

**POLİSİKLIK AROMATİK HİDROKARBONLARIN
MOLEKÜLER BASKILANMIŞ POLİMERLER İLE
ÖN-DERİŞTİRİLMESİ VE TAYİNİ**

**PRE-CONCENTRATION AND DETECTION OF
POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS WITH
MOLECULARLY IMPRINTED POLYMERS**

MEHMET EMİN ÇORMAN

DOÇ. DR. LOKMAN UZUN
Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
Kimya Anabilim Dalı için Öngördüğü
DOKTORA TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2014

MEHMET EMİN ÇORMAN'ın hazırladığı “**Polisiklik Aromatik Hidrokarbonların Moleküler Baskılanmış Polimerler ile Ön-Deriştirilmesi ve Tayini**” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **Kimya Anabilim Dalı**'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Adil DENİZLİ

Başkan

.....

Doç. Dr. Lokman UZUN

Danışman

.....

Prof. Dr. Serap ŞENEL

Üye

.....

Prof. Dr. Handan YAVUZ ALAGÖZ

Üye

.....

Yrd. Doç. Dr. Bora GARİPCAN

Üye

.....

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

Prof. Dr. Fatma SEVİN DÜZ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Meu Pato'ya...

ETİK

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

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

beyan ederim.

21/08/2014

MEHMET EMİN ÇORMAN

ÖZET

POLİSİKLİK AROMATİK HİDROKARBONLARIN MOLEKÜLER BASKILANMIŞ POLİMERLER İLE ÖN-DERİŞTİRİLMESİ VE TAYİNİ

Mehmet Emin ÇORMAN

Doktora, Kimya Bölümü

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Lokman UZUN

Ağustos 2014, 155 sayfa

Sunulan tez kapsamında, çevre sularında eser miktarlarda bulunan benzo[a]piren (BaP)'in sulardan ön-deriştirilmesi ve tayini için moleküler baskılama yöntemiyle kompozit ön-deriştirme kartuşlarının ve yüzey plazmon rezonans (SPR) nanosensörlerin hazırlanması amaçlanmıştır. Çalışmanın ilk aşamasında BaP baskılanmış poli(2-hidroksietil metakrilat-N-metakriloil-L-fenilalanin) monolitik polimerler, yığın polimerizasyonu yöntemi ile sentezlenmiştir. Elde edilen monolitik polimerler, öğütülerek eş boyutlu partiküller elde edilmiştir. Öğütülen polimerler elenerek 64-71 µm boyut aralığındaki partiküller ayrılmış ve daha sonraki işlemlerde kullanılmıştır. BaP baskılanmış kompozit kartuşlar ise BaP baskılanmış partiküllerin varlığında, 2-hidroksietil metakrilat (HEMA) ve metilen bisakrilamidin (MBAAm), -12°C'da 24 saatlik yarı-donmuş koşullar altında polimerizasyonu ile üretilmiştir. Kartuşlar, şişme testi, taramalı elektron mikroskobu (SEM), elementel analiz ve Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi (FTIR) yöntemleri ile karakterize edilmiştir. Hazırlanan kompozit kartuşlar, sulu çözeltilerden BaP ön-deriştirme işlemlerinde kullanılmış ve ön-deriştirme koşulları optimize edilmiştir. Optimizasyon çalışmaları kapsamında; BaP derişimi, pH, santrifüj hızı, sıcaklık, iyonik şiddet, monomer oranı ve partikül miktarının etkileri HPLC yöntemi

kullanılarak incelenmiştir. Kompozit kartuşların diğer polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) türlerine karşı seçicilikleri, benzo[b]floranten (BbF), benzo[k]floranten (BkF), indeno[1,2,3-cd]piren (IcdP) ve 1-naftol varlığında gerçekleştirilen seçicilik çalışmaları ile belirlenmiştir. Çalışmanın ikinci ayağı olarak, ilk aşamada elde edilen sonuçların ışığı altında BaP tayini için sensörler geliştirilmiştir. Bu amaçla, SPR temelli nanosensörler hazırlanmış ve BaP tayininde kullanımı incelenmiştir. Bu kapsamda ilk olarak SPR çip üzerinde baskılanmış film, BaP varlığında N-Metakriloil-L-fenilalanin (MAPA) ve etilen glikol dimetakrilat (EDMA)'ın polimerizasyonu ile hazırlanmıştır. Ayrıca baskılanmamış SPR nanosensör, kontrol deneyi için kalıp molekül BaP olmadan hazırlanmıştır. Hazırlanan SPR nanosensörler, atomik kuvvet mikroskobu (AFM), elipsometre ve temas açısı ölçümleriyle karakterize edilmiştir. Kalınlık ölçümleri ve AFM görüntüleri, SPR çip yüzeyinde ince filmlerin başarılı bir biçimde oluştuğunu göstermektedir. Baskılanmış ve baskılanmamış nanosensörlerin BaP tayin duyarlılığı, BaP çözeltilerinden (pH: 7.0 fosfat tamponunda) araştırılmıştır. Baskılanmış SPR nanosensörler, baskılanmamışlara göre BaP için daha fazla duyarlılık göstermişlerdir. Farklı derişimlerdeki BaP çözeltileri adsorpsiyon kinetiklerinin belirlenmesinde kullanılmıştır. BaP baskılanmış SPR nanosensörlerin seçiciliğini göstermek için BaP, BbF, BkF, IcdP ve 1-naftol'un yarışmacı adsorpsiyonu araştırılmıştır. Çalışmanın üçüncü ve nihai amacı, ön-deriştirme ve sensör çalışmalarının birleştirilmesi olarak belirlenmiş ve araştırılmıştır. Bu amaçla, ön-deriştirme sonucunda kompozit kartuşlarla daha düşük derişimlere inilerek BaP moleküllerinin SPR nanosensörlerde tayini başarılı biçimde gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, PAH'ların hem ön-deriştirme hem de optik biyosensörlerle tayini için moleküler baskılama yaklaşımlarının uygun olduğunu açıkça göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Kompozit kartuşlar, moleküler baskılama, SPR nanosensörler, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, benzo[a]piren.

ABSTRACT

PRE-CONCENTRATION AND DETECTION OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS WITH MOLECULARLY IMPRINTED POLYMERS

Mehmet Emin ÇORMAN

Doctor of Philosophy, Department of Chemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Lokman UZUN

August 2014, 155 pages

The aim of this thesis is preparation of pre-concentrating composite cartridge and surface plasmon resonance (SPR) nanosensor for the pre-concentration and detection of a trace amount of benzo[a]pyrene (BaP) in environmental waters. In the first step, BaP-imprinted poly(2-hydroxyethyl methacrylate-N-methacryloyl-(L)-phenylalanine) [MIP] monolithic polymers were synthesized by bulk polymerization. The resulting monolithic polymers grounded to obtain uniform fine particles which were in the range of 64-71 μm were used for further studies. BaP imprinted poly[2-hydroxyethyl methacrylate] composite cartridges were synthesized via polymerization of 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) and N,N'-methylene bisacrylamide (MBAAm) in presence of BaP imprinted microparticles under the semi-frozen conditions, at -12°C over 24 hours. Resulting cartridges were characterized by swelling test, scanning electron microscopy (SEM), elemental analysis and Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy measurements. BaP imprinted composite cartridges were used to extract BaP from aqueous solutions in order to optimize the extraction conditions. In this context, the effective factors such as BaP concentration, pH, centrifugation speed, temperature, ionic strength, monomer ratio and amount of the particle embedded into

composite cartridge structure were evaluated via HPLC. The selectivity of composite cartridge according to polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) species were determined via selectivity experiments. Benzo[b]fluoranthene (BbF), benzo[k]fluoranthene (BkF), indeno[1,2,3-cd]pyrene (IcdP) and 1-naphthol were used in the competitive extraction studies for determining selectivity constant. In the light of results obtained from the first step, at the second step surface plasmon resonance (SPR) nanosensor was developed for real-time BaP detection. For this purpose, SPR based nanosensor was synthesized and investigated for use of real-time BaP detection. In this step, BaP imprinted SPR nanosensor was firstly, prepared by polymerization of N-methacryloyl-(L)-phenylalanine (MAPA) and ethylene glycol dimethacrylate (EDMA) in the presence of BaP on the surface of SPR chip. Non-imprinted SPR nanosensor was also synthesized by the same experimental procedure excluding addition of BaP molecules. Prepared SPR nanosensors were characterized with atomic force microscopy (AFM), ellipsometer and contact angle measurements. The thickness measurements and AFM observations indicated that the thin films were successfully prepared. BaP sensing ability of imprinted and non-imprinted nanosensors were investigated from BaP solutions (in pH 7.0 phosphate buffer). Imprinted nanosensors showed more sensitivity to BaP than non-imprinted ones. BaP solutions with different concentration were used to determine the detection kinetics. In order to show the BaP imprinted SPR nanosensor, competitive detection of BaP, BbF, BkF, IcdP and 1-naphthol were also investigated. At the third and final step, experiments which were aimed that the combination of pre-concentration and sensor studies were carried out. For this purpose, the lower concentration of BaP solutions, resulting from pre-concentration by composite cartridge, were successfully monitored by SPR nanosensor. The results revealed that molecular imprinting approach is quite suitable for both pre-concentration and optic biosensing of PAH molecules.

Keywords: Composite cartridge, molecular imprinting, SPR nanosensor, polycyclic aromatic hydrocarbon, benzo[a]pyrene.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez deneylerim için 1 haftalığına Ankara'ya gelmişim, polimer sentezini öğrenip geri dönecektim aslında, fakat 5 gün içerisinde ne olduysa oldu ve ben bu gruptan ayrılamadım. Lokman Hocam bana burda biraz daha kalıp, tez deneylerimi bitirip gitmemi önerdiğinde tereddüt etmeden “evet” dedim ve 34 gün boyunca burada kaldım. Yüksek lisans tez deneylerimi yaparken Lokman Hocam'ın üst katındaki odasına kalıyordum kadere bakın ki Doktora tez deneylerimi yaparken de bu odada kalıyorum, başladığım yerde bitiriyorum...

Bana burada doktora yapma fırsatını sağlayan, bu süreçte sadece bilimsel anlamda değil sahip olduğu eşsiz bilgisiyle bize yön veren ve çok büyük katkılar sağlayan, entellektüel kişiliğiyle hepimize örnek olan çizgi roman ve şiir sevdalısı sevgili hocam Adil Denizli'ye,

Doktora tez çalışmalarım için Hacettepe Üniversitesi'nde bulunduğum süre zarfında tez deneylerimi rahat bir şekilde yapmamı sağlayan, nazik tavırları ve hoşgörülerini için Rektör hocam Prof. Dr. Recep Bircan'a,

Onun için söylenecek çok söz var fakat Orhan Veli'nin de dediği gibi “Her şeyi söylemek mümkün, oysaki kelimer kifayetsiz kalıyor”. İlk geldiğim günden beri bana hoca, abi ve arkadaş olan, zor günlerimde daima destekte bulunan, her türlü bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, kimi zaman güler yüzünü eksik etmeyen, kimi zaman fırçalayan (ki bu zamanlar çoğunlukta şaka şaka) gönül bağı ile bağlı olduğum ve benim için yaptıklarını asla unutamayacağım, çok sevdiğim sevgili hocam ve abim Lokman Uzun'a, sevgili eşi Feyza T. Uzun'a ve dünya tatlısı çocuklarına,

Bilimsel katkıları, verdikleri emek ve hoşgörülerini için değerli hocalarım, Sayın Prof. Dr. Sinan Akgöl, Sayın Prof. Dr. Handan Y. Alagöz, Sayın Prof. Dr. Serap Şenel ve Yrd. Doç. Dr. Bora Garipcan'a,

Doktora tez çalışmalarım boyunca sürekli kafasını şişirdiğim, uzun saçlı hafif göbekli, güzel gülüşüne hayran olduğum sevgili Dr. Engin Bayram'a, beni futboldan soğutan ama yurt dışı seyahatlerinde gönlümü alan sevgili Dr. Deniz Türkmen'e ve güler yüzünü eksik etmeyen sevgili Dr. Nilay Bereli'ye,

Doktora çalışmalarımın karakterizasyon kısımlarını büyük bir özveri ve sabırla gerçekleştiren, labımızın en konuşkan üyesi sevgili Erdoğan Özgür'e, sürekli yanımda olan sabahlara kadar beraber çalıştığım, labımızın en romantik üyesi sevgili Recep

Üzek'e, Havuz günlerinde beni zorla havuza götüren ve bu sebepten ötürü deneyleri Canancığımıza kitlemek zorunda bırakan sevgili Ahmet H. Demirçelik'e, kampüste beni hiç yalnız bırakmayan ve sürekli trip yaptığım ama bir o kadar sevdiğim sevgili Kemal Çetin'e, hayatındaki güzel şeyleri sürekli bizim ile paylaşan, labımızın en güler yüzlü ve en sporcu üyesi sevgili Gülsu Şener'e, bana sürekli özel ders ayarlamaya çalışan, labımızın en anarşist üyesi (benden sonra) sevgili Bahar Ergün'e, her konuda desteğini gördüğüm, sevdiklerine incelikler yapmaktan kaçınmayan, labımızın en hassas üyesi sevgili Sevgi Aslıyüce'ye, son dönemlerde tanıdığım ve daha çok yakınlaştığım, fakat dostuluklarına inandığım ve çok güzel günler geçirdiğim sevgili Çiğdem Çiçek'e, Esmâ Sari'ye, Mine E. Dursun'a, Fatma Kartal'a, Emel Tamahkar'a ve Işık Perçin'e, İran'ın yetiştirdiği en nadide insan, sevgili Ali Derazshamshir'e, yaptığı güzel yemekler ve tatlıları tatmamız için bizi sürekli davet eden sevgili Mitra Jalilzade'ye, olmadık zamanda ve yerde sürekli beni arayan sevgili Aykut A. Topçu'ya,

Çalışmalarım boyunca kendimi ikinci evimde hissettiren Biyokimya Araştırma Grubu'nda çalışan değerli arkadaşlarım'a,

Tüm hayatım boyunca sürekli yanımda olan, beni hep destekleyen ve inanan, yardımlarını benden esirgemeyen, bugünlere gelmemde en büyük katkıları olan, bu hayatta hiç birşeye değişmeyeceğim sevgili ailem'e,

Sonsuz Teşekkürler...

"Seni düşünmek güzel şey, ümitli şey, dünyanın en güzel sesinden en güzel şarkıyı dinlemek gibi bir şey" Nazım Hikmet.

"Seninle olmanın en mutlu yanı; Elimdeki şemsiyeye inat yağmurda ıslanmak birlikte" Can Yücel.

"Yokluğun cehennemden öbür adıdır" Ahmet Arif.

Bana tarifsiz duygular yaşatan sevgilim, görüyorsun ya kimi okusam her şiirin mısrasında seni buluyorum...

Mehmet Emin Çorman

Ağustos, 2014

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER	xi
ŞEKİLLER	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xviii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	3
2.1. Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar (PAH)	3
2.1.1. PAH'ların Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri	4
2.1.2. PAH'ların Doğal Kaynakları ve Oluşumları	10
2.1.2.1. Doğal Kaynaklardan Oluşan PAH'lar	10
2.1.2.2. İnsan Kaynaklı PAH'lar	10
2.1.3. PAH'ların Çevrede Bulunuşu	11
2.1.3.1. Hava	11
2.1.3.2. Toprak	12
2.1.3.3. Su	12
2.1.4. PAH'ların Gıdalarda Bulunuşu	13
2.1.5. PAH'ların İnsan ve Hayvan Sağlığı Üzerine Etkileri	14
2.1.5.1. PAH'ların Toksikolojik Etkileri	15
2.1.5.2. PAH'ların Vücuttaki Biyolojik Rolü	16
2.1.6. PAH'ların Tayin Edilme Yöntemleri	19
2.1.7. Benzo[a]piren	20
2.2. Moleküler Baskılama Teknolojisi	25
2.2.1. Moleküler Baskılamanın Tarihsel Gelişimi	25
2.2.2. Moleküler Baskılama Tekniği	25
2.2.3. Moleküler Baskılama Yöntemleri	27
2.2.4. Moleküler Baskılamada Kullanılan Bileşenler	29
2.2.4.1. Hedef molekül	29
2.2.4.2. Fonksiyonel Monomerler	29

2.2.4.3. Çapraz Bağlayıcı	29
2.2.4.4. Başlatıcı.....	30
2.2.4.5. Çözücü	31
2.2.5. Moleküler Baskılama Tekniğinin Uygulama Alanları	31
2.3. Moleküler Baskılama ve Kriyojeller	33
2.3.1. Kompozitler	33
2.3.2. Moleküler Baskılanmış (MIP) Kriyojellerin Uygulamaları.....	34
2.3.2.1. Kriyojellerin Performansını Etkileyen Parametreler	35
2.4. Sensörler.....	37
2.4.1. Moleküler Baskılanmış Sensörlerin Seçiciliğini Etkileyen Faktörler.....	37
2.4.2. Moleküler Baskılanmış Sensörler.....	39
2.4.3. Moleküler Baskılanmış Sensör Türleri	40
2.4.3.1. Optik Sensörler.....	41
2.4.3.2. Yüzey Plazmon Rezonans (SPR).....	42
2.4.4. Sensörlerin Uygulama Alanları.....	45
3. MALZEME VE YÖNTEMLER	49
3.1. Kimyasal Malzemeler	49
3.2. Deneysel Yöntemler	49
3.2.1. N-Metakriloil-L-fenilalanin (MAPA) Monomerin Sentezi	49
3.2.2. Ön-Polimerizasyon Kompleksinin Hazırlanması ve Karakterizasyonu .	49
3.2.3 Moleküler Baskılanmış Polimerlerin Hazırlanması	50
3.2.4. Kompozit Kartuşların Sentezi.....	51
3.2.5. Kompozit Kartuşların Karakterizasyonu	52
3.2.5.1. Şişme Testi.....	52
3.2.5.2. Taramalı Elektron Mikroskobu	53
3.2.5.3. FTIR Analizi	53
3.2.5.4. Elementel Analiz.....	54
3.2.6. Kompozit Kartuşlarla Ön-Derİştirme Koşullarının Optimizasyonu	54
3.2.7. Kompozit Kartuşların Seçicilik Deneyleri.....	56
3.2.8. Kompozit Kartuşların Ön-Derİştirme Deneyleri	57
3.2.9. Kompozit Kartuşların Desorpsiyon ve Tekrar Kullanılabilirliği	57
3.3. Yüzey Plazmon Rezonans Nanosensörler	58
3.3.1. Yüzey Plazmon Rezonans Çiplerin Allil Merkaptan ile Yüzey Modifikasyonu.....	58

3.3.2. Yüzey Plazmon Rezonans Çip Yüzeyinde Polimer Hazırlanması	58
3.3.3. Kalıp Molekülün Desorpsiyonu.....	59
3.3.4. Yüzey Plazmon Rezonans Nanosensörlerin Karakterizasyonu	60
3.3.4.1. Atomik Kuvvet Mikroskopisi	60
3.3.4.2. Elipsometre.....	60
3.3.4.3. Temas Açısı Ölçümleri.....	60
3.3.5. Nanosensörle Kinetik Analizler	61
3.3.6. Yarışmalı Kinetik Analizler	62
3.3.7. Nanosensörün Baskılama Seçiciliğinin Belirlenmesi.....	62
4.1. Kompozit Kartuşlar ve Uygulamaları	64
4.1.1. MAPA Monomerinin Sentezi ve Karakterizasyonu.....	64
4.1.2. Ön-Polimerizasyon Kompleksinin Hazırlanması ve Karakterizasyonu .	65
4.1.3. BaP-MIP Kompozit Kartuşların Karakterizasyonu.....	66
4.1.3.1. FTIR Analizi	66
4.1.3.2. Şişme Özellikleri	71
4.1.3.3. Yüzey Morfolojisi	72
4.1.3.4. Elementel Analiz.....	74
4.1.4. BaP-MIP Kompozit Kartuşların Adsorpsiyon Koşullarının Optimizasyonu.....	74
4.1.4.1. pH Etkisi	74
4.1.4.2. BaP Derişiminin Etkisi.....	77
4.1.4.3. Sıcaklığın Etkisi	79
4.1.4.4. İyonik Şiddetin Etkisi.....	81
4.1.4.5. Santrifüj Hızının Etkisi.....	86
4.1.4.6. Baskılanmış Partikül Miktarının ve Monomer Oranının Etkisi	88
4.1.4.7. Sulu Çözeltilerden Seçicilik Deneyleri.....	90
4.1.4.8. BaP Kompozit Kartuşların Ön-Derıştırme Etkinliğinin İncelenmesi .	95
4.1.4.9. Kompozit Kartuşların Tekrar Kullanılabilirliği	98
4.2. BaP Baskılanmış SPR Nanosensörler	100
4.2.1. Nanosensörlerin Karakterizasyonu	100
4.2.1.1. Atomik Kuvvet Mikroskop Analizi	100
4.2.1.2. Elipsometre Analizi	105
4.2.1.3. Temas Açısı Analizi	107
4.2.2. SPR Nanosensörlerle Kinetik Analizler	109

4.2.2.1. BaP Baskılanmış (BaP-MIP) SPR nanosensörlerle BaP Derişim	
Çalışması	109
4.2.2.2. Denge İzoterm Modelleri.....	116
4.2.2.3. BaP Baskılanmamış (NIP) SPR Sensörlerle BaP Derişim	
Çalışması	119
4.2.2.4. Yarışmalı Kinetik Analizler	123
4.2.2.5. Nanosensörün Baskılama Seçiciliğinin Belirlenmesi.....	126
4.2.3. SPR Nanosensörlerin Tekrar Kullanılabilirliği	131
4.3. Ön-Derîştirme Kartuşları ile SPR Nanosensörlerin Kombinasyonu	132
KAYNAKLAR	136
ÖZGEÇMİŞ	155

ÇİZELGELER

Sayfa

Çizelge 2.1.	Bazı PAH'ların kimyasal yapısı, bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri [19-23]	6
Çizelge 2.2.	BaP miktarına bağlı olarak hareketsiz kaynaklardaki PAH miktarları [10]	24
Çizelge 2.3.	BaP miktarına bağlı olarak hareketli kaynaklardaki PAH miktarları [10]	24
Çizelge 2.4.	Doğal ve yapay (MIP) reseptörlerin sensörlerde kullanımının karşılaştırılması	46
Çizelge 3.1.	MIP'da kullanılan ligand/monomer oranları	50
Çizelge 3.2.	Kompozit kartuşların içerikleri ve polimer kodları	52
Çizelge 3.3.	HPLC parametreleri	55
Çizelge 4.1.	Kompozit kartuşların şişme özellikleri	72
Çizelge 4.2.	Kompozit kartuşların elementel analiz sonuçları	74
Çizelge 4.3.	BaP'a göre BbF, BkF, IcdP ve 1-naftol için K_d , k , k' ve k'' değerleri	91
Çizelge 4.4.	Üçlü yarışmalı koşullarda seçicilik deneyleri ve BaP'a göre BbF ve BkF için K_d , k , k' ve k'' degerleri.....	95
Çizelge 4.5.	AFM kuvvet mikroskop sonuçları	100
Çizelge 4.6.	SPR nanosensörlerin elipsometri değerleri	105
Çizelge 4.7.	SPR nanosensörlerin yüzey temas açıları.....	107
Çizelge 4.8.	Kinetik hız sabitleri	116
Çizelge 4.9.	Langmuir, Freundlich ve Langmuir-Freundlich parametreleri.....	119
Çizelge 4.10.	BaP molekülüne göre BbF, BkF, IcdP ve 1-naftol için ΔR , k ve k' değerleri.....	129
Çizelge 4.11.	Adsorpsiyon ortamında ikili karışımların bulunduğu durumlarda, BaP molekülüne göre BbF, BkF, IcdP ve 1-naftol için ΔR , k ve k' değerleri.....	130
Çizelge 4.12.	Adsorpsiyon ortamında üçlü ve dördü karışımların bulunduğu durumlarda, BaP molekülüne göre BbF, BkF, IcdP ve 1-naftol için ΔR , k ve k' değerleri.....	130

ŞEKİLLER

Sayfa

Şekil 2.1.	Hidroksinaftalin glukoronik asit ve sülfat konjugatlarının metabolik oluşumunun şematik gösterimi [59].	18
Şekil 2.2.	Bazı HO-PAH analitlerinin moleküler yapısı [60].	18
Şekil 2.3.	BaP'ın diol-epoksitlere aktivasyon yolu [65].	21
Şekil 2.4.	Kemirgenlerde diol-epoksit ve radikal katyon yollarıyla <i>in vitro</i> ve <i>in vivo</i> ortamlarda oluşan BaP ürünleri [65].	22
Şekil 2.5.	BaP'ın benzilik ester yolu [66].	23
Şekil 2.6.	Moleküler baskılama yönteminin şematik gösterimi [67].	26
Şekil 2.7.	Kovalent baskılamanın şematik gösterimi [75].	27
Şekil 2.8.	Non-kovalent baskılamanın şematik gösterimi [75].	28
Şekil 2.9.	Kriyojellerin oluşumu: 1: Çözeltideki monomerler; 2: Çözücü; 3: Çözeltideki makromoleküller; 4: Donmamış sıvı mikrofaz; 5: Donmuş çözücünün polikristalleri; 6: Kriyojellerin polimerik iskeleti; 7: Makrogözenekler [132].	36
Şekil 2.10.	Akış hücreli SPR sensör sisteminin şematik gösterimi [178].	43
Şekil 2.11.	Dielektrik sınırlarda gerçekleşen toplam iç kırılma [178].	43
Şekil 2.12.	Tipik bir SPR biyosensör sensorgramının şematik gösterimi.	44
Şekil 2.13.	SPR biyosensörlerde kullanılan temel tayin yöntemleri: i) doğrudan tayin yöntemi, ii) sandviç tayin yöntemi, iii) yarışmalı tayin yöntemi ve iv) inhibisyon tayin yöntemi.	48
Şekil 3.1.	PAH ön-deriştirilmesinde uygulanan adsorpsiyon-desorpsiyon deney düzeneğinin şematik gösterimi: (a) örnek beslemesi; (b) santrifüj aparatı; (c) santrifüj; (d) toplama kabı; (e) HPLC sistemi ve (f) örnek kromatogram.	56
Şekil 3.2.	SPR çiplerin allil merkaptan ile modifiye edilmesi ve allil grupların yönlenmesi.	58
Şekil 3.3.	SPR çip yüzeyinde polimerik film hazırlanması: (A) lamel üzerine reaksiyon karışımı damlatılır (2.5 µL); (B) SPR çip cam lamel üzerine yerleştirilir ve alttan UV-ışık uygulanır; (C) cam lamel, film oluşmuş SPR çip yüzeyinden ayrılır.	59

Şekil 3.4.	GenOptics SPRiLab sistemi: (1) Lazer kaynağı; (2) açılış ayarlanmasında kullanılan gonyonometre; (3) optik yönlendirici lensler; (4) akış hücresi; (5) SPR çip; (6) CCD kameralı dedektör ve (7) bilgisayar birimi.....	63
Şekil 4.1.	MAPA monomerinin sentez reaksiyonu.....	64
Şekil 4.2.	Ön-polimerizasyon komplekslerinin spektrofloremitre emisyon spektrumları: Kompleks 0 (MAPA, 100 µmol); Kompleks 1 (BaP, 100 µmol); Kompleks 2 (BaP:MAPA kompleksi, 1:1); Kompleks 3 (BaP:MAPA kompleksi, 1:2); Kompleks 4 (BaP:MAPA kompleksi, 1:3). Uyarılma: 295 nm; Emisyon:200-600 nm.	66
Şekil 4.3.	Poli(HEMA-MAPA) polimerinin olası kimyasal yapısı.	66
Şekil 4.4.	BaP-MIP-2, NIP ve HEMA kompozit kartuşlara ait FTIR spektrumları.....	68
Şekil 4.5.	Farklı MAPA oranlarına sahip kompozit kartuşlara ait FTIR spektrumları.....	69
Şekil 4.6.	Farklı partikül miktarlarına sahip kompozit kartuşlara ait FTIR spektrumları.....	70
Şekil 4.7.	Kompozit kartuşların SEM görüntüleri: (a) HEMA; (b) NIP ve (c) BaP-MIP-2.....	73
Şekil 4.8.	Adsorpsiyon kapasitesine pH etkisi: BaP derişimi: 500 µg/L; santrifüj hızı: 1000 rpm; sıcaklık: 25°C.	75
Şekil 4.9.	Adsorpsiyon kapasitesine yükleme tamponunun pH değerinin etkisi: HPLC koşulları: hareketli faz: asetonitril:su (90:10); akış hızı: 0.6 mL/dk; sıcaklık: 25°C.	76
Şekil 4.10.	Adsorpsiyon kapasitesi üzerine BaP başlangıç derişiminin etkisi: pH: 7.0; santrifüj hızı: 1000 rpm; sıcaklık: 25°C.....	77
Şekil 4.11.	Adsorpsiyon kapasitesine BaP başlangıç derişiminin etkisi: HPLC koşulları: hareketli faz: asetonitril:su (90:10); akış hızı: 0.6 mL/dk; sıcaklık: 25°C.	78
Şekil 4.12.	Adsorpsiyon kapasitesi üzerine sıcaklığın etkisi: pH: 7.0; santrifüj hızı: 1000 rpm; derişim: 500 µg/L.....	79
Şekil 4.13.	Adsorpsiyon kapasitesi üzerine sıcaklığın etkisi: HPLC koşulları hareketli faz: asetonitril:su (90:10); akış hızı: 0.6 mL/dk.....	78

Şekil 4.14. Adsorpsiyon kapasitesine iyonik şiddetin etkisi: (a) Na ₂ SO ₄ ; (b) (NH ₄) ₂ (SO ₄); (c) NaCl ve (d) kartuşlara göre toplu gösterimi. BaP derişimi; 500 µg/L; santrifüj hızı: 1000 rpm; pH: 7.0; sıcaklık: 25°C.	81
Şekil 4.15. Adsorpsiyon kapasitesine tuz (Na ₂ SO ₄) etkisi: HPLC koşulları: hareketli faz: asetonitril:su (90:10); akış hızı: 0.6 mL/dk; sıcaklık: 25°C.	83
Şekil 4.16. Adsorpsiyon kapasitesine tuz [(NH ₄) ₂ (SO ₄)] etkisi: HPLC koşulları: hareketli faz: asetonitril:su (90:10); akış hızı: 0.6 mL/dk; sıcaklık: 25°C.	84
Şekil 4.17. Adsorpsiyon kapasitesine tuz (NaCl) etkisi: HPLC koşulları: hareketli faz: asetonitril:su (90:10); akış hızı: 0.6 mL/dk; sıcaklık: 25°C.	85
Şekil 4.18. Adsorpsiyon kapasitesine santrifüj hızının etkisi: BaP derişimi: 500 µg/L; pH: 7.0; sıcaklık: 25°C.	86
Şekil 4.19. Adsorpsiyon kapasitesine santrifüj hızının etkisi: HPLC koşulları: hareketli faz: asetonitril:su (90:10); akış hızı: 0.6 mL/dk; sıcaklık: 25°C.	87
Şekil 4.20. Adsorpsiyon kapasitesine eklenen partikül miktarının etkisi: (a) adsorpsiyon grafiği ve (b) kromatogram. pH: 7.0; sıcaklık: 25°C; santrifüj hızı: 1000 rpm. HPLC koşulları: hareketli faz: asetonitril:su (90:10); akış hızı: 0.6 mL/dk; sıcaklık: 25°C.	89
Şekil 4.21. Adsorpsiyon kapasitesine kompozit kartuş içerisinde yer alan kalıp molekül/fonksiyonel monomer oranının etkisi: (a) adsorpsiyon grafiği ve (b) kromatogram. pH: 7.0; sıcaklık: 25°C; santrifüj hızı: 1000 rpm. HPLC koşulları: hareketli faz: asetonitril:su (90:10); akış hızı: 0.6 mL/dk; sıcaklık: 25°C.	90
Şekil 4.22. Kompozit kartuşlara adsorbe edilen BaP ve diğer yarışmacı moleküllerin yarışmasız adsorpsiyonu: (a) adsorpsiyon grafiği ve (b-f) ilgili kromatogramlar. PAH derişimi: 500 µg/L; pH: 7.0; sıcaklık: 25°C, santrifüj hızı: 1000 rpm. HPLC koşulları: hareketli faz: asetonitril:su (90:10); akış hızı: 0.6 mL/dk; sıcaklık: 25°C.	92

Sekil 4.23. Kompozit kartuşlara adsorbe edilen BaP ve diğer yarışmacı moleküllerin yarışmalı adsorpsiyonu. (a) adsorpsiyon grafiği ve (b) ilgili kromatogram. PAH derişimi: 500 µg/L; pH: 7.0; sıcaklık: 20°C, santrifüj hızı: 1000 rpm. HPLC koşulları: hareketli faz: asetonitril:su (90:10); akış hızı: 0.6 mL/dk; sıcaklık: 25°C.....	92
şekil 4.24. Kompozit kartuşların ön-deriştime etkinliği: (a) ön-deriştirme etkinliği; (b) geri kazanımlarının karşılaştırılması; (c) adsorpsiyon kapasiteleri ve (d) ilgili kromatogram. BaP başlangıç derişimi: 50 µg/L; pH: 7.0; sıcaklık: 25°C, santrifüj hızı: 1000 rpm. HPLC koşulları: hareketli faz: asetonitril:su (90:10); akış hızı: 0.6 mL/dk; sıcaklık: 25°C.	96
şekil 4.25. Kompozit kartuşların tekrar kullanılabilirliği: pH: 7.0; santrifüj hızı: 1000 rpm; derişim: 500 µg/L; sıcaklık: 25°C.....	98
şekil 4.26. Kompozit kartuşların tekrar kullanılabilirliği: BaP derişimi: 500 µg/L; pH: 7.0; sıcaklık: 25°C; santrifüj hızı: 1000 rpm. HPLC koşulları: hareketli faz: asetonitril:su (90:10); akış hızı: 0.6 mL/dk; sıcaklık: 25°C.	99
şekil 4.27. Modifiye edilmemiş SPR ipinin yarı değen modda alınan AFM görüntüleri: (a) Yüzey ve (b) 3B görüntüsü.....	101
şekil 4.28. Allil merkaptan ile modifiye edilmiş SPR ipinin yarı değen modda alınan AFM görüntüleri: (a) Yüzey ve (b) 3B görüntüsü.....	102
şekil 4.29. Baskılanmamış SPR nanosensörün yarı değen modda alınan AFM görüntüleri: (a) Yüzey ve (b) 3B görüntüsü.	103
şekil 4.30. BaP baskılanmış SPR nanosensörün yarı değen modda alınan AFM görüntüleri: (a) Yüzey ve (b) 3B görüntüsü.	104
şekil 4.31. Elipsometre analizleri: (a) Allil merkaptan ile modifiye edilmiş (b) baskılanmış ve (c) baskılanmamış SPR nanosensör yüzeyleri.	105
şekil 4.32. Temas açısı ölçümleri: (a) Modifiye edilmemiş SPR ip yüzeyi; (b) allil merkaptan ile modifiye edilmiş SPR ip yüzeyi; (c) BaP baskılanmış SPR nanosensör yüzeyi ve (d) BaP baskılanmamış SPR nanosensör yüzeyi.	108

Şekil 4.33. BaP çözeltileri ile SPR nanosensör arasındaki etkileşimlere ait ΔR vs zaman sensorgramları: (a) 20 ng/mL; (b) 25 ng/mL; (c) 50 ng/mL; (d) 75 ng/mL; (e) 100 ng/mL; (f) 150 ng/mL; (g) 200 ng/mL; (h) 300 ng/mL ve (ı) 400 ng/mL derişimlerinde hazırlanmış BaP çözeltileri. pH: 7.0; akış hızı: 1.0 mL/dk; sıcaklık: 25°C.	110
Şekil 4.34. BaP çözeltileri ile SPR nanosensör arasındaki etkileşimlere ait ΔR vs zaman sensorgramları (toplu gösterim): (a) Denge tamponu; (b) BaP çözeltisi ve (c) desorpsiyon çözeltisi. pH: 7.0; akış hızı: 1.0 mL/dk; sıcaklık: 25°C.	111
Şekil 4.35. BaP baskılanmış SPR nanosensöre ait derişim ile ΔR arasındaki ilişki.....	112
Şekil 4.36. Kinetik hız sabitlerinin belirlenmesi: (a) Denge analiz yaklaşımı (Scatchard) ve (b) bağlanma kinetik yaklaşımı.....	115
Şekil 4.37. Adsorpsiyon modelleri: (a) Langmuir; (b) Freundlich ve (c) Langmuir-Freundlich.	117
Şekil 4.38. BaP çözeltileri ile NIP SPR nanosensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı ΔR değerlerini gösteren sensogramlar: (a) 20 ng/mL; (b) 25 ng/mL; (c) 50 ng/mL; (d) 75 ng/mL; (e) 100 ng/mL; (f) 150 ng/mL; (g) 200 ng/mL; (h) 300 ng/mL ve (ı) 400 ng/mL derişimlerinde hazırlanmış BaP çözeltileri. pH: 7.0; akış hızı: 1.0 mL/dk; sıcaklık: 25°C.....	120
Şekil 4.39. BaP çözeltileri ile NIP SPR nanosensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı ΔR değerleri (toplu gösterim): (a) Denge tamponu, (b) BaP çözeltisi ve (c) desorpsiyon çözeltisi. pH: 7.0; akış hızı: 1.0 mL/dk; sıcaklık: 25°C.	122
Şekil 4.40. 100 ng/mL derişiminde BaP, BbF, BkF, IcdP ve 1-naftol moleküllerinin kullanılmasıyla oluşturulan tekli çözeltiler ile BaP baskılanmış SPR nanosensör arasındaki etkileşimlere ait ΔR vs zaman sensorgramları: (a) BaP; (b) BbF; (c) BkF; (d) IcdP; (e) 1-naftol ve (f) toplu. pH: 7.0; akış hızı: 1.0 mL/dk; sıcaklık: 25°C.	124

- Şekil 4.41. 100 ng/mL derişiminde BaP, BbF, BkF, IcdP ve 1-naftol moleküllerinin kullanılmasıyla oluşturulan ikili, üçlü ve dördlü çözeltiler ile BaP baskılanmış SPR nanosensör arasındaki etkileşimlere ait ΔR vs zaman sensorgramları: (a) BaP-BbF; (b) BaP-BkF; (c) BaP-IcdP; (d) BaP-1-naftol; (e) BaP-BbF-IcdP; (f) BaP-BkF-IcdP; (g) BaP-BaP-BkF-IcdP ve (h) toplu. pH: 7.0; akış hızı: 1.0 mL/dk; sıcaklık: 25°C.125
- Şekil 4.42. 100 ng/mL derişiminde BaP, BbF, BkF, IcdP ve 1-naftol moleküllerinin kullanılmasıyla oluşturulan tekli çözeltiler ile BaP baskılanmamış SPR nanosensör arasındaki etkileşimlere ait ΔR vs zaman sensorgramları: (a) BaP; (b) BbF; (c) BkF; (d) IcdP; (e) 1-naftol ve (f) toplu. pH: 7.0; akış hızı: 1.0 mL/dk; sıcaklık: 25°C.127
- Şekil 4.43. 100 ng/mL derişiminde BaP, BbF, BkF, IcdP ve 1-naftol moleküllerinin kullanılmasıyla oluşturulan ikili, üçlü ve dördlü çözeltiler ile BaP baskılanmamış SPR nanosensör arasındaki etkileşimlere ait ΔR vs zaman sensorgramları: (a) BaP-BbF; (b) BaP-BkF; (c) BaP-IcdP; (d) BaP-1-naftol; (e) BaP-BbF-IcdP; (f) BaP-BkF-IcdP; (g) BaP-BbF-BkF-IcdP ve (h) toplu. pH: 7.0; akış hızı: 1.0 mL/dk; sıcaklık: 25°C.128
- Şekil 4.44. BaP baskılanmış SPR nanosensörlerin tekrar kullanılabilirliği. Ardışık 5 döngüye ait ΔR vs zaman sensorgramları: (a) Denge tamponu, (b) BaP çözeltisi ve (c) desorpsiyon çözeltisi. pH: 7.0; akış hızı: 1.0 mL/dk; sıcaklık: 25°C.132
- Şekil 4.45. BaP-MIP-2 kompozit kartuşlardan elde edilen örnekler ile BaP baskılanmış SPR nanosensör arasındaki etkileşimlere ait ΔR vs zaman sensorgramları.....133

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

K_d	Dağılma Katsayısı (L/ μ g)
k'	Bağıl Seçicilik Katsayı Değeri
K_A	Bağlanma Sabiti (ng/mL)
K_D	Ayrılma Sabiti (mL/ng)
ΔR	Delta Kırılma
R_{maks}	Maksimum SPR Sinyal Kayması
$1/n$	Freundlich Yüzey Heterojenite İndeksi

Kısaltmalar

AFM	Atomik Kuvvet Mikroskobu
BaP	Benzo[a]piren
EDMA	Etilen Glikol Dimetakrilat
EPA	Çevre Koruma Ajansı
FTIR	Fourier Transform İnfrared Spektroskopisi
HEMA	2-Hidroksietil Metakrilat
HPLC	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
MAPA	N-Metakriloil-L-Fenilalanin
MBAAm	Metilen Bisakrilamit
MIP	Moleküler Baskılanmış Polimer
NIP	Baskılanmamış Polimerler
PAH	Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SPR	Yüzey Plazmon Rezonans

1. GİRİŞ

Hızla gelişen sanayi, birçok çevre sorununu da beraberinde getirmiştir. Endüstriyel, çevresel ve tarımsal atıkların sürekli olarak doğaya bırakılması toksik kirleticilerin yüzey suları ve yer altı suları başta olmak üzere çevrede önemli düzeyde artışına yol açmıştır. Bu tür bileşikler hayvanlar, bitkiler, mikroorganizmalar ve diğer yaşayan organizmalar için büyük önem arz etmekte ve bu tür kirleticilerle kirlenen suları kullanan insanlarda ciddi sağlık sorunlarına neden olabilmektedir. Bundan dolayı, çevre ve gıda maddelerinde çeşitli toksik bileşiklerin analizinde yeni, güvenilir, tekrarlanabilir ve ucuz yöntemlerin gelişimi, analitik araştırmaların başlıca hedeflerinden olmuştur.

Aromatik hidrokarbon ailesinden olan polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH), iki veya daha fazla benzen halkasının lineer, açısız veya küme halinde düzenlenmesi ile meydana gelen kimyasal bileşiklerdir. PAH'lar doğal veya insan kaynaklı olarak organik maddelerin eksik yanması sonucu oluşurlar. Sucul ve karasal ekosistemlerde uzun süre kalabilmelerinden dolayı hava, su, toprak ve gıdalara karıştıklarında insan sağlığını tehdit eden önemli çevresel kirleticilerdendir. Orman yangınları, kömür ve odun sobaları, çöp, pişirme fırınları, sigara dumanı, petrol rafineleri, fabrikalar, petrol ve petrol ürünleri, motorlu, gazlı ve dizel taşıtlar PAH'ların temel kaynaklarını oluşturmaktadır. PAH'ların mutajenik, toksik ve kanserojenik oldukları bilinmektedir. Bu tehlikelerinden dolayı çevrede, yiyecek ve içeceklerde bulunan miktarları insan sağlığı açısından tehlikelidirler. PAH'lar tümör oluşturucu, geliştirici ve ilerletici özellikleri olan bileşiklerdir ve insanların PAH'lara maruz kalmaları sonucunda akciğer, mesane, özofagus, mide, pankreas ve prostat kanserine yakalanma riskinin yüksek olduğu bildirilmiştir. Benzo[a]piren (BaP) insanda mutajen, kanserojen ve/veya gelişimsel zehirli maddeler olarak bilinen PAH ailesindedir ve bu üç tip toksisiteye neden olur. BaP kanserojen olduğu kanıtlanmış ilk PAH türüdür.

Moleküler baskılama tekniği, bir kalıp molekül etrafında fonksiyonel monomerlerin kovalent veya kovalent olmayan etkileşimlerle düzenlenmesi ve sonrasında uygun bir işlem süreci ile kimyasal fonksiyona sahip katı malzemelerin oluşturulmasını amaçlamaktadır. İşlem sonrasında kalıp molekülün uzaklaştırılması ile yapıda kalıp molekülüne özgü oyuklar oluşmaktadır. Sonuç olarak moleküler baskılanmış polimerler hedef molekülü seçici bir şekilde tanımaktadır. Moleküler baskılama

yönteminin karakteristik özellikleri yaşam, farmasötik ve çevre bilimleri gibi geniş bir alanda tanıma ve ayırma amaçlı olarak kullanılmasına olanak sağlamaktadır.

Biyoteknolojide önemli bir potansiyele sahip polimerik taşıyıcı tiplerinden birisi de kriyojellerdir. Kriyojel Yunanca kri'os (kryos) kelimesinden gelen donma sıcaklığının altında kısmen donmuş monomer veya polimer çözeltileri kullanılarak üretilen makrogözenekli veya süper makrogözenekli yapıda, süngerimsi morfolojiye sahip jellerdir. Kriyojellerin oluşumunda, makroskopik olarak sıfırın altında donmuş karışım içerisinde donmamış sıvı mikrofazda yer alan polimer öncüleri polimerleşerek buz kristallerinin etrafında yoğun bir ağ yapı oluşur. Tepkime tamamlanınca donmuş karışım oda sıcaklığına getirilir, buz kristalleri erir ve "kriyojel" olarak adlandırılan gözenekli polimerik ağ yapı elde edilir. Kriyojellerin, yapısal özelliklerinin yanısıra kimyasal ve fiziksel kararlılıkları, ayrıca eşsiz akış dinamikleri ve ozmotik özellikleri, onları alternatif kromatografik adsorbent yapmaktadır.

Yüzey plazmon rezonans (SPR) temelli biyosensörler, herhangi bir işaretlemeye gerek duyulmadan biyomoleküllerin etkileşimlerini ölçebilirler. SPR temelli biyosensörler hızlı cevap süresi ve yüksek seçiciliğe sahiptir. Bu nedenle enzim veya radyoışaretleme yöntemleri gibi diğer tekniklerle karşılaştırıldığında SPR biyosensörler, protein-protein, antibadi-antijen, reseptör-ligand etkileşimlerinden düşük molekül ağırlıklı bileşiklerin tanımlanmasına kadar değişen çok çeşitli biyomoleküler mekanizmaların anlaşılmasında kullanılabilir. MIP sensör teknolojisi ile yerinde (on-site), yararlı ve toksik maddelerin gerçek zamanlı tayini ve ölçümü mümkün olmaktadır. Buna bağlı olarak, çevre ve sağlık uygulamalarında yüksek seçicilikte tanıma ve afinite sağlama potansiyeli ile öne çıkmaktadır.

Bu çalışmada, çevre sularında eser miktarlarda bulunan, geleneksel yöntemlerle tayin edilmesi oldukça zor olan ve en tehlikeli kanserojen maddelerden biri kabul edilen BaP'ın, sulardan ön-deriştirilmesi ve tayini için moleküler baskılama yöntemiyle kompozit kartuşların ve SPR temelli sensörlerin hazırlanması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİ

2.1. Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar (PAH)

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH), iki veya daha fazla benzen halkasının lineer, açısız veya küme halinde düzenlenmesi ile meydana gelen geniş bir organik sınıfı teşkil eder [1-3]. Başka bir ifadeyle PAH'lar 2 veya daha fazla kaynaşmış benzen halkaları olarak düzenlenmiş hidrojen ve karbondan oluşan organik bileşiklerin farklı bir grubu olarak tanımlanır. Bunlar genellikle çeşitli endüstriyel işlemler sırasında organik maddelerin pirolizi veya eksik yanmasıyla meydana gelirler [4].

PAH'lar petrojenik, pirojenik ve biyojenik olmak üzere üç ana kaynaktan meydana gelir. Petrojenik PAH'lar uzun periyotta, düşük sıcaklıkta ve yüksek basınç ortamında organik maddelerin petrol ve kömüre dönüşümü esnasında meydana gelirler. Pirojenik PAH'lar genellikle 4-6 halkalı ve yüksek sıcaklıklarda fosil yakıtların tam yanmaması sonucu oluşur. Biyojenik PAH'lar ise bitki ve hayvanlardan veya sedimentlerin erken oluşum dönemlerinde meydana gelirler. Petrojenik ve pirojenik PAH'lardan farklı olarak biyojenik PAH'lar genellikle bireysel ve çok basit karışım halinde bulunurlar [5-8].

Daha önce de belirtildiği gibi PAH'lar kömür, odun, petrol, çöp veya diğer organik maddelerin eksik yanması sonucu oluşan kimyasal bir gruptur. PAH'lar genellikle doğal olarak meydana gelirler; fakat, araştırma amacıyla yanma ürünlerinde bulunduğu gibi bireysel bileşikler olarak üretilebilirler [9]. PAH'lar tek bir bileşik gibi değil genellikle kompleks karışım halinde bulunurlar. Doğada 100'ün üzerinde PAH vardır ve her birinin sağlık açısından etkileri aynı değildir. Bollukları ve toksisiteleri ele alındığında ABD Çevre Koruma Ajansı (USEPA) tarafından 16 PAH bileşiği belirlenmiştir [10-12].

- Asenaften (Ane)
- Asenaften (Anp)
- Antrasen (An)
- Benzo[a]antrasen (BaA)
- Benzo[a]piren (BaP)
- Benzo[b]floranten (BbF)
- Benzo[k]floranten (BkF)

- Benzo[g,h,i]perilen (BghiPy)
- Dibenzo[a,h]antrasen (DahA)
- Fenantren (Phe)
- Floranten (Flu)
- Floren (Flr)
- İndeno[1,2,3-cd]piren (IcdP)
- Krisen (Chr)
- Naftalin (Np)
- Piren (Py)'dir.

Bu 16 PAH'ın öncelikli kirleticiler arasında sayılmasının nedenleri olarak ise;

1. Toksisiteleri ve zararlı etkileri
2. İnsanların maruz kalma riskinin diğerlerine göre daha fazla olması
3. Tehlikeli atık bölgelerinde oluşma sıklığı ve
4. Bunlar hakkında daha fazla bilginin mevcut olmasıdır.

2.1.1. PAH'ların Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Petrol bileşikleri, hidrokarbonlar ve heteroatom bileşikler olarak 2 ana sınıfa ayrılır. Hidrokarbonlar genellikle toplam petrol hidrokarbonlar olarak ölçülür (TPHs). Bu moleküller sadece karbon ve hidrojen içerir. Heteroatom bileşikler sadece karbon ve hidrojen değil aynı zamandan sülfür, azot ve oksijen gibi heteroatomlar içerir. Hidrokarbonlar genel olarak doymuş, doymamış ve aromatik olarak üç gruba ayrılır. Doymuş hidrokarbonlar H atomları ile doyurulmuş tekli C-C bağları ile karakterize edilir. Bu grup alifatik ve alisiklik olarak alt bölümlere ayrılabilir. Alifatik hidrokarbonlar düz veya dallanmış ve C_nH_{2n+2} formülü ile gösterilir. Bu tür bileşiklerin genel isimleri alkan ve izoalkanlardır ve petrol endüstrisinde parafin ve izoparafinler olarak anılırlar. Alisiklik hidrokarbonlar doymuş hidrokarbonlardır bir veya birden fazla halka içeren C_nH_{2n} genel formülüne sahip moleküllerdir [13].

Petrol endüstrisinde sikloalkanlar, naftenler veya sikloparafinler olarak adlandırılırlar. Doymamış hidrokarbonlar, 2 karbon atomları arasında iki veya daha fazla bağ içeren bileşiklerdir. Genellikle ham petrolde bulunmazlar ama parçalanma işlemleri sırasında üretilirler. Doymamış hidrokarbonlar alken/olefin ve alkin/asetilen olarak alt gruplara ayrılırlar. Alkenler/olefinler C_nH_{2n} genel formüle sahip olup ikili karbon bağı içerirler. Alkinler C_nH_{2n-2} genel moleküler formüle sahip olup üçlü karbon bağı içerirler. Aromatik hidrokarbonlar benzen halka yapısı ile

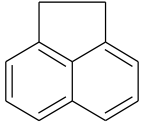
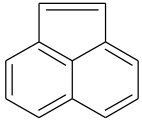
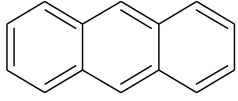
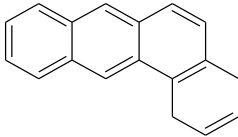
karakterize edilirler. Benzen halkası altı karbon içerir ve her karbonu halkadaki bir hidrojen ile birleşir. Halka sayısına bağlı olarak aromatik hidrokarbon moleküller, tekli halkalı aromatikler ve polisiklik aromatikler (iki veya daha fazla içeren) olarak alt dallara ayrılırlar.

Diğer taraftan PAH moleküllerinde herhangi bir belirgin fonksiyonel grup olmadığından yüksek lipofilik bileşikler sınıfındadırlar. PAH'ların suda çözünürlüğü düşüktür ve hidrofobik doğası halka ve karbon sayısı ile ilişkilidir. Birçok çevresel çalışmada toplam PAH derişimleri 3-6 halkalı bileşiklerin özeti olarak rapor edilmiştir. Bunun yanında bu parametreler başlıca fosil yakıtlardan türetilen bol miktarda bulunan alkilenmiş homologlar ve sülfürlü heterosiklik bileşiklerin olduğu daha düşük moleküler ağırlıklı petrojenik PAH'ları hesaba katmaz [14-16].

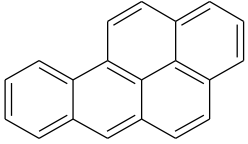
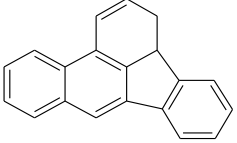
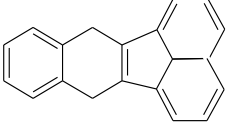
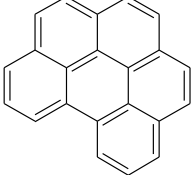
PAH'lar atmosferde ve suda partiküllere bağlı haldedir ve bundan dolayı degradasyona karşı dirençlidir. Partiküllere bağlı olan PAH'ların atmosferde yükseltgenmesi daha az muhtemeldir. Bu da atmosferde uzun mesafelerce taşınmasını artırır ve bundan dolayı çevrede her yerde bulunmasına yol açar. PAH'lar genellikle suda çözünmeyen fakat organik asitlerde kolayca çözünebilen bileşiklerdir. Sulu ortamda partiküllere tutunarak bulunan PAH'lar suda mevcut olan yağlı kirleticiler içinde çözünebilir. PAH'lar genellikle lipofilik bileşiklerdir ve organik maddeler için yüksek afinite gösterirler [17,18]. PAH'lar yüksek kaynama noktalarına sahip olan yüksek lipofilik ve suda zor çözünen maddeler olarak belirtilmiştir. Hidrofobisitelerinden dolayı molekül ağırlıkları arttıkça sudaki çözünürlüğü azalan PAH'lar sedimentlerde yüksek derişimlerde birikebilir.

Saf kimyasallar olarak, PAH'lar genellikle renksiz, beyaz veya soluk sarı-yeşil katı haldedirler. PAH'lar oda sıcaklığında katı haldedir. PAH'ların sudaki çözünürlüğü çok düşüktür ama organik çözücülerde veya organik asitlerde kolayca çözünür. Böylece sulu ortamda, PAH'lar genellikle partiküllere adsorbe olarak veya humuslu maddeler üzerinde bulunabilir. Ayrıca su, sediment ve toprakta mevcut olabilen herhangi bir yağlı kirletici içinde çözünebilir. PAH'ların suda çözünürlüğü PAH molekülünde yer alan halkaların sayısı ile ters orantılıdır. Çizelge 2.1'de seçilen bazı PAH'ların fiziksel, kimyasal ve toksikolojik değerleri verilmiştir.

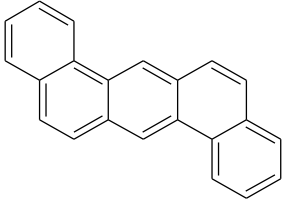
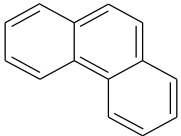
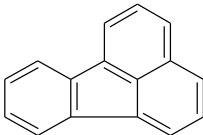
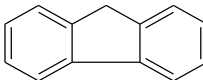
Çizelge 2.1. Bazı PAH'ların kimyasal yapısı, bazı kimyasal ve fiziksel özellikleri [19-23]

Yaygın isim	Molekül formülü	Molekül yapıları	Mw	MP	BP	S	Vp	H	log (K _{ow})	Avg.log (BCF)	log (K _{oc})	FCV	d
Asenaften (Ane)	C ₁₂ H ₁₀		154	96.2	277	3.8	0.3	12.17	3.92	2.63	4.02	55.85	1.225
Asenaftilen (Anp)	C ₁₂ H ₈		152	92	270	16.1	0.9	8.4	4.0	2.79	3.64	306.9	-
Antrasen (An)	C ₁₄ H ₁₀		178	216	340	0.045	0.001	3.96	4.54	3.14	4.39	20.73	1.283
Benzo[a]antrasen (BaA)	C ₁₈ H ₁₂		228	160	435	0.011	2.8.10 ⁻⁵	0.581	5.91	4.13	5.33	2.227	1.274
Mw: moleküler ağırlık (g/mol); MP: Erime noktası (°C); BP: kaynama noktası (°C); S: sudaki çözünürlüğü (mg/L); Vp: buhar basıncı (mmHg); H: Henry sabiti (Pa. m ³ /mol); K _{ow} : oktanol-su ayrılım katsayısı; BCF: biyokonsantrasyon faktörü; K _{oc} : organik karbon ayrılım katsayısı; FCV: spesifik PAH'ların son kronik değerleri (µg/L); d: yoğunluk.													

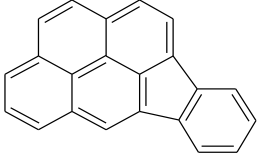
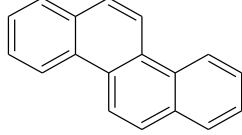
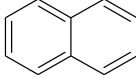
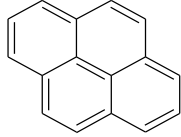
Çizelge 2.1. (Devamı)

Yaygın isim	Molekül formülü	Molekül yapıları	Mw	MP	BP	S	Vp	H	log (K _{ow})	Avg.log (BCF)	log (K _{oc})	FCV	d
Benzo[a]piren (BaP)	C ₂₀ H ₁₂		252	175	495	0.0038	7.10 ⁻⁷	0.046	6.04	3.74	6.24	0.9573	1.351
Benzo[b]floranten (BbF)	C ₂₀ H ₁₂		252	168	481	0.0015	-	-	5.8	2.58	5.72	0.6774	-
Benzo[k]floranten (BkF)	C ₂₀ H ₁₂		252	217	481	0.0008	5.10 ⁻⁸	0.016	6.0	2.67	5.73	0.6415	-
Benzo[g,h,i]perilen (BghiPy)	C ₂₂ H ₁₂		276	277	550	2.6.10 ⁻⁴	-	0.075	6.5	5.0	6.23	0.4391	1.329

Çizelge 2.1. (Devamı)

Yaygın isim	Molekül formülü	Molekül yapıları	Mw	MP	BP	S	Vp	H	log (K _{ow})	Avg.log (BCF)	log (K _{oc})	FCV	d
Dibenzo[a,h]antrasen (DahA)	C ₂₂ H ₁₄		278	267	524	0.0006	3.7.10 ⁻¹⁰	-	6.75	3.91	5.96	0.2825	1.282
Fenantren (Phe)	C ₁₄ H ₁₀		178	101	339	1.1	0.02	3.24	4.57	3.27	4.31	19.13	0.98
Floranten (Flu)	C ₁₆ H ₁₀		202	111	375	0.26	0.00123	1.037	5.22	2.87	5.04	7.109	1.252
Floren (Flr)	C ₁₃ H ₁₀		166	116	295	1.9	0.09	7.87	4.18	3.10	4.35	39.3	1.203

Çizelge 2.1. (Devamı)

Yaygın isim	Molekül formülü	Molekül yapıları	Mw	MP	BP	S	Vp	H	log (K _{ow})	Avg.log (BCF)	log (K _{oc})	FCV	d
İndeno[1,2,3-cd]piren (IcdP)	C ₂₂ H ₁₂		276	-	-	-	-	-	-	-	-	0.275	-
Krisen (Chr)	C ₁₈ H ₁₂		228	255	448		5.7.10 ⁻⁷	0.065	5.86	3.19	5.14	2.042	1.274
Naftalin (Np)	C ₁₀ H ₈		128	80.5	218	31	10.4	43.01	3.37	2.33	3.11	193.5	-
Piren (Py)	C ₁₆ H ₁₀		202	156	360	0.132	0.0006	0.92	5.18	3.41	4.86	10.11	1.271

2.1.2. PAH'ların Doğal Kaynakları ve Oluşumları

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH), iki veya daha fazla aromatik halka içeren çeşitli organik bileşikler sınıfını oluşturur. Yüzlerce farklı bileşik piroliz işlemleri ve çeşitli yanma sürecinde oluşabilir, salınabilir ve böylece doğal ve yapay PAH kaynakları çevrede çok sayıda olabilir. Karasal ve deniz çalışmaları PAH'ların jeokimyasal kökenli olarak da oluşabileceğini göstermektedir. Bunlar organik maddelerin yüksek sıcaklıklara maruz kaldığı her yerde oluşurlar. Aromatik halkaları türevlerinden daha karardır. Atmosferik PAH'lar genellikle çok dağınık kaynaklarda depolanır; bundan dolayı, yeryüzünün önemli bir alanına yayılabilmektedir. Bu kaynaklardan PAH derişimleri toprakta oldukça düşüktür ve katı partiküllere güçlü bir biçimde adsorbe olurlar [24,25].

2.1.2.1. Doğal Kaynaklardan Oluşan PAH'lar

PAH'lar çevreye çoğunlukla volkanlardan, orman yangınlarından, yanan odun kalıntılarında salınırlar. Fosil yakıtların oluşumundaki gibi organik maddelerin düşük sıcaklıktaki termal değişimleri 2 veya 3 halkalı PAH'ların ve alkilenmiş homologların oluşumu ile sonuçlanır. Bunun aksine yüksek sıcaklıkta yanma 4,5 ve 6 halkalı PAH'ları ve minimum alkilenmiş ürünleri oluşturur. Bazı PAH'lar minerallerde doğal olarak meydana gelirken diğerleri bakteri, alg ve mantarlar tarafından sentezlenirler. İnsan kaynaklı olanlarla karşılaştırıldığında doğal süreçlerden oluşanlar genellikle daha azdır [26].

2.1.2.2. İnsan Kaynaklı PAH'lar

İnsan kaynaklı olanları iki türdür: ilki kreozot, kömür katranı ve petrol ürünleri gibi maddelerin kaza sonucu veya kasıtlı olarak boşaltılması sonucu oluşurken diğer türü alüminyum, demir ve çelik üretiminden, elektrik santralleri, endüstriyel tesislerden, atık su arıtma tesislerinden ve evlerin (yağ, gaz, kömür ve odun sobaları) ısınmasından, çöp ve ahşapların yanmasından ve motorlu taşıtların egzozundan salınan organik maddelerin eksik yanması ile oluşur. Diğer bir geçiş türü, PAH'ların toprak işleme yöntemleri sonucu toprağa geçmesidir. Örneğin ABD ve Avrupa'da arıtma çamurlarının gübre olarak tarım alanlarına uygulanması sonucunda PAH'ların derişimlerinde önemli bir artış gözlenmiştir.

Aromatik halkaların düzeni çevresel kararlılığını ve bundan dolayı doğadaki dağılımını belirler. Örneğin; antrasen ve tetrasen gibi doğrusal düzenlenmiş benzen halkaları organik ve inorganik matrislere tutunmadıkça en az kararlı

olanlarıdır ve genellikle doğada kalmazlar. En kararlı düzenlenme ise fenantren, krisen ve pirende görülen halkasal türlerdir. Organik bileşikler yüksek sıcaklıklara maruz bırakıldığında bu tür PAH'lar oluşmaktadır [27,28].

2.1.3. PAH'ların Çevrede Bulunuşu

PAH'lar çevrede hava, su ve toprakta bulunur. PAH'ların çevrede dağılımı suda kolayca çözünebilmesine ve havada kolayca buharlaşmasına bağlıdır. PAH'lar güneş ışığı ve havadaki diğer kimyasallarla reaksiyona girerek doğada daha uzun süre kalabilen ürünlere dönüşürler. Toprakta ve suda yıkımı genellikle haftalar veya aylar alır ve öncelikle mikroorganizmaların eylemlerinden kaynaklanır. Orman ve ot yangınları, petrol girdileri ve yakıtların kısmi yanması sonucunda oluşan PAH'lar, rüzgar ve nehirler yoluyla deniz ortamına geçerler. Böylece hidrokarbonların çevrede dağılımı bir bölgeden diğer bölgeye büyük ölçüde değişebilir. Biyolojik kaynaklar; kara bitkileri, hayvanlar, bakteri, makroalg ve mikroalgleri içerir.

Düşük buhar basınçlarından dolayı bazı PAH'lar oda koşullarında havada, gaz ve partiküllerle etkileşim halinde yer alırlar. BaP gibi PAH'lar hemen hemen tamamen partiküller üzerine adsorbe olabilirken, daha düşük molekül ağırlığına sahip olanlar gaz fazında bulunurlar. Yarı uçucu özelliklerinden dolayı PAH'lar çevrede hava, toprak ve insan vücudunda depolanır ve yeniden buharlaşır. Bundan dolayı atmosfere salınan PAH'lar okyanuslarca depolanır ve/veya uzun mesafeli taşınımı ile yerel ve küresel bir çevre sorunu oluştururlar [29].

2.1.3.1. Hava

Karbon bileşiklerinin eksik yanmasından oluşan doğal ürünlerden duman, is ve egzozda bulunan en önemli kimyasal gruplardan biri de PAH'lardır. PAH'lar yanma yoluyla doğrudan atmosfere salındığında, küçük partiküllere bağlanabilir ve yeryüzüne dönmeden önce önemli mesafeler boyunca taşınır. Havada toz parçacıklarına bağlı olarak bulunur. Havada buhar veya küçük katı partiküllerin yüzeyine yapışmış halde bulunurlar. Şuana kadar yaklaşık 500 PAH havada tespit edilmiştir. Gelişmiş ülkelerde kapalı sistemler ve geri dönüşüm işlemleri kullanıldığı için endüstriyel üretim ve işleme sırasında PAH'ların emisyonun önemli olmadığı düşünülmüştür [30]. Havadaki PAH'ın temel doğal kaynakları orman yangınları ve volkanlardır. En önemli hareketsiz yapay kaynakları ise ahşap, petrol, gaz ve kömürün yanma kalıntıları; ayrıca, endüstriyel enerji üretimi, alüminyum, demir ve

çeliğin atık yakımı, asfalt, kömür katranı ve petrolün katalitik parçalanmasıdır. Hareketsiz kaynaklar, PAH emisyonlarının yaklaşık % 80'ini oluşturmaktadır. En önemli hareketli kaynaklar ise benzinli ve dizel motorlu araçlardır [12].

