

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



FOSFOPROTEOM ANALİZLERİ İÇİN MANYETİK ÖZELLİKTE YENİ BİR  
AFİNİTE KROMATOĞRAFI MALZEMESİ

Vahit GÖK

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

EKİM 2020

ANTALYA

**T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**FOSFOPROTEOM ANALİZLERİ İÇİN MANYETİK ÖZELLİKTE YENİ BİR  
AFİNİTE KROMATOĞRAFI MALZEMESİ**

**Vahit GÖK**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİMYA**

**ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**EKİM 2020**

**ANTALYA**

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

**FOSFOPROTEOM ANALİZLERİ İÇİN MANYETİK ÖZELLİKTE YENİ BİR  
AFİNİTE KROMATOĞRAFİ MALZEMESİ**

**Vahit GÖK  
KİMYA  
ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) ve TÜBİTAK tarafından sırasıyla FYL-2019-4968 ve 117Z906 nolu proje ile desteklenmiştir.**

**EKİM 2020**

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

**FOSFOPROTEOM ANALİZLERİ İÇİN MANYETİK ÖZELLİKTE YENİ BİR  
AFİNİTE KROMATOĞRAFİ MALZEMESİ**

**Vahit GÖK**

**KİMYA**

**ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Bu tez 16/10/2020 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Önder TOPEL(Danışman) .....

Prof. Dr. Osman DUMAN .....

Doç. Dr. Uğur CENGİZ .....

## ÖZET

### FOSFOPROTEOM ANALİZLERİ İÇİN MANYETİK ÖZELLİKTE YENİ BİR AFİNİTE KROMATOĞRAFI MALZEMESİ

Vahit GÖK

Yüksek Lisans, KİMYA

Danışman: Doç. Dr. Önder TOPEL

Ekim 2020; 60 Sayfa

Bu tezde, fosfoproteomik analizlerde kullanılmak üzere yeni manyetik immobilize metal (iyon) afinite kromatografisi (IMAK) malzemeleri sentezlenmiştir. Geliştirilen manyetik IMAK malzemelerinde, destek olarak manyetik nanoparçacıklar, şelatlayıcı olarak 4–hidroksi 2,6–dikarboksilat (şelidamik asit) ve metal iyonu olarak fosfat iyonlarına yüksek afinite gösteren lantanit(III) iyonları seçilmiştir. Kübik yapıdaki manyetik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıklar birlikte çöktürme metodu ile sentezlenmiş ve boyutları 8±2 nm olarak belirlenmiştir. Manyetik nanoparçacıkları istenmeyen tepkimelerden korumak için yüzeyleri 2 farklı yolla kaplanmıştır. Birinci yöntemde manyetik nanoparçacıkların silika ile kaplanarak çekirdek–kabuk yapıları nanoparçacıklar elde edilmiştir. Silika kaplı manyetik nanoparçacıkların boyut ve morfolojisi TEM ve XRD ölçümleriyle karakterize edilmiş, parçacıkların 120±10 nm boyutunda, kübik manyetik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> çekirdeğin etrafını amorf silika kabukla sarıldığı küresel parçacıklar biçiminde olduğu bulunmuştur. İkinci yöntemde Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıkların yüzeyi doğrudan 3–aminopropiltrioksosilan (APTES) ile silanlanarak kaplanmış ve 9±2 nm boyutunda parçacıklar elde edilmiştir. Silan ve silika kaplı manyetik nanoparçacıkların yüzeyi şelidamik asitle modifiye edilmiş ve parçacık yüzeylerine %2,5 ve %5 oranında bağlandığı sırasıyla FTIR ve TGA ölçümleriyle kanıtlanmıştır. Elde edilen şelidamik asit modifiye manyetik nanoparçacıkların yüzeyine lantanit(III) (Nd<sup>3+</sup>, Dy<sup>3+</sup> ve Er<sup>3+</sup>) iyonları bağlanarak iki farklı tip manyetik IMAK malzemesi sentezlenmiştir. Geliştirilen manyetik IMAK malzemelerinin fosfoproteomik analizler için performansı 25 °C’de gerçekleştirilen fosfat adsorpsiyon çalışmalarıyla belirlenmiştir. Fosfat adsorpsiyon çalışmaları yüzeyi silanlanarak hazırlanan manyetik IMAK malzemenin silika kaplı manyetik IMAK malzemelerinden daha yüksek fosfat adsorpsiyon kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir.

**ANAHTAR KELİMELER:** Adsorpsiyon, Adsorpsiyon izotermi, Adsorpsiyon kinetiği, Immobilize metal (iyon) afinite kromatografisi (IMAK), Manyetik nanoparçacık, Şelidamik asit

**JÜRİ:** Doç. Dr. Önder TOPEL

Prof. Dr. Osman DUMAN

Doç. Dr. Uğur CENGİZ

## ABSTRACT

### A NEW TYPE MAGNETIC IMMOBILIZED METAL AFFINITY CHROMATOGRAPHY (IMAC) MATERIAL FOR PHOSPHOPROTEOMIC ANALYSES

Vahit GÖK  
MSc Thesis in Chemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Önder TOPEL

October; 60 pages

In this thesis a new magnetic immobilized metal (ion) affinity chromatography (IMAC) material was synthesized for use in phosphoproteomic analysis. Magnetic nanoparticles as support material, 4-hydroxy 2,6-dicarboxylate (chelidamic acid) as chelator and lanthanide(III) ions with high affinity for phosphate ions as metal ions were selected in the developed magnetic IMAC material. The cubic magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles were synthesized by the co-precipitation method and their size was determined as 8 ± 2 nm. To protect the magnetic nanoparticles from unwanted reactions, their surfaces are coated in 2 different ways. In the first method, core-shell nanoparticles were obtained by coating magnetic nanoparticles with silica. The size and morphology of silica-coated magnetic nanoparticles were characterized by TEM and XRD measurements, the particles were found to be 120 ± 10 nm in size, in the form of spherical particles surrounded by a cubic magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> core surrounded by an amorphous silica shell. In the second method, the surface of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles was directly covered with 3-aminopropyltriethoxysilane (APTES) and particles of 9 ± 2 nm size were obtained. The surface of silane and silica coated magnetic nanoparticles was modified with chelidamic acid and it was proved by FTIR and TGA measurements that they were bound to the particle surfaces by 2.5% and 5% respectively. Two different types of magnetic IMAC material were synthesized by binding lanthanide(III) (Nd<sup>3+</sup>, Dy<sup>3+</sup> and Er<sup>3+</sup>) ions to the surface of the obtained chelidamic acid modified magnetic nanoparticles. The performance of developed magnetic IMAC materials for phosphoproteomic analyses was determined by phosphate adsorption studies carried out at 25 °C. Phosphate adsorption studies have shown that magnetic IMAC material prepared by silanizing the surface has higher phosphate adsorption capacity than silica coated magnetic IMAC materials.

**KEYWORDS:** Adsorption, Adsorption isotherm, Adsorption kinetics, Chelidamic acid, Immobilise metal (ion) affinity chromatography (IMAC), Magnetic nanoparticle

**COMMITTEE:** Assoc. Prof. Dr. Önder TOPEL

Prof. Dr. Osman DUMAN

Assoc. Prof. Dr. Uğur CENGİZ

## ÖNSÖZ

Bu çalışmada fosfopeptit saflaştırma işlemlerinde kullanılabilen yeni tip bir manyetik immobilize metal afinite kromatografi (IMAK) malzemesi geliştirilmiştir. Geliştirilen IMAK malzemesinin fosfoproteom analizlerinde kullanma potansiyelini belirlemek için fosfat adsorpsiyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen manyetik IMAK malzemeler destek malzeme olarak silika ve silan ile kaplanmış manyetik  $Fe_3O_4$  nanoparçacıklar, şelatlayıcı olarak şelidamik asit ve metal iyonu olarak lantanit(III) iyonlarını içerecek biçimde tasarlanmıştır. Seçilen şelatlayıcı ajan bu tür malzemelerde ilk defa kullanılmıştır.

Bu tez çalışması, Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından “Fosfoproteom Analizleri için Manyetik Özellikte Yeni Bir Afinite Kromatografi Malzemesi” başlıklı ve FYL-2019-4968 nolu tez projesi ile desteklenmiştir. Tez çalışmasının bir bölümü ayrıca Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'nun (TÜBİTAK) 117Z906 nolu projesi ile desteklenmiştir. Destekleri için Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne ve TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Manyetik parçacıklar ile çalışma heyecanını ilk olarak lisans öğrenim hayatımda bana sunan ve tez konumun belirlenmesinden, araştırılmasına ve yazımına kadar her adımında yanımda olduğunu hissettiren, bilgi birikimini daima benimle paylaşan, başarısız sonuçlar elde ettiğimde ve motivasyonumu yitirdiğimde bana duygusal değil daha profesyonel bir bakış açısı kazandıran emeklerini ödeyemeyeceğim danışman hocam Sayın Doç. Dr. Önder TOPEL'e,

Gerek bölüm imkânlarını gerek kendi laboratuvar imkânlarını her ihtiyaç duyduğumuzda kullanabilmemizi sağlayan hocam Sayın Prof. Dr. Ertuğrul ARPAÇ'a, Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Malzeme Bilim ve Mühendisliği Bölümü'nde bazı numune analizlerini yapmamı sağlayan hocam Prof. Dr. Meltem ASİLTÜRK'e ve adsorpsiyon çalışmaları boyunca bilgi birikiminden ve laboratuvar imkânlarından faydalanmamı sağlayan hocam Prof. Dr. Osman DUMAN'a,

Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümünde lisans ve yüksek lisans öğrenimim boyunca bana katkı sağlayan sayın öğretim üyelerine, Kimya Bölümü'ndeki arkadaşlarıma ve aynı laboratuvarı paylaştığım değerli arkadaşım Seyithan KANSIZ'a, her zaman desteğini ve tecrübesini benimle paylaşan sevgili arkadaşım Neşe GÜVEN'e, numune analizlerimde büyük emeği geçen değerli arkadaşım Merve TUNÇ'a tek tek teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak bugünlere gelmemde en büyük emek sahibi olan sevgili annem, babam ve ablama her türlü zorluğu bana destek olarak atlatmamda yardımcı olan, sevgilerini her daim gönülden hissettiren aileme gönülden teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ.....	iii
AKADEMİK BEYAN.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Fosfopeptitlerin Zenginleştirilmesi İçin Kullanılan Metal Temelli Afinite Kromatografi Yöntemleri.....	1
1.1.1. İmmobilize metal (iyon) afinite kromatografisi (IMAK).....	2
1.1.2. Metal oksit temelli afinite kromatografisi (MOAK).....	4
1.2. Fosfopeptitlerin Zenginleştirilmesi İçin Kullanılan Amin Temelli Afinite Kromatografi Yöntemleri.....	4
1.3. Kimyasal Modifikasyon ve İmmunoçöktürme Yöntemleri.....	4
2. KAYNAK TARAMASI.....	5
2.1. Çalışmanın Amacı.....	8
3. MATERYAL VE METOT.....	9
3.1. Materyal.....	9
3.2. Metot.....	10
3.2.1. Şelidamik asit modifiye manyetik nanoparçacıkların sentezi.....	10
3.2.1.1. Dietil 4-bromopiridin 2,6-dikarboksilat sentezi.....	11
3.2.1.2. Manyetik nanoparçacıkların sentezi.....	12
3.2.1.3. Amin modifiye manyetik nanoparçacıkların sentezi.....	12
3.2.1.4. Amin modifiye manyetik nanoparçacıklara şelidamik asitin bağlanması.....	14
3.2.2. Şelidamik asit modifiye manyetik nanoparçacıklara lantanit(III) iyonlarının bağlanması.....	14
3.2.3. Manyetik IMAK malzemeye fosfat adsorpsiyon çalışmaları.....	15
3.2.3.1. Fosfat adsorpsiyon çalışmaları için kalibrasyon grafiğinin hazırlanması.....	15
3.2.3.2. Adsorpsiyon kinetiği ve izotermi deneyleri.....	17

3.2.3.3. Fosfat adsorpsiyon verilerinin analiz edilmesi .....	18
4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....	21
4.1. Şelidamik Asit Modifiye Manyetik Nanoparçacıkların Sentezi.....	21
4.1.1. Dietil 4–bromopiridin 2,6–dikarboksilat sentezi.....	21
4.1.2. Manyetik Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparçacıkların sentezi (MNP).....	23
4.1.3. Amin modifiye manyetik nanoparçacıkların sentezi.....	25
4.1.3.1. Silika kaplı manyetik nanoparçacıkların aminlenmesi .....	25
4.1.4. Amin modifiye manyetik nanoparçacıklara şelidamik asitin bağlanması....	32
4.2. Şelidamik Asit Modifiye Manyetik Nanoparçacıklara Lantanit(III) İyonlarının Bağlanması .....	37
4.3. Geliştirilen Manyetik IMAK Malzemelerin Fosfat Adsorpsiyon Çalışmaları....	38
4.3.1. Optimizasyon çalışmaları .....	38
4.3.2. Manyetik IMAK malzemelerinin psödo–birinci merteye, psödo–ikinci merteye ve Elovich kinetik modellerine uyumu .....	41
4.3.2. Geliştirilen manyetik IMAK malzemelerin adsorpsiyon izotermleri .....	50
5. SONUÇLAR .....	56
6. KAYNAKLAR .....	57
ÖZGEÇMİŞ	

## AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Fosfoproteom Analizleri İçin Manyetik Özellikte Yeni Bir Afinite Kromatografi Malzemesi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

16/10/2020

Vahit GÖK

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

A	: Absorbans
C	: Konsantrasyon
C <sub>0</sub>	: Adsorbatın başlangıç konsantrasyonu
C <sub>e</sub>	: Adsorbatın denge konsantrasyonu
C <sub>t</sub>	: Adsorbatın herhangi bir t zamandaki konsantrasyonu
emu/g	: Gram başına elektromanyetik birim
ε	: Absorptivite
k <sub>1</sub>	: 1. mertebe hız sabiti
K <sub>1</sub>	: Adsorpsiyon ısısı ile ilişkili bir sabit
k <sub>2</sub>	: 2. mertebe hız sabiti
K <sub>2</sub>	: Boyutsuz Temkin izoterm sabiti
K <sub>F</sub>	: Freundlich adsorpsiyon kapasitesini
kV	: Kilo volt
n	: Yüzey heterojenlik sabiti
°C	: Celcius derecesi
q <sub>e</sub>	: Denge anında adsorbatın birim kütlesi başına adsorplanan adsorbat miktarı
q <sub>m</sub>	: Tek tabaka kaplamadaki maksimum adsorpsiyon miktarı
q <sub>t</sub>	: Herhangi bir t zamanda adsorbatın birim kütlesi başına adsorplanan adsorbat miktarı
r <sup>2</sup>	: Korelasyon katsayısı
rpm	: Dakikadaki dönüş sayısı
t	: Zaman
V	: Volt
θ	: Yüzeyin kaplanma yüzdesi

## **Kısaltmalar**

APTES	: 3–Aminopropil trietoksisilan
ATP	: Adenozin trifosfat
ATR	: Ortalama gerçek aralık
BINOL	: (R)–(+)-1,1'–Bi(2–naftol)
CS	: Kitosan
DLS	: Dinamik ışık saçılımı
DMF	: N,N–Dimetil formamit
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DOTA	: 1,4,7,10–Tetraazasiklododekan N,N,N,N–tetraasetik asit
DVB	: Divinil benzen
FTIR	: Fourier dönüşümlü kızılötesi
GDN	: Guanidinyum
GMA	: Glisidil metakrilat
HA	: Hiyalüronat
IDA	: İmidodiasetik asit
IMAK	: İmmobilize metal afinite kromatografisi
JCPDS	: Joint Committee on Powder Diffraction Standards
$Ln^{3+}$	: Lantanit(III) iyonu
MAA	: Merkpto asetik asit
MNP	: Manyetik nanoparçacık
MOAK	: Metal oksit temelli afinite kromografisi
MOF	: Metal organik framework
MS	: Kütle Spektrometresi
NMR	: Nükleer manyetik rezonans
NTA	: Nitrolo triasetik asit

PAMA	: Poli(2–aminoetil) metakrilat
PDA	: Polidopamin
PEI	: Polietilenimin
PLP	: Priksodal 5–fosfat
TCPP	: Tetrakis(4–karboksilfenil)propin
TED	: Tri(karboksilmetil)etilendiamin
TEM	: Transmisyon elektron mikroskobu
TGA	: Termogravimetrik analiz
THF	: Tetra hidro furan
TSE	: Türk Standartları Enstitüsü
UV–VIS	: Mor ötesi–görünür bölge
VPA	: Vinilfosfonik asit
VSM	: Titreşimli örnek magnetometresi
XRD	: X–ışını kırınımı
MNP@Si	: Silika kaplı manyetik nanoparçacıklar
MNP@Si@NH <sub>2</sub>	: Amin modifiye silika kaplı nanoparçacıklar
MNP@NH <sub>2</sub>	: Doğrudan amin modifiye nanoparçacıklar
MNP@Si@NH@Chelid	: Şelidamik asit modifiye silika kaplı nanoparçacıklar
MNP@NH@Chelid	: Doğrudan aminli şelidamik asit modifiye nanoparçacık
MNP@Si@NH@Chelid@Ln <sup>3+</sup>	: Lantanit(III) iyonları içeren silika kaplı manyetik IMAK malzemesi
MNP@NH@Chelid@Ln <sup>3+</sup>	: Doğrudan aminlenerek hazırlanmış lantanit(III) iyonları içeren manyetik IMAK malzemesi

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1.1.</b> İMAK malzemelerde kullanılan bazı şelatlayıcı ligandları ile 4–hidroksi–piridin–2,6–dikarboksilik asit’in yapısı .....	3
<b>Şekil 3.1.</b> Manyetik İMAK malzemesi sentez akış şeması .....	11
<b>Şekil 3.3.</b> Farklı derişimlere sahip fosfat çözeltilerinin absorpsiyon spektrumları.....	16
<b>Şekil 3.4.</b> Farklı derişimlerdeki fosfat çözeltileri için 880 nm’de kaydedilen absorbans değerlerinden elde edilen kalibrasyon grafiği .....	16
<b>Şekil 4.1.</b> Şelidamik asit (A) ve dietil 4–bromopiridin 2,6–dikarboksilat’in (B) FTIR spektrumları .....	21
<b>Şekil 4.2.</b> Sentezlenen dietil 4–bromopiridin 2,6–dikarboksilat’in (2) <sup>1</sup> H–NMR spektrumu .....	22
<b>Şekil 4.3.</b> Sentezlenen dietil 4–bromopiridin 2,6–dikarboksilat’in (2) <sup>13</sup> C–NMR spektrumu .....	22
<b>Şekil 4.4.</b> Dietil 4–bromopiridin 2,6–dikarboksilat’in kütle spektrumu .....	23
<b>Şekil 4.5.</b> Sentezlenen manyetik nanoparçacıkların TEM görüntüsü (A,B) ve DLS ölçümlerinden elde edilen sayıca boyut dağılım grafiği (C) .....	24
<b>Şekil 4.6.</b> Manyetik Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparçacıklarına ait XRD kırınım deseni.....	24
<b>Şekil 4.7.</b> Manyetik Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparçacıklarının oda sıcaklığındaki manyetizasyonu.....	25
<b>Şekil 4.8.</b> McCarthy vd. (2012)’ye göre ile 0 °C’de ultrasonik banyoda gerçekleştirilen silika kaplama çalışmalarında sentezlenen parçacıkların TEM görüntüleri .....	26
<b>Şekil 4.9.</b> McCarthy vd. (2012)’ye göre 25 °C’de 20 saatte gerçekleştirilen silika kaplama çalışmalarında sentezlenen parçacıkların TEM görüntüleri .....	27
<b>Şekil 4.10.</b> McCarthy vd. (2012)’ye göre 0 °C (A) ve 25 °C (B)’de ulaşılan en iyi (FeO) <sub>x</sub> :SiO <sub>2</sub> oranlarına ait TEM görüntüleri.....	27
<b>Şekil 4.11.</b> Manyetik Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> (A) ve silika kaplı manyetik Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparçacıklara (B) ait FTIR spektrumları .....	28
<b>Şekil 4.12.</b> Silika kaplı manyetik Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparçacıklarına ait XRD kırınım deseni.....	28
<b>Şekil 4.13.</b> Silika kaplı manyetik Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparçacıklar (A) ile amin modifiye manyetik nanoparçacıklara (B) ait FTIR spektrumları .....	29

<b>Şekil 4.14.</b> Silika kaplı manyetik Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparçacıklar (A) ile amin modifiye manyetik nanoparçacıklar (B)'in TEM görüntüleri .....	30
<b>Şekil 4.15.</b> Sentezin tüm aşamalarındaki nanoparçacıklara ait termal analiz sonuçları .....	30
<b>Şekil 4.16.</b> Manyetik Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparçacıklar (A) ile doğrudan aminli modifiye manyetik nanoparçacıklara (B) ait FTIR spektrumları .....	31
<b>Şekil 4.17.</b> Manyetik Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparçacıkların (A), amin modifiye manyetik nanoparçacıkların (B) ve şelidamik asit modifiye manyetik nanoparçacıkların (C) TEM görüntüleri .....	32
<b>Şekil 4.18.</b> Amin modifiye silika kaplı manyetik nanoparçacıklar (A) ile şelidamik asit modifiye silika kaplı manyetik nanoparçacıklara (B) ait FTIR spektrumları.....	33
<b>Şekil 4.19.</b> Silika kaplı manyetik nanoparçacıklar (A), amin modifiye silika kaplı manyetik nanoparçacıklar (B) ve şelidamik asit modifiye manyetik nanoparçacıklar (C) için elde edilen TEM görüntüleri .....	33
<b>Şekil 4.20.</b> Tüm sentez basamaklarındaki parçacıklara ait XRD kırınımı desenleri .....	34
<b>Şekil 4.21.</b> Manyetik nanoparçacıklar (A) ve şelidamik asit modifiye silika kaplı manyetik nanoparçacıklar (B)'in VSM grafiği .....	34
<b>Şekil 4.22.</b> Doğrudan aminlenmiş manyetik Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparçacıklar (A) ile şelidamik asit modifiye manyetik Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparçacıklara (B) ait FTIR spektrumları.....	36
<b>Şekil 4.23.</b> Doğrudan aminlenmiş manyetik Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparçacıkların her bir modifikasyon adımına ait termogravimetrik analiz sonuçları.....	36
<b>Şekil 4.24.</b> Şelidamik asit modifiye manyetik nanoparçacıklar (A) ile hidroliz edilmiş şelidamik asit modifiye manyetik nanoparçacıklara (B) ait FTIR spektrumları.....	37
<b>Şekil 4.25.</b> Farklı adsorbat miktarlarına göre adsorpsiyon kapasiteleri ve adsorpsiyon yüzdesi .....	39
<b>Şekil 4.26.</b> MNP@Si@NH@Chelid@Er üzerine fosfat adsorpsiyonunun pH'a bağlı değişimi .....	39

<b>Şekil 4.27.</b> Sentezlenen manyetik İMAK üzerine fosfat adsorpsiyonuna iyonik şiddetin etkisi .....	40
<b>Şekil 4.28.</b> Farklı adsorbat miktarlarına göre adsorpsiyon kapasiteleri ve adsorpsiyon yüzdeleri .....	40
<b>Şekil 4.29.</b> MNP@Si@NH@Chelid@Dy yüzeyine farklı pH'larda fosfat iyonu adsorpsiyonunun zamana bağlı değişimi .....	41
<b>Şekil 4.30.</b> MNP@Si@NH@Chelid@Nd yüzeyine fosfat iyonu adsorpsiyonun zamana bağlı değişimi.....	42
<b>Şekil 4.31.</b> MNP@NH@Chelid@Dy yüzeyine fosfat iyonu adsorpsiyonun zamana bağlı değişimi.....	42
<b>Şekil 4.32.</b> MNP@NH@Chelid@Er yüzeyine fosfat iyonu adsorpsiyonun zamana bağlı değişimi.....	43
<b>Şekil 4.33.</b> MNP@Si@NH@Chelid@Nd üzerine 25 °C'de 10 mg.L <sup>-1</sup> fosfat iyonlarının adsorpsiyonunun psödo–birinci mertebe kinetik modele uyumu .....	44
<b>Şekil 4.34.</b> MNP@NH@Chelid@Dy üzerine 25 °C'de 10 mg.L <sup>-1</sup> fosfat iyonlarının adsorpsiyonunun psödo–birinci mertebe kinetik modele uyumu .....	44
<b>Şekil 4.35.</b> MNP@NH@Chelid@Er üzerine 25 °C'de 10 mg.L <sup>-1</sup> fosfat iyonlarının adsorpsiyonunun psödo–birinci mertebe kinetik modele uyumu .....	45
<b>Şekil 4.36.</b> MNP@Si@NH@Chelid@Nd üzerine 25 °C'de 10 mg.L <sup>-1</sup> fosfat iyonlarının adsorpsiyonunun psödo–ikinci mertebe kinetik modele uyumu .....	46
<b>Şekil 4.37.</b> MNP@NH@Chelid@Dy üzerine 25 °C'de 10 mg.L <sup>-1</sup> fosfat iyonlarının adsorpsiyonunun psödo–ikinci mertebe kinetik modele uyumu .....	46
<b>Şekil 4.38.</b> MNP@NH@Chelid@Er üzerine 25 °C'de 10 mg.L <sup>-1</sup> fosfat iyonlarının adsorpsiyonunun psödo–ikinci mertebe kinetik modele uyumu .....	47
<b>Şekil 4.39.</b> MNP@Si@NH@Chelid@Nd üzerine 25 °C'de 10 mg.L <sup>-1</sup> fosfat iyonlarının adsorpsiyonunun Elovich mertebe kinetik modele uyumu.....	47
<b>Şekil 4.40.</b> MNP@ NH@Chelid@Dy üzerine 25 °C'de 10 mg.L <sup>-1</sup> fosfat iyonlarının adsorpsiyonunun Elovich mertebe kinetik modele uyumu.....	48
<b>Şekil 4.41.</b> MNP@ NH@Chelid@Er üzerine 25 °C'de 10 mg.L <sup>-1</sup> fosfat iyonlarının adsorpsiyonunun Elovich mertebe kinetik modele uyumu.....	48
<b>Şekil 4.42.</b> MNP@NH@Chelid@Dy üzerine 25°C'de fosfat iyonlarının adsorpsiyon izoterm grafiği (Kesik çizgi Langmuir izotermini göstermektedir.).....	50

<b>Şekil 4.43.</b> MNP@NH@Chelid@Dy üzerine 25°C’de fosfat iyonlarının adsorpsiyon izoterm grafiği (Kesik çizgi Langmuir izotermini göstermektedir.).....	51
<b>Şekil 4.44.</b> MNP@NH@Chelid@Dy üzerine 25°C’de fosfat iyonlarının adsorpsiyonu için Langmuir izoterm grafiği.....	51
<b>Şekil 4.45.</b> MNP@NH@Chelid@Er üzerine 25°C’de fosfat iyonlarının adsorpsiyonu için Langmuir izoterm grafiği.....	52
<b>Şekil 4.46.</b> MNP@NH@Chelid@Dy üzerine 25°C’de fosfat iyonlarının adsorpsiyonu için Freundlich izoterm grafiği .....	53
<b>Şekil 4.47.</b> MNP@NH@Chelid@Er üzerine 25°C’de fosfat iyonlarının adsorpsiyonu için Freundlich izoterm grafiği .....	53
<b>Şekil 4.48.</b> MNP@NH@Chelid@Dy üzerine 25°C’de fosfat iyonlarının adsorpsiyonu için Temkin izoterm grafiği .....	54
<b>Şekil 4.49.</b> MNP@NH@Chelid@Er üzerine 25°C’de fosfat iyonlarının adsorpsiyonu için Temkin izoterm grafiği .....	54

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Çizelge 2.1.</b> Literatürdeki bazı manyetik fosfopeptit saflaştırma malzemeleri ve saflaştırma yüzdelерinin karşılaştırılması.....	8
<b>Çizelge 4.1.</b> McCarthy vd. (2012)'ye göre gerçekleştirilen silika kaplama çalışmalarında denenен koşullar .....	26
<b>Çizelge 4.2.</b> Geliştirilen İMAK (MNP@SiO@NH@Chelid@Er) ve manyetik Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> nanoparçacıkların bir neodimiyum mıknatısa cevap süreleri .....	35
<b>Çizelge 4.3.</b> Sentezlenen manyetik İMAK malzemelerde yüzeye bağlanmış Ln <sup>3+</sup> iyonlarının derişimleri.....	38
<b>Çizelge 4.4.</b> 25 °C'de 10 mg.L <sup>-1</sup> fosfat içeren manyetik İMAK malzemelerinin adsorpsiyon kinetiği çalışmalarından elde edilen verilerin sırasıyla; psödo–birinci mertebe, psödo–ikinci mertebe ve Elovich kinetik modellerine göre değeriendirilmesinden elde edilen parametreler .....	49
<b>Çizelge 4.5.</b> Manyetik İMAK malzemelerin üzerine fosfat adsorpsiyon verilerinin, izoterm modellerden kinetik modellerden; Langmuir, Freundlich ve Temkin izoterm modeli ile ilgili parametreler ve korelasyon katsayı değeri.....	55

## 1. GİRİŞ

Proteinler 20 adet amino asitin farklı biçimlerde birleşmesiyle meydana gelen genetik bilginin ifade edildiği moleküllerdir. Yapılarındaki modifikasyonlar sonucu canlı hücrede çok sayıda önemli olayların gerçekleşmesini sağlarlar. Proteinlerde 300'ün üzerinde posttranslasyonel modifikasyon gerçekleşir. Bunlardan protein fosforilasyonu canlı organizmadaki en önemli posttranslasyonel modifikasyonlardan biridir ve fosfat grubunun protein yapısındaki bir veya birden fazla amino asite (genellikle serin, treonin ve tirozin amino asitleri üzerinden) tersinir ve kovalent olarak bağlanması olarak tanımlanır. Protein fosforilasyonu hücre bölünmesi, hücre büyümesi, apoptosis, gen ifadesi (ekspresyon) ve sinyal iletimi (transduction) gibi pek çok temel biyolojik prosesin düzenlenmesinde rol oynar (Zhai vd. 2014; Zhai vd. 2016; Wei vd. 2013; Dix vd. 2012; Ebert vd. 2013). Bu nedenle, protein fosforilasyonunda oluşabilecek anormallikler alzheimer, kanser ve diyabet gibi pek çok hastalığa neden olabilmektedir (Truman vd. 2012; Viglietto vd. 2002). Protein saflaştırılması, ilgilenilen bir proteinin fonksiyonunun, yapısının ve etkileşimlerinin karakterizasyonu için gereklidir. Protein saflaştırmasındaki zorluklar, bir hücre ekstraktında mevcut olan makromoleküllerin çeşitliliği göz önüne alındığında daha belirgin hale gelir. Protein saflaştırması için tekniklerin ve yöntemlerin geliştirilmesi, biyoteknoloji'deki gelişmelerin birçoğu için kilit ön şart olmuştur (Ahmad vd. 2012). Bu nedenle, protein fosforilasyonunun ayrıntılı analizi özellikle canlı organizmadaki sinyal iletim mekanizmalarının belirlenmesi ve yeni ilaçların geliştirilmesi için uygun stratejiler ortaya konulması açısından büyük önem arz etmektedir (Wang vd. 2015). Kütle spektrometresini (MS) temel alan metotlar, bu tip analizler için yüksek seçicilik ve hassasiyete sahip yöntemler olmasına rağmen, hâlâ geliştirilmesi gerekmektedir. MS yöntemleriyle yapılan analizlerde karşılaşılan en önemli güçlükler i) fosforillenmiş peptitlerin diğer peptitlere kıyasla düşük derişimde olmaları ve ii) düşük iyonlaşma verimlerine sahip olmalarıdır. Gerçek biyolojik örneklerden elde edilen bir protein karışımında düşük derişimlerde bulunan fosfopeptitlerin sinyallerine kıyasla daha yüksek bollukta bulunan diğer moleküllerin baskısını yok etmek için fosfopeptitlerin MS analizi öncesinde zenginleştirilmesi gerekir. Bir zenginleştirme işleminde fosfopeptitler; yüksek verimli, seçici, duyarlı ve tekrarlanabilir olarak izole edilebilmelidir. Fosfopeptitlerin saflaştırılması fosfat gruplarının varlığını temel alan stratejiler; metal temelli afinite kromatografisi, amin temelli afinite kromatografisi, kimyasal modifikasyon ve immunoçöktürme (immunoprecipitation) olarak sıralanabilir (Wang vd. 2015; Roux and Thibault 2013; Batalha vd. 2012; Chen vd. 2011).

### 1.1. Fosfopeptitlerin Zenginleştirilmesi İçin Kullanılan Metal Temelli Afinite Kromatografi Yöntemleri

Metal temelli afinite kromatografisi, yüksek değerlikli metal katyonlarının fosforillenmiş proteinlerdeki fosfat gruplarına olan afinitesini temel alır ve genel olarak iki sınıfta incelenebilir; immobilize metal afinite kromatografisi (IMAK) ve metal oksit temelli afinite kromografisi (MOAK).

### 1.1.1. İmmobilize metal (iyon) afinite kromatografisi (IMAK)

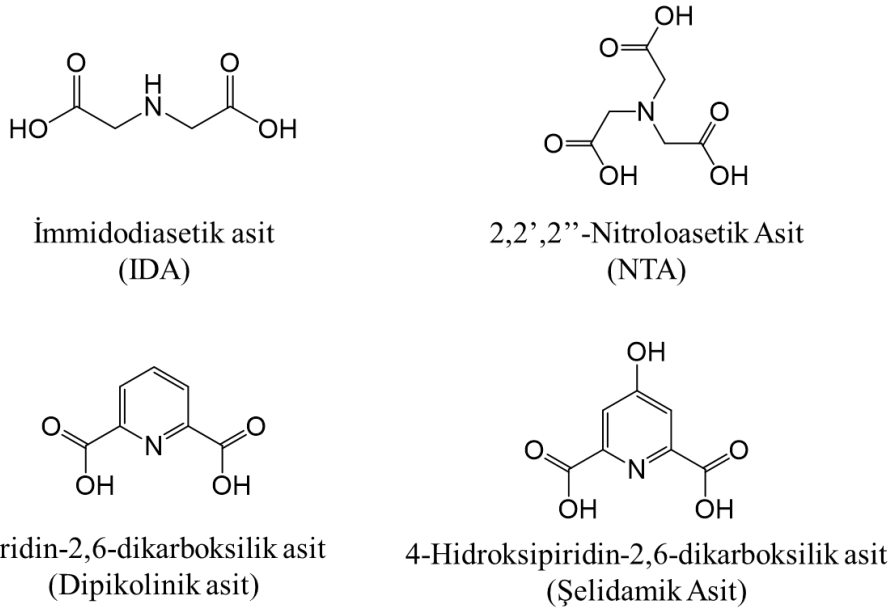
1975 yılında Porath vd. fosfopeptitlerin zenginleştirilmesi yönteminde, agaroz jel üzerine şelatlayıcı olarak imidodiasetik asit (IDA) tutturulup yüzeyine fosfat gruplarına afinitesi yüksek olan bakır(II) ve çinko(II) iyonları bağlanmış ve bir afinite malzemesi hazırlanmıştır. Hazırlanan bu iki malzemeyle insan serumundaki fosfopeptitleri zenginleştirme performanslarını karşılaştırmışlardır. Çinko(II) iyonu ile hazırlanan malzeme transferinin,  $\alpha_1$ -antitripsin, asit glikoprotein seruloplazmin,  $\gamma$ -globülinleri ve  $\alpha_2$ -makroglobin moleküllerini spesifik olarak saflaştırmıştır. Bakır(II) iyonu ile hazırlanan malzeme ise albümin, transferin, prealbumin,  $\beta$ -lipoprotein, haptoglobinler ve  $\gamma$ -globülinleri moleküllerini spesifik olarak saflaştırmışlardır. Hazırlanan bakır(II) ve çinko(II) iyonlarının yanında nikel(II) ve mangan(II) ile de fosfopeptit saflaştırma malzemeleri hazırlanmış ve saflaştırma kapasiteleri karşılaştırıldığında zenginleştirme verimlerinin  $Cu > Zn > Ni > Mn$  sırasına uyduğu belirlenmiştir. Porath vd.'nin (1975) önerdiği bu yöntem bugün *immobilize metal (iyon) afinite kromatografisi (IMAK) yöntemi* olarak bilinir ve fosfopeptit zenginleştirmesinde kullanılan en yaygın yöntemlerden biridir. Buna göre IMAK malzemesi, metal iyonun sabitleneceği destek malzeme, çok dişli bir şelatlayıcı ajan ve fosfat gruplarına afinitesi yüksek bir metal iyonundan meydana gelmektedir.

