



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

KİMYA ANABİLİM DALI

**NARİNGENİN SAFLAŞTIRILMASINA YÖNELİK
MOLEKÜLER BASKILANMIŞ KRİYOJELİK
MEMBRANLARIN GELİŞTİRİLMESİ**

DOKTORA TEZİ

Emel DEMİRTAŞ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Mehmet ODABAŞI

AKSARAY, 2023

Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 172322401 numaralı Doktora öğrencisi **Emel DEMİRTAŞ** tarafından hazırlanan “**NARİNGENİN SAFLAŞTIRILMASINA YÖNELİK MOLEKÜLER BASKILANMIŞ KRIYOJELİK MEMBRANLARIN GELİŞTİRİLMESİ**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Kimya Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Mehmet ODABAŞI

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye: Prof. Dr. Mahmut ERZENGIN

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye: Prof. Dr. M. Hüseyin ALKAN

Dicle Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye: Doç. Dr. Tülden İNANAN

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye: Doç. Dr. İhsan ALACABEY

Mardin Artuklu Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Tez Savunma Tarihi: 02/06/2023

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

.....

Doç. Dr. Mehmet Ali HINIS

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

DOĞRULUK BEYANI

Doktora tezi olarak sunduđum bu çalıřmayı, akademik kurallara ve bilimsel etik, ahlak ve geleneklere aykırı dűőecek bir yol ve yardıma bařvurmaksızın yazdıđımı, yararlandıđım eserlerin kaynakçada gűőterilenlerden olduđuunu, çalıřmamda kullandıđım verilerin orijinalliđini ve her tűrlű intihalden uzak olduđuunu beyan ederim.

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

İmza

Emel DEMİRTAŞ

TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmamın her aşamasında katkılarından dolayı danışmanım saygıdeğer hocam Prof. Dr. Mehmet Odabaşı'na ve aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Tezimin gerçekleşmesinde 121Z173 numaralı proje kapsamında maddi destek sağlayan TÜBİTAK kurumuna çok teşekkür ederim.



Emel DEMİRTAŞ
AKSARAY, 2023

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1 Polimerler.....	3
2.1.1 Polimer eldesi	3
2.1.2 Polimerizasyon işlemleri	4
2.2 Moleküler Baskılama Teknolojisi.....	5
2.2.1 Moleküler baskılama yöntemleri	7
2.2.2 Baskılama yöntemlerinin avantajları ve dezavantajları	8
2.2.3 Moleküler baskılamanın ana bileşenleri	9
2.2.4 Kriyojeller.....	15
2.3 Litaratür Özetleri.....	16
3. MALZEME VE YÖNTEM	39
3.1 Malzeme	39
3.2 Ön Organizasyon Komplekslerinin Hazırlanması	39
3.3 Naringenin Baskılanmış Membranların Hazırlanması.....	41
3.4 Karakterizasyon Çalışmaları.....	41
3.4.1 ATR-FTIR çalışmaları.....	41
3.4.2 Yüzey morfolojisi	42
3.4.3 Polimer membranların termogravimetrik analizi.....	42
3.4.4 Polimer membranların elementel analizleri	42
3.4.5 Polimer membranların şişme ve gözenek analizleri	42
3.4.6 Polimer membranların temas açısı ölçümü.....	43
3.5 Naringenin İçin Sulu Ortamdan Adsorpsiyon Çalışmaları	44
3.5.1 Naringenin adsorpsiyonuna zamanın etkisi	44
3.5.2 Naringenin adsorpsiyonuna pH'nın etkisi	44
3.5.3 Naringenin adsorpsiyonuna sıcaklığın etkisi	44
3.5.4 Naringenin adsorpsiyonuna ortam iyonik şiddet etkisi.....	45
3.5.5 Naringenin adsorpsiyonuna derişimin etkisi.....	45
3.5.6 Bağlanma sabitlerinin belirlenmesi	45
3.5.7 Seçicilik deneyleri	45
3.5.8 Desorpsiyon ve tekrar kullanım özelliği	46
3.5.9 Doğal ortamdan naringenin adsorpsiyon	47
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	48
4.1 Ön Organizasyon Komplekslerinin Hazırlanması	48
4.2 Naringenin Baskılanmış Kriyojelik Membranların Sentezi.....	50
4.3 Karakterizasyon Çalışmaları.....	50
4.3.1 ATR-FTIR çalışmaları.....	50
4.3.2 Yüzey morfolojisi	52
4.3.3 Polimer membranların termogravimetrik analizi.....	53
4.3.4 Polimer membranların elementel analizleri	54
4.3.5 Polimer membranların şişme ve gözenek analizleri	56
4.3.6 Polimer membranların temas açısı ölçümü.....	57
4.4 Naringenin İçin Sulu Ortamdan Adsorpsiyon Çalışmaları	57
4.4.1 Naringenin adsorpsiyonuna zamanın etkisi	57
4.4.2 Naringenin adsorpsiyonuna pH'nın etkisi	58

4.4.3 Naringenin adsorpsiyonuna sıcaklığın etkisi	59
4.4.4 Naringenin adsorpsiyonuna ortam iyonik şiddet etkisi.....	60
4.4.5 Naringenin adsorpsiyonuna derişimin etkisi.....	60
4.4.6 Bağlanma sabitlerinin belirlenmesi	61
4.4.7 Seçicilik deneyleri	63
4.4.8 Desorpsiyon ve tekrar kullanım özelliğı	65
4.4.9 Doğal ortamdan naringenin adsorpsiyon	66
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	68
KAYNAKLAR	70
ÖZGEÇMİŞ.....	88



DOKTORA TEZİ

NARİNGENİN SAFLAŞTIRILMASINA YÖNELİK MOLEKÜLER BASKILANMIŞ KRİYOJELİK MEMBRANLARIN GELİŞTİRİLMESİ

Emel DEMİRTAŞ

Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet ODABAŞI

ÖZET

Naringenin'in antioksidan potansiyeli, çeşitli hayvan modellerinde ve hücre hattı çalışmalarında doğrulanmıştır. Naringenin'in başlıca etkileri arasında ksantin oksidaz, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz, lipoksijenaz ve siklooksijenaz gibi pro-oksidan enzimlerin inhibisyonu, metal iyon şelasyonu ve en önemlisi serbest radikallerin temizlenmesi yer alır. Ayrıca naringenin, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve katalaz gibi çeşitli antioksidan enzimlerin fizyolojik seviyesini arttırır. Ayrıca peroksinitrit tarafından kolaylaştırılan protein nitrasyonunu ve oksidasyonu azalttığı da bilinmektedir

Bu araştırmada, naringenin'in doğal ortamdan seçici olarak ayrılması için moleküler baskılı kriyojel membranlar (MIM'ler) oluşturulmuştur. Hazırlanan baskılanmış membranların özgülüğünü karşılaştırmak için naringenin baskılanmamış membranlar (NIM) da hazırlandı. MIM'ler karakterizasyon için temas açısı ölçümü, şişme testleri, zayıflatılmış toplam yansıma-fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (ATR-FTIR) ve Taramalı elektron mikroskobu (SEM) gibi bazı analizlere tabi tutuldu. MIM'lerin seçicilik çalışmaları hem sulu ortamda hem de doğal portakal suyunda gerçekleştirilmiştir. Seçicilik çalışmalarında naringene yapısal benzerlikleri nedeniyle rakip ajanlar olarak gallik ve kafeik asit molekülleri kullanılmıştır. Elde edilen bazı sonuçlar şöyledir: MIM'ler ve NIM'ler için temas açısı değerleri sırasıyla 58,5° ve 71,8° olarak bulundu. MIM'lerin ve NIM'lerin naringenin için maksimum adsorpsiyon kapasiteleri, 2 mg/mL'lik bir başlangıç konsantrasyonunda sırasıyla 66,5 ve 14 mg/g olduğu bulundu. Elde edilen Scatchard grafiğinin yüksek afiniteli bağlanma bölgelerinin q_{max} ve K_d değerleri sırasıyla 0,126 mmol/g (34,4 mg/g) ve 0,16 mM ($1,6 \cdot 10^{-4}$ M) olarak bulundu. MIM'lerin naringenin seçiciliği gallik ve kafeik asitlerle karşılaştırıldığında sırasıyla 1,99 ve 2,26 kat yüksek bulundu. Naringenin'in doğal portakal suyundan MIM'ler ile adsorpsiyonu 843 µg/g olarak bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Moleküler Baskılanmış Kriyojel Membranlar (MIM'ler), Naringenin Baskılama, Kriyojel Kolon, Portakal Suyu.

Haziran, 2023; 88 sayfa

Ph.D. THESIS

DEVELOPMENT OF MOLECULAR IMPRINTED CRYOGEL MEMBRANES FOR PURIFICATION OF NARINGENIN

Emel DEMİRTAŞ

**Aksaray University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry**

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet ODABAŞI

ABSTRACT

The antioxidant potential of naringenin has been confirmed in various animal models and cell line studies. The main effects of Naringenin include xanthine oxidase, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase, lipoxygenase and inhibition of pro-oxidant enzymes such as cyclooxygenase, metal ion chelation and, most importantly, scavenging of free radicals. In addition, Naringenin increases the physiological level of various antioxidant enzymes such as glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase. It is also known to reduce protein nitration and oxidation facilitated by peroxynitrite.

In this research, molecularly imprinted cryogel membranes (MIMs) were constructed for the selective separation of naringenin from the natural media. Nonimprinted membranes (NIMs) were also prepared without naringenin to compare specificity of prepared imprinted membranes. MIMs were subjected to some characterization analyses e.g., contact angle measurement, swelling tests, attenuated total reflection-fourier transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR) and Scanning electron microscope (SEM). Selectivity studies of MIMs were carried out both in aqueous media and natural orange juice. In selectivity studies, gallic and caffeic acid molecules were used as competitor agents due to their structural similarity to naringenin. Some results obtained as follows: Contact angle values for MIMs and NIMs were found to be 58.5° and 71.8°, respectively. The maximum adsorption capacities of MIMs and NIMs for naringenin were found to be 66.5 and 14 mg/g, respectively at an initial concentration of 2 mg/mL. The $q_{\max}$ and K_d values of the high-affinity binding sites of the obtained Scatchard plot were found to be 0.126 mmol/g (34.4 mg/g) and 0.16 mM ($1.6 \cdot 10^{-4}$ M), respectively. The selectivity of MIMs for naringenin was found 1.99 and 2.26 times high when compared to gallic and caffeic acids, respectively. The adsorption of naringenin from natural orange juice with MIMs was found to be 843 µg/g.

Keywords: Molecularly Imprinted Cryogel Membranes (MIMs), Naringenin Imprinting, Cryogel Column, Orange Juice.

June, 2023; 88 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Moleküler baskılama yönteminin şematik gösterimi.....	6
Şekil 2.2. Kullanılan fonksiyonel monomerler.....	11
Şekil 2.3. Moleküler baskılama işleminde kullanılan çapraz bağlayıcılar.....	12
Şekil 2.4. Moleküler baskılamada yaygın olarak kullanılan başlatıcıların kimyasal yapıları.....	14
Şekil 2.5. Flavonoidlerin halka yapısı.....	17
Şekil 2.6. Kimyasal yapılarına göre flavonoidlerin gösterim.....	19
Şekil 2.7. Naringenin antioksidan aktivite-yapı ilişkisi.....	24
Şekil 3.1. Naringenin ve akrilamid moleküllerinin kimyasal yapıları.....	40
Şekil 3.2. Kriyojel edesi aşamasından bazı görüntüler.....	41
Şekil 4.1. Naringenin kalibrasyon grafiği.....	49
Şekil 4.2. Farklı naringenin ve akrilamid oranlarında ön etkileşim grafiği.....	49
Şekil 4.3. Naringenin (A), baskılanmamış polimer (B) ve naringenin baskılanmış polimer (C) için ATR-FTIR grafikleri.....	51
Şekil 4.4. Naringenin baskılanmış polimer membranların SEM görüntüleri.....	52
Şekil 4.5. Naringenin baskılanmamış polimer membranların SEM görüntüleri.....	53
Şekil 4.6. Naringenin baskılanmış polimer membranların termogravimetrik analizi.....	54
Şekil 4.7. Naringenin baskılanmamış polimer membranların termogravimetrik analizi.....	54
Şekil 4.8. Naringenin baskılanmış (A) ve baskılanmamış (B) kriyojelik membranların temas açısı ölçümleri.....	57
Şekil 4.9. Naringenin baskılanmış polimerik membranlara farklı derişimlerde naringenin adsorpsiyonuna zamanın etkisi. pH: 5; T: 20 °C.....	58
Şekil 4.10. Naringenin baskılanmış polimerik membranlara naringenin adsorpsiyonuna pH'nın etkisi. C _{Nar} : 0,1 mg/mL; T: 20 °C.....	58
Şekil 4.11. Naringenin baskılanmış polimerik membranlara naringenin adsorpsiyonuna sıcaklığın etkisi. C _{Nar} : 0,1 mg/mL; pH: 5.....	59
Şekil 4.12. Naringenin baskılanmış polimerik membranlara naringenin adsorpsiyonuna ortam iyonik şiddetin etkisi. C _{Nar} : 0,1 mg/mL; pH: 5; T: 20 °C.....	60
Şekil 4.13. Naringenin baskılanmış polimerik membranlara naringenin adsorpsiyonuna derişimin etkisi. pH: 5; T: 20 °C.....	61
Şekil 4.14. Naringenin baskılanmış polimerik membranlara naringenin bağlanma özelliklerinin analizi için Scatchard grafiği.....	63
Şekil 4.15. Kalıp ve yarışmacı moleküllerin kimyasal yapıları.....	64
Şekil 4.16. Naringenin baskılanmış membranlardan naringenin için yüzde desorpsiyon oranları. C _{Nar} : 0,1 mg/mL; T: 20 °C.....	65
Şekil 4.17. Naringenin baskılanmış membranların tekrar kullanılabilirlik çalışmaları. C _{Nar} : 0,1 mg/mL; pH: 5; T: 20 °C.....	66
Şekil 4.18. Naringenin baskılanmış membranlar portakal suyundan naringenin çalışmaları. T: 20 °C. (sonuçlar üç tekrarlıdır).....	67

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Bazı çalışmalarında elde edilen naringenin CVD üzerindeki etkileri.	29
Çizelge 3.1. Kalıp molekül, fonksiyonel molekül oranları.	40
Çizelge 4.1. Naringenin için absorpsiyon taraması sonuçları.	48
Çizelge 4.2. Naringenin kalibrasyon grafiği için ölçüm sonuçları.	48
Çizelge 4.3. MIP ve NIP için elementel analiz sonuçları.	55
Çizelge 4.4. Naringenin baskılanmış ve baskılanmamış membranları için şişme oranı.	56
Çizelge 4.5. MIP için toplam su oranı, makro gözeneklilik ve mikro gözenek verileri.	56
Çizelge 4.6. Kalıp ve yarışmacı moleküller için alınan istatistikî değerler.	64
Çizelge 4.7. Doğal ortamdan naringenin adsorpsiyonuna seyreltme faktörünün etkisi. (sonuçlar üç tekrarlıdır)	66



SİMGELER VE KISALTMALAR

AAm	Akrilamid
ABD (USA)	Amerika Birleşik Devletleri
ACE1	Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim -1
ACE2	Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim-2
ACID	4,4'- Azobis(4-Siyanovaleik)
ADV N	2,2'-Azobis(2,4-Dimetilvaleronitril)
AIBN	2,2'-Azobis(İzobütironitril)
Akt	Protein Kinaz B
ALAT	Alanin Transaminaz
ALP	Alkalın Fosfataz
Ang 1	Angiotensin 1
APS	Amonyum Persülfat
ARDS	Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu
ASAT	Aspartat Transaminaz
ATR-FTIR	Zayıflatılmış Toplam Yansıma-Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
BDK	Benzildimetilasetal
BPO	Benzoilperoksit
C halkası	Karbon Halkası
C₁₅H₁₂O₅	Naringenin
CH₃(CH₂)₇OH	Oktanöl
CO₂	Karbondioksit
COOH	Karboksil Grubu
COVID-19	Corona Virus
COX-2	Cyclooxygenase-2
CVD	Kalp-Damar Hastalığı
CYP	Sitokrom P450
DAP	1,4-Diakriloil Piperazin
dH₂O	Aritılmış Su
DIP	1,3-Diizopropenil Benzen
DMN	Dimetilnitrozamin
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DVB	p-Divinilbenzen
EGDMA	Etilen Glikol Dimetakrilat
eNOS	Endotelial Nitrik Oksit Sentaz
ERK	Extracellular Signal Regulated Kinase
H	Hidrojen
H₂O	Su
HEMA	2-Hidroksietil Metakrilat
IBD	İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı
IL-6	İnterlökin-6
IUPAC	Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
iNOS	Inducible Nitric Oxide Synthase
JNK	C-Jun N-Terminal Kinase
KPS	Potasyum Persülfat
KVH	Kardiyo Vasküler Hastalıklar
LD₅₀	%50 Ölüme Neden Olan, Bir Defada Verilen Madde Miktarı
MBAAm	N,N'-Metilen-Bisakrilamid

MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein-1
MDA	Hepatik Malondialdehit
MERS-CoV	Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus
MIM	Moleküler Baskılı Kriyojel Membranlar
MIP	Moleküler Baskılanmış Polimerler
mRNA	Mesajcı RNA
N₂	Azot
NaOH	Sodyum Hidroksit
Nar	Naringenin
NH₂	Amin
NH₃	Amonyak
NIM	Moleküler Baskılanmamış Kriyojel Membranlar
NIP	Moleküler Baskılanmamış Polimerler
Nrf2	Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2
OH	Hidroksil Sübstitüent
OH•	Hidroksil Radikali
ONOO•	Peroksinitrit Radikali
pAAM	Poliakrilamid
PDBMP	N,N-1,3,Fenilenbis(2-Metil-2-Propenamide)
PEG	Polietilenglikol
PETEA	Pentaeritritoltetraakrilat
PETRA	Pentaeritritoltriakrilat
pHEMA	Polihidroksimetakrilat
PKCβII	PKC (Protein Kinase C) Beta II
PS	Portakal Suyu
PVA	Polivinilalkol
R•	Serbest Radikaller
RNS	Reaktif Nitrojen Türleri
ROO•	Peroksil Radikali
ROS	Reaktif Oksijen Türlerine
SARS-CoV-2	Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus
SEM	Taramalı Elektron Mikroskopu
TDMA	Tetrametilendimetakrilat
TEMED	N,N,N',N'-Tetrametiletilediamin
TG/DTA	Termogravimetrik Analiz
TNF	Tümör Nekroz Faktörü
TRIM	Trimetilpropantrimetakrilat
TSO	Toplam Su Oranı (İçeriği)
TSO-φ	Mikro Gözeneklilik
UC	Ülseratif Kolit
UDP	Üridin Difosfat
UV	Ultraviyole
UV-Vis	Ultraviyole Ve Görünür Işık
VACM-1	Vasopressin Activated Calcium Mobilizing 1
WA	Washington
%	Yüzde
°C	Santigrat Derece
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µM	Mikromolar

3CL^{pro}	3C Benzeri Proteaz
C	Konsantrasyon
C*	Serbest Adsorbanın Denge Derişimi
C_f	Etkileşim Sonrası Derişim (mg/mL)
C_i	Başlangıç Derişimi
cm	Santimetre
C_{Nar}	Naringenin Konsantrasyonu(mg/mL)
d	Kriyojeller Gözenek Duvarları Kalınlığı
d_{makro}	Kriyojeller Gözenek Duvarları Kalınlığı, Makrogözenekli
d_{mikro}	Kriyojeller Gözenek Duvarları Kalınlığı, Mikrogözenekli
d_{nano}	Kriyojeller Gözenek Duvarları Kalınlığı, Nanogözenekli
d_{su}	Saf Suyun Yoğunluğu
g	Gram
k'	Göreceli (Bağıl) Seçicilik Katsayısı
k	Seçicilik Katsayısı
k₁	İleri Reaksiyonun (Adsorpsiyon ve Desorpsiyon) Hız Sabiti
k₂	Geri Reaksiyonun (Adsorpsiyon ve Desorpsiyon) Hız Sabiti
K_d	Dağılım Katsayıları
K_d(k₂/k₁)	Ayrışma Sabiti (Bağlanma Afinitesi)
kg	Kilogram
L	Litre
Log	Logaritma
m	Ağırlık (g)
M	Molarite
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
mmol	Milimol
MΩ	Megaohm
nm	Nanometre
°	Derece
pH	Hidrojen Potansiyeli
pKa	Asidik İyonlaşma Sabiti
Q	Gram Polimere Adsorbe Olmuş Naringenin Miktarı (µg/g)
q	Gram Polimere Adsorbe Olmuş Naringenin Miktarı (mg/g)
q*	Yüzeye Bağlanan Adsorbanın Dengedeki Miktarı
q_m	Yüzeye Bağlanan Adsorbanın Maksimum Miktarı
T	Sıcaklık (°C)
t	Zaman
V	Örnek Hacmi (mL)
V_i	Kriyojel Membranın Eklenmesinden Önceki Su Hacmi
V_o	Kriyojel Hacmi
V_s	Kriyojel Membranın Eklenmesinden Sonraki Su Hacmi
W_o	Kuru Membran Kütlesi (Kuru Ağırlığı)
W_{sık}	Suyu Uzaklaştırılan Membranların Ağırlığı
W_ş	Şişmiş (Su İle) Kriyojel Membran Ağırlığı
φ	Makro Gözeneklilik

1. GİRİŞ

Bu çalışmada yeni bir metot olan moleküler baskılama tekniği kullanılarak naringenin flavonunun saflaştırılması amaçlanmıştır. Naringenin pek çok biyoyararlığa sahip bir flavondur ve özellikle narenciye ürünlerinde fazla miktarda bulunmaktadır. Ülkemizde özellikle Akdeniz ikliminin hüküm sürmekte ve paralelinde narenciye üretiminde ileri düzeydedir. Kaynağını çoğunlukla turunçgillerden alan bu bileşiğin ve faydalılık düzeyinin toplum tarafından bilinmiyor olması nedeniyle bu konuya dikkat çekilerek bu alanda akademik çalışmaların artması sağlana bilecek ve devamında turunçgillerin değerlendirilmesi konusunda yeni bir alan açılmış olacak yani naringenin ülkemizde de saflaştırılarak gıda destek maddesi olarak satışı söz konusu olabilecektir.

<https://scholar.google.com/> internet adresinde “naringenin” taraması yapılmıştır. 2021 yılı için yaklaşık 1.270, 2020 yılından beri yaklaşık 8.620, 2017 yılından beri yaklaşık 16.400 sonuç bulunmuştur. Bu sonuçlar saflaştırılacak bu molekülün dünyada ne kadar dikkat çektiğinin ve öneminin göstergesidir. Araştırmaların özellikle tıp alanında yoğunlaştığıda görülmüştür.

Yine <https://scholar.google.com/> internet adresinde Türkçe sayfalarda “naringenin” taraması yapılmıştır. 2021 yılı için yaklaşık 3, 2020 yılından beri yaklaşık 64, 2017 yılından beri yaklaşık 224 sonuç bulunmuştur. Sonuç olarak naringenin konusu ülkemizde yeterli değeri görmediği, fakat yurt dışında naringeninle ilgili çok fazla araştırma olduğu görülmektedir. Bu konuda naringenine ve özellikle biyoyararlılığına dikkat çekilebileceği düşünülmüştür.

Naringenin doğal olarak meydana gelen flavonoidlerin en önemlilerinden biridir, ağırlıklı olarak bazı yenilebilir meyvelerde bulunur, narenciye türleri, domates ve *smyrna* tipi *Ficus carica*'ya ait incir gibi. Naringenin 272,26 ($C_{15}H_{12}O_5$) moleküler ağırlıktadır. Bu yaygın şekilde dağılmış olan molekül suda çözünmez ve alkol gibi organik çözücülerde çözünür. Flavonoidler sınıfı içinde naringenin, naringin veya narirutin (bunun glikon öncüsü) hidrolizinden türeyen bir flavanondur (Wilcox vd., 1999; Salehi vd., 2019a).

Biyoyararlılığının hususunda literatürde yapılan çalışmalara bakıldığında naringenin saf olarak eldesinin önemi görülmektedir. Bu açıdan saflaştırma yöntemi olarak

literatürde sınırlı sayıda tekniğinin uygulanmadığı gözlemlenmiştir. Bu bakımdan hem yeni bir teknik denenmiş hem de bu yöntemin sürdürülebilirliği konusu araştırılmıştır.

Naringenin kuşkusuz tıbbi öneme sahip bir bileşiktir. Bununla birlikte doğal ortamından elde edilmesi ayrıca öneme sahiptir. Bu nedenle elde edilen kriyojel kullanılarak saflaştırılması önem arz eder. Moleküler baskılama yöntemi ile yapılan bu çalışma ile naringenin doğal ortamı olan portakal suyu içinden saflaştırılması yapılmıştır. Böylece sentez olmayan naringenin eldesinin mümkün olup olmadığı belirlenmiştir. Bu, özellikle gıda takviye ürünlerinin doğal menşeyli olması konusunda büyük önem arz eder. Kimyasal sentezle elde edilmiş pekçok gıda bileşeninin sağlık için sakıncaları hiç kuşkusuz inkar edilemez bir geçektir. Çalışmamız boyunca, naringenin saflaştırılabileceği moleküler baskılanmış kriyojel dizayn edilerek optimum adsorpsiyon koşulları tespit edilmiş, gerekli karakterizasyon çalışmaları yapılmış ve doğal ortam için adsorpsiyon kapasitesi tespit edilmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Polimerler

Polimerler, çok sayıda aynı veya farklı atomların kimyasal bağlarla, az veya çok düzenli bir biçimde bağlanarak oluşturduğu uzun zincirli ve yüksek molekül ağırlıklı bileşiklerdir. Polimerler doğal veya sentetik olabilir. Sentetik polimerler genellikle, çok sayıda tekrarlanan, “mer” veya “monomer” denilen basit birimlerden oluşur. Organik polimerler yapılarında başta karbon atomu olmak üzere hidrojen, oksijen, ve azot atomlarını içerir. Polimer zinciri üzerinde sıralanmış atomların hepsi aynı türden oluşmuş ise bu polimerler "homozincir", farklı türden atomlardan oluşmuş ise "heterozincir" polimerler olarak isimlendirilir. Aynı yaklaşımla polimer, tek monomer biriminin tekrar etmesi ile meydana gelmişse "homopolimer" iki monomerden elde edilmişse "kopolimer" ismini alır (Denizli vd., 2005).

2.1.1 Polimer eldesi

Polimerlerin elde edilmesi, Carothers sınıflandırmasına göre; zincir polimerizasyonu ve kondenzasyon polimerizasyonu olarak iki sınıfta incelenebilir. Bu yöntemler hakkında bilgiler aşağıda kısaca verilmiştir (Denizli vd., 2005; Pişkin, 1987).

a) Zincir polimerizasyonu

Zincir polimerizasyon mekanizmasında kısaca monomerler direkt birbirlerine katılarak makromolekül zincir yapılarını meydana getirirler. Bu yöntemde, çoğunlukla doymamış bağlar bulunduran etilen, stiren, vinil klorür, metilmetakrilat gibi dien veya vinil monomerlerinin polimerizasyonu gözlenmektedir (Denizli vd., 2005).

Zincir polimerizasyonu serbest radikaller, iyonlar (katyon veya anyon) veya koordinasyon kompleks temelli bir sistem üzerinden oluşabilir. Söz konusu bu zincir polimerizasyon tekniklerinin en muhim ortak özelliği, polimer zincirinde çok hızlı (örneğin 0,1 saniyede) bir şekilde yüksek molekül ağırlıklarının (10^5 - 10^7 gibi) elde edilebilmesidir. Polimerizasyonun başlatılmasından çok kısa bir zaman sonrasında bile, ortamda oldukça az lakin oldukça yüksek molekül ağırlıklı polimer ve çok

sayıda monomer bulunmaktadır. Reaksiyonun ilerlemesi ile daha çok monomer polimere çevrilir, lakin elde edilen zincirlerinin boyu sabittir (Denizli vd., 2005).

b) Kondenzasyon polimerizasyonu

Kondenzasyon polimerleşmesinde aynı veya farklı gruplara sahip polifonksiyonel monomerlerden küçük yapılı bir molekül çıkması ile elde edilir. Bu türdeki polimerleşmede en önemli şart monomerlerin polifonksiyonel olmasıdır. Bu monomer yapısında "OH", "COOH", "NH₂" ve benzeri fonksiyonel gruplardan en az iki adet bulunmalıdır. Bu monomerler esterleşme, amidleşme gibi reaksiyonlarla birleşmesi sonucunda genellikle H₂O, NH₃, CO₂, N₂ gibi küçük gruplar çıkarak, kondenzasyon polimerleri oluşur (Denizli vd., 2005).

Kondenzasyon polimerizasyonunun diğer bir adı basamaklı polimerizasyondur. Bunun nedeni bu polimerizasyon çeşidinde, ilk olarak monomerler birleşir ve dimerler meydana gelir. Daha sonra, monomer yapılar dimer yapılarla birleşerek trimerler oluşturur ve böylece kademe kademe meydana gelen reaksiyonlarla polimer zincirinin boyu uzar. Söz edilen bu özellik kondenzasyon polimerizasyonu ile zincir polimerizasyonu göz önüne alındığında ifade edilebilecek en önemli farktır. Bu polimerleşme türünde, her bir uzunluktaki polimer zinciri, reaksiyon sonuna kadar, aynı şekilde boyunu artırarak büyümesini sağlar. Polimerizasyon reaksiyonunun başlatılmasından kısa bir müddet sonra, elde edilen yapının ortalama molekül ağırlığı yaklaşık 10.000'e erişildiğinde, reaksiyon ortamdaki monomerlerin neredeyse tamamı reaksiyona girmiştir. Fakat sadece polimerizasyonun sonuna yaklaşıncı polimer zincirleri nihayi boyuna erişebilir (Denizli vd., 2005).

2.1.2 Polimerizasyon işlemleri

İçinde bulunduğumuz zamanda değişik amaçlarla polimer üretmek amacıyla yaygın olarak tercih edilen başlıca polimerizasyon prosesleri dört başlıkta incelenebilir (Denizli vd., 2005):

- Yıgın Polimerizasyonu
- Çözelti Polimerizasyonu
- Süspansiyon Polimerizasyonu

- Emülsiyon Polimerizasyonu

Söz konusu bu dört yöntem uygun düzenekler kullanılarak radikal polimerizasyon yöntemi ile farklı polimerlerin üretiminde kullanılabilir. Kondenzasyon polimerizasyonu ise, çoğunlukla yığın ve çözelti polimerizasyon yöntemleriyle gerçekleştirilir. İyonik ve koordinasyon kompleks polimerizasyonları ise, başlatıcılar sulu ortamda aktivitelerini kaybettiklerinden dolayı sadece yığın ve çözelti polimerizasyon prosesleri kullanılarak üretilirler (Denizli vd., 2005).

2.2 Moleküler Baskılama Teknolojisi

Modern biyoteknolojilerde yüzyüze geline en mühim problemlerde bir tanesi biyomoleküllerin (proteinler, enzimler, hormonlar, antibadiler ve antijenler gibi) içinde oldukları çok unsurlu karmaşık ortamlardan (kan, vücut sıvıları ve mikrobiyal kültür ortamları gibi) seçici olarak ayrılması veya saflaştırılmasıdır. Bahsedilen bu moleküllerin elde edilme maliyetinin %50-80'ini ayırma ve saflaştırma aşamaları kapsamaktadır. Mevcut durumda, laboratuvar veya endüstriyel boyuttaki yöntemlerde boyut, elektriksel yük, yoğunluk gibi ayırt edici vasıflarından faydalanılarak biyomoleküllere saflaştırma yapılabilmektedir. Bunun için, pek çok farklı yöntem geliştirilmesine karşılık halen bu konuyu ele alan pek çok araştırma devam etmektedir (Denizli vd., 2005).

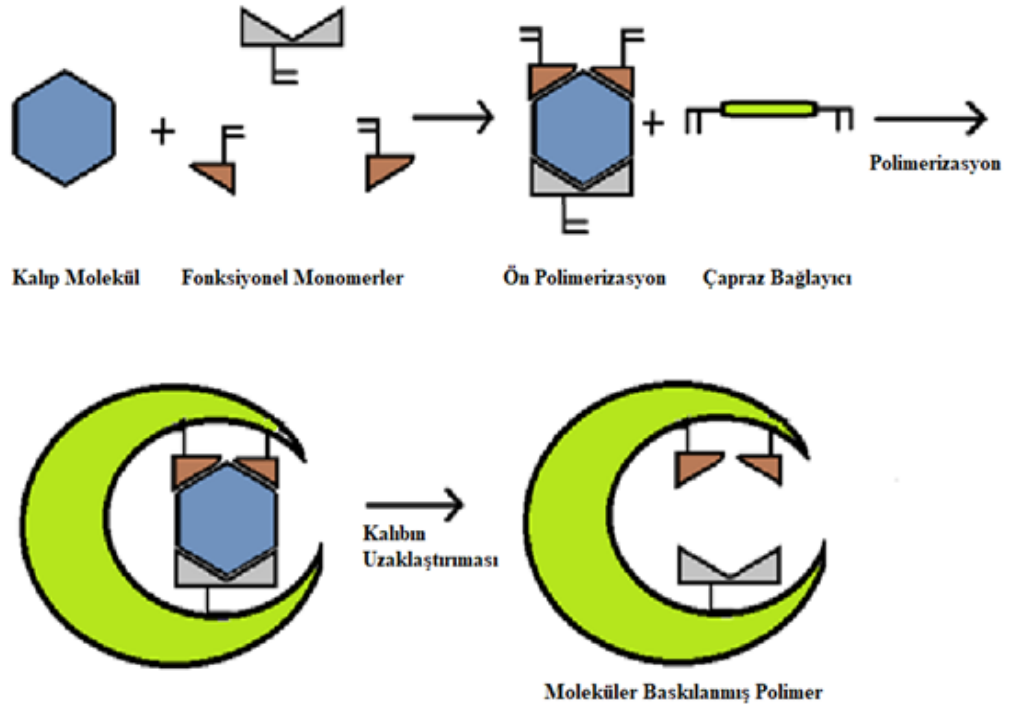
Çevre, ilaç ve biyoteknoloji sektörlerindeki hızlı ve verimi yüksek yöntemlere olan sürekli talepler doğrultusunda, araştırmacıları, çok daha iyi, çok daha seçici ve hassas analitik araştırmalar üzerine yoğunlaşmıştır. Moleküler tanıma temelini baz almış ayırma yöntemleri arasında "Moleküler Baskılama" yöntemi ile elde edilmiş taşıyıcı yapılar hedef moleküle karşı sergiledikleri yüksek seçicilikleri sebebiyle oldukça ümit vermektedirler. İlk kez 1972'de Günter Wulff ve çalışma grubunca ifade edilen moleküler baskılama yöntemi, sentetik polimerlerde fonksiyonel grupların üç boyutlu yapılarının oluşmasıyla, kayda değer seçici bağlanma bölgelerinin oluşturulması amacıyla kullanılmıştır. Bir sonraki adımda bu yöntemle yapılan çalışmalar ise seçilen enzim tepkimelerinin substratlarını, ürünlerini veya geçiş analoglarının kalıp molekül olarak kullanılmasıyla "Yapay Enzim" dahi elde edilebileceğini göstermiştir (Wulff vd., 1977). Moleküler baskılama yöntemi temelde üç aşamadan oluşmaktadır.