PAH'lar havaya yayıldığı zaman, bazı PAH bileşikleri gaz fazında, diğerleri de partiküllere adsorbe olarak bulunur ve yarı-uçucu PAH bileşikler sıcaklık ve partikül derişimlerine bağılı olarak kısmen gaz fazında ve kısmen partiküllere adsorbe olmuş haldedir. 2-3 benzen halkalı PAH bileşikleri gaz durumunda daha fazla halka içeren yarı-uçucu ve tamamen toz veya kum partiküllerine adsorbe olarak bulunur [31].

2.1.3.2. Toprak

Toprakta PAH'lar büyük olasılıkla partiküllere sıkıca tutunmaktadır. Bazı PAH'lar toprak yüzeyinde buharlaşarak havaya geri döner. Aynı zamanda topraktaki bazı PAH'lar yer altı sularını kirletirler. Havadaki PAH'lar toprağı ve su yüzeyine kuru birikim ve partikül serpintileri şeklinde transfer olur. Sıcaklığı bağılı olarak topraktan yeniden salınım gerçekleşir. PAH'ların topraktaki hareketi su taşınımı ile devam eder [32,33].

2.1.3.3. Su

PAH'lar genel olarak suda kolayca çözünmezler. Yağış veya parçacık yerleşmesiyle yeryüzüne dönmeden önce uzun mesafelerce yol alırlar. Bazı PAH'lar atmosfere yüzey suların buharlaşmasıyla geçer. Ama önemli miktarda PAH, katı partiküllere yapışık olarak, nehir ve göllerin diplerine çöker [34,35].

PAH'ların suda çözünürlüğü çok düşük ama organik çözücülerde veya organik asitlerde kolayca çözünür. Böylece sulu ortamda, PAH'lar genellikle partiküllere adsorbe olarak veya humuslu maddeler üzerinde bulunabilir veya su, sediment ve toprakta mevcut olabilen herhangi bir yağlı kirletici içinde çözünebilir. PAH'ların suda çözünürlüğü PAH molekülünde yer alan halkaların sayısı ile ters orantılıdır [36]. Okyanusa sızan çoğı petrol kaynaklı hidrokarbonlar, suda az miktarda çözünen düşük molekül ağırlıklı aromatik hidrokarbonlardır. Daha yüksek molekül ağırlıklı olanları içeren damlacıklar daha az çözünen aromatik hidrokarbonlardır. Büyük miktarda petrol ürünleri, sanayi ve kanalizasyon atıkları, yağmur suyu giderleri, nakliye faaliyetlerinin akış yoluyla deniz ortamına dökülmektedir. Ayrıca doğal petrol sızıntıları da bazı alanlarda önemli olabilir. Kısa zincirli alkanlar ve hidrokarbonlar hızlı bir şekilde kaybolur; ama, kompleks siklik moleküller nadiren

etkilenir. Sedimentler hidrokarbonların depoları olarak davranarak bu bileşikleri yıllarca muhafaza ederler [37,38].

Düşük molekül ağırlıklı bileşikler (3 veya daha az halka içeren) yüksek moleküler ağırlıklı olanlara göre suda daha fazla çözünebilir olmalarına rağmen (4 veya daha fazla halka içeren), sudaki PAH bileşikleri düşük çözünürlüğe sahiptirler ve partiküllere güçlü biçimde adsorbe olurlar. Düşük molekül ağırlıklı bileşikler yüksek molekül ağırlıklı bileşiklere oranla partiküllere daha zayıf bağlanırlar. Bundan dolayı PAH'ların su akıntılarındaki PAH hareketleri partiküllerin taşınımına bağlıdır. Sonuç olarak sedimentlerdeki PAH partikülleri son olarak denizdeki sedimentlere geçer. PAH bileşikleri fotokimyasal ve biyolojik olarak parçalanır. Çeşitli bileşenlerin yarı ömürleri ortama ve onu çevreleyen şartlara bağlı olarak haftalardan yıllara kadar büyük ölçüde değişebilir. Partiküllere bağlı PAH'lar uçucu ve suda çözünebilen PAH'lara göre daha az parçalanırlar. Parçalanma oranının düşük olmasından dolayı daha düşük uçuculuğa ve partiküllere daha güçlü adsorpsiyona sahiptirler. Daha yüksek moleküler ağırlıkta olan PAH bileşikleri sedimentlerde birikme eğilimindedirler [39].

Yüzey suyunda, asılı partiküllere veya sedimentlere bağlı veya sudaki organizmalarda biriken PAH'lar fotolize, oksidasyona, buharlaşmaya ve biyobozunmaya uğrar [12]. Sedimentlere bağlı olanlar biyobozunur veya sucul organizmalarda birikir. Toprakta parçalanmaya (fotoliz ve oksidasyon) uğrayarak buharlaşabilir. Aynı zamanda topraktaki PAH'lar yer altı sularına sızabilir ve yer altı sularıyla taşınabilir. PAH'ların geniş bir alana yayılmasından dolayı önemli sağlık ve çevresel tehlike oluşturduklarından, Avrupa ve Amerika Çevre Koruma Ajansı (USEPA) 16 öncelikli PAH'ların izin verilen sınırlarını belirlemiştirler [40].

Toplam PAH'ların deniz sularındaki derişimleri tayin edilemeyen sınırlardan 11 µg/L'ye kadar oldukça değişkendir [41]. Nispeten küçük coğrafi bölgeler içinde bile derişim aralıkları çok geniş ve bölgeler arasında ayırt etmek de oldukça zordur. Genel olarak, kıydan denizlere gidildikçe derişim giderek düşmektedir ve en düşük seviye deniz yüzeyinde gözlemlenmektedir [42,43].

2.1.4. PAH'ların Gıdalarda Bulunuşu

PAH'lar ayrıca ızgara, kavurma gibi bazı yiyeceklerin hazırlanması sonucunda da oluşur. Mangal kömüründe ızgara/barbeküde, geleneksel tekniklerle tütsülen-dirilmiş gıdalarda (özellikle balıklarda), kirli sulardaki midye ve diğer deniz

ürünlerinde yüksek PAH derişimleri rapor edilmiştir [44,45]. Her zamanki diyetin büyük bir bölümünü tütüslendirilmiş ve ızgara yiyecekler oluşturuyorsa; bu tür yiyecekler, PAH alımını önemli miktarda artırmaktadır. Aynı zamanda kahvede de PAH varlığına rastlanmıştır ve bu oluşumunun nedeni olarak, kavurma işlemi esnasında kahve çekirdeklerindeki endojen oluşumu veya kurutma aşamasında yeşil kahve çekirdeklerinin kontaminasyonundan kaynaklandığı şüphe edilmektedir [46,47]. PAH'lar çeşitli gıdalarda özellikle (PAH'ların havada birikmesi sonucu) sebzelerde ve kontamine sularda balık ve midyelerde tespit edilmiştir. Sebzelerin ve meyvelerin mumsu yüzeyi düşük molekül ağırlıklı PAH'ları yüzey adsorpsiyonuyla toplayabilir. Ayrıca partikül bağı yüksek molekül ağırlıklı PAH'lar atmosferik serpinti ile yüzeyi kirletebilir. Aynı zamanda PAH'lar endüstriyel dumanlar, ısıtma ve kurutma işlemleriyle de gıdaları kontamine edebilirler. Bu yanma ürünlerinin doğrudan gıdalarla etkileşmesine izin verir. Tahıllar ve bitkisel yağların PAH ile kirlenmesi doğrudan ateşle kurutma gibi teknolojik işlemler zarfında gerçekleşir. En yüksek PAH derişimleri genellikle kömür ızgara/ barbekü yiyeceklerde, geleneksel tekniklerle kurutulan balıklarda, midyelerde ve kirlenmiş sulardaki diğer deniz ürünlerinde bulunur. Ancak diyet ile alınan en yüksek PAH katkısı, sıvı ve katı yağlar, meyveler ve sebzelerden kaynaklanır.

2.1.5. PAH'ların İnsan ve Hayvan Sağlığı Üzerine Etkileri

İnsanlar PAH'lara hava, su ve gıda yoluyla maruz kalabilirler. Hemen hemen her yerde düşük derişimlerde bulunan PAH'lar, PAH içeren katran bazlı ahşap koruyucular gibi malzemelerin salınımı veya yanmasını içeren sürekli endüstriyel aktiviteler sonucunda yüksek derişimlere ulaşabilir. Bazılarının insanda kanserojen olması, balık ve diğer su canlılarında toksik olarak değerlendirilmesi potansiyel endişe yaratmaktadır. PAH'lar hakkında toksikoloji bilgilerinin çoğu, deney hayvanların kontrollü şartlar altında PAH'lara maruz bırakılmaları sonucunda elde edilmiştir. PAH'lara maruz kalan insanlar üzerindeki çalışmalar tek veya toplu olarak nadirdir.

Epidemiyolojik çalışmalar; insanlarda akciğer kanserinden dolayı artan ölümlerin nedeni olarak kok fırın emisyonları, çatı-katran emisyonları ve sigara dumanına maruz kalmalarını göstermiştir. Karışımların doğal kompleks yapısından dolayı, tek bir PAH'ın bu karışımların toplam kanserojene katkısını değerlendirmek güçtür [48, 49].

Endüstriyel tesisler, konteynir veya tamburdan herhangi bir madde geniş bir alana salınırsa çevreye bulaşır. Bu salınım her zaman PAH maruzuna yol açmaz. İnsanlar temas halinde iken bu maddelere maruz kalabilirler. Nefes alma, yeme ve içmeyle; aynı zamanda, ten teması ile de maruz kalınabilir. PAH'lara maruz kalındığı takdirde birçok faktör bunun sağlığı olumsuz etkileyip etkilemediğini, hangi tür olduğunu ve şiddetini belirler. Bu faktör maruz kalınan doz, süre ve hangi yolla alındığı ile ilişkilidir [50].

2.1.5.1. PAH'ların Toksikolojik Etkileri

PAH'ların kirliliğinin giderimi zorunludur. Çünkü birçok PAH bileşiklerinin mutajenik, kanserojen ve toksik olmasından şüphe edilmektedir [51]. Toksik kimyasalların besin zincirinde birikmesi ve alıkonulması ciddi sağlık sorunlarına ve/veya insanlarda genetik bozuklara sebep olur. Yüksek molekül ağırlıklı PAH'lar potansiyel mutajenik ve karsinojen özelliklerinden dolayı çevresel kaygı oluşturmaktadırlar. Bollukları ve toksisiteleri ele alındığında ABD Çevre Koruma Ajansı (USEPA) tarafından tehlikeli olan 16 PAH bileşiği belirlenmiştir [40]. Birçok bilim adamı PAH'ları öncül kirleticiler olarak kabul etmektedir. Düşük molekül ağırlıklı olanlar akut toksik, sucul hayvanların ölüm ve üreme oranlarına etki ederler [52,53]. Son on yılda PAH'lar Uluslararası Kimyasal Güvenlik Programı (IPCS), Bilimsel Gıda Komitesi (SCF) ve Gıda Katkı Maddeleri Ortak FAO/WHO Uzman Komitesi tarafından (JECFA) değerlendirilmiştir. SCF aşağıda isimleri yazılan 15 PAH'ın *in vivo* deney hayvanlarında somatik hücrelerde mutajenite/genotoksisitede açık kanıtlar gösterdiği sonucuna varmıştır. Bunlar benzo[a]antrasen, benzo[b]floranten, benzo[j]floranten, benzo[k]floranten, benzo[ghi]perilen, benzo[a]piren, krisen, siklopenta[cd]piren, dibenzo[a,h]antrasen, dibenzo[a,e]piren, dibenzo[a,h]piren, dibenzo[a,i]pirene, dibenzo[a,l]piren, indeno[1,2,3-cd]piren ve 5-metilkrisendir. Aynı zamanda benzo[g,h,i]perilen dışındakiler deneysel hayvanlarda çeşitli biyoanalizlerde kanserojen etki göstermiştir. Bu sonuçlar ışığında SCF bu bileşiklerin insanlarda potansiyel genotoksik ve karsinojenik olarak kabul edilebileceğini açıklamıştır. Ayrıca diyetle alınan PAH'ları, uzun vadede sağlığı olumsuz etkileyen öncelikli grup olarak sınıflandırmışlardır. SCF gıdalarda PAH'ların kanserojen etkisinin olduğunu ve işaretleyici olarak kullanılabileceğini önermiştir. JECFA PAH'ları 2005 yılında tekrar değerlendirmiş ve 13 PAH'ı açıkça genotoksik ve kanserojen olduğu

sonucuna varmıştır. Benzo[g,h,i]perilen ve siklopenta[cd]piren dışında SCF tarafından belirtilen ile aynı listedir.

Sağlık ve İnsan Hizmetleri Bölümü (DHHS) benzo[a]antrasen, benzo[b]floranten, benzo[j]floranten, benzo[k]floranten, benzo[a]piren, dibenzo[a,h]antrasen, indeno[1,2,3-cd]piren'in hayvanlarda kanserojen olduğuna karar vermiştir.

Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC), benzo[a]antrasen ve benzo[a]piren'i insanlarda muhtemel kanserojen; benzo[b]floranten, benzo[j]floranten, benzo[k]floranten ve indeno[1,2,3-cd]piren'i insanlarda olası kanserojen; antrasen, benzo[g,h,i]perilen, benzo[e]piren, krisen, floranten, flören, fenantren ve piren'i ise insanlarda kanserojen olarak sınıflandırılmamıştır. EPA'da benzo[a]antrasen, benzo[a]piren, benzo[b]floranten, benzo[k]floranten, krisen, dibenzo[a,h]antrasen ve indeno[1,2,3-cd]piren'i insanlarda olası kanser ve asenaftalin, antrasen, benzo[g,h,i]perilen, floranten, floren, fenantren ve piren'in insanlarda kanserojen olarak sınıflandırılmayacağını belirlemişlerdir. Asenaften DHHD, IARC veya EPA tarafından kanserojen olarak sınıflandırılmamıştır [12].

2.1.5.2. PAH'ların Vücuttaki Biyolojik Rolü

Tehlikeli atık sahalarının yakınında yaşayan insanlar PAH'lara havayı soluyarak maruz kalırlar ve PAH'lar akciğer yoluyla vücuda girer. İçme sularında ve gıdalarda bulunan PAH'lar farklı bir yolla vücuda girerler, ama bu yolla PAH'ların absorpsiyonu genellikle yavaştır. PAH'lar vücutta yağ içeren tüm dokulara girebilir. Çoğunlukla böbrek, karaciğer ve yağlarda depo edilme eğilimindedirler. Daha küçük miktarda dalak, böbrek üstü bezleri ve yumurtalıklarda birikir. PAH'lar tüm dokularda birçok farklı maddelere değişebilirler. Bu maddelerden bazıları doğal PAH'dan daha zararlı iken, bazıları daha az zararlıdır. Hayvan çalışmaları şunu göstermiştir ki, PAH'lar vücutta uzun süre depolanma eğiliminde değildirler. Çoğu PAH'lar birkaç gün sonra vücuttan dışkı ve idrarla atılırlar [54,55].

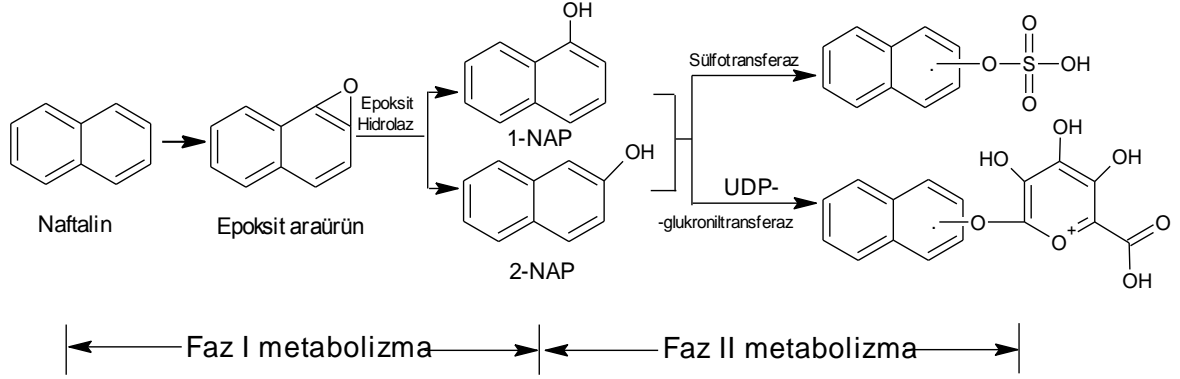
Birçok PAH, bu maddeleri havada soluyan veya onları yiyen veya uzun süre cilt temasına maruz bırakılan laboratuvar hayvanlarında tümöre yol açmıştır. Gebelik sırasındaki fareler yüksek seviyede benzo[a]piren ile beslendiklerinde üremeleri zorlukla gerçekleştirmiştir. Aynı zamanda benzo[a]piren ile beslenen gebe farelerin yavrularında da doğum kusurları ve vücut ağırlığı düşüşü gibi zararlı etkileri gözlenmiştir. İnsanlarda da benzer etkiler gözlenebilir, ama bu konuda herhangi bir bilgi yoktur. Bununla birlikte, insanlar üzerinde yapılan çalışmalar göstermiştir ki,

hava veya cilt teması ile uzun süre maruz bırakılan bireylerde PAH'lar kansere yol açmıştır.

PAH'ların mikroorganizmalar, karasal bitkiler, sudaki biyolojik canlılar, kurbağalar, sürüngenler ve karasal memeliler de dahil olmak üzere çeşitli canlılarda geniş ekotoksik etki gösterdikleri rapor edilmiştir [56]. Hayatta kalma, gelişme, metabolizma ve tümör oluşumunda akut toksisite, toksisite gelişimi ve üreme toksisitesi, sitotoksisite, genotoksisite ve kanserojen etkileri rapor edilmiştir. PAH'ların toksikolojik araştırmaları odağında genotoksik ve kanserojen olduğunu vurgulamıştır. PAH'ların DNA'ya zarar verdiği ve mutasyona yol açtığını, kimi durumda da kansere yol açtığı gösterilmiştir. PAH'lar genotoksik ve kanserojenik özellik gösterebilmek için metabolik aktivasyona ve dönüşüme gereksinim duyar. Yüksek organizmalılarda PAH bu şekilde metabolize olur. PAH'ların poliklorobifeniller (PCB) gibi lipofilik organik bileşiklerle aynı şekilde birikmediği savunulmuştur. Bunun yerine onlar suda daha çok çözünebilir formlara dönüşebilirler. Bu durumda organizmada daha sonraki ekstraksiyonu kolaylaştırır. Ne yazık ki, bu da DNA ile reaksiyona girebilen reaktif ara maddelerin oluşmasına yol açarak genlerin normal çalışmasını engeller. DNA hasarı tamir edilebilir ancak eğer onarım başarısız veya yetersiz olursa genetik hasarlar ve dolayısıyla mutasyon meydana gelir. Mutasyon bir hücrenin birçok farklı fonksiyonunu etkileyebilir, ama her şeyden öte kansere neden olabilir. PAH'ların neden olduğu bir dizi toksik etkiler gösterilmiştir. Birçok PAH'ın, kemirgenlerde yüksek dozda kısa süreli maruz bırakıldıktan sonra ölüme neden olduğu gösterilmiştir [57]. Diğer taraftan insanlarda kısa süreli maruz bırakılmadan sonra ölüm gözlenmemiştir [58]. Çevresel seviyeler genellikle mesleki maruziyetten çok daha düşük olduğundan, PAH'ların kısa süreli maruziyeti ölümlere yol açması son derece nadirdir. Diğer taraftan PAH'lara maruz kalan işçilerde dermatit ve keratoz gibi göz tahrişi, fotofobi ve cilt toksisitesi gözlenmiştir. Akut ve sub-akut iltihabını içeren olumsuz solunum etkileri deneysel olarak gözlemlenmiştir. BaP ile ilişkili olarak şiddetli ve uzun süreli hiperplazi ve metaplazi gözlemlenmiştir. Bu etkiler öncü kanser lezyonları olarak kendini gösterir ve solunum yolunda PAH toksisitesinin ana hedeflerinden biridir.

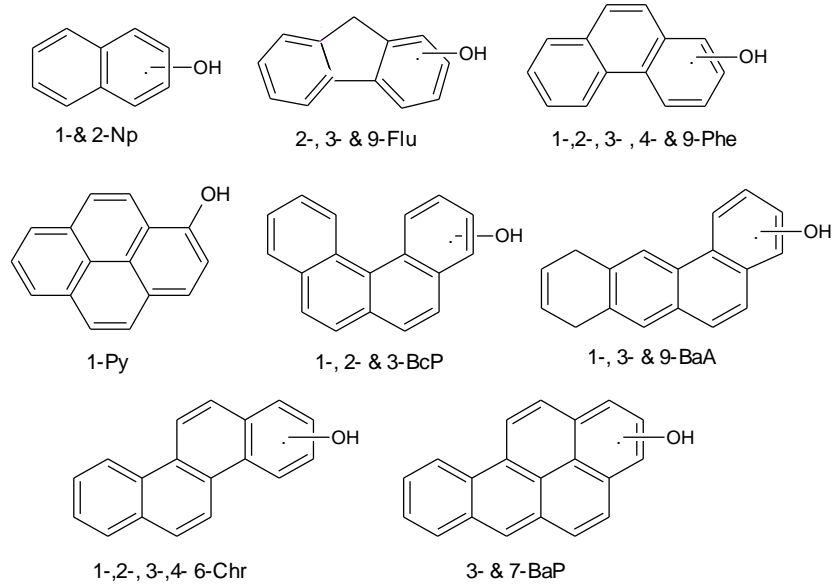
PAH'lar insan vücuduna girdikten sonra, bir dizi işlem ile biyodönüşüme uğrarlar. Faz I metabolizması; PAH'lar epoksit aramaddeleri oluşturmak için sitokrom P450

enzimi ile oksidasyona uğrar daha sonra hidroksillenmiş türevlerine (HO-PAH) indirgenme ve hidroliz ile dönüşür. Faz II metabolizması; HO-PAH'lar metabolitlerin suda çözünürlüğünü arttırmak için glukoronik asit ve/veya sülfata konjuge olur ve idrar, safra ve dışkı ile atılır [59].



Şekil 2.1. Hidroksinaftalin glukoronik asit ve sülfat konjugatlarının metabolik oluşumunun şematik gösterimi [59].

Bu biyolojik işlemler epoksit, dihidrodol, mono ve polihidroksi PAH'ları içeren çoklu metabolitlerin oluşumuna yol açar. Genellikle daha küçük iki veya üç halkalı PAH metabolitler tercihen idrarla atılır; halbuki, daha yüksek molekül ağırlıklı PAH'lar dışkı ile atılır [60].



Şekil 2.2. Bazı HO-PAH analitlerinin moleküler yapısı [60].

Çoğu gözlemler Faz I'in değişmesini ve Faz II enziminin daha az ölçüdeki değişim aşamasını oluşturur. Bunlar detoksifikasyonda ve diğer biyokimyasal işlemlerde

önemli rol oynarlar [61]. Diğer biyokimyasal etkiler zamanla rapor edilmiştir (hormon, enerji rezervleri ve serum enzimlerindeki değişimler). Faz I enzim grubunda yer alan karışık fonksiyonlu oksijenaz (MFO) enzimlerinin indüksiyonunda etkili olmuşlardır. MFO enzim ailesi demir içeren hemoproteinler ve sitokrom P450'dir. Bu bağlamda, MFO enzimleri önemli ölçüde ilgi konusu olmuşlardır çünkü, bunlar PAH'ları içeren çevresel önemi olan çeşitli moleküllere maruz kaldıklarında yaygın olarak balık ve diğer hayvanlarda indüklenirler.

Enerji sistemlerinin indüksiyonu enerji gerektiren bir işlemdir ve temel olmayan nitelikteki herhangi bir enerji kaybı teorik olarak diğer biyokimyasal ve fizikokimyasal süreçleri değiştirebilir. Bundan dolayı MFO enzimleri ve özellikle uzun süreli yüksek seviyeli indüksiyonlar, balıklar ve su canlıları için büyük risk olarak kabul edilebilir.

2.1.6. PAH'ların Tayin Edilme Yöntemleri

PAH'lar hakkındaki mevcut temel bilgiler, kirlenmiş su, toprak ve sedimentlerin temizlenmesinde birçok uygun yaklaşımların ve biyolojik iyileştirmenin gelişmesine yol açmıştır. Gereken uygulama tekniklerini geliştirmek için önemli çabalar halen devam etmektedir.

İnsan vücudunda, PAH'lar başka kimyasallara dönüşür ve vücuttaki maddelere bağlanabilir. Maruz kalınma durumunda bu maddelere bağlı PAH'lar vücut dokularında veya kanda ölçülebilir. PAH'lar veya metabolitleri idrar, kan veya vücut dokularında ölçülebilir. Bu testler maruz kalınan PAH'ları göstermesine rağmen, bu testler herhangi bir sağlık etkisinin olacağını tahmin etmek için kullanılamaz veya maruz kalınan PAH'ların kaynağı ve derecesini belirlemede etkili değildir. Bu testler PAH'ları ve ürünlerini belirlemek için rutin olarak analiz listelerinde bulunmaz. Çünkü bu kimyasalları tespit etmek için oldukça pahalı ve uzmanlaşmış özel ekipmanlar gerekmektedir.

Çevre koruma ajansı (EPA) doğada en çok bulunan 1408 tehlikeli atık tespit etmiştir. EPA'nın değerlendirmelerine göre; PAH'lara maruz kalan bölgelerin sayısı giderek artmaktadır. Bu bilgi önemlidir; çünkü PAH'lara maruz kalan bölgeler zararlı sağlık etkilerine yol açabilir ve bu bölgeler insanların PAH'lara maruz kalmasının gerçek ve potansiyel kaynaklarını yaygınlaştırır [12].

Kalıcı Organik Kirleticiler (KOK) ile ilgili Stockholm Sözleşmesi, 127 ülke tarafından Mayıs 2001 yılında imzalanmıştır. Bu antlaşma KOK'ların kullanımını ve üretimini sınırlama ve ortadan kaldırmak için çalışmalar yürütmektedir. Odaklandıkları maddelerden biri de hiç şüphesiz PAH'lardır. Bu oluşuma üye olan ülkeler, PAH'ların salınımına ilişkin verileri paylaşma konusunda anlaşmıştır. PAH'lar toksisite, kalıcılık ve çevresel yaygınlıklarından dolayı üzerinde çalışmalar giderek artmaktadır. Bu nedenle, akut toksisitelerinden ötürü çevresel bir kaygı oluşturmuş, atık yığınlarındaki kirleticilerin tayini için etkin yöntemler geliştirilmiştir. Bu bileşiklerin belirlenmesi için HPLC-FLD, HPLC-UV-DAD, GC-MS ve GC gibi birçok analitik yöntem yaygın olarak uygulanmaktadır [53].

2.1.7. Benzo[a]piren

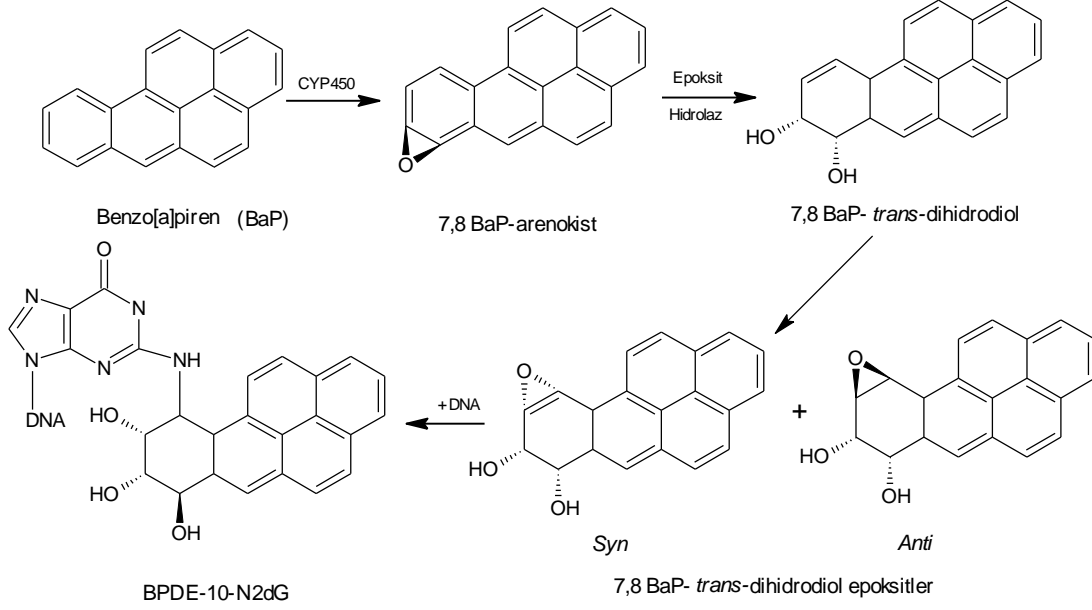
Benzo[a]piren (BaP)'i de içine alan bir dizi PAH'lar, insanda mutajen, kanserojen ve/veya gelişimsel zehirli maddeler olarak bilinirler. BaP, PAH'ları temsil eder ve bu üç tip toksisiteyi uygular. Bazı PAH'lar deneysel biyoanalizlerde karaciğerde, lenfatik dokularda ve yavru sinir sistemlerde oluşan transplasental kanserojendirler. Deneysel hayvanları çalışmalarında, PAH'lara maruz bırakılan hayvanların yetişkinlik dönemlerinde, cenin ve bebeklik periyotları dönemlerine kıyasla PAH kaynaklı kanserojene daha fazla duyarlılık göstermişlerdir. İnsanlarda yaş ile ilgili PAH'ların kanserojen etkilerini gösteren veriler mevcut değildir [62,63].

BaP kanserojen olduğu kanıtlanmış ilk PAH türüdür [64]. BaP ilk olarak ya epokside dönüşerek aktif hale dönüşür, ya da deaktivasyona uğrar. Deaktivasyon normalde diol oluşumunu veya idrar ve safrayla kolayca atılacak formdaki glutasyon konjugasyon oluşumunu içerir. Buna karşın başlangıç aktivasyon durumunda birtakım olaylara yol açarak DNA'ya bağlanma ile sonuçlanır. Bu tür kusurlar kansere yol açabilir.

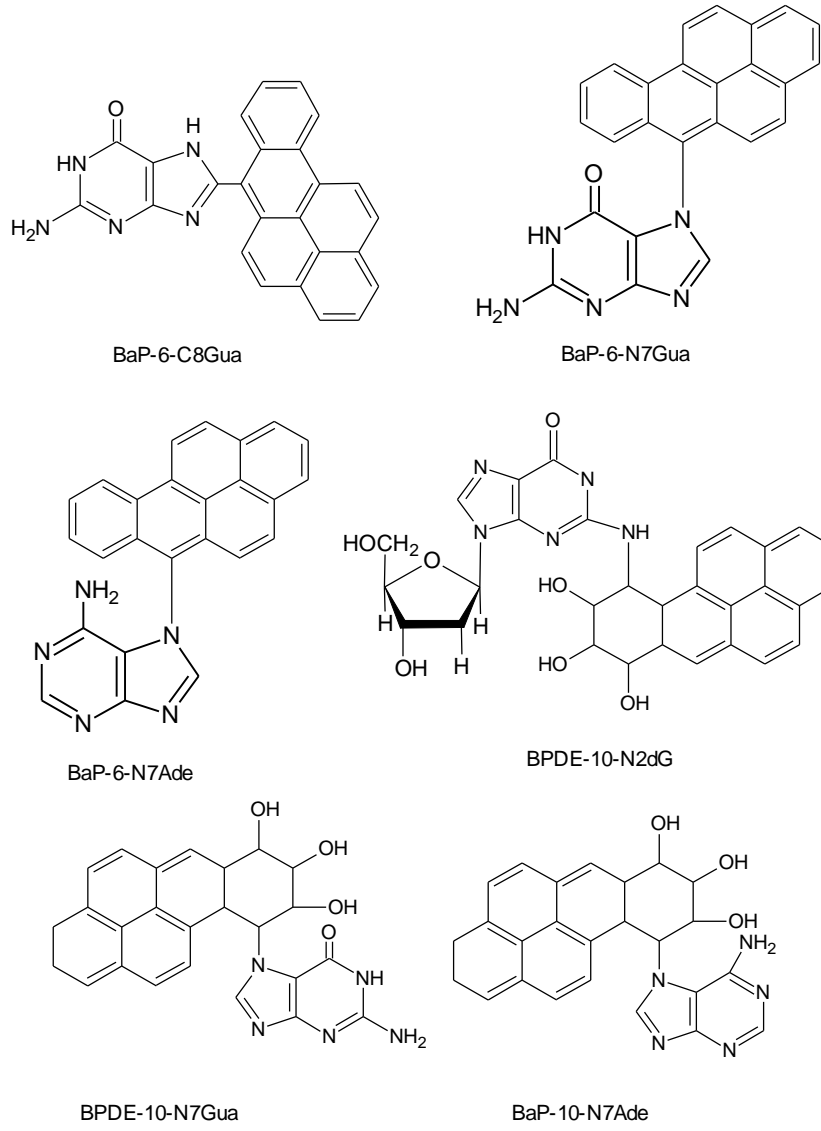
PAH-DNA etkileşimi potansiyel kanser riskini oluşturur. Çünkü kanser oluşum yolunda kritik adımı teşkil eder. Bu etkileşim, deneysel ve epidemiyolojik araştırmaların her ikisinde kanser ile ilişkilidir. BaP-DNA, beyaz kan hücrelerinde PAH-DNA hasarında vekil olarak maruz bırakıldığında, absorpsiyondaki metabolik aktivasyonda ve DNA tamirinde bireysel farklılıkları yansıtır. Bundan dolayı, bilgilendirici bireysel biyolojik dozimetre ve risk işaretleyici sağlamaktadır.

Çevresel kirleticiler arasında PAH'lar adsorbe olduktan sonra organizmalarca metabolik olarak aktive edilmektedir. Böylelikle doğrudan hücresel

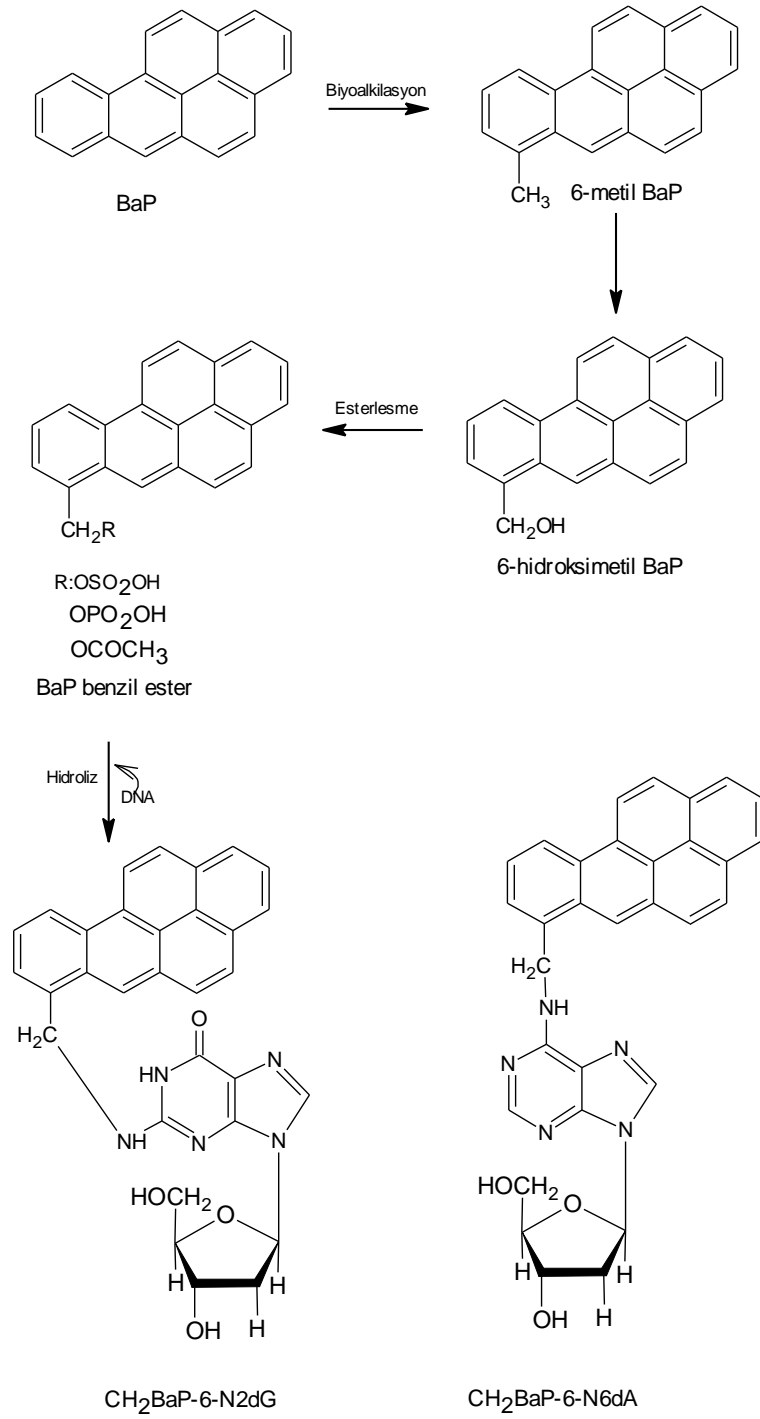
makromoleküllerin nükleofilik gruplarına karşı reaktif hale dönüşerek kanser öncüsü olarak etki göstermektedir. PAH'ın DNA'ya bağlanmasında DNA ve kimyasal kanserojen arasındaki kovalent bağlanmayı içeren metabolik aktivasyon önemlidir. Bu reaksiyonu tetikleyen moleküller, kimyasal kanserojen olarak kabul edilir. BaP'ın DNA'ya bağlanmadaki metabolik aktivasyonu için farklı yollar önerilmiştir [65].



Şekil 2.3. BaP'ın diol-epoksitlere aktivasyon yolu [65].



Şekil 2.4. Kemirgenlerde diol-epoksit ve radikal katyon yollarıyla *in vitro* ve *in vivo* ortamlarda oluşan BaP ürünleri [65].



Şekil 2.5. BaP'in benzilik ester yolu [66].

Çizelge 2.2. BaP miktarına bağlı olarak hareketsiz kaynaklardaki PAH miktarları [10]

PAH	Kömürün yanması (evsel ve endüstriyel) (µg/L)	Odunun yanması (evsel ve endüstriyel) (µg/L)	Doğal yangınlar/Tarımsal ürünlerin yakılması (µg/L)	Aşırı yakma (µg/L)
Benzo[b]floranten	0.05	1.2	0.6	2.2 BbFA + BkFA
Benzo[k]floranten	0.01	0.4	0.3	-
Benzo[a]piren	1.0	1.0	1.0	1.0
İndeno[1,2,3-cd]piren	0.8	0.1	0.4	0.5

Çizelge 2.3. BaP miktarına bağlı olarak hareketli kaynaklardaki PAH miktarları [10]

PAH	Yolcu aracı, Geleneksel (µg/L)	Yolcu aracı, kapalı döngü katalizörü (µg/L)	Yolcu aracı, Dizel, doğrudan enjeksiyon (µg/L)	Yolcu aracı, Dizel, dolaylı enjeksiyon (µg/L)	Ağır yük aracı (µg/L)
Benzo[b]floranten	1.2	0.9	0.9	0.9	5.6
Benzo[k]floranten	0.9	1.2	1.0	0.8	8.2
Benzo[a]piren	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
İndeno[1,2,3-cd]piren	1.0	1.4	1.1	0.9	1.4

2.2. Moleküler Baskılama Teknolojisi

2.2.1. Moleküler Baskılamanın Tarihsel Gelişimi

Hedef molekül etrafında ileri derecede organize olmuş yapıların sentezi, moleküler hafıza oluşturma ve böylelikle polimerik malzemelerde tanıma bölgeleri oluşturma fikri, ilk olarak Linus Pauling tarafından önerilmiş ve geliştirilmiştir. 1931 yılında Polyakov, silika partiküllerle hazırlanan malzemelerde bazı genel sıradışı özellikler gösterdiğini gözlemlemiştir [67]. Polyakov kuru silikaya bazı çözücüler eklemiş, bundan sonra silikayı sıcak su ile yıkadıktan sonra yaklaşık bir ay kurumaya bırakmıştır. Yeni malzemenin adsorpsiyon özelliklerini incelerken, bu malzemenin daha önce kullanılan katkı malzemelerine karşı yüksek adsorpsiyon özellikleri gösterdiğini fark etmiştir. Ayrıca bu malzemenin yapısal bir “hafızası” olduğuna ve üç boyutlu polimerik matrikse eklenen katkıların “baskılandığını” keşfetmiştir [68].

Bu kavramın ilk deneysel uygulaması 1949 yılında Dickey’in son derece etkileyici çalışmasıyla rapor edilmiştir. Bu çalışmada metil oranj ile adsorbe edilmiş silika, aynı yapıya karşı seçici adsorpsiyon özellikleri göstermiştir. Dickey, spesifik adsorpsiyonun oluştuğu mekanizma hipotezini, Pauling’in antibadi oluşum teorisi ile ifade etmiştir: “Bu mekanizma, Pauling’in hedef molekül olarak antijen moleküllerini kullanarak antibadilerin oluşması için önerdiği mekanizmayla aynıdır” [69]. Günter Wulff tarafından rasemik karışımların ayrılması için kullanılan baskılanmış polimerler [70] ve Klaus Mosbach’ın fenilalanin eter esterlerini yeniden bağlama özelliklerine sahip polimerlerin hazırlanmasına [71] ilişkin mihenk taşı niteliğindeki makalelerinin basılmasına kadar; bu sonuçlardan tam olarak yararlanılamamıştır. Yazarlar bu yöntemi Pauling’in antibadi üretim modelini dikkate alarak, polimerik matrikste spesifik tanıma özelliğine sahip “baskılanmış” bölgeleri oluşturmak için kalıp molekül olarak kimyasal yapıların kullanılabileceğini göstermişlerdir.

2.2.2. Moleküler Baskılama Tekniği

Moleküler baskılama, ilgili hedef molekül için seçici tanıma bölgelerine sahip sentetik polimerlerin hazırlanmasında kullanılan bir tekniktir. İlk olarak, monomerler hedef molekül ile kovalent veya non-kovalent etkileşimlerle kompleks oluşturur. Polimerizasyondan sonra kalıp molekülün uzaklaştırılmasıyla, boyut, şekil ve çapraz bağlanma ile yer edinen fonksiyonel grupların pozisyonu ile hedef

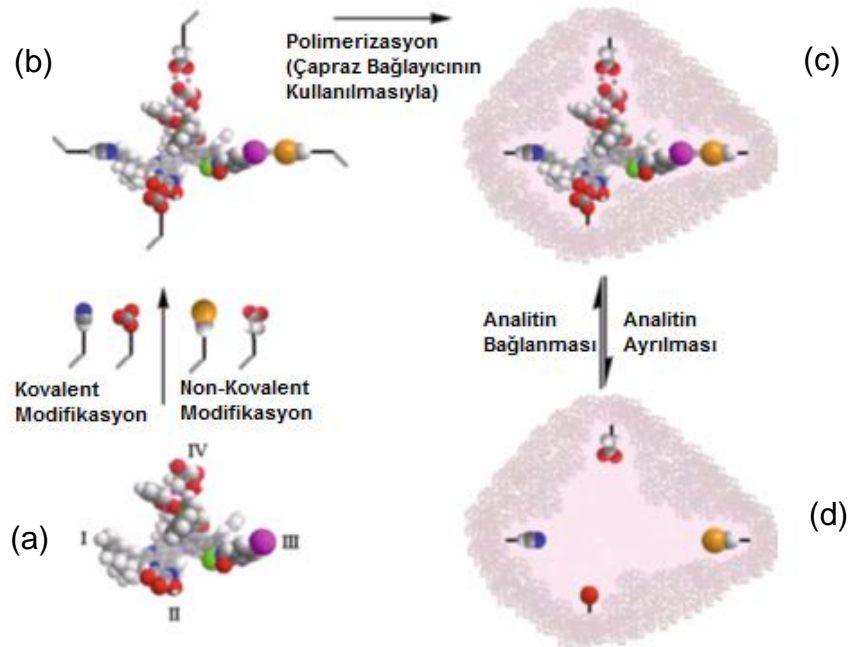
moleküle özgü bağlanma bölgeleri oluşur. Esas olarak, hedef moleküle seçici biçimde bağlanma yeteneğine sahip moleküler hafıza polimerde oluşturulur.

Moleküler baskılanmış polimerlerin (MIP) hazırlanma işlemi 3 adımda gerçekleşir.

Ön-Polimerizasyon: Hedef molekül, çapraz bağlayıcı ve fonksiyonel monomer kovalent veya non-kovalent bağlanmayla kompleks oluşumu için seçilir [72]. Bu etkileşimde hedef molekülün üç boyutlu yapısı ve kimyasal özellikleri önemlidir. Monomer-kalıp molekülün polimerizasyonu gerçekleşir.

Polimerizasyon: Fotopolimerizasyon, termal polimerizasyon, elektropolimerizasyon ve benzer reaksiyonlarla hedef moleküllere tutunmuş çapraz bağlı kopolimerler oluşur. Bundan dolayı polimerik matrikste monomerin fonksiyonel grupları uzaysal düzenlenmeye geçer ve üç boyutlu gözenekli polimer ağ oluşturmak için konum oryantasyonuna dahil olur [73].

Elüsyon: Kalıp molekül uygun elüent ile polimerden ayrılır ve uzaklaştırılır. Daha sonra fonksiyonel gruplar içeren baskılanmış moleküllerin spesifik tanınmasına yönelik hedef molekülün boyut ve şekliyle uyumlu olan üç boyutlu boşluklar oluşur [74-76].



Şekil 2.6. Moleküler baskılama yönteminin şematik gösterimi [67].

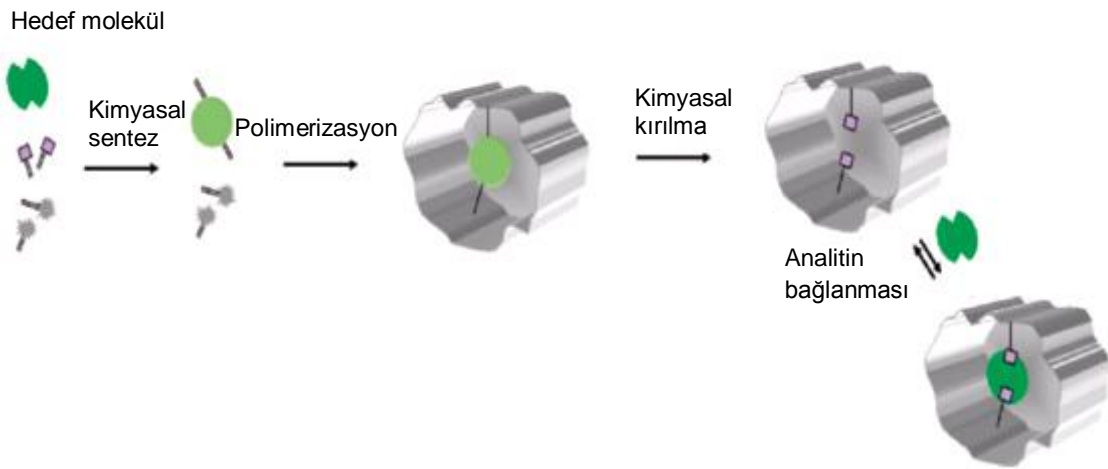
Baskılama, kalıp molekül (a) varlığında ön-polimerizasyon kompleksi (b) oluşturmak için fonksiyonel monomerlerin ve çapraz bağlayıcının kendiliğinden düzenlenmesiyle gerçekleştirilir. Polimerizasyon boşluklarında hala kalıp molekülü içeren baskılanmış polimerler yer alır (c). Hedef molekülün uzaklaştırılması ile aktif boşluklara sahip baskılanmış polimerler meydana gelir (d).

2.2.3. Moleküler Baskılama Yöntemleri

Hedef molekül ve fonksiyonel monomer grubu arasındaki etkileşime göre, moleküler baskılanmış polimerlerin hazırlanması için iki tür yöntem mevcuttur: Kovalent ve non-kovalent yöntemi.

Kovalent Baskılama Yöntemi (Ön Düzenlenme Yöntemi)

Bu yöntem, Wulff ve Almanya'da Heinrich-Heine Üniversitesi'ndeki çalışma arkadaşı tarafından 1970'li yılların başlarında önerilmiştir [78]. Bu yöntemde göre, monomer-kalıp molekül kompleksi tersinir kovalent bağlanmayla gerçekleşir. İlk olarak; kalıp molekül monomer ile kovalent olarak reaksiyona girer ve borat esterlerini, Schiff bazını veya imin asetal türevlerini meydana getirir. Sonrasında polimerizasyon ile çapraz bağlı polimerler oluşur. Daha sonra baskılanmış moleküller elüsyon varlığında kovalent bağın yıkımıyla uzaklaştırılır (Şekil 2.7). Küçük moleküllü bileşikler genellikle fonksiyonel monomer olarak kullanılırlar. Yaygın olarak kullanılan fonksiyonel monomerler etilen içeren borik asit ve dioller, aynı zamanda asit esterleri ve benzerleri gibi silanli karışımlardır. Borik asit esterleri en çok kullanılan monomerdur. Buna karşın yöntem, çok sınırlı kimyasal reaksiyonların seçiminden dolayı nadiren kullanılır [79,80].

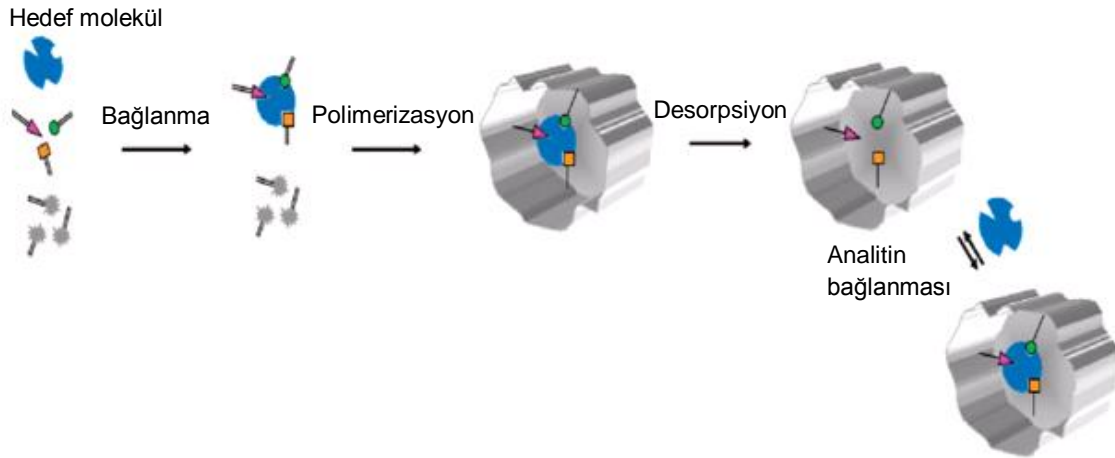


Şekil 2.7. Kovalent baskılamanın şematik gösterimi [75].

Non-Kovalent Baskılama Yöntemi (Kendiliğinden Düzenlenme Yöntemi)

Non-kovalent baskılama yöntemi, Mosbach ve meslektaşları tarafından 1980'li yıllarda önerilen ve MIP'ların hazırlanmasında en yaygın ve en etkili biçimde kullanılan yöntemdir [81]. Kalıp molekül ve monomerlerin kendiliğinden düzenlenmesi, fonksiyonel monomerin grupları ile kalıp molekül arasındaki elektrostatik kuvvetler (iyon-dipol ve dipol-dipol), hidrojen bağı, hidrofobik etkileşim, yük transferi, metal şelat ve van der Waals kuvvetleri gibi zayıf etkileşimlerden meydana gelir. Daha sonra polimerizasyon ile düzenlenmeler korunur. Kovalent olmayan etkileşimler arasında en önemli olanlardan biri iyon-dipol ve en yaygın olarak kullanılanlardan biri de hidrojen bağıdır. Bundan dolayı, çözücü ekstraksiyonunun basit bir yöntemi ile kalıp molekül kolaylıkla uzaklaştırılır (Şekil 2.8). Fakat, kovalent yöntem ile karşılaştırıldığında, non-kovalent yöntemin seçiciliği nispeten daha düşüktür. Kovalent ve non-kovalent yöntem arasındaki temel fark monomer ve kalıp moleküllerin kombinasyonunda farklı mekanizmaların kullanımınıdır. Polimerin moleküler tanıma özellikleri hedef moleküller ve kalıp moleküllerin rolü arasındaki etkileşim esas alınarak belirlenir.

Örneğin Whitcombe MIP'ların hazırlanmasında her iki yöntemi ustaca birleştirmiştir [82]. Kovalent yöntem ile fonksiyonel monomer olarak 4-vinilfenil karbonatını kullanarak moleküler baskılanmış kompleksler hazırlamıştır. Daha sonra, kompleksler baz katalizörlüğü ile hidrolize edilmiş; fonksiyonel monomerler ve moleküller arasındaki kovalent bağlanma yıkılmıştır. Bu işlem sonucunda, hidrojen bağı vasıtasıyla hedef molekülleri tanıyabilen, MIP'lar üzerinde non-kovalent moleküler tanıma bölgelerinin oluşmasına yol açmıştır.



Şekil 2.8. Non-kovalent baskılamanın şematik gösterimi [75].

2.2.4. Moleküler Baskılamada Kullanılan Bileşenler

Moleküler baskılanmış polimerlerin hazırlanması için hedef molekül, fonksiyonel monomer, çapraz bağlayıcı, başlatıcı ve çözücünün seçimi önem taşımaktadır.

2.2.4.1. Hedef molekül

Moleküler baskılama tekniğinde çeşitli maddeler kalıp molekül olarak kullanılabilir. Örneğin, MIP'ların hazırlanmasında, karbohidratlar, amino asitler ve türevleri, organik aminler, vitaminler, proteinler ve diğer moleküller, kalıp moleküller olarak başarılı biçimde kullanılmaktadır [83]. Genellikle bu moleküller oldukça polar gruplar (karboksil ve amino gibi) içerirler. Fonksiyonel monomer ve güçlü polar gruplar daha kararlı moleküler kompleksler oluşturabildikleri için yüksek performanslı MIP'ların hazırlanması kolaydır. Yüksek seçicilik ve afinitede moleküler baskılanmış polimerler, fonksiyonel monomer ile hidrojen bağ oluşumuyla meydana gelebilir. Hidrojen bağlarının gücü, doygunluğu ve yönelimi önemli avantajlarındandır. Makromoleküller, supramoleküler hücreler ve hatta metal iyonları bile hedef molekül olarak kullanılabilir [84].

2.2.4.2. Fonksiyonel Monomerler

Fonksiyonel monomer, polimerizasyon veya kopolimerizasyonda spesifik fonksiyonel gruplar sağlar. Çeşitli polimerizasyon reaksiyonlarında en yaygın olarak kullanılanlardan biri serbest radikal polimerizasyonudur. Polimerizasyon işlemi esnasında, baskılanmış molekül ve fonksiyonel monomerin mol oranı spesifik boşlukların oluşumunda büyük etkiye sahiptir [85]. Genellikle fonksiyonel monomerin kalıp molekül artışına oranı, kalıp molekül fonksiyonel monomer düzenlenmesi sağlar. Fonksiyonel monomerin aşırısı, seçici olmayan bağlanma bölgelerindeki artışa yol açtığından, yüksek orandaki fonksiyonel monomer miktarı polimerizasyonda zararlıdır. Kalıp molekülün fonksiyonel monomere oranı genellikle 1:4 olarak kontrol edilir. Buna ek olarak, aynı zamanda baskılanmış moleküllerin fonksiyonel grupları ve çözücü özellikleri polimerizasyonda dikkate alınmalıdır [86].

2.2.4.3. Çapraz Bağlayıcı

Çapraz bağlayıcı, ağ oluşturmak için her molekül arasında doğrusal molekül köprüsü oluşturur ve aynı zamanda polimer zincir oluşumunu düzenler veya iletir. Moleküler baskılanmış polimerlerin sentezindeki çapraz bağlayıcının üç rolü vardır: (a) MIP'ların morfolojisini kontrol eder; (b) baskılanmış tanıma

bölgelerindeki monomerlerin yönlendirmelerini kontrol eder; ve (c) MIP dizisinin mekanik kararlılığını etkiler [87].

Çapraz bağlayıcının miktarı, doğrudan baskılanmış polimerin birim kütlesinde aktif fonksiyonel monomerlerin çapraz bağlanma derecesini ve sayısını etkiler. Aktif fonksiyonel monomer sayısı ve çapraz bağlanma derecesi doğrudan MIP'ların seçiciliğini ve bağlanma kapasitesini etkilemektedir. Sonuç olarak, fonksiyonel monomerin çapraz bağlayıcıya oranı moleküler baskılanmış polimerlerin özellikleri üzerinde büyük bir etkiye sahiptir.

Çapraz bağlayıcı miktarı az ise yetersiz çapraz bağlanmadan dolayı MIP'ların boşluk konfigürasyonu kararlı durumda kendisini sürdüremez. Bunun sonucu olarak moleküler baskılanmış polimerlerin tanıma yeteneği azalır. Ayrıca aşırı çapraz bağlayıcı miktarı, birim kütlede fonksiyonel monomer sayısını düşürür ve tanıma bölgelerinin sayısının azalmasına yol açar. Özellikle non-kovalent moleküler baskılamada, çapraz bağlanma miktarı MIP'ların farklı çözücülerde şişmesini azaltır, seçiciliği ve yapısal analoglarını ayırt etme yeteneğini artırır. Aynı zamanda polimer zincir boşlukları artırarak, analitin tanıma bölgelerine hızlı bir şekilde nüfuz etmesini sağlar. Genellikle MIP'ların çapraz bağlayıcı oranı % 80'den daha yüksek olmalıdır [88].

2.2.4.4. Başlatıcı

MIP'ların hazırlanmasında kullanılan başlatma yöntemleri esas alındığında radikal polimerizasyon, radyasyon polimerizasyon ve elektrokimyasal polimerizasyon yöntemleri olarak üçe ayrılır. Radikal polimerizasyon başlatıcısı, kolaylıkla serbest radikal oluşturan moleküllerdir. Bu bileşikler, termal ve fotolitik olarak radikal polimerizasyonunun başlatılmasında kullanılan serbest radikallere (örn; birincil radikal) ayrışma eğilimindedirler.

Molekül yapılarına göre başlatıcılar, genellikle benzoil peroksit (yağda çözünen), potasyum persülfat (suda çözünen) gibi peroksit başlatıcılar; azobisisobutironitril (yağda çözünen), V-50 başlatıcı (suda çözünen) gibi azo bileşikli başlatıcı; hidrojen peroksit ferroz tuzları (suda çözünen) gibi redoks başlatıcılar olarak sınıflandırılır.

Azobisisobutironitril ve azobisisobutironitril G nitril, genellikle radikal polimerizasyonda kullanılan başlatıcılardır. En yaygın kullanılan başlatma

yöntemleri genellikle termal başlatma (60°C) ve fotobaşlatmadır. Başlatma yönteminin seçimi, büyük oranda hedef moleküllerin karakteristik özelliklerine bağlıdır.

Non-kovalent moleküler baskılamada, düşük sıcaklıktaki fotobaşlatma ile sentezlenen polimerler, yüksek sıcaklıktaki termal başlatma ile hazırlanan polimerlerden daha iyi özelliklere sahiptir [89]. Termal başlatma ile karşılaştırıldığında, fotobaşlatmanın bazı avantajları vardır: (i) kalıp molekül-fonksiyonel monomer kompleksi daha karardır, (ii) kararsız bileşikler kalıp molekül olarak kullanılabilirler ve (iii) polimerin fiziksel özelliklerinin değişmesiyle daha yüksek seçicilik elde edilir.

2.2.4.5. Çözücü

Çözücü polimerin gözenekli yapısının oluşmasını sağlar ve hedef molekülün bağlanmasını kolaylaştırır. Çözücü molekülleri polimerizasyon süresince polimerin içine girer ve daha sonrasında elüsyon işlemiyle uzaklaştırılır. Çözücü molekülleri ile oluşan bölgeler boşluklar haline gelir ve sonrasında polimer içerisinden ayrılır. Polimerizasyon ile elde edilen polimer, çözücünün eksikliğinde daha yoğun olur, bağlanma ve elüsyon sürecinde kalıp molekülün nüfuz etmesi kısıtlanır [85].

Non-kovalent MIP'larda hedef molekül ve fonksiyonel monomer arasındaki etkileşimde çözücünün önemli etkileri vardır. Çözücü sadece baskılanmış molekül üzerinde yüksek çözünürlüğe sahip olmamalı, aynı zamanda hedef molekül ve fonksiyonel monomerle arasındaki etkileşimi arttırmalıdır. Genel olarak, polar çözücü; baskılanmış moleküllerin ve fonksiyonel monomerlerin kombinasyonu azaltabilir, özellikle hidrojen bağ oluşumunu etkiler. Bu da MIP'ların tanıma performansını daha kötü yapar. Bundan dolayı, genellikle benzen, toluen, ksilen, kloroform ve metilen klorür gibi düşük dielektrik sabitine sahip çözücüler kullanılır [86].

2.2.5. Moleküler Baskılama Tekniğinin Uygulama Alanları

Moleküler baskılanmış polimerler, biyolojik reseptörleri taklit etmek amacıyla üretilen ve kendi doğal rakiplerine göre hedef moleküllere benzer afinite ve spesifitede bağlanabilme özelliklerine sahiptir [90-92]. Teknik, basit ve ucuz bir yöntemdir. Ayrıca asit ve bazlara, yüksek sıcaklık ve basınç gibi sert çevresel koşullarda biyolojik rakiplerine göre bozulmaya karşı daha dirençlidir [93-95]. Buna

ek olarak, moleküler baskılama yöntemindeki sentetik tasarım ile doğal reseptör olmamasına rağmen hedef molekül için uygun etkileşim boşlukları sağlamaktadır.

Wulff ve ark. [78] şeker türevleri için reseptör özellikteki sentetik polimerlerin hazırlanmasına yönelik deneyi ilk olarak ortaya attıklarından itibaren, baskılanmış elementler olarak şekerler, aminoasitler, peptitler, ilaçlar, steroidler, metal iyonlar ve boyalar gibi çeşitli türdeki maddeler kullanılarak birçok makale yayınlanmış ve büyük başarı elde edilmiştir [93,96-101].

Moleküler baskılama tekniğinin ilgi çeken özelliklerinden biri de geniş bir yelpazede hedef moleküllere uygulanabilmesidir. Küçük organik moleküllerin (ilaçlar, pestisitler, amino asit ve peptitler, nükleotitler, steroidler ve şekerler) baskılanması iyi bilinmektedir ve rutin olarak gerçekleştirilir. Bunun yanında MIP'lar, gözenekli mikroküreler, nanoküreler, nanoteller, ince filmler, nanoyapılı filmler, nanokompozitler ve çeşitli yarı-çözünen nanojeller gibi çeşitli fiziksel formlarda sentezlenebilirler. Doğal karşıtlarına (enzimler, antibadiler ve hormon reseptörleri) benzer şekilde MIP'lar çeşitli alanlarda çok sayıda uygulama alanı bulmaktadırlar.

MIP'lar seçiciliklerinden dolayı kromatografide kullanımı gittikçe artan sorbentlerdir. Klinik, ilaç, biyokimyasal ve çevre analizlerinde kullanılmaktadır. Özellikle ilaç, plazma, idrar ve doku homojenatı gibi biyolojik matrikslerdeki endojen bileşiklerin analizlerinde önem kazanmaktadır [102,103].

Bununla birlikte;

- Katalitik aktiviteye sahip polimerler veya yapay enzim olarak,
- Biyolojik reseptörleri taklit eden yapılar olarak,
- Biyolojik sensörler olarak,
- Seçimli difüzyonu sağlamak üzere tasarlanmış membranlar olarak,
- Ağır metal iyonlarının atık sulardan uzaklaştırılması ve aşırı metal detoksifikasyonunda kullanılmaktadır [104-106].

Ticarileşmesiyle ilgili olarak, özellikle analitik kimya ve biyokimya alanlarındaki uygulamalarda MIP'ların biyomakromoleküllerde kolayca gözlenebilen avantajlarından dolayı (numune temizleme ve ön-deriştirme) son on yılda büyük bir ilerleme gerçekleşmiştir.

2.3. Moleküler Baskılama ve Kriyojeller

Analitik kimya, geleneksel kromatografik veya elektroforetik ayırmalarda her zaman problemleri çözemez. Bazı durumlarda afinite kolonlar kullanılmaktadır. Afinite kolonları analitin biyomoleküllere tersinir ve seçici biçimde bağlanmasına dayanır. Araştırmacı için afinite adsorbentlerin hazırlanması çoğu durumda ekonomik değildir ve bundan dolayı bunlar ticari olarak temin edilirler. Diğer bir sorun ise birçok benzer bileşiğin, kompleks örnek matriksinden ayrılmasıdır. Polimerik taşıyıcıların üretiminde karşılaşılan sorunların yanı sıra kimyasal ve biyolojik bileşiklerin kullanılmasında karşılaşılan sorunlar yeni polimerik jellerin tasarımını gerektirmektedir.

Biyoteknolojide önemli bir potansiyele sahip polimerik taşıyıcı tiplerinden birisi de kriyojellerdir. Kriyojel Yunanca kri'os (kryos) kelimesinden gelen donma sıcaklığının altında kısmen donmuş monomer veya polimer çözeltiler kullanılarak meydana gelen jel matrikslerdir [107,108]. Kriyojeller makrogözenekli veya süper makrogözenekli yapıda, süngerimsi morfolojiye sahip jellerdir.

