

**ATIK SULARDAN ESTRADIOL UZAKLAŞTIRILMASI İÇİN E2 BASKILANMIŞ
NANOPARTİKÜL BAKTERİYEL SELÜLOZ KOMPOZİT SİSTEMİN
HAZIRLANMASI**

**PREPARATION OF E2 IMPRINTED NANO-PARTICLE-BACTERIAL CELLULOSE
COMPOSITE SYSTEMS FOR THE DEPLETION OF ESTRADIOL FROM WASTE
WATERS**

İLKER KOÇ

**PROF. DR. ADİL DENİZLİ
TEZ DANIŞMANI**

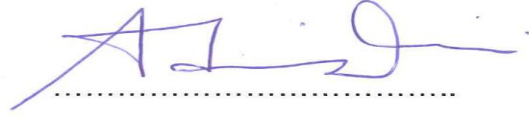
**Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim- Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
Kimya Anabilim Dalı için Öngördüğü
DOKTORA TEZİ olarak hazırlanmıştır.**

İLKER KOÇ'un hazırladığı "Atık Sulardan Estradiol Uzaklaştırılması için E2 Baskılanmış Nanopartikül Bakteriyel Selüloz Kompozit Sistemin Hazırlanması" adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından KİMYA ANABİLİM DALI'nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

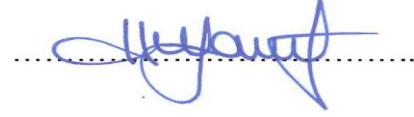
Prof. Dr. Serap ŞENEL
Başkan



Prof. Dr. Adil DENİZLİ
Danışman



Prof. Dr. Handan YAVUZ ALAGÖZ
Üye



Prof. Dr. Sinan AKGÖL
Üye



Dr. Öğr. Üyesi Fatma Yılmaz
Üye



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **DOKTORA TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Menemşe GÜMÜŞDERELİOĞLU
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

YAYINLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanması zorunlu metinlerin yazılı izin alarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

☒ **Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.**

(Bu seçenekle teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etmeniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirirse bile, tezinin arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir.)

☐ **Tezimin/Raporumun 22/03/2021 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç Kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.**

(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı ve ya tamamının fotokopisi alınabilir)

☐ **Tezimin/Raporumun tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum, ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.**

☐ **Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi**



22/03/2018

İlker KOÇ

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversitede veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.



22/03/2018

İLKER KOÇ

ÖZET

ATIK SULARDAN ESTRADIOL UZAKLAŞTIRILMASI İÇİN E2 BASKILANMIŞ NANOPARTİKÜL BAKTERİYEL SELÜLOZ KOMPOZİT SİSTEMİN HAZIRLANMASI

İlker KOÇ

Doktora, Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Adil DENİZLİ

Mart 2018, 88 sayfa

Çeşitli kaynaklardan gelen birçok çevresel kirletici endokrin bozucu kimyasallar (EDC) olarak davranabilir ve endokrin sistemin normal fonksiyonlarını etkileyerek, maruz kalan tabi yaşam ve insanlar üzerinde olumsuz etkilere neden olur. Bireysel etkiler daha sonra tüm toplumu etkileyecek şekilde ilerleyebilir. Doğal yaşamda, endokrin bozucuların etkileri en çok üreme sistemi ve gelişme anormallikleriyle ortaya çıkmaktadır. İngiltere’de atıksu işleme fabrikalarının yakınında yaşayan balıklarda plazma vitellogenin (estrogen bağımlı plazma proteini) seviyelerinin, akıntılarda steroidler, estrogen ve alkilfenollerin varlığıyla arttığı ve bunun sonucu olarak erkek balıklarda feminizasyon gözlemlendiği rapor edilmiştir. Doğal hormon 17β -estradiol ve yapay doğum kontrol hapı 17α -etinilestradiol en potansiyel estrogenlerdir ve bazı atıksu işleme tesislerinde düşük derişimlerde bulunmaları balıkların üremesi üzerinde değişikliklere yol açabilmektedir. E2; dişi cinsiyet karakteristiklerinin gelişimi, devamını ve cinsiyet organlarının olgunlaşmasını ve fonksiyonunu etkileyen doğal hormondur. Az miktarda olmakla birlikte bu hormon erkeklerde de bulunmaktadır. E2 aynı zamanda

nöroendokrin sistem ve kemik yapısıyla da bağlantılıdır ve hedef dokularda kanser oluşumunu kolaylaştırabilmektedir. Tüm steroidler gibi E2 de ana bileşik kolesterol ile aynı siklopentan-o-perhidrofenantren halkasına sahiptir. Temel halka yapısı üç heksagonal halka ve bir pentagonal halkadan oluşmaktadır. Diğer steroidler gibi, E2 de fenolik halka ile karakterize edilmektedir. Ayrıca, molekül düzleminin üzerinde C17'nin β pozisyonunda bir hidroksil grubuna sahiptir. Bu kapsamda, bu tezde moleküler baskılama yöntemi kullanılarak eser miktardaki 17 β -estradiol'ün uzaklaştırılması hedeflenmiştir.

Anahtar kelimeler: Bakteriyel selüloz nanofiberler, moleküler baskılanmış polimerler, 17-Estradiol

ABSTRACT

PREPARATION OF E2 IMPRINTED NANO-PARTICLE-BACTERIAL CELLULOSE COMPOSITE SYSTEMS FOR THE DEPLETION OF ESTRADIOL FROM WASTE WATERS

İlker KOÇ

Doctor of Philosophy, Biochemistry Division

Supervisor: Prof. Dr. Adil DENİZLİ

March 2018, 88 pages

Many environmental disruptors from various sources act as Endocrine Disrupting Chemicals and have adverse effects on natural life and on human by effecting endocrine system functions. Individual effects may lead to social problems. In natural life, effects of endocrine disruptors appear as reproductive system and developmental anomalies. It was reported that plasma vitellogenin level in fish living near wastewater treatment plants in the United Kingdom increases due to steroids, oestrogen and alkylphenols in streams and thus feminization in male fish occurs. Natural hormone 17 β -oestradiol and contraceptive 17 α -ethinylestradiol are the most potent oestrogens and small concentrations in wastewater treatment plants has adverse effects on fish reproduction. E2 is a natural hormone effecting the improvement and progression of sexual characteristics, and also the maturation and function of sexual organs. Also found in male in small amounts. E2 is also associated with neuroendocrine system and bone structure and may promote cancer in target organs. Like all steroids, E2 has the same cyclopentan-o- perhydrophenanthrene ring as main component cholesterol. Main ring structure consists of three hexagonal and a pentagonal rings. Like other steroids,

E2 is also characterized with phenolic ring. It has also a hydroxyl group in β position of C17 carbon. In this thesis, removal of trace amounts of 17β -oestradiol from wastewaters by molecular imprinting technique is aimed.

Key Words: Bacterial Cellulose Nanofibers, Molecular Imprinted Polymers, 17β -oestradiol



TEŞEKKÜRLER

Lisans eğitimimden bu yana maddi ve manevi olarak hep yanımda olan, bana hayatımın her aşamasında desteğini hissettiren, bana akademik bir kimlik kazandıran, sonsuz saygı duyduğum sayın hocam Prof. Dr. Adil DENİZLİ'ye,

Hocalarım Prof. Dr. Handan Yavuz Alagöz'e, Doç. Dr. Nilay Bereli'ye, Doç. Dr. Müge Andaç'a ve Doç. Dr. Lokman Uzun'a ve Doç. Dr. Fatma Yılmaz'a,

Tezimin yazım aşamasında olağan üstü fedakarlıklarından dolayı Dr. Ali Derazshamshir ve Duygu Çimen'e,

İyi günde kötü günde yanımda olan, desteklerini her zaman hissettiğim arkadaşlarım Dr. Monireh Bakhshpour, Semra Akgönüllü, Yeşeren Saylan, Dr. Işık Perçin Demirçelik, Doç. Dr. Deniz Türkmen, Doç. Dr. Gözde Baydemir, Dr. Aykut Arif Topçu, Bahar Ergün, Canan Armutcu, Duygu Sarı, Erdoğan Özgür, Fatma Kartal, Dr. Gülsu Şener, Kemal Çetin, Ilgım Göktürk Başal, Meltem Koca Esentürk, Dr. Sevgi Aslıyüce, Seda Koyun ve Sabina Hüseyinli'ye,

Hayatımın anlamı eşim Sevgi Koç'a ve canım kızım Yağmur Lina Koç'a,

Bana maddi ve manevi her türlü desteği sağlayan annem Emine Koç'a, babam Lütfi Koç'a, Gencer Koç'a, Gökçe Koç'a, Elçin Kartal Koç'a ve Arsen Koç'a,

Her zaman yanımda olan, öz ailem bildiğim Mehmet Ali Özhan, Ayşe Özhan, Seda Özhan, Beyhan Özcan, Sema Özcan ve Jan Kartal Özcan'a,

Sonsuz teşekkürlerimle...

ÖZET	5
ABSTRACT	7
1. Giriş	15
2. Genel Bilgiler	17
2.1. 17β-Estradiol	18
2.2. Afinite Nanofiberler	21
2.3. Kompozit Nanofiberler	27
2.4. Bakteriyel Selüloz ve Özellikleri.....	30
2.5. Moleküler Baskılama	39
2.5.1.1. Kalıp Molekül	42
2.5.1.2. Fonksiyonel Monomerler	43
2.5.1.3. Çapraz Bağlayıcı	43
2.5.1.4. Başlatıcı ve Polimerizasyon Sıcaklığı.....	43
2.5.1.5. Polimerizasyon Süresi	44
2.5.1.6. Çözücü Türü	44
2.6. Estradiol Baskılanmış Polimerler	44
3. Deneysel Yöntemler.....	49
3.1. Kimyasallar	49
3.2. Bakteriyel Selüloz Nanofiberlerin (BC-NF) Üretimi	49
3.2.1.1. FTIR- ATR Analizi	50
3.2.1.2. SEM Analizi.....	50
3.3. 17-β Östradiol (E2) Baskılanmış Polimerlerin Sentezi	51
3.3.2.1. FTIR Analizi	51
3.3.2.2. NMR Analizi.....	51
3.3.4.1. Zeta Boyut Analizi.....	52
3.3.6.1. SEM Analizi.....	53
4. Sonuçlar ve Tartışma.....	54
4.1. BC-NF'lerin Hazırlanması ve Karakterizasyon Çalışmaları	54
4.2. 17-β Östradiol Baskılanmış Nanopartiküllerin Karakterizasyonu.....	56
4.2.1.1. FTIR Analizi	56
4.2.1.2. NMR Analizi.....	57
4.2.2.1. Zeta Boyut Analizi.....	58
4.2.3.1. E2-NP/BC-NF'in SEM Görüntüleri	59

4.2.3.2.	BS Kompozit Nanofiberlerin BET ile Yüzey Alanı Ölçümü	60
4.2.3.3.	E2-NP/BC-NF'in AFM Görüntüleri	60
4.2.3.4.	E2-NP/BC-NF'in Şişme Deneyleri.....	61
4.2.3.5.	BS Kompozit Nanofiberlerin Temas Açılı Ölçümü	63
4.3.	E2-NP/BC-NF ile 17-β Östradiol Adsorpsiyon Çalışmaları.....	64
4.4.	Adsorpsiyon izoterm modelleri.....	71
4.5.	Adsorpsiyon kinetik modelleri	74
4.6.	Termodinamik analiz	76
5.	Kaynaklar	78



ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Endokrin bozucu kimyasalların çevreye dağılımı [4].	17
Şekil 2.2. 17β -Estradiol'un kimyasal yapısı ve fizikokimyasal özellikleri [10-14].	18
Şekil 2.3. Mikroküre (A) ve membranlarda (B) kütle aktarımı [6].	22
Şekil 2.4. Farklı morfolojilerde nanofiberlerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri. Boncuklu (A), gözeneksiz (B), çekirdek-kabuk (C) ve gözenekli (D) [16].	23
Şekil 2.5. PVA-PE (A) ve Cibacron Blue F3GA bağlı PVA-PE (B) nanofiberlerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri [20].	25
Şekil 2.6. Fiber çapının yüzey alanına etkisi [39].	28
Şekil 2.7. E2 baskılanmış kompozit PET nanofiberlerin SEM fotoğrafı [40].	29
Şekil 2.8. a) %50 oranında, 130 nm boyutunda MIP nanopartikül, b) %50 oranında 390 nm boyutunda NIP nanopartikül, c) %100 oranında 130 nm boyutunda MIP nanopartikül, d) %100 oranında 390 nm boyutunda NIP nanopartikül, e) %50 oranında 1,2 μ m boyutunda MIP mikroküre, f) % 50 oranında 1,4 μ m boyutunda NIP mikroküre, g.) %50 oranında 2,4 μ m boyutunda MIP mikroküre, h) %50 oranında 2,4 μ m boyutunda NIP mikroküre içeren PET nanofiberlerin SEM görüntüleri [43].	30
Şekil 2.9. Selülozun kimyasal yapısı	31
Şekil 2.10. Bakteri tarafından üretilen bakteriyel selüloz nanofiberlerin TEM görüntüsü [45].	31
Şekil 2.11. 2000-2013 yılları arasında BC nanofiberler ile ilgili yapılan yayın sayıları [60]	33
Şekil 2.12. BC nanofiberlerin farklı üretim formları. a) membran, b) fibril, c) küresel [61].	34
Şekil 2.13. a) Moleküler baskılama işleminin şematik gösterimi, b) BC nanofiberlere ait SEM görüntüsü [65].	35
Şekil 2.14. a) Bakteriyel selüloz nanofiberler, b) PCL eklenmemiş BC nanofiberler, c) PCL eklenmiş BC nanofiberler, d-f) MIP mikrokürelerin yüzeyden görüntüsü, (g-i) MIP kompozit BC nanofiberler, j) MIP kompozit BC nanofiberlerin genişletilmiş görüntüsü [67].	36
Şekil 2.15. Bakteriyel selüloz nanofiberlerin taramalı elektron mikroskobu görüntüsü.	38

Şekil 2.16. Moleküler baskılanmış bakteriyel selüloz nanofiberlerin hazırlanması.....	39
Şekil 2.17. Moleküler baskılama işlemi (1: fonksiyonel monomerler; 2: çapraz bağlayıcı; 3: kalıp molekül). a) Kalıp molekülün fonksiyonel monomerler ile etkileşimi, b) polimerizasyon, c) kalıp molekülün uzaklaştırılması.....	40
Şekil 2.18. Moleküler baskılama ile ilgili yıllar boyunca olan yayın sayıları [48].....	40
Şekil 2.19. Yıllara göre yayınlanan makromoleküler baskılama makalelerinin sayısı [48]	41
Şekil 2.20. E2 baskılanmış partiküllerin AFM görüntüleri. a) üç boyutlu ve b) iki boyutlu.	45
Şekil 2.21. a) 17- β -Estradiol baskılanmış partikül gömülü kriyojellerin SEM görüntüsü, b) yarışmacı moleküllere karşı seçicilik özellikleri [63].....	46
Şekil 2.22. Estradiol baskılanmış sol-jel manyetik partiküllerin hazırlanması [33].	47
Şekil 2.23. Estradiol baskılanmış mikro ve nanokürelerin SEM görüntüleri [65].	48
Şekil 3.1. Bakteriyel selüloz nanofiberlerin üretim basamakları.....	50
Şekil 4.1. BC nanofiberlerin optik fotoğrafı	54
Şekil 4.2. BC-NF'lerin SEM görüntüleri.	55
Şekil 4.3. BC Nanofiberlere ait FTIR-ATR spektrumu	56
Şekil 4.4. MATrp monomerine ait FTIR spektrumu.....	57
Şekil 4.5. MATrp monomerine ait ^1H -NMR spektrumu.	58
Şekil 4.6. E2-NP/BC-NF lerin SEM görüntüleri.....	59
Şekil 4.7. E2-NP/BC-NF lerin mikroCT görüntüleri.	60
Şekil 4.8. E2-NP/BC-NF lerin AFM görüntüleri.	61
Şekil 4.9. BS, MIP ve NIP BS kompozit nanofiberlerin % şişme kapasiteleri	62
Şekil 4.10. BS, MIP ve NIP BS kompozit nanofiberlerin temas açısı görüntüleri	64
Şekil 4.11. Adsorpsiyon kapasitesine pH'nın etkisi (C_0 : 0,5 mg/mL, İ.Ş.:0,0, $m_{\text{partikül}}$: 100 mg).	65
Şekil 4.12. 17- β Östradiol adsorpsiyon kapasitesine iyonik şiddetin etkisi (C_0 : 0,5 mg/mL, pH: 7,0, $m_{\text{partikül}}$: 100 mg).	66
Şekil 4.13. 17- β Östradiol adsorpsiyon kapasitesine başlangıç derişiminin etkisi (pH: 7,0, m: 100 mg).	67

Şekil 4.14. 17- β Östradiol adsorpsiyon kapasitesine zamanın etkisi (C_0 : 1 mg/mL, pH: 7,0, $m_{\text{partikül}}$: 100 mg).....	68
Şekil 4.15 - E2, kolesterol ve stigmasterol'ün kimyasal yapıları	69
Şekil 4.16. E2-NP/BC NF'lerin 17- β Östradiol adsorpsiyon kapasitesine tekrar sayısının etkisi (C_0 : 0,5 mg/mL, pH: 7,0, $m_{\text{partikül}}$: 100 mg).....	71
Şekil 4.17. E2-NP/BC-NF ait Langmuir izotermi.	72
Şekil 4.18. E2-NP/BC-NF ait Freundlich izotermi.	73
Şekil 4.19. E2-NP/BC-NF ait yalancı-birinci derece kinetik eğrisi.	75
Şekil 4.20. E2-NP/BC-NF ait yalancı-ikinci derece kinetik eğrisi.	75

1. Giriş

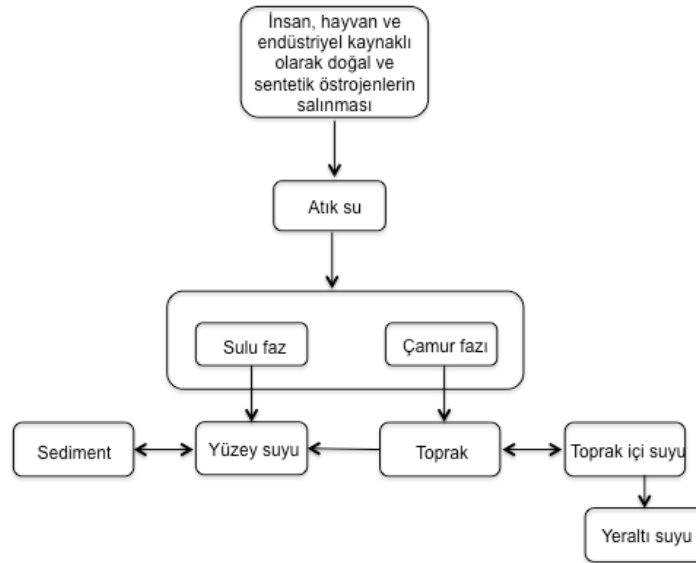
Endokrin bozucu kimyasallar (EDCs), insanlarda görülen üreme bozuklukları, meme kanseri, bağışıklık sistemi hastalıklar ve evsel ya da endüstriyel kaynaklı olarak içme sularına karışmakla ilişkilendirilmektedir. Gıda ve su ile vücuda alınmaktadır. EDCs cinsiyet hormonları ve endokrin sistemin diğer steroidleri ile bağlantılı olan çeşitli çekirdek reseptörler ve hormon reseptörlerine bağlanabilirler. Bu etkileşimler yoluyla, genlerin etkinliğini değiştirirler, doğal hormonların reseptörlerine bağlanmasını engellerler ve bazı durumlarda da hormon seviyesinin artmasına neden olurlar. EDCs steroid hormonlar, kolesterol gibi bileşiklerden sentezlenen biyolojik aktif bileşikler gibi geniş çeşitlilikteki kimyasalları içerir. Doğal östrojenlerden (östron (E1), 17 β -estradiol (E2), estriol (E3) ve sentetik östrojen 17 α -etinilestradiol (EE2)) sıklıkla suda bulunup üreme sistemi organları ile göğüs, deri ve beyin sağlığı için önemli görevleri vardır. 17 β -Estradiol, yüksek östrojenik aktivite gösteren doğal östrojenlerden biri olup doğum kontrol haplarında, hormon tedavilerinde, prostat ve meme kanseri tedavilerinde kullanılmaktadır. E2 kadının yumurtalıklarında üretilmekle birlikte seks hormonlarının gelişimini, ikincil cinsiyet karakterlerinin meydana gelmesini ve devam etmesini sağlamaktadır. Polimer fiberler, elektrostatik yolla 100 yıldır polimer çözeltilerinden veya eriyiklerinden elde edilmektedirler. Nanofiberler, büyük yüzey alanı/hacim oranıyla gözenekliliğin gerekli olduğu birçok farklı alanda kullanım potansiyeline sahiptirler. Üretime yönelik olarak birçok sentez yöntemi mevcuttur ve bunların arasında en sık kullanılanı elektro-eğirme yöntemidir. Elektro-eğirme yöntemi, nano/mikrometre ölçeğindeki çaplara sahip polimerik fiberlerin hazırlanmasında kullanılan, polimer çözeltilerinin basit ve kullanışlı bir işleme tekniğidir [10]. Geleneksel fiber eğirme işlemlerinde polimer çözeltisi genel olarak işlem boyunca düzeden geçer. Ekstrüzyon kuvveti olarak hava ya da mekanik cihaz kullanmak yerine çözeltideki partikülleri yükleyen yüksek voltaj uygulanır ve böylece itme kuvveti oluşturulur. Kritik voltaj değerinde itme kuvveti çözeltinin yüzey gerilimini aşar ve düzenin ucundan jet oluşur. Elektro-eğirme yöntemi, kullanım kolaylığı, boyut büyütme potansiyeli, birçok farklı polimerik yapıya uygulanabilir olması gibi önemli avantajlara sahiptir. 10 ile 100 nm arasında değişen çaplarda elektro-eğrilmiş polimerik nanofiberler borik asit, boya,

ağır metaller, amino asitler gibi küçük moleküller ile proteinlerin ayırımında kullanılmaktadırlar.

Bu tez kapsamında, moleküler baskılama yöntemi kullanılarak eser miktardaki 17 β -estradiol'ün uzaklaştırılması hedeflenmiştir. Tez kapsamında kullanılan estradiol baskılanmış nanopartikül/bakteriyel selüloz nanofiberler 3 aşamada hazırlanmıştır. İlk aşama, BC nanofiberlerin üretilmesi ve sonrasında yıkanarak temizlenmesi sürecidir. Bu süreç sonunda BC-NF ler çok yüksek saflıkta, kolay ve ucuz bir işlem sonucunda elde edilmektedir. İkinci aşamada E2 baskılanmış polimerik nanopartiküller hazırlanmış ve hedef molekül yapıdan uzaklaştırılmıştır. Son olarak BC nanofiberlerin yapısına E2 baskılanmış nanopartiküller eklenerek sulardan E2'nin seçici olarak uzaklaştırılması için yüksek yüzey alanına sahip kompozit nanofiberler destek malzemesi olarak elde edilmiştir.

2. Genel Bilgiler

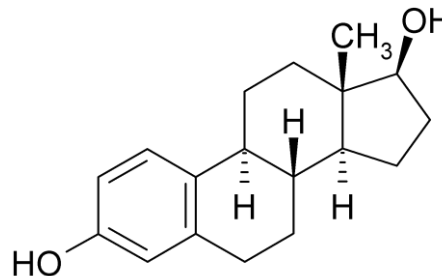
Endokrin bozucu kimyasallar (EDCs) evsel ya da endüstriyel kaynaklı olarak içme sularına karışmakta ve insanlarda görülen üreme bozuklukları, meme kanseri, bağışıklık sistemi hastalıkları vb. ile ilişkilendirilmektedir [1]. EDCs'in çevreye dağılım yolları Şekil 2.1'de şematize edilmiştir. Bu tip kimyasallar gıda ve su ile vücuda alınmaktadır. 2012'de Dünya Sağlık Örgütü'nün yayınladığı bildiride endokrin ile ilişkili hastalıklar ve bozukluklar ile meme, yumurtalık, prostat gibi endokrin ile ilişkili kanser türlerinin görülmesinde artış olduğu rapor edilmiştir. EDCs cinsiyet hormonları ve endokrin sistemin diğer steroidleri ile bağlantılı olan çeşitli çekirdek reseptörler ve hormon reseptörlerine bağlanabilirler. Bu etkileşimler yoluyla, genlerin etkinliğini değiştirirler, doğal hormonların reseptörlerine bağlanmasını engellerler ve bazı durumlarda da hormon seviyesinin artmasına neden olurlar [2]. EDCs steroid hormonlar, kolesterol gibi bileşiklerden sentezlenen biyolojik aktif bileşikler gibi geniş çeşitlilikteki kimyasalları içerir. Doğal östrojenlerden östron (E1), 17β -estradiol (E2), estriol (E3) ve sentetik östrojen 17α -etinilestradiol (EE2) sıklıkla suda bulunan EDCs dir. E1, E2 ve E3 dişi hormonlardır ve üreme sistemi organları ile göğüs, deri ve beyin sağlığı için önemli görevleri vardır. EE2 ise doğum kontrol haplarında bulunmaktadır [3].



Şekil 2.1. Endokrin bozucu kimyasalların çevreye dağılımı [4].

2.1. 17β-Estradiol

17β-Estradiol (Şekil 2.2) yüksek östrojenik aktivite gösteren doğal östrojenlerden biridir. Doğum kontrol haplarında, hormon tedavilerinde, prostat ve meme kanseri tedavilerinde kullanılmaktadır [5]. E2 kadının yumurtalıklarında üretilmekle birlikte diğer endokrin dokularında ve karaciğer, göğüs gibi diğer dokularda da vardır. Dişilerde seks hormonlarının gelişimini, ikincil cinsiyet karakterlerinin meydana gelmesini ve devam etmesini sağlayan E2'nin diğer steroid hormon sentezi yapan bezlerdeki gibi, sentezi kolesterol üzerinden başlamaktadır [6,7]. Diğer tüm steroidler gibi, E2 siklopentanoperhidrofenantren halka yapısı içeren bir bileşiktir. Temel olarak bir siklopentan halkasına bağlı (D), fenantrene benzeyen (A, B ve C halkaları) siklik çekirdek içerir (steron-siklopentano perhidrofenantren yapısı). E2 hormonunun yapısında aromatik A halkasının, 3. karbon (C3) atomunda bulunan fenolik hidroksil grubu ile beraber 17. karbon (C17) atomu'nda hidroksil grubu yer almaktadır [8,9].

Molekül Formülü: C ₁₈ H ₂₄ O ₂	
Molekül Ağırlığı: 272,38 g/mol	
Sudaki Çözünürlüğü: 3,6 mg/L ^(a)	
Organik Çözücülerdeki Çözünürlüğü: Çoğu organik çözücünde çözülebilir.	
pK_a: 10,4 ^(b)	
Dağılım Katsayısı (Log K_{ow}): 4,01 ^(c)	
Kaynama Noktası: 180°C ^(d)	
Buhar Basıncı: 2,3 x 10 ⁻¹⁰ mmHg ^(e)	

Şekil 2.2. 17β-Estradiol'un kimyasal yapısı ve fizikokimyasal özellikleri [10-14].

Sentez edilerek kana verilen östrojen hormonu depo edilememektedir. Serumda E2'in %97'den fazlası plazma proteinlerine bağlı olarak taşınmakta olup, bunun %60'ı albümine, geri kalanı ise seks hormon bağlayıcı globülinlere (SHBG) bağlı haldedir. Hormonun sadece % 1-3 kadarı kanda serbest şekildedir. E2'in serbest ve albümine bağlı fraksiyonları biyolojik olarak aktiftir [15].