I. Ön-kompleksleşme: Fonksiyonel gruplar bulunduran, polimerleşme tepkimesi verebilen, uygun monomerler ve kalıp ya da başka bir ifadeyle hedef molekül ile kovalent veya non-kovalent etkileşimler içine girerek kompleks meydana getirirler. Bu aşamada kalıp çevresinde fonksiyonel monomerin bağlanarak oluşturduğu bir yapı mevzu bahistir. Ön-kompleksleşmede hedef molekülün üç boyutlu yapısı ve kimyasal özellikleri hiç kuşkusuz çok önemlidir (Denizli vd., 2005).

II. Polimerizasyon: Monomer-kalıp kompleksi ile seçilen bir çapraz bağlayıcı kullanılarak fonksiyonel monomeri çevreleyecek şekilde polimerleştirilir (Denizli vd., 2005).

III. Kalıp (hedef) molekülün uzaklaştırılması: Kalıp molekül polimerden uzaklaştırılır böylece yapıda hedef molekülün yerine konumlanacak yeni molekül için boşluklar oluşturulur. Uygun koşullar sağlanarak, bu boşlukların kalıp molekülü boyut, yapı ve fizikokimyasal özellikleri açısından tanınması sağlanır böylece seçici ve etkin bir şekilde kalıp molekülün bağlanması sağlanır (Denizli vd., 2005).

Moleküler baskılama yöntemi kısaca şematik olarak Şekil 2.1’de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Moleküler baskılama yönteminin şematik gösterimi.

Polimerizasyon sonrasında polimer matrisi içinde kalıp molekül ve fonksiyonel gruplar arasında moleküler tanıma alanları oluşur, bu alanlardaki etkileşim türleri, hidrojen bağları, dipol-dipol ve iyonik etkileşimler gibi moleküller arası etkileşimlerdir. Bu sayede, sentezlenmiş olan polimer moleküler tanıma ile seçici bir şekilde yalnız kalıp molekülleri tanıyan ve bağlayan bir özellik gösterir (Ersoy, 2018).

Moleküler baskılanmış polimerlerin bir çok avantajlarından söz edilebilir, bu avantajlar; moleküler baskılanmış polimerlerin baskılama amacıyla kullanılan hedef moleküle karşı yüksek seçicilik ve afinite gösteriyor olması, protein ve nükleik asit benzeri biyolojik sistemlerle kıyaslandığında yüksek sıcaklık, yüksek basınç, asitler, bazlar, metal iyonları ve organik çözücülere karşı daha fazla kararlılık göstermesi, düşük maliyetli ve oda sıcaklığında depolanabilme süresinin uzun olması şeklinde sıralanabilir (Vasapollo vd., 2011; Haupt vd., 2012; Ersoy, 2018).

2.2.1 Moleküler baskılama yöntemleri

Moleküler baskılama yöntemi temel olarak bakıldığında, fonksiyonel monomer ile kalıp molekül arasında oluşan bağın çeşidi göz önüne alınarak sınıflandırılır, bu sınıflandırmada moleküler baskılama ikiye ayrılır (Öncel, 2013).

a) Kovalent baskılama

Kovalent moleküler baskılama ilk defa 1977 yılında Wulff ve arkadaşların tarafından yapılan çalışmalarda gerçekleştirilmiştir (Wulff ve Vesper, 1977). Polimerizasyonun ilk aşamasında kalıp molekül ve fonksiyonel monomer arasında kuvvetli, tersinir bir kovalent bağ gerçekleşir. Polimerizasyon gerçekleştikten sonra oluşan kovalent bağlar parçalanır ve kalıp molekül yapıdan ayrılır. Hedef molekül ve baskılanmış polimer tekrar bir araya geldiğinde etkileşim gerçekleşir aynı kovalent bağlar tekrar meydana gelir (Shea ve Sasaki, 1991; Molinelli, 2004; Öncel, 2013).

b) Non-kovalent baskılama

Mosbach ve arkadaşları tarafından kalıp molekül ve fonksiyonel monomer etkileşiminin mutlaka kovalent bağlanma şeklinde olması gerekmediği gerçeğini

ifade etmişlerdir (Archady ve Mosbach, 1981). Fonksiyonel monomer ve kalıp molekül arasında oluşan kovalent olmayan (hidrojen bağı, elektrostatik etkileşimler ve koordinasyon bağı gibi) etkileşimler temel oluşturur. Polimerizasyon işlemi sonrasında uygun çözücüler kullanılarak kalıp molekül polimerden ayrılır. Proses esnasında hedef molekül ve baskılanmış polimer arasında kovalent olmayan etkileşimler tekrar kurulur (Ersöz vd., 2005; Öncel, 2013).

2.2.2 Baskılama yöntemlerinin avantajları ve dezavantajları

Kovalent ve kovalent olmayan baskılamanın avantaj ve dezavantajları şu şekilde açıklanmaktadır.

Kovalent olmayan baskılama genellikle, başarılması oldukça kolay ve kalıp molekül için uygun özellikteki baskılamalardır. Kovalent olmayan baskılamanın avantajları aşağıdaki gibi sıralanabilir.

- Monomer-kalıp molekülün sentezlenmesine ihtiyaç olamaması.
- Kovalent olmayan etkileşimlerin zayıf etkileşimlerden kaynaklanmasından dolayı polimerizasyon işlemi sonrası kalıp molekülün polimerden rahatlıkla ayrılabilmesi.
- Hedef molekülde gözlemlenen bağlanma kinetiğinin oldukça hızlı olması (Sellergren, 1988; Öncel, 2013) şeklinde sıralanır.

Kovalent olmayan baskılamanın dezavantajları ise;

- Polimerizasyon şartları çoğunlukla sınırlıdır, kalıp molekül ve monomer etkileşimleri değişkendir ve kesin olarak sitokiyometrik oranlarda birleşmedikleri görülür.
- Fonksiyonel monomer miktarı bağ oluşum oranını arttırmak için fazla kullanılmakta ve bu nedenle spesifik olmayan bağlanma bölgelerinin meydana gelmesi söz konusu olabilmektedir (Katz ve Davis, 1999; Dong vd., 2002; Öncel, 2013).

Kovalent baskılamanın avantajları aşağıdaki gibi sıralanabilir.

- Sentezlenen fonksiyonel monomer-kalıp molekül kararlılığı oldukça yüksektir ve sitokiyometrik oranda etkileşim meydana gelir.
- Polimerizasyon için farklı koşulların (yüksek sıcaklık, yüksek veya düşük pH ve polar solventler gibi) isteğe bağlı olarak uygulanması mümkün, çünkü kovalent bağlar ile konjugatlar elde edilmiştir ve fazlasıyla kararlı bir özellik gösterir (Ikegami vd., 2004; Öncel, 2013).

Kovalent baskılamanın dezavantajları ise;

- Monomer-kalıp molekül konjugatının elde edilmesi ekonomik olmaktan oldukça uzaktır.
- Hedef molekül ve polimer arasında sınırlı sayıda tersinir olarak bağlanma oluşur.
- Meydana getirilen kovalent bağ sebebiyle bağlanma kinetiği fazlasıyla yavaştır (Steinke vd., 1995; Öncel, 2013).

Son yıllarda, yapılan işlemlerin basitliği ve bağlanma ve ayrılmanın hızlı gerçekleşmesi nedeniyle kovalent olmayan baskılama en meşhur ve genel sentez stratejisi vasfı kazanmıştır. Lakin, kovalent olmayan baskılama, kompleksin bir arada kalmasını sağlayan etkileşimlerdeki çok az bozulmalara karşı dahi hassastır, sonuç olarak çok mukavemet göstermez (Lofgreen ve Ozin, 2014). Kovalent (dayanıklılığı) ve kovalent olmayan (hızlı hedef alımı) baskılamanın olumlu özelliklerini birleştirmek amacıyla, yarı kovalent baskılama olarak isimlendirilen yeni bir yöntem meydana getirilmiştir. Bu yöntemde, polimer elde edilmesinde kalıp molekül ve fonksiyonel monomer kovalent olarak bağlanmıştır fakat kalıp molekülün yeniden bağlanmasında kovalent olmayan etkileşimlerin temel alındığı alternatif bir yöntemdir (Chen vd., 2011, Ersoy, 2018).

2.2.3 Moleküler baskılamanın ana bileşenleri

a) Kalıp molekül

Bir kalıp molekülde beklenen özellikler şunlardır;

- Polimerleşebilecek bir grubu bulundurması
- Serbest radikal polimerizasyon sırasında kimyasal olarak inert özellikte olması (tiyol ya da hidrokinon grupları bulundurmaması)

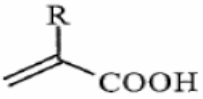
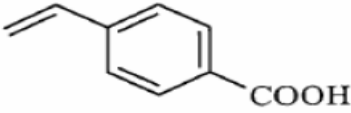
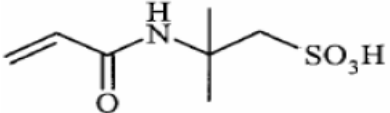
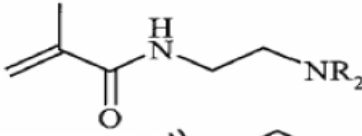
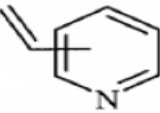
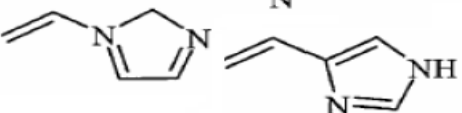
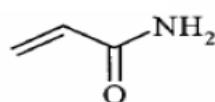
- Yüksek sıcaklıklarda kararlılık göstermesi
- UV ışınlarına mukavemet göstermesi (Öncel, 2013).

MIP elde edilmesi esnasında kalıp molekül derişimi fonksiyonel monomer miktarı baz alınarak optimize edilir (Spivak, 2005). Kalıp molekül olarak çoğunlukla küçük moleküller kullanılır, çünkü çapraz bağlar arasından kolayca uzaklaşması böylece sağlanabilir. İlaçlar, aminoasitler, karbonhidratlar, proteinler, nükleotit bazlar, hormonlar, pestisitler, koenzimler ve iyonların MIP tekniğinde kalıp molekül olarak kullanıldığı görülebilir (Xiantao vd., 2012; Öncel, 2013).

b) Fonksiyonel monomer

Fonksiyonel monomer ile kalıp molekül yüksek bağlanma afinitesine sahip bir etkileşim oluşturmada görevlidir. Kalıp molekül ile fonksiyonel monomer arasında oluşan etkileşim birbirini tamamlar özellik göstermelidir. Kovalent olmayan bağlanmalar için, fonksiyonel monomer miktarının daha fazla kullanılması ideal bir bağlanma oluşturur (kalıp molekül/fonksiyonel monomer, $\frac{1}{4}$ oranında veya üst bir değer olabilir). Kalıp molekül ile fonksiyonel monomer oranı çok düşük ise yeterli bağlanma bölgesi oluşmaz veya bu oran çok yüksek ise spesifik olmayan bağlanma bölgeleri oluşur (Cormack ve Mosbach, 1999). Meydana gelen bu kompleks yapının oluşumu Le Chatelier prensibine göre meydana gelir. Le Chatelier prensibinde ön-polimerizasyon esnasında kompleks şekillenir, bileşenlerin konsantrasyonu yükselir veya kompleksin bağlanma afinitesi yükselir. Baskılanmış polimerlerdeki bağlanma noktası miktarındaki artış, her bir gram polimere seçicilik veya bağlanma faktörü sağlar (Spivak, 2005; Öncel, 2013).

Kullanılan bazı fonksiyonel monomerler, bunların molekül formülleri ve etkileşim türleri Şekil 2.2’de gösterilmiştir.

Fonksiyonel Monomer	Etkileşim Tipi
 Akrilik asitler ($R = H, CH_3, CF_3, CH_2COOH$)	İyonik etkileşimler Hidrojen bağ yapma özelliği
 Vinilbenzoik asitler	İyonik etkileşimler Hidrojen bağ yapma özelliği
 Akrilamidosulfonik asitler	İyonik etkileşimler
 Aminometakrilamidler ($R = H_2, C_2H_5$)	İyonik etkileşimler
 Vinilpiridinler	İyonik etkileşimler Hidrojen bağ yapma özelliği Yük transferi
 Vinilimidazoller	İyonik etkileşimler Hidrojen bağ yapma özelliği Metal koordinasyon
 Akrilamidler	Hidrojen bağ yapma özelliği

Şekil 2.2. Kullanılan fonksiyonel monomerler (Dinçer, 2007; Öncel, 2013).

c) Çapraz bağlayıcı

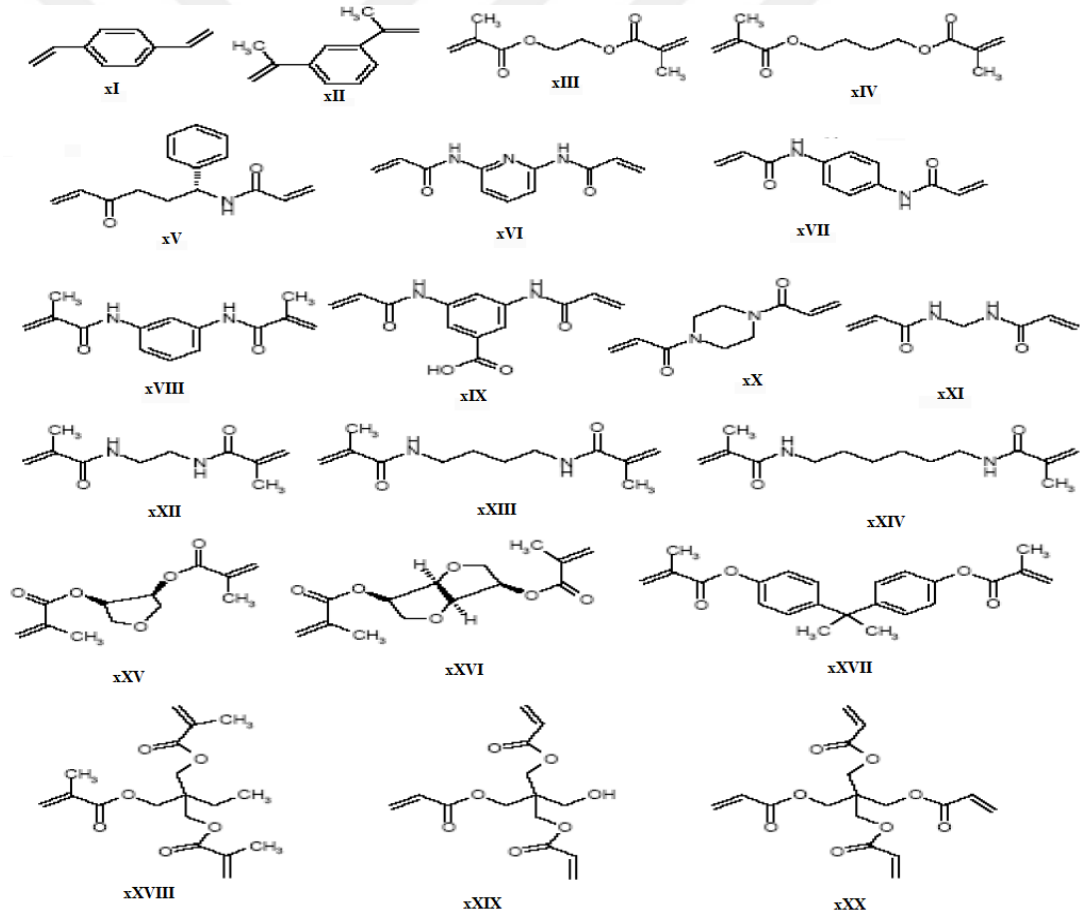
Moleküler baskılamada çapraz bağlayıcı seçimi oldukça önemlidir. Çapraz bağlayıcıdan beklenen işlevler;

- Polimerde gözenek oluşmasında görevlidir. Bu nedenle molekülleri tanıma yapabilir ve kalıp molekülün difüzyonunda görev alır (David ve Peppas, 2009).
- Polimer matriksinin morfolojisi (jel tipi, makro gözenekli ya da mikro jel) çapraz bağlayıcı ile kontrol edilir.
- Çapraz bağlayıcı, bağlanma bölgelerine kararlı bir yapı sağlar.
- Polimere mekanik kararlılık oluşturur (Cormack ve Elorza, 2004; Yan ve Row, 2006; Öncel, 2013).

Moleküler baskılamada %10-80 oranında çapraz bağlayıcı kullanılmalıdır (David ve Peppas, 2009). Polimerin mekanik dayanıklılığı ve kararlılığı için genellikle çok

yüksek oranda çapraz bağlayıcı kullanılır. Başarılı bir moleküler baskılama için, çapraz bağlayıcı ile fonksiyonel monomerin mol oranı çok önemlidir. Eğer oranlar çok düşük ise bağlanma bölgeleri birbirine yakınlaşır ve bu bölgeler bağımsız bir şekilde çalışmayabilir ve başarılı bir sonuç elde edilemez. Eğer yüksek oranda kullanılırsa baskılama etkinliği zarar görür ve kovalent olmayan etkileşimler oluşabilir (Komiyama vd., 2003; Cormack ve Elorza, 2004). Fonksiyonel monomerden veya çapraz bağlayıcıdan herhangi biri polimerizasyon işleminde daha etkin olursa da homojen kopolimerizasyon oluşmaz (Öncel, 2013).

Etilen glikol dimetakrilat ve divinil benzen organik çözücülerde moleküler baskılama için en çok kullanılan çapraz bağlayıcılardır. Şekil 2.3'te bazı önemli çapraz bağlayıcılar verilmiştir (Öncel, 2013).



Şekil 2.3. Moleküler baskılama işleminde kullanılan çapraz bağlayıcılar (Cormack ve Elorza, 2004; Öncel, 2013).

Şekil 2.3'teki kimyasal maddeler sırayla; xI: p-divinilbenzen (DVB), xII: 1,3-diizopropenil benzen (DIP), xIII: Etilen glikol dimetakrilat (EGDMA), xIV: Tetrametilendimetakrilat (TDMA), xV: N,O-bisakriloil-1-fenilalolinol, xVI: 2,6-bisakriloilamidopridin, xVII: 1,4-fenilen diakrilamid, xVIII: N,N-1,3-fenilenbis(2-metil-2-propenamido) (PDBMP), xIX: 3,5-bisakrilamido benzoik asit, xX: 1,4-diakriloil piperazin (DAP), xXI: N,N-metilen bisakrilamid, xXII: N,N-etilenbisakrilamid, xXIII: N,N,tetrametilenbismetakrilamid, xXIV: N,N-hekzametilenismetakrilamid, xXV: anhidroeritritoldimetakrilat, xXVI: 1,4;3,6-dianhidro-d-sorbitol-2,5-dimetakrilat, xXVII: İzopropilenbis(1,4-fenilen) dimetakrilat, xXVIII: Trimetilpropantrimetakrilat (TRIM), xXIX: Pentaeritritoltriakrilat (PETRA), xXXX: Pentaeritritoltetraakrilat (PETEA) (Cormack ve Elorza, 2004; Öncel, 2013).

ç) Çözücü

Çözücüler, tüm bileşenlerin aynı fazda bulunması için ve polimerde istenilen gözeneklerin oluşturulması için çok önemlidir. Baskılanmış polimerin gözenekliliği yapının seçiciliği ve bağlanma afiniteleri ile doğrudan ilişkilidir (Spivak, 2005). Oluşan gözenegın morfolojik yapısı ve yüzey alanları kullanılan çözücüye göre değişmektedir bu nedenle çözücü yerine “porojen” terimi de tercih edilebilmektedir (Öncel, 2013).

Polimerizasyonda çözücü polimer matrikste dağılmış durumdadır ve polimerizasyondan sonra çözücü ortamdan alınarak polimerde gözenekler meydana getirilir (Öncel, 2013).

Çözücülerin bir başka fonksiyonu da reaksiyon ortamında ısının eşit bir şekilde dağılmasını sağlamaktır. Tersı durumda, polimerizasyonda reaksiyon sıcaklığı bazı noktalarda artar ve arzu edilmeyen yan ürünlerin meydana gelmesini tetikler. Pek çok çalışmada baskılanmış polimerlerin düşük sıcaklıklarda elde edildiğı görülebilmektedir (Öncel, 2013).

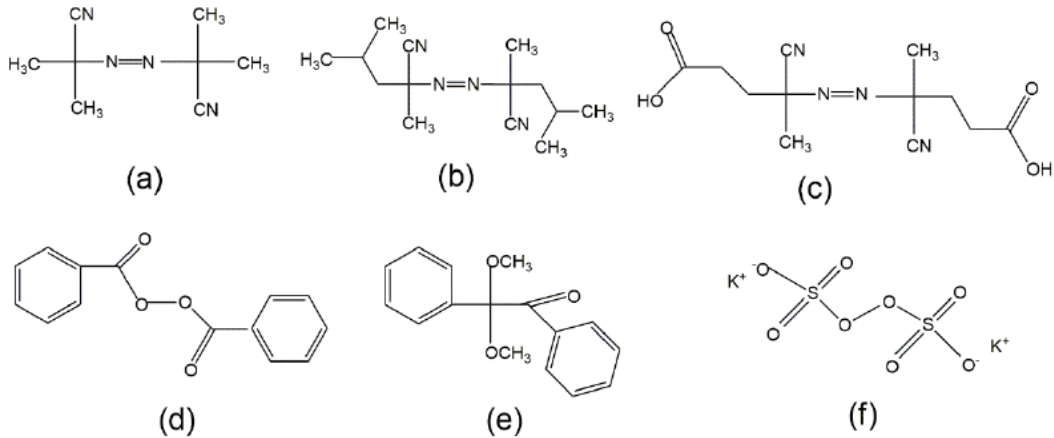
Baskılama yöntemine göre çözücü seçimi yapılmaktadır. Kovalent baskılamada, kullanılan bileşenleri iyi çözecek bir çözücü tercih edilebilir. Kovalent olmayan baskılamada ise en önemli olan, baskılama etkisini ve etkileşimin meydana gelmesini

arttırmak için çözücünün seçimidir (Komiya vd., 2003). Monomer ve baskılanacak molekül arasındaki oluşacak hidrojen bağları ve elektrostatik etkileşimler, yani polar etkileşimlerin meydana gelmesi için çözücü, az polar ve aprotik (hidrojen ve protona sahip olmayan çözücü) olmalıdır. Sentez için kullanılan organik çözücülerin polar olmadığı veya polar olduğu durumda elde edilen MIP'den, genellikle polar olmayan çözücü ile elde edilenler daha iyi seçiciliğe sahiptir (Yu ve Mosbach, 1997).

d) Başlatıcılar

Monomer ile kalıp molekül arasında çok zayıf kovalent olmayan etkileşimler varsa, bu koşulda çok yüksek sıcaklıklar kullanılırsa polimerizasyon gerçekleşmez. Bu durumda başlatıcı seçilirken düşük sıcaklıklarda etkili olan başlatıcılar kullanılmalıdır. Çoğunlukla 2,2'-azobis(izobütironitril) ve 2,2'-azobis(2,4-dimetilvaleronitril) tercih edilir (Öncel, 2013).

Kalıp molekül ile fonksiyonel monomer arasındaki hidrojen bağı ile etkileşimin olduğu şartlarda düşük polimerizasyon sıcaklığı istenildiğinde düşük sıcaklıklarda kullanılabilecek fotokimyasallar başlatıcı olarak tercih edilmelidir (Yu ve Mosbach, 1997; Öncel, 2013).



Şekil 2.4. Moleküler baskılamada yaygın olarak kullanılan başlatıcıların kimyasal yapıları (Chen vd., 2016; Ersoy, 2018).

Şekil 2.4'teki kimyasal maddeler sırayla; (a) 2,2'-azobis(izobütironitril) (AIBN); (b) 2,2'-azobis(2,4-dimetilvaleronitril) (ADV); (c) 4,4'- azobis(4-siyanovaleik)

(ACID); (d) benzoilperoksit (BPO); (e) benzildimetilasetal (BDK); (f) potasyum persülfat (KPS) (Chen vd., 2016; Ersoy, 2018).

2.2.4 Kriyojeller

Kriyojel buz veya don anlamındaki Yunanca κρυος (kryos) kelimesinden gelir (Lozinsky vd., 2002).

Sulu fazda (ya da herhangi bir sıvı fazda) bulunan saf sıvının donma sıcaklığından daha düşük bir dercede organik veya inorganik maddelerin eldesinde uygulanan bu yöntem “kriyojelleşme” ya da “kriyotropik jelleşme” terimiyle ifade edilmiştir. Kriyojelleşme fazlasıyla ilgi çekmiştir; çünkü kriyojelleşme toksik organik çözeltiler kullanmadan neredeyse bütün organik ya da inorganik maddelerden kontrollü dokusal, yapısal ve adsorpsiyon özellikleri taşıyan mikro- ve makrogözenekli yapıların eldesini mümkün kılar (Gun'ko vd., 2013).

1980’den beri pek çok özelliği biliniyor olsada biyoayırma özelliklerinin farkına varılması son yıllarda gerçekleşen kriyojeller; disk, monolitik kolon ve tabaka formlarında şekillendirilebilmektedir (Lozinsky vd., 2003b; Demirci, 2013).

Kriyojel eldesinde yalnızca sulu ortamlar değil dioksan, formamid gibi farklı organik çözücülerden oluşturulmuş sistemler de kullanılabilir (Kirsebom ve Mattiasson, 2011).

Kriyojeller gözenek duvarları kalınlığı genellikle birkaç mikrometre olan ve mikro/makrogözenekli maddelerdir. Canlı bilimi sınıflamasına göre, $d_{\text{nano}} < 0,1 \mu\text{m}$, $0,1 < d_{\text{mikro}} < 100 \mu\text{m}$ ve $d_{\text{makro}} > 100 \mu\text{m}$ çapındaki gözenek boyutları sırasıyla nano-, mikro-, ve makrogözeneklere tekammül eder. İkinci çap değeri $d > 50 \text{ nm}$ ’deki tüm gözenekler makrogözenekler olarak tanımlanmaktadır bu nedenle bu gözenek sınıflaması IUPAC (Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği) gözenek sınıflamasına göre makrogözenekli kriyojeller için daha çok uygundur (Demirci, 2013).

Büyük buz kristalleri, oluşumu esnasında gözenek duvarları üzerinde basınca neden olabilir. Kullanılan su miktarı diğer öncüllerden miktar olarak fazlaysa, oluşan kriyojel makrogözenekli veya süpermakrogözenekli (%99’dan fazla) olabilir. Bu,

gözenek oluşturan mikropartiküller olarak büyük buz kristallerinin meydana gelmesine ve oluşan nispeten ince gözenek duvarlarına bağlıdır (Demirci, 2013).

Kriyojeller süngerimsi bir morfoloji gösterir (Lozinsky vd., 2003b). Kriyojellerin süngerimsi yapıları poliakrilamid (pAAM), polihidroksimetakrilat (pHEMA), polietilenglikol (PEG), dekstranmetakrilat, polivinilalkol (PVA) bileşenine dayandırılmaktadır (Plieva vd., 2007). Kriyojeller süngerimsi morfolojisi ve makrogözenekli yapısı nedeniyle akışa karşı direnci çok düşüktür ve çok farklı boyutlardaki çözünen maddenin difüzyonuna engel oluşturmaz, izin verir (Kumar vd., 2006; Demirci, 2013).

Kriyojeller ucuz malzemelerdir, yapısı geniş gözeneklidir, difüzyon yolu oldukça kısadır, basınç alçalması düşüktür ve alıkonma süresi hem bağlanma hem elüsyon için çok kısadır, bu avantaj ile geleneksel matrikslere karşı iyi bir alternatif olmuştur (Bereli vd., 2008; Tamahkar vd., 2011; Andaç vd., 2012; Demirci, 2013).

Kriyojellerin en yaygın olduğu uygulama alanları bio (ayırma), (bio) kataliz ve afinite kromatografisidir (Dispınar vd., 2012).

Ozmotik, kimyasal ve mekanik kararlılığı ile birleşen benzersiz yapısı nedeniyle kriyojellerin biyolojik nanopartiküllerin (plazmidler, virüsler, hücre organeller) ve tam hücrelerin kromatografisi için matriks olarak kullanılmasını sağlamaktadır (Demirci, 2013).

Kriyojeller, yüksek biyolojik uyumluluğu ve lastik benzeri doğal yumuşak dokusu nedeniyle birçok biyomedikal, kozmetik ve farmasötik uygulamalarda kullanılmaktadır (Gun'ko vd., 2013; Demirci, 2013).

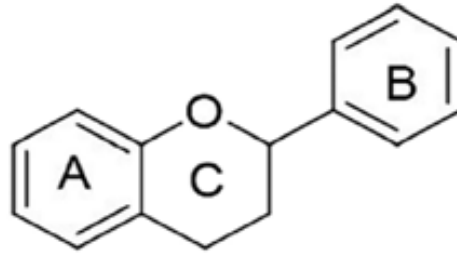
2.3 Litaratür Özetleri

Flavonoidler, sebze ve bitkilerin çoğunda yaygın olarak gözlenen geniş bir kapsamı olan bitki besinleri sınıfıdır. Meyve ve sebzelere canlı renk ve tat vermekten sorumludurlar. Flavonoidler, hücre döngüsü inhibisyonu, nitrojen fiksasyonu, UV (ultraviyole) filtrasyonu için gereklidir ve yüksek bitkilerde kimyasal haberciler olarak görev yapar. Flavonoidlerin ayrıca bitki hastalıklarından koruma sağlamak için sporları engellediği bilinmektedir (Tapas vd., 2008). Temel olarak flavonoidler,

bitkilerin ikincil metabolitleridir. Hidroksilasyon seviyesi, kendine özgü konjugasyonları, sübstitüsyonları ve ayrıca polimerizasyon seviyesi için flavonoidlerin karmaşıklığı temel benzer bölümlerine bağlıdır (Renaud ve de Lorgeril, 1992; Alam vd., 2014; Joshi vd., 2018).

Meyve ve sebzelerde flavonoidler normalde glikozitler olarak bulunur. Açillenmiş, metillenmiş ve sülfat glikozitleri gibi nadir formlara ek olarak açıl glikozidler de bitkilerde rapor edilmektedir. Flavonoidler genellikle suda çözünür bileşiklerdir ve hücre vakuollerinde depolanırlar. Flavonoidlerin güçlü antioksidan aktivitesi ve metal şelasyon aktivitesi, fenolik doğalarına atfedilir. Ayrıca, anti-inflamatuar, anti-alerjik, antihepatotoksik, anti-kanserojen ve anti-trombotik etkiler gösterdikleri bilinmektedir (Wilcox vd., 1999; Joshi vd., 2018).

Bir polifenolik molekül olan flavonoidler, kapalı bir piran halkası olan kısa üç karbon zinciriyle birbirine bağlanan on beş karbon atomu ve iki benzen halkası (A halkası ve B halkası) içerir. Flavonoidler, hemen hemen tüm sebze ve meyvelerde bulunan Şekil 2.5'te gösterildiği gibi benzo-y-piron yapısına sahiptir (Galluzzo vd., 2008; Joshi vd., 2018).



Şekil 2.5. Flavonoidlerin halka yapısı (Joshi vd., 2018).

Kimyasal yapılarına göre flavonoidler altı farklı sınıfa ayrılır: flavonlar, izoflavonlar, flavanoller, antosiyanidinler, flavonoller ve flavanonlar (Kulkarni vd., 2016; Joshi vd., 2018).

Flavonlar: Flavonların benzersiz yapısal özelliği, 2. ve 3. konum arasında çift bağ bulunması ve C halkasının 4. konumunda bir keton bulunmasıdır. Ayrıca sebze ve meyvelerin flavonlarının çoğu için A halkasının 5. konumunda hidroksil grubu gözlenir (Şekil 2.6a). Bu flavonoid sınıfından bilinen örnekler arasında luteolin ve

apigenin bulunur. Kereviz, maydanoz, çeşitli otlar, acı biber vb. sebzeler iyi flavon kaynaklarıdır. Genel antioksidan etkileri kolaylaştırır ve ilaçların metabolizmasını geciktirirler (Yao vd., 2004; Tripoli vd., 2007; Joshi vd., 2018).

Antosiyanidinler: Bu grupta şeker bileşenleri C halkasının 3. konumunda bağlanır ve genellikle fenolik asitlerle bağlanır (Şekil 2.6b). Antosiyanidinlerin glikozitleri antosiyaninlerdir. Antosiyanidinler arasında pelargondin, peonidin, siyanidin ve malvidin bulunur. Mor, mavi meyveler ve kırmızı meyveler, mor üzümler, erikler, narlar ve kırmızı şarapta bol miktarda bulunurlar. Bu flavonoid grubu, obezite ve diyabetin önlenmesinde faydalıdır. Ek olarak, antioksidan etkiler ve kalp sağlığı ile de ilişkilidirler (Graf vd., 2005; Tripoli vd., 2007; Joshi vd., 2018).