Kriyojellerin oluşumunda, makroskopik olarak sıfırın altında donmuş karışım içerisinde donmamış sıvı mikrofazda yer alan polimer öncülleri polimerleşerek buz kristallerinin etrafında bir ağ yapı oluşur. Tepkime tamamlanınca donmuş karışım oda sıcaklığına getirilir, buz kristalleri erir ve "kriyojel" olarak adlandırılan gözenekli polimerik ağ yapı elde edilir. Şekil 2.9'da kriyojel oluşumu gösterilmektedir. Kriyojellerde donmuş sistem tek bir katı blok halinde görünmesine rağmen heterojendir, donmuş buz kristallerinin etrafındaki donmamış kısım sıvı mikrofaz içerir. Polimer öncüllerinin derişimleri bu sıvı mikrofaz içerisinde çözücünün donmasıyla oldukça derişik hale gelir. Bu olaya kriyoderişme (donma ile derişme) denir. Kriyojel oluşumu sırasında büyüyen buz kristalleri "gözenek oluşturucu" olarak davranır. Bu kristallerin şekil ve büyüklüğü, kriyojellerin gözeneklerinin şekil ve büyüklüklerini belirler. Gözeneklerin şekil ve boyutları monomer derişimine ve sıcaklığa bağlıdır [109-111].

2.3.1. Kompozitler

Kriyojeller, geniş gözeneklere sahip polimerik yapılardır. Geniş gözenekler uygulamada kriyojellere birçok avantaj sağlamakla beraber, düşük yüzey alanı ve buna bağlı düşük adsorpsiyon verimi gibi birçok sorunu da beraberinde getirir. Bununla birlikte kalıp molekülün varlığı, derişimi ve ortam koagülasyonu ciddi

biçimde kriyojelin gözenek yapısını, sonuç olarak bağlanma kapasitesini ve geçirgenliğini etkiler [112-114]. Ayrıca hidrofobik kriyojellerin hazırlanmasında su fazının kullanımı mümkün değildir. Yoğunluk, düzenli hücre yapısı ve homojen gözeneklilik daha yüksek adsorpsiyon kapasitesi sağlar. MIP kriyojellerin yapımı kolay olmasına rağmen düşük geçirgenlikleri ve farklı morfolojileri önemli ölçüde uygulanabilirliklerini kısıtlar. Bu problemlere çözüm, kompozitlerin kullanımudur. Hazırlanan kompozitlerin amacı; kriyojellere destek malzemesi olarak kullanarak adsorbentler için kararlı bir etkileşim ortamı sağlamaktır [115,116]. Ayrıca mikro veya nano parçacıklar içeren kompozitler geniş yüzey alanını oluşturarak adsorpsiyon kapasitesinin artmasını sağlarlar. Hidrofobik özellikte hazırlanan bu partiküller, kriyojellerin hidrofobitesini de önemli ölçüde artırır.

Kompozitlerin seçimi, gözenek boyutu, yüzey alanı, hidrofobite, bağlanma kapasitesi ve geçirgenlik gibi parametreleri hesaba katar. Moleküler baskılanmış kompozitler ticari membranların fonksiyonelleştirilmesi temel alınarak geliştirilmiş ve baskılanmış polimer fazın mekanik kararlılığı arttırılmıştır. MIP kompozitlerin herbisitleri [117,118], nükleotitleri [119,120] ve ilaçları da içine alan geniş bir hedef molekül aralığı vardır [121,122].

2.3.2. Moleküler Baskılanmış (MIP) Kriyojellerin Uygulamaları

MIP kriyojellerin oldukça sıra dışı özellikleri kısa sürede dikkat çekmeye başladı. Bu malzemelerin sentezinin oldukça kolay olması, yıllarca kararlı olmaları ve üretim maliyetlerinin düşük olması gibi birçok farklı özelliklerinden dolayı çeşitli uygulama alanlarında kullanılmaktadırlar [123].

Kriyojeller, makrogözenekli yapıları ile dolgulu kolonların partiküller arası boşluklarını içermeyen tek parça kolonlar olarak tanımlanabilir. Bu özellikleri sayesinde yüksek ve kontrollü gözenekliliğe sahip kriyojeller sentezlenerek daha iyi geçirgenlik elde edilir. Bu da doğrusal akış hızını artırırken daha düşük geri basınçta daha hızlı ayırmayı sağlar. Buna ek olarak, kriyojeller kütle transferi için daha düşük bir dirence sahiptir ki; bu özellikleri yüksek akış hızlarında bile daha iyi ayırmayı sağlar [124].

MIP kriyojellerin yüksek gözenekli morfolojilerinden dolayı yüksek seçici geçirgenliğe sahiptirler. Baskılanmış kriyojeller, geleneksel yığın polimerlerin tanıma bölgelerindeki sınırlı erişim ve aynı zamanda ticari membranlardaki seçicilik yetersizliğindeki sorunların üstesinden gelebilir. MIP kriyojel boyunca

taşıyım özellikleri, membran gözenek yapısı ve baskılanmış boşluklardan kaynaklı seçici adsorpsiyon etkisiyle kontrol edilir [125]. Bu tür kriyojeller yüksek hacimlerde düşük derişimlerdeki örneklerin toplanmasını sağlar ve bundan dolayı yüksek hacimlerdeki örnekler kısa sürede ekstrakte edilebilirler. Genellikle, bu tür problemler çevresel analizlerde karşılaşılr. Sonuç olarak, ayırma performansı sadece moleküler tanıma etkisine değil aynı zamanda özellikle gözenek gibi membran morfolojisine bağlıdır.

2.3.2.1. Kriyojellerin Performansını Etkileyen Parametreler

Baskılanmış kriyojeller üzerindeki başlıca gelişmeler, MIP kriyojellerin polimerizasyon koşullarını ve ayırma yeteneklerini optimize etmek üzerine odaklı olmuştur. Bu tür kriyojellerin hazırlanması oldukça basit olmasına rağmen ayırma teknolojisinde bu malzemelerin uygulamaları, çözücü ve örneğin etkin geçişi için geniş gözenekli olması gerekir. Kriyojellerde aynı anda mezo ve makrogözeneklerin ve moleküler ölçekte bağlanma bölgesinin oluşumunu sağlayan uygun koşulları uygulamak büyük bir sorundur. Bundan dolayı en sık kullanılan yaklaşımla, porojenik çözücü eklenmesiyle polimer yoğunluğu azaltılarak makrogözenekler oluşturulur [126]. Porojenik çözücünün termodinamik olarak zayıf çözücü olması gerekir.

Kriyojellerde zayıf çözücü içeriği, gözeneği kontrol altına almak için önemli bir parametredir. Daha yüksek derişimdeki zayıf çözücü daha gözenekli yapı oluşmasını sağlarken; aynı zamanda daha kırılğan malzemelerin oluşmasına yol açar. Zayıf çözücü ve polimerizasyon süresi optimize edilerek istenilen baskılanmış kriyojellerin hazırlanması gerçekleştirilebilir [127].

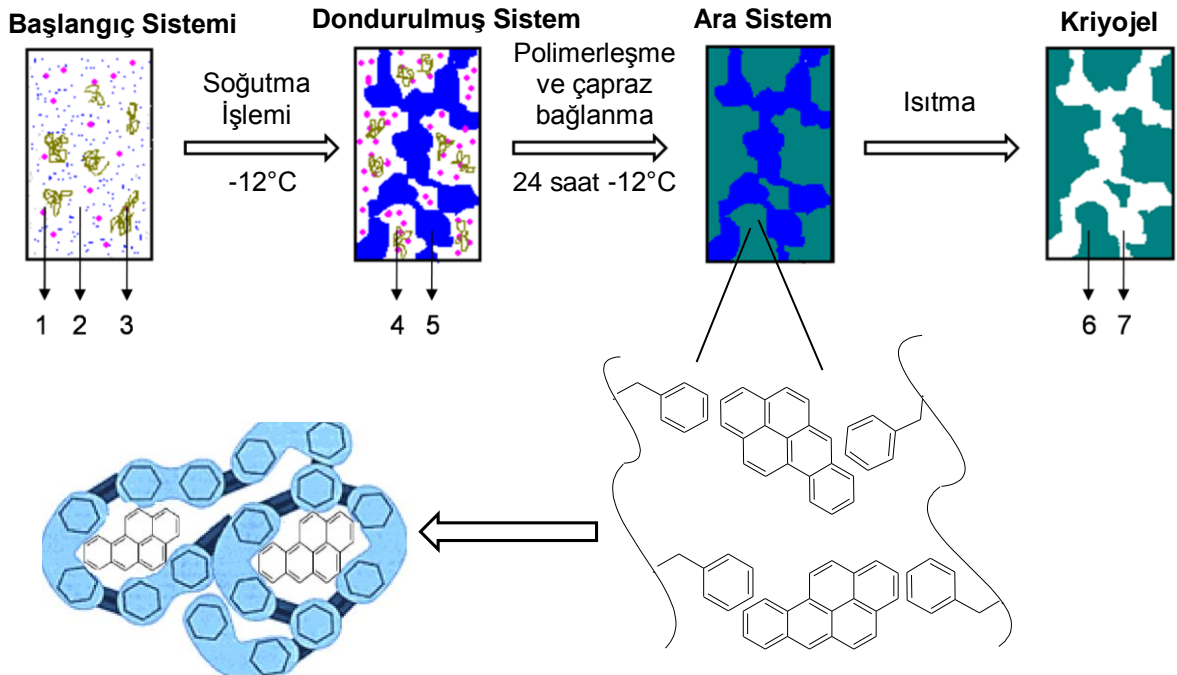
Kriyojellerin moleküler tanıma ve akış yönü özellikleri açısından performansı, özellikle yoğunluk ve polimer gözenekliliği olmak üzere birçok faktöre bağlıdır. Yüksek seçicilik ve yüksek geçirgenliğe sahip kriyojelleri elde etmek için, özellikle kalıp molekül miktarı, fonksiyonel monomer, çapraz bağlayıcı, porojenik çözücü, başlatıcı miktarı ve tipi gibi bazı koşulların optimize edilmesi gerekiyor. Ayrıca başlatma işlemleri ve polimerizasyon zamanı gibi polimerizasyon koşulları da önem taşımaktadır. Porojenik çözücü seçimi, kriyojellerin gözeneklerinin kontrolünde önemli parametrelerden biridir. Bu nedenle seçilen porojen, polimerin iyi akış göstermesi için polimerde geniş gözeneklerin oluşmasını sağlamalı, aynı zamanda kalıp molekülü, monomeri ve çapraz bağlayıcıyı da iyi çözebilmelidir.

Diğer taraftan çok polar porojenlerden kaçınılmalıdır. Çünkü kalıp molekül-monomer biriminin kararlılığını ve sonuç olarak kriyojellerin seçiciliğini olumsuz şekilde etkiler.

Monomer ve çapraz bağlayıcının türü ve miktarının değişkenliği sadece kriyojellerin farklı kompozisyonda oluşmasına değil; aynı zamanda farklı gözenekli yapıların oluşmasına yol açar [128]. Bundan dolayı monomer/çapraz bağlayıcı oranının etkisi iyi belirlenmeli ve uygun çapraz bağlayıcı kullanılarak yüksek seçicilik sağlanmalıdır [129].

Çapraz bağlayıcı miktarının artışı kriyojellerin seçiciliğinin de artışı sağlar ve polimerin artan sertliği, tanıma bölgelerinin kararlılığını artırır. Buna karşın, monomer ve çapraz bağlayıcının yüksek derişimleri sonucu çok yoğun polimer oluşabilir; bu da iyi olan akış özelliklerini azaltır [130].

Monomerlerin ve çözücünün seçiminin yanında, kalıp molekülün fonksiyonel monomere oranı sadece baskılama etkinliğini değil aynı zamanda kriyojellerin morfolojisini de etkileyeceği göz önünde bulundurulmalıdır [131].



Şekil 2.9. Kriyojellerin oluşumu: 1: Çözeltideki monomerler; 2: Çözücü; 3: Çözeltideki makromoleküller; 4: Donmamış sıvı mikrofaz; 5: Donmuş çözücünün polikristalleri; 6: Kriyojellerin polimerik iskeleti; 7: Makrogözenekler [132].

2.4. Sensörler

Modern gelişmişlik seviyesi büyük ölçüde sanayi devrimine bağlıdır, ancak aynı zamanda endüstriyel gelişmeler ciddi çevresel sorunları yanında getirmiştir. Endüstriyel atık kirliliğinin yanı sıra, organik maddelerin eksik yanması sonucu çeşitli toksik hidrokarbonlar ve diğer aromatik bileşikler ortaya çıkmaktadır. Çoğu kanserojen olan bu maddeler, havada ve sudaki canlılar için son derece zehirlidir. Bu kaygı, çevre koruma yetkililerini bu tehditlere karşı etkili tespit uygulamalarına yöneltmiştir. Gaz kromatografi kütle spektrometresi (GC-MS) ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) gibi teknikler uygun tespit yolları sağlamıştır. Bununla birlikte sensör teknolojisi [133] çevresel analizlerde klasik tekniklere göre çok daha fazla avantaj sunmaktadır. Yüksek hassasiyeti, küçük boyutları, düşük maliyeti ve yüksek sıcaklık, düşük pH gibi sert koşullarda çalışma kabiliyetleri onları çeşitli çevresel kirlenmeler karşısında avantajlı konuma getirmektedir [134].

Sensör, ölçülebilir tayin sinyalini üretmek veya etkileşim işlemini kontrol etmek için fiziksel ve kimyasal uyarılara cevap veren cihazdır [135]. Sensörler sayısız uygulamalarla günlük yaşamımızın ayrılmaz bir parçası haline gelmiştir. Çıkış gerilimi ile sıcaklık değişimine yanıt veren sıcaklık sensörü veya etkileşimli monitör ekranına dokunma duyarlı sensörler günlük kullanımdaki sensörlerdir. Işık, ısı veya basınç gibi dış fiziksel durumlar için oluşturulan sensörler nispeten basit olmasına rağmen hedef uyarılar atom veya moleküllerden gelirse daha karmaşık hale dönüşebilir. Bu tür sensörler, genellikle kimyasal sensörler (kemosensör) ve biyokimyasal sensörler (biyosensör) olarak adlandırılırlar. Kemo- ve biyosensörler seçici olmalı ve gerçek örneklerde karşılaştırıldığında genel komplikasyonlar altında bile analitleri duyarlı bir şekilde tespit edebilmelidir. Genel olarak, ilgilenilen analitin test çözeltisi, farklı derişimlerde girişim yapan maddelerle birlikte bulunur. Böylece, sensörler sadece analitlere karşı seçici olarak cevap vermemeli, aynı zamanda diğer girişim yapan maddelere karşı da duyarsız olmalıdır [136].

2.4.1. Moleküler Baskılanmış Sensörlerin Seçiciliğini Etkileyen Faktörler

Baskılama reaksiyonları, MIP'lardaki fonksiyonel gruplar ve hedef moleküller arasındaki seçici reaksiyonlardır. Baskılama reaksiyonlarının seçiciliği, hiç şüphesiz moleküler baskılanmış sensörlerin seçiciliğinde de önemli bir rol oynamaktadır.

Baskılama reaksiyonları, tersinir kovalent bağlanmaların yanında aynı zamanda hidrojen bağı, iyonik etkileşim, metal-ligand etkileşimi, Pi-Pi kuvvetleri, hidrofobik kuvvetler ve van der Waals kuvvetlerini içeren non-kovalent etkileşimleri içerir. Böylece tersinir kovalent bağların ve non-kovalent etkileşimlerin oluşumunu etkileyen tüm faktörler hedef moleküle karşı MIP'ların tanınmasını etkileyecektir.

Bazı kalıp moleküller, çözücü ve sıcaklık gibi koşullar fonksiyonel grupların yönlenmesinde değişikliğe yol açabilirler. Kovalent bağ oluşum reaksiyonları veya non-kovalent bağ oluşum reaksiyonları belirli yöne sahiptirler. Eğer fonksiyonel grupların yönlenmesi hedef moleküller ile eşleşmez ise, bağlanma gücü ve oranı yüksek oranda etkilenir veya bağlanma reaksiyonları gerçekleşemez [137].

MIP'lar yüksek çapraz bağlı kopolimerlerdir, elektrostatik itme ve sterik engel, hedef molekül ve fonksiyonel gruplar arasındaki reaksiyonları engeller ve bu da MIP'ların kapasitesinde azalmaya hatta seçiciliğinin ve afinitelerinin kaybolmasına yol açar [138].

Çözücülerin polaritesi, dielektrik sabiti, protonasyon ve kompleks oluşturma gibi bazı özellikleri baskılama reaksiyonları üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Bu faktörler moleküler etkileşim vasıtasıyla MIP'ların afinitesini ve seçiciliğini etkiler [139,140]. Çözücü, fonksiyonel grupların inhibitörü olarak davranır ve MIP'lar üzerindeki etkilerini gösterirler. Aynı zamanda hidrojen bağlarının oluşumu gibi zayıf etkileşimlerle kalıp moleküller ve fonksiyonel grupların reaksiyon aktivitesini etkilerler. Özellikle zayıf etkileşimler kendiliğinden düzenlenen moleküllerin oluşmasını belirlerler. Eğer hidrojen bağları ve diğer etkileşim türleri ilk olarak çözücü ile oluşursa, hedef moleküllerin polimerin fonksiyonel gruplarıyla etkileşime girmesi oldukça zorlaşır. Bundan dolayı, kendinliğinden düzenlenen MIP'ların hazırlanması genellikle nonpolar organik çözücülerde gerçekleşir. Son yıllarda, moleküler baskılama teknolojisindeki gelişmelerle çözücü olarak su kullanılması sağlanmıştır [141-143]. Bu çalışmalarda MIP'lar sulu çözeltilerde hazırlanmasına rağmen, sulu fazda kalıp moleküllerini tanıma ve bağlanma yeteneğine sahiptirler. Bu sonuç en azından sulu fazda moleküler baskılama reaksiyonlarının meydana gelebileceğini göstermiştir.

Bir dizi deney, aktif bölgelerin ve fonksiyonel grup sayısının MIP'larda seçiciliği ve afiniteyi büyük ölçüde değiştirdiğini göstermiştir. Genellikle, MIP'larda aktif

bölgelerin sayısı arttıkça hedef moleküllerin seçiciliği ve afinitesi artar [144,145]. MIP'lardaki fonksiyonel grupların sayısı, hedef moleküllerdeki fonksiyonel grupların sayısına bağlıdır.

2.4.2. Moleküler Baskılanmış Sensörler

Moleküler tanıma, birçok biyolojik süreçlerin temel ilkesidir. Biyolojik moleküllerin kendilerine özgü yapıları, doğal hedefleri ile mükemmel biçimde uyumludur. Antibadilerin antijenlerle, enzimlerin substratlarla veya reseptörlerin hormonlarla ilişkisi örnek verilebilir. Bu biyomakromoleküller, biyomedikal ve analitik kimya alanındaki uygulamalarda ve afinite teknolojilerinde tanıma sistemleri olarak kullanılabilirler. Ancak, bunlar mükemmellikten uzaktır. Doğal çevreleri dışında kararsızdırlar ve bundan dolayı standart endüstriyel üretim işlemlerine entegre etmek güçtür. Bundan dolayı hedef moleküllere yüksek afinite ve seçicilikte bağlanma ve tanıma yeteneğine sahip özel yapay reseptörler oluşturmak ve seçici yapıları inşa edebilmek, araştırmacılar için uzun dönem bir hayal olmuştur. Moleküler baskılama yapay reseptörlerin oluşumunda basit bir alternatif yol sunmaktadır.

Moleküler baskılama, fonksiyonel monomerlerin ve çapraz bağlayıcının kendiliğinden düzenlenen bir ön-polimerizasyon esnasında kalıp molekül kullanılarak polimer matrikslerde üç boyutlu spesifik boşlukların oluşturulmasıdır. Polimerizasyon sürecini takiben, kalıp molekülün uzaklaştırılması ile polimerik matrikste, hedef molekülü tekrar bağlama yeteneğine sahip, serbest üç-boyutlu boşluklar meydana gelir.

Böylece MIP hedef moleküllere spesifik bağlanma ve tanıma yeteneğine sahip biyolojik reseptörlerin en önemli özelliklerine sahiptirler. MIP'lar yapısal açıdan, biyolojik reseptörlerden çok farklıdırlar. Örneğin, proteinlerde monomerler (amino asitler) belli bir düzene göre dizilirler ve polipeptit zincirleri ikincil ve üçüncül yapılarına en iyi şekilde düzenlenerek katlanırlar. MIP da ise, monomerler rastgele düzenlenir, zincir uzunluğu kontrol edilemez ve yüksek derecede çapraz bağlayıcı polimerik ağın kaotik yapısına eklenirler. Spesifik bağlanma bölgeleri baskılama işlemiyle oluşturulmasına rağmen, hedef molekül-monomer kompleks oluşumunu düzenleyen denge etkisi ve polimerizasyonun tamamlanmasında polimer zincirinin gelişme dinamiğinden dolayı bu bölgeler sıklıkla heterojendir.

Çoğu heterojen gözenek boyut dağılımı ve bağlanma bölgelerinin yığın olmasından dolayı kütle transferi yavaştır. Boyutlarından dolayı MIP'lar binlerce veya milyonlarca bağlanma bölgesi taşırlar, oysaki biyolojik reseptörler bir veya birkaç bağlanma bölgesine sahiptirler. Her zaman sorun olmamasına rağmen bu özellikler MIP'ların belli bir yerde bulunmasını engeller [146].

Moleküler baskılanmış sensörler için, moleküler baskılanmış polimerler aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır [147].

1. Uygun sertlik: kalıp molekül polimerden uzaklaştırıldıktan sonra boşluklar orijinal şeklini ve boyutunu korumalı,
2. Uygun esneklik: hedef moleküller ve boşluklar arasındaki denge kombinasyon reaksiyonu hızlı bir şekilde meydana gelmeli,
3. Uygun mekanik kararlılık: sensörler her kullanımda ve tekrar kullanımlarda kararlı olmalıdır.

2.4.3. Moleküler Baskılanmış Sensör Türleri

Sensör geliştirilmesinde, kimyasal duyarlı yüzeylerin seçimi en çok dikkate alınması gereken kısmı oluşturmaktadır. Bu nedenle çeşitli doğal ve sentetik malzemeler sensör ara yüzeyine entegre edilebilir. Bu yüzeyler doğal antibadiler [148], kendiliğinden düzenlenen tek tabakalar [149], afinite yüzeyler [150] ve DNA etiketlenmiş biyomoleküller olabilirler [151].

Kaplanan arayüzlere ek olarak, aynı zamanda malzemedeki kimyasal değişimlerin uygun ölçülebilir sinyallere dönüşebileceği dönüştürücülerin tasarımı da önem taşımaktadır. Tayin amacına yönelik dönüştürücüler geniş bir yelpazede mevcuttur. Bunlar potansiyometrik [152], optik [153], kütle duyarlı (MOS) [154], metal oksit yarı iletken aletler [155] ve alan etkili transistörlerdir [156].

Tüm bu yöntemlerin yanı sıra yüksek hassasiyetli ve seçici yapay reseptör yüzeylerinin sentezlenmesinde, moleküler baskılama nispeten yenilikçi bir yaklaşımdır [157]. Bu teknik çok yönlüdür ve bakteri [158], virüs [159], maya hücreleri [160], kan hücreleri [161], enzimler [162] ve pek çok farklı biyoanalite uygulanabilir. Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH'lar) ve herbisitler gibi kararlı yapıya sahip analitlerin varlığında, moleküler baskılama ile önemli hassasiyet ve seçicilik elde edilir.

Sensörlerde yığın baskılanmış polimerler ilk olarak 1992 yılında rapor edilmiştir. Bu çalışma aminoasitlerin, nükleik asitlerin ve kolesterolün baskılanabileceğini göstermiştir [163]. O zamandan beri MIP'ların sensör uygulamalarına yönelik 1200 den daha fazla makale yayınlanmıştır. MIP'ların sensördeki en temel işlevi seçici bağlanmadır. Kalıp molekülün MIP'lara bağlanması kütle (akustik sensör gibi), refraktif indeks (SPR sensörler) veya empedans (elektrokimyasal sensörler) değişiklikleri olarak sensör tarafından kaydedilir. Kalıp molekülün baskılanma bölgesindeki fonksiyonel gruplara bağlanması esnasındaki optik ve elektrokimyasal sinyal üretebilme yeteneğine sahip MIP temelli çok sayıda sensör örnekleri bulunmaktadır [164].

Optik sensörlerin diğerlerine göre bazı önemli avantajları vardır; örneğin daha düşük tayin limitleri ve daha yüksek hassasiyet sağlarlar. MIP'lar optik sensörlerin tasarımında başarılı biçimde kullanılmıştır. Kimyasal duyarlı modern sensörler moleküler tanıma elverişli, organik çözücülere karşı dirençli, zaman içinde kararlı ve hemen hemen her türlü analite uygulanabilir nitelikte olmalıdır. MIP'lar tüm bu koşullarda kullanılabilirdiğinden dolayı doğal antibadiler gibi doğal yarışmacılara göre daha fazla tercih edilmeye başlanmış ve sensör tasarımında ideal arayüzey olarak kabul görmektedirler [165].

2.4.3.1. Optik Sensörler

Optik sensör teknolojisi, biyoteknoloji, çevre kontrolleri, ilaç ve klinik analizler gibi çeşitli önemli uygulama alanlarında kendine yer bulmuştur [166]. MIP'lar, olağanüstü özelliklerinden dolayı optik cihazlara kolaylıkla uygulanabilir. Optik sensörler için kalıp moleküllerin optik özelliklerine bağlı olarak birçok olası tasarım mevcuttur. Eğer analit bazı optik özelliklere sahip ise tanınması MIP'larla gerçekleştirilebilir. Optik dönüştürücülerde, MIP yüzeydeki bağlanma olayları doğrudan ölçülebilir ve elektronik sinyallere dönüştürülebilir. Yüzey malzemenin absorpsiyonunu, yansımalarını veya floresansını içeren optik özelliklerdeki değişiklikler analit etkileşimleri üzerine kaydedilir.

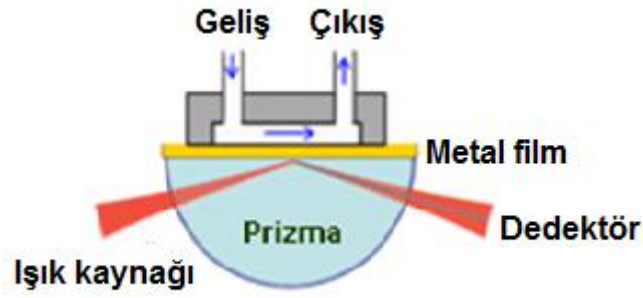
Küçük kalıp moleküllerin MIP immobilize sensör yüzeylerindeki etkileşimi ile oluşan sinyalin büyüklüğü bazı istisnalar [167] dışında genellikle çok yüksek değildir [168]. Böylece, SPR MIP sensörler ile çok düşük tayin limitleri (pM) sağlanmıştır [169]. Başarının anahtarı çip yüzeyinde oluşturulan (100 nm) çok ince polimer kaplamasından kaynaklanmaktadır. Buna ek olarak daha yüksek

duyarlılıkta sensör cevapları, genellikle proteinler gibi daha büyük analitler için sağlanır [170]. Küçük moleküller için sinyal, hedef molekül-polimer etkileşimleri tarafından tetiklenen polimerdeki konformasyonel değişikliklerle güçlendirilebilir [171]. Tayin limitindeki iyileşme, kompleks matrislerdeki sensör uygulamalarının başarısı için önem taşımaktadır. MIP kalınlıklarının ve morfolojisinin kontrolü bu tür cihazlarda esastır [172]. Sensör yüzeyine ince MIP kaplama yollarından biri aşılama yöntemidir [173].

Üç özel nitelik MIP temelli optik sensörleri ticari uygulamalarda cazip bir hale getirmektedir: (1) polimerler oldukça kararlıdır ve otoklavlanabilirler; (2) mikroüretim teknolojisi ile tam olarak uyumludurlar; (3) doğal ve diğer yapay reseptör sistemler ile karşılaştırıldığında maliyeti ucuz ve hazırlanması kolaydır. MIP temelli sensörlere yönelik çok başarılı örnekler bulunmasına rağmen, gelişim ve pazarlama açısından ticari faaliyetleri oldukça düşük seviyededir. Çözülmesi gereken problemler; MIP'ların sudaki düşük performansları, yüksek non-spesifik bağlanma seviyesi ve MIP'ların dönüştürücülere entegrasyonunun zorluğudur. MIP sensör uygulamalarının en umut verici alanları; medikal teşhis ve çevre analizleridir. Ayrıca MIP sensörlerin en önemli beklentilerinden biri savaş alanları ve sivil koşullar altında kimyasal ve biyolojik savaş ajanlarının hızlı ve yerinde (on-site) tayinini sağlayabilmesidir [174].

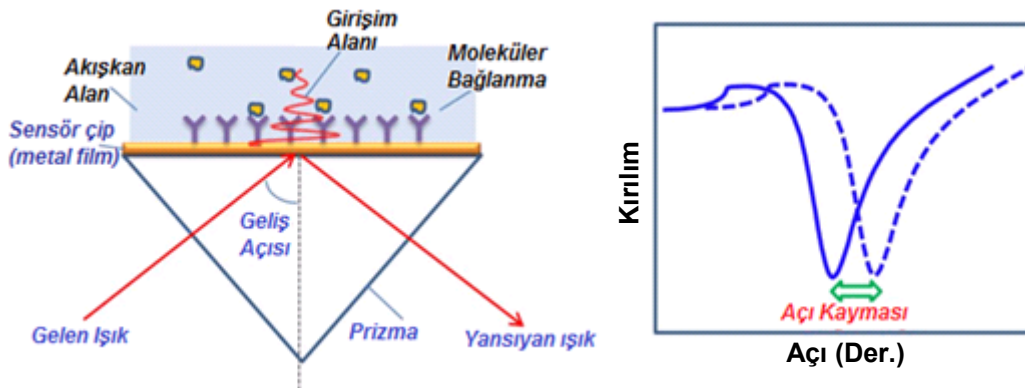
2.4.3.2. Yüzey Plazmon Rezonans (SPR)

Yüzey plazmon rezonans (SPR) fenomeni ilk olarak yirminci yüzyılın başlarında Wood tarafından ortaya atılmıştır. Wood, görünür polarize ışığın metal ızgara üzerine yansıdığı anda ışık ve koyu bantların anormal difraksiyon desenini tespit etmiştir [175]. Daha sonra Otto ve Kretschmann SPR'yi yüzey plazmonların optik uyarılmaları olarak ifade etmişlerdir. Işık toplam refleksiyon koşulları altında cam prizma vasıtasıyla cam üzerindeki yüzey kaplanmış metal film üzerine düşer [176,177]. SPR sinyali refraktif indeksteki değişime karşı hassas olduğunda, SPR bazlı sensörler bağlanma çalışmalarında kullanılabilir. Refraktif indeks metal yüzeyine yakın kütle (moleküller) birikiminden etkilenir [178]. Prensipte SPR sensörler, yüzey plazmonları taşıyan metal film yüzeyinde meydana gelen kırılma indeksindeki değişikliği ölçen, ince film refraktometreleridir. Şekilde 2.10'da enjeksiyon tipi SPR sensör görülmektedir.



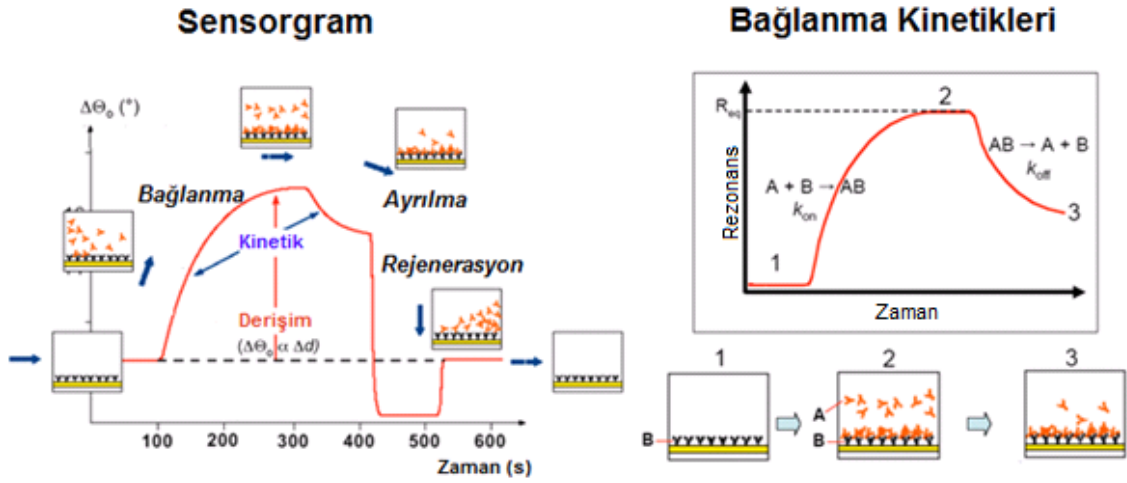
Şekil 2.10. Akış hücreli SPR sensör sisteminin şematik gösterimi [178].

SPR, metal elektronlarının serbest salınımındaki uyarılmaları içeren bir optik olaydır. Işık fotonları tarafından taşınan enerji, metal yüzeydeki elektron paketlerine transfer edilir. Plazmonların optik uyarılması, ışık fotonlarının enerjisi plazmonların kuantum enerji seviyesine tam olarak eşit olduğu anda, sadece uygun rezonans ve zayıflatılmış toplam yansıma (ATR) koşulları altında oluşur. Bu konfigürasyona göre, yüzey plazmonları üretmek için ince metal film ile kaplanmış prizma gereklidir. Prizma üzerine çarpan belirli bir geliş açısındaki ışık ince metal film içine nüfuz eder ve ATR koşulları ile karşılaşır. Bu koşullar plazmon oluşumları için gereklidir ve enerji, fotonlardan metal elektronlara transfer edilir. Geliş açısı ve ışık kaynağının enerjisi ile ilişkili olan elektromanyetik alan, serbest elektronların salınımına bağlıdır. Metal elektronların delokalize olduğu durumlarda ortaya çıkan plazmon oluşumu, metal ve dielektrik ortam arayüzeyde plazmon rezonans dalgası olarak elde edilir (Şekil 2.11). Azalan elektromanyetik alan plazmon rezonans dalgası ile ilişkilidir. Bu azalan dalga alanı, dielektrik ortamda sınırlı penetrasyon derinliğine sahiptir [179].



Şekil 2.11. Dielektrik sınırlarda gerçekleşen toplam iç kırılım [178].

Biyotanıma elementleri yüzey plazmona yardımcı metal film yüzeylere immobilize edilirler. Analit moleküllerini ihtiva eden çözelti, SPR sensör ile temas halinde olduğunda, çözeltideki analit molekülleri moleküler tanıma elementlerine bağlanır ve sensör yüzeyindeki kırılma indeksinde artış meydana gelir. Bu değişim yüzey plazmonun yayılım sabitinin değişmesine neden olur. Yayılım sabitindeki değişim, yüzey plazmon ile etkileşen ışık dalgasındaki herhangi bir özelliğin değişimi ile belirlenir. Bu etki zamana bağlı olarak incelenirse Şekil 2.12'dekine benzer bir sensorgram elde edilir. Şekil 2.12'de görüldüğü gibi, yüzeye analit bağlanması ile rezonans açısı artmaktadır. Desorpsiyon çözeltisinin sisteme verilmesiyle analit, yüzeyden ayrılmaya başlar ve bir süre sonra sinyal tekrar eski seviyesine döner. [180].



Şekil 2.12. Tipik bir SPR biyosensör sensorgramının şematik gösterimi.

SPR sensörler ilk olarak, proteinler gibi büyük moleküllerin adsorpsiyonu için doğal antibadilerin tanıma bölgelerinin keşfi için benimsenmiş ve bu amaçla biyosensörler tasarlanmıştır. Aynı zamanda SPR sensörler baskılanmış polimerler ile kombine edilerek uygulanabilir. Ancak, küçük boyutlu kalıp moleküller kırılma indeksinde önemli biçimde değişikliğe katkıda bulunamadığından dolayı hassasiyet genellikle sınırlıdır. Doğal reseptörlerin aksine, SPR sensörlerin kullanımının en önemli avantajları; sağlamlıkları ve depolama sürelerinin uzun olmasıdır. Ayrıca, performans kaybı olmadan yaklaşık iki ay boyunca sürekli olarak ölçüm gerçekleştirebilir [181].

İntensite modülasyonlu SPR sensörler, tek bir dalga boyu ve geliş açısında, gelen ışık dalgası ve yüzey plazmon arasındaki bağlantının gücünü ölçmeye dayanır. Dalga boyu ve gelen ışık, sensör çıkışı olarak görev yaparlar. SPR (biyo)sensörlerin performansını belirleyen temel özellikleri hassasiyet, doğrusallık, çözünürlük, doğruluk, tekrar kullanılabilirlik, dinamik aralık, hassas tayin ve kuantifikasyon limitidir [182].

2.4.4. Sensörlerin Uygulama Alanları

Endüstriyel, çevresel ve tarımsal atıkların sürekli olarak doğaya bırakılması toksik kirleticilerin yüzey suları ve yer altı suları olmak üzere çevrede önemli bir artışına yol açmıştır [183]. Organik pestisitler, ağır metaller, fenol bileşikleri ve diğer bileşikler gibi birçok madde hayvanlar, bitkiler, mikroorganizmalar ve diğer yaşayan organizmalar için önem arz etmektedir ve bu tür kirleticilerle kirlenen suları kullanan canlılarda ciddi sağlık sorunlarına neden olabilirler [184]. Bu nedenle, akut toksisitelerinden ötürü çevresel bir kaygı oluşturmuş, atık yığınlarındaki kirleticilerin tayini için etkin yöntemler geliştirilmiştir. Bu bileşiklerin belirlenmesi için HPLC, CEC ve GC gibi birçok analitik yöntem yaygın olarak uygulanmaktadır [185]. Buna karşın, bu yöntemler sürekli yerinde izlemeye izin vermeyen, pahalı ve zaman alıcı yöntemlerdir. Ayrıca eğitilmiş personele ihtiyaç vardır ve numune alımları bazen karmaşık hal almaktadır [186]. Bundan dolayı, çevre ve gıda maddelerinde çeşitli toksik bileşiklerin analizinde yeni, güvenilir, tekrarlanabilir ve ucuz yöntemlerin gelişimi, analitik araştırmalar için önem taşımaktadır. MIP sensör teknolojisi yerinde, yararlı ve toksik maddelerin gerçek zamanlı tayinini ve ölçümünü sağladığından çevre ve sağlık uygulamalarında yüksek seçicilikte tanıma ve afinite sağlama potansiyeli ile öne çıkmaktadır.

Moleküler baskılanmış polimerler üstün kararlılık, yüksek seçicilik ve çok iyi mekanik dayanıklılık gösterirler. Ayrıca sıcaklık, asit ve baz koşullarına karşı dirençleri ve bunun yanında düşük maliyet ve hazırlama kolaylığı gibi önemli avantajlara sahiptirler. En önemlisi analiti etkili bir şekilde seçici algılama bileşeni olarak doğal reseptörlerin yerini alabilirler [187]. Daha öncede belirtildiği gibi, enzimler, antibadiler ve DNA gibi biyolojik reseptörler, sensör uygulamalarında kimyasal ve biyokimyasal tanıma elementi olarak kullanıldığında zayıf üretilebilirlik, kararsızlık ve sterilizasyon ile ilişkili problemlerden dolayı birçok doğal sınırlamalara sebep olmaktadır. Bunun aksine, biyotanıma elemanı olarak

kullanılan sentetik reseptörler, biyolojik reseptörlere göre alternatif sergileyebilir [188]. Bundan dolayı, MIP sensörler, uzun depo kararlılığı, potansiyel kullanılabilirlik, mikrobiyal bozulmaya karşı direnç ve seçici reseptörlerin özel sentezi gibi birçok avantaj sunmaları dolayısıyla ve medikal tanı cihazlarında da önemli hale gelmiştir [189].

Sentezlenen polimerler, teşhisten ayırmaya kadar geniş bir uygulama alanı ile uyumludur [190]. Çok çeşitli fonksiyonel monomerlerin mevcut olmasından dolayı, ilgilenilen herhangi bir hedef molekül için MIP tasarlamak artık mümkündür. Moleküler baskılama, sentetik reseptörlerin tasarımında mevcut birkaç üretken teknolojilerden biri olduğu için, sensör teknolojisinde enzimler ve antibadiler gibi kararsız biyolojik moleküller yerine kullanılması ilgi odağı haline gelmiştir. MIP'ların doğal reseptörlere göre avantajları aşağıda listelenmiştir.

Çizelge 2.4. Doğal ve yapay (MIP) reseptörlerin sensörlerde kullanımının karşılaştırılması

Doğal biyomoleküller	MIP'lar
Düşük kararlılık	Düşük/yüksek pH'larda ve sıcaklıklarda kararlılık (<140°C)
Enzimlerin ve reseptörlerin yüksek maliyeti	Ucuz ve hazırlanması kolay
Susuz ortamda kötü performans	Organik çözücülerde kullanılabilir
Farklı doğal biyomoleküller farklı gereksinimlere sahiptir (pH, iyonik güç, sıcaklık, substrat)	Aynı ortamda farklı hedef moleküller için çalışabilir
Bazı önemli doğal reseptörler ve enzimler yoktur ve antibadiler hazırlanamaz	Hemen her bileşik için polimerler hazırlanabilir
Minyatürizasyon ve mikroişlem teknolojilerde zayıf uyumluluk	Mikroişlem teknolojisi ile tam olarak uyumludur

SPR biyosensörler medikal teşhisler, çevresel izleme, savunma ve gıda güvenliği dahil olmak üzere çok sayıda önemli alanlarda uygulanmıştır. SPR sensörlerde, kimyasal ve biyolojik analitlerin tayini için çeşitli biçimler uygulanmıştır [191,192]. Tayin biçimi hedef molekülün boyutu, mevcut biyomoleküller tanıma elementinin

bağlanma karakteristiği, ölçülecek analitin derişim aralığı ve örnek matriks temel alınarak seçilir. En sık kullanılan tayin biçimleri i) doğrudan tayin yöntemi, ii) sandviç tayin yöntemi, iii) yarışmalı tayin yöntemi ve iv) inhibisyon tayin yöntemidir (Şekil 2.13).

Doğrudan tayin yönteminde, sensör yüzeyinde biyotanıma elementi (antikor) bulunur. Çözeltideki analit, yüzeydeki biyoelemente bağlanır ve kırılma indeksindeki değişim SPR sensör tarafından tespit edilir (Şekil 2.13i). Doğrudan tayin genellikle yeterli yanıt oluşturan ilgili derişimdeki analitin doğrudan bağlandığı uygulamalarda tercih edilir. Spesifiklik ve LOD, sandviç tayin yöntemi kullanılarak sağlanır ve burada analiti yakalayan sensör yüzeyi ikinci bir antibadi ile inkübe edilir (Şekil 2.13ii). Yarışmalı tayin yönteminde, sensör yüzeyi analit ile etkileşen bir antikor ile kaplanır; konjuge analit numuneye eklendiğinde, analit ve konjuge analog yüzeyde sınırlı sayıdaki bağlanma bölgeleri için yarışır (Şekil 2.13iii). İnhibisyon tayin yönteminde, analit için afinitesi olan sabit derişimdeki antikor, bilinmeyen derişimdeki analiti içeren numune ile karıştırılır. Daha sonra karışım analit veya analog immobilize edilmiş SPR sensör yüzeyinden geçirilir (Şekil 2.13iv) [193].

SPR sensörlerin bazı uygulama alanları şu şekilde özetlenebilir.

- Gıda

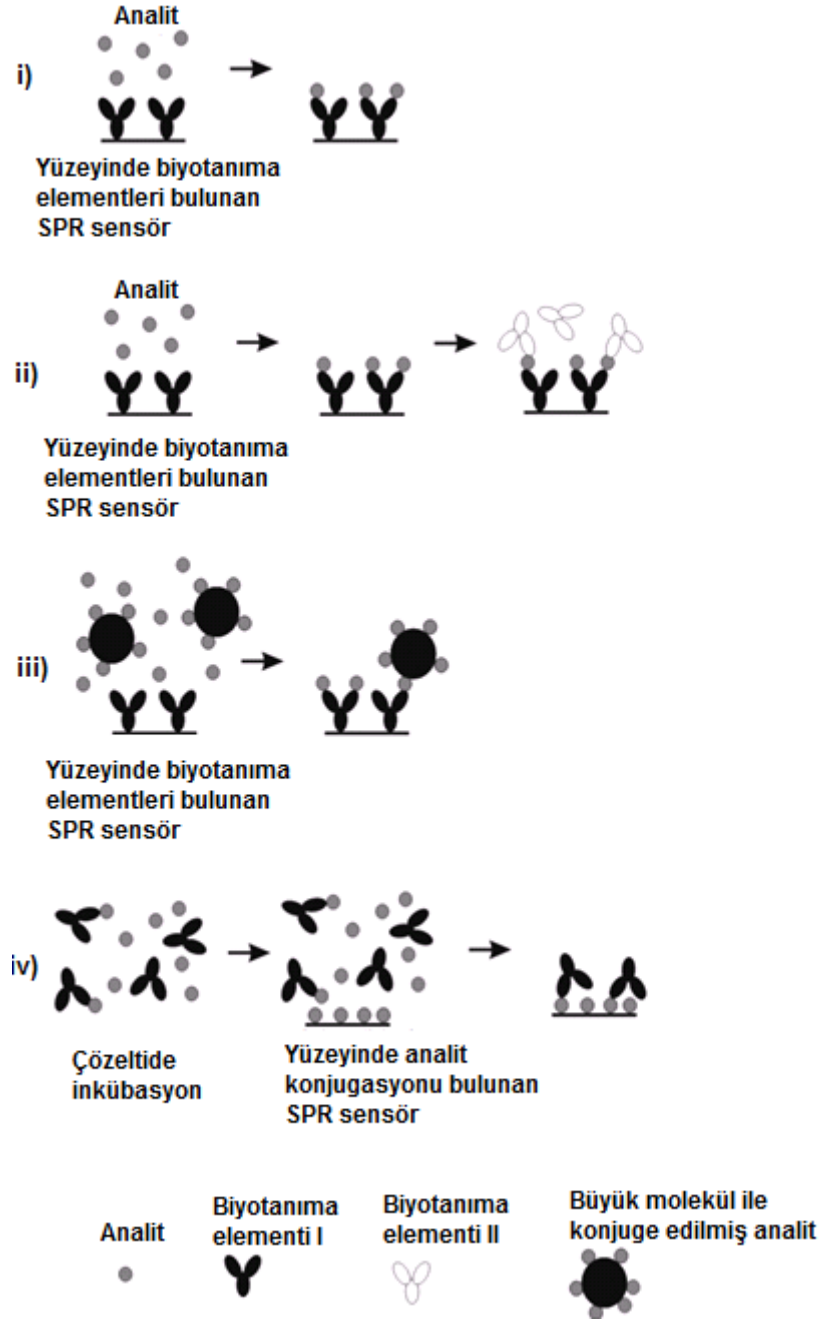
SPR biyosensör teknolojisinin gıda analizlerinde kabulü artmaya devam ettikçe, gıda kalitesi ve güvenliği ile ilgili analitlerin tayinine yönelik SPR biyosensörlerle ilişkili çok sayıda yayın rapor edilmektedir [194,195]. Hedef analitler patojenler, toksinler, ilaç artıkları, vitaminler, hormonlar, antibadiler, kimyasal kirlilikler, alerjenler ve proteinlerdir.

- Medikal teşhis

Terapötik müdahale için normal biyolojik ve patojenik işlemleri ve farmakolojik tepkileri belirleyen hızlı, hassas ve moleküler biyoişaretçilerin spesifik tayini modern biyoanalitlere önemli bir hedef sunmaktadır [196,197]. SPR biyosensörler kanser işaretçileri, alerji ajanları, kalp krizi işaretçileri, antibadiler, ilaçlar ve hormonlar gibi medikal teşhis ile ilgili analitlerin tayininde kullanılabileceğini göstermiştir.

- Çevresel analizler

SPR biyosensörlerin hedefindeki çevresel endişe yaratan analitler; özellikle pestisitler, aromatik hidrokarbonlar, ağır metaller, fenol, poliklorlu bifeniller ve dioksanlar olarak sıralanabilir [198,199].



Şekil 2.13. SPR biyosensörlerde kullanılan temel tayin yöntemleri: i) doğrudan tayin yöntemi, ii) sandviç tayin yöntemi, iii) yarışmalı tayin yöntemi ve iv) inhibisyon tayin yöntemi.

3. MALZEME VE YÖNTEMLER

3.1. Kimyasal Malzemeler

Kalıp molekül olarak kullanılan benzo[a]piren (BaP), benzo[b]floranten (BbF), benzo[k]floranten (BkF), indeno[1,2,3-cd]piren (IcdP), 1-naftol, 2-hidroksietil metakrilat (HEMA), etilen glikol dimetakrilat (EGDMA), L-fenilalanin hidroklorür, metakriloil klorür, N,N'-metilen-bis(akrilamid) (MBAAm), amonyum persülfat (APS), N,N'-azobis-izobütironitril (AIBN) ve N,N,N',N'-tetrametilen diamin (TEMED) Sigma-Aldrich (St. Louis, ABD) sağlanmıştır. Asetonitril (HPLC için uygun saflıkta), potasyum bromür, sodyum klorür, diklorometan, trietilamin ve sodyum hidroksit ise Merck (Darmstadt, Almanya)'den sağlanmıştır. Deneyler sırasında kullanılan sular Barnstead (Dubuque, IA) ROpure LP® ters ozmoz ünitesi selüloz asetat membranlı (Barnstead D2731) ve Barnstead D3804 NANOpure® organik/kolloid uzaklaştırıcı, iyon değişimli ultra saf su cihazından sağlanmıştır. Kullanılan cam malzemeler gece boyu % 5'lik nitrik asit çözeltisinde tutulmuş ve kullanılmadan önce deiyonize su ile durularak tozsuz bir ortamda kurutulmuştur.

3.2. Deneysel Yöntemler

3.2.1. N-Metakriloil-L-fenilalanin (MAPA) Monomerin Sentezi

N-Metakriloil-L-fenilalanin (MAPA) monomeri literatüre uygun şekilde sentezlenmiştir [77]. Uygulanan yöntem kısaca şöyledir: 5.0 g L-fenilalanin ve 0.2 g hidrokinon, 100 mL diklorometan (CH₂Cl₂) çözeltisi içerisinde çözülmüştür. Çözelti 0°C'de soğutulmuştur. 12.7 g trietilamin bu çözeltiliye ilave edilmiştir. 5.0 mL metakriloil klorür yavaşça bu çözeltinin üstüne dökülmüştür. Bu reaksiyon karışımı azot atmosferi altında manyetik karıştırıcı ile 2 saat oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Kimyasal reaksiyonun sonunda, reaksiyona girmeyen metakriloil klorür, % 10'luk NaOH çözeltisi ile özütleme işlemi yapılmıştır. Sulu faz, döner buharlaştırıcıda uzaklaştırılmış ve kalan katı kısım etanolde çözülmüştür.

3.2.2. Ön-Polimerizasyon Kompleksinin Hazırlanması ve Karakterizasyonu

BaP (kalıp molekül) ve fonksiyonel monomer MAPA Çizelge 3.1'de verilen oranlarla toluen içeren tüplerde oda sıcaklığında 2 saat karıştırılmıştır. Elde edilen ön-kompleks karakterizasyonu, bilgisayar kontrollü Shimadzu RF-5301 PC (Shimadzu Corp. Kyoto, Japonya) marka spektrofotometre kullanılarak

belirlenmiştir. Farklı monomer oranlarında hazırlanan örneklerin 200-800 nm dalga boyu aralığında spektrumları alınmıştır.

Çizelge 3.1. MIP’da kullanılan ligand/monomer oranları

Kompleks	BaP (μmol)	MAPA (μmol)
0	-	100
1	100	-
2	100	100
3	100	200
4	100	300

3.2.3 Moleküler Baskılanmış Polimerlerin Hazırlanması

BaP baskılanmış polimerlerin hazırlanmasında, yığın polimerizasyon yöntemi uygulanmıştır. Çalışmanın bu aşamasında 3 farklı polimer hazırlanmıştır: (i) fonksiyonel monomer içermeyen poli(HEMA) (Polimer Kodu: HEMA); (ii) sadece fonksiyonel monomer içeren, moleküler baskılama yapılmamış poli(HEMA-MAPA) (Polimer Kodu: NIP) ve (iii) fonksiyonel monomer-BaP kompleksi içeren, moleküler baskılanmış poli(HEMA-MAPA) (Polimer Kodu: MIP) polimerler. Yığın polimerizasyon yöntemi, MIP’lar için şu şekilde özetlenebilir: monomer fazı olarak 2-hidroksietil metakrilat (HEMA, 1.0 mL), etilen glikol dimetakrilat (EGDMA, 0.5 mL) ve BaP-MAPA kompleksi (0.5 mL) karıştırılmış ve homojen çözelti elde edilene kadar sonikatörde bekletilmiştir. Ortama gözenek oluşturucu ve seyreltme ajanı olarak toluen (1.5 mL) eklenmiş ve 30 dakika manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır (150 rpm, oda sıcaklığı). Polimerizasyon reaksiyonu, 20 mg AIBN eklenerek başlatılmış ve 3 saat 55°C’de daha sonra 3 saat 75°C’de sıcaklık kontrolü ile su banyosunda gerçekleştirilmiştir. Elde edilen polimerler, Retsch MM 200 marka (Düsseldorf, Almanya) bilyeli değirmen kullanılarak öğütülmüştür. Daha sonra Retsch marka elek sistemi kullanılarak, elde edilen öğütülmüş polimerlerden 64-71 μm boyut aralığındaki partiküller ayrılmış ve sonraki aşamalarda kullanılmıştır. Baskılanmamış (NIP) ve fonksiyonel grup içermeyen polimerler

(HEMA), aynı reçete ile ön-polimerizasyon kompleksi yerine fonksiyonel monomer (MAPA) eklenerek elde edilmiştir.

3.2.4. Kompozit Kartuşların Sentezi

Çalışmanın bu bölümünde sekiz farklı kompozit kartuş, monolitik kriyojel kolon formatında hazırlanmıştır (Çizelge 3.2). BaP kompozit kartuşlar hazırlanırken uygulanan yöntem kısaca şu şekildedir: N,N-Metilen bisakrilamid (0.283 g), suda çözülmüştür (10 mL). HEMA (1.30 mL), suda (3.7 mL) çözülerek daha önce hazırlanmış MBAAm çözeltisine eklenmiştir. Bu çözeltiliye, BaP baskılanmış partiküller eklenerek sonikatörde 15 dakika karıştırılmıştır. Polimerleşme tepkimesinin gerçekleşmesi için başlatıcı ve aktivatör çiftleri olarak kullanılan 20 mg amonyum persülfat (APS) ve 25 µL N,N,N',N'-tetrametiletildiamin (TEMED) eklenmiştir. Polimerizasyon, -12°C'da 24 saatte gerçekleştirilmiştir. BaP-MIP kompozit kartuşların içerdiği moleküler baskılanmış partikül miktarının etkisinin incelenmesi amacıyla 4 farklı miktarda MIP partikül içeren BaP-MIP kompozit kartuşlar hazırlanmıştır. Bu süre sonunda hazırlanan BaP-MIP kompozit kartuşlar, oda sıcaklığına getirildikten sonra reaksiyona girmemiş monomerler ve diğer artıklar polimerik yapıdan su ile yıkanarak uzaklaştırılmıştır. Kalıp moleküllerin (BaP) uzaklaştırılması için asetonitril çözeltisi (asetonitril:H₂O; 80:20) kullanılmıştır. BaP-MIP kompozit kartuşlar oda sıcaklığında 48 saat süre ile asetonitril çözeltisi ile yıkanmıştır. Bu işlem, kalıp molekül (BaP) kalmayana kadar devam etmiştir. BaP varlığı, 280 nm dalga boyunda yapılan spektrofotometrik ölçümlerle gerçekleştirilmiştir. BaP-MIP kompozit kartuşlar, mikrobiyal kirlenmeyi önlemek için % 0.01 sodyum azür içeren çözeltide şişirilmiş ve buzdolabında saklanmıştır.

Çizelge 3.2. Kompozit kartuşların içerikleri ve polimer kodları

Polimer Kodu	BaP-MIP kompozit kartuşların içerdiği partikül türü/miktarı	Grup*
BaP-MIP-1	MIP, 25 mg	
BaP-MIP-2	MIP, 50 mg	
BaP-MIP-3	MIP, 100 mg	A
BaP-MIP-4	MIP, 200 mg	
BaP-MIP-5	MIP, 50 mg	B
BaP-MIP-6	MIP, 50 mg	C
NIP	NIP, 50 mg	D
HEMA	HEMA, 50 mg	E

*A: Kalıp molekül/monomer oranı (1:2) olan baskılanmış polimerler; B: kalıp molekül/monomer oranı (1:1) olan baskılanmış polimerler; C: kalıp molekül/monomer oranı (1:3) olan baskılanmış polimerler; D: MAPA içeren baskılanmamış kompozit kartuşlar; E: MAPA içermeyen baskılanmamış kompozit kartuşlar.

3.2.5. Kompozit Kartuşların Karakterizasyonu

3.2.5.1. Şişme Testi

Kompozit kartuşların denge şişme oranının belirlenmesinde aşağıda verilen yöntem izlenmiştir. Kurutulmuş kompozit kartuşlar, ± 0.0001 g duyarlılıkla tartılmış ve 50 mL saf su içeren behere konulmuştur. Kompozit kartuşlar, 24 saat sonunda sudan alınmış ve süzgeç kağıdı yardımı ile yüzeydeki su uzaklaştırılarak tartılmıştır.

Aşağıdaki eşitlik yardımı ile de su içerikleri belirlenmiştir.

$$\text{Şişme oranı (\%)} = [(W_s - W_0) / W_0] \times 100 \quad (3.1)$$

W_0 ve W_s sırası ile kompozit kartuşların şişmeden önceki ve sonraki ağırlıklarını (g) ifade etmektedir.

Kompozit kartuşların makrogözeneklerinin miktarının belirlenmesi için ise aşağıda verilen yöntem uygulanmıştır.

İlk olarak denge şişme oranına ulaşmış olan örnekler tartılmıştır. Daha sonra örnekler bir enjektör içerisine alınarak, makrogözenekler içerisinde bulunan suyun uzaklaştırılması için kompozit kartuşlar enjektör yardımıyla sıkılmış ve tartılmıştır.

Makrogözenek miktarı ise aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Makrogözenek miktarı (\%)} = [(W_1 - W_2) / W_1] \times 100 \quad (3.2)$$

Bu eşitlikte W_1 denge şişme oranına ulaşmış kompozit kartuşların ağırlığını (g) ifade ederken, W_2 denge şişme oranına ulaşmış kompozit kartuşların sıkdıktan sonraki ağırlığını (g) ifade etmektedir.

3.2.5.2. Taramalı Elektron Mikroskobu

Kompozit kartuşların yüzey ve yığın yapısı, yüksek büyütme sağlaması nedeniyle taramalı elektron mikroskobu (SEM) (JEOL, JSM 5600, Tokyo, Japonya) ile incelenmiştir. Bu amaçla vakum altında (50 mbar) liyofilizatörde (Christ Freeze Dryer-Alpha 1-2 LD, Marilend, Amerika) kurutulmuş kompozit kartuş kesitleri iletken bir yapıştırıcıyla SEM örnek plakası üzerine tutturulmuştur. Daha sonra örnek yüzeyi vakum altında 200 Å kalınlığında metalik altın ile kaplanarak yüzey iletken hale getirilmiştir. Hazırlanan örnekler SEM örnek yuvasına yerleştirilerek çeşitli büyütme oranlarında fotoğrafları çekilmiştir.

3.2.5.3. FTIR Analizi

Kompozit kartuşların yığın yapısı FTIR (Spectrum One™, Perkin Elmer, Massachusetts, ABD) ile incelenmiştir. Analizden önce kompozit kartuşlar, vakum etüvünde (37°C, 200 mmHg) 24 saat kurutulmuştur. FTIR spektrumlarının elde edilmesi amacıyla 2 mg kompozit kartuş örneği, 98 mg KBr ile karıştırılarak havanda dövülmüş ve hidrolik preste 600 kg/cm² basınçta 10 dakika bekletilerek ince bir tablet haline getirilmiştir. Hazırlanan tabletin 4000-400 cm⁻¹ dalga sayısı aralığında spektrumu FTIR cihazında alınmıştır.

3.2.5.4. Elementel Analiz

Hazırlanan hidrofobik ligand içeren ve içermeyen kompozit kartuş örneklerinin elementel analizleri gerçekleştirilerek, hidrofobik kompozit kartuşların yapısına katılan MAPA miktarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Elementel analiz cihazının (Thermo Scientific FLASH 2000 Serisi CHNS/O Analyzer, Cambridge, UK) kalay kapsül örnek hücrelerine, 1.5 mg kriyojel, ± 0.1 mg duyarlılıkla tartılarak yerleştirilmiş ve örnek cihaza konularak yakma işlemi sonucunda örneğin % azot (N), karbon (C) ve hidrojen (H) analizi yapılmıştır.

3.2.6. Kompozit Kartuşlarla Ön-Deriyirme Koşullarının Optimizasyonu

Hazırlanan kompozit kartuşların optimizasyonu üç ana başlıktan oluşmaktadır. İlk olarak kompozit kartuşlar adsorpsiyon çalışmaları için uygun tampon kullanılarak 10 dakika ile dengeye getirilir. Daha sonra dengeleme tamponu santrifüjlenerek uzaklaştırılır. İkinci olarak deneylerde kullanılan BaP toplam standart çözeltileri, ana stok çözeltisinin (1000 ng/mL) seyreltilmesi (asetonitril:H₂O; 90:10) ile hazırlanır ve kompozitler BaP çözeltileri ile 10 dakika etkileştirilir. Bu süreçten sonra tekrar santrifüjleme işlemi gerçekleştirilir ve BaP adsorpsiyon örnekleri toplanır. Adsorpsiyon sonrası seçici olarak etkileşen moleküllerin uzaklaştırılması için 2.5 mL desorpsiyon çözeltisi (asetonitril:H₂O; 80:20) ile elüsyon işlemi gerçekleştirilir. Rejenerasyon işlemi ise 2.5 mL su ve 2.5 mL tampon çözeltisi kullanılarak gerçekleştirilir.

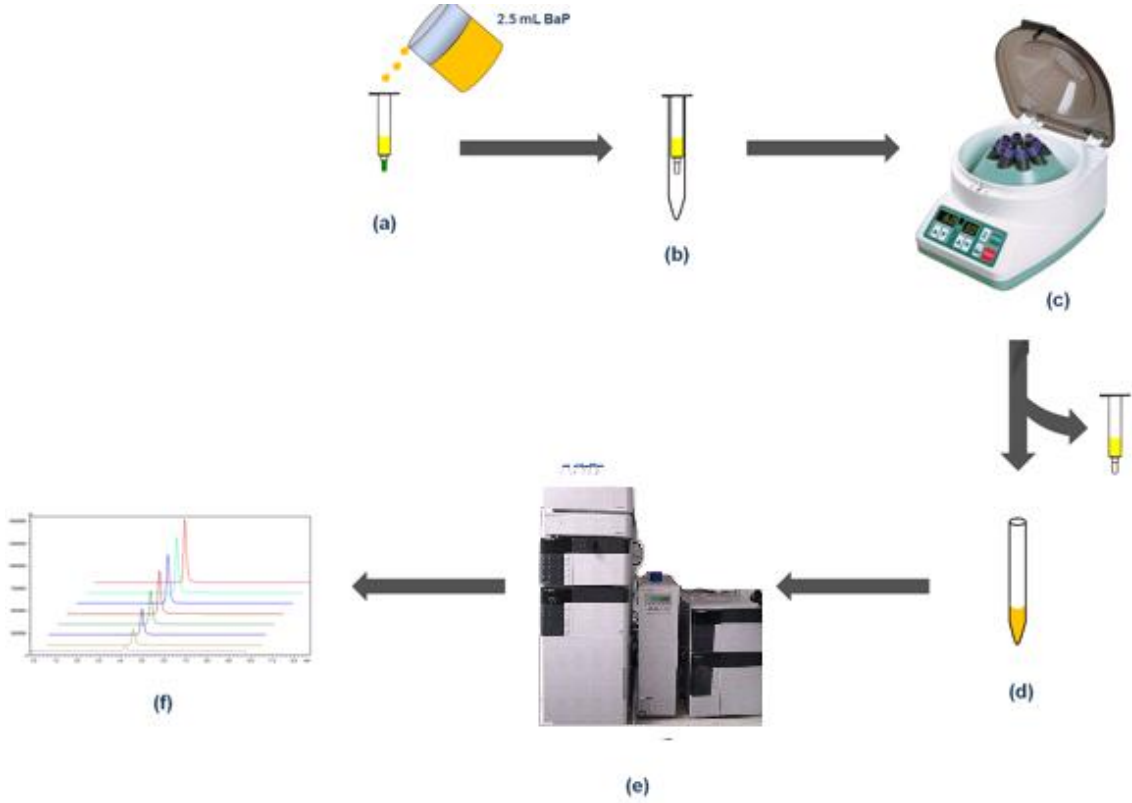
BaP-MIP kompozit kartuşların adsorpsiyon dinamiklerinin belirlenmesi için deriyim, pH, sıcaklık, iyonik şiddet, santrifüj hızı ve kompozit kartuşların içerdiği partikül miktarı gibi adsorpsiyona etki eden faktörler incelenmiştir. BaP deriyiminin etkisini belirlemek amacıyla; yükleme çözeltisindeki BaP moleküllerinin miktarı 100-800 µg/L aralığında değiştirilmiştir. Yükleme tamponunun pH değerinin adsorpsiyona etkisini belirlemek amacıyla 100 mM deriyiminde asetat tamponu (pH 4.0-5.0), fosfat tamponu (pH 6.0-8.0) ve karbonat tamponu (pH 9.0-10.0) kullanılmıştır. BaP-MIP kompozit kartuşlar hazırlanırken, malzemenin içereceği moleküler baskılanmış partiküllerin miktar optimizasyonu için farklı miktarda partikül içeren (25-200 mg) kompozit kartuşlar hazırlanmış ve adsorpsiyon deneylerinde kullanılmıştır. Adsorpsiyon koşullarının optimizasyon çalışmalarında adsorpsiyon öncesi, yıkama, elüsyon ve rejenerasyon çözeltilerinden örnekler alınarak içerdiği BaP miktarları belirlenmiştir. Ayrıca nicel tekrarlanabilirlik ve geri kazanım değerleri de

hesaplanarak raporlanmıştır. BaP miktarlarının belirlenmesi amacıyla yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) sistemi kullanılmıştır (Shimadzu Corp., Kyoto, Japonya). Kullanılan sistemde CBM-20A Lite model sistem kontrol ünitesi, LPGE ünitesi içeren LC-20AT model pompa, SIL-20AHT model otomatik enjeksiyon ünitesi, CTO-10ASVP model kolon fırını, RF-20A model floresan dedektör sistemi bulunmaktadır. Sıvı kromatografi sisteminde ayırma işlemi için Pinnacle II PAH kolon (Pinnacle II PAH, 5 x 3.2 mm, 4.0 µm) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hareketli faz olarak asetonitril:su (90:10) içeren çözelti kullanılmıştır. Akış hızı, 0.6 mL/dk; kolon sıcaklığı, 25°C; örnek yükleme hacmi, 10 µL ve dedektör dalga boyları ise 290 nm (uyarılma) ve 430 nm (yayılma) olarak uygulanmıştır. Yöntemin ayrıntıları Çizelge 3.3'de verilmiştir.

