



**ÇEVRE SULARINDAN ANTİBİYOTİK UZAKLAŞTIRILMASI İÇİN
MOLEKÜLER BASKILANMIŞ KRİYOJELLERİN GELİŞTİRİLMESİ**

Çağrı TARTAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

TEMMUZ 2021

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Çağrı TARTAN
07/07/2021

ÇEVRE SULARINDAN ANTİBİYOTİK UZAKLAŞTIRILMASI İÇİN MOLEKÜLER BASKILANMIŞ KRIYOJELLERİN GELİŞTİRİLMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Çağrı TARTAN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Temmuz 2021

ÖZET

Tez çalışmasında, çevre sularından antibiyotik giderimi için farklı kompleks oranlarına sahip moleküler baskılanmış kriyojel destek malzemeler sentezlenmiştir. Hedef molekül vankomisin baskılanmış polimerik yapılar, N-metakriloil-L-aspartik asit (MAAsp) ve 2-hidroksietil metakrilat (HEMA) monomerlerinin yarı donmuş sulu ortamdaki kopolimerizasyonu ile hazırlanmıştır. Vankomisin baskılanmış kriyojelerin yapısal ve morfolojik karakterizasyonu için Fourier transform infrared (FTIR) spektroskopisi, termogravimetrik analiz (TGA), diferansiyel termal analiz (DTA) ve taramalı elektron mikroskopisinden (SEM) yararlanılmıştır. Ayrıca, kriyojelerin şişme davranışları (şişme kapasitesi ve denge şişme değeri) belirlenmiştir. Adsorpsiyon kapasitesi ve kinetiklerinin belirlenmesi için optimum derişim, pH, sıcaklık ve zaman parametreleri optimizasyonu sonrasında, adsorpsiyon çalışmaları için en uygun ortam sıcaklığı 25°C, en uygun çözelti pH'ı 8,0, en uygun çözelti derişimi 250 mg/L ve en uygun adsorpsiyon süresi 120 dakika olarak belirlenmiştir. Seçicilik çalışmarında, çevre sularında bulunan yapısal bakımdan vankomisine benzerlik gösteren tobramisin ve gentamisin molekülleri kullanılmıştır. Baskılama etkiliğinin belirlenmesi amacıyla, vankomisin baskılanmış kriyojeller aynı polimerizasyon koşullarında ortamda vankomisin olmaksızın sentezlenmiştir.

Bilim Kodu : 91218
Anahtar Kelimeler : Polimer, antibiyotik, moleküler baskılama, Vankomisin, kriyojel
Sayfa Adedi : 75
Danışman : Dr. Öğr. Ceren HAKTANIR
İkinci Danışman : Prof. Dr. Lokman UZUN

DEVELOPMENT OF MOLECULARLY IMPRINTED CRYOGELS FOR
ANTIBIOTICS REMOVING FROM ENVIRONMENTAL WATER

(Master of Science Thesis)

Çağrı TARTAN

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

July 2021

ABSTRACT

In the thesis study, molecularly imprinted cryogels containing different amounts of complex molecules were prepared for antibiotics removal from environmental water. Template molecules of vancomycin imprinted polymeric materials were synthesized by cryopolymerization in the presence of functional monomers, N-methacryloyl-L-aspartic acid (MAAsp) and 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA). Structural and morphological analysis of vancomycin imprinted cryogels was carried out by Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy, thermo-gravimetric analysis (TGA), differential thermal analysis (DTA), and scanning electron microscopy (SEM). Swelling characteristics of the cryogels (swelling capacity and swelling ratio) were also determined. In order to determine the adsorption capacity and the kinetics study, optimum concentration, pH, temperature and time parameters were evaluated. According to the results optimum concentration, pH, temperature and time parameters were 250 mg/L, 8.0, 25°C and 120 minutes, respectively. In the selectivity studies, tobramycin and gentamycin, which are also found in environmental water and have similar structures as vancomycin were used. Non imprinted polymers were also prepared to evaluate the imprinting efficacy of vancomycin imprinted cryogels.

Science Code : 91218
Key Words : Polymer, antibiotic, molecular imprinting, Vancomycin, cryogel
Page Number : 75
Supervisor : Asist. Prof. Dr. Ceren HAKTANIR
Co-Supervisor : Prof. Dr. Lokman UZUN

**ÇEVRE SULARINDAN ANTİBİYOTİK UZAKLAŞTIRILMASI İÇİN
MOLEKÜLER BASKILANMIŞ KRİYOJELLERİN GELİŞTİRİLMESİ**

Çağrı TARTAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

HAZİRAN 2021

Çağrı TARTAN tarafından hazırlanan “ÇEVRE SULARINDAN ANTİBİYOTİK UZAKLAŞTIRILMASI İÇİN MOLEKÜLER BASKILANMIŞ KRİYOJELLERİN GELİŞTİRİLMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ceren HAKTANIR

İleri Teknolojiler Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Başkan: Doç. Dr. Nilay BERELİ

Biyokimya Ana Bilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Üye: Doç. Dr. Alpay ŞAHİN

Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Tez Savunma Tarihi: 07/07/2021

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....
Prof. Dr. Cevriye GENCER
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

DEVELOPMENT OF MOLECULARLY IMPRINTED CRYOGELS FOR
ANTIBIOTICS REMOVING FROM ENVIRONMENTAL WATER

(Master of Science Thesis)

Çağrı TARTAN

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

June 2021

ABSTRACT

In the thesis study, molecularly imprinted cryogels containing different amounts of complex molecules were prepared for antibiotics removal from environmental water. Template molecules of vancomycin imprinted polymeric materials were synthesized by cryopolymerization in the presence of functional monomers, N-methacryloyl-L-aspartic acid (MAAsp) and 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA). Structural and morphological analysis of vancomycin imprinted cryogels was carried out by Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy, thermo-gravimetric analysis (TGA), differential thermal analysis (DTA), and scanning electron microscopy (SEM). Swelling characteristics of the cryogels (swelling capacity and swelling ratio) were also determined. In order to determine the adsorption capacity and the kinetics study, optimum concentration, pH, temperature and time parameters were evaluated. According to the results optimum concentration, pH, temperature and time parameters were 250 mg/L, 8.0, 25°C and 120 minutes, respectively. In the selectivity studies, tobramycin and gentamycin, which are also found in environmental water and have similar structures as vancomycin were used. Non imprinted polymers were also prepared to evaluate the imprinting efficacy of vancomycin imprinted cryogels.

Science Code : 91218
Key Words : Polymer, antibiotic, molecular imprinting, Vancomycin, cryogel
Page Number : 75
Supervisor : Asist. Prof. Dr. Ceren HAKTANIR
Co-Supervisor : Prof. Dr. Lokman UZUN

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca benden desteğini hiç esirgemeyen tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Ceren HAKTANIR'a, deneylerim için bana Hacettepe Üniversitesi Kimya Bölümü Biyokimya Ana Bilim Dalı'nda laboratuvar ortamı sunan ve değerli yardımlarıyla destek olan eş danışmanım Prof. Dr. Lokman UZUN ve BIOSMART çalışma grubuna, bilgi ve tecrübelerini eksik etmeyen değerli hocalarım Doç. Dr. Mehmet Emin ÇORMAN, Dr. Erdoğan ÖZGÜR ve Dr. Canan ARMUTÇU ÇORMAN'a, yüksek lisans çalışmalarımda desteğini esirgemeyen Ela ALGÜL hanımefendiye, her daim arkamda desteğini hissettiğim sevgili eşim Sümeyye TARTAN'a ve değerli aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Oğlum Asım Mahir ve babam Yılmaz TARTAN'a...

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
SİMGELER ve KISALTMALAR	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Antibiyotikler	3
2.1.1. Antibiyotik türleri	4
2.1.2. Antibiyotiklerin çevre ve çevre sularına etkileri.....	7
2.2. Vankomisin	8
2.3. Kriyojeller.....	10
2.4. Adsorpsiyon.....	12
2.4.1. Adsorpsiyon izotermi	14
2.4.2. Kinetik analizler.....	16
2.5. Desorpsiyon.....	17
2.6. Moleküler Baskılama.....	17
2.6.1. Moleküler baskılama çeşitleri	19
3. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	21
3.1. Kriyojeller İle İlgili Literatür Araştırmaları	21
3.2. Moleküler Baskılanmış Polimerler ile İlgili Literatür Araştırmaları.....	22
3.3. Antibiyotiklerin Çevre Sularından Giderimi ile İlgili Literatür Çalışması	23

	Sayfa
4. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	25
4.1. Deneysel Malzemeler	25
4.2. Kullanılan Cihazlar.....	25
4.3. N-Metakriloil-L-Aspartik Asit (MAAAsp) Sentezi	26
4.4. Moleküler Baskılanmış Kriyojellerin Sentezi	26
4.5. Optimizasyon Çalışmaları	28
4.5.1. pH etkisi	28
4.5.2. Derişim etkisi	28
4.5.3. Sıcaklık etkisi.....	29
4.5.4. Zaman etkisi.....	29
4.6. Şişme Testleri	30
4.7. Moleküler Baskılanmış Kriyojellerde Adsorpsiyon Çalışması	30
4.8. Seçicilik Çalışmaları.....	32
5. DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	35
5.1. Karakterizasyon Çalışmaları	35
5.1.1. FTIR analizi	35
5.1.2. Termogravimetrik analiz (TGA) – Diferansiyel termal analiz (DTA)	38
5.1.3. Yüzey morfolojisi	42
5.2. Adsorpsiyon Çalışmaları ve Deney Sonuçları.....	48
5.2.1. pH'ın adsorpsiyona etkisi	48
5.2.2 Çözelti derişiminin adsorpsiyona etkisi	49
5.2.3. Sıcaklığın adsorpsiyona etkisi	50
5.2.4. Zamanın adsorpsiyona etkisi.....	51
5.2.5. Seçicilik çalışmaları	52
5.2.6. Adsorpsiyon izotermi	54
5.2.7. Adsorpsiyon kinetik modeli	60

Sayfa

5.2.8. Kriyojellerin şişme testleri.....	66
6. SONUÇ	67
KAYNAKLAR	69
ÖZGEÇMİŞ	75



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.1. Moleküler baskılanmış kriyojellerin sentez koşulları.....	27
Çizelge 5.1. Farklı sıcaklıklarda kriyojellerin kalıntı miktarları.....	39
Çizelge 5.2. MIP 1 ve NIP kriyojeli farklı antibiyotiklerde kD ve k değerleri.....	53
Çizelge 5.3. MIP 2 ve NIP kriyojeli farklı antibiyotiklerde kD ve k değerleri.....	53
Çizelge 5.4. MIP 3 ve NIP kriyojeli farklı antibiyotiklerde kD ve k değerleri.....	53
Çizelge 5.5. MIP 4 ve NIP kriyojeli farklı antibiyotiklerde kD ve k değerleri.....	54
Çizelge 5.6. Farklı kompleks oranına sahip polimerlerin Langmuir ve Freundlich izotermlerine ait veriler	54
Çizelge 5.7. Adsorpsiyon kinetik verileri	60
Çizelge 5.8. Kriyojellerin şişme oranları	66

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Geçmişten günümüze keşfedilen antibiyotik türleri (Pawar vd., 2017)	3
Şekil 2.2. Antibiyotiklerin çevreye yayılım mekanizması.....	4
Şekil 2.3. Tetrasiklinin organik yapısı (Woodward vd., 1953).....	5
Şekil 2.4. Sülfonamid antibiyotiklerinin ana kimyasal yapısı (Martucci vd., 2014)	7
Şekil 2.5. Vankomisin yapısı	9
Şekil 2.6. İçinde “Vancomycin” kelimesi geçen yayınlar (Levin D.P., 2006)	10
Şekil 2.7. (a) PVA/GA kriyojel (b) PVA/GA/ACI kompozit kriyojel SEM görüntüleri (Zheng vd., 2012).....	11
Şekil 2.8. Kriyojelleşme mekanizması.....	11
Şekil 2.9. Moleküler baskılama yönteminin şematik gösterimi (Yılmaz vd., 2009)	18
Şekil 4.1. Kriyojellerin hazırlanma mekanizması.....	27
Şekil 4.2. Farklı kompleks oranlarında moleküler baskılanmış/baskılanmamış kriyojeller	32
Şekil 5.1. MIP 1 kriyojeline ait FTIR spektrumu	36
Şekil 5.2. MIP 2 kriyojeline ait FTIR spektrumu	36
Şekil 5.3. MIP 3 kriyojeline ait FTIR spektrumu	37
Şekil 5.4. MIP 4 kriyojeline ait FTIR spektrumu	37
Şekil 5.5. NIP kriyojeline ait FTIR spektrumu	38
Şekil 5.6. MIP 1 kriyojeline ait termogravimetrik analiz ve türevsel ağırlık analiz grafiği	39
Şekil 5.7. MIP 2 kriyojeline ait termogravimetrik analiz ve türevsel ağırlık analiz grafiği	40
Şekil 5.8. MIP 3 kriyojeline ait termogravimetrik analiz ve türevsel ağırlık analiz grafiği	40
Şekil 5.9. MIP 4 kriyojeline ait termogravimetrik analiz ve türevsel ağırlık analiz grafiği	41

Şekil	Sayfa
Şekil 5.10. NIP kriyojeline ait termogravimetrik analiz ve türevsel ağırlık analiz grafiği	41
Şekil 5.11. MIP 1 kriyojeline ait SEM görüntüleri	43
Şekil 5.12. MIP 2 kriyojeline ait SEM görüntüleri	44
Şekil 5.13. MIP 3 kriyojeline ait SEM görüntüleri	45
Şekil 5.14. MIP 4 kriyojeline ait SEM görüntüleri	46
Şekil 5.15. NIP kriyojeline ait SEM görüntüleri	47
Şekil 5.16. pH'nın vankomisin adsorpsiyon kapasitesine etkisi [Oda sıcaklığı (25°C), 100 mg/L Vankomisin/su çözeltisi), 150 dakika etkileşim süresi]	49
Şekil 5.17. Derişimin vankomisin adsorpsiyon kapasitesine etkisi [Oda sıcaklığı (25°C), pH 8, 150 dakika etkileşim süresi]	50
Şekil 5.18. Sıcaklığın vankomisin adsorpsiyon kapasitesine etkisi (250 mg/L, pH 8,0, 150 dakika etkileşim süresi)	51
Şekil 5.19. Etkileşim süresinin vankomisin adsorpsiyon kapasitesine etkisi [Oda sıcaklığı (25°C), 250 mg/L, pH 8,0]	52
Şekil 5.20. MIP 1 kriyojeline ait Langmuir izoterm grafiği	55
Şekil 5.21. MIP 2 kriyojeline ait Langmuir izoterm grafiği	55
Şekil 5.22. MIP 3 kriyojeline ait Langmuir izoterm grafiği	56
Şekil 5.23. MIP 4 kriyojeline ait Langmuir izoterm grafiği	56
Şekil 5.24. NIP kriyojeline ait Langmuir izoterm grafiği	57
Şekil 5.25. MIP 1 kriyojeline ait Freundlich izoterm grafiği	57
Şekil 5.26. MIP 2 kriyojeline ait Freundlich izoterm grafiği	58
Şekil 5.27. MIP 3 kriyojeline ait Freundlich izoterm grafiği	58
Şekil 5.28. MIP 4 kriyojeline ait Freundlich izoterm grafiği	59
Şekil 5.29. NIP kriyojeline ait Freundlich izoterm grafiği	59
Şekil 5.30. MIP 1 kriyojeline ait yalancı-birinci derece adsorpsiyon grafiği	61
Şekil 5.31. MIP 2 kriyojeline ait yalancı-birinci derece adsorpsiyon grafiği	61
Şekil 5.32. MIP 3 kriyojeline ait yalancı-birinci derece adsorpsiyon grafiği	62

Şekil	Sayfa
Şekil 5.33. MIP 4 kriyojeline ait yalancı-birinci derece adsorpsiyon grafiği	62
Şekil 5.34. NIP kriyojeline ait yalancı-birinci derece adsorpsiyon grafiği.....	63
Şekil 5.35. MIP 1 kriyojeline ait yalancı-ikinci derece adsorpsiyon grafiği	63
Şekil 5.36. MIP 2 kriyojeline ait yalancı-ikinci derece adsorpsiyon grafiği	64
Şekil 5.37. MIP 3 kriyojeline ait yalancı-ikinci derece adsorpsiyon grafiği	64
Şekil 5.38. MIP 4 kriyojeline ait yalancı-ikinci derece adsorpsiyon grafiği	65
Şekil 5.39. NIP kriyojeline ait yalancı-ikinci derece adsorpsiyon grafiği	65



SİMGELER ve KISALTMALAR

Tez çalışması kapsamında kullanmış olduğum bazı simge ve kısaltmalar karşılıkları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklamalar

g

Gram

log

Logaritma

mg

miligram

mL

mililitre

Kısaltmalar

Açıklamalar

APS

Amonyum persülfat

FTIR

Fourier transform infrared

HEMA

2-Hidroksietil metakrilat

MAAsp

N-Metakriloil-L-Aspartik Asit

MBAAm

N,N'-Metilen bisakrilamit

SEM

Taramalı elektron mikroskobu

TEMED

N,N,N',N'-tetrametil etilendiamin

UV

Ultraviyole

1. GİRİŞ

Moleküler tanıma sistemleri sayısız canlı sisteminde önemli bir role sahiptir. En önemli moleküler tanıma yöntemlerinden biri polimerlerin matris yapısında bulunan ve hedef molekülü hızlı, hassas ve seçici bir şekilde tanımasını ve tespit etmesini sağlayan moleküler baskılama yöntemidir. Doğal sistemler ile moleküler baskılama teknolojisini karşılaştırdığımızda moleküler baskılama yöntemleri, moleküler baskılanmış polimerlerin kromatografi, ilaç salınımı, nanoteknoloji ve sensör gibi çeşitli biyoteknolojik uygulamalarda kullanılmasına olanak sağlayan düşük maliyet, sağlamlık, yüksek tanıma yeteneği ve uzun süreli dayanıklılık gibi bazı önemli özelliklere sahiptir. Proteinler, enzimler, nükleik asitler, antikorlar, virüsler ve hücreler çok önemli işlevlere sahip makromoleküller olarak tanımlanır. Bu nedenle, makromoleküllerin tespiti, çalışmaların bir çoğunda ilgi odağı olmuştur [1]. Moleküler baskılama teknolojisinde asıl önemli olan, hedef molekülü doğru bir şekilde ve yüksek seçicilikte tanıyacak şablon yapıyı elde etmektir. Genel olarak şablon molekül seçiminde dikkat edilmesi gereken üç önemli unsur vardır. Bunlardan birincisi, ideal bir şablon molekül seçilirken polimerin yapısına katılmamasına ve polimerizasyonu engelleyecek gruplara sahip olmamasına dikkat edilir. İkinci olarak polimerizasyon sırasında mükemmel bir kimyasal kararlılık sergilemelidir ve son olarak hedef molekülle etkileşimleri için doğru fonksiyonel grupları içermelidirler [2].

Hedeflenen çalışmada giderimi yapılan antibiyotikler vücut savunmasında görevli moleküllerdir. Antibiyotiklerin vücut savunmasında görevli olmaları avantajının yanı sıra son yıllarda oldukça fazla kullanılması ve çevreye ve çevre sularına yeterince atılmadan bırakılmaları bu avantajı dezavantaja dönüştürmektedir. Çevre sularında varlık gösteren bakteriler tarafından bu antibiyotikler tanınmaya başlanmış ve zamanla antibiyotiklere karşı bu bakteriler direnç kazanmaktadır [3-5].

Tez çalışması kapsamında çevre sularından antibiyotik giderimi için sentezlenecek moleküler baskılanmış polimer türümüz kriyojellerdir. Kriyojeller, kısmi donmuş monomerlerin veya polimerlerin çözeltileri ile hazırlanan üç boyutlu, matris yapılı, süngerimsi morfolojide sahip çapraz bağlı jel yapılarıdır [6].

Çalışma kapsamında kullanılan antibiyotik türü vankomisin, 1960'lı yıllarda keşfedilmiş ve gram-pozitif bakterilerin tedavisinde dünyada en çok kullanılan antibiyotik türlerinden biri olmuştur [7].

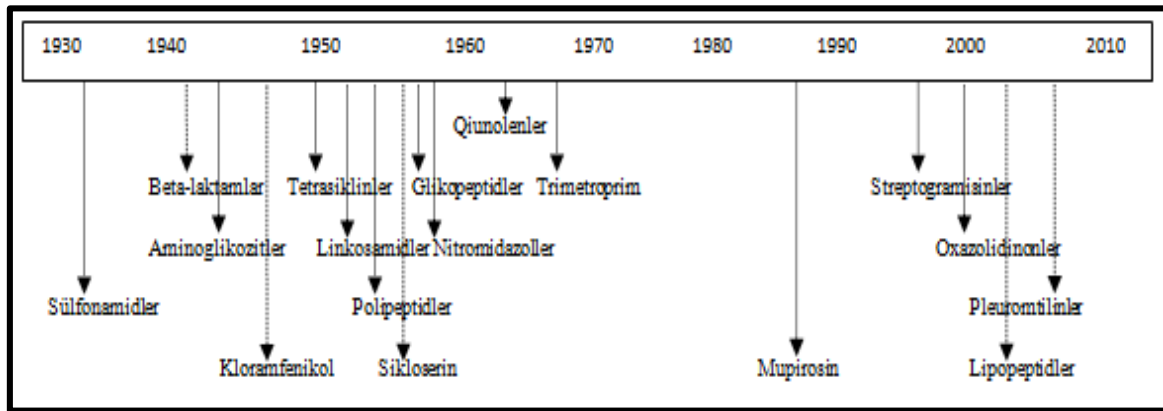
Sunulan tez çalışması kapsamında çevre sularından antibiyotik giderimi için moleküler baskılanmış kriyojeller sentezlenmiştir. Çevre sularından giderimi için hedef molekül olarak vankomisin molekülü seçilmiş ve ortam şartlarının uygunluğu için farklı derişim, pH, sıcaklık ve adsorpsiyon etkileşim süresinde çalışılmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

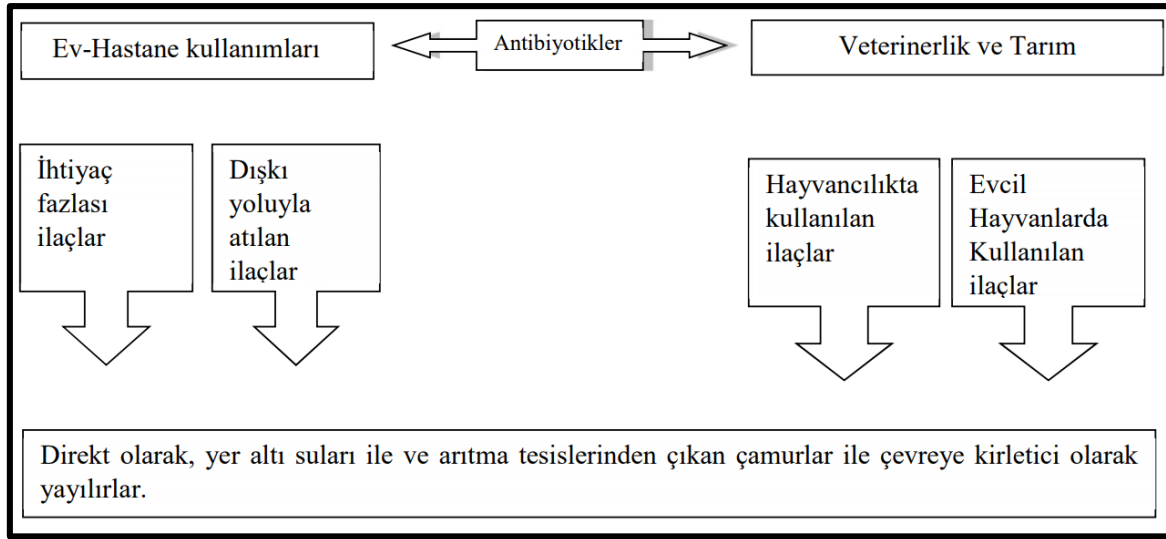
2.1. Antibiyotikler

Antibiyotikler günümüz şartlarında tıp alanında kullanılan önemli bir ilaç türleridir. İnsan enfeksiyonlarının tedavisinin yanı sıra veteriner hekimlikte ve tarım ilaçlamalarında da kullanılmaktadır. Antibiyotik terimi mikropları öldüren veya onları durduran molekül sınıfını belirtmek için kullanılır [3]. Yunanca’da anti (karşı) ve biyos (yaşam) anlamına gelen kelimelerin 1889 yılında Paul Vuillemin tarafından birleştirilmesiyle ortaya çıkmıştır [8]. Antibiyotikler mikro organizmalara karşı etkilerine göre iki sınıfa ayrılırlar. Bunlar bakteriyostatikler ve bakterisidlerdir. Bakteriyostatik sınıfa ait antibiyotikler; Tetrasiklinler, sülfonamidler, kloramfenikoller, makrolitler, mikonazol-fungustatiklerdir. Bakteriyostatik antibiyotikler bakterinin üremesini ve gelişmesini engeller. Zayıflayan ve üreyemeyen bakteriler vücut savunma sistemleri tarafından yok edilirler. Böylece dolaylı yoldan savunma sistemine yardımcı olmuş olurlar. Bakterisit sınıfa ait antibiyotikler ise vücut savunma sistemine dolaylı olmayan yoldan yardımcı olurlar. Bakterilerin hücre duvarı çeperini yok ederek savunmaya yardımcı olan bu antibiyotikler penisilinler, sülfonamidler, aminoglikozitler, vankomisin, florokinonlar, amfoterisin-fungusitler olarak çeşitlendirilir. İlk antibiyotikler doğal kaynaklı olmasına karşın (penisilin gibi) bugünkü antibiyotikler büyük çoğunluğu kimyasal yollarla sentezlenmekte veya doğal ürünlerin modifikasyonu ile elde edilirler. 1930’lardan günümüze kadar birçok antibiyotik keşfedilmiştir. Keşfedilen antibiyotikler Şekil 2.1’de gösterilmiştir [9].



Şekil 2.1. Geçmişten günümüze keşfedilen antibiyotik türleri (Pawar vd., 2017)

Antibiyotikler insan ve hayvanlarda kullanıldıktan sonra %90 oranında metabolizmaya katılmadan dışkı yolu ile atılırlar. Bu atıklar toksik veya biyolojik olarak ayrışamaz ve çevreye ciddi oranlarda zarar verirler [10]. İnsanların ev ve hastanelerde bu molekülleri kullanımı, veterinerlik alanında yapılan kullanımlar ve tarımda kullanılan antibiyotikler vb. kullanımlardan ötürü sürekli olarak çevreye salınır [11]. Antibiyotiklerin çevreye yayılma mekanizması Şekil 2.2’de gösterilmiştir.



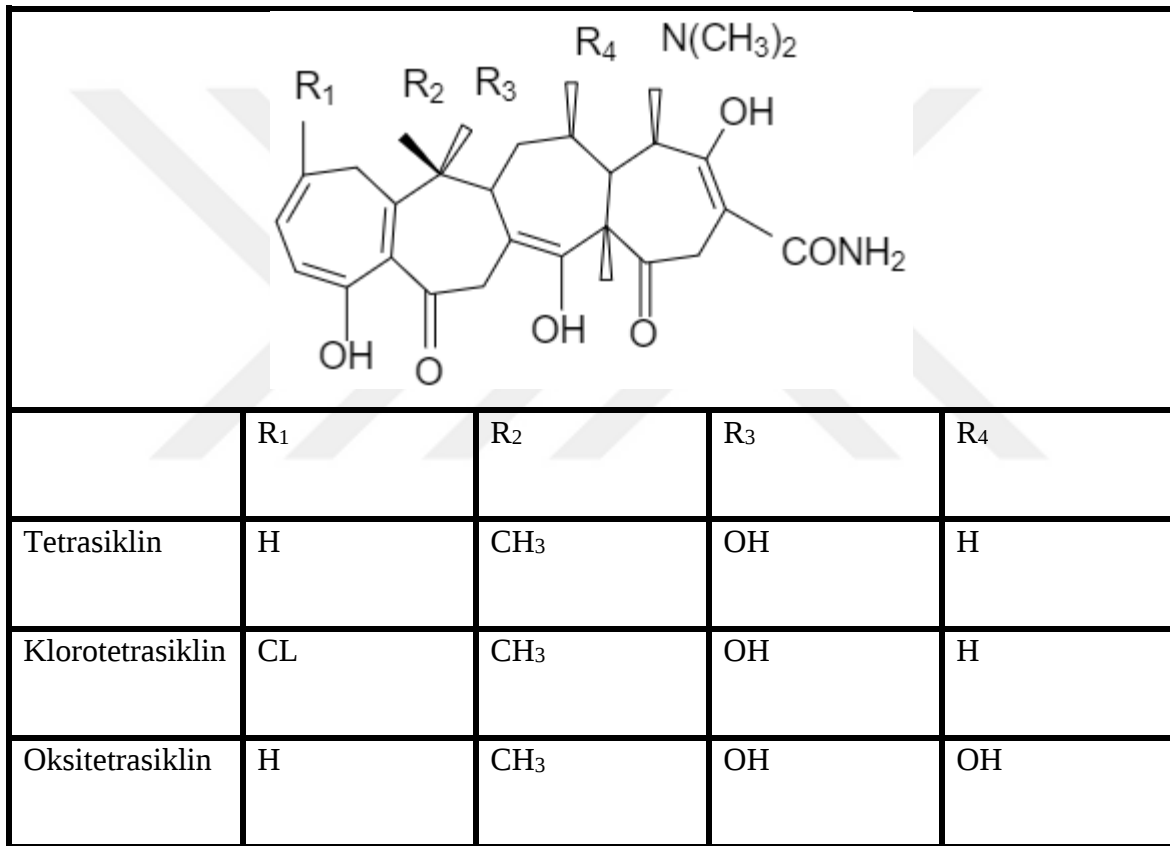
Şekil 2.2. Antibiyotiklerin çevreye yayılım mekanizması

2.1.1. Antibiyotik türleri

Tetrasiklinler

Tetrasiklin, insan ve hayvan sağlığında yaygın olarak kullanılan geniş spektrumlu bir antibiyotik ailesidir. tetrasiklin antibiyotik çağı, 1948'de Benjamin Duggar tarafından *Streptomyces aureofaciens*'den klortetrasiklin keşfi ile başlamıştır ve renginin sarı olmasından ötürü Aureomisin olarak adlandırılmıştır [12]. Bir diğer tetrasiklin türü ise 1950'de Finlay ve arkadaşları tarafından *Streptomyces rimosus*'tan bakterisinden oksitetrasiklin olarak saflaştırılmıştır. Bu tür antibiyotiklerin kullanımının artması ve çevrede birikmesiyle sebebiyle mikroorganizmalar tetrasiklinlere direnç göstermeye başlamıştır. Bu duruma çözüm olarak yarı sentetik tetrasiklinler geliştirilmiştir [13]. Üçüncü tür tetrasiklinler yakın zamanda geliştirilmiştir ve tigesiklin adıyla 2005 yılında Gıda ve İlaç Dairesinden onay almıştır [14]. Yapı olarak Klortetrasiklinin ilk olarak 1953'te Woodward grubu tarafından ortaya çıkarılmıştır ve Şekil 2.3’de gösterilmiştir [15]. Tetrasiklinler,

yapısal olarak doğrusal ve kaynaşmış tetrasiklik halkalara (yoğun şekilde ikame edilmiş) ve benzersiz bir C2 amid grubuna sahiptir. Molekölün oksitlenmiş alt çevresi, C11, C11a ve C12 pozisyonları boyunca bir keto – enol konfigürasyonu içerir. Hidrojen bağında ve tetrasiklinin konformasyonunda yer alan bu değişmez özellik ve C10 ve C12a'daki hidroksil grupları, 30 S ribozomal alt birimi ile etkileşim için önemlidir. Alt çevredeki modifikasyonlar, örneğin C1 ve C10 – C12a'da olanlar, antibiyotik aktivitesine zarar verirken, tetrasiklinlerin üst çevresinin kısımları kimyasal değişikliklere toleranslıdır ve bu nedenle yarı sentetik modifikasyonların hedefi olmuştur [6-7].



