



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



MOLEKÜLER BASKILANMIŞ POLİMER NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU

MERVE YAŞAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalı
Organik Kimya Programı

DANIŞMAN

Prof. Dr. Nilhan KAYAMAN APOHAN

EŞ-DANIŞMAN

Prof. Dr. M. Vezir KAHRAMAN

İSTANBUL, 2016



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



MOLEKÜLER BASKILANMIŞ POLİMER NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU

MERVE YAŞAR

(520814003)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalı
Organik Kimya Programı

DANIŞMAN

Prof. Dr. Nilhan KAYAMAN APOHAN

EŞ-DANIŞMAN

Prof. Dr. M. Vezir KAHRAMAN

İSTANBUL, 2016

TEŞEKKÜR

Bu Yüksek Lisans tez çalışması 115S224 nolu “Moleküler Baskılama Yöntemiyle Difteri Toksinine Karşı Plastik Antikor Geliştirilmesi” başlıklı TÜBİTAK projesi tarafından desteklenmiştir, Marmara Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Anabilim Dalı, Organik Kimya Programında gerçekleştirilmiştir.

Öğrenciye güvenerek verdiği sorumluluklarla kendime güvenimi kuvvetlendiren, her konuda yardımcı ve destekçi değerli hocam Prof. Dr. Nilhan KAYAMAN APOHAN’a Karşılaştığım sorunlarda pratik zekasıyla pratik çözümler üreten sevgili hocam Prof. Dr. Vezir KAHRAMAN’a, tezim süresince desteğini esirgemeyen, bursiyeri olduğum TÜBİTAK projesinin yürütücüsü Doç. Dr. Handan AKÇAKAYA hocama,

Her türlü yardım ve desteğiyle bir uzmandan daha fazlası, bir abla Uzm. Dr. Burcu OKTAY’ya

Artık evimiz gibi olan laboratuvardaki tüm yardımsever hocalarıma ve arkadaşlarıma,

Ve tüm hayatım boyunca bana kol kanat gerip, üzerime titreyen anne ve babama teşekkür ediyorum.

Haziran 2016

Merve YAŞAR

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
SEMBOLLER.....	vii
KISALTMALAR.....	viii
ŞEKİL	ix
TABLO LİSTESİ.....	xi
1.GİRİŞ.....	1
1.1 Genel Bilgiler.....	1
1.1.1 Tarihçe.....	1
1.2 Moleküler Baskılama	2
1.2.1 Şablon Molekül.....	3
1.2.2 Fonksiyonel Monomer	4
1.2.3 Çapraz Bağlayıcı	5
1.2.4 Porojen	6
1.2.5 Başlatıcı.....	7
1.2.6 Polimerizasyon Koşulları.....	8
1.3 Baskılama Yöntemleri	8
1.3.1 Kovalent Baskılama	8
1.3.2 Semi-Kovalent Baskılama	9
1.3.3 Kovalent Olmayan Baskılama	10
1.4 UV-kürlenene TiyoL-en Reaksiyonu.....	12
1.5 Polimerizasyon yöntemleri	13
1.5.1 Kütle Polimerizasyonu.....	14
1.5.2. Süspansiyon Polimerizasyonu	14
1.5.3 Çökelti Polimerizasyonu	15
1.5.4 Emülsiyon Polimerizasyonu	16
1.5.4.1 Mini-emülsiyon.....	19

1.6 Yüzey Baskılama	22
1.7 Sığır Serum Albumin	23
2.MATERYAL ve YÖNTEM.....	25
2.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler	25
2.2 Kullanılan Cihazlar	27
2.3 Deneysel Yöntem.....	27
2.3.1 Fonksiyonel Monomer Sentezi	27
2.3.2 Mini-emülsiyon ve Moleküler Baskılanmış Polimer Partiküllerin Sentez Teknikleri.....	30
2.3.2.1 Termal Polimerizasyon	36
2.3.2.2 UV-kürlenene TiyoL-en Reaksiyonu 1	36
2.3.2.3 UV-kürlenene TiyoL-en Reaksiyonu 2	37
3.BULGULAR ve TARTIŞMA	39
3.1 Fonksiyonel Monomer Sentezi	39
3.2 Mini-emülsiyon ve Monomerlerin FT-IR ile Yapısal Karakterizasyonu.....	38
3.2.1 E30 Kodlu BSA Baskılanmış Polimerin Karşılaştırmalı FT-IR Karakterizasyonu	49
3.2.2 E30 Kodlu Baskılanmış Polimerin Diyaliz Sonrası ve BSA ile Karşılaştırıldığı FT-IR Karakterizasyonu	50
3.2.3 Emülsiyon ve Monomerlerin Karakterizasyonu, Boyutsal ve Morfolojik Analizleri.....	51
3.3 Mini-emülsiyon Formülasyonları	51
3.4 Mini-emülsiyonda Termal Başlatıcılı ve Fotobaşlatıcılı Polimerizasyon Farkı ...	55
3.5 Mini-emülsiyonda Sürfaktan Etkisi ve STEM ile Morfolojik Karakterizasyonu .	56
3.5.1 E28 Kodlu mini-emülsiyon Formülasyonuna Ko-sürfaktan Hekzadekan Eklenmediğinde Görüntülenen STEM ve DLS ile Morfolojik Karakterizasyonu.....	59
3.5.2 E27 Kodlu Mini-emülsiyon Formülasyonuna Ko-sürfaktan Hekzadekan Eklendiğinde Görüntülenen STEM ve DLS ile Morfolojik Karakterizasyonu	61
3.6 E30 Kodlu BSA Baskılanmış Nanopartiküllerin STEM ile Morfolojik Karakterizasyonu	63
3.6.1 E30 Kodlu BSA Baskılanmış Polimerin Asetik asit, Etanol ve Suyu karşı Diyalizinden Sonraki Hâlinin STEM ile Morfolojik Karakterizasyonu	64
3.6.2 E30 Kodlu Baskılanmış Polimerin Diyaliz Sonrası STEM Görüntüsü	64
3.7 E29 Kodlu Mini-emülsiyonun Termal Kararlılığı	66

3.8 E29 Kodlu Mini-emülsiyonun Diferansiyel Taramalı Kalorimetre ile Termal Karakterizasyonu	67
3.9 Sığır Serum Albuminin DSC Termogramı	68
3.10 E30 Kodlu Baskılanmış Polimerin DSC Termogramı	69
3.11 E30 Kodlu Baskılanmış Polimerin Diyaliz Edilmiş Hâlinin DSC Termogramı..	70
3.12 E30 Kodlu Baskılanmış Polimerin Diyalizi.....	71
3.12.1 Diyaliz Suyunun Absorbans Ölçümü.....	72
3.13 Proteinin Nanopartiküle Tekrar Bağlanma Prosesi.....	73
3.14 Sentezlenen Nanopartikülün BSA'yı Tekrar Bağlama Kinetiği Çalışması	76
4. SONUÇLAR.....	78
KAYNAKLAR.....	80

ÖZET

Moleküler Baskılanmış Polimer Nanopartiküllerin Sentezi ve Karakterizasyonu

Moleküler baskılama teknolojisi, diğer tanımlama sistemleriyle karşılaştırılınca, seçici moleküler tanıma, yüksek afinite ve yeniden kullanılabilirlik gibi birçok umut vaat edici özelliğe sahiptir. Moleküler baskılanma, kromatografi, saflaştırma, sensörler, ilaç taşınımı ve katalizör gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır.

Moleküler baskılanmış polimer, yaygın olarak şablon molekülü varlığında, fonksiyonel monomer ve çapraz bağlayıcının polimerizasyonundan hazırlanır. Bu yöntemle şablon molekülündeki yüksek afiniteli reseptör alanları polimer üzerine baskılanır. Şablon molekülünün polimerden uzaklaştırılması ile sentezlenen polimer üzerinde, şablon molekülünün spesifik tanıma alanı, boyut ve şeklini tanımlayan bölgeler bırakılır. Böylece elde edilen baskılanmış polimer, şablon molekülüne tekrar bağlanabilir.

Moleküler baskılanmış polimerler, kovalent yaklaşım ve non-kovalent yaklaşım ile sentezlenebilir. Kovalent yaklaşımda, baskılama adımı boyunca şablon ile fonksiyonel monomer arasında geri dönüşümlü kovalent bağ oluşur. Kimyasal bağ ile bağlı olan şablonun polimer matriksinden uzaklaştırılması genellikle zordur ve tekrar bağlanma prosesi oldukça yavaştır.

Non-kovalent yaklaşımda hidrojen bağı, van der Waals kuvvetleri, iyonik etkileşimler ve hidrofobik etkileşimler gibi etkileşimler non-kovalent kuvvetler olarak kullanılır. Polimerizasyondan sonra hedef molekül polimer matriksinden kolayca uzaklaştırılır ve hızlı tekrar bağlanma kinetiğine sahiptir.

Bu tez çalışmasında sulu fazda protein baskılanmış nanopartiküllerin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Şablon olarak sığır serum albumin kullanılmıştır. Tiyol-en polimerizasyonu ile, mini-emülsiyon tekniğinin kullanıldığı özgün bir metod ile 200-300 nm boyutlarında non-kovalent baskılanmış nanopartiküller sentezlenmiştir.

ABSTRACT

Molecular Imprinted Polymer Nanoparticles Synthesis and Characterization

Compare to other recognition system, molecularly imprinted technology have promising features. Some of them are selectively recognition regions, high affinity and reusing capability. Molecular imprinted is used in various field such as chromatography, purification, sensor, drug delivery and catalysis.

Molecular imprinted polymer can be prepared by the polymerization of a functional monomer and a crosslinker in the presence of a target molecule. By this way, high affinity receptor regions of the target molecules are imprinted onto the polymer. The template is removed from the polymer, leaving specific recognition sites complementary in size and shape to the template molecule. Thus obtained imprinted polymer can rebinding the target molecule.

Molecular imprinted polymers can be obtained by covalent approach and non-covalent approaches. In the covalent approach, reversible chemical bonds between the template and the functional monomers are generated during imprinting step. Removal of the chemically bonded template from the polymer matrix is often difficult, and the re-binding process is normally very slow. In the non-covalent approach, hydrogen bonds, van der Waals forces, ionic interactions and hydrophobic effects are involved non-covalent forces. After the polymerization the target molecule can be easily removed from polymer matrix and it has fast rebinding kinetics.

The aim of this thesis is to develop protein imprinted nanoparticles in aqueous phase. For this propose, bovine serum albumin was chosen as a target molecule. Non-covalent imprinted polymer nanoparticules having 200-300 nm size were synthesized using mini-emulsion technique with novel thiol-ene polymerization technique.

SEMBOLLER

cm⁻¹	: Dalgasayısı
d	: Yoğunluk
ddt	: Dubletin dubletinin triplet yarılması
g	: Gram
H⁺	: Proton
hν	: Işık enerjisi
μL	: Mikrolitre
Ma	: Molekül ağırlığı
nm	: Nanometre
t	: Zaman (s)
T	: Sıcaklık (°C)
PI	: Foto başlatıcı
ppm	: Milyonda bir birim
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
%T	: Geçirgenlik yüzdesi

KISALTMALAR

ACN	: Asetonitril
DMF	: N,N-dimetilformamit
DLS	: Dinamik Işık Saçılımı
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DSC	: Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
DVB	: Divinil benzen
EDGMA	: Etilen glikol dimetakrilat
FT-IR	: Fourier Dönüştümlü Kızılötesi Spektroskopisi
HCl	: Hidroklorik asit
HEMA	: Hidroksietil metakrilat
¹H NMR	: Proton Nükleer Manyetik Rezonans
HPLC	: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
MIP	: Moleküler Baskılanmış Polimer
MgSO₄	: Magnezyum sülfat
NaOH	: Sodyum hidroksit
NIP	: Baskılanmamış polimer
PVA	: Polivinil alkol
RNaz A	: Ribonükleaz A
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
BSA	: Sığır serum albumin
STEM	: Taramalı Geçirgenlik Elektron Mikroskobu
TEMED	: Tetrametiletildiamin
TGA	: Termal Gravimetrik Analiz
THF	: Tetrahirofur
UV	: Mor ötesi ışın

ŞEKİL

Şekil 1.1	Kovalent yaklaşım	9
Şekil 1.2	Kovalent olmayan yaklaşım	10
Şekil 1.3	Tiyol-en reaksiyon şeması	13
Şekil 1.4	Emülsiyon	16
Şekil 1.5	Emülsiyonda karşılaşılacak sorunlar	18
Şekil 1.6	Sonikasyon.....	20
Şekil 1.7	Mini-emülsiyon yöntemi ile MIP sentezi	22
Şekil 1.8	Sığır serum albumin yapısı.....	24
Şekil 3.1	Fonksiyonel monomer için reaksiyon mekanizma şeması	39
Şekil 3.2	Sentezlenen fonksiyonel monomer, alil bromür ve fenilalaninin çakıştırılmış IR spektrumu.....	39
Şekil 3.3	N,N,O-triallil-L-fenilalanine (d) ait FT- IR spektrumu	40
Şekil 3.4	Fenilalanin ¹ H NMR spektrumu	41
Şekil 3.5	Fonksiyonel monomer ¹ H NMR spektrumu	42
Şekil 3.6	E29 Mini-emülsiyon FT-IR karşılaştırma	43
Şekil 3.7	E29 Kodlu mini-emülsiyonun FT-IR spektrumu.....	43
Şekil 3.8	N-hidroksietil akrilamid FT-IR spektrumu.....	44
Şekil 3.9	N-3-dimetilaminopropil metakrilamid FT-IR spektrumu.....	45
Şekil 3.10	Etilen glikol dimetakrilat FT-IR spektrumu	46
Şekil 3.11	2-Hidroksietil metakrilat FT-IR spektrumu.....	47
Şekil 3.12	Pentaeritritol tetrakis(3-merkaptopropionat) FT-IR spektrumu	47
Şekil 3.13	E30 Kodlu baskılanmış polimer FT-IR karşılaştırma.....	48
Şekil 3.14	E30 Kodlu Baskılanmış polimer diyaliz FT-IR karşılaştırma	49
Şekil 3.15	E30 kodlu Baskılanmış polimer-FT-IR diyaliz sonrası karşılaştırması.....	50
Şekil 3.16	Sentezlenen E9, E14, E26, E27, E28 kodlu mini-emülsiyon formülasyonları.....	52
Şekil 3.17	Mini-emülsiyonun E4,E7, E8 kodlu formülasyonları	53
Şekil 3.18	A2 formülasyonunun emülsiyon görüntüleri.....	55
Şekil 3.19	E3 kodlu mini-emülsiyonun STEM görüntüsü.....	56
Şekil 3.20	E9 Mini-emülsiyonun 10000x büyütmedeki STEM görüntüsü	57

Şekil 3.21	Şekil E15 kondu mini-emülsiyonun STEM götrüntüsü	57
Şekil 3.22	Hekzadekansız hazırlanan E28 kodlu mini-emülsiyonun STEM görüntüsü.....	58
Şekil 3.23	Hekzadekansız hazırlanan E28 mini-emülsiyonun DLS görüntüleri	59
Şekil 3.24	Hekzadekan ile hazırlanmış E27 formülasyonunun STEM görüntüleri.....	60
Şekil 3.25	Hekzadekan varlığında hazırlanmış E27 emülsiyonun DLS görüntüleri	61
Şekil 3.26	E30 kodlu baskılanmış polimerin STEM görüntüsü	62
Şekil 3.27	E30 kodlu baskılanmış polimerin diyaliz sonrası STEM görüntüleri	63
Şekil 3.28	Diyaliz edilen E30 kodlu baskılanmış polimerin SEM görüntüsü (a).....	63
Şekil 3.29	Diyaliz edilen E30 kodlu baskılanmış polimerin SEM görüntüsü (b).....	64
Şekil 3.30	E29 kodlu polimerin TGA termogramı	65
Şekil 3.31	E29 kodlu mini-emülsiyonunun DSC termogramı	66
Şekil 3.32	BSA DSC termogramı	67
Şekil 3.33	E30 kodlu baskılanmış polimerin DSC termogramı.....	68
Şekil 3.34	E30 baskılanmış polimerin diyaliz edilmiş hâlinin DSC termogramı	69
Şekil 3.35	BSA UV-spektrofotometrede absorbands ölçümü	70
Şekil 3.36	BSA kalibrasyon grafiği	71
Şekil 3.37	Diyaliz suyunun absorbands ölçümü	71
Şekil 3.38	Süzüntü içerisinde kalan BSA absorbands değerleri a)MIP, b) NIP	73
Şekil 3.39	Tekrar bağlanma prosesinde, adsorplanan BSA miktarı	75
Şekil 3.40	E30 kodlu MIP ve E29 kodlu NIP'in BSA çözeltisi içerisindeki zamana karşı tekrar bağlanma grafiği	76

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1	Mini-emülsiyon formülasyon 1 (F1)	30
Tablo 2.2	Mini-emülsiyon formülasyonu 2 (F2)	30
Tablo 2.3	Mini-emülsiyon formülasyonu 3 (F3)	30
Tablo 2.4	Mini-emülsiyon formülasyonu 4 (F4)	31
Tablo 2.5	Mini-emülsiyon formülasyonu 5 (F5)	31
Tablo 2.6	Mini-emülsiyon Formülasyonu 6 (F6).....	31
Tablo 2.7	Mini-emülsiyon formülasyonu 7 (F7)	32
Tablo 2.8	A1 formülasyonu (F8)	32
Tablo 2.9	Tüm emülsiyon formülasyonlarının hazırlanış koşulları 1	33
Tablo 2.10	Tüm emülsiyon formülasyonlarının hazırlanış koşulları 2	34
Tablo 3.1	Diyaliz suyu kalibrasyon grafiğinde ölçülen konsantrasyon miktarları	72
Tablo 3.2	E30 kodlu MIP ve E29 kodlu NIP'in başlangıç ve final BSA konsantrasyonları	73
Tablo 3.3	E30 kodlu MIP ve E29 kodlu NIP'e bağlanan protein miktarı	74
Tablo 3.4	Tekrar bağlanma prosesi- BSA.....	75
Tablo 3.5	Kinetik çalışması	76

1 GİRİŞ

1.1 Genel Bilgiler

1.1.1 Tarihçe

1930 yılında Sovyet kimyager M.V Polyakov, hazırladığı silika hidrojelde, solvent varlığında elde edilen silikaların, solvante tercihli olarak bağlanma kapasitesi sergilediğini rapor etmiştir. 1949’da Linus Pauling’in son sınıf öğrencisi Frank Dickey boya varlığındaki silika jel deney sonuçlarını rapor etmiştir. Dickey “model” boyanın uzaklaştırılmasından sonra silikanın diğerlerine tercihen aynı boyaya tekrar bağlandığını gözlemlemiştir [1]. Silika baskılama 1960’lara kadar çalışılmaya devam edilmiştir fakat bu alandaki makaleler düşük oranda kalmıştır.

1972’de Gunter Wulff moleküler baskılanmış organik polimerleri başarılı bir şekilde hazırladıklarını rapor etmiştir. Wulff’un kullandığı, günümüzde “kovalent yaklaşım olarak bilinen yöntemle gliserik asidin enantiyomerleri arasında seçici olabilen organik moleküler baskılanmış polimerler hazırlamıştır [2]. 1970 ve 1980 yılları boyunca Wulff grubu kapsamlı olarak bu yaklaşımı çalışmalarında kullanmışlardır.

Organik polimer baskılamada ikinci büyük gelişme 1981 yılında Mosbach ve Arshady tarafından sadece non-kovalent yaklaşım kullanılarak organik moleküler baskılanmış polimer (MIP) rapor edilmiştir [3].

Önce basit bir metodoloji olarak görülen yöntem, 1990’lardaki moleküler baskılama yönteminin popülerliğini tetiklemiştir. Günümüzde hâlâ kovalent/non-kovalent tartışmaları devam etmektedir. Özellikle fonksiyonel monomer, çapraz bağlayıcı ve şablon kullanım oranları bakımından, kovalent baskılamanın gereklilikleri non-kovalent baskılamanınkinden farklıdır.

Her iki yöntemin avantajlarının ve dezavantajlarının olduğunun genel kabulü ile birlikte 1995 yılında Whitcombe ve çalışma arkadaşları tarafından semi-kovalent yaklaşım geliştirilmiştir [4,5].

1.2 Moleküler Baskılama

Moleküler baskılama, pestisit, peptit, aminoasit, nükleotit, steroid ve şeker gibi küçük moleküllerin; virüs, enzim, antikor, protein, hormon, eritrosit, immünoglobulin gibi biyoanalitlerin ve büyük organik bileşiklerin, hedef sensör olarak tasarlanan gözenekli mikro kürelerin, nano küre, nanotel, ince film, nano yapılı film, nanokompozit ve yarı çözünür nanojel olarak sentezlenebilmesiyle geniş bir aralıkta uygulanabilir. Moleküler baskılama bunlar gibi birçok kimyasal moleküllerin baskılanmasında umut vaat edici bir yöntemdir. MIP materyalleri, düzensiz öğütölmüş partiküller, düzenli küresel partiküller, nanopartiküller, paslanmaz çelik ya da kılcal kolonda monolitler, kapilerdeki açık boru şeklinde tabakalar, membranlar, yüzeye bağlı ince katmanlar, kompozitler gibi çeşitli uygulamalar için hazırlanır [6].

Baskılanmış polimerlerin geniş aralıkta uygulama alanı bulunmaktadır [7]. Biyolojik reseptör taklidi biyomedikal ve analitik kimya alanlarında, seçici bağlayıcı olaylarının önemli olduğu immüno deney-tipi analizlerde antikor/reseptör bağlama, katalitik uygulamalarda enzim taklidi, biyoçiplerde afinite ayırma materyali olarak, biyosensörlerin tanımlama matrisleri olarak kullanılmıştır [8]. Kimyasal sensör, katı faz ekstraksiyonu, biyo ayırma ve biyo saflaştırma yöntemlerinde, plastik antikor sentezinde çalışmalar giderek artmaktadır [9]. Ayrıca moleküler baskılama, kontrollü ilaç salınım ve dağıtım sistemleri geliştirilmesi için bir rasyonel tasarım stratejisi sağlar [10].

MIP'ler genellikle uygun fonksiyonel monomerler, çapraz bağlayıcı ve seçilen şablon molekülünün kopolimerizasyonu ile üç boyutlu polimer ağ yapısı oluşturur. Polimerizasyondan sonra, şablon molekülü, yıkama adımı ile uzaklaştırılarak, kimyasal ve sterik olarak şablon molekülünün boyut, şekil ve fonksiyonelliğini içeren tanıma alanları bırakır. Sonuç olarak sentezlenen baskılanmış polimer, sadece şablon molekülünü tanıyabilir ve seçici olarak bağlanır [11].

İlk adımda şablon, fonksiyonel monomer, çapraz bağlayıcı monomer ve başlatıcı, porojenik solvent içerisinde polimerizasyona uğrar. Fonksiyonel monomer, şablon molekülüyle stabil şablon-monomer kompleksini oluşturabilecek şekilde seçilir.

Monomerler, şablon molekülü etrafında uzaysal olarak pozisyon alırlar ve çapraz bağlayıcı ile kopolimerizasyona uğrayarak sabitlenir, polimer matriksini oluştururlar. Bu matriks, fonksiyonel monomerin spesifik bağlanma bölgelerine uygun hizalanarak sabitlenmesi için yeterince kuvvetli olmalı, aynı zamanda şablon molekülünü uzaklaştırabilecek ve yeniden bağlayabilecek gevşeklikte olmalıdır. Sonuç olarak matriks seçimi ve matriks oluşum durumunun optimizasyonuna dikkatlice yer verilmelidir. Elde edilen polimerin sahip olduğu üç boyutlu yapıdaki oyuklar, şablon molekülünü tamamlayıcı niteliktedir. Şablon molekülüne karşı moleküler tanıma özelliğine sahip şekil, hacim ve fonksiyonel gruplar bakımından moleküler bağlanma alanları bırakmak üzere, elde edilen polimer solvent ile yıkanarak şablon molekülü uzaklaştırılır. Çapraz bağlanma, mikro oyukların, şablon uzaklaştırıldıktan sonra dahi şekillerini korumalarını sağlar. Böylece fonksiyonel gruplar, tekrar bağlanma için optimal konfigürasyonda bulunur, orijinal şablonu tanıyabilmesi için baskılanmış moleküle imkan sağlar.

Şablon ve fonksiyonel monomer arasındaki kompleks oluşumu, MIP'in yapımında oldukça kritiktir. Özellikler; fiziksel görünümü, morfolojisi ve MIP performansı, fonksiyonel monomer, çapraz bağlayıcı monomer, porojen ve bunların karışım oranları, reaksiyon sıcaklığı ve zamanı gibi polimerizasyon koşulları tarafından belirlenir [12].

Şablon boşluklarında hızla bağlanma ve ayrılmanın olabilmesi için esneklik gereklidir. Esnek olmayan fakat doğru şekle sahip boşluklarda, tekrar bağlanmada kinetik engel gösterecektir. Shea ve çalışma arkadaşları tarafından çalışılan makro-gözenekli stiren-divinilbenzen ve stiren-diizopropilbenzen kopolimerinden ortaya çıkan nispeten rijit, hidrofobik ve yüksek çapraz bağlı materyaller, daha sonraki kimyasal dönüşümlere dayanmak için gerekli olan kimyasal inertliğe sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Böylece şablon ile hızlı dengeye sahip olabilmek için MIP'ler optimum sertlik ya da esnekliğe sahip olmalı, baskılanmış oyuklar şablonun erişimine izin vermeli belirli uygulamalardaki baskıya karşı dayanıklı olabilmesi için mekanik stabiliteye sahip olmalıdır [13].

1.2.1 Şablon Molekül

Moleküler baskılamanın en önemli unsuru olan şablon molekülü, polimerizasyonla bozulmayan fonksiyonel gruplara sahip olmalıdır. Polimerizasyon sıcaklığı, UV ışınları gibi polimerizasyon koşullarında kimyasal stabilite göstermelidir. Şablon molekül ile

fonksiyonel monomer arasındaki molar ilişki MIP'lerin tanınma alan kalitesi yönünden oldukça önemlidir:

- Düşük monomer/şablon oranı kullanıldığında optimal kompleksleşme durumundan daha az, yetersiz miktarda fonksiyonel monomer kullanılmış olunur. Dolayısıyla yeterli miktarda tanınma alanı oluşturulamaz. Çoğu fonksiyonel monomer kompleks yapabilir fakat sınırlı sayıda fonksiyonel monomer polimer partiküllerinin yüzeyine dağılmış baskılanmış oyukların dış kısmına konumlanır.
- Monomer/şablon oranı yüksek olduğu durumda sadece sınırlı sayıda fonksiyonel monomer, şablon ile kompleks oluşturur ve onlar boşlukların dış kısımlarında konumlanırken, kalan kısım, polimer partikül yığınları olarak dağılır. Bu nedenle çok yüksek oranda kullanım, seçici olmayan bağlanma getirir. Aşırı kullanım durumunda ise baskılanmamış polimer oluşur [13].

Çoğu moleküler baskılama proteinleri için şablonun uzaklaştırılması oldukça kritik bir basamaktır. Polimer ağın kendisi ve şablonun baskılanmış oyuğa olan afinitesi uzaklaştırmayı zorlaştırır. Eğer MIP'nin içinde uzaklaştırılan şablon molekül varsa, daha az oyuk tekrar bağlanmak için uygun olacaktır ki bu da verimliliği düşürür. MIP'in performans uygunluğuna rağmen şablon molekülün uzaklaştırılması daha az ilgi görmektedir ve şu anda geliştirilen MIP'ler için düşük maliyetlidir. Şablon uzaklaştırmasının tamamlanmasına ulaşmaya girişimde bulunmak geleneksel ekstrakte tekniklerinde çok sert koşulların kullanılmasıyla, baskılanmış boşluğun hasar ya da topaklanma ile sonuçlanmasını içerebilir.

1.2.2 Fonksiyonel Monomer

Stabil şablon-monomer kompleksinin oluşması, moleküler tanımanın başarılı olmasının temeli olduğu için, fonksiyonel monomer seçilirken, sahip olduğu fonksiyonel grupların şablon molekülüyle etkileşime girebilecek özellikte olmasına dikkat edilir [14]. Fonksiyonel monomer, bazik, asidik, kalıcı yüke sahip, hidrojen bağına sahip ya da hidrofobik özelliklere sahip olabilir [13].

Monomerler şablonun etrafında uzamsal olarak pozisyon alırlar ve bu pozisyonları çapraz bağlayıcı monomerle kopolimerizasyon yapılarak sağlamlaştırılır. Moleküler baskılama yönteminde, fonksiyonel monomerlerin kullanımı, seçiciliği kısıtladığından

dolayı sınırlıdır. Bunun için büyük por boyutu oluşturmaları ve bağlanma kapasitesini arttırması, sahip olması gereken özelliklerdendir.

Fonksiyonel monomer iki tip fonksiyona sahiptir. Bunlardan birincisi, şablon ile kovalent/non-kovalent etkileşime girebilmesi için sahip olması gereken fonksiyonel gruplar, bir diğeri ise çapraz bağlayıcı ve diğeri monomerlerle kovalent bağ yapmasını sağlayan vinil çift bağ gibi polimerize olabilen kimyasal gruplardır [15].

1.2.3 Çapraz Bağlayıcı

Çapraz bağlayıcı, fonksiyonel monomeri şablonun etrafına yerleştirmekte görevlidir. Böylece şablon uzaklaştırıldıktan sonra, çapraz bağlı rijit polimeri oluşturur. Çapraz bağlayıcının türü ve miktarı, MIP'in seçiciliğini ve bağlanma kapasitesini belirler.

Genellikle moleküler baskılamada organik solventle çalışılıyorsa etilen glikol dimetakrilat (EDGMA) ve divinil benzen (DVB) çapraz bağlayıcı olarak kullanılır. DVB, polimerde çapraz bağ arttırarak sertlik ve hidrofobiklik kazandırır. Polistiren bazlı MIP'lerin yapımında kullanılır. EDGMA, iyi mekanik direnç ve termal stabilite gösterir, gözeneklilik kazandırır. Akril bazlı MIP'lerin sentezlenmesinde en uygun bulunan çapraz bağlayıcıdır. Polimerin daha iyi yükleme kapasitesi ve seçicilik göstermesini sağlar.

Uygun çapraz bağlayıcının kullanılması kopolimerizasyonun başarıyla gerçekleşmesini sağlar ve polimer ağı içerisinde monomerlerin düzenli dağılımlarına olanak tanır [13].

Genellikle çok az miktarda kullanılan çapraz bağlayıcı formülasyonlarda, stabil olmayan mekanik özellikler; çok yüksek miktarda kullanılan çapraz bağlayıcı formülasyonlarda ise MIP'in kütle ünitesi başına tanımlama alan sayısında azalma gözlemlenir [16].

Bu nedenle fonksiyonel monomer ile çapraz bağlayıcının mol oranı oldukça önemlidir:

- Bu oran çok küçükse, tanıma bağlanma alanları birbirine çok yakın konumlanır ve bağımsız olarak çalışamazlar. Oranın fazlasıyla küçük olduğu durumda ise komşu bağlanma alanları, tanıma bağlanma alanlarını inhibe eder. Düşük derecedeki çapraz bağlanma, polimer matriksinde oluşturulan oyuk şeklini koruyabilmek için yeterince çapraz bağlanmadığından, düşük seçicilik gösterir.

- Aksine, çok yüksek mol oranına sahipse, özellikle çapraz bağlayıcı ajanın fonksiyonel monomerle ve şablonla non-kovalent etkileşim gösterdiğinde baskılama etkisi zarar görür. Fonksiyonel monomer ya da şablon molekülden biri baskın olur. İstenmeyen bağlanma bölgelerinin oluşmasına sebep olur.