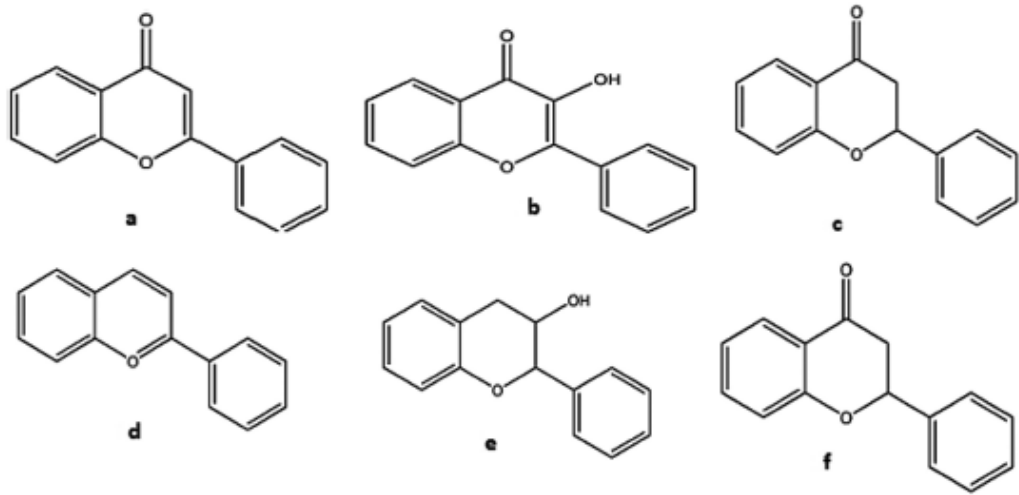
Flavanonlar: Flavonlar ve flavanonlar arasındaki tek yapısal fark, C halkasının doymuş olması ve dolayısıyla 2. ve 3. pozisyonda bulunan çift bağın da doymuş olmasıdır (Şekil 2.6c). Son yirmi yılda flavanonlar keşfedilmiştir. Bu sınıfın iyi bilinen örnekleri, turuncgillerde bol miktarda bulunan hesperetin, eriodictyol ve naringenindir. Antioksidan, antiinflamatuvar ve kardiyovasküler aktivitelere sahiptirler (Yao vd., 2004; Kulkarni vd., 2016; Joshi vd., 2018).

İzoflavonlar: Yapısal olarak izoflavonlar, B halkasının C halkasına 3. konumunda bağlanmasıyla karakterize edilir (Şekil 2.6d). Ayrıca, östrojen hormonunun aktivitesini taklit eden ve yapısal benzerliklere sahip olan fitoöstrojenler olarak da bilinirler. Buna örnek daidzein, genistein ve glycitein'dir. Baklagiller, soya ürünleri ve soya fasulyesinin izoflavonlar açısından oldukça zengin olduğu bulunmuştur. Araştırmalar, çeşitli çalışmalar karışık görüşler sunsa da, prostat kanseri, meme ve endometrial kanser gibi hormonal kanser riskini azaltma kapasitesine sahip olduklarını ileri sürülür (Setchell ve Cassidy, 1999). Bazı araştırmalar bu grubun antioksidan olduğunu iddia ederken, diğer birkaç çalışma oksidan olarak iddiada bulunur ve dolayısıyla izoflavonların antikanser aktivitesi hala belirsizdir (Djuric vd., 2001; Joshi vd., 2018).

Flavonoller: Kimyasal olarak flavonollerde C halkasının 3. konumunda hidroksil grubu bulunur, bazen de glikosillenmiş formda bulunur (Şekil 2.6e). Bu geniş çapta dağılmış flavonoid grubu, quercetin ve kaempferol'ü içerir. Flavonoller brokoli, fasulye, pırasa, çay, Brüksel lahanası, soğan, filiz ve elmada bulunur. Quercetin, anti-

inflamatuvar aktiviteye ek olarak, antihistaminik aktiviteye de sahiptir, bu nedenle kurdeşen ve saman nezlesi tedavisinde faydalıdır. Kaempferol gibi diğer flavanoller, güçlü anti-inflamatuvar ve antioksidan ajanlardır, kronik hastalıkların önlenmesine yardımcı olur (Aherne ve O'Brien, 2002; Joshi vd., 2018).

Flavanoller: Hidroksil grubunun C halkasının 3. pozisyonuna bağlanmasından dolayı bu grup flavan-3-oller olarak da adlandırılır (Şekil 2.6f). Flavanoller ayrıca kateşinler olarak da adlandırılır ve molekülde 2. ve 3. pozisyonda iki kiral merkeze sahiptir. Üç ana flavanol türü monomerler, dimerler ve polimerlerdir. Bu flavanoller çoğunlukla kırmızı şarap, elma, çilek, kakao ve çay içinde yayılmıştır. Kateşinler özellikle yeşil ve beyaz çaylarda bulunurken, siyah çayda kolesterolü düşürmekle ilgili dimerler bulunur. Ayrıca kardiyovasküler ve nörolojik sağlık yararlılıkları ile ilişkilendirilirler (Hollman ve Arts, 2000; Joshi vd., 2018).



Şekil 2.6. Kimyasal yapılarına göre flavonoidlerin gösterim (Joshi vd., 2018).

Bitkiler, insanlar tarafından eski çağlardan beri gıda ve ilaç gibi çeşitli amaçlarla kullanılmıştır. Şu anda mevcut olan ilaçların çoğu doğal kaynaklardan elde edilmiştir. Dünya çapında reçete edilen ilaçların %25'inden fazlası bitkilerden elde edilmektedir ve bu tür 121 aktif fito-bileşen farklı bozukluklar için kullanılmaktadır (Patel vd., 2011a; Patel vd., 2011b). Çok sayıda Afrika ve Asya nüfusu, birincil sağlık hizmetleri için geleneksel ilaçlara güvenmektedir. Yaklaşık 20-30 yıl öncesine kadar, ilaçların çoğunun bitkisel kökenli olduğu görülmektedir (Patel vd, 2011c).

Bu bitkisel kökenli aktif moleküller farklı bozukluklar için kullanılmaktadır. Flavonoidler, çeşitli biyolojik aktiviteleri olan önemli doğal bileşiklerdir. Narenciye flavonoidleri önemli bir flavonoid serisini oluşturur (Venkateswara Rao vd., 2017). Narenciye flavonoidleri, greyfurt, limon, mandalina, misket limonu, portakal gibi turunçgillerde bulunan terapötik açıdan önemli bir flavonoid sınıfıdır. Narenciye besin bileşenleri, yaygın olarak Vitamin P olarak adlandırılan bir grup biyoaktif flavonoiddir ve naringenin, naringin, quercetin, diosmetin, narirutin, diosmin, nobiletin, neohesperidin, rutin, hesperidin, tangeritin vb. içerir (Joshi vd., 2018).

Narenciye flavanonları öncelikle glikozit veya aglikon olmak üzere iki formda bulunur. Glikozit formu ayrıca spesifik bir tadı olmayan rutinoidler (didymin, narirutin, hesperidin) ve tadı acı olan neohesperidoside (neohesperidin ve naringin) olarak tanımlanır. Aglikon formunda hesperetin ve naringenin hayati flavanonlar olarak kabul edilir (Rice-Evans vd., 1995; Treutter, 2006; Joshi vd., 2018).

Narenciye kabuğu ve tohumları fenolik karışımlar açısından son derece zengindir, burada kabuklar tohumlara kıyasla flavonoidler açısından daha zengin görünmektedir. Örneğin limon tohumlarının temel elementleri hesperidin ve eriocitrin iken, kabukları neohesperidin, naringin ve neohesperidin açısından zengindir. Bu nedenle, turunçgillerde kabuk ve çekirdeğin flavonoid içeriği genellikle aynı değildir (Patel vd., 2014; Rani vd., 2016; Joshi vd., 2018).

Naringenin, portakal, üzüm meyvesi, mandalina çiğ limon kabuğunda ve çiğ misket limonu kabuğunda bulunan birincil bir flavanondur. İlginç bir şekilde, portakallar ve üzüm meyveleri bol miktarda naringenin içerir, portakalda 1,47-11,15 mg/100 g arasında değişen bu oran, üzüm meyvesinde ise 14,17-53 mg/100 g arasında değişmektedir (Nogata vd., 2006). Naringenin, diyetimizdeki bolluğu ile birlikte farmakolojik özelliklerinin çeşitliliği nedeniyle bilim camiasının ilgisini çeken bir flavonoid haline gelmiştir (Garg vd., 2001; Justesen vd., 1998; Joshi vd., 2018).

Naringenin, 272,256 g/mol moleküler ağırlığa sahip naringin aglikonudur. Hidrojen tutuculuğu verici sayısı ve alıcı sayısı sırasıyla 3 ve 5 olmaktadır (Yao vd., 2004; Tripoli vd., 2007; Graf vd., 2005). 208-251°C erime noktası ile doğada katıdır. Naringenin etanol, dimetil formamid ve dimetil sülfoksit gibi organik çözücülerde

serbestçe çözünür. Bununla birlikte, sulu tamponlarda naringenin çok az çözünür. Naringenin'in suda çözünürlüğü 475 mg/L, logP (LogP, bir molekülün, genellikle oktanol ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{OH}$) ve su olarak kabul edilen sulu ve lipofilik fazlar arasındaki bölünme katsayısı olarak tanımlanır.) değeri ise 2,42 olarak gözlenmiştir. Naringenin zayıf bazik yapısını gösteren 7,05 ve 8,84 olmak üzere iki pKa değeri sergiler (Justesen vd., 1998; Garg vd., 2001; Zhang vd., 2015; Joshi vd., 2018).

Oral uygulamadan sonra, naringenin insan gastrointestinal kanalında iyi emilmez ve sadece %15 oral biyoyararlanım göstermiştir. Naringenin emilimi hem pasif difüzyon hem de aktif taşıma yoluyla gerçekleşir (Justesen vd., 1998; Garg vd., 2001; Zhang vd., 2015; Joshi vd., 2018).

Naringenin'in insan bağırsağı Caco-2 hücrelerinde geçirgenliği Chabane ve ark. (Chabane vd., 2009) tarafından incelenmiştir ve naringenin'in kısmen pasif difüzyon tarafından emildiği ve absorpsiyonun pH'a bağlı olmadığı bildirilmiştir (Joshi vd., 2018).

Emilimden sonra, flavanonlar kandaki albümine bağlanır ve karaciğer, beyin, böbrek, dalak ve kalp gibi yüksek oranda perfüze olan organlara hızla dolaşır. Araştırmalarda, iki ana konjugenin, bunlar glukuronidler ve sülfatlardır, genellikle serumda bulunmuştur ve ikinci olarak karaciğer, dalak, kalp ve beyin dokularında bulunmuştur (Spencer ve Crozier, 2012; Orrego-Lagarón vd., 2015; Joshi vd., 2018).

Herhangi bir bileşiğin biyoyararlanımı, gastrointestinal sistem geçirgenliğine ek olarak ya hepatik metabolizma yoluyla ya da vücuttan atılım yoluyla eliminasyon sürecine bağlıdır. Flavanonların şimdiye kadar ayırt edilen başlıca metabolitleri, glukuronid ve sülfat konjugatlarıdır (Felgines vd., 2000; El Mohsen vd., 2004; Wang vd., 2006; Joshi vd., 2018).

Emilim sonrası, naringenin, glukuronidasyonun önemli bir metabolik basamağına girer ve %98 naringenin-o- β -D-glukuronid plazmada bir metabolit olarak saptanır. Ayrıca yüksek düzeyde naringenin glukuronid karaciğer, böbrek, kalp ve beyinde de bulunur (Joshi vd., 2018).

Naringenin glukuronidin doku penetrasyonu, lipofilik hücre zarını geçmek için artan polaritesi nedeni ile sınırlı olmasına rağmen, doku b-glukuronidaz, devridaim için

naringenini serbest bırakmak üzere bu metabolitin hidrolizine katılabilir. Benzer şekilde, naringenin hidrolizi, bağırsakta kolayca emilen 3-(4-hidroksifenil) propiyonik asit oluşturmak için kolonik bakteriyel mikroflora tarafından gerçekleşir (Day vd., 1998; Felgines vd., 2000; El Mohsen vd., 2004). Naringenin glukuronidasyonunun çoğunlukla 7- ve 4'-hidroksil gruplarında UDP (Üridin difosfat)-glukuroniltransferaz enzimi aracılığıyla gerçekleştiğini belirten raporlar vardır. Sonuç olarak, sülfotransferazlar naringenin'in 7-, 4'- veya 5-hidroksil gruplarında O-sülfatlanmasında rol oynar (Justesen vd., 1998; Joshi vd., 2018).

Naringenin, çekumda emilmeden önce, ince bağırsakta beta-glukosidaz tarafından hidrolize edilir (Yao vd., 2004). Naringenin, bağırsak bakteriyel mikroflorası tarafından plazma ve idrarda görülen hidroksibenzoik asit, p-hidroksifenilpropiyonik asit ve p-kumarik aside metabolize edilir (Erlund vd., 2001; Joshi vd., 2018).

Naringenin'in antioksidan potansiyeli, çeşitli hayvan modellerinde ve hücre hattı çalışmalarında doğrulanmıştır. Naringenin'in başlıca etkileri arasında ksantin oksidaz, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz, lipoksijenaz ve siklooksijenaz gibi pro-oksidan enzimlerin inhibisyonu, metal iyon şelasyonu ve en önemlisi serbest radikallerin temizlenmesi yer alır. Ayrıca naringenin, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve katalaz gibi çeşitli antioksidan enzimlerin fizyolojik seviyesini artırır. Ayrıca peroksinitrit tarafından kolaylaştırılan protein nitrasyonunu ve oksidasyonu azalttığı da bilinmektedir (Wang vd., 2010). Naringenin ile karşılaştırıldığında, naringenin daha fazla antioksidan, süperoksit ve hidroksil radikal süpürme aktivitesi gösterir. Ayrıca lipidlerin ve iyonların şelasyonunun neden olduğu oksidatif hasara karşı daha yüksek koruma kapasitesi göstermiştir (Cavia-Saiz vd., 2010; Joshi vd., 2018).

Naringenin (5,7,4'-trihidroksiflavanon) flavanonlar adı verilen flavonoidler sınıfına aittir. Flavanonlar greyfurt (*Citrus paradisi*) ve portakal (*Citrus sinensis*) gibi turunçgillerde bol miktarda bulunur. Naringenin ve ilgili turunçgil flavanon hesperetinin hastalık tedavisinde rolü, antikanser ve antiaterojenik bileşikler olarak büyük ilgi görmüştür (Wilcox vd., 1999). Naringenin, osteoporoz, kanser ve kardiyovasküler hastalıklarda faydalı etkilerle ilişkilidir (Galluzzo vd., 2008). Antikanser, antimutajenik, antiinflamatuvar ve antiaterojenik aktivitelere sahiptir. Son zamanlarda naringenin'in, farelerde dimetilnitrozamin kaynaklı karaciğer hasarında

kollajen liflerinin birikimini azalttığı ve antifibrojenik etkiler sergilediği gösterilmiştir (Liu vd., 2006). Naringenin narenciye ve domateslerde daha bol bulunur ve kolon, meme ve rahim kanserli hücre dizileri dahil olmak üzere farklı kanser hücre dizilerinde antiproliferatif etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Galluzzo vd., 2008, Yoshida vd., 2010). Aynı zamanda hem lipid düşürücü hem de insülin benzeri özellikler göstermiştir. Kolesterolle beslenen sıçanlarda naringenin, hepatik kolesterol sentezini ve esterifikasyonu inhibe ederek plazma kolesterolünü düşürmüştür (Mulvihill vd., 2009).

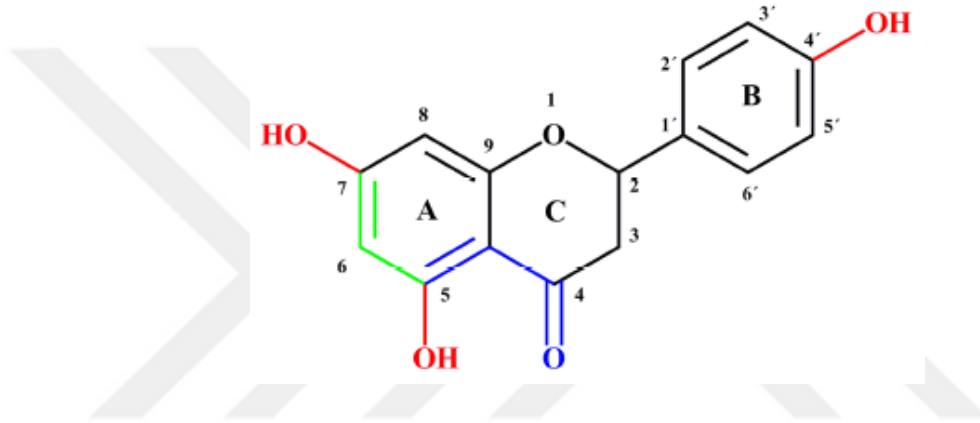
Naringenin, B halkasındaki bir 4'hidroksil grubu nedeniyle serbest radikalleri etkili bir şekilde söndürmüştür (van Acker vd., 2000). Son zamanlarda, Ortiz-Andrade ve ark. (2008) bildirdiği gibi, naringenin toksik değildir, yüksek (5.000 mg/kg) bir LD₅₀ (LD₅₀, bir grup deney hayvanının %50'sinin ölümüne neden olan, bir defada verilen bir maddenin miktarıdır) ile ve insüline bağımlı olmayan diabetes mellituslu sıçanlarda bağırsaktan glikoz Emilimini önlemiştir.

Naringenin dağılımına göre mide, ince bağırsak, karaciğer, böbrek, soluk borusu, akciğer, kalp, yağ, kas, testis, yumurtalık, dalak, beyin ve idrarda bulunmuştur (Choudhury vd., 1999; El Mohsen vd., 2004; Simons vd., 2010; Zou vd., 2012). Ayrıca naringenin ve metabolitleri, albümin (Bolli vd., 2010; Hu vd., 2010; Khan vd., 2011) gibi plazma proteinlerine bağlanır (Hernández-Aquino ve Muriel, 2018).

Normalde flavonoid antioksidan aktivitesi, flavonoidlerin yapı-aktivite ilişkisine atfedilir. Bununla birlikte, serbest radikal süpürücü aktivite ile doğrudan bir antioksidan özelliğine ek olarak, naringenin endojen antioksidan sistemi indüklemeye kabiliyetine sahiptir (Hernández-Aquino ve Muriel, 2018).

Klasik olarak, naringenin antioksidan etkisi, içerdiği hidroksil sübstituentlerinden (OH) kaynaklanmaktadır ve bu hidroksil sübstituentleri, reaktif oksijen türlerine (ROS) ve reaktif nitrojen türlerine (RNS) karşı yüksek reaktiviteye sahiptir. Genel olarak, belirli bir molekülün antioksidan kapasitesi, moleküldeki OH radikallerinin sayısı ile fonksiyonel olarak artar, bu naringenine bakıldığında, 3'tür. O zaman OH, serbest radikallere (R•) H'nini verebilir ve sonra naringenin rezonans yaparak yapıyı stabilize edilebilmektedir (Rice-Evans vd., 1996; Heim vd., 2002; Hernández-Aquino ve Muriel, 2018).

Flavonoidlerin tipik yapısı içinde, B halkası çok önemlidir çünkü halkada OH grupları vardır, flavonoidlerin hidroksili (OH•), peroksil (ROO•) ve peroksinitrit (ONOO•) radikallerini stabilize edebilir, böylece nispeten kararlı bir flavonoid radikali üretir. Öte yandan, A halkasında 5-OH ikamesi ve 5,7-m-dihidroksi düzenlemesi naringenin önemli bir özelliğidir, bu onu bir antioksidan yapar ve aynı zamanda H'ni R•'ye verdikten sonra yapının stabilize edilmesine hizmet eder. Son olarak, 5-OH ve 4-okso süstitüentleri arasındaki ilişki, naringenin ağır metaller gibi bileşikler şelatlama yeteneğine katkıda bulunmaktadır (Şekil 2.7) (Heim vd., 2002; Hernández-Aquino ve Muriel, 2018).



Şekil 2.7. Naringenin antioksidan aktivite-yapı ilişkisi.

Kırmızı renkte: Reaktif oksijen türlerine ve reaktif nitrojen türlerine karşı yüksek reaktiviteye sahip hidroksil süstitüentleri (OH). Yeşil renkte: A halkasındaki 5,7-m-dihidroksi düzenlemesi, elektronları serbest radikallere verdikten sonra yapıyı stabilize etmeye hizmet eder. Mavi renkte: 5-OH ve 4-okso ikame edicileri arasındaki ilişki, ağır metaller gibi bileşiklerin şelatlanmasına katkıda bulunur (Hernández-Aquino ve Muriel, 2018).

Hem naringin hem de naringenin güçlü antioksidanlardır (Renugadevi ve Prabu, 2009, Jung vd., 2003); bununla birlikte, naringin, naringenin ile karşılaştırıldığında daha az etkilidir, çünkü ilkindeki şeker kısmı, süpürücü grubun sterik engellenmesine neden olmuştur. Bağırsak mikroflorası, naringini bağırsaktaki aglikon naringenine parçalamış; daha sonra bağırsaktan emilmiştir (Choudhury vd., 1999).

Naringenin, lipid peroksidasyonunu önemli ölçüde azaltmış ve karaciğerdeki antioksidan savunma seviyelerini restore etmiştir (Renugadevi ve Prabu, 2010; Pari ve Amudha, 2011). Naringenin takviyesi ayrıca serum albümini ve toplam protein konsantrasyonlarını da geri yüklemiş ve farelerde dimetilnitrozamin kaynaklı hepatotoksisitede malondialdehitin hepatik konsantrasyonunu düşürmüştür (Lee vd., 2004). Ayrıca dimetilnitrozamin kaynaklı kolajen birikimi ve a-düz kas hücresi birikimi naringenin tedavisi ile azaltılmıştır (20 ve 50 mg/kg dozlar) (Lee vd., 2004).

Naringenin, insan sağlığı üzerinde geniş biyolojik etkilere sahiptir, lipid peroksidasyon biyobelirteçlerini ve protein karbonilasyonunu azaltmıştır, karbonhidrat metabolizmasını teşvik eder, antioksidan savunmaları arttırmış, reaktif oksijen türlerini temizlemiş, bağışıklık sistemi aktivitesini modüle etmiş, ayrıca anti-aterojenik ve anti-enflamatuar etkiler de uygulamıştır. Ayrıca, yağ asitleri metabolizması ile ilgili sinyal yollarını modüle etme konusunda büyük bir kabiliyete sahip olduğu bildirilmiştir, yağ asitlerinin oksidasyonunu desteklemiş, karaciğerde lipid birikimini bozmuş ve böylece karaciğer yağlanmasını önlemiştir, ilave olarak plazma lipidlerini ve lipoprotein birikimini etkin bir şekilde bozmuştur. Ek olarak, naringenin, hepatositleri insüline duyarlı hale getirerek düşük insülin dozlarına hücre içi sinyal tepkilerini güçlendirmiş, ek olarak, protein kinaz C sinyal yollarıyla etkileşime girme kabiliyeti sayesinde, kan-beyin bariyerini geçebilmiş ve çeşitli nöronal etkiler gösterebilmiştir (Salehi vd., 2019b).

Öte yandan, anti-kanser, anti-proliferatif ve antikarsinojenik etkiler de bu metabolite atfedilmiştir, bu çoğunlukla DNA (Deoksiribo nükleik asit) onarım yeteneğiyle bağlantılıdır. Aslında, 24 saat boyunca 80 mM naringenine maruz kalan hücreler, %24 DNA hidroksil hasarlarının azaltılmasına yol açmıştır (Edwards ve Bernier, 1996). Ayrıca, antiviral etkiler bildirilmiştir. Naringenin *Dang* virüsüne karşı doza bağımlı bir inhibitör etki göstermiş, *Chikungunya* virüsünün hücre içi replikasyonunu önlemiş ve doza bağlı olarak enfeksiyöz hepatit C virüsü partiküllerinin bir araya gelmesini ve uzun süreli üremesini inhibe etmiştir (Salehi vd., 2019b).

Naringenin in vitro biyolojik etkileri üzerine çok fazla veri olmasına rağmen, sadece birkaç klinik çalışma yapılmıştır, bunun ana nedeni, bu bileşiğin metabolik akıbeti ve kimyasal kararsızlığıdır. Ayrıca, yüksek izolasyon ve saflaştırma maliyetleri klinik denemelerin fizibilitesini daha da etkilemektedir. Şimdiye kadar, “naringenin” veya

“naringin” (onun glikozidini) anahtar kelimeler olarak kullanarak klinikaraştırmalar.gov veri tabanında sadece 10 klinik çalışma kaydedilmiştir (Salehi vd., 2019b).

Hücre kültürü sistemini kullanan çalışmalar göstermiştir ki, naringenin, çeşitli hücre tiplerinde inflamatuvar (yangısal-iltihabi) tepkiyi inhibe edebilmiştir. Ayrıca, çeşitli hayvan modellerini kullanan araştırmalar, naringenin çeşitli iltihaplanma ile ilişkili sepsis, fulminan hepatit, fibroz ve kanser gibi bozuklukların tedavisinde terapötik potansiyellerini daha da ortaya koymuştur. Naringenin etki mekanizması tam olarak anlaşılmamış ancak son mekanistik çalışmalar ortaya çıkarmıştır ki, naringenin, hem transkripsiyonel hem de transkripsiyon sonrası mekanizmalar ile inflamatuvar sitokin üretimini baskıladığını ortaya koymuştur. şaşırtıcı bir şekilde, naringenin sadece sitokin mRNA ekspresyonunu engellemekle kalmaz, aynı zamanda lizozoma bağlı sitokin protein degradasyonunu da desteklemiştir. Naringenin bu eşsiz özelliği, sitokin üretimini esasen transkripsiyonel seviyede düzenlenmesi ile, apigenin ve curcumin gibi geniş çapta incelenmiş bazı doğal ürünlerle keskin bir tezat oluşturmuştur. Bu nedenle naringenin, yeni anti-enflamatuvar ajanların geliştirmesi sağlanabilir ve böylece tedavi sağlayabilir (Zeng vd., 2018).

şu anda birkaç çalışma doğal bileşiklerle ilgili, anti-SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus) potansiyeli araştırılmaktadır. ACE2 (Anjiyotensin dönüştürücü enzim-2) reseptörü ile rekabet edebilecek veya ACE2 ekspresyonunu azaltabilecek maddeler, COVID-19'da (Corona virus) alternatif veya adjuvan (birincil yönteme ek olarak kullanılan yeniden tedavi) bir tedavi sunabilir (Chen ve Du, 2020). Aslında, naringenin tüketimi, sıçanların böbreklerinde ACE2 ekspresyonunda bir azalma (Wang vd., 2019) ve doğrudan ACE2 reseptörüne bağlana bilirliği (Cheng vd., 2020) ile ilişkilendirilmiştir (Alberca vd., 2020).

Bununla birlikte, SARS-CoV-2 giriş reseptörü ACE2'nin düzenlenmesini amaçlayan bu beslenme müdahalelerinin dikkatli bir şekilde değerlendirilmesi gerekir, çünkü ACE2'nin düşük regölasyonu daha fazla inflamasyona ve akciğer hasarına yol açabilir (Imai vd., 2005; Diaz, 2020). Daha önceki çalışmalar, naringenin oral tüketiminin bir fare modelinde akut akciğer hasarını azaltabileceğini (Zhao vd., 2017) ve proinflamatuvar sitokinlerin üretimini azaltabileceğini (Gupta vd., 2014)

göstermiştir. Bu son derece önemlidir, çünkü COVID-19'un oluşturduğu akciğer hasarının bir parçası ARDS (akut solunum sıkıntısı sendromu) olarak sınıflandırılabilir (Gattinoni vd., 2020; Alberca vd., 2020).

2019'daki koronavirüs hastalığı ayrıca sitokin fırtınasına, septik şoka ilerlemeye ve ölüme neden olabilir (Chousterman vd., 2017; Ye vd., 2020). Bu nedenle sitokin fırtınasının modüle edilmesi COVID-19'u tedavi etmek için hayati bir süreçtir. Naringenin deneysel modellerde IL-6 (İnterlökin-6) ve TNF (Tümör nekroz faktörü) üretimini düzenlemek için kullanılmıştır (Jin vd., 2017), bu iki sitokin COVID-19'da artan ve ciddi vakalarda daha da artan sitokinlerdir (Zhang vd., 2020; Chen vd., 2020). Ayrıca septik şoklu bir hayvan modelinde, naringenin tüketiminin antioksidan enzimlerdeki bir artış yoluyla böbrek hasarını azaltmıştır (Mu vd., 2019; Alberca vd., 2020).

Çalışmalar, insan hücrelerinde viral replikasyonun ortadan kaldırılmasında naringenin doğrudan rolünü doğrulamıştır, enfeksiyondan önce (Goldwasser vd., 2011) ve enfeksiyondan sonra (Pohjala vd., 2011) olarak. SARS-CoV2'nin in silico analizi gösterdi ki, naringenin SARS-CoV-2 3CL^{pro}'yu (3C benzeri proteaz-3CL^{pro}) inhibe etme ve sonuç olarak viral replikasyonu (Khaerunnisa vd., 2020) inhibe etme potansiyeline sahiptir, ki bunun hala deneysel olarak daha fazla doğrulanması gerekmektedir (Alberca vd., 2020).

Narenciyeler ile naringenin tüketimi (Romaszko vd., 2017) veya takviyeler ile tüketilmesi (Breinholt vd., 2008) dolaşımdaki naringenin seviyelerini hızla artırabilir ve hücre içi naringenin seviyesi artar (Recourt vd., 1989; Breinholt vd., 2008). Plazma numunelerinde naringenin konsantrasyonda, oral tüketimden 20 dakika sonra artış gözlemlenmiş ve tüketimden yaklaşık 3,5 saat sonra zirveye ulaşmıştır (Kanaze vd., 2007). Ek olarak, in vivo antiviral aktiviteye dair çok az kanıt olmasına rağmen (Salehi vd., 2019a), in vitro modellerde ayrıca uzun vadeli bir anti-viral fayda göstermiştir, ki bu naringenin takviyesinin kesilmesinden sonrası bile gerçekleşmiştir (Goldwasser vd., 2011; Alberca vd., 2020).

Naringenin açısından zengin portakal suyu, 8 hafta boyunca 500 mL/gün tüketimi ile yapılan klinik öncesi deneylerde, antiviral tedavide adjuvan (koruyucu) bir etki göstermiştir (Gonçalves vd., 2017). Günde 340 mL greyfurt suyu tüketimi (yaklaşık

210 mg naringenin içerir) menopoz sonrası kadınlarda kalple ilgili ölçümleri de iyileştirmiştir (Habauzit vd., 2015). Naringenin, doğal olarak oluşan en önemli flavonoidlerden biri olmasına rağmen, farmakokinetik yönler, metabolik akibeti ve kimyasal kararlılığa ilişkin klinik araştırma ve veri eksikliği vardır, ki buda bu biyoaktif bileşiğin insanlarda kullanımını sınırlayabilmektedir (Salehi vd., 2019a; Alberca vd., 2020).

Naringenin bir diğer uyarısı, oral tüketimidir. Hastalar tarafından yaygın olarak oral tüketimi red edmemesine rağmen, bu şiddetli COVID-19 hastalarında, oral tüketimin mümkün olmadığı veya red edildiği durumlar bir engel olabilir. Bu nedenle naringenin, koruyucu bir müdahale olarak veya SARS-CoV-2 enfeksiyonunun başlangıcında uygulanabilir. ACE2 azalması daha fazla inflamasyona yol açabileceğinden, naringenin ACE2 reseptörü üzerindeki olası etkisinin de araştırılması gerekir (Imai vd., 2005; Diaz, 2020). Naringenin çoğunlukla ince bağırsakta emilir (Nielsen vd., 2006) ve mikrobiyotadaki farklılıklar nedeniyle bireyler arası önemli bir değişkenlikte sunabilmektedir (Erlund vd., 2001; Kanaze vd., 2007; Alberca vd., 2020).

Başka bir uyarı, naringenin suda zayıf çözünürlüğü ve biyoyararlanımıdır; şu anda lipozomlarının, nanopartiküllerin ve diğer formülasyonlarının kullanımı kendisini bir çözüm olarak sunabilir (Khan vd., 2015; Kumar ve Abraham, 2016; Wang vd., 2017; Gera vd., 2017). Ayrıca naringenin, COVID-19 hastalarında spesifik olarak kullanılan veya düzenli kullanılan ilaçlarda, ilacı metabolize eden enzimleri ve önemli ilaçların farmakokinetiğini etkileyebileceğinden, sitokrom P450 (CYP) sistemi ile naringenin etkileşimlerinin değerlendirilmesi gereklidir (Fuhr ve Kummert, 1995; Bourian vd., 1999; Lu vd., 2011; Alberca vd., 2020).

Sonuç olarak, naringenin bir beslenme müdahalesi olarak anti-inflamatuar potansiyelini, SARS-CoV-1 ve MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus) gibi birçok farklı hastalıkta gösterilmiştir. Özellikle SARS-CoV-2 enfeksiyonu ve COVID-19 olmak üzere viral bir enfeksiyon sırasında insanlarda naringenin tüketiminin rolünün anlaşılmasına yardımcı olmak için daha fazla araştırma ve klinik denemeye ihtiyaç vardır (Alberca vd., 2020).

Naringenin, daha yüksek antioksidan kapasite ve hidroksil ve süperoksit radikal süpürücü etkinliği sergiler. Glikozilasyonda, ksantin oksidaz enzimini inhibe etme etkinliğini azaltır ve aglikon, glikozitten daha aktif bir metalik iyon şelatörü gibi davranabilir. Ek olarak, naringenin, doza bağlı bir şekilde lipidlerin oksidatif hasarına karşı korumada daha büyük bir etkinlik gösterir. Bu, flavanon DNA hasarını azaltmasında etkilidir (Kim ve Lee, 2015).

Naringenin ve naringin, diyabetle birlikte bulunan KVH (kardiyo vasküler hastalıklar) hastalarını tedavi etmek için potansiyel ajanlar olabilir. Naringenin hayvanlarda ve kültürlenmiş hücrelerde CVD (kalp-damar hastalığı) üzerindeki etkilerinin bazıları Çizelge 2.1’de gösterilmiştir (Moghaddam, 2020).

Çizelge 2.1. Bazı çalışmalarında elde edilen naringenin CVD üzerindeki etkileri.

