MOF@enzim biyomalzemelerin geliştirilmesine yeni bir yöntem kazandırıldı.

KAYNAKLAR

- Abdelhamid, H. N., 2021, Biointerface between ZIF-8 and biomolecules and their applications, *Biointerface Res. Appl. Chem*, 11 (1), 8283-8297.
- Abdelnour, S. A., Khalil, W. A., Khalifa, N. E., Khalil, F. M. A. ve Hassan, M. A., 2024, L-Proline: A Promising Tool for Boosting Cryotolerance and Fertilizing Ability of Cryopreserved Sperm in Animals, *Animal Reproduction Science*, 107429.
- Abellanas-Perez, P., Carballares, D., Rocha-Martin, J. ve Fernandez-Lafuente, R., 2024, The Effects of Buffer Nature on Immobilized Lipase Stability Depend on Enzyme Support Loading, *Catalysts*, 14 (2), 105.
- Adlercreutz, P., 2013, Immobilisation and application of lipases in organic media, *Chemical Society Reviews*, 42 (15), 6406-6436.
- Aghaei, H., Mohammadbagheri, Z., Hemasi, A. ve Taghizadeh, A., 2022, Efficient hydrolysis of starch by α -amylase immobilized on cloisite 30B and modified forms of cloisite 30B by adsorption and covalent methods, *Food Chemistry*, 373, 131425.
- Agostoni, V., Chalati, T., Horcajada, P., Willaime, H., Anand, R., Semiramoth, N., Baati, T., Hall, S., Maurin, G. ve Chacun, H., 2013, Towards an Improved anti-HIV Activity of NRTI via Metal–Organic frameworks nanoparticles, *Advanced healthcare materials*, 2 (12), 1630-1637.
- Ahamad, M. N., Shahid, M., Ahmad, M. ve Sama, F., 2019, Cu (II) MOFs based on bipyridyls: topology, magnetism, and exploring sensing ability toward multiple nitroaromatic explosives, *ACS omega*, 4 (4), 7738-7749.
- Ahmadi, A. ve Nezamzadeh-Ejhieh, A., 2017, A comprehensive study on electrocatalytic current of urea oxidation by modified carbon paste electrode with Ni (II)-clinoptilolite nanoparticles: Experimental design by response surface methodology, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 801, 328-337.
- Aizawa, H., Sato, T., Maki-Yonekura, S., Yonekura, K., Takaba, K., Hamaguchi, T., Minato, T. ve Yamamoto, H. M., 2023, Enantioselectivity of discretized helical supramolecule consisting of achiral cobalt phthalocyanines via chiral-induced spin selectivity effect, *Nature communications*, 14 (1), 4530.

- Al-Harbi, S. A. ve Almulaiky, Y. Q., 2024, Copper-based metal-organic frameworks (BDC-Cu MOFs) as supporters for α -amylase: Stability, reusability, and antioxidant potential, *Heliyon*, 10 (6).
- Al Sharabati, M., Sabouni, R. ve Hussein, G. A., 2022, Biomedical applications of metal-organic frameworks for disease diagnosis and drug delivery: a review, *Nanomaterials*, 12 (2), 277.
- Alezi, D., Belmabkhout, Y., Suyetin, M., Bhatt, P. M., Weseliński, Ł. J., Solovyeva, V., Adil, K., Spanopoulos, I., Trikalitis, P. N. ve Emwas, A.-H., 2015, MOF crystal chemistry paving the way to gas storage needs: aluminum-based soc-MOF for CH₄, O₂, and CO₂ storage, *Journal of the American Chemical Society*, 137 (41), 13308-13318.
- Ali, I., Perrucci, M., Ciriolo, L., D'Ovidio, C., de Grazia, U., Ulusoy, H. I., Kabir, A., Savini, F. ve Locatelli, M., 2024, Applications of electrophoresis for small enantiomeric drugs in real-world samples: Recent trends and future perspectives, *Electrophoresis*, 45 (1-2), 55-68.
- Aliyari, D., Mahdavian, M. ve Ramezanzadeh, B., 2023, Assessment of synthesis conditions on the corrosion inhibitive features of ZIF-67 MOF, *Surface and Coatings Technology*, 474, 130060.
- Allahbakhsh, A. ve Mazinani, S., 2015, Influences of sodium dodecyl sulfate on vulcanization kinetics and mechanical performance of EPDM/graphene oxide nanocomposites, *Rsc Advances*, 5 (58), 46694-46704.
- Aloulou, A., Rodriguez, J. A., Fernandez, S., van Oosterhout, D., Puccinelli, D. ve Carrière, F., 2006, Exploring the specific features of interfacial enzymology based on lipase studies, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1761 (9), 995-1013.
- Ambundo, E. A., Deydier, M.-V., Grall, A. J., Agüera-Vega, N., Dressel, L. T., Cooper, T. H., Heeg, M. J., Ochrymowycz, L. ve Rorabacher, D., 1999, Influence of coordination geometry upon copper (II/I) redox potentials. Physical parameters for twelve copper tripodal ligand complexes, *Inorganic Chemistry*, 38 (19), 4233-4242.
- Amirzehni, M., Eskandari, H., Vahid, B. ve Hassanzadeh, J., 2021, An efficient chemiluminescence system based on mimic CuMOF/Co₃O₄ nanoparticles composite for the measurement of glucose and cholesterol, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 348, 130690.

- Amrute, A. P., De Bellis, J., Felderhoff, M. ve Schüth, F., 2021, Mechanochemical synthesis of catalytic materials, *Chemistry–A European Journal*, 27 (23), 6819-6847.
- An, H., Li, M., Gao, J., Zhang, Z., Ma, S. ve Chen, Y., 2019, Incorporation of biomolecules in metal-organic frameworks for advanced applications, *Coordination Chemistry Reviews*, 384, 90-106.
- Anantharaj, S., Ede, S. R., Sakthikumar, K., Karthick, K., Mishra, S. ve Kundu, S., 2016, Recent trends and perspectives in electrochemical water splitting with an emphasis on sulfide, selenide, and phosphide catalysts of Fe, Co, and Ni: a review, *ACS Catalysis*, 6 (12), 8069-8097.
- Angiolillo, D. J. ve Weisman, S. M., 2017, Clinical pharmacology and cardiovascular safety of naproxen, *American Journal of Cardiovascular Drugs*, 17, 97-107.
- Antil, N., Akhtar, N., Newar, R., Begum, W., Kumar, A., Chauhan, M. ve Manna, K., 2021, Chiral iron (II)-catalysts within valinol-grafted metal–organic frameworks for enantioselective reduction of ketones, *ACS Catalysis*, 11 (16), 10450-10459.
- Anyama, C. A., Louis, H., Inah, B. E., Gber, T. E., Ogar, J. O. ve Ayi, A. A., 2023, Hydrothermal Synthesis, crystal structure, DFT studies, and molecular docking of Zn-BTC MOF as potential antiprotozoal agents, *Journal of Molecular Structure*, 1277, 134825.
- Arana-Peña, S., Rios, N. S., Carballares, D., Goncalves, L. R. ve Fernandez-Lafuente, R., 2021, Immobilization of lipases via interfacial activation on hydrophobic supports: Production of biocatalysts libraries by altering the immobilization conditions, *Catalysis Today*, 362, 130-140.
- Arciszewski, J. ve Auclair, K., 2022, Mechanoenzymatic reactions involving polymeric substrates or products, *ChemSusChem*, 15 (7), e202102084.
- Arcuri, C., Monarca, L., Ragonese, F., Mecca, C., Bruscoli, S., Giovagnoli, S., Donato, R., Bereshchenko, O., Fioretti, B. ve Costantino, F., 2018, Probing internalization effects and biocompatibility of ultrasmall zirconium metal-organic frameworks UiO-66 NP in U251 glioblastoma cancer cells, *Nanomaterials*, 8 (11), 867.
- Ardila-Fierro, K. J. ve Hernández, J. G., 2021, Sustainability assessment of mechanochemistry by using the twelve principles of green chemistry, *ChemSusChem*, 14 (10), 2145-2162.

- Arrozi, U. S., Bon, V., Kutzscher, C., Senkovska, I. ve Kaskel, S., 2019, Towards highly active and stable nickel-based metal–organic frameworks as ethylene oligomerization catalysts, *Dalton Transactions*, 48 (10), 3415-3421.
- Atiroğlu, V., Atiroğlu, A., Atiroğlu, A., Al-Hajri, A. S. ve Özacar, M., 2024, Green immobilization: Enhancing enzyme stability and reusability on eco-friendly support, *Food Chemistry*, 448, 138978.
- Ayoubi-Joshaghani, M. H., Seidi, K., Azizi, M., Jaymand, M., Javaheri, T., Jahanban-Esfahlan, R. ve Hamblin, M. R., 2020, Potential applications of advanced nano/hydrogels in biomedicine: static, dynamic, multi-stage, and bioinspired, *Advanced Functional Materials*, 30 (45), 2004098.
- Azmi, N. D., Saat, M. N. ve Annuar, M. S. M., 2023, Kinetic Hydrolysis of Cellulose Biopolymer by Carbon Nanotubes Immobilized Cellulase, *Journal of Advanced Research in Applied Sciences and Engineering Technology*, 30 (3), 325-333.
- Bagi, K., Simon, L. ve Szajani, B., 1997, Immobilization and characterization of porcine pancreas lipase, *Enzyme and Microbial Technology*, 20 (7), 531-535.
- Bagi, K. ve Simon, L., 1999, Comparison of esterification and transesterification of fructose by porcine pancreas lipase immobilized on different supports, *Biotechnology techniques*, 13, 309-312.
- Bahrani, S., Ghaedi, M., Ostovan, A., Javadian, H., Mansoorkhani, M. J. K. ve Taghipour, T., 2018, A facile and selective approach for enrichment of l-cysteine in human plasma sample based on zinc organic polymer: Optimization by response surface methodology, *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 149, 166-171.
- Bahrani, S., Hashemi, S. A., Mousavi, S. M. ve Azhdari, R., 2019, Zinc-based metal–organic frameworks as nontoxic and biodegradable platforms for biomedical applications: review study, *Drug metabolism reviews*, 51 (3), 356-377.
- Bai, S., Liu, X., Zhu, K., Wu, S. ve Zhou, H., 2016a, Metal–organic framework-based separator for lithium–sulfur batteries, *Nature Energy*, 1 (7), 1-6.
- Bai, Y., Dou, Y., Xie, L.-H., Rutledge, W., Li, J.-R. ve Zhou, H.-C., 2016b, Zr-based metal–organic frameworks: design, synthesis, structure, and applications, *Chemical Society Reviews*, 45 (8), 2327-2367.
- Banerjee, R., Phan, A., Wang, B., Knobler, C., Furukawa, H., O'Keeffe, M. ve Yaghi, O. M., 2008, High-throughput synthesis of zeolitic imidazolate frameworks and application to CO₂ capture, *Science*, 319 (5865), 939-943.

- Bard, A. J. ve Fox, M. A., 1995, Artificial photosynthesis: solar splitting of water to hydrogen and oxygen, *Accounts of Chemical Research*, 28 (3), 141-145.
- Basheer, A. A. ve Ali, I., 2018, Stereoselective uptake and degradation of ($\pm$)-o, p-DDD pesticide stereomers in water-sediment system, *Chirality*, 30 (9), 1088-1095.
- Batten, S. R., Champness, N. R., Chen, X.-M., Garcia-Martinez, J., Kitagawa, S., Öhrström, L., O'keeffe, M., Paik Suh, M. ve Reedijk, J., 2013, Terminology of metal–organic frameworks and coordination polymers (IUPAC Recommendations 2013), *Pure and Applied Chemistry*, 85 (8), 1715-1724.
- Bayranvand, M., Akbarinia, M., Salehi Jouzani, G., Gharechahi, J. ve Baldrian, P., 2021, Distribution of soil extracellular enzymatic, microbial, and biological functions in the C and N-cycle pathways along a forest altitudinal gradient, *Frontiers in Microbiology*, 12, 660603.
- Behera, P., Subudhi, S., Tripathy, S. P. ve Parida, K., 2022, MOF derived nano-materials: A recent progress in strategic fabrication, characterization and mechanistic insight towards divergent photocatalytic applications, *Coordination Chemistry Reviews*, 456, 214392.
- Benkovic, S. J. ve Hammes-Schiffer, S., 2003, A perspective on enzyme catalysis, *Science*, 301 (5637), 1196-1202.
- Benny, A., Pai, S. D. K. R., Pinheiro, D. ve Chundattu, S. J., 2024, Metal organic frameworks in biomedicine: Innovations in drug delivery, *Results in Chemistry*, 7, 101414.
- Benson, E. E., Kubiak, C. P., Sathrum, A. J. ve Smieja, J. M., 2009, Electrocatalytic and homogeneous approaches to conversion of CO₂ to liquid fuels, *Chemical Society Reviews*, 38 (1), 89-99.
- Berijani, K., Morsali, A. ve Hupp, J. T., 2019, An effective strategy for creating asymmetric MOFs for chirality induction: a chiral Zr-based MOF for enantioselective epoxidation, *Catalysis Science & Technology*, 9 (13), 3388-3397.
- Bhasha, A. C. ve Balamurugan, K., 2021, End mill studies on Al6061 hybrid composite prepared by ultrasonic-assisted stir casting, *Multiscale and Multidisciplinary Modeling, Experiments and Design*, 4 (2), 109-120.
- Bhattacharyya, S. ve Maji, T. K., 2022, Multi-dimensional metal-organic frameworks based on mixed linkers: Interplay between structural flexibility and functionality, *Coordination Chemistry Reviews*, 469, 214645.

- Bhatti, A. A., Oguz, M. ve Yilmaz, M., 2018, One-pot synthesis of Fe₃O₄@ Chitosan-pSDCalix hybrid nanomaterial for the detection and removal of Hg²⁺ ion from aqueous media, *Applied Surface Science*, 434, 1217-1223.
- Bilal, M., Asgher, M., Cheng, H., Yan, Y. ve Iqbal, H. M., 2019, Multi-point enzyme immobilization, surface chemistry, and novel platforms: a paradigm shift in biocatalyst design, *Critical reviews in biotechnology*, 39 (2), 202-219.
- Bilal, M. ve Iqbal, H. M., 2019, Tailoring multipurpose biocatalysts via protein engineering approaches: a review, *Catalysis Letters*, 149 (8), 2204-2217.
- Birhanlı, E., Noma, S. A. A., Boran, F., Ulu, A., Yeşilada, Ö. ve Ateş, B., 2022, Design of laccase–metal–organic framework hybrid constructs for biocatalytic removal of textile dyes, *Chemosphere*, 292, 133382.
- Boldyreva, E., 2013, Mechanochemistry of inorganic and organic systems: what is similar, what is different?, *Chemical Society Reviews*, 42 (18), 7719-7738.
- Bornscheuer, U. T., 2003, Immobilizing enzymes: how to create more suitable biocatalysts, *Angewandte Chemie International Edition*, 42 (29), 3336-3337.
- Boudrant, J., Woodley, J. M. ve Fernandez-Lafuente, R., 2020, Parameters necessary to define an immobilized enzyme preparation, *Process Biochemistry*, 90, 66-80.
- Bradford, M. M., 1976, A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical biochemistry*, 72 (1-2), 248-254.
- Braga, D., Giaffreda, S. L., Grepioni, F., Chierotti, M. R., Gobetto, R., Palladino, G. ve Polito, M., 2007, Solvent effect in a “solvent free” reaction, *CrystEngComm*, 9 (10), 879-881.
- Brekalo, I., Martinez, V., Karadeniz, B., Orešković, P., Drapanauskaite, D., Vriesema, H., Stenekes, R., Etter, M., Dejanović, I. ve Baltrusaitis, J., 2022, Scale-Up of Agrochemical Urea-Gypsum Cocrystal Synthesis Using Thermally Controlled Mechanochemistry, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*.
- Bu, F., Chen, W., Gu, J., Agboola, P. O., Al-Khalli, N. F., Shakir, I. ve Xu, Y., 2018, Microwave-assisted CVD-like synthesis of dispersed monolayer/few-layer N-doped graphene encapsulated metal nanocrystals for efficient electrocatalytic oxygen evolution, *Chemical science*, 9 (34), 7009-7016.
- Bukhari, A. A. H., 2023, Preparation of molecularly imprinted silica particles with amino functionality for chiral separation of (±)-naproxen, *Chirality*.