Çalışmalar sırasında elde edilen bütün çözeltilerin (adsorpsiyon ve desorpsiyon çözeltisi) HPLC sistemine enjeksiyonu yapılmış, ilgili kromatogramlar analiz edilerek ilgili konu başlıklarının altında verilmiştir.

Çizelge 3.3. HPLC parametreleri

HPLC Parametreleri	
Hareketli Faz	Asetonitril:Su çözeltisi (90:10)
Kolon	Pinnacle II PAH, 5x3.2 mm, 4.0 µm
Enjeksiyon Hacmi	10 µL
Akış Hızı	0.6 mL/dk
Çözücü Gradient Programı	İzokratik gradient programı, Asetonitril:Su çözeltisi (90:10), 10 dakika
Kolon Fırını Sıcaklığı	25°C



Şekil 3.1. PAH ön-deriştirilmesinde uygulanan adsorpsiyon-desorpsiyon deney düzeneğinin şematik gösterimi: (a) örnek beslemesi; (b) santrifüj aparatı; (c) santrifüj; (d) toplama kabı; (e) HPLC sistemi ve (f) örnek kromatogram.

3.2.7. Kompozit Kartuşların Seçicilik Deneyleleri

Hazırlanan BaP-MIP kompozit kartuşların seçiciliğinin gösterilmesi amacıyla hazırlanan üç farklı kompozit ile BaP adsorpsiyon uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Ayrıca BaP baskılanmış kompozit kartuşların (BaP-MIP-2), seçicilik sabitleri, BaP'ların, benzo[b]floranten (BbF), benzo[k]floranten (BkF), indeno[1,2,3-cd] piren (IcdP) ve 1-naftol ile yarışmalı adsorpsiyon çalışmaları hem tekli hem de çoklu karışım çözeltileri kullanılarak hesaplanmıştır (Eşitlik 3.3, 3.4, 3.5 ve 3.6). Adsorpsiyon yöntemi Bölüm 3.2.6'da anlatıldığı gibi uygulanmıştır.

$$K_d = \left[\frac{C_i - C_f}{C_f} \right] \times \frac{V}{m} \quad (3.3)$$

$$k = \frac{K_{d(\text{Baskılanmış})}}{K_{d(\text{Kontrol})}} \quad (3.4)$$

Eşitlikte K_d , dağılıma katsayısını (mL/g); C_i ve C_f , PAH'ların başlangıç ve sonuç derişimlerini ($\mu\text{g/L}$); V , kullanılan çözelti hacmini (mL) ve m , kompozitin ağırlığını (g) ifade etmektedir.

Yarışmacı türler varlığında PAH'ların bağlanması için seçicilik katsayısı Eşitlik 3.3'e göre denge bağlanma verilerinden elde edilebilir.

Baskılanmış adsorbentle diğer PAH'ların bağıl seçicilik katsayısı (k') değerleri baskılama seçiciliğı hakkında yorum yapılmasına olanak verir. Bağıl seçicilik katsayı değerleri hem NIP hem de HEMA kodlu kompozit kartuşlara göre aşağıdaki eşitlikler ile tanımlanır:

$$k' = \frac{K_{d(\text{BaP-MIP-2})}}{K_{d(\text{NIP})}} \quad (3.5)$$

$$k'' = \frac{K_{d(\text{BaP-MIP-2})}}{K_{d(\text{HEMA})}} \quad (3.6)$$

3.2.8. Kompozit Kartuşların Ön-Deriştirme Deneyleri

Kompozit kartuşların etkinliğinin değerlendirilmesi amacıyla ön-deriştirme deneyi gerçekleştirilmiştir. Adsorpsiyon çalışmalarında verilen yol izlenmiş; fakat adsorpsiyon işleminden farklı olarak uygun derişimdeki 4 mL BaP özeltisi kompozit kartuş (BaP-MIP-2) ile etkileştirildikten sonra desorpsiyon aşamasında elüsyon hacmi 1 mL olarak değiştirilmiştir.

3.2.9. Kompozit Kartuşların Desorpsiyon ve Tekrar Kullanılabilirliği

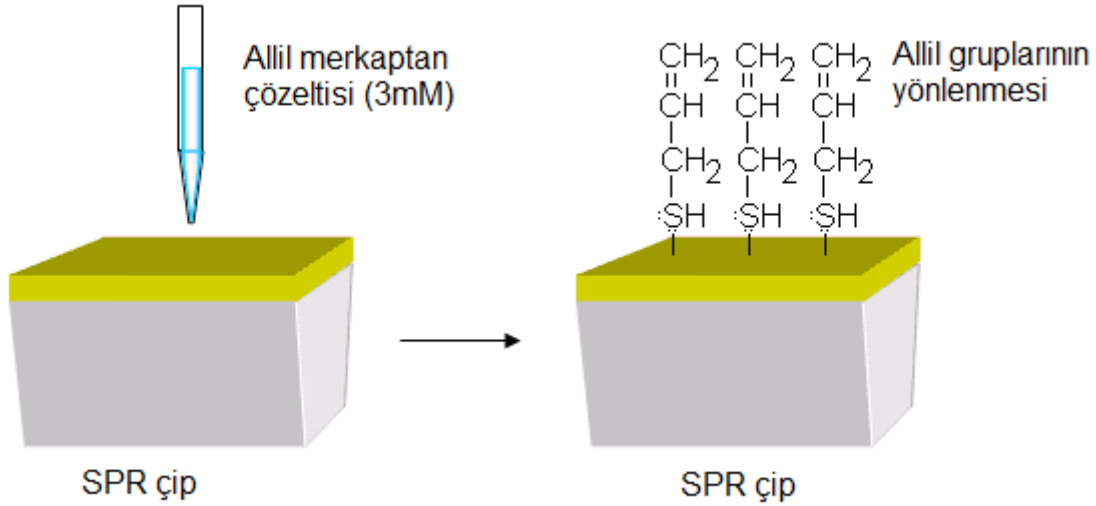
Hazırlanan kompozit kartuşların tekrar kullanılabilirliğinin gösterilmesi amacıyla hazırlanan üç farklı kompozit kartuş ile desorpsiyon uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Kompozit kartuşlara uygulanan BaP desorpsiyonu asetonitril:su (v/v, 80:20) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Desorpsiyon oranı adsorplanan ve desorbe olan BaP miktarından aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlenmiştir. Kompozit kartuşların tekrar kullanılabilirliklerini belirlemek amacıyla aynı kompozit kartuş ardışık olarak tekrarlanan 10 adet adsorpsiyon-desorpsiyon işlemine tabi tutulmuştur. Deneysel yöntem yukarıda verildiği gibi uygulanmıştır. Desorpsiyon işlemi sonrasında kompozit kartuşlar rejenerasyon ve sterilizasyon amacıyla 50 mM NaOH özeltisi ve deiyonize su ile yıkanmıştır.

$$\text{Desorpsiyon (\%)} = \frac{\text{Desorpsiyon ortamına salınan BaP}}{\text{Adsorplanan BAP}} \times 100 \% \quad (3.7)$$

3.3. Yüzey Plazmon Rezonans Nanosensörler

3.3.1. Yüzey Plazmon Rezonans Çiplerin Allil Merkaptan ile Yüzey Modifikasyonu

SPR çiplerinin altın kaplı yüzeyi, allil merkaptan ($\text{CH}_2\text{CHCH}_2\text{SH}$) ile modifiye edilmeden önce altın yüzey asidik pirana çözeltisi (3:1 $\text{H}_2\text{SO}_4:\text{H}_2\text{O}_2$, v/v) ile temizlenmiştir. Asidik pirana çözeltisi (20 mL) içerisine daldırılan çip, 20 saniye çözelti içerisinde bekletilmiştir. Çözeltiden çıkarılan çip, deiyonize su ve saf etil alkol ile yıkanmış ve vakum etüvünde (200 mmHg, 40°C) 3 saat kurutulmuştur. Yüzeyi temizlenen SPR çipler, 3 mM allil merkaptan içeren etanol:su (4:1, v/v) çözeltisine daldırılmış ve 12 saat bekletilmiştir. Allil merkaptan çözeltisinden alınan SPR çipler, saf alkol ile yıkanmış ve vakum etüvünde azot atmosferinde kurutulmuştur (200 mmHg, 40°C). Modifikasyon sonucunda altın kaplı SPR çip yüzeylerine allil grupları kendiliğinden düzenlenen tek tabakalar olarak yerleştirilmiştir (Şekil 3.2).

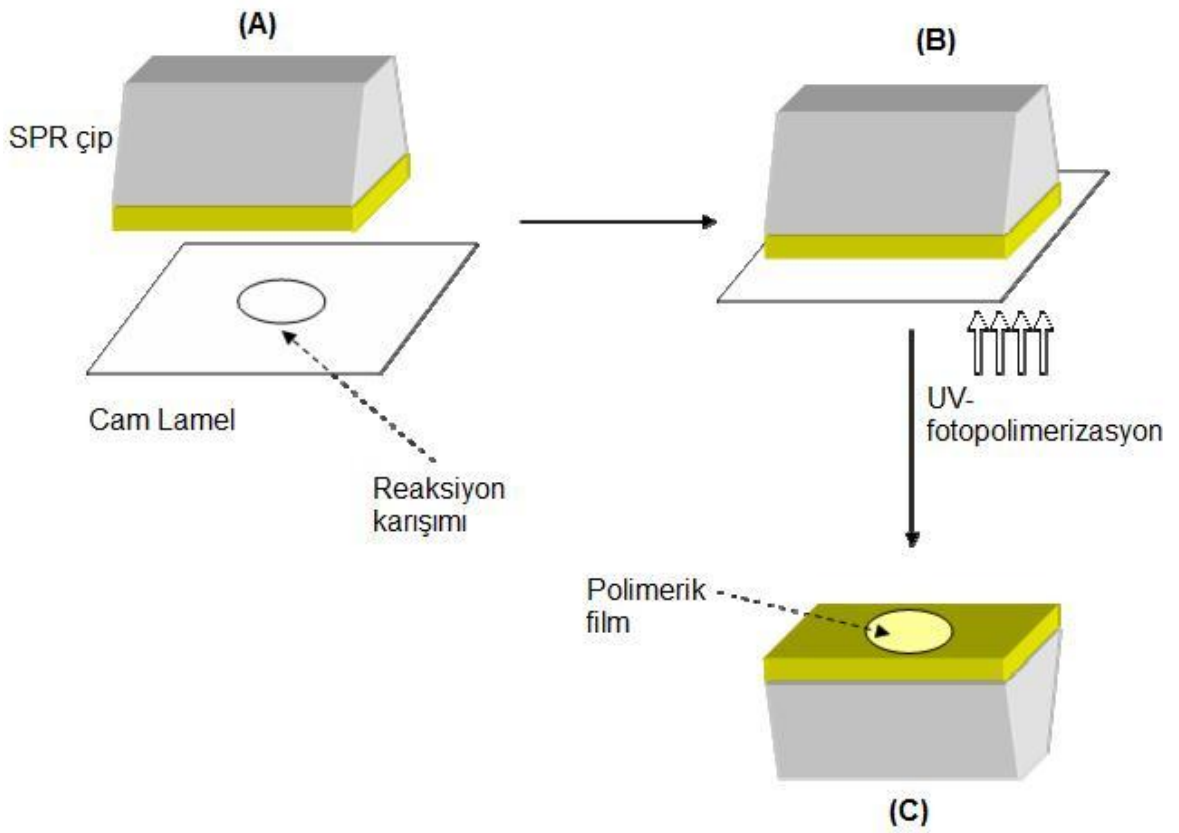


Şekil 3.2. SPR çiplerin allil merkaptan ile modifiye edilmesi ve allil grupların yönlenmesi.

3.3.2. Yüzey Plazmon Rezonans Çip Yüzeyinde Polimer Hazırlanması

Allil merkaptan ile modifiye edilmiş SPR çiplerinin altın kaplanmış yüzeylerinde BaP baskılanmış polimerler aşağıda belirtilen şekilde hazırlanmıştır: bir tüp içerisinde (uzunluk 5 cm x iç çapı 1 cm) BaP-MAPA ön-kompleks molekülü (100:200 μmol) hazırlanmıştır. 0.1 mL HEMA, 0.4 mL EGDMA içerisinde 5 mg azobisizobütironitril (AIBN) çözülerek monomer çözeltisi hazırlanmış ve ön-kompleks monomer karışımı bu çözelti içerisine ilave edilerek stok reaksiyon

çözeltisi hazırlanmıştır. Reaksiyon karışımından azot gazı geçirilerek çözünmüş haldeki oksijen ortamdaki uzaklaştırılmıştır. Daha sonra reaksiyon karışımından 2.5 µL numune alınarak trimetilklorosilan kaplanmış bir cam lamel üzerine damlatılmıştır. SPR çip bu çözelti üzerine ters çevrilerek konulmuştur. Polimerizasyon UV ışığı (100 W, 365 nm) ile başlatılmış ve oda sıcaklığında azot atmosferinde 30 dakika sürdürülmüştür. Polimerizasyon işleminden sonra cam lamel SPR çip yüzeyinden ayrılmıştır. Polimer kaplanmış SPR çipler etanol:su (1:1, v/v) ile yıkanmış ve vakum etüvünde kurutulmuştur. Şekil 3.2'de polimerizasyon yöntemi gösterilmiştir.



Şekil 3.3. SPR çip yüzeyinde polimerik film hazırlanması: (A) lamel üzerine reaksiyon karışımı damlatılır (2.5 µL); (B) SPR çip cam lamel üzerine yerleştirilir ve alttan UV-ışık uygulanır; (C) cam lamel, film oluşmuş SPR çip yüzeyinden ayrılır.

3.3.3. Kalıp Molekülün Desorpsiyonu

MAPA monomeri ve BaP arasında ikincil kuvvetlerden kaynaklanan ortak bir etkileşim söz konusudur. Ancak temel etkileşimler, MAPA monomerinde bulunan fenil grubu ile BaP üzerinde bulunan fenil gruplar arasında oluşması muhtemel hidrofobik etkileşimleridir. Kalıp molekül olan BaP, polimerik yapıdan sökülebilmesi için ilgili etkileşimleri kırabilecek bir desorpsiyon ajanının kullanılması gerekmektedir.

tedir. Bu amaçla desorpsiyon ajanı olarak 100 mM etilen glikol çözeltisi kullanılmıştır. Kalıp molekülün desorpsiyonu kesikli sistemde gerçekleştirilmiştir. Çalkalamalı inkübatörde, oda sıcaklığında 2 saat boyunca çalkalanmıştır (200 rpm). Desorbe edilen SPR nanosensör, deiyonize su ile yıkanmış ve vakum etüvünde (200 mmHg, 25°C) kurutulmuştur.

3.3.4. Yüzey Plazmon Rezonans Nanosensörlerin Karakterizasyonu

3.3.4.1. Atomik Kuvvet Mikroskopisi

SPR nanosensörlerin altın yüzeylerinin karakterizasyonu için yarı degen modda atomik kuvvet mikroskobu (Nanomagnetics Instruments, Oxford, İngiltere) kullanılmıştır. Atomik kuvvet mikroskobu, serbest kantileverli interferometre özelliği ile 4096 x 4096 piksel gibi çok yüksek çözünürlükte ölçüm alabilmektedir. SPR nanosensör çift yüzlü karbon bant ile örnek tutucuya yerleştirilmiştir. Görüntüleme çalışmaları hava ortamında, yarı degen modda gerçekleştirilmiştir. Salınım rezonans frekansı, 341.30 Hz olarak uygulanmıştır. Titreşim genliği, 1 V_{RMS} ve boş titreşim genliği ise 2 V_{RMS} 'dir. Örnekler 2 $\mu\text{m/s}$ tarama hızında, 256 x 256 piksel çözünürlükte, 1 x 1 μm^2 'lik bir alanın görüntüsü olarak alınmıştır.

3.3.4.2. Elipsometre

Hazırlanan nanosensörlerin yüzeylerindeki kalınlık ölçümleri Nanofilm EP3-Nulling Elipsometre (Göttingen, Almanya) cihazı ile karakterize edilmiştir. Kalınlık ölçümleri 532 nm dalga boyunda, 62°'lik bir geliş açısında gerçekleştirilmiştir. SPR nanosensör lazer ışık kaynağı altına yerleştirilmiştir. Yüzey kalınlığı hesaplama program için SF10 prizma + 50 nm altın + 50 nm polimer katmanı veri olarak öngörülmüştür. Ölçümler sensör yüzeyinde 6 farklı noktada 3 kere tekrarlanmış ve sonuçlar bu değerlerin ortalaması alınarak rapor edilmiştir.

3.3.4.3. Temas Açısı Ölçümleri

Temas açısı ölçümleri için KRÜSS DSA100 (Hamburg, Almanya) cihazı kullanılmıştır. SPR nanosensörlerin yüzeyine 1 damla su damlatılarak yapışık damla (Sessile Drop) yöntemiyle temas açısı belirlenmiştir. Çip yüzeyinin farklı bölgelerine su damlatmak suretiyle 10 ayrı fotoğraf çekilmiş ve her biri için ayrı temas açısı belirlenmiştir. Belirlenen temas açısı değerleri damlacığın katı ile sol temas noktasından alınan soldan temas açısı; sağ temas noktasından alınan sağdan temas açısı olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca her iki noktanın ortalaması olan ortalama temas açısı değerleri hesaplanmıştır. Modifiye edilmemiş ve edilmiş

sensör yüzeyleri için temas açısı değerleri alınan 10 ölçümün ortalama değerleri hesaplanarak rapor edilmiştir.

3.3.5. Nanosensörle Kinetik Analizler

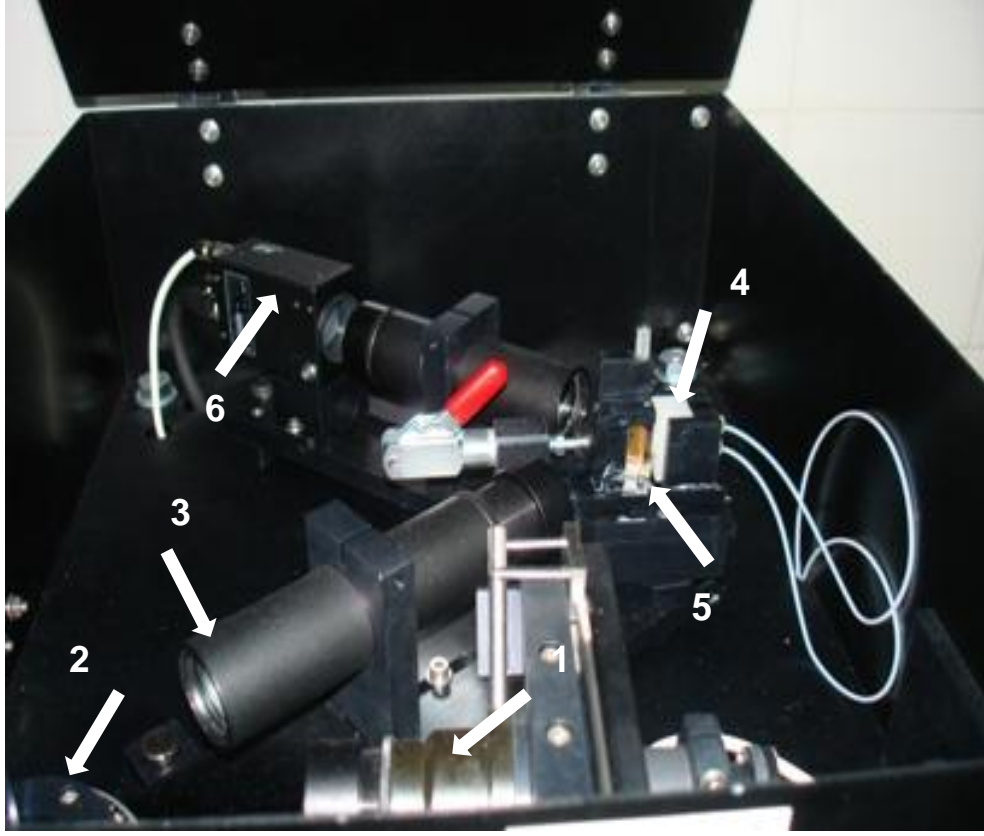
Tez çalışmasının ilk aşamasında, BaP baskılanmış poli(2-hidroksietil metakrilat-N-metakroil-L-fenilalanin) [poli(HEMA-MAPA)] kompozit kartuşlar ile BaP molekülleri arasındaki etkileşimler incelenmiştir. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçların ışığı altında, BaP baskılanmış poli(HEMA-MAPA) SPR nanosensörlerle kinetik çalışmalara geçilmiştir. Kinetik çalışmalar, farklı derişimlerdeki BaP çözeltileri hazırlanarak incelenmiştir. Bu çözeltiler pH: 7.0 fosfat tamponuyla 20-500 ng/mL arasında hazırlanarak SPR sistemine verilmiştir. Şekil 3.4'de GenOptics SPRiLab sistemi gösterilmektedir. Sistem, lazer kaynağı, ayna sistemi, CCD kamera sistemi, peristaltik pompa ve bilgisayardan oluşmaktadır (Şekil 3.4). Yüzeyine BaP baskılanmış poli(HEMA-MAPA) SPR nanosensör, kinetik analiz çalışmalarında kullanılmıştır. Bu başlık altında uygulanan deneysel işlem şu şekildedir: SPR nanosensör yüzeyi deiyonize su (50 mL) ile yıkanmıştır. Sistemden fosfat tamponu (pH: 7.0) geçerken yüzey plazmon eğrileri alınmış ve rezonans kırılma açısı belirlenmiştir. Cihaz bu kırılma açısına ayarlanmış ve kinetik çalışmalar bu açı değerinde gerçekleştirilmiştir. Kinetik analiz çalışmalarında SPRview yazılımının kinetik görüntüleme programı kullanılmıştır. Bu program, dakikada yaklaşık 150 adet kırılma miktarı değerini ölçmekte ve anlık olarak % kırılma miktarı değişimini gözlenmesini sağlamaktadır. Plazmon eğrileri alınması ve aynanın rezonans açısı değerine ayarlanmasının ardından, SPR sisteminden 5 dakika süreyle fosfat tamponu (pH: 7.0) geçirilmeye devam edilmiştir. Bu dengeleme basamağından sonra, farklı derişimlerdeki BaP çözeltileri teker teker (10 mL, 2.0 mL/dk akış hızı) sisteme verilmiştir. Rezonans frekansındaki kayma değerleri anlık olarak gözlenmiş ve denge durumuna geldiğinde (yaklaşık 30 dakika) sisteme 100 mM etilen glikol çözeltisi (10 mL, 2.0 mL/dk akış hızı) verilerek desorpsiyon gerçekleştirilmiştir. Desorpsiyon işleminden sonra, SPR nanosensör fosfat tamponu (pH: 7.0) ve su ile yıkanarak rejenere edilmiş ve yeniden dengelenmiştir. Farklı derişimlerdeki BaP çözeltileri sisteme verilmeden önce adsorpsiyon-desorpsiyon-dengeleme aşamaları tekrarlanmıştır. Elde edilen kinetik veriler, SPR1001 yazılımı kullanılarak analiz edilmiştir.

3.3.6. Yarışmalı Kinetik Analizler

SPR çiplerin yüzeyinde hazırlanan BaP baskılanmış poli(HEMA-MAPA) nanosensörlerin seçiciliğini göstermek için BaP, BbF, BkF, IcdP ve 1-naftol'un kullanılmasıyla oluşturulan karışımlar (tekli, ikili, üçlü, dörtlü çözeltiler) SPR sistemi ile etkileştirilerek yarışmalı tayin çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu çözeltiler, fosfat tamponunda (pH: 7.0) 50-100 ng/mL derişiminde hazırlanmıştır. Yarışmacı molekül deneyleri için yukarıda anlatılan yöntem takip edilmiştir. Çözeltiler SPR nanosensörle etkileştirilmiş ve kinetik veriler alınarak SPR1001 yazılımı ile analiz edilmiştir.

3.3.7. Nanosensörün Baskılama Seçiciliğinin Belirlenmesi

BaP baskılanmış nanosensörün seçiciliğini göstermek için BaP baskılanmamış nanosensör de hazırlanmıştır. BaP, BbF, BkF, IcdP ve 1-naftol'un kullanılmasıyla oluşturulan karışımlar SPR sistemine gönderilmiştir. Bu çözeltiler fosfat tamponunda (pH: 7.0) 100 ng/mL derişiminde hazırlanmıştır. Seçicilik deneyleri için de yukarıda anlatılan yöntem takip edilmiştir. Çözeltiler SPR nanosensörle etkileştirilmiş ve kinetik veriler alınarak SPR1001 yazılımı ile analiz edilmiştir.



Şekil 3.4. GenOptics SPRiLab sistemi: (1) Lazer kaynağı; (2) açı ayarlanmasında kullanılan gonyometre; (3) optik yönlendirici lensler; (4) akış hücresi; (5) SPR çip; (6) CCD kameralı dedektör ve (7) bilgisayar birimi.

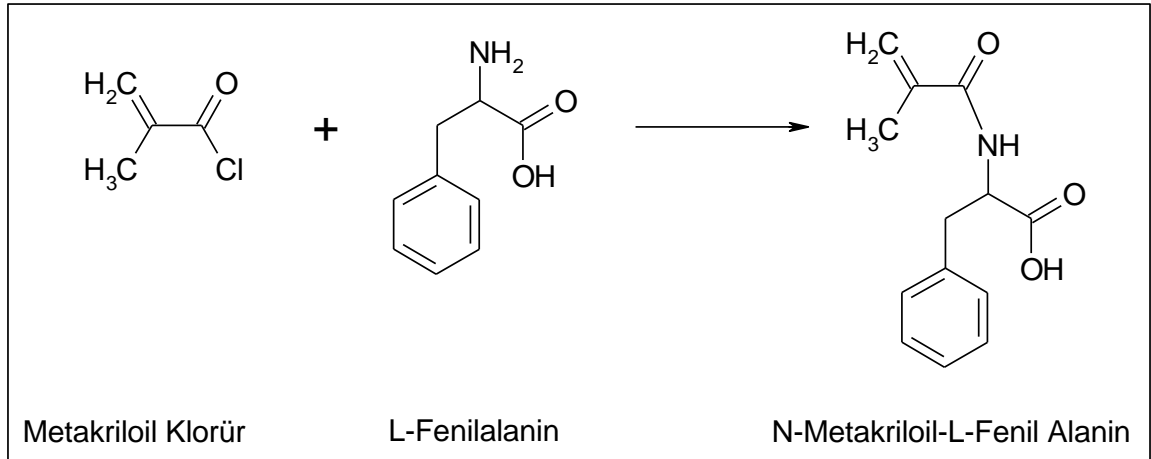
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Sunulan tez kapsamında 3 ana hedef belirlenmiştir. Sulardaki çözünürlüğü oldukça düşük olan PAH'ların geleneksel tayin yöntemleri (HPLC-Floresan) için ve seçici BaP ön-deriştirilmesi için moleküler baskılanmış kompozit kartuşların sentezi ve ön deriştirme koşullarının optimizasyonu ilk hedef olarak belirlenmiş ve uygulanmıştır. Bunun yanısıra, alternatif BaP tayin yöntemi olarak moleküler baskılanmış optik sensör (SPR) geliştirilmiştir. Son aşamada ise hazırlanan ön-deriştirme kompozit kartuşların kullanımı ile SPR nanosensörlerin kombinasyonu hedeflenmiştir. Seçici ön-deriştirme işlemi ile birlikte SPR nanosensörlerin etkinliği araştırılmıştır.

4.1. Kompozit Kartuşlar ve Uygulamaları

4.1.1. MAPA Monomerinin Sentezi ve Karakterizasyonu

MAPA monomeri, L-fenilalanin ve metakroil klorürün tepkimesi ile literatüre uygun olarak sentezlenmiştir (Şekil 4.1).



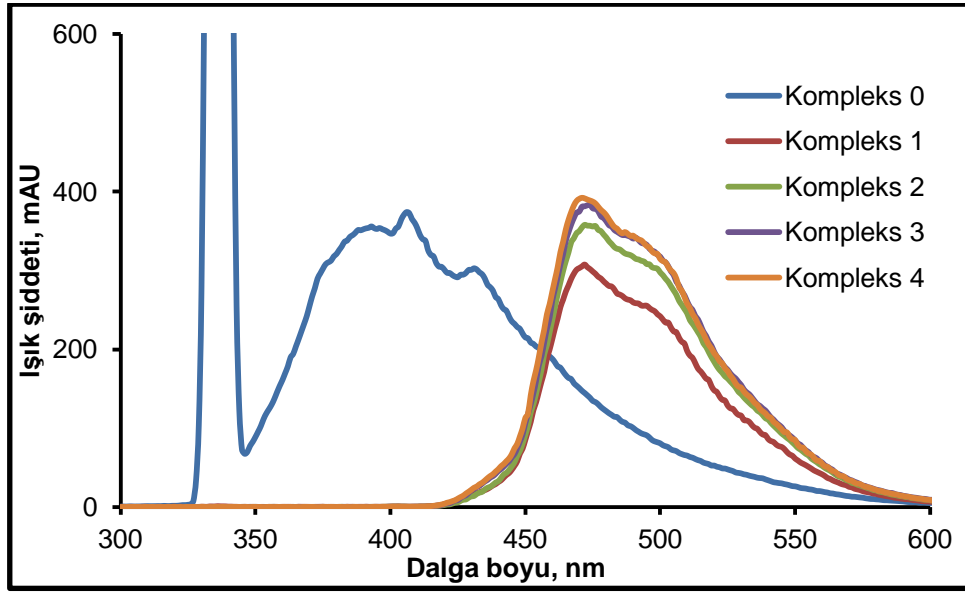
Şekil 4.1. MAPA monomerinin sentez reaksiyonu.

MAPA monomerinin kimyasal yapısının belirlenebilmesi için ¹H-NMR kullanılmış ve ¹H-NMR spektrumunda şu karakteristik pikler belirlenmiştir: ¹H-NMR (CDCl₃) 2.84 (t; 3H, J=7.06 Hz, CH₃) 3.05-3.19 (m; 2H, CH₂) 4.80-4.85 (m; 1 H, metin), 5.24 (s; 1H, vinil H), 5.56 (s; 1H, vinil); 6.24 (d; 1H, J=7.4 Hz, NH), 7.04-7.20 (m; 5H, aromatik), 10.07 (s; 1H, OH). MAPA monomerinin yapısının belirlenmesinde kullanılan diğer yöntem ise FTIR tekniğidir. FTIR spektrumunda 3368 cm⁻¹ civarında -OH bandı; 2976 cm⁻¹ de alifatik ve 3064 cm⁻¹ ve 3031 cm⁻¹de aromatik CH gerilme bandları belirlenmiştir. 1733 cm⁻¹de 1660 cm⁻¹ ve 1622 cm⁻¹de ise

sırasıyla karbonil (C=O) ve amit I ve amit II bandları belirlenmiştir. Aromatik C=C eğilme bandları 1527 cm^{-1} civarında görülmüştür. NMR ve FTIR spektrumlarından elde edilen veriler ışığında MAPA monomerinin literature uygun şekilde başarıyla sentezlendiği görülmektedir.

4.1.2. Ön-Polimerizasyon Kompleksinin Hazırlanması ve Karakterizasyonu

Moleküler baskılanmış polimerlerde, kalıp molekül ve fonksiyonel monomerin mol oranı polimerlerin performansını belirleyen önemli parametrelerden biridir. Bu amaç doğrultusunda en uygun kalıp molekül:monomer oranının belirlenmesi için BaP:MAPA oranı değiştirilmiştir. BaP baskılanmış kompozit kartuşların hazırlanması için oluşturulan farklı BaP:MAPA ön-polimerizasyon kompleksleri, spektrofotometre kullanılarak karakterize edilmiştir. Şekil 4.2'de görüldüğü gibi Kompleks 0 (MAPA monomeri, $100\ \mu\text{mol}$), 388, 407 ve 431 nm'de maksimum emisyon piklerine sahiptir. Bu pikler monomerin yapısındaki aromatik halka ve eşleşmemiş elektron çiftlerinin floresan bandlarıdır. Kompleks 1 (BaP, $100\ \mu\text{mol}$) maksimum emisyon pikleri, 473 ve 495 nm'de görülmektedir. Kompleks 2 (BaP:MAPA kompleksi, 1:1), kompleks oluşumuna bağlı olarak MAPA moleküllerinin maksimum dalga boylarında kaymalar gözlenmiştir. Yeni maksimum dalga boyları, 469 ve 501 nm olarak belirlenmiştir. Kompleks 3 (BaP:MAPA kompleksi, 1:2) için yeni maksimum dalga boyları ise 471 ve 491 nm olarak gözlenmiştir. Kompleks 4 (BaP:MAPA kompleksi, 1:3) için yeni maksimum dalga boyları BaP-MAPA etkileşimlerine bağlı olarak 470 ve 494 nm olarak belirlenmiştir. Aromatik halkadaki çift bağların ve eşleşmemiş elektronların enerjisi BaP ve MAPA arasındaki kompleks oluşumu ile birlikte azalmakta ve daha yüksek dalga boyuna kayma gözlenmektedir. Ayrıca 1:2 mol oranlarındaki kompleksin daha kararlı olduğu belirlenmiş (buz dolabında depo kararlılığı incelenmiştir) olup bundan sonraki çalışmalarda bu mol oranına sahip kompleks yani Kompleks 3 (BaP:MAPA kompleksi, 1:2) moleküler baskılama işlemlerinde kullanılmıştır.

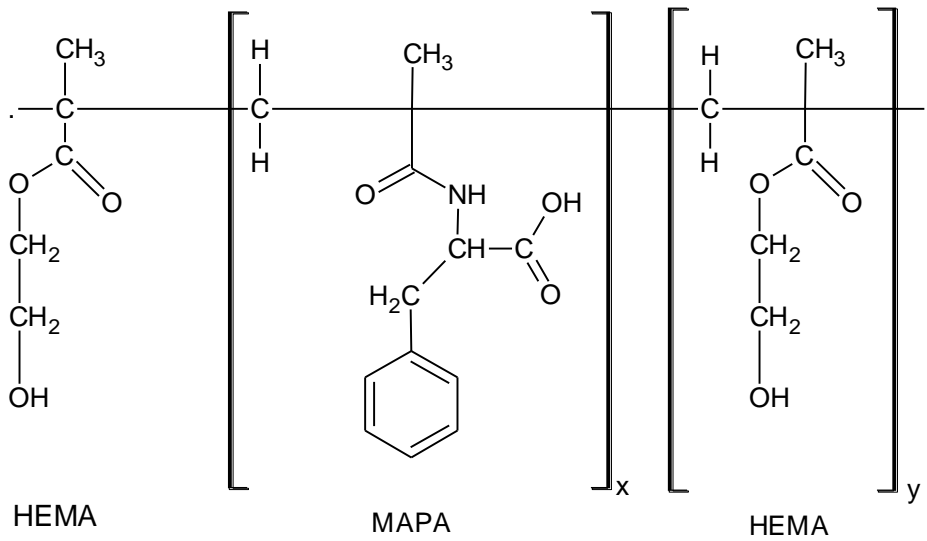


Şekil 4.2. Ön-polimerizasyon komplekslerinin spektroflore emisyon spektrumları: Kompleks 0 (MAPA, 100 μ mol); Kompleks 1 (BaP, 100 μ mol); Kompleks 2 (BaP:MAPA kompleksi, 1:1); Kompleks 3 (BaP:MAPA kompleksi, 1:2); Kompleks 4 (BaP:MAPA kompleksi, 1:3). Uyarılma: 295 nm; Emisyon:200-600 nm.

4.1.3. BaP-MIP Kompozit Kartuşların Karakterizasyonu

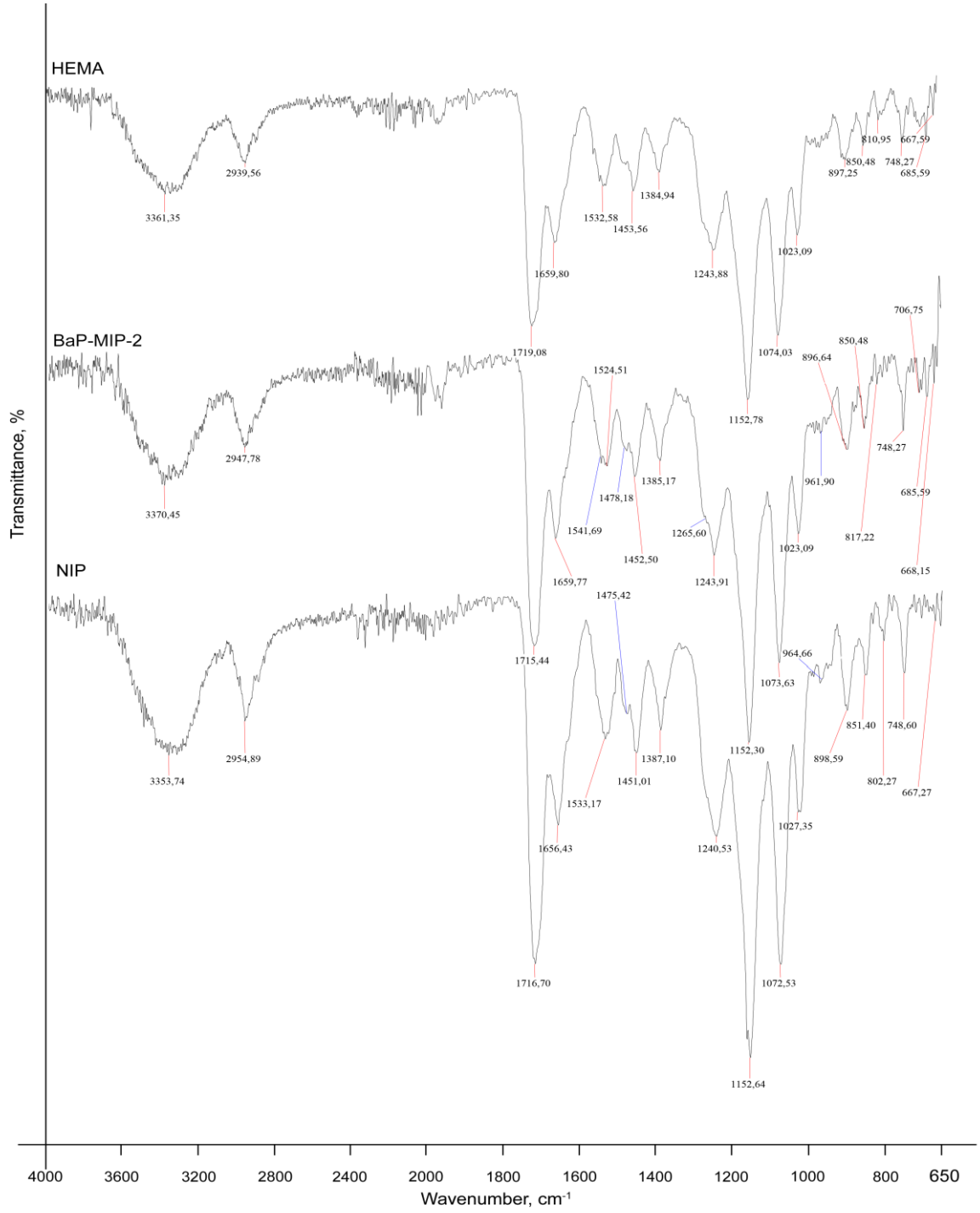
4.1.3.1. FTIR Analizi

BaP-MIP kompozit kartuşların sentezlenmesi için HEMA ve MAPA monomerlerinin polimerizasyonu uygulanmıştır. Monolitik formda hazırlanan moleküller baskılanmış polimerler, daha sonra öğütülerek ince toz haline getirilmiş (64-71 μ m) ve kriyojellerin içerisine gömülmüştür. Bu işlemle BaP-MIP kompozit kartuşlar elde edilmiştir. Şekil 4.3'de moleküler baskılanmış polimerin olası kimyasal yapısı verilmiştir.

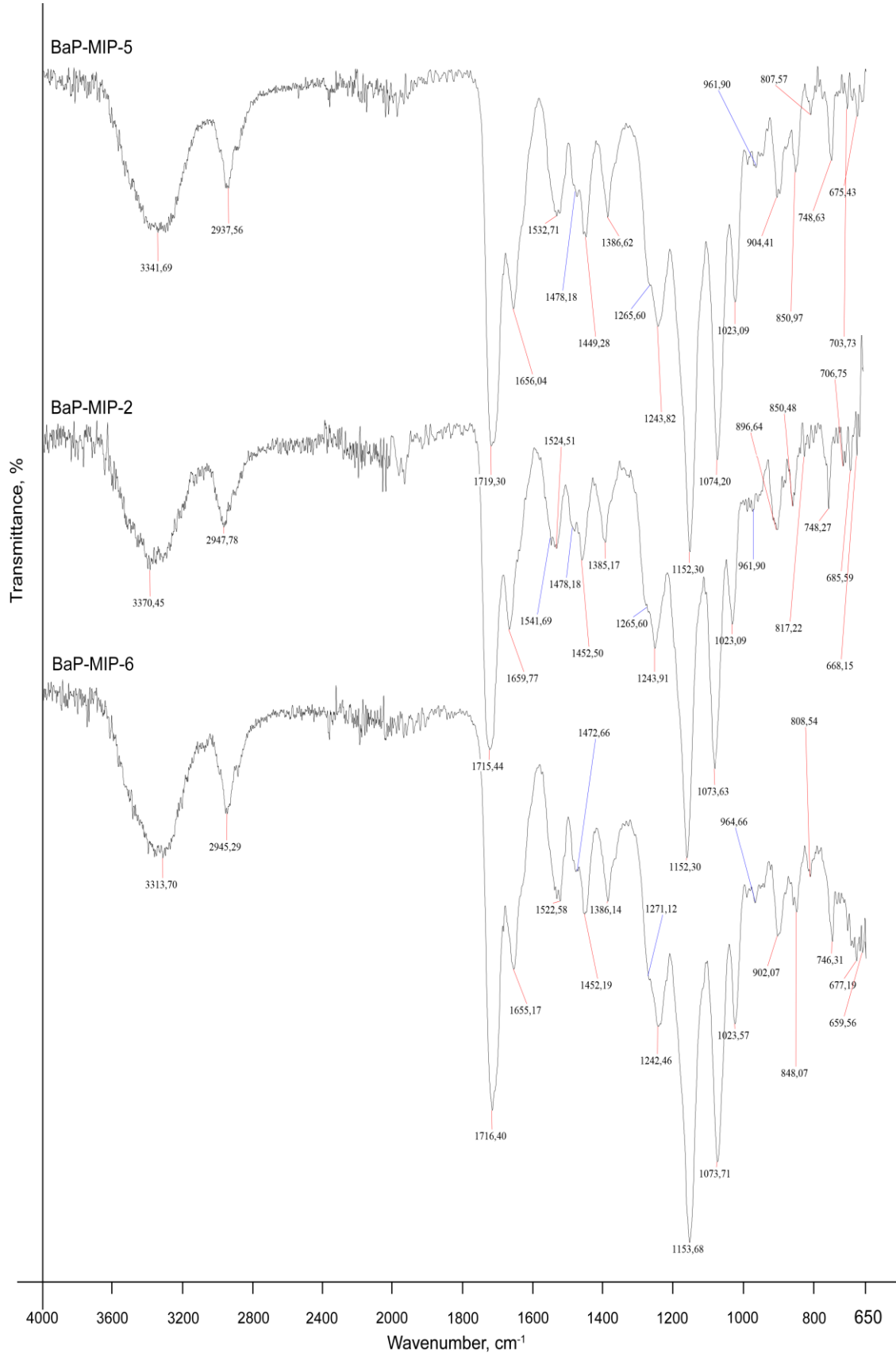


Şekil 4.3. Poli(HEMA-MAPA) polimerinin olası kimyasal yapısı.

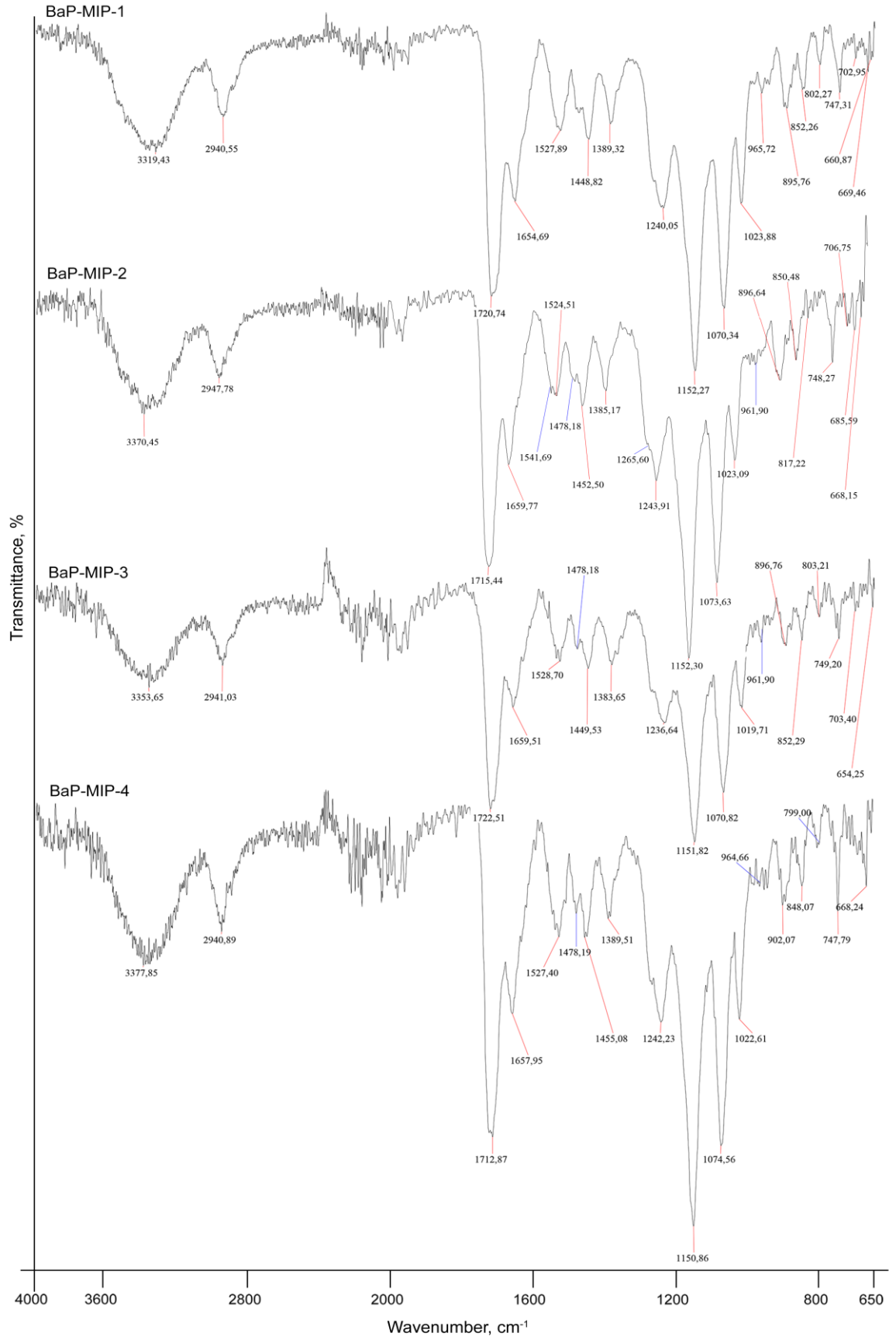
BaP kompozit kartuşların kimyasal yapı analizi için FTIR spektroskopisi yöntemi uygulanmıştır (Şekil 4.4). Polimerik yapı içerisinde MAPA monomerinin girdiğini göstermek amacıyla HEMA, BaP-MIP-2 ve NIP kompozit kartuşların FTIR spektrumları alınmıştır. Spektrumlarda sırasıyla 3300 cm^{-1} , 1700 cm^{-1} ve 1650 cm^{-1} civarlarında görülen ortak –OH gerilme bandları, amid gruplarından kaynaklanan –CO gerilme bandları ve –NH bükülme bandları, metilen bisakrilamid ve HEMA monomerinden kaynaklanmaktadır. Fakat şekilde görüldüğü gibi 748 cm^{-1} ve 896 cm^{-1} civarındaki piklerin şiddetinde artışlar görülmektedir. Bu bandların şiddetindeki artış, MAPA monomerinin yapısında bulunan aromatik halkadan kaynaklanmaktadır. Ayrıca BaP-MIP-2 ve NIP'ların spektrumları incelendiğinde FTIR spektrumları da birbirine benzemektedir. Bu durum; aynı miktarlarda kimyasal yapıları yakın olan partikülleri içermelerinden kaynaklanmaktadır. Son olarak Şekil 4.5 ve 4.6'da farklı MAPA oranlarına ve miktarlarına sahip (BaP-MIP) kompozit kartuşların spektrumları verilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi MAPA miktarının artması ile birlikte karbonil (1720 cm^{-1}) ve amid bandlarının (1475 cm^{-1} ve 1450 cm^{-1}) şiddetindeki artış değerleri yükselmektedir. Bu sonuçlar polimerik yapıya MAPA monomerinin girdiğini ve polimerizasyona eklenen MAPA miktarının polimerik yapıdaki MAPA oranıyla doğrusal olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.4. BaP-MIP-2, NIP ve HEMA kompozit kartuşlara ait FTIR spektrumları.



Şekil 4.5. Farklı MAPA oranlarına sahip kompozit kartuşlara ait FTIR spektrumları.



Şekil 4.6. Farklı partikül miktarlarına sahip kompozit kartuşlara ait FTIR spektrumları.

4.1.3.2. Şişme Özellikleri

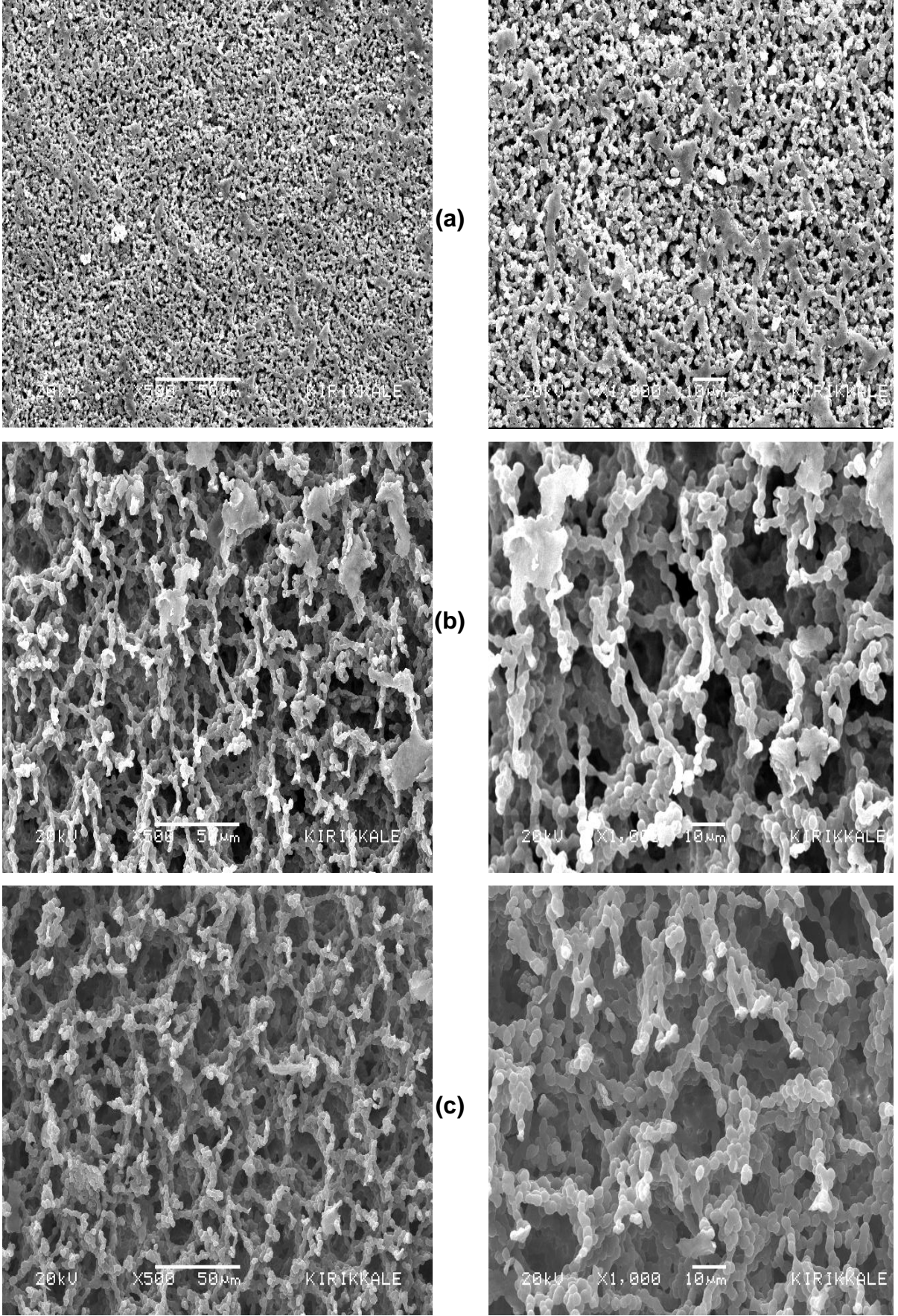
Hazırlanan BaP-MIP kompozit kartuşlar, çapraz bağlı yapıdadırlar. Çapraz bağlı yapılarından dolayı suda çözünmeyip çapraz bağ derecesine, polimer zincir uzunluğuna, polimerin ortalama molekül ağırlığına ve matriksin hidrofilitesine bağlı olarak zincirlerinin arasına su molekülleri alarak şişerler. Fonksiyonel monomerin ve partikül miktarının şişme oranına etkisini belirlemek amacıyla Çizelge 3.2'de verilen polimerizasyon reçetesine göre hazırlanan kompozit kartuşların denge şişme oranı hesaplanmıştır. Buna göre; BaP-MIP-1 [25 mg poli(HEMA-MAPA) mikropartikül içeren], BaP-MIP-2 [50 mg poli(HEMA-MAPA) mikropartikül içeren], BaP-MIP-3 [100 mg poli(HEMA-MAPA) mikropartikül içeren], BaP-MIP-4 [200 mg poli(HEMA-MAPA) mikropartikül içeren], BaP-MIP-5 [50 mg 1:1 oranlarındaki BaP:poli(HEMA-MAPA) mikropartikül içeren], BaP-MIP-6 [50 mg 1:3 oranlarındaki BaP:poli(HEMA-MAPA) mikropartikül içeren], NIP [50 mg poli(HEMA-MAPA) mikropartikül içeren] ve HEMA [50 mg poli(HEMA) mikropartikül içeren] kompozit kartuşların denge şişme oranları, makrogözenek oranları ve birim kütle başına polimerik yapıya alınabilen su miktarları Çizelge 4.1'de gösterilmiştir. HEMA'nın şişme oranı, diğer kompozit kartuşlara göre daha yüksektir. Bu durum, gömülen partikülün türünün etkinliğini ortaya koymaktadır. Kompozit kartuşların yapısına ilave HEMA gruplarının girmesi, HEMA'nın hidrofilitik karakterine bağlı olarak matriksin daha çok su molekülü ile etkileşmesine yol açmış ve şişme oranını arttırmıştır. BaP baskılanmış ve baskılanmamış kompozit kartuşların şişme davranışları karşılaştırıldığında ise; baskılanmış kompozit kartuşların şişme oranları daha yüksek olduğu görülmektedir. Bunun nedeni, yapıdan kalıp molekülün uzaklaştırılması ile matrikste daha düzenli ve gözenekli yapının oluşmasıdır. Diğer bir ifade ile, şişme oranı baskılama işlemi ile artarken, makrogözenek miktarında azalma olmaktadır. Kalıp moleküllerin (BaP) etrafında düzenlenen fonksiyonel monomerler, makrogözenekliliği bir miktar düşürürken toplam gözenek miktarını arttırmaktadır. Şişme işlemleri, 5 kere tekrar edilmiş ve ortalama değerleri rapor edilmiştir. Ayrıca kompozit kartuşlar yüksek çapraz bağlı yapıya sahip olduklarından oldukça sert ve dayanıklıdırlar; bu işlemler sırasında kompozit kartuşların yapısında herhangi bir bozulma gözlenmemiştir.

Çizelge 4.1. Kompozit kartuşların şişme özellikleri

Kompozit kartuş Kodu	Şişme Oranları (%)	Makrogözenek Miktarı (%)	Su İçeriği (g su/g kompozit kartuş)
BaP-MIP-1	716.28	87.74	7.16
BaP-MIP-2	698.85	87.48	6.98
BaP-MIP-3	645.23	86.58	6.45
BaP-MIP-4	622.18	86.15	6.22
BaP-MIP-5	752.54	88.27	7.52
BaP-MIP-6	575.34	85.19	5.75
NIP	677.50	89.35	6.77
HEMA	839.31	87.13	8.39

4.1.3.3. Yüzey Morfolojisi

Hazırlanan kompozit kartuşların, yüzey morfolojisi taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak incelenmiştir. Kompozit kartuşların SEM fotoğrafları Şekil 4.7’de verilmiştir. Şekilden de görüldüğü gibi kompozit kartuşların, gözenek boyutları 10-100 µm arasında değişmeğe ve birbiriyle bağlantılı akış kanalları açıkça görülmektedir. Akış kanalları, BaP moleküllerinin kolaylıkla kompozit kartuşların yüzeyine ve spesifik boşluklara (moleküler baskılanmış bölgeler) ulaşmasını ve sonuç olarak hızlı adsorpsiyon kinetiği sağlamaktadır. Kompozit kartuşların yapıları incelendiğinde (Şekil 4.7a-c); partiküllerin kompozit kartuşların yapısına başarıyla eklendiği görülmektedir. Yapıya gömülü olarak bulunan partiküller polimerin, birim partikül kütlesi başına düşen spesifik yüzey alanını artıran faktörlerden biridir. Spesifik yüzey alanının artması adsorpsiyon kapasitesini de arttırmaktadır. Ayrıca; partiküllerin yüzeyde veya yüzeye yakın bölgelerde bulunması adsorpsiyon kapasitesini ve hızını da arttırmaktadır.



Şekil 4.7. Kompozit kartuşların SEM görüntüleri: (a) HEMA; (b) NIP ve (c) BaP-MIP-2.

4.1.3.4. Elementel Analiz

Kompozit kartuşların yapısına ilave edilen MAPA miktarını belirlemek üzere elementel analiz ölçümleri yapılmıştır. Elementel analiz sonuçları kartuşların yapısındaki % olarak azot (N), karbon (C) ve hidrojen (H) miktarlarını vermektedir. Yapıya giren MAPA miktarının belirlenebilmesi için kompozit kartuşlar elementel analize tabi tutulmuştur. Çizelge 4.2'de kompozit kartuşların elementel analiz sonuçları özetlenmiştir. Görüldüğü gibi kompozit kartuşlarda yer alan MAPA miktarına bağlı olarak, elementel analiz sonuçlarından hesaplanan ve polimer yapısına giren MAPA miktarının da arttığı gözlenmiştir.

Çizelge 4.2. Kompozit kartuşların elementel analiz sonuçları

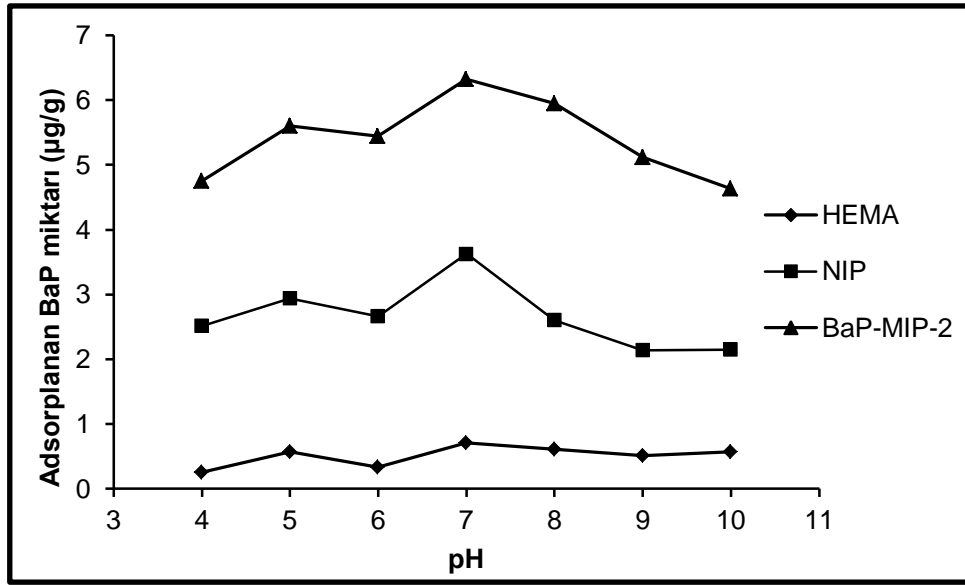
Polimer Kodu	MAPA miktarı, µmol/g kompozit kartuş
BaP-MIP-1	11.90
BaP-MIP-2	23.81
BaP-MIP-3	36.43
BaP-MIP-4	68.32
BaP-MIP-5	12.10
BaP-MIP-6	34.01
NIP	22.55

4.1.4. BaP-MIP Kompozit Kartuşların Adsorpsiyon Koşullarının Optimizasyonu

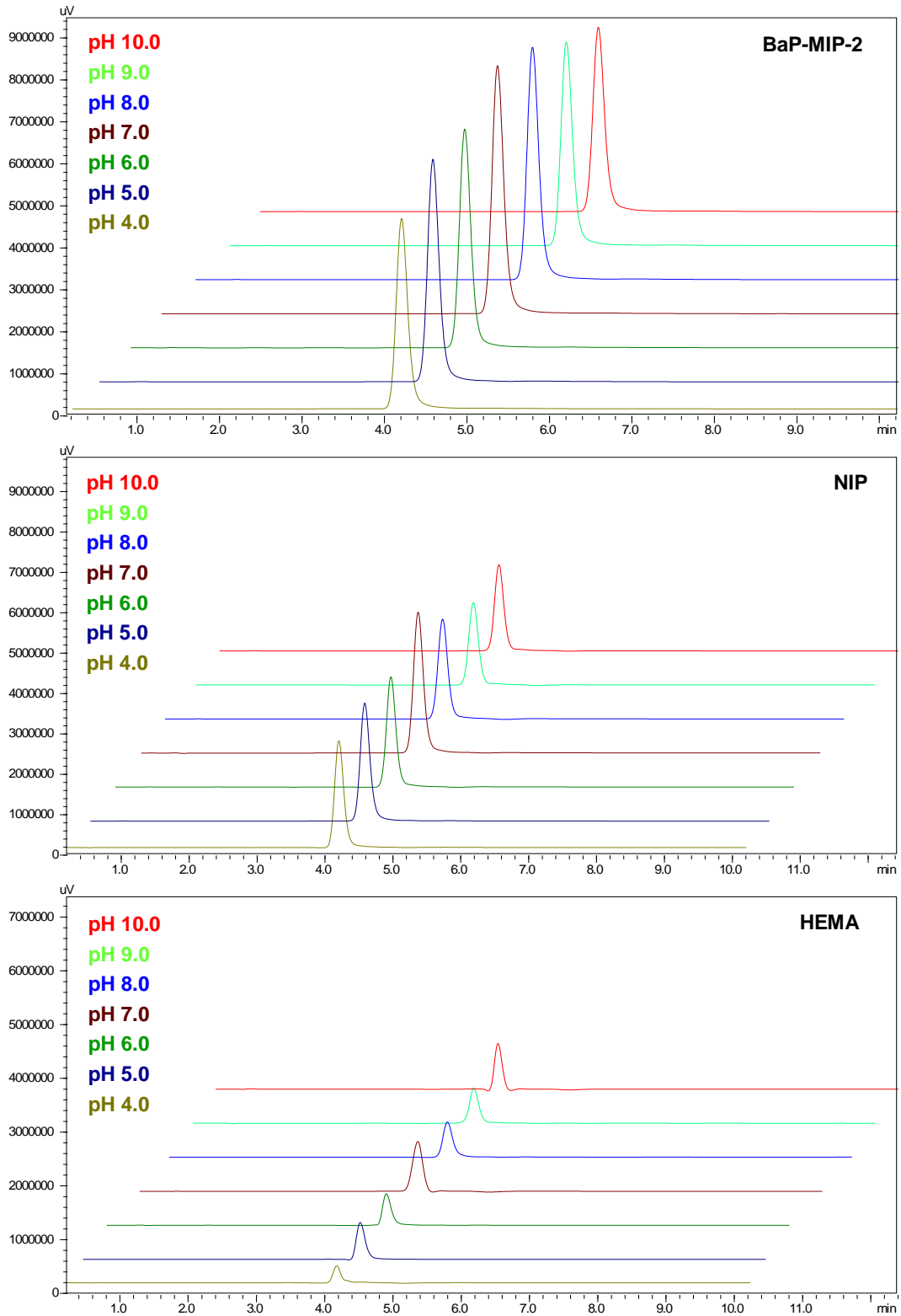
4.1.4.1. pH Etkisi

Adsorpsiyon kapasitesine pH etkisini göstermek için farklı tampon sistemleri kullanılmış ve pH 4.0–10.0 aralığında çalışılmıştır (pH 4.0-5.0 için 100 mM CH₃COONa – CH₃COOH, pH 6.0–8.0 için 100 mM K₂HPO₄ – KH₂PO₄ ve pH 9.0-10.0 için ise 100 mM Na₂CO₃-NaHCO₃). Farklı tampon ve pH aralıklarında elde edilen BaP molekülüne ait adsorpsiyon grafiği ve kromatogramlar Şekil 4.8 ve 4.9'da verilmektedir. Daha düşük ve yüksek pH'larda bağlanma verimi çok düşüktür. pH'ın etkisinin incelenmesi amacıyla yapılan deneyler, 25°C sabit sıcaklıkta 500 µg/L BaP derişiminde ve 1000 rpm'lik santrifüj hızında gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.8 ve 4.9'da görüldüğü gibi BaP moleküllerinin kompozit kartuşlara adsorpsiyon oranları pH değişimi ile birlikte önemli miktarda

değişmektedir. Artan pH değerleriyle birlikte kompozit kartuşların kapasitesi artmakta ve pH 7.0 değerinde maksimum kapasiteye ulaşılmaktadır (HEMA için 0.71 $\mu\text{g/g}$, NIP için 3.63 $\mu\text{g/g}$ ve BaP-MIP-2 için 6.32 $\mu\text{g/g}$). pH 7.0 değerinde ligand (fenilalanin temelli fonksiyonel monomer, MAPA) yüksüzdür, buna bağlı olarak hidrofobik etkileşimler bu pH değerinde daha seçici olarak gerçekleşmekte ve maksimum hidrofobik etkileşimle yüksek adsorpsiyon kapasitesine ulaşılmaktadır. Maksimum bağlanmanın gözlemlendiği pH 7.0 değeri sunulan çalışmada en uygun değer olarak kabul edilmiş ve diğer parametrelerin etkilerinin incelendiği deneyler de bu pH değerinde çalışılmıştır.



