

**TEOFİLİN BASKILI KRİYOJELLERİN SENTEZİ VE
KARAKTERİZASYONU**

**SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF
THEOPHYLLINE IMPRINTED CRYOGELS**

GAMZE KUTLUSOY

DOÇ. DR. MURAT TORUN

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Kimya Anabilim Dalı için Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2021

ÖZET

TEOFİLİN BASKILI KRİYOJELLERİN SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU

GAMZE KUTLUSOY

Yüksek Lisans, Kimya Bölümü

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Murat Torun

Ağustos 2021, 108 sayfa

Bu tez çalışmasında, teofilin baskılı poli(2-hidroksietil metakrilat/akrilamid) kriyojel membranların tablet formunda sentezi ve karakterizasyonu yapılarak teofilinin sudan alınması için etkin bir adsorben geliştirilmesi hedeflenmiştir. Çok düşük sıcaklıklarda kimyasal yöntemle tablet formunda kriyojel membranlar sentezlenmiştir. Teofilin baskılamanın ve akrilamidin 2-hidroksietil metakrilata getirdiği üstünlükler tartışılmıştır. Kriyojel membranlarda akrilamid bulunmasının ve teofilinin baskılamanın adsorpsiyon kapasitesini arttırdığı gözlenmiştir. Sentezlenen kriyojel membranlar Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi, Termogravimetri, Tarayıcı Elektron Mikroskobu ve Branuer Emmett ve Teller yüzey gözenekliliği analizi ile yapısal, termal ve gözeneklilik karakterize edilmiştir. Baskılanmış kriyojel membranlar için toplam yüzey alanı ve gözenek hacmi baskılanmamış kriyojel membranlara göre daha fazla bir değere sahip olduğu gözlenmiştir. Dengedeki yüzde şişme testlerinden elde veriler, yapının belli bir makrogözenekliliğe sahip olduğunu göstermiştir. Makrogözeneklilik teofilin salmış poli(2-hidroksietil metakrilat/akrilamid) kriyojel membranlarında % 55,2 olarak gözlenmiştir. Branuer Emmett ve Teller yüzey gözenekliliği analizi sonuçlarından elde edilen ortalama verilere göre, poli(2-hidroksietil metakrilat/akrilamid) kriyojellerinde makrogözeneklerden başka mikro ve mezogözeneklerin de varlığı değerlendirilmiştir. Teofilin miktarı

Ultraviyole ve görünür ışık absorpsiyon spektroskopisi ile belirlenmiş olup, teofilin baskılanmış ve baskılanmamış kriyojel membranların adsorpsiyon kapasitesinin maksimum değeri pH 7’de bulunmuştur ve yapılan bütün çalışmalar için bu pH değeri kullanılmıştır. Teofilin baskılanmış kriyojel membranlar için pH 7 değerinde adsorpsiyon kapasitesi 16,2 mg/g olarak bulunmuştur. Akrilamid içermeyen 2-hidroksietil metakrilat kriyojel membranların adsorpsiyon kapasitesinin pH değerinden etkilenmediği gözlenmiştir. İyonik şiddetin adsorpsiyon kapasitesine etkisini incelemek için sodyum klorür ve sodyum sülfat tuzları kullanılmıştır. İyonik şiddetin adsorpsiyon kapasitesini düşürdüğü saptanarak teofilinin yapıya hidrojen bağları yaparak difüzlendiği kanaatine varılmıştır. 0,5 M sodyum klorürün adsorpsiyon kapasiteni 14 mg/g değerine düşürdüğü gözlenmişken, aynı derişimdeki sodyum sülfat için bu değer 13,1 mg/g olarak gözlenmiştir. Sabit teofilin derişimi içeren çözeltide kriyojel membranların miktarı ile adsorpsiyon kapasitesinin ters orantılı değıştiğı gözlenmiştir, adsorpsiyon kapasitesi 0,018 gram kriyojel için 36,3 mg/g gözlenirken, bu değer 0,12 gram kriyojel için 16,2 mg/g olarak gözlenmiştir. Sabit kütleli kriyojel membranlarla etkileşen teofilin çözeltisinde, teofilin derişimi ile adsorpsiyon kapasitesinin doğru orantılı değıştiğı gözlenmiştir, 400 ppm teofilin içeren çözeltide 0,12 gram kriyojel için adsorpsiyon kapasitesi 16,2 mg/g olarak gözlenmiştir. Daha yüksek teofilin derişimlerinde adsorpsiyon kapasitesinde herhangi bir değışim gözlenmemiştir. 15°C ile 60°C arasında değışen sıcaklıklarda adsorpsiyon kapasiteleri ölçülmüş ve sıcaklıkla ters orantılı değıştiğı gözlenmiştir. Standart entalpi değışim değerlerinin değışimine göre adsorpsiyon prosesi ekzotermik, standart Gibbs serbest enerjisi değışimi ve standart entropi değışim değerlerinin değışimine göre ise teofilinin poli(2-hidroksietil metakrilat/akrilamid) kriyojel membranlarına adsorpsiyonunun istemsiz olduğı gözlenmiştir. Standart Gibbs serbest enerjisi değışim değeri sıcaklığa bağılı olarak, (9,053-7,126) kJ/mol, standart entalpi değışim değeri -6,2 kJ/mol ve standart entropi değışim değeri ise -46,0 kJ/mol olarak bulunmuştur. Adsorpsiyon izoterm modellemesi Langmuir ve Freundlich izotermi için yapılmış olup, adsorpsiyon prosesinin Langmuir izotermine daha uygun olduğı saptanmıştır. Bu modellemeye göre, maksimum adsorpsiyon kapasitesi 30,3 mg/g, ayırma faktörü bütün derişimlerde 0 ile 1 arasında, Langmuir sabiti ise $4,49 \times 10^{-3}$ L/mg olarak saptanmıştır. Teofilinin poli(2-hidroksietil metakrilat/akrilamid) kriyojel membranları ile etkileşim süresi takip edilmiş olup 30 dakikada adsorpsiyon dengesine ulaşıldığı gözlenmiştir. Yalancı birinci dereceden ve yalancı ikinci dereceden kinetik modellemeleri adsorpsiyon