Steroid hormonların enzimatik inaktivasyonu genellikle karaciğerde hidroksillenme, yükseltgenme, indirgenme, metillenme ve en son basamakta meydana gelen glukoronik asit (HGLU) ve sülfat konjugasyonu ile olmaktadır. Bu çeşitli inaktivasyon yöntemleri ile hormonal aktiviteleri büyük miktarda azalmış olan bir dizi steroid metabolitleri ile sonuçlanır. Memeliler steroid omurgasını yıkamadıkları için idrar ile ve bir dereceye kadar da safra ile atılır [16]. E2 hormonunun ikincil seks karakterleri üzerine [17], hipotalamusa ve hipofize [18, 19], koagülasyon ve fibrinolitik sistem üzerine [20], protein sentezi üzerine [22], plazma kolesterolü üzerine [22], elektrolit dengesi üzerine [23], antiinsülin seviyesi üzerine [24], deriye [25] ve kemiklere [26] etkisi olduğu saptanmıştır.

Pestisitler gibi geleneksel kirleticilere kıyasla, endokrin bozucu kimyasalların sulardaki derişimi ng/L seviyelerinde bulunmaktadır. Birleşik Krallık'ta birçok atık arıtma tesisinde yapılan çalışmalar sonucunda sistemden çıkan atık suyun 1-80 ng/L derişim aralığında östron, 1-50 ng/L derişim aralığında 17 β -estradiol ve 0-7 ng/L derişim aralığında 17 α -etinilestradiol bulunduğu bildirilmiştir [27]. Tablo 2.1'de çeşitli ülkelerdeki E2 derişimleri verilmiştir.

Çizelge 2.1. Çeşitli su kaynaklarında bulunan E2 derişimleri [28].

Kaynak	Yer	Derişim, ng/L
Kentsel atık su	Birleşik Krallık	7-88
	Almanya	0.9
	Japonya	2,7-48
Yüzey suyu	Almanya	0,6
	Japonya	2,1
İçme suyu	Almanya	0,3

17 β -estradiol, östron gibi doğal östrojenler ve 17 α -etinilöstradiol gibi sentetik östrojenler, insan ve hayvan tarafından idrar yoluyla çevreye ve atık sulara ulaşır. İnsan ve hayvan dışkıları kayda değer miktarda doğal östrojen ihtiva etmektedir [29]. Geleneksel biyolojik atıksu arıtma tesislerinden ayrılan sudaki östrojenik hormon (özellikle 17 β -estradiol, östron, östriol) derişimleri litrede birkaç nanogram (ng/L) ile

birkaç mikrogram ($\mu\text{g/L}$) aralığındadır. Bu mikrokirleticiler endokrin bozucu kimyasal özelliğe sahiptir ve pek çok türün (insanlarda dahil) endokrin sistemine ng/L seviyesinde bile zarar verdiği saptanmıştır [30, 31]. Doğal steroid östrojen adı verilen insan ve hayvan kaynaklı steroid hormonlar, dışsal endokrin bozucu kimyasallar (EDC) ve sentetik kimyasallarla karşılaştırıldığında oldukça yüksek östrojenik aktiviteleri ile karakterize edilmiş ve içsel steroid EDC olarak sınıflandırılmıştır [32]. İçsel steroid östrojenlerin dışsal EDC'lara göre 10.000-100.000 kat daha fazla östrojenik aktiviteye sahip olduğunu rapor etmişler [33]. Hayvan atıklarının uygulandığı toprak arazileri çevresel östrojenlerin bir diğer kaynağıdır. Doğal yaşamda, endokrin bozucuların etkileri en çok üreme sistemi ve gelişme anormallikleriyle ortaya çıkmaktadır [37, 38].

17 β -estradiol'ün neden olduğu olumsuz durumlar düşünüldüğünde atık sulardan uzaklaştırılmasının önemi ortaya çıkmaktadır [39]. 17 β -estradiol'ün neden olduğu olumsuz durumlar düşünüldüğünde atık sulardan uzaklaştırılmasının önemi ortaya çıkmaktadır [39]. Bu amaçla kullanılan pek çok yöntem vardır. Geleneksel ayırma işlemlerinden koagülasyon ve çöktürme gibi yöntemler EDC lerin özellikle düşük moleküler ağırlıklı olanların (100-500 Da) uzaklaştırılmasında etkin değildirler. Adsorpsiyon, membrane filtrasyonu ve iyon değişimi gibi ileri ayırma işlemleri % 95'e kadar ayırma etkinliği sağlarlar. Bu yöntemler özellikle kentsel atık sulardan EDC uzaklaştırmada sıklıkla tercih edilen yöntemlerdir. Ancak bu yöntemler pahalı ve estradiol uzaklaştırma etkinliği düşüktür [40]. Bu amaçla, son yıllarda E2 uzaklaştırmak için yeni yöntemlerin geliştirilmesi önemli hale gelmiştir. Geleneksel yöntemler olan ultrafiltrasyon ve oksidasyon işlemlerinin yanında adsorpsiyon işlemi önemli alternatif sunmaktadır [41].

Silva ve arkadaşlarının hazırladığı bir derlemede, E2 uzaklaştırılmasında kullanılan adsorbentler ve adsorpsiyon kapasiteleri listelenmiştir. Bunlardan bazıları şöyledir: aktif karbon (21.3-67.6 mg/g), granüler aktif karbon (% 90'dan fazla geri kazanım). Tipik bir adsorbent olan aktif karbonun sadece hidrofobik kirleticiler için etkin olduğu rapor edilmiştir [42]. Kullanılmakta olan malzemelerin spesifik olmamasından dolayı eser miktarlardaki uzaklaştırma etkinliği zayıftır [43]. Diğer bileşenler nedeniyle atık su gibi karmaşık bir ortamdan E2'nin uzaklaştırılması çok düşük miktarlarda kalmaktadır. Bu

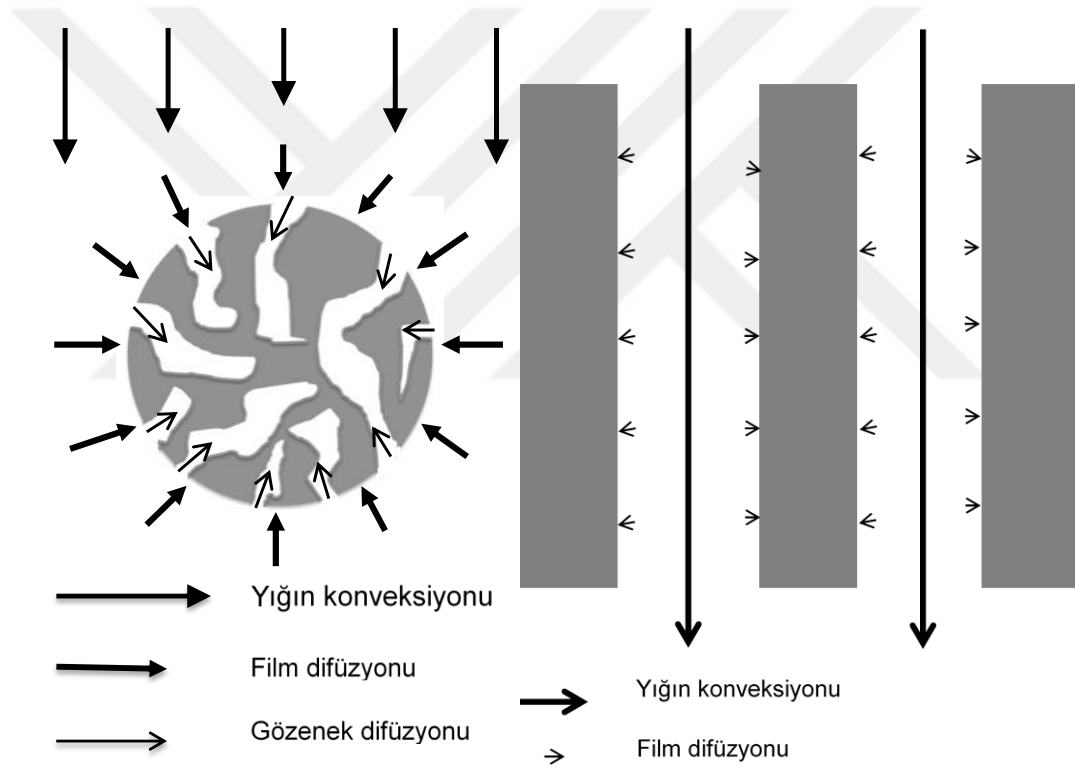
nedenle, E2'nin seçici uzaklaştırılması için yeni yöntemlerin geliştirilmesi gerekmektedir [44].

2.2. Afinite Nanofiberler

Proteinlerin saflaştırılmasında, dolgulu kolon kromatografisi en sık kullanılan tekniklerden biridir [1,2]. Ancak bu yöntemin bazı sınırlamaları vardır. Örneğin; dolgulu kolonlarda genellikle basınç düşmesi yüksektir. Ayrıca protein moleküllerinin, kolon dolgu malzemesi olan mikrokürelerin gözenekleri içindeki kütle aktarımı yavaş olduğundan işlem süresi uzundur [3]. Bu durum aynı zamanda elüsyon için gereken sıvı hacmini de arttırdığı için dezavantaja dönüşür. Dolgulu kolonlarda mikrokürelerin homojen olmayan boyut dağılımından kaynaklanan kanallaşma, kolon verimini düşüren bir diğer önemli sorundur. Eksenel kütle aktarım kısıtlamaları söz konusu olduğundan dolgulu kolonlarda ölçek büyütme de zordur.

Gözenekli membranlar, dolgulu kolonlarla ilgili kısıtlamalardan kurtulabilmek için önemli bir alternatif sunmaktadırlar [4]. Membran kromatografisinin en önemli avantajı; proteinlerin bağlanma bölgelerine kütle aktarımının konveksiyon ile olmasıdır [5]. Böylece işlem süresi ve elüsyon için kullanılan sıvı hacmi azaltılmış olur. Basınç düşmesi dolgulu kolonlara göre önemli derecede düşüktür. Bağlanma etkinliği genellikle besleme akış hızından bağımsızdır. Bu da, yüksek akış hızlarıyla çalışabilme olanağı sağlar. Dolgulu kolonlarla karşılaştırıldığında membran kromatografisinin bir diğer avantajı da ölçek büyütme kolaylığıdır. Membran kromatografisinde protein ile matriks arasındaki etkileşim membranın birbiriyle bağlantılı gözeneklerinde gerçekleşir (Şekil 1). Mikrokürelerin gözeneklerindeki kütle aktarımı difüzyon ile gerçekleşirken membranın gözenekleri boyunca konveksiyon ile kütle aktarımı etkindir [6]. Membranların kullanımı ile gözenek içi difüzyon direnci ortadan kalkar ve böylece tek kütle aktarımı direnci olarak sıvının gözenek boyunca membran yüzeyinde olan film difüzyon direnci ortaya çıkar. Film difüzyonu gözenek difüzyonundan birkaç kat daha hızlı olduğundan membran kromatografisinde kütle aktarım kısıtlamaları oldukça azalmıştır. Tek ya da istiflenmiş membranlar mikrokürelere oranla ince olmalarına rağmen kromatografik kolondaki basınç düşmeleri membranların birbirleriyle bağlantılı gözenek yapısının yardımıyla azaltılır. Böylece akış hızları ve verimlilik artırılır.

Biyoterapötiklerin üretimindeki gelişmeler sonucunda, değerli biyolojik ürünlerin etkin ve ekonomik ayırımında yüksek kapasite ve yüksek verimlilikte adsorpsiyon malzemelerinin geliştirilmesi önemli bir ihtiyaç haline gelmiştir. Membran formundaki malzemeler yukarıda da anlatıldığı gibi hızlı bağlanma ve birbiriyle bağlantılı gözenekleri sayesinde düşük işlem süresine olanak sağlamalarına rağmen adsorpsiyon kapasiteleri düşüktür. Bu durumun aşılabilmesi için nanofiberler oldukça güçlü alternatifler [7, 8].

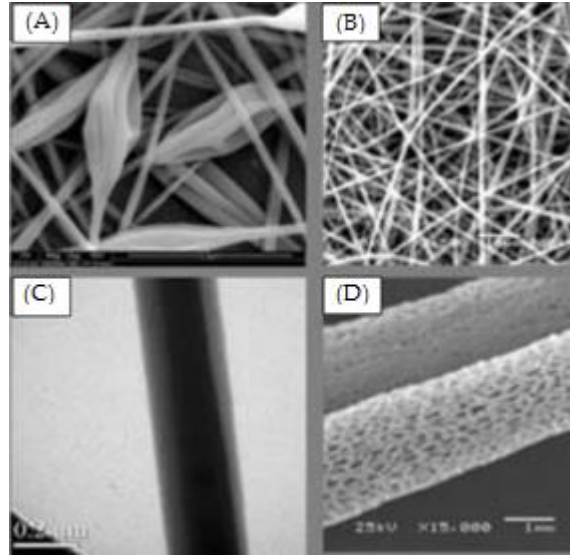


A) Dolgulu Kolon Kromatografisi B) Membran Kromatografisi

Şekil 2.3. Mikroküre (A) ve membranlarda (B) kütle aktarımı [6].

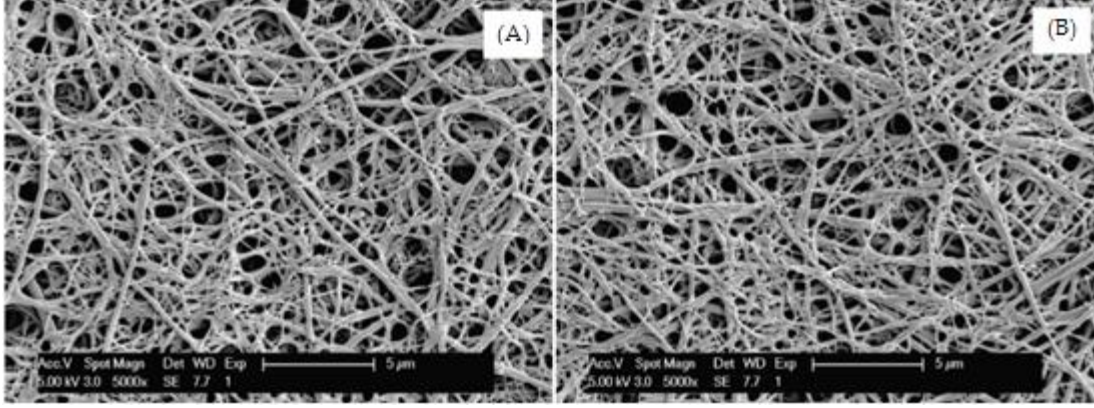
Polimer fiberler, 100 yıldır polimer çözeltilerinden veya eriyiklerinden elektrostatik yolla elde edilmektedirler [9]. İlk üretimleri 1930'lara dayanan ve patenti alınan nanofiberler ise, çapları nanometre seviyesinde olan fiberlerdir. Nanofiberler, büyük yüzey alanı/hacim oranıyla gözenekliliğin gerekli olduğu birçok farklı alanda kullanım

potansiyeline sahiptirler. Üretime yönelik olarak birçok sentez yöntemi mevcuttur ve bunların arasında en sık kullanılanı elektro-eğirme yöntemidir. Özellikle 1990'lardan sonra önem kazanan elektro-eğirme yöntemi, nano/mikrometre ölçeğindeki çaplara sahip polimerik fiberlerin hazırlanmasında kullanılan, polimer çözeltilerinin basit ve kullanışlı bir işleme tekniğidir [10]. Geleneksel fiber eğirme işlemlerinde polimer çözeltisi genel olarak işlem boyunca düzeden geçer. Ekstrüzyon kuvveti olarak hava ya da mekanik cihaz kullanmak yerine çözeltideki partikülleri yükleyen yüksek voltaj uygulanır ve böylece itme kuvveti oluşturulur. Kritik voltaj değerinde itme kuvveti çözeltinin yüzey gerilimini aşar ve düzenin ucundan jet oluşur. Ardından çözücü buharlaştırılarak oluşan fiberler plaka üzerinde toplanır. Elektro-eğirme yöntemi, kullanım kolaylığı, boyut büyütme potansiyeli, birçok farklı polimerik yapıya uygulanabilir olması gibi önemli avantajlara sahiptir [11]. 10 ile 100 nm arasında değişen çaplarda elektro-eğrilmiş polimerik nanofiberler borik asit, boya, ağır metaller, amino asitler [12-14] gibi küçük moleküller ile proteinlerin [15] ayırımında başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Ayrıca bu yöntem ile boncuklu, gözenekli, gözeneksiz ve çekirdek-kabuk gibi farklı morfolojilerde nanofiber elde etmek mümkündür (Şekil 2).



Şekil 2.4. Farklı morfolojilerde nanofiberlerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri. Boncuklu (A), gözeneksiz (B), çekirdek-kabuk (C) ve gözenekli (D) [16].

Afinite taşıyıcılar, hedef moleküller ile ligand molekülleri arasında özgül tanıma bölgelerine sahip olan malzemelerdir [17]. Afinite nanofiber kromatografisi, nanofiberlerin yüksek verimliliği ile kromatografi malzemelerinin seçiciliğinin bir araya getirilmesiyle proteinlerin saflaştırılmasında kullanılan etkili ve ilgi çeken bir yöntem olmuştur. Hızlı ve yüksek kapasiteye sahip protein bağlamasına olanak sağlayan üstün özellikleri ile elektro-eğrilmiş nanofiberler saflaştırma uygulamaları için uygundurlar. Örgüsüz nanofiberler elektro-eğirme ile kolayca elde edilebilir. Elektro-eğrilmiş örgüsüz nanofiberler yüksek yüzey alanı/hacim oranı, yüksek gözeneklilik, birbiriyle bağlantılı gözenek yapısı, yüksek morfolojik kararlılık, kontrol edilebilir nanofiber kalınlığı ve gözenek çapı gibi üstün özellikler içerir. Afinite nanofiberlerde seçici adsorpsiyon işleminin en önemli özelliği, akışın nanofiberin mikro ve nano gözenekleri boyunca aktarılması ve seçici adsorpsiyonun nanofiberin yüzeyinde olmasıdır [18]. Yüksek akış hızlarında çalışılabilen, yüksek yüzey alanına sahip nanofiberler proteinlerin saflaştırılmasında hızlı ve yüksek bağlanmaya olanak sağlar. Nanofiberlerin bu alandaki kullanımı mikroküre gözenekleri içinde kütle aktarım kısıtlamalarından dolayı özellikle proteinler gibi büyük moleküller için oldukça verimlidir. Nanofiberlerin, proteinlerin saflaştırılmasında kullanılması ümit verici sonuçlar vermiştir. Nanofiberler yüksek akış hızlarında yüksek bağlanma kapasiteleri sağlayarak dolgu kolon kromatografisine göre üstün performans göstermişlerdir [19]. Zhu ve arkadaşları, fiber çapı 50-300 nm arasında olan polivinilalkol-polietilen (PVA-PE) nanofiberler hazırlamışlardır. Nanofiber yüzeyine ligand olarak protein saflaştırması için yaygın olarak kullanılan pahalı, immobilizasyonu zor ve depolaması özel önlemler gerektiren antikör ligandlar yerine yüksek adsorpsiyon kapasitesine sahip, ucuz ve kimyasal kararlılığı yüksek boya ligand olan Cibacron Blue F3GA immobilize ederek albumin adsorpsiyonunda kullanmışlardır (Şekil 2.5). Cibacron Blue F3GA ile hazırlanan kitosan mikrokürelere ve polimetilmetakrilat (PMMA) nanokürelere kıyasla daha fazla albumin adsorpsiyon kapasitesine ulaşmışlardır [20]. Bu çalışma ile Cibacron Blue F3GA bağlı PVA-PE nanofiberlerin biyomoleküllerin ayrılması ve saflaştırılması uygulamalarında yüksek elüsyon verimliliği ile tekrar kullanılabilirliği gösterilmiştir.



Şekil 2.5. PVA-PE (A) ve Cibacron Blue F3GA bağlı PVA-PE (B) nanofiberlerin taramalı elektron mikroskobu görüntüleri [20].

Afinite nanofiberler gıda endüstrisinde son ürün kalitesini artırmak için kullanılmaktadır. Zhang ve arkadaşları, bir proteolitik enzim olan bromelainin saflaştırılması için fiber çapı 200-400 nm arasında olan elektro-eğrilmiş poliakrilonitril nanofiber membranlar hazırlamışlardır [21]. Poliakrilonitril (PAN) ucuz olması, iyi ısı ve mekanik özelliklerinden dolayı protein saflaştırma çalışmalarında taşıyıcı destek olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Proteinin spesifik olmayan adsorpsiyonunu azaltmak için nanofiberler kitosan ile kaplanmış ve ardından Cibacron Blue F3GA immobilizasyonu yapılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen adsorpsiyon kapasitesi elektro-eğrilmiş PAN nanofiber membranların bu alandaki potansiyeline işaret etmektedir.

Nanofiberler mikrofiberlere göre yüksek yüzey alanı/hacim oranı ile dikkat çekmektedirler. Şekil 2.6'da görüldüğü gibi fiber çapının küçültülmesi fiberin yüzey alanını artırmaktadır. Schneiderman ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, elektro-eğrilmiş karbon nanofiberleri kullanarak yüksek adsorpsiyon kapasiteye olanak sağlayan yeni bir kromatografi malzemesi hazırlanmıştır. Karbon nanofiberler, elektro-eğrilmiş PAN nanofiberlerin ısı ileme tabi tutulmasıyla elde edilmiş ve karbon nanofiber matlar zayıf asit olan karboksilik asit ile yüzeyleri modifiye edilmiştir. Geleneksel karbon mikrofiberlerin çapları 10 µm iken elektro-eğrilmiş karbon nanofiberlerin çapları yaklaşık 300 nm'dir. Böylece nanofiber örgülerin yüzey alanı mikrofiberlere oranla 30 kat arttırılmıştır. Yüzey alanındaki bu artış nanofiberlerin

protein adsorpsiyon kapasitesini önemli oranda arttırmıştır. Ayrıca bu çalışmada kullanılan nanofiberlerin geçirgenlik değerlerinin dolgu kolon kromatografi sistemlerinden 10 kat fazla olduğu rapor edilmiştir [22].

Greiderer ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada da 100-200 nm fiber çapında grafitik nanofiberler (GNF) sentezlenmiş ve türevlendirilerek proteomik uygulamaları için 'Material-Enhanced Laser Deposition/Ionization' (MELDI) analizlerinde destek malzemesi olarak kullanılmıştır. Elde edilen türevlendirilmiş GNF'ler ile biyolojik örneklerden az bulunan bileşiklerin tayini için önem arz eden yüksek protein bağlama kapasitesi ve ideal tayin limitine ulaşıldığı görülmüştür. GNF'ler yüksek yüzey alanına sahip olmaları sayesinde ön bir albumin ya da immunoglobulin G uzaklaştırmasına gerek kalmadan yüksek hassasiyet ve tekrarlanabilirlik özellikleri ile yüksek protein zenginleştirme performansı göstermişlerdir [23].

Selüloz bazlı malzemeler, biyofarmasötik endüstrisinde adsorbent mikroküreler ve membranların hazırlanmasında sıklıkla kullanılırlar. Selüloz; kolay elde edilebilen, biyobozunur, biyouyumlu ve en önemlisi protein saflaştırma uygulamalarında çok düşük spesifik olmayan bağlanma gösteren doğal bir polimerdir. Ancak selülozun işlenmesi zordur ve çözünmesi için N-metil morfolin oksit/su veya lityum klorür/N,N-dimetilasetamid gibi çözücü karışımlarının kullanımını gerektirir. Ma ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, elektro-eğrilmiş selüloz nanofiberlerin yüzeyine Cibaron Blue F3GA kovalent olarak bağlanmış ve maksimum albumin adsorpsiyon kapasitesi 13 mg/g olarak bulunmuştur [24]. Aynı çalışma grubu elektro-eğrilmiş selüloz nanofiberleri, yüzeylerine protein A/G'yi kovalent olarak bağlayarak immunoglobulin G saflaştırmasında kullanmışlardır. Bu çalışmada, hazırlanan afinite membranlarının ticari ürünlere kıyasla daha yüksek spesifik bağlanma kapasitesine sahip olduğu rapor edilmiştir [25].

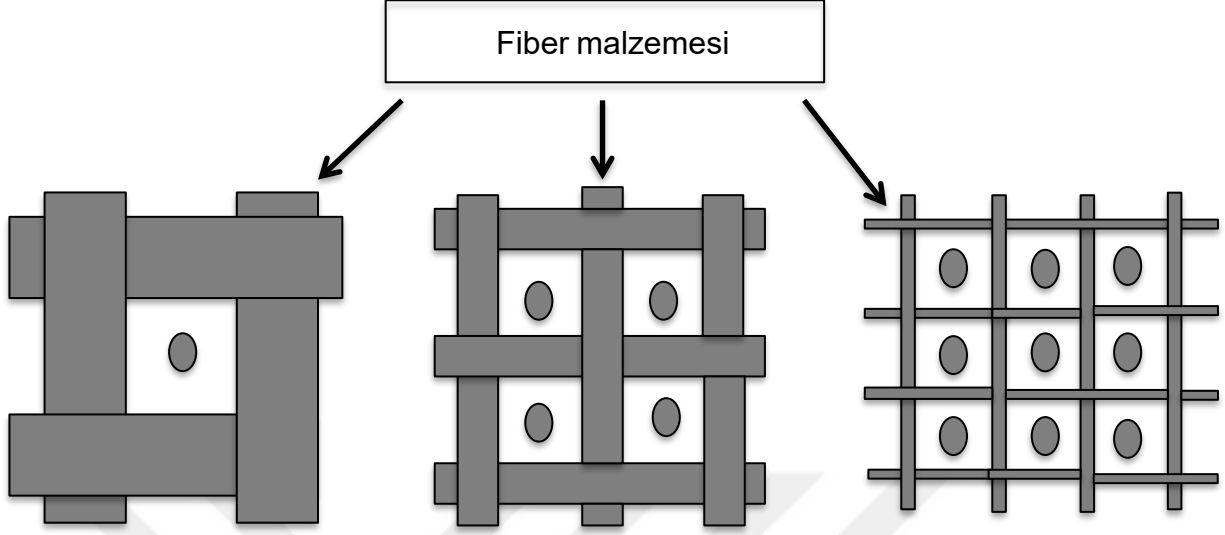
Zhang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, protein ayırma için elektro-eğrilmiş selüloz asetat nanofiberler kullanılarak iyon değişim destek sistemi hazırlanmıştır [26]. Hazırlanan bu nanofiberlerin çapları 10 nm ile 1 µm arasında değişmektedir. Selüloz

asetat kullanılarak elde edilen selüloz nanofiberler, anyon değişim ligandı olan dietilaminoetil (DEAE) ile modifiye edilmişlerdir. DEAE-nanofiberler, DEAE-selüloz mikrofiberler ve ticari DEAE-selüloz fiberlere göre daha yüksek albumin bağlanma kapasitesi göstermişlerdir. Bu sonuçlar hazırlanan nanofiberlerin üstün morfolojik yapıları ile yüksek yüzey alanına sahip olmalarından kaynaklanmaktadır. Ayrıca bu çalışmada, hazırlanan nanofiberler ile DEAE sefaroz dolgulu yatak sisteminin adsorpsiyon performansı karşılaştırılmış ve nanofiber membranların ticari dolgulu yatak sistemine göre bağlanma kapasitelerinin ve akış özelliklerinin daha iyi olduğu gösterilmiştir.