Şekil 4.8. Adsorpsiyon kapasitesine pH etkisi: BaP derişimi: 500 $\mu\text{g/L}$; santrifüj hızı: 1000 rpm; sıcaklık: 25°C.

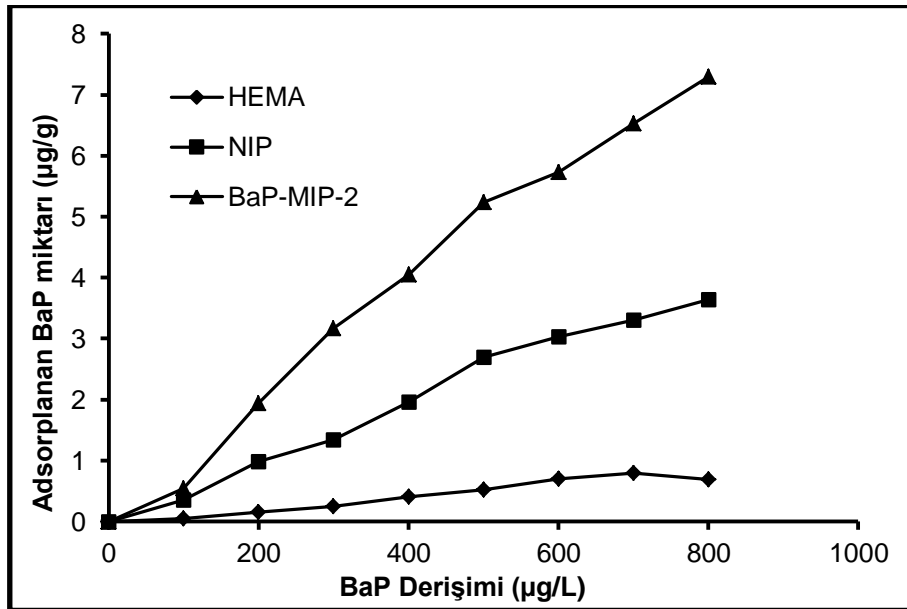


Şekil 4.9. Adsorpsiyon kapasitesine yükleme tamponunun pH değerinin etkisi: HPLC koşulları: hareketli faz: asetonitril:su (90:10); akış hızı: 0.6 mL/dk; sıcaklık: 25°C.

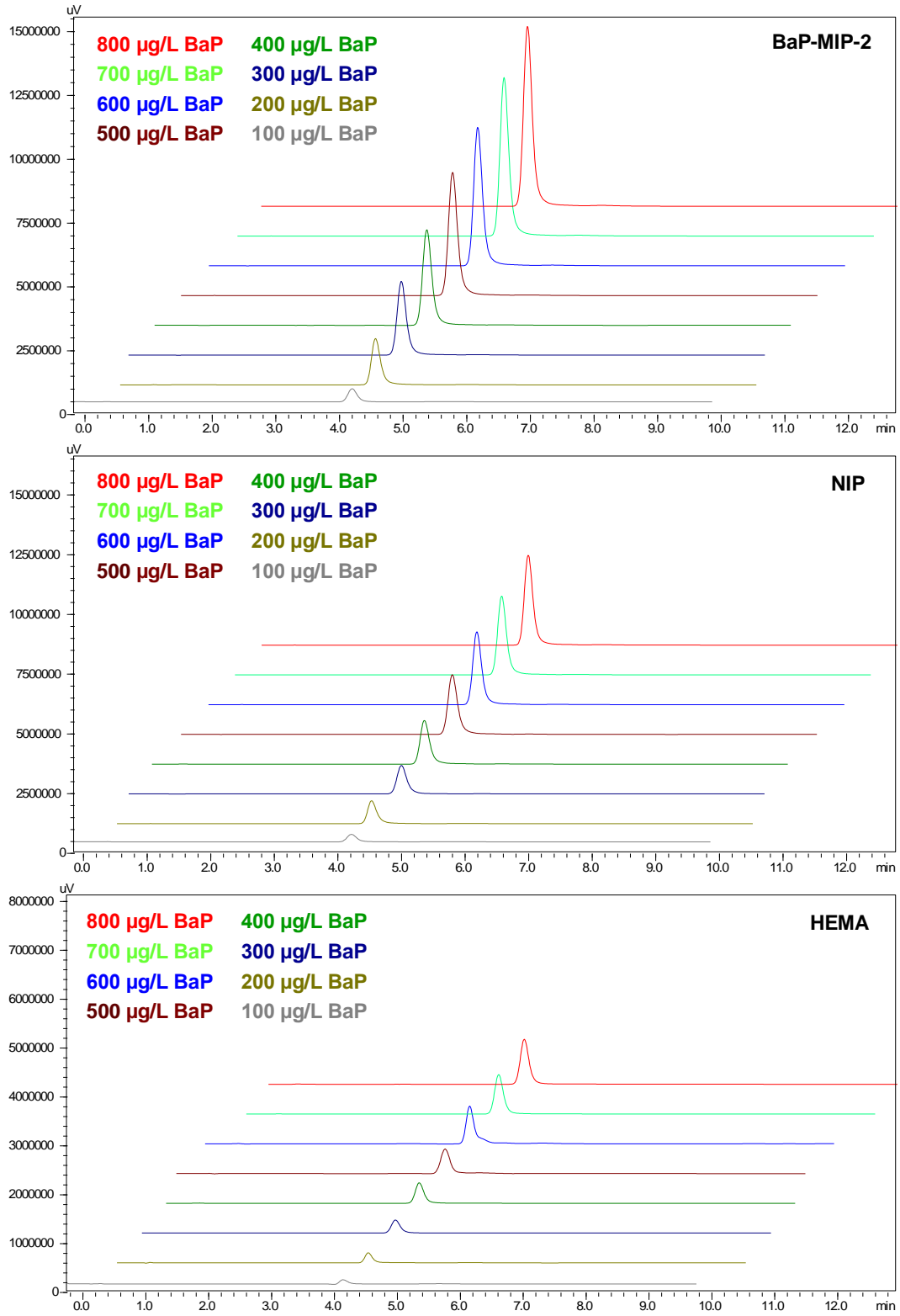
4.1.4.2. BaP Derişiminin Etkisi

BaP başlangıç derişiminin adsorpsiyona olan etkisi incelenmiş ve Şekil 4.10 ve 4.11’de ilgili adsorpsiyon grafiği ve kromatogramlar verilmektedir. Yükleme çözeltisindeki BaP moleküllerinin derişimi 100-800 µg/L aralığında değiştirilmiştir. BaP derişimi arttıkça yüzeye difüzlener BaP miktarı arttığı için adsorpsiyon kapasitesinde derişime bağlı olarak bir artış söz konusudur. Baskılanmış kompozit kartuşların BaP molekülüne göre adsorpsiyon kapasitesi, 800 µg/L BaP derişiminde 7.30 µg/g olarak bulunmuştur. BaP-MIP-2 kompozit kartuşun adsorpsiyon kapasitesinin ve bağlanma eğiliminin (kat sayısının) oldukça yüksek olduğu gözlenmiştir.

NIP kompozit kartuşunun adsorpsiyon kapasitesi HEMA’ya göre yüksektir (800 µg/L BaP derişiminde, 3.64 µg/g). Bunun nedeni MAPA monomerin fonksiyonel grubu ile BaP üzerindeki gruplar arasındaki hidrofobik etkileşimden kaynaklanmaktadır. Çalışmamızda HEMA’dan kaynaklanan non-spesifik adsorpsiyon değeri 800 µg/L BaP derişiminde bile 0.69 µg/g kompozit kartuş olarak oldukça düşük bulunmuştur. Bu bağlanma HEMA polimeri ile hedef molekül arasındaki grupların zayıf etkileşimlerinden ve gözenek içine BaP difüzyonundan kaynaklanabilir.



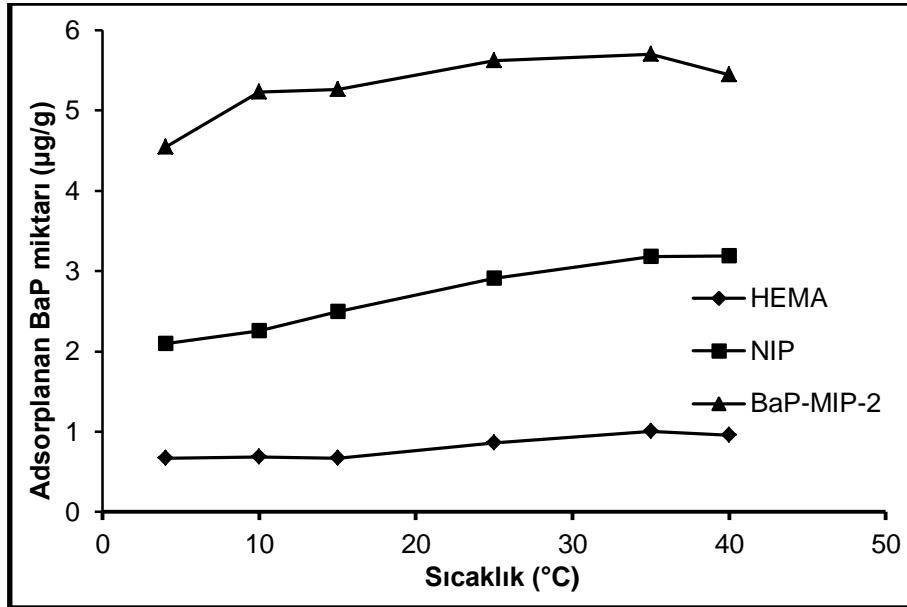
Şekil 4.10. Adsorpsiyon kapasitesi üzerine BaP başlangıç derişiminin etkisi: pH: 7.0; santrifüj hızı: 1000 rpm; sıcaklık: 25°C.



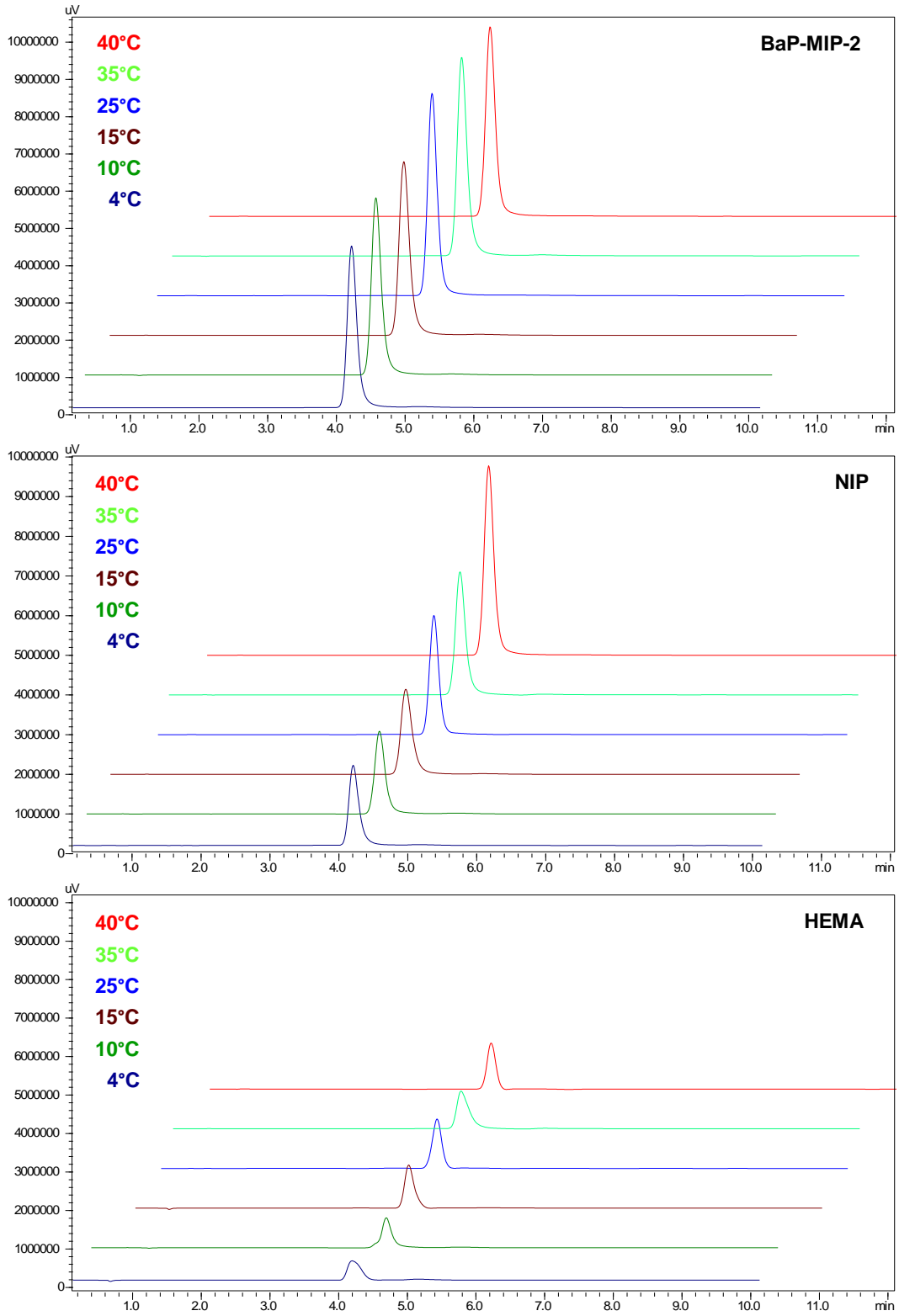
Şekil 4.11. Adsorpsiyon kapasitesine BaP başlangıç derişiminin etkisi: HPLC koşulları: hareketli faz: asetonitril:su (90:10); akış hızı: 0.6 mL/dk; sıcaklık: 25°C.

4.1.4.3. Sıcaklığın Etkisi

Adsorpsiyona sıcaklığın etkisini belirlemek amacıyla ortam sıcaklığı 4°C-40°C aralığında değiştirilmiştir. Şekil 4.12 ve 4.13'de ilgili adsorpsiyon grafiği ve kromatogramlarda görüldüğü gibi artan sıcaklıkla birlikte BaP kompozit kartuşların adsorpsiyon kapasitesi artmaktadır. BaP-MIP-2'de sıcaklık artışına bağlı olarak gram kompozit kartuş başına adsorplanan BaP miktarında önemli bir artış olduğu görülmektedir. 4°C'de adsorplanan BaP miktarı 4.54 µg/g iken 40°C'de bu değer 5.44 µg/g olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar BaP-MIP-2 kompozit kartuş ile BaP molekülleri arasındaki etkileşimin spesifik olduğunu ve hidrofobik etkileşimle gerçekleştiğinin kanıtıdır ve sıcaklık artışı ile analitlerin etkileşim kinetiği artmaktadır [200]. Hidrofobik etkileşimler, entropi artışıyla yürüyen etkileşimdir ki; sıcaklık artışı, bu etkileşimleri artırma yönünde etkilemektedir. Elde edilen sonuçlarda bu önveriyi doğrulamakta ve artan sıcaklıkla kompozit kartuşun kapasitesi önemli miktarda artmaktadır. Ayrıca NIP kompozit kartuşun yapısında da fonksiyonel monomer (MAPA) bulunduğundan dolayı sıcaklıkla adsorpsiyon kapasitesinin arttığı gözlemlenmiştir. Fakat fonksiyonel hidrofobik monomer (MAPA) içermeyen HEMA kompozit kartuşların BaP adsorpsiyonu sıcaklıktan bağımsızdır. Bu durum HEMA-BaP etkileşiminin spesifik olmadığını göstermektedir.



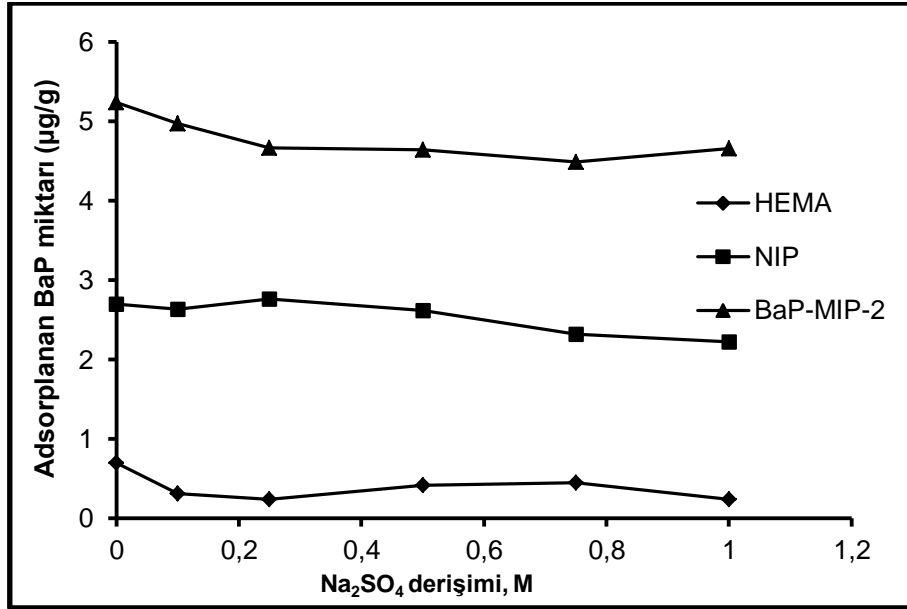
Şekil 4.12. Adsorpsiyon kapasitesi üzerine sıcaklığın etkisi: pH: 7.0; santrifüj hızı: 1000 rpm; derişim: 500 µg/L.



Şekil 4.13. Adsorpsiyon kapasitesi üzerine sıcaklığın etkisi: HPLC koşulları: hareketli faz: asetonitril:su (90:10); akış hızı: 0.6 mL/dk.

4.1.4.4. İyonik Şiddetin Etkisi

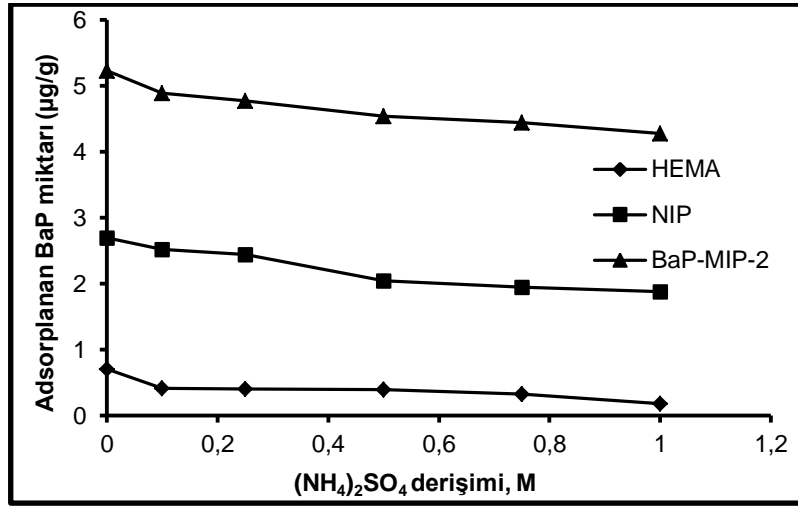
Kompozit kartuşlara BaP adsorpsiyonuna iyonik şiddetin etkisi incelenmiş ve Şekil 4.14 ve 4.15-4.17'de sırasıyla ilgili adsorpsiyon grafiği ve kromatogramlar verilmektedir. İyonik şiddet Na_2SO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ve NaCl tuzları kullanılarak ayarlanmış ve bu tuzlar için 0.1-1.0 M derişim aralığı taranmıştır. Ortama eklenen nötral tuzun iyonik gücü, analit moleküllerin de çözünürlüğünü etkilemektedir. İyonik gücü, tuzu oluşturan katyon ve anyonların yük sayısı ve derişimi belirler. Şekilden de görüldüğü gibi, tuz derişimi arttıkça BaP adsorpsiyon kapasitesi azalmıştır. Çünkü tuzlar özellikle yüksek molekül ağırlığındaki PAH'ların çözünürlüğünü önemli ölçüde azaltır [201]. Bundan dolayı PAH'lar, su-yağ ara yüzeyinden itilir ve sulu fazda bulunan hidrofobik karakterdeki kompozit kartuşlar ile etkileşemez.



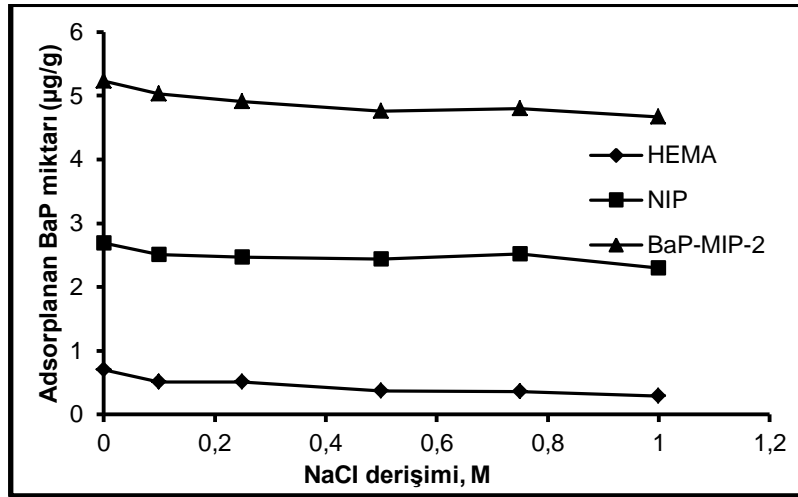
(a)

Şekil 4.14. Adsorpsiyon kapasitesine iyonik şiddetin etkisi: (a) Na_2SO_4 ; (b) $(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)$; (c) NaCl ve (d) kartuşlara göre toplu gösterimi. BaP derişimi; 500 $\mu\text{g/L}$; santrifüj hızı: 1000 rpm; pH: 7.0; sıcaklık: 25°C.

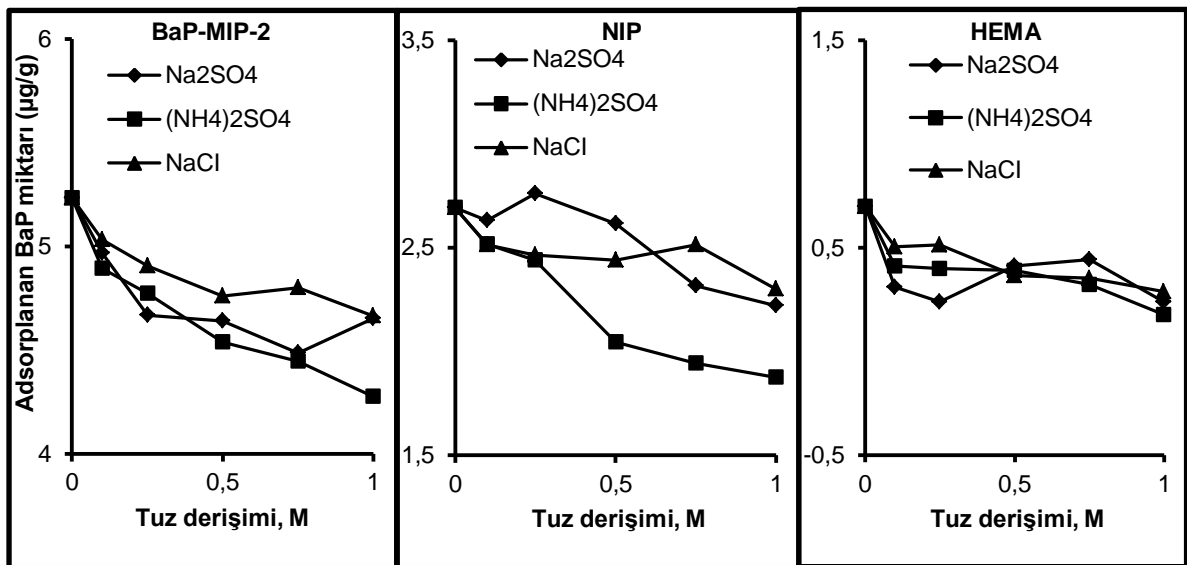
Şekil 4.14d'de görüldüğü gibi, adsorpsiyon kapasitesi Na_2SO_4 , ve $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ tuzu varlığında daha çok düşmüştür bunun nedeni iyonik şiddetlerinin NaCl 'ye göre daha yüksek olmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ tuzu kaotropik etkiye neden olduğundan en düşük adsorpsiyon kapasitesi bu tuz varlığında gerçekleşmiştir.



(b)

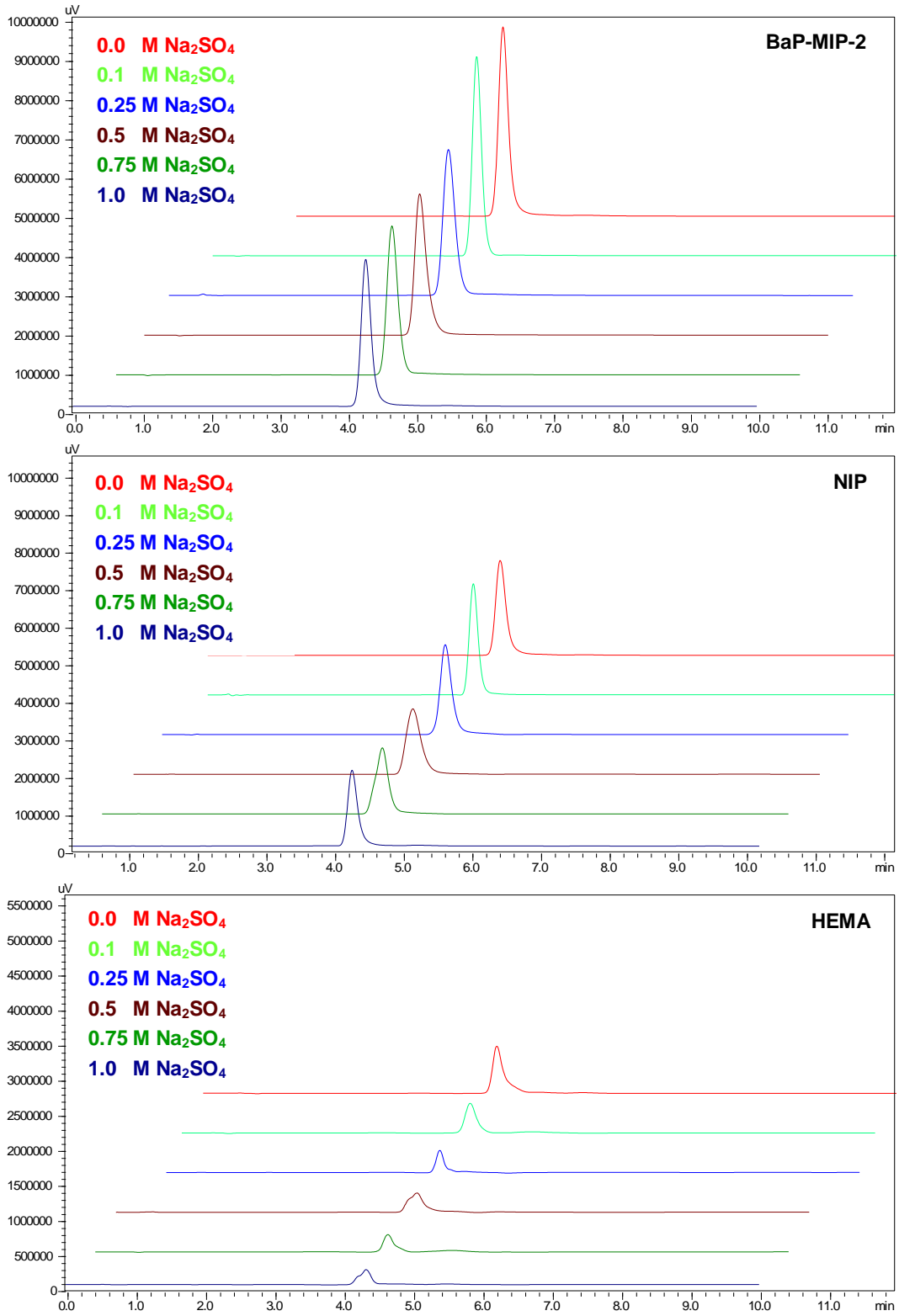


(c)

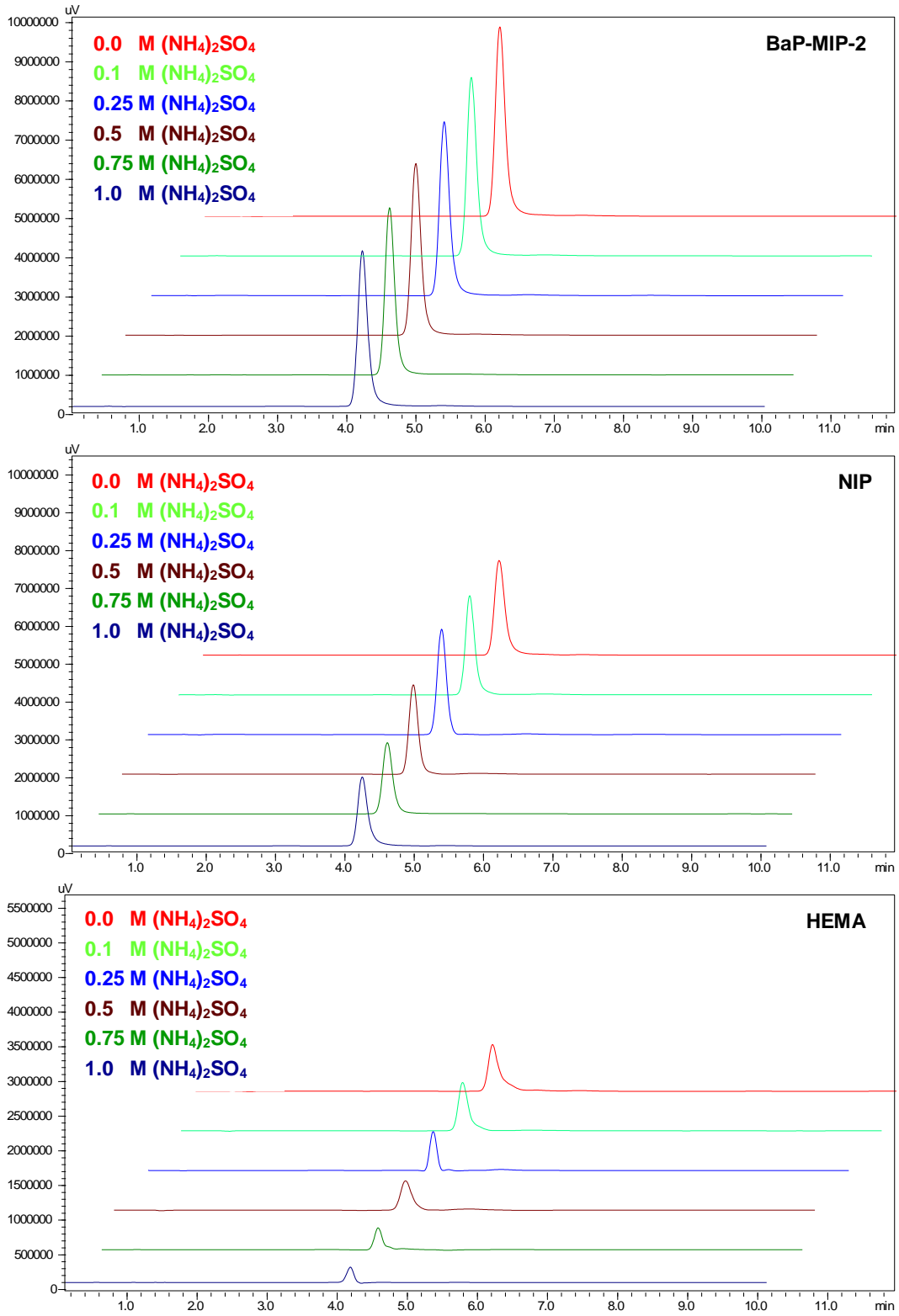


(d)

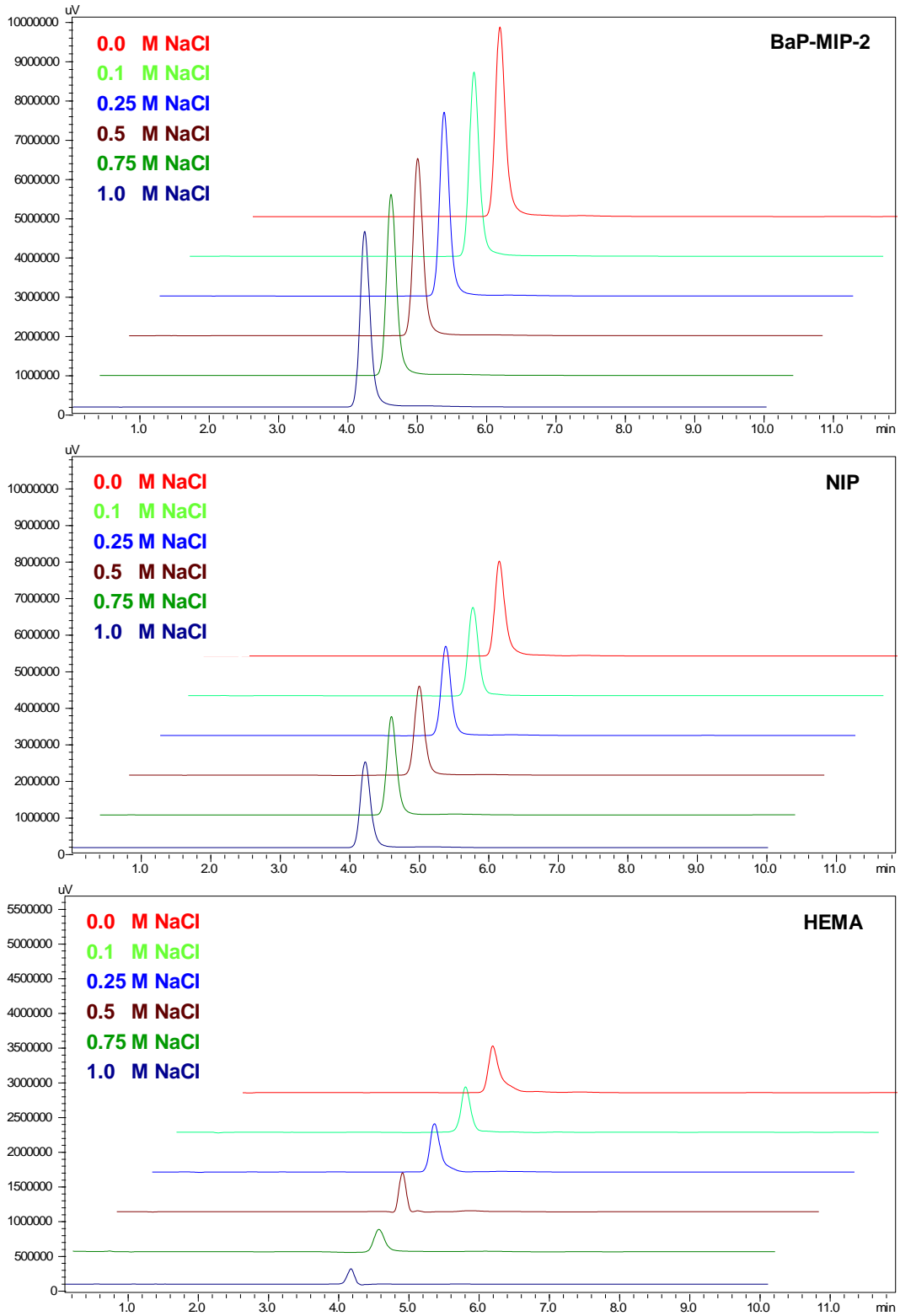
Şekil 4.14.(Devamı)



Şekil 4.15. Adsorpsiyon kapasitesine tuz (Na_2SO_4) etkisi: HPLC koşulları: hareketli faz: asetonitril:su (90:10); akış hızı: 0.6 mL/dk; sıcaklık: 25°C.



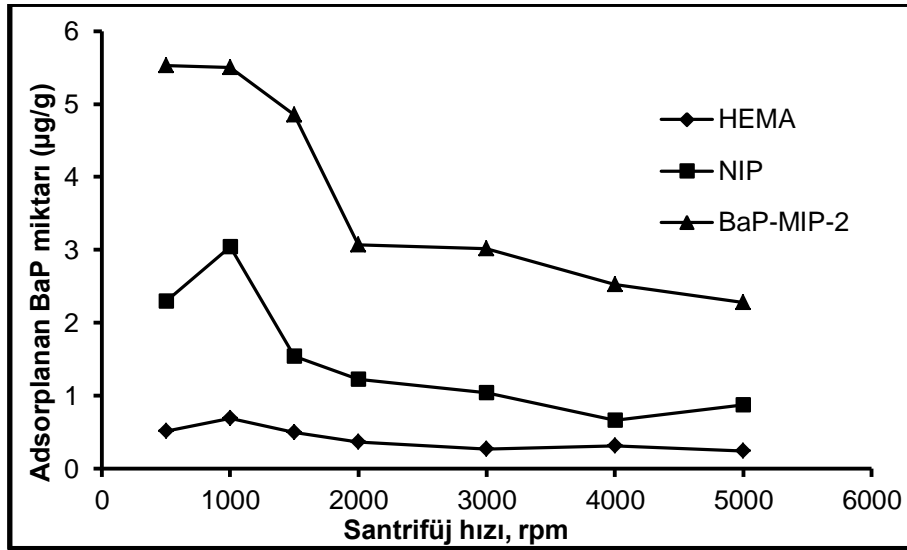
Şekil 4.16. Adsorpsiyon kapasitesine tuz $[(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)]$ etkisi: HPLC koşulları: hareketli faz: asetonitril:su (90:10); akış hızı: 0.6 mL/dk; sıcaklık: 25°C.



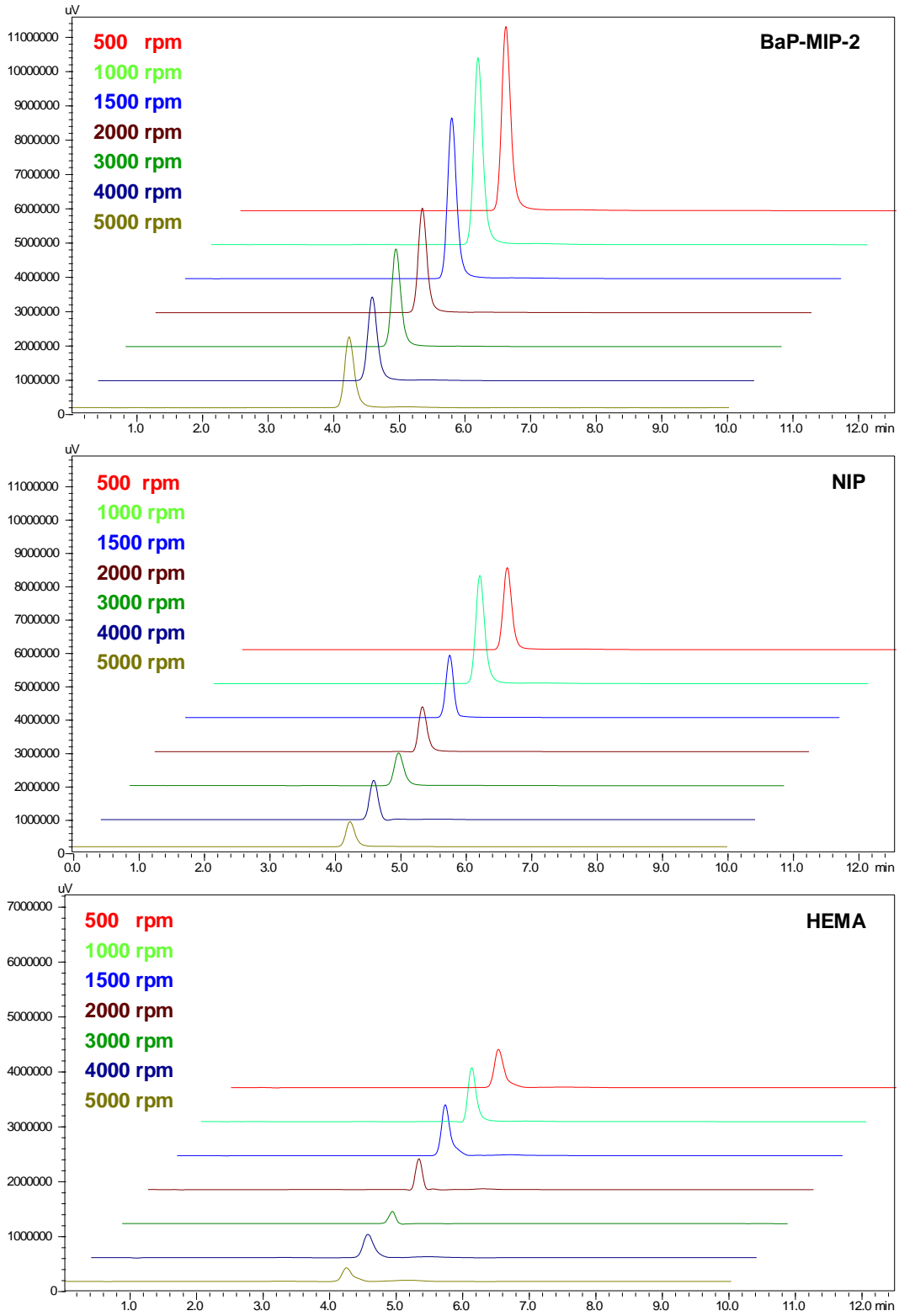
Şekil 4.17. Adsorpsiyon kapasitesine tuz (NaCl) etkisi: HPLC koşulları: hareketli faz: asetonitril:su (90:10); akış hızı: 0.6 mL/dk; sıcaklık: 25°C.

4.1.4.5. Santrifüj Hızının Etkisi

Adsorpsiyon koşullarının optimizasyonu kapsamında BaP moleküllerinin BaP-MIP-2 kompozit kartuş ile etkileştirme hızı sıcaklık kontrollü santrifüjde 500-5000 rpm aralığında değiştirilmiştir. Şekil 4.18 ve 4.19'da sırasıyla ilgili adsorpsiyon grafiği ve kromatogramlar verilmektedir. Santrifüj hızının etkisi incelenirken BaP derişimi 500 µg/L olacak şekilde sabit tutulmuştur. Şekil 4.18 ve 4.19'da görüldüğü gibi adsorplanan BaP oranı santrifüj hızının artması ile birlikte önemli bir miktarda azalmaktadır. Kompozit kartuşların kapasitesindeki azalma miktarlarının sırasıyla BaP-MIP-2 için 5.52 µg/g'dan 2.28 µg/g'a; NIP için 2.29 µg/g'dan 0.87 µg/g'a; HEMA için 0.51 µg/g'dan 0.24 µg/g'a düştüğü görülmüştür. Santrifüj hızının artışıyla adsorpsiyon kapasitesindeki azalma iki farklı şekilde açıklanabilir. BaP moleküllerinin kompozit kartuşlar içerisinde alıkonma süreleri santrifüj hızının artışı ile kısalmakta ve bundan dolayı BaP moleküllerinin gözeneklerin içerisine (baskılanmış bölgelere veya fonksiyonel monomere) difüzyonu ve seçici etkileşimi için gerekli süre oluşmamaktadır; sonuç olarak kompozit kartuşun performansı düşmekte ve adsorpsiyon kapasitesi önemli düzeyde azalmaktadır. Diğer bir ifadeyle; artan santrifüj hızı, ileri yönde difüzyonu artırırken, yanal difüzyonu kısıtlanmaktadır. Böylece kompozit kartuşun yapısındaki aktif baskılanmış bölgeler etkin olarak kullanılamamaktadır. Sonuç olarak adsorpsiyon kapasitesinde azalma meydana gelir. Bu sonuçların ışığı altında tüm çalışmalar, en uygun santrifüj hızında (1000 rpm) yürütülmüştür.



Şekil 4.18. Adsorpsiyon kapasitesine santrifüj hızının etkisi: BaP derişimi: 500 µg/L; pH: 7.0; sıcaklık: 25°C.

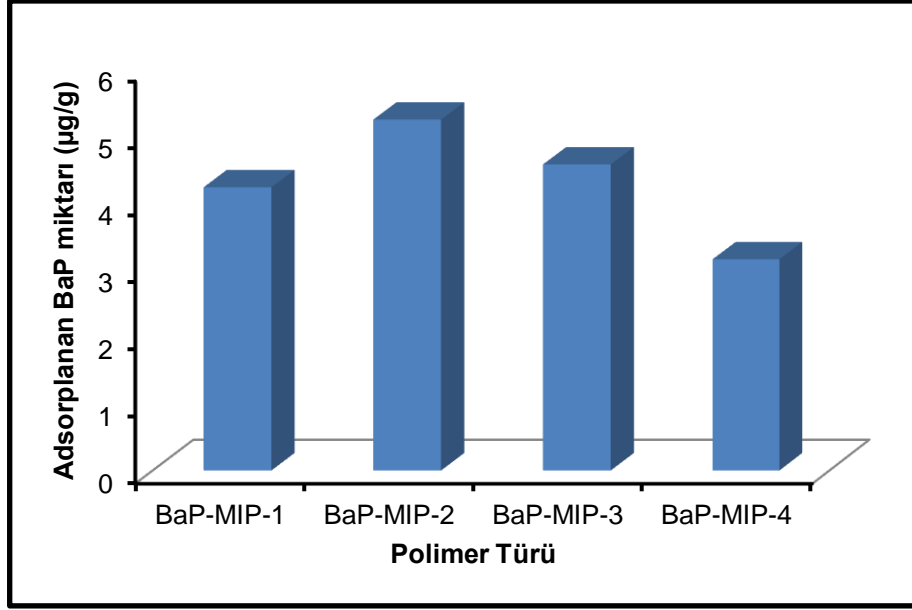


Şekil 4.19. Adsorpsiyon kapasitesine santrifüj hızının etkisi: HPLC koşulları: hareketli faz: asetonitril:su (90:10); akış hızı: 0.6 mL/dk; sıcaklık: 25°C.

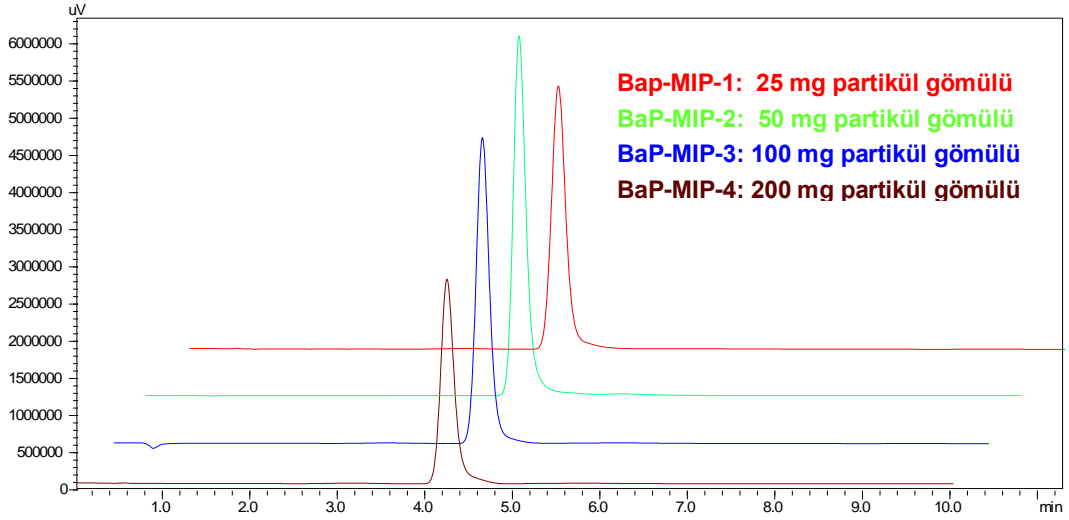
4.1.4.6. Baskılanmış Partikül Miktarının ve Monomer Oranının Etkisi

Sentezlenen kompozit kartuşların yapısında yer alan farklı miktarlardaki (25-200 mg) baskılanmış partiküllerin (Şekil 4.20) ve farklı kalıp molekül/fonksiyonel monomer oranlarında (Şekil 4.21) sentezlenen partikül gömülü kompozit kartuşların adsorpsiyon sürecine etkisi incelenmiştir. BaP-MIP-1, BaP-MIP-2, BaP-MIP-3 ve BaP-MIP-4 kompozit kartuşlarda farklı miktarlarda baskılanmış partiküller gömüldüğü belirtilmiştir. Bu optimizasyon çalışmaları kapsamında iki farklı etkin faktör incelenmiştir. Öncelikle, aynı kalıp molekül/fonksiyonel monomer oranına sahip partiküllerin farklı miktarının etkisi belirlenmiştir (Şekil 4.20). İkinci aşamada ise sabit partikül miktarında farklı kalıp molekül/fonksiyonel monomer oranına etkisi belirlenmiştir. Bu bağlamda; Şekil 4.21'de görüldüğü gibi sentezlenen bu kompozit kartuşlarda benzer BaP adsorpsiyon eğilimleri görülmektedir. Çünkü hem fonksiyonel monomer hem de kalıp molekül/fonksiyonel monomer oranı sabittir. Fakat en uygun miktarın belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda özellikle 50 mg partikül içeren BaP-MIP-2'nin, BaP'a karşı en seçici kompozit kartuş olduğu belirlenmiştir. Bu durum, partiküllerin kriyojel temelli iskelet içerisinde dağılımı olumsuz etkilemekte ve adsorpsiyon kapasitesi beklenmedik bir şekilde azalmaktadır.

Ayrıca BaP-MIP-2, BaP-MIP-5 ve BaP-MIP-6 kompozit kartuşların yapısındaki MAPA miktarlarının BaP adsorpsiyonuna etkisi incelenmiştir. Şekil 4.21'de görüldüğü gibi; yapıdaki MAPA monomeri oranı arttıkça adsorpsiyon kapasitesi de azalmaktadır. Bunun nedeni hedef molekül ile seçici etkileşime girecek fonksiyonel grupların artışıdır. Böylelikle etkileşim bölgesinin sayısı arttırılmakta ve daha fazla hedef molekül, adsorpsiyon kapasitesinde artışa neden olmaktadır.

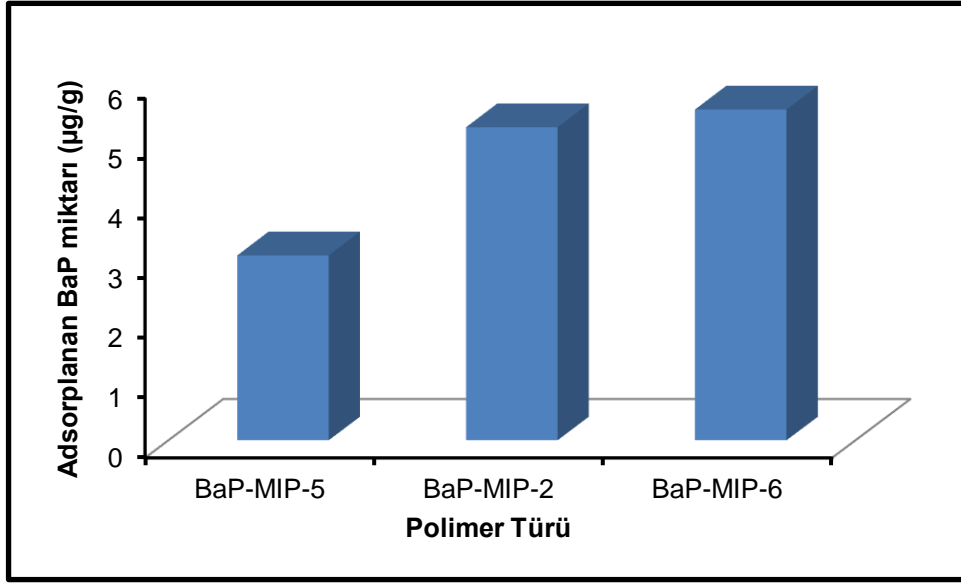


(a)

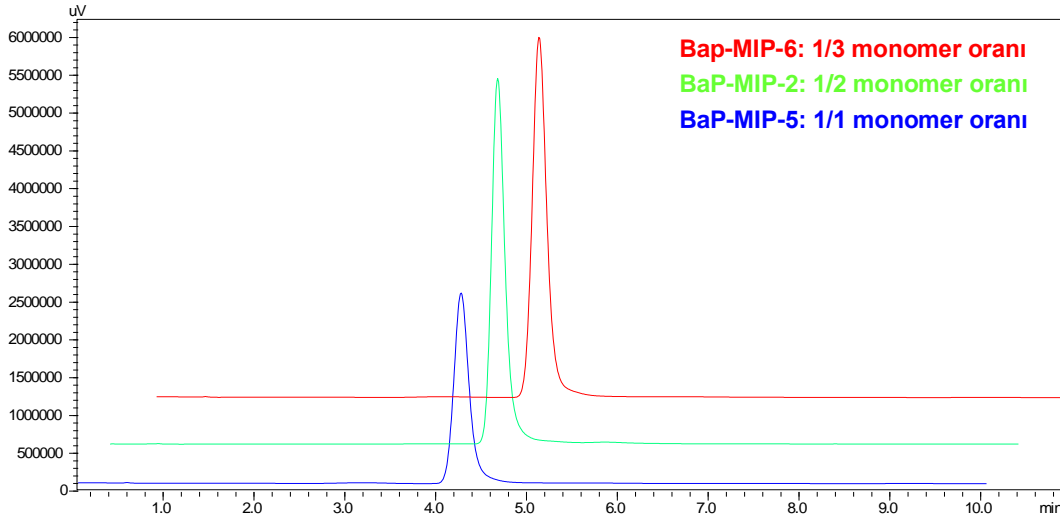


(b)

Şekil 4.20. Adsorpsiyon kapasitesine eklenen partikül miktarının etkisi: (a) adsorpsiyon grafiği ve (b) kromatogram. pH: 7.0; sıcaklık: 25°C; santrifüj hızı: 1000 rpm. HPLC koşulları: hareketli faz: asetonitril:su (90:10); akış hızı: 0.6 mL/dk; sıcaklık: 25°C.



(a)



(b)

Şekil 4.21. Adsorpsiyon kapasitesine kompozit kartuş içerisinde yer alan kalıp molekül/fonksiyonel monomer oranının etkisi: (a) adsorpsiyon grafiği ve (b) kromatogram. pH: 7.0; sıcaklık: 25°C; santrifüj hızı: 1000 rpm. HPLC koşulları: hareketli faz: asetonitril:su (90:10); akış hızı: 0.6 mL/dk; sıcaklık: 25°C.

4.1.4.7. Sulu Çözeltilerden Seçicilik Deneyleri

BaP baskılanmış kompozit kartuşların (BaP-MIP-2) seçiciliğini göstermek için BaP-MIP-2, baskılanmamış kompozit kartuşun (NIP) ve HEMA kompozit kartuşun etkinlikleri karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. BaP molekülü için seçicilik karşılaştırmaları için BbF, BkF, IcdP ve 1-naftol molekülleri kullanılmıştır. Tekli (yarışmasız) ve çoklu (yarışmalı) karışım ile gerçekleştirilen adsorpsiyon

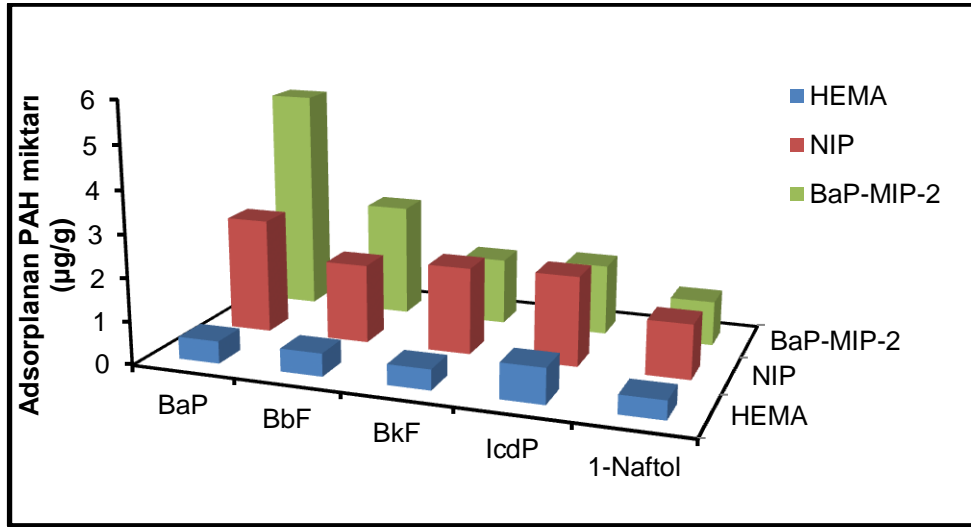
çalışmaları sonucu elde edilen veriler kullanılarak K_d , k , k' ve k'' sabitleri, Bölüm 3.2.7'de verilen eşitlikler aracılığıyla hesaplanmıştır.

Seçicilik çalışmasının ilk aşamasında, BaP molekülü ve diğer yarışmacı moleküllerin çözeltileri BaP-MIP-2, NIP ve HEMA kompozit kartuşlarla muamele edilmişlerdir. Bunlara ait sonuçlar Çizelge 4.3'de özetlenmiştir. Adsorpsiyon kapasitesi grafiği ve HPLC'de moleküllerin ayrımını gösteren kromatogramlar ise Şekil 4.22'de verilmiştir.

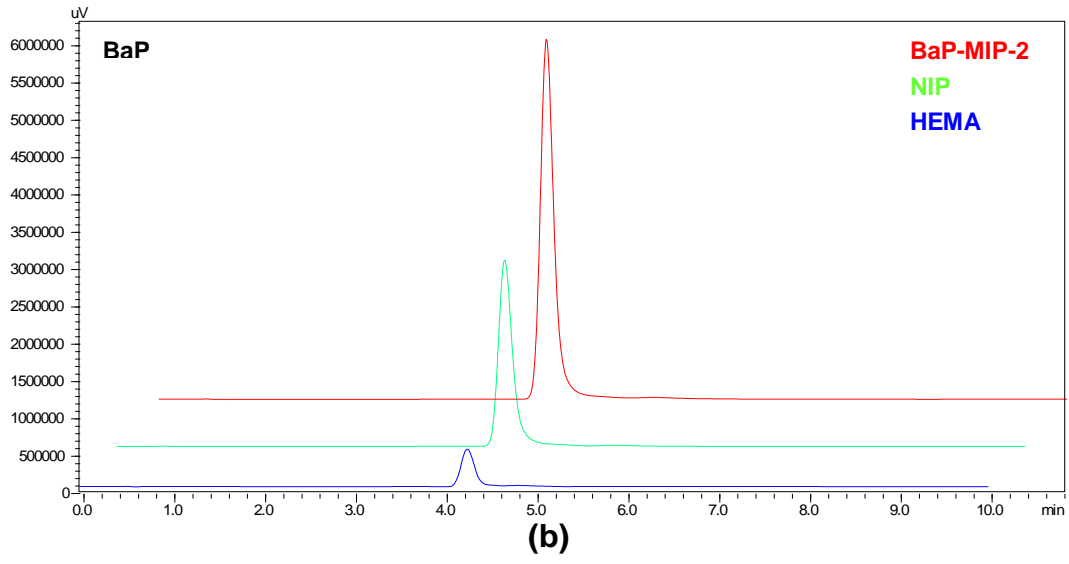
Çizelge 4.3. BaP'a göre BbF, BkF, IcdP ve 1-naftol için K_d , k , k' ve k'' değerleri

PAH'lar	BaP-MIP-2		NIP		HEMA			
	K_d	k	K_d	k	K_d	k	k' (MIP/NIP)	k'' (MIP/HEMA)
BaP	4609.04		759.94		90.44			
BbF	1465.45	3.15	747.28	1.02	140.87	0.64	3.09	4.90
BkF	454.06	10.15	712.84	1.07	107.92	0.84	9.52	12.11
IcdP	410.49	11.23	600.28	1.27	173.77	0.52	8.87	21.57
1-Naftol	519.61	8.87	751.05	1.01	170.75	0.53	8.77	16.75

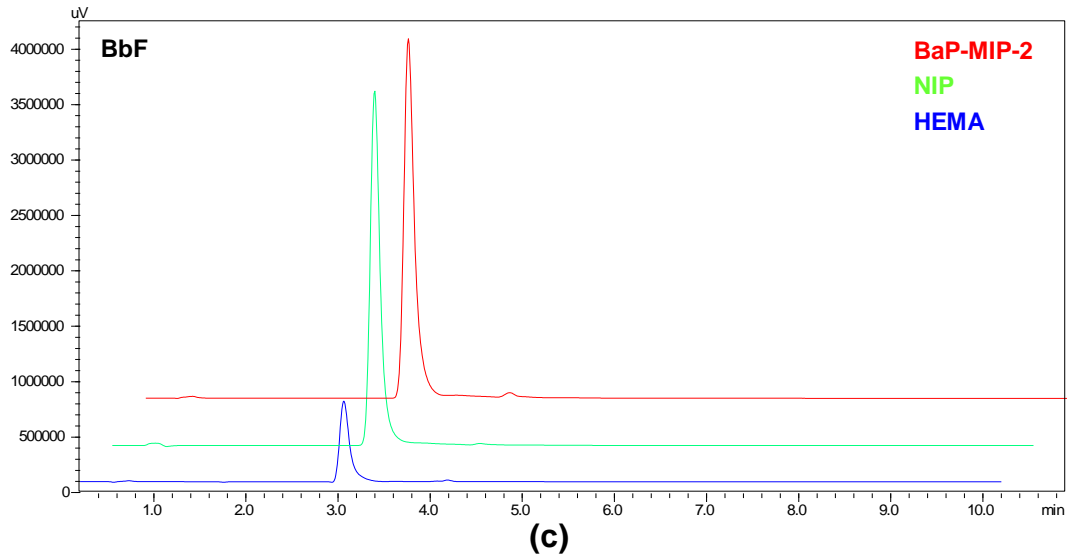
BaP-MIP-2 kompozit kartuşlardan geçirilen BbF, BkF, IcdP ve 1-naftol'un BaP'a göre K_d değerleri, NIP ve HEMA kompozit kartuşlarla karşılaştırıldığında; her durumda BaP'nin K_d değerleri yarışmacı PAH'lara göre daha yüksektir. Bağlı seçicilik katsayısı (k'), BaP baskılanmış tanıma bölgelerinin NIP kartuşlara göre afinitesini göstermektedir ve bu tanıma bölgeleri, seçici olarak BaP'ları adsorplayabileceğini belirtmektedir. NIP kompozitin BaP kapasite değeri, diğer HEMA kompozite göre daha yüksektir. BaP'ın BbF, BkF, IcdP ve 1-naftol'a göre bağlı seçicilik katsayıları NIP için 3.09, 9.52, 8.87 ve 8.77 iken HEMA için yine sırasıyla 4.90, 12.11, 21.57 ve 16.75 olarak hesaplanmıştır. NIP kompozitin yapısında bulunan fonksiyonel monomer (MAPA), BaP molekülleriyle seçici hidrofobik etkileşimlere girmekte ve bir miktar BaP tutmaktadır. HEMA kompozit kartuş tarafından tutulan BAP miktarı non-spesifik etkileşimlerden kaynaklanmaktadır. Bağlı seçicilik katsayıları görüldüğü gibi 1'in oldukça üzerindedir. Bu durum üretilen malzemelerin oldukça seçici şekilde BaP'ı tanıdığını belirtmektedir.