prosesleri için denemiş olup, adsorpsiyon prosesinin yalancı ikinci dereceden modellemesine uyduğu gözlenmiştir. Bu modellemede, teorik adsorpsiyon kapasitesi 13 mg/g, adsorpsiyon hız sabiti ise 0,1mg/(L.dakika) olarak bulunmuştur. Teofilinin kriyojel membranlardan maksimum desorpsiyon kapasitesi pH 3'te 15,2 mg/g (%94) olarak bulunmuştur. Poli(2-hidroksietil metakrilat/akrilamid) kriyojel membranları kimyasal ve fiziksel kararlılığını koruyarak 10 defa kullanılabileceği saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Teofilin, moleküler baskılama, kriyojel membranlar



ABSTRACT

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF THEOPHYLLINE IMPRINTED CRYOGELS

GAMZE KUTLUSOY

Master of Science, Department of Chemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Murat Torun

August, 2021, 108 pages

In this thesis, it is aimed to develop an effective adsorbent for theophylline removal from water by synthesis and characterization of theophylline-imprinted poly(2-hydroxyethyl methacrylate/acrylamide) cryogel membranes in tablet form. Cryogel membranes in tablet form were synthesized by chemical method at very low temperatures. The advantages of theophylline suppression and acrylamide over 2-hydroxyethyl methacrylate are discussed. It has been observed that the presence of acrylamide in cryogel membranes and theophylline suppression increase the adsorption capacity. The synthesized cryogel membranes were characterized for structural, thermal and porosity by Fourier Transform Infrared Spectroscopy, Thermogravimetry, Scanning Electron Microscopy, and Branuer Emmett and Teller surface porosity analysis. It has been observed that the total surface area and pore volume for imprinted cryogel membranes have a higher value than non-imprinted cryogel membranes. Data from percent swelling tests at equilibrium showed that the structure had a certain macroporosity. Macroporosity was observed as 55.2% in theophylline released poly(2-hydroxyethyl methacrylate/acrylamide) cryogel membranes. According to the average data obtained from the Branuer Emmett and Teller surface porosity results, the presence of micro and mesopores other than macropores in poly(2-hydroxyethyl methacrylate/acrylamide) cryogels was evaluated. The theophylline amount

