

T.C.
HASAN KALYONCU ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI



GRAFEN KUANTUM NOKTALARI İLE BİRLEŞTİRİLMİŞ
NiAl₂O₄ NANOKOMPOZİT BAZLI MOLEKÜLER BASKILI
ELEKTROKİMYASAL SENSÖR İÇEREN KAHVE
ÖRNEKLERİNDE 5-HİDROKSİMETİL FURFURAL TESPİTİ

HATİCE EBRAR TURAN KOYUNCU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GAZİANTEP - 2024



LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZ KABUL VE ONAY FORMU

Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Hatice Ebrar Turan Koyuncu tarafından hazırlanan “Grafen Kuantum Noktaları İle Birleştirilmiş NiAl_2O_4 Nanokompozit Bazlı Moleküler Baskılı Elektrokimyasal Sensör İçeren Kahve Örneklerinde 5-Hidroksimetil Furfural Tespiti” başlıklı tez, **28/03/2024** tarihinde yapılan savunma sınavı sonucu **başarılı** bulunarak jürimiz tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

<u>Görevi</u>	<u>Unvanı, Adı ve Soyadı</u>	<u>Kurumu/Üniversitesi</u>	<u>İmzası:</u>
Tez Danışmanı	Prof.Dr. Mehmet Lutfi YOLA	Beslenme ve Diyetetik Hasan Kalyoncu Üniversitesi	
Jüri Başkanı	Dr. Öğretim Üyesi Mustafa Anıl ERBAĞCI	Beslenme ve Diyetetik Hasan Kalyoncu Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Dr. Öğr. Üyesi Nezihe OTAY LÜLE	Beslenme ve Diyetetik Gaziantep Üniversitesi	

Bu tez Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Doç. Dr. Ufuk AKBAŞ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans sürecimde, tez yazım aşamalarımnda desteğini esirgemeyen, bilgi, birikim ve deneyimlerini paylaşmaktan asla çekinmeyen, bana büyük anlayış, sabırla yaklaşan, yardım elini hiçbir zaman esirgemeyen bilim dünyasına katkılarını hayranlıkla izlediğim ve öğrencisi olup araştırma ekibinde yer aldığım için gurur duyduğum değerli danışmanım Prof. Dr. Mehmet Lütfi YOLA’ ya yoluma ışık tuttuğu için en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Çalışmamda desteğini ve deneyimlerini benden sakınmayan, fikir alışverişinde bulunduğum ,her sorumu yanıtlayan, önerilerini eksik etmeyen Uzm. Kim. İlknur POLAT’a , Lisans ve Yüksek Lisans eğitimimin sırasında her türlü desteğini esirgemeyen değerli hocam Öğr. Gör. Mehmet Uz ‘a ayrıca teşekkür ederim.

Hep farklı bir çocuktum, büyüdüm farklı bir kadın oldum. Güçlü, kendinden emin, ayakları yere sapasağlam basan... Hayatta bana her zaman kendim olma fırsatı sunan, kararlarımın, hayallerimin en büyük destekçisi olan, beni hep bir gölge gibi kollayan, aramıza yüzlerce kilometre girse dahi daima yanı başımda hissettiren, kalkışmaya yeltendiğim tüm durumlarda bana inanan, her daim sığınabileceğim en nadide liman olan ailem sayesinde. Gördüğüm en özverili insan canım babam Burhanettin TURAN’a, tanıdığım en fedakâr kadın canım annem Nazife TURAN’a, şimdi yanımda olamayan ama yanımda olmasını en çok istediğim kişi, her zaman en büyük destekçim, canım ablam Habibe İkra Turan’a ve bana yön gösteren yıldızım ablam Muhterem Ravza KILIÇ’a minnettarım.

Bir yandan akan zamanın, henüz 20’lerimin ortasında olmamın, yuva kurmanın , profesyonel hayata atılmanın, bir yandan akademik hayatımı devam ettirmenin stresinde yer yer kaosunda bana hep konfor alanı sağlayan, “mola” verdirten, zihnimi hafifleten kendimi şanslı biri olarak hissettiren sevgili eşim Av.Fehmi Koyuncu’ya hayatımda olduğu için teşekkür ederim.

Tezimde en son yazmaya bıraktığım bu bölümü hüznle ama en çok da gururla kapatıyorum...

Hatice Ebrar TURAN KOYUNCU

Gaziantep-2024

**HASAN KALYONCU ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI**

**GRAFEN KUANTUM NOKTALARI İLE BİRLEŞTİRİLMİŞ NiAl_2O_4
NANOKOMPOZİT BAZLI MOLEKÜLER BASKILI ELEKTROKİMYASAL
SENSÖR İÇEREN KAHVE ÖRNEKLERİNDE 5-HİDROKSİMETİL FURFURAL
TESPİTİ**

Hatice Ebrar TURAN KOYUNCU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Danışman
Prof.Dr. Mehmet Lütfi YOLA**

ÖZET

5-Hidroksimetil furfural (HMF), fruktoz, sükröz ve glikoz gibi şekerlerin asidik bir ortamda veya Maillard reaksiyonu sırasında dehidre edilmesiyle üretilen bir ara maddedir. Şekerli gıdaların uygun olmayan sıcaklıklarda saklanması nedeniyle de oluşur. Ayrıca HMF, ürünlerde kalite kriteri olarak görülmektedir. Bu çalışmada, kahve örneklerinde HMF'nin seçici olarak belirlenmesi için NiAl_2O_4 (GQDs- NiAl_2O_4) nanokompozit içeren grafen kuantum noktalarına dayalı yeni bir moleküler baskılı elektrokimyasal sensör geliştirilmiştir. GQDs- NiAl_2O_4 nanokompozitinin yapısal karakterizasyonları için çeşitli mikroskopik, spektroskopik ve elektrokimyasal yöntemler gerçekleştirilmiştir. Moleküler olarak basılmış sensör, 100.0 mM pirol monomer ve 25.0 mM HMF varlığında döngüsel voltametri (CV) kullanılarak çoklu tarama yoluyla hazırlandı. Yöntem optimizasyonundan sonra sensör, $0,30 \text{ ng L}^{-1}$ tespit limiti (LOD) ile $1,0\text{--}10,0 \text{ ng L}^{-1}$ aralığında HMF'ye doğru doğrusallık ortaya çıkardı. Geliştirilen MIP sensörünün yüksek tekrarlanabilirliği, seçiciliği, kararlılığı ve hızlı tepki yeteneği, kahve gibi yoğun tüketilen içeceklerde güvenilir HMF tespiti sağlayabilmektedir. Böylece bu yöntem, HMF'nin başta insan olmak üzere canlı organizmaların sağlığı üzerindeki olası olumsuz etkilerini tespit edip ortadan kaldırarak sağlık ve beslenme alanında önemli katkılar sağlayabilir. Bu çalışmada geliştirilen sensör ile HMF kaynaklı hastalıkların erken teşhisi daha mümkün olacaktır ve daha sağlıklı toplumların oluşması, toplumun sağlık düzeyinin yükseltilmesi de önemli bir geri dönüş olabilir.

Anahtar Kelimeler: Kahve , hmf, grafen kuantum nokta , nanokompozit , NiAl_2O_4 , elektrokimyasal sensör

**HASAN KALYONCU UNIVERSITY
GRADUATE EDUCATION INSTITUTE
DEPARTMENT of NUTRITION AND DIETETICS**

Graphene quantum dots incorporated NiAl₂O₄ nanocomposite based molecularly imprinted electrochemical sensor for 5-hydroxymethyl furfural detection in coffee samples

Hatice Ebrar TURAN KOYUNCU

MASTER THESIS

Advisor

Prof. Dr. Mehmet Lütfi YOLA

ABSTRACT

5-Hydroxymethyl furfural (HMF) is an intermediate produced by dehydrating sugars, such as fructose, sucrose, and glucose, in an acidic medium or during the Maillard reaction. It also occurs due to the storage of sugary foods at inappropriate temperatures. In addition, HMF is seen as a quality criterion in products. In this study, a novel molecularly imprinted electrochemical sensor based on graphene quantum dots incorporated NiAl₂O₄ (GQDs–NiAl₂O₄) nanocomposite was presented for the selective determination of HMF in coffee samples. Various microscopic, spectroscopic, and electrochemical methods were carried out for the structural characterizations of GQDs–NiAl₂O₄ nanocomposite. The molecularly imprinted sensor was prepared by multi-scanning using cyclic voltammetry (CV) in the presence of 100.0 mM pyrrole monomer and 25.0 mM HMF. After method optimization, the sensor revealed linearity towards HMF in the range of 1.0–10.0 ng L⁻¹ with a detection limit (LOD) of 0.30 ng L⁻¹. The developed MIP sensor's high repeatability, selectivity, stability, and fast response ability can provide reliable HMF detection in beverages, such as coffee, which is heavily consumed. Therefore, this method can make important contributions in the field of health and nutrition by detecting and eliminating the possible negative effects of hmf on the health of living organisms, especially humans. With the sensor developed in this study, early diagnosis of HMF-related diseases will be more possible, and the formation of healthier societies and raising the health level of society may also be an important return.

Keywords: Coffee , hmf, graphene quantum dot , nanocomposite , NiAl₂O₄ , electrochemical sensor

İÇİNDEKİLER

TEZ SAVUNMA TUTANAĞI	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
ŞEKİL DİZİNİ	viii
TABLO DİZİNİ	x
SEMBOLLER VE KISALTMALAR	xii
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kahve.....	3
2.1.1. Kahvenin Tarihçesi.....	3
2.1.2. Kahvenin Çeşitleri.....	4
2.1.3. Kahvenin Kimyasal İçeriği	4
2.1.4. Kahvenin İnsan Sağlığı Üzerine Etkisi	5
2.2. Hidroksimetil Furfural	8
2.2.1. HMF Oluşumu	9
2.2.1.1. Enzimatik Olmayan Esmerleşme Reaksiyonu İle HMF Oluşumu	10
2.2.1.2. Şekerin Asitli Ortamda Parçalanması İle HMF Oluşumu	17
2.2.2. Kahvede HMF Oluşumu	19
2.2.3. Gıdalarda HMF Seviyeleri.....	21
2.2.4. HMF ‘nin Sağlık Üzerindeki Etkileri	23
2.2.5. Biyoerişilebilirlik ve Biyoyararlılık.....	24
2.2.6. HMF Diyet Alımı.....	26
2.3. Elektrokimyasal Sensörler	26
2.3.1. Biyosensörler.....	27
2.3.2. Kuvars Kristal Mikroterazi (QCM) Biyosensörler.....	28
2.4. VOLTAMETRİ	29
2.4.1. DÖNÜŞÜMLÜ VOLTAMETRİ (CV).....	29
2.4.2. KARE DALGA VOLTAMETRİ (SWV).....	29
2.5. ELEKTROKİMYASAL İMPEDANS SPEKTROSKOPİSİ (EIS).....	30
2.6. X-İŞİNİ FOTOELEKTRON SPEKTROSKOPİSİ (XPS).....	30
2.7. FOURIER DÖNÜŞÜMLÜ KIZİLÖTESİ SPEKTROSKOPİSİ(FTIR).....	31

2.8. GRAFEN KUANTUM NOKTALARI(GQDs).....	31
2.9. NANOKOMPOZİT NİKEL ALÜMİNAT.....	32
3. GEREÇLER VE YÖNTEMLER.....	34
3.1. Kimyasallar ve Aparatlar.....	34
3.1.1. Cihazlar.....	34
3.2. NiAl ₂ O ₄ , GQDs ve GQDs–NiAl ₂ O ₄ nanokompozit üreti.....	34
3.3. GQDs–NiAl ₂ O ₄ - modifiye camsı karbon elektrot üretimi (GQDs– NiAl ₂ O ₄ /GCE)....	35
3.3.1. GCE Temizleme prosedürü	35
3.4. HMF baskılı sensörün üretilmesi ve HMF'nin uzaklaştırılması	36
3.5. Örnek hazırlama.....	36
4. BULGULAR.....	37
4.1. GQDs–NiAl ₂ O ₄ Karakterizasyonları	37
4.2. GQD, NiAl ₂ O ₄ ve GQD–NiAl ₂ O ₄ nanokompozit modifiyeli elektrotların elektrokimyasal karakterizasyonları.....	42
4.3. GQDs– NiAl ₂ O ₄ /GCE üzerinde HMF baskılı polimerlerin üretimi	43
4.4. Optimizasyon çalışmaları	46
4.4.1. pH etkisi	46
4.4.2. Mol oranı HMF'den Py monomer etkisi.....	46
4.4.3. Elüsyon süresi etkisi	47
4.4.4. Tarama döngüsü efekti.....	47
5.TARTIŞMA.....	48
5.1. Ölçüm limiti (LOQ) ve Tespit limiti (LOD).....	48
5.2. Geri kazanım Çalışmaları.	50
5.3. Seçicilik, kararlılık ve yeniden kullanılabilirlik çalışmaları.....	50
6. SONUÇ	54
KAYNAKÇA.....	55
TEZ YAYINI.....	67
EKLER	68
Ek 1. İntihal Raporu.....	68
Ek 2. Kısa Özgeçmiş.....	69

ŞEKİL DİZİNİ

Şekiller	Sayfa No
Şekil 2.2. Hidroksimetilfurfuralın Kimyasal Yapısı	8
Şekil 2.3. Maillard Reaksiyonunun Genel Şeması	10
Şekil 2.4. Maillard Reaksiyonun İlk Aşaması	11
Şekil 2.5. 5-HMF'nin Oluşumu	12
Şekil 2.6 Maillard Reaksiyonu Şeması	14
Şekil 2.7. Amadori Dönüşümü Ürününün Hidroksimetilfurfurale Dönüşümü	15
Şekil 2.8. Yüksek Sıcaklıklarda Şekerlerin Ayrışması ile HMF Oluşumu Karamelizasyon Reaksiyonu	16
Şekil 2.9. HMF'nin Asidik Ortamda Glukoz ve Fruktozdan Oluşumu	17
Şekil 2.10. Kahvedeki Aromanın Oluşum Mekanizması	19
Şekil 2.11. Biyosensörün Şematik Gösterimi	26
Şekil 2.12. Kuvars Kristal	27
Şekil 2.13. Grafen Kuantum Nokta	30
Şekil 4.1. (A) NiAl_2O_4 , (B) GQDs ve (C) GQD- NiAl_2O_4 nanokompozitinin TEM Bgörüntüleri	35
Şekil 4.2. GQDs- NiAl_2O_4 nanokompozitinin SEM görüntüsü	36
Şekil 4.3. (A) nikel, (B) alüminyum, (C) oksijen ve (D) karbon elementlerinin GQDs- NiAl_2O_4 nanokompozit üzerinde SEM-EDX haritalaması	37
Şekil 4.4. GQD- NiAl_2O_4 nanokompozit üzerinde (A) C 1s, (B) Ni 2p ve (C) O 1s'nin yüksek çözünürlüklü XPS spektrumları	38
Şekil 4.5. (A) GQD, NiAl_2O_4 ve GQD- NiAl_2O_4 nanokompozitinin FTIR spektrumları ve (B) GQD, NiAl_2O_4 ve GQD- NiAl_2O_4 nanokompozitinin N2 adsorpsiyon-desorpsiyon izotermi	39

Şekil 4.6. (A) CV eğrileri ve (B) (a) EIS yanıtları $\text{NiAl}_2\text{O}_4/\text{GCE}$, (b) GQDs/GCE ve (c) $\text{GQDs}-\text{NiAl}_2\text{O}_4/\text{GCE}$ 'de (redoks probu: 5,0 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/-}$ 0,1 M KCl içerir; potansiyel tarama hızı: 100 mV s^{-1}). Ekteki, $\text{GQDs} - \text{NiAl}_2\text{O}_4/\text{GCE}$ için Randles eşdeğer devresidir. RE: referans elektrot ve WE: çalışma elektrotu.	41
Şekil 4.7. (A) $\text{GQDs}-\text{NiAl}_2\text{O}_4/\text{GCE}$ üzerinde 25.0 mM HMF içeren 100.0 mM Py polimerizasyonu (Tarama hızı: 100 mV s^{-1}), (B) Bu çalışmada hazırlanan elektrotların SWV: (a) Boş tampon solüsyonda MIP / $\text{GQDs}-\text{NiAl}_2\text{O}_4/\text{GCE}$ (pH 11.0), (b) 0.1 M PBS'de (pH 11.0) 5.0 ng L^{-1} Hmf'nin yeniden bağlanmasından sonra NIP / $\text{GQDs}-\text{NiAl}_2\text{O}_4/\text{GCE}$, (c) 0.1 M PBS'de (pH 11.0) 5.0 ng L^{-1} hmf'nin yeniden bağlanmasından sonra MIP / $\text{GQDs}-\text{NiAl}_2\text{O}_4/\text{GCE}$, (C) 0.1 M PBS'de 5.0 ng L^{-1} Hmf'nin yeniden bağlanmasından sonra farklı moleküler baskı elektrotlarının SWV (a) MIP / $\text{NiAl}_2\text{O}_4/\text{GCE}$, (b) MIP / GQDs/GCE , (c) MIP / $\text{GQDS}-\text{NiAl}_2\text{O}_4/\text{GCE}$	42
Şekil 4.8. MIP / $\text{GQDs}-\text{NiAl}_2\text{O}_4/\text{GCE}$ 'de HMF için önerilen elektroredüksiyon mekanizması	43
Şekil 4.9. (A) pH, (B) mol oranı, (C) elüsyon süresi, (D) tarama döngüsünün SWV'lerin sinyalleri üzerindeki etkisi ($0,5 \text{ ng L}^{-1}$ HMF varlığında)(n = 6)	44
Şekil 5.1. Şekil 5.1. PBS'nin pH 11.0'ında ($1.0-10.0 \text{ ng L}^{-1}$ konsantrasyon aralığında) MIP/ $\text{GQDs}-\text{NiAl}_2\text{O}_4/\text{GCE}$ 'de çeşitli HMF miktarlarına sahip SWV'ler .	46
Şekil 5.2. $5,0 \text{ ng L}^{-1}$ HMF, $500,0 \text{ ng L}^{-1}$ 5-MT, $500,0 \text{ ng L}^{-1}$ FUR, $500,0 \text{ ng L}^{-1}$ GLU, $500,0 \text{ ng L}^{-1}$ AA ve $500,0 \text{ ng L}^{-1}$ MGO (A) MIP/ $\text{GQDs}-\text{NiAl}_2\text{O}_4/\text{GCE}$ ve (B) NIP/ $\text{GQDs}-\text{NiAl}_2\text{O}_4/\text{GCE}$ 'nin SWV'leri	48
Şekil 5.3. MIP/ $\text{GQDs}-\text{NiAl}_2\text{O}_4/\text{GCE}$ 'nin 5.0 ng L^{-1} HMF (n = 6) dahil stabilite testi	50

TABLO DİZİNİ

Tablolar	Sayfa No
Tablo 2.1.4.1. Kahvenin İnsan Sağlığına Etkileri	6
Tablo 2.2.3.1. Bazı Gıdalardaki HMF Düzeyleri	21
Tablo 2.2.5.1. Biyoeişilebilirlik ve Biyoyararlılık Basamakları	24
Tablo 5.1.1. MIP/GQDs–NiAl ₂ O ₄ /GCE'nin performansının rapor edilen yöntemlerle karşılaştırılması	46
Tablo 5.2.1. HMF'nin (n=6) geri kazanım sonuçları	47
Tablo 5.3.1. HMF baskılı elektrotların seçicilik katsayısı(k)ve bağıl seçicilik katsayısı (k')değerleri (MIP/GQDs–NiAl ₂ O ₄ /GCE ve NIP/GQDs–NiAl ₂ O ₄ /GCE)	49

SEMBOLLER ve KISALTMALAR

HMF :	Hidroksimetil Furfural
GQDs:	Grafen Kuantum Noktaları
QCM:	Kuvars Kristal Mikroterazi
SWV :	Kare Dalga Voltametri
CV :	Dönüşümlü Voltametri
EIS :	Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi
XPS :	X-ışını Fotoelektron Spektroskopisi
FTIR :	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
GCE :	Camsı Karbon Elektrot
LOD :	Tespit Limiti
LOQ :	Ölçüm Limiti
SEM :	Taramalı Elektron Mikroskopu
TEM :	Transmisyon Elektron Mikroskobu
Kg :	Kilogram
g :	Gram
mg :	miligram
µg :	mikrogram
L :	Litre
mL:	Mililitre
µm :	mikrometre
dk :	Dakika
Cm :	Santimetre
eV :	Elektronvolt
mM:	milimolar
M :	molar
Py :	Pirol
µA :	mikroamper

1.GİRİŞ

Gıda endüstrisindeki gelişmelerin küresel ölçekte artmasıyla birlikte tüketicilerin beklentileri de yükselmektedir. Tercih edilen gıda ürünleri, mikrobiyal yönden daha güvenilir, uzun raf ömürlü, organik ve katkı maddesi içermeyen alternatiflerdir. Gıdaların korunmasında sıkça kullanılan yöntemlerden biri ısıtma işlemleridir. Bu işlemler sırasında, mevcut protein ve şeker grupları arasında çeşitli reaksiyonlar gerçekleşmektedir (1). Hidroksimetil furfural (HMF), reaksiyon şartlarına bağlı olarak fruktoz veya sukroz gibi şekerlerin ısıtılması sırasında oluşan bir bileşiktir ve birçok üründe kanserojen etkisinden dolayı miktarı sınırlıdır. Enzimatik olmayan “Maillard reaksiyonu” sonucu şekerlerin amino asitlerle indirgenmesi sonucu oluşan üründür (2). Literatürde, HMF'nin gerçek numunelerde tespiti için yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ve sıvı kromatografi-kütle spektrometrisi (LC-MS) tekniklerinin önerildiği belirtilmiştir (3,4,5). Ancak bu yöntemler pahalı, yüksek miktarda toksik solvent kullanımını içerir ve analiz süreleri uzundur, bu nedenle tercih edilmemektedir. Bu bağlamda, güvenilir gıda tüketimi için HMF analizini daha hassas ve basit hale getirebilen elektrokimyasal tekniklere duyulan ihtiyaç önemlidir. Voltametri, elektroanalitik bir yöntemdir ve analit hakkında bilgi veren akım-gerilim ve konsantrasyon ilişkilerine dayanır, bu nedenle HMF'nin sağlık üzerindeki olası olumsuz etkilerini tespit ederek sağlık ve beslenme alanında önemli katkılar sağlayabilir (6,7). Son yıllarda, metal oksitler ve bunların kompozitleri elektrot malzemeleri olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (8). Gıda maddelerinde HMF'nin varlığı birçok üründe bulunmaktadır ancak dünya genelinde kahve, insanların en çok tükettiği içecektir. Kahve, HMF'nin ana kaynağı olarak kabul edilmiştir (9).

Mevcut çalışmada, kahve örneklerinde HMF'nin seçici olarak belirlenmesi için NiAl_2O_4 (GQDs- NiAl_2O_4) nanokompozit içeren grafen kuantum noktalarına dayalı yeni bir moleküler baskılı elektrokimyasal sensör geliştirilmiştir. Kahve üzerinde spinel ikili metal oksitler sınıfında yer alan nikel alüminat (NiAl_2O_4) düşük yüzey asitlik ve kimyasal olarak kararlı olduğundan dolayı seçilmiş olup elektrik iletkenliğini grafen¹⁸, grafen oksit¹⁹ ve karbon nanotüp²⁰ gibi çeşitli malzemelerle kompleks yapılarak bant aralığını azaltılmasını ve yüksek iletkenliği sağlamaya çalışıp grafen kuantum noktalarına dayanarak HMF tespitini sağlamıştır. GQDs- NiAl_2O_4 nanokompozitinin yapısal karakterizasyonları için çeşitli mikroskopik, spektroskopik ve elektrokimyasal yöntemler gerçekleştirilmiştir. Moleküler baskılı sensör, 100.0 mM pirol monomer ve

25.0 mM HMF varlığında döngüsel voltametri (CV) kullanılarak çoklu tarama ile hazırlandı. Yöntem optimizasyonundan yapıldıktan sonra sensör, 0,30 ng L⁻¹ 'lik bir tespit limiti (LOD) ile 1,0–10,0 ng L⁻¹ aralığında HMF'ye doğru doğrusallık ortaya çıkarmıştır. Geliştirilen MIP sensörü, kahve gibi yoğun tüketilen içeceklerde güvenilir HMF tespiti sağlamak için yüksek düzeyde yeniden kullanılabilirlik, seçicilik, kararlılık ve hızlı yanıt verme özelliklerine sahiptir. Bu çalışma, kahve içeceğinin içindeki HMF'nin tespitiyle, maruz kaldıkları potansiyel komplikasyonların ve HMF kaynaklı hastalıkların önlenmesine katkıda bulunabilir . Bu şekilde, toplumun sağlık düzeyinin yükseltilmesine ve daha sağlıklı bir toplum oluşturulmasına katkı sağlayabilir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1 Kahve

Kahve kendine özgü aroma ve tadı sebebiyle dünya çapında en çok tüketilen içeceklerden biridir(10). Genellikle coffea arabica L.türünden elde edilen yeşil veya kavrulmuş tohumlar kullanılarak hazırlanır . Arabica'nın en çok tercih edilmesi kalitesi, hoş tadı ve duyuşal özelliklerine bağlanmaktadır.(12). Kahve içeceklerinin tüketilme ve hazırlanma şekli sosyal alışkanlıklar ve ülkelerin kültürleri ile yakından ilişkilidir; bu nedenle espresso, cappuccino, Türk kahvesi, İrlanda kahvesi gibi birçok farklı kahve çeşidi bulunmaktadır. Kahve çekirdeği çeşitleri, hasat sonrası işleme koşulları (kurutma, depolama, öğütme ve kavurma) ve ekstraksiyon prosedürlerindeki farklılıklar, kahve içeceklerinin geniş bir kimyasal çeşitliliğe sahip olmasına neden olur(12).