IMAK malzemeleriyle fosfopeptit zenginleştirme çalışmalarının ilk yıllarında destek malzemesi olarak selüloz ve agaroz gibi polisakkaritler kullanılmış, daha sonraları biyolojik uyumlu ancak mekanik özelliklerinin zayıf olmalarından dolayı yeni bir destek malzeme arayışları başlamıştır. Silika gibi anorganik metal oksit destek malzemeler biyolojik olarak uyumlu olmaları ve yüksek mekanik özelliklerinden dolayı IMAK malzemelerde destek malzeme olarak kullanılmaya başlanmıştır. İlk olarak 2006 yılında Xu vd. tarafından kullanıldıktan sonra manyetik  $Fe_3O_4$  mikro/nanoparçacıklar destek malzeme olarak her geçen gün büyük ilgi uyandırmıştır. Bu ilginin temel sebebi,  $Fe_3O_4$  mikro/nanoparçacıkların manyetik alan etkisiyle saflaştırma işlemini hızlı ve kolay bir hale getirmesidir. Ayrıca, sentez kolaylığı, parçacık boyutunun kontrol edilebilmesi, yüzeylerinin kolayca modifiye edilmesi gibi avantajları manyetik  $Fe_3O_4$  mikro/nanoparçacıkları yeni tip IMAK malzemelerin geliştirilmesi için yoğun biçimde kullanılan destek malzeme haline getirmiştir. Bugün fosfopeptit zenginleştirme işlemlerinde kullanılmak üzere geliştirilmiş manyetik  $Fe_3O_4$  mikroparçacıklar içeren ticari zenginleştirme kitleri üretilmektedir.

Destek malzemelerin yanında bir IMAK malzemesinin diğer bir önemli bileşeni fosfat iyonuna yüksek afiniteye sahip olan metal iyonlarıdır. IMAK malzemelerin ilk gelişim yıllarında  $Co^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$  gibi metal iyonları üzerine araştırmalar yoğunlaşmış (Porath vd. 1975) daha sonra ki yıllarda  $Ti^{4+}$  ve  $Zr^{4+}$  gibi yüksek değerli metal iyonları üzerine çalışmalar yapılmış ve oldukça verimli sonuçlar elde edilmiştir (Wang vd. 2015; Zhai vd. 2016). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, yüksek fosfat iyonu afinitelerinden dolayı özellikle lantanit(III) iyonları artan bir ilgiye sahiptir. Örneğin, Mirza vd. (2013) yaptıkları çalışmada radikal polimerizasyonu ile VPA (vinilfosfonik asit)/DVB (divinil benzen) kopolimerine  $Er^{3+}$ ,  $Ho^{3+}$  ve  $La^{3+}$  bağlanarak fosfopeptit saflaştırma kapasiteleri belirlenmiş, zenginleştirme verimlerinin  $Er > Ho > La$  sırasına uyduğu tespit edilmiştir. 2015 yılında Lai vd. tarafından yapılan çalışmada,  $SiO_2$  kaplı  $Fe_3O_4$  parçacıklarının yüzeyine lantanit(III) oksitleri bağlanarak yüksek yüzde ile saflaştırma

gerçekleştirilmiştir. Zhai vd. (2016) yaptıkları çalışmada malzeme çekirdiğini oluşturan  $Fe_3O_4$  manyetik parçacıklarının yüzeyi tetrakis(4-karboksifenil)propin (TCPP) ve 1,4,7,10-tetraazasiklododekan N,N,N,N-tetraasetik asit (DOTA) ile modifiye edilmiştir. Daha sonra yüzeye seçiciliği kazandırmak için  $Ti^{4+}$ ,  $Zr^{4+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Tb^{3+}$ ,  $Tm^{3+}$  ve  $Ho^{3+}$  iyonları bağlanmış ve her biri için saflaştırma çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Çalışılan metal iyonları arasında en iyi sonucu  $Ti^{4+}$  ve  $Tb^{3+}$ ’ün verdiği kaydedilmiştir. Dolayısıyla, lantanit(III) iyonlarının hem koordinasyon sayılarının yüksek olması hem de fosfat grubuna olan afinitelerinden dolayı daha verimli zenginleştirme yapabilecek bir İMAK malzemesinin geliştirilmesi için umut vadettiği açıkça görülmektedir.

Son olarak İMAK malzemelerinin geliştirilmesi için diğer bir önemli bileşen metal iyonunu yüzeye bağlayacak kompleksleştirme (şelatlama) ajanıdır. Bu bileşen için en önemli özellik metal iyonuna yüksek bollukta bağlanma noktası sağlayabilmesidir. Bunun yanı sıra şelatlayıcı ajan, metal ve destek malzeme arasında sağlam bir köprü görevi görmeli ve fosfopeptit zenginleştirme adımında uygulanacak pH değişimlerinden etkilenmemelidir. İMAK yönteminin ilk yıllarında yoğun olarak imidodiasetik asit (IDA) ve nitrilo-triasetik asit (NTA) gibi şelatlayıcılar kullanılmıştır (Şekil 1.1). Fakat son yıllarda yeni şelatlayıcı arayışları göze çarpmaktadır. Tri(karboksimetil)etilendiamin (TED), fosfonat ve arsenat grupları (Wang vd. 2015), adenozin trifosfat (ATP) (Zhang vd. 2012), DOTA (Zhai vd. 2016) gibi kompleksleştirme ajanları üzerine çalışmalar yapılmış hatta glisidil metakrilat (GMA) (Capriotti vd. 2018; Sparnacci vd. 2018.), polidopamin (PDA) (Luo vd. 2018; Salimi vd. 2017.), poli(etilenimin) (PEI) (Hong vd. 2018) gibi polimerler şelatlayıcı olarak denenmiştir. Son yıllarda geliştirilen manyetik İMAK malzemeleri göz önüne alındığında manyetik çekirdeğin yüzeyinin bir polimer ile kaplandığı ve şelatlayıcı olarak kullanılacak liganda daha çok bağlanma noktası kazandırılmaya çalışıldığı görülmektedir.



**Şekil 1.1.** İMAK malzemelerde kullanılan bazı şelatlayıcı ligandları ile 4-hidroksi-piridin-2,6-dikarboksilik asit'in yapısı

### **1.1.2. Metal oksit temelli afinite kromatografisi (MOAK)**

Metal oksit temelli afinite kromatografisi (MOAK), fosfoproteomik analizlerde sıkça kullanılan diğer bir yöntemdir. IMAK malzemelerinde olduğu gibi MOAK malzemelerinde de ana afinite bölgeleri metal katyonlarıdır. IMAK'tan farklı olarak MOAK'larda metal katyonlar komşu oksijen atomlarına kimyasal bir bağla bağlıdır. MOAK'lardaki metal oksitler amfoterik olduklarından dolayı tıpkı IMAK'lardaki gibi düşük pH'larda fosfopeptitleri tutar ve yüksek pH'larda ise onlardan ayrılabilirler. Böylelikle saflaştırma işlemi gerçekleştirilebilir (Wang vd. 2015).

### **1.2. Fosfopeptitlerin Zenginleştirilmesi İçin Kullanılan Amin Temelli Afinite Kromatografi Yöntemleri**

Amin gruplarının fosfat iyonlarına karşı olan afinitesi doğada gerçekleşen birçok proste önemli bir rol oynar. Amin bazlı gruplar, fosfat bileşiklerinin seçici ekstraksiyonu ve hızlı tespiti için kullanılabilir. Amin bazlı grupların fosfata karşı olan bu afinitesi, bu grupların fosfopeptilere spesifik bir saflaştırma malzemesi olarak kullanılabileceklerini göstermektedir. IMAK ve MOAK'larda olduğu gibi amin bazlı malzemeler de asidik pH'larda fosfopeptiti bağlarken, bazik pH'larda fosfopeptiti bırakır. Bu da pH kontrolü ile fosfopeptitlerin ayrılmasını sağlar (Wang vd. 2015).

### **1.3. Kimyasal Modifikasyon ve İmmunoçöktürme Yöntemleri**

Kimyasal modifikasyon yönteminde, fosfat grubunu seçici bağlayabilen yardımcı bir afinite grubu kullanılır. Daha sonra bu afinite grubuna özel bir seçici yöntem ile saflaştırma gerçekleştirilmektedir. Kimyasal modifikasyon ile fosfopeptit saflaştırma stratejisi birden fazla basamakta gerçekleştiğinden, stratejinin geliştirilmesini sınırlandırmıştır. İmmunoçöktürme, tirozinfosforile proteinleri ve peptitleri yakalamak için kullanılır, yüksek özgünlük ve etkinlik gösterir. İmmunoçöktürme yönteminin en önemli aktörü antikorlar olduğu için geliştirme çalışmaları çok yavaş ilerlemektedir (Li vd. 2016).

## 2. KAYNAK TARAMASI

1975 yılında Porath vd. tarafından geliştirilen ve ilk başlarda “metal şelat kromatografisi” olarak bilinen İMAK, şimdilerde “immobilize metal (iyon) afinite kromatografisi” olarak bilinmektedir ve fosfopeptit zenginleştirme işlemlerinde en çok kullanılan yöntemlerden biridir. İMAK malzemelerinde, metal iyonun sabitleneceği destek malzemeden, şelatlayıcı ajandan ve metal iyonlarından meydana gelmektedir. Genellikle farklı özelliklere sahip destek materyalin yüzeyine fosfat iyonuna karşı yüksek afiniteye sahip metal iyonları bir kompleksleştirme ajanı [imidodiasetik asit (IDA), nitrilotriasetik asit (NTA), fosfat ve arsenat grupları gibi] vasıtasıyla kovalent olarak bağlanır (Zhai vd. 2014; Zhai vd. 2016; Lai vd. 2012; Andersson ve Porath 1986; Hu vd. 2011; Posewitz ve Tempst 1999; Yu vd. 2009; Zhou vd. 2013; Zhou vd. 2006). Bu metal iyonlarının koordinasyon küresindeki boşluklarla fosfoproteinlerin fosfat uçlarındaki oksijenler kompleksleşir. Böylece protein karışımından fosfoproteinlerin ayrılması sağlanır. Pozitif yüklü metal iyonlarıyla negatif yüklü fosfopeptitlerin şelatlaşması pH’ a bağlıdır ve çözeltinin pH’ ını değiştirilerek şelat bozulur, İMAK’ a bağlanan fosfopeptitler serbest kalır ve serbest kalan fosfopeptitler MS ile analiz edilir.

Chen vd. (2011) yaptıkları çalışmada, sentezledikleri  $Fe_3O_4$  parçacıklarını poli(etilenimin) (PEI) ile modifiye ederek yeni tip bir afinite malzemesi geliştirmişlerdir. Hazırlanan bu malzeme ile saf sığır  $\alpha$ -kazeinde ve  $\beta$ -kazein ile hem de yağsız sütteki fosfopeptit saflaştırma işlemi gerçekleştirmişlerdir. Geliştirilen bu malzeme ile protein karışımındaki fosfopeptit miktarı %0,07 (mol/mol) olduğunda bile verimli bir zenginleştirme gerçekleştirebildikleri ve saflaştırmanın 1 dakika içinde tamamlandığı bildirilmiştir.

Lu vd. (2011) yaptıkları çalışmada, mezo gözenekli bir  $SiO_2$  kabuğuna sahip bir manyetik çekirdek sentezleyip zirkonyum(IV) fosfat ( $ZrP$ ) ile yüzeylerini modifiye etmişlerdir. Bu yeni tip İMAK malzemesi ile hem standart proteinler hem de gerçek örneklerdeki fosfopeptitler başarı ile zenginleştirilmiştir.

Sun vd. (2013) yaptıkları çalışmada, fosvitin fosfopeptitleri saflaştırmak üzere yeni tip bir İMAK malzemesi sentezlemişlerdir. Sentezlenen malzemede çekirdekteki  $Fe_3O_4$  üzerine polietilenglikol (PEG) kaplanmış ve yüzeyi kitosan (CTS) ve karboksimetil (CM) ile modifiye edilmiştir. Fosfat iyonuna afinite göstermesi için  $Fe^{3+}$  seçilmiştir. Geliştirilen bu İMAK malzemesinin tavuk yumurtasından elde edilen fosvitin fosfopeptitlerini saflaştırmanın yanı sıra diğer proteomik analizler için de uygun olduğu belirtmişlerdir.

Mirza vd. (2013) yaptıkları çalışmada, fosfopeptitleri saflaştırmak için yeni bir tip metal şelat kromatografi malzemesi sentezlemişlerdir. Radikal polimerizasyonu ile vinilfosfonik asit (VPA)/divinilbenzen (DVB) kopolimerine  $Er^{3+}$ ,  $Ho^{3+}$  ve  $La^{3+}$  katkılayıp fosfopeptit saflaştırma kapasiteleri kıyaslamışlar ve fosfopeptit zenginleştirme verimlerinin  $Er > Ho > La$  sırasına uyduğu tespit etmişlerdir.

Deng vd. (2014) çalışmalarında, silika kaplı manyetik nanoparçacıklardan ( $Fe_3O_4@SiO_2$ ) oluşan çekirdeğinin yüzeyini guanidinyum ( $CH_5N_3$ ) ile modifiye ederek yeni bir malzeme geliştirmişlerdir. Geliştirilen bu guanidinyum modifiye süperparamanyetik mikroküreler ( $Fe_3O_4SiO_2@GDN$ ) kullanılarak protein

karışımlarındaki bozulmamış fosforillenmiş peptitleri daha verimli yakalamak için genel bir strateji geliştirmişlerdir. Araştırmacılar, bu malzemeyle ovalbumin ve  $\beta$ -kazein ile ödenemeler yapmışlar daha sonra malzemenin gerçek örneklerdeki (süt, yumurta ve fare karaciğer dokusundan elde edilen protein ekstraktı) fosfopeptitleri zenginleştirme potansiyeli incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar fosfopeptitleri seçici olarak ayırabildiklerini göstermiştir.

Xiong vd. (2014) çalışmalarında, silika kaplı  $Fe_3O_4$  çekirdek üzerine şelatlayıcı olarak çok tabakalı bir polisakkarit karışımı [hiyalüronat (HA) ve kitosan (CS)] kullanarak yeni bir İMAK malzemesi sentezlemişlerdir. Metal iyonu olarak titanyum(IV) kullandıkları malzemeyle  $\beta$ -kazein, yağsız süt ve insan serumu üzerine yaptıkları fosfopeptit zenginleştirme çalışmalarında oldukça başarılı sonuçlar elde etmişlerdir.

Chen vd. (2015) solvotermal yöntem ile sentezledikleri merkaptoasetik asit (MAA) modifiye  $Fe_3O_4$  nanoparçacıklarının yüzeyine  $Fe^{3+}$  iyonlarını kompleksleştirerek bir İMAK malzeme geliştirmişlerdir. Yüzey alanı  $168 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  ve gözenek büyüklüğü 2–4 nm olacak biçimde hazırladıkları malzemenin  $\beta$ -kazeindeki fosfopeptitleri, %85 oranında ayırabilmiş; ayrıca, insan kanı ve yağsız süt protein karışımlarında umut verici sonuçlar vermiştir.

Piovesana vd. (2016) çok sayıda fosfat iyonunun bağlanabilmesi için polidopamin (PDA) ile manyetik nanoparçacıklar modifiye ederek yüzeylerine  $Ti^{4+}$  iyonlarına bağlamışlar ve gerçek örneklerdeki fosfopeptitleri zenginleştirmeye çalışmışlardır. Farklı yükleme ve elüsyon tamponları kullanarak başarılı sonuçlar elde etmişlerdir.

Zhai vd. (2016) lantanit(III) iyonlarını kullandıkları bir çalışmada, fosfopeptitleri zenginleştirmek için manyetik  $Fe_3O_4$  parçacıkların yüzeyi TCPP ve DOTA ile modifiye ederek bir İMAK malzemesi tasarlamışlardır. Hazırladıkları İMAK malzeme yüzeyine  $Ti^{4+}$ ,  $Zr^{4+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Tb^{3+}$ ,  $Tm^{3+}$  ve  $Ho^{3+}$  iyonlarını bağlamışlar ve her biri için fosfopeptit zenginleştirme çalışmaları gerçekleştirmişlerdir. Kullanılan iyonlar arasında en iyi sonucu  $Ti^{4+}$  ve  $Tb^{3+}$  iyonlarının verdiğini belirlemişlerdir.

Salimi vd. (2017) tarafından yapılan PDA'nın şelatlayıcı olarak kullanıldığı bir diğer çalışmada silika kaplı  $Fe_3O_4$  manyetik çekirdekler monodispers gözenekli silisyum ile kaplanmış yüzeyleri PDA ile modifiye edilmiştir. Son adımda yüzeye  $Ti^{4+}$  bağlanarak hazırlanan İMAK malzemesinin fosfopeptit zenginleştirme işleminde 5 tekrar kullanılabilirliği, 50 fmol/mL gibi düşük derişimlerdeki fosfopeptitleri bile zenginleştirebildikleri belirlenmiştir.

Wang vd. (2017) yaptıkları çalışmada, priksodal 5-fosfat (PLP) ile silika kaplı  $Fe_3O_4$  parçacıkları modifiye etmişler ve yüzeye  $Ti^{4+}$ ,  $Ga^{3+}$  ve  $Fe^{3+}$  iyonları bağlayarak bir İMAK malzeme hazırlamışlardır. Yaptıkları fosfopeptit zenginleştirme çalışmalarında  $Ti^{4+}$  içeren İMAK malzemenin daha iyi sonuçlar verdiği belirlenmiştir.

Luo vd. (2018) yaptıkları çalışmada, fosforillenmiş biyomolekülleri zenginleştirmek üzere manyetik  $Fe_3O_4$  çekirdek poli(2-aminoetil metakrilat (PAMA) ile kaplanmış ve yüzey arjinin ile modifiye edilmiştir. Solvotermal yöntem ile 320 nm boyutunda sentezlenmiş  $Fe_3O_4$  parçacıklar içeren malzeme fosforillenmiş biyomoleküllere arjinin ile spesifik olarak bağlanmıştır. Geliştirilen İMAK malzeme

%87 oranda monofosforillenmiş peptitleri, %13 multifosforillenmiş peptitleri saflaştırıldığı belirtilmiş ve ayrıca IMAK malzemenin saflaştırma işleminden sonra 5 kez daha aktivite kaybı olmadan kullanılabilirdiği kaydedilmiştir.

Wu vd. (2018) son yıllarda geliştirilen metal–organik kafes yapıları (MOF) kullanarak glikopeptitlere spesifik olarak bağlanabilecek manyetik  $Fe_3O_4$  çekirdek içeren bir MOF hazırlamışlardır. Hazırladıkları malzeme ile insan tükürüğünde yapılan zenginleştirme çalışmalarında 43 fosfopeptiti ve 39 glikopeptiti seçici olarak ayırabildiklerini ve malzemeyi 6 kez tekrar kullanabildiklerini belirlemişlerdir.

Yan vd. (2018) yaptıkları çalışma ile, çekirdek olarak sentezledikleri manyetik  $Fe_3O_4$  nanoparçacıkları PDA ve ATP ile fonksiyonlamışlar ve yüzeyine  $Ti^{4+}$  bağlanarak yeni bir IMAK malzemesi geliştirmişlerdir. Geliştirdikleri malzeme ile  $\beta$ -kazein, insan serumu ve yağsız sütte başarılı bir fosfopeptit zenginleştirme çalışması gerçekleştirmişlerdir.

Capriotti vd. (2018) yaptıkları çalışmada, fosfopeptit saflaştırmak için silika kaplı  $Fe_3O_4$  çekirdeğin yüzeyi glisidilmetakrilat (GMA) ile fonksiyonlandırıldıktan sonra IDA bağlamışlardır. Yüzeğe  $Ti^{4+}$  iyonları sabitlendikten sonra elde ettikleri IMAK malzemenin fosfopeptit zenginleştirme potansiyelinin  $TiO_2$  spin kolonundan daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Son yıllarda yapılan protein zenginleştirme çalışmalarında destek malzeme olarak manyetik  $Fe_3O_4$ 'ün kullanıldığı çalışmalar, bu malzemelerde kullanılan şelatlayıcı ve fosfata duyarlı afinite grubunu belirtecek biçimde Çizelge 2.1'de karşılaştırılmıştır.

**Çizelge 2.1.** Literatürdeki bazı manyetik fosfopeptit saflaştırma malzemeleri ve saflaştırma yüzdelerinin karşılaştırılması

IMAK malzeme	Şelatlayıcı ajan	Afinite grubu	Protein kaynağı	Zenginleştirme yüzdesi	Kaynak
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @NH <sub>2</sub>	–	–	Yağsız Süt	%77	Cheng vd. (2011)
VPA/DVB@Er, VPA/DVB@Ho, VPA/DVB@La, TiO <sub>2</sub>	VPA/DVB, VPA/DVB, VPA/DVB,	Er <sup>3+</sup> , Ho <sup>3+</sup> , La <sup>3+</sup> , TiO <sub>2</sub>	α-kazein, β-kazein, ovalbumin karışımı	%92 %88 %76 %72	Mirza vd. (2013)
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @SiO <sub>2</sub> @HA/ CS@Ti	HA/CS	Ti <sup>4+</sup>	İnsan serumu ve yağsız süt	%85	Xiong vd. (2014)
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @MAA@Fe	MAA	Fe <sup>3+</sup>	β-kazein	%65	Chen vd. (2015)
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @DOTA/ TCPP@Tb, Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @DOTA/ TCPP@Ti	DOTA/ TCPP, DOTA/ TCPP	Tb <sup>3+</sup> Ti <sup>4+</sup>	Hela hücresi	%57 %42	Zhai vd. (2016)
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @SiO <sub>2</sub> @ PDA@Ti	PDA	Ti <sup>4+</sup>	Ekoli hücresi	%68	Salimi vd. (2017)
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @PAMA@ Arj	PAMA	Arj	β-kazein	%80	Luo vd. (2018)
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @PDA/ATP @Ti	PDA/ATP	Ti <sup>4+</sup>	β-kazein	%90	Yan vd. (2018)

## 2.1. Çalışmanın Amacı

Bu tezin amacı, fosfoproteomik analizlerde kullanılmak üzere manyetik özellikte lantanit(III) iyonları içeren yeni IMAK malzemesi hazırlamaktır. Hazırlanan manyetik IMAK malzemesinde destek malzeme olarak manyetik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıklar kullanılmış, şelatlayıcı olarak 4-hidroksipiridin-2,6-dikarboksilik asit (şelidamik asit) ve metal iyonu olarak fosfat iyonlarına yüksek afinitesi ile bilinen lantanit(III) iyonları (Nd<sup>3+</sup>, Dy<sup>3+</sup> ve Er<sup>3+</sup>) seçilmiştir. Şelidamik asit, bir IMAK malzemesinde şelatlayıcı olarak ilk defa kullanılmıştır. Geliştirilen lantanit(III) iyonları içeren manyetik IMAK malzemelerin fosfoproteomik analizler için performansı 25 °C’de gerçekleştirilen fosfat adsorpsiyon çalışmaları ile belirlenmiştir.

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Materyal

Bu çalışmada geliştirilen manyetik IMAK malzemesinde destek malzeme olarak kullanılan silika kaplı manyetik nanoparçacıkların sentezi için demir(II) klorür ( $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) (Merck), demir(III) klorür ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , Merck), hidroklorik asit (HCl) (Merck), sodyum hidroksit (NaOH, Merck), tetraetoksisilan (TEOS, Merck), 3-aminopropiltetraetoksisilan (APTES, Merck), etanol (Merck) ve toluen (Merck); şelatlayıcı ligandın sentezinde 4-hidroksi-2,6-piridindikarboksilik asit (şelidamik asit, Merck) ve fosfor penta bromür ( $\text{PBr}_5$ , Merck); ligandın saflaştırılmasında silika jel (Merck), etilasetat (Merck) ve n-hegzan (Merck); ligandın manyetik nanoparçacık yüzeyine bağlanması için (*R*)-(+)–1,1'-bi(2-naftol) (BINOL, Merck), bakır(I) bromür ( $\text{CuBr}$ , Merck), potasyum fosfat ( $\text{K}_3\text{PO}_4$ , Merck) ve N,N-dimetil formamit (DMF, Merck); ligandın yıkanmasında diklorometan ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , Merck) ve etilen diamin tetra asetik asit (EDTA, Merck); ligandın ester uçlarının hidrolizi için tetrahidrofuran (THF, Merck) ve lityum(I) hidroksit (LiOH, Merck) kullanılmıştır. IMAK yüzeyine bağlanacak lantanit(III) iyon kaynağı olarak erbiyum(III) nitrat [ $\text{Er}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , Merck], disporisyum(III) nitrat [ $\text{Dy}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , Merck] ve neodimiyum (III) nitrat [ $\text{Nd}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , Merck] kullanılmış; elementlerin yüzeydeki stokiyometrilerinin belirlenmesi için etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) ve ksilenol oranj (Merck) kullanılmıştır. Geliştirilen IMAK malzemesinin fosfat iyonu adsorpsiyon çalışmalarında potasyum dihidrojen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), askorbik asit (Merck), sülfirik asit ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ , Merck), amonyum heptamolibdat (Across Organics), antimon potasyum tartarat (Merck) ve nitrik asit ( $\text{HNO}_3$ , Merck) kullanılmıştır. Tüm çalışmalarda ultra saf su (Milli-Q  $18\mu\Omega \cdot \text{cm}^{-1}$ ) kullanılarak yapılmıştır. Kullanılan tüm organik çözücüler uygun yöntemlerle damıtılarak susuz biçimde kullanılmıştır.

Malzemelerin sentezi esnasındaki ısıtma ve karıştırma işlemlerinde ICA RTC Classic marka manyetik karıştırıcı ve 2 Mag Magnetic Motion marka çoklu karıştırıcı, nanoparçacıkların dispersiyonu için Elmasonik S60H ultrasonik banyo, pH ölçümleri Mettler Toledo T50 model pH metre ile gerçekleştirilmiştir. Kurutma işlemlerinde Philip Harris marka etüv ve Daihan marka Thermo stable OV-30 model vakum etüvü kullanılarak, tartımlar 0,0001 g hassasiyete sahip Chyco Balance marka JL-200 model hassas terazi ile, santrifüj işlemleri ise Hettich marka Universal II model santrifüj cihazı ile gerçekleştirilmiştir. IMAK malzemesinin fosfat adsorpsiyon deneyleri Nüve marka ST 402 model çalkalamalı su banyosunda 25 °C'de yapılmıştır. Hazırlanan çözeltilerin absorbans ölçümleri için SEM marka Cary 100 model UV-Vis spektrofotometre kullanılmıştır.

Sentezlenen malzemelerin yapısındaki fonksiyonel gruplar ve modifikasyon işlemleri Fourier transform infrared (FTIR) spektrometresi ve termogravimetrik analiz (TGA) ölçümleriyle gerçekleştirilmiştir. FTIR analizleri, Akdeniz Üniversitesi

Mühendislik Fakültesi Malzeme Bilim ve Mühendisliği Bölümü'nde bulunan Perkin Elmer TWO model FTIR spektrometresiyle 400–4000  $\text{cm}^{-1}$  dalga sayısı aralığında ATR tekniğiyle yapılmıştır. TGA ölçümleri ise yine aynı bölümde bulunan Perkin Elmer/STA 8000 cihazı ile argon atmosferi altında, 30–800 °C sıcaklık aralığında ve 10 °C/dk tarama hızı ile gerçekleştirilmiştir. Ligandın moleküler yapısı nükleer manyetik rezonans (NMR) spektrometresi ve kütle spektrometresi ile aydınlatılmıştır. NMR spektrumları ODTÜ Merkez Araştırma Laboratuvarında (MERLAB) bulunan Bruker AVANCE marka 300 MHz'lik NMR spektrometresi ile dimetilsülfoksit (DMSO) iç standardı kullanılarak alınmıştır. Kütle spektrumları Agilent 6460 QQQ with Jet Stream Technology cihazı ile yapılmıştır. Manyetik nanoparçacıkların hidrodinamik çapları, Malvern Zetasizer ZS cihazı ile dinamik ışık saçılımı (DLS) tekniğine göre ölçülmüştür. Parçacıkların boyut ve morfolojisi transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ölçümleri ile belirlenmiştir. TEM ölçümleri için Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Bölümü'nde bulunan Zeiss Leo 906E marka TEM cihazı kullanılmıştır. Ölçümler, karbon kaplı bakır gridler üzerine kaplanmış örnekler kullanılarak 80 kV'da gerçekleştirilmiştir. Elde edilen TEM görüntüleri Adobe Photoshop 7 programı ile değerlendirilerek parçacıkların ortalama boyutları belirlenmiştir. Manyetik nanoparçacıkların kristal yapısı PANalytical Empyrean marka cihaz kullanılarak toz örnekler üzerinde kırınım tekniğine göre gerçekleştirilen X-ışını kırınımı (XRD) ölçümleriyle aydınlatılmıştır. Ölçümler, Cu K $\alpha$  ışınmasını kullanarak 10–90°'lik 2 $\theta$  değeri aralığında ve 0,01°/s tarama hızında gerçekleştirilmiştir. Manyetik nanoparçacıkların manyetik özellikleri Cryogenic Limited PPMS marka cihaz ile titreşen örnek manyetometresi (Vibrating Sample Magnetometer, VSM) ölçümleri ile belirlenmiştir.

### 3.2. Metot

Bu tezde geliştirilen İMAK malzemelerinde, metal iyonu olarak bir lantanit(III) iyonları, şelatlayıcı ajan olarak “şelidamik asit” (4–hidroksi–2,6–piridindikarboksilik asit) ve matriks olarak ise silika kaplı manyetik nanoparçacıklar kullanılmıştır. Tez üç aşamada gerçekleştirilmiştir. Birinci aşamada şelidamik asit ile modifiye edilmiş silika kaplı manyetik nanoparçacıklar sentezlenmiş, ikinci aşamada bu parçacıkların yüzeyine Ln<sup>3+</sup> iyonu şelidamik asit üzerinden bağlanmıştır. Son aşamada ise geliştirilen İMAK malzemenin fosfata olan afinitesi adsorpsiyon çalışmalarıyla incelenmiştir.

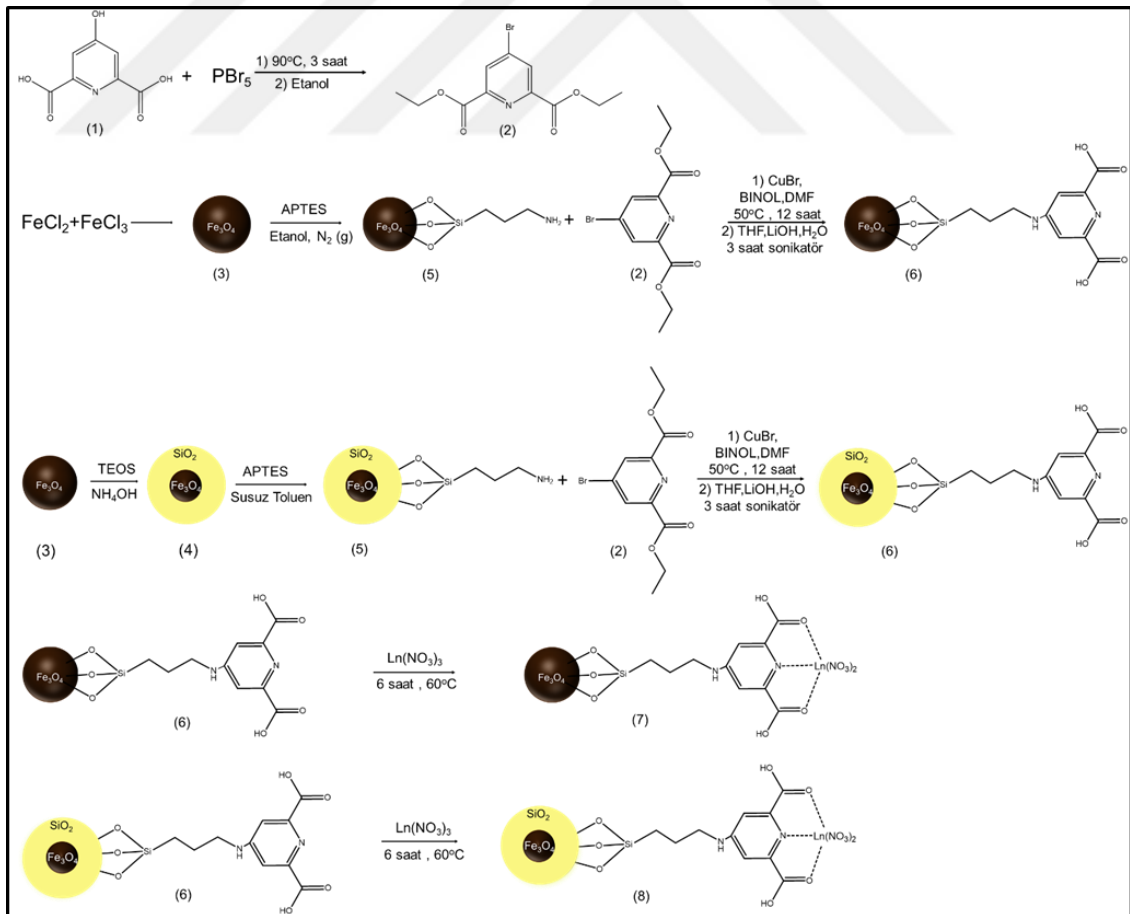
#### 3.2.1. Şelidamik asit modifiye manyetik nanoparçacıkların sentezi

İMAK malzemedeki Ln<sup>3+</sup> iyonlarının sabitleneceği şelidamik asit modifiye manyetik nanoparçacıkların sentezi Şekil 3.1'de verilen adımlara göre gerçekleştirilmiştir. İlk adımda şelidamik asitin destek malzeme yüzeyine kolayca bağlanabilmesi için bromlama işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra, yüzeyi amin gruplarıyla modifiye edilmiş manyetik nanoparçacıklardan oluşan destek malzemesi sentezlenmiştir.

Son adımda destek malzemenin yüzeyindeki amin grupları ve sentezlenen 4-bromopiridin 2,6-dikarboksilat moleküllerinin brom uç grupları üzerinden bir kenetlenme tepkimesi ile modifiye edilmiştir.