(a)

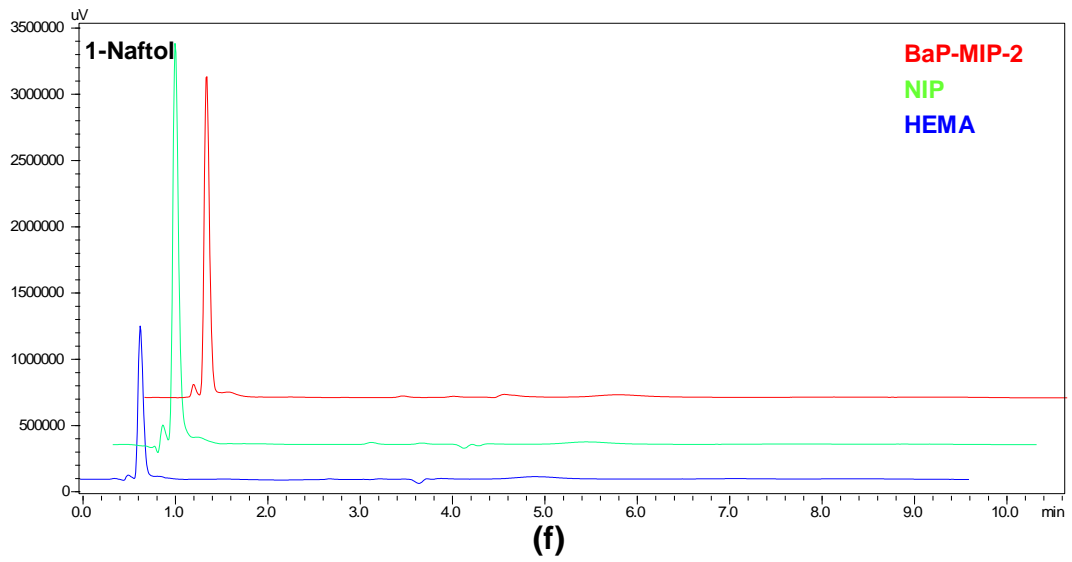
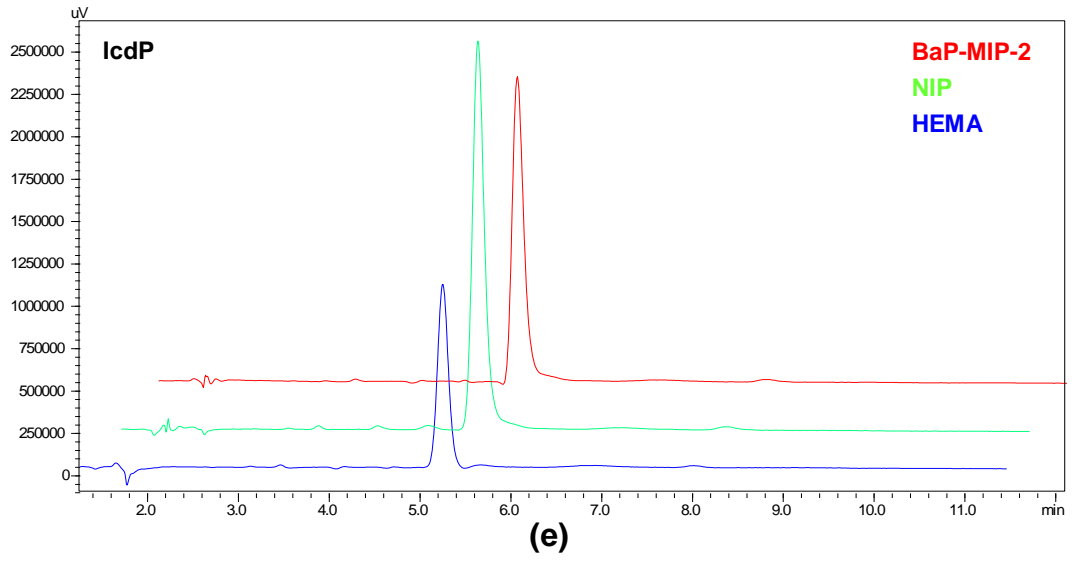
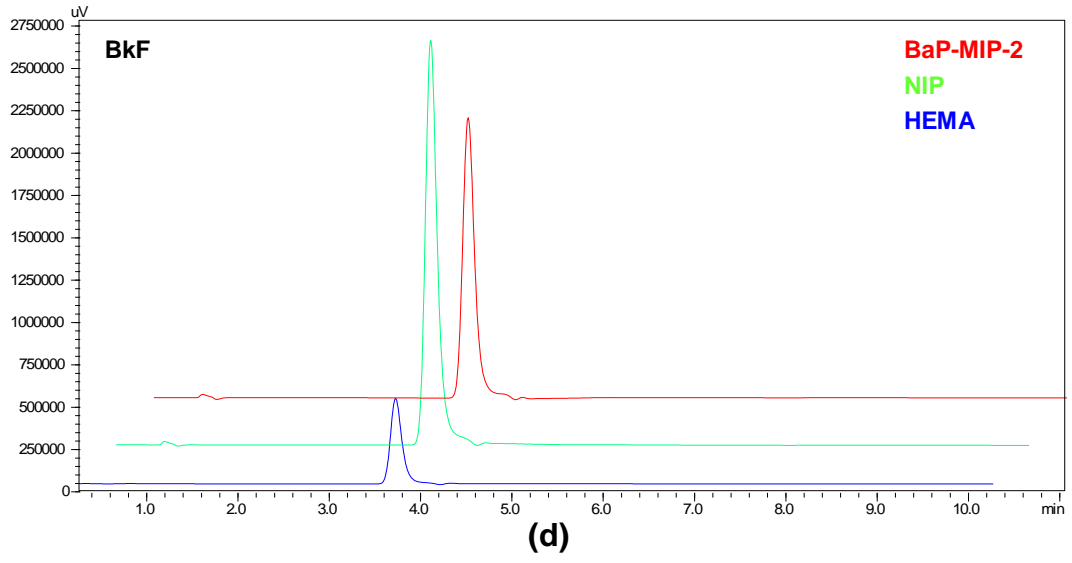


(b)



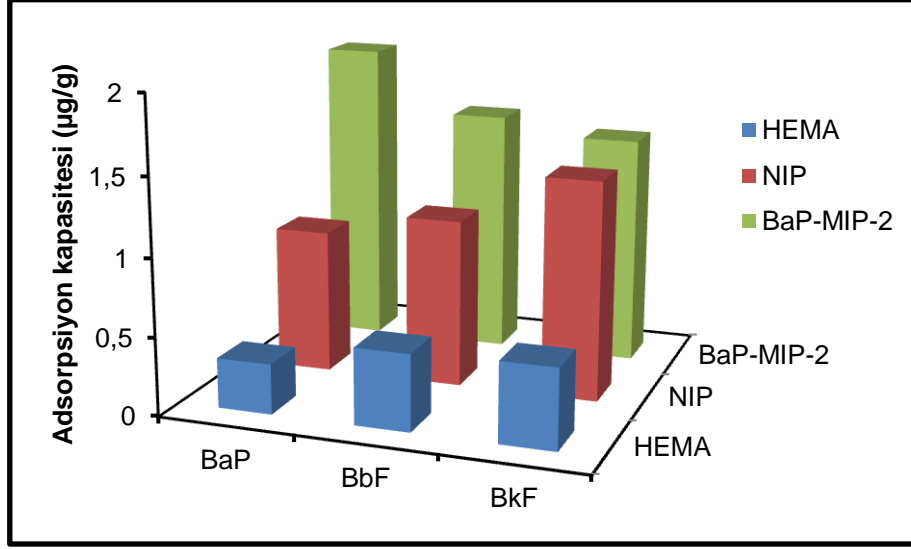
(c)

Şekil 4.22. Kompozit kartuşlara adsorbe edilen BaP ve diğer yarışmacı moleküllerin yarışmasız adsorpsiyonu: (a) adsorpsiyon grafiği ve (b-f) ilgili kromatogramlar. PAH derişimi: 500 µg/L; pH: 7.0; sıcaklık: 25°C, santrifüj hızı: 1000 rpm. HPLC koşulları: hareketli faz: asetonitril:su (90:10); akış hızı: 0.6 mL/dk; sıcaklık: 25°C.

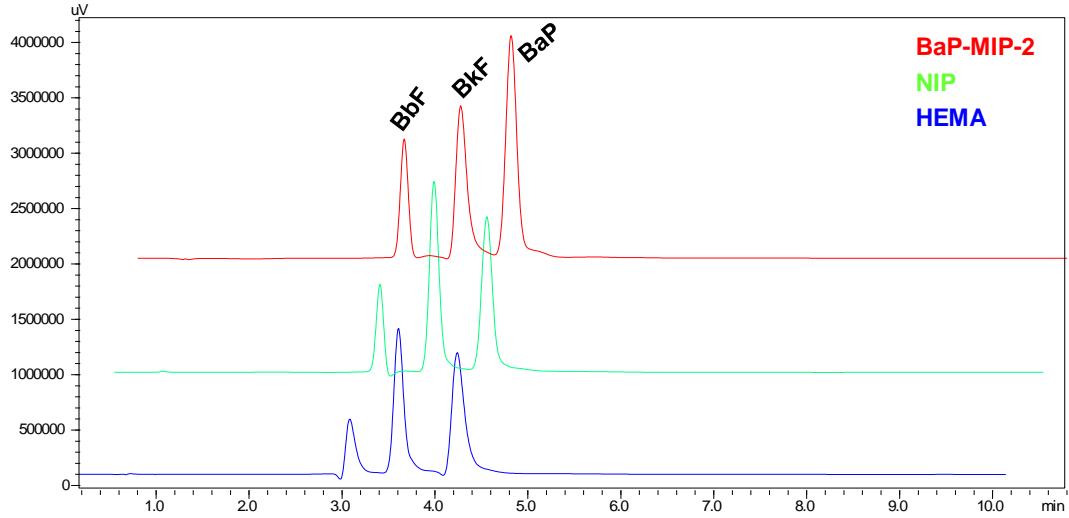


Şekil 4.22. (Devamı).

Seçicilik çalışmasının ikinci aşamasında, BaP molekülü ve seçilen diğer yarışmacı moleküller, ortamda BaP/BbF/BkF olacak şekilde üçlü olarak hazırlanmış ve yarışmalı adsorpsiyon çalışması gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.23). Çizelge 4.4’de üçlü ortamda, BaP’a göre, BbF ve BkF için K_d , k , k' ve k'' değerleri verilmiştir.



(a)



(b)

Şekil 4.23. Kompozit kartuşlara adsorbe edilen BaP ve diğer yarışmacı moleküllerin yarışmalı adsorpsiyonu. (a) adsorpsiyon grafiği ve (b) ilgili kromatogram. PAH derişimi: 500 µg/L; pH: 7.0; sıcaklık: 25°C, santrifüj hızı: 1000 rpm. HPLC koşulları: hareketli faz: asetonitril:su (90:10); akış hızı: 0.6 mL/dk; sıcaklık: 25°C.

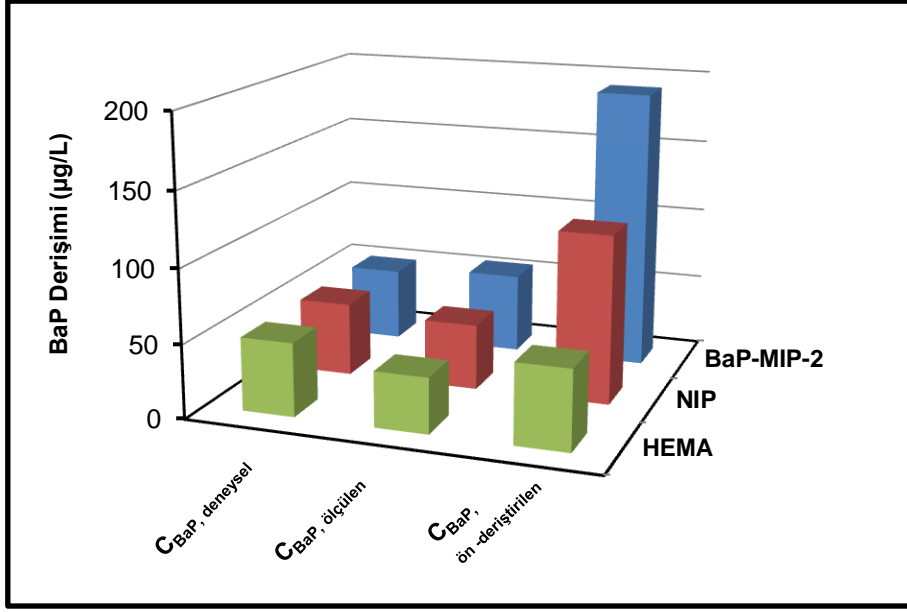
Çizelge 4.4. Üçlü yarışmalı koşullarda seçicilik deneyleri ve BaP'a göre BbF ve BkF için K_d , k , k' ve k'' degerleri.

PAH'lar	BaP-MIP-2		NIP		HEMA			
	K_d	k	K_d	k	K_d	k	k' (NIP)	k'' (HEMA)
BaP	532.92		195.90		60.21			
BbF	516.42	1.03	306.68	0.639	119.84	0.502	1.62	2.05
BkF	326.41	1.63	310.55	0.631	94.22	0.639	2.59	2.56

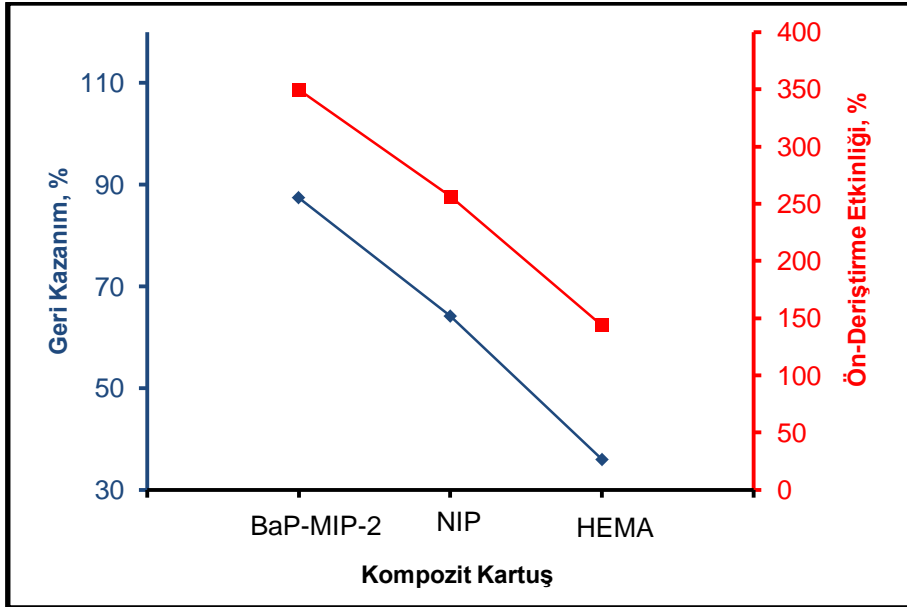
Üçlü karışımdaki yarışmalı adsorpsiyon kapasitesi bağıl seçicilik katsayıları, tekli çözeltilerdeki değerlerinden daha düşük olduğu gözlenmiştir. Bu durum, PAH'ların hem baskılanmış bölgelerle hem de fonksiyonel monomerle etkileşim için yarışmaya girdiğini ve antagonistik bir etkiye sebep olduklarını göstermektedir.

4.1.4.8. BaP Kompozit Kartuşların Ön-Derleştirme Etkinliğinin İncelenmesi

Bu aşmada geliştirilen kompozit kartuşların BaP ön-derleştirme etkinliği de incelenmiştir. Şekil 4.24'de ilgili desorpsiyon grafikleri ve kromatogramları verilmektedir. Bu doğrultuda HPLC tayin limiti dışına çıkan derişime (50 µg/L) sahip 4.0 mL hacimdeki BaP çözeltisi kompozit kartuşlar ile muamele edilmiştir. Daha sonra kompozit kartuşlar ile etkileştirilen BaP molekülleri ikinci aşamada daha düşük hacimde (1.0 mL) desorpsiyon ajanı ile elüe edilmiş ve yüksek verimde BaP geri kazanımı sağlanmıştır. BaP- MIP-2 kompozit kartuş için geri kazanım yüzdesi % 87.39 iken NIP ve HEMA kompozit kartuşlar için geri kazanım yüzdeleri sırasıyla % 64.16 ve % 35.95 olarak hesaplanmıştır. BaP-MIP-2, NIP ve HEMA kompozit kartuşlar için ön-derleştirme etkinlikleri ise sırasıyla % 349.6, % 256.6 ve % 143.8 olarak hesaplanmıştır. NIP ve HEMA kompozit kartuşlar için geri kazanım oranlarının düşük çıkmasının nedeni non-spesifik etkileşimlerle bağlanan BaP moleküllerinin kolondan yıkama ile uzaklaşması ve sonrasında elüsyon ajanında düşük miktarda bulunmasından kaynaklanmaktadır. Bu bağlamda 50 µg/L olan başlangıç derişimi, ön-derleştirme işlemi sonrasında BaP derişimi MIP-BaP-2 için 191.28 µg/L, NIP için 114.69 µg/L ve HEMA için 54.14 µg/L olarak hesaplanmıştır. Sonuçlardan görüldüğü gibi geliştirilen moleküler baskılanmış kompozitlerin seçici BaP ön-derştirilmesinde başarıyla kullanılabilir. Bu durum BaP moleküllerinin geri kazanım bağlamında başarılı bir ön-derleştirme sisteminin hazırlandığını göstermektedir.

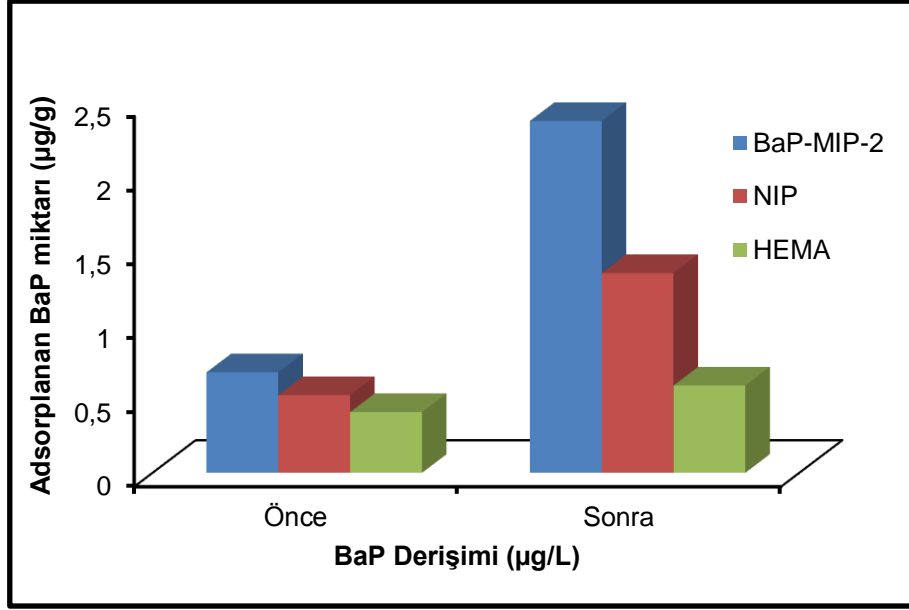


(a)

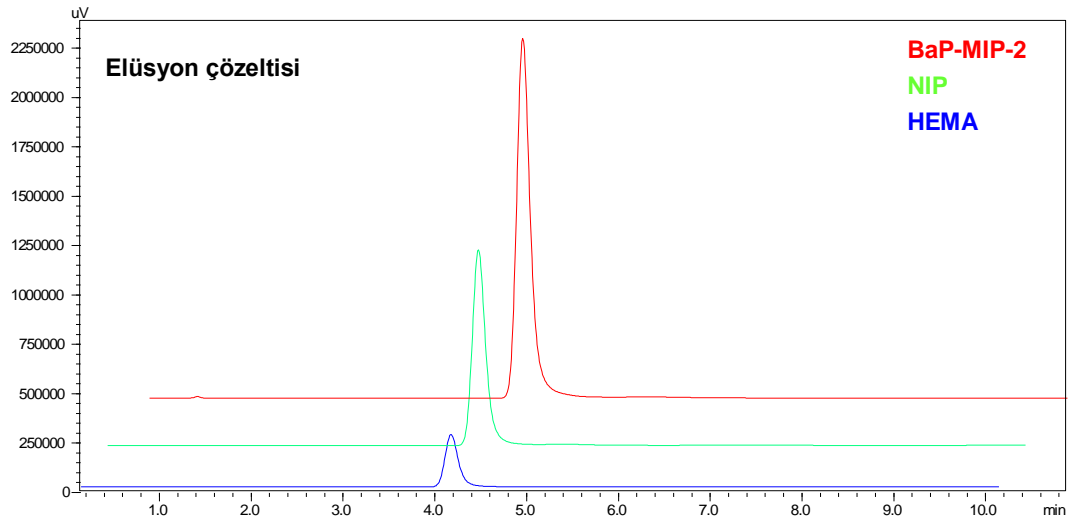
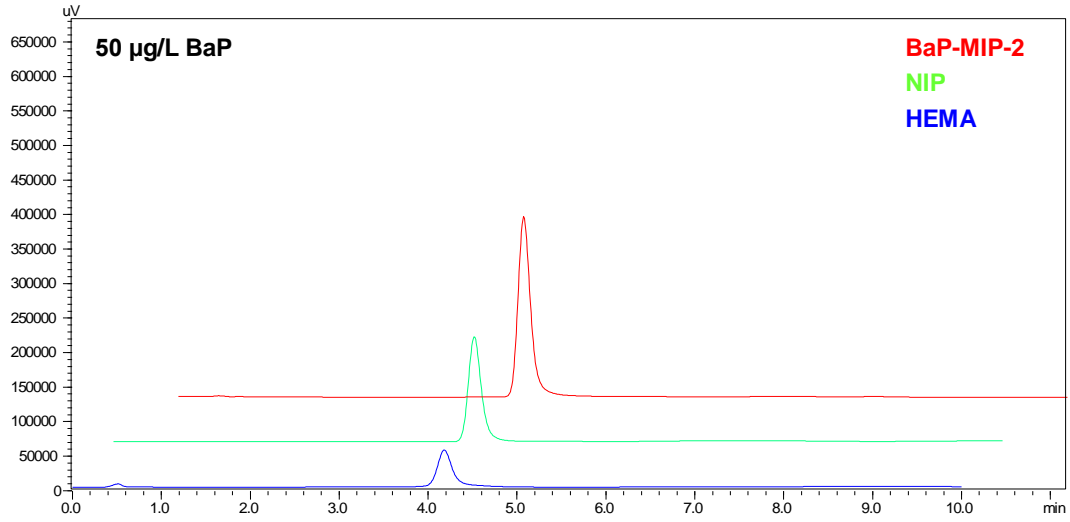


(b)

Şekil 4.24. Kompozit kartuşların ön-deriştirme etkinliği: (a) ön-deriştirme etkinliği; (b) geri kazanımlarının karşılaştırılması; (c) adsorpsiyon kapasiteleri ve (d) ilgili kromatogram. BaP başlangıç derişimi: 50 µg/L; pH: 7.0; sıcaklık: 25°C, santrifüj hızı: 1000 rpm. HPLC koşulları: hareketli faz: asetonitril:su (90:10); akış hızı: 0.6 mL/dk; sıcaklık: 25°C.



(c)

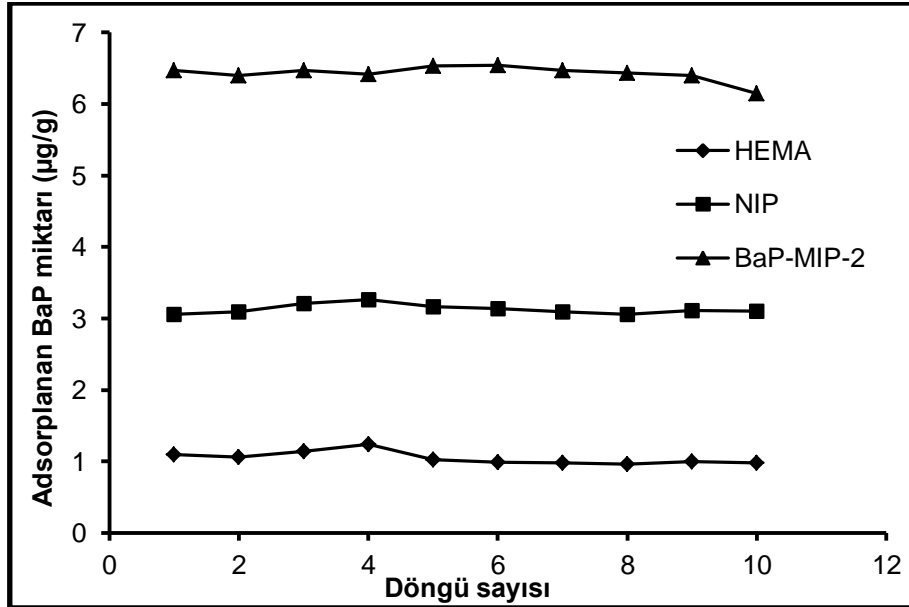


(d)

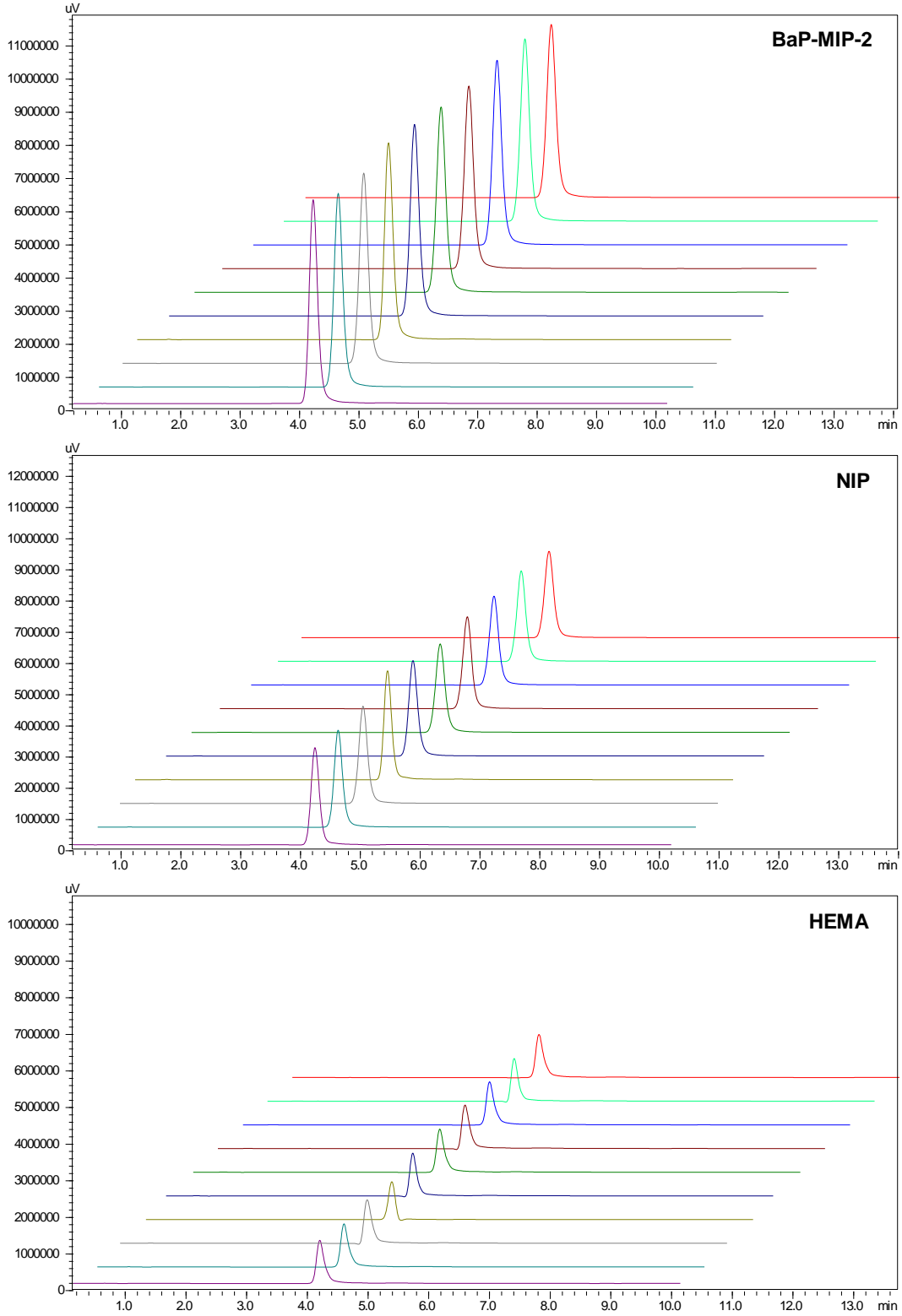
Şekil 4.24. (Devamı).

4.1.4.9. Kompozit Kartuşların Tekrar Kullanılabilirliği

Ön-deriştirme kartuşlarının en önemli özelliklerinden biri defalarca kullanılabilmeye olanak vermesidir. Bu amaçla geliştirilen kompozit kartuşların tekrarlanabilirliğini incelemek için BaP moleküllerinin BaP-MIP-2 kompozit kartuşlara adsorpsiyon/desorpsiyon işlemleri aynı kompozit kartuşlar kullanılarak ardışık on defa tekrarlanmış ve elde edilen adsorpsiyon çözeltisi HPLC ile analiz edilerek kartuşların tekrarlanabilirliği yüzde görece standart sapma (% RSD) üzerinden kontrol edilmiştir. Desorpsiyon oranı BaP-MIP-2 için % 93, NIP için % 96 ve HEMA için % 95 olarak bulunmuştur. Şekil 4.25’de görüldüğü gibi 10 döngü boyunca adsorplanan BaP miktarında önemli bir azalma gözlenmemiştir. Elde edilen sonuçlar (Şekil 4.25 ve 4.26) 10 döngü boyunca adsorplanan BaP miktarında önemli bir azalma gözlemlenmediğini ortaya koymuştur.



Şekil 4.25. Kompozit kartuşların tekrar kullanılabilirliği: pH: 7.0; santrifüj hızı: 1000 rpm; derişim: 500 µg/L; sıcaklık: 25°C.



Şekil 4.26. Kompozit kartuşların tekrar kullanılabilirliği: BaP derişimi: 500 µg/L; pH: 7.0; sıcaklık: 25°C; santrifüj hızı: 1000 rpm. HPLC koşulları: hareketli faz: asetonitril:su (90:10); akış hızı: 0.6 mL/dk; sıcaklık: 25°C.

4.2. BaP Baskılanmış SPR Nanosensörler

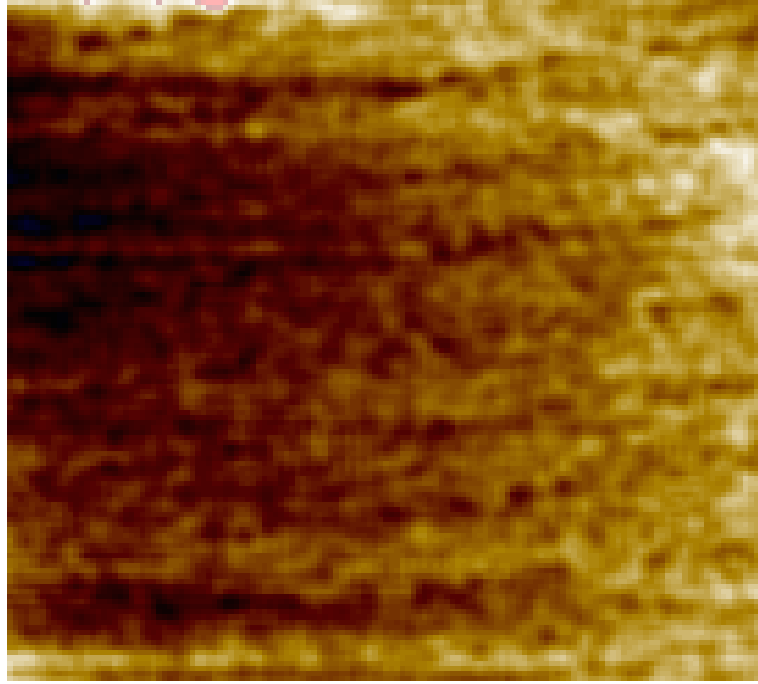
4.2.1. Nanosensörlerin Karakterizasyonu

4.2.1.1. Atomik Kuvvet Mikroskop Analizi

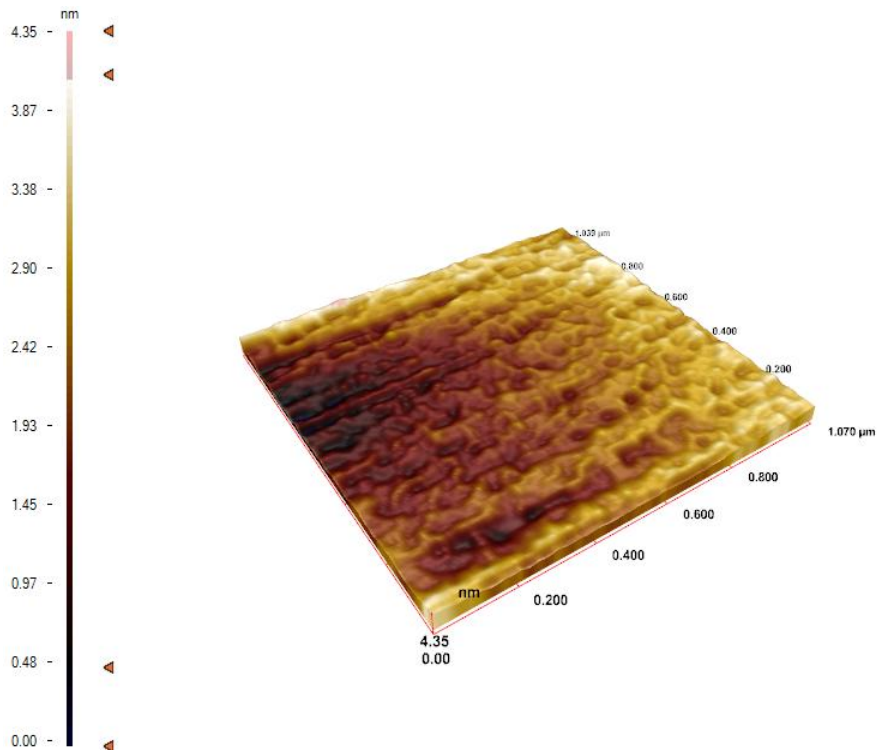
Modifiye edilmemiş, allil merkaptan ile modifiye edilmiş, BaP baskılanmış ve baskılanmamış SPR nanosensörlerin yüzey morfolojisi yarı degen modda atomik kuvvet mikroskobu ile karakterize edilmiştir. Asidik pirana çözeltisi ile temizlenmiş SPR sensörün yüzey derinliği, 4.35 nm olarak belirlenmiştir (Şekil 4.27). Allil merkaptan ile modifiye edilmiş SPR çipin yüzey derinliği ise yaklaşık 3.5 nm artarak 7.89 nm (Şekil 4.28) olarak belirlenmiştir. Baskılanmamış SPR sensörün yüzey derinliği ise 14.79 nm (Şekil 4.29) iken BaP baskılanmış SPR sensörün yüzey derinliği, 16.12 nm olarak bulunmuştur (Şekil 4.30). Bu sonuçlar; filmin yüzeye başarılı ve ince bir şekilde homojen olarak kaplandığını göstermektedir. Baskılanmış ve baskılanmamış nanofilm yüzey derinlik değerlerinin yakın olması, uygulanan polimerizasyon yönteminin uygun olduğunu ve BaP varlığının bu işlem üzerine önemli bir etkisinin olmadığını göstermektedir. Modifiye edilmemiş, allil merkaptan ile modifiye edilmiş, BaP baskılanmış ve baskılanmamış SPR nanosensörlerin AFM görüntüleri Şekil 4.27-4.30'da verilmiştir.

Çizelge 4.5. AFM kuvvet mikroskop sonuçları

Yüzey	Derinlik, nm
Modifiye edilmemiş altın yüzey	4.35
Allil merkaptan ile modifiye edilmiş yüzey	7.89
BaP baskılanmış SPR nanosensör	16.12
BaP baskılanmamış SPR nanosensör	14.79

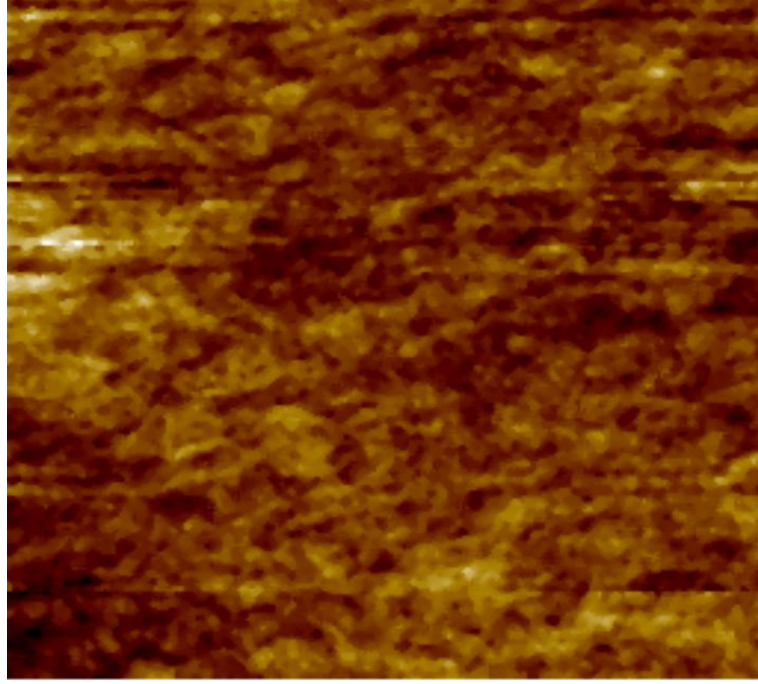


(a)

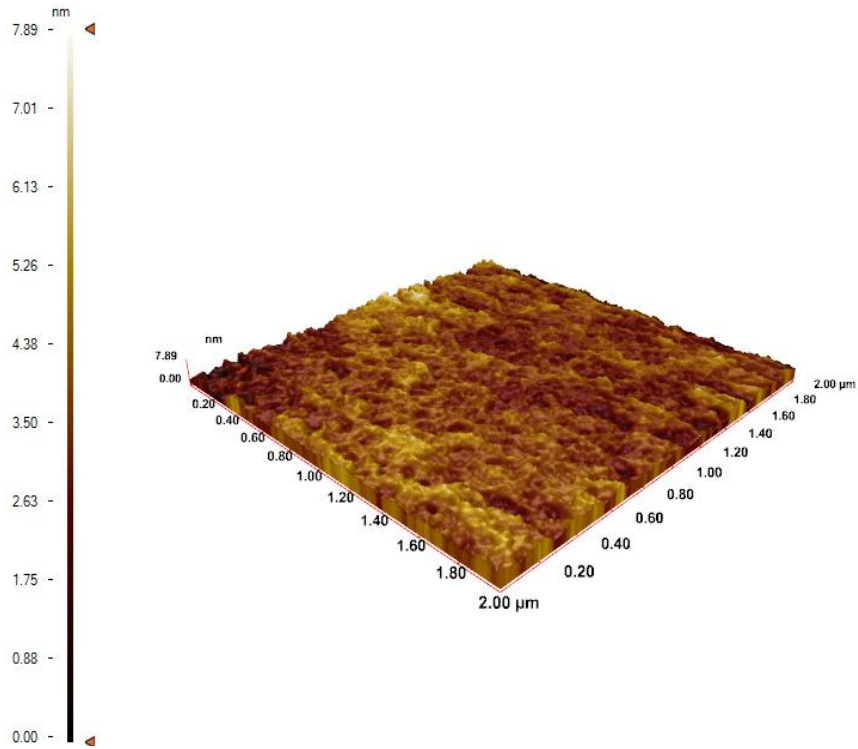


(b)

Şekil 4.27. Modifiye edilmemiş SPR çipinin yarı değen modda alınan AFM görüntüleri: (a) Yüzey ve (b) 3B görüntüsü.



(a)

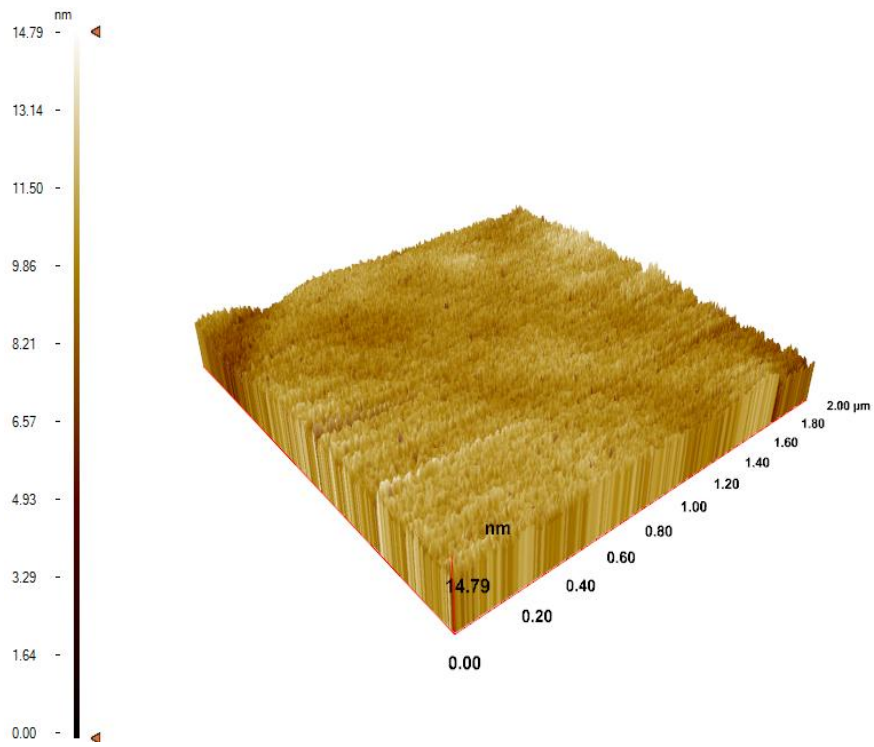


(b)

Şekil 4.28. Allil merkaptan ile modifiye edilmiş SPR çipinin yarı değen modda alınan AFM görüntüleri: (a) Yüzey ve (b) 3B görüntüsü.

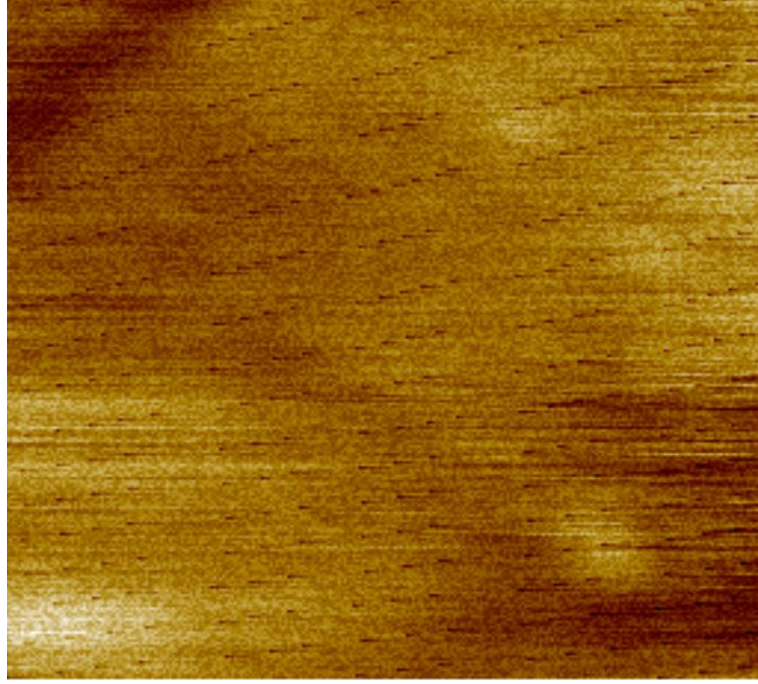


(a)

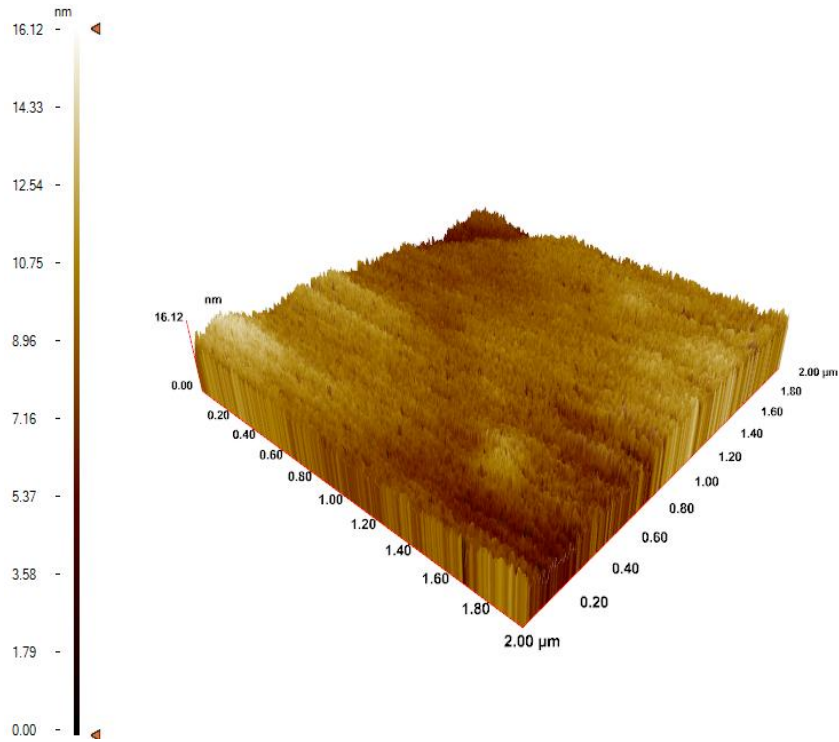


(b)

Şekil 4.29. Baskılanmamış SPR nanosensörün yarı değen modda alınan AFM görüntüleri: (a) Yüzey ve (b) 3B görüntüsü.



(a)



(b)

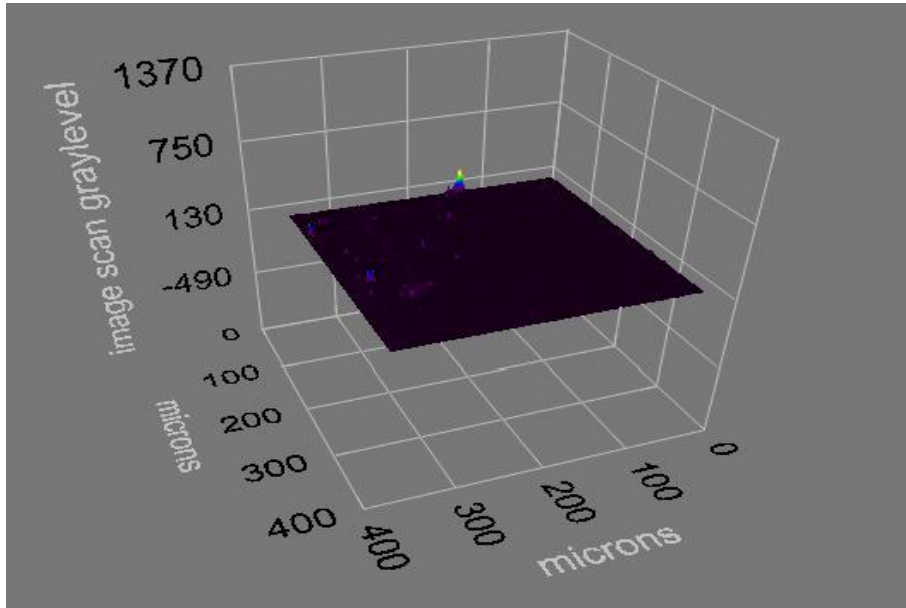
Şekil 4.30. BaP baskılanmış SPR nanosensörün yarı değen modda alınan AFM görüntüleri: (a) Yüzey ve (b) 3B görüntüsü.

4.2.1.2. Elipsometre Analizi

Allil merkaptan ile modifiye edilmiş, BaP baskılanmış ve baskılanmamış SPR nanosensörlerin ortalama yüzey kalınlığı elipsometre cihazı kullanılarak da incelenmiştir. BaP nanosensörlerin ortalama kalınlık değerleri sırasıyla 48.3 ± 4.6 nm ve 45.9 ± 3.7 nm olarak hesaplanmıştır. Çizelge 4.6'da SPR nanosensörlerin elipsometri değerleri özetlenmiştir. Bu sonuçlar, AFM sonuçları ile örtüşmekte olup filmlerin yüzeye ince bir şekilde tutturulduğunu göstermektedir. Her ne kadar polimerik film kalınlıkları AFM ölçümlerinde elde edilen yüzey derinlik (RMS) değerlerinden yüksek olsa da elipsometre ile alınan ölçümler reel kalınlık değerleridir. Çünkü, AFM ölçümleri yüzey topografyası ve göreceli yüzey derinlik değerleri ile ilgili bilgi vermektedir. Ayrıca, baskılanmış ve baskılanmamış nanosensör film kalınlıklarının ve yüzey topografyasının benzer değerlere sahip olması uygulanan polimerizasyon yönteminin oldukça uygun, tekrar edilebilir ve kalıp molekülünün varlığından etkilenmediği daha önce de tartışılmıştır.

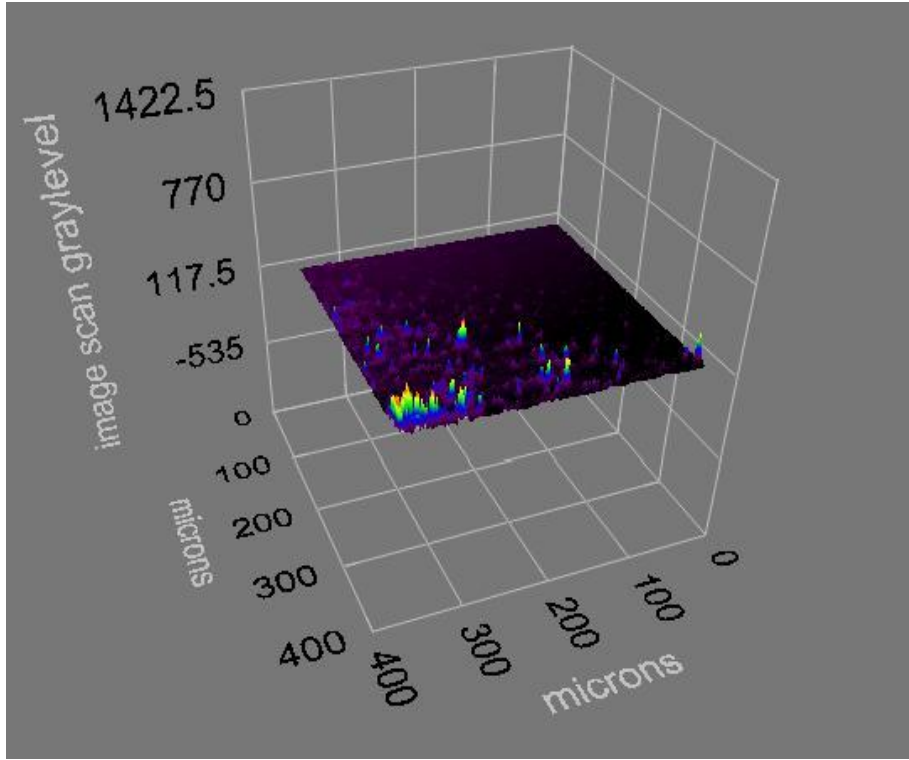
Çizelge 4.6. SPR nanosensörlerin elipsometri değerleri

Yüzey	Film kalınlığı, nm
Allil merkaptan ile modifiye edilmiş yüzey	4.4 ± 0.6
BaP baskılanmış SPR nanosensör	48.3 ± 4.6
Baskılanmamış SPR nanosensör	45.9 ± 3.7

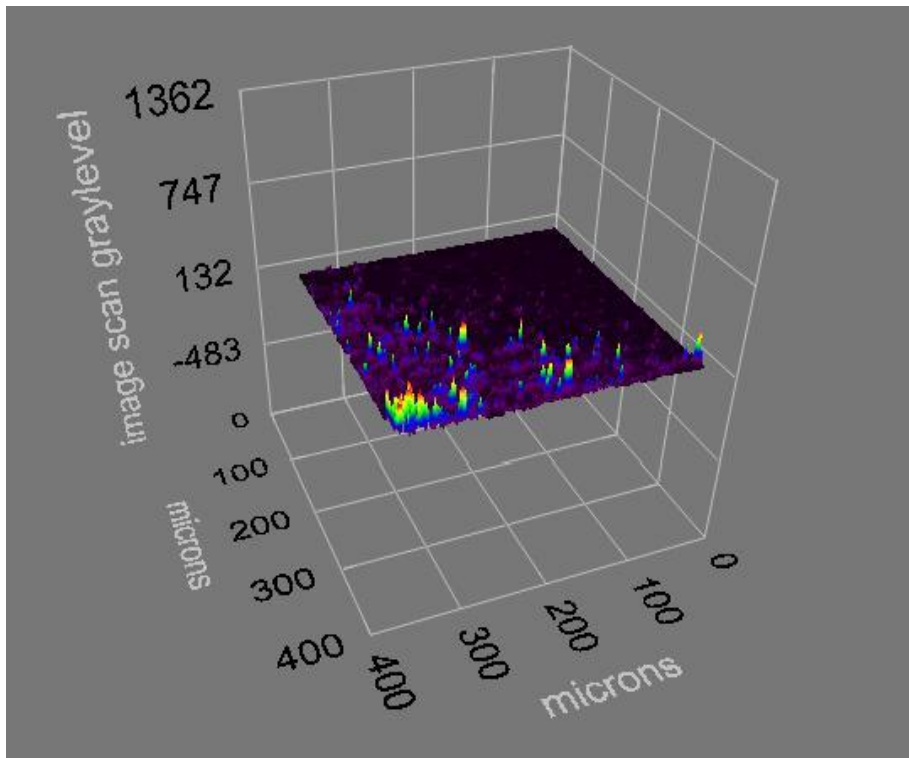


(a)

Şekil 4.31. Elipsometre analizleri: (a) Allil merkaptan ile modifiye edilmiş (b) baskılanmış ve (c) baskılanmamış SPR nanosensör yüzeyleri.



(b)



(c)

Şekil 4.31. (Devamı).

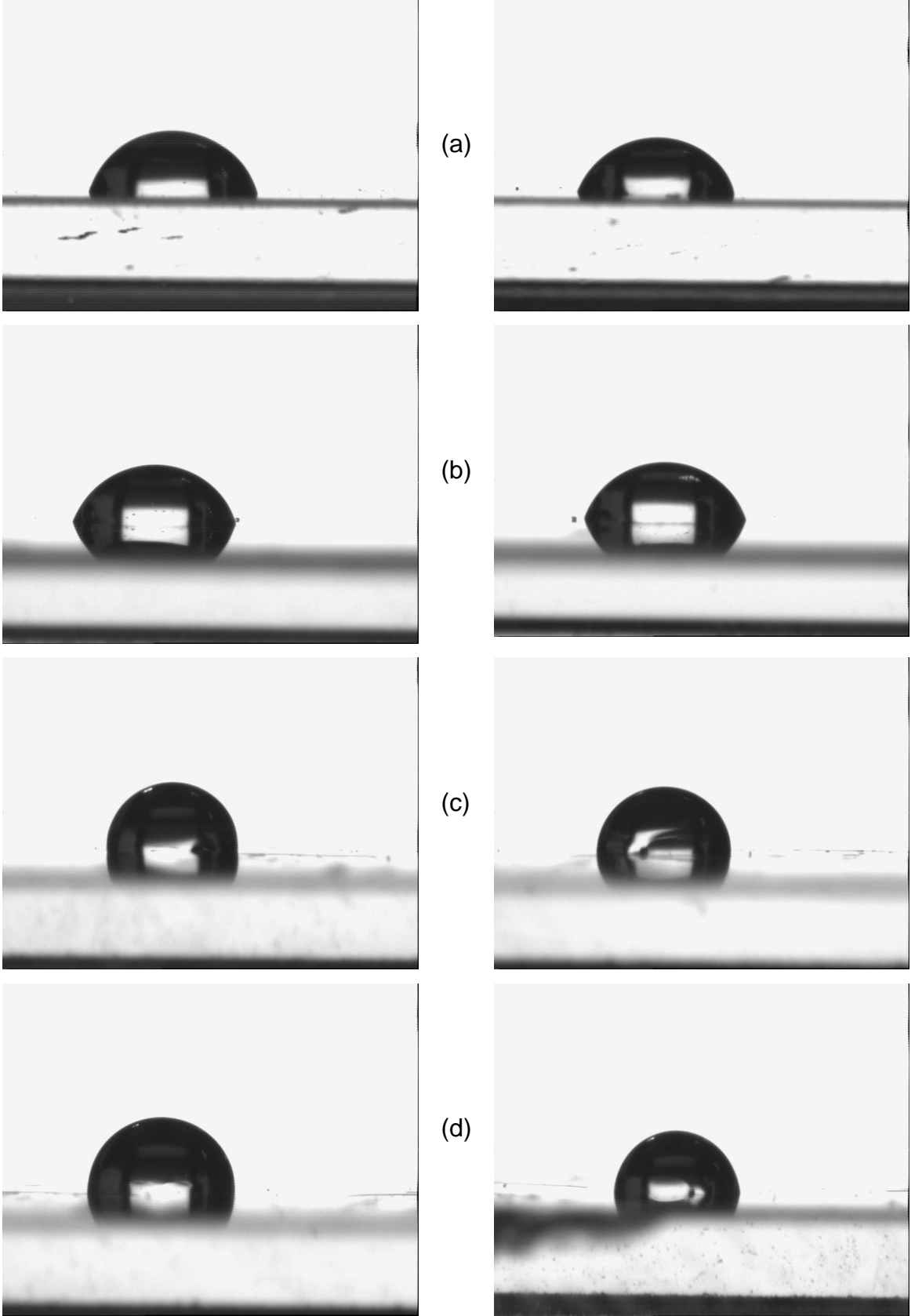
4.2.1.3. Temas Açısı Analizi

Modifiye edilmemiş, allil merkaptan ile modifiye edilmiş, baskılanmış ve baskılanmamış SPR nanosensörlerin yüzey karakterizasyonu Krüss DSA100 (Hamburg, Almanya) temas açısı cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Temas açısı değerleri DSA2 yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır. Çizelge 4.7’de SPR nanosensörlerin yüzey temas açıları özetlenmiştir.

Çizelge 4.7. SPR nanosensörlerin yüzey temas açıları

Yüzey	Temas Açısı, °
Modifiye edilmemiş altın yüzey	75.9
Allil merkaptan ile modifiye edilmiş yüzey	71.5
BaP baskılanmış SPR nanosensör	96.5
BaP baskılanmamış SPR nanosensör	91.5

Temas açısı ölçümlerinden görüldüğü gibi modifiye edilmemiş SPR çip yüzeyinin temas açısı değeri, 75.9°, allil merkaptan ile modifiye edilmiş SPR çip yüzeyinin temas açısı değeri, 71.5°, BaP baskılanmış SPR nanosensörün yüzey temas açısı 96.5° ve BaP baskılanmamış SPR nanosensörün yüzey temas açısı 91.5° olarak ölçülmüştür. Nanosensörlerin yüzey temas açısının önemli miktarda artışı yüzeyin daha hidrofobik özellikte olduğunun göstergesidir. Bu durum şu şekilde açıklanabilir; BaP baskılanmış ve baskılanmamış nanosensörlerin yüzeyindeki filmlerde fonksiyonel monomer olarak hidrofobik özellikteki MAPA monomeri yüzey temas açısı değerlerini artırmaktadır. Bir başka tanımla sensör yüzeyinin ıslanabilirliği azalmaktadır.



Şekil 4.32. Temas açısı ölçümleri: (a) Modifiye edilmemiş SPR çip yüzeyi; (b) allil merkaptan ile modifiye edilmiş SPR çip yüzeyi; (c) BaP baskılanmış SPR nanosensör yüzeyi ve (d) BaP baskılanmamış SPR nanosensör yüzeyi.

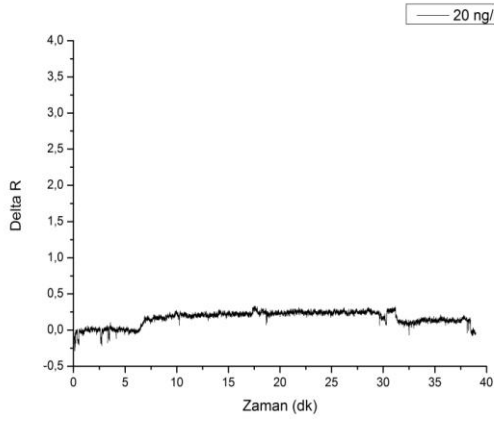
4.2.2. SPR Nanosensörlerle Kinetik Analizler

4.2.2.1. BaP Baskılanmış (BaP-MIP) SPR nanosensörlerle BaP Derişim Çalışması

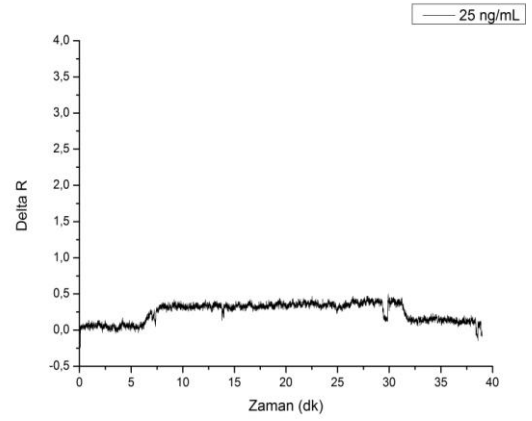
Bu çalışma kapsamında seçici ve eş zamanlı BaP tayini için baskılanmış SPR nanosensörler ön-deriştirme çalışmalarında elde edilen verilerin ışığı altında hazırlanmıştır. SPR sinyali ile BaP derişimi arasındaki ilişkisinin değerlendirilebilmesi için farklı derişimlerde (20-400 ng/mL) BaP çözeltileri hazırlanmıştır. Çözeltiler peristaltik pompa aracılığıyla SPR nanosensörle etkileştirilmiş ve SPRview yazılımı ile elde edilen veriler eş zamanlı olarak izlenmiş ve kinetik veriler alınmıştır. Şekil 4.33'de farklı derişimlerde BaP çözeltilerinden elde edilen sensorgramlar verilmektedir.

Standart bir ölçümde; sistemden öncelikle denge tamponu (a), daha sonra sistem yeniden dengeye ulaşana kadar BAP çözeltisi geçirilmiş (b) ve son aşamada desorpsiyon çözeltisi kullanılmıştır (c). Bütün ölçümlerde sistemin dengeye ulaşması için yaklaşık 30 dakika beklenmiştir. Desorpsiyon ve rejenerasyon işlemleri yaklaşık 5 dakika içinde gerçekleştirilmiştir.

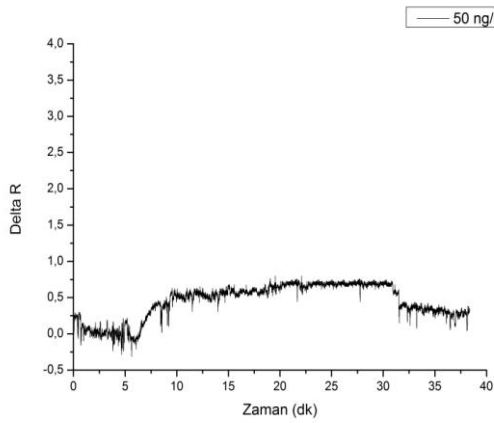
Farklı derişimlerde çözeltilerin nanosensörlere uygulanması ile SPR çizimlerinde % kırılmaya karşılık zaman grafikleri elde edilmiştir. Nanosensörlerden elde edilen % kırılma değerleri, verilerin değerlendirilmesinde önemli bilgiler sunmaktadır. Ancak, daha duyarlı veri değerlendirilmesi, anlık % kırılma değeri ile başlangıç % kırılma değeri arasındaki farkı gösteren delta kırılma (ΔR) verileri ile yapılmaktadır [202, 203]. Böylelikle, SPR nanosensörlerden elde edilen verilerin normalize edilmesi ve anlık ölçüm hatalarının önlenmesi mümkündür. Bu bağlamda; Şekil 4.33 ve 4.34'de farklı derişimlerde BaP çözeltilerinin nanosensörlere uygulanması ile elde edilen ΔR verilerine karşılık zaman grafikleri verilmiştir. Şekilden de görüldüğü gibi yüzeye BaP uygulanmasıyla birlikte ΔR değerlerinin de anlık olarak arttığı görülmektedir. Derişimdeki artışla birlikte ΔR değerindeki artışın daha fazla olduğu görülmüştür. Bunun sebebi olarak çözelti ile yüzey arasındaki sürücü güç olan derişim farkının artması gösterilebilir.