Çapraz bağlayıcının doğası gereği, polimer matriksinin fizikokimyasal özelliklerini önemli ölçüde etkiler. Çapraz bağlayıcı ajan, polimer matriksinin morfolojisini kontrol ederken, aynı zamanda mekanik kararlılık sağlar ve istenilen yapıya ulaşılabilmesi için bağlanma alanlarını düzenler. Ayrıca baskılanmış polimerlerin, yapı oluşturulduktan sonra solvent içerisinde çözünmesini engeller. Pratik uygulamalar için olanak sağlar.

Wulff ve çalışma arkadaşları çapraz bağlanma derecesinin polimerin seçiciliğine etkisini çalışmışlardır. Bunun için EDGMA çapraz bağlayıcı ajan olarak seçilir, fenil-D,L-manopiranosit ise tekrar bağlanma prosesinde çapraz bağlayıcının bir fonksiyonu olarak kullanılır. Sonuç olarak çapraz bağlı sistemde seçicilik karakteristiğinin %10'nun altındaki çapraz bağlayıcı varlığında gözden kaybolduğu, çapraz bağlanma derecesi arttıkça seçiciliğin arttığını rapor etmişlerdir [17].

1.2.4 Porojen

Polimerizasyonda porojen olarak kullanılan solvent, non-kovalent etkileşimlerin dayanıklılığını kontrol eder. Bunun yanında polimerin morfolojisini de etkiler.

Bütün non-kovalent etkileşimler solventlerin polaritesinden, buna bağlı olarak dielektrik sabiti, elektron alma/verme özellikleri ve proton (H^+) alma/verme özelliklerinden etkilenir. Polar solvent kullanımı, baskılama türü ile fonksiyonel monomer arasındaki etkileşim kuvvetlerinin oluşumunda zayıf tanıma özelliği oluşumu ile sonuçlanır. Hazırlanan polimerlerin yapısına porojen etkisi, bu bariz dezavantajı telafi edebilir. Özgül yüzey alanı ve ortalama gözenek çapı kullanılan porojenin tipine dramatik olarak bağlıdır. Bu nedenle genellikle aprotik, non-polar solventler tercih edilir. Düşük yüzey alanı ve düşük makro-gözeneklilik, bağlanma bölgelerine düşük erişilebilirlik, tanıma özelliğinin azalmasına sebep olabilir.

Biyolojik sistemlerde su, çevreleyen medya olarak baskın bir rol oynar. Böylelikle doğal bağlanma olaylarını taklit, en etkili şekilde sulu sistemlerde gösterilmiştir. Ama porojen olarak suyun baskılama prosesine etkisi yahut tanıma medyasına non-kovalent

etkileşimi, etkileşim enerjisini çoğu kez düşürür. Bu nedenle sulu çevrelerde genel olarak organik solventlerin kullanımı tercih edilmektedir [18]. Ama günümüzde protein baskılama sulu ortamlarda önemli başarılarla ulaşmıştır [19].

Porojen, polimerizasyonda dağılma medyası ve por oluşturma ajanı olarak kullanılır. Ağ yapı ve gözenekliliğin morfolojisini belirlemede polarite ve hidrojen bağ gibi porojen parametreleri önemlidir. Genellikle, metanol, tetrahidrofur (THF), asetonitril, dikloroetan, kloroform, N,N-dimetilformamit (DMF) ve toluen porojen olarak kullanılır. Polimerizasyonda solvent molekülleri polimer içerisinde birleşir ve işlem sonrasında uzaklaştırılır. Gerçekte, polimer içinde boşluğu dolduran solvent uzaklaştırıldığında yerini porlar alır. Porojenin polaritesi, şablon ve fonksiyonel monomer arasındaki etkileşimi, non-kovalent etkileşimli sistemlerde adsorpsiyon özelliklerini etkiler.

Solventlerin diğer bir önemli rolü ise polimerizasyonda reaksiyon gerçekleşirken ısı dağılımının kontrolüdür. Aksi hâlde reaksiyon karışımı içerisinde ısı düzenli olarak dağılmasaydı, istenmeyen yan reaksiyonlar oluşabilirdi.

Organik sistemdeki MIP'ler sulu olana göre daha iyi duyarlılık ve seçicilik gösterir. Bu davranış belirli olmayan hidrofilik bağların şablon ve polimer yüzeyi arasında oluşmasından olduğu gibi, seçici şablon-MIP etkileşimlerinin suda yaptığı girişimden dolayı da meydana gelir. Bu problem, MIP yüzeyin 2-hidroksietilmetakrilat (HEMA) ve gliserol dimetakrilat ile modifikasyonu ile çözülmüştür. Böylelikle MIP'in yüzeyindeki analitin belirli olmayan bağları uzaklaştırılır. Dahası su tercihen MIP'in yüzeyindeki hidrofilik gruplar ile etkileşir. Ve belirli bağlanma alanlarındaki moleküler tanıma su tarafından daha az girişime uğrar [20].

1.2.5 Başlatıcı

Küçük bağ disosiasyon enerjisine sahip zayıf bağlı maddeler, sıcaklık ya da ışık ile tetiklenerek, radikal vermek üzere bozunmaya uğrar, sonrasında ortamdaki monomerle reaksiyona girerek reaksiyonu başlatır [21]. Sıcaklık ile bozunmaya uğrayan başlatıcıya, termal başlatıcı, ışık ile tetiklenerek bozunmaya uğrayan başlatıcıya fotobaşlatıcı denir. Birçok kimyasal başlatıcı farklı kimyasal özellikler göstererek radikal kaynağı olarak kullanılabilirler. Genellikle polimerize olabilen çifte bağların oranına da bağlı olarak, kütle ya da molce % 1 oranında kullanılırlar [22].

1.2.6 Polimerizasyon Koşulları

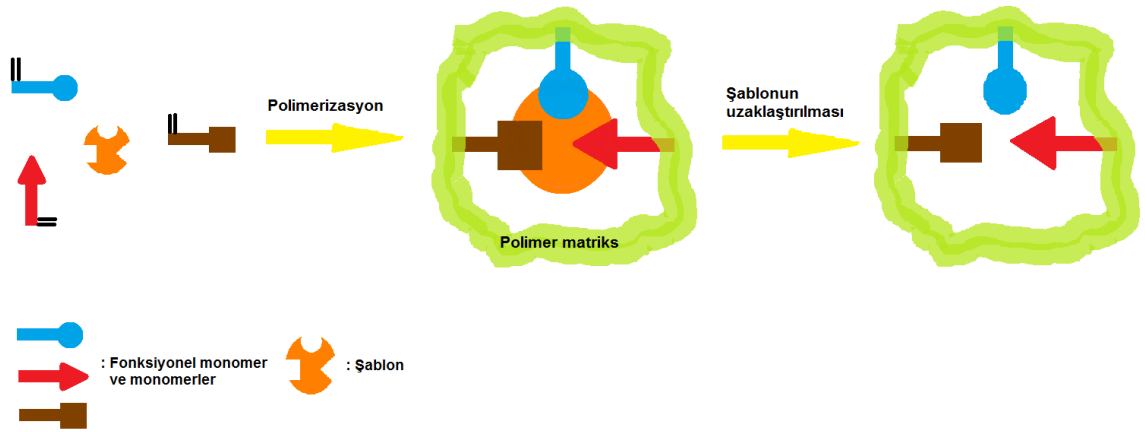
Düşük sıcaklıklarda polimerizasyonu gerçekleştirilen MIP'ler daha iyi seçiciliğe sahiptir. Çoğunlukla araştırma grupları 60 °C'de çalışırlar. Bu durum, reaksiyonun çok hızlı olmasına ve sıcaklığın zor kontrol edilmesine sebep olur. MIP için bu hız, tekrar üretimin düşük olmasına sebep olur. Daha düşük sıcaklıklardaki çalışmalar, reaksiyon zamanının uzamasına, dolayısıyla tekrar üretilebilme veriminin daha yüksek olmasını sağlar. Fotokimyasal başlatıcılar düşük sıcaklıklarda kullanılmak için oldukça etkilidir. Mosbach ve çalışma arkadaşları, fenilalanin anilit baskılanmış polimerin enantiyoseçiciliği ile ilgili çalışırken, bir kısmını termal olarak 60 °C'de sentezlemiştir, diğer bir kısmını ise fotokimyasal olarak 0 °C'de polimerize etmiştir. Sonuç olarak, fotokimyasal olarak sentezlenen polimerde daha yüksek seçicilik elde etmişlerdir [23-24].

1.3 Baskılama Yöntemleri

MIP'lerin elde edilmesinde, baskılama ve tekrar bağlanma adımlarını da içeren, fonksiyonel monomer ile şablon arasındaki etkileşim baz alınarak üç farklı yaklaşım kullanılır:

1.3.1 Kovalent Baskılama

Wulff ve çalışma arkadaşlarının öncülük ettiği kovalent yaklaşımda, baskılama polimerizasyonu boyunca şablon molekül ve fonksiyonel monomerler arasında geri dönüşümlü kovalent bağlar (ester, amit, disülfid vb.) oluşur. Fonksiyonel monomer-şablon molekül kompleksi genellikle polimerizasyon prosesi boyunca stabildir. Yüksek stabilitedeki birbirine kovalent bağlı şablon-monomer kompleksi, bağlanma bölgelerinin, sert koşullarda bile daha homojen popülasyonda olmasını sağlar. Spesifik olmayan alanların oluşumunu en aza düşürür. Çapraz bağlı polimer matriksinden kimyasal olarak bağlanmış şablon molekülünün uzaklaştırılması genellikle zaman alır ve zordur. Tekrar bağlanma prosesi, moleküler baskılanmış polimer ile şablon molekülü arasında tekrar geri dönüştürülebilir kovalent bağ oluşumu gerektireceğinden, oldukça yavaş gerçekleşir ve hızlı kinetik gerektiren uygulamalarda kullanılması zorlaşmıştır. Bu da yaklaşımı oldukça kısıtlayıcı yapar.



Şekil 1.1 Kovalent yaklaşım

Wulff ve çalışma arkadaşları, vinilfenil boronat gibi polimerize fonksiyon içeren spesifik şeker ya da amino asit türevlerini kovalent baskılama metoduyla sentezlemiştir [25]. Polimerizasyondan sonra şeker parçası hidroliz edilerek, seçici bağlanması için kullanıldığında, kovalent bağlı moleküler baskılama tekniğinde, çapraz bağlayıcının artırılmasıyla MIP'in seçiciliğinin yükseldiği gözlemlenmiştir. Geri dönüşümlü kovalent etkileşimler seçildiğinden beri çok sayıda potansiyel şablon esasen sınırlanır. Polimerize olabilen monomerler ile geri dönüşümlü kovalent etkileşimler, az sayıdadır ve şablon ve fonksiyonel monomer arasındaki kovalent bağı kırmak için sıklıkla asit hidroliz prosedürü gerektirir [22].

1.3.2 Semi-Kovalent Baskılama

Semi-kovalent baskılama, kovalent yaklaşım ile non-kovalent yaklaşımın bir sentezi olarak düşünülebilir. Polimerizasyondan önce, kovalent baskılama yaklaşımındaki gibi şablon molekülü, fonksiyonel monomere kovalent bağ ile bağlanır. Ancak molekül baskılanıp, şablon molekülü uzaklaştırdıktan sonra tekrar bağlanma prosesinde non-kovalent etkileşimler kullanılır [5].

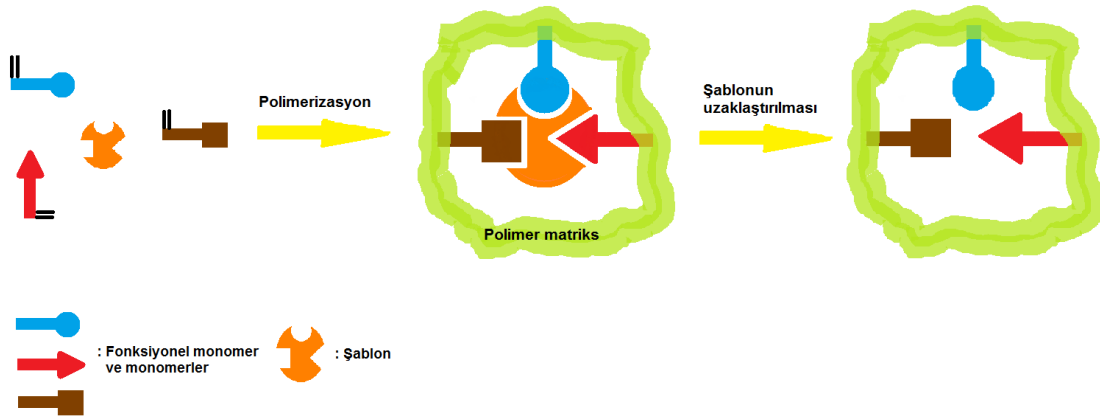
1.3.3 Kovalent Olmayan Baskılama

Kovalent olmayan baskılama, moleküler baskılama yönteminde en çok kullanılan yöntemdir. Polimerizasyondan önce ve baskılama polimerizasyonu boyunca, temel olarak fonksiyonel monomer ve şablon molekülü arasında hidrojen bağı, van der Waals

kuvvetleri, π - π etkileşimler, elektrostatik etkileşimler, iyonik etkileşimler ve hidrofobik etkileşim gibi kovalent olmayan etkileşimlerin olduğu, non-kovalent yaklaşım, ilk olarak Arshady ve Mosbach tarafından çalışılmıştır [3].

Kovalent yaklaşıma oranla aşağıdaki üstünlüklere sahiptir:

- ★ Kovalent bağ oluşturmaya gereksinim olmadığı için, pre-polimerizasyon kompleksi kolayca polimerize olur.
- ★ Baskılanacak olan şablon, polimer matriks üzerinden daha kolay uzaklaştırılır. Pre-polimer oluşturmak için birden fazla bağlanma şekli oluşturulabilir.
- ★ Hızlı tekrar bağlanma kinetiğine sahiptir. Monomer ve şablon solvent içinde kolayca çözünür.
- ★ Hemen hemen her türlü şablonla etkileşime girebilecek kimyasal fonksiyonallite gösteren, ticari olarak bulunan monomer türleri oldukça çeşitlidir.



Şekil 1.2 Kovalent olmayan yaklaşım

Polimerizasyon esnasında bu komplekslerin konformasyonunun stabilize edilebilmesi sıcaklık, çözücüler ve polimerizasyon dahil olmak üzere kullanılan koşullar altında yüksek bir afiniteyle, seçicilik ve homojenliğini temin etmek için önemlidir [26].

MIP'in, şablon çıkarıldığı zaman baskılanmış olan boşluklar, şeklini koruyabilmeli ve bu boşluklara tekrardan şablonun hızlı bağlanması ve uzaklaştırılması arasındaki dengeyi kolaylıkla gerçekleştirecek şekilde esnek olmak gibi karakteristik özelliklere sahip olması gerekir. Bu açıdan kovalent olmayan baskılama, kovalent baskılamadan daha hızlı denge kinetiğine sahiptir [24].

Non-kovalent etkileşim, canlı sistemlerde yaygın olarak kullanılır. MIP afinite ve

seçicilik açısından antikor ve enzim gibi biyolojik reseptörlere benzer bağlanma karakteristiğine sahiptir. Antikor ve diğerk biyolojik reseptörlerde, non-kovalent baskılanmış materyallerde olduğu gibi hidrojen bağ, iyonik, hidrofobik etkileşimler ile hedef molekülünü tanımlar [27].

Şablon monomer etkileşimleri bir denge prosesi tarafından yürütüldüğünden bazı sorunların oluşması kaçınılmazdır. Denge, şablon-monomer kompleks oluşum yönüne doğru değıştirildiğinde, fonksiyonel monomerin aşırısı, non-kovalent etkileşimlerin nispeten zayıf olmasından dolayı, polimerizasyon boyunca şablon-fonksiyonel monomer kompleksine gelişigüzel birleşir. Bunun sonucundadaha sonra saflaştırılması gereken, seçici olmayan bağlanma bölgelerinin oluşmasına sebep olur [28].

Polimer bağlanma bölgelerindeki çok sayıda fonksiyonel grup, pre-polimer kompleks fazında ya da polimerizasyon boyunca belirlenemez. Bağlanma alan yapılarının polimerizasyon boyunca ve polimerizasyondan sonra karakterize edilmesinin zorluğundan dolayı, final bağlanma yapılarının belirlenmesi de günümüzde sorun olmaktadır.

Ama non-kovalent yaklaşım, MIP sentezinde hâlen en yaygın kullanılan yöntem olmaktadır. Birçok eksiklerinin olmasına rağmen bu eksiklikler monomer-şablon sisteminin stokiyometrisinin kontrolü ile üstesinden gelinebilir. Bunun sonucunda sulu çevrede reseptörler yüksek kapasite ve seçici tanıma özellikleri gösterir. Genellikle sentezlenen polimer yüksek ilgililikte ve seçicilikte direkt olarak uygulama alanlarında kullanılmaktadır.

1.4 UV-kürlenene Tiyol-en Reaksiyonu

UV ışınlarının sentetik organik reaksiyonlarda ve polimerizasyonlarda kullanılması, polimer biliminde, organik kimyada, biyolojik ve materyal biliminde gelişmeleri tetiklemiştir. Tiyol-en klik kimyası organik ve polimer sentezlerde en popüler reaksiyon türlerinden biridir. Bu proses, geniş aralıktaki fonksiyonel gruplarda oldukça etkili hava, oksijen ve nem varlığına karşı toleranslıdır [29,30].

Tiyol-en reaksiyonları, halka-açılım polimerizasyonu, katyonik polimerizasyon, kontrollü radikal vinil polimerizasyonu ile kombine edilerek kullanılabilir. Termal başlatıcılarla karşılaştırıldığında, tiyol-en daha etkili, dönüşümün tamamlanması için

daha kısa reaksiyon süresi gerektiren, daha yüksek toleranslı, çeşitli iskelet yapı ve fonksiyonel gruplarda kullanılabilen bir yöntemdir. Termal başlatıcı, UV ışığın yaptığı gibi zaman ve mekânsal kontrol sağlamamaktadır.

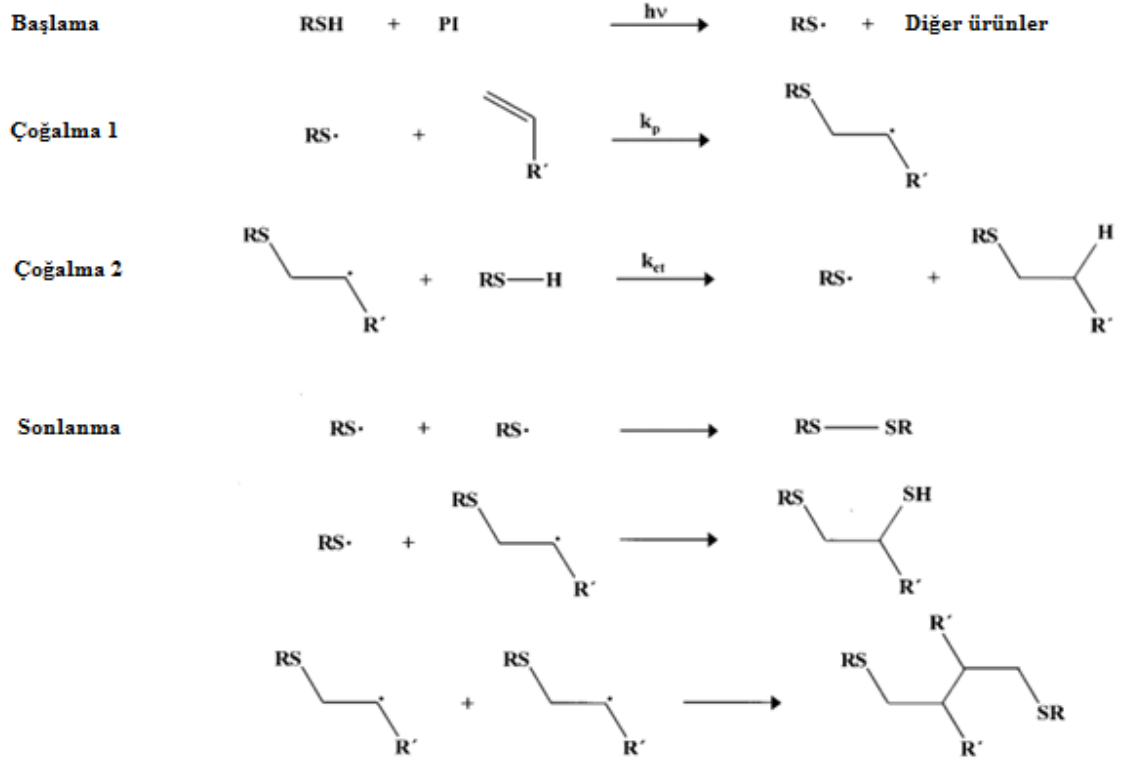
Tiyol-en reaksiyonları solventsiz koşullarda da ürüne zarar vermeden çalışabilmektedir. Makromoleküllerin saflaştırılmasında, merkaptan fazlasını basit çökme teknikleri uygulanarak uzaklaştırılması sağlanabilir. Endüstriyel uygulamalar için fotokimyasal başlatıcılı tiyol-en klik reaksiyonları çekici özellikler sağlasada, birçok kimyasal bileşiğin UV absorpsiyon yapması sebebiyle istenmeyen yan ürün oluşturmasıyla sonuçlanabilir [31].

Tiyol-en reaksiyon dönüşüm oranı direkt olarak çift bağdaki elektron yoğunluğuna bağlıdır. Elektronca zengin çift bağ, elektronca fakir olana göre daha çabuk tükenir. Bu kuralın basit bir istisnası, yüksek konjugeli çift bağların tiyollerle çok yavaş kopolimerize olmasıdır.

Bunun sebebi, karbon karbon çifte bağa tiyil radikalinin eklenmesi ile oluşan karbon merkezli allilik radikalın kararlılık göstermesidir. Merkaptopropionat esterler, merkptoasetat esterlerden daha hızlı reaksiyon verir [32].

Tiyol-en sistemin, serbest radikal mekanizmasıyla polimerize edilmesi iki basamaktan oluşmaktadır:

1. Fotobaşlatıcı ya da termal başlatıcı ile tiyol bileşiğinden, hidrojen abstraksiyonu yapılarak tiyil radikali üretilmesi
2. Çift bağa sahip karbon atomuna ilk tiyil radikali ilavesi (çoğalma 1)
3. Tiyil radikali vermek üzere karbon merkezli radikal tarafından tiyol grubuna hidrojen abstraksiyonu (çoğalma 2)
4. Radikal-radikal eşleşmesiyle sonlanma oluşumu (Sonlanma)



Şekil 1.3 Tiyol-en reaksiyon şeması

1.5 Polimerizasyon yöntemleri

MIP için emülsiyon polimerizasyonu, süspansiyon polimerizasyonu, kütle polimerizasyonu ve çökelti polimerizasyonu kullanılmaktadır. Farklı yaklaşımların arasında sıklıkla MIP partikülleri ılıman koşulları, kolay prosesi, genel uygulanabilirliğinden dolayı birçok moleküler baskılama sistemlerinde özellikle peptit baskılama sistemlerinde kullanılır. Ama geleneksel çökelti polimerizasyonu doğru bir şekilde polimer yapısını ve morfolojisini geleneksel serbest radikal polimerizasyon sebebiyle kontrol edememektedir [33].

1.5.1 K t le (Yığın) Polimerizasyonu

K t le polimerle mesinde sıvı monomerler ve başlatıcı, şablon molekülü varlığında ısı veya ışığa maruz bırakılır, Reaksiyon ekzotermik olduğu için molekül ağırlığı geniş olan polimerler elde edilir. Partikül elde etmek için k t le polimerle mesini takiben ezme, öğütme, eleme adımları gerçekleştirilir. Bu da büyük miktarda polimeri harcamaya ve bundan dolayı tanınma alanlarını yok etmeye sebep olabilir [34].

Genel olarak %50'den düşük bir verimle partikül elde edilmektedir. Partikül boyutu düzensiz ve heterojen olduğu için düşük etki gösterir [35].

Geleneksel k t le polimerizasyonu ile elde edilen MIP'ler, yavaş kinetik bağlanma süresi, heterojen bağlanma noktaları, şablon moleküle zayıf erişim gibi birçok dezavantaja da sahiptir. Bu problemin üstesinden gelmek için nanosilika esaslı baskılanmış polimerler ve destek materyali olarak çok duvarlı nano tüpler hazırlanmıştır [36].

Likit kromatografi gibi kromatografik yöntemlerde kolon dolgu maddesi olarak MIP'ler kullanılır. K t le polimerle mesi ile elde edilen, öğütme ve eleme sonrası kullanılabilen heterojen partikül boyutlu dağılıma sahip MIP'ler ile tekrarlanabilir sonuçlar alınamamaktadır [37]. Günümüzde çoğunlukla baskılama çalışmalarında porojenik solvent kullanılarak makro porlu blok polimerlerin sentezlendiği k t le polimerizasyonu kullanılmaktadır.

K t le polimerle mesi esnasında MIP partiküllerinin oluşturulması için öğütme ve eleme işlemlerinin gerekmesi ve elde edilen polimerlerin verimliliğinin düşük olması nedeniyle maliyetlidir ve    tmeye ihtiyaç olmayan farklı sentez yollarının araştırılması için ışık tutmuştur.

1.5.2 Süspansiyon Polimerizasyonu

Süspansiyon; bir sıvı içerisindeki katının herhangi bir şekilde çözünmeden askıda kaldığı sistemdir [38]. MIP, suyun, stabilizatör varlığında pre-polimerizasyon karışımındaki damlaların askıda kalması için devam fazı olarak kullanıldığı geleneksel süspansiyon polimerizasyonu ile hazırlanabilir. Kovalent ve non-kovalent yaklaşımlarda kullanılabilen yaygın bir yöntemdir. Boyutsal olarak polidisperstir. Zayıf tanıma alanları

içerir. Bunun sebebi, suyun fonksiyonel monomer ve şablon molekülü arasındaki non-kovalent etkileşimleri zayıflatması ya da stabilizatörlerin bu etkileşimleri engellemesi olabilir [39].

Diğer alternatif baskılama yöntemlerine nazaran kolay uygulanabilirliği ile tercih edilirler. Temel olarak süspansiyon polimerizasyonunda suda çözünmeyen monomerler, monomerde çözünen başlatıcı ve az miktarda polivinil alkol (PVA) gibi stabilizatörler kullanılır. Yüksek karıştırma ile partikül boyutu düşürülebilir.

Geleneksel bir süspansiyon polimerizasyonunda standart karıştırma hızı 2000 rpm iken, mini-süspansiyon polimerizasyonunda 10.000 rpm karıştırma hızı kullanılır [40].

Süspansiyon polimerizasyonu, seçicilik bakımından non-kovalent baskılanmış polimer olarak kütle polimerizasyonu ile karşılaştırıldığında daha fazla etkinlik gösterir [41]. Yine de gözenekliliğin ayırımında daha üstün etkisinin olduğu bilinmektedir.

1.5.3 Çökelti Polimerizasyonu

Heterojen bir polimerleşme yöntemi olan çökelti polimerizasyonunda, başlangıçta çözünür olan monomer ve başlatıcı, polimerleşme sonunda çözünmez hâle döner ve çöker. Çökme sonunda polimer zincirleri reaksiyonda yeni oluşan oligomer ve monomerleri yakalar, polimerleşme partikül oluşumu şeklinde devam eder.

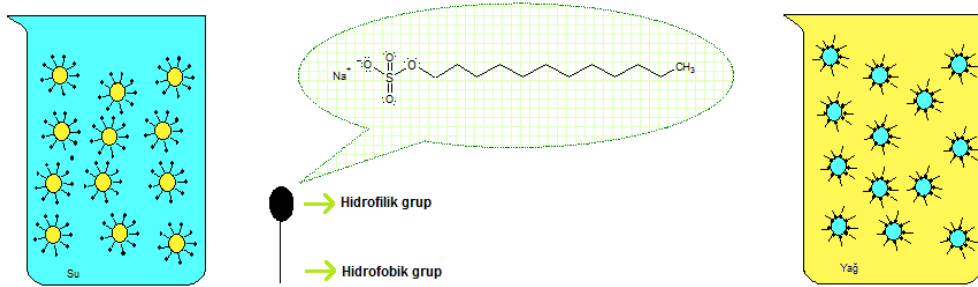
Bu metodla monodisperse yakın, küresel partiküller iyi bir verimle rutin olarak hazırlanabilir. Reaksiyon sisteminde stabilizatör eklemeye gerek yoktur ve böylece temiz polimer mikroküreler elde edilir.

Partiküllerin boyut ve gözeneklilikleri, polimerizasyon koşulları kontrol edilerek istenilen hale getirilebilir. Çökelti polimerizasyonu moleküler baskılamada kullanıldığında, baskılanmış küresel partiküllerin çapları genellikle 1 μm 'dan küçük boyutlarda elde edilir. Analitik tekniklerde ve kapiler elektrokromatografide kullanılır [42]. Ping Li ve çalışma arkadaşı şablon olarak L-2-kloromandelik asit kullanılarak çökelti polimerizasyonu ile makrogözenekli yapılardan daha iyi bağlanma kapasitesine sahip moleküler baskılanmış polimer sentezlemişlerdir [43].

1.5.4 Emülsiyon Polimerizasyonu

Emülsiyon; birbiri içerisinde karışmayan iki sıvının birbirinde dağılmasıyla oluşan homojen görünümlü heterojen karışımlardır. Kararlı olmalarını sağlayan yardımcı maddeler barındırırlar. Bu emülsiyon stabilizatörlerini tanımlamak için yüzey aktif madde, emülgatör, sürfaktan, ve daha birçok kelime kullanılır. Yüzey aktif maddeler, hidrofilik ve hidrofobik kısımlar barındırarak bulunduğu ortamın yüzey gerilimini etkiler. (Şekil 1.4) İşlevlerini yerine getirebilmeleri için misel hücresi oluşturmalarıdır. Misel oluşturabilmek için gerekli olan konsantrasyon, *kritik misel konsantrasyonu* (CMC) olarak adlandırılır.

Ara yüzey gerilimi sebebiyle monomer damlaları küresel şekildedir. Küre en düşük yüzey hacim oranına sahiptir. Bu sebeple miseller küresel şekildedir. Sürfaktan varlığında su ve yağ karıştırıldığı zaman, sürfaktan molekülleri, dağılan faz damlalarının yüzeyini kaplayarak ara yüzey gerilimini düşürür. Süt, iyi bilinen doğadaki stabil emülsiyona örnektir. Tereyağ damlacıkları fosfolipit ve proteinlerin yardımı ile suda dispers olur [44]. Şekil 1.4'te görüldüğü gibi, su içinde yağ (w/o) ya da yağ içinde su (o/w) şeklinde olabilmektedir.



Şekil 1.4 Emülsiyon

Emülsiyon polimerizasyon, radikal polimerizasyonu üzerinden yürür. Kopolimerizasyon kullanımı da oldukça yaygındır. Klasik serbest radikal polimerleşmenin tersine reaksiyon hızındaki artış, molekül ağırlığını düşürmez ve yüksek reaksiyon hızında bile yüksek molekül ağırlığına sahip polimerler elde edilebilir. Bu nedenle tek tip yüksek molekül ağırlığına sahip polimerlerle, mükemmel fiziksel özelliklere ulaşılabilir. Bu nedenle emülsiyon polimerleşmesi endüstride önem kazanmıştır.

