



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



YÜKSEK LİSANS TEZİ

**FLAVONOİDLERİN SEÇİMLİ AYRIMI İÇİN MANYETİK
MOLEKÜLER BASKILI POLİMER SENTEZİ**

Merve AKYÜZ

Kimya Anabilim Dalı

Analitik Kimya Programı

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Kevser SÖZGEN BAŞKAN**

Eylül, 2018

İSTANBUL

Bu çalışma, 5.09.2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı

, Analitik Kimya Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi



Prof. Dr. Kevser SÖZGEN BAŞKAN(Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi



Prof. Dr. Sema DEMİRCİ ÇEKİÇ
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi



Doç. Dr. Ayşem ARDA
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi



Doç. Dr. Saliha Esin ÇELİK
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi



Doç. Dr. Aslı BAYSAL
İstanbul Aydın Üniversitesi
Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu



20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi’nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim boyunca göstermiş olduğu her türlü yardım ve anlayış için, tezimin hazırlanmasında bilimsel katkılarıyla yardımlarını esirgemenyen danışmanım ve değerli büyüğüm Prof. Dr. Kevser SÖZGEN BAŞKAN'a en içten dileklerle teşekkür ederim.

Çalışmalarımnda tecrübelerinden yararlandığım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Esmâ TÜTEM'e, polimer hazırlanmasında bilgi ve kimyasal madde desteği aldığım, Kimya Mühendisliği Bölümü öğretim üyesi Sayın Prof.Dr. Selva ÇAVUŞ'a katkıları için çok teşekkür ederim. Hazırlamış olduğum malzemelerin IR spektrumlarının alınmasında yardımcı olan Anorganik Kimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Bahri ÜLKÜSEVEN ve Arş. Gör. Büşra KAYA'ya, Analitik Kimya Anabilim Dalı'nda görev yapan Doç.Dr. Sibel YALÇIN hocalarıma destekleri için çok teşekkür ederim.

Tez sürecim boyunca desteğini gördüğüm herkese ve destekleriyle her zaman yanımda olan, varlıkları ile bana güven veren, bugünlere gelmemde büyük emek sahibi olan canım aileme sonsuz teşekkür ederim

Eylül 2018

Merve AKYÜZ

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİL LİSTESİ	viii
TABLO LİSTESİ	x
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	xi
ÖZET	xiv
SUMMARY	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL KISIMLAR	4
2.1. MANYETİK MOLEKÜLER BASKILI POLİMERLER	4
2.1.1. Baskılama Yöntemleri	6
2.1.1.1. Kovalent Baskılama Yöntemi	6
2.1.1.2. Non- Kovalent (Kovalent Olmayan) Baskılama Yöntemi	7
2.1.1.3. Yarı Kovalent (Semi-Kovalent) Baskılama Yöntemi	9
2.1.1.4. Stokiyometrik Kovalent Olmayan Baskılama Yöntemi	10
2.1.1.5. Metal-İyon Baskılama Yöntemi	10
2.1.2. Manyetik Moleküler Baskılama Tekniği	10
2.1.3. Manyetik Moleküler Baskılı Polimeri Oluşturan Başlıca Bileşenler	11
2.1.3.1. Manyetik Kısım	11
2.1.3.2. Hedef Molekül-Kalıp Molekül	12
2.1.3.3. Fonksiyonel Monomerler	12
2.1.3.4. Çapraz Bağlayıcılar	13
2.1.3.5. Gözenek Oluşturucu Çözücü	15
2.1.3.6. Başlatıcı	16
2.1.4. Manyetik Moleküler Baskılı Polimer Sentezleme Yöntemleri	17
2.1.4.1. Yığın (Bulk- Kütle) Polimerizasyonu	18
2.1.4.2. Süspansiyon Polimerizasyonu	19
2.1.4.3. Çözelti Polimerizasyonu	19

2.1.5. Manyetik Moleküler Baskılı Polimer Etkinliğinin Belirlenmesi.....	19
2.1.5.1. Kesikli Temas (Batch) Testi	20
2.1.5.2. Kopma (Breakthrough) Eğrisi Yöntemi	21
2.1.6. Adsorpsiyon Parametrelerinin Belirlenmesi.....	21
2.1.6.1. Langmuir İzoterm Modeli	22
2.1.6.2. Freundlich İzotermi	23
2.2 ANTİOKSİDANLAR	24
2.2.1. Antioksidan Türleri	25
2.3. FENOLİK BİLEŞİKLER.....	25
2.3.1. Flavonoidler.....	27
2.3.1.1. Flavonoidlerin Yapı Özellikleri ve Sınıflandırılması.....	27
2.4. ÇALIŞILAN DOĞAL ÖRNEKLER	30
2.4.1. Kırmızı Soğan (Allium cepa)	30
2.5.BAZI ANTİOKSİDANLARIN MANYETİK MOLEKÜLER BASKILI POLİMER ÇALIŞMALARI	32
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	35
3.1. CİHAZ VE MALZEME LİSTESİ.....	35
3.2. KİMYASAL MALZEMELER	35
3.3. UYGULANAN YÖNTEMLER.....	36
3.3.1. Manyetik Moleküler Baskılı Polimer (MMIP) Sentezi	36
3.3.2. Manyetik Madde Sentezi.....	36
3.3.3. KUE-MMIP ve MNIP Sentezi	38
3.3.3.1. Uygun Monomerin Belirlenmesi.....	38
3.3.3.2. Uygun Gözenek Oluşturucu Çözücünün Belirlenmesi.....	39
3.3.3.3. Uygun Kalıp Molekül/ Monomer/Çapraz Bağlayıcı Oranının Belirlenmesi	39
3.3.4. KUE-MMIP Geri Bağla(n)maya Parametrelerinin İncelenmesi	39
3.3.4.1. Geri Bağla(n)maya Zaman Etkisi	39
3.3.4.2. Geri Bağla(n)maya Çözücü Etkisi	40
3.3.4.3. Geri Bağla(n)maya Kalıp Molekül Derişimi Etkisi	40
3.3.5. KUE-MMIP'lerin Adsorpsiyon Özelliklerinin Belirlenmesi	40
3.3.5.1. Batch (Kesikli Temas) Testi	40
3.3.5.2. Seçimlilik Denemeleri	40
3.3.6. Manyetik Baskılı Polimerlerin Yapılarının İncelenmesi	41
3.3.7. KUE-MMIP'ın Doğal Örnek Uygulaması	42

4. BULGULAR.....	43
4.1. KUE-MMIP SENTEZİ İÇİN OPTİMİZASYON ÇALIŞMALARI.....	43
4.1.1. Uygun Monomerin Belirlenmesi	43
4.1.2. Uygun Gözenek Oluşturucu Çözücünün Belirlenmesi.....	43
4.1.3. Uygun alıp Molekül: Monomer: Çapraz Bağlayıcı Mol Oranının Belirlenmesi	44
4.2. KUE-MMIP GERİ BAĞLA(N)MA PARAMETRELERİNİN İNCELENMESİ.....	45
4.2.1. Geri Bağla(n)maya Zaman Etkisi	45
4.2.2. Geri Bağla(n)maya Çözücü Etkisi	45
4.2.3. Geri Bağla(n)maya Kalıp Molekül Derişimi Etkisi.....	47
4.3. MANYETİK MOLEKÜLER BASKILI POLİMERLERİN ADSORPSİYON ÖZELLİKLERİN BELİRLENMESİ.....	49
4.3.1. Batch (Kesikli Temas) Adsorpsiyon Testi	49
4.3.2. Seçimlilik Denemeleri	51
4.5. KUE-MMIP'IN KUE SEÇİMLİLİĞİNİ BELİRLEMEK İÇİN SENTETİK KARIŞIM UYGULAMASI	54
4.6. KUE-MMIP VE MNIP YAPILARININ İNCELENMESİ.....	55
4.7. KUE-MMIP'IN DOĞAL ÖRNEK UYGULAMASI	59
4.7.1. Kırmızı Soğan Kabuğu Ekstraktından KUE Kazanımı	59
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	64
KAYNAKLAR.....	67
ÖZGEÇMİŞ	73

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Manyetik moleküler baskılı polimerin uygulama aşamaları.....	5
Şekil 2.2: Manyetik moleküler baskılı polimer (MMIP) sentezinin şematik gösterimi.	6
Şekil 2.3: Kovalent baskılama yönteminin şematik gösterimi.....	7
Şekil 2.4: Non-kovalent baskılama yönteminin şematik gösterimi.	9
Şekil 2.5: Metal-iyon baskılama yönteminin şematik gösterimi.	10
Şekil 2.6: Manyetik kısım hazırlama aşamaları.....	12
Şekil 2.7: Yığın (bulk) polimerizasyonunun aşamaları.	18
Şekil 2.8: Kesikli temas testinin şematik gösterimi.	21
Şekil 2.9: Etkin (dinamik) tutma kapasitesinin breakthrough (kopma) yöntemine göre belirlenmesi.	21
Şekil 2.10: Flavonoidlerin kimyasal yapısı.	27
Şekil 2.11: Flavonların temel kimyasal yapısı.....	29
Şekil 2.12: Flavonollerin temel kimyasal yapısı.	29
Şekil 2.13: Kuersetinin kimyasal yapısı.	30
Şekil 2.14: Kırmızı Soğan (<i>Allium cepa</i>)	31
Şekil 3.1: γ -MPS-SiO ₂ @Fe ₃ O ₄ sentezi.	37
Şekil 3.2: KUE-MMIP sentezi.	39
Şekil 4.1: 1:8:40 KUE-MMIP'e ait adsorpsiyon zaman grafiği.	45
Şekil 4.2: 60 μ M KUE'nin THF'daki çözeltisinin başlangıçtaki (Lacivert), KUE-MMIP (Kırmızı) ve MNIP (Yeşil) ile muamele edildikten sonraki spektrumları.	46
Şekil 4.3: 60 μ M KUE'nin ACN'deki çözeltisinin başlangıçtaki (Kırmızı), KUE-MMIP (Mor) ve MNIP (Mavi) ile muamele edildikten sonraki spektrumları.	46
Şekil 4.4: 60 μ M KUE'nin %50 (v/v) EtOH'daki çözeltisinin başlangıçtaki (Pembe), KUE-MMIP (Kırmızı) ve MNIP (Yeşil) ile muamele edildikten sonraki spektrumları.	47

Şekil 4.5: KUE-MMIP ve MNIP'in KUE derişimine bağı adsorpsiyon grafikleri.	48
Şekil 4.6: KUE-MMIP ve MNIP için Freundlich adsorpsiyon izotermi.	49
Şekil 4.7: KUE-MMIP ve MNIP için Langmuir adsorpsiyon izotermi.	50
Şekil 4.8: KUE-MMIP ve MNIP tarafından adsorplanan fenolik madde miktarlarının karşılaştırılması.	51
Şekil 4.9: Fenolik bileşik standartlarının HPLC kromatogramı.	53
Şekil 4.10: 60µM kuersetinin %50 EtOH çözücüsü içerisindeki HPLC kromatogramı.	53
Şekil 4.11: Sentetik karışım çözeltisinin KUE-MMIP ile muamele öncesi (Kırmızı) ve sonrası (Siyah) kromatogramları ($\lambda = 260\text{nm}$).	54
Şekil 4.12: Sentetik karışım çözeltisinin MNIP ile muamele öncesi (Kırmızı) ve sonrası (Siyah) kromatogramları ($\lambda = 260\text{ nm}$).	55
Şekil 4.13: Fe ₃ O ₄ 'e ait FTIR-ATR spektrumu.	56
Şekil 4.14: SiO ₂ @Fe ₃ O ₄ ait FTIR-ATR spektrumu.	56
Şekil 4.15: γ -MPS-SiO ₂ @Fe ₃ O ₄ ait FTIR-ATR spektrumu.	57
Şekil 4.16: KUE-MMIP FTIR-ATR spektrumları.	58
Şekil 4.17: MNIP FTIR-ATR spektrumları.	58
Şekil 4.18: Kırmızı soğan kabuğu ekstraktının kromatogramı ($\lambda = 370\text{ nm}$).	59
Şekil 4.19: Soğan kabuğu ekstraktının kromatogramları { $\lambda = 280\text{ nm}$ (b) ve $\lambda = 370\text{ nm}$ (a)}.	60
Şekil 4.20: Kırmızı soğan kabuğu ekstraktının yükleme öncesi (a) ve sonrası (b) kromatogramları ($\lambda = 370\text{ nm}$).	61
Şekil 4.21: Kırmızı soğan kabuğu ekstraktı yüklenen KUE-MMIP'in yıkama kromatogramları (H ₂ O, %50EtOH, EtOH).	62
Şekil 4.22: Kırmızı soğan kabuğu ekstraktı yüklenen KUE-MMIP'in yıkama kromatogramları. (Şekil 4.21'in yakınlaştırılmış hali) Yıkama 1: 4mL H ₂ O, Yıkama 2,3,4: (4'er mL %50 (v/v) EtOH), Yıkama 5,6: EtOH.	62
Şekil 4.23: KUE-MMIP'in yıkama işlemleri sonrası MeOH:HAc (8:2, v/v) elüsyonuna ait kromatogramlar ($\lambda = 370\text{ nm}$).	63

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Kovalent olmayan etkileşimlerin bağlanma enerjisi aralıkları.	8
Tablo 2.2: Kovalent ve kovalent olmayan baskılama yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları.	9
Tablo 2.3: Bazı asidik, bazik ve nötral fonksiyonel monomerler.	13
Tablo 2.4: Kullanılan başlıca çapraz bağlayıcılar ve açık molekül yapıları.	15
Tablo 2.5: Kullanılan bazı başlatıcılar ve açık molekül yapıları.	17
Tablo 2.6: Bazı meyve ve sebzelerin başlıca fenolik madde içerikleri.	26
Tablo 2.7: Farklı iskelet yapılarına göre isim alan flavanoidler.	28
Tablo 2.8: MMIP ile yapılan antioksidan çalışmaları.	32
Tablo 3.1: Çalışılan örneklerdeki bileşenlerin analizi için geliştirilen HPLC metodu.	41
Tablo 4.1: Farklı gözenek oluşturuç çözücüler kullanılarak sentezlenen 1:8:40 oranındaki polimerin BF değerleri.	43
Tablo 4.2: Farklı molar bileşim oranlarındaki KUE-MMIP ve MNIP'lerin karşılaştırılması.	44
Tablo 4.3: Farklı derişimlerde KUE çözeltilerinin MMIP ve MNIP tarafından adsorpsiyonu sonucu belirlenen BF değerleri.	48
Tablo 4.4: KUE-MMIP ve MNIP için Freundlich adsorpsiyon izotermi değerleri.	49
Tablo 4.5: KUE-MMIP ve MNIP için Langmuir adsorpsiyon izotermi değerleri.	50
Tablo 4.6: Çeşitli fenolik bileşiklerin HPLC verileri.	52
Tablo 4.7 : KUE-MMIP ile muamele edilen kırmızı soğan kabuğu ekstraktının işlem aşamalarına göre KUE miktarları.	63

SİMGE VE KISALTIMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
$1/n$	: Adsorpsiyon Şiddetini Gösteren Freundlich Sabiti
b	: Adsorpsiyon Enerjisine Karşılık Gelen Langmuir Sabiti ($L \mu\text{mol}^{-1}$)
C_e	: Dengede Adsorplanmadan Kalan Madde Derişimi (μM)
C_{eq}	: Adsorplama Sonrası Çözeltide Kalan Maddenin Derişimi (μM)
C_i	: Kolondan Ayrılan Çözeltinin Derişimi
C_o	: Polimer Tarafından Adsorplanacak Maddenin Başlangıç Derişimi (μM)
K_f	: Adsorpsiyon Kapasitesi İle İlgili Freundlich Sabiti ($\mu\text{g g}^{-1}$)
m	: Polimer Miktarı (g)
Q	: Birim Polimer Başına Adsorplanan Madde Miktarı ($\mu\text{g g}^{-1}$)
q_e	: Adsorbentin Birim Kütlesi Başına Adsorplanan Madde Miktarı
q_{maks}	: Adsorpsiyon Kapasitesine Karşılık Gelen Langmuir Sabiti ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Q_{MMIP}	: Birim MMIP Başına Adsorplanan Madde Miktarı ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Q_{MNIP}	: Birim MNIP Başına Adsorplanan Madde Miktarı ($\mu\text{g g}^{-1}$)
R	: Korelasyon Katsayısı (uyum katsayısı)
RL	: Dağılma Veya Boyutsuz Ayırma Faktörü
V_e	: Kolondan Ayrılan Çözelti Hacmi (mL)

Kısaltmalar	Açıklama
4-VP	: 4 vinilpridin
ACN	: Asetonitril
ADV N	: 2-2' - azobis (2,4-dimetil valeronitril)
AIBN	: 2-2'-azobis (izobütironitril)
AM	: Akrilamid
APTES	: (3-aminopropyltriethoxy silane) 3- aminopropil trietoksisilan
BDE	: Bağ Disosiyasyon Enerjisi
BF	: Baskılama Faktörü
BHA	: Bütillendirilmiş hidrosianisol
BHT	: Bütillendirilmiş hidroksitoluen
BPO	: Benzoil peroksit
DNA	: Deoksiribo nükleik asit

DVB	: p-divinilbenzen
EDMA	: Etilen glükol dimetakrilat
EtOH	: Etanol
FTIR-ATR	: Fourier Transform Infrared Spectroscopy-Attenuated Total Reflectance, Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektroskopisi-Zayıflatılmış Toplam Yansıma
GA	: Gallik asit
GF/PET	: Glass fiber/polietilentereftalat
Hac	: Asetik asit
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography, Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IP	: İyonizasyon Potansiyeli
KAF	: Kafeik asit
KLA	: Klorojenik asit
KUE	: Kuersetin
LC-MS/MS	: Liquid chromatography–Mass Spectrometry/ Mass Spectrometry, Sıvı Kromatografisi-Kütle Kromatografisi
MAA	: Metakrilik asit
MeOH	: Metanol
MIP	: Molecularly Imprinted Polymers (Moleküler Baskılı Polimer)
MISPE	: Moleküler Baskılı Katı Faz Ekstraksiyonu
MMIP	: Magnetic Molecularly Imprinted Polymer (Manyetik Moleküler Baskılı Polimer)
MNIP	: Magnetic Molecularly Non-Imprinted Polymer (Kalıp Molekül İçermeyen Manyetik Baskısız Polimer)
MNP	: Manyetik Nanopartikül
MPS	: (3-methacryloxypropyltrimethoxy silane) 3- metakriloksi propil trimetoksisilan
N-IPAM	: N-İsopropil akrilamid
OA	: Oleik asit
PDA	: Photodiode Array Detector
PG	: Propil gallat
RT	: Rutin
SPE	: Solid Phase Extraction (Katı Faz Ekstraksiyonu)
TBHQ	: Tersiyer bütıl hidrokinon
TEOS	: Tetra etil orto silikat
THF	: Tetrahidrafuran

TMDMA	: Tetra metilen dimetakrilat
UV-Vis	: Ultraviyole-Görünür Bölge
VA	: Vanilik asit
VI	: Vinil imidazol



ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FLAVONOİDLERİN SEÇİMLİ AYIRIMI İÇİN MANYETİK MOLEKÜLER BASKILI POLİMER SENTEZİ

Merve AKYÜZ

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Kevser SÖZGEN BAŞKAN

Moleküler baskılı polimerler (MIP'ler) uygun çözücü tarafından uzaklaştırılan bir kalıp molekülün varlığında oluşan yapay polimerlerdir. Bu sebeple; elde edilen spesifik boşluklar, şekil, boyut ve fonksiyonel gruplarla kalıp molekülün tamamlayıcısıdır. MIP'lerin kullanımı ekstraksiyon, sensörler, kataliz ve ilaç dağıtımı gibi çeşitli birçok alanda geliştirilmiştir.

Son yıllarda, ayırma, saflaştırma ve derişiklendirme için manyetik moleküler baskılı polimerlerin (MMIP'ler) kullanımı giderek artan ilgiye sebep olmuştur. Geleneksel olarak moleküler baskılı polimerlerin yüksek afinite ve özgüllüğünün avantajlarından ayrı olarak MMIP'lerin yüksek verimlilik ve düşük maliyetle harici bir manyetik alan kullanılarak hızlı ve kolay bir şekilde ayırımı gerçekleştirilebilir. Yani, herhangi bir ek santrifüjleme veya filtrasyon prosedürü olmaksızın harici bir manyetik alanla kolay ve verimli bir şekilde ayırma gerçekleştirilir.

Kuersetin, birçok bitkinin yaprak, meyve ve çiçeğinde yaygın olarak bulunan flavon ailesinin en aktif bileşenidir. Kuersetin antioksidan, antiinflamatuvar, antiviral, ve antitümör özellikleri nedeniyle artan bir ilgi konusu olmuştur. Bu nedenle, kuersetinin çeşitli bitki matrikslerinden ayırımı önemli bir araştırma alanı olmaktadır.

Bu çalışmada, MMIP sentezinin ve KUE kazanımı için kullanımının koşulları incelendi. Manyetik nanopartikülleri hazırlamak için demir (II) klorür tetrahidrat ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) ve demir (III) klorür heksahidrat ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) kullanıldı ve Fe_3O_4 sentezlendi. Hazırlanan Fe_3O_4

yüzeyini silanla kaplamak için tetraetil ortosilikat (TEOS) kullanıldı. Oluşan $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS}$ yapısının yüzeyini işlevselleştirmek amacıyla [3-(metakriloksi)propil] trimetoksisilan (γ -MPS) kullanıldı. Kalıp molekül olarak KUE, gözenek oluşturuucu çözücüler olarak tetrahidrafuran (THF), etanol (EtOH), aseton: ACN (3:1, v/v) çözücü karışımı, fonksiyonel monomer olarak akrilamid (AM), metakrilik asit (MAA), ve 4-vinilpiridin (4-VP), çapraz bağlayıcı olarak etilen glikol dimetakrilat (EDMA) ve başlatıcı olarak 2-2'azobisisobütironitril (AIBN) kullanılmasıyla farklı mol oranlarında (kalıp: monomer: çapraz bağlayıcı; 1:4:20- 1:8:20 ve 1:8:40) sentez gerçekleştirildi. Hazırlanan polimerin tanıma ve seçicilik özellikleri, THF, ACN ve %50 EtOH (v/v) çözücü karışımlarında hazırlanan KUE çözeltileri kullanılarak, denge bağla(n)ma denemeleriyle, 370 nm'deki absorbanslardan yararlanılarak belirlendi. 1:8:40 (KUE: 4-VP: EDMA) mol oranına sahip %50 EtOH çözücü karışımında hazırlanan MMIP'nin en yüksek adsorpsiyon kapasitesine ve baskılama faktörüne (BF) sahip olduğu saptandı. Hazırlanan KUE-MMIP kullanılarak kırmızı soğan kabuğu ekstraktından %33 verimle KUE kazanımı gerçekleştirildi.

Eylül 2018, 90 sayfa.

Anahtar kelimeler: Manyetik moleküler baskılı polimer (MMIP), Kuersetin baskılı manyetik polimer, antioksidanlar

SUMMARY

M.Sc. THESIS

MAGNETIC MOLECULARLY IMPRINTED POLYMER SYNTHESIS for SELECTIVE SEPARATION of FLAVONOIDS

Merve AKYÜZ

İstanbul University

Institute of Graduate Studies in Science and Engineering

Department of Chemistry

Supervisor : Prof. Dr. Kevser SÖZGEN BAŞKAN

Molecularly imprinted polymers (MIPs) are artificial polymers which are formed in the presence of a target molecule that finally is removed by the proper solvents; therefore, the obtained specific cavities are complement to the target molecule in shape, size and functional groups. MIPs are used many areas such as extraction, sensor construction catalysis and drug delivery.

In recent years, the use of magnetic molecular imprinted polymers (MMIP) for separation, purification and concentration has become a growing concern. Apart from the advantages of high affinity and specificity of traditional MIPs, MMIPs can be rapidly and easily separated using an external magnetic field with high efficiency and low cost. So, easy and efficient separation can be performed with an external magnetic field without any additional centrifugation or filtration procedures.

Quercetin (KUE), is the most active compound in flavone family, widely occurring in leaves, fruits, and flowers of many plants. This compound has become the topic of increasing interest based on its antioxidant, antiviral and antitumor properties. So, the isolation of quercetin from various plant matrices is becoming an important research area.

In this study, the conditions of MMIPs synthesis and their use for QUE recovery were examined. Iron (II) chloride tetrahydrate ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) and iron (III) chloride hexahydrate ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) were used to prepare magnetic nanoparticles and Fe_3O_4 was synthesized. Tetraethyl ortho silicate (TEOS) was used to coat the resulting Fe_3O_4 surface with silane. [3-(methacryloxy) propyl] trimethoxysilane (γ -MPS) was used to functionalize the surface of the formed Fe_3O_4 @TEOS structure. Synthesis was carried out using QUE as template molecule; tetra hydrofuran (THF), ethanol (EtOH), asetonitrile (ACN) (3:1, v/v) solvent mixture as porogen solvents; acrylamide (AM), metacrylic acid (MAA), 4-vinyl pyridine (4-VP) as functional monomers; ethyleneglycol dimethacrylate (EDMA) as cross-linker and 2,2'-azobisisobutyronitril (AIBN) as initiator at different molar ratios (template:monomer:cross-linker; 1:4:20, 1:8:20 and 1:8:40). The recognition and selectivity properties of these polymers were determined from the absorbance values at 370 nm obtained with equilibrium assays using QUE solutions prepared in THF, ACN and %50 EtOH solvent mixtures at different ratios. It was established that the magnetic imprinted polymer prepared in %50 EtOH solvent mixture with a molar ratios of 1:8:40 (QUE:4-VP: EDMA) had the highest adsorption capacity and imprinting factor. Using the prepared QUE-MMIP, QUE was obtained with 33% efficiency from red onion skin extract.

September 2018, 90 pages.

Keywords: Magnetic molecularly imprinted polymers, quercetin magnetic imprinted polymer, antioxidants

1. GİRİŞ

Moleküler baskılı polimerler kalıp moleküle özgü yüksek ilgi ve seçicilikte olma, tanıma kabiliyetlerini uzun süre saklayabilmesi, yüksek fiziksel ve kimyasal kararlılıkta olması, yüksek mekanik dayanıklılık, kolay hazırlanabilmesi sebebiyle son yıllarda ilgi çeken çalışma alanları arasında yer almaktadır. Günümüzde bu avantajların beraberinde manyetik özellik kazandırılarak elde edilen manyetik baskılı polimerler sentezlenmiştir. Manyetik nanopartiküller küçük boyutlu, yüksek yüzey/ hacim oranı, yüksek manyetik duyarlılık ve etkili bağlanma bölgeleri içermesi ve kolay ayırma gibi avantajlara sahiptir. Ayrıca ayırma işlemi için ek santrifüjleme ve filtrasyon gerektirmez (Lin ve diğ. 2012).

Manyetik katılar analitik kimyada iki ana uygulamaya sahiptir. Birincisi, kimyasal numunelerin saflaştırılması veya ayrılması (çoğunlukla manyetik SPE), ikincisi popülerlik kazanan bir uygulama olan biyosensörlerde veya sensörlerde kullanımıdır. İlk olarak manyetik parçacıklar biyolojik türlere uygulanmıştır. 1996 yılında Towler ve diğ., mangandioksit kaplı manyetit içeren bir manyetik sorbent ile deniz suyu örneklerinden radyum, kurşun ve polonyumun geri kazanılması üzerine çalışmalar yapmışlardır (Towler ve diğ. 1996). 1998’de Mosbach ve diğ., süspansiyon polimerizasyonu ile manyetik bir alt tabaka ile moleküler baskılı polimer (MMIP) ve kalıp molekül içermeyen manyetik polimer (MNIP) sentezlemişlerdir (Mosbach ve Ansell, 1998). Sonrasında araştırmacılar manyetik yüzeyleri değişik malzemelerle değiştirerek ya da işlevselleştirerek, manyetik tanıma özelliklerini geliştirerek MMIP sentezi gerçekleştirmişlerdir. 1999’da Safarikova ve arkadaşları, manyetik katı faz ekstraksiyonu olarak adlandırılan yeni bir manyetik ayırma tekniği bildirmişlerdir. Bu sayede büyük hacimlerdeki hedef analitler, manyetik veya manyetize olabilen adsorbentlerin kullanımına dayanılarak derişiklendirilmişlerdir. Ayırma işlemi sırasında, harici bir manyetik alan kullanılması esastır. Doğadaki çeşitli kimyasal türlerin ayrımını gerçekleştirmek için onlarca yıldır manyetik parçacıklar kullanılmaktadır.

Bitkilerin ikincil metabolizma ürünleri olarak tanımlanan fenolik bileşikler, meyve ve sebzelerin tohum, çiçek, yaprak, dal ve gövdelerinde bulunabilirler (Bilaloğlu ve Harmandar, 1999). Meyveler içerdikleri fenolik bileşiklerin antioksidatif ve antimikrobiyal etkilerine bağlı

olarak sağlık üzerine olumlu etkilerinde dolayl fonksiyonel gıda olarak değerlendirilirler. Beslenme fizyolojisi açısından olumlu etkilerinden dolayl fenolik bileşiklere biyoflavonoid adı da verilir. Bazı kaynaklarda fenolik bileşikler için P vitamini ya da P faktörü (permeabilite faktörü) olarak isim verilir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda flavonoidler önem kazanmış ve bu bileşiklerin antioksidan özelliklerinin yanı sıra antienflamatuvar, antiviral, antialerjik, antitrombotik ve diğer özelliklerinin de bulunduğu ispatlanmıştır. 6000'den daha fazla olduğu düşünölen flavonoidler elma, soğan, domates, kırmızı şarap, çay ve baklagillerde oldukça fazla bulunmaktadır (Bors ve diğ. 1990; Dixon ve Ferreira, 2002; Stavric, 1994; Yetök, 2013).

