

CU(II) İYONLARININ GERÇEK ZAMANLI TAYİNİ İÇİN MIP TEMELLİ QCM SENSÖRÜN HAZIRLANMASI

MIP BASED QCM SENSOR FOR REAL TIME DETECTION OF CU(II) IONS

NIHAN AYDOĞAN

Doç. Dr. AYŞE MÜGE ANDAÇ ÖZDİL
Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı için Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak hazırlanmıştır.

2018

NİHAN AYDOĞAN'ın hazırladığı “**CU(II) İYONLARININ GERÇEK ZAMANLI TAYİNİ İÇİN MIP TEMELLİ QCM SENSÖRÜN HAZIRLANMASI**” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Fatma YILMAZ

Başkan



Doç. Dr. Ayşe Müge ANDAÇ ÖZDİL

Danışman



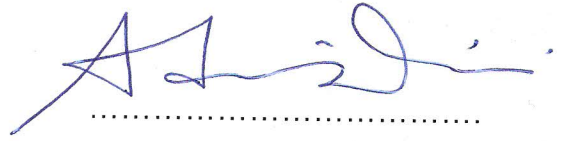
Prof. Dr. Ayşenur UĞURLU

Üye



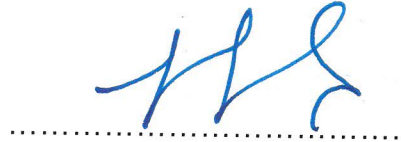
Prof. Dr. Adil DENİZLİ

Üye



Dr. Öğr. Üyesi Hatice ŞENGÜL

Üye



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

Prof. Dr. Menemşe GÜMÜŞDERELİOĞLU

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

YAYINLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

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

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

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

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

- ☒ **Tezimin/Raporumun 01/07/2019 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç Kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.**

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

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

- ☐ **Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi**

27 / 06 / 2018



Nihan AYDOĞAN

ETİK

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

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

beyan ederim.

12 / 06 / 2018



Nihan AYDOĞAN

ÖZET

Cu(II) İYONLARININ GERÇEK ZAMANLI TAYİNİ İÇİN MIP TEMELLİ QCM SENSÖRÜN HAZIRLANMASI

NIHAN AYDOĞAN

Yüksek Lisans, Çevre Mühendisliği Bölümü

Tez Danışmanı: Doç. Dr. AYŞE MÜGE ANDAÇ ÖZDİL

Haziran 2018, 65 sayfa

Sunulan tez kapsamında, ilk kez Cu(II) iyonları laboratuvar koşullarına gerek kalmadan pahalı cihazlar olmadan moleküler baskılama yöntemi ile nanoteknolojinin yüksek duyarlılık ve seçicilik özellikleri birleştirilerek, gerçek zamanlı Cu(II) iyonları tayini için gravimetrik bir nanosensör hazırlanmıştır. Böylece, 100 nm boyut aralığında, poli (Hidroksietil-Metakrilat) (pHEMA) temelli Cu(II) iyonu baskılanmış [Cu(II)-MIP] nanopartiküller sentezlenmiştir. Sentezlenen Cu(II)-MIP nanopartiküllerin yapısal karakterizasyonu taramalı elektron mikroskobu (SEM), zeta boyut dağılımı analizi ve FTIR spektroskopisi gibi çeşitli yöntemlerle yapılmıştır. Cu(II)-MIP nanopartiküller sulu çözeltilerde Cu(II) iyonlarının gerçek zamanlı tespiti için QCM nanosensörüne adapte edilmiştir. QCM nanosensör etkinliğini, başlangıç iyon derişimi ve seçicilik gibi parametreler ile araştırılmıştır. Sonuçlar, QCM nanosensörünün 0,15 μ M- 1,57 μ M'lik geniş bir aralıkta bile Cu(II) iyonları için yüksek seçicilik ve duyarlılığa sahip olduğunu göstermiştir. QCM nanosensörünün seçiciliği Co (II), Ni (II), Zn (II) ve Fe (II) iyonlarının yarışmalı adsorpsiyonu ile belirlenmiştir. Bu tez çalışmasında, Cu(II)-MIP nanopartiküllerin QCM nanosensöre uyarlanmasıyla çevresel kirleticilerin gerçek zamanlı tespitinde ucuz ve kolay uygulanabilir yeni bir strateji geliştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Moleküler Baskılama, Kuvars kristal mikroterazi, Nanosensör, İyon baskılanmış polimer,

ABSTRACT

MIP – BASED QCM SENSOR FOR REAL TIME DETECTION OF CU(II) IONS

NIHAN AYDOĞAN

Master of Science, Environmental Engineering Department

Supervisor: Assoc. Prof. AYŞE MÜGE ANDAÇ ÖZDİL

June 2018, 65 pages

Within the scope of the presented thesis, it was aimed to prepare gravimetric nanosensors for the determination of Cu(II) ions in real time by combining the high sensitivity and selectivity properties of nanotechnology with the molecular printing method without expensive devices and the necessity of laboratory conditions. Thus, poly(hydroxyethyl-methacrylate) (pHEMA) based Cu(II) ion imprinted [Cu(II)-MIP] nanoparticles were prepared in the size range of 100 nm. These Cu(II)-MIP nanoparticles were characterized in structure by the methods, such as scanning electron microscopy (SEM), zeta size distribution analysis and FTIR spectroscopy. Cu(II)-MIP nanoparticles were then adapted to QCM nanosensor for the real time detection of Cu(II) ions in aqueous solutions. The parameters of initial ion concentration and selectivity were investigated to obtain the optimum conditions of QCM nanosensor efficiency. The results showed that QCM nanosensor has high selectivity and sensitivity for Cu(II) ions even in a wide range of 0,15 μ M- 1,57 μ M. The selectivity of the QCM nanosensor was shown by competitive adsorption of Co(II), Ni(II), Zn(II) and Fe(II) ions. The results are promising for developing a new strategy in the detection of environmental contaminants by combining ion imprinted polymers (IIPs) and nanosensors.

Key Words: Molecular imprinting, quartz crystal microbalance, nanosensor, ion imprinted polymers.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmama başlamadan önce ve başladıktan sonra her zaman desteğini yanımda hissettiğim ve her zaman yanımda hissedeceğime emin olduğum çok değerli Danışmanım Doç. Dr. Ayşe Müge ANDAÇ ÖZDİL'e

Bu çalışmanın bir bölümünü, 116Z840 numaralı araştırma projesi olarak destekleyen TÜBİTAK'a,

Tez çalışmamın bir bölümünü sunduğum ICNEI 2017 (Uluslararası Çevre ve Nanoteknoloji Kongresi) kongresinde en iyi çalışma ödülüne layık gördükleri için ICNEI düzenleme kuruluna,

Hacettepe Üniversitesi Kimya Bölümü Biyokimya laboratuvarının bir parçası olmama müsaade ederek, tez çalışmamın gerçekleşmesine imkân veren Sayın Prof. Dr. Adil Denizli'ye

Tez çalışmam boyunca her zaman yanımda olan teorik ve pratik bilgilerini benimle paylaşarak tezimi tamamlamamda büyük emeği olan iyi ki tanıdığım diyeceğim Monireh Bakhshpour'a

Bu süreçte desteklerini esirgemeyen canım annem Sakine Artık'a, birtanecik kardeşim Dilan Aydoğan'a, canım babam Ali Aydoğan'a ve hep düştüğümü sandığımda elimi tutan Doğukan Yıldırım'a

Sonsuz teşekkürler...

Nihan Aydoğan

Haziran,2018

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER VE KISATMALAR.....	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Bakır.....	3
2.2 Bakırın Toksisitesi	5
2.3 Moleküler Baskılama Teknolojisi.....	6
2.4 Moleküler Baskılama Tekniği	7
2.4.1 Kalıp (Hedef) Molekül	9
2.4.2 Fonksiyonel Monomer.....	10
2.4.3 Çapraz Bağlayıcılar.....	11
2.4.4 Çözücü.....	12
2.4.5 Başlatıcılar	12
2.5 Moleküler Baskılama Yöntemleri.....	13
2.5.1 Kovalent Baskılama	13
2.5.2 Kovalent Olmayan Baskılama	14
2.6 Moleküler Baskılanmış Polimerlerin Uygulama Alanları	15
2.7 Biyosensörler	15
2.7.1 Biyosensörlerin Kısa Tarihçesi.....	16
2.8 Piezoelektrik Kristalli Biyosensörler (Kütle Duyarlı Biyosensörler)	17
2.9 Kuvars Kristal Mikroterazi (QCM).....	18
3. DENEYSEL YÖNTEMLER.....	22
3.1 Kimyasal Maddeler	22
3.2 Sentez Çalışmaları.....	22
3.2.1 MAH Monomeri.....	22
3.2.2 MAH-Cu(II) Monomer Kompleksi	22
3.2.3 Cu(II)-MIP ve NIP Nanopartiküller	23
3.2.4 Cu(II)-MIP Nanopartiküllerin QCM Çip Yüzeyine Uygulanması	24

3.3	Karakterizasyon Çalışmaları	24
3.3.1	FTIR Analizi	24
3.3.2	Boyut Analizi	24
3.3.3	Yüzey Yapısı	24
3.3.3.1	Elipsometre ile Analiz	24
3.3.3.2	Temas Açısı Ölçümü	24
3.3.3.3	Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) ile Görüntüleme	25
3.3.3.4	Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Görüntüleme	25
3.4	Cu(II) MIP Nanopartiküller ve QCM Sensör ile Etkinlik Çalışmaları	25
3.4.1	Denge İzoterm Modelleri	27
3.5	Cu(II) MIP QCM Sensörün Tespit Limiti (LOD) ve Tayin Limiti (LOQ)	27
3.6	Cu(II) MIP Nanopartiküller ve QCM Sensör İle Seçicilik Çalışmaları	28
3.7	Cu(II) MIP QCM Sensörün Tekrar Kullanılabilirliği	28
4.	BULGULAR VE TARTIŞMA	29
4.1	Sentez ve Karakterizasyon Çalışmaları	29
4.1.1	MAH Monomeri ve MAH-Cu Monomer Kompleksi	29
4.1.2	Cu(II)-MIP ve NIP Nanopartiküller	31
4.1.2.1	FTIR Analizi	32
4.1.2.2	Boyut Analizi	33
4.1.2.3	Elipsometre ile Analiz	34
4.1.2.4	Temas Açısı Ölçümü	36
4.1.2.5	Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) ile Görüntüleme	37
4.1.2.6	Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Görüntüleme	38
4.2	Cu(II)-MIP Nanopartiküller ve QCM Sensör ile Etkinlik Çalışmaları	40
4.2.1	Denge İzoterm Modelleri	45
4.3	Cu(II)-MIP QCM Sensörün Tespit Limiti (LOD) ve Tayin Limiti (LOQ)	49
4.4	Cu(II)-MIP Nanopartiküller ve QCM Sensör ile Seçicilik Çalışmaları	52
4.5	Cu(II)-MIP QCM Sensörün Tekrar Kullanılabilirliği	54
5.	YORUM	56
	KAYNAKLAR	60
	ÖZGEÇMİŞ	65

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

Å	Angstrom
°C	Santigrad Derece
θ°	Temas açısı
mS	Milisiemens
%	Yüzde
Δm	Kütle değişimi
Δm _{maks}	Maksimum kütle değişimi
Δf	Rezonans frekansındaki kayma
K _A	Bağlanma Denge Sabiti
K _D	Ayrılma Denge Sabiti
K _s	Seçicilik Katsayısı
K _'	Bağıl Seçicilik Katsayısı
R ²	Korelasyon katsayısı
N	Nitrojen
S	Kükürt
O	Oksijen
Cu(II)	Bakır
Co(II)	Kobalt
Fe(II)	Demir
Zn(II)	Çinko
Ni(II)	Nikel
H ₂ SO ₄	Sülfürik Asit
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
NaOH	Sodyum Hidroksit
NaHSO ₃	Sodyum Bisülfid
CH ₂ Cl ₂	Diklorometan

Kısaltmalar

AT	Kesme modu
AFM	Atomik Kuvvet Mikroskobu
QCM	Kuvars Kristal Mikroterazi
MIP	Moleküler Baskılanmış Polimer
NIP	Baskılanmamış Polimer
IIP	İyon Baskılanmış Polimer
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
pHEMA	Poli (Hidroksietil-Metakrilat)
MAH	N-Metakroil-L-histidin metil ester
EGDMA	Etilen glikol dimetakrilat
USEPA	Birleşik Devletler Çevre Koruma Ajansı
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
TSE	Türk Standartları Enstitüsü
EC	Avrupa Komisyonu
MCL	Maksimum Kirletici Seviyesi
AAS	Atomik Absorpsiyon Spektrometresi
UV	Ultraviyole

FTIR-ATR	Fourier Transform Kızılötesi- Azaltılmış Toplam Yansıma
FAAS	Alev Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi
GFAAS	Grafit Fırın Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi
ICP-MS	İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi
ICP-AES	İndüktif Eşleşmiş Plazma Atomik Emisyon Spektroskopisi
ICP-OES	İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi
XRF	X Işını Floresansı
EDTA	Etilendiamintetraasetik Asit
PVA	Polivinil Alkol
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
APS	Amonyum Persülfat
TUBİTAK	Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu
mL	Millilitre
g	Gram
mg	Miligram
M	Molar
µM	MikroMolar
ppm	Milyonda Bir (Parts per million)
rpm	Dakikadaki Hız
dk	Dakika
nm	Nanometre
LOD	Tespit Limiti
LOQ	Tayin Limiti

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 İşlenmemiş Bakır	3
Şekil 2.2 Moleküler Baskılama Yöntemi	8
Şekil 2.3 Moleküler Baskılama Yöntemi	9
Şekil 2.4 MIP sentezlerinde kullanılan bazı fonksiyonel monomerler	10
Şekil 2.5 MIP sentezinde kullanılan bazı çapraz bağlayıcılar	12
Şekil 2.6 İlk ve en çok kullanılan ticari biyosensör; Leland C. Clark tarafından 1962'de geliştirilen kan şekeri biyosensörü	17
Şekil 2.7 Kuvars kristal rezonans algılamasının şematik gösterimi [54]	18
Şekil 2.8 Kuvars kristalinin eksen üzerinde gösterilmesi [55]	19
Şekil 2.9 AT kesim ve TSM [51]	19
Şekil 2.10 Kuvars Kristal Mikroterazi Çipi	20
Şekil 2.11 Kuvars Kristal Mikroterazi Sensogramı	20
Şekil 3.1 Polimerizasyon Reaktörü	23
Şekil 3.2 RQCM (Maxtek)	26
Şekil 4.1 MAH monomeri Sentezi	29
Şekil 4.2 MAH-Cu(II) monomer kompleksi (1:1 mol oranı). Moleküler yapı Avogadro programı ile optimize edilmiştir.	30
Şekil 4.3 MAH-Cu(II) monomer kompleksi (2:1 mol oranı). Moleküler yapı Avogadro programı ile optimize edilmiştir.	30
Şekil 4.4 MAH monomeri, MAH-Cu(II) kompleks monomerlerinin FTIR spektrumu	31
Şekil 4.5 MAH monomeri içeren PHEMA polimeri	32
Şekil 4.6 Cu(II)-MIP Nanopartiküllerin sentez şeması	32
Şekil 4.7 Cu(II)-MIP1 ve MIP2 nanopartiküllerin FTIR spektrumu.	33
Şekil 4.8 Cu(II)-MIP1 (A) ve MIP2 (B) nanopartiküllerin Zeta Boyut Analizi	34
Şekil 4.9 Cu(II)-MIP1 (A) ve MIP2 (B) nanopartiküllerin Elipsometre ile Analizi. ...	35
Şekil 4.10 Cu(II)-MIP1 (A) ve MIP2 (B) nanopartiküllerin temas açısı ölçümü.....	36
Şekil 4.11 Cu(II)- MIP2 nanopartiküllerin 3-boyutlu AFM görüntüsü.....	38
Şekil 4.12 Cu(II)-MIP1 nanopartiküllerin SEM görüntüsü	39
Şekil 4.13 Cu(II)- MIP2 nanopartiküllerin SEM görüntüsü.	40
Şekil 4.14 Cu(II)-MIP1 QCM sensörün salınım frekansı değişiminde (A) ve kütle farkına (B) karşı zaman grafiği	42

Şekil 4.15 Cu(II)-MIP2 QCM sensörün salınım frekansı değişimine (A) ve kütle farkına (B) karşı zaman grafiği.	43
Şekil 4.16 Cu(II) derişiminin etkisi. (A) Cu(II)-MIP1 (B) Cu(II)-MIP2 QCM nanosensör.....	44
Şekil 4.17 QCM nanosensör adsorpsiyon modelleri. (a) Langmuir; (b) Freundlich; (c) Langmuir-Freundlich.	46
Şekil 4.18 Cu(II)-MIP2 QCM nanosensör adsorpsiyon modelleri (a) Langmuir; (b) Freundlich; (c) Langmuir-Freundlich.....	48
Şekil 4.19 Cu(II)-MIP1 (A) ve MIP2 (B) QCM nanosensöre ait doğrusal kalibrasyon fonksiyonu.	50
Şekil 4.20 Cu(II)-MIP1 QCM sensörün yarışmalı iyonlar ile salınım frekansı değişimine (A) ve kütle farkına (B) karşı zaman grafiği.	52
Şekil 4.21 Cu(II)-MIP2 QCM sensörün yarışmalı iyonlar ile salınım frekansı değişimine (A) ve kütle farkına (B) karşı zaman grafiği.	53
Şekil 4.22 Cu(II)-MIP1 (A) ve MIP2 (B) QCM sensörün tekrar kullanılabilirliği.	55

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.2 Cu(II) iyonların tespiti için farklı yöntemlerin karşılaştırılması	4
Çizelge 3.1 Langmuir ve Freundlich ve Langmuir-Freundlich İzoterm Denklemleri	27
Çizelge 4.1 QCM sensör çip yüzeyi temas açıları	37
Çizelge 4.2 Cu(II)-MIP1 QCM nanosensör Langmuir, Freundlich ve Langmuir-Freundlich değerleri.....	47
Çizelge 4.3 Cu(II)-MIP2 QCM nanosensör Langmuir, Freundlich ve Langmuir-Freundlich değerleri.....	49
Çizelge 4.4 Cu(II)-MIP1 QCM nanosensör analizine ait kalibrasyon fonksiyonu özellikleri.....	51
Çizelge 4.5 Cu(II)-MIP2 QCM nanosensör analizine ait kalibrasyon fonksiyonu özellikleri.....	51
Çizelge 4.6 Cu(II) iyonlarının yarışmacı iyonlara göre seçicilik ve bağıl seçicilik katsayıları.	54

1. GİRİŞ

Teknoloji ve sanayinin gelişimiyle doğru orantılı olarak hava, su, toprak kirlilikleri de artmaktadır. Bunlarla beraber canlıların bu duruma adaptasyonu aynı hızda gerçekleşmemektedir. Toksik seviyelere maruziyet sebebiyle birçok canlı hayatını kaybetmekte ve yok olmaktadır. Endüstrinin sebep olduğu toksik kirleticilerin canlılar üzerindeki etkisini azaltmak amacıyla yeni, güvenilir, tekrarlanabilir, laboratuvar koşullarına ihtiyaç duymadan analiz yapılabilecek yeni sistem arayışları sürmektedir.

İnsan için önemli bir mikro besleyici olmasına rağmen, Cu yüksek düzeyde toksiktir. Bu metalin aşırı yüklenmesi fenton tipi redoks reaksiyonlarına yol açarak oksidatif hücre hasarına ve hücre ölümüne neden olur. Bununla birlikte, beslenme aşırılığının bir sonucu olarak Cu toksisitesi, genel olarak, Cu emilimini ve boşaltımını kontrol eden homeostatik mekanizmaların bir sonucu olarak, yaygın bir sağlık endişesi olarak düşünülmemiştir [1]. Cu(II) reaktif oksijen türleri (ROS) üretmek için moleküler oksijen ile reaksiyona girebilir ve yüksek derişimlerde biyomoleküle zarar verebilir. Bu kapsamda, içme suyundaki Cu(II) kalıntı seviyesi sınırlandırılmıştır. Birleşik Devletler Çevre Koruma Ajansı (USEPA) içme sularında 1300µg/L Cu(II), Avrupa Komisyonu (EC) 2000 µg/L, Türk Standartları Enstitüsü (TSE) 2000 µg/L, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ise 2000µg/L düzeyinde maksimum kirletici seviyesini (MCL) belirlemektedir. Bu nedenle, Cu(II) iyonlarının saptanması için hassas ve seçici analitik yöntemlerin geliştirilmesi önemlidir [2] [3] [4] [5].

Moleküler baskılama teknolojisi, yüksek seçicilik, iyi kararlılık, basitlik ve düşük maliyet nedeniyle ayırma ve arıtma sistemlerinde en umut verici araçlardan biridir. Bunlar ağırlıklı olarak seçici uzaklaştırma ve ön derişim ve algılama alanları için kullanılmıştır [6] [7] [8]. İyon algılamada, toksik metal iyonlarının saptanması için çeşitli iyon baskılanmış polimer (IIP) tabanlı sensörler geliştirilmiştir. Bunların arasında kuvars kristal mikroterazi (QCM), yüksek çözünürlüklü kütle algılama tekniği, titreşen kuvars kristali yüzeyindeki kütle değişikliklerini gerçek zamanlı olarak ölçer. Kütle algılama tekniği etiketsiz, seçici, basit ve kararlı algılama elde etmek açısından avantajlıdır. QCM tekniği, çevresel kirleticilerin tespitinde sıklıkla kullanılan yöntemlerden biri olmuştur [9].

Bu çalışmada moleküler baskılama yöntemi kullanılarak, Cu(II) iyonunun tayini için kuvars kristal mikroterazi (QCM) sensör etkinliği araştırılmıştır.

Bu kapsamda bu çalışmada Cu iyonlarının eş zamanlı tayini hedeflenmiştir. Cu(II) [Cu(II)-MIP] ve baskılanmamış (NIP) nanopartiküller hazırlanmıştır. Sentezlenen Cu(II)-MIP nanopartiküller çeşitli yöntemlerle yapısal ve yüzeysel olarak karakterize edildikten sonra sulu zeltelerde Cu(II) iyonlarının gerçek zamanlı tespiti için QCM nanosensrne uygulanmıştır. QCM nanosensör etkinliğini, başlangıç iyon derişimi ve seçicilik gibi parametreler ile araştırılmıştır. Son olarak yöntemin validasyonu ve tekrar kullanılabilirliği incelenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Bakır

Bakır, birçok enzimin vazgeçilmez parçası olan temel bir besleyici iz elementtir. Çözünmüş bakır bazen açık mavi veya mavi-yeşil renktedir. İçme suyunda hoş olmayan metalik, acı bir tat yaratabilir. Porselen lavaboların ve mazgalların, demirden mavi ile yeşil arasında boyanması, musluk suyunda çözünen bakırdan kaynaklanır. [10].

Bakır, canlı organizmanın işleyişi için vazgeçilmez bir unsurdur. [11] Özellikle redoks reaksiyonlarına katılan metal-koenzimlerin önemli bir bileşenini oluşturabilir. Birçok enzim için bakırın kofaktör rolü iyi kurulmuştur [12]. Bakır bileşikleri bitki ve hayvan büyümesini destekleyen besin maddesi olarak gübrelere ve hayvan yemlerine eklenebilir. Bakır bileşikleri aynı zamanda gıda katkı maddeleri (örneğin, besleyici madde ve / veya renklendirici madde) olarak da kullanılır. Bakır sülfat pentahidrat, bazen alglerin kontrolü için yüzey sularına katılır [13].

Metalik bakır dövülebilir, biçimlendirilebilir ve iyi bir termal ve elektrik iletkenidir. Çok yönlülüğü nedeniyle birçok ticari kullanıma sahiptir. Bakır, elektrik tesisatı, boru, vana, armatür, madeni paralar, mutfak aletleri ve yapı malzemeleri yapmak için kullanılır. Mühimmat, alaşımlar (pirinç, bronz) ve kaplamalarda bulunur. Bakır bileşikleri fungusitler, yosun öldürücü ilaçlar, böcek öldürücüleri ve odun koruyucuları olarak veya elektrokaplama, azo boya üretimi, gravürleme, litografi, petrol arıtımı ve piroteknikte kullanılır [13].



Şekil 2.1 İşlenmemiş Bakır

Suda bakır tespitinde kullanılan en önemli analitik yöntemler arasında, alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresi (FAAS), grafit fırın atomik absorpsiyon

spektroskopisi (GFAAS), indüktif eşleşmiş plazma atomik emisyon spektroskopisi (ICP-AES), indüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi (ICP-MS), indüktif eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometresi (ICP-OES), X ışını floresansı (XRF) gibi yöntemlerdir vardır [14] ICP-MS tekniği en düşük (0.02 µg/L) ve AAS tekniği en yüksek (20 µg/L) tespit sınırına sahiptir. Diğer üç teknik için tespit limitleri 0.7-3 µg/L arasında değişmektedir. Çözünmüş bakırın ölçümü örnek filtrelemeyi gerektirir. Filtrelenmemiş numunelerden elde edilen sonuçlar arasında çözünmüş ve parçacıklı bakır bulunur. Bakır ölçümü için basit kolorimetrik yöntemler de mevcuttur, ancak yöntem duyarlılığı yüksek olması gerekiyorsa kullanılmamalıdır. Bu yöntem ile bakır için pratik tespit sınırı 50 µg/L olarak belirlenmiştir [13].

Çizelge 2.1 Cu(II) iyonların tespiti için farklı yöntemlerin karşılaştırılması

Analiz Yöntemi	Tespit Sınırı (LOD)	Kaynak
FAAS	19,3µg/g	[15]
FI-FAAS	3,7 µg/L	[16]
ICP-MS	3,9 µg/L	[16]
Floresan	0,11-0,14µM	[17]
Karbon Nokta Sensörü	100nM	[17]
Yüzey Güçlendirilmiş Raman Saçılımı	10µM	[17]
Volumetrik Hidrojel Sensörü	0,8µM	[17]
Floresan Altın Nanokümler	80nM	[17]
Florasans Sensörü	65nM	[17]
Florasans Algılama	290nM	[17]
Kolorimetrik Analiz	2,23 µM	[17]
MIP-QCM	40,7 nM	Bu çalışma

2.2 Bakırın Toksisitesi

Bakır (Cu) insan vücudu için ne kadar önemli bir element olsa dahi, bakırın dengesi, düzenli hücre işlevini sürdürmek için önemlidir. Cu eksikliği ölümcül gelişimsel bir hastalık olan miyelom nöropatiye neden olabilir. Aksine, kanser hastalarında gözlemlenen bakırın serum seviyesinin yükselmesi, oksidatif strese neden olan ve genetik istikrarsızlığa yol açan aşırı miktarda serbest Cu^{2+} radikalleri nedeniyle oluşur [18]. Bakır, sulu solüsyondaki redoks aktif bir metaldir. Cu(II)/Cu(I) çiftinin indirgeme potansiyeli 153 mV'dir, ancak, kompleks ligandlarına ve kompleksin geometrisine çok duyarlıdır ve bu da bakırı çeşitli elektron transfer reaksiyonları için mükemmel bir katalizör yapar. Bununla birlikte, bakır iyonları oksijen türevleri ile istenmeyen redoks reaksiyonları başlatabilir. Demir gibi bakır ve diğer redoks-aktif metal iyonları ile etkileşime giren en önemli oksijen türevleri hidrojen peroksit ve süperoksit radikalidir. Hidrojen peroksit ve süperoksitin redoks-aktif metaller tepkime sonucunda oldukça reaktif hidroksil radikallerinin $\text{HO}\cdot$ üretildiği Harber ve Weiss [19] tarafından 1934'de öne sürüldü. [20].

Normal koşullar altında, kandaki bakır sıklıkla serüloplazmin (%85-95) ile sıkı sıkıya bağlıdır. Sadece az miktarda bakır (%5-30) gevşek şekilde bağlanır ve albümin, küçük peptidler ve aminoasitler arasında değiştirilir. Bu bakır fraksiyonuna, seruloplazmin bağlı bakır (nCu-Cu veya 'serbest' bakır olarak adlandırılır) adı verilir [21]. Bakır Sistein tiol grubuna bağlanarak veya fenton tipi reaksiyonu katalize ederek, reaktif hidroksil radikal üretir [12]. Metal iyonları, bazen biyolojik bir sistemde 'serbest' olarak adlandırılan mono- ve/veya iki dişli ligandlardan oluşan nispeten yapılandırılmamış şelatlar var olmalarına izin verilirse, bu tür şelatlar, elektronların, lipidler proteinler ve DNA gibi makro moleküllere nispeten düzensiz olmayan transferini kolaylaştırabilirler [22]. Hücreler, geçiş metali iyonlarının trafiğini düzenler ve toksik olan aşırı seviyelerden kaçınarak biyolojik fonksiyon için gerekli miktarı korurlar. Bakırın taşınımı doğrudan proteinden proteine kadar gerçekleşir, böylece radikal üretimi ve metaleksizi önler [12].

