



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

KİMYA ANABİLİM DALI

**MELAMİN TEŞHİSİNE YÖNELİK MOLEKÜLER
BASKILANMIŞ MAGNETİK MEMBRANLARIN SENTEZİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gökhan YÜKSEL

DANIŞMAN

Doç.Dr. Mehmet ODABAŞI

AKSARAY, 2016



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

KİMYA ANABİLİM DALI

**MELAMİN TEŞHİSİNE YÖNELİK MOLEKÜLER
BASKILANMIŞ MAGNETİK MEMBRANLARIN SENTEZİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gökhan YÜKSEL

DANIŞMAN

Doç.Dr. Mehmet ODABAŞI

AKSARAY, 2016

AKSARAY ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ONAY BELGESİ

Aksaray Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 142305003 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi, "Gökhan YÜKSEL", ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "MELAMİN TEŞHİSİNE YÖNELİK MOLEKÜLER BASKILANMIŞ MAGNETİK MEMBRANLARIN SENTEZİ" başlıklı tezini, aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. Adı SOYADI**
 Kurum Adı

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Adı SOYADI**
 Kurum Adı

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Adı SOYADI**
 Kurum Adı

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Adı SOYADI**
 Kurum Adı

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Adı SOYADI**
 Kurum Adı

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Adı SOYADI**
 KurumAdı

Teslim Tarihi:29 Mart 2016
Savunma Tarihi:14 Nisan 2016

DOĞRULUK BEYANI

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, bilimsel etik, ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın yazdığımı, yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu ve bu eserleri her kullanışımında alıntı yaparak yararlandığımı belirtir; bunu şerefimle doğrularım.

Enstitü tarafından belli bir zamana bağlı olmaksızın, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildiririm.

Öğrencinin Adı SOYADI

İmza

ÖNSÖZ

Melamin plastik ve yapıştırıcı sektöründe kullanılan yüksek azot oranına sahip organik bir bileşiktir. İçinde ihtiva eden azot oranının yüksek oluşundan dolayı son yıllarda besinlerin içerisine, protein değerlerini yüksek göstermek için illegal olarak katılmaya başlanmıştır. Ancak canlı organizmada ciddi sağlık problemlerine yol açtığı yapılan deneyler ve gözlemler sonucunda belirlenmiştir. Özellikle melamin çözeltisinin renksiz, kokusuz ve gıdalarda tat değişimlerine neden olmadığından fiziksel açıdan tespiti mümkün değildir. Günümüzde melaminin teşhisi hızla artan bir ihtiyaç haline gelmiştir.

Moleküler olarak tanıma yöntemlerinden biri olan ‘Moleküler Baskılanmış Polimer’ sistemler yüksek seçicilikte moleküler tanıma ve ayırmayı vaat etmektedir. Günümüzde git gide artan bir şekilde hedef moleküllerin teşhisi ve ayırımı gibi ihtiyaçlara Moleküler Baskılanmış Polimerler cevap vermektedir. Özellikle spesifik tanıma bölgelerinin oluşu gıda, ilaç ve özellikle biyolojik sistemlerde artarak kullanılan bir metottur.

Melamin teşhisine yönelik moleküler baskılanmış polimer (MIP) temelli manyetik membranlar, düşük konsantrasyonlarda çalışabilen, pH ve sıcaklık değişimlerinden üç boyutlu yapılarını koruyabilen hızlı ve spesifik tanıma sağlayabilen aynı zamanda maliyet ve uygulama kolaylığı sağlama açısından melamin teşhisi için kullanılabilir. olması bu çalışmaya ticari bir değer katmaktadır.

Bu çalışma, Aksaray Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne 2015-079 numaralı proje ile desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Bilim ışığı ile bizi aydınlatıp, yol gösteren aynı zamanda sosyal hayatta ki duruşuyla bize örnek olan, sayın hocam Doç. Dr. Mehmet ODABAŞI'na ve bölümümüzün güzide hocaları Prof. Dr. Ayfer MENTEŞ, Doç. Dr. Nuri ÜNLÜ, Doç. Dr. Berkant KAYAN, Doç. Dr. Mahmut ERZENİN, Doç.Dr. Gözde BAYDEMİR PEŞİNT, Yrd. Doç. Dr. Didem BALUN KAYAN, Yrd. Doç. Dr. Muhsin KARAASLAN, Yrd. Doç. Dr.. Erkut YILMAZ, Yrd. Doç. Dr. Neslihan TEKİN, Yrd. Doç. Dr. Tüliden KALBURCU, Arş. Grv. Dr. Talat BARAN, Arş. Grv. Dr. Cem Burak YILDIZ, Dr. Şeyda CEYLAN CÖMERT'e maddi, manevi desteğini bir an olsun esirgemeyen çok sevdiğim babam Ahmet YÜKSEL, annem Sevgi YÜKSEL, ve kız kardeşim Gökçe YÜKSEL'e burada ikinci ailem olan BioChem gurubundaki Ömür ACET, Miren ŞEN ve Özlem ARSLAN'a ve artık hayat arkadaşım, yoldaşım olan çalışmalarım sırasında manevi desteğini her daim üzerimde bulunduran nişanlıma teşekkürlerimi sunarım.

Gökhan Yüksel

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ÖZET.....	vi
ABSTRACT	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
SİMGELER DİZİNİ	x
KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Melamin	1
1.1.1. Melamin kimyası ve toksikolojisi	2
1.2. Moleküler Baskılanmış Polimerler (MIP).....	3
1.2.1. MIP'lere genel bakış	3
1.2.2. Kovalent baskılama yöntemi.....	3
1.2.3. Non – kovalent baskılama yöntemi.....	4
1.2.4. Yarı kovalent baskılama yöntemi.....	5
1.2.5. Metal iyon ile baskılama yöntemi	5
1.2.6. Moleküler baskılanmış polimerlerin uygulama alanları	6
1.2.7. Moleküler baskılı polimerlerin özellikleri	7
1.3. Manyetizma.....	8
1.3.1. Manyetizmanın tarihsel gelişim süreci.....	8
1.3.2. Manyetizmanın sınıflandırılması	9
1.3.3. Manyetik polimerler.....	10
1.4. Membranlara Genel Bakış.....	11
2. LİTERATÜR ÖZETİ	12
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	17
3.1. Malzemeler.....	17

3.1.1. Kullanılan malzemeler	17
3.2. Yöntem.....	17
3.2.1. Melaminin (kalıp molekül) maksimum dalga boyunun belirlenmesi	17
3.2.2. Magnetik partiküllerin hazırlanması	17
3.2.3. Magnetik membranların hazırlanması.....	17
3.3. Manyetik Membranların Karakterizasyonu	19
3.3.1 Membranların taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri.....	19
3.3.2 Membranların manyetik alan kuvvetlerinin ölçümü (VSM).....	19
3.3.3 Melamin baskılanmış manyetik membranlar ile sulu çözeltiden melamin tutunması	19
3.3.4. Doğal ortamdan melamin tayini.....	19
3.3.5 Melamin baskılanmış magnetik membranların kromazine karşı davranışı....	20
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	21
4.1. Melamin Baskılanmış Magnetik Membranların Karakterizasyonu	21
4.1.1. SEM analizleri.....	21
4.1.2. Melamin baskılanmış magnetik membranların manyetizma ölçümleri	22
4.2. Melamin Çözeltisinin Spektrofotometrik Analizi	23
4.3. Melamin Baskılanmış Manyetik Membranlar ile Sulu Çözeltiden Melamin Tutunması.....	23
4.3.1 Melamin tutunmasına pH'nın etkisi.....	23
4.3.2 Melamin başlangıç derişiminin tutunma üzerine etkisi	24
4.4 Denge İzoterm Modelleri	25
4.5. Adsorpsiyonun Kinetik Modellemesi	28
4.6 Melamin ile Kirletilmiş Sütten Melamin Tespiti	29
4.7 Melamin Baskılanmış Magnetik Membranların Kromazine Karşı Seçicilik Deney Sonuçları	30
5. SONUÇLAR	33
KAYNAKLAR	35
EKLER.....	Error! Bookmark not defined.
ÖZGEÇMİŞ.....	41

ÖZET

MELAMİN TEŞHİSİNE YÖNELİK MOLEKÜLER BASKILANMIŞ MAGNETİK MEMBRANLARIN SENTEZİ

Bu çalışmanın amacı, sulu çözeltide insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilere sahip melaminin önderiştirilmesi ve belirlenmesi için, non-kovalent moleküler baskılama yöntemi (MIP) ile Poli(vinil alkol-co-etilen) (PVAE) kullanarak, melamin baskılanmış magnetik membranların hazırlanmasıdır. PVAE bir dağılma fazında jelleşme tekniğiyle hazırlanmıştır. Membranlara, manyetik özellik kazandırmak için, Massart yöntemi ile hazırlanan Fe_3O_4 partiküllerin, jel polimerin içine homojen bir şekilde dağılımı sağlanmıştır. Son olarak, kalıp melamin molekül (2,4,6-triamino 1,3,5-triazine) polimerizasyon ortamına katılmıştır. Hazırlanan melamin baskılanmış magnetik polimer, petrilere yayılarak film membranların oluşması sağlanmıştır. Elde edilen film membranlar, 0,5 cm çapında parçalara kesilerek, sulu ortamdan melaminin önderiştirme ve tanımlama çalışmalarında kullanılmıştır. Yüzey morfolojilerin aydınlatılması için Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) kullanılmıştır. Hazırlanan magnetik membranların manyetizma özellikleri, (VSM) ile ölçülmüştür. Deneylerden elde edilen bazı bulgular aşağıda rapor edilmiştir:

Absorpsiyon ölçümleri UV spektrofotometrede 233 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Melamin baskılanmış polimerler (MIP) ve baskılanmamış polimerler (NIP) ile maksimum melamin tutunması pH 5,0 de sırasıyla 308,8 µg melamin/g polimer ve 14,8 µg melamin/g polimer olarak gözlenmiştir. MIP ler yarışmacı ajan olarak kullanılan kromazine karşı da incelenmiş ve 89 µg kromazin/g polimer sonucu görülmüştür. Oluşturulan membranların desorpsiyonu 1M NaCl çözeltisi ile kolay ve hızlı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Melamin baskılanmış magnetik membranların özelliklerini değiştirmeden defalarca kullanıldığı gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Moleküler Baskılanmış Membranlar, Melamin, Magnetik Membranlar, Gıda Güvenliği

ABSTRACT

PREPERATION OF MOLECULARLY IMPRINTED MAGNETIC MEMBRANES FOR DIAGNOSIS OF MELAMINE

The aim of this study is to prepare melamine imprinted magnetic membrane with non-covalent molecular imprinting (MIP) method by using poly(vinyl alcohol-co-ethylene) (PVAE) for preconcentration and determination of melamine, having negative effects on people health, in a solution. PVAE was prepared by gelling techniques in a dispersed phase. For imparting magnetic properties to membranes, Fe_3O_4 particles prepared by the Massart method was distributed homogeneously into the polymer gel. Finally, template melamine molecules (2,4,6-triamino 1,3,5-triazine) were added into polymerization medium. Prepared melamine imprinted magnetic polymer was poured onto petri dishes to obtain film membrane. The obtained film membranes were cutted into 0.5 cm pieces in diameter for studies of preconcentration and determination of melamine in solution. Scanning Electron Microscope (SEM) was used. For elucidation of the surface morphology The magnetism characteristics of prepared membranes were measured with Vibrating Sample Magnetometer (VSM). Some of the results obtained from the experiments are reported below:

UV absorption measurements were conducted in a spectrophotometer at 233 nm. Maximum melamin adsorption with melamine imprinted polymers (MIP) and non-imprinted polymers was observed at pH 5.0 as 308,8 μg melamine/g polymer. and 14,8 μg melamin/g polimer, respectively. The use of melamine imprinted membranes was tested against to cyromazine as an competitor agent, as well, and maximum cyromazine adsorption with 89 μg cyromazine /g polymer was observed. The desorption of prepared membranes was carried out in an easy and fast way with with 1 M NaCl solution. It was observed that melamine imprinted magnetic membranes were several times without losing their properties.

Keywords: Molecularly Imprinted Membranes, Melamine, Magnetic Membranes, Food Safety

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1:	Sırası ile siyanürik asit, melamin ve ürik asitin moleküler yapısı..... 2
Şekil 1.2:	Moleküler baskılama teknolojisinin şematik gösterimi 3
Şekil 1.3:	Normal bir sarım etrafında oluşacak manyetik alan şematiği 9
Şekil 1.4:	Spinlerin farklı manyetizasyonlara göre dizilimi 10
Şekil 3.1:	Film membranlar; A: Melamin baskılanmış magnetik membranlar, B: Magnetik olmaya boş film membranlar.... 18
Şekil 3.2:	Polimer ile kalıp molekül arasındaki olası etkileşimlerin şematik gösterimi 18
Şekil 3.3:	Melamin (solda) ve Kromazin (sağda) molekül yapıları..... 20
Şekil 4.1:	Melamin baskılanmış polimerik membranların yüzey morfolojilerinin SEM analizleri. Şekil 4.1 A ve B: membranların yüzey morfolojileri; Şekil 4.1 C ve D: membranların yan kesit alanı..... 21
Şekil 4.2:	Magnetit partiküller ve magnetik membranların VSM değerleri..... 22
Şekil 4.3:	Melamin çözeltisinin UV dalga boyu taraması..... 23
Şekil 4.4:	Melamin tutunmasının pH ile değişim grafiği..... 24
Şekil 4.5:	Melamin adsorpsiyonuna melamin derişiminin etkisi..... 25
Şekil 4.6:	Mel-IP magnetik membranların Langmuir adsorpsiyon modeli..... 26
Şekil 4.7:	Mel-IP magnetik membranların Freundlich adsorpsiyon modeli..... 27
Şekil 4.8:	Süt, süt serumu ve sulu ortamlarda yapılan analiz çalışmalarının karşılaştırılması..... 29
Şekil 4.9:	Melamin ve Kromazin'in moleküler yapıları 31
Şekil 4.10:	Melamin baskılanmış magnetik membranların melamin ve kromazine karşı adsorpsiyonlarının karşılaştırılması..... 32
Şekil 1A:	Melamin için kalibrasyon doğrusu ve denklemi..... 40

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1: Non-Kovalent ile Kovalent baskılamanın karşılaştırılması	5
Çizelge 1.2: Polimerlerin özellikleri ve karakteristikleri.....	7
Çizelge 4.1: Melamin baskılanmış magnetik membranlara melamin adsorpsiyonu için Langmiur ve Freundlich izoterm sabitleri.....	27
Çizelge 4.2: Adsorpsiyon kinetik modelleme sonuçları.....	28
Çizelge 4.3: Melamin baskılanmış ve baskılanmamış magnetik membranlar üzerinde yapılan seçicilik katsayılarının hesaplanması.....	31

SİMGELER DİZİNİ

Am²	Manyetik hareket
C⁰	Santigrat
cm	Santimetre
emu	Elektromanyetik ünite
dk	Dakika
g	Gram
H	Manyetik Alan
K_d	Statik dağılma sabiti
K_F	Freundlich sabiti
K_L	Langmuir sabiti
L	Litre
M	Molar
mg	Miligram
mL	Mililitre
MΩ	Megaohm
μM	Mikromolar
μm	Mikrometre
μmol	Mikromol
μg	Mikrogram
Oe	Oersted –Manyetik Kuvvet
ppm	mg çözünen/litre
rpm	Dakikadaki devir sayısı
A	Ayırma faktörü
B	Ayırma faktörü oranı