Fenolik bileşiklerin flavonoid grubunda yer alan hardal sarısı rengineeki bileşiği kuersetin (KUE), flavonoidlerin in vitro çalışmalarında tespit edilmiştir (Luzia ve diğ. 1997). KUE formölü $C_{15}H_{10}O_7$ 'dir. İçeriğinde %65,19 C, %3,34 H ve %37,06 O bulunan kuersetinin molekül ağırlığı 302,24 g/mol'dür. KUE birçok bitkide farklı flavonoidlerle beraber bulunur. Doğadaki bitkilerin yaprak, iek ve saplarında flavon bileşiği olarak bulunan bu bileşik bağışıklık hücrelerinde histaminin açığa çıkmasının engellenmesine yardımcı olur aynı zamanda metabolizmayı hızlandırarak yağları yakar ve toksinlerden arınmamızı sağlar. KUE kaynağı olarak ahududu, kiraz, soğan, elma, fasöllye, brokoli, siyah çay, kırmızı şarap, kırmızı yaban mersini ve greyfurt örneğ verilebilir.

Bu çalışmada, fenolik bileşiklerden KUE kalıp molekül olarak kullanılarak manyetik moleköler baskılı polimer (MMIP) sentezi yapılması ve hazırlanan polimerin doğal örneğlerden KUE kazanımı için kullanılması amaçlanmıştır. En iyi adsorplama özelliğine sahip polimerin hazırlanmasında, en uygun monomeri ve gözenek oluşturucu özöcüyü belirleyebilmek için, kalıp molekül:monomer:çapraz bağlayıcı farklı mol oranlarında kullanılarak sentezler gerçekleştirildi. Freundlich ve Langmuir adsorpsiyon izotermii çizildi. Polimerin tutma kapasitesi hesaplanarak baskılama faktörü (BF) değeri bulundu. Seçimlilik özelliğini belirlemek için KUE ile aynı grupta yer alan ya da yer almayan fenolik bileşiklerle çalışmalar yapıldı. Farklı türlerdeki fenolik bileşiklerin baskılı (KUE-MMIP) ve baskısız (MNIP) polimer tarafından ne kadar tutulduğu belirlenerek KUE-MMIP'ın seçimliliği değerlendirildi.

Hazırlanan polimerin ayırma ve saflaştırma etkinliği, yüksek oranda KUE içerdiği bilinen kırmızı soğan kabuğundan (Martino ve Guyer, 2004; Pérez-Gregorio ve diğ. 2014) KUE

kazanımı denemeleri ile incelendi. KUE miktarlarının belirlenmesinde HPLC yönteminden yararlanıldı.

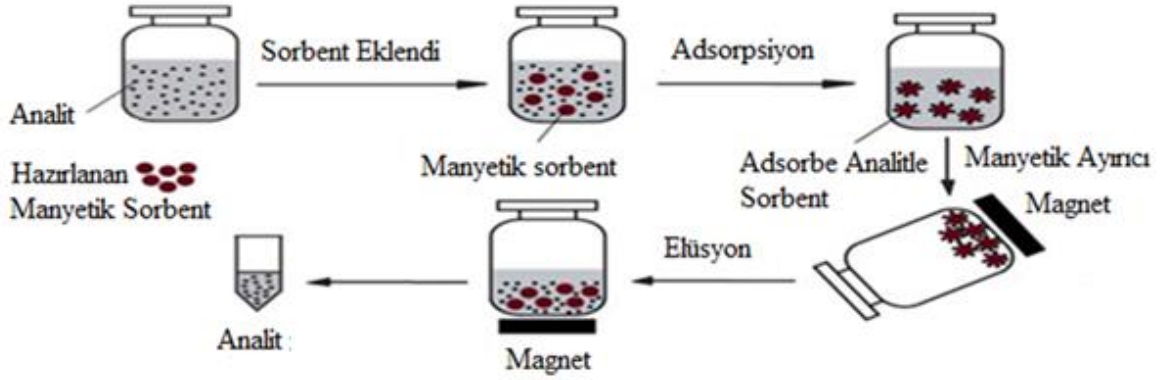


2. GENEL KISIMLAR

2.1. MANYETİK MOLEKÜLER BASKILI POLİMERLER

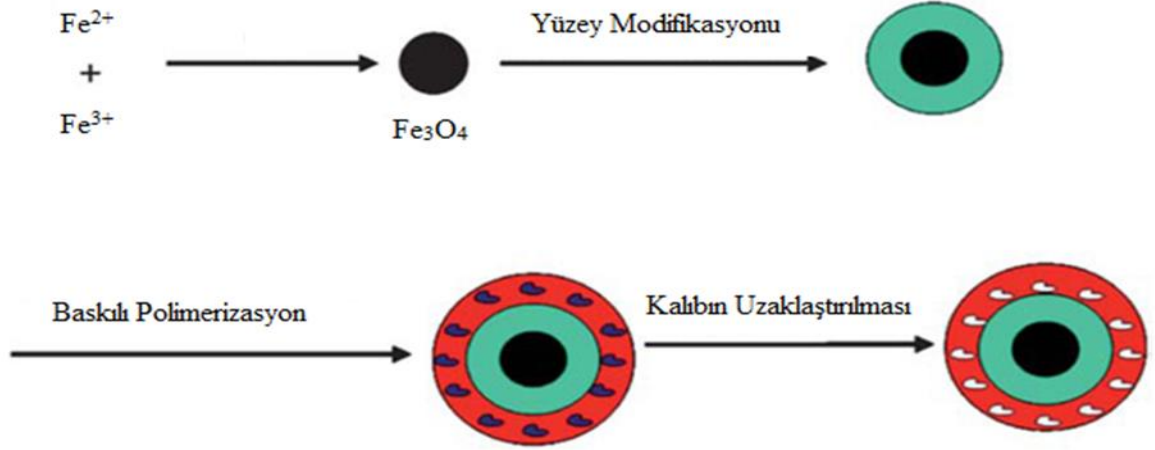
Moleküler baskılı polimerler (Molecularly Imprinted Polymers, MIPs) kalıp molekül için yüksek seçiciliğe sahip, özel olarak üretilmiş malzemelerdir. MIP'lar işlevsel monomer, çapraz bağlayıcı ve kalıp molekülün varlığında sentezlenirler. Polimer matrisinde, yüksek oranda çapraz bağlayıcı madde ve kalıp moleküllerinin çıkarılmasından sonra oluşan (şekil ve boyut bakımından hedef molekülü tanımlayan) boşluklar bulunur. Bu yapı, kalıp molekülün içinde bulunduğu matristen yüksek seçicilikle ayrılmasını ve ilgili bölgelere yeniden bağlanabilmesini sağlar. Diğer tanıma sistemleri ile karşılaştırıldığında moleküler baskılı polimerler; düşük maliyetli, kolay sentezlenebilen, fiziksel ve kimyasal koşullara karşı dayanıklı, yüksek kararlılık gösteren ve uzun süre saklanabilen özelliklere sahiptir. Moleküler baskılı polimerler, kromatografik ayırma, katı faz ekstraksiyonu (Solid Phase Extraction, SPE), kimyasal sensörler ve kataliz gibi birçok alanda uygulanmaktadır.

Son zamanlarda manyetik malzemelere dayalı başka bir ayırma teknolojisi büyük ilgi görmüştür. Moleküler baskılı polimerlere ek olarak manyetit kısmı içeren bu maddeler, manyetik moleküler baskılı polimer (Magnetic Molecularly Imprinted Polymer, MMIP) olarak isimlendirilmiştir. Manyetik ayırma işleminde kalıp molekülü (analit) içeren çözeltiye veya süspansiyona manyetik malzemeler eklenmiştir. Böylelikle analitlere karıştırma ile manyetik özellik kazandırılıp, ayırma işlemi mıknatısla gerçekleştirilerek kolaylaştırma sağlanmıştır. Manyetik materyaller geleneksel katı destekle kıyaslandığında yüksek yüzey/hacim oranı, kalıp molekülle hızlı ve etkili bağlanma ve yüksek manyetik duyarlılık gibi birçok üstün özellikleri vardır. Bazı manyetik bileşenler moleküler baskılı polimerleri içerdiğinde elde edilen karma (kompozit) polimerler yani manyetik moleküler baskılı polimerler (MMIP), yalnızca mıknatıs olarak duyarlı özelliğe sahip olmazlar aynı zamanda kalıp molekül (analit) için seçiciliğe de sahip olurlar.



Şekil 2.1: Manyetik moleküler baskılı polimerin uygulama aşamaları.

Günümüzde MMIP'ler farklı birçok yöntemle sentezlenebilir. En sık kullanılan hazırlama işlemi ise dört basamağa bölünmüştür. İlk adım, Fe_3O_4 gibi manyetik nanopartiküllerin hazırlanmasıdır. İkinci adım, manyetik bileşenlerin yüzeyi değiştirilerek işlevselleştirilmesidir. Bu basamak genellikle iki yöntem kullanılarak gerçekleştirilir. Birinci yöntemde silanizasyon yöntemi uygulanır. Manyetik nanoparçacıklar Steno Yöntemi kullanılarak SiO_2 kabuğu ile kaplanır. Sonrasında [3-(metakriloksi)propil] trimetoksisilan gibi silan bağlanma maddesi ile modifiye edilerek yüzeye bağlanma bölgeleri oluşturulur. İkinci yöntemde ise etilen glikol ya da oleik asit gibi yüzey aktif maddeler kullanılarak yüzeye bağlanma bölgeleri oluşturulur. Ayrıca baskılı polimerizasyon öncesinde çitosan ve poliklorometilstirenden de yararlanılan çalışmalar mevcuttur. Üçüncü adım, kalıp molekülün, fonksiyonel monomerin ve çapraz bağlayıcı maddenin varlığında manyetik çekirdek olarak işlevselleştirilmiş nanopartiküller kullanarak yüzey baskılı polimerizasyonu gerçekleştirmektir. Dördüncü ve son adım, kalıp moleküllerinin polimerden çıkarılma basamağıdır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2: Manyetik moleküler baskılı polimer (MMIP) sentezinin şematik gösterimi.

Manyetik ayırmanın moleküler baskıyla birleştirilmesi, ayırma uygulamasına yönelik güçlü bir analitik araç sağlayabilecek ideal bir yoldur. Analitik kimyada MMIP'lerin uygulama alanları arasında; çevresel, gıda, biyolojik, ilaç ve bitki örneklerinin analizi gibi çalışmalar sayılabilir (Chen ve Li, 2012).

2.1.1. Baskılama Yöntemleri

Moleküler baskılı polimer hazırlarken beş farklı yöntem uygulanır. Bunlar;

- Kovalent baskılama yöntemi
- Non-kovalent (kovalent olmayan) baskılama yöntemi
- Yarı-kovalent (semi-kovalent) baskılama yöntemi
- Stokiyometrik kovalent olmayan baskılama yöntemi
- Metal iyon baskılama yöntemi

2.1.1.1. Kovalent Baskılama Yöntemi

Kovalent baskılama yönteminde ilk olarak polimerizasyon işleminden önce fonksiyonel monomer ile kalıp molekül birbirlerine kovalent bağlarla bağlanırken polimerizasyon işleminden sonra kovalent bağlar kırılır kalıp oluşturmak amacıyla hedef molekül polimerden uzaklaştırılır. Kalıp molekül, baskılanmış polimerlerle etkileştirildiğinde kovalent bağlar yeniden oluşur (Şekil 2.3). Bu çalışmayı ilk olarak Wulff ve arkadaşları 1977 yılında gerçekleştirmiştir (Wulff ve diğ. 1977).

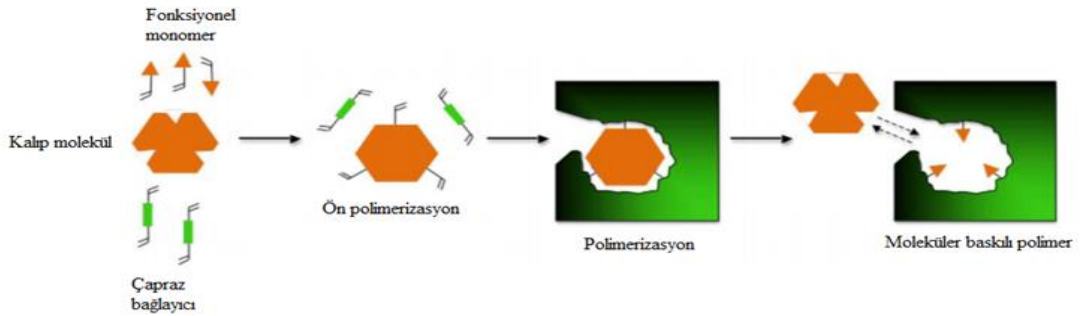
Kovalent baskılamanın avantajları;

Kovalent baskılamada monomer ve kalıp molekül arasındaki yapı kararlı ve stokiyometriktir. Bu sebeple baskılama sonucu oluşan yapı daha homojen bir dağılım gösterir. Kovalent bağ ile oluşan yapılar oldukça kararlı oldukları için çeşitli polimerizasyon koşullarında (düşük ya da yüksek pH, yüksek sıcaklık, yüksek polar çözücü vb.) çalışma yapılabilir (Kriz ve diğ. 1997).

Kovalent baskılamanın dezavantajları;

Monomer ile kalıp molekül arasında oluşan yapı sentezinin sık sık sorunlar çıkarması, mevcut tersinir kovalent bağların sayısının sınırlı olması, kovalent bağların ayrıldığı aşama sonucunda baskı etkisinin azalması, kovalent bir bağın oluşumu ve kırılması söz konusu olduğu için kalıp molekülün bağlanması-ayrılması işlemlerinin yavaş olması bu çalışmaların ekonomik olmaması gibi sebepler kovalent baskılamanın dezavantajlarındandır (Kriz ve diğ. 1997; Sellergen ve diğ. 1998).

Kovalent baskılama yönteminin sınırlılıklarının fazlalığı sebebiyle bu yöntemin kullanımı daha azdır.



Şekil 2.3: Kovalent baskılama yönteminin şematik gösterimi.

2.1.1.2. Non- Kovalent (Kovalent Olmayan) Baskılama Yöntemi

Fonksiyonel monomer ile kalıp molekül arasındaki bağlar kovalent olmayan hidrojen bağı, koordinasyon bağı oluşumu, elektrostatik etkileşimler, π - π etkileşimleri gibi nispeten daha zayıf bağlar üzerinden yürür. Polimerizasyon işleminden sonra kalıp molekülün uygun çözücülerle kalıptan uzaklaştırılması daha kolay ve basit bir süreç içerir. Kalıp molekülle baskılanmış polimerler kovalent olmayan etkileşimlerle birbirine bağlanır. Yapılan bazı araştırmalar,

baskılama için kovalent bağ oluşmasının zorunlu olmadığını ve monomer karışımı içerisinde yer alan türlerde kovalent olmayan bağların kendiliğinden oluştuğunu göstermiştir.

Kovalent olmayan baskılama zayıf etkileşimler içerdiği için bağlanma sabitleri kovalent baskılamaya göre daha zayıftır. Bu sebeple zayıf etkileşimlerin etkisini gidermek için ortama monomerin fazlası eklenir. Genellikle bağlanma sabiti (K , mol^{-1}) ya da serbest enerji (ΔG , kcal/mol) olarak ifade edilen bağlanma afinitesi bağlanma etkileşimlerinin kuvvetinin bir göstergesidir. Aşağıdaki tabloda çeşitli etkileşim türlerinin bağlanma enerji aralıkları gösterilmiştir.

Tablo 2.1: Kovalent olmayan etkileşimlerin bağlanma enerjisi aralıkları.

Etkileşim Türü		Bağlanma Enerjisi Aralığı (kcal/mol)
Koordinasyon Bağları		20-50
Elektrostatik	İyon-İyon	20-80
	İyon-Dipol	15-50
	Dipol-Dipol	1-10
Hidrojen Bağı		1-30
π - π Etkileşimleri		0-12
Van der Waals		0-1,5

Non-kovalent baskılamanın avantajları;

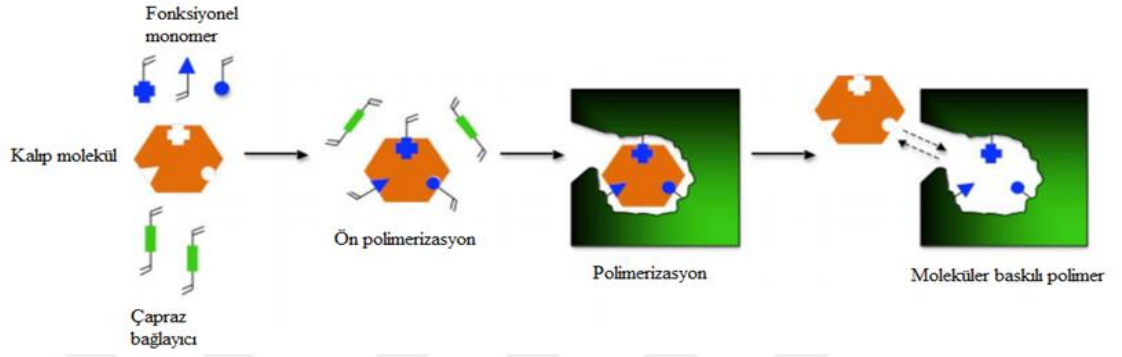
Günümüzde baskılanmış polimer hazırlamak için non-kovalent (kovalent olmayan) baskılama yöntemi daha sıklıkla tercih edilmektedir (Sellersen ve diğ, 1998; Zhong ve diğ, 2001). Bunun sebebi ise polimerizasyon işlemi öncesinde non- kovalent etkileşimlerle kalıp molekül etrafında fonksiyonel monomerin sorunsuz ve basit bir şekilde düzenlenmesidir. Öncelikle kovalent monomer- kalıp molekül sentezine gerek olmadan kalıp-monomer kompleksi oluşturmak için farklı bağlanma etkileşimleri kullanılabilir. Polimerizasyon işlemi sonunda hedef molekül kalıptan basit bir çözücü ekstraksiyonu ile kolayca uzaklaştırılabilir (Şekil 2.4).

Kalıp molekülün geri bağlanma ve serbest bırakma işlemleri hızlıdır. Baskılanmış polimerler, kalıp molekülün yapısı ve reaktivitesi hakkında bilgi gerektirmeksizin hazırlanabilir.

Non-kovalent baskılamanın dezavantajları;

Non- kovalent baskılamanın dezavantajları ise polimerizasyon koşulları, etkileşimleri arttırmak için sınırlıdır ve polimerizasyon koşullarının seçimi yoğun çalışmalar sonunda belirlendiği için zaman alıcıdır.

Non-kovalent polimerlerde bağlanma bölgelerinin dağılımı heterojen yapı gösterir. Bu durum non-spesifik bağlanmalara ve kalıp molekülünün zayıf molekülleri de tanınmasına sebep olabilmekte ve bu da bu tür polimerlerin kromatografik analizlerde kullanılması durumunda pik genişlemelerine sebep olabilmektedir (Mallik ve diğ. 1994, Yoshizaka ve diğ. 1998).



Şekil 2.4: Non-kovalent baskılama yönteminin şematik gösterimi.

Tablo 2.2: Kovalent ve kovalent olmayan baskılama yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları.

	Kovalent	Kovalent Olmayan
Monomer-Kalıp molekül konjugat sentezi	Yapılması zorunlu	Yapılması zorunlu değil
Polimerizasyon şartları	Rahat	Sınırlı
Kalıp molekülün bağlanması ve ayrılması	Yavaş	Hızlı
Kalıp molekülün uzaklaştırılması	Zor	Kolay
Bağlanma bölgesinin yapısı	Net	Daha az net

2.1.1.3. Yarı Kovalent (Semi-Kovalent) Baskılama Yöntemi

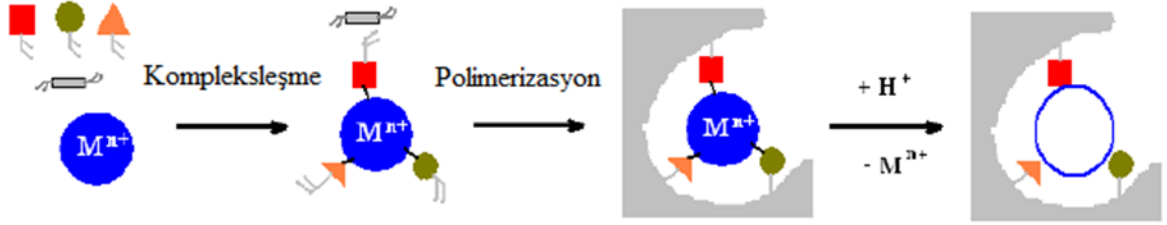
Kovalent ve kovalent olmayan baskılama yöntemlerinin avantajları göz önünde bulundurularak ikisinin karışımı olacak şekilde bir çalışma altında toplanması sonucu ortaya çıkan bu yöntemde, polimer kovalent baskılama işleminde olduğu gibi hazırlanmakta fakat kalıp molekülün polimere bağlanması kovalent olmayan etkileşimlerle gerçekleşmektedir (Whitcombe ve diğ. 1995). Böylelikle kovalent baskılamanın en önemli problemlerinden biri olan kalıp molekülün yavaş bağlanması ve yavaş ayrılması sorunu da ortadan kalkmış olmaktadır.

2.1.1.4. Stokiyometrik Kovalent Olmayan Baskılama Yöntemi

Stokiyometrik baskıda fonksiyonel monomer ile kalıp molekül arasında bir denge mevcut olduğu için oluşan yapı oldukça güçlüdür. Stokiyometrik kovalent olmayan baskılama için kalıp molekül monomer arasındaki etkileşimin sabit değeri $K_a \geq 10^3$ olması gerekmektedir.

2.1.1.5. Metal-İyon Baskılama Yöntemi

Metal iyonları, çeşitli fonksiyonel gruplarla bağlanma yeteneğine sahiptir. Geçiş metal iyonları, metal ligand etkileşimlerinde koordine bağların termodinamik olarak dayanıklı olması ve hızlı reaksiyon kinetiğine sahip olmaları sebebiyle baskılama tekniğine oldukça uygundurlar. Nishide ve arkadaşları 1976 yılında ilk defa iyon- hedef molekül (iyon-kalıp) etkiyi kullanarak metal iyonları varlığında iki işlevli reaktif ile poli-(4vinilpiridin) polimeri sentezlemişlerdir (Skoog ve diğ. 1990).



Şekil 2.5: Metal-iyon baskılama yönteminin şematik gösterimi.

Metal iyon baskılama işlemi için polimerizasyon şartları bileşenlere zarar vermediği sürece birçok polimerizasyon (anyon, katyon, radikal ve yoğunlaştırma) tekniği uygulanabilir. Hazırlanması ve uygulanması kolaylığı sebebiyle radikal polimerizasyonu tercih edilir.

2.1.2. Manyetik Moleküler Baskılama Tekniği

Manyetik moleküler baskılama yöntemi temel olarak dört basamaktan oluşur.

1. Basamak: Manyetit Sentezi

Bu basamak, polimere manyetik özellik kazandırmak için kullanılan manyetitin hazırlanma basamağıdır. Fe_3O_4 hazırlandıktan sonra yüzeyi kaplamak için tetraetil ortosilikat (TEOS) ilave edilir ve sonrasında yüzeyi aktifleştirmek için [3-(metakriloksi) propil] trimetoksisilan ([3-(methacryloxy) propyl] trimethoxysilane) (γ -MPS) ya da 3-aminopropiltrioksilan (3-

Aminopropyltriethoxysilane) (APTES) gibi maddeler kullanılarak ilk aşama tamamlanmış olur (Chen ve Li, 2012).

2. Basamak: Ön Polimerizasyon veya Ön Kompleksleşme

Hedef moleküle (kalıp molekül), fonksiyonel gruplar içeren polimerleşebilen uygun monomerlerle kovalent ya da kovalent olmayan etkileşimler sonucunda bağlanarak kompleks yapı oluşturulur. Bu basamakta kalıp molekül etrafında fonksiyonel monomerin bağlandığı bir yapı oluşumu meydana gelir. Bu etkileşimde kalıp molekülün kimyasal özellikleri ve üç boyutlu yapısı önemli bir yer tutar.

3. Basamak: Polimerizasyon

Monomer ve kalıp molekül kompleksinin uygun bir çapraz bağlayıcı ve başlatıcı madde kullanılarak fonksiyonel monomer üzerinden polimerleşme basamağıdır.

4. Basamak: Hedef (Kalıp) Molekülün Uzaklaştırılması

Oluşturulan yapıda kalıp molekülün yerini alacak boşlukların oluşturulması için öncelikle kalıp molekül yapıdan uzaklaştırılır. Uygun koşullar altında, bu boşluklar kalıp molekülün yapısını, boyutunu ve fizikokimyasal özelliklerini taşır. Bu durumda kalıp moleküle seçici ve etkin olarak bağlanma olur (Cormack ve Mosbach, 1999).

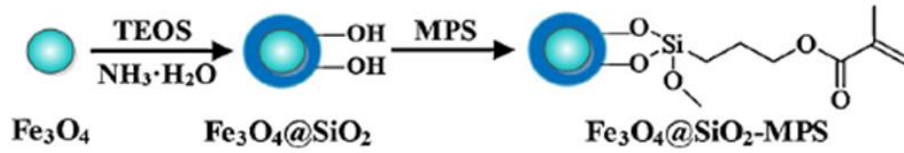
2.1.3. Manyetik Moleküler Baskılı Polimeri Oluşturan Başlıca Bileşenler

2.1.3.1. Manyetik Kısım

Moleküler baskılı katı faz ekstraksiyonu (MISPE) avantajlarına rağmen, zayıf kütle transferi, düşük bağlanma kapasitesi ve yavaş bağlanma kinetiği gibi dezavantajları olan bir tekniktir. MISPE'nin dezavantajları göz önünde bulundurularak oluşturulan yeni manyetik polimer esaslı teknik ilgi çekmeye başlamıştır. Manyetik MIP'ler çözeltiye doğrudan dağıtılabilir ve daha sonrasında santrifüjleme ya da filtrasyon işlemleri gerektirmeden harici bir manyetik alan kullanılarak çözülden kolayca ayrılabilir (Zheng ve diğ. 2012; Chen, Xie ve Shi, 2012) MMIP'ler hem bu aşama nedeniyle hem de yüksek adsorpsiyon ve mükemmel tanıma seçiciliği sergilediği için son yıllarda moleküler baskılı polimerlere ek olarak ilgi odağı olmuştur. Manyetik kısım, sonrasında bağlanacak monomer-kalıp molekül için, üzerinde bağlanabileceği gruplar taşıyan bir yapıya sahiptir. Bunun için ön işlem basamakları içerir. Bir manyetik kısım,

kimi zaman iki kimi zaman üç farklı aşama sonucunda elde edilir. Elde edilen bu kısım, monomer-kalıp molekülü içerisine alarak çapraz bağlayıcılar ve başlatıcı varlığında yapıya manyetik özellik katar. Böylelikle sonrasındaki aşamalar manyetik alan kullanılarak kolaylaştırılmış olur.

Genellikle Fe_3O_4 nanopartikülleri ile oluşturulan manyetik kısım, bu yapının hidrofobik bir özellik göstermesi ve kararsızlığı sebebiyle, silika ile kaplama işlemi yapılarak göbek-kabuk yapısı oluşturulur. Sonrasında yüzey modifikasyon işlemi ile hazırlanan manyetik nano boyutlu MMIP'lerin yüzey hacim oranının son derece yüksek olması, kalıp molekülle moleküler baskılama, bağlanma kapasitesi, tanıma alanlarının erişilebilirliği ve kalıp moleküllerinin kolay çıkarılması gibi özellikleri yapıya kazandırmış olur (Şekil 2.6).



Şekil 2.6: Manyetik kısım hazırlama aşamaları.

2.1.3.2. Hedef Molekül-Kalıp Molekül

Baskılanan kalıp molekülünün fonksiyonel monomerle kompleks yapı oluşturması ve fonksiyonel gruplar içermesi moleküler baskılama basamaklarında oldukça önemlidir. Her hedef molekül doğrudan kalıp olarak kullanılmaz. Kalıp molekülün serbest radikal polimerizasyonuna uyumlu olması gerekir. Bunun içinde polimerizasyon koşulları kararlı (inert) olmalıdır. Kalıp moleküllerin yüksek sıcaklığa ve UV ışınlarına da dayanıklı olması istenilen durumlar arasındadır. Kalıp molekülün konformasyonundaki küçük değişiklikler baskılama işleminin başarısını etkiler niteliktedir (Davies, De Biasi ve Perrett, 2004).

Baskılaması yapılacak molekül olarak; karbonhidratlar, aminoasitler, proteinler, nükleotit bazlar, ilaçlar, hormonlar, koenzimler, pestisitler ve iyonlar kullanılabilir (Cormack ve Mosbach, 1999).