Hücre içi ve dışı arasındaki denge hücresel ulaşım sistemleri tarafından yönlendirilir, bu hücre içi ve dışı alım hücre içi bölümlendirmeyi düzenler. Gereklik ve toksisite arasındaki dengenin hem hücresel düzeyde hem de doku ve organ seviyelerinde olması sağlanır. Bu denge, insanlık dışı hastalıklarda belirgindir. Hint çocukluk çağı sirozu ve endemik Tirolinfantil, yüksek diyet düzeyindeki bakırdan kaynaklanırken,

Menkes ve Wilson hastalığı genetik metabolik bozukluklardan kaynaklanmaktadır. Bakırın durumu sığır spongiform ensefalopati (BSE) da dahil olmak üzere Alzheimer ve prion hastalıkları dahil birçok nörolojik bozukluk ile dolaylı olarak ilişkilendirilmiştir. Cu(II) DNA bazlarına verimli bir şekilde bağlanabilir ve yüksek konsantrasyonda Cu(II) Oksidatif stresle doğrudan bağlantılı apoptozise neden olur [12] [20].

Bakır bitki gelişimi ve üretimi için önemli bir mikro besin maddesi olarak düşünülür. Yoğun konsantrasyonda Cu, bitki fizyolojisinde toksisiteye neden olmakla birlikte sonuçta bitki verimliliğini ve verimi düşürür [23].

2.3 Moleküler Baskılama Teknolojisi

Moleküler baskı, bir şablon molekülünün çevresine bir polimer ağının oluşturulmasıyla yapay reseptörler oluşturmak için kullanılan bir tekniktir [24]. Evrendeki "anahtar" ve "kilit" ilkesini taklit ederek hedef molekül veya iyonla yönelik boşluk tanıma yeteneğine sahip malzemeleri hazırlamak için bir teknik olarak önemli bir yere sahiptir [25] [26].

Baskı oluşumunu tanımlayan ilk makale 1931'de yayınlanmasına rağmen, moleküler baskının araştırılması 1980'lere kadar azdı. Son 20 yılda yayınlarda hızla bir artış görüldü. Yıllar boyunca kaydedilen birçok incelemeden, moleküler baskının analitik ayrımlar, enzim benzeri kataliz, kimyasal sensörler ve ilaç dağıtım gibi birçok uygulama ile çok umut verici ve hızla gelişen bir teknoloji olduğu açıkça görülmektedir [24].

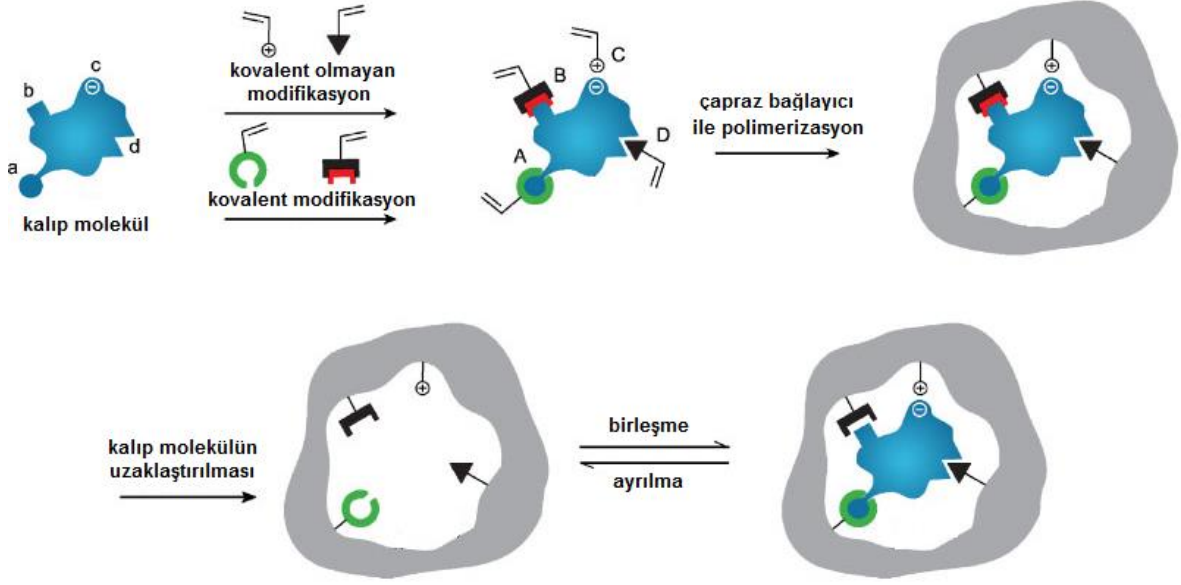
Doğal tanıma elementleri ve enzim büyötmeye dayanan sistemlerin başarılarına rağmen, kötü kimyasal, fiziksel, uzun süreli istikrarı, partiden partiye tutarsızlık, yoğun nitelikli emek, nispeten yüksek maliyet gibi dezavantajları olduğundan, araştırmacıları bu zayıflıkların üstesinden gelebilecek alternatif sentetik reseptör sistemlerini araştırmaya yöneltmiştir. Önemli bir ilgi gören bu tekniklerden biri moleküler baskılanmış polimerlerdir (MIP). Moleküler olarak baskılanmış materyallere "antikor taklidi" adı verildi, çünkü bu sistemler doğal karşıtlarının etkileşimlerini taklit etmeye çalışır [27].

MIP'ler, raf ömrü, stabilite, dayanıklılık, maliyet ve hazırlanma kolaylığı gibi birçok avantajlar sunmaktadır [28]. Moleküler baskılı malzemelerin fiziksel ve kimyasal özellikleri son derece cazip olmuştur. Bu malzemeler dışardan bozucu etkilere karşı

yüksek fiziksel ve kimyasal dayanıklılık ve direnç gösterir. Dolayısıyla, MIP'ler, asit, baz veya metal iyonlarıyla muamele edilmesine karşı dirençli ve geniş bir solvent yelpazesinde stabil olan mekanik strese ve yüksek sıcaklığa ve basınçlara karşı olağanüstü karardır. Bununla birlikte, MIP'lerin genel olarak organik çözücülerle hazırlanmaları nedeniyle, en uygun bağlanma koşulları genellikle organik bazlı bir ortam gerektirir. Polimerlerin depolama dayanımı da çok yüksektir: Ortam sıcaklığında birkaç yıl saklamak performansını belirgin düzeyde etkilemez. Ayrıca, polimer "bellek etkisi" kayıpsız yıllık dönemlerde de 100 kat veya daha fazla, sürekli olarak kullanılır. Genellikle protein olan doğal, biyolojik tanıma bölgeleri ile karşılaştırıldığında, bu özellikler birçok durumda kesinlikle avantajlı olacaktır [29].

2.4 Moleküler Baskılama Tekniğı

Moleküler baskılama tekniğı, seçici moleküler tanıma davranışını gösteren makromoleküler matrislerin oluşturulmasında çok yönlü bir yöntemdir. Moleküler baskılanmış polimer malzemeleri, moleküler şablon olarak işlev gören hedef analitin (baskılanmış molekülü) varlığında fonksiyonel ve çapraz bağlayıcı monomerlerin kopolimerleştirilmesi ile hazırlanır. Fonksiyonel monomerler başlangıçta baskı molekülü ile bir kompleks oluşturur ve polimerizasyonu takiben işlevsel gruplar çapraz bağlanmış polimerik yapı ile tutulur. Baskı molekülünün daha sonra çıkarılması, analit ile boyut ve şekil bakımından birbirine uyumlu bağlanma yerleri ortaya çıkarmaktadır. Dolayısıyla, moleküler bellek, analiti yüksek özgünlükle bağlayabilen polimer içine eklenmiştir. Bu çarpıcı hafıza etkisi, üretim sırasında polimerin alt tabaka ve fonksiyonel grupları arasındaki etkileşime sebep olur. Ayrıca, eşsiz seçicilikleri üretim prosedüründen kaynaklanmaktadır. Böylece tanıma bölgeleri, şablon etrafında fonksiyonel monomerler ve çapraz bağlayıcıların kopolimerleştirilmesi ile yerinde özel olarak hazırlanır. MIP'lerin kendine özgü moleküler tanıma özellikleri, polimerizasyon sırasında oluşan nano-boşlukların varlığına bağlıdır ve anahtar kilidi prensibine göre nano-boşlukların şekli şablonunkinin biçimine tamamlayıcıdır [30] [25].



Şekil 2.2 Moleküler Baskılama Yöntemi

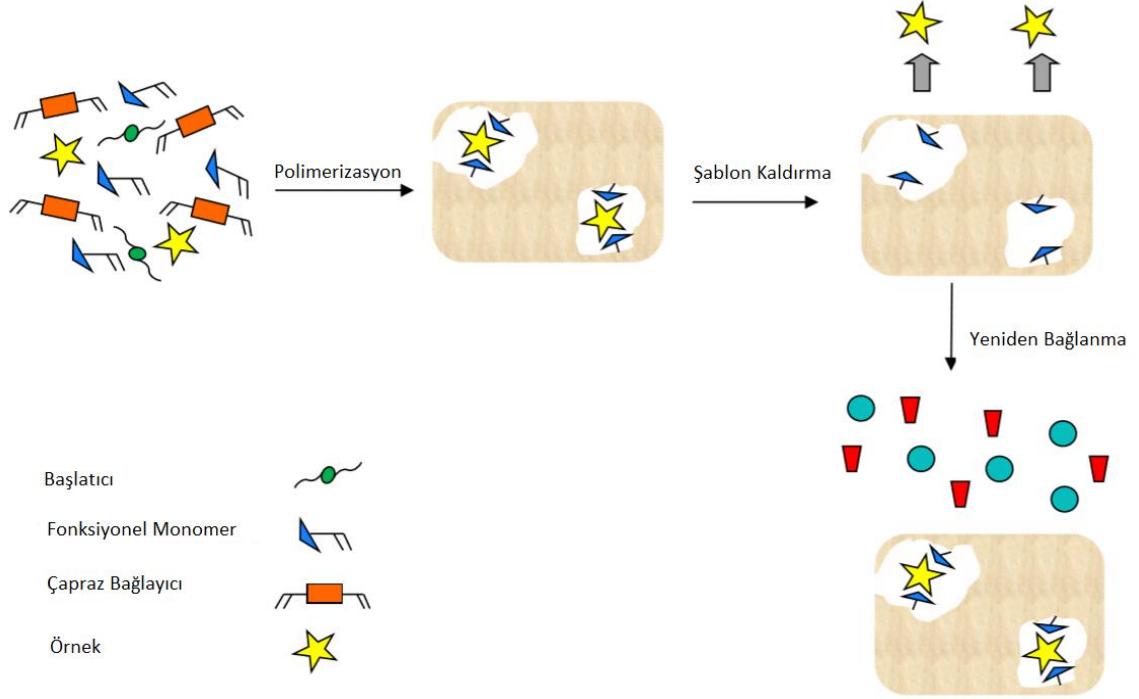
Moleküler baskılı polimerler (MIP'ler)için 3 basamak gereklidir:

- (1) polimere basılacak olan madde olan hedef molekül (veya şablon);
- (2) şablona kimyasal ve şekil tamamlayıcı özelliklere sahip olan ve polimer matrisi oluşturmak için polimerize olacak bir bileşik olan işlevsel monomer;
- (3) diğer kimyasal maddeler üzerinde bulunan spesifik fonksiyonel gruplarla (örn., Doğrusal polimer zincirleri) kimyasal olarak bağlanabilen iki veya daha fazla reaktif bölünmüş uç içeren çok işlevli bir molekül olan çapraz bağlayıcı madde (veya çapraz bağlayıcı).

Sentez aşağıdaki adımları gerektirir:

- 1) Şablon molekülleri, kendileriyle etkileşime girebilen polimerize olabilen fonksiyonel monomerler ile ön-polimerizasyon kompleksleri oluştururlar. Bu aşamada, fonksiyonel monomerler, tanıma alanlarını oluşturmak için şablonun çevresinde düzenlenir. Bu aşamada, fonksiyonel monomerler, tanıma alanlarını oluşturmak için şablonun çevresinde düzenlenir.
- 2) Önceden oluşturulmuş kompleksler, şablonu bağlamak için fonksiyonel grupların yerini korumak için çapraz bağlayıcı moleküllerle sert bir polimer haline getirilir.
- 3) Polimerizasyon adımı sonrasında, şablon, şablonun moleküler hafızasına sahip olan özel tanıma bölgelerinin üretilmesine izin verilerek polimerik matristen çıkarılır.

Aslında, şablon moleküllerini yapısal analogları da dahil olmak üzere diğer bileşiklere göre seçici olarak yeniden bağlama yeteneğine sahiptirler [31].



Şekil 2.3 Moleküler Baskılama Yöntemi

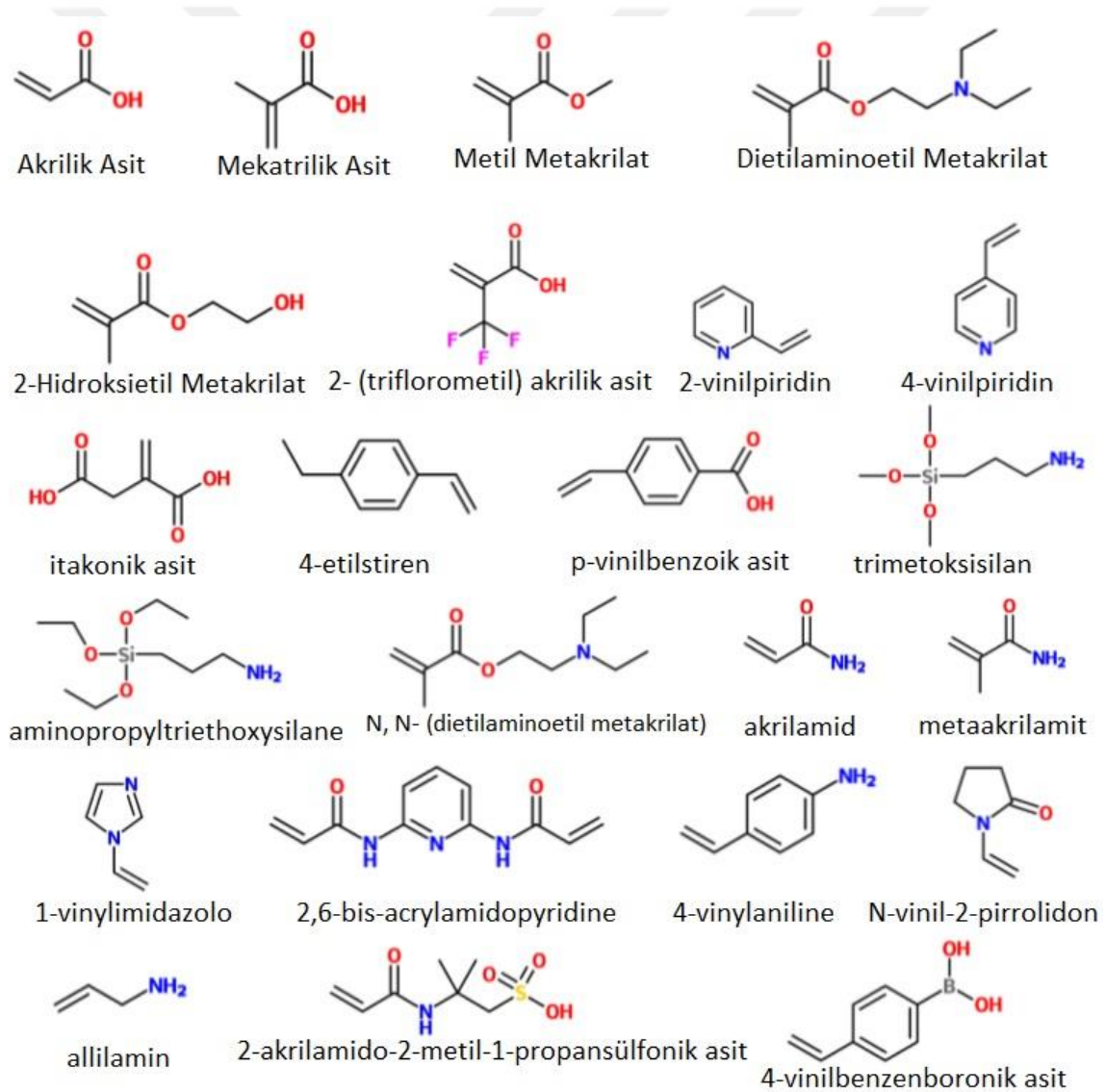
2.4.1 Kalıp (Hedef) Molekül

Tüm molekül baskı süreçlerinde kalıp, işlevsel monomerlerin fonksiyonel gruplarının örgütlenmesini yönlendiren temel öneme sahiptir. Maalesef ve çeşitli nedenlerle, tüm kalıpların kalıp oluşturmaya doğrudan uymaması mümkün değildir. Serbest radikal polimerizasyonu ile uyumluluk açısından, şablonlar ideal olarak polimerizasyon koşulları altında kimyasal olarak inert olmalıdır, böylece şablon radikal reaksiyonlara katılabilir veya polimerizasyon koşulları altında herhangi başka bir nedenle kararsız ise, alternatif baskı stratejileri aranmalıdır. Kalıp molekülün olması istenen özellikleri için sorulacak sorular şunlardır:

- (1) Şablon herhangi bir polimerize edilebilir grup taşır mı?
- (2) Şablon, potansiyel olarak bir serbest radikal polimerizasyonunu engelleyebilen veya geciktirebilen işlevselliği taşır mı; Bir tiyol grubu ya da bir hidrokuinon parçası
- (3) Şablon orta derecede yüksek sıcaklıklarda veya UV ışınlarına maruz bırakıldıktan sonra kararlı mıdır [32]?

2.4.2 Fonksiyonel Monomer

Her çeşit polimerizasyon (radikal, anyon, katyon ve yoğunlaşma) moleküler baskıda kullanılabilir. Tek şart, polimerizasyonun, tüm bileşenlerin (kovalent olmayan baskıda monomer ve şablon arasında şablonlar, çapraz bağlama ajanları ve diğerleri) sağlam kaldığı koşullar altında tatmin edici bir şekilde oluşabilmesidir. Bununla birlikte, çoğunlukla, çok yönlü uygulanabilirliği ve deneysel kolaylığı nedeniyle, radikal polimerizasyon en sıklıkla kullanılır. Kovalent baskıda, şablonlar kovalent bağlarla vinil parçalarına bağlanır. Akrilik asit veya metakrilik asit esterleri ve amidleri çoğunlukla kullanılır. Çoğu durumda sentez yapmak kolaydır. Kovalent olmayan baskı için, uygun işlevsel grupları taşıyan vinil monomerler tasarlanır ve sentezlenir. Dahası, birçok işlevsel monomer de piyasada bulunmaktadır [33].

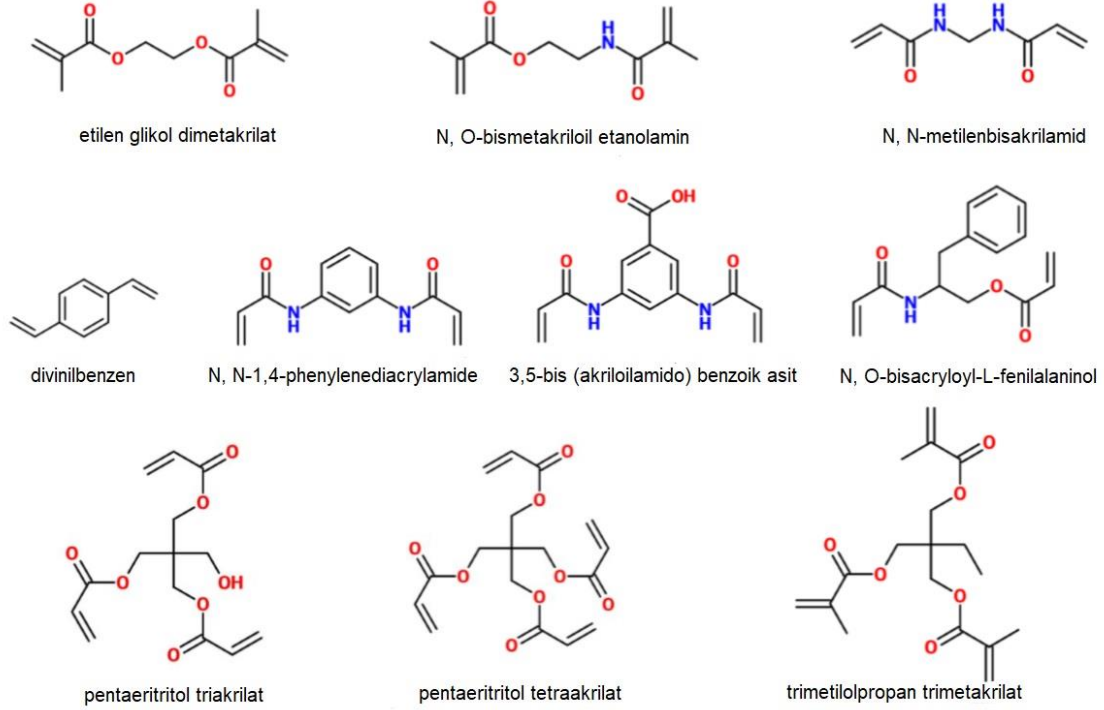


Şekil 2.4 MIP sentezlerinde kullanılan bazı fonksiyonel monomerler

Fonksiyonel monomerler MIP hazırlamada temel bileşenlerdir. Sentez sırasında bir kararlı kompleksi oluşturmak için kalıpla etkileşirler. Şablonun çıkarılmasından sonra, boşluk içindeki hedefi yeniden adlandırmak için etkileşim yerleri sağlarlar. Ayrıca çapraz bağlayıcılarla birlikte polimer matrisi oluştururlar. Monomerlerin uygun sınıflandırılması, bunları bazik, asidik ve nötr olanlara bölmektir. Metakrilik asit, akrilik asit ve (2-triflorometil) akrilik asit en sık kullanılan asidik monomerlerdir. Amino asitler, alkaloidler ve steroidler de dahil olmak üzere bazik ve nötr analitlere yüksek afinite sağlayabilirler [34].

2.4.3 Çapraz Bağlayıcılar

Baskılanmış polimerlerde çapraz-bağlayıcıların üç işlevi bulunmaktadır. Çapraz-bağlayıcı polimerin yapısını kontrol eder. Polimer, jel formunda, makro gözenekli şekilde veya mikro jel pudra şeklinde bulunabilir. İkinci işlevi baskılanmış bağlanma bölgesinin kararlılığının oluşmasıdır. Çapraz bağlayıcının üçüncü işlevi ise, polimer matrisin kararlılığını belirler. Moleküler baskılama işleminde çapraz bağlayıcı kullanılması baskılanmış polimerlerin tanıma merkezlerinin kararlılığını arttırdığı gibi, büyük gözenekli ve dayanıklılığı yüksek polimerler olduğu için tercih edilmektedir. Bu sebepler dolayısı ile moleküler baskılanmış polimerler genellikle %80'in üzerinde çapraz bağlayıcı içerirler. Polimer oluşumunda birden fazla monomer kullanımı durumunda çapraz bağlayıcının reaktivlik oranı ile monomerlerin reaktivlik oranları birbirine uyumlu olmalıdır. Birden fazla monomer kullanımdan bu oran yakalanamaz ise fonksiyonel monomer ya da çapraz bağlayıcı ajan baskın olarak polimerleşebilir. Bu durumda kopolimerizasyon işlemi gerçekleşmeyebilir [32]. Çapraz bağlayıcı maddenin fonksiyonel monomerdeki mol oranları da önemlidir. Oranlar çok düşükse, konuk bağlayıcı siteler birbirlerine çok yakın konumda olduklarından bağımsız olarak çalışamazlar. Aşırı durumlarda, bir bölgenin konuk bağlaması komşu siteler tarafından konuk bağlanmayı tamamen engeller. Bununla birlikte, son derece büyük mol oranlarında, baskılama etkinliği, özellikle çapraz bağlama ajanları, işlevsel monomerler ve / veya şablonlarla kovalent olmayan etkileşimler gösterdiğinde zarar görür [33].



Şekil 2.5 MIP sentezinde kullanılan bazı çapraz bağlayıcılar

2.4.4 Çözücü

Çözücüler polimerizasyon için ajanları çözerler, baskılanmış polimerlere gözenekli yapılar sağlarlar ayrıca konuk bağlanma oranlarını artırırlar. Bağlanmış olan konukların polimerden ayrılması ise gözeneklilik ile kolaylaştırılır. Polimerizasyon işeminde, çözücü moleküller polimerlerin içine dahil edilir ve muamele sonrası uzaklaştırılır. Bu işlemler sırasında başlangıçta çözücü molekülleri tarafından işgal edilen alan polimerlerde gözenekler olarak kalır. Çözücü yokluğunda hazırlanan polimerler sürekli olarak çok sağlam ve yoğun olup, konukları zorla bağlar. Çözücüler ayrıca, polimerizasyon üzerinde üretilen reaksiyon ısını dağıtır. Aksi halde, reaksiyon karışımının sıcaklığı lokal olarak yükseltilir ve burada istenmeyen yan reaksiyonlar oluşur. Ayrıca, verimli kovalent olmayan baskı için gerekli olan monomer-şablon eklenti oluşumu bastırılır. Çözücülerin seçimi baskı türlerine bağlıdır. Kovalent baskıda, birçok bileşen çözücü, tüm bileşenleri tatmin edici bir şekilde çözdükçe kullanılabilir [33].

2.4.5 Başlatıcılar

Radikal reaksiyonları başlatmak için çeşitli yöntemler kullanılabilir ve bunlar termolizlerin, fotolizlerin ve elektron transfer reaksiyonlarının geniş alanlarına ayrılabilir. Genellikle organik sentetik dizilerde, başlatma, zayıf bir bağ, özellikle bir

azo veya peroksi bileşik içeren bir başlatıcının bir termal ayrışma reaksiyonunu içerir. Birçok bileşikte fotoliz, ya zayıf bir bağın homolitik bölünmesi ya da elektron transferi ya da atom soyutlaması ile reaksiyona giren bir uyarılmış halin üretilmesi ile radikal reaksiyon başlatacaktır. Elektron transfer işlemleri, metallerin organik substratlar ile yapılan birçok tepkimesinde yer alır, ancak güçlü indirgeyici ajanlar da radikaller anyonlara veya organometalik türlere indirgenir. Bu nedenle, yöntem indirgeyici veya oksidan radikalın hızla kesilmesi için yeterince güçlü olmadığında en kullanışlıdır. Birçok termal başlatıcı ticari olarak mevcuttur ve bunlar sentetik dönüşümlerde yaygın olarak kullanılır. Zincir reaksiyonları durumunda, substrata göre tipik olarak %1-5 mol oranında bir başlatıcı gerekebilir [35].

Radikal reaksiyonların redoks başlatımı iki işleme tipine bölünebilir. Bir tip, bir ikinci redüksiyon veya oksidasyon reaksiyonu meydana gelmeden önce bir veya daha fazla radikal fonksiyonallizasyon adımıyla reaksiyona giren bir radikal vermek üzere bir substratın redüksiyonunu veya oksidasyonunu içerir. Bu tür işlemler, kimyasal redoks söz konusu olduğunda indirgeyici veya oksidanın iki eşdeğerini tüketir veya elektrokimyasal olarak gerçekleştirildiğinde genel olarak iki elektronlu işlemlerdir [35].

2.5 Moleküler Baskılama Yöntemleri

Moleküler Baskılama, belirli bir analit için yapay biyomimetik alıcıları tasarlamak için kullanılan bir tekniktir [36]. Moleküler olarak baskılanmış polimerler, ilgi konusu bir analitin üç boyutlu (3-B) şekli ve işlevlerine adapte edilmiş polimer matrisi içinde tanıma bölgelerine sahip olan yüksek oranda dengeli polimerlerdir. Bu moleküler baskılanmış polimerler kovalent veya kovalent olmayan bir tarzda üretilebilir [37].

2.5.1 Kovalent Baskılama

Kovalent baskıda, baskı molekülü kimyasal olarak polimerin yapı taşlarından biriyle birleştirilir ve polimerizasyonun ardından, serbest seçici bağlanma alanları elde etmek için baskı molekülü yapıdan kimyasal olarak ayrışır. [37].