KISALTMALAR DİZİNİ

CEC	Kapiler kromatografi
DMSO	Dimetil sülfoksit
EGDMA	Etilen glikol dimetakrilat
FDA	Amerikan gıda ve ilaç dairesi
Hgb	Hemoglobin
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
IDA	İminodiasetik asit
MAH	N-metaakriloil-(L)-histidine metil ester
MAPS	Moleküler katı faz dağılımı
MEL	Melamin
MMIP	Magnetik moleküler baskılanmış polimerler
MNPS	Magnetik nano partiküller
MIP	Moleküler baskılanmış polimerler
NIP	Moleküler baskılanmamış polimerler
PVAE	Poli(vinil alkol-co-etilen)
PVBC	Poli(vinil-benzil klorür)
PVC	Polivinil klorür
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
UV	Mor ötesi spektroskopisi
UPLC	Ultra performanslı sıvı kromatografisi
VSM	Titreşimli numune magnetometir

1. GİRİŞ

1.1. Melamin

Melamin (2,4,6-triamino-s-triazin, MEL), yaygın olarak laminatlar, yapıştırıcılar, plastik endüstrisinde ve melaminli reçine üretiminde kullanılan önemli bir kimyasaldır (Tomita vd., 1979, Frösch vd., 1989). Melaminin, geniş dağılımlı kullanımı ve toksik özelliklere sahip olması uluslararası endişeye yol açmıştır (Buur vd., 2008, Filigenzi vd., 2008). Melamin (1,3,5-triazin-2,4,6-triamin) üç amino grubu bulunduran, triazin analogunun bir türüdür. Melamin önemli miktarda azot (kütlece %66) içerdiğinden, bazı etik olmayan üreticiler tarafından, gıdaları yüksek protein değerindeymiş gibi göstermek amacı ile süt ve süt ürünleri içerisine eklenmektedir. ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), Avrupa topluluğu ve diğer ülkelerde çeşitli gıda ürünlerinde melamin için maksimum kalıntı limit kriterlerini belirlemiştirler. Bebek ürünlerinin formülü için melamin; 1 kg'lık ürün için 1 ppm ($\mu\text{g/mL}$) ve diğer süt ürünlerinde 2.5 ppm ($\mu\text{g/mL}$) üst standart limit olarak birçok ülke tarafından yasalaşmıştır (Chen 2009). Bu değerlerin altında ki oranlar paketleme esnasından geldiği kabul edilmektedir. Oral yol ile belirlenen sınırın üzerinde seviyelerde alınan melamin özellikle bebek ve çocuklarda, üriner sistem hastalıklarına neden olabilir. Bu nedenle, çocuklar için, süt ürünlerinde melamin belirlenmesi için duyarlı ve güvenilir bir yöntem gereklidir (Guan vd., 2009). Melamin ve siyanürik asit insan ve hayvan böbreklerinde çözülmeyen melamin kristalleri oluşumuna ve akut böbrek yetmezliğine yol açmaktadır (Yi vd., 1990; Tseng vd., 1994; Perdigao vd., 2006). 2007'ye kadar herhangi bir şüphe olmadığından melamin kontaminasyonu rutin bir şekilde takip edilmemekteydi. Gıda endüstrisinde toplam protein miktarını analiz etmek için yaygın olarak kullanılan analitik yöntem Kjeldahl yöntemidir. Ancak yukarıda belirtilen gıda güvenliği olaylarından dolayı Kjeldahl yöntemi ile protein miktarı tayininde sorunlar gündeme gelmiştir. Kjeldahl yöntemi ile gıdalarda protein, protein olmayan kaynaklardan ise azot ölçümü gerçekleştirilir ve bütün azot miktarı protein içeriği olarak varsayılır (Lin, 2009). Genel olarak, MEL içeren örnekler karmaşık matrislerde ve çok düşük bir konsantrasyonda bulunmaktadır, bu nedenle

MEL belirlenmesi çoğu zaman alet analizleri önce etkin bir numune hazırlamasını gerektirir (Deng vd., 2010). Melamin tespiti için geleneksel analitik yöntemler zaman alıcı, pahalı ve yoğun emek gerektiren yöntemlerdir. Bu sebeplerden ötürü; gıda maddeleri, işlenmiş gıdalar, hayvan yemlerinde ve paketlenmiş ürünlerde melamin ve analoglarının (örneğin, siyanürik asit, melamin siyanürat, ammelid, amelin ve disiyan diamit) tespiti için, basit, hassas, etkin ve spesifik olarak hedef molekülümüzü tanıyan, düşük maliyetli yöntemlerin geliştirilmesi gıda bilimi ve analitik kimya alanında artan bir ilgi görmektedir (URL-2).

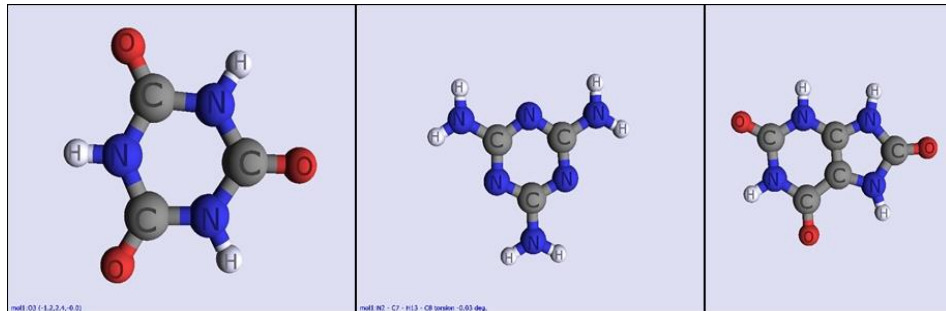
1.1.1. Melamin kimyası ve toksikolojisi

Melamin yüksek azot oranına sahip organik bir bileşiktir. Plastik sanayisinde, yapıştırıcı, otomotiv malzemeleri gibi dayanıklı materyallerin üretiminde başlıca kullanılan bir kimyasaldır. İlk olarak Alman kimyager Justus von Liebig tarafından 1830'lu yıllarda sentezlenmiştir.

Melamin, endüstriyel olarak iki şekilde sentezlenir; yüksek ya da düşük basınç yöntemi ile üreden elde edilir. Düşük basınçlı rotada, reaksiyon genellikle bir alümina katalizörü kullanılarak, buhar fazında gerçekleştirilir. Üre formları ilk olarak siyanamid ve izosiyanik asite dönüşür daha sonra melamin formuna geçer. Yüksek basınç işleminde; üre, melamin oluşturmak üzere amonyak ile reaksiyona sokulur ve siyanürik asit oluşturulur, bir katalizör kullanılmadığından, sıvı fazda gerçekleştirilir. Yan ürünler karbondioksit ve amonyak, geri elde edilir.

Isıtma ve yanma ile bozunur. Belirli koşullar altında yanıcıdır. Ateşli ortamda rahatsız edici dumanlar (gazlar) oluşturur. Yanma esnasında hidrojen siyanür, azot oksitler ve amonyak içeren zehirli ve tahriş edici gazlar üretir (URL-1, URL-2).

Siyanürik asit, mevcut olan klorlamayı stabilize etmek için havuz sularına eklenmektedir ya da yüzme havuzu klorlanmasında triklorotriazin oluşumu için öncü madde olarak kullanılmaktadır (Allen vd., 1982; Dufour vd., 2006).

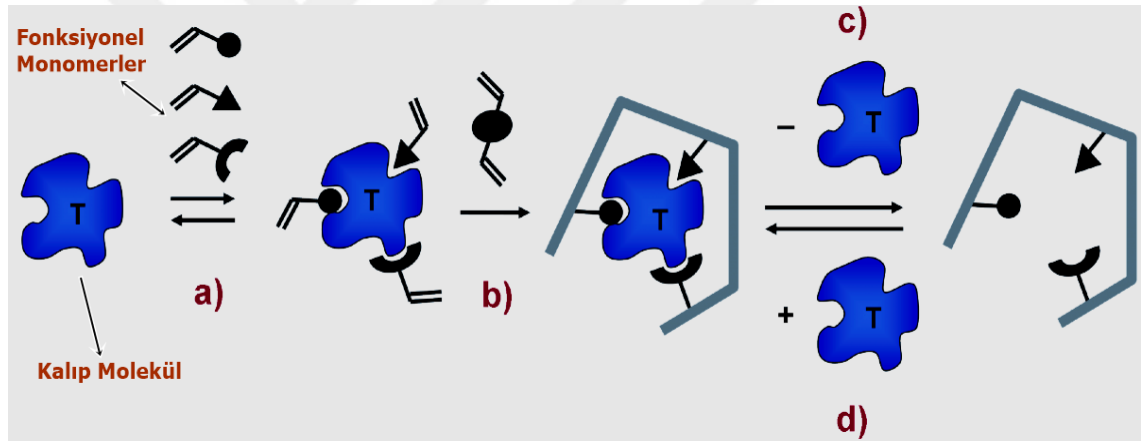


Şekil 1.1: Sırası ile siyanürik asit, melamin ve ürik asitin moleküler yapısı.

1.2. Moleküler Baskılanmış Polimerler (MIP)

1.2.1. MIP'lere genel bakış

Moleküler baskılama tekniği, bir kalıp molekülü etrafında fonksiyonel monomerlerin kovalent veya non-kovalent etkileşimlerle düzenlenmesi ve sonrasında uygun bir işlem süreci ile kimyasal fonksiyona sahip katı malzemelerin oluşturulmasını amaçlamaktadır. İşlem sonrasında kalıp molekülün uzaklaştırılması ile yapıda kalıp molekülüne özgü oyuk bölgeler oluşmakta olup ayırma, kimyasal tayin ve kataliz gibi işlemler için ideal bir malzeme elde edilmektedir (Wulff, 1995; Mosbach ve Ramstrom, 1996; Lu ve ark., 2002). Moleküler baskılama tekniği, kalıp moleküller yoluyla sentetik polimerlerde spesifik tanıma bölgeleri oluşturmaktadır (Lu ve ark., 2002; Jiang ve ark., 2007).



Şekil 1.2: Moleküler baskılama teknolojisinin şematik gösterimi.

Şekil 1.2’te T (template) olarak adlandırılan yapı baskılama yapılacak hedef molekülümüzü simgeler. Şekilde gösterilen fonksiyonel monomerler ile kalıp molekül non-kovalent veya kovalent etkileşime girerek ön kompleksi simgeler (a). Polimerizasyon tamamlanır ve kalıp molekülümüz etrafında polimer matriks oluşur (b). Uygun bir desorpsiyon ajanı ile kalıp molekül kalıptan uzaklaştırılır (c). Oluşturulan tanıma bölgelerine hedef molekülün spesifik olarak bağlanmasıdır (d).

1.2.2. Kovalent baskılama yöntemi

Polimerizasyon işlemi başlamadan önce kalıp molekül ile fonksiyonel monomerler arasında tersinebilir kovalent bağ etkileşimi sağlanır. Kalıp-monomer etkileşimde

Schiff bazı, metal koordinasyonu, ester, ketal oluşumu, amid gibi tersinir kovalent bağlarla oluşturulur. Polimerizasyon bittikten sonra kalıp molekül kovalent bağları kırılarak, kalıp molekül kalıptan uzaklaştırılır. Kalıp molekül, hedef molekülde denilebilir, polimer ile etkileştiğinde aynı kovalent bağlar tekrar oluşur. Spesifik ve homojen tanıma bölgeleri oluşturmada kalıp molekül ile fonksiyonel monomer seçimine dikkat edilmelidir. Kalıp ve fonksiyonel monomer arasındaki kovalent bağın kırılma işlemi, genellikle asit hidrolizini gerektirmektedir (Takeuchi ve Haginaka 1999; Andersson vd., 2000 ; Marty ve Mauzac 2005; Yan ve Row 2006). Fonksiyonel grupların sadece kalıp ile birleşmesi avantaj sağlamaktadır. Ancak alkoller, aldehitler, ketonlar, aminler, karboksilik asitler gibi belirli sayıdaki bileşik grubuna uygulanabilmesinden dolayı dezavantaj oluşturmaktadır (Turiel ve Esteban, 2010). Ayrıca hedef molekülün oluşturulan kalıp boşluğuna tekrar bağlanması kovalent türünde olduğundan bağlanma kinetiği yavaştır.

1.2.3. Non – kovalent baskılama yöntemi

Fonksiyonel monomer ile kalıp molekülün bağlanması kovalent olmayan (hidrojen bağı, elektrostatik etkileşimler, dipol-dipol ve koordinasyon bağ oluşumu gibi) etkileşimlerle gerçekleşir. Polimerizasyondan sonra uygun çözücülerle kalıp molekül polimerden uzaklaştırılır. Hedef molekül, baskılanmış polimerlere kovalent olmayan etkileşimlerle bağlanır. Kovalent olmayan yaklaşım polimerizasyon öncesinde kovalent olmayan etkileşimlerle kalıp molekül etrafında fonksiyonel monomerlerin düzenlenmesine imkan tanıdığından basit ve sorunsuzdur (Mosbach, 1981).

Kalıp molekülün kovalent modifikasyonuna gerek yoktur ve kalıp monomer kompleksi oluşturmak için farklı bağlanma etkileşimleri kullanılabilir. Kovalent olmayan bağlanma kinetiği kovalent bağlanmayla kıyaslandığında enzim-substrat bağlanmalarına benzer hız ve etkileşim kuvvetine sahiptir (Sellergren vd., 1988). Bu yüzden özellikle biyomateryellerin baskılama işlemlerinde en çok tercih edilen yöntemdir. Ancak zayıf etkileşimler etkin olduğundan dolayı kovalent baskılamaya göre daha kararsızdırlar. Bağlanma bölgesi heterojenitesi sebebiyle non-spesifik bağlanma gerçekleşebilmesi de dezavantaj oluşturmaktadır. Bazı durumlarda kalıp sızması da meydana gelebilmektedir. Bu durumda, kalıp molekül yerine analoglarının baskılanması uygun bir çözüm olmaktadır (Komiya vd., 2003).

1.2.4. Yarı kovalent baskılama yöntemi

Whitcombe ve arkadaşları tarafından 1990'lu yıllarda ortaya konulan ve geliştirilen yarı-kovalent (semi-kovalent) baskılamada kovalent ile non-kovalent baskılamanın avantajlarının bir araya getirilmesi amaçlanmıştır (Whitcombe vd., 1995). Baskılanmış polimerin hazırlanmasında fonksiyonel monomer ile hedef molekül kovalent olarak bağlanırken, hedef molekülün tekrar bağlanması non-kovalent etkileşimler ile gerçekleşmektedir (Whitcombe ve Vulfson, 2001). Bu yöntem bağlanma bölgelerinin afinitesinde daha düzenli bir dağılım sağlamaktadır (Turiel ve Esteban, 2010).

1.2.5. Metal iyon ile baskılama yöntemi

Metal bağlama kapasitesine sahip grupları içeren lineer polimerlerin çapraz bağlanması, metal iyonu ile fonksiyonel grup arasında oluşturulan ön-kompleks in daha sonra çapraz bağlayıcı ile polimerleştirilmesi, su-yag ara yüzeyinde polimerleştirme, organik polimerlerde baskılama yöntemleri uygulanabilir. Metal iyon aracılı baskılama işleminde kullanılan metal iyonları, birçok fonksiyonel grup üzerinden bağlanma kabiliyeti gösterir. Metalin dış yörüngesindeki boş orbitallere, ligandların heteroatomlarındaki elektronların verilmesiyle bağlanma gerçekleşir. Etkileşimin gücü, metalin oksidasyon basamağına ve ligand karakteristiğine bağlı olarak, zayıf kovalent bağ gibi davranan değiştirilemeyen kuvvetli bağlara kadar değişebilmektedir (Wulff, 2002). Bu yöntemle hazırlanan polimer, şablon olmadan hazırlanan bir kontrol polimerinden 2-3 kat daha yüksek bir katalitik aktivite göstermiştir. Bundan başka, alt-tabaka seçiciliği gözlemlenmiştir. Farklı bir amino asit şablon baskı için kullanılmışsa, karşılık gelen bir şablon p-nitrofenil ester, diğer baskılanmış polimerler ile daha kolay hidrolize edilmiştir.

Çizelge 1.1: Non-Kovalent baskılama ile Kovalent baskılamanın karşılaştırılması.