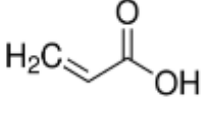
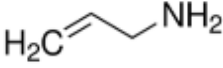
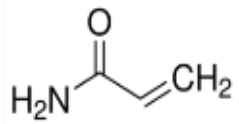
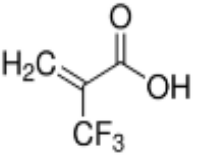
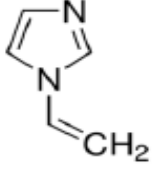
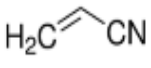
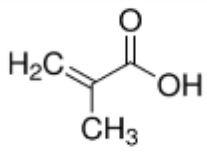
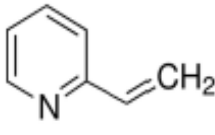
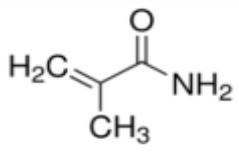
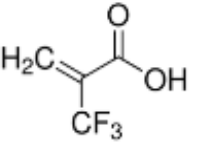
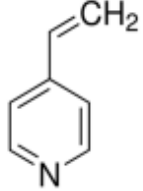
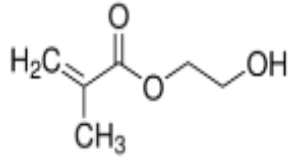
2.1.3.3. Fonksiyonel Monomerler

Kalıp molekül için tasarlanmış, spesifik boşluklar yaratmak için monomer seçimi çok önemlidir. Non-kovalent bağlanma protokollerinde kalıp molekül ile fonksiyonel monomer etkileşimini arttırmak için fazla oranda fonksiyonel monomer kullanılır (kalıp/fonksiyonel

monomer oranı 1:4 veya üzerinde olabilir). Diğer bir önemli faktör de kalıp molekülün işlevi ile fonksiyonel monomerin işlevinin uyumudur (örneğin; hidrojen bağı vericisi, hidrojen bağı alıcısı). Bu uyum kompleks oluşumunu dolayısıyla da baskılamanın etkisini artırır.

Fonksiyonel monomerler asidik, bazik ve nötral özellikler gösterirler. Belli başlı fonksiyonel monomerler, karboksilik asitler (akrilik asit, metakrilik asit, vinilbenzoik asit), sülfonik asitler (2-akrilamido-2-metilpropan sülfonik asit) ve heteroaromatik bazlar (vinilpiridin, vinilimidazol)'dır. Asidik fonksiyonel grup içeren kalıp moleküller için genellikle bazik fonksiyonel grup taşıyan, bazik fonksiyonel grup içeren kalıp moleküller için ise asidik fonksiyonel grup taşıyan monomerler tercih edilir (Vasapollo ve diğ. 2011).

Tablo 2.3: Bazı asidik, bazik ve nötral fonksiyonel monomerler.

Asidik	Bazik	Nötral
 Akrilik Asit	 Alilamin	 Akrilamid
 2-(triflorometil)-akrilik Asit	 1-vinilimidazol	 Akrilonitril
 Metakrilik Asit	 2-vinilpiridin	 Metakrilamid
 İtakonik Asit	 4-vinilpiridin	 2-hidroksietil Metakrilat

2.1.3.4. Çapraz Bağlayıcılar

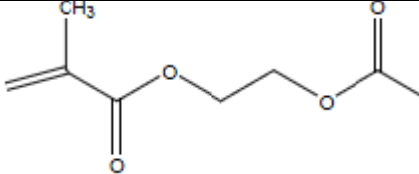
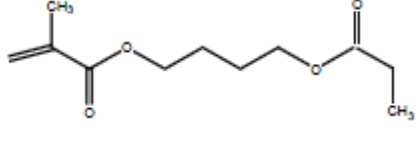
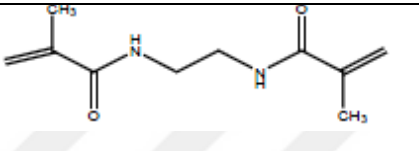
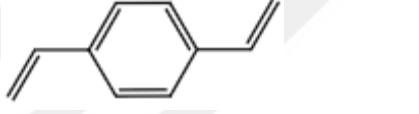
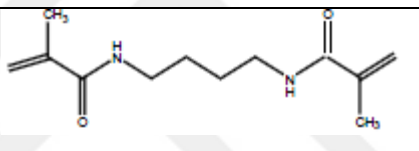
Çapraz bağlayıcı, kalıp molekülün polimerden uzaklaştırılmasından sonra kararlı ve analiti hafızasında tutan polimer ağ örgüsü oluşturmak için kullanılır ve seçimi tıpkı diğer bileşenler

gibi önemlidir. Polimerin morfolojisinin kontrolünden sorumlu olan çapraz bağlayıcılar polimere kimyasal inertlik (molekülün ya da iyonun bağlanma bölümlerinin kararlı olmasını) ve mekanik kararlılık sağlarlar.

Yüksek oranda ilave edilen çapraz bağlayıcılar polimer matriksin çözücünde çözünmesini önler ve bu durum polimerin kullanımı kolaylaştırır. Etkili baskılama için çapraz bağlayıcının reaktifliği ile fonksiyonel monomerin reaktifliği uygun olmalıdır. Bu sebeple çapraz bağlayıcı ile fonksiyonel monomer arasındaki mol oranı önemlidir. Bu oran ayarlanamazsa monomer ya da çapraz bağlayıcıdan biri polimerizasyon işleminde baskın karakter göstererek homojen bir yapı oluşmasını engeller. Etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) ve trimetilolpropan trimetakrilat (TRIM) en çok kullanılan çapraz bağlayıcılardır. Bazı araştırmacılara göre, çapraz bağlayıcılar polimerlerin fiziksel özellikleri üzerinde önemli bir etkiye sahipken kalıp molekül ve fonksiyonel monomerler arasındaki etkileşimler üzerinde çok daha az etkiye sahiptir (Vasapollo ve diğ. 2011).

Farklı çapraz bağlayıcılar ve derişim oranları polimerlerde farklı sayıda bağlanma bölgesi oluşumuna sebep olacağından bu durum seçiciliği de etkiler. Örneğin, mol oranları küçükse kalıp moleküllerin bağlanma bölgeleri birbirine çok yaklaşıacağından bu bölgeler komşu bölgeler tarafından kapatılır ve etkin bir sonuç elde edilmez.

Tablo 2.4: Kullanılan başlıca çapraz bağlayıcılar ve açık molekül yapıları.

Çapraz Bağlayıcı	Açık Molekül Yapısı
Etilen glikol dimetakrilat (EDMA)	
Tetra metilen dimetakrilat(TMDMA)	
N,N' - Etilen bis metakrilat	
p-divinilbenzen (DVB)	
N,N'-Tetrametilen bis metakrilamid	

2.1.3.5. Gözenek Oluşturucu Çözücü

Manyetik moleküler baskılı polimerler çözücü ortamlarında hazırlanırlar. Bu sebepten dolayı MMIP'lerin sentezinde önemli bir nokta da çözücü seçimidir. Çözücü seçimi aynı zamanda baskılama yönteminin türüne de bağlıdır. Kovalent baskılamada, baskılama işleminde kullanılan bileşenleri iyi bir şekilde çözen her tür çözücü kullanılabilir. Kovalent olmayan baskılamada ise kalıp ve fonksiyonel monomer arasında non-kovalent etkileşimin oluşumunu ve baskılama etkisini arttırmak için çözücü seçimine dikkat edilir. Kovalent olmayan baskılama sürecinde çözücünün en önemli görevi kalıp molekül-monomer kompleks yapısının kararlılığını sağlamaktır. Çözücünün hidrojen bağı kapasitesi ve polarlığı baskılama sürecindeki etkileşimleri değiştirir. Sellergen ve Shea tarafından yapılan bir çalışmada (1993) polimerin morfolojisi ile seçimliliği arasında net bir bağıntı yokken çözücünün hidrojen bağı kapasitesi ile seçimlilik arasında bir bağıntı olduğu ve polarite arttıkça seçimliliğin azaldığı görülmüştür.

Çözücüler polimerizasyon ajanlarını çözmesinin yanında baskılanmış polimerlerin gözenekli bir yapıda olmasını ve kalıp molekülün bağlanma hızının artırılmasını sağlar. Bağlanan kalıp molekülün polimerden uzaklaştırılmasını da yapının gözenekliliği sağlamaktadır. Çözücü türü ve miktarı, baskılama süreci ve gözenek boyut dağılımı, baskılı polimerin morfolojisi, gözenek yapısı, şişme özelliği ve dayanaklılığı gibi fiziksel özellikler üzerine etkilidir (Sellergen ve Shea, 1993). Gözenek oluşturuucu çözücünün miktarının artırılması, gözenek hacmini de artırır.

Çözücüler baskılanmış polimerlerin performansını ve polimerin biçimini direkt olarak etkilemektedir. Bu yüzden çözücülerin bazı özelliklere sahip olması gerekir. İlk olarak kalıp molekül, monomer, başlatıcı ve çapraz bağlayıcı çözücü ortamında kolaylıkla çözünmelidir. İkinci bir özellik, bu çözücüler oluşturulan polimerde iyi bir akış özelliği sağlayabilmesi için büyük gözenekler oluşturmalıdır. Son olarak, baskılanmış polimer hazırlamada apolar, protonsuz ve düşük dielektrik sahibi (diklorometan, toluen gibi) çözücüler kullanılmalıdır (Ramstrom ve Ansell, 1998; Takeuchi ve Haginaka, 1999; Yan ve Row, 2006; Demiralay, 2007; Karabörk, 2007). Çözücülerin bir özelliği de polimerizasyon sırasında reaksiyon ısını eşit olarak yaymaktır (Cormark ve Elorza, 2004).

2.1.3.6. Başlatıcı

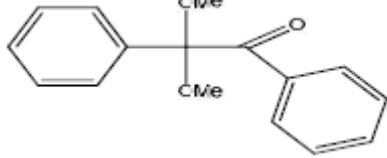
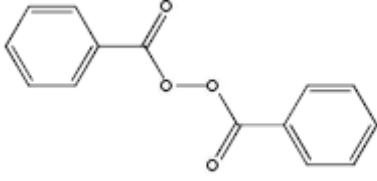
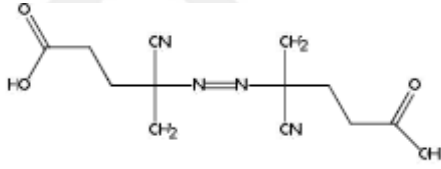
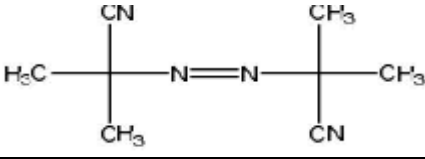
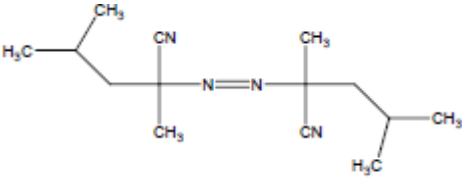
Polimer hazırlama basamağında kullanılan en yaygın başlatıcılar serbest radikalleri oluşturanlardır. Serbest radikal oluşumu genellikle fotolitik veya termal olarak gerçekleşir. Başlatıcılar monomerlere göre oldukça az miktarda (yaklaşık olarak %1) kullanılır. Genellikle başlatıcı olarak 2,2'-azobis (2,4- dimetilvaleronitril) (ADV), 2,2'-azobis(izobütironitril) (AIBN) ve benzoilperoksit (BPO) kullanılır. Azobisnitriller ısı veya ışıkla bozunur (AIBN: 60°C, ADV: 40°C). Bozunma yarı kararlı azot radikallerinin uzaklaşması ile sonuçlanır (Mijangos ve diğ. 2006; Lu ve diğ. 2004).

Monomer ve kalıp molekül arasındaki etkileşimlerin çok zayıf olduğu durumlarda yüksek sıcaklıklarda çalışma yapılmaz. Bu şartlarda ısı bozunma yerine UV bozunma tercih edilen bir durumdur. Serbest radikal eldesi için foto başlatıcılar da kullanılabilir. Özellikle yüksek sıcaklıklarda kalıp ve fonksiyonel monomer arasında kovalent olmayan bağlanmalar olması durumunda kullanılır.

Serbest radikal polimerizasyonunda ortamda oksijen bulunmaması çok önemlidir. Çünkü oksijen serbest radikale peroksi radikal formunda bağlanır. Bu işlemin sonucunda da ortamda

bulunan polimer, monomer ve diğer bileşenlerle reaksiyona girer. Genellikle oksijeni ortamdan uzaklaştırmak için bu aşamada azot ya da argon gazı tercih edilir (Maeda ve Bartsch, 1998; Molinelli, 2004).

Tablo 2.5: Kullanılan bazı başlatıcılar ve açık molekül yapıları.

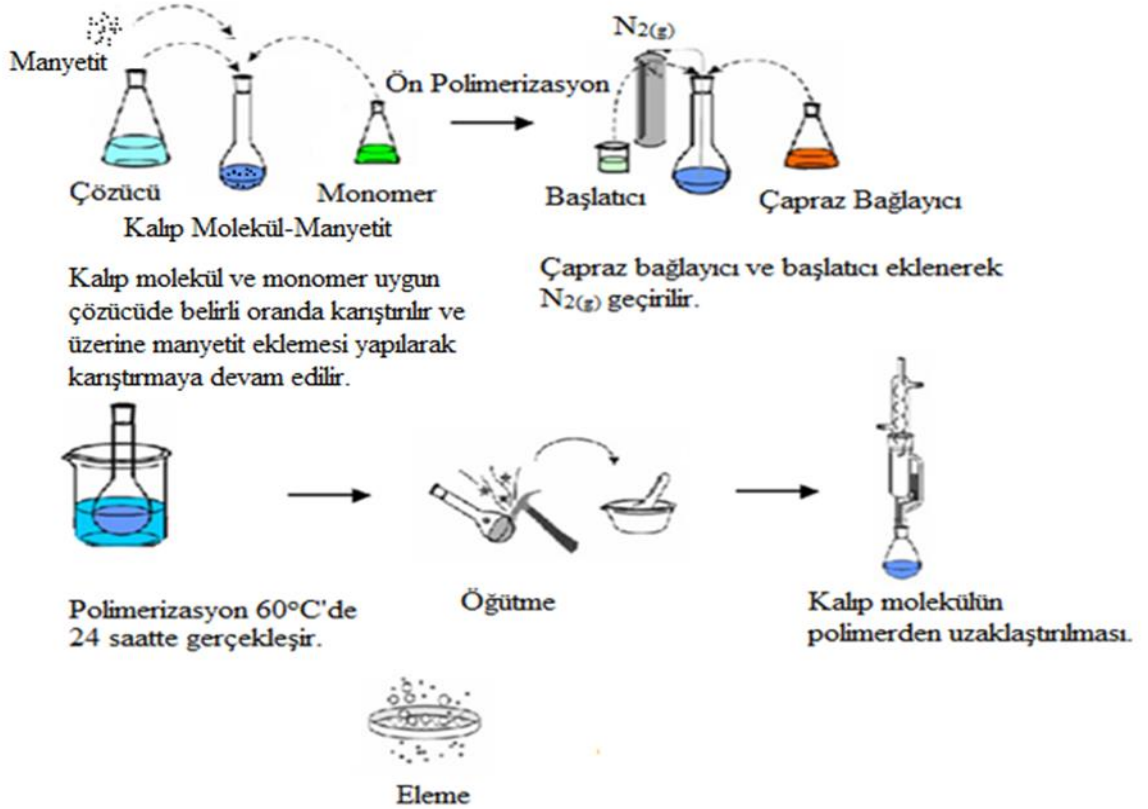
Kimyasal Başlatıcı	Açık Molekül Yapısı
Benzil dimetil asetat	
Benzoil peroksit (BPO)	
4,4' - azo (4-siyanovalerik asit)	
Azobisbütironitril (AIBN)	
Azobisdimetilvaleronitril (ABDV)	

2.1.4. Manyetik Moleküler Baskılı Polimer Sentezleme Yöntemleri

Manyetik moleküler baskılı polimer sentezlemek için birçok yöntem mevcuttur. Bunlar; çökeltme polimerizasyonu, silikon yağında süspansiyon polimerizasyonu, bulk (yığın) polimerizasyonu, çekirdek kabuğu (daha sonra aşılama ile), mini ve makro emülsiyon polimerizasyonu ve radikal zincir polimerizasyonudur (Poma ve diğ. 2010; Khanahmadzadeh, ve Tarigh, 2014).

2.1.4.1. Yığın (Bulk- Kütle) Polimerizasyonu

Moleküler baskılı polimer sentezleme amacıyla ilk olarak kullanılan yöntemlerden biri olan bulk polimerizasyonu manyetik moleküler baskılama tekniğinde de tercih edilmiştir. Bu yöntem, basit cihazların kullanımı ve kolay uygulanabilir olması sebebiyle yaygın olarak kullanılır. Yöntem, kalıp molekül, monomer, çözücü, çapraz bağlayıcı ve başlatıcı maddenin belirli oranlarda kullanılıp karıştırılması ile UV ışına altında uygun sıcaklıklarda polimerleşme sonucu polimerik blokların oluşması esasına dayanır. Oluşan polimerik bloklar mekanik olarak ezilir, öğütülür ve elenir. Bu işlemler sonucunda elde edilen parçacıklar şekil ve boyut açısından düzensiz olduğu için akademik çalışmalarda yeterli iken kromatografik çalışmalar için uygun değildir. Parçacıklar, kullanılan öğütme yöntemine ve polimerin yapısına bağlıdır. Çok küçük parçacıklar bir çözücü içerisindeki süspansiyondan ayrışsal çöktürme yöntemi kullanılarak uzaklaştırılır. Bu durum da zaman ve malzeme kaybına sebep olur. Tüm bunlar bulk polimerizasyonunun dezavantajları arasında gösterilir.



Şekil 2.7: Yığın (bulk) polimerizasyonunun aşamaları.

2.1.4.2. Süspansiyon Polimerizasyonu

Polar olmayan birçok monomerin polimerizasyonunda ve sulu bir dispersiyon ortamında uygulanan süspansiyon polimerizasyonunda monomer veya monomerler sulu faz içerisinde 0,01-0,5 cm çapında damlacıklar halinde dağılarak sürekli karıştırma işlemi sonrasında iki ayrı faz meydana getirir. Dağıtma ortamı için genellikle su kullanılır ve su fazı ısı transfer ortamını sağlar. Stabilizatör eklenerek mekanik karıştırma ile damlaların birleşmesi engellenir. Düzgün küresel tanecikler oluşturması sebebiyle bu tekniğe aynı zamanda boncuk veya inci polimerizasyonu da denir.

Bu polimerizasyon organik fazın oluşturduğu damlalar içerisinde serbest radikal mekanizması ile yürür. Her oluşan damlacık, polimerizasyonun reaktörü gibidir. Oluşan damlalarda kütle polimerizasyon kinetiği geçerlidir. Reaksiyon hızı, tanecik boyu ve karıştırma hızından etkilenmez. Süspansiyon polimerizasyonunda zincir transferi ve radikal radikal etkileşimi daha yavaş olduğundan dolayı bulk(kütle) polimerizasyonu ile elde edilenlere göre daha yüksek molekül ağırlıklı polimerler elde edilir (Floyd, 1990; Billmeyer ve diğ. 1973).

Polimerizasyon işleminde genellikle termal yolla parçalanmış başlatıcılar kullanılır ve başlatıcı monomerde çözünür. Başlatıcının derişimi ise son ürünün özelliklerini etkiler niteliktedir. Başlatıcı derişimi arttıkça molekül ağırlığı azalır.

2.1.4.3. Çözelti Polimerizasyonu

Ortamda monomer, çözücü ve gerekli durumlarda başlatıcının bulunduğu polimerizasyon tekniğidir. Çözücünün görevi ısı transferini kolaylaştırıp, vizkoziteyi düşürerek dönüşümün artmasını sağlamaktır. Bu yüzden çözücü seçimi dikkatli bir şekilde yapılmalıdır. Polimerizasyon işlemleri sonucunda çözücünün oluşan üründen ayrılması sağlanmalıdır. Bu durum sebebiyle oluşan ek işlemler ve masraflar polimerizasyon tekniğinin dezavantajları arasında sayılır (Pişkin, 1982).

2.1.5. Manyetik Moleküler Baskılı Polimer Etkinliğinin Belirlenmesi

Manyetik moleküler baskılama etkinliğinin belirlenmesi polimer sentezi kadar önemlidir. Bu etkinliğin büyüklüğü, manyetik moleküler baskılı polimerlerle (MMIP) tamamen aynı koşullar altında hazırlanmış fakat kalıp molekül içermeyen baskısız polimerin (MNIP) karşılaştırılması ile bulunur.

Baskılı polimerle baskısız polimer arasında yapılan matematiksel oranlama ile baskılama faktörü (BF) hesaplanır. Baskılama faktörü, MMIP'e bağlanan madde miktarı ile MNIP'e bağlanan madde miktarının birbirine oranını ifade eder ve baskılamanın etkinliği ve seçiciliği hakkında bilgi verir. Bu oran büyüdükçe polimerin kalıp molekülü tanıma etkinliği artar.

Baskılama faktörü hesaplanırken;

Baskılama Faktör (BF) : Q_{MMIP}/Q_{MNIP}

Q_{MMIP} : MMIP'e bağlanan madde miktarı ($\mu\text{g g}^{-1}$)

Q_{MNIP} : MNIP'e bağlanan madde miktarı ($\mu\text{g g}^{-1}$)

Polimerlerin adsorpsiyon (tutma) kapasitelerinin belirlenmesinde iki yöntem uygulanır. Bunlar; kesikli temas (batch) testi ve kopma (breakthrough) eğrisi yöntemleridir.

2.1.5.1. Kesikli Temas (Batch) Testi

Manyetik karıştırıcılar ya da çalkalama banyoları kullanılarak belirli derişimlerdeki çözelti içerisindeki adsorbanlar ile belirli sürede çalkalama yapılarak uygulanan kesikli temas testi yönteminde denge sonrası adsorbanlar süzülerek çözelti fazından ayrılır. Spektrofotometre, HPLC ya da diğer analitik yöntemlerle çözelti fazındaki ve adsorban üzerindeki madde derişimi ve yüzdesi hesaplanarak polimerin bağlanma aktivitesi belirlenir. Adsorplanan madde miktarı ve adsorpsiyon yüzdesini hesaplanırken eşitlik (2.1) ve (2.2) kullanılır (Komiya ve diğ, 2003).

$$Q = [(C_o - C_e) \times V] / m \quad (2.1)$$

$$\% \text{Adsorpsiyon} = [(C_o - C_e) \times 100] / C_o \quad (2.2)$$

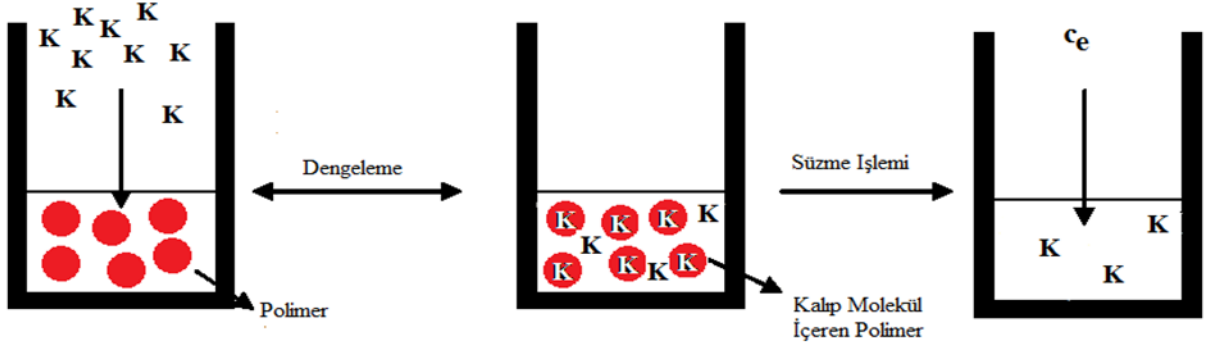
Q : Birim polimer başına adsorplanan madde miktarı ($\mu\text{g g}^{-1}$)

C_o : Polimer tarafından adsorplanacak maddenin başlangıç derişimi (μM)

C_e : Dengede adsorplanmadan kalan madde derişimi (μM)

V : Çözelti hacmi (mL)

m : Polimer miktarı (g)

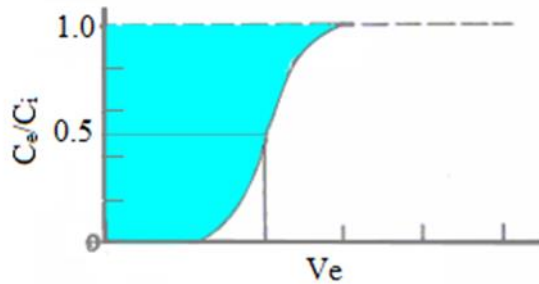


Şekil 2.8: Kesikli temas testinin şematik gösterimi.

2.1.5.2. Kopma (Breakthrough) Eğrisi Yöntemi

SPE kolonuna doldurulmuş moleküler baskılı polimerler bilinen derişimlerde kalıp molekül (analit) içeren çözelti ile belirli şartlar altında, $C_e/C_i=1$ olana kadar kolondan geçirilir. Bu işlem polimer doygunluğa ulaşana kadar yapılır. Etkin kapasite olarak bilinen bu değer, kolondaki belli miktardaki polimerin pratik kapasitesini verir. Bu kapasite 1 g kuru adsorban ya da 1 mL şişmiş adsorban birimine karşılık gelen miligram, mikrogram, milimol değerleri ile ifade edilir. Böylece etkin kapasite kopma eğrisi tekniği ile bulunmuş olur.

Kolondan geçirilen çözeltinin başlangıçtaki derişimi (C_i) ile kolondan ayrılan çözeltinin derişiminin (C_e) birbirine oranı (C_e/C_i) ordinata, kolondan geçirilen çözelti hacmi (V_e) ise absise yazılarak elde edilen eğrinin $C_e/C_i=1$ doğrusuna kadar integrasyonundan bulunan değer toplam alandan çıkarılması ile polimerin etkin kapasitesi bulunur (Karaman Ersoy 2016).



Şekil 2.9: Etkin (dinamik) tutma kapasitesinin breakthrough (kopma) yöntemine göre belirlenmesi.

2.1.6. Adsorpsiyon Parametrelerinin Belirlenmesi

Sabit sıcaklıkta, denge halinde çözeltide kalan çözünen (analit) derişimine karşı, birim adsorplayıcı ağırlığında, adsorplanan analit miktarı grafiğe geçilerek adsorpsiyon izotermi adı

verilen sonuç fonksiyonu elde edilir. Bunlar, Freundlich ve Langmuir izotermeleridir. Bu izotermeler, moleküler baskılı polimerlerin adsorpsiyon özelliklerinin belirlenmesi için de kullanılmaktadır.

2.1.6.1. Langmuir İzoterm Modeli

1916 yılında Irving Langmuir gazların katı yüzeye adsorpsiyonunun ifade eden bir izoterm geliştirmiştir. Bunun için bir denge sabiti geliştirmiş ve geliştirdiği modelde ilk kez tabakalı adsorpsiyondan bahsetmiştir (Langmuir, 1916). Bu model, oldukça yaygın bir şekilde adsorpsiyon izotermi uygulamalarında günümüze kadar kullanılmıştır. Bu mekanizmaya göre;

- 1) Adsorbent yüzeyi tek tabakalıdır. (Bütün adsorpsiyon bölgeleri birbirlerine denk durumdadır.)
- 2) Adsorbant molekülleri arasında etkileşim yoktur.
- 3) Tüm adsorpsiyon aynı mekanizma üzerinden yürür.
- 4) Maksimum adsorpsiyon, adsorplayıcı yüzeyine bağlanan moleküllerin doygun bir tabaka oluşturduğu andaki adsorpsiyondur ve tek tabakalı formda gerçekleşir.

Langmuir izotermi denklemi:

$$q_e = q_{maks} \cdot b \cdot c_e / (1 + b \cdot c_e) \quad (2.3)$$

$$c_{eq} / q_e = 1 / (q_{maks} b) + c_{eq} / q_{maks} \quad (2.4)$$

q_e : Adsorbentin birim kütlesi başına adsorplanan madde miktarı ($\mu\text{g g}^{-1}$)

c_{eq} : Adsorplama sonrası çözeltide kalan maddenin derişimi (μM)

b : Adsorpsiyon enerjisine karşılık gelen Langmuir sabiti ($\text{L } \mu\text{mol}^{-1}$)

q_{maks} : Adsorpsiyon kapasitesine karşılık gelen Langmuir sabiti ($\mu\text{g g}^{-1}$)

c_e/q_e değerinin c_e değerine karşı değişiminin grafiğinin çizilmesiyle ortaya çıkan doğrunun eğimi $1/q_{maks}$ sabitinin değerini verirken kesim noktası da $1/bq_{maks}$ değerinden b sabitini verir.