Şekil 2.3. Tetrasiklinin organik yapısı (Woodward vd., 1953)

Oksitetrasiklin

Tetrasiklinlerin bir alt üyesi olan oksitetrasiklin (OTC), bir çok bakteriye karşı geniş spektrumu olan bir antibiyotiktir. Oksitetrasiklin, insanlarda ve hayvan ilaçlamalarında oldukça fazla kullanılır ve hem yaygın hem de az bulunan bakterilerde etkisini gösterebilir. Bir antibiyotik olarak, vücuttaki emilimi azdır ve idrar yoluyla dışarı atılır. Toprakta yapılan bir desorpsiyon çalışmasında oksitetrasiklinin toprak türünden bağımsız olarak adsorpsiyon miktarının fazla olduğu tespit edilmiştir [16]. Geniş ölçekte yapılan izlemelerde, bazı

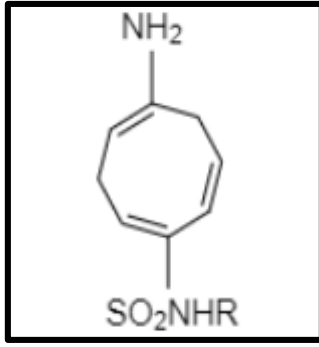
topraklarda 300 µg / kg'a ulaşan ve bazı yüzey sularında 15 µg / L'ye kadar çıkan derişimlerde oksitetrasiklin olduğunu ortaya çıkmıştır [17]. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), su ortamında <1 ppb antibiyotik artığı ve toprakta <100 ppb'lik bir değer önermektedir (WHO Kütüphanesi, 2012). Bunlarla birlikte kullanılan OTC derişimine paralel olarak, OTC üretim prosesinde yaklaşık 150 ton atık su üretilmektedir ve bu tür atık suların yaygın atık su prosedürleriyle giderilmesi çok zordur [18]. Bu sebeple antibiyotik barındıran atık suların su arıtma proseslerine girmeden içinde bulunan antibiyotiklerden arındırılması önem arz etmektedir. OTC antibiyotiğinin çalışma prensibine göre düşman bakterinin yaptığı protein sentezi etkisiz hale getirilir.

Sülfonamidler

Sülfonamid antibiyotik türü bol miktarda üretilir ve hem insan hem de hayvanların tedavisinde oldukça fazla bir şekilde kullanılmaktadır. Sülfonamid molekülü oksitetrasiklinlerde olduğu gibi yaygın su arıtma tesislerinde giderilmezler ve bundan dolayı çevre sularında biriken antibiyotiklere karşı zamanla bakterilerde direnç oluşur. Aynı zaman da bu antibiyotiklerin direkt olarak toksik etkileri mevcuttur [19].

Sülfonamidler, solunum ve akut idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde, bakterilerin sebep olduğu bazı hastalıkların tedavisinde önemli bir ilaçtır [20]. Sülfonamidler, antidiyabetik ajanlar, antikonvülsanlar, diüretikler, proteaz inhibitörleri ve beta blokerlerden oluşmaktadır [21].

Sülfonamidler, bakterilerde veya ökaryotik hücrelerde DNA hasarına yol açabilirler. Sülfonamidlerin etki mekanizması ilk olarak bakteri hücrelerinin çoğalmasını engellemektir. Bu çoğalmayı engellemek folik asit üretiminin durdurulmasıyla olur. Bazı sülfonamidler sülfasetamid sülfadiazin, sülfadoksin, sülfametizol, sülfametoksazol, sülfanilamid, sülfasalazin ve sülfisoksazol gibi molekül türleridir [22]. Sülfonamid antibiyotiklerinin ana kimyasal yapısı Şekil 2.4'de gösterilmektedir [23].



Şekil 2.4. Sülfonamid antibiyotiklerinin ana kimyasal yapısı (Martucci vd., 2014)

Makrolidler

Streptomyces bakterisi tarafından üretilir ve antibiyotiklerin zayıf alkali sınıfındandır. 10 karbon atomundan fazla döngüye sahiptir ve lakton yapılar olarak adlandırılabilirler. Günümüzde bakterilere karşı en yaygın kullanılan farmasötiklerden biridir. Bu molekül türü zayıf bazdır ve asitlerde kararsızdır [24].

Kinolonlar

Kinolonların 4 temel yapısı vardır. Bakterinin DNA girazını engelleyerek geri döndürülemez hasarlara neden olurlar. Sentetik türü antibakteriyel farmasötiklerdir. Florlu kinolon içeren florokinolonlar, en sık kullanılan kinolondur. Florokinolon antibiyotikler, insanda hastalıkların iyileşmesi, hayvanda büyümeyi desteklemek için kullanılır [16].

2.1.2. Antibiyotiklerin çevre ve çevre sularına etkileri

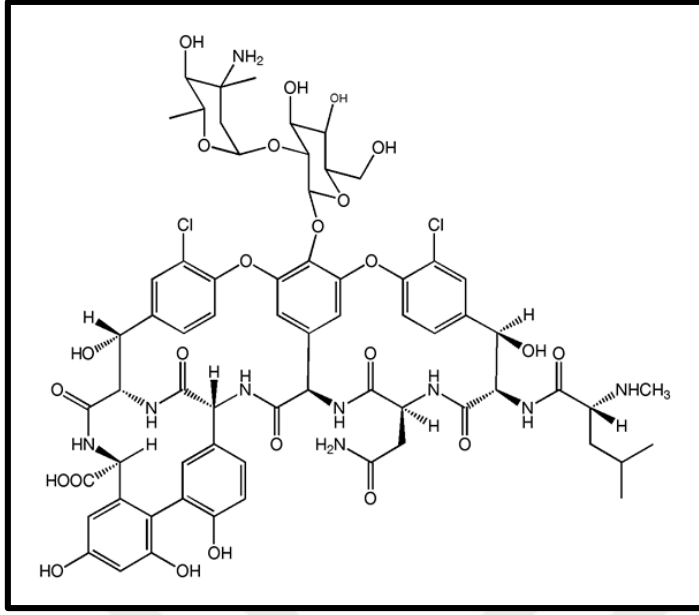
Kentlerde kurulan atık su arıtma tesisleri antibiyotiklerde var olan etken maddeleri gideremez ve çevre sularına doğrudan olarak şarj olurlar. Bu kirleticiler ayrışamaz olmalarından ötürü çevre sularına ciddi oranda zarar vererek ekolojik dengenin bozulmasında ciddi rol oynarlar [26]. Buna bağlı olarak çevrede var olan organizmalar, insan ve hayvan kaynaklı diğer mikroorganizmalara direnç genlerini taşır ve böylece mikroorganizmalar doğal seçilime uğrar. Bunun sonucunda gen havuzunda büyük değişimler olur ve dirençli mikroorganizmalar oluşur. Deniz suyunda bulunan bakteriyel suşların %90'ında bir antibiyotiğe, %20'den fazlasında ise en az beş farklı antibiyotiğe karşı direnç geliştirdiği ortaya konmuştur. Bu sonuçlar antibiyotiklere karşı mikroorganizmaların direnç kazanmasının ekolojik problemlere sebep olduğunu ortaya koyar [5].

1920'lerden sonra enfeksiyon hastalıklarına karşı birçok antibiyotik üretilmiş ve bu hastalıklar ile başarılı bir şekilde savaşılmıştır. Fakat günümüzde antibiyotik kullanımının bu denli artması ve daha önce bahsettiğimiz çevre sularında biriken antibiyotiklere karşı mikroorganizmaların bu denli dirence sahip olması nedeniyle en basit enfeksiyona karşı bile herhangi bir antibiyotiğin işe yaramadığı ve ölümlerin arttığı eski dönemlere dönüş yaşanacaktır [27]. Son yıllarda yapılan çalışmalar ile beraber antibiyotiklerin çevre sularında ve buna bağlı sucul yaşamlarda kirletici etkileri olduğu kabul edilmektedir [4]. Antibiyotiklerin terapötik etkilerine karşın hedef olmayan mikroorganizmalar için dezavantajlıdır [20]. Aynı zaman da çevreye salınan antibiyotiklerin, antibiyotiğe karşı dirençli genlere sahip organizmaların yaratılmasında rol oynaması da endişe kaynadığıdır [28].

Atık sularda da çeşitli antibiyotiklerin açığa çıkarılması için birçok araştırma yapılmıştır [29]. Açığa çıkarılan antibiyotiklerin çevre sularındaki kirletici etkileri için de çalışmalar günden güne artmaktadır. Thomulka ve McGee'nin 1993 yılında yaptığı çalışmalarda antibiyotiklerin uzun süreli inkübasyonlarda neredeyse çalışılan tüm antibiyotiklerin toksik etkileri olduğunu ortaya koymuştur [30]. Ayrıca antibiyotiklere maruz kalan tatlı su piresi *Daphnia Manga* ve kabuklu *Artemia Salina* gibi farklı türlerdeki organizmaların üreme sistemi üzerinde olumsuz etkileri olduğu tespit edilmiştir [31].

2.2. Vankomisin

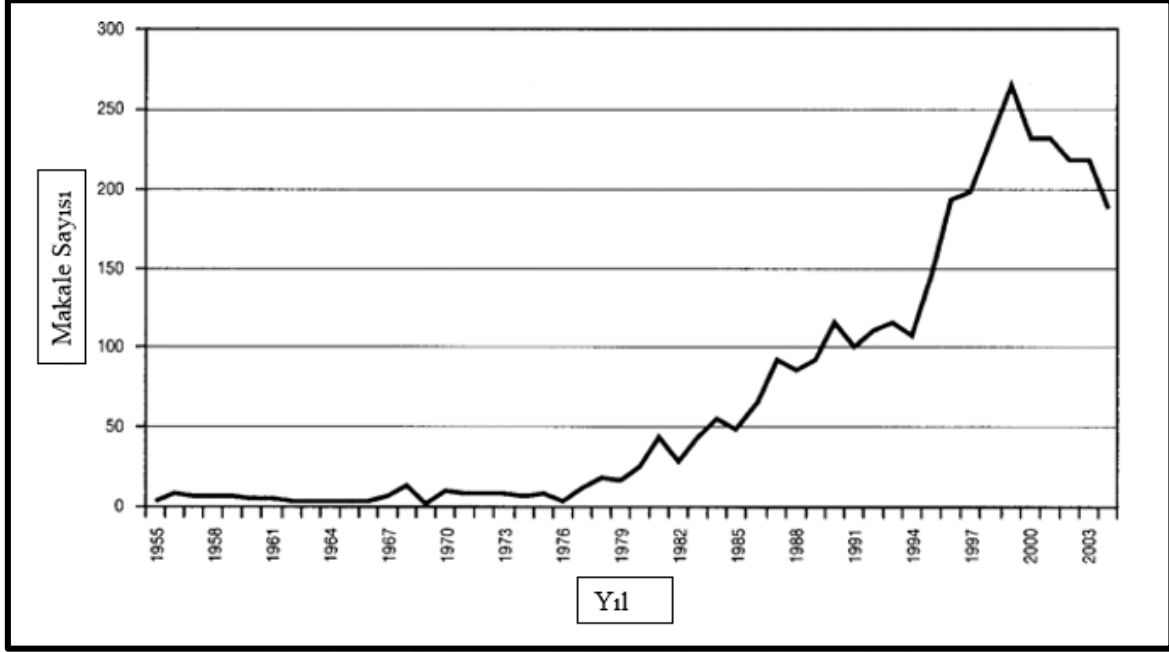
Vankomisin, yaklaşık 50 yıl önce penisilnaz üreten *Staphylococcus aureus* suşlarını tedavi etmek için alternatif bir penisilin olarak geliştirilmiş bir glikopeptid anti bakteriyeldir. Metisiline (metisiline) dirençli *S. aureus* (MRSA) içeren ciddi Gram-pozitif enfeksiyonların tedavisinde dünyada en yaygın kullanılan anti bakteriyellerden biri olmuştur [7].



Şekil 2.5. Vankomisinin yapısı

Şekil 2.5.'de yapısı gösterilen vankomisin antibiyotiğinin keşfi için 1950'lerde penisiline dirençli *Staphylococcal* bakterilerine karşı Eli Lilly tarafından bir çalışma başlatılmıştır. Lilly, Bornemou'da yaşayan arkadaşı Dr. E.C. Cornfeld'e bir toprak örneği göndermiştir. Cornfeld toprak örneğinden *Streptomyces orientalis* bileşiğini izole etmiştir. Bu bileşik gram-pozitif bakterilere ve özellikle *Staphylococcal*'a karşı oldukça aktif olduğu kaydedilmiştir. Lilly'nin laboratuvarında yaptığı in-vitro deneyler sonucu penisiline karşı 4-8 kat olan direnç 100000 kat artmıştır. Daha sonra yapılan hayvan deneyleri de bu sonuçları doğrulanmıştır. Klinik deneyler başlamadan önce renginden dolayı elde edilmiş bu bileşiğe "Missisipi Çamuru" adı verilmiştir. Bu çamurun da saflaştırılması gerekmiştir. Pikrik asit çökeltmesi ve iyon değiştirme reçinesi kullanılmıştır. Ortaya çıkan bileşiğe "Vankomisin" adı verilmiştir [32]. Bu isim "Vanquish (yenilgiye uğratmak)" kelimesinden gelmiştir. Gönüllülerle yapılan çalışmalarda, vankomisin çeşitli doku bölmelerinde terapötik derişimlere ulaşmış ve 1 endokarditli hasta dahil 9 hastanın 8'inde ciddi stafilokok enfeksiyonunun başarılı bir şekilde tedavi edilmesiyle sonuçlanmıştır. Tek terapötik başarısızlık, ampiyem cebinde yeterli derişime ulaşılamayan ampiyemli bir hastada meydana gelmiştir. Daha önce başka antibiyotiklerle tedavi başarısızlığı yaşayan altı endokardit hastası da vankomisin ile tedavi edilmiştir ve bu tedavi sonucu 5 hastada iyileşme kaydedilmiştir. Buna karşında tedavinin başarısız olduğu tek örnek, şok ve tedavi edilemeyen kalp yetmezliği gibi birden çok komplikasyonla hastaneye yatırılan ve 5 gün tedavi gördükten sonra ölen bir hastada meydana gelmiştir. Bununla ilgili çalışmalar devam etmektedir. Vankomisin antibiyotiği

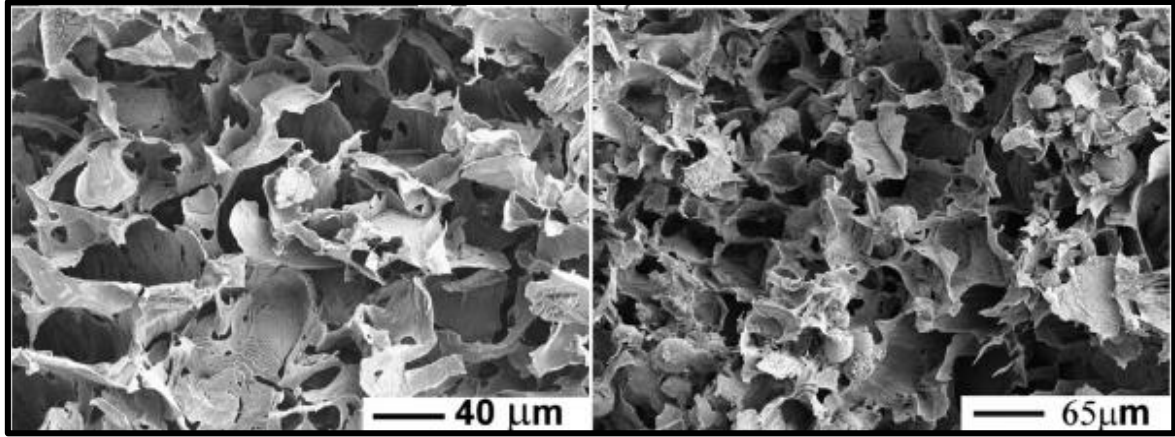
geçmişten günümüze oldukça popüler olmuştur. 1950’lerden 2000’lere kadar vankomisin ile ilgili yapılan çalışma oranı Şekil 2.6’da gösterilmiştir [33].



Şekil 2.6. İçinde “Vancomycin” kelimesi geçen yayınlar (Levin D.P., 2006)

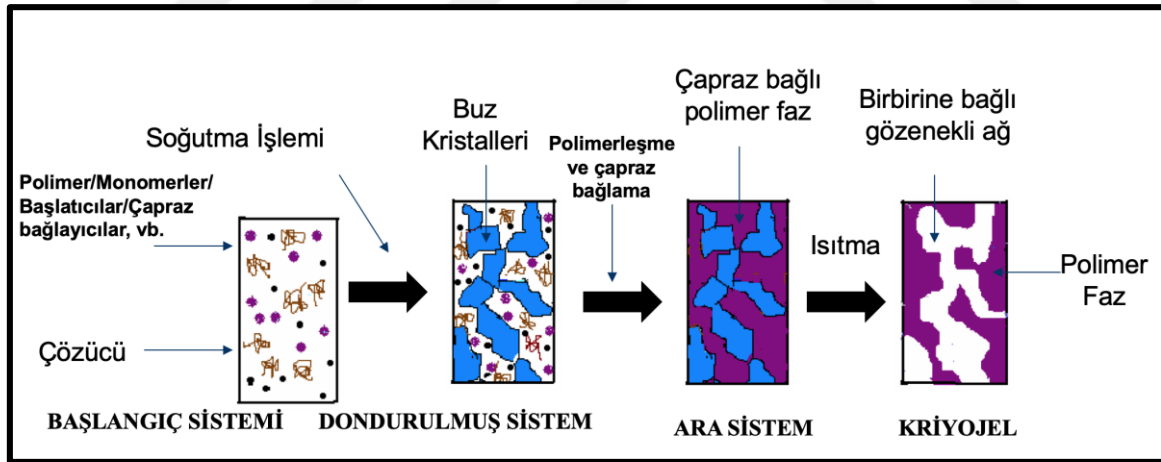
2.3. Kriyojeller

Kriyojeller monomer veya polimer başlatıcıların kısmi olarak dondurulmuş çözeltilerinden hazırlanmış jel matrislerdir. Birbirleri ile bağlantılı makro gözeneklerden oluşurlar. Ozmotik, kimyasal ve mekanik özellikleri sayesinde birçok biyolojik uygulamada kullanılırlar. Kriyojeller, yarı donmuş ortamda sentezlenmelerinden dolayı yapılarındaki gözenekler birbirine bağlanarak geniş akış kanalları oluşturur. Kriyojellerin bu özellikleri, kolay ve etkili bir sulu faz akışı sağlar ve ayrıca difüzyon sınırlamalarını ortadan kaldırır. Böylelikle yüksek seçicilik, hızlı etkileşim süreleri elde etmek ve hedef molekülün etkileşim bölgelerine kolayca ulaşmak mümkündür [34]. Şekil 2.7’de taramalı elektron mikroskop (SEM) görüntüsünde gösterildiği gibi, kriyojeller makro gözeneklere ve geniş akış kanallarına sahiptir ve 0,4 nanometre ile 100 mikrometre arasında çap aralığında geniş gözeneklere sahip olduğu görülebilmektedir [35] [36].



Şekil 2.7. (a) PVA/GA kriyojel (b) PVA/GA/AC1 kompozit kriyojel SEM görüntüleri (Zheng vd., 2012)

Kriyojelizasyon mekanizması Şekil 2.8’de gösterilmektedir; monomer, başlatıcı ve çapraz bağlayıcının çözücü içinde çözünmesi ve soğutulmasıyla başlar. Soğuk ortamda çözücü buz kristallerine dönüşür ve polimerleşme ve çapraz bağlanma bu safhada oluşur. Daha sonra çapraz bağlı polimer faz oda sıcaklığında bekletilir ve birbirine bağlı gözeneklere sahip kriyojel elde edilir.



Şekil 2.8. Kriyojelleşme mekanizması

Daha detaylı anlatmak gerekirse başlangıçta jelleşme için gerekli bileşenler bir araya gelir. Jelleşme hızının yavaş olması kriyojel için önem arz eder çünkü jelleşme hızlı olursa donma gerçekleşmez ve boşluklu yapılar oluşmayabilir. Donmuş sistemde hem katı faz vardır hem de henüz donmamış sıvı faz vardır. Donmuş çözelti polimer içinde ajan gibi davranır ve eridikten sonra kriyojel içinde oluşan boşluklara neden olur. Jel kısım ve sıvı ara yüz arasında yüzey gerilimi oluşur ve gerilim başlangıçta oluşan boşlukların şeklini değiştirerek

yuvarlak bir şekil almasını sağlar. Kriyojelde makro ve mikro gözenekler morfolojinin fiziksel özelliklerinin eşsiz bir şekilde kombine olmasını sağlar [37].

Polimerleşme için gerekli çözeltilerde monomer, çapraz bağlayıcı, çözücü, başlatıcı gibi maddeler bulunur ve polimerleşme sıfır derecenin hemen altında gerçekleşebilir. Böylelikle polimer ağırlığını büyük oranda çözücü oluştururken daha düşük yüzdede monomer kullanılır. Kriyojellerin temel esasını oluşturduğu donmuş faz polimerde makro gözenekleri oluştururken, monomerlerin ve diğer çözülmüş türlerin bulunduğu donmamış bir mikro faz vardır. Bu fazda monomer yoğunluktadır ve makro gözenek duvarlarında polimer derişimini arttırarak kriyojele mekanik dayanım sağlarlar. Kriyojellerin gözenek özellikleri ile ilgili (gözeneklerin duvar et kalınlığı, gözenek boyutları, gözenek yapıları, elastikiyet) özellikleri çözücü miktarı, ortam sıcaklığı, soğutma hızı, çözünen tür derişimi, monomer oranı vb. özellikler belirler [35].

Kriyojeller ilk olarak 1960'lı yıllarda literatüre girmesiyle birlikte birçok kullanım alanında kendilerine yer bulmuşlardır. Tekrar kullanılabilme özellikleri, düşük maliyetleri, mekanik dayanımları ve makro gözenekleri sayesinde difüzyon akışa uygun olmaları sebebiyle tercih edilmişlerdir. Kriyojeller sahip oldukları tekrar kullanılabilme özellikleri, düşük maliyetleri, mekanik dayanımları ve makro gözenekleri ve difüzyon akışa uygun olmaları sayesinde antibiyotik gideriminde, ağır metallerin gideriminde, bazı zararlı maddelerin çevreden gideriminde büyük avantaj sağlamışlardır. Biyoyumlu ve biyobozunur olabilmeleri sebebiyle sert ve yumuşak doku mühendisliği uygulamalarında da kendine yer bulmuştur [38].

2.4. Adsorpsiyon

Maddeler arasında sayısız fiziksel, kimyasal ve biyolojik süreç gerçekleşir. İki faz arasında fazlardan birinin konsantrasyonunda değişikliğin olması adsorpsiyon olarak tanımlanır. Maddelerin türüne bağlı olarak sıvı-gaz, sıvı-sıvı, katı-sıvı ve katı-gaz adsorpsiyonu olabilir. Her ara yüzde meydana gelen adsorpsiyona gerçek adsorpsiyon sistemi olarak tanımlanabilir. Katı-gaz adsorpsiyonunu ele aldığımızda gerçek adsorpsiyon sistemi, adsorbanın yığın fazı ve ara yüzey tabakasının temas halinde olmasını içeren bir denge sistemi olarak tanımlanabilir. Bu tabaka iki bölgeden oluşur; katı yüzeyin kuvvet alanında bulunan gaz kısmı ve katının yüzey tabakası. Adsorpsiyon terimi, moleküllerin arayüzey

tabakasında biriktiği süreçlerle ilgilidir ancak desorpsiyon bunun tam tersi bir süreci ifade eder. Adsorpsiyon histerezisi, adsorpsiyon ve desorpsiyon eğrilerinin birbirinden sapmasıyla oluşur. Böyle bir durumda izoterm, şekli bir adsorpsiyon sisteminden diğerine değişen bir histerezis döngüsüne sahip olur. Adsorpsiyonda adsorplanmış durumdaki maddeye adsorbent denir. Adsorbent moleküllerinin yığın katı faza penetrasyonuna da adsorpsiyon denir [39].

Adsorpsiyon ayrıca adsorbe edilen maddenin yapısına, derişimuna, pH'ına ve sıcaklığına da bağlıdır. Adsorpsiyon, denge reaksiyonuna benzer ve adsorbent yüzey ve çözelti üzerindeki madde derişimi dengeleninceye kadar devam eder. Dengelemeden sonra, adsorbe edilen maddenin derişimi çözelti içinde sabit kalır. Adsorpsiyon, adsorbe edilen maddenin derişimine ve sıcaklığa bağlıdır. Genellikle adsorpsiyon işlemi, adsorpsiyon sistemi içindeki derişim etkisini incelemek için sabit bir sıcaklıkta gerçekleştirilir. Adsorbe edilen madde miktarı, solüsyondaki adsorbe edilen maddenin derişimine göre grafiğe dökülür ve bu matematiksel ifadeye adsorpsiyon izotermi denir. Freundlich ve Langmuir izotermi bunlara örnek olarak verilebilir. [40].

Genellikle adsorpsiyon yönteminde önce metal iyonu bir kompleks oluşturur, daha sonra bu kompleks adsorbent üzerine adsorbe edilir. Bu yöntem, bileşenlerin gaz veya sıvı fazlardan katı maddenin yüzeyine emilmesidir. Tasarım ve esnekliğin yanı sıra, kirletici oluşumunun olmaması, düşük yatırım maliyetleri ve adsorbentin tekrar kullanılabilmesi bu yöntemin avantajlarıdır. Bu işlemde lignin, tanin, kitin, kitosan, ölü biyokütle, zeolit, kil, tarım endüstrisinin yan ürünleri, aktif karbon, karbon nanotüpler ve sentetik polimer bazlı adsorbentler kullanılabilir. Adsorbentler, sentetik polimerler, kompozit adsorbentler ve karışık adsorbentler, karbon adsorbentler (aktif karbon, aktif karbon fiberler, karbon moleküler elekler, fullerenler, hetero fullerenler, nanomateriyaller), mineral adsorbentler (silika jeller, zeolitler, kil mineralleri, inorganik nanomateriyaller, metal oksitler, metal hidroksitler, aktif alümina) olarak gruplandırılabilir. Adsorbent malzemeler genellikle gözenekli bir yapıya sahiptir ve sorpsiyon işlemi genellikle gözenek duvarlarında veya partiküller içindeki belirli yerlerde gerçekleşir. Genel işlem hızı, adsorbe edilen maddelerin kılcal gözeneklere difüzyon hızı ile kontrol edilir ve adsorbent ile temas süresinin kareköküne göre değişir [41].

2.4.1. Adsorpsiyon izotermi

Langmuir izotermi

Langmuir'e göre adsorbe edilen moleküller arasında herhangi bir etkileşim olmaksızın adsorpsiyon gerçekleştiğinde monomoleküler bir katman oluşur. Langmuir izotermine göre adsorbentin sabit kalması adsorbent miktarının dengeye ulaşmasıyla mümkün olur. Langmuir'e göre adsorbent yüzeyinde her zaman adsorplayıcı yerler vardır ve adsorpsiyon her moleküle karşı gerçekleşebilir [42]. Bu teori alttaki formüller ile açıklanır;

$$q_e (x/m) = \frac{q_m \cdot K_L \cdot C_e}{1 + K_L \cdot C_e} \quad (2.1)$$

Eşitlik düzenlenirse;

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{q_m} \cdot K_L + \frac{C_e}{q_m} \quad (2.2)$$

Şeklinde ifade edilebilir.

Eşitlikte terimlerden;

q_e : Adsorbent başına adsorplanan madde miktarı (mg/g),

x : Adsorplanan madde miktarı (mg),

m : Adsorbent kütlesi (g),

C_e : Çözelti içerisinde adsorpsiyon işleminden arta kalan maddenin derişimu (mg/L),

K_L : Adsorpsiyon enerjisini gösteren Langmuir sabiti (L/mg),

q_m : Adsorpsiyon kapasitesini gösteren Langmuir sabiti (mg/g) dir.

Eşitlikteki, C_e karşı C_e/q_e grafiğı çizilir ve q_m , K_L sabitleri bulunur. q_m grafiğın eğiminden, K_L ise y eksenini kestiğı noktadan hesaplanır.

Freundlich izotermi

Freundlich modeline göre sorpsiyon enerjisinin tüm sorpsiyon bölgeleri için homojen olmadığı heterojen bir yüzey üzerinde dengededir [42]. Bu izoterm modeli aşağıdaki denklem ile açıklanır;

$$q_e \left(\frac{x}{m} \right) = KF \cdot C_e^{\frac{1}{n}} \quad (2.3)$$

bu denklemin düzenlenmiş hali

$$\ln q_e = \ln KF + \frac{1}{n} \ln C_e \quad (2.4)$$

şeklindedir.

Eşitlikte bulunan terimlerden

q_e : Adsorplanan birim adsorbent madde miktarı (mg/g),

x : Adsorbent miktarı (mg),

m : Adsorbentin kütlesi (g),

KF : Adsorpsiyon kapasitesini ile ilgili sabit,

n : Adsorpsiyon şiddetini ifade eden Freundlich sabitidir.

Denklemden bulunan ifadelerden $\ln C_e$ 'ye karşı $\ln q_e$ grafiğe geçirilerek, KF ve n sabitleri tespit edilir. Grafiğin eğiminden n , y eksenini kestiği noktadan KF değeri bulunur.

Temkin izotermi

Temkin izotermine göre bir adsorbent ile adsorbent arasındaki ilişkiye bağlı olarak bu moleküllerin adsorpsiyon ısısında azalma olacağı belirtilmiştir. Temkin izotermi açıklamak için şu bağıntılar kullanılabilir [43];

$$q_e = (RT/b) \ln K_T C_e \quad (2.5)$$

$$q_e = (RT/b) \ln K_T + (RT/b) \ln C_e \quad (2.6)$$

$$q_e = B_T \ln K_T + B_T \ln C_e \quad (2.7)$$

Eşitliklerde;

$B_T = RT/b'$ dir.

b , Temkin izoterm sabiti

K_T , denge bağlanma sabitidir (Lg^{-1}).

2.4.2. Kinetik analizler

Adsorpsiyon hızı ve adsorpsiyonun hangi mekanizma ile çalışacağını gösteren parametreler kinetik analizlerdir. Yalancı birinci kinetik modeli ve yalancı ikinci kinetik modeli adsorpsiyon kinetiklerindendir.

Yalancı birinci derece kinetik model

Adsorpsiyonda denge verilerini anlayabilmek amacıyla adsorpsiyon kinetik modeli belirlenir. Adsorpsiyon kapasitesi baz alınarak türetilen kinetik model Langergen tarafından keşfedilmiştir [44]. Aşağıdaki eşitlikler ile açıklanabilir;

$\log(q_e - q_t) = \log q_e - (K_1/2,303).t$	(2.8)
--	-------

Burada, q_e (mg/g) ve q_t (mg/g), sırasıyla denge ve herhangi bir t süresindeki adsorpsiyon kapasiteleri ve K_1 (1/dakika) [45].

Yalancı ikinci derece kinetik model

Yalancı ikinci derece kinetik verilerinin çıkış nedeni yalancı birinci kinetik çalışmasında zamanın kısıtlayıcı olmasıdır. Bu kinetik modelde adsorpsiyon kapasitesi çok önemlidir. Model şu şekilde açıklanabilir;

$t/q_t = 1/(K_2 q_e^2) + (1/q_e).t$	(2.9)
-------------------------------------	-------

Burada, K_2 (g/mg.dakika), yalancı ikinci mertebe hız sabitidir [34].

2.5. Desorpsiyon

Desorpsiyon herhangi bir maddenin bir yüzeyden salındığı durumdur. Süreç, adsorpsiyonun ve absorpsiyonun tersidir. Bu, yığın faz ile adsorbe edici yüzey arasında sorpsiyon dengesi durumunda olan bir sistemde meydana gelir [46].

2.6. Moleküler Baskılama

Moleküler baskılama terimi antijen/antikor veya enzim/substrat gibi karşılıklı tanıma mekanizmalarının polimerik yapılarda kullanılma yöntemidir. Moleküler tanımda hedef molekül çevresinde oluşan polimerizasyonla belirli özellikte tanıma bölgelerine sahip çapraz bağlanmış matrislere dönüşebilmektedir. Hedef molekülün matristen uzaklaştırılması ile oluşan boşluk hedef moleküle uygun büyüklük, şekil ve fonksiyona sahip olabilmektedir. Bununla birlikte kalıp molekülü tekrar polimere bağlayabilen seçici polimerler elde edilebilmektedir [47].

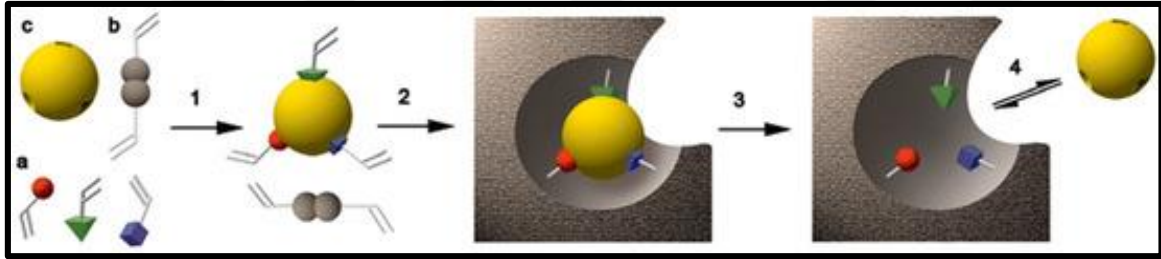
Moleküler baskılı polimerler (MPI), yüksek mekanik özellikleri, ısıya ve basınca karşı dirençleri, fiziksel dayanımları, asitler, bazlar, metal iyonları ve organik çözücüler gibi ortamlarda yüksek stabiliteleri nedeniyle de tercih edilmektedir. Bu özellikler, moleküler baskılı polimerlerin yaşam, eczacılık ve çevre bilimleri gibi çok çeşitli alanlarda tanıma ve ayırma için kullanılmasını sağlar [28].