was determined by Ultraviolet and visible light absorption spectroscopy and the maximum value of the adsorption capacity of theophylline-imprinted and non-imprinted cryogel membranes was found to be highest at pH 7, and this pH value was used for all studies. The maximum adsorption capacity for imprinted cryogels was determined as 16.2 mg/g at pH 7. It was observed that the adsorption capacity of 2-hydroxyethyl methacrylate cryogel membranes that do not contain acrylamide was not affected by pH value. The effect of ionic strength on adsorption capacity was tested by using sodium chloride and sodium sulphate. It was determined that the ionic strength decreased the adsorption capacity, and it was concluded that theophylline diffused into the structure by making hydrogen bonds. While it was observed that 0.5 M sodium chloride reduced the adsorption capacity to 14 mg/g, this value was observed as 13.1 mg/g for sodium sulfate at the same concentration. It has been observed that the adsorption capacity of the cryogel membranes varies inversely with the mass of the cryogel membranes in the solution containing constant theophylline concentration, while the adsorption capacity is 36.3 mg/g for 0.018 grams of cryogel, this value is observed as 16.2 mg/g for 0.12 grams of cryogel. In the theophylline solution interacting with the constant mass cryogel membranes, it was observed that the adsorption capacity changed directly with the theophylline concentration, and the adsorption capacity was observed as 16.2 mg/g for 0.12 grams of cryogel in a solution containing 400 ppm theophylline. In the theophylline solution interacting with the constant mass cryogel membranes, it was observed that the adsorption capacity changed directly with the theophylline concentration, and the adsorption capacity was observed as 16.2 mg/g for 0.12 grams of cryogel in a solution containing 400 ppm theophylline. No change in adsorption capacity was observed at higher theophylline concentrations. Adsorption capacities were measured at temperatures ranging from 15°C to 60°C and it was observed that they changed inversely with temperature. According to the change of standard enthalpy change values, the adsorption process is exothermic, and according to the change of standard Gibbs free energy change and standard entropy values, the adsorption of theophylline on 2-hydroxyethyl methacrylate/acrylamide cryogel membranes is involuntary. Depending on the temperature, the standard Gibbs energy change value was found to be (9,053-7,126) kJ/mol, the standard enthalpy change value was -6.2 kJ/mol and the standard entropy change value was -46.0 kJ/mol. The adsorption isotherm modeling was performed for Langmuir and Freundlich isotherms, and it was determined that the adsorption process was more suitable for the Langmuir isotherm. According to this

modeling, the maximum adsorption capacity was 30.3 mg/g, the separation factor was between 0 and 1 at all concentrations, and the Langmuir constant was 4.49×10^{-3} L/mg. The interaction time of theophylline with 2-hydroxyethyl methacrylate/acrylamide cryogel membranes was followed and it was observed that adsorption equilibrium was reached in 30 minutes. Pseudo-first-order and pseudo-second-order kinetic models have been tested for adsorption processes and it has been observed that the adsorption process fits the pseudo-second-order modeling. In this modeling, the theoretical adsorption capacity was found to be 13 mg/g and the adsorption rate constant was found to be 0.1mg/(L.min). The maximum desorption capacity of theophylline from cryogel membranes was found to be 15.2 mg/g (%94) at pH 3. It has been determined that poly(2-hydroxyethyl methacrylate/acrylamide) cryogel membranes can be used 10 times while maintaining their chemical and physical stability.

Keywords: Theophylline, molecular imprinting, cryogel membranes

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyuncaengin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, sadece bilimsel anlamda değil sahip olduğu eşsiz bilgisiyle hayatıma yön veren, desteğini benden esirgemeyerek her zaman yanımda olduğunu hissettiren değerli hocam Doç. Dr. Murat TORUN’a,

Tezimin deneysel çalışmasının ilk gününden son gününe kadar büyük fedakarlıklarla bana zaman ayıran ve laboratuvar imkanlarını kullandığım kıymetli hocam Prof. Dr. Lokman UZUN’a,

Tezimin adsorpsiyon ve desorpsiyon çalışmalarını gerçekleştirmemde laboratuvar imkanları ile destekleyen ve bana çalışma fırsatını veren değerli hocam Arş. Gör. Dr. Canan Armutçu ve ekibine,

Hayatım boyunca bana her koşulda destek veren ve sabır gösteren, önceliklerini benim önceliklerine göre değiştiren ve bunun karşılığını hiçbir zaman tam olarak ödeyemeyeceğim, bu günlere gelmemde en büyük katkıları olan canım aileme,

Yüksek lisans eğitimime başladığım ilk günden son gününe kadar yanımda olan ve desteğini esirgemeyen kıymetli dostlarım Sadettin BAŞTÜRK’e ve Sündüz ALEMDAR’a,

Sonsuz Teşekkürler.

Gamze KUTLUSOY

AĞUSTOS 2021, ANKARA

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
ÇİZELGELER.....	xi
ŞEKİLLER	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Teofilin	5
2.1.1. Teofilinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	5
2.1.2. Teofilin Kaynakları, Eldesi.....	6
2.1.3. Teofilin İzolasyonu ve Tayin Yöntemleri.....	7
2.1.4. Teofilinin Uygulama Alanları.....	8
2.2. Moleküler Baskılama Teknolojisi	10
2.2.1. Moleküler Baskılama Teknikleri	11
2.2.2. Kovalent Baskılama Yöntemi	12
2.2.3. Kovalent Baskılamanın Avantajları.....	12
2.2.4. Kovalent Baskılamanın Dezavantajları.....	12
2.2.5. Kovalent Olmayan Baskılama Yöntemi	13
2.2.6. Kovalent Olmayan Baskılama Yönteminin Avantajları	14
2.2.7. Kovalent Olmayan Baskılama Yönteminin Dezavantajları.....	14
2.2.8. Yarı Kovalent Moleküler Baskılama Yöntemi	15
2.2.9. Moleküler Baskılamada Kullanılan Parametrelerin İşlevleri.....	16
2.2.10. Hedef (Kalıp) Molekül.....	17