Adsorpsiyonun elverişli olup olmadığını belirlemek için Langmuir izotermine göre dağılma ya da boyutsuz ayırma (RL) sabiti hesaplanır. Bu sabitin 0 ila 1 arasında değerler alması elverişlilik durumunun sağlandığının göstergesidir.

$$RL = 1/(1 + b \cdot c_0) \quad (2.5)$$

b (a_L) : Langmuir sabiti ($L \mu\text{mol}^{-1}$)

c_0 : Maddenin çözelti içindeki başlangıç derişimi ($\mu\text{mol L}^{-1}$)

Eşitlik 2.5'te elde edilen RL değerleri; $RL > 1$, $RL = 1$, $0 < RL < 1$ ve $RL = 0$ olduğu zaman sırasıyla adsorpsiyon izoterminin elverişsiz doğrusal, elverişli ve tersinmez olduğunu gösterir.

2.1.6.2. *Freundlich İzotermi*

1906 yılında Herbert Max Finley Freundlich ilk defa çok katlı izoterm modelinden bahsetmiştir. Bu modelde heterojen yüzeylerde adsorpsiyon işlemi çok katlı olarak gerçekleşmektedir. Adsorbant molekülleri heterojen yüzeylerde birbiri üzerine katlanarak adsorpsiyon işlemini gerçekleştirir. Aynı zamanda Freundlich izotermi logaritmik olarak da karşımıza çıkar (Freundlich, 1906).

Freundlich izotermi sınırlı derişim aralığında çalışılır ve genellikle sıvı- katı sistemlerde daha iyi sonuç verir. Freundlich eşitliği, adsorpsiyon enerjisinin komşu bağlanma bölgelerinin doluluğuna bağlı olarak değiştiğini öne sürer. Deneysel olarak eşitlik;

$$q_e = K_f C_e^{1/n} \quad (2.6)$$

q_e : Denge halinde birim ağırlıktaki adsorbanın adsorpladığı madde miktarı (mg/g)

C_e : Adsorbantın çözeltideki derişimi (mg/L)

K_f ve n adsorpsiyon kapasitesi ve yoğunluğu hakkında bilgi veren Freundlich sabitlerini ifade eder. Bu sabitler adsorban, adsorbat madde ve sıcaklığa bağlıdır. n 'nin değeri 1'den büyük olmalıdır, çünkü bu durum ($n > 1$) adsorpsiyon işleminin elverişli olduğunu gösterir (Chiou ve Li, 2002).

Eşitlik (2.6) lineerleştğinde;

$$\log q_e = \log K_f + 1/n \log C_e$$

elde edilir. Deneysel verilerden yola çıkarak çizilen $\log q_e - \log C_e$ grafiğinden Freundlich sabitleri, K_f ve n hesaplanır (Guadalupe ve diğ. 2008; Tempkin ve Pyzhev, 1940). Çevresel

faktörle bağılı olarak değişen deneysel adsorpsiyon sabitleri (K_f ve n), $\log C_e$ 'ye karşı $\log q_e$ grafiğindeki kesim noktası ve eğimden hesaplanır.

2.2 ANTiOKSiDANLAR

Genel tanım olarak antioksidanlar, oksidasyona karşı koyan, oksijen veya peroksitlerle ilerleyen reaksiyonları engelleyen maddelerdir (Huang ve diğ. 2005). Antioksidanlar, vücut hücreleri tarafından üretilbildikleri gibi aynı zamanda gıdalarla da alınabilen ve oksidasyona bağılı olarak gıdalarda oluşan acılaşma ve lezzet bozulmasını geciktirebilen ve önleyebilen özellikte bir grup kimyasal maddelerdir. Biyolojik olarak tanımı; havanın oksijeni ile bozulan ürünlere ilave edilerek bu bozulmayı geciktiren ya da engelleyen sentetik veya doğal maddelerdir. Antioksidanlar, uzun yaşamaya ve sağlıklı kalmamıza yardımcı olduğu kadar gıdaların son kullanma tarihlerini uzatmayı sağlayan koruyucu madde olarak da kullanılan yapılardır (Floyd, 1990).

Antioksidanlar, serbest radikallerle reaksiyona başlar, reaktif karakterli maddeler ile serbest radikaller, bu maddeleri üreten tüm faktörler, 'prooksidan' ya da 'oksidan' olarak tanımlanır. Orbitallerinde bir veya daha fazla çiftleşmemiş elektron taşıyan halojen atomlar (Cl, Br ve I), Na, K, Mg gibi alkali metal atomları, hidrojen atomu, oksijenin redüksiyon ara ürünleri, hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit (O^{2-}), hidroksil (OH^-) gibi bağımsız ve kısa ömürlü reaktif yapılar serbest radikaller olarak adlandırılır (Dündar ve Aslan, 2000). Serbest radikaller, radikal olmayan bir atom ya da molekülden bir elektron çıkmasıyla ya da radikal olmayan bir atom ya da moleküle bir elektron ilavesi ile de oluşurlar (Karafakoğlu, 2004). Antioksidan maddeler, yükseltgenebilen bileşiklere nazaran daha düşük derişimlerde bileşiklerin prooksidanlarla (serbest radikaller, reaktif oksijen ve azot türleri) başlatılan oksidasyonunu ciddi ölçüde engelleyen veya geciktiren maddelerdir. Prooksidanlar; proteinler, nükleik asitler ve lipitlerde oksidatif hasar oluşturabilen ve bunun sonucundan hastalıklara ve de patolojik olaylara yol açabilen zehirli (toksik) maddelerdir. Antioksidanlar, hücrelere zarar veren bu prooksidanların etkinliklerini azaltarak zararlı olmayan ürünlere dönüştürürler.

Oksidatif stres; doku hasarına, oksidatif lezyonlara, mutasyonlara ve hücre ölümüne yol açabilir. Reaktif oksijen ve reaktif azot türlerinin yani serbest radikallerin aşırı üretimi sonucu bu gibi olaylar görülür.

Vücudumuz tüm bu serbest radikalleri tanıyan ve onları etkisiz hale getiren bir sisteme sahiptir. Enzimler ve antioksidandan oluşan bu sistem birçok mineral ve vitamini içerir. Antioksidan sistemi; serbest radikallerin hücre zarına, DNA (nükleik asitler) ve hücre bileşenlerine saldırmadan kendine çeker ve bu yapıları kendine bağlar. Bu sebepten dolayı antioksidanlar birçok hastalığı engellediği gibi gıdaların raf ömrünü de uzatıcı etkisi mevcuttur.

Temelde antioksidanlar dörde ayrılmıştır. (Prior ve diğ. 2005)

- 1) Büyük moleküller dediğimiz ferritin, albümin ve diğer proteinler
- 2) Küçük moleküller dediğimiz askorbik asit, ürik asit, karotenoidler, tokoferoller, polifenoller (epikateşin, kateşin, epigallokateşin, epigallokateşingallat, kafeik asit, kuersetin, gallik asit, ferulik asit, kumarik asit, klorojenik asit vb)
- 3) Enzimler olarak peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz
- 4) Bazı hormonlardan östrojen, melatonin

2.2.1. Antioksidan Türleri

Antioksidanlar doğal ve sentetik olmak üzere ikiye ayrılır. Sentetik çoğu antioksidan fenolik yapıdadır. Ticari olarak mevcut günümüzde kullanılan sentetik antioksidanlar butillenmiş hidroksianisol (BHA), butillenmiş hidroksitoluen (BHT), tersiyerbutil hidrokinon (TBHQ) ve propil gallat (PG) dir. Doğal antioksidanlar ise bitki ve hayvan dokularında bulunan ve ekstrakte edilebilen ya da gıdanın işlenmesi esnasında açığa çıkan bileşenlerdir. Tokoferoller, flavonoidler, fenolik asitler, vitamin C, polifenoller, karotenoidler ve selenyum en önemli doğal antioksidanlardır (Madhavi,1996).

2.3. FENOLİK BİLEŞİKLER

Fenolik bileşikler, bitkilerin normal gelişimi esnasında sentez edilen, insan sağlığı için faydalı olan doğal antioksidanlardır. Fenolik bileşikler, ‘fenolik asitler’, ‘flavonoidler’ ve ‘fenolik polimerler (tanenler)’ olarak üç gruba ayrılırlar. Genellikle bir ya da birden fazla hidroksil grubu içeren bir aromatik halkaya sahip, farklı yapı ve fonksiyonlardaki ikincil metabolitlerdir (Naczki ve Shahidi, 2004; Robards ve diğ., 1999).

Fenolik bileşiklerin antioksidan etkileri kimyasal yapıları ile açıklanır. Antioksidan aktiviteleri, onların indirgen madde, singlet oksijen söndürücü, hidrojen atomu vericisi ve metal iyonu kelatlayıcı olarak davranmasını sağlayan redoks özellikleri sebebiyledir (Kaur ve Kapoor, 2002). Fenolik bileşiklerin antioksidan etkileri serbest radikalleri bağlamaları, bazı enzimleri inaktive etmeleri ve metallerle kelat oluşturmaları ile açıklanmaktadır (Yang ve Taso, 2003).

Gıdalarda bulunan fenolik bileşikler en fazla meyvelerde bulunmakla birlikte meyvenin çeşidine bağlı olarak farklılıklar söz konusudur. Ayrıca aynı meyve türünde; cins, çevresel ve iklimsel koşullar, büyüme mevsimi, bitki hastalıkları, toprağın çeşidi, coğrafik bölge, olgunluk gibi birçok etken fenolik bileşik içeriğini etkilemektedir (Sellepan ve diğ., 2002).

Fenolik bileşikler gıdalarda; acılık, burukluk, renk, tat, koku ve ürünün oksidatif stabilitesine etki edebilmektedir (Naczki ve Shahidi, 2004). Bu maddeler, bitkilerde homojen olarak dağılmazlar.

Tablo 2.6: Bazı meyve ve sebzelerin başlıca fenolik madde içerikleri.

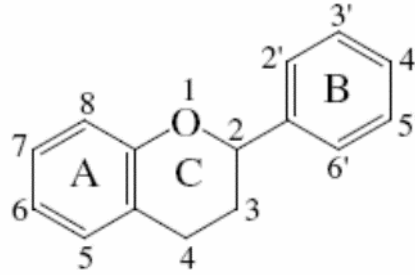
Meyve	Fenolik Madde
Armut	p-kumarik asit, kuersetin, lökoantosiyandin, klorojenik asit, epikateşin, proantosiyandin
Böğürtlen	Gallik asit, kafeik asit, ferulik asit, elajik asit, p-kumarik asit, siyanidin-3-glikozit
Çilek	Siyanidin-3-glikozit, pelargonidin-3-glikozit, elajik asit, hidrosisinnamik asit, kuersetin, hidrosibenzoik asit, klorojenik asit, kaempferol
Domates	Kuersetin
Elma	Kafeik asit, kuersetin, floretin, epikateşin, p-kumarik asit, klorojenik asit, dihidrokalkonlar
Erik	Hidrosisinnamik asit, neoklorojenik asit, klorojenik asit, rutinozid glikozitleri
Havuç	p-hidroksibenzoik asit, şirinjik asit, kafeik asit, hidroksisinnamik asit türevleri, klorojenik asit, izoklorojenik asit
Kiraz	Hidroksisinnamik asit, hidroksibenzoik asit, p-kumarilkuinik asit, klorojenik asit, neoklorojenik asit
Nar	Delphinidin, pelargonidin, siyanidin, hidrolize taninler, elajik asit, kateşin, epikateşin, punicalagin, gallokateşin
Üzüm	Kuersetin, mirisetin, kaempferol, siyanidin, kateşin, izohamretinin, delphinidin, malvidin

2.3.1. Flavonoidler

Flavon ismi latince kökenli olup flavus (sarı) kelimesinden gelmektedir. Bitkilerden elde edilen bu maddeler genellikle sarı renkli bileşikler olup ‘flavonoid’ olarak isimlendirilmişlerdir. Flavonoidler, antioksidan aktiviteye ve metallerle kelat oluşturma özelliğine sahip ikincil bitki fenolikleridir (Heim, Tagliaferro ve Bobilya, 2002). Günümüze kadar yapılan çalışmalar doğrultusunda bitkilerden 6000’den fazla flavonoid izole edilmiş, yapıları aydınlatılarak literatüre kazandırılmış ve tüm bu flavonoidler antioksidan aktivite göstermektedir (Bors ve diğ. 1990, Dixon ve Ferreira 2002, Stavric 1994, Yetük 2013). Polifenolik bitki pigmenti olan çoğu flavonoid meyve ve sebzelere kırmızı, sarı, turuncu, mavi ve mor rengini verir (Naczka ve Shahidi, 2004). Flavonoidleri P vitamini olarak kabul eden görüşler mevcuttur.

2.3.1.1. Flavonoidlerin Yapı Özellikleri ve Sınıflandırılması

Tüm flavonoidler genellikle üç fenolik halkaya sahip ve metil ve hidroksil grubuna göre değişen 2- fenilchromunun türevlerinden meydana gelen yapılardır. Flavonoidlerin karbon iskeletini, iki fenil halkasının (A ve B) propan zinciriyle birleşmesinden oluşan 15 karbon atomu bulunan, difenilpropan (C₆-C₃-C₆) yapısı oluşturur. Bu yapıları sebebiyle polifenolik bileşikler olarak kabul edilirler.



Şekil 2.10: Flavonoidlerin kimyasal yapısı.

Fenil benzopiran yapısı A, B, C halkalarından meydana gelir. A halkası glikoz metabolizması sonucu meydana gelen asetil koenzim A’ dan oluşan malonil koenzim A’nın üç molekülünün kondenzasyonu ile B ve C halkaları da glukoz metabolizması sonucu oluşan şikimik asit üzerinden sinamik asit gibi fenil propanoid bileşiklerinden meydana gelir. B halkasının pozisyonuna ve C halkasındaki süstitüe grupların farklılıklarına göre flavonoidler çeşitli alt gruplara ayrılmıştır. A, B ve C halkasından oluşan flavonoidlerin numaralandırılması C halkasındaki oksijen atomundan başlayarak yapılırken B halkasındaki karbon atomları da üssü

(‘) rakamlarla numaralandırılır. Şekilde numaralı yerlerdeki karbon atomuna bağlı hidroksil (-OH) gruplarının bağlanmasıyla farklı flavonoidler meydana gelmiştir. Bazı hidroksil gruplarına metil, sülfat, şeker ve benzeri yapıların konjugasyonu sonucunda flavonoidlerin konjugasyon ürünleri meydana gelir. Örneğin; kuersetinin 3ncü C atomuna bağlı hidroksil (-OH) grubuna rutinozun bağlanmasıyla rutin adı verilen flavonoid oluşur.

Flavonoidler; antoksanterinler ve antosiyaninler olmak üzere ikiye ayrılırlar. İskelet yapılarının farklı olmasına göre flavon, flavonol, flavanon, biflavonoid ve kalkon gibi türleri mevcuttur (Hollman, Hertog ve Katan, 1996).

Antoksanterinler;

Antoksanterinler renksiz ya da beyazdan sarıya dönük renkte olup flavon, flavonol, flavanon, flavanol, izoflavon ve dihidrokalkonlar olarak isim alırlar (Canedas ve Packer, 2002).

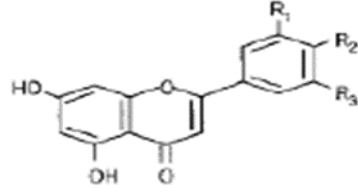
Tablo 2.7: Farklı iskelet yapılarına göre isim alan flavanoidler.

FLAVONLAR	FLAVONOLLER	FLAVANONLAR
Apigenin	Kuersetin	Eriodiktol
Krisin	Kamferol	Hesperidin
Luteolin	Rutin	Naringenin
	Ramnetin	
FLAVANOLLER	DİHİDROFLAVONOLLER	BİFLAVONOİDLER
Kateşin	Taksifolin	Amentoflavon
Epikateşin	Slibin	

Flavonlar;

Flavonlar flavonoidlerin en sık rastlanan formudur. Bitkilerde sıkça görülen flavonlar hetero halkasında C2 ve C3 atomları arasında çift bağın bulunması ile karakteristiktir. Flavonlar bitkilerde hem serbest hem de glikozitleri halinde bulunur ve flavononların 2,3-dehidro türevleridir. Günümüzde bitkilerden yaklaşık 300’ün üzerinde serbest flavon izole edilebilmiştir.

Flavonlara ait temel bileşiklere örnek olarak apigenin, krisin ve luteolin verilebilir



Şekil 2.11: Flavonların temel kimyasal yapısı.

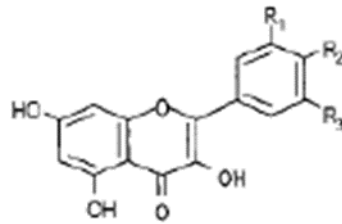
Flavonoller;

C3 pozisyonunda hidroksil grubu içeren 2-fenilbenzopiran çekirdeği içermelerinden dolayı flavonollere aynı zamanda 3-hidroksiflavonlar da denilebilir. Bitkilerde en fazla rastlanan flavonoller yapı çeşidi bakımından da en fazla olan flavonoid sınıfıdır.

Flavonlar açık sarı ya da sarı renkli olup, kristalsi ya da amorf özellik gösterirler. Bu bileşikler oksijenli ortamda flavonlara kıyasla daha dayanıksız yapıdadırlar.

Günümüzde bitkilerden 400'ün üzerinde flavonol izole edilmiştir. Flavonolun farklı pozisyonlarda hidroksil ve metoksil grupları içeren türevleri mevcuttur. Yapılarında bulunan bu hidroksil ve metoksil gruplarının sayılarına bağlı olarak isimlendirme yapılır.

Flavonollere ait temel bileşiklere örnek olarak kuersetin, kampferol ve rutin verilebilir.



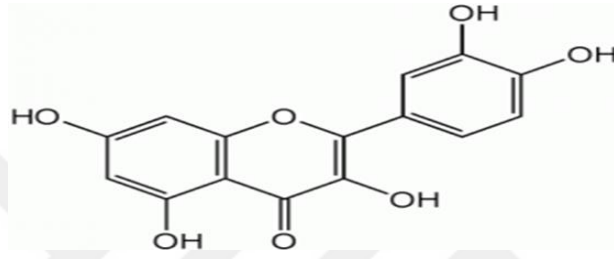
Şekil 2.12: Flavonollerin temel kimyasal yapısı.

Kuersetin (KUE),

Üçüncü karbon atomunda -OH grubu bulunmasıyla flavonoller grubunda yer alır. KUE doğadaki bitkilerin yapraklarında, çiçeklerinde ve saplarında bir flavon bileşiği olarak bulunur. Elma kabuğu, çay, soğan ve kırmızı şarapta bolca bulunan KUE birçok bitkinin kabuklarında

yaygın olarak bulunan kimyasal bir pigmenttir. KUE'nin antibakteriyel, antioksidan, antiviral, anti-inflamatuar ve antikarsinojenik etkileri vardır (Crespy ve diğ. 1999; Yetük, 2013).

Yapısında 3,3',4' ve 5,7 pozisyonlarında –OH grubu bağlı olan kuersetin (3,3',4',5,7-pentahidroksiflavon) olarak isimlendirilir. KUE formülü $C_{15}H_{10}O_7$ dir. İçeriğinde %65,19 C, %37,06 O, %3,34 H bulunan KUE molekül ağırlığı 302,24 g/mol, erime noktası 314°C'dir. Suda hemen hemen hiç çözünmezken alkol ve türevlerinde çözünen, hardal sarısı renkte, katı ve toz halindedir. Güneş ışığından koruyarak saklama şartları oluşturulur.



Şekil 2.13: Kuersetinin kimyasal yapısı.

Kuersetinin antioksidan, anti-inflamatuar anti-angiogenik ve anti-proliferatif olmak üzere birçok farklı biyolojik aktiviteye sahip olması sebebiyle, doğal bir kanser önleyici etkisinin olduğu düşünülmektedir (Yalçın ve diğ. 2017). Aynı zamanda kuersetin, in vitro ve in vivo şartlarda anti-mutajenik ve antikarsinojenik etkilere sahip olduğu yapılan çalışmalarda belirlenmiştir (Elik ve diğ. 2007).

2.4. ÇALIŞILAN DOĞAL ÖRNEKLER

2.4.1. Kırmızı Soğan (*Allium cepa*)

Soğan (*Allium cepa*) uzun süre depolanabilme ve taşınabilme özelliğinden dolayı hasat sonrası kurutulabilir ve uzun süre saklanabilir. Aynı zamanda alliaceae familyasına dahil olan *Allium* cinsinden olan soğan hem dünyanın birçok yerinde baharat hem de ilaç olarak kullanıldığı gibi günlük flavonoidlerin en büyük kaynaklarından biridir. Soğanın içerdiği KUE miktarı, soğanın türüne ve soğanın kısımlarına bağlı olup, kabuk kısmında en fazla antioksidan olarak kamferol içerir. Diğer kısımlarında başlıca flavonoid olarak KUE içerir (Nuutila ve diğ. 2003).

Dört çeşit soğan (beyaz, yeşil, kırmızı ve mor) kullanılarak HPLC ve LC-MS/MS ile yapılan çalışmalarda ferulik asit, protokateşik asit, kamferol, gallik asit, ve KUE gibi fenolik bileşikler

belirlenmiştir (Prakash ve diğ. 2007). Soğan kabukları da yapısında glukoz ve fruktoz içermektedir.

İçerdiği bu önemli bileşikler sebebiyle, hipolipidemik, antihipertansif, antidiabetik, antitrombotik, hipokolesterolemik ve antihiperhomosisteinemik etkileri mevcut olan soğan, kanser, kalp rahatsızlığı, diyabet, obezite, katarakt ve hipertansiyon gibi bazı hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde kullanılmaktadır (Benkeblia, 2005).



Şekil 2.14: Kırmızı Soğan (*Allium cepa*)

2.5.BAZI ANTİOKSİDANLARIN MANYETİK MOLEKÜLER BASKILI POLİMER ÇALIŞMALARI

Tablo 2.8: MMIP ile yapılan antioksidan çalışmaları.

KM	M ÇB	GO	Yöntem	Mol orantı	Örnek	Analiz	Seçimlilik Denemeleri	YÇ	MB	Kaynak
KUE	VI-GT	ACN	Radikal	1:5:3	İlaç	UV	Kateşin	%50 EtOH	Fe3O4@ TEOS	Hemmati ve diğ. 2015
Hesperetin	N- IPAM- EDMA	ACN: MeOH (3:1, v/v)	Bulk	1:3:30	Mandalina	HPLC- DAD	Luteolin Baicalein Ombuin	EtOH: H2O (1:2, v/v)	Fe3O4@ TEOS- MPS	Wang ve diğ. 2018
Kuersetagetin	AM- EDMA	ACN	Bulk	1:1,3:2 2	Bitki örneği: Aynise fa	HPLC	Luteolin- Apigenin- Rutin- Resveratrol	ACN	Fe3O4@ TEOS Fe3O4@ TEOS- MPS	Ma ve Shi. 2014
Resveratrol	AM- EDMA	ACN	Bulk	1:5:30	Şarap	HPLC- UV	Desoxyrhapontigenin- Desoxyrhaponticin- Rhaponticin	ACN	Fe3O4@ TEOS- MPS	Chen ve diğ. 2013
RT	AM	THF	Yüzey baskılama polimerizasyonu	-	Çin şifalı bitkiler	HPLC	Kamferol- Kuersetin	MeOH	Fe3O4@ TEOS- MPS	Zeng ve diğ. 2012
KUE Yapılan Çalışma	4-VP- EDMA	THF	Bulk	1:8:40	Kırmızı Soğan Kabuğu	HPLC -UV	KLA-VA- GA-RT	%50E TOH	Fe3O4@ TEOS -MPS	-

KM: Kalıp Molekül; M: Monomer, ÇB: Çapraz Bağlayıcı; GO: Gözenek Oluşturucu; YÇ: Yükleme Çözücüsü; Manyetik Bileşik

Hemmati ve diğ.'nin yaptığı bu çalışmada, KUE kalıp molekül olarak kullanılmıştır. MMIP, ACN çözücü ortamında fonksiyonel monomer olarak vinil imidazol (VI) kullanılarak, 1:5 mol oranında (KUE:5VI) ve GT (Gum Tragacanth) çapraz bağlayıcısı ile radikal polimerizasyonuna göre sentezlenmiştir. Manyetik kısım olarak $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS}$ kullanılmıştır. Hızlı ilaç ayırma ve ilaç dağıtım alanlarında uygulanmak üzere umut verici bir polimerik malzeme üretimi gerçekleştirilmiştir. Seçimlilik denemeleri %50 EtOH çözücü ortamında kateşinle yapılmış sonuçlar spektrofotometrik olarak incelenmiştir. Bu çalışmada elde edilen KUE için baskılama faktörü 2,32 olarak bulunmuştur (Hemmati ve diğ. 2015).

Wang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, manyetik materyal olarak $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS-MPS}$ hazırlanmış ve kalıp molekül olarak hesperetin kullanılmıştır. Fonksiyonel monomer olarak izopropilakrilamid, porojen çözücü olarak ACN:MeOH (3:1), çapraz bağlayıcı olarak EDMA kullanılan çalışmada polimer AIBN başlatıcısı ile hazırlanmıştır. Sentez bulk polimerizasyonu yöntemine göre yapılmış ve oran 1:3:30 oranında belirlenmiştir. Seçimlilik testi için luteolin, baicalein ve ombuin kullanılmış ve geri bağlanma (yükleme) çözücüsü olarak EtOH: H_2O (1:2, v/v) kullanılmıştır. Hazırlanan MMIP ile *Citrus reticulata blanco* (mandalina)'nın kurutulmuş kabuğundan hazırlanan ekstraktan hesperetinin seçimli ayrımı %90,5-96,9 oranında gerçekleştirilmiştir. Seçimlilik denemelerinde baskılama faktörü sırasıyla; hesperetin için 2,18 iken diğer bileşikler için 1,65, 1,36, ve 1,34 olarak bulunmuştur (Wang ve diğ. 2018).

Ma ve Shi'nin yaptığı çalışmada, kalıp molekül olarak kuersetagetin ve mantetik materyal olarak $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS-MPS}$ kullanılmıştır. ACN ortamında akrilamid fonksiyonel monomeri ve EDMA ile sentez bulk ve çöktürme polimerizasyonuna göre yapılmıştır. Seçimlilik denemeleri için ACN ortamında luteolin, apigenin, rutin ve resveratrol kullanılmış ve sonuçlar HPLC yöntemi ile değerlendirilmiştir. Hazırlanan MMIP ile *Calendula officinalis* (aynısefa)'nın hazırlanan ekstraktından kuersetagetinin seçimli ayrımı %82,75-95,41 oranında gerçekleştirilmiştir (Ma ve Shi. 2014).

Chen ve diğ. manyetik materyal olarak $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS-MPS}$ sentezlemiş, kalıp molekül olarak resveratrol, fonksiyonel monomer olarak akrilamid ve çapraz bağlayıcı olarak EDMA kullanarak ACN çözücü ortamında, 1:5:30 oranında MMIP sentezi yapmıştır. Adsorpsiyon testlerine göre, hazırlanan polimerin homojen bağlanma bölgeleri içerdiği ve resveratrol için yüksek adsorpsiyon kapasitesi gösterdiği belirtilmiştir. Analizler için HPLC yönteminin

kullanıldığı çalışmada şarap örneklerine resveratrol katkısı yapılmış ve geri kazanım değerleri %79,3-90,6 aralığında belirlenmiştir (Chen ve diğ. 2013).

Zeng ve diğ. Tarafından yapılan çalışmada manyetik materyal olarak $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{TEOS-MPS}$ kullanılmıştır. Kalıp molekül olarak rutin, sentez çözücüsü olarak THF ve fonksiyonel monomer olarak akrilamidin kullanıldığı çalışmada yüzey polimerizasyon tekniğinden yararlanılmıştır. Seçimlilik denemeleri için kamferol ve KUE ile çalışılmış, rutin için elde edilen baskılama faktörü 5,4 olarak bulunmuştur. Çalışmada gerçek örnek olarak, Çin'de bitkisel ilaç olarak kullanılan şifalı bitkiler kullanılmış ve rutin örneklerden ortalama geri kazanım değerleri %84,3-85,2 aralığında hesaplanmıştır (Zeng ve diğ. 2012).