	Kovalent	Kovalent Olmayan
Monomer-kalıp molekül kompleksinin sentezi	Gerekli, zor	Gereksiz
Polimerizasyon koşulları	Oldukça serbest	Sınırlı

Çizelge 1.1(devam): Non-Kovalent baskılama ile Kovalent baskılamanın karşılaştırılması.

Polimerizasyondan sonra baskılanan molekülün uzaklaştırılması	Zor	Kolay
Baskılanacak molekülün bağlanması ve ayrılması	Yavaş	Hızlı
Baskılama Etkisi	Hedef moleküllerinin uzaklaştırılması sonucunda baskılama etkisi azalır.	Fazla miktardaki fonksiyonel monomer spesifik olmayan bağlanma bölgeleri oluşturur.
Seçicilik	Yüksek	Düşük

1.2.6. Moleküler baskılanmış polimerlerin uygulama alanları

Molekül baskılanmış polimerlerin başlıca kullanım alanları başlıklar altında şu şekilde sıralanabilir.

1. Moleküler tanımlama çalışmalarında,
2. Ayırma ve izolasyon işlemlerinde,
 - Kiral ayırmalar
 - Substrat-seçici ayırmalar
3. Polimerin antibadi ve reseptör taklidi olarak bağışıklık sistemi analizlerinde,
 - Ligand bağlı analizlerde rakip olarak
 - Tanı kullanımlarında
4. Polimerlerin katalitikte enzim taklidi olarak,
5. Biyosensör olarak,
6. Katı faz ekstraksiyonunda,
7. Sıvı kromatografisinde,
8. Kapiler elektroforezde,
9. Kapiler elektrokromatografide,
10. Kimyasal sensörlerde (Byrne, M. E. ve ark. 2002).

MIP'ler, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), katı faz ekstraksiyonu, bağ analizlerini içeren pek çok farklı analitik teknikte ve sensörlerde tanıma elemanı olarak kullanılır. HPLC'de sabit faz sorbentleri olarak MIP'lerin uygulamalarında, HPLC kolonlarını doldurmak için büyük miktarda MIP'lere ve dolayısıyla büyük miktarda hedef molekül gereklidir. Hedef moleküllerin pek çok durumda az bulunması ve pahalı olması problem oluşturabilir. Bu yüzden MIP'lere dayanan minyatürize edilmiş yeni kromatografik metotların geliştirilmesi gerekmektedir. Kapiler elektrokromatografi (CEC) bu isteği karşılar, çünkü kapiler kolon hacmi geleneksel HPLC kolon hacminden daha küçüktür. Ayrıca, yüksek derecede ayırma verimlilikleri gösterip, daha hızlı analiz zamanı ve daha az numune tüketilmesini sağlar.

1.2.7. Moleküler baskılı polimerlerin özellikleri

Moleküler baskılanmış polimerler; mekanik dayanıklılıkları, ısıya ve basınca olan dirençleri, fiziksel sağlamlılıkları, asitler, bazlar, değişken pH aralıklarından etkilenmemeleri, metal iyonlar ve organik çözücüler gibi ekstrem şartlar altında kararlılıkları nedeniyle oldukça dayanıklıdır.

Ayrıca polimerik matrikste olmaları çok uzun yıllar saklanabilmelerini ve geri kullanabilmelerini sağlamaktadır.

Çizelge 1.2: Polimerlerin özellikleri ve karakteristikleri.

Özellikler	Karakteristikleri
Fiziksel Özellikleri	Mekanik baskıya, yüksek basınca ve yüksek ısıya dayanıklı.
Kimyasal Özellikleri	Asitlere, bazlara, çeşitli organik çözücülere ve metal iyonlara dirençli.
Depolama Özellikleri	Performansı kaybetmeden çok uzun süre dayanabilir.

Çizelge 1.2(devam): Polimerlerin özellikleri ve karakteristikleri.

Kapasitesi	0,05 -10 mg baskılanmış molekül/g polimer.
Geri Kazanımları	>99%

1.3. Manyetizma

1.3.1. Manyetizmanın tarihsel gelişim süreci

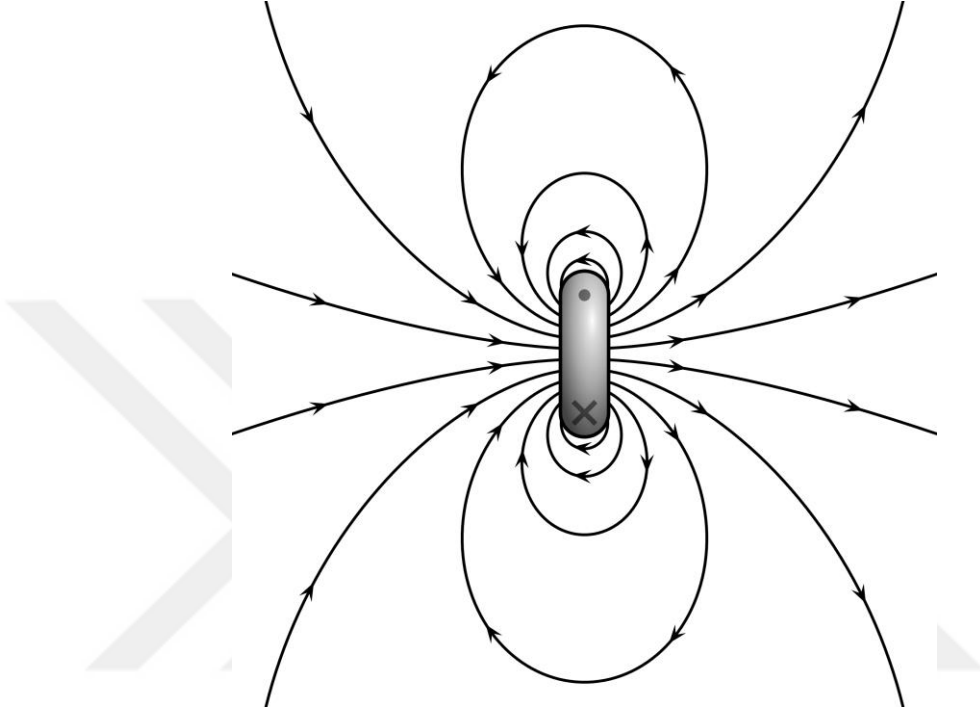
Manyetiklik ile ilgili ilk yazılı metin‘ Şeytan Ovası Ustasının Kitab’ı adlı eserde değinilir ve (Çin) M.Ö. 4. yüzyıla dayanır. Bu eserde: "Manyetit demiri çekebilir veya itebilir" yazmaktadır. En erken deneyler ise M.S 20. yüzyılda Çinliler tarafından gerçekleştirilmiştir. Manyetizma üzerine ilk bilimsel deney çalışmaları 1600’lü yıllarda İngiliz bilim adamı William Gilbert tarafından gerçekleştirilmiş ve manyetizma üzerine ilk bilimsel kitabı yazılmıştır. 1819 yılına gelindiğinde Oersted tarafından, elektrik akımı geçirilen bir telin, etrafındaki manyetik alanı etkilediğini saptamış ve gözlemlerine dayanarak elektrik akımı geçirilen telin kendi manyetik alanını oluşturduğunun sonucuna varmıştır. 1900’lü yıllarda Faraday bir devre yakınında bulunan ikinci bir devredeki akımı kesmiş ve birinci devrenin ikinci devreye geçişi bir akım sağladığını gözlemlemiş ve aynı etkiyi bir mıknatısında gösterdiğini saptamıştır. İlerleyen yıllarda Joseph Henry, hareketli elektrik yüklerinin manyetik etkiler meydana getirdiğini öne sürmüştür. Ampere, ilk kez maddelerin manyetik etkilerinin atomları etrafında dönen elektronların bir sonucu olduğunu kanıtlamıştır. Daha sonra Biot, Savart ve Coulomb tarafından manyetik alan hesaplamalarının temel kavram ve kanunlarını geliştirmişlerdir.

Bazı maddeler manyetik alana çekilir,bazıları ise itilir. Madde manyetik alana, H, yerleştirildiğinde manyetik indüksiyon, B, aşağıdaki denklem 1.1 ile gösterilir.

$$B= H + 4\pi M \quad (1.1)$$

Burada M , manyetizasyondur. Manyetik alana yerleştirilen malzemenin manyetik duyarlılığı (χ) manyetizasyonun, manyetik alanın büyüklüğüne oranı olarak ifade edilir (Denizli ve Küfrevioğlu, 2010).

$$\chi = M + H \quad (1.2)$$



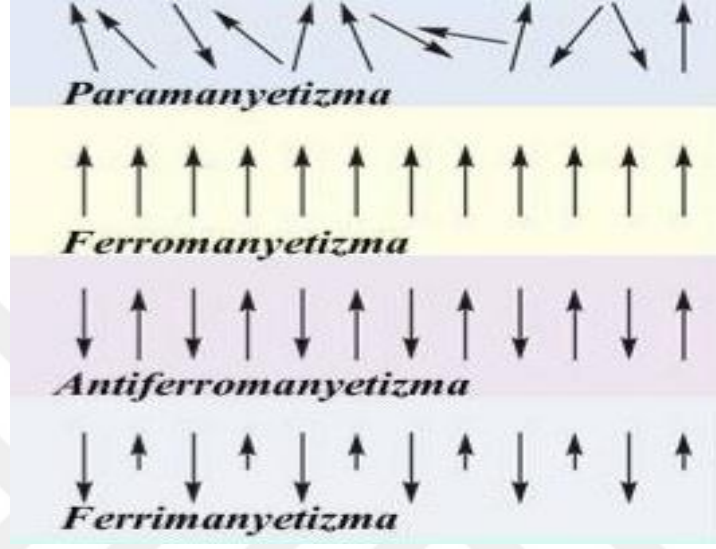
Şekil 1.3 : Normal bir sarım etrafında oluşacak manyetik alan şematığı.

1.3.2. Manyetizmanın sınıflandırılması

Moleküllerdeki elektronların ortaklanmış ya da ortaklanmamış olup olmasına bağlı olarak tüm malzemeler, manyetik özelliklerine göre diamanyetik ve paramanyetik olmak üzere ikiye ayrılabilir. Paramanyetizma, molekül veya iyondaki ortaklamamış elektron spini ile karakterize edilir. Diamanyetik manyetik indüksiyon (B) manyetik alandan (H) küçüktür ve χ değeri negatiftir. Paramanyetik molekülde ise B değeri H değerinden büyüktür ve χ değeri pozitifdir.

Paramanyetik türlerde gelişigüzel düzenlenmiş spinler arasındaki manyetik etkileşim sonucunda dört farklı manyetizasyon tipi mümkündür. Bunlar; birincisi spinler arası etkileşimin olmamasından dolayı gelişigüzel olarak düzenlenmiş spinli “Paramanyetizma” olarak adlandırılır. Paramanyetik türlerdeki ikinci manyetizma tipi, paramanyetik maddenin gelişigüzel düzenlenmiş spinleri diğerleri ile paralel

olarak düzenlenmiştir ve ‘‘Ferromanyetizma’’ olarak adlandırılır. Üçüncüsü, aynı değerde manyetik momente sahip spinlerin diğeri ile antiparalel olarak düzenlendiği ‘‘Antiferromanyetizma’’ olarak bilinir. Son olarak da spinleri antiparalel olarak düzenlenmiş, farklı değerlerde manyetik momente sahip olan yapılarda ‘‘Ferrimanyetizma’’dır (Denizli ve Küfrevioğlu, 2010).



Şekil 1.4: Spinlerin farklı manyetizasyonlara göre dizilimi.

1.3.3. Manyetik polimerler

Manyetik polimerler; nanometre boyutundan milimetre boyutuna kadar değişik çap ve boya varan geniş boyut aralığında, gözenekli veya gözeneksiz farklı yüzey morfolojisinde, yığın yapılarında hazırlanabilen malzemelerdir. Manyetik polimerler birçok ayırma işleminde yer alan düşük kirlilik gösteren, iyi kütle aktarımı sağlayan ve minimum aşınma göstermesi nedeniyle tercih edilir. Diğer ayırma işlemlerinde yer alan santrifüjleme ve süzme işlemleri enzimin ve/veya proteinin üçüncül yapısını bozarak aktivitesinde düşüşe neden olurken, manyetik polimerler ile bu tür problemler ortadan kalkmakta ve işletme maliyeti azalmaktadır.

Manyetik polimerleri hazırlama yöntemleri genel olarak, emülsiyon polimerizasyon, süspansiyon polimerizasyon, dispers fazda jelleşme ve çapraz bağlanma yöntemi ile elde edilir (Denizli, ve Küfrevioğlu, 2010).

1.4. Membranlara Genel Bakış

Membranlar ile maddelerin ayrılması endüstrisinin gelişimi ve insan yaşamı için vazgeçilmez olmuştur. Diyaliz, pillerin katı polimer elektroliti, analitik kimya, çeşitli ayrıştırma membranları, iyon değişim zarları, elektrolit geçirgen iyonik grup zarları ve benzeri gibi, birbirinden çok farklı alanlarda kullanılmaktadır (Domènech vd., 2012).

Polimer filmler genellikle, gazlarda, buharlarda, sıvılardaki iyonlar ve diğer maddelerin serbest iletim bariyerleri gibi kullanılan, zar ile ayrılmış iki ortam arasında madde akışı için kullanılan polimer film olarak tanımlanmıştır. En genel anlamıyla bir zar oldukça spesifik bir şekilde başka bir faz üzerinde çeşitli maddelerin taşınmasını kısıtlayan, iki faz arasındaki interfazın üzerine, mükemmel olmayan bir bariyer olarak tanımlanabilir.

Membranların temelinde iki farklı sınıflandırma mevcuttur bunlar; biyolojik membranlar ve sentetik membranlardır.

İlk grup biomembranlar, organizma içerisinde fonksiyonel alanları birbirinden ayırır. İnsan vücudunda ve diğer biyolojik canlılarda hücre zarları, epitelial membranlar, hücre içi organellerin membranları gibi bir çok farklı membranlar bulunmaktadır. Bu zarlar bileşim olarak olsun yapı ve işlev açısından olsun farklılık gösterir.

İkinci grup membranlar, sentetik membranlardır. Bunlar, doğal ve sentetik polimer, metaller, seramik, cam, karbonlar ve kombinasyonlarını içeren geniş çeşitliliğe sahiptir (Piskin ve Hoffman, 2012).

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Odabaşı vd., (2007) yaptıkları çalışmada sulu çözeltiden ve yumurta beyazından lizozim saflaştırılması için lizozim baskılanmış polimerler hazırlamışlardır. N-methakriloil-(L)-histidine metil ester (MAH) monomer, Cu^{2+} ise ligant olarak, EGDMA ise çapraz bağlayıcı olarak seçilmiştir. Reaksiyon, UV başlatıcılı ortamda polimerize edilmiştir. Maksimum lizozim adsorpsiyon kapasitesi 12,1 mg/g polimer olarak belirlemişler. Lys-MIP partiküllerinin adsorpsiyon kapasitelerinde önemli bir ölçüde azalma olmadan defalarca kullanılabilir olduğunu tespit etmişlerdir.

Lee vd., (2010) yaptıkları çalışmada moleküler baskılanmış polimerin fonksiyonel bağlanma özellikleri ile magnetik partiküllerin, manyetik ortam yardımıyla hızlı ayrımını birlikte uygulamayı hedeflemişlerdir. Bunun için hidrofobik manyetik nano partikülleri, faz tersinmesi ile, poli(etilen-ko-etilen alkol) ile kaplamışlardır. Albumin, lizozim, keratin ve üre baskılı polimer nanopartikülleri ile hedef moleküller, çözelti içinde karıştırmışlar, 5,97 ile 0,76 mg/gram partikül arasında değişen kapasitelerde tutunma elde etmişlerdir. Hedef molekülü 0,04 mg/gram nanopartikül olarak uygulanmışlardır. Ayrıca gerçek örneklerde (örneğin insan serum albumin için) oluşturulan partiküller, ticari olarak piyasada satılan MİMAR CI 8200 sistemi ile karşılaştırılmıştır.