- Bullo, G. T., Marasca, N., Almeida, F. L. C. ve Forte, M. B. S., 2024, Lipases: market study and potential applications of immobilized derivatives, *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*.
- Butova, V. V. e., Soldatov, M. A., Guda, A. A., Lomachenko, K. A. ve Lamberti, C., 2016, Metal-organic frameworks: structure, properties, methods of synthesis and characterization, *Russian Chemical Reviews*, 85 (3), 280.
- Caballero, V., Bautista, F. M., Campelo, J. M., Luna, D., Marinas, J. M., Romero, A. A., Hidalgo, J. M., Luque, R., Macario, A. ve Giordano, G., 2009, Sustainable preparation of a novel glycerol-free biofuel by using pig pancreatic lipase: Partial 1, 3-regiospecific alcoholysis of sunflower oil, *Process Biochemistry*, 44 (3), 334-342.
- Cai, M., Qin, L., You, L., Yao, Y., Wu, H., Zhang, Z., Zhang, L., Yin, X. ve Ni, J., 2020, Functionalization of MOF-5 with mono-substituents: effects on drug delivery behavior, *Rsc Advances*, 10 (60), 36862-36872.
- Cao, H., Gao, Y., Jia, H., Zhang, L., Liu, J., Mu, G., Gui, H., Wang, Y., Yang, C. ve Liu, J., 2022, Macrophage-membrane-camouflaged nonviral gene vectors for the treatment of multidrug-resistant bacterial sepsis, *Nano Letters*, 22 (19), 7882-7891.
- Cao, L., 2005, Immobilised enzymes: science or art?, *Current opinion in chemical biology*, 9 (2), 217-226.
- Cao, S., Zheng, S. ve Pang, H., 2020, Ultrathin nanosheet-assembled accordion-like Ni-MOF for hydrazine hydrate amperometric sensing, *Microchimica Acta*, 187, 1-9.
- Carreon, M. ve Venna, S., 2020, Metal Organic Frameworks History and Structural Features, *World Scientific Publishing Europe Ltd.: Singapore*, 1-29.
- Cavka, J. H., Jakobsen, S., Olsbye, U., Guillou, N., Lamberti, C., Bordiga, S. ve Lillerud, K. P., 2008, A new zirconium inorganic building brick forming metal organic frameworks with exceptional stability, *Journal of the American Chemical Society*, 130 (42), 13850-13851.
- Chai, Y., Zhang, Y., Wang, L., Du, Y., Wang, B., Li, N., Chen, M. ve Ou, L., 2022, In situ one-pot construction of MOF/hydrogel composite beads with enhanced wastewater treatment performance, *Separation and Purification Technology*, 295, 121225.

- Chandra, P., Enespa, Singh, R. ve Arora, P. K., 2020, Microbial lipases and their industrial applications: a comprehensive review, *Microbial cell factories*, 19, 1-42.
- Chapman, J., Ismail, A. E. ve Dinu, C. Z., 2018, Industrial applications of enzymes: Recent advances, techniques, and outlooks, *Catalysts*, 8 (6), 238.
- Chen, C. S., Fujimoto, Y., Girdaukas, G. ve Sih, C. J., 1982, Quantitative analyses of biochemical kinetic resolutions of enantiomers, *Journal of the American Chemical Society*, 104 (25), 7294-7299.
- Chen, J., Sun, B., Sun, C., Zhang, P., Xu, W., Liu, Y., Xiong, B. ve Tang, K., 2020, Immobilization of lipase AYS on UiO-66-NH₂ metal-organic framework nanoparticles as a recyclable biocatalyst for ester hydrolysis and kinetic resolution, *Separation and Purification Technology*, 251, 117398.
- Chen, L., Guo, H., Fujita, T., Hirata, A., Zhang, W., Inoue, A. ve Chen, M., 2011, Nanoporous PdNi bimetallic catalyst with enhanced electrocatalytic performances for electro-oxidation and oxygen reduction reactions, *Advanced Functional Materials*, 21 (22), 4364-4370.
- Chen, S., Wen, L., Svec, F., Tan, T. ve Lv, Y., 2017, Magnetic metal–organic frameworks as scaffolds for spatial co-location and positional assembly of multi-enzyme systems enabling enhanced cascade biocatalysis, *Rsc Advances*, 7 (34), 21205-21213.
- Chen, T.-T., Yi, J.-T., Zhao, Y.-Y. ve Chu, X., 2018, Biomineralized metal–organic framework nanoparticles enable intracellular delivery and endo-lysosomal release of native active proteins, *Journal of the American Chemical Society*, 140 (31), 9912-9920.
- Chen, Z., Hanna, S. L., Redfern, L. R., Alezi, D., Islamoglu, T. ve Farha, O. K., 2019, Reticular chemistry in the rational synthesis of functional zirconium cluster-based MOFs, *Coordination Chemistry Reviews*, 386, 32-49.
- Cheng, N., Ren, L., Xu, X., Du, Y. ve Dou, S. X., 2018, Recent development of zeolitic imidazolate frameworks (ZIFs) derived porous carbon based materials as electrocatalysts, *Advanced Energy Materials*, 8 (25), 1801257.
- Cheng, Q., Ma, Q., Pei, H., Liang, H., Zhang, X., Jin, X., Liu, N., Guo, R. ve Mo, Z., 2023, Chiral metal-organic frameworks materials for racemate resolution, *Coordination Chemistry Reviews*, 484, 215120.

- Cheng, Y., Lai, O.-M., Tan, C.-P., Panpipat, W., Cheong, L.-Z. ve Shen, C., 2021, Proline-modified UIO-66 as nanocarriers to enhance *Candida rugosa* lipase catalytic activity and stability for electrochemical detection of nitrofen, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 13 (3), 4146-4155.
- Chial, H., Thompson, H. ve Splittgerber, A., 1993, A spectral study of the charge forms of Coomassie Blue G, *Analytical biochemistry*, 209 (2), 258-266.
- Chiou, S.-H. ve Wu, W.-T., 2004, Immobilization of *Candida rugosa* lipase on chitosan with activation of the hydroxyl groups, *Biomaterials*, 25 (2), 197-204.
- Chui, S. S.-Y., Lo, S. M.-F., Charmant, J. P., Orpen, A. G. ve Williams, I. D., 1999, A chemically functionalizable nanoporous material $[\text{Cu}_3(\text{TMA})_2(\text{H}_2\text{O})_3]_n$, *Science*, 283 (5405), 1148-1150.
- Collins, E. M., McKervey, M. A., Madigan, E., Moran, M. B., Owens, M., Ferguson, G. ve Harris, S. J., 1991, Chemically modified calix [4] arenes. Regioselective synthesis of 1, 3-(distal) derivatives and related compounds. X-Ray crystal structure of a diphenol-dinitrile, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* (12), 3137-3142.
- Cun, J.-E., Fan, X., Pan, Q., Gao, W., Luo, K., He, B. ve Pu, Y., 2022, Copper-based metal–organic frameworks for biomedical applications, *Advances in Colloid and Interface Science*, 305, 102686.
- De Caro, J., Boudouard, M., Bonicel, J., Guidoni, A., Desnuelle, P. ve Rivery, M., 1981, Porcine pancreatic lipase. Completion of the primary structure, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure*, 671 (2), 129-138.
- Degórska, O., Szada, D., Jesionowski, T. ve Zdarta, J., 2023, A biocatalytic approach for resolution of 3-hydroxy-3-phenylpropanonitrile with the use of immobilized enzymes stabilized with ionic liquids, *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 21, 1593-1597.
- Denoyer, D., Masaldan, S., La Fontaine, S. ve Cater, M. A., 2015, Targeting copper in cancer therapy: ‘Copper That Cancer’, *Metallomics*, 7 (11), 1459-1476.
- Dhake, K. P., Tambade, P. J., Qureshi, Z. S., Singhal, R. S. ve Bhanage, B. M., 2011, HPMC-PVA film immobilized *Rhizopus oryzae* lipase as a biocatalyst for transesterification reaction, *ACS Catalysis*, 1 (4), 316-322.
- DiCosimo, R., McAuliffe, J., Poulouse, A. J. ve Bohlmann, G., 2013, Industrial use of immobilized enzymes, *Chemical Society Reviews*, 42 (15), 6437-6474.

- Dilekoglu, M. F. ve Yapici, M., 2023, Adsorption of naproxen pharmaceutical micropollutant from aqueous solutions on superior activated carbon synthesized from sheep manure: Kinetics, thermodynamics, and mechanism, *Journal of Molecular Liquids*, 381, 121839.
- Do, J.-L. ve Friščić, T., 2017, Chemistry 2.0: developing a new, solvent-free system of chemical synthesis based on mechanochemistry, *Synlett*, 28 (16), 2066-2092.
- Do, J.-L. ve Friščić, T., 2017, Mechanochemistry: a force of synthesis, *ACS central science*, 3 (1), 13-19.
- Dobó, M., Ádám, M., Fiser, B., Papp, L. A., Sekkoum, K., Szabó, Z.-I. ve Tóth, G., 2023, Enantioseparation and modeling study of selected chiral pharmaceuticals on a commercialized phenylcarbamate- β -cyclodextrin column using polar organic mode.
- Dong, H. ve Koenig, G. M., 2020, A review on synthesis and engineering of crystal precursors produced via coprecipitation for multicomponent lithium-ion battery cathode materials, *CrystEngComm*, 22 (9), 1514-1530.
- Dong, X., Xu, C., Lu, S., Wang, R., Shi, Z., Cui, Q. ve You, T., 2021, ZIF-8 coupling with reduced graphene oxide to enhance the electrochemical sensing of dopamine, *Journal of The Electrochemical Society*, 168 (11), 116517.
- Dragoi, B. ve Dumitriu, E., 2005, ARE INTERFACIAL BIOCATALYSTS IMPORTANT TOOLS FOR NONPOLLUTING TECHNOLOGIES? 1. PRODUCTION, STRUCTURAL ASPECTS AND MECHANISM OF LIPASES, *Environmental Engineering & Management Journal (EEMJ)*, 4 (1).
- Du, P., Dong, Y., Liu, C., Wei, W., Liu, D. ve Liu, P., 2018, Fabrication of hierarchical porous nickel based metal-organic framework (Ni-MOF) constructed with nanosheets as novel pseudo-capacitive material for asymmetric supercapacitor, *Journal of colloid and interface science*, 518, 57-68.
- Du, Y., Jia, X., Zhong, L., Jiao, Y., Zhang, Z., Wang, Z., Feng, Y., Bilal, M., Cui, J. ve Jia, S., 2022, Metal-organic frameworks with different dimensionalities: An ideal host platform for enzyme@ MOF composites, *Coordination Chemistry Reviews*, 454, 214327.
- Effaty, F., Ottenwaelder, X. ve Friščić, T., 2021, Mechanochemistry in transition metal-catalyzed reactions, *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 32, 100524.

- Eldin, M. ve Mita, D., 2014, Immobilized enzymes: Strategies for overcoming the substrate diffusion-limitation problem, *Current Biotechnology*, 3 (3), 207-217.
- Eser, A. ve Aydemir, T., 2023, Immobilization of Subtilisin Carlsberg and its use for transesterification of N-acetyl-L-phenylalanine ethyl ester in organic medium, *Bioprocess and biosystems engineering*, 46 (8), 1147-1162.
- Faber, K. ve Faber, K., 2004, Biotransformations in organic chemistry: a textbook, 660.634 F334B., Springer, p.
- Facin, B. R., Melchior, M. S., Valério, A., Oliveira, J. V. ve Oliveira, D. b. d., 2019, Driving immobilized lipases as biocatalysts: 10 years state of the art and future prospects, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 58 (14), 5358-5378.
- Fan, J.-H., Ou, J. ve Tang, K., 2023, Lipase immobilized onto metal-organic frameworks for enantioselective resolution of mandelic acid, *Chemical Engineering & Technology*, 46 (2), 390-397.
- Fan, J., Chen, M., Liu, C., Li, J., Yu, A. ve Zhang, S., 2024, A free carboxyl-decorated metal-organic framework with 3D helical chirality for highly enantioselective recognition, *Talanta*, 268, 125255.
- Farboudi, A., Mahboobnia, K., Chogan, F., Karimi, M., Askari, A., Banihashem, S., Davaran, S. ve Irani, M., 2020, UiO-66 metal organic framework nanoparticles loaded carboxymethyl chitosan/poly ethylene oxide/polyurethane core-shell nanofibers for controlled release of doxorubicin and folic acid, *International journal of biological macromolecules*, 150, 178-188.
- Farha, O. K. ve Hupp, J. T., 2010, Rational design, synthesis, purification, and activation of metal-organic framework materials, *Accounts of Chemical Research*, 43 (8), 1166-1175.
- Farhadi, S., Riahi-Madvar, A., Sargazi, G. ve Mortazavi, M., 2021, Immobilization of *Lepidium draba* peroxidase on a novel Zn-MOF nanostructure, *International journal of biological macromolecules*, 173, 366-378.
- Fatima, S. F., Sabouni, R., Garg, R. ve Gomaa, H., 2023, Recent advances in Metal-Organic Frameworks as nanocarriers for triggered release of anticancer drugs: Brief history, biomedical applications, challenges and future perspective, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 225, 113266.
- Fei, H., Dong, J., Wan, C., Zhao, Z., Xu, X., Lin, Z., Wang, Y., Liu, H., Zang, K. ve Luo, J., 2018, Microwave-assisted rapid synthesis of graphene-supported single atomic metals, *Advanced Materials*, 30 (35), 1802146.

- Felix Sahayaraj, A., Joy Prabu, H., Maniraj, J., Kannan, M., Bharathi, M., Diwahar, P. ve Salamon, J., 2023, Metal–organic frameworks (MOFs): the next generation of materials for catalysis, gas storage, and separation, *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 33 (7), 1757-1781.
- Feng, D., Gu, Z. Y., Li, J. R., Jiang, H. L., Wei, Z. ve Zhou, H. C., 2012, Zirconium-metalloporphyrin PCN-222: mesoporous metal–organic frameworks with ultrahigh stability as biomimetic catalysts, *Angewandte Chemie-International Edition*, 51 (41), 10307.
- Feng, L., Wang, K.-Y., Powell, J. ve Zhou, H.-C., 2019, Controllable synthesis of metal-organic frameworks and their hierarchical assemblies, *Matter*, 1 (4), 801-824.
- Feng, X., Liu, L., Wang, Y., Zhang, C., Liu, G., Tian, Y. ve Zhu, G., 2023, Surfactant-assisted mesopores in hierarchical metal–organic frameworks for the immobilization of model protein Cyt c, *Dalton Transactions*, 52 (26), 9084-9089.
- Feng, Y., Xu, Y., Liu, S., Wu, D., Su, Z., Chen, G., Liu, J. ve Li, G., 2022, Recent advances in enzyme immobilization based on novel porous framework materials and its applications in biosensing, *Coordination Chemistry Reviews*, 459, 214414.
- Férey, G., Serre, C., Mellot-Draznieks, C., Millange, F., Surblé, S., Dutour, J. ve Margiolaki, I., 2004, A hybrid solid with giant pores prepared by a combination of targeted chemistry, simulation, and powder diffraction, *Angewandte Chemie*, 116 (46), 6456-6461.
- Férey, G., Mellot-Draznieks, C., Serre, C., Millange, F., Dutour, J., Surblé, S. ve Margiolaki, I., 2005, A chromium terephthalate-based solid with unusually large pore volumes and surface area, *Science*, 309 (5743), 2040-2042.
- Férey, G., 2008, Hybrid porous solids: past, present, future, *Chemical Society Reviews*, 37 (1), 191-214.
- Flores, J. G., Obeso, J. L., Martínez-Jiménez, V., Martín-Guaregua, N., Islas-Jácome, A., González-Zamora, E., Serrano-Espejel, H., Mondragón-Rodríguez, B., Leyva, C. ve Solís-Casados, D., 2023, Evaluation of the catalytic activity of Zn-MOF-74 for the alcoholysis of cyclohexene oxide, *Rsc Advances*, 13 (39), 27174-27179.