3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. CİHAZ VE MALZEME LİSTESİ

- HPLC: Waters Breeze 2 Model HPLC cihazı (Milford, MA, USA): 1525 model ikili pompa, termostatl kolon fırını, 2998 model fotodiyot dizisi dedektör (PDA) (Chelmsford, MA, USA), Hamilton marka 50 µl-şırınga, ZORBAX Eclipse XDB-C18 analitik kolon (4.6 mm×250 mm, 5 µm),
- Cary UV-Vıs Spektrofotometre (Müllheim, Germany), absorbands ölçümleri ve spektrum çizimleri için kullanılan küvet; Isolab marka 1.40 mL semi-micro kuartz küvet,
- DAIHAN HS-30D marka mekanik karıştırıcı (Güney Kore),
- Shimadzu ATX224 analitik terazi (max: 220g, min: 10mg) (Philippines)
- Bandelin Sonorex ultrasonik banyo (Berlin, Germany)
- Diaphragm vakum pompası (Waldbronn, Germany), DAIHAN marka vakum etüvü, (Güney Kore)
- Millipore Simpax 1 Synergy 185 bidistile su sistemi (France),
- Multi rotator- Multi Bio RS-24 (Latvia), kesikli temas (batch) testleri için; çalkalayıcı,
- WSB-30 Witeg su banyosu,
- Büchi R210/215 marka evaporatör, ekstraktların vakumda kuruluğa kadar buharlaştırılması için;

3.2. KİMYASAL MALZEMELER

Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler; (KUE) kuersetin, Gallik asit (GA), Vanilik asit (VA), klorojenik asit (KLA), rutin (RT), kafeik asit (KAF), etanol (EtOH), metanol (MeOH), etilenglikol dimetakrilat (EDMA), 2-2'- azobisizobütironitril (AIBN), 4-vinilpiridin (4-VP), metakrilik asit (MAA), akrilamid (AAm), tetrahidrofuran (THF), aseton (C₃H₆O), demir(II) klorür tetrahidrat (FeCl₂.4H₂O), demir (III) klorür heksahidrat (FeCl₃.6H₂O), [3-(metakriloksi) propil]trimetoksisilan (γ-MPS), tetra etil orto silikat (TEOS), amonyak (NH₃), asetonitril (ACN), orto fosforik asit (o-H₃PO₄)

3.3. UYGULANAN YÖNTEMLER

3.3.1. Manyetik Moleküler Baskılı Polimer (MMIP) Sentezi

Bu çalışmada fenolik bileşiklerden flavonol grubunda yer alan KUE'nin ve türevlerinin seçimli ayrımını sağlayabilmek için KUE baskılı manyetik moleküler baskılı polimerler sentezlendi. KUE'e özgü polimer hazırlanırken; uygun çözücü ortamında (THF, aseton, EtOH veya THF:MeOH:H₂O (6:3:1;v/v/v) gibi), kalıp molekül, monomer ve çapraz bağlayıcının farklı mol oranları (1:4:20, 1:8:20, 1:8:40) kullanılarak ve uygun polimerizasyon koşullarında (N₂ altında, 60 °C sıcaklıkta su banyosunda 24 saat), non- kovalent etkileşimlere dayalı sentezler gerçekleştirildi. Tüm bu işlemler aynı zamanda baskısız polimer (kalıp molekül ihtiva etmeyen, MNIP) için de uygulandı.

Manyetik moleküler baskılı polimer sentezi başlıca iki aşamadan meydana gelir. Birinci adım manyetik materyal sentezini, ikinci adım ise polimerizasyon basamaklarını içerir.

3.3.2. Manyetik Madde Sentezi

MMIP sentezinin MIP sentezinden farkı, Fe₃O₄@SiO₂-γ-MPS yapısına sahip manyetik nanopartiküllerin üzerinin polimer tabakası ile kaplanmasıdır. Fe₃O₄@SiO₂-γ-MPS yapısını hazırlama işlemi üç aşamadan oluşmaktadır.

Birinci aşama;

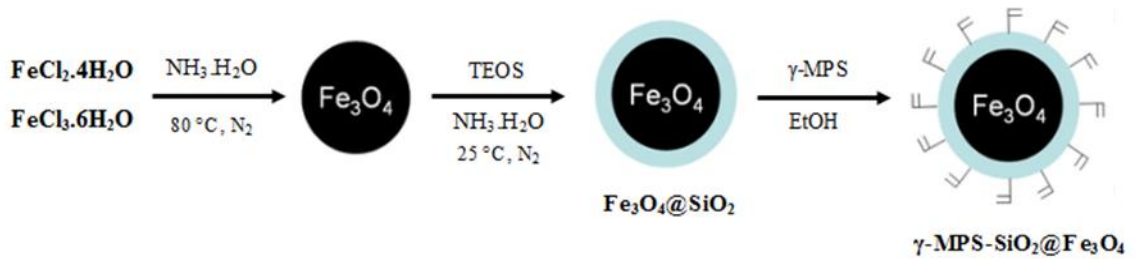
4,30g FeCl₂.4H₂O (demir (II) klorür tetrahidrat) ve 11,68 g FeCl₃.6H₂O (demir(III) klorür hekzahidrat) tartılarak üzerine 200 mL ultra saf su ilave edildi. Azot gazı altında 80 °C'de mekanik karıştırıcı yardımıyla karıştırma işlemi gerçekleştirildi. Karıştırma hızı 800 rpm olarak belirlendi. O₂ ve/veya H⁺ iyonları varlığında kararlı olmayan Fe₃O₄ kolayca Fe₂O₃'e oksitlenebilmektedir. Bu durumu engellemek için amonyum hidroksidin fazlası eklenerek çöktürme yapılmaktadır (Franqui ve diğ, 2015). 22 mL NH₃.H₂O (%28, v/v) ilave edildikten sonra 4 saat süreyle karıştırmaya devam edildi. Oluşan Fe₃O₄ partikülleri dışarıdan mıknatıs tutularak ayrıldı ve üstteki sulu faz atıldı (Cai ve diğ. 2014).

İkinci aşama:

Fe_3O_4 hazırlanmasından sonraki adım, yüzeyin SiO_2 tabakası ile kaplanmasıdır. Bu işlem için bir önceki basamakta hazırlanmış olan Fe_3O_4 üzerine 160 mL MeOH ve 40mL ultra saf su ilavesi yapıldı. Üzerine 4 mL $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ (%28, v/v) çözeltisi ve 3 mL TEOS (tetraetilortosilikat) sırasıyla yavaş yavaş eklendi. Bu karışım oda sıcaklığında mekanik karıştırıcıda 800 rpm’de 12 saat boyunca azot gazı geçirilerek karıştırıldı. Elde edilen silika kaplı manyetik nanopartiküller mıknatıs yardımıyla toplandı. Birkaç kez ultra saf su ile yıkama yapıldı. Bu işlem, süper reaktif silanol grupları ile nanopartiküllerin oksitlenmesini ve agregasyonunu engellemek amacıyla yapıldı.

Üçüncü aşama:

Oluşturulan silika kaplı manyetik nanopartiküllerin ($\text{SiO}_2@\text{Fe}_3\text{O}_4$) modifiye edilmesi (yüzey özelliğinin değiştirilmesi) γ -MPS {[3-(metakriloksi) propil] trimetoksisilan} yardımıyla, C=C bağları üzerinden yapıldı. Elde edilen silika kaplı manyetik nanopartiküllerin üzerine 100 mL EtOH ve 150 mL ultra saf su ilave edilerek azot gazı altında mekanik karıştırıcıda karıştırıldı. Reaksiyon karışımının üzerine 3 mL γ -MPS eklenerek 6 saat boyunca karıştırma işlemine devam edildi. Sonrasında 70 °C’de 1 saat daha karıştırma işlemine devam edildi. Tüm bu işlemler sonrasında oluşturulan γ -MPS- $\text{SiO}_2@\text{Fe}_3\text{O}_4$ (Şekil 3.1) ultra saf su ve EtOH ile pH 7,0-7,5 olana kadar yıkandı. pH ayarlaması yapıldıktan sonra vakum etüvünde 60 °C’de 24 saat süreyle kurutuldu.



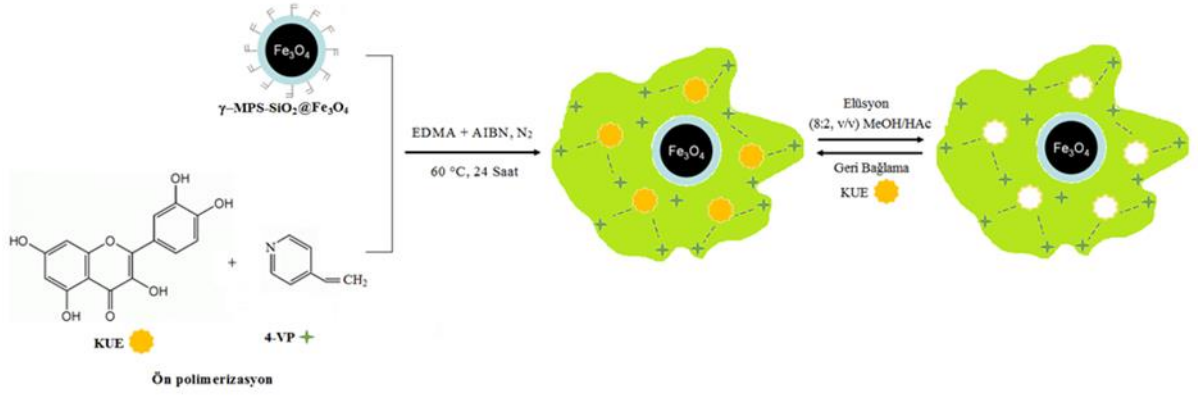
Şekil 3.1: γ -MPS- $\text{SiO}_2@\text{Fe}_3\text{O}_4$ sentezi.

3.3.3. KUE-MMIP ve MNIP Sentezi

MMIP sentezi için uygulanan yöntemler; süspansiyon, ultrasonik ve bulk (yığın) polimerizasyonudur. Her bir yöntem için ayrı ayrı sentezler yapıldı ve batch (kesikli temas) testleri sonuçlarına göre MMIP sentezi için bulk (yığın) polimerizasyonunun daha uygun olduğuna karar verildi.

3.3.3.1. Uygun Monomerin Belirlenmesi

Fonksiyonel monomer olarak 4-Vinilpiridin (4-VP), akrilamid (AAM) ve metakrilik asit (MAA) kullanılarak her biri için ayrı ayrı KUE baskılı ve baskısız manyetik polimer sentezleri yapıldı. 1:8:40 oranında KUE baskılı manyetik polimer sentezi için 0,1 mmol kuersetin 20 mL THF kullanılarak kapaklı bir tüp içerisinde çözüldükten sonra üzerine 0,8 mmol monomer ilavesi yapıldı. Ön polimerizasyon için bu karışımdan 10 dakika süreyle N₂ geçirildi ve yarım saat karanlıkta bekletildi. Sonrasında 100 mg γ -MPS-SiO₂@Fe₃O₄ tartılarak yarım saat bekletilen karışım içerisine ilave edildi ve 2 saat bu şekilde karıştırıldı. Üzerine 4 mmol çapraz bağlayıcı (EDMA) ve 20 mg başlatıcı (AIBN) ekleyip 15 dakika ultrasonik banyoda bekletildi ve 10 dakika N₂ geçirildi. Tüm bu işlemler sonrasında tüpün ağzı kapatıldı ve 60 °C'de su banyosunda 24 saat bekletilerek polimerleşme işlemi tamamlandı (Şekil 3.2). Sentezlenen polimerler tüp içerisinden alınarak vakum etüvünde 60 °C'de kurutuldu. Kalıp molekülü uzaklaştırmak için soxhlet ekstraksiyonu yapıldı. Çözücü olarak MeOH:HAc (8:2, v/v) karışımı kullanıldı. Yıkama çözeltisinin absorbansı spektrofotometrik olarak izlendi ve absorbans sıfırlanana kadar yıkama işlemine devam edildi. pH değeri 6,5-7,5 olana kadar MeOH ve sonrasında ultra saf su ile yıkama yapıldı. Yıkanan polimerler 60 °C'de vakum etüvünde kurutuldu. Baskısız manyetik polimerlerin (MNIP) sentezi içinde aynı işlemler kalıp molekül olmadan yapıldı.



Şekil 3.2: KUE-MMIP sentezi.

3.3.3.2. Uygun Gözenek Oluşturucu Çözücünün Belirlenmesi

KUE-MMIP için en uygun monomerin 4-VP olduğu belirlendikten sonra Aseton:ACN (3:1, v/v), EtOH, aseton, THF:MeOH:H₂O (6:3:1, v/v/v) ve THF gözenek oluşturucu çözümler kullanılarak 1:8:40 oranında baskılı ve baskısız polimerler sentezlendi. Yapılan işlemler sonrasında hazırlanan polimerlere batch testi ile KUE yüklemesi yapıldı ve adsorpsiyon verimi ve dolayısıyla en uygun çözücü spektrofotometrik olarak belirlendi.

3.3.3.3. Uygun Kalıp Molekül/ Monomer/Çapraz Bağlayıcı Oranının Belirlenmesi

KUE-MMIP sentezlerinde kalıp molekül, fonksiyonel monomer ve çapraz bağlayıcı; THF çözücüsü ile 1:8:20, 1:4:20 ve 1:8:40 mol oranlarında karşılaştırılarak kullanıldı. Batch testi sonucunda MMIP sentezi için en uygun mol oranları belirlendi.

3.3.4. KUE-MMIP Geri Bağla(n)ma Parametrelerinin İncelenmesi

3.3.4.1. Geri Bağla(n)maya Zaman Etkisi

KUE-MMIP'lerle geri bağla(n)maya zaman etkisini incelemek için; 6 ayrı tüpe 20'er mg MMIP ve MNIP tartılıp üzerine %50 (v/v) EtOH çözücü içerisinde hazırlanan 60 µM KUE çözeltisinden 4'er mL ilave edilerek 2, 4, 6, 8, 18 ve 24 saat aralıklarla oda sıcaklığında su banyosu içinde çalkalama yapıldı. Dışarıdan mıknatıs kullanarak MMIP ayrıldı ve çözeltide kalan KUE miktarını belirlemek için 1.0/0.45 µm'lik GF/PET (Glass fiber/Polyethylene terephthalate) mikro filtrelerden geçirilerek spektrofotometrede 370 nm dalga boyunda absorban ölçümü yapıldı. Zamana göre adsorplanan KUE miktarları arasında çizilen grafikten en uygun adsorpsiyon süresi belirlendi.

3.3.4.2. Geri Bağla(n)maya Çözücü Etkisi

KUE-MMIP'lerle geri bağla(n)maya çözücü etkisini incelemek için; KUE'nin MMIP'lerden tamamen uzaklaştırma işlemi sonrasında farklı çözücülerle yükleme çalışmaları yapıldı. Yapılan bu çalışmalarda, ACN, THF ve %50 EtOH (v/v) çözücüleri kullanıldı. Farklı çözücülerde hazırlanmış 60 μM KUE çözeltileri tartılan 20'şer mg MMIP ve MNIP üzerine 4 mL ilave edilip 2 saat süreyle çalkalama işlemi gerçekleştirildi. Dış mıknatıs ile polimer ayrıldıktan sonra çözeltiler 1.0/0.45 μm 'lik GF/PET mikro filtrelerden süzüldü ve 370 nm dalga boyundaki absorbanlarına göre en uygun yükleme çözücüsü belirlendi.

3.3.4.3. Geri Bağla(n)maya Kalıp Molekül Derişimi Etkisi

KUE-MMIP'lere geri bağla(n)maya KUE derişimi etkisini incelemek için hazırlanan polimerden 20'şer mg tartımlar alınıp üzerlerine, belirlenen çözücüde hazırlanan 20-140 μM derişim aralığındaki KUE çözeltilerinden 4'er mL ilave edildi. Oda sıcaklığında su banyosunda belirlenen sürede çalkalama yapıldıktan sonra dış mıknatıs ile MMIP'ler ayrıldı. 1.0/0.45 μm 'lik GF/PET mikro filtrelerden süzülen çözeltilerdeki KUE miktarları, 370 nm dalga boyundaki absorbanlardan yararlanılarak belirlendi.

3.3.5. KUE-MMIP'lerin Adsorpsiyon Özelliklerinin Belirlenmesi

3.3.5.1. Batch (Kesikli Temas) Testi

KUE-MMIP ve MNIP'ler için farklı derişimlerde hazırlanan KUE standartları ile batch adsorpsiyon testi uygulandı. Hazırlanmış olan KUE-MMIP ve MNIP'ten 20'şer mg tartılıp üzerine 20-80 μM derişim aralığındaki KUE çözeltilerinden 4'er mL ilave edildi ve belli bir süre oda sıcaklığında su banyosunda çalkalandı. Dış mıknatıs yardımıyla polimerler ayrıldıktan sonra çözeltiler 1.0/0.45 μm 'lik GF/PET mikro filtrelerden süzüldü. Süzüntülerdeki KUE miktarları, 370 nm dalga boyundaki absorbanlardan yararlanılarak belirlendi.

3.3.5.2. Seçimlilik Denemeleri

Uygun mol oranında hazırlanmış olan KUE-MMIP ve MNIP'ların bazı fenolik bileşikler için seçimlilik denemeleri, KUE gibi flavonoidlerin flavonol grubunda yer alan rutin (RT), hidroksinamik asit sınıfından klorojenik asit (KLA), fenolik asitlerin hidroksibenzoik asit sınıfından gallik asit (GA) ve vanilik asit (VA) kullanılarak yapıldı.

Bunun için, MMIP ve MNIP'lerden ayrı ayrı tüplere 20'şer mg tartılıp üzerlerine 4'er mL 60 μM fenolik bileşik çözeltileri önce tek başına ilave edilip su banyosunda belli bir süre oda

sıcaklığında çalkalandı. Polimerler mıknatıs ile ayrıldı ve GF/PET mikrofiltreden geçirilen çözeltilerin 200-400 nm arasında spektrumları alındı. Her bir bileşiğin çözeltide kalan miktarı, maksimum absorplama yaptıkları dalgaboyunda (λ_{maks}) ölçüm alınarak belirlendi. Daha sonra yukarıda bahsedilen bileşiklerin KUE varlığında adsorpsiyon durumlarını belirlemek için %50 (v/v) EtOH içerisinde 60 μM 'lık RUT, KLA, VA, GA ve KUE içeren karışım çözeltisi hazırlandı. Karışımların başlangıçtaki ve polimer ile muamele sonrası derişimleri HPLC yöntemi ile belirlendi.

Fenolik Bileşiklerin Analizi için HPLC Yönteminin Geliştirilmesi

Bu çalışmada sentezlenmiş olan MMIP'in fenolik bileşiklerden KUE'nin seçimli ayrımı için kullanılabilirliğini değerlendirmek amacıyla yapılan çalışmalarda analizler HPLC yöntemi ile gerçekleştirildi. Hareketli faz olarak MeOH (A) ile %0,2 o-H₃PO₄ içeren bidistile suyun (B) kullanıldığı gradient elüsyona dayalı yeni bir yöntem geliştirildi (Tablo 3.1).

Akış hızı 1 ml dak⁻¹, dedeksiyon (belirleme) dalga boyu 370 nm'dir.

Tablo 3.1: Çalışılan örneklerdeki bileşenlerin analizi için geliştirilen HPLC metodu.

Zaman	%A	%B	Eğim
0-3	35	65	6
3-5	50	50	6
5-10	80	20	6
10-15	100	0	6

* Empower PRO (Waters Associates, Milford, MA, USA) software kodu

3.3.6. Manyetik Baskılı Polimerlerin Yapılarının İncelenmesi

Belirlenen en uygun koşullarda hazırlanan KUE-MMIP ve MNIP'lerin FTIR-ATR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy- Attenuated Total Reflectance, Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektroskopisi- Zayıflatılmış Toplam Yansıma) spektrumları alındı ve yapıları karşılaştırıldı.

3.3.7. KUE-MMIP’ın Doğal Örnek Uygulaması

KUE içeren doğal örnek olarak kırmızı soğan kabuğu kullanıldı.

- Soğan Kabuğu Ekstraktlarının Hazırlanması

Açık havada kurutulmuş olan soğan kabuğu örneğinden 0,9 g tartıldı. Örnek %70 (v/v) MeOH’ün 25 mL’si ile 60 dakika, ikinci bir 15 mL’si ile 45 dakika ve 10 mL’si ile 15 dakika ultrasonik banyoda ağızları kapalı bir şekilde üç kademedede ekstrakte edildi. Bu üç ekstrakt bir araya getirilip son hacim 50 ml’ye tamamlandı. Tüm ekstraktlar GF/PET 1,0 / 0,45 µm’lik enjektör uçlu mikro filtreden geçirilip, analize hazırlandı.

- Soğan Kabuğu Ekstraktının Analize Uygun Hale Getirilmesi

MeOH ve su içeren soğan kabuğu ekstraktı, vakum evaporatöründe 45°C’de kuruluğa kadar buharlaştırıldı ve kalıntı belirli hacimde yükleme çözücüsünde çözüldü.

- Soğan Kabuğu Ekstraktının Analiz Aşaması

Kuruluğa kadar buharlaştırılıp yükleme çözücüsünde yeniden çözülen ekstraktın önce HPLC analizi yapıldı ve KUE içeriği belirlendi. Bu ekstrakttan 4’er mL alınarak 20’şer mg’lık KUE-MMIP ve MNIP ile 2 saat su banyosunda çalkalandı. Polimerler dış mıknatıs ile ayrıldıktan sonra kalan çözeltiler GF/PET 1,0/0,45 µm’lik mikro filtrelerden geçirilerek HPLC analizleri yapıldı.

Süzüntü sonrası kalan katı KUE-MMIP su, %50 (v/v) EtOH ve MeOH:Hac (8:2, v/v) ile yıkanarak HPLC’ye enjekte edildi ve kromatogramları alındı.

4. BULGULAR

4.1. KUE-MMIP SENTEZİ İÇİN OPTİMİZASYON ÇALIŞMALARI

4.1.1. Uygun Monomerin Belirlenmesi

KUE baskılı manyetik polimer sentezinde en uygun monomeri belirleyebilmek için, THF çözücüsünde 1:8:40 kalıp molekül:monomer:çapraz bağlayıcı mol oranında AAm, MAA ve 4-VP olmak üzere üç farklı monomer kullanılarak baskılı ve baskısız polimerler sentezlendi. MAA ile yapılan sentezde polimer oluşumu gerçekleşmedi. AM ve 4-VP ile sentezlenen polimerlerde 60 μ M KUE yüklemesi yapıldı ve en iyi tutulmanın 4-VP ile hazırlanan polimerde olduğu görüldü.

4.1.2. Uygun Gözenek Oluşturucu Çözücünün Belirlenmesi

KUE baskılı manyetik polimer sentezinde en uygun monomer olarak 4-VP belirlendikten sonra gözenek oluşturucu çözücü olarak EtOH, THF, THF:MeOH:H₂O (6:3:1), aseton ve aseton:ACN (3:1, v/v) çözeltileri kullanılarak 1:8:40 oranında polimerler sentezlendi. Aynı çözücüler ile kalıp molekül içermeyen polimerler de hazırlandı. Herbiri ile batch (kesikli temas) adsorpsiyon testi (60 μ M KUE ile) yapıldı ve baskılama faktörü (BF) belirlendi. Sonuçlar Tablo 4.1’de görülmektedir.

Tablo 4.1: Farklı gözenek oluşturucu çözücüler kullanılarak sentezlenen 1:8:40 oranındaki polimerin BF değerleri.

Çözücü	Polimer	Adsorplanan Kuersetin miktarı (μ g g ⁻¹)	Baskılama Faktörü
THF	1:8:40	1496	1,65
	0:8:40	906	
EtOH	1:8:40	1632	1,28
	0:8:40	1269	
THF:MeOH:H ₂ O (6:3:1, v/v/v)	1:8:40	Polimer oluştu fakat MMIP’a göre MNIP’ın tutma oranı daha yüksek belirlendi.	-
	0:8:40		

Tablo 4.1 (devam):

Aseton	1:8:40 0:8:40	Polimer oluşumu gözlenmedi.	-
Aseton:ACN (3:1, v/v)	1:8:40 0:8:40	Polimer oluşumu gözlenmedi.	-

Bu sonuçlara göre THF, KUE-MMIP sentezi için en uygun gözenek oluşturuçü çözücü olarak belirlendi.

4.1.3. Uygun alıp Molekül: Monomer: Çapraz Bağlayıcı Mol Oranının Belirlenmesi

Kuersetin baskılı manyetik polimer sentezlerinde kullanılan oranlara, benzer çalışmalar referans alınarak karar verildi. KUE baskılı manyetik polimer sentezinde denenen oranlar 1:4:20, 1:8:20 ve 1:8:40'dır. Gözenek oluşturuçü çözücü olarak THF kullanılarak baskılı ve baskısız polikmer sentezleri yapıldı ve baskılama faktörleri belirlendi (Tablo 4.2).

Tablo 4.2: Farklı molar bileşim oranlarındaki KUE-MMIP ve MNIP'lerin karşılaştırılması.

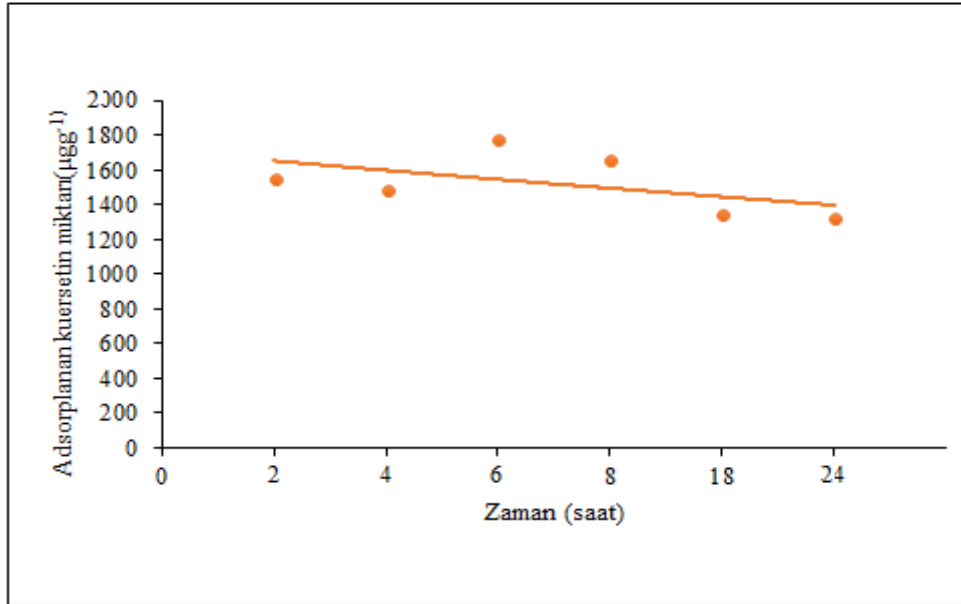
Mol Oranı	Adsorplanan Kuersetin Miktarı ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Baskılama Faktörü
1:8:40 0:8:40	1496 906	1,65
1:8:20 0:8:20	423 287	1,47
1:4:20 0:4:20	695 453	1,53

Baskılama faktörü değerlerine göre KUE-MMIP için en uygun mol oranı 1:8:40 olarak belirlendi.

4.2. KUE-MMIP GERİ BAĞLA(N)MA PARAMETRELERİNİN İNCELENMESİ

4.2.1. Geri Bağla(n)maya Zaman Etkisi

1:8:40 KUE-MMIP ve MNIP polimerlerinden 6 ayrı tüpe 20'şer mg tartılıp üzerine %50 EtOH (v/v) çözücü karışımında hazırlanan 60 μ M KUE çözeltisinden 4'er mL ilave edildi ve 2, 4, 6, 8, 18 ve 24 saat sürelerle, oda sıcaklığında, 250 rpm çalkalama hızında, su banyosunda bekletildi. Adsorplanan KUE miktarları, 370 nm dalga boyundaki absorpsiyon ölçümlerinden yararlanılarak hesaplandı. 2 saat sonundaki ölçülen değer, MMIP ve MNIP arasında tutulma farkının sabitlenmesi sebebiyle yeterli olarak görülmüştür.

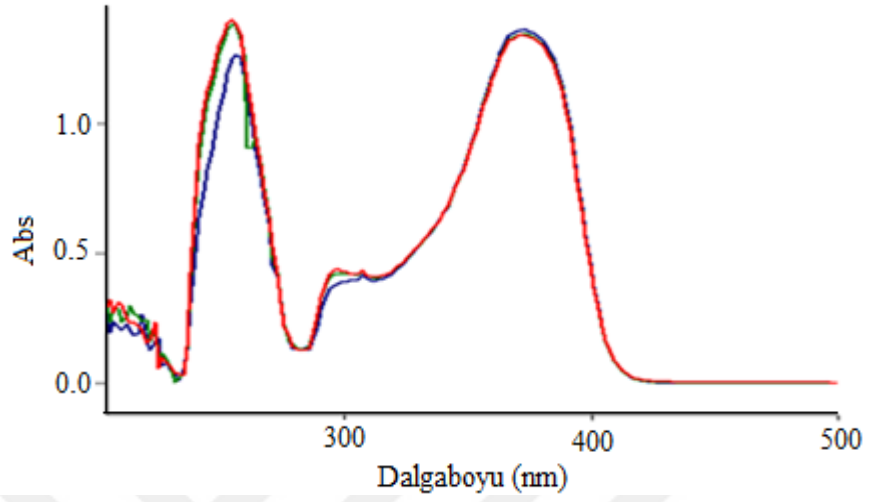


Şekil 4.1: 1:8:40 KUE-MMIP'e ait adsorpsiyon zaman grafiği.