Lee vd., (2012) yaptıkları çalışmada moleküler baskılamayı enzim immobilizasyonu için kullanmışlardır. Çalışmada yaklaşık 100 nm çapındaki magnetik nano etilen-ko-vinil alkol küreler üzerine amilaz enzimini immobilize etmişler ve farklı sıcaklık ve pH'larda nişasta hidrolizi yoluyla glukoz üretimini ölçmüşlerdir. Bunu çalışmayı farklı oranlarda etilen yüzdesi bulunan polimerlerde tekrarlamışlardır. Etilen bakımından %32 oranında ihtiva MMIP'larda yüksek hidroliz aktivitesi, 1545,2 U/g olarak belirlemişlerdir. Bilinen kataliz işlemi ile karşılaştırıldığında, MMIPs yüksek yüzey alanı, süspansiyon, reaksiyondan kolay çıkarılması ve enzimin hızlı, yeniden yükleme avantajlarına sahip olduğu belirlemişlerdir. Amilaz, MMIP'lerinin nişasta hidrolizinin 50 döngüden sonrada devam ettiği tespit edilmiştir.

Cheng vd., (2013) katı faz ekstraksiyonu için silika jelleri kullanmışlardır. Yüzey baskılama metodu ile modifiye edilmiş silika jeller üzerine melamin baskılamışlardır.

Yığın polimerizasyon ile non-baskılanmış silika jel oluşturulup karşılaştırılmasını yapmışlardır. Baskılama için fonksiyonel monomer metakrilik asit, kalıp molekül olarak melamin, çapraz bağlayıcı olarak etilen glikol metakrilatı kullanmışlardır. Süt örneklerinden melamin ekstarksiyonu için melamin ile kirletilmiş süt örnekleri hazırlamışlar. Bu örneklerden melamini %96,8 ila %75,6 arasında uzaklaştırıldığını saptamışlardır.

Liu vd., (2015) yaptığı çalışmada melamin belirlenmesi için karbon nanotüpleri, iyonik sıvı kompozit baskılı boşlukların sayısını, sensörün seçicilik ve hassasiyetini artırmak için bir taşıyıcı olarak kullanılmışlardır. Önerilen sensör 0,11 μM 'lik bir saptama sınırı, 0,4 ve 9,2 μM aralığı içinde melaminin konsantrasyonu ile doğrusal bir ilişki göstermiştir. Sensör başarıyla süt ürünlerinde melamin belirlenmesi için uygulanmıştır.

Cao vd., (2014) yaptığı çalışmada sığır kanından hemoglobin ayrılmasını hedeflemişlerdir. İlk olarak manyetik nano Fe_3O_4 sentezlemişler, sentezlenen magnetik nano patiküllerin yüzeyini 3-(metakriloil) propil trimetil oksisilan ile modifiye etmişler. İkinci basamak olarak yüksek yoğunluklu poli (4-vinilbenzil klorür) (PVC) kabuk destilasyon çökeltme polimerizasyonu ile silika kaplı Fe_3O_4 MNPS yüzeyi üzerinde sentezlemişlerdir. PVBC kabuğu alkali sulu çözelti içinde iminodiasetik asit (IDA) ile reaksiyona sokulduktan sonra, manyetit Ni^{2+} IDA-Ni MNPS(II)-IDA fonksiyonalize hibrid Fe_3O_4 -PVBC oluşturulması için Ni^{2+} ile doldurmuşlardır. IDA-Ni MNPS-çekirdek-kabuk Fe_3O_4 -PVBC proteinin sığır hemoglobinin ayırma (hgb) mükemmel performans sergilediğini ve bağlama kapasitesi 1988 mg/g malzeme gibi yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Bir dış manyetik alan altında manyetik ayırma rahatlığı sağlayan malzeme oluşturduğunu ve sonradan tekrar kullanılabilir olduğunu belirlemişlerdir.

Yu vd., (2009) yaptığı çalışmada melamin doğrudan fonksiyonelleşmiş organosilikon öncüleri olarak feniltrimetoksilan ve metiltrimetoksilanın silika filmler halinde sentezmişler. Yüksek ölçüde seçici ve verimli çalışan filmler elde etmişlerdir. 0,1-50 g melamin/mL aralığında melamin adsorpsiyonu gözlemlemişler ve alt limit 0,02 g melamin/mL olarak teyit etmişlerdir.

Shrivastav vd., (2015) yaptığı çalışmalarda melamin tespiti için moleküler baskılama yöntemi ile yüzey plazmon rezonans bazlı fiber optik sensör geliştirmişlerdir. Gümüş yüzeyine ince film olarak MIP uygulaması yapmışlardır. Sensörün performansı 10^{-7} M ile 10^{-1} M melamin konsantrasyon aralığı için test etmişlerdir. Sensör;

kullanılabilir, hızlı tepki veren, yüksek seçicilik ve duyarlılıkta, düşük maliyet avantajları ve uzaktan algılama uygulamaları olduğunu belirlemişlerdir.

Yan vd., (2012) yaptıkları bu çalışmada MI-MSPD yöntemi, MAPS (Moleküler Katı-Faz Dağılımı) ve MIPS (Moleküler Baskılanmış Polimerler) avantajlarını birleştirir ve karmaşık süt örneklerinde melamin kalıntılarının analiz etmek için alternatif bir araç olarak kullanmışlardır. Polimer monomeri olarak metakrilik asit, çapraz bağlayıcı olarak EGDMA (Etilen glikol dimetakrilat), kalıp molekül olarak ise kromazin seçilmiştir. 0,24-60 aralığında μg melamin/g malzeme tutunma gerçekleştirmişlerdir. %86 ile %92 arasında geri kazanım elde etmişlerdir.

Hong Han vd., (2015) yaptıkları çalışmalarda manyetik molekül baskılanmış duyarlı film üretimi gerçekleştirmişlerdir. Magnetik özelliği olan Fe_3O_4 partiküller üzerine estradiol baskılanmış nano parçacıklar oluşturmuşlar ve manyetik özelliği olan bir elektrot üzerine film şeklinde kaplamışlardır. Kalıp molekülün gelip adsorpsiyonuna bağlı olarak elektro volt değerlerindeki değişim farkından yararlanarak bir biyosensör oluşturmuşlardır. Süt içerisinde yapılan çalışmalarda 0,025-10,0 $\mu\text{mol/L}$ aralığında çalışabildiği ve alt limit 2,76 nmol/L olarak belirlenmiştir.

He vd., (2009) yaptığı çalışmada süttten melaminin ayrılmasını hedeflemişlerdir. Bunun için moleküler baskılanmış polimerler ile katı faz ekstraksiyonu tekniğini kullanmışlardır. Monomer olarak metakrilik asit, çapraz bağlayıcı etilen glikol dimetakrilat kalıp molekül olarak melamine mimik molekül rolünde kromazin tercih edilmiştir. Süt üzerinde yaptıkları çalışmada 500 μg melamin/g polimer gibi yüksek ayırma sağlamışlardır. Aynı zamanda melaminin başka bir analogu olan siyanürik asitte (yarışmacı ajan) karşı düşük afinite gösterdiği belirlenmiştir.

Zhang vd., (2011) yaptığı çalışmada süt ve süt ürünlerinden melaminin, ekstraksiyonunu sağlamak amacıyla MIP yöntemini kullanmışlardır. Fonksiyonel monomer olarak metakrilik asit, çapraz bağlayıcı trimetilol propan trimetakrilik, kalıp molekül olarak melamin kullanmışlardır. Çözücü olarak asetonitril kullanılmıştır. Maksimum ayırma kapasitesini 68,38 $\mu\text{mol/g}$ polimer olarak belirlemişlerdir.

Wang vd., (2011) süt örneklerinden melaminin seçilerek uzaklaştırılması için moleküler baskılanmış mikroküreler oluşturmuşlardır. Kalıp molekül melamin, fonksiyonel monomer metakrilik asit, çapraz bağlayıcı olarak etilen glikol metakrilat kullanmışlardır. 30,85 μmol melamin/g polimer düzeyinde süttten melaminin ayrımını sağlamışlardır.

Yusof vd., (2013) yaptıkları çalışmada melamin ayrılmasına yönelik UPLC'de (Ultra Performanslı Sıvı Kromatografisi) kullanılmak üzere MIP geliştirmişlerdir. Bunun için fonksiyonel monomer 9-vinil karbazol, çapraz bağlayıcı olarak etilen glikol dimetakrilat, kalıp molekül olarakda melamin kullanmışlardır. Yapılan çalışmalarda; oluşturulan MIP'lerin maksimum bağlanma kapasitesi 53 mg/g polimer olarak belirlenmiştir. Ayrıca oluşturulan MIP'lerin NIP'lere göre çok daha yüksek seçiciliğe sahip olduğunu belirlemişlerdir.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Malzemeler

3.1.1. Kullanılan malzemeler

Kullanılan kalıp molekül melamin (2,4,6-triamino-1,3,5-triazine), moleküler baskılamanın yapılacağı polimer poli(vinil alkol)-ko etilen (%38), Aldrich firmasından temin edilmiştir. Çözücü sistemi olarak DMSO (dimetil sülfoksit), magnet oluşumu için demir (III) klorür hegzahidrat ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ve demir (II) sülfat heptahidrat ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) Sigma firmasından temin edilip kullanılmıştır. Yarışmacı ajan olan kullanılan kromazin (%99) Dr. Ehrenstorfer GmbH'dan temin edilmiştir. Magnetik partiküllerin hazırlanışı sırasında reaksiyon başlatıcı olarak amonyak çözeltisi (%20'lik) Millipore firmasından temin edilmiştir. Deneylerde kullanılan su, ($18 \text{ M}\Omega/\text{cm}$) yüksek akışlı selüloz asetat membran (Barnstead D2731) ile ters ozmoz Barnstead (Dubuque, IA) ROPure LP® birimi ve ardından Barnstead D3804 NANOpure® organik/kolloid uzaklaştırma birimi ve iyon değiştirici dolgulu kolon sistemi kullanılarak saflaştırılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Melaminin (kalıp molekül) maksimum dalga boyunun belirlenmesi

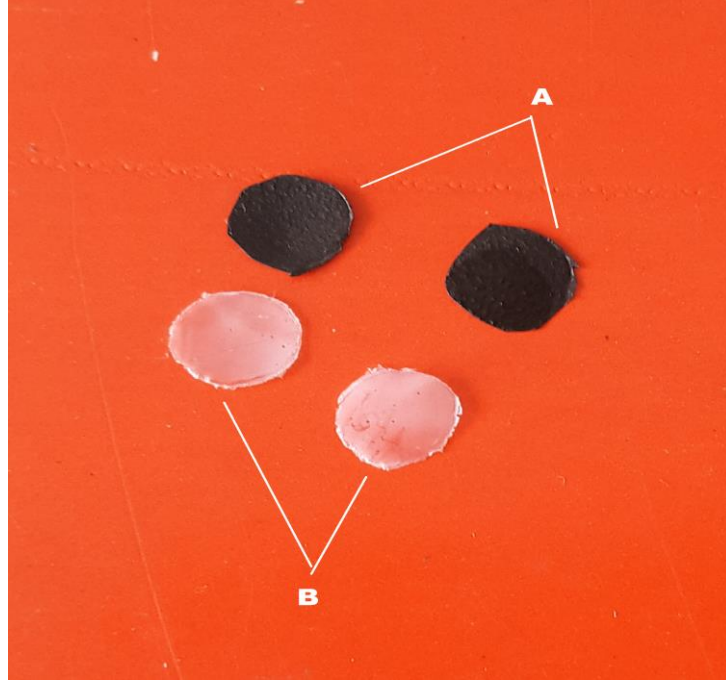
Sulu ortamda çalışacağımız melamin için UV spektrofotometrede maksimum dalga boyunun belirlenmesi önemli bir yer tutmaktadır. Bunun için ilk olarak saf su içerisinde hazırladığımız melamin çözeltisinin UV spektrofotometresinde (Shimadzu, Tokyo, Japonya, Model 1601) 180 nm ile 300 nm arasında dalga boyu taraması yapıldı. Yapılan çalışma sonucunda melaminin sulu ortamda maksimum absorbans gösterdiği dalga boyu belirlendi.

3.2.2. Magnetik partiküllerin hazırlanması

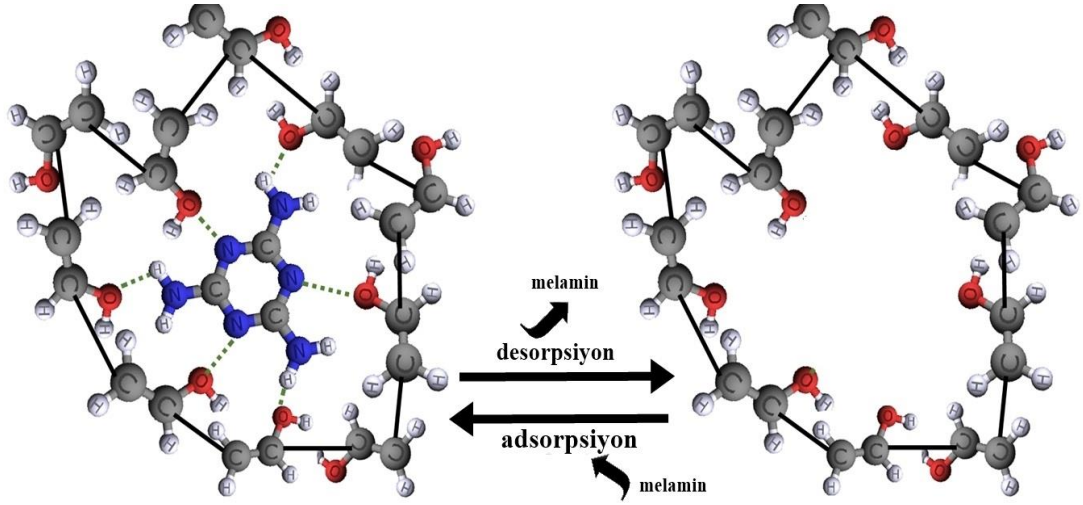
Magnetik partiküller (Fe_3O_4), Massart yöntemi ile hazırlandı. Bu yöntemde $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ile $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 'ın sulu çözeltileri hazırlandı. NH_4OH (250 mL'lik karışım için %20 lik 20 mL amonyum hidroksit) ilave edildi ve 600 rpm de 95°C 'de 1 saat boyunca sürekli karıştırıldı. Oluşan partiküllerin kendi aralarında yapışıp büyümelerini önlemek amacıyla ortama oleik asit ilave edildi. Reaksiyon sonunda partiküller bir mıknatıs yardımıyla ayrıldı. Çözelti uzaklaştırıldıktan sonra partiküller, etanol/metanol karışımı (%50) ve saf su ile yıkandı (4-5 defa) ve 100°C da vakum etüvünde kurutuldu.

3.2.3. Magnetik membranların hazırlanması

Poli(etilen-ko-vinil alkol) (PEVAL), içindeki etilen yüzdesine göre farklı polimerik oranlarda ticari olarak temin edildi. Melamin baskılanmış magnetik polimerik membranların hazırlanması, dispers fazda jelleşme tekniğiyle gerçekleştirildi. Doğal veya sentetik polimerlere yeni şekiller (membran, partikül, monolit, v.b.) vermek için de kullanılan bu tekniğin çalışmamızda kullanım şekli aşağıda özetlendi. Katı polimerik yapıların, dimetilsülfoksit (DMSO) çözücüsünde çözülmesiyle %10'luk çözeltisi hazırlandı. Daha sonra, baskılanacak molekülümüz olan melamin molekülleri uygun bir fazda çözüldü, sonikatörde 10 dk bekletildi ve polimer çözeltisine ilave edildi. Yaklaşık 20 dk.'lık bir polimer-melamin etkileşim sürecinin sonunda, önceden hazırlanan magnetik partiküller ağırlıkça 1:1 (polimer-magnetit) oranında polimer-melamin çözeltisine eklendi ve vorteks uygulandı. Karışım önceden temizlenmiş petri kabına homojen şekilde dağıtıldı. 60°C de vakumlu etüvde (Memmert VO 200) 2 gün bekletildi. Oluşan polimerik membran petri kabından söküldü. Sökülen film membran, Şekil 3.1' de görüldüğü gibi eş şekiller oluşturacak şekilde perforje kullanarak 0,5 cm çaplarında kesildi. Hazırlanan melamin baskılanmış magnetik membranlardan kalıp molekülün uzaklaştırılması için membranlar, metanol-su karışımı ile yıkandıktan sonra farklı derişimlerde 0,1-0,5-1M'lık NaCl çözeltileriyle (desorpsiyon ajanı olarak) yıkandı ve son olarak saf su ile arındırıldı. Melamin tutunma ve uzaklaştırılması çalıştırılmalarına dair gösterim Şekil 3.2' de verilmiştir.