### 3.2.1.1. Dietyl 4-bromopiridin 2,6-dikarboksilat sentezi

Şelatlayıcı olarak kullanılacak olan 4-hidroksipiridin-2,6-dikarboksilik asit (şelidamik asit) (1)'in amin modifiye manyetik nanoparçacık yüzeyine bağlanabilmesi için önce 4 pozisyonundaki hidroksil grubu bromür ile yer değiştirilmiştir (Şekil 3.1). Bunun için şelidamik asit (1) (2,05 g, 10 mmol) ve  $PBr_5$  (20,7 g, 48 mmol) tartılmış ve iki boyunlu bir balona alınmıştır. Elde edilen karışım argon atmosferinde 90 °C sıcaklıkta 3 saat boyunca 800 rpm'de homojen bir eriyik olana dek karıştırılmıştır. Bu sürenin sonunda oda sıcaklığına soğutulan karışım kloroform ile çözülerek bir behere süzülmüştür. Süzüntüdeki dietyl-4-bromopiridin 2,6-dikarboksilat (2) 0 °C'ye soğutulup damla damla mutlak etanol eklemek suretiyle çöktürülmüştür. Çöken sarımsı beyaz çökelek (2) önce etanolde yeniden kristallendirilerek ve daha sonra 1:1 etil asetat, n-hegzan ile nötral silika kolonundan geçirilerek saflaştırılmıştır. Ürünün yapısı Fourier transform infrared (FTIR) spektrometresi, nükleer manyetik rezonans (NMR) ve kütle spektrometresi ölçümleriyle aydınlatılmıştır (Zeng vd. 2011).



Şekil 3.1. Manyetik IMAK malzemesi sentez akış şeması

### 3.2.1.2. Manyetik nanoparçacıkların sentezi

Manyetik nanoparçacıklar McCharty vd. (2012)'nin önerdiği yönteme göre sentezlenmiştir. Sentezde kullanılan ultra saf su 30 dakika argon gazı ile yıkanarak içerisindeki çözünmüş oksijenden arındırılmıştır. Aynı işlem sentezde kullanılan diğer sulu çözeltilere de uygulanmış ve çözünmüş oksijenin olası olumsuz etkileri giderilmiştir. Manyetik nanoparçacıkların sentezi argon atmosferinde gerçekleştirilmiştir. 6,56 g  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  ve 2,48 g  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  tuzları tartılıp bir beherde 25 ml 0,4 M'lık HCl çözeltisinde çözülmüş ve çözelti argon atmosferinde 30 dakika karıştırılmıştır. Elde edilen çözelti, içinde 40 °C'ye ısıtılmış 250 mL 0,5 M NaOH bulunan üç boyunlu bir reaksiyon balonuna argon atmosferinde 20 damla/dakika akış hızında eklenmiştir. Ekleme işlemi tamamlandıktan sonra elde edilen siyah renkli karışımın sıcaklığı 80 °C'ye çıkarılmış ve bu sıcaklıkta 1 saat 1200 rpm'de karıştırılmıştır. Bu sürenin sonunda karışım oda sıcaklığına getirilmiş ve manyetik nanoparçacıklar bir mıknatıs yardımı ile ortamdan ayrılmıştır. Elde edilen manyetik nanoparçacıklar sırasıyla etanol ve ultra saf su ile nötürleşene kadar yıkanmıştır. pH nötürleştikten sonra elde edilen kararlı manyetik nanoparçacık dispersiyonu bu haliyle karanlıkta 1200 rpm'de karıştırılarak saklanmıştır. Ele geçen bu dispersiyon kararlılığını bir kaç ay koruyabilmektedir. Manyetik nanoparçacık dispersiyonunun derişimi gravimetrik yöntemle  $0,100 \text{ g.mL}^{-1}$  olarak bulunmuştur. Hazırlanan nanoparçacıklar bir vakum etüvünde 35 °C'de 24 saat boyunca kurutulduktan sonra bu parçacıkların boyutları, morfolojileri, kristal yapıları ve manyetik özellikleri DLS, FTIR, TGA, TEM ve XRD ölçümleri ile karakterize edilmiştir.

### 3.2.1.3. Amin modifiye manyetik nanoparçacıkların sentezi

Bölüm 3.2.1.2'de sentezlenen manyetik nanoparçacıkların yüzeyleri iki farklı yönteme göre amin gruplarıyla modifiye edilmiştir. Birinci yöntemde, sentezlenen manyetik nanoparçacıklar bir silika kabuk ile kaplandıktan sonra yüzeylerine 3-aminopropil trietoksisilan (APTES) bağlanmıştır. İkinci yöntemde ise manyetik nanoparçacıkların yüzeyine doğrudan 3-aminopropil trietoksisilan (APTES) bağlanmıştır. Böylece iki farklı yolla sentezlenmiş amin modifiye nanoparçacıklar elde edilmiştir.

#### a) Silika kaplı manyetik nanoparçacıkların aminlenmesi

Bu yöntemde, sentezlenen manyetik nanoparçacıkların yüzeyleri önce sitrat ile modifiye edilmiş ve daha sonra, silika kaplama işlemi gerçekleştirilmiştir. Manyetik nanoparçacıkların sitratla kaplanması için önce 5 mL manyetik nano  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (3) dispersiyonu ( $0,100 \text{ g/mL}$ ) alınarak 100 mL saf suda karıştırılmıştır. Bu çözeltiye 0,55 g sitrik asit içeren 100 mL sulu çözelti eklenmiş ve 5 dakika ultrasonik banyoda bekletilmiştir. Daha sonra çözeltinin pH'ı trietil amonyum hidroksit (TEAOH) ile nötürleştirilmiştir. Silika kaplama işlemine daha küçük öbekler üzerinden başlanması için manyetik parçacıklar sitrat ile kaplanarak daha küçük öbekler halinde stabilize edilmiş ve ve daha homojen boyut dağılımı elde edilmesi amaçlanmıştır.

Silika kaplama işlemi düşük sıcaklıkta (0 °C) gerçekleştirilmiştir. Bunun için, önce 650 mL etanol ve 180 mL ultra saf su içeren çözücü karışımına 5,6 mL NH<sub>3</sub> ve 45 mL sitrik asit kaplı manyetik nanoparçacık dispersiyonu eklenmiş ve karışım 1200 rpm'de 30 dakika karıştırılmaya bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda karışım bir buz banyosu içerisine alınarak içine 3,47 mL TEOS ve 30 mL etanolden oluşan bir çözelti damla damla (20 damla/dk) eklenmiştir. Bu işlemden sonra, hidroliz tepkimesinin tamamlanması için karışım 0 °C'deki ultrasonik banyoda 1 saat boyunca bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda silika ile kaplanmış manyetik nanoparçacıklar bir ultrasantrifüj ile 12.000 rpm'de 5 dakikada çöktürülmüştür. Sentezlenen kahverengi renkteki silika kaplı manyetik nanoparçacıklar (4) nötürleşene kadar etanol ile yıkanmış ve bir vakum etüvünde 35 °C'de kurutulmuştur. Manyetik nanoparçacık yüzeylerinin silika ile kaplanması FTIR ve TGA ölçümleri ile kanıtlandıktan sonra, parçacıkların boyut ve morfolojilerindeki değişim TEM ve XRD ölçümleriyle aydınlatılmıştır.

Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> çekirdek ve SiO<sub>2</sub> kabuktan oluşan silika kaplı manyetik nanoparçacıklar (325 mg) (4) 100 mL toluende dispersiye edildikten sonra karışıma 3-aminopropiltrietoksisilan (5 mL) (APTES) eklenmiş ve oda sıcaklığında 12 saat karıştırılmıştır. Elde edilen amin modifiye manyetik nanoparçacıklar (5) mıknatısla toplanarak üzerindeki sıvı dekantasyonla ayrılmış ve etanol içinde yeniden dispersiye edilerek saflaştırılmıştır (Zeng vd. 2011). Elde edilen kahverengi renkteki aminlenmiş silika kaplı manyetik nanoparçacıklar 35 °C'de vakum etüvünde kurutulmuştur. Parçacıkların aminle modifikasyonunun gerçekleştirilmesi FTIR ve TGA ölçümleri ile kanıtlandıktan sonra boyut ve morfolojileri TEM ölçümleri ile aydınlatılmıştır.

*b) Manyetik nanoparçacıkların doğrudan aminlenmesi*

Doğrudan aminleme işlemi McCharty vd. (2012) tarafından önerilen yöntem ile gerçekleştirilmiştir. Kurutulmuş 1 gram manyetik nanoparçacıklardan (3) 250 mL mutlak etanol içerisinde 1 saat ultrasonik banyoda bekletilerek dispersiye edilmiştir. Bu işlem boyunca agregasyon oluşumunu engellemek için sıcaklığın 25 °C'nin üzerine çıkması engellenmiştir. Bir glove bag içerisinde azot atmosferinde 50 mL mutlak etanol içerisine 6 mL APTES alınarak bir çözelti hazırlanmış ve elde edilen bu çözelti manyetik nanoparçacık dispersiyonuna hava sızdırmaz bir şırınga ile 1200 rpm'de 20 damla/dakika akış hızında ilave edilmiştir. Ekleme işlemi tamamlandıktan sonra, karışım tekrar ultrasonik banyo içerisine alınmış ve sıcaklık 25 °C'de sabit tutularak 1 saat boyunca bekletilmiştir. Bu sürenin uzaması aşırı silan polimerizasyonuna ve bunun sonucunda manyetik özelliğin azalmasına sebep olabilir. Doğrudan aminleme ile sentezlenmiş nanoparçacıklar (5) bir mıknatısla ayrılıp etanol ve ultrasaf su ile yıkandıktan sonra vakum etüvünde 35 °C'de 24 saat boyunca kurutulmuştur. Elde edilen amin modifiye manyetik nanoparçacıklar DLS, FTIR, TGA ve TEM ölçümleri ile karakterize edilmiştir.

### 3.2.1.4. Amin modifiye manyetik nanoparçacıklara şelidamik asitin bağlanması

Amin modifiye manyetik nanoparçacıklara şelidamik asitin bağlanması için Zeng vd. (2011)'nin önerdiği yöntem değiştirilerek kullanılmıştır. Bunun için üç boyunlu bir cam balon içerisine 2,8 mg CuBr, 5,7 mg BINOL, 42,4 mg K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 0,2 mmol amin modifiye manyetik nanoparçacık (5) ve 0,24 mmol dietil 4-bromopiridin 2,6-dikarboksilat (2) karıştırılmış ve ortamdaki çözülmüş oksijen vakumlama ve argon gazı ile yıkama işlemleriyle uzaklaştırılmıştır. Vakumlama ve argon gazı ile yıkama işlemi üç kez yapıldıktan sonra, argon atmosferi altında 1 mL DMF eklenmiş ve sıcaklık 50 °C'ye çıkartılarak 12 saat boyunca 800 rpm'de karıştırılmaya devam edilmiştir. Tepkime tamamlandıktan sonra, karışım yağ banyosundan çıkarılarak soğumaya bırakılmış ve elde edilen ürün mutlak etanol ile alınmıştır. Ligand bağlı manyetik nanoparçacıklar bir miktatısla ayrılmış sonra iki kez etanol ile bir kez diklorometan ile yıkanmıştır. Daha sonra, nanoparçacıklar bakır kalıntısını yok etmek için 0,010 M, 25 mL EDTA çözeltisi ile yıkanmıştır. Hazırlanan şelidamik asit modifiye manyetik nanoparçacıkları (6) bir vakum etüvünde 35 °C'de 24 saat boyunca kurutulmuş, modifikasyonun derecesi, boyut ve morfoloji üzerine etkisi FTIR, TGA, TEM ve XRD ölçümleri ile belirlenmiştir.

Sentezlenen şelidamik asit modifiye manyetik nanoparçacıklarda ligandın karbonil grupları ester halinde korunduğu için bu grupların hidrolizi ile şelatlamaya uygun hale getirmek gerekir. Bunun için şelidamik asit modifiye manyetik nanoparçacıkların yüzeyleri LiOH ile hidroliz edilmiştir. Bu işlem için 100 mg şelidamik asit modifiye manyetik nanoparçacık alınarak 20 mL THF içerisinde dispersiyeye edilmiştir. Malzeme yüzeyindeki şelidamik asitin mol miktarına göre 10:1 oranında LiOH alınarak 4 mL ultra saf su içinde çözülmüş ve nanoparçacık dispersiyonuna eklenmiştir. Hidroliz tepkimesi 1200 rpm'de 2 saat 45 dakika boyunca gerçekleştirilmiştir. Bu işlem tamamlandıktan sonra, şelidamik asit modifiye manyetik nanoparçacıklar ayrılmış ve iki kez saf su ile yıkandıktan sonra bir vakum etüvünde 35 °C'de 24 saat boyunca kurutulmuştur. Hidrolizin derecesi ve etkisi FTIR, TGA, TEM ve XRD ölçümleri ile karakterize edilmiştir.

### 3.2.2. Şelidamik asit modifiye manyetik nanoparçacıklara lantanit(III) iyonlarının bağlanması

Sentezlenen şelidamik asit modifiye manyetik nanoparçacıkların yüzeyine lantanit(III) iyonlarının bağlanması için Zhai vd. (2014)'nin önerdiği yöntem kullanılmıştır. Bunun için 100 mg şelidamik asit modifiye manyetik nanoparçacıklara (5) şelidamik asit:Ln<sup>3+</sup> oranı 1:2 olacak biçimde lantanit(III) iyonu çözeltisi eklenmiş ve toplam hacim 10 mL'ye tamamlandıktan sonra çözelti 60 °C'de 6 saat boyunca 1200 rpm karıştırma hızında karıştırılmıştır. Bu sürenin sonunda elde edilen manyetik IMAK malzemesi (7) bir miktatısla ayrılmış ve ultra saf su ile 3 kez yıkanmıştır. Daha sonra 35 °C'deki bir vakum etüvüne alınan ürün 24 saat boyunca kurutulmuştur.

Sentezin sonunda elde edilen yıkama suları birleştirilerek belirli bir hacme tamamlandıktan sonra içerisindeki  $\text{Ln}^{3+}$  iyonu derişimi ayarlanmış bir EDTA çözeltisi ile asetat tamponu ve ksilenol oranj indikatörü varlığında gerçekleştirilen geri titrasyon işlemiyle hesaplanmıştır (Vogel vd. 1989). Böylece manyetik IMAK malzeme (7) yüzeyine bağlanmış  $\text{Ln}^{3+}$  iyonu miktarı belirlenmiştir. Her bir titrasyon işlemi en az 5 kez gerçekleştirilmiş ve sonuçların ortalaması üzerinden hesaplamalar yapılmıştır. Lantanit(III) iyonlarının varlığı ICP analizi ile de desteklenmiştir. Kral suyunda çözölen örneklerdeki serbest lantanit(III) iyon derişimleri hazırlanmış bir kalibrasyon eğrisi üzerinden hesaplanmıştır.

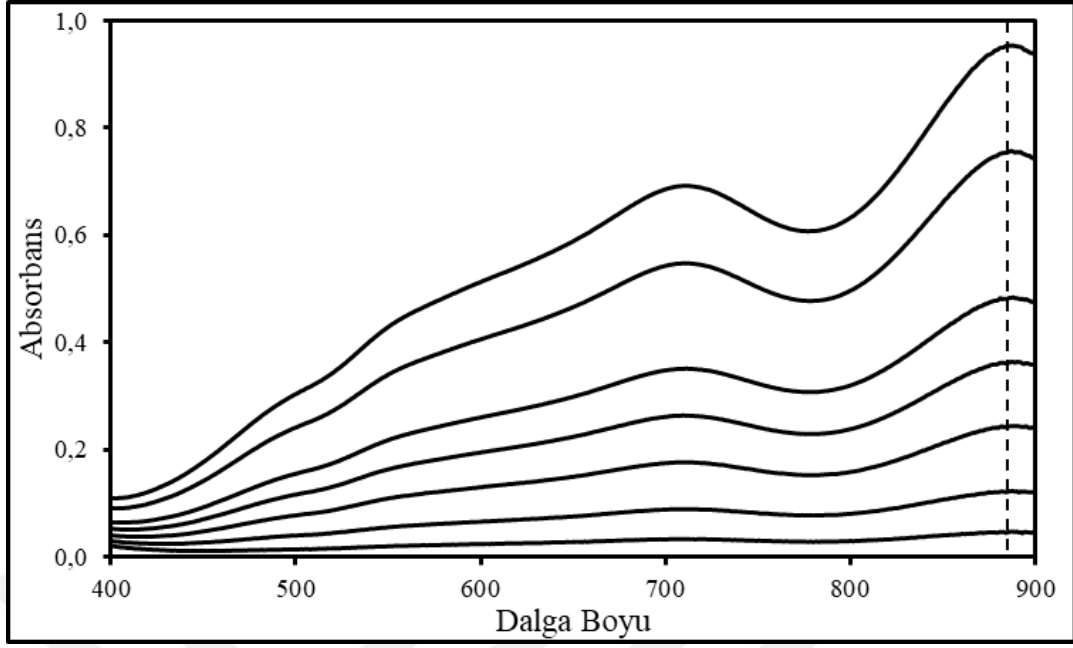
### 3.2.3. Manyetik IMAK malzemeyle fosfat adsorpsiyon çalışmaları

Geliştirilen manyetik IMAK malzemesinin fosfopeptit zenginleştirme işlemleri için uygunluğunu test etmek için 25 °C’de sulu çözeltide fosfat iyonu adsorpsiyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

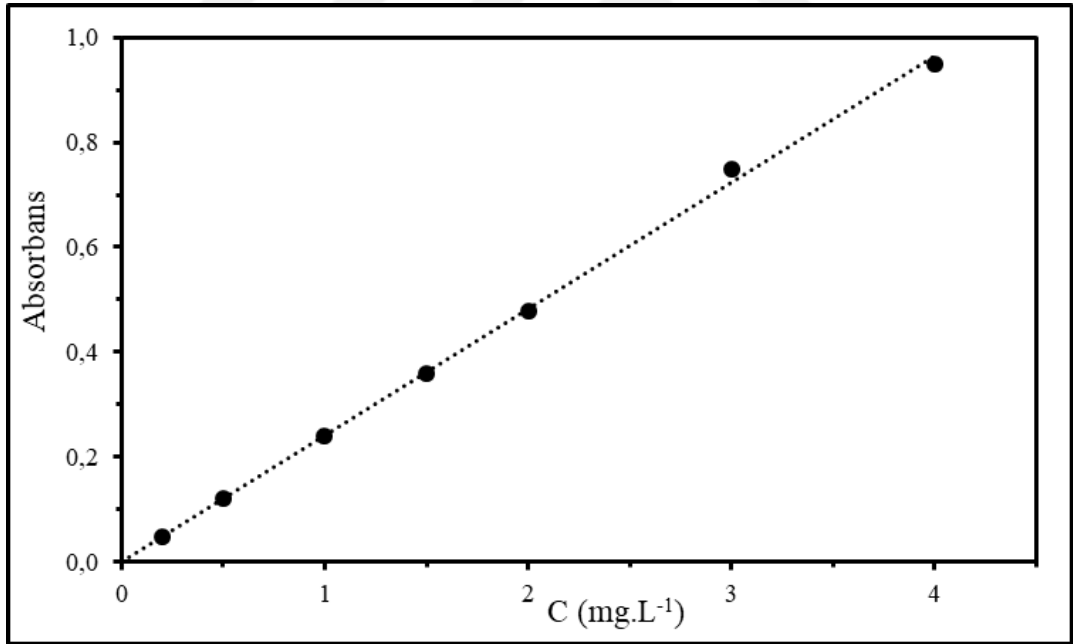
Fosfat iyon derişimi *Standart Amonyum Molibdat Metodu*’na göre spektrofotometrik olarak gerçekleştirilmiştir (TSE standart ISO6878:2004 (E)). Bu yöntem ile fosfat tayini, ortofosfat iyonlarının molibdat ve antimon iyonları içeren asidik çözeltide fosfomolibdat kompleksi oluşturması temeline dayanmaktadır. Oluşan kompleksin askorbik asit ile indirgenmesiyle koyu renkli bir molibdenyum mavisi oluşmaktadır. Ortofosfatın derişimi bu kompleksin 880 nm’deki absorbansı ölçölerek belirlenmiştir (TSE standart ISO6878:2004 (E)). Bunun için öncelikle, 9 M sülfirik asit, 0,1 M amonyum hepta–molibdat ve 0,005 M antimon potasyum tartarat çözeltisi hazırlanmıştır. Daha sonra 300 mL 9 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 100 mL 0,1 M amonyum hepta molipdat ve 100 mL 0,005 M antimon potasyum tartarat çözeltisi karıştırılarak bir asidik reaktif çözelti hazırlanmıştır. Hazırlanan bu reaktif çözelti koyu renkli şişelerde saklandığında 2 ay boyunca kararlıdır. İndirgeme ajanı olarak 0,5 M 100 mL askorbik asit çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözelti 2 haftaya kadar kararlılığını korur. Fosfat tayini yapılırken tayin edilecek çözeltiden 1–10 mL arasında alınmış daha sonra bu çözeltiye 1 mL askorbik asit ve 2 mL reaktif karışımı eklendikten sonra karışım ultra saf su ile 50 mL’ye tamamlanmıştır. Elde edilen bu çözelti 10 dakika manyetik karıştırıcıda karıştırılmış ve daha sonra 880 nm’deki absorbansı ölçölerek fosfat derişimi belirlenmiştir (TSE standart ISO6878:2004 (E)).

#### 3.2.3.1. Fosfat adsorpsiyon çalışmaları için kalibrasyon grafiğinin hazırlanması

Adsorpsiyon çalışmalarında fosfat derişimlerini belirleyebilmek için öncelikle bir kalibrasyon grafiği hazırlanmıştır. Bunun için 10, 25, 50, 75, 100, 150 ve 200  $\text{mg.L}^{-1}$  derişimlerinde standart fosfat çözeltileri hazırlanmış ve yukarıda anlatılan yöntemle çözeltilerin 400–900 nm aralığında Carry 100 marka UV/vis spektrofotometre cihazıyla spektrumları alınmıştır (Şekil 3.2).



**Şekil 3.2.** Farklı derişimlere sahip fosfat çözeltilerinin absorpsiyon spektrumları; (a) 0,2 mg.L<sup>-1</sup>, (b)0,5 mg.L<sup>-1</sup>, (c)1 mg.L<sup>-1</sup>, (d)1,5 mg.L<sup>-1</sup>, (e)2 mg.L<sup>-1</sup>, (f)3 mg.L<sup>-1</sup>, (g)4 mg.L<sup>-1</sup>



**Şekil 3.3.** Farklı derişimlerdeki fosfat çözeltileri için 880 nm'de kaydedilen absorbans değerlerinden elde edilen kalibrasyon grafiğı

Şekil 3.2'deki spektrumların maksimum absorpsiyonun gerçekleştiğı dalga boyundaki (880 nm) absorbans değerleri aşağıda verilen Lambert–Beer eşitliğine göre fosfat derişimiyle doğru orantılıdır.

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot C \quad (3.1)$$

Bu eşitlikte, A absorbans;  $\varepsilon$  absorptivite ( $\text{mg}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ ); l küvetin kalınlığı (cm) ve C derişimdir ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ). Şekil 3.2’de 880 nm’deki absorbans değerlerinin derişimlere karşı grafiği çizilerek fosfat iyonu için bir kalibrasyon grafiği elde edilmiştir.

### 3.2.3.2. Adsorpsiyon kinetiği ve izotermi deneyleri

Adsorpsiyon çalışmalarında öncelikle 5 mg manyetik IMAK malzemesinden [Doğrudan aminlenmiş manyetik nanoparçacıklardan hazırlanan IMAK malzeme (7) ve silika ile kaplanmış manyetik nanoparçacıklardan hazırlanan IMAK malzeme (8)] yaklaşık 18 mL pH=3’e ayarlanmış nitrik asit çözeltisi içinde 1 dakika ultrasonik banyoda bekletilerek dispersiyeye edilmiştir. Bu işlemin sonunda, belirlenen derişimlere karşılık gelecek biçimde  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{KH}_2\text{PO}_4$  çözeltisinden eklenerek hacim hemen 20 mL’ye tamamlanmış ve  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ’deki çalkalayıcılı su banyosuna koyularak belirlenen zaman boyunca 150 rpm’de çalkalanmıştır. Bu sürenin sonunda örneklerdeki adsorbent santrifüj edilerek ayrılmış ve çözelti  $0,20 \text{ } \mu\text{m}$  gözenek büyüklüğündeki filtreden geçirilerek analiz için hazır hale getirilmiştir. Spektrofotometrik ölçümlere başlamadan önce 1 mL askorbik asit 2 mL reaktif karışımı bir balon jode 50 mL’ye seyreltilerek bir kör deneme numunesi hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltinin 10 dakika manyetik karıştırıcı ile karıştırıldıktan sonra 880 nm’deki absorbansı ölçülerek cihazda ‘blank değeri’ olarak kaydedilmiştir. Fosfat derişimi tayin edilecek örneklerin spektrometrik ölçümü ile *Bölüm 3.2.3*’te anlatılan yöntemle göre gerçekleştirilmiştir.

Adsorpsiyon çalışmalarında, kullanılan manyetik IMAK malzemelerin adsorpsiyon denge süresi ve adsorpsiyon kapasitelerini belirlemek için kinetik ve izoterm çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Adsorpsiyon kinetiği ve adsorpsiyon izotermi çalışmaları batch adsorpsiyon tekniğine göre gerçekleştirilmiştir.

Adsorpsiyon kinetiği çalışmaları için belirlenen derişimlerde 22 adet deney tüpü bu bölümün giriş paragrafında anlatıldığı gibi hazırlanmıştır. Örnekler, sıcaklık kontrollü çalkalamalı su banyosunda  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ’de ve 150 rpm’de çalkalanmışlardır. Önceden belirlenen sürelerin (15–4320 dk aralığında) sonunda çalkalayıcıdan alınan örnekler santrifüj edilerek çözeltiler ayrılmış  $0,20 \text{ } \mu\text{m}$  gözenek büyüklüğündeki filtreden süzöldükten sonra fosfat derişimi asit molibdat yöntemine göre analiz edilmiştir.

Adsorpsiyon izotermelerini incelemek için belirlenen derişimlerde 10 adet örnek tüp bu bölümün giriş paragrafında anlatıldığı gibi hazırlanmıştır. Örnekler sıcaklık kontrollü çalkalamalı su banyosunda  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ’de ve 150 rpm’de 1440 dakika (24 saat)  $1\text{--}100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  aralığında farklı konsantrasyonlarda 20 mL örnek hazırlanıp çalkalanmışlardır. Çalkalanma tamamlandıktan sonra örnekler çıkarılarak santrifüj edilip, filtrelenmiş ve fosfat derişimi asit molibdat yöntemine göre analiz edilmiştir.

### 3.2.3.3. Fosfat adsorpsiyon verilerinin analiz edilmesi

#### a) Adsorpsiyon kinetiği eşitlikleri

Adsorpsiyon sistemleri tasarlanırken; adsorpsiyon kapasitesi, dengesi ve kinetiğinin bilgisi gereklidir. Adsorpsiyon kinetik modelleri, adsorpsiyon hızını belirlemek için uygulanır. Kinetik modelin aydınlatılmasında 3 temel model kullanılır. Bunlar; psödo–birinci mertebe kinetik modeli, psödo–ikinci mertebe kinetik modeli ve Elovich kinetik modelidir (Ayrancı ve Duman 2007). Adsorpsiyon işlemi sırasında sistem dengeye geldiği anda, adsorbent maddenin birim kütlesinin adsorpladığı madde miktarı, sıcaklık, derişim, basınç veya denge basıncının bir fonksiyonudur. Sıcaklığın sabit tutulduğu durumlarda bu fonksiyon aşağıdaki denkleme eşittir;

$$q_t = \frac{(C_0 - C_t) \cdot m}{V} \quad (3.2)$$

Bu eşitlikte;  $q_t$  t zamanındaki adsorbent birim kütlesi başına adsorplanan adsorbat miktarını ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ),  $C_0$  adsorplanan maddenin başlangıç derişimini ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ),  $C_t$  t zaman sonra adsorbatın çözeltilde adsorplanmadan kalan derişimini, ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), V çözelti hacmini (L), M adsorbent ağırlığını (g) ifade etmektedir.

#### Psödo–birinci mertebe kinetik modeli

Largergren vd. (1898) önerdiği psödo–birinci mertebe kinetik modeli okzalik ve malonik asitin odun kömürü ile adsorpsiyonu için önerilmiştir. Önerilen denklem matematiksel olarak;

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - k_1 t \quad (3.3)$$

denklemleri ile ifade edilir. Denklemlerde adsorbent birim kütlesi başına adsorplanan madde miktarı denge anında  $q_e$  ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) ve t anında ise  $q_t$  ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) ile ifade edilmektedir. Eşitlikteki  $k_1$  ( $\text{dk}^{-1}$ ) psödo–birinci mertebe hız sabitini ifade etmektedir. Denklem 3.3 yardımı ile  $\ln(q_e - q_t)$  ye karşı t grafiği çizildiğinde, doğrunun eğimi ile  $k_1$  hesaplanmaktadır.

#### Psödo–ikinci mertebe kinetik modeli

Bu kinetik model adsorpsiyonu yüzeydeki bağlanma bölgeleri ile ilişkilendirir ve

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{1}{q_e} \quad (3.4)$$

eşitliği ile tanımlanır. Denklemlerde adsorbent birim kütlesi başına adsorplanan madde miktarı denge anında  $q_e$  ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) ile t anında ise  $q_t$  ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) ile ifade edilmektedir. Psödo–ikinci mertebe adsorpsiyon kinetiği için hız sabiti  $k_2$  “ $\text{g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{dk}^{-1}$ ” birimiyle ifade edilmektedir. Denklem 3.4 yardımı ile  $t/q_t$  ye karşı t grafiği çizildiğinde, doğrunun eğimi ile  $q_e$  kayımı ile  $k_2$  hesaplanmaktadır (Duman vd. 2015).

### *Elovich kinetik modeli*

1934 yılında Roginsky ve Zeldovich (Elovich) tarafından karbonmoksitin'in mangan(IV) oksit üzerine adsorpsiyonunu tanımlamak için önerilen Elovich denklemi

$$q_t = \frac{1}{\beta} \ln(\alpha\beta) + \frac{1}{\beta} \ln t \quad (3.5)$$

eşitliğiyle ifade edilir. Eşitlikte  $\alpha$  ( $\text{mg.g}^{-1}.\text{dk}^{-1}$ ) başlangıç adsorpsiyon hızını veren bir parametre ve  $1/\beta$  ( $\text{mg.g}^{-1}$ ) ise adsorpsiyon için mevcut bölgelerin sayısını tanımlayan bir parametredir. Denklem 3.5 yardımı ile  $q_t$ 'ye karşı  $\ln t$  grafiği çizildiğinde, doğrunun eğimi ile  $\beta$ , kayımı ile ise  $\alpha$  hesaplanmaktadır (Roginsky ve Zeldovich 1934).

### *b) Adsorpsiyon izotermi*

Adsorpsiyon verileri genellikle “adsorpsiyon izotermi” şeklinde sunulur. Sabit sıcaklıkta birim adsorbent miktarı başına adsorplanan adsorbat miktarının denge adsorbat çözelti derişimi (veya basıncı) ile ilişkisi “adsorpsiyon izotermi” olarak bilinir. Sulu çözültideki adsorpsiyon izotermelerini tanımlamak için kullanılan en yaygın matematiksel modeller Langmuir, Freundlich ve Temkin izotermidir (Duman vd. 2015). Bu çalışmada manyetik IMAK malzemelerinin adsorpsiyon izoterm verilerinin Langmuir, Freundlich ve Temkin izoterm modelleri ile uyumları test edilmiştir.

### *Langmuir izoterm modeli*

Sulu çözültideki adsorpsiyon çalışmaları için Langmuir izotermi aşağıdaki eşitlik ile ifade edilir:

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{C_e}{q_m} + \frac{1}{K_L} \quad (3.6)$$

Burada;  $K_L$ , adsorpsiyon enerjisine bağlı adsorpsiyon denge sabiti ( $\text{L.g}^{-1}$ ),  $q_m$  ise tek tabakalı maksimum adsorpsiyon kapasitesi ( $\text{mg.g}^{-1}$ ) olarak bilinir. Bu denklemdeki  $K_L$  ve  $q_m$ 'nin sayısal değerleri  $C_e/q_e$ 'ye karşı  $C_e$ 'nin grafiğinden kolaylıkla belirlenebilir.

### *Freundlich izoterm modeli*

Freundlich izoterm modeli (Freundlich 1907),

$$q_e = K_f \cdot C_e^{1/n} \quad (3.7)$$

eşitliğiyle verilir. Burada,  $K_f$  adsorpsiyon kapasitesi ( $(\text{mg.g}^{-1})(\text{L.mol}^{-1})^{1/n}$ ),  $n$  adsorpsiyon enerjisi ile ilgili sabitlerdir. 3.7 denkleminin logaritması alındığında,

$$\ln q_e = \ln K_f + \left(\frac{1}{n}\right) \ln C_e \quad (3.8)$$

eşitliği elde edilir. Bu eşitliğe göre  $\ln q_e$ 'nin  $\ln C_e$ 'ye karşı grafiği çizildiğinde doğrunun

eğimi  $1/n$ 'i kayımı ise  $\ln K_f$ 'yi verir. Böylece Freundlich sabitleri belirlenmiş olur.

*Temkin izoterm modeli*

Temkin izoterm modeli,

$$q_e = K_1 \ln(K_2 C_e) \quad (3.9)$$

eşitliği ile ifade edilir. Eşitlik 3.6 doğrusal olarak düzenlendiğinde,

$$q_e = K_1 \ln(K_2) + K_1 \ln(C_e) \quad (3.10)$$

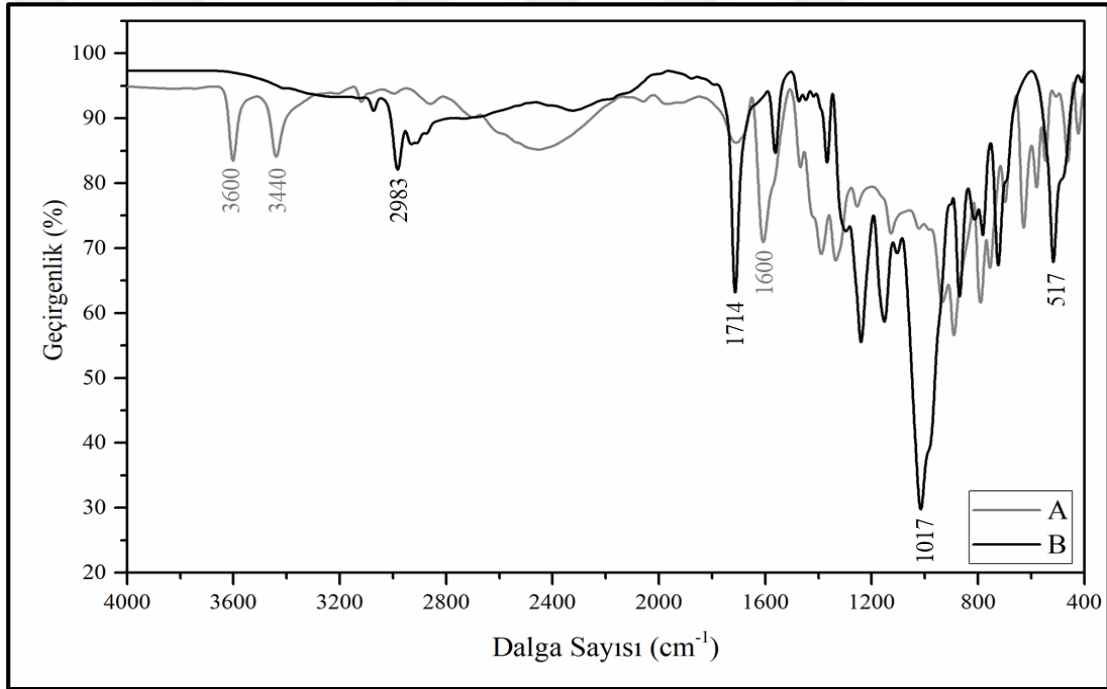
eşitliği elde edilir. Bu eşitlikte,  $K_1$  ( $L \cdot g^{-1}$ ) adsorpsiyon ısısı ile ilişkili bir sabitken  $K_2$  boyutsuz Temkin izoterm sabitidir. Bu eşitliğe göre,  $q_e$ 'nin  $\ln C_e$  karşı grafiği çizildiğinde, doğrunun eğiminden  $K_1$ , kayımından ise  $K_2$  hesaplanır (Duman vd. 2015).