Moleküler tanıma ve ona bağlı mekanizmalar birçok biyolojik sürecin temelini oluşturur. Bazı moleküller, reseptörler arasından sadece bazılarını tanıyabilirler. Bunun yanı sıra

reseptörler, kitle çözümlerinde kendi partner moleküllerini kolayca ayırt edebilir. Oldukça yüksek derişimlerde kararlı kompleksler oluşturabilirler. Vücutta doğal olarak bulunan birçok reseptör vardır. Bu reseptörler, yaşamın varlığı için gerekli olan birçok süreçte önemli rollere sahiptir. Yapay reseptörlerin doğal reseptörlere göre bazı avantajları vardır. Bu insan yapımı moleküller vücutta olduğu gibi sadece proteinler ile ilgilenmeyebilir. Çeşitli moleküller için ona özgü reseptörler geliştirilebilir. Ayrıca farklı koşullar için esneklik, kararlılık ve aktiviteleri de belirlenebilir. Genel olarak farklı bileşikler için farklı koşullara sahip bu reseptörlerin sentezi genel manada “moleküler baskılama” olarak ele alınır.

Moleküler baskılanmış polimerler temel olarak bir başlatıcı kullanılarak çapraz bağlanmış monomerler ve hedef moleküllerin polimerizasyonu ile sentezlenir. Moleküler baskılanmış polimerler için hedef molekül gereklidir.

Moleküler baskılanmış polimerizasyon Şekil 2.9’da gösterilmektedir. Bu polimerizasyon üç temel bağlamda açıklanır. Ön kompleksleşme, polimerizasyon ve kalıp molekülün uzaklaştırılması.



Şekil 2.9. Moleküler baskılama yönteminin şematik gösterimi (Yılmaz vd., 2009)

Polimerizasyon işleminde, reaksiyon karışımı çapraz bağlayıcı madde ve uygun bir başlatıcı oranına bağlı polimerize olur. MIP'nin morfolojisini belirleyen etmen çapraz bağlayıcıdır. Çapraz bağlayıcı özel bağlanma bölgelerini (baskılanmış bölge) stabilize eder ve polimere sağlamlık sağlar. Hazırlama yöntemlerinden biri olan radikal kopolimerizasyonda başlatıcının koşulları polimerizasyon aşamasını etkiler. Monomer ve şablon arasındaki kovalent olmayan etkileşim, başlatma için uygulanan yüksek sıcaklıklarla yok edilebilir. Bu nedenle düşük sıcaklıklarda UV ışığı ile foto başlatma uygulanabilir. Ek olarak, başlatıcının yokluğunda, başlatma için UV emilebilir monomerler kullanılabilir [48].

2.6.1. Moleküler baskılama çeşitleri

Moleküler baskılama çeşitlerine iki farklı yaklaşım vardır. Wulff ve arkadaşlarının (1977) yaptığı çalışma “kovalent” yaklaşımı gösterir. Bu çalışmada polimerizasyon öncesi monomer-kalıp yapısı geri dönüşümlü kovalent bağ ile oluşturulur ve kalıbın polimeri tanınması bu bağın varlığına ve yok kırılmasına bağlıdır. Bu bağ türünde polimerizasyonun ılıman koşullarda kolayca yıkılabilmesi lazım fakat bunun yanında yeteri kadar da kararlı olmalıdır. Bu tür bağ türü ise azdır. Günümüzde bu şekil uygulanabilen bağlar; boronik asit esterleri, Schiff bazları, ketaller, disülfid bağları ve koordinasyon bağlarıdır [49]. Bir diğer bağ türü ise Mosbach ve arkadaşlarının (2006) sunduğu “kovalent olmayan” yaklaşımdır. Kovalent olmayan etkileşimler, tuz köprüleri, hidrojen bağları ve hidrofobik etkileşimler gibi kovalent olmayan etkileşimlere dayanan biyokimyasal sistemlerde tersine çevrilebilir bağlanma ve tanıma olaylarının temelidir. Bu tür bağların bağlanma enerjileri, kovalent bağa kıyasla zayıftır. Ancak, zayıf etkileşimler çoklu yerleştirme noktaları olarak var olduğunda iki varlık arasında güçlü bir bağlanmaya yol açar, çok sayıda kovalent olmayan zayıf kuvvet birikmesinin, iki varlık arasında olağanüstü yüksek bağlanma kuvvetlerine yol açtığını görülmektedir. Bu bağ türünde kovalent bağ türündeki gibi ilk olarak kovalent konjugat türünü sentezlemeye ihtiyaç yoktur. Yani polimerizasyondan sonra kalıp basit bir işlem ile polimerden ayrılabilir [50, 51]. Kolay uygulanabilirliği yönünden bu bağ türü çokça kullanılmaktadır. Bir diğer tür ise taklit (dummy) moleküler baskılamadır. Bu metod bazı çevresel hormonlara veya aktif bileşiklere karşı reseptör hazırlamak amacıyla kullanılır. Bu metodla yapılan moleküler baskılama türünde hem kalıp moleküller fazlasıyla toksik olabilir hem de yeteri kadar hedef molekül sentezlemesi zordur. Bunlara bağlı olarak direkt olarak moleküler baskılama işi kovalent ve kovalent olmayana göre daha az kolay olacaktır [52].

Kovalent baskılamanın avantajları ve dezavantajları

Kovalent baskılamanın avantajlarından monomer-şablon konjugatları kararlı ve stokiyometriktir ve bu nedenle moleküler baskı işlemleri (ve ayrıca polimerdeki konuk bağlama bölgelerinin yapısı) görece daha nettir. Konjugatlar kovalent bağlarla oluşturulduğundan ve yeterince kararlı olduğundan çok çeşitli polimerizasyon koşullarında (Yüksek sıcaklık, yüksek veya düşük pH ve oldukça polar çözücü gibi) kullanılabilir. Dezavantajlarından bazıları; Monomer-şablon konjugatının sentezi genellikle zordur ve sentezi daha pahalıdır. Mevcut tersinir kovalent bağların sayısı sınırlıdır. Hedef molekülün

bağlanması ve ayrılması, kovalent bir bağlantının oluşumunu ve bozulmasını içerdiğinden daha yavaş işler.

Kovalent olmayan bağlanmanın avantajları ve dezavantajları

Kovalent olmayan bağlanmanın bazı avantajları arasında kovalent monomer-hedef molekül konjugatlarının sentezi gereksizdir. Hedef molekül, kovalent olmayan etkileşimlerle yalnızca zayıf bir şekilde bağlandığından, çok hafif koşullar altında polimerden kolayca çıkarılır. Kovalent olmayan etkileşimlerden yararlanan hedef molekülün bağlanması ve ayrılmasının hızlı gerçekleşmesi gibi avantajlar vardır. Dezavantajlarından bazıları ise; Baskı işleminin kesinliği kovalent bağlanmaya göre daha düşüktür (monomer-şablon eklentisi kararsızdır ve kesinlikle stokiyometrik değildir). Karışımlarda kovalent olmayan eklenti oluşumunu uygun hale getirmek için polimerizasyon koşulları dikkatlice seçilmelidir. Çok fazla miktarda bulunan fonksiyonel monomerler (eklenti oluşumunda dengenin yerini değiştirmek için) genellikle spesifik olmayan bağlanma yerleri sağlar ve bağlanma seçiciliğini azaltır.

3. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

3.1. Kriyojeller İle İlgili Literatür Araştırmaları

Wang ve Gil Min'in yaptığı çalışmada atık sularadan ağır metal iyonlarını uzaklaştırmak için yeni bir adsorbent olan, poli (vinil alkol) / hidroksiapatit (PVA / HAp) kompozit kriyojel geliştirilmiştir. PVA / HAp kriyojeli, su ve dondurma-çözme kullanılarak temiz bir işlemle hazırlanmıştır. PVA / HAp kriyojeli, 0,1 μ m ve birkaç μ m arasında değişen birbirine bağlı makro gözenekler ve kriyojel içinde iyi dağılmış ve hareketsizleştirilmiş HAp ile sağlanmıştır. PVA / HAp kriyojelinin sorpsiyon kabiliyetini test etmek için kadmiyum sorpsiyonunun parti deneyleri gerçekleştirilmiştir. Kadmiyum sorpsiyonunun izotermi ve kinetiği, deneysel sonuçların izoterm ve kinetik modellerine uydurulmasıyla incelenmiştir. Sonuç olarak en uygun olan Langmuir izotermi, 53,3 mg/g'lık maksimum emme kapasitesidir [24].

Uzun ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise hepatit B yüzey antikorunun (anti-HBs) saflaştırılması için moleküler baskılanmış kriyojel membranlar hazırlanmıştır. Sıfırın altındaki sıcaklıkta hazırlanan kriyojel sentezlenirken serbest radikal polimerizasyon yöntemi kullanılmıştır. Yapılan çalışmada maksimum anti-HBs adsorpsiyon kapasitesi 701,4 Miu / g cm olarak hesaplanmıştır. Kriyojellerin seçiciliği, anti-HB'lerin rekabetçi adsorpsiyonu, toplam anti-hepatit A antikor (anti-HAV) ve toplam immünoglobulin E (IgE) adsorpsiyon çalışmaları ile gösterilmiştir. Kriyojeller, sırasıyla anti-HBs / toplam anti-HAV için 5,45 ve anti-HBs / toplam IgE için 9,05 seçicilik katsayılarına sahip olduğu gösterilmiştir. 1,0 M NaCl içeren fosfat tampon çözeltisi (pH 7.4), adsorbe edilmiş anti-HBs moleküllerinin elüsyonu için kullanılmıştır. Kriyojellerin, adsorpsiyon kapasitesinde önemli bir azalma olmaksızın birçok kez kullanılabildiği görüşmüştür [53].

Yeşilova ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada seçici tetrasiklin (TC) adsorpsiyonu için bir kompozit kriyojel hazırlanmıştır. Kriyojel, TC baskılı poli (hidroksietil metakrilat-N-metakriloil-l-glutamik asit metil ester [poli (HEMA-MAGA)] partiküllerinin poli (hidroksietil metakrilat) [PHEMA] kriyojel içine gömülmesiyle hazırlanmıştır. Farklı derişimlerde TC çözeltileri (5–85 mg / L, pH 5,0) hazırlanmıştır ve TC adsorpsiyon kapasitesi üç farklı sıcaklık için (4°C, 13°C ve 25°C) incelenmiştir. Kriyojelin adsorpsiyon kapasitesi 680 mg TC/ g at 25 °C (pH 5.0) olarak belirlenmiştir. Hazırlanan TC baskılı

kompozit kriyojel, TC adsorpsiyonu için tekrar tekrar kullanılabilmiştir. Yapılan çalışmada kompozit kriyojelin yüksek adsorpsiyon kapasitesi ve seçiciliği gösterilmiştir [54]. Armutçu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise fosfoproteomik lizatların ön derişimu için fosfat baskılı kriyojel kartuşlar geliştirilmiştir. Kriyojel kartuşlar yarı dondurulmuş ortamda sentezlenmiştir ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile karakterize edilmiştir. Kriyojel kartuşlar için fosfat adsorpsiyon koşulları optimize edilmiş ve optimum adsorpsiyon koşulları pH 9,80, derişim 125 ppm ve sıcaklık 25°C olarak belirlenmiştir. Kriyojel kartuşlarının fosfat iyonuna seçiciliği, klorür ve karbonat iyonları kullanılarak belirlenmiştir. Sonuçlara göre, kriyojel kartuşları seçici olarak hem fosfat iyonunu hem de fosforile amino asitleri tanımlar ve yeniden kullanılabilirlik ile ucuz, verimli ve hızlı ön başlatma çalışmaları için uygun bulunmuştur [55].

3.2. Moleküler Baskılanmış Polimerler ile İlgili Literatür Araştırmaları

Derazshamshir ve arkadaşları yaptığı çalışmada hemoglobinin insan kanından azaltılması için moleküler baskılanmış kriyojeller sentezlemiştir. N-metakriloil-L-histidin metil ester, polimerizasyondan önce elektrostatik etkileşimler yoluyla hemoglobin ile kompleksleşme için fonksiyonel bir monomer olarak sentezlenmiştir. Hemoglobin (Hb) baskılı kriyojeller üretilmiş ve şablon protein Hb için yüksek seçicilik gösterilmiştir. Kan hemolizati, moleküler baskılı kriyojellerin birbirine bağlı süper gözenekli yapısı nedeniyle herhangi bir tıkanma olmaksızın hemoglobin giderimi için kolondan başarıyla geçirilmiştir. Birkaç adsorpsiyon-desorpsiyon döngüsünden sonra adsorpsiyon kapasitesinde önemli bir azalma olmamıştır. Hb baskılı kriyojeller, yeni biyosensörlerin ve biyoanalizlerin tasarımı için uygun olabileceği gösterilmiştir [56].

Kartal ve Denizli ise süt örneklerinden kolestrolün giderimi için moleküler baskılanmış polimerler sentezlemiştir. Adsorpsiyon çalışmaları sonucu UV-vis spektrofotometrede çıkan sonuçlara göre 288,72 mg/g adsorpsiyon kapasitesi diğer çalışmalarda görülen adsorbentlerden yüksek çıkmıştır. Bazı çalışmaların verdiği sonuçlar ise şöyledir; Chitin-CHO/MIP 13,6 mg/g, Fe₃O₄ nanopartikül/CHO-MIP 20,1 mg/g, PGMA-CHO-MIP embedlenmiş PHEMA kriyojel 42,7 mg/g. Yapılan çalışma ie literatürdeki diğer adsorbentlere göre CHO-MIP kriyojel boncuklar ile dikkate değer ölçüde daha yüksek bir kolesterol adsorpsiyon kapasitesi elde edilebildiği gösterilmiştir [57].

Rabieizadeh ve arkadaşları yaptığı çalışmada ise lizozim tanınması için monolitik moleküler baskılanmış kriyojeller sentezlemiştir. Yapılan çalışmada % 8 ağırlık / hacim toplam monomer ve % 0,3 ağırlık / hacim lizozim içeren lizozim baskılı poliakrilamid kriyojelleri sentezlenmiştir. Sentezlenen kriyojel süngerimsi ve elastikti ve çok hızlı şişme ve yeniden şekillendirme özellikleri ile $24,5 \pm 3$ şişme oranı ve yaklaşık % 72 jel fraksiyon verimi göstermiştir. Rekabet eden protein olarak sitokrom c için 1,58'lik bir damgalama etkisi ve 1,37'lik bir ayırma faktörü olduğu gözlenmiştir. Kriyojel üzerinde yapılan adsorpsiyon çalışmaları, kriyojelin gramı başına 36,3 mg lizozim maksimum teorik adsorpsiyon kapasitesiyle Langmuir izotermini izlediğini ortaya çıkarmıştır. Ek olarak, düşük akış hızında ve pH=7,0'da tuzsuz bir yeniden bağlama çözeltisinin lizozimin yeniden bağlanması için uygun olduğu gösterilmiştir. Bu tür bir monolitik kolon, hazırlanma basitliği, iyi yeniden bağlanma özellikleri ve makro gözenekliliği nedeniyle çeşitli biyomoleküllerin ayrılmasında geniş bir uygulama alanı vaat ettiği gösterilmiştir [58].

3.3. Antibiyotiklerin Çevre Sularından Giderimi ile İlgili Literatür Çalışması

Xu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada antibiyotiklerin giderimi için termal duyarlı manyetik moleküler baskılı polimerler geliştirilmiştir. Maghemit, silika, poli(N-izopropilakrilamid-ko-etilen glikol dimetakrilat) sülfametazinin antibiyotiği için seçici adsorbent olarak sentezlenmiştir. Moleküler tanıma, manyetik ayırma ve termal değişimlere cevap vermesi hedeflenen polimer moleküler baskılanmamışa oranla daha fazla antibiyotik tutmuştur. Ayrıca bu tür polimerlerin defalarca kullanılabilmeside ayırma, ilaç salınımı, protein tanıma gibi sistemler için uygunluğunu gösterir [59].

Sıfır değerlikli demir tozu (ZVI veya Fe^0) veya bunların nanopartikülleriyle (nZVI veya n Fe^0) yapılan çalışmada su içindeki antibiyotikler için uygun malzemeler olarak önerilmiştir. Elde edilen sonuçlar Amoksisilin ve Ampisilinin sulu çözeltiden tamamen giderildiğini göstermektedir. Çalışma üç farklı mekanizmayla anlatılır ve bunlar beta-laktam laktam halkasının hızlı bir şekilde parçalanması, demir korozyon ürünlerinde antibiyotiklerin adsorpsiyonu ve antibiyotiklerin çökmesidir. Kinetik sonuçlara göre ise antibiyotiklerin oksik koşullar altında ZVI ile temastan sonra sırasıyla yaklaşık $60,3 \pm 3,1$ ve $43,5 \pm 2,1$ dakika yarı ömürleri ile birinci dereceden bozulmaya uğramıştır [60].

Katot olarak Carbon-Felt, anot olarak ise DSA (Ti/RuO₂-IrO₂) kullanılan ve atık sudan elektrooksidasyon ile antibiyotik giderimi yapılan bir çalışmada 8 saatin sonunda %33 verim ile giderim gerçekleşmiştir [61].

Başka bir çalışmada ise Dirany ve arkadaşları sudan elektrokimyasal proses ile sülfametoksazolün antibiyotiğini gidermeye çalışmışlar ve reaksiyon kinetiğinin birinci derece olduğunu belirledikleri proseste bor katkılı elması (BDD) anot olarak kullanmışlar ve antibiyotiği elektrofenton yöntemi ile arıtabildiklerini rapor etmişlerdir [62].

Farklı bir çalışma olarak karşımıza çıkan Llorca ve Mozaz'ın arkadaşları ile birlikte yaptığı çalışmada enzimatik giderim çalışmışlar ve sırasıyla tetrasiklin ve eritromisin antibiyotiklerinin gideriminde %78 ve %50 giderim elde etmişlerdir [63].

4. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Bu tez kapsamında yapılan deneysel çalışmalar, 3 başlık altında anlatılmıştır. Bunlar;

- Moleküler baskılanmış kriyojellerin sentezi
- Moleküler baskılanmış kriyojellerin karakterizasyonu
- Antibiyotik giderimi için adsorpsiyon çalışmaları

4.1. Deneysel Malzemeler

Hedef molekül olarak vankomisin antibiyotiği kullanılmıştır ve Vem İlaç (Türkiye) firmasından temin edilmiştir. Seçicilik deneylerinde karşılaştırma antibiyotikleri olarak Gentadic (İran) firmasından temin edilen gentamisin ve Fargem (Türkiye) firmasından temin edilen tobramisin kullanılmıştır. Kriyojellerin sentezinde kullanılan ana monomer 2-hidroksietil metakrilat (HEMA), çapraz bağlayıcı görevi gören N,N-metilen bisakrilamid (MBAAm), aktifleştirici olarak kullanılan N, N, N', N'- tetrametiletilendiamin (TEMED) ve reaksiyon başlatma elemanı amonyum persülfat (APS) Merck Ag (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiştir. HEMA ve TEMED +4°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir. Deneylerde kullanılan cam malzemeler 12 saat boyunca 4 M nitrik asitte bekletilmiştir. Deneyde kullanılan deiyonize su yüksek akışlı selüloz asetat membran (Barnstead D2731) ile ters osmoz Barnstead (Dubuque, IA) ROPure LP® birimi ve peşi sıra Barnstead D3804 NANOpure® organik/kolloid uzaklaştırma elemanı ve iyon değiştirici dolgu kolon sistemi yardımıyla saflaştırılmıştır, Elde edilen suyun direnci 18 MΩ/cm'dir.

4.2. Kullanılan Cihazlar

Absorbans ölçümleri için Shimadzu UV-1280 Uv-Spektrofotometre kullanılmış ve 280,5 nm dalga boyunda çalışılmıştır. pH optimizasyonu için Bante 920 pH metre kullanılmıştır. Kriyojellerin sentezlenmesi için sirkülasyonlu soğutmalı dondurucu (Lab Companion, Kore) kullanılarak -20°C'da gerçekleştirilmiştir. Karakterizasyon çalışmaları için FTIR (FTIR 8000 Series, Shimadzu, Japonya) spektrofometresi kullanılmıştır. FTIR spektrumları 400 cm⁻¹ ve 4000 cm⁻¹ dalga boyları arasında kaydedilmiştir. Kriyojelin yüzey morfolojisini tayin etmek için taramalı elektron mikroskobu (SEM) (Nova Nanosem 430, FEI Comp., ABD) kullanılmıştır. Kurutulan kriyojeller 20 nm altın tabaka yüzeyine püskürtülerek ölçüm

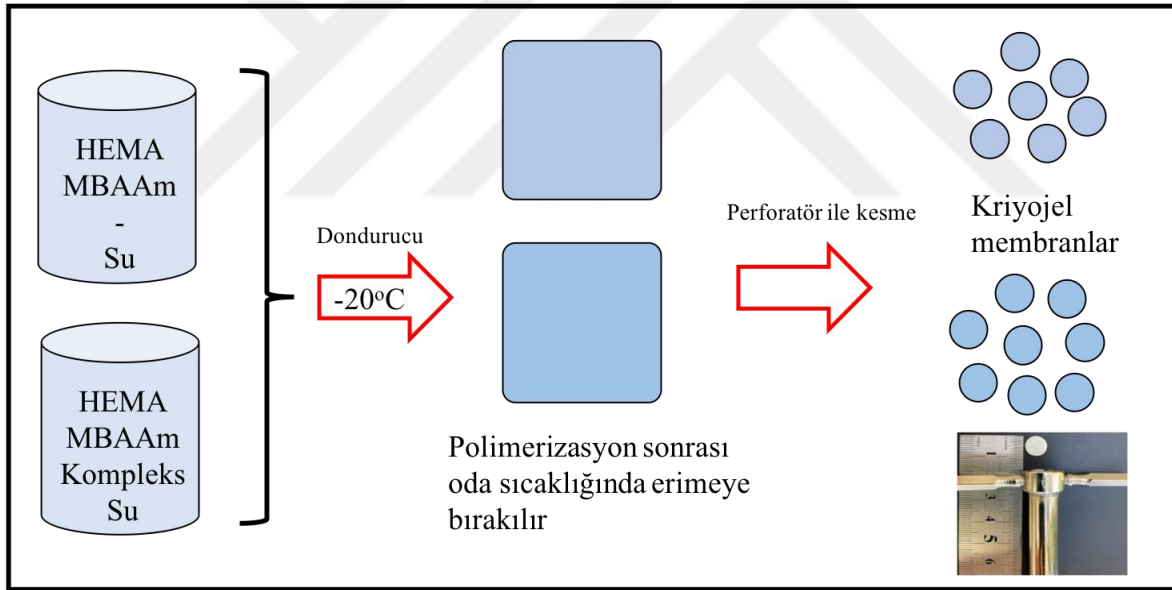
alınmıştır. Termo-gravimetrik (TGA) analizler için Shimadzu DTG-60 termo-gravimetrik analiz cihazı kullanılmıştır. Analiz şartları 10°C/dakika ısıtma hızıyla 25°C'dan da 600°C'ye çıkılmış ve azot atmosferi altında çalışılmıştır. Ayrıca kullanılan cihazlar, çalkalamalı su banyosu, manyetik karıştırıcı, analitik terazidir.

4.4. Moleküler Baskılanmış Kriyojellerin Sentezi

Moleküler baskılanmış kriyojellerin sentezinde 4 farklı baskılanmış polimer (MIP1, MIP2, MIP3, MIP4) ve yarışmacı baskılanmamış polimer (NIP) sentezlenmiştir. Polimerlerde farklı oranlarda bulunan kompleks çözeltisi 250 mg vankomisin ve 100,6 mg MAAsp'ın 5 mL deiyonize suda çözülerek 2 saat karıştırılmasıyla elde edilmiştir. Elde edilen kompleks çözeltisi Çizelge 4.1'de belirtildiği hacimlerde polimerlere eklenmiştir. Faz 1 kısmının hazırlanmasında ana monomer olan 2-hidroksietil metakrilat (HEMA) Çizelge 4.1'de belirtilen miktarlarda deiyonize suda çözülmüştür. Faz 2 kısmının hazırlanmasında çapraz bağlayıcı N,N-metilen bisakrilamid (MBAAm) her polimer için 460 mg MBAAm'ın 12 mL deiyonize suda çözülmesiyle elde edilmiştir. Her bir çözelti elde edilirken minimum 2 saat olmak üzere homojen çözelti elde edilene kadar karıştırılmıştır. Faz 1 ve Faz 2'nin hazırlanmasıyla birlikte iki faz birbirleri ile karıştırılmış homojen çözeltilere kompleksler ilave edilmiş ve buz banyosuna alınarak tekrar karıştırılmıştır. Buz banyosunda karışmaya devam eden çözeltilerin her birine 1 ml suda çözülen 10 mg amonyum persülfat (APS) başlatıcıları eklenmiş ve 1 dakika karışmasına izin verildikten sonra aktifleştirici kimyasal N, N, N', N'- tetra-metiletilendiamin (TEMED) 40 µL kadar eklenmiştir. 1 dakika kadar daha karışan çözeltiler kriyojelizasyonun gerçekleşmesi için uygun kalıplara aktarılmış ve -20°C'de donmaya bırakılmıştır. 24 saat bekleyen çözeltiler soğutucudan çıkartılmış ve oda sıcaklığında erimesi beklenilmiştir. Eriyen polimerler perforatör yardımı ile kesilerek ayrı ayrı kaplara alınmış ve desorpsiyon için 0,1 M NaOH çözeltisi ve deiyonize su ile 2 gün boyunca yıkanmıştır. Paralel olarak UV Spektrofotometre cihazında desorpsiyon atık çözeltisinin absorbansı okunmaya devam edilmiş ve absorbans vermeyene kadar yıkama devam edilmiştir. Kriyojel reçetesi Çizelge 4.1'de, hazırlanma mekanizması Şekil 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Moleküler baskılanmış kriyojellerin sentez koşulları

	HEMA, mL	Su, mL	MBAAm, mg	Kompleks, mL
NIP	2,740	5,260	460	-
MIP1	2,735	3,265	460	0,25
MIP2	2,730	3,270	460	0,50
MIP3	2,720	3,280	460	1,00
MIP4	2,700	3,300	460	2,00



Şekil 4.1. Kriyojellerin hazırlanma mekanizması

4.3. N-Metakriloil-L-Aspartik Asit (MAAsp) Sentezi

N-Metakriloil-L-aspartik asit (MAAsp) monomerinin sentezlenirken, literatürdeki yöntem takip edilmiştir [64]. Sentez aşaması için 5,52 mmol (0,73 g) L-aspartik asit, 1 M NaOH sulu çözeltisinde deney tüpü içinde çözülmüştür. Metakriloil amido-benzotriazol (MA-Bt) çözeltisi içeren 1,4-dioksan (25 mL) yavaşça aminoasit çözeltisi içine damla damla eklenmiştir. Karışım oda sıcaklığında 10-20 dakika içerisinde reaksiyonun tamamlanmasına

izin verilmiştir. Reaksiyon bittiğinde vakum altında 1,4-dioksan buharlaştırılarak uzaklaştırılmıştır. Çökelti su ile seyreltilmiş ve reaksiyon sonucu oluşan 1H-benzotriazol, etil asetat (3 x 50 mL) ile çekilmiştir. Toplanan sulu monomer çözeltisi % 10'luk HCl çözeltisi kullanılarak pH=6-7 olacak şekilde nötürleştirilmiştir. Döner buharlaştırıcı ile su yapıdan uzaklaştırılarak reaksiyon ürünü MAAsp monomeri (açık sarı renkli çökelek) elde edilmiştir.

4.5. Optimizasyon Çalışmaları

4.5.1. pH etkisi

Yapılan çalışmada farklı pH değerlerinin adsorpsiyona etkisi incelenmiş ve adsorpsiyon için optimum pH belirlenmiştir. Optimum pH'ı belirlemek için pH 5, pH 6, pH 7, pH 8, pH 9 değerlerinde 100 mg/L vankomisin/deiyonize su çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltiler oda sıcaklığında 2 mL'lik eppendorflara hacmi 1,8 mL olacak şekilde boşaltılmıştır. İçerisinde farklı pH değerlerinde 1,8 mL vankomisin çözeltisi bulunan eppendorflara farklı kompleks oranlarına sahip moleküler baskılanmış kriyojeller ve moleküler baskılanmamış kriyojel yerleştirilmiştir. Rotator (döndürücü) yardımı ile 150 dakika boyunca eppendorfların sallanması sağlanmıştır. 150 dakikanın sonunda rotatörden alınan eppendorfların içinde çözeltilerin absorbansı 280,5 nm dalga boyunda UV-spektrofotometre cihazı ile ölçülmüştür. Deneye başlamadan önce her bir pH değerindeki çözeltilerden başlangıç absorbansını ölçmek için yine eppendorflara 1,8 mL'lik numuneler alınmış ve aynı deney şartları altında olması için yine oda sıcaklığında döndürücüye moleküler baskılanmış kriyojel içeren çözeltilerle birlikte bırakılmıştır. Başlangıç ve sonuç derişimleri ileberaber kriyojellerin hacimleri ve kütleleri yardımı ile Eş. 4.2 kullanılarak kapasiteler hesaplanmıştır.

4.5.2. Derişim etkisi

Adsorpsiyona etki eden faktörlerden bir diğeri de derişimdir. Çevre sularında bulunan antibiyotiklerin farklı derişimlerde olabileceği ve hangi derişimde en fazla adsorpsiyon kapasitesinin oluşacağını görmek için 25 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L, 250 mg/L, 350 mg/L derişimlerinde vankomisin/su çözeltileri hazırlanmış ve adsorpsiyon çalışması yapılmıştır. Daha önce belirlenen pH değerinde (pH 8) ve oda sıcaklığında gerçekleştirilen

deneyde moleküler baskılanmış kriyojeller ve moleküler baskılanmamış kriyojel eppendorflara yerleştirilmiştir. eppendorflara yerleştirilen kriyojellerin üzerine 25-350 mg/L arasında belirlediğimiz vankomisin çözeltilerinden 1,8 ml boşaltılmıştır. 150 dakika boyunca rotatör yardımı ile sallanan eppendorflar sürenin sonunda alınmış ve 280,5 nm dalga boyunda UV-Spektrofotometre cihazında çözeltilerin absorbensı ölçülmüştür. Deney başlamadan önce hazırlanan farklı derişimlerdeki çözeltilerden alınan numunelerde eppendorflara koyulmuş ve aynı deney şartları oluşması için aynı sıcaklıkta rotatörde sallandıktan sonra çözeltilerin başlangıç absorbenslarının belirlenmesi için UV-Spektrofotometre cihazında ölçüm yapılmıştır. Başlangıç ve sonuç derişimleri ile beraber kriyojellerin hacimleri ve kütleleri yardımı ile Eş. 4.2 kullanılarak kapasiteler hesaplanmıştır.

4.5.3. Sıcaklık etkisi

Çevre sularından antibiyotik giderimi için adsorpsiyona etkisi olan bir diğer parametre de sıcaklıktır. Yapılan çalışmada 4°C, 25°C ve 40°C olmak üzere 3 farklı sıcaklıkta vankomisin tutma kapasitesi incelenmiştir. pH 8,0 tamponunda hazırlanan 250 mg/L'lik çözeltiler hacmi 1,8 mL olacak şekilde eppendorflara boşaltılmıştır. İçinde vankomisin çözeltisi bulunan 5 eppendorfun içine 4 farklı kompleks oranına sahip moleküler baskılanmış kriyojeller ve moleküler baskılanmamış kriyojel yerleştirilmiştir. eppendorflar 25°C ölçülen oda sıcaklığında, +4°C ortamı için buzdolabında ve 40°C sıcaklıkta çalkalamalı su banyosunda 150 dakika boyunca rotatör yardımı ile sallanmıştır. 150 dakikanın sonunda eppendorflar alınmış ve içindeki çözeltilerin absorbensları UV-Spektrofotometre yardımı ile okunmuştur. Deneyden önce başlangıç absorbensının ölçülmesi için ayrılan numune çözeltide aynı deney şartları olması için yine oda sıcaklığında rotatörde sallanmıştır. 150 dakikanın sonunda sonuç ve başlangıç absorbensları ölçülmüştür. Başlangıç ve sonuç derişimleri ile beraber kriyojellerin hacimleri ve kütleleri yardımı ile Eş. 4.2 kullanılarak kapasiteler hesaplanmıştır.