Şekil 3.1 : Film membranlar; A: Melamin baskılanmış magnetik membranlar, B: Magnetik olmaya boş film membranlar.



Şekil 3.2: Polimer ile kalıp molekül arasındaki olası etkileşimlerin şematik gösterimi.

3.3. Manyetik Membranların Karakterizasyonu

3.3.1 Membranların taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri

Melamin baskılanmış manyetik membranların yüzey morfolojileri, membran kalınlığı ve gözenek dağılımları belirlenmek amacıyla Taramalı Elektron Mikroskobu (Nova Nanosem 430, FEI, Hollanda) ile görüntülenmiştir. Polimerik membranların yüzeyi herhangi bir metal kaplama işlemi yapılmaksızın yüksek ivmeleme geriliminde (5,0 kV) incelenmiştir.

3.3.2 Membranların manyetik alan kuvvetlerinin ölçümü (VSM)

Ticari manyetik partiküller, çalışmamızda hazırlanan manyetik partiküller ve melamin baskılanmış manyetik membranların bir manyetik alan varlığındaki davranışları VSM (Vibrating Sample Magnetometer) (titreşimli örnek manyetometresi) cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

3.3.3 Melamin baskılanmış manyetik membranlar ile sulu çözeltiden melamin tutunması

Melamin baskılanmış membranların sulu çözeltideki melamine karşı davranışlarını incelemeye, ortam pH sınırının tutunma üzerine etkisi ve farklı derişimlerdeki melamin çözeltilerinin tutunma üzerine etkisi incelenmiştir. Ortam pH ları 4-8 aralığında, melamin derişimleri ise 5-200 µg/mL aralığında incelenmiştir. Tüm deneysel aşamalarda tutunan melaminin desorpsiyonu için 1 M NaCl çözeltisi kullanılmıştır.

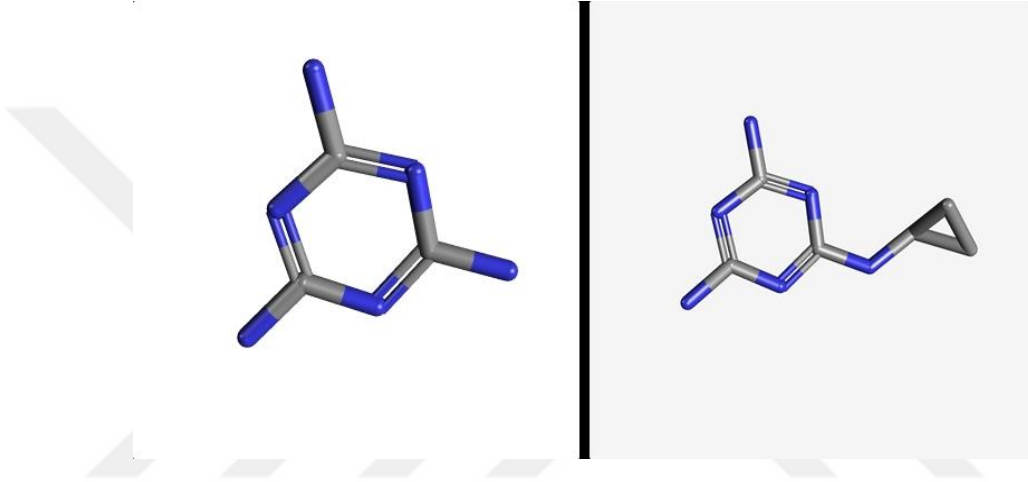
3.3.4. Doğal ortamdan melamin tayini

Çalışmamızın bu bölümünde, süt gibi kompleks bir çözeltiyi melamin ile kirletip, kirlettiğimiz oranın tespiti çalışmaları yapılmıştır. Bunun için kullanılan süt paketlemeden kaynaklanan melamin kontaminasyonlarını engellemek ve olası sapma ve hataları önlemek amacıyla çiftlikten, taze sağılmış süt olarak temin edilmiştir. Karmaşık matriks yapısı, UV okumada girişim yapmasından dolayı süt, 1 M'lık asetik asit ile çöktürülmüş ve elde edilen sıvı, süt serumu olarak isimlendirilmiş ve karşılaştırma ortamı olarak kullanılmıştır. Deneysel işlemler aşağıda özetlenmiştir. Paketlenmemiş olarak çiftlikten doğrudan temin edilmiş süt örneğinden iki adet 50 mL'lik deney setleri oluşturulmuş, bunlardan birinin sütü çöktürülerek oluşturulan süt

serumu, diğeri ise doğrudan melamin ile kirletilmiştir. Ayrıca, referans çözeltisi olarak da 50 mL'lik pH 5 asetat tamponu kullanılmıştır.

3.3.5 Melamin baskılanmış magnetik membranların kromazine karşı davranışı

Melamin baskılanmış magnetik membranların melamine karşı özgülüğünün belirlenmesi amacıyla yarışmacı ajan olarak melamine benzerliği olan kromazine (Şekil 3.3) karşı deneyler yapılmıştır. Kromazin ile etkileşim şartları için 100 µg/mL kromazin derişimi, pH 5 ve 30 dk karıştırma süreleri dikkate alınmıştır.



Şekil 3.3: Melamin (solda) ve Kromazin (sağda) molekül yapıları.

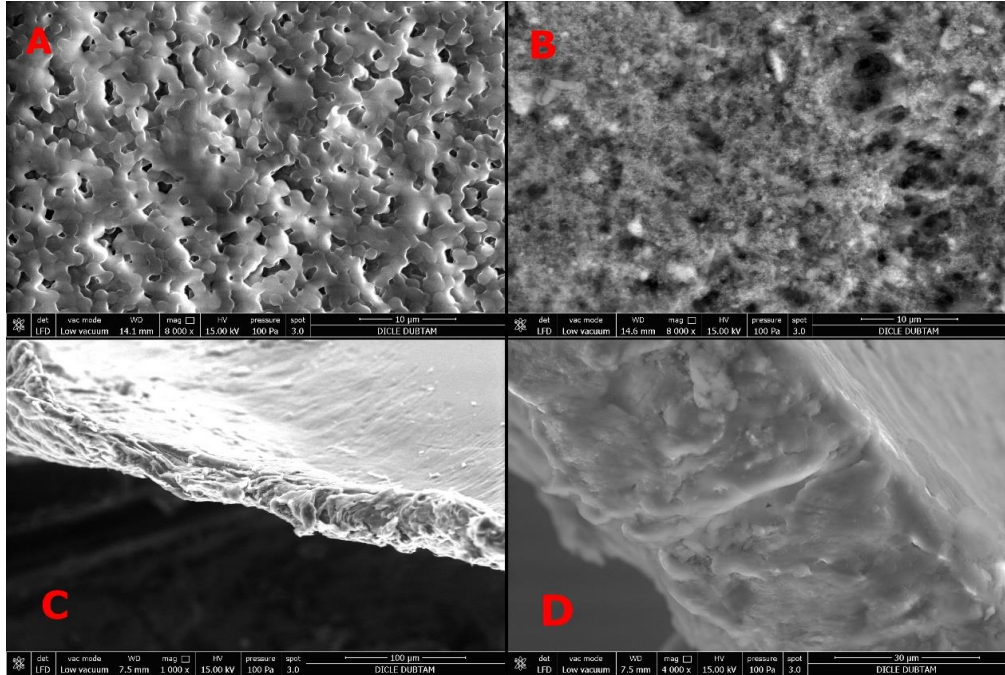
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. Melamin Baskılanmış Magnetik Membranların Karakterizasyonu

4.1.1. SEM analizleri

Melamin baskılanmış polimerik membranların yüzey morfolojilerinin aydınlatılmasında taramalı elektron mikroskopundan yararlanılmıştır. Poli(vinil alkol-co-etilen) ile oluşturulan film membranların SEM görüntüleri Şekil 4.1’de verilmiştir.

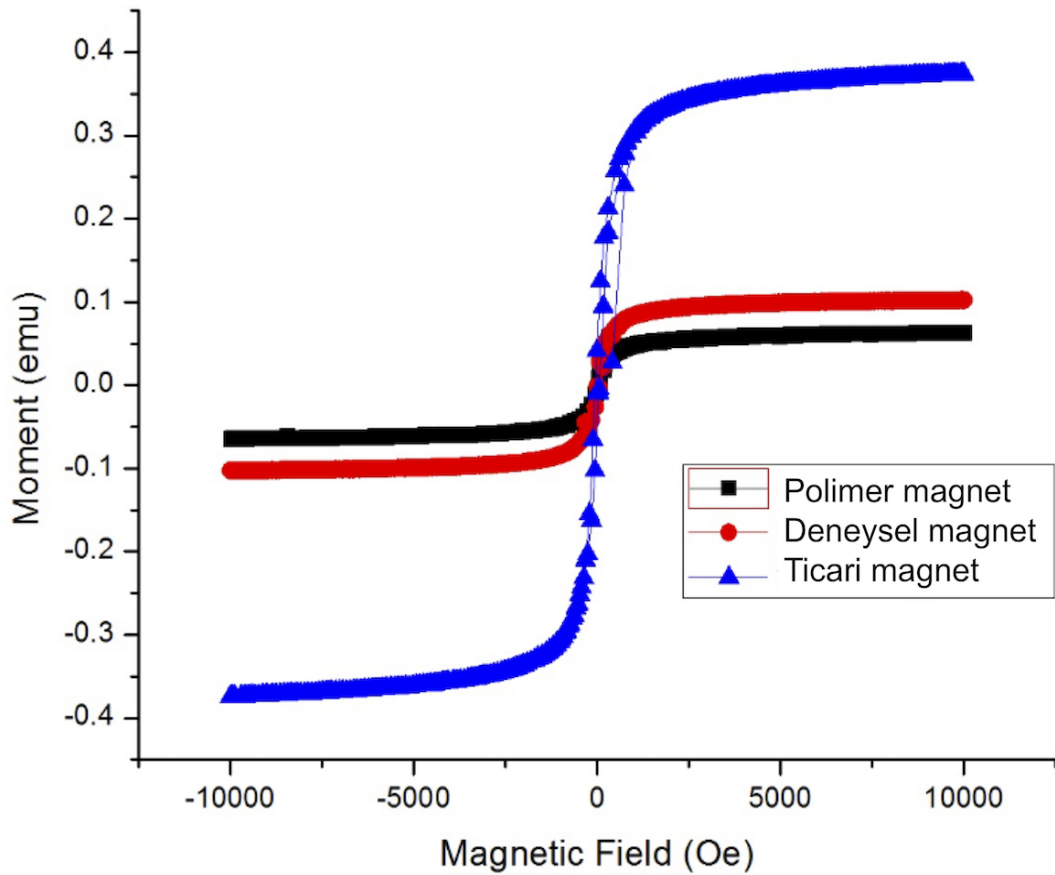
Şekil 4.1A’da, membranların yapılarında, melamin çözeltisinin rahatlıkla içeri nüfuz edebileceği 1-3 µm çap aralığında kanal ve gözeneklerin olduğu görülmektedir. Membranın iç yapısını gösteren Şekil 4.1B incelendiğinde ise Fe₃O₄ magnetik partiküllerin polimerik membran içerisine homojen olarak dağıldığını görmekteyiz. Şekil 4.1C ve D’de ise membran kalınlığının yaklaşık 30 µm kalınlığında olduğu görülmektedir.



Şekil 4.1: Melamin baskılanmış polimerik membranların yüzey morfolojilerinin SEM analizleri. Şekil 4.1 A ve B: membranların yüzey morfolojileri; Şekil 4.1 C ve D: membranların yan kesit alanı.

4.1.2. Melamin baskılanmış magnetik membranların manyetizma ölçümleri

Hazırladığımız melamin baskılanmış magnetik membranların, bir manyetik alan varlığındaki hassasiyetlerini belirlemek amacıyla VSM (Vibrating Sample Magnetometer) (Titreşimli Numune Magnetometresi) kullanılmıştır. Oluşturulan magnetik partiküller (yaklaşık 0,8 μm) ve bu partiküllerin kullanılmasıyla hazırlanan melamin baskılanmış magnetik membranların manyetizma hassasiyetleri, ticari olarak temin edilen 15-50 nm aralığındaki magnetik partiküller referans alınarak incelenmiş ve sonuçlar Şekil 4.2’de verilmiştir.



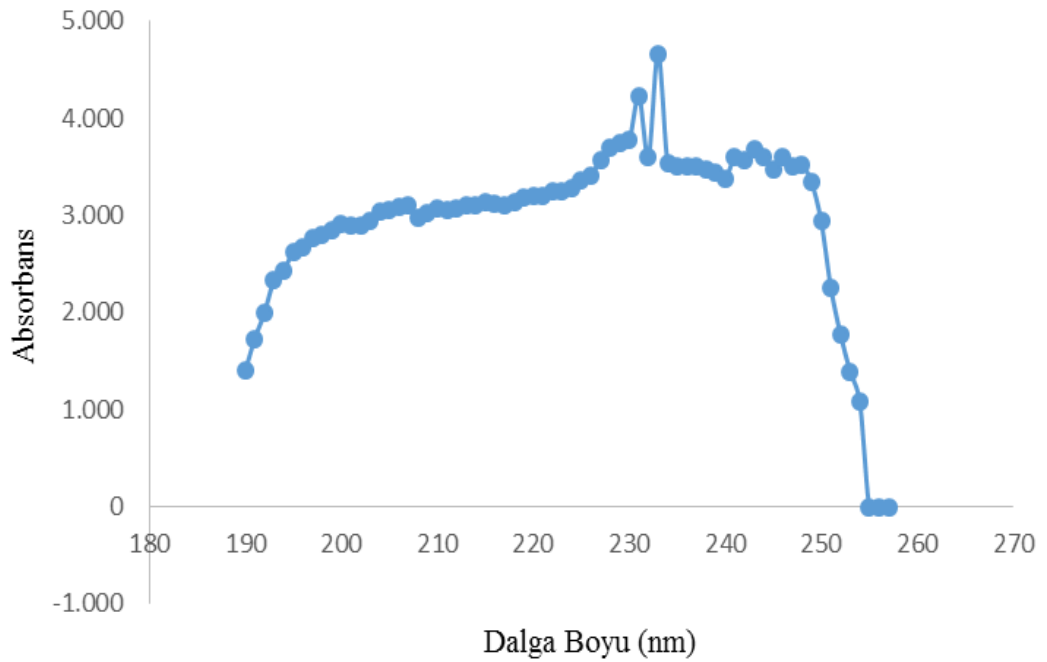
Şekil 4.2: Magnetit partiküller ve magnetik membranların VSM değerleri.

Şekil 4.2’de ticari magnetik partiküllerin VSM değeri yaklaşık 0,4 emu iken deneysel hazırlanan magnetik partiküller ile melamin baskılanmış magnetik membranların VSM değerleri sırasıyla 0,1 ile 0,06 emu olarak ölçülmüştür. Referans (ticari) magnetik partiküllerin en yüksek 50 nm boyutunda olmaları dikkate alındığında, hazırladığımız yaklaşık 0,8 μm boyutundaki magnetik partiküller ve bunlardan

hazırlanan membranların VSM değerleri, manyetik alan çalışmaları için yeterli görülmektedir. Hazırlanan magnetik membranlar düşük manyetik alandan rahatlıkla etkilendiğinden dolayı paramanyetik özellik sergilediği belirlenmiştir.