2.3. Kompozit Nanofiberler

Afinite nanofiberler, ilgilenilen hedef molekül ile ligand molekülleri arasında özgül tanıma bölgelerine sahip olan malzemelerdir [37]. Afinite nanofiberler, nanofiberlerin yüksek etkinliği ile belirli bir moleküle karşı afinite özelliğine sahip olarak yüksek seçiciliğin bir araya getirilmesiyle ayırma işlemlerinde kullanımı önem kazanmaktadır. Şekil 2.9'da fiber çapının yüzey alanına olan etkisi şematik olarak gösterilmiştir. Şekilden de açıkça görüldüğü gibi malzemenin fiber çapı küçüldükçe yüzey alanı önemli derecede artmaktadır. Bu da nanofiberlere yüksek adsorpsiyon kapasitesine ulaşabilme olanağı tanımaktadır. Bu özelliği ile nanofiberler ayırma işlemlerinde önemli alternatif sunmaktadır.

Afinite nanofiberlerde akış nanofiberin mikro ve nano gözenekleri boyunca aktarılmaktadır. Böylelikle yapı boyunca kütle aktarım kısıtlamaları en aza indirgenmiş olur. Ayrıca afinite nanofiberlerde yüzeyde bulunan ligandlar sayesinde adsorpsiyon işlemi yüksek seçicilikte olmaktadır [38]. Bunlara ek olarak afinite nanofiberler işlem sonunda ortamdan uzaklaştırılmaları için bir cihaz gerektirmediklerinden kullanım kolaylığı sunmaktadırlar.

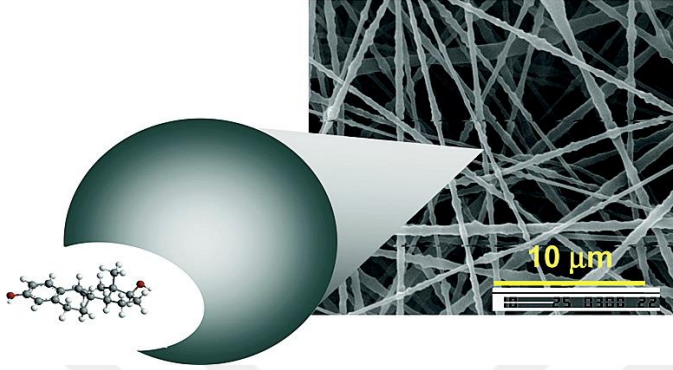


Şekil 2.6. Fiber çapının yüzey alanına etkisi [39].

Son yıllarda kompozit nanofiberler geliştirilmiş yüzey alanı özellikleri ile dikkat çekmektedirler. Kompozit nanofiberler, yapısında partiküllerin bulunduğu sistemlerdir. Wang ve arkadaşlarının hazırladığı bir derlemede elektro-eğirme yöntemi ile hazırlanmış ve ayırma işlemlerinde kullanılan nanofiberlerin çeşitli özellikleri ve kullanım alanları anlatılmıştır. Bu çalışmada kompozit nanofiber hazırlama ve uygulama yöntemleri hakkında bilgi verilmiştir. Kompozit nanofiber hazırlamada 3 farklı yöntem vardır: i) başka bir polimer ile harman yapılması, ii) partiküler sistemin polimer çözeltisine eklenmesi, iii) ko-eksenel eğirme ile çekirdek-kabuk tipi nanofiberlerin elde edilmesi [40]. Bu hazırlanan kompozit nanofiberler ile geliştirilmiş mekanik dayanım ve adsorpsiyon kapasitesine ulaşıldığı rapor edilmiştir.

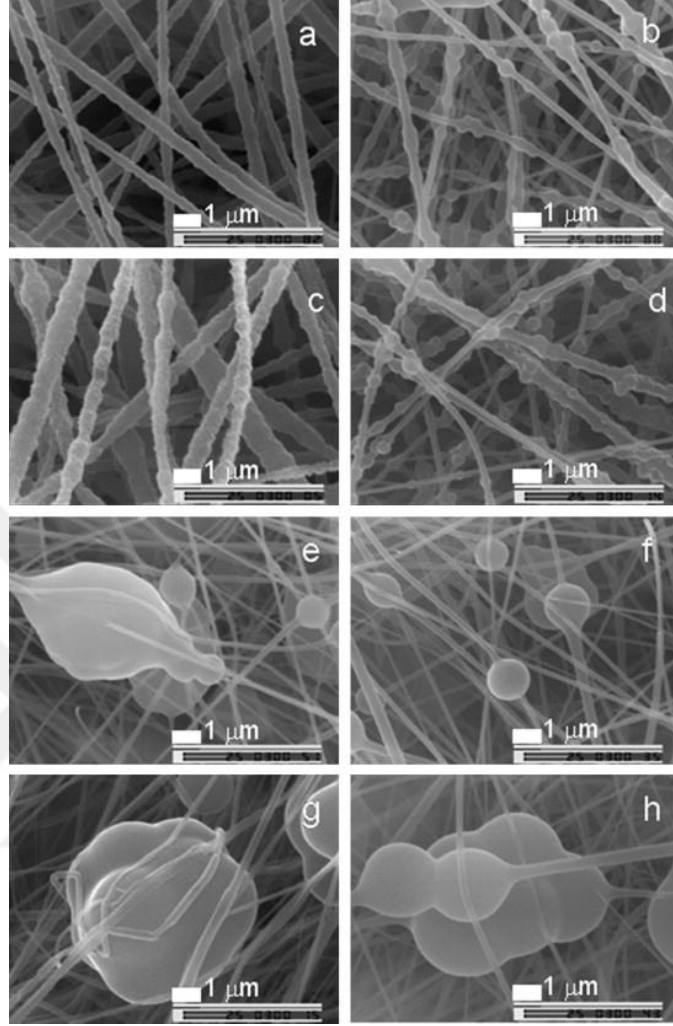
Chronakis ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 17β -estradiol baskılanmış nanopartiküller elektro-eğirme yöntemi ile hazırlanan polietilen tereftalat (PET) nanofiber yapısının içine enkapsüle edilmiştir [41]. Hazırlanan fiberlerin çapı içeriğinde bulunan MIP partiküle bağlı olarak 150-300 nm arasındadır (Şekil 2.8). Bu yöntem ile kolay bir yolla hızlı bağlanma kinetiğine sahip yüksek seçicilikte nanoadsorbentler hazırlanmıştır. Katı-faz ekstraksiyonu gibi ayırma işlemlerinde etkin bir şekilde kullanılacak ve büyük ölçeğe uygulanabilecek afinite nanofiberler elde edilmiştir.

Baskılanmış nanoapartiküllerin nanofiber yapısında enkapsüle edilerek hazırlanmış başka adsorbentler de mevcuttur [42, 43].



Şekil 2.7. E2 baskılanmış kompozit PET nanofiberlerin SEM fotoğrafı [40].

Yoshimatsu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada sulardan propranolol uzaklaştırılması amacıyla katı faz ekstraksiyon sistemi hazırlanmıştır. Moleküler baskılanmış mikropartiküller ile nanopartiküller elektroegirme yöntemi ile poli(etilen tereaftalat) (PET) nanofiber yüzeyine enkapsüle edilmiştir. Şekil 2.9’da hazırlanan farklı boyutlardaki MIP ve NIP partiküller içeren PET nanofiberlerin SEM görüntüleri verilmiştir. Fibroz yapı boyunca partiküllerin homojen bir şekilde dağıldığı görülmektedir.

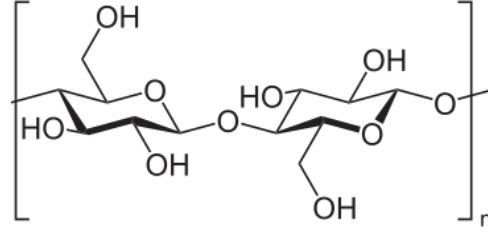


Şekil 2.8. a) %50 oranında, 130 nm boyutunda MIP nanopartikül, b) %50 oranında 390 nm boyutunda NIP nanopartikül, c) %100 oranında 130 nm boyutunda MIP nanopartikül, d) %100 oranında 390 nm boyutunda NIP nanopartikül, e) %50 oranında 1,2 μm boyutunda MIP mikroküre, f) % 50 oranında 1,4 μm boyutunda NIP mikroküre, g.) %50 oranında 2,4 μm boyutunda MIP mikroküre, h) %50 oranında 2,4 μm boyutunda NIP mikroküre içeren PET nanofiberlerin SEM görüntüleri [43].

2.4. Bakteriyel Selüloz ve Özellikleri

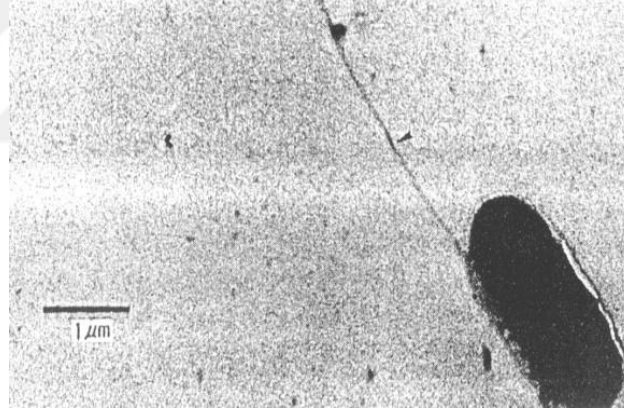
Selüloz yeryüzünde en çok bulunan polimerelerden biridir. Kimyasal yapısı Şekil 2.10' da gösterilmiştir. Eski çağlardan beri endüstriyel kullanımı yaygındır. Bitkisel selülozun

yapısında pamuk, rami lifi gibi farklı bileşenler de vardır. Bakteriyel selüloz (BC) gram-negatif bakteri *Acetobacter xylinum* tarafından üretilen yüksek saflıkta bir doğal polimerdir.



Şekil 2.9. Selülozun kimyasal yapısı.

Bakteriyel selüloz biyosentez sonucunda belirli kültür koşulları altında mikrofibril demetleri şeklinde üretilir. Selülozun tekrar eden birimi 2 anhidroglukoz zinciri β -1,4 glikosidik bağları ile bağlanır ve sellobioz adındaki birimleri oluşturur (Şekil 2.13) [44].



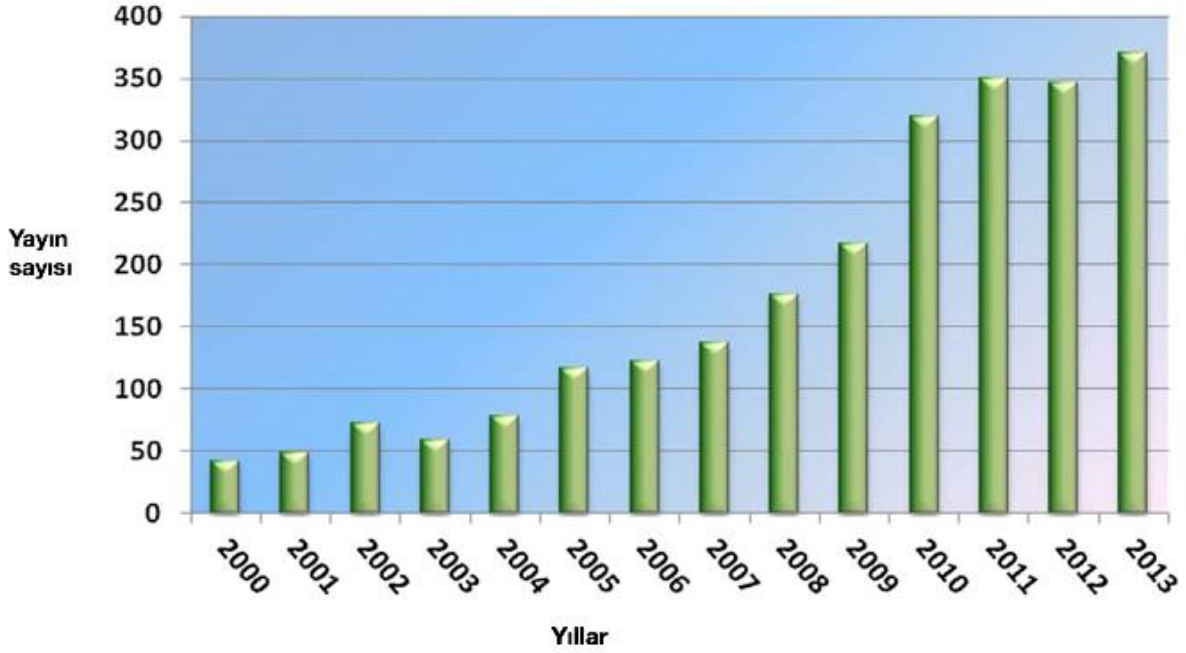
Şekil 2.10. Bakteri tarafından üretilen bakteriyel selüloz nanofiberlerin TEM görüntüsü [45].

BC nanofiberler farklı bakteriler tarafından üretilmektedir. Tablo 2.2'de BC üreten bakteriler ve kullandıkları karbon kaynakları ile BC üretim verimi verilmiştir.

Çizelge 2.2. BC nanofiberlerin fermentatif üretimi [46].

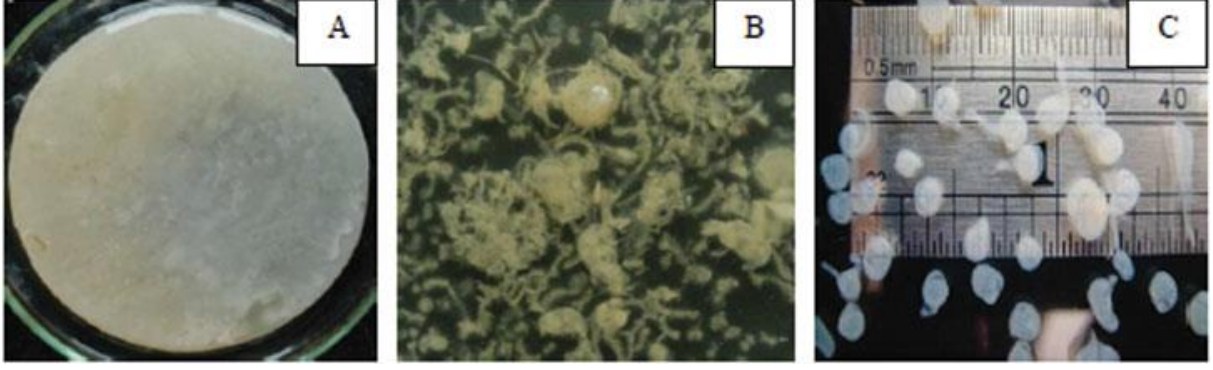
Mikroorganizma	Karbon kaynağı	Verim, g/L
<i>Gluconacetobacter xylinus</i> , <i>Trichoderma reesei</i>	Glükoz	6,23
<i>Gluconacetobacter hansenii</i> PJK (KCTC 10505 BP)	Glükoz	2,50
<i>Gluconacetobacter medellensis</i>	Glükoz	4,50
<i>Gluconacetobacter Persimmonis</i>	Glükoz	5,14
<i>Gluconacetobacter xylinus</i>	Glükoz	10,80

Nano boyuttaki fiberlerin rastgele örülmesiyle oluşan 3 boyutta ağsı bir biyomalzemedir. Ağ yapıdaki fazla sayıdaki hidroksil grubunun varlığı sayesinde BC tipik çözücülerde çözülmeyen ve belirli bir erime noktası bulunmayan kararlı bir polimerdir. Bu özellikleri ile BC yüksek mekanik dayanıma sahiptir. Nano boyuttaki selüloz fiberlerin üretimi ve uygulaması üstün fiziksel ve kimyasal özellikleri, düşük maliyeti, kolay ve yüksek saflıkta hazırlanan bir malzeme olması sebebiyle son yıllarda artış göstermektedir (Şekil 2.12) [47]. Bahsedilen özellikleri sayesinde dolgu malzemesinden doku mühendisliğine, filtrelerden ayırma malzemesine kadar pek çok farklı alanda uygulama alanı bulmuştur [48-55]. Özellikle yüksek yüzey alanına sahip olmasıyla adsorbent olarak kullanıldığı çok sayıda çalışma vardır. Bunlardan bazıları atık sulardan ağır metal uzaklaştırma [56], yara örtü malzemesi [57], boya degradasyonunda katalizör [58], kompozit malzeme [59] olarak örneklendirilebilir.



Şekil 2.11. 2000-2013 yılları arasında BC nanofiberler ile ilgili yapılan yayın sayıları [60].

Şekil 2.12’de gösterildiği gibi BC nanofiberler üretim şekline göre membran, fibril ve küresel gibi farklı formlarda üretilebilmektedir. Bakteriyel inkübasyon durgun kültür ortamında olduğunda sıvı-hava arayüzeyinde membran şeklinde BC nanofiber membranlar elde edilir. Bu formdaki BC nanofiberlerin uygulama alanı kullanım kolaylığından dolayı çok geniştir. BC fibröz süspansiyonu aynı kültür koşullarında ancak karıştırmalı ortamda gerçekleşmektedir. Küresel formdaki BC nanofiberler de karıştırmalı ortamda üretilmektedir ve gıda, sağlık ve malzeme üretimi gibi pekçok uygulama alanında kullanılmaktadır.



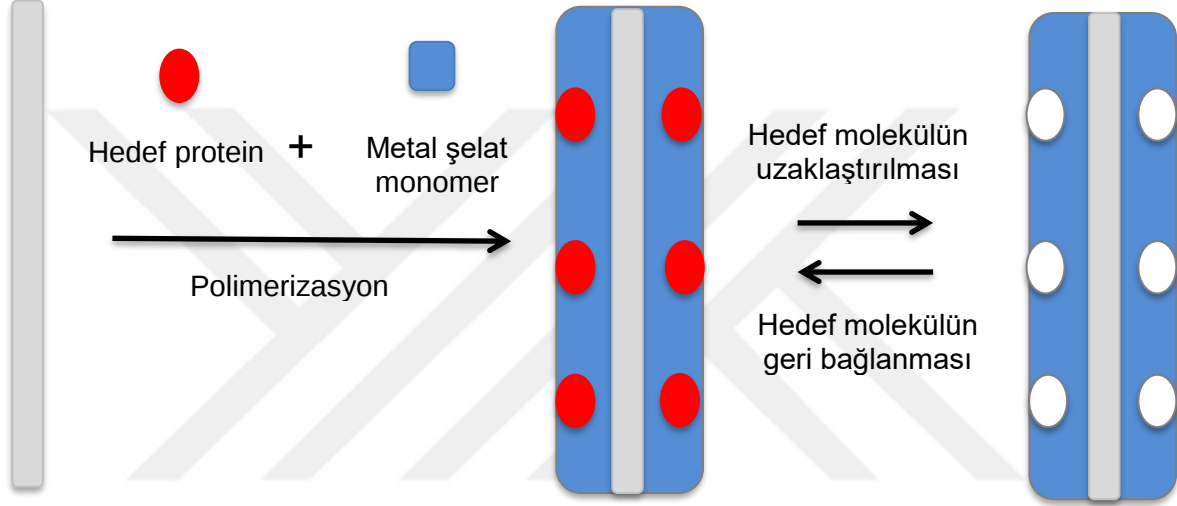
Şekil 2.12. BC nanofiberlerin farklı üretim formları. a) membran, b) fibril, c) küresel [61].

BC nanofiberler bahsedilen üstün özellikleri sayesinde pek çok farklı uygulama alanında destek malzemesi olarak kullanılmıştır ve başarılı sonuçlar rapor edilmiştir. Wang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada hazırlanması kolay, ucuz, çevre dostu teknoloji ile 3 boyutlu gözenekli elektrotlar hazırlanmıştır. Bu amaçla BC nanofiberler öncelikle pirolize edilmiştir ve bu uygulama için elde edilen yüksek potansiyeli rapor edilmiştir [62]. Ayrıca Suleava ve arkadaşlarının hazırladığı derlemede BC nanofiberlerin destek malzemesi olarak kullanıldığı uygulamalar ayrıntılı olarak incelenmiştir. Bu çalışmalardan bazılarında doku mühendisliği uygulamalarında hücrelerin tutunarak büyümesine ve çoğalmasına uygun ortam sağladığı, enzim immobilizasyonu uygulamasında yüksek yüzey alanı ile yüksek etkinlik elde edildiği belirtilmiştir. Chen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada BC nanofiberlerin yüzey modifikasyonu sonrasında atık sulardan boya uzaklaştırma işlemi için yüksek giderim kapasitesi sunduğu belirlenmiştir [63].

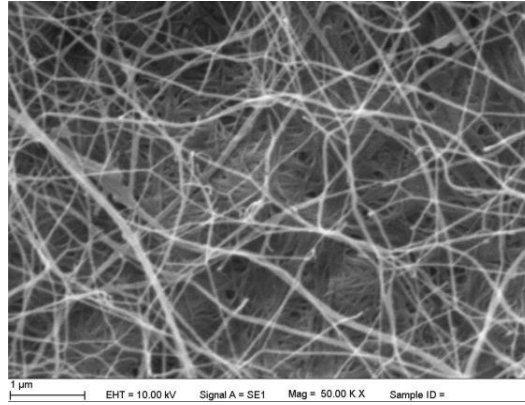
BC nanofiberler moleküler baskılanmış polimerlerin hazırlanmasında da başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Propranololun transdermal salımı için kompozit BC membranlar hazırlanmıştır [64]. Bunun için öncelikle BC nanofiberlerin yüzeyi 3-(trimetoksisilil)propil metakrilat (3-MPS) ile modifiye edilmiştir. Ardından hedef molekül varlığında fonksiyonel monomer olarak metakrilikasit (MAA) ve çapraz bağlayıcı olarak etilenglikoldimetakrilat (EGDMA) ile nanofiber yüzeyinde polimerleştirilmiştir. Hedef molekülün uzaklaştırılması sonucunda nanofiber yüzeyinde propranolola özgü boşluklar elde edilmiştir. Tamahkar ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada sitokrom c

saflaştırılması için BC nanofiber yüzeyinde hedef proteine özgü spesifik bağlanma bölgeleri oluşturulmuştur [65]. Bu amaçla nanofiber yüzeyi bir önceki çalışmada anlatılan şekilde 3-MPS ile modifiye edilmiş ve hedef protein varlığında polimerleştirilmiştir (Şekil 2.16). Hazırlanan nanofiberler ile hızlı, yüksek bağlanma kapasitesi ve yüksek seçicilikte adsorbentler elde edilmiştir.

a)



b)

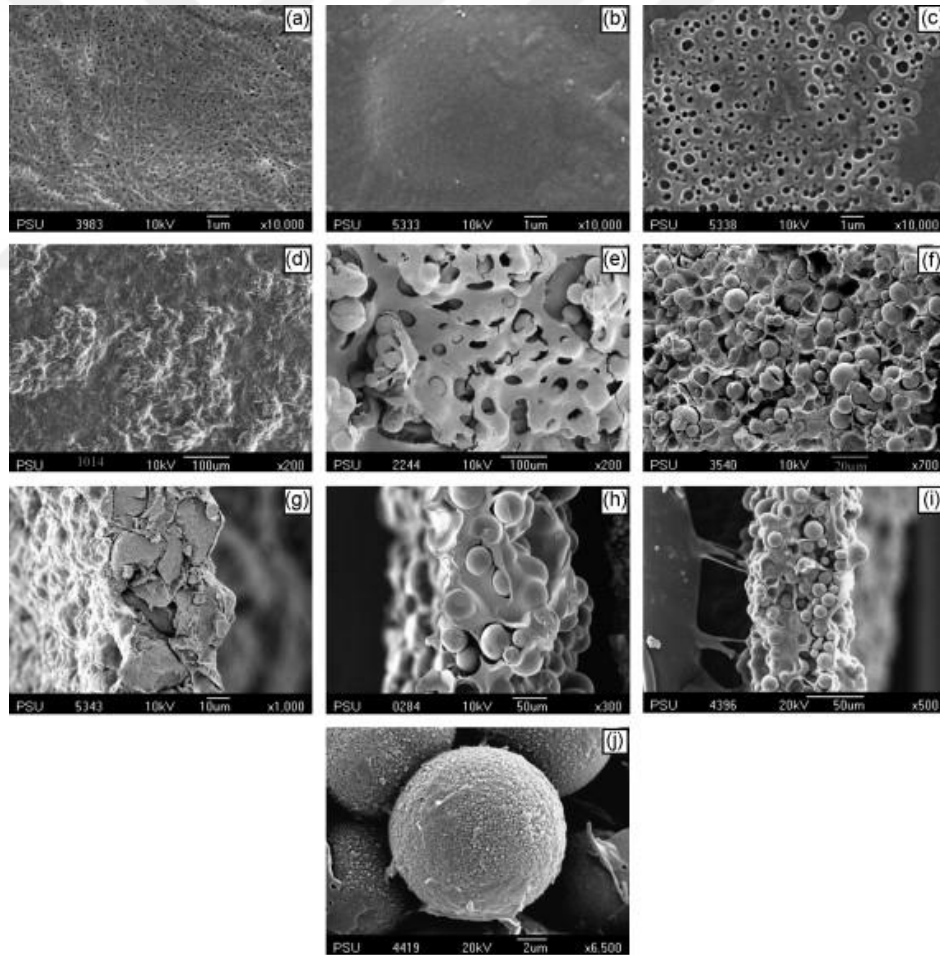


Şekil 2.13. a) Moleküler baskılama işleminin şematik gösterimi, b) BC nanofiberlere ait SEM görüntüsü [65].

Son yıllarda yapılan çalışmalar yapısına nanopartikül ve/veya mikropartikül eklenen nanofibroz membranların yüzey alanlarındaki artış olduğunu göstermiştir. Ayrıca yapıya kazandırılan partiküler sistemler BC nanofiber membranlara farklı uygulama

alanlarında uygulanabilme imkanı sağlamıştır. BC nanofiberlerin yapısına partiküler sistemlerin eklendiği çalışmalarda sıklıkla gümüş nanopartiküllerin yapıya gömüldüğü ve antimikrobiyel özellikli yüzeyler hazırlandığı görülmektedir [66]. Bu konuda hazırlanmış en dikkat çekici çalışma ayrıntıları ile aşağıda anlatılmıştır.

Şekil 2.17’de propranolol salımı için geliştirilen kompozit BC nanofiber membranlara ait SEM görüntüleri verilmiştir. Propranolol baskılanmış partiküller BC nanofiber içine gömülmüştür. Böylelikle membran sistemlerinin üstün akış özellikleri ile MIP partiküllerin yüksek seçicilik özellikleri birlikte kullanılarak kullanım etkinliği artırılmış olmuştur [55]. Bu çalışma ile ayırma sistemlerine ek olarak ilaç salım sistemlerinde de kompozit nanofiberlerin avantajları vurgulanmıştır.

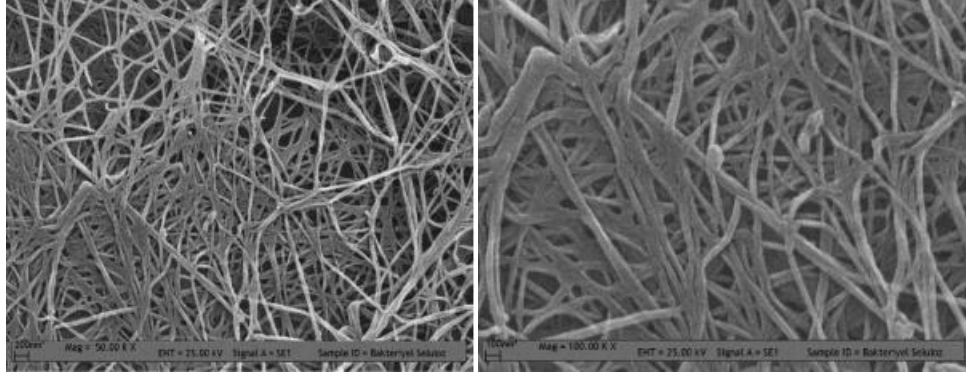


Şekil 2.14. a) Bakteriyel selüloz nanofiberler, b) PCL eklenmemiş BC nanofiberler, c) PCL eklenmiş BC nanofiberler, d-f) MIP mikrokürelerin yüzeyden görüntüsü, (g-i) MIP kompozit BC nanofiberler, j) MIP kompozit BC nanofiberlerin genişletilmiş görüntüsü [67].