- Friščić, T., Trask, A. V., Jones, W. ve Motherwell, W. S., 2006, Screening for inclusion compounds and systematic construction of three-component solids by liquid-assisted grinding, *Angewandte Chemie*, 118 (45), 7708-7712.
- Friščić, T., Mottillo, C. ve Titi, H. M., 2020, Mechanochemistry for synthesis, *Angewandte Chemie*, 132 (3), 1030-1041.
- Furukawa, Y., Ishiwata, T., Sugikawa, K., Kokado, K. ve Sada, K., 2012, Nano-and micro-sized cubic gel particles from cyclodextrin metal–organic frameworks, *Angewandte Chemie International Edition*, 51 (42), 10566-10569.
- Gan, J., Bagheri, A. R., Aramesh, N., Gul, I., Franco, M., Almulaiky, Y. Q. ve Bilal, M., 2021, Covalent organic frameworks as emerging host platforms for enzyme immobilization and robust biocatalysis—A review, *International journal of biological macromolecules*, 167, 502-515.
- Ganiyu, S. A., Suleiman, M. A., Al-Amrani, W. A., Usman, A. K. ve Onaizi, S. A., 2023, Adsorptive removal of organic pollutants from contaminated waters using zeolitic imidazolate framework composites: A comprehensive and up-to-date review, *Separation and Purification Technology*, 123765.
- Gascon, J. ve Kapteijn, F., 2010, Metal-organic framework membranes—high potential, bright future?, *Angewandte Chemie International Edition*, 49 (9), 1530-1532.
- Gatou, M.-A., Vagena, I.-A., Lagopati, N., Pippa, N., Gazouli, M. ve Pavlatou, E. A., 2023, Functional MOF-Based Materials for Environmental and Biomedical Applications: A Critical Review, *Nanomaterials*, 13 (15), 2224.
- Ge, E. J., Bush, A. I., Casini, A., Cobine, P. A., Cross, J. R., DeNicola, G. M., Dou, Q. P., Franz, K. J., Gohil, V. M. ve Gupta, S., 2022, Connecting copper and cancer: from transition metal signalling to metalloplasia, *Nature Reviews Cancer*, 22 (2), 102-113.
- Ghazali, S., Baalbaki, A., Karroum, W. B., Bejjani, A. ve Ghauch, A., 2024, Investigating naproxen removal from pharmaceutical factory effluents using UVA/MIL-88-A/PS and solar/MIL-88-A/PS systems, *Environmental Science: Advances*, 3 (1), 119-131.
- Gilroy, K. D., Ruditskiy, A., Peng, H.-C., Qin, D. ve Xia, Y., 2016, Bimetallic nanocrystals: syntheses, properties, and applications, *Chemical reviews*, 116 (18), 10414-10472.
- Gimeno-Fonquernie, P., Albalad, J., Price, J. R., Bloch, W. M., Evans, J. D., Doonan, C. J. ve Sumby, C. J., 2024, Topological analysis and control of post-synthetic

- metalation sites in Zr-based metal–organic frameworks, *Journal of Materials Chemistry C*, 12 (7), 2359-2369.
- Główniak, S., Szczęśniak, B., Choma, J. ve Jaroniec, M., 2021, Advances in microwave synthesis of nanoporous materials, *Advanced Materials*, 33 (48), 2103477.
- Goddard, E. D. ve Ananthapadmanabhan, K. P., 1993, Interactions of surfactants with polymers and proteins.
- Gog, A., Roman, M., Toşa, M., Paizs, C. ve Irimie, F. D., 2012, Biodiesel production using enzymatic transesterification–current state and perspectives, *Renewable Energy*, 39 (1), 10-16.
- Gomollón-Bel, F., 2019, Ten Chemical Innovations That Will Change Our World: IUPAC identifies emerging technologies in Chemistry with potential to make our planet more sustainable, *Chemistry International*, 41 (2), 12-17.
- Grepioni, F., Casali, L., Fiore, C., Mazzei, L., Sun, R., Shemchuk, O. ve Braga, D., 2022, Steps towards a nature inspired inorganic crystal engineering, *Dalton Transactions*, 51 (19), 7390-7400.
- Grochulski, P., Li, Y., Schrag, J. D. ve Cygler, M., 1994, Two conformational states of *Candida rugosa* lipase, *Protein Science*, 3 (1), 82-91.
- Guo, H., Xia, Y., Feng, K., Qu, X., Zhang, C. ve Wan, F., 2020, Surface engineering of metal–organic framework as pH-/NIR-responsive nanocarrier for imaging-guided chemo-photothermal therapy, *International journal of nanomedicine*, 3235-3250.
- Guo, H., Liu, J., Li, Y., Caro, J. ve Huang, A., 2021, Post-synthetic modification of highly stable UiO-66-NH₂ membranes on porous ceramic tubes with enhanced H₂ separation, *Microporous and Mesoporous Materials*, 313, 110823.
- Guo, L., Kong, W., Che, Y., Liu, C., Zhang, S., Liu, H., Tang, Y., Yang, X., Zhang, J. ve Xu, C., 2024, Research progress on antibacterial applications of metal-organic frameworks and their biomacromolecule composites, *International journal of biological macromolecules*, 261, 129799.
- Gupta, N. ve Murthy, Z., 2022, Synthesis and application of ZIF-67 on the performance of polysulfone blend membranes, *Materials Today Chemistry*, 23, 100685.
- H Brooks, W., C Guida, W. ve G Daniel, K., 2011, The significance of chirality in drug design and development, *Current topics in medicinal chemistry*, 11 (7), 760-770.

- Han, M. İ. ve Küçükgül, Ş. G., 2020, Anticancer and antimicrobial activities of naproxen and naproxen derivatives, *Mini reviews in medicinal chemistry*, 20 (13), 1300-1310.
- Hancu, G. ve Modroiu, A., 2022, Chiral switch: Between therapeutical benefit and marketing strategy, *Pharmaceuticals*, 15 (2), 240.
- Harrington, P. J. ve Lodewijk, E., 1997, Twenty years of naproxen technology, *Organic Process Research & Development*, 1 (1), 72-76.
- Hasan, Z. ve Jhung, S. H., 2015, Removal of hazardous organics from water using metal-organic frameworks (MOFs): Plausible mechanisms for selective adsorptions, *Journal of hazardous materials*, 283, 329-339.
- Hassan, N., Shahat, A., El-Didamony, A., El-Desouky, M. ve El-Bindary, A., 2020, Synthesis and characterization of ZnO nanoparticles via zeolitic imidazolate framework-8 and its application for removal of dyes, *Journal of Molecular Structure*, 1210, 128029.
- Hassanpour, S., Niaei, N. ve Petr, J., 2022, Metal–Organic Frameworks-Based Analytical Devices for Chiral Sensing and Separations: A Review (2012–2022), *Chemosensors*, 11 (1), 29.
- Hauer, B., 2020, Embracing nature’s catalysts: a viewpoint on the future of biocatalysis, *ACS Catalysis*, 10 (15), 8418-8427.
- He, C., Lu, K., Liu, D. ve Lin, W., 2014, Nanoscale metal–organic frameworks for the co-delivery of cisplatin and pooled siRNAs to enhance therapeutic efficacy in drug-resistant ovarian cancer cells, *Journal of the American Chemical Society*, 136 (14), 5181-5184.
- He, J., Lv, W., Chen, Y., Xiong, J., Wen, K., Xu, C., Zhang, W., Li, Y., Qin, W. ve He, W., 2018, Direct impregnation of SeS₂ into a MOF-derived 3D nanoporous Co–N–C architecture towards superior rechargeable lithium batteries, *Journal of Materials Chemistry A*, 6 (22), 10466-10473.
- He, J., Pei, C., Yang, Y., Lai, B., Sun, Y. ve Yang, L., 2021, The structural design and valence state control of cerium-based metal-organic frameworks for their highly efficient phosphate removal, *Journal of Cleaner Production*, 321, 128778.
- He, T., Liu, R., Wang, S., On, I. K. W., Wu, Y., Xing, Y., Yuan, W., Guo, J. ve Zhao, Y., 2023, Bottom–Up Design of Photoactive Chiral Covalent Organic Frameworks for Visible-Light-Driven Asymmetric Catalysis, *Journal of the American Chemical Society*, 145 (32), 18015-18021.

- Henglein, A., 1987, Sonochemistry: historical developments and modern aspects, *Ultrasonics*, 25 (1), 6-16.
- Hirlekar, S., Ray, D., Aswal, V. K., Prabhune, A., Nisal, A. ve Ravindranathan, S., 2019, Silk Fibroin–Sodium Dodecyl Sulfate Gelation: Molecular, Structural, and Rheological Insights, *Langmuir*, 35 (46), 14870-14878.
- Hollenbach, R. ve Ochsenreither, K., 2023, Mechanoenzymatic Reactions–Challenges and Perspectives, *ChemCatChem*, 15 (21), e202300656.
- Homaei, A. A., Sariri, R., Vianello, F. ve Stevanato, R., 2013, Enzyme immobilization: an update, *Journal of chemical biology*, 6, 185-205.
- Horcajada, P., Serre, C., Vallet-Regí, M., Sebban, M., Taulelle, F. ve Férey, G., 2006, Metal–organic frameworks as efficient materials for drug delivery, *Angewandte Chemie International Edition*, 45 (36), 5974-5978.
- Hoskins, B. F. ve Robson, R., 1990, Design and construction of a new class of scaffolding-like materials comprising infinite polymeric frameworks of 3D-linked molecular rods. A reappraisal of the zinc cyanide and cadmium cyanide structures and the synthesis and structure of the diamond-related frameworks [N(CH₃)₄][CuIZnII(CN)₄] and CuI [4, 4', 4'', 4'''-tetracyanotetraphenylmethane] BF₄. xC₆H₅NO₂, *Journal of the American Chemical Society*, 112 (4), 1546-1554.
- Howard, J. L., Cao, Q. ve Browne, D. L., 2018, Mechanochemistry as an emerging tool for molecular synthesis: what can it offer?, *Chemical science*, 9 (12), 3080-3094.
- Howarth, A. J., Liu, Y., Li, P., Li, Z., Wang, T. C., Hupp, J. T. ve Farha, O. K., 2016, Chemical, thermal and mechanical stabilities of metal–organic frameworks, *Nature Reviews Materials*, 1 (3), 1-15.
- Hu, M.-L., Joharian, M., Razavi, S. A. A., Morsali, A., Wu, D.-Z., Tehrani, A. A., Wang, J., Junk, P. C. ve Guo, Z.-F., 2021, Phenolic nitroaromatics detection by fluorinated metal-organic frameworks: Barrier elimination for selective sensing of specific group of nitroaromatics, *Journal of hazardous materials*, 406, 124501.
- Hu, Y., Dai, L., Liu, D., Du, W. ve Wang, Y., 2018, Progress & prospect of metal-organic frameworks (MOFs) for enzyme immobilization (enzyme/MOFs), *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 91, 793-801.

- Hu, Y., Li, W., Wei, Z., Yang, H., Wang, Y. ve Li, S., 2023, Advances in electrochemical sensing with ZIF-67 and related materials, *International Journal of Electrochemical Science*, 18 (7), 100180.
- Hua, Y., Li, X., Chen, C. ve Pang, H., 2019, Cobalt based metal-organic frameworks and their derivatives for electrochemical energy conversion and storage, *Chemical Engineering Journal*, 370, 37-59.
- Huang, Y.-H., Lo, W.-S., Kuo, Y.-W., Chen, W.-J., Lin, C.-H. ve Shieh, F.-K., 2017, Green and rapid synthesis of zirconium metal-organic frameworks via mechanochemistry: UiO-66 analog nanocrystals obtained in one hundred seconds, *Chemical Communications*, 53 (43), 5818-5821.
- Huang, Z., Yu, H., Wang, L., Liu, X., Ren, S. ve Liu, J., 2022, Ferrocene-modified UiO-66-NH₂ hybrids with g-C₃N₄ as enhanced photocatalysts for degradation of bisphenol A under visible light, *Journal of hazardous materials*, 436, 129052.
- Hung, T.-C., Giridhar, R., Chiou, S.-H. ve Wu, W.-T., 2003, Binary immobilization of *Candida rugosa* lipase on chitosan, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 26 (1-2), 69-78.
- Hwang, D.-W., Lee, S., Seo, M. ve Chung, T. D., 2018, Recent advances in electrochemical non-enzymatic glucose sensors—a review, *Analytica Chimica Acta*, 1033, 1-34.
- Ighalo, J. O., Rangabhashiyam, S., Adeyanju, C. A., Ogunniyi, S., Adeniyi, A. G. ve Igwegbe, C. A., 2022, Zeolitic imidazolate frameworks (ZIFs) for aqueous phase adsorption—a review, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 105, 34-48.
- Ishida, S., Andreux, P., Poitry-Yamate, C., Auwerx, J. ve Hanahan, D., 2013, Bioavailable copper modulates oxidative phosphorylation and growth of tumors, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110 (48), 19507-19512.
- Issaka, E., Amu-Darko, J. N. O., Adams, M., Yakubu, S., Gyimah, E., Ali, N., Cui, J. ve Bilal, M., 2023, Zinc imidazolate metal-organic frameworks-8-encapsulated enzymes/nanoenzymes for biocatalytic and biomedical applications, *Catalysis Letters*, 153 (7), 2083-2106.
- Iuliano, M., Sarno, M., De Pasquale, S. ve Ponticorvo, E., 2020, *Candida rugosa* lipase for the biodiesel production from renewable sources, *Renewable Energy*, 162, 124-133.

- Jadhav, H. S., Bandal, H. A., Ramakrishna, S. ve Kim, H., 2022, Critical review, recent updates on zeolitic imidazolate framework-67 (ZIF-67) and its derivatives for electrochemical water splitting, *Advanced Materials*, 34 (11), 2107072.
- James, S. L., Adams, C. J., Bolm, C., Braga, D., Collier, P., Friščić, T., Grepioni, F., Harris, K. D., Hyett, G. ve Jones, W., 2012, Mechanochemistry: opportunities for new and cleaner synthesis, *Chemical Society Reviews*, 41 (1), 413-447.
- Jangi, S. R. H., Akhond, M. ve Dehghani, Z., 2020, High throughput covalent immobilization process for improvement of shelf-life, operational cycles, relative activity in organic media and enzymatic kinetics of urease and its application for urea removal from water samples, *Process Biochemistry*, 90, 102-112.
- Jangi, S. R. H. ve Akhond, M., 2021, High throughput urease immobilization onto a new metal-organic framework called nanosized electroactive quasi-coral-340 (NEQC-340) for water treatment and safe blood cleaning, *Process Biochemistry*, 105, 79-90.
- Jasim, S. A., Amin, H. I. M., Rajabizadeh, A., Nobre, M. A. L., Borhani, F., Jalil, A. T., Saleh, M. M., Kadhim, M. M. ve Khatami, M., 2022, Synthesis characterization of Zn-based MOF and their application in degradation of water contaminants, *Water Science & Technology*, 86 (9), 2303-2335.
- Jia, C., Li, S., Zhao, Y., Hocking, R. K., Ren, W., Chen, X., Su, Z., Yang, W., Wang, Y. ve Zheng, S., 2021, Nitrogen vacancy induced coordinative reconstruction of single-atom Ni catalyst for efficient electrochemical CO₂ reduction, *Advanced Functional Materials*, 31 (51), 2107072.
- Jiang, X.-L., Mao, R., Li, Z.-L., Chen, F.-S., Xu, B., He, J., Huang, Y.-X. ve Fang, X.-M., 2023, Tree species mixture effect on extracellular enzyme kinetics varies with enzyme type and soil depth in subtropical plantations, *Plant and Soil*, 493 (1), 267-282.
- Jiao, L., Seow, J. Y. R., Skinner, W. S., Wang, Z. U. ve Jiang, H.-L., 2019, Metal-organic frameworks: Structures and functional applications, *Materials Today*, 27, 43-68.
- Jin, C.-X. ve Shang, H.-B., 2021, Synthetic methods, properties and controlling roles of synthetic parameters of zeolite imidazole framework-8: a review, *Journal of Solid State Chemistry*, 297, 122040.