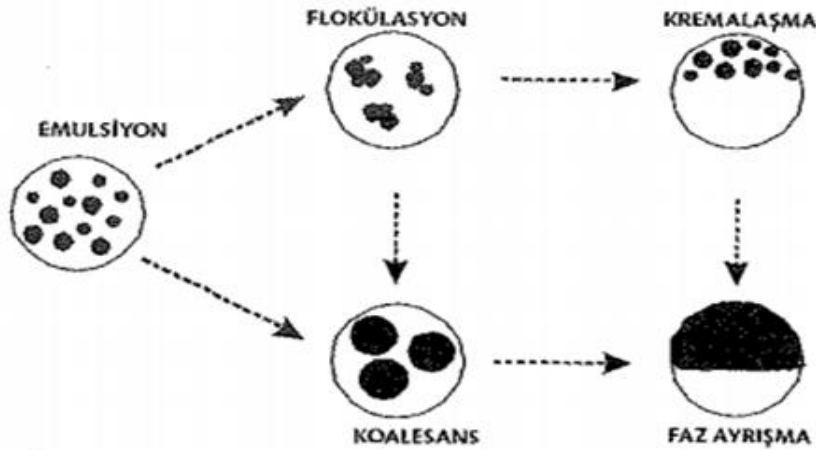
Emülsiyon, sürekli fazı oluşturan su ve içerisinde dağıtılan monomerler ve sürfaktanlardan oluşur. Polimer partikülü direkt olarak misel damlacıkları içinde gerçekleşir. Böylece, emülsifikasyon (emülsiyon oluşma süreci) adımı ve oluşan damla boyut dağılımı direkt olarak final ürün özelliklerini belirler. Endüstride en önemli sorunlardan biri partikül oluşum hızı veya diğer adıyla nükleasyonun kontrol edilebilmesidir. Ancak bu şekilde turarlı bir lateks elde edilebilir.

Emülsiyon polimerleşmesinde her bir partikül mini bir reaktör gibi görev alır. İki önemli karakteristik özelliği vardır: Bunlardan ilki yüksek reaksiyon hızlarında yüksek molekül ağırlıklı polimer oluşabilmesi, diğeri ise reaksiyonun hızının direkt lateks içerisindeki partikül sayısına bağlı olmasıdır. Nükleasyon hızı aynı zamanda sonuçta oluşan lateks ürünün boyut ve boyut dağılımını etkiler.

Emülsiyon polimerleşmesinin sulu fazda başladığı uzun yıllardır kabul görmüştür. Partikül nükleasyonu için iki mekanizma önerilmiştir: [45]

1. Sulu fazda oluşan radikaller, monomer ile şişmiş (doymuş) miseller içerisine girer ve hızlıca monomeri polimerleştirerek, monomerle şişmiş polimer partiküllerini oluşturur. (misel nükleasyonu)
2. Radikaller sulu fazda oluşur ve monomerleri kendine ekleyerek oligomerik radikalleri oluşturur [46]. Oligomerik radikaller kritik zincir boyutuna ulaştıklarında çökerek kararlı lateks partiküllerini oluşturur veya daha önce oluşan partiküller ile birleşerek koagüle olurlar (homojen nükleasyon) [47].

Her iki mekanizmada da oluşan ilk polimer molekülü, polimer partikülünü oluşturur ve monomer damlaları içinden sulu faza difüzlenen monomerler ile şişirilerek devam eden polimerleşme ile lateks ürününe ulaşılır. Monomerin (>95 %) monomer damlaları içinde büyük birikimi bulunmaktadır ve karışma hızına bağlı olarak boyutları değişir. Genelde monomer damlası boyutu (1-100 μm) arasında değişirken, tipik misel boyutu 1-10 nm arasındadır ve çevresinde 50-150 sürfaktan molekülü bulunur. Monomer damlaları misellerden çok daha büyüktür. Misel konsantrasyonu 10^{19} - 10^{21} L^{-1} iken, monomer damlaların konsantrasyonu 10^{12} - 10^{14} L^{-1} 'dir. Aralarındaki değer fark da yüzey alanlarıdır. Misellerin yüzey alanı, monomer damlalarından büyüktür. Misel nükleasyonu, CMC (0,001-0.1 mol/L^{-1}) üzerinde ise homojen nükleasyonuna göre baskındır.



Şekil 1.5 Emülsiyonda karşılaşılabilecek sorunlar

Öncü partiküllerin monomer ile polimerleşerek büyümek yerine diğer partiküller ile koagülasyonda gerçekleşebilmektedir. Bu mekanizmaya *koagülatif nükleasyon* denir. Koagülatif nükleasyon genelde CMC altında önem kazanır. CMC altında küçük öncü partikülleri çevreleyecek, yeterince sürfaktan olmayınca partikül kararlılığı düşecektir. Eğer partiküller belirli bir büyüklüğe ulaşabilirse, bu durumda onları stabilize edecek yeterlilikte sürfaktan ile çevrelenebilirler. Bu durumda koagülasyona gitmek yerine polimerleşmeyi tercih ederler. CMC üzerinde yeterli miktarda sürfaktan olduğu için koagülatif nükleasyonda önemini yitirir.

Emülsiyon polimerleşmede kullanılan sürfaktan seçiminde önemli rol oynar. Genelde non-iyonik sürfaktanlar o/w veya w/o emülsiyonlarda etkin olarak kullanılırlar ve flokülasyonu ve koalesansı önlemede önemli rol oynar. Sodyum dodesil sülfat (SDS) gibi iyonik sürfaktanlar o/w sistemlerde kullanılır. Fakat elektrolitlere duyarlıdırlar. Bu nedenle iyonik non-iyonik sürfaktanların karışımı emülsiyon ve stabilizasyon açısından daha uygundur [48].

Şekil 1.5'te görülen emülsiyon polimerleşmesinde karşılaşılabilecek sorunlar şematize edilmiştir. *Kremalaşma*, santrifüj veya yerçekimi gibi dış kuvvetler nedeniyle oluşur. Bu kuvvetler damlacıkların Brownian (termal) hareketlerinden güçlü olursa, büyük damlalar reaktörde yukarı veya aşağı bölgelerde toplanır. *Flokülasyon*, damlacıkların birleşerek daha büyük üniteler hâlinde çökmesidir. Ancak koalesanstan farklı olarak partiküller birleşip bir büyük partikül oluşturmaz, sadece bir araya gelirler. Van der Waals kuvvetleri zayıf olduğu durumlarda partiküllerin belirli bir mesafede dağınık

durumları için gerekli itme gücü olmadığında flokülasyon meydana gelir. *Koalesansda* damlacıklar arasındaki film incelerek, birden çok partikül birleşerek büyük partikül oluştururlar. *Faz ayrışması*, damlaları koruyan filmin geri dönüşümsüz olarak bozulmasından meydana gelir.

1.5.4.1 Mini-Emülsiyon (Nano-emülsiyon)

Klasik emülsiyonda partikül, misel nükleasyonu ve homojen nükleasyon sonucu oluşurken, mini-emülsiyon ise nükleasyon mikronatı monomer damlaları içerisinde oluşmaktadır.⁴⁸

Normal emülsiyon polimerizasyonundan farkı, ko-sürfaktana gereksinim duyması ve ek bir yüksek kesmeli homojenizasyon adımı içermesidir. Bu teknik ile düzenli şekle sahip polimerik boncuk şeklinde yapılar elde edilmektedir ve böylece, tutarlı ve kaliteli ürün sağlanmış olmaktadır. Hepsinden önemlisi, polimerizasyon sistemindeki mükemmel ısı dağılımı ile ticarileştirmeye uygun olmasıdır [49].

Ko-stabilizatörler hekzadekan, setil alkol ya da lauril metakrilat gibi türleri ile çok düşük suda çözünürlüğe sahiptir. Sürfaktan ve ko-sürfaktan, damlaların birleşmeye karşı korunmasını sağlar, koalesans ve ostwald ripening'i önler.

Az miktarda kostabilizatör eklenmesi, moleküler difüzyonla olan emülsiyon degradasyonunu geciktirir çünkü kostabilizatörün yavaş orandaki difüzyonu, monomerin damlalar arasında dengede kalmasına izin verir [50].

Diğer geleneksel emülsiyon polimerizasyonuna karşı mini-emülsiyonun temel avantajı kısıtlı suda çözünürlük ile reaktanların sulu faz boyunca taşınımı ile ilgili problemin giderilmiş olmasıdır. Mini emülsiyon polimerizasyonunda reaksiyon süresi boyunca ideal durumlar altında, monomer damlaları boyutsal olarak küçük, homojen ve kinetik olarak stabildir [51].

Ostwald ripening 1896'da Wilhelm Ostwald tarafından öne sürülmüş bir olgudur. Katı veya sıvı çözeltilerde zamanla oluşan homojen olmayan yapıların oluşumunu açıklar. Termodinamik açıdan büyük partiküller, enerji açısından küçük partiküllerden daha karardır. İç basınç partikül çapı ile ters orantılıdır. Enerjetik olarak partikülün yüzeyindeki moleküller, partikülün iç bölgelerindeki moleküllerden daha düşük kararlılığa sahiptir. Bu nedenle küçük partiküllerin yüzeyindeki moleküller çözelti

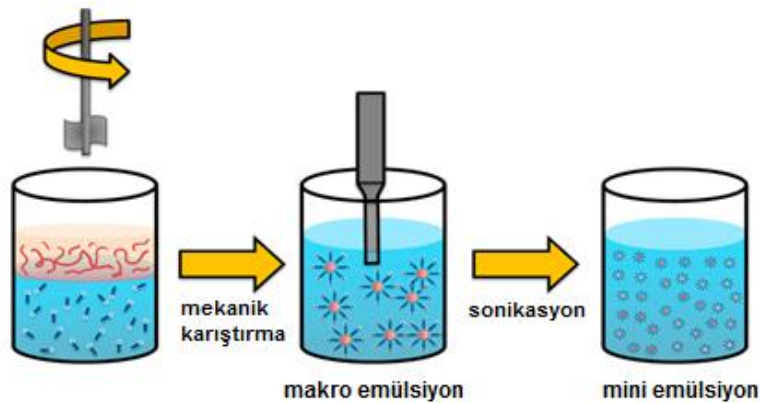
içinde hareket ederek enerjik olarak daha kararlı olan büyük partiküllerle birleşirler. Böylece küçük boyutlu partiküller azalmaya ve büyük partiküller büyümeye başlar. *Ostwald ripening* monomerlerin küçük damlalardan büyük damlalara difüzyonuna neden olur. Bu durum emülsiyonun kararsızlaşmasına yol açar.

Mini-emülsiyonda ko-stabilizatör kullanımı, monomerin küçük damladan büyük damlaya difüzyonunu inhibe ederek emülsiyondaki arıza sürecini yavaşlatır. Ko-stabilizatörün hem miktarı hemde ortalama molekül ağırlığı monomer damla boyutunu ve monomer damla boyut dağılımını etkiler [52].

Verimli bir yüksek kesme aygıtı kullanıldığı sürece, (ultrasonikatör veya homojenizatör) karışıma komponent ekleme sırasının polimerizasyon oranına herhangi bir etkisi olmadığı gösterilmiştir. Bu da çoğu mini-emülsiyon damlalarının karışıma eklenme sırasından etkilenmediğini belirtmiştir [50].

Sonikasyon boyunca monomer damlaların boyutları çok hızlı değişmektedir. Ultrasonikasyonun zamanının arttırılmasıyla ve damla boyutunun azalması ile tüm yağ/su ara fazı artar. Sabit miktarda sürfaktan ile daha büyük ara faz dağılımı olur, ayrıca yüzey gerilimi artar.

Homojenizasyonun başında damlaların polidispersitesi oldukça yüksektir ama sabit fisyon ve füzyon işlemiyle, polidispersite azalır ve damlanın fisyon ve füzyon dinamik denge oranı elde edildiğinde mini-emülsiyon denge durumuna ulaşır. Bu ayrıca mini-emülsiyonun uygulama koşulları altında minimal partikül boyutuna ulaştığını gösterirken sürfaktan en efektif şekilde kullanılır [53,54].



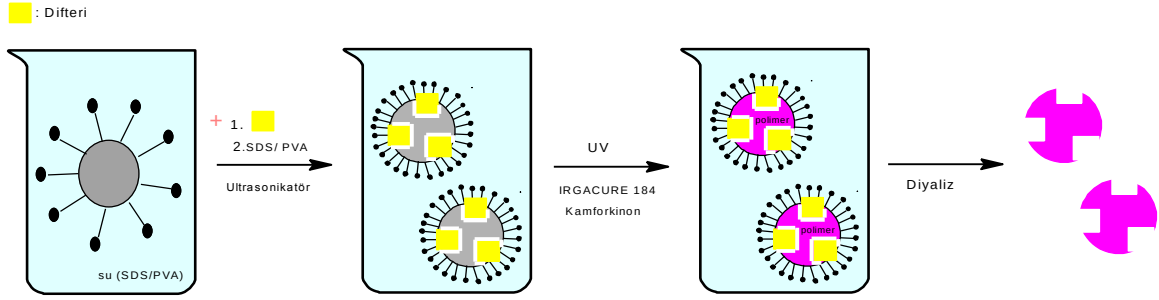
Şekil 1.6 Sonikasyon

Yüksek kesme karıştırıcıları, polimerizasyon sürecindeki polimer partiküllerinin stabilitesini yıkabilir. Bu sebeple tüm mini-emülsiyon polimerizasyon proseslerinde mini-emülsiyon ve polimerizasyon şeklinde iki aşamalı karıştırma uygulanır. Mini-emülsiyon sürecinde ilk olarak yüksek kesme karıştırıcıları, ardından malzemenin reaktöre transfer edilmesi ve polimerizasyonun magnetik karıştırıcıda ya da düşük kesme karıştırıcılarında karıştırılması yapılır. Karıştırıcı, mikronaltı monomer damlaları elde edebilecek şekilde mekanik karıştırmaya sahip olmalıdır ama partikül stabilitesini de bozmamalıdır [55].

Homojenizatörün temas eden kısmı direkt olarak ultrason dalgalarından etkilenebilir. Monomer damlaları, ayrılmaları için bu kısımdan geçirilmelidir. Sonikasyon kullanılırken bütün sıvının sonikasyon alanından geçebilmesi için ek olarak bir karıştırma yapmak gereklidir. Sonikasyonun zamanına bağlı olarak bu süreç mini-emülsiyon için karakteristiktir. Damla boyutunun sonikasyonun zamanına bağlı olarak arttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır [56].

Ultrasonikasyon ile yapılan homojenleştirme yöntemi yüksek hızlı karıştırmadan daha stabil mini-emülsiyon üretilmiştir. Damla boyutu azalmış ve mini-emülsiyonun stabilitesi, ultrasonikasyon süresinin artmasıyla artarken, belirli bir süre sürekli* ultrasonikasyondan (>3 dk) sonra stabilite azalmıştır [57].

Protein, polisakkarit ve nükleik asit gibi biyolojik makromoleküllerin moleküler baskılama yönteminde kullanılması oldukça zordur. Ayrıca biyolojik makromoleküller sıklıkla pH ve sıcaklığa karşı hassastırlar ve sert polimerizasyon koşullarında, kolayca denatüre olabilirler [58]. Çoğu polimerizasyon sistemiyle uyumsuz olan, tabiatı gereği kırılğan ve esnek bir yapıya sahip olan proteinlerin baskılanması oldukça güçtür. Çökelme, emülsiyon ile hazırlanan baskılanmış polimerlerde, sınırlı boyut aralığı ve homojen olmayan bağlanma alanlarının düşük kinetiğe sahip olduğu polimerizasyonlar oluşabilmektedir. Fakat bu problemlere mini-emülsiyon polimerizasyon prosesinde karşılaşılmamaktadır. Ek olarak tek adımda geniş skalada moleküler baskılanmış nanopartiküllerin üretiminde mükemmel ısı dağılımı kabiliyetine sahiptir [59].



Şekil 1.7 Mini-emülsiyon yöntemi ile MIP sentezi

1.6 Yüzey Baskılama

Küçük moleküllerin baskılanmasına kıyasla, şablon olarak protein moleküllerinin seçimi, proteinlerin boyutu, konformasyonel esneklikleri ve sınırlı çözünürlükleri sebebiyle önemli ölçüde meydan okumaktadır. Yüzey baskılama yönteminde partiküller hacimce yüksek yüzey alanı ve yüksek bağlanma kapasitesine sahip oldukları için protein gibi büyük moleküllerin seçici bağlanma bölgelerine erişimine olanak sağlar. Ayrıca şablonun kolay uzaklaştırılmasına ve hızlı tekrar bağlanmasına olanak tanır [60].

Yüzey baskılamada polimerlerin, ince film, nanopartikül, mikroküre, nanotel türlerinde hazırlanarak baskılamada kullanıldığı rapor edilmiştir. Hidrojel ve elektrod gibi materyallere de baskılanmanın yapıldığı alternatif yöntemler bulunmaktadır. Yüzey-baskılama partikülleri oluşturmak için birden fazla yöntem bulunmaktadır. Silika partikül ya da polimer partiküller üzerinde şablon varlığında ters faz süspansiyon polimerizasyonu ile elde edilebilir. Böylece baskılanmış partiküllerin boyut aralığı mikrometre büyüklüğünde elde edilir. Partiküllerin boyutlarının küçültülmesi, yüzey alanına total erişim ve böylelikle daha çok bağlanma bölgesine erişim, özellikle proteinler için oldukça ilgi çekmiştir. Mikron altı boyutta malzeme sentezine ilgi arttıkça, çökelti, yığın emülsiyon, makroemülsiyon ve mini-emülsiyon polimerizasyonu gibi stratejilere yönelinmiştir. Çökelti polimerizasyonuna örnek olarak ile 26 amino asit ve bağlanma monomeri olarak tripsin kullanılmasıyla melittin baskılanmıştır [61]. Pickering emülsiyon polimerizasyonu kullanılarak hemoglobin baskılı hidrojel elde edilmiştir [62]. Kiral amino asit türevlerini baskılamak için mini-emülsiyon yöntemi kullanılmıştır [63]. Protein baskılama için ribonükleaz A (RNaz A) proteini, şablon

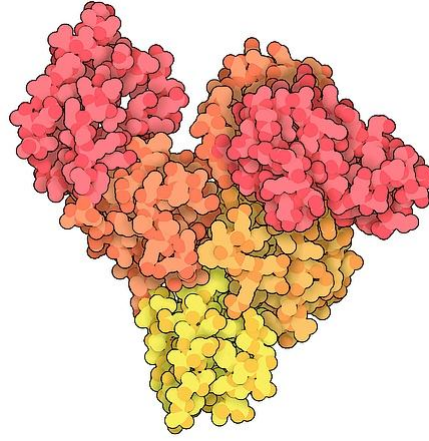
olarak kullanılarak ilk kez Tan ve çalışma arkadaşları tarafından mini-emülsiyon yöntemiyle başarıyla sentezlemiştir.

Ayrıca seçicilik yönünden RNaz A ile bovine serum albumin karşılaştırmalı ve tekrar bağlanma deneyleri yapılmıştır [64]. Pluhar ve çalışma arkadaşları, mini-emülsiyon yöntemiyle dört farklı fonksiyonel monomerin pepsine olan baskılama etkisi çalışılmıştır [65].

1.7 Sığır Serum Albumin

Sığır serum albumin (BSA) hücre ve mikrobiyal kültür besini olarak kullanılır. Deoksiribo nükleik asit (DNA) sindirimi sırasında bazı enzimleri stabilize etmek için kullanılır. Enzimin reaksiyon tüp, pipet uçları ya da diğer kaplara yapışmasını önler. Bu protein diğer enzimleri etkilemez, bu nedenle başka bir malzeme tarafından stabilize edilmesine gerek yoktur. Genel olarak miktarı bilinmeyen protein ile miktarı bilinen BSA karşılaştırılarak, diğer proteinlerin miktarını belirlemek için kullanılır. Maliyeti ucuzdur, birçok biyokimyasal reaksiyonu etkilemez ve sığır kanından kolayca saflaştırılabilir.

Sahip olduğu negatif yükten dolayı, suya, tuza, yağ asitlerine, vitamine ve hormona bağlanabilir. Ve bunlar gibi sınırlı bileşenleri ve küçük molekülleri doku ve hücreler arasında taşıyabilmektedir. Kanın osmotik homeostazını (hücresinin kendi metabolizmasını koruma eğilimi) korumak için oldukça önemlidir. Ortamdan zehirli malzemelerin uzaklaştırılmasında çöpçü görevi görebilir. 50 °C ve üzerine ısıtıldığı zaman, soğutularak monomerlere dönüşmeksizin, hızlıca hidrofobik topaklanmalar oluşturur. Aynı durum, daha yavaş olmakla birlikte, düşük sıcaklıklar içinde geçerlidir [66].



Şekil 1.8 Sığır serum albumin yapı

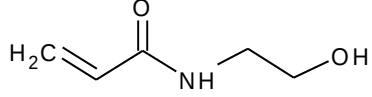
BSA, fraksiyon V olarak bilinen sığırdan üretilen serum albumindir. Genellikle laboratuvar deneylerinde, protein standart konsantrasyon çözeltisi olarak kullanılmaktadır. İnsan serum albumine % 76'lık bir benzerlik gösterir. 607 amino asitten oluşmakta iken, peptit dizilerinin proteinden çıkarılmasıyla en son haliyle bünyesinde 589 amino asit barındırır [67].

Düşük içerikte triptofan metiyonin, yüksek içerikte sistein ve aspartik asit, glutamik asit lizin ve arjinin gibi yüklü amino asitler barındırmaktadır [68].

2 MATERYAL ve YÖNTEM

2.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

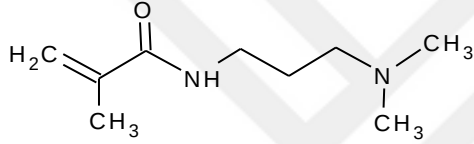
N-hidroksietil akrilamit



Molekül ağırlığı: 115.13 g/mol, d: 1.111 g/mL

Sigma Aldrich'ten temin edildi. Herhangi bir işlem uygulanmadan kullanılmıştır.

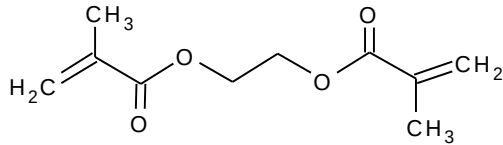
N-3-dimetilaminopropil metakrilamit



Molekül ağırlığı: 170.26 g/mol d: 0.94 g/mL

Sigma Aldrich'ten temin edildi. Herhangi bir işlem uygulanmadan kullanılmıştır.

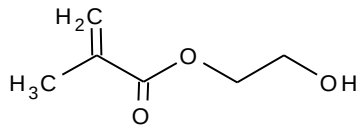
Etilen glikol dimetakrilat



Molekül ağırlığı: 198.22 g/mol Sigma Aldrich'ten temin edildi.

Herhangi bir işlem uygulanmadan kullanılmıştır.

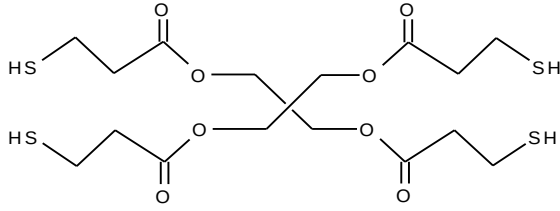
2-hidroksietil metakrilat (HEMA)



Molekül ağırlığı: 130.14 g/mol

Sigma Aldrich'ten temin edildi. Herhangi bir işlem uygulanmadan kullanılmıştır.

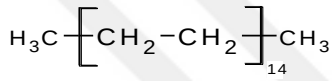
Pentaeritritoltetrakis(3-merkaptopropionat)



Molekül ağırlığı: 488.66 g/mol d: 1.28 g/mL

Sigma Aldrich'ten temin edildi. Herhangi bir işlem uygulanmadan kullanılmıştır.

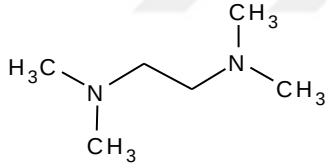
n-hekzadekan



Molekül ağırlığı: 226.44 g/mol

Sigma Aldrich'ten temin edildi. Herhangi bir işlem uygulanmadan kullanılmıştır.

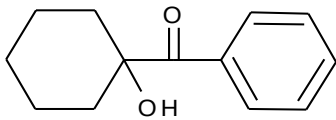
TEMED (Tetrametiletildiamin)



Molekül ağırlığı: 116.2 g/mol d: 0.7765 g/mL

Sigma Aldrich'ten temin edildi. Herhangi bir işlem uygulanmadan kullanılmıştır.

Irgacure® 184 (1-Hidroksi sikloheksil fenil keton):



Molekül ağırlığı: 204 g/mol, Erime noktası: 45–49 °C

Ciba Speciality Chemicals firmasından temin edildi. Herhangi bir işlem yapılmadan kullanılmıştır.

2.2 Kullanılan Cihazlar

Termal Gravimetrik Analiz Cihazı

Farklı monomerler ile sentezlenen kopolimerin termal kararlılığını ölçmek için Perkin Elmer STA 6000 markalı TGA cihazı kullanılmıştır.

Diferansiyel Taramalı Kalorimetre

Farklı monomerler kullanılarak sentezlenen kopolimerin Tg değerini ölçmek için Perkin Elmer Diamond DSC kullanılmıştır.

UV Reaktör

Fotopolimerizasyonu gerçekleştirmek için Luzchem Research inc. ICH-2 249 model foto reaktör kullanılmıştır.

FTIR spektrofotometre

Sentezlenen polimerin fonksiyonel gruplarının karakterizasyonu için Perkin Elmer Spektrum 100 kullanılmıştır.

UV Spektrofotometre

Madde miktarı tayinininde absorbands ölçümleri için UV-2450 UV-Vis spektrofotometre kullanılmıştır.

2.3 Deneysel Yöntem

2.3.1 Fonksiyonel Monomer Sentezi

L-fenilalanin, fonksiyonel monomer olarak tiyol-en reaksiyonunda kullanılmak üzere allil grubu ile fonksiyonalize edildi [69]. Bu amaçla oda sıcaklığında, 7.92 g sodyum hidroksit (NaOH), 250 mL'lik beher içerisine alınan 90 mL dimetil sülfoksit (DMSO)'e azar azar ilave edildi. Homojen çözelti elde edilene kadar manyetik karıştırıcı ile 1400 rpm'de karıştırıldı ve ardından ultrasonik banyoda 30 dk. süren periyotlarla bekletildi. Son olarak buz banyosunda ultrasonikatör ile 10 saniyelik karıştırma ile tam homojenlik sağlandı. 4.95 g fenilalanin, homojen olarak elde edilen DMSO'lu NaOH çözeltisi içerisine, parça parça eklenerek krem rengi madde elde edilene kadar ilave edildi.

Homojenliği sağlamak için ultrasonik banyo, manyetik karıştırıcı ve ultrasonikatrn kullanıldığı zorlu proses uygulandı. Bu basamaktaki homojenliği elde etme süresi ilk sürece göre nispeten daha kısa sürmektedir.

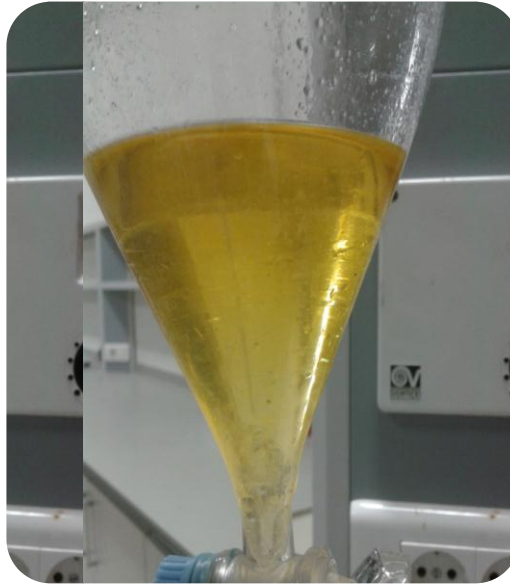
Karışım hazırlandıktan sonra 100 mL'lik balonun ağzına 50 mL'lik damlatma hunisi takılarak reaksiyon düzeneği kuruldu. Sonrasında flaşlama ile ortam kurutuldu. Reaksiyon sırasında ısıl dengeyi sağlayabilmek için su banyosu kullanıldı.

Flaşlanan reaksiyon düzeneği soğumaya bırakıldığı sırada, 11.97 g allil bromür tartıldı. Düzenek soğuduktan sonra, damlatma hunisinin içine konuldu. Alüminyum folyo ile düzenek sarıldı. Karışım 700 rpm'de manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. 30 dk içinde allil bromür, damlatma hunisinden balona eklendi ve 24 saat süreyle oda sıcaklığında karışmaya bırakıldı.

Bu süre sonunda turuncu bulamaç bir katı ve koyu turuncu sıvı fazdan oluşan karışım elde edildi. ken tuzlar süzülerek ayrıldı. Koyu turuncu sıvı szntyle devam edildi.

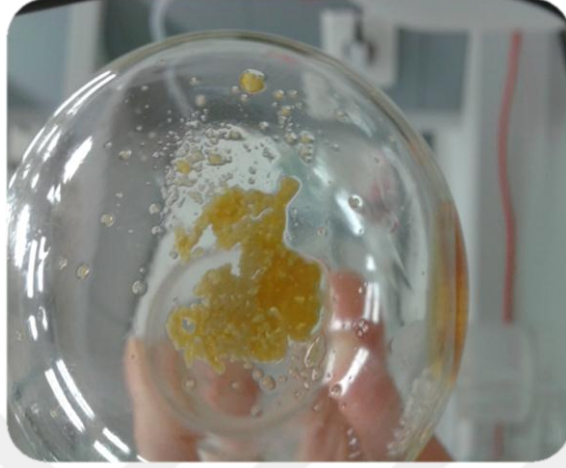
Süzüntünün başlangıç pH'ı 12 ölçüldü. Damla damla % 10'luk hidroklorik asit (HCl) ilave edilerek pH yaklaşık 7'ye ayarlandı.

Nötral hale getirildikten sonra organik faz, etil asetata alındı. Ayırma hunisinde 5 kez su ile yıkandı.



şekil 2.1 Organik fazın etil asetata alınması

Etil asetat içindeki malzemeye kurutucu ajan susuz magnezyum sülfat (MgSO_4) eklenerek, içinde kalan sudan kurtulması sağlandı. Döner buharlaştırıcı ile etil asetat uzaklaştırıldı.



Şekil 2.2 Etil asetatın uçurulması

Elde edilen sarı katının içindeki eser miktardaki solvent ve suyun uçurulması için liyofilizatörde 4 saat bekletildi. Reaksiyon sonunda % 22 verimli 1.08 g fonksiyonel monomer sentezlendi.



Şekil 2.3 Fonksiyonel monomer

2.3.2 Mini-emülsiyon ve Moleküler Baskılanmış Polimer Partiküllerin Sentez Teknikleri

Kararlı ve nano boyutta partiküller elde etmek için çeşitli formülasyon ve yöntemler denendi. Tablo 2.2, Tablo 2.3, Tablo 2.4, Tablo 2.5, Tablo 2.6, Tablo 2.7, Tablo 2.8,

Tablo 2.9’da mini-emülsiyonda kullanılan tüm formülasyon kompozisyonları belirtilmiştir.