2.4.1. Bakteriyel Selülozun Biyokimyası

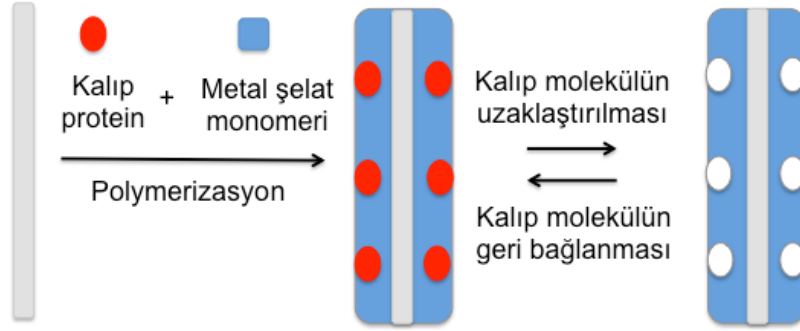
Bakteriyel selüloz, elektro-eğirme yöntemi ile kimyasal ve/veya ısı işlemler kullanılarak hazırlanan selüloz nanofiberlere önemli bir alternatif sunmaktadır. Bakteriyel selülozun üretimi için özel cihazlara gerek yoktur ve yüksek saflıkta ürün elde edilebilmektedir. Biyosentez sırasında bakteriler besi ortamındaki farklı karbon bileşiklerini tüketirler ve β -1,4-glukan zincirleri şeklinde hücre membranının dışındaki gözeneklerden hücre dışına çıkarlar. İlk olarak mikrofibriller ve ardından da 1000 glukan zincirinden oluşan mikrofibril demetleri oluşur. Durgun ortam koşullarında hava-sıvı arayüzeyinde sentezlenen bakteriyel selüloz nanofiberlerden oluşan membranlar üç-boyutlu ağı yapıdadır. Bitki selülozundan farklı olarak bakteriyel selüloz hemiselüloz ve lignin içermez. Bakteriyel selüloz nanofiberlerin çapı bitki selüloz fiber çapından 100 kat daha küçüktür. Nanofiberlerden oluşan ağı morfolojik yapı, malzemeye yüksek su tutma kapasitesi, yüksek esneklik, yüksek kristalinite, yüksek ıslak dayanım ve yüksek yüzey alanı kazandırır [27]. Bakteriyel selüloz, üstün fiziksel özellikleri ve mekanik dayanımı, yerinde kalıplanabilirliği, biyouyumluluğu ve yüksek su tutma kapasitesi gibi özellikleri ile gıda katkılarında, yüksek dayanımlı kağıt üretiminde ve ayrıca son yıllarda yara örtü malzemesi, yapay kan damarı, kıkırdak doku mühendisliği uygulamalarında destek malzemesi ve protein saflaştırma uygulamalarında taşıyıcı olarak kullanımı dikkat çekmektedir [28-30].

Protein uzaklaştırmada bakteriyel selüloz nanofiberler, yüksek yüzey alanı, üstün kimyasal ve mekanik kararlılığı, kolay hazırlanması ve ucuz olması gibi özellikleri ile önemli bir alternatiftir. Fiber çapları genellikle 50-100 nm arasında değişen BS nanofiberlerden oluşan üç boyutlu ağı nanofibroz membranlar yüksek yüzey alanına sahip örgüsüz bir malzemedir. Tamahkar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada nanofiber çapı 50-100 nm arasında olan BS nanofiberlerin yüzeyine Cibacron Blue F3GA kovalent olarak bağlanmış ve insan serumundan %96.5 verimlilikle insan serum albumini (HSA) uzaklaştırılmıştır (Şekil 2.17) [31].



Şekil 2.15. Bakteriyel selüloz nanofiberlerin taramalı elektron mikroskobu görüntüsü.

Son yıllarda sıklıkla kullanılan moleküler baskılanmış polimerler, ilgilenilen moleküle özgü tanıma bölgeleri içerdiklerinden yüksek seçicilik ile bağlanmanın önemli olduğu pek çok uygulama alanında kullanılmaktadırlar. Örneğin protein gibi büyük biyomoleküllerin ayrımı için moleküler baskılama yönteminin bir alt sınıfı olan yüzey baskılama yaklaşımı, kütle aktarım direncini ortadan kaldırdığından dolayı tercih edilmektedir. Nanomalzemelerin yüzeyinde gerçekleştirilen yüzey baskılama işlemi ile nanomalzemelerin yüksek yüzey alanı gibi üstün özellikleri ile moleküler baskılama yönteminin yüksek seçicilik özellikleri birlikte kullanılarak yüksek bağlanma kapasitesi ve hızlı bağlanma kinetiği davranışına sahip pek çok nanomalzeme hazırlanmıştır [32, 33]. Tamahkar ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada, BS nanofiberler destek malzemesi olarak seçilmiş ve nanofiberlerin yüzeyinde metal şelat etkileşimleri vasıtasıyla kalıp molekül olan sitokrom c'ye özgü seçici bağlanma bölgeleri içeren ince bir polimer tabakası oluşturulmuştur (Şekil 2.18). Hazırlanan bu moleküler baskılanmış nanofiberler ile yüksek protein bağlanma kapasitesi, yüksek seçicilik özellikleri ve hızlı bağlanma davranışı ile sulu çözeltiler ve doğal kaynaktan sitokrom c saflaştırılmıştır [34]. Bu yöntem ile hazırlanan gözenekli ve gözeneksiz nanofiberlerle bisfenol A, glutamik asit, pranolol, herbisit gibi birçok molekülün özgül ayrımının yapıldığı çalışmalar literatürde mevcuttur [35-38].



Şekil 2.16. Moleküler baskılanmış bakteriyel selüloz nanofiberlerin hazırlanması.

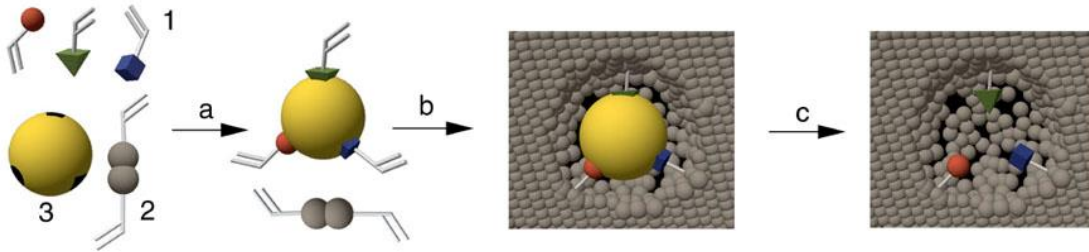
Li ve arkadaşları tarafından protein ayırmaya yönelik manyetik nanofiberler hazırlanmış ve yüzey baskılama yöntemi ile manyetik nanofiberlerin yüzeyinde protein baskılanmış polimer tabakası hazırlanmıştır. Bu amaçla kovalent ve kovalent olmayan yöntemle hazırlanan protein baskılanmış manyetik nanofiberlerin kalıp protein molekülüne yüksek seçicilik ve bağlanma kapasitesi ile bağlanma gösterdiği bildirilmiştir [39, 40].

Ayrıca moleküler baskılanmış nanopartiküllerin elektro-eğrilmiş nanofiber örgü içine gömülmesi yüksek yüzey alanı ve seçiciliğe sahip destek taşıyıcılarının elde edilebilmesi açısından önemli bir yaklaşımdır [41, 42]. Piperno ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, amino asit baskılanmış nanopartiküller (~300 nm) PVA nanofiberlere (~100 nm) gömülerek bağlanmanın gerçekleşeceği yüzeyin artırılması sağlanmıştır. Yokshikawa ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada da moleküler baskılanmış nanofiberler hazırlamak için moleküler baskılama ile elektro-püskürtme/ biriktirme yöntemleri birleştirilerek yüksek yüzey alanına sahip nanofiberler elde edilmiştir [43].

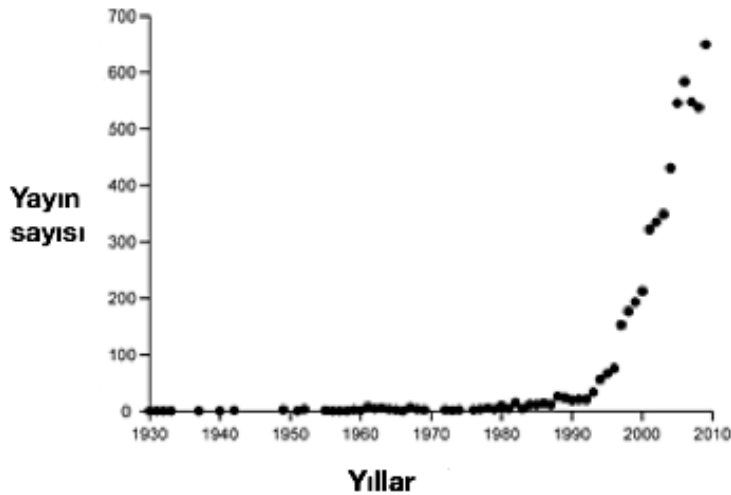
2.5. Moleküler Baskılama

Moleküler baskılama çapraz bağlı polimer içinde hedef moleküle özgü spesifik tanıma bölgelerinin oluşturulmasına dayanan bir teknolojidir [44,45]. İlgilenilen molekül fonksiyonel monomerler ile kovalent, non-kovalent ve metal-şelat etkileşimleri vasıtasıyla etkileştirilir. Çapraz bağlayıcılar varlığında polimerizasyon sonucunda bu fonksiyonel monomer-kalıp molekül etrafında bir kavite oluşturulur. Kalıp molekülün

polimerik yapıdan uzaklaştırılması ile polimerik yapıda bu moleküle hem kimyasal hem geometrik olarak özgü spesifik bağlanma bölgeleri elde edilmiş olur. Moleküler baskılanmış polimerler (MIP) sıcaklık ve basınca dirençli, kimyasallara karşı inert, kararlı ve ucuz malzemelerdir [46, 47]. Aşağıdaki şekilde MIP hazırlama basamakları verilmiştir (Şekil 2.19). Seçici bağlanmanın gerektiği birçok uygulama alanında kullanılmaktadır ve Şekil 2.19'da gösterildiği gibi son yıllarda araştırmalarda sıklıkla tercih edilmektedir.

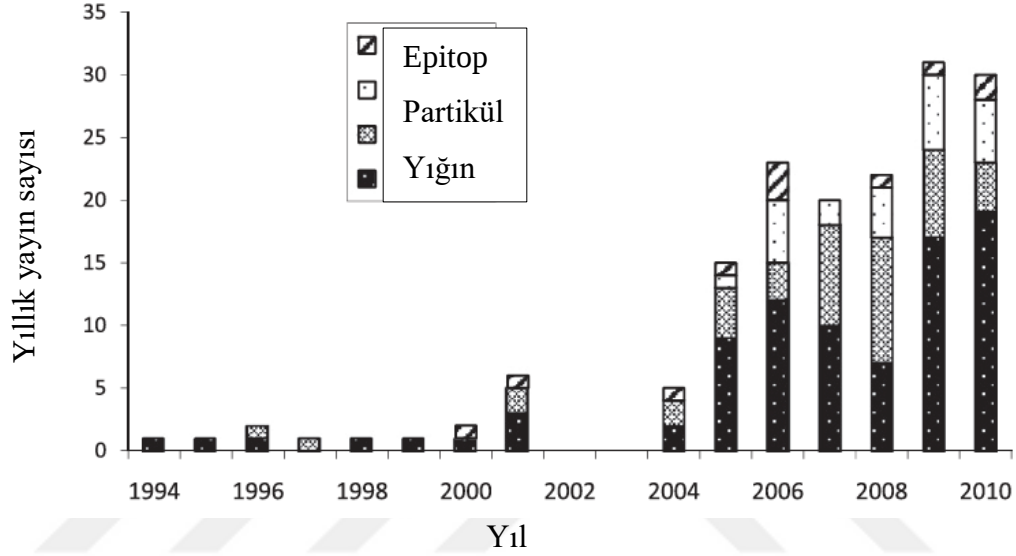


Şekil 2.17. Moleküler baskılama işlemi (1: fonksiyonel monomerler; 2: çapraz bağlayıcı; 3: kalıp molekül). a) Kalıp molekülün fonksiyonel monomerler ile etkileşimi, b) polimerizasyon, c) kalıp molekülün uzaklaştırılması.



Şekil 2.18. Moleküler baskılama ile ilgili yıllar boyunca olan yayın sayıları [48].

Moleküler baskılanmış polimerler (MIP); özellikle 2005'ten beri bilimsel çevreler tarafından ilgi gören ve moleküler kalıpların (>1500Da) kullanıldığı önemli bir çalışma alanıdır (Şekil 2.21). Önemlerine bağlı olarak proteinler sıklıkla çalışılan kalıp moleküllerdir. Ancak MIP alanında yayınlanan çalışmaların %2'den azında kalıp molekül olarak proteinler kullanılır [48].



Şekil 2.19. Yıllara göre yayınlanan makromoleküler baskılama makalelerinin sayısı [48]

Moleküler baskılanmış polimerler, vücuttaki toksik moleküllerin uzaklaştırılması ve nötralleştirilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. Çizelge 2.3'te doğal tanıma elemanları ile MIP'ların karşılaştırılması özetlenmiştir.

Çizelge 2.3. MIP ile doğal tanıma elemanlarının karşılaştırılması

	Doğal Tanıma Elemanları	MIP
Bağlanma afinitesi	Yüksek etkinlik/özgüllük	Değişkenlik gösterir (özellikle makromoleküler kalıplar için)
Genellik	Analit başına tek bir reseptör	Herhangi bir kalıp için geliştirilebilir
Dayanıklılık	Sınırlı kararlılık (her eleman kendi ihtiyaçlarına gereksinim duyar)	Birçok değişken durumda kararlılık (pH, sıcaklık, iyonik kuvvet, çözücüler)
Maliyet	Sentezi Pahalı fakat Maliyet Olarak Uygun	Ucuz
Depolama	Günlerce Oda sıcaklığında depolanabilme	Birkaç aydan başlayarak yıllık mertebeye kadar performanstan kaybetmeden depolama
Sentez/hazırlama	Zaman alıcı	Basit, kolay
Sensör uygulamaları	Dönüştürücü yüzeyi ile zayıf uyumluluk	Tamamen uyumlu
Altyapı gereksinimleri	Pahalı analitik cihazlar uzman ihtiyacı	İşaretsiz tanıma

2.5.1. Moleküler Baskılama İşlemine Etki Eden Etkenler

2.5.1.1. Kalıp Molekül

Moleküler baskılama yöntemi metal iyonları, antibiyotikler, ilaçlar, amino asitler, peptitler, proteinler, virus ve bakteri gibi pek çok farklı yapıya uygulanabilmektedir [49-52]. Kalıp molekül hedef molekül olarak da ifade edilebilmektedir. İlgilenilen kalıp molekülün kimyasal özellikleri seçilecek fonksiyonel monomerin belirlenmesinde önemlidir. Kalıp molekül ile fonksiyonel monomerler arasındaki etkileşim polimerizasyon boyunca kararlı olmalı ve kalıp uzaklaştırma basamağında kolaylıkla uzaklaşabilmelidir. Böylelikle polimerizasyon sırasında konformasyonel değişime

uğramadan kalıp işlem sonunda kolaylıkla uzaklaştırılarak kalıp moleküle özgü çok sayıda spesifik bağlanma bölgesi hazırlanmış olur.

2.5.1.2. Fonksiyonel Monomerler

Etkin bir baskılama işlemi için fonksiyonel monomerler ile kalıp molekül arasındaki etkileşim çok önem arz etmektedir [53]. Kalıp molekülün doğru yönlendirmesi ve baskılama işlemi sırasında konformasyonel durumunun bozulmadan kalması gereklidir. Kalıp molekül için uygun monomerin bu molekül ile kararlı etkileşim oluşturabilecek fonksiyonel gruplar içermesi gerekmektedir. En çok kullanılan fonksiyonel monomerler akrilik asit, metakrilik asit, 4-vinilbenzoik asit, stiren, akrilamid, metil metakrilattır.

2.5.1.3. Çapraz Bağlayıcı

Çapraz bağlayıcılar polimerik yapının rijit bir yapıda olması ve MIP lerin içinde seçici tanıma bölgelerinin oluşturulmasında etkin göreve sahip olduğundan baskılama işlemi için önemli parametrelerdendir [54]. İdeal çapraz bağlayıcı kalıp molekül ile etkileşime girmemelidir. Böylelikle non-spesifik adsorpsiyonda kaçınılmış olunur. En sık kullanılan çapraz bağlayıcılar etilen glikol dimetakrilat, divinil benzene, N,N-etilenbisakrilamidir.

2.5.1.4. Başlatıcı ve Polimerizasyon Sıcaklığı

Moleküler baskılama işleminde polimerizasyonun başlaması için genellikle ısı ya da fotobaşlatıcılar kullanılmaktadır. İdeal başlatıcı polimerizasyon derecesini kontrol edebilmelidir [55]. Fotolitik yöntemin düşük sıcaklıklarda enantioseçicilik özelliklerini iyileştirdiği rapor edilmiştir. Kalıp molekül-monomer arasındaki kompleksleşme denge reaksiyonudur ve sıcaklığa bağlıdır. Genel olarak düşük sıcaklıkların seçicilik özelliklerini geliştirdiği bilinmektedir.

2.5.1.5. Polimerizasyon Süresi

Polimerizasyon süresi ile oluşan polimer zincirlerinin sayısı artmakta, bu da polimerin morfolojik olarak daha rijit olmasına neden olmaktadır. Bağlanma bölgelerinin oluşturulmasında avantajlı gibi görünse de kütle aktarım direncini artırdığı için bağlanma kinetiğini düşürmektedir. Diğer taraftan polimerizasyon süresinin kısa olmasıyla polimerik yapı daha gevşek bir yapı olarak ortaya çıkmaktadır. Bu durumda da baskılama etkinliği düşmektedir. Polimerizasyon süresinin optimizasyonu her bir baskılama işlemi için belirlenmelidir [56].

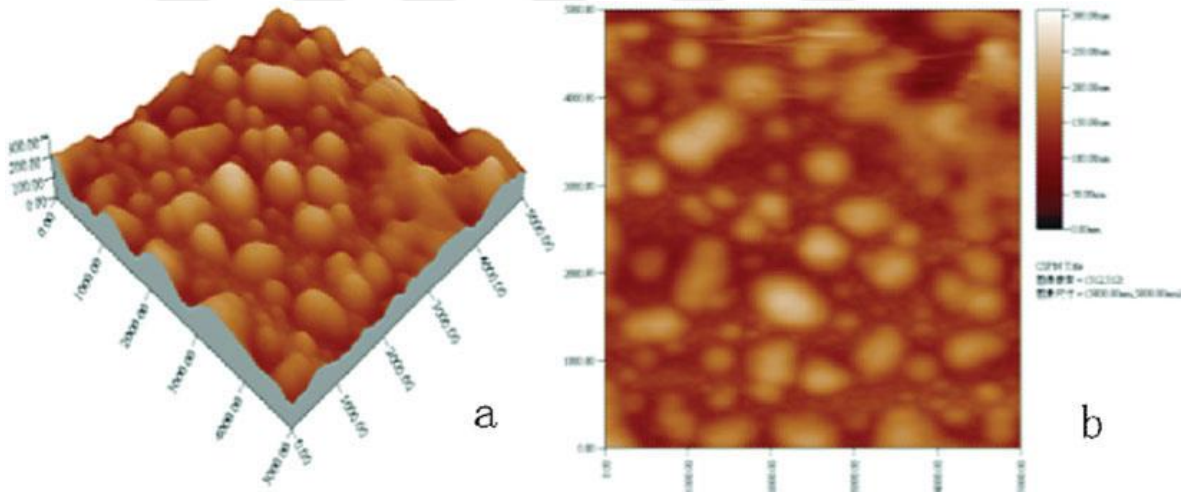
2.5.1.6. Çözücü Türü

Polimerik yapının morfolojisi ve ayrıca baskılama işlemi kullanılan çözücünün türüne bağlıdır. Seçilen çözücü kalıp molekül-monomer kompleksinin kararlılığını sağlamalı ve polimerizasyon içeriğini çözebilmelidir. Gözenekli polimerik yapının hazırlanmasında çözücü ayrıca porojen olarak da görev yapacağından böyle bir durumda seçimi önemlidir. Uygun çözücü kullanımı yüksek seçicilik ve yüksek bağlanma kapasitesi ile moleküler baskılanmış polimer hazırlanmasında önemlidir [57].

2.6. Estradiol Baskılanmış Polimerler

Estradiol ve progesteron gibi fenolik steroid östrojenler doğal sularda ve şebeke sularında bulunan endokrin bozucu kimyasallardandır. Bu endokrin bozucu kimyasalların belirlenmesi ve uzaklaştırılması hayvanların ve insanların normal endokrin fonksiyonlarını ve fizyolojik durumlarını olumsuz etkilediği için gün geçtikçe dikkat çekmektedir [58]. Bundan dolayı sulardan EDC'lerin seçici uzaklaştırılması amacıyla hızlı ve ucuz bir yöntemin geliştirilmesi çok önem arz etmektedir [59]. Estradiolun sulardan uzaklaştırılmasına yönelik pek çok çalışma vardır. Farber ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada kovalent ve non-kovalent etkileşimler kullanılarak 17 β -estradiol uzaklaştırılmasına yönelik MIP ler hazırlanmıştır [60]. Bu amaçla 4-vinil benzen kovalent monomer, metakrilik asit non-kovalent monomer, etilen glikol dimetakrilat çapraz bağlayıcı ve asetonyitril porojen olarak kullanılmıştır. En yüksek adsorpsiyon kapasitesinin (10,73 μ g/g) kovalent etkileşimler kullanılarak yapılan baskılama işlemi sonucunda elde edilen polimerler olduğu sonucuna varılmıştır. 17 β -estradiol uzaklaştırılması için yapılan başka bir çalışmada submikron

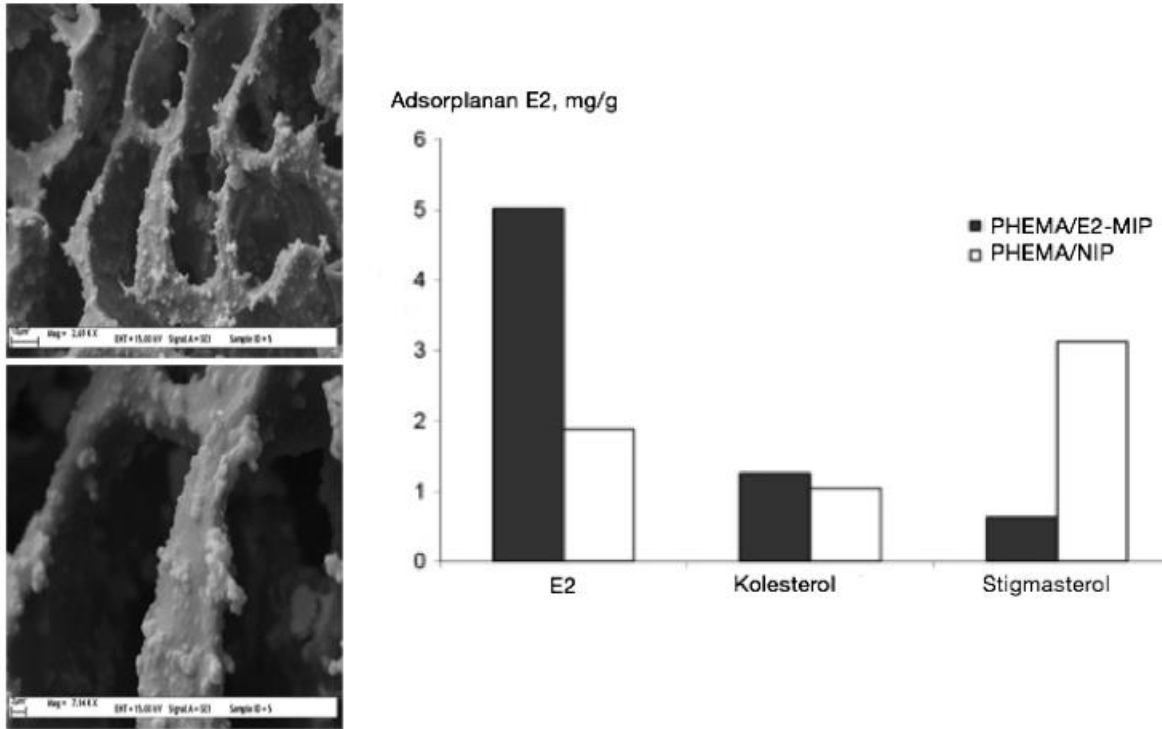
partiküller fonksiyonel monomer olarak 2-(triflorometil) akrilik asit, çapraz bağlayıcı olarak trimetilpropan trimetakrilat ve porojen olarak asetonyitril kullanılarak hazırlanmıştır [61]. Bu partiküllerin boyutları taramalı elektron mikroskop (SEM) ve atomik kuvvet mikroskop (AFM) ölçümleri doğrultusunda 300 nm ile 1,5 μm arasında bulunmuştur (Şekil 2.5). Kromatografik sistemde çalışılan bu partiküllerin 17- α -estradiol ve 17- β -estradiol ayırımı 2,45 ayırma faktörü ve baskılama faktörü 3,01 ile gerçekleştirdiği rapor edilmiştir. HPLC analizleri sonucunda izomerler olan 17 β -estradiol ile 17 α -estradiolün ayırımı yüksek seçicilikte olduğu belirlenmiştir. Hedef molekülün adsorbente bağlanması hidrojen bağları ile olduğu rapor edilmiştir.



Şekil 2.20. E2 baskılanmış partiküllerin AFM görüntüleri. a) üç boyutlu ve b) iki boyutlu.

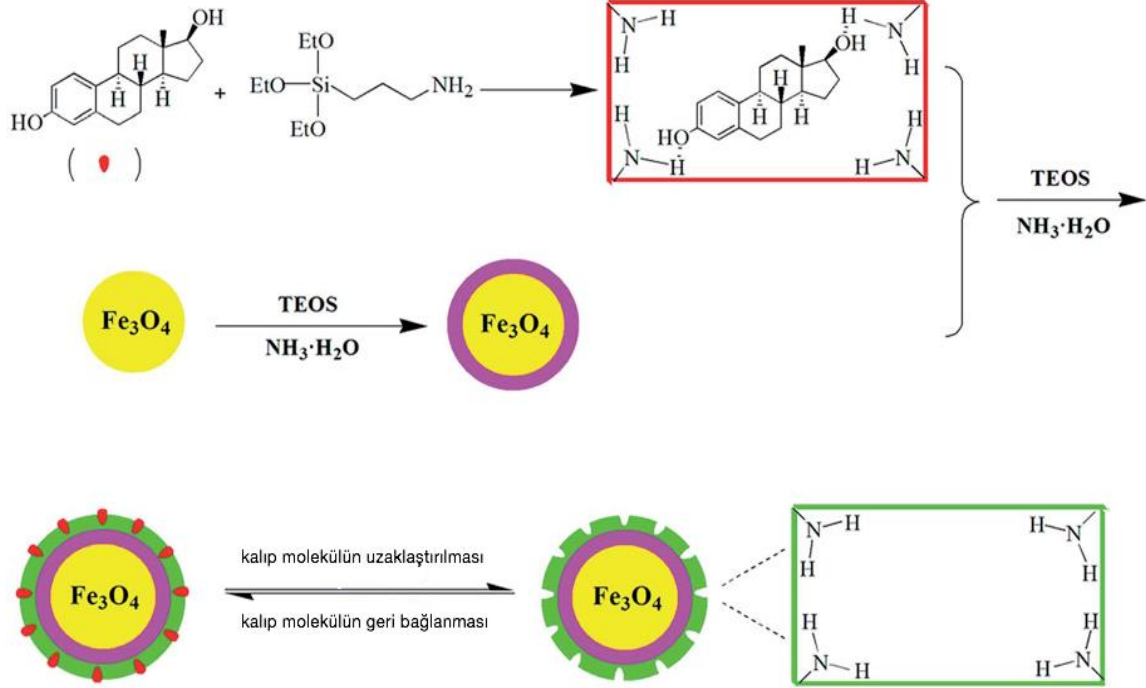
17 β -Estradiol (E2) uzaklaştırılması amacıyla Koç ve arkadaşları tarafından E2 baskılanmış partikül gömülü polihidroksietilmetakrilat kriyojeller hazırlanmıştır [62]. Hazırlanan kompozit kriyojeller FTIR, SEM, şişme ve yüzey alanı ölçümleri ile karakterize edilmiştir. E2 baskılanmış kriyojellerle 5,32 mg/g adsorpsiyon kapasitesine ulaşılmıştır. Yarışmacı moleküller olarak seçilen kolesterol ve stigmasterol varlığında yapılan adsorpsiyon çalışmaları sonucunda kolesterole karşı 7,6 kat, stigmasterole karşı 85,8 kat daha seçici olarak bağlanma olduğu sonucuna varılmıştır. Hazırlanan kriyojellerin adsorpsiyon kapasitesinde önemli bir düşüş olmaksızın defalarca kullanılabileceği bildirilmiştir. Şekil 2.6a'da hazırlanan E2 baskılanmış partikül gömülü

kriyojellerin SEM görüntüleri, Şekil 2.6b'de ise yarışmacı moleküllere karşı MIP kriyojellerin seçicilik özellikleri gösterilmiştir.