- Julien, P. A., Užarević, K., Katsenis, A. D., Kimber, S. A., Wang, T., Farha, O. K., Zhang, Y., Casaban, J., Germann, L. S. ve Etter, M., 2016, In situ monitoring and mechanism of the mechanochemical formation of a microporous MOF-74 framework, *Journal of the American Chemical Society*, 138 (9), 2929-2932.
- Kaabel, S., Friščić, T. ve Auclair, K., 2020, Mechanoenzymatic transformations in the absence of bulk water: A more natural way of using enzymes, *ChemBioChem*, 21 (6), 742-758.
- Kabtam, D. M., Wu, Y.-n. ve Li, F., 2020, Hierarchically porous metal–organic frameworks: Synthesis strategies, structure (s), and emerging applications in decontamination, *Journal of hazardous materials*, 397, 122765.
- Karadeniz, B., Žilić, D., Huskić, I., Germann, L. S., Fidelli, A. M., Muratović, S., Lončarić, I., Etter, M., Dinnebier, R. E. ve Barišić, D., 2019, Controlling the polymorphism and topology transformation in porphyrinic zirconium metal–organic frameworks via mechanochemistry, *Journal of the American Chemical Society*, 141 (49), 19214-19220.
- Karimi-Maleh, H., Yola, M. L., Atar, N., Orooji, Y., Karimi, F., Kumar, P. S., Rouhi, J. ve Baghayeri, M., 2021, A novel detection method for organophosphorus insecticide fenamiphos: Molecularly imprinted electrochemical sensor based on core-shell Co₃O₄@ MOF-74 nanocomposite, *Journal of colloid and interface science*, 592, 174-185.
- Karimian, E., Marandi, A., Kardanpour, R., Rafiei, S., Amirghofran, Z., Tangestaninejad, S., Moghadam, M., Mirkhani, V. ve Mohammadpoor-Baltork, I., 2023, The enzymatic synthesis of lactose caprate using *Candida rugosa* lipase immobilized into ZIF-8 and investigation of its anticancer applications against K562 leukemia and HeLa cancer cells, *Rsc Advances*, 13 (50), 35639-35647.
- Keramatnia, M., Ramezanzadeh, B. ve Mahdavian, M., 2024, Unlocking the potential of a zirconium-based MOF for advanced protective coatings: Delve into the UIO-66 smart release functioning for a bio-based Zn²⁺ complex, *Surface and Coatings Technology*, 481, 130578.
- Keskin, S. ve Kızılel, S., 2011, Biomedical applications of metal organic frameworks, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 50 (4), 1799-1812.
- Khalil, I. E., Fonseca, J., Reithofer, M. R., Eder, T. ve Chin, J. M., 2023, Tackling orientation of metal-organic frameworks (MOFs): The quest to enhance MOF performance, *Coordination Chemistry Reviews*, 481, 215043.

- Khan, N. A., Hasan, Z. ve Jung, S. H., 2013, Adsorptive removal of hazardous materials using metal-organic frameworks (MOFs): A review, *Journal of hazardous materials*, 244, 444-456.
- Kim, D., Kang, M., Ha, H., Hong, C. S. ve Kim, M., 2021, Multiple functional groups in metal-organic frameworks and their positional regioisomerism, *Coordination Chemistry Reviews*, 438, 213892.
- Kim, H. ve Hong, C. S., 2021, MOF-74-type frameworks: Tunable pore environment and functionality through metal and ligand modification, *CrystEngComm*, 23 (6), 1377-1387.
- Kim, M., Xin, R., Earnshaw, J., Tang, J., Hill, J. P., Ashok, A., Nanjundan, A. K., Kim, J., Young, C. ve Sugahara, Y., 2022, MOF-derived nanoporous carbons with diverse tunable nanoarchitectures, *Nature Protocols*, 1-42.
- Kim, M., Njaramba, L. K., Yoon, Y., Jang, M. ve Park, C. M., 2024, Thermally-activated gelatin-chitosan-MOF hybrid aerogels for efficient removal of ibuprofen and naproxen, *Carbohydrate Polymers*, 324, 121436.
- Kirchon, A., Feng, L., Drake, H. F., Joseph, E. A. ve Zhou, H.-C., 2018, From fundamentals to applications: a toolbox for robust and multifunctional MOF materials, *Chemical Society Reviews*, 47 (23), 8611-8638.
- Kishimoto, F., Yoshioka, T., Ishibashi, R., Yamada, H., Muraoka, K., Taniguchi, H., Wakiyama, T. ve Takanabe, K., 2023, Direct microwave energy input on a single cation for outstanding selective catalysis, *Science Advances*, 9 (33), eadi1744.
- Kitagawa, S., Kitaura, R. ve Noro, S. i., 2004, Functional porous coordination polymers, *Angewandte Chemie International Edition*, 43 (18), 2334-2375.
- Klimakow, M., Klobes, P., Thunemann, A. F., Rademann, K. ve Emmerling, F., 2010, Mechanochemical synthesis of metal-organic frameworks: a fast and facile approach toward quantitative yields and high specific surface areas, *Chemistry of Materials*, 22 (18), 5216-5221.
- Klinowski, J., Paz, F. A. A., Silva, P. ve Rocha, J., 2011, Microwave-assisted synthesis of metal-organic frameworks, *Dalton Transactions*, 40 (2), 321-330.
- Krishnamoorthy, L., Cotruvo Jr, J. A., Chan, J., Kaluarachchi, H., Muchenditsi, A., Pendyala, V. S., Jia, S., Aron, A. T., Ackerman, C. M. ve Wal, M. N. V., 2016, Copper regulates cyclic-AMP-dependent lipolysis, *Nature chemical biology*, 12 (8), 586-592.

- Kruger, N. J., 2009, The Bradford method for protein quantitation, *The protein protocols handbook*, 17-24.
- Kuang, X., Ma, Y., Su, H., Zhang, J., Dong, Y.-B. ve Tang, B., 2014, High-performance liquid chromatographic enantioseparation of racemic drugs based on homochiral metal–organic framework, *Analytical Chemistry*, 86 (2), 1277-1281.
- Lad, M. D., Ledger, V. M., Briggs, B., Green, R. J. ve Frazier, R. A., 2003, Analysis of the SDS– lysozyme binding isotherm, *Langmuir*, 19 (12), 5098-5103.
- Lai, W., Wei, Q., Xu, M., Zhuang, J. ve Tang, D., 2017, Enzyme-controlled dissolution of MnO₂ nanoflakes with enzyme cascade amplification for colorimetric immunoassay, *Biosensors and Bioelectronics*, 89, 645-651.
- Lam, P. K., Vo, T. H., Chen, J.-H., Lin, S.-W., Kuo, C.-L., Liao, J.-J., Chen, K.-Y., Huang, S.-R., Li, D. ve Chang, Y.-H., 2023, A green and ultrafast one-pot mechanochemical approach for efficient biocatalyst encapsulation in MOFs: insights from experiments and computation, *Journal of Materials Chemistry A*, 11 (45), 24678-24685.
- Lashgari, S. M., Yari, H., Mahdavian, M., Ramezanzadeh, B., Bahlakeh, G. ve Ramezanzadeh, M., 2021, Application of nanoporous cobalt-based ZIF-67 metal-organic framework (MOF) for construction of an epoxy-composite coating with superior anti-corrosion properties, *Corrosion Science*, 178, 109099.
- Laurent, S., Forge, D., Port, M., Roch, A., Robic, C., Vander Elst, L. ve Muller, R. N., 2008, Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications, *Chemical reviews*, 108 (6), 2064-2110.
- Lawson, S., Newport, K., Schueddig, K., Rownaghi, A. A. ve Rezaei, F., 2020, Optimizing ibuprofen concentration for rapid pharmacokinetics on biocompatible zinc-based MOF-74 and UTSA-74, *Materials Science and Engineering: C*, 117, 111336.
- Lázaro, I. A., Haddad, S., Sacca, S., Orellana-Tavra, C., Fairen-Jimenez, D. ve Forgan, R. S., 2017, Selective surface PEGylation of UiO-66 nanoparticles for enhanced stability, cell uptake, and pH-responsive drug delivery, *Chem*, 2 (4), 561-578.
- Le, H. ve Compton, R. G., 2021, Electrochemical processes mediated via adsorbed Enzymes: Flat and porous electrodes Compared. Understanding Nano-confinement, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 895, 115448.

- Lee, D. B., Roberts, M., Bluchel, C. G. ve Odell, R. A., 2010, Zirconium: biomedical and nephrological applications, *Asaio Journal*, 56 (6), 550-556.
- Lee, S., Lee, T. Y., Kim, D. J., Kim, B. ve Kim, S.-H., 2018, Osmotic-Stress-Mediated Control of Membrane Permeability of Polymeric Microcapsules, *Chemistry of Materials*, 30 (20), 7211-7220.
- Lee, T., Chang, Y. H. ve Lee, H. L., 2017, Crystallization process development of metal–organic frameworks by linking secondary building units, lattice nucleation and luminescence: insight into reproducibility, *CrystEngComm*, 19 (3), 426-441.
- Leonardi, M., Villacampa, M. ve Menéndez, J. C., 2018, Multicomponent mechanochemical synthesis, *Chemical science*, 9 (8), 2042-2064.
- Li, B., Wen, H. M., Cui, Y., Zhou, W., Qian, G. ve Chen, B., 2016, Emerging multifunctional metal–organic framework materials, *Advanced Materials*, 28 (40), 8819-8860.
- Li, D., Yadav, A., Zhou, H., Roy, K., Thanasekaran, P. ve Lee, C., 2024, Advances and Applications of Metal-Organic Frameworks (MOFs) in Emerging Technologies: A Comprehensive Review, *Global Challenges*, 8 (2), 2300244.
- Li, H., Eddaoudi, M., O'Keeffe, M. ve Yaghi, O. M., 1999, Design and synthesis of an exceptionally stable and highly porous metal-organic framework, *nature*, 402 (6759), 276-279.
- Li, R., Li, X., Tian, D., Liu, X. ve Wu, Z., 2023a, Amino-functionalized MOF immobilized laccase for enhancing enzyme activity stability and degrading Congo red, *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 143, 104647.
- Li, X., Lin, L., Chen, T., Park, S., Bae, M., Cho, Y., Lee, J., Zhang, W., Piao, Y. ve Diao, G., 2023b, Rapid synthesis of oxygen-enriched porous carbon through a microwave method and its application in supercapacitors, *Langmuir*, 39 (19), 6914-6923.
- Li, Y., Karimi, M., Gong, Y.-N., Dai, N., Safarifard, V. ve Jiang, H.-L., 2021, Integration of metal-organic frameworks and covalent organic frameworks: Design, synthesis, and applications, *Matter*, 4 (7), 2230-2265.
- Li, Y., Wang, R., Liu, X., Li, K. ve Xu, Q., 2023c, Recent advances in MOF-bio-interface: A review, *Nanotechnology*.

- Li, Y., Zhao, L., Li, J., Xie, S. ve Liang, N., 2023d, Synthesis of Cyclodextrin-based MOFs incorporating amino acid chiral ligands for chiral separation of naproxen enantiomers, *Microchemical Journal*, 190, 108684.
- Li, Z., Zhang, W., Tao, M., Shen, L., Li, R., Zhang, M., Jiao, Y., Hong, H., Xu, Y. ve Lin, H., 2022, In-situ growth of UiO-66-NH₂ in porous polymeric substrates at room temperature for fabrication of mixed matrix membranes with fast molecular separation performance, *Chemical Engineering Journal*, 435, 134804.
- Liang, J., Gao, S., Liu, J., Zulkifli, M. Y., Xu, J., Scott, J., Chen, V., Shi, J., Rawal, A. ve Liang, K., 2021a, Hierarchically porous biocatalytic MOF microreactor as a versatile platform towards enhanced multienzyme and cofactor-dependent biocatalysis, *Angewandte Chemie*, 133 (10), 5481-5488.
- Liang, K., Ricco, R., Doherty, C. M., Styles, M. J., Bell, S., Kirby, N., Mudie, S., Haylock, D., Hill, A. J. ve Doonan, C. J., 2015, Biomimetic mineralization of metal-organic frameworks as protective coatings for biomacromolecules, *Nature communications*, 6 (1), 1-8.
- Liang, W., Xu, H., Carraro, F., Maddigan, N. K., Li, Q., Bell, S. G., Huang, D. M., Tarzia, A., Solomon, M. B. ve Amenitsch, H., 2019, Enhanced activity of enzymes encapsulated in hydrophilic metal-organic frameworks, *Journal of the American Chemical Society*, 141 (6), 2348-2355.
- Liang, W., Wied, P., Carraro, F., Sumby, C. J., Nidetzky, B., Tsung, C.-K., Falcaro, P. ve Doonan, C. J., 2021b, Metal-organic framework-based enzyme biocomposites, *Chemical reviews*, 121 (3), 1077-1129.
- Liese, A. ve Hilterhaus, L., 2013, Evaluation of immobilized enzymes for industrial applications, *Chemical Society Reviews*, 42 (15), 6236-6249.
- Lin, Y., Baggett, D. W., Kim, J.-W., Siochi, E. J. ve Connell, J. W., 2011, Instantaneous formation of metal and metal oxide nanoparticles on carbon nanotubes and graphene via solvent-free microwave heating, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 3 (5), 1652-1664.
- Liu, B., Jiang, M., Zhu, D., Zhang, J. ve Wei, G., 2022a, Metal-organic frameworks functionalized with nucleic acids and amino acids for structure-and function-specific applications: A tutorial review, *Chemical Engineering Journal*, 428, 131118.
- Liu, C., Wang, J., Wan, J. ve Yu, C., 2021a, MOF-on-MOF hybrids: Synthesis and applications, *Coordination Chemistry Reviews*, 432, 213743.