2.2.11. Fonksiyonel Monomer	17
2.2.12. Çapraz Bağlayıcı.....	19
2.2.13. Başlatıcılar (Radikal Oluşturucular)	21
2.2.14. Çözücüler (Gözenek Oluşturucular)	22
2.3. Moleküler Baskılı Polimerler (MIP'ler).....	23
2.4. Kriyojeller.....	25
2.4.1. Moleküler Baskılı Kriyojeller	27
2.4.2. Moleküler Baskılı Kriyojellerin Sentezi	27
2.4.3. Moleküler Baskılamada Kriyojellerin Avantajları ve Dezavantajları	34
2.4.4. Teofilin Adsorpsiyonu ve Baskılanması İle Yapılmış Literatür Çalışmaları.....	36
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	41
3.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler.....	41
3.2. Teofilin Baskılanmış Kriyojel Membranların Hazırlanması	41
3.3. Karakterizasyon Çalışmaları.....	43
3.3.1. Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi (FTIR) Analizleri	43
3.3.2. Termogravimetrik (TGA) Analizler	43
3.3.3. Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) Analizleri.....	44
3.3.4. Braunauer Emmett Teller (BET) Analizleri	44
3.3.5. Şişme Davranışlarının İncelenmesi	44
3.4. Adsorpsiyon ve Desorpsiyon Verilerinin Analizi	45
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	47
4.1. Karakterizasyon Çalışmaları.....	47
4.1.1. Fourier Dönüşümlü Infrared (FTIR) Spektroskopisi Analizleri	48
4.1.2. Termogravimetrik (TGA) Analizleri	50
4.1.3. Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) Görüntüleri	56
4.1.4. Yüzey Alanı Analizleri ve Şişme Testleri	57
4.2. Adsorpsiyon Çalışmaları	59

4.2.1.pH Değerinin Adsorpsiyon Kapasitesine Etkisi	59
4.2.2. İyonik Şiddetin Adsorpsiyon Kapasitesine Etkisi	60
4.2.3. Kriyojel Membran Miktarının Adsorpsiyon Kapasitesine Etkisi	61
4.2.4. Teofilin Başlangıç Derişiminin Adsorpsiyon Kapasitesine Etkisi	62
4.2.5. Sıcaklığın Adsorpsiyon Kapasitesine Etkisi ve Adsorpsiyon Termodinamiği.....	63
4.2.6. Adsorpsiyon İzotermi	66
4.2.7.Etkileşim Süresinin Adsorpsiyon Kapasitesine Etkisi ve Kinetik Çalışmalar.....	69
4.3. Desorpsiyon ve Kriyojel Membranların Tekrar Kullanılabilirliği	72
5. YORUM	75
6. KAYNAKLAR.....	78
EKLER	107
ÖZGEÇMİŞ.....	108

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1. Kovalent baskılama ve kovalent olmayan baskılamanın avantajları ve dezavantajları.....	16
Çizelge 2. 2.Kriyojel sistemler ve potansiyel uygulamalarına genel bakış	31
Çizelge 3. 1. Optimum koşulların belirlenmesi için sentezlenen kriyojel membranların bileşimi	42
Çizelge 4. 1. Elde edilen termogram verilerinin toplu gösterimi.	56
Çizelge 4. 2. P(HEMA/AAm) kriyojel membranlarına ait gözeneklilik ve şişme özellikleri	58
Çizelge 4. 3. Değişik sıcaklıklarda bulunan standart Gibbs serbest enerjisi değişimi.	65
Çizelge 4. 4. Langmuir modeli adsorpsiyon prosesi için izoterm verileri ve katsayıları. ...	69