Yapılan son bilimsel araştırmalar, yetişkinler için günde 3-4 fincan kahve tüketiminin ölçülü olduğunu ve bu miktarın olumlu sağlık etkilerine dair önemli kanıtlar sunduğunu belirtmektedir. Orta derecede kahve tüketimi, güçlü antioksidan aktivitesi nedeniyle birçok dejeneratif hastalık (Tip II diyabet, Alzheimer ve Parkinson) ve karaciğer hastalığı (siroz ve hepatoselüler karsinom) riskini azaltabilir (13).

2.1.1 Kahvenin Tarihçesi

Nesiller boyu süren birikim sayesinde kültürel değerler ve gelenekler deneyimlerle şekillenir. Türklerin gıda tüketimi kültürel mirasının önemli bir unsurudur. Ülkemiz tarihsel olarak kahveyi bir sosyalleşme aracı olarak kullanmış ve kültürünün önemli bir bileşeni olarak kabul etmiştir(14). Kahve, petrol ticaretinden sonra ikinci büyük pazara sahip olan ve dünyanın her yerinden tüketicilerin ciddi bir biçimde ilgisini çeken önemli bir içecektir. Etiyopya da bulunan Kaffa bölgesindeki Arabica ağaçlarında kahve çekirdeğinin yetiştirildiği yer olup ve üretimi ilk olarak Yemen'de gerçekleştirilmiştir(15) .

Zaman içinde Osmanlı topraklarına yayılarak dünya genelinde itibar kazanan kahvenin tarihçesi oldukça eski zamanlara dayanmaktadır(16). Kahve, kabile yaşamının temel besinlerinden biri olmuş ve aynı zamanda peksimet yapımında da kullanılmıştır. Bu dönemlerde seyahat sırasında enerji ve zindelik kaynağı olarak önemli bir rol oynamıştır.

1543 yılında, Osmanlı İmparatorluğu'nun hükümdarı Kanuni Sultan Süleyman zamanında, kahve İstanbul'a tanıtılmıştır. 1554-1555 yıllarında, Arap kökenli iki tüccar tarafından Tahtakale'de kurulan ilk kahvehane, İstanbul'da faaliyete geçmiştir. İnsanlar, birey olarak değil topluluk olarak varlığını sürdüren sosyal canlılardır. Kahve kültürü, doğu kökenli olarak ortaya çıkıp zamanla batıya ve dünya geneline yayılmıştır. Osmanlı'da kahve tüketimleri zamanla artarak, kadınların hamamlarda, erkeklerin sohbet meclislerinde ve kahvehanelerde giderek yaygınlaştığı belirtilmiştir (17). Günümüz çağında bilinen kahvehanelerin yerini modern kahve dükkânları almıştır. Bu mekanlar, modern kahve çeşitlerine ve tüketim alışkanlıklarındaki değişikliklere ev sahipliği yapmaktadır. Gelecekte, kahve kültürümüzde önemli değişiklerin yaşanmasının kaçınılmaz olduğu öngörülmektedir (18).

2.1.2 Kahvenin Çeşitleri

Kahve, Rubiaceae bitki familyasına ait olup, yaklaşık 500 cins ve 6.000'den fazla tür içermektedir (19). Kahve işlenirken en kritik adım kavurma aşamasıdır bu işlem sıcaklık ve süre kombinasyonuna bağlı olarak gerçekleşir ve sonuç olarak eşsiz bir aroma ve tat oluşturur (20,21). Ancak, aynı zamanda kahvenin içerdiği bileşenlerin konsantrasyonunu etkileyen HMF, akrilamid, fenolik asitler ve diğer antioksidanlar gibi unsurları da etkiler (22).

Piyasada bulunan yüzlerce kahve çeşidi, kahvenin türüne, kavrulma seviyesine, öğütme tipine, demleme yöntemine, toplum özelliklerine ve işletmelerin tercihlerine bağlı olarak değişebilmektedir. Dünya genelinde rağbet gören iki ana kahve türü Arabica kahvesi ve Robusta kahvesidir. Arabica kahvesi, hoş tadı, duyuşal özellikleri ve aroması nedeniyle daha fazla tercih edilip tüketilmektedir (23).

2.1.3 Kahvenin Kimyasal İçeriği

Kahvenin kavrulması, başlangıçtan itibaren yeşil bir çekirdek ve daha sonra kahverengi ile sonuçlanır. Yeşil kahve çekirdekleri ile kavrulmuş kahve çekirdeği arasındaki farklar, her ikisinin de karmaşık kimyasal içeriğine ilişkin çok sayıda bilimsel çalışmada incelenmiştir. Karbonhidratların yapısı içinde çözünür ve çözünemeyen polisakkaritlerden selüloz, galaktomannan ve arabinogalakton

bulunmaktadır. Oligosakkaritler, disakkaritler ve monosakkaritler (glikoz, galaktoz, ksiloz, arabinoz, mannoz, , fruktoz mannitol ve riboz) Robusta'ya kıyasla Arabica'da biraz daha yüksektir (24).

Kahve çekirdeğinin yeşil ve kavrulmuş halinde bulunan aktif biyolojik maddeler; laktonların (kafeoilkinik asit, dikafeoilkinik asit ,feruloilkinik asit gibi en az üç izomer içeren), klorojenik asitteki fenolik asitler, metilksantinler, nikotinik asit ve onun öncüsü trigonelin, ayrıca ciddi miktarda antioksidan içerir (25). Arabica'nın yağ içeriği Robusta'dan daha yüksektir. Kahvedeki yağ içeriğinin yaklaşık %75'i trigliseritlerden oluşur, geri kalanı ise seterollerden, yağ asitlerinden ve pentakiklik diterpenlerden oluşur (24,26). Kahvenin içerdiği mineraller arasında potasyum, kalsiyum, magnezyum, sodyum, sülfat,

manganez, çinko, demir, bakır, brom, kobalt, stronsiyum, kurşun, baryum, nikel,skandiyum,kadmiyum, lantan, rubidyum,sezyum, ve fosfor bulunmaktadır (27).

2.1.4. Kahvenin İnsan Sağlığı Üzerine Etkisi

Dünyanın popüler içeceklerinden biri olan kahve(28), 2019 yılı Uluslararası Kahve Organizasyonu (ICO) verilerine göre Türkiye'yi diğer ülkelerle karşılaştırıldığında yedinci sırada konumlandırmaktadır (29). Fonksiyonel bir gıda olarak kabul edilen kahvenin sağlığa olan faydaları, çekirdeğinin içeriğine dayanmaktadır. Kahve çekirdeğinde bulunan bileşen miktarı ; kahvenin türü, demleme ve kavurma yöntemlerine, çekirdeğinin olgunlaşma sürecine ,toprak ve iklim çeşidi gibi birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir (30). Yapılan araştırmalar, kahve çekirdeklerinin kavrulması sırasında üretilen melanoidlerin sağlık açısından önemli faydalara sahip olduğunu göstermiştir (31,32,33,34). Kahvenin sağlığa olan faydaları, özellikle içerdiği polifenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Özellikle, klorojenik asidin endotel fonksiyonunu ve kan basıncını olumlu yönde etkileme potansiyeli üzerine yapılan araştırmalar yoğunlaşmıştır (35).Kahvenin sağlık üzerinde olumlu etkileri arasında vücut yağı oranında azalma, Alzheimer hastalığında risk azalması, karaciğer kanseri ve hastalığında koruyucu etkiler, oksidatif stresin azaltılması, gastroözofajial reflü ve gastritte iyileşme, Tip 2 diyabet, Parkinson hastalığı ve kanser risklerinde azalma gibi bir dizi faktör bulunmaktadır (24,36). Kahvenin insan sağlığına olan bu faydaları Tablo 2.1.4.1'de listelenmiştir.

Tablo 2.1.4.1. Kahvenin İnsan Sağlığına Etkileri (24,36,37,38,39,40,41,42,43,44).

Sağlık	Kahvenin Etkisi	Etki Mekanizması
Karaciğer	Karaciğer kanseri ve hastalıklarında azalma	Lipit metabolizmasına etkisi, alkolik olmayan karaciğer yağlanma şiddetini düşürme, karaciğer enzimlerine olumlu etki (Poole ve diğ.,2017;Ludwing ve diğ.,2014)
Metabolik Sağlık	Tip 2 diyabet riskinde azalma	Glukoz toleransına doğrudan etki, insülin direncini zayıflatma
	Obezite /Yağ Yakımı/Vücut yağ oranında azalma /Tokluk hissinde artış	Tokluk hormonunu(ghrelin ve serotonin)yükselterek enerji alımını azaltma (Ludwing ve diğ.,2014; Poole ve diğ.,2017)
Sinir sistemi/Mental sağlık/Zihinsel durum	Parkinson hastalığı riskinde azalma	Santral ve periferik sinir sisteminde adenozin reseptörlerinin potansiyel bir antagonistik etki (Wierzejska,2017;Ludwing ve diğ.,2014)
	Bunama ve Alzheimer hastalığında azalma olasılığı	
	Sinir sistemine uyarıcı etki	
	Yorgunluk giderici ve ağır kesici	
	Bilişsel performansta artış	
Kanser	Dikkat/Odaklanma artışı	Faz II enziminin fitokimyasal veya besinsel faktörlerle (Poole ve diğ.,2017;Ludwing ve diğ.,2014)
	Genel kanser riskinde azalma	
Kardiyovasküler hastalıklar & Kan basıncı	Kardiyovasküler hastalık riskinde azalma veya artış olduğu ile ilgili çelişkili sonuçlar olsa da genel olarak bir antioksidan kaynağı kahvenin ,inflamasyonu inhibe ederek , kardiyovasküler ve diğer inflamatuvar hastalık riskini azalttığı bulunmuştur.	Yüksek antioksidan ve antiinflamatuvar özelliğiyle endotel disfonksiyonunu iyileştirici , vasküler endotelial fonksiyonunu koruyucu etki (Oğuz ve Erdoğan,2016;Ding ve diğ.,2014; Farah ve Lima, 2019; Lim ve diğ., 2020)
	Kalp yetmezliği riskinde azalma	
	Kan basıncında artış	
İskelet kaslarına etkisi	Kas erimesinde azalma ve kas gücünde,ağırlığında ve dayanıklılığında artış,zedelenmiş kaslarda iyileşme	Kas sisteminde otofajiye neden olabilir,insülin hassasiyetinin gelişmesi ve glukoz alımının artışı kas erimesinde azaltma potansiyeli sağlar (Dirks-Naylor,2015)
Gastrointestinal sistem	Gastrit ve gastroözofagal reflü de azalma	(Poole ve diğ.,2017)
Antiinflamatuvar/Antioksidan özellikler	Kan serumunda immün sistem ve inflamatuvar belirteçlerinde azalma	Lipofilik antioksidan etki-siklooksinegaz-2 enzimini inhibe etme potansiyeli (Lang ve diğ.,2013;George ve diğ.,2008)
	Oksidatif strese azalma	
Antimikrobiyal etki	<i>Streptococcus mutans</i> ve bazı patajojenik bakterilere mikroorganizmaların gelişimini baskılama	Kahvenin mikroorganizmalar üzerine mutajenik etkisi(Saltan ve Kaya,2018; dePaula ve Farah,2019 ; Nawrot ve diğ., 2003 ; George ve diğ., 2008).
Dermatolojik etki	Kırışıklıklarının azalması,peeling ve antiselülitik etki, antiaging	Kafeinin kan damarlarını genişleterek etki sağlaması (George ve diğ., 2008)

Kahvenin insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri belirsizdir ve bu etkiler, tüketilen kahve miktarına göre değişiklik gösterebilir (37,45,46). Aşırı kahve tüketiminin, kansere karşı koruyucu bir nlem olabileceği gibi, kanser sürecini farklı aşamalarda etkileyebileceği veya ters tepkiyle artıracılabileceği belirtilmiştir; özellikle kolon, mesane, pankreas ve göğüs kanseri riskini potansiyel olarak artıracılabileceği ifade edilmiştir (37).

Kahve ile osteoporoz arasındaki ilişki henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Bazı alışmalar, günde 300 mg'dan fazla kafein tüketen bireylerin kırık, kemik kaybı ve düşük kemik yoğunluğu riski taşıyabileceğini gösterirken, diğer bir çalışma günde 20 ml kahvenin kemik mineral yoğunluğunu artıracılabileceğini ne sürmektedir. Yemekle birlikte 150-250 ml kahve içmenin demir emilimini %24 ila %73 oranında azaltılabileceği gösterilmiştir (46).

Kahvenin hamilelik sürecinde kadınlar üzerindeki etkileri tartışmalıdır. Bazı araştırmalar, çok fazla kahve tüketmenin düşük riskini artıracılabileceğini ne sürerken, diğerleri kafein tüketimini günde 300 mg ile sınırlamanın yeterli olabileceğini belirtmiştir (13).

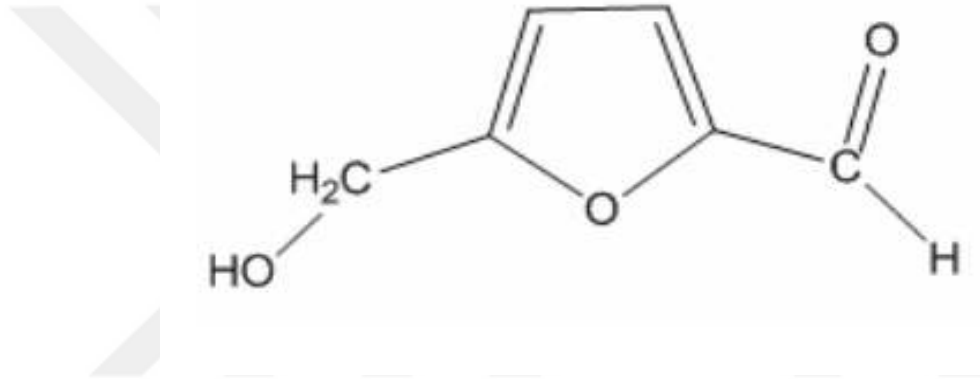
Kahve tüketimi ile hipertansiyon arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmaların sonuçları büyük ölçüde farklılık göstermektedir. Günde 2 ila 6 fincan kahve içenlerde, kan basıncında belirgin bir artış yaşanmamıştır, bu da bir kohort çalışmasının kahvenin kan basıncı veya hipertansiyon üzerinde olumsuz bir etkisinin olmadığı sonucuna varmasına neden olmuştur (46).

Kahvenin kardiyovasküler sağlık üzerindeki potansiyel zararlı etkileri tam olarak araştırılmamış olsa da, kahvedeki diterpenlerin kan basıncını artıracılabileceği ve plazmadaki LDL, toplam kolesterol ve homosistein serum düzeylerini etkileyebileceği, bu durumun kalp hastalığına zemin hazırlayabileceği varsayılmaktadır. Ancak, Amerika Birleşik Devletleri, İşkoya ve Finlandiya'da yapılan bir kohort çalışmasında kahve tüketimi ile koroner kalp hastalığı riski arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (13,45,46). Higdon ve diğerleri, günde beş veya daha fazla fincan kahve içen kişilerin koroner kalp hastalığına yakalanma olasılığının içmeyenlere göre 60 kat daha fazla olabileceğini iddia etmektedir. Ancak, bu araştırmada 600 ml kahve tüketmenin akut koroner arter kalp hastalığı riski oluşturabileceği, 300 ml'den az kahve tüketmenin ise çok daha düşük bir risk taşıyabileceği ifade edilmektedir (13).

2.2. Hidroksimetil Furfural

5-Hidroksimetilfurfural (5-HMF) veya hidroksimetil furfural (HMF), sarı renkli bir katıdır ve düşük erime noktasına sahiptir. Molekül formülü $C_6H_6O_3$ tür . IUPAC adı 5-(hidroksimetil) furan-2-karbaldehit ($C_6H_6O_3$) dir. Molekül ağırlığı 126,11 g/mol, ve kaynama noktası 114-116 °C/1 mmHg (lit.) arasındadır. Yoğunluğu 1,2 g/cm³'tür. Bu organik bileşik, altı karbonlu heterosiklik bir yapıya sahiptir ve alkol (hidroksimetil) ile aldehit fonksiyonel gruplarını içerir (47). Şekil 2.2, HMF'nin kimyasal yapısını göstermektedir.

Şekil 2.2. Hidroksimetilfurfuralın Kimyasal Yapısı.



HMF , reaksiyon şartlarına bağlı olarak fruktoz veya sukroz gibi şekerlerin ısıtılması sırasında oluşan bir bileşiktir ve birçok üründe kanserojen etkisinden dolayı miktarı sınırlıdır. Enzimatik olmayan “Maillard reaksiyonu” sonucu şekerlerin amino asitlerle indirgenmesi sonucu oluşan üründür(2).

Isıl işleme tabi tutulan şekerli gıdalarda, özellikle uygun olmayan koşullarda saklanan veya üretilenlerde, HMF oluşur. Fruktoz, bu şekerli gıdalarda farklı reaksiyon koşulları altında dehidrasyon geçirerek HMF'yi meydana getirir (48). Hidroksimetil furfural (HMF), aromatik alkoller, aromatik aldehitler ve furan halkaları içeren kimyasal bileşik olarak karakterize edilmektedir. Ayrıca, Maillard reaksiyonlarında ara ürün olarak ortaya çıkabilen HMF, ısıl işlem görmüş indirgenmiş şekerlerle ile aminoasitler, peptidler ve proteinler arasındaki kimyasal tepkimeler ile oluşur. Bu bileşik, gıda ürünlerinin kalitesini belirlemek amacıyla kullanılan bir kimyasal gösterge olarak kabul edilmekte ve bu bağlamda gıdalarda belirli bir miktarının sınırlı olduğu akademik literatürde belirtilmektedir (49). Isıl işleminden dolayı çözülebilir kahvedeki

HMF miktarı artmaktadır . Kavurma işlemi sırasında kahve çekirdekleri de ısıtılma işlemine alınır. Hidroksimetil furfural (HMF), bal, meyve suyu, reçel, kahve, salça gibi sebze ve meyve ürünleri üzerinde gerçekleşen ısıtılma işlemleri sonucunda oluşmaktadır. Bu tür ürünlerdeki HMF düzeylerinin belirli bir seviyeyi aşması, gıdanın tat ve kokusunda değişikliklere, renginin esmerleşmesine ve besin değeri azalmalarına neden olabilir; ayrıca HMF'nin kanserojen etkileri dikkate alınarak gıdalarda kullanılmasına izin verilen HMF miktarları sınırlandırılmıştır(50). Sıcaklık ve sürenin göz önünde bulundurulduğu bir araştırmada HMF içeriğinin sıcaklık ve süreyle doğrusal olarak arttığı rapor edilmiştir. Keçiboynuzu, üzüm ve dut pekmezinin depolama süresi ile birlikte artan sıcaklığın, HMF içeriğinde önemli ölçüde artışa neden olduğu gözlemlenmiştir. (51). HMF ürünlerde kalite kriteri olarak görülmektedir.

2.2.1.HMF Oluşumu

HMF oluşumu için iki ana yol vardır. Birincisi enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları sonucunda ,diğeri ise şekerin asitli ortamda parçalanması (karamelizasyon) ile oluşmaktadır.

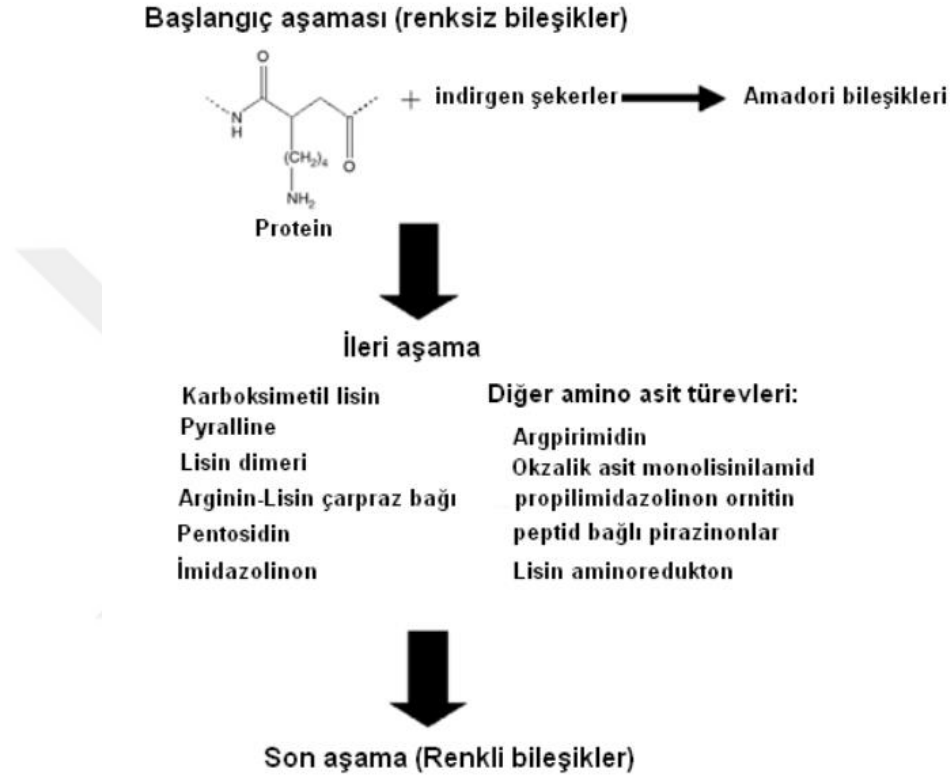
Enzimatik Olmayan Esmerleşme Reaksiyonları : Bu yol, şekerin ısıtılma işlemine tabi tutulması sonucunda oluşan Maillard reaksiyonları içerir. Maillard reaksiyonları, şekerlerin amino asitlerle etkileşime girdiği karmaşık bir dizi kimyasal reaksiyonları ifade eder. Bu reaksiyonlar genellikle ısı ve düşük nem içeren ortamlarda gerçekleşir. Maillard reaksiyonları, gıdalara karakteristik bir renk, aroma ve tat kazandırabilir, ancak aynı zamanda HMF gibi bileşiklerin oluşumuna da katkıda bulunabilir.

Şekerin Asitli Ortamda Parçalanması (Karamelizasyon): Bu yol, şekerin asitli bir ortamda ısıtılma işlemine tabi tutulması sonucunda oluşan bir reaksiyonu içerir. Şekerlerin asitlerle reaksiyona girmesi, termal parçalanma sonucu HMF'nin oluşumuna neden olabilir. Bu yol genellikle yüksek sıcaklıklarda gerçekleşir ve özellikle gıda işleme süreçlerinde karşılaşılabılır.

Her iki yol da HMF'nin oluşumuna katkıda bulunabilir, ve bu bileşik genellikle sıcaklık, zaman ve pH gibi faktörlere bağlı olarak gıdalarda farklı miktarlarda bulunabilir. Bu nedenle, gıda endüstrisinde üretim süreçlerinde ve depolama koşullarında bu faktörlerin kontrol edilmesi önemlidir.

2.2.1.1 Enzimatik Olmayan Esmerleşme Reaksiyonu İle HMF Oluşumu

Gıda üretimi sürecinde istenilen kalitede güvenli, dayanıklı ürünler elde etmek için ısıtma işlemi sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak bu ısıtma işlemlerinden sonra Maillard reaksiyonu, yağın oksidasyonu ve karamelizasyonu gibi reaksiyonlar meydana gelir (52). Maillard reaksiyonu, indirgeyici şekerler ile amino grupları içeren bileşikler arasındaki çeşitli kimyasal reaksiyonları içerir. (53).



Şekil 2.3. Maillard Reaksiyonunun Genel Şeması.

Şekil 2.3. Maillard reaksiyonunun genel şemasını göstermektedir. Bu reaksiyon proteinlerin, peptitlerin ve amino asitlerin ϵ - ve α -amino gruplarının, indirgeyici şekerlerin karbonil grupları ile yoğunlaştırılmasıyla başlar. Bu sürecin ilerleyen aşamalarında, çeşitli bileşiklerin olduğu Maillard reaksiyonu ürünleri meydana gelir (54). Maillard reaksiyonu (55) ;

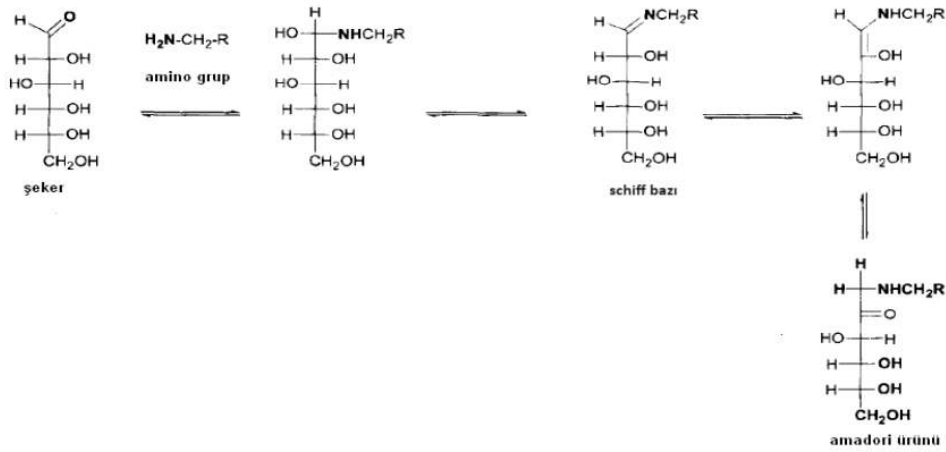
- Esansiyel amino asitleri parçalama,
- Sindirim kapasitesinde azalma,
- Enzim inaktivasyonu,
- Düzenleyici moleküllerin bağlanmasını önler,

- Glikozile uğramış hücre dışı matriksin çapraz bağlanmasına ,
- Proteolize karşı azaltılmış hassasiyet,
- Nükleik asit fonksiyonunda anormalliklere ,
- Bağışıklığın artmasına neden olur.