Tablo 2.1 Mini-emülsiyon formülasyon 1 (F1)

Monomer	Miktar (g)
Akrilamit	0.9
N-3-dimetilamino propilmetakrilamit	0.2
Hidroksietil metakrilat	0.8
Fümarik asit	0.06
Etilen glikol dimetakrilat	0,04

Tablo 2.2 Mini-emülsiyon formülasyonu 2 (F2)

Monomer	Miktar (g)
N-hidroksietil akrilamit	0.9
N-3-dimetilamino propilmetakrilamit	0.2
Hidroksietil metakrilat	0.8
Fümarik asit	0.06
N,N-metilenbisakrilamit	0,04
N-vinilpirolidon	0.5

Tablo 2.3 Mini-emülsiyon formülasyonu 3 (F3)

Monomer	Miktar (g)
N-hidroksietil akrilamit	0.9
N-3-dimetilamino propilmetakrilamit	0.2
Hidroksietil metakrilat	0.8
Fümarik asit	0.06
Etilen glikol dimetakrilat	0,04

Tablo 2.4 Mini-emülsiyon formülasyonu 4 (F4)

Monomer	Miktar (g)
N-hidroksietil akrilamit	0.45
N-3-dimetilamino propilmetakrilamit	0.1
Hidroksietil metakrilat	0.4
Fümarik asit	0.03
Etilen glikol dimetakrilat	0.02

Tablo 2.5 Mini-emülsiyon formülasyonu 5 (F5)

Monomer	Miktar (g)
N-hidroksietil akrilamit	0.45
N-3-dimetilamino propilmetakrilamit	0.1
Hidroksietil metakrilat	0.4
N,N,O-triallyl-L-fenilalanin	0.03
Etilen glikol dimetakrilat	0.02

Tablo 2.6 Mini-emülsiyon Formülasyonu 6 (F6)

Monomer	Miktar (g)
N-hidroksietil akrilamit	0.45
N-3-dimetilamino propilmetakrilamit	0.1
Hidroksietil metakrilat	0.4
N,N,O-triallyl-L-fenilalanin	0.03
Etilen glikol dimetakrilat	0.02
Pentaeritritol tetrakis(3-merkaptopropionat)	0.03

Tablo 2.7 Mini-emülsiyon formülasyonu 7 (F7)

Monomer	Miktar (g)
N-hidroksietil akrilamit	0.45
N-3-dimetilamino propilmetakrilamit	0.1
Hidroksietil metakrilat	0.4
N,N,O-triallyl-L-fenilalanin	0.03
Etilen glikol dimetakrilat	0.02
Pentaeritritol tetrakis(3-	0.03

Tablo 2.8 A1 formülasyonu (F8) [70]

Monomer	Miktar (g)
N-hidroksietil akrilamit	0.8
Hidroksietil metakrilat	0.9
N,N,O-triallyl-L-fenilalanin	0.06
Etilen glikol dimetakrilat	0.04
Hekzadekan	0.03
Bütil asetat	1

Tablo 2.9 Tiyol-en polimerizasyonuna alternatif bir formülasyon denenmiştir.

Tablo 2.9 ve Tablo 2.10’de, yapılan reaksiyonlara kod verilerek, hangi formüllerin kullanıldığı belirtilmiştir. Polimerizasyon türü, sürfaktan ve ko-sürfankan miktarı ve karıştırılma hızı verilerek reaksiyonlar özetlenmiştir.

Tablo 2.1 Tüm emülsiyon formülasyonlarının hazırlanış koşulları 1

Emülsiyon	Formül No	Başlatıcı	SDS miktarı (g)		NaHCO ₃ miktarı (g)	Karıştırma Hızı (rpm)	Hekzadekan
			1.faz	2.faz			
E1	F1	Termal	0.01	0.05	0.0125	200	-
E2	F2	Termal	0.01	0.05	0.02	250	-
E3	F3	Termal	0.015	0.05	0.0125	500	-
E4	F3	Termal	0.015	0.05	0.014	300	-
E5	F3	Termal	0.015	0.05	0.0125	500	-
E6	F3	Termal	0.015	0.05	0.125	500	-
E7	F3	Termal	0.015	0.05	0.0129	250	-
E8	F3	Termal	0.015	0.05	0.0124	250	-
E9	F3	Termal	0.03	0.1	0.02	500	-
E10	F3	Termal	0.03	0.1	0.0125	500	-
E11	F3	Termal	0.045	0.15	0.0127	500	-
E12	F3	Termal	0.03	0.01	0.013	500	-
E13	F3	Termal	0.03	0.1	0.0125	500	-
E14	F4	Termal	0.03	0.1	0.015	500	-
E15	F4	Termal	0.03	0.1	0.016	700	-
E16	F4	Termal	0.03	0.1	0.015	500	-
E17	F4	Termal	0.03	0.1	0.015	500	-

Tablo 2.20 Tüm emülsiyon formülasyonlarının hazırlanış koşulları 2

Emülsiyon	Formül No	Başlatıcı	SDSmiktarı (g)		NaHCO ₃ miktarı	Karıştırma Hızı	Hekzadekan
			1.faz	2.faz			
E18	F4	Termal	0.03	0.1	0.015	500	-
E19	F5	Termal	0.03	0.1	0.015	500	-
E20	F6	UV	0.03	0.1	0.015	500	-
E21	F6	UV	0.03	0.1	0.015	500	-
E22	F6	UV	0.03	0.1	0.015	500	-
E23	F6	UV	0.03	0.1	0.015	500	-
E24	F6	UV	0.03	0.1	0.015	500	-
E25	F6	UV	0.03	0.1	0.015	500	-
E26	F7	UV	0.03	0.1	0.015	500	0.05
E27	F7	UV	0.03	0.1	0.015	500	0.03
E28	F7	UV	0.03	0.1	0.015	500	-
E29	F7	UV	0.03	0.1	0.015	500	0.03
E30	F7	UV	0.03	0.1	0.015	500	0.03
A1	F8	UV	0.5		-	750	0.03
A2	F8	UV	1.5		-	750	0.05
A3	F8	UV	0.8		-	1000	0.08
A4	F8	UV	0.8		-	1000	0.08

2.3.2.1 Termal Polimerizasyon

Mini-emülsiyon hazırlamak için alüminyum folyo ile sarılmış 25 mL'lik beher içerisine 0.4 g HEMA, 0.45 g N-hidroksietil akrilamit, 0.1 g N-3-dimetilamino propilmetakrilamit ve 0.03 g fonksiyonel monomer eklendi. Manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak, ultrasonik banyoda 20 dk. bekletilerek homojen hâle gelmesi sağlandı. Homojenlik sağlandıktan sonra çapraz bağlayıcı, EDGMA eklendi. Eş zamanlı olarak mini-emülsiyon 1. faz oluşturulmak üzere 0.03 g SDS 0.015 g sodyum bikarbonat (NaHCO_3) ve 0.5g PVA 5mL saf su içine eklendi. 2. fazı oluşturmak için 0.1 g SDS 100 ml saf suya eklendi. Bu sırada reaksiyon düzeneği kuruldu. Flaşlama yapıldı. Azot gazı geçirildi. Sıcaklık 40°C'ye ayarlandı. 2. faz reaktörün içerisine eklendi. Monomerlerden oluşan monomer fazı 1. faza 1400 rpm'de tek kullanımlık 1ml'lik şırınga ile damla damla eklendi. Sonrasında reaktörün içindeki 2. faza yine tek kullanımlık 1ml'lik şırınga ile eklendi. Mekanik karıştırıcının hızı 500 rpm'e ayarlandı. 30 µL tetrametiletilediamin (TEMED) hızlandırıcı ve 0.6 g amonyum persülfat başlatıcı olarak reaktörün içine eklendi. Reaksiyon 24 saat süre ile azot ortamında karıştırılmaya bırakıldı [71].

Tablo 2.2 Termal başlatıcılı mini-emülsiyon formülasyonu



Şekil 2.4 Mini-emülsiyon reaksiyon düzeneği

2.3.2.2 UV-kürlenlen Tiyol-en Reaksiyonu 1

Alüminyum folyoya sarılmış 25 mL'lik bir beher içerisine 0.45 g N-hidroksietil akrilamit, 0.1 g N-3-dimetilamino propilmetakrilamit, 0.40 g HEMA ve 0.03 g

sentezlenen fonksiyonel monomer ve 0.03 g hekzadekan eklenerek manyetik karıştırıcıda 1000 rpm hızda karıştırıldı. Yardımcı olarak ultrasonik banyo kullanıldı. Monomerler çözüldükten sonra 0.02 g çapraz bağlayıcı (EDGMA) eklendi. Sonrasında 0.1 g pentaeritritol tetrakis(3-merkaptopropionat) eklenerek monomerlerin tamamı eklendi.

Eş zamanlı olarak 1. fazı oluşturmak için 25mL'lik bir behere 5mL saf su içerisine 0.03 g SDS, 0.015 g NaHCO₃ ve 0.1 g PVA eklendi. 2. fazı oluşturmak için içinde 100 mL saf su bulunan 250 mL'lik behere 0.1 g SDS ve 0.05 g PVA eklendi.

Homojen olarak karışan monomer karışımı, manyetik karıştırıcıda 1400 rpm'de karıştırılan 1. fazın içerisine, 1 mL'lik tek kullanımlık şırınga yardımıyla damla damla, dozajlandı. Böylece o/w emülsiyonu hazırlandı. BSA, baskılanma yapmak için o/w emülsiyonuna eklendi. Fonksiyonel monomer-şablon etkileşiminin sağlanması için 30dk. manyetik karıştırıcı üzerinde karışmaya bırakıldı. İçerisine 0.015 g IRGACURE 184 ve 0.015 g kamforkinon başlatıcı olarak eklendi, o/w emülsiyonu manyetik karıştırıcıda 700rpm hızla karıştırılan 2. fazın içine, 1 ml'lik tek kullanımlık şırınga ile damla damla dozajlanarak su/yağ/su (w/o/w) emülsiyonu hazırlandı.

Polimerizasyon 30 dk. süreyle kendi karıştırma sistemine sahip UV fotoreaktör içerisinde karıştırılarak gerçekleştirildi. Reaksiyon sonunda şeffaf-hafif bulanık nanopartikül dispersiyonu elde edildi.

Moleküler *baskılanmamış* polimer elde etmek için ise şablonun eklendiği kısım hariç tutularak aynı işlemler tekrar edilerek sentezlendi.

Oluşan baskılanmış nanopartiküllerden, şablonu temizlemek için 2 kere % 10'luk asetik asit çözeltisi ile 1 kere alkol ile ve sonra 2 kere saf suya karşı olmak üzere 2'şer saat diyaliz yapıldı.

2.3.2.3 UV-kürlenmiş Tiyol-en Reaksiyonu 2

Nanopartikül elde etmek için tiyol-en reaksiyonuna alternatif yöntem denenmiştir. 25mL'lik bir beher içerisine 0.45 g HEMA, 0.8 g N-hidroksietil akrilamit, 0.03 g fonksiyonel monomer, 0.02 g çapraz bağlayıcı, 0.03 g hekzadekan ve 1 g bütül asetat karıştırılır ve çözüldü. Oluşturulan monomer fazına 0.015 g kamforkinon 0.015 g IRGACURE 184 eklenir ve 100 mL saf su içerisinde 0.5 g SDS bulunan 250 ml'lik bir

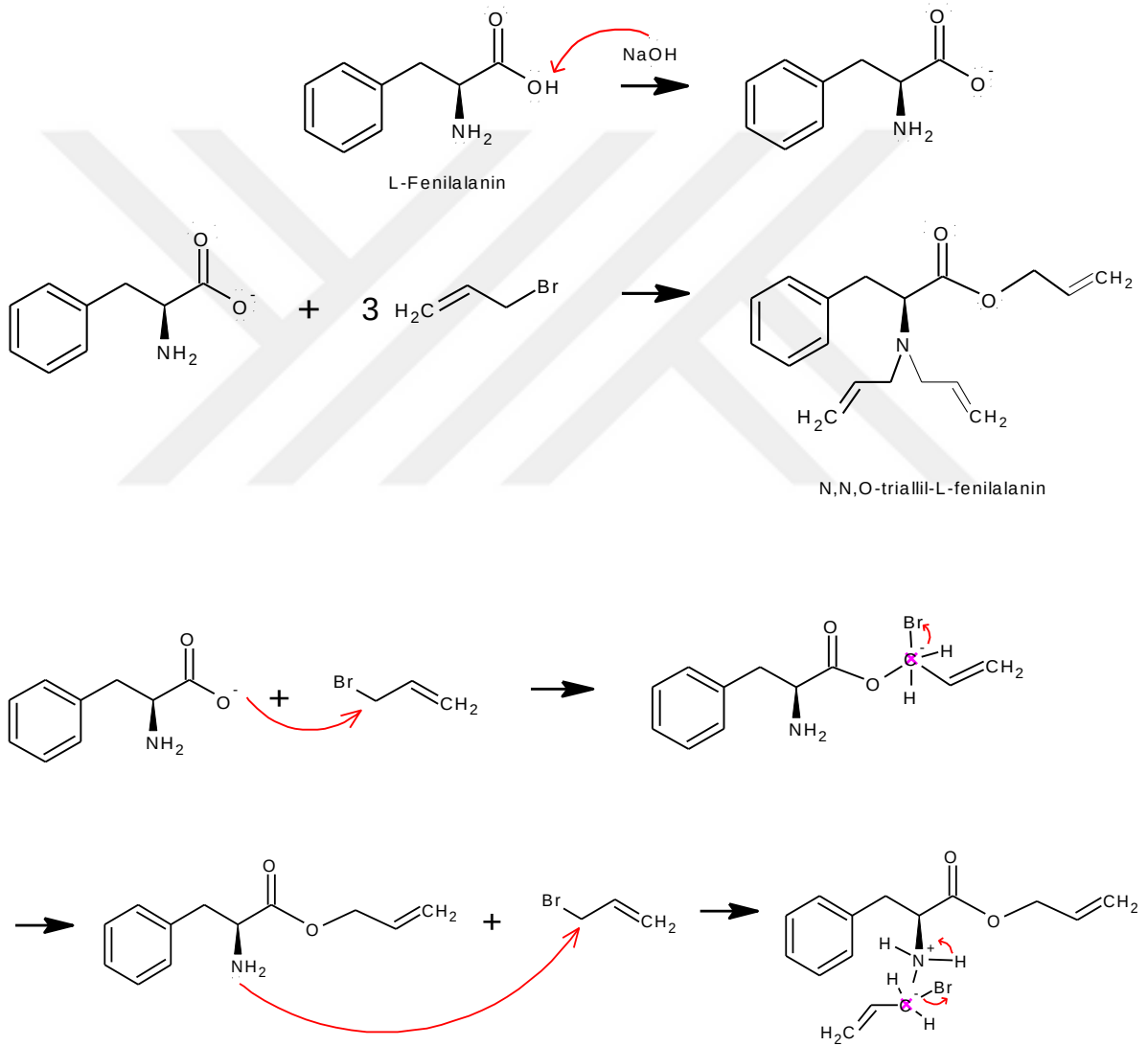
behere damla damla ilave edilerek o/w emülsiyonu hazırlandı. Sonrasında fotoreaktöre koyularak 10 dk. süreyle UV ışığına maruz bırakıldı [70].

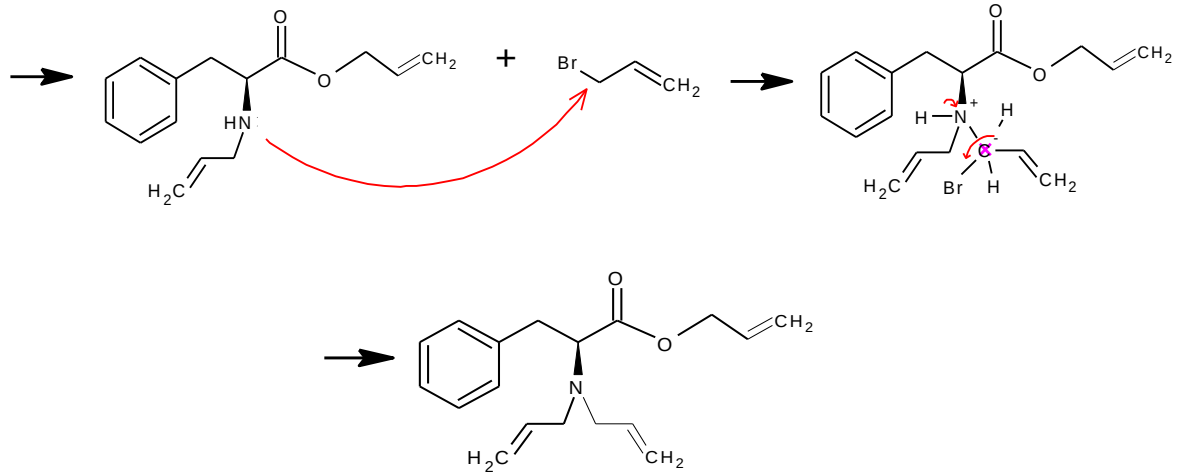


3 BULGULAR ve TARTIŞMA

3.1 Fonksiyonel Monomer Karakterizasyonu

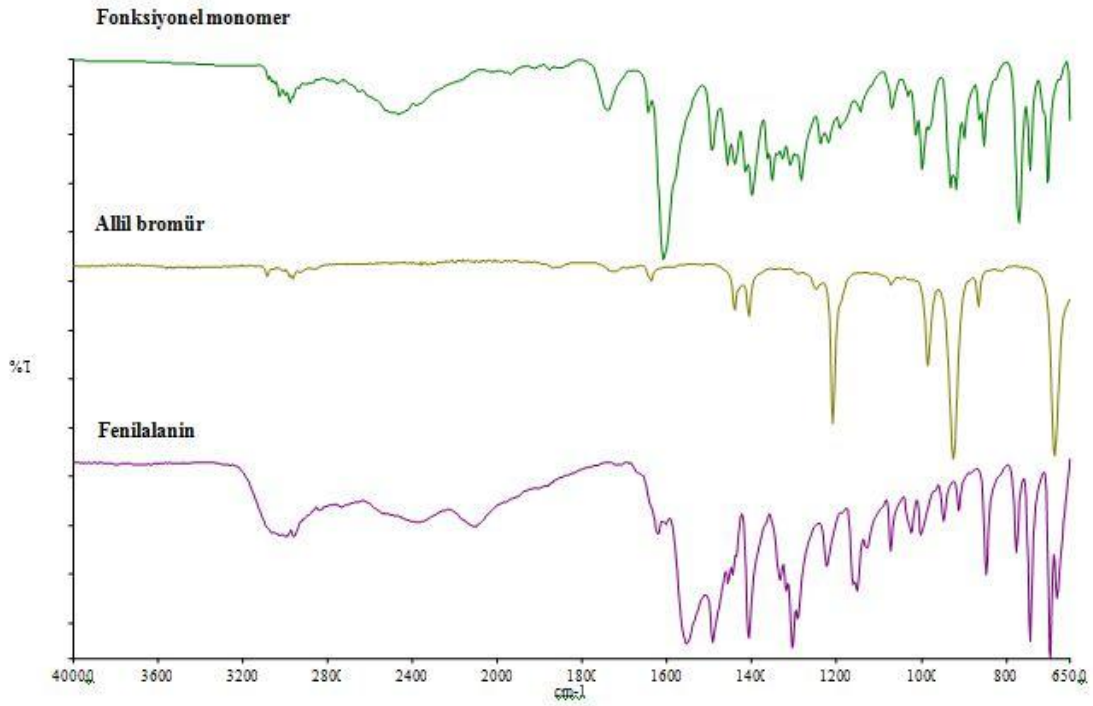
Nötr fenilalanin yeterince polar olmadığı için su içinde çözünmez. Benzer olarak suya yakın polariteye sahip DMSO içinde de çözünmeyecektir. Bunun için bazik bir çözelti yardımıyla fenilalanin, asidik protonundan kurtulur ve anyon hâline geçerek çözünme gerçekleştirilir. (Şekil 3.1)



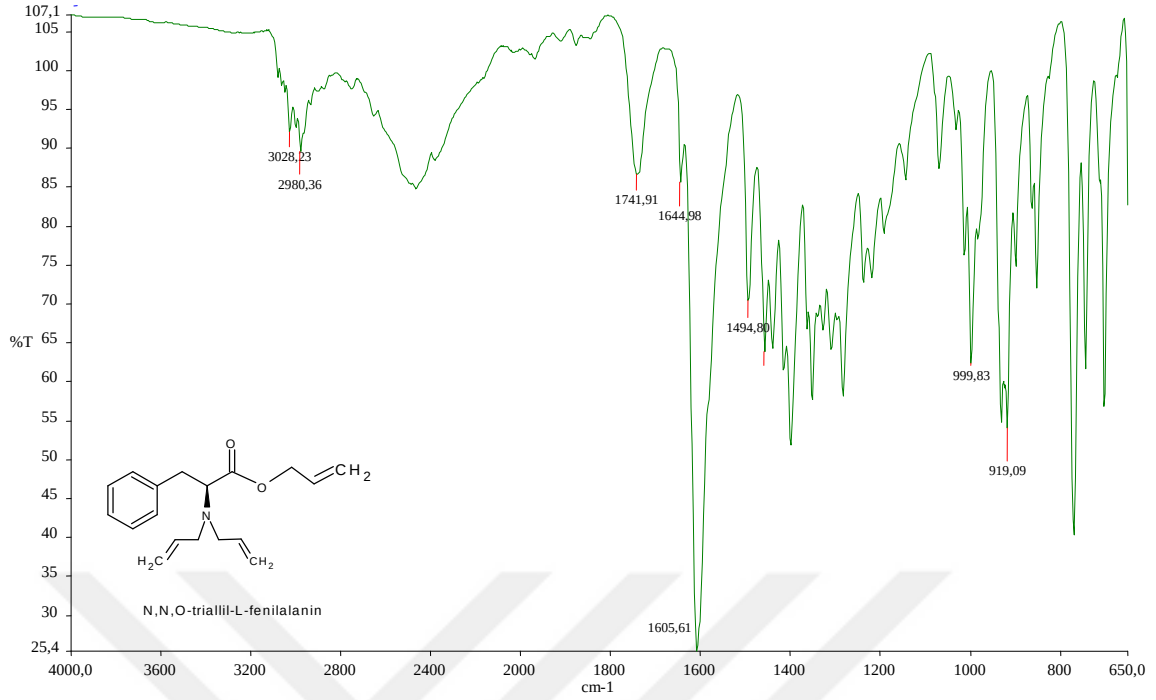


Şekil 3.1 Fonksiyonel monomer için reaksiyon mekanizma şeması

Sonrasında eklenen alilil bromür, fenilalaninin O^- ve NH_2 kısımları ile reaksiyona girerek amino asite alilil gruplarının bağlanmasını sağlar. (Şekil 3.2)



Şekil 3.2 Sentezlenen fonksiyonel monomer, alilil bromür ve fenilalaninin karşılaştırılmış IR spektrumu

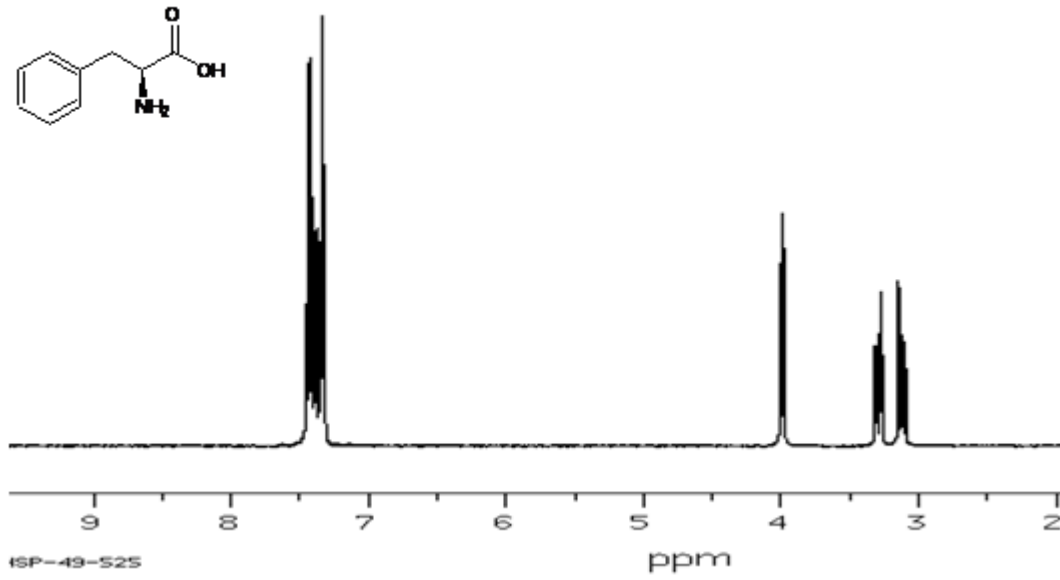


Şekil 3.3 N,N,O-triallil-L-fenilalanine (d) ait FT- IR spektrumu

Fonksiyonel monomerin FT-IR spektrumu incelendiğinde aromatik C-H gerilme titreşimleri $3028-3080\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenmekte, aromatik C=C gerilme titreşimlerinden biri 1494 cm^{-1} , bir diğeri 1457 cm^{-1} 'de bulunmaktadır.

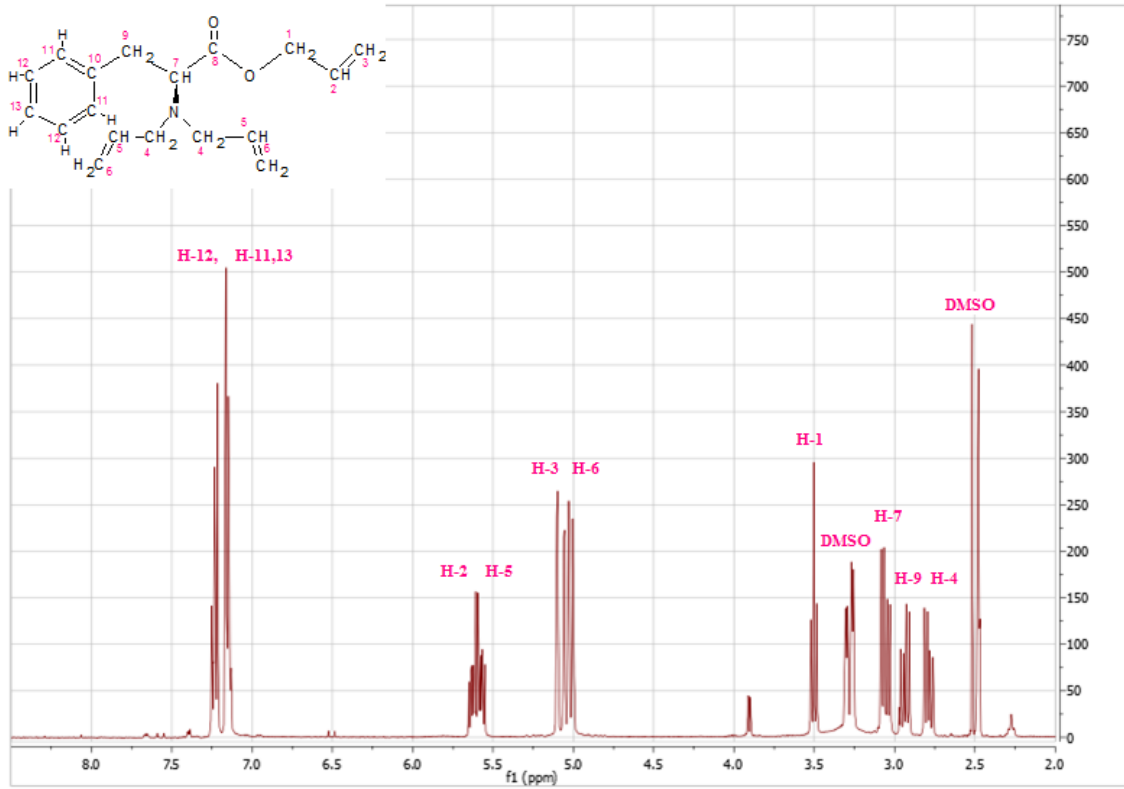
Alifatik C-H gerilme titreşimleri $2980-2920\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenmektedir. Fenilalaninin hidroksil kısmından allil grubunun C=O bağlanmasıyla oluşan esterin oluştuğunu kanıtlayan *ester bandı gerilme titreşimi* 1741 cm^{-1} görülmektedir.

Allil C=C gerilme titreşimi, 1644 cm^{-1} , 999 cm^{-1} , 919 cm^{-1} 'de gözlemlenerek allil gruplarının fenilalanine bağlandığı anlaşılmaktadır. Parmak izi bölgesinde C-O titreşimi 1065 cm^{-1} bulunmaktadır. $1000-1280\text{ cm}^{-1}$ frekansları arasında ester C-O titreşim bantları bulunmaktadır. Çifte bağ C-H eğilmesi $1000-700\text{ cm}^{-1}$ arasında gözlemlenmektedir. (Şekil 3.4)



Şekil 3.4 Fenilalanin ¹H NMR spektrumu

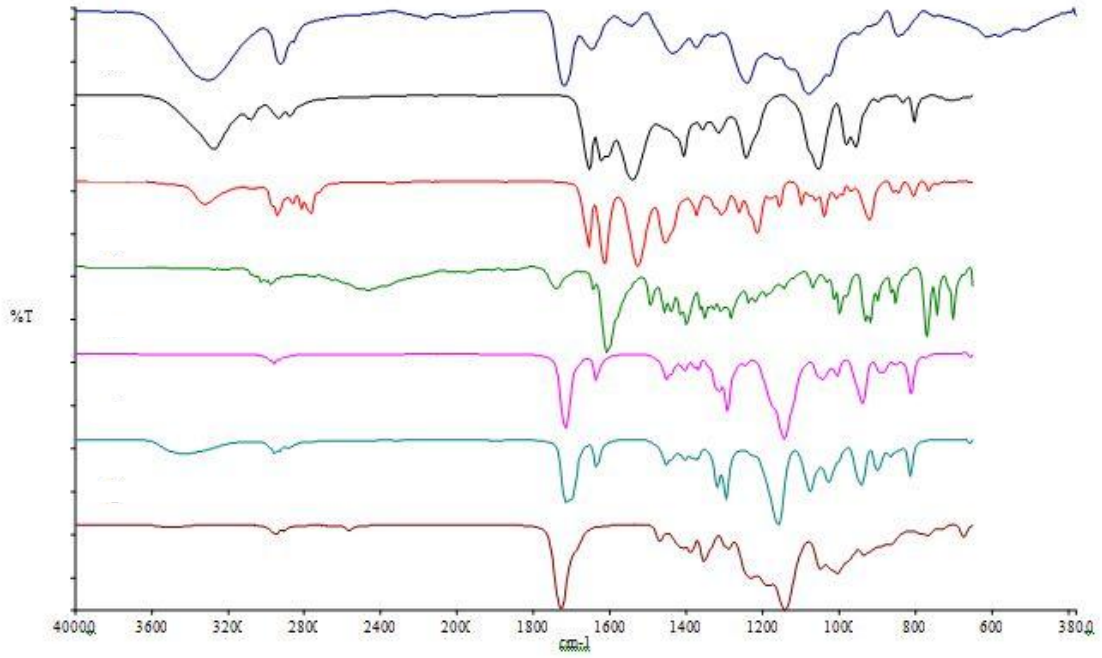
Fonksiyonel monomer ¹H NMR ile karakterize edildi. Şekil 3.4'te başlangıç maddesi olan fenilalaninin NMR spektrumu görülmektedir. Fenilalaninin karakteristik piklerine bakıldığında 7.3-7.4 ppm arasındaki pik yoğunluğu benzenin protonlarını göstermektedir. 3.9 ppm civarındaki triplet veren pik, -CHNH₂'deki protona aittir. 3.1-3.2 ppm arasındaki pikler -CH₂'ye ait protonları göstermektedir [72].