4.2. Melamin Çözeltilisinin Spektrofotomerik Analizi

Melamin çözeltisinin çalışma dalga boyunu belirlemek amacıyla hazırlanan 100 µg/mL lik melamin çözeltisi, 190-300 nm aralığında spektrofotometrik olarak taranmış ve anlamlı bulunan 190-260 nm arası detaylı olarak incelenmiştir. Şekil 4.3'den de görüleceği gibi maksimum dalga boyu 233 nm olarak belirlenmiştir. Bu dalga boyunda 1 ila 20 µg/mL aralığında derişimler de hazırlanan standart çözeltiler ile melamin çözeltisi için bir kalibrasyon doğrusu hazırlanmış ve EK.A'da verilmiştir.



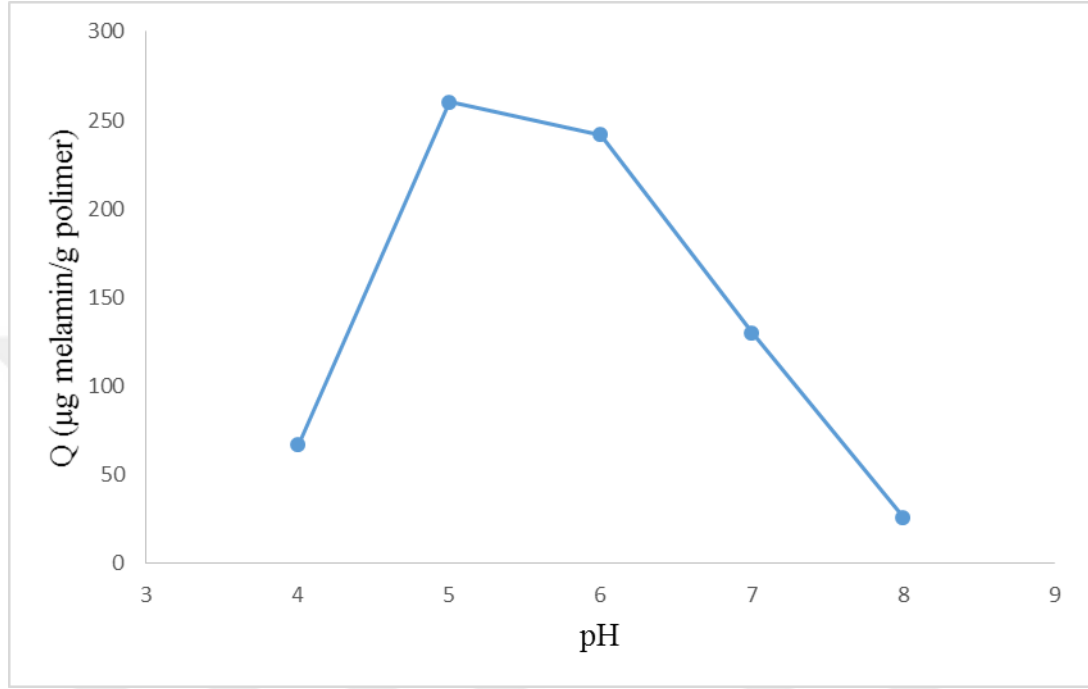
Şekil 4.3: Melamin çözeltisinin UV dalga boyu taraması.

4.3. Melamin Baskılanmış Manyetik Membranlar ile Sulu Çözeltiden Melamin Tutunması

4.3.1 Melamin tutunmasına pH'nın etkisi

Melamin baskılanmış manyetik membranlara sulu çözeltiden melamin tutunmasına pH'nın etkisini incelemek amacıyla, pH 4,0-8,0 aralığında melamin çözeltileriyle çalışılmıştır. Şekil 4.4'de görüldüğü gibi maksimum melamin tutunması pH 5'te

gerçekleşmiştir. Melaminin izoelektrik noktası pI 5,99'dur. pH 5 çözelti ortamında melamin molekülün hafif protone oluşu, baskılanmış poli(etilen-co-vinil alkol) üzerindeki üç boyutlu boşluklar ve polimerdeki aktif hidroksil grupları tarafından tanınıp çekilmesinin ve pH 5'te maksimum tutunmasının nedeni olabilir.

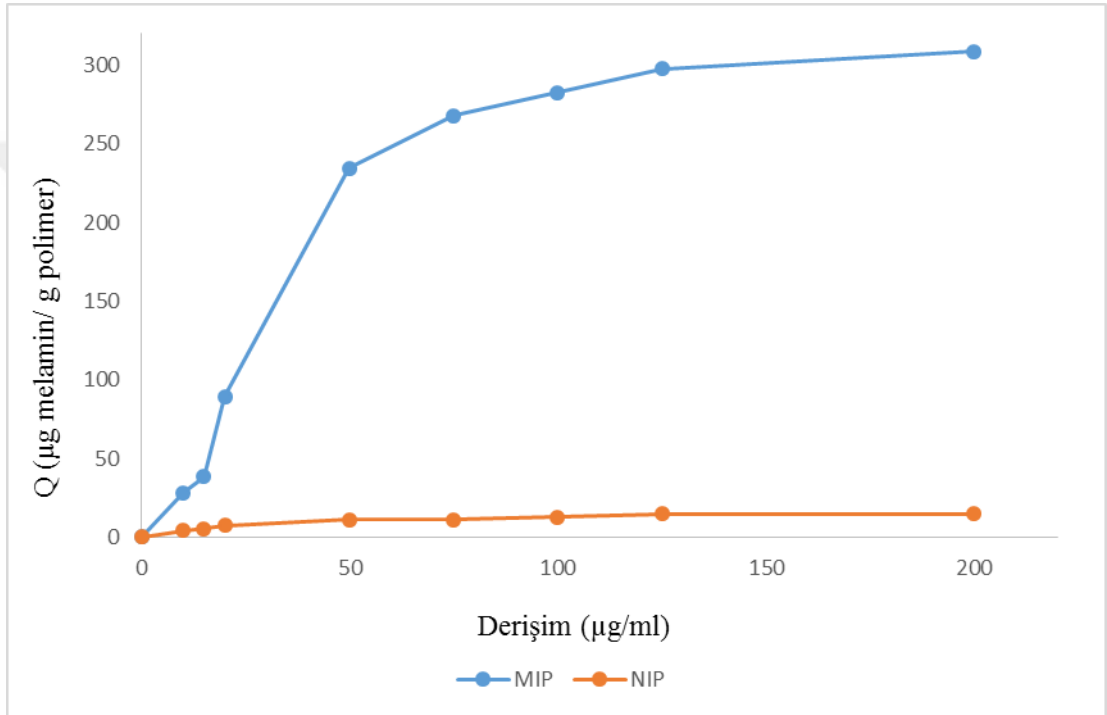


Şekil 4.4: Melamin tutunmasının pH ile değişim grafiği.
(Co:100 µg/mL karıştırma süresi:30 dk)

4.3.2 Melamin başlangıç derişiminin tutunma üzerine etkisi

Melamin baskılanmış manyetik membranlara sulu çözeltiden melamin tutunmasına, çözeltideki melamin başlangıç derişimleri değiştirilerek incelenmiştir. İdeal tutunmanın görüldüğü pH 5'te 10, 15, 20, 50, 75, 100, 125 ve 200 µg/mL'lik melamin çözeltileri hazırlanmıştır. Bu çözeltilerin her birinden 5 mL çalışma viallerine alınarak üzerlerine 5 tane membran (tartımları kaydedilerek) ilave edilmiş ve melamin tutunma miktarları Şekil 4.5'te verilmiştir. Şekil 4.5'ten görüleceği gibi, melamin baskılanmış manyetik membranlara melamin tutunması ilk 10-50 µg/mL derişimde hızlı bir kinetiğe sahip iken, 125 µg/mL derişimden sonra melamin tutunmasında dengeye gelerek, 200 µg/mL derişimde ise 308,8 µg melamin/g polimer ile maksimuma ulaşmıştır. Melamin baskılanmamış polimerler ise melamin tutunması ihmal edilebilir düzeydedir. Membranların maksimum melamin tutunma

kapasitelerinin belirlenmesi ve melamin baskılanmamış magnetik membranlar ile karşılaştırılması için tek kaynaktan melamin çözeltileri (pH 5'te) hazırlandı. Melamin baskılanmış polimerler (MIP) ve baskılanmamış polimerler (NIP) ile eş zamanlı deneyleri yapıldı. Melamin baskılanmış membranların maksimum melamin tutunma kapasitesi 308,8 µg mel/g polimer olarak belirlenmedi. Şekil 4.5'te görüldüğü gibi bağlanma aktif bölgelerinin doygunluğundan dolayı 200 µg/mL lik melamin derişimde adsorpsiyon dengesine ulaşıldı. Melamin baskılanmamış polimerlerin melamin tutma kapasitesi ise 14,8 µg mel/g polimer olarak gerçekleşti.



Şekil 4.5: Melamin adsorpsiyonuna melamin derişiminin etkisi;(pH:5, 30 dk karıştırma süresi).

4.4 Denge İzoterm Modelleri

Melamin baskılanmış magnetik membranlar ile melamin molekülleri arasındaki etkileşim modelini belirlemek amacıyla, Langmuir ve Freundlich adsorpsiyon izoterm modelleri uygulanmıştır.

Langmuir izotermi aşağıdaki denklemle ifade edilir;

$$q_t = q_m b C_s / (1 + b C_s) \quad (4.1)$$

Bu denklem gerekli düzeltmeler yapıldıktan sonra doğrusallaştırıldığında aşağıdaki denklem elde edilir;

$$C_e/q_e = 1/q_m b + C_e/q_m \quad (4.2)$$

q_m = adsorbentin maksimum adsorplama kapasitesi (sabit)

b = Langmuir adsorpsiyon sabiti

Freundlich adsorpsiyon izotermi için ise aşağıdaki denklemi kullanabiliriz.

$$q_e = K_f (C_e)^{1/n} \quad (4.3)$$

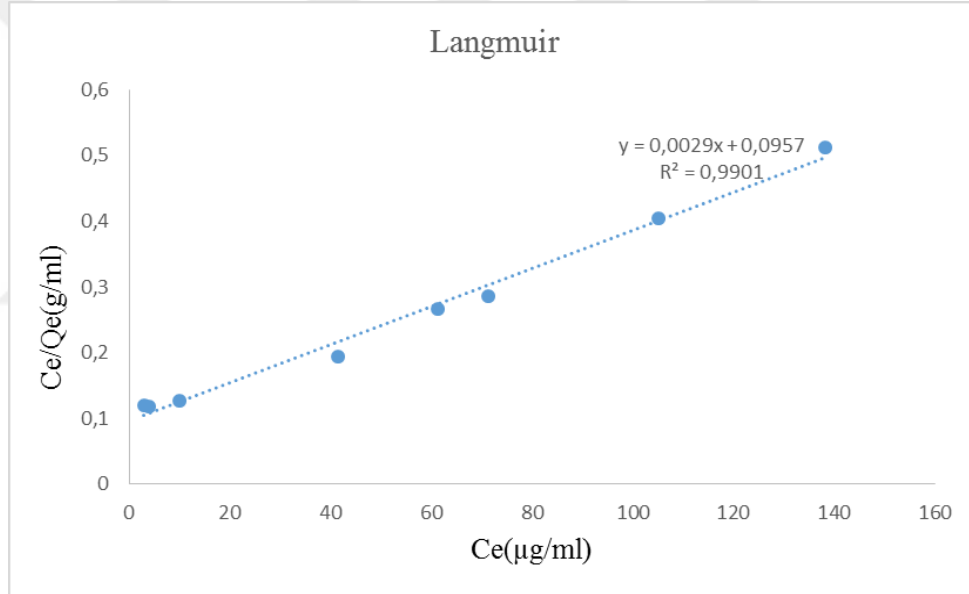
Eşitlik 4.3 cüzenlendiğinde denklem 4.4 elde edilir.

$$\ln q_e = \ln K_f + \ln(1/n) \ln C_e \quad (4.4)$$

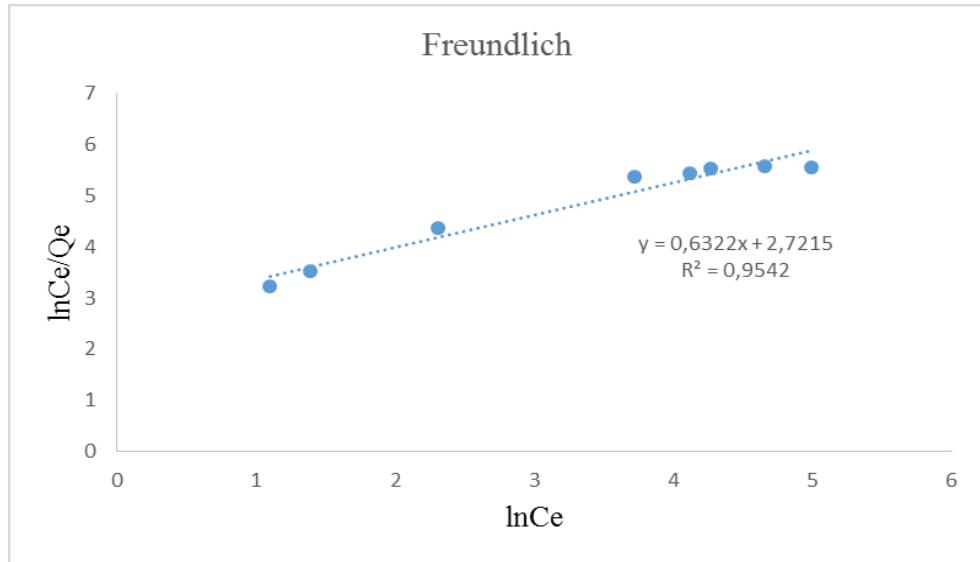
K_f = Freundlich sabiti

n : sabittir ($n > 1$) için ;

Langmuir ve Freundlich adsorpsiyon isoterm denklemleri kullanılarak Şekil 4.6 ve 4.7'deki grafikler elde edilmiştir.



Şekil 4.6: Mel-IP magnetik membranların Langmuir adsorpsiyon modeli.



Şekil 4.7: Mel-IP magnetik membranların Freundlich adsorpsiyon modeli.

Şekil 4.6 ve 4.7'deki grafikler incelenerek Çizelge 4.1'deki sabitler elde edilmiştir. Langmiur ve Freundlich izoterminden elde edilen sırasıyla 0,9901 ve 0,9542'lik R^2 değerleri, melamin baskılanmış magnetik membranlara melamin adsorpsiyonunun Langmuir izotermine uyduğunu göstermektedir. Bu adsorpsiyon izotermi, melamin baskılanmış magnetik membranlara melamin adsorpsiyonunun tek tabaka halinde gerçekleştiğini göstermektedir. Bu sonuç, baskılanmış polimerin etkin çalıştığının göstergesidir.

Çizelge 4.1: Melamin baskılanmış magnetik membranlara melamin adsorpsiyonu için Langmiur ve Freundlich izoterm sabitleri.

Deneyssel	Langmuir sabitleri				Freundlich sabitleri		
$q_m(\mu\text{g/g})$	$q_m(\mu\text{g/g})$	$b(\text{mL}/\mu\text{g})$	$K_d(\text{M})$	R^2	K_f	$1/n$	R^2
308,8	344,8	0,03	$2,4 \cdot 10^{-4}$	0,9901	0,6322	0,3674	0,9542

Ayrıca Langmiur sabit b kullanılarak K_d disosiasyon sabiti de $2,4 \cdot 10^{-4}$ M olarak hesaplanmış. Afinite kromatografisinde, ideal bir etkileşim için K_d sabitlerinin 10^{-3} ile 10^{-8} M arasında olması beklenir. Çalışmamızda bulduğumuz K_d değerini dikkate alarak, hazırlamış olduğumuz melamin baskılanmış magnetik membranların, melamin için ideal bir matriks olduğunu söyleyebiliriz.