Bu yaklaşımda, polimerizasyon işleminden önce kalıp molekül ve fonksiyonel monomer birbirine kovalent bağ ile bağlanır. Polimerizasyon sonrası kovalent bağlar kırılır ve kalıp molekül seçici boşluklar oluşturmak için polimerden uzaklaştırılır. Hedef molekül, baskılanmış polimerle etkileştirildiğinde aynı kovalent bağlar tekrar oluşur [38].

Fonksiyonel monomer ve kalıp molekül polimerizasyondan önce kovalent bağ ile birbirine bağlanmıştır. Bu yöntemde, monomer-kalıp konjugatları (çiftleri) o kadar kararludur ki çok çeşitli polimerizasyon şartlarında (örneğin; yüksek sıcaklık, düşük veya yüksek pH) uygulanabilir. Sadece birkaç tersinir kovalent bağ mevcuttur ve sentezi genellikle zahmetli ve daha az ekonomiktir [39].

Kovalent bağ oluşumu nedeniyle bağlanma kinetiğinin yavaş olması bu yöntemin bir dezavantajıdır. Diğer taraftan bu kovalent bağların kararlılığı polimerdeki bağlanma bölgelerinin daha homojen dağılmasını sağlamaktadır. Ayrıca kullanılan kalıp molekülün miktarına bağlı olarak bağlanma bölgelerindeki verim, kovalent olmayan baskılamaya göre bu uygulamada daha yüksektir [31].

2.5.2 Kovalent Olmayan Baskılama

En yaygın yaklaşım şablon ve özenle seçilmiş fonksiyonel monomerler arasındaki kendi kendine montaja dayanan kovalent olmayan baskıdır. Bir çapraz bağlama monomerinin mevcudiyetinde polimerizasyondan sonra, ortaya çıkan yüksek oranda çapraz bağlı polimer, tanımlanmış bir 3-D düzenlemesinde fonksiyonel gruplarla donatılmış bir bağlanma yeri ihtiva edecektir [37].

Kovalent olmayan yaklaşım, basitliği nedeniyle MIP'yi hazırlamak için en sık kullanılan yöntemdir. Kovalent olmayan yaklaşım esnasında, özel bağlanma alanları, şablon ve monomer arasındaki kendiliğinden bir araya getirme, ardından bir çapraz bağlanmış ko-polimerizasyon ile oluşturulur. Baskı molekülleri, baskı prosedürü ve yeniden bağlanma esnasında polimerle kovalent olmayan etkileşimler, örneğin iyonik, hidrofobik ve hidrojen bağları. Kovalent olmayan baskılama yaklaşımı, işlevsel monomerler ile kovalent olmayan etkileşimler yapabilen biyolojik bileşikler de dahil olmak üzere çok sayıda bileşik nedeniyle moleküler künye geleceği için daha fazla potansiyel barındırıyor görünmektedir. Kovalent olmayan molekül baskılanma sınırları, özel moleküler tanıma koşulları tarafından belirlenir. Çoğu, monomerler ve şablon arasındaki etkileşimlerin oluşumu hidrofobik ortamlarda dengelenirken, kutup ortamları onları kolayca bozabilir [40]. Ayrıca, kovalent bağlanma yaklaşımı açısından şablonun çıkarılması daha kolaydır. Aslında, hidrojen bağlanması gibi kovalent olmayan etkileşimler, metanol, metanol / asetik asit ile yıkanarak ya da bir asit ya da bir bazın sulu solüsyonlarında tersine çevrilir. Bu yıkama şablonun polimerizasyon işleminden sonra polimerik ağıdan çıkarılmasını sağlar [41]. Son olarak, kovalent olmayan etkileşimler, canlı

sistemlerde moleküler tanımanın temelini karakterize eder. Aslında, kovalent olmayan moleküler baskılanmış malzemeler gibi, antikorlar ve enzimler gibi biyolojik alıcılar, hedef moleküllerini tamamlayıcı iyonik, hidrojen bağlama ve hidrofobik etkileşimler yoluyla tanınırlar.

Bununla birlikte, şablon ve işlevsel monomer polimerizasyondan önce kovalent bağlar kurulduğunda, şablon işlevsel monomer etkileşimleri çok daha istikrarlı olduğu ve baskı sırasında tanımlandığı için kovalent olmayan baskılama yaklaşımdan daha iyi tanımlanmış ve daha homojen bağlanma siteleri ortaya çıkarmaktadır. Bununla birlikte, kovalent olmayan baskılama protokolü, sentez açısından kovalent yaklaşım üzerinden sunduğu avantajlardan dolayı MIP hazırlamak için halen en yaygın kullanılan yöntemdir [42].

2.6 Moleküler Baskılanmış Polimerlerin Uygulama Alanları

Son zamanlarda yapılan çalışmalar moleküler baskılanmış yapıların doğal antikorları taklit ederek immünolojik analizlerde tanıma elemanı olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Bu yapay tanıma elemanlarının sahip olduğu yüksek seçicilik ve hassaslık, kararlı yapılarını uzun süre korumaları ve kimyasal inertlik gibi özellikleri nedeniyle klinik teşhis analizlerinde, aynı zamanda çevresel iyileştirme, biyoteknolojik işlemler veya öncü ilaç dağıtım sistemlerinin geliştirilmesi için de uygulanmaktadır çevre ve gıda analizlerinde kullanımına yönelik çalışmalar giderek artmaktadır [43] [44]. Yöntem hızlı ve ucuzdur ve baskılanmış polimerler yeniden kullanılmaya yetecek derecede kararlıdır. Mevcut hipotezler ve modeller hızlı bir şekilde test edilebilir [45].

2.7 Biyosensörler

Biyosensörler çeşitli uygulamalar buluyor ve yavaş yavaş çeşitli analitik uygulamalarda ayrılmaz bir parçaya dönüşüyorlar [46]. Biyolojik algılama elemanı içeren bu analitik cihazlar basit ve kullanımı kolay formatlarla karmaşık biyoanalitik ölçümler sunmak için fizikokimyasal çeviricilerle birlikte biyolojinin duyarlılığını ve özgüllüğünü kullanır. Potansiyel kullanımları; tıbbi teşhislerden ilaç keşfi, gıda güvenliği, proses kontrolü ve çevresel izleme ile savunma ve güvenlik uygulamalarına kadar uzanan hemen her akla gelebilecek analitik görevi benimser [47].

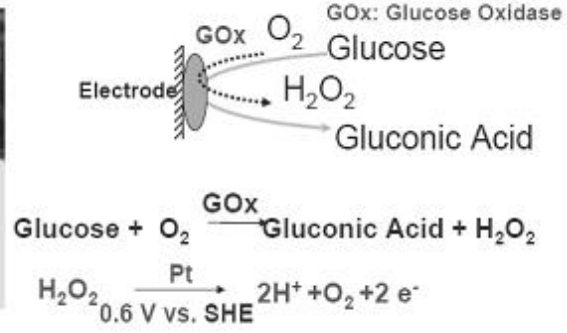
Bir biyosensör, tipik olarak, biyokimyasal tepkiyi nicelleştirilebilen bir sinyal haline dönüştüren biyolojik olarak aktif bir molekül ile birlikte bir çeviriciden oluşur. Genel

olarak, bir biyosensör üç temel bileşenden oluşur: (i) bir dedektör, (ii) bir dönüştürücü ve (iii) bir sinyal işlemcisi. Dönüştürücü, analitin teşhisine ve fizikokimyasal karakterine bağlı olarak elektrokimyasal, optik, akustik veya kalorimetrik olabilir. Biyosensörler, çeşitli tespit prensipleri temel alınarak geniş bir şekilde incelenmiştir; iletkenlik, amperometrik, potansiyometrik ve voltajetrik. Bir biyo-algılama elemanını tasarlamak için biyo materyalin seçimi önemli bir konudur. Bunlar arasında, enzimler, DNA / RNA, aptamerler, antikolar, reseptörler, organeller ve hayvan hücreleri / dokular yaygın olarak algılama sistemlerinin çeşitli türlerini geliştirmek için kullanılmıştır [46].

Biyosensörler, biyolojik, kimyasal veya biyokimyasal sinyali ölçülebilir sinyallere dönüştürebilir. Bu sinyal, biyolojik tanıma elemanı tarafından hedef bileşiğin metabolizması tarafından getirilen proton konsantrasyonunda, gazların alınmasında veya salınmasında, ışık emisyonunda, absorpsiyonda ve benzerlerinde meydana gelen bir değişikliğe neden olabilir. Dönüştürücü, bu biyolojik sinyali, daha sonra analiz için daha da büyütülebilecek, işlenecek ve saklayabilen elektrokimyasal veya optik araçlarla ışığın akımı, potansiyeli veya absorpsiyonu gibi ölçülebilir bir tepkimeye dönüştürecektir [48].

2.7.1 Biyosensörlerin Kısa Tarihçesi

Biyosensör teknolojisi 1960 larda enzimlerin biyolojik bileşikleri tespit etmek için kullanılmaya başlanmıştır [27]. İlk biyosensör Clark ve Lyons [49]'un enzim elektrodu üzerine yapmış oldukları çalışmayla tanımlanmıştır. Bu çalışmada enzim-elektrot kompleksini glikoz sensörü olarak kullanmışlardır. Tarihin ilk biyosensörü Clark'ın fikirlerine dayanan ticari bir ürün, 1975 yılında Yellow Springs Instrument Company tarafından, glikoz ve GOx'un aerobik enzimatik tepkimesinin ürünü olan hidrojen peroksitin amperometrik tespitine dayanan bir glikoz analizörü olarak ticari olarak piyasaya çıktı. Bu girişimin ardından, birçok enzim biyosensörüne dayalı laboratuvar analizörü uygulandı [47].



The first and the most widely used commercial biosensor:
the blood glucose biosensor – developed by Leland C. Clark in 1962

Şekil 2.6 İlk ve en çok kullanılan ticari biyosensör; Leland C. Clark tarafından 1962'de geliştirilen kan şekeri biyosensörü

Biyosensörlerin gelişmesinde ki diğer bir çalışma ise Guilbault ve Montalvo [50] tarafından üreazın bir amonyum seçici sıvı membran elektrotunda immobilize edildiği bir üre sensörüne dayanan potansiyometrik bir enzim elektrotunu ayrıntılı olarak tanımlayan ilk kişilerdi.

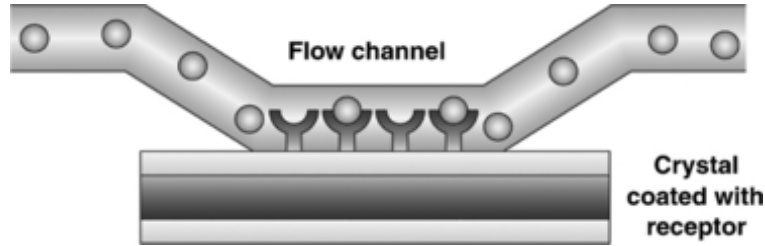
2.8 Piezoelektrik Kristalli Biyosensörler (Kütle Duyarlı Biyosensörler)

Bazı kristallere mekanik baskı uygulandığında kristal yüzeyleri arasında elektriksel potansiyel farkı oluşur ve bu “piezoelektrik etki” olarak tanımlanmıştır. Yunanca da “baskı” anlamına gelen “piezein” kelimesinden türetilmiş piezoelektrik etki 1880 yılında Curie kardeşler tarafından keşfedilmiştir [51]. Kristalin yüzeyleri arasındaki elektriksel gerilim farkının kristallerde boyut değişimine ve gerilime yol açtığını yani “ters piezoelektrik etki” nin kullanılarak, kristalin yüzeyleri arasına uygulanan elektriksel gerilimin şiddeti değiştirildiğinde kristalin boyutlarını değiştirmenin mümkün olduğu saptanmıştır [52].

Piezoelektrik biyosensörler ve dönüştürücüler çevredeki bilgileri kabul eder, ancak onu kuvars plaka titreşimine dönüştürürler. Sinyal yolları elektronik olarak elektronik olarak bütünleşir ve canlı hücrenin moleküler bilgisini görüntüler. Fakat ilk adımlar, doğal hücre sinyalizasyon sistemine benzer. Akustik dalga mikrosensörleri, çok çeşitli analitler için sensörler olarak yaygın bir şekilde tanınmaktadır. Kuvars kristal mikroterazi böyle bir cihazdır ve bir dizi polimer sisteminin hızlı bir şekilde taranmasına izin veren tanıma malzemesinin yüzeyinde yerinde kütle değişiklikleri ölçerek moleküler tanımanın değerlendirilmesi için ideal bir şekilde uygundur [53].

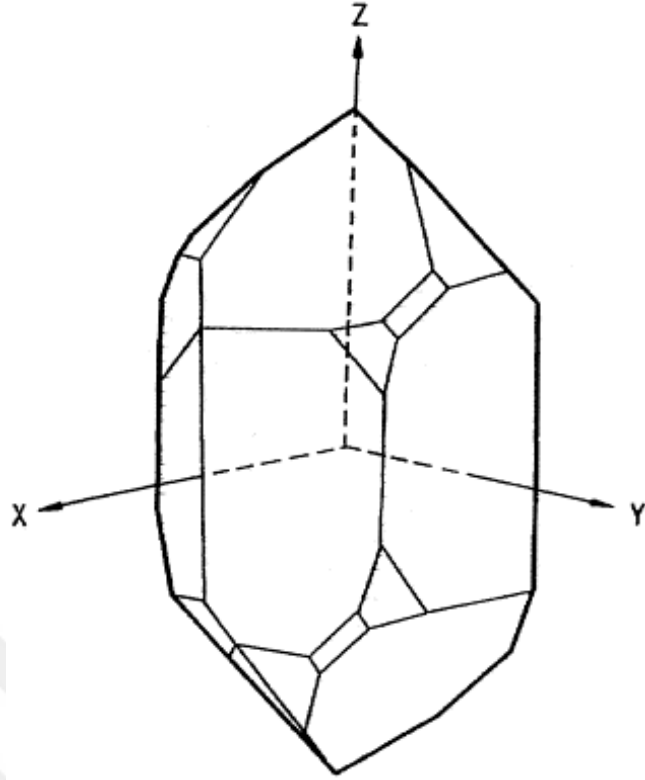
2.9 Kuvars Kristal Mikroterazi (QCM)

Saatler, bilgisayarlar ve televizyonlar gibi elektronik cihazlarda bulunan ve her yıl bir milyondan fazla kitlenin ürettiği kuvars kristal rezonatörlerine dayanıyorlar. Kuvars kristali, alternatif bir voltaj uygulandığında mekanik olarak salınan bir piezoelektrik malzemedir. Bir QCM, bir çift elektrot arasına sıkışmış ince bir kuvars diskinden oluşur. Titreşim modu, kuvars kristalinin kesimine ve geometrisine bağlıdır [54].

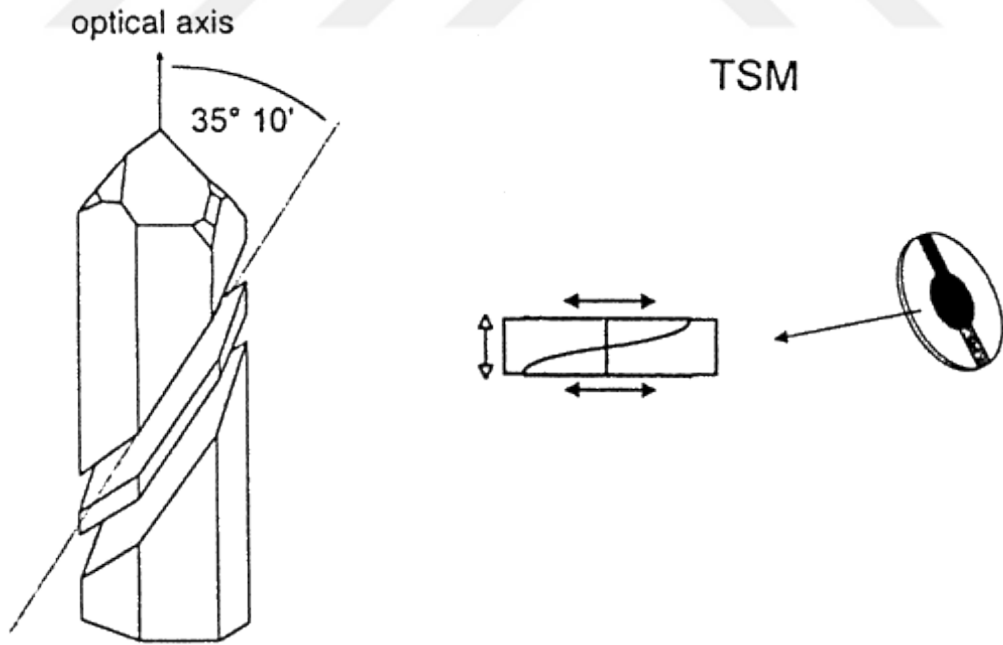


Şekil 2.7 Kuvars kristal rezonans algılamasının şematik gösterimi [54]

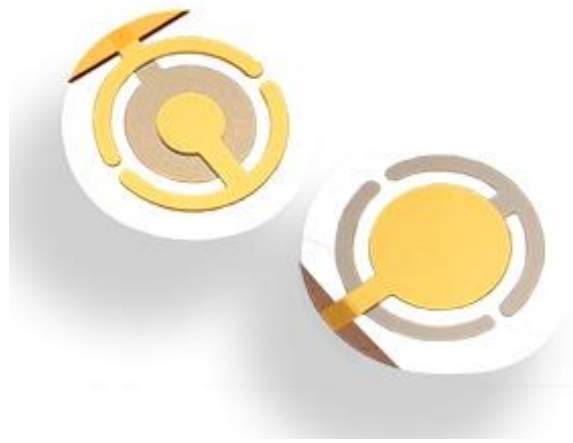
Bir piezoelektrik kristal rezonatör doğal ya da sentetik kuvars kristali bir tam kesilmiş levhadır. Kuvars kristali doğal formu olarak Şekil 2.8'deki gibi görülebilir. Piezoelektrik malzemeye harici bir elektrik potansiyelinin uygulanması, iç mekanik gerilimi üretir. QCM piezoelektrik olduğu için cihaz boyunca uygulanan salınımlı bir elektrik alanı, kristal boyunca ileten bir akustik dalga oluşturur ve cihazın kalınlığı akustik dalganın yarısı dalga boyunun katları olduğunda asgari dirence uygundur. Bir QCM, akustik dalganın kristal yüzeye dik bir yönde ilerlediği kesme modlu bir cihazdır. Bunu yapmak için, kuvars kristal plakası, kristal eksenlerine göre belirli bir oryantasyonda kesilmelidir [55]. Bir QCM'de, kuvars kristaller optik Z-ekseninden bir $35^{\circ} 15'$ açısı olarak tanımlanan AT formunda kesilir. AT geometrisi, kristalin modunda (TSM) neredeyse hiç sıcaklığa bağlı dalgalanmalar olmaksızın, kristalin rezonans frekansında oda sıcaklığında dengeli bir şekilde salınmasına olanak sağlar. Bir QCM kristalinin yüzey özellikleriyle alakalı olarak, sıvı fazda bir QCM kullanırken çok pürüzsüz yüzeylerle beraber optik olarak parlatılmış kristaller kullanmak önemlidir. Çevredeki sıvının kaba kristal çatlaklarını çevrelemesinden dolayı analit bağlama nedeniyle kristalin rezonans frekansındaki istenmeyen değişiklikler meydana gelebilir. Hidrofilik yüzeyler gibi kolayca ıslanmayan ve bunun yerine hava veya vakum toplamak eğiliminde olan hidrofobik yüzeylerin kullanılması, hidrofilik yüzeylerin kullanımından daha az enerji kaybına neden olur [52].



Şekil 2.8 Kuvars kristalinin eksen üzerinde gösterilmesi [55]

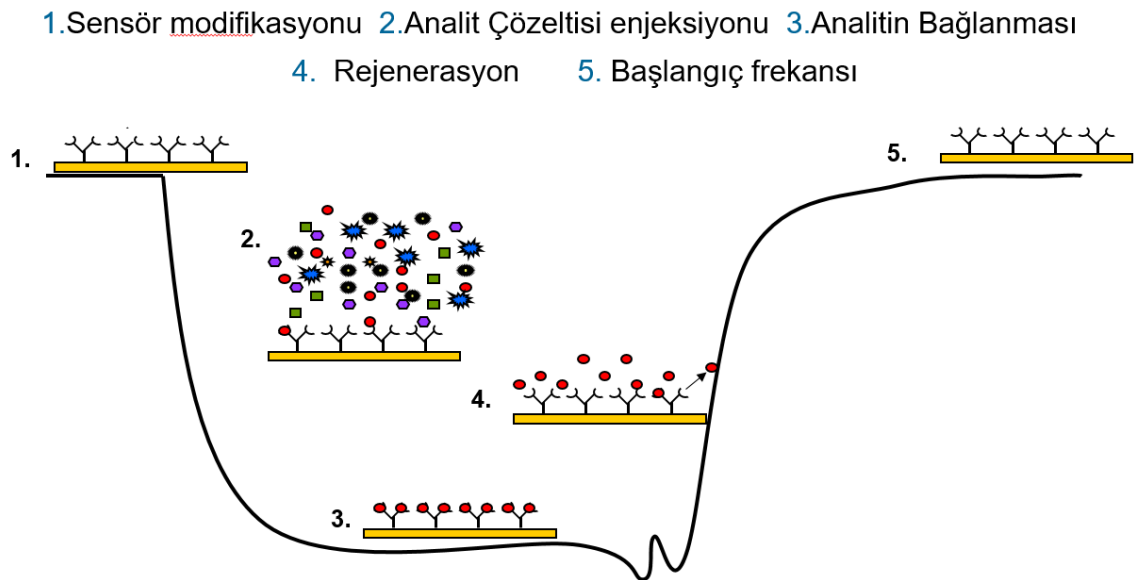


Şekil 2.9 AT kesim ve TSM [51]



Şekil 2.10 Kuvars Kristal Mikroterazi Çipi

AT-kesim kuvars kristali daha sonra iki buharlaşmış metal elektrot arasında bir pozitif geri besleme osilatör devresi parçası olarak sandviç haline getirilir. Genellikle altın, gümüş, platin, alüminyum ya da nikelden oluşan iki elektrot, kuvarsın üst ve alt yüzeylerini örter. Daha sonra tel kabloları elektrotlara tutturulur ve bir osilatör devresine bağlanır. Elektrotlar ve kuvars boyunca bir AC geriliminin uygulanması, kuvarsın kayma yer değiştirmelerine neden olan mekanik salınımlar üretir. Bu tür kayma yer değiştirmeleri, kristalin ve yüzeyine bağlanmış herhangi bir kütlenin, kristalin temel frekansından farklı belirli bir frekansta kuvars yüzeyine yanal hareket etmesine neden olur [52].



Şekil 2.11 Kuvars Kristal Mikroterazi Sensogramı

QCM rezonans frekansının kütle bağımlılığı boyunca ara yüzeydeki kütle değişimlerini belirlemek için, iki metal uyarılma elektrotu arasına sıkıştırılmış ince

titreşimli kuvarstan oluşan kuvars kristal mikro dengesini kullandı. Son yıllarda, yüksek hassasiyetli bir sensör olan QCM'ler, özellikle kimya ve biyomedikal alanlarda olmak üzere çeşitli alanlarda yoğun bir şekilde araştırıldı [56]. QCM, kimyasal ve biyolojik savaş ajanlarının tespiti dahil olmak üzere gaz ve sıvı fazlardaki analitlerin saptanması için son derece hassas bir kütle sensörüdür [57]. Sauerbrey, QCM yüzeyindeki kütle frekansı ilişkisini tanımlayan ünlü Sauerbrey denklemini öne sürmüştür.

$$\Delta m = -C_{qcm} \times \Delta f, \quad 2.1 [58]$$

Burada; Δm , kütle değişimini, Δf frekans kaymasını ifade etmektedir. $C_{qcm} = 5 \text{ MHz}$ ise, AT kesimli QCM'ler için $17.7 \text{ ng cm}^{-2} \text{ Hz}^{-1}$ değerine sahip olan kütle duyarlılık sabitidir.

Sauerbrey denklemi, gaz fazında ölçüm için QCM kullanmanın teorik temeliydi. Sauerbrey denklemine ve diğer modellere dayanılarak, QCM, iyi yüzey seçiciliği, basit çalışma, gerçek zamanlı çıktı, etiketsiz analizler gibi avantajlar nedeniyle sıvı ve gaz ortamlarında çeşitli nano ölçekli hedef analitleri tespit etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Sauerbrey denklemindeki kütle duyarlılık sabiti C_{QCM} 'in sadece kuvars kristali maddesel sabitleriyle ilişkili olduğu ancak kütle hassasiyetinin Gauss dağılım karakteristiğini ve metal elektrotların etkisini dikkate almadığı değerdir [56].

3. DENEYSEL YÖNTEMLER

3.1 Kimyasal Maddeler

N-Metakroil-L-histidin metil ester (MAH) sentezi için kullanılan L-histidin metil ester ve metakroil klorür, Sigma firmasından satın alınmıştır (St. Louis, ABD). Nanopartiküllerin sentezi için gerekli olan monomerler 2-hidroksietil metakrilat (HEMA) ve etilen glikol dimetakrilat (EGDMA), sulu emülsiyon ortamı için polivinil alkol (PVA) ve sodyum dodesil sülfat (SDS) ve başlatıcılar sodyum bisülfat (NaHSO_3) ve amonyum persülfat (APS) yine Sigma firmasından temin edilmiştir (St. Louis, ABD). Deneylerde kullanılan diğer bütün kimyasal maddeler analitik saflıktadır. Ayrıca, kullanılan deiyonize su, Barnstead D3804 NANOpure® marka organik/kolloid uzaklaştırma birimi ve iyon değiştirici dolgu kolon sistemi kullanılarak saflaştırılmıştır (18 mS/cm). Deneylerde kullanılan cam malzemeler, gece boyunca %5'lik nitrik asit çözeltisinde bekletilmiş ve kullanılmadan önce deiyonize su ile durulanarak tozsuz bir ortamda kurutulmuştur.

3.2 Sentez Çalışmaları

3.2.1 MAH Monomeri

N-Metakroil-(L)-histidin metil ester (MAH) monomerinin sentezi için uygulanan yöntem kısaca şöyledir: 5,0 g L-histidin hidroklorür ve 0,2 g hidrokinon, 100 mL diklorometan (CH_2Cl_2) çözeltisi içerisinde çözülür. Çözelti, 0°C 'a kadar soğutulur. 13,0 g trietilamin bu çözeltiye ilave edilir. 4,0 mL metakroil klorür yavaşça bu çözeltinin üzerine katılır. Bu reaksiyon karışımı azot atmosferi altında manyetik karıştırıcı ile 2 saat oda sıcaklığında karıştırılır. Bu sürenin sonunda, reaksiyona girmeyen metakroil klorür, %10'luk NaOH çözeltisi ile özütlenir. Sulu faz döner buharlaştırıcıda uzaklaştırılır ve elde edilen ürün (MAH) etanolde çözünür. Bu tez çalışmasında kullanılan MAH monomeri NanoReg (Ankara, Türkiye) tarafından temin edilmiştir.

3.2.2 MAH-Cu(II) Monomer Kompleksi

MAH-Cu(II) kompleksi 2 farklı mol oranında hazırlanmıştır (2:1 ve 1:1 mol oranı). Bunun için 1 mL'lik monomer-kompleks çözeltisinde ayrı ayrı 2 mmol MAH ile 1 mmol Cu(II) ve 1 mmol MAH ile 1 mmol Cu(II) iyonları olacak şekilde 2 farklı MAH-Cu(II) monomer kompleksi hazırlanmıştır. Bu kompleks bileşikler, MIP nanopartiküllerin hazırlanmasına kadar 4 °C 'de saklanmıştır.