- Liu, C., Bai, Y., Li, W., Yang, F., Zhang, G. ve Pang, H., 2022b, In situ growth of three-dimensional MXene/metal–organic framework composites for high-performance supercapacitors, *Angewandte Chemie International Edition*, 61 (11), e202116282.
- Liu, D.-M., Chen, J. ve Shi, Y.-P., 2018, Advances on methods and easy separated support materials for enzymes immobilization, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 102, 332-342.
- Liu, J. ve Zhang, J., 2020, Nanointerface chemistry: lattice-mismatch-directed synthesis and application of hybrid nanocrystals, *Chemical reviews*, 120 (4), 2123-2170.
- Liu, J., Liang, J., Xue, J. ve Liang, K., 2021b, Metal–organic frameworks as a versatile materials platform for unlocking new potentials in biocatalysis, *Small*, 17 (32), 2100300.
- Liu, X., Demir, N. K., Wu, Z. ve Li, K., 2015, Highly water-stable zirconium metal–organic framework UiO-66 membranes supported on alumina hollow fibers for desalination, *Journal of the American Chemical Society*, 137 (22), 6999-7002.
- Liu, X., Zou, F., Liu, K., Qiang, Z., Taubert, C. J., Ustriyana, P., Vogt, B. D. ve Zhu, Y., 2017, A binary metal organic framework derived hierarchical hollow Ni₃S₂/Co₉S₈/N-doped carbon composite with superior sodium storage performance, *Journal of Materials Chemistry A*, 5 (23), 11781-11787.
- Liu, X., Ma, Y., Liu, Q., Wei, X., Yang, J. ve Yu, L., 2019, Chiral extraction of amino acid and mandelic acid enantiomers using chiral diphosphine ligands with tunable dihedral angles, *Separation and Purification Technology*, 221, 159-165.
- Lu, S., Hummel, M., Chen, K., Zhou, Y., Kang, S. ve Gu, Z., 2020, Synthesis of Au@ZIF-8 nanocomposites for enhanced electrochemical detection of dopamine, *Electrochemistry Communications*, 114, 106715.
- Lu, W., Wei, Z., Gu, Z.-Y., Liu, T.-F., Park, J., Park, J., Tian, J., Zhang, M., Zhang, Q. ve Gentle III, T., 2014, Tuning the structure and function of metal–organic frameworks via linker design, *Chemical Society Reviews*, 43 (16), 5561-5593.
- Lu, Y., Pan, Q., Gao, W., Pu, Y., Luo, K., He, B. ve Gu, Z., 2022, Leveraging disulfiram to treat cancer: Mechanisms of action, delivery strategies, and treatment regimens, *Biomaterials*, 281, 121335.
- Łuczak, J., Kroczeńska, M., Baluk, M., Sowik, J., Mazierski, P. ve Zaleska-Medynska, A., 2023, Morphology control through the synthesis of metal-organic frameworks, *Advances in Colloid and Interface Science*, 102864.

- Lun, H., Ouyang, J. ve Yang, H., 2014, Enhancing dispersion of halloysite nanotubes via chemical modification, *Physics and Chemistry of Minerals*, 41, 281-288.
- Ma, Y., Qu, X., Liu, C., Xu, Q. ve Tu, K., 2021, Metal-organic frameworks and their composites towards biomedical applications, *Frontiers in molecular biosciences*, 8, 805228.
- Ma, Z.-J., Li, W., Yu, J.-M., Zhang, Z., Zhu, X.-Q., Xiong, W.-W. ve Huang, X.-Y., 2020, Syntheses, structures and properties of a series of heterometallic-organic frameworks based on pyridinedicarboxylic acids, *Journal of Solid State Chemistry*, 285, 121248.
- Mahmoud, L. A., Dos Reis, R. A., Chen, X., Ting, V. P. ve Nayak, S., 2022, Metal–Organic Frameworks as Potential Agents for Extraction and Delivery of Pesticides and Agrochemicals, *ACS omega*.
- Mallakpour, S., Nikkhoo, E. ve Hussain, C. M., 2022, Application of MOF materials as drug delivery systems for cancer therapy and dermal treatment, *Coordination Chemistry Reviews*, 451, 214262.
- Mane, S., 2016, Racemic drug resolution: a comprehensive guide, *Analytical Methods*, 8 (42), 7567-7586.
- Mannias, G., Scano, A., Pilloni, M., Magner, E. ve Ennas, G., 2022, Tailoring MOFs to Biomedical Applications: A Chimera or a Concrete Reality? The Case Study of Fe-BTC by bio-friendly Mechanochemistry, *Comments on Inorganic Chemistry*, 1-21.
- Mannias, G., Scano, A., Pilloni, M., Magner, E. ve Ennas, G., 2023, Tailoring MOFs to Biomedical Applications: A Chimera or a Concrete Reality? The Case Study of Fe-BTC by bio-friendly Mechanochemistry, *Comments on Inorganic Chemistry*, 43 (6), 479-499.
- Manocha, S. M., 2003, Porous carbons, *Sadhana*, 28, 335-348.
- Manoel, E. A., Pinto, M., dos Santos, J. C., Tacias-Pascacio, V. G., Freire, D. M., Pinto, J. C. ve Fernandez-Lafuente, R., 2016, Design of a core–shell support to improve lipase features by immobilization, *Rsc Advances*, 6 (67), 62814-62824.
- Martinez, V., Karadeniz, B., Biliškov, N., Lončarić, I., Muratović, S., Žilić, D., Avdoshenko, S. M., Roslova, M., Popov, A. A. ve Užarević, K., 2020, Tunable fulleretic sodalite MOFs: highly efficient and controllable entrapment of C60 fullerene via mechanochemistry, *Chemistry of Materials*, 32 (24), 10628-10640.

- Martinez, V., Stolar, T., Karadeniz, B., Brekalo, I. ve Užarević, K., 2023, Advancing mechanochemical synthesis by combining milling with different energy sources, *Nature Reviews Chemistry*, 7 (1), 51-65.
- Mary, Y. S., Ushakumari, L., Harikumar, B., Varghese, H. T. ve Panicker, C. Y., 2009, FT-IR, FT-Raman and SERS spectra of L-proline, *Journal of the Iranian Chemical Society*, 6, 138-144.
- Mathesh, M., Luan, B., Akanbi, T. O., Weber, J. K., Liu, J., Barrow, C. J., Zhou, R. ve Yang, W., 2016, Opening lids: modulation of lipase immobilization by graphene oxides, *ACS Catalysis*, 6 (7), 4760-4768.
- McGuire, C. V. ve Forgan, R. S., 2015, The surface chemistry of metal-organic frameworks, *Chemical Communications*, 51 (25), 5199-5217.
- McHugh, L. N., Thorne, M. F., Chester, A. M., Etter, M., Užarević, K. ve Bennett, T. D., 2022, Mechanochemically synthesised dicyanamide hybrid organic-inorganic perovskites, and their melt-quenched glasses, *Chemical Communications*, 58 (24), 3949-3952.
- McNaught, A. D. ve Wilkinson, A., 1997, Compendium of chemical terminology, Blackwell Science Oxford, p.
- Meena, M., Divyanshu, K., Kumar, S., Swapnil, P., Zehra, A., Shukla, V., Yadav, M. ve Upadhyay, R., 2019, Regulation of L-proline biosynthesis, signal transduction, transport, accumulation and its vital role in plants during variable environmental conditions, *Heliyon*, 5 (12).
- Memon, S., Yilmaz, A., Roundhill, D. M. ve Yilmaz, M., 2004, Synthesis of polymeric calix [4] arene dinitrile and diamino-derivatives: Exploration of their extraction properties towards dichromate anion, *Journal of Macromolecular Science, Part A*, 41 (4), 433-447.
- Mendes, A. A., Oliveira, P. C. ve de Castro, H. F., 2012, Properties and biotechnological applications of porcine pancreatic lipase, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 78, 119-134.
- Meng, F., Fang, Z., Li, Z., Xu, W., Wang, M., Liu, Y., Zhang, J., Wang, W., Zhao, D. ve Guo, X., 2013, Porous Co₃O₄ materials prepared by solid-state thermolysis of a novel Co-MOF crystal and their superior energy storage performances for supercapacitors, *Journal of Materials Chemistry A*, 1 (24), 7235-7241.

- Miao, P., Chen, J., Xu, G., Yu, T. ve Du, Y., 2024, Enantiomeric analysis of chiral phenyl aromatic compounds by coated capillary electrochromatography based on a MOF-on-MOF stationary phase, *Microchimica Acta*, 191 (3), 160.
- Michaeli, K., Kantor-Uriel, N., Naaman, R. ve Waldeck, D. H., 2016, The electron's spin and molecular chirality–how are they related and how do they affect life processes?, *Chemical Society Reviews*, 45 (23), 6478-6487.
- Michalchuk, A. A., Boldyreva, E. V., Belenguer, A. M., Emmerling, F. ve Boldyrev, V. V., 2021, Tribochemistry, mechanical alloying, mechanochemistry: what is in a name?, *Frontiers in chemistry*, 9, 685789.
- Mirsalami, S. M., Mirsalami, M. ve Ghodousian, A., 2024, Techniques for immobilizing enzymes to create durable and effective biocatalysts, *Results in Chemistry*, 101486.
- Mo, P., Fu, D., Chen, P., Zhang, Q., Zheng, X., Hao, J., Zhuang, X., Liu, H., Liu, G. ve Lv, W., 2021, Ionic covalent organic frameworks for Non-Steroidal Anti-Inflammatory drugs (NSAIDs) removal from aqueous Solution: Adsorption performance and mechanism, *Separation and Purification Technology*, 278, 119238.
- Mo, Z., Sun, Y., Chen, H., Zhang, P., Zuo, D., Liu, Y. ve Li, H., 2005, Preparation and characterization of a PMMA/Ce (OH) ₃, Pr₂O₃/graphite nanosheet composite, *Polymer*, 46 (26), 12670-12676.
- Moghadam, P. Z., Li, A., Wiggin, S. B., Tao, A., Maloney, A. G., Wood, P. A., Ward, S. C. ve Fairen-Jimenez, D., 2017, Development of a Cambridge Structural Database subset: a collection of metal–organic frameworks for past, present, and future, *Chemistry of Materials*, 29 (7), 2618-2625.
- Moghadam, P. Z., Li, A., Liu, X.-W., Bueno-Perez, R., Wang, S.-D., Wiggin, S. B., Wood, P. A. ve Fairen-Jimenez, D., 2020, Targeted classification of metal–organic frameworks in the Cambridge structural database (CSD), *Chemical science*, 11 (32), 8373-8387.
- Mohamed, A. M., Abbas, W. A., Khedr, G. E., Abass, W. ve Allam, N. K., 2022, Computational and experimental elucidation of the boosted stability and antibacterial activity of ZIF-67 upon optimized encapsulation with polyoxometalates, *Scientific reports*, 12 (1), 15989.

- Mohamed, S. A., Almulaiky, Y. Q., Ahmed, Y. M., Al-Bar, O. A. ve Ibrahim, I. H., 2014, Purification and characterization of α -Amylase from Miswak *Salvadora persica*, *BMC complementary and alternative medicine*, 14, 1-10.
- Mohammadi, A., Eslamiyeh, M., Beigi-Boroujeni, S. ve Ghalei, B., 2023, Antibacterial waterborne polyurethane coatings impregnated with in-situ formed and capped silver nanoparticles via p-sulfonatocalix [4] arene, *Progress in Organic Coatings*, 180, 107551.
- Moharramnejad, M., Ehsani, A., Salmani, S., Shahi, M., Malekshah, R. E., Robatjazi, Z. S. ve Parsimehr, H., 2022, Zinc-based metal-organic frameworks: Synthesis and recent progress in biomedical application, *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 32 (9), 3339-3354.
- Moosavi, S. M., Nandy, A., Jablonka, K. M., Ongari, D., Janet, J. P., Boyd, P. G., Lee, Y., Smit, B. ve Kulik, H. J., 2020, Understanding the diversity of the metal-organic framework ecosystem, *Nature communications*, 11 (1), 1-10.
- Moradi, B., Faramarzi, A., Ghasemi-Esmailabad, S., Aghaz, F., Hashemian, A. H. ve Khazaei, M., 2022, L-proline as a novel additive to cryopreservation media improved post-thaw quality of human spermatozoon via reducing oxidative stress, *Andrologia*, 54 (1), e14301.
- Morris, R. E. ve Wheatley, P. S., 2008, Gas storage in nanoporous materials, *Angewandte Chemie International Edition*, 47 (27), 4966-4981.
- Mortimer, R. J., 2011, Electrochromic materials, *Annual review of materials research*, 41 (1), 241-268.
- Mosmuller, E., Franssen, M. ve Engbersen, J. F., 1993, Lipase activity in vesicular systems: characterization of *Candida cylindracea* lipase and its activity in polymerizable dialkylammonium surfactant vesicles, *Biotechnology and bioengineering*, 42 (2), 196-204.
- Muratović, S., Karadeniz, B., Stolar, T., Lukin, S., Halasz, I., Herak, M., Mali, G., Krupskaya, Y., Kataev, V. ve Žilić, D., 2020, Impact of dehydration and mechanical amorphization on the magnetic properties of Ni (ii)-MOF-74, *Journal of Materials Chemistry C*, 8 (21), 7132-7142.
- Nadar, S. S., Vaidya, L. ve Rathod, V. K., 2020, Enzyme embedded metal organic framework (enzyme-MOF): De novo approaches for immobilization, *International journal of biological macromolecules*, 149, 861-876.

- Naghdi, E. ve Fakhari, A. R., 2022, The comparison of some chiral selectors for enantioselective separation of naproxen as a model drug in capillary electrophoresis: Thermodynamic analysis of the separation mechanism, *Journal of the Iranian Chemical Society*, 19 (5), 1701-1709.
- Nath, B., 2024, Mechanochemical synthesis of metal–organic frameworks, In: *Synthesis of Metal-Organic Frameworks Via Water-based Routes*, Eds: Elsevier, p. 93-120.
- Nie, M., Lu, S., Lei, D., Yang, C. ve Zhao, Z., 2017, Rapid synthesis of ZIF-8 nanocrystals for electrochemical detection of dopamine, *Journal of The Electrochemical Society*, 164 (13), H952.
- Niu, X., Li, X., Lyu, Z., Pan, J., Ding, S., Ruan, X., Zhu, W., Du, D. ve Lin, Y., 2020, Metal–organic framework based nanozymes: promising materials for biochemical analysis, *Chemical Communications*, 56 (77), 11338-11353.
- Niu, X., Yan, S., Chen, J., Li, H. ve Wang, K., 2022, Enantioselective recognition of L/D-amino acids in the chiral nanochannels of a metal-organic framework, *Electrochimica Acta*, 405, 139809.
- Orlandini, S., Hancu, G., Szabó, Z.-I., Modroiu, A., Papp, L.-A., Gotti, R. ve Furlanetto, S., 2022, New trends in the quality control of enantiomeric drugs: quality by design-compliant development of chiral capillary electrophoresis methods, *Molecules*, 27 (20), 7058.
- Ozyilmaz, E. ve Sayin, S., 2013, Preparation of new calix [4] arene-immobilized biopolymers for enhancing catalytic properties of candida rugosa lipase by sol–gel encapsulation, *Applied biochemistry and biotechnology*, 170 (8), 1871-1884.
- Ozyilmaz, E., Bayrakci, M. ve Yilmaz, M., 2016, Improvement of catalytic activity of Candida rugosa lipase in the presence of calix [4] arene bearing iminodicarboxylic/phosphonic acid complexes modified iron oxide nanoparticles, *Bioorganic chemistry*, 65, 1-8.
- Ozyilmaz, E., Etcı, K. ve Sezgin, M., 2018, Candida rugosa lipase encapsulated with magnetic sporopollenin: design and enantioselective hydrolysis of racemic arylpropanoic acid esters, *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 48 (10), 887-897.
- Ozyilmaz, E. ve Eski, F., 2020, Effect of cyclic and acyclic surfactants on the activity of Candida rugosa lipase, *Bioprocess and biosystems engineering*, 43 (11), 2085-2093.