ŞEKİLLER

Şekil 2. 1. Teofilinin, kimyasal yapısı, molekül ağırlığı, açık ve kapalı formülü, m/z ve elementel analizi	6
Şekil 2.2. Kovalent olmayan ve kovalent baskılama yöntemlerinin şematik görüntüsü	13
Şekil 2. 3. (A) Tek başına veya kovalent olmayan moleküler baskıda kombinasyon halinde kullanılabilen organik polimerize fonksiyonel monomerlerin örnekleri. (B) Moleküler baskılı polimerlerin sentezi için kullanılabilen çapraz bağlama monomerlerinin örnekleri. (C) Kovalent moleküler baskılamada kullanılabilen organik polimerize olabilen fonksiyonel monomerlerin örnekleri	19
Şekil 2. 4. Moleküler baskılamada kullanılan bazı radikal başlatıcılar	21
Şekil 2. 5. Moleküler baskılanmış polimerlerin hazırlanmasının şematik görüntüsü	24
Şekil 2. 6. Süpermakrogözenekli kriyojel sentezinin şematik görüntüsü	28
Şekil 2.7. (-12°C)' de hazırlanan süper makrogözenekli monolitik kriyojelin bileşimi	30
Şekil 3. 1. Teofilin baskılanmış tablet formundaki HEMA/AAm kriyojelleri	43
Şekil 3. 2. Teofilin çözeltisi için UV-Vis spektroskopisi (50 ppm, saf suda, $\lambda_{\max} = 271 \text{ nm}$)	46
Şekil 4.1. Teofilin baskılı kriyojel membranların sentezinde kullanılan bileşiklerin kimyasal yapıları.	48
Şekil 4. 2. Teofilin ve sentezlenen kriyojel membranlar için FTIR spektrumları.	49
Şekil 4. 3. P(HEMA) kriyojeline ait termogram.	53
Şekil 4. 4. P(HEMA/AAm) kriyojeline ait termogram.	53
Şekil 4. 5 . Teofiline ait termogram.	54
Şekil 4. 6. Teofilin baskılanmış P(HEMA/AAm) kriyojeline ait termogram.	54
Şekil 4. 7. Teofilin uzaklaştırılmış P(HEMA/AAm) kriyojeline ait termogram.	55
Şekil 4. 8. Teofilin ve kriyojel membranlar için termogların kıyaslanması.	55
Şekil 4. 9. Teofilin baskılanmış P(HEMA/AAm) kriyojel membranların SEM görüntüleri.	57
Şekil 4. 10. P(HEMA), P(HEMA/AAm) ve teofilin baskılanmış (PHEMA/AAm) kriyojel membranların adsorpsiyon kapasitesinin pH değerine göre değişimi (25 mL 400 ppm teofilin, 0,12 gram kriyojel, fosfat tamponu, 25°C, 3 saat)	60

Şekil 4.11. (PHEMA/AAm) kriyojel membranların adsorpsiyon kapasitesine iyonik şiddetin etkisi (25 mL 400 ppm teofilin, 0,12 gram kriyojel, fosfat tamponu, pH=7, 25°C, 3 saat).....	61
Şekil 4. 12. (PHEMA/AAm) kriyojel membran miktarının adsorpsiyon kapasitesine etkisi (25 mL 400 ppm teofilin, fosfat tamponu, pH=7, 25°C, 3 saat).....	62
Şekil 4. 13. Teofilin derişiminin adsorpsiyon kapasitesine etkisi (25 mL teofilin, 0,12 gram kriyojel, fosfat tamponu, pH=7, 25°C, 3 saat).....	63
Şekil 4. 14. Sıcaklığın adsorpsiyon kapasitesine etkisi (25 mL teofilin, 0,12 gram kriyojel, fosfat tamponu, pH=7, 3 saat).	64
Şekil 4. 15. Adsorpsiyon prosesinin termodinamik olarak değeriendirilmesi.	66
Şekil 4.16. Teofilinin P(HEMA/AAm) kriyojeline adsorpsiyonu için Langmuir izoterm modeli (25 mL teofilin, 0,12 gram kriyojel, fosfat tamponu, pH=7, 25°C, 3 saat).	68
Şekil 4.17. Teofilinin P(HEMA/AAm) kriyojeline adsorpsiyonu için Freundlich izoterm modeli (25 mL teofilin, 0,12 gram kriyojel, fosfat tamponu, pH=7, 25°C, 3 saat).	68
Şekil 4.18. Etkileşim süresinin adsorpsiyon kapasitesine etkisi (25 mL 400 ppm teofilin, 0,12 gram kriyojel, fosfat tamponu, pH=7, 25°C).....	70
Şekil 4. 19. Yalancı birinci dereceden adsorpsiyon kinetiğı değeriendirilmesi	71
Şekil 4. 20. Yalancı ikinci dereceden adsorpsiyon kinetiğı değeriendirilmesi.....	71
Şekil 4.21. Teofilin baskılanmış (PHEMA/AAm) kriyojel membranların desorpsiyon kapasitesinin pH değeriine göre değişimi (0,12 gram kriyojel, 10 mL tuzlu fosfat tamponu, 25°C, 1 saat).	73
Şekil 4.22. Teofilin baskılanmış (PHEMA/AAm) kriyojel membranların adsorpsiyon-desorpsiyon kapasitesinin değeriendirilmesi (Ads.:25 mL 400 ppm teofilin, 0,12 gram kriyojel, fosfat tamponu pH=7, 25°C, 3 saat Des: 0,12 gram kriyojel, 10 mL tuzlu fosfat tamponu, pH=3, 25°C, 1 saat)	73
Şekil 4.23. Teofilin baskılanmış (PHEMA/AAm) kriyojel membranların adsorpsiyon-desorpsiyon kapasitesinin yüzde olarak değişimi.....	74