Doz	Deneysel Model	Sonuç	Referans
%0.05 ağırlık/ağırlık diyet	Yüksek kolesterolle beslenen tavşanlar.	Vasküler duvarda, MCP-1 ve VACM-1 ekspresyonlarında köpük hücre gelişimini inhibe etti.	Lee vd., (2001)
100 mg/kg	Sıçanlarda sol ventrikül hipertrofisi.	Miyokard dokusunda azalmış ACEI ve Ang II seviyeleri.	Gao vd., (2018)
4 ve 40 µM	Yaşlı miyokard hücreleri.	Kalsiyum tutma kapasitesini arttırdı; Serbest bırakılan estradiol ve mitokondriyal potasyum kanallarının modüle edilmiş seviyeleri.	Da Pozzo vd., (2017)
3 veya 30 µM	Endotel hücrelerinde yüksek glikoz	Artmış eNOS aktivitesi, nitrik oksit seviye; Engellenen ROS üretimi, PKCβII ifadesi.	Qin vd., (2016)
0-100 µM	İnsan umbilikal ven endotel hücreleri.	Nrf2 ile geliştirilmiş HO-1 ifadesi aktivasyon; Artan Akt, ERK ve JNK yolu.	Feng vd., (2019)
50 mg/kg	Yüksek kolesterol ile beslenen sıçanlar.	Artmış kalp mitokondriyal enzimleri, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar; Engellenen ROS üretimi.	Chtourou vd., (2015)
100 µM	Microglia ve makrofaj hücresi.	İnhibe edilmiş iNOS, COX-2, nitrik oksit sentaz.	Chao vd., (2010)

Naringenin silimarine benzer bir hepatoprotektif özelliğe sahip olduğu bulunmuştur. Naringenin sıçanlarda dimetilnitrozamin (DMN) ile indüklenen karaciğer hasarı üzerindeki koruyucu kapasitesi araştırılmıştır. Naringenin (4 hafta boyunca günde 20 ve 50 mg/kg) oral yoldan verilmesi ile, karaciğer ağırlığı değerlendirildiğinde DMN’nin neden olduğu hasarın yanı sıra alanin transaminaz (ALAT), aspartat transaminaz (ASAT), alkalın fosfataz (ALP) ve bilirubin seviyelerini önemli ölçüde azaltmıştır. Naringenin ayrıca serum içindeki doğal protein seviyelerini ve albümin ve hepatik malondialdehit (MDA) seviyelerini de düzeltmiştir. Naringenin antifibrinojenik ve hepatoprotektif etkilere sahiptir, bununda

hepatik fibrozisin tedavisinde yararlı olabileceğini düşünülmektedir (Lee ve Reidenberg, 1998).

Ülseratif kolit (UC) gibi inflamatuvar bağırsak hastalığının (IBD) patogenezi genellikle azalmış antioksidan kapasite ile ilişkilidir. ROS (reaktif oksijen türleri) gibi serbest radikallerin üremesi belirgin kolonik inflamasyona neden olur. Hasta uyumluluğunun yanı sıra geleneksel tedavilerin olumsuz etkilerini azaltmak için enflamasyonun yönetimi için güvenli ve tolere edilebilir bileşiklerin araştırılmasına büyük ihtiyaç vardır. Naringenin, narenciye, domates, kiraz, greyfurt ve kakaodan elde edilebilen doğal olarak oluşan bir flavonoiddir. Flavonoidlerin çoğu gibi, naringenin de, kendisine ROS'u temizleme yeteneği veren yeterli hidroksil (-OH) ikameleri üretme özelliklerine sahip olması nedeniyle, anti-inflamatuvar dahil olmak üzere birçok farmakolojik potansiyele sahip olduğu deneysel olarak bulunmuştur. Bu nedenle, naringenin oksidasyon veya inflamasyonun hayati bir rol oynadığı kabul edilen patolojik durumları azaltabileceği ve/veya iyileştirebileceği düşünülmektedir (Middleton ve Kandaswami, 1992).

İnsan hücre dizilerini kullanan in vitro çalışmaların yanı sıra, sıçanları ve fareleri içeren hayvan çalışmaları, naringenin üç aşamada karsinogenezi inhibe etme kabiliyetini göstermiştir: tümör gelişimi, anjiyogenez ve tümör büyümesi. Naringenin ayrıca doza bağlı bir şekilde çeşitli kanser hücre dizilerinde sitotoksik ve apoptotik etkilere neden olduğu bilinmektedir, dahası sarkom S-180 implante edilmiş farelerde tümör büyümesini inhibe etmiştir, naringenin potansiyel olarak tümör büyümesini inhibe etmek için kullanılabileceğini düşündürmektedir (Verbeek vd., 2004; Hughes vd., 2008; Erdogdu vd., 2009). Yüksek konsantrasyonlarda naringenin uygulandığında insan kanserli hücre dizisinde sitotoksik etkiye uyarmıştır (%50 etkili konsantrasyon: 150-560 μ M). Bununla birlikte, flavonoidlerin kanser kemo önleyici veya kemoterapötik ajanlar olarak kullanımı, hücre tipine bağlı bir şekilde düşük konsantrasyonlarda sitotoksiteyi indükleyebilen yeni flavonoidlerin veya naringenin türevlerinin geliştirilmesini gerekmektedir (Nagy vd., 1985).

Moleküler baskılanmış polimerler (MIP) ekonomiktir ve moleküler tanıma için yeterli olması sebebiyle fazlasıyla avantajlıdırlar. Moleküler baskılanmış polimerler yüksek sıcaklık, basınç ve geniş bir pH aralığında fiziksel ve kimyasal koşullara karşı oldukça dayanıklıdır. Üstelik moleküler baskılanmış polimerler birkaç yıl süresince

muhafazası mümkündür ve tekrar tekrar rahatlıkla kullanılabilirler (Öncel, 2013).

Moleküler baskılama yöntemindeki yeni gelişmeler sayesinde, pek çok alanda farklı uygulamalarda kullanılacak değişik şekillerde, farklı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip malzemelerin elde edilmesini mümkün kılmıştır. Son yıllarda, moleküler baskılama değişik bileşenlerden meydana gelmiş sistemden belirlenen bir unsurunun alınması ve miktarın tespit edilmesi için yani analitik amaçlar için geliştirilmiş önemli bir yöntemdir (Öncel, 2013).

Hidrojeller suda çözünmeyen, hidrofilik kopolimerlerden meydana gelmiştir, çapraz bağlı ve üç boyutlu yapıya sahip polimerik sistemlerdir. Bundan dolayı hidrojeller doğal bir dokuya benzer ve biyomedikal alandaki çalışmalarda tercih edilir (Oral ve Peppas, 2006). Düşük bir çapraz bağ yoğunluğuna sahip olan hidrojeller bazı ilaçlar, peptidler ve proteinler için taşıyıcı bir sistem özelliği nedeniyle tercih edilir (Öncel, 2013).

Krios (buz yada donma) Yunancadan gelen bir kelimedir, kriyojeller, yarı donmuş monomerik veya polimerik bir çözeltiden üç boyutlu olarak elde edilmiş olan jel matrislerdir. Kriyojeller ilk defa 1960'lı yıllarda rapor edilmiştir ve biyoteknolojik vasıflarının keşfedilmesi başlamıştır (Lozinsky vd., 2003a). Kriyojel matrisler, makrogözenekli veya süper makrogözenekli yapı gösterir, ayrıca süngerimsi bir morfolojiye sahiptir. Makrogözenekli yapı kriyojelde difüzyon akışının ve kütle aktarımının etkin bir şekilde gerçekleşmesini sağlar (Öncel, 2013).

Yüz yıl önce Emil Fischer tarafından ifade edildiği haliyle moleküler tanıma, "anahtar ve kilit model" olarak tarif edilen reseptör ve substrat arasında oluşan kompleks modelini baz alır. Bu kompleks, kilit veya reseptör (protein/enzim) ile anahtar veya substrat (analit) yapısındaki fonksiyonel gruplar tarafından oluşturulan molekül içi etkileşimler ile meydana gelir. Moleküler düzeyde tanıma temelli ayırma modelleri içinde "Moleküler Baskılama" yöntemi ile oluşturulan bu yapılar hedef moleküle karşı seğıledikleri yüksek seçicilikleri nedeniyle oldukça tatmin edici sonuçlar vermiştir (Ersoy, 2018).

Akıllı polimerler olarak adlandırılan moleküler baskılama, yeni bir kromatografik malzeme geliştirme yöntemidir. Akıllı polimerler, bu çeşitli ortamlardan çeşitli iyonları ve molekülleri yüksek seçicilikle ayırmak için kullanılır ve farklı uygulamalarda kullanımını genişletir. Moleküler baskılamada hedef molekül, çevresiyle etkileşime giren bir model gibi davranır, çapraz bağlı monomerler hedef molekülün etrafında düzenlenir ve birlikte polimerize olarak kalıp benzeri bir tabaka oluşturur. Polimerizasyondan sonra hedef moleküller uzaklaştırılır ve hedef moleküller için bağlanma bölgeleri oluşturulur. Bu bölgeler büyüklük, şekil ve fonksiyonel grupların yeri bakımından birbirini tamamlar (Odabaşı, 2005).

Yeni nesil biyomedikal gelişmeler, benzersiz özelliklere sahip malzemeler gerektirir. Jellerin kullanışlılığı ve çok yönlülüğü, onları biyomedikal araştırmaların ön saflarına yerleştirmiştir. Bu malzemeler, biyolojik ayırma, doku mühendisliği ve terapötiklerin hedefe ulaştırılması dahil olmak üzere çok çeşitli uygulamalar için uygundur. Jeller, bir ağ bileşeni ve bir şişirme ajanından oluşan malzemeler olarak tanımlanabilir. Hidrojeller, ağ bileşeninin hidrofilik polimer ve şişirme maddesinin ise su olduğu jellerdir (Jones, 2009). Hidrojeller, gözeneklilik (McNaught, 1997) ve partikül ağ tipi (Gaharwar vd., 2014; Memic vd., 2015; Gu vd., 2018) gibi çeşitli parametrelere göre sınıflandırılabilir. “Süper makro gözenekli” resmi bir IUPAC (Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği) terimi olmasa da, şunu belirtmekte fayda var, hidrojel literatüründe onlarca ila yüzlerce mikrometre arasında değişen gözenek çaplarını tanımlamak için gayri resmi olarak kullanılmıştır. Bu gözenekler, mükemmel kütle akışına izin verir ve biyomoleküllerle önemli etkileşimleri mümkündür (Pathak vd., 2011; Memic vd., 2019).

Kriyojeller, sıfırın altındaki sıcaklıklarda kontrollü polimerizasyonun meydana geldiği, elastik, birbirine bağlı bir ağ ile çevrelenmiş makro gözenekler oluşturan bir hidrojel sınıfı olarak tanımlanabilir (Jones vd., 2009). Kriyojellerin geçmişi 1940'lara kadar izlenebilir (Lozinsky ve Plieva, 1998). Ancak, muhtemelen 1980'lere kadar kriyojellere önemli bir ilgi olmadı (Lozinsky, 2014). Kriyojel sentezi ve karakterizasyonunun benzersiz yönlerine artan ilginin nedenlerinden biri, 1980'lerde poliakrilamid (pAAm) kriyojellerin donma davranışına ilişkin önemli bulgulardır, bu sistemler üzerindeki modern araştırmaları hala etkilemektedir (Plieva vd., 2006).

Bugün, polimer kimyasındaki ilerlemeler, kriyojel sentezinde büyük ilerlemelere yol açmaya devam etmektedir (Kumar, 2016; Memic vd., 2019).

Kriyojelasyon işlemi için (sıfırın altında sıcaklıklarda jelleşme), porojenler olarak çözücü kristalleri (örnek, sulu ortam) kullanılır. Buz çözme sonrası çözücü kristalleri geride büyük ve birbirine bağlı gözenekler oluşturur (Memic vd., 2019).

Makro gözenekli jeller üretmek için kullanılan diğer tekniklerle karşılaştırıldığında, kriyojelasyon zaman ve kaynak açısından verimli bir yöntem olma eğilimindedir (Plieva vd., 2011). Ayrıca, kriyojelleri kullanım amaçlarına göre özelleştirmek için çeşitli parametrelerle çok kolayca ince ayar yapılabilir (Henderson vd., 2013). Kriyojellerin diğer avantajları, hazırlanmalarının esnekliğini ve çözücü olarak çoğunlukla su ile çalışılmasıdır; bu, tür biyomalzemeleri daha ekonomik ve çevre dostu hale getirir (van Rie vd., 2015).

Kriyojelasyon, bir jelleşme çözeltisinin veya önceden oluşturulmuş bir hidrojin dondurulmasını ve ardından çözücü kristallerinin eritme veya kurutma yoluyla ortadan kaldırılmasını tanımlamak için kullanılan teknik bir terimdir (Plieva vd., 2011)

Dondurularak kurutulmuş kriyojeller için, ön oluşturmada hidrojel birkaç dondurarak kurutma döngüsünden geçer, bu buz kristallerinin büyümesine neden olur, daha sonra süblimasyon ile uzaklaştırılır. Bu strateji, geleneksel hidrojellerde birbirine bağlı bir makro gözenekli yapı sunar, bu hem doğal (Wu vd., 2010; Barros vd., 2016) hem de sentetik (Kim vd., 2004; Zhang vd., 2005; Qian ve Zhang, 2011; Liu vd., 2014) polimerlerde yapılabilir. Bazı durumlarda, dondurarak kurutma, düzenli makro gözenekli malzemeler üretmek için bir buzla kalıplama tekniği olarak kullanılır (Nishihara vd., 2005). Bu, hidrojellerin hızlı bir şekilde soğuk bir banyoya daldırılmasıyla gerçekleştirilir, burada matrisler içinde mikrometre boyutunda buz kristalleri oluşur. Buz kristalleri daha sonra birbirine bağlı makro gözenekli bir yapı oluşturmak için bir şablon görevi görür (Nishihara vd., 2005). Dondurma sıcaklığının, gözenek boyutunu ve dondurularak kurutulmuş kriyojellerin şeklini kontrol etmede önemli bir rol oynadığını görülmüştür. (Memic vd., 2019)

Örneğin, Wu vd. tarafında hem -20 hem de -80 °C'de dondurulan numunelerin liyofilizasyonundan sonra açık bir gözenek yapısı gözlemlenir, ancak -196 °C'de (sıvı N₂'de) dondurulduğunda paralel bir tabaka yapısına sahip gözenekler gözlemlenir (Wu vd., 2007). Dondurularak kurutulmuş kriyojellerin geliştirilmiştir fakat, bu yapı iskeleleri genellikle zayıf bir yapısal bütünlüğe ve zayıf mekanik özelliklere sahiptir. Kriyojelasyonun türüne bağlı olarak (yani, dondurarak kurutma veya dondurarak çözme), kriyojellerin mekanik özellikleri, sert ve kırılğan (dondurularak kurutulmuş) ile yumuşak ve daha elastik (dondurularak çözülmüş) arasında değişebilir (Plieva vd., 2011; Memic vd., 2019).

Dondurularak çözülen kriyojeller için, reaksiyon başlangıç karışımı genellikle dondurulur ve ardından çözücü kristalleri eritilir. Bu kriyojeller esas olarak, buz kristalleri etrafında donmamış bir mikrofaz içinde konsantre edilmiş çözünmüş kimyasalların (monomerler/prepolimerler/çapraz bağlayıcılar ve başlatıcı sistem) serbest radikal polimerizasyonu yoluyla sulu bir ortamda kovalent olarak üretilir. Yüksek düzeyde çapraz bağlı polimer duvarlar nedeniyle bu işlemle, şekil hafızası özelliklerine sahip elastik ve sünger benzeri kriyojeller üretilmiştir (Bencherif vd., 2012; Rezaeeyazdi vd., 2018; Memic vd., 2019).

Kriyojelasyon işlemi sırasında, farklı özelliklere sahip kriyojeller üretmek için bir dizi kritik parametre (örn., polimerizasyon sıcaklığı, soğutma hızı, polimer ve solvent içeriği) optimize edilebilir. Çözücü seçimi gibi parametreler kriyojelasyon sırasında donma noktasını etkileyebilir ve polimer duvar kalınlığını ve kriyojel gözenekliliğini etkileyebilir (Kirsebom vd., 2010). Benzer şekilde, tuzların mevcudiyeti, birkaç kriyojel özelliğini etkileyen buz kristali çekirdeklenmesini azaltabilir ve değiştirebilir (Memic vd., 2019).

Polimerizasyonun meydana geldiği sıcaklık, kriyojel özellikleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir. Farklı polimerizasyon sıcaklıkları kullanılarak, polimer duvar kalınlığının yanı sıra gözenek boyutu, dağılımı, oryantasyonu ve bağlana bilirliliği kontrol edilebilir (Okay, 2014). Daha spesifik olarak, sıcaklık, kriyojelasyon sırasında faz ayrılmasının nasıl gerçekleştiğini etkiler, ki bu, kriyojelin fiziksel özelliklerini doğrudan belirleyecektir. Örneğin, daha büyük gözenekler oluşturmak için genellikle mümkün olan en yüksek donma sıcaklığının ve mümkün olan en düşük soğutma hızının kullanılması tavsiye edilir. Öte yandan, kriyojel içinde küçük

gözenekler oluşturmak için dondurmanın yüksek bir soğutma hızında ve mümkün olan en düşük donma sıcaklığında gerçekleşmesi gerekir. Bu parametreler, buz kristali büyümesi ilkelerine ve buz kristalleri ile donmamış sıvı faz arasındaki tabakanın kalınlığına dayanır (O'Brien vd., 2005; Hwang vd., 2010; Öztoprak vd., 2014; Henderson vd., 2015, Bodenberger vd., 2016; Brougham vd., 2017; Sun vd., 2017; Zhang vd., 2017; Rezaeeyazdi vd., 2018; Serex vd., 2018). Klasik çekirdeklenme teorisine göre, daha düşük kriyojelasyon sıcaklıklarında kristalleşme hızı artar ve daha fazla sayıda daha küçük çözücü kristallerinin çekirdeklenmesine neden olur. Gözenek boyutunun maksimize edildiği bir optimum donma sıcaklığının (yani, kriyojelasyon sıcaklığı) bulunduğu dikkat edilmelidir. Bu optimum sıcaklık genellikle polimer konsantrasyonuna bağlıdır ve ki bu polimer konsantrasyonu, polimer viskozitesi ile karışık bir ilişki içindedir (Lozinsky, 2002; Kim vd., 2018; Memic vd., 2019).

Benzer şekilde, Zhang vd. farklı kriyojelasyon sıcaklık basamaklarının, başlangıç sıcaklığının ve her sıfır altı sıcaklıktaki kriyojelasyon süresinin aljinat kriyojelleri içindeki son gözeneklerin şekli, boyutu ve dağılımı üzerindeki etkisini araştırmıştır (Zhang vd., 2017). Pek çok araştırmacı grubu, kriyojelasyon sıcaklığının ağırlıklı olarak gözenek şeklini etkilediğini, oysa her bir sıfır altı sıcaklıktaki ön polimer sıcaklığı ve kriyojelasyon süresinin çoğunlukla gözenek boyutunu etkilediğini gözlemlemiştir. Ek olarak, gözenek boyutu ve şeklinin aşamalı soğutma yaklaşımıyla kolayca kontrol edilebileceğini ve gradyan morfolojisine sahip kriyojellerin üretilbileceğini göstermişlerdir (Memic vd., 2019).

Yüksek derecede birbirine bağlı, makro gözenekli bir kriyojel mimarisi oluşturmak için, monomerlerin polimerizasyonu tamamen yayılmadan önce buz kristalleri oluşturulmalıdır. Ancak bunu başarmak iki ana nedenden dolayı zordur:

- i) polimer çözeltisinde monomerlerin mevcudiyeti, suyun donma sıcaklığını düşürebilir ve
- ii) kriyojelasyon sırasında buz kristali oluşumu için gerekli olan polimer çözeltisi içinde faz ayrımı (Memic vd., 2019) oluşabilir.

Çapraz bağlanma, buz kristali oluşumundan önemli ölçüde daha hızlı gerçekleşirse, polimerizasyon porojenler (yani buz kristalleri) olmadan gerçekleşecek ve yüksek oranda birbirine bağlı bir kriyojel yerine nanogözenekli bir hidrojel üretilecektir (Kirsebom vd., 2010). Bu durumda, buz kristallerinin oluşumunu ve büyümesini kolaylaştırmak için çapraz bağlanma hızı yavaşlatılarak makro gözenekli kriyojeller üretilir. İlk polimer çözeltisinin sıcaklığının, kriyojeller içindeki gözeneklerin boyutunu ve dağılımını doğrudan etkileyebilecek olan polimer çözeltisinin maruz kaldığı soğutma hızını belirlediğine dikkat edilmelidir (Serex vd., 2018). Başlangıç polimer çözeltisinin sıcaklığı arttıkça, polimer çözeltisi ile kriyojelasyon sıcaklığı arasındaki sıcaklık farkı artar (Okay, 2014), bu fark, daha fazla buz çekirdeklenmesine ve daha fazla buz kristali oluşumuna yol açarak daha küçük gözenek boyutuna ve daha düzgün gözeneklere yol açabilir. Başka bir deyişle, daha düşük soğutma hızları, yüksek oranda birbirine bağlı ve makro gözenekli kriyojel mimarisi oluşturarak daha büyük buz kristali büyümesine yol açar. Ayrıca, dondurma işlemine başlamadan önce polimer çözeltisinin sıcaklığının, bu kriyojeller içindeki nihai gözenek boyutu üzerinde büyük bir etki gösterebileceğini gösterir. Deneyler, daha yüksek ön polimer çözelti sıcaklıklarının, polimer yapısı boyunca daha küçük buz kristallerinin gelişmesine neden olduğunu ve bunun da nihai kriyojel içinde daha küçük gözeneklere yol açtığını göstermiştir. Ön-polimer çözeltisinin sıcaklığı arttıkça çapraz bağlanma reaksiyon hızının arttığı ve bunun daha viskoz ön polimerlerin üretimi ile sonuçlandığı varsayılmaktadır. Bu ön çapraz bağlanma, buz kristalleri polimer çözeltisi içinde belirli bir viskozite eşiğinin ötesinde büyümediği için büyük buz kristallerinin oluşumunu engeller. Bu nedenle, nihai kriyojel genel olarak daha küçük bir gözenek boyutuna sahiptir. Öte yandan, yavaş soğutma hızlarıyla üretilen kriyojeller, şırınga enjeksiyonuna ve şeklin geri kazanımına izin veren makro gözenekli sünger benzeri bir mimariye sahip, elastik, birbirine bağlı, yüksek oranda çapraz bağlı polimer duvarlara sahip olacak şekilde ayarlanabilmektedir (Christman vd., 2004; Yao vd., 2011; Bencherif vd., 2012; Bencherif vd., 2013; Henderson vd., 2015; Bellas vd., 2015; Liu, 2017; Shih vd., 2018; Kim vd., 2018; Memic vd., 2019).

Polimer tipine ve çözücü bileşimine (yani ön polimer çözeltisine) bağlı olarak kriyojellerin fiziksel özelliklerini etkileyebilecek birkaç faktör vardır. Örneğin, iyonik polimerler nötr polimerlerden farklı davranır, polimerin konsantrasyonu yanı sıra molekül ağırlığı, viskoziteyi ve zincir karmaşıklığını etkileyebilir. Bu nedenle,

bu parametrelerin herhangi birindeki değişiklikler, nihai kriyojel yapısında önemli farklılıklara yol açabilir (Kirsebom vd., 2010). Genel olarak, sabit bir polimer konsantrasyonunda, daha düşük moleküler ağırlıklı polimerler, nihai kriyojel içinde daha büyük gözeneklerin gelişmesine yol açar (Lin vd., 2011). Bu gözlemler, polimerin moleküler ağırlığı arttıkça polimer çözeltisindeki serbest su içeriğinin azaldığını belirten Mark-Kuhn-Houwink denklemi ile açıklanabilir. Bu, üretilen kriyojeller içinde daha küçük gözenekler ve daha kalın polimer duvarlar ile sonuçlanır (Henderson vd., 2013). Ek olarak, sabit moleküler ağırlıkta polimer konsantrasyonundaki bir artış, çapraz bağlanabilir grupların mevcudiyetinde bir artışa ve serbest su mevcudiyetinde bir azalmaya neden olur, bu da kriyojel gözenek boyutlarının azalmasına neden olabilmektedir (Plieva vd., 2005; Ström vd., 2015; Memic vd., 2019).

En yaygın olarak su kullanılmasına rağmen, ön polimer çözeltisine başka (ko-) çözücüler eklenebilir. Bu (ko-)çözücülerin eklenmesi nihai olarak çözeltinin donma noktasını etkileyecek ve böylece donmamış sıvı fazın kalınlığını etkileyecektir. Bu durumda, kriyojeller farklı ayarlanabilir fiziksel özellikler sergileyecektir (örneğin, gözenek boyutu ve bağlana bilirlilik, polimer duvarların kalınlığı ve çapraz bağ yoğunluğu) (Lin vd., 2011). Benzer şekilde, küçük bir konsantrasyonda tuz ilavesi de donma noktasını ve dolayısıyla buz kristali çekirdeklenmesini düşürebileceğinden çok önemli bir rol oynayabilir, bu da gözenek boyutunu ve bağlana bilirliliği etkilemektedir (Kirsebom vd., 2010; Memic vd., 2019)

Kriyojeller ozmotik, kimyasal ve mekanik kararlılıkları nedeniyle biyolojik uygulamalarda önem kazanmıştır. Bu uygulamalar arasında; biyolojik nanopartiküllerin (plazmidler, virüsler, hücre organelleri) kromatografisinde (Njayou ve Quash, 1991; Ardvissom vd., 2003) veya biyopolimerlerin (Kokufuta ve Jinbo, 1992; Kumakura, 2001) veya hücrelerin (Scardi, 1987) immobilizasyonunda kullanılmışlardır. Ayrıca kriyojeller makrogözenekli yapısı sayesinde hızlı şişme kinetiği ile ilaç salım sistemlerinde ve biyosensör gibi sistemlerin tasarımında kullanılır. Son zamanlarda kriyojeller moleküler baskılama tekniklerinde de kullanılmaktadır. Bugüne kadar, agaroz, dekstran, poliakrilamid, polivinilalkol, polidimetilakrilamidden kriyojeller üretilmiştir (Lozinsky ve Plieva., 1998; Plieva

vd., 2005). Kriyojeller istenilen silindir, granüller veya disk şeklinde üretilebilirler (Öncel, 2013).



3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1 Malzeme

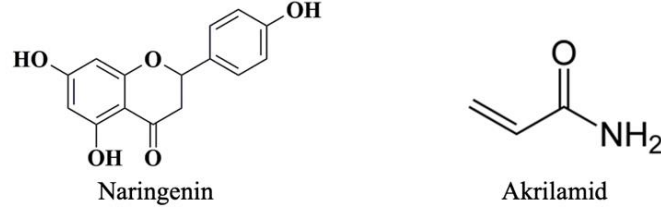
Kalıp molekül olarak kullanılan Naringenin, sırasıyla fonksiyonel ve yardımcı fonksiyonel monomer olarak kullanılan Akrilamid (AAm) ve yardımcı monomer olarak kullanılan 2-hidroksietil metakrilat (HEMA) Sigma (St. Louis, ABD)'dan temin edilmiştir. Çapraz bağlayıcı olarak kullanılan *N,N'*-Metilen-bisakrilamid (MBAAm) ile sırasıyla katalizör ve başlatıcı olarak kullanılan *N,N,N',N'*-tetrametiletildiamin (TEMED) ve amonyum persülfat (APS) Fluka A.G. (Buchs, İsviçre) firmasından satın alınmıştır. Çalışmalarda etanol ve metanol çözücü olarak, asetik asit tampon hazırlamada, sodium klorür ise iyonik şiddet oluşturmada kullanılmıştır ve Merck AG'den (Darmstadt, Almanya) temin edilmiştir. Deneylerde kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıktadır. Deneysel çalışmalar için kullanılan cam malzemelerin temizliği için 4 M nitrik asit kullanılmıştır. Tüm deneylerde kullanılan su yüksek akışlı selüloz asetat membran (Barnstead D2731) ile ters ozmos Barnstead (Dubuque, IA) ROpure LP® birimi ardından Barnstead D3804 NANOpure®organik/kolloid uzaklaştırma birimi ve iyon değiştirici dolgu kolon sisteminden yararlanılarak saflaştırılmıştır (18 MΩ/cm).

3.2 Ön Organizasyon Komplekslerinin Hazırlanması

Kalıp molekül/fonksiyonel monomer oranları, moleküler baskılanmış polimerlerin hazırlanmasında kritik öneme sahiptir. Kalıp molekül etrafında etkileşime girecek olan fonksiyonel monomerlerin sayısı, kalıp molekülün seçiciliği ve geri kazanımı için oldukça önemlidir. Düşük miktarda fonksiyonel monomer oranı, kalıp molekülün geri kazanımı için uygun olabilirken seçicilik aşamasında negatif bir etki gösterebilir. Bu kapsamda, uygulanan MIP yöntemi ve kalıp molekül/fonksiyonel monomer etkileşim oranları MIP çalışmalarının başarısında önemli parametrelerdir.

Bu çalışmada, Naringenin (Nar) baskılanmış polimerlerin hazırlanmasında uygun monomer ve etkileşim oranlarının tespiti için öncelikli olarak tüm etken maddelerin çözüneceği ortak bir çözücü ortamın bulunması gereklidir. Bu kapsamda, etanolün Nar ve AAm için ortak çözücü olduğu belirlendikten sonra farklı oranlarda Nar/AAm (1/2, 1/3, 1/4; mol/mol) etanolde çözülerek ön-organizasyon kompleksleri hazırlandı. Hazırlanan ön komplekslerin UV-Vis spektrofotometre kullanılarak 280-350 nm

dalga boyunda taraması yapılarak elde edilen grafikler değerlendirildi. Nar ve AAm moleküllerinin kimyasal yapıları, Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Naringenin ve akrilamid moleküllerinin kimyasal yapıları.

Naringenin çalışmalarından elde edilen verilerin değerlendirilmesi için naringeninden alabileceğimiz optimum absorbans değerlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla naringenin optimum absorbans değerleri ile ilgili literatür taraması da dikkate alınarak, hazırlanan naringenin çözeltisi 250-350 nm aralığında tarama taranmış ve 290 nm maksimum absorbansın görüldüğü dalga boyu olarak belirlenmiştir. İkinci aşama da ise kalibrasyon eğrisi grafiği için çalışmalar yapılmıştır. Bunun için 0,02 mg/mL bir stok naringenin çözeltisi etil alkollü ortamda hazırlanmış ve elde edilen stok çözeltiden 0,02-0,00125 mg/mL aralığında çözeltiler hazırlanarak 290 nm dalga boyunda absorpsiyon ölçümleri yapılmış ve grafiğe aktarılmıştır.

Bu çalışmada, üç farklı Nar (kalıp molekül)/AAm (fonksiyonel monomer) oranında örnekler hazırlanmış ve çözelti ortamında 30 dakika ön kompleksleşmeye tabi tutulmuştur. Komplekslerin bu süre boyunca 250-350 nm dalga boyları arasında ölçümleri alınmıştır. Hazırlanan oranlar Çizelge 3.1'de verilmiştir.

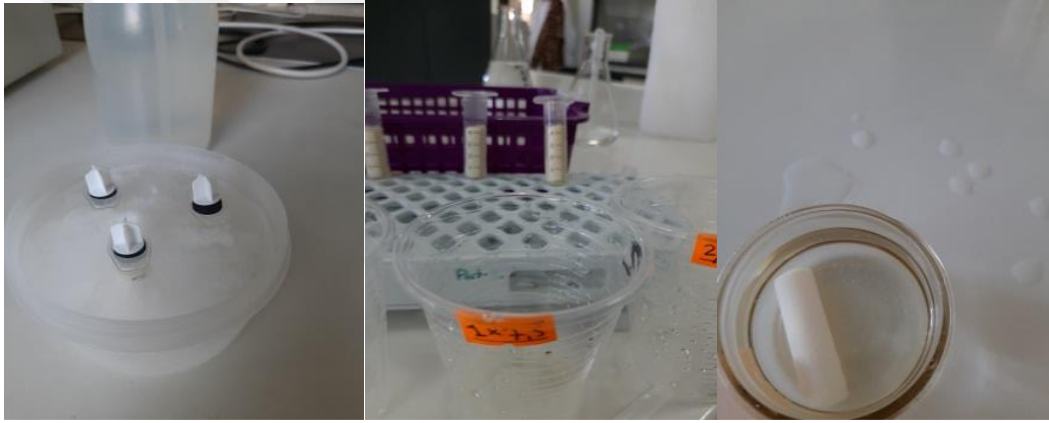
Çizelge 3.1. Kalıp molekül, fonksiyonel molekül oranları.

Örnek No	Naringenin (mmol)	Akrilamid (mmol)
1	0,1	0,2
2	0,1	0,3
3	0,1	0,4

5.3 Naringenin Baskılanmış Membranların Hazırlanması

Naringenin ve fonksiyonel monomer olan akrilamid molekülleri için elde edilen optimal ön kompleks oranlarının ışığında naringenin baskılanmış kriyojelik membranların sentezi aşağıda verilmiştir.

0,1 mmol naringenin ve 0,3 mmol AAm (akrilamid) 30 dakika ön kompleksleşmeye tabi tutulmuş daha sonra 1,8 mmol MBAAm (*N,N'*-Metilen-bisakrilamid), 1,5 mmol HEMA (2-hidroksietil metakrilat) ve 15 µL APS (amonyum persülfat) ilave edilmiş son olarakta 15 µL TEMED (*N,N,N',N'*-tetrametil etilenamin) ilave edilerek karışım - 18 °C'de 12 saat süreyle polimerleşmeye tabi tutulmuştur. Aynı yöntem kullanılarak fakat naringenin kullanılmadan naringenin baskılanmamış polimerlerde elde edilmiştir. Naringenin baskılanmış membranların hazırlanması aşamasına ait bazı görüntüler Şekil 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.2. Kriyojel edesi aşamasından bazı görüntüler.

3.4 Karakterizasyon Çalışmaları

3.4.1 ATR-FTIR çalışmaları

Naringenin baskılanmış polimerik membranların yapısındaki fonksiyonel grupların varlığını test etmek için, naringenin, naringenin baskılanmış ve baskılanmamış polimerik membranların ayrı ayrı analizleri bir ATR-FTIR (Attenuated Total Reflectance-Fourier Transform Infrared) (Spectrum 100 FTIR Spectrophotometer, Perkin Elmer, Shelton, WA, USA) spektroskopi cihazı kullanılarak 4000 ve 600 cm⁻¹ aralığında taranarak gerçekleştirilmiştir.