- Ozyilmaz, E., Alhiali, A., Caglar, O. ve Yilmaz, M., 2021a, Preparation of regenerable magnetic nanoparticles for cellulase immobilization: Improvement of enzymatic activity and stability, *Biotechnology Progress*, 37 (4), e3145.
- Ozyilmaz, E., Ascioğlu, S. ve Yilmaz, M., 2021b, Preparation of One-Pot Immobilized Lipase with Fe₃O₄ Nanoparticles Into Metal-Organic Framework For Enantioselective Hydrolysis of (R, S)-Naproxen Methyl Ester, *ChemCatChem*, 13 (16), 3687-3694.
- Ozyilmaz, E., Biltekin, M. S., Caglar, O. ve Yilmaz, M., 2021c, Design of MOF-based nanobiocatalyst with super-catalytic properties with iron mineralization approach, *Materials Letters*, 305, 130768.
- Ozyilmaz, E., Caglar, O. ve Yilmaz, M., 2021d, L-proline modified inactivated lipase and its immobilization on cellulose-based material: stability and enantioselectivity, *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 96 (10), 2909-2915.
- Ozyilmaz, E., Arpacı, P. U., Sayin, S., Yildirim, A., Ascioğlu, S. ve Gök, E., 2022a, Inclusion complexes of water-soluble calix [n] arenes with quercetin: preparation, characterization, water solubility, and antioxidant features, *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, 153 (2), 201-209.
- Ozyilmaz, E., Caglar, O., Sargin, I. ve Arslan, G., 2022b, Synergistic role of carbon quantum dots in the activity and stability of *Candida rugosa* lipase encapsulated within metal-organic frameworks (ZIF-8), *Materials Today Communications*, 30, 103066.
- Ozyilmaz, E. ve Caglar, O., 2023, Rapid mechanochemical production of biocomposites by encapsulating enzymes to zinc based-two metal organic frameworks (ZIF-8 and Zn-MOF-74) for enantioselective hydrolysis reaction of racemic Naproxen methyl ester, *Process Biochemistry*.
- Ozyilmaz, E., Kocer, M. B., Caglar, O., Yildirim, A. ve Yilmaz, M., 2023, Surfactant-based metal-organic frameworks (MOFs) in the preparation of an active biocatalysis, *Journal of biotechnology*.
- Pan, Y. C., Hu, X. Y. ve Guo, D. S., 2021, Biomedical applications of calixarenes: state of the art and perspectives, *Angewandte Chemie International Edition*, 60 (6), 2768-2794.
- Park, K. S., Ni, Z., Côté, A. P., Choi, J. Y., Huang, R., Uribe-Romo, F. J., Chae, H. K., O’Keeffe, M. ve Yaghi, O. M., 2006, Exceptional chemical and thermal stability

- of zeolitic imidazolate frameworks, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103 (27), 10186-10191.
- Paul, A., Banga, I. K., Muthukumar, S. ve Prasad, S., 2022, Engineering the ZIF-8 pore for electrochemical sensor applications— a mini review, *ACS omega*, 7 (31), 26993-27003.
- Paula, A. V., Urioste, D., Santos, J. C. ve de Castro, H. F., 2007, Porcine pancreatic lipase immobilized on polysiloxane–polyvinyl alcohol hybrid matrix: catalytic properties and feasibility to mediate synthesis of surfactants and biodiesel, *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology*, 82 (3), 281-288.
- Pham, G. H. ve Dinu, C. Z., 2023, Historical and contemporary perspectives on metal–organic frameworks for gas sensing applications: a review, *RSC Sustainability*, 1 (5), 1125-1149.
- Phan, A., Doonan, C. J., Uribe-Romo, F. J., Knobler, C. B., O’keeffe, M. ve Yaghi, O. M., 2009, Synthesis, structure, and carbon dioxide capture properties of zeolitic imidazolate frameworks.
- Piazza, R. D., dos Santos, C. C., Pinto, G. C., Lucena, G. N., Junior, M. J. ve Marques, R. F. C., 2024, Multifunctional Redox and Temperature-Sensitive Drug Delivery Devices, *Biomedical Materials & Devices*, 2 (1), 191-207.
- Plum, L. M., Rink, L. ve Haase, H., 2010, The essential toxin: impact of zinc on human health, *International journal of environmental research and public health*, 7 (4), 1342-1365.
- Pouramini, Z., Mousavi, S. M., Babapoor, A., Hashemi, S. A., Lai, C. W., Mazaheri, Y. ve Chiang, W.-H., 2023, Effect of metal atom in zeolitic imidazolate frameworks (ZIF-8 & 67) for removal of dyes and antibiotics from wastewater: a review, *Catalysts*, 13 (1), 155.
- Pourmadadi, M., Omrani, Z., Forootan, Z., Ebadi, M. S. ve Yazdian, F., 2023, UiO-66 nanoparticles as a drug delivery system: A comprehensive review, *Journal of drug delivery science and technology*, 86, 104690.
- Pourtaheri, A. ve Nezamzadeh-Ejhieh, A., 2015, Enhancement in photocatalytic activity of NiO by supporting onto an Iranian clinoptilolite nano-particles of aqueous solution of cefuroxime pharmaceutical capsule, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 137, 338-344.

- Puccetti, F., Lukin, S., Užarević, K., Colacino, E., Halasz, I., Bolm, C. ve Hernández, J. G., 2022, Mechanistic Insights on the Mechanosynthesis of Phenytoin, a WHO Essential Medicine, *Chemistry–A European Journal*, 28 (13), e202104409.
- Pullen, S. ve Clever, G. H., 2018, Mixed-ligand metal–organic frameworks and heteroleptic coordination cages as multifunctional scaffolds—a comparison, *Accounts of Chemical Research*, 51 (12), 3052-3064.
- Qamar, S. A., Qamar, M., Bilal, M., Bharagava, R. N., Ferreira, L. F. R., Sher, F. ve Iqbal, H. M., 2021, Cellulose-deconstruction potential of nano-biocatalytic systems: A strategic drive from designing to sustainable applications of immobilized cellulases, *International journal of biological macromolecules*, 185, 1-19.
- Qi, L., Luo, Z. ve Lu, X., 2019, Biomimetic mineralization inducing lipase–metal–organic framework nanocomposite for pickering interfacial biocatalytic system, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 7 (7), 7127-7139.
- Qi, L., Lei, J., Zhou, Y., Gao, Q., Zhang, B., Lou, W. ve Luo, Z., 2023, Surfactant-assisted synthesis of colloidosomes for positional assembly of a bienzyme system, *Chemical Engineering Journal*, 452, 139305.
- Qiao, G. Y., Yuan, S., Pang, J., Rao, H., Lollar, C. T., Dang, D., Qin, J. S., Zhou, H. C. ve Yu, J., 2020, Functionalization of Zirconium-Based Metal–Organic Layers with Tailored Pore Environments for Heterogeneous Catalysis, *Angewandte Chemie*, 132 (41), 18381-18385.
- Qiao, H., Saray, M. T., Wang, X., Xu, S., Chen, G., Huang, Z., Chen, C., Zhong, G., Dong, Q. ve Hong, M., 2021, Scalable synthesis of high entropy alloy nanoparticles by microwave heating, *ACS nano*, 15 (9), 14928-14937.
- Qiu, X., Chen, W., Chen, Y., Ke, J., Ji, Y. ve Chen, J., 2023, Separation of chiral drugs through dual chiral ionic liquid functionalized composite membrane and study on chiral recognition mechanism, *Journal of Membrane Science*, 687, 122087.
- Rahimi, M., Karimian, R., Noruzi, E. B., Ganbarov, K., Zarei, M., Kamounah, F. S., Yousefi, B., Bastami, M., Yousefi, M. ve Samadi Kafil, H., 2019, Needle-shaped amphoteric calix [4] arene as a magnetic nanocarrier for simultaneous delivery of anticancer drugs to the breast cancer cells, *International journal of nanomedicine*, 2619-2636.
- Razavi, S. A. A. ve Morsali, A., 2019, Linker functionalized metal-organic frameworks, *Coordination Chemistry Reviews*, 399, 213023.

- Reddy, R. C. K., Lin, J., Chen, Y., Zeng, C., Lin, X., Cai, Y. ve Su, C.-Y., 2020, Progress of nanostructured metal oxides derived from metal–organic frameworks as anode materials for lithium–ion batteries, *Coordination Chemistry Reviews*, 420, 213434.
- Redfern, L. R. ve Farha, O. K., 2019, Mechanical properties of metal–organic frameworks, *Chemical science*, 10 (46), 10666-10679.
- Reis, P., Holmberg, K., Watzke, H., Leser, M. E. ve Miller, R., 2009, Lipases at interfaces: a review, *Advances in Colloid and Interface Science*, 147, 237-250.
- Ren, S., Wang, F., Gao, H., Han, X., Zhang, T., Yuan, Y. ve Zhou, Z., 2023, Recent Progress and Future Prospects of Laccase Immobilization on MOF Supports for Industrial Applications, *Applied biochemistry and biotechnology*, 1-16.
- Ríos, A. L. M., Gutierrez-Suarez, K., Carmona, Z., Ramos, C. G. ve Oliveira, L. F. S., 2022, Pharmaceuticals as emerging pollutants: Case naproxen an overview, *Chemosphere*, 291, 132822.
- Rocío-Bautista, P., Taima-Mancera, I., Pasán, J. ve Pino, V., 2019, Metal-organic frameworks in green analytical chemistry, *Separations*, 6 (3), 33.
- Rodríguez-Salarichs, J., Garcia de Lacoba, M., Prieto, A., Martínez, M. J. ve Barriuso, J., 2021, Versatile lipases from the candida rugosa-like family: A mechanistic insight using computational approaches, *Journal of Chemical Information and Modeling*, 61 (2), 913-920.
- Rodríguez, B., Bruckmann, A., Rantanen, T. ve Bolm, C., 2007, Solvent-free carbon-carbon bond formations in ball mills, *Advanced Synthesis & Catalysis*, 349 (14-15), 2213-2233.
- Roostae, M. ve Sheikhshoaie, I., 2020, Magnetic nanoparticles; synthesis, properties and electrochemical application: a review, *Current Biochemical Engineering*, 6 (2), 91-102.
- Rosi, N. L., Kim, J., Eddaoudi, M., Chen, B., O'Keeffe, M. ve Yaghi, O. M., 2005, Rod packings and metal– organic frameworks constructed from rod-shaped secondary building units, *Journal of the American Chemical Society*, 127 (5), 1504-1518.
- Ruano, D., Díaz-García, M., Alfayate, A. ve Sánchez-Sánchez, M., 2015, Nanocrystalline M–MOF-74 as Heterogeneous Catalysts in the Oxidation of Cyclohexene: Correlation of the Activity and Redox Potential, *ChemCatChem*, 7 (4), 674-681.

- Saddique, Z., Imran, M., Javaid, A., Rizvi, N. B., Akhtar, M. N., Iqbal, H. M. ve Bilal, M., 2024, Enzyme-linked metal organic frameworks for biocatalytic degradation of antibiotics, *Catalysis Letters*, 154 (1), 81-93.
- Sahin, B., Ozbey-Unal, B., Dizge, N., Keskinler, B. ve Balcik, C., 2024, Optimization of immobilized urease enzyme on porous polymer for enhancing the stability, reusability and enzymatic kinetics using response surface methodology, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 240, 113986.
- Sala, A., Faye Diouf, M. D., Marchetti, D., Pasquale, L. ve Gemmi, M., 2024, Mechanochemical Synthesis and Three-Dimensional Electron Diffraction Structure Solution of a Novel Cu-Based Protocatechuate Metal–Organic Framework, *Crystal growth & design*, 24 (8), 3246-3255.
- Salehipour, M., Rezaei, S., Rezaei, M., Yazdani, M. ve Mogharabi-Manzari, M., 2021, Opportunities and challenges in biomedical applications of metal–organic frameworks, *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 1-20.
- Sampaio, C. S., Angelotti, J. A., Fernandez-Lafuente, R. ve Hirata, D. B., 2022, Lipase immobilization via cross-linked enzyme aggregates: Problems and prospects—A review, *International journal of biological macromolecules*.
- Samui, A., Chowdhuri, A. R., Mahto, T. K. ve Sahu, S. K., 2016, Fabrication of a magnetic nanoparticle embedded NH₂-MIL-88B MOF hybrid for highly efficient covalent immobilization of lipase, *Rsc Advances*, 6 (71), 66385-66393.
- Santini, C., Pellei, M., Gandin, V., Porchia, M., Tisato, F. ve Marzano, C., 2014, Advances in copper complexes as anticancer agents, *Chemical reviews*, 114 (1), 815-862.
- Sayin, S., Yilmaz, E. ve Yilmaz, M., 2011, Improvement of catalytic properties of *Candida Rugosa* lipase by sol–gel encapsulation in the presence of magnetic calix [4] arene nanoparticles, *Organic & biomolecular chemistry*, 9 (11), 4021-4024.
- Sayin, S., 2021, Synthesis of new anthracene-substituted calix [4] triazacrown-5 as highly sensitive fluorescent chemosensor and extractant against hazardous dichromate anion, *Luminescence*, 36 (7), 1716-1724.
- Schmid, A., Dordick, J., Hauer, B., Kiener, A., Wubbolts, M. ve Witholt, B., 2001, Industrial biocatalysis today and tomorrow, *nature*, 409 (6817), 258-268.

- Schmid, R. D. ve Verger, R., 1998, Lipases: interfacial enzymes with attractive applications, *Angewandte Chemie International Edition*, 37 (12), 1608-1633.
- Seebauer, C. T., Graus, M. S., Huang, L., McCann, A., Wylie-Sears, J., Fontaine, F., Karnezis, T., Zurakowski, D., Staffa, S. J. ve Meunier, F., 2022, Non- β blocker enantiomers of propranolol and atenolol inhibit vasculogenesis in infantile hemangioma, *The Journal of Clinical Investigation*, 132 (3).
- Shanbhag, V. C., Gudekar, N., Jasmer, K., Papageorgiou, C., Singh, K. ve Petris, M. J., 2021, Copper metabolism as a unique vulnerability in cancer, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1868 (2), 118893.
- Shang, W., Zhu, X., Liang, T., Du, C., Hu, L., Li, T. ve Liu, M., 2020, Chiral Reticular Self-Assembly of Achiral AIEgen into Optically Pure Metal–Organic Frameworks (MOFs) with Dual Mechano-Switchable Circularly Polarized Luminescence, *Angewandte Chemie International Edition*, 59 (31), 12811-12816.
- Shao, M., Chang, Q., Dodelet, J.-P. ve Chenitz, R., 2016, Recent advances in electrocatalysts for oxygen reduction reaction, *Chemical reviews*, 116 (6), 3594-3657.
- Shao, S., Si, J. ve Shen, Y., 2019, Copper as the target for anticancer nanomedicine, *Advanced Therapeutics*, 2 (5), 1800147.
- Sharma, S., Kumar, S., Sahney, R. ve Dahiya, P., 2024, Green synthesis of iron-alginate nanoparticle for Taguchi-assisted immobilization of *Candida rugosa* lipase and its application in the synthesis of butyl butyrate ester, *Process Biochemistry*, 139, 81-92.
- Sharmin, E. ve Zafar, F., 2016, Introductory chapter: metal organic frameworks (MOFs), In: Metal-organic frameworks, Eds: IntechOpen, p.
- Sheikh-Mohseni, M. H. ve Nezamzadeh-Ejhi, A., 2014, Modification of carbon paste electrode with Ni-clinoptilolite nanoparticles for electrocatalytic oxidation of methanol, *Electrochimica Acta*, 147, 572-581.
- Sheldon, R. A., 2007, The E factor: fifteen years on, *Green chemistry*, 9 (12), 1273-1283.
- Sheldon, R. A. ve Brady, D., 2022, Green Chemistry, Biocatalysis, and the Chemical Industry of the Future, *ChemSusChem*, e202102628.