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

$\text{\AA}$	Angström
Ω	Omega
q_e	Dengedeki adsorpsiyon kapasitesi
μ	Mikro
λ	Dalga boyu
M	Molarite
μM	Mikromolar
μm	Mikromol
mm	Milimol
mL	Mililitre
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
%	Yüzde
ppm	Parts per million
nm	Nano metre
M_0	Kuru tabletin kütlesi
M_s	Şişmiş tabletin kütlesi
$M_{\text{sık}}$	Salınan tabletin kütlesi
R_L	Ayrırma faktörü

Kısaltmalar

MIT	Moleküler baskılama teknolojisi
MIP	Moleküler baskılı polimer
PEG	Polietilen glikol
MIC	Moleküler baskılı kriyojel
KOAH	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
HEMA	2-hidroksietil metakrilat
P(HEMA)	Poli(2-hidroksietil metakrilat)
P(HEMA/AAm)	Poli(2-hidroksietil metakrilat/ Akrilamid)
AAm	Akrilamid
MBAAm	N,N'-metilenbisakrilamid
EGDMA	Etilenglikol dimetakrilat
TEMED	N,N,N',N'-Tetrametil etilendiamin
MAAc	Metakrilik asit
PAAm	Poli(akrilamid)
PVA	Poli(vinil alkol)
APS	Amonyum persülfat
HPLC	Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi
SPE	Katı faz ekstraksiyonu
SERS	Yüzeyde geliştirilmiş raman saçılması
TGA	Termogravimetrik Analiz
FTIR	Fourier dönüşümlü infrared spektrometresi
SEM	Taramalı elektron mikroskobu

BET

Braunauer Emmett Teller analizi

UV-Vis

Ultraviyole ve görünür ışık absorpsiyon spektroskopisi



1. GİRİŞ

Yüksek teknoloji ve modern sanayinin önemli bir yapı taşı olan polimerler, ortaya çıktığı günden beri hızla gelişen malzemelerdir. Sahip olduğu mükemmel özellikleriyle polimer malzemeler, bilim ve teknoloji, yaşam, üretim ve diğer birçok alanda günümüzde yaygın olarak kullanılmakta ve geliştirilmektedir (Zhang ve ark., 2020). Polimer kelimesi çok geniştir. Polimerler, monomer adı verilen çok sayıdaki küçük molekül veya tekrar eden birimlerden meydana gelen ve birbirine kimyasal bağlarla bağlanarak oluşan makromoleküllerdir (Gad, 2014). İkili, üçlü ve dörtlü olarak bağlanan monomerler sırasıyla dimerler, trimerler ve tetramerler olarak bilinir. Kısa tekrar eden birimler oligomerler olarak adlandırılır ve bu oligomerler koşullara bağlı olarak blok kopolimerler kapsamında ön polimerler olarak da bilinmektedir. Polimerlerin içindeki monomerlerin bağlı yönelimi, düzenlilik derecesi, sayısı ve aynı polimerdeki monomerler de büyük oranda değişebilir (Gad, 2014).

Neredeyse her çalışma hayatında polimerler bir şekilde kullanılmaktadır. Bu çok yönlülük, birçok polimerin sentezlenmesinde ve geliştirilmesinde çok geniş kullanım alanı sağlar (Gad, 2014). Çapraz bağlı olmayan polimerler, çapraz bağlı olanlarına kıyasla muhtemelen bazı sektörlerde daha az sıklıkla kullanılır. Malzemelerin çoğundaki işleme şartları, polimer zincirlerinin birbirine çapraz bağlanması ile çok çeşitli mekanik özellikleri amacıyla bağlanmasıyla sonuçlanabilir (Gad, 2014).

Genellikle, malzemenin özelliklerini uygun hale getirmek için birçok yapay ve bazı doğal polimerlerdeki monomerlerin sayısı (bazen de polimerizasyon derecesi olarak bilinen), tam olarak saptanabilir (Gad, 2014). Örneğin; doku büyümesinde dokuyu desteklemek için kullanılan ve biyolojik olarak parçalanabilen doğal ve sentetik polimerler, sadece geçici kararlılık gerektiren amaçlarda kullanılır (Gad, 2014).

Moleküler baskılı polimerlere (MIP), seçiciliği, kararlılığı, basitliği ve uygulanabilirliği nedeniyle son zamanlarda ilgi artmaktadır (Ashley ve ark., 2017). Aynı zamanda, ucuz

maliyetli, spesifik tanıma özellikli ve kısa zamanlı sentezleme özelliğine sahip olan MIP'lerin, sensörlerde seçicilik artırıcı bir modifiye malzeme olarak da kabul edilebilir (Ma ve ark., 2020). MIP sahip olduğu bu özelliklerinden dolayı çevre, yaşam ve ilaç bilimleri gibi çok farklı alanlardaki elektrokimyasal uygulamalarda bu malzemelerin kullanılmasına olanak sağlar (Wang ve ark., 2018; Lahcen ve ark., 2018; Li ve ark., 2018; Lopes ve ark., 2017).