3.4.2 Yüzey morfolojisi

Naringenin baskılanmış (MIP) ve baskılanmamış (NIP) kriyojel membranların yüzey morfolojisi taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak incelenmiştir. Analiz edilecek örnekler saf su ile doyurulduktan sonra etanolde (99%), su moleküllerinin etanol molekülleri ile yer değiştirmesini sağlamak için bekletilmiştir. Gözenekleri etanol ile doymuş olan kriyojel örnekleri 60 °C'da vakumlu etüvde kurutulmuştur. Kurutulan örneklerin vakum altında bir altın tabakası ile kaplanmasının ardından taramalı elektron mikroskobu kullanılarak (FEI, Quanta FEG 250, SEM) görüntüleri alınmıştır.

3.4.3 Polimer membranların termogravimetrik analizi

Naringenin baskılanmış ve baskılanmamış polimerik kriyojellerin termogravimetrik analizleri yapılırken yapı, naringenin molekülünün var olup olmadığı yönünde incelenmiştir. Analizler Termogravimetrik Analiz Cihazı (Hitachi Exstar, SII TG/DTA 7300) ile gerçekleştirilmiştir. Analizler için MIP ve NIP örnekleri polimerizasyona girmeyen safsızlıkların uzaklaştırılması için yeterince yıkandıktan sonra vakum etüvünde 60 °C'da kurutulmuş ve dinamik azot atmosferinde 700 °C' a kadar ısıtılmıştır.

3.4.4 Polimer membranların elementel analizleri

Naringenin baskılanmış ve baskılanmamış polimerik yapıda naringenin varlığı elementel analiz cihazı (Thermo Fisher Scientific, Flash 2000 CHNS/O analyzer, USA) ile de incelenmiştir. Analizler için MIP ve NIP örnekleri polimerizasyona girmeyen safsızlıkların uzaklaştırılması için yeterince yıkandıktan sonra vakum etüvünde 60 °C'da kurutulmuştur. Örnekler, $\pm 0,0001$ duyarlılıkta tartılarak örnek haznesine yerleştirilmiş ve %C, H, O, N analizleri yapılmıştır.

3.4.5 Polimer membranların şişme ve gözenek analizleri

Sentezlenen naringenin baskılanmış ve baskılanmamış kriyojel membranlar için denge şişme oranları ve gözeneklilik testleri de yapılmıştır. Gözeneklilik hesaplamaları için polimerik yapılar serbest su (ϕ) ve toplam su içeriği (TSO) bakımından test edildi. Bu amaçla, suya doyurulmuş kriyojel membranlar önce

dereceli bir kapta hacmi bilinen deiyonize suya daldırıldı. Burada, dereceli kaba kriyojel membranların eklenmesinden önceki (V_i) ve sonraki (V_s) hacim değişimleri hesaplandı ($V_o = V_s - V_i$). Su ile doyurulmuş kriyojel membranlar (W_s), ağırlıkları kaydedildikten sonra iki tür teste tabi tutulmuştur. İlk testte, su ile doyurulmuş kriyojel membranlar iki parmak arasında sıkıştırılmış ve suyu uzaklaştırılan membranların ağırlığı alınarak (W_{sik}) Eşitlik 3.1 kullanılarak serbest su içeriği bakımından gözeneklilik hesabı yapılmıştır. Burada d_{su} saf suyun yoğunluğudur.

$$\varphi = \frac{W_s - W_{sik}}{d_{su} V_o} \times 100 \quad (3.1)$$

Gözenek suyunun uzaklaştırıldığı kriyojel membran numuneleri, kuru membran kütlelerini (W_o) belirlemek için 60 °C'ta vakum etüvünde tutulmuştur ve membranların toplam su oranı (TSO) Eşitlik 3.2 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$TSO = \frac{W_s - W_o}{d_{su} V_o} \times 100 \quad (3.2)$$

Mikro gözenek oranı ise toplam su oranından makro gözeneklilik oranı çıkarılarak hesaplanmıştır.

Sentezlenen kriyojel membranların denge şişme oranlarının belirlenmesi için ise vakum etüvünde kurutulmuş ve kuru ağırlığı (W_o) alınmış olan membranlar, 50 mL damıtık su içeren bir behere konulmuştur. Farklı zaman aralıklarında kriyojeller sudan alınmış ve kriyojel yüzeyindeki su uzaklaştırılarak tartılmıştır. Denge şişme ağırlığına kavuşulduktan (W_s) sonra Eşitlik 3.3 kullanılarak denge şişme oranı hesaplanmıştır

$$\text{Şişme oranı (\%)} = \frac{W_s - W_o}{W_o} \times 100 \quad (3.3)$$

3.4.6 Polimer membranların temas açısı ölçümü

Naringenin baskılanmış ve baskılanmamış kriyojel membranların temas açısı ölçüm çalışmaları Krüss DSA100 (Hamburg, Almanya) cihazı kullanılarak test edildi. Bu amaçla, sentezlenen kriyojel membranların yüzeyine 1 damla dH₂O damlatıldı ve temas açıları alındı. Membran yüzeyinin farklı bölümlerinden en az 10 fotoğraf alındı ve ortalama bir değer hesaplandı.

3.5 Naringenin İçin Sulu Ortamdan Adsorpsiyon Çalışmaları

3.5.1 Naringenin adsorpsiyonuna zamanın etkisi

Naringenin 0,1–3 mg/mL aralığında farklı derişimlerde çözeltileri hazırlanmış, hazırlanan çözeltilere desorbe edilmiş kriyojel örnekleri bırakılmış ve çalkalamalı su banyosunda zamana karşı adsorpsiyon işlemine tabi tutulmuştur. Örnek okumaları UV-Vis spektrofotometrede 290 nm’de gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarda polimerik membranlara bağlanan naringenin miktarı Eşitlik 3.4 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$q = \frac{(C_i - C_f) \times V}{m} \quad (3.4)$$

Eşitlikte gram başına adsorbe olmuş naringenin miktarı (q , mg/g); C_i ve C_f sırasıyla başlangıç ve sonuç çözeltilerdeki naringenin derişimini göstermektedir (mg/mL). V çözelti hacmini gösterirken (mL), m kullanılan kriyojel örnek ağırlığıdır (g). Benzer çalışmalar, naringenin baskılanmamış kriyojel membranlara karşı da çalışılmış ve sonuçlar grafiğe aktarılmıştır.

3.5.2 Naringenin adsorpsiyonuna pH’nın etkisi

Naringenin adsorpsiyonuna ortam pH’sının etkisini incelemek için 0,05 M asetat tamponunda, 0,1 mg/mL’lik başlangıç derişimine sahip naringenin çözeltileri hazırlanmıştır. Çalışmalar için pH 3, 4, 5 ve 6 gibi farklı ortamlar kullanılmıştır. Hazırlanan farklı pH’lardaki çözeltilere naringenin baskılanmış kriyojel membranlar ilave edilerek çalkalamalı su banyosunda adsorpsiyon işlemi başlatılmıştır. 290 nm’de okunan değerler Eşitlik 3.4’e göre değerlendirilmiştir.

3.5.3 Naringenin adsorpsiyonuna sıcaklığın etkisi

Naringenin adsorpsiyonuna ortam reaksiyon sıcaklığının etkisini incelemek için 10, 20 ve 30 °C gibi üç farklı ortam sıcaklığında asetat tamponunda, 0,1 mg/mL’lik başlangıç naringenin derişimine sahip çözeltiler kullanılmıştır. Ortam ısı ayarlaması için ısıtmalı ve çalkalamalı su banyosu kullanılmışken, ortam sıcaklığını düşürmek için ortama buz ilavesi yapılmıştır. Hazırlanan çözeltilere naringenin baskılanmış kriyojel membranlar ilave edildikten sonra 290 nm’de okunan değerler Eşitlik 3.4’e göre değerlendirilmiştir.

3.5.4 Naringenin adsorpsiyonuna ortam iyonik şiddet etkisi

Naringenin adsorpsiyonuna ortam iyonik şiddetinin etkisini incelemek için 0,1 mg/mL’lik başlangıç naringenin derişimine sahip ve 0,1–0,4 mM aralığında dört farklı NaCl derişimi içeren çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltilere naringenin baskılanmış kriyojel membranlar ilave edilerek çalkalamalı su banyosunda adsorpsiyon işlemi başlatılmıştır. 290 nm’de okunan değerler Eşitlik 3.4’e göre değerlendirilmiştir.

3.5.5 Naringenin adsorpsiyonuna derişimin etkisi

Naringenin 0,1–3 mg/mL aralığında farklı derişimlerde çözeltileri hazırlanmış, hazırlanan çözeltilere desorbe edilmiş baskılanmış kriyojel örnekleri bırakılmış ve çalkalamalı su banyosunda zamana karşı adsorpsiyon işlemine tabi tutulmuştur. Aynı işlemler baskılanmamış membranada uygulanmıştır. Örnek okumaları UV-Vis spektrofotometrede 290 nm’de gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarda polimerik membranlara bağlanan naringenin miktarı Eşitlik 3.4 kullanılarak hesaplanmıştır.

3.5.6 Bağlanma sabitlerinin belirlenmesi

Langmuir izotermi kullanılarak Chase tarafından tanımlanmış denklem ve Scatchard denklemi kullanılarak veriler değerlendirilmiştir.

3.5.7 Seçicilik deneyleri

Çalışma öncesinde gallik ve kafeik asit için uygun çalışma dalga boyunu tespit etmek için ilgili moleküllerin 0,1 mg/mL derişiminde çözelti hazırlanmış ve 200-400 nm aralığında absorpsiyon taraması yapılmıştır. Maksimum dalga boyu belirlendikten sonra her bir çözeltinin 0,1 mg/mL’lik stok çözeltisinden 1:9’a kadar değişen farklı oranlarda seyreltilmiş çözeltileri hazırlanarak kalibrasyon eğrileri oluşturulmuş ve sonraki hesaplamalarda bu denklemler kullanılmıştır.

Naringenin baskılanmış kriyojel membranların naringenine karşı seçiciliğini göstermek amacıyla, naringenine yapısal benzerliği olan gallik asit ve kafeik asit molekülleri yarışmacı ajan olarak seçicilik çalışmalarında kullanılmıştır. Çalışmalarda, iki gallik ve iki de kafeik asit için 0,1 mg/mL derişiminde çözeltiler

hazırlanmış, hazırlanan çözeltilere naringenin baskılanmış ve baskılanmamış polimerik membranlar ilave edilerek çalkalamalı su banyosunda etkileşim başlatılmıştır. Spektrofotometrik olarak gallik asit için 212 nm ve kafeik asit için 315 nm dalga boylarında okunan değerler Eşitlik 3.4'e göre değerlendirilmiştir. Her bir çalışma 3 tekrarlı alınarak ortalama değer hesaplanmıştır.

Naringenin baskılanmış ve baskılanmamış kriyojel membranların özgülüğünü belirlemek için seçicilik katsayısı (k) ve bağıl seçicilik katsayısı (k') da hesaplanmıştır. Bu amaçla öncelikli olarak naringenin, gallik asit ve kafeik asit için dağılım katsayıları (K_d) Eşitlik 3.5 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$K_d = \left[\frac{C_i - C_f}{C_f} \right] \times \frac{V}{m} \quad (3.5)$$

Eşitlikte, K_d , dağılım katsayısını temsil ederken (mL/g), C_i ve C_f sırasıyla başlangıç ve etkileşim sonrası ortamdaki moleküllerin derişimlerini (mg/mL) göstermektedir. V örnek hacmi (mL) ve m ise adsorbentin ağırlığıdır (g).

Naringenin için yarışmacı moleküllerin varlığındaki seçicilik katsayısı (k), Eşitlik 3.6 kullanılarak elde edilmiştir:

$$k = \frac{K_d(Nar)}{K_d(yarışmacı ajan)} \quad (3.6)$$

Naringenin baskılanmış kriyojel membranlar ile kontrol olarak ifade edilen naringenin baskılanmamış kriyojel membranlar için k değerleri baskılama seçiciliği hakkında yorum yapılmasına imkan verir ve bağıl seçicilik olarak bilinir. Bağıl seçicilik katsayısı (k'), Eşitlik 3.7 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$k' = \frac{k(baskılanmış)}{k(kontrol)} \quad (3.7)$$

3.5.8 Desorpsiyon ve tekrar kullanım özelliği

Naringenin baskılanmış kriyojel membranlardan naringenini etkin bir şekilde desorbe etmek için aşağıda verilen çözeltiler desorpsiyon ajanı olarak kullanılmıştır:

- Saf su,

- 0,5 M NaCl çözeltisi,
- Etanol,
- Metanol,
- %10 asetik asit ve %90 etanol karışımı
- %20 asetik asit ve %80 etanol karışımı çözeltiler kullanılmıştır.

Naringenin baskılı membran örneklerinden belirli miktarlar tartılarak 20 mL'lik desorpsiyon çözeltilerine ilave edildikten sonra 20 °C'lık oda sıcaklığında, çalkalamalı su banyosunda 30 dak etkiyeşime tabi tutulmuştur. Spektrofotometrik olarak 290 nm dalga boyuda okunan değerler Eşitlik 3.4'e göre değerlendirilmiştir.

Kriyojelin tekrar kullanım özellikleri ve operasyonel kararlılığı tespiti için, hazırlanmış yeni kriyojel yıkama işlemi yapıldıktan sonra 0,1 mg/mL naringenin çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan çözelti içine etanolde yıkanmış olan kriyojel bırakılmıştır, çalkalamalı su banyosunda adsorpsiyon işlemine tabi tutulmuştur. Deneyin 0, 2, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120 dakikalarında UV-Vis spektrofotometrede 290 nm'de adsorpsiyon ölçümleri yapılmıştır. Ölçümlerde olası hataları önlemek için gerekli oranlarda etanol ile seyretme yapılmıştır. Her bir çözelti için kriyojelin adsorpsiyon kapasiteleri tespit edilmiştir. Adsorplanan naringenin miktarı Eşitlik 3.4 kullanılarak hesaplanmıştır. Kriyojel yıkandıktan sonra işlem tekrarlanmıştır.

3.5.9 Doğal ortamdan naringenin adsorpsiyon

Sıkılarak elde edilmiş taze portakal suyu santrifüjlenerek posasından ayrıldıktan sonra elde edilen meyve suyundan saf, 1/2 ve 1/10 oranında seyreltmeli üç farklı çalışma gerçekleştirilmiştir.

Hazırlanan doğal ortam çözeltilerine, naringenin baskılanmış kriyojel membranlar ilave edilerek çalkalamalı su banyosunda adsorpsiyon işlemi başlatılmıştır. 290 nm'de okunan değerler Eşitlik 3.4'e göre değerlendirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 Ön Organizasyon Komplekslerinin Hazırlanması

Moleküler baskılanmış polimerlerin hazırlanması çalışmalarının en önemli adımı ön-organizasyon oranlarının belirlenmesi aşamasıdır. Bunun için de öncelikli olarak kalıp ve fonksiyonel monomer olarak kullanılacak olan moleküllerin maksimum absorptans verdiği dalga boylarının tespit edilmesi gerekmektedir. Çalışmamızda, kalıp molekül olarak kullanılan naringenin molekülü için dalga boyu taraması literatür bilgilerinin de ışığında 250-350 nm aralığında gerçekleştirilmiş ve elde edilen veriler Çizelge 4.1’de verilmiştir. Çizelge 4.1’den de görüldüğü gibi naringenin için 290 nm dalga boyu optimal değer olarak tespit edilmiştir.

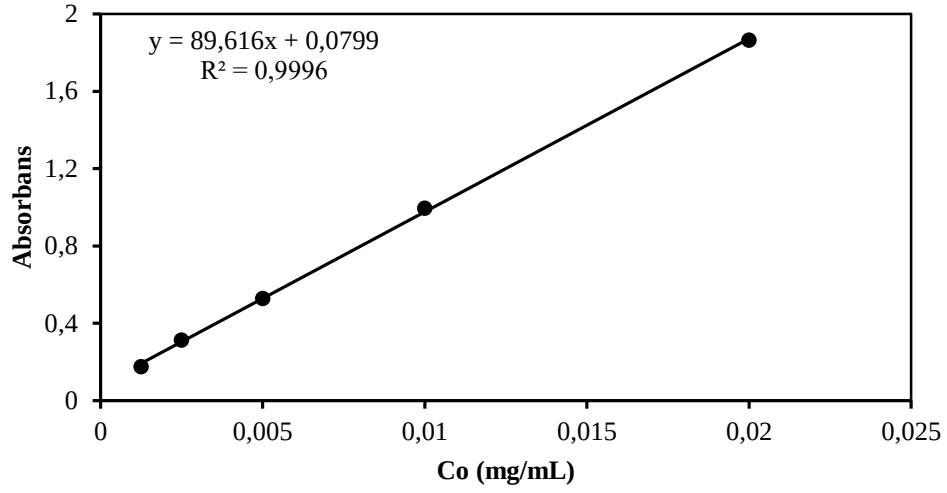
Çizelge 4.1. Naringenin için absorpsiyon taraması sonuçları.

Dalga Boyu	Absorpsiyon
275	0,232
282	0,295
290	0,341
292	0,309
317	0,077
318	0,084

Naringenin okumaları için optimal dalga boyu tespitinden sonra naringenin çalışmalarının devamı için bir kalibrasyon eğrisi oluşturma çalışmalarına geçilmiştir. Bu amaçla 0,2 mg/mL’lik stok çözeltisinden 0,00125 mg/mL’ye kadar değişen derişimlerde çözeltiler hazırlanarak bir kalibrasyon grafiğı hazırlanmıştır. Kullanılan derişimler Çizelge 4.2’de, hazırlanan kalibrasyon grafiğı ise Şekil 4.1’de verilmiştir.

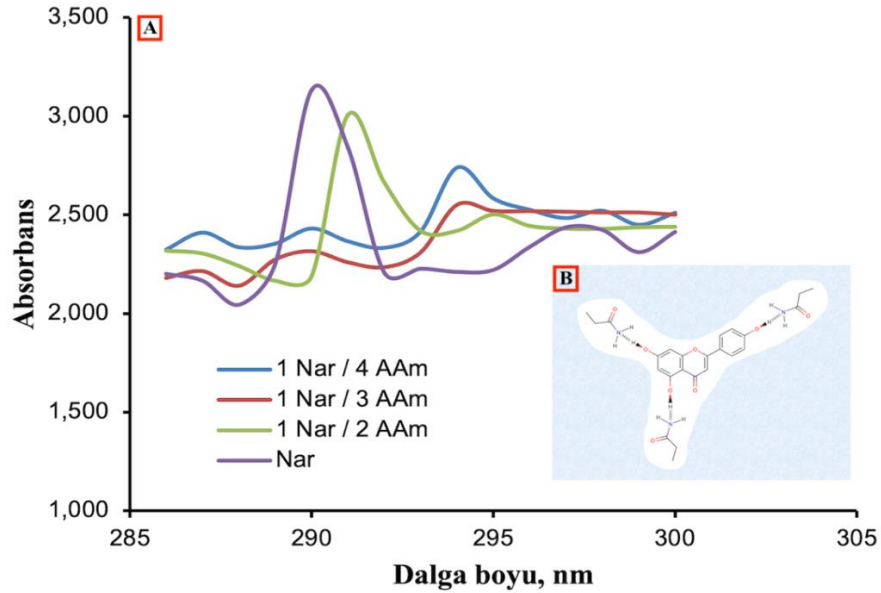
Çizelge 4.2. Naringenin kalibrasyon grafiğı için ölçüm sonuçları.

Naringenin konsantrasyon (mg/mL)	Dalga boyu (nm)
0,00125	0,175
0,0025	0,312
0,005	0,527
0,01	0,995
0,02	1,863



Şekil 4.1. Naringenin kalibrasyon grafiği.

Yukarıda elde edilen ön bilgilerin ışığında ön kompleksleşme çalışmalarına geçilmiştir. Bu amaçla, naringeni ve akrilamid (fonksiyonel monomer) arasında farklı oranlarda (mol:mol) etkileşimler yapılmış ve bu etkileşim çözeltilerinin spektrofotometrik taramalarından elde edilen sonuçlar Şekil 4.2’de verilmiştir.



Şekil 4.2. Farklı naringenin ve akrilamid oranlarında ön etkileşim grafiği.

Şekil 4.2A’da görüldüğü gibi maksimum dalga boyunun sağa kayması molekülün enerjice daha kararlı bir hal alması anlamına gelmektedir. Ayrıca, ışık yoğunluğundaki azalma da kalıp molekül üzerindeki elektronların stabil olduğunu göstermektedir. Bu durumda optimal kalıp molekül-fonksiyonel monomer etkileşim oranı için 1/3 oranı (0,1 mmol naringenin/0,3 mmol akrilamid) öngörülmüş ve çalışmalara bu oran üzerinden devam edilmiştir. Şekil 4.2B’de ise bu oran şematize edilmiştir.

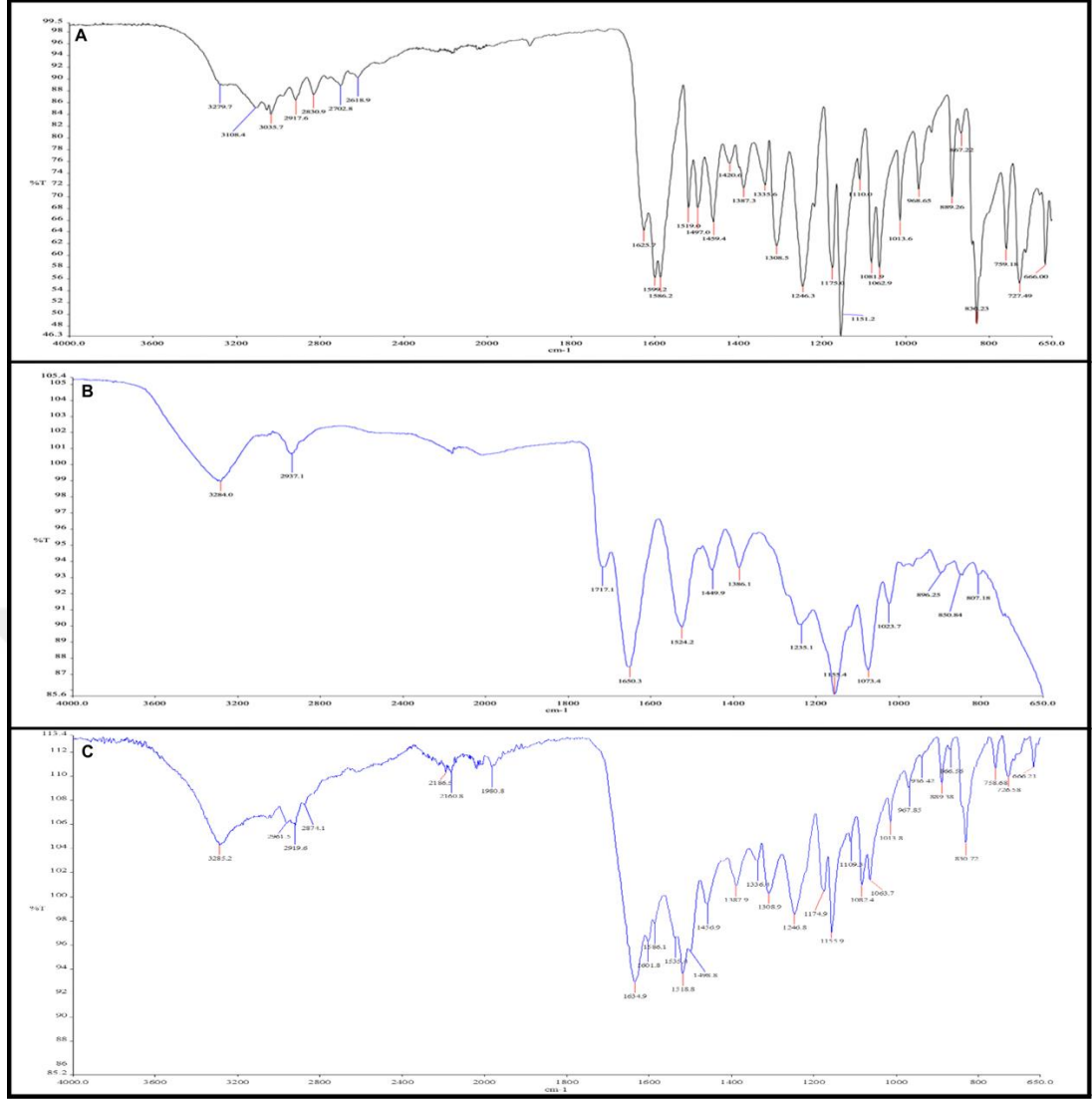
4.2 Naringenin Baskılanmış Kriyojelik Membranların Sentezi

Spektrofotometrik olarak gerçekleştirilen taramalarda, optimal ön-organizasyon kompleksleşme oranı 1/3 (kalıp molekül/fonksiyonel monomer, mmol/mmol) olarak bulunmuş ve kriyojelik membranların hazırlanmasında bu oran sabit tutulmuştur. Bu amaçla, 0,027 g (0,1 mmol) naringenin ve 0,021 g (0,3 mmol) AAm (akrilamid) tartılıp 0,5 mL etil alkolde içinde çözündürülmüş, 30 dakikalık ön kompleksleşmeye bırakılmıştır. Aynı bir tüpte, 0,28 g (1,8 mmol) MBAAm saf suda çözölmüş, üzerine 0,2 g (1,5 mmol) HEMA ve 15 µL APS ilave edilerek karıştırılmış ve iki çözelti birleştirilerek toplam hacim 5 mL olacak şekilde saf su ile tamamlanmıştır. Son olarak 15 µL TEMED ilavesi yapılarak karıştırılmış ve şırıngalara dökölerek -18 °C’deki donmaya bırakılmıştır. Yaklaşık 12 saatlik bir inkübasyon sonrası kriyojel çözeltileri dondurucudan çıkartılarak polimerleşme sürecinin gerçekleşmesi için çözöndürölmüş ve polimerleşme sonrası yıkama işlemine tabi tutulmuştur. Aynı şekilde fakat naringenin kullanılmadan naringenin baskılanmamış polimerler elde edilmiştir. Kullanım öncesi hazırlanan kriyojeller sodyum azit (%0,02) çözeltisi içinde saklanmıştır.

4.3 Karakterizasyon Çalışmaları

4.3.1 ATR-FTIR çalışmaları

Naringenin, baskılanmamış polimer ve naringenin baskılanmış polimer için ATR-FTIR analiz sonuçları Şekil 4.3’de verilmiştir.



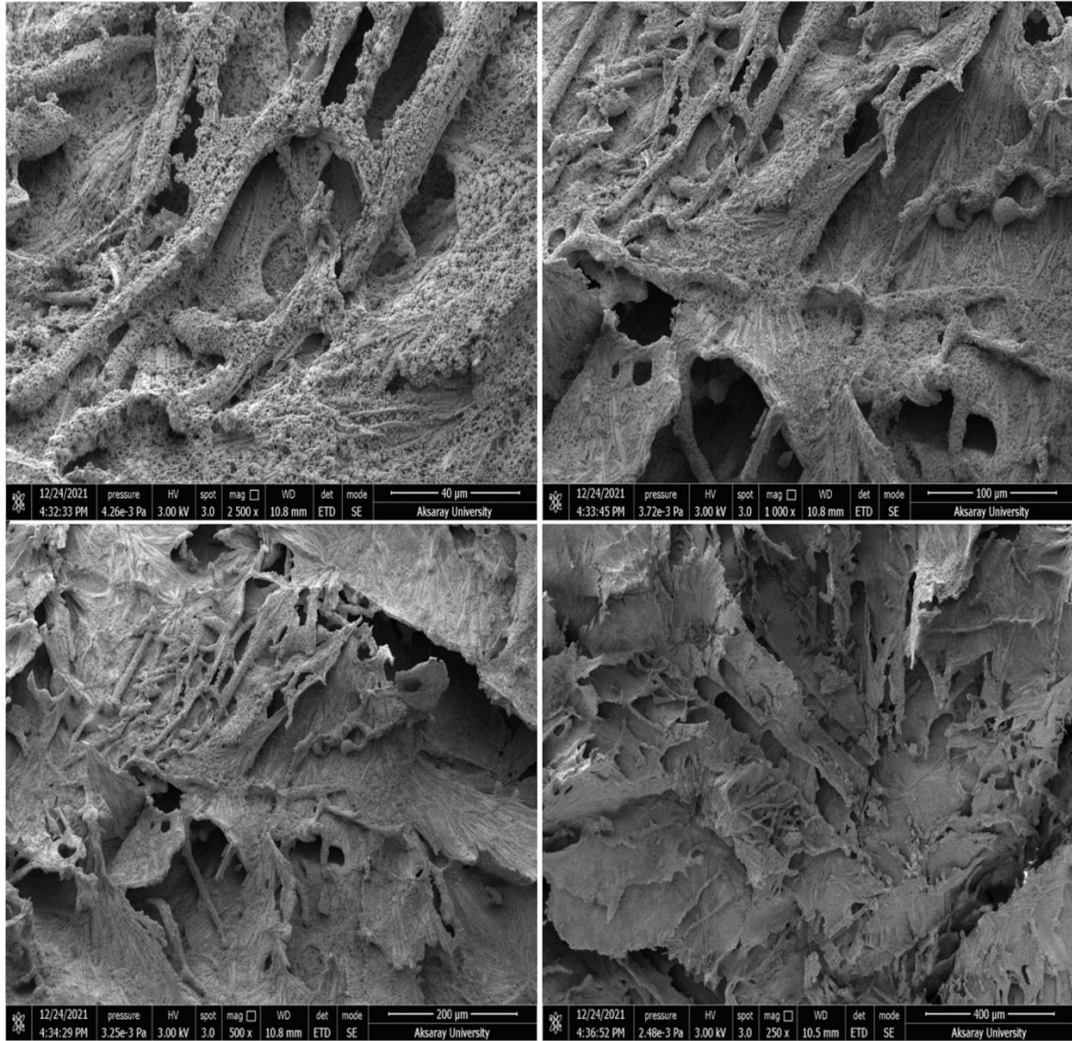
Şekil 4.3. Naringenin (A), baskılanmamış polimer (B) ve naringenin baskılanmış polimer (C) için ATR-FTIR grafikleri.

Şekil 4.3A'da gözlenen 1450-1650 cm⁻¹ arasındaki bantlar aromatik halkaya ait -C=C grubuna, 3300 cm⁻¹ bölgesindeki bant -OH grubuna, yaklaşık 3000 cm⁻¹'deki bant =C-H grubuna, 1625 cm⁻¹ bölgesindeki bant ise karbonil (C=O) grubuna atfedilmiştir. Şekil 4.3B'de gözlemlenen 3300 cm⁻¹'deki bant -OH grubuna, yaklaşık 3000 cm⁻¹ bölgesindeki bant -C-H grubuna, 1700 cm⁻¹ noktasındaki bant karbonil grubuna (C=O), 1524-1650 cm⁻¹ arasındaki bantlar amid grubuna atfedilmiştir. Şekil 4.3C'de gözlenen 3300 cm⁻¹ noktasındaki bant -OH grubuna, yaklaşık 3000 cm⁻¹ bölgesindeki bant =C-H grubuna, 3050 civarındaki bant -C-H grubuna, 1700 cm⁻¹ bölgesindeki bant karbonil (C=O) grubuna, 1450-1650 cm⁻¹ arasındaki bantlar

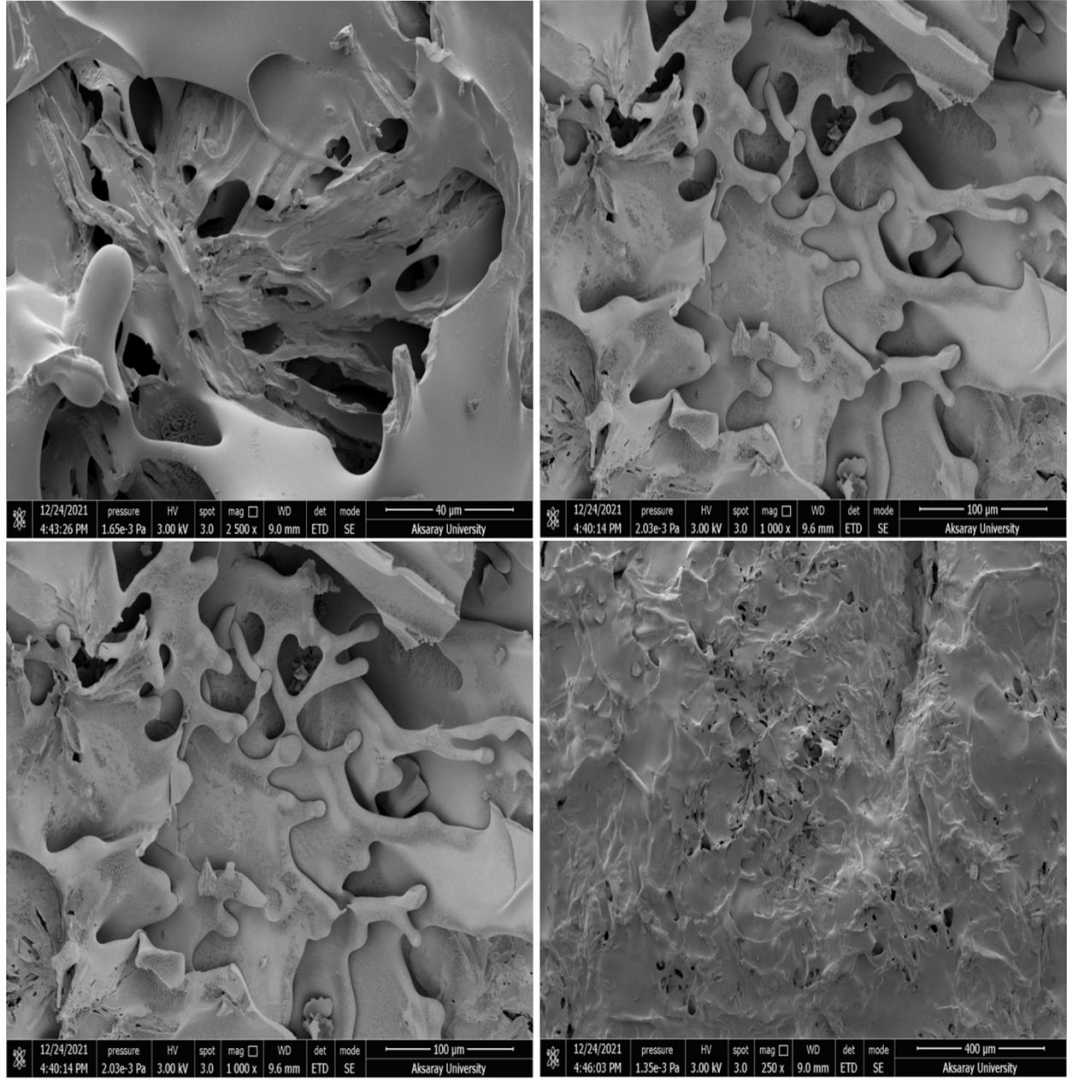
aromatik halkaya ait $-C=C$ grubuna atfedilmiştir. Parmak izi bölgesindeki $1100-1200\text{ cm}^{-1}$ arasındaki bantlar ise eter grubuna($-O-$) atfedilmiştir.