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Şelidamik Asit Modifiye Manyetik Nanoparçacıkların Sentezi

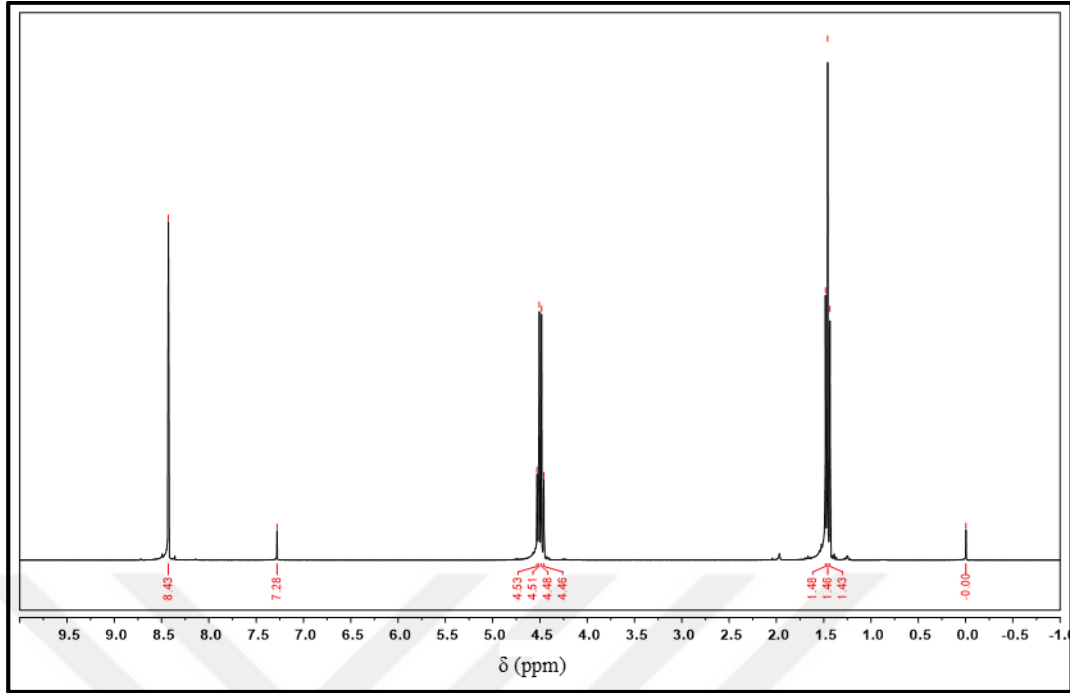
#### 4.1.1. Dietil 4–bromopiridin 2,6–dikarboksilat sentezi

Sentezlenen ligand, dietil 4–bromopiridin 2,6–dikarboksilat'ın Şekil 4.1'deki FTIR spektrumu incelendiğinde, çıkış maddesi olan şelidamik asite ait  $3600\text{ cm}^{-1}$ 'deki simetrik karboksilik asit gruplarındaki –OH pikinin yerini  $2983\text{ cm}^{-1}$ 'deki ester kaynaklı alifatik hidrokarbon pikine bıraktığı anlaşılmaktadır. Ayrıca,  $1600\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenen C=O gerilmesinin  $1714\text{ cm}^{-1}$ 'e kayması ve bununla birlikte  $1017\text{ cm}^{-1}$ 'de görülen karboksil karbonunun C–O gerilmesi yapıdaki karboksilik asitin estere dönüştüğünü göstermektedir. Ayrıca,  $3440\text{ cm}^{-1}$ 'deki aromatik hidroksil gruplarına ait gerilme pikinin yok olması ve  $517\text{ cm}^{-1}$ 'de C–Br pikinin ortaya çıkması bromlama reaksiyonunun başarıyla gerçekleştiğini kanıtlamaktadır.

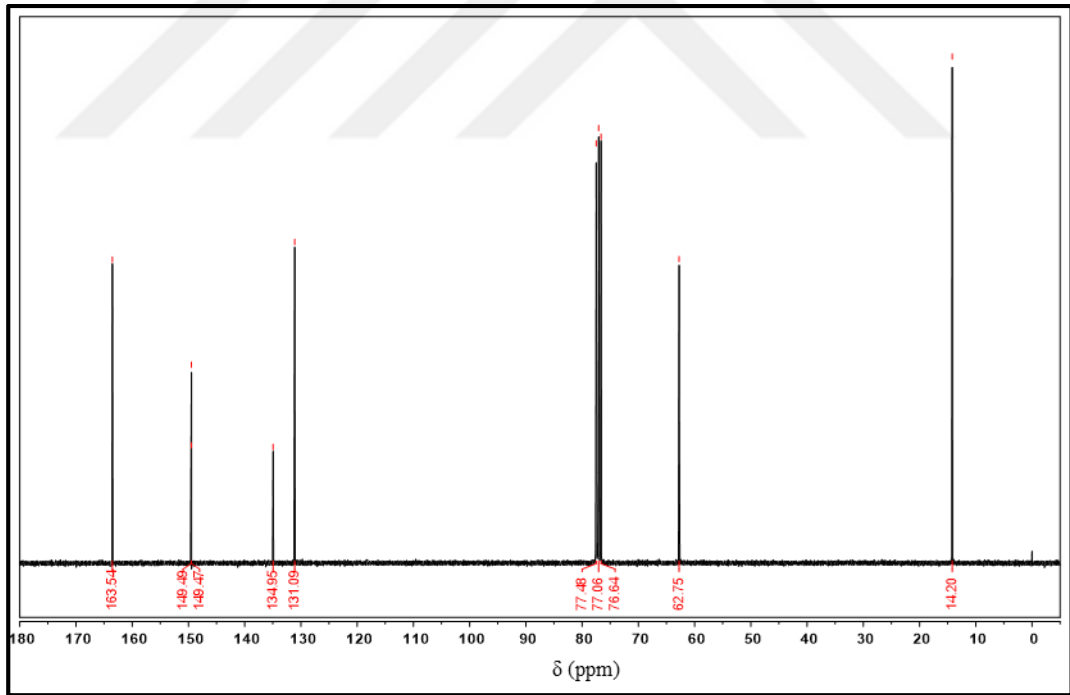


**Şekil 4.1.** Şelidamik asit (A) ve dietil 4–bromopiridin 2,6–dikarboksilat'ın (B) FTIR spektrumları

Dietil 4–bromopiridin 2,6–dikarboksilat ligandının yapısı  $^1\text{H}$  ve  $^{13}\text{C}$  NMR ölçümleri ile aydınlatılmıştır.  $^1\text{H}$  ve  $^{13}\text{C}$  NMR ölçümlerinden elde edilen sonuçlar, sırasıyla, Şekil 4.2 ve 4.3'te görülmektedir. Grafikler incelendiğinde, sentezin başarıyla gerçekleştiği görülmektedir. NMR sonuçları:  $^1\text{H}$ –NMR (400 MHz, DMSO– $d_6$ ,  $\delta$ ,  $\text{mg.L}^{-1}$ ): 8,43 (s, ArCH); 4,50 (q,  $J = 9.5$  Hz,  $\text{CH}_2$ ); 1,46 (t,  $J = 9.4$  Hz,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$ –NMR (100 MHz, DMSO– $d_6$ ,  $\delta$ ,  $\text{mg.L}^{-1}$ ): 163,54; 149,48 (q,  $J = 9.5$  Hz, Ar $\text{CH}_2$ ), 135, 131 (t,  $J = 9,5$  Hz, Ar $\text{CH}_3$ ); 62,75; 14,2.

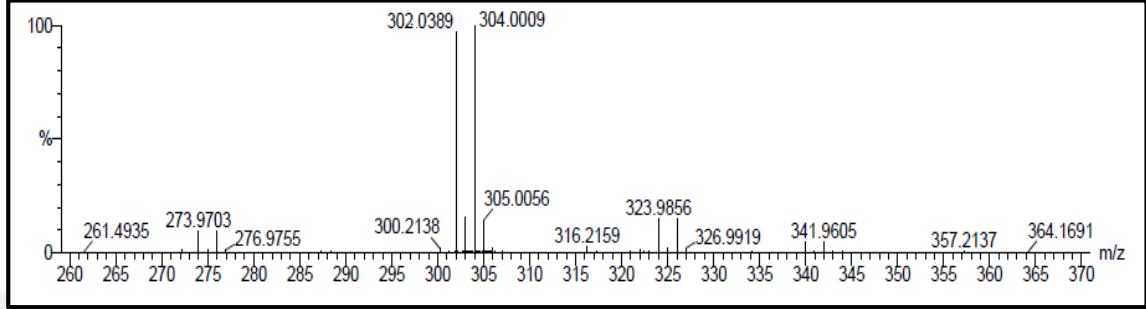


Şekil 4.2. Sentezlenen dietil 4-bromopiridin 2,6-dikarboksilat'ın (2)  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu



Şekil 4.3. Sentezlenen dietil 4-bromopiridin 2,6-dikarboksilat'ın (2)  $^{13}\text{C-NMR}$  spektrumu

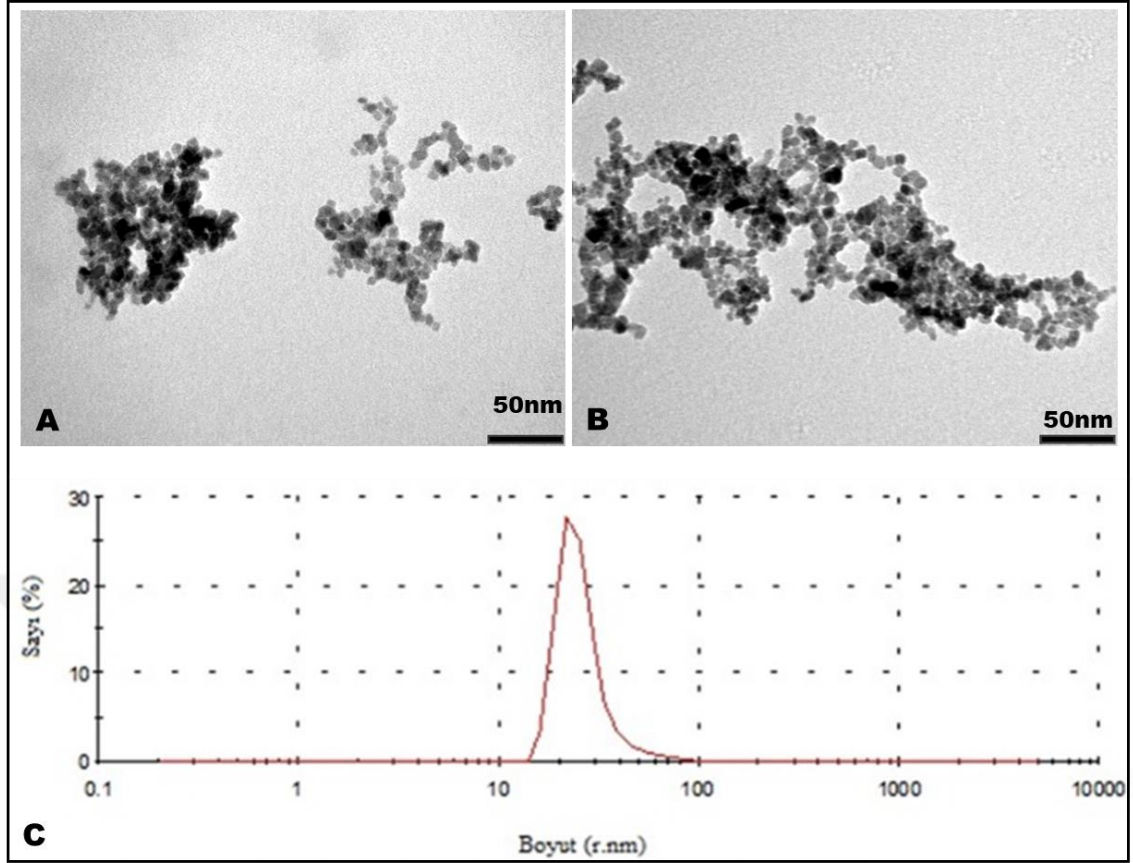
Dietil 4–bromopiridin 2,6–dikarboksilat’ın kütlesi kütle spektrometresi (MS) ile belirlenmiştir. MS analizi sonucu molekülün 302,0389 ve 304,0009 m/z değerlerinde gelen çiftli moleküler iyon piki bromun izotoplarından ( $^{79}\text{Br}$  ve  $^{81}\text{Br}$ ) kaynaklanmaktadır. Bu bromlama işleminin başarıyla gerçekleştiğini göstermektedir. Dolayısıyla MS analizi sonucu molekülün  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{NO}_4\text{Br}$  kapalı formülüne sahip olduğu ve kütlesinin ise  $302 \text{ g.mol}^{-1}$  olduğu tespit edilmiştir.



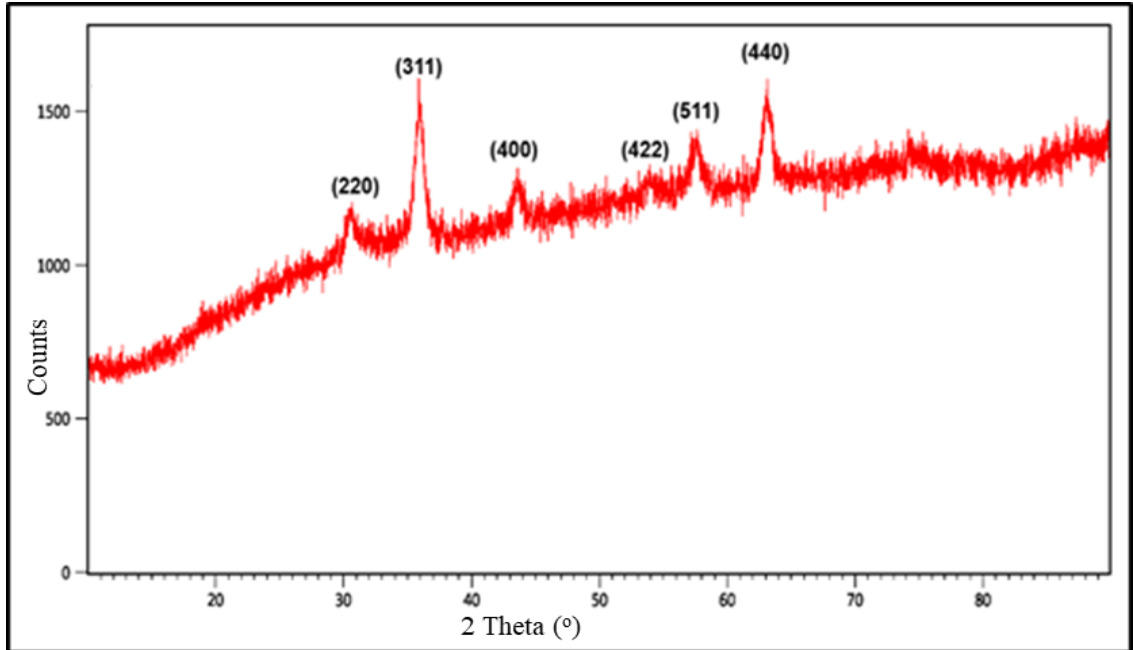
Şekil 4.4. Dietil 4–bromopiridin 2,6–dikarboksilat’ın kütle spektrumu

#### 4.1.2. Manyetik $\text{Fe}_3\text{O}_4$ nanoparçacıkların sentezi (MNP)

Manyetik nanoparçacıklar birlikte çöktürme yöntemine göre sentezlenmiştir. Sentezlenen nanoparçacıkların boyutu ve morfolojisi DLS ve TEM ölçümleriyle incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.5’te verilmiştir. DLS ölçümlerine göre manyetik nanoparçacıkların hidrodinamik çapları 22 nm olup, boyut dağılımları oldukça homojendir (Şekil 4.5C). Homojen parçacık dağılımı TEM ölçümleriyle de doğrulanmıştır (Şekil 4.5A,B). TEM görüntüleri incelendiğinde, manyetik nanoparçacıkların kübik yapıda homojen bir dağılım sergilediği görülmektedir. Nanoparçacıklar Adobe Photoshop 7 programı ile değerlendirildiğinde ortalama boyutlarının  $8 \pm 2$  nm olduğu belirlenmiştir. Manyetik nanoparçacıkların kristal yapısı X–ışını kırınımı (XRD) ölçümleriyle aydınlatılmıştır. Elde edilen X–ışını kırınım deseni Şekil 4.6’da verilmiştir. Elde edilen XRD kırınım deseni uluslararası toz kırınım standartlarına göre (JCPDS, Joint Committee on Powder Diffraction Standards) incelendiğinde, sentezlenen manyetik nanoparçacıkların kübik yapıdaki  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  kristallerinden elde edilen kırınımlara karşılık gelmektedir (JCPDS Cardno.19–0629, Zhang vd. 2008). Şekil 4.6’daki  $30,61^\circ$ ,  $35,94^\circ$ ,  $43,51^\circ$ ,  $53,98^\circ$ ,  $57,58^\circ$  ve  $63,07^\circ$   $2\theta$  açısı değerlerindeki pikler kübik fazdaki  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  kristaline ait (220), (311), (400), (422), (511) ve (440) düzlemlerinden gelen yansımalar karşılık gelmektedir (Topel vd. 2015). Bu sonuçlar, TEM görüntülerindeki kübik yapıları desteklemektedir (Bkz. Şekil 4.5).

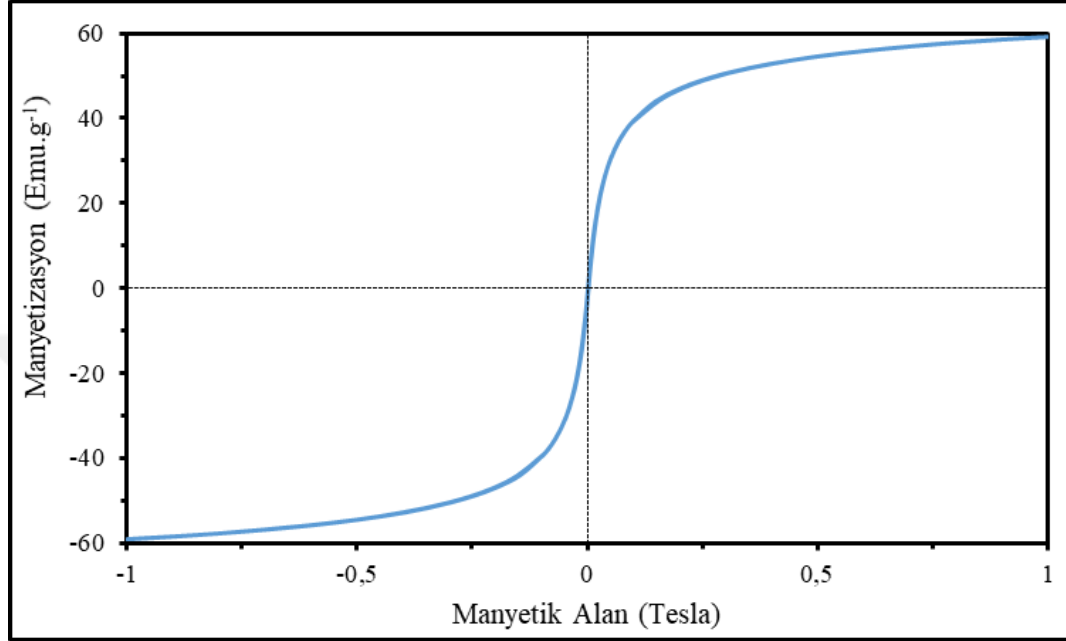


Şekil 4.5. Sentezlenen manyetik nanoparçacıkların TEM görüntüsü (A,B) ve DLS ölçümlerinden elde edilen sayıca boyut dağılım grafiği (C)



Şekil 4.6. Manyetik  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparçacıklarına ait XRD kırınım deseni

Manyetik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıkların manyetik özellikleri oda sıcaklığında ±1 Tesla aralığında bir dış manyetik alan uygulanarak gerçekleştirilen Titreşimli Örnek Magnetometresi (VSM) ölçüleriyle belirlenmiştir. Sentezlenen manyetik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıklarının oda sıcaklığındaki doygun manyetizasyon değerinin ~60 emu/g olduğu görülmektedir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Manyetik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıklarının oda sıcaklığındaki manyetizasyonu

#### 4.1.3. Amin modifiye manyetik nanoparçacıkların sentezi

Bölüm 3.2.1.3'te sentezlenen manyetik nanoparçacıkların yüzeyleri iki farklı yöntemle göre amin gruplarıyla modifiye edilmiştir.

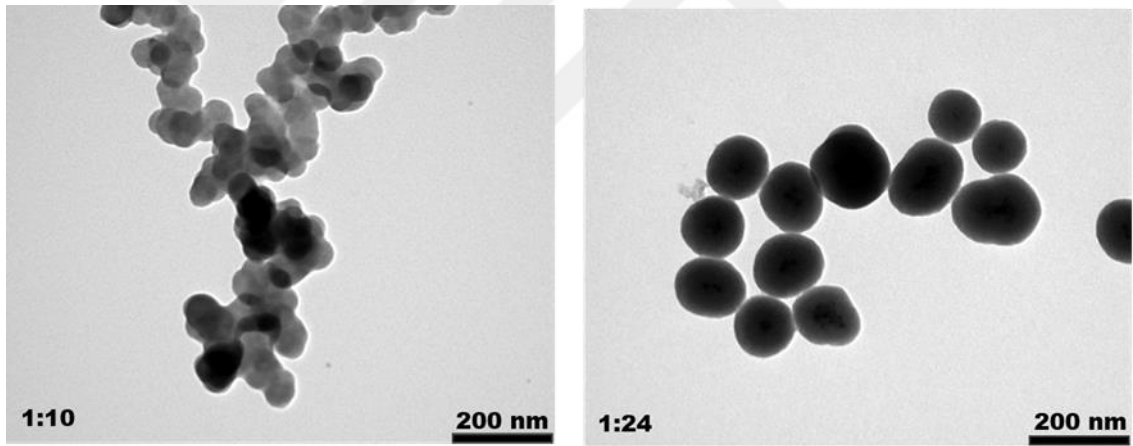
##### 4.1.3.1. Silika kaplı manyetik nanoparçacıkların aminlenmesi

Bu aşamada, önce silika kaplı manyetik nanoparçacıklar sentezlenmiş ve daha sonra aminleme gerçekleştirilmiştir. Manyetik nanoparçacıkların silika kaplama işlemi McCarthy vd. (2012) tarafından önerilen yöntem modifiye edilerek 2 farklı sıcaklıkta (0 ve 25 °C) gerçekleştirilmiştir. Silika kaplama aşamasında, sıcaklık, baz, su ve çözücü oranı gibi parametreler değiştirilerek küresel ve homojen boyut dağılımına sahip silika kaplı manyetik nanoparçacıklar sentezlenmeye çalışılmıştır. Tez kapsamında yapılan optimizasyon çalışmalarında uygulanan sentez koşulları Çizelge 4.1'de verilmiştir.

**Çizelge 4.1.** McCarthy vd. (2012)'ye göre gerçekleştirilen silika kaplama çalışmalarında denenen koşullar

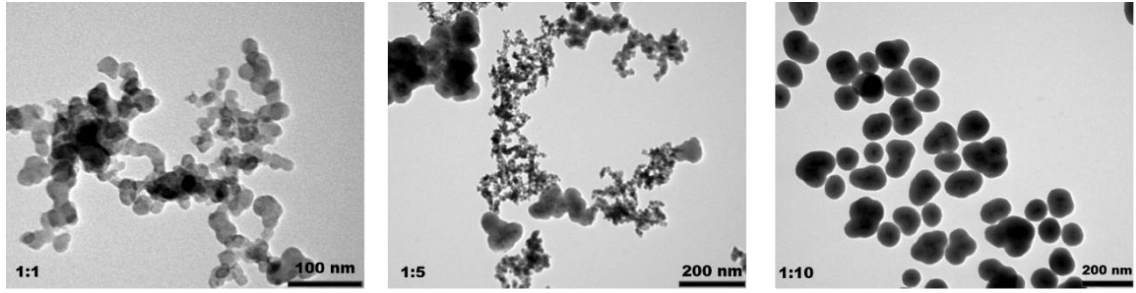
(FeO) <sub>x</sub> /SiO <sub>2</sub> (mol/mol)	SiO <sub>2</sub> /NH <sub>3</sub> (mol/mol)	SiO <sub>2</sub> /H <sub>2</sub> O (mol/mol)	V <sub>solvent</sub> (mL)	Sıcaklık (°C)	Reaksiyon koşulları
1:10	1:2	1:1280	680	0	Ultrasonik banyo, 1 saat
1:24	1:2	1:650	680	0	Ultrasonik banyo, 1 saat
1:1	1:2	1:2130	150	25	1200 rpm, 20 saat
1:5	1:2	1:425	150	25	1200 rpm, 20 saat
1:10	1:2	1:210	150	25	1200 rpm, 20 saat

Öncelikle 0 °C'de ultrasonik banyo içerisindeki çalışmalar yapılmıştır. Elde edilen silika kaplı manyetik nanoparçacıklara ait TEM görüntüleri Şekil 4.8'de verilmiştir. Görüntüler incelendiğinde, çekirdekteki manyetik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıklar ve etrafını kaplayan silika katmanı açıkça görülmektedir. Ayrıca, 0 °C'de ultrasonik banyoda 1 saatte gerçekleştirilen sentezde (FeO)<sub>x</sub>:SiO<sub>2</sub> oranı mol olarak 1:24 olan parçacıkların oldukça küresel olduğu ve homojen bir dağılım sergilediği görülmektedir (Bkz. Şekil 4.8). Bu oranda sentezlenen parçacıkların boyutları 120±10 nm olarak hesaplanmıştır.



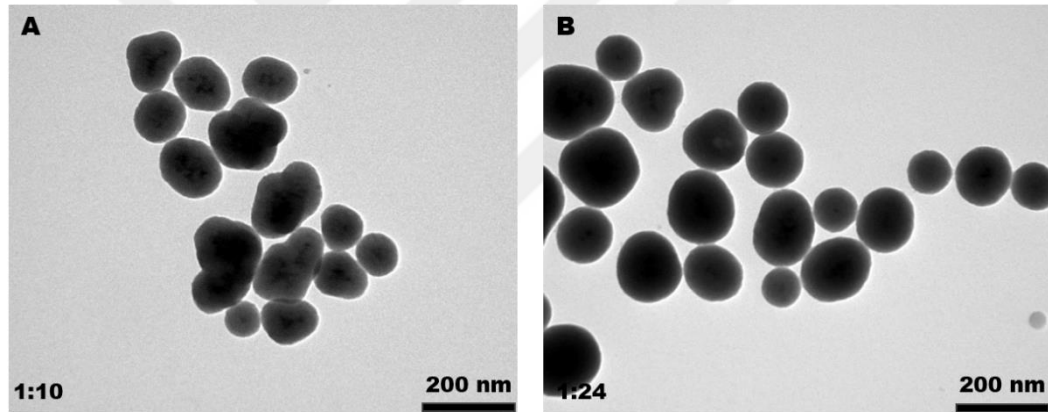
**Şekil 4.8.** McCarthy vd. (2012)'ye göre ile 0 °C'de ultrasonik banyoda gerçekleştirilen silika kaplama çalışmalarında sentezlenen parçacıkların TEM görüntüleri

Diğer yandan 25 °C'de gerçekleştirilen sentezlere ait TEM görüntüleri de Şekil 4.9'da verilmiştir. Görüntüler incelendiğinde (FeO)<sub>x</sub>:SiO<sub>2</sub> oranının 1:1 ve 1:5 olduğu denemelerde küreselleşmenin yeni başladığı, ancak SiO<sub>2</sub> kaplı manyetik nanoparçacık kürelerinin oluşması için en uygun (FeO)<sub>x</sub>:SiO<sub>2</sub> oranının 1:10 olduğu görülmektedir. Bu oran için hesaplanan parçacıkların boyutunun 110±10 nm olduğu ve parçacıkların homojen bir dağılım sergilediği bulunmuştur.



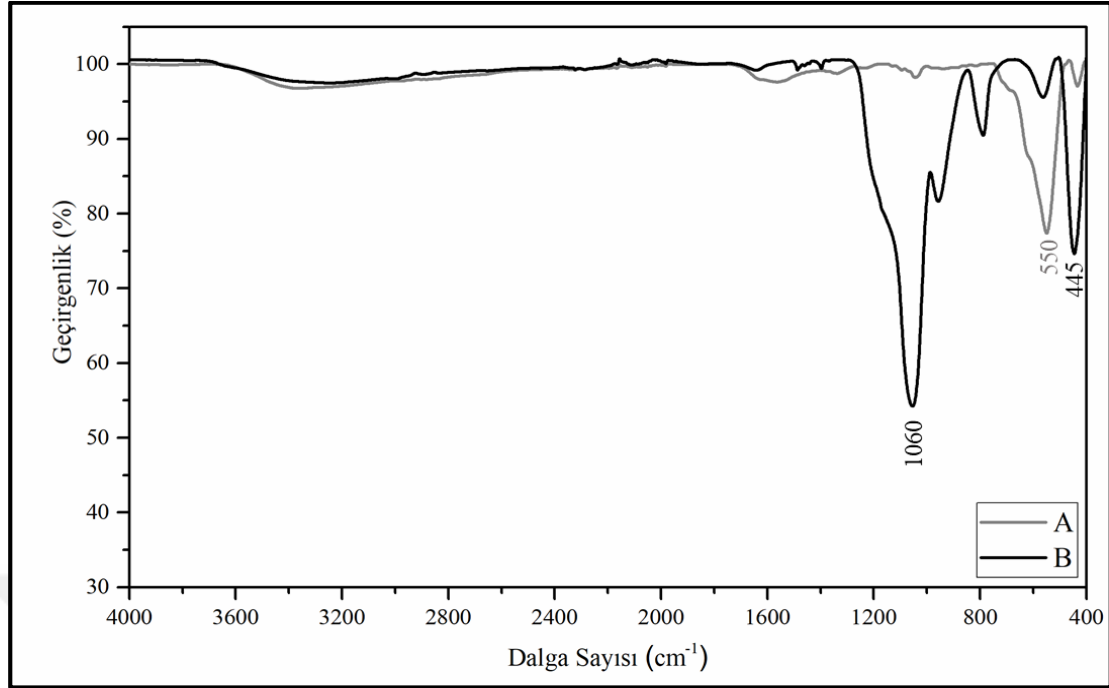
**Şekil 4.9.** McCarthy vd. (2012)'ye göre 25 °C'de 20 saatte gerçekleştirilen silika kaplama çalışmalarında sentezlenen parçacıkların TEM görüntüleri

0 °C ve 25 °C'lik farklı iki yöntemden elde edilen silisyum kaplı parçacıkların sonuçları birbirleri ile kıyaslandığında, 1:10 oranında daha küçük parçacıklara sahip olmasına karşın yeteri kadar homojen bir dağılım olmadığı ve küresellikten bazı sapmalar olduğu açıkça görülmektedir (Şekil 4.10). Bu nedenle, 1:24 oranı ile McCarthy'nin (2012) önerdiği yöntemle sentezlenen nanoparçacıklar "*silika kaplı manyetik nanoparçacıklar*" (4) olarak dikkate alınmış ve bundan sonraki çalışmalarda bu nanoparçacıklar kullanılmıştır.

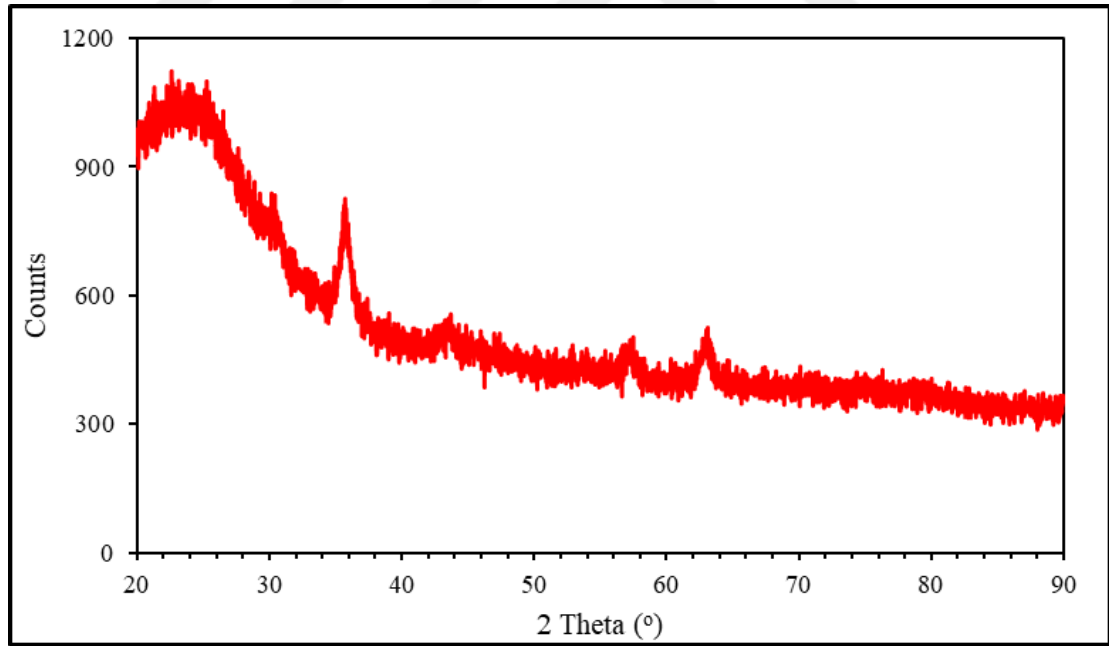


**Şekil 4.10.** McCarthy vd. (2012)'ye göre 0 °C (A) ve 25 °C (B)'de ulaşılan en iyi (FeO)<sub>x</sub>:SiO<sub>2</sub> oranlarına ait TEM görüntüleri

Sentezlenen silika kaplı manyetik nanoparçacıkların yüzeylerindeki silika kaplaması FTIR ölçümleriyle incelenmiştir. Seçilen oran için elde edilen FTIR spektrumu, sentezlenen manyetik nanoparçacıklar ile karşılaştırmalı olarak Şekil 4.11'de verilmiştir. Şekil 4.11'deki spektrumlar incelendiğinde 550 cm<sup>-1</sup>'de manyetik nanoparçacık örneğinde gözlenen Fe–O gerilme pikinin şiddetinin azalması ve bununla birlikte 445 ve 1060 cm<sup>-1</sup>'de gözlenen karakteristik amorf silikadaki Si–O bağlarındaki titreşimlere ait piklerin ortaya çıkması manyetik nanoparçacık yüzeyinin SiO<sub>2</sub> ile kaplandığını göstermektedir.