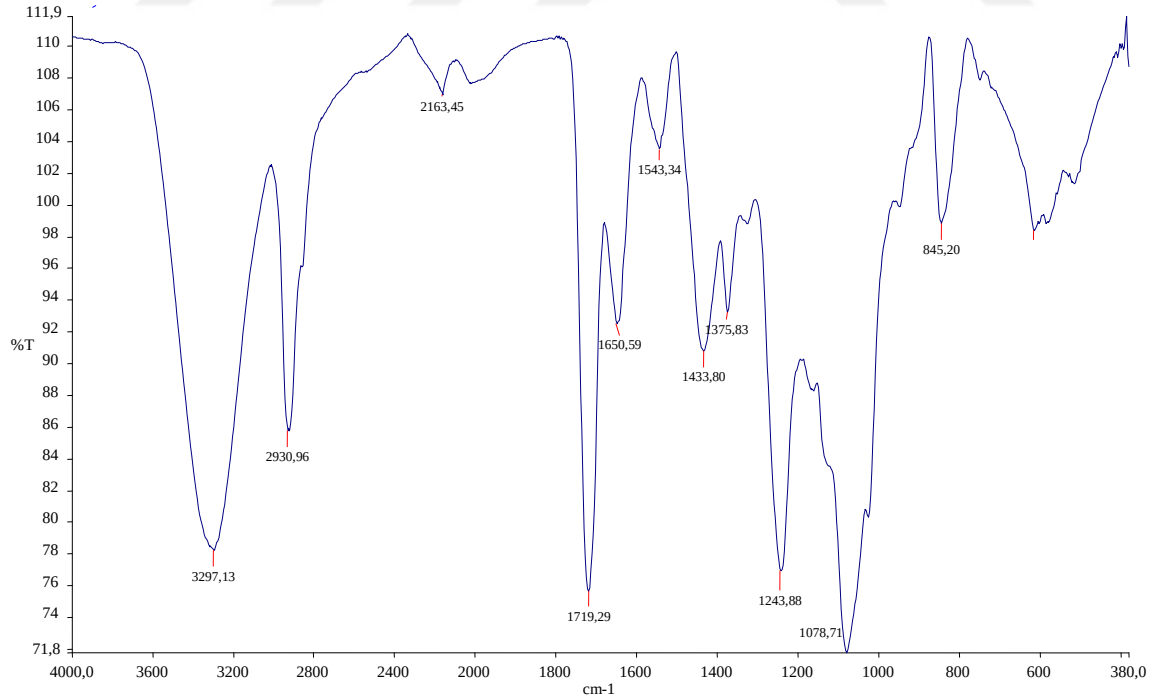
Şekil 3.5 Fonksiyonel monomer ^1H NMR spektrumu

Şekil 3.5'te N,N,O-triallil-L-fenilalanin fonksiyonel monomerine ait ^1H NMR spektrumu görülmektedir. 2.9 ppm civarındaki 2 tane kimyasal kayma $-\text{CH}_2$ 'ye (H-9) ve H-4'e aittir. 3.1 ppm'deki triplet yarılması azota bağlı $-\text{CH}$ 'a (H-7) aittir. 3.5 ppm'de görülen kimyasal kayma oksijene bağlı $-\text{O}-\text{CH}_2$ 'ye (H-1) aittir. 5.5-6 ppm ve 3-3.5 ppm'de yaygın birer bant görülmemesinden $-\text{NH}$ ve $-\text{OH}$ kısımlarından bağlanmanın olduğu anlaşılabılır. Bunu destekler nitelikte 5.1 ppm'deki ddt yarılması H-3ve H-6'ya aittir. 5.65 ppm'deki ddt yarılması H-2 ve H-5'e aittir. Dolayısıyla $\text{C}=\text{C}$ bölgesine çıkan piklerden, istenilen allil gruplarının bağlanmış olduğu anlaşılır. Fenilalaninin benzen halkasına ait kaymalar 7.0-7.4 ppm'de görülmektedir.

3.2 E29 Kodlu Mini-emülsiyonun ve Monomerlerin FT-IR ile Yapısal Karakterizasyonu



Şekil 3.6 E29 Mini-emülsiyon FT-IR karşılaştırma

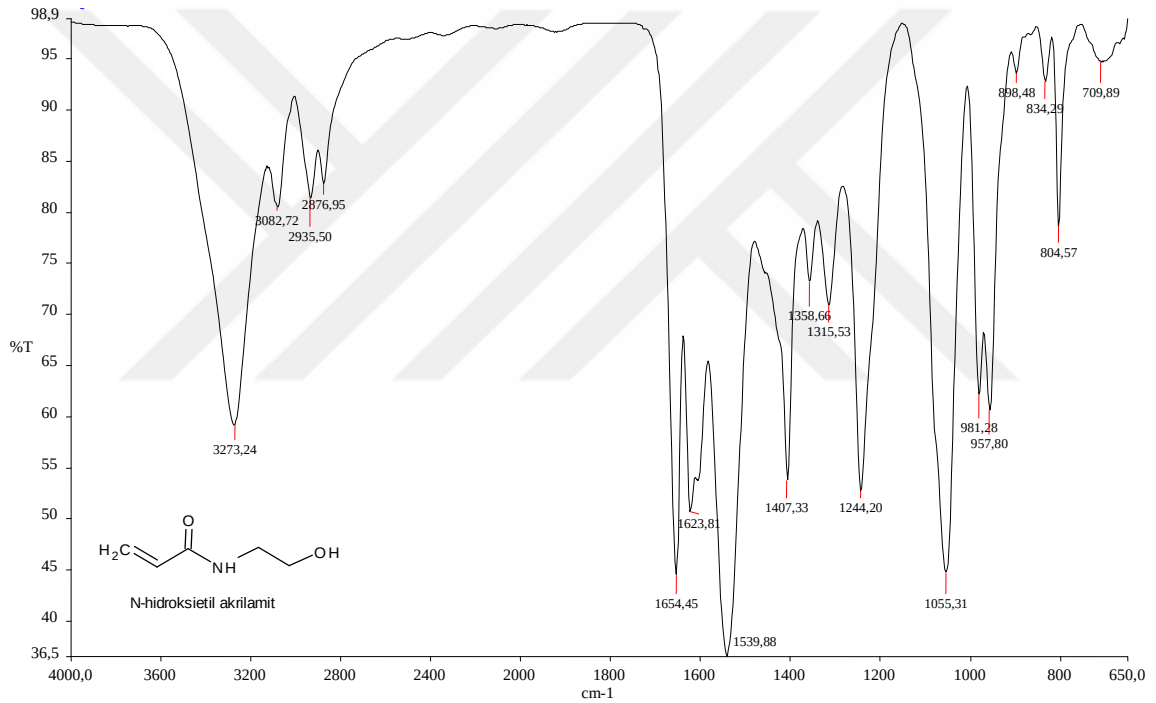


Şekil 3.7 E29 Kodlu mini-emülsiyonun FT-IR spektrumu

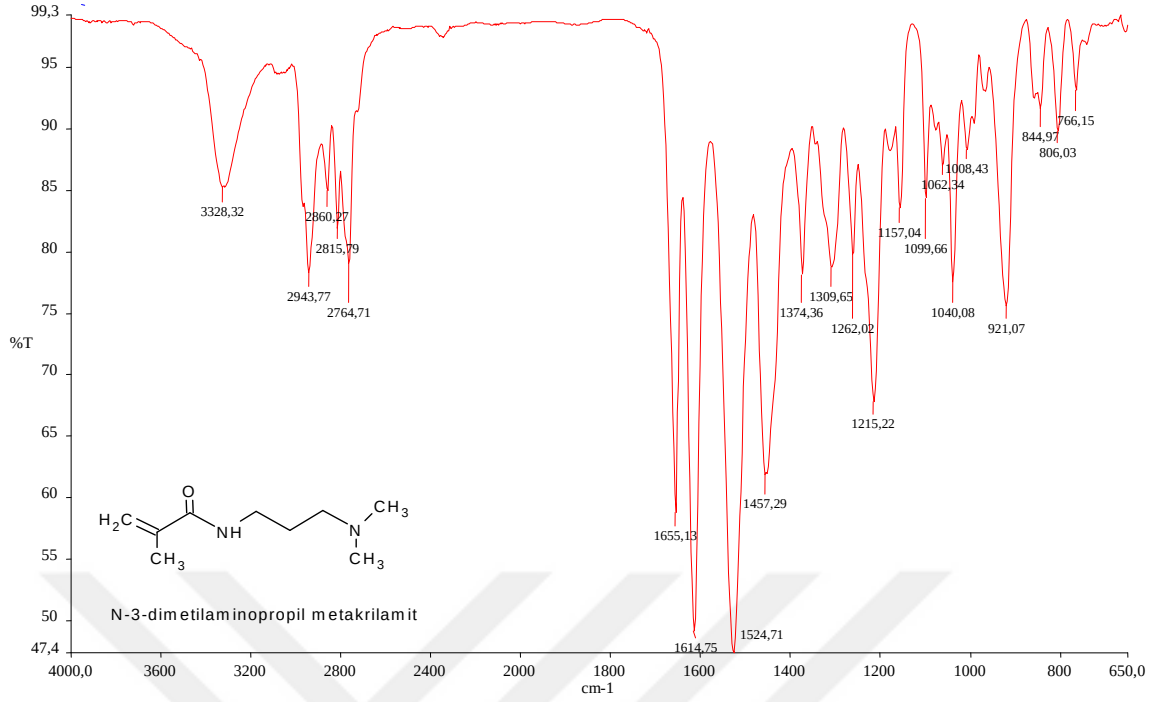
Emülsiyonun IR spektrumuna bakıldığında $3200\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ arasında görülen geniş

adsorpsiton bandı C-H ve sekonder aminin N-H gerilme titreşimini vermektedir. Fonksiyonel monomer, HEMA ve EDGMA'dan gelen ester gerilme titreşimi 1719 cm^{-1} gözlemlenmektedir. 1650 cm^{-1} 'de N-hidroksietil akrilamit ve N-3-dimetilaminopropil metakrilamitten gelen amit N-H bağı, 1543 cm^{-1} 'de ise N-H eğilme titreşimi bulunmaktadır. 1433 cm^{-1} 'de gözlemlenen band CH_3 eğilme titreşimine aittir. $1100\text{--}1080\text{ cm}^{-1}$ 'deki bantlarda benzen halkasına ait C-H eğilme titreşimleri bulunmaktadır. Dolayısıyla polimerleşmenin gerçekleştiği, çifte bağların takibiyle anlaşılabilir.

Ayrıca, pentaeritritol tetrakis(3-merkaptopropionat)'ten gelen 2568 cm^{-1} 'de bulunan --SH pikininde kaybolduğu gözlemlenmektedir.

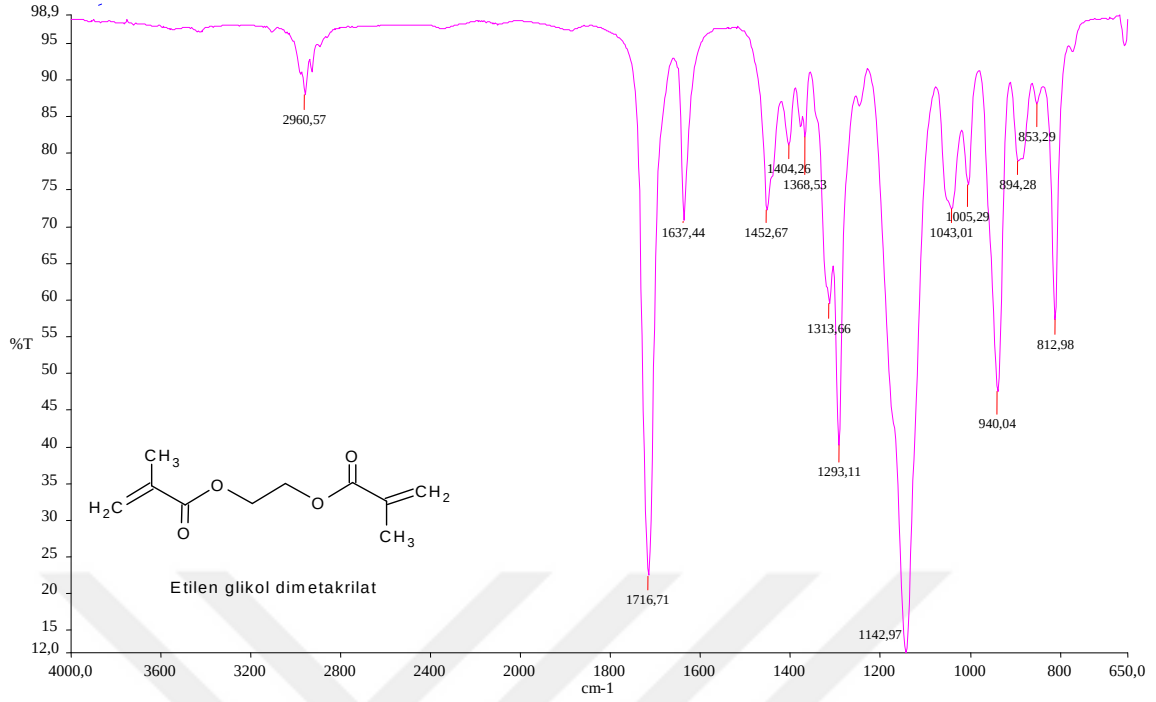


Şekil 3.8 N-hidroksietil akrilamit FT-IR spektrumu



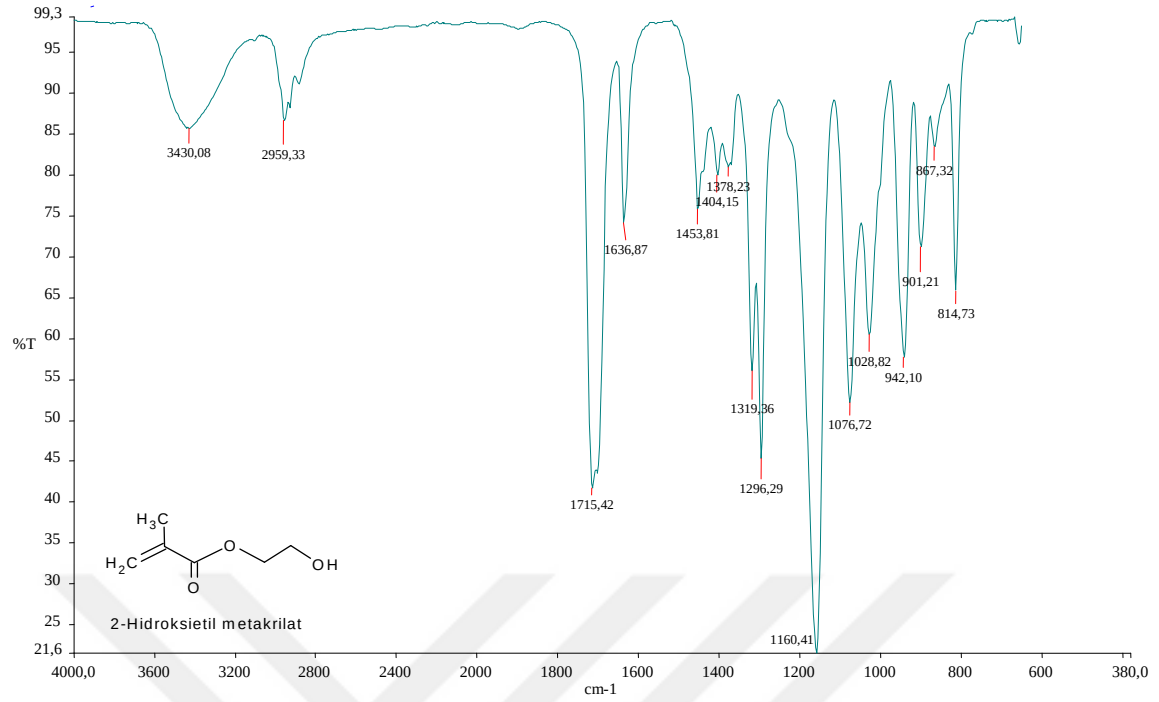
Şekil 3.9 N-3-dimetilaminopropil metakrilamit FT-IR spektrumu

Emülsiyon polimerinin karakteristik pikleri ile karşılaştırma yapabilmek için, formülasyonlarda kullanılan monomerlerin FT-IR spektrumları Şekil 3.9, 3.10, 3.11, 3.12 ve 3.13'te verilen yapılara ait spektrumlar incelendiğinde; N-hidroksietil akrilamit'te ve N-3-dimetilaminopropil metakrilamit sırasıyla 1654 cm⁻¹ ve 1655 cm⁻¹ 'de amit C=O bandı, 1623 cm⁻¹ ve 1614 cm⁻¹'de C=C gerilme titreşimi görülmektedir. Her iki monomerde de 2700-2900 cm⁻¹ arasında C-H gerilme titreşimi gözlemlenmektedir. N-hidroksietil akrilamit'te 3279 cm⁻¹'de O-H bandı bulunmaktadır. N-3-dimetilaminopropil metakrilamitin 3328 cm⁻¹'de sekonder amin piki bulunmaktadır.

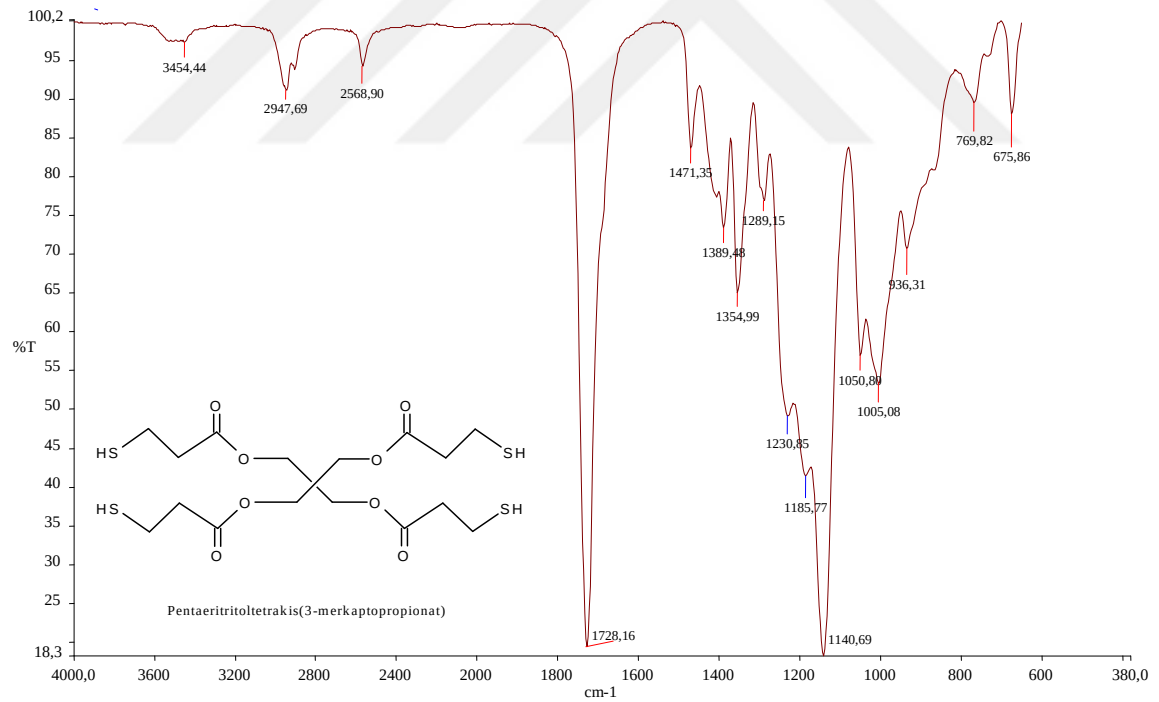


Şekil 3.10 Etilen glikol dimetakrilat FT-IR spektrumu

EDGMA ve HEMA'ya bakıldığında 2950 cm^{-1} civarında C-H bantları, karakteristik olarak sırasıyla 1716 cm^{-1} , 1715 cm^{-1} de ester bandı; 1637 cm^{-1} ve 1636 cm^{-1} 'de C=C gerilme titreşimleri bulunmaktadır. Ek olarak HEMA, 3430 cm^{-1} 'de O-H bandı vermektedir.



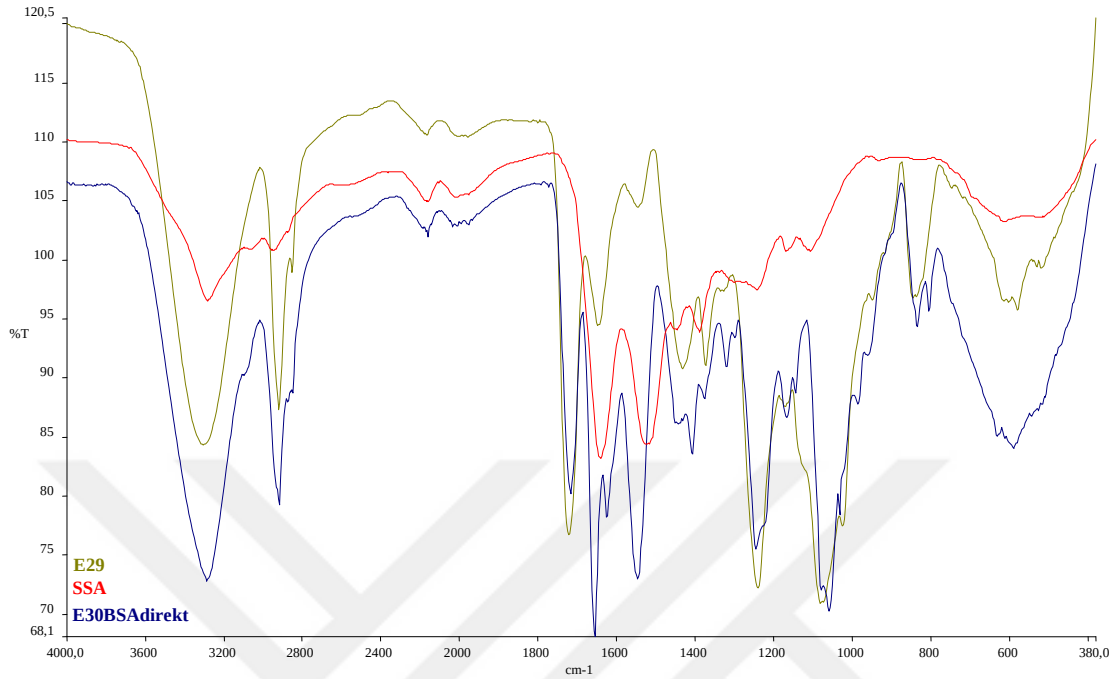
Şekil 3.11 2-Hidroksietil metakrilat FT-IR spektrumu



Şekil 3.12 Pentaeritritol tetrakis(3-merkaptopropionat) FT-IR spektrumu

Şekil 3.12 'de Pentaeritritol tetrakis(3-merkaptopropionat)'ın karakteristik olarak 2568 cm⁻¹'de -SH piki bulunmaktadır.

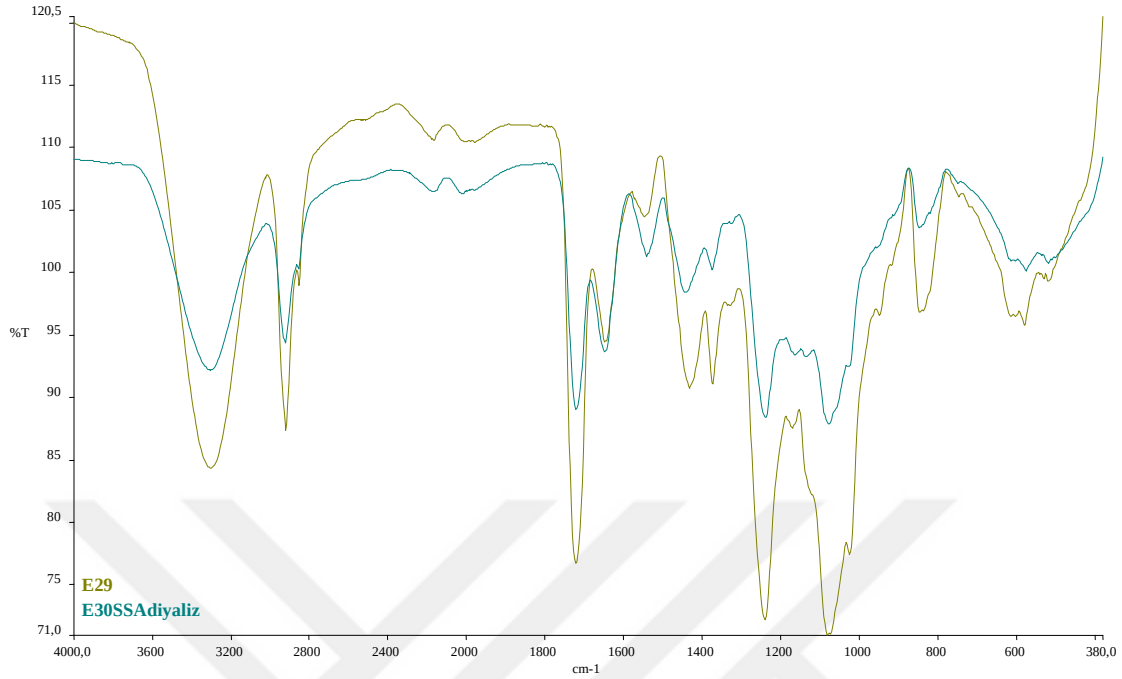
3.2.1 E30 Kodlu BSA Baskılanmış Polimerin Karşılaştırmalı FT-IR Karakterizasyon



Şekil 3.13 E30 Kodlu baskılanmış polimer FT-IR karşılaştırma

Şekil 3.13'te E30 kodlu BSA baskılanmış polimer partiküllerin FT-IR spektrumu ve karşılaştırma için BSA'nın ve baskılanmamış E29 kodlu polimer partiküllerin FT-IR spektrumları verilmiştir. Görüldüğü gibi BSA'ya ait spektrumda 1.amit bandı C=O gerilme titreşimi 1652 cm⁻¹, 2. amit bandı N-H titreşim eğilmesi 1540 cm⁻¹'da bulunmaktadır [73]. E29 formülasyonunda BSA haricinde diğer tüm monomerler aynıdır. Formülasyona BSA'nın eklenmesiyle yapısındaki amino asitlerden gelen 1652 cm⁻¹'deki C=O gerilme titreşimi ve 1540 cm⁻¹ N-H eğilme titreşimini gösteren piklerin şiddetlendiği görülmektedir.

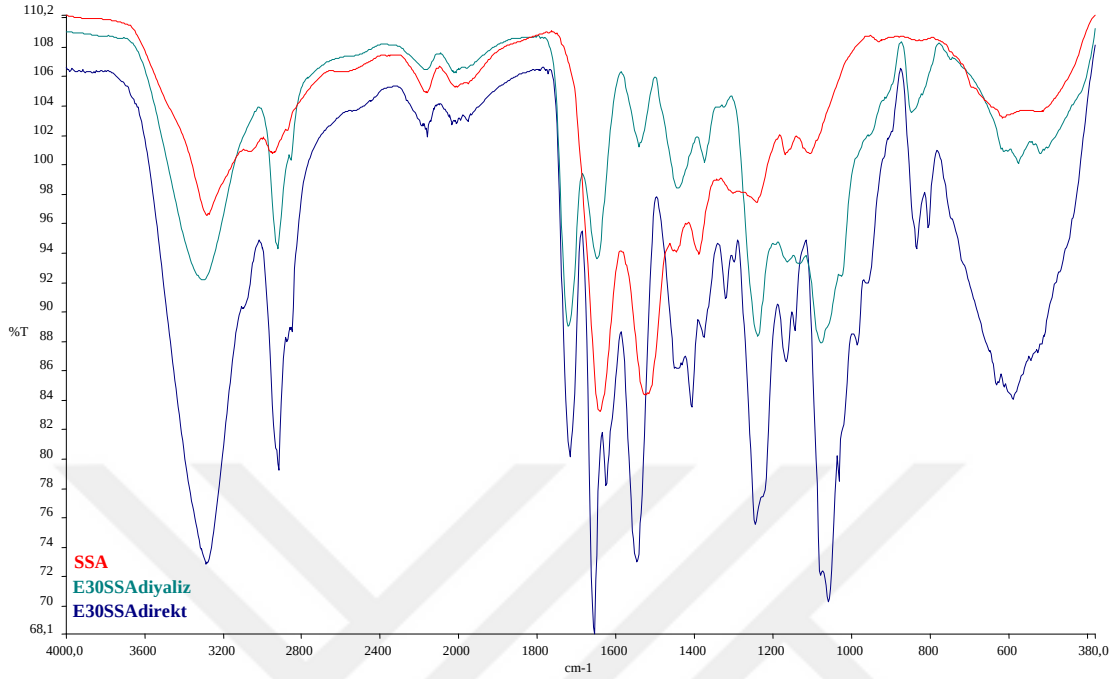
3.2.2 E30 Kodlu Baskılanmış Polimerin Diyaliz Sonrası FT-IR Karakterizasyon



Şekil 3.14 E30 Kodlu Baskılanmış polimer diyaliz FT-IR karşılaştırma

Baskılanmış nanopartiküllerin BSA'nın ayrılması için asetik asit ve alkol ile diyaliz yapıldı. BSA'nın partikülden ayrılıp ayrılmadığının karakterize edilmesi için FT-IR analizi yapıldı. Şekil 3.14'te nanopartiküle ait FT-IR spektrumu ve BSA baskılanmış nanopartiküllerin asetik asit, etanol ve su ile diyalizi sonrası FT-IR spektrumu görülmektedir. Diyaliz işleminden sonra BSA içeren E30 formülasyonunun spektrumuna baktığımızda, BSA içermeyen E29'a birebir örtüştüğü görülmektedir.

3.2.3 E30 Kodlu Baskılanmış Polimerin Diyaliz Sonrası ve BSA ile Karşılaştırıldığı FT-IR Karakterizasyonu



Şekil 3.15 E30 kodlu Baskılanmış polimer-FT-IR diyaliz sonrası karşılaştırması

Şekil 3.15'te Baskılanmış polimerin asetik asit, etanol ve su ile diyaliz edilmesinden sonra çekilen FT-IR spektrumunda BSA'ya ait şiddetlenen C=O gerilme titreşimi ve N-H eğilme titreşiminin barındırmadığı, piklerin BSA içermeyen E29 ile birebir örtüşmesinden anlayabiliriz.