Moleküler tanıma yeteneğine sahip olan MIP'ler kolay hazırlanır ve kararlıdır (Bereli ve ark., 2011). MIP'lerde kararlılığın önemli olmasıyla birlikte, doğal biyomoleküllere kıyasla birçok avantaja sahiptir. Bu nedenle, MIP'ler organik çözücüler basınç, yüksek sıcaklık ve aşırı asidik/bazik pH gibi zorlu şartlarda kullanılabilirler (Mirsky ve Yatsimirsky, 2010).

Moleküler baskılama teknolojisi (MIT), baskılanmış kalıp veya hedef molekülün spesifik ve seçici olarak tanınması için basit polimerizasyon yöntemi ile kalıp molekülün yapay absorbenlerinin üretilmesini sağlayan bir teknik olarak tanımlanmaktadır (Rao, Daniel ve Gladis, 2004; Mosbach ve Ramström, 1996).

Genel olarak kriyojeller, yarı donmuş haldeki bir sistemde bir başlatıcı sistemi kullanılarak, serbest radikal polimerizasyonu ile sentezlenen üç boyutlu makrogözenekli hidrojel matrisler olarak tanımlanmaktadır (Andaç, Galaev ve Denizli, 2016). Kriyojellerin bu yapısı, iyi mekanik özelliği, yüksek makromoleküllü bileşiklerde kütle taşınmasını, hücre göçünü ve yüksek biyoyumluluğu sağlamaktadır (Gun'ko, Savina ve Mikhlovsky, 2013). Sonuç olarak kriyojellerin bu özellikleri, kromatografik ayırma işlemlerinde (Arvidsson ve ark., 2002; Aydoğan ve ark., 2012; Dainiak ve ark., 2007; Ertürk, 2014), doku mühendisliğinde (Andaç ve ark., 2008; Dişpınar ve ark., 2012; Hwang, Zhang ve Varghese, 2010; Reichelt ve ark., 2014) ve biyoreaktör olarak uygulamalara imkân sağlamaktadır (Jespersen ve ark., 2013; Kumar ve ark., 2006).

Kriyojenik işlem sonucu oluşan bir tür hidrojel olan kriyojel, monomerik veya polimer öncüller varlığında, donmuş sulu faz koşullarında buz kristalleri meydana gelirken,

donmamış veya yarı donmuş fazlarda çapraz bağlı bir jel oluşumu gerçekleşir. Bu olay kriyojelasyon olarak tanımlanmaktadır (Kumar ve ark., 2010; Plieva ve ark., 2008). Kriyojelasyonda buz kristallerinin çözülmesi ile bir porojen olarak görev alan kriyojel düşük sıcaklıklarda moleküllerin hareketini kısıtlar. Böylece daha spesifik ve kolay bir baskılama işlemi gerçekleşir (Tamahkar ve ark., 2011).

Süpermakrogözenekli kriyojellerin sahip oldukları geniş gözeneklilik, adsorpsiyon ve elüsyon işlemlerindeki sürenin kısalığı ve düşük basınç altında kolondan ekstrakte edilmesi gibi çeşitli avantajları ile geleneksel protein bağlayıcı matrisler için birer alternatiftir (Andaç, Galaev ve Denizli, 2013). Ayrıca, monolitik kriyojellerdeki gözenekli yapı, monomer derişimine, donma koşullarına ve reaksiyondaki çapraz bağlayıcı içeriğine bağlıdır (Arvidsson ve ark., 2003).

Kriyojellerin doku benzeri ve makrogözenekli yapısı nedeniyle teröpatik moleküllerin lokal salınımında yerleştirilebilir biyomateriyaller olarak benzersiz üç boyutlu yapılar sunmaktadır (Çetin ve Denizli, 2015). Bu yerleştirilebilen materyaller, ilaç salınımının devamı için tümöre yakın bir yere yüksek dozda ilaç sağlayabilir. Bu nedenle, bu materyaller ilacın toksik etkisini geniş oranda azaltabilir ve kemoterapinin teröpatik etkisini büyük oranda arttırabilir (Hanafy ve ark., 2014).

Teofilin (1,3-dimetilksantin), kendiliğinden meydana gelen metilksantinlerin bir üyesidir. Astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı tedavisinde (KOA), 60 yılı aşkın süredir teröpatik ve yaygın olarak kullanılmaktadır (Nie ve ark., 2013). Teofilin, sınırlı bir teröpatik indeks aralığına (20–100 μM) sahiptir ve yüksek plazma konsantrasyonlarında (110 μM 'nin üzerinde) devamlı yan etkilerinin oluşacağı ile ilgili artan kanıtlar ortaya koymuştur. İnsan sağlığına etki eden en bilinen yan etkileri ise; huzursuzluk, ishal, anksiyete, baş ağrısı, kalp çarpıntısı ve mide bulantısıdır (Cui ve Zhang, 2013). Bu yüzden, toksisiteden uzak durmak için teofilin düzeyleri titizlikle ve doğru olarak gözlenmelidir.