4.5.4. Zaman etkisi

Yapılan tez çalışmasında adsorpsiyona etki eden parametrelerden bir diğeride zamandır. Burada zaman kriyojellerin vankomisin çözeltisi ile yaptığı adsorpsiyon süresini ifade etmektedir. Farklı kompleks miktarlarında hazırlanmış moleküler baskılanmış kriyojeller ve

moleküler baskılanmamış kriyojel eppendorflara alınmıştır. Üzerine daha önce optimum koşullar olarak belirlenen pH 8 tamponunda hazırlanmış 250 mg/L derişimde vankomisin çözeltisi eklenmiştir ve yine optimum sıcaklık olarak belirlenen oda sıcaklığında (25°C) rotatör yardımı ile sallanmaya bırakılmıştır.

Başlangıç absorbansını ölçmek için ayrılan numune aynı deney koşulları olması için yine oda sıcaklığında rotatörde sallanmaya bırakılmıştır. Deneyin 5. Dakikasından başlamak üzere; 5. dakika 15. dakika 30. dakika 45. dakika 60. dakika 120. Dakika ve 130. dakikalarda Eppendorflar rotatörden alınmış ve UV-Spektrofotometre cihazında absorbansları ölçülerek tekrar rotatörde sallanmaya bırakılmışlardır. Başlangıç ve sonuç derişimleri ile beraber kriyojellerin hacimleri ve kütleleri yardımı ile Eş. 4.2 kullanılarak kapasiteler hesaplanmıştır.

4.6. Şişme Testleri

Kriyojellerin şişme miktarlarını tayin etmek amacıyla sabit tartımda kurutulmuş kriyojeller tartılmıştır. Farklı kompleks oranına sahip tartılmış kriyojeller farklı kaplara alınmış ve deiyonize su varlığında 24 saat bekletilmiştir. 24 saatin sonunda kriyojellerin yüzeyinde biriken sular uzaklaştırılmış ve tartım alınmıştır. Şişme oranının hesaplanması amacıyla Eş. 4.1 kullanılmıştır.

$$\% \text{ Şişme oranı (w/w)} = [(M_s - M_i) / M_i] \times 100 \quad (4.1)$$

Bu eşitlikte M_s ve M_i , sırasıyla şişmiş ve kurutulmuş kriyojellerin kütlesi (g)'dir.

4.7. Moleküler Baskılanmış Kriyojellerde Adsorpsiyon Çalışması

Farklı kompleks oranları ile hazırlanmış moleküler baskılanmış kriyojellerin oda sıcaklığında buzlarının erimesi beklenilmiş ve akabinde 5 cm çapa sahip perforatör ile Şekil 4.2'de gösterildiği gibi küçük daireler şeklinde parçalara ayrılmıştır. Parçalara ayrılan kriyojeller farklı saklama kaplarına alınmış ve 1 hafta boyunca deiyonize su ve 1N NaOH çözeltisi ile desorpsiyon çalışması yapılmıştır. Başlangıç absorbansları ve desorpsiyon çalışması sonucu elde edilen çözeltinin son absorbansları karşılaştırılmış ve son absorbans yaklaşık sıfır olana kadar desorpsiyon işlemi devam etmiştir. Hedef molekül olan vankomisinin kriyojelin yapısından ayrıldığı UV-spektrofotometre cihazı yardımı ile

belirlendikten sonra pH 5-8 değerleri arasında optimum pH, 25mg/L-350 mg/L değerleri arasında optimum derişim, 4°C-40°C değerleri arasında optimum sıcaklık ve 5-130 dakika değerleri arasında optimum zaman değerlerini bulmak için adsorpsiyon çalışmaları yapılmıştır. Optimum değerler bulunduktan sonra ise gentamisin ve tobramisin antibiyotikleri ile seçicilik çalışmaları yapılmıştır. UV Spektrometreden alınan başlangıç ve sonuç absorbansları ışığında kalibrasyon eğrileri çizilmiştir ve bununla beraber derişim hesaplanmıştır. Daha önce bulunan kriyojellerin kütlesi ve çalışmada belirlenen çözelti hacmi ile birlikte derişimlerde kullanılarak kriyojellerin kapasitesi Eş. 4.2 yardımı ile hesaplanmıştır.

$$\text{Vankomisin Kapasitesi (mg/g)} = [(C_{\text{son}} - C_{\text{ilk}}) \times V_{\text{çözelti}}] / M_{\text{kriyojel}} \quad (4.2)$$

Bu eşitlikte;

C : Vankomisin derişimi (mg/L)

V : Etkileşimde kullanılan çözelti hacmi (L)

M : Deney için kullanılan kriyojel örneğinin kütlesi (g)'ni

ifade etmektedir.

Şekil 4.2'de farklı kompleks oranlarında sentezlenmiş moleküler baskılanmış kriyojeller MIP1, MIP2, MIP3, MIP4 ve moleküler baskılanmamış kriyojel NIP gösterilmiştir.



Şekil 4.2. Farklı kompleks oranlarında moleküler baskılanmış/baskılanmamış kriyojeller

4.8. Seçicilik Çalışmaları

MIP ve NIP kriyojellerde seçicilik çalışması yapılmıştır. Kriyojellerin seçiciliğini göstermek için vankomisin antibiyotiğine karşı tobramisin ve gentamisin antibiyotiği kullanılmıştır. Bu moleküllerin tercih edilmesinin sebebi hem çevre sularında varlık gösterebilen antibiyotikler olması hem de kimyasal yapılarının vankomisine benzemesidir. Seçicilik çalışmasında tüm antibiyotikler için daha önce belirlenen optimum koşullar kullanılmıştır. Antibiyotik çözeltileri pH 8 tamponunda 250 mg/L derişiminde hazırlanmış ve adsorpsiyon çalışması 25 C° sıcaklıkta 120 dakika sürede yapılmıştır. Antibiyotik çözeltilerinin başlangıç absorbansları ve adsorpsiyon çalışması sonucu alınan çözeltilerin sonuç absorbansları ile derişim hesaplanmıştır. Hesaplanan derişim ile Eş. 4.3 yardımıyla dağılma katsayısı Kd hesaplanmıştır.

$$K_d = [(C_i - C_s)/C_s] \times V/m \quad (4.3)$$

Verilen eşitlikte;

K_d : Dağılma katsayısı (mL/g),

C_i ve C_s : Antibiyotik çözeltilerinin başlangıç ve sonuç derişimlerini (mg/L),

V : Deneyde kullanılan çözelti hacmini (mL),

m : Kriyojelin kütlesi (g)'ni ifade etmektedir.

Yarışmacı moleküller için seçicilik katsayısı (K) Eş. 4.4 yardımıyla hesaplanmıştır.

$K = K_{\text{vankomisin}} / K_{\text{yarışmacı antibiyotik}}$ ifade eder.

Bağıl seçicilik katsayısı (K') ise;

$$k' = k_{\text{baskılanmış}} / k_{\text{kontrol}} \quad (4.4)$$

Eşitliği kullanılarak hesaplanmıştır.



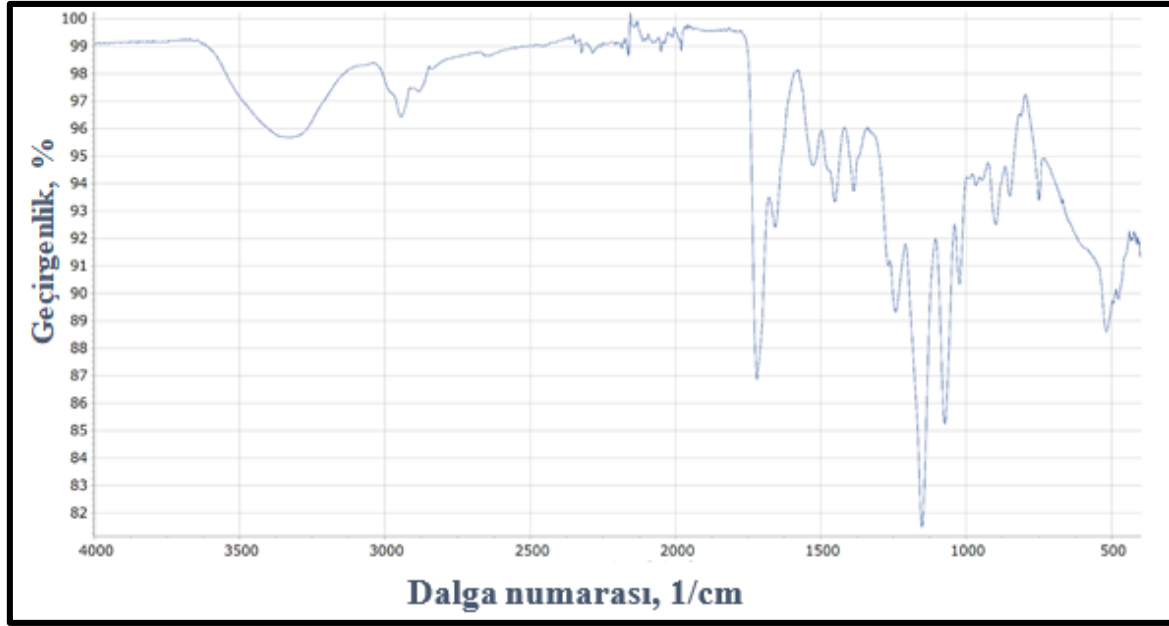
5. DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMA

5.1. Karakterizasyon Çalışmaları

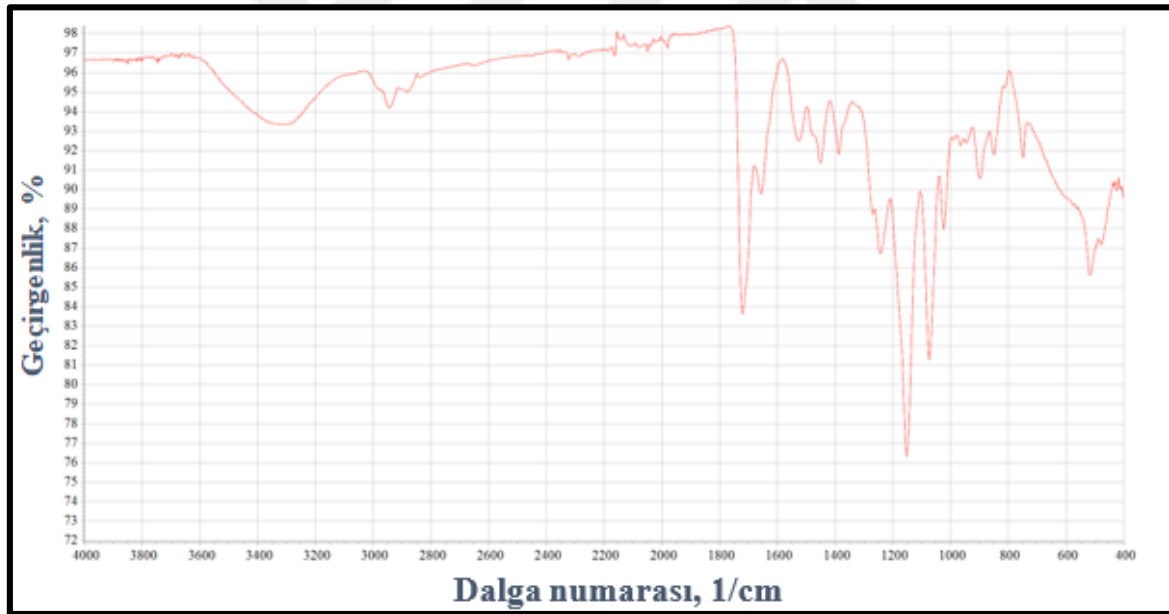
5.1.1. FTIR analizi

Moleküler baskılanmış ve baskılanmamış kriyojellerin FTIR spektrumları elde edilmiş ve Şekil 5.1-5.5’de ayrı ayrı gösterilmiştir. Genel olarak moleküler baskılanmış kriyojellerin FTIR spektrumlarını incelediğimizde 3340 cm^{-1} de görülen bant OH varlığını göstermektedir. 2942 cm^{-1} ’de C-H alifatikleri, 1720 cm^{-1} dalga boyunda C-O bağlarının varlığı belirlenmiştir. 1656 cm^{-1} ’ bandında ester bağları, 1523 cm^{-1} ’de amid-I ve amid-II bandları ve $1451\text{-}1387\text{ cm}^{-1}$ ’de görülen ester çift bağları moleküler baskılanmış 1 numaralı kriyojellerin yapısında bulunan HEMA-Aspartik asit moleküllerinin varlığını işaret etmektedir. Ayrıca FTIR spektrumlarından da görüleceği üzere moleküler baskılanmış kriyojellerde aspartik asit miktarı arttıkça spektrumda bulunan fonksiyonel gruplarının (OH, alifatik CH, karbonik CO, amid I/II, eter/ester grupları) spektrum şiddetlerinin doğrusal olarak arttığı gözlemlenmiştir.

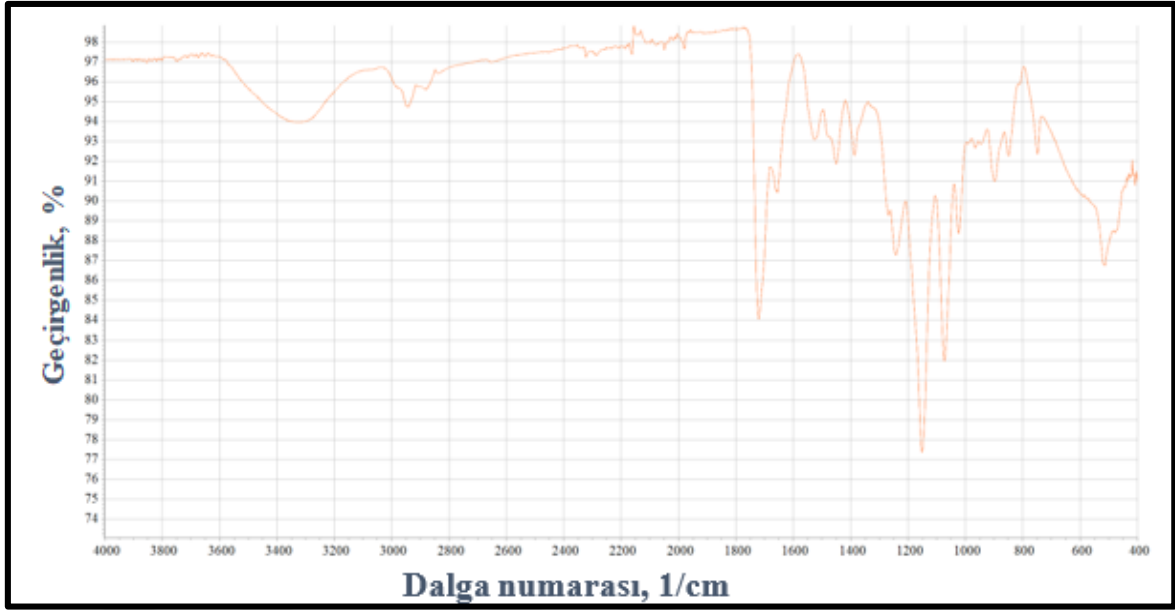
Moleküler baskılanmamış kriyojelden farklı olarak C-N eğilmesi ve C-H eğilmelerinin moleküler baskılanmış kriyojellerde gözlemlenmesinin sebebi olarak hedef molekülün sentez sırasında bu grupları yüzeye daha yakın olacak şekilde oryante etmesi söylenebilir. Sonuç olarak FTIR spektrumlarına göre farklı miktarda monomer içeren moleküler baskılanmış polimerlerin başarılı bir şekilde hazırlandığı ve genel itibari ile homojen baskılanmış ve baskılanmamış kriyojellerin sentezlendiği görülmüştür.



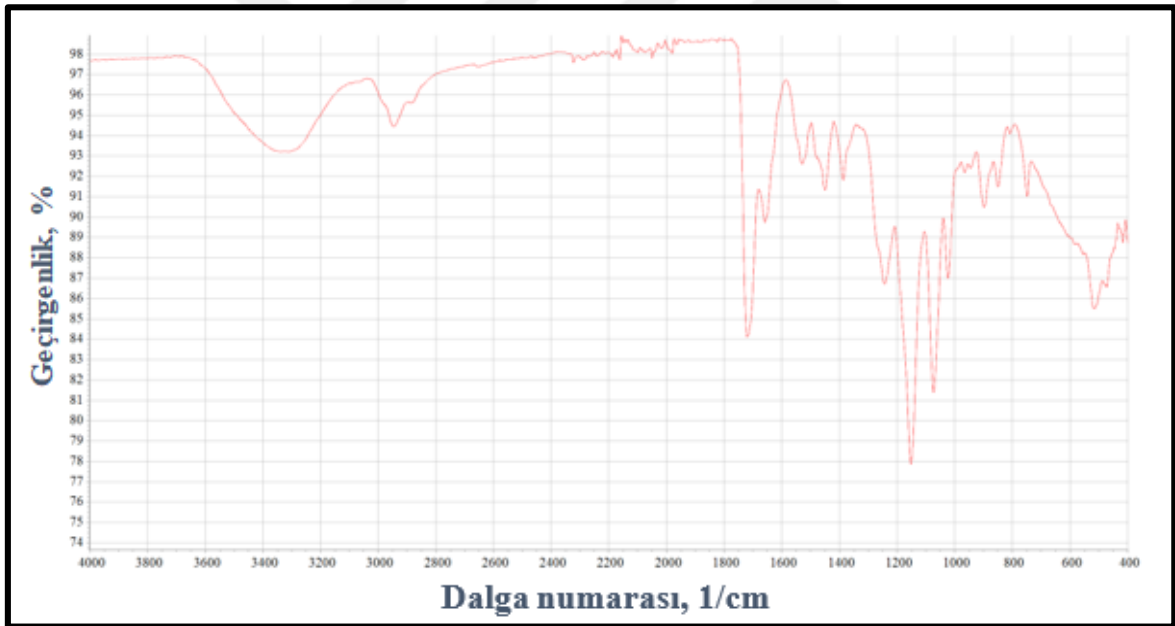
Şekil 5.1. MIP 1 kriyojeline ait FTIR spektrumu



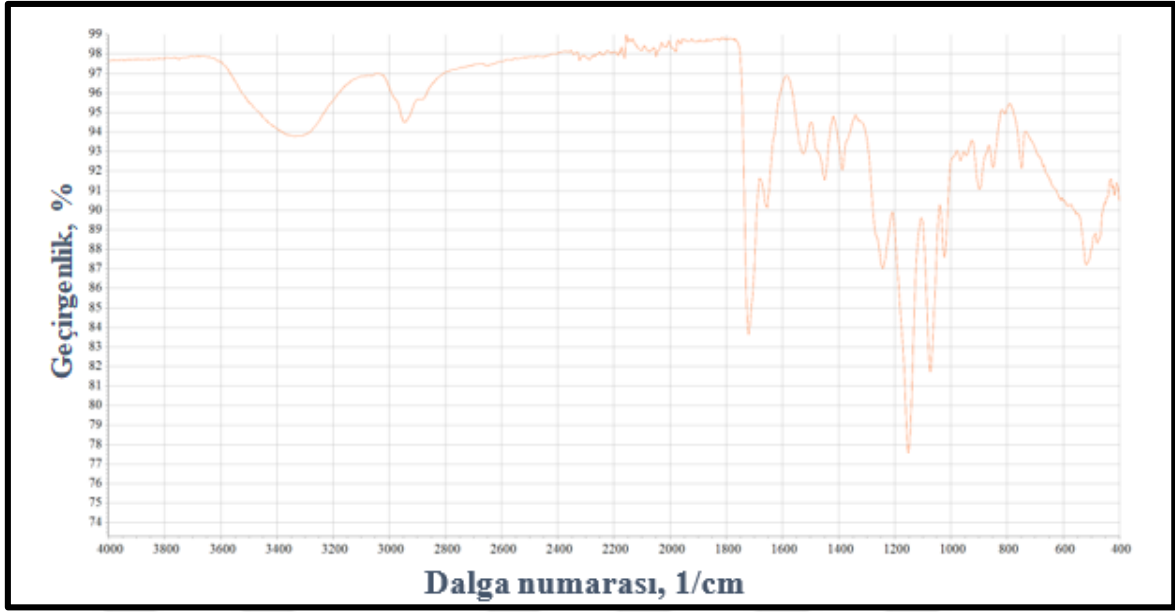
Şekil 5.2. MIP 2 kriyojeline ait FTIR spektrumu



Şekil 5.3. MIP 3 kriyojeline ait FTIR spektrumu



Şekil 5.4. MIP 4 kriyojeline ait FTIR spektrumu



Şekil 5.5. NIP krijojeline ait FTIR spektrumu

5.1.2. Termogravimetrik analiz (TGA) – Diferansiyel termal analiz (DTA)

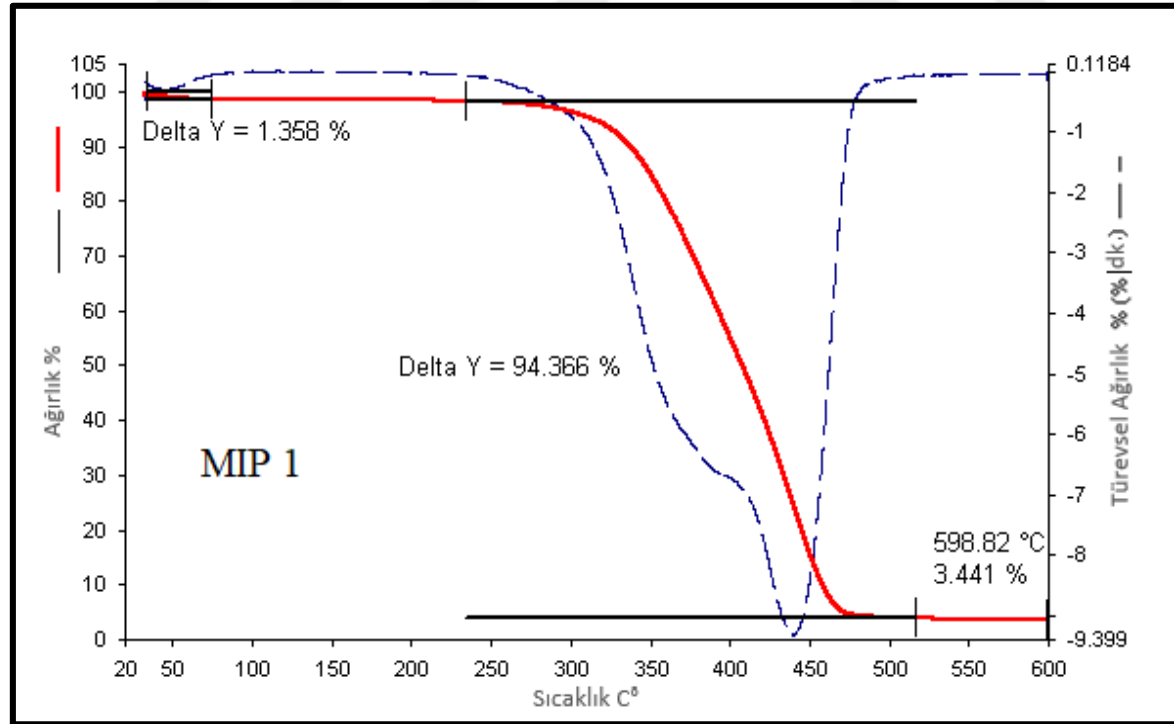
Termogravimetrik analizler incelendiğinde genel olarak iki bölgeyi faz geçişleri gözlemlenmiştir. Birinci bölgede (100°C) polimerik yapıda bulunan yüzeydeki su moleküllerinin uzaklaşması ile kütle kaybı görülmüştür. Kütle kaybı miktarı moleküler baskılanmış moleküllerde kompleks miktarının artması ile 1,356 % 'dan 2,386 %'ya çıkmıştır. 600°C'ye ulaşıldığında ise polimerik malzemede kalan partikül miktarı (kalıntı miktarı) 3,441 %'den 5,133%'ye çıkmaktadır. Bu durum fonksiyonel monomer kompleks miktarının artması ile birlikte analiz sonucunda da kalıntı miktarının arttığını gösterir. Ayrıca, her ne kadar termogravimetrik eğrilerde 250°C ila 500°C arasında tek geçiş varmış gibi gözükse de DTA (1. Türev) verileri incelendiğinde 350°C'de bir iç faz geçişi gözlemlenmektedir. İç faz geçişlerinde omuz oluşumu fonksiyonel monomer miktarı ile paralellik gösterir. Bu durumda bu sıcaklıkta fonksiyonel monomerlerden kaynaklı karboksilik asit ve amid gruplarının yapıdan uzaklaştığı söylenebilir.

Moleküler baskılanmamış krijojelde de benzer geçişler olduğu gözlemlenmiştir. Kalıntı (600°C) ve omuz (350°C) oluşumları MIP 2 ile paralellik göstermiştir. Sonuç olarak moleküler baskılanmış krijojeller sentezlenirken fonksiyonel grupların yapıya başarı ile girdiği ve hedef molekülün varlığının polimer ana iskeletinin termo-gravimetrik değişiminde (MIP ve NIP karşılaştırıldığında) önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Bir başka ifade ile tez kapsamında uygulanan sentez reçetelerinin arzu edilen kriyojel tasarımı için

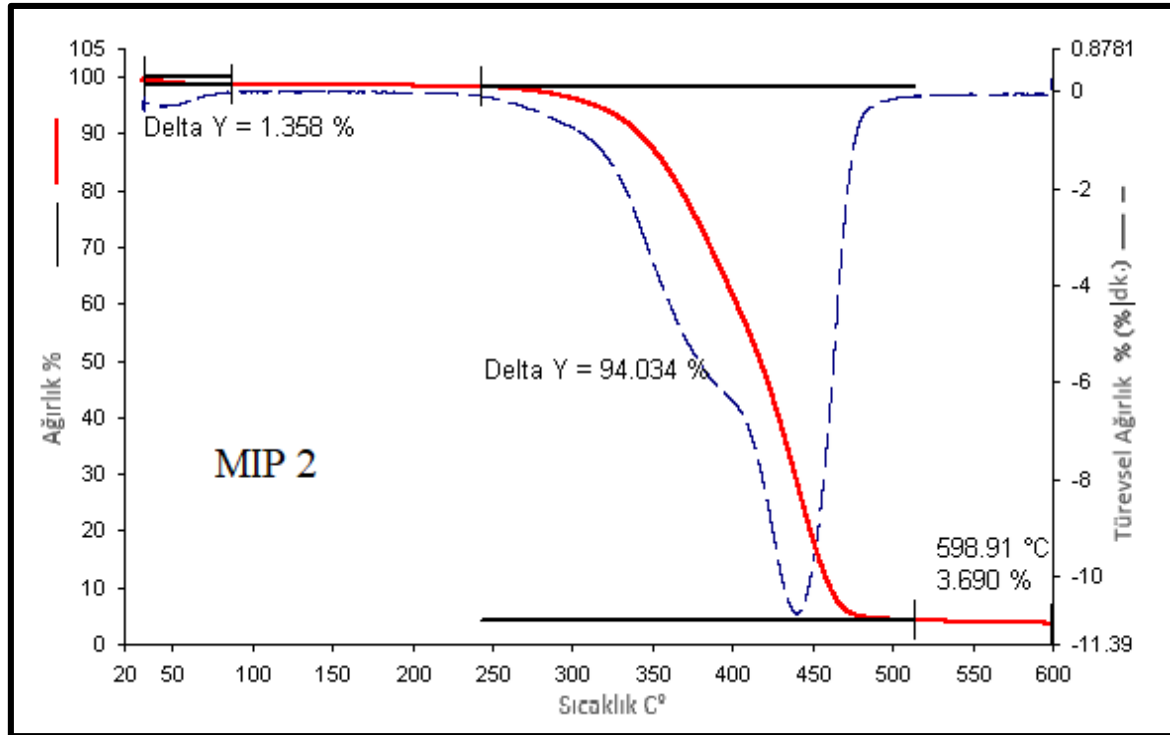
uygun olduğu anlaşılmıştır. Analiz sonucu ile ilgili değerler ve grafikler Çizelge 5.1, Şekil 5.6, Şekil 5.7, Şekil 5.8, Şekil 5.9 ve Şekil 5.10'da gösterilmiştir.