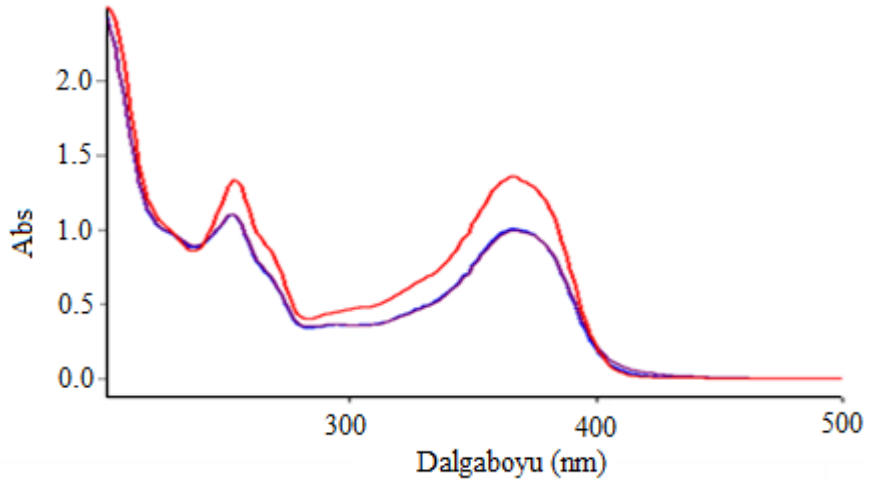
4.2.2. Geri Bağla(n)maya Çözücü Etkisi

1:8:40 KUE-MMIP ve MNIP'den 20'şer mg tartılıp üzerine THF, ACN ve %50EtOH (v/v) çözücülerinde hazırlanan 60 μ M KUE çözeltisinden 4'er mL ilave edilerek oda sıcaklığında, 2 saat, 250 rpm çalkalama hızında, su banyosunda bekletildi. Adsorplanan KUE miktarları 370 nm dalga boyundaki absorpsiyon ölçümlerinden yararlanılarak hesaplandı. Elde edilen verilere göre en yüksek adsorpsiyon değeri %50 (v/v) EtOH ile belirlendi. Farklı çözücülerde hazırlanan

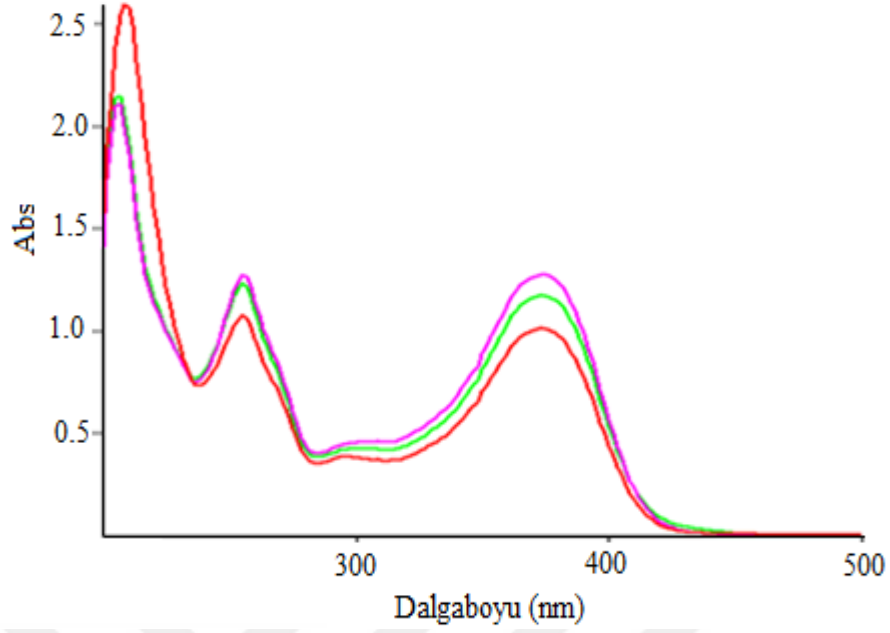
ve polimerlerle muamele edilen KUE çözeltilerinin UV-GB spektrumları şekil 4.2-4.4’de görülmektedir.



Şekil 4.2: 60µM KUE’nin THF’deki çözeltisinin başlangıçtaki (Lacivert), KUE-MMIP (Kırmızı) ve MNIP (Yeşil) ile muamele edildikten sonraki spektrumları.



Şekil 4.3: 60µM KUE’nin ACN’deki çözeltisinin başlangıçtaki (Kırmızı), KUE-MMIP (Mor) ve MNIP (Mavi) ile muamele edildikten sonraki spektrumları.



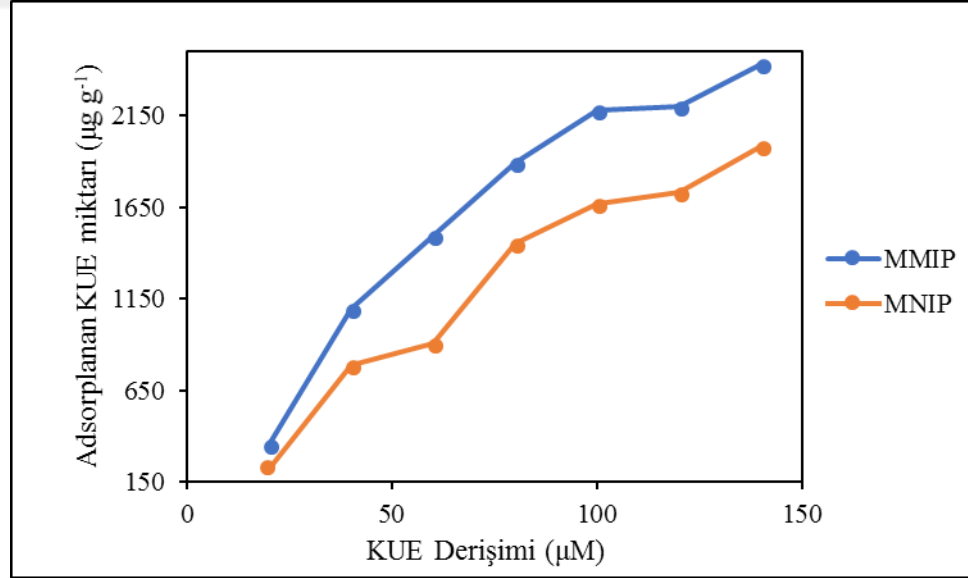
Şekil 4.4: 60 μ M KUE'nin %50 (v/v) EtOH'daki çözeltisinin başlangıçtaki (Pembe), KUE-MMIP (Kırmızı) ve MNIP (Yeşil) ile muamele edildikten sonraki spektrumları.

4.2.3. Geri Bağla(n)maya Kalıp Molekül Derişimi Etkisi

KUE miktarının polimerin tutma kapasitesine etkisini incelemek için %50 EtOH (v/v) ile farklı derişimlerde (20-140 μ M) hazırlanan çözelti, KUE-MMIP ve MNIP polimerlerinin 20'şer mg'lık tartımları üzerine ilave dildi ve batch testi uygulandı. Tablo 4.3'te KUE-MMIP ve MNIP tarafında tutulan KUE miktarları ve polimerin derişime bağlı olarak belirlenen BF değerleri, Şekil 4.5'de ise KUE-MMIP ve MNIP'ın KUE derişimine bağlı adsorpsiyon grafikleri görölmektedir.

Tablo 4.3: Farklı derişimlerde KUE çözeltilerinin MMIP ve MNIP tarafından adsorpsiyonu sonucu belirlenen BF değeri.

Kuersetin Miktarı (μM)	Adsorplanan Kuersetin Miktarı ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Baskılama Faktörü
20	352(223)*	1,57
40	1097(789)*	1,39
60	1496(906)*	1,65
80	1890(1453)*	1,30
100	2183(1666)*	1,31
120	2200(1734)*	1,26
140	2434(1987)*	1,22



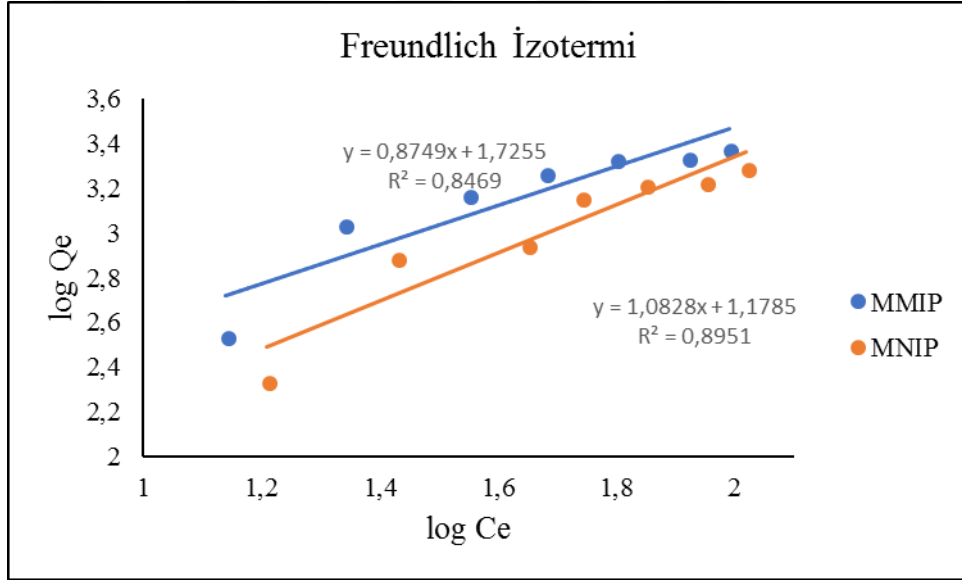
Şekil 4.5: KUE-MMIP ve MNIP'in KUE derişimine bağı adsorpsiyon grafikleri.

4.3. MANYETİK MOLEKÜLER BASKILI POLİMERLERİN ADSORPSİYON ÖZELLİKLERİN BELİRLENMESİ

4.3.1. Batch (Kesikli Temas) Adsorpsiyon Testi

KUE-MMIP ve MNIP'in adsorpsiyon özelliklerini belirlemek için Freundlich ve Langmuir adsorpsiyon izotermelerinden yararlanılmıştır.

KUE-MMIP ve MNIP için $\log C_e$ ve $\log Q_e$ değerleri arasında eşitlik (2.5)'te verilen, doğrusal Freundlich adsorpsiyon izotermi çizildi. Kayım değeri ve elde edilen doğrunun eğiminden $1/n$ 'den $\log K_f$ değeri hesaplaması yapıldı. Tablo 4.4'de KUE-MMIP ve MNIP'e ait Freundlich adsorpsiyon izoterm değerleri ve Şekil 4.6'da Freundlich adsorpsiyon izoterm grafiği verilmiştir.



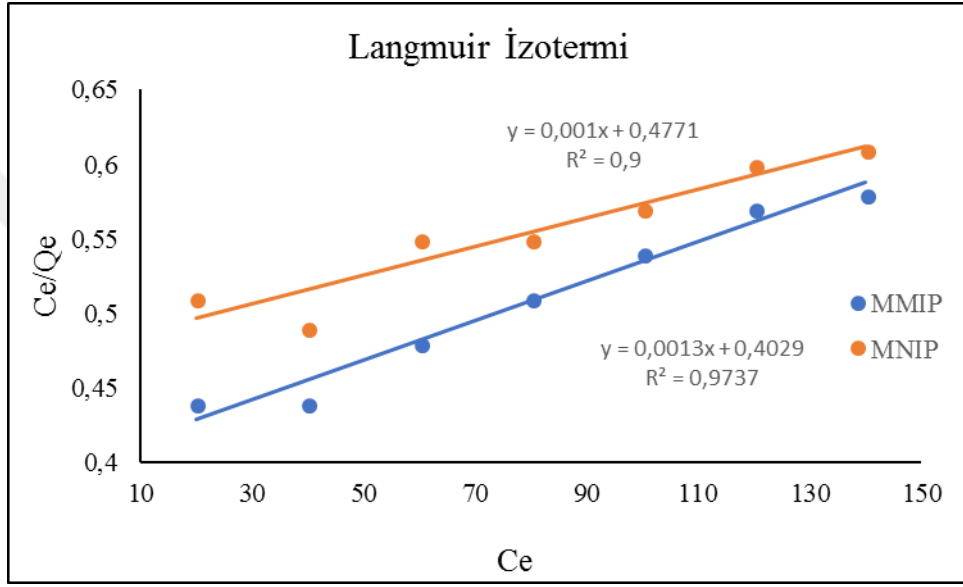
Şekil 4.6: KUE-MMIP ve MNIP için Freundlich adsorpsiyon izotermi.

Tablo 4.4: KUE-MMIP ve MNIP için Freundlich adsorpsiyon izotermi değerleri.

Polimer	Freundlich Sabitleri		
	K_f	n	R^2
MMIP	53	1,14	0,8469
MNIP	15	0,92	0,8951

Adsorpsiyon yoğunluğu değerini ifade eden n sabitinin KUE-MMIP’de 1,14 (>1) olarak bulunması sebebiyle KUE-MMIP’in Freundlich izotermine uyumlu olduğu söylenilir.

KUE-MMIP ve MNIP polimerlerinin Langmuir izotermi, eşitlik 2.3 ve 2.4’ten yararlanılarak hesaplanan C_e ve C_e/Q_e değerleri arasında oluşturuldu. Kayım değeri ve elde edilen doğruların eğiminden Q_{maks} , b değerleri hesaplandı. KUE-MMIP ve MNIP’e ait Langmuir izotermi Şekil 4.7’de ve adsorpsiyon büyüklükleri Tablo 4.5’de verilmektedir.



Şekil 4.7: KUE-MMIP ve MNIP için Langmuir adsorpsiyon izotermi.

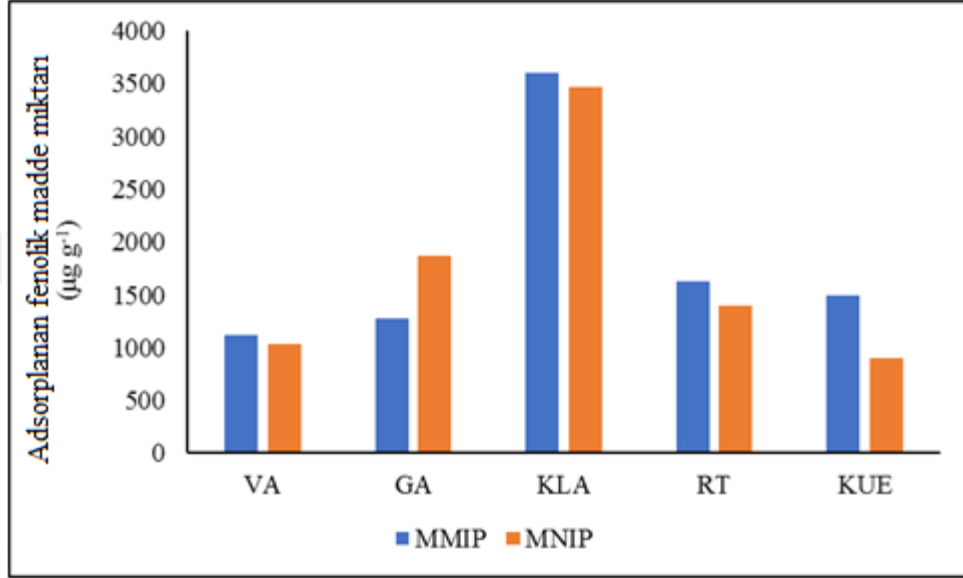
Tablo 4.5: KUE-MMIP ve MNIP için Langmuir adsorpsiyon izotermi değerleri.

Polimer	Langmuir Sabitleri		
	Q_{maks}	b	R^2
MMIP	769	$3,22 \times 10^{-3}$	0,9737
MNIP	1000	$2,09 \times 10^{-3}$	0,9

RL sabitinin (dağılma veya boyutsuz ayırma faktörü) 0,83 ($RL < 1$) olarak bulunması KUE-MMIP adsorpsiyonu için Langmuir izotermine uyumlu olduğunu göstermektedir. Elde edilen uyum katsayılarının Freundlich izotermi ile elde edilenden büyük olması sebebiyle KUE-MMIP için Langmuir izotermine daha uygun olduğu sonucuna varıldı.

4.3.2. Seçimlilik Denemeleri

Hazırlanan KUE-MMIP ve MNIP ile bazı fenolik bileşikler varlığında KUE için seçimlilik denemeleri yapıldı. KUE, GA, KLA, VA, RT'nin %50 (v/v) EtOH'de hazırlanan 60 μ M derişimlerdeki çözeltileri kullanılarak yapılan denemeler sonucunda elde edilen değerler Şekil 4.10'da görölmektedir.



Şekil 4.8: KUE-MMIP ve MNIP tarafından adsorplanan fenolik madde miktarlarının karşılaştırılması.

Şekil 4.8'de göröldüğü gibi KUE'nin MMIP ve MNIP tarafından adsorpsiyonu arasındaki fark diğer fenolik bileşiklere göre daha fazladır (GA, MNIP tarafından daha fazla tutuldu). Bu durum diğer fenolik bileşikler varlığında KUE'nin seçimli ayrımı için bir avantaj oluşturmaktadır. KUE'nin rutinoz bağı yapıları olan RT'nin MMIP ve MNIP adsorpsiyonları arasındaki farkın da daha az olduğı görölmektedir. KLA ve VA'nın MMIP ve MNIP üzerindeki adsorpsiyonları birbirine çok yakın olduğundan bağlanmanın polimer yüzeyinde gerçekleştiğı düşünölebilir. GA'nın MNIP tarafından tutulan miktarının daha fazla olması ise MNIP yüzeyinde gallik asit için tutma bölgelerinin daha fazla olması şeklinde yorumlanabilir.

4.4. ÇALIŞILAN FENOLİK BİLEŞİKLERİN HPLC KALİBRASYONLARININ SONUÇLARI

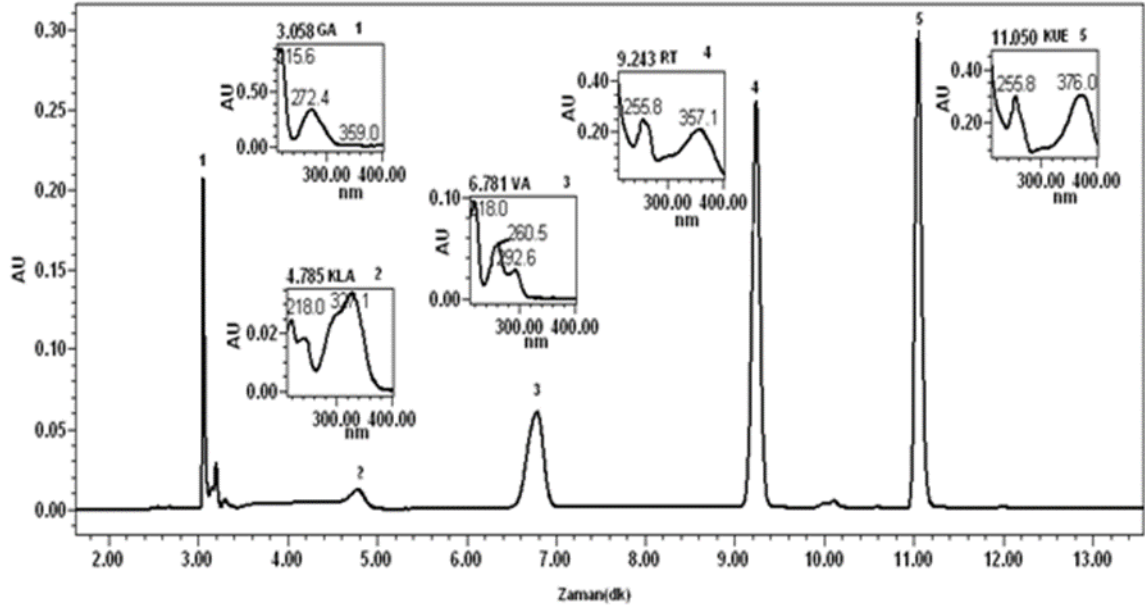
Metanol (A) ve %0,2 o-H₃PO₄ içeren bidistile su (B)'dan oluşan ikili hareketli fazın kullanıldığı sistemde gradient elüsyon metodu ile %50 EtOH (v/v)'de hazırlanan GA, VA, KLA, RT ve KUE standartları ile kalibrasyon çalışması yapıldı. X eksenine standart derişimleri (C), y eksenine pik alanları konularak doğrusal regrasyon grafikleri çizilerek doğrusal regrasyon denklemleri hesaplandı. Denklemler tablo 4.6'da verilmiştir.

Tabloda, x molar derişim, y pik alanı ve R regresyonu ifade eder.

Tablo 4.6: Çeşitli fenolik bileşiklerin HPLC verileri.

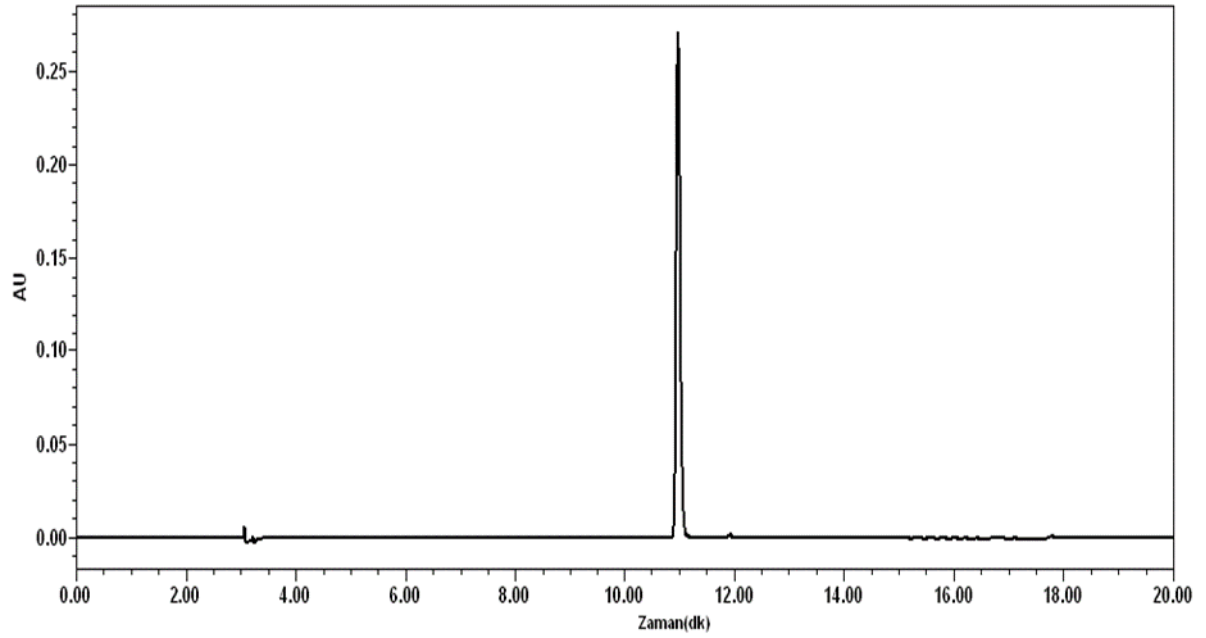
Antioksidan	Doğru Denklemi	(R ²)	Doğrusal Aralık (mol L ⁻¹)
Kuersetin (λ=370nm)	$y = 2,0 \times 10^{10} x + 46650$	0,989	$4,0 \times 10^{-4} - 1,0 \times 10^{-6}$
Gallik Asit (λ= 272nm)	$y = 2,0 \times 10^9 x + 36903$	0,994	$2,0 \times 10^{-4} - 6,0 \times 10^{-5}$
Vanilik Asit (λ=260nm)	$y = 4,0 \times 10^9 x + 1804$	0,987	$1,0 \times 10^{-4} - 6,0 \times 10^{-5}$
Klorojenik Asit (λ=327nm)	$y = 4,0 \times 10^9 x + 513$	0,998	$1,0 \times 10^{-4} - 6,0 \times 10^{-5}$
Rutin (λ= 357nm)	$y = 1,0 \times 10^{10} x - 41495$	0,998	$1,0 \times 10^{-4} - 6,0 \times 10^{-5}$

Şekil 4.9'da çeşitli fenolik bileşiklere ait standartların HPLC kromatogramları verilmiştir.



Şekil 4.9: Fenolik bileşik standartlarının HPLC kromatogramı.

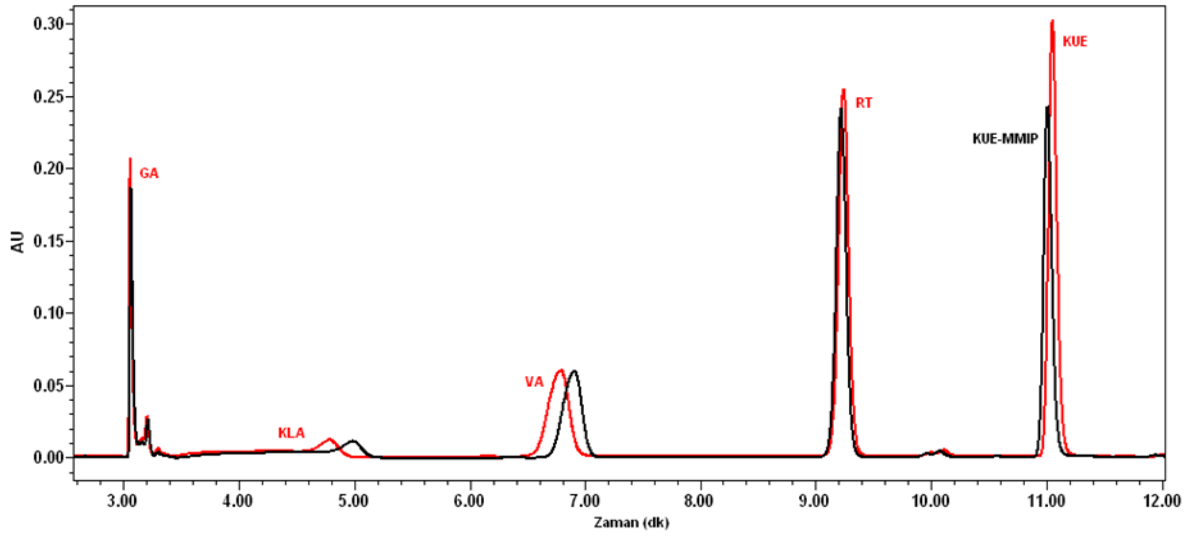
1: Gallik Asit, 2: Klorojenik Asit, 3: Vanilik Asit, 4: Rutin, 5: Kuersetin.



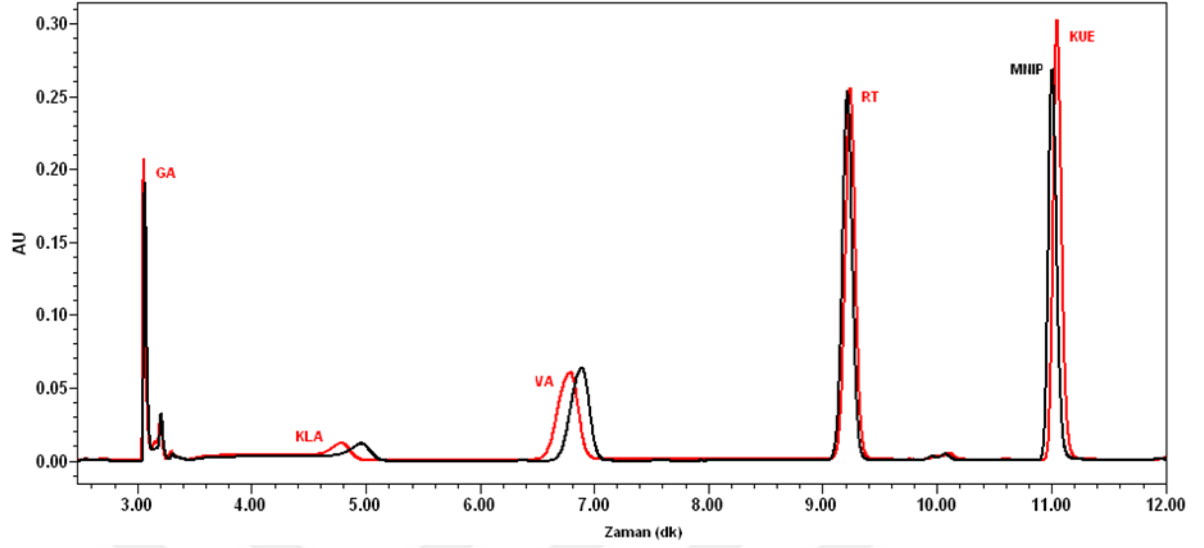
Şekil 4.10: 60µM kuersetinin %50 EtOH çözücüsü içerisindeki HPLC kromatogramı.

4.5. KUE-MMIP'IN KUE SEÇİMLİLİĞİNİ BELİRLEMEK İÇİN SENTETİK KARIŞIM UYGULAMASI

GA, RT, KLA, VA ve KUE'nin herbirinden 6×10^{-5} M derişimde olacak şekilde ve %50 (v/v) ETOH ortamında hazırlanan karışım çözeltisinden alınan 4'er mL'lik kısımlar 20'şer mg'lık KUE-MMIP ve MNIP üzerine eklendi, oda sıcaklığında, 2 saat süre ile su banyosunda çalkalandı. Karışım çözeltisinin işlem öncesi ve sonrası analizleri HPLC yöntemi ile yapıldı. Elde edilen kromatogramlar, Şekil 4.11 ve Şekil 4.12'de görölmektedir.



Şekil 4.11: Sentetik karışım çözeltisinin KUE-MMIP ile muamele öncesi (Kırmızı) ve sonrası (Siyah) kromatogramları ($\lambda = 260\text{nm}$).