4.3.2 Yüzey morfolojisi

Naringenin baskılanmış ve baskılanmamış polimerik membranlar için farklı büyüklüklerde alınmış SEM (taramalı elektron mikroskop) görüntüleri Şekil 4.4 ve Şekil 4.5’de verilmiştir. Naringenin baskılanmış membranların SEM görüntüleri (Şekil 4.4) incelendiğinde, membranların gözenekli bir yapıya sahip olduğu, baskılanmamış membranların (Şekil 4.5) ise nispeten daha pürüzsüz bir yapıya sahip oldukları görülmektedir. Bu morfolojik yapı, baskılanmış membranlar lehine yüzey alanını artırarak adsorpsiyon kapasitesini arttırmaktadır.



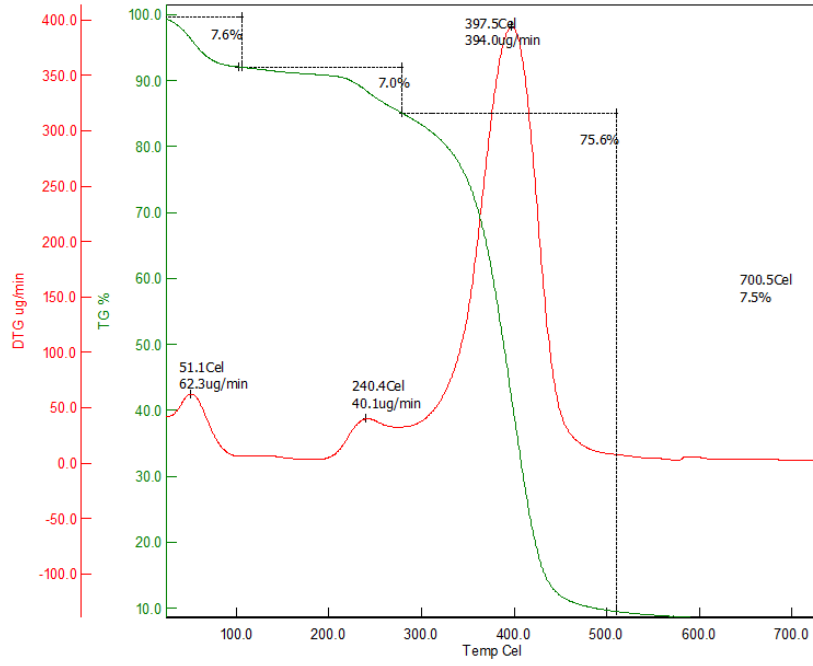
Şekil 4.4. Naringenin baskılanmış polimer membranların SEM görüntüleri.



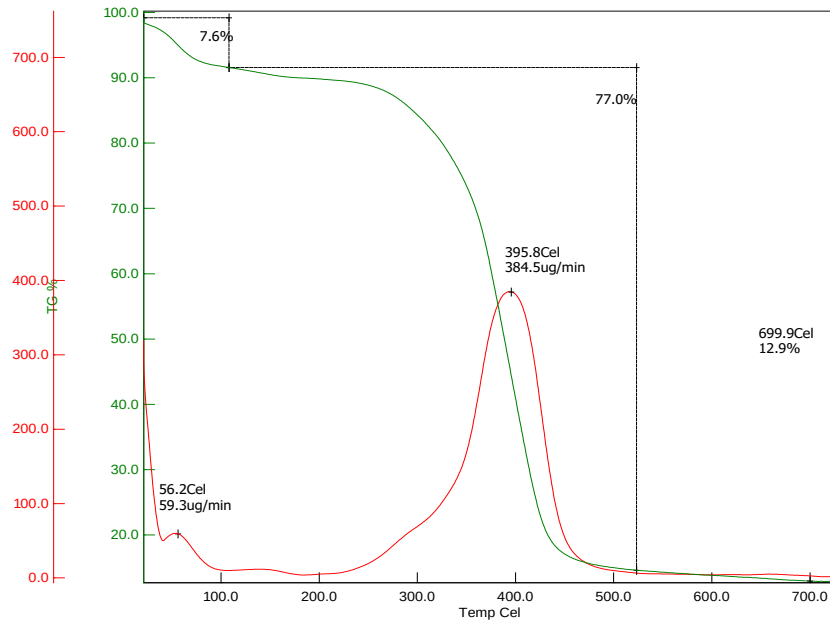
Şekil 4.5. Naringenin baskılanmamış polimer membranların SEM görüntüleri.

4.3.3 Polimer membranların termogravimetrik analizi

Naringenin baskılanmış ve baskılanmamış polimerik membranlar için termogravimetrik analizler sırasıyla Şekil 4.6 ve Şekil 4.7’de verilmiştir. Termogravimetrik analiz sonuçlarına göre 100 °C’ye kadar %7,6 oranında yapıdaki su uzaklaşmaktayken, yaklaşık 300 °C’ ye kadar Şekil 4.6’da ikinci bir bozunma gerçekleşmektedir ve %7’lik bu kütle kaybı naringenine atfedilmiştir. Her iki polimerik yapıdaki 300 °C sonrası meydana gelen kütle kaybı ise polimerik yapının bozunması olarak kendini göstermektedir.



Şekil 4.6. Naringenin baskılanmış polimer membranların termogravimetrik analizi.



Şekil 4.7. Naringenin baskılanmamış polimer membranların termogravimetrik analizi.

4.3.4 Polimer membranların elementel analizleri

Naringenin, yapısında azot bulundurmeyen bir bileşiktir ve karbon ile hidrojen polimerik yapı ve naringenin için ortak elementlerdir. Bu nedenle stokiyometrik

analiz naringeninde bulunmayan fakat polimerin yapısında bulunan azot değeri üzerinden yapılmış sonuçlar Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. MIP ve NIP için elementel analiz sonuçları.

Polimer	Örnek	%N	%C	%H	Toplam	Ort. %N	Ort. %C	Ort. %H
Nar-Baskılanmış membran	1	7,486	51,791	7,367	66,644	7,226	51,273	7,065
	2	6,813	51,040	6,735	64,588			
	3	7,380	50,989	7,093	65,461			
Nar-Baskılanmamış membran	1	8,980	51,566	7,172	67,719	8,638	51,740	7,173
	2	8,431	51,068	6,997	66,497			
	3	8,503	52,586	7,349	68,437			

Nar-Baskılanmış ve baskılanmamış polimer içindeki sırasıyla ortalama %7,226 ve %8,638 azot oranından yola çıkarak, yapılan analiz sonucunu matematiksel olarak değerlendirecek, baskılanmamış polimer içindeki azot oranını, 100 g polimer içinde 8,638 g azot vardır şeklinde ifade edersek naringenin azot içermediği için baskılanmış polimerde de 8,638 g azot bulunmalı. Baskılanmış polimerde polimerin kütlesine ilave olarak X g naringenin adsorbe edilmiş olsun. Baskılanmış polimerde yüzde azot miktarı ise 7,226 olarak elde edilmiştir. Bu verilerden Eşitlik 4.1 ile baskılanmış polimere adsorbe olan naringenin miktarını gram olarak bulabiliriz.

$$\begin{array}{lcl}
 100 + x \text{ g baskılanmış polimerde} & \searrow & 8,638 \text{ g azot var} \\
 100 \text{ g baskılanmış polimerde} & \swarrow & 7,226 \text{ g azot var}
 \end{array} \quad (4.1)$$

Eşitlik 4.1 çözüldüğünde X miktarı (adsorbe olmuş naringenin) 19,54 g olarak bulunur. Buradan Eşitlik 4.2 ile yüzde naringenin miktarına geçebiliriz.

$$\begin{array}{lcl}
 100 + 19,54 \text{ g baskılanmış polimede} & \searrow & 19,54 \text{ g naringenin varsa} \\
 100 \text{ de} & \swarrow & x \text{ kadar naringenin olur}
 \end{array} \quad (4.2)$$

Eşitlik 4.2'nin çözümü ile polimerin yapısındaki naringenin miktarı %16,36 olarak bulunmaktadır.

4.3.5 Polimer membranların şişme ve gözenek analizleri

Şişme testleri ve gözenek analizleri, sentezlenen membranlar için yapılan standart analizler arasındadır. Bu bağlamda, naringenin baskılanmış ve baskılanmamış kriyojel membranların da ilgili testleri gerçekleştirilmiş olup Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.4'te görüldüğü gibi, naringenin baskılanmış ve baskılanmamış kriyojel membranların şişme yüzde değerleri sırasıyla %850 ve %967 olarak bulunmuş olup, yapısında hidrofobik karakterli olan naringenin bulunmadığı kriyojel membran daha yüksek oranda şiştiği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.4. Naringenin baskılanmış ve baskılanmamış membranları için şişme oranı.

Polimer	Şişme oranı (%)
Nar-Baskılanmış membran	850,26
Nar-Baskılanmamış membran	967,19

Su tutan grup sayısının artması ile şişme davranışında değişiklik oluşmuştur. Bu özgül boşlukların ve özgül yüzey alanının arttırması ile de açıklanabilir. MIP ve NIP için yüzde şişme oranı oldukça yüksektir.

Çizelge 4.5. MIP için toplam su oranı, makro gözeneklilik ve mikro gözenek verileri.

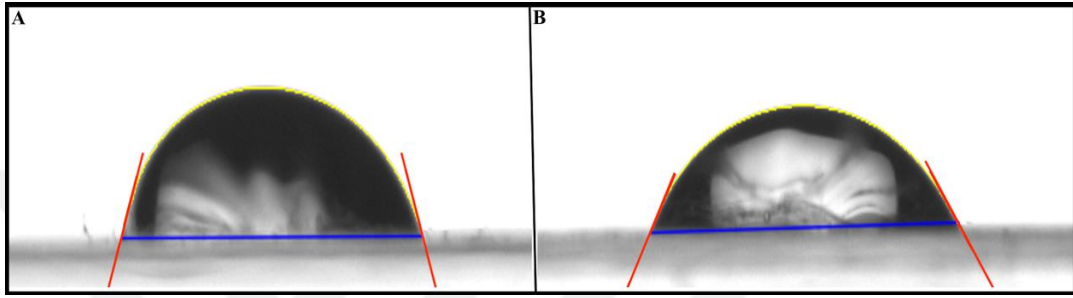
Polimer	Makro gözeneklilik (ϕ)	Toplam su oranı (TSO)	Mikro gözeneklilik (TSO- ϕ)
Nar-Baskılanmış	50	84	34
Nar-Baskılanmamış	54	92	38

Naringenin baskılanmış kriyojel kolonunun gözenekliliği, ϕ ve toplam su içeriği, TSO, deiyonize su ile test edilmiş ve sırasıyla %50 ve %84 (v/v) olarak ölçülmüşken, aynı parametreler naringenin baskılanmamış polimer için %54 ve %92 (v/v) olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar, naringenin baskılanmış ve baskılanmamış membranları için sırasıyla toplam suyun yaklaşık %34'ünün ve %38'inin, neredeyse hiç akan sıvının bulunmadığı polimerik gözenekler tarafından bağlandığını göstermektedir. Ancak toplam gözeneklerin baskılanmış ve baskılanmamış membranlar için sırasıyla %50 ve %54'lük bölümlerinin serbest su ile doldurulmuş olduğu görülmektedir. Sonuç olarak, naringenin baskılanmış polimerik membranlar

yapılarındaki hidrofobik karakterli naringenininden dolayı daha az su tutuyorken, naringenin baskılanmamış yapıların daha fazla su tuttuğu görülmektedir.

4.3.6 Polimer membranların temas açısı ölçümü

Temas açısı değeri, yüzeyin hidrofilikliği hakkında bilgi verir. Naringenin baskılanmış ve baskılanmamış kriyojelik membranların temas açısı ölçümleri Şekil 4.8'de verilmiştir.



Şekil 4.8. Naringenin baskılanmış (A) ve baskılanmamış (B) kriyojelik membranların temas açısı ölçümleri.

Temas açısı 0-90° arası nda olan yüzeyler hidrofilik karakter gösterirken, temas açısı 90°'ye yaklaştıkça yüzey hidrofilikliği azalır. Yüzey ise 90° üzerinde hidrofobik karakter gösterir. Şekil 4.8A ve Şekil 4.8B'de görüldüğü gibi sırasıyla naringenin baskılanmış ve baskılanmamış kriyojelik membranlar için temas açısı değerleri 71,8° ve 58,5° olarak elde edilmiştir. Burada naringenin baskılanmamış kriyojelik membranın temas açısı %22,7 artış göstermiştir. Bu durum polimerik yapıya baskılanan naringenin molekülleri üzerindeki aromatik gruplarla açıklanabilir.

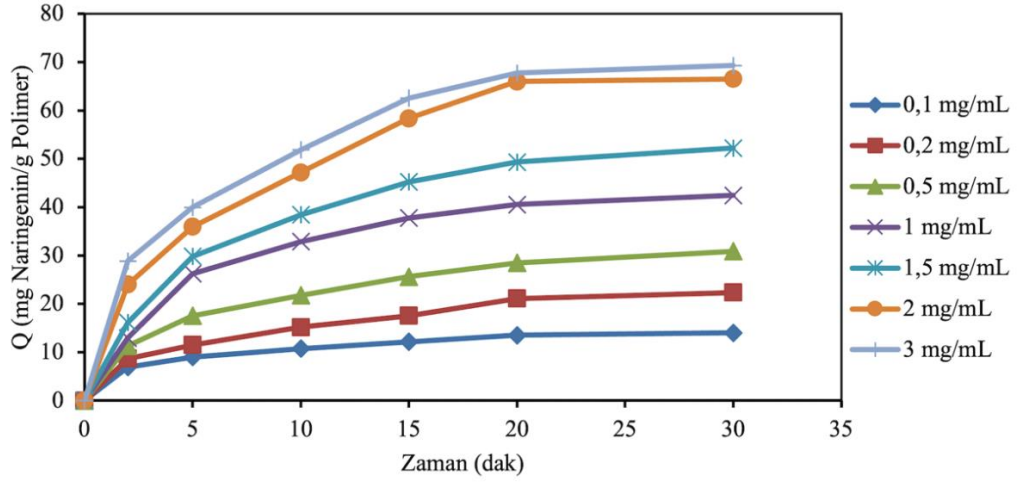
4.4 Naringenin İçin Sulu Ortamdan Adsorpsiyon Çalışmaları

4.4.1 Naringenin adsorpsiyonuna zamanın etkisi

Naringenin baskılanmış polimerik membranlara naringenin adsorpsiyonuna zamanın ve derişimin etkisi Şekil 4.9'da verilmiştir.

Şekilde görüldüğü gibi, düşük derişimlerde pek görülme de derişim arttıkça zamana karşı adsorpsiyondaki dengeye gelme olayı kendini hissettirmektedir.

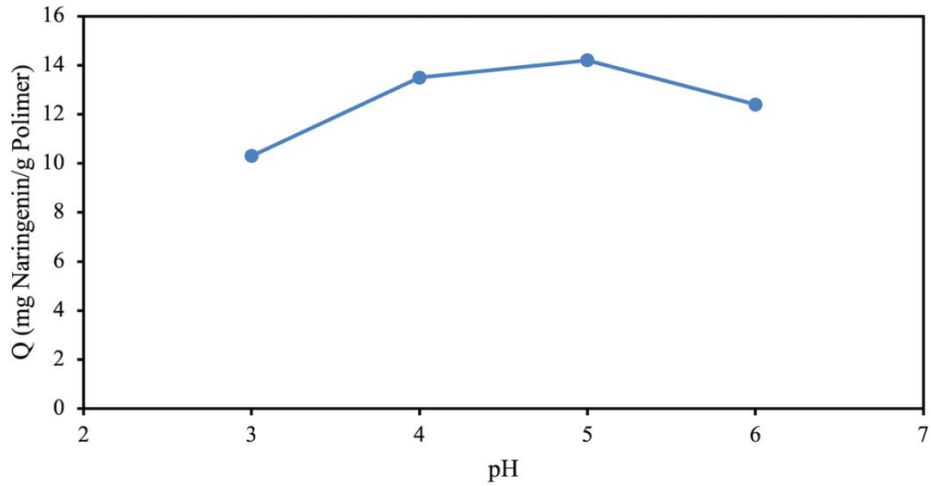
Özellikle 2 mg/mL'lik derişimde ilk 20 dak adsorpsiyon sistemi dengeye ulaşmaktadır.



Şekil 4.9. Naringenin baskılanmış polimerik membranlara farklı derişimlerde naringenin adsorpsiyonuna zamanın etkisi. pH: 5; T: 20 °C.

4.4.2 Naringenin adsorpsiyonuna pH'nın etkisi

Naringenin baskılanmış polimerik membranlar için naringenin adsorpsiyonuna ortam asitliğinin etkisi incelenirken tampon türü sabit (0,05 M asetat tamponu) tutularak dört farklı pH'da çalışılmıştır ve sonuçlar Şekil 4.10'da verilmiştir.

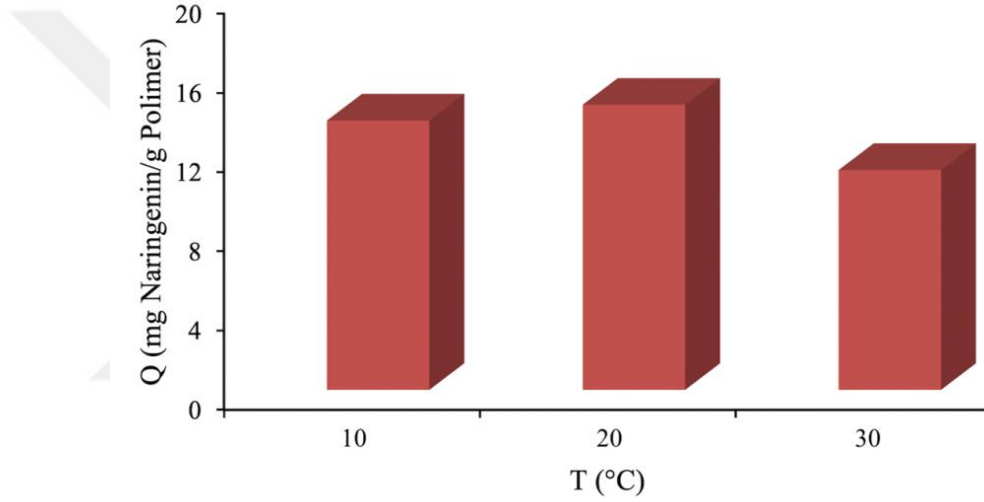


Şekil 4.10. Naringenin baskılanmış polimerik membranlara naringenin adsorpsiyonuna pH'nın etkisi. C_{Nar} : 0,1 mg/mL; T: 20 °C.

Şekil 4.10’da görüldüğü gibi, maksimum adsorpsiyon pH 5’te görülmüşken, bu pH’nın sağında ve solunda adsorpsiyon değerlerinde keskin düşüşler olmamakla birlikte hafif düşüşler görülmektedir. Bu durum naringenin molekülünde pH duyarlı grupların olmayışıyla açıklanabilir.

4.4.3 Naringenin adsorpsiyonuna sıcaklığın etkisi

Naringenin baskılanmış polimerik membranlara naringenin adsorpsiyon çalışmalarında ortam sıcaklığının etkisi çalışılmış ve elde edilen bulgular Şekil 4.11’de verilmiştir.

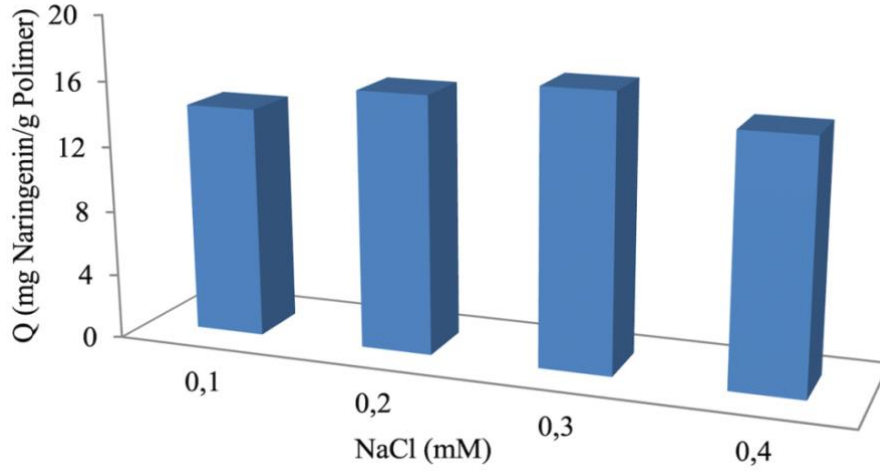


Şekil 4.11. Naringenin baskılanmış polimerik membranlara naringenin adsorpsiyonuna sıcaklığın etkisi. C_{Nar} : 0,1 mg/mL; pH: 5.

Adsorpsiyon çalışmalarında sıcaklık parametresi, adsorpsiyonda baskın olan etkileşim parametreleri (hidrofobik, iyonik vb.) hakkında da bizlere bilgi sunabilmektedir. Yapılan çalışmada, maksimum adsorpsiyon 20 °C’de gerçekleşmiş, düşük sıcaklıkta hafif bir adsorpsiyon azalması görülürken, sıcaklık arttıkça adsorpsiyondaki azalma artmıştır. Bu durum hazırlanan moleküler baskılanmış membranların yaklaşık aynı sıcaklıklarda sentezlenmesi (hafıza etkisi) ve etkileşimde iyonik/hidrojen bağı etkileşimlerinin baskın olduğu şeklinde yorumlanabilir (Serinbaş vd., 2020).

4.4.4 Naringenin adsorpsiyonuna ortam iyonik şiddet etkisi

Çalışma kapsamında, naringenin baskılanmış polimerik membranlara ortam tuz konsantrasyonunun naringenin adsorpsiyonuna etkisi de araştırıldı (Şekil 4.12).

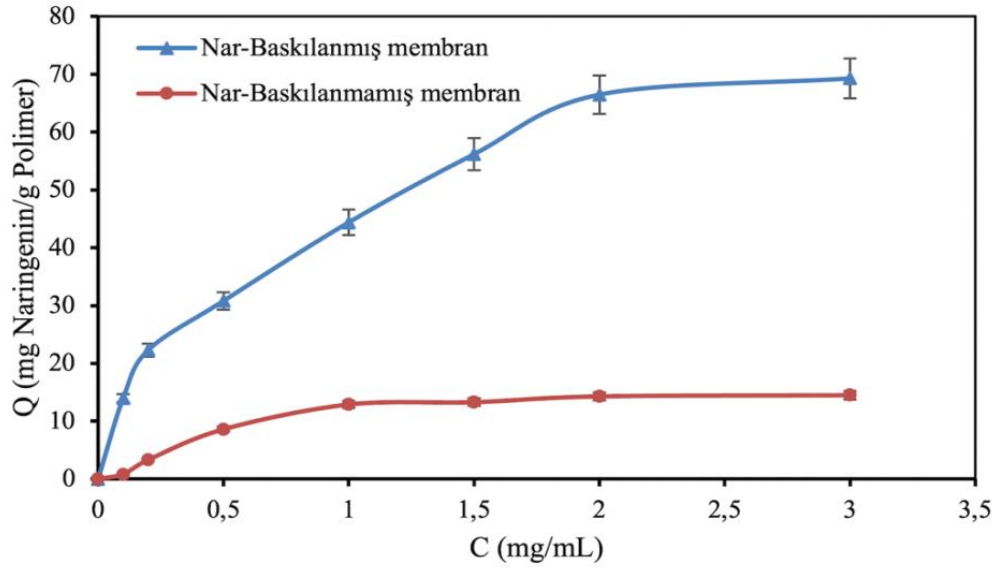


Şekil 4.12. Naringenin baskılanmış polimerik membranlara naringenin adsorpsiyonuna ortam iyonik şiddetin etkisi. C_{Nar} : 0,1 mg/mL; pH: 5; T: 20 °C.

3 mM ortam NaCl derişimine kadar naringenin yüzeye adsorpsiyonu artıyorken, 3 mM'dan sonra artan iyonik kuvvetlerin naringenin ile aktif yüzey arasındaki bağlanmayı zayıflattığı Şekil 4.12'de görülmektedir. Bu durum için olası bir neden şöyle özetlenebilir: Karşıt tuz iyonları (Na^+ ve Cl^-), yük-yük etkileşimleri yoluyla naringenin ve karşı taraftaki aktif yüzey ile etkileşime girerek bağlanma bölgelerini maskeleyebilir. Böyle bir durum aktif tanımayı negatif yönde etkileyeceği gibi, bağlanmanın iyonik etkileşimlerin bir sonucu olarak gerçekleştiğini de desteklemektedir (Guo vd., 2004).

4.4.5 Naringenin adsorpsiyonuna derişimin etkisi

Naringenin baskılanmış ve baskılanmamış polimerik membranlara naringenin adsorpsiyon izotermi Şekil 4.13'de verilmektedir.



Şekil 4.13. Naringenin baskılanmış polimerik membranlara naringenin adsorpsiyonuna derişimin etkisi. pH: 5; T: 20 °C.

Şekil 4.13'te görüleceğı üzere, artan naringenin konsantrasyonu ile adsorpsiyon kapasitesi artarken, yaklaşık 2 mg/mL'lik bir başlangıç naringenin derişiminde baskılı bölgedeki aktif bağlanma boşlukları yaklaşık 66,5 mg/g değerinde doygunluğa ulaşmaktadır. Gram polimer başına 78,6 mg naringenin kullanıldığı dikkate alındığında, 66,5 mg/g değeriyle naringenin baskılanmış polimerik membranların yaklaşık %85 oranında etkili çalıştığı görülmektedir. Bu durum kriyojel membranların makro gözenekli yapısından dolayı difüzyon kısıtlaması olmaksızın kütle transferine olanak sağlamasıyla açıklanabilir. Baskılı olmayan polimerik yüzeylerde ise özgül olmayan naringenin adsorpsiyon miktarı 14 mg/g olarak gerçekleşmiştir.

4.4.6 Bağlanma sabitlerinin belirlenmesi

Bir adsorban ve adsorbent arasındaki bağlanma bölgeleri arasındaki denge ilişkisinin, Langmuir tipi bir izoterm ile tanımlanabileceğı literatürde gösterilmiştir (Langmuir, 1918). Langmuir izotermi kullanılarak bir kütle aktarım hızı denklemi ise Chase tarafından tanımlanmıştır (Chase, 1984). Adsorbanın, bağlanma bölgesine bağlanması Eşitlik 4.3 ile tanımlanabilir.

$$\frac{dq}{dt} = k_1 C^* (q_m - q^*) - k_2 q \quad (4.3)$$

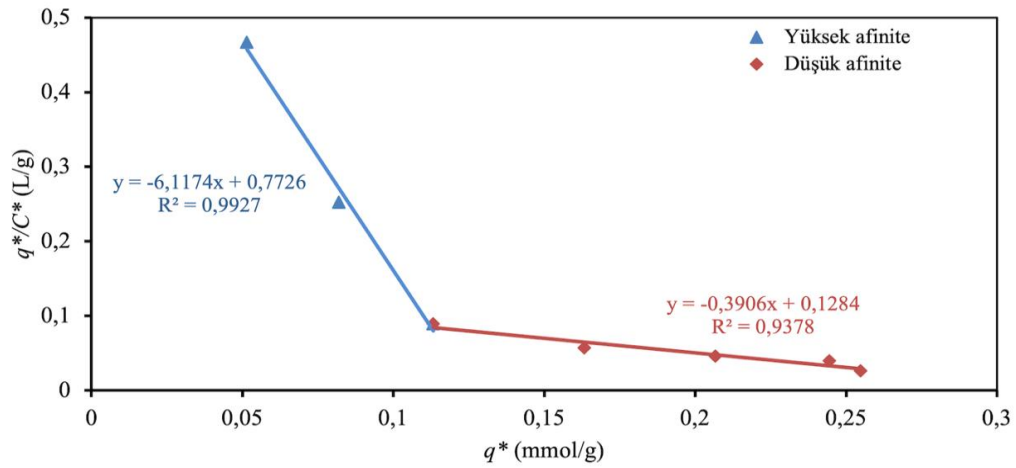
Burada, C^* serbest adsorbanın denge derişimini, q^* yüzeye bağlanan adsorbanın dengedeki miktarını, q_m yüzeye bağlanan adsorbanın maksimum miktarını, t zaman, k_1 ve k_2 ise ileri ve geri reaksiyonun (adsorpsiyon ve desorpsiyon) hız sabitlerini göstermektedir. Tüm bağlanma bölgelerinin eşit enerjiye sahip olduğu, doğada bağımsız olduğu ve dengede adsorban ve adsorben üzerindeki bölgeleri arasında eş enerjili etkileşimlerin meydana geldiği varsayımlarıyla (Labrou vd., 1995). Eşitlik 4.4'deki adsorpsiyon izotermine indirgenebilir.

$$q^* = \frac{q_m C^*}{K_d + C^*} \quad (4.4)$$

Burada $K_d(k_2/k_1)$ ayrışma sabitidir ve geri/ileri reaksiyon denge sabitleri oranını vermektedir. Eşitlik 4.4'den yola çıkarak türetilen Scatchard denklemi (Scatchard, 1949) moleküler baskılanmış sistemlerde çoğunlukla kullanılan bir denklemdir ve Eşitlik 4.5'teki gibi verilebilir.

$$\frac{q^*}{C^*} = \frac{q_m}{K_d} - \frac{q^*}{K_d} \quad (4.5)$$

Eşitlik 4.5'teki birimler q^*/C^* oranı q^* 'yer karşı grafiğe aktarıldığında üç farklı şekil elde edilebilir. Elde edilen şekil doğru olması bağlanan molekül ile bağlanma bölgesi arasında bağımsız bir etkileşim olduğunu gösterir. Naringenin baskılanmış polimerik membranlara naringenin adsorpsiyonu için çizilen Scatchard grafiği Şekil 4.14'te verilmektedir.



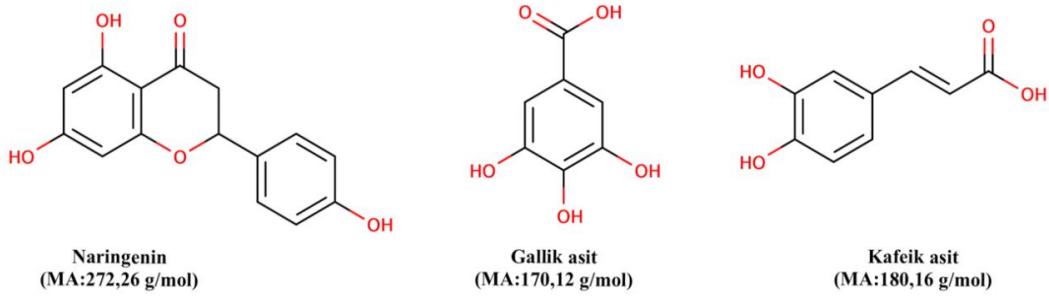
Şekil 4.14. Naringenin baskılanmış polimerik membranlara naringenin bağlanma özelliklerinin analizi için Scatchard grafiği.

Şekil 4.14'te görüldüğü gibi, çizilen grafikte tek bir doğru yerine yüksek ve düşük afinite bölgeli iki lineer denklemler ortaya çıkmaktadır. Bu iki lineer doğrudan, naringenin baskılanmış membranlarının naringenin molekülleri için afinite bakımından yüksek ve düşük afiniteli heterojen bağlanma bölgelerine sahip olduğu sonucuna varılabilir. Yüksek afiniteli bağlanma bölgesindeki $q_{\max}$ ve K_d değerleri sırasıyla 0,126 mmol/g (34,4 mg/g) ve 0,16 mM ($1,6 \cdot 10^{-4}$ M) ve düşük afiniteli bağlanma bölgelerinde ise $q_{\max}$ ve K_d değerleri sırasıyla 0,328 mmol/g (89,4 mg/g) ve 2,56 mM ($2,56 \cdot 10^{-3}$ M) olarak bulundu. Naringenin molekülleri için yüksek alandaki afinitenin, düşük alandaki afiniteye oranla yaklaşık 15 kat daha fazla olduğu görülmektedir. Ayrıca, ideal adsorban-adsorbent arasındaki etkileşim için K_d 'nin küçük olması ve 10^{-4} - 10^{-8} M arasında olması tercih edilir (Gurbuz vd., 2016). Elde edilen $1,63 \cdot 10^{-4}$ M'lık K_d değeri ve diğer sonuçlar değerlendirildiğinde, naringenin baskılanmış membranların naringenin molekülleri için düşük derişimlerde yüksek bir afiniteye sahip olduğu sonucuna varılabilir.

4.4.7 Seçicilik deneyleri

Naringenin baskılanmış membranların naringenin molekülüne karşı seçicilik çalışmaları yapılırken, yarışmacı ajan olarak naringenine moleküler yakınlığından dolayı gallik ve kafeik asit molekülleri seçilmiştir. Yarışmacı moleküller için 200-400 nm arasında absorpsiyon taraması yapılmış ve gallik asit için 212 nm, kafeik asit için ise 315 nm optimal dalga boyu olarak belirlenmiştir. Yapılan seçicilik

çalışmalarını değerlendirmek için üç istatistiki değer hesaplanmıştır. Bu değerler K_d , k ve k' değerleridir. Burada $k \approx 1$ olması durumuna hazırlanan moleküler baskılanmış polimerin seçiciliğinin olmadığı vurgulanır. Bu bilgiler ışığında hesaplanan istatistiki değerler Çizelge 4.6'da verilirken, bu üç molekülün kimyasal yapıları da Şekil 4.15'te sunulmaktadır.



Şekil 4.15. Kalıp ve yarışmacı moleküllerin kimyasal yapıları.