4.5. Adsorpsiyonun Kinetik Modellemesi

Bir adsorpsiyon prosesinde, kimyasal reaksiyon ve kütle transferi gibi yolların kontrol mekanizmaları incelenmek istendiğinde, elde edilen deneysel sonuçlar, yalancı (pseudo) birinci ve ikinci dereceden kinetik modeller uygulanır. Bu modeller, çalışılan analit konsantrasyonlarının matris yüzey konsantrasyonuna eşdeğer olduğu varsayımına dayanır. Eşitlik 4.5'te verilen Lagergen'in birinci dereceden hız denklemi, adsorpsiyon modellerinde en çok kullanılan denklemdir (Chaouk ve Hearn, 1999).

$$dq_t/dt = k_1(q_e - q_t) \quad (4.5)$$

k_1 yalancı birinci dereceden kinetiğin hız sabiti ve q_e ile q_t ise sırasıyla denge ve t zamanında adsorplanan melamin miktarını ($\mu\text{g/g}$) göstermek üzere eşitliğe sınır koşullarında integrasyon uygulandığında $t=0$ için, $q_t=0$, $t=t$ de ise $q_t=q_t$ durumunda Eşitlik 4.6 bulunur.

$$\log(q_e - q_t) = \log(q_e) - (k_1 t)/2.303 \quad (4.6)$$

Kinetik modelin uygulanabilirliği için, $\log(q_e - q_t)$ 'nin t 'ye karşı grafiğinin bir doğru vermesi beklenir. Grafiğin y ordinatını kestiği noktadan, yalancı birinci derece kinetik modelin q_e 'leri hesaplanır.

Ayrıca, denge adsorpsiyon izotermine dayanarak ikinci dereceden bir denklemde aşağıdaki gibi ifade edilebilir :

$$dq_t/dt = k_2 (q_e - q_t)^2 \quad (4.7)$$

k_2 ($\text{g.mg}^{-1}.\text{dk}^{-1}$) yalancı ikinci dereceden adsorpsiyon işleminin hız sabitidir. Denklem 4.7'nin integrasyonu ve sınır şartlarına uygulanmasıyla $t=0$ için, $q_t=0$, $t=t$ de ise $q_t=q_t$ denklem 4.8 elde edilir.

$$(t/q_t) = (1/k_2 q_e^2) + (1/q_e) t \quad (4.8)$$

Denge adsorpsiyon miktarı (q_e) ve hız sabiti (k_2) ve sırasıyla eğim ve kesim noktasınd hesaplanabilir. Kinetik analizlerden elde edilen sonuçları çizelge 4.3'te verilmiştir.

Melamin baskılanmış magnetik membranlara melamin adsorpsiyonunda, yalancı ikinci dereceden reaksiyonların baskın olduğu Çizelge 4.2’te verilen yüksek R^2 değerlerine bakılarak söylenebilir. İfade edilen sonuç, çalışmanın adsorpsiyon prosesinin fiziksel etkileşimlerden ziyade kimyasal adsorpsiyonun ağırlıklı olabileceğini önermektedir.

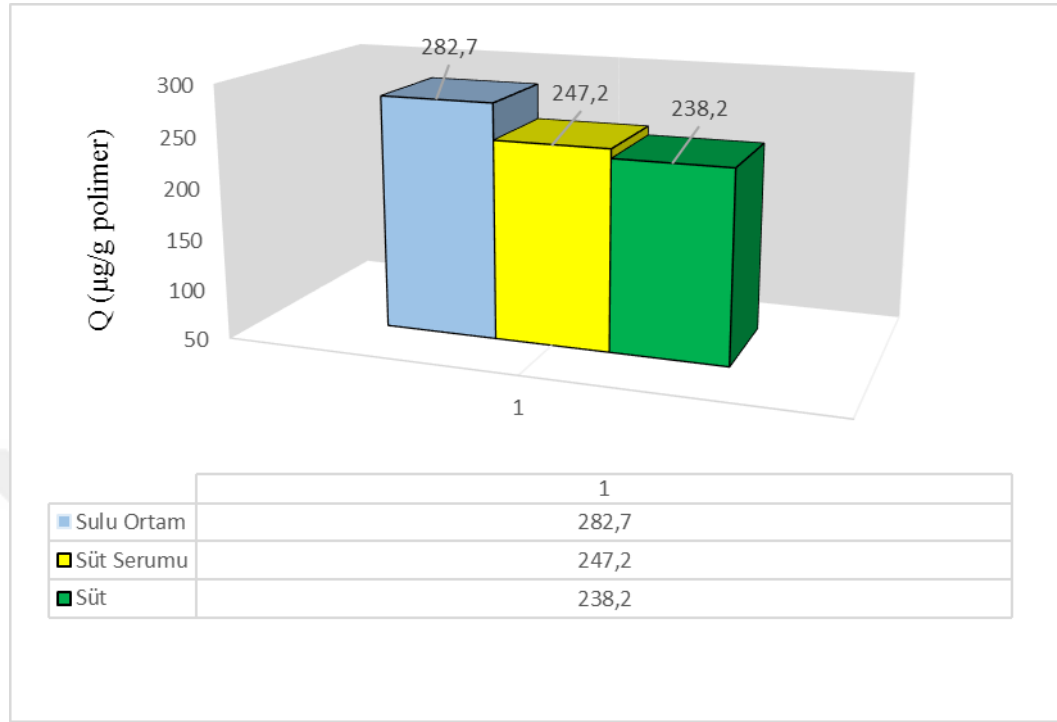
Çizelge 4.2: Adsorpsiyon kinetik modelleme sonuçları

Co µg/mL	Deneysel q_e (µg/g)	Yalancı birinci derece kinetik			Yalancı ikinci derece kinetik		
		k ₁ (1/min)	q_e (µg/g)	R ²	k ₂ (g/µg.min)	q_e (µg/g)	R ²
9	8,38	0,08199	6,27	0,949	0,018821	9,03	0,996
48	41,07	0,08176	30,9	0,951	0,000783	44,25	0,997
92	78,03	0,08153	58,88	0,951	0,000217	84,03	0,997
182	100,54	0,06656	66,07	0,931	0,000135	106,638	0,996

4.6 Melamin ile Kirlenmiş Sütten Melamin Tespiti

Paketlenmemiş olarak çiftlikten doğrudan temin edilmiş süt örneğinden iki adet 50 mL’lik deney setleri oluşturulmuş, bunlardan birinin sütü çöktürülerek oluşturulan süt serumu, diğeri ise doğrudan melamin ile kirlenmiştir. Ayrıca, referans çözeltisi olarak da 50 mL’lik pH 5 asetat tamponu kullanılmıştır. Üç analiz örneği de, derişimleri 100 µg/mL olacak şekilde melamin ile kirlenmiş ve çözelti başlangıç derişimleri spektrofotometrik olarak 233 nm’de ölçülmüştür. Üç örneğe melamin baskılanmış membranlar ilave edildikten ve denge kurulduktan sonra çözeltilerdeki melamin derişimleri okunmuş ve sonuçlar Şekil 4.8’de verilmiştir. Şekil 4.4’den de görüleceği gibi, melamin baskılanmış magnetik membranlar ile hem doğal süt matriksi hem de süt serumundan tanımlanan ve uzaklaştırılan melamin miktarı, sulu ortamda tanımlanana oranla sırasıyla %84,3 ve %87,5’lik doğrulukta sonuçlar

vermektedir. Bu sonuçlar, melamin baskılanmış magnetik membranların süt gibi karmaşık matrisler de melamin tanımlamada kullanılabileceğini göstermektedir.



Şekil 4.8: Süt, süt serumu ve sulu ortamlarda yapılan analiz çalışmalarının karşılaştırılması. (C:100 µg/mL, karıştırma süresi 30 dk, pH 5)

4.7 Melamin Baskılanmış Magnetik Membranların Kromazine Karşı Seçicilik

Deney Sonuçları

Melamin baskılanmış magnetik membranların melamine karşı özgülüğünün belirlenmesi amacıyla yarışmacı ajan olarak melamine benzerliği olan kromazine karşı deneyler yapılmıştır. Kromazin ile etkileşim şartları için 100 µg/mL kromazin derişimi, pH 5 ve 30 dk karıştırma süreleri dikkate alınmıştır.

MIP'lerin bağlama seçiciliğinin statik dağılma sabitini belirlemek üzere K_d (mg/mL), ayırma faktörü α ve ayırma faktörü oranı β ifadelerinin kullanılabileceği rapor edilmiştir (Cheng ve ark., 2003).

C_p : gram MIP başına bağlanan (µmol/g)

C_s : çözeltideki kalıp molekül derişimi (µM)

α : ayırma faktörü

β : ayırma faktörü oranı

K_D : MIP lerin bağlanma seçiciliğinin statik dağılma sabiti

K_{Di} : kalıp molekül için statik dağılma sabiti

K_{Dy} : yarışmacı molekül için statik dağılma sabiti

$$K_D = C_p / C_s \quad (4.9)$$

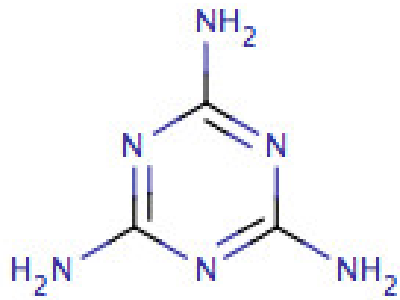
$$\alpha = K_{Di} / K_{Dy} \quad (4.10)$$

$$\beta = \alpha_M / \alpha_C \quad (4.11)$$

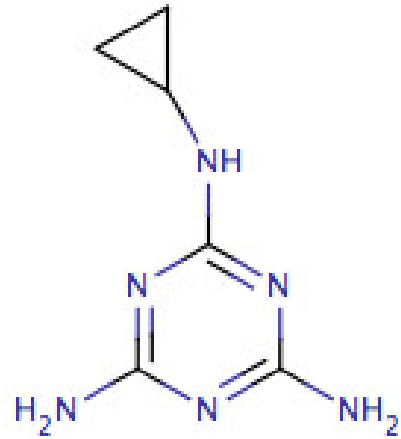
α_M MIP'lerin ayırma faktörü, α_C kontrol polimer için ayırma faktörü, β MIP ve kontrol polimerin bağlanma spesifiteleri arasındaki farktır. $\beta = 1.0$ olduğunda MIP ve kontrol polimer arasında fark yok demektir. Bu denklemler ışığında;

Çizelge 4.3: Melamin baskılanmış ve baskılanmamış magnetik membranlar üzerinde yapılan seçicilik katsayılarının hesaplanması.

Adsorbent	$K_D(\text{ml/g})$		
	Melamin-Kromazin	α	β
MIP	1,544 - 0,445	3,469	3,518
NIP	0,074 - 0,075	0,986	-

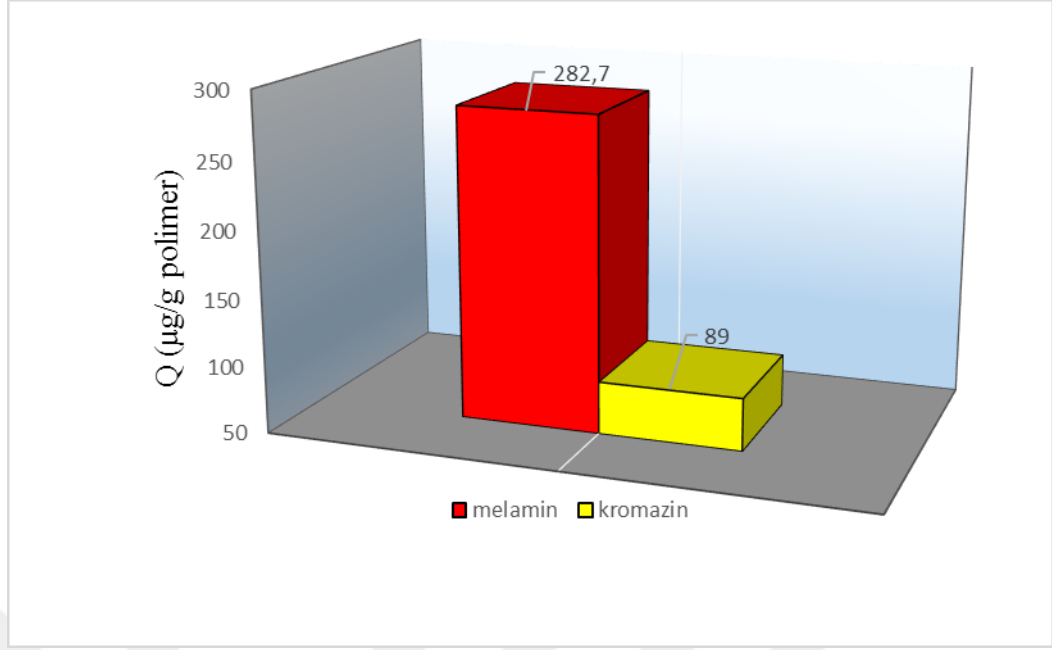


Melamin



Kromazin

Şekil 4.9: Melamin ve Kromazin'in moleküler yapıları.



Şekil 4.10 : Melamin baskılanmış magnetik membranların melamin ve kromazine karşı adsorpsiyonlarının karşılaştırılması.
(pH 5, Karıştırma süresi:30 dk, C: 200 µg/mL)

Yapılan hesaplamalar ışığında melamin baskılanmış magnetik membranların gerek 3 boyutlu gerekse moleküler kütleleri birbirine çok yakın olan; kromazine karşı melamin seçiciliği 3,469 kat daha yüksek olduğu belirlenmiştir. β değerinin 1'den büyük oluşu bize baskılanmış membranların baskılanmamış (kontrol polimeri) membranlara oranla melamine karşı 3,469 kat daha seçici olduğunu göstermektedir.

5. SONUÇLAR

Bu tez kapsamında melamin tutunmasına ve ön-deriştirilmesine yönelik melamin baskılanmış magnetik membranlar hazırlanmıştır. İlk olarak magnetik Fe_3O_4 partiküller Massart yöntemiyle sentezlenmiştir. Daha sonra, katı poli(vinil alkol-co-etilen)(%38 etilen) ve melaminin DMSO içerisinde çözünmesi sağlanmış ve son olarak önceden hazırlanan magnetik partiküller polimer çözeltisi içerisinde homojen bir şekilde dağıtılarak son karışım petri kabı içerisine ince film oluşturacak şekilde aktarılmıştır. Aynı polimerik film oluşturma işlemleri, melamin baskılanmamış polimer içinde tekrarlanmıştır. Oluşturulan melamin baskılanmış ve baskılanmamış magnetik ince film membranlar, 0,5 cm çapında membranlar şeklinde kesilerek, polimerik yapı içerisinde bulunan kalıp molekül melaminin uzaklaştırılmasının ardından, farklı pH ve derişimlerdeki çözeltielerde melamin tanıma ve tutunma deneylerine geçilmiştir. Sulu ortamda melamin tayinine yönelik elde edilen bazı sonuçlar şöyledir:

Membranların magnetik özellikte oluşları VSM analizleri ile kanıtlanmış olup; magnetik özellikte olmaları bize membranların çözelti içerisinden hızlı ayırma, akışkan yatak sistemlerinde kullanılabilirlik, fiziksel karıştırma işleminden doğabilecek, deformasyonlardan kurtarma gibi avantajlar sağlamaktadır.

Magnetik membranlar sıvı çözelti içerisinden basit bir mıknatıs yardımıyla bile biraraya toplandığı gözlenmiştir.

Melamin baskılanmış magnetik membranların maksimum adsorbsiyon gösterdiği ortam, pH 5 olarak belirlenmiştir.

Melamin baskılanmış magnetik membranlar ile 10-200 μg melamin/mL aralığında derişimlerde çalışılmış yaklaşık %95 doğrusallıkta sonuçlar elde edilmiştir. Melamin baskılanmış magnetik membranların Freundlich ve Langmuir adsorpsiyon modellerine göre analizleri yapılmış ve Langmuir modeline daha uygun olduğu gözlenmiştir.