**Şekil 4.11.** Manyetik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (A) ve silika kaplı manyetik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıklara (B) ait FTIR spektrumları

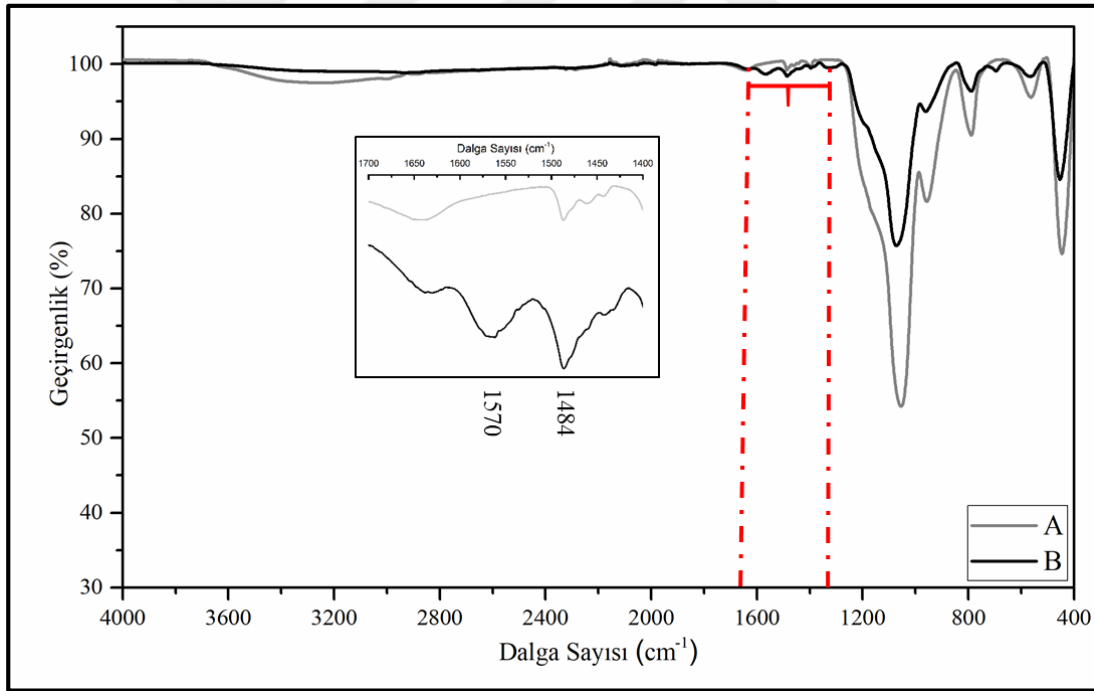


**Şekil 4.12.** Silika kaplı manyetik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıklarına ait XRD kırınım deseni

Manyetik nanoparçacıkların silika ile kaplandığı X-ışını kırınımı ölçümleriyle de kanıtlanmıştır. Toz hale getirilmiş silika kaplı manyetik nanoparçacık örneği üzerinde kırınım tekniğine göre gerçekleştirilen X-ışını kırınımı (XRD) deseni Şekil 4.12’de verilmiştir. XRD kırınım deseni incelendiğinde, kübik fazdaki manyetik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> kristallerine ait piklerin pozisyonunu koruduğu ve 20° civarında amorf silisyum dioksit

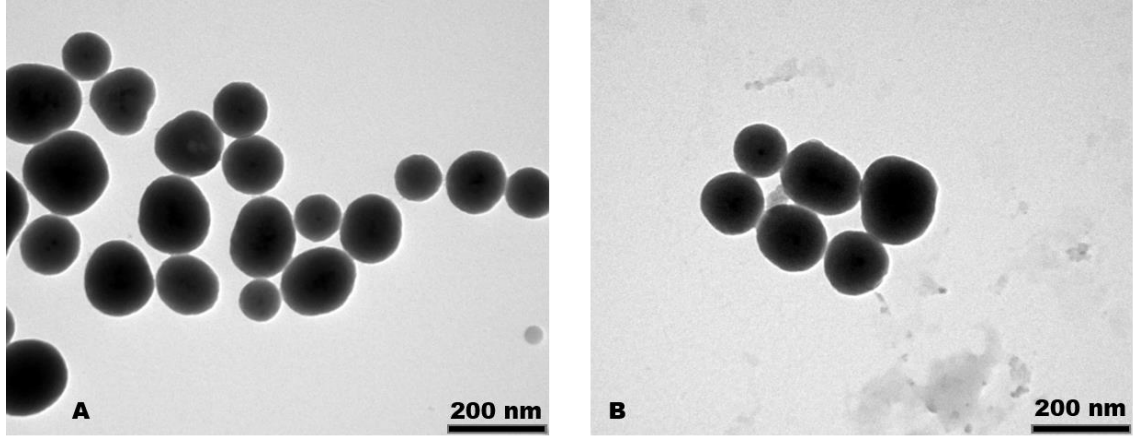
ait geniş bir bandın ortaya çıktığı görülmektedir. Uluslararası toz kırınım standartları (JCPDS, Joint Committee on Powder Diffraction Standards) göz önüne alındığında parçacıkların amorf silika ile kaplı kübik manyetik  $Fe_3O_4$  kristallerinden elde edilen kırınımlara karşılık geldiği anlaşılmaktadır (JCPDS Cardno.19-0629, Zhang vd 2008). Dolayısıyla, FTIR ve XRD ölçümleri TEM ölçümlerini doğrulamış ve silika kaplı manyetik  $Fe_3O_4$  nanoparçacıkların (4) başarıyla hazırlandığı tespit edilmiştir.

Silika kaplı manyetik nanoparçacıklar sentezlendikten sonra parçacık yüzeyleri 3-aminopropiltrietoksi silan (APTES) kullanılarak amin gruplarıyla modifiye edilmiş ve malzeme yüzeyindeki amin modifikasyonu FTIR ölçümleriyle kanıtlanmıştır. Elde edilen FTIR spektrumu Şekil 4.13'te verilmiştir. Amin modifikasyonunun etkisi daha iyi anlaşılabilsin diye modifikasyon öncesi silika kaplı manyetik nanoparçacıkların FTIR spektrumu da alınarak grafiğe eklenmiştir. Şekil 4.13'teki amin modifiye manyetik nanoparçacıkların FTIR spektrumları incelendiğinde  $1060\text{ cm}^{-1}$ 'de gelen şiddetli Si-O gerilmesine ait pik şiddeti amin modifikasyonu sonucu azalmıştır. Bununla birlikte, modifikasyon sonrası  $1484\text{ cm}^{-1}$ 'de gelen  $CH_2$ 'ye ait alifatik düzlem içi gerilme pikinin ve  $1570\text{ cm}^{-1}$ 'de ortaya çıkan primer amin (N-H) gerilme pikinin varlığı amin modifikasyonunun başarıyla gerçekleştirildiğini göstermektedir.



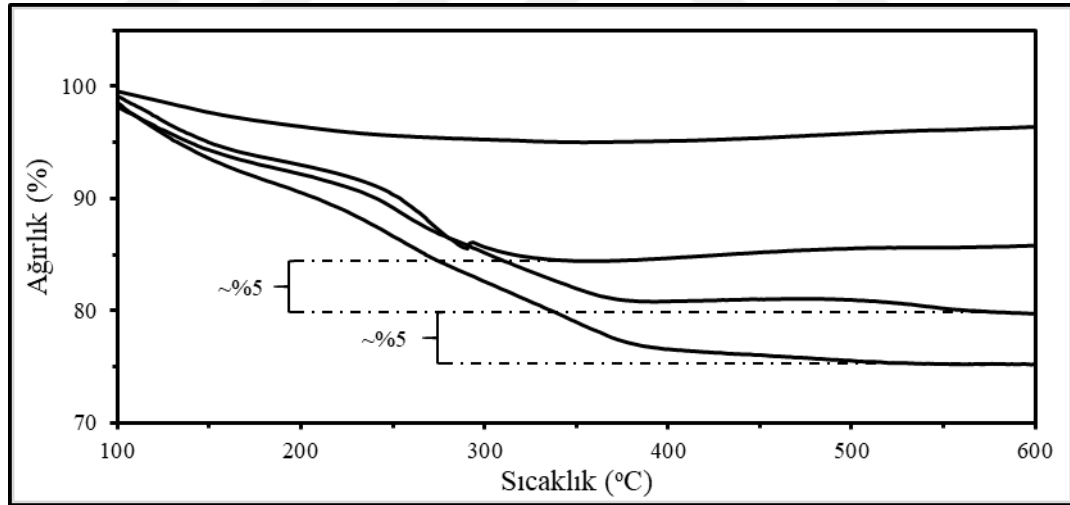
**Şekil 4.13.** Silika kaplı manyetik  $Fe_3O_4$  nanoparçacıklar (A) ile amin modifiye manyetik nanoparçacıklara (B) ait FTIR spektrumları

Amin modifikasyonu sonrası parçacık boyut ve morfolojisinde herhangi bir değişikliğin olup olmadığını anlamak için sentezlenen amin modifiye manyetik nanoparçacıklar TEM ölçümleriyle incelenmiştir. Şekil 4.14'teki TEM görüntülerinden amin modifikasyonu sonucunda nanoparçacıkların boyutlarında ve morfolojisinde herhangi bir değişikliğin olmadığı açıkça görülmektedir.



**Şekil 4.14.** Silika kaplı manyetik  $Fe_3O_4$  nanoparçacıklar (A) ile amin modifiye manyetik nanoparçacıklar (B)'in TEM görüntüleri

Yüzeydeki amin miktarını nicel olarak öngörebilmek için termogravimetrik analiz (TGA) gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.15'te 30–900 °C aralığındaki TGA ölçümlerinden elde edilen sıcaklığa bağlı olarak ağırlık değişimi grafiği görülmektedir. Bu grafiğe İMAK malzemesi sentezinin tüm aşamalarından elde edilen ürünler üzerine gerçekleştirilen TGA ölçümleri kıyaslama olsun diye bir arada verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, aminleme aşaması için parçacık yüzeyinde yaklaşık %5'lik bir ağırlık kaybı gözlenmiştir (Bkz. Şekil 4.15).

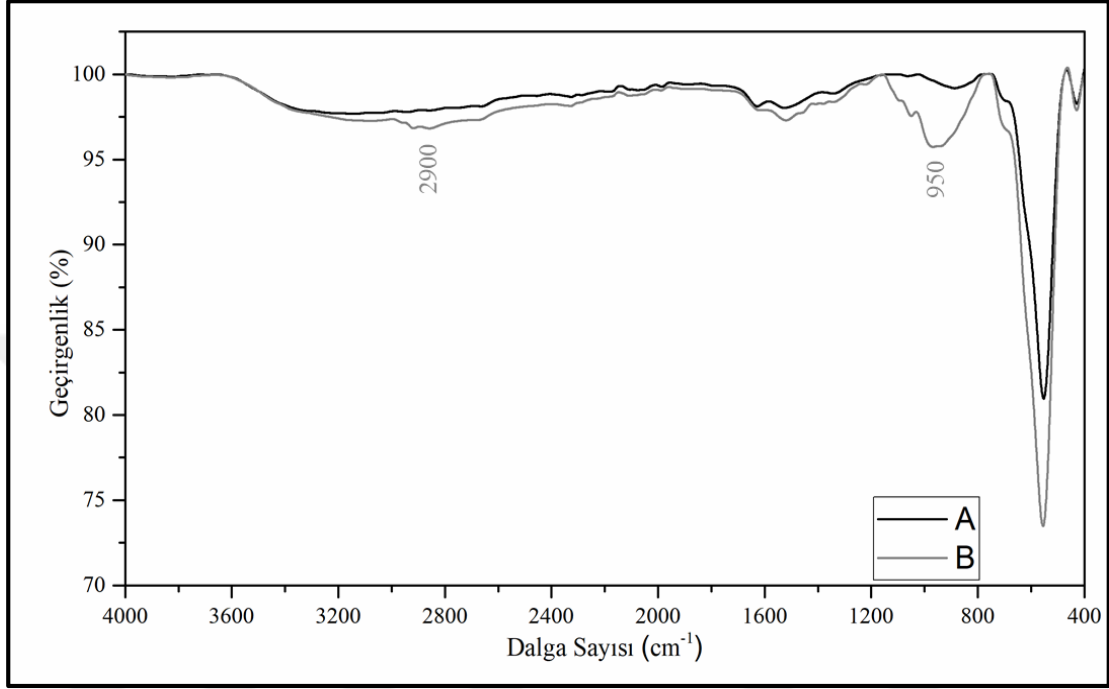


**Şekil 4.15.** Sentezin tüm aşamalarındaki nanoparçacıklara ait termal analiz sonuçları

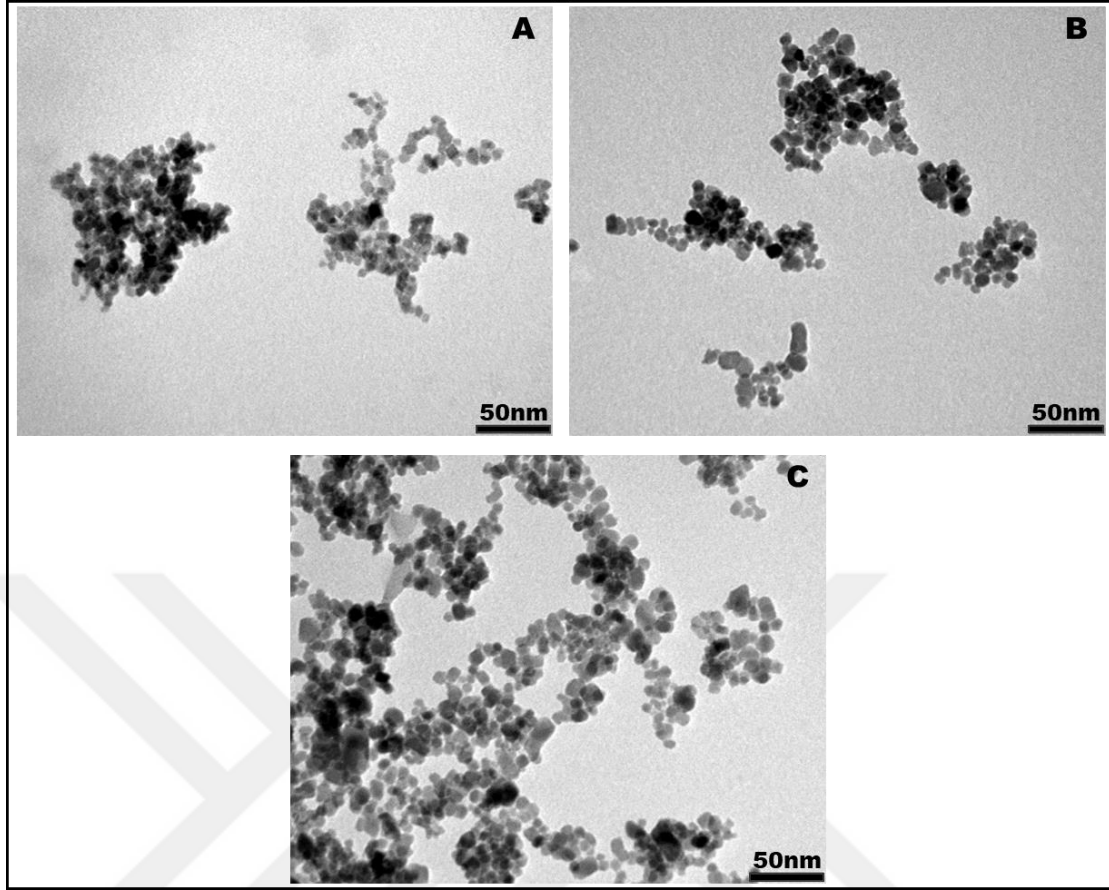
#### 4.1.3.2. Manyetik nanoparçacıkların doğrudan aminlenmesi

Manyetik nanoparçacıkların yüzeylerindeki silisyum katman kalınlığını azaltmak için manyetik  $Fe_3O_4$  nanoparçacıkları APTES ile McCharty vd. (2012) tarafından önerilen yönteme göre doğrudan aminlenmiştir. Amin modifikasyonu FTIR ölçümleriyle kanıtlanmıştır. Elde edilen FTIR spektrumu Şekil 4.16'da verilmiştir. 2900  $cm^{-1}$ 'de gözlenen çift omuzlu pik N–H gerilmesinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca 950  $cm^{-1}$ 'de gözlenen yayvan pik N–H düzlem dışı gerilmesinden kaynaklı piktir. Bu piklerin varlığı

amin modifikasyon işleminin gerçekleştiğini göstermektedir. Şekil 4.17'deki TEM görüntüleri incelendiğinde, yapılan amin modifikasyonu ve şelatlama işlemlerinin parçacık morfolojisini değiştirmediği, parçacık boyutunda ( $9\pm 2$ nm) bir miktar büyüme olduğu ve parçacıkların modifikasyonla birlikte daha iyi dispersiyeye olmaya başladıkları görölmektedir.



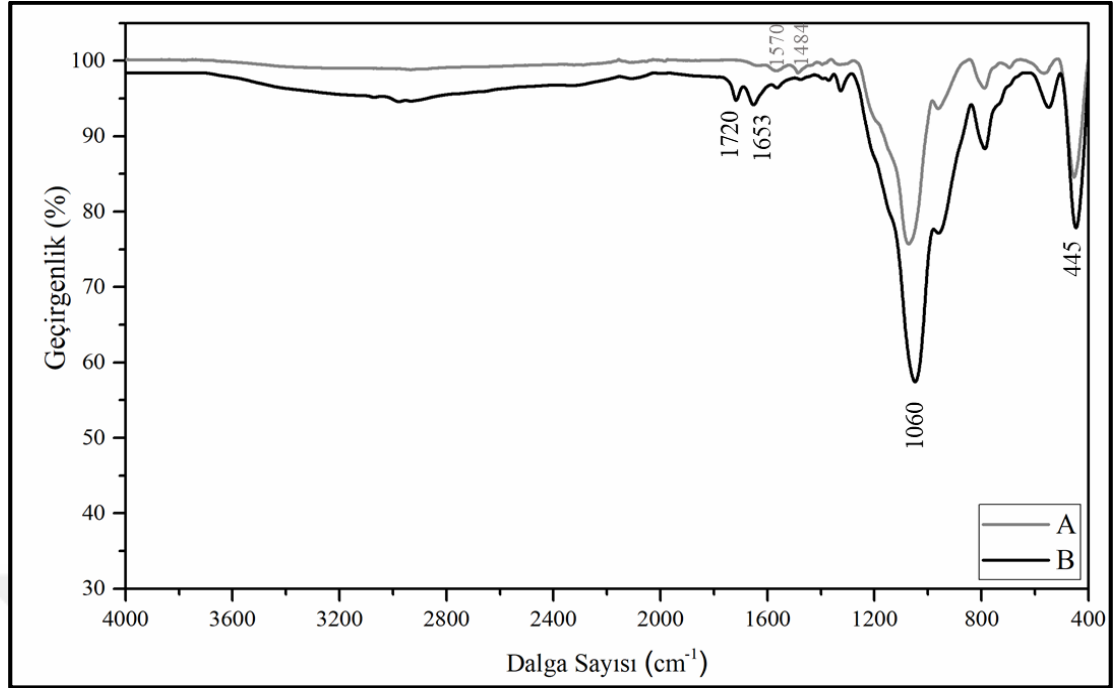
**Şekil 4.16.** Manyetik  $Fe_3O_4$  nanoparçacıklar (A) ile doğrudan aminli modifiye manyetik nanoparçacıklara (B) ait FTIR spektrumları



**Şekil 4.17.** Manyetik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıkların (A), amin modifiye manyetik nanoparçacıkların (B) ve şelidamik asit modifiye manyetik nanoparçacıkların (C) TEM görüntüleri

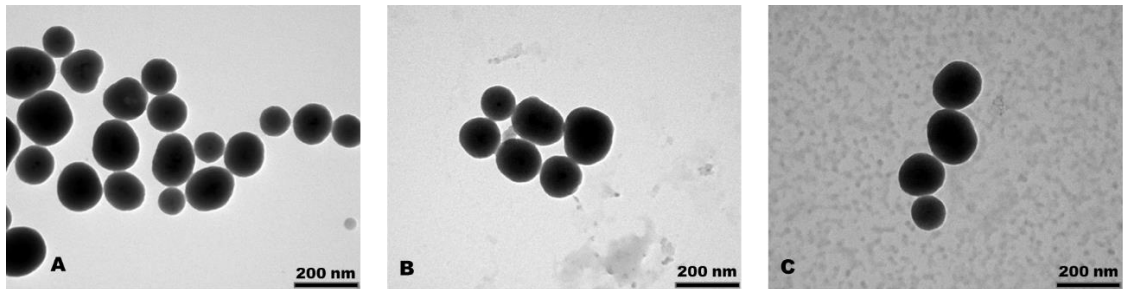
#### 4.1.4. Amin modifiye manyetik nanoparçacıklara şelidamik asitin bağlanması

Amin modifiye silika kaplı manyetik nanoparçacıklar sentezlendikten sonra şelatlayıcı ajan, dietil 4–bromopiridin 2,6–dikarboksilat, nanoparçacıkların yüzeyine N–arilasyon tepkimesiyle bağlanmıştır. Bağlanma, FTIR ölçümleriyle karakterize edilmiştir. Şelidamik asit modifiye manyetik nanoparçacıklar (6) için elde edilen FTIR spektrumu çıkış maddesi olan amin modifiye manyetik nanoparçacıkların (5) spektrumu ile karşılaştırmalı olarak Şekil 4.18’de verilmiştir. Spektrumlar incelendiğinde, amin modifiye manyetik nanoparçacıklardaki –CH<sub>2</sub>’ye ait alifatik düzlem içi gerilmesi için 1484 cm<sup>-1</sup>’de kendini gösteren pik ile 1570 cm<sup>-1</sup>’de görülen primer amin (N–H) gerilmesine ait pik şiddetinin çok düşmesi, bu piklerin yerine 1320 cm<sup>-1</sup>’de gözlenen ester C–O gerilmesi, 1653 cm<sup>-1</sup>’de aromatik C=C gerilmesi ve 1720 cm<sup>-1</sup>’de ester C=O gerilmesine ait yeni piklerin oluşması silika kaplı manyetik nanoparçacık yüzeylerinde şelatlayıcının varlığını göstermektedir. Yüzey fonksiyonu TGA ölçümleriyle de doğrulanmış ve yaklaşık %5’lik ağırlık yüzdesiyle şelatlayıcı ligandın bağlandığı anlaşılmıştır (Bkz. Şekil 4.15). Elde edilen bu oran bir sonraki işlemde geliştirilen maddeye Ln<sup>3+</sup> iyonlarının bağlanması işlemlerinde kullanılmıştır.

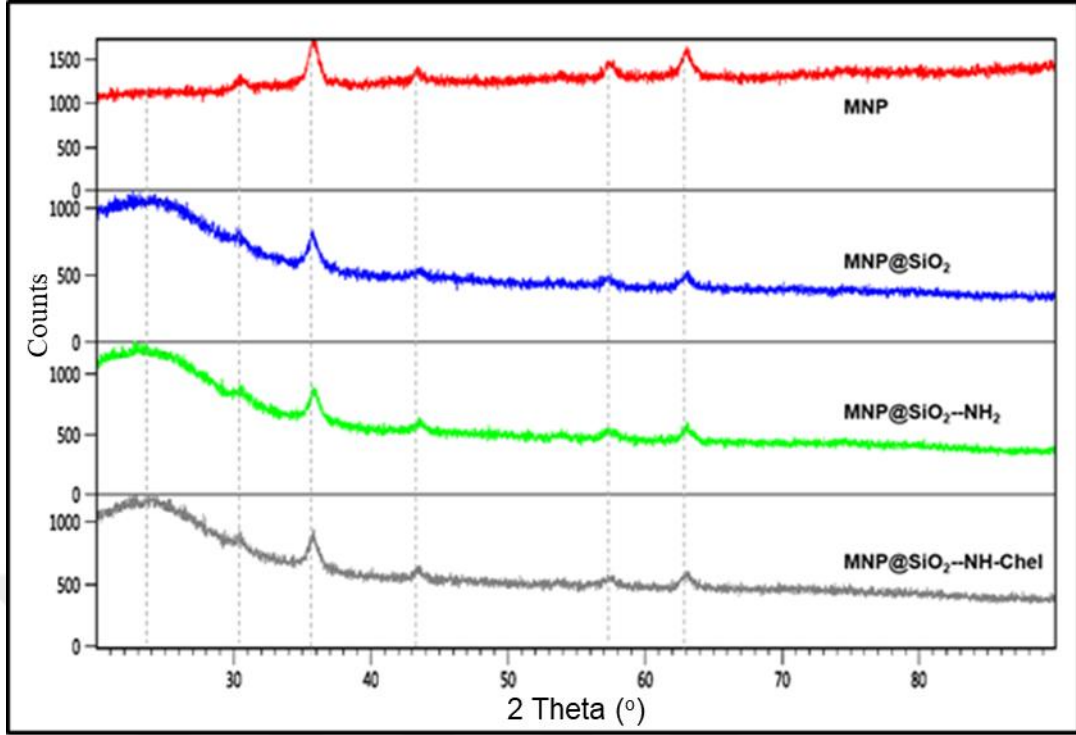


**Şekil 4.18.** Amin modifiye silika kaplı manyetik nanoparçacıklar (A) ile şelidamik asit modifiye silika kaplı manyetik nanoparçacıklara (B) ait FTIR spektrumları

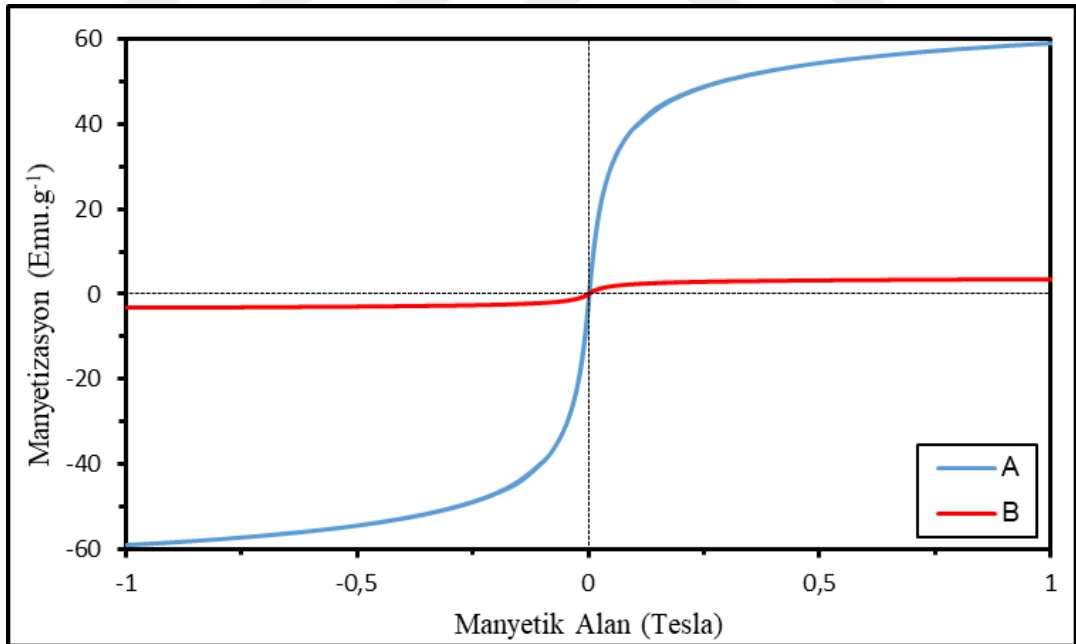
Amin modifiye silika kaplı manyetik nanoparçacıkların yüzeyine şelatlayıcı ajanın bağlanması esnasında boyut ve morfolojide bir değişim olup olmadığını kontrol etmek için TEM ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen TEM görüntüleri boyut ve morfolojide herhangi bir değişim olmadığını göstermiştir (Şekil 4.19). Sentezin her basamağında morfoloji ve kristal yapıdaki değişim XRD ölçümleriyle de kontrol edilmiştir. Sentezin her adımındaki malzemelere ait XRD kırınım desenleri karşılaştırmalı olarak Şekil 4.20’de verilmiştir. XRD desenleri kübik manyetik  $Fe_3O_4$  nanoparçacıkların amorf silika ile kaplandığını ve modifikasyon adımlarında hem  $Fe_3O_4$  nanoparçacıklarının hem de silika katmanının kristal yapısını koruduğunu göstermiştir.



**Şekil 4.19.** Silika kaplı manyetik nanoparçacıklar (A), amin modifiye silika kaplı manyetik nanoparçacıklar (B) ve şelidamik asit modifiye manyetik nanoparçacıklar (C) için elde edilen TEM görüntüleri





Şekil 4.20. Tüm sentez basamaklarındaki parçacıklara ait XRD kırınımı desenleri



Şekil 4.21. Manyetik nanoparçacıklar (A) ve şelidamik asit modifiye silika kaplı manyetik nanoparçacıklar (B)'in VSM grafiği

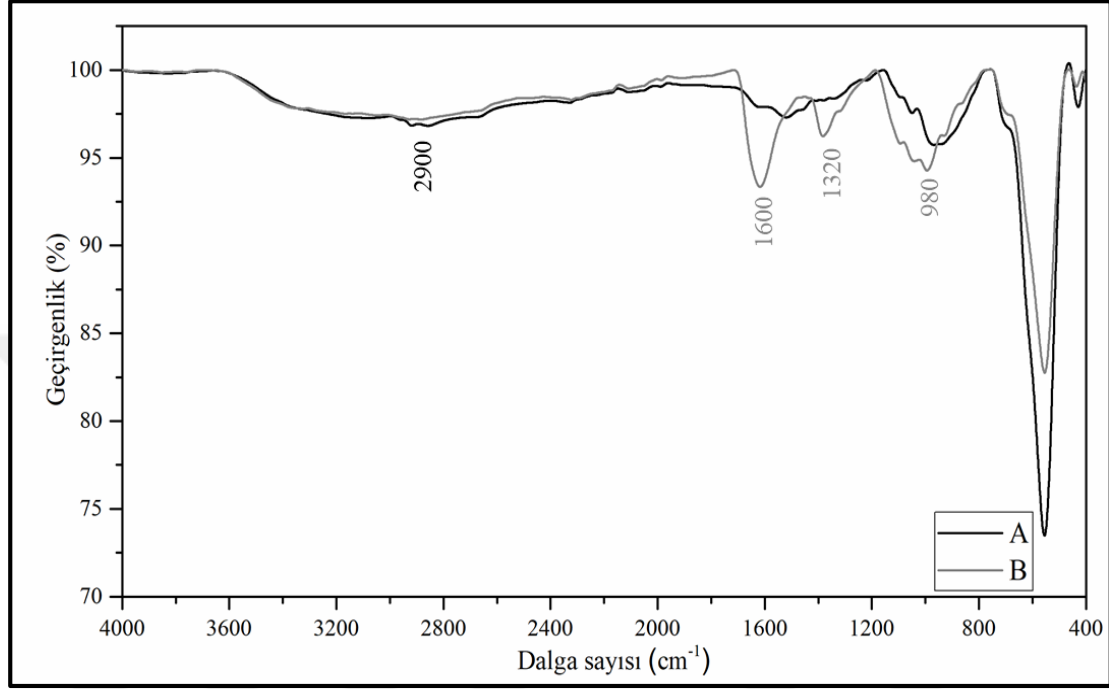
Malzeme çekirdeğini oluşturan  $Fe_3O_4$  nanoparçacıkları ile şelidamik asit ile modifiye edilmiş nanoparçacıkların manyetizasyon ölçüm sonuçları Şekil 4.21’de incelenmiştir. Silika kaplama sonucunda manyetizasyon 60 emu/g’dan 5 emu/g a kadar düştüğü gözlenmiştir. Çizelge 4.2’de aynı derişimde hazırlanan manyetik  $Fe_3O_4$  nanoparçacıkları ile geliştirilen IMAK malzemenin dispersiyonlarının bir neodimiyum mıknasa karşı cevap süresi karşılaştırılmıştır. Aynı derişimdeki dispersiyonlar içinde saf manyetik manyetik  $Fe_3O_4$  nanoparçacıkları 30–60 saniye içinde tamamen mıknats yüzeyinde toplanırken geliştirilen IMAK malzeme 10 dakika içinde tamamen berrak bir çözeltili bırakarak yüzeye toplanmıştır. Doygun manyetizasyondaki belirgin düşüşe rağmen elde edilen 10 dakikalık mıknatsa cevap süresi malzemenin oldukça kullanışlı olduğunu göstermektedir.

**Çizelge 4.2.** Geliştirilen IMAK ( $MNP@SiO@NH@Chelid@Er$ ) ve manyetik  $Fe_3O_4$  nanoparçacıkların bir neodimiyum mıknatsa cevap süreleri

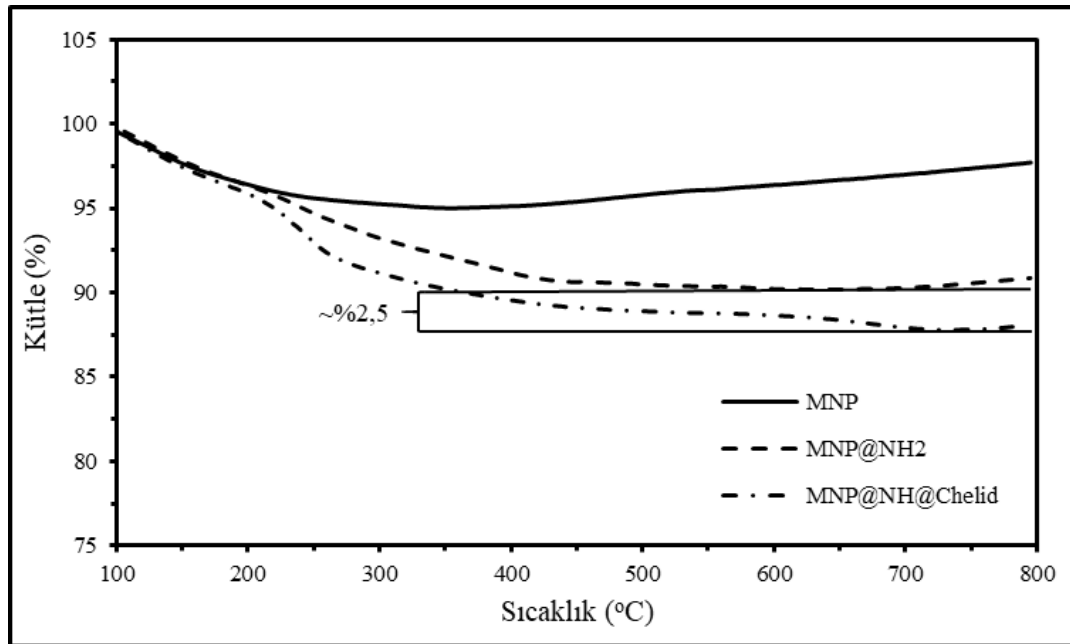
Örnek Adı	Fotoğraflar							
$Fe_3O_4$								
t (dk)	0	0,5	1	2	3	5	10	
Erbiyum(III) iyon içeren manyetik IMAK malzeme $MNP@Si@NH@Chelid@Er$								
t (dk)	0	0,5	1	2	3	5	10	

Doğrudan aminlenmiş manyetik  $Fe_3O_4$  nanoparçacıkların yüzeyine şelatlayıcı ajan, dietil 4–bromopiridin 2,6–dikarboksilat’ın bağlanmasını gösteren FTIR spektrumu Şekil 4.22’de verilmiştir. FTIR spektrumu incelendiğinde, doğrudan aminlenmiş manyetik nanoparçacık için  $2900\text{ cm}^{-1}$ ’de gözlenen çift omuzlu N–H pikinin yok olması yüzeyde amino grubunun olmadığını bize göstermektedir. Bununla birlikte  $1600\text{ cm}^{-1}$ ’deki pik, ester karbonil grubundaki C=O pikine karşılık gelmektedir. Ayrıca, esterler için spesifik olan  $980\text{ cm}^{-1}$ ’deki simetrik C–O–C gerilme ve  $1320\text{ cm}^{-1}$ ’deki asimetric C–O–C gerilme pikleri de şelatlayıcının bağlandığını kanıtlamaktadır. Diğer taraftan, doğrudan aminlenmiş manyetik  $Fe_3O_4$  nanoparçacıkların yüzeyine şelatlayıcı ajan bağlandıktan sonra yüzeydeki şelidamik asit miktarını nicel olarak öngörebilmek için TGA ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.23’te doğrudan aminlenmiş manyetik  $Fe_3O_4$

nanoparçacıkların modifikasyon adımlarına ait 30–800 °C aralığındaki TGA ölçümlerinden elde edilen sıcaklığa bağlı ağırlık kaybı grafiği görülmektedir. Sonuçlar incelendiğinde, şelatlama aşaması için parçacık yüzeyinde yaklaşık %2,5’lik bir ağırlık kaybı gözlenmiştir (Bkz. Şekil 4.23). Elde edilen bu değer parçacık yüzeyine bağlanacak  $Ln^{+3}$  iyonlarının hesaplaması için kullanılmıştır.