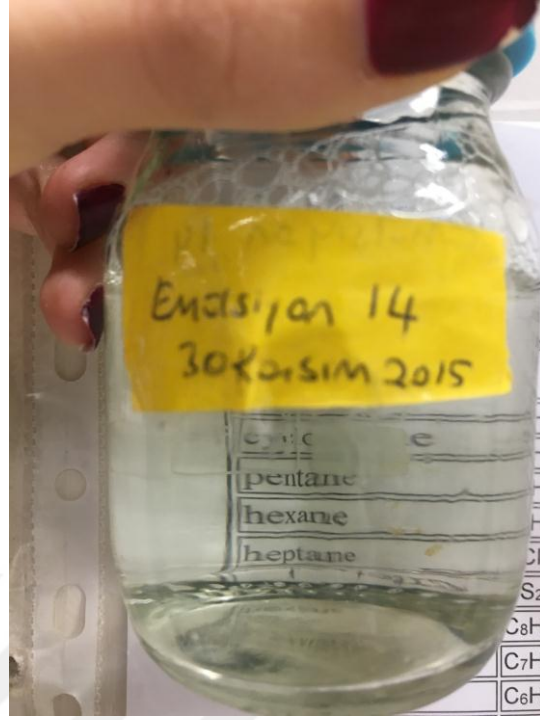
3.3 Mini-emülsiyon Formülasyonları

Tablo 2.9 ve Tablo 2.10'de görüldüğü gibi, farklı formülasyonlar denenmiştir. Fumarik asitin olduğu formülasyonlarda, F1, F2, F3, F4, fumarığın diğer monomerler içerisindeki çözünmesinde zorluk yaşanmıştır. Ekstra çözücü ya da monomer ihtiyacı doğmuştur. 1. faz oluşturulurken monomer karışımında topaklanmalar oluşmuştur. Toplam monomer miktarı oluşturulan emülsiyon için oldukça fazla gelmiştir. Bu gibi sebeplerle formülasyonlarda değişiklikler yapılarak seçilecek olan şablona uygunluğu baz alınan benzer fonksiyonel gruplara sahip monomerler değiştirilerek, formülasyon optimize edilmiştir. E9 kodlu mini-emülsiyon sentezine kadar olan mini-emülsiyonlarda 1.fazı 2. faza aktarma damlatma hunisiyle yapılmıştır. Bundan dolayı düzensiz dozajlamalar, emülsiyonların bulanık elde edilmesine sebep olmuştur. E9 numaralı emülsiyon formülasyonu ile homojen dağılmış yaklaşık 350 nm boyutunda

nanopartiküller elde edilmiştir. (Şekil 3.16)

E9 da is berraklığın korunduğu ancak az da olsa çökmenin olduğu gözlemlenmiştir. Sürfaktan miktarı 3 kata çıkarılan E11 reaksiyon yapıldıktan sonra hafif bulanık olduğu ancak bir gün sonra çökmenin olduğu gözlemlenmiştir. E14 kodlu mini-emülsiyon formülasyonunda toplam polimer miktarı 1 g'a düşürülerek, polimerin sürfaktan içerisinde askıda kalması kolaylaştırılmıştır, bundan dolayı berraklığını korunduğu gözlemlenmiştir.

E19 kodlu mini-emülsiyona fümariik asit yerine aynı miktarda sentezlenen fonksiyonel monomer eklenmiştir, emülsiyon berraklığını korumuştur. Termal polimerizasyonla berraklık elde edildikten sonra tiyol-en polimerizasyonuna geçilmiştir. E20, E21, E22 ve E23 kodlu mini-emülsiyonlarda, başlatıcı kullanılmadan direkt merkaptolu monomer ile polimerizasyon başlatılmaya çalışılmıştır. Fakat merkaptolu'yu suda çözünmemesi sebebiyle THF ve dikloro metanda çözmeye çalışıp su fazına ekleme çalışmaları başarısız olmuştur. Bundan dolayı, merkaptolu E24 mini-emülsiyonuna monomer fazında eklenip, ultrasonik banyoyla karışmaya zorlanmıştır. Başlatıcı olarak yine monomer fazına IRGACURE 184 ve kamforkinon eklenerek UV-kürlenene tiyol polimerleşmesi sağlanmıştır. Elde edilen mini-emülsiyon başlatıcının renginden dolayı sarı renk almıştır. DLS sonucunda dar dağılımlı partikül elde edememe sorununu aşmak için, formülasyonlara E26, E27, E29 hekzadekan eklenerek, bu sorun çözülmüştür. En nihayetinde, baskılanmamış polimer iskeleti baskılanmaya hazır hâle getirilmiştir.



Şekil 3.16 Sentezlenen E9, E14, E26, E27, E28 kodlu mini-emülsiyon formülasyonları



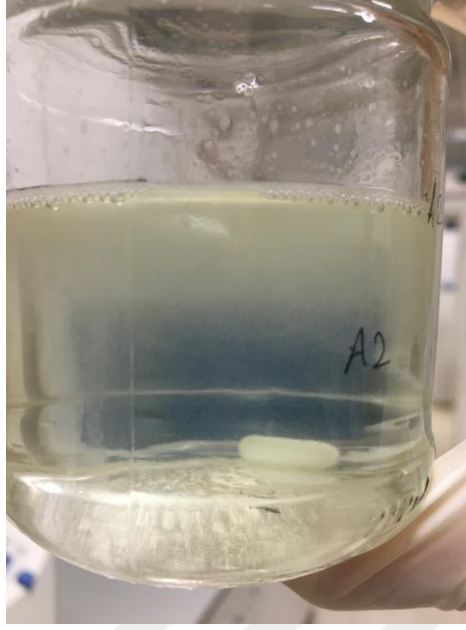
Şekil 3.17 Mini-emülsiyonun E4,E7, E8 kodlu formülasyonları

Tablo 2.9 ve Tablo 2.10 ‘de özellikleri verilen formülasyonlardan, şeffaf mini-emülsiyon elde edilememiş numuneler Şekil’3.17de verilmiştir. Bunlardan biri olan E4 kodlu emülsiyona çapraz bağlayıcı eklenmemiştir. E7 kodlu emülsiyon, reaksiyon sırasında mekanik karıştırıcının hortumu koparak, yeterli karışma sağlanamamıştır. E8 kodlu emülsiyonda elektrik kesintisi yaşanmış, sıcaklık düşmüştür. Görüldüğü gibi, emülsiyonlar ortam koşullarından etkilenmektedir.

3.4 Mini-emülsiyonda Termal Başlatıcılı ve Fotobaşlatıcılı Polimerizasyon Farkı

Tablo 2.9 ve Tablo 2.10’de verilen termal başlatıcılı yöntemle yapılan mini-emülsiyonlarda reaksiyon düzeneği hazırlamak gereklidir. Tiyol-en reaksiyonunda kapsamlı bir düzeneğe ihtiyaç yoktur. Termal polimerizasyon 24 saat gibi uzun bir sürede hazırlanmaktadır. Uzun süreli olduğu için ortam şartlarından olumsuz etkilenebilmektedir. Tiyol-en reaksiyonunda bu süre 30 dk’ya kadar inmektedir. Oldukça hızlı ve kullanışlıdır. Termal polimerizasyonda 40 °C’de deney yapılmıştır. Bu, baskılanacak şablonun yapısına zarar verebilir. Termal başlatıcılı polimerizasyona göre, fazla iş gücü gerektirmeden üretimi arttırmaktadır. Termal polimerizasyonda reaktörün içine 1. faz eklenirken, reaktörün yapısından dolayı çeperlerde birikme söz konusu olabilmektedir. Dolayısıyla madde kaybına sebep olmaktadır. Tiyol-en reaksiyonunda istenilen sonuç fazla zaman kaybı olmadan ve fazla deneysel hataya yol açmadan sentezlenebilmektedir.

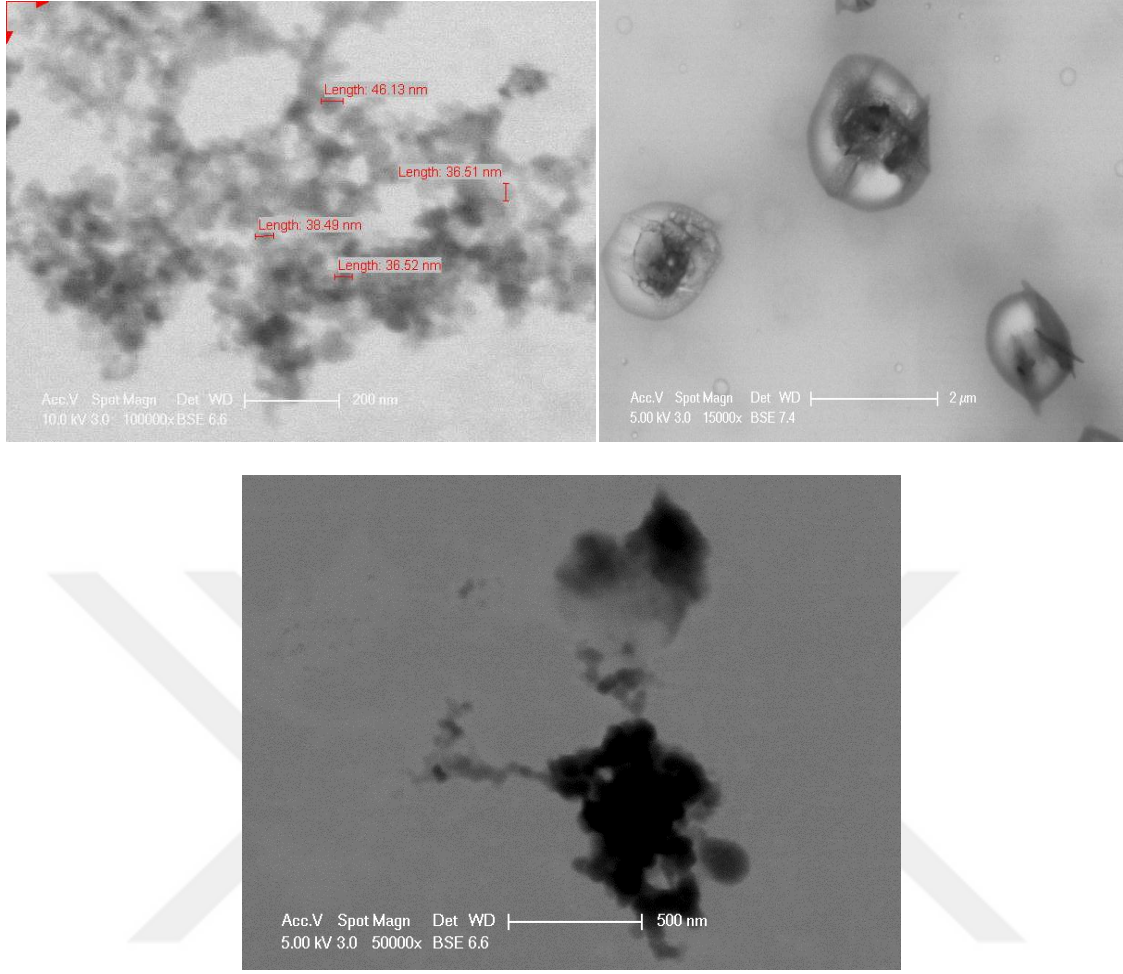
Tiyol-en polimerizasyonuna alternatif olarak A formülasyonu denenmiştir. Farklı SDS oranları denenerek emülsiyon oluşturulmaya çalışılmış, ancak deney sonunda polimerde çökme gözlemlenmiştir. Yeterli stabilite sağlanamamıştır. Şekil 3.18’de görüldüğü gibi mini-emülsiyon polimer fazı, su fazından daha az yoğunluğa sahip olduğu için yukarıya doğru toplanarak kremalaşmaya uğramıştır [74].



Şekil 3.18 A2 formülasyonunun emülsiyon görüntüleri

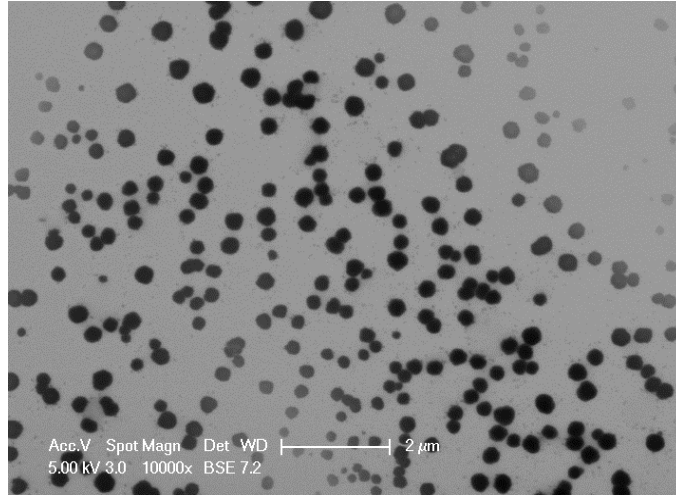
3.5 Emülsiyonda Sürfaktan Etkisi ve STEM ile Morfolojik Karakterizasyonu

Geleneksel mini-emülsiyon polimerizasyonunda güçlü sürfaktanlar, etkili stabilize küçük nanoboyutlu miseller oluşturabilmek için gereklidir. Genellikle SDS gibi iyonik sürfaktanlar kullanılır. PVA, noniyonik sürfaktan olarak kullanılmasını sağlayan emülsifiye özellikli uzun noniyonik polimer zinciridir. Noniyonik polimerler, anyonik sürfaktan misellerle ilişkilendirilmek için yüksek eğilime sahiptirler [75]. SDS ve PVA'nın birlikte kullanılması partikül kararlılığı üzerinde dikkat çekici bir gelişme üretir. SDS molekülleri arasındaki elektrostatik itme PVA ile ilişkilendirilir. Bu da poliol zincirlerindeki gerilmeye ve aynı anda damla yüzeyinde çok büyük yük alanı oluşmasına sebep olur. İtici kuvvetler, nano damlaların birbirine yaklaşmalarını engeller ve koalesans oluşumunu geciktirir [76]. Ayrıca, şablon proteinin, SDS varlığında denatüre olmasını engellemek, protein-sürfaktan etkileşimini azaltmak için PVA kullanılır [77].



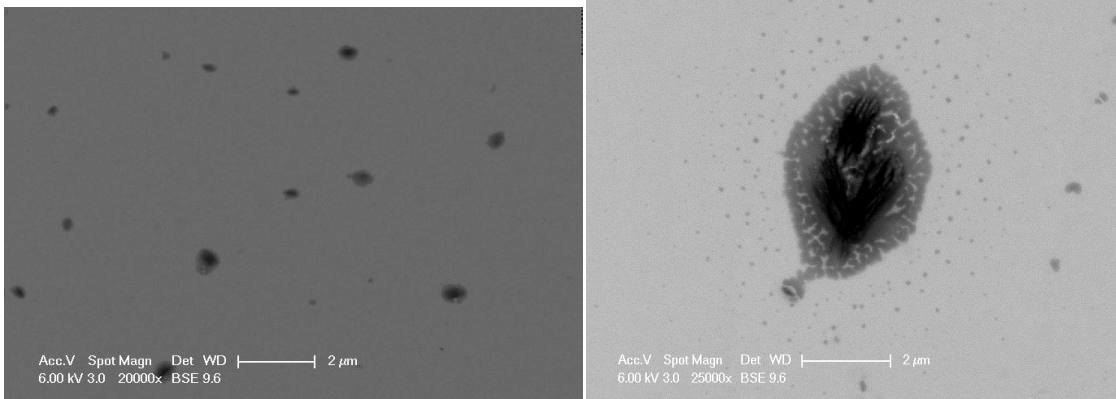
Şekil 3.19 E3 kodlu mini-emülsiyonun STEM görüntüsü

Şekil 3.19’da sürfaktan miktarları belirtilen E3 emülsiyonunun sürfaktan miktarının, yetersiz olmasından dolayı partiküllerde topaklanma gözlemlenmiştir. (Tablo 2.9)



Şekil 3.20 E9 Mini-emülsiyonun 10000x büyütmedeki STEM görüntüsü

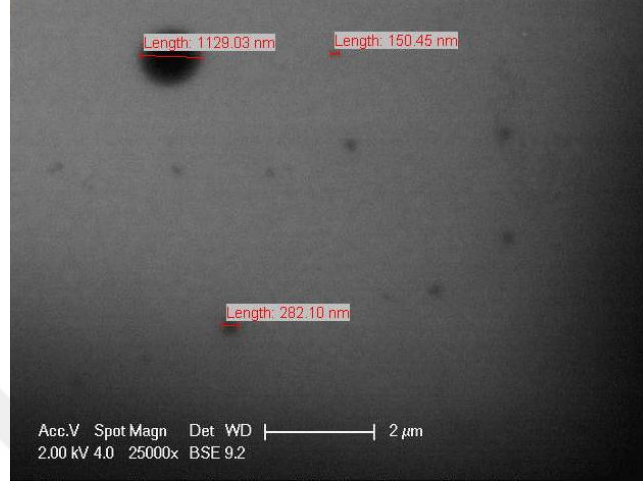
Şekil 3.20’de görülen E9 kodlu emülsiyonun Tablo 2.9’daki miktarlarına bakıldığı zaman, sürfaktan miktarı arttırıldığı görülmektedir. Buna ek olarak düzensiz olan 1. fazın 2. faza dozajlanmasında 30 damla/dk şeklinde kontrollü yapılarak, yaklaşık 350 nm boyutunda homojen dağılmış partiküller elde edilebilmektedir. Ancak yine de ko-sürfaktan bulunmadığı için partiküllerde birleşme gözlemlenebilmektedir.



Şekil 3.21 Şekil E15 kodlu mini-emülsiyonun STEM görüntüsü

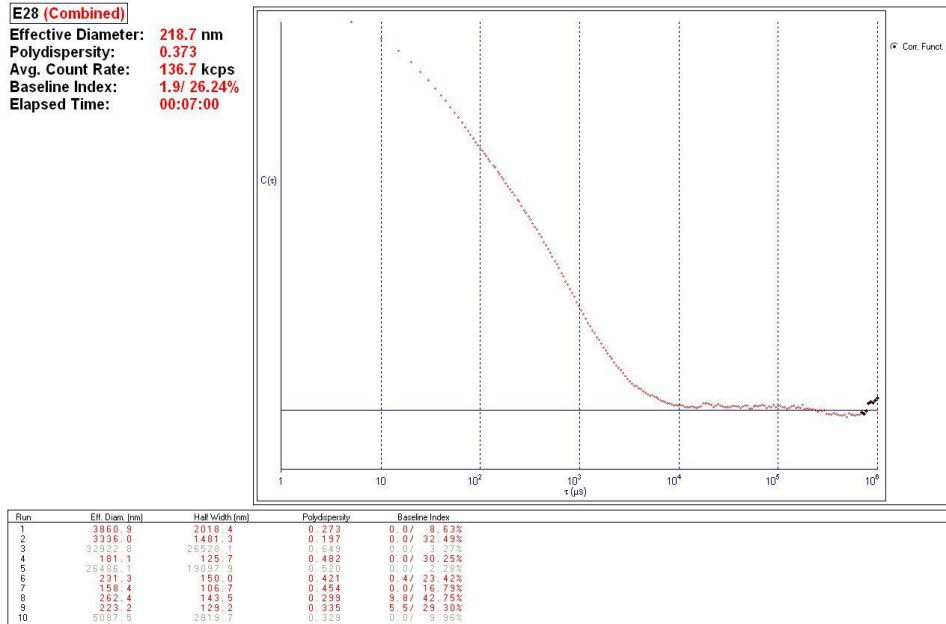
Şekil 3.21’de E15 kodlu mini-emülsiyonda yüksek molekül ağırlıklı PVA kullanılması ile, sürfaktanın görevini yerine getirmesine engel olarak, partiküllerin topaklanmasına ve tam küresel şekil oluşturmalarına engel olmuştur.

3.5.1 E28 Kodlu Mini-emülsiyon Formülasyonuna Ko-sürfaktan Hekzadekan Eklenmediğinde Görüntülenen STEM ve DLS ile Morfolofik Karakterizasyonu

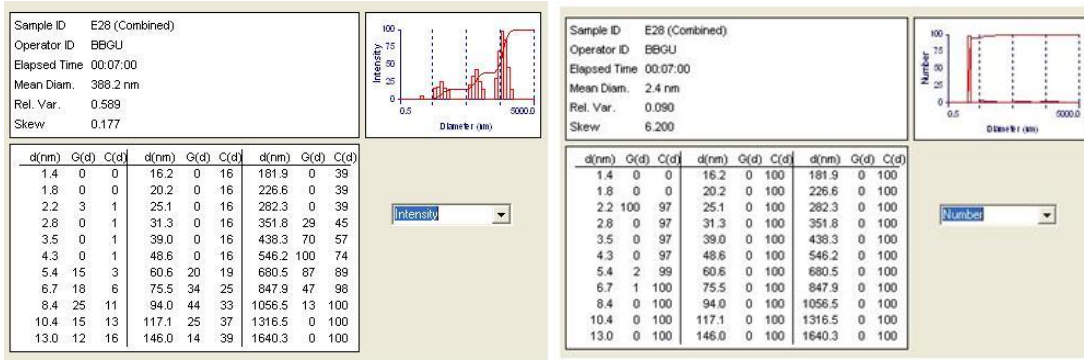


Şekil 3.22 Hekzadekansız hazırlanan E28 kodlu mini-emülsiyonun STEM görüntüsü

Hekzadekansız yapılan E28 emülsiyonunun STEM görüntüsü incelendiğinde, 22 μm şırınga filtre ile çekilerek ölçülen partiküllerde, 150 nm boyutunda partiküllerin bulunmasına rağmen, polimerin topaklanarak 1129 nm gibi büyük boyutlu partikül oluşturduğu ve düzensiz partikül boyut dağılımının olduğu görülmüştür. (Şekil 3.22)



a)E28 kodlu mini-emülsiyonun DLS sonucu



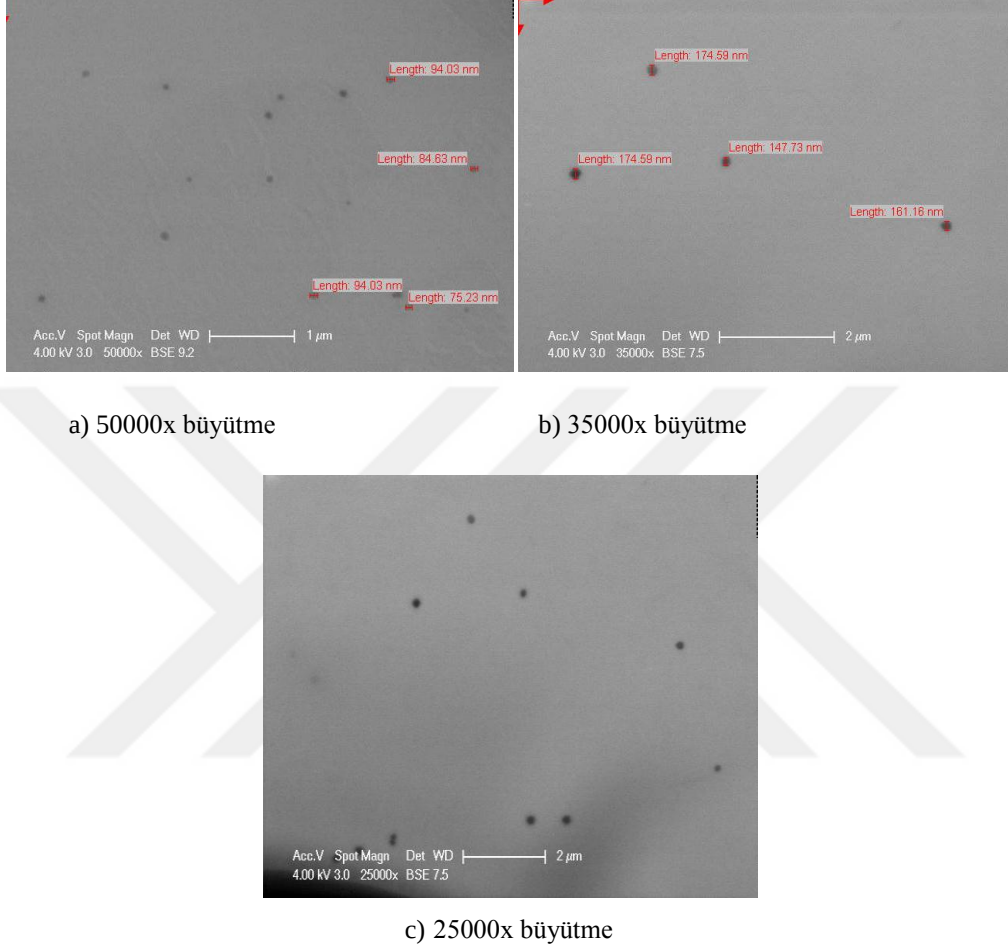
b) Intensity-diameter dağılımı

c) Number-diameter dağılımı

Şekil 3.23 Hekzadekansız hazırlanan E28 mini-emülsiyonun DLS görüntüleri

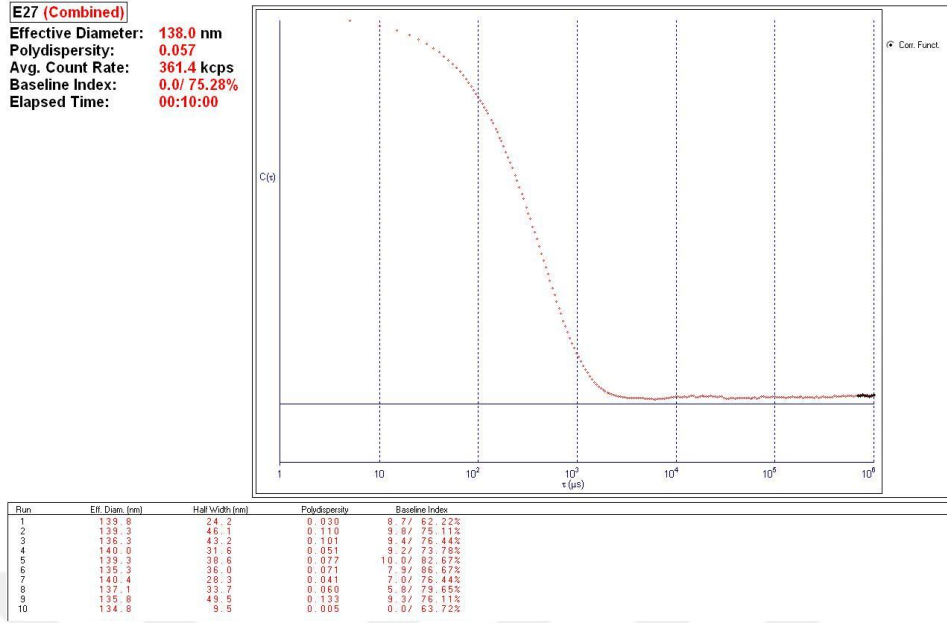
Ko-sürfaktan kullanılmayan E28 formülasyonunun DLS ölçümüne bakıldığında, 22 μm şırınga filtre ile çekilen numunede, intensity-diameter dağılımına bakıldığında boyut dağılımının düzensiz olduğu, oldukça seyrek olan numunenin number-intensity dağılımında okunmayacak kadar az sayıda 350 nm'den büyük boyutlu partiküllerin bulunduğu görülmektedir. Sonuç olarak dar dağılımlı *stabil* partikül oluşturmada başarısız olduğu gözlemlenmiştir. (Şekil 3.23)

3.5.2 E27 Kodlu Mini-emülsiyon Formülasyonuna Ko-sürfaktan Hekzadekan Eklendiğinde Görüntülenen STEM ve DLS ile Morfolojik Karakterizasyonu

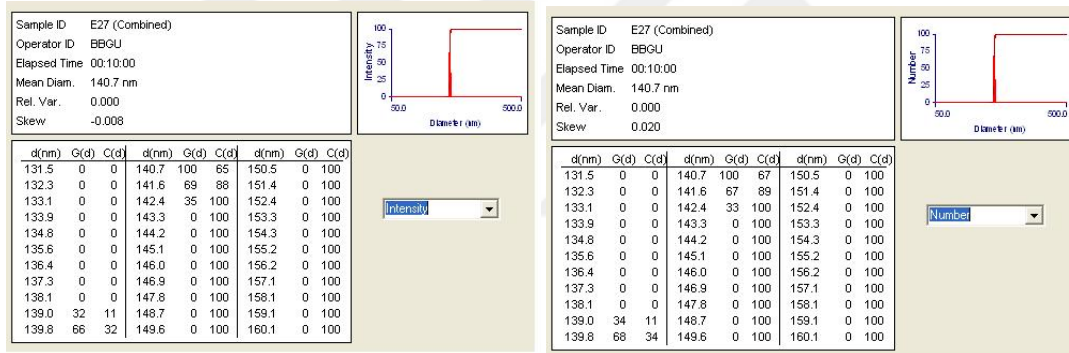


Şekil 3.24 Hekzadekan ile hazırlanmış E27 formülasyonunun STEM görüntüleri

Literatürde stabil ve düzenli partikül boyutuna sahip mini-emülsiyon yapımında ko-sürfaktan hekzadekan kullanımı yaygındır. Benzer şekilde Tablo 2.11’de verilen E27 formülasyonlu hekzadekan içeren mini-emülsiyonun farklı bölgelerden alınmış STEM görüntüleri incelendiğinde, 22 µm şırınga filtre ile çekilen numunedeki partiküllerde herhangi bir toplanma olmadığı, homojen dağıldığı ve partiküllerin stabil olarak 200 nm’nin altında bir büyüklüğe sahip olduğu gözlemlenmiştir [78]. (Şekil 3.24)



a)E27 kodlu mini-emülsiyonun DLS sonucu



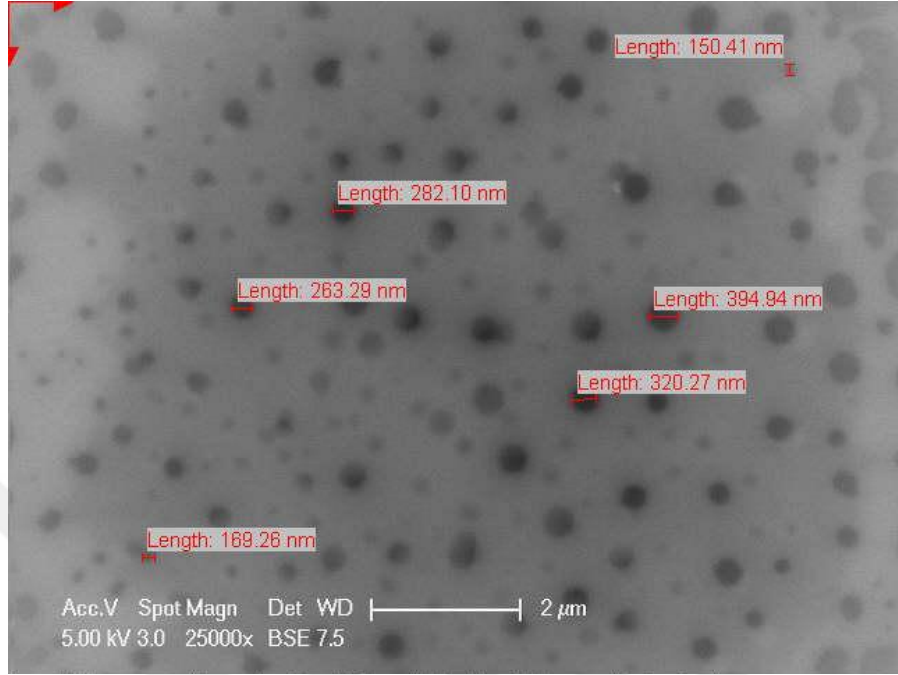
b)Intensity-diameter dağılımı

c)Number-diameter dağılımı

Şekil 3.25 Hekzadekan varlığında hazırlanmış E27 emülsiyonun DLS görüntüleri

Hekzadekan içeren E27 emülsiyon formülasyonunun DLS sonuçlarına bakıldığında, yaklaşık 140 nm büyüklüğündeki partiküllerin hem sayıca hem yoğunluk bakımından var olduğu görülmektedir. Intensity-diameter ve number-diameter dağılımlarından da görüldüğü gibi, büyük boyuttaki partiküllere rastlanmamaktadır. Hekzadekan kullanılarak topaklanmalar önlenmiş, stabil, düzenli boyuta sahip partiküller elde edilmiştir. (Şekil 3.25)