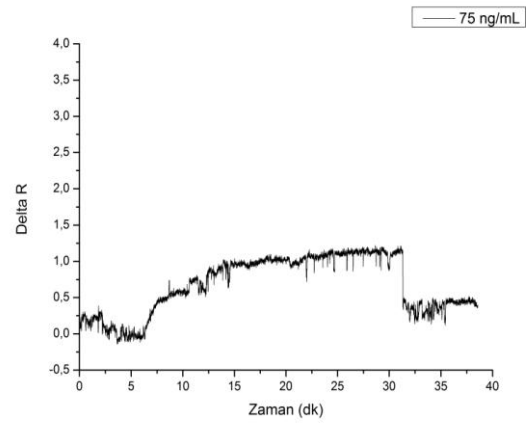
(a)



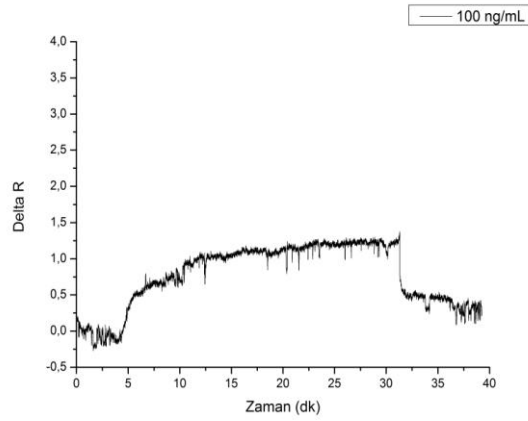
(b)



(c)

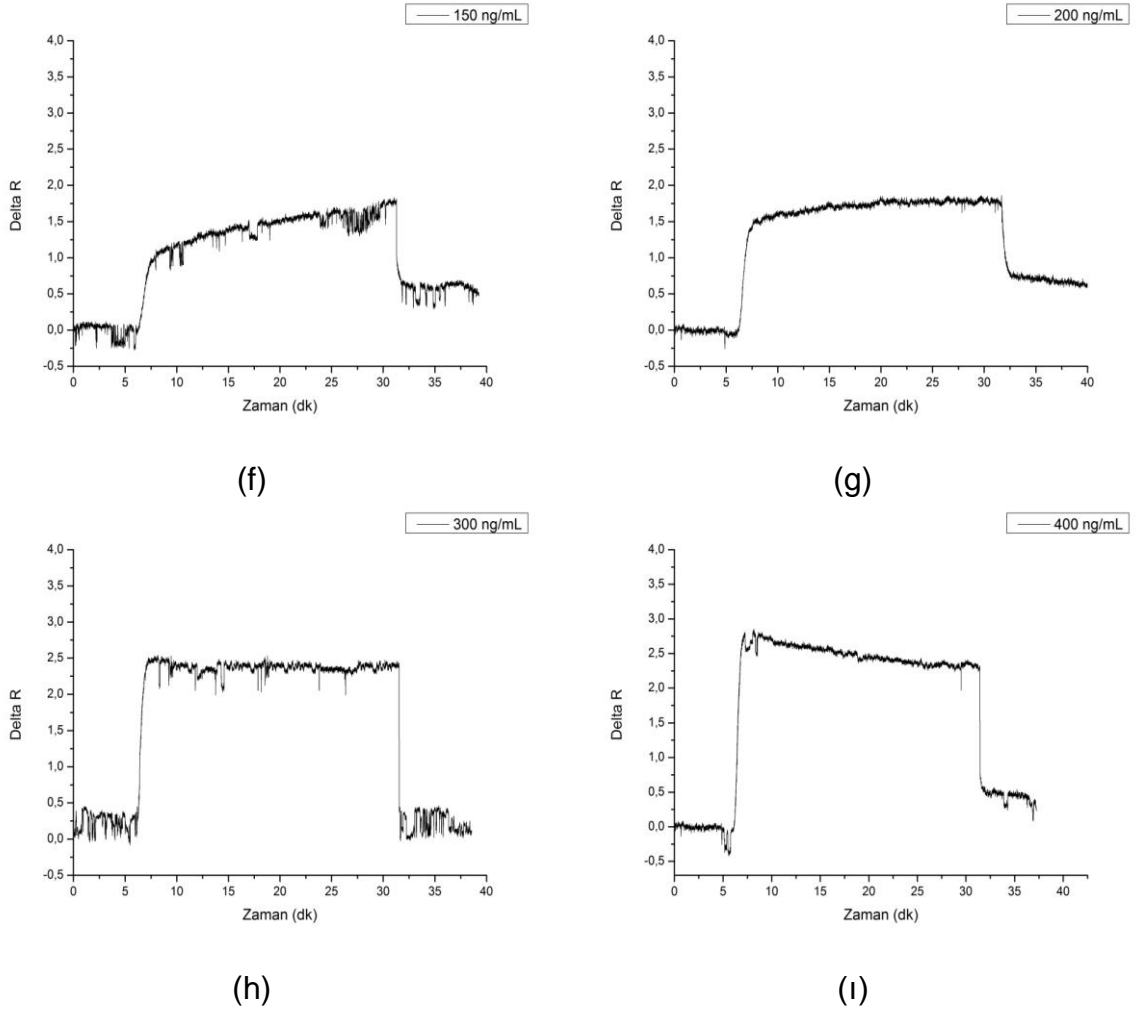


(d)

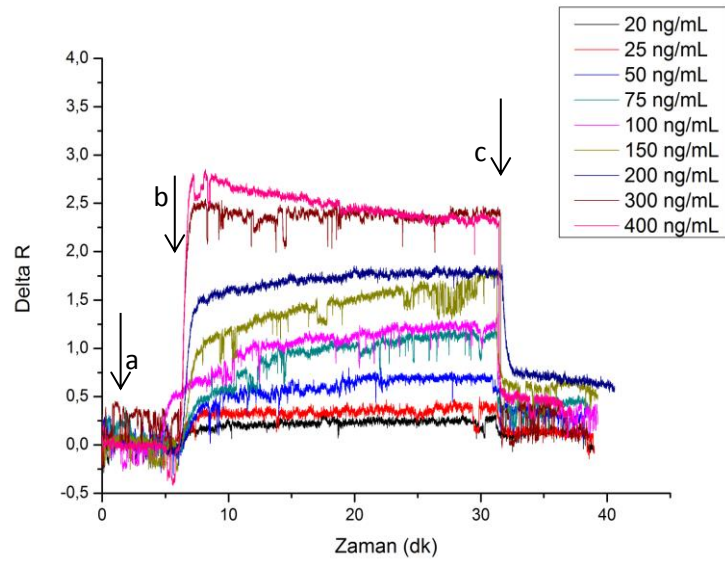


(e)

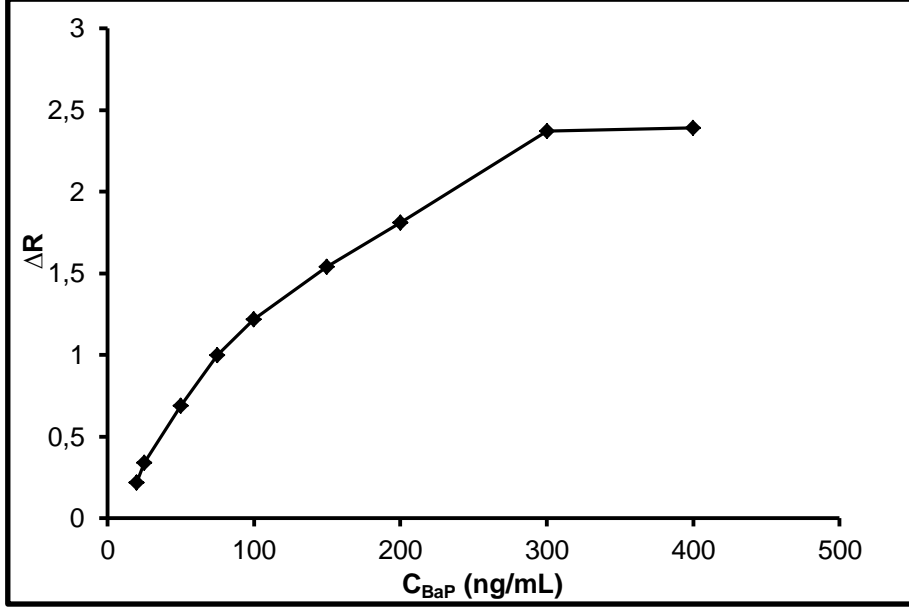
Şekil 4.33. BaP çözeltileri ile SPR nanosensör arasındaki etkileşimlere ait ΔR vs zaman sensorgramları: (a) 20 ng/mL; (b) 25 ng/mL; (c) 50 ng/mL; (d) 75 ng/mL; (e) 100 ng/mL; (f) 150 ng/mL; (g) 200 ng/mL; (h) 300 ng/mL ve (i) 400 ng/mL derişimlerinde hazırlanmış BaP çözeltileri. pH: 7.0; akış hızı: 1.0 mL/dk; sıcaklık: 25°C.



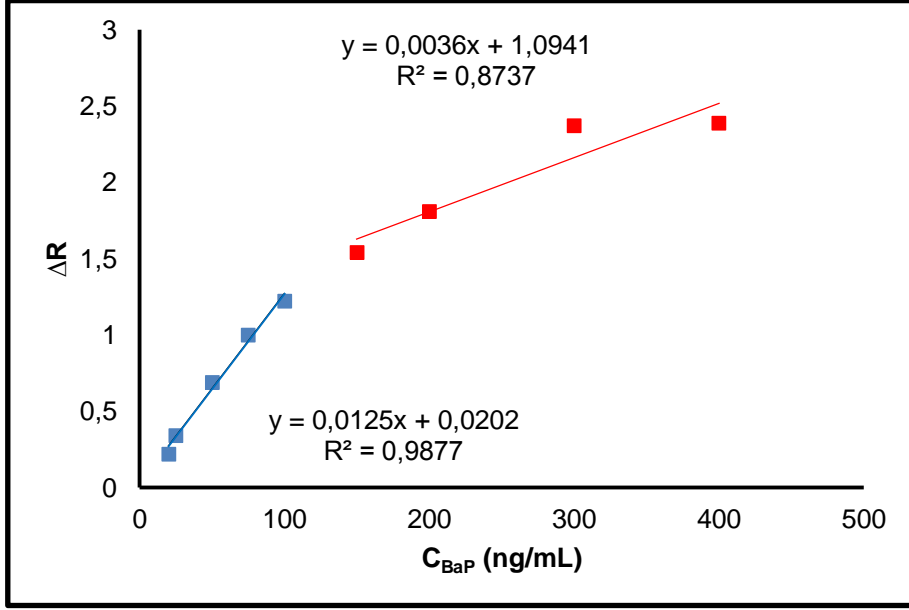
Şekil 4.33. (Devamı).



Şekil 4.34. BaP çözeltileri ile SPR nanosensör arasındaki etkileşimlere ait ΔR vs zaman sensorgramları (toplu gösterim): (a) Denge tamponu; (b) BaP çözeltisi ve (c) desorpsiyon çözeltisi. pH: 7.0; akış hızı: 1.0 mL/dk; sıcaklık: 25°C.



(a)



(b)

Şekil 4.35. BaP baskılanmış SPR nanosensöre ait derişim ile ΔR arasındaki ilişki.

Şekil 4.35 (a)'da görüldüğü gibi ΔR değeri, BaP derişimi arttıkça artmaktadır. Derişim artışıyla birlikte doğrusal olarak artan SPR sinyali 200 ng/mL derişim değerinden sonra doğrusallıktan sapmakta ve doygunluğa ulaşmaktadır. İkinci bir doğrusal bölgenin oluştuğu bu derişim aralığı yüzeydeki baskılanmış bölgelerin doyması ve analit (BaP) molekülleri arasında bir yarışın başlamasıyla ilişkilidir. Şekil 4.35 (b)'de görüldüğü gibi SPR nanosensör, iki farklı derişim aralığında derişim-sinyal doğrusallığı göstermektedir. Şekil 4.35 (b)'de görüldüğü gibi 0-100

ng/mL aralığındaki veriler değerlendirildiğinde elde edilen doğrunun denklemi ($y = 0.0125x + 0.0202$) iken 100-400 ng/mL aralığındaki doğrunun denklemi ($y = 0.0036x + 1.0941$) ve doğrulukları (R^2) sırasıyla 0.9877 ve 0.8737 olarak hesaplanmıştır.

Bu verilere göre; BaP molekülleri 20-100 ng/mL aralığında % 98.8, 150-400 ng/mL aralığında ise % 87.3 doğrulukta ölçüm yapabildiğini belirtmektedir.

- Denge Analizi

Toplam ligand miktarı ($[B]_0$), yüzeyin maksimum analit bağlama kapasitesi olarak tanımlanırsa; diğer tüm derişim değerleri SPR sinyali olarak ifade edilebilir. Böylelikle kütlelerin derişime dönüştürülme işleminin yapılmasına gerek kalmayacaktır. Serbest analit derişiminin akış hücresinde sabit kaldığı yalancı-birinci derece koşulları altında bağlanma şu şekilde ifade edilir:

$$d\Delta R/dt = k_a C(\Delta R_{maks} - \Delta R) - k_d \Delta R \quad (4.1)$$

Burada; $d\Delta R/dt$, SPR sinyalinin değişim hızı (1/s); R ve R_{maks} , bağlanma ile ölçülen ve maksimum sinyal; C , analit derişimi (ng/mL), k_a , bağlanma hız sabiti (mL/ng.s) ve k_d , ayrılma hız sabiti (1/s)'dir. Bağlanma sabiti K_A (ng/mL), k_a ve k_d sabitlerinin oranından hesaplanır ($K_A = k_a/k_d$). Denge durumunda, $d\Delta R/dt = 0$ alınarak eşitlik basitleştirilir:

$$\Delta R_{denge}/C = K_A \Delta R_{maks} - K_A \Delta R_{denge} \quad (4.2)$$

Bundan dolayı, bağlanma sabiti K_A , $\Delta R_{denge}/C$ 'ye karşı ΔR_{denge} grafiğinden hesaplanır. Ayrılma sabiti K_D ise; $1/K_A$ eşitliği ile hesaplanabilir.

- Bağlanma Kinetik Analizi

Eşitlik 4.1 tekrar düzenlendiğinde;

$$d\Delta R/dt = k_a C \Delta R_{maks} - (k_a C + k_d) \Delta R \quad (4.3)$$

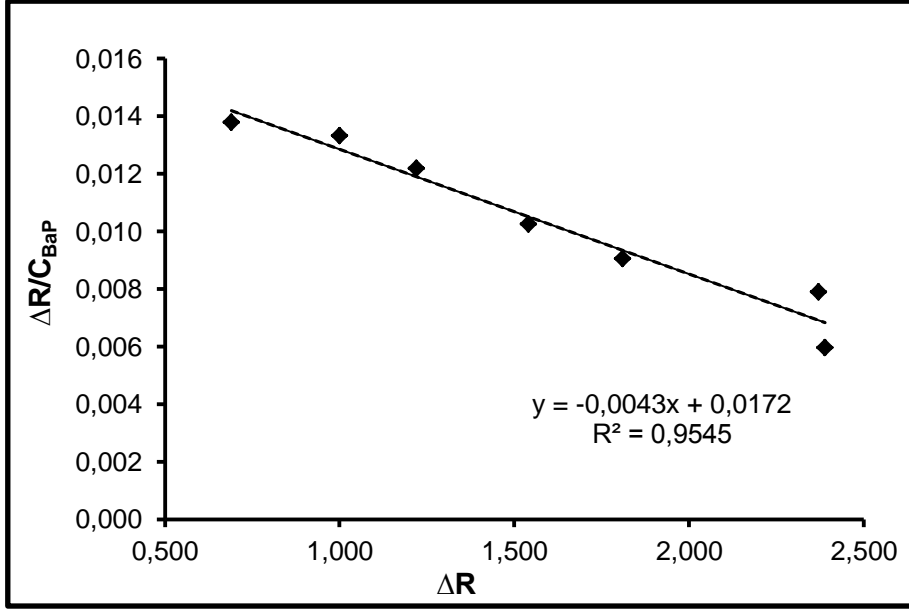
eşitliği elde edilir. Buradan, etkileşim kontrollü kinetikler için çizilen $d\Delta R/dt$ 'ye karşı ΔR grafiğinin, eğimi $-(k_a C + k_d)$ olan bir doğru verdiği görülmektedir. Başlangıç bağlanma hızı analit derişimiyle doğrusal bir ilişki içerisindedir ve kantitatif olarak derişim belirlenmesinde kullanılır. Eğer R_{maks} değeri biliniyorsa, tek bir sensorgram kullanılarak k_a ve k_d değerleri hesaplanabilir. Yüzeyi tamamen doygunluğa erıştirmek için çok yüksek analit derişimlerine gerekli olduğu için R_{maks} 'ın deneysel olarak belirlenmesi zordur. Tercih edilen yaklaşım, birçok farklı analit derişimlerinde bağlanma sensorgramlarının alınmasıdır. İleri ve geri yöndeki hızların analizi için çizilen $d\Delta R/dt$ 'ye karşı ΔR grafikleri, ileri ve geri yöndeki hız sabitleri ile ilişkili bir eğim değeri (S) vermektedir:

$$S = k_a C + k_d \quad (4.4)$$

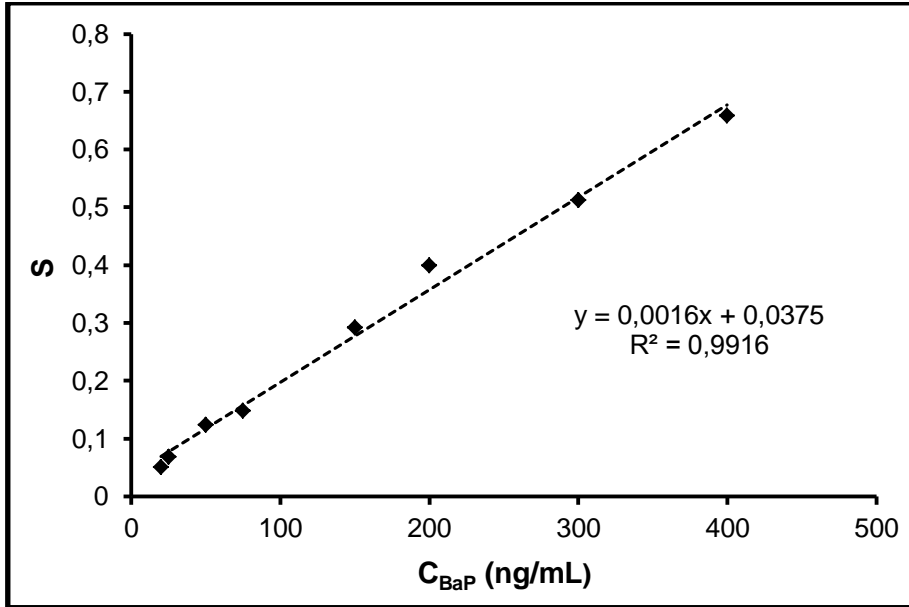
S'ye karşı C grafiği, eğimi k_a olan bir doğru vermektedir. Teorik olarak kesim noktası k_d değerini vermektedir. Fakat, $k_a C \gg k_d$ olduğu durumlarda k_d hesaplanması için bu yöntem çok güvenilir değildir. Daha güvenilir yöntem, ayrılma kinetiğinin incelenmesidir.

$$\ln(\Delta R_0 / \Delta R_t) = k_d (t - t_0) \quad (4.5)$$

Burada; ΔR_0 ve ΔR_t , ayrılma eğrisindeki t_0 ve t anlarındaki SPR sinyal değerleridir [204]. Şekil 4.36'de denge analizi ve bağlanma kinetik analizi için çizilen doğrular verilmiştir. Bu doğrulara ait denklemlerden hesaplanan ΔR_{maks} , k_a , k_d , K_A ve K_D değerleri Çizelge 4.8'de özetlenmiştir.



(a)



(b)

Şekil 4.36. Kinetik hız sabitlerinin belirlenmesi: (a) Denge analiz yaklaşımı (Scatchard) ve (b) bağlanma kinetik yaklaşımı.

Çizelge 4.8. Kinetik hız sabitleri

Denge Analiz (Scatchard)		Bağlanma Kinetik Analizi	
ΔR_{maks}	4	k_a , ng/mL.s	0.0016
K_A , ng/mL	232.56	k_d , 1/s	0.0375
K_D , mL/ng	0.0043	K_A , ng/mL	23.4375
R^2	0.9545	K_D , mL/ng	0.04266
		R^2	0.9916

4.2.2.2. Denge İzoterm Modelleri

BaP baskılanmış SPR nanosensör ile BaP arasındaki etkileşim modelini belirlemek amacıyla dört farklı izoterm modeli uygulanmıştır: Scatchard, Langmuir; Freundlich ve Langmuir-Freundlich (LF) modelleri.

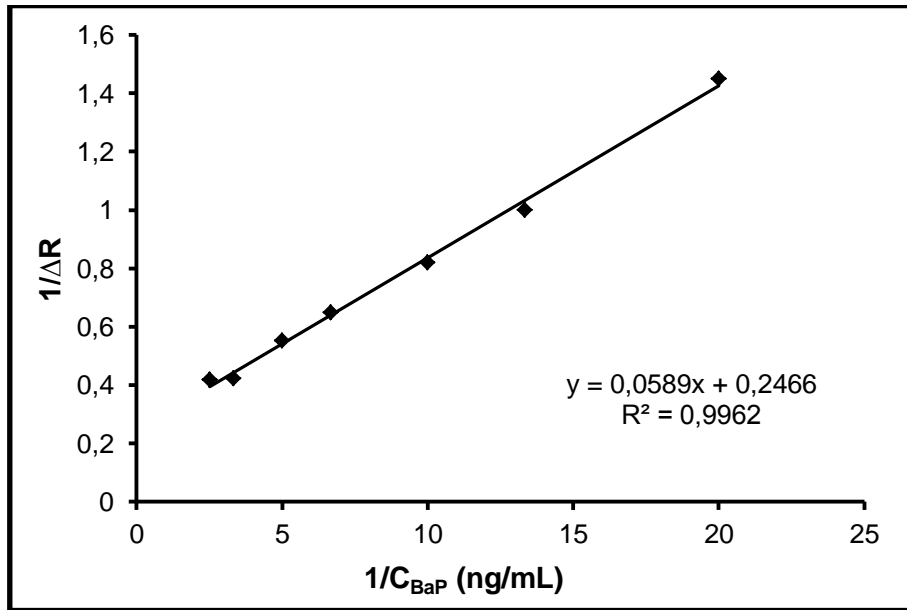
Scatchard	$\Delta R_{denge} / [C] = K_A (\Delta R_{maks} - \Delta R_{denge})$
Langmuir	$\Delta R = \{ \Delta R_{maks} [C] / K_D + [C] \}$
Freundlich	$\Delta R = \Delta R_{maks} [C]^{1/n}$
Langmuir-Freundlich	$\Delta R = \{ \Delta R_{maks} [C]^{1/n} / K_D + [C]^{1/n} \}$

Burada; ΔR_{maks} , teorik maksimum SPR sinyal kayması; ΔR_{denge} , denge halindeki SPR sinyal kayması; $[C]$, analit derişimi (ng/mL); K_A (ng/mL), bağlanma denge sabiti; K_D (mL/ng), ayrılma denge sabiti ve $1/n$, Freundlich yüzey heterojenite indeksidir.

Langmuir modeli, adsorpsiyon süreçlerini tanımlamak için kullanılan en basit ve en yaygın modeldir. İlk teorik adsorpsiyon modelidir ve moleküler baskılamanın termodinamiğini incelemeye yaygın olarak kullanılır. Langmuir modeli aşağıdaki varsayımlara dayanmaktadır: a) moleküller katı yüzeyde sadece spesifik bölgelere bağlanır; b) her adsorpsiyon bölgesi sadece bir molekülü adsorplar; c) katı yüzeyde adsorbe olmuş tüm moleküller son olarak tek bir tabaka meydana getirirler; d) tüm adsorpsiyon bölgeleri eşit enerjiye sahiptir ve e) adsorbe olmuş moleküller arasında hiçbir yanıl etkileşim meydana gelmez.

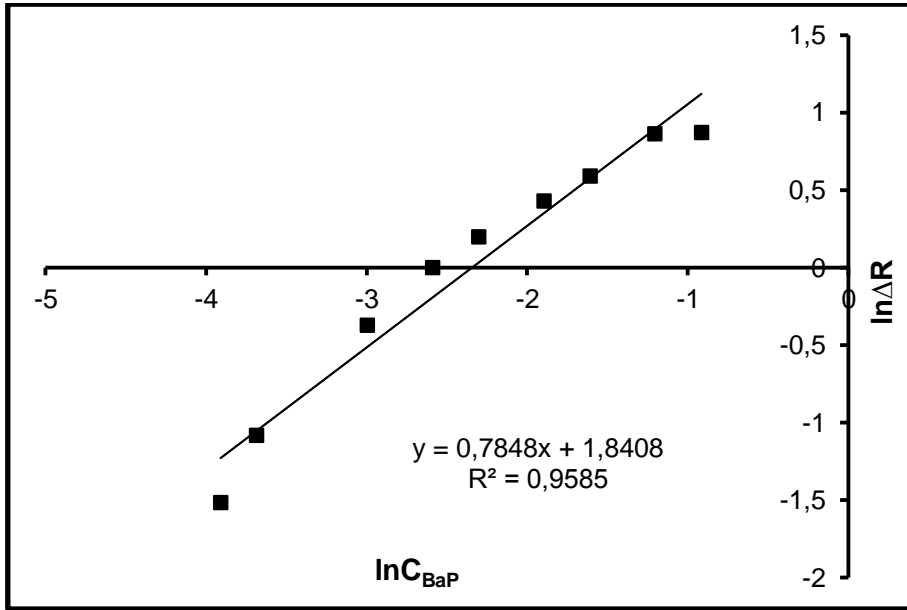
Langmuir adsorpsiyon modeli sadece tek tür bağlanma bölgesine sahip sistemler için uygulanabilir. MIP'lardaki çeşitli faktörler bağlanma bölgesinin oluşumunu etkiler, bu da bağlanma yöntemlerinin çeşitliliği ile sonuçlanır. Bağlanma bölgelerinin sayısı (N) ve bağlanma sabiti (K) arasındaki ilişkiyi tanımlayan afinite bağlanma eğrisi sürekli olmalıdır. Umpleby ve ark. çalışmaları doğrultusunda MIP'ların bağlanma özelliklerinin Freundlich modeli kullanılarak daha doğru sonuç verebileceğini ortaya koymuşlardır. Freundlich modeli doymamış bağlanma bölgelerinin izoterm eğrilerinin kullanılması için uygundur [205].

Freundlich adsorpsiyon modeli, özellikle düşük derişimlerde MIP sistemlerine uygunluk göstermektedir [206]. Fakat bu model, yüksek derişim değerlerinde bazı sapmalar göstermektedir. Bu sapmaları engellemek için Langmuir-Freundlich ikili modeli kullanılabilir. Bu model, heterojenite olduğu durumda çok düşük derişimlerden doygunluğa kadar geniş derişim aralıklarında MIP sistemleriyle uygunluk göstermektedir [207]. Şekil 4.37'de Langmuir, Freundlich ve Langmuir-Freundlich modellerine ait grafikler verilmiştir.

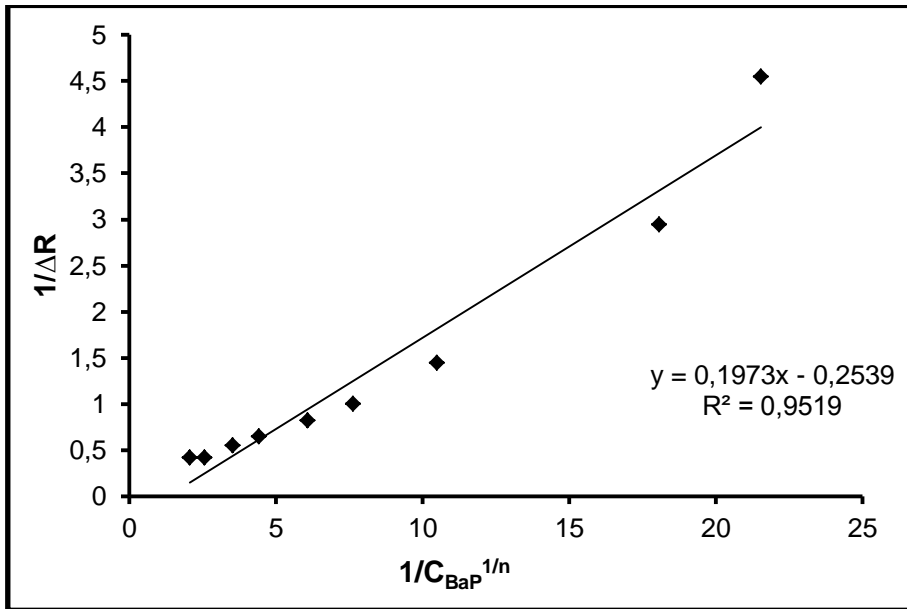


(a)

Şekil 4.37. Adsorpsiyon modelleri: (a) Langmuir; (b) Freundlich ve (c) Langmuir-Freundlich.



(b)



(c)

Şekil 4.37. (Devamı).

Çizelge 4.9. Langmuir, Freundlich ve Langmuir-Freundlich parametreleri

Langmuir		Freundlich		Langmuir-Freundlich	
ΔR_{maks}	4.055	ΔR_{maks}	6.30	ΔR_{maks}	3.939
K_D , mL/ng	0.2388	1/n	0.7848	1/n	0.7848
K_A , ng/mL	4.18	R^2	0.9585	K_D , mL/ μ g	0.777
R^2	0.9962			K_A	1.28
				R^2	0.9544

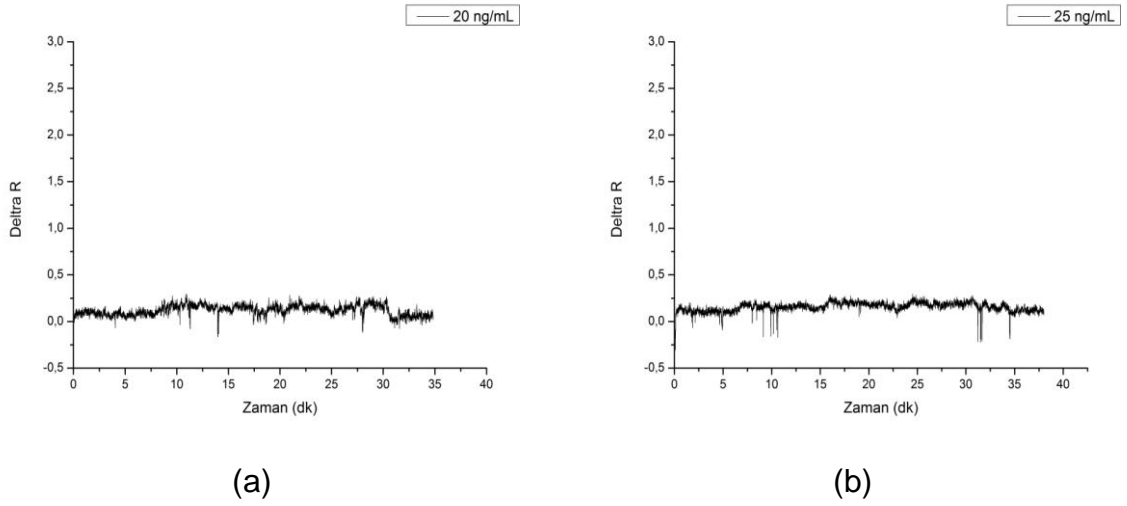
Şekil 4.37'ye göre deneysel olarak elde edilen veriler, Çizelge 4.8 ve 4.9 da özetlenen parametreler ile birlikte incelendiğinde Langmuir modelinin hazırlanan nanosensörlere en uygun izoterm modeli olduğu görülmüştür. Her üç izoterm modelinden elde edilen sonuçlar Çizelge 4.9'da özetlenerek verilmiştir. Buradan hesaplanan ΔR_{maks} değeri deneysel değere (2.75) oldukça yakındır. Langmuir denkleminde hesaplanan K_A ve K_D değerleri sırasıyla 4.18 ng/mL ve 0.2388 mL/ng olarak hesaplanmıştır. Son olarak BaP'ın SPR nanosensör ile miktar tayininin yapılabileceği en düşük konsantrasyon (LoQ-Limit of Quantitation) ve tayin edilebilecek sınır değeri (LoD-Limit of Detection) hesaplanmıştır. Bulunan değerler: LoD için 14.97 ng/L, LoQ için 49.92 ng/L'dir.

4.2.2.3. BaP Baskılanmamış (NIP) SPR Sensörlerle BaP Derişim Çalışması

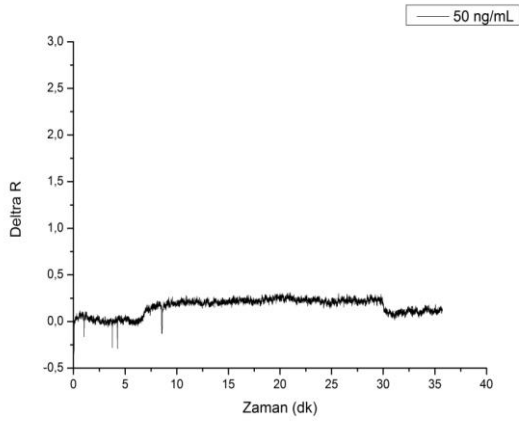
Bu çalışmada baskılanmış SPR nanosensörlerin kontrolü amacıyla baskılanmamış SPR nanosensörler de hazırlanmıştır. BaP baskılanmış SPR sensörler ile aynı derişimlerde aynı çalışma parametreleri uygulanarak ölçümler gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.38 ve 4.39'da farklı derişimlerde BaP çözeltilerinden elde edilen sensorgramlar verilmektedir.

Baskılanmamış nanosensörlere BaP çözeltilerinin uygulanması ile elde edilen ΔR verilerine karşılık zaman grafikleri verilmiştir. Şekilden de görüldüğü gibi yüzeye BaP uygulanmasıyla birlikte ΔR değerlerinin de arttığı görülmektedir. Derişimdeki artışla birlikte ΔR değeri bir miktar artmaktadır. Nanosensör tayin limitindeki artış eğilimi, kullanılan fonksiyonel monomerin ve monomer/BaP arasındaki etkileşimlerin türüne bağlıdır. Grafikteki düşük eğim, BaP nanosensör ile tüm BaP

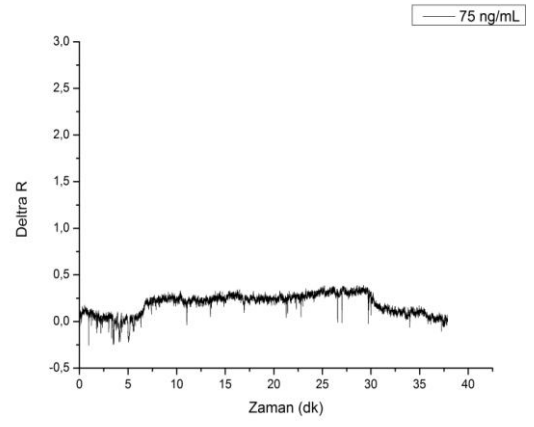
moleküllerin düşük afinite ile etkileştiğini göstermektedir. Bu eğilim, 200 ng/mL BaP derişimine kadar devam etmektedir. Daha sonra artış hızı yavaşlayarak etkileşim bölgelerinin dolmasına bağlı olarak dengeye ulaşmaktadır. Burada iki önemli nokta özellikle vurgulanmalıdır. Moleküler baskılama işlemi için amino asit temelli fonksiyonel monomer MAPA seçilmiş ve kullanılmıştır. Fonksiyonel monomerin tercih sebebi, BaP ile seçici hidrofobik etkileşimlere girebilme potansiyeli olarak öngörülmüştür. NIP nanosensörlerle de BaP moleküllerine ait sinyallerin alınabilmesi bu öngörülen bilgiyi doğrulamakta ve seçilen fonksiyonel monomer tercihinin doğruluğunu açıkça göstermektedir. Ayrıca; NIP nanosensörlerle alınan sinyal değerleri, MIP nanosensörlerle karşılaştırıldığında oldukça düşüktür. MIP nanosensörde 400 ng/mL BaP derişiminde edilen ΔR değeri 2.75 iken NIP nanosensörde bu değer 0.72 olarak bulunmuştur. Bu durum baskılama işleminin seçiciliğe önemli bir katkısı olduğunu göstermektedir.



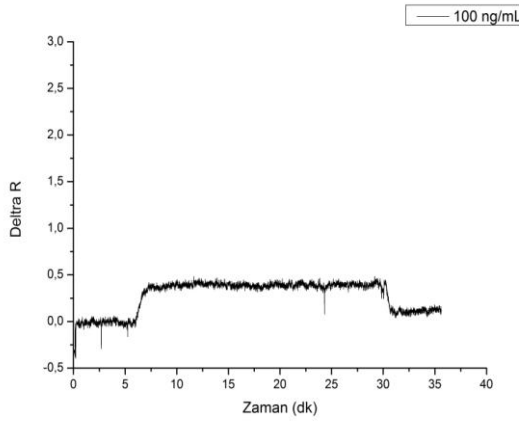
Şekil 4.38. BaP çözeltileri ile NIP SPR nanosensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı ΔR değerlerini gösteren sensogramlar: (a) 20 ng/mL; (b) 25 ng/mL; (c) 50 ng/mL; (d) 75 ng/mL; (e) 100 ng/mL; (f) 150 ng/mL; (g) 200 ng/mL; (h) 300 ng/mL ve (ı) 400 ng/mL derişimlerinde hazırlanmış BaP çözeltileri. pH: 7.0; akış hızı: 1.0 mL/dk; sıcaklık: 25°C.



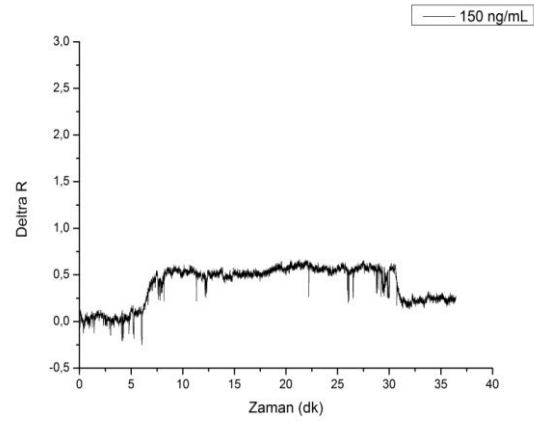
(c)



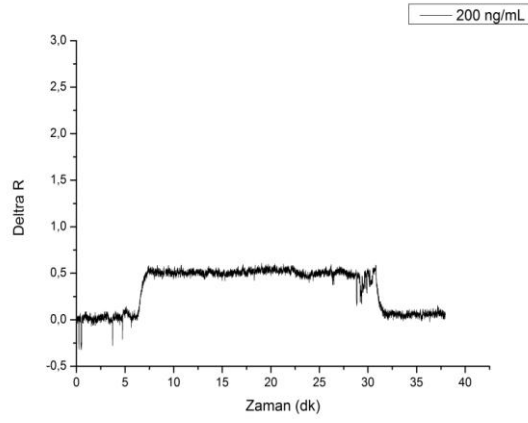
(d)



(e)

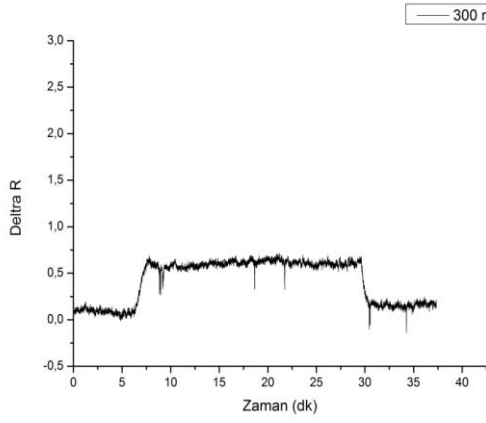


(f)

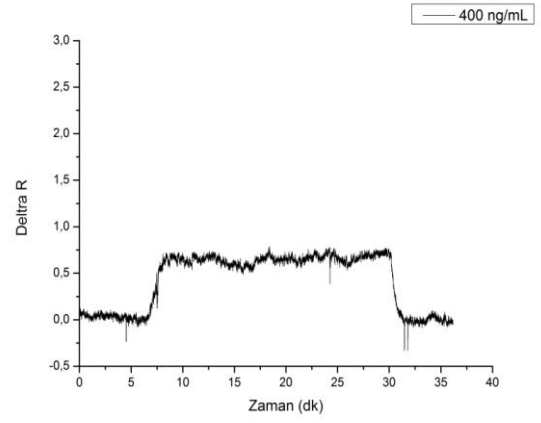


(g)

Şekil 4.38. (Devamı).

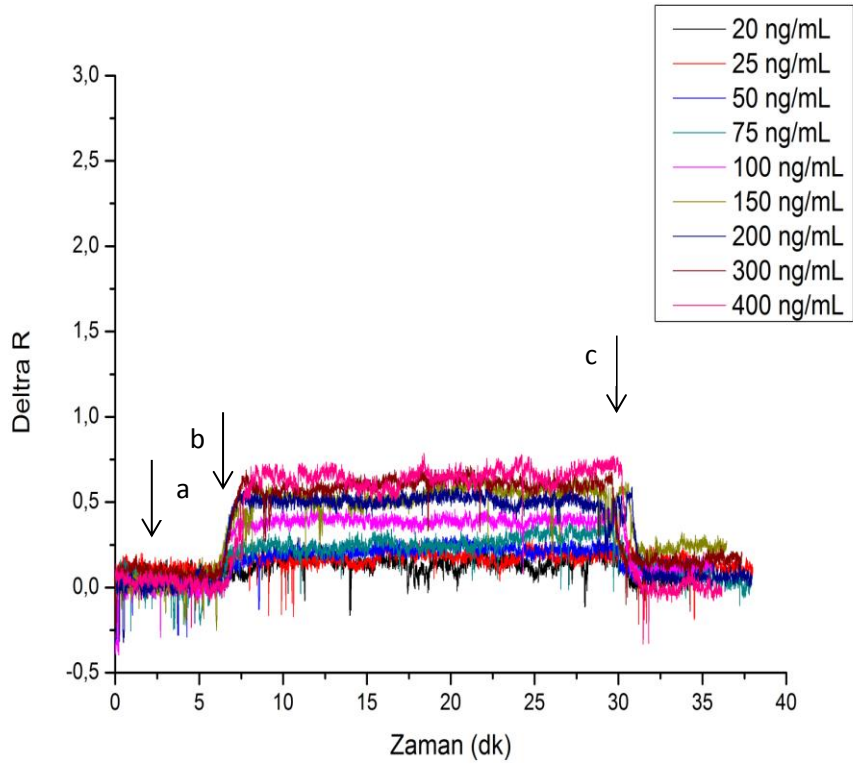


(h)



(I)

Şekil 4.38. (Devamı).



Şekil 4.39. BaP çözeltileri ile NIP SPR nanosensör arasındaki etkileşimlere ait zamana karşı ΔR değerleri (toplu gösterim): (a) Denge tamponu, (b) BaP çözeltisi ve (c) desorpsiyon çözeltisi. pH: 7.0; akış hızı: 1.0 mL/dk; sıcaklık: 25°C.

4.2.2.4. Yarışmalı Kinetik Analizler

BbF, BkF, IcdP ve 1-naftol için BaP molekülerine göre dağılıma ve seçicilik katsayıları aşağıdaki eşitliğe göre belirlenmiştir:

$$K_d = [(C_i - C_f) / C_f] \times V / m \quad (4.6)$$

Eşitlikte K_d , dağılıma katsayısını (mL/g); C_i ve C_f , analitlerin başlangıç ve sonuç derişimlerini (ng/mL); V , kullanılan çözelti hacmini (mL) ve m , polimerin ağırlığını (g) ifade etmektedir. Fakat SPR sensör uygulamalarında, başlangıç ve son derişimleri arasında önemli bir fark gözlenememesi; polimerin kütlesinin kesin olarak belirlenememesinden dolayı derişim ve kütle parametrelerinin dönüştürülmesi gerçekleştirilmelidir [204]. Bu yaklaşımla derişim ile ΔR doğrusal olarak ilişkilidir.

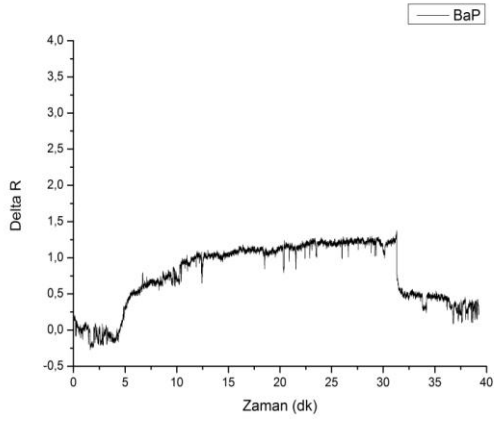
Bu durumda; seçicilik katsayısı,

$$k = \Delta R_{\text{kalıp}} / \Delta R_{\text{girişimci}} \quad (4.7)$$

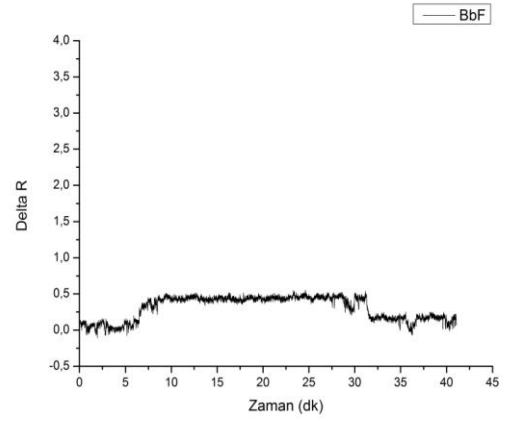
şeklinde kullanılabilir. Baskılama seçiciliğinin belirlenmesi için ise;

$$k' = k_{\text{baskılanmış}} / k_{\text{kontrol}} \quad (4.8)$$

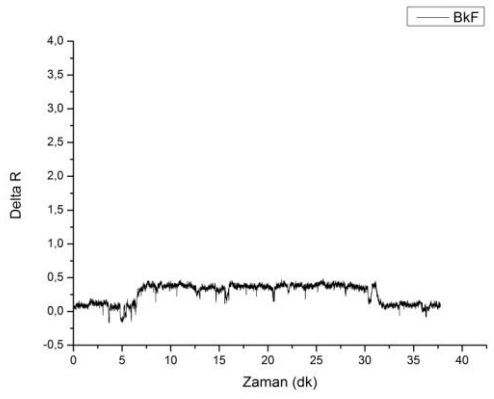
şeklinde ifade edilebilir. Hazırlanan BaP baskılanmış nanosensörün BaP moleküllerine karşı seçiciliğinin belirlenmesi için yarışmalı adsorpsiyon deneyleri BbF, BkF, IcdP, 1-naftol ve BaP moleküllerinin 100 ng/mL derişimlerinde tekli, ikili, üçlü ve dördü karışım çözeltileri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Nanosensörün bu karışımlara gösterdiği tepki, Şekil 4.40 ve 4.41'de ΔR vs zaman ilişkilerine ait sensorgramlarda görülmektedir. Bu moleküllerin seçilmesinin nedeni, BaP moleküllerine kimyasal yapı ve molekül ağırlığı olarak yakın olmaları ve benzer toksikolojik özellikler göstermeleridir.



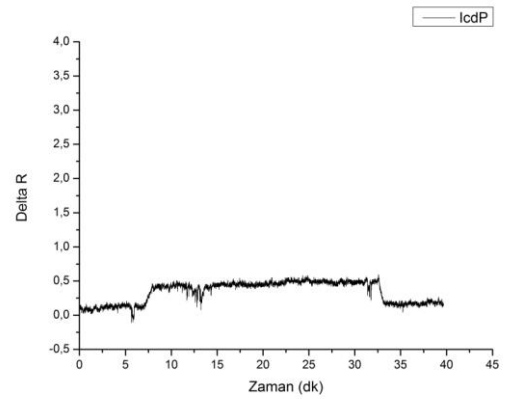
(a)



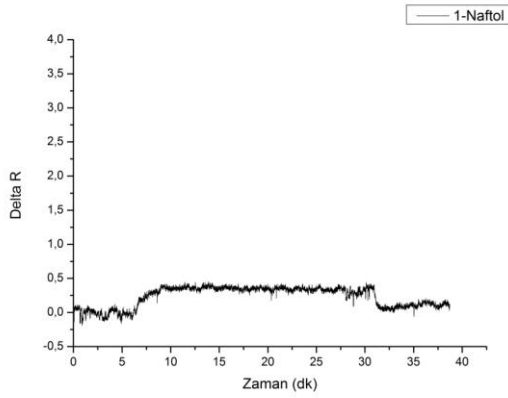
(b)



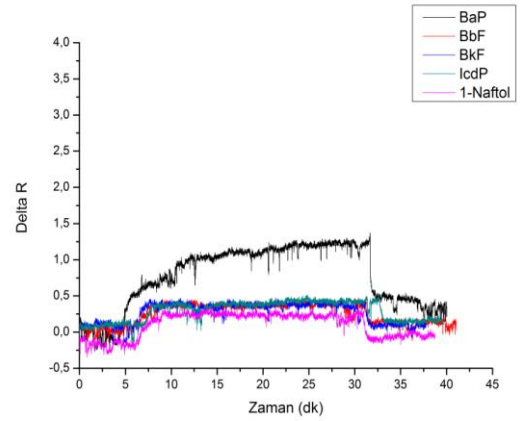
(c)



(d)

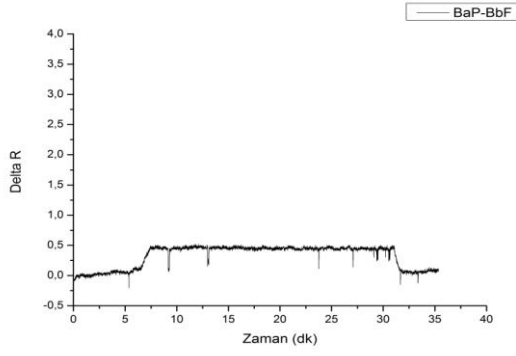


(e)

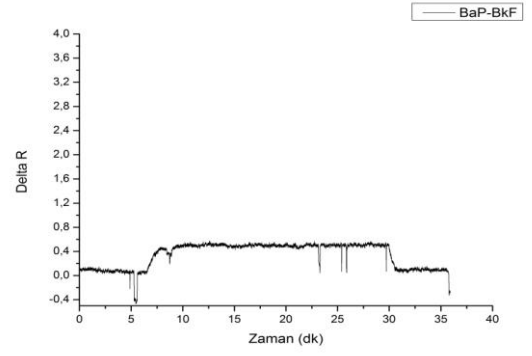


(f)

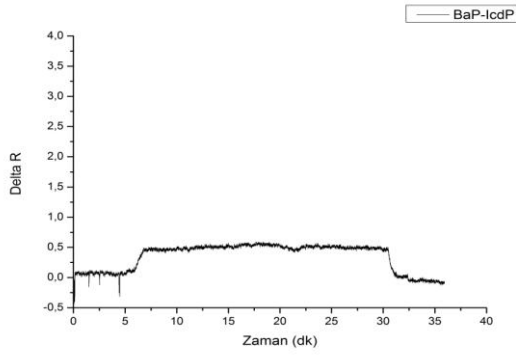
Şekil 4.40. 100 ng/mL derişiminde BaP, BbF, BkF, IcdP ve 1-naftol moleküllerinin kullanılmasıyla oluşturulan tekli çözeltiler ile BaP baskılanmış SPR nanosensör arasındaki etkileşimlere ait ΔR vs zaman sensorgramları: (a) BaP; (b) BbF; (c) BkF; (d) IcdP; (e) 1-naftol ve (f) toplu. pH: 7.0; akış hızı: 1.0 mL/dk; sıcaklık: 25°C.



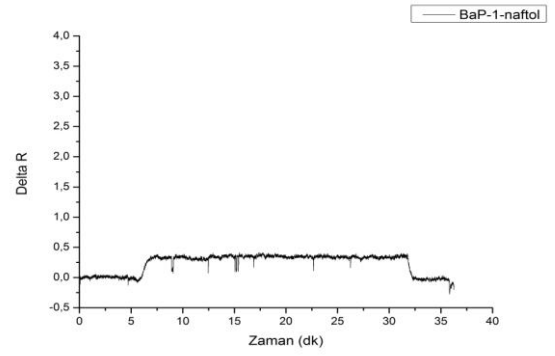
(a)



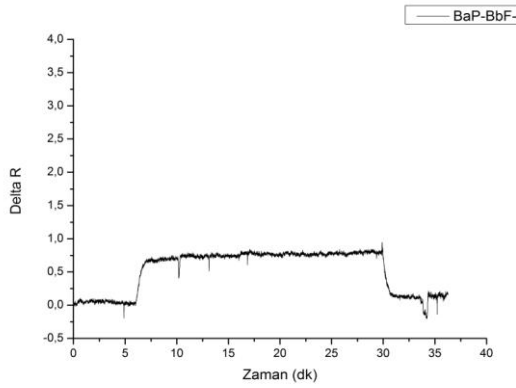
(b)



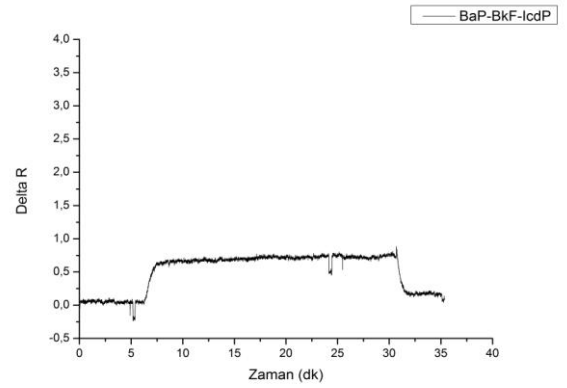
(c)



(d)

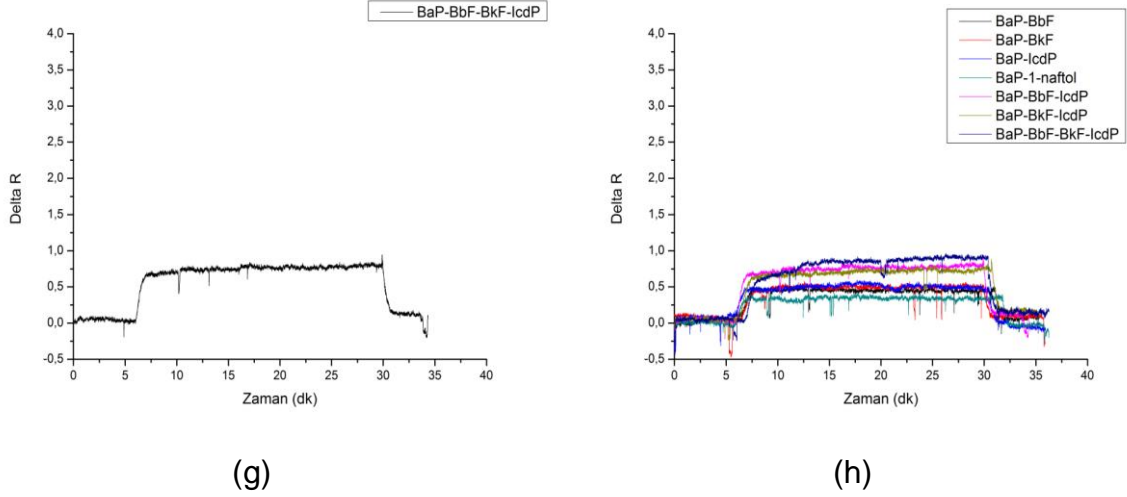


(e)



(f)

Şekil 4.41. 100 ng/mL derişiminde BaP, BbF, BkF, IcdP ve 1-naftol moleküllerinin kullanılmasıyla oluşturulan ikili, üçlü ve dördlü çözeltiler ile BaP baskılanmış SPR nanosensör arasındaki etkileşimlere ait ΔR vs zaman sensorgramları: (a) BaP-BbF; (b) BaP-BkF; (c) BaP-IcdP; (d) BaP-1-naftol; (e) BaP-BbF-IcdP; (f) BaP-BkF-IcdP; (g) BaP-BaP-BkF-IcdP ve (h) toplu. pH: 7.0; akış hızı: 1.0 mL/dk; sıcaklık: 25°C.

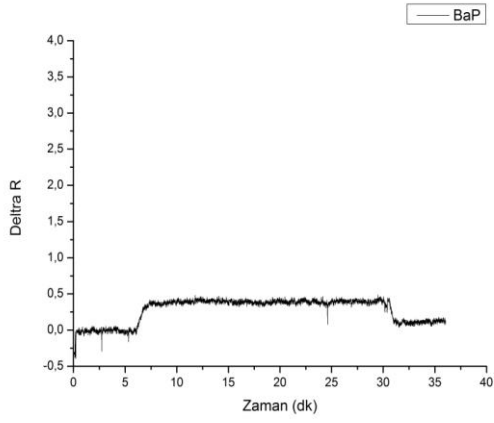


Şekil 4.41. (Devamı).

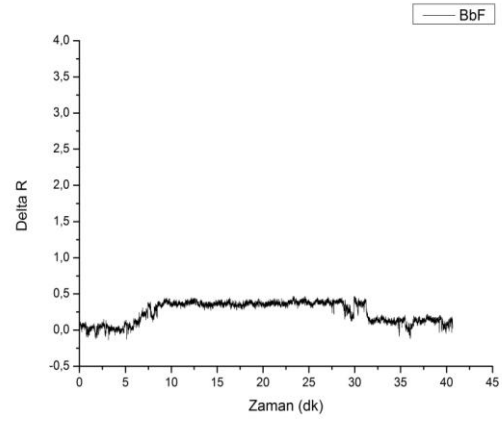
BaP baskılanmış SPR nanosensörlerin yarışmacı ajanlara göre seçiciliği incelendiğinde BaP baskılanmış sensörlerin PAH'lara verdiği sensorgram sinyal değeri (ΔR), BaP (tekli) için 1.22'dir. Aynı derişimdeki tekli çözelti sinyal değerleri BbF için 0.46; BkF için 0.39; IcdP için 0.44 ve 1-naftol için 0.25'dir. Bu durumda baskılanmış BaP nanosensörler BbF'ye göre 2.65; BkF'ye göre 3.13; IcdP'ye göre 2.77 ve 1-naftol'a göre 4.88 kat daha duyarlıdır. İkili ve üçlü karışımların sinyal değerleri incelendiğinde; SPR nanosensörlerin ΔR kayma değerleri, tekli çözeltilerin toplam değerlerine göre daha düşüktür. Bu durum, SPR nanosensörlerin antagonistik bir etki ile cevap verdiğini göstermiştir. Bir başka tanımla, PAH'lar baskılanmış bölgelere ve/veya fonksiyonel monomer ile etkileşmek için bir yarış içerisine girmektedir. Ayrıca bu sonuçlar, ön-derişirme işlemindeki sonuçlarla da uyum içerisindedir. Karışımların SPR sinyallerinin, bileşenlerin tekli çözeltilerindeki sinyallerinin toplamından daha düşük olduğu belirlenmiştir.

4.2.2.5. Nanosensörün Baskılama Seçiciliğinin Belirlenmesi

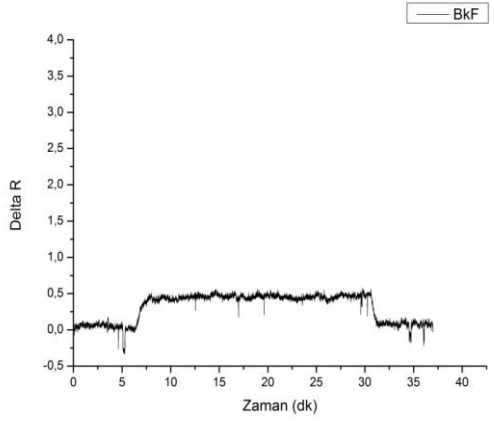
BaP baskılanmış sensörün baskılama seçiciliğini göstermek için BaP baskılanmamış SPR nanosensör de hazırlanmıştır. BaP, BbF, BkF, IcdP ve 1-naftol'un kullanılmasıyla oluşturulan karışımlar SPR sistemi ile etkileştirilmiştir. Baskılanmamış nanosensörün bu karışımlara gösterdiği tepki, Şekil 4.42 ve 4.43'de ΔR vs zaman fonksiyonu olarak verilmiştir.



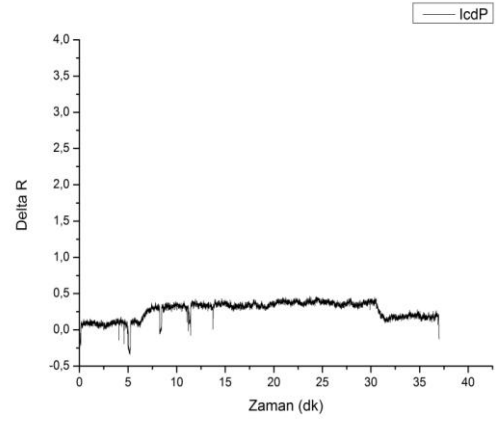
(a)



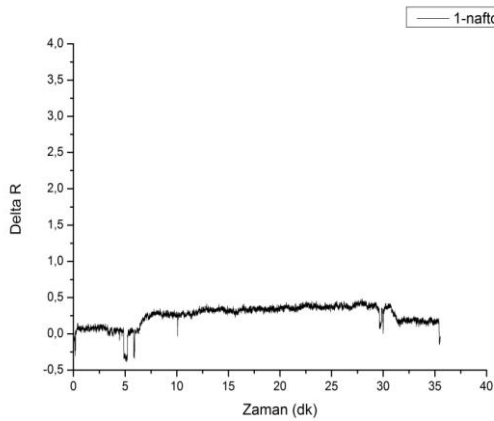
(b)



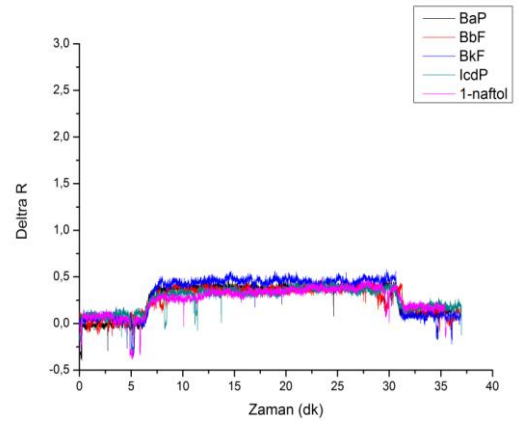
(c)



(d)

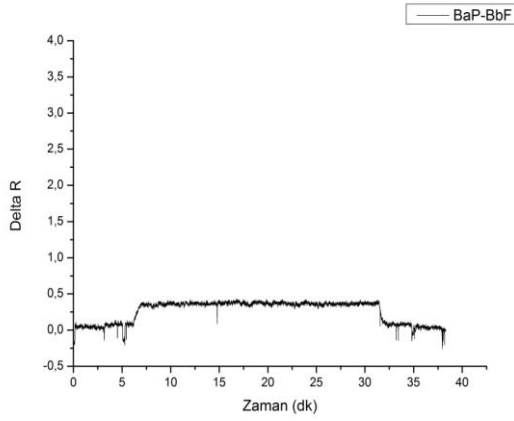


(e)

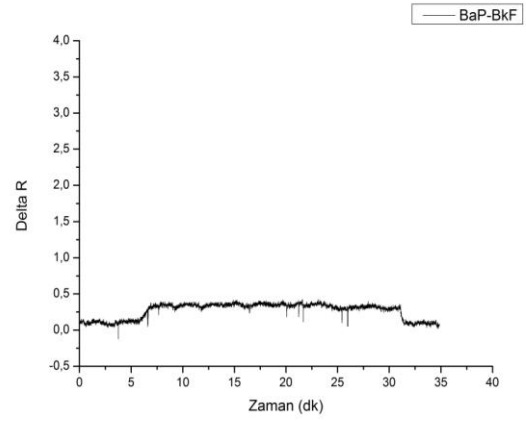


(f)

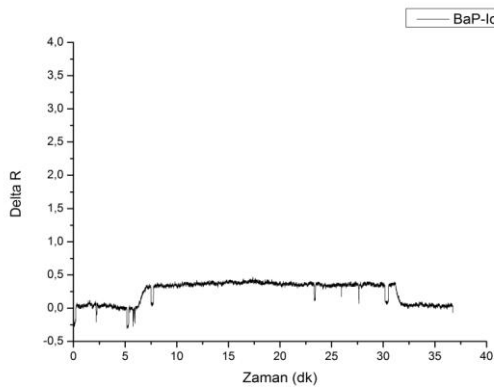
Şekil 4.42. 100 ng/mL derişiminde BaP, BbF, BkF, IcdP ve 1-naftol moleküllerinin kullanılmasıyla oluşturulan tekli çözeltiler ile BaP baskılanmamış SPR nanosensör arasındaki etkileşimlere ait ΔR vs zaman sensorgramları: (a) BaP; (b) BbF; (c) BkF; (d) IcdP; (e) 1-naftol ve (f) toplu. pH: 7.0; akış hızı: 1.0 mL/dk; sıcaklık: 25°C.



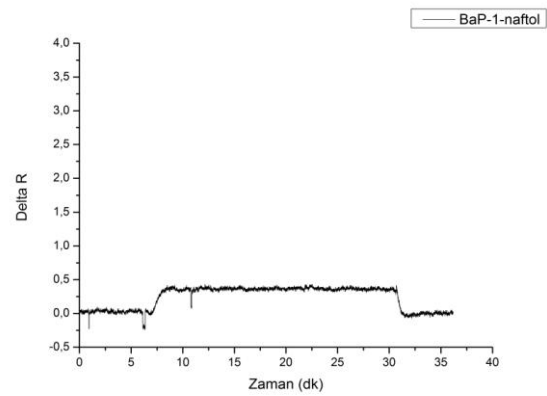
(a)



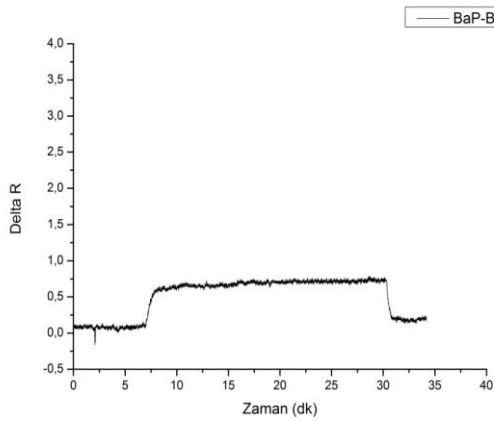
(b)



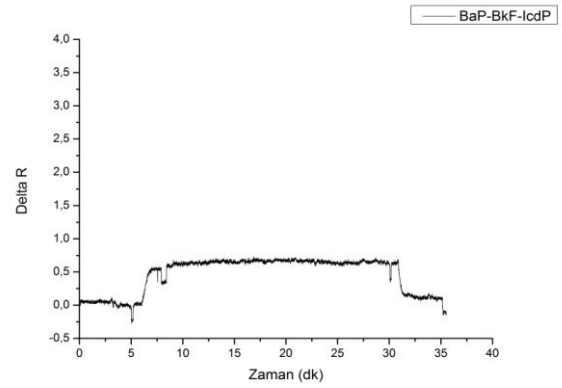
(c)



(d)

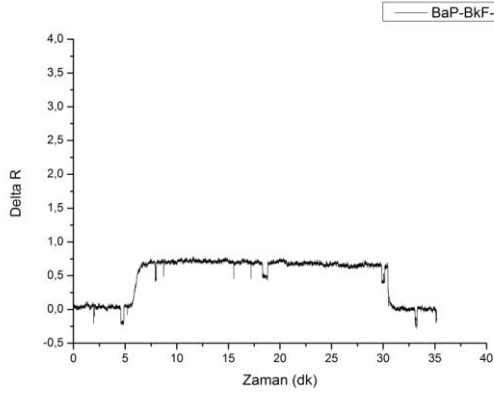


(e)

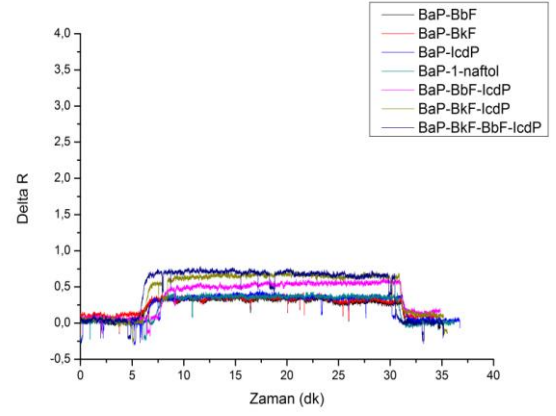


(f)

Şekil 4.43. 100 ng/mL derişiminde BaP, BbF, BkF, IcdP ve 1-naftol moleküllerinin kullanılmasıyla oluşturulan ikili, üçlü ve dörtlü çözeltiler ile BaP baskılanmamış SPR nanosensör arasındaki etkileşimlere ait ΔR vs zaman sensorgramları: (a) BaP-BbF; (b) BaP-BkF; (c) BaP-IcdP; (d) BaP-1-naftol; (e) BaP-BbF-IcdP; (f) BaP-BkF-IcdP; (g) BaP-BbF-BkF-IcdP ve (h) toplu. pH: 7.0; akış hızı: 1.0 mL/dk; sıcaklık: 25°C.