3.2.3 Cu(II)-MIP ve NIP Nanopartiküller

2 farklı mol oranında hazırlanan MIP nanopartiküller, 1:1 mol oranı için MIP1 ve 2:1 mol oranı için MIP2 olarak adlandırılmıştır. MIP ve NIP nanopartiküllerin sentezi için mini-emülsiyon polimerizasyon yöntemi kullanılmıştır. Buna göre, sulu emülsiyon ortamı olarak Faz I (10mL suda çözünmüş 0,187g PVA) ve Faz II (150 mL suda çözünmüş 0,1 g PVA ve 0,1 g SDS) hazırlanmıştır. Organik faz ise monomer olarak HEMA (0,4 mL), çapraz bağlayıcı olarak EGDMA (2,1 mL) ve MAH-Cu(II) kompleks monomeri içermektedir. Monomerlerin yer aldığı organik faz öncelikle Faz I ortamı ile homojenizatörde 8000 rpm de 10 dk karıştırılmıştır. Oluşan mini-emülsiyon ortamı Faz II ortamına eklenerek 600 rpm de 30 dk karıştırılmıştır. Ardından başlatıcı olarak NaHSO₃ ve APS eklenerek sıcaklık ayarlı sürekli karıştırma reaktöründe 40°C de 24 saat polimerizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir



Şekil 3.1 Polimerizasyon Reaktörü

Bu işlem 2:1 ve 1:1 mol oranında MAH-Cu(II) kompleksi için ayrı ayrı yapılmıştır. Kontrol olarak; Cu(II) baskılanmamış (NIP) nanopartiküller aynı işlem ile, ancak Cu(II) iyonları olmadan sentezlenmiştir. Polimerizasyondan sonra MIP1 ve MIP2 nanopartiküller 50 mM EDTA çözeltisi ile yıkanarak Cu(II) iyonları uzaklaştırılmıştır. Yıkama işlemine Cu(II) iyonları gözlenmeyinceye kadar devam edilmiştir.

3.2.4 Cu(II)-MIP Nanopartiküllerin QCM Çip Yüzeyine Uygulanması

Cu(II)-MIP nanopartiküller QCM çip yüzeyine uygulanmadan önce, çip yüzeyi pirana çözeltisi [1:4 H₂O₂/H₂SO₄ (v/v)] ile temizlenmiştir. Ardından çip yüzeyi 40°C etüvde kurutulmuştur. Temizlenen QCM çipin altın yüzeyine ve 30 dk UV ışığına maruz bırakılmıştır. Aynı işlemler NIP nanopartikül çözeltisi için de gerçekleştirilmiştir.

3.3 Karakterizasyon Çalışmaları

3.3.1 FTIR Analizi

Cu(II)-MIP nanopartiküllerin yapısal karakterizasyonu için FTIR-ATR spektrometre (Thermo Fisher Scientific, Nicolet iS, Waltham, MA, ABD) kullanılmıştır. Havadan kaynaklanan nem ve karbondioksiti uzaklaştırmak için ölçüm yapılan örnek haznesinden 10 dk azot gazı geçirilmiştir ve 600-4000 cm⁻¹ dalga sayısı aralığında spektrumlar alınmıştır.

3.3.2 Boyut Analizi

Sentezlenen MIP nanopartiküllerin boyut analizi, Nano Zetasizer (NanoS, Malvern Instruments, Londra, İngiltere) ile yapılmıştır. Süspanse haldeki MIP nanopartiküller (1 mg/mL) zeta boyut ölçüm cihazının hücreğine yerleştirilmiş, kapağı kapatılarak ölçüme hazır hale getirilmiş ve analiz sonrası sonuçlar değerlendirilmiştir.

3.3.3 Yüzey Yapısı

3.3.3.1 Elipsometre ile Analiz

QCM çip yüzeyindeki MIP nanopartiküllerin kalınlık ölçümleri için Nanofilm EP3-Nulling Elipsometre (Göttingen, Almanya) cihazı kullanılmıştır. Kalınlık ölçümleri, 532 nm dalga boyunda, 62°'lik bir geliş açısında gerçekleştirilmiştir. QCM çip lazer ışık kaynağı altına yerleştirilmiştir. Yüzey kalınlığı hesaplama program için BK7 + 50 nm altın + 70 nm polimer katmanı veri olarak öngörülmüştür. Ölçümler sensör yüzeyinde 6 farklı noktada 3 kere tekrarlanmış ve sonuçlar bu değerlerin ortalaması alınarak rapor edilmiştir.

3.3.3.2 Temas Açısı Ölçümü

QCM çip yüzeyindeki MIP nanopartiküllerin temas açısı ölçümleri için KRÜSS DSA100 (Hamburg, Almanya) cihazı kullanılmıştır. QCM çip yüzeyine 1 damla su damlatılarak yapışık damla (Sessile Drop) yöntemi ile temas açısı belirlenmiştir. Çip yüzeyinin farklı bölgelerine su damlatılarak 10 ayrı fotoğraf çekilmiş ve her biri için

ayrı temas açısı belirlenmiştir. Belirlenen temas açısı değerleri damlacığın katı ile sol temas noktasından alınan soldan temas açısı; sağ temas noktasından alınan sağdan temas açısı olarak belirlenmiştir. Ayrıca her iki noktanın ortalaması olan ortalama temas açısı değerleri elde edilmiştir. Modifiye edilmemiş ve edilmiş QCM çip yüzeyleri için temas açısı değerleri alınan 10 ölçümün ortalama değerleri alınarak hesaplanmıştır.

3.3.3.3 Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) ile Görüntüleme

QCM çip yüzeyindeki MIP nanopartiküllerin yapısal karakterizasyonu için yarı degen modda atomik kuvvet mikroskobu (AFM, Nanomagnetics Instruments, Oxford, İngiltere) kullanılmıştır. QCM çip çift yüzslü karbon bant ile örnek tutturucuya yerleştirilmiştir. Görüntüleme çalışmaları hava ortamında, 'yarı degen' modda gerçekleştirilmiştir. Salınım rezonans frekansı 341.30 kHz olarak uygulanmıştır. QCM çip yüzeyindeki nanopartiküller 2 µm/s tarama hızında, 2x2 µm² alanda görüntülenmiştir.

3.3.3.4 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Görüntüleme

MIP nanopartiküllerin yüzey ve yığın yapısı taramalı elektron mikroskobu (SEM) (JEOL, JEM 1200 EX, Tokyo, Japonya) ile görüntülenmiştir. MIP nanopartiküller görüntüleme öncesi -20°C'de dondurulmuş ve liyofilizatörde (Chris Alpha 1-2 LD plus, M Christ GmbH, Almanya) kurutulmuştur. Liyofilizatörden alınan MIP nanopartikül örnekleri iletken bir yapıştırıcı ile SEM örnek plakası üzerine tutturulmuştur. Daha sonra örnek yüzeyi vakum altında 50 Å kalınlığında metalik altın ile kaplanarak yüzey iletken hale getirilmiş ve çeşitli büyütme oranlarında fotoğrafları çekilmiştir.

3.4 Cu(II) MIP Nanopartiküller ve QCM Sensör ile Etkinlik Çalışmaları

Bu bölüm, Cu(II)-MIP1, Cu(II)-MIP2 ve NIP nanopartiküllerin QCM sensöre uygulanması ve bu nanopartiküllerin Cu(II) iyonlarının tayininde kullanılması için yapılan çalışmaları kapsamaktadır. Bu çalışmalar, 0.1 M pH 4.0 asetat tamponunda Cu(II) iyonları içeren farklı derişimlerdeki sulu çözeltilerini içermektedir. QCM cihazı; frekans sayacı, gerilim kaynağı, osilator devre, peristaltik pompa, yalıtım kabini ve bilgisayardan oluşmaktadır.



Şekil 3.2 RQCM (Maxtek)

QCM çip, sensöre yerleştirilip, yüzeyi deiyonize su (50mL) ile yıkanmıştır. Daha sonra, pH 4 tamponu ile oda sıcaklığında dengelenmiş ve rezonans frekansı (f_0) belirlenmiştir. QCM çip yüzeyi 3 dakika boyunca pH 4 tampon çözeltisi ile dengelendikten sonra farklı derişimlerdeki (0,01-100 ppm) Cu(II) çözeltileri sırayla sisteme verilmiştir. Rezonans frekansındaki kayma değerleri (Δf) anlık olarak gözlenmiş ve denge durumuna geldiğinde sistem 10 mM EDTA çözeltisi ile desorbe edilmiştir. Her bir deneyde, QCM çip, deiyonize su ve pH 4 tamponu ile tekrar yıkanarak dengelenmiştir. Rezonans frekansları belirlenmiş çözeltiler QCM sensörle etkileştirilmiş ve kinetik veriler alınarak RQCM (Maxtek) yazılımı ile analiz edilmiştir.

QCM rezonans frekansının kütle bağımlılığı boyunca ara yüzeydeki kütle değişimlerini belirlemek için, iki metal uyarılma elektrotu arasına sıkıştırılmış ince titreşimli kuvarstan oluşan kuvars kristal mikro dengesi kullanılmıştır. Rezonans frekansındaki kayma (Δf) ile bağlanan ve desorbe olan Cu(II) iyonlarının kütle değişimi (Δm) arasındaki ilişki Sauerbrey **denklemine (Denklem 2.1) göre** belirlenmiştir. Kütle değişimi (Δm) ile rezonans frekansı değişimi (Δf) arasındaki

doğrusal bağlantı kullanılarak, derişimi bilinen standart Cu(II) çözeltileri ile kalibrasyon grafiğı oluşturulmuştur.

3.4.1 Denge İzoterm Modelleri

Cu(II)-MIP nanopartiküller ile yapılan QCM sensör çalışmasında, Cu(II) iyonları ile QCM çip yüzeyi arasındaki etkileşim modelini belirlemek amacıyla 3 farklı izoterm modeli uygulanmıştır. Bunlar; Langmuir, Freundlich ve Langmuir-Freundlich modelleridir. Bu 4 modelin denklemleri aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Çizelge 3.1 Langmuir ve Freundlich ve Langmuir-Freundlich İzoterm Denklemleri

Langmuir	$\Delta m = \{\Delta m_{maks}[C]/K_D + [C]\}$
Freundlich	$\Delta m = \Delta m_{maks}[C]^{1/n}$
Langmuir-Freundlich	$\Delta m = \{\Delta m_{maks}[C]^{1/n}/K_D + [C]^{1/n}\}$

Burada; Δm_{maks} , maksimum QCM kütle değişim sinyali kaymasını; Δm , denge halindeki QCM kütle değişim sinyali kaymasını; $[C]$, analit derişimini (nM); K_A (1/nM), bağlanma denge sabitini; K_D (nM), ayrılma denge sabitini; $1/n$, Freundlich yüzey heterojenite indeksini ifade etmektedir.

3.5 Cu(II) MIP QCM Sensörün Tespit Limiti (LOD) ve Tayin Limiti (LOQ)

Cu(II)-MIP QCM Sensörün duyarlılığı periyodik olarak standart Cu(II) çözeltisi ile kontrol edilmiştir. Deneyler en az 3 kez tekrar edilmiştir. Güven aralığı %95 olarak alınmıştır. Her bir veri seti için ortalama değerler ve standart sapmayı hesaplamak üzere standart istatistiksel yöntemler uygulanmıştır. Tanık değerden farklandırılabilen sinyale karşılık gelen derişim, yöntemin tespit edebildiğı en düşük derişimdir. Bir analitik yöntem, ne kadar düşük derişimi tespit edebiliyorsa o kadar yeterli görünmektedir. Cu(II)-MIP QCM sensörün Tespit Limiti (LOD) ve Tayin Limiti (LOQ) aşağıdaki denklemler kullanılarak hesaplanmıştır.

$$LOD = 3.3 \text{ s/m} \quad 3.1$$

$$LOQ = 10 \text{ s/m} \quad 3.2$$

Burada, s değeri standart sapmayı, m değeri ise kalibrasyon eğrisine karşılık gelen eğimi ifade etmektedir.

3.6 Cu(II) MIP Nanopartiküller ve QCM Sensör İle Seçicilik Çalışmaları

Bu bölüm, Cu(II)-MIP1, Cu(II)-MIP2 ve NIP nanopartiküllerin QCM sensör yüzeyinde Cu(II) iyonlarının seçici olarak bağlanması için yapılan çalışmaları içermektedir. MIP ve NIP nanopartiküller ile QCM sensörün seçiciliğinin incelenmesi için 100 ppm derişiminde yarışmacı iyonların [nikel (Ni), kobalt (Co), çinko (Zn) ve demir (Fe)] +2 değerkteki çözeltileri hazırlanmıştır. Bu iyonların tercih edilmesinin sebebi ise iyon çaplarının ve yüklerinin benzerlik göstermesidir. Hazırlanan yarışmacı iyon çözeltileri Cu(II)-MIP nanopartikül içeren QCM çip yüzeyinden geçirilmiştir. Rezonans frekansındaki kayma (Δf) ile bağlanan ve desorbe olan yarışmacı iyonlarının kütle değışimi (Δm) arasındaki ilişki Sauerbrey denkleminde (Denklem 2.1) göre belirlenmiştir. Alınan kinetik veriler RQCM (Maxtek) yazılımı ile analiz edilmiştir. Cu(II) iyonlarının yarışmacı iyonlara göre seçicilik katsayıları (K) ve aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır.

$$K = \Delta m_{Cu(II)} / \Delta m_{Yarışmacı} \quad 3.3$$

Cu(II)-MIP nanopartiküllerin NIP nanopartiküllere göre bağıl seçiciliğinin belirlenmesi için ise Denklem 3.8 kullanılmıştır.

$$K' = K_{MIP} / K_{NIP} \quad 3.4$$

3.7 Cu(II) MIP QCM Sensörün Tekrar Kullanılabilirliği

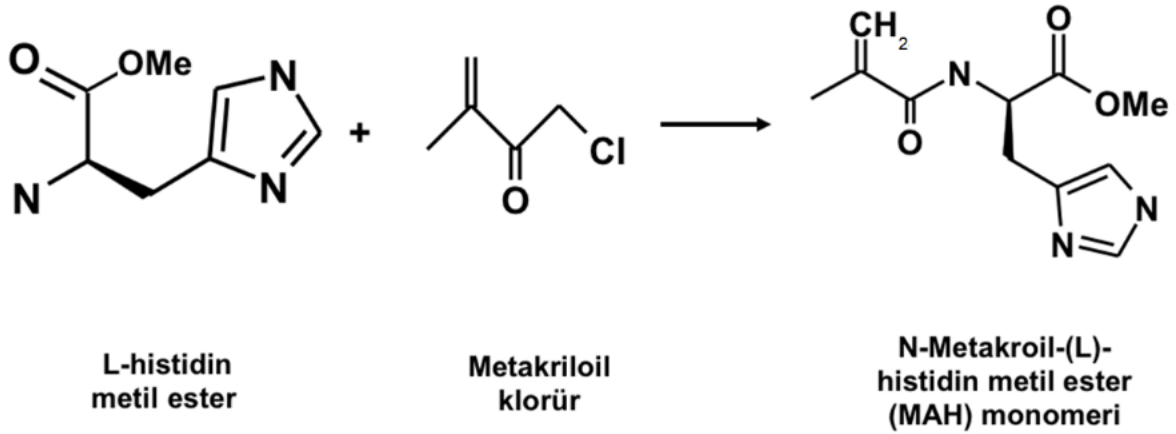
Cu(II)-MIP nanopartiküllerin QCM sensör çip yüzeyinde tekrar kullanılabilirliğinin araştırılması için 1ppm Cu(II) iyonları içeren sulu çözeltisi ile ard arda 5 kez tekrarlanan bağlanma ve desorpsiyon çalışması yapılmıştır. Buna göre; Cu(II)-MIP nanopartiküller içeren QCM çip yüzeyi 3 dakika boyunca pH 4 tampon çözeltisi ile kararlı hale getirilip, 5 dakika süre ile 1ppm Cu(II) çözeltisi ile etkileştirilmiş, hemen ardından 2 dakika boyunca desorpsiyon çözeltisi (1.0 M EDTA) ile desorbe edilmiştir. Her bir döngüde, sistemin aynı frekans değeriine ulaşp ulaşmadığı değerkendirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Sentez ve Karakterizasyon Çalışmaları

4.1.1 MAH Monomeri ve MAH-Cu Monomer Kompleksi

N-Metakroil-(L)-histidin metil ester (MAH) monomeri, L-histidin metil ester ve metakroil klorür reaksiyonu sonucu ürün olarak oluşmuştur (Şekil 4.1).

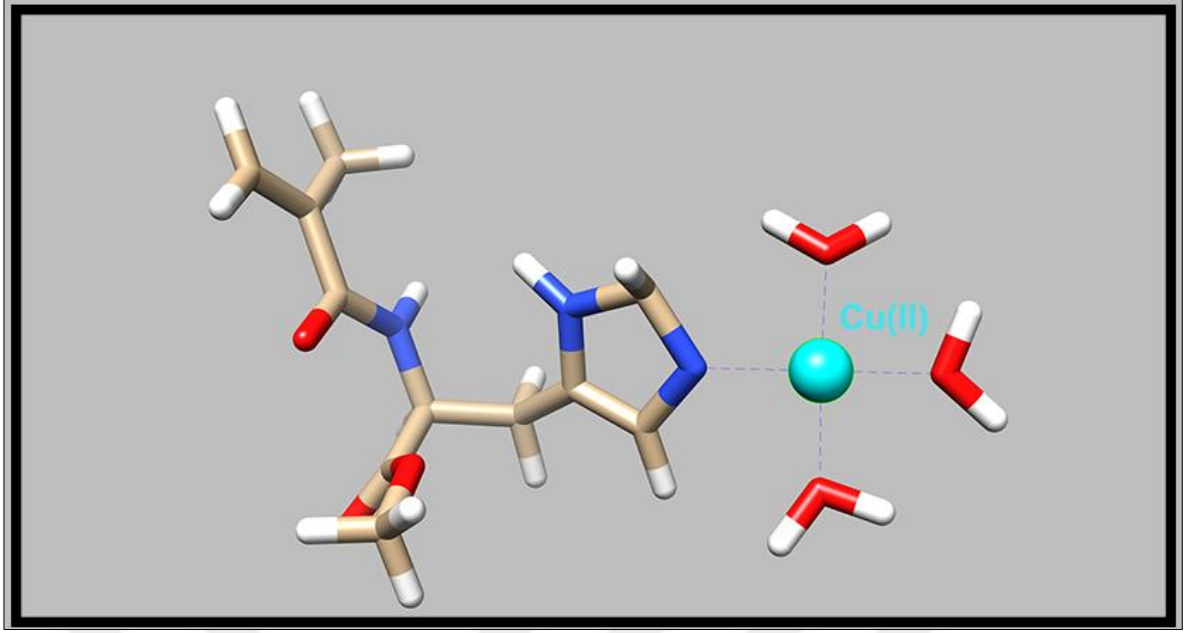


Şekil 4.1 MAH monomeri Sentezi

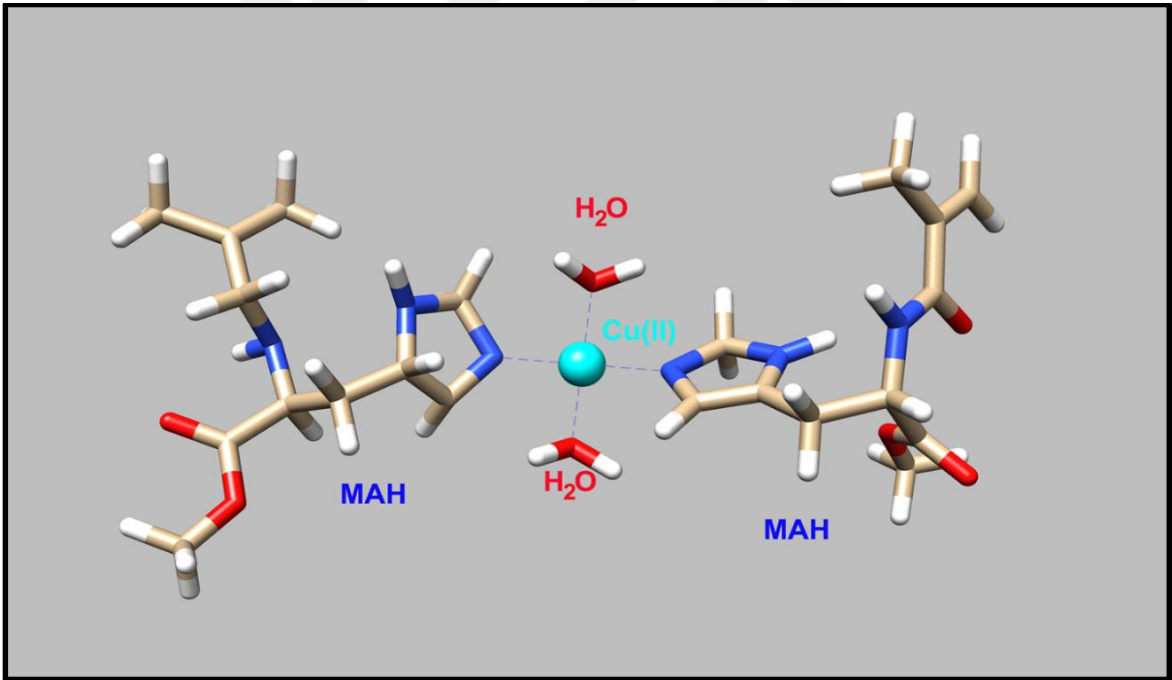
Elde edilen MAH monomeri 2 farklı mol oranında (2:1 ve 1:1 MAH-Cu(II) mol oranı) Cu(II) iyonları ile kompleks oluşturmuştur.

Lewis asitleri olarak bilinen ve elektron çifti kabul edilen Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , gibi geçiş metal iyonları, şelat oluşturuvcu bileşiklerde bulunan (N, S, O) gibi elektron verici gruplar ile koordinasyon bağı yapabilirler. Geride kalan metal koordinasyon bölgeleri normalde su molekülleri tarafından tutulur [59]. Bu çalışmada, MAH monomeri ile Cu(II) iyonları arasındaki etkileşim L-histidin amino asidinin imidazol yan zincirinde yer alan amid grupları üzerinden gerçekleşmektedir.

Şekil 4.2 ve Şekil 4.3, MAH monomerinin imidazol halkasında yer alan amid grubu ile Cu(II) iyonları arasındaki koordine kovalent metal şelasyonunu göstermektedir. Şekil 4.2, 1:1 MAH-Cu(II) mol oranının, Şekil 4.3 ise, 2:1 MAH-Cu(II) mol oranının moleküler yapısını göstermektedir.



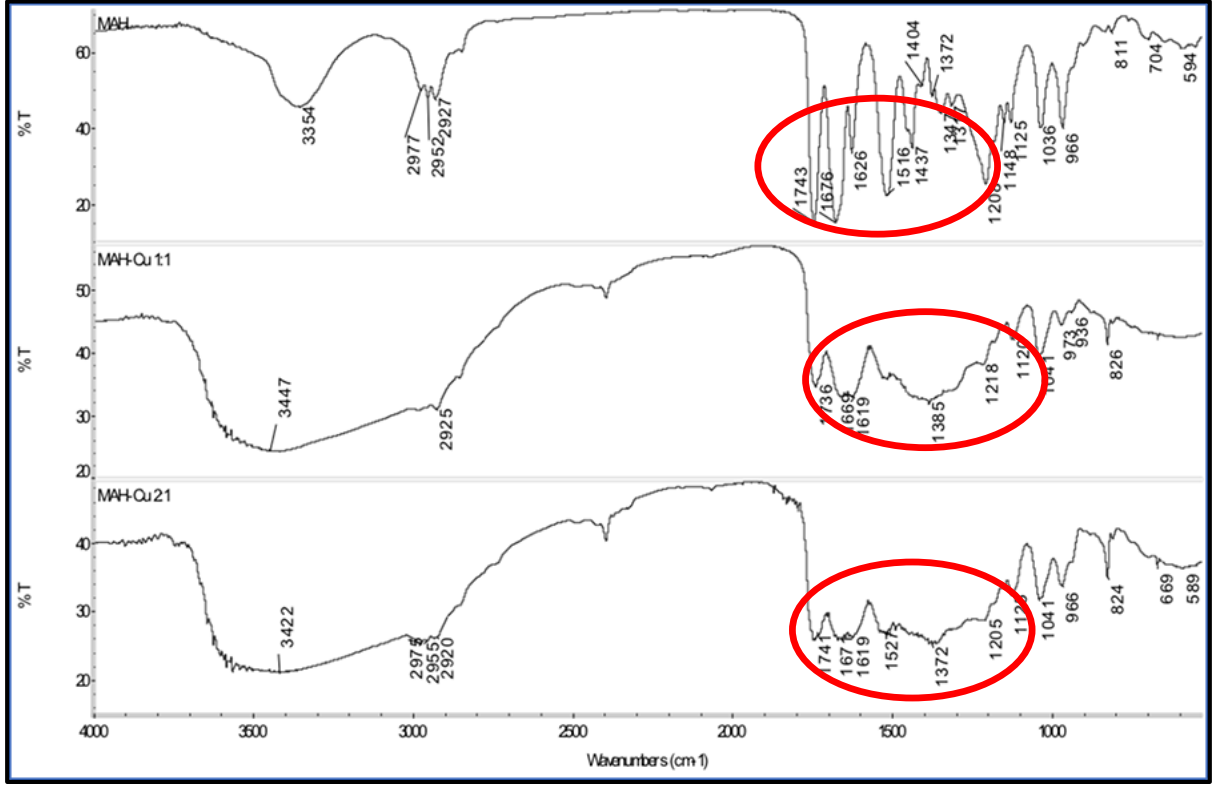
Şekil 4.2 MAH-Cu(II) monomer kompleksi (1:1 mol oranı). Moleküler yapı Avogadro programı ile optimize edilmiştir.



Şekil 4.3 MAH-Cu(II) monomer kompleksi (2:1 mol oranı). Moleküler yapı Avogadro programı ile optimize edilmiştir.

MAH monomeri, MAH-Cu(II) kompleks monomerlerinin yapısal karakterizasyonu FTIR ile yapılmıştır. Şekil 4.3'de MAH monomerine ait karakteristik pikler; OH (3354 cm^{-1}), C-C gerilme (2997 , 2952 ve 2927 cm^{-1}), C=O gerilme (1743 cm^{-1}) ve imidazol gruplarına ait amid I, II, III (1676 , 1516 ve 1437 cm^{-1})'de görülmektedir. MAH-Cu(II)

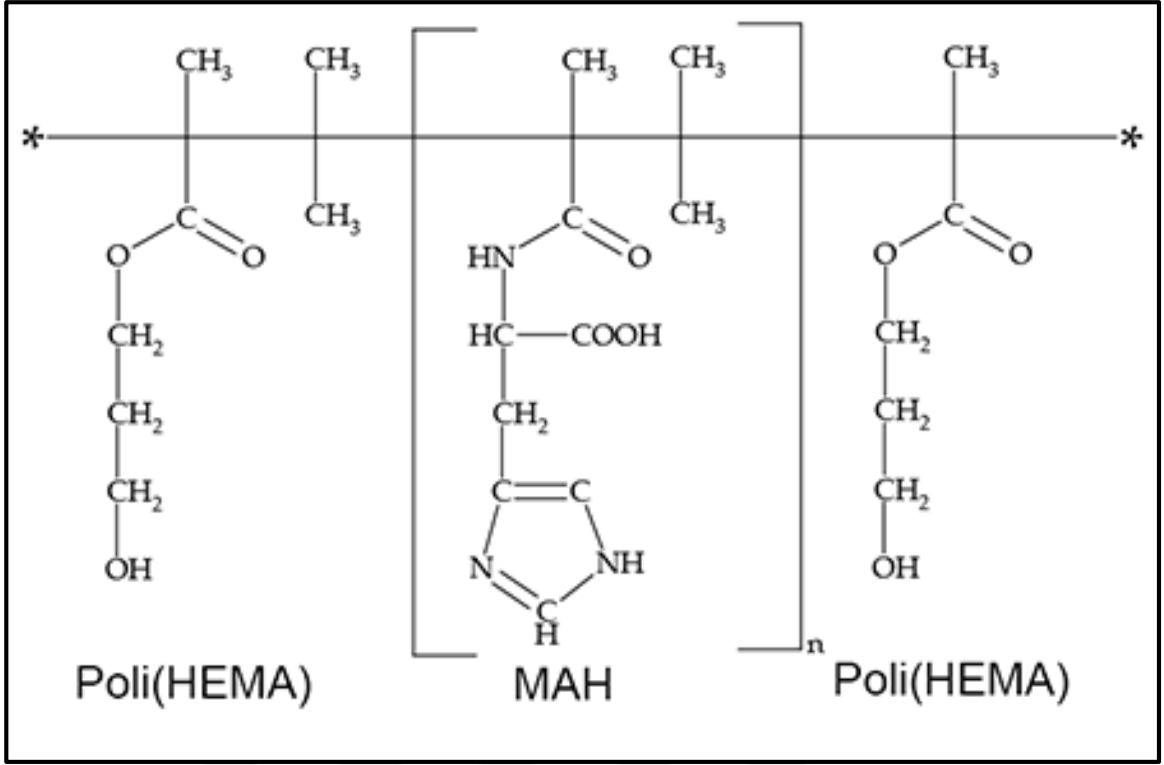
kompleks monomerlerinin oluşumu bu amid gruplarına ait piklerin bağ oluşumu sonucu genişlemesi ve kaybolmasıyla karakterize edilmektedir. Buna ek olarak, 2:1 oranındaki MAH-Cu(II) kompleks monomerlerinde bu gruplara ait piklerin daha yoğun olmasından dolayı, piklerde daha çok genişleme ve kaybolma görülmüştür.