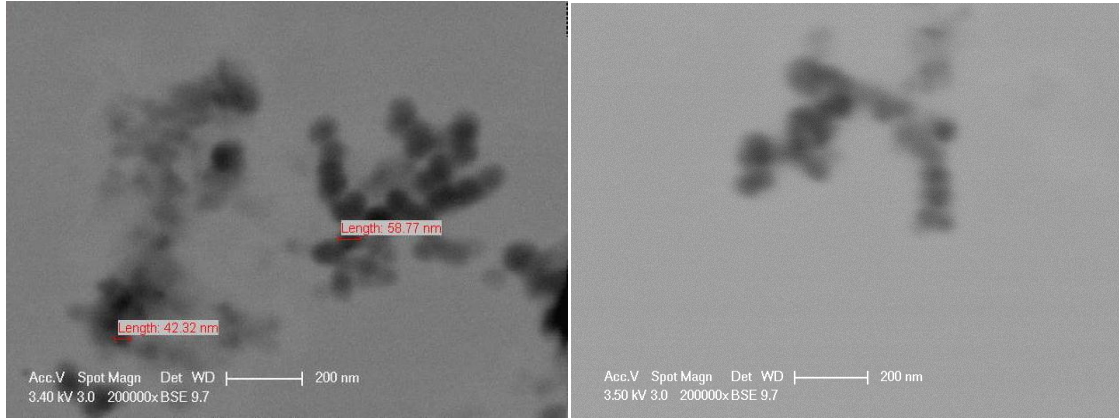
3.6 E30 Kodlu BSA Baskılanmış Nanopartiküllerin STEM ile Morfolojik Karakterizasyonu



Şekil 3.26 E30 kodlu baskılanmış polimerin STEM görüntüsü

BSA baskılanmamış emülsiyonun partikül boyutları 138 nm iken, baskılama yapıldıktan sonra, BSA molekülünün baskılanmasıyla partikül boyutunda büyüme gözlemlenmiştir. Ortalama 280 nm boyutunda partikül elde edilmiştir. (Şekil 3.26)

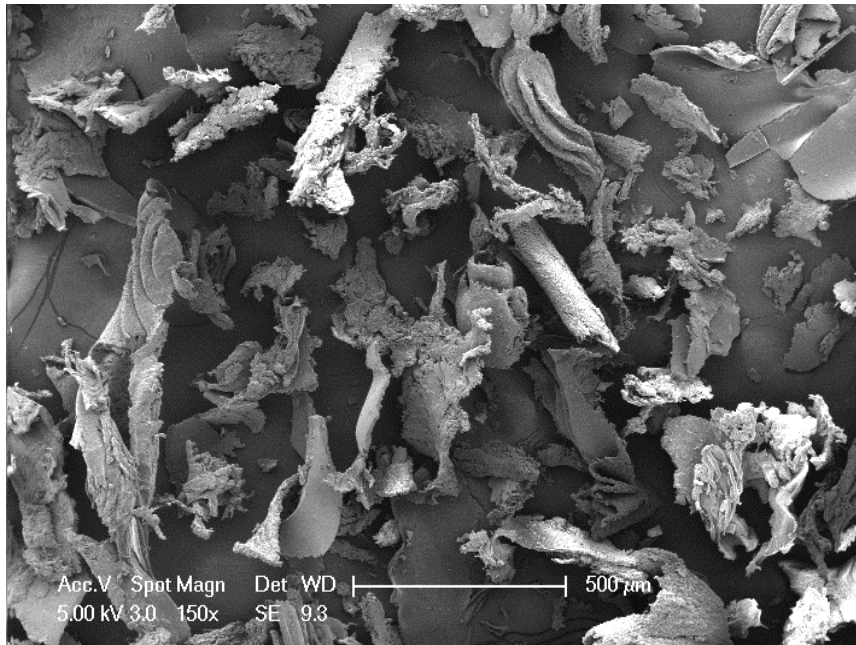
3.6.1 E30 Kodlu BSA Baskılanmış Polimerin Asetik asit, Etanol ve Suyu Karşı Diyalizinden Sonraki Hâlinin STEM ile Morfolojik Karakterizasyonu



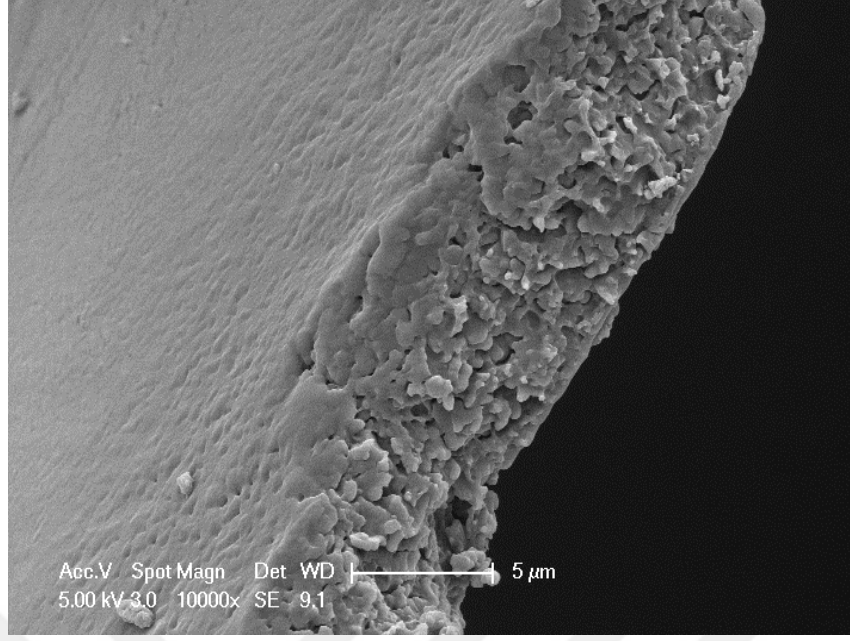
Şekil 3.27 E30 kodlu baskılanmış polimerin diyaliz sonrası STEM görüntüleri

Baskılanmış polimerin diyaliz edildikten sonraki STEM sonuçlarına bakıldığında, partikül boyutlarının tekrar küçüldüğü görülmektedir. Diyaliz ile sürfaktanlar uzaklaştığı için topaklanma meydana gelmesi de normaldir. Ancak yine de küresel partiküller seçilebilmektedir. (Şekil 3.27)

3.6.2 E30 Kodlu Baskılanmış Polimer Diyaliz Sonrası SEM Görüntüsü



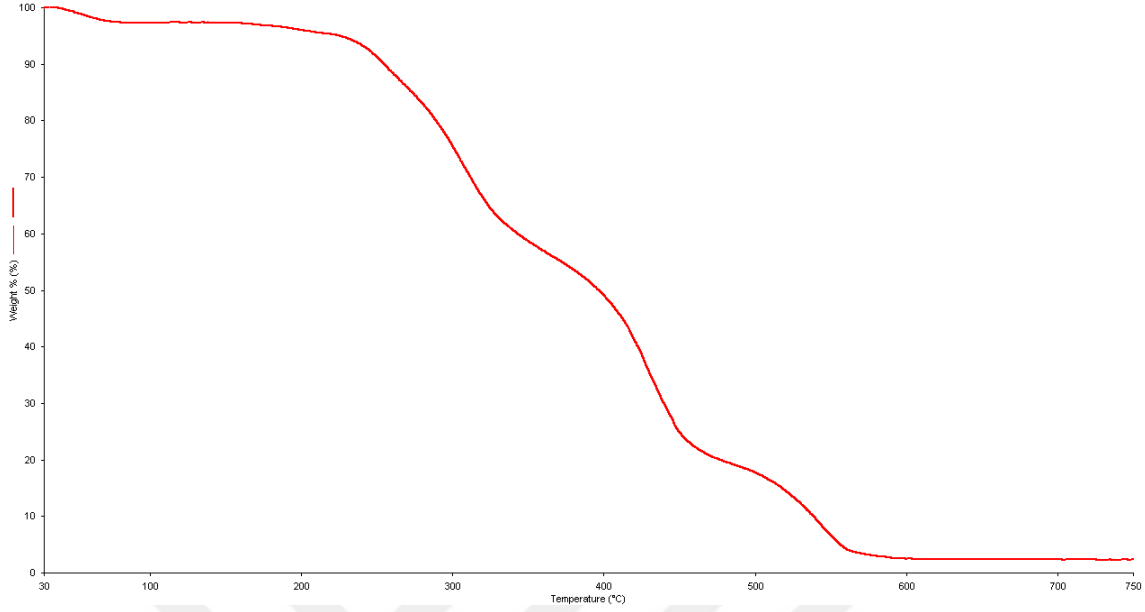
Şekil 3.28 Diyaliz edilen E30 kodlu baskılanmış polimerin SEM görüntüsü (a)



Şekil 3.29 Diyaliz edilen E30 kodlu baskılanmış polimerin SEM görüntüsü (b)

Emülsiyon çözeltisinden alınan 5 mL’lik örnek, liyofilizatörde kurutuldu ve film hâlinde elde edildi. Şekil 3.28 Yaklaştıkça bir araya gelmiş parçacıklar görülmektedir. Şekil 3.29’te de görüldüğü gibi 10000x büyütmeli SEM kesit alanında partiküllerin bir araya gelerek adeta film oluşturduğu görülmektedir.

3.7 E 29 Kodlu Mini-emülsiyonun Termal Kararlılığı

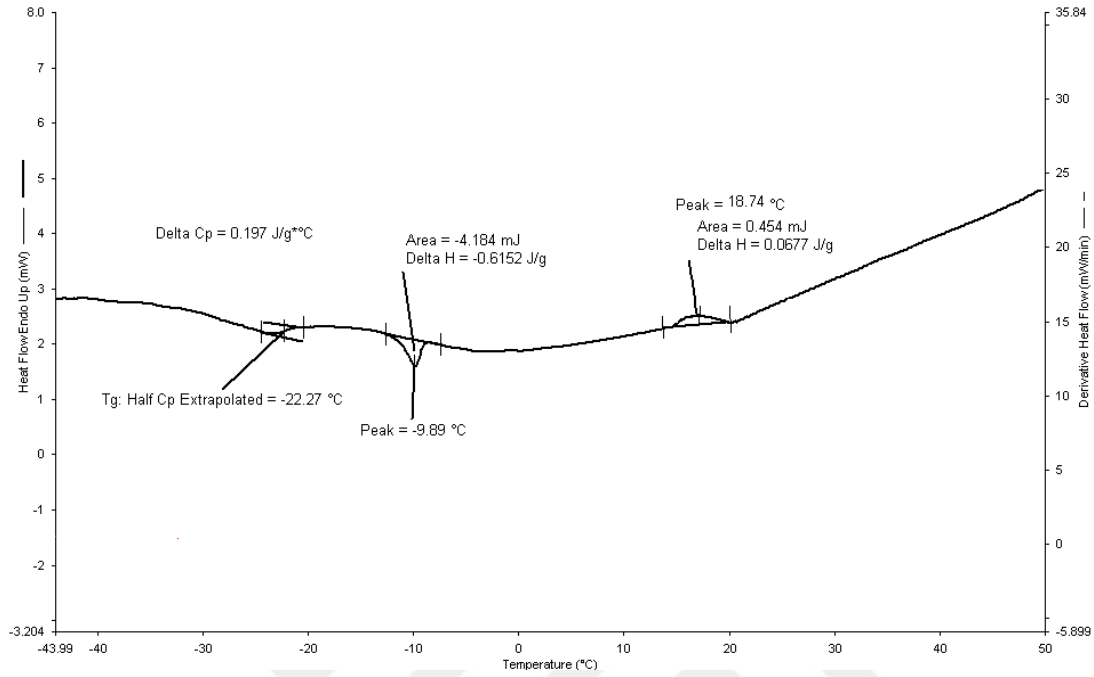


Şekil 3.30 E29 kodlu polimerin TGA termogramı

UV-kürlenmiş tiyol-en polimerleşmesi ile hazırlanan E29 kodlu mini-emülsiyon liyofilizatörfe kurutuldu. Elde edilem kuru polimer partiküllerin termal kararlılığı belirlemek için termal gravimetrik analiz yapılmıştır. Oda sıcaklığından 750 °C'ye göre ısıtılan kütlenin sıcaklığa bağlı değişim grafiğinden üç aşamalı kütle kaybı gözlemlenmiştir.

İlk aşamada 100 °C'de % 2'lik bir kütle kaybı polimer içinde kalan nemden kaynaklıdır. 300 °C'de yaklaşık % 20'lik kütle kaybı polimere ait yan grupların parçalanması etilen glikol grupların parçalanması sonucu meydana gelen kütle kaybıdır. 420 °C'de gerçekleşen ikinci kütle kaybında ana yapının % 65'i parçalanmıştır. Bu polimerin ana iskelet parçalanmasıdır. 530 °C'de toplamda % 88'lik bir kütle kaybedilerek yapıda bulunan aromatik grupların ayrıldığı söylenebilir. Geriye kalan kül miktarı % 2.5'tur. Üç aşamalı kütle kaybı gözlemlenmiştir [79]. (Şekil 3.30)

3.8 E29 Kodlu Polimerin Diferansiyel Taramalı Kalorimetre ile Termal Karakterizasyon



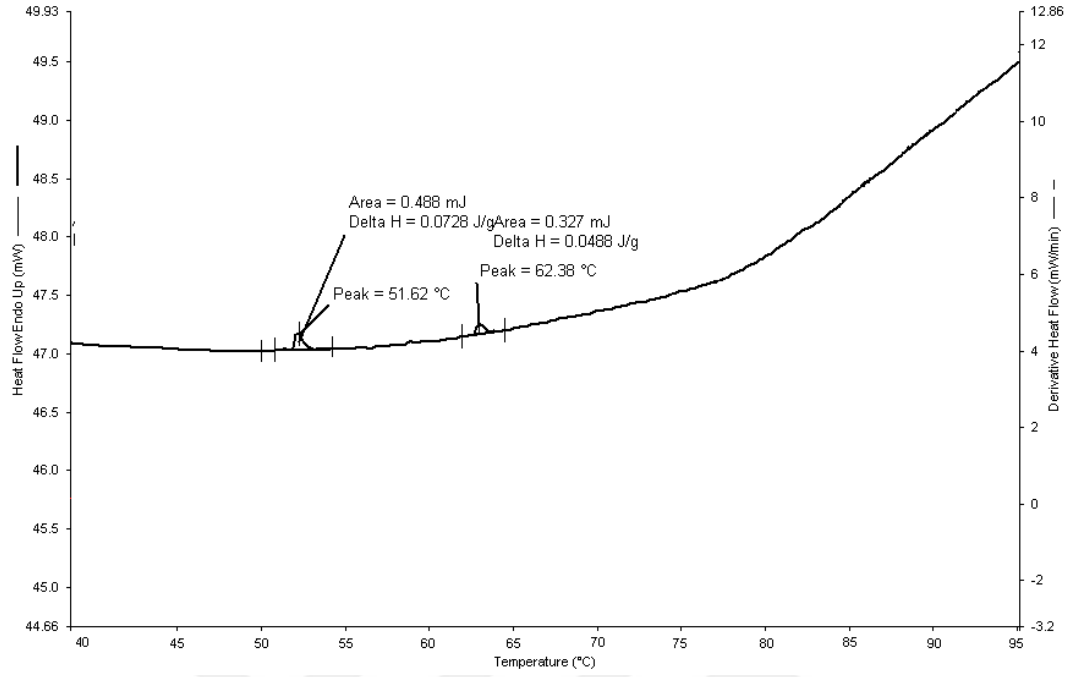
Şekil 3.31 E29 kodlu mini-emülsiyonunun DSC termogramı

Diferansiyel Taramalı Kalorimetre kullanılarak mini-emülsiyon ile sentezlenen polimer nanopartiküllerin, BSA'nın, BSA baskılanmış nanopartiküllerin ve baskılanan BSA'nın asetik asit/alkol ile nanopartikülden uzaklaştırıldıktan sonraki nanopartiküllerin termal davranışları incelendi.

Şekil 3.31'de E29 kodlu nanopartiküllerin DSC termogramı verilmiştir. Termogramda -22.3 °C'de camı geçiş sıcaklığı (Tg) gözlemlendi. -10 °C'de kristal oluşumuna ait pik bulunmaktadır. Bu, yapı içerisinde kristal düzene girebilen üniteler olduğunu göstermektedir.

19 °C'de Tm kristal erime piki bulunmaktadır. Bu da oluşan zayıf kristal bölgelerin eridiğini göstermektedir. Polimer oldukça çapraz bağlı olduğu için daha güçlü Tg ve Tm görebilmek mümkün olmamaktadır.

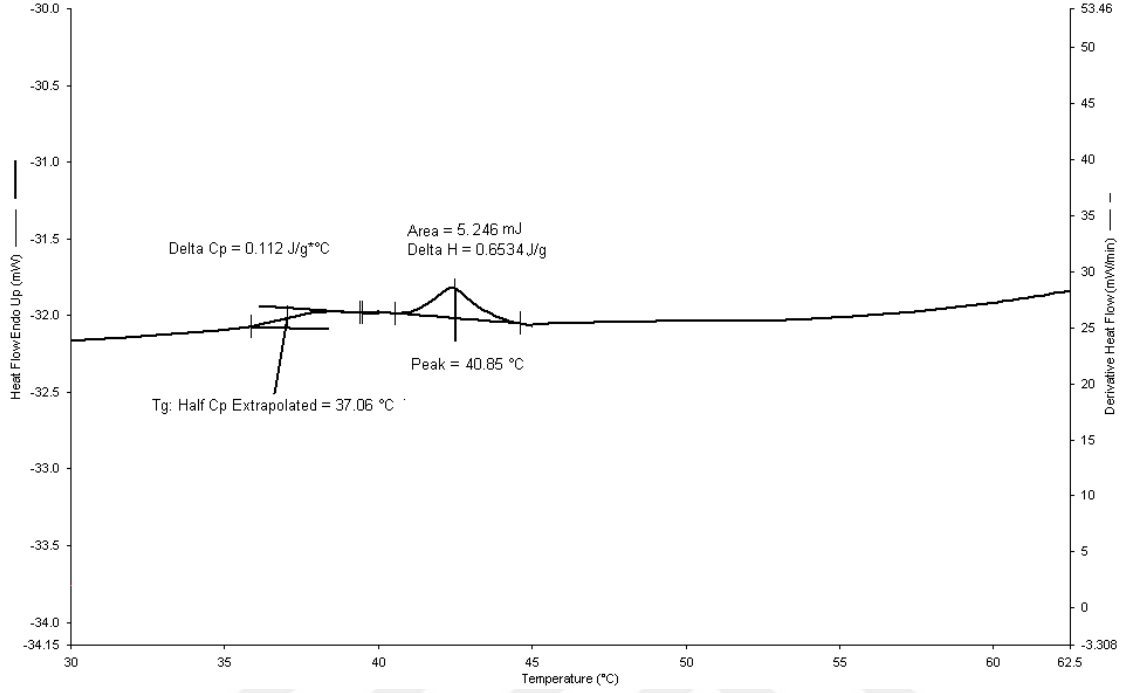
3.9 Sığır Serum Albuminin DSC grafiği



Şekil 3.32 BSA DSC termogramı

Şekil 3.32 BSA'ya ait DSC termogramı verilmiştir. BSA'nın 51 ve 62 °C'de iki erime piki bulunmaktadır. Bu termal erime pikleri BSA'nın denatürasyonuna ait piklerdir [80].

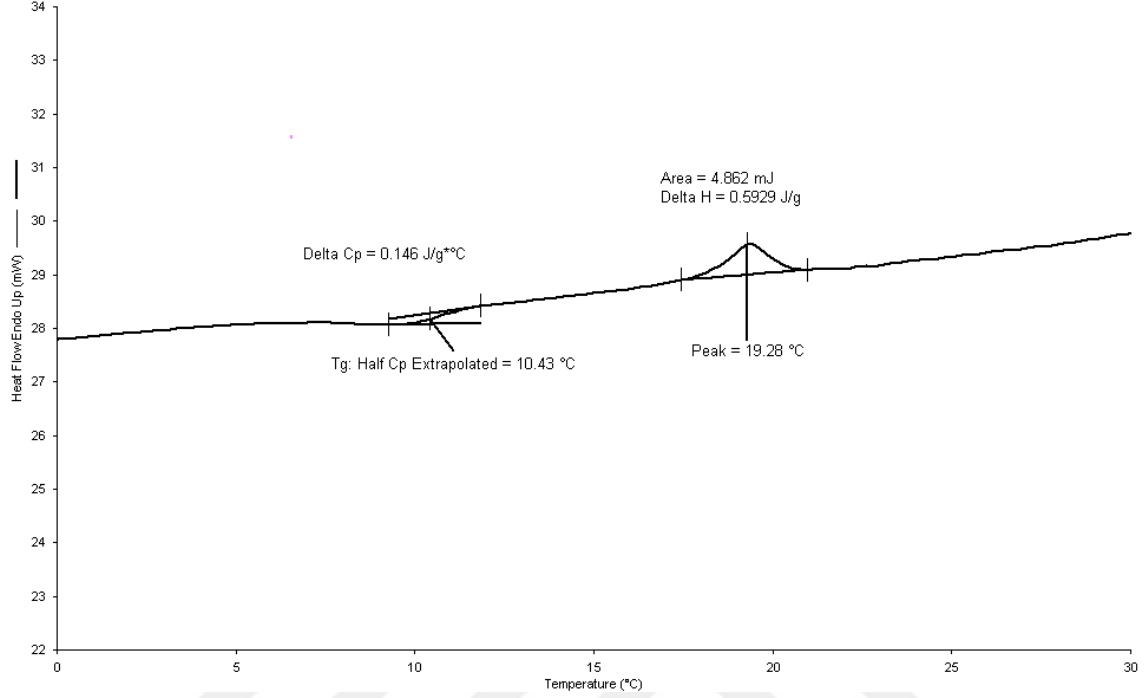
3.10 E30 Kodlu Baskılanmış Polimerin DSC grafiği



Şekil 3.33 E30 kodlu baskılanmış polimerin DSC termogramı

Şekil 3.33'te görüldüğü gibi BSA baskılanmış polimer nanopartiküllerde 37 °C'de Tg ve 40.85 °C'de Tm piki görülmektedir. BSA'nın 51.62 °C'deki Tm denatürasyon piki, polimere baskılandığından dolayı 40.85 °C'de görülmektedir. BSA'nın polimerin zincir hareketlerini kısıtlamasıyla, polimerin Tg değerinin arttığı görülmüştür.

3.11 E30 Kodlu Baskılanmış Polimerin Diyaliz Edilmiş Hâlinin DSC Grafiği

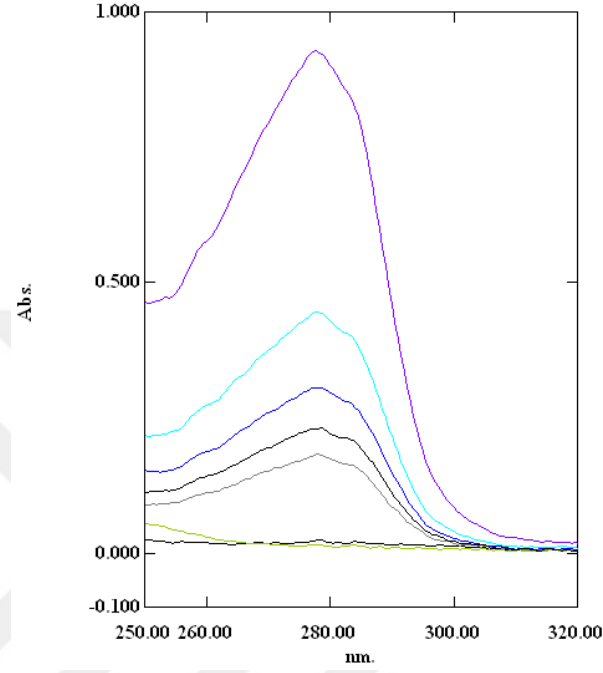


Şekil 3.34 E30 baskılanmış polimerin diyaliz edilmiş hâlinin DSC termogramı

Şekil 3.34'te BSA'nın diyaliz ile nanopartiküllerden ayrıldıktan sonra elde edilen polimerin DSC termogramından 10 °C'de Tg ve 19 °C'de Tm piki görülmektedir. BSA ayrıldıktan sonra polimer zincirlerinde hareketlilik artarak Tg 10 °C'ye düşmüştür.

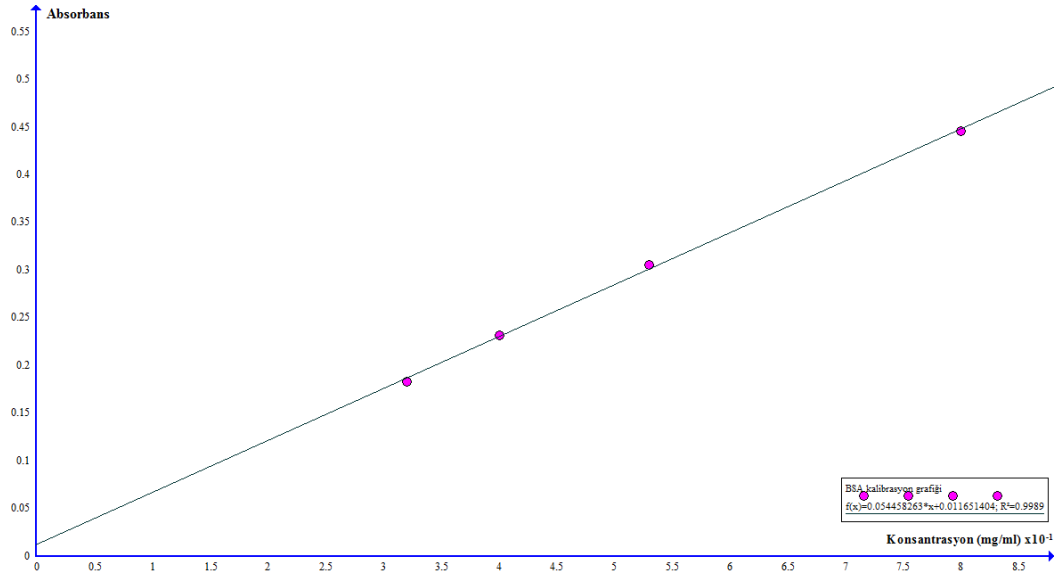
3.12 E30 Kodlu Baskılanmış Polimerin Diyalizi

3.12.1 BSA Kalibrasyon Grafiği



Şekil 3.35 BSA UV-spektrofotometrede absorbans ölçümü

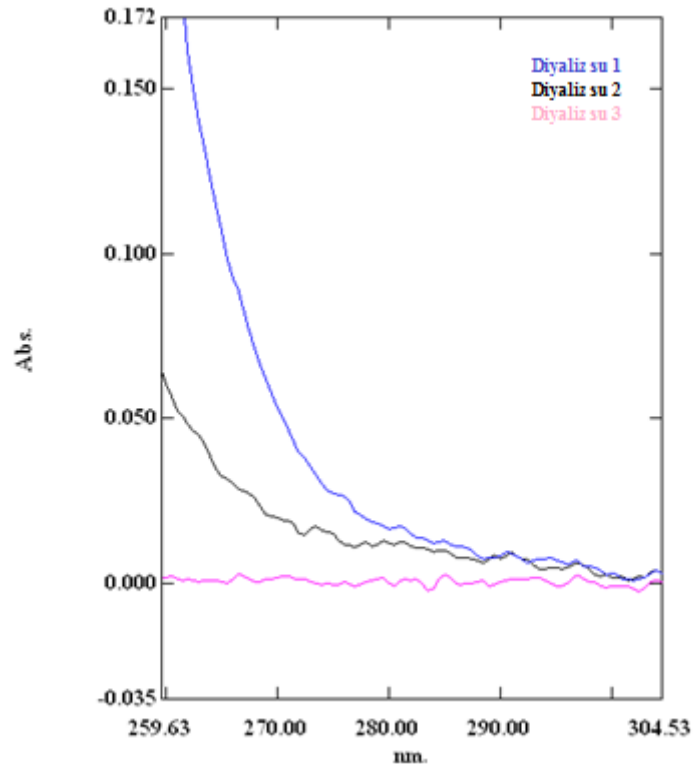
1,6 mg/ml konsantrasyonunda BSA çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiden 1:1, 1:2,1:3,1:4 (BSA: su) konsantrasyonlarında alınarak UV-spektrofotometrede 280 nm'deki absorbans ölçümleri yapıldı. (Şekil 3.35)



Şekil 3.36 BSA kalibrasyon grafiği

280 nm’de kaydedilen absorbans değerleri, konsantrasyona karşı grafiğe alınarak kalibrasyon grafiği çizildi. R^2 : 0.9989 (Şekil 3.36)

3.12.2 Diyaliz Suyunun Absorbans Ölçümü



Şekil 3.37 Diyaliz suyunun absorbans ölçümü

BSA baskılı polimer nanopartikül asetik asit, etanol ve suya karşı diyaliz yapıldı. 2'şer saat asetik asit ve etanolle diyaliz yapıldıktan sonra 2'şer saat su ile yapılan diyalizden alınan örnekler UV spektrofotometreyle 280 nm'deki absorbans ölçümü yapıldı.

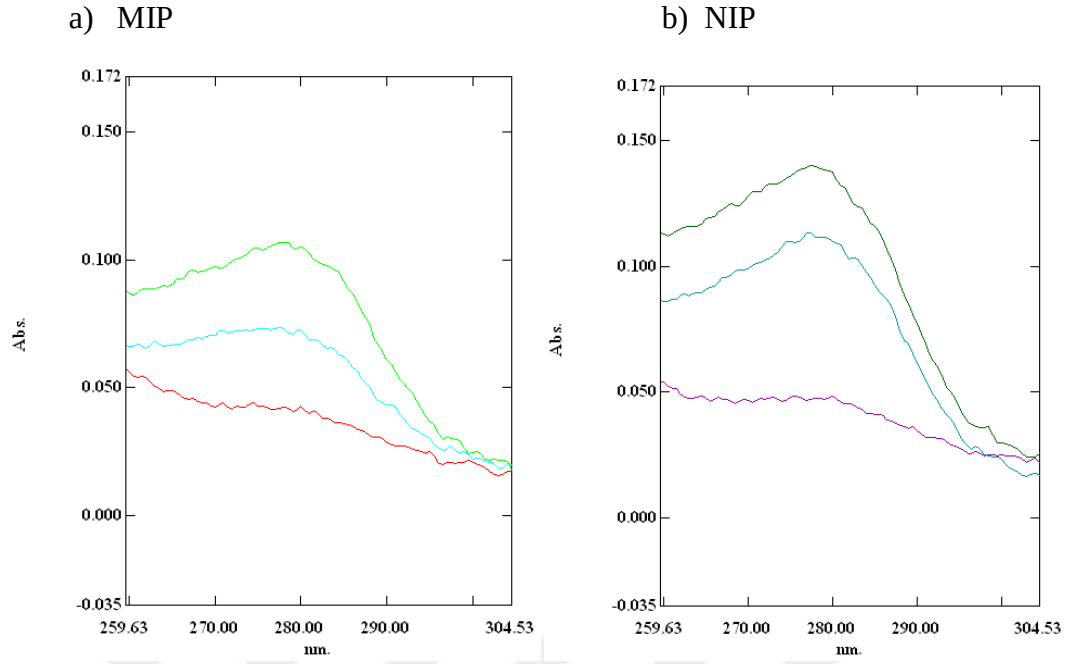
Tablo 3.1 Diyaliz suyu kalibrasyon grafiğinde ölçülen konsantrasyon miktarları

Diyaliz suyu	Absorbans	Konsantrasyon (mg/ml)
1. Diyaliz Suyu	0.016	0.08
2. Diyaliz Suyu	0.012	0.00057
3. Diyaliz Suyu	0	0

Ölçülen absorbans değerlerine, kalibrasyon grafiğinde karşılık gelen konsantrasyonlara bakıldığında, ilk diyaliz suyundan son diyaliz suyuna doğru diyaliz suyu içerisinde kalan BSA miktarının oldukça azaldığı, son diyaliz suyunda mini-emülsiyon içerisinde BSA'nın uzaklaştığı görülmektedir. (Tablo 3.1)

3.13 Proteinin Nanopartiküle Tekrar Bağlanma Prosesi

Daha önceden hazırlanan BSA çözeltisinden seyreltilerek, moleküler baskılanmış polimerler (MIP) ve baskılanmamış polimerler (NIP) için ayrı ayrı 1,6 mg/mL, 1,2 mg/mL ve 0,8 mg/mL konsantrasyonlara sahip protein çözeltileri hazırlandı. 2.08 g/ 2.5 mL diyaliz edilmiş baskılanmış polimerin (MIP) ve 2.24 g/mL baskılanmamış polimerin (NIP) bu protein çözeltilerine ilave edildi, vortekslenip 24 saat karışmaya bırakıldı. Süre sonunda çözeltiler 2600 rpm'de 5 dk. santrifüjlendi.