Maillard reaksiyonu, ısıl işlemin etkisiyle heksozların dehidrasyonu sırasında karbonhidrat ve protein arasındaki interaksiyonların sonucu olarak ortaya çıkar(56).

Maillard reaksiyonu ,üç aşamada meydana gelir : ilk aşama , ikinci aşama ve son aşama .Bu reaksiyon aşamaları eş zamanlı olarak gerçekleşen bir zincirleme reaksiyondur . Şekil 2.1. bu üç aşamadaki ürünleri göstermektedir.

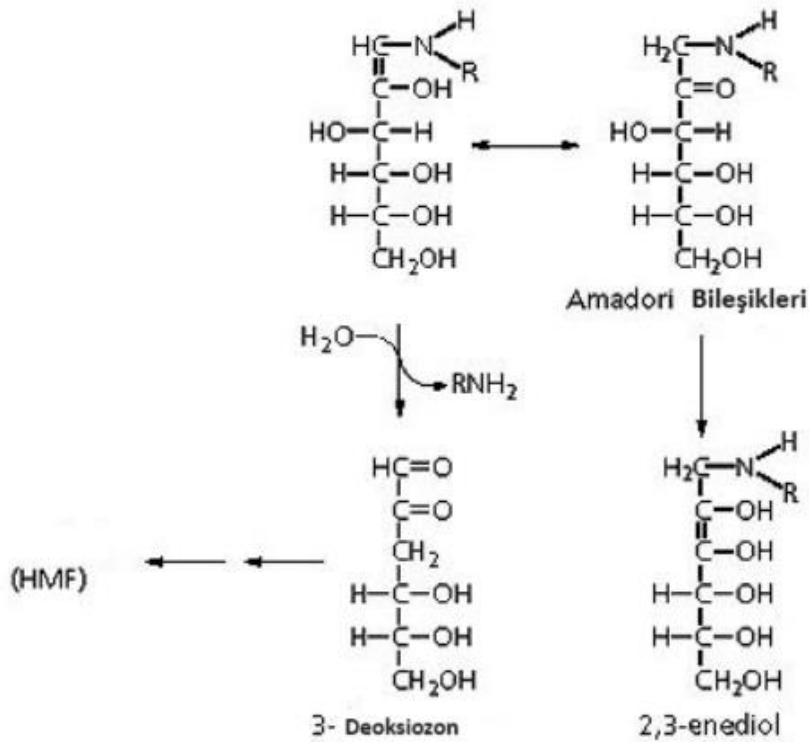
Maillard reaksiyonun aşamasında oluşan ilk kararlı ürün Amadori(ARPs) olarak bilinir(57,58).Bu bileşik aminoasitlerin(AA) , peptit veya proteinlerin amino gruplarının ve indirgenmiş şekerlerin karbonil grupların birleşmesi sonucunda oluşmaktadır. ARPs, başlangıçta indirgeyici şeker aldoz olduğunda oluşmaktadır. Bu ilk aşamada oluşan bileşiklerin oksidasyonu ve redüksiyonu ile karboksimetil-lizin (CML) ve pirlin gibi gelişmiş glikolizlenme son ürünleri AGEs (advanced glycation end products)oluşur (54).Amadori bileşikleri , ürünlere özgü aroma ve kahverengi polimer rengini sağlarken, amino asitlerin ve proteinlerin besinsel değerini azaltma eğilimindedir(59).



Şekil 2.4. Maillard Reaksiyonun İlk Aşaması

Bu evrede ortaya çıkan bileşiklerin, üründe duyuusal bir değişime neden olmadığı ifade edilmektedir (60). Maillard reaksiyonunun ilk aşamasında meydana gelen Amadori ürünleri, gıda ürünlerinin çevresel koşullarına bağlı olarak pH, amino

grubunun alkalinitesi , sıcaklık gibi faktörlere ile ürünlere ayrışabilirler. Ketozaminler, amino gruplarındaki serbest hidrojenleri kullanarak aldozların ikinci molekülü ile reaksiyona girebilen bileşiklerdir. Bu reaksiyon, diketozaminin oluşumuna yol açar. Elde edilen bu diketozamin, çeşitli sonuçlara neden olmaktadır. Bu bağlamda, reaksiyonun sonucunda monofruktozamin ve nitrojen içermeyen karbonil bileşiklerin, oluşumu gözlemlenir(61). Amadori ürünleri, enolizasyon süreciyle 1,2-enediol formuna dönüşmektedir. Bu 1,2-enediol, sonrasında gerçekleşen dehidrasyon reaksiyonu ile 3-deoksiosuloz adlı bir bileşik oluşturur. 3-deoksiosuloz, dehidrasyon süreciyle renk ve aroma oluşturan farklı bileşiklere dönüşebilir. Bu dönüşümler arasında en önemlileri hidroksimetilfurfural (5-HMF) ve diğer furfural bileşikleridir (62). Şekil 2.5. 5-HMF'nin oluşumu gösterilmektedir.



Şekil 2.5.5-HMF'nin Oluşumu.

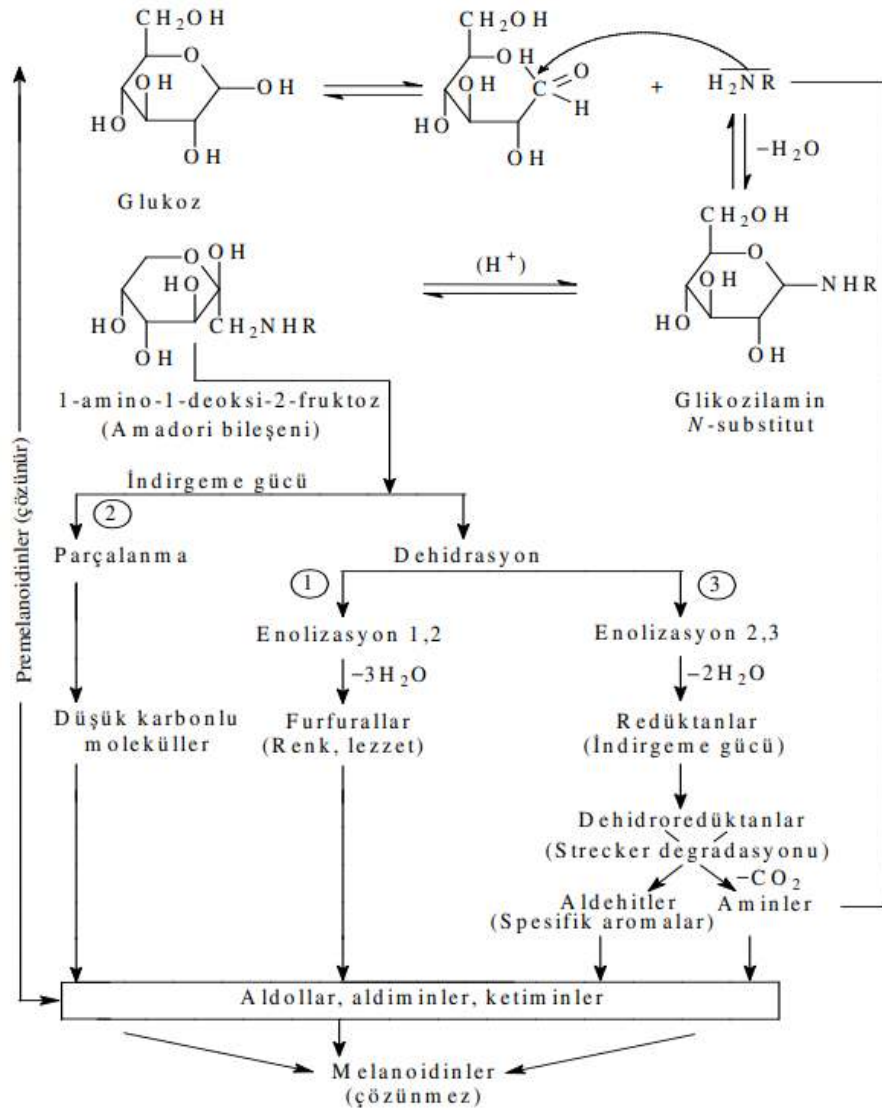
Maillard reaksiyonunun son evresinde kahverengi pigmentlerin yanı sıra çeşitli aroma ve tat bileşenleri oluşmaktadır. Melanoidinler ikinci aşamada meydana gelen reaktif ara ürünlerin polimerizasyonundan oluşur(63).

Maillard reaksiyonunun şeması Şekil 2.6.'da gösterilmiştir. Şekil 2.7.' de ise Amadori dönüşümünün sonucunda HMF'nin oluşumu gösterilmiştir. Maillard reaksiyonu

oluşumunda amino asit türünden ziyade şekerin türü daha önemlidir fakat proteinlerin karmaşık yapısının şekerlerin aktivitesini etkilediği ileri sürülmektedir(64).

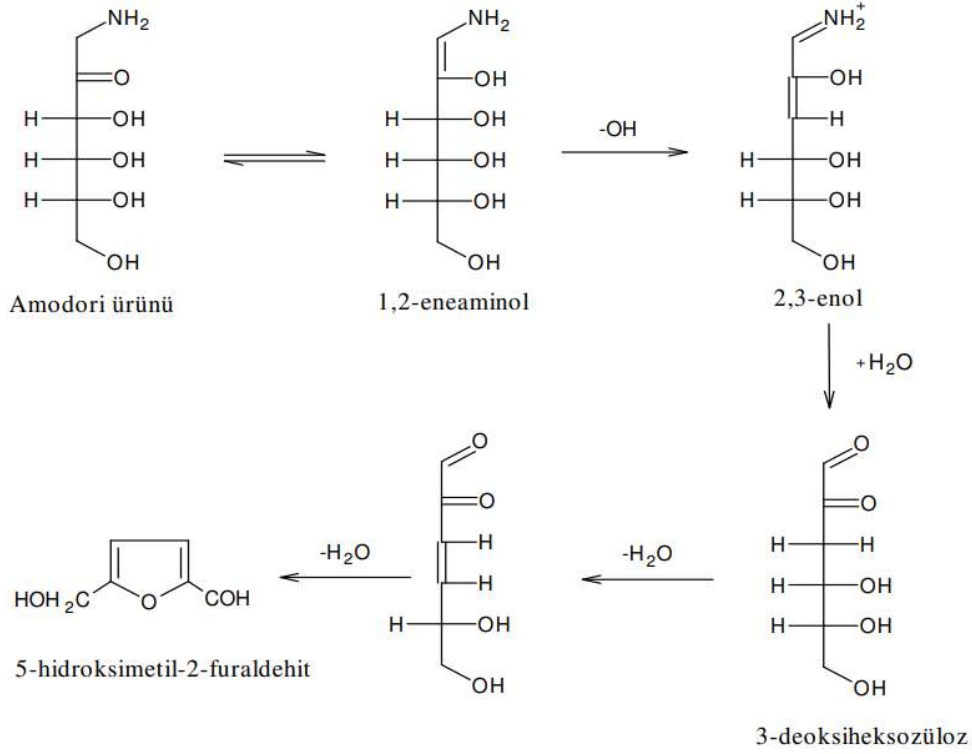
Bu bağlamda aldozların ketozlara oranla öncelikli bir tepki gösterdiği ve pentozların heksozlara kıyasla daha öncelikli bir tepki sergilediği gözlemlenmektedir. Yapılan bir çok çalışmada, şekerin esmerleşme reaksiyonuna girme önceliğinin pH değerine bağlı olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak pH 6,0'da glikoz fruktoza göre daha hızlı reaksiyona girmesine rağmen pH 6,0'ın altında olduğunda fruktozun glikoza göre daha aktif olduğu tespit edilmiştir(65). pH değerinin 3.5'e ayarlanmış model sistemlerinde yapılan çalışmalarda, fruktozun glukozdan 31.2 kat ve sakarozdan ise 577.2 kat daha hızlı reaksiyona girdiği tespit edilmiştir (64,65). Maillard reaksiyonunda yer alan amino asitlerin, reaksiyona katılım öncelikleri birbirinden farklıdır.

Bilimsel araştırmalar, amino asitlerin karboksil grubunun, amino grubunun aktivitesini inhibe edebildiğini göstermektedir. Bu etkinin karboksil grubu ile amino grubu arasındaki mesafeye bağlı olarak değiştiği belirlenmiştir (66).



Şekil 2.6. Maillard Reaksiyonu Şeması (64).

Amino asitler esmerleşme derecesine etkilerine göre üç gruba ayrılır. Esmerleşme üzerinde en fazla etkiye sahip olanlar lizin, glisin, triptofan ve tirozindir; prolin, lösin, izolösin, alanin, hidroksiprolin, fenilalanin, metiyonin ve valin ikinci gruba girer. Esmerleşme derecesini en az etkileyen grup histidin, treonin, aspartik asit, arginin, glutamik asit ve sisteindir. Aynı amino asit grubunun aktiviteleri de farklılık gösterir. Hatta asparajin, aspartik asit ve glutamik asidin (esmerleşmeye etkileri açısından üçüncü gruba giren) etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, esmerleşme reaksiyonunda en etkili amino asidin aspartik asit olduğu, onu takip edenlerin asparajin ve glutamat olduğu belirlenmiştir (66).



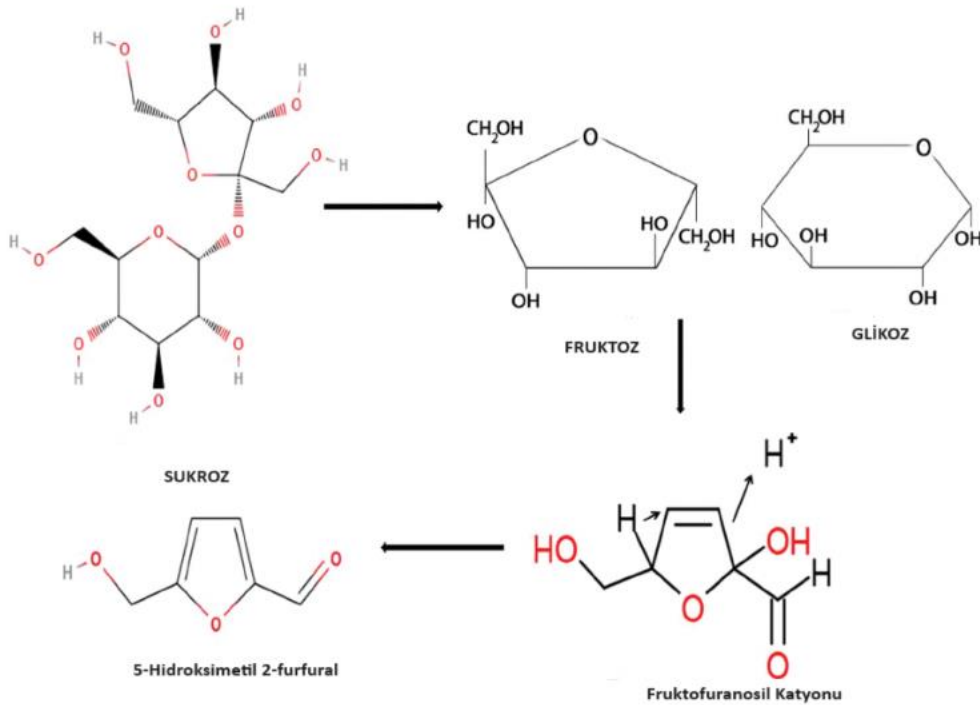
Şekil 2.7. Amadori Dönüşümü Ürününün Hidroksimetilfurfurale Dönüşümü.

Kahve üretim ve depolama süreçlerinde uygulanan ısıtma işlemi, Maillard reaksiyonunun ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Bu reaksiyonun sonucunda meydana gelen Maillard reaksiyonu ürünleri (MRÜ), kahvenin kalitesini etkileyebilir. Isıtma işleminin uygun olmayan düzeyde uygulanması, özellikle HMF gibi MRÜ'lerin oluşumuna yol açabilir. Bu nedenle, ısıtma işleminin kontrol edilmesi ve optimize edilmesi önemlidir (67).

Maillard reaksiyonu gıda endüstrisinde kahve ve kakao çekirdeklerinin kavrulması ve ısıya maruz bırakılması sırasında büyük bir zorluk oluşturmaktadır. Maillard reaksiyonu, yiyeceklerin pişirildiği süreçte yiyeceklerin görünüşünü ve tadını iyileştirmede önemlidir. Isıtma işlemi görmüş gıdalarda karamelizasyon yoluyla koyu renkli pigmentler açığa çıktığı için ısıtma işlemi büyük önem taşımaktadır. HMF oluşumunun asitlik, sıcaklık ve zamanla arttığı gösterilmiştir. Bununla beraber kalsiyum, magnezyum, potasyum gibi bazı mineraller ve aspartik asit, alanin, γ-aminobütirik asit gibi bazı amino asitler de HMF konsantrasyonlarını artırır (68).

2.2.1.2.Şekerin Asitli Ortamda Parçalanması İle HMF Oluşumu

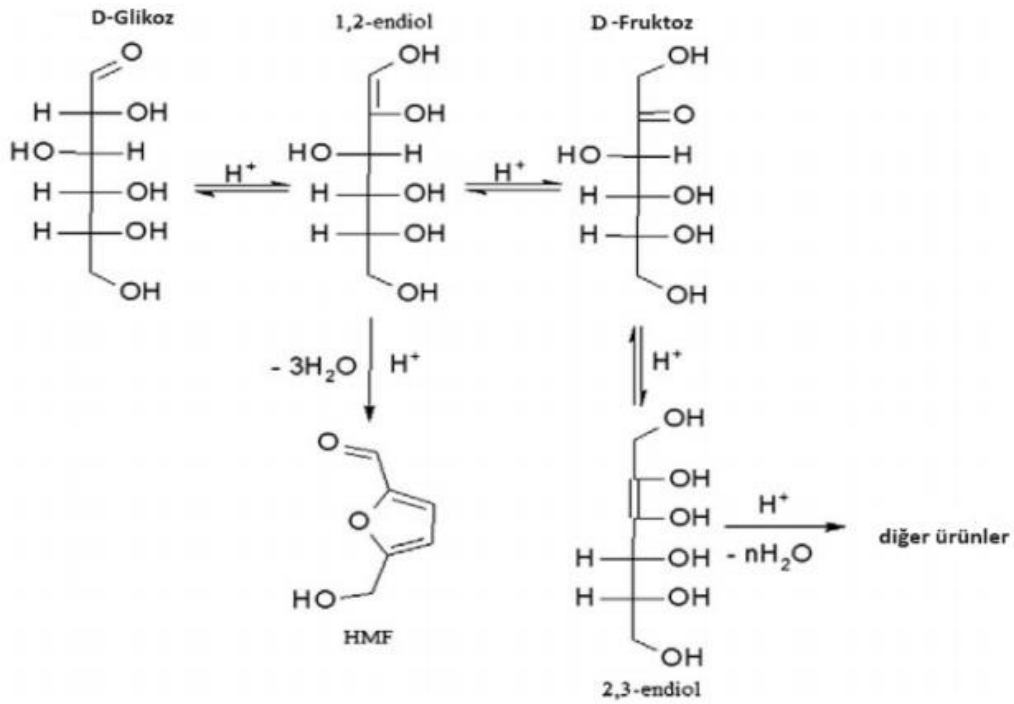
HMF, maillard reaksiyonun ara basamağında oluşabildiği gibi şekerin asit ortamda parçalanması ile de oluşmaktadır ; bu şekilde sukroz, enolizasyon ve dehidrasyon yoluyla fruktofuranosil katyonu oluşturan glikoz ve fruktoza ayrıştırılır. Şekil 2.8.'de yüksek sıcaklıklarda şekerlerin ayrışması ile HMF oluşumu gösterilmiştir. HMF oluşumunda 3-Deoxyosone en önemli araç olarak belirtilir bu bileşik 1,2 enolizasyon ve glukoz veya fruktozun dehidrasyonu sonucunda meydana gelir. 3-Deoxyosone' un daha fazla dehidrasyona uğraması sonucunda 5-hidroksimetilfurfural (5-HMF) oluşmaktadır.



Şekil 2.8. Yüksek Sıcaklıklarda Şekerlerin Ayrışması ile HMF Oluşumu - Karamelizasyon Reaksiyonu (69).

Şekerlere yüksek düzeyde ısı uygulanması nedeniyle dehidrasyon, enolizasyon ve dikarbonilasyon gibi reaksiyonlar gözlenebilmektedir. Disakaritten iki monosakarit oluşturan bir hidroliz aşaması meydana gelir. İlk olarak polisakkaritler basit şekerlere parçalanır ve karamelize edilir. Reaksiyon daha sonra yüksek sıcaklıklarda ve ortamda az miktarda baz varlığında bile meydana gelir. Karamelizasyon sonucunda indirgeme ürünleri olarak pentozlar furfural, heksozlar ise HMF'yi oluşturur (70).

Karamelizasyon , maillard oluşumunun sırasında ihtiyaç duyulandan daha fazla sıcaklığa ihtiyaç duyar , pH değeri 3'ten küçük ve 9'dan büyük ve sıcaklığın 120 °C'den daha fazla olduğu ortamlarda daha hızlı gelişir(51).Yapılan birçok çalışmada fruktozun HMF oluşumunda glikoz ve sakkarozdan daha reaktif olduğunu gösterilmiştir(71). Başka bir çalışmada , sıcaklığın 50°C'de ve pH ın 3,5 olduğu, fruktozun glikoza oranla HMF oluşumunda 31,2 kat ; sukrozun ise glikoza oranla 18,5 kat daha hızlı olduğu belirtilmiştir(72). Şekil 2.9. Şekerlerin asidik ortamda 5-HMF oluşumu gösterilmiştir.



Şekil 2.9. HMF'nin Asidik Ortamda Glukoz ve Fruktozdan Oluşumu (73).

Maillard reaksiyonu ve karamelizasyonun yanı sıra, 5-HMF'nin farklı oluşma nedenleri de bulunmaktadır. Kuruyan ve çoğalan koşullar altında, 5-HMF genellikle sakkaroz ve fruktozun reaksiyonu sonucu oluşur. Bu reaksiyon, fruktofuranosil oluşumunu içeren ve doğrudan HMF'ye dönüşebilen oldukça reaktif bir süreci içerir (74). HMF ortamın asidik olduğu , suyun monosakkaritler ile birlikte bulunduğu gıdalarda da doğal olarak oluşabilmektedir (75). Ayrıca, HMF'nin askorbik asidin parçalanma ürünü olarak oluşabileceği ve meyve suyu üretim aşamasında uygulanan ısıl işlemle ilgili bilgiler elde etmek için HMF miktarının incelendiği bilinmektedir (76,77).

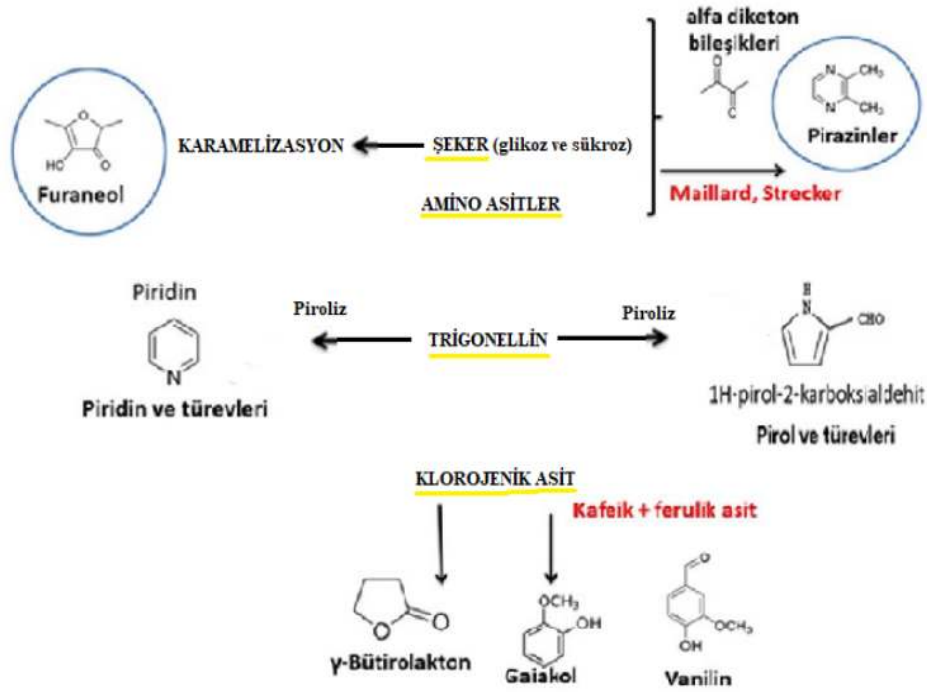
Yüksek miktarda 5-HMF'nin toksik etkileri olup üst solunum yollarına, gözlere, deriye, mukoza zarlarına da zarar verebilir. Bu reaksiyonla birlikte reaktif oksijen

türlerinin artması ve antioksidan yapıların yetersiz kalması nedeniyle oksidatif stres ortaya çıkar. Oksidatif stres, DNA'da baz ve şeker modifikasyonları ve DNA-protein çapraz bağlanması gibi farklı yapılardaki lezyonları indükleyerek hasara neden olmaktadır. Maillard reaksiyonunda oluşan indirgenmiş bileşiklerden bazılarının kanserojen, toksik veya mutajenik özelliklere sahip olduğu rapor edilmiştir. Akrilamid, HMF ve heterosiklik aminler toksik bileşiklerdir. Uluslararası Kanser Araştırmaları Enstitüsü'nün (IARC) araştırmasına göre bu bileşiklerin insanlarda kanserojen etki gösterdiği belirtilmiştir(78). Maillard reaksiyonu gibi enzimatik olmayan esmerleşme olayları karaciğerde toksik etkilere neden olarak sağlığa zararlı olabilir. Fazla miktarda uygulanan sıcaklık yiyeceklerde tat ve koku değişikliğine neden olduğundan kalite kaybı oluşabilir.