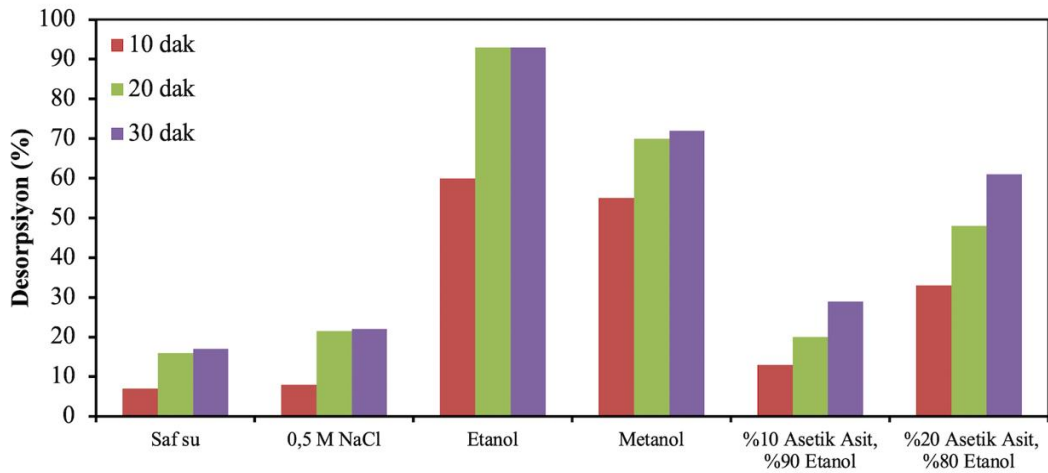
Kalıp ve yarışmacı molekülleri yapısal olarak irdeleyecek olursak, üç molekülün üzerinde de birbirine yakın bölgelerde olmak üzere hidrojen bağı yapabilecek olan gruplar mevcuttur. Ayrıca, yarışmacı ajan olan gallik ve kafeik asit molekülleri hacimsel olarak naringenine oranla küçük bir yapıya da sahipler. Küçük yapı vurgulamaktayız çünkü küçük yapılar üç boyutlu bölgeye daha rahat girip çıkabilme potansiyeline de sahiptirler. Oysa, Çizelge 4.6'daki sayısal değerleri incelediğimizde özellikle k' değerine dikkat edecek olursak naringenin baskılanmış membranın gallik aside karşı bağıl seçiciliğinin 1,99 ve kafeik aside karşı ise 2,26 kat olduğunu görebiliriz. Bu değerler, naringenin baskılanmış membranın, kendinden göreceli olarak daha küçük hacimli yarışmacı ajanlara karşı bile yaklaşık 2 katlık bir seçiciliğe sahip olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.6. Kalıp ve yarışmacı moleküller için alınan istatistiki değerler.

	K_d (MIP)	K_d (NIP)	k (MIP)	k (NIP)	k'
Naringenin	11,97	6,03			*
Gallik asit	14,29	14,37	0,84	0,42	1,99
Kafeik asit	20,37	23,19	0,59	0,26	2,26

4.4.8 Desorpsiyon ve tekrar kullanım özelliği

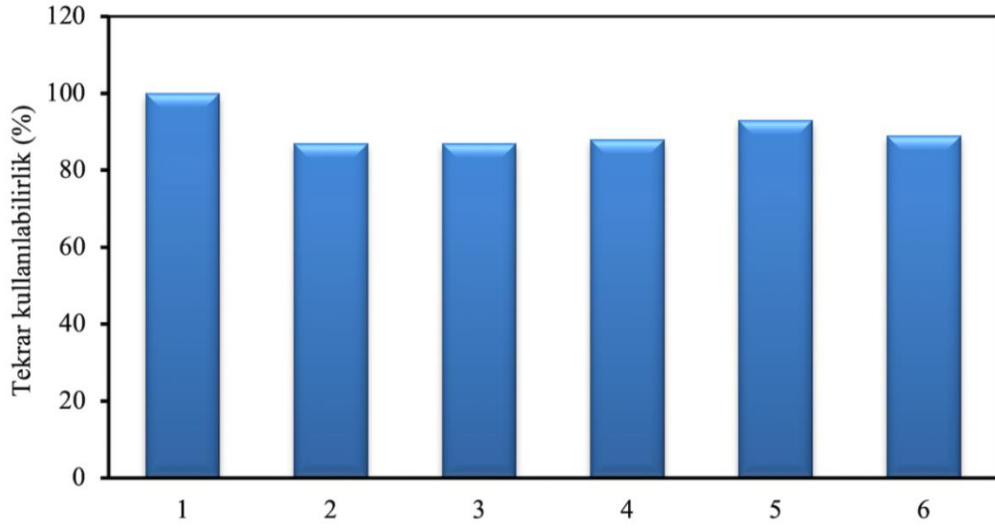
Naringenin baskılanmış membranlardan naringenin etkili bir şekilde desorpsiyonu için membranlar değişik zaman aralıklarında farklı çözeltiler ile etkileştirilmiş ve sonuçları Şekil 4.16'da verilmiştir. Şekil 4.15'te verilen naringenin moleküler yapısı incelendiğinde yapıda hidrofilik grupların yanında hidrofobik özelliğe sahip olan aromatik gruplar da görülmektedir. Naringenin ile membran arasındaki spesifik etkileşimde baskın gruplar hidrofilik yapılar olsa da molekül üzerindeki hidrofobik grupların membran ile özgül olmayan etkileşimlerde bulunması da olasıdır. Bu argümandan yola çıkarak desorpsiyon için farklı polaritelere sahip çözeltiler kullanılmıştır. Şekil 4.16'da görüldüğü gibi saf su ve NaCl çözeltileri desorpsiyonda çok bir başarı gösterememişken polar grubu ile birlikte yapıda apolar gruplar taşıyan metanol ve etanol molekülleri daha yüksek performans gösterebilmişlerdir. Bu moleküllerden de özellikle apolar özelliği metanole kıyasla daha yüksek olan etanol %90'ın üzerinde bir desorpsiyon özelliği göstermiştir.



Şekil 4.16. Naringenin baskılanmış membranlardan naringenin için yüzde desorpsiyon oranları. C_{Nar} : 0,1 mg/mL; T: 20 °C.

Naringenin baskılanmış membranların dayanıklılığını ve tekrar kullanılabilirliğini göstermek amacıyla aynı membran kullanılarak adsorpsiyon-desorpsiyon döngüsü altı kez tekrarlanmış ve sonuçlar Şekil 4.17'de verilmiştir. Membranlara rejenerasyon işlemi yapılmaksızın, her adsorpsiyon döngüsü sonrası sadece desorpsiyon işlemi yapılmıştır (Adsorbentlerde ciddi bir adsorpsiyon kaybı yaşanması durumunda 50 mM NaOH solüsyonu ile bir rejenerasyon işlemi yapılır). Altı adsorpsiyon-

desorpsiyon döngüsünün sonunda adsorpsiyon kapasitesinde sadece %12’lik bir azalma görülmüştür.



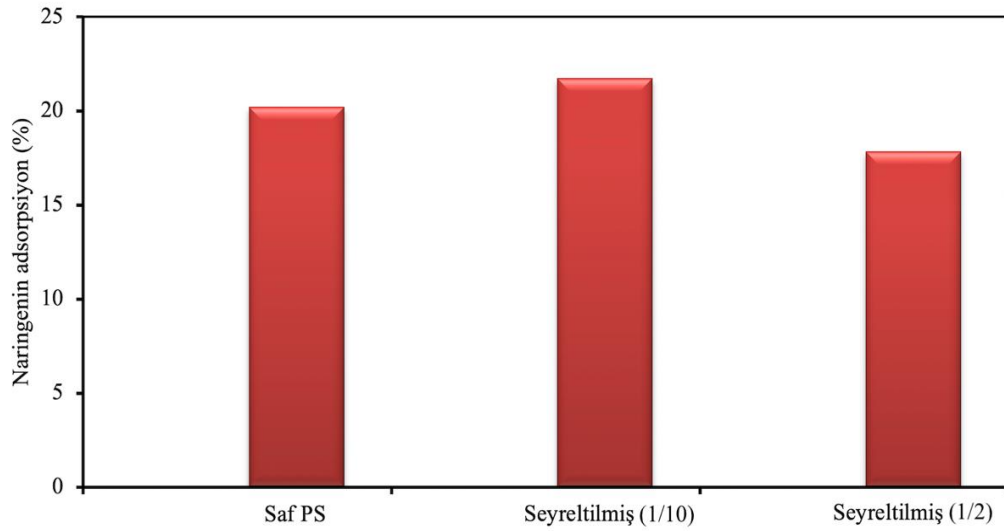
Şekil 4.17. Naringenin baskılanmış membranların tekrar kullanılabilirlik çalışmaları.
C_{Nar}: 0,1 mg/mL; pH: 5; T: 20 °C.

4.4.9 Doğal ortamdan naringenin adsorpsiyonu

Sıkılarak elde edilmiş taze portakal suyunun (PS) santrifüjlenerek posası uzaklaştırılmış sıvı kısmı ile saf, 1/2 ve 1/10 oranında seyreltilmiş üç farklı bölümü ile naringenin adsorpsiyon çalışmaları gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.7. ve Şekil 4.18’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Doğal ortamdan naringenin adsorpsiyonuna seyreltme faktörünün etkisi.
(sonuçlar üç tekrarlıdır)

Örnek seyreltme oranı	Örnek Derişimi (Co, µg/mL)	Q, Naringenin (µg/g)
1/10 PS	3,1	185 ± 7
1/2 PS	15,5	843 ± 8
Saf PS	31	173 ± 5



Şekil 4.18. Naringenin baskılanmış membranlar ile doğal portakal suyundan naringenin adsorpsiyon çalışmaları. T: 20 °C. (sonuçlar üç tekrarlıdır)

Çizelge 4.7’de görüldüğü gibi maksimum adsorpsiyon $843 \pm 8 \mu\text{g/g}$ olarak 1/2 oranında seyreltilmiş portakal suyunda gerçekleşmiştir. Her bir derişim için üçer tekrar alınmış olup elde edilen sonuçlar yüzde olarak grafiğe de yansıtılmıştır. Yapılan adsorpsiyon çalışmalarında 1/10 oranında yapılan seyreltmede yaklaşık %23’lük bir oranla en yüksek adsorpsiyon elde edilmişken diğer oranlar saf portakal çözeltisi ve %50 seyreltilmiş çözeltilerde sırasıyla %20 ve %18 olarak gerçekleşmiştir. Sulu ortamdan naringenin adsorpsiyonunda derişim arttıkça adsorpsiyon artmasına rağmen, doğal ortamda böyle bir durum gözlenmemiştir. Bu durum, doğal ortamda bulunan naringenin haricindeki moleküllerin yoğunluğunun, naringenin üç boyutlu tanınma bölgesine yaklaşmasını engellediği şeklinde yorumlanabilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Naringenin baskılanmış polimerik membranların hazırlanmasında optimal kalıp molekül-fonksiyonel monomer etkileşim oranı spektrofotometrik analizler ile 1:3 olarak (0,1 mmol naringenin : 0,3 mmol akrilamid) öngörülmüştür.

Sentezlenen naringenin baskılanmış polimerik membranların ATR-FTIR analizleri saf naringenin ve baskılanmamış polimere karşı gerçekleştirilmiş naringenin polimerik yapıya girdiği gösterilmiştir.

Naringenin baskılanmış ve baskılanmamış polimerik membranların yüzey morfolojilerindeki fark SEM cihazı, yapıdaki kütle kaybı termogravimetrik analiz ile gösterilmiştir. Ayrıca, baskılanmış ve baskılanmamış polimerik membranların elementel analizleri, şişme ve gözeneklilik analizleri ve polimerik yapıların hidofilite testleri yüzey temas açısı ölçümü ile gerçekleştirilmiştir.

Naringenin baskılanmış membranlara sulu ortamdan naringenin adsorpsiyonunda 20 dak gibi bir sürede adsorpsiyonda dengeye ulaşıldığı görülmüştür. Maksimum denge derişi 2 mg/mL’de tespit edilmiştir. Membranlara maksimum adsorpsiyon pH’sı olarak pH 5 bulunmuşken, maksimum adsorpsiyon 20 °C’de gerçekleşmiştir. Maksimum adsorpsiyon 0,3 mM NaCl’lü ortamda gerçekleşirken, naringenin baskılanmamış polimerlere naringenin tutunması (özgül olmaya etkileşimler) 14 mg/g olarak bulunmuştur. Naringenin baskılanmış membranlarda bu değer 66,5 mg/g olarak tespit edilmiştir.

Naringenin baskılanmış polimerik membranlara naringenin için bağlanma sabitlerinin belirlenmesi amacıyla Scatchard denklemi analiz edilmiş ve yüksek afinite bölgesinde $1,63 \cdot 10^{-4}$ M’lık ideal bir K_d değeri hesaplanmıştır.

Naringenin baskılanmış membranların naringenin molekülüne için seçicilik çalışmalarında yarışmacı ajan olarak gallik ve kafeik asit molekülleri seçilmiş ve mebranın naringenin için seçiciliğinin gallik aside karşı 1,99 ve kafeik aside karşı ise 2,26 kat olduğunu görülmüştür.

Naringenin baskılanmış membranlar için ideal desorpsiyon ajanı olarak etanol görülmüşken, membranların altı adsorpsiyon-desorpsiyon döngüsünün sonunda adsorpsiyon kapasitesinde sadece %12’lik bir azalma görülmüştür.

Naringenin baskılanmış membranlar ile doğal ortamdan naringenin adsorpsiyonu için taze sıkılmış portakal suyunun farklı seyreltilmiş çözeltileri kullanılmış ve maksimum adsorpsiyonun 1/2 oranında seyreltilmiş portakal suyunda 843 µg/g olduğu görülmüştür.

Yapılan bu tez çalışmalarının sonucunda elde edilen veriler, sentezlenen naringenin baskılanmış kriyojelik membranların, gerek sulu ortamdan gerekse doğal ortamından naringenin saflaştırılmasında başarılı bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Aherne, S. A. ve O'Brien, N. M., 2002. Dietary flavonols: Chemistry, food content, and metabolism, *Nutrition*, 18, 1, 75-81 [[https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(01\)00695-5](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(01)00695-5)].
- Alam, M. A., Subhan, N., Rahman, M. M., Uddin, S. J., Reza, H. M. ve Sarker, S. D., 2014. Effect of citrus flavonoids, naringin and NG, on metabolic syndrome and their mechanisms of action, *Adv. Nutr.*, 5, 4, 404-17 [<https://doi.org/10.3945/an.113.005603>].
- Alberca, R. W., Teixeira, F. M. E., Beserra, D. R., de Oliveira, E. A., de Andrade, M. M. S., Pietrobon, A. J. ve Sato, M. N., 2020. Perspective: the potential effects of naringenin in COVID-19, *Front. Immunol.*, 11, 1.
- Andaç, M., Galaev, I. ve Denizli, A., 2012. Dye attached poly (hydroxyethyl methacrylate) cryogel for albumin depletion from human serum, *Journal of Separation Science*, 35, 9, 1173-1182.
- Archady, R. ve Mosbach, K., 1981. Synthesis of substrate-selective polymers by host-guest polymerization, *Macromolecular Chemistry*, 182, 687-692.
- Ardvisson, P., Plieva, F., Lozinsky, V. I., Galaev, I. Y. ve Mattiasson, B. , 2003. Direct chromatographic capture of enzyme from crude homogenate using immobilized metal affinity chromatography on a continuous supermacroporous adsorbent, *Journal of Chromatography A*, 986, 275– 290.
- Barros, A., Quraishi, S., Martins, M., Gurikov, P., Subrahmanyam, R., Smirnova, I., Duarte, A.R.C. ve Reis, R.L., 2016. Hybrid alginate-based cryogels for life science applications, *Chem. Ing. Tech.*, 88, 1770–1778.
- Bellas, E., Lo, T. J., Fournier, E. P., Brown, J. E., Abbott, R. D., Gil, E. S., Marra, K. G., Rubin, P. J., Leisk, G. G. ve Kaplan, D. L., 2015. Injectable silk foams for soft tissue regeneration, *Adv. Healthc. Mater.*, 4, 452–459 [DOI: 10.1002/adhm.201400506].
- Bencherif, S. A., Braschler, T. M. ve Renaud, P., 2013. Advances in the design of macroporous polymer scaffolds for potential applications in dentistry, *Journal of Periodontal & Implant Science*, 43, 251–261.
- Bencherif, S. A., Sands, R. W., Bhatta, D., Arany, P., Verbeke, C. S., Edwards, D. A. ve Mooney, D. J., 2012. Injectable preformed scaffolds with shape-memory properties, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 109, 19590–19595.
- Bereli, N., Andaç, M., Baydemir, G., Say, R., Galaev, I. Y. ve Denizli, A., 2008. Protein recognition via ion-coordinated molecularly imprinted supermacroporous cryogels, *Journal of Chromatography A*, 1190, 18-26.
- Bodenberger, N., Kubiczek, D., Abrosimova, I., Scharm, A., Kipper, F., Walther, P. ve Rosenau, F., 2016. Evaluation of methods for pore generation and their

- influence on physio-chemical properties of a protein based hydrogel, *Biotechnol. Rep.*, 12, 6–12.
- Bolli, A., Marino, M., Rimbach, G., Fanali, G., Fasano, M. ve Ascenzi, P., 2010. Flavonoid binding to human serum albumin, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 398, 444-449 [PMID: 20599706 DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.06.096].
- Bourian, M., Runkel, M., Krisp, A., Tegtmeier, M., Freudenstein, J. ve Legrum, W., 1999. Naringenin and interindividual variability in interaction of coumarin with grapefruit juice, *Exp. Toxicol. Pathol.*, 51, 289–93 [DOI: 10.1016/S0940-2993(99)80008-6].
- Breinholt, V. M., Svendsen, G. W., Dragsted, L. O. ve Hossaini, A., 2008. The citrus-derived flavonoid naringenin exerts uterotrophic effects in female mice at human relevant doses, *Basic Clin Pharmacol. Toxicol.*, 94, 30–6 [DOI: 10.1111/j.1742-7843.2004.pto_940106.x].
- Brougham, C. M., Levingstone, T. J., Shen, N., Cooney, G. M., Jockenhoevel, S., Flanagan, T. C. ve O'Brien, F. J., 2017. Freeze-drying as a novel biofabrication method for achieving a controlled microarchitecture within large, Complex Natural Biomaterial Scaffolds, *Adv. Healthc. Mater.*, 6, 1700598.
- Cavia-Saiz, M., Busto, M. D., Pilar-Izquierdo, M. C., Ortega, N., Perez-Mateos, M. ve Muñiz, P., 2010. Antioxidant properties, radical scavenging activity and biomolecule protection capacity of flavonoid naringenin and its glycoside naringin: a comparative study, *J. Sci. Food Agric.*, 90, 7, 1238-44 [https://doi.org/10.1002/jsfa.3959].
- Chabane, M. N., Ahmad, A. A., Peluso, J., Muller, C. D. ve Ubeaud-Séquier, G., 2009. Quercetin and naringenin transport across human intestinal Caco-2 cells, *J. Pharm. Pharmacol.*, 61, 11, 1473-83 [https://doi.org/10.1211/jpp/61.11.0006].
- Chao, C. L., Weng, C. S., Chang, N. C., Lin, J. S., Kao, S. T. ve Ho, F. M., 2010. Naringenin more effectively inhibits inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression in macrophages than in microglia, *Nutr. Res.*, 30, 858–864.
- Chase, H. A., 1984. Prediction of the performance of preparative affinity chromatography, *Journal of Chromatography A*, 297, 179-202 [https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)89041-5].
- Chen, G., Wu, D., Guo, W., Cao, Y., Huang, D., Wang, H., Wang, T., Zhang, X., Chen, H., Yu, H., Zhang, X., Zhang, M., Wu, S., Song, J., Chen, T., Han, M., Li, S., Luo, X., Zhao, J. ve Ning Q., 2020. Clinical and immunologic features in severe and moderate forms of Coronavirus disease 2019, medRxiv (Preprint) [DOI: 10.1101/2020.02.16.2002 3903].
- Chen, H. ve Du, Q., 2020. Potential natural compounds for preventing SARS-CoV- 2 (2019-nCoV) infection, Preprints [DOI: 10.20944/preprints202001. 0358.v3].

- Chen, L., Wang, X., Lu, W., Wu, X. ve Li, J., 2016. Molecular imprinting: perspectives and applications, *Chemical Society Reviews*, 45, 2137-2211.
- Chen, L., Xu, S. ve Li, J., 2011. Recent advances in molecular imprinting technology: current status, challenges and highlighted applications, *Chem. Soc. Rev.*, 40, 2922-2942.
- Cheng, L., Zheng, W., Li, M., Huang, J., Bao, S., Xu, Q. ve Ma, Z., 2020. Citrus fruits are rich in flavonoids for immunoregulation and potential targeting ACE2, *Preprints* [DOI: 10.20944/preprints202002.0313.v1].
- Choudhury, R., Chowrimootoo, G., Srai, K., Debnam, E. ve Rice-Evans, C. A., 1999. Interactions of the flavonoid naringenin in the gastrointestinal tract and the influence of glycosylation, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 265, 410-415 [PMID: 10558881 DOI: 10.1006/bbrc.1999.1695].
- Chousterman, B. G., Swirski, F. K. ve Weber, G. F., 2017. Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis, *Semin Immunopathol*, 39, 517–28 [DOI: 10.1007/s00281-017-0639-8].
- Christman, K. L., Vardanian, A. J., Fang, Q., Sievers, R. E., Fok, H. H. ve Lee, R. J., 2004. Injectable fibrin scaffold improves cell transplant survival, reduces infarct expansion, and induces neovasculature formation in ischemic myocardium, *J. Am. Coll. Cardiol.*, 44, 654–660.
- Chtourou, Y., Slima, A. B., Makni, M., Gdoura, R. ve Fetoui, H., 2015. Naringenin protects cardiac hypercholesterolemia-induced oxidative stress and subsequent necroptosis in rats, *Pharmacol. Rep.*, 67, 1090–1097.
- Cormack, P. A. G. ve Elorza, A. Z., 2004. Molecularly imprinted polymers: Synthesis and characterization, *Journal of Chromatography B*, 804, 173-182.
- Cormack, P. A. G., ve Mosbach, K., 1999. Molecular imprinting: recent developments and the road ahead, *Reactive and Functional Polymers*, 115-124.
- Da Pozzo, E., Costa, B., Cavallini, C., Testai, L., Martelli, A., Calderone, V. ve Martini, C., 2017. The citrus flavanone naringenin protects myocardial cells against age-associated damage, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 9536148 [DOI: 10.1155/2017/9536148].
- David, R. K. ve Peppas, N. A., 2009. Mimicking biological delivery through feedback-controlled drug release systems based on molecular imprinting, *AIChE Journal*, 55, 1311–1324.
- Day, A. J., Du Pont, M. S., Ridley, S., Rhodes, M., Rhodes, M. J., Morgan, M. R. ve Williamson, G., 1998. Deglycosylation of flavonoid and isoflavonoid glycosides by human small intestine and liver β -glucosidase activity, *FEBS Lett.*, 436, 1, 71-5 [https://doi.org/10.1016/S0014-5793(98)01101-6].

- Demirci, B., 2013. Protein C saflaştırılması için moleküler baskılanmış adsorbentler, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, 92, Ankara.
- Denizli, A., Odabaşı, M. ve Bereli, N., 2005. Protein saflaştırılması için moleküler baskılanmış polimerlerin tasarımı ve üretimi, Final Raporu, Proje No: TBAG-2372 (1103T163), Ankara.
- Diaz, J. H., 2020. Hypothesis: angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers may increase the risk of severe COVID-19, J. Travel Med., 27, 1–2 [DOI: 10.1093/jtm/taaa041].
- Dinçer, A., 2007. Glutatiyonun seçimi ayırım ve tayinine yönelik moleküler damgalı polimerlerin hazırlanması ve kromatografik karakterizasyonu, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, 156, İzmir.
- Dispınar, T., Camp, W. V., De Cock, L. J., De Geest, B. G. ve Du Prez, F. E., 2012. Redox-Responsive Degradable PEG Cryogels as Potential Cell Scaffolds in Tissue Engineering, Macromolecular Bioscience, 12, 383-394.
- Djuric, Z., Chen, G., Doerge, D. R., Heilbrun, L. K. ve Kucuk, O., 2001. Effect of soy isoflavone supplementation on markers of oxidative stress in men and women, Cancer Lett., 172, 1, 1-6 [https://doi.org/10.1016/S0304-3835(01)00627-9].
- Dong, X. C., Sun, H., Lu, X. Y., Wang, H. B., Liu, S. X. ve Wang, N., 2002. Separation of ephedrine stereoisomers by molecularly imprinted polymers influence of synthetic conditions and mobile phase compositions on the chromatographic performance, Analyst, 127, 1427–1432.
- Edwards, D. J. ve Bernier, S. M., 1996. Inhibitory effect of grapefruit juice and its bitter principal, naringenin, on CYP1A2 dependent metabolism of caffeine in man, Life Sciences, 59, 13, 1025-1030.
- El Mohsen, M. A., Marks, J., Kuhnle, G., Rice-Evans, C., Moore, K., Gibson, G., Debnam, E. ve Srai, S. K., 2004. The differential tissue distribution of the citrus flavanone naringenin following gastric instillation, Free Radic. Res., 38, 1329-1340 [PMID: 15763957 DOI:10.1080/10715760400017293].
- Erdogdu, Y., Unsalan, O. ve Gulluoglu, M. T., 2009. Vibrational analysis of flavone, Turkish Journal of Physics, 33, 249-259.
- Erlund, I., Meririnne, E., Alfthan, G. ve Aro, A., 2001. Plasma kinetics and urinary excretion of the flavanones naringenin and hesperetin in humans after ingestion of orange juice and grapefruit juice, J. Nutr., 131, 235–41 [DOI: 10.1093/jn/131.2.235].

- Ersoy, F. K., 2018. Gıdalardan kolesterolün uzaklaştırılması için moleküler baskılanmış kriyojel mikroküreler, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, 108, Ankara.
- Ersöz, A., Denizli, A., Özcan, A. ve Say, R., 2005. Molecularly imprinted ligand-exchange recognition assay of glucose by quartz crystal microbalance, *Biosensors and Bioelectronics*, 20, 2197-2202.
- Felgines, C., Texier, O., Morand, C., Manach, C., Scalbert, A., Régerat, F. ve Rémésy, C., 2000. Bioavailability of the flavanone naringenin and its glycosides in rats, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 279, 6, 1148-54 [https://doi.org/10.1152/ajpgi.2000.279.6.G1148].
- Feng, J., Luo, J., Deng, L., Zhong, Y., Wen, X., Cai, Y. ve Li, J., 2019. Naringenin-induced HO-1 ameliorates high glucose or free fatty acids-associated apoptosis via PI3K and JNK/Nrf2 pathways in human umbilical vein endothelial cells, *Int. Immunopharm*, 75, 105769.
- Fuhr, U. ve Kummert, A. L., 1995. The fate of naringin in humans: a key to grapefruit juice-drug interactions?, *Clin. Pharmacol. Ther.*, 58, 365–73 [DOI: 10.1016/0009-9236(95)90048-9].
- Gaharwar, A. K., Peppas, N. A. ve Khademhosseini, A., 2014. Nanocomposite hydrogels for biomedical applications, *Biotechnol. Bioeng.*, 111, 441–453.
- Galluzzo, P., Ascenzi, P., Bulzomi, P., ve Marino, M., 2008. The nutritional flavanone naringenin triggers antiestrogenic effects by regulating estrogen receptor α -palmitoylation, *Endocrinology*, 149, 2567-2575 [https://doi.org/10.1210/en.2007-1173].
- Gao, Y., Wang, Z., Zhang, Y., Liu, Y., Wang, S., Sun, W., Guo, J., Yu, C., Wang, Y., Kong, W. ve Zheng, J., 2018. Naringenin inhibits N (G)-nitro-L-arginine methyl ester-induced hypertensive left ventricular hypertrophy by decreasing angiotensin-converting enzyme 1 expression, *Exp. Ther. Med.*, 16, 867–873.
- Garg, A., Garg, S., Zaneveld, L. J. ve Singla, A. K., 2001. Chemistry and pharmacology of the citrus bioflavonoid hesperidin, *Phytother Res.*, 15, 8, 655-69 [https://doi.org/10.1002/ptr.1074].
- Gattinoni, L., Coppola, S., Cressoni, M., Busana, M. ve Chiumello, D., 2020. Covid-19 does not lead to a “Typical” acute respiratory distress syndrome, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 201, 1299–300 [DOI: 10.1164/rccm.202003-0817LE].
- Gera, S., Talluri, S., Rangaraj, N. ve Sampathi, S., 2017. Formulation and evaluation of naringenin nanosuspensions for bioavailability enhancement, *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, 18, 3151–62 [DOI: 10.1208/s12249-017-0790-5].
- Goldwasser, J., Cohen, P. Y., Lin, W., Kitsberg, D., Balaguer, P., Polyak, S. J. Chung, R. T., Yarmush, M. L. ve Nahmias, Y., 2011. Naringenin inhibits the assembly and long-term production of infectious hepatitis C virus particles

- through a PPAR-mediated mechanism, *J. Hepatol*, 55, 963–71 [DOI: 10.1016/j.jhep.2011.02.011].
- Gonçalves, D., Lima, C., Ferreira, P., Costa, P., Costa, A., Figueiredo, W. ve Cesar, T., 2017. Orange juice as dietary source of antioxidants for patients with hepatitis C under antiviral therapy, *Food Nutr. Res.*, 61, 1296675 [DOI: 10.1080/16546628.2017.1296675].
- Graf, B. A., Milbury, P. E. ve Blumberg, J. B., 2005. Flavonols, flavones, flavanones, and human health: epidemiological evidence, *J. Med. Food.*, 8, 3, 281-90 [https://doi.org/10.1089/jmf.2005.8.281].
- Gu, Z., Chen, L., Xu, Y., Liu, Y., Zhao, Z., Zhao, C., Lei, W., Rong, Q., Fang, R. ve Zhao, T., 2018. General strategy to fabricate highly filled microcomposite hydrogels with high mechanical strength and stiffness[J], *ACS Applied Materials & Interfaces*, 10, 4, 4161 [DOI: 10.1021/acsami.7b17689].
- Gun'ko, V. M., Savina, I. N. ve Mikhlovsky, S. V., 2013. Cryogels: Morphological, structural and adsorption characterisation, *Advances in Colloid and Interface Science*, 187–188, 1-46.
- Guo, T. Y., Xia, Y. Q., Hao, G. J., Song, M. D. ve Zhang, B. H., 2004. Biomaterials, adsorptive separation of hemoglobin by molecularly imprinted chitosan beads, *Dec.*, 25, 27, 5905-12 [DOI: 10.1016/j.biomaterials.2004.01.032].
- Gupta, S. C., Tyagi, A. K., Deshmukh-Taskar, P., Hinojosa, M., Prasad, S. ve Aggarwal, B. B., 2014. Downregulation of tumor necrosis factor and other proinflammatory biomarkers by polyphenols, *Arch. Biochem. Biophys.*, 559, 91–9 [DOI: 10.1016/j.abb.2014.06.006].
- Gurbuz, F., Ceylan, Ş., Odabaşı, M., Codd, G. A., 2016. Hepatotoxic microcystin removal using pumice embedded monolithic composite cryogel as an alternative water treatment method, *Water Research*, 90, 337-343 [https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.12.042].
- Habauzit, V., Verny, M. A., Milenkovic, D., Barber-Chamoux, N., Mazur, A., Dubray, C. ve Morand, C., 2015. Flavanones protect from arterial stiffness in postmenopausal women consuming grapefruit juice for 6 mo: a randomized, controlled, crossover trial, *Am. J. Clin. Nutr.*, 102, 66–74 [DOI: 10.3945/ajcn.114.104646].
- Haupt, K., Linares, A. V., Bompart, M. ve Bui, B. T. S., 2012. Molecularly Imprinted Polymers, *Molecular Imprinting* (eds: Haupt, K.), Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 1-28.
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R. ve Bobilya, D. J., 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships, *J. Nutr. Biochem.*, 13, 572-584 [PMID: 12550068 DOI: 10.1016/ S0955-2863(02)00208-5].

- Henderson, T. M. A., Ladewig, K., Haylock, D. N., Mclean, K. M. ve O'Connor, A. J., 2015. Formation and characterisation of a modifiable soft macro-porous hyaluronic acid cryogel platform, *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 26, 881- 897.
- Henderson, T. M. A., Ladewig, K., Haylock, D. N., Mclean, K. M. ve O'Connor, A. J., 2013. Cryogels for biomedical applications, *J. Mater. Chem. B.*, 1, 2682–2695.
- Hernández-Aquino, E. ve Muriel, P., 2018. Beneficial effects of naringenin in liver diseases: Molecular Mechanisms, *World J. Gastroenterol*, 24, 16, 1679-1707 [DOI: 10.3748/wjg.v24.i16.1679, ISSN 1007-9327 (print)].
- Hollman, P. C. ve Arts, I. C., 2000. Flavonols, flavones and flavanols–nature, occurrence and dietary burden, *J. Sci. Food Agric.*, 80, 7, 1081-93 [https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7<1081::AID-JSFA566>3.0.CO;2-G].
- Hu, Y. J., Wang, Y., Ou-Yang, Y., Zhou, J. ve Liu, Y., 2010. Characterize the interaction between naringenin and bovine serum albumin using spectroscopic approach, *J. Lumin.*, 130, 1394-1399 [DOI:10.1016/j.jlumin.2010.02.053].
- Hughes, L. A., Arts, I. C., Ambergen, T., Brants, H. A., Dagnelie, P. C., Goldbohm, R. A. van den Brandt, P. A., Weijenberg, M. P. ve Study, N. C., 2008. Higher dietary flavone, flavonol, and catechin intakes are associated with less of an increase in BMI over time in women: a longitudinal analysis from the Netherlands Cohort Study, *Am. J. Clin. Nutr.*, 88, 1341-1352.
- Hwang, Y., Zhang, C. ve Varghese, S., 2010. Poly (ethylene glycol) cryogels as potential cell scaffolds: effect of polymerization conditions on cryogel microstructure and properties, *J. Mater. Chem.*, 20, 345–351.
- Ikegami, T., Mukawa, T., Nariai, H. ve Takeuchi, T., 2004. Bisphenol a recognition polymers prepared by covalent molecular imprinting, *Analytical Chemistry Acta.*, 504, 131–135.
- Imai, Y., Kuba, K., Rao, S., Huan, Y., Guo, F., Guan, B., Yang, P., Sarao, R., Wada, T., Leong-Poi, H., Crackower, M. A., Fukamizu, A., Hui, C. C., Hein, L., Uhlig, S., Slutsky, A. S., Jiang, C. ve Penninger, J. M., 2005. Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure, *Nature*, 436, 112–6 [DOI: 10.1038/nature03712].
- Jin, L., Zeng, W., Zhang, F., Zhang, C. ve Liang, W., 2017. Naringenin ameliorates acute inflammation by regulating intracellular cytokine degradation, *J Immunol*, 199, 3466–77 [DOI: 10.4049/jimmunol.1602016].
- Jones, R. G., 2009. *Compendium of Polymer Terminology and Nomenclature: IUPAC Recommendations*, 2008, Royal Society of Chemistry, Cambridge.