Şekil 3.38 Süzüntü içerisinde kalan BSA absorbans değerleri a)MIP, b) NIP

Santrifüj edilen malzemeden süzüntü alındı ve süzüntülerdeki BSA miktarını ölçmek üzere UV spektrofotometresi kullanılarak 280 nm'deki absorbansları ölçülüp not edildi. (Şekil 3.38) Not edilen absorbanslar kalibrasyon grafiğinde yerlerine yazılarak, süzüntüde kalan BSA konsantrasyonları bulundu. (Tablo 3.2)

Tablo 3.2 E30 kodlu MIP ve E29 kodlu NIP'in başlangıç ve final BSA konsantrasyonları

C_i (mg/ml)	MIP		NIP	
	Absrb.	C_f (mg/mL)	Absrb.	C_f (mg/mL)
0.8	0.043	0.057	0.047	0.065
1.2	0.107	0.175	0.113	0.186
1.6	0.074	0.1144	0.140	0.235

Buradan yola çıkılarak, polimere tekrar bağlanan BSA miktarını bulmak için

Denklem 1 Tekrar bağlanan protein miktar hesaplama [81]

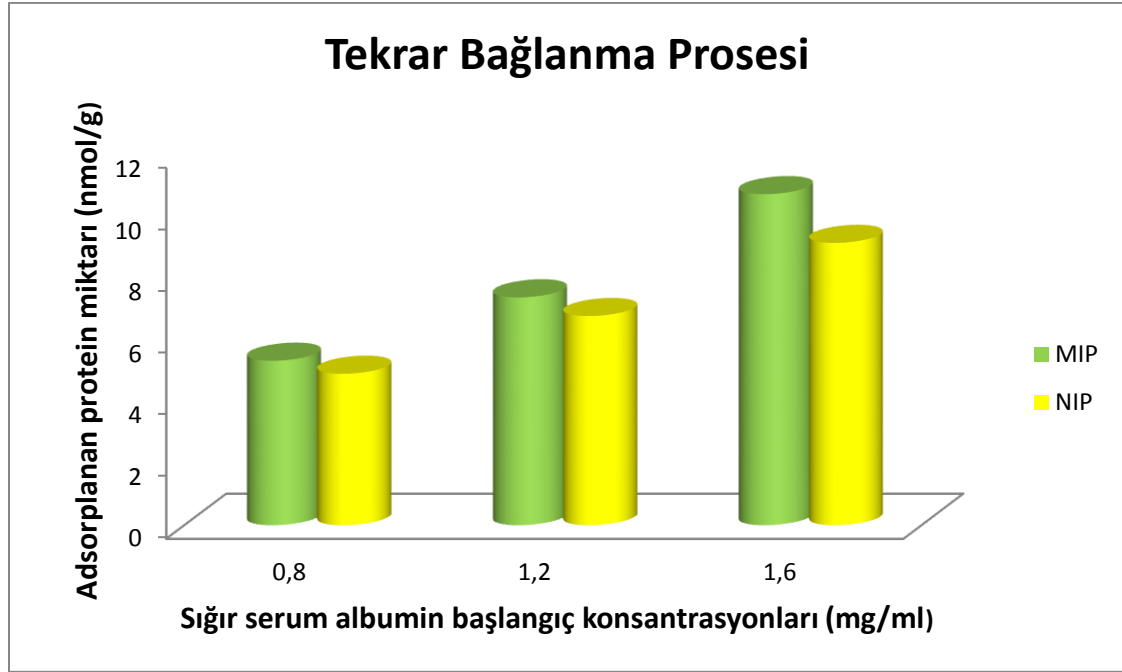
$$Q = \frac{(C_i - C_f) V}{m}$$

Formülünde Q: Polimere bağlanan protein miktarı (mg protein/ g polimer), C_i : Proteinin başlangıç konsantrasyonu, C_f , Son protein konsantrasyonu, V: protein çözeltisinin toplam hacmi, m: karışım içindeki polimerin kütlesi olmak üzere hesap yapıldığında,

Tablo 3.3 E30 kodlu MIP ve E29 kodlu NIP'e bağlanan protein miktarı

Konsantrasyon (mg/mL)	MIP (mg/g)	NIP (mg/g)
0.8	0.36	0.32
1.2	0.5	0.45
1.6	0.7	0.6

Tablo 3.3'de tekrar bağlanma prosesi sonucunda MIP ve NIP'in baskıladığı protein miktarları bulunmuştur. Bu verilerden yola çıkarak, baskılanan protein miktarını nmol/g cinsine çevirilerek Tablo 3.4'te adsorplanan protein miktarı grafikte belirtilmiştir. (Şekil 3.39)



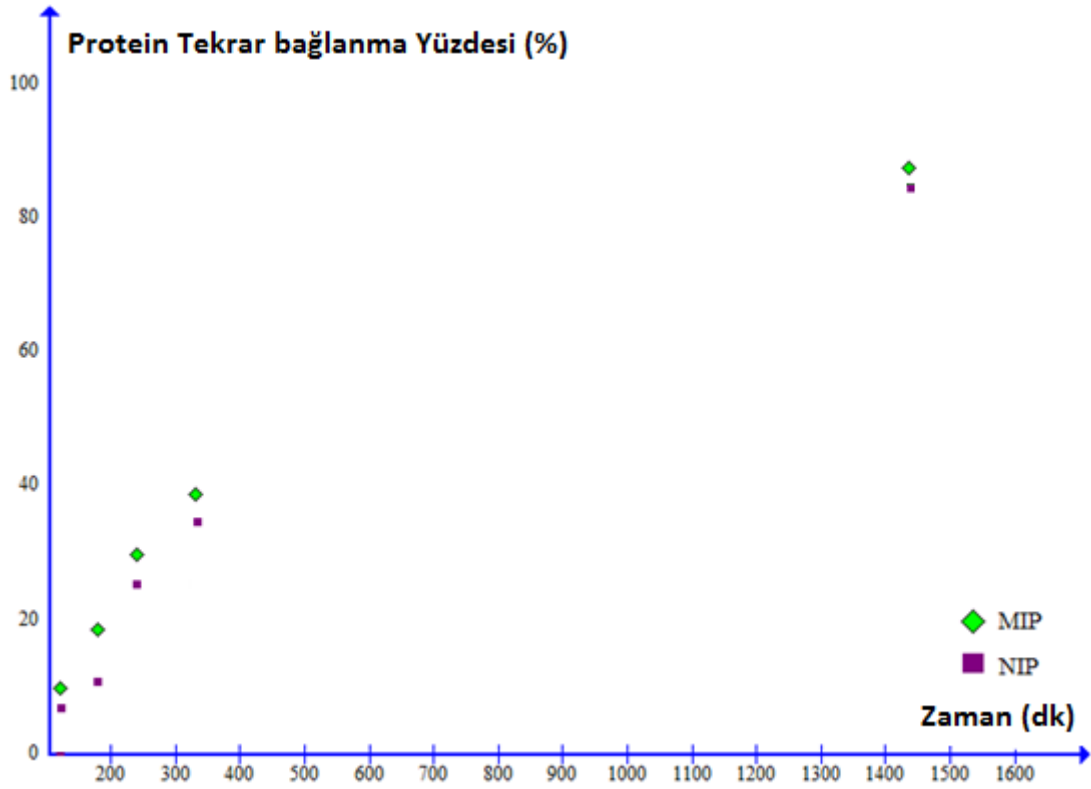
Şekil 3.39 Tekrar bağlanma prosesinde, adsorplanan BSA miktarı

Tablo 3.4 Tekrar bağlanma prosesi- BSA

Konsantrasyon (mg/mL)	MIP (nmol/g)	NIP (nmol/g)
0.8	5.35	4.9
1.2	7.39	6.79
1.6	10.73	9.15

Sonuç olarak MIP ve NIP nanopartikülleri asetik asit, etanol ve suya karşı diyaliz yapılarak içerisinde baskılanmış BSA'dan uzaklaştırılmıştır. MIP'in BSA çözeltisinin içerisine konulduğu zaman, BSA'ya tekrar bağlanabilmiştir. Öte yandan NIP'lerde BSA ile spesifik olmayan etkileşim ile bağlanmaktadır. Nanopartikül yüzey alanı büyük olduğu için yüzeyde adsorpsiyon oluşmaktadır. Ancak Tablo 3.4 'te görüldüğü gibi MIP'in spesifik bağlanma oranı daha fazladır.

3.14 Nanopartikülün BSA'yı Tekrar Bağlama Kinetiği Çalışması



Şekil 3.40 E30 kodlu MIP ve E29 kodlu NIP'in BSA çözeltisi içerisindeki zamana karşı tekrar bağlanma grafiği

Tablo 3.5 Kinetik çalışması

Zaman(dk)	MIP adsorplanan protein %	NIP adsorplanan protein %
120	9.5	8.2
180	18.3	10.3
240	29.4	25.2
330	38.5	35.4
1440	89	84.2

Şekil 3.40 BSA'nın nanopartiküle tekrar bağlanma yüzdesinin zaman içinde değişimi incelendi. MIP nanopartiküller, 120 dk.da BSA çözeltisinden % 9.5 oranında BSA'yı kendine bağlamaktadır. Öte yandan NIP nanopartiküllerde yüzeyinde BSA'yı spesifik olmayan etkileşimlerle tutmaktadır. Zaman ilerledikçe yeniden bağlanan BSA oranı

düzenli olarak artmıştır. MIP polimere BSA'nın yeniden bağlanma hızı NIP'in BSA yüzeyine tutunmasına oranla daha hızlıdır. 24 saat sonunda BSA çözeltisindeki proteinin % 89'u MIP'e bağlanmaktadır.



4 SONUÇLAR

Moleküler baskılanmış polimerler, kolay sentezlenebilmesi, maliyetinin az oluşu ve geniş bir skalada kullanım imkanı sağladığı için günümüzde oldukça tercih edilmektedir.

Bu çalışmada, UV-kürlenene tiyol-en polimerizasyonu ile ilk kez BSA proteini baskılanmış nanopartikül sentezi yapıldı. Bu amaçla öncelikle fonksiyonel monomer olarak kullanılmak üzere fenilalanin, alil bromür ile fonksiyonellendirildi. FT-IR ile istenilen fonksiyonel monomerin başarıyla sentezlendiği ispat edildi. ¹H NMR ile yapı aydınlatılması sonucunda alil modifiye fenilalanin yapısının sentezi tamamlandı.

Kararlı emülsiyon elde edebilmek amacıyla çeşitli monomer formülasyonlarıyla emülsiyonlar çalışıldı. Termal ve fotobaşlatıcı kullanılarak 30 tane mini-emülsiyon denemesi yapıldı. Termal polimerleşmenin 40 °C’de gerçekleştirilmesi nedeniyle proteini denatüre edebileceği kaygısıyla UV-kürlenme yönteminin denemesi yoluna gidildi. Sentezlenen alil fonksiyonel fenilalanin tiyol-en reaksiyonu vermesinden yararlanılarak 2 farklı tiyol-en reaksiyonu yapıldı. Fotobaşlatıcı kullanılarak yapılan UV-kürlenene tiyol-en polimerizasyonunun termal yolla başlatılan tiyol-en reaksiyonuna göre daha kolay ve hızlı olması nedeniyle tercih edildi. Emülsiyonda kararlılığı sağlayabilmek için farklı sürfaktan miktarları kullanıldı. Mini-emülsiyonda nanoboyutlu partiküllerin kararlılığını artırabilmek için hekzadekan, emülsiyon sistemine ko-stabilizatör olarak eklendi ve nanopartiküllerin küresel şeklini koruyup topaklanmadığı gözlemlendi. Optimize edilen formülasyon sonucu yaklaşık 200 nm boyutunda kararlı nanopartiküller elde edildi.

Emülsiyon içerisinde kararlı ve küresel nanopartiküller elde edildikten sonra baskılama ön çalışmasına geçildi. Bu amaçla sığır serum albumin, kararlı partiküller elde edilebilen emülsiyon formülasyonunun içerisine eklenerek baskılama prosesi gerçekleştirildi. 2.08 mg MIP, 1.6 mg proteinin 0.7 mg’ını, 1.2 mg proteinin 0.5 mg’ını ve 0.8 mg proteinin 0.36mg’ını baskılandı. Sonuç olarak farklı konsantrasyonlardaki çözelti içerisinde bulunan BSA’nın % 43’ü başarıyla tekrar bağlandı. BSA baskılanmış nanopartiküllerde STEM ile yapılan morfolojik incelemede partikül boyutunun oldukça büyüdüğü ve ortalama 280 nm boyuta ulaştığı tespit edildi. Polar solventlerin kullanıldığı diyaliz yöntemiyle şablonun uzaklaştırıldığında FT-IR

karakterizasyonundan ve absorbans ölçümleri ile incelendi. DSC analizi ile BSA'ya ait erime pikinin MIP'in termogramında tespit edilmesi de baskılamayı kanıtlamaktadır. Farklı konsantrasyonlardaki sığır serum albumin çözeltisine şablonun uzaklaştırıldığı polimer partiküller eklendiğinde, BSA'ya tekrar bağlanabildiği görüldü. Ayrıca FT-IR ile 1652 cm^{-1} ve 1540 cm^{-1} deki piklerdeki şiddetlenme ile BSA'nın yapıya eklendiğini göstermektedir. Aynı işlem kontrol polimeri ile gerçekleştirildi. Kinetik çalışmasında da baskılanmış polimerin kontrol polimerinden mini-emülsiyonda nanoboyutta partiküllerin kararlılığını arttırabilmek için daha hızlı bir kinetiğe sahip olduğu görüldü.

Optimize edilen mini-emülsiyon formülasyonundan yola çıkılarak difteri toksini baskılama çalışması gelecek dönemde hedeflerimiz arasındadır. Bu tez çalışması ile edindiğimiz bilgi birikimi ile monomer/sürfaktan oranı çapraz bağlayıcı oranı, değiştirilerek difteri toksinini yüksek oranda bağlayabilecek bir MIP yapılması mümkün olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Dickey F. H. 1931 The preparation of specific adsorbents. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 35, 227-229
2. Wulff G., Sarhan A. 1972 Über die anwendung von enzymanalog gebauten polymeren zur racemattrennung. *Angewandte Chemie*, 84 (8), 364
3. Arshady R., Mosbach M. 1981 Synthesis of substrate-selective polymers by host-guest polymerization. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 182 (2), 687-692
4. Whitcombe M. J. , Rodriguez M. E., Villar P., Vulfson E. N. 1995 A new method for the introduction of recognition site functionality into polymers prepared by molecular imprinting- synthesis and characterization of polymeric receptors for cholestrol. *Journal of the American Chemical Society*, 117 (27), 7105-7111
5. Sellergren B., Allender C. J. 2005 Molecularly imprinted polymers: A bridge to advanced drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57 (12), 1733-1741
6. K. Haupt, K. 2000 Mosbach, Molecularly im-printed polymers and their use in biomimetic sensors. *Chemical Reviews* 100 2495–2504
7. Vasapollo G. Sole R. D. Mergola L. Lazzoi M. R. Scardino A. Scorrano Mele S. 2011 Molecularly Imprinted Polymers: Present and Future Prospective. *International Journal of Molecular Science*, 12 (9), 5908-5945
8. Yu P., Sun Q, Li J., Tan Z., Yan Y., Li C. 2015 Selective removal of 2,4-dichlorophenol in aqueous solutions by nanoparticles modified yeast using miniemulsion imprinting polymerization. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 3(2), 797-806
9. Yu P., Sun Q., Li J., Tan Z., Yan, Y., Li, C. 2015 Magnetic imprinted nanomicrosphere attached to the surface of bacillus using miniemulsion polymerization for selective recognition of 2,4,6-trichlorophenol from aqueous solutions. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 29, 349-358
10. Venkatesha S., Saha J., Pass S., Byrne M. E. 2008 Transport and structural analysis of molecular imprinted hydrogels for controlled drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 69 (3), 852–860
11. Gao R., Hao Y., Zhang L., Cui X., Liu D., Zhang M., Tang Y., Zheng Y. 2016 A facile method for protein imprinting on directly carboxyl-functionalized magnetic

- nanoparticles using non-covalent template immobilization. *Chemical Engineering Journal*, 284(15), 139-148
12. Cheong W. J., Ali F., Choi J. H., Lee O. J. S. K. Y. 2013 Recent applications of molecular imprinted polymers for enantio selective recognition. *Talanta*, 106 45–59
 13. Wulff G. Kemmerer, R., Vietmeier, J., Poll. H. G. 1982 Chirality of vinyl-polymers-the preparation of chiral cavities in synthetic-polymers. *Nouveau Journalde Chimie* 6, 681.
 14. Vasapollo G., Sole D. R., Mergola L., Lazzoi M. R., Scardino A., Scorrano S., Mele G. 2011 Molecularly Imprinted Polymers: Present and Future Prospective. *International Journal of Molecular Science*, 12 (9) 5908-5945
 15. O'Mahony, J., Nolan K., Smyth M. R., Mizaikoff B. 2005 Molecularly imprinted polymers-potential and challenges in analytical chemistry. *Analytica Chimica Acta*, 534 (1), 31–39.
 16. Cormack, P. A. G., Elorza A. Z. 2005 Molecularly imprinted polymers: Synthesis and characterization. *Journal of Chromatography B*, 804, 173–182.
 17. Wulff G., Vietmeier J., Poll H. G. 1987 Enzyme analogue built polymers, influence of the nature of the crosslinking agent on the performance of imprinted polymers in racemic resolution. *Die Makromolekulare Chemie*, 188 (4), 731–740
 18. Ramstrom O. 1998 Molecular Imprinting Technology: Challenges and Prospects for the Future .*Chirality*, 10, 195–209
 19. Gai Q., Qu F., Zhang Y. 2010 The Preparation of BHb-Molecularly Imprinted Gel Polymers and Its Selectivity Comparison to BHb and BSA. *Separation Science and Technology*, 45 (16), 2394-2399
 20. Abrão L. C. C., Maia P. P., Figueiredo E. C. 2014 Determination of tetracyclines by solid-phase extraction with a molecularly imprinted polymer and high performance liquid chromatography. *Analytical Letters*, 47 (13), 2183-2194
 21. Chen L., Wang X., Lu W., Wu X., Li J. 2016 Molecular imprinting: perspectives and applications. *Chemical Society Reviews*, 45, 2137-2211
 22. Yan H., Row K. H. 2006 Characteristic and Synthetic Approach of Molecularly Imprinted Polymer. *International Journal of Molecular Science*, 7(5), 155-178
 23. Mosbach, K. 1991 Binding studies on substrate- and enantio-selective molecularly imprinted polymers. *Analytical Letters*, 24 (7), 1137-1145

24. D.J. O'Shannessy, Ekberg B., Mosbach K. 1989 Molecular imprinting of amino acid derivatives at low temperature (0°C) using photolytic homolysis of azobisnitriles. *Analytical Biochemistry*, 177 (1), 144-149
25. Wulff, G., Sarhan A., Zabrocki K 1973 Enzyme analogue built polymers and their use for the resolution of racemates. *Tetrahedron Letters*, 14 (44), 4329-4332.
26. Takeuchi T., Sunayama H. 2015 Molecularly Imprinted Polymers. *Encyclopedia of Polymeric Nanomaterials*, 291-1295
27. Rushton G. T., Furmanski B., Shimizu K. D. 2005 Plastic Antibodies: Molecular Recognition with Imprinted Polymers. *Journal of Chemical Education*, 82 (9), 1374-1377
28. Esteban A. M. 2013 Molecularly-imprinted polymers as a versatile, highly selective tool in sample preparation. *Trends in Analytical Chemistry*, 45 168-181
29. Xu , Boyer C. 2015 Visible Light Photocatalytic Thiol–Ene Reaction: An Elegant Approach for Fast Polymer Postfunctionalization and Step-Growth Polymerization. *Macromolecules*, 48 (3), 520–529
30. Acebo C., Francos F. X., Ramis X., Serra À 2016 Multifunctional allyl-terminated hyperbranched poly(ethyleneimine) as component of new thiol–ene/thiol–epoxy materials. *Reactive and Functional Polymers*, 99, 17–25
31. Campos L. M., Killops K. L., Sakai R., Paulusse J. M. J., Damiran D., Drockenmuller E., Messmore W. B., Hawler C.J., 2008 Development of thermal and photochemical strategies for thiol-ene click polymer functionalization. *Macromolecules*, 41 (19), 7063-7070
32. Morgan, C. R., Magnotta F., Ketley A. D. 1977 Thiol/ene photocurable polymers. *Journal of Polymer Science Polymer Chemistry Edition*, 15 (3), 627-645
33. Song R. 2015 Synthesis of Glutathione Imprinted Polymer Particles via Controlled Living Radical Precipitation Polymerization. *Chinese Journal of Polymer Science* 33 (3), 404-415
34. Li P., Rong F., Yuan C. 2003 Morphologies and binding characteristics of molecularly imprinted polymers prepared by precipitation polymerization. *Polymer International*, 52(12), 1799–1806

35. Mosbach K., Mayes A. G. 1996 Molecularly imprinted polymer beads: suspension polymerization using a liquid perfluorocarbon as the dispersing phase. *Analytical Chemistry*, 68 (21), 3769-3777
36. Abraham J., Mathew B. 2014 Grafting of molecularly imprinted polymer on multiwalled carbon nanotube for highly selective and sensitive determination of Thymine *European Journal of Engineering and Scientific Research*, 3 (3), 26-33
37. Beltran A., Marcé R. M., Cornack P.A.G., Borrull F. 2009 Synthesis by precipitation polymerisation of molecularly imprinted polymer microspheres for the selective extraction of human carbamazepine from human urine. *Journal of Chromatography A*, 1216 (12), 2248–2253.
38. www.wikipedia.com 20 Mart 2016
39. Chen L., Xu S., Li J. 2011 Recent advances in molecular imprinting technology: current status, challenges and highlighted applications. *Dynamic Article Links Chemical Society Reviews*. 40, 2922–2942
40. Torres J. J, Montejano H. A., Chesta C. A 2012 Characterization of imprinted microbeads synthesized via minisuspension polymerization. *Macromolecular Materials and Engineering*, 297 (4), 342–352
41. L. Chen, Xu S., Li J. 2011 Recent advances in molecular imprinting technology: current status, challenges and highlighted applications. *Dynamic Article Links Chemical Society Reviews*, 40 (5), 2922-2942
42. Wang J., Corack P. A. G, Sherrington D. C. 2003 Monodisperse, Molecularly Imprinted Polymer Microspheres Prepared by Precipitation Polymerization for Affinity Separation Applications. *Angewandte Chemie International Edition*, 42 (43), 5336-5338
43. Li P., Yuan C. 2013, Morphologies and binding characteristics of molecularly imprinted polymers prepared by precipitation polymerization. *Polymer International*, 52 (12), 1799-1806
44. Gokmen M. T., Prez F.E. D. 2012 Porous polymer particles a comprehensive guide to synthesis, characterization, functionalization and applications. *Progress in Polymer Science*, 37 (3), 365–405

45. Hecht L. L., Schoth, Espi R. M., Javadi A., Köhler K., Miller R., Landfester K. 2013 Determination of the ideal surfactant concentration in miniemulsion polymerization. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 214 (7), 812–823
46. Fontenot K, Schork F. J. 1993 Sensitivities of droplet size and stability in monomeric emulsions. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 32 (2), 373-85
47. Ugelstad J., El-aasser M. S., Vanderhoff J. W. 1973 Emulsion polymerization: initiation of polymerization in monomer droplets. *Journal Polymer Science: Polymer Letters Edition*, 11 (8), 503–513
48. <https://en.wikipedia.org/wiki/Miniemulsion> 03 Nisan 2016
49. Tan C. J., Tong Y. W. 2007 The effect of protein structural conformation on nanoparticle molecular imprinting of ribonuclease A using miniemulsion polymerization. *Langmuir*, 23 (5), 2722-2730
50. Asua J. M. 2002 Miniemulsion polymerization. *Progress in Polymer Science*, 27 (7), 1283-1346
51. Bardajee G. R., Vancaeyzeele C., Haley J. C., Li A. Y., Winnik M. A. 2007 Synthesis, characterization, and energy transfer studies of dye-labeled poly(butyl methacrylate) latex particles prepared by miniemulsion polymerization. *Polymer*, 48 (20), 5839–5849
52. Fontenot K. J. 1997 Miniemulsion polymerization process using polymeric co-surfactant 5686518 A Nov. 11
53. Wang C. C., Yu N.S., Chen C. Y. 1996 Kinetic study of the mini-emulsion polymerization of styrene. *Polymer*, 37 (12), 2509-2516
54. X. Zhou Belcher, Dastoor P. 2014 Solar paint: from synthesis to printing polymers. *Polymer* 6 (11) 2832-2844
55. Ugelstad J. El-Aasser, Vanderhoff J.W. 1973 Emulsion polymerization: initiation of polymerization in monomer droplets *journal of polymer science: Polymer Letters Edition*, 11 (8), 503-513
56. Rodriguez V. S., El-Aasser M. S., Asua J. M., Silebi C. A. 1989 Miniemulsion copolymerization of styrene-methyl methacrylate. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 27 (11), 3659-3671

57. Huang H. Z., Zhang H., Li J., Cheng S., Hu F., Tan B. 1998 Miniemulsion copolymerization of styrene and butly acrylate initiated by redox system at lower temoerature preparation and polymerization of miniemulsion. *Journal of Applied Polymer Science*, 68, 2029-2039
58. Zhou T. C., Zhang Ka, Kamra T., Bülow L., Ye L. 2015 Preparation of protein imprinted polymer beads by pickering emulsion polymerization. *Journal of Material Chemistry*, 3, 1254–1260
59. Tan C. J., Chua H. G., Ker K. H., Tong Y. W. 2008 Preparation of bovine serum albumin surface-imprinted submicrometer particles with magnetic susceptibility through core-shell miniemulsion polymerization. *Anaytical Chemistry*. 80 (3), 683–692
60. Zhang1 X., Yang Shu, Sun L., Luo A. 2016 Surface-imprinted polymer coating L-cysteine-capped ZnS quantum dots for target protein specific recognition. *Journal of Material Science*, 51 (12), 6075–6085
61. Hoshino Y., Kodama T., Okahata Y., Shea K. J. 2008. Peptide imprinted polymer nanoparticles: a plastic antibody. *Journal of the American Chemical Society*, 130(46), 15242–15243
62. Shen X., Zhou T, Ye L. 2012 Molecularly imprinting of protein in Pickering emulsion. *Chemical Communication* 48, 8198–8200
63. Vaihinger D., Landfester K., Kräuter, Brunner H. 2002 Molecularly imprinted polymer nanospheres as syntheticaffinity receptors obtained by miniemulsion polimerization. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 203 (13), 1965–1973
64. Tan C. J., Wangrangsimakul S., Bai R., Tong Y. W. 2008 Defining the interactions between proteins and surfactants for nanoparticle surface imprinting through miniemulsion polymerization. *Chemistry of Materials*, 20 (1), 118–127
65. Pluhar B., Ziener U., Mizaikoff B. 2013 Surface imprinting of pepsin via miniemulsion polymerization. *Journal of Material Chemistry*, 1, 5489–5495
66. <http://www.biowest.net/> (12 Nisan 14)
67. <http://biyokure.org/> (11 Mart 2011)
68. Giancola C., Sena C. D., Fessas D., Graziano G., Barone G. 1997 DSC studies on bovine serum albumin denaturation effects of ionic strength and SDS concentration. *International Journal of Biological Macromolecules*, 20 (3) 193-204

69. Yokose R., Shimasaki T., Teramoto N., Shibata M. Amino acid-incorporated polymer network by thiol-ene polymerization *eXPRESS Polymer Letters*, 9(8) 744–755
70. Amato D. V., Amato D. N., Flynt A. S., Patton D. L., 2015 Functional, sub-100 nm polymer nanoparticles via thiol-ene miniemulsion photopolymerization. *Polymer Chemistry* 6, 5625
71. Sener G., Uzun L., Say R., Denizli A. 2011 Use of molecular imprinted nanoparticles as biorecognition element on surface plasmon resonance sensor *Sensors and Actuators B: Chemical*, 16 (1), 791-799
72. <http://www.chemicalbook.com/> (08 Nisan 2016)
73. Siepmann J., Banker G. S., Rhodes C. 2002. "Disperse systems" *Modern Pharmaceutics*, Marcel Dekker Newyork,
74. Huang P. ve ark. 2010 Synthesis and Characterization of Bovine Serum Albumin-Conjugated Copper Sulfide Nanocomposites *Journal of Nanomaterials* 2010, 6
75. Tan J. C., Tong Y. W. 2007 The Effect of Protein Structural Conformation on Nanoparticle Molecular Imprinting of Ribonuclease A Using Miniemulsion Polymerization. *Langmuir*, 23 (5), 2722-2730
76. Torres J. J., Montejano H. A., Chesta C. A. 2012 Characterization of Imprinted Microbeads Synthesized via Minisuspension Polymerization. *Macromolecular Material Engineering*, 297 (4), 342–352
77. Tan C. J. 2007 The Effect of Protein Structural Conformation on Nanoparticle Molecular Imprinting of Ribonuclease A Using Miniemulsion Polymerization. *Langmuir*, 23 (5) 2722-2730
78. Gökmen M. T., Filip E., Prez Du 2012 Porous polymer particles A comprehensive guide to synthesis, characterization, functionalization and applications. *Progress in Polymer Science*, 37 (3), 365– 405
79. Beyler Craig ve Hirschler Marcelo Thermal Decomposition of Polymers *SFPE Handbook* 7 2002
80. Michnik A. 2003 Thermal Stability Of Bovine Serum Albumin DSC study. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 71 (2), 509–519
81. Tan J. C., Chaua H. G, Ker K., Tong Y. W. 2008 Preparation of BSA surface imprinted submicrometer particles with magnetic susceptibility through core-shell miniemulsion polymerization. *Analytical Chemistry*, 80 (3), 683-692

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Merve YAŞAR
DoğumYeri ve Tarihi : ÜSKÜDAR 1992
Yabancı Dil : İngilizce
E-Posta : merveyasar.my@gmail.com

Öğrenim Durumu

Derece	Bölüm/Program	Üniversite/Lise	MezuniyetYılı
Lise	Fen	Çamlıca Kız Lisesi	2010
Üniversite	Kimya	Marmara Üniversitesi	2014

İş Deneyimi

Yıl	Firma/ Kurum	Görevi
2013	Deren Kimya	Stajyer

Kongre Etkinliği

Uluslararası Kongre

Merve Yaşar, Nilhan Kayaman Apohan, M. Vezir Kahraman, Handan Akçakaya
Molecularly Imprinted Polymeric Nanoparticle: Preparation and Characterization
International Conference and Exhibition on Materials Chemistry 31 March- 01 April 2016
Valencia, SPAIN