2.2.2.Kahvede HMF Oluşumu

Maillard reaksiyonu, gıda endüstrisinde kahve ve kakao çekirdeklerinin kavurma ve ısıtma süreçlerinde önemli zorluklar yaratmaktadır. Maillard reaksiyonu, pişirildiğinde gıdanın görünümünü ve tadını iyileştirmede önemlidir. Reaksiyonun ilk adımında, indirgeyici disakkaritin karbonil karbonu, amino grubundaki nitrojen ile etkileşime girer ve daha sonra dehidrate olarak glukozamin oluşturur. Maillard reaksiyonunun tersinir yapısını glikozaminin hidrolizi açıklamaktadır(79).Şekerin dehidrasyonu ile reaksiyonun son aşamasında furfural bileşiği ortaya çıkar. Şekerin asit etkisi ile parçalanması sonucuyla maillard reaksiyonu oluşur(80).Schultheiss ve arkadaşlarının , hazır kahvenin HMF içeriğinin 959-6181 mg/kg arasında, kahve çekirdeklerinin ise 209-605 mg/kg arasında değiştiğini bildirmektedir. Murkovic ve Pichler kahvenin türünü belirtmemiştir ancak HMF düzeylerinin 300-1900 mg/kg arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Hazır kahve ısıtma işlemi tabi tutuldukça HMF içeriği artar. Ayrıca kahve çekirdekleri kavurma işlemi sırasında ısıtma işlemi tabi tutulur (81,82)

Maillard reaksiyonu kahve aromasını oluşturan reaksiyonlardan başlıcalarındandır .Amino asitler ve indirgeyici şekerler, azotlu heterosiklikleri ve kahverengi melanoidin oluşturmak üzere reaksiyona girerler. (Şekil 2.10.) Bu reaksiyon ile yüzlerce uçucu bileşik oluşur ve kahvenin duyu özelliklerine katkıda bulunur. Şekerler, amino asitler ve klorojenik asitler gibi öncüler aromatiklerin oluşumunu ve kahvenin nihai lezzetini etkilemektedir (83).



Şekil 2.10. Kahvedeki Aromanın Oluşum Mekanizması (84).

Yapılan araştırmalara göre Arabica kahve türü tatlı, karamel ve kavrulmuş aromaya sahip, Robusta türü daha çok baharatlı, topraksı bir aroma sergilediği tespit edilmiştir. Kahvedeki aroma bileşiğinin %50'sini, furanlar, tiyofenler, piranonlar, pirazinler, okzazoller, piroller, tiyazoller, aminler, piridinler ve sülfür bileşikler oluşturur. Kahvede bulunan diğer aroma maddeleri; ketonlar (%9,5), hidrokarbonlar (%7,8), fenoller (%9,2), asitler (%6,9), alkoller (%4,9), esterler (%5,8), aldehytler (%4,4) ve laktonlar (%1,5) dır (84,85).

2.2.3. Gıdalarda HMF Seviyeleri

Gıdalarda HMF ve furfural gibi kimyasal reaksiyonların oluşması, gıdada bulunan şeker türevleri ve şeker miktarı ile doğrudan ilişkilidir. Meyve suları ve paketlenmiş sütlerde furan bileşiklerinin bulunduğu bildirilmiştir (86). Yaklaşık 500 farklı gıda örneği incelendiğinde, karamel ve meyve suları içeren gıdalarda 1 g/kg'ın üzerinde HMF değerleri tespit edilmiş ve karamelli gıdalarda 9,5 g/kg HMF konsantrasyonu bulunmuştur (87). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), belirli gıdalardaki HMF

konsantrasyonlarına sınırlamalar getirmiştir. Bal için bu limit 40 mg/kg olarak belirlenmiş, özellikle elma suyu konsantresi için ise 50 mg/kg rapor edilmiştir. Uluslararası Meyve Suyu Üreticileri Federasyonu (IFFJP), meyve suyu konsantreleri için 25 mg/L, meyve suları için ise 5-10 mg/L HMF limitleri yayınlamıştır (88).

Gıdalardkia HMF miktarlarının belirlenmesine ve farklı işleme koşullarının HMF oluşumu üzerinde etkilerine yönelik araştırmalar yapılmıştır .Araştırmalar sonucunda analizi edilen ve HMF düzeyleri belirlenen ürünler Tablo 2.2.3.1. de gösterilmiştir.



Tablo 2.2.3.1. Bazı Gıdalardaki HMF Düzeyleri (52).

Gıda Ürünleri	HMF İçeriği (Mg/Kg) ^a
Kahve	100–1900
Kahve (Hazır)	400–4100
Kahve (Kafeinsiz)	430–494
Hindiba	200–22500
Malt	100–6300
Arpa	100–1200
Bal	10.4–58.8
Bira	3.0–9.2 ^a
Reçel	5.5–37.7
Meyve Suları	2,0–22,0
Kırmızı Şarap	1,0–1,3 ^a
Kurabiye	0,5–74,5
Ekmek (Beyaz)	3.4–68.8
Ekmek (Tost)	11.8–87.7
Ekmek (Atıştırmalıklar)	2.2–10.0
Kahvaltılık Gevrekler	6,9–240,5
Bebek Maması (Süt Bazlı)	0,18–0,25
Bebek Maması (Tahıl Bazlı)	0–57,18
Kurutulmuş Meyveler	25–2900
Kavrulmuş Badem	9
Sirke (Şarap)	0–21,5 ^a
Sirke Balzamik	316,4–35,251,3 ^a

^a : mg/L

2.2.4. HMF ‘nin Sağlık Üzerindeki Etkileri

HMF’ nin birçok hayvan üzerinde toksik etkisi, deneyler sonucunda bulunmuştur. Ancak insanlar üzerindeki etkileri tam olarak anlaşılamamıştır fakat bunun insan sağlığına potansiyel bir risk oluşturabileceği düşünülmektedir. Bu temel neden, sık tüketilen besinlerde (kahve, karamel, şeker türevleri ve unlu mamuller vb.) yüksek HMF içeriğinin bulunmuş olmasıdır(89). HMF'nin sülfoksi-metilfurfural(SMF)'a dönüşümü ,insan sağlığına yönelik bir tehdit olarak kabul edilmektedir. Bu dönüşüm mutasyonlara ve kanserojen etkilere neden olabileceği düşünülmektedir. HMF'nin emilim sınırı aşıldığında cilt ve üst solunum problemleri ortaya çıkabilir. HMF’nin aşırı doz kullanımı ve uzun süreli maruz kalma, daha ciddi komplikasyonlara, kanserli hücrelerin büyümesine ve bazı organlarda hasara neden olabilir (90). Aynı zamanda HMF, birçok bitkisel ilaçta organları koruma görevi gören bir bileşen olarak bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar HMF'nin antioksidan ve anti-proliferatif özellikler sergileyebileceğini göstermiştir (91) .

Birçok çalışma HMF'nin antioksidan özellikler sergilediğini ve kırmızı kan hücresi füzyonunu önlediğini bildirmiştir. Ayrıca , HMF’nin hematolojiyi olumlu bir şekilde etkilediği araştırmalara konu olmuştur (92). HMF, deney farelerinde anormal kript odakların gelişmesine yol açmış ve deride farklı dokunun oluşmasına neden olmuştur. Bu bağlamda Ulusal Toksikoloji Programı, HMF'nin kanserojen aktivitesini değerlendirmeyi amaçlamıştır. B6C3F1 fareleri 2 yıl boyunca yüksek oranda HMF ile beslenmiş , HMF ile beslenen fareler dişi olmakla beraber sürenin sonucunda, düşük bir oranda kanserojenlik izlenmiş ayrıca karaciğer adenomları tespit edilmiştir. HMF’nin bu aktivitesi SMF’ye dönüşümünden dolayı olduğu düşünülmektedir (93). Yine farklı bir çalışmada Ulusal Çevre Sağlığı Bilimleri Enstitüsü, fareleri yaklaşık 2 yıl boyunca yüksek dozda HMF 'e maruz bıraktı. Farelerde 2 yıl sonunda kanserojen özelliklerde gelişme gözlenmedi hatta HMF'nin antioksidan özelliklere sahip olduğu bile keşfedilmiştir(94).Yüksek konsantrasyonlarda HMF'ye maruz kalmak insan vücudundaki hücreler üzerinde toksik etkilere neden olabilir. HMF' ye maruz kalmak beslenmenin yanı sıra deri ve üst solunum yollarında da sağlık sorunlarına neden olur(82). HMF'nin alfa-ketoglutarik asit ile takviye formunda alınmasının, antioksidan düzeylerini arttırdığı ve sporcularda performansın artmasına yol açtığı gözlemlenmiştir. Ameliyat olacak kişilerde alfa-ketoglutarik asit içeren besin takviyesi olarak HMF

kullanımının, önceki durumlarda ve ameliyat sonrasında nörobilişsel fonksiyonun iyileşmesini hızlandırmaya yardımcı olduğu rapor edilmiştir(96).

HMF kanserojenik ve mutajenik etkiler gösterebileceği yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlara dayanarak belirlenmiştir. HMF'nin SULT enzimi tarafından SMF'ye dönüştürülmesinin DNA ve genom mutasyonlarına sebep olabileceği bulunmuştur. SMF, DNA ile etkileşime girme yeteneğine sahiptir ve bu etkileşimle çeşitli DNA eklentileri oluşmaktadır(97).

HMF'nin günlük tolere edilebilir alımını (TDI) vurgulayan çalışmada, ilkökul çağındaki olan çocukların bir günlük ortalama HMF alım miktarının 13,7 mg/gün olduğu belirlenmiştir. Gözlenen sonuçlar literatürde yayınlanan 132 mg/gün seviyesinden 10 kat daha düşüktür. HMF'nin kanserojen özellikler gösterebileceği düşünülmekte olup , yapılan çalışmalarda bunun kolonda anormal kript odakların oluşumuna neden olduğunu göstermiştir. Ancak , HMF'nin insanlarda karsinojenik aktivitesini sergileyip sergileyemeyeceği belirsizliğini korumaktadır(98). HMF'nin toksik etkilerini ve kanserojenliğini değerlendirmek için ABD Ulusal Toksikoloji Programı tarafından sıçan ve fare üzerinde çok geniş çaplı bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada deneklerin üst solunum yollarında sorunlar oluştuğunu, 2 yıl süresince düzenli HMF tüketiminin dişi farelerde karaciğer kanseri riskini arttırdığını göstermiştir(99). Güvenli tüketim için gıdaların biyoerişilebilirlik durumunun dikkate alınması önemlidir.

2.2.5.Biyoerişilebilirlik ve Biyoyararlılık

Çiğ ve pişmiş gıdaların besin değeri de dahil olmak üzere günlük hayatımızda düzenli olarak tükettiğimiz gıdaların içeriğini hesaplamak için birçok gıda veri tabanı ya da besin değerinin hesaplama araçları kullanılmaktadır. Beslenme uzmanları bu verileri dayanarak günlük besin alım değerlerini hesaplayıp bireyleri doğru yönlendirirler. Bu sebeple günlük besin değerinin doğru hesaplanması sağlık açısından oldukça önemlidir(100).

Bu durumun ardından biyoerişilebilirlik ve biyoyararlılık kavramları karşımıza çıkmaktadır. Biyoerişilebilirlik, insan sağlığını artırmayı amaçlayan gıdaların ve gıda formülasyonlarının besinsel etkinliğini değerlendirmek için önemli bir kavramdır. Bu terim, bir bileşiğin gastrointestinal sistemdeki matriksinden salındığı ve bu şekilde bağırsakta emilmeye hazır hale geldiği durumu ifade eder. Biyoyararlılığı değerlendirebilmek içinse gıdanın biyoerişilebilir olması gereklidir. Eğer gıda

matrisinden salınmayan ve bağırsak bariyerini geçemeyen besin bileşenleri mevcut ise biyoerişilebilirlikten söz edilemez, (101). Biyoyararlılık terimi, incelenen araştırma alanına bağlı olarak çeşitli tanımlar içerebilir. Ancak beslenme perspektifinden bakıldığında, vücuda alınan ve fizyolojik işlevler sırasında kullanılmaya veya depolanmaya hazır olan gıda veya biyoaktif bileşik miktarını ifade eder (102). Biyoaktif terimi ise bir bileşiğin dolaşım sistemine ulaşma, hedef hücrelere taşıma ve biyomoleküllerle etkileşim kurma şeklindeki tüm fizyolojik etkilerini kapsar. *İn vitro* biyoerişilebilirlik ve biyoyararlanım yaklaşımları, besinler ile gıda bileşenleri arasındaki etkileşimleri, pH ve enzim etkilerini, gıda hazırlama ve işleme yöntemlerini inceleyerek mikro besin maddesinin emme kapasitesi veya bir besin maddesinin emme kapasitesi hakkında detaylı bilgiler sağlar. Bileşiğin hayvanlarda veya insanlarda *in vivo* olarak biyoyararlanımı, izole edilmiş bileşiğin akut dozunun uygulanmasından sonra eğri altında elde edilen bileşiğin alanı olarak belirlenir. Tablo 2.2.5.1.'de biyoerişilebilirlik ve biyoyararlılık basamakları gösterilmiştir(103,104).

Tablo 2.2.5.1. Biyoerişilebilirlik ve Biyoyararlılık Basamakları

Biyoerişilebilirlik	+	Biyoaktivite
Besin matrisinden salınım		Hedef dokuya ulaşım
Sindirim dönüşümleri		Asimilasyon
Bağırsak emilimi		Metabolizma
Metabolizma		Fizyolojik cevap
= Biyoyararlılık		
Gastrointestinal sindirim		
Emilim metabolizması		
Doku dağılımı		
Sistemik dolaşım		

2.2.6. HMF Diyet Alımı

Gıdalardaki HMF miktarı, özellikle karbonhidrat bakımından zengin ürünlerin işlenmesi sırasında uygulanan ısı yüküne doğrudan bağlıdır. Bu bağlamda, HMF düzeyleri büyük çeşitlilik gösterir; örneğin, bazı karamel ürünlerde ve kurutulmuş meyvelerde 1 g/kg'a kadar çıkabildiği bildirilmiştir (105). HMF aynı zamanda unlu mamullerde, meyve sularında, kahvede ve sirkede de bulunur. Genel olarak, işlem görmüş meyve, kahve, bal ve süt gibi ürünlerdeki HMF miktarı kalite göstergesi olarak kullanılabilir (106).

Kahve, özellikle önemli bir HMF kaynağıdır , ve 4000 mg/kg'a kadar HMF kahve tozunda tespit edilmiştir, ancak çoğu durumda seviyeler daha düşüktür (12-300 mg/kg). Bir İspanya çalışmasında, kahve tüketimi ile ilişkilendirilen HMF tüketiminin yüksek dozlarda olduğu belirlenmiştir (107). HMF, yiyeceklerden içeceklere, parenteral solüsyonlardan sigara dumanına kadar çeşitli kaynaklarda bulunabilir. İspanya, Norveç ve Almanya'da yapılan çalışmalar, kişinin günlük HMF alımının 2 ile 30 mg arasında değiştiğini göstermiştir (108). Gıda Katkı Maddeleri Ortak Uzman Komitesi'nin (JECFA) belirlediği endişe eşiği, kişi başına günde 540 µg'dir. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından tahmin edilen alım düzeyi ise kişi başına günde 1600 µg'dir, yani endişe eşiğinin üç katıdır. Ancak bu sadece bir tahmindir ve abartılı olma olasılığı bulunmaktadır. Gıda ile alınan HMF miktarının endişe eşiğini aştığı anlaşıldığından, HMF oluşumunu azaltma çabaları önemlidir.

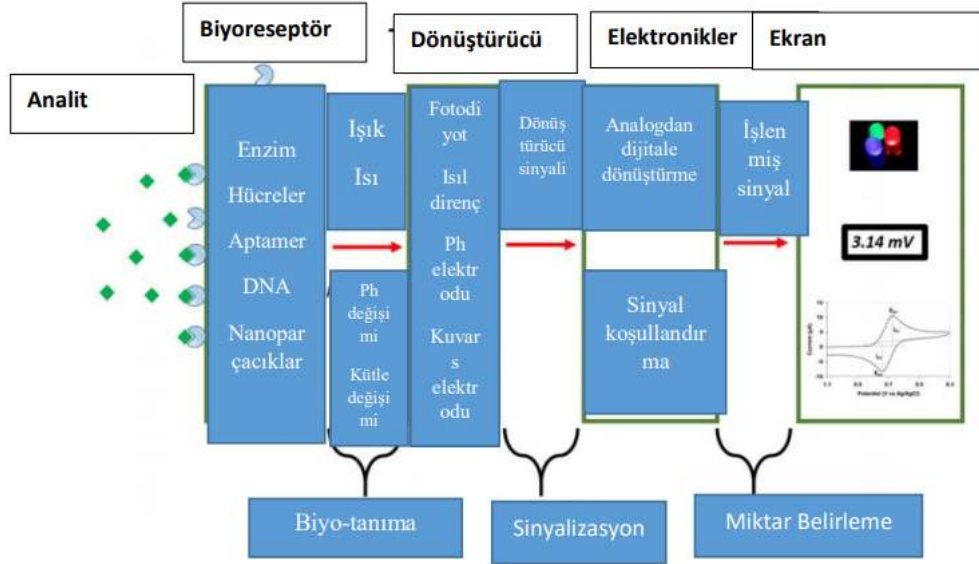
2.3.Elektrokimyasal Sensörler

Elektrokimyasal sensörler kimyasal reaksiyon sonucunda elektriksel sinyal üreten cihazlardır. Bu sensörler, çevresel değişkenleri ölçmek ve kimyasal bileşim analizi yapmak için kullanılır. Elektrokimyasal sensörler, elektrotlar arasında meydana gelen kimyasal reaksiyonlara dayalı olarak çalışır. Bu reaksiyonlardan biri oksidasyon, diğeri ise indirgeme olabilir. Sensör, kimyasal maddeyi ölçmek istediğimiz çözelti içerisinde bulunur ve ilgili elektrotlar bu çözeltiye batırılır. . Moleküler baskılama, hedef moleküle spesifik bağlar içeren substrat seçici materyaller elde etmek için kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemle sentezlenen polimerler, dolgu maddesi olarak biyosensörler, membranlar, biyomimetik malzemeler, yapay enzimler veya kromatografi gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Moleküler baskılanmış polimerler, doğal reseptörlere benzerlikleri, afiniteleri, seçicilikleri ve kararlılıkları, kolay sentezlenmeleri, çeşitli uygulamalara kolay uyum sağlamaları, biyolojik yapılardan daha dayanıklı ve ucuz olmaları açılarından araştırmaların hedefi olmuştur.

2.3.1.Biyosensörler

Biyosensör, reaksiyondaki analitin konsantrasyonu ile doğru orantılı bir sinyal üreterek biyolojik veya kimyasal reaksiyonu ölçen bir cihazdır. Biyosensörler hastalık izleme, ilaç keşfi, kirleticilerin, patojen mikroorganizmaların ve vücut sıvılarındaki (kan,tükürük,idrar,ter) hastalık göstergelerinin tespiti gibi uygulamalarda

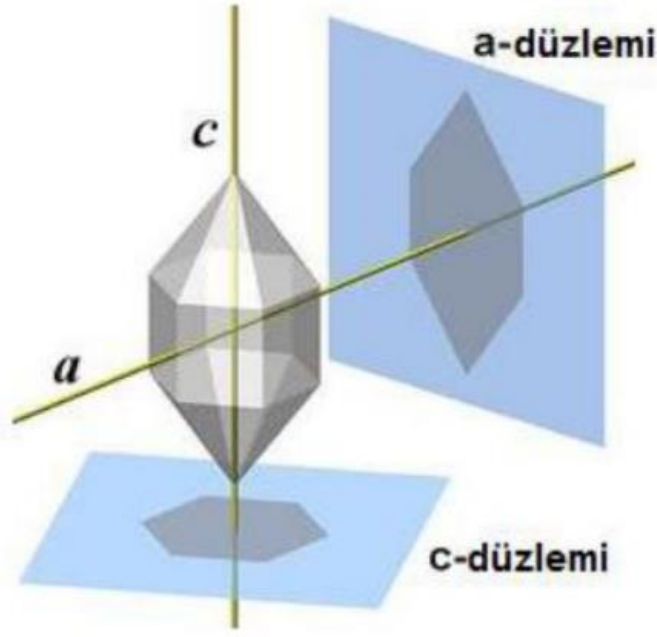
kullanılmaktadır. Biyosensörler analit,biyoreseptör,dönüştürücü,elektronik ve ekrandan oluşur , Şekil 2.11.de biyosensör şematik gösterilmiştir(109).



Sensörlerde kullanılan dönüştürücüler farklılık gösterebilir. Piezoelektrik, termometrik, manyetik ve mikromekanik dönüştürücüler gibi unsurlar içerir; dolayısıyla, sensörler ısı, mekanik, kimyasal, akustik ve radyolojik türlerde olabilir. Kullanım alanı öncelikli olarak klinik olmakla birlikte sensör çeşitli amaçlarla da kullanılabilir. Bu cihazlara örnek olarak fermantasyon sürecini izlemek için kullanılan biyosensörler (110)ve gıda analizinde patojenleri, pestisitleri, mikroorganizma ve toksin tespit etmek için kullanılan biyosensörler(111) verilebilir.

2.3.2.Kuvars Kristal Mikroterazi (QCM) Biyosensörler

Belirli bir yönde uygulanan çekme veya sıkıştırma kuvveti sonucunda oluşan piezoelektrik etki , yontulmuş iletken olmayan mineral kristallerinden yapılmış bir levhanın iki yüzünde de ters işaretli yüklerin (+q ve -q) ortaya çıkmasını ifade eder. Kuvars kristali (Şekil 2.12.) şekil , boyut,kütle ve kimyasal özelliklere bağlı olarak doğal bir titreşim frekansına sahip olup , kristalin kırılması rezonans frekansını etkileyebilir(112).



Şekil 2.12. Kuvars Kristal.

Kuvars kristali, mekanik enerjinin etkisi altında elektrik enerjisine dönüşebilen bir malzemedir. Piezoelektrik özellik gösteren bu kristal, rezonans frekansına sahip kesilmiş bir kuvars tek kristal parçasıdır. Periyodik bir voltaj uygulandığında, kuvars kristali mevcut voltajın frekansında titreşim yapabilir. Bu özellik, kuvars kristalinin piezoelektrik etkisini kullanarak mekanik titreşimleri elektrik sinyallerine dönüştürme kapasitesini ifade eder. QCM frekans sayacı, bir voltaj kaynağı ve bir osilatör devresinden oluşan bir sistemdir. Genellikle 5-30 MHz aralığında temel rezonans frekanslarına sahip kuvars plakalar, QCM'nin ana bileşenidir(113).

2.4.VOLTAMETRİ

Elektroanalitik yöntemler, bir çalışma elektrodu veya indikatörü polarize olduğunda akım ile uygulanan potansiyel arasındaki ilişkiyi kullanarak analit hakkında bilgi elde etmek için geliştirilen bir grup tekniktir. Bu yöntem, mikro elektrotlar kullanılarak gerçekleştirilir. Elektroanalitik yöntemler, elektrot-çözelti sistemi üzerine uygulanan bir elektriksel etki ile başlatılan tepkiyi ölçerek analiz gerçekleştirir. Bu yöntemler, genellikle elektrokimyasal ve kimyasal tepkimelerin kinetikleri, adsorpsiyon

olayları, elektrot tepkimelerinin mekanizmaları, denge sabitleri ve difüzyon katsayıları gibi birçok kimya alanında kullanılır. Elektroanalitik yöntemler genellikle iki ana gruba ayrılır: birincisi, net akımın sıfır olduğu durağan durumdaki denge yöntemleri; ikincisi ise denge dışı bir net akımın gözlemlendiği dinamik yöntemlerdir. Çoğu elektroanalitik tekniği, net akımın sıfır olmadığı dinamik bir yapıda konumlandırılır ve potansiyel, akım veya yük kontrollü yöntemler olarak uygulanır (114).

2.4.1. DÖNÜŞÜMLÜ VOLTAMETRİ (CV)

Bu yöntem, elektrokimyasal analizler içinde yaygın olarak kullanılanlardan biridir. Dönüşümlü voltametri (CV) tekniği, çalışma elektroduna uygulanan potansiyeli kontrol eden ve hücreden küçük bir akımın geçirildiği bir prensipe dayanmaktadır. Özellikle potansiyel kontrollü sabit voltametri yöntemi olarak dikkat çeker. Elektroaktif türlerin ve elektrot yüzeyindeki ara yüzeyin çözelti içinde incelenmesi bakımından dönüşümlü voltametri, elektroanalitik teknikler arasında en uygun olanlardan biridir.