Şekil 4.4 MAH monomeri, MAH-Cu(II) kompleks monomerlerinin FTIR spektrumu
Oluşan MAH-Cu(II) kompleksleri, daha sonra Cu(II)-MIP nanopartiküllerin sentezlenmesinde kullanılmıştır.

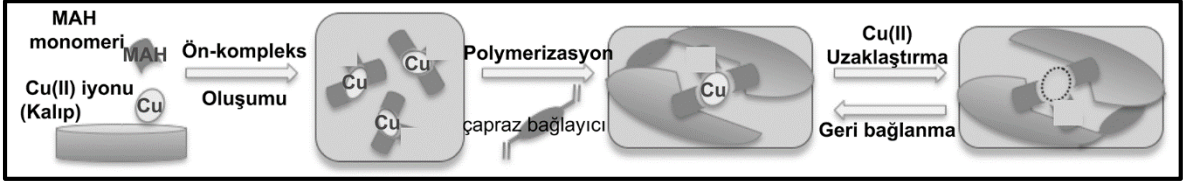
4.1.2 Cu(II)-MIP ve NIP Nanopartiküller

Cu(II)-MIP nanopartiküller, moleküler baskılama yönteminin prensibine göre sentezlenmiştir. Buna göre, polimerizasyondan önce, kalıp olarak kullanılan Cu(II) iyonları fonksiyonel monomer olan MAH monomeri ile kompleks oluşturmuştur. Polimerizasyon aşaması, çapraz bağlayıcı (EGDMA), temel monomer (HEMA) ve fonksiyonel monomer-kalıp [MAH-Cu(II)] varlığında gerçekleşmiştir. Şekil 4.5, MAH monomeri içeren pHEMA polimerini şematik olarak göstermektedir.



Şekil 4.5 MAH monomeri içeren pHEMA polimeri

Polimerizasyondan sonra, kalıp molekül Cu(II) iyonları uzaklaştırılarak, hedef molekül Cu(II) iyonlarına özgü yapısal ve şekil hafızasına sahip boşluklar oluşturulmuştur (Şekil 4.6).



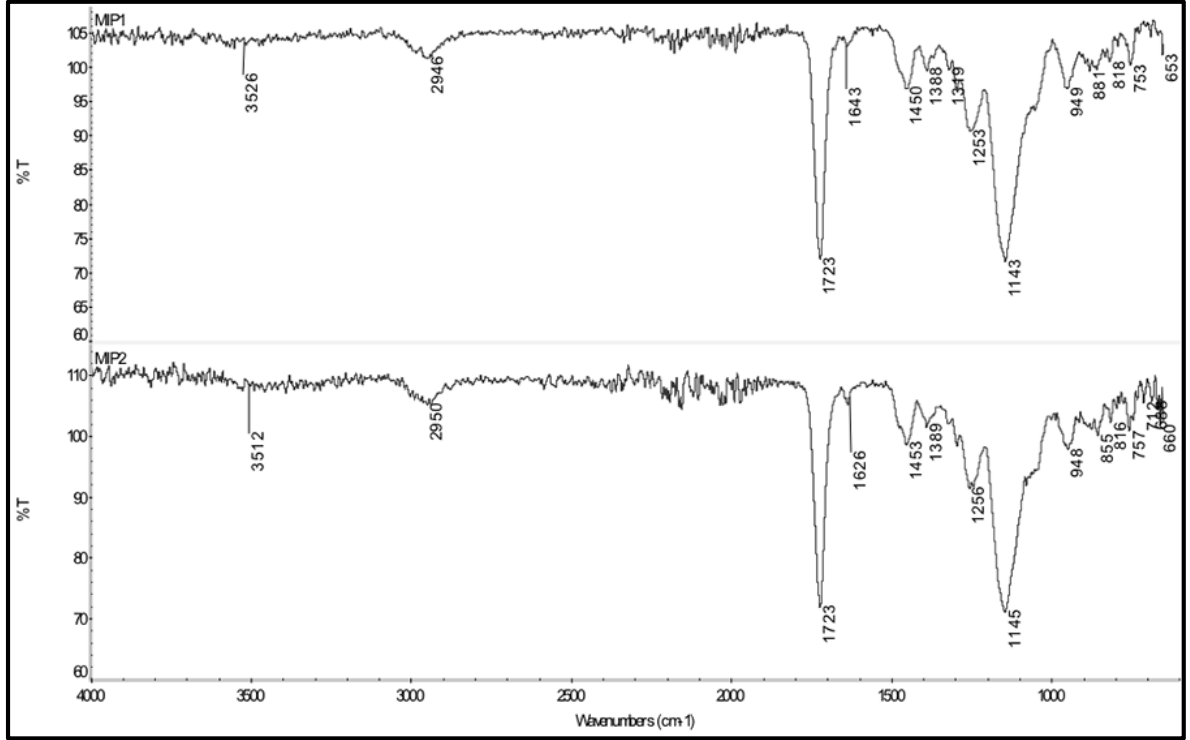
Şekil 4.6 Cu(II)-MIP Nanopartiküllerin sentez şeması

Seçicilik deneylerinde kontrol olarak kullanılan NIP nanopartiküller, kalıp Cu(II) iyonları olmadan sentezlenmiştir. Bu bölümde Cu(II)-MIP nanopartiküllerin ve Cu(II)-MIP QCM çipin, sırasıyla yapısal ve yüzey özellikleri incelenmiştir.

4.1.2.1 FTIR Analizi

Cu(II)-MIP1 ve MIP2 nanopartiküllerin yapısal karakterizasyonu için FTIR cihazı kullanılmıştır. Şekil 4.7’de Cu(II)-MIP1 ve MIP2 nanopartiküllerine ait karakteristik pikler; sırasıyla OH ($3526, 3512 \text{ cm}^{-1}$), C-C gerilme ($2946, 2950 \text{ cm}^{-1}$), C=O gerilme ($1723, 1723 \text{ cm}^{-1}$) ve imidazol gruplarına ait amid I ($1643, 1626 \text{ cm}^{-1}$), amid II ($1450, 1453 \text{ cm}^{-1}$), amid III ($1386, 1389 \text{ cm}^{-1}$)’de görülmektedir. Cu(II)-MIP1 ve MIP2

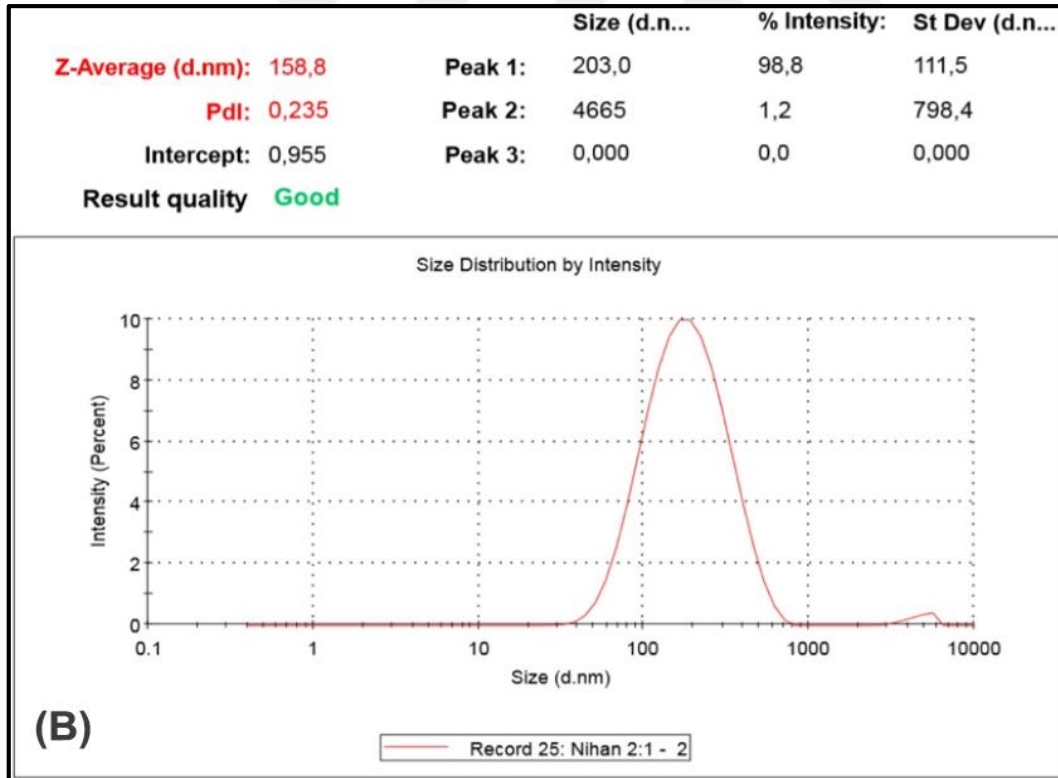
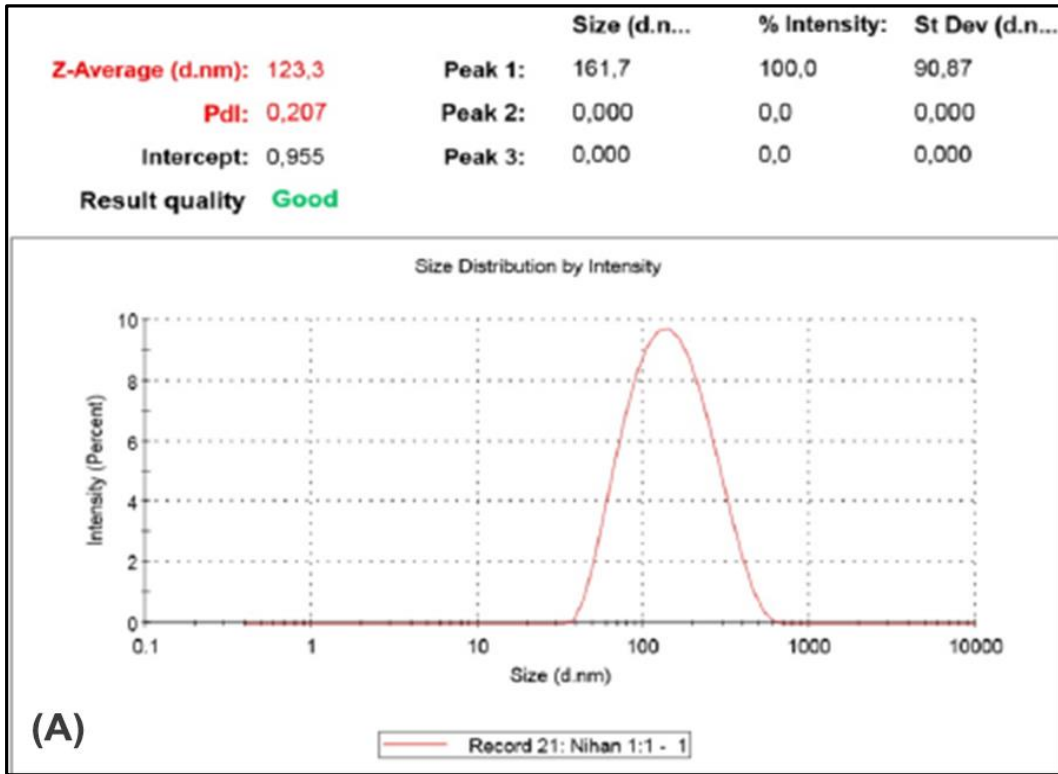
nanopartiküller MAH monomeri dışında amid grupları içermemektedir. Bu sebeple, 1600-1400 cm^{-1} band aralığında görülen amid gruplarının varlığı, Cu(II)-MIP1 ve MIP2 nanopartiküllerin yapısına MAH gruplarının girdiğini teyit etmektedir.



Şekil 4.7 Cu(II)-MIP1 ve MIP2 nanopartiküllerin FTIR spektrumu.

4.1.2.2 Boyut Analizi

Cu(II)-MIP1 ve MIP2 nanopartiküllerin boyut dağılımını belirlemek amacıyla, Zeta Sizer cihazı kullanılmıştır. Alınan sonuçlara göre, 1 mg/mL sulu çözeltilerinde MIP nanopartiküllerin boyutları 100-150 nm aralığında görülmektedir (Şekil 4.8). Zeta Sizer ile boyut analizinde nanopartiküller sulu çözelti içerisinde olduğu için nanopartiküller şişmiş durumdadır. Bu şişkinlik partiküllerin boyutunda 20-50nm aralığında değişimine sebep olmaktadır.

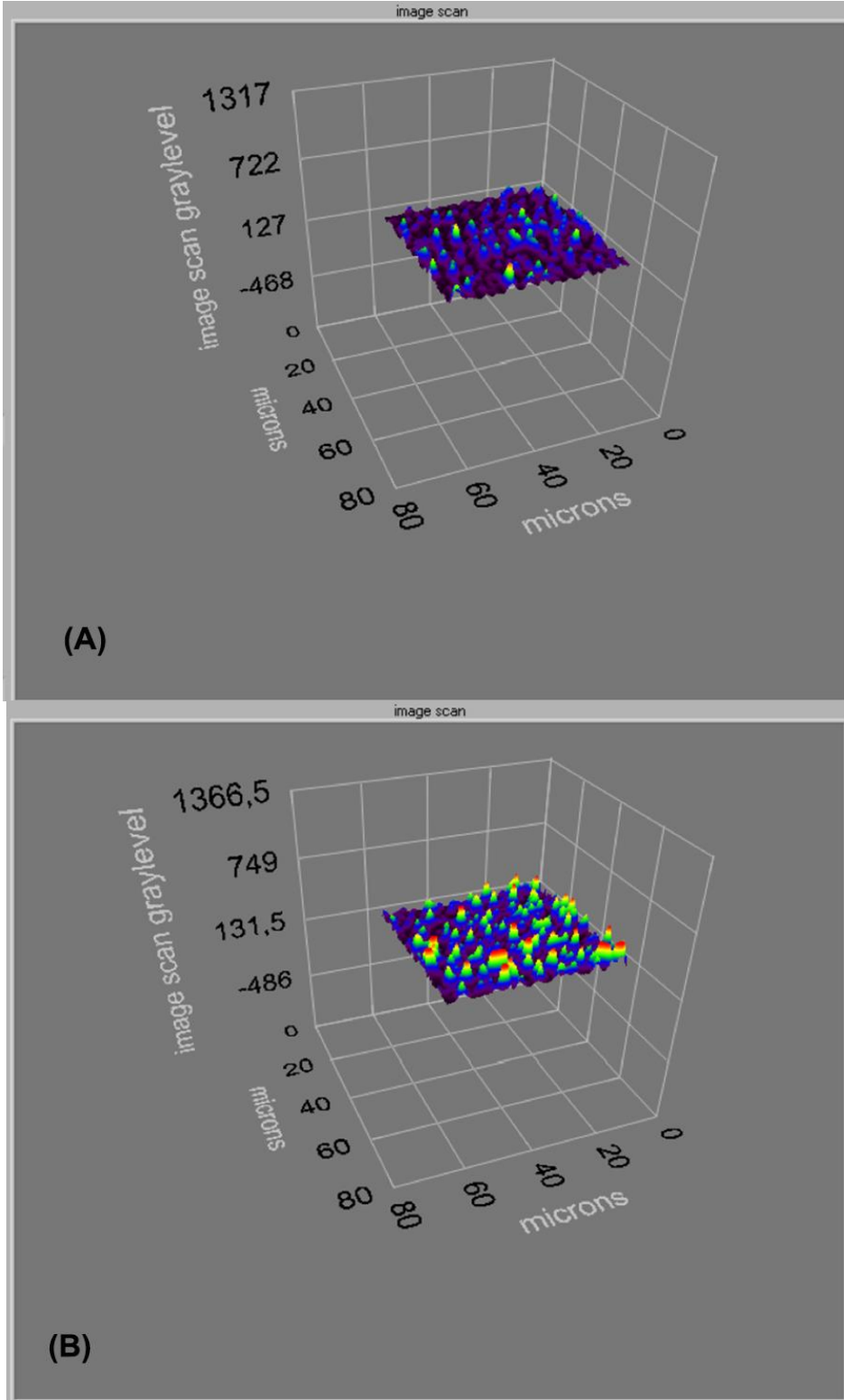


Şekil 4.8 Cu(II)-MIP1 (A) ve MIP2 (B) nanopartiküllerin Zeta Boyut Analizi

4.1.2.3 Elipsometre ile Analiz

Elipsometre cihazı QCM sensör çipin yüzey kalınlığını ortalama olarak ölçmek amacıyla kullanılmıştır. 532 nm dalga boyunda 62°'lik açıda elipsometrik ölçümler

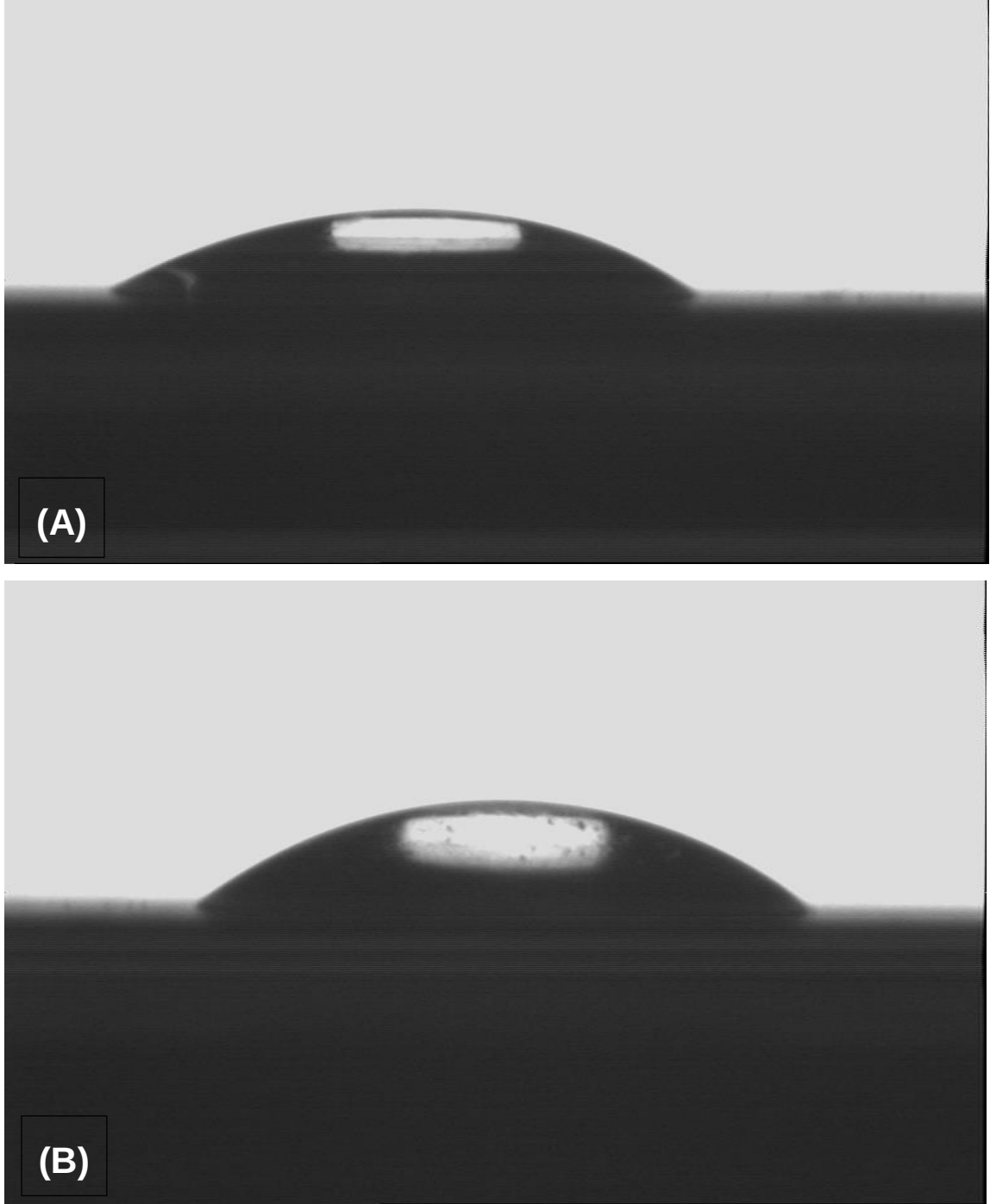
alınmıştır. Cu(II)-MIP1 ve MIP2 QCM sensörün ortalama kalınlık değeri sırasıyla 15.0 ± 0.04 nm ve 12.0 ± 0.04 nm olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.9 Cu(II)-MIP1 (A) ve MIP2 (B) nanopartiküllerin Elipsometre ile Analizi.

4.1.2.4 Temas Açısı Ölçümü

Cu(II)-MIP1 ve MIP2 nanopartiküllerin QCM sensör çip yüzeyi ile temas ettiği açığı ölçmek için Krüss DSA (Hamburg, Almanya) temas açısı cihazı ve DSA 2 yazılımı kullanılmıştır. QCM sensör çip yüzeyine 1 damla deiyonize su damlatılmıştır. Şekil 4.9 A ve B, 1:1 ve 2:1 mol oranında Cu(II)-MIP1 ve MIP2 nanopartikül içeren QCM sensör çip yüzeyindeki temas açısını göstermektedir



Şekil 4.10 Cu(II)-MIP1 (A) ve MIP2 (B) nanopartiküllerin temas açısı ölçümü.

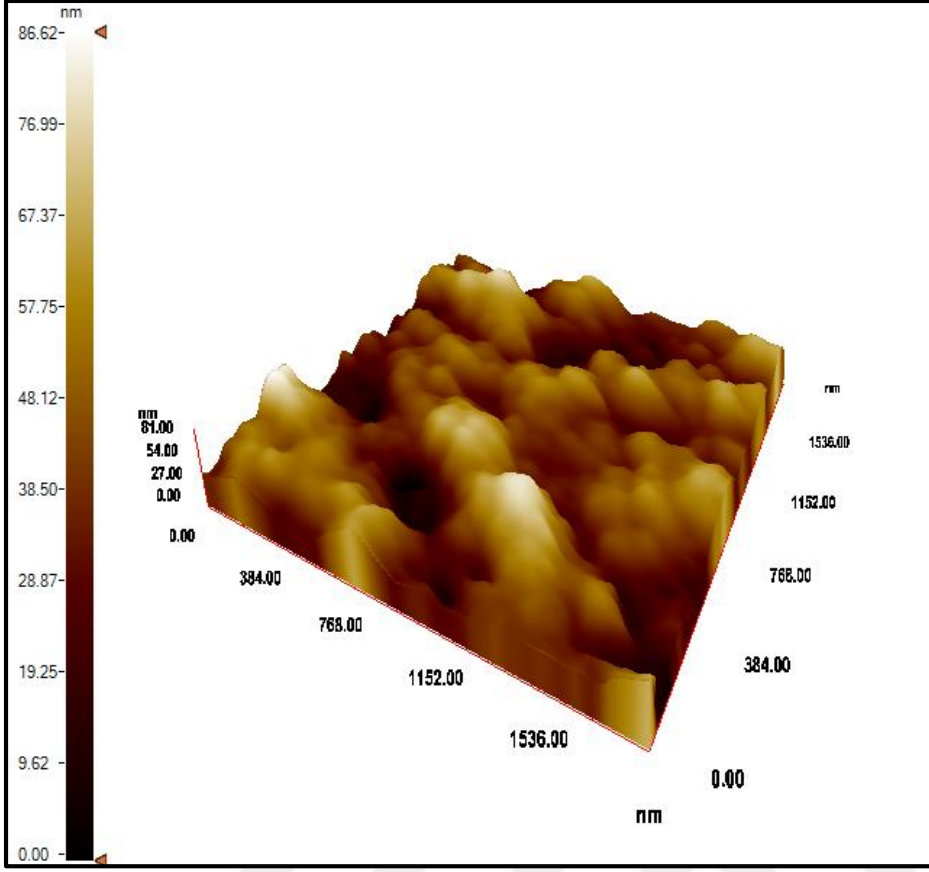
1:1 mol oranında Cu(II)-MIP1 nanopartikül içeren QCM sensör çip yüzeyindeki temas açısı $41,8^\circ$; 2:1 mol oranında Cu(II)-MIP1 nanopartikül içeren QCM sensör çip yüzeyindeki temas açısı $46,9^\circ$ olarak ölçülmüştür. Çizelge 4.1, nanopartikül içermeyen QCM sensör çip yüzeyindeki ve Cu(II)-MIP1, MIP2 nanopartikül içeren QCM sensör çip yüzeyindeki temas açısı değerlerini göstermektedir. Cu(II)-MIP1, MIP2 nanopartikül içeren QCM sensör çip yüzeyindeki temas açısı değerleri, nanopartikül içermeyen temas açısı değerlerine göre oldukça azalmıştır. Bu sonuçlar; Cu(II)-MIP1 ve MIP2 QCM sensör çip yüzeyinin, HEMA monomerinin zengin hidroksil (OH) grupları nedeniyle oldukça hidrofilik özellikte olduğunu, dolayısıyla çip yüzeyinde istenen nanopartiküllerin bulunduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.1 QCM sensör çip yüzeyi temas açıları

QCM sensör çip yüzeyi	Yüzey Temas Açısı ($^\circ$)
Nanopartikül içermeyen	85,4
Cu(II)-MIP1	41,8
Cu(II)-MIP2	46,9

4.1.2.5 Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) ile Görüntüleme

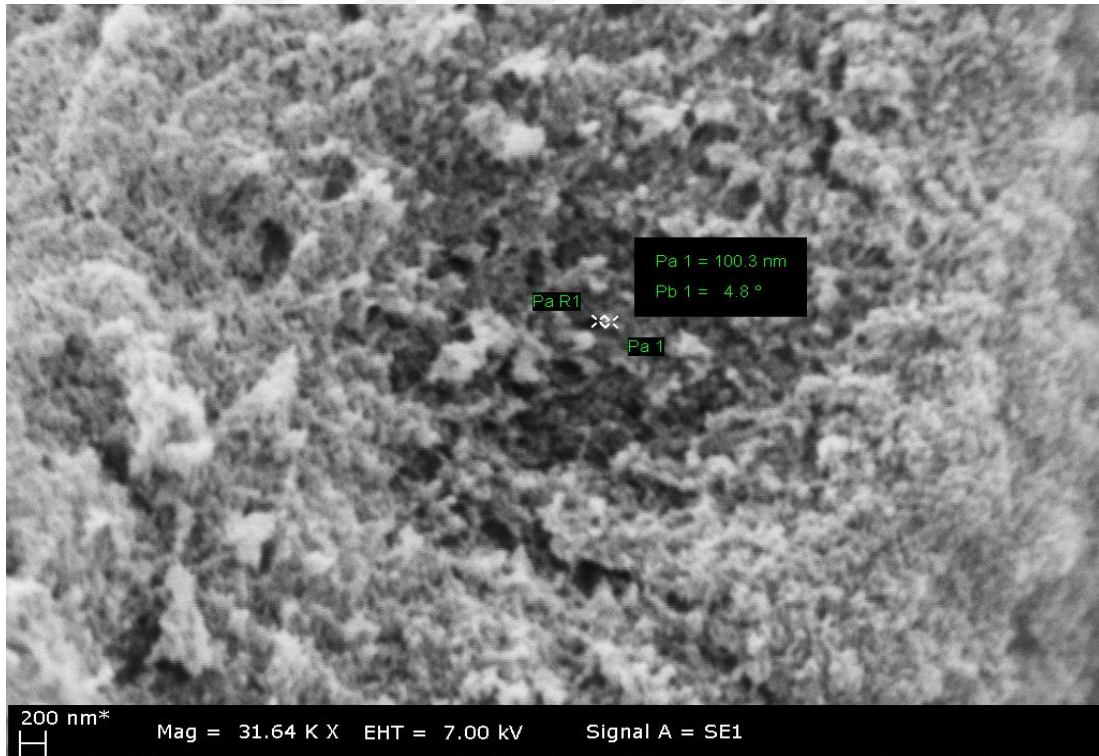
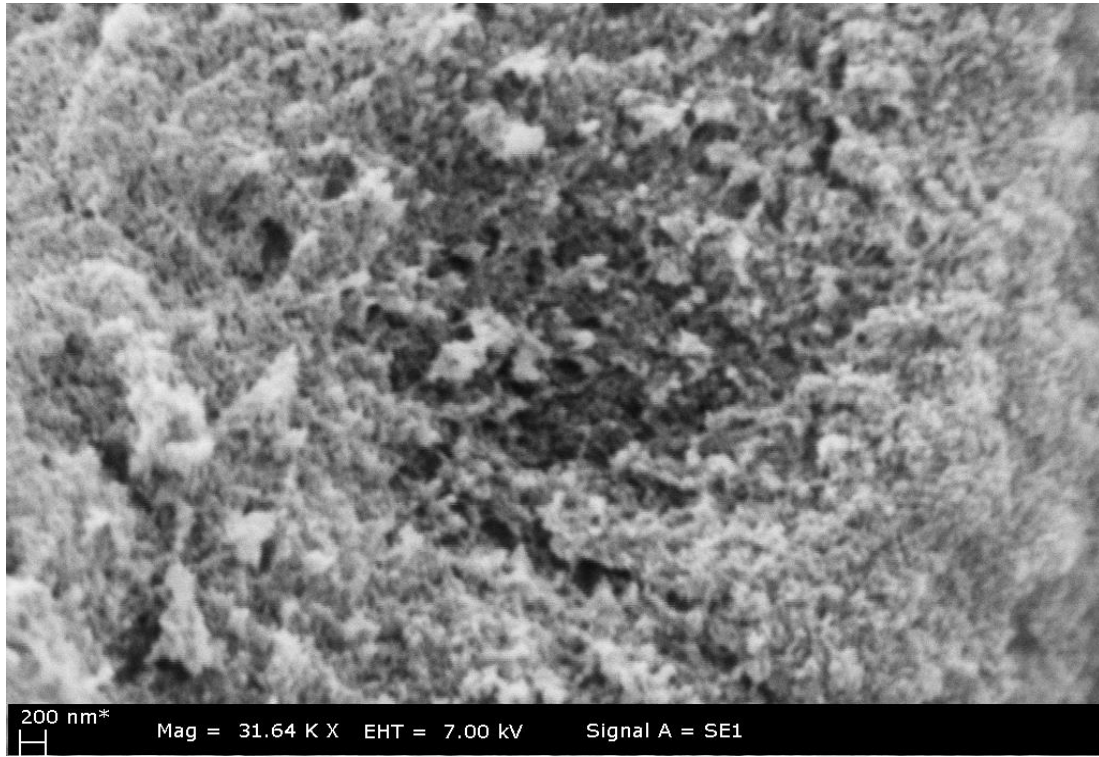
Şekil 4.11. Cu(II)-MIP2 nanopartiküllerin yarı degen modda 3-boyutlu AFM görüntüsünü vermektedir (Teknik nedenlerden dolayı Cu(II)-MIP1 nanopartiküllerin AFM görüntüsü çekilememiştir). Asidik pirana çözeltisi ile temizlenmiş, nanopartikül içermeyen QCM sensör çipin yüzey derinliği 10 nm'dir. AFM görüntüsünden alınan sonuçlara göre, Cu(II)-MIP2 nanopartiküllerin ortalama 81 nm'dir. Şekil 4.11'daki 3-boyutlu AFM görüntüsünde, QCM çip yüzeyinde Cu(II)-MIP2 nanopartiküllerin varlığı açıkça görülmektedir.