- Shen, S., Li, L., Li, S., Bai, Y. ve Liu, H., 2018, Metal–organic frameworks induce autophagy in mouse embryonic fibroblast cells, *Nanoscale*, 10 (38), 18161-18168.
- Shi, Z., Yu, Y., Fu, C., Wang, L. ve Li, X., 2017, Water-based synthesis of zeolitic imidazolate framework-8 for CO₂ capture, *Rsc Advances*, 7 (46), 29227-29232.
- Shinkai, S., Araki, K., Tsubaki, T., Arimura, T. ve Manabe, O., 1987, New syntheses of calixarene-p-sulphonates and p-nitrocalixarenes, *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, 2297-2299.
- Simms, C., Savić, N. D., De Winter, K. ve Parac-Vogt, T. N., 2022, Understanding the Role of Surfactants in the Interaction and Hydrolysis of Myoglobin by Zr-MOF-808, *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2022 (20), e202200145.
- Simon-Yarza, T., Mielcarek, A., Couvreur, P. ve Serre, C., 2018, Nanoparticles of metal-organic frameworks: on the road to in vivo efficacy in biomedicine, *Advanced Materials*, 30 (37), 1707365.
- Simon, P. ve Gogotsi, Y., 2008, Materials for electrochemical capacitors, *Nature materials*, 7 (11), 845-854.
- Singh, R., Singh, G., George, N., Singh, G., Gupta, S., Singh, H., Kaur, G. ve Singh, J., 2023, Copper-Based Metal–Organic Frameworks (MOFs) as an Emerging Catalytic Framework for Click Chemistry, *Catalysts*, 13 (1), 130.
- Sojo, V., 2015, On the biogenic origins of homochirality, *Origins of Life and Evolution of Biospheres*, 45, 219-224.
- Song, K., Liang, S., Zhong, X., Wang, M., Mo, X., Lei, X. ve Lin, Z., 2022, Tailoring the crystal forms of the Ni-MOF catalysts for enhanced photocatalytic CO₂-to-CO performance, *Applied Catalysis B: Environmental*, 309, 121232.
- Steele, B. C. ve Heinzl, A., 2001, Materials for fuel-cell technologies, *nature*, 414 (6861), 345-352.
- Stergiou, P.-Y., Foukis, A., Filippou, M., Koukouritaki, M., Parapouli, M., Theodorou, L. G., Hatziloukas, E., Afendra, A., Pandey, A. ve Papamichael, E. M., 2013, Advances in lipase-catalyzed esterification reactions, *Biotechnology advances*, 31 (8), 1846-1859.
- Stock, N. ve Biswas, S., 2012, Synthesis of metal-organic frameworks (MOFs): routes to various MOF topologies, morphologies, and composites, *Chemical reviews*, 112 (2), 933-969.

- Stolar, T., Prašnikar, A. e., Martinez, V., Karadeniz, B., Bjelić, A., Mali, G., Frišćić, T., Likozar, B. ve Užarević, K., 2021, Scalable mechanochemical amorphization of bimetallic Cu– Zn MOF-74 catalyst for selective CO₂ reduction reaction to methanol, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 13 (2), 3070-3077.
- Su, T. A., Shihadih, D. S., Cao, W., Detomasi, T. C., Heffern, M. C., Jia, S., Stahl, A. ve Chang, C. J., 2018, A modular ionophore platform for liver-directed copper supplementation in cells and animals, *Journal of the American Chemical Society*, 140 (42), 13764-13774.
- Sun, C., Wu, S., Wu, Y., Sun, B., Zhang, P. ve Tang, K., 2023a, Lipase AK from *Pseudomonas fluorescens* immobilized on metal organic frameworks for efficient biosynthesis of enantiopure (S)– 1-(4-bromophenyl) ethanol, *Process Biochemistry*, 124, 132-139.
- Sun, Q., Qin, L., Lai, C., Liu, S., Chen, W., Xu, F., Ma, D., Li, Y., Qian, S. ve Chen, Z., 2023b, Constructing functional metal-organic frameworks by ligand design for environmental applications, *Journal of hazardous materials*, 447, 130848.
- Sun, S., Tang, Y., Wu, C. ve Wan, C., 2020a, Phytic acid functionalized ZIF-67 decorated graphene nanosheets with remarkably boosted electrochemical sensing performance, *Analytica Chimica Acta*, 1107, 55-62.
- Sun, W., Chu, H., Zha, X., Lu, S. ve Wang, Y., 2023c, Enhanced electrochemical sensing of butylated hydroxy anisole through hollow metal–organic frameworks with gold nanoparticles and enzymes, *ACS Applied Nano Materials*, 6 (16), 15183-15192.
- Sun, Y., Amsler, M., Goedecker, S., Caravella, A., Yoshida, M. ve Kato, M., 2019, Surfactant-assisted synthesis of large Cu-BTC MOF single crystals and their potential utilization as photodetectors, *CrystEngComm*, 21 (26), 3948-3953.
- Sun, Y., Zheng, L., Yang, Y., Qian, X., Fu, T., Li, X., Yang, Z., Yan, H., Cui, C. ve Tan, W., 2020b, Metal–organic framework nanocarriers for drug delivery in biomedical applications, *Nano-Micro Letters*, 12, 1-29.
- Surya Babu, S., Stalinraja, A., Nagasaka, T. ve Gopalram, K., 2024, Indigenous designed metal-organic framework for electrocatalytic reduction of CO₂—a review, *Ionics*, 30 (5), 2881-2900.
- Suryanarayana, C., 2001, Mechanical alloying and milling, *Progress in materials science*, 46 (1-2), 1-184.

- Suttiapat, D., Butcha, S., Assavapanumat, S., Maihom, T., Gupta, B., Perro, A., Sojic, N., Kuhn, A. ve Wattanakit, C., 2020, Chiral macroporous MOF surfaces for electroassisted enantioselective adsorption and separation, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 12 (32), 36548-36557.
- Sybesma, W., Blank, I. ve Lee, Y.-K., 2017, Sustainable food processing inspired by nature, *Trends in Biotechnology*, 35 (4), 279-281.
- T. sriwong, K. ve Matsuda, T., 2022, Recent advances in enzyme immobilization utilizing nanotechnology for biocatalysis, *Organic Process Research & Development*, 26 (7), 1857-1877.
- Taghipour, T., Karimipour, G., Ghaedi, M. ve Asfaram, A., 2018, Mild synthesis of a Zn (II) metal organic polymer and its hybrid with activated carbon: application as antibacterial agent and in water treatment by using sonochemistry: optimization, kinetic and isotherm study, *Ultrasonics sonochemistry*, 41, 389-396.
- Tajik, S., Beitollahi, H., Nejad, F. G., Kirlikovali, K. O., Van Le, Q., Jang, H. W., Varma, R. S., Farha, O. K. ve Shokouhimehr, M., 2020, Recent electrochemical applications of metal–organic framework-based materials, *Crystal growth & design*, 20 (10), 7034-7064.
- Tan, D., Loots, L. ve Friščić, T., 2016, Towards medicinal mechanochemistry: evolution of milling from pharmaceutical solid form screening to the synthesis of active pharmaceutical ingredients (APIs), *Chemical Communications*, 52 (50), 7760-7781.
- Tan, D. ve Friščić, T., 2018, Mechanochemistry for organic chemists: an update, *European Journal of Organic Chemistry*, 2018 (1), 18-33.
- Tanaka, S. ve Miyashita, R., 2017, Aqueous-system-enabled spray-drying technique for the synthesis of hollow polycrystalline ZIF-8 MOF particles, *ACS omega*, 2 (10), 6437-6445.
- Tang, J., Salunkhe, R. R., Liu, J., Torad, N. L., Imura, M., Furukawa, S. ve Yamauchi, Y., 2015, Thermal conversion of core–shell metal–organic frameworks: a new method for selectively functionalized nanoporous hybrid carbon, *Journal of the American Chemical Society*, 137 (4), 1572-1580.
- Tarascon, J.-M. ve Armand, M., 2001, Issues and challenges facing rechargeable lithium batteries, *nature*, 414 (6861), 359-367.

- Tchinsa, A., Hossain, M. F., Wang, T. ve Zhou, Y., 2021, Removal of organic pollutants from aqueous solution using metal organic frameworks (MOFs)-based adsorbents: A review, *Chemosphere*, 284, 131393.
- Teixeira, J., Tiritan, M. E., Pinto, M. M. ve Fernandes, C., 2019, Chiral stationary phases for liquid chromatography: recent developments, *Molecules*, 24 (5), 865.
- Terzopoulou, A., Nicholas, J. D., Chen, X.-Z., Nelson, B. J., Pane, S. ve Puigmarti-Luis, J., 2020, Metal–organic frameworks in motion, *Chemical reviews*, 120 (20), 11175-11193.
- Thangaraj, B. ve Solomon, P. R., 2019, Immobilization of lipases—a review. Part II: carrier materials, *ChemBioEng Reviews*, 6 (5), 167-194.
- Tian, Y. Q., Cai, C. X., Ji, Y., You, X. Z., Peng, S. M. ve Lee, G. H., 2002, [Co₅ (im)₁₀· 2 MB]_∞: A Metal-Organic Open-Framework with Zeolite-Like Topology, *Angewandte Chemie*, 114 (8), 1442-1444.
- Todd, P. A. ve Clissold, S. P., 1990, Naproxen, *Drugs*, 40 (1), 91-137.
- Tokunaga, E., Yamamoto, T., Ito, E. ve Shibata, N., 2018, Understanding the thalidomide chirality in biological processes by the self-disproportionation of enantiomers, *Scientific reports*, 8 (1), 17131.
- Troian-Gautier, L., Mattiuzzi, A., Reinaud, O., Lagrost, C. ve Jabin, I., 2020, Use of calixarenes bearing diazonium groups for the development of robust monolayers with unique tailored properties, *Organic & biomolecular chemistry*, 18 (19), 3624-3637.
- Tsuzuki, T., 2021, Mechanochemical synthesis of metal oxide nanoparticles, *Communications Chemistry*, 4 (1), 1-11.
- Umemura, A., Diring, S., Furukawa, S., Uehara, H., Tsuruoka, T. ve Kitagawa, S., 2011, Morphology design of porous coordination polymer crystals by coordination modulation, *Journal of the American Chemical Society*, 133 (39), 15506-15513.
- Vaidya, L. B., Nadar, S. S. ve Rathod, V. K., 2020, Metal-organic frameworks (MOFs) for enzyme immobilization, In: *Metal-Organic Frameworks for Biomedical Applications*, Eds: Elsevier, p. 491-523.
- Vaitsis, C., Sourkouni, G. ve Argiris, C., 2020, Sonochemical synthesis of MOFs, In: *Metal-organic frameworks for biomedical applications*, Eds: Elsevier, p. 223-244.

- Verdasco-Martin, C. M., Villalba, M., dos Santos, J. C., Tobajas, M., Fernandez-Lafuente, R. ve Otero, C., 2016, Effect of chemical modification of Novozym 435 on its performance in the alcoholysis of camelina oil, *Biochemical Engineering Journal*, 111, 75-86.
- Walther, A. ve Muller, A. H., 2013, Janus particles: synthesis, self-assembly, physical properties, and applications, *Chemical reviews*, 113 (7), 5194-5261.
- Wang, C., Gao, J. ve Tan, H., 2018a, Integrated antibody with catalytic metal–organic framework for colorimetric immunoassay, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 10 (30), 25113-25120.
- Wang, H., Zhao, Z., Liu, Y., Shao, C., Bian, F. ve Zhao, Y., 2018b, Biomimetic enzyme cascade reaction system in microfluidic electrospray microcapsules, *Science Advances*, 4 (6), eaat2816.
- Wang, K., Yin, Y., Li, C., Geng, Z. ve Wang, Z., 2011, Facile synthesis of zinc (II)-carboxylate coordination polymer particles and their luminescent, biocompatible and antibacterial properties, *CrystEngComm*, 13 (20), 6231-6236.
- Wang, P., Yuan, Y., Xu, K., Zhong, H., Yang, Y., Jin, S., Yang, K. ve Qi, X., 2021, Biological applications of copper-containing materials, *Bioactive materials*, 6 (4), 916-927.
- Wang, W., Chai, M., Zulkifli, M. Y. B., Xu, K., Chen, Y., Wang, L., Chen, V. ve Hou, J., 2023a, Metal-Organic Framework Composites from Mechanochemical Process, *Molecular Systems Design & Engineering*.
- Wang, X., Xiao, H., Li, A., Li, Z., Liu, S., Zhang, Q., Gong, Y., Zheng, L., Zhu, Y. ve Chen, C., 2018c, Constructing NiCo/Fe₃O₄ heteroparticles within MOF-74 for efficient oxygen evolution reactions, *Journal of the American Chemical Society*, 140 (45), 15336-15341.
- Wang, X., Zhang, A., Chen, M., Seliem, M. K., Mobarak, M., Diao, Z. ve Li, Z., 2023b, Adsorption of azo dyes and Naproxen by few-layer MXene immobilized with dialdehyde starch nanoparticles: Adsorption properties and statistical physics modeling, *Chemical Engineering Journal*, 473, 145385.
- Wang, Y., Yan, J., Wen, N., Xiong, H., Cai, S., He, Q., Hu, Y., Peng, D., Liu, Z. ve Liu, Y., 2020, Metal-organic frameworks for stimuli-responsive drug delivery, *Biomaterials*, 230, 119619.
- Wang, Y., Liu, Z., Huang, P., Lei, B., Qiao, L., Li, T., Lin, K.-Y. A. ve Wang, H., 2024, Mechanochemical synthesis of biochar encapsulated FeMn nanoparticles with

- strong metal–carbon interactions for efficient degradation of tetracycline via activating peroxymonosulfate, *Chemical Engineering Journal*, 479, 147525.
- Wei, T.-H., Wu, S.-H., Huang, Y.-D., Lo, W.-S., Williams, B. P., Chen, S.-Y., Yang, H.-C., Hsu, Y.-S., Lin, Z.-Y. ve Chen, X.-H., 2019, Rapid mechanochemical encapsulation of biocatalysts into robust metal–organic frameworks, *Nature communications*, 10 (1), 1-8.
- Wen, M., Sun, N., Jiao, L., Zang, S. Q. ve Jiang, H. L., 2024, Microwave-Assisted Rapid Synthesis of MOF-Based Single-Atom Ni Catalyst for CO₂ Electroreduction at Ampere-Level Current, *Angewandte Chemie*, 136 (10), e202318338.
- Weng, B., Grice, C. R., Meng, W., Guan, L., Xu, F., Yu, Y., Wang, C., Zhao, D. ve Yan, Y., 2018, Metal–organic framework-derived CoWP@ C composite nanowire electrocatalyst for efficient water splitting, *ACS Energy Letters*, 3 (6), 1434-1442.
- Weng, Y., Chen, R., Hui, Y., Chen, D. ve Zhao, C.-X., 2024, Boosting enzyme activity in enzyme metal–organic framework composites, *Chem & Bio Engineering*, 1 (2), 99-112.
- Weng, Z.-Z., Xu, H., Zhang, W., Zhuang, G.-L., Long, L.-S., Kong, X.-J. ve Zheng, L.-S., 2021, Enantioselective Recognition and Separation of C₂ Symmetric Substances via Chiral Metal–Organic Frameworks, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 13 (31), 37412-37421.
- Winarta, J., Shan, B., McIntyre, S. M., Ye, L., Wang, C., Liu, J. ve Mu, B., 2019, A decade of UiO-66 research: a historic review of dynamic structure, synthesis mechanisms, and characterization techniques of an archetypal metal–organic framework, *Crystal growth & design*, 20 (2), 1347-1362.
- Work, W., Horie, K., Hess, M. ve Stepto, R., 2004, Definition of terms related to polymer blends, composites, and multiphase polymeric materials (IUPAC Recommendations 2004), *Pure and Applied Chemistry*, 76 (11), 1985-2007.
- Wu, J.-Y. ve Liu, S.-W., 2000, Influence of alcohol concentration on lipase-catalyzed enantioselective esterification of racemic naproxen in isooctane: under controlled water activity☆, *Enzyme and Microbial Technology*, 26 (2-4), 124-130.