2.4.2. KARE DALGA VOLTAMETRİ (SWV)

Kare dalga voltametrisi, döngüsel voltametri, darbe teknikleri ve empedans tekniklerinin avantajlarını birleştiren, son derece gelişmiş bir voltametrik tekniği temsil etmektedir. Bu yöntem, oldukça hızlı ve duyarlı bir puls tekniğidir; her bir voltamogram 10 ms'den daha kısa bir sürede elde edilmektedir. Veri analizi, cihazın bir cıva damlasını dikkatinde bulundurarak damlamasından birkaç saniye önce yükleme akımının sabit kaldığı bir noktada gerçekleştirilir. Modern kare dalga voltametrisi, sabit bir elektrot üzerinde uygulanan bir merdiven potansiyel modülasyonu ile periyodik kare şeklindeki potansiyel fonksiyonunun bir kombinasyonunu kullanır. Bu yöntem, simetrik ve kare şeklindeki dalga formuyla karakterizedir.

2.5. ELEKTROKİMYASAL İMPEDANS SPEKTROSKOPİSİ (EIS)

Elektrokimyasal impedans ölçümleri, frekans değişikliklerinin bir fonksiyonu olarak gerçekleştirilir ve bu nedenle elektrokimyasal empedans spektroskopisi olarak adlandırılır. Bu güçlü teknik, elektrokimyasal sistemlerin incelenmesinde sıkça kullanılmaktadır. Yöntem, modifiye edilmiş yüzeylerdeki moleküllerin güvenli bir şekilde karakterize edilmesine olanak tanınması ve sistemlerin denge durumunda incelenebilmesi gibi avantajlar sunmaktadır.

Çoğu teknikte sinyal gönderildiğinde sistem denge durumundan çıkar ve bu sinyalin sisteme olan etkisi ölçülür. Ancak Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi'nde (EIS), gönderilen sinyal düşük genlikli bir potansiyel içerir. Uygulanan potansiyel genellikle $E_0 = 5 \text{ mV}$ civarındadır. Böylelikle sistemin denge durumu bozulmaz ve uygulanan potansiyel sinüs dalga formunda olduğu için frekans değişimiyle impedans ölçümü gerçekleştirilir.

2.6. X-IŞINI FOTOELEKTRON SPEKTROSKOPİSİ (XPS)

Malzemelerin yüzeyindeki değişiklikleri gözlemlene için yüksek enerjili X-ışını kullanılarak yöntemlerin biri de X-ışını fotoelektron spektroskopisidir(XPS) . Bu yöntem ile malzemenin element analizi, stokiyometrik oranı , elektronik enerji seviyesi ve bağlanma enerjisi hakkında bilgi edinilebilmektedir.

XPS analizi, malzemede bulunan tüm elementler(kimyasal katkılar ve istenmeyen kirlilikler) tarama grafiğinde gözlemlenir. XPS kullanılarak periyodik tablodaki elementlerden hidrojen ve helyum dışındaki tüm elementler analiz edilebilmektedir(116).

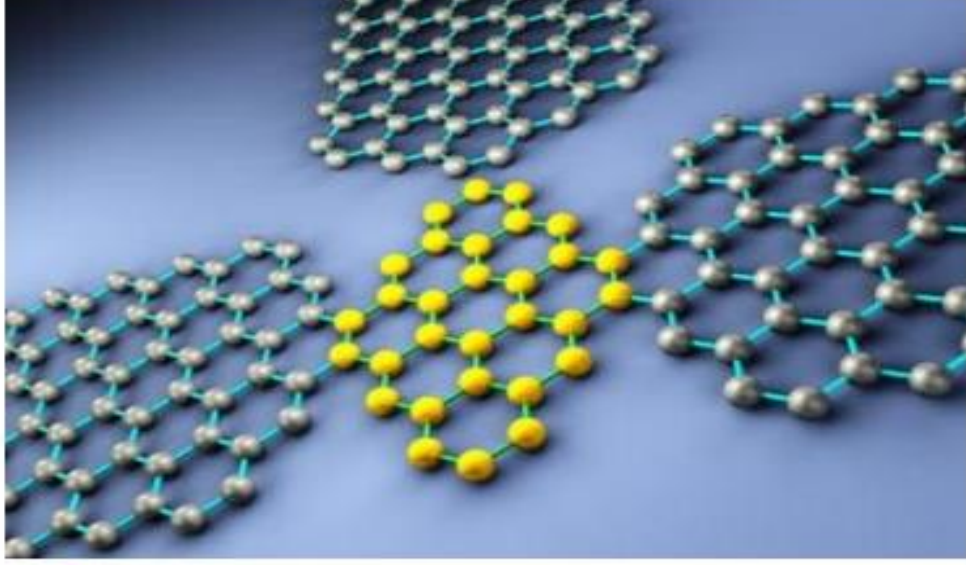
2.7. FOURIER DÖNÜŞÜMLÜ KIZILÖTESİ SPEKTROSKOPİSİ(FTIR)

Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi, organik ve inorganik bileşenlerin karakterizasyonu için kullanılan etkili bir yöntemdir. Bu yöntemle elde edilen spektrumlar, orta kızılötesi bölgedeki ($4000 \text{ ile } 400 \text{ cm}^{-1}$) moleküler bağların dalga numaralarını içerir. Gıda bileşenlerinin parmak izi bölgeleri, titreşimle oluşan frekanslara karşılık gelen absorpsiyon pikleri aracılığıyla belirlenir. Her bileşenin kendine özgü parmak izi bölgesi olduğundan, farklı molekül bağlarına sahip numuneler farklı titreşim frekanslarıyla tespit edilebilir (117).

2.8. GRAFEN KUANTUM NOKTALARI (GQDs)

Kuantum noktaları, fizik, kimya ve biyolojinin çeşitli alanlarında yaygın olarak kullanılan düşük boyutlu nanokristal yapılar arasında yer alır; genellikle yarı-iletkenlerdir. Çapları genellikle 2-15 nanometre (10-75 atom) arasında değişir. Kurşun kalemle kağıda baskı yaptığımızda grafen tabakaları oluşturabiliriz ve bu tabakalar arasında tek tek gözlemlenebilen grafen tabaka yapılar da bulunabilir. Grafen

kuantum nokta örgüsü, grafen örgülerinin farklı şekillerde kesilmesiyle oluşur; bu farklı şekiller arasında altıgen,disk,kare gibi olabilir(118). Şekil 2.13'te görülen grafen kuantum noktanın yapısı, çeşitli şekillerde bal peteği benzeri düzenlere sahiptir.



Şekil 2.13. Grafen Kuantum Nokta.

Grafen kuantum noktaları, konjuge alanlara ve düzenli yapısal özelliklere sahip özel karbon nanonoktaları olarak bilinir. Bu kuantum noktalarının kenarlarında nitrojen, hidrojen veya oksijen gibi elementler bulunabilir, ancak genellikle ana kısmı sp^2 konjuge karbondan oluşur (119).

2.9.NANOKOMPOZİT NİKEL ALÜMİNAT

Metal oksitler ve bunların kompozitleri son yıllarda elektrot malzemeleri için yaygın olarak kullanılmaktadır (8).Nikel alüminat-grafen kuantum noktaları ($NiAl_2O_4$ / GQD'ler) kompozit, sinerjik davranış ve çok işlevsellik sunan nanoyapılı bir malzemedir. Nikel oksit, geniş bant aralığı (3,6 - 4 eV) p-tipi yarıiletken olarak geniş uygulamaya sahip bir metal oksittir. NiO nanoyapıları kuantum sınırlaması nedeniyle üstün optik, manyetik ve elektronik özelliklere sahiptir. Alüminyum oksit (Al_2O_3) katalizör, adsorbent ve aşınmaya dayanıklı kaplama olarak sık kullanılan seramik malzemelerden biridir (120).

Spinel nikel alüminatın yüksek gözenekliliği, biyouyumluluğu, düşük maliyetli hazırlığı ve elektrokatalitik performansı, grafen kuantum noktalarının yüksek elektriksel

iletkenliği ile birleştirilmiştir. Spinel ikili metal oksitler sınıfında bulunan nikel alüminat (NiAl_2O_4), düşük maliyetli bir yardımcı çökeltme yöntemi ile hazırlanır (121). NiAl_2O_4 düşük yüzey asitlik ve kimyasal olarak kararlıdır.

Mevcut çalışmada, kahve örneklerinde HMF'nin seçici olarak belirlenmesi için NiAl_2O_4 (GQDs- NiAl_2O_4) nanokompozit içeren grafen kuantum noktalarına dayalı yeni bir moleküler baskılı elektrokimyasal sensör geliştirilmiştir. Kahve üzerinde spinel ikili metal oksitler sınıfında yer alan nikel alüminat (NiAl_2O_4) düşük yüzey asitlik ve kimyasal olarak kararlı olduğundan dolayı seçilmiş olup elektrik iletkenliğini grafen¹⁸, grafen oksit¹⁹ ve karbon nanotüp²⁰ gibi çeşitli malzemelerle kompleks yapılarak bant aralığını azaltılmasını ve yüksek iletkenliği sağlamaya çalışıp grafen kuantum noktalarına dayanarak HMF tespitini sağlamıştır. GQDs- NiAl_2O_4 nanokompozitinin yapısal karakterizasyonları için çeşitli mikroskopik, spektroskopik ve elektrokimyasal yöntemler gerçekleştirilmiştir. Moleküler baskılı sensör, 100.0 mM pirol monomer ve 25.0 mM HMF varlığında döngüsel voltametri (CV) kullanılarak çoklu tarama ile hazırlanıldı. Yöntem optimizasyonundan yapıldıktan sonra sensör, 0,30 ng L⁻¹ 'lik bir tespit limiti (LOD) ile 1,0–10,0 ng L⁻¹ aralığında HMF'ye doğru doğrusallık ortaya çıkarmıştır. Geliştirilen MIP sensörünün yüksek düzeyde yeniden kullanılabilirlik, seçicilik, kararlılık ve hızlı yanıt verme özelliği, kahve gibi yoğun tüketilen içeceklerde güvenilir HMF tespiti sağlayabilmektedir. Dolayısıyla bu çalışma yaygın olarak tüketilen kahve içeceğinin tüketiminde içerisinde bulunan HMF tespiti sağlanacak, maruz kaldıklarından ötürü HMF birikimi sebebiyle oluşacak komplikasyonları önlenmiş olacaktır. Bu çalışmada geliştirilen sensör ile daha sağlıklı toplumların oluşması, toplumun sağlık düzeyinin yükseltilmesi için literatüre önemli katkılar sağlayacaktır.

3.GEREÇLER VE YÖNTEMLER

3.1. Kimyasallar ve Aparatlar

HMF, 5-metilfurfural (5-MT), furfural (FUR), D-glikoz (GLU), askorbik asit (AA), metilglioksal (MGO), nikel(II) nitrat heksahidrat ($\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), alüminyum nitrat ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$), sitrik asit (CA), pirol (Py) monomeri ve sodyum klorür (NaCl), Sigma Aldrich tarafından korunmuştur. Destekleyici elektrolit olarak Fosfat Tamponlu

Salin (pH 11.0, PBS) (0.1 M) seçildi. PBS hazırlanması için, sodyum fosfat monobazik monohidrat (1.50 g) ve sodyum fosfat dibazik heptahidrat (10.0 g), ultra saf su (100.0 mL) içerisinde çözüldü. Daha sonra NaOH çözeltisi (1,0 M) ile pH ayarlaması yapıldı.

3.1.1. Cihazlar

NiAl₂O₄, GQDs ve GQDs–NiAl₂O₄ nanokompozitin fiziksel ve kimyasal incelemelerinde taramalı elektron mikroskopu (SEM), transmisyon elektron mikroskobu TEM, fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) ve x-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) analiz teknikleri kullanıldı.

Nanokompozitlerin yüzey morfolojilerini incelemek için SEM, TEM, FTIR ve XPS ölçümlerinde sırasıyla ZEISS EVO 50 SEM (Carl Zeiss-Stiftung, Almanya), JEOL 2100 TEM, Bruker-Tensör 27 FTIR spektrometresi ve PHI 5000 Versa Prob tipi x-ışını fotoelektron spektrometresi (Φ ULVAC PHI.Inc., Japonya/ABD) kullanılarak gerçekleştirildi.

Gamry Reference 600 iş istasyonu (Gamry, ABD) ayrıca üretilen elektrotların elektrokimyasal karakterizasyonlar için CV, elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS) ve kare dalga voltametri (SWV) araştırmalarını yürütmek için kullanıldı.

3.2. NiAl₂O₄, GQDs ve GQDs–NiAl₂O₄ nanokompozit üretimi

İlk olarak Ni ve Al'ın ultra saf suda (50.0 mL) birlikte çözülmesinden sonra, amonyak çözeltisi (pH 8.0), 10 saat boyunca güçlü bir şekilde karıştırılarak çözeltiye yavaş yavaş ilave edildi.

Ürün filtrelendi ve ultra saf suyla yıkandı. Daha sonra, NiAl₂O₄ spinel 8 saat boyunca 100 ° C'de kurutuldu ve 6 saat boyunca 700 ° C'de argon gazı içinde kalsine edildi(122).

GQDs önceki çalışmamıza dayanarak hazırlandı(123).Daha sonra GQD–NiAl₂O₄ nanokompozitin sentezine başlandı. CA sulu çözeltisine (0.85 mmol, 100.0 mL) NiAl₂O₄ spinel (1.00 mmol) ilave edildi. Yukarıdaki süspansiyonun 1 saat boyunca 220 °C'de kuvvetli bir şekilde karıştırılmasının ardından , sıcaklık 150 °C'ye düşürüldü ve bu süspansiyona ultra saf su (30.0 ml) ilave edildi. Son olarak ürün, yeşilimsi bir toz GQD–NiAl₂O₄ nanokompoziti elde etmek için 50 °C'de kurutuldu(8).

3.3. GQDs–NiAl₂O₄-modifiye camı karbon elektrot üretimi (GQDs–NiAl₂O₄/GCE)

GCE literatürde bildirilen prosedüre göre temizlendi(124). GQD–NiAl₂O₄ kompozit çözelti (50,0 µL, 0,75 mg mL⁻¹) ilk olarak temiz GCE'ye bırakıldı. Daha sonra, çözücüyü uzaklaştırmak için modifiye edilmiş GCE yüzeyine 30 dakika boyunca kızılötesi bir ısı lambası uygulandı ve GQD–NiAl₂O₄/GCE elde edildi.. GQD'ler ve NiAl₂O₄ modifiye edilmiş GCE yüzeyleri (GQD'ler/GCE ve NiAl₂O₄/GCE) aynı protokol ile hazırlandı.

3.3.1. GCE Temizleme Prosedürü

GCE elektrotlarının yüzey temizliği alümina içeren solüsyonlar kullanılarak yapıldı.

Bu çözeltiler farklı çap boyutlarında (0,1 µm ve 0,05 µm) olup , elektrotların bu çözeltilerle etkileşimi sonucu yüzeydeki partiküller sırasıyla uzaklaştırılmıştır. Farklı boyutlardaki bu solüsyonlar elektrotların üzerine damlatıldıktan sonra elektrot temizleme pedleri (tane büyüklüğü 4000) yardımıyla temizleme işlemlerine geçildi.

Çözeltilerle etkileşim tamamlandıktan sonra elektrotlar sırasıyla ultra saf su ve izopropil alkol ile iki kez sonikasyona tabi tutuldu. Son olarak oda sıcaklığında kurutularak kullanıma hazır hale getirildi.

3.4. HMF baskılı sensörün üretilmesi ve HMF'nin uzaklaştırılması

HMF baskılı GQDs–NiAl₂O₄/GCE (MIP/GQDs–NiAl₂O₄/GCE), 25,0 mM HMF dahil 0,1 M PBS'de (pH 11,0) 100,0 mM Py varlığında üretildi. 100 mV s⁻¹ HMF baskısız GQDs– NiAl₂O₄/GCE (NIP/GQDs–NiAl₂O₄/GCE)' de +0,00 V ile +1,00 V arasında değişen potansiyelde elektrokimyasal hücrelere 20 ardışık CV döngüsü uygulandı .

Baskı seçiciliğini göstermek için HMF olmadan aynı prosedür kullanılarak geliştirildi. Elüsyon çalışmaları için tüm MIP elektrotları 20,0 mL NaCl solüsyonu (1,0 M) içeren banyoya daldırıldı ve tüm sistem 20 dakikalık elüsyon süresi boyunca çalkalandı.

3.5. Örnek Hazırlama

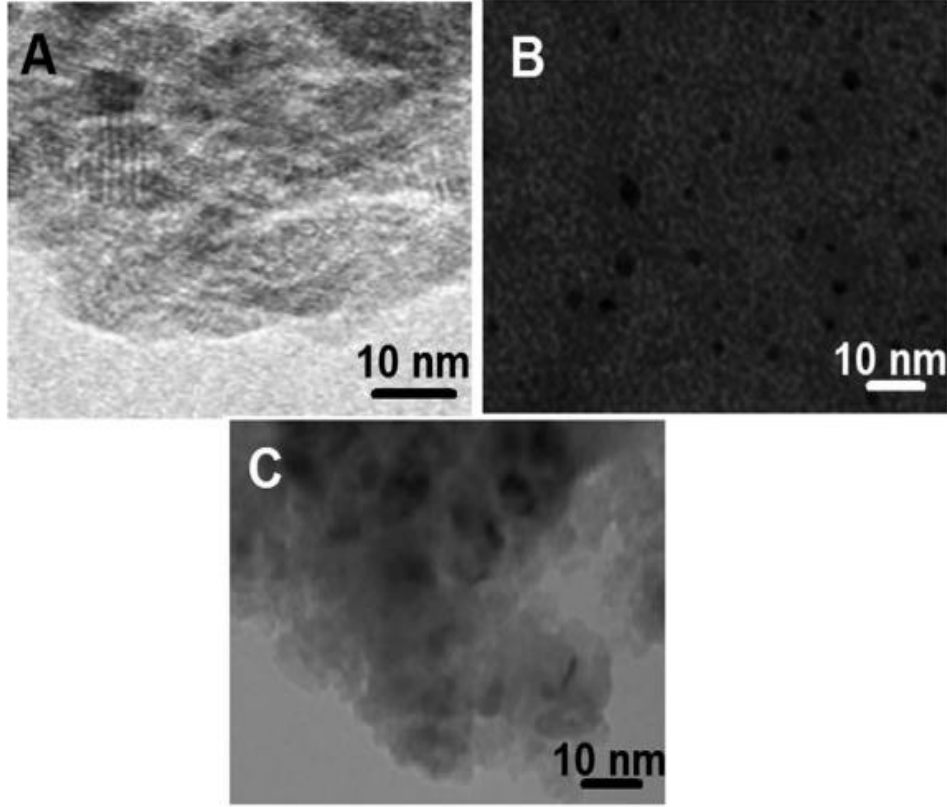
Kahve numunesi (0.10 g), asetonitril (10.0 mL) ve PBS (pH 11.0, 10.0 mL) içeren karışım bir tüp içerisinde hazırlandı. 2 dakika süreyle vorteks işleminden sonra hazırlanılan süspansiyona NaCl (0,10 g) ilave edildi ve 10 000 rpm'de 15 dakika süreyle santrifüjlendi . Daha sonra üst faz (0,50 mL) toplandı, PBS ile 7,50 mL'ye seyreltildi ve SWV ile analiz edildi(125).

4.BULGULAR

4.1.GQDs–NiAl₂O₄ Karakterizasyonları

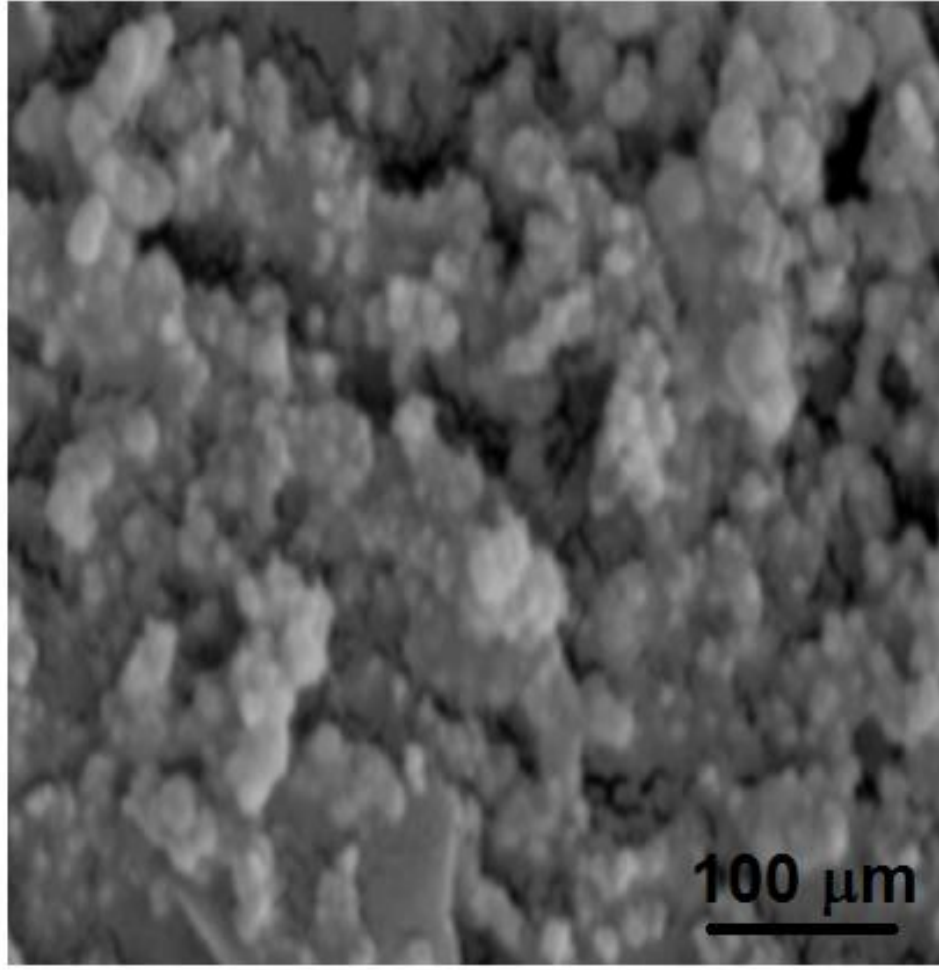
Öncelikle , GQD-NiAl₂O₄ nanokompozitinin morfolojik özellikleri TEM araştırmaları ile ön plana çıkarılmıştır. 3 ile 10 nm arasında değişen çaplarda kümelenmiş saf NiAl₂O₄ gözlemlendi (Şekil 4.1A). 2–8 nm çaplarda küçük noktalar halinde

GQD'ler ortaya çıktı (Şekil 4.1B)(8,121). NiAl_2O_4 nanokompozit içeren grafen kuantum noktalarının oluşumu, 3 ile 9 nm çap aralığında parçacık boyutlarında azalmaya neden olmuştur (Şekil 4.1C).



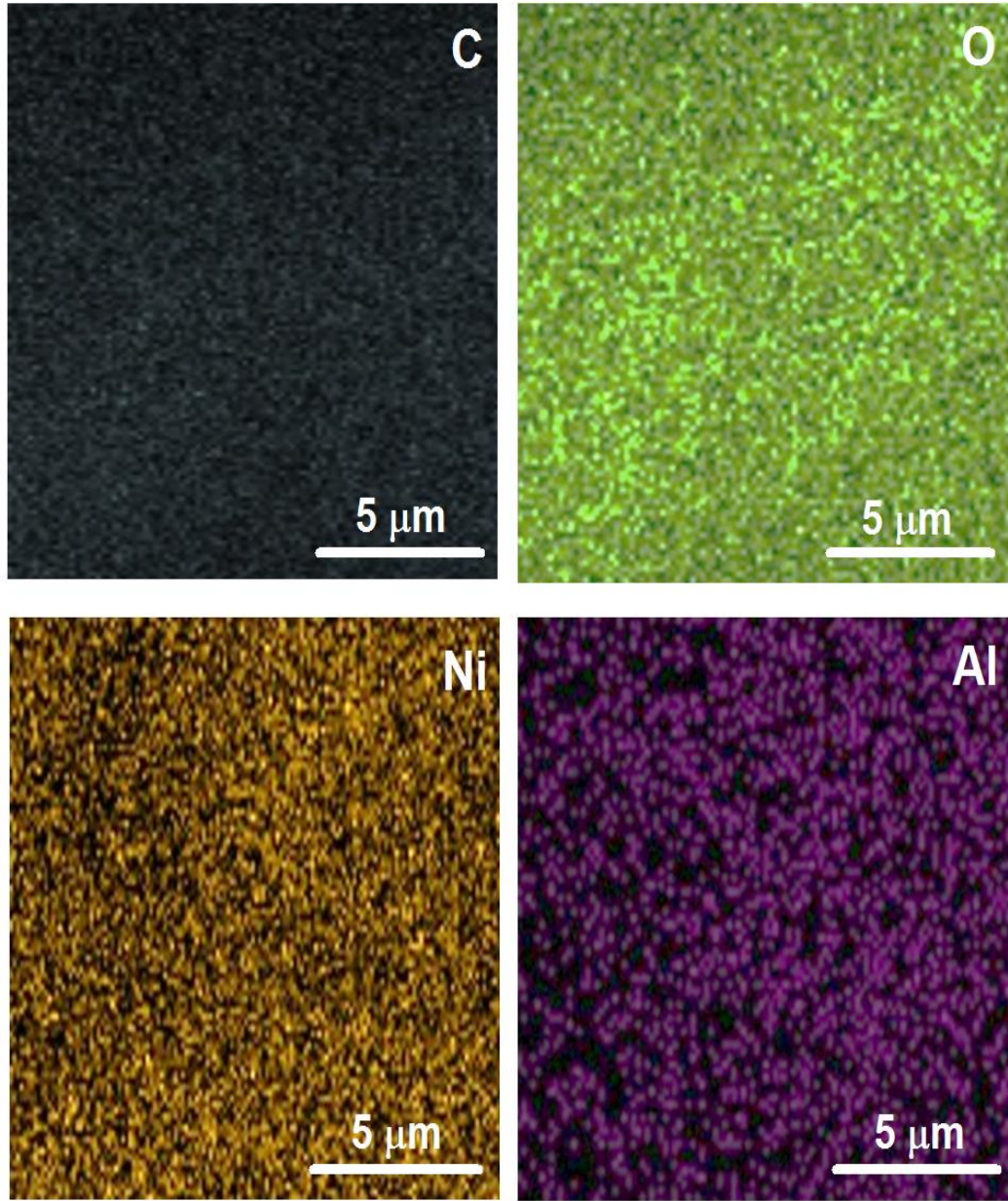
Şekil 4.1. (A) NiAl_2O_4 , (B) GQDs ve (C) GQD- NiAl_2O_4 nanokompozitinin TEM görüntüleri.