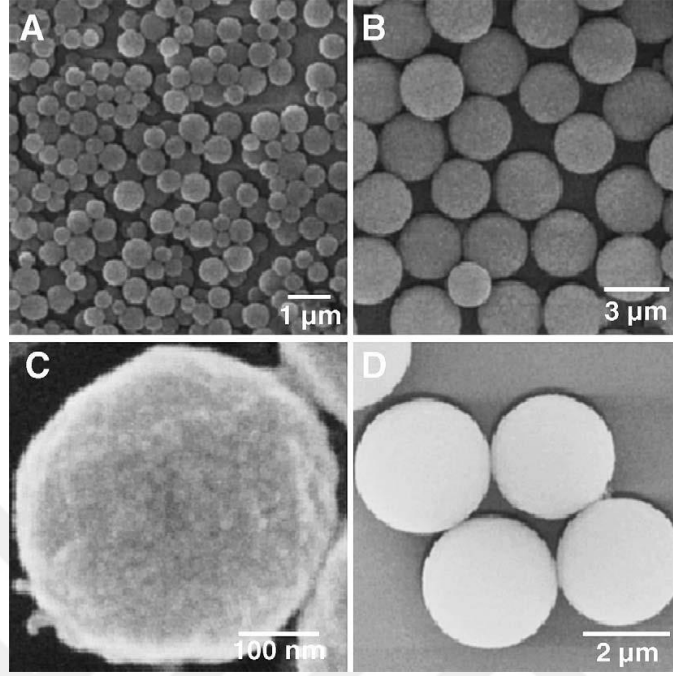
Şekil 2.21. a) 17- β -Estradiol baskılanmış partikül gömülü kriyojellerin SEM görüntüsü, b) yarışmacı moleküllere karşı seçicilik özellikleri [63].

Göl su örneklerinden estradiolun seçici izolasyonu ve belirlenmesi için yapılan bir çalışmada nano-boyutlu çekirdek-kabuk moleküler baskılanmış manyetik partiküller hazırlanmıştır [64]. Bu amaçla yüzeyi silika modifiye edilmiş mantetik nanopartiküller kolay sol-jel işlemi için kullanılmıştır (Şekil 2.24). Hedef molekül olan estradiol ve APTES 20 mL etanolün içinde birleştirilmiş ve 1 saat süresince etkileştirilmiştir. Ardından manyetik nanopartiküller ve TEOS eklenerek oda sıcaklığında 3 saat süresince karıştırılmıştır. Elde edilen nanopartiküllerden hedef molekülün uzaklaştırılması için etanol-asetik asit çözeltileri kullanılmıştır. Tek basamaklı polimerizasyon sonucunda manyetik nanopartiküllerin yüzeyinde 5 nm kalınlığında oluşturulan MIP tabakası ile yüksek bağlanma kapasitesi, hızlı bağlanma kinetiği ve üstün seçicilik özelliklerine sahip polimerler elde edilmiştir.



Şekil 2.22. Estradiol baskılanmış sol-jel manyetik partiküllerin hazırlanması [33].

Wei ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, tek basamakta çöktürme polimerizasyonu ile E2 baskılanmış mikro ve nanoküreler hazırlanmıştır. Bu partiküllerin BET analizleri sonucunda homojen gözenek boyut dağılımına sahip olduğu gösterilmiştir. Mikro ve nanokürelerin boyutları 3 μm ile 400 nm arasında değişmektedir (Şekil 2.25). Partiküllerin ayırma etkinlikleri HPLC ile tayin edilmiştir ve analog moleküllere göre yüksek seçicilik ile ayırma sağladıkları rapor edilmiştir.



Şekil 2.23. Estradiol baskılanmış mikro ve nanokürelerin SEM görüntüleri [65].

Meng ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada non-kovalent baskılama tekniği kullanılarak estradiol baskılanmış mikroküreler (1-2 µm) hazırlanmıştır. Bu amaçla fonksiyonel monomer olarak akrilamit ve çapraz bağlayıcı olarak trimetilpropanol trimetakrilat kullanılmıştır. MIP mikrokürelerin estradiol maksimum adsorpsiyon kapasitesi 380 nmol/g ve baskılama etkinliği 35 olarak bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada doğal kaynak olarak göl suyu kullanılmış ve hazırlanan MIP mikroküreler ile estradiol yüksek oranda uzaklaştırılmıştır [66].

Lai ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada atık sulardan estradiol seçici uzaklaştırılması amacıyla E2 baskılanmış metakrilat bazlı mikropartiküller hazırlanmıştır. Bu partiküllerin suda 17 gün boyunca homojen dispersiyonu elde edilebilmiştir. 20 mg MIP mikropartiküller kullanılarak 1 mL atık sudan 2 dakika sonunda % 97'ye kadar yüksek geri kazanım oranları elde edildiği rapor edilmiştir. Seçici E2 uzaklaştırma kapasitesi 15 mg/g olarak tespit edilmiştir [67].

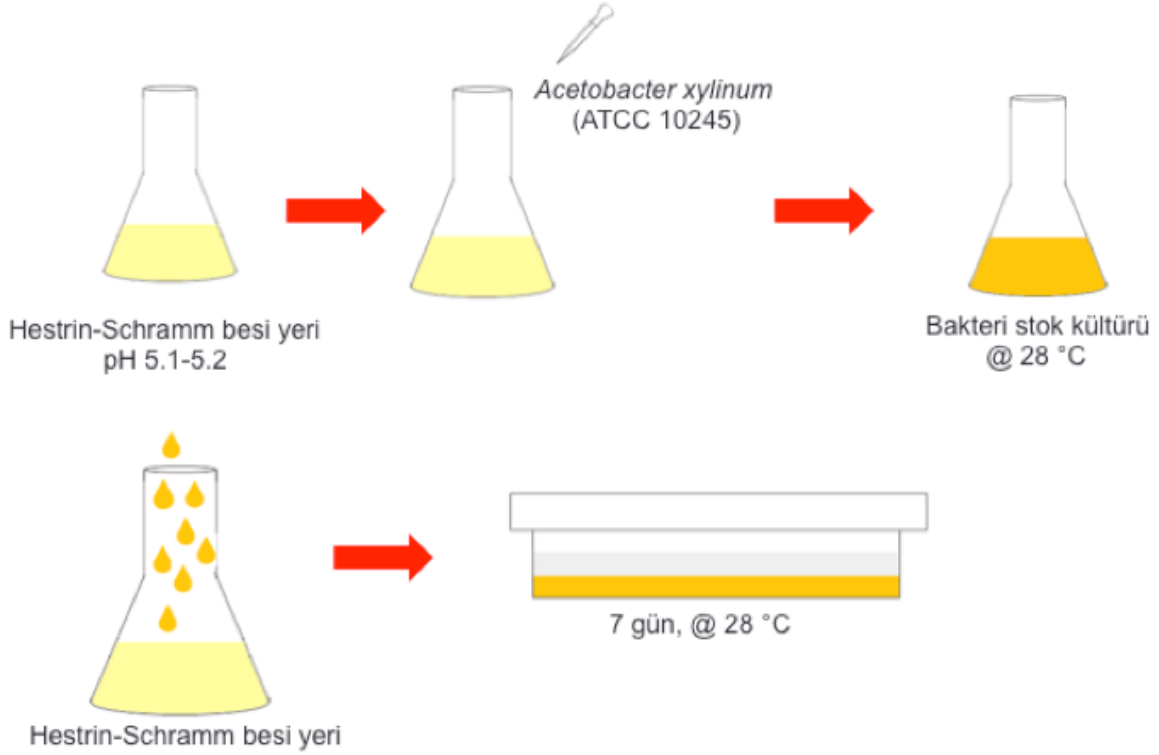
3. Deneysel Yöntemler

3.1. Kimyasallar

Kalıp molekül 17- β Östradiol (E2) (E 8875-56), N-metakriloil-L-triptofan metil ester (MATrp) sentezinde kullanılan L-triptofan metilester ve metakroil klorür Sigma'dan (St. Louis, ABD), monomer 2-hidroksietil metakrilat (HEMA) ve çapraz bağlayıcı etilen glikol dimetakrilat (EDMA), başlatıcı azobisisobutironitril (AIBN) Fluka A.G. (Buchs, İsviçre) firmasından temin edilmiştir. Besi yeri bileşenleri D-glükoz, maya ekstrektı, pepton Merck AG (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiştir. *Acetobacter xylinum* (ATCC 10245) suşu Amerika Birleşik Devletleri, Tarımsal Araştırma Servisi Kültür Koleksiyonu'ndan alınmıştır.

3.2. Bakteriyel Selüloz Nanofiberlerin (BC-NF) Üretimi

Bakteriyel selüloz nanofiberlerin (BC-NF) üretimi *Acetobacter xylinum* suşunun Hestrin-Schramm besi yerinde inkübasyonu sonucunda gerçekleştirilmiştir. Hestrin-Schramm besi yeri 20 g/L glukoz, 10 g/L pepton, 10 g/L maya ekstraktı, 4 mM KH₂PO₄ ve 6 mM K₂HPO₄ içermektedir. Besi yerinin pH'sı 1 M HCl kullanılarak 5,1 ile 5,2 arasına ayarlanır. Stok bakteri kültürü *A. xylinum* bakterisinin 28 °C'de 3 gün süreli karıştırılmalı ortamda inkübasyonu sonucunda elde edilir. BC-NF'ler stok kültürün 1:10 oranında petri kaplarında durgun ortamda 7 gün süresince inkübasyonu sonucunda oluşmaktadır. Bu işlemler Şekil 1'de şematik olarak gösterilmektedir. Sentezlenen BC-NF'ler 1 M NaOH kullanılarak 70 °C'ta 90 dak boyunca tutularak nanofiberler içinde bulunan bakterilerden uzaklaştırılır. Ardından BC nanofiberler (ID:1,15 cm) kesilerek distile su ile defalarca yıkanarak oda sıcaklığında saklanır.



Şekil 3.1. Bakteriye selüloz nanofiberlerin üretim basamakları.

3.2.1. BC-NF Karakterizasyonu

3.2.1.1. FTIR- ATR Analizi

BC nanofiberlerin yapısal özelliklerinin aydınlatılması amacıyla Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR 8000 Series, Shimadzu, Japonya) kullanılmıştır. Kuru örneklerin ATR-FTIR spektrumları $600-4000\text{ cm}^{-1}$ aralığında alınmıştır.

3.2.1.2. SEM Analizi

BC nanofiberlerin morfolojik karakterizasyonu taramalı elektron mikroskobu (SEM) (JEOL JSM 5600 SEM Tokyo, Japan) ile yapılmıştır. Bu amaçla kuru olarak hazırlanan nanofiberler karbon bant üzerine yapıştırılmış ve 15 mA akım altında 15 sn süresince tutularak Au-Pd kaplanması sağlanmıştır. Elde edilen görüntüler 20 kV kullanılarak farklı büyütme ölçeklerinde alınmıştır.

3.3. 17-β Östradiol (E2) Baskılanmış Polimerlerin Sentezi

3.3.1. MATrp Monomerinin Sentezi

MATrp şu metoda göre hazırlanmıştır: 100 mL diklorometan (CH_2Cl_2) içerisinde 0,2 g hidrokinon ve 5,0 g L-triptofan metil ester çözümüştür. Çözelti 0°C'a soğutulmuştur. Çözeltiye 12,7 g trietilamin ilave edilmiştir. Bu çözeltinin üstüne 5,0 mL metakroilklorür eklenmiştir. Karışımı 2 saat azot atmosferinde karıştırılmıştır. Reaksiyondan sonra, reaksiyona girmeden kalan metakroilklorür, 10% sodyum hidroksit çözeltisiyle ekstrakte edilmiştir. Sulu faz uzaklaştırılmış, katı kısım etanolde çözümüştür.

3.3.2. MATrp Monomerinin Karakterizasyonu

3.3.2.1. FTIR Analizi

FTIR spektrofotometresi (FTIR 8000 Series, Shimadzu, Japonya) kullanılarak MATrp monomerinin FTIR spektrumu elde edilmiştir. 4 mg MAT monomeri, 196 mg KBr ile karıştırılıp tablet yapılmış ve FTIR spektrumu çekilmiştir.

3.3.2.2. NMR Analizi

MATrp monomerinin ^1H NMR spektrumu, DMSO-d_6 içerisinde Varian Mercury Plus 400 MHz NMR cihazı kullanılarak alınmıştır. Kimyasal kaymalar (δ) ppm cinsinden DMSO-d_6 referans alınarak rapor edilmiştir.

3.3.3. 17-β Östradiol Baskılanmış Poli(HEMATrp) Partiküllerin Hazırlanması

E2 baskılanmış partiküllerin hazırlanması; Polimerizasyon iki ayrı sıvı faz şeklinde tasarlanmıştır. İlk faz; 40 mL, 0,374 g PVA, 57,8 mg SDS ve 46,8 mg sodyum bikarbonat. İkinci faz, 400 ml 0,2 g PVA ve 0,2 g SDS. Monomer fazı ise; MATrp monomeri 200 μL , 0,14 ml HEMA ve 2,8 ml EDMA ile hazırlanmıştır. Monomer fazı, ilk sıvı faza eklenmiştir. Miniemülsiyon elde etmek amacıyla karışım 25.000 rpm'de homojenize edilmiştir (T10, Ika Labortechnik, Almanya). Daha sonra, 400 μmol E2 (kalıp molekül) miniemülsiyona eklenmiş ve manyetik karıştırıcı ile 2 saat karıştırılmıştır. E2 içeren miniemülsiyon karıştırma sırasında ikinci sıvı faza eklenmiştir ve cam polimerizasyon reaktörüne alınmıştır. Reaktör 300 rpm'de karıştırılmış ve 40

°C'ye ısıtılmıştır (Radleys Carousel 6, Essex, İngiltere). En son; 0,230 g sodyum bisülfid ve 0,252 g amonyum persülfat karışıma eklenmiştir. Polimerizasyon 24 saat, 40 °C'de devam etmiştir. Elde edilen E2 baskılanmış partiküller 6 kez deiyonize su ve 6 kez etanol ve 2 kez tekrar de-iyonize su ile yıkanarak reaksiyona girmeyen monomer, yüzey aktif madde ve başlatıcı uzaklaştırılmıştır. Her bir yıkama basamağı için çözelti 9000 rpm'de 1 saat süreyle santrifüj edilmiş (Allegra-64R Beckman Coulter, ABD) ve nanopartiküller yıkama ortamından ayrılmıştır. Temizlenen partiküller, tekrar deiyonize su içerisine alınmış ve +4°C'de saklanmıştır. NIP poli(HEMATrp) partiküller ortamda E2 olmadan aynı yöntemle hazırlanmıştır.

3.3.4. 17- β Östradiol Baskılanmış Poli(HEMATrp) Partiküllerin Karakterizasyonu

3.3.4.1. Zeta Boyut Analizi

Zeta boyut analizi; partiküllerin hidrodinamik boyutu (0,6 nm-6,0 μ m aralığında), zeta potansiyeli (maksimum iletkenlik 200 mS) ve molekül ağırlığının (1×10^3 - 2×10^7 aralığında) tayinine olanak sağlayan ve ışık saçılması tekniği ile ölçüm yapan bir sistemdir. Sentezlenen poli(HEMATrp) partiküllerin analizi, Nano Zetasizer (NanoS, Malvern Instruments, Londra, İngiltere) ile belirlenmiştir. 3 ml çözelti analizörün numune gözüne yerleştirilmiştir. 90° geliş açısında ışık saçılması tayin edilmiştir. Deiyonize suyun yoğunluğu (0,88 mPa.s) ve kırınma indeksi (1,33) kullanılmıştır. Işık saçılma sinyali partikül sayısı/s olarak hesaplanmıştır. Ölçümler 3 kere tekrarlanmış ve sonuçlar cihaz yazılımı ile incelenmiştir.

3.3.5. 17- β Östradiol (E2) Baskılanmış Nanopartikül/Bakteriyel Selüloz Nanofiberlerin (E2-NP/BC-NF) Hazırlanması

3.3.6. E2-NP/BC-NF Karakterizasyonu

17- β Östradiol (E2) baskılanmış Nanopartikül/Bakteriyel Selüloz Nanofiberlerin (E2-NP/BC-NF) hazırlanması amacıyla 17- β estradiol (E2) baskılanmış nanopartiküller (E2-NP) BC nanofiberlerin yüzeyine immobilize edilmiştir. Bu amaçla E2-NP içeren sulu çözeltiye BC nanofiberler oda sıcaklığında eklenir ve 24 saat boyunca etkileşmeleri sağlanır. Ardından yapısına E2-NP entegre olan BC-NF liyofilize edilerek kurutulur.

3.3.6.1. SEM Analizi

E2 baskılanmış kompozit nanofiberlerin morfolojik karakterizasyonu taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılmıştır. Bu amaçla kuru olarak hazırlanan nanofiberler karbon bant üzerine yapıştırılmış ve 15 mA akım altında 15 sn süresince tutularak Au-Pd kaplanması sağlanmıştır. Elde edilen görüntüler 20 kV kullanılarak farklı büyütmelemlerde alınmıştır.

4. Sonuçlar ve Tartışma

Tez kapsamında kullanılan estradiol baskılanmış nanopartiköl/bakteriyel selölöz nanofiberler 3 aşamada hazırlanmıştır. İlk aşama, BC nanofiberlerin üretilmesi ve sonrasında yıkanarak temizlenmesi sürecidir. Bu süreç sonunda BC-NF ler çok yüksek saflıkta, kolay ve ucuz bir işlem sonucunda elde edilmektedir. İkinci aşamada E2 baskılanmış polimerik nanopartiköller hazırlanmış ve hedef molekül yapıdan uzaklaştırılmıştır. Son olarak BC nanofiberlerin yapısına E2 baskılanmış nanopartiköller eklenerek sulardan E2'nin seçici olarak uzaklaştırılması için yüksek yüzey alanına sahip kompozit nanofiberler destek malzemesi olarak elde edilmiştir.

4.1. BC-NF'lerin Hazırlanması ve Karakterizasyon Çalışmaları

4.1.1. BC Nanofiberlerin Optik Görüntüsü

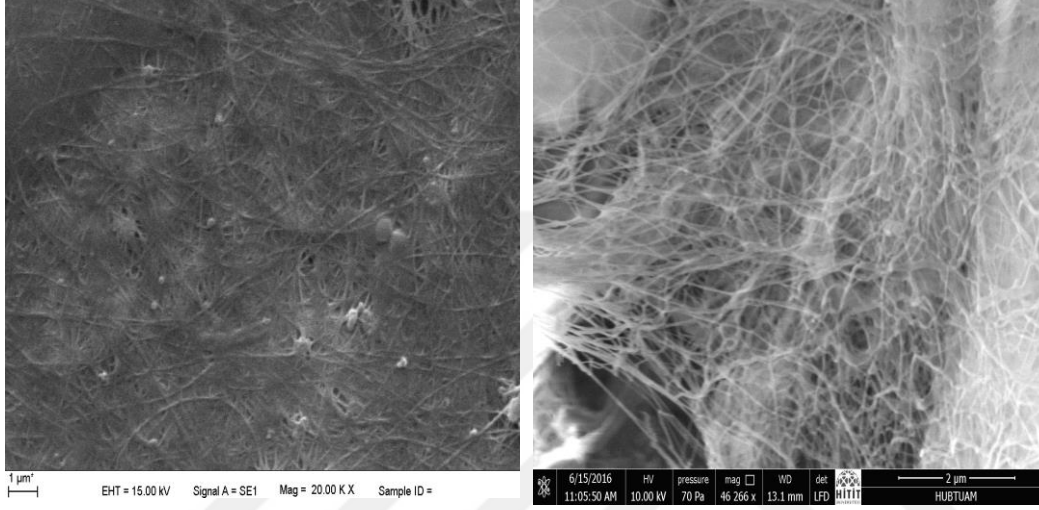
BC nanofiberler hazırlanması amacıyla öncelikle *Acetobacter xylinum* bakterisinin 28°C'de stok kültürü hazırlanmıştır. Stok kültürden %10 oranında bakteriyel kültür taze Hestrin-Schramm besi yerine aktarılmış ve inkübasyon 7 gün süresince devam etmiştir. BC nanofiberler bakteriyel inkübasyon sonucunda sıvı-hava ara yüzeyinde oluşmaktadır. Elde edilen BC-NF'lere ait optik fotoğraf Şekil 4.1'de gösterilmektedir.



Şekil 4.1. BC nanofiberlerin optik fotoğrafı.

4.1.2. BC Nanofiberlerin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Görüntüleri

Bakteriyel selüloz ve E2 baskılanmış nanopartikül içeren bakteriyel selüloz nanofiberlerin SEM görüntüleri aşağıda verilmektedir.

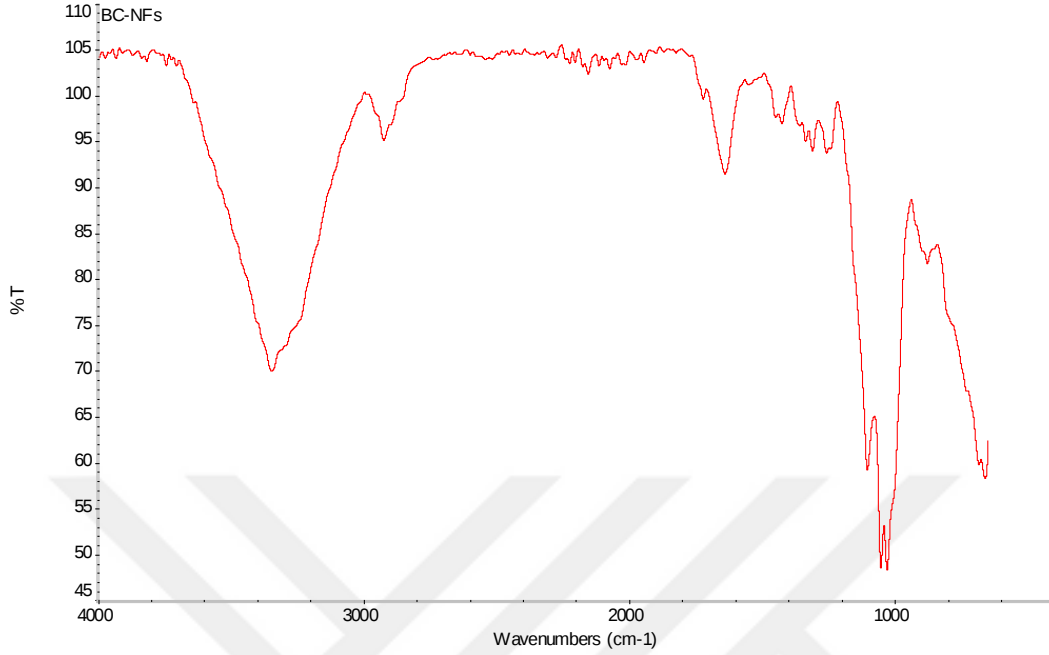


Şekil 4.2. BC-NF'lerin SEM görüntüleri.

Şekil 4.2'de görüldüğü gibi BC nanofiberler üç boyutlu ağısı yapıya sahiptirler. Fiber çapları 50-100 nm arasında değişmektedir. Nanofiberler arasında görülen gözenekli yapı sayesinde akış direnci çok düşüktür. Bu özelliği ile BC nanofiberler atık su gibi yüksek viskoziteye sahip akışkanlar ile bile kolaylıkla çalışabilmektedir.

4.1.3. BC Nanofiberlerin FTIR-ATR Spektrumu

Şekil 4.3'de bakteriyel selüloz nanofiberlere ait FTIR-ATR spektrumu gösterilmiştir. Selüloza ait karakteristik pikler olan ve 3600-3000 cm^{-1} 'de görülen geniş band O-H titreşim frekanslarını, 1430 cm^{-1} 'de görülen band ise CH₂ eğilme titreşimlerini ve 1105 cm^{-1} de görülen band ise C-O-C glikosidik eter titreşimlerine aittir [95].



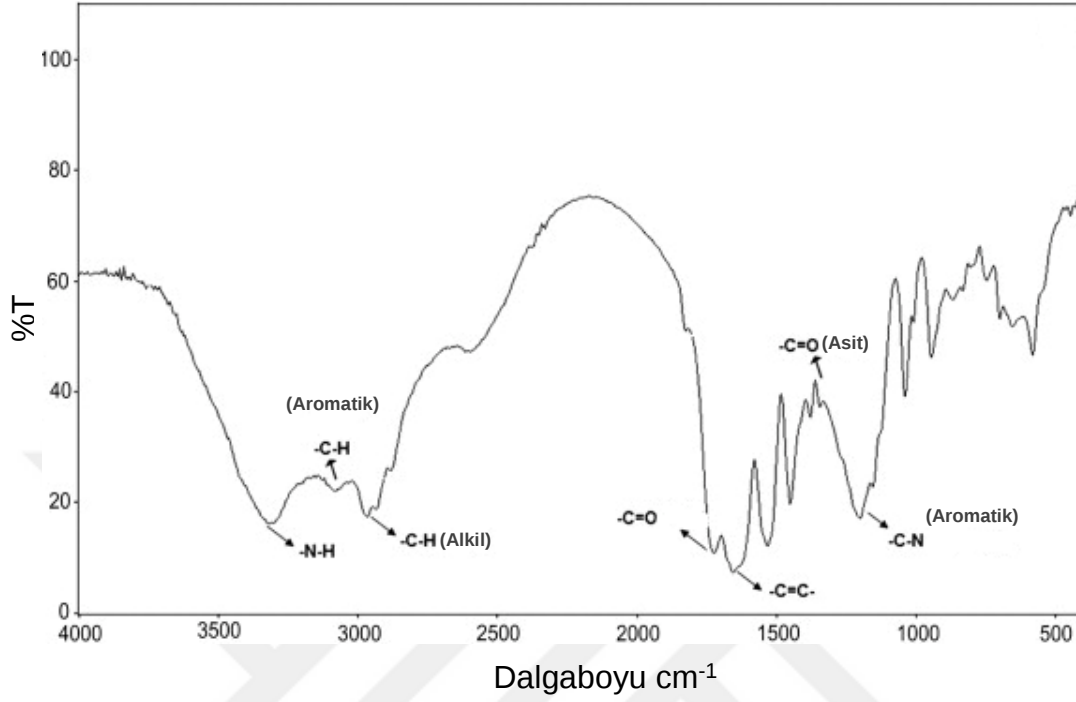
Şekil 4.3. BC Nanofiberlere ait FTIR-ATR spektrumu.