- Jones, R. G., Wilks, E. S., Metanomski, W. V., Kahovec, J., Hess, M., Stepto, R. ve Kitayama, T., 2009. Compendium of Polymer Terminology and Nomenclature, Royal Society of Chemistry, London [https://iupac.org/cms/wp-content/uploads/2016/01/Compendium-of-Polymer-Terminology-and-Nomenclature- IUPAC-Recommendations-2008.pdf].
- Joshi, R., Kulkarni, Y. A. ve Wairkar, S., 2018. Pharmacokinetic, pharmacodynamic and formulations aspects of Naringenin: An update, Lfs. (Life Sciences) [https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.10.066].
- Jung, U. J., Kim, H. J., Lee, J. S., Lee, M. K., Kim, H. O., Park, E. J., Kim, H. K., Jeong, T. S. ve Choi, M. S., 2003. Naringin supplementation lowers plasma lipids and enhances erythrocyte antioxidant enzyme activities in hypercholesterolemic subjects, Clin. Nutr., 22, 561–8.
- Justesen, U., Knuthsen, P. ve Leth, T., 1998. Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection, J. Chromatogr. A., 799, 1, 101-10 [https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)01061-3].
- Kanaze, F. I., Bounartzi, M. I., Georgarakis, M. ve Niopas, I., 2007. Pharmacokinetics of the citrus flavanone aglycones hesperetin and naringenin after single oral administration in human subjects, Eur. J. Clin. Nutr., 61, 472–7 [DOI: 10.1038/sj.ejcn.1602543].
- Katz, A. ve Davis, M. E., 1999. Investigations into the mechanisms of molecular recognition with imprinted polymers, Macromolecules, 32, 4113-412.
- Khaerunnisa, S., Kurniawan, H., Awaluddin, R. ve Suhartati, S., 2020. Potential inhibitor of COVID-19 main protease (M pro) from several medicinal plant compounds by molecular docking study, Preprints [DOI: 10.20944/preprints202003.0226.v1].
- Khan, A. W., Kotta, S., Ansari, S. H., Sharma, R. K. ve Ali, J., 2015. Self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) of the poorly water-soluble grapefruit flavonoid Naringenin: design, characterization, in vitro and in vivo evaluation, Drug Deliv., 22, 552–61 [DOI: 10.3109/10717544.2013.878003].
- Khan, M. K., Rakotomanomana, N., Dufour, C. ve Dangles, O., 2011. Binding of citrus flavanones and their glucuronides and chalcones to human serum albumin, Food Funct., 2, 617-626 [PMID: 21952533 DOI: 10.1039/c1fo10077g].
- Kim, H. D., Bae, E. H., Kwon, I.C., Pal, R. R., Nam, J. D. ve Lee, D. S., 2004. Effect of PEG–PLLA diblock copolymer on macroporous PLLA scaffolds by thermally induced phase separation, Biomaterials, 25, 2319-2329.

- Kim, I., Lee, S. S., Bae, S., Lee, H. ve Hwang, N. S., 2018. Heparin functionalized injectable cryogel with rapid shape-recovery property for neovascularization, *Biomacromolecules*, 19, 2257–2269.
- Kim, J. H. ve Lee, J. K., 2015. Naringenin enhances NK cell lysis activity by increasing the expression of NKG2D ligands on Burkitt's lymphoma cells, *Archives of pharmaceutical research*, 38, 2042–8.
- Kirsebom, H. ve Mattiasson, B., 2011. Cryostructuration as a tool for preparing highly porous polymer materials, *Polymer Chemistry*, 2, 1059-1062.
- Kirsebom, H., Topgaard, D., Galaev, I. Y. ve Mattiasson, B., 2010. Modulating the porosity of cryogels by influencing the nonfrozen liquid phase through the addition of inert solutes, *Langmuir*, 26, 16129–16133.
- Kokufuta, E. ve Jinbo, E., 1992. Hydrogel capable of facilitating polymer diffusion through the gel porosity and its application in enzyme immobilization, *Macromolecules*, 25, 3549–3552.
- Komiyama M., Takeuchi, T., Mukawa, T. ve Asanuma, H., 2003. Molecular imprinting: from fundamentals to applications, Wiley-VCH Verlag GmbH&Co. KGaA, Weinheim.
- Kulkarni, Y. A., Garud, M. S., Oza, M. J., Barve, K. H. ve Gaikwad, A. B., 2016. Diabetes, diabetic complications, and flavonoids, In: R. R. Watson, V. R. Preedy (Eds.), *Fruits, Vegetables, and Herbs*, Academic press, London, 77-104.
- Kumakura, M., 2001. Preparation method of porous polymer materials by radiation technique and its application, *Polymers for Advanced Technologies*, 12, 415–421.
- Kumar, A., 2016. Supermacroporous Cryogels: Biomedical and Biotechnological Applications, CRC Press, Boca Raton [<https://doi.org/10.1201/b19676>].
- Kumar, A., Bansal, V., Andersson, J., Roychoudhury, P. K. ve Mattiasson, B., 2006. Supermacroporous cryogel matrix for integrated protein isolation Immobilized metal affinity chromatographic purification of urokinase from cell culture broth of a human kidney cell line, *Journal of Chromatography A*, 1103, 35-42.
- Kumar, R. P. ve Abraham, A., 2016. PVP- coated naringenin nanoparticles for biomedical applications – in vivo toxicological evaluations, *Chem. Biol. Interact.*, 257, 110–8 [DOI: 10.1016/j.cbi.2016.07.012].
- Labrou, N. E., Karagouni, A. ve Clonis, Y. D., 1995. Biomimetic-dye affinity adsorbents for enzyme purification: Application to the one-step purification of *Candida boidinii* formate dehydrogenase, *Biotechnology and Bioengineering*, 48, Issue 3, 278-288 [<https://doi.org/10.1002/bit.260480314>].
- Langmuir, I., 1918. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum, *Journal of the American Chemical Society*, 40, 9, 1361-1403.

- Lee, C. H., Jeong, T. S., Choi, Y. K., Hyun, B. H., Oh, G. T., Kim, E. H., Kim, J. R., Han, J. I. ve Bok, S. H., 2001. Anti-atherogenic effect of citrus flavonoids, naringin and naringenin, associated with hepatic ACAT and aortic VCAM-1 and MCP-1 in high cholesterol-fed rabbits, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 284, 681–688.
- Lee, M. H., Yoon, S. ve Moon, J. O., 2004. The flavonoid naringenin inhibits dimethylnitrosamine- induced liver damage in rats, *Biol. Pharm. Bull.*, 27, 72–6.
- Lee, Y. S. ve Reidenberg, M. M., 1998. A method for measuring naringenin in biological fluids and its disposition from grapefruit juice by man, *Pharmacology.*, 56, 314-317 [DOI: 10.1159/000028215].
- Lin, S., Sangaj, N., Razafiarison, T., Zhang, C. ve Varghese, S., 2011. Influence of physical properties of biomaterials on cellular behavior, *Pharm. Res.*, 28, 1422–30.
- Liu M., Zeng, X., Ma ,C., Yi, H., Ali, Z., Mou, X., Li, S., Deng, Y. ve He, N., 2017. Injectable hydrogels for cartilage and bone tissue engineering. *Bone Res.*, 5, 17014, 1–16.
- Liu, W., Li, Y., Zeng, Y., Zhang, X., Wang, J., Xie, L., Li, X. ve Du, Y., 2014. Microcryogels as injectable 3-D cellular microniches for site-directed and augmented cell delivery, *Acta. Biomater.*, 10, 1864–1875 [https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.12.008].
- Liu, X., Wang, W., Hu, H., Tang, N., Zhang, C., Liang, W. ve Wang. M., 2006. Smad 3 specific inhibitor, naringenin, decreases the expression of extracellular matrix induced by TGF-beta 1 in cultured rat hepatic stellate cells, *Pharmaceut Res.*, 23, 82-89.
- Lofgreen, J. E., Ozin, G. A., 2014. Controlling morphology and porosity to improve performance of molecularly imprinted sol-gel silica, *Chem. Soc. Rev.*, 43, 911-933.
- Lozinsky, V. I. ve Plieva, F. M., 1998. Poly (vinyl alcohol) cryogels employed as matrices for cell immobilization, 3. Overview of recent research and developments, *Enzyme and Microbial Technology*, 23, 227–242.
- Lozinsky, V. I., 2002. Cryogels on the basis of natural and synthetic polymers: Preparation, properties and application, *Russ. Chem. Rev.*, 71, no. 6, 489–512 [https://doi.org/10.1070/RC2002v071n06ABEH000720].
- Lozinsky, V. I., 2014, In polymeric cryogels: macroporous gels with remarkable properties (Ed: Okay O.), Springer, Berlin/Heidelberg, 1 [https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-319-05846-7].

- Lozinsky, V. I., Fatima, Y. G., Plieva, M., Savina, I. N, Jungvid, H. ve Mattiasson, B., 2003(a). Polymeric cryogels as promising materials of biotechnological interest, *Trends in Biotechnology*, 21, 10, 445-451.
- Lozinsky, V. I., Plieva, F. M., Galaev, I. Y. ve Mattiasson, B., 2002. The potential of polymeric cryogels in bioseparation, *Bioseparation*, 10, 163-188.
- Lozinsky, V. I., Plieva, F. M., Galaev, I. Y., Savina, I. N., Jungyid, H. ve Mattiasson, B., 2003(b). Polymeric cryogels as promising materials of biotechnological interest, *Trends in Biotechnology*, 21, 445-451.
- Lu, W. J., Ferlito, V., Xu, C., Flockhart, D. A. ve Caccamese, S., 2011. Enantiomers of naringenin as pleiotropic, stereoselective inhibitors of cytochrome P450 isoforms, *Chirality*, 23, 891–6 [DOI: 10.1002/chir.21005].
- McNaught, A. D., 1997. *Compendium of chemical terminology*, Vol. 1669, Blackwell Science, Oxford.
- Memic, A., Alhadrami, H. A., Hussain, M. A., Aldahri, M., Al Nowaiser, F., Al-Hazmi, F., Oklu, R. ve Khademhosseini, A., 2015. Hydrogels 2.0: Improved properties with nanomaterial composites for biomedical applications, *Biomed. Mater.*, 11, 014104.
- Memic, A., Colombani, T., Eggermont, L. J., Rezaeeyazdi, M., Steingold, J., Rogers, Z. J., Navare, K. J., Mohammed, H. S. ve Bencherif, S. A., 2019. Latest advances in cryogel technology for biomedical applications, [https://www.researchgate.net/publication/331016660].
- Middleton, E. ve Kandaswami, C., 1992. Effects of flavonoids on immune and inflammatory cell functions, *Merck Index.*, 43:1167-1179, *Biochem. Pharmacol.*, 43, 6, 1167-79 [DOI: 10.1016/0006-2952(92)90489-6].
- Moghaddam, R. H., Samimi, Z., Moradi, S. Z., Little, P. J., Xu, S. ve Farzaei, M. H., 2020. Naringenin and naringin in cardiovascular disease prevention: A preclinical review, *European Journal of Pharmacology*, 887-173535.
- Molinelli, A., 2004. *Molecularly imprinted polymers: Towards a rational understanding of biomimetic materials*, PhD Thesis, Georgia Institute of Technology, School of Chemistry and Biochemistry.
- Mu, L., Hu, G., Liu, J., Chen, Y., Cui, W. ve Qiao, L., 2019. Protective effects of naringenin in a rat model of sepsis-triggered acute kidney injury via activation of antioxidant enzymes and reduction in urinary angiotensinogen, *Med. Sci. Monit.*, 25, 5986–91 [DOI: 10.12659/MSM.916400].
- Mulvihill, E. E., Allister, E. M., Sutherland, B. G., Telford, D. E., Sawyez, C. G. ve Edwards, J. Y., 2009. Naringenin prevents dyslipidemia, apoB overproduction and hyperinsulinemia in LDL-receptor null mice with diet-induced insulin resistance, *Diabetes*, 58, 2198-2210.

- Nagy, E., Papay, V., Litkei, G., Dinya, Z., 1985. Investigation of the chemical constituents, particularly the flavonoid components, of propolis and populi gemma by the GC/MS method, Elsevier., 223-232.
- Nielsen, I. L. F., Chee, W. S. S., Poulsen, L., Offord-Cavin, E., Rasmussen, S. E., Frederiksen, H., Enslen, M., Barron, D., Horcajada, M. N. ve Williamson, G., 2006. Bioavailability is improved by enzymatic modification of the citrus flavonoid hesperidin in humans: a randomized, doubleblind,crossover trial, *J. Nutr.*, 136, 404–8 [DOI: 10.1093/jn/136. 2.404].
- Nishihara, H., Mukai, S. R., Yamashita, D. ve Tamon, H., 2005. Ordered macroporous silica by ice templating, *Chem. Mater.*, 17, 683–689.
- Njayou, M. ve Quash, G., 1991. Purification of measles virus by affinity chromatography and by ultracentrifugation: a comparative study, *Journal of Virological Methods*, 32, 67–77.
- Nogata, Y., Sakamoto, K., Shiratsuchi, H., Ishii, T., Yano, M. ve Ohta, H., 2006. Flavonoid composition of fruit tissues of citrus species, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 70,1, 178-92 [<https://doi.org/10.1271/ bbb.70.178>].
- O'Brien, F. J., Harley, B., Yannas, I. V. ve Gibson, L. J., 2005. The effect of pore size on cell adhesion in collagen-gag scaffolds, *Biomaterials*, 26, 433–441.
- Odabaşı, M., 2005. Molecularly imprinted polymers for separation of proteins, Ph.D. Thesis, Hacettepe University, Institute of Sci., Ankara.
- Okay, O., 2014. Polymeric cryogels: Macroporous gels with remarkable properties, Springer International Publishing, Switzerland [DOI:10.1007/978-3-319-05846-7].
- Oral, E. ve Peppas, N. A., 2006. Hydrophilic molecularly imprinted poly (hydroxyethyl-methacrylate) polymers, *J. of Biomedical Material Research*, 78, 205-210.
- Orrego-Lagarón, N., Martínez-Huélamo, M., Vallverdú-Queralt, A., Lamuela-Raventós, R. M. ve Escribano-Ferrer, E., 2015. High gastrointestinal permeability and local metabolism of naringenin: influence of antibiotic treatment on absorption and metabolism, *Br. J. Nutr.*, 114, 2, 169-80 [<https://doi.org/10.1017/S0007114515001671>].
- Ortiz-Andrade, R. R., Sanchez-Salgado, J. C., Navarrete-Vazquez, G., Webster, S. P., Binnie, M., García-Jiménez, S., León-Rivera, I., Cigarroa-Vázquez, P., Villalobos-Molina, R. ve Estrada-Soto, S., 2008. Antidiabetic and toxicological evaluations of naringenin in normoglycaemic and NIDDM rat models and its implications on extra-pancreatic glucose regulation, *Diabetes Obes. Metab.*, 10, 1097–1104.

- Öncel, P., 2013. İlaç salımı için moleküler baskılanmış kriyojel membranlar, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı, 73, Ankara.
- Öztoprak, Z., Hekimoglu, T., Karakutuk, I., Tuncaboylu, D. C. ve Okay, O., 2014. Porous rubber cryogels: effect of the gel preparation temperature, Polym. Bull., 71, 1983-1999.
- Pari, L. ve Amudha, K., 2011. Hepatoprotective role of naringin on nickel-induced toxicity in male wistar rats, Eur. J. Pharmacol, 650, 364–70.
- Patel, D. K., Laloo, D., Kumar, R. ve Hemalatha, S., 2011(a). *Pedaliu murex* Linn—an overview of its phytopharmacological aspects, Asian Pac. J. Trop. Med., 4, 748-755.
- Patel, D. K., Kumar, R., Prasad, S. K. ve Hemalatha, S., 2011(b), Pharmacologically screened aphrodisiac plant—a review of current scientific literature, Asian Pac. J. Trop. Biomed., 1, 131-138.
- Patel, D. K., Prasad, S. K., Kumar, R. ve Hemalatha, S., 2011(c). Cataract: a major secondary complication of diabetes, its epidemiology and an overview on major medicinal plants screened for anticataract activity, Asian Pac. J. Trop. Dis., 1, 323-329.
- Patel, K., Singh, G. K. ve Patel, D. K., 2014. A review on pharmacological and analytical aspects of naringenin, Chin. J. Integr. Med., 1-13 [https://doi.org/10.1007/s11655-014-1960-x].
- Pathak, R. Lochab, S., Raghuram, N. ve Moo-Young, M., 2011. Comprehensive biotechnology, Elsevier, Oxford.
- Pişkin, E., 1987. Polimer Teknolojisine Giriş, İnkılap Kitabevi.
- Plieva, F., Huiting, X., Galaev, I. Y., Bergenstahl, B. ve Mattiasson, B., 2006. Macroporous elastic polyacrylamidegels prepared at subzero temperatures: Control of porous structure, J. Mater. Chem.,16, 4065–4073.
- Plieva, F. M., Galaev, I.Y., Mattiasson, B., 2007. Macroporous gels prepared at subzero temperatures as novel materials for chromatography of particulate containing fluids and cell culture applications, Journal of Separation Science, 30, 11, 1657.
- Plieva, F. M., Karlsson, M., Aguilar, M. R., Gomez, D., Mikhalovsky, S. ve Galaev, Y. U., 2005. Pore structure in supermacroporous polyacrylamide based cryogels, Soft Matter, 1, 303-309.
- Plieva, F. M., Kirsebom, H. ve Mattiasson, B., 2011, Preparation of macroporous cryostructured gel monoliths, their characterization and main applications, J. Sep. Sci., 34, 2164–2172.

- Pohjala, L., Utt, A., Varjak, M., Lulla, A., Merits, A., Ahola, T. ve Tammele, P., 2011. Inhibitors of alphavirus entry and replication identified with a stable Chikungunya replicon cell line and virus-based assays, *PLoS One*, 6, 28923 [DOI: 10.1371/journal.pone.0028923].
- Qian, L. ve Zhang, H., 2011. Controlled freezing and freeze drying: a versatile route for porous and micro-/nano-structured materials, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 86, 172–184.
- Qin, W., Ren, B., Wang, S., Liang, S., He, B., Shi, X., Wang, L., Liang, J. ve Wu, F., 2016. Apigenin and naringenin ameliorate PKC β II-associated endothelial dysfunction via regulating ROS/caspase-3 and NO pathway in endothelial cells exposed to high glucose, *Vasc. Pharmacol*, 85, 39–49.
- Rani, N., Bharti, S., Krishnamurthy, B., Bhatia, J., Sharma, C., Amjad Kamal, M., Ojha, S. ve Singh Arya, D., 2016. Pharmacological properties and therapeutic potential of naringenin: a citrus flavonoid of pharmaceutical promise, *Curr. Pharm. Des.*, 22, 28, 4341-59 [https://doi.org/10.2174/1381612822666160530150936].
- Recourt, K., van Brussel, A. A., Driessen, A. J. ve Lugtenberg, B. J., 1989. Accumulation of a nod gene inducer, the flavonoid naringenin, in the cytoplasmic membrane of *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* is caused by the pH-dependent hydrophobicity of naringenin, *J. Bacteriol*, 171, 4370–7 [DOI: 10.1128/jb.171.8.4370-4377.1989].
- Renaud, S. D. ve de Lorgeril, M., 1992. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease, *The Lancet*, 339, 8808, 1523-6 [https://doi.org/10.1016/0140-6736(92)91277-F].
- Renugadevi, J. ve Prabu, S. M., 2009. Naringenin protects against cadmium-induced oxidative renal dysfunction in rats, *Toxicology*, 256, 128–34.
- Renugadevi, J. ve Prabu, S. M., 2010. Cadmium-induced hepatotoxicity in rats and the protective effect of naringenin, *Exp. Toxicol. Pathol.*, 62, 171–81.
- Rezaeeyazdi, M., Colombani, T., Memic, A. ve Bencherif, S. A., 2018. Injectable hyaluronic acid-co-gelatin cryogels for tissue-engineering applications, *Materials*, 11, 8, 1374 [DOI:10.3390/ma11081374].
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. ve Paganga, G., 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids, *Free Radic Biol Med.*, 20, 933-956 [PMID: 8743980 DOI: 10.1016/0891-5849(95)02227-9].
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Bolwell, P. G., Bramley, P. M. ve Pridham, J. B., 1995. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids, *Free Radic. Res.*, 22, 4, 375-83 [https://doi.org/10.3109/10715769509145649].

- Romaszko, E., Marzec-Wróblewska, U., Badura, A. ve Buciński, A., 2017. Does consumption of red grapefruit juice alter naringenin concentrations in milk produced by breastfeeding mothers?, *Plos One*, 12, 0185954 [DOI: 10.1371/journal.pone.0185954].
- Salehi, B., Fokou, P. V. T., Sharifi-Rad, M., Zucca, P., Pezzani, R., Martins, N. ve Sharifi-Rad, J., 2019(a). The therapeutic potential of naringenin: a review of clinical trials, *Pharmaceutics*, 12, 11 [DOI: 10.3390/ph12010011].
- Salehi, B., Valere, P., Fokou, T., Sharifi-Rad, M., Zucca, P., Pezzani, R., Martins, N., ve Sharifi-Rad, J., 2019(b). The therapeutic potential of naringenin: A review of clinical trials, *Pharmaceutics*, 12, 11, 1-18.
- Scardi, V., 1987. Immobilization of enzymes and microbial cells in gelatine, *Methods in Enzymology*, 135, 293–299.
- Scatchard, G., 1949. The attractions of proteins for small molecules and ions, *Ann NY Acad Sci.*, 51, 660-672.
- Sellergren, B., 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*, 110, 5853–5860.
- Serex, L., Braschler, T., Filippova, A., Rochat, A., Beduer, A., Bertsch, A. ve Renaud, P. 2018. Pore size manipulation in 3D printed cryogels enables selective cell seeding, *Adv. Mater. Technol.*, 3, 1700340.
- Serinbaş, A., Önal, B., Acet, Ö., Özdemir, N., Dzmitruk, V., Halets-Bui, I., Shcharbin, D., ve Odabaşı, M., 2020. A new application of inorganic sorbent for biomolecules: IMAC practice of Fe³⁺-nano flowers for DNA separation, *Materials Science and Engineering: C*, Volume 113 [https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111020].
- Setchell, K. D. ve Cassidy, A., 1999. Dietary isoflavones: biological effects and relevance to human health, *J. Nutr.*, 129, 3, 758-67 [https://doi.org/10.1093/jn/129.3.758S].
- Shea, K. J. ve Sasaki, D. Y., 1991. An analysis of small-molecule binding to functionalized synthetic polymers by C-13 CP/MAS NMRV and FTIR spectroscopy, *Journal of American Chemical Society*, 113, 4109-4120.
- Shih, T. Y., Blacklow, S. O., Li, A. W., Freedman, B. R., Bencherif, S., Koshy, S. T., Darnell, M. C. ve Mooney, D. J., 2018. Injectable, tough alginate cryogels as cancer vaccines, *Adv. Healthcare Mater*, 7, 1701469–1701482.
- Simons, A. L., Renouf, M., Murphy, P. A. ve Hendrich, S., 2010. Greater apparent absorption of flavonoids is associated with lesser human fecal flavonoid disappearance rates, *J. Agric. Food Chem.*, 58, 141-147 [PMID: 19921837 DOI: 10.1021/jf902284u].

- Spencer, J. ve Crozier, A., 2012. *Flavonoids and Related Compounds: Bioavailability and Function*, CRC Press, New York.
- Spivak, A. S., 2005. Optimization, evaluation and characterization of molecularly imprinted polymers, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1780, 1779-1794.
- Steinke, J., Sherrington, D. C. ve Dunkin, I. R., 1995. Imprinting of synthetic polymers using molecular templates, *Advances in Polymer Science*, 123, 81-125.
- Ström, A., Larsson, A. ve Okay, O., 2015. Preparation and physical properties of hyaluronic acid-based cryogels, *J. Appl. Polym. Sci.*, 132, 42194.
- Sun, B., Wang, Z., He, Q., Fan, W. ve Cai, S., 2017. Porous double network gel with high toughness, high stretchability and superfast solvent-absorption, *Soft Matter*, 13, 38, 6852-6857.
- Tamahkar, E., Bereli, N., Say, R. ve Denizli, A., 2011, Molecularly imprinted supermacroporous cryogels for cytochrome C recognition, *Journal of Separation Science*, 34, 3433-3440.
- Tapas, A. R., Sakarkar, D. M. ve Kakde, R. B., 2008. Flavonoids as nutraceuticals: a review, *Trop. J. Pharm. Res.*, 7, 3, 1089-99 [<http://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v7i3.14693>].
- Treutter, D., 2006, Significance of flavonoids in plant resistance: a review, *Environ Chem. Lett.*, 4, 3, 147 [<https://doi.org/10.1055/s-2005-873009>].
- Tripoli, E., La Guardia, M., Giammanco, S., Di Majo, D. ve Giammanco, M., 2007. Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: A review, *Food Chem.*, 104, 2, 466-79 [<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.11.054>].
- Van Acker, F. A. A., Schouten, O., Haenen, G. R. M. M., van der Vijgh, W. J. F. ve Bast, A., 2000. Flavonoids can replace [alpha]-tocopherol as an antioxidant, *FEBS Lett*, 473, 145–148.
- Van Rie, J., Declercq, H., Van Hoorick, J., Dierick, M., Van Hoorebeke, L., Cornelissen, R., Thienpont, H., Dubruel, P. ve Van Vlierberghe, S. 2015. Cryogel-PCL combination scaffolds for bone tissue repair, *J. Mater. Sci. Mater. Electron*, 26, 1–7.
- Vasapollo, G., Sole, R. D., Mergola, L., Lazzoi, M. R., Scardino, A., Scorrano, S. ve Mele, G., 2011. Molecularly imprinted polymers: Present and future prospective, *International Journal of Molecular Sciences*, 12, 5908.
- Venkateswara, Rao, P., Kiran, S. D. V. S., Rohini, P. ve Bhagyasree, P., 2017. Flavonoid: A review on Naringenin, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6, 5, 2778-2783,

- Verbeek, R., Plomp, A. C., van Tol, E. A. ve van Noort, J. M., 2004. The flavones luteolin and apigenin inhibit in vitro antigenspecific proliferation and interferongamma production by murine and human autoimmune T cells, *Biochem Pharmacol*, 68, 621-629.
- Wang, M. J., Chao, P. D., Hou, Y. C. ve Hsiu, S. L., 2006. Pharmacokinetics and conjugation metabolism of naringin and naringenin in rats after single dose and multiple dose administrations, *J. Food Drug. Anal.*, 14, 3, 247-253.
- Wang, N., Li, D., Lu, N. H., Yi, L., Huang, X. W. ve Gao, Z. H., 2010. Peroxynitrite and hemoglobinmediated nitrative/oxidative modification of human plasma protein: effects of some flavonoids, *J. Asian Nat. Prod. Res.*, 12, 4, 257-64 [<https://doi.org/10.1080/10286021003620226>].
- Wang, Y., Wang, S., Firempong, C. K., Zhang, H., Wang, M., Zhang, Y., Zhu, Y., Yu, J. ve Xu, X., 2017. Enhanced solubility and bioavailability of naringenin via liposomal nanoformulation: preparation and in vitro and in vivo evaluations, *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, 18, 586–94 [DOI: 10.1208/s12249-016-0537-8].
- Wang, Z., Wang, S., Zhao, J., Yu, C., Hu, Y., Tu, Y., Yang, Z., Zheng, J., Wang, Y. ve Gao, Y., 2019. Naringenin ameliorates renovascular hypertensive renal damage by normalizing the balance of reninangiotensin system components in rats, *Int. J. Med. Sci.*, 16, 644–53 [DOI: 10.7150/ijms.31075].
- Wilcox, L. J., Borradaile, N. M. ve Huff, M. W., 1999. Antiatherogenic properties of naringenin, a citrus flavonoid, *Cardiovasc Drug Rev.*, 17, 160-178.
- Wu, X., Liu, Y., Li, X., Wen, P., Zhang, Y., Long, Y., Wang, X., Guo, Y., Xing, F. ve Gao, J., 2010. Preparation of aligned porous gelatin scaffolds by unidirectional freeze-drying method, *Acta Biomater*, 6, 1167–1177.
- Wu, X. M., Black, L., Santacana-Laffitte, G. ve Patrick, C. W., 2007. Preparation and assessment of glutaraldehyde-cross-linked collagen-chitosan hydrogels for adipose tissue engineering, *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, 81, 59–65.
- Wulff, G. Grobe-Einsler, R. ve Sarhan, A., 1977. Enzymeanalogue built polymers, on the specificity distribution of chiral cavities prepared in synthetic polymers, *Macromol. Chem.*, 178, 2817-2825.
- Wulff, G. ve Vesper, W., 1977. Preparation of chromatographic sorbents with chiral cavities for racemic resolution, *Journal of Chromatography A*, 167, 171-186.
- Xiantao, S., Lihua, Z., Nan, W., Lei, Y. ve Heqing, T., 2012. Molecular imprinting for removing highly toxic organic pollutants, *Chemical Communications*, 48, 788-798.
- Yan, H. ve Row, K. H., 2006. Characteristic and synthetic approach of molecularly imprinted polymer, *International Journal of Molecular Science*, 7, 5, 155-178.

- Yao, J., Tao, S. L. ve Young, M. J., 2011. Synthetic polymer scaffolds for stem cell transplantation in retinal tissue engineering, *Polymers*, 3, 899-914.
- Yao, L. H., Jiang, Y. M., Shi, J., Tomas-Barberan, F. A., Datta, N., Singanusong, R. ve Chen, S. S., 2004. Flavonoids in food and their health benefits, *Plant Foods Hum Nutr.* 59, 3, 113-22 [<https://doi.org/10.1007/s11130-004-0049-7>].
- Ye, Q., Wang, B. ve Mao, J., 2020, Cytokine storm in COVID-19 and treatment, *J Infect.*, 80, 607–13 [DOI: 10.1016/j.jinf.2020.03.037].
- Yoshida, H., Takamura, N., Shuto, T., Ogata, K., Tokunaga, J. ve Kawai, K., 2010. The citrus flavonoids hesperetin and naringenin block the lipolytic actions of TNF- α in mouse adipocytes, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 394, 728-732.
- Yu, C. ve Mosbach, K., 1997. Molecular imprinting utilizing an amide functional group for hydrogen bonding leading to highly efficient polymers, *The Journal of Organic Chemistry*, 4057–4064.
- Zeng, W., Jin, L., Zhang, F., Zhang, C. ve Liang, W., 2018. Naringenin as a potential immunomodulator in therapeutics, *Pharmacological Research*, 135, 122–126.
- Zhang, H., Hussain, I., Brust, M., Butler, M. F., Rannard, S. P. ve Cooper, A. I., 2005, Aligned two- and three-dimensional structures by directional freezing of polymers and nanoparticles, *Nat. Mater*, 4, 787–793.
- Zhang, J. J., Dong, X., Cao, Y. Y., Yuan, Y. D., Yang, Y. B., Yan, Y. Q., Akdis, C. A. ve Gao, Y. D., 2020. Clinical characteristics of 140 patients infected with SARS-CoV-2 in Wuhan, China, *Allergy Eur. J. Allergy Clin. Immunol*, 75, 1730–41 [DOI: 10.1111/all. 14238].
- Zhang, L., Song, L., Zhang, P., Liu, T., Zhou, L., Yang, G., Lin, R. ve Zhang, J., 2015. Solubilities of naringin and naringenin in different solvents and dissociation constants of naringenin, *J. Chem. Eng.*, 60, 3, 932-40 [<https://doi.org/10.1021/je501004g>].
- Zhang, Y., Wang, C., Jiang, W., Zuo, W. ve Han, G., 2017. Influence of stage cooling method on pore architecture of biomimetic alginate scaffolds, *Sci. Rep.*, 7, 16150.
- Zhao, M., Li, C., Shen, F., Wang, M., Jia, N. ve Wang, C., 2017. Naringenin ameliorates LPS-induced acute lung injury through its anti-oxidative and anti-inflammatory activity and by inhibition of the PI3K/AKT pathway, *Exp. Ther. Med.*, 14, 2228–34 [DOI: 10.3892/etm.2017.4772].
- Zou, W., Yang, C., Liu, M. ve Su, W., 2012. Tissue distribution study of naringin in rats by liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Arzneimittelforschung*, 62, 181-186 [PMID: 22270844 DOI: 10.1055/s-0031-1299746].

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Emel DEMİRTAŞ

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans : Selçuk Ün., Gıda Mühendisliği Bölümü, 1994-1999

Lisans : Selçuk Ün., Kimya Böl., 2001-2004

Yüksek Lisans : Selçuk Ün., Gıda Mühendisliği Böl., 2006-2008

Tezsiz Yüksek Lisans : Aksaray Ün., İş Sağlığı ve Güvenliği Böl., 2020-2021

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLERİ

1. Selçuk Üniversitesi / Yaz Stajı
2. Farklı Kurumlarda / Gıda Mühendisliği (2000-2008)
3. Aksaray Üniversitesi / Öğretim Görevlisi (2009-2017)
4. Farklı Liselerde / Kimya Öğretmenliği (2019-2022)

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Ulusal Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler

1. Demirtaş E. ve Odabaşı M., 2023. Naringenin baskılanmış kriyojel membranların hazırlanması, Black Sea Journal of Engineering and Science, BSJ Eng Sci – 1269745 (kabul edildi) [DOI: 10.34248/bsengineering.1269745].

Kongrelerde Sunulan Makaleler

1. Demirtaş E. ve Odabaşı M., 2021. Development of molecular imprinted cryogel membranes for purification of naringenin, “III. International Turkic World Congress on Science and Engineering”, Niğde(sözlü bildiri)
2. Demirtaş E. ve Odabaşı M., 2021. Development of molecular imprinted cryogel membranes for purification of naringenin, 3rd Eurasia Biochemical Approaches & Technologies (EBAT) Congress, Antalya (sözlü bildiri)