Çizelge 5.1. Farklı sıcaklıklarda kriyojellerin yüzde kütle kayıp miktarları

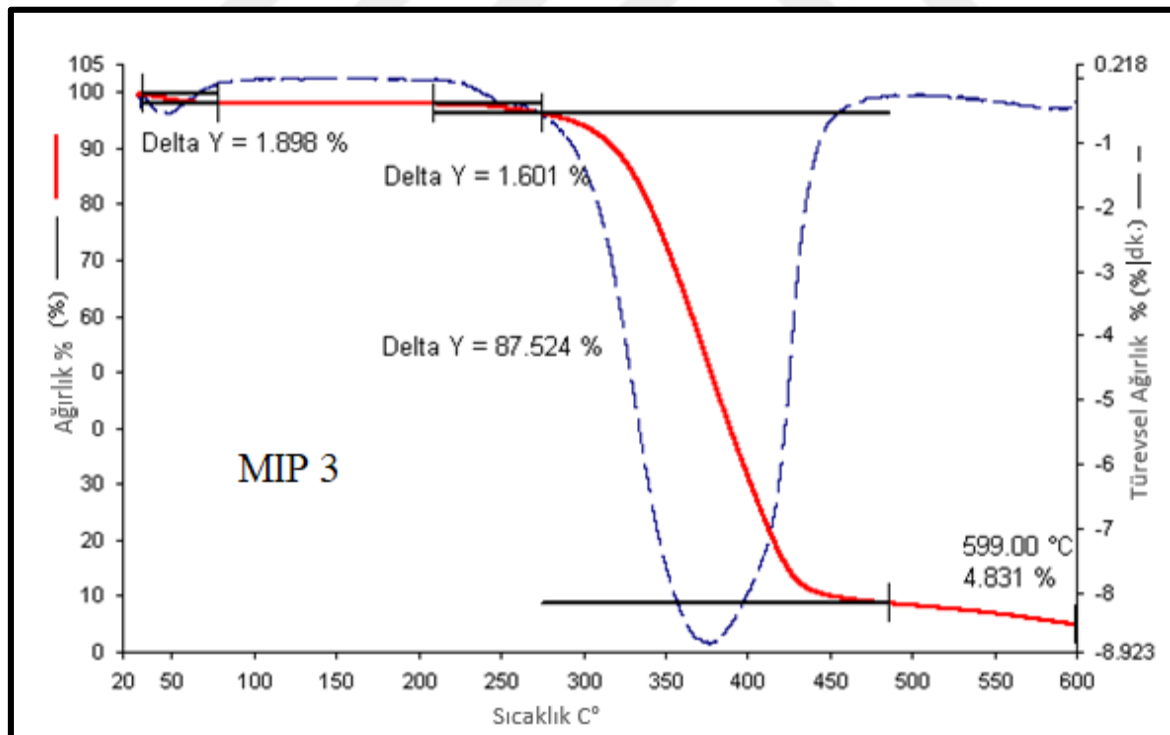
Kriyojel Kodu	Sıcaklık		
	100°C	250°C	480°C
MIP 1	1,358	0	3,441
MIP 2	1,358	0	3,690
MIP 3	1,898	1,601	4,831
MIP 4	2,380	0	5,133
NIP	1,636	0	3,287



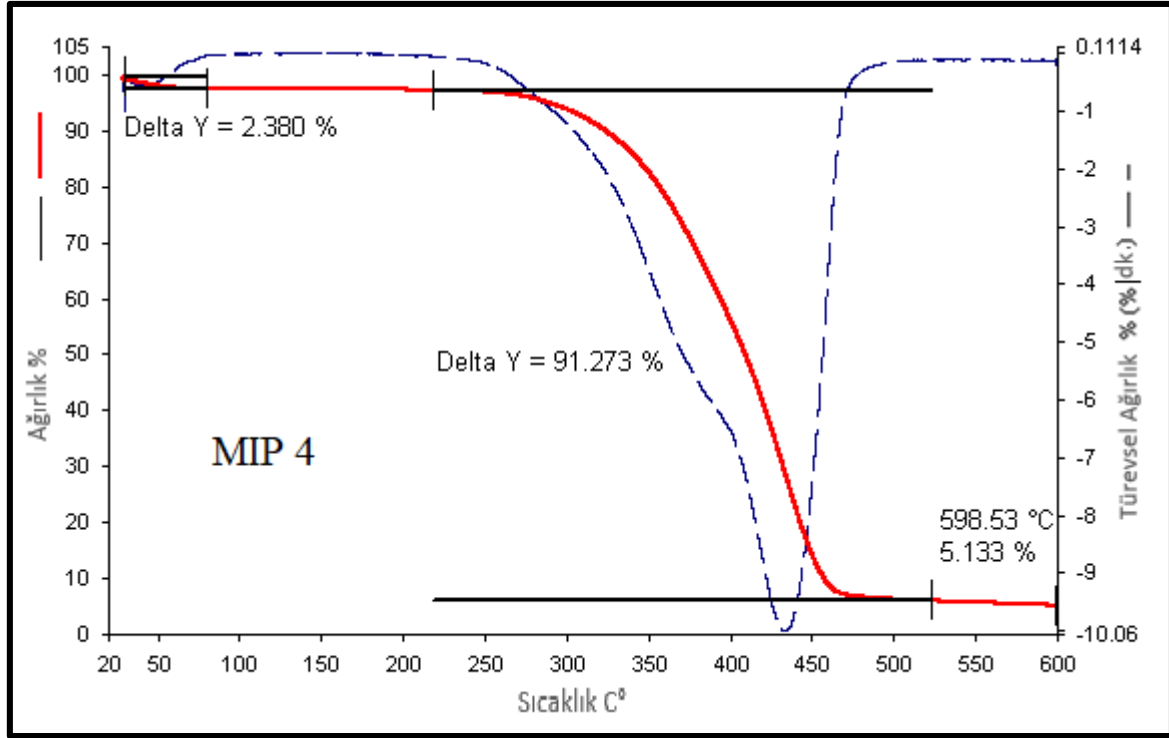
Şekil 5.6. MIP 1 kriyojeline ait termogravimetrik analiz ve türevsel ağırlık analiz grafiği



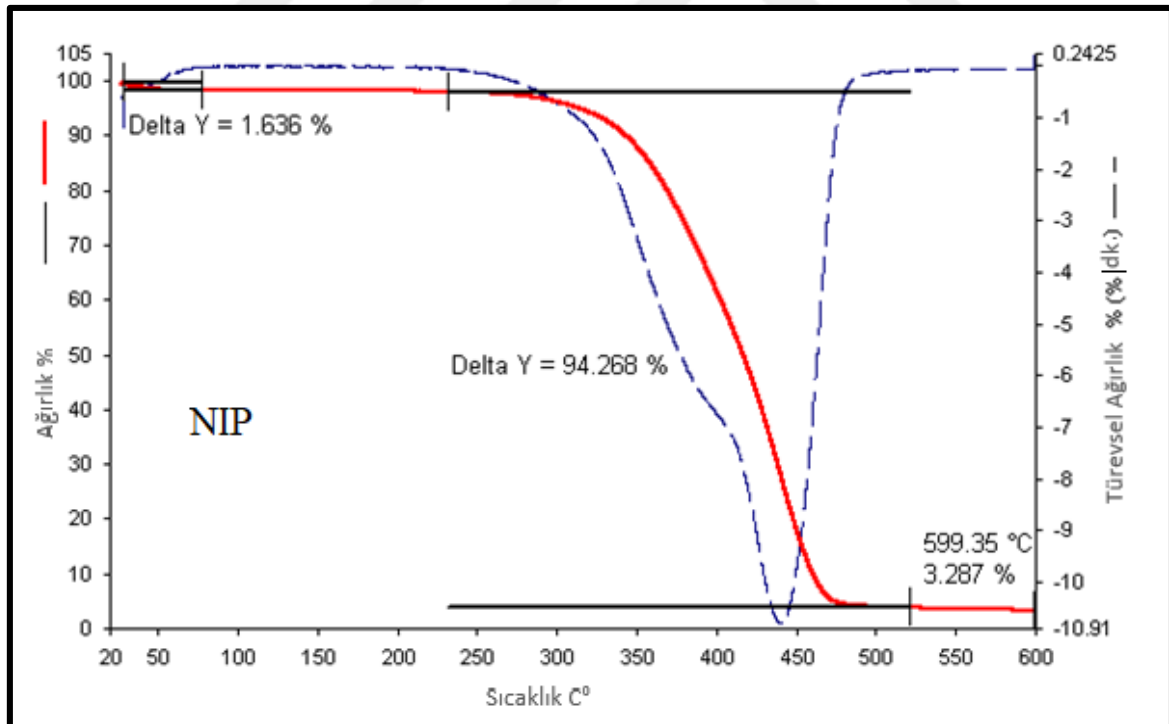
Şekil 5.7. MIP 2 kriyojeline ait termogravimetrik analiz ve türevsel ağırlık analiz grafiği



Şekil 5.8. MIP 3 kriyojeline ait termogravimetrik analiz ve türevsel ağırlık analiz grafiği



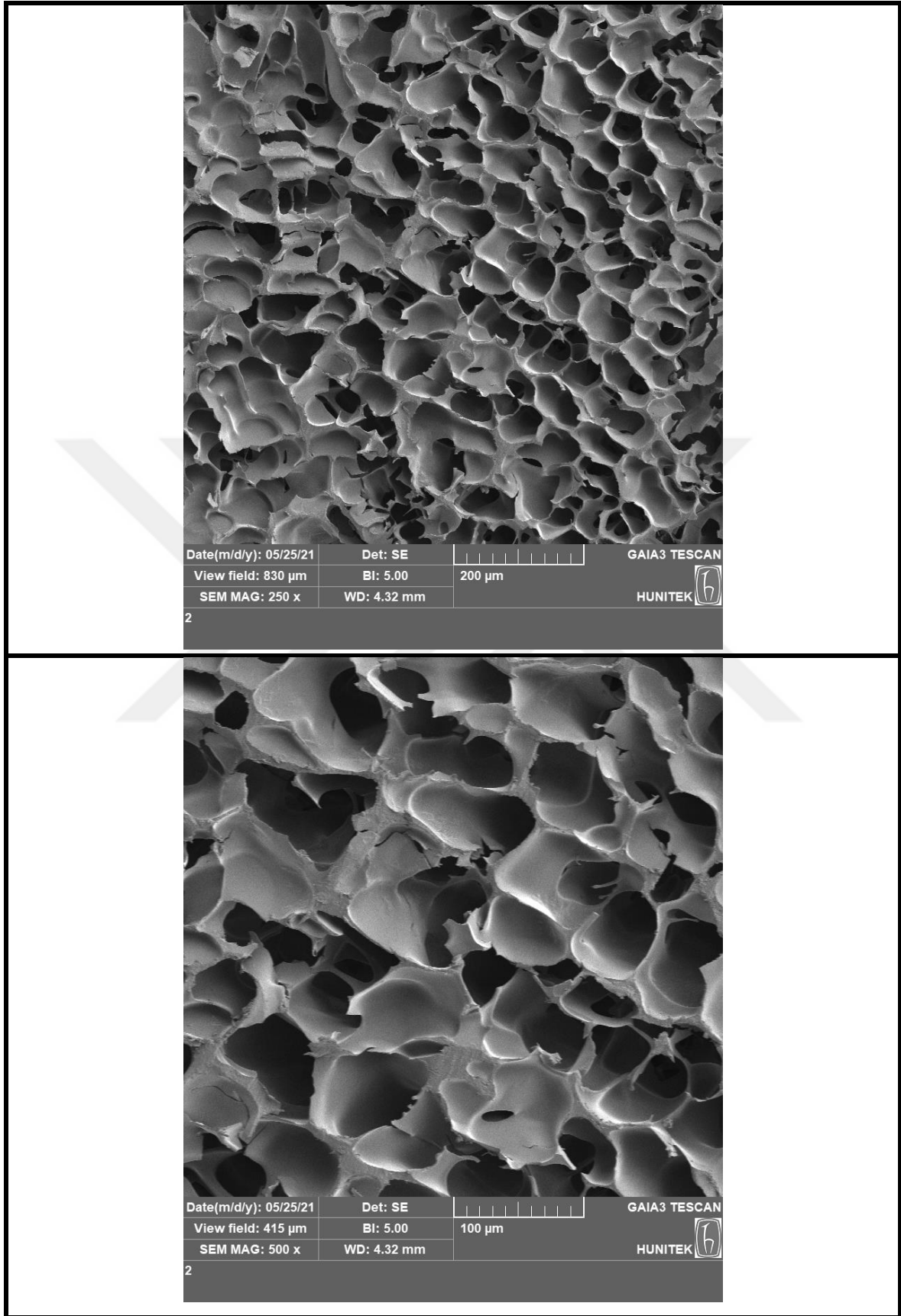
Şekil 5.9. MIP 4 kriyojeline ait termogravimetrik analiz ve türevsel ağırlık analiz grafiği



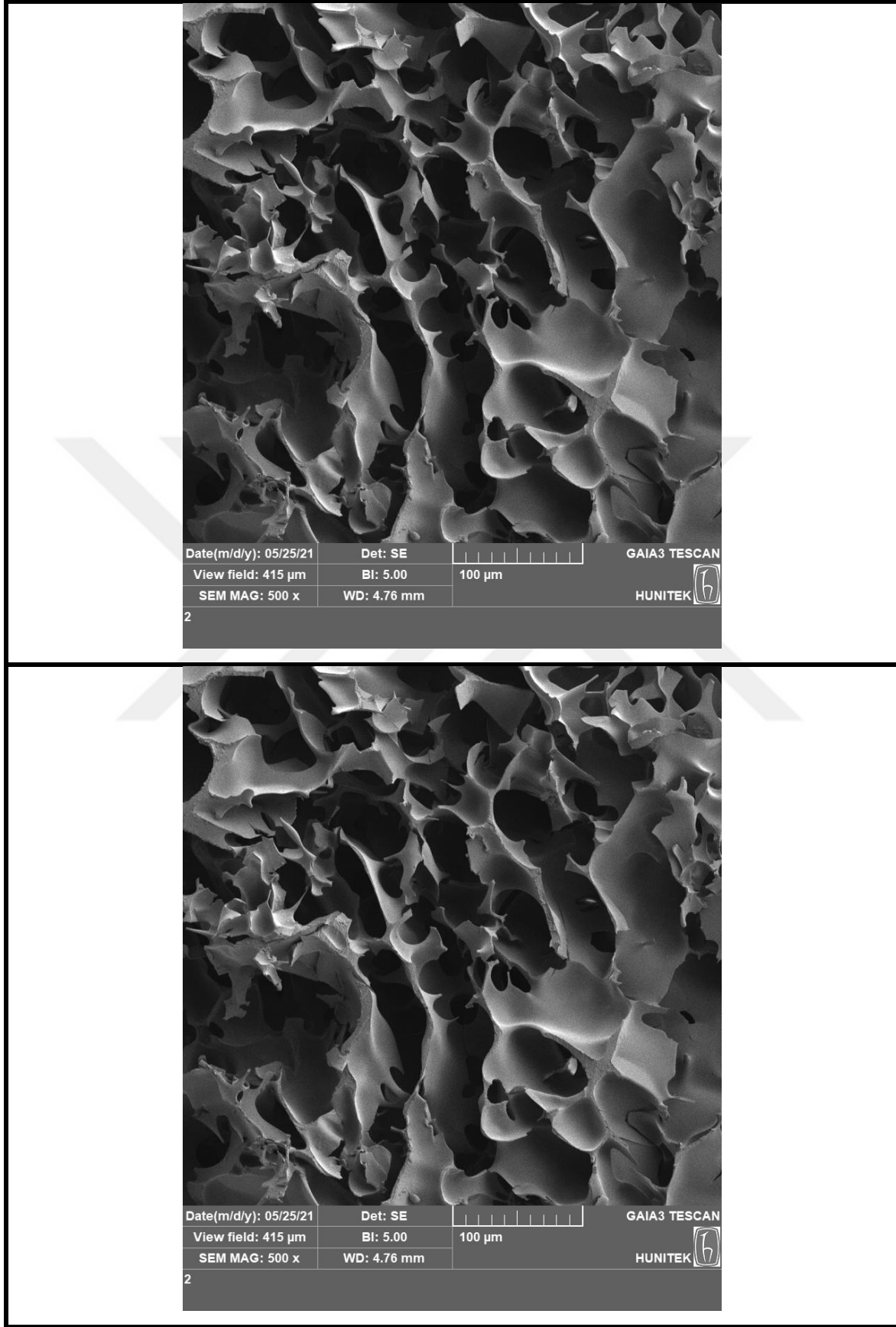
Şekil 5.10. NIP kriyojeline ait termogravimetrik analiz ve türevsel ağırlık analiz grafiği

5.1.3. Yüzey morfolojisi

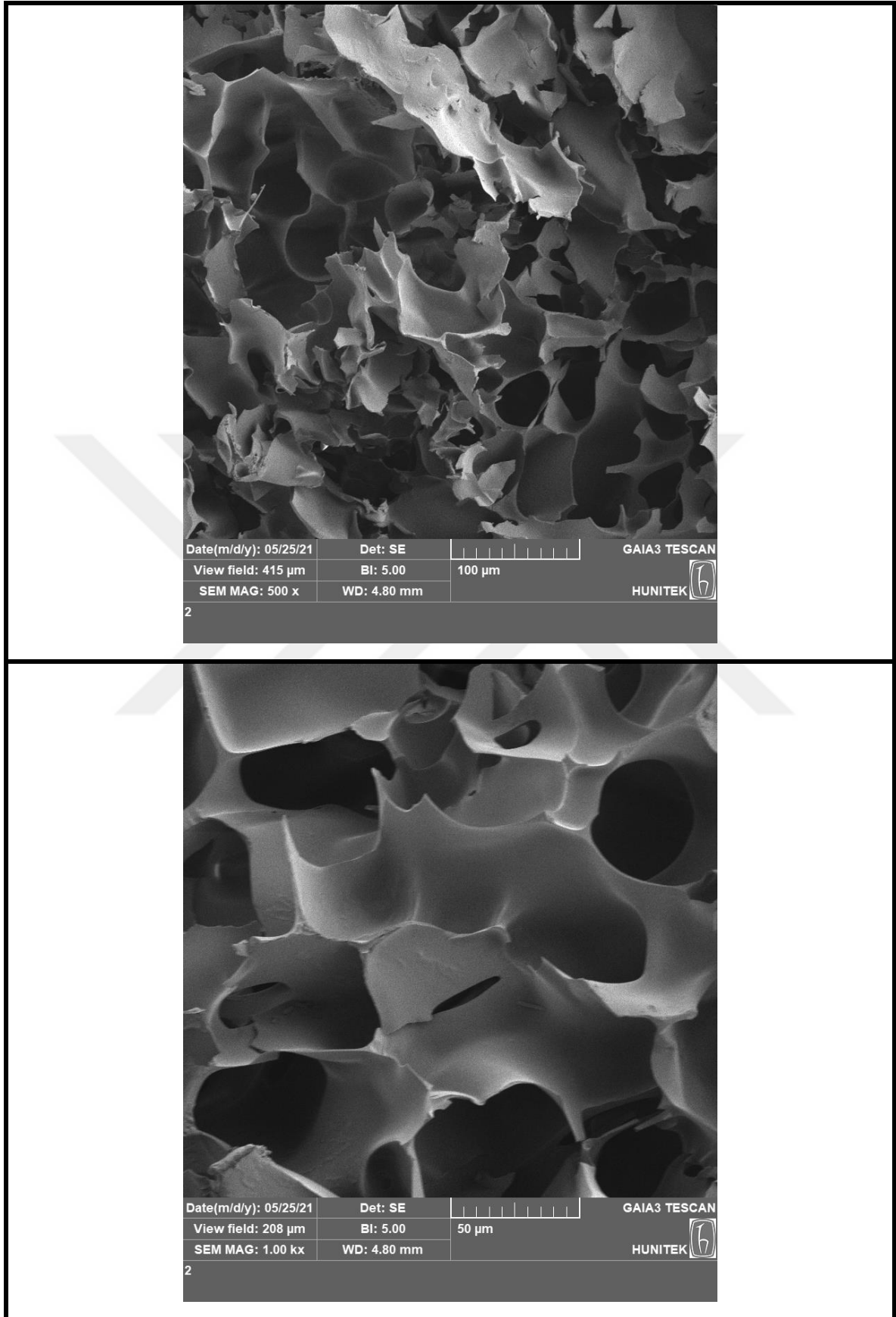
Geliştirilen moleküler baskılanmış ve baskılanmamış kriyojellerin yüzey morfolojisinin araştırılması için taramalı elektron mikroskopu (SEM) kullanılmıştır. Liyofilizatör vakum altında tamamen kurutulan kriyojel örnekleri, bir bir büstiri yardımıyla kesilmiş ve SEM örnek tutucusuna karbon bant ile yapıştırılmıştır. İletkenlik sağlamak için ince bir altın tabaka ile kaplanması sonrasında farklı büyütmelerde görüntüleri kaydedilmiştir (Şekil 5.11-5.15). Şekilden de görüldüğü gibi, sentezlenen hem baskılanmamış hem de baskılanmış (her dört baskılanmış kriyojel için de) kriyojellerin geniş gözeneklere sahip olduğu açıkça görülmektedir. Gözeneklerin birbiri ile bağlantılı olduğu ve boyutlarının 20 nm civarında olduğu görülmektedir. Ayrıca; gözenekler arasında polimerik duvarların varlığı ve pürüzsüz yüzeyler de ilgi çekmektedir. Geniş gözenekler ve birbiri ile bağlantılı akış kanalları çözelti difüzyonu ile ilgili sınırlamaları ortadan kaldırmakta, geri basınç sorununu önlemekte ve yüksek akış hızlarında çalışmaya olanak vermektedir [65]. Polimer duvarların yüzeysel özelliği ile hedef moleküller (antibiyotik molekülleri) baskılandığı boşluklara kısa sürede ulaşabilmekte ve hızlı bir adsorpsiyon kinetiği ortaya çıkmaktadır [66]. SEM analizleri, literatürdeki kriyojel görüntülerine benzer özelliklerde kriyojellerin (hem baskılanmış hem de baskılanmamış) sentezlendiğini göstermiştir. Bu durum, uygulanan moleküler baskılama işleminin kriyojel sentezi için uygun olduğunu göstermesinin yanı sıra sentezleme sırasında ön-polimerizasyon kompleks miktarının değişiminden (bir diğer ifade ile küçük sentez varyasyonları) etkilenmediğini göstermektedir.



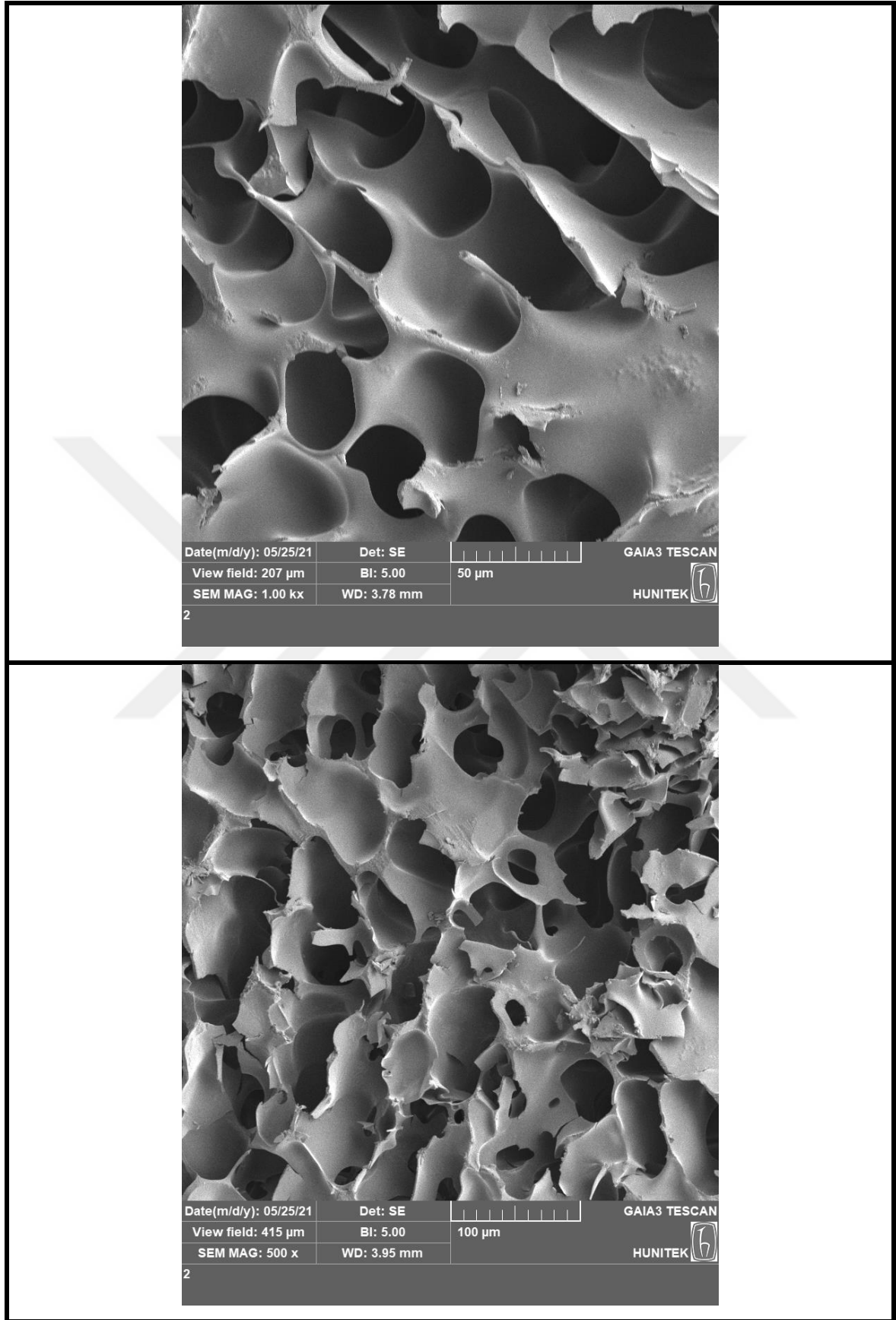
Şekil 5.11. MIP 1 kriyojeline ait SEM görüntüleri



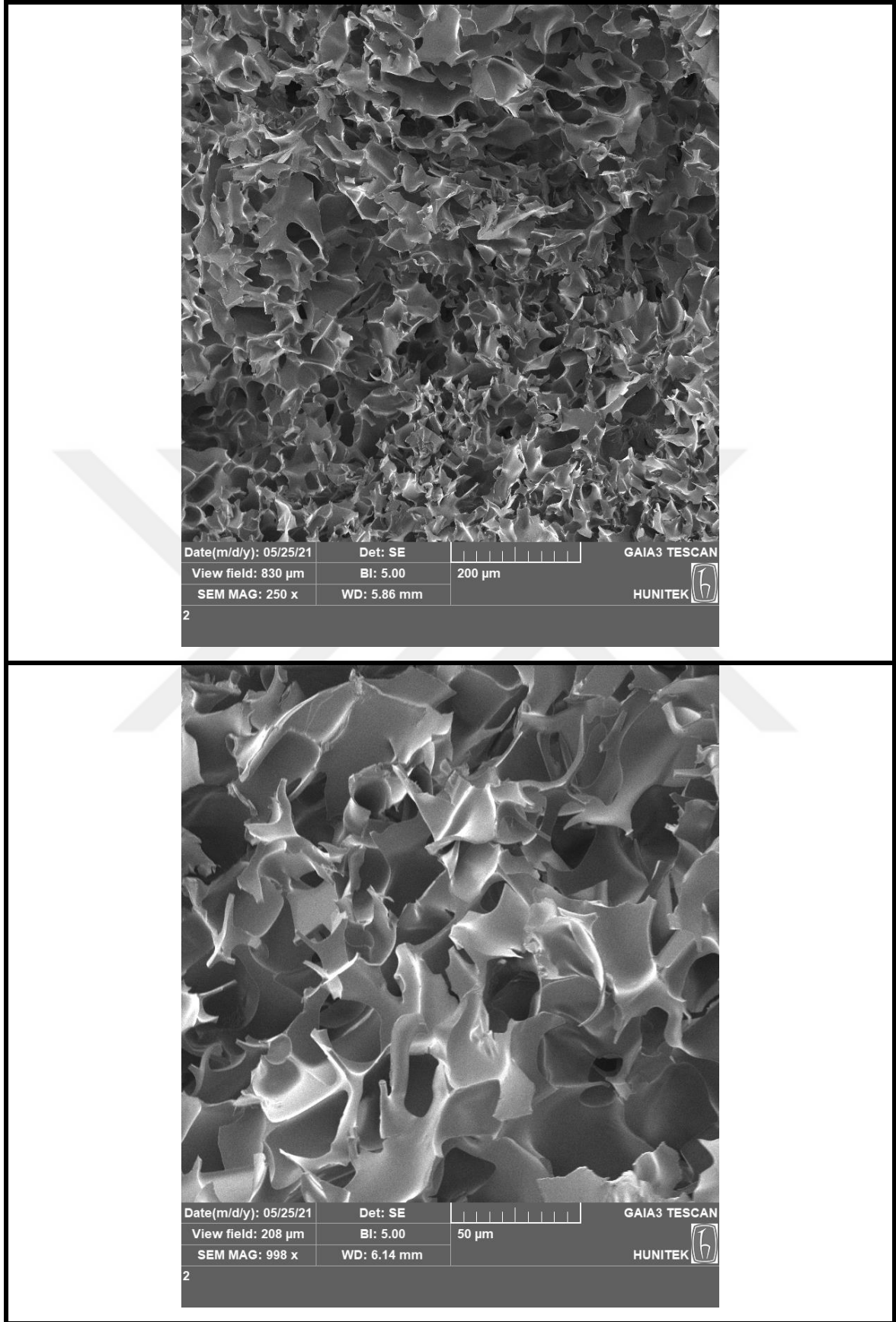
Şekil 5.12. MIP 2 kriyojeline ait SEM görüntüleri



Şekil 5.13. MIP 3 kriyojeline ait SEM görüntüleri



Şekil 5.14. MIP 4 kriyojeline ait SEM görüntüleri

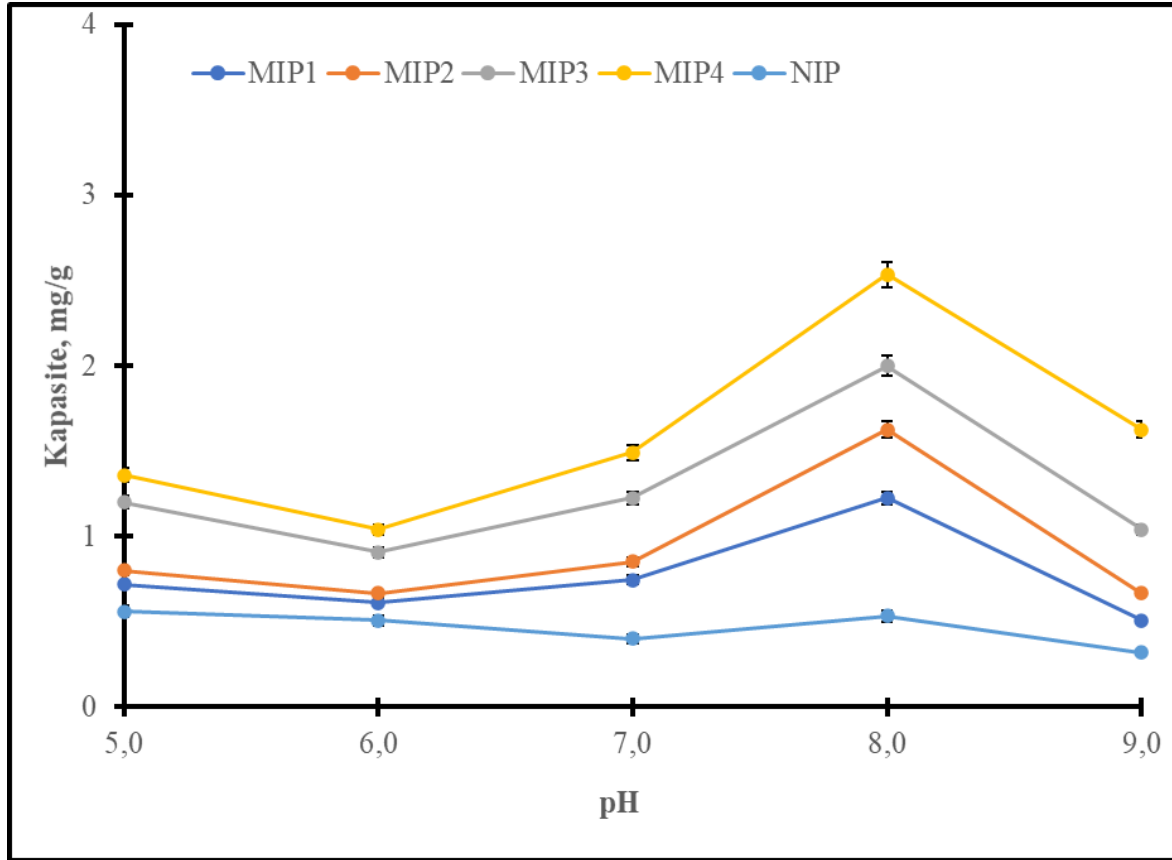


Şekil 5.15. NIP kriyojeline ait SEM görüntüleri

5.2. Adsorpsiyon Çalışmaları ve Deney Sonuçları

5.2.1. pH'ın adsorpsiyona etkisi

Yapılan çalışma sonuçlarına göre pH'ın adsorpsiyona etkisi Şekil 5.16'da gösterilmiştir. Kapasite ve pH arasında çizilen grafiğe göre her pH değerinde moleküler baskılanmış kriyojellerden MIP4'ün en fazla vankomisin adsorplama kapasitesine sahip olduğu görülmüştür. Moleküler baskılanmamış NIP kriyojelin ise en az vankomisin adsorplama kapasitesine sahip olduğu görülmüştür. Her bir kriyojel için pH değerleri incelendiğinde ise pH8 değerinde MIP4'ün yaklaşık 3 mg/g, MIP3'ün yaklaşık 2,75 mg/g, MIP2'nin yaklaşık 2,1 mg/g, MIP1'in yaklaşık 1,9 mg/g vankomisin adsorplama kapasitesine sahip olduğu gözlenmiş ve her bir kriyojel için en fazla adsorplama kapasitesine sahip pH değerinin pH 8 olduğu belirlenmiştir. Moleküler baskılanmamış kriyojelin vankomisin adsorplama kapasitesinin farklı pH'larda birbirine yakın olduğu görülmüştür ve bunun sebebinin hali hazırda NIP'nin çok düşük bir vankomisin adsorplama kapasitesine sahip olması (yaklaşık 0,5 mg/g) olduğu söylenebilir.



Şekil 5.16. pH'ın vankomisin adsorpsiyon kapasitesine etkisi [Oda sıcaklığı (25°C), 100 mg/L Vankomisin/su çözeltisi), 150 dakika etkileşim süresi]

5.2.2 Çözelti derişiminin adsorpsiyona etkisi

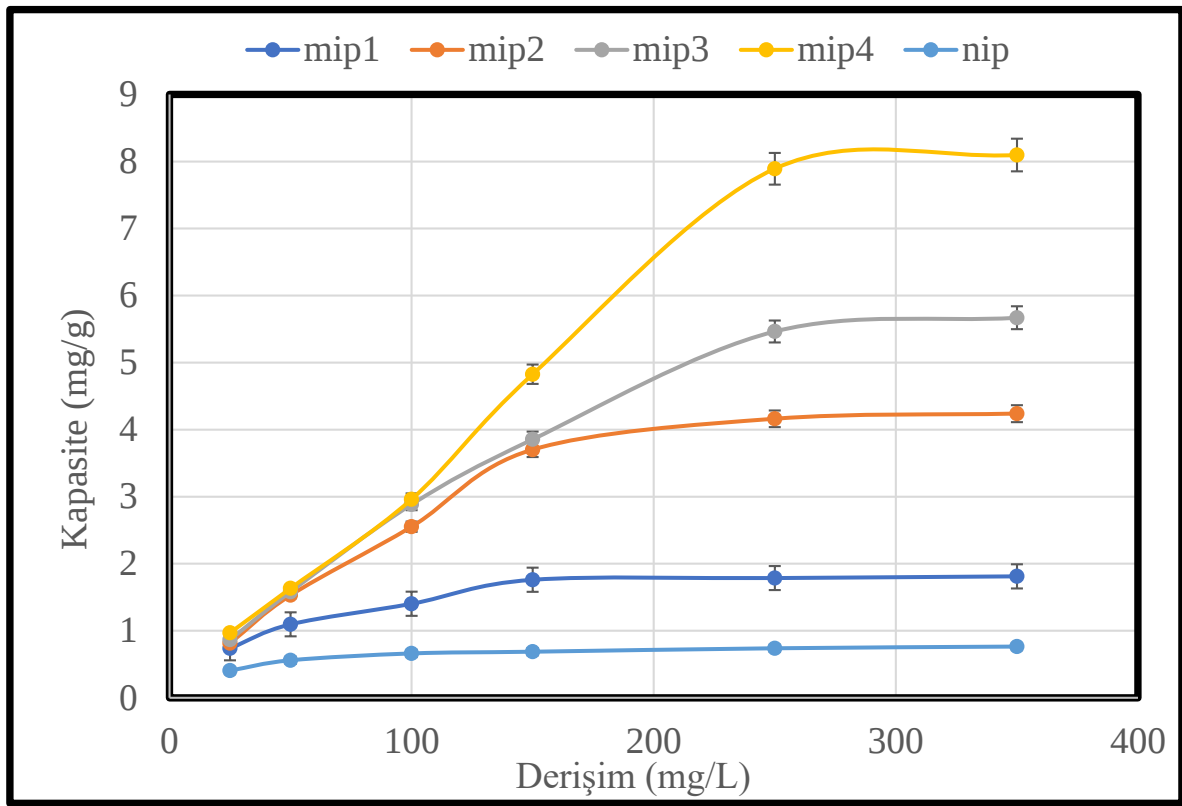
Yapılan çalışma da başlangıç absorbansları yardımıyla kalibrasyon grafiğı oluşturulmuş ve kalibrasyon grafiğinden $y = 0,0045x + 0,001$ denklemi elde edilmiştir. Bu denklem yardımı ile;

$$\text{Derişim} = (\text{Absorbans} - 0,001)/0,0045 \quad (5.1)$$

Eşitliğı elde edilmiştir.