4.2. 17- β Östradiol Baskılanmış Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

4.2.1. MATrp Monomerinin Karakterizasyonu

4.2.1.1. FTIR Analizi

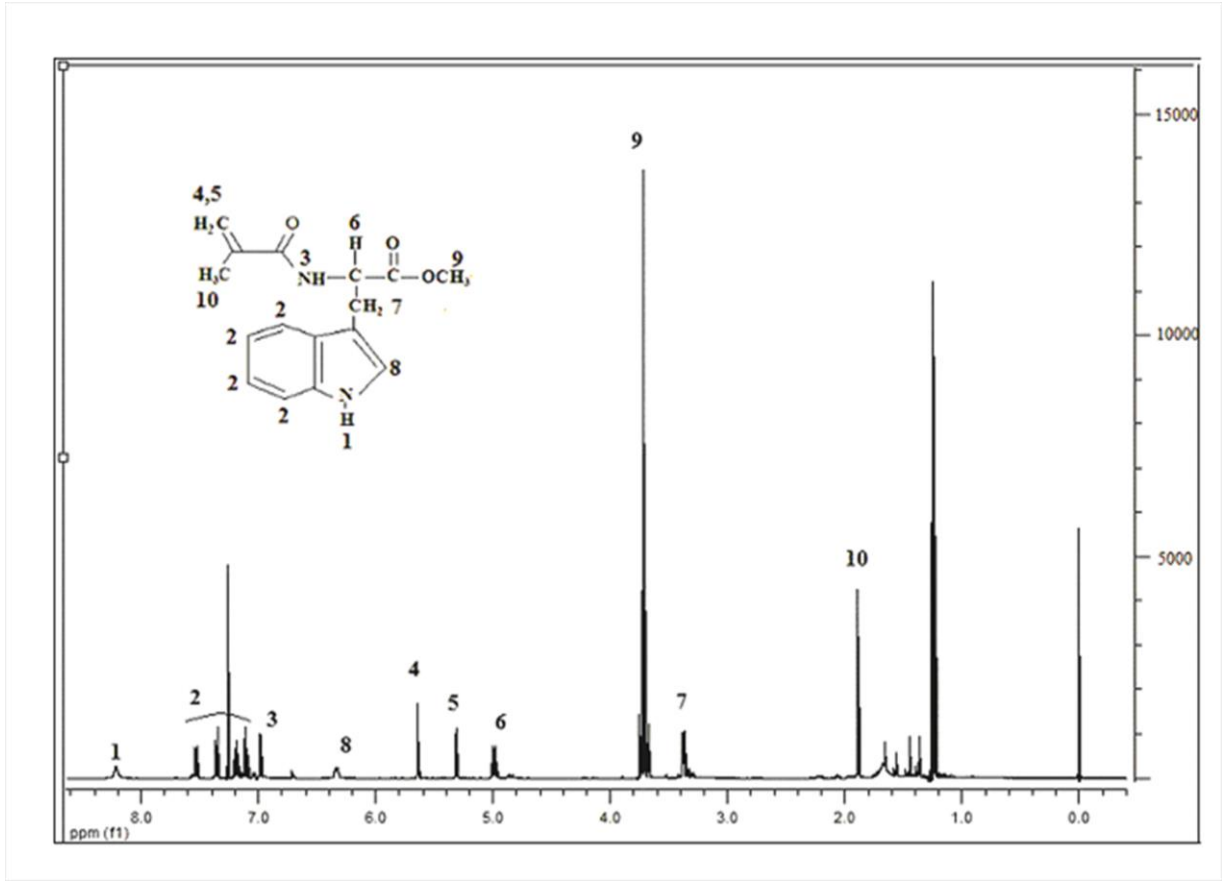
MATrp monomerinin yapısının belirlenmesi için FTIR tekniği kullanılmıştır [96]. Şekil 4.4'de MATrp monom erinin FTIR spektrumu verilmiştir. Şekil 4.4'de görüldüğü gibi MATrp monomeri 3300 ve 3500 cm^{-1} absorpsiyon bandları -NH gerilme bandlarıdır. 3100-3000 cm^{-1} 'de aromatik CH gerilme bandları aittir. 3000-2800 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bandları alifatik -CH gruplarını temsil etmektedir. 1715 cm^{-1} 'de karbonil (-C=O) absorpsiyon bandı görülmektedir. C=C ait gerilme bandları 1600-1670 cm^{-1} 'de görülmektedir. 1370-1250 cm^{-1} ve 1320-1210 cm^{-1} 'de absorpsiyon bandları sırasıyla aromatik C-N ve asidik C=O gerilme bandlarını temsil etmektedir.



Şekil 4.4. MATrp monomerine ait FTIR spektrumu.

4.2.1.2. NMR Analizi

MATrp karakterizasyonu hidrojen NMR ile yapılmıştır [97]. Şekil 4.5'de MATrp'nin ^1H -NMR spektrumunu göstermektedir. MATrp monomerinin yapısında bulunan ilgili protonlara ait pikler spektrum üzerinde işaretlenmiştir. MATrp monomerine ait karakteristik pikler şunlardır: 8,22 (1H s, br, N-H), (2) 7,54-7,09 (4H aromatikler), (3) 6,98 (1H d, amid NH $J=5,58$), (4) 5,64 (1H, t CH_2), (5) 5,32 (1H, t, CH_2), (6) 4,99 (1H, m, CH) (7) 3,38(2H, dd, CH_2), (8) 6,34 (1H,d, 5'li halka, $J=7,6$), (9) 3,71 (3H, s, OCH_3), (10) 1,24 (3H ,t, CH_3), (400 MHz, DMSO-d_6).



Şekil 4.5. MATrp monomerine ait ^1H -NMR spektrumu.

4.2.2. 17- β Östradiol Baskılanmış Poli(HEMATrp) Partiküllerin Karakterizasyonu

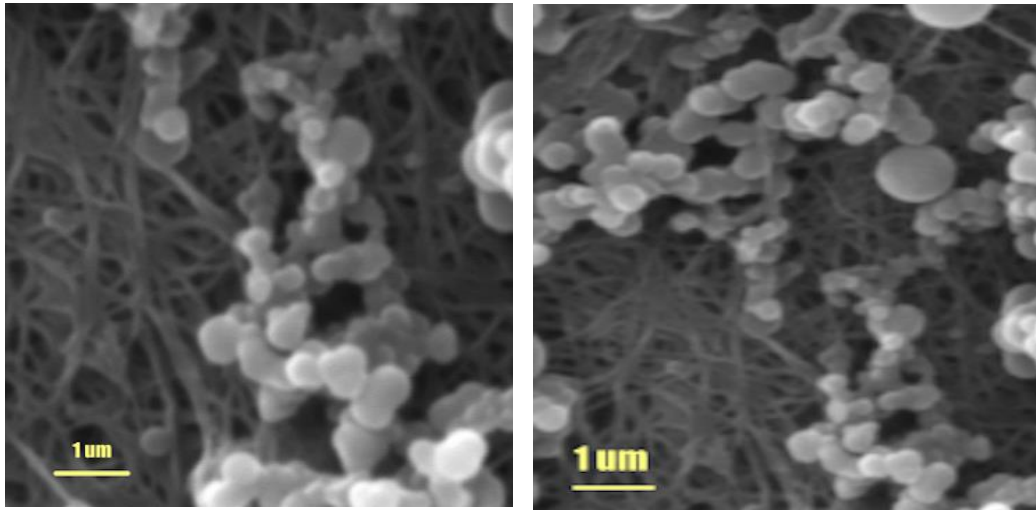
4.2.2.1. Zeta Boyut Analizi

Şekil 4.5'de 17- β östradiol baskılanmış ve baskılanmamış partiküllerin boyut analizleri görülmektedir. 17- β östradiol baskılanmış partiküllerin ortalama boyutu 167.7 nm ve polidispersitesi 0.300'dür. 17- β östradiol baskılanmamış partiküller içinse bu değerler sırasıyla 165.3 nm ve 0.210 olarak bulunmuştur. Polimerizasyon işlemleri sonucunda boyutları birbirine yakın baskılanmış ve baskılanmamış partiküller elde edilmiştir.

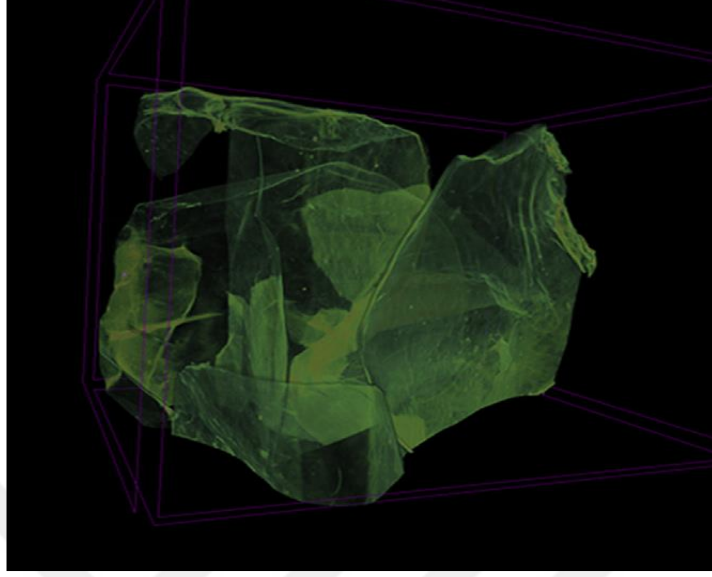
4.2.3. 17- β Östradiol (E2) Baskılanmış Nanopartikül/ Bakteriyel Selüloz Nanofiberlerin Karakterizasyonu

4.2.3.1. E2-NP/BC-NF'in SEM Görüntüleri

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) (QUANTA 400F Field Emission, ODTU) ile bakteriyel selüloz kompozit nanofiberlerin yüzey morfolojileri incelenmiştir. Bakteriyel selüloz fiberler derin dondurucuda bekletilmiş, ardından 36 saat liyofilize (-55°C, 0.1 mbar) edilmiştir (Christ Alpha 1-2 LD plus, Almanya). Parçalar SEM numune plakasına yapıştırılmıştır. Numune altın ile kaplanmıştır. Farklı oranlarında büyütme yapılarak SEM fotoları elde edilmiştir. Şekil 4.5b'de E2 baskılanmış bakteriyel selüloz nanofiberlerin SEM görüntüleri görülmektedir. E2 baskılanmış nanopartiküllerin boyutu ImageJ programı ile 167 ± 38 nm olarak belirlenmiştir. Bu görüntülerden E2 baskılanmış nanopartiküllerin BC nanofiber yapısına homojen olarak katıldığı ayrıca zeta boyut analizi ile elde edilen sonuçları ile uyumlu olduğu görülmektedir. Yukarıda da bahsedildiği gibi BC nanofiberler birbirleri ile bağlantılı geniş gözeneklere sahip nanomalzemelerdir. Hazırlanan bu kompozit nanofiberlerin yüzeylerinde E2'ye özgü spesifik bağlanma bölgeleri içeren nanopartiküller vardır. Bunlardan dolayı E2 uzaklaştırma işleminde kütle aktarım kısıtlaması olmamaktadır.



Şekil 4.6. E2-NP/BC-NF lerin SEM görüntüleri.



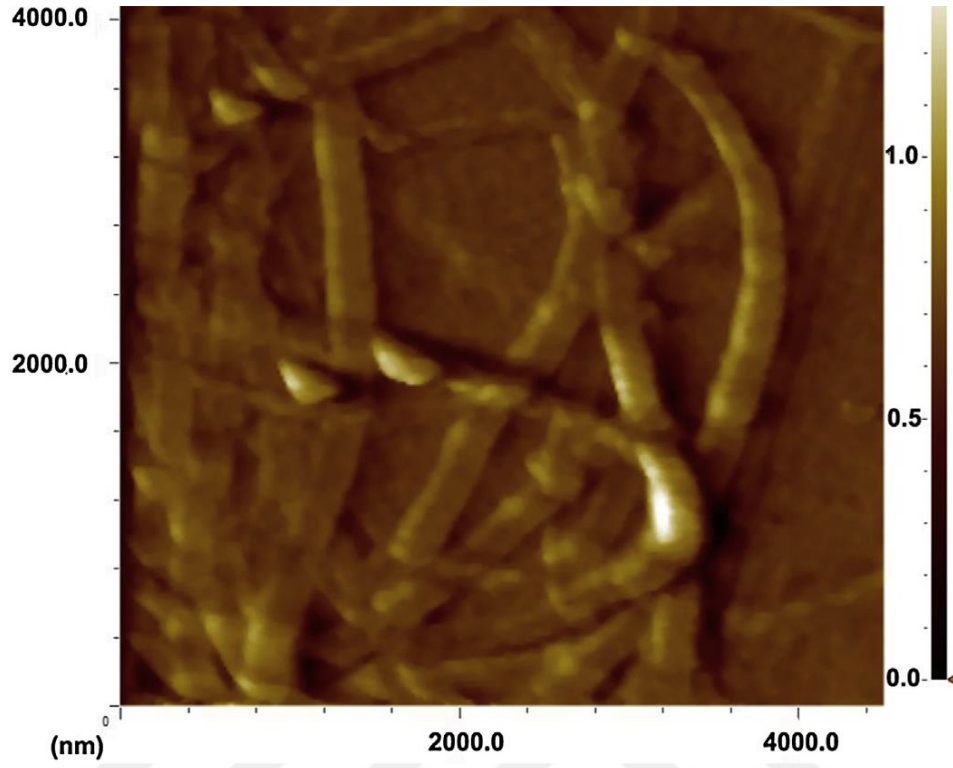
Şekil 4.7. E2-NP/BC-NF lerin mikroCT görüntüleri.

4.2.3.2. BS Kompozit Nanofiberlerin BET ile Yüzey Alanı Ölçümü

Brunauer, Emmet ve Teller (BET) methodu (Quantachrome, Nova 2200E, USA) kullanılarak MIP BS ve NIP BS kompozit nanofiberlerin yüzey alanı $-196,15\text{ }^{\circ}\text{C}$ sıcaklıktaki sıvı azotta, çok noktalı BET yüzey alanı ölçümü ile gerçekleştirilmiştir.

4.2.3.3. E2-NP/BC-NF'in AFM Görüntüleri

MIP-BCNF ve NIP-BCNF'ların topografik görüntüleri atomik kuvvet mikroskobu (AFM, NanomagnetcsInstruments, Oxford, UK) kullanılarak çekilmiştir.



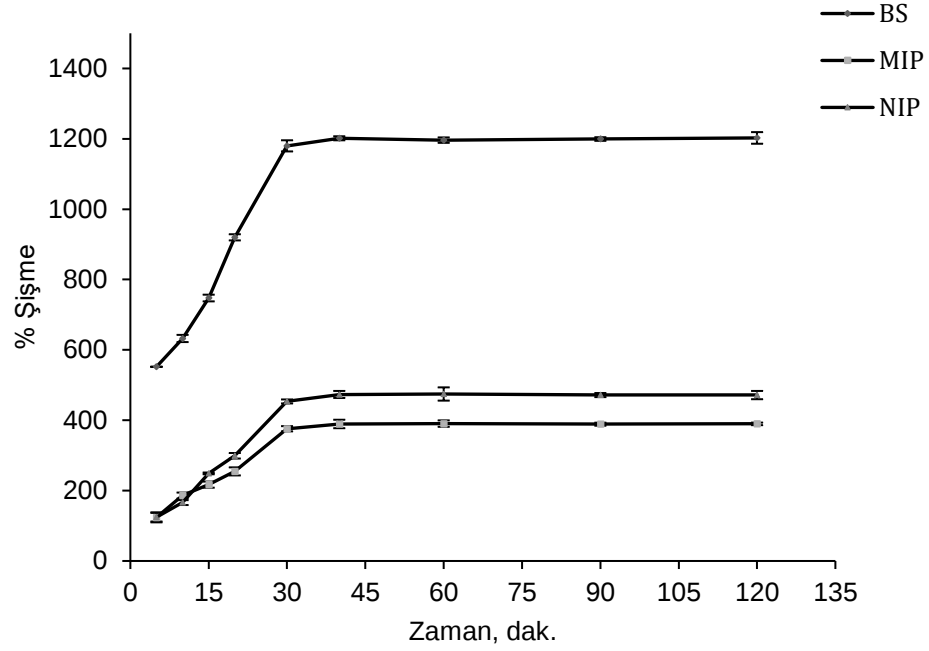
Şekil 4.8. E2-NP/BC-NF lerin AFM görüntüleri.

4.2.3.4. E2-NP/BC-NF'in Şişme Deneyleri

MIP ve NIP BS 36 saat kurutulmuş ve ± 0.0001 hassasiyetle tartımları alınmıştır. Sonrasında, su buharında bekletilerek şişme miktarları aşağıdaki Eşitlik 3.1'e göre belirlenmiştir.

$$\% \text{ Su tutma oranı} = [(W_s - W_0) / W_0] \times 100 \quad (3.1)$$

Nanofiberlerin şişmeden önceki ve sonraki ağırlıkları sırasıyla W_0 ve W_s 'dir(g). Bakteriyel selüloz kompozit nanofiberler sentezden sonar saflaştırılmış ve ilk tartımı alınmıştır. Kurutmayı takiben ikinci tartımı alınarak % su tutma oranı belirlenmiştir.



Şekil 4.9. BS, MIP ve NIP BS kompozit nanofiberlerin % şişme kapasiteleri

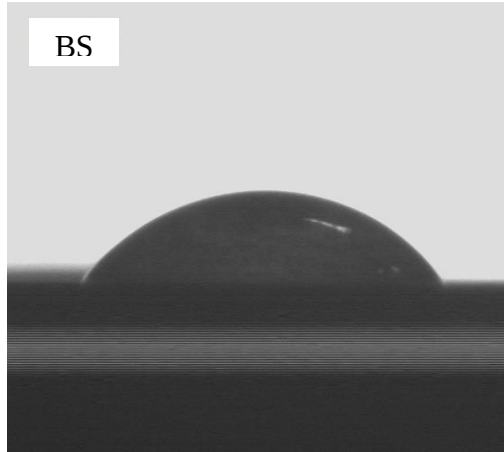
Bakteriyel selüloz kompozit nanofiberlerin şişme davranışları; ağ yapısının elastikiyetine, yapıda hidrofilik grupların bulunmasına, çapraz bağlayıcı bulunmasına ve malzemenin gözenekliliğine bağlıdır. İyonik kuvvet, ağ yoğunluğu, sıcaklık ve pH şişme özelliğini etkilemektedir ve şişme karakteristiği malzeme yapısı hakkında bilgi vermektedir [102]. Şekil 4.8’de görüldüğü gibi hidrofilik yapısına bağlı olarak bakteriyel selülozun su tutma kapasitesi fazladır. Bakteriyel selülozun yüksek yüzey alanine bağlı olarak su tutma oranı yüksektir. Polimerleşmeyi takiben bakteriyel selülozun şişme oranı azalmıştır. Şişme oranındaki değişiklik MIP ve NIP BS için birbirine yakındır.

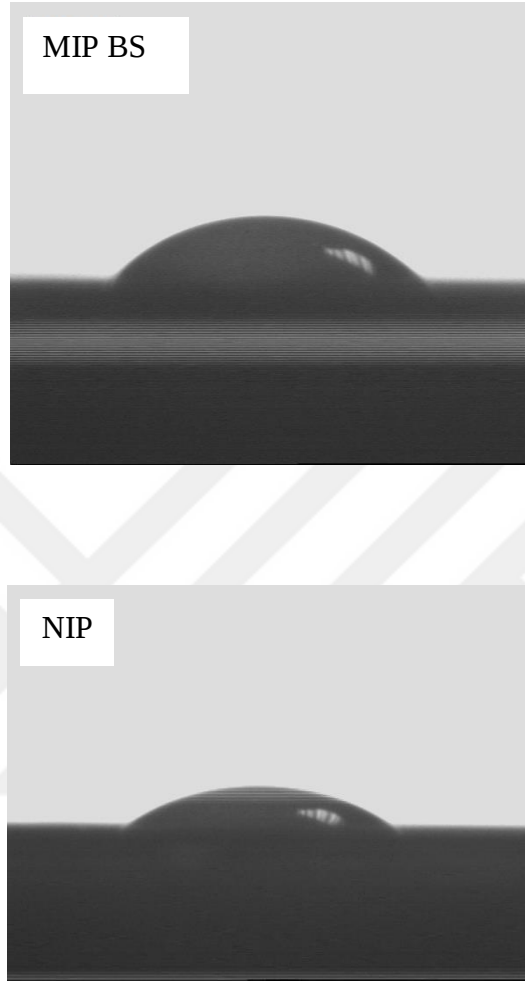
4.2.3.5. BS Kompozit Nanofiberlerin Temas Açı Ölçümü

KRUSS DSA 100 (Hamburg, Almanya) cihazı ile Sessile Drop yöntemi kullanılarak MIP BS kompozit nanofiberlerin temas açısı ölçülmüş ve 20 ölçümün ortalaması alınarak hesaplanmıştır. Damlanın şekli yüzeyin kimyasal ve fiziksel özelliklerine bağlıdır. BS, MIP ve NIP BS kompozit nanofiberler için temas açısı ölçümleri sırasıyla $34.2^{\circ} \pm 1.2$, $51.2^{\circ} \pm 2.4$ ve $48.7^{\circ} \pm 1.7$ 'dir. Buna göre yapının hidrofilik özellikte olduğunu söylemek mümkündür.

$$\cos\theta_c = (\gamma_{GS} - \gamma_{LS}) / \gamma_{GL} \quad (4.1)$$

θ_c temas açısı, γ_{GS} gaz-sıvı arasındaki yüzey gerilimi, γ_{LS} sıvı-katı yüzey gerilimi ve γ_{GL} ise gaz-sıvı yüzey gerilimidir. Yüzeyler yüksek enerjili ya da düşük enerjili olarak tanımlanır ve yüksek enerjili yüzeylerde su ince bir film oluşturur. Bu durumda temas açısı sıfırdır. Düşük enerjili yüzeylerde temas açısı 90° 'den büyüktür ve yüzey hidrofobiktir.



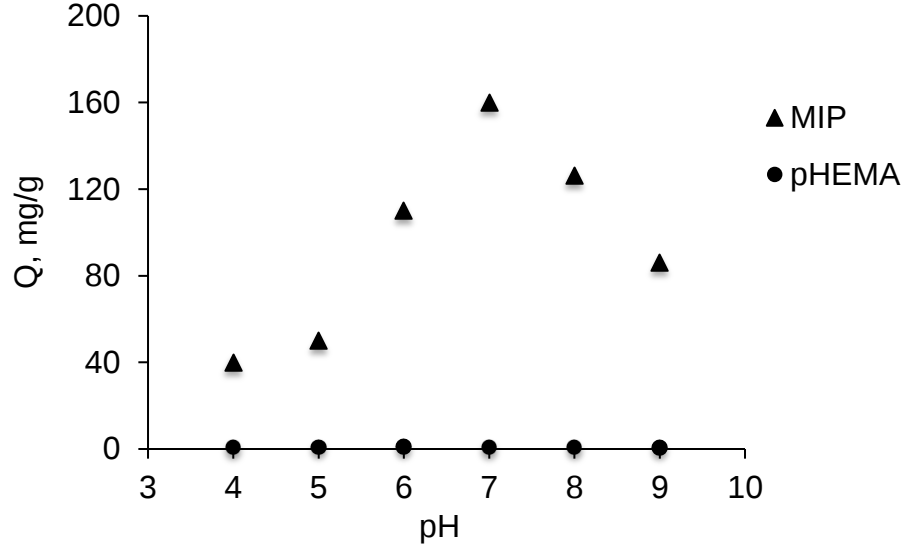


Şekil 4.10. BS, MIP ve NIP BS kompozit nanofiberlerin temas açısı görüntüleri

4.3. E2-NP/BC-NF ile 17- β Östradiol Adsorpsiyon Çalışmaları

4.3.1. 17- β Östradiol Adsorpsiyon Kapasitesine pH'nın Etkisi

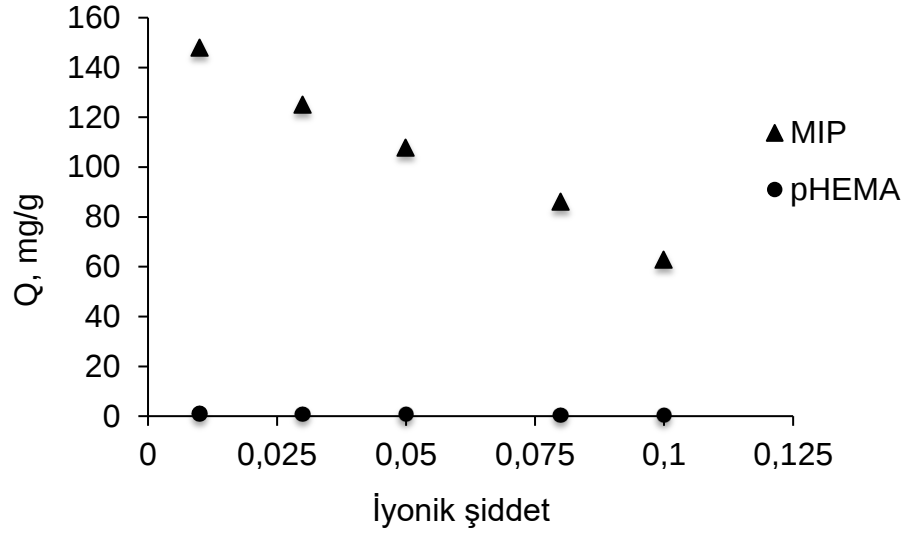
17- β Östradiol adsorpsiyonu pH: 4,0-9,0 aralığında çalışılmıştır. Adsorpsiyon çalışmaları kesikli sistemde, 0,5 mg/mL 17- β östradiol çözeltisi ile 10 mM tampon çözeltiler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.8' de de görüldüğü gibi E2 adsorpsiyon kapasitesi maksimum pH 7'de elde edilmiştir. Moleküler baskılanmış sistemlerde hedef molekülün en yüksek adsorpsiyon kapasitesi genellikle baskılama işleminin gerçekleştiği pH değerinde görülmektedir. Bu olay 'şekil hafızası' olarak ifade edilmektedir [103].



Şekil 4.11. Adsorpsiyon kapasitesine pH'nın etkisi (C_0 : 0,5 mg/mL, İ.Ş.:0,0, $m_{\text{partikül}}$: 100 mg).

4.3.2. 17- β Östradiol Adsorpsiyon Kapasitesine İyonik Şiddetin Etkisi

17- β östradiol baskılanmış E2-NP/BC-NF ile 17- β östradiol adsorpsiyonuna iyonik şiddetin (İ.Ş.) etkisi derişimi 0,01-0,1 M aralığında değişen NaCl tuzu kullanarak incelenmiştir. İyonik şiddet, tuzu oluşturan katyonların ve anyonların yük sayısı ve derişimi tarafından belirlenmektedir. Şekil 4.9'da görüldüğü gibi artan tuz derişimiyle adsorpsiyon kapasitesinin azalmasına neden olmuştur. Artan tuz derişimi 17- β östradiol çözünürlüğünün azalmasına neden olmuş, bundan dolayıda 17- β östradiol molekülleri 17- β östradiol baskılanmış E2-NP/BC-NF'lerdeki bağlanma bölgeleri ile etkileşemezler.