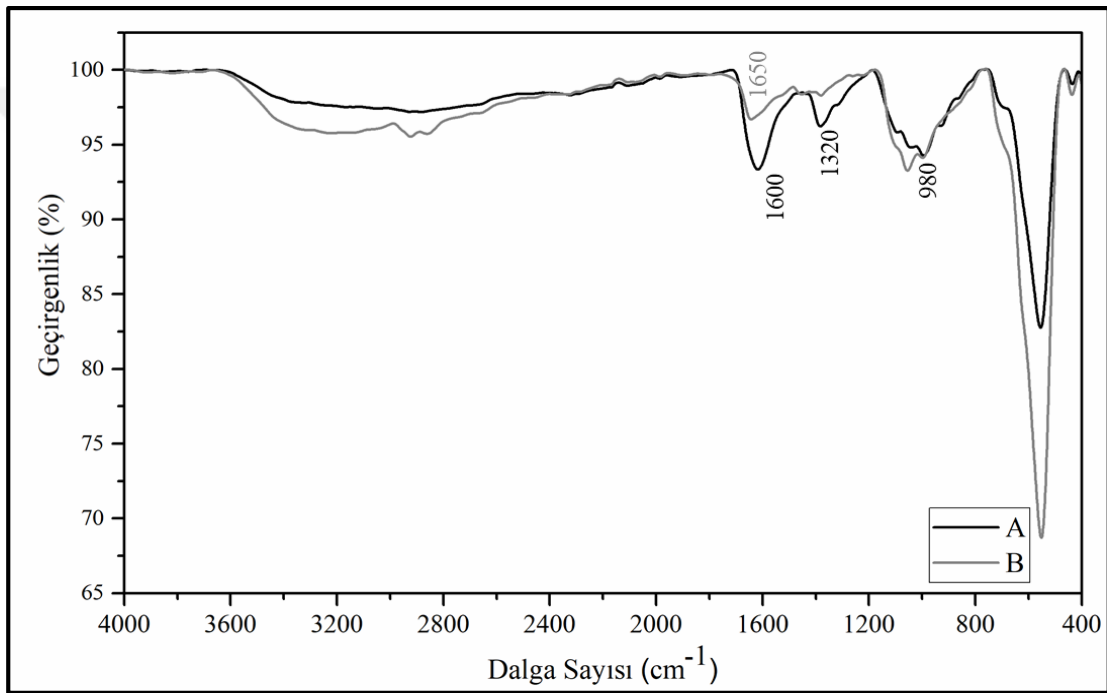


Şekil 4.22. Doğrudan aminlenmiş manyetik  $Fe_3O_4$  nanoparçacıklar (A) ile şelidamik asit modifiye manyetik  $Fe_3O_4$  nanoparçacıklara (B) ait FTIR spektrumları



Şekil 4.23. Doğrudan aminlenmiş manyetik  $Fe_3O_4$  nanoparçacıkların her bir modifikasyon adımına ait termogravimetrik analiz sonuçları

Son aşamada; ester formunda yüzeye bağlanmış ligand hidroliz edilerek asit formuna dönüştürülmüş ve böylece şelidamik asit modifiye manyetik nanoparçacıkları (6) sentezlenmiştir. Ester gruplarının hidrolizi FTIR ölçümleriyle kanıtlanmıştır. Şelidamik asit modifiye manyetik nanoparçacıklar (6) için ester form ve karboksilik asit formu karşılaştırmalı olarak Şekil 4.24'te verilmiştir. Şekil 4.24'teki spektrumlar incelendiğinde,  $1600\text{ cm}^{-1}$ 'de esterlerde gözlenen C=O pikinin  $1650\text{ cm}^{-1}$ 'e kayması ve esterler için spesifik olan  $980\text{ cm}^{-1}$ 'de simetrik C–O–C gerilme ve  $1320\text{ cm}^{-1}$ 'de asimetrik C–O–C gerilme piklerinin daha yüksek dalga boyuna kayması ester halinden karboksilik asit formuna geçişi kanıtlanmıştır. Bu piklerin varlığı hidroliz işleminin başarı ile sonuçlandığını göstermiştir. Dolayısıyla, yüzey  $\text{Ln}^{3+}$  iyonlarının koordinasyonuna elverişli hale gelmiştir.



**Şekil 4.24.** Şelidamik asit modifiye manyetik nanoparçacıklar (A) ile hidroliz edilmiş şelidamik asit modifiye manyetik nanoparçacıklara (B) ait FTIR spektrumları

#### 4.2. Şelidamik Asit Modifiye Manyetik Nanoparçacıklara Lantanit(III) İyonlarının Bağlanması

Şelidamik asit modifiye manyetik  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparçacıklar (6) başarıyla sentezlendikten sonra manyetik IMAK malzemenin oluşturulması için parçacıklara lantanit(III) iyonlarının ( $\text{Nd}^{3+}$ ,  $\text{Dy}^{3+}$  ve  $\text{Er}^{3+}$ ) bağlanması gerekmektedir. Bunun için TGA ölçümlerinden yararlanılmıştır (Şekil 4.15 ve Şekil 4.23). Şekil 4.15 ve Şekil 4.23'e göre silika kaplı manyetik  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparçacıklar ve doğrudan aminlenmiş manyetik  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparçacıkların yüzeylerindeki şelatlayıcı miktarı sırasıyla, ağırlıkça %5 ve %2,5 olarak belirlenmiştir. Bu stökiyometrilere göz önüne alınarak şelidamik asit modifiye

manyetik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacık (6) ve yüzeyine Ln<sup>3+</sup> iyonları (Er<sup>3+</sup>, Dy<sup>3+</sup> ve Nd<sup>3+</sup>) bağlanmış ve böylece Ln<sup>3+</sup> iyonları içeren manyetik IMAK malzeme geliştirilmiştir. Çizelge 4.3'te iki farklı yolla hazırlanan her bir manyetik IMAK malzeme yüzeyine bağlanan Ln<sup>3+</sup> iyonlarının derişimleri verilmiştir.

**Çizelge 4.3.** Sentezlenen manyetik IMAK malzemelerde yüzeye bağlanmış Ln<sup>3+</sup> iyonlarının derişimleri

Ln <sup>3+</sup>	Birim nanoparçacık yüzeyine bağlanan lantanit(III) iyonu miktarı	
	MNP@Si@NH@Chelid@Ln	MNP@NH@Chelid@Ln
Nd <sup>3+</sup>	2,55±0,5x10 <sup>-4</sup> mol Nd <sup>3+</sup> /g	—
Dy <sup>3+</sup>	2,0±0,3x10 <sup>-4</sup> mol Dy <sup>3+</sup> /g	3,50±0,2x10 <sup>-4</sup> mol Dy <sup>3+</sup> /g
Er <sup>3+</sup>	2,99±0,3x10 <sup>-4</sup> mol Er <sup>3+</sup> /g	3,99±0,5x10 <sup>-4</sup> mol Er <sup>3+</sup> /g

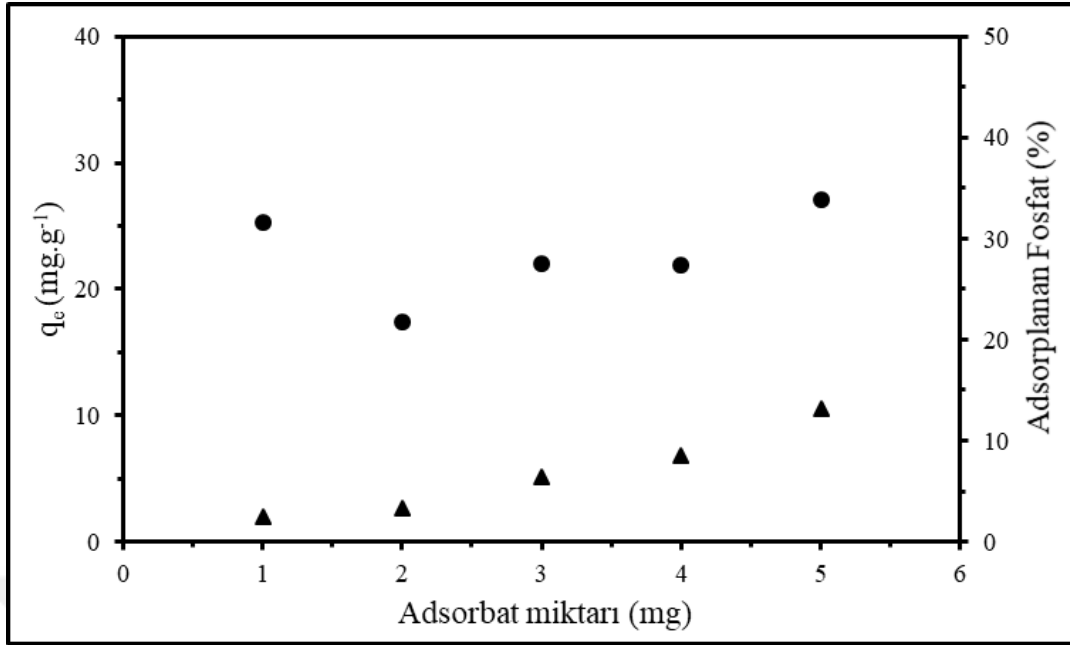
### 4.3. Geliştirilen Manyetik IMAK Malzemelerin Fosfat Adsorpsiyon Çalışmaları

#### 4.3.1. Optimizasyon çalışmaları

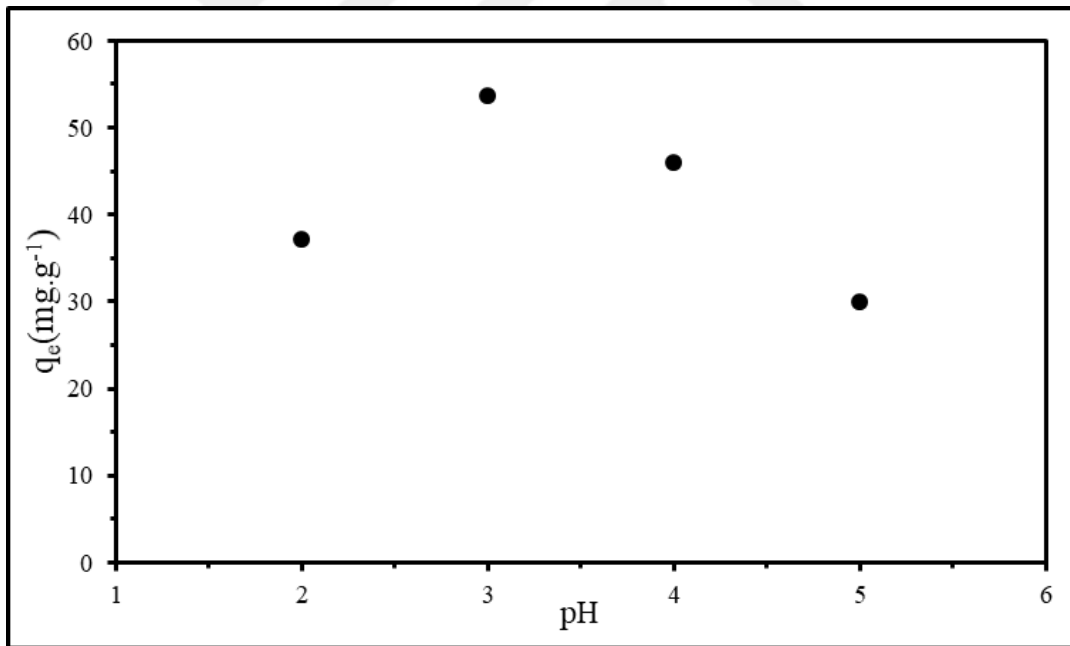
Adsorpsiyon çalışmalarında ilk olarak MNP@Si@NH@Chelid@Dy örneğinden 1, 2, 3, 4 ve 5 mg alınarak 50 mg.L<sup>-1</sup>'lik fosfat çözeltileri ile 24 saat boyunca 25°C'de 150 rpm'de çalkalanarak uygun adsorbat miktarı belirlenmiştir. Yapılan bu çalışma sonunda performans olarak birim parçacık miktarı başına adsorplanan fosfat miktarı (q<sub>e</sub>) üzerinden karşılaştırma yapılmıştır. Bu karşılaştırma sonunda manyetik IMAK malzemesinin miktarı arttıkça q<sub>e</sub> değerinin de arttığı gözlenmiş (Şekil 4.25) ve adsorpsiyon çalışmalarında adsorbat miktarının 5 mg olmasına karar verilmiştir.

Fosfat adsorpsiyonuna pH'ın etkisini incelemek için pH 2–7 arası 6 farklı değer seçilmiş, pH'ları HNO<sub>3</sub> ve NaOH ile ayarlanmıştır. Seçilen MNP@Si@NH@Chelid@Er örneğinden 2'şer mg tartılmış ve pH'ı ayarlandıktan sonra ultrasonik banyoda dispersiye edilmiştir. Numuneler 24 saat boyunca 50 mg.L<sup>-1</sup>'lik fosfat çözeltileri ile 150 rpm'de çalkalanarak uygun pH 3 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.26).

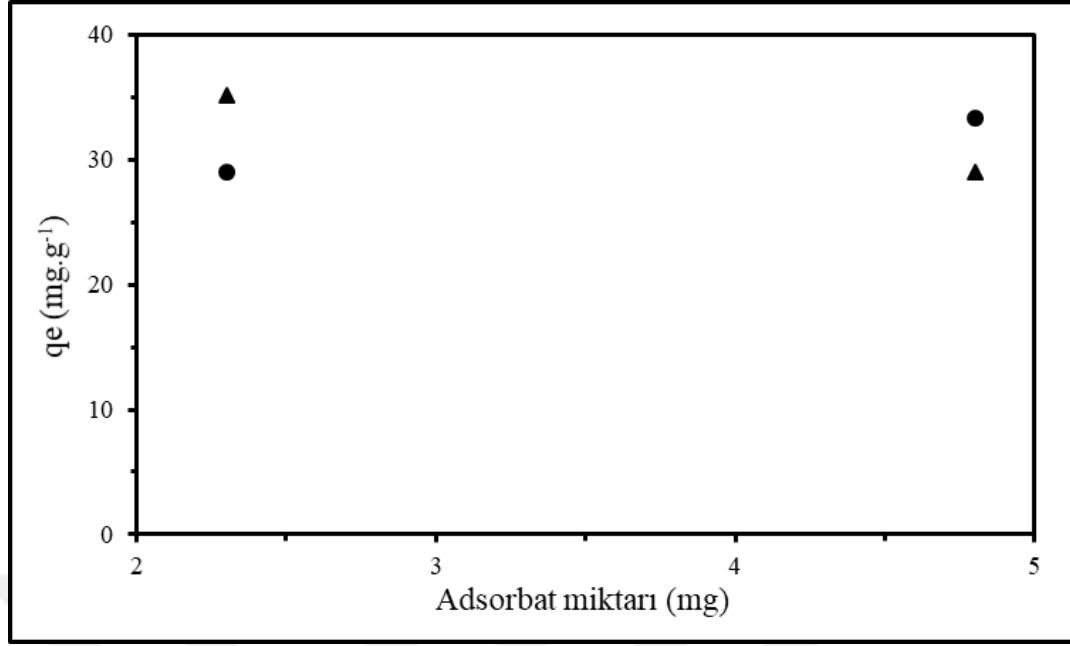
İyonik şiddetin etkisinin incelenmesi için 2 ve 5 mg seçilen MNP@Si@NH@Chelid@Dy'den tartılmıştır. Hazırlanan 0,1 mol.L<sup>-1</sup>'lik NaNO<sub>3</sub> çözeltisinden alınarak parçacıklar dispersiye edilmiş ve 24 saat boyunca 50 mg.L<sup>-1</sup>'lik fosfat çözeltileri ile 150 rpm'de çalkalanmıştır. Elde edilen sonuçlar (Şekil 4.27) incelendiğinde iyonik şiddetin çalışılan sistemlerdeki fosfat adsorpsiyonuna bir etkisinin olmadığı tespit edilmiş ve bu nedenle, çalışmalar doğrudan sulu dispersiyonlar üzerinden gerçekleştirilmiştir.



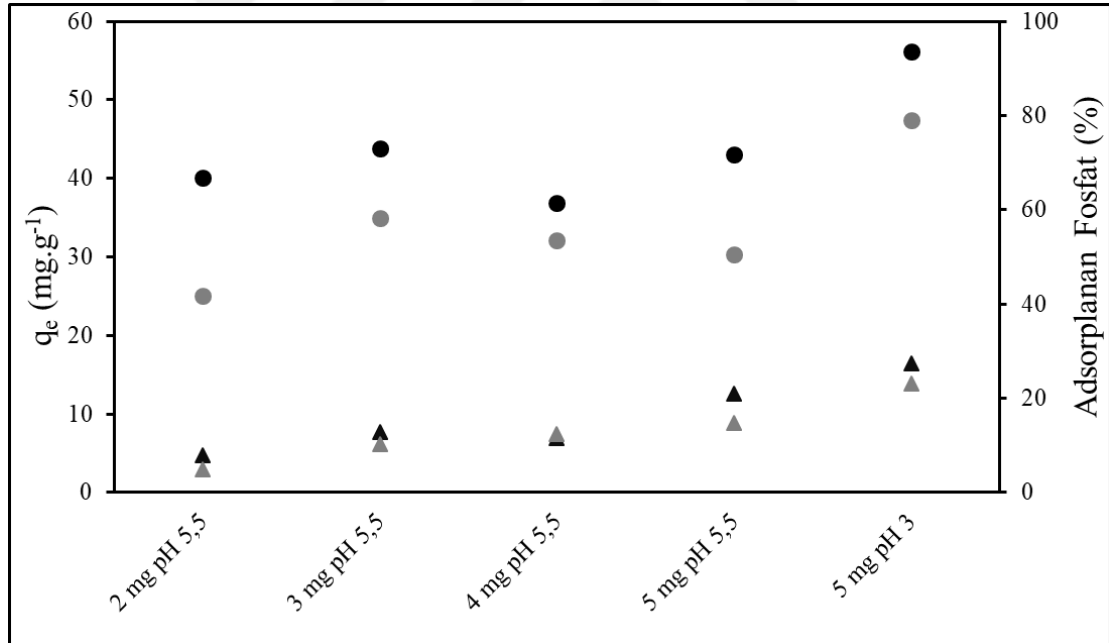
Şekil 4.25. Farklı adsorbat miktarlarına göre adsorpsiyon kapasiteleri(●) ve adsorpsiyon yüzdesi (▲)



Şekil 4.26. MNP@Si@NH@Chelid@Er üzerine fosfat adsorpsiyonunun pH'a bağlı değişimi



Şekil 4.27. Sentezlenen manyetik İMAK üzerine fosfat adsorpsiyonuna iyonik şiddetin etkisi (▲ : I = 0,1 M NaNO<sub>3</sub> içinde, ● : ultra saf suda )

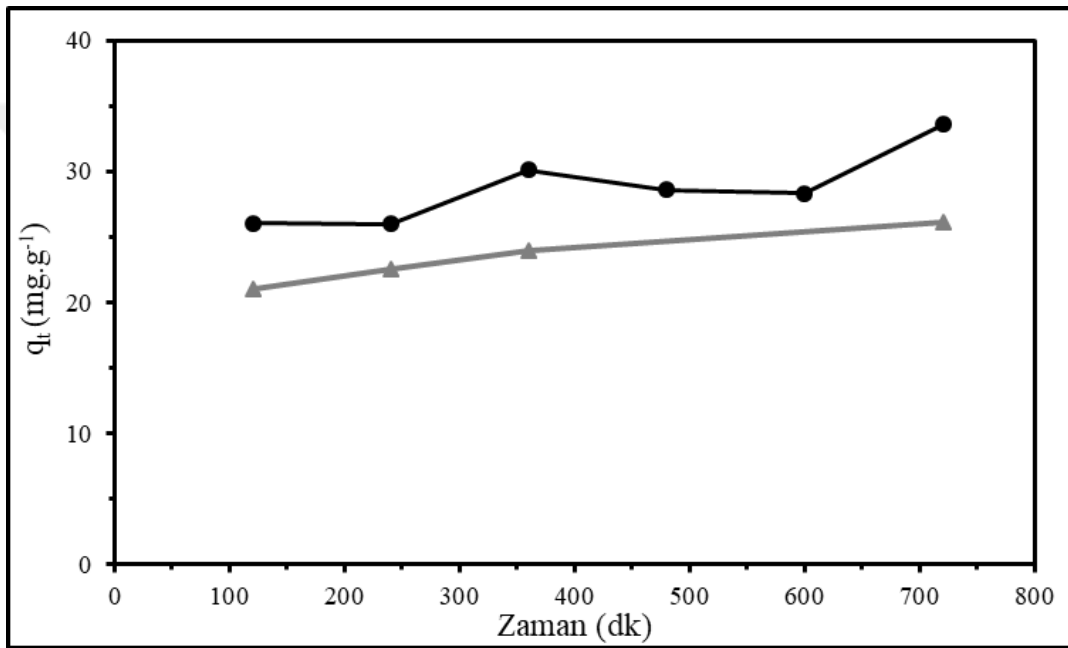


Şekil 4.28. Farklı adsorbat miktarlarına göre adsorpsiyon kapasiteleri [●]: MNP@NH@Chelid@Er, (●): MNP@NH@Chelid@Dy] ve adsorpsiyon yüzdeleri (▲): MNP@NH@Chelid@Er, (▲): MNP@NH@Chelid@Dy

Yapılan dozaj çalışmasını ve pH çalışmasını desteklemek üzere seçilen iki malzeme ile MNP@NH@Chelid@Dy ve MNP@NH@Chelid@Er için çalışmalar tekrarlanmıştır. Yapılan bu tekrar çalışmasında 2, 3, 4, 5 mg örnekler için pH 5,5'e ayarlanmış ve 5 mg olan diğer bir örnek pH 3'e ayarlanarak çalışmalar

gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.28 incelendiğinde, birim parçacık miktarı başına adsorplanan fosfat miktarı ( $q_e$ )'nin parçacık miktarı ile arttığı ve ayrıca, pH 3'te daha yüksek  $q_e$  değerine ulaşıldığı belirlenmiştir.

Ayrıca, farklı pH'lardaki adsorpsiyonun zamana bağlı değişimi iki farklı pH'da 5 mg örnekler kullanılarak belirlenmiştir. Şekil 4.29 verilen sonuçlar incelendiğinde her bir t anında gerçekleşen adsorpsiyonun pH'ın 3'e ayarlandığı örnekte daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum Şekil 4.26 ve Şekil 4.28'deki sonuçlar ile de benzerlik göstermektedir. Tüm bu sonuçlar göz önünde bulundurularak kinetik çalışmalarda 5 mg adsorbat kullanılmış, tüm çalışmalarda pH 3'e ayarlanmış ve fosfat derişimi  $10 \text{ mg.L}^{-1}$  olarak seçilmiştir.

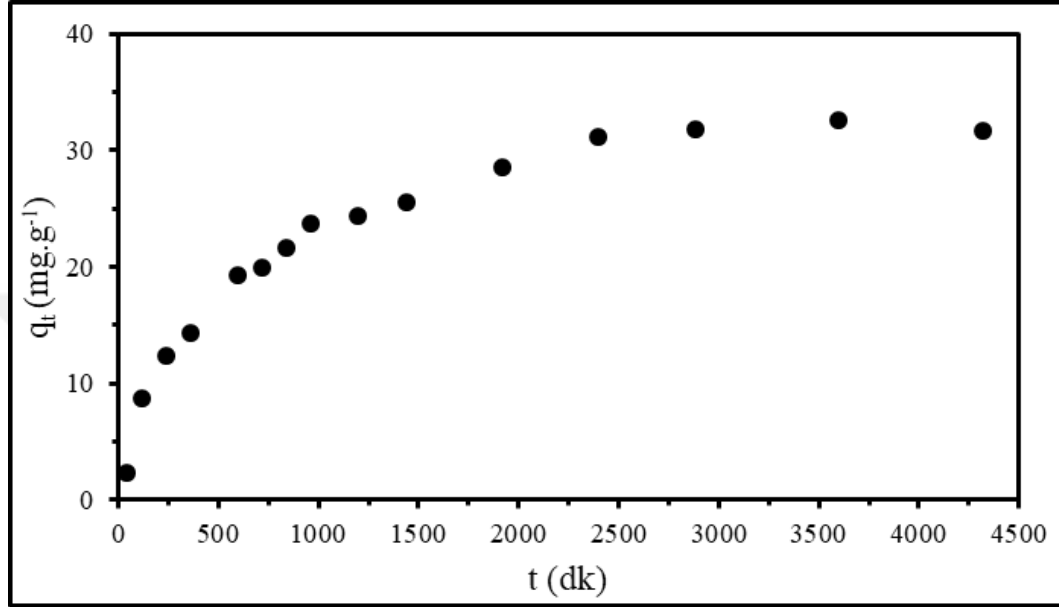


Şekil 4.29. MNP@Si@NH@Chelid@Dy yüzeyine farklı pH'larda fosfat iyonu adsorpsiyonunun zamana bağlı değişimi. pH=3 (●) ve pH=5,5 (▲)

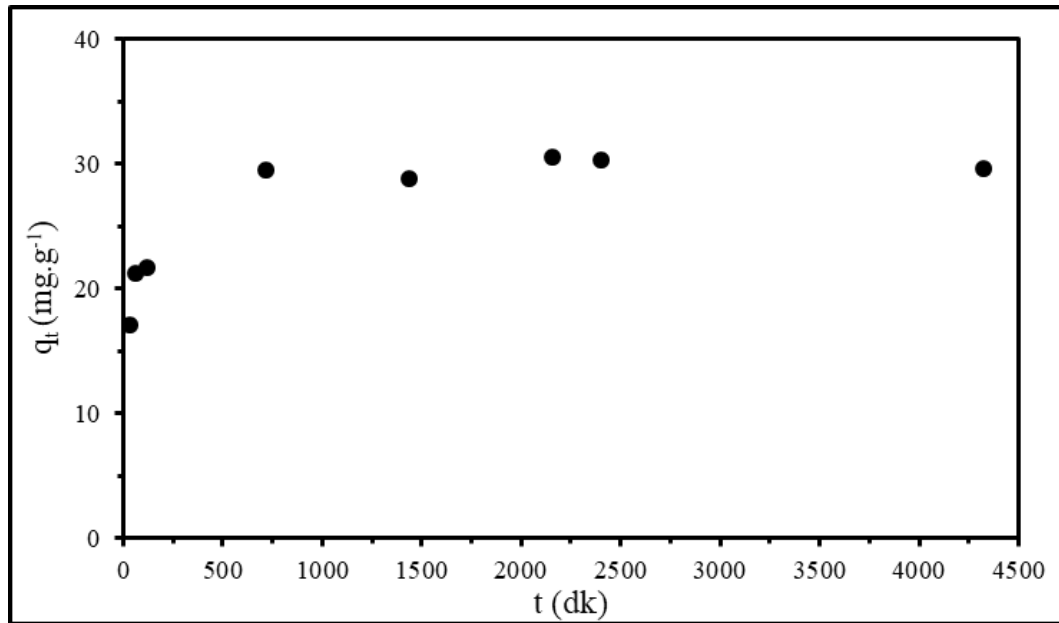
#### 4.3.2. Manyetik IMAK malzemelerinin psödo–birinci mertebe, psödo–ikinci mertebe ve Elovich kinetik modellerine uyumu

Kinetik çalışmalarda, belirlenen adsorbat pH'ı 3'e ayarlanmış sulu çözeltide dispersiyeye edildikten sonra toplam  $10 \text{ mg.L}^{-1}$ 'lik fosfat derişimindeki adsorpsiyonun zamana bağlı değişimi 0–4320 dk aralığında çalışılmıştır. Seçilen her bir sürenin sonunda ayrılan fosfat çözeltisindeki fosfat iyonu derişimi Bölüm 3.2.3'de anlatıldığı gibi belirlenmiştir. Belirlenen derişimler Eşitlik 3.2'de yerlerine koyularak birim parçacık kütlesi başına adsorplanan fosfat iyonu miktarları ( $q_t$ ) hesaplanmıştır. Sentezlenen manyetik IMAK malzemelerin hangi izoterm modeline uyduğunu belirlemek için silisyum kaplı üç malzemeye model olarak MNP@Si@NH@Chelid@Nd çalışılmıştır.

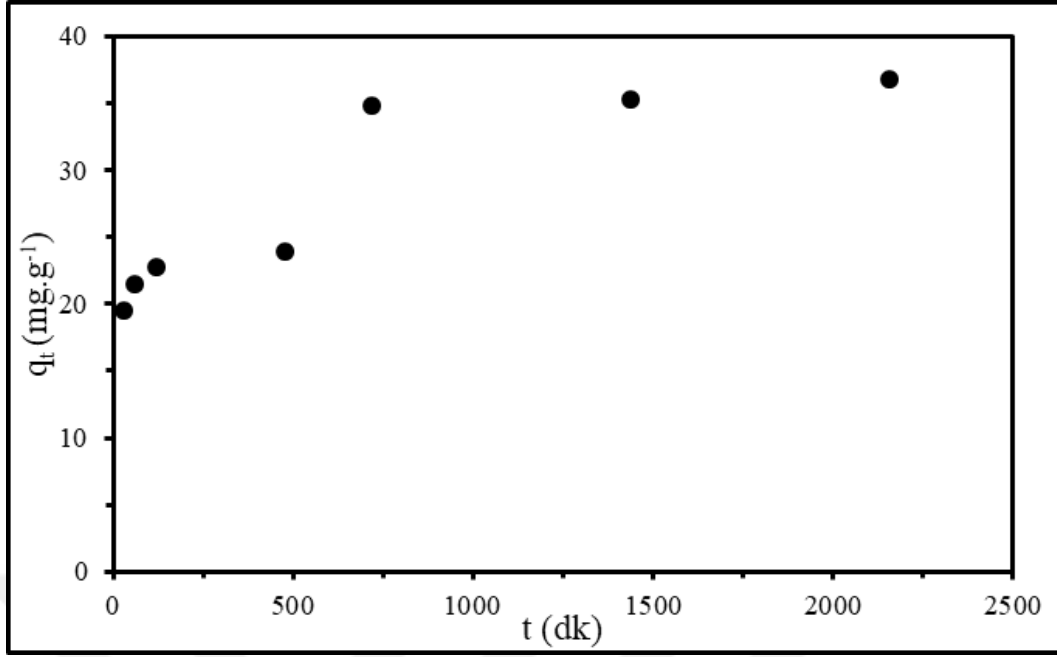
Doğrudan aminlenen malzemelerin ikisinin de kinetik çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen malzemelerden, MNP@Si@NH@Chelid@Nd, MNP@NH@Chelid@Dy ve MNP@NH@Chelid@Er ait  $q_t$ 'ye karşı  $t$  grafikleri, sırasıyla, Şekil 4.30, Şekil 4.31, ve Şekil 4.32'te verilmiştir. Şekiller incelenerek ilgili adsorbat yüzeyine fosfat adsorpsiyonunun dengeye gelme süresi ve adsorpsiyon kinetiğinin uyduğu model belirlenmiştir.