Hesaplanan derişimler yardımıyla kapasiteler hesaplanmıştır. Hesaplanan kapasiteler Şekil 5.17'de gösterilmiştir. Elde edilen verilere göre 25 mg/L hariç diğer tüm derişimlerde sırasıyla vankomisin adsorpsiyon kapasitesi sırasıyla en fazla MIP 4, MIP 3, MIP 2, MIP 1, NIP olarak belirlenmiştir. Her bir derişim ayrı ayrı incelendiğinde en fazla vankomisin adsorpsiyon kapasitesinin 250 mg/L'de olduğu görülmüştür. 250 mg/L'de MIP 4 için vankomisin adsorpsiyon kapasitesi yaklaşık 7,6 mg/g, MIP 3 için 5,4 mg/g, MIP 2 için 4

mg/g , MIP 1 için 1,3 mg/g olarak hesaplanmıştır. Moleküler baskılanmamış kriyojel olan NIP'in 25 mg/L derişimde en fazla vankomisin adsorpsiyon kapasitesine sahip olması bu derişimin çalışma ortamı için çok düşük olması, absorbanların birbirine çok yakın olması, düşük antibiyotik miktarının kriyojelde fiziksel olarak yüzeyde tutunmuş olabileceği gibi sebeplerle açıklanabilir. Sonuçlara göre vankomisin adsorpsiyon kapasitesi derişimin artması ile artmış ve 250 mg/L derişiminden sonra artma durmuş ve azalma başlamıştır. Bu sebeplerden ötürü çevre sularından anbiyotik giderimi için çözeltinin optimum derişimi 250 mg/L olarak belirlenmiştir.



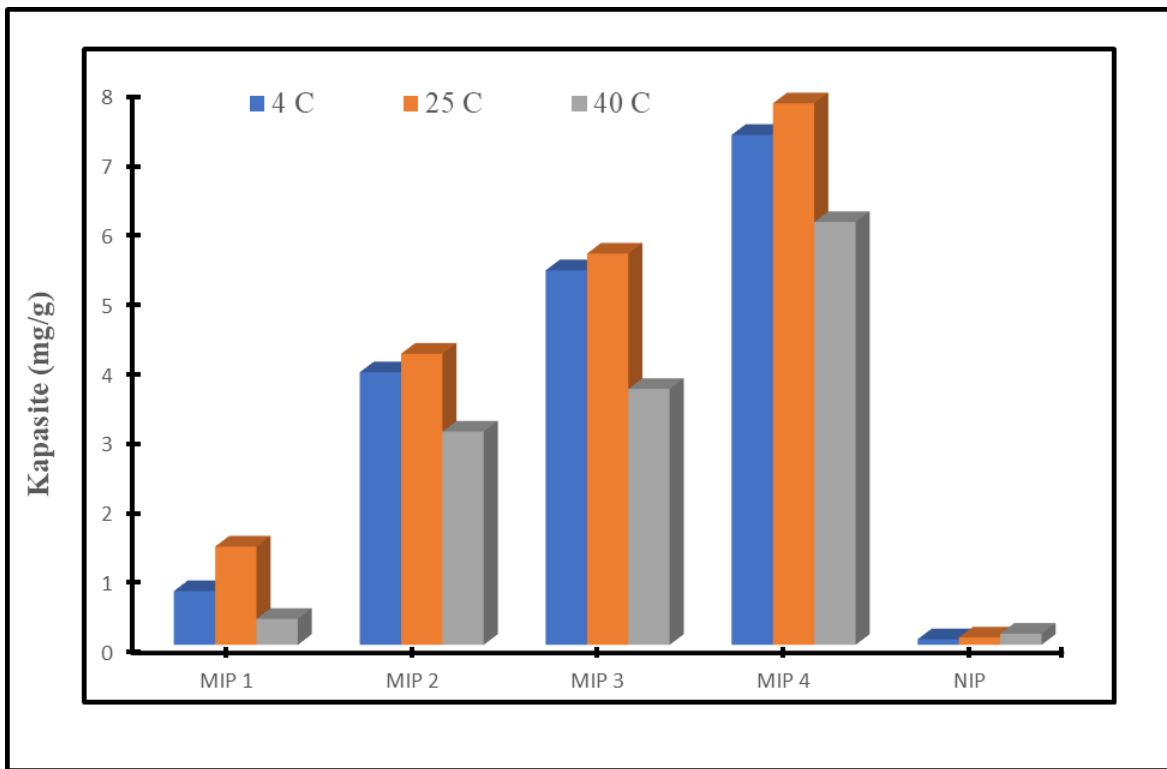
Şekil 5.17. Derişimin vankomisin adsorpsiyon kapasitesine etkisi [Oda sıcaklığı (25°C), pH 8, 150 dakika etkileşim süresi]

5.2.3. Sıcaklığın adsorpsiyona etkisi

Elde edilen sonuçlar Şekil 5.18'de gösterilmiştir. Sonuçlara göre 3 sıcaklıkta da moleküler baskılanmış kriyojeller ve moleküler baskılanmamış kriyojel arasında vankomisin tutma kapasitesi en fazla olan kriyojelin kompleks oranı en fazla olan MIP 4 olduğu görülmüştür. MIP 4'ün 40°C'de yaklaşık 5,9 mg/g, 25°C'de yaklaşık 7,8 mg/g ve 4°C yaklaşık 7,2 mg/g vankomisin tutma kapasitesi olduğu hesaplanmıştır. Sıcaklıklar arasında kıyaslama yapıldığında ise moleküler baskılanmış her bir kriyojel için ideal sıcaklık 25 C° olduğu

görülmüştür. 4°C sıcaklıkta vankomisin adsorpsiyon kapasitenin 40°C fazla olduğu da gözlemlenmiştir.

Moleküler baskılanmamış kriyojel için vankomisin adsorpsiyon kapasitenin en fazla olduğu sıcaklığın 40°C olduğu ve bu sıcaklığı sırasıyla 25°C ve 4°C'nin izlediği görülmüştür. Moleküler baskılanmamış kriyojelde vankomisin tutma kapasitesinin yaklaşık 0,2 mg/g gibi çok düşük bir değerde olması sebebiyle sıcaklık etkisinin bu kriyojelde önemli bir parametre olmadığı söylenebilir.

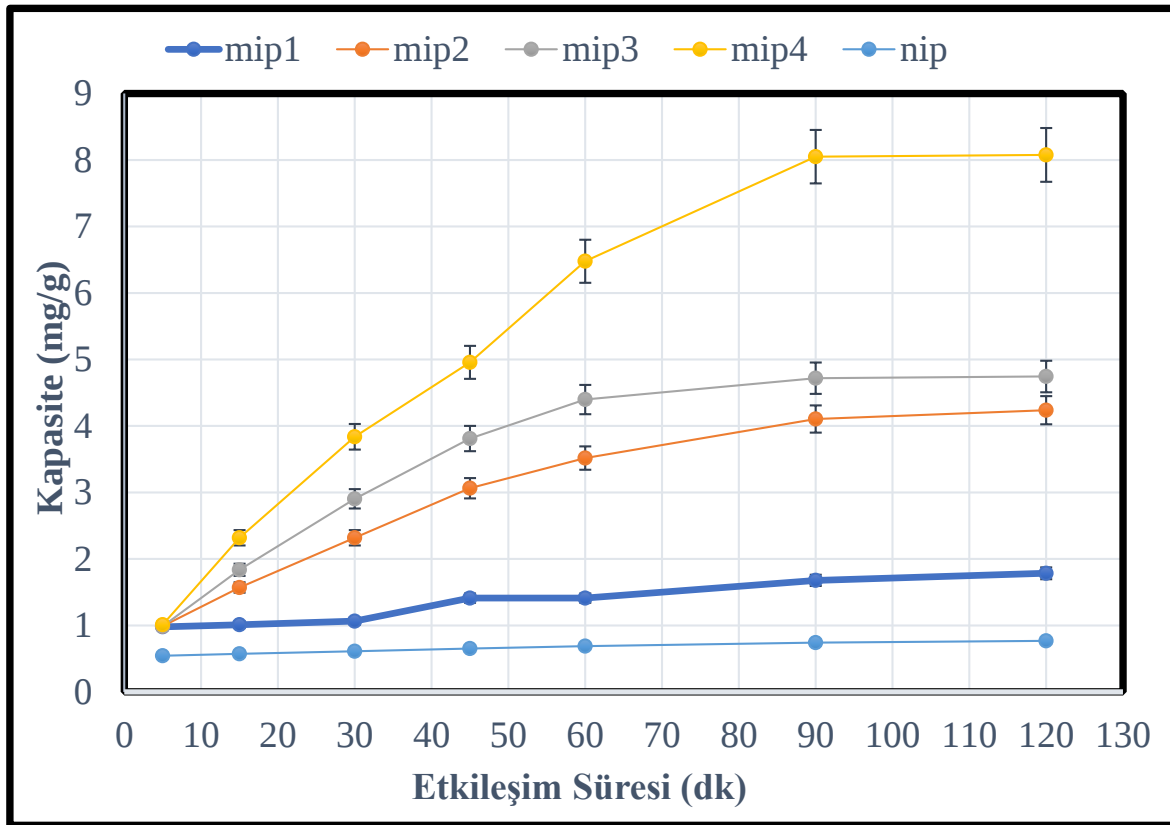


Şekil 5.18. Sıcaklığın vankomisin adsorpsiyon kapasitesine etkisi (250 mg/L, pH 8,0, 150 dakika etkileşim süresi)

5.2.4. Zamanın adsorpsiyona etkisi

Elde edilen verilere göre moleküler baskılanmış kriyojellerden en fazla kompleks oranına sahip 4 numaralı kriyojel (MIP 4) yine en fazla vankomisin adsorpsiyon kapasitesine sahip kriyojel olarak görülmüştür. Zaman parametresinin adsorpsiyona etkisi incelendiğinde ise 5. dakika ve 15. Dakika da neredeyse adsorpsiyon gözlemlenememiştir. 30. Dakikadan itibaren adsorpsiyonun artış gösterdiği daha belirgin hale gelmiştir. 60. Dakika da MIP 4'ün kapasitesi 5,4 mg/g olarak görülürken 120. Dakika da yaklaşık 8 mg/g olarak hesaplanmıştır.

Deneyin 130. dakikasında alınan ölçümler adsorpsiyonun hemen hemen bittiğini göstermiş ve kapasitede bir değişimin olmadığı gözlemlenmiştir. Moleküler baskılanmamış kriyojelin vankomisin adsorpsiyon kapasitesi incelendiğinde en fazla kapasitenin 45. Dakika da olduğu görülmüştür. Bunun sebebinin moleküler baskılanmamış kriyojelde vankomisin tutma kapasitesinin çok düşük olması ve zamanın bu adsorpsiyona bir etkisinin olmaması olarak değerlendirilmiştir. Zamanla değişen kapasite verilerinin fiziksel tutunma olduğu söylenebilir. Elde edilen veriler Şekil 5.19’de gösterilmiştir.



Şekil 5.19. Etkileşim süresinin vankomisin adsorpsiyon kapasitesine etkisi [Oda sıcaklığı (25°C), 250 mg/L, pH 8,0]

5.2.5. Seçicilik çalışmaları

Yapılan seçicilik çalışması sonucunda vankomisin antibiyotığının gentamisin ve tobramisin antibiyotığı ile kıyaslandığında daha yüksek seçicilik gösterdiği ve aynı zaman da moleküler baskılanmış kriyojellerin moleküler baskılanmamış kriyojele göre seçiciliğinin fazla olduğu görülmüştür. Sonuçlar Çizelge 5.2, Çizelge 5.3, Çizelge 5.4, Çizelge 5.5’de gösterilmiştir.

Çizelge 5.2. MIP 1 ve NIP kriyojeli farklı antibiyotiklerde kD ve k değerleri

	MIP 1		NIP		k'
	kD	k	kD	k	
Vankomisin	5,770	-	1,339	-	-
Gentamisin	2,445	2,360	1,525	0,878	2,688
Tobramisin	1,064	5,423	1,068	1,254	4,326

Çizelge 5.3. MIP 2 ve NIP kriyojeli farklı antibiyotiklerde kD ve k değerleri

	MIP 2		NIP		k'
	kD	k	kD	k	
Vankomisin	17,195	-	1,339	-	-
Gentamisin	2,463	6,982	1,525	0,878	7,953
Tobramisin	1,063	16,170	1,068	1,254	12,899

Çizelge 5.4. MIP 3 ve NIP kriyojeli farklı antibiyotiklerde kD ve k değerleri

	MIP 3		NIP		k'
	kD	k	kD	k	
Vankomisin	24,428	-	1,339	-	-
Gentamisin	2,472	9,883	1,525	0,878	11,259
Tobramisin	1,064	22,966	1,068	1,254	17,319

Çizelge 5.5. MIP 4 ve NIP kriyojeli farklı antibiyotiklerde kD ve k değerleri

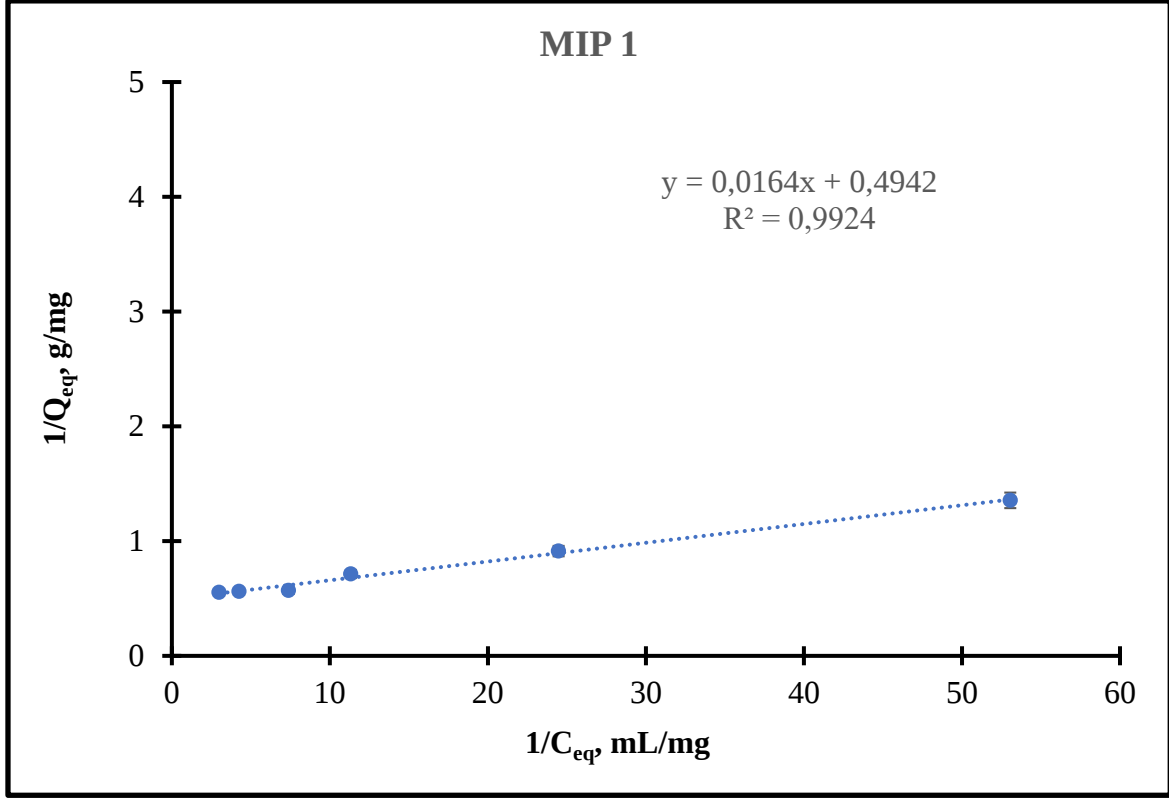
	MIP 4		NIP		k'
	kD	k	kD	k	
Vankomisin	40,251	-	1,339	-	-
Gentamisin	2,478	16,245	1,525	0,878	18,501
Tobramisin	1,064	37,810	1,068	1,254	30,160

5.2.6. Adsorpsiyon izotermi

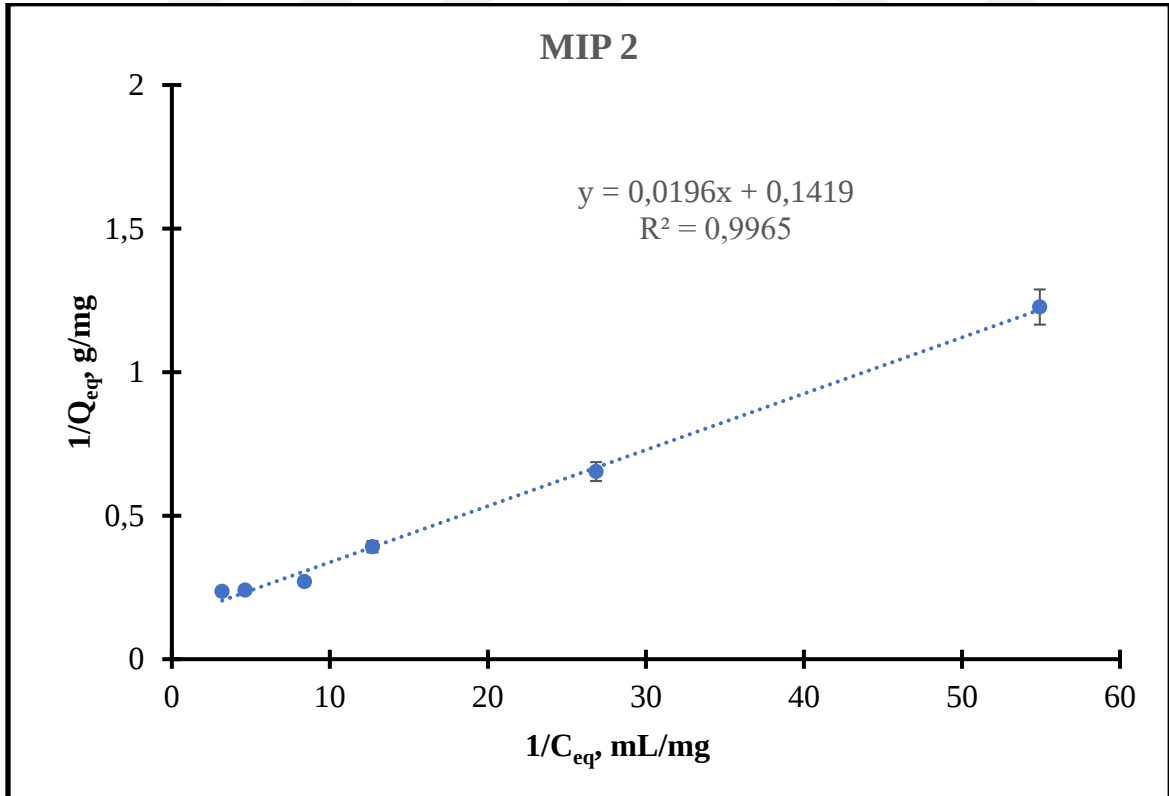
Adsorpsiyon çalışmasında moleküllerin adsorbent ile etkileşimini belirlemek için Langmuir ve Freundlich adsorpsiyon modelleri incelenmiştir. Farklı kompleks miktarları ile hazırlanan kriyojeller ve moleküler baskılanmamış kriyojel için çizilen $1/Q_{eq}$ 'ya karşı $1/C_{eq}$ grafikleri Şekil 5.20-5.29 gösterilmiş ve bu grafiklerden eğim ($1/n$) belirlenerek derişimin adsorpsiyon kapasitesine etkisini gösterilmiştir. Aynı zaman da grafikten belirlilik katsayısı olan (R^2)'lerde belirlenmiştir. Elde edilen veriler Çizelge 5.2'de gösterilmiştir. Hesaplanan sonuçlara göre farklı kompleks oranına sahip kriyojellerle yapılan çalışmada MIP 1, MIP 2, MIP 3, MIP 4 ve moleküler baskılanmayan yarışmacı NIP kriyojellerin langmuir izoterm modeline uyduğu gözlenmiştir.

Çizelge 5.6.Farklı kompleks oranına sahip polimerlerin Langmuir ve Freundlich izotermine ait veriler

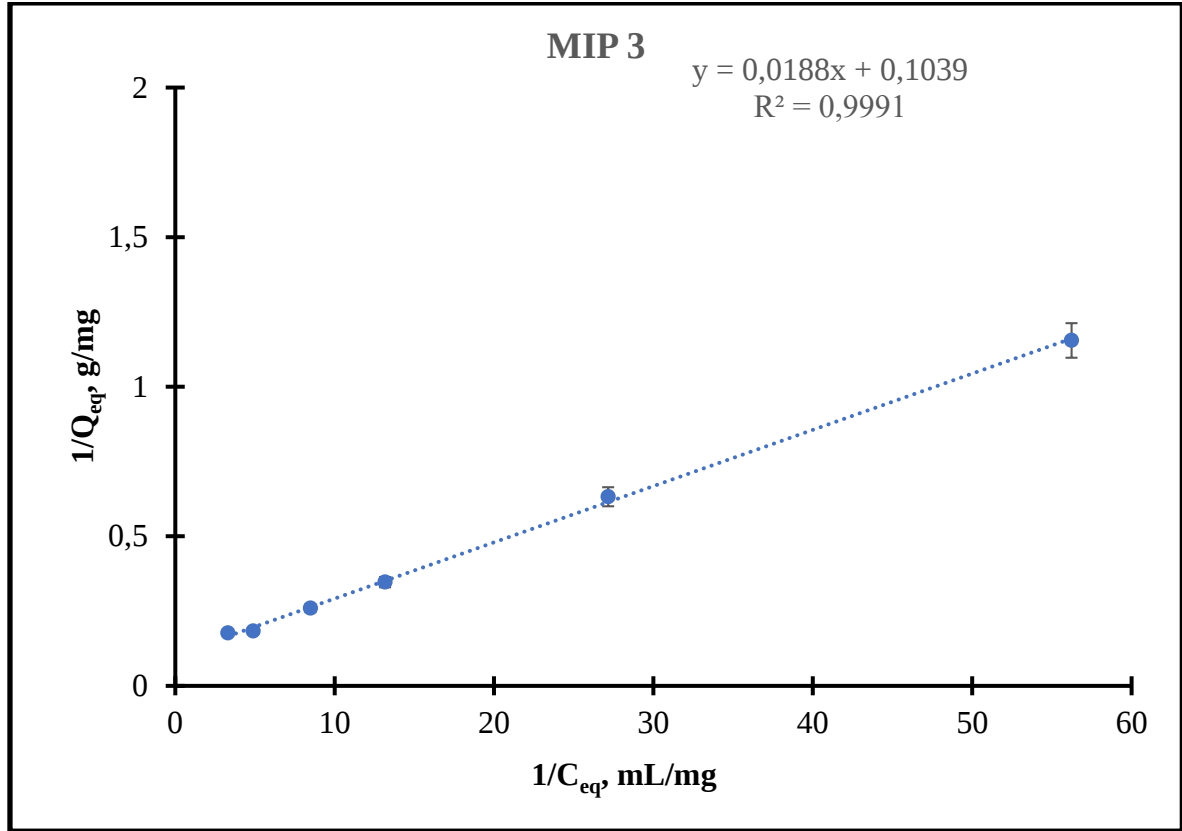
Polimer Adı	Deneysel	Langmuir Sabitleri			Freundlich Sabitleri			Uygun Olduğu İzoterm
	Q_{maks}	Q_e	b	R^2	K_f	n	R^2	
MIP 1	2,023	1,195	3,013	0,9924	2,831	3,143	0,923	Langmuir
MIP 2	7,047	2,644	7,240	0,9965	4,523	1,675	0,937	Langmuir
MIP 3	9,625	4,238	5,527	0,9991	2,989	1,450	0,977	Langmuir
MIP 4	12,970	6,31	4,589	0,9834	15,115	1,220	0,98	Langmuir
NIP	0,805	0,067	47,602	0,9976	2,297	4,610	0,916	Langmuir



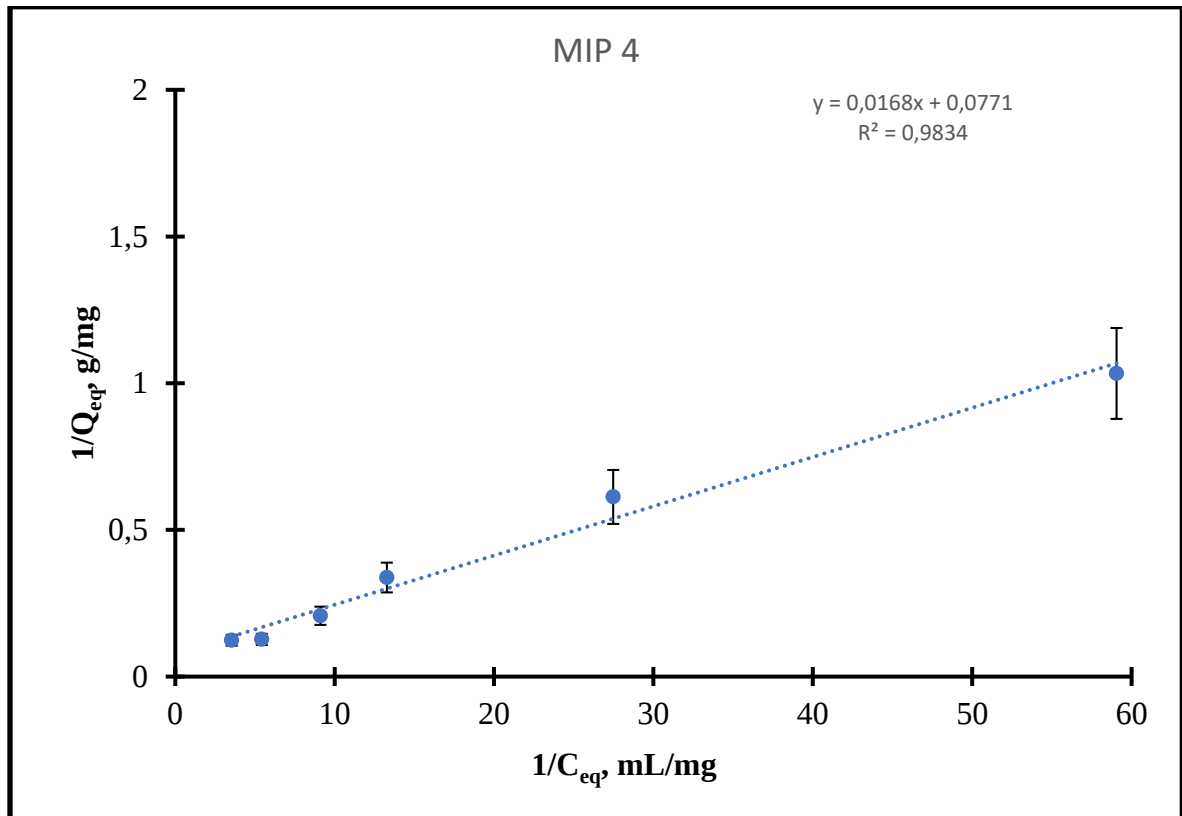
Şekil 5.20. MIP 1 kriyojeline ait Langmuir izoterm grafiği



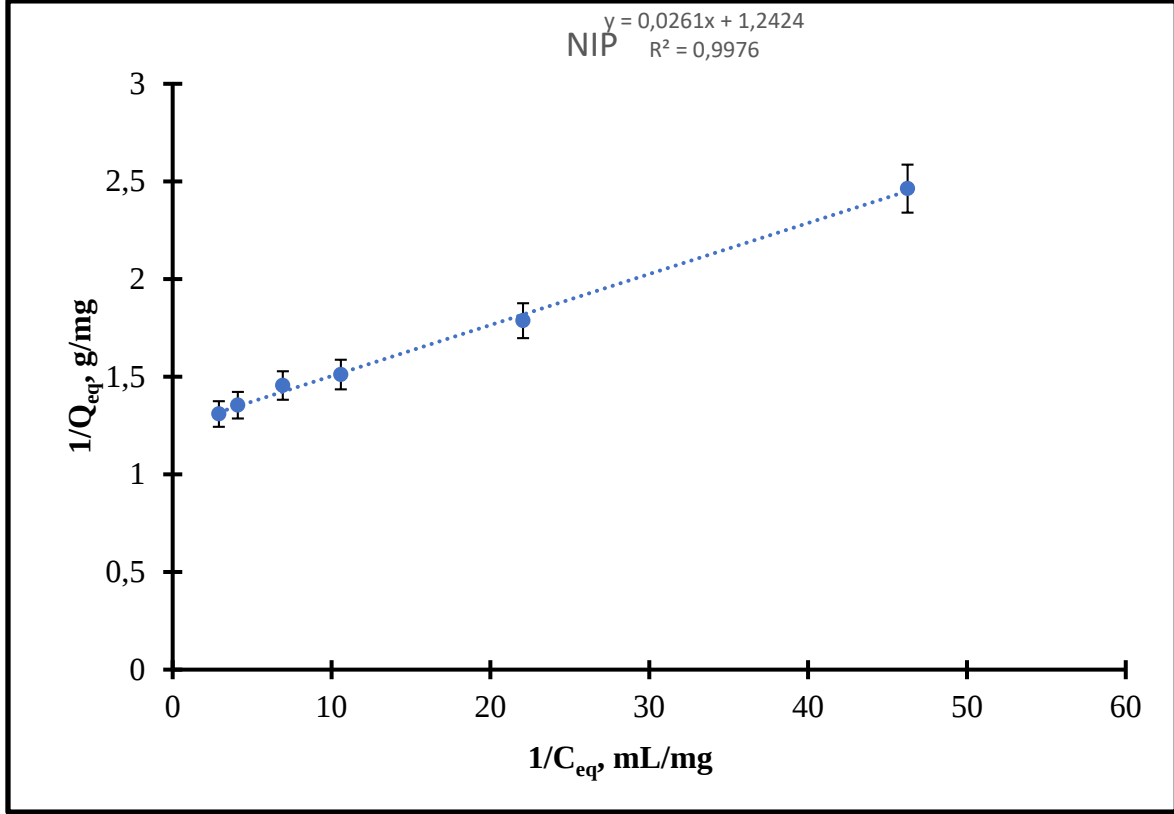
Şekil 5.21. MIP 2 kriyojeline ait Langmuir izoterm grafiği



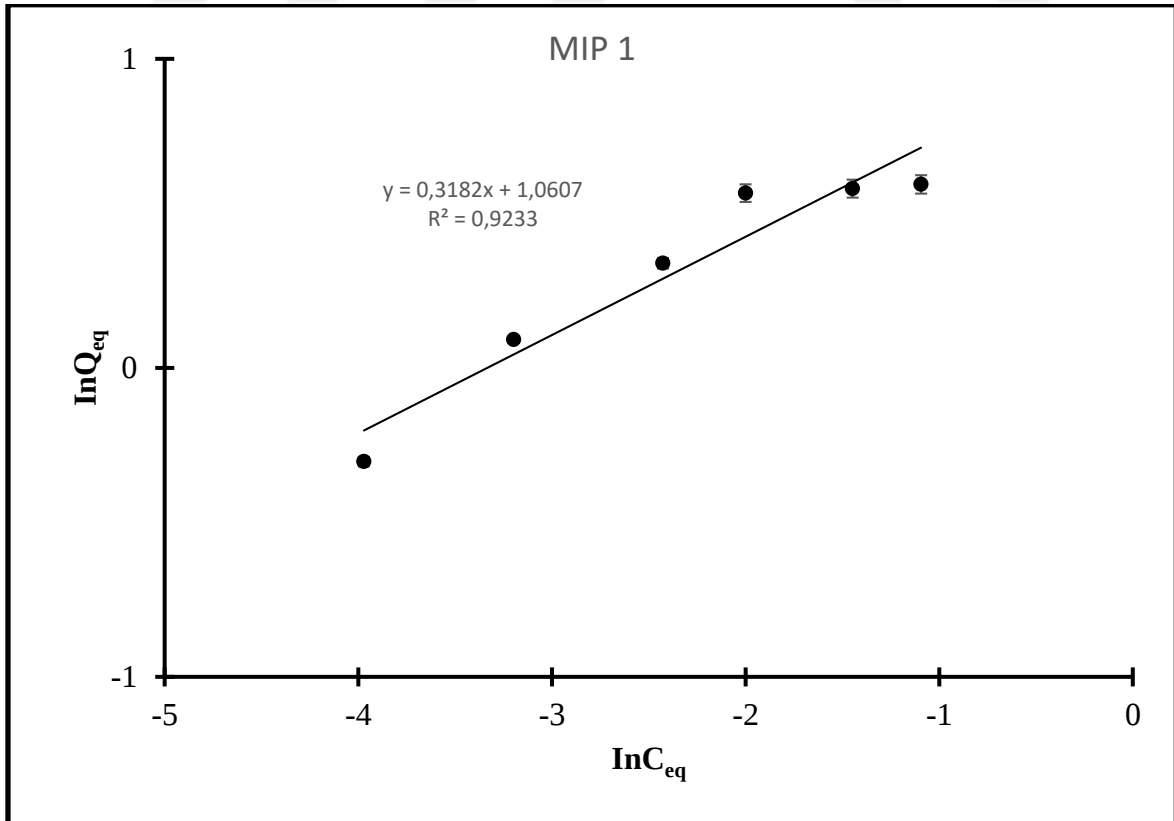
Şekil 5.22. MIP 3 kriyojeline ait Langmuir izoterm grafiği