Sonrasında daha fazla morfolojik karakterizasyonlar için SEM ölçümleri yapıldı (Şekil 4.2.). Şekil 4.2.'de gösterildiği gibi, GQD- NiAl_2O_4 nanokompoziti, düzensiz organizasyona sahip pürüzlü bir yüzey ortaya çıkardı.



Şekil 4.2. GQDs-NiAl₂O₄ nanokompozitinin SEM görüntüsü.

SEM-EDX haritalaması, nanokompozitte tekdüze dağılım sağlayan nikel, alüminyum, oksijen ve karbon elementlerinin varlığını gösterdi (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. (A) nikel, (B) alüminyum, (C) oksijen ve (D) karbon elementlerinin GQDs- NiAl_2O_4 nanokompozit üzerinde SEM-EDX haritalaması.

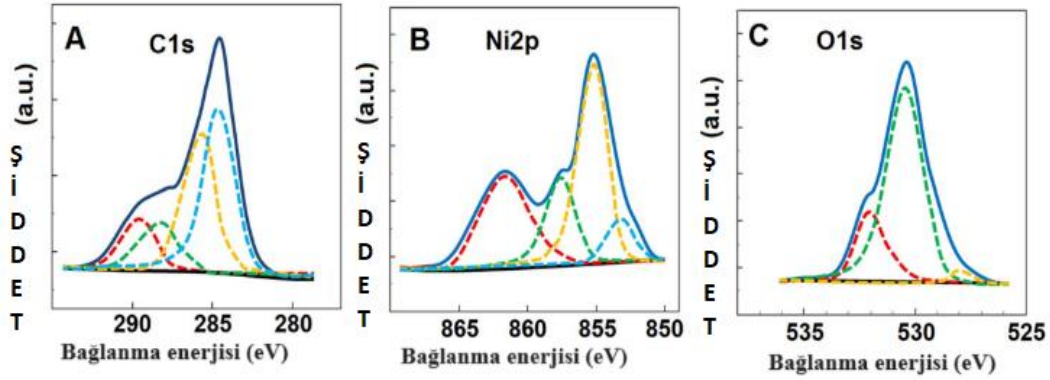
$-\text{O}-\text{C}=\text{O}-$ grubu 289.37 eV, $-\text{C}=\text{C}-$ grubu 288.47 eV, $-\text{C}-\text{O}-$ grubu 286.37 eV ve $-\text{C}-\text{C}-$ grubu 284.96 eV C 1s XPS spektrumunda gözlemlendi (Şekil. 4.4A) bu durum GQDs başarılı bir şekilde dahil edildiğini göstermiştir (126).

İki tür Ni (II) formu bulunmaktadır bunlar oksit ve hidroksittir. Oksit formu NiAl_2O_4 bileşiğinde 855.86 eV'de baskın iken (8). , hidroksit formu nanokompozitte 856.37 eV'de daha baskındır (Şekil. 4.4B).

Bu durum, NiAl_2O_4 dönüşümünün GQD- NiAl_2O_4 nanokompozitine ısıtılardan geçirilmesinden kaynaklanmıştır.

Son olarak, Şekil 4.4C'de gösterildiği gibi, GQD-NiAl₂O₄ nanokompozitinin oluşumunu gösteren Al-O grubuna ve karbon bağlı oksijen atomlarına karşılık gelen bariz XPS zirveleri gözlemlendi bu durum GQD-NiAl₂O₄ nanokompozitinin oluşumunu göstermiştir.

Bunlara ek olarak , -C-O-, -C-O-C-, -C== O- ve -O-C==O- grupları da dahil olmak üzere oksitlenmiş karbon atomlarının varlığı, nanokompozitte GQD oluşumunu doğrulamıştır.



Şekil 4.4. GQD-NiAl₂O₄ nanokompozit üzerinde (A) C 1s, (B) Ni 2p ve (C) O 1s'nin yüksek çözünürlüklü XPS spektrumları

FTIR ölçümleri (Şekil 4.5A) yapısal analiz için gerçekleştirilmiştir. GQD deki hidroksi ve karboksi gruplarına 2150-3450 cm⁻¹'de geniş bir bant bağlandı. 3500 cm⁻¹ ve 1690cm⁻¹ deki bantlar -OH gruplarının bükülme ve gerilme bantlarına karşılık geldi(8,127).

Ayrıca FTIR zirveleri sırasıyla 1690 cm⁻¹, 1410cm⁻¹ ve 1290 cm⁻¹ -C==C-, -C-H ve -C-O bağlarına atanmıştır(128).

NiAl₂O₄ spektrumunda , 2450-3650 cm⁻¹ ve 500-850 cm⁻¹'deki iki belirgin absorpsiyon bandı sırasıyla -OH ve -C==O gruplarına ve metal-oksijen titreşim modlarına bağlandı.

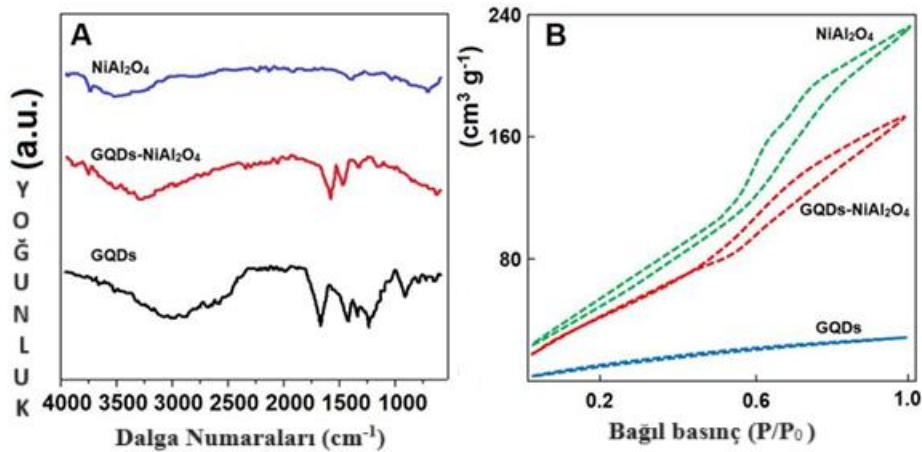
GQD-NiAl₂O₄ nanokompozit spektrumunda 2450-3650 cm⁻¹ de belirgin bir absorpsiyon bandı gözlemlendi. Bu grup -OH ve -C==O gruplarına karşılık geldi. Bunlara ek olarak, 1585 cm⁻¹ ve 1400 cm⁻¹'deki absorpsiyon bantları sırasıyla -C==C / -C==O işlevlerine ve -C-H titreşim modlarına bağlanmıştır.

GQD – NiAl₂O₄ nanokompozit spektrumu ayrıca sırasıyla Ni-O, Al-O ve Ni-O-Al bağlarına bağlanan 530 cm⁻¹ , 653 cm⁻¹ ve 685 cm⁻¹ de spesifik bantlar gösterdi (8,129).

GQD, NiAl₂O₄ ve GQD–NiAl₂O₄ nanokompozitlerinin gözeneklilikleri azot adsorpsiyon-desorpsiyon deneyleri ile araştırılmıştır (Şekil. 4.5B). Gözeneksiz bir malzeme olarak GQDs , gözeneksiz bir izoterm ortaya çıkardı. Ayrıca NiAl₂O₄ ve GQD– NiAl₂O₄ nanokompoziti , tip IV izoterm özelliklerini göstermiştir. Düşük bağıl basınçtaki noktalar, tek katmanlı adsorpsiyon ve mikro gözenekli yapıya karşılık gelirken, yüksek bağıl basınçtaki noktalar, çok katmanlı adsorpsiyon ve mezopor gözenek yapısına karşılık gelmiştir. NiAl₂O₄ ve GQD–NiAl₂O₄ nanokompozitinin azot adsorpsiyon-desorpsiyon eğrileri hakkında ve nanokompozit, desorpsiyon eğrisi histerezis döngüsüyle sonuçlandı.

GQD, NiAl₂O₄ ve GQD–NiAl₂O₄ nanokompozitlerinin BET değerleri sırasıyla 26,218 ve 200 m² g⁻¹ olarak hesaplandı. NiAl₂O₄ 'ün GQDs 'la modifikasyonu kalsinasyon süresini azaltarak, bildirilen verilere kıyasla NiAl₂O₄ 'ün spesifik yüzey alanını iyileştirdi(130).

Son olarak GQDs 'ı katkılındığında BET'teki hafif düşüşün nedeni GQD'lerin gözenek çapını etkileyememesi olmuştur.



Şekil 4.5. (A) GQD, NiAl₂O₄ ve GQD–NiAl₂O₄ nanokompozitinin FTIR spektrumları ve (B) GQD, NiAl₂O₄ ve GQD–NiAl₂O₄ nanokompozitinin N₂ adsorpsiyon-desorpsiyon izotermi.

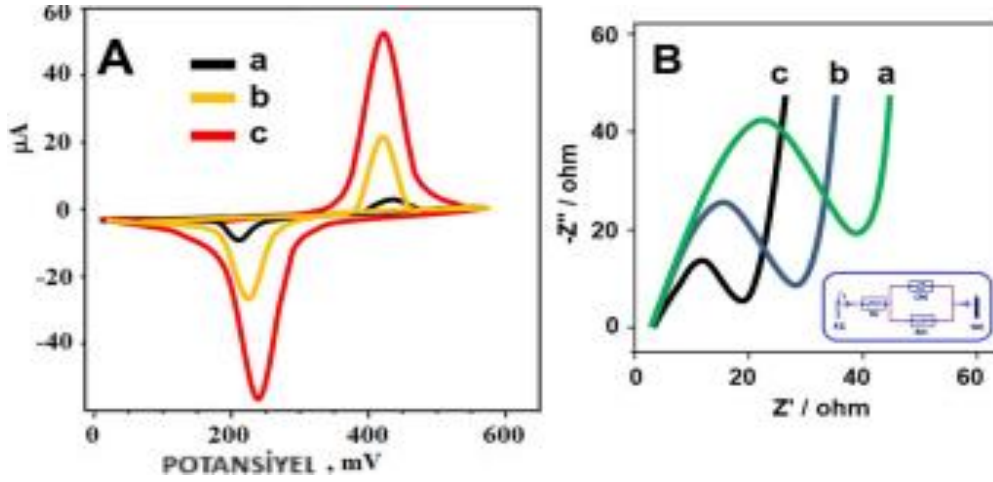
4.2.GQD, NiAl₂O₄ ve GQD–NiAl₂O₄ nanokompozit modifiyeli elektrotların elektrokimyasal karakterizasyonları

CV ve EIS ölçümleri uygulanarak GQD, NiAl₂O₄ ve GQD– NiAl₂O₄ nanokompozit ile modifiye edilmiş elektrotların elektrokimyasal karakterizasyonları yapılmıştır (Şekil 4.6.). Beklenildiği gibi, NiAl₂O₄/GCE kullanıldığında belirli bir akım değerinde anodik ve katodik pikler gözlemlendi (Şekil 4.6A'nın a eğrisi). GQDs/GCE kullanıldığında tepe akım değerlerinde daha fazla artış gözlemlendi. Özellikle, elektro-optik ve yüzey özellikleri sayesinde ve GQDs 'ın yüksek elektrik iletkenliği tepe akım değerlerinde daha fazla kataliz etkisi ortaya çıkmıştır (Şekil 4.6A'nın b eğrisi)(131,132).Son olarak, nikel bazlı metal oksitlerin GQDs 'ının sinerjik etkisi nedeniyle en yüksek tepe akım değerleri GQDs–NiAl₂O₄/GCE kullanılarak elde edilmiştir(133).

Elektrot alanları CV ile 1.0 mM [Fe(CN)₆]³⁻ varlığında aşağıdaki denklem kullanılarak değerlendirildi : $i_p = 2.69 \times 10^5 A n^{3/2} D^{1/2} C_V^{1/2}$ (134)

NiAl₂O₄/ GCE, GQDs / GCE ve GQDs–NiAl₂O₄/GCE'nin elektrot alanları sırasıyla 0.073 cm², 0.517 cm² ve 0.937 cm² ile doğrulandı. CV sonuçlarını doğrulamak için EIS ölçümleri uygulandı (Şekil. 4.6B). Şekil 4.6B'nin eki, GQDs–NiAl₂O₄/GCE için standart Randles devresini oluşturan deneysel verileri gösterir. Çözelti direncini (R_s), sabit faz elemanını (CPE) ve yük transfer direncini (R_{ct}) içeriyordu . R_{ct} değerleri NiAl₂O₄/GCE için 40 ohm (a eğrisi), GQDs/GCE için 30 ohm (b eğrisi) ve GQDs–NiAl₂O₄ /GCE için 18 ohm (c eğrisi) idi. En düşük R_{ct} değeri sonucunda , en kolay yük aktarımı GQD'lerde – NiAl₂O₄/GCE'de gerçekleşti. Böylece, CV ve EIS ölçümlerinin sonuçları uyumlu hale geldi.

Son olarak elektron transfer hızı sabiti (k⁰), 25 ° C'de $k^0 = 2.415 \exp(-0.02F/RT)D^{1/2}(E_p - E_{p/2})^{-1/2}v^{1/2}$ denklemi kullanılarak $1.09 \times 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$ olarak elde edildi ve bu, geri dönüşümsüz elektrokimyasal mekanizmayı gösterdi(135).



Şekil 4.6. (A) CV eğrileri ve (B) (a) EIS yanıtları NiAl₂O₄/GCE, (b) GQDs/GCE ve (c) GQDs–NiAl₂O₄/GCE'de (redoks probu: 5,0 mM [Fe(CN)₆]^{3-/4-} 0,1 M KCl içerir; potansiyel tarama hızı: 100 mV s⁻¹). Ekteki, GQDs – NiAl₂O₄/GCE için Randles eşdeğer devresidir. Frekans aralığı, 0,160 V resmi potansiyelde 20 mV dalga genliği ile 100000–0,1 Hz'dir. RE: referans elektrot ve WE: çalışma elektrotu.

4.3. GQDs– NiAl₂O₄/GCE üzerinde HMF baskılı polimerlerin üretimi

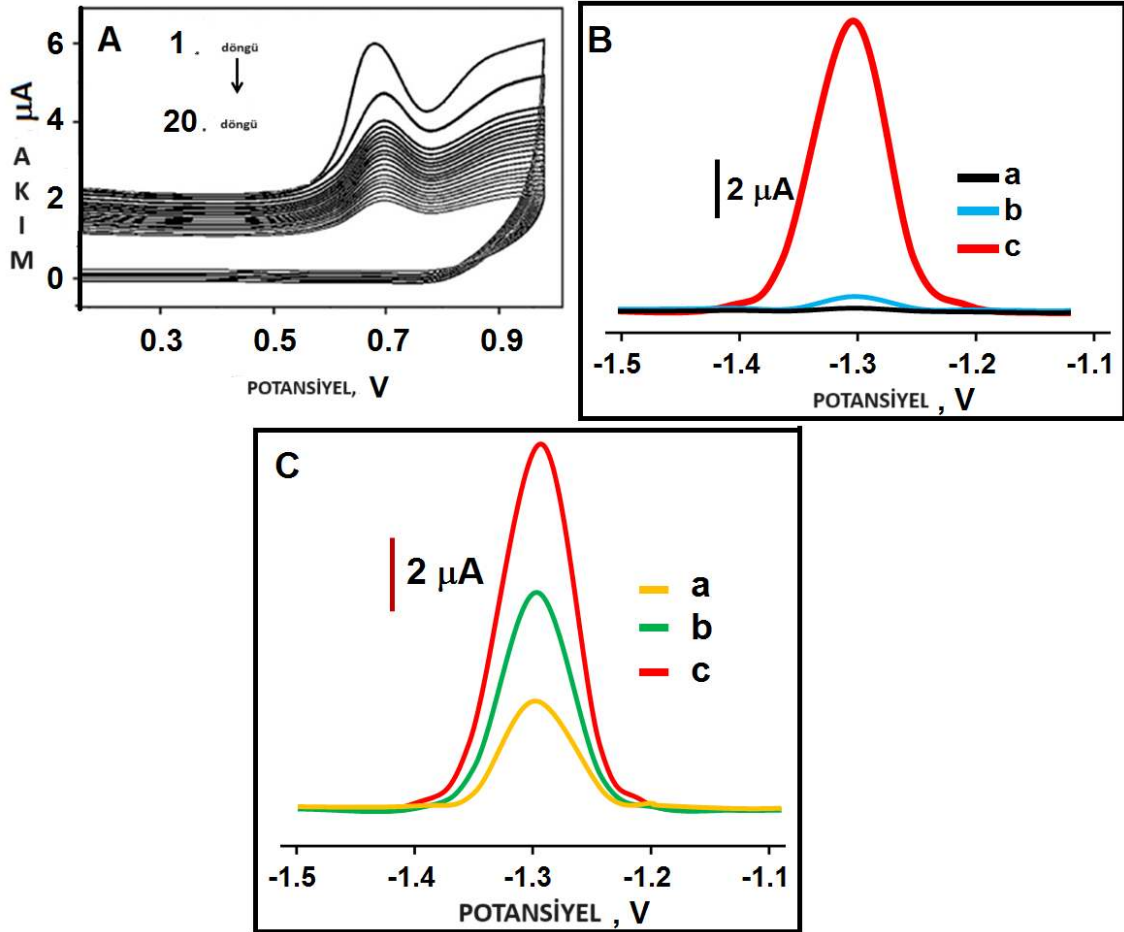
GQDs– NiAl₂O₄/GCE üzerine HMF baskılı bir polimerin geliştirilmesi için, 100.0 mM Py dahil 25.0 mM HMF bir elektrokimyasal hücreye aktarıldı. Azotu geçtikten sonra 20. döngü boyunca 10 dakika boyunca gaz, voltammogramlar gözlemlendi ve GQDs–NiAl₂O₄ / GCE üzerine kaydedildi .

Şekil 12de gösterildiği gibi , yaklaşık +0,70 V'daki sinyaller sonraki taramalarda kademeli olarak azalarak GQDs– NiAl₂O₄/GCE üzerinde bir HMF baskılı polimer oluşumunu sağladı.

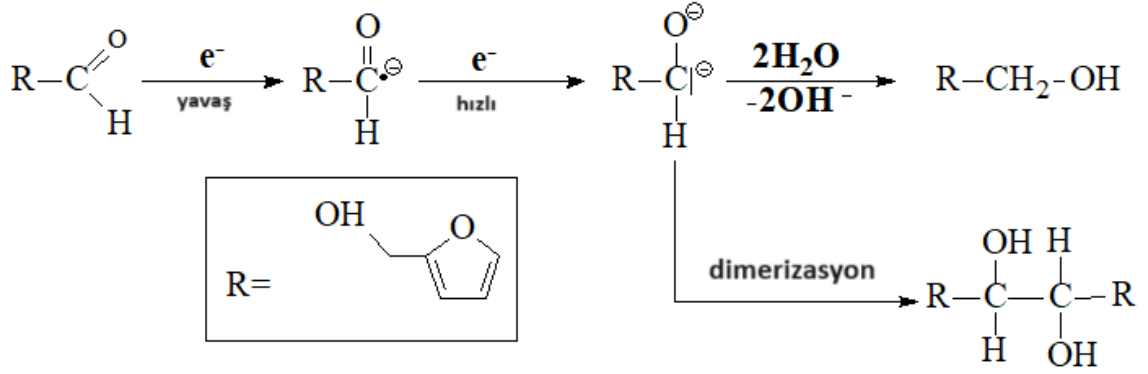
İkinci olarak, GQDs– NiAl₂O₄/GCE 'nin baskı seçiciliğini belirtmek için , SWV voltammogramları, 0,1 M PBS'de ve HMF'siz L HMF başına 5,0 ng varlığında MIP ve NIP elektrotları tarafından elde edildi. Beklenildiği gibi, HMF'siz olanda hiçbir elektrokimyasal sinyal yoktu (Şekil 4.7'nin a eğrisi). Bunlara ek olarak, 0,1 M'de L HMF başına 5,0 ng varlığında MIP elektrodunda gözlemlenen elektrokimyasal sinyaller (Şekil 4.7'deki c eğrisi) NIP elektrodundakilerden (Şekil 4.7'deki b eğrisi) daha yüksekti. PBS, baskı tekniğinin dikkate değer seçiciliğini teyit etmektedir.

Son olarak, MIP/ NiAl₂O₄/GCE (Şekil 4.7C'deki a eğrisi), MIP/GQDs/ GCE (Şekil 4.7C'deki b eğrisi) ve MIP/GQDs– NiAl₂O₄/GCE (Şekil 4.7'deki c eğrisi) gibi çeşitli HMF baskılı elektrotlar , 0,1 M PBS'de L HMF başına 5,0 ng olacak şekilde tasarlanmış ve uygulanmıştır. Beklendiği gibi, en yüksek elektrokimyasal sinyaller

MIP/GQDs– NiAl₂O₄/GCE'de hesaplandı. Ek olarak, MIP/GQDs– NiAl₂O₄/GCE'de iki elektron transferini içeren elektro-indirgeme mekanizması meydana geldi. İlk elektron transferi en yavaş olana karşılık geldi ve kararlı bir karbanyon bileşiği sayesinde alkali ortamda hızlandı (Şekil 4.8.) (136).



Şekil 4.7. (A) GQDs- NiAl₂O₄/ GCE üzerinde 25.0 mM HMF içeren 100.0 Mm Py polimerizasyonu (Tarama hızı: 100 mV s⁻¹), (B) Bu çalışmada hazırlanan elektrotların SWV: (a) Boş tampon solüsyonda MIP / GQDs- NiAl₂O₄ /GCE (pH 11.0), (b) 0.1 M PBS'de (pH 11.0) 5.0 ng L⁻¹ Hmf'nin yeniden bağlanmasından sonra NIP / GQDs- NiAl₂O₄ / GCE, (c) 0.1 M PBS'de (pH 11.0) 5.0 ng L⁻¹ hmf'nin yeniden bağlanmasından sonra MIP / GQDs-NiAl₂O₄ / GCE (Parametreler 100 Hz frekansdır, 25 mV'lik darbe genliği, 5 mV'lik tarama artışı), (C) 0.1 M PBS'de 5.0 ng L⁻¹ Hmf'nin yeniden bağlanmasından sonra farklı moleküler baskı elektrotlarının SWV (a) MIP / NiAl₂O₄ / GCE, (b) MIP / GQDs / GCE, (c) MIP / GQDS- NiAl₂O₄ / GCE



Şekil 4.8. MIP / GQDs-NiAl₂O₄ / GCE'de HMF için önerilen elektroredüksiyon mekanizması.

4.4. Optimizasyon Çalışmaları

Çözelti pH'ı, HMF'nin Py monomerine molar oranları, elüsyon süresinin ve tarama döngüsünün etkileri Şekil 4.9.'da ayrıntılı olarak tartışılmıştır.

4.4.1. pH etkisi

İlk olarak pH etkisi, ortam koşullarına bağlı olarak sensör sinyallerini etkileyen önemli bir faktördür. Şekil 4.9A ya baktığımızda sensör sinyal değerleri pH 11.0'a kadar yükselmiş ve böylece ideal pH olarak 11.0 seçilmiştir.

4.4.2. Mol oranı HMF'den Py'ye monomer etkisi

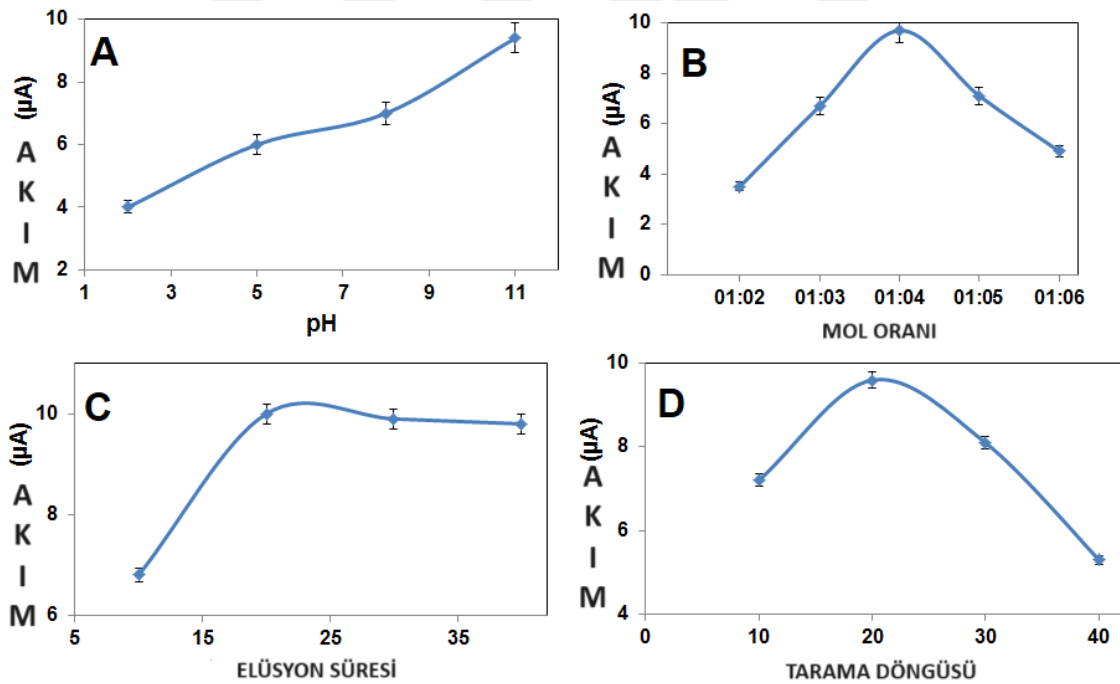
İkinci olarak, mol oranı hmf'nin Py monomer etkisine etkisi araştırılmıştır (Şekil 4.9B). Moleküler baskılı sensörlerin hazırlanmasında, monomer oranını dikkat bir şekilde ayarlamak gerekir. Büyük oranlarda monomer konsantrasyonlarında spesifik olmayan etkileşim olasılığı yüksektir. Düşük monomer konsantrasyonlarında, analit molekülünün bağlanma bölgelerinin sayısı düşüktür ve sensörün hassasiyetini önemli ölçüde etkiler. En yüksek sensör sinyali 100,0 mM Py ve 25,0 mM HMF kullanıldığında elde edilmiş görülmektedir.