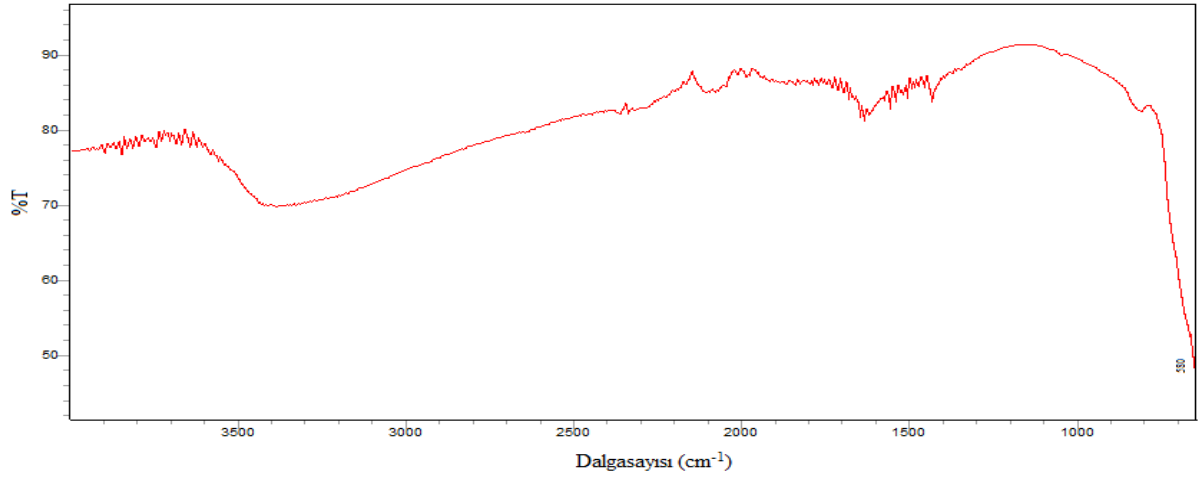


Şekil 4.12: Sentetik karışım çözeltisinin MNIP ile muamele öncesi (Kırmızı) ve sonrası (Siyah) kromatogramları ($\lambda=260$ nm).

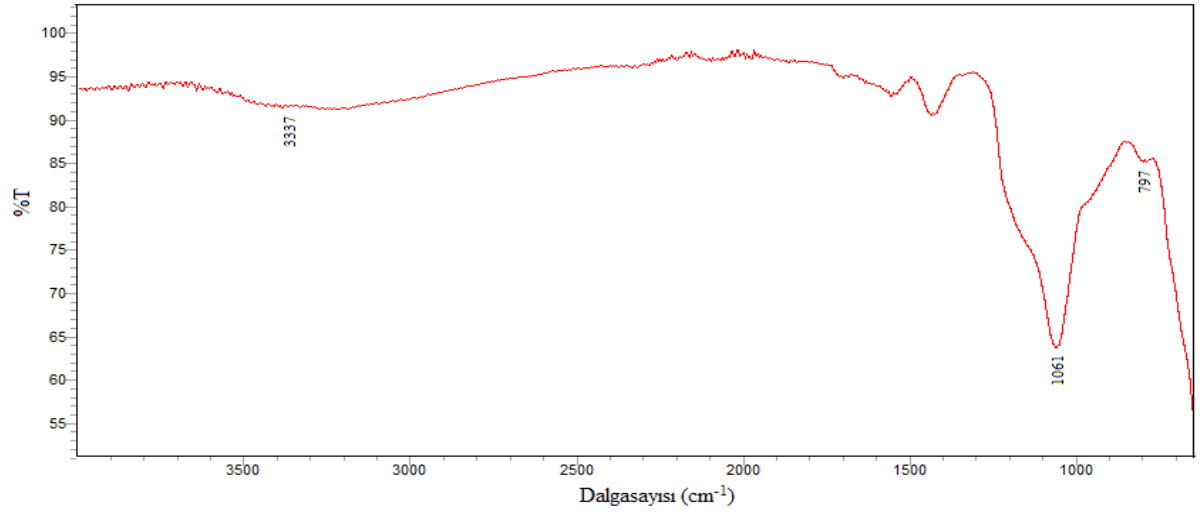
Şekil 4.11’de görüldüğü gibi 60 μ M KUE yanında aynı derişimlerde fenolik bileşikler içeren sentetik karışımında KUE-MMIP tarafından tutulan KUE miktarı daha fazladır. KUE ve RT dışındaki diğer bileşenler, flavanol yapısında olmadıklarından, kalıba girmeden non-spesifik olarak polimere bağlandıkları düşünöldü. RT’nin KUE-MMIP tarafından tutulma oranının az olması, yapısında KUE’den farklı olarak rutinoz bağı olduğundan kalıba giremediğı şeklinde yorumlandı. Şekil 4.12’de görüldüğü gibi KUE’nin MNIP tarafından tutulmasının; spesifik olmayan (yapısındaki -OH grupları ile polimer yüzeyindeki grupların etkileşimi sonucu gerçekleşen) bağlanmalara dayandığı düşünöldü.

4.6. KUE-MMIP VE MNIP YAPILARININ İNCELENMESİ

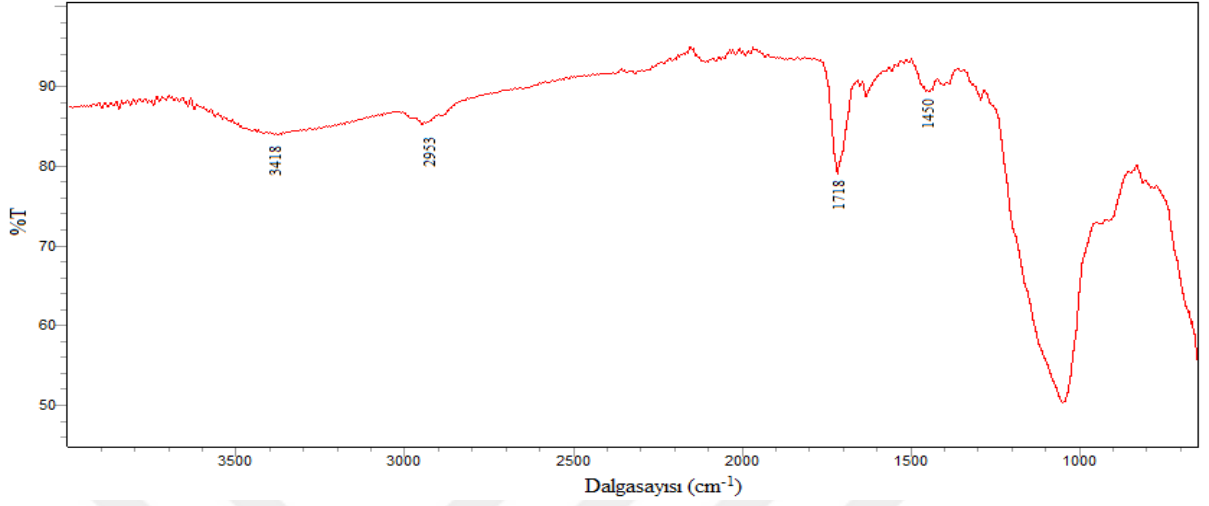
Fe_3O_4 , $\text{SiO}_2@\text{Fe}_3\text{O}_4$, $\gamma\text{-MPS-SiO}_2@\text{Fe}_3\text{O}_4$, KUE-MMIP ve MNIP’lere ait FTIR-ATR spektrumları şekil 4.13-4.17’de görölmektedir.



Şekil 4.13: Fe_3O_4 'e ait FTIR-ATR spektrumu.

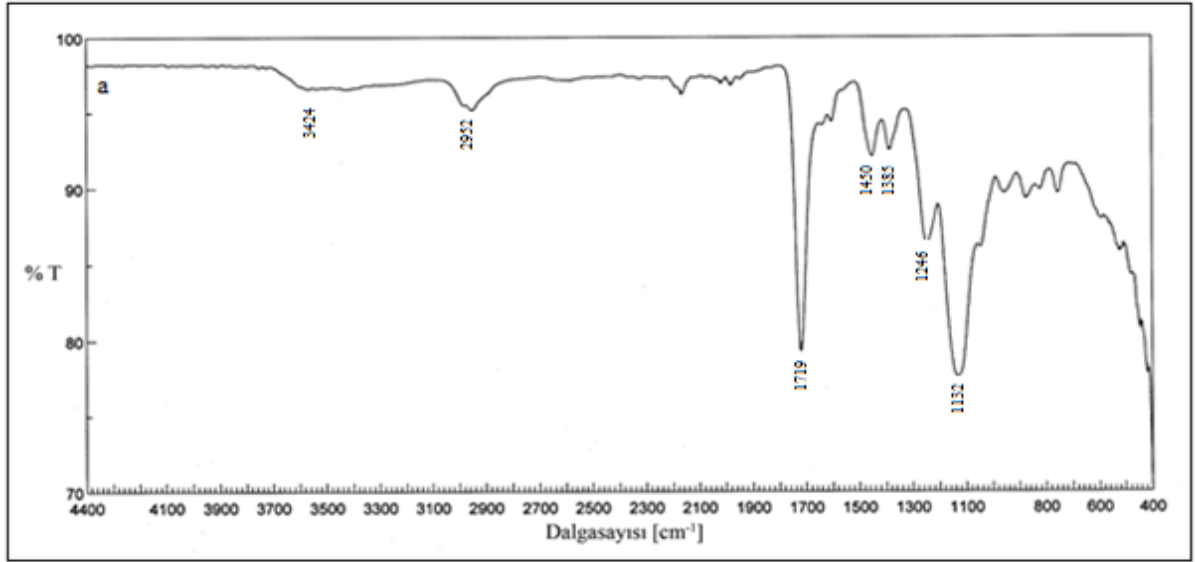


Şekil 4.14: $\text{SiO}_2@\text{Fe}_3\text{O}_4$ ait FTIR-ATR spektrumu.

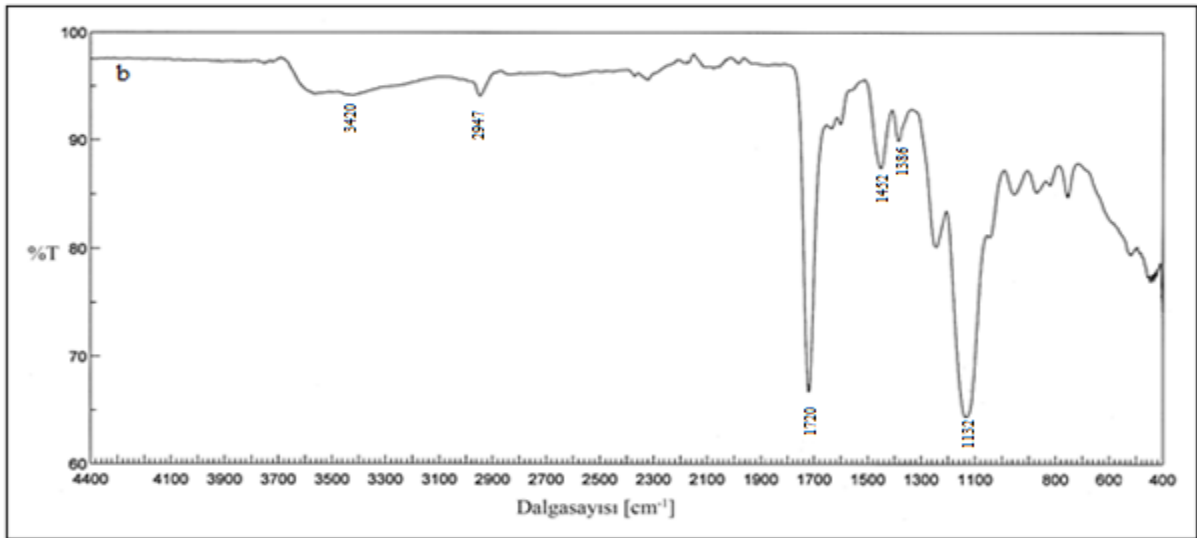


Şekil 4.15: γ -MPS-SiO₂@Fe₃O₄ ait FTIR-ATR spektrumu.

Şekil 4.13'te Fe₃O₄'ün 4000 ila 500 cm⁻¹ aralığında alınan FTIR spektrumlarında 580 cm⁻¹ civarından görülen absorpsiyon bandı Fe-O gerilmesinden dolayıdır. Bu gerilme yüzeyin silan kaplanmasıyla azalmaktadır (Cai ve diğ. 2014). Şekil 4.14'te SiO₂@Fe₃O₄'e ait FTIR-ATR spektrumundan 1061 cm⁻¹'de görülen kuvvetli ve 797 ~950cm⁻¹ de görülen zayıf bantlar sırasıyla Si-O-Si ve Si-O-H gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. Şekil 4.15'te γ -MPS-SiO₂@Fe₃O₄ 'e ait FTIR spektrumundan ~1718 cm⁻¹'de görülen titreşim yapıda C=O bağlarının olduğunu ve MPS'nin yapıya dahil olduğunu göstermektedir. 2953 cm⁻¹'de görülen zayıf bantın C-H gerilme titreşiminden ve ~1450 ve ~1380 cm⁻¹'de görülen bantların -CH₃ ve -CH₂ bükülme titreşimlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Chang ve diğ. 2012, Wang ve diğ. 2012). Tüm bu bulgular, γ -MPS-SiO₂@Fe₃O₄ yapısının oluştuğunu göstermektedir.



Şekil 4.16: KUE-MMIP FTIR-ATR spektrumları.



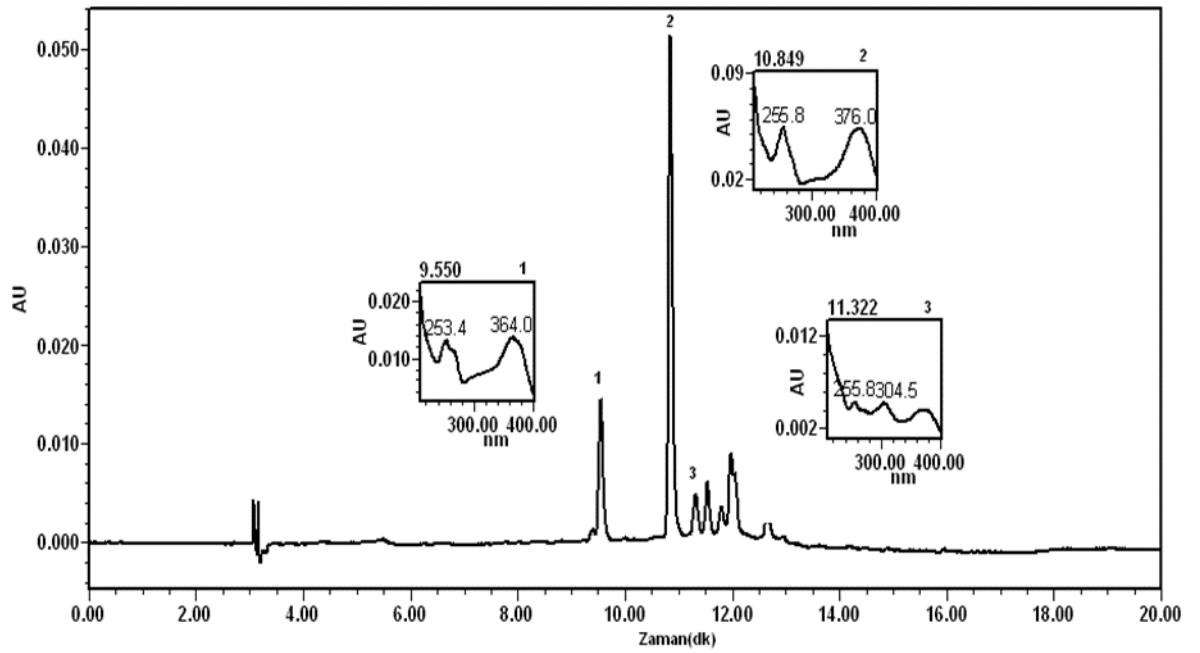
Şekil 4.17: MNIP FTIR-ATR spektrumları.

KUE-MMIP ve MNIP'in FTIR-ATR spektrumları Şekil 4.16 ve Şekil 4.17'de görülmektedir. KUE-MMIP için $\sim 3420 \text{ cm}^{-1}$ ve $\sim 2950 \text{ cm}^{-1}$ 'de görülen adsorpsiyon bandları sırasıyla -OH ve C-H gerilme titreşimini gösterir. 1719 cm^{-1} 'de görülen titreşim C=O titreşimine karşılık gelir. $\sim 1450 \text{ cm}^{-1}$ ve $\sim 1385 \text{ cm}^{-1}$ 'de görülen bantlar $-\text{CH}_3$ ve $-\text{CH}_2$ bükülme titreşimlerine aittir. $\sim 1246 \text{ cm}^{-1}$ ve $\sim 1132 \text{ cm}^{-1}$ 'de görülen bantlar sırasıyla C-O ve Si-O gerilme titreşimleri olarak yorumlanır (Hong ve Chen, 2013). MMIP ve MNIP hemen hemen aynı FTIR-ATR spektrumuna sahiptir. Çünkü kalıp molekülü uzaklaştırılan MMIP'in kimyasal bileşimi MNIP ile benzerlik gösterir (Zeng ve diğ. 2012).

4.7. KUE-MMIP'IN DOĞAL ÖRNEK UYGULAMASI

4.7.1. Kırmızı Soğan Kabuğu Ekstraktından KUE Kazanımı

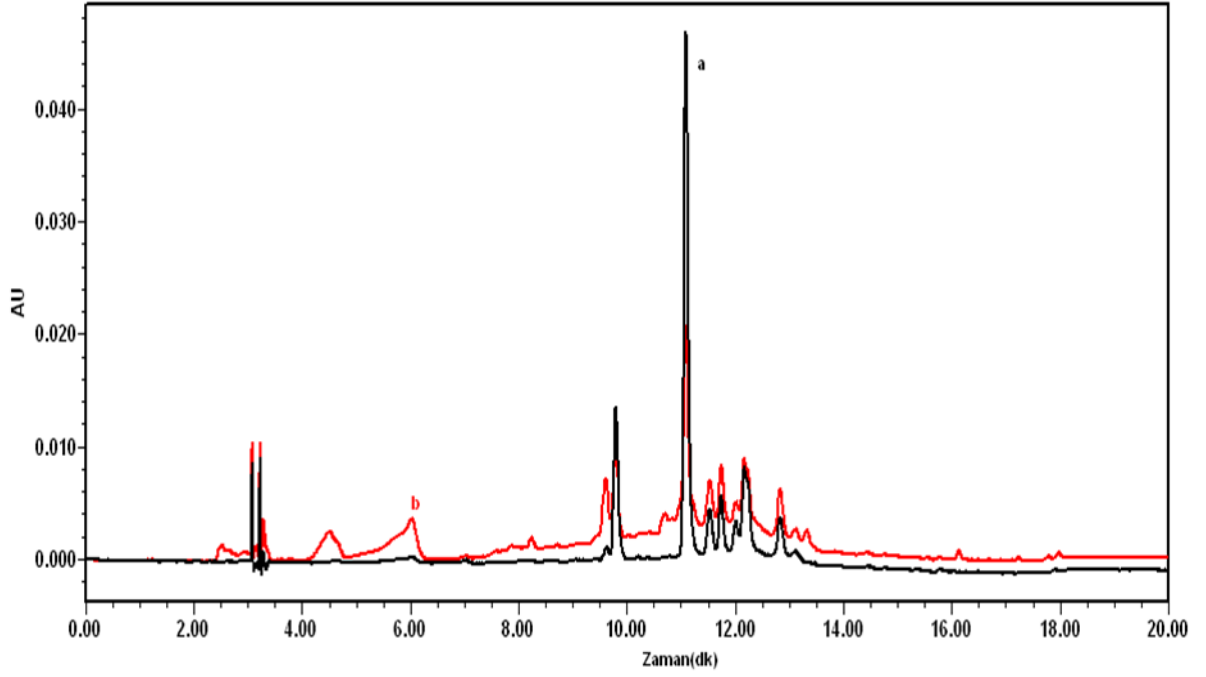
Buharlaştırıldıktan sonra %50 (v/v) EtOH ile çözülen kırmızı soğan kabuğu ekstraktından 1 mL alınıp 10 mL'ye tamamladı. Hazırlanan çözelti, önce 1:1 sonra 1:10 oranında seyreltili. 100 mg MMIP'in üzerine 4 mL çözelti ilave edildi ve su banyosunda 250 rpm'de 2 saat süreyle çalkalandı. Kırmızı soğan kabuğu ekstraktının 370 nm'deki kromatogramı Şekil 4.18'de, 280 ve 370 nm'deki kromatogramları Şekil 4.19'da görülmektedir.



Şekil 4.18: Kırmızı soğan kabuğu ekstraktının kromatogramı ($\lambda=370$ nm).

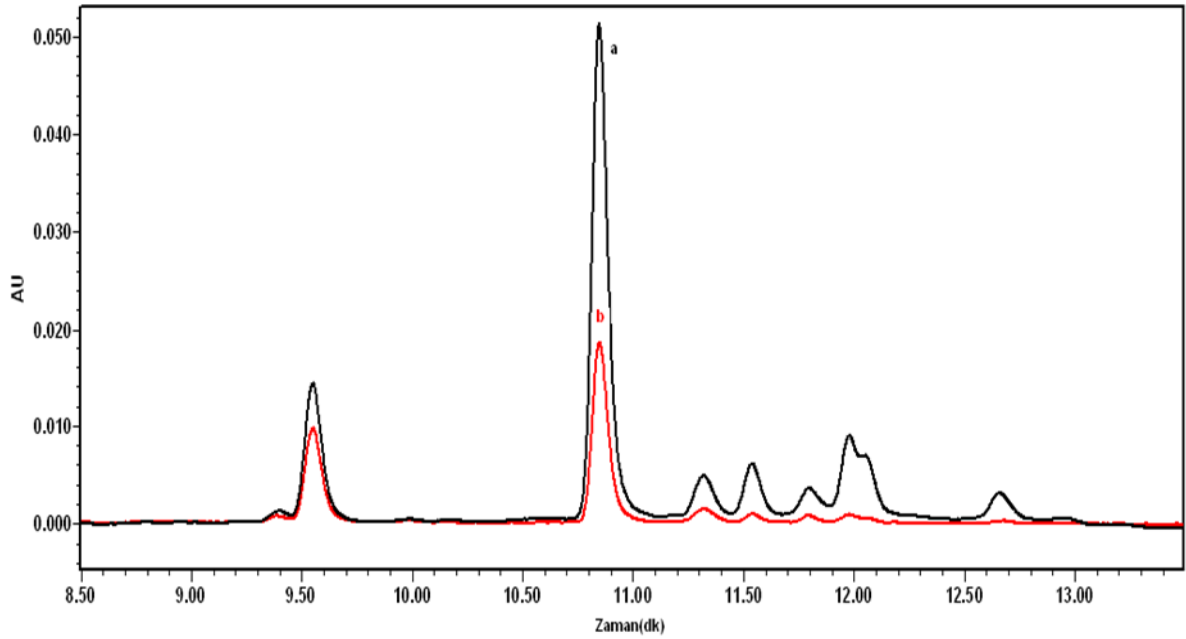
1: Kuersetin glikoziti, 2: Kuersetin, 3: Kamferol.

Şekil 4.18'de görüldüğü gibi kırmızı soğan kabuğu ekstraktında kuersetin, kuersetin glikoziti ve kamferol bulunmaktadır. Kromatogramda görülen 1. ve 3. piklerin hangi bileşiklere ait olduğuna PDA spektrumları ve literatürde yer alan bilgilerden (Sakakibara ve diğ. 2003) yararlanılarak karar verildi.



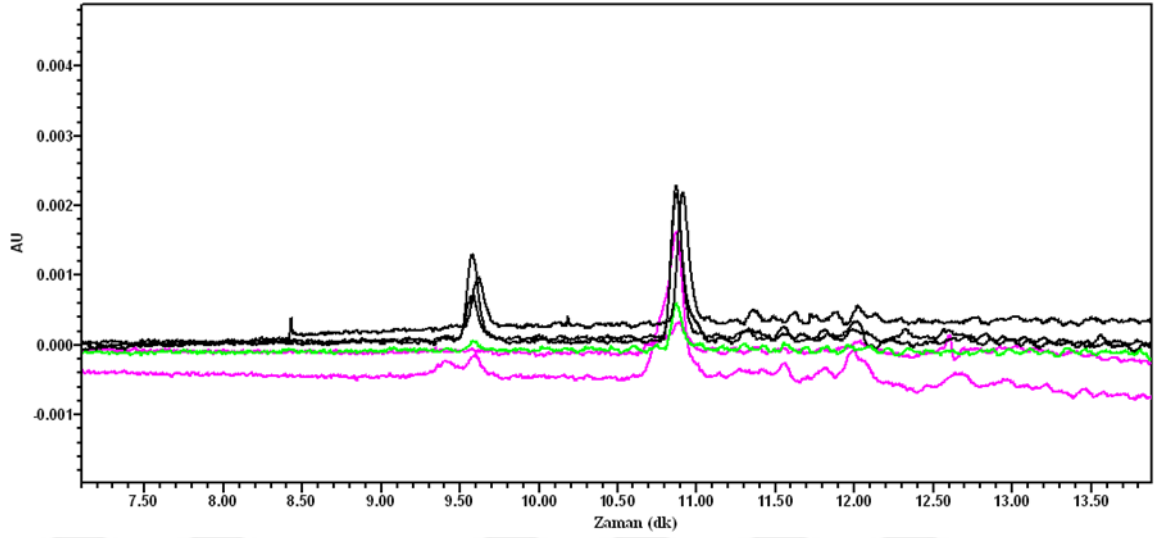
Şekil 4.19: Soğan kabuğu ekstraktının kromatogramları $\{\lambda = 280 \text{ nm (b) ve } \lambda = 370 \text{ nm (a)}\}$.

Şekil 4.19, kırmızı soğan kabuğu ekstraktında bulunan ve 370 nm’de absorpsiyonu olan kuersetin ve türevleri ile 280 nm’de absorpsiyonu olan diğer fenolik bileşenleri belirlemek amacıyla alınmış kromatogramlardır. KUE kazanımı hesaplamaları 370 nm’de alınan ölçümlere göre yapıldı.

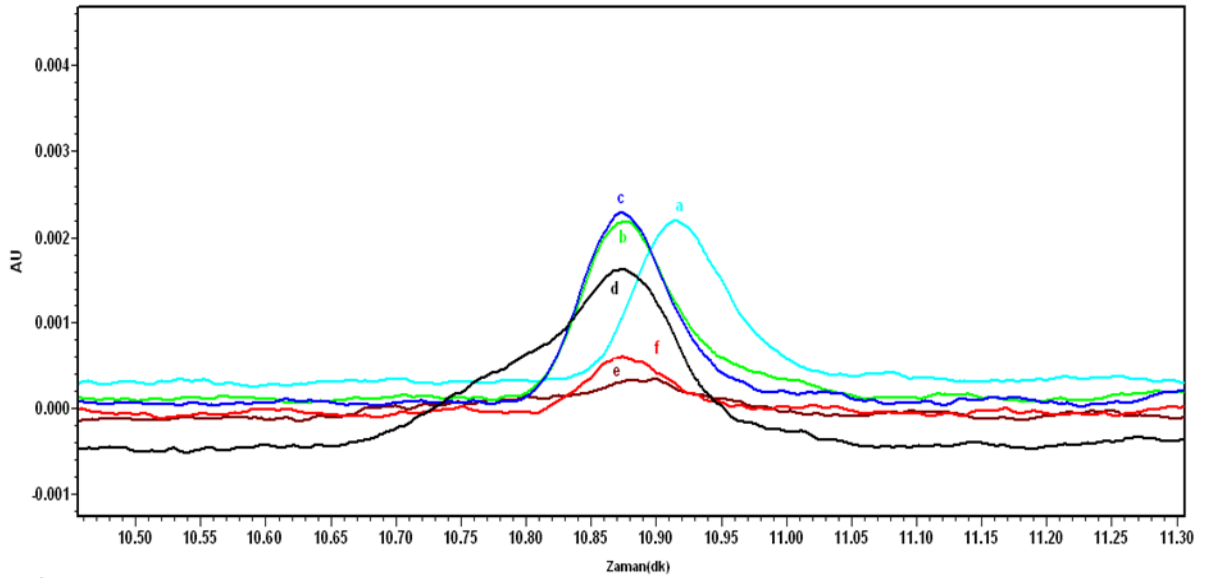


Şekil 4.20: Kırmızı soğan kabuğu ekstraktının yükleme öncesi (a) ve sonrası (b) kromatogramları ($\lambda=370$ nm).