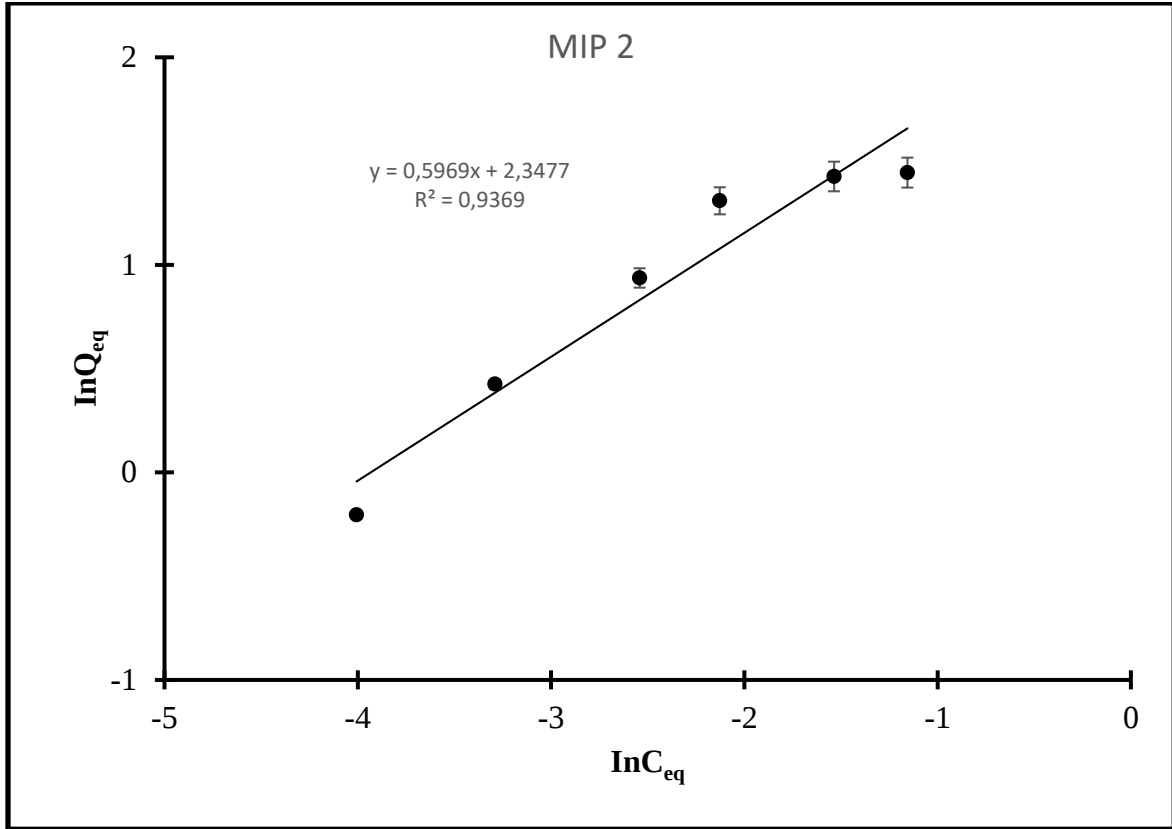
Şekil 5.23. MIP 4 kriyojeline ait Langmuir izoterm grafiği



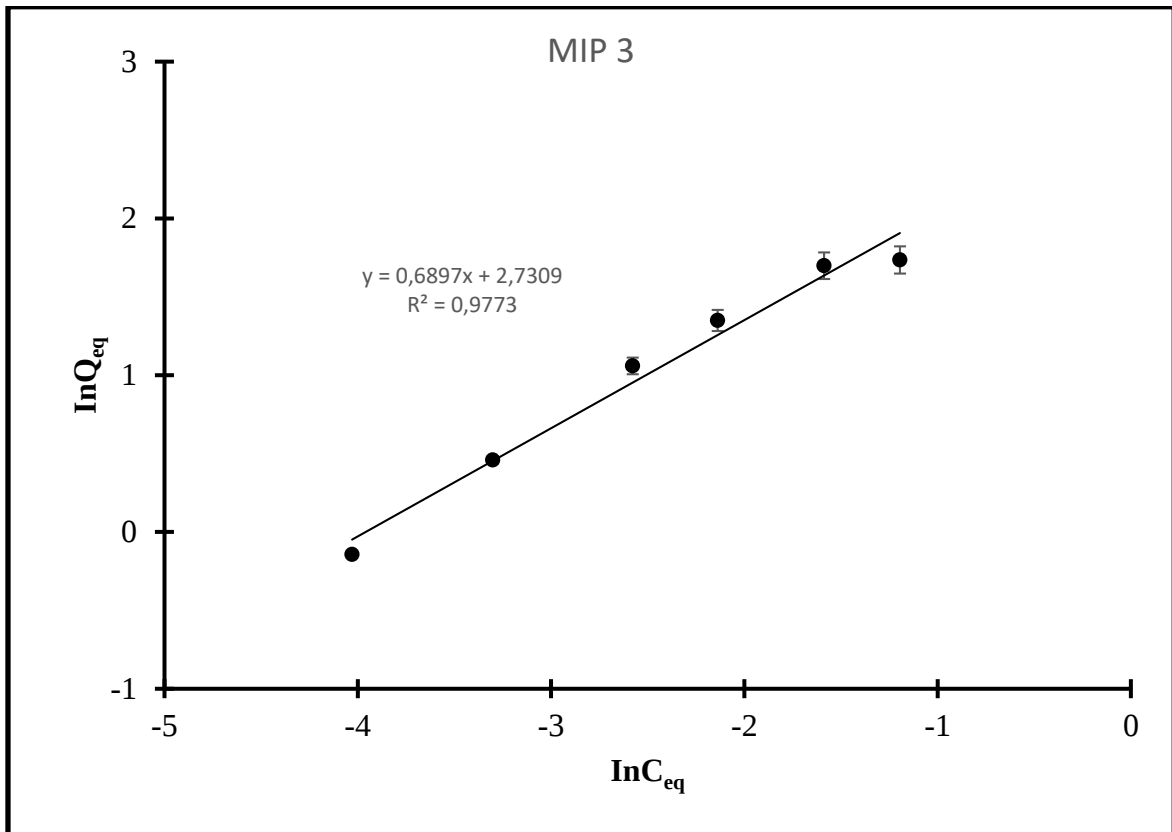
Şekil 5.24. NIP kriyojeline ait Langmuir izoterm grafiği



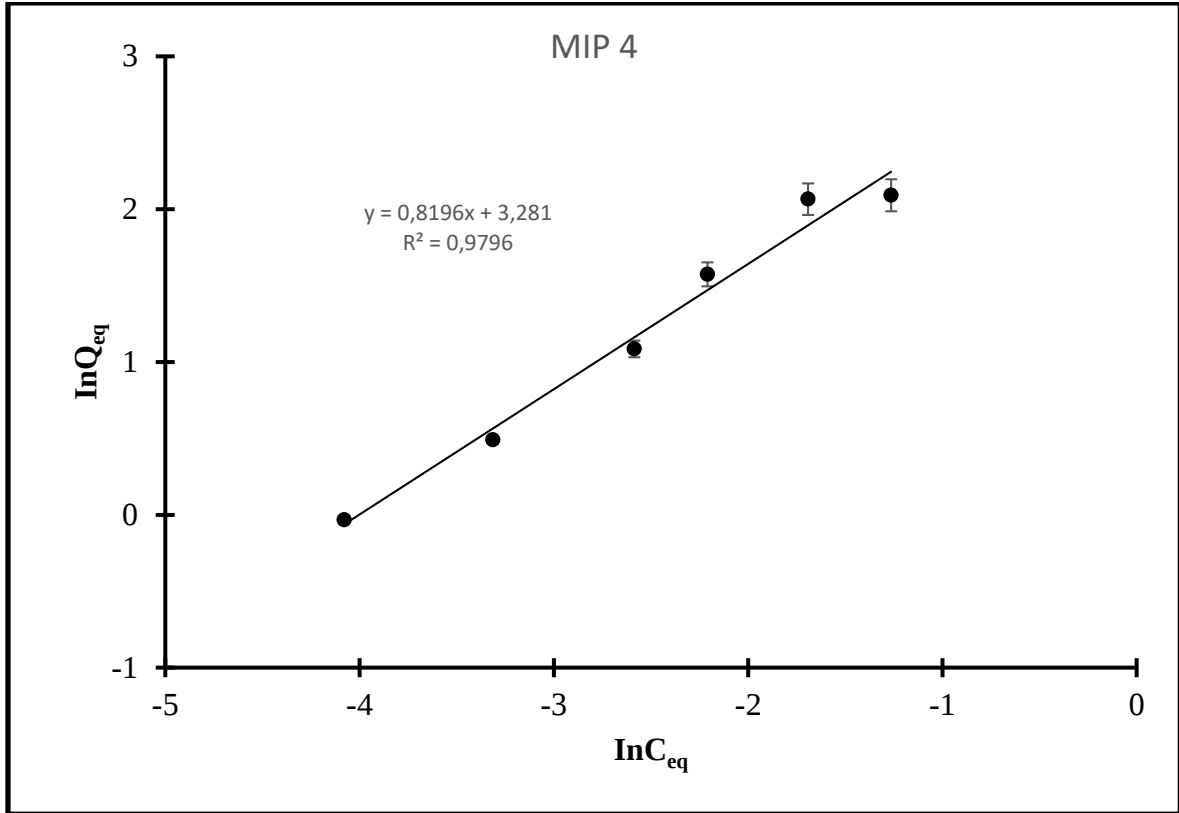
Şekil 5.25. MIP 1 kriyojeline ait Freundlich izoterm grafiği



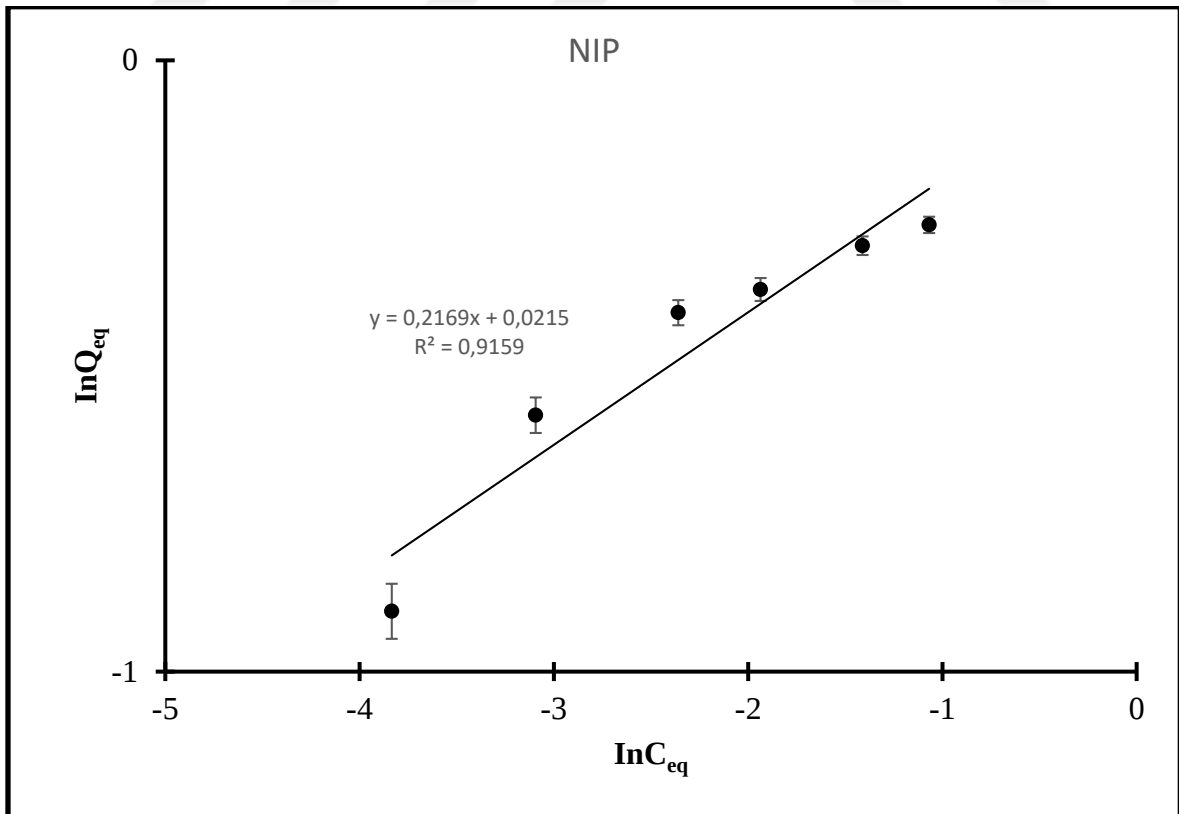
Şekil 5.26. MIP 2 kriyojeline ait Freundlich izoterm grafiği



Şekil 5.27. MIP 3 kriyojeline ait Freundlich izoterm grafiği



Şekil 5.28. MIP 4 kriyojeline ait Freundlich izoterm grafiği



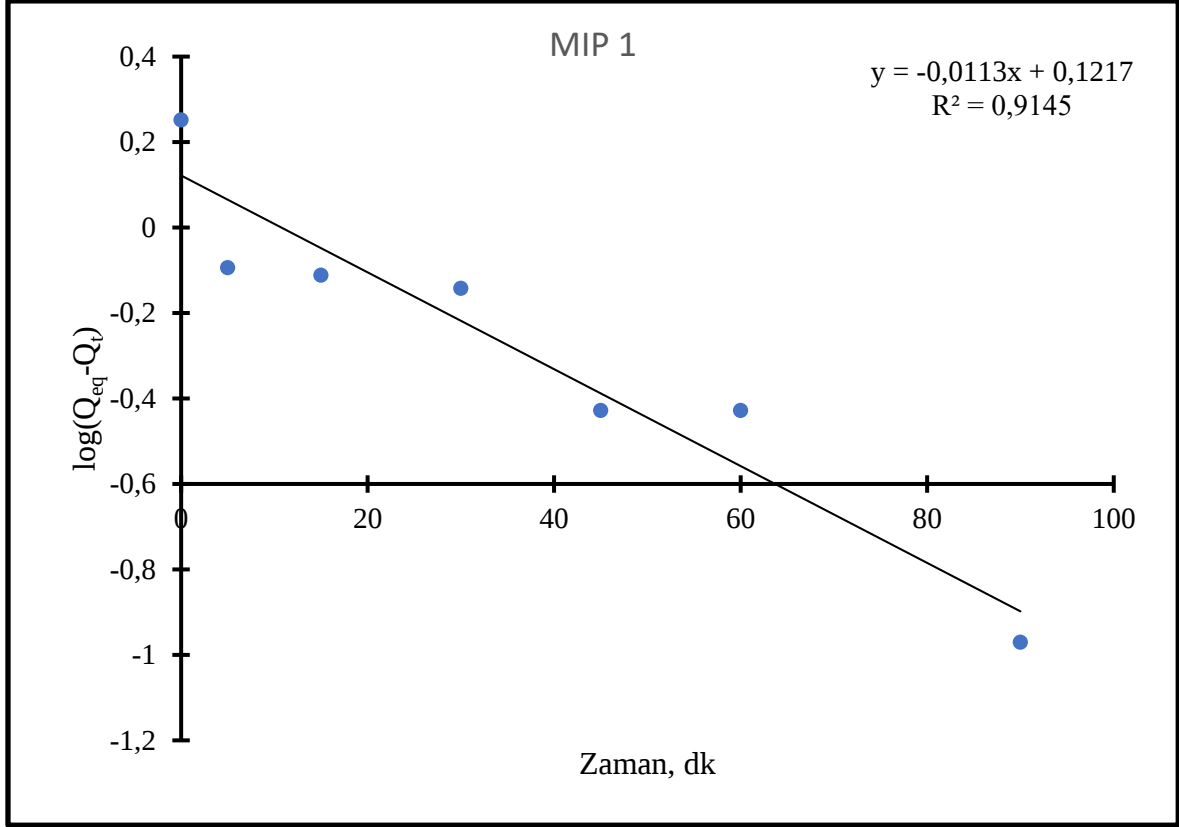
Şekil 5.29. NIP kriyojeline ait Freundlich izoterm grafiği

5.2.7. Adsorpsiyon kinetik modeli

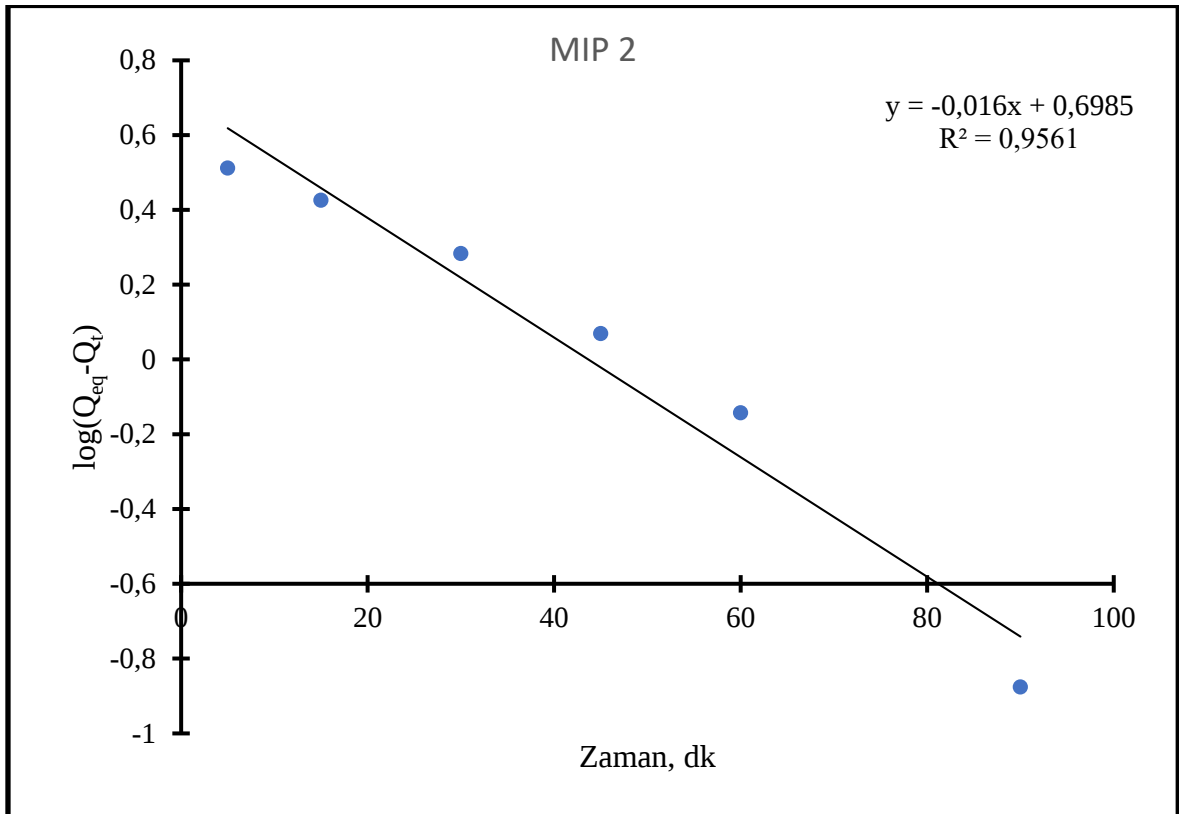
Yapmış olduğumuz çalışmaya göre moleküler baskılanmış kriyojeller için yalancı-ikinci derece kinetik model daha uygun bulunmuştur. Bu sonuçlara göre kriyojellerin hem teorik hem deneysel Q_{eq} değerlerinin birbirine çok yakın olması adsorpsiyonun hem difüzyon hem kimyasal yolla gerçekleştiğini göstermektedir.

Çizelge 5.7. Adsorpsiyon kinetik verileri

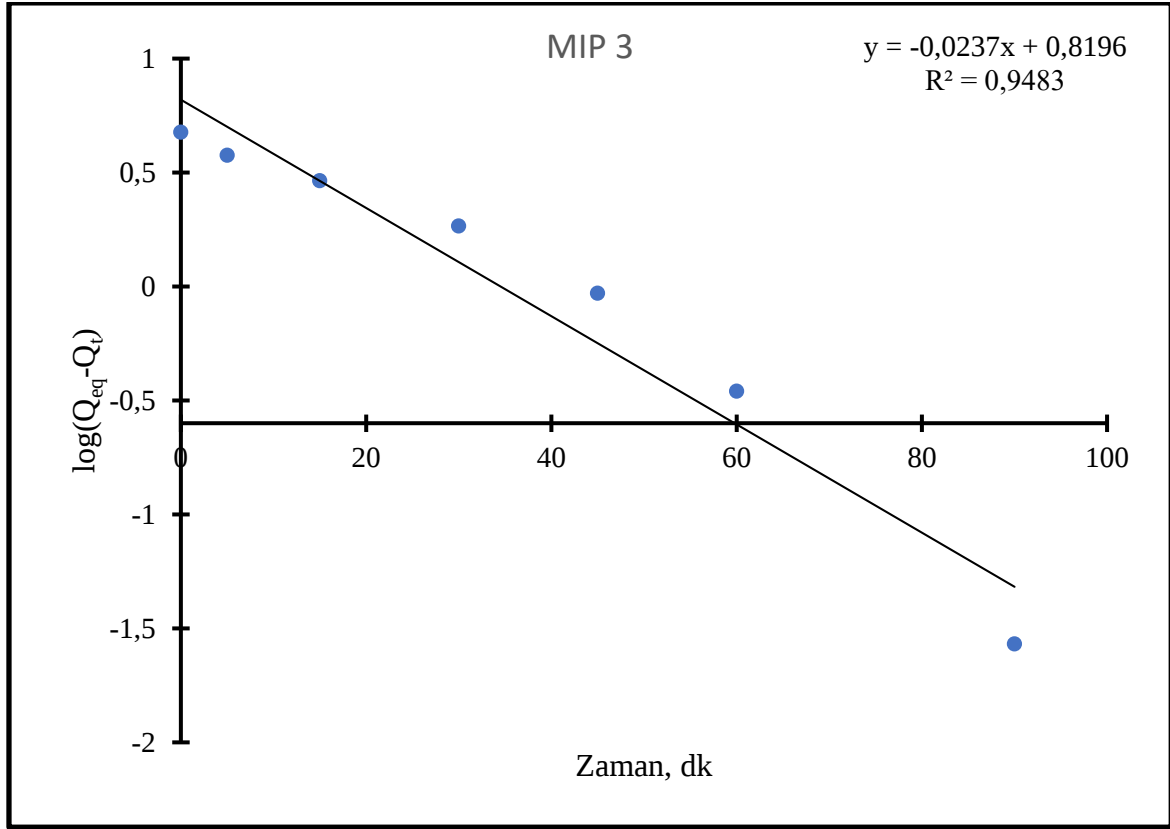
Polimer	Deneysel	Yalancı-birinci derece			Yalancı-ikinci derece		
	Q_{eq} ($\mu\text{g/g}$)	k_1 (1/dak)	Q_{eq} ($\mu\text{g/g}$)	R^2	k_2 (g/mg.dak)	Q_{eq} ($\mu\text{g/g}$)	R^2
MIP 1	1,79	0,026	1,32	0,9145	0,034	1,93	0,9737
MIP 2	4,24	0,035	4,99	0,9561	0,014	4,91	0,9897
MIP 3	4,74	0,054	6,6	0,9483	0,006	6,06	0,9876
MIP 4	8,08	0,049	13,3	0,8359	0,002	12,9	0,9695
NIP	0,77	0,029	2,54	0,8626	0,283	0,79	0,9962



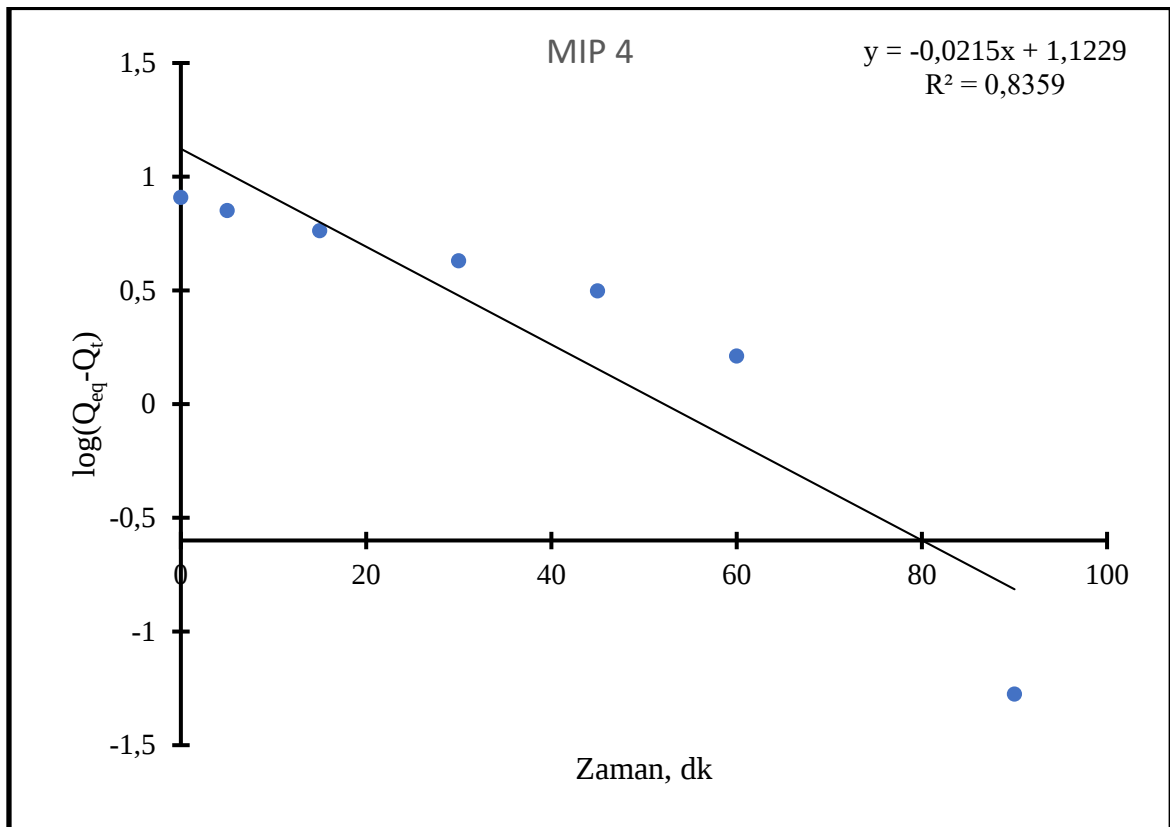
Şekil 5.30. MIP 1 kriyojeline ait yalancı-birinci derece adsorpsiyon grafiği



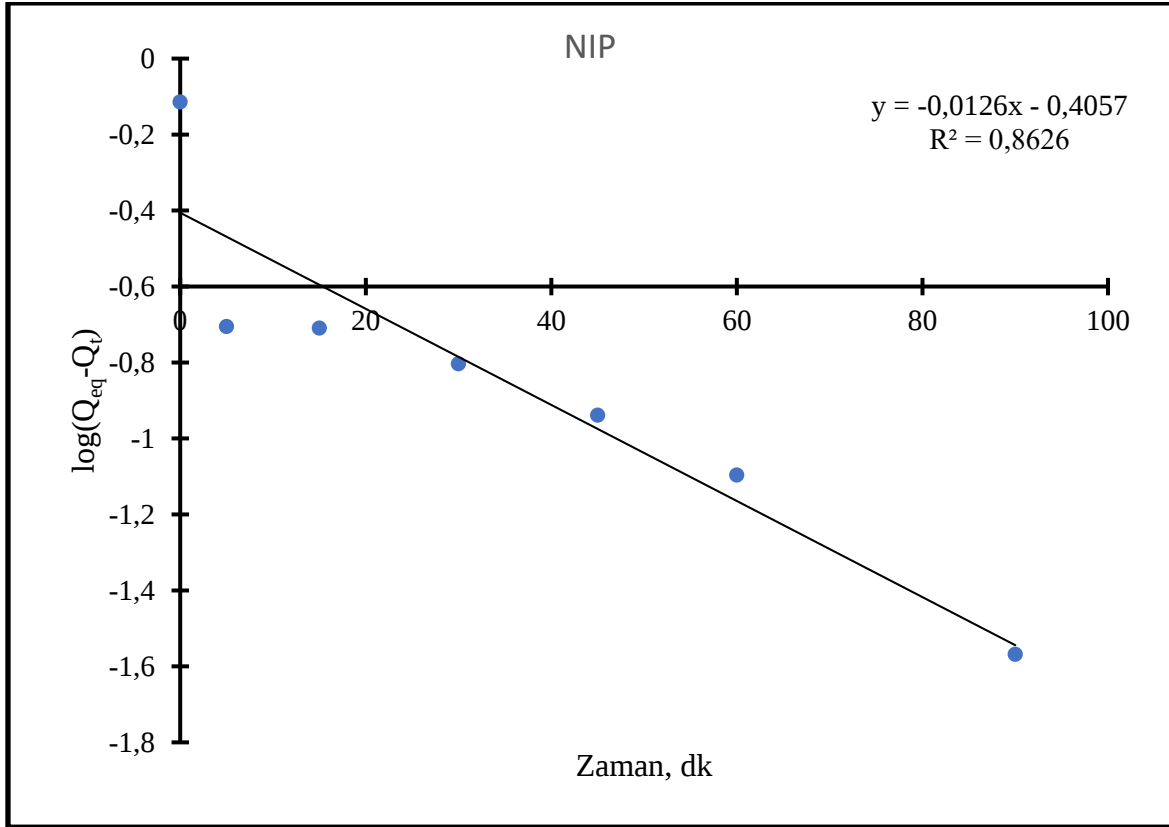
Şekil 5.31. MIP 2 kriyojeline ait yalancı-birinci derece adsorpsiyon grafiği



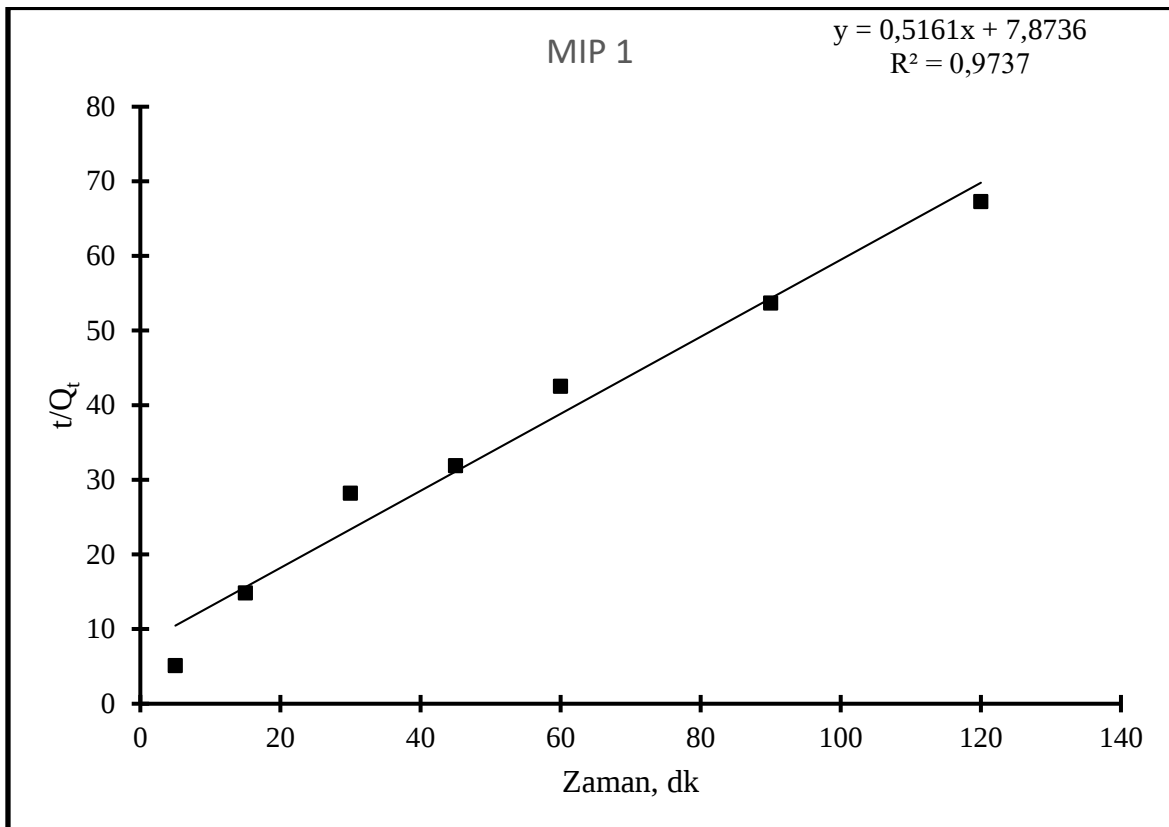
Şekil 5.32. MIP 3 kriyojeline ait yalancı-birinci derece adsorpsiyon grafiği