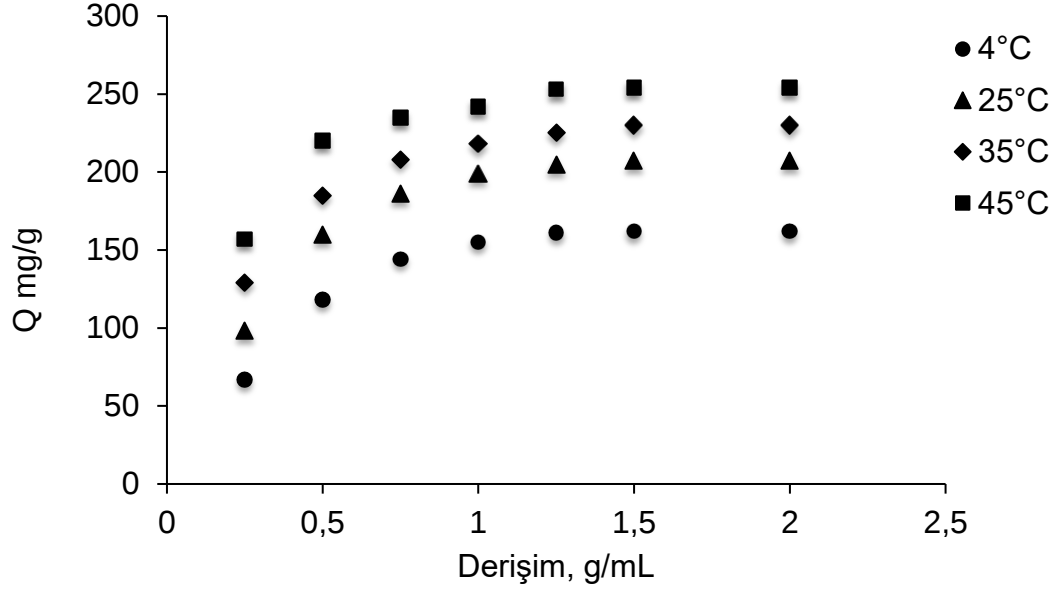
Şekil 4.12. 17-β Östradiol adsorpsiyon kapasitesine iyonik şiddetin etkisi (C_0 : 0,5 mg/mL, pH: 7,0, $m_{\text{partikül}}$: 100 mg).

4.3.3. 17-β Östradiol Adsorpsiyon Kapasitesine Derişiminin ve Sıcaklığın Etkisi

17-β östradiol derişiminin adsorpsiyon kapasitesine etkisinin incelenmesi için pH: 7,0 değerinde derişimi 0,25-2,0 mg/mL aralığındaki farklı 17-β östradiol sulu çözeltileri ile adsorpsiyon çalışmaları yapılmıştır. Şekil 4.10'da görüldüğü gibi 17-β östradiol baskılanmış NP/BC-NF ile yapılan adsorpsiyon çalışmalarında baskılama bölgeleri ile etkileşime geçen molekül miktarı arttığı için adsorpsiyon kapasitesi 1,25 mg/mL 17-β östradiol derişimine kadar artmış ve 17-β östradiol bağlanabileceği baskılama bölgelerinin (özgül boşlukların) dolmasıyla 1,50 mg/mL 17-β östradiol derişiminde dengeye ulaşmıştır.

Adsorpsiyon kapasitesine sıcaklığın etkisinin belirlenmesi için adsorpsiyon çalışmaları 4-45°C sıcaklık aralığında yapılmıştır (Şekil 4.10). Sıcaklığın artması 17-β östradiol adsorpsiyonunda artışa neden olmuştur. Bu sonuçlar, 17-β östradiol molekülü ile 17-β östradiol baskılanmış E2-NP/BC-NF arasında etkileşim hidrofobik bir karaktere sahip olduğu göstermektedir, MATrp fonksiyonel monomerinin E2 baskılanmış nanopartiküllerin yapısına katılmasında dolayı. Entropi artışıyla yürüyen hidrofobik

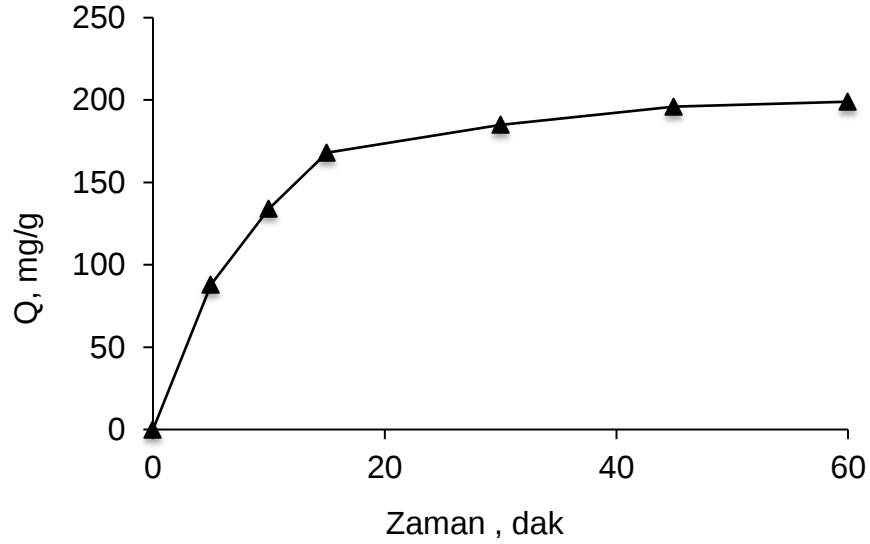
etkileşimlerde sıcaklık artışı adsorpsiyon kapasitesini arttırmış ve analit ile bağlanma bölgeleri arasında etkileşim kinetiğini hızlandırmaktadır.



Şekil 4.13. 17-β Östradiol adsorpsiyon kapasitesine başlangıç derişiminin etkisi (pH: 7,0, m: 100 mg).

4.3.4. 17-β Östradiol Adsorpsiyon Kapasitesine Zamanın Etkisi

Adsorpsiyon süresinin etkisinin incelenmesi için pH: 7,0 değerinde 1,0 mg/mL derişimine sahip 17-β östradiol sulu çözeltisi ile 0-60 dakika arasında değişen farklı zaman aralıklarında ölçümler alınmış ve yaklaşık % 91'ine ilk 15 dakika içinde ulaştığı ve 30 dakika içerisinde adsorpsiyon kapasitesinin denge değere ulaştığı Şekil 4.11'de görülmektedir.



Şekil 4.14. 17-β Östradiol adsorpsiyon kapasitesine zamanın etkisi (C₀: 1 mg/mL, pH: 7,0, m_{partikül}: 100 mg).

4.3.5. Seçicilik Çalışmaları

MIP-BCNF'ların seçiciliğini göstermek için yarışmalı kolesterol (MW: 386 g/mol) ve stigmasterol (MW: 412.7 g/mol) adsorpsiyon çalışmaları da yapılmıştır. Sulu E2 çözeltisine kolesterol ve stigmasterol yüklemesi yapılmış ve MIP-BCNF'a uygulanmıştır. E2, kolesterol ve stigmasterol metanol:su (10:90 (v/v)) çözeltisine eklenmiş ve oda sıcaklığında 10 dakika sonikatörde karıştırılmıştır. Adsorpsiyon dengesine ulaşılmasından sonra, kalan çözeltideki kolesterol ve stigmasterol derişimleri HPLC'de ölçülmüştür. E2'ye göre kolesterol ve stigmasterol'un dağılım katsayıları (K_d) aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır;

$$K_d = \left[\frac{(C_i - C_f)}{C_f} \right] \times \frac{V}{m}$$

K_d (mL/g) cinsinden dağılım katsayısı; C_i ve C_f sırasıyla (mg/mL) cinsinden başlangıç ve final E2 derişimleridir. V çözelti hacmi (mL) ve m MIP-BCNF'nin ağırlığıdır (g). Diğer

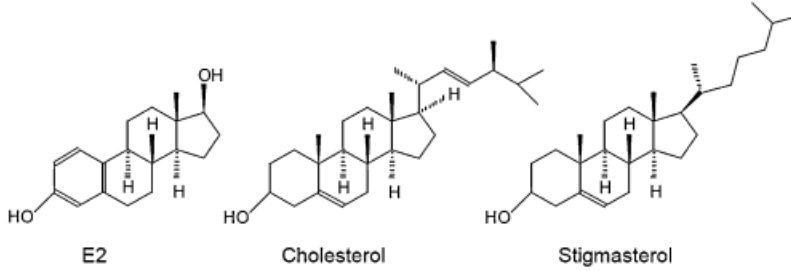
yarışmalı moleküllerin varlığında E2 bağlanmasının seçicilik katsayısı (k) aşağıdaki eşitliğe göre elde edilmiştir;

$$k = \frac{K_d}{K_d}$$

k seçicilik katsayısı ve X kolesterol ya da stigmasterolü temsil etmektedir. MIP-BCNF'a ait k değerlerinin kolesterol ve stigmasterole ait k değerleri ile karşılaştırılmasıyla, moleküler baskılamanın seçiciliğe etkisi ile ilgili bir değerlendirme yapmaya olanak tanımaktadır. Bağlı seçicilik katsayısı k' aşağıdaki eşitliğe göre tanımlanabilir;

$$k' = \frac{k_{\text{imprinted}}}{k_{\text{control}}}$$

MIP-BCNF'nin E2 tanımadaki seçiciliği; E2 ile benzer kimyasal yapıya sahip olmalarından ötürü kolesterol ve stigmasterol kullanılarak araştırılmıştır. Figür 6'da E2, kolesterol ve stigmasterol'ün kimyasal yapıları verilmiştir.



Şekil 4.15 - E2, kolesterol ve stigmasterol'ün kimyasal yapıları

E2'nin molekül ağırlığı 272.4 g/mol, kolesterolün molekül ağırlığı 386 g/mol ve stigmasterol'ün molekül ağırlığı 412.7 g/mol'dür. Seçicilik çalışmalarındaki K_d, k ve k'

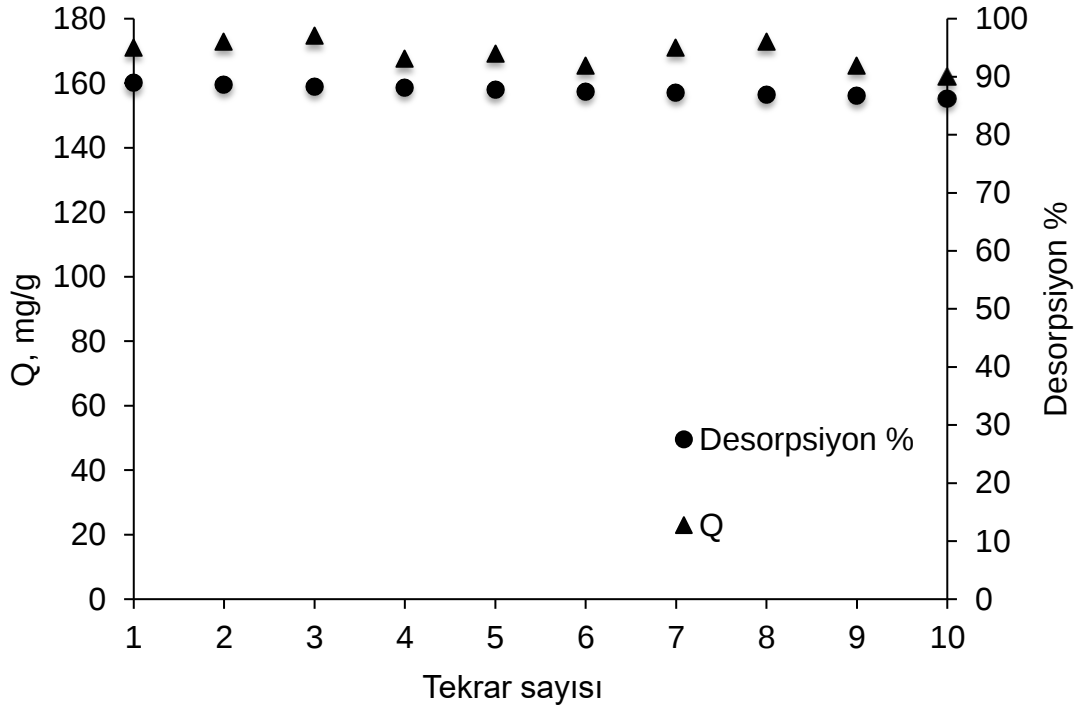
değerleri Tablo 6'da verilmiştir. MIP-BCNF'nin dağılım katsayısı (Kd) değeri kontrol NIP-BCNF'nin dağılım katsayısına göre daha yüksek çıkmıştır. Kd değeri E2 için artış gösterirken, yarışmalı moleküller kolesterol ve stigmasterol için düşme eğiliminde olmuştur. Bağlı seçicilik katsayısı; tanıma bölgelerinin E2 baskılanmış moleküllere bağlanma-afinitesini gösteren bir endikatördür. Sonuçlar; E2/kolesterol ve E2/stigmasterol için MIP-BCNF'nin bağlı seçicilik katsayılarının NIP-BCNF'ye göre sırasıyla 7.6 ve 85.8 kat daha yüksek olduğunu göstermiştir. Seçicilik; baskılanmış kavitelelerin şekil ve ebat hafızasına bağlıdır. Yarışmalı moleküllerin kimyasal yapısındaki lineer zincirler bu molekülleri E2'ye göre daha hidrofobik yapmakta ve buna bağlı olarak yarışmalı moleküller MIP-BCNF'ye daha az adsorbe olmaktadır. E2 2 adet hidroksil gurubuna sahiptir ve E2; hidroksil gurupları üzerinden MIP-BCNF kavitelelerindeki spesifik monomer tyrosine ile güçlü hidrojen bağları kurmaktadır.

Bileşik	Polimer				
	NIP		MIP		
	Kd	k	Kd	k	k'
E2	89,2		851		
Kolesterol	41,6	2,1	52	16,34	7,6
Stigmasterol	208,3	0,4	23	36,76	85,8

Tablo.6

4.3.6. Tekrar Kullanılabilirlik

17- β östradiol baskılanmış E2-NP/BC-NF'lerin tekrarlanabilirliğinin saptanabilmesi için sentezlenen E2-NP/BC-NF'ler ile pH: 7,0 değerinde 1,0 mg/mL derişimine sahip 17- β östradiol sulu çözeltisiyle adsorpsiyon-desorpsiyon döngüsü on defa ard arda tekrarlanmış ve elde edilen sonuçlara göre 10 döngü süresince adsorpsiyon kapasitesinde bir önemli azalma saptanmamıştır (Şekil 4.12). Desorpsiyon oranı ilk döngüde %95 olarak belirlenmişken, onuncu döngüde %90 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, 17- β östradiol baskılanmış E2-NP/BC-NF'lerin adsorpsiyon çalışmalarında defalarca kullanılabileceğini desteklemektedir.



Şekil 4.16. E2-NP/BC NF’lerin 17- β Östradiol adsorpsiyon kapasitesine tekrar sayısının etkisi (C_0 : 0,5 mg/mL, pH: 7,0, $m_{\text{partikül}}$: 100 mg).

4.4. Adsorpsiyon izoterm modelleri

Adsorpsiyon izoterm modelleri belirli bir sıcaklıkta, herhangi bir adsorbent (Q_e) üzerinde tutunmuş olan çözünen madde miktarı ile sıvı fazda çözülmüş olan madde (C_e) konsantrasyonu üzerindeki ilişkileri açıklamak için kullanılır. Yapılmış olan doktora çalışmasında Langmuir ve Freundlich adsorpsiyon izoterm modellerinden yararlanılmıştır. Langmuir adsorpsiyon izoterm modeli; adsorpsiyonun homojen, tek tabakalı ve özdeş bağlanma bölgeleri tarafından kontrol edildiğini ileri sürmektedir. Ayrıca adsorpsiyon sırasında enerji dağılımının değişmediğini ve komşu adsorpsiyon bölgeleri arasında etkileşimlerin olmadığını da ifade etmektedir. Langmuir adsorpsiyon modeli aşağıda verilmiş olan eşitliğe göre tanımlanır [104] ;

$$Q_e = Q_{\max} K_L \frac{C_e}{(1 + K_L C_e)} \quad (4.1)$$

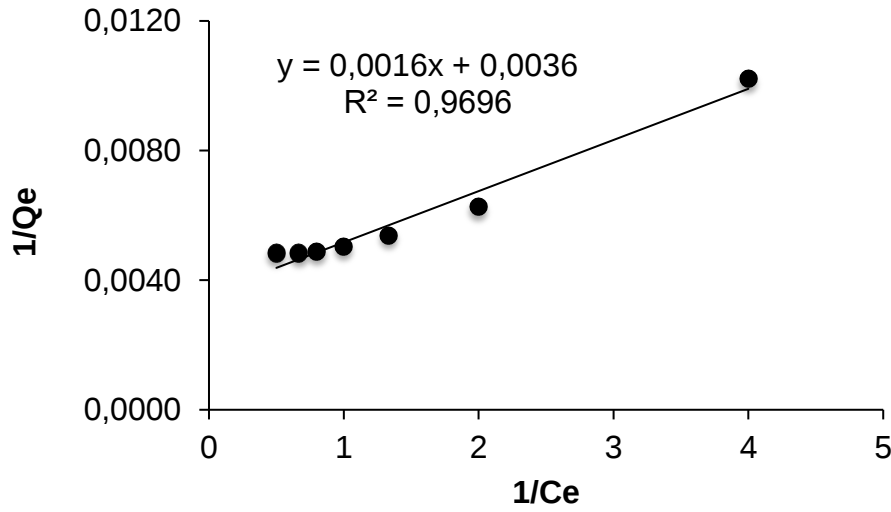
ve eşitlik 4.1 doğrusallaştırılır ise $\frac{C_e}{Q_e} = \frac{C_e}{Q_{\max}} + 1/K_L Q_{\max}$ eşitliği elde edilir. Bu eşitliklerde, $Q_{\max}$, maksimum adsorpsiyon kapasitesini (mg/g); K_L , Langmuir

adsorpsiyon denge sabitini (mL/g) ifade etmektedir. Q_{maks} ve K_L değerleri $1/Q_e$ değerlerine karşı $1/C_e$ değerlerine karşı çizilen grafikten elde edilebilir.

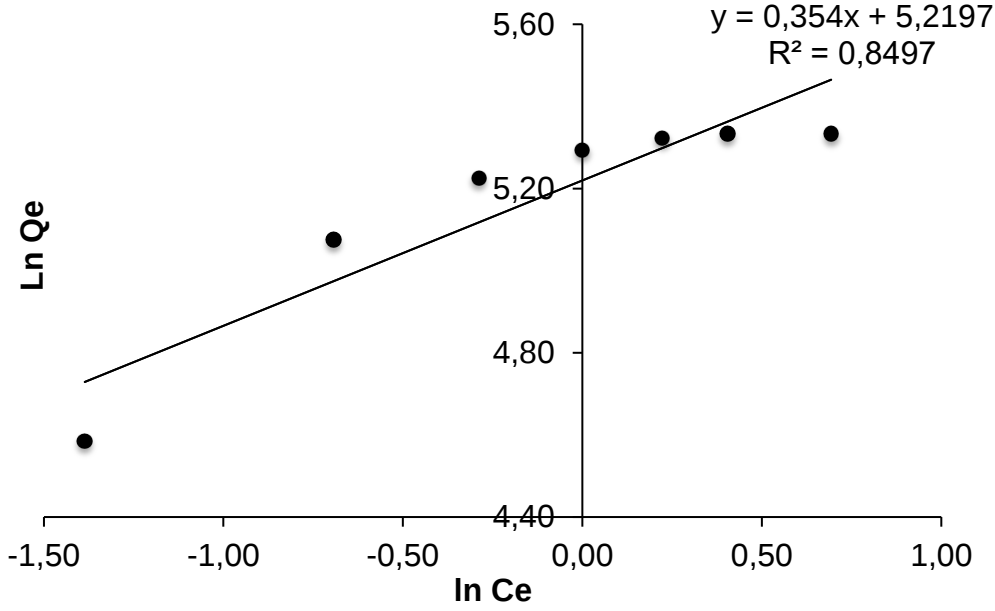
Freundlich adsorpsiyon modeli; adsorpsiyonun heterojen olduğunu ve adsorbent yüzeyindeki çoklu tabakalaşmayı savunmaktadır. Freundlich adsorpsiyon modeli aşağıda verilmiş olan eşitliğe göre tanımlanır [73-75];

$$Q_e = K_F C_e^{1/n} \quad (4.2)$$

Eşitlik 4.1 doğrusallaştırılır ise $\ln Q_e = \frac{\ln C_e}{n} + \ln K_F$ eşitliği elde edilir. Bu eşitliklerde, K_F , Freundlich adsorpsiyon denge sabitini (mL/g); n , Freundlich heterojenite indeksini ifade etmektedir. K_F ve $1/n$ değerleri $\ln Q_e$ 'ye karşı $\ln C_e$ doğrusal grafiğinin çizilmesi ile elde edilebilir.



Şekil 4.17. E2-NP/BC-NF ait Langmuir izotermi.



Şekil 4.18. E2-NP/BC-NF ait Freundlich izotermi.

Langmuir ve Freundlich izotermi sırasıyla Şekil 4.13 ve Şekil 4.14 gösterilmiştir. K_F ve $1/n$ değerleri Freundlich izoterm modelinde sistemin yüzey heterojenitesini belirtmektedir. $1/n$ 1'e ne kadar yakınsa sistemin homojenitesi; n değeri sıfıra ne kadar yakınsa sistemin heterojenitesi o ölçüde artmaktadır. Bu sonuçlar ve korelasyon katsayıları (R^2) göz önüne alındığında deneysel olarak elde edilen veriler Langmuir izoterm modeli uyumludur ($R^2:0,97$). 17β -östradiol baskılanmış E2-NP/BC-NF yüzeyindeki bağlanma bölgelerinin eş-enerjili ve en düşük yanıl etkileşime sahip olduğunu belirtmektedir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Langmuir ve Freundlich parametreleri.

Langmuir izoterm modeli	Freundlich izoterm modeli
Q_{maks} , 277,80 mg/g	K_F , 184,88
K_L , 2,25 mL/mg	n , 2,82
R^2 , 0,99	R^2 , 0,84

4.5. Adsorpsiyon kinetik modelleri

Adsorpsiyon işleminde matematiksel yaklaşımlar, kütle transferi ve kimyasal etkileşim mekanizmalarını açıklamak için kullanılmaktadırlar. Bunlara ek olarak; adsorpsiyon kinetik çalışmalarıyla, adsorpsiyon hızını etkileyen basamaklar hakkında bilgi edinilmesi mümkündür. 17 β -estradiolün adsorpsiyon kinetiklerinin belirlenmesi için, birinci ve ikinci derece kinetik modellere başvurulmuştur.

Yalancı-birinci derece kinetik modeli;

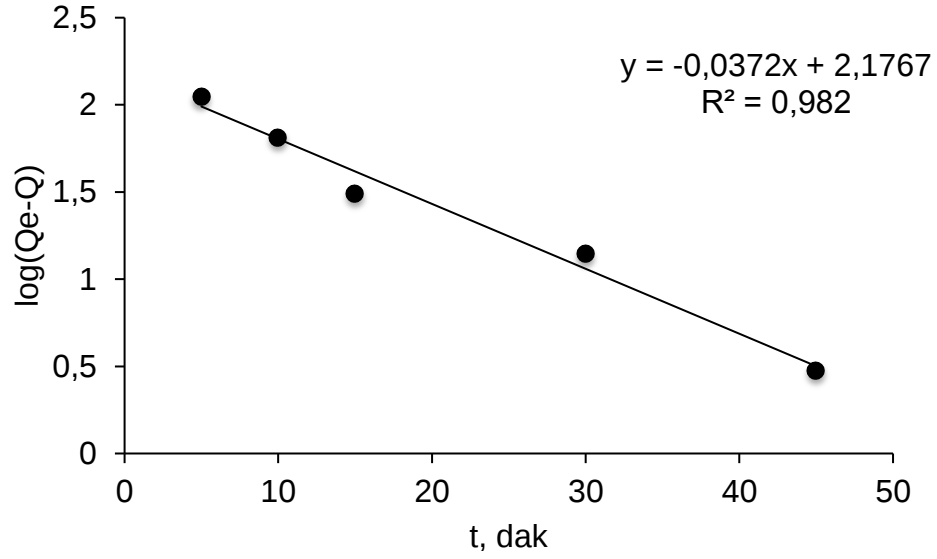
$$\frac{dQ}{dt} = k_1(Q_e - Q) \quad (4.3)$$

Eşitlik 4.3 doğrusallaştırılır ise $\log(Q_e - Q) = \log Q_e - k_1 \frac{t}{2,303}$ eşitliği elde edilir. Bu eşitliklerde, Q_e ve Q (mg/g), sırasıyla denge halinde ve t anındaki adsorpsiyon kapasitelerini; k_1 (dak⁻¹) yalancı-birinci derece adsorpsiyon hız sabitini ifade etmektedir.

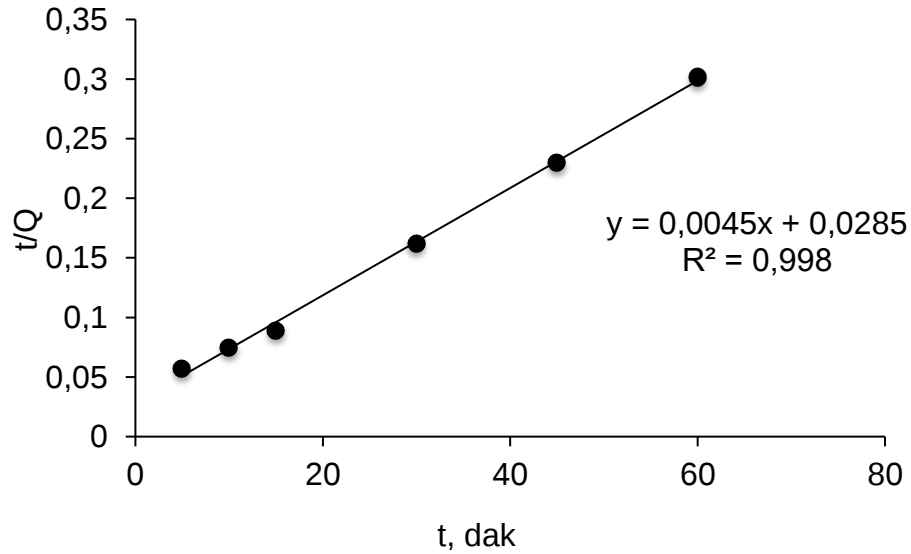
Yalancı-ikinci derece kinetik modeli;

$$\frac{dQ}{dt} = k_2(Q_e - Q)^2 \quad (4.4)$$

Eşitlik 4.3 doğrusallaştırılır ise $\frac{t}{Q} = \frac{1}{k_2 Q_e^2} + \frac{t}{Q_e}$ eşitliği elde edilir. Bu eşitliklerde, k_2 (dak⁻¹) yalancı ikinci derece adsorpsiyon hız sabitini ifade etmektedir.



Şekil 4.19. E2-NP/BC-NF ait yalancı-birinci derece kinetik eğrisi.



Şekil 4.20. E2-NP/BC-NF ait yalancı-ikinci derece kinetik eğrisi.

E2-NP/BC-NF ait yalancıbirinci ve ikinci derece kinetik sabitleri Çizelge 4.2’de özetlenmiştir. Korelasyon katsayıları ve Q_e değerleri kıyaslandığında, E2-NP/BC-NF ile yapılan adsorpsiyon çalışmalarının yalancı ikinci derece kinetik modeline uymaktadır. Bu sonuçlar adsorpsiyon kinetiğinin kimyasal kontrollü olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.2. E2-NP/BC-NF ait yalancı birinci ve ikinci derece kinetik sabitleri.