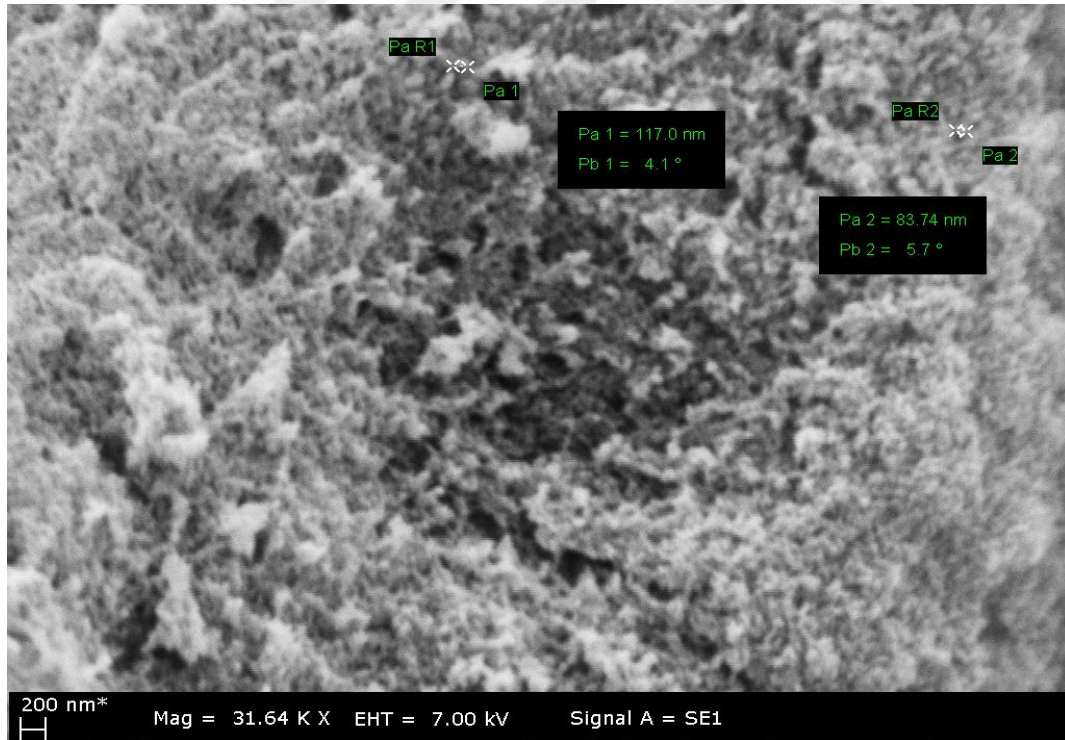
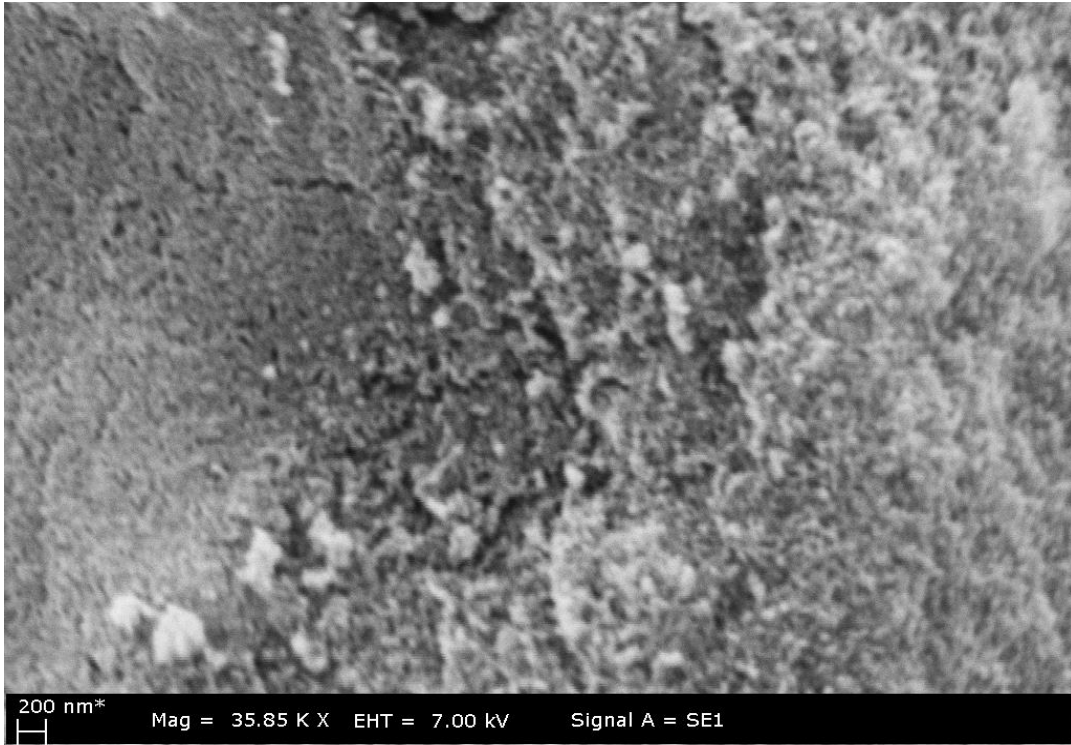
Şekil 4.11 Cu(II)- MIP2 nanopartiküllerin 3-boyutlu AFM görüntüsü.

4.1.2.6 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Görüntüleme

Cu(II)-MIP1 ve MIP2 nanopartiküllerin yüzey yapısı ve ortalama boyut çapları SEM ile görüntülenmiştir. Cu(II)-MIP1 ve MIP2 nanopartiküller liyofilizatörde kurutulmuş ve görüntü alınmıştır. Şekil 4.12 ve Şekil 4.13, sırasıyla Cu(II)-MIP1 ve MIP2 nanopartiküllerin yüzey yapısını göstermektedir. SEM görüntülerinden alınan sonuçlara göre, Cu(II)-MIP nanopartiküllerin ortalama boyut çapları 80 nm ve 120 nm aralığında değişmektedir. Bu sonuçlar, AFM ve Zeta boyut dağılımı ölçümlerinden alınan sonuçlar ile uyumluluk göstermektedir.



Şekil 4.12 Cu(II)-MIP1 nanopartiküllerin SEM görüntüsü



Şekil 4.13 Cu(II)- MIP2 nanopartiküllerin SEM görüntüsü.

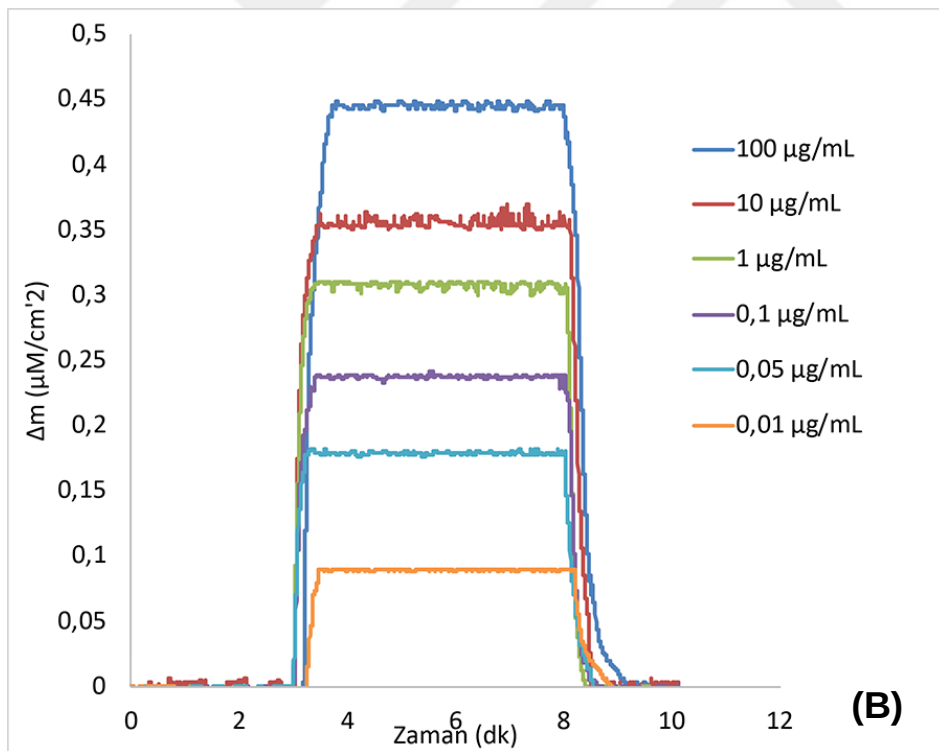
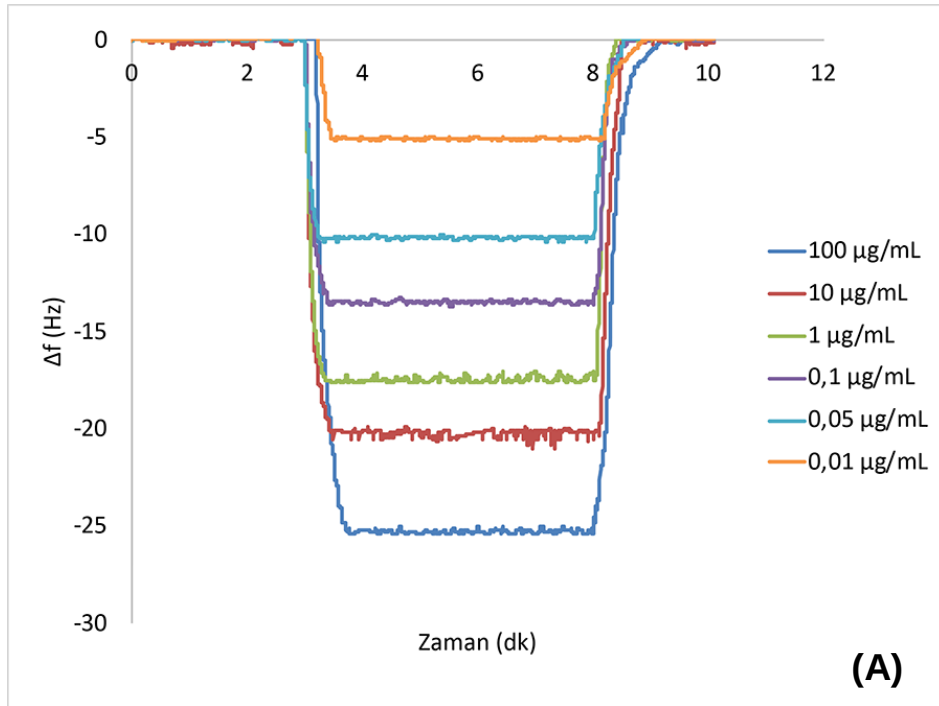
4.2 Cu(II)-MIP Nanopartiküller ve QCM Sensör ile Etkinlik Çalışmaları

Bu bölümde Cu(II)-MIP nanopartiküller kullanılarak QCM nanosensör hazırlanmıştır. 2 farklı mol oranında hazırlanan Cu(II)-MIP1 ve MIP2 nanopartiküller QCM sistemine uyarlanmıştır. Cu(II)-MIP QCM sensörünün Cu(II) derişimi

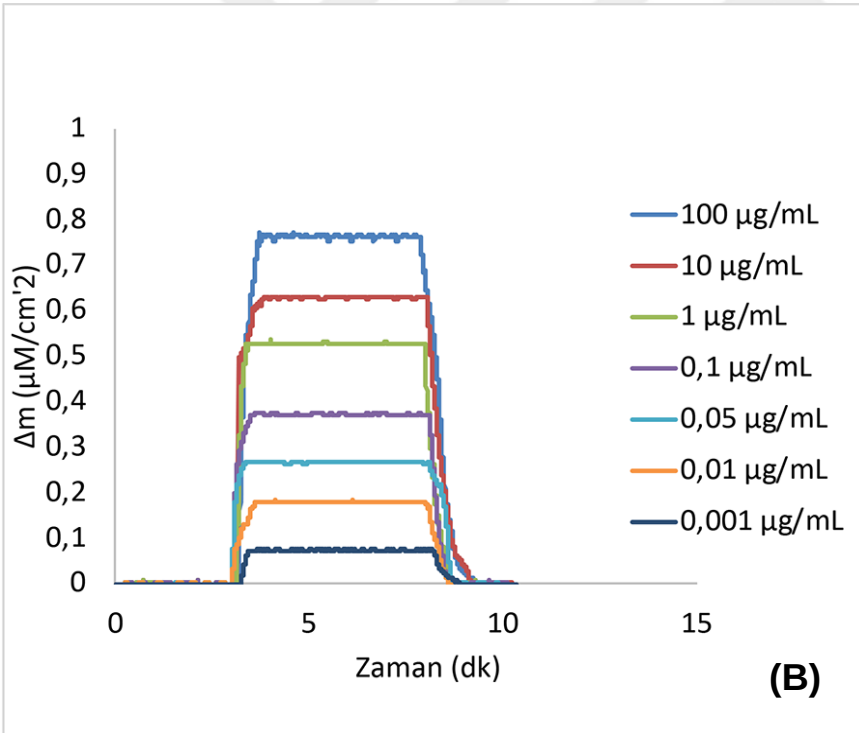
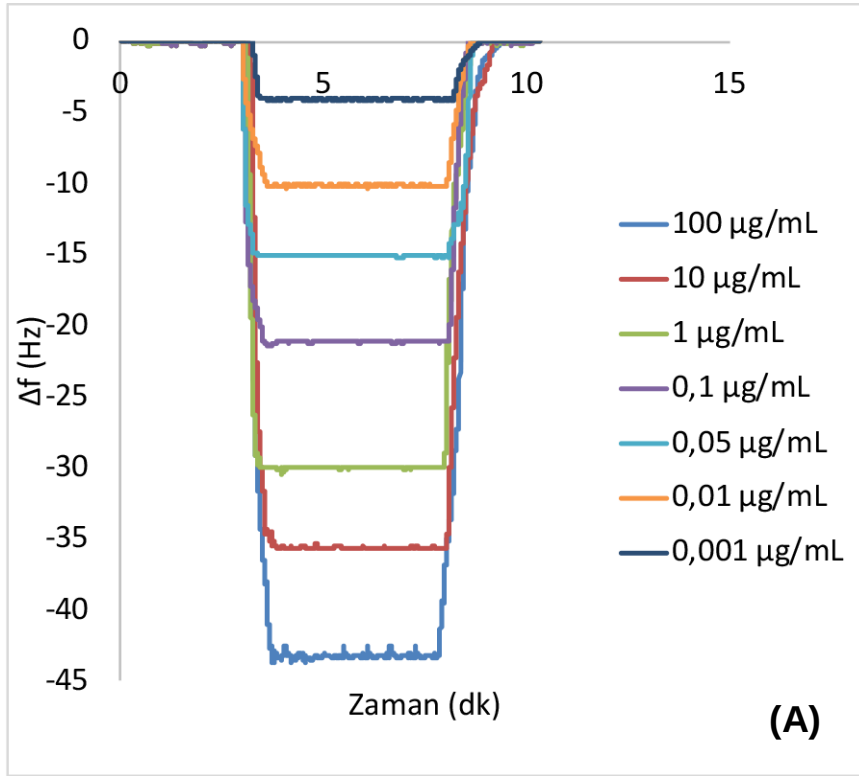
arasındaki ilişkinin değerlendirilebilmesi için farklı derişimlerde Cu(II) çözeltileri hazırlanmış peristaltik pompa yardımıyla QCM sensör sisteminden geçirilmiştir. Standard bir ölçümde; sistemden öncelikle 3 dakika boyunca pH 4 dengeleyici tampon, daha sonra sistem tekrar dengeye ulaşana kadar Cu(II) çözeltisi ve son aşamada 50 mM EDTA desorpsiyon çözeltisi kullanılmıştır. Bilgisayara bağlı olan sensör RQCM (Maxtek) yazılımı ile sistemden geçirilen farklı derişimlerin sensogramları elde edilmiştir.

Şekil 4.14 ve 4.15, sırasıyla, Cu(II)-MIP1 ve MIP2 nanopartiküllere ait farklı derişimlerde uygulanan Cu(II) çözeltilerinin zamana karşı Δf değışim değerlerini ve zamana karşı Δm değışim değerlerini göstermektedir. Şekillerden görüldüğü gibi, kütlenin kuvars yüzeye bağlanması ile kristalin salınım frekansı değışiminde azalma, kütle farkında belirgin bir artış gözlenmektedir.

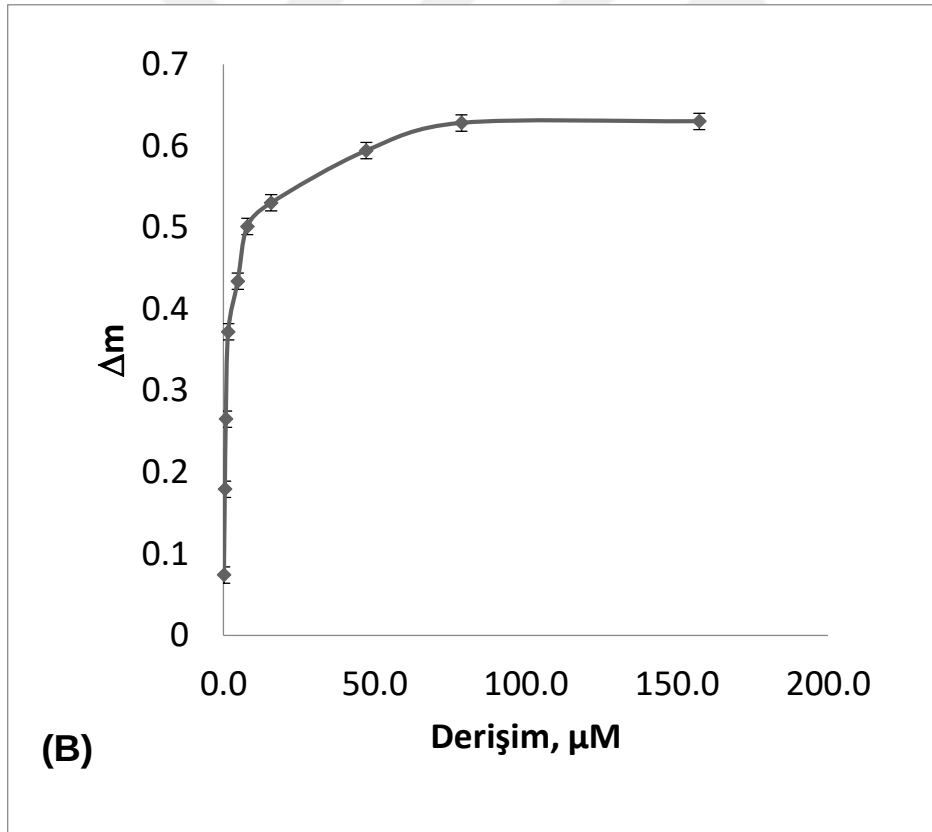
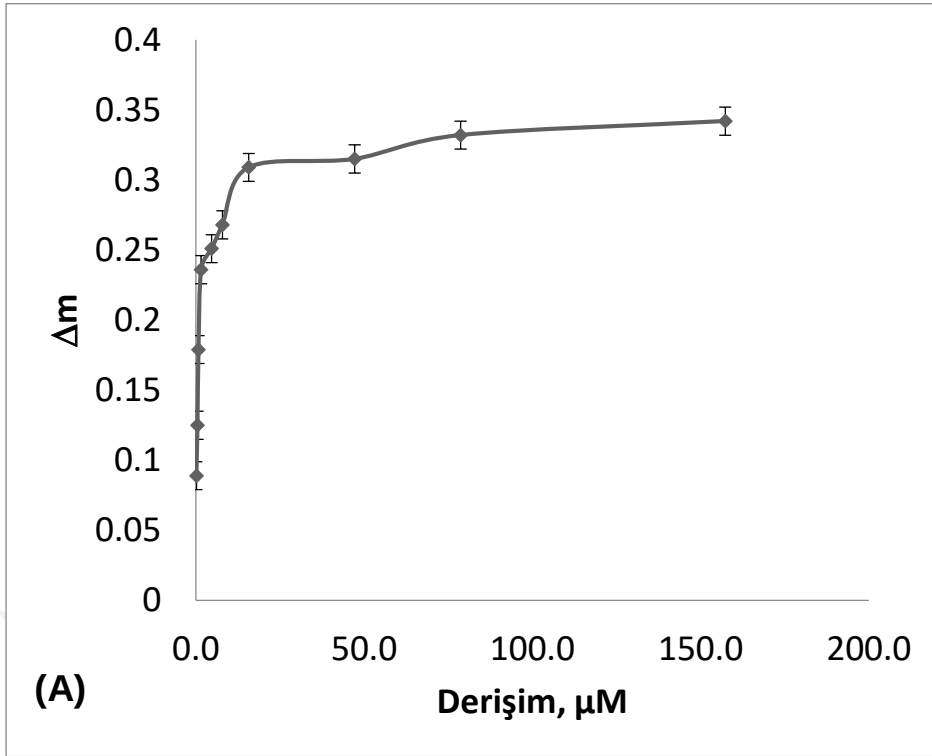
Cu(II)-MIP1 ve MIP2 QCM nanosensörün Δm değeri, Cu(II) iyonları derişimi arttıkça artmaktadır. Cu(II)-MIP1 QCM nanosensörün Δm değeri yaklaşık 15 μM 'da, Cu(II)-MIP2 QCM nanosensörün Δm değeri ise yaklaşık 78 μM 'da dengeye ulaşmıştır (Şekil 4.16).



Şekil 4.14 Cu(II)-MIP1 QCM sensörün salınım frekansı değişiminde (A) ve kütle farkına (B) karşı zaman grafiği



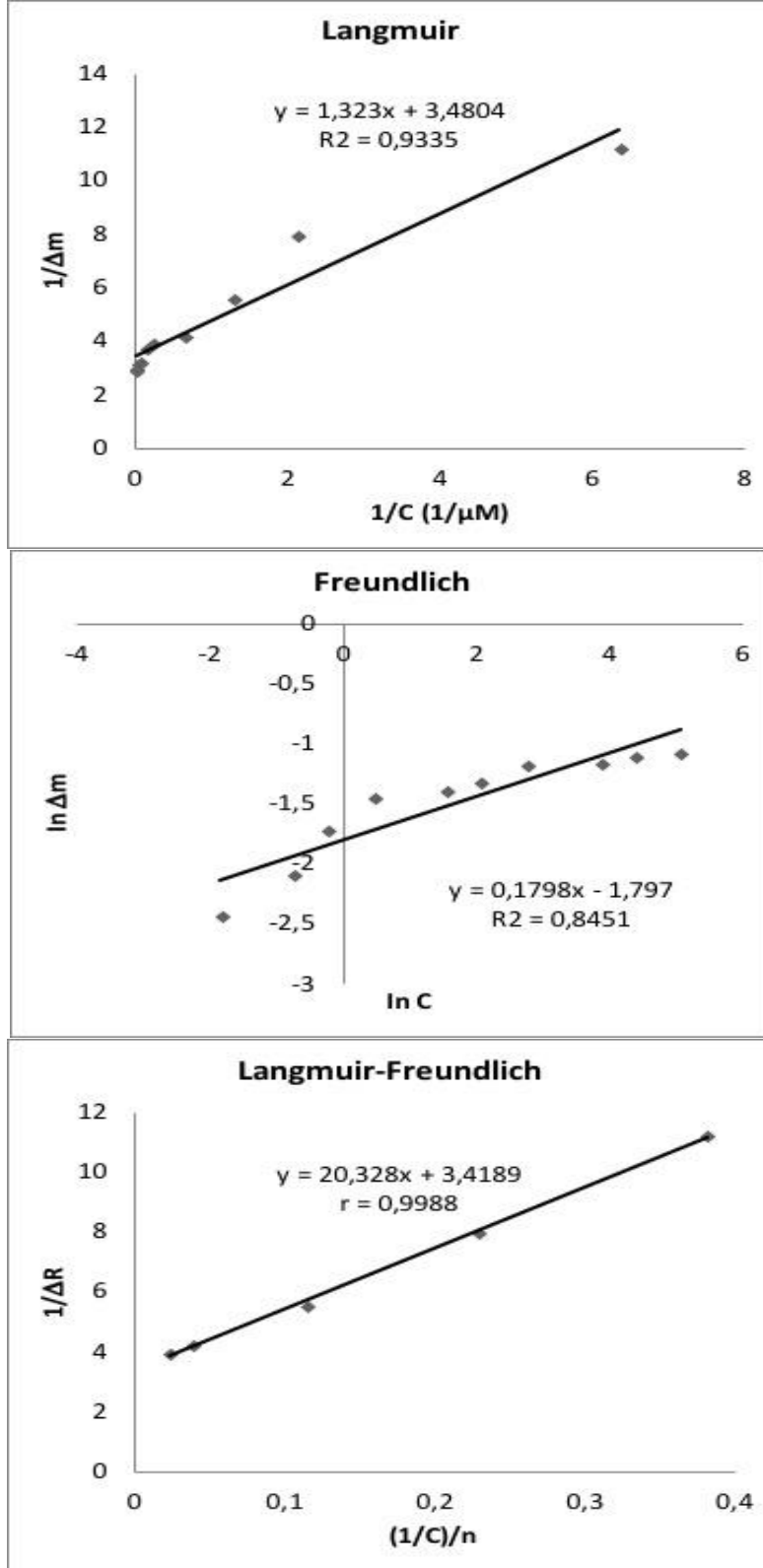
Şekil 4.15 Cu(II)-MIP2 QCM sensörün salınım frekansı değişimine (A) ve kütle farkına (B) karşı zaman grafiği.