Melamin baskılanmamış magnetik membranlar ile de melamin tutunma çalışmaları yürütülmüş ve baskılanmamış membranların melamine karşı düşük düzeyde bir tutunma gösterdiği belirlenmiştir.

Melamin baskılanmış magnetik membranların melamine karşı yarışmacı molekül olarak kullanılan kromazine göre seçiciliği 3,469 kat fazla iken baskılanmamış yüzey için melamin/kromazin seçicilik değeri 0,986 kat olarak ölçülmüştür.

Baskılama seçiciliğini gösteren bağıl seçicilik katsayısı ise (β) 3,518 olarak hesaplanmıştır.

Melamin baskılanmış magnetik membranlar ile hem doğal süt matriksi hem de süt serumundan tanımlanan ve uzaklaştırılan melamin miktarı, sulu ortamda tanımlanana oranla sırasıyla %84,3 ve %87,5'lik doğrulukta sonuçlar vermiştir. Bu sonuçlar, melamin baskılanmış magnetik membranların süt gibi karmaşık matriksler bile melamin tanımlamada kullanılabileceğini göstermiştir.

KAYNAKLAR

- Allen, L. M., Briggles, T. V., Pfaffenberger, C. D., 1982. Absorption and excretion of cyanuric acid in long-distance swimmers. *Drug metabolism reviews*, 13,3, 499-516.
- Andersson, L. I., 2000. Molecular imprinting: developments and applications in the analytical chemistry field. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 745, 1, 3-13.
- Buur, J. L., Baynes, R. E., Riviere, J. E., 2008. Estimating meat withdrawal times in pigs exposed to melamine contaminated feed using a physiologically based pharmacokinetic model. *Regulatory Toxicology and pharmacology*, 51, 3, 324-331.
- Byrne, M. E., Park, K., Peppas, N. A., 2002. Molecular imprinting within hydrogels. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54, 1, 149-161.
- Cheng, W., Liu, Z., Wang, Y., 2013. Preparation and application of surface molecularly imprinted silica gel for selective extraction of melamine from milk samples. *Talanta*, 116, 396-402.
- Denizli, A. ve Küfrevioğlu, Ö. İ., 2010. Protein kromatografisi ve yeni nesil polimerik sistemler. *Yaz Okulu Notları*, 133.
- Domènech, B., Alonso, A., Muraviev, D. N., Macanás, J., Bastos-Arrieta, J., Muñoz, M., 2012. Bifunctional Polymer-Metal Nanocomposite Ion Exchange Materials. INTECH Open Access Publisher.
- Frösch, D. ve Westphal, C., 1989. Melamine resins and their application in electron microscopy. *Electron microscopy reviews*, 2, 2, 231-255.
- Guan, N., Fan, Q., Ding, J., Zhao, Y., Lu, J., Ai, Y., Miao, J., 2009. Melamine-contaminated powdered formula and urolithiasis in young children. *New England Journal of Medicine*, 360, 11, 1067-1074.
- Han, Q., Shen, X., Zhu, W., Zhu, C., Zhou, X., Jiang, H., 2016. Magnetic sensing film based on Fe₃O₄@ Au-GSH molecularly imprinted polymers for the electrochemical detection of estradiol. *Biosensors and Bioelectronics*, 79, 180-186.
- He, L., Su, Y., Zheng, Y., Huang, X., Wu, L., Liu, Y., Chen, Z., 2009. Novel cyromazine imprinted polymer applied to the solid-phase extraction of melamine from feed and milk samples. *Journal of Chromatography A*, 1216, 34, 6196-6203.

- Jiang, X., Tian, W., Zhao, C., Zhang, H., Liu, M., 2007. A novel sol–gel-material prepared by a surface imprinting technique for the selective solid-phase extraction of bisphenol A. *Talanta*, 72 ,1, 119-125.
- Lee, M. H., Thomas, J. L., Chen, Y. C., Wang, H. Y., Lin, H. Y., 2012. Hydrolysis of magnetic amylase-imprinted poly(ethylene-co-vinyl alcohol) composite nanoparticles. *ACS applied materials & interfaces*, 4, 2, 916-921.
- Lee, M. H., Thomas, J. L., Ho, M. H., Yuan, C., Lin, H. Y., 2010. Synthesis of magnetic molecularly imprinted poly (ethylene-co-vinyl alcohol) nanoparticles and their uses in the extraction and sensing of target molecules in urine. *ACS applied materials & interfaces*, 2, 6, 1729-1736.
- Liu, J., Song, H., Liu, J., Liu, Y., Li, L., Tang, H., Li, Y., 2015. Preparation of molecularly imprinted polymer with double templates for rapid simultaneous determination of melamine and dicyandiamide in dairy products. *Talanta*, 134, 761-767.
- Lu, C. ve Czanderna, A. W., 2012. *Applications of piezoelectric quartz crystal microbalances*. Elsevier.
- Lu, C. ve Czanderna, A. W., 1984. *Applications of piezoelectric quartz crystal microbalances*, Elsevier, New York, USA.
- Marty, J. D., Mauzac, M., 2005. Molecular imprinting: State of the art and perspectives. In *Microlithography: Molecular Imprinting*. Springer Berlin Heidelberg.
- Massart, R., 1981. Preparation of aqueous magnetic liquids in alkaline and acidic media. *IEEE Trans Magn.*, 17: 1247-1248.
- Mosbach, K. ve Ramström, O., 1996. The emerging technique of molecular imprinting and its future impact of biotechnology. *Bio/technology*, 14, 2, 163-170.
- Moskowitz, B. M., 1991, June. Hitchhiker's guide to magnetism. In *Environmental Magnetism Workshop* (279, No. 1, p. 48).
- Odabaşı, M., Say, R., Denizli, A., 2007. Molecular imprinted particles for lysozyme purification. *Materials Science and Engineering: C*, 27, 1, 90-99.
- Piskin, E. ve Hoffman, A. S., (Eds.). 2012. *Polymeric Biomaterials*. Springer Science & Business Media.
- Puschner, B., Poppenga, R. H., Lowenstine, L. J., Filigenzi, M. S., Pesavento, P. A., 2007. Assessment of melamine and cyanuric acid toxicity in cats. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 19, 6, 616-624.
- Ramström, O., Ye, L., Mosbach, K., 1996. Artificial antibodies to corticosteroids prepared by molecular imprinting. *Chemistry & biology*, 3, 6, 471-477.

- Ranganathan, A., Pedireddi, V. R., Rao, C. N. R., 1999. Hydrothermal synthesis of organic channel structures: 1:1 hydrogen-bonded adducts of melamine with cyanuric and trithiocyanuric acids. *Journal of the American Chemical Society*, 121, 8, 1752-1753.
- Sellergren, B., Lepistoe, M., Mosbach, K., 1988. Highly enantioselective and substrate-selective polymers obtained by molecular imprinting utilizing noncovalent interactions. NMR and chromatographic studies on the nature of recognition. *Journal of the American Chemical Society*, 110, 17, 5853-5860.
- Shive, P. N., 1986. Suggestions for the use of SI units in magnetism. *Eos, Transactions American Geophysical Union*, 67 ,3, 25-25.
- Shrivastav, A. M., Mishra, S. K., Gupta, B. D., 2015. Fiber optic SPR sensor for the detection of melamine using molecular imprinting. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 212, 404-410.
- Takeuchi, T., Haginaka, J., 1999. Separation and sensing based on molecular recognition using molecularly imprinted polymers. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 728, 1, 1-20.
- Tomita, B. ve Ono, H., 1979. Melamine–formaldehyde resins: Constitutional characterization by fourier transform ¹³C-NMR spectroscopy. *Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition*, 17, 10, 3205-3215.
- Turiel, E. ve Martín-Esteban, A., 2010. Molecularly imprinted polymers for sample preparation: a review. *Analytica chimica acta*, 668, 2, 87-99.
- URL-1 <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7955>, alındığı tarih : 09/01/2016
- URL-2 <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/47866>, alındığı tarih:09/01/2016
- URL-3 <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1175>, alındığı tarih:11/01/2016
- Wang, Y., Wei, B., Wang, Q., 1990. Crystal structure of melamine cyanuric acid complex (1:1) trihydrochloride, MCA 3HCl. *Journal of Chemical Crystallography*, 20, 1, 79-84.
- Wang, B., Wang, Y., Yang, H., Wang, J., Deng, A., 2011. Preparation and characterization of molecularly imprinted microspheres for selective extraction of trace melamine from milk samples. *Microchimica Acta*, 174, 191-199.
- Whitcombe, M. J., Rodriguez, M. E., Villar, P., Vulfson, E. N., 1995. A new method for the introduction of recognition site functionality into polymers prepared by molecular imprinting: synthesis and characterization of polymeric receptors for cholesterol. *Journal of the American Chemical Society*, 117, 27, 7105-7111.
- Whitcombe, M. J. ve Vulfson, E. N., 2001. Imprinted polymers. *Advanced Materials*, 13, 7, 467-478.

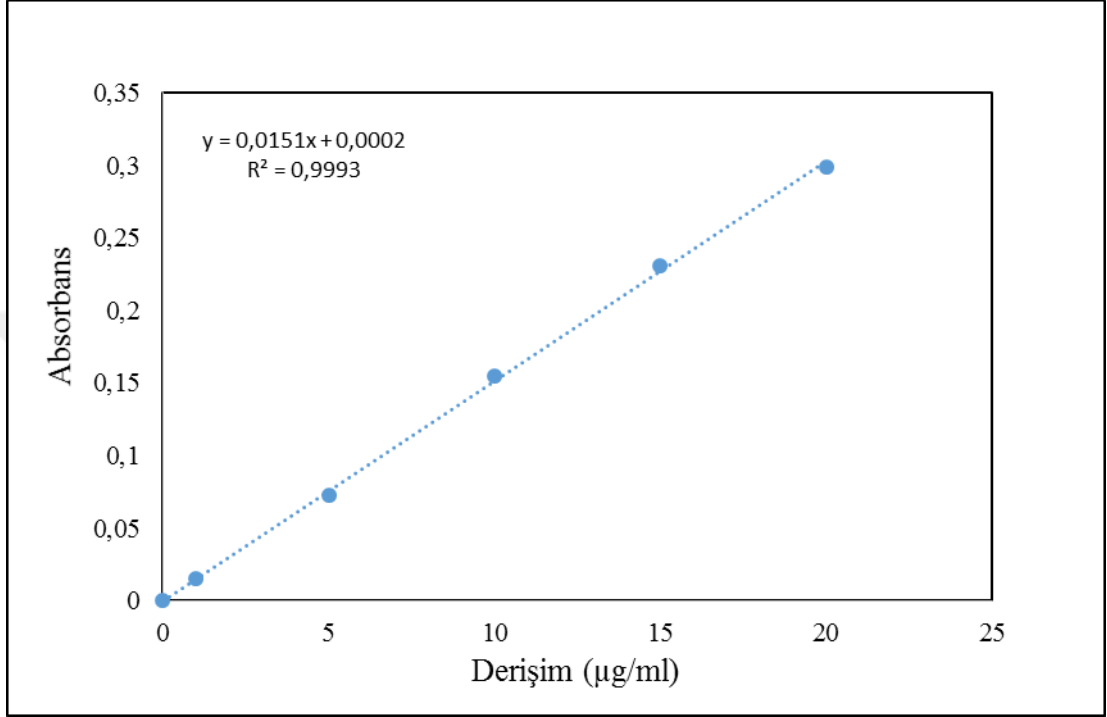
- Wulff, G., 2002. Enzyme-like catalysis by molecularly imprinted polymers. *Chemical reviews*, 102, 1, 1-28.
- Wulff, G., 1995. Molecular imprinting in cross-linked materials with the aid of molecular templates—a way towards artificial antibodies. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 34, 17, 1812-1832.
- Yang, H. H., Zhou, W. H., Guo, X. C., Chen, F. R., Zhao, H. Q., Lin, L. M., Wang, X. R., 2009. Molecularly imprinted polymer as SPE sorbent for selective extraction of melamine in dairy products. *Talanta*, 80, 2, 821-825.
- Yan, H., Row, K. H., 2006. Characteristic and synthetic approach of molecularly imprinted polymer. *International journal of molecular Sciences*, 7, 5, 155-178.
- Yan, H., Cheng, X., Sun, N., Cai, T., Wu, R., Han, K., 2012. Rapid and selective screening of melamine in bovine milk using molecularly imprinted matrix solid-phase dispersion coupled with liquid chromatography-ultraviolet detection. *Journal of Chromatography B*, 908, 137-142.
- Yu, J., Zhang, C., Dai, P., Ge, S., 2009. Highly selective molecular recognition and high throughput detection of melamine based on molecularly imprinted sol-gel film. *Analytica chimica acta*, 651, 2, 209-214.
- Yusof, N. A., Rahman, S. K. A., Hussein, M. Z., Ibrahim, N. A., 2013. Preparation and characterization of molecularly imprinted polymer as SPE sorbent for melamine isolation. *Polymers*, 5, 1215-1228.
- Zhang, Y., Liu, R. J., Hu, Y. L. ve Li, G. K., 2009. Microwave heating in preparation of magnetic molecularly imprinted polymer beads for trace triazines analysis in complicated samples, *Analytical Chemistry*, 81, 3, 967-976.
- Zhang, Z., Cheng, Z., Zhang, C., Wang, H., Li, J., 2012. Precipitation polymerization of molecularly imprinted polymers for recognition of melamine molecule. *Journal of Applied Polymer Science*, 123, 962-967.

EKLER

EK A Melaminin Kalibrasyon Doğrusunun Hesaplanması



EK A Melaminin Kalibrasyon Doğrusunun Hesaplanması



Şekil Ek A.1: Melamin için kalibrasyon doğrusu ve denklemi.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı :Gökhan YÜKSEL
Doğum Tarihi ve Yeri :03.11.1989/ Kadıköy-İSTANBUL
E-posta adresi :gokhanyuksel89@yandex.com

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans : Aksaray Üniversitesi 2009-2013
Yüksek Lisans :Aksaray Üniversitesi, 2013-

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLERİ

1. GÜBRETAŞ Körfez İşletmelerinde Kalite Kontrol ve Toprak Analiz laboratuvarında Yaz Stajı
2. OKÇUERLER AR-GE ve Kalite Kontrol laboratuvarında Çalışma

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

1.Odabaşı, M., Ceylan, Ş., Alkan, M.H., Acet, Ö., **Yüksel, G.**, Öztürk, C., Altay, M.T., “A Novel Adsorbent for DNA Adsorption: Fe³⁺-Attached Sporopollenin Particles Embedded Composite Cryogels” *Third International Conference on Multifunctional, Hybrid and Nanomaterials*, 3-7 March 2013, Sorrento, Italy.

2.Ceylan, Ş., Acet, Ö., **Yüksel, G.**, Öztürk, C., Altay, M.T. Odabaşı, M.,”Investigation of Lysozyme Adsorption Performance of Cu²⁺-Attached PHEMA Beads Embedded Cryogel Membranes” *Third International Conference on Multifunctional, Hybrid and Nanomaterials*, 3-7 March 2013, Sorrento, Italy.

3. Acet, Ö., Cömert, C.Ş., **Yüksel, G.**, Arslan, Ö., Baran, T., Menteş, A., Odabaşı, M., “Synthesis of PHEMA-Water Soluble Imine-Chitosan-Cu²⁺ Composites and Its Use for Lysozyme Adsorption “Pittcon 2015, 8-12 March 2015 New Orleans, LA, USA.

4.Acet, Ö., Cömert, C.Ş., **Yüksel, G.**, Arslan, Ö., Baran, T., Menteş, A., Odabaşı, M., ‘Suda Çözünebilir İmin-Kitosan- Cu²⁺ Komplekslerinin Protein Adsorpsiyon Performansları’, 2. Biyomalzeme Günü, 30 Nisan 2014, Hacettepe Üniversitesi, Fen-Fakültesi, Kimya Bölümü, Ankara/Türkiye.