4.4.3.Elüsyon süresi etkisi

Moleküler baskılanmış sensörlerin hazırlanmasında analit molekülünün elektrot yüzeyinden tamamen uzaklaştırılması çok önemlidir. Sensör hazırlığı durumunda adsorpsiyon-desorpsiyon kinetiği öncelikle sensörün performansını etkiler. Sonuç olarak, elüsyon süresinin iyi bir optimizasyonu gereklidir. Optimizasyon için birkaç desorpsiyon süresi denendi ve en uygun sinyal değeri 20 dakikada elde edildi (Şekil 4.9C).

4.4.4.Tarama döngüsü efekti

Elektrokimyasal sensör uygulamalarında hazırlanan elektrot yüzeyinin kalınlığı oldukça önemlidir. Film kalınlığı sensör performansını doğrudan etkileyen önemli bir faktördür. Düşük film kalınlığına sahip elektrot yüzeyinde sonikasyon işlemi sırasında nanokompozit malzemenin elektrot yüzeyinden kopması muhtemeldir. Bu nedenle farklı film kalınlıklarına sahip moleküler baskılı elektrotlar hazırlandı ve 20. tarama döngüsü ile elektrotta en yüksek sinyal elde edildi (Şekil 4.9D).



Şekil 4.9. (A) pH, (B) mol oranı, (C) elüsyon süresi, (D) tarama döngüsünün SWV'lerin sinyalleri üzerindeki etkisi ($0,5 \text{ ng L}^{-1}$ HMF varlığında) ($n = 6$)

5.TARTIŞMA

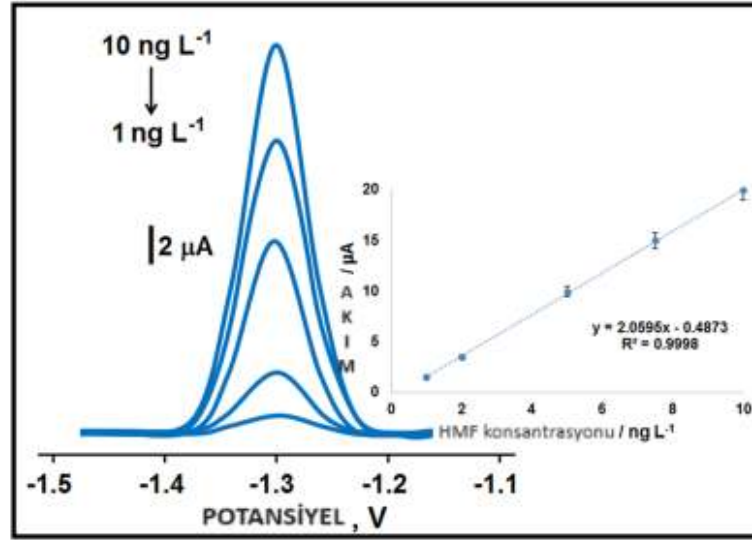
5.1.Ölçüm limiti (LOQ) ve Tespit limiti (LOD)

NiAl₂O₄/GCE'nin doğrusallık aralığı ilk olarak HMF konsantrasyonu ve SWV sinyalleri kullanılarak oluşturuldu. Dolayısıyla $y (\mu A) = 2,0595x(C_{HMF}, ng L^{-1}) - 0.4873$, ($R^2 = 0.9998$ gösterilir. Şekil 5.1'de ; LOQ ve LOD değerleri ,sırasıyla 1,0 ng L⁻¹ ve 0,30 ng L⁻¹ olarak hesaplandı . Ayrıca, geliştirilen sensör sayesinde HMF'nin tespiti yüksek hassasiyetle gerçekleştirildiği için, HMF'nin zararlı etkileri daha hızlı ve anında tespit edilmiştir . Tablo 5.1.1. de MIP/GQD–NiAl₂O₄/GCE performansının bildirilen yöntemlerle karşılaştırmasını göstermektedir . Sensörün hazırlanması sırasındaki GQDs , NiAl₂O₄ ve kompozit malzeme hidrotermal koşullarda yüksek verimle üretildiğinde çevre ve insan sağlığına dost bir yöntem sunulmuştur. Bu nedenle, bu çalışmada geliştirilen MIP sensörü ile HMF kaynaklı hastalıkların teşhisi daha mümkün olacaktır. Son olarak, yüksek seçicilik ve stabilite ile geliştirilen sensör sayesinde, bu analiz yöntemi HMF tespiti için literatürde mevcut olan tekniklere bir alternatif olarak gerçekleştirilebilir.

$$LOQ = 10.0 S / m$$

$$LOD = 3.3 S / m$$

Burada S : Kesişme noktasının standart sapmasını temsil ederken m : Regresyon çizgisinin eğimini temsil eder.



Şekil 5.1. PBS'nin pH 11.0'ında (1.0–10.0 ng L⁻¹ konsantrasyon aralığında) MIP/GQDs–NiAl₂O₄/GCE'de çeşitli HMF miktarlarına sahip SWV'ler .

Tablo 5.1.1. MIP/GQDs–NiAl₂O₄/GCE'nin performansının rapor edilen yöntemlerle karşılaştırılması.

Materyal / Metod	Doğrusal aralık	LOD	Ref.
MIP/ sıvı-sıvı ekstraksiyonu	1.0-7.0 mg L ⁻¹	0.372 mg L ⁻¹	30
Kapiler elektroforez	10.0 -80.0 mg L ⁻¹	0.09 mg L ⁻¹	42
HPLC	1.0-10.0 mg L ⁻¹	0.83 mg L ⁻¹	43
SWV	0.03-0.38 mg L ⁻¹	0.0021 mg L ⁻¹	41
Amino tuzak kolon darbeli amperometrik	1.0-100.0 mg L ⁻¹	0.10 mg L ⁻¹	44
HPLC-UV	0.67-4.17 ng mL ⁻¹	0.69 ng mL ⁻¹	45
MIP/GQDs–NiAl₂O₄/GCE	1.0-10.0 ng L⁻¹	0.30 ng L⁻¹	bu çalışma

5.2.Geri kazanım çalışmaları

Geri kazanım değerlendirmesi, MIP/GQDs– NiAl₂O₄/GCE'nin geçerliliğini göstermek için kahve gibi gerçek numuneler kullanılarak yapıldı . Tablo 5.2.1. sonuçların %100,00'e yaklaştığı kahve örneklerinde geri kazanım değerlerini göstermektedir. Böylece geliştirilen MIP/GQDs–NiAl₂O₄/GCE'nin HMF tespiti için yüksek afiniteye sahip olduğu sonucuna ulaşılmıştır .

Tablo 5.2.1. HMF'nin (n=6) geri kazanım sonuçları

Örnek	Eklenen HMF (ng L ⁻¹)	Bulunan HMF (ng L ⁻¹)	*Geri Kazanım (%)
Kahve	-	1.071 ± 0.003	-
	2.000	3.073 ± 0.006	100.07 ± 0.01
	5.000	6.069 ± 0.002	99.97 ± 0.03
	8.000	9.070 ± 0.008	99.99 ± 0.01

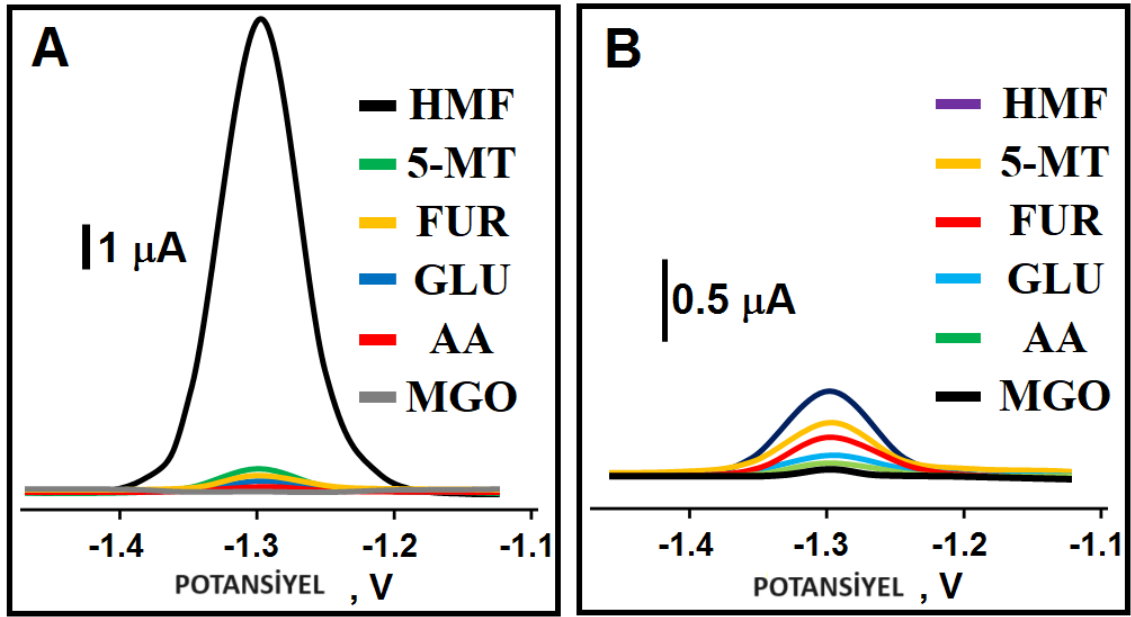
*Geri Kazanım = Bulunan HMF, ng L⁻¹ / Gerçek HMF, ng L⁻¹

5.3.Seçicilik, kararlılık ve yeniden kullanılabilirlik çalışmaları

MIP/GQDs–NiAl₂O₄/GCE'nin seçicilik çalışmaları, HMF ile etkileşim olasılığı yüksek olan seçilmiş kimyasal ajanların (5-MT, FUR, GLU, AA ve MGO) varlığında gerçekleştirilmiştir. Elektrokimyasal voltamogramlar üzerinde L HMF başına 5,0 ng, L 5-MT başına 500,0 ng, L FUR başına 500,0 ng, L GLU başına 500,0 ng, L AA başına 500,0 ng ve L MGO başına 500,0 ng MIP/GQDs– NiAl₂O₄/GCE ve NIP/GQDs– NiAl₂O₄/GCE için elde edildi. (Şekil 5.2A ve B).

Bunlara ek olarak, akım sinyalleri (µA) , seçicilik katsayısı (*k*) ve bağıl seçicilik katsayısı (*k'*) değerleri dahil olmak üzere Tablo 5.3. 'de gösterildiği gibi hesaplandı .

Kısaca, MIP/GQDs– NiAl₂O₄/GCE , spesifik nano boşluklar nedeniyle HMF için 5-MT, FUR, GLU, AA ve MGO'dan sırasıyla 20.00, 25.00, 33.33, 50.00 ve 100.00 kat daha seçiciydi. Elde edilen verilere dayanarak, HMF tespiti için oldukça seçici bir MIP sensörü başarıyla geliştirildi.



Şekil 5.2. 5,0 ng L⁻¹ HMF, 500,0 ng L⁻¹ 5-MT, 500,0 ng L⁻¹ FUR, 500,0 ng L⁻¹ GLU , 500,0 ng L⁻¹ AA ve 500,0 ng L⁻¹ MGO (A) MIP/GQDs-NiAl₂O₄/GCE ve (B) NIP/GQDs-NiAl₂O₄/GCE'nin SWV'leri

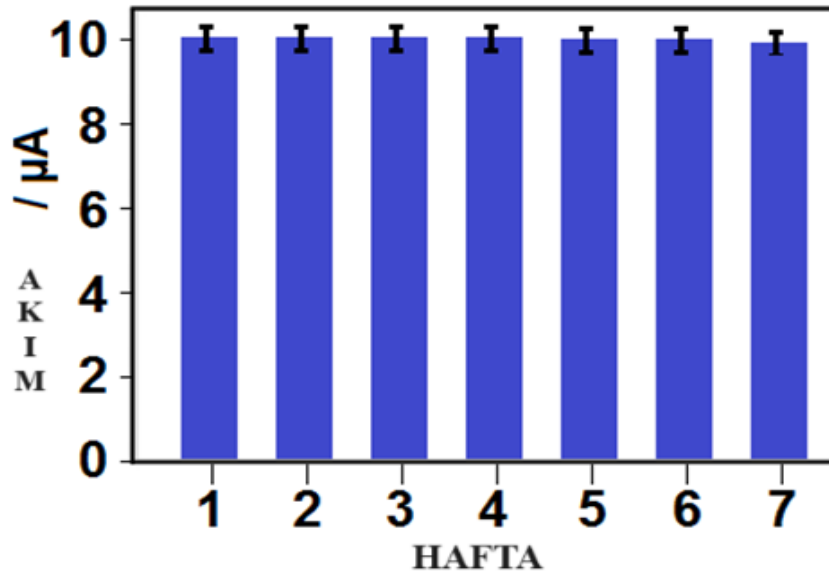
Tablo 5.3.1. HMF baskılı elektrotların seçicilik katsayısı(k)ve bağıl seçicilik katsayısı (k')değerleri (MIP/GQDs-NiAl₂O₄/GCE ve NIP/GQDs-NiAl₂O₄/GCE)

	MIP		NIP		**k'
	ΔI (μA)	*k	ΔI (μA)	*k	
HM	10.00	-	0.5	-	-
F			0		
5-MT	0.50	20.00	0.3	1.67	12.2
			0		0
FUR	0.40	25.00	0.2	2.50	10.0
			0		0
GLU	0.30	33.33	0.1	3.33	10.1
			5		0
AA	0.20	50.00	0.1	5.00	10.0
			0		0
MG	0.10	100.0	0.0	10.0	10.0
O		0	5	0	0

Analit konsantrasyonları : 5.0 ng L⁻¹ HMF, 500.0 ng L⁻¹ 5-MT, 500.0 ng L⁻¹ FUR, 500.0 ng L⁻¹ GLU, 500.0 ng L⁻¹ AA ve 500.0 ng L⁻¹ MGO; *k = $\Delta I_{HMF} / \Delta I_{müdahale}$ eden kimyasal ve **k' = k_{MIP} / k_{NIP}

Daha sonra stabilite testi yapıldı ve MIP/GQDs– NiAl₂O₄/GCE stabilitesi için sonuçlar elektrokimyasal sinyaller 7 hafta boyunca kaydedildi. Şekil 5.3'te gösterildiği gibi, yedinci haftanın sonundaki tepe sinyali, ilk haftanın sonunda hesaplanan tepe sinyalinin ~%98,31'i olarak değerlendirildi. Bu durum önerilen MIP/GQDs– NiAl₂O₄/GCE'nin yüksek kararlılığını sağlıyordu.

Son olarak MIP/GQDs– NiAl₂O₄/GCE 'nin yeniden kullanılabilirlik ölçümleri için alt bölüm 3.3. ve 3.4.'e göre tasarlanmıştır. 40 MIP/GQD–NiAl₂O₄/ GCE yüzeyleri 0,1 M PBS'de L HMF başına 5,0 ng'ye uygulandı ve 40 ölçüm için 0,39'luk bir bağıl standart sapma elde edilerek yüksek derecede yeniden kullanılabilirliği doğruladı.



Şekil 5.3. MIP/GQDs–NiAl₂O₄/GCE'nin 5.0 ng L⁻¹ HMF (n = 6) dahil stabilite testi

6. Sonuç

Kahve , dünya genelinde insanların en çok tükettiği bir içecektir. Bu nedenle kahvede HMF tespiti daha yaşanabilir bir yaşam için oldukça önemlidir. 5-Hidroksimetil furfural (HMF), fruktoz, süktroz ve glikoz gibi şekerlerin asidik bir ortamda veya Maillard reaksiyonu sırasında dehidre edilmesiyle üretilen bir ara maddedir. HMF, şeker içeren gıdaların uygunsuz sıcaklık koşullarında muhafaza edilmesi nedeniyle oluşabilir. Bu durum, ürün kalitesini belirlemede önemli bir kriter olarak kabul edilir. Bu çalışmada, kahve örneklerinde HMF'nin seçici olarak belirlenmesi için NiAl_2O_4 (GQDs– NiAl_2O_4) nanokompozit içeren grafen kuantum noktalarına dayalı yeni bir moleküler baskılı elektrokimyasal sensör geliştirilmiştir. GQDs– NiAl_2O_4 nanokompozitinin yapısal karakterizasyonları için çeşitli mikroskopik, spektroskopik ve elektrokimyasal yöntemler gerçekleştirilmiştir . Moleküler olarak basılmış sensör, 100.0 mM pirol monomer ve 25.0 mM HMF varlığında döngüsel voltametri (CV) kullanılarak çoklu tarama yoluyla hazırlandı. Yöntem optimizasyonundan sonra sensör, $0,30 \text{ ng L}^{-1}$ tespit limiti (LOD) ile $1,0\text{--}10,0 \text{ ng L}^{-1}$ aralığında HMF'ye doğru doğrusallık ortaya çıkardı. Geliştirilen MIP sensörünün yüksek tekrarlanabilirliği, seçiciliği, kararlılığı ve hızlı tepki yeteneği, kahve gibi yoğun tüketilen içeceklerde güvenilir HMF tespiti sağlayabilmektedir. Böylece bu yöntem, HMF'nin başta insan olmak üzere canlı organizmaların sağlığı üzerindeki olası olumsuz etkilerini tespit edip ortadan kaldırarak sağlık ve beslenme alanında önemli katkılar sağlayabilir. Bu çalışmada geliştirilen sensör ile HMF kaynaklı hastalıkların önlenmesine ve daha sağlıklı toplumların oluşması, toplumun sağlık düzeyinin yükseltilmesinde önemli bir geri dönüş olabilir. Sonuç olarak dünya çapında yaygın olarak tüketilen kahve içeceğinin tüketiminde içerisinde bulunan HMF tespiti sağlanıp , HMF birikimi sebebiyle oluşacak komplikasyonlar önlenmiş olacaktır. Ayrıca sensörün hazırlanması sırasındaki grafen kuantum noktaları , NiAl_2O_4 ve kompozit malzeme hidrotermal koşullarda yüksek verimle üretildiğinden çevre ve insan sağlığına dost bir yöntem olabilir.

KAYNAKÇA

1. Husøy, T., Haugen, M., Murkovic, M., Jöbstl, D., Stølen, L. H., Bjellaas, T., 2008. Dietary exposure to 5-hydroxymethylfurfural from Norwegian food and correlations with urine metabolites of short-term exposure. *Food and Chemical Toxicology* 46(12): 3697–3702.
2. W. C. Yang, C. Zhang, C. Li, Z. Y. Huang and X. Q. Miao, *J. Food Sci. Technol.*, 2019, 56, 2417–2425.
3. S. K. Sharma, S. P. Chaudhary, V. K. Rao, V. K. Yadav and T. S. Bisht, *J. Food Sci. Technol.*, 2013, 50, 784–790.
4. F. Donnarumma, R. Wintersteiger, M. Schober, J. Greilberger, V. Matzi, A. Maier, M. Schwarz and A. Ortner, *Anal. Sci.*, 2013, 29, 1177–1182.
5. E. Teixid'o, E. Moyano, F. J. Santos and M. T. Galceran, *J. Chromatogr. A*, 2008, 1185, 102–108.
6. O. S. Bölükbaşı, B. B. Yola, H. Boyacıoğlu and M. L. Yola, *Food Chem. Toxicol.*, 2022, 163, 112994.
7. B. B. Yola, C. Karaman, N. Özcan, N. Atar, I. Polat and M. L. Yola, *Electroanalysis*, 2022, 34, 1519–1528.
8. E. Regulska, J. Breczko, A. Basa, B. Szydłowska, K. Kakareko, A. Rydzewska-Rosołowska and T. Hryszko, *Mater. Today Commun.*, 2022, 33, 104166.
9. Rufián-Henares, J.A.; dela Cueva, S.P. Assessment of hydroxymethyl furfural intake in the Spanish diet. *Food Addit. Contam. Part A* 2008, 25, 1306–1312.
10. Barrios-Rodríguez, Y. F., Gutiérrez-Guzmán, N., Amorocho-Cruz, C. M., Pedreschi, F., & Celis, M. S. M. (2023). Integrated effect of yeast inoculation and roasting process conditions on the neo formed contaminants and bioactive compounds of Colombian roasted coffee (*Coffea arabica*). *Food Research International*, 164, 112380.
11. Anese M, Nicoli MC, Verardo G, Munari M, Mirolo G, Bortolomeazzi R. Effect of vacuum roasting on acrylamide formation and reduction in coffee beans. *Food Chem.* 2014 Feb 15;145:168-72.
12. Hecimović, I., Belščak-Cvitanović, A., Horžić, D., & Komes, D. (2011). Kavurma derecesinden etkilenen farklı kahve çeşitlerinde polifenoller ve kafeinin karşılaştırmalı olarak incelenmesi. *Gıda Kimyası* , 129(3), 991-1000.
13. Higdon, J.V., Frei, B. (2007). Coffee and health: A review of recent human research. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46, 101-123.

14. Şahin, B. (2022). Tarihsel süreçten günümüze kahve mekânlarının iç mekân tasarımlarının incelenmesi Yüksek Lisans Tezi ,Işık Üniversitesi.
15. Kaya, G., & Toker, S. (2019). Kahve Tüketim Alışkanlıklarının İncelenmesi: İstanbul. Uluslararası Ekonomi Siyaset İnsan ve Toplum Bilimleri Dergisi, 2(3):146-164.
16. Desmet-Grégoire, H., & Georgeon, F. (1999). Doğu'da Kahve ve Kahvehaneler, çev. Hélène Desmet-Grégoir ve François Georgeon, İstanbul: Yapı Kredi Yayınları.
17. Bajmaku, A. (2014) An evaluation of socio-cultural and political approaches to spaces of coffeehouses and coffee culture within the framework of popular culture: A case study in Kosovo.
18. Başaran, B. (2020). Erzurumda yaşayan bireylerin kahve tüketim alışkanlıkları ve akrilamid maruziyetinin belirlenmesi.
19. Clifford, Minnesota; Wilson, KC Kahve Botaniği, Biyokimya ve Fasulye ve İçecek Üretimi , 1. baskı; Springer: Westport, CT, ABD, 1985; s. 48–257.
20. Aguiar, J., Estevinho, B. N., & Santos, L. (2016). Microencapsulation of natural antioxidants for food application–The specific case of coffee antioxidants–A review. Trends in food science & technology, 58:21-39.
21. Fuller, M., & Rao, N. Z. (2017). The effect of time, roasting temperature, and grind size on caffeine and chlorogenic acid concentrations in cold brew coffee. Scientific reports, 7(1):17979.
22. Rao, N. Z., & Fuller, M. (2018). Acidity and antioxidant activity of cold brew coffee. Scientific Reports, 8(1):16030.
23. Dong, Ruihong & Zhu, Mengting & Yu, Qiang & Li, Chang & Xie, Jian-Hua & Huang, Yousheng & Chen, Y.. (2023). Exploring correlations between green coffee bean components and thermal contaminants in roasted coffee beans. Food Research International. 167. 112700. 10.1016/j.foodres.2023.112700.
24. Ludwig, I.A., Mena, P., Calani, L., Cid, C., Del Rio, D., Lean, M.E., Crozier, A. (2014). Variations in caffeine and chlorogenic acid contents of coffees: what are we drinking? Food& Function, 5, 1718-1726.
25. Jeszka-Skowron, M., Frankowski, R., ZgołaGrzeškowiak, A. (2020). Comparison of methylxantines, trigonelline, nicotinic acid and nicotinamide contents in brews of green and processed Arabica and Robusta coffee beans-

- Influence of steaming, decaffeination and roasting processes on coffee bean. *LWT - Food Science and Technology*, 125, 109344.
26. Moeenfarid, M., Alves, A. (2020). New trends in coffee diterpenes research from technological to health aspect. *Food Research International*, 134, 109207 .
27. Zain, M.Z.M., Shori, A.B., Baba, A.S. (2017). Composition and health properties of coffee bean. *European Journal of Clinical and Biomedical Sciences*, 3(5), 97-100.
28. Farah, A., & dos Santos, T. F. (2015). The coffee plant and beans: An introduction. In *Coffee in health and disease prevention* (pp. 5-10).
29. ICO. (2020). International Coffee Organization. ico.org: <http://www.ico.org>
30. İlkay, G. Ö. K. (2021). Kavurma işlemi, demleme/pişirme yöntemlerinin kahvenin biyoaktif bileşenlerine etkisi: Fonksiyonel içecek olarak insan sağlığına faydaları. *Food and Health*, 7(4):311-328.
31. Coelho, C., Ribeiro, M., Cruz, A. C., Domingues, M. R. M., Coimbra, M. A., Bunzel, M., & Nunes, F. M. (2014). Nature of phenolic compounds in coffee melanoidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(31):7843- 7853.
32. Farah, A., & de Paula Lima, J. (2019). Consumption of chlorogenic acids through coffee and health implications. *Beverages*, 5(1):11.
33. Langner, E., & Rzeski, W. (2014). Biological properties of melanoidins: a review. *International Journal of Food Properties*, 17(2):344-353.
34. Moreira, A. S., Nunes, F. M., Domingues, M. R., & Coimbra, M. A. (2012). Coffee melanoidins: structures, mechanisms of formation and potential health impacts. *Food & function*, 3(9):903-915.
35. Gök, İ. (2021). Kavurma işlemi, demleme/pişirme yöntemlerinin kahvenin biyoaktif bileşenlerine etkisi: Fonksiyonel içecek olarak insan sağlığına faydaları. *Food and Health*, 7(4), 311-328.
36. Poole, R., Kennedy, O. J., Roderick, P., Fallowfield, J. A., Hayes, P. C., & Parkes, J. (2017). Coffee consumption and health: umbrella review of meta-analyses of multiple health outcomes. *bmj*, 359:1-18.
37. Pourshahidi, K.L., Navarini, L., Petracco, M., Strain, J.J. (2016). A comprehensive overview of the risks and benefits of coffee consumption. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 671-684.