Şekil 4.16 Cu(II) derişiminin etkisi. (A) Cu(II)-MIP1 (B) Cu(II)-MIP2 QCM nanosensör.

4.2.1 Denge İzoterm Modelleri

Langmuir adsorpsiyon modeli homojen, Freundlich adsorpsiyon modeli ise heterojen bağlanma varsayımına dayanır. Langmuir modeli, moleküler baskılanmış polimerlerin kullanıldığı bağlanma izotermine yaygın olarak kullanılmıştır [60]. Langmuir modeli, genellikle tek tabakalı bir adsorpsiyon davranışını ifade etmektedir. Moleküler baskılanmış polimerlerin heterojen bağlanma bölgeleri de içerdiği son zamanlarda rapor edilmiştir [61] [62]. Freundlich adsorpsiyon modeli, özellikle düşük derişimlerde MIP sistemlerine uygunluk gösterebilmektedir [61]. Fakat bu model, yüksek derişim değerlerinde bazı sapmalar göstermektedir. Bu sapmaları engellemek için Langmuir-Freundlich ikili modeli kullanılabilir. Bu model, heterojenite olduğu durumda çok düşük derişimlerden doyunluğa kadar MIP sistemleriyle uygunluk göstermektedir (Wei ve ark., 2005). Şekil 17’de Langmuir, Freundlich ve Langmuir-Freundlich modellerine ait grafikler verilmiştir.



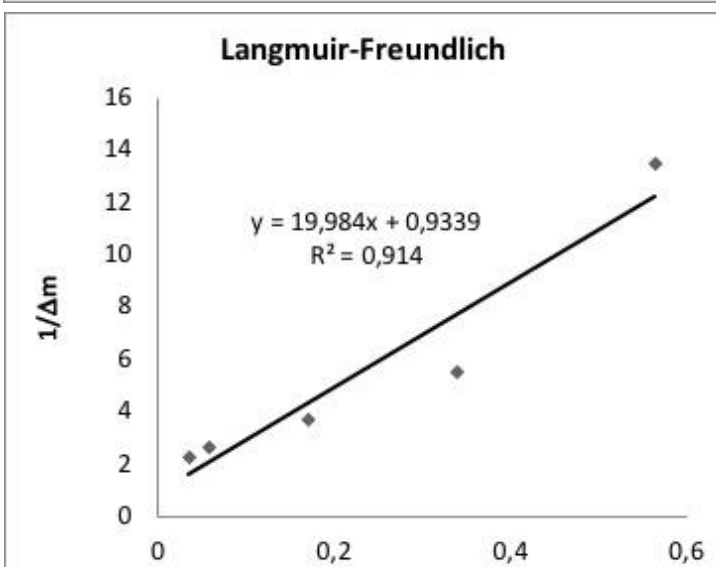
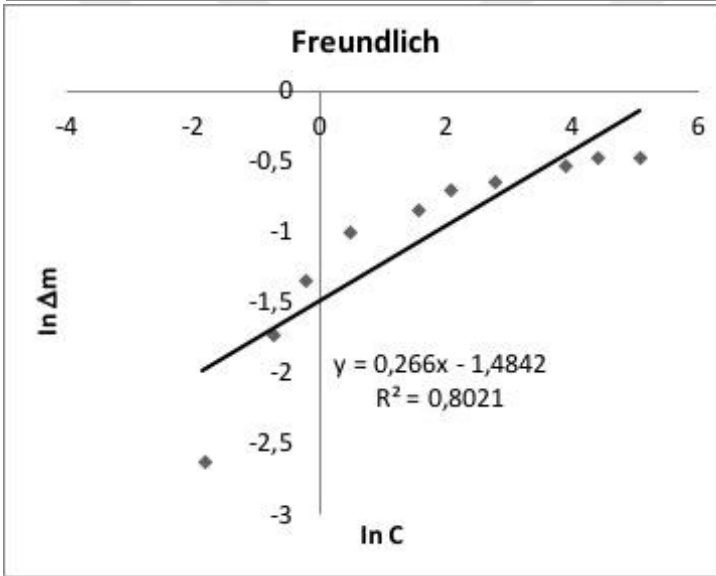
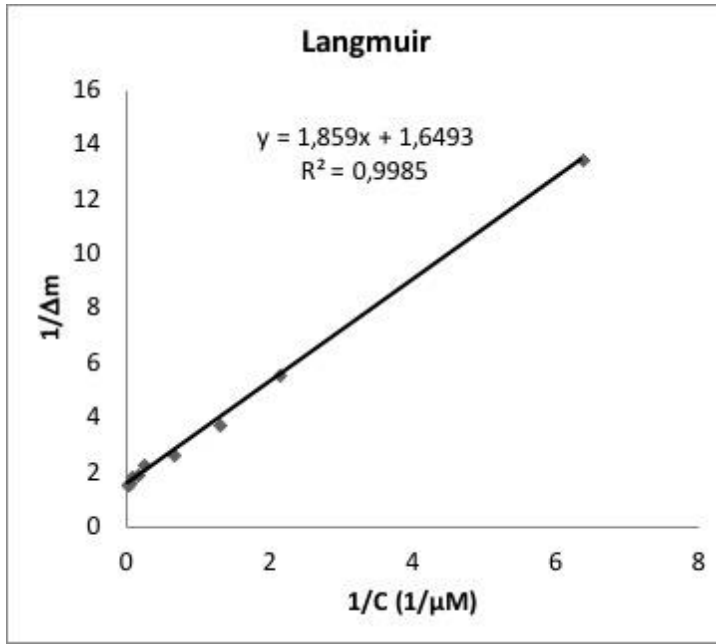
Şekil 4.17 QCM nanosensör adsorpsiyon modelleri.
(a) Langmuir; (b) Freundlich; (c) Langmuir-Freundlich.

Her üç izoterm modelinden elde edilen Cu(II)-MIP1 QCM nanosensör sonuçları Çizelge 4.2’de özetlenmiştir.

Çizelge 4.2 Cu(II)-MIP1 QCM nanosensör Langmuir, Freundlich ve Langmuir-Freundlich değerleri.

Langmuir		Freundlich		Langmuir-Freundlich	
Δm_{maks}	0,287	Δm_{maks}	0,165	Δm_{maks}	0,292
K_D (μM)	0,380	$1/n$	0,179	K_D (μM)	5,945
K_A ($1/\mu M$)	2,630	R^2	0.845	K_A ($1/\mu M$)	0,168
R^2	0,933			R^2	0,998
Deneysel Δm_{maks}	0,309				

Cu(II)-MIP1 QCM nanosensöre ait Şekil 4.17’da deneysel olarak elde edilen verilerden hesaplanan adsorpsiyon modellerinin doğrusallığı incelendiğinde Langmuir-Freundlich adsorpsiyon modelinin ($R^2 = 0.99$) daha uyumlu sonuçlar verdiği görülmektedir. Buna ek olarak, deneysel grafikten elde edilen $\Delta m_{maks.}$ değeri (0,309), Langmuir adsorpsiyon modelinde hesaplanan teorik $\Delta m_{maks.}$ değerine (0,292) en yakın sonuçtur. Bu sonuç; hazırlanan Cu(II)-MIP2 QCM nanosensör çip yüzeyindeki nanopartikül Cu(II) bağlanma bölgelerinin MIPlar için sıklıkla gözlenen hem heterojen hem de homojen dağılımlı olduğunu göstermektedir. Ayrıca, Langmuir-Freundlich denkleminde teorik olarak hesaplanan K_A ve K_D değerleri sırasıyla $0,168 \mu M^{-1}$ ve $5,945 \mu M$ olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.18 Cu(II)-MIP2 QCM nanosensör adsorpsiyon modelleri (a) Langmuir; (b) Freundlich; (c) Langmuir-Freundlich

Her üç izoterm modelinden elde edilen Cu(II)-MIP2 QCM nanosensör sonuçları Çizelge 4.3'de özetlenmiştir.

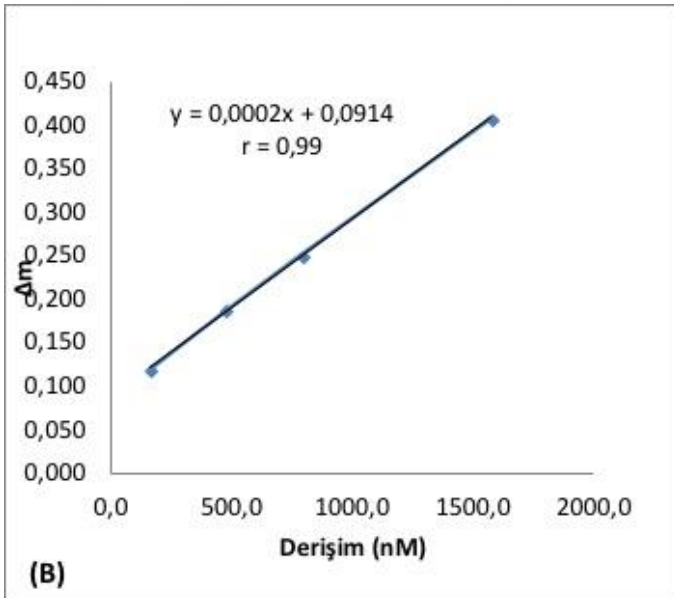
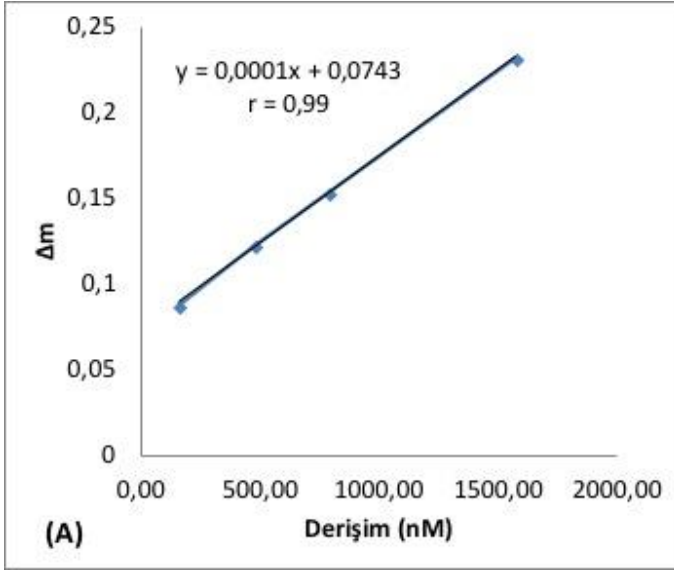
Çizelge 4.3 Cu(II)-MIP2 QCM nanosensör Langmuir, Freundlich ve Langmuir-Freundlich değerleri.

Langmuir		Freundlich		Langmuir-Freundlich	
Δm_{maks}	0,606	Δm_{maks}	0,226	Δm_{maks}	1,071
K_D (μM)	1,127	$1/n$	0,266	K_D (μM)	21,39
K_A ($1/\mu M$)	0,887	R^2	0.802	K_A ($1/\mu M$)	0,046
R^2	0,998			R^2	0,914
Deneysel Δm_{maks}	0,628				

Cu(II)-MIP2 QCM nanosensöre ait Şekil 4.18'da deneysel olarak elde edilen verilerden hesaplanan adsorpsiyon modellerinin doğrusallığı incelendiğinde Langmuir adsorpsiyon modelinin ($R^2 = 0.99$) daha uyumlu sonuçlar verdiği görülmektedir. Buna ek olarak, deneysel grafikten elde edilen $\Delta m_{maks.}$ değeri (0,628), Langmuir adsorpsiyon modelinde hesaplanan teorik $\Delta m_{maks.}$ değerine (0,606) en yakın sonuçtur. Bu sonuç; hazırlanan Cu(II)-MIP2 QCM nanosensör çip yüzeyindeki nanopartiküllerin Cu(II) bağlanma bölgelerinin homojen dağılımlı, tek tabakalı ve eş enerjili olduğunu göstermektedir. Ayrıca, Langmuir denkleminde teorik olarak hesaplanan K_A ve K_D değerleri sırasıyla $0,887 \mu M^{-1}$ ve $1,127 \mu M$ olarak hesaplanmıştır.

4.3 Cu(II)-MIP QCM Sensörün Tespit Limiti (LOD) ve Tayin Limiti (LOQ)

Cu(II)-MIP QCM nanosensör yöntemi ile Cu(II) iyonlarının gerçek zamanlı tayininde metot validasyonu yapılmıştır. Şekil 4.19'de, Cu(II)-MIP1 ve MIP2 QCM nanosensöre ait $0,15-1,57 \mu M$ aralığındaki verilerin doğrusallığı (R^2 değeri) 0,99 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlara göre; Cu(II)-MIP1 ve MIP2 QCM nanosensör $0,15-1,57 \mu M$ derişim aralığında yüksek afinite ve %99 doğrusallık ile çalışmaktadır.



Şekil 4.19 Cu(II)-MIP1 (A) ve MIP2 (B) QCM nanosensöre ait doğrusal kalibrasyon fonksiyonu.

Doğrusallık aralık verileri ve hesaplanan LOD ve LOQ değerleri Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5 de verilmiştir.

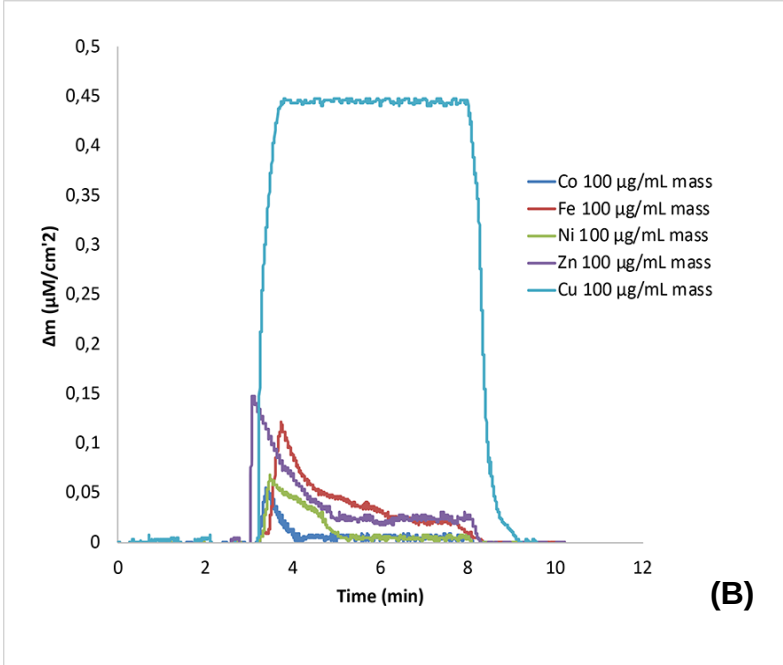
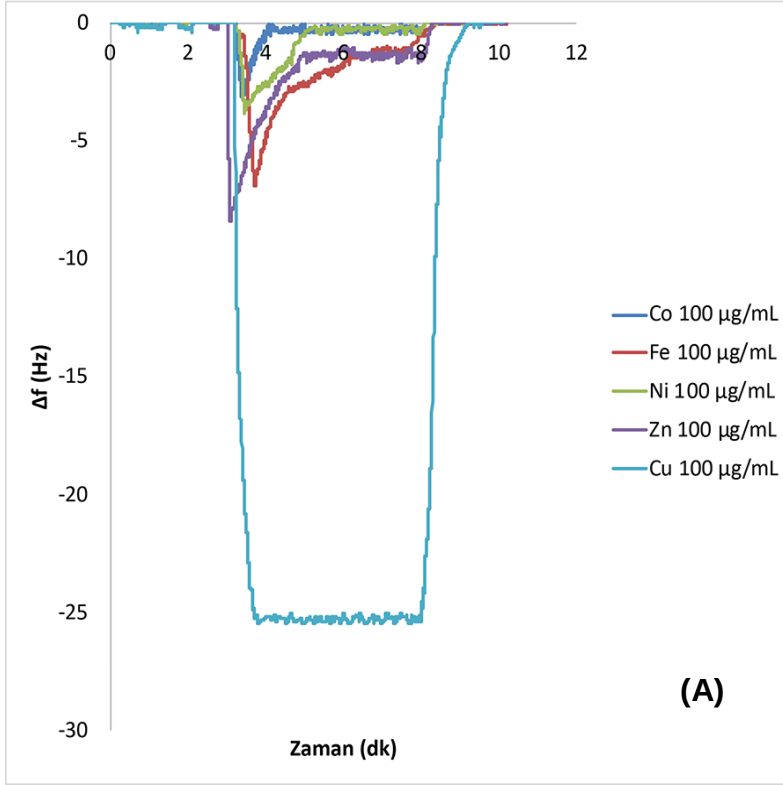
Çizelge 4.4 Cu(II)-MIP1 QCM nanosensör analizine ait kalibrasyon fonksiyonu özellikleri.

Regresyon Denklemi	$y = 0,0001x + 0,0743$
Eğimin Standart Hatası	$2,09 \cdot 10^{-7}$
Kesimin Standart Hatası	0,0008
Korelasyon Katsayısı (r)	0,999
Kalibrasyon Aralığı (nM)	157,4 -1574
Teşhis Sınırı, LOD (nM)	42
Tayin Alt Sınırı, LOQ (nM)	140
Standart Sapma	0,0014

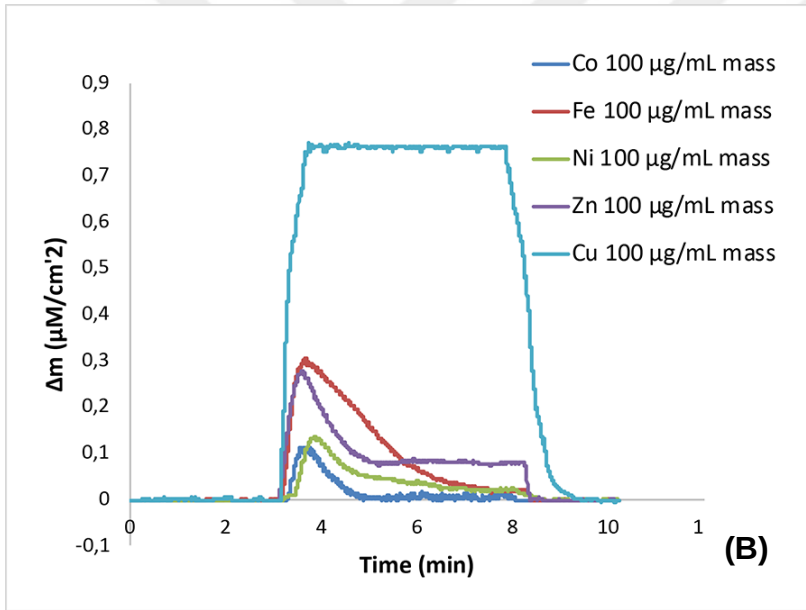
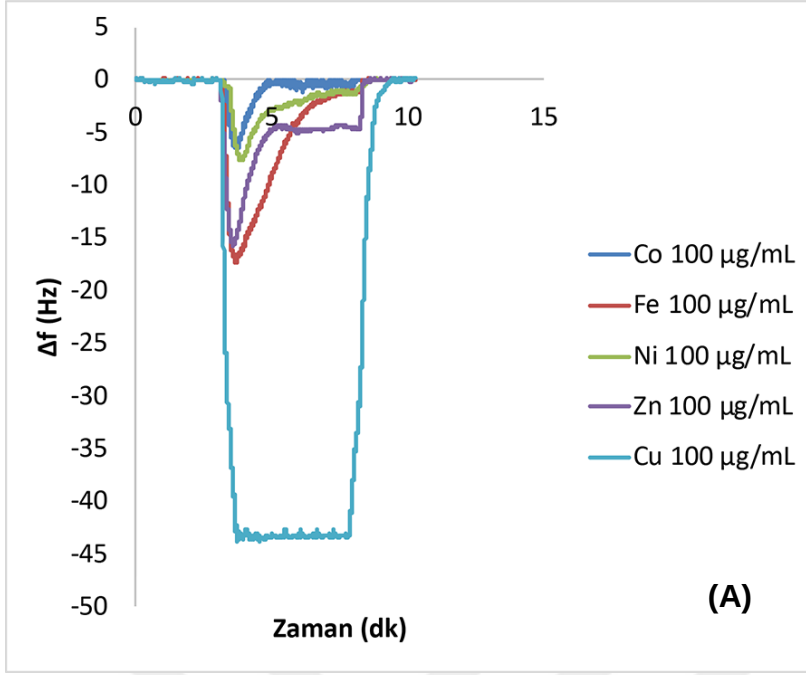
Çizelge 4.5 Cu(II)-MIP2 QCM nanosensör analizine ait kalibrasyon fonksiyonu özellikleri.

Regresyon Denklemi	$y = 0,0002x + 0,0914$
Eğimin Standart Hatası	$3,95 \cdot 10^{-7}$
Kesimin Standart Hatası	0,0015
Korelasyon Katsayısı R^2	0,999
Kalibrasyon Aralığı (nM)	157,4 -1574
Teşhis Sınırı, LOD (nM)	40,7
Tayin Alt Sınırı, LOQ (nM)	135,5
Standart Sapma	$2,71 \cdot 10^{-3}$

4.4 Cu(II)-MIP Nanopartiküller ve QCM Sensör ile Seçicilik Çalışmaları



Şekil 4.20 Cu(II)-MIP1 QCM sensörün yarışmalı iyonlar ile salınım frekansı değişimine (A) ve kütle farkına (B) karşı zaman grafiği.



Şekil 4.21 Cu(II)-MIP2 QCM sensörün yarışmalı iyonlar ile salınım frekansı değişimine (A) ve kütle farkına (B) karşı zaman grafiği.

Cu(II)-MIP2 QCM sensörün yarışmalı iyonlar Co(II), Ni(II), Fe(II) ve Zn(II) ile karşılaştırıldığında her durumda hedef Cu(II) iyonlarının Δm değeri yarışmacı metal iyonlarına göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Seçilmiş olan metallerin iyon çapları ve yükleri benzerlik göstermesine rağmen MIP1 ve MIP2’de Cu iyonlarına yüksek seçicilik göstermektedir.

Cu(II) iyonlarının yarışmacı iyonlara göre seçicilik katsayıları (K) ve Cu(II)-MIP nanopartiküllerin NIP nanopartiküllere göre seçiciliği (bağıl seçicilik, K') Çizelge 4.6'da verilmektedir.

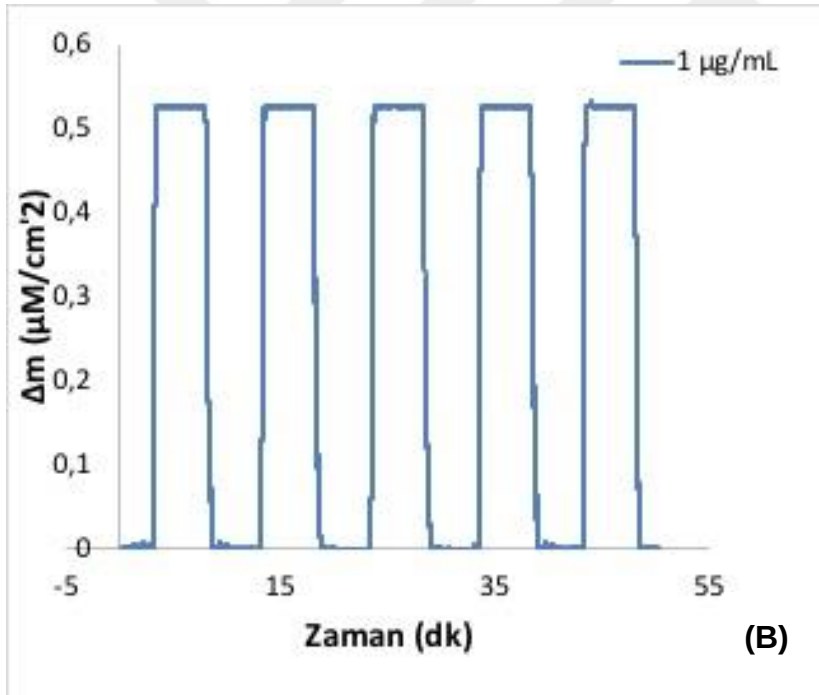
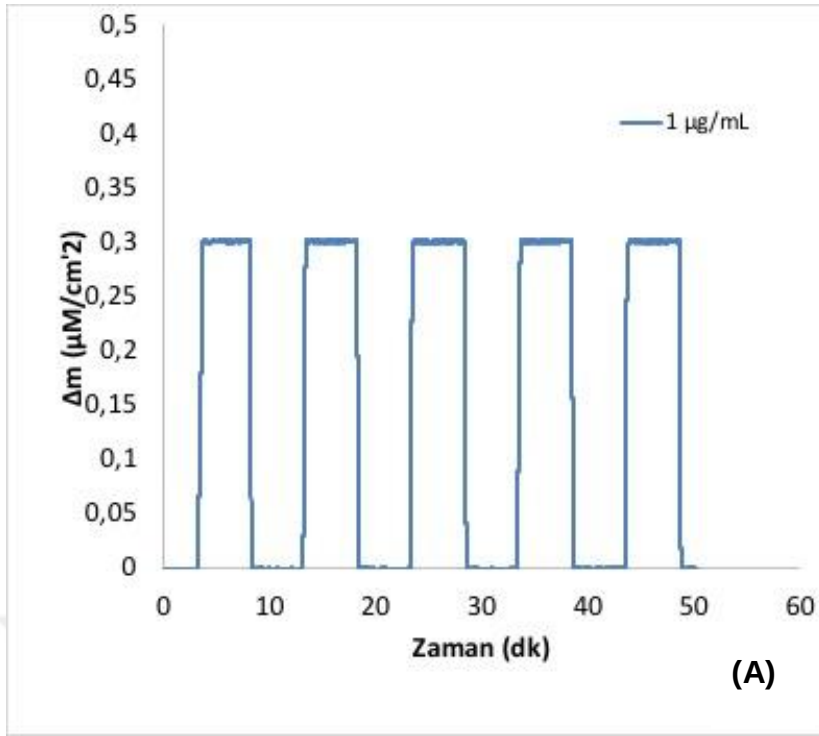
Çizelge 4.6 Cu(II) iyonlarının yarışmacı iyonlara göre seçicilik ve bağıl seçicilik katsayıları.

Metal İyonu	Cu(II)-MIP1 QCM sensör		Cu(II)-MIP2 QCM sensör	
	K Δm [Cu(II)/Me(II)]	K' Δm [MIP/NIP]	K Δm [Cu(II)/Me(II)]	K' Δm [MIP/NIP]
Cu(II)	-	-	-	-
Co(II)	8,1	17,1	6,9	29,5
Fe(II)	3,7	2,1	2,6	4,3
Ni(II)	7,0	4,7	5,8	11,5
Zn(II)	3,0	2,5	2,9	5,1

Cu(II)-MIP QCM sensörün Δm değerlerinden elde edilen seçicilik sonuçlarına göre; Cu(II)-MIP nanopartiküller yarışmacı iyonlar varlığında yapısal ve şekil hafızasını koruyarak Cu(II) iyonları için yüksek seçicilik göstermektedir.

4.5 Cu(II)-MIP QCM Sensörün Tekrar Kullanılabilirliği

Cu(II)-MIP QCM sensörün tekrarlanan 5 döngü sonunda, Cu(II) bağlanma kapasitesinde belirgin bir düşüş gözlenmemiştir (Şekil 4.22). Bu sonuç, hazırlanan Cu(II)-MIP2 QCM sensörün Cu(II) bağlanma kapasitesini koruyarak tekrar tekrar kullanılabileceğini göstermektedir.



Şekil 4.22 Cu(II)-MIP1 (A) ve MIP2 (B) QCM sensörün tekrar kullanılabilirliği.

5. YORUM

Sunulan tez çalışmasında Cu(II) iyonlarının gerçek zamanlı tayini için MIP temelli QCM sensör araştırılmıştır.