	Kinetik parametreler	
Yalancı-birinci derece	k_1 ($\times 10^2 \text{ min}^{-1}$)	0,086
	$Q_{e,cal}$ (mg/g)	150,21
	R^2	0,98
Yalancı-ikinci derece	k_2 ($\times 10^3 \text{ g mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$)	0,00071
	$Q_{e,cal}$ (mg/g)	222,22
	R^2	0,99

4.6. Termodinamik analiz

Adsorpsiyon işlemi esnasında E2 ve ona özgü tasarlanmış bağlanma bölgeleri arasında oluşan çekim kuvveti ile gerçekleşmektedir. E2'nin kendine özgü bağlanma bölgeleri ile etkileşimi entropi (S) artışı gözlenmektedir. Termodinamik parametreler adsorpsiyon işlemi esnasında enerji değişimleri hakkındaki önemli bilgileri elde etmemize olanak vermektedir. Gibbs serbest enerji değeri değişimi (ΔG) adsorpsiyon işleminin istemli yada istemsiz gerçekleştiğini belirlememize olanak sağlamaktadır. Tüm bu termodinamik enerji değişim değerleri (ΔH , ΔS , ΔG) aşağıdaki eşitlikler kullanılarak hesaplanabilmektedir.

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_L \quad (4.5)$$

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T \Delta S^\circ \quad (4.6)$$

Eşitlik 4.5 ve 4.6 düzenlenmesiyle;

$$\ln K_L = -\frac{\Delta H^\circ}{RT} + \frac{\Delta S^\circ}{R} \quad (4.7)$$

Bu eşitliklerde, K_L , Langmuir adsorpsiyon katsayısını; R ($8,3145 \text{ J/mol}^{-1}\text{K}^{-1}$), ideal gaz sabitini; T (K), sıcaklığı ifade etmektedir.

E2-NP/BC-NF'e ait termodinamik parametreler Çizelge 4.3'te gösterilmektedir. ΔG° negatif değerleri E2 adsorpsiyonun istemli olduğunu göstermektedir. Ayrıca bu değerler daha önceki bölümlerde entropi artışıyla yürüyen hidrofobik etkileşimlerde sıcaklık artışı adsorpsiyon kapasitesini arttırmış ve analit ile bağlanma bölgeleri arasında etkileşim kinetiğini hızlandırmaktadır açıklamasını desteklemektedir. ΔS° değerlerinin pozitif olması katı-sıvı faz arasındaki E2 adsorpsiyonun entropide artışa neden olduğu göstermektedir. Negatif ΔH° değeri E2 adsorpsiyonun ekzotermik olduğunu, böylelikle adsorpsiyon işlemi için sisteme dışarıdan enerji verilmesine gerek olmadığını göstermektedir [105, 106].

Çizelge 4.3. E2-NP/BC-NF'e ait termodinamik parametreler

Sıcaklık, °C	ΔG° (kJ/mol)	ΔH° (kJ/mol)	ΔS° (kJ/mol)
4	-12,55	-10,93	0,084
25	-14,33		
35	-15,18		
45	-16,03		

5. Kaynaklar

- [1] Ben Fredj S, Nobbs J, Tizaoui C, Monser L. Removal of estrone (e1), 17 β -estradiol (e2), and 17 α -ethinylestradiol (ee2) from wastewater by liquid–liquid extraction. *Chem. Eng. J.* 262, 417-426, 2015.
- [2] Rogers JA, Metz L, Yong VW. Review: Endocrine disrupting chemicals and immune responses: A focus on bisphenol-a and its potential mechanisms. *Molecular Immunology.* 53, 421-430, 2013.
- [3] Silva CP, Otero M, Esteves V. Processes for the elimination of estrogenic steroid hormones from water: A review. *Environmental Pollution.* 165, 38-58, 2012.
- [4] Liu Z-h, Kanjo Y, Mizutani S. Removal mechanisms for endocrine disrupting compounds (edcs) in wastewater treatment-physical means, biodegradation, and chemical advanced oxidation: A review. *Science of The Total Environment.* 407, 731-748, 2009.
- [5] Braga FG, Pinto S, Antunes MCG. Comparative study of 17 β -estradiol removal from aqueous solutions using pine bark and almond shell as adsorbents. *Microchim Acta.* 173, 111-117, 2011.
- [6] Jan K, Klaus HR, Hormonlar, 'Color Atlas of Biochemistry', Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., İstanbul, 336, 2003.
- [7] Weigel, N.L., Rowan, B.G., Estrogen and progesteron action, "Endocrinology" (Ed. L. J. DeGroot ve J.L. Jameson)'de, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 2053-2061, 2001.
- [8] Khanal, S.K., Xie, B., Thompson, M.L., Sung, S., Ong, S., Leeuwen J.V., Fate, Transport, and Biodegradation of Natural Estrogens in the Environment and Engineered Systems. *Environmental Science & Technology*, 40 (21), 6537-6546, 2006.
- [9] Birkett, J.W.a.L., J.N., Endocrine Disrupters in Wastewater and Sludge Treatment Process. Lewis publishers, London, 2003.
- [10] Grady, L.T.; Hays, S.E.; King, R.H.; Klein, H.R.; Mader, W.J.; Wyatt, D.K.; Zimmere, R.O., Drug purity profiles, *J. Pharm. Sci.* 62, 459, 1973.

- [11] Hakk, H., Millner, P. and Larsen, G., Decrease in Water-Soluble 17 β -Estradiol and Testosterone in Composted Poultry Manure with Time. *J Environ Qual.*, 34 (3), 943-950, 2005.
- [12] Lai, K.M., Johnson, K.L., Scrimshaw, M.D. and Lester, J.N., Binding of Waterborne Steroid Estrogens to Solid Phases in River and Estuarine Systems. *Environ. Sci. Technol.*, 34 (18), 3890-3894, 2000.
- [13] Lai, K.M., Scrimshaw, M.D. and Lester, J.N., Prediction of the bioaccumulation factors and body burden of natural and synthetic estrogens in aquatic organisms in the river systems. *Sci. Total Environ.*, 289 (1-3), 159-168, 2000b.
- [14] Menteş, G., Gonadlar ve steroid hormonları, "İnsan Biyokimyası" (Ed. T. Onat, K. Emerk., E.Y. Sözmen)'nda, Palme Yayıncılık, Ankara, 491-500, 2002.
- [15] Rosselli, M., Reinhart, K., Imthurn, B., Keller, P.J., Dubey, R.K., Cellular and biochemical mechanisms by which environmental estrogens influence reproductive function. *Human Rep Update* 6, 332-50, 2000.
- [16] Zhu, B.T., Conney, A.H., Functional role of estrogen metabolism in target cells: review and perspectives. *Carcinogenesis* 19, 1–27, 1998.
- [17] Weigel, N.L., Rowan, B.G., Estrogen and progesteron action, "Endocrinolgy" (Ed. L. J. DeGroot ve J.L. Jameson)'de, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 2053-2061, 2001.
- [18] Yılmaz B., Dişi Üreme Hormonları, "Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi" (Ed. B. Yılmaz)'de, Feryal Matbaacılık, Ankara, 407-430, 1999.
- [19] Marshall, J.C., Regulation of gonadotropin synthesis and secretion, "Endocrinolgy" (Ed. L.J. DeGroot ve J.L. Jameson)'de, IV. Baskı, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1916-1926, 2001.
- [20] Tolbert, T., Oparil, S., Cardiovascular effects of estrogen, *Am. J. Hypertens.*, 14, 186-193, 2001.

- [21] Gyllenborg, J, Rasmussen, S.L, Borch-Johnsen, K, Heitmann, B.R., Skakkebaek, N.E., Juul A., Cardiovascular risk factors in men: The role of gonadal steroids and sex hormone-binding globulin, *Metabolism*, 50, 882-888, 2001.
- [22] Kitler, M.E., Coronary disease are the gender differences? *Eur. Heart. J.*, 15, 409-417, 1994
- [23] Williams, J.K., Adams, M.R., Herrington, D.M., Clarkson, T.B., Short-term administration of estrogen and vascular responses of the atherosclerotic coronary arteries, *J. Am. Coll. Cardiol.*, 20, 452-457, 1992.
- [24] Sherwood, L., *Fundamentals of Physiology*, West Publishing Company, 1991.
- [25] Shons, A., Dorman, F., Najarian, J., The piezoelectric quartz immunosensor. *J. Biomed. Mater. Res.*, 6, 565–570, 1972
- [26] Brincat, M.P., Baron, Y.M., Galea, R., Estrogens and the skin, *Climacteric*, 8, 110-123, 2005.
- [27] Zhang Y, Zhou JL. Removal of estrone and 17 β -estradiol from water by adsorption. *Water Res.* 39, 3991-4003, 2005.
- [28] Bolong N, Ismail AF, Salim MR, Matsuura T. A review of the effects of emerging contaminants in wastewater and options for their removal. *Desalination*. 239, 229-246, 2009.
- [29] Khanal, S.K., Xie, B., Thompson, M.L., Sung, S., Ong, S., Leeuwen J.V., Fate, Transport, and Biodegradation of Natural Estrogens in the Environment and Engineered Systems. *Environmental Science & Technology*, 40 (21), 6537-6546, 2006.
- [30] Purdom, C. E.; Hardiman, P. A.; Bye, V. J.; Eno, N. C.; Tyler, C.R.; Sumpter, J. P., 1994. Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. *Chem. Ecol.*, 8, 275-285.
- [31] Tyler, C. R.; Spary, C.; Gibson, R.; Santos, E. M.; Shears, J.; Hill, E. M., Accounting for differences in estrogenic responses in rainbow trout and rouch exposed to effluents from wastewater treatment works. *Environ. Sci. Technol.*, 39, 2599-2607, 2005.
- [32] Water 21, Disruptive Influences. Magazine of the International Water Association, 20-22, 2004.

- [33] Yokosuka, M., Ohtani-Kaneko, R., Yamashita, K. ve ark. Estrogen and environmental estrogenic chemicals exert developmental effects on rat hypothalamic neurons and glias. *Toxicol In Vitro* 21, 2007.
- [34] Kawato, S., Endocrine disrupters as disrupters of brain function: a neurosteroid viewpoint. *Environ Sci.*, 11 (1), 1-14, 2004.
- [35] Fenton, S.E., Endocrine-Disrupting compounds and mammary gland development: Early exposure and later life consequences. *Endocrinology*. 147 (6), 18-24, 2006.
- [36] Waring, R.H., Haris, R.M., Endocrine disrupters: A human risk? *Mol Cell Endocrinol.*, 244, 2-9, 2005.
- [37] Skakebek, N.E., Rajpet-deMeyts, E., Main K.M., Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common developmental disorder with enviromental aspects. *Hum Reprod.*, 16 (5), 972-978, 2001.
- [38] Carlsen, E., Giwercman, A., Keiding, N., Skakkebaek, N.E., Evidence for decreasing quality of semen during post 50 years. *BMJ*, 12, 305 (6854), 609-613, 1992.
- [39] Chang H-S, Choo K-H, Lee B, Choi S-J. The methods of identification, analysis, and removal of endocrine disrupting compounds (edcs) in water. *J. Hazard. Mater.* 172, 1-12, 2009.
- [40] Auriol M, Filali-Meknassi Y, Tyagi RD, Adams CD, Surampalli RY. Endocrine disrupting compounds removal from wastewater, a new challenge. *Process Biochem.* 41, 525-539, 2006.
- [41] Fukuhara T, Iwasaki S, Kawashima M, Shinohara O, Abe I. Adsorbability of estrone and 17 β -estradiol in water onto activated carbon. *Water Res.* 40, 241-248, 2006.
- [42] Ternes TA, Meisenheimer M, McDowell D, Sacher F, Brauch H-J, Haist-Gulde B, Preuss G, Wilme U, Zulei-Seibert N. Removal of pharmaceuticals during drinking water treatment. *Environ. Sci. Technol.* 36,3855-386, 2002.
- [43] Le Noir M, Lepeuple A-S, Guieysse B, Mattiasson B. Selective removal of 17 β -estradiol at trace concentration using a molecularly imprinted polymer. *Water Res.* 41, 2825-2831, 2007.

- [44] Le Noir M, Plieva F, Hey T, Guieysse B, Mattiasson B. Macroporous molecularly imprinted polymer/cryogel composite systems for the removal of endocrine disrupting trace contaminants. *J. Chromatogr. A.* 1154, 158-164, 2007.
- [45] Mosbach K. Molecular imprinting. *Trends in Biochemical Sciences.* 19, 9-14, 1994.
- [46] Bereli N, Saylan Y, Uzun L, Say R, Denizli A. L-histidine imprinted supermacroporous cryogels for protein recognition. *Sep. Purif. Technol.* 82, 28-35, 2011.
- [47] Wulff G. Enzyme-like catalysis by molecularly imprinted polymers. *Chemical Reviews.* 102, 1-28, 2001.
- [48] Sener G, Ozgur E, Rad AY, Uzun L, Say R, Denizli A. Rapid real-time detection of procalcitonin using a microcontact imprinted surface plasmon resonance biosensor. *Analyst.* 138, 6422-6428, 2013.
- [49] Whitcombe MJ, Kirsch N, Nicholls IA. Molecular imprinting science and technology: A survey of the literature for the years 2004–2011. *J Mol Recognit.*, 297-401, 2014.
- [50] Titirici M, Sellaergren B. Peptide recognition via hierarchical imprinting. *Anal. Bioanal. Chem.* 378, 1913-1921, 2004.
- [51] Odabaşı M, Say R, Denizli A. Molecular imprinted particles for lysozyme purification. *Mater. Sci. Eng. C.* 27, 90-99, 2007.
- [52] Dickert F, Hayden O, Bindeus R, Mann K-J, Blaas D, Waigmann E. Bioimprinted qcm sensors for virus detection—screening of plant sap. *Anal. Bioanal. Chem.* 378, 1929-1934, 2004.
- [53] Kara M, Uzun L, Kolayli S, Denizli A. Combining molecular imprinted nanoparticles with surface plasmon resonance nanosensor for chloramphenicol detection in honey. *J. Appl. Polym. Sci.* 129, 2273-2279, 2013.
- [54] Yano K, Tanabe K, Takeuchi T, Matsui J, Ikebukuro K, Karube I. Molecularly imprinted polymers which mimic multiple hydrogen bonds between nucleotide bases. *Anal. Chim. Acta.* 363, 111-117, 1998.
- [55] Yilmaz E, Mosbach K, Haupt K. Influence of functional and cross-linking monomers and the amount of template on the performance of molecularly imprinted polymers in binding assays. *Analytical Communications.* 36, 167-170, 1999.

- [56] Lin J-M, Nakagama T, Uchiyama K, Hobo T. Temperature effect on chiral recognition of some amino acids with molecularly imprinted polymer filled capillary electrochromatography. *Biomed Chromatogr.* 11, 298-302, 1997.
- [57] Piletsky SA, Mijangos I, Guerreiro A, Piletska EV, Chianella I, Karim K, Turner APF. Polymer cookery: Influence of polymerization time and different initiation conditions on performance of molecularly imprinted polymers. *Macromol.* 38, 1410-1414, 2005.
- [58] Cormack PAG, Elorza AZ. Molecularly imprinted polymers: Synthesis and characterisation. *J. Chromatogr. B.* 804, 173-182, 2004.
- [59] Özgür E, Yılmaz E, Şener G, Uzun L, Say R, Denizli A. A new molecular imprinting-based mass-sensitive sensor for real-time detection of 17 β -estradiol from aqueous solution. *Environmental Progress & Sustainable Energy.* 32, 1164-1169, 2013.
- [60] Lee S-h, Doong R-a. Adsorption and selective recognition of 17 β -estradiol by molecularly imprinted polymers. *J Polym Res.* 19, 1-12, 2012.
- [61] Farber S, Green BS, Domb AJ. Selective 17- β -estradiol molecular imprinting. *J. Polym. Sci. PartA : Polym. Chem.* 47, 5534-5542, 2009.
- [62] Zhu Q, Tang J, Dai J, Gu X, Chen S. Synthesis and characteristics of imprinted 17- β -estradiol microparticle and nanoparticle with tfmaa as functional monomer. *J. Appl. Polym. Sci.* 104, 1551-1558, 2007.
- [63] Koç İ, Baydemir G, Bayram E, Yavuz H, Denizli A. Selective removal of 17 β -estradiol with molecularly imprinted particle-embedded cryogel systems. *J. Hazard. Mater.* 192, 1819-1826, 2011.
- [64] Gao R, Hao Y, Zhang L, Cui X, Liu D, Tang Y. Core-shell nano-sized magnetic molecularly imprinted solid phase extractant coupled with hplc for the selective isolation and determination of 17[small beta]-estradiol in a lake water sample. *Anal. Methods.* 6, 9791-9799, 2014.
- [65] Wei S, Molinelli A, Mizaikoff B. Molecularly imprinted micro and nanospheres for the selective recognition of 17 β -estradiol. *Biosens Bioelectron.* 21, 1943-1951, 2006.
- [66] Meng Z, Chen W, Mulchandani A. Removal of estrogenic pollutants from contaminated water using molecularly imprinted polymers. *Environ. Sci. Technol.* 39, 8958-8962, 2005.

- [67] Lai EPC, Maleki ZD, Wu S. Characterization of molecularly imprinted and nonimprinted polymer submicron particles specifically tailored for removal of trace 17 β -estradiol in water treatment. *J. Appl. Polym. Sci.* 116, 1499-1508, 2010,
- [68] Urh M, Simpson D, Zhao K, *Methods in enzymology*, Academic Press, 417-438, 2009.
- [69] Cronje L, Klumperman B. Modified electrospun polymer nanofibers as affinity membranes: The effect of pre-spinning modification versus post-spinning modification. *Eur. Polym. J.* 49, 3814-3824, 2013.
- [70] Tamahkar E, Saylan Y, Denizli A, *Protein kromatografisi ve yeni nesil polimerik sistemler*, Ankara, 83-95, 2014.
- [71] Wang X, Yu J, Sun G, Ding B. Electrospun nanofibrous materials: A versatile medium for effective oil/water separation. *Materials Today*. 19, 403-414, 2016.
- [72] Chronakis IS, Milosevic B, Frenot A, Ye L. Generation of molecular recognition sites in electrospun polymer nanofibers via molecular imprinting. *Macromol.* 39, 357-361, 2006.
- [73] Piperno S, Tse Sum Bui B, Haupt K, Gheber LA. Immobilization of molecularly imprinted polymer nanoparticles in electrospun poly(vinyl alcohol) nanofibers. *Langmuir*. 27, 1547-1550, 2011.
- [74] Yoshimatsu K, Ye L, Lindberg J, Chronakis IS. Selective molecular adsorption using electrospun nanofiber affinity membranes. *Biosens Bioelectron.* 23, 1208-1215, 2008.
- [75] Eichhorn SJ, Dufresne A, Aranguren M, Marcovich NE, Capadona JR, Rowan SJ, Weder C, Thielemans W, Roman M, Renneckar S, Gindl W, Veigel S, Keckes J, Yano H, Abe K, Nogi M, Nakagaito AN, Mangalam A, Simonsen J, Benight AS, Bismarck A, Berglund LA, Peijs T. Review: Current international research into cellulose nanofibres and nanocomposites. *J Mater Sci.* 45, 1-33, 2009.
- [76] Klemm D, Schumann D, Udhardt U, Marsch S. Bacterial synthesized cellulose - artificial blood vessels for microsurgery. *Prog Polym Sci.* 26, 1561-1603, 2001.
- [77] Shah N, Ul-Islam M, Khattak WA, Park JK. Overview of bacterial cellulose composites: A multipurpose advanced material. *Carbohydr. Polym.* 98, 1585-1598, 2013.

- [78] Siró I, Plackett D. Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: A review. *Cellulose*. 17, 459-494, 2010.
- [79] Trovatti E, Carvalho AJF, Ribeiro SJL, Gandini A. Simple green approach to reinforce natural rubber with bacterial cellulose nanofibers. *Biomacromolecules*. 14, 2667-2674, 2013.
- [80] Butchosa N, Brown C, Larsson PT, Berglund LA, Bulone V, Zhou Q. Nanocomposites of bacterial cellulose nanofibers and chitin nanocrystals: Fabrication, characterization and bactericidal activity. *Green Chemistry*. 15, 3404-3413, 2013.
- [81] Fukuzumi H, Saito T, Iwata T, Kumamoto Y, Isogai A. Transparent and high gas barrier films of cellulose nanofibers prepared by tempo-mediated oxidation. *Biomacromolecules*. 10, 162-165, 2009.
- [82] Wu Z-Y, Li C, Liang H-W, Chen J-F, Yu S-H. Ultralight, flexible, and fire-resistant carbon nanofiber aerogels from bacterial cellulose. *Angewandte Chemie*. 125, 2997-3001, 2013.
- [83] Sai H, Fu R, Xing L, Xiang J, Li Z, Li F, Zhang T. Surface modification of bacterial cellulose aerogels' web-like skeleton for oil/water separation. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 7, 7373-7381, 2015.
- [84] Akduman B, Uygun M, Çoban EP, Uygun DA, Bıyık H, Akgöl S. Reversible immobilization of urease by using bacterial cellulose nanofibers. *Appl. Biochem. Biotechnol*. 171, 2285-2294, 2013.
- [85] Fu L, Zhang J, Yang G. Present status and applications of bacterial cellulose-based materials for skin tissue repair. *Carbohydr. Polym.* 92, 1432-1442, 2013.
- [86] Tamahkar E, Babaç C, Kutsal T, Pişkin E, Denizli A. Bacterial cellulose nanofibers for albumin depletion from human serum. *Process Biochem*. 45, 1713-1719, 2010.
- [87] Lu M, Zhang Y-m, Guan X-h, Xu X-h, Gao T-t. Thermodynamics and kinetics of adsorption for heavy metal ions from aqueous solutions onto surface amino-bacterial cellulose. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*. 24, 1912-1917, 2014.
- [88] Ul-Islam M, Khan T, Khattak WA, Park JK. Bacterial cellulose-mmTs nanoreinforced composite films: Novel wound dressing material with antibacterial properties. *Cellulose*. 20, 589-596, 2013.

- [88] Wang J, Lu X, Ng PF, Lee KI, Fei B, Xin JH, Wu J-y. Polyethylenimine coated bacterial cellulose nanofiber membrane and application as adsorbent and catalyst. *Journal of Colloid and Interface Science*. 440, 32-38, 2015.
- [89] Gu J, Catchmark JM. Roles of xyloglucan and pectin on the mechanical properties of bacterial cellulose composite films. *Cellulose*. 21, 275-289, 2014.
- [90] Hu W, Chen S, Yang J, Li Z, Wang H. Functionalized bacterial cellulose derivatives and nanocomposites. *Carbohydr.Polym.* 101, 1043-1060, 2014.
- [91] Qiu K, Netravali AN. A review of fabrication and applications of bacterial cellulose based nanocomposites. *Polymer Reviews*. 54, 598-626, 2014.
- [92] Wang B, Li X, Luo B, Yang J, Wang X, Song Q, Chen S, Zhi L. Pyrolyzed bacterial cellulose: A versatile support for lithium ion battery anode materials. *Small*. 9, 2399-2404, 2013.
- [93] Chen S, Huang Y. Bacterial cellulose nanofibers decorated with phthalocyanine: Preparation, characterization and dye removal performance. *Materials Letters*. 142, 235-237, 2015.
- [94] Bodhibukkana C, Srichana T, Kaewnopparat S, Tangthong N, Bouking P, Martin GP, Suedee R. Composite membrane of bacterially-derived cellulose and molecularly imprinted polymer for use as a transdermal enantioselective controlled-release system of racemic propranolol. *J Controlled Release*. 113, 43-56, 2006.
- [95] Tamahkar E, Kutsal T, Denizli A. Surface imprinted bacterial cellulose nanofibers for cytochrome c purification. *Process Biochem*. 50, 2289-2297, 2015.
- [96] Ifuku S, Tsuji M, Morimoto M, Saimoto H, Yano H. Synthesis of silver nanoparticles templated by tempo-mediated oxidized bacterial cellulose nanofibers. *Biomacromolecules*, 10, 2714-2717, 2009.
- [97] Jantarat C, Tangthong N, Songkro S, Martin GP, Suedee R. S-propranolol imprinted polymer nanoparticle-on-microsphere composite porous cellulose membrane for the enantioselectively controlled delivery of racemic propranolol. *Int.J.Pharma*. 349, 212-225, 2008.
- [98] Garside P, Wyeth P. Identification of cellulosic fibres by ftir spectroscopy - thread and single fibre analysis by attenuated total reflectance. *Studies in Conservation*. 48, 269-275, 2003.

- [99] Altıntaş EB, Denizli A. Monosize magnetic hydrophobic beads for lysozyme purification under magnetic field. *Mater. Sci. Eng. C.* 29, 1627-1634, 2009.
- [100] Osman B, Özer ET, Kara A, Yeşilova E, Beşirli N. Properties of magnetic microbeads in removing bisphenol-a from aqueous phase. *Journal of Porous Materials.* 22, 37-46, 2015.
- [101] Derazshamshir A, Baydemir G, Andac M, Say R, Galaev IY, Denizli A. Molecularly imprinted phema-based cryogel for depletion of hemoglobin from human blood. *Macromol. Chem. Phys.* 211, 657-668, 2010.
- [102] García-Calzón JA, Díaz-García ME. Characterization of binding sites in molecularly imprinted polymers. *Sensor Actuat. B-Chem.* 123, 1180-1194, 2007.
- [103] Umpleby li RJ, Baxter SC, Rampey AM, Rushton GT, Chen Y, Shimizu KD. Characterization of the heterogeneous binding site affinity distributions in molecularly imprinted polymers. *J. Chromatogr. B.* 804, 141-149, 2004.
- [104] Alothman ZA, Naushad M, Ali R. Kinetic, equilibrium isotherm and thermodynamic studies of cr(vi) adsorption onto low-cost adsorbent developed from peanut shell activated with phosphoric acid. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20, 3351-3365, 2013.
- [105] Larsericsdotter H, Oscarsson S, Buijs J. Thermodynamic analysis of lysozyme adsorbed to silica. *Journal of Colloid and Interface Science.* 276, 261-268, 20014.
- [106] Min M, Shen L, Hong G, Zhu M, Zhang Y, Wang X, Chen Y, Hsiao BS. Micro-nano structure poly(ether sulfones)/poly(ethyleneimine) nanofibrous affinity membranes for adsorption of anionic dyes and heavy metal ions in aqueous solution. *Chem. Eng. J.* 197, 88-100, 2012.

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı: İlker KOÇ

Doğum Yeri: Akşehir

Medeni Hali: Evli

E-posta: ilkerkoc@hacettepe.edu.tr

Adresi: Hacettepe Üniversitesi, Kimya Bölümü, Beytepe, Ankara

Eğitim

Lisans: Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü

Yüksek Lisans: Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü

Doktora: Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü

Yabancı Dil ve Düzeyi

İngilizce (iyi)

Almanca (iyi)

İş Deneyimi

Ekim 2009-2011: Araştırma Görevlisi, Karabük Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü

Deneyim Alanları

Biyosensör, Moleküler Baskılama, Protein Saflaştırma ve Tayin Yöntemleri, Kriyojeller

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

Tezden Üretilmiş Yayınlar

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar



HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

Tarih: 22/03/2018

Tez Başlığı / Konusu: ATIK SULARDAN ESTRADİOL UZAKLAŞTIRILMASI İÇİN E2 BASKILANMIŞ NANOPARTİKÜL BAKTERİYEL SELÜLOZ KOMPOZİT SİSTEMİN HAZIRLANMASI

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş, c) Ana bölümler d) Sonuç kısımlarından oluşan toplam 66 sayfalık kısmına ilişkin, 22/03/2018 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 8'dir.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kaynakça hariç
- 2- Alıntılar hariç/dâhil
- 3- 5 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Çalışması Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

Tarih ve İmza

22/03/2018

Adı Soyadı: İlker KOÇ
Öğrenci No: N08142653
Anabilim Dalı: KİMYA
Programı: BİYOKİMYA
Statüsü: ☐ Y.Lisans ☒ Doktora ☐ Bütünleşik Dr.

DANIŞMAN ONAYI

UYGUNDUR.

(Prof. Dr. Adil Denizli)