38. Goodman, B.A., Opitz, E., Smrke, , Yeretian, C. (2017). Engineering the composition of coffee to potentially improve its health benefits. *Journal of Nutrition and Dietetics*, 1(1), 1-9.
39. Wachamo, H.L. (2017). Review on health benefit and risk of coffee consumption. *Medicinal Aromatic Plants*, 6(4), 1- 12.
40. Saltan, F.Z., Kaya, H. (2018). Kahve: Bir farmakognozik derleme. *Journal of Pharmaceutical Science*, 43(3), 279- 289.
41. Oğuz, S., Erdoğan, Z. (2016). Kahve tüketiminin kalp sağlığı üzerine etkisi. *journal of cardiovascular. Kardiyovasküler Hemşirelik Dergisi*, 7(14), 136-139.
42. Wierzejska, R. (2017). Can coffee consumption lower the risk of Alzheimer's disease and Parkinson's disease? A literature review. *Archives of Medical Science*, 13(3), 507- 514.
43. Dirks-Naylor, A.J. (2015). The benefits of coffee on skeletal muscle. *Life Sciences*, 143, 182-186.
44. Cano-Marquina, A., Tarin, J.J., Cano, A. (2013). The impact of coffee on health. *Maturitas*, 75, 7-21.
45. Godos, J., Pluchinotta, F. R., Marventano, , Buscemi, , Li Volti, G., Galvano, F., Grosso, G. (2014). Coffee components and cardiovascular risk:beneficial and detrimental effect. *International Jornal of Food Science and Nutrition*, 65(8), 925-36.
46. Sözlü, S., Yılmaz, B., Tek, N. (2017). Kahve Tüketimi ve Bazı Hastalıklarla İlişkisi. *SDÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(2), 33-39.
47. Shapla, Ummay Mahfuza, et al. "5-Hydroxymethylfurfural (HMF) Levels in Honey and Other Food Products: Effects on Bees and Human Health." *Chemistry Central Journal*, vol. 12, no. 1, Apr. 2018, p.
48. Gomes, F. N. D. C., Pereira, L. R., Ribeiro, N. F. P. ve Souza, M.M.V.M., 2015. Production of 5- hydroxymethylfurfural (HMF) via Fructose Dehydration: Effect of Solvent and SaltingOut. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 32(1), 119-126.
49. Batu, A., Küçük, E. ve Çimen, M., 2013. Doğu Anadolu ve Doğu Karadeniz Bölgeleri Çiçek Ballarının Fizikokimyasal ve Biyokimyasal Değerlerinin Belirlenmesi. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 8(1), 52-62.

50. Kılıçer, M. C. (2011). Geleneksel Yollarla Üretilen Reçel Örneklerindeki Hidroksimetilfurfural'ın Miktar Tayini. Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Ana Bilim Dalı, Bitirme Ödevi, Mayıs.
51. Toker, O. S., Dogan, M., Ersöz, N. B., & Yilmaz, M. T. (2013). Optimization of the content of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) formed in some molasses types: HPLC-DAD analysis to determine effect of different storage time and temperature levels. *Industrial Crops and Products*, 50:137-144.
52. Capuano, E., Fogliano, V., 2011. Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies. *LWT-Food Science and Technology*, 44 (4): 793-810.
53. Jaeger, H., Janositz, A., Knorr, D., 2010. The maillard reaction and its control during food processing. The potential of emerging Technologies. *Pathologie Biologie*, 207-213.
54. Silván, J. M., Assar, H. S., Srey, C., De Castillo, M. D., Ames, J. M., 2011. Control of the Maillard reaction by ferulic acid. *Food Chemistry*, 128 (1): 208-213.
55. Brownlee, M., Vlassara, H., Cerami, A., 1984. Nonenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic complications. *Annals of Internal Medicine*, 101(4): 527-537.
56. Kroh, L. W., Caramelisation in food and beverages. *Food Chemistry*, 51, 373-379, 1994.
57. Ledl, F., Schleicher, E., 1990. New aspects of the maillard reaction in foods and in the human body. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 29 (6): 565-594.
58. Hodge, E.J., 1955. The Amadori rearrangement. *Advances in carbohydrate chemistry*, 10 (1): 169-205.
59. Silván, J.M., Van de Lagemaat, J., Olano, A., Del Castillo, M.D., 2006. Analysis and biological properties of amino acid derivatives formed by Maillard reaction in 97 foods. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41 (5): 1543- 1551.
60. Acar, J., Gökmen, V., 2005. Meyve ve Sebze Gıdaları Teknolojisi. Hacettepe Üniversitesi yayınları, Ankara, 674 pp.

61. Anet, E. F. J. L., 1959. Chemistry of nonenzymic browning. IX. Studies of sugar mono-esters of malic acid found in browned freeze-dried apricots. *Australian Journal of Chemistry*, 12 (3): 483-490.
62. Ames, J.M., 1992. The Maillard Reaction. In Hudson, B.J.F (Ed): *Biochemistry of Food Proteins*, London, Elsevier, 684 pp.
63. Hofmann, T., Bors, W., Stettmaier, J., 1999. Radical-assisted melanoidin formation during thermal processing of foods as well as under physiological conditions. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 47 (2): 391-396.
64. Alais, C. and Linden, G., Non-enzymatic browning-the Maillard reaction, In "Food Biochemistry", 222 p., I. D. Morton (Ed.), Ellis Horwood Limited, England, 1991.
65. Buera, M. D. P., Chirife, J., Resnik, S. L. and Wetzler, G., Nonenzymatic browning in liquid model systems of high water activity: Kinetics of color changes due to Maillard's reaction between single sugars and glycine and comparison with caramelization browning. *Journal of Food Science*, 52, 4, 1063-1067, 1987.
66. Ekici, L., Farklı Polimer Filmlerde Ambalajlanan Üzüm Suyu Konsantresinde HMF Oluşumu, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara, 2005.
67. Brudzynski, K., & Kim, L. (2011). Storage-induced chemical changes in active components of honey de-regulate its antibacterial activity. *Food Chemistry*, 126(3):1155-1163.
68. Sırıklı, İ. K., & Kara, H. H (2022). Gıda Güvenliği Riskleri Bakımından Yöresel Pişirme Yöntemleri.
69. Choudhary A., Kumar V., Kumar S., Majid I., Aggarwal P., Suri, S. (2021). 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) Formation, Occurrence and Potential Health Concerns: Recent Developments, *Toxin Reviews*, 40:4: 545 -561.
70. Rufián-Henares, J. A., & Delgado-Andrade, C. (2009). Effect of digestive process on Maillard reaction indexes and antioxidant properties of breakfast cereals. *Food Research International*, 42(3):394-400.
71. Locas, C. P. & Yaylayan, V. A. (2008). Isotope labeling studies on the formation of 5- (hydroxymethyl)-2-furaldehyde (HMF) from sucrose by pyrolysis GC/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(15):6717-6723.

72. Lee, H. S., & Nagy, S. (1990). Relative Reactivities Of Sugars In The Formation Of 5- Hydroxymethylfurfural In Sugar-Catalyst Model Systems. *Journal Of Food Processing And Preservation*, 14(3): 171–178.
73. Pereira, V., Albuquerque, F.M., Ferreira, A.C., Cacho, J., Marques, J.C., 2011. Evolution of 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) and furfurall (F) in fortified 100 100 wines submitted to overheating conditions. *Food Research International*, 44 (1): 71-76.
74. Perez-Locas, C., Yaylayan, V.A., 2008. Isotope labeling studies on the formation of 5-(hydroxymethyl)-2-furaldehyde (5-HMF) from sucrose by pyrolysis-GC/MS. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56 (15): 6717-6723.
75. Teixidó, E., Núñez, O., Santos, J.F., Galceran, M.T., 2011. 5-Hydroxymethylfurfural content in foodstuffs determined by micellar electrokinetic chromatography. *Food Chemistry*, 126 (4): 1902-1908.
76. Manzocco, L., Calligaris, S., Mastrocola, D., Nicoli, M. C., Lerici, C. R., 2001. Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends in Food Science and Technology*, 11 (9-10): 340-346.
77. Burdurlu, H.S., Koca, N., Karadeniz, F., 2006. Degradation of vitamin C in citrus juice concentrates during storage. *Journal of Food Engineering*, 74 (2): 211- 216.
78. Nizamlioğlu, N. M., & Sebahattin, N. A. S. (2019). Gıdalarda akrilamid oluşum mekanizmaları, gıdaların akrilamid içeriği ve sağlık üzerine etkileri. *Akademik Gıda*, 17(2):232-242.
79. Yangılar, F. (2013). Süt ve Süt Ürünlerinde Hidroksimetilfurfural HMF. *Akademik Gıda*, 11(3-4):70-76.
80. Batu, A., Aydoymuş, R. E., & Batu, H. S. (2014). Gıdalarda hidroksimetilfurfural (HMF) oluşumu ve insan sağlığı üzerine etkisi. *Electronic Journal of Food Technologies*, 9(1):40-55.
81. Schultheiss, J., Jensen, D., Galensa, R., 1999. Hydroxymethylfurfural and furfural in kaffeeeproben: HPLC–Biosensor–Kopplung mit supressionstechnik. *Lebensmittelchemie* 53, 159.
82. Murkovic, M., Pichler, N., 2006 Analysis of 5-hydroxymethylfurfual in coffee, dried fruits and urine. *Mol. Nutr. Food Res.* 50 (9), 842–846.

83. Liu, C., Yang, N., Yang, Q., Ayed, C., Linforth, R., and Fisk, I. D. (2019). "Enhancing Robusta coffee aroma by modifying flavour precursors in the green coffee bean", *Food Chemistry*, 281:8-17.
84. Ayseli, M.T. (2015). Türk kahvesinin aroma ve aroma-aktif bileşikleri üzerine iki farklı kavurma işleminin etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çukurova Üniversitesi.
85. Poisson, L., Schmalzried, F., Davidek, T., Blank, I., and Kerler, J. (2009). "Study on the role of precursors in coffee flavor formation using in-bean experiments" *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(21):9923-9931.
86. Petisca, C., Henriques, A. R., Pérez-Palacios, T., Pinho, O., & Ferreira, I. M. P. L. V. O. (2014). Assessment of hydroxymethylfurfural and furfural in commercial bakery products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 33(1): 20-25.
87. Severin, I., Dumont, C., Jondeau-Cabaton, A., Graillot, V., & Chagnon, M. C. (2010). Genotoxic activities of the food contaminant 5-hydroxymethylfurfural using different in vitro bioassays. *Toxicology letters*, 192(2): 189-194.
88. Abu-Bakar, N. B., Makahleh, A., & Saad, B. (2014). Vortex-assisted liquid-liquid microextraction coupled with high performance liquid chromatography for the determination of furfurals and patulin in fruit juices. *Talanta*, 120: 47-54.
89. Giovanelli, G., & Cappa, C. (2021). 5-hydroxymethylfurfural formation in bread as a function of heat treatment intensity: Correlations with browning indices. *Foods*, 10(2): 417.
90. Hoxha, F., Kongoli, R., Malollari, I., Tosti, T., Milojkovic-Opsenica, D., & Tesic, Z. (2019). Analysis of some albanian market honey based on 5-hydroxymethylfurfural (HMF) content with its impact on human health. *Journal of Environmental Protection and Ecology*, 20(1): 496-504.
91. Zhao, M., Xu, J., Qian, D., Guo, J., Jiang, S., Shang, E. X., ... & Du, L. (2014). Characterization of the metabolism of 5-hydroxymethylfurfural by human intestinal microflora using ultra-high performance liquid chromatographyquadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Analytical Methods*, 6(11): 3826-3833.
92. Li, M. M., Wu, L. Y., Zhao, T., Wu, K. W., Xiong, L., Zhu, L. L., & Fan, M. (2011). The protective role of 5-hydroxymethyl-2-furfural (5-HMF) against acute hypobaric hypoxia. *Cell Stress and Chaperones*, 16: 529-537.

93. Monien, B. H., Frank, H., Seidel, A., & Glatt, H. (2009). Conversion of the common food constituent 5-hydroxymethylfurfural into a mutagenic and carcinogenic sulfuric acid ester in the mouse in vivo. *Chemical Research in Toxicology*, 22(6): 1123-1128.
94. Greilberger, J., Herwig, R., Greilberger, M., Stiegler, P., & Wintersteiger, R. (2021). Alpha-ketoglutarate and 5-HMF: a potential anti-tumoral combination against leukemia cells. *Antioxidants*, 10(11): 1804.
95. Murkovic, M., & Pichler, N. (2006). Analysis of 5-hydroxymethylfurfural in coffee, dried fruits and urine. *Molecular nutrition & food research*, 50(9), 842-846.
96. Wölkart, G., Schrammel, A. Koyani, C. N., Scherübel, S., Zorn-Pauly, K., Malle, E., ... & Mayer, B. (2017). Cardioprotective effects of 5-hydroxymethylfurfural mediated by inhibition of L-type Ca²⁺ currents. *British Journal of Pharmacology*, 174(20): 3640-3653.
97. Pastoriza de la Cueva, S., Álvarez, J., Végvári, Á., Montilla-Gómez, J., Cruz-López, O., Delgado-Andrade, C., & Rufián-Henares, J. A. (2017). Relationship between HMF intake and SMF formation in vivo: An animal and human study. *Molecular nutrition & food research*, 61(3): 1600773.
98. Lamiyan, A. K., Dalal, R., Katnoria, S., Ali, A., Kumar, N. R., & Singh, A. (2021). Honey Toxicity and Its Health Hazards Along with Related Mechanisms. In *Honey* (pp. 179-190). CRC Press.
99. Elmaoğulları, S., Kadan, E., Anadol, E., Gökçeoğlu, A., Çetinkaya, S., Yarım, GF, ... & Aycan, Z. (2020). 5-hidroksimetilfurfural'ın dişi wistar sıçanlarının ergenlik gelişimi üzerindeki etkileri. *Pediatric Endocrinolojide Klinik Araştırma Dergisi* , 12 (1): 79.
100. Grande, F., & Vincent, A. (2020). The Importance Of Food Composition Data For Estimating Micronutrient Intake: What Do We Know Now And Into The Future?. *Global Landscape Of Nutrition Challenges In Infants and Children*, 93:39-50.
101. Hedren, E., Diaz, V., & Svanberg, U. (2002). Estimation Of Carotenoid Accessibility From Carrots Determined By An In Vitro Digestion Method. *European Journal Of Clinical Nutrition*, 56(5):425-430.

102. Fernández-García, E., Carvajal-Lérida, I., & Pérez-Gálvez, A. (2009). In Vitro Bioaccessibility Assessment As A Prediction Tool Of Nutritional Efficiency. *Nutrition Research*, 29(11):751-760. Doi:10.1016/J.Nutres.2009.09.016.
103. Thakur, N., Raigond, P., Singh, Y., Mishra, T., Singh, B., Lal, M. K., & Dutt, S. (2020). Recent Updates On Bioaccessibility Of Phytonutrients. *Trends In Food Science & Technology*. Doi:10.1016/J.Tifs.2020.01.019.
104. Yaman, M., Çatak, J., Uğur, H., Gürbüz, M., Belli, İ., Tanyıldız, S. N., Yıldız, M. C. (2021). The Bioaccessibility of Water-Soluble Vitamins: A Review. *Trends in Food Science & Technology* (109):552– 563. Doi:10.1016/J.Tifs.2021.01.056.
105. Akkan, A.A., Özdemir, Y. ve Ekiz, H.L. (2001) Derivative spectrophotometric determination of 5(hydroxymethyl)-2-furaldehyde HMF and furfural in Locust an extract. *Nahrung*, 45 (1), 43-46.
106. Rada-Mendoza, M., Luz Sanz, M., Olano, A. and Villamiel, M. (2004) Formation of hydroxymethylfurfural and furosine during the storage of jams and fruit-based infant foods. *Food Chemistry*, 85, 605-609.
107. Arribas-Lorenzo, G., and Morales, F.J. (2010) Estimation of dietary intake of 5-hydroxymethylfurfural and related substances from coffee to Spanish population. *Food and Chemical Toxicology*, 48 (2), 644-649.
108. Monien, B., H., Engst, W., Barknowitz, G., Seidel, A., and Glatt, H., (2012) Mutagenicity of 5-Hydroxymethylfurfural in V79 Cells Expressing Human SULT1A1: Identification and Mass Spectrometric Quantification of DNA Adducts Formed. *Chemical Research in Toxicology*, 25 (7), 1484-1492.
109. Bhalla N., Jolly P., Formisano N., Estrela P. (2016). Introduction to biosensors. *Essays Biochem*, 60(1), 1-8.
110. Ferreira, L.S., De Souza, M.B., Trierweiler, J.O., Broxtermann, O., Folly, R.O.M., Hitzmann, B. (2003) Aspects concerning the use of biosensors for process control: experimental and simulation investigations. *Computers & Chemical Engineering*, 27 (8-9), 1165-1173.
111. Mello, L.D., Kubota, L.T. (2002) Review of the use of biosensors as analytical tools in the food and drink industries. *Food Chemistry*, 77 (2), 237-256.
112. Heising, R.A. (1946). Quartz crystals for electrical circuits, their design and manufacture. New York: Van Nostrand.

- 113.Janshoff, A., Galla, H.J.,Steinem, C. (2000) Piezoelectric mass-sensing devices as biosensors - An alternative to optical biosensors? *Angewandte ChemieInternational Edition*, 39 (22), 4004-4032.
- 114.Yola, M.L. (2013). *Farmasötik Preparatlardan ve Gıdalardan Tobramisin Tayini İçin Moleküler Baskılanmış Nanosensörlerin Geliştirilmesi*.
- 115.Bard, A.J.,Faulkner, L.R. (2001). *Electrochemical methods* (2 bs.). New York: John Wiley and Sons, Inc.
- 116.Karaman,T. (2021). Oksit Yarıiletkenlerin Hidrojen Tutma Kabiliyeti.
- 117.Icyer, N. C., & Durak, M. Z. (2020). Bitkisel Yağlarda Tağşiş Belirleme Metotları: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (Ftir) Spektroskopisi. *Helal Ve Etik Araştırmalar Dergisi*, 1(2), 137-148.
- 118.Ömer, G. 2014. Grafen Kuantum Nokta Ve Karşıt Noktaların Elektronik Özellikleri.12,22.
- 119.Song, Y., Zhu, S. and Yang, B. 2014. Bioimaging based on fluorescent carbon dots. *RSC Advances*, 4; 27184–27200.
- 120.Yadav, S. K., & Jeevanandam, P. (2014). Synthesis of NiO–Al₂O₃ nanocomposites by sol–gel process and their use as catalyst for the oxidation of styrene. *Journal of Alloys and Compounds*,610, 567-574. doi:10.1016/j.jallcom.2014.05.059
- 121.E. Regulska, J. Breczko and A. Basa, *Water*, 2019, 11, 953
122. X. Zhang, J. Wu, T. Li, C. Zhang, L. Zhu and S. Wang, *Chem. Eng. J.*, 2022, 429, 132181.
- 123.N. Ozcan, C. Karaman, N. Atar, O. Karaman and M. L. Yola, *ECS J. Solid State Sci. Technol.*, 2020, 9, 121010.
- 124.M. L. Yola, N. Atar, M. S. Qureshi, Z. Üstündağ and A. O. Solak, *Sens. Actuators, B*, 2012, 171–172, 1207–1215.
125. K. C. A. Francisco, A. Lobato, N. Tasic, A. A. Cardoso and L. M. Goncalves, *Talanta*, 2022, 250, 123723.
- 126.Y. Q. Sun, S. Q. Wang, C. Li, P. H. Luo, L. Tao, Y. Wei and G. Q. Shi, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2013, 15, 9907–9913.
- 127.M. Sivakumar, K. Pandi, S. M. Chen, S. Yadav, T. W. Chen and V. Veeramani, *J. Electrochem. Soc.*, 2019, 166, B29–B34
- 128.V. A. Chhabra, R. Kaur, N. Kumar, A. Deep, C. Rajesh and K. H. Kim, *RSC Adv.*, 2018, 8, 11446–11454.

- 129.T. Tangcharoen, J. T-Thienprasert and C. Kongmark, *J. Mater. Sci.: Mater. Electron.*, 2018, 29, 8995–9006.
- 130.E. Regulska, J. Breczko, A. Basa and A. T. Dubis, *Catalysts*, 2020, 10, 1003.
- 131.M. L. Yola and N. Atar, *J. Electrochem. Soc.*, 2016, 163, B718– B725
- 132.M. L. Yola and N. Atar, *Appl. Surf. Sci.*, 2018, 458, 648–655.
- 133.M. M. El-Wakil, A. M. Mahmoud, S. A. Alkahtani, A. A. Marzouk and R. Ali, *Biosens. Bioelectron.*, 2018, 109, 164–170.
- 134.M. L. Yola, T. Eren, N. Atar, H. Saral and I. Ermis, *Electroanalysis*, 2016, 28, 570–579.
- 135.J. Gonz'alez-Velasco, *Electroanalysis*, 1997, 9, 880–882.I. Salhi, Y. Samet and M. Trabelsi, *J. Electroanal. Chem.*, 2020, 873, 114326.



PAPER

Cite this: *Anal. Methods*, 2023, 15, 1932**Graphene quantum dots incorporated NiAl_2O_4 nanocomposite based molecularly imprinted electrochemical sensor for 5-hydroxymethyl furfural detection in coffee samples†**Hatice Ebrar Turan,^a Hilal Medetalibeyoglu,^b İlknur Polat,^a Bahar Bankoğlu Yola,^c Necip Atar^d and Mehmet Lütfi Yola ^{*a}

5-Hydroxymethyl furfural (HMF) is an intermediate produced by dehydrating sugars, such as fructose, sucrose, and glucose, in an acidic medium or during the Maillard reaction. It also occurs due to the storage of sugary foods at inappropriate temperatures. In addition, HMF is seen as a quality criterion in products. In this study, a novel molecularly imprinted electrochemical sensor based on graphene quantum dots incorporated NiAl_2O_4 (GQDs- NiAl_2O_4) nanocomposite was presented for the selective determination of HMF in coffee samples. Various microscopic, spectroscopic, and electrochemical methods were carried out for the structural characterizations of GQDs- NiAl_2O_4 nanocomposite. The molecularly imprinted sensor was prepared by multi-scanning using cyclic voltammetry (CV) in the presence of 100.0 mM pyrrole monomer and 25.0 mM HMF. After method optimization, the sensor revealed linearity towards HMF in the range of 1.0–10.0 ng L⁻¹ with a detection limit (LOD) of 0.30 ng L⁻¹. The developed MIP sensor's high repeatability, selectivity, stability, and fast response ability can provide reliable HMF detection in beverages, such as coffee, which is heavily consumed.

Received 13th March 2023
Accepted 20th March 2023

DOI: 10.1039/d3ay00382e

rsc.li/methods

EKLER

Ek 2. Kısa Özgeçmiş

KİŞİSEL BİLGİLER

1. Adı Soyadı : Hatice Ebrar TURAN KOYUNCU
2. Doğum Tarihi :
3. Mail Adresi :
4. Unvanı :
5. Öğrenim Durumu :

EĞİTİM

Derece	Alan	Üniversite	Yıl
Önlisans	Aşçılık	Anadolu Üniversitesi	2020-2023
Lisans	Beslenme ve Diyetetik	Hasan Kalyoncu Üniversitesi	2018-2021
Y. Lisans	Beslenme ve Diyetetik	Hasan Kalyoncu Üniversitesi	2022-2024

YABANCI DİLLER

Yabancı Diller	Seviye
Türkçe	Anadil
İngilizce	B1

AKADEMİK ÇALIŞMALAR

Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler (SCI & SSCI & Arts and Humanities)

Turan, HE, Medetalibeyoglu, H, Polat, I , Yola, BB, Atar, N & Yola, ML . (APR 13 2023). Graphene quantum dots incorporated NiAl₂O₄ nanocomposite based molecularly imprinted electrochemical sensor for 5-hydroxymethyl furfural detection in coffee samples . Analytical Methods . (15, 15), 1932-1938 ss.)