- N-Metakroil-(L)-histidin metil ester (MAH) monomeri, L-histidin metil ester ve metakroil klorür reaksiyonu sonucu ürün olarak oluşmuştur
- MAH monomeri 2 farklı mol oranında (2:1 ve 1:1 MAH-Cu(II) mol oranı) Cu(II) iyonları ile kompleks oluşturmuştur.
- MAH monomeri, MAH-Cu(II) kompleks monomerlerinin yapısal karakterizasyonu FTIR ile yapılmıştır.
- MAH monomerine ait karakteristik pikler; OH (3354 cm^{-1}), C-C gerilme (2997 , 2952 ve 2927 cm^{-1}), C=O gerilme (1743 cm^{-1}) ve imidazol gruplarına ait amid I, II, III (1676 , 1516 ve 1437 cm^{-1})’de görülmektedir. Buna ek olarak, 2:1 oranındaki MAH-Cu(II) kompleks monomerlerinde bu gruplara ait piklerin daha yoğun olmasından dolayı, piklerde daha çok genişleme ve kaybolma görülmüştür.
- Cu(II)-MIP nanopartiküller, moleküler baskılama yönteminin prensibine göre sentezlenmiştir. Polimerizasyon aşaması, çapraz bağlayıcı (EGDMA), temel monomer (HEMA) ve fonksiyonel monomer-kalıp [MAH-Cu(II)] varlığında gerçekleşmiştir.
- Cu(II)-MIP1 ve MIP2 nanopartiküllerine ait karakteristik pikler; sırasıyla OH (3526 , 3512 cm^{-1}), C-C gerilme (2946 , 2950 cm^{-1}), C=O gerilme (1723 , 1723 cm^{-1}) ve imidazol gruplarına ait amid I (1643 , 1626 cm^{-1}), amid II (1450 , 1453 cm^{-1}), amid III (1386 , 1389 cm^{-1})’de görülmektedir. Cu(II)-MIP1 ve MIP2 nanopartiküller MAH monomeri dışında amid grupları içermemektedir. Bu sebeple, $1600-1400\text{ cm}^{-1}$ band aralığında görülen amid gruplarının varlığı, Cu(II)-MIP1 ve MIP2 nanopartiküllerin yapısına MAH gruplarının girdiğini teyit etmektedir.
- Cu(II)-MIP1 ve MIP2 nanopartiküllerin boyut dağılımını belirlemek amacıyla, Zeta Sizer cihazı kullanılmıştır. Alınan sonuçlara göre, 1 mg/mL sulu çözeltilerinde MIP nanopartiküllerin boyutları $100-150\text{ nm}$ aralığında görülmektedir. Zeta Sizer ile boyut analizinde nanopartiküller sulu çözelti içerisinde olduğu için nanopartiküller şişmiş durumdadır. Bu şişkinlik partiküllerin boyutunda $20-50\text{ nm}$ aralığında değişimine sebep olmaktadır.

- Elipsometre cihazı QCM sensör çipin yüzey kalınlığını ortalama olarak ölçmek amacıyla kullanılmıştır. 532 nm dalga boyunda 62°'lik açıda elipsometrik ölçümler alınmıştır. Cu(II)-MIP1 ve MIP2 QCM sensörün ortalama kalınlık değeri sırasıyla 15.0 ± 0.04 nm ve 12.0 ± 0.04 nm olarak hesaplanmıştır.
- Cu(II)-MIP1 ve MIP2 nanopartiküllerin QCM sensör çip yüzeyi ile temas ettiği açı ölçülmüştür. 1:1 mol oranında Cu(II)-MIP1 nanopartikül içeren QCM sensör çip yüzeyindeki temas açısı $41,8^\circ$; 2:1 mol oranında Cu(II)-MIP1 nanopartikül içeren QCM sensör çip yüzeyindeki temas açısı $46,9^\circ$ olarak ölçülmüştür.
- Nanopartikül içermeyen QCM sensör çip yüzeyindeki ve Cu(II)-MIP1, MIP2 nanopartikül içeren QCM sensör çip yüzeyindeki temas açısı değerlerini göstermektedir. Cu(II)-MIP1, MIP2 nanopartikül içeren QCM sensör çip yüzeyindeki temas açısı değerleri, nanopartikül içermeyen temas açısı değerlerine göre oldukça azalmıştır. Bu sonuçlar; Cu(II)-MIP1 ve MIP2 QCM sensör çip yüzeyinin, HEMA monomerinin zengin hidroksil (OH) grupları nedeniyle oldukça hidrofilik özellikte olduğunu, dolayısıyla çip yüzeyinde istenen nanopartiküllerin bulunduğunu göstermektedir.
- Cu(II)-MIP2 nanopartiküllerin yarı degen modda 3-boyutlu AFM görüntüsünü vermektedir (Teknik nedenlerden dolayı Cu(II)-MIP1 nanopartiküllerin AFM görüntüsü çekilememiştir). Asidik pirana çözeltisi ile temizlenmiş nanopartikül içermeyen QCM sensör çipin yüzey derinliği 10 nm'dir. AFM görüntüsünden alınan sonuçlara göre, Cu(II)-MIP2 nanopartiküllerin ortalama 81 nm'dir. 3-boyutlu AFM görüntüsünde, QCM çip yüzeyinde Cu(II)-MIP2 nanopartiküllerin varlığı açıkça görülmektedir.
- Cu(II)-MIP1 ve MIP2 nanopartiküllerin yüzey yapısı ve ortalama boyut çapları SEM ile görüntülenmiştir. Cu(II)-MIP1 ve MIP2 nanopartiküller liyofilizatörde kurutulmuş görüntü alınmıştır. SEM görüntülerinden alınan sonuçlara göre, Cu(II)-MIP nanopartiküllerin ortalama boyut çapları 80 nm ve 120 nm aralığında değişmektedir. Bu sonuçlar, AFM ve Zeta boyut dağılımı ölçümlerinden alınan sonuçlar ile uyumluluk göstermektedir.
- Cu(II)-MIP QCM sensörünün Cu(II) derişimi arasındaki ilişkinin değerlendirilebilmesi için farklı derişimlerde Cu(II) çözeltileri hazırlanmış

peristaltik pompa yardımıyla QCM sensör sisteminden geçirilmiştir. Standart bir ölçümde; sistemden öncelikle 3 dakika boyunca pH 4 dengeleyici tampon, daha sonra sistem yeniden dengeye ulaşana kadar Cu(II) çözeltisi ve son aşamada 50 mM EDTA desorpsiyon çözeltisi kullanılmıştır. Bilgisayara bağlı olan sensör RQCM (Maxtek) yazılımı ile sistemden geçirilen farklı derişimlerin sensogramları elde edilmiştir.

- Cu(II)-MIP1 ve MIP2 nanopartiküllere ait farklı derişimlerde uygulanan Cu(II) çözeltilerinin zamana karşı Δf değişim değerlerini ve zamana karşı Δm değişim değerlerini göstermektedir. Kütlenin kuvars yüzeye bağlanması ile kristalin salınım frekansı değişiminde azalma, kütle farkında belirgin bir artış gözlenmektedir.
- Cu(II)-MIP1 ve MIP2 QCM nanosensörün Δm değeri, Cu(II) iyonları derişimi arttıkça artmaktadır. Cu(II)-MIP1 QCM nanosensörün Δm değeri yaklaşık 15 μM 'da, Cu(II)-MIP2 QCM nanosensörün Δm değeri ise yaklaşık 78 μM 'da dengeye ulaşmıştır.
- Cu(II)-MIP1 QCM nanosensör deneysel olarak elde edilen verilerden hesaplanan adsorpsiyon modellerinin doğrusallığı incelendiğinde Langmuir-Freundlich adsorpsiyon modelinin ($R^2 = 0,99$) daha uyumlu sonuçlar verdiği görülmektedir. Buna ek olarak, deneysel grafikten elde edilen $\Delta m_{maks.}$ değeri (0,309), Langmuir adsorpsiyon modelinde hesaplanan teorik $\Delta m_{maks.}$ değerine (0,292) en yakın sonuçtur. Bu sonuç; hazırlanan Cu(II)-MIP2 QCM nanosensör çip yüzeyindeki nanopartikül Cu(II) bağlanma bölgelerinin MIPler için sıklıkla gözlenen hem heterojen hem de homojen dağılımlı olduğunu göstermektedir. Ayrıca, Langmuir-Freundlich denkleminden teorik olarak hesaplanan K_A ve K_D değerleri sırasıyla 0,168 μM^{-1} ve 5,945 μM olarak hesaplanmıştır.
- Cu(II)-MIP2 QCM nanosensöre ait deneysel olarak elde edilen verilerden hesaplanan adsorpsiyon modellerinin doğrusallığı incelendiğinde Langmuir adsorpsiyon modelinin ($R^2=0,99$) daha uyumlu sonuçlar verdiği görülmektedir. Buna ek olarak, deneysel grafikten elde edilen $\Delta m_{maks.}$ değeri (0,628), Langmuir adsorpsiyon modelinde hesaplanan teorik $\Delta m_{maks.}$ değerine (0,606) en yakın sonuçtur. Bu sonuç; hazırlanan Cu(II)-MIP2 QCM nanosensör çip yüzeyindeki nanopartiküllerin Cu(II) bağlanma bölgelerinin

homojen dağılımlı, tek tabakalı ve eş enerjili olduğunu göstermektedir. Ayrıca, Langmuir denkleminde teorik olarak hesaplanan K_A ve K_D değerleri sırasıyla $0,887 \mu M^{-1}$ ve $1,127 \mu M$ olarak hesaplanmıştır.

- Cu(II)-MIP QCM nanosensör yöntemi ile Cu(II) iyonlarının gerçek zamanlı tayininde metod validasyonu yapılmıştır. Şekil 4.19’de, Cu(II)-MIP1 ve MIP2 QCM nanosensöre ait $0,15-1,57 \mu M$ aralığındaki verilerin doğrusallığı (R^2 değeri) $0,99$ olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlara göre; Cu(II)-MIP1 ve MIP2 QCM nanosensör $0,15-1,57 \mu M$ derişim aralığında yüksek afinite ve $\%99$ doğruluk ile çalışmaktadır.
- Cu(II)-MIP2 QCM sensörün yarışmalı iyonlar Co(II), Ni(II), Fe(II) ve Zn(II) ile karşılaştırıldığında her durumda hedef Cu(II) iyonlarının Δm değeri yarışmacı metal iyonlarına göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir.
- Cu(II)-MIP QCM sensörün Δm değerlerinden elde edilen seçicilik sonuçlarına göre; Cu(II)-MIP nanopartiküller yarışmacı iyonlar varlığında yapısal ve şekil hafızasını koruyarak Cu(II) iyonları için yüksek seçicilik göstermektedir.
- Cu(II)-MIP QCM sensörün tekrarlanan 5 döngü sonunda, Cu(II) bağlanma kapasitesinde belirgin bir düşüş gözlenmemiştir. Bu sonuç, hazırlanan Cu(II)-MIP2 QCM sensörün Cu(II) bağlanma kapasitesini koruyarak tekrar tekrar kullanılabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- [1] M. Bost, S. Houdart, M. Oberli, E. Kalonji, J. F. Huneau ve I. Margaritis, «Dietary copper and human health: Current evidence and unresolved issues,» *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, cilt 35, pp. 107-115, **2016**.
- [2] H. Chen, J. Zhang, X. Liu, Y. Gao, Z. Ye ve G. Li, «Colorimetric copper(II) ion sensor based on the conformational change of peptide immobilized onto the surface of gold nanoparticles,» *The Royal Society of Chemistry*, cilt 6, no. Analytical Methods, pp. 2580-2585, **2014**.
- [3] European Commission, «Council Directive 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption,» the authentic Official Journal of the European Union, **1998**.
- [4] World Health Organization, «A global overview of national regulations and standards for drinking-water quality,» ISBN 978-92-4- 151376-0, **2018**.
- [5] Türk Standartları Enstitüsü, «Sular - İnsanî tüketim amaçlı sular,» Türk Standartları Enstitüsü, **2014**.
- [6] M. Andaç, R. Say ve A. Denizli , «Molecular recognition based cadmium removal from human plasma,» *Journal of Chromatography B*, cilt 811, no. 2, pp. 119-126, **2004**.
- [7] M. Andaç, E. Özyapı, S. Şenel, R. Say ve A. Denizli, «Ion-selective imprinted beads for aluminum removal from aqueous solutions,» *Industrial and Engineering Chemistry Research*, cilt 45, no. 5, pp. 1780-1786, **2006**.
- [8] C. Branger, W. Meouche ve A. Margaillan, «Recent advances on ion-imprinted polymers,» *Reactive and Functional Polymers*, cilt 73, no. 6, pp. 859-875, **2013**.
- [9] U. Latif, A. Mujahid , A. Afzal, R. Sikorski, P. A. Lieberzeit ve F. L. Dickert, «Dual and tetraelectrode QCMs using imprinted polymers as receptors for ions and neutral analytes,» *Anal. Bioanal. Chem.*, cilt 400, pp. 2507-2515, **2011**.
- [10] L. Fewtrell, D. Kay, F. Jones, A. Baker ve A. Mowat, «Copper in drinking water - an investigation into possible health effects,» *Public Health*, cilt 110, pp. 175-177, **1996**.
- [11] I. Hamza , A. Faisst, J. Prohaska, J. Chen, P. Gruss ve J. D. Gitlin, «The metallochaperone Atox1 plays a critical role in perinatal copper homeostasis,» *Proceedings of the National Academy of Sciences*, cilt 98, no. 12, pp. 6543-6545, **2001**.
- [12] G. Malandrinos ve N. Hadjiliadis, «Cu(II)–histones interaction related to toxicity-carcinogenesis,» *Coordination Chemistry Reviews*, cilt 262, pp. 55-71, **2014**.

- [13] World Health Organization, «Copper in Drinking-water Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality,» World Health Organization, **2004**.
- [14] N. Baghban, E. Yilmaz ve M. Soylak, «Nanodiamond/MoS₂ nanorod composite as a novel sorbent for fast and effective vortex-assisted micro solid phase extraction of lead(II) and copper(II) for their flame atomic absorption spectrometric detection,» *Journal of Molecular Liquids*, cilt 234, pp. 260-267, **2017**.
- [15] S. d. O. Souza, S. S. L. d. Costa, D. M. Santos, J. S. Pinto, C. A. B. Garcia, J. d. P. H. Alves ve R. G. O. Araujo, «Simultaneous determination of macronutrients, micronutrients and trace elements in mineral fertilizers by inductively coupled plasma optical emission spectrometry,» *Specrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, cilt 96, pp. 1-7, **2014**.
- [16] A. Tobiasz, S. Walas, L. Landowska ve J. Konefal-Góral, «Improvement of copper FAAS determination conditions via preconcentration procedure with the use of salicylaldoxime complex trapped in polymer matrix,» *Talanta*, cilt 96, pp. 82-88, **2012**.
- [17] Z. Xu, P. Deng, J. Li ve S. Tang, «Fluorescent ion-imprinted sensor for selective and sensitive detection of copper (II) ions,» *Sensors and Actuators B:Chemical*, cilt 255, pp. 2095-2104, **2018**.
- [18] Y. H. Bae, K. Park ve R. J. Mersny, «Copper,» %1 içinde *Cancer Targeted Drug Delivery*, New York, Springer Science + Business Media, **2013**, p. 141.
- [19] F. Harber ve W. Joseph, «The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts,» *The Royal Society*, cilt 147, no. 861, pp. 332-351, **1934**.
- [20] P. Palumaa, «Copper chaperones. The concept of conformational control in the metabolism of copper,» *FEBS LETTERS*, cilt 587, pp. 1902-1910, **2013**.
- [21] R. Squitti, R. Ghidoni, I. Simonelli, I. D. Ivanova , N. A. Colabufo, M. Zuin, L. Benussi, G. Binetti, E. Casetta, M. Rongioletti ve M. Siotto, «Copper dyshomeostasis in Wilson disease and Alzheimer's disease as shown by serum and urine copper indicators,» *Jornal of Trace Elements in MEDicine and Bioogy*, cilt 45, pp. 181-188, **2018**.
- [22] J. P. Kehrer, J. D. Robertson ve C. V. Smith, «Free Radicals and Reactive Oxygen Species,» *Elsevier*, pp. 277-307, **2010**.
- [23] A. I. H. Khairy, M. J. Oh, S. M. Lee, D. S. Kim ve K. S. Roh, «Nitric oxide overcomes Cd and Cu toxicity in in vitro-grown tobacco plants,» *Biochimie Open*, cilt 2, pp. 41-51, **2016**.
- [24] E. Verheyen, J. P. Schillemans, M. V. Wijk, M. A. Demeniex, W. E. Hennink ve C. F. Nostrum, «Challenges for the effective molecular imprinting of proteins,» *Biomaterials*, no. 32, pp. 3008-3020, **2011**.
- [25] E. Yilmaz, R. H. Schmidt ve K. Mosbach, «The Noncovalent Approach,» %1 içinde *Molecularly Imprinted Materials: Science and Technology*, Lund, **2004**, pp. 25-53.

- [26] B. P. Zietz, H. H. Dieter, M. Lakomek, H. Schneider, B. Keßler-Gaedtke ve H. Dunkelberg, «Epidemiological investigation on chronic copper toxicity to,» *The Science of the Total Environment*, cilt 302, pp. 127-144, 2003.
- [27] D. R. Kryscio ve N. A. Peppas, «Critical review and perspective of macromolecularly imprinted polymers,» *Acta Biomaterialia*, no. 8, pp. 461-473, **2012**.
- [28] H. F. El-Sharif, D. Stevenson ve S. M. Reddy, «MIP-based protein profiling: A method for interspecies discrimination,» *Sensors and Actuators B: Chemical*, cilt 241, pp. 33-39, **2016**.
- [29] O. Ramström, K. Skudar, J. Haines, P. Patel ve O. Brüggemann, «Food Analyses Using Molecularly Imprinted Polymers,» *Journal Of Agricultural and Food Chemistry*, cilt 49, no. 5, pp. 2105-2114, **2001**.
- [30] T. P. Rao, S. Daniel ve J. M. Gladis, «Tailored materials for preconcentration or separation of metals by ion-imprinted polymers for solid-phase extraction (IIP-SPE),» *Trends in Analytical Chemistry*, cilt 23, no. 1, **2004**.
- [31] C. Algieri, E. Drioli, L. Guzzo ve L. Donato, «Bio-Mimetic Sensors Based on Molecularly Imprinted Membranes,» *Sensors*, cilt 14, pp. 13863-13912, **2014**.
- [32] P. A. Cormack ve A. Z. Elorza, «Molecularly imprinted polymers: synthesis and characterisation,» *Journal of Chromatography B*, cilt 804, pp. 173-182, **2004**.
- [33] M. Komiyama, T. Takeuchi, T. Mukawa ve H. Asanuma, *Molecular Imprinting From Fundamentals to Applications*, Weinheim: WILEY-VCH, **2003**.
- [34] J. Matsui, O. D. Dier ve T. Takeuchi, «2-(Trifluoromethyl)acrylic acid: a novel functional monomer in non-covalent molecular imprinting,» *Analytica Chimica Acta*, cilt 343, pp. 1-4, **1997**.
- [35] Newcomb, Martin, «Small-radical chemistry,» %1 içinde *Handbook Of Radical Polymerization*, Hoboken, Canada, **2002**, pp. 77-176.
- [36] E. Spieker ve P. A. Lieberzeit, «Molecular imprinting studies for developing QCM-sensors for *Bacillus cereus*,» *Procedia Engineering*, cilt 168, pp. 561-564, **2016**.
- [37] K. Ensing, C. Berggren ve R. E. Majors, «Selective Sorbents for Solid-Phase Extraction Based on Molecularly Imprinted Polymers,» *Sample Preparation Perspectives*, cilt 19, no. 9, pp. 942-954, **2002**.
- [38] J. Haginaka ve . C. Kagawa, «Chiral resolution of derivatized amino acids using uniformly sized molecularly imprinted polymers in hydro-organic mobile phases,» *Anal Bioanal Chemistry*, cilt 378, pp. 1907-1912, **2004**.

- [39] Y. Hu, J. Pan, K. Zhang, H. Lian ve G. Li, «Novel applications of molecularly imprinted polymers in sample preparation,» *Trends in Analytical Chemistry*, cilt 43, pp. 37-52, **2013**.
- [40] H. Yan ve K. H. Row, «Characteristic and Synthetic Approach of Molecularly Imprinted Polymer,» *International Journal of Molecular Sciences*, cilt 7, pp. 155-178, **2006**.
- [41] F. Puoci , . C. Garreffa, F. Iemma, . R. Muzzalupo, U. . G. Spizzirri ve N. Picci, «Molecularly imprinted solid phase extraction for detection of sudan I in food matrices,» *Food Chemistry*, cilt 93, pp. 349-353, **2005**.
- [42] F. Puoci, G. Cirillo, M. Curcio, F. Iemma, O. I. Parisi, U. . G. Spizzirri ve N. Picci, «Molecularly Imprinted Polymers (MIPs) in Biomedical Applications,» %1 içinde *Biopolymers*, Rende, Intech, **2010**, pp. 547-564.
- [43] G. Vasapollo, R. D. Sole, L. Mergola, M. R. Lazzoi, A. Scardino, S. Scorrano ve G. Mele, «Molecularly Imprinted Polymers: Present and Future Prospective,» *International Journal of Molecular Sciences*, cilt 5945, p. 5908, **2011**.
- [44] R. A. Lorenzo, A. M. Carro, C. A. Lorenzo ve A. Concheiro, «To Remove or Not to Remove? The Challenge of Extracting the Template to Make the Cavities Available in Molecularly Imprinted Polymers (MIPs),» *International Journal of Molecular Sciences*, cilt 12, pp. 4327-4347, **2011**.
- [45] G. Vlatakis, L. I. Andersson, R. Müller ve K. Mosbach, «Drug assay using antibody mimics made by molecular imprinting,» *BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY*, cilt 4, pp. 75-76, **1993**.
- [46] A. Prasad, K. Mahato, P. K. Maurya ve P. Chandra, «Biomaterials for biosensing applications,» *Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques*, cilt 7, no. 2, **2016**.
- [47] A. P. Turner, «Biosensors: sense and sensibility,» *Chemical Society Reviews*, cilt 42, no. 8, pp. 3175-3648, **2013**.
- [48] Y. Lei, W. Chen ve A. Mulchandani, «Microbial biosensors,» *Analytica Chimica Acta*, cilt 568, pp. 200-210, **2006**.
- [49] L. C. Clark Jr. ve C. Lyons, «Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery,» *Annals of The New York Academy of Sciences*, cilt 102, pp. 29-45, **1962**.
- [50] G. G. Guilbault ve J. G. Montalvo Jr., «Urea-specific enzyme electrode,» *Journal of the American Chemical Society*, cilt 91, pp. 2164-2165, **1969**.
- [51] K. A. Marx, «Quartz Crystal Microbalance: A Useful Tool for Studying Thin Polymer Films and Complex Biomolecular Systems at the Solution-Surface Interface,» *Biomacromolecules*, cilt 4, no. 5, pp. 1099-1120, **2003**.
- [52] C. I. Cheng, Y.-P. Chang ve Y.-H. Chu, «Biomolecular interactions and tools for their recognition: focus on the quartz crystal microbalance and its diverse

- surface chemistries and applications,» *Chem Soc Rev*, cilt 41, pp. 1947-1971, **2012**.
- [53] A. Ersöz, A. Denizli, A. Özcan ve R. Say, «Molecularly imprinted ligand-exchange recognition assay of glucose by quartz crystal microbalance,» *Biosensors and Bioelectronics*, cilt 20, pp. 2197-2202, **2005**.
- [54] Y. Uludağ, S. A. Piletsky, A. P. Turner ve M. A. Cooper, «Piezoelectric sensors based on molecular imprinted polymers for detection of low molecular mass analytes,» *The FEBS Journal*, cilt 274, pp. 5471-5480, **2007**.
- [55] C. O'Sullivan ve G. G. Guilbault, «Commercial quartz crystal microbalances – theory and applications,» *Biosensors Bioelectronics*, cilt 14, pp. 663-670, 1999.
- [56] X. Huang, Q. Bai, H. Jianguo ve D. Hou, «A practical model of quartz crystal microbalance in actual applications,» *Sensors*, cilt 17, pp. 1785-1794, **2017**.
- [57] G. Lal ve D. Tiwari, «Investigation of nanoclay doped polymeric composites on piezoelectric Quartz Crystal Microbalance (QCM) sensor,» *Sensors and Actuators*, cilt 262, pp. 64-69, **2018**.
- [58] G. Sauerbrey, «Verwendung von schwingquarzen zur wägung dünner schichten und zur mikrowägung,» *Zeitschrift für Physik*, cilt 155, pp. 206-222, **1959**.
- [59] J. Porath, J. Carlsson, I. Olsson ve G. Belfrage, «Metal chelate affinity chromatography, a new approach to protein fractionation,» *Nature*, no. 258, pp. 598-599, **1975**.
- [60] X. Li ve S. M. Husson, «Adsorption of dansylated amino acids on molecularly imprinted surfaces: A surface plasmon resonance study,» *Biosensors and Bioelectronics*, cilt 3, no. 22, pp. 336-348, **2006**.
- [61] R. J. Umpleby, S. C. Baxter, Y. Chen, R. N. Shah ve K. D. Shimizu, «Characterization of molecularly imprinted polymers with the langmuir–freundlich isotherm,» *Analytical Chemistry*, cilt 73, no. 19, pp. 4584-4591, **2001**.
- [62] T. Piacham, C. Nantasenamat, C. I. Na-Ayudhya ve V. Prachayasittikul, «Synthesis and computational investigation of molecularly imprinted nanospheres for selective recognition of alpha-tocopherol succinate,» *EXCLI Journal*, no. 14, pp. 701-718, **2013**.
- [63] M. Lotierzo, O. Henry, S. Piletsky, I. Tothill, D. Cullen, M. Kania, B. Hock ve A. Turner, «Surface plasmon resonance sensor for domoic acid,» *Biosensors and Bioelectronics*, no. 20, pp. 145-152, **2004**.
- [64] W. C. Lee, C. H. Cheng, H. H. Pan, T. H. Chung ve C. C. Hwang, «Chromatographic characterization of molecularly imprinted polymers,» *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, cilt 390, no. 4, pp. 1101-1109, **2008**.

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı: Nihan Aydoğan
Doğum Yeri: Antalya
Medeni Hali: Bekar
E-Posta: aydogannihan@hotmail.com
Adresi: Maltepe Mahallesi Savaş Sokak 7/15 Çankaya / ANKARA

Eğitim

Lise: (2004-2007) Yenimahalle 75.Yıl Lisesi
Lisans: (2008-2012) Çanakkale 18 Mart Üniversitesi (Çevre Mühendisliği)
Yüksek Lisans: (2014-2018) Hacettepe Üniversitesi (Çevre Mühendisliği)

Yabancı Dil ve Düzeyi

İngilizce : (Orta)

İş Deneyimi

(2015-2016) Baştaş Hazır Beton Sa. Ve Tic. A.Ş.-Çevre Mühendisi İG Uzmanı
(2013-2014) Boyut Çevre – Çevre Mühendisi İG Uzmanı
(2017-2018) Tübitak Proje Araştırmacısı
(2018-2018) Ekolojik Enerji - Çevre Mühendisi

Deneyim Alanları

İnşaat, Danışmanlık, Biyosensör

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

116Z840 proje numaralı Tübitak Araştırma Projesi

Tezden Üretilmiş Yayınlar

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu İle Katıldığı Toplantılar

10. Ulusal Afinite Teknikleri Kongresi
ICNEI 2017 (Uluslararası Çevre ve Nanoteknoloji Kongresi)



HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

Tarih:27/06/2018

Tez Başlığı / Konusu: **CU(II) İYONLARININ GERÇEK ZAMANLI TAYİNİ İÇİN MIP TEMELLİ QCM SENSÖRÜN HAZIRLANMASI**

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş, c) Ana bölümler d) Sonuç kısımlarından oluşan toplam **60** sayfalık kısmına ilişkin, **27/06/2018** tarihinde ~~şahsım~~/tez danışmanım tarafından *Turnitin* adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı **% 8** 'dir.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kaynakça hariç
- 2- Alıntılar hariç/~~dahil~~
- 3- 5 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

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

Gereğini saygılarımla arz ederim.

Adı Soyadı: NİHAN AYDOĞAN
Öğrenci No: N14223238
Anabilim Dalı: Çevre Mühendisliği
Programı: Yüksek Lisans
Statüsü: ☒ Y.Lisans ☐ Doktora ☐ Bütünleşik Dr.

Tarih ve İmza

27.06.2018

N. Aydoğan

DANIŞMAN ONAYI

UYGUNDUR.

M. Andaç Özdil

Doç. Dr. AYŞE MÜGE ANDAÇ ÖZDİL
(Unvan, Ad Soyad, İmza)