**Şekil 4.30.** MNP@Si@NH@Chelid@Nd yüzeyine fosfat iyonu adsorpsiyonunun zamana bağlı değişimi (Başlangıç fosfat derişimi: 10 mg.L<sup>-1</sup>, adsorbat miktarı: 5 mg)

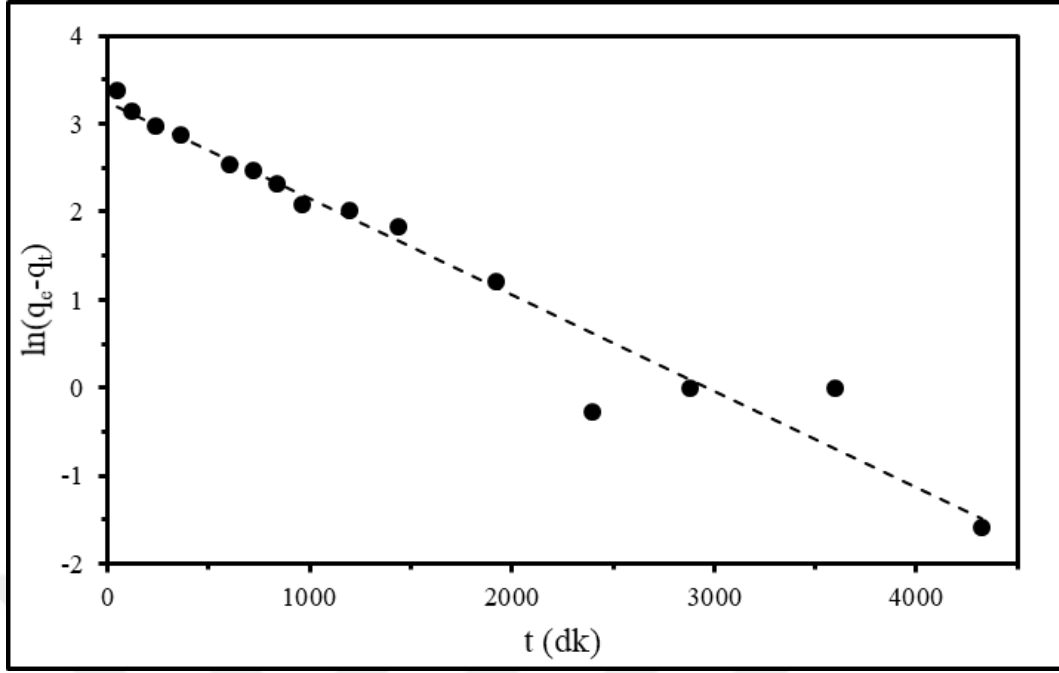


**Şekil 4.31.** MNP@NH@Chelid@Dy yüzeyine fosfat iyonu adsorpsiyonunun zamana bağlı değişimi (Başlangıç fosfat derişimi: 10 mg.L<sup>-1</sup>, adsorbat miktarı: 5 mg)

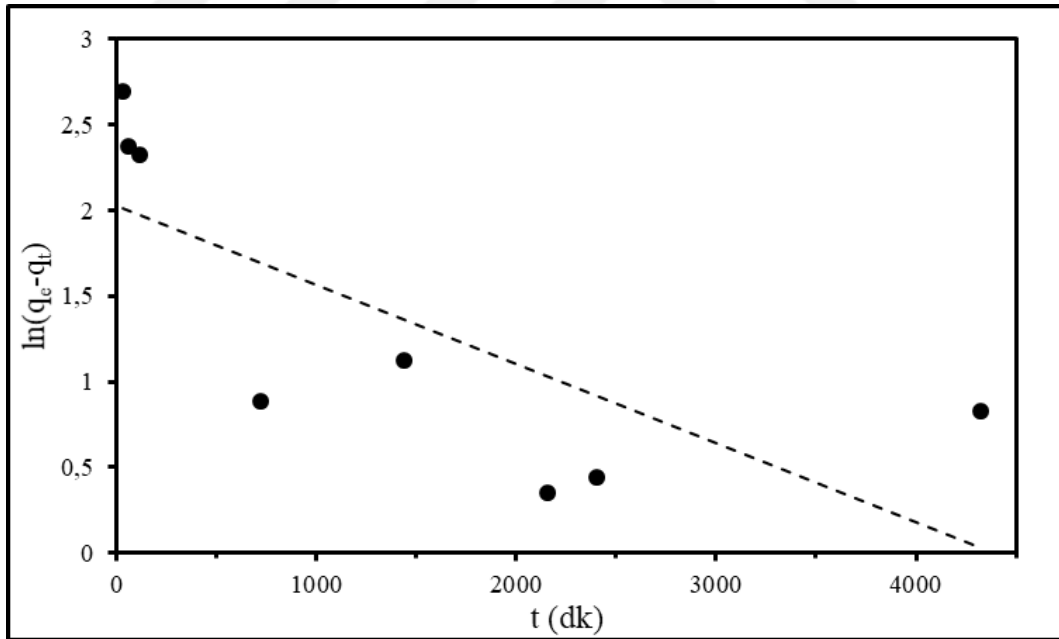


**Şekil 4.32.** MNP@NH@Chelid@Er yüzeyine fosfat iyonu adsorpsiyonun zamana bağlı değişimi (Başlangıç fosfat derişimi: 10 mg.L<sup>-1</sup>, adsorbat miktarı: 5 mg)

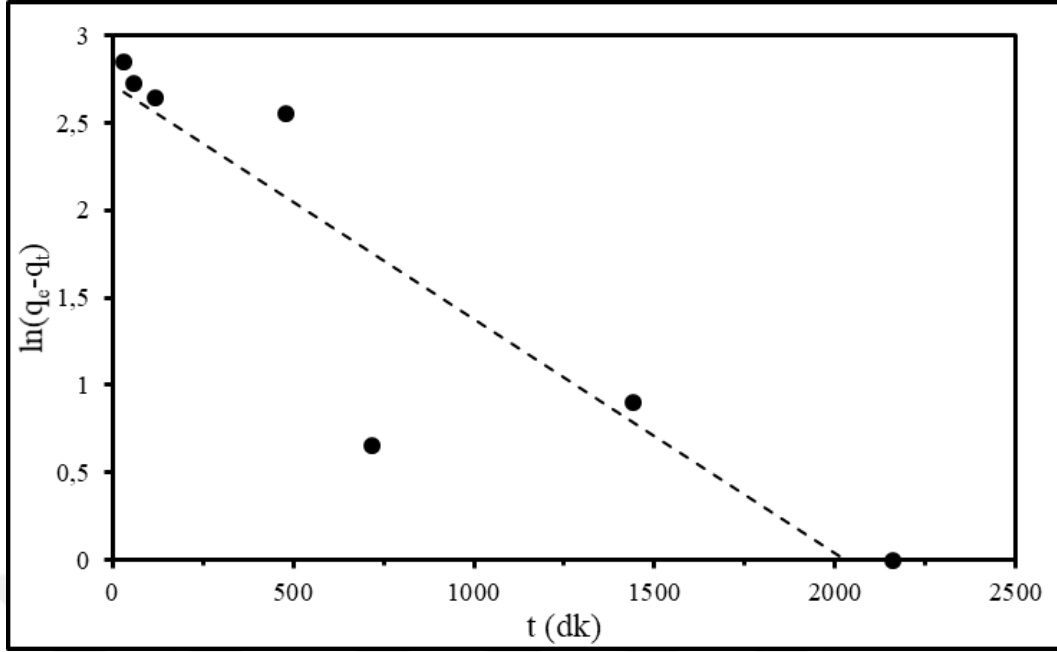
Daha sonra Şekil 4.33'deki deneysel veriler kullanılarak psödo–birinci merteye, psödo–ikinci merteye ve Elovich kinetik modelleri için verilen, sırasıyla, Eşitlik 3.3, Eşitlik 3.4 ve Eşitlik 3.5 eşitliklerine göre grafikler çizilmiş ve hangi kinetik modele uyduğu belirlenmiştir. Model olarak incelenen MNP@Si@NH@Chelid@Nd, MNP@NH@Chelid@Dy, MNP@NH@Chelid@Er örneklerinin psödo–birinci mertebeye olan uyumları Eşitlik 3.3'e göre  $\ln(q_e - q_t)$ 'nin t'ye karşı çizilen grafikler ile incelenmiştir (Şekil 4.33, Şekil 4.34, Şekil 4.35). Her bir grafikteki doğruların eğimlerinden hesaplanan psödo–birinci merteye hız sabiti olan  $k_1$  değerleri ve korelasyon katsayıları Çizelge 4.4'te verilmiştir.



Şekil 4.33. MNP@Si@NH@Chelid@Nd üzerine 25 °C’de 10 mg.L<sup>-1</sup> fosfat iyonlarının adsorpsiyonunun psödo–birinci merteye kinetik modele uyumu

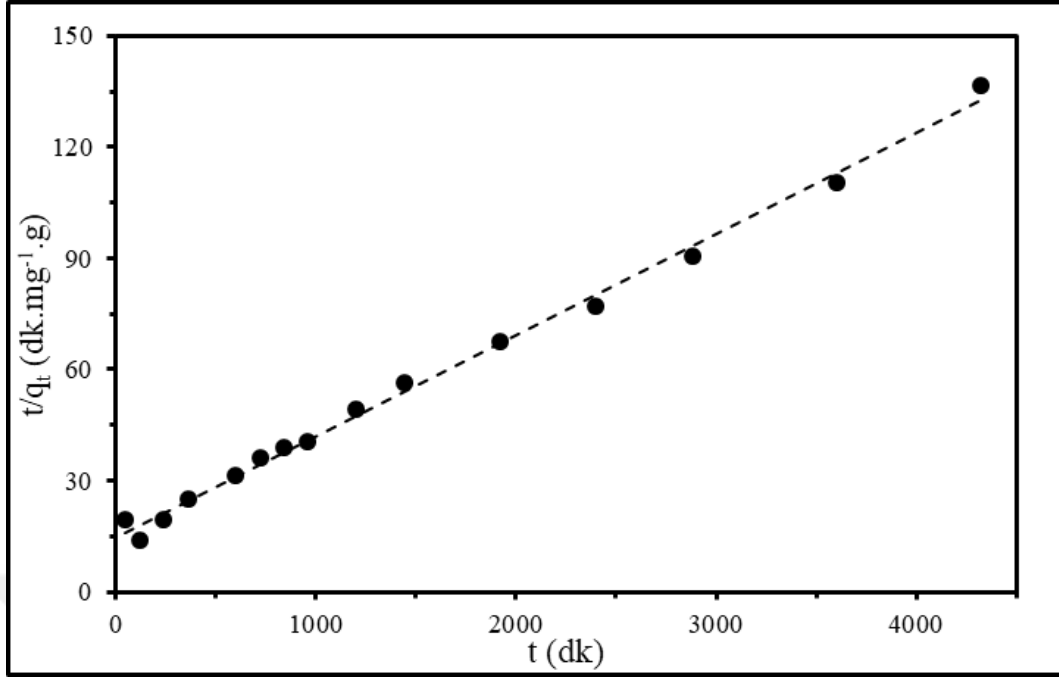


Şekil 4.34. MNP@NH@Chelid@Dy üzerine 25 °C’de 10 mg.L<sup>-1</sup> fosfat iyonlarının adsorpsiyonunun psödo–birinci merteye kinetik modele uyumu

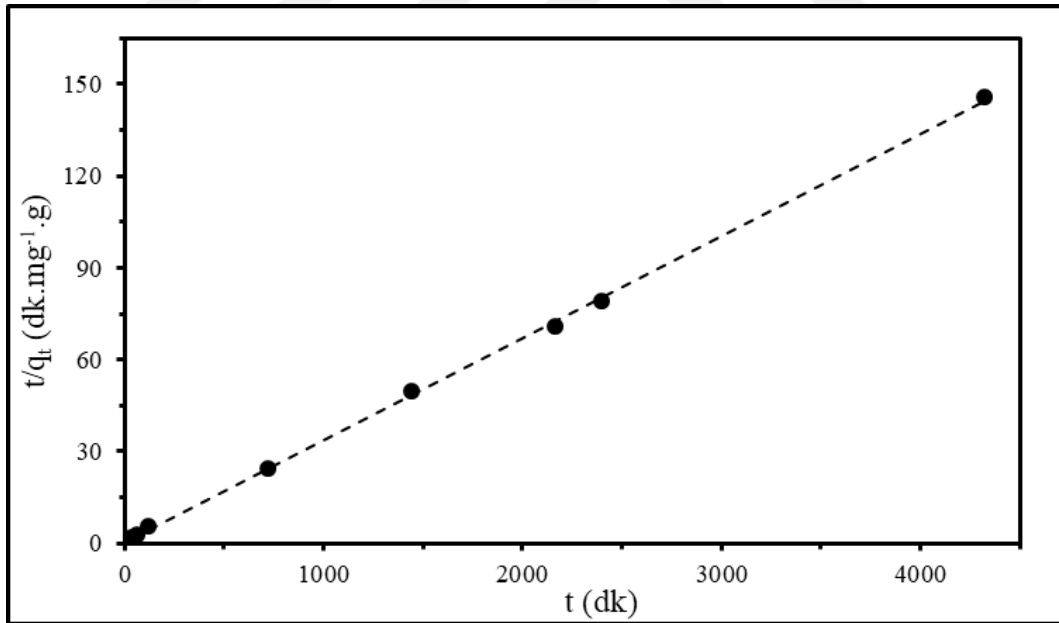


**Şekil 4.35.** MNP@NH@Chelid@Er üzerine 25 °C'de 10 mg.L<sup>-1</sup> fosfat iyonlarının adsorpsiyonunun psödo-birinci mertebe kinetik modele uyumu

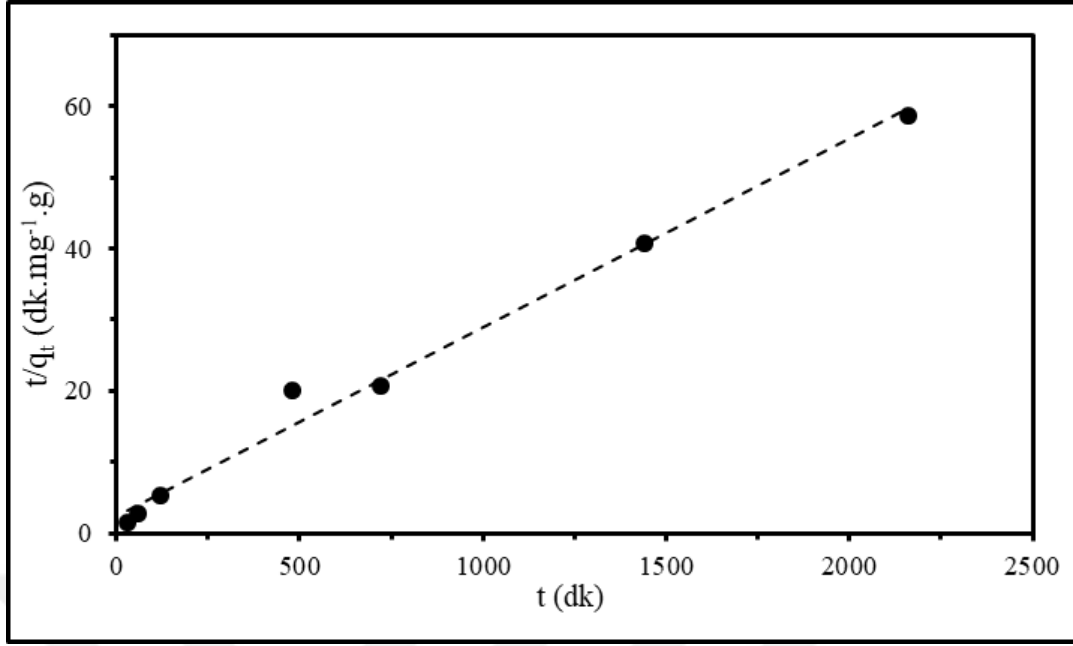
Model olarak incelenen MNP@Si@NH@Chelid@Nd, MNP@NH@Chelid@Dy, MNP@NH@Chelid@Er malzemelerinin psödo-ikinci mertebeye olan uyumları Eşitlik 3.4'e göre  $t/q_t$  değerlerinin  $t$ 'ye karşı çizilen grafikler ile incelenmiştir (Şekil 4.36, Şekil 4.37, Şekil 4.38). Her bir grafikteki doğruların eğimlerinden hesaplanan psödo-ikinci mertebe hız sabiti olan  $k_2$  değerleri,  $h$  ile ifade edilen başlangıç adsorpsiyon hızı değerleri ve korelasyon katsayıları Çizelge 4.4'te verilmiştir.



Şekil 4.36. MNP@Si@NH@Chelid@Nd üzerine 25 °C'de 10 mg.L<sup>-1</sup> fosfat iyonlarının adsorpsiyonunun psödo-ikinci merteye kinetik modele uyumu

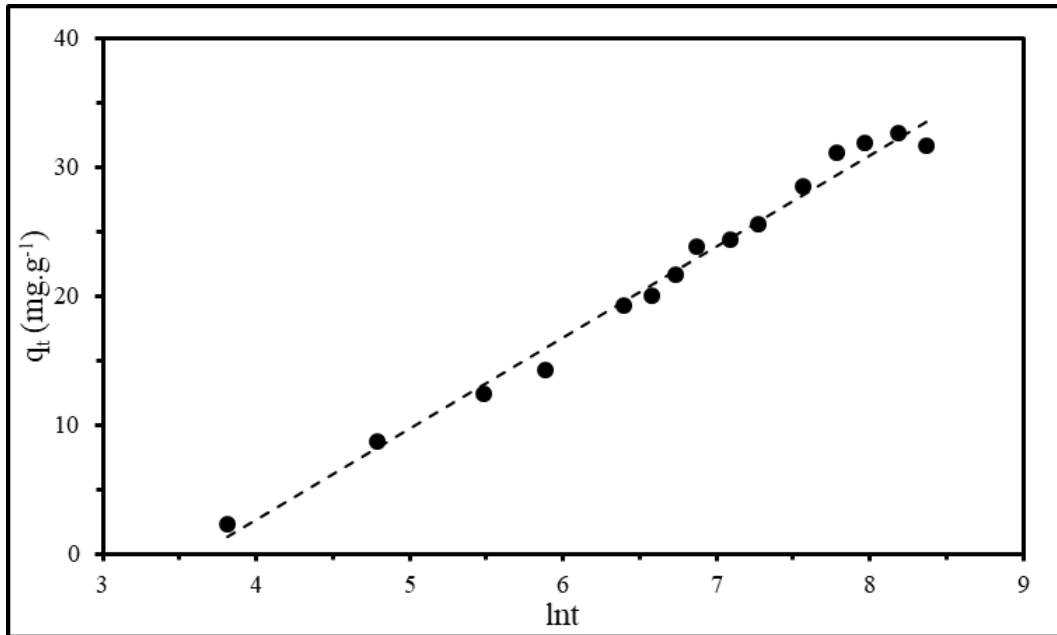


Şekil 4.37. MNP@NH@Chelid@Dy üzerine 25 °C'de 10 mg.L<sup>-1</sup> fosfat iyonlarının adsorpsiyonunun psödo-ikinci merteye kinetik modele uyumu

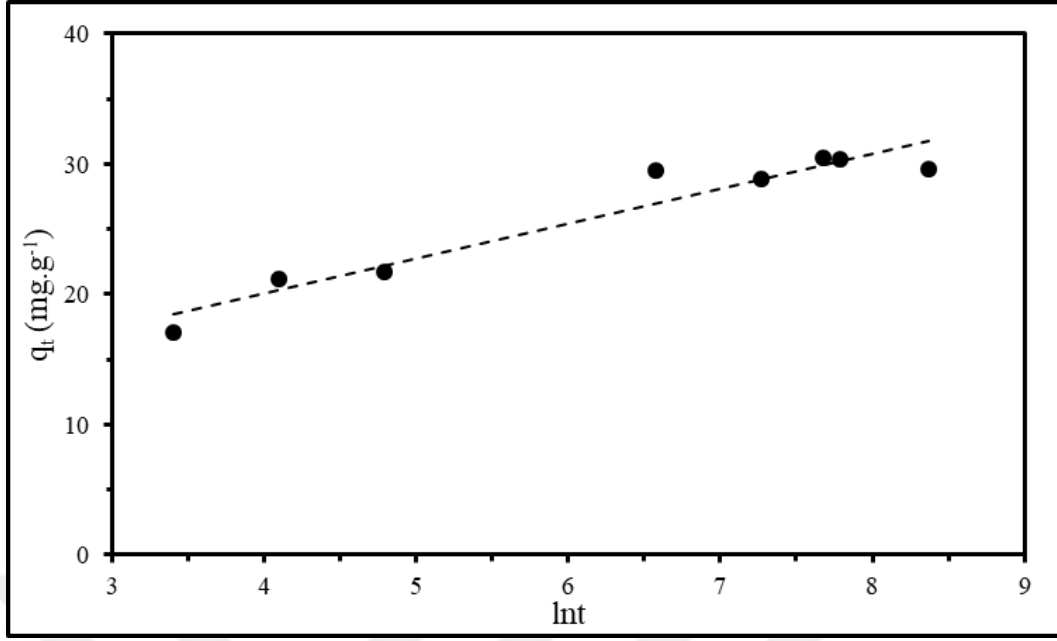


**Şekil 4.38.** MNP@NH@Chelid@Er üzerine 25 °C'de 10 mg.L<sup>-1</sup> fosfat iyonlarının adsorpsiyonunun psödo-ikinci merteye kinetik modele uyumu

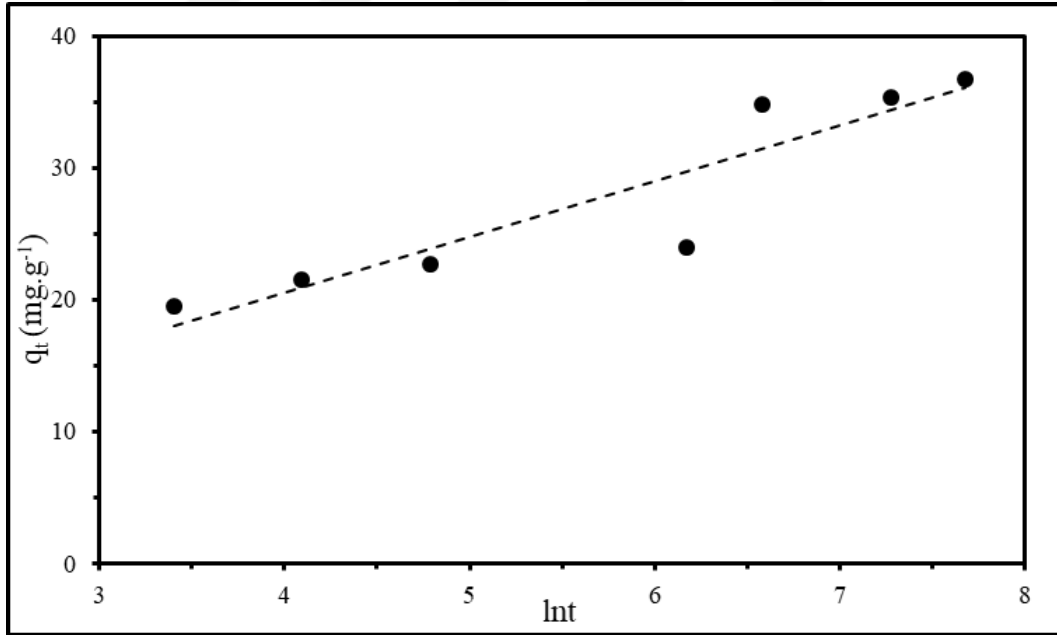
Son olarak seçilen MNP@Si@NH@Chelid@Nd, MNP@NH@Chelid@Dy, MNP@NH@Chelid@Er Elovich kinetik modele olan uyumları Şekil 4.30–32'deki deneysel verileri temel alarak Eşitlik 3.5'e göre incelenmiş ve çizilen  $q_t$ 'ye karşı  $\ln t$  grafikleri, sırasıyla, Şekil 4.39, Şekil 4.40, Şekil 4.41'de verilmiştir. Grafiklerde verilen doğru eğimleri ile  $\beta$ , ve kayımları ile  $\alpha$  parametreleri hesaplanmıştır. Hesaplanan  $\beta$ ,  $\alpha$  ve korelasyon katsayı eğerleri Çizelge 4.4'te verilmiştir.



**Şekil 4.39.** MNP@Si@NH@Chelid@Nd üzerine 25 °C'de 10 mg.L<sup>-1</sup> fosfat iyonlarının adsorpsiyonunun Elovich merteye kinetik modele uyumu



**Şekil 4.40.** MNP@ NH@Chelid@Dy üzerine 25 °C'de 10 mg.L<sup>-1</sup> fosfat iyonlarının adsorpsiyonunun Elovich mertebeli kinetik modele uyumu



**Şekil 4.41.** MNP@ NH@Chelid@Er üzerine 25 °C'de 10 mg.L<sup>-1</sup> fosfat iyonlarının adsorpsiyonunun Elovich mertebeli kinetik modele uyumu

Çizelge 4.4'te yer alan veriler incelendiğinde tüm çalışılan adsorbatlar için en yüksek korelasyon katsayısının psödo-ikinci mertebeli kinetiği için elde edildiğinden geliştirilen malzemelere fosfat iyonlarının adsorpsiyon kinetiği psödo-ikinci mertebeli kinetik modeline uymaktadır. Psödo-ikinci mertebeli kinetiği için elde edilen hız sabiti,  $k_2$ , değerleri incelendiğinde silika kabuklu malzemenin doğrudan aminlenen malzemelere

göre çok yüksek değere sahip olduğu hesaplanmıştır. Benzer şekilde silika kabuklu malzeme için elde edilen başlangıç adsorpsiyon hızı  $h$  değerleri de doğrudan aminlenen malzemelere göre çok daha yüksektir. Bunun temel sebebinin silika kabuklu malzemenin fosfat içeren çözelti içerisinde çok daha iyi dispersiyeye olması olarak açıklanabilir. Doğrudan aminlenerek hazırlanan malzeme daha küçük parçacık boyutuna sahip olmasına rağmen çözelti içerisinde agregasyona uğramakta iyi dispersiyeye olamamaktadır.

**Çizelge 4.4.** 25 °C’de 10 mg.L<sup>-1</sup> fosfat içeren manyetik IMAK malzemelerinin adsorpsiyon kinetiği çalışmalarından elde edilen verilerin sırasıyla; psödo–birinci mertebe, psödo–ikinci mertebe ve Elovich kinetik modellerine göre değerlendirilmesinden elde edilen parametreler

Adsorbent	Parametreler		
<b><i>Psödo 1. mertebe kinetik modeli</i></b>	$k_1 (10^{-4}.dk^{-1})$		$r^2$
MNP@Si@NH@Chelid@Nd	11		0,9548
MNP@NH@Chelid@Dy	5		0,5534
MNP@NH@Chelid@Er	13		0,8222
<b><i>Psödo 2. mertebe kinetik modeli</i></b>	$k_2 (10^{-1}.g.mg^{-1}.dk^{-1})$	$h (10^{-4}.mg.g^{-1}.dk^{-1})$	$r^2$
MNP@Si@NH@Chelid@Nd	148,1	109,6	0,9953
MNP@NH@Chelid@Dy	6,9	7,6	0,9994
MNP@NH@Chelid@Er	27,8	17,4	0,9892
<b><i>Elovich kinetik modeli</i></b>	$\alpha (mg.g^{-1}.dk^{-1})$	$\beta (mg.g^{-1})$	$r^2$
MNP@Si@NH@Chelid@Nd	25,6	7,1	0,9872
MNP@NH@Chelid@Dy	9,4	2,7	0,9257
MNP@NH@Chelid@Er	3,7	4,2	0,8503

Fosfatın MNP@Si@NH@Chelid@Nd üzerine adsorpsiyon kinetiği (Şekil 4.30) incelendiğinde 6 saat sonunda eklenen fosfatın %50’si, 24 saat sonunda eklenen fosfatın %64’ü tutunurken, 40 saat sonunda %78’i, 48 saat sonunda ise tutunan fosfat yüzdesinin %80’e çıktığı görülmüştür. Ölçümler devam ettirildiğinde 72 saat sonunda eklenen fosfatın %80’inin tutunduğu görülmüştür. Bu sonuçlar göz önüne alındığında silika kabuklu manyetik IMAK malzemeleri için fosfat adsorpsiyonunun 48 saatten sonra durduğu veya aşırı yavaşladığı görülmüştür.

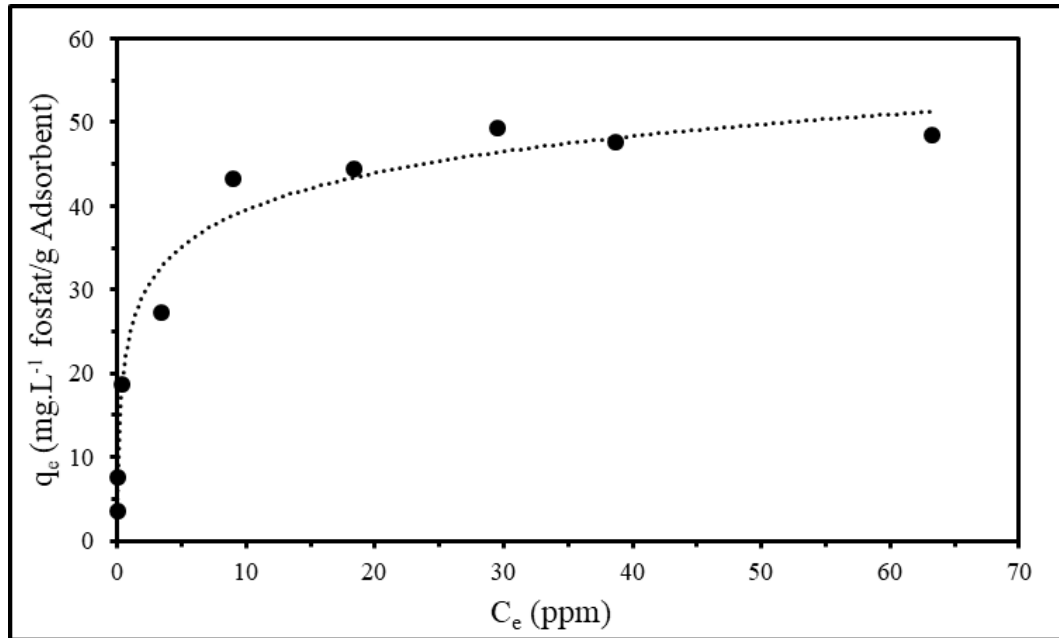
Fosfatın MNP@NH@Chelid@Dy ve MNP@NH@Chelid@Er üzerine adsorpsiyon kinetiği (Şekil 4.31 ve Şekil 4.32) incelendiğinde ilk 1 saat sonunda eklenen fosfatın %50’si, 12 saat sonunda eklenen fosfatın %82’si tutunmuştur. Ölçümler devam ettirildiğinde 72 saat sonunda eklenen fosfatın %82’sinin tutunduğu görülmüştür. Bu

sonuçlar göz önüne alındığında doğrudan aminlenerek sentezlenen manyetik IMAK malzemeleri için fosfat adsorpsiyonunun 12 saatten sonra durduğu veya aşırı yavaşladığı görülmüştür.

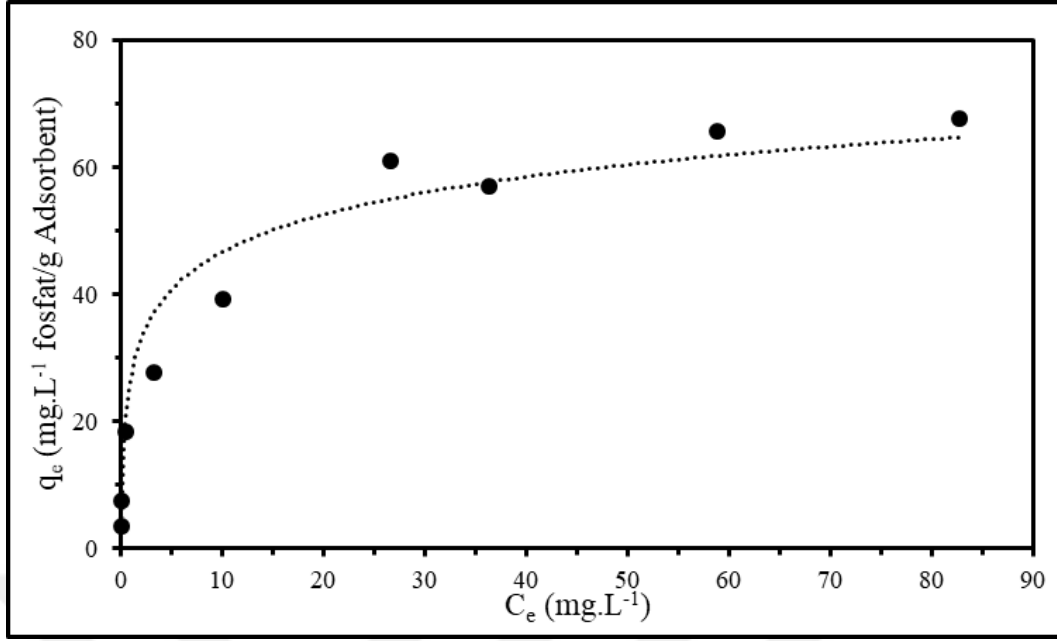
Sentezlenen manyetik IMAK malzemeleri fosfat adsorpsiyon denge süreleri kıyaslandığı zaman silika kabuklu malzeme 48 saat sonunda dengeye ulaşırken, doğrudan aminlenen malzemenin 12 saatte dengeye ulaştığı gözlemlenmiştir. Karşılaştırıldıkları zaman aralarında oluşan 36 saatlik farkın doğrudan aminlenerek hazırlanan malzemelerin daha küçük parçacık boyutları ile daha yüksek yüzey alanlarına sahip olması ile açıklanabilir. Doğrudan aminlenerek hazırlanan MNP@NH@Chelid@Dy ve MNP@NH@Chelid@Er iki malzeme kendi aralarında kıyaslandığı zaman MNP@NH@Chelid@Er daha yüksek psödo 2. mertebe hız sabiti  $k_2$  değerine sahip olduğu gözlemlenmiştir.  $Er^{3+}$  ve  $Dy^{3+}$  kendi aralarında kıyaslandığı zaman  $Er^{3+}$  iyonlarının fosfat iyonlarına olan afinitesi fazla olduğu için hız sabiti  $k_2$  daha yüksek olarak elde edilmiştir.

#### 4.3.2. Geliştirilen manyetik IMAK malzemelerin adsorpsiyon izotermi

Geliştirilen manyetik IMAK malzemelerinin fosfat adsorpsiyon davranışlarına ait izoterm çalışmaları model olarak seçilen, MNP@NH@Chelid@Dy ve MNP@NH@Chelid@Er ile gerçekleştirilmiştir. Gerçekleştirilen deneysel çalışmaların ardından sonuçların Langmuir, Freundlich ve Temkin izoterm modellerinden hangisi ile uyumlu olduğu incelenmiş ve adsorpsiyonun hangi tip izoterm modelini takip ettiği belirlenmiştir.

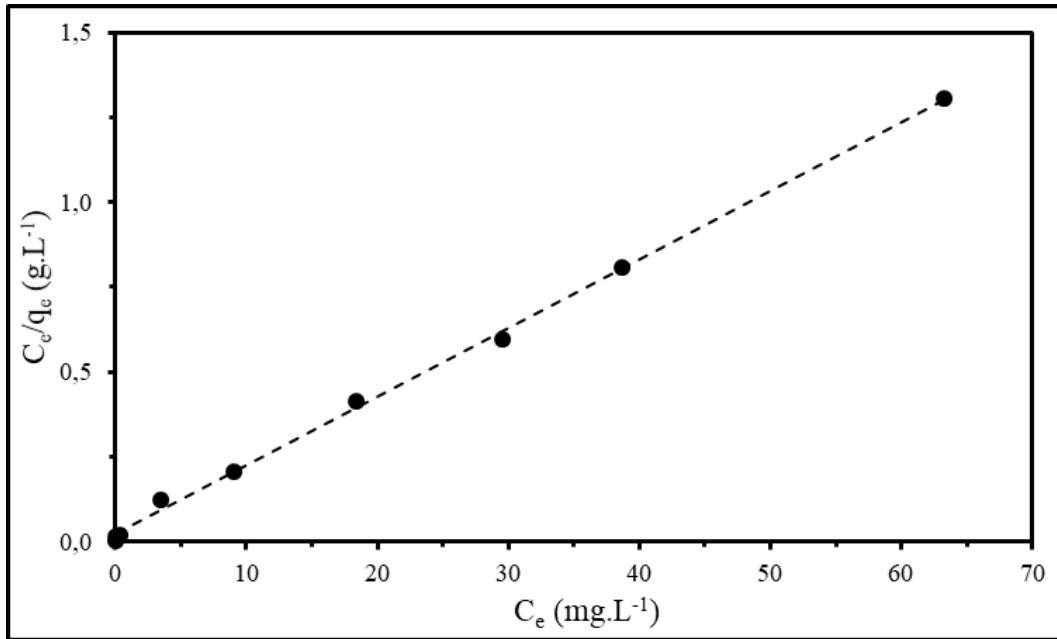


Şekil 4.42. MNP@NH@Chelid@Dy üzerine 25°C'de fosfat iyonlarının adsorpsiyon izoterm grafiği (Kesik çizgi Langmuir izotermi göstermektedir.)