(g)



(h)

Şekil 4.43. (Devamı).

Çizelge 4.10. BaP molekülüne göre BbF, BkF, IcdP ve 1-naftol için ΔR , k ve k' değerleri

PAH	MIP		NIP		
	ΔR	k	ΔR	k	k'
BaP	1.22		0.4		
BbF	0.46	2.65	0.41	0.98	2.72
BkF	0.39	3.13	0.48	0.83	3.75
IcdP	0.44	2.77	0.38	1.05	2.63
1-Naftol	0.25	4.88	0.33	1.21	4.03

Çizelge 4.11. Adsorpsiyon ortamında ikili karışımların bulunduğu durumlarda, BaP molekülüne göre BbF, BkF, IcdP ve 1-naftol için ΔR , k ve k' değerleri

PAH	MIP		NIP		
	ΔR	k	ΔR	k	k'
BaP	1.22		0.4		
BaP-BbF	0.46	2.65	0.38	1.05	2.52
BaP-BkF	0.51	2.39	0.35	1.14	2.09
BaP-IcdP	0.53	2.30	0.39	1.02	2.24
BaP-1-naftol	0.35	3.48	0.37	1.08	3.22

Çizelge 4.12. Adsorpsiyon ortamında üçlü ve dördü karışımların bulunduğu durumlarda, BaP molekülüne göre BbF, BkF, IcdP ve 1-naftol için ΔR , k ve k' değerleri

PAH	MIP		NIP		
	ΔR	k	ΔR	k	k'
BaP	1.22		0.4		
BaP-BbF-IcdP	0.77	1.58	0.57	0.70	2.26
BaP-BkF-IcdP	0.72	1.69	0.67	0.60	2.84
BaP-BbF-BkF-IcdP	0.89	1.37	0.71	0.56	2.43

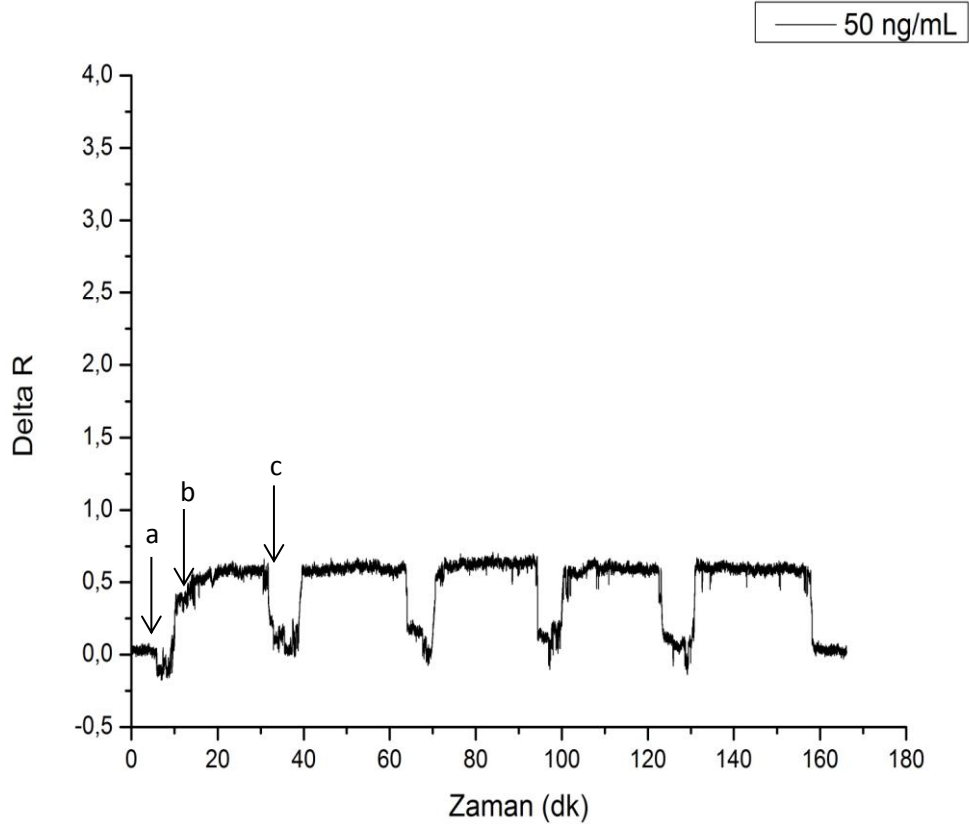
Baskılanmış ve baskılanmamış SPR sensörler karşılaştırıldığında; BaP sinyalinin ΔR değerlerinin 1.22'den 0.46'ya düştüğü görülmektedir. BaP baskılanmış sensörlerde BbF, BkF, IcdP ve 1-naftol moleküllerinin sinyal ΔR değerleri, BaP'a göre elde edilen sinyalin ΔR değerleri ile karşılaştırıldığında her durumda BaP'ın ΔR değerleri yarışmacı moleküllere göre daha yüksektir. Bağlı seçicilik katsayısı, BaP baskılanmış tanıma bölgelerinin afinitesini açıkça göstermektedir.

Eşitlik 4.7 ve 4.8 kullanılarak bağıl seçicilik katsayıları hesaplandığında sonuç olarak, BaP baskılanmış nanosensörün BaP'a BbF'ye göre 2.72, BkF'ye göre 3.75, IcdP'ye göre 2.63 ve 1-naftol'a göre 4.03 kat daha seçici olduğunu göstermektedir. Seçicilik çalışmasının ikinci aşamasında, BaP molekülünün ve seçilen diğer yarışmacı moleküllerin ikili karışımlarından elde edilen bağıl seçicilik katsayıları hesaplandığında sonuç olarak, BaP baskılanmış nanosensörün ikili yarışmalı ortamda BAP molekülünün BbF'ye göre 2.52 kat, BkF'ye göre 2.09 kat, IcdP'ye göre 2.24 kat ve 1-naftol'a göre 3.22 kat daha seçici olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte üçlü ve dördü karışımlarda BaP molekülüne göre seçicilik katsayıları ise; BaP/BbF/IcdP: 2.26, BaP/BkF/IcdP: 2.84, BaP/BaP/BkF/IcdP: 2.43 olarak hesaplanmıştır. Bağıl seçicilik değeri, 1'in ne kadar üzerinde ise baskılama işleminin o kadar etkin olduğu bilinmektedir [208].

Yarışmacı sayısının artmasıyla birlikte bağıl seçicilik katsayıları düşmektedir. Ancak; ikili, üçlü hatta dördü karışımlarda bile elde edilen bağıl seçicilik katsayısı değerleri 1'in üzerindedir. Bu durumda moleküler baskılanmış SPR nanosensörlerin BaP moleküllerini hem yarışmasız hem de yarışmalı ortamda yüksek düzeyde seçici olarak tanıdığını göstermektedir.

4.2.3. SPR Nanosensörlerin Tekrar Kullanılabilirliği

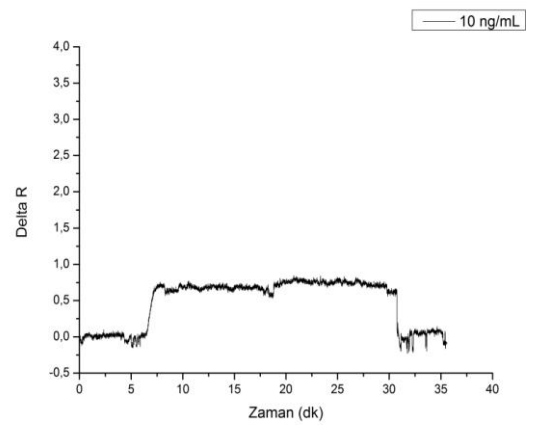
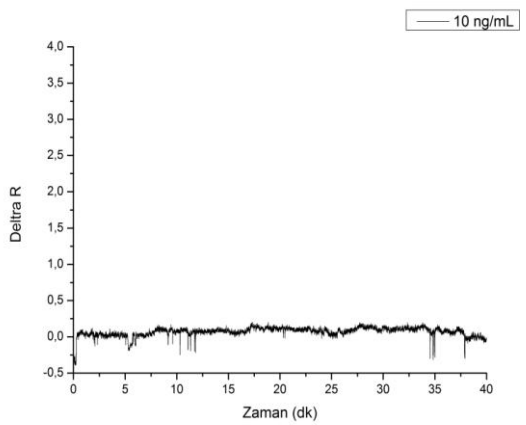
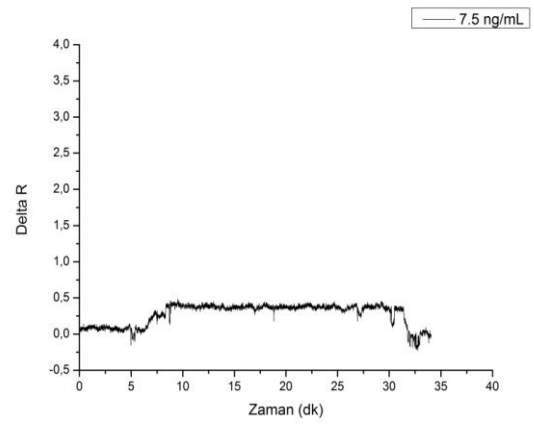
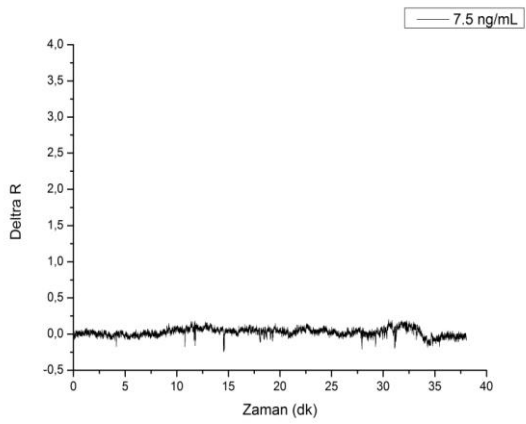
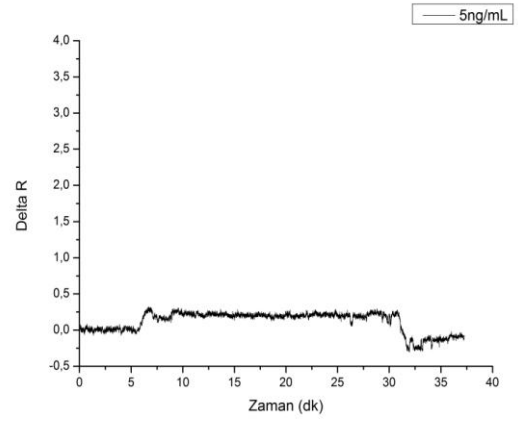
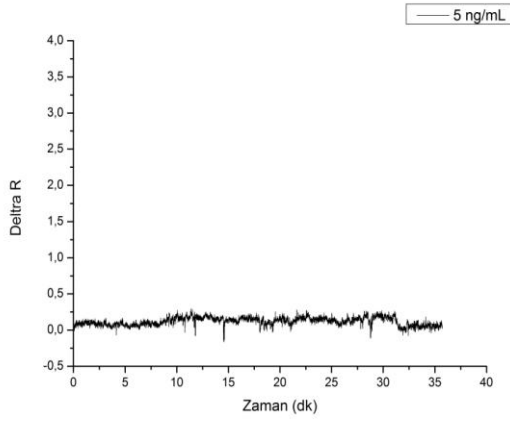
BaP baskılanmış nanosensörlerin tekrar kullanılabilirliği 5 ardışık tayin-elüsyon-rejenerasyon adımlarıyla incelenmiştir. Bu amaçla 50 ng/mL derişimindeki BaP çözeltisi art arda SPR sensör ile etkileştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar (Şekil 4.44) döngülerin ardından SPR sensörün hassasiyetinde, kapasitesinde herhangi bir değişim olmadığını göstermiştir.



Şekil 4.44. BaP baskılanmış SPR nanosensörlerin tekrar kullanılabilirliği: Ardışık 5 döngüye ait ΔR vs zaman sensorgramları: (a) Denge tamponu, (b) BaP çözeltisi ve (c) desorpsiyon çözeltisi. pH: 7.0; akış hızı: 1.0 mL/dk; sıcaklık: 25°C.

4.3. Ön-Deriştirme Kartuşları ile SPR Nanosensörlerin Kombinasyonu

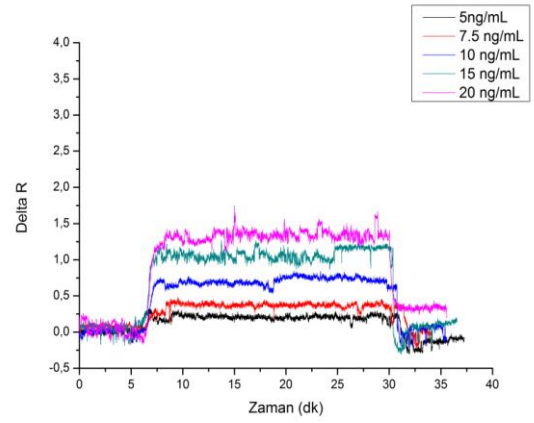
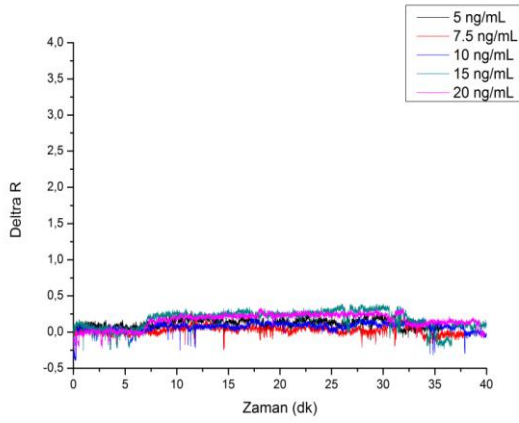
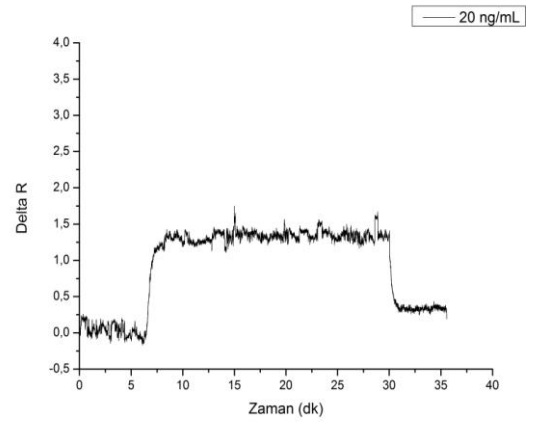
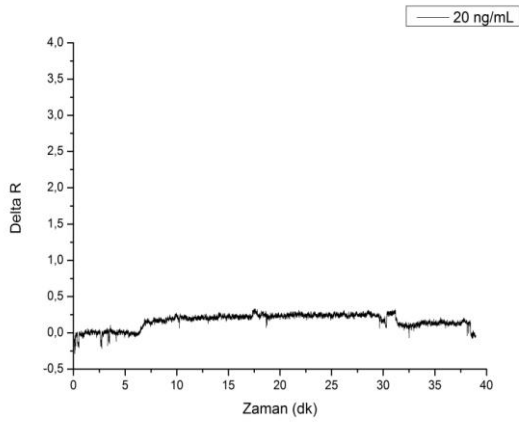
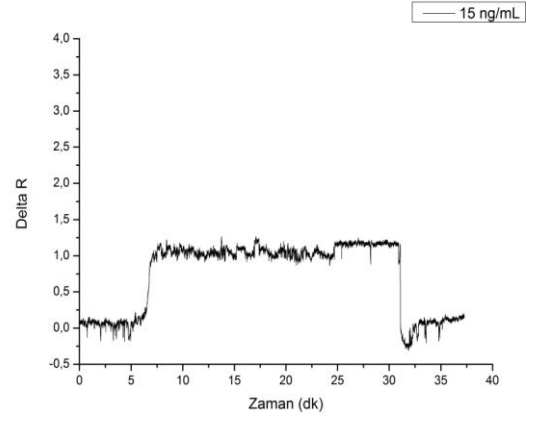
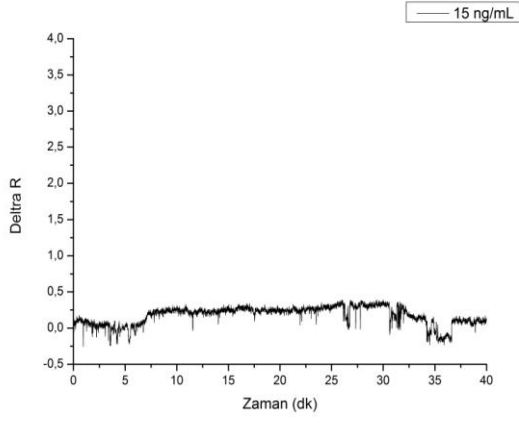
Tezin bu aşamasında, BaP baskılanmış SPR nanosensörler ile ön-deriştirme kompozit kartuşların etkinliklerinin kombinasyonu araştırılmıştır. Bu amaçla geliştirilen ön-deriştirme kompozit kartuşlardan elue edilen çözeltilerle SPR tayini incelenmiştir. Bu deney parametresinin amacı; SPR nanosensörlerle tayin edemediğimiz derişimlere kompozit kartuşları kullanarak inebilmektir. Bu bağlamda; BaP baskılanmış BaP-MIP-2 kompozit kartuşlarla etkileştirilen BaP moleküllerinin, ön-deriştirme işleminin ardından SPR nanosensörlerde tayini gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.45'de görüldüğü gibi kompozit kartuşlarla ön-deriştirme sonucunda daha düşük derişimlere inilerek BaP moleküllerinin tayini başarılı biçimde gerçekleştirilmiştir.



ÖNCE

SONRA

Şekil 4.45. BaP-MIP-2 kompozit kartuşlardan elde edilen örnekler ile BaP baskılanmış SPR nanosensör arasındaki etkileşimlere ait ΔR vs zaman sensorgramları.



ÖNCE

SONRA

Şekil 4.45. (Devamı).

Çalışılan başlangıç BaP derişimleri 5 ng/mL, 7.5 ng/mL, 10 ng/mL, 15 ng/mL, 20 ng/mL'dir. Bu derişimlerdeki BaP çözeltilerinin verdiği SPR sinyal şiddetleri ön-derişirme öncesi ölçülemez değerlerde iken, ön-derişirme sonrası bu değerler ölçülebilir aralıklara getirilmiştir. Ayrıca artan başlangıç derişimleri ile birlikte hem ön-derişirme hem de SPR sensorgramlarında belirgin değişmeler gözlenmiştir. Bu sonuç, çok seyreltik derişimlerde bulunan PAH'ların hem ön-derişirme hem de optik biyosensörlerle tayininde moleküler baskılama yaklaşımlarının uygun olduğunu açıkça göstermektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Bolañosa, P.P., Frenicha, A.G., Vidala, J.L.M., Polycyclic aromatic hydrocarbons in food and beverages. Analytical methods and trends, *Journal of Chromatography A*, 1217, 6303-6326, **2010**.
- [2] Wang, X.Y., Li, Q.B., Luo, Y.M., Ding, Q., Xi, L.M., Ma, J.M., Li, Y., Liu, Y.P., Cheng, C.L., Characteristics and sources of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Shanghai, China, *Environmental Monitoring and Assessment*, 165, 295-305, **2010**.
- [3] Lundstedt, S., Haglund, P., Orberg, L., Degradation and formation of polycyclic aromatic compounds during bioslurry treatment of an aged gasworks soil, *Journal of Environmental Toxicological Chemistry*, 22, 1413-1420, **2003**.
- [4] Chen, H., Huang, Y.H., Cai, T.Y., Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water sample using solid-phase extraction (SPE) coupled with gas chromatography–mass spectrometry, *Environment Pollution & Control*, 26, 72-74, **2004**.
- [5] Page, D.S., Boehm, P.D., Douglas, G.S., Bence, A.E., Burns, W.A., Mankiewicz, P.J., Pyrogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments record past human activity: a case study in Prince William Sound, Alaska, *Marine Pollution Bulletin*, 38, 247-260, **1999**.
- [6] Stout, S.A., Magar, V.S., Uhler, R.M., Ickes, J., Abbott, J., Brenner, R., Characterization of naturally-occurring and anthropogenic PAHs in urban sediments-Wycoff/Eagle Harbor Superfund site, *Environmental Forensics*, 2, 287-300, **2001**.
- [7] Stout, S.A., Uhler, A.D., McCarthy, K.J., A strategy for defensibly correlating spilled oil to source candidates, *Environmental Forensics*, 2, 87-98, **2001**.
- [8] Boehm, P.D., Loreti, C.P., Rosenstein, A.B., Rury, P.M., *A Guide to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons for the Non-Specialist*. American Petroleum Institute, Washington D.C., Special Publication Number 4714, 54, **2002**.
- [9] Zhang, J.L.G., Li, X.D., Qi, S.H., Liu, G.Q., Peng, X.Z., Source seasonality of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in subtropical city, Guangzhou, South China, *Science of the Total Environment*, 355, 145-155, **2006**.
- [10] EFSA, Polycyclic aromatic hydrocarbons in food scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain, *The EFSA Journal*, 724, 1-114, **2008**.

- [11] Wenzl, T., Simon, R., Kleiner, J., Anklam, E., Analytical methods for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in food and the environment needed for new food legislation in the European Union, *Trends in Analytical Chemistry*, 25, 716-725, **2006**.
- [12] ATSDR, *Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological profile for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)*. Atlanta (GA): Department of Health and Human Services, Public Health Service, USA, **1995**.
- [13] Yang, M., Measurement of Oil in Produced Water, *Produced Water Environmental Risks and Advances in Mitigation Technologies*. Kenneth Lee, Jerry Neff, Springer, LLC, New York, 57-89, **2011**.
- [14] Hyder, M., Aguilar, L.L., Genberg, J., Sandahl, M., Wesen, C., Jonsson, J.A., Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from organic aerosols using hollow fiber micro-porous membrane liquid-liquid extraction (HF-MMLLE) followed by gas chromatography-mass spectrometry analysis, *Talanta*, 85, 919-926, **2011**.
- [15] King, J.A., Readman, W.J., Zhou L.J., The Application of Solid-Phase Micro-Extraction (SPME) to the Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs), *Environmental Geochemistry and Health*, 25, 69-75, **2003**.
- [16] Boström, C.E., Gerde, P., Hanberg, A., Jernström, B., Johansson, C., Kyrklund, T., Rannug, A., Törnqvist, M., Victorin, K., Westerholm, R., Cancer risk assessment, indicators, and guidelines for polycyclic aromatic hydrocarbons in the ambient air, *Environmental health perspectives*, 110, 451-488, **2002**.
- [17] Quantin, C., Joner, E.J., Portal, J.M., PAH dissipation in contaminated river sediment under oxic and anoxic conditions, *Journal of Environmental Pollution*, 134, 315-322, **2005**.
- [18] Yuan, S.Y., Chang, J.S., Yen, J.H., Chang, B., Biodegradation of Phenanthrene in River sediment, *Chemosphere*, 43, 273-278, **2001**.
- [19] Alver, E., Demirci, A., Özcimder, M., Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar ve Sağlığa Etkileri, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 3, 45-52, **2012**.
- [20] James, S., Zheng, L., Zheng, J., The Sources, Transport, and Fate of PAHs in the Marine Environment, *PAHs: An Ecotoxicological Perspective*. Peter E. T. Douben, John Wiley & Sons Ltd, England, **2003**.

- [21] Mackay, D., Shiu, W.Y., Ma, K.C., Illustrated Handbook of Physical–Chemical Properties and Environmental Fate for Organic Chemicals, vol. II, *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Polychlorinated Dioxins and Dibenzofurans*. Lewis, Boca Raton, FL, **1992**.
- [22] EPA, *Equilibrium Partitioning Sediment Guidelines (ESGs) for the Protection of Benthic Organisms: PAH Mixtures (draft)*. Environmental Protection Agency, Office of Water, Office of Science and Technology, Office of Research and Development, Washington, **2000**.
- [23] Varnamkhasti, A.K., Eghtesadi-Araghi, P., Negarestan, H., Ranaci-Siadat, O., Maghsoudlou, A. The Role of Three Dimensional Geometric Descriptors of Selected PAHs on Inducing Mortality in Juvenile Angel Fish (*Pterophyllum scalare*), *Journal of Biological Sciences*, 8, 314-320, **2008**.
- [24] Finlayson-Pitts B.J., Pitts J.N., Tropospheric air pollution: ozone, airborne toxics, polycyclic aromatic hydrocarbons and particles, *Science*, 276, 1045-1051, **1997**.
- [25] Cerniglia, C.E., Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons, *Current Opinion in Biotechnology*, 4, 331-338, **1993**.
- [26] Ré-Poppi, N., Santiago-Silva, M., Polycyclic aromatic hydrocarbons and other selected organic compounds in ambient air of Campo Grande city, Brazil, *Atmospheric Environment*, 39, 2839-2850, **2005**.
- [27] Volkman, J.K., Holdsworth, D.G., Neil, G.P., Bavor H.J., Identification of natural, anthropogenic and petroleum hydrocarbons in aquatic sediments, *The Science of the Total Environment*, 112, 203-219, **1992**.
- [28] Witt, G., Polycyclic aromatic hydrocarbons in water and sediment of the Baltic sea, *Marine Pollution Bulletin*, 31, 237-248, **1995**.
- [29] Gryniewicz, M., Polkowska, Z., Namiesnik, J., Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in bulk precipitation and runoff waters in an urban region (Poland), *Atmospheric Environment*, 36, 361-369, **2002**.
- [30] Poster, D.L., Baker, J.E., Influence of submicron particles on hydrophobic organic contaminants in precipitation. 2. Scavenging of polycyclic aromatic hydrocarbons by rain, *Environmental Science and Technology*, 30, 349-354, **1996**.
- [31] Golomb, D., Barry, E., Fisher, G., Varanusupakul, P., Koleda, M., Rooney, T., Atmospheric deposition of polycyclic aromatic hydrocarbons near New England coastal waters, *Atmospheric Environment*, 35, 6245-6258, **2001**.

- [32] Henner, P., Schiavon, M., Morel, J.L., Lichtfouse, E., Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) occurrence and remediation methods, *Analisis Magazine*, 25, 56-59, **1997**.
- [33] Van Brummelen, T.C., Van Gestel, C.A.M., Verweij, R.A., Long-Term toxicity of five polycyclic aromatic hydrocarbons for the terrestrial isopods *Oniscus Asellus* and *Porcellio Scaber*, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15, 1199-1210, **1996**.
- [34] Fernandes, M.B., Sicre, M-A., Polycyclic aromatic hydrocarbons in the Arctic: Ob and Yenisei estuaries and Kara Sea shelf., *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 48, 725-737, **1999**.
- [35] Fernandes, M.B., Sicre, M.A., Boireau, A., Tronczynski, J., Polyaromatic hydrocarbon (PAH) distributions in the Seine River and its estuary, *Marine Pollution Bulletin*, 34, 857-867, **1997**.
- [36] Chen, H., Huang, Y.H., Cai, T.Y., Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water sample using solid-phase extraction (SPE) coupled with gas chromatography–mass spectrometry, *Environment Pollution & Control*, 26, 72-74, **2004**.
- [37] Garcia-Falcon, M.S., Cancho-Grande, B., Simal-Gandara, J., Stirring bar sorptive extraction in the determination of PAHs in drinking waters, *Water Research*, 38, 1679-1684, **2004**.
- [38] Readman, J.W., Fillmann, G., Tolosa, I., Bartocci, J., Villeneuve, J.-P., Catinni, C., Mee., L.D., Petroleum and PAH contamination of the Black Sea, *Marine Pollution Bulletin*, 44, 48-62, **2002**.
- [39] Maldonado, C., Bayona, J.M., Bodineau, L., Sources, distribution, and water column processes of aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in the northwestern Black Sea water, *Environmental Science and Technology*, 33, 2693-2702, **1999**.
- [40] USEPA, *Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) United States Office of Solid Waste*. Environmental Protection Agency, Washington, **2008**.
- [41] Cincinelli, A., Stortini, A.M., Perugini, M., Checchini, L., Lepri, L., Organic pollutants in sea-surface microlayer and aerosol in the coastal environment of Leghorn (Tyrrhenian Sea), *Marine Chemistry*, 76, 77-98, **2001**.
- [42] Soclo, H.H., Garrigues, P., Ewald, M., Origin of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in coastal marine sediments: case studies in Cotonou (Benin) and Aquitaine (France) areas, *Marine Pollution Bulletin*, 40, 387-396, **2000**.

- [43] Perez, S., Farre, M.Ia, García, M.J., Barceló, D., Occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludge and their contribution to its toxicity in the ToxAlert® 100 bioassay, *Chemosphere*, 45, 705-712, **2001**.
- [44] Guillén, M.D., Sopelana, P., Partearroyo, M.A., Food as a source of polycyclic aromatic carcinogens, *Reviews on Environmental Health*, 12, 133-146, **1997**.
- [45] Phillips, D.H., Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Diet, *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 443, 139-147, **1999**.
- [46] Houessou, J.K., Benac, C., Delteil, C., Camel, V., Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee brew using solid-phase extraction, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 871-879, **2005**.
- [47] Houessou, J.K., Goujot, D., Heyd, B., Camel, V., Modeling the formation of some polycyclic aromatic hydrocarbons during the roasting of Arabica Coffee samples, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 3648-3656, **2008**.
- [48] Goldman, R., Enewold, L., Pellizzari, E., Beach, J.B., Bowman, E.D., Krishnan, S.S., Shields, P.G., Smoking increases carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in human lung tissue, *Cancer research*, 61, 6367-6371, **2001**.
- [49] Miller, R.L., Garfinkel, R., Horton, M., Camann, D., Perera, F.P., Whyatt, R.M., Polycyclic aromatic hydrocarbons, environmental tobacco smoke, and respiratory symptoms in an inner-city birth cohort, *Chest*, 126,1071-1078, **2004**.
- [50] Hoffman, E.J., Mills, G.L., Latimer, J.S., Quinn, J.G., Urban runoff as a source of polycyclic aromatic hydrocarbons to coastal waters, *Environmental Science and technology*, 18, 580-586, **1984**.
- [51] Boonchan, S., Britz, M.L., Stanley, G.A., Surfactant-enhanced biodegradation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons by *Stenotrophomonas maltophilia*, *Journal of Biotechnology Bioengineering*, 59, 482-494, **2000**.
- [52] Edlund, S., *PAH as a POP. Possibilities, implications and appropriateness of regulating global emissions of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons through the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants*. IIIIEE Reports, 9, **2001**.

- [53] Blumer, M., Polycyclic aromatic compounds in nature, *Scientific American Journal*, 234, 34-35, **2003**.
- [54] Jacob, J., Seidel, A., Biomonitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in human urine, *Journal of Chromatography B - Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 778, 31-47, **2002**.
- [55] Nielsen, P.S., Andreassen, A., Farmer, P.B., Ovrebo, S., Autrup, H., Biomonitoring of diesel exhaust-exposed workers. DNA and hemoglobin adducts and urinary 1-hydroxypyrene as markers of exposure, *Toxicology Letters*, 86, 27-37, **1996**.
- [56] Delistray, D., Toxic equivalency factor approach for risk Assessment of PAH, *Toxicological Environment Chemistry*, 64, 81-108, **1997**.
- [57] Pickering, R.W., A toxicological review of polycyclic aromatic hydrocarbons, *Journal of Toxicology*, 18, 101-135, **1999**.
- [58] Mueller, J.G., Chapman, P., Pritchard, P., Creosote-contaminated Sites, *Journal of Environmental Science and Technology*, 23, 1197-1201, **1997**.
- [59] Grover, P.L., Pathways involved in the metabolism and activation of polycyclic hydrocarbons, *Xenobiotica*, 16, 915-931, **1986**.
- [60] Ramesh, A., Walker, S.A., Hood, D.B., Guillen, M.D., Schneider, K., Weyand, E.H., Bioavailability and risk assessment of orally ingested polycyclic aromatic hydrocarbons, *International Journal of Toxicology*, 23, 301-333, **2004**.
- [61] Stegeman, J.J., Hahn, M.E., Biochemistry and molecular biology of monooxygenases: current perspectives on forms, functions, and regulation of cytochrome P450 in aquatic species, *Aquatic Toxicology: Molecular, Biochemical, and Cellular Perspectives*. Malins D.C., Ostrander G.K., Lewis Publishers, Boca Raton FL, USA, 87-206, **1993**.
- [62] Perera, F., Rauh, V., Tsai, W.Y., Kinney, P., Effects of transplacental exposure to environmental pollutants on birth outcomes in a multi-ethnic population, *Environmental Health Perspectives*, 111, 201-205, **2003**.
- [63] Wu, J., Ramesh, A., Nayyar, T., Hood, D.B., Assessment of metabolites and AhR and CYP1A1 mRNA expression subsequent to prenatal exposure to inhaled benzo(a)pyrene, *International Journal of Developmental Neuroscience*, 21, 333-346, **2003**.
- [64] Van Leeuwen, C.J., Hermens, J.L.M., *Risk assessment of chemicals: an introduction*. Dordrecht: Kluwer, **1995**.

- [65] Akcha, F., Burgeot, T., Narbonne, J.-F., Garrigues, P., Metabolic Activation of PAHs: Role of DNA Adduct Formation in Induced Carcinogenesis, *PAHs: An Ecotoxicological Perspective*. Peter E. T. Douben, Unilever Colworth R&D, Safety and Environmental Assurance Centre, Sharnbrook, Bedford, UK, **2003**.
- [66] Stansbury, K.H., Flesher, J.W., Gupta, R.C., Mechanism of aralkyl–DNA adduct formation from benzo[a]pyrene in vivo, *Chemical Research in Toxicology*, *7*, 254-259, **1994**.
- [67] Resmini, M., Flavin, K., Carboni, D., Microgels and Nanogels with Catalytic Activity, *Molecular Imprinting*. Karsten Haupt, Springer, Heidelberg Dordrecht, London, New York, **2012**.
- [68] Polyakov, M.V., Adsorption properties and structure of silica gel, *Russian Journal of Physical Chemistry A*, *2*, 799-805, **1931**.
- [69] Dickey, F.H., The preparation of specific adsorbents, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *35*, 227-229, **1949**.
- [70] Wulff, G., Sarhan, A., Use of polymers with enzyme-analogous structures for the resolution of racemates, *Angewandte Chemie International Edition*, *11*, 341-344, **1972**.
- [71] Andersson, L., Sellergren, B., Mosbach, K., Imprinting of amino acid derivatives in macroporous polymers, *Tetrahedron Letters*, *25*, 5211-5214, **1984**.
- [72] Parmpi, P., Kofinas, P., Biomimetic glucose recognition using molecularly imprinted polymer hydrogels, *Biomaterials*, *25*, 1969-1973, **2004**.
- [73] Yu, C., Mosbach, K., Influence of mobile phase composition and cross-linking density on the enantiomeric recognition properties of molecularly imprinted polymers, *Journal of Chromatography A*, *888*, 63-72, **2000**.
- [74] Mullett, W.M., Lai, E.P.C., Determination of theophylline in serum by molecularly imprinted solid-phase extraction with pulsed elution, *Analytical chemistry*, *70*, 3636-3641, **1998**.
- [75] Holthoff, E.L., Bright, F.V., Molecularly Imprinted Xerogels as Platforms for Sensing, *Accounts of chemical research*, *40*, 756-767, **2007**.
- [76] Sellergren, B., Direct drug determination by selective sample enrichment on an imprinted polymer, *Analytical chemistry*, *66*, 1578-1582, **1994**.

- [77] Öncel, Ş., Uzun, L., Garipcan, B., Denizli, A. Synthesis of Phenylalanine-Containing Hydrophobic Beads for Lysozyme Adsorption, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 44, 7049-7056, **2005**.
- [78] Wulff, G., Akelah, A., Enzyme-analogue built polymers synthesis of 5-vinylsalicylaldehyde and a simplified synthesis of some divinyl derivatives, *Die Makromolekulare Chemie*, 179, 2647-2651, **2003**.
- [79] Mukawa, T., Goto, T., Takeuchi, T., Post-oxidative conversion of thiol residue to sulfonic acid in the binding sites of molecularly imprinted polymers: Disulfide based covalent molecular imprinting for basic compounds, *Analyst*, 127, 1407-1409, **2002**.
- [80] Sellergren, B., Noncovalent molecular imprinting: antibody-like molecular recognition in polymeric network materials, *Trends in Analytical Chemistry*, 16, 310-320, **1997**.
- [81] Kempe, M., Mosbach, K., Direct resolution of naproxen on a non-covalently molecularly imprinted chiral phase, *Journal of Chromatography A*, 664, 276-279, **1994**.
- [82] Whitcombe, M.J., Rodriguez, M.E., Villar, P., Vulfson, E.N., A new method for the introduction of recognition site functionality into polymers prepared by molecular imprinting synthesis and characterization of polymeric receptors for cholesterol, *Journal of the American Chemical Society*, 117, 7105-7111, **1995**.
- [83] Cormack, P.A.G., Mosbach, K., Molecular imprinting: recent developments and the road ahead, *Reactive and Functional Polymers*, 41, 115-124, **1999**.
- [84] Davies, M.P., De Biasi, V., Perrett, D., Approaches to the rational design of molecularly imprinted polymers, *Anal Chim Acta*, 504, 7-14, **2004**.
- [85] Makoto, K., Toshifumi, T., Takashi, M., Hiroyuki, A., *Molecular Imprinting: From Fundamentals To Applications*. Wiley-VCH Verlag, **2003**.
- [86] Cormack, P.A.G., Elorza, A.Z., Molecularly imprinted polymers: synthesis and characterization, *Journal of Chromatography B*, 804, 173-182, **2004**.
- [87] Chapuis, F., Pichon, V., Hennion, M.C., Molecularly Imprinted polymers: Developments and applications of New selective Solid-Phase Extraction Materials, *LC-GC Europe*, 17, 408-417, **2004**.

- [88] Dickert, F.L., Hayden, O., Imprinting with sensor development on the way to synthetic antibodies, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 364, 506-511, **1999**.
- [89] O'Shannessy, D.J., Ekberg, B., Mosbach, K., Molecular imprinting of amino acid derivatives at low temperature (0°C) using photolytic homolysis of azobisnitriles, *Analytical Biochemistry*, 177, 144-149, **1989**.
- [90] Barrios, C.A., Zhenhe, C., Navarro-Villoslada, F., Lopez-Romero, D., Moreno-Bondi, M.C., Molecularly imprinted polymer diffraction grating as label-free optical bio(mimetic)sensor, *Biosensors and Bioelectronics*, 26, 2801-2804, **2011**.
- [91] Urraca, J.L., Marazuela, M.D., Merino, E.R., Orellana, G., Moreno-Bondi, M.C., Molecularly imprinted polymers with a streamlined mimic for zearalenone analysis, *Journal of Chromatography A*, 1116, 127-134, **2006**.
- [92] Hall, A.J., Quaglia, M., Manesiotis, P., De Lorenzi, E., Sellergren, B., Polymeric Receptors for the Recognition of Folic Acid and Related Compounds via Substructure Imprinting, *Analytical chemistry*, 78, 8362-8367, **2006**.
- [93] Suryanarayanan, V., Wu, C.T., Ho, K.C., Molecularly Imprinted Electrochemical Sensors, *Electroanalysis*, 22, 1795-1811, **2010**.
- [94] Alizadeh, T., Zare, M., Ganjali, M.R., Norouzi, P., Tavana, B., A new molecularly imprinted polymer (MIP)-based electrochemical sensor for monitoring 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) in natural waters and soil samples, *Biosensors and Bioelectronics*, 25, 1166-1172, **2010**.
- [95] Ye, L., Haupt, K., Molecularly imprinted polymers as antibody and receptor mimics for assays, sensors and drug discovery, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 378, 1887-1897, **2004**.
- [96] Haupt, K., Mosbach, K., Molecularly Imprinted Polymers and Their Use in Biomimetic Sensors, *Chemical Reviews*, 100, 2495-2504, **2000**.
- [97] Malitesta, C., Losito, I., Zambonin P.G., Molecularly Imprinted Electrosynthesized Polymers: New Materials for Biomimetic Sensors, *Analytical Chemistry*, 71, 1366-1370, **1999**.
- [98] Jenkins, A.L., Uy, O.M., Murray, G.M., Polymer-Based Lanthanide Luminescent Sensor for Detection of the Hydrolysis Product of the Nerve Agent Soman in Water, *Analytical Chemistry*, 71, 373-378, **1999**.

- [99] Kröger, S., Turner, A.P.F., Mosbach, K., Haupt, K., Imprinted Polymer-Based Sensor System for Herbicides Using Differential-Pulse Voltammetry on Screen-Printed Electrodes, *Analytical Chemistry*, 71, 3698-3702, **1999**.
- [100] Ji, H.S., McNiven, S., Lee, K.H., Saito, T., Ikebukuro, K., Karube, I., Increasing the sensitivity of piezoelectric odour sensors based on molecularly imprinted polymers, *Biosensors and Bioelectronics*, 15, 403-409, **2000**.
- [101] Piletsky, S.A., Subrahmanyam, S., Turner, A.P.F., Application of molecularly imprinted polymers in sensors for the environment and biotechnology, *Sensor Review*, 21, 292-296, **2001**.
- [102] Takeuchi, T., Haginaka, J., Separation and Sensing Based on Molecular Recognition Using Molecularly Imprinted Polymers, *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 728, 1-20, **1999**.
- [103] Owens, P.K., Karlsson, L., Lutz, E.S.M., Andersson, L.I., Molecular Imprinting for Bio- and Pharmaceutical Analysis, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 18, 146-154, **1999**.
- [104] Ramström, O., Ansell, R.J., Molecular Imprinting Technology: Challenges and Prospects for the Future, *Chirality*, 10, 195-209, **1998**.
- [105] Mosbach, K., Haupt, K., Some New Developments and Challenges in Non-Covalent Molecular imprinting Technology, *Journal of Molecular Recognition*, 11, 62-68, **1998**.
- [106] Brüggemann, O., Molecularly Imprinted Materials- Receptors More Durable than Nature Can Provide, *Advances in Biochemical Engineering/ Biotechnology*, 76, 127-163, **2002**.
- [107] Baur, J., Silverman, E., Challenges and opportunities in multifunctional nanocomposite structures for aerospace applications, *MRS Bulletin*, 32, 328-334, **2007**.
- [108] Li, C., Thostenson, E.T., Chou, T.W., Sensors and actuators based on carbon nanotubes and their composites: a review, *Composites Science and Technology*, 68, 1227-1249, **2008**.
- [109] Anton, S.R., Sodano, H.A., A review of power harvesting using piezoelectric materials (2003-2006), *Smart Materials and Structures*, 16, 1-21, **2007**.
- [110] Plieva, F.M., Karlsson, M., Aguilar, M.R., Gomez, D., Mikhaloysky, S., Galaev, I.Y., Pore structure in supermacroporous polyacrylamide based cryogels, *Soft Matter*, 1, 303-309, **2005**.

- [111] Xie, F., Liu, G., Wu, F., Guo, G., Li, G., Selective adsorption and separation of trace dissolved Fe(III) from natural water samples by double template imprinted sorbent with chelating diamines, *Chemical Engineering Journal*, 183, 372-380, **2012**.
- [112] Wang, H.Y., Kobayashi, T., Fujii, N., Molecular Imprint Membranes Prepared by the Phase Inversion Precipitation Technique, *Langmuir*, 12, 4850-4856, **1996**.
- [113] Silvestri, D., Barbani, N., Cristallini, C., Giusti, P., Ciardelli, G., Molecularly imprinted membranes for an improved recognition of biomolecules in aqueous medium, *Journal of Membrane Science*, 282, 284-295, **2006**.
- [114] Richter, A., Gruner, M., Bel Bruno, J.J., Gibson, U.J., Nowicki, M., Nanomechanical measurements on glutamine molecularly imprinted nylon films, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 284-285, 401-408, **2006**.
- [115] Hwang, C.C., Lee, W.C., Chromatographic characteristics of cholesterol-imprinted polymers prepared by covalent and non-covalent imprinting methods, *Journal of Chromatography A*, 962, 69-78, **2002**.
- [116] Moreira, F.T.C., Dutra, R.A.F., Noronha, J.P.C., Sales, M.G.F., Electrochemical biosensor based on biomimetic material formyoglobin detection, *Electrochimica Acta*, 107, 481-487, **2013**.
- [117] Sergeyeveva, T.A., Matuschewski, H., Piletskya, S.A., Bendig, J., Schedler, U., Ulbricht, M., Molecularly imprinted polymer membranes for substance-selective solid-phase extraction from water by surface photo-grafting polymerization, *Journal of Chromatography A*, 907, 89-99, **2001**.
- [118] Panasyuk-Delaneya, T., Mirskya, V.M., Ulbricht, M., Wolfbeis, O.S., Impedometric herbicide chemosensors based on molecularly imprinted polymers, *Analytica Chimica Acta*, *Anal Chim Acta*, 435,157-162, **2001**.
- [119] Hilal, N., Kochkuban, V., Windsor, P.J., Lester, E., Composite Microfiltration Membranes Imprinted with cAMP, *Chemical Engineering & Technology*, 26, 463-468, **2003**.
- [120] Hilal, N., Kochkodan, V., Surface modified microfiltration membranes with molecularly recognising properties, *Journal of Membrane Science*, 213, 97-113, **2003**.
- [121] Bodhibukkana, C., Srichana, T., Kaewnopparat, S., Tangthong, N., Bouking, P., Martin, G.P., Suedee, R., Composite membrane of bacterially-derived cellulose and molecularly imprinted polymer for use as a transdermal enantioselective controlled-release system of racemic propranolol, *Journal of Controlled Release*, 113, 43-56, **2006**.

- [122] Hattori, K., Hiwatari, M., Liyama, C., Yoshimi, Y., Kohori, F., Sakai, K., Piletsky, S.A., Gate effect of theophylline-imprinted polymers grafted to the cellulose by living radical polymerization, *Journal of Membrane Science*, 233, 169-173, **2004**.
- [123] Bereli, N., Andaç, M., Baydemir, G., Say, R., Galaev, I.Y., Denizli, A., Protein recognition via ion-coordinated molecularly imprinted supermacroporous cryogels, *Journal of Chromatography A*, 1190, 18-26, **2008**.
- [124] Baydemir, G., Bereli, N., Andaç, M., Say, R., Galaev, I.Y., Denizli, A., Bilirubin recognition via molecularly imprinted supermacroporous cryogels, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 68, 33-38, **2009**.
- [125] Tamahkar, E., Bereli, N., Say, R., Denizli, A., Molecularly imprinted supermacroporous cryogels for cytochrome C recognition, *Journal of Separation Science*, 34, 3433-3440, **2011**.
- [126] Huang, X., Zou, H., Chen, X., Luo, Q., Kong, L., Molecularly imprinted monolithic stationary phases for liquid chromatographic separation of enantiomers and diastereomers, *Journal of Chromatography A*, 984, 273-282, **2003**.
- [127] Liu, Z.S., Xu, Y.L., Wang, H., Yan, C., Gao, R.Y., Chiral separation of binaphthol enantiomers on molecularly imprinted polymer monolith by capillary electrochromatography, *Analytical sciences*, 20, 673-678, **2004**.
- [128] Schweitz, L., Andersson, L.I., Nilsson, S., Molecularly imprinted CEC sorbents: investigations into polymer preparation and electrolyte composition, *Analyst*, 127, 22-28, **2002**.
- [129] Yan, H., Row, K.H., Molecularly imprinted monolithic stationary phases for liquid chromatographic separation of tryptophan and N-CBZ-phenylalanine enantiomers, *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 11, 357-363, **2006**.
- [130] Liu, Z.S., Xu, Y.L., Yan, C., Gao, R.Y., Preparation and characterization of molecularly imprinted monolithic column based on 4-hydroxybenzoic acid for the molecular recognition in capillary electrochromatography, *Analytica Chimica Acta*, 523, 243-250, **2004**.
- [131] Ou, J., Tang, S., Zou, H., Chiral separation of 1,1'-bi-2-naphthol and its analogue on molecular imprinting monolithic columns by HPLC, *Journal of Separation Science*, 28, 2282-2287, **2005**.

- [132] Reddy, R.M., Srivastava, A., Kumar A., Monosaccharide-Responsive Phenylboronate-Polyol Cell Scaffolds for Cell Sheet and Tissue Engineering Applications, *Plos One*, doi:10.1371/journal.pone.0077861, **2013**.
- [133] Lieberzeit, P.A., Dickert, F.L., Sensor technology and its application in environmental analysis, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387, 237-247, **2007**.
- [134] Mujahida, A., Dickert, F.L., Molecularly Imprinted Polymers for Sensors: Comparison of Optical and Mass-Sensitive Detection, *Molecularly Imprinted Sensors: Overview And Applications*. Songjun Li, Yi Ge, Sergey A. Piletsky, Joseph Lunec, Elsevier The Boulevard, Langford Lane, Kidlington, Oxford OX5 1GB, UK, **2012**.
- [135] Hillberg, A.L., Brain, K.R., Allender, C.J., Molecular imprinted polymer sensors: Implications for therapeutics, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57, 1875-1889, **2005**.
- [136] Kugimiya, A., Takeuchi, T., Surface plasmon resonance sensor using molecularly imprinted polymer for detection of sialic acid, *Biosensors and Bioelectronics*, 16, 1059-1062, **2001**.
- [137] Sellergren, B., Ekberg, B., Mosbach, K., Molecular imprinting of amino acid derivatives in macroporous polymers: Demonstration of substrate- and enantio-selectivity by chromatographic resolution of racemic mixtures of amino acid derivatives, *Journal of Chromatography A*, 347, 1-10, **1985**.
- [138] Cosnier, S., Affinity biosensors based on electropolymerized films, *Electroanalysis*, 17, 1701-1715, **2005**.
- [139] Sellergren, B., Shea, K.J., Influence of polymer morphology on the ability of imprinted network polymers to resolve enantiomers, *Journal of Chromatography A*, 635, 31-49, **1993**.
- [140] Yoshizako, K., Hosoya, K., Iwakoshi, Y., Kimata, K., Tanaka, N., Porogen imprinting effects, *Analytical chemistry*, 70, 386-389, **1998**.
- [141] Andersson, L.I., Müller, R., Vlatakis, G., Mosbach, K., Mimics of the binding sites of opioid receptors obtained by molecular imprinting of enkephalin and morphine, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92, 4788-4792, **1995**.
- [142] Piletsky, S.A., Piletskaya, E.V., Elgersma, A.V., Yano, K., Karube, I., Parhometz, Y.P., El'skaya, A.V., Atrazine sensing by molecularly imprinted membranes, *Biosensors and Bioelectronics*, 10, 959-964, **1995**.

- [143] Haupt, K., Dzgoev, A., Mosbach, K., Assay system for the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid using a molecularly imprinted polymer as an artificial recognition element, *Analytical chemistry*, 70, 628-631, **1998**.
- [144] Shea, K.J., Spivak, D.A., Sellergren, B., Polymer complements to nucleotide bases. Selective binding of adenine derivatives to imprinted polymers, *Journal of the American Chemical Society*, 115, 3368-3369, **1993**.
- [145] Dalglish, C.E., The relation between pyridoxin and tryptophan metabolism, studied in the rat, *Biochemical Journal*, 52, 3-14, **1952**.
- [146] Haupt, K., Peer reviewed: molecularly imprinted polymers: the next generation, *Analytical Chemistry*, 75, 376-383, **2003**.
- [147] Ruixue, S., Chenghai, G., Xiaohong, Z., Chunye, Z., Yanjun, Z., Yundu, D., The development of research in molecular imprinting technique, *Progress In Chemistry-Beijing*, 14, 182-191, **2002**.
- [148] Caruso, F., Rodda, E., Furlong, D.N., Orientational Aspects of Antibody Immobilization and Immunological Activity on Quartz Crystal Microbalance Electrodes, *Journal of Colloid and Interface Science*, 178, 104-115, **1996**.
- [149] Su, X.L., Li, Y., A self-assembled monolayer-based piezoelectric immunosensor for rapid detection of Escherichia coli O157:H7, *Biosensors and Bioelectronics*, 19, 563-574, **2004**.
- [150] Kurosawa, S., Tawara-Kondo, E., Minoura, N., Kamo, N., Detection of polycyclic compounds as mutagens using piezoelectric quartz crystal coated with plasma-polymerized phthalocyanine derivatives, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 43, 175-179, **1997**.
- [151] Doong, R., Shih, H., Lee, S., Sol-gel-derived array DNA biosensor for the detection of polycyclic aromatic hydrocarbons in water and biological samples, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 111-112, 323-330, **2005**.
- [152] D'Agostino, G., Alberti, G., Biesuz, R., Pesavento, M., Potentiometric sensor for atrazine based on a molecular imprinted membrane, *Biosensors and Bioelectronics*, 22, 145-152, **2006**.
- [153] Henry, O.Y.F., Cullen, D.C., Piletsky, S.A., Optical interrogation of molecularly imprinted polymers and development of MIP sensors: a review, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 382, 947-956, **2005**.

- [154] Inoue, T., Ohtsuka, K., Yoshida, Y., Matsuura, Y., Kajiyama, Y., Metal oxide semiconductor NO₂ sensor, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 25, 388-391, **1995**.
- [155] Dickert, F.L., Lieberzeit, P.A., Imprinted Polymers in Chemical Recognition for Mass-Sensitive Devices, *Piezoelectric Sensors Springer Series on Chemical Sensors and Biosensors*, 5, 173-210, **2007**.
- [156] Wang, X., Wang, X., Zhou, J., Song, J., Liu, J., Xu, N., Wang, Z.L., Piezoelectric field effect transistor and nanoforce sensor based on a single ZnO nanowire, *Nano letters*, 6, 2768-2772, **2006**.
- [157] Dickert, F.L., Keppler, M., Self-organized phases combined with IDC devices-switchable materials for solvent vapor detection, *Advanced Materials*, 7, 1020-1023, **1995**.
- [158] Howe, E., Harding, G., A comparison of protocols for the optimisation of detection of bacteria using a surface acoustic wave (SAW) biosensor, *Biosensors and Bioelectronics*, 15, 641-649, **2000**.
- [159] Hayden, O., Lieberzeit, P.A., Blaas, D., Dickert, F.L., Artificial Antibodies for Bioanalyte Detection-Sensing Viruses and Proteins, *Advanced Functional Materials*, 16, 1269-1278, **2006**.
- [160] Barnett, J.A., Beginnings of microbiology and biochemistry: the contribution of yeast research, *Microbiology*, 149, 557-567, **2003**.
- [161] Hayden, O., Mann, K.J., Krassnig, S., Dickert, F.L., Biomimetic ABO Blood-Group Typing, *Angewandte Chemie International Edition*, 45, 2626-2629, **2006**.
- [162] Hayden, O., Bindeus, R., Haderspöck, C., Mann, K.J., Wirl, B., Dickert, F.L., Mass-sensitive detection of cells, viruses and enzymes with artificial receptors, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 91, 316-319, **2003**.
- [163] Piletsky, S.A., Butovich, I.A., Kukhar, V.P., Design of molecular sensors on the basis of substrate-selective polymer membranes, *Journal of Analytical Chemistry*, 47, 1681-1684, **1992**.
- [164] Piletsky, S.A., Piletskaya, E.V., Panasyuk, T.L., Elskaya, A.V., Levi, R., Karube, I., Wulff, G., Imprinted Membranes for Sensor Technology: Opposite Behavior of Covalently and Noncovalently Imprinted Membranes, *Macromolecules*, 31, 2137-2140, **1998**.
- [165] Sun, H., Mo, Z.H., Choy, J.T.S., Zhu, D.R., Fung, Y.S., Piezoelectric quartz crystal sensor for sensing taste-causing compounds in food, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 131, 148-158, **2008**.

- [166] Piletskii, S.A., Kurys, Y.I., Rachkov, A.E., Elskaya, A.V., Formation of matrix polymers sensitive to aniline and phenol, *Russian journal of electrochemistry*, 30, 990-992, **1994**.
- [167] Wei, Q.Q., Wei, T.X., A novel method to prepare SPR sensor chips based on photografting molecularly imprinted polymer, *Chinese Chemical Letters*, 22, 721-724, **2011**.
- [168] Raitman, O.A., Chegel, V.I., Kharitonov, A.B., Zayats, M., Katz, E., Willner, I., Analysis of NAD(P)⁺ and NAD(P)H cofactors by means of imprinted polymers associated with Au surfaces: A surface plasmon resonance study, *Analytica Chimica Acta*, 504, 101-111, **2004**.
- [169] Devanathan, S., Salamon, Z., Nagar, A., Narang, S., Schleich, D., Darman, P., Hruby, V., Tollin, G., Subpicomolar Sensing of δ -Opioid Receptor Ligands by Molecular-Imprinted Polymers Using Plasmon-Waveguide Resonance Spectroscopy, *Analytical chemistry*, 77, 2569-2574, **2005**.
- [170] Gupta, G., Bhaskar, A.S.B., Tripathi, B.K., Pandey, P., Boopathi, M., Rao, P.V.L., Singh, B., Vijayaraghavan, R., Supersensitive detection of T-2 toxin by the in situ synthesized π -conjugated molecularly imprinted nanopatterns. An in situ investigation by surface plasmon resonance combined with electrochemistry, *Biosensors and Bioelectronics*, 26, 2534-2540, **2011**.
- [171] Lavine, B.K., Westover, D.J., Kaval, N., Mirjankar, N., Oxenford, L., Mwangi, G.K., Swellable molecularly imprinted polyN-(N-propyl)acrylamide particles for detection of emerging organic contaminants using surface plasmon resonance spectroscopy, *Talanta*, 72, 1042-1048, **2007**.
- [172] Sener, G., Uzun, L., Say, R., Denizli, A., Use of molecular imprinted nanoparticles as biorecognition element on surface plasmon resonance sensor, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 160, 791-799, **2011**.
- [173] Lotierzo, M., Henry, O.Y.F., Piletsky, S., Tothill, I., Cullen, D., Kania, M., Hock, B., Turner, A.P.F., Surface plasmon resonance sensor for domoic acid based on grafted imprinted polymer, *Biosensors and Bioelectronics*, 20, 145-152, **2004**.
- [174] Piletsky, S., Piletsky, S., Chianella, I., MIP-based Sensors, *Molecularly Imprinted Sensors: Overview And Applications*. Songjun Li, Yi Ge, Sergey A. Piletsky, Joseph Lunec, Elsevier The Boulevard, Langford Lane, Kidlington, Oxford OX5 1GB, UK, **2012**.
- [175] Wood, R. W., XLII. On a remarkable case of uneven distribution of light in a diffraction grating spectrum, *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*, 4, 396-402, **1902**.

- [176] Kretschmann, E., Raether, H., Radiative decay of non radiative surface plasmons excited by light (Surface plasma waves excitation by light and decay into photons applied to nonradiative modes), *Zeitschrift Fuer Naturforschung, Teil A*, 23, 2135-2136, **1968**.
- [177] Otto, A., Excitation of nonradiative surface plasma waves in silver by the method of frustrated total reflection, *Zeitschrift für Physik*, 216, 398-410, **1968**.
- [178] Biosensing Instrument Incorporated, <http://www.biosensingusa.com> (Temmuz, **2014**).
- [179] Homola, J., *Surface Plasmon Resonance Based Sensors*. Springer, Berlin, Germany, **2006**.
- [180] Surface Plasmon Resonance Applications, http://alvtechnologies.com.ph/index.php?option=com_content&view=article&id=298:spr-applications&catid=11:news&Itemid=6 (Temmuz, **2014**).
- [181] Dostalek, J., Vaisocherova, H., Homola, J., Multichannel surface plasmon resonance biosensor with wavelength division multiplexing, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 108, 758-764, **2005**.
- [182] Piliarik, M., Vaisocherová, H., Homola, J., A new surface plasmon resonance sensor for high-throughput screening applications, *Biosensors and Bioelectronics*, 20, 2104-2110, **2005**.
- [183] J. Chen, W. Huang, J. Han, S. Cao, The Characterization and Application of Biological Remediation Technology for Organic Contaminants, *International Journal of Environmental Research*, 5 (2) 515-530, **2011**.
- [184] Skrdla, P.J., Shnayderman, M., Wright, L., O'Brien, T.P., GC-MS Study of the formation of alkoxysilanes from a sol-gel precursor in a hydrophobic solution: A potential new route to hybrid molecular imprinted polymers, *Journal of non-crystalline solids*, 352, 3302-3309, **2006**.
- [185] Bagheri, H., Mohammadi, A., Salemi, A., On-line trace enrichment of phenolic compounds from water using a pyrrole-based polymer as the solid-phase extraction sorbent coupled with high-performance liquid chromatography, *Analytica chimica acta*, 513, 445-449, **2004**.
- [186] Kaneto, R.K., A new tyrosinase biosensor based on covalent immobilization of enzyme on N-(3-aminopropyl) pyrrole polymer film, *Current Applied Physics*, 5, 178-183, **2005**.

- [187] Li, J., Zhao, J., Wei, X., A sensitive and selective sensor for dopamine determination based on a molecularly imprinted electropolymer of o-aminophenol, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 140, 663-669, **2009**.
- [188] Whitcombe, M.J., Chianella, I., Larcombe, L., Piletsky, S.A., Noble, J., Porter, R., Horgan, A., The rational development of molecularly imprinted polymer-based sensors for protein detection, *Chemical Society Reviews*, 40, 1547-1571, **2011**.
- [189] Zhang, W., He, X., Chen, Y., Li, W., Zhang, Y., Composite of CdTe quantum dots and molecularly imprinted polymer as a sensing material for cytochrome c, *Biosensors and Bioelectronics*, 26, 2553-2558, **2011**.
- [190] Mayes, A.G., Mosbach, K., Molecularly imprinted polymers: useful materials for analytical chemistry?, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 16, 321-332, **1997**.
- [191] Habauzit, D., Chopineau, J., Roig, B., SPR-based biosensors: a tool for biodetection of hormonal compounds, *Analytical and bioanalytical chemistry*, 387, 1215-1223, **2007**.
- [192] Shankaran, D.R., Gobi, K.V., Miura, N., Recent advancements in surface plasmon resonance immunosensors for detection of small molecules of biomedical, food and environmental interest, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 121, 158-177, **2007**.
- [193] Homola, J., Surface plasmon resonance sensors for detection of chemical and biological species, *Chemical reviews*, 108, 462-493, **2008**.
- [194] Patel, P.D., Overview of affinity biosensors in food analysis, *Journal of AOAC International*, 89, 805-818, **2006**.
- [195] Kara, M., Uzun, L., Kolaylı, S., Denizli, A. Combining molecular imprinted nanoparticles with surface plasmon resonance nanosensor for chloramphenicol detection in honey, *Journal of Applied Polymer Science*, 129, 2273-2279, **2013**.
- [196] Uzun, L., Say, R., Ünal, S., Denizli, A. Production of surface plasmon resonance based assay kit for hepatitis diagnosis, *Biosensors and Bioelectronics*, 24, 2778-2884, **2009**.
- [197] Şener, G., Özgür, E., Rad, A.Y., Uzun, L., Say, R., Denizli, A. Rapid real-time detection of procalcitonin using a microcontact imprinted surface plasmon resonance biosensor, *Analyst*, 138, 6422-6428, **2013**.
- [198] Baeumner, A.J., Biosensors for environmental pollutants and food contaminants, *Analytical and bioanalytical chemistry*, 377, 434-445, **2003**.

- [199] Rodriguez-Mozaz, S., de Alda, M.J.L., Barcelo, D., Biosensors as useful tools for environmental analysis and monitoring, *Analytical and bioanalytical chemistry*, 386, 1025-1041, **2006**.
- [200] Garcia-Falcon, M.S., Cancho-Grande, B. Simal-Gandara, J., Stirring bar sorptive extraction in the determination of PAHs in drinking waters, *Water Research*, 38, 1679-1684, **2004**.
- [201] Garcia-Falcon, M.S., Perez-Lamela, M., Simal-Gandara, J., Comparison of Strategies for Extraction of High Molecular Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Drinking Waters, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 6897-6903, **2004**.
- [202] Uzun, L., *Production of Kits for Hepatit Diagnosis*, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2008**.
- [203] Şener, G., *Nanopartiküllerle Duyarlılığı Arttırılmış Yüzey Plazmon Rezonans Biyosensörlerin Hazırlanması*, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2009**.
- [204] Lin, L.P., Huang, L.S., Lin, C.W., Lee, C.K., Chen, J.L., Hsu, S.M., Lin, S., Determination of binding constant of DNA-binding drug to target DNA by surface plasmon resonance biosensor technology, *Current Drug Target*, 5, 61-72, **2005**.
- [205] Umpleby, R.J., Baxter, S.C., Rampey, A.M., Rushton, G.T., Chen, Y., Shimizu, K.D., Characterization of the heterogeneous binding site affinity distributions in molecularly imprinted polymers, *Journal of Chromatography B*, 804, 141-149, **2004**.
- [206] Umpleby, R.J., Baxter, S.C., Chen, Y., Shah, R.N., Shimizu, K.D., Characterization of molecularly imprinted polymers with the Langmuir–Freundlich isotherm, *Analytical Chemistry*, 73, 4584–4591, **2001**.
- [207] Wei, X., Samadi, A., Husson, S.M., Synthesis and characterization of molecularly imprinted polymers for chromatographic separations, *Separation Science and Technology*, 40, 109–129, **2005**.

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı : Mehmet Emin Çorman
Doğum yeri : Bingöl
Doğum tarihi : 01.02.1985
Medeni hali : Bekar
E-posta : mehmetemincorman@hacettepe.edu.tr
Adres : Ata mah. 1097 sok. No: 5/1, Öveçler/Çankaya-Ankara

Eğitim

Lise : Nevzat Ayaz Lisesi
Lisans : Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Aydın.
Yüksek Lisans : Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Aydın.
Doktora : Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya/Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara.

Yabancı Dil ve Düzeyi

İngilizce : İyi düzeyde
Rusça : Başlangıç düzeyinde

İş Deneyimi

2014-..... : Öğretim Görevlisi, Sinop Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Sinop.

Deneyim Alanları

Polimer, kriyojeller, moleküler baskılama, afinite kromatografisi, sensörler

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

Tezden Üretilmiş Yayınlar

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar

Polisiklik Aromatik Hidrokarbonların Moleküler Baskılanmış Polimerler İle Ön-Derleştirilmesi, 14. Ulusal Kromatografi Kongresi, Ege Üniversitesi, Çeşme/İzmir, 12-15 Mayıs 2014.