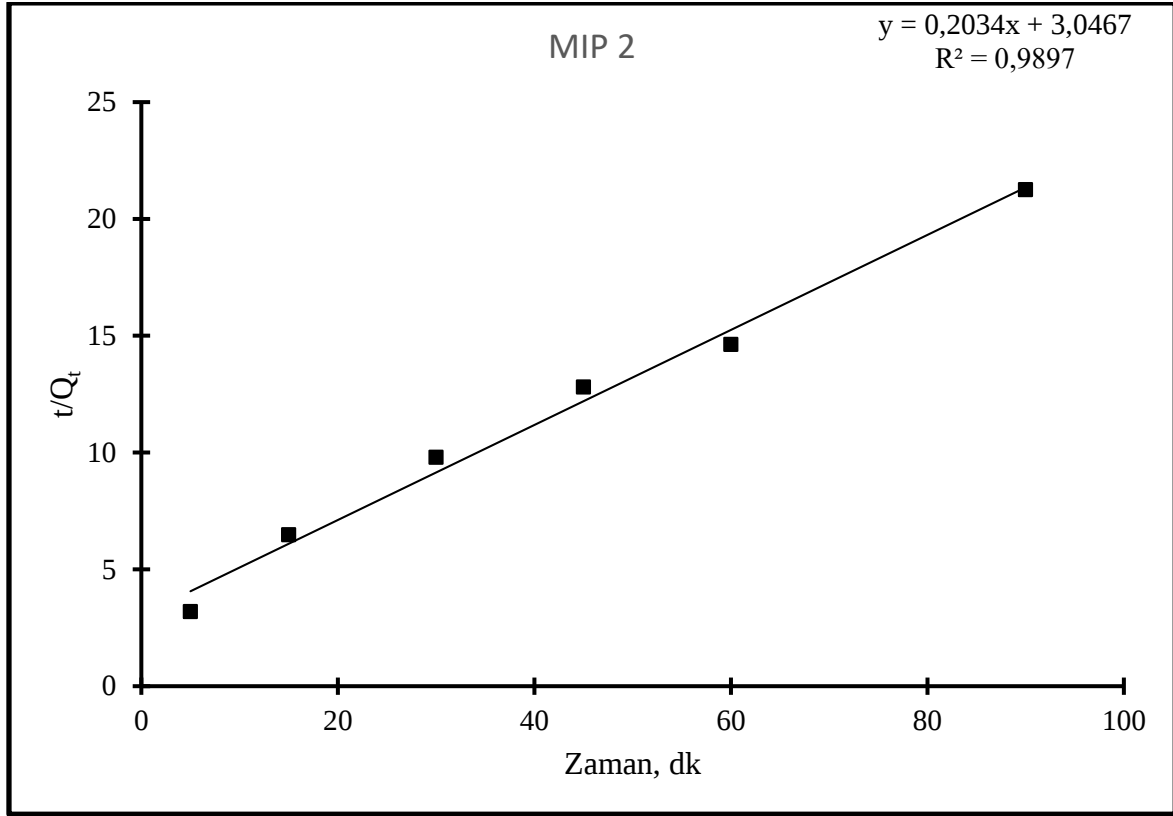
Şekil 5.33. MIP 4 kriyojeline ait yalancı-birinci derece adsorpsiyon grafiği



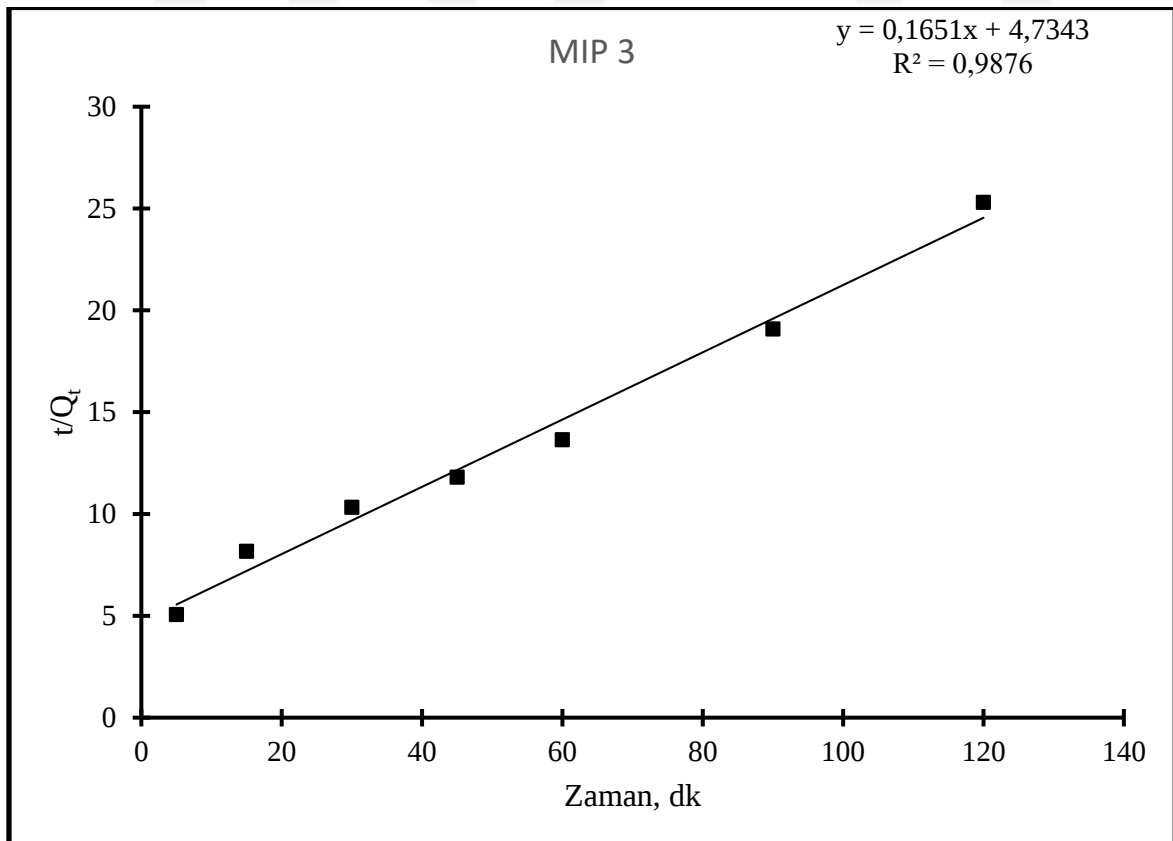
Şekil 5.34. NIP kriyojeline ait yalancı-birinci derece adsorpsiyon grafiği



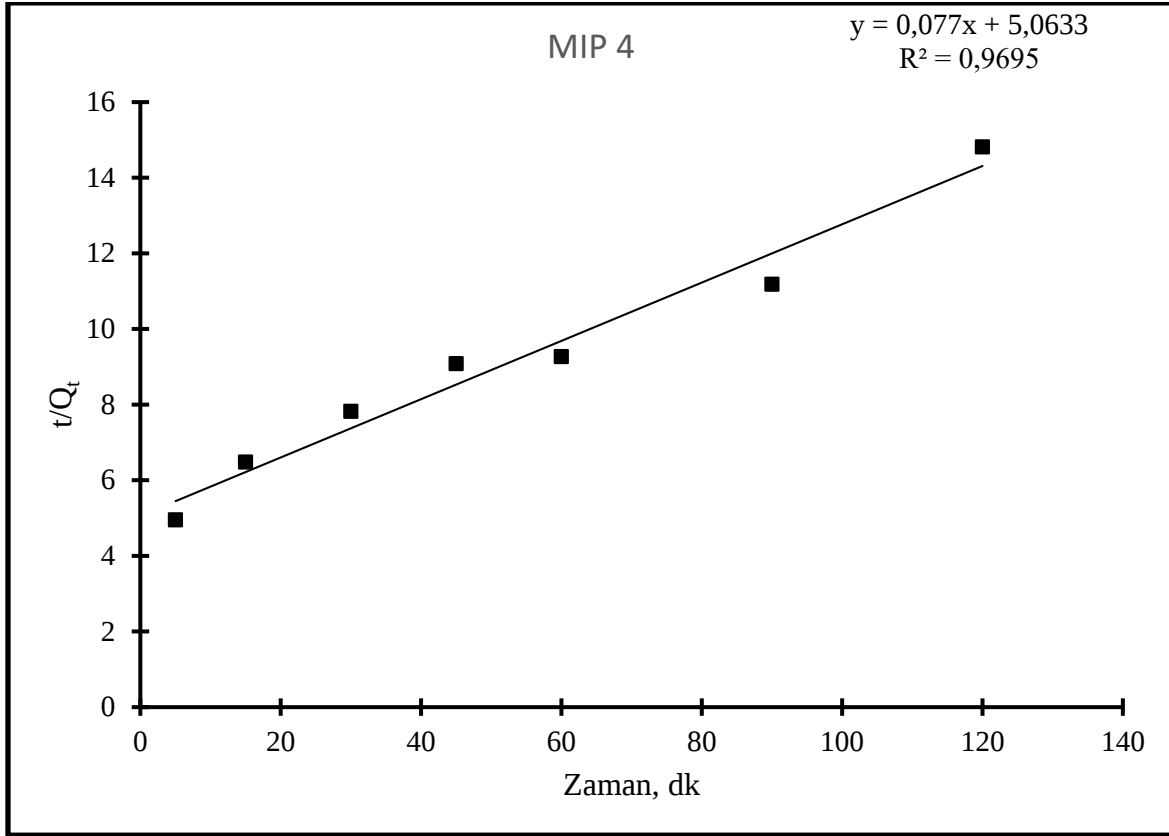
Şekil 5.35. MIP 1 kriyojeline ait yalancı-ikinci derece adsorpsiyon grafiği



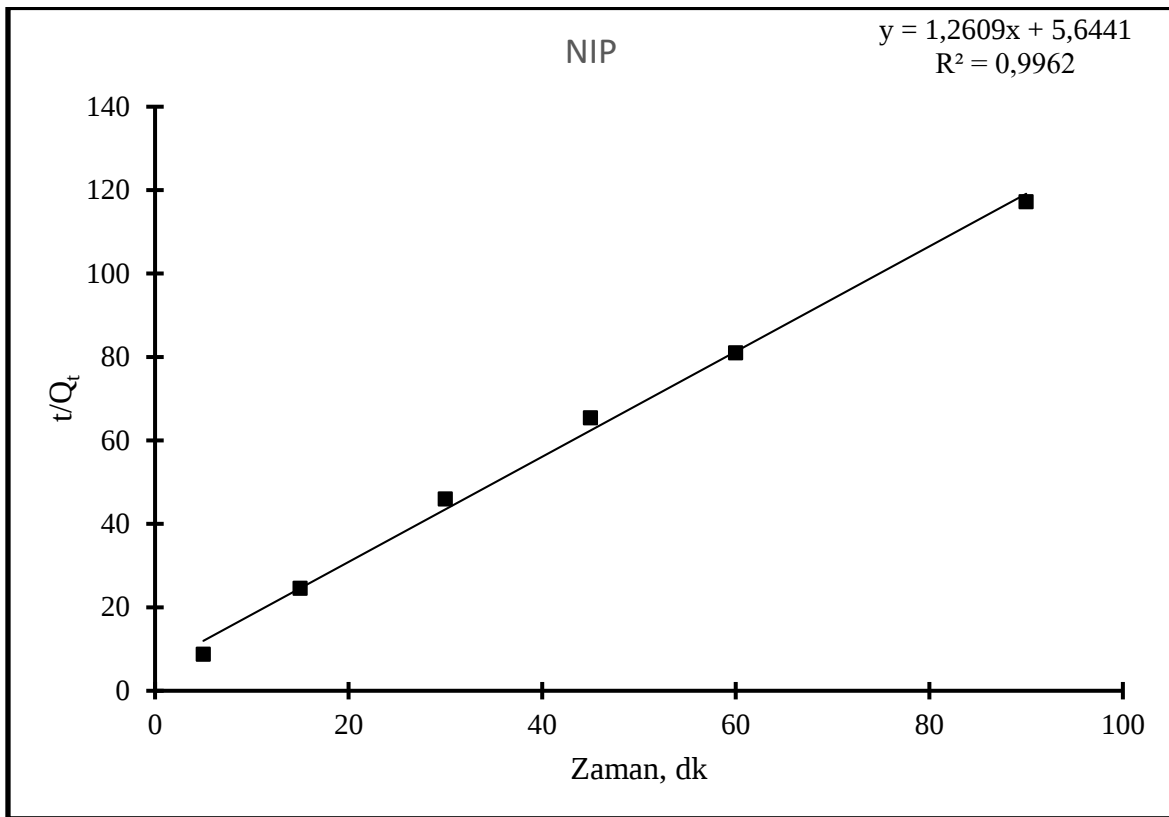
Şekil 5.36. MIP 2 kriyojeline ait yalancı-ikinci derece adsorpsiyon grafiği



Şekil 5.37. MIP 3 kriyojeline ait yalancı-ikinci derece adsorpsiyon grafiği



Şekil 5.38. MIP 4 kriyojeline ait yalancı-ikinci derece adsorpsiyon grafiği



Şekil 5.39. NIP kriyojeline ait yalancı-ikinci derece adsorpsiyon grafiği

5.2.8. Kriyojellerin şişme testleri

Kriyojellerin şişme testleri yapılırken farklı kompleks oranına sahip moleküler baskılanmış kriyojeller ve moleküler baskılanmamış kriyojel kurutulularak hem yüzey hemde içinde bulunan sıvılardan uzaklaştırılmıştır. Kriyojeller hassas terazi yardımı ile tartılmış ve deney ortamları olan pH 8 tamponunda oda sıcaklığında deney süresi olan 120 dakika boyunca bekletilmiştir. 120 dakikanın sonunda kriyojellerin yüzeylerinden bulunan sıvı moleküller silinmiş ve tekrar hassas terazi yardımı ile tartılmışlardır. Eş. 4.1 yardımı ile hesaplanan kriyojellerin şişme oranları Çizelge 5.3’de gösterilmiştir. Kriyojellerden en fazla şişen, moleküler baskılanırken en fazla hedef moleküler kullanılan MIP 4 olurken en az şişme oranına sahip kriyojelin ise moleküler baskılanmamış (NIP) olduğu gözlemlenmiştir.

Çizelge 5.8. Kriyojellerin şişme oranları

Kriyojel Adı	Şişme Oranı (%)
MIP 1	539
MIP 2	529
MIP 3	510
MIP 4	580
NIP	505

6. SONUÇ

Çevre sularından antibiyotik giderimi için moleküler baskılanmış kriyojeller sentezlenen çalışmada farklı kompleks oranına sahip polimerlerden en fazla adsorpsiyon kapasitesine sahip polimer 7,6 mg/g değeri ile MIP 4 olmuştur.

Genel olarak farklı derişim, sıcaklık, zaman, pH değerlerinde yapılan çalışmalarda moleküler baskılanmamış kriyojelin moleküler baskılanmış kriyojellere göre vankomisin adsorpsiyon kapasitenin daha düşük olması bu durumun moleküler baskılama teknolojisinde hedef molekül-monomer ilişkisinin adsorpsiyon kapasitesi için ne kadar önemli olduğu ile açıklanabilir. Moleküler baskılanmış kriyojeller moleküler baskılanmamışa göre daha iyi adsorpsiyon yapabilmektedir.

Adsorpsiyon kapasitelerinin MIP 4'den başlayıp MIP 1'e doğru sırasıyla 7,6 mg/g, 5,4 mg/g, 4 mg/g, 1,3 mg/g olması adsorpsiyon kapasitesi/kompleks miktarı arasında doğru orantı olduğu sonucunu göstermiştir.

pH 5'de yapılan çalışmanın adsorpsiyon kapasitesine olumlu etkisi pH 6'dan fazla iken pH 7 ortamından daha az olması moleküler baskılanmış kriyojellerin vankomisin adsorpsiyon kapasitesi ile pH arasında ters veya doğru bir orantının olmadığını göstermiştir. Adsorpsiyon için ideal çözelti pH'ı 8 olarak hesaplanmıştır.

Farklı sıcaklıklarda yapılan adsorpsiyon çalışmaları sonucu moleküler baskılanmış kriyojellerin vankomisin adsorpsiyon kapasitesi için en uygun sıcaklığın oda sıcaklığı (25 C°) olduğu tespit edilmiştir.

Moleküler baskılanmış kriyojellerin adsorpsiyon kapasitesi için en uygun adsorpsiyon süresi 120 dakika olarak belirlenmiştir. Vankomisin adsorpsiyon kapasitesi 0. dakikadan 120. Dakikaya kadar artış göstermiş fakat 120. Dakikadan sonra adsorpsiyonda bir değişim gözlemlenmemiştir.

Moleküler baskılanmış kriyojellerde vankomisin adsorpsiyonu çalışması için en uygun çözelti derişimi 250 mg/L olarak hesaplanmıştır. Çözelti derişimi ile adsorpsiyon kapasitesi arasında (25 mg/L ve 250 mg/L aralığında) doğru orantı olduğu görülmüştür. Vankomisin

adsorpsiyon kapasitesi 250 mg/L'ye kadar artmış fakat 250 mg/L üzerindeki derişimlerde kapasitenin azalmaya başladığı görölmüştür.

Yapılan karakterizasyon çalışmaları sonuçlarına göre moleküler baskılanmış ve moleküler baskılanmamış polimerler doğru bir şekilde sentezlenmiştir.



KAYNAKLAR

1. Saylan, Y., Yilmaz, F., Ozgur, E., Derazshamshir, A., Yavuz, H., Denizli, A. (2017). Molecular imprinting of macromolecules for sensor applications. **Sensors**, 17(4), 898.
2. Chen, L., Xu, S. and Li, J. (2011). Recent advances in molecular imprinting technology: current status, challenges and highlighted applications. **Chemical Society Reviews**, 40(5), 2922-2942.
3. Davies, J. and Davies, D. (2010). Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, 74(3), 417-433.
4. Kümmerer, K. (2009). Antibiotics in the aquatic environment—a review—part I. **Chemosphere**, 75(4), 417-434.
5. Manav, Ş.U. (2013). *Kıyasal Sular ve Midyelerden İzole Edilen Enterik Bakterilerin Antibiyotik Direncinin Moleküler Karakterizasyonu*. **Adli Tıp Enstitüsü**. Fen Bilimleri Ana Bilim Dalı: İstanbul Üniversitesi.
6. Memic, A., Rezaeeyazdi, M., Villard, P., Rogers, Z., Abudula, T., Colombani, T., Bencherif, S. (2020). Effect of polymer concentration on autoclaved cryogel properties. **Macromolecular Materials and Engineering**, 305(5), 1900824.
7. Marsot, A., Boulamery, A., Bruguerolle, B. and Simon, N. (2012). Vancomycin. **Clinical pharmacokinetics**, 51(1), 1-13.
8. Awais, M., Shah, A.A., Hameed, A. and Hasan, F. (2007). Isolation, identification and optimization of bacitracin produced by *Bacillus* sp. **Pakistan Journal of Botany**, 39(4), 1303.
9. Pawar, V., Ho, J., Yadav, G. and Yadav, V. (2017). The impending renaissance in discovery & development of natural products. **Current topics in medicinal chemistry**, 17(2), 251-267.
10. Kümmerer, K. (2001). Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources—a review. **Chemosphere**, 45(6-7), 957-969.
11. Hirsch, R., Ternes, T., Haberer, K. and Kratz, K.-L. (1999). Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. **Science of the Total environment**, 225(1-2), 109-118.
12. Porter, C. (1999). The past and future of the society for industrial microbiology,(Volume 1). **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, 22(4-5), 199-205.
13. Chopra, I. and Roberts, M. (2001). Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. **Microbiology and molecular biology reviews**, 65(2), 232-260.

14. Pickens, L.B. and Tang, Y. (2010). Oxytetracycline biosynthesis. *Journal of Biological Chemistry*, 285(36), 27509-27515.
15. Halling-Sørensen, B., Sengeløv, G. and Tjørnelund, J. (2002). Toxicity of tetracyclines and tetracycline degradation products to environmentally relevant bacteria, including selected tetracycline-resistant bacteria. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 42(3), 263-271.
16. Rabølle, M. and Spliid, N.H. (2000). Sorption and mobility of metronidazole, olaquinox, oxytetracycline and tylosin in soil. *Chemosphere*, 40(7), 715-722.
17. Fatta-Kassinos, D., Meric, S. and Nikolaou, A. (2011). Pharmaceutical residues in environmental waters and wastewater: current state of knowledge and future research. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 399(1), 251-275.
18. Djedouani, D., Chabani, M., Amrane, A. and Bensmaili, A. (2013). Adsorption kinetics of oxytetracycline onto activated carbon in a closed-loop fixed bed reactor. *International Journal of Chemical Reactor Engineering*, 11(1), 569-576.
19. Zhou, L., Yang, X., Ji, Y. and Wei, J. (2019). Sulfate radical-based oxidation of the antibiotics sulfamethoxazole, sulfisoxazole, sulfathiazole, and sulfamethizole: The role of five-membered heterocyclic rings. *Science of the Total Environment*, 692, 201-208.
20. Rodriguez, A.M., Ramos-Leyya, R. and Perez-Ocampo, R. (2016). Removal of ronidazole and sulfamethoxazole from water solutions by adsorption on granular activated carbon: equilibrium and intraparticle diffusion mechanisms. *Adsorption*, 22(1), 89-103.
21. Rostamian, R. and Behnejad, H. (2016). A comparative adsorption study of sulfamethoxazole onto graphene and graphene oxide nanosheets through equilibrium, kinetic and thermodynamic modeling. *Process Safety and Environmental Protection*, 102, 20-29.
22. Garoma, T., Umamaheshwar, S.K. and Mumper, A. (2010). Removal of sulfadiazine, sulfamethizole, sulfamethoxazole, and sulfathiazole from aqueous solution by ozonation. *Chemosphere*, 79(8), 814-820.
23. Martucci, A., Braschi, I., Marchese, L. and Quartieri, S. (2014). Recent advances in clean-up strategies of waters polluted with sulfonamide antibiotics: a review of sorbents and related properties. *Mineralogical Magazine*, 78(5), 1115-1140.
24. Wang, S. and Wang, H. (2015). Adsorption behavior of antibiotic in soil environment: a critical review. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 9(4), 565-574.
25. Çelebi, H. and Sponza, D. (2008). Antibiyotiklerin Anaerobik Ayrışabilirlikleri. *Research Journal of Biology Sciences*, 1(2), 01-08.

26. Bayhan, G.I., Tanir, G., Levent, B., Ozkan, S. and Gulesen, R. (2014). Salmonella Enfeksiyonlarının Serotip Dağılımı, Antibiyotik Direnci ve Klinik Özellikleri/Serotype Distribution, Antibiotic Resistance and Clinical Features of Salmonella Infections. *Türkiye Klinikleri. Tıp Bilimleri Dergisi*, 34(2), 137.
27. Ahmed, S., vd. (2015). Evaluation of acute toxicity and anti-inflammatory effects of *Baccharoides schimperi* (DC.) In Experimental Animals. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 12(1), 99-103.
28. Jones, O., Voulvoulis, N. and Lester, J. (2001). Human pharmaceuticals in the aquatic environment a review. *Environmental technology*, 22(12), 1383-1394.
29. Thomulka, K.W., McGee, D.J. and Lange, J.H. (1993). Detection of biohazardous materials in water by measuring bioluminescence reduction with the marine organism *Vibrio harveyi*. *Journal of Environmental Science & Health Part A*, 28(9), 2153-2166.
30. Macri, A., Stazi, A. and Di Delupis, G.D. (1988). Acute toxicity of furazolidone on *Artemia salina*, *Daphnia magna*, and *Culex pipiens molestus* larvae. *Ecotoxicology and environmental safety*, 16(2), 90-94.
31. Chambers, H.F. (2001). The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*? *Emerging infectious diseases*, 7(2), 178.
32. Levine, D.P. (2006). Vancomycin: a history. *Clinical infectious diseases*, (42), 5-12.
33. Baydemir, G., Bereli, N., Andaç, M. and Say, R. (2009). Bilirubin recognition via molecularly imprinted supermacroporous cryogels. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 68(1), 33-38.
34. Gun'ko, V.M., Savina, I.N. and Mikhalevsky, S.V. (2013). Cryogels: morphological, structural and adsorption characterisation. *Advances in colloid and interface science*, 187, 1-46.
35. Zheng, Y., vd. (2012). Composites with macroporous poly (vinyl alcohol) cryogels with attached activated carbon microparticles with controlled accessibility of a surface. *ACS applied materials & interfaces*, 4(11), 5936-5944.
36. Lozinsky, V.I. (2018). Cryostructuring of polymeric systems. 50.† cryogels and cryotropic gel-formation: Terms and definitions. *Gels*, 4(3), 77.
37. Seven, F. (2014). *Kriyojellerin sentezi, karakterizasyonu ve bazı uygulamaları*. Fen Bilimleri Enstitüsü. Çanakkale: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi.
38. Dąbrowski, A. (2001). Adsorption—from theory to practice. *Advances in colloid and interface science*, 93(1-3), 135-224.
39. Sawyer, C.N., McCarty, P.L. and Parkin, G.F., *Chemistry for environmental engineering and science*. Vol. 5. 2003: McGraw-Hill New York.

40. Ağca, G.H. (2020). *Doğal Polimerlerle Hazırlanan Adsorbanlarla Metal İyonlarının Adsorpsiyonu*. Fen Bilimleri Enstitüsü. Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı: Erciyes Üniversitesi.
41. Umpleby, R.J., Baxter, S.C., Chen, Y. and Shah, R.N. (2001). Characterization of molecularly imprinted polymers with the Langmuir–Freundlich isotherm. *Analytical chemistry*, 73(19), 4584-4591.
42. Temkin, M. and Pyzhev, V. (1940). Recent modifications to Langmuir isotherms. *Acta Physico-Chimica Sinica*, 12, 217-222.
43. Patil, S., Renukdas, S. and Patel, N. (2011). Removal of methylene blue, a basic dye from aqueous solutions by adsorption using teak tree (*Tectona grandis*) bark powder. *International Journal of Environmental Sciences*, 1(5), 711.
44. Rudzinski, W. and Plazinski, W. (2006). Kinetics of solute adsorption at solid/solution interfaces: a theoretical development of the empirical pseudo-first and pseudo-second order kinetic rate equations, based on applying the statistical rate theory of interfacial transport. *The Journal of Physical Chemistry B*, 110(33), 16514-16525.
45. Gabor, A.S. (2010), *Introduction to Surface Chemistry and Catalysis*, Wiley, (2), 800.
46. Pichon, V. and Chapuis-Hugon, F. (2008). Role of molecularly imprinted polymers for selective determination of environmental pollutants—a review. *Analytica Chimica Acta*, 622(1-2), 48-61.
47. Miyake, K., Yasuda, S., Harada, A., Sumaoka, J., Komiyama, M. and Shigekawa, H. (2003). Formation process of cyclodextrin necklace—analysis of hydrogen bonding on a molecular level. *Journal of the American Chemical Society*, 125(17), 5080-5085.
48. Wulff, G. (2013). Forty years of molecular imprinting in synthetic polymers: origin, features and perspectives. *Microchimica Acta*, 180(15-16), 1359-1370.
49. Zhang, H., Ye, L. and Mosbach, K. (2006). Non-covalent molecular imprinting with emphasis on its application in separation and drug development. *Journal of Molecular Recognition: An Interdisciplinary Journal*, 19(4), 248-259.
50. Xiong, H., Guo, L., Mao, X., Tan, T., Wan, H. and Wan, Y. (2020). A magnetic hydrophilic molecularly imprinted material with multiple stimuli-response properties for efficient recognition of bisphenol A in beverages. *Food Chemistry*, 331, 127311.
51. Cardoso, A.R., Frasco M., Serrano, V. and Fortunato, E. (2021). Molecular imprinting on nanozymes for sensing applications. *Biosensors*, 11(5), 152.
52. Asliyuce, S., Uzun, L., Rad, A.Y., Unal, S., Say, R. and Denizli, A. (2012). Molecular imprinting based composite cryogel membranes for purification of anti-hepatitis B surface antibody by fast protein liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, 889, 95-102.

53. Yeşilova, E., Osman, B., Kara, A. and Özer, E.T. (2018). Molecularly imprinted particle embedded composite cryogel for selective tetracycline adsorption. **Separation and Purification Technology**, 200, 155-163.
54. Armutcu, C., Tartan, C., Ozgur, E., Nemutlu, E. and Uzun, L. (2020). Phosphate Anion Imprinted Cryogel Cartridges for Selective Preconcentration of Phosphorylated Amino Acids from Protein Lysate: An Alternative Sorbent for Proteome Analyses. **ChemistrySelect**, 5(38), 11730-11736.
55. Derazshamsir, A., Baydemir, G., Andac, M., Say, R., Galaey, I. and Denizli, A. (2010). Molecularly imprinted PHEMA-based cryogel for depletion of hemoglobin from human blood. **Macromolecular Chemistry and Physics**, 211(6), 657-668.
56. Kartal, F. and Denizli, A. (2020). Molecularly imprinted cryogel beads for cholesterol removal from milk samples. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 190, 110860.
57. Rabieizadeh, M., Kashefimofrad, S.M. and Naeimpoor, F. (2014). Monolithic molecularly imprinted cryogel for lysozyme recognition. **Journal of separation science**, 37(20), 2983-2990.
58. Xu, L., Pan, J., Dai, J., Li, X., Hang, H., Cao, Z. and Yan, Y. (2012). Preparation of thermal-responsive magnetic molecularly imprinted polymers for selective removal of antibiotics from aqueous solution. **Journal of hazardous materials**, 233, 48-56.
59. Ghauch, A., Tuqan, A. and Abou Assi, H. (2009). Antibiotic removal from water: elimination of amoxicillin and ampicillin by microscale and nanoscale iron particles. **Environmental Pollution**, 157(5), 1626-1635.
60. Wu, J., Zhang, H., Oturan, N., Wang, Y., Chen, L. and Oturan, M. (2012). Application of response surface methodology to the removal of the antibiotic tetracycline by electrochemical process using carbon-felt cathode and DSA (Ti/RuO₂-IrO₂) anode. **Chemosphere**, 87(6), 614-620.
61. Dirany, A., Sirés, I., Oturan, N. and Oturan, M.A. (2010). Electrochemical abatement of the antibiotic sulfamethoxazole from water. **Chemosphere**, 81(5), 594-602.
62. Llorca, M., Rodriguez-Mozaz, S., Couillerot, O., Panigoni, K., Gunzburg, J., Bayer, S., Czaja, R. and Barcelo, D. (2015). Identification of new transformation products during enzymatic treatment of tetracycline and erythromycin antibiotics at laboratory scale by an on-line turbulent flow liquid-chromatography coupled to a high resolution mass spectrometer LTQ-Orbitrap. **Chemosphere**, 119, 90-98.
63. Hür, D. and Say, R. (2007). N-Acylbenzotriazole Mediated Synthesis of Some Methacrylamido Amino Acids. **Letters in Organic Chemistry**, 4, 585-587.
64. Armutcu, C., Bereli, N., Bayram, E., Uzun, L., Say, R. and Denizli, A. (2014). Aspartic acid incorporated monolithic columns for affinity glycoprotein purification. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 114, 67-74.

65. Corman, M.E., Armutcu, C., Uzun, L., Say, R. and Denizli, A. (2016). Reversible and easy post-crosslinking method for developing a surface ion-imprinted hypercrosslinked monolith for specific Cd (II) ion removal from aqueous solutions. ***RSC advances***, 6(91), 88777-88787.





GAZİ GELECEKTİR...