Soğan kabuğu ekstraktının KUE-MMIP ile su banyosunda 2 saat süreyle çalkalanması sonrasında KUE ile birlikte diğer bileşenler de bir miktar tutulmuştur (Şekil 4.20). KUE dışındaki bileşenler de fenolik yapıya sahip olduklarından ve yapılarında -OH grupları bulunduğu için kalıba girmeden, polimerle hidrojen bağı oluşturmaları veya polimerin heterojen bölgeleriyle spesifik olmayan etkileşimlere girerek tutulmaları beklenen bir durumdur. Kalıp dışında tutulan KUE ve diğer maddeleri yıkayarak polimerden uzaklaştırmak mümkündür. Bu sebeple kırmızı soğan kabuğu ekstraktına KUE-MMIP ile muamele sonrasında 6 basamaktan oluşan yıkama işlemi uygulandı (Şekil 4.21 - 4.22)

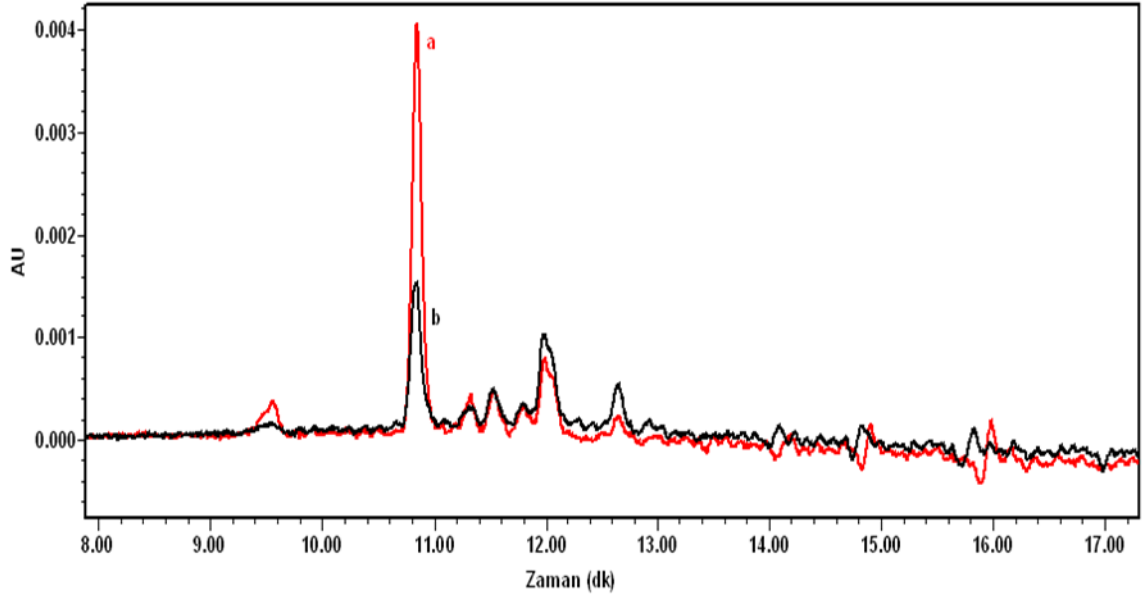


Şekil 4.21: Kırmızı soğan kabuğu ekstraktı yüklenen KUE-MMIP'in yıkama kromatogramları (H₂O, %50 (v/v) EtOH, EtOH).



Şekil 4.22: Kırmızı soğan kabuğu ekstraktı yüklenen KUE-MMIP'in yıkama kromatogramları. (Şekil 4.21'in yakınlaştırılmış hali) Yıkama 1: 4mL H₂O, Yıkama 2,3,4: (4'er mL %50 (v/v) EtOH), Yıkama 5,6: EtOH.

Son olarak kalıpta tutulan KUE'i almak için 8'er mL MeOH:HAc (8:2, v/v) karışımı ile iki basamakta yıkama işlemi uygulandı (Şekil 4.23).



Şekil 4.23: KUE-MMIP'ın yıkama işlemleri sonrası MeOH:HAc (8:2, v/v) elüsyonuna ait kromatogramlar ($\lambda=370$ nm).

a: elüsyon 1, b: elüsyon 2

Şekil 4.22'de görülen kromatogramlardan yapılan hesaplamalar sonucunda, elüsyon aşamalarıyla KUE'nin %33 oranında geri kazanıldığı belirlendi. Yıkamalar esnasında kuersetin glikozitleri ve diğer bileşenler ortamdan uzaklaştırılmış oldu. Tablo 4.7'de KUE-MMIP ile muamele edilen kırmızı soğan kabuğu ekstraktının işlem aşamalarına göre KUE miktarları görülmektedir.

Tablo 4.7 : KUE-MMIP ile muamele edilen kırmızı soğan kabuğu ekstraktının işlem aşamalarına göre KUE miktarları.

Aşamalar	KUE Miktarı (mmol)
Yüklenen	$2,68 \times 10^{-5}$
Tutulan	$1,68 \times 10^{-5}$
Elüsyon 1	$2,78 \times 10^{-6}$
Elüsyon 2	$2,72 \times 10^{-6}$
% Verim Geri Kazanılan	%33

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Moleküler baskılı polimerlerin manyetik özellik kazandırılarak yapılan sentezi, ülkemiz için yeni bir çalışma sahası olup çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Dünya literatüründe yer alan çalışmalar referans alınarak, mevcut imkanlar dahilinde tüm olasılıklar dikkate alınarak polimer sentezleri gerçekleştirildi ve sadece en iyi sonuç alınan kısımlar tez içeriğinde sunuldu.

Manyetik kısmın hazırlanmasında laboratuvar ortamı uygunluğu sebebiyle Cai ve diğ.'nin yaptığı çalışma örnek alındı. Her aşaması titizlikle gerçekleştirilen manyetik kısım hazırlanmasında en önemli faktör, Fe_3O_4 yapısına TEOS ekleme aşamasında karıştırma hızı olup, 800 rpm olarak belirlendi. Böylece yapı SiO_2 yapısıyla homojen bir şekilde kaplanmış oldu. Yüzey özelliklerini değiştirmek ve kalıp molekül olarak kullanılan KUE'nin bağlanmasını kolaylaştırmak için [3-(metakriloksi)propil] trimetoksisilan (γ -MPS) kullanıldı. Hazırlanan γ -MPS- SiO_2 @ Fe_3O_4 yıkama çözeltisi pH'ı 6,5-7,5 olana kadar su ve metanol çözücüsü ile yıkandı.

Çalışmamızda flavonoidlerin flavonol sınıfının en aktif bileşiği olan KUE'nin manyetik moleküler baskılı polimer sentezi yapıldı. KUE; biyokimyasal ve farmakolojik aktiviteye sahip bir bileşiktir. KUE'nin metalleri kendine bağlaması, radikal moleküllerini uzaklaştırması ve enzim inhibitörü gibi birçok özelliğe sahip olması antikarsinogenik, antimutajenik, antioksidatif ve iltihaplara karşı önemli etki göstermesine sebep olmaktadır (Erlund, 2002).

KUE-MMIP sentezi için öncelikle uygun polimerizasyon yöntemi belirlemek için çalışmalar yapıldı. Süspansiyon, bulk ve ultrasonik yöntemleri ile sentezler gerçekleştirildi. Sentez ürünlerinin homojen bir yapı oluşturması sebebiyle bulk polimerizasyonu yöntemi tercih edildi. Süspansiyon polimerizasyonu ile elde edilen polimerler ile yapılan çalışmalarda homojenlik ve tekrarlanabilirlik gözlemlenemedi. Bulk polimerizasyonu ile KUE-MMIP sentezi için en uygun monomer, gözenek oluşturucu çözücü ve bileşenlerin mol oranlarını belirlemek için optimizasyon çalışmaları yapıldı.

Bu çalışmalar neticesinde, KUE-MMIP hazırlanması için en uygun fonksiyonel monomer olarak 4-VP, gözenek oluşturucu çözücü olarak THF ve kalıp molekül: monomer: çapraz bağlayıcı (KUE: 4-VP: EDMA) mol oranı 1:8:40 olarak belirlendi. Başlatıcı görevi olan AIBN

miktarı 20 mg olarak belirlendi. Belirlenen koşullarda, kalıp molekül içermeyen MNIP sentezi de gerçekleştirildi.

KUE-MMIP ve MNIP için batch (kesikli temas) testleri uygulanarak KUE adsorpsiyonu üzerine zaman, çözücü ve derişim etkisi incelendi. Adsorpsiyon çözücüsünün belirlenmesinde baskılama faktörü (BF) esas alındı ve 1,65 değerini sağlayan %50 (v/v) EtOH kullanımına karar verildi. Bu çözücü kullanımı KUE ile yapılan bir çalışmada adsorpsiyon çözücüsü olarak kullanılması nedeniyle tercih edildi (Hemmati ve diğ. 2016). Geri bağlanma için en uygun süreyi belirlemek amacıyla 2, 4, 6, 18 ve 24 saat sürelerle denemeler yapıldı ve MMIP ile MNIP tarafından tutulan miktarların sabitlenmesi durumu dikkate alınarak en uygun sürenin 2 saat olduğuna karar verildi. Geri bağlanmaya derişimin etkisini incelemek için BF değerleri hesaplandı ve 20-140 μM derişim aralığında yapılan yüklemeler sonucunda en yüksek BF değeri (1,65) 60 μM KUE ile elde edildi.

Çalışmada KUE-MMIP için statik ve teorik adsorpsiyon kapasite hesaplamaları yapıldı. Statik kapasite, KUE-MMIP'e kesikli test uygulanarak 1496 $\mu\text{g g}^{-1}$ olarak bulundu. KUE-MMIP ve MNIP'e ait Freundlich ve Langmuir adsorpsiyon izotermelerinden ilgili sabitler hesaplandı. Freundlich izotermine göre n sabitinin adsorpsiyon yoğunluğunun ($n=1,14$) >1 olarak bulunması ve Langmuir izotermine göre dağılma ve boyutsuz ayırma faktörünün ($R_L=83$) <1 olarak bulunması adsorpsiyonun bu iki izoterme de uygun olduğunu gösterir. Yalnız Langmuir izotermine elde edilen uyum katsayılarının (R^2) Freundlich izotermi ile elde edilenden büyük olması sebebiyle KUE-MMIP için Langmuir izotermine daha uygun olduğu sonucuna varıldı. Langmuir izotermi büyüklüklerinden Q_{maks} (teorik adsorpsiyon kapasitesi), 796 $\mu\text{g g}^{-1}$ olarak hesaplandı.

1:8:40 KUE-MMIP ve MNIP için RT, KLA, VA ve GA standartları ile seçimlilik denemeleri yapıldı. Seçimlilik denemeleri için ayrı ayrı tartılan 20 mg'lık polimerler üzerine 60 μM derişimde hazırlanan kuersetin (KUE), rutin (RT), gallik asit (GA) ve vanilik asit (VA), ve klorojenik asit (KLA) çözeltileri eklendi ve adsorpsiyon derecelerini belirlemek için kesikli test uygulaması yapıldı. Ayrıca bu standartların herbirinden 60 μM içeren bir karışım çözeltisi hazırlandı 20'şer mg KUE-MMIP ve MNIP ile seçimlilik denemesi yapıldı. Bu çalışmanın sonuçları, HPLC analizi bulgularına göre değerlendirildi. Çalışmalar sonucunda KUE'nin MMIP üzerindeki adsorpsiyonunun daha yüksek olduğu ve diğer bileşiklerin varlığında seçimli olarak tutulduğu belirlendi. RT, KUE'nin rutinozit bağlı formu olduğundan yapısındaki şeker

grubunun sterik engel oluşturduğu ve KUE-MMIP'teki kalıba giremediği, bu nedenle de tutulma oranının düşük kaldığı düşünüldü. Hidroksisinamik ve hidroksibenzoik asit sınıflarından olan diğer fenolik bileşiklerin, daha küçük moleküller olmaları ve az sayıda hidroksil grupları içermeleri sebebiyle kalıba girmeden yüzeyde spesifik olmayan etkileşimlerle tutuldukları sonucuna varıldı.

Fe_3O_4 , $\text{SiO}_2@\text{Fe}_3\text{O}_4$, $\gamma\text{-MPS-SiO}_2@\text{Fe}_3\text{O}_4$, KUE-MMIP ve MNIP'in yapısal farklılıklarını belirlemek için FTIR-ATR spektrumları alındı. Fe_3O_4 oluşturulduktan sonra yapının silanol ile kaplanması ($\text{SiO}_2@\text{Fe}_3\text{O}_4$) ve sonrasında yüzey özelliklerinin değiştirilmesi aşamasının ($\gamma\text{-MPS-SiO}_2@\text{Fe}_3\text{O}_4$) başarılı olarak gerçekleştiği IR spektrumları ile belirlendi ve manyetik kısmın amacına uygun olarak hazırlandığı doğrulanmış oldu. KUE-MMIP ve MNIP'in IR spektrumları karşılaştırıldığında aralarında beklendiği üzere belirgin bir farklılık olmadığı görüldü. Çünkü kalıp molekül hariç yapılar aynı olmalıydı. Sadece fark olarak MMIP'in spektrumunda pik şiddetinin MNIP'e göre daha düşük olduğu görüldü. Bu durum, MMIP kalıp molekül varlığında oluştuğundan ve kalıp uzaklaştırıldıktan sonra IR spektrumu alındığından MNIP ile aralarında polimer yoğunluğu farkı olduğu ve buna bağlı olarak da temel titreşimlerin pik şiddetlerinin azaldığı şeklinde yorumlandı.

KUE içeren doğal örnek olarak kullanılan kırmızı soğan kabuğundaki KUE'nin kazanımı için hazırlanan KUE-MMIP'in etkili bir materyal olup olmadığı incelendi. İşlem için kesikli temas testindeki uygulaması yapıldı ve sonuçlar HPLC analizi ile değerlendirildi. Kırmızı soğan kabuğunda bulunan diğer bileşenler yanında KUE'nin seçimli olarak tutulduğu görüldü. Kırmızı soğan kabuğunda bulunan kuersetin glikoziti ve kaemferol gibi bileşenler de KUE-MMIP tarafından tutuldu fakat bunlar yıkama işlemleri ile polimerden uzaklaştırıldı.

Doğal örnekte KUE-MMIP ile yapılan deneme sonrası; kırmızı soğan kabuğu ekstraktından %33 verimle KUE geri kazanımı gerçekleştirildi.

KAYNAKLAR

- Ansell, R. J., Mosbach, K., 1998, Magnetic molecularly imprinted polymer beads for drug radioligand binding assay, *Analyst*, 123, 1611-1616.
- Benkeblia N., 2005, Free-radical scavenging capacity and antioxidant properties of some selected onions (*Allium cepa* L.) and garlic (*Allium sativum* L.) extracts, *An International Journal*, 48, 753-759.
- Bilaloğlu, G. V., Harmandar, M., 1999, Flavonoidler, *Aktif Yayınevi*, İstanbul, 334-354.
- Billmeyer, F. W., Collins, E. and Bares, J., 1973, Experiment in polymer science, John Wiley and Sons, New York, 30-31.
- Bors, W., Heller, W., Michel, C., Saran, M., 1990, Flavonoid as antioxidants: Determination of radical-scavenging efficiencies, *Methods in Enzymology*, 186, 343-355.
- Cadenas, E. and Packer, L., 2002, *Handbook of Antioxidant*, Marcel Dekker, Second Edition, New York, 0-8247-0547-5.
- Cai, P., Zhao, Y., Yang, T., Chen, J., Xiong, C., and Ruan, J., 2014, Preparation of magnetic molecularly imprinted polymers for selective isolation and determination of kaempferol and protoapigenone in macrothelypteris torresiana, *J Huazhong Univ Sci Technol [Med Sci]*, 34 (6): 845-855.
- Chang, L., Chen, S. and Li, X., 2012, Synthesis and properties of core-shell magnetic molecular imprinted polymers, *Applied Surface Sciences*, 258, 6660-6664.
- Chen, F. F., Xie, X. Y. and Shi, Y. P., 2013, Preparation of magnetic molecularly imprinted polymer for selective recognition of resveratrol in wine, *Journal of Chromatography A*, 1300, 112-118,
- Chen, F. F., Xie, X.Y. and Shi, Y.P., 2012, Magnetic molecularly imprinted polymers for the detection of rhaponticin in Chinese patent medicines, *Journal of Chromatography A*, 1252, 8-14.
- Chen, L. and Li, B., 2012, Application of magnetic molecularly imprinted polymers in analytical chemistry, *The Royal Society of Chemistry*, 4, 2613-2621.
- Chiou, M. S. and Li, H. Y., 2002, Equilibrium and kinetic modeling of adsorption of reactive dye on cross-linked chitosan beads, *Journal of Hazardous Materials*, 93(2), 233-248.
- Chung, K. T., Wei, C.I. and Johnson, M.G., 1998, Are tanens a double-edged sword in biology and health, *Trends in Food Sci and Tech.*, 9, 168-175.
- Cormack, P. A. G. and Elorza, A. Z., 2004, Molecularly imprinted polymers; Synthesis and Characterisation, *Journal of Chromatography B*, 804, 173-182.

- Cormack, P.A.G. and Mosbach, K., 1999, Molecular imprinted; recent developments and the roan ahead, *React. Funct. Polym.*, 41, 115-124.
- Crespy, V., Morand, C., Manach, C., Besson, C., Demigne, C. and Remesy, C., 1999, Part of quercetin absorbed in the small intestine is conjugated and further secreted in the intestinal lumen, *AJP – Gastrointestinal and Liver Physiology*, 277, 120-126.
- Davies, M.P., Perrett, D. and De Biasi,V., 2004, Approaches to tje rational desing of molecularly imprinted polymers, *Anal Chim. Açta.*, 504, 7-14.
- Dixon, R.A. and Ferreira, D., 2002, Molecules of interest: Genistein, *Phytochemistry*, 60, 205–211.
- Dündar, Y. and Aslan, R., 2000, Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar, Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınlar, Afyon.
- Elik, M., Serdaroğlu, G. and Özkan, R., 2007, Mirisetin ve kuersetin bileşiklerinin antioksidan etkilerinin DFT yöntemiyle incelenmesi, *Fen Bilimleri Dergisi*, 28, 2.
- Erlund, I., 2002, *Chemical analysis and pharmacokinetics of the flavonoids quercetin, hesperetin and naringenin in human*, Phd Thesis, Applied Chemistry and Microbiology, University of Helsinki.
- Floyd, R., 1990, Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia, *FASEB Journal*, 4, 2587-2597.
- Franqui, L.S., Maia, P. P., Santos, M. G., Virtuoso, L. S. and Figueiredo, E.C., 2015, Synthesis and characterization of a magnetic molecularly imprinted polymer fort he selective extraction of nicotine and cotinine from urine samples followed by GC-MS analysis, *Royal Society of Chemistry*, 7, 9237.
- Freundlich, H. M. F., 1906, Over the adsorption in solution, *Z. Physik. Chem. A.*, 57, 385-471.
- Guadalupe, R., Reynel-Avila, H. E., Cano-Rodriguez, I., Bonilla-Petriciolet, A., Velasco-Santos, C. and Martinez-Hernandez, A.L., 2008, Recycling poultry feathers for Pb removal from wastewater; kinetic and equilibrium studies, *Proceedings of World Academy of Science, Engineering and Tecnology* Volume 30.
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R. and Bobilya, D. J., 2002, Flavonoid antioxidants; Chemistry, metabolism and structure- activity relationships, *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 572-584.
- Hemmati, K., Masoumi, A. and Ghaemy, M., 2015, Tragacanth gum-based nanogel as a superparamagnetic molecularly imprinted polymer for quercetin recognition and controlled release, *Carbohydrate Polymers*, 136,630-640.
- Hollman, P. C.H., Hertog, M. G. L. and KatanM. B.,1996, Analysis and health effects of flavonoids, *Food Chem.*, 57(1), 43-46.

- Hong, Y. And Chen, L., 2012, Extraction of quercetin from *Herba Lysimachiae* by molecularly imprinted- matrix solid phase dispersion, *Journal of Chromatography B*, 941, 38-44.
- Huang, D., Ou, B. and Prior, R. L., 2005, The chemistry behind antioxidant capacity assays, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.
- Karafakoğlu, Y. S., 2004, Tütün çalışanlarında antioksidan- oksidan durum, *The Medical Journal of Kocatepe*, 5, 7.
- Karaman Ersoy, Ş., Tütem, E., Sözgen Başkan K., Apak, R. and Nergiz. C., 2016, Preparation characterization and usage of molecularly imprinted polymer for the isolation of quercetin from hydrolyzed nettle extract, *Journal of Chromatography B*, 1017-1018, 89-100.
- Kaur, C. and Kapoor, H. C., 2002, Antioxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables, *Int. J. Food. Sci. Tech.*, 37, 153-161.
- Khanahmadzadeh, S. and Tarigh, A., 2014, Ultrasound assisted combined with nano-sized molecularly imprinted polymer for selective extraction and preconcentration of amitriptyline in human plasma with gas chromatography-flame detection, *J. Chromatogr. B*, 972, 6-13.
- Khanbabaee, K. and Ree, T., 2001, Tanens; Classification and definition, *Nat. Prod. Rep.*, 18, 641-649.
- Kriz, D., Ramström, O. and Mosbach, K., 1997, Molecular imprinting; new possibilities for sensor technology, *Analytical Chemistry*, 69, 345-348.
- Langmuir, I., 1916, The constitution and fundamental properties of solids and liquids, *Journal of the American Chemical Society*, 38, 2221-2295.
- Lin, Z. K., Cheng, W.J., Li, Y. Y., Liu, Z. R., Chen, X. P. and Huang, C. J., 2012, A novel superparamagnetic surface molecularly imprinted nanoparticle adopting dummy template: an efficient solid-phase extraction adsorbent for bisphenol A, *Anal. Chim. Acta*, 720, 71-76.
- Lu, Y., Wang, X., Li, C., Sun, P. and Xing, X., 2004, Influence of polymerization temperature on the molecular recognition of imprinted polymers, *Journal of Chromatography B*, 804, 53-59.
- Luzia, M. R., Da Paixao C. C., Trugu, L. C., Marcilio, R., Quinteiro L. M. C., and De Maria A. B., 1997, Effect of 5- caffeoylquinic acid on soybean oil oxidative stability, *International J. Food Sci. and Tech.*, 32, 15-19.
- Ma, R. T. and Shi, Y. P., 2014, Magnetic molecularly imprinted polymer for the selective extraction of quercetin from *Calendula officinalis* extract, *Talanta*, 134, 650-656.
- Madhavi, D. L., Deshpande, S. S. and Salunkhe, D. K., 1996, *Food Antioxidants, Technological, Toxicological and Health Perspectives*, Markel Dekker, New York, pp 41-50.

- Madhavi, D. L., Deshpande, S. S. and Salunkhe, D. K., 1996, *Food Antioxidants, Technological, Toxicological and Health Perspectives*, Markel Dekker, New York, pp 41-50.
- Maeda, M. and Bartsch, R. A., 1998, Molecular and ionic recognition with imprinted polymers; A brief overview, *ACS Symposium Series*, 703, 1-8.
- Mallik, S., Plunkett, S.D., Dhal, P.K., Johnson, R.D., Pack, D.W., Shnek, D.r. and Arnold, F.H., 1994, Toward materials fort he specific recognitionand seperation of proteins, *New Journal of Chemistry*, 18, 299-304.
- Martino, K.G. and Guyer, D., 2004, Supercritical fluid extraction of quercetin from onion skins, *Journal of Food Processing Engineering*, 27, 17-28.
- Mijangos, I., Guerreiro, A., Navarro-Villoslada, F., Chianella, I., Piletska, E. V., Karim, K., Piletsky, S. A. and Turner, A. P. F., 2006, Influence of initiator an different polymerisation conditions on performance of molecularly imprinted polymers, *Biosensors and Bioelectronics*, 22, 381-387.
- Molinelli, A., 2004, *Molecular imprinted polymers; Towards a rational understanding of biomimetic materials*, In partial fulfillment of the requirement fort he materials, Thesis (PhD), Georgia Institute of Technology.
- Naczka, M. and Shahidi, F., 2004, Extraction and analysis of phenolics in food, *Journal of Chromatography A*, 1054, 95-111.
- Nuutila, A. M., Puupponen-Pimia, R., Aarni, M., Oksman-Caldentey, K. M., 2003, Comparison of antioxidant activites of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity, *Foof Chemistry*, 81, 485-493.
- Pérez-Gregorio, M.R., Regueiro, J., Simal-Gándara, J., 2014, Rodrigues, A.S., Almeida, D.P.F., Increasing the added-value of onions as a source of antioxidant flavonoids: A critical review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54, 1050-1062.
- Pişkin, E., 1982, *Polimer Teknolojisiine Giriş*, Hacettepe Üniveristesi Yayınları, İstanbul.
- Poma, A., Turner, A. P. F. and Piletsky, S. A., 2010, Advances in the manufacture of MIP nanoparticles, *Anal. Chim. Acta.*, 28, 629-663.
- Prakash D., Singh B.N., Upadhyay G., 2007. Antioxidant and free radical scavenging activities of phenols from onion (*Allium cepa*). *Food Chemistry*, 102, 1389–1393.
- Prior, R. L., Wu, X. and Scaich, K., 2005, Standardized methods fort he determination antioxidant capacity and phenolics in foods and dieatry supplements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(8), 3110-3113.
- Robards, K., Prenzler, P.D., Swatsitang, P., Tucker, G. and Glover, W., 1999, Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits, *Food Chemistry*, 66, 401-436.
- Row, K. H. and Yan, H., 2006, Characteristic and synthetic approach of molecularly imprinted polymer, *International journal of Molecular Sciences*, 7, 155-178.

- Sakakibara, H., Honda, Y., Nakagawa, S., Ashida, H., Kanazawa K., 2003, Simultaneous Determination of All Polyphenols in Vegetables, Fruits, and Teas, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 571-581.
- Sellepan, S., Krewer, G. and Akoh C. C., 2002, Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia Grown blueberries and blackberries, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2432-2438.
- Sellergen, B., Lepisto, M. and Mosbach, K., 1998, Highly enantioselective and substrate-selective polymers obtained by molecular imprinting utilizing noncovalent interaction, Chromatographic studies and NMR on the nature of recognition, *J. Am. Chem. Soc.*, 110, 5853-5860.
- Sellergren, B. and Shea, K. J., 1993, Influence of polymer morphology on the ability of imprinted network polymers to resolve enantiomers, *Journal of Chromatography*, 635, 31-49.
- Skoog, D. A., Holler, F. J. And West, D. M., 1990, Fundamentals of Analytical Chemistry, Saunders College Publishing, Rinehart and Winston Inc, 469.
- Stavric, B., 1994, Quercetin in our diet: from potent mutagen to probable anticarcinogen, *Clin. Biochem*, 27(4), 245-248.
- Tempkin, M. I. and Pyzhev, V., 1940, Kinetics of ammonia synthesis on promoted iron catalyst, *Acta Phys. Chim.*, 12, 327-356.
- Towler, P. H., Smith, J. D. And Dixon, D. R., 1996, Magnetic recovery of radium, lead and polonium from seawater samples after preconcentration on a magnetic adsorbent of manganese dioxide coated magnetite, *Anal. Chim. Acta*, 328, 53-59.
- Turker, N., Ekiz, H.I. and Aksay, S., 2004, Effects of storage temperature on the stability of anthocyanins of a fermented black carrot, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 3807-3813.
- Vasapollo, G., Del Sole, R., Mergola, L., Lazzoi, M.R., Scardino, A., Scorrano, S. And Mele, G., 2011, Molecularly imprinted polymers: Present and future prospective, *International Journal of Molecular Sciences*, 12, 5908-5945.
- Wang, D. D., Gao, D., Xu, W. J., Li, F., Yin, M. N., Fu, Q. F. and Xia, Z. N., 2018, Magnetic molecularly imprinted polymer for the selective extraction of hesperetin from the dried pericarp of *citrus reticulata* Blanco, *Talanta*, 184, 307-315.
- Wang, J., Meng, G., Tao, K., Feng, M., Zhao, X., Li, Z., Xu, H., Xia, D., Lu, J.R., 2012, Immobilization of lipases on alkyl silane modified magnetic nanoparticles: Effect of Alkyl Chain Length on Enzyme Activity, *Plos One*, 7, e43478.
- Whitcombe, M.J., Villar, P., Rodriguez, M.E. and Vulfson, E.N., 1995, A new method for the introduction of recognition site functionality into polymers prepared by molecular imprinting: Synthesis and characterization of polymeric receptors for cholesterol, *Journal of the American Chemical Society*, 117, 7105-7111.

- Wulff, G., Grobe-Einsler, R., Vesper, W. and Sarhan, A., 1977, Enzyme-analogue built polymers 4. On the synthesis of polymers containing chiral cavities and their use for the resolution of racemates, *Makromol Chem*, 178, 2817.
- Yalçın, A. S., Yılmaz, A.M., Altundağ, E.M. and Koçtürk, S., 2017, Kurkumin, kuersetin ve çay kateşinlerinin anti-kanser etkileri, *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21, 19-29.
- Yang, R. and Tsao, R., 2003, Optimization of a new mobile to know the complex and real polyphenolic composition; Towards a tool phenolic index using high performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography A*, 1018, 29-40.
- Yetük, G., 2013, Gıda katkı maddesi sodium benzoatın insan eritrositleri üzerinde in vitro toksik etkisi ve kateşin ve kuersetinin koruyucu rolü, Bozok Üniveristesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Yozgat, 1-37.
- Yoshizako, K., Hosoya, K., Iwakoshi, Y., Tanaka, N. and Kimata, K., 1998, progen imprinting effects, *Anal. Chem.*, 70, 386-389.
- Zeng, H., Wang, Y.Z., Nie, C., Kong, J.H. and Liu, X.J., 2012, Preparation of magnetic molecularly imprinted polymers for seperating rutin from Chinese medicinal plants, *Analyst*, 137, 2503.
- Zhong, N., Byun, H.S. and Bittman, R., 2001, Hydphilic Cholestrol-binding molecular imprinted polymers, *Tetrahedron Letter*, 42, 1839-1841.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Merve AKYÜZ
Doğum Yeri	Üsküdar-İSTANBUL
Doğum Tarihi	28.12.1990
Uyruğu	☒ T.C. ☐ Diğer:
Telefon	5376096816
E-Posta Adresi	merveakyuz1@gmail.com
Web Adresi	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fakülte	Fen
Bölümü	Kimya
Mezuniyet Yılı	08.06.2013

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Kimya
Programı	Analitik Kimya