- Wu, X.-J., Chen, J., Tan, C., Zhu, Y., Han, Y. ve Zhang, H., 2016, Controlled growth of high-density CdS and CdSe nanorod arrays on selective facets of two-dimensional semiconductor nanoplates, *Nature Chemistry*, 8 (5), 470-475.
- Wu, X., Yang, C. ve Ge, J., 2017, Green synthesis of enzyme/metal-organic framework composites with high stability in protein denaturing solvents, *Bioresources and bioprocessing*, 4 (1), 1-8.
- Wu, Y., Zhou, H., Sun, W., Zhao, Q., Liang, M., Chen, W., Guo, Z., Jiang, Y., Jiang, Y. ve Liu, G., 2022, Temperature sensitivity of soil enzyme kinetics under N and P fertilization in an alpine grassland, China, *Science of The Total Environment*, 838, 156042.
- Wu, Y. P., Tian, J. W., Liu, S., Li, B., Zhao, J., Ma, L. F., Li, D. S., Lan, Y. Q. ve Bu, X., 2019, Bi-Microporous metal–organic frameworks with cubane [M₄ (OH)₄](M= Ni, Co) clusters and pore-space partition for electrocatalytic methanol oxidation reaction, *Angewandte Chemie International Edition*, 58 (35), 12185-12189.
- Wypych, F., Schreiner, W. H. ve Richard Jr, E., 2004, Grafting of phenylarsonic and 2-nitrophenol-4-arsonic acid onto disordered silica obtained by selective leaching of brucite-like sheet from chrysotile structure, *Journal of colloid and interface science*, 276 (1), 167-173.
- Xia, S., Lin, J., Sayanjali, S., Shen, C. ve Cheong, L. Z., 2024, Lipase-catalyzed production of biodiesel: a critical review on feedstock, enzyme carrier and process factors, *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 18 (1), 291-309.
- Xiao, T., Ackerman, C. M., Carroll, E. C., Jia, S., Hoagland, A., Chan, J., Thai, B., Liu, C. S., Isacoff, E. Y. ve Chang, C. J., 2018, Copper regulates rest-activity cycles through the locus coeruleus-norepinephrine system, *Nature chemical biology*, 14 (7), 655-663.
- Xiao, T. ve Liu, D., 2019, The most advanced synthesis and a wide range of applications of MOF-74 and its derivatives, *Microporous and Mesoporous Materials*, 283, 88-103.
- Xie, W. ve Huang, M., 2018, Immobilization of *Candida rugosa* lipase onto graphene oxide Fe₃O₄ nanocomposite: Characterization and application for biodiesel production, *Energy Conversion and Management*, 159, 42-53.

- Xing, F., Xu, J., Zhou, Y., Yu, P., Zhe, M., Xiang, Z., Duan, X. ve Ritz, U., 2024, Recent advances in metal-organic frameworks for stimuli-responsive drug delivery, *Nanoscale*.
- Xing, J., Wang, F., Cong, H., Wang, S., Shen, Y. ve Yu, B., 2021, Analysis of proteins and chiral drugs based on vancomycin covalent capillary electrophoretic coating, *Analyst*, 146 (4), 1320-1325.
- Xiong, D., Chen, M. ve Li, H., 2008, Synthesis of para-sulfonatocalix [4] arene-modified silver nanoparticles as colorimetric histidine probes, *Chemical Communications* (7), 880-882.
- Xu, G.-R., An, Z.-H., Xu, K., Liu, Q., Das, R. ve Zhao, H.-L., 2021, Metal organic framework (MOF)-based micro/nanoscaled materials for heavy metal ions removal: The cutting-edge study on designs, synthesis, and applications, *Coordination Chemistry Reviews*, 427, 213554.
- Xu, L., Geng, X., Li, Q., Li, M., Chen, S., Liu, X., Dai, X., Zhu, X., Wang, X. ve Suo, H., 2024, Calcium-based MOFs as scaffolds for shielding immobilized lipase and enhancing its stability, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 237, 113836.
- Xu, X., Cao, K., Wang, Y. ve Jiao, L., 2016, 3D hierarchical porous ZnO/ZnCo₂O₄ nanosheets as high-rate anode material for lithium-ion batteries, *Journal of Materials Chemistry A*, 4 (16), 6042-6047.
- Yaghi, O., Li, H. ve Groy, T., 1996, Construction of porous solids from hydrogen-bonded metal complexes of 1, 3, 5-benzenetricarboxylic acid, *Journal of the American Chemical Society*, 118 (38), 9096-9101.
- Yaghi, O. M. ve Li, H., 1995, Hydrothermal synthesis of a metal-organic framework containing large rectangular channels, *Journal of the American Chemical Society*, 117 (41), 10401-10402.
- Yaghi, O. M., Kalmutzki, M. J. ve Diercks, C. S., 2019, Introduction to reticular chemistry: metal-organic frameworks and covalent organic frameworks, John Wiley & Sons, p.
- Yang, F., Du, M., Yin, K., Qiu, Z., Zhao, J., Liu, C., Zhang, G., Gao, Y. ve Pang, H., 2022, Applications of metal-organic frameworks in water treatment: a review, *Small*, 18 (11), 2105715.
- Yang, J., Chen, Y., Liu, Z., Yang, L., Tang, J., Miao, M., Gan, N. ve Li, H., 2019, Differences between the binding modes of enantiomers S/R-nicotine to acetylcholinesterase, *Rsc Advances*, 9 (3), 1428-1440.

- Yang, J. ve Yang, Y. W., 2020, Metal–organic frameworks for biomedical applications, *Small*, 16 (10), 1906846.
- Yang, J., Jiang, Y., Tao, G. ve Gu, J., 2021, Specific chiral recognition of amino acid enantiomers promoted by an enzymatic bioreactor in MOFs, *Journal of Materials Chemistry C*, 9 (46), 16602-16609.
- Yang, L., Pan, Z. ve Tian, Z., 2024, Mechanochemical Synthesis of Solid Catalysts and Application in Catalytic Reaction, *ChemCatChem*, 16 (10), e202301519.
- Yang, W., Zhang, Y., Liu, X., Chen, L. ve Jia, J., 2017, In situ formed Fe–N doped metal organic framework@ carbon nanotubes/graphene hybrids for a rechargeable Zn–air battery, *Chemical Communications*, 53 (96), 12934-12937.
- Yang, X. ve Yan, D., 2016, Long-afterglow metal–organic frameworks: reversible guest-induced phosphorescence tunability, *Chemical science*, 7 (7), 4519-4526.
- Yao, Y., Wang, C., Na, J., Hossain, M. S. A., Yan, X., Zhang, H., Amin, M. A., Qi, J., Yamauchi, Y. ve Li, J., 2022, Macroscopic MOF architectures: Effective strategies for practical application in water treatment, *Small*, 18 (8), 2104387.
- Yildiz, H., Ozyilmaz, E., Bhatti, A. A. ve Yilmaz, M., 2017, Enantioselective resolution of racemic flurbiprofen methyl ester by lipase encapsulated mercapto calix [4] arenes capped Fe₃O₄ nanoparticles, *Bioprocess and biosystems engineering*, 40 (8), 1189-1196.
- Yilmaz, E., Sezgin, M. ve Yilmaz, M., 2009, Immobilized copper-ion affinity adsorbent based on a cross-linked β -cyclodextrin polymer for adsorption of *Candida rugosa* lipase, *Biocatalysis and Biotransformation*, 27 (5-6), 360-366.
- Yin, Z., Zhang, Q., Li, S., Cagnetta, G., Huang, J., Deng, S. ve Yu, G., 2022, Mechanochemical synthesis of catalysts and reagents for water decontamination: Recent advances and perspective, *Science of The Total Environment*, 825, 153992.
- Yu, Y., Xu, N., Zhang, J., Wang, B., Xie, S. ve Yuan, L., 2020, Chiral metal–organic framework d-His-ZIF-8@ SiO₂ core–shell microspheres used for HPLC enantioseparations, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 12 (14), 16903-16911.
- Yuan, N., Gong, X., Sun, W. ve Yu, C., 2021, Advanced applications of Zr-based MOFs in the removal of water pollutants, *Chemosphere*, 267, 128863.
- Zaks, A. ve Klivanov, A. M., 1985, Enzyme-catalyzed processes in organic solvents, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 82 (10), 3192-3196.

- Zhang, J., Tan, Y. ve Song, W.-J., 2020, Zeolitic imidazolate frameworks for use in electrochemical and optical chemical sensing and biosensing: a review, *Microchimica Acta*, 187, 1-23.
- Zhang, P., Sun, F., Xiang, Z., Shen, Z., Yun, J. ve Cao, D., 2014a, ZIF-derived in situ nitrogen-doped porous carbons as efficient metal-free electrocatalysts for oxygen reduction reaction, *Energy & Environmental Science*, 7 (1), 442-450.
- Zhang, Q., Yang, H., Zhou, T., Chen, X., Li, W. ve Pang, H., 2022, Metal–organic frameworks and their composites for environmental applications, *Advanced Science*, 9 (32), 2204141.
- Zhang, T., Wang, J., Zhang, W., Yang, C., Zhang, L., Zhu, W., Sun, J., Li, G., Li, T. ve Wang, J., 2019, Amorphous Fe/Mn bimetal–organic frameworks: outer and inner structural designs for efficient arsenic (iii) removal, *Journal of Materials Chemistry A*, 7 (6), 2845-2854.
- Zhang, Y., Jia, Y., Li, M. ve Hou, L. a., 2018, Influence of the 2-methylimidazole/zinc nitrate hexahydrate molar ratio on the synthesis of zeolitic imidazolate framework-8 crystals at room temperature, *Scientific reports*, 8 (1), 9597.
- Zhang, Z., Chen, Y., He, S., Zhang, J., Xu, X., Yang, Y., Nosheen, F., Saleem, F., He, W. ve Wang, X., 2014b, Hierarchical Zn/Ni-MOF-2 nanosheet-assembled hollow nanocubes for multicomponent catalytic reactions, *Angewandte Chemie International Edition*, 53 (46), 12517-12521.
- Zhao, L. ve Gao, L., 2004, Coating multi-walled carbon nanotubes with zinc sulfide, *Journal of Materials Chemistry*, 14 (6), 1001-1004.
- Zhao, R.-n., Zhu, B.-w., Xu, Y., Yu, S.-f., Wang, W.-j., Liu, D.-h. ve Hu, J.-n., 2023, Cyclodextrin-based metal-organic framework materials: Classifications, synthesis strategies and applications in variegated delivery systems, *Carbohydrate Polymers*, 121198.
- Zhao, Y.-W., Wang, Y. ve Zhang, X.-M., 2017, Homochiral MOF as circular dichroism sensor for enantioselective recognition on nature and chirality of unmodified amino acids, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 9 (24), 20991-20999.
- Zhao, Y.-W. ve Zhang, X.-M., 2020, The construction of helicate metal–organic nanotubes and enantioselective recognition, *Journal of Materials Chemistry C*, 8 (13), 4453-4460.

- Zheng, S., Li, X., Yan, B., Hu, Q., Xu, Y., Xiao, X., Xue, H. ve Pang, H., 2017, Transition-metal (Fe, Co, Ni) based metal-organic frameworks for electrochemical energy storage, *Advanced Energy Materials*, 7 (18), 1602733.
- Zheng, S., Guo, X., Xue, H., Pan, K., Liu, C. ve Pang, H., 2019, Facile one-pot generation of metal oxide/hydroxide@ metal-organic framework composites: highly efficient bifunctional electrocatalysts for overall water splitting, *Chemical Communications*, 55 (73), 10904-10907.
- Zheng, S., Li, Q., Xue, H., Pang, H. ve Xu, Q., 2020, A highly alkaline-stable metal oxide@ metal-organic framework composite for high-performance electrochemical energy storage, *National Science Review*, 7 (2), 305-314.
- Zheng, S., Sun, Y., Xue, H., Braunstein, P., Huang, W. ve Pang, H., 2022, Dual-ligand and hard-soft-acid-base strategies to optimize metal-organic framework nanocrystals for stable electrochemical cycling performance, *National Science Review*, 9 (7), nwab197.
- Zhong, H., Mirkovic, T. ve Scholes, G., 2011, Nanocrystal synthesis, In: *Comprehensive nanoscience and technology*, Eds: Elsevier Inc., p. 153-201.
- Zhong, H., Lo, W. S., Man, T., Williams, B. P., Li, D., Chen, S. Y., Pei, H., Li, L. ve Tsung, C. K., 2020, Stabilizing DNazymes through encapsulation in a metal-organic framework, *Chemistry-A European Journal*, 26 (57), 12931-12935.
- Zhong, L., Feng, Y., Hu, H., Xu, J., Wang, Z., Du, Y., Cui, J. ve Jia, S., 2021, Enhanced enzymatic performance of immobilized lipase on metal organic frameworks with superhydrophobic coating for biodiesel production, *Journal of colloid and interface science*, 602, 426-436.
- Zhou, H.-C., Long, J. R. ve Yaghi, O. M., 2012, Introduction to metal-organic frameworks, ACS Publications. 112: 673-674.
- Zhou, J., Tang, J. ve Tang, W., 2015, Recent development of cationic cyclodextrins for chiral separation, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 65, 22-29.
- Zhou, J., Yang, Q., Xie, Q., Ou, H., Lin, X., Zeb, A., Hu, L., Wu, Y. ve Ma, G., 2022, Recent progress in Co-based metal-organic framework derivatives for advanced batteries, *Journal of Materials Science & Technology*, 96, 262-284.
- Zhu, Q.-L. ve Xu, Q., 2014, Metal-organic framework composites, *Chemical Society Reviews*, 43 (16), 5468-5512.
- Zhu, Y.-T., Ren, X.-Y., Liu, Y.-M., Wei, Y., Qing, L.-S. ve Liao, X., 2014, Covalent immobilization of porcine pancreatic lipase on carboxyl-activated magnetic

- nanoparticles: characterization and application for enzymatic inhibition assays, *Materials Science and Engineering: C*, 38, 278-285.
- Zou, B., Yan, Y., Xia, J., Zhang, L. ve Adesanya, I. O., 2020a, Enhancing bio-catalytic activity and stability of lipase nanogel by functional ionic liquids modification, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 195, 111275.
- Zou, B., Zhang, L., Xia, J., Wang, P., Yan, Y., Wang, X. ve Adesanya, I. O., 2020b, Metal-organic frameworks conjugated lipase with enhanced bio-catalytic activity and stability, *Applied biochemistry and biotechnology*, 192, 132-145.
- Zou, D. ve Liu, D., 2019, Understanding the modifications and applications of highly stable porous frameworks via UiO-66, *Materials Today Chemistry*, 12, 139-165.
- Zou, K.-Y., Liu, Y.-C., Jiang, Y.-F., Yu, C.-Y., Yue, M.-L. ve Li, Z.-X., 2017, Benzoate acid-dependent lattice dimension of Co-MOFs and MOF-derived CoS₂@ CNTs with tunable pore diameters for supercapacitors, *Inorganic Chemistry*, 56 (11), 6184-6196.

YAYINLAR

1. Ozyilmaz, E., & **Caglar, O.** (2023). Rapid mechanochemical production of biocomposites by encapsulating enzymes to zinc based-two metal organic frameworks (ZIF-8 and Zn-MOF-74) for enantioselective hydrolysis reaction of racemic Naproxen methyl ester. *Process Biochemistry*, 134, 276-285.
2. Ozyilmaz, E., Kocer, M.B., **Caglar, O.**, Yildirim, A., Yilmaz, M. (2023). “Surfactant-based metal-organic frameworks (MOFs) in the preparation of an active biocatalysis” *Journal of Biotechnology*, 371-372, 10-21.
3. Ozyilmaz, E., **Caglar, O.**, Sargin, I., Arslan, G. (2022). Synergistic role of carbon quantum dots in the activity and stability of *Candida rugosa* lipase encapsulated within metal–organic frameworks (ZIF-8). *Materials Today Communications*, 30, 103066.
4. Ozyilmaz, E., Biltekin, M. S., **Caglar, O.**, Yilmaz, M. (2021). Design of MOF-based nanobiocatalyst with super-catalytic properties with iron mineralization approach. *Materials Letters*, 305, 130768.
5. Topal E, Aydemir K, **Çağlar Ö**, Arda B, Kayabaşı O, Yıldız M, Özyılmaz E, Erbaş O. (2021). Fatty Liver Disease: Diagnosis and Treatment. *JEB Med Sci* 2(3):343-357.
6. Ozyilmaz, E., Alhiali, A., **Caglar, O.**, Yilmaz, M. (2021). Preparation of regenerable magnetic nanoparticles for cellulase immobilization: Improvement of enzymatic activity and stability. *Biotechnology Progress*, e3145.
7. Ozyilmaz, E., **Caglar, O.**, Yilmaz, M. (2021). L-proline modified inactivated lipase and its immobilization on cellulose-based material: stability and enantioselectivity. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 96(10), 2909-2915.