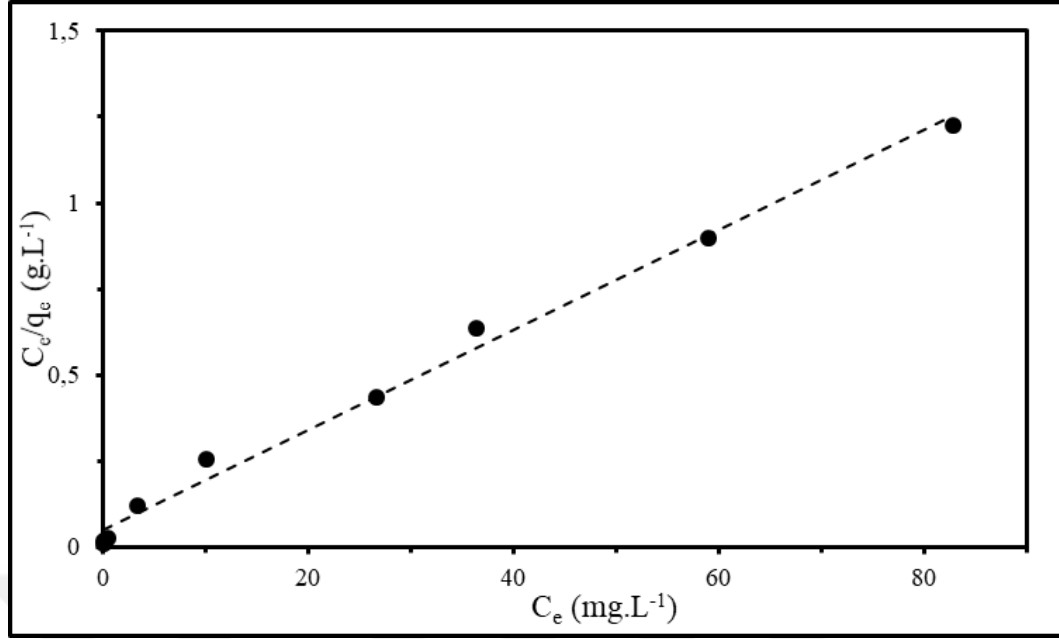


Şekil 4.43. MNP@NH@Chelid@Dy üzerine 25°C'de fosfat iyonlarının adsorpsiyon izoterm grafiği (Kesik çizgi Langmuir izotermi göstermektedir.)

Model olarak seçilen, MNP@NH@Chelid@Dy ve MNP@NH@Chelid@Er'nin 25 °C'deki fosfat adsorpsiyonu için elde edilen deneysel verilerin Langmuir izoterm modeli ile uyumunu belirlemek için Şekil 4.42–43'de yer alan deneysel veriler Eşitlik 3.6'ye göre değerlendirilmiştir. MNP@NH@Chelid@Dy ve MNP@NH@Chelid@Er üzerine fosfat adsorpsiyonu için  $C_e/q_e$ 'nin  $C_e$ 'ye karşı grafikleri sırasıyla Şekil 4.44 ve Şekil 4.45'de verilmiştir.



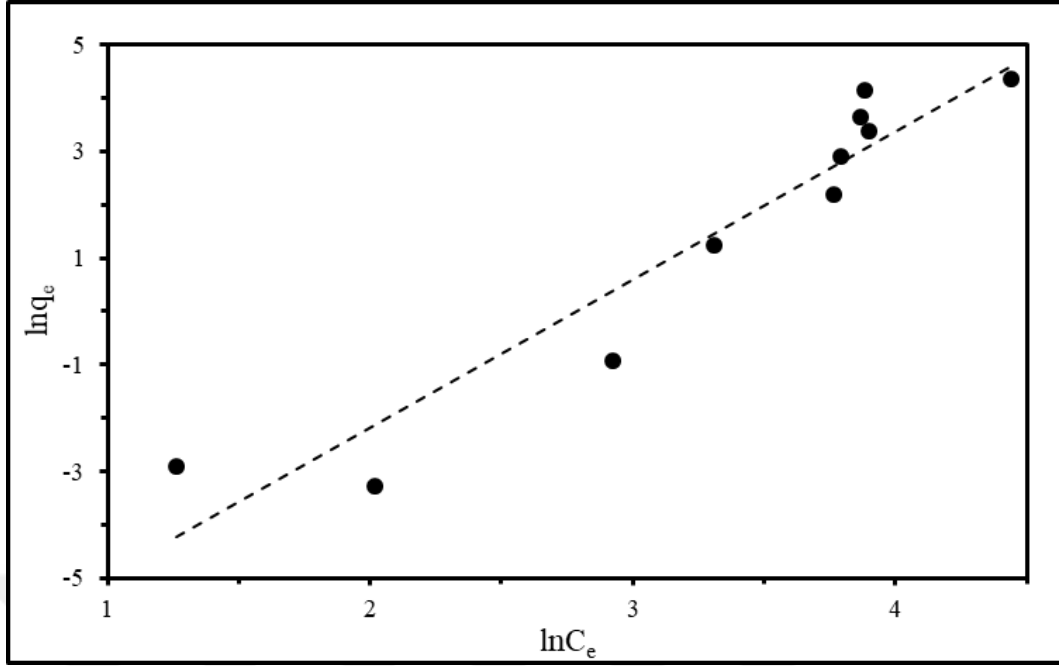
Şekil 4.44. MNP@NH@Chelid@Dy üzerine 25°C'de fosfat iyonlarının adsorpsiyonu için Langmuir izoterm grafiği



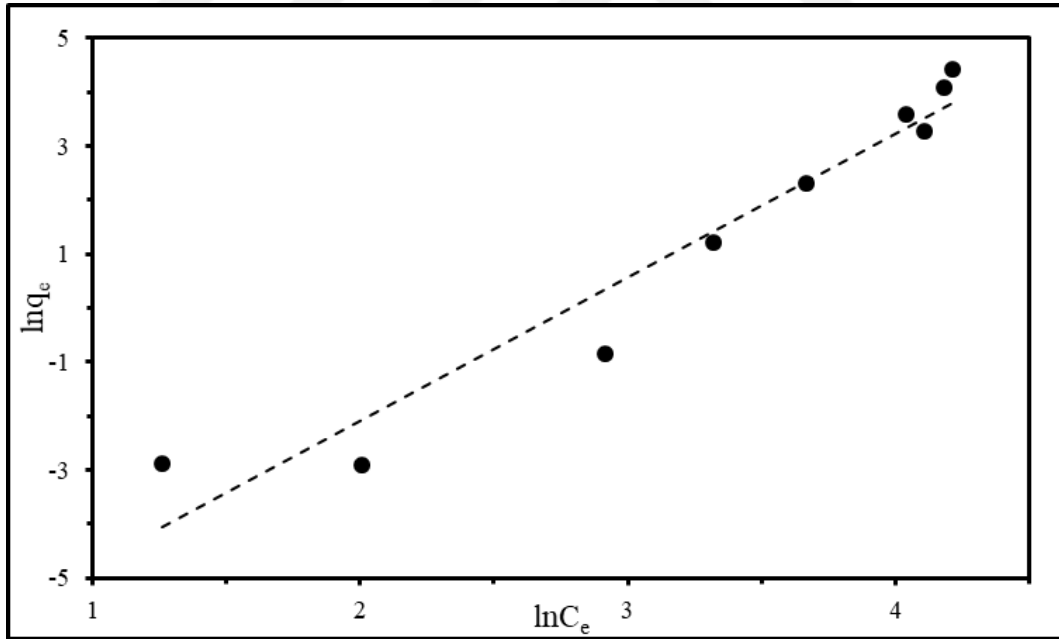
Şekil 4.45. MNP@NH@Chelid@Er üzerine 25°C’de fosfat iyonlarının adsorpsiyonu için Langmuir izoterm grafiği

Model olarak seçilen, MNP@NH@Chelid@Dy ve MNP@NH@Chelid@Er’in izoterm çalışmalarından elde edilen deneysel verilerin Langmuir izotermine uyumunu belirlemek için Şekil 4.44 ve Şekil 4.45’deki  $C_e/q_e$ ’nin  $C_e$ ’ye karşı grafiklerindeki doğru eğimlerinden tek tabakalı maksimum adsorpsiyon kapasitesi  $q_m$  değerleri, bu doğruların kayımlarından adsorpsiyon denge sabiti  $K_L$  değerleri ve korelasyon katsayıları belirlenmiş ve Çizelge 4.5’te verilmiştir.

Şekil 4.46 ve 4.47’de ise MNP@NH@Chelid@Dy ve MNP@NH@Chelid@Er’nin 25 °C’deki fosfat adsorpsiyonu için elde edilen deneysel verilerin Eşitlik 3.8’e göre Freundlich izotermine uyumu görülmektedir. MNP@NH@Chelid@Dy ve MNP@NH@Chelid@Er üzerine fosfat adsorpsiyonu için  $\ln(q_e)$  değerlerinin  $\ln(C_e)$ ’ye karşı grafikleri, sırasıyla, Şekil 4.46 ve Şekil 4.47’de verilmiştir. Şekil 4.46 ve Şekil 4.47’de verilen doğruların eğimlerinden adsorpsiyon şiddeti,  $1/n$ , kayımlarından relatif adsorpsiyon kapasitesi,  $K_f$ , ve korelasyon katsayıları belirlenmiş. Sonuçlar, Çizelge 4.5’te verilmiştir.

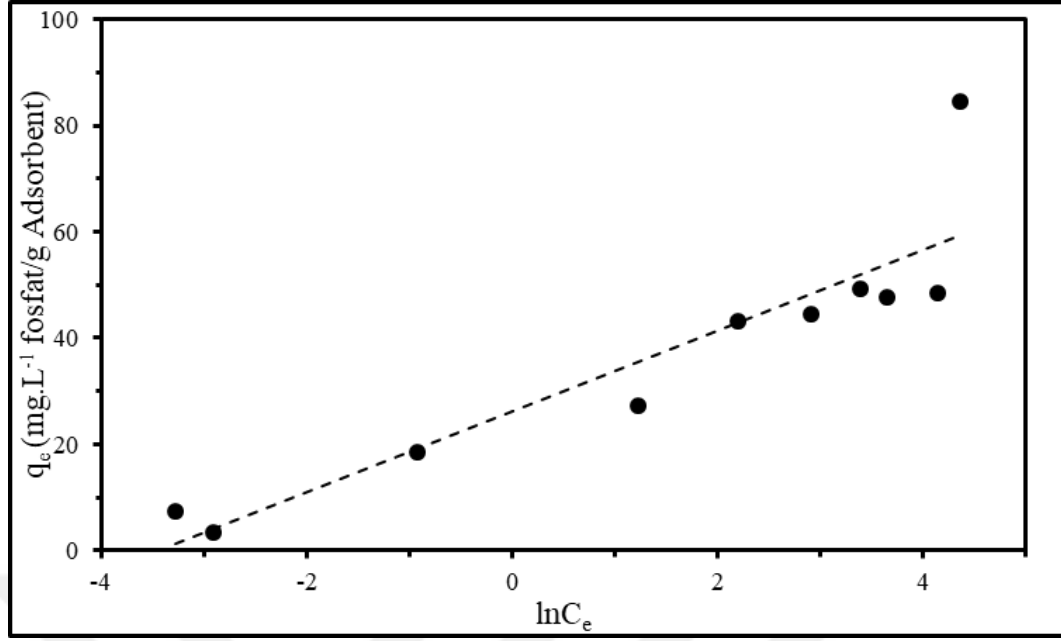


Şekil 4.46. MNP@NH@Chelid@Dy üzerine 25°C’de fosfat iyonlarının adsorpsiyonu için Freundlich izoterm grafiği

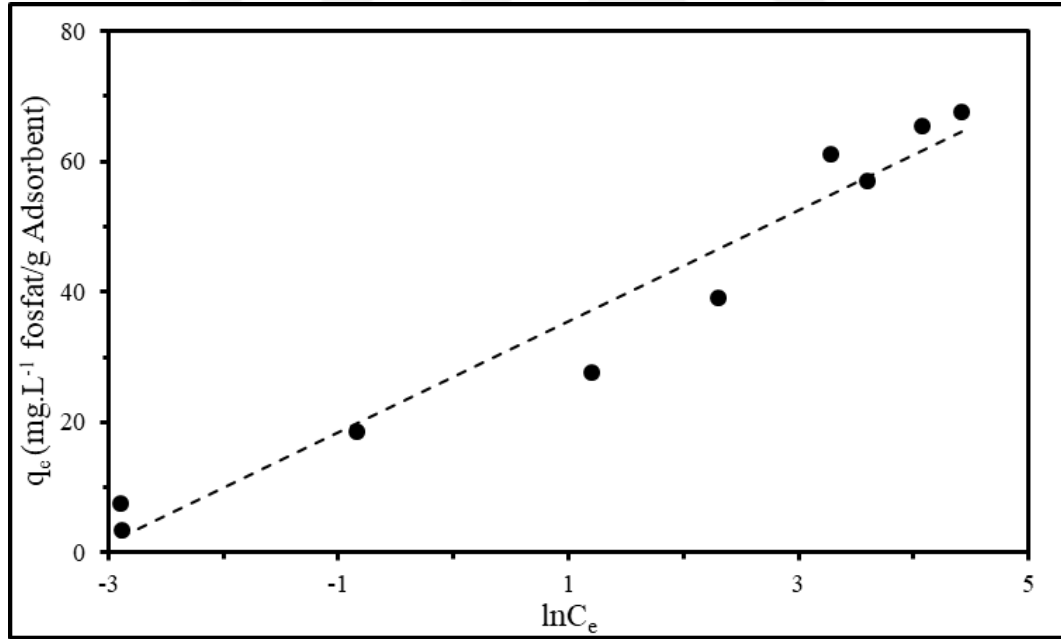


Şekil 4.47. MNP@NH@Chelid@Er üzerine 25°C’de fosfat iyonlarının adsorpsiyonu için Freundlich izoterm grafiği

MNP@NH@Chelid@Dy ve MNP@NH@Chelid@Er’nin 25 °C’deki fosfat adsorpsiyonu için elde edilen deneysel verilerin Temkin izoterm modeli ile uyumunu belirlemek için Eşitlik 3.10 dikkate alınarak  $q_e$  değerlerinin  $\ln(C_e)$  değerlerine grafikleri çizilmiştir. (Bkz. Şekil 4.48–4.49).



Şekil 4.48. MNP@NH@Chelid@Dy üzerine 25°C’de fosfat iyonlarının adsorpsiyonu için Temkin izoterm grafiği



Şekil 4.49. MNP@NH@Chelid@Er üzerine 25°C’de fosfat iyonlarının adsorpsiyonu için Temkin izoterm grafiği

MNP@NH@Chelid@Dy ve MNP@NH@Chelid@Er malzemelerinin izoterm çalışmalarından elde edilen deneysel verilerin Temkin modeline uyumunu belirlemek için  $q_e$ 'nin  $\ln(C_e)$ 'ye karşı grafikleri çizilmiş doğru eğimlerinden adsorpsiyon ısısı ile ilişkili bir sabit olan  $K_1$ , bu doğruların kayımlarından Temkin izoterm sabiti olan  $K_2$  değerleri ve korelasyon katsayıları belirlenmiş ve Çizelge 4.5’te verilmiştir.

**Çizelge 4.5.** Manyetik IMAK malzemelerin üzerine fosfat adsorpsiyon verilerinin, izoterm modellerden kinetik modellerden; Langmuir, Freundlich ve Temkin izoterm modeli ile ilgili parametreler ve korelasyon katsayı değerleri

Adsorbent	Parametreler		
<b>Langmuir izoterm modeli</b>	$q_m$ (mg.g <sup>-1</sup> )	$K_L$ (L.g <sup>-1</sup> )	$r^2$
MNP@NH@Chelid@Dy	49,26	44,05	0,9984
MNP@NH@Chelid@Er	68,49	20,49	0,9917
<b>Freundlich izoterm modeli</b>	1/n	$K_f$ [10 <sup>-4</sup> .mg.g <sup>-1</sup> .(L.mol <sup>-1</sup> ) <sup>1/n</sup> ]	
MNP@NH@Chelid@Dy	0,36	4,3	0,9072
MNP@NH@Chelid@Er	0,37	6,0	0,9381
<b>Temkin izoterm modeli</b>	$K_1$ (L.g <sup>-1</sup> )	$K_2$	$r^2$
MNP@NH@Chelid@Dy	7,60	2,7	0,8281
MNP@NH@Chelid@Er	8,53	4,2	0,9537

Tüm izoterm çalışmalarından elde edilen korelasyon katsayıları göz önüne alındığında model olarak incelenen IMAK malzemelerinin fosfat adsorpsiyonu Langmuir izoterm modeli ile daha iyi uyuşmaktadır. Dolayısıyla incelenen malzemelerin yüzeyindeki fosfat adsorpsiyonu tek tabakalı bir adsorpsiyon prosesi ile gerçekleşir. Adsorbat yüzeyinde bulunan lantanit(III) iyonlarının fosfat iyonuna afinitesinden dolayı adsorpsiyon yüzeyinin homojen olduğu varsayılabılır. Ayrıca yüzeydeki lantanit(III) iyonları eşdeğer olduklarından adsorpsiyon enerjileri de tüm adsorpsiyon alanları ile eşdeğerdir. Langmuir izoterm modelinde ifade edilen  $K_L$  değeri manyetik IMAK malzemeleri ile fosfat arasındaki afiniteyi ifade eder. Bu  $K_L$  değerinin yüksek olması, düşük fosfat konsantrasyonlarında daha yüksek adsorpsiyonun gerçekleşeceğini ifade eder. Çizelge 4.5'te verilen  $K_L$  değerleri incelendiğinde bir uyum gözlenmemiştir. Bu durum birim manyetik IMAK malzeme yüzeyine bağlanan lantanit(III) iyonu derişimlerinin (Çizelge 4.3) farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Çizelge 4.5'de verilen tek tabakalı maksimum adsorpsiyon kapasiteleri ( $q_m$ ) incelendiğinde fosfat adsorpsiyon kapasitesinin MNP@NH@Chelid@Er'de en yüksek (68,45 mg.g<sup>-1</sup>) olduğu görülmektedir.

Sentezlenen manyetik IMAK malzemesi MNP@NH@Chelid@Er'in tek tabakalı maksimum adsorpsiyon kapasitesi ( $q_m$ ) literatürdeki benzeleri ile kıyaslandığında; Hong vd. (2017)'nin sentezledikleri Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@mCeO<sub>2</sub> malzemesi ile 61.2  $q_m$  değerine, Wang vd. (2015)'nin sentezledikleri Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@ZrO malzemesi ile 14  $q_m$  değerine, Lai vd. (2015)'nin sentezledikleri Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>@La<sub>2</sub>O<sub>3</sub> malzemesi ile 27  $q_m$  değerine sahip olduğu görülmüştür. Tez çalışmasında sentezlenen manyetik IMAK malzemelerin fosfat adsorpsiyon kapasitelerinin ortalamasının biraz üzerinde olduğu, dolayısıyla fosfopeptit çalışmalarında kullanılabileceği açıkça görülmektedir.

## 5. SONUÇLAR

Bu tezde, birlikte çöktürme yöntemiyle  $8\pm 2$  nm boyutunda kübik  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparçacıklar sentezlenmiştir. Sentezlenen manyetik nanoparçacıklar ile  $0,1 \text{ g.L}^{-1}$  derişiminde kararlı dispersiyon hazırlanmış ve manyetik nanoparçacıkların manyetizasyonu  $60 \text{ emu.g}^{-1}$  olarak belirlenmiştir.

Manyetik İMAK malzeme geliştirmek için sentezlenen manyetik nanoparçacıklar iki farklı yolla aminlenmiştir. Birinci yöntemde, manyetik nanoparçacıklar silika ile kaplanmış ve  $120\pm 10$  nm boyutunda silika manyetik nanoparçacıklar sentezlenmiştir. Silika kaplama ile manyetizasyon  $5 \text{ emu.g}^{-1}$ 'e düşmüştür.

İkinci yöntemde, manyetik nanoparçacıkların yüzeyi doğrudan silanlama tepkimesiyle aminlenmiştir. Doğrudan aminlenerek sentezlenen parçacığın  $9\pm 2$  nm olan parçacık büyüklüğü modifikasyon işlemleri ile değişmemiştir. TEM fotoğrafları incelendiğinde modifikasyon ile gelen bir koyulaşma gözlenmiştir.

Şelatlayıcı olarak sentezlenen 4-bromopiridin 2,6-dikarboksilat'ın başarılı bir şekilde saf olarak sentezlenmiş ve  $^{13}\text{C-NMR}$ ,  $^1\text{H-NMR}$  ve kütle spektrometresi sonuçları ile kanıtlanmıştır. Sentezlenmiş olan şelatlayıcı hem silika kaplama üzerinden aminlenmiş hem de silanlama üzerinden aminlenmiş manyetik nanoparçacıkların yüzeyine sırasıyla %5 ve %2,5 oranında bağlanmıştır.

İki farklı yolla elde edilen şelidamik asit modifiye manyetik nanoparçacıklara  $\text{Ln}^{3+}$  iyonları ( $\text{Nd}^{3+}$ ,  $\text{Dy}^{3+}$ ,  $\text{Er}^{3+}$ ) bağlanmış ve 5 farklı  $\text{Ln}^{3+}$  içeren manyetik İMAK malzeme geliştirilmiştir.

Silika kaplama üzerinden hazırlanan manyetik İMAK malzemelerdeki  $\text{Ln}^{3+}$  iyon derişimleri,  $\text{Nd}^{3+}$ ,  $\text{Dy}^{3+}$  ve  $\text{Er}^{3+}$  için sırasıyla  $2,55\pm 0,5\times 10^{-4} \text{ mol.g}^{-1}$ ,  $2,0\pm 0,3\times 10^{-4} \text{ mol.g}^{-1}$ ,  $2,99\pm 0,3\times 10^{-4} \text{ mol.g}^{-1}$  olarak kaydedilmiştir. Doğrudan aminleme üzerinden geliştirilen manyetik İMAK malzemelerdeki  $\text{Ln}^{3+}$  iyon derişimleri,  $\text{Dy}^{3+}$  ve  $\text{Er}^{3+}$  için sırasıyla için ise  $3,50\pm 0,2\times 10^{-4} \text{ mol.g}^{-1}$ ,  $3,99\pm 0,5\times 10^{-4} \text{ mol.g}^{-1}$  olarak belirlenmiştir.

Geliştirilen manyetik İMAK malzemelerin fosfoproteomik analizler için uygun olup olmadığı fosfat adsorpsiyon çalışmalarıyla belirlenmiş ve en iyi sonucu  $\text{MNP@NH@Chelid@Er}$  malzemesi sergilemiştir.  $\text{MNP@NH@Chelid@Er}$  yüzeyine fosfat adsorpsiyonu 12 saatte dengeye gelmiş ve adsorpsiyon kapasitesi  $68,45 \text{ mg.g}^{-1}$  olarak belirlenmiştir.

Fosfat iyonunun model olarak seçilen  $\text{MNP@Si@NH@Chelid@Nd}$ ,  $\text{MNP@NH@Chelid@Dy}$ ,  $\text{MNP@NH@Chelid@Er}$  adsorbentleri üzerine yapılan çalışmalar adsorpsiyon kinetiğinin psödo-ikinci mertbe kinetik modeline uyduğunu göstermiştir.

$\text{MNP@NH@Chelid@Dy}$ ,  $\text{MNP@NH@Chelid@Er}$  adsorbentleri üzerine yapılan fosfat adsorpsiyon izotermi çalışmaları adsorpsiyonun Langmuir izoterm modeline uyduğunu göstermiştir.

## 6. KAYNAKLAR

- Ahmad, R. (Ed.). (2012). Protein purification. BoD–Books on Demand.
- Andersson, L. & Porath, J. (1986). Isolation of phosphoproteins by immobilized metal ( $\text{Fe}^{3+}$ ) affinity chromatography. *Analytical Biochemistry*, 154(1), 250–254.
- Ayranci, E. & Duman, O. (2007). Removal of anionic surfactants from aqueous solutions by adsorption onto high area activated carbon cloth studied by in situ UV spectroscopy. *Journal of Hazardous Materials*, 148(1–2), 75–82.
- Batalha, I. L., Lowe, C. R. & Roque, A. C. (2012). Platforms for enrichment of phosphorylated proteins and peptides in proteomics. *Trends in Biotechnology*, 30(2), 100–110.
- Boynnton, W.V. 1984. Geochemistry of the rare earth elements: meteorite studies. In: Henderson, P. (Ed.), *Rare Earth Element Geochemistry*. Elsevier, Amsterdam, pp. 63–114.
- Capriotti, A. L., Cavaliere, C., Ferraris, F., Gianotti, V., Laus, M., Piovesana, S. & Laganà, A. (2018). New Ti–IMAC magnetic polymeric nanoparticles for phosphopeptide enrichment from complex real samples. *Talanta*, 178, 274–281.
- Chen, C. T., Wang, L. Y. & Ho, Y. P. (2011). Use of polyethylenimine–modified magnetic nanoparticles for highly specific enrichment of phosphopeptides for mass spectrometric analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 399(8), 2795–2806.
- Chen, Y., Xiong, Z., Peng, L., Gan, Y., Zhao, Y., Shen, J. & Zhang, W. (2015). Facile preparation of core–shell magnetic metal–organic framework nanoparticles for the selective capture of phosphopeptides. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 7(30), 16338–16347.
- Deng, Q., Wu, J., Chen, Y., Zhang, Z., Wang, Y., Fang, G. & Zhang, Y. (2014). Guanidinium functionalized superparamagnetic silica spheres for selective enrichment of phosphopeptides and intact phosphoproteins from complex mixtures. *Journal of Materials Chemistry B*, 2(8), 1048–1058.
- Dix, M. M., Simon, G. M., Wang, C., Okerberg, E., Patricelli, M. P. & Cravatt, B. F. (2012). Functional interplay between caspase cleavage and phosphorylation sculpts the apoptotic proteome. *Cell*, 150(2), 426–440.
- Duman, O., Tunc, S. & Polat, T. G. (2015). Adsorptive removal of triarylmethane dye (Basic Red 9) from aqueous solution by sepiolite as effective and low–cost adsorbent. *Microporous and Mesoporous Materials*, 210, 176–184.
- Ebert, D. H., Gabel, H. W., Robinson, N. D., Kastan, N. R., Hu, L. S., Cohen, S. & Greenberg, M. E. (2013). Activity–dependent phosphorylation of MeCP2 threonine 308 regulates interaction with NCoR. *Nature*, 499(7458), 341–345.
- Freundlich, H. (1907). Über die adsorption in lösungen. *Zeitschrift für Physikalische Chemie*, 57(1), 385–470.

- Hong, Y., Zhao, H., Pu, C., Zhan, Q., Sheng, Q. & Lan, M. (2018). Hydrophilic phytic acid-coated magnetic graphene for titanium (IV) immobilization as a novel hydrophilic interaction liquid chromatography-immobilized metal affinity chromatography platform for glyco- and phosphopeptide enrichment with controllable selectivity. *Analytical Chemistry*, 90(18), 11008–11015.
- Hu, Q., Hu, S., Zhang, Z., Zhou, X., Yang, S., Zhang, Y. & Chen, X. (2011). Fe<sup>3+</sup>-immobilized nanoparticle-modified capillary for capillary electrophoretic separation of phosphoproteins and non-phosphoproteins. *Electrophoresis*, 32(20), 2867–2873.
- Lagergren, S. K. (1898). About the theory of so-called adsorption of soluble substances. *Sven. Vetenskapsakad. Handlingar*, 24, 1–39.
- Lai, A. C. Y., Tsai, C. F., Hsu, C. C., Sun, Y. N. & Chen, Y. J. (2012). Complementary Fe<sup>3+</sup>- and Ti<sup>4+</sup>-immobilized metal ion affinity chromatography for purification of acidic and basic phosphopeptides. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 26(18), 2186–2194.
- Lai, L., Xie, Q., Chi, L., Gu, W. & Wu, D. (2016). Adsorption of phosphate from water by easily separable Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub> core/shell magnetic nanoparticles functionalized with hydrous lanthanum oxide. *Journal of Colloid and Interface Science*, 465, 76–82.
- Li, X. S., Yuan, B. F. & Feng, Y. Q. (2016). Recent advances in phosphopeptide enrichment: strategies and techniques. *TrAC-Trends in Analytical Chemistry*, 78, 70–83.
- Lu, J., Li, Y. & Deng, C. (2011). Facile synthesis of zirconium phosphonate-functionalized magnetic mesoporous silica microspheres designed for highly selective enrichment of phosphopeptides. *Nanoscale*, 3(3), 1225–1233.
- Luo, B., Zhou, X., Jiang, P., Yi, Q., Lan, F., & Wu, Y. (2018). PAMA-Arg brush-functionalized magnetic composite nanospheres for highly effective enrichment of phosphorylated biomolecules. *Journal of Materials Chemistry B*, 6(23), 3969–3978.
- McCarthy, S. A., Davies, G. L. & Gun'ko, Y. K. (2012). Preparation of multifunctional nanoparticles and their assemblies. *Nature protocols*, 7(9), 1677.
- Mirza, M. R., Rainer, M., Messner, C. B., Güzel, Y., Schemeth, D., Stasyk, T. & Bonn, G. K. (2013). A new type of metal chelate affinity chromatography using trivalent lanthanide ions for phosphopeptide enrichment. *Analyst*, 138(10), 2995–3004.
- Piovesana, S., Capriotti, A. L., Cavaliere, C., Ferraris, F., Samperi, R., Ventura, S. & Laganà, A. (2016). Phosphopeptide enrichment: Development of magnetic solid phase extraction method based on polydopamine coating and Ti<sup>4+</sup>-IMAC. *Analytica Chimica Acta*, 909, 67–74.
- Porath, J., Carlsson, J. A. N., Olsson, I. & Belfrage, G. (1975). Metal chelate affinity chromatography, a new approach to protein fractionation. *Nature*, 258(5536), 598–599.
- Posewitz, M. C. & Tempst, P. (1999). Immobilized gallium (III) affinity chromatography of phosphopeptides. *Analytical Chemistry*, 71(14), 2883–2892.

- Roginsky, S. and Zeldowitsh, J. (1934) An Equation for the Kinetics of Activated Adsorption. *Acta Physico-Chimica*, 1.
- Roux, P. P. & Thibault, P. (2013). The coming of age of phosphoproteomics from large data sets to inference of protein functions. *Molecular & Cellular Proteomics*, 12(12), 3453–3464.
- Salimi, K., Usta, D. D., Koçer, İ., Çelik, E. & Tuncel, A. (2017). Highly selective magnetic affinity purification of histidine-tagged proteins by Ni<sup>2+</sup> carrying monodisperse composite microspheres. *RSC Advances*, 7(14), 8718–8726.
- Sparnacci, K., Antonioli, D., Gianotti, V., Laus, M., Laganà, A. & Piovesana, S. (2018). Multishell hybrid magnetic nanoparticles for phosphopeptide enrichment. *In AIP Conference Proceedings*, Vol. 1981, No. 1, p. 020174.
- Sun, J., Liu, Y., Su, Y., Xia, W., & Yang, Y. (2013). Highly efficient enrichment of phosphotyrosine phosphopeptides by novel magnetic carboxymethyl chitosan nanoparticles decorated with Fe(III) ions. *Journal of Chromatography B*, 915, 33–38.
- Truman, A. W., Kristjansdottir, K., Wolfgeher, D., Hasin, N., Polier, S., Zhang, H. & Kron, S. J. (2012). CDK-dependent Hsp70 Phosphorylation controls G1 cyclin abundance and cell-cycle progression. *Cell*, 151(6), 1308–1318.
- Vogel, A. I. & Jeffery, G. H. (1989). Vogel's textbook of quantitative chemical analysis. Wiley.
- Wang, F., Wu, Y., Chen, J. & Liu, Z. (2018). Identification of pyridoxal phosphate modified proteins using mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 32(3), 195–200.
- Wang, Z. G., Lv, N., Bi, W. Z., Zhang, J. L. & Ni, J. Z. (2015). Development of the affinity materials for phosphorylated proteins/peptides enrichment in phosphoproteomics analysis. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 7(16), 8377–8392.
- Wang, W., Zhang, H., Zhang, L., Wan, H., Zheng, S., & Xu, Z. (2015). Adsorptive removal of phosphate by magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@C@ZrO<sub>2</sub>. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 469, 100–106.
- Wei, Y., Zou, Z., Becker, N., Anderson, M., Sumpter, R., Xiao, G. & Grishin, N. V. (2013). EGFR-mediated Beclin 1 phosphorylation in autophagy suppression, tumor progression, and tumor chemoresistance. *Cell*, 154(6), 1269–1284.
- Wu, Y., Liu, Q., Xie, Y., & Deng, C. (2018). Core-shell structured magnetic metal-organic framework composites for highly selective enrichment of endogenous N-linked glycopeptides and phosphopeptides. *Talanta*, 190, 298–312.
- Xiong, Z., Zhang, L., Fang, C., Zhang, Q., Ji, Y., Zhang, Z. & Zou, H. (2014). Ti<sup>4+</sup>-immobilized multilayer polysaccharide coated magnetic nanoparticles for highly selective enrichment of phosphopeptides. *Journal of Materials Chemistry B*, 2(28), 4473–4480.
- Xu, J., Plaxco, K. W. & Allen, S. J. (2006). Probing the collective vibrational dynamics of a protein in liquid water by terahertz absorption spectroscopy. *Protein Science*, 15(5), 1175–1181.

- Yan, Y., Lu, Y., Chen, M. & Liang, H. (2018). A novel IMAC platform–adenosine coupled functional magnetic microspheres for phosphoproteome research. *Analytical Methods*, 10(10), 1190–1195.
- Yu, Z., Han, G., Sun, S., Jiang, X., Chen, R., Wang, F. & Zou, H. (2009). Preparation of monodisperse immobilized  $Ti^{4+}$  affinity chromatography microspheres for specific enrichment of phosphopeptides. *Analytica chimica acta*, 636(1), 34–41.
- Zeng, T., Yang, L., Hudson, R., Song, G., Moores, A. R. & Li, C. J. (2011).  $Fe_3O_4$  nanoparticle–supported copper(I) pybox catalyst: magnetically recoverable catalyst for enantioselective direct–addition of terminal alkynes to imines. *Organic Letters*, 13(3), 442–445.
- Zhai, R., Jiao, F., Feng, D., Hao, F., Li, J., Li, N. & Qian, X. (2014). Preparation of mixed lanthanides–immobilized magnetic nanoparticles for selective enrichment and identification of phosphopeptides by MS. *Electrophoresis*, 35(24), 3470–3478.
- Zhai, R., Tian, F., Xue, R., Jiao, F., Hao, F., Zhang, Y. & Qian, X. (2016). Metal ion–immobilized magnetic nanoparticles for global enrichment and identification of phosphopeptides by mass spectrometry. *RSC Advances*, 6(2), 1670–1677.
- Zhang, L., Zhao, Q., Liang, Z., Yang, K., Sun, L., Zhang, L. & Zhang, Y. (2012). Synthesis of adenosine functionalized metal immobilized magnetic nanoparticles for highly selective and sensitive enrichment of phosphopeptides. *Chemical Communications*, 48(50), 6274–6276.
- Zhang, Y., Gao, B. & Wang, R. (2008). Preparation of immobilized MnP–PGMA/SiO<sub>2</sub> catalyst and its catalytic activity for ethylbenzene oxidation. *Chinese Journal of Catalysis*, 29(3), 247.
- Zhou, H., Xu, S., Ye, M., Feng, S., Pan, C., Jiang, X. & Zou, H. (2006). Zirconium phosphonate–modified porous silicon for highly specific capture of phosphopeptides and MALDI–TOF MS analysis. *Journal of Proteome Research*, 5(9), 2431–2437.

## ÖZGEÇMİŞ

**Vahit GÖK**  
v.gok07@gmail.com



## ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2017–Devam ediyor	Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Antalya
Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2010–2015	Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Antalya

## ESERLER

### Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

- 1– Gök V., Topel Ö. (2019). The Effect of Different Method and Synthesis Parameters on Size, Morphology and Shell Thickness of Silica Coated Magnetite ( $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ ) Core–Shell Nanoparticles. NANOTR–15. 15th Nanoscience and Nanotechnology Conference. Antalya–Turkey, 03–06 November 2019, pp. 213–213.
- 2– Topel Ö., Gök V., Aksu S. (2019). A New Type Magnetic Affinity Chromatography Material for Phosphoprotein Enrichment. NANOTR–15. 15th Nanoscience and Nanotechnology Conference. Antalya–Turkey, 03–06 November 2019, pp. 217–217.