Son yıllarda yapılan tüm araştırma çalışmalarına rağmen, özellikle kimyasal yapısı nedeniyle ilgili bileşiklerin erken tespiti zordur. Dolayısıyla, yüksek seçicilikle uygulanan teofilin analizlerine olan ilgi önemlidir. Teofilin analizi için önerilen çeşitli teknolojiler; elektroforetik (Rang ve ark., 2015), kromatografik (Al-Jenoobi ve ark., 2015), kolorimetrik (Katiyar ve ark., 2013) ve spektrofotometrik (Park ve ark., 2014) yöntemlerdir. Bu analitik yöntemler uygun belirleme sınırlarına ulaşmalarına rağmen, genellikle yorucu ve zaman alıcıdır. Bu durum, yüksek özellikli kişiyi, biyolojik örneklerde fazla ön işleminin kullanılmasını ve entelektüel yetenekleri gerektirir (Gan, Zhao ve Wang, 2017). Bu yüzden, hassas, düşük maliyetli, hızlı ve kolay kullanımlı teofilin tespit yöntemleri geliştirmek kolay değildir (Gan, Zhao ve Wang, 2017).

Literatürde yapılan çalışmalarda moleküler baskılama tekniği kullanılarak teofilinin tanınması sağlanmıştır (Lee ve Kim, 2009; Lee ve ark., 2014). Genel olarak bir MIP, belirli bir kalıp molekülün seçimini gerektiren belirli bir spesifik analitik kullanımı için sentezlenir. Çeşitli kalıplar arasında bir ksantin türevi olan teofilin, birçok uygulamaya sahiptir (Che ve ark., 2009). 1993 yılındaki ilk literatür çalışmasından beri membran (Kobayashi ve ark., 2002) ve mikroküreler (Ye, Weiss ve Mosbach, 2000) şeklindeki teofilin baskılı polimerler, başarılı bir şekilde hazırlanmıştır (Vlatakis ve ark., 1993). Teofilin baskılı polimerlerin kalıp molekülünü açık olarak tekrar bağlayabildiğini ve teobromin ve kafein gibi yapısal analoglarına kıyasla teofilinin yüksek bir seçiciliğe sahip olduğunu yapılan çalışmalarda deneysel sonuçlar ortaya koymaktadır (Che ve ark., 2009).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Teofilin

Metilksantinler, alkaloid sınıfına ait bir fitokimyasal bileşik grubudur. Özellikle heterosiklik yapılarında azot atomları bulundurduğundan pürin alkaloidleridir. En yaygın metilksantin türleri ise teofilin (1,3 dimetilksantin), teobromin (3,7-dimetil ksantin) ve kafein (1,3,7-trimetilksantin)'dir. Doğal olarak çay, kahve, yerba mate ve kakao gibi farklı bitki türlerinde bulunur. Bu yüzden insan diyetinde yaygın olarak bulunmaktadır (Hicks, Hsieh ve Bell, 1996; Isolabella ve ark., 2010). Pürin bazı yapısı üzerindeki farklı sayı ve pozisyonadaki metil gruplarının varlığı ile metilksantin molekülleri ayırt edilebilir.

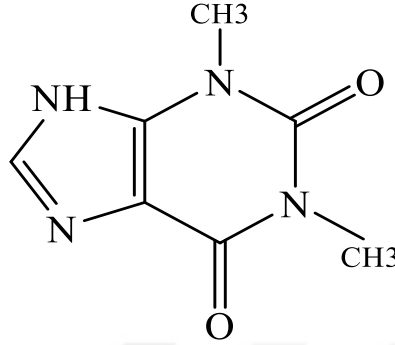
Teofilin (1,3-dimetil-7H-Pürin-2, 6-dion), akut akciğer enfeksiyonları ve astım gibi solunum yolu hastalıklarının tedavisinde kullanılan bir metilksantin ilacıdır (Malode, Shetti ve Nandibewoor, 2012; Zi ve ark., 2012).

Önemli bir anti inflamatuvar ilaç türü ve organik bileşikler olan pürinler, teofilin içerirler (Gacki ve ark., 2019). Biyolojik açıdan önemli olan teofilin, yapısal olarak asidik özellik gösteren elementlere bağlıdır (Shyامل ve ark., 2020). Çoğunlukla, pürin bazının N7 atomundaki metal iyonlarına bağlı olduğunu teofilin kompleksleri üzerine yapılan araştırmalar ortaya koymuştur (Hajji ve ark.,2019; İsmail ve ark., 2020). Birkaç durumunda teofilinin N7'ye metal bağı ile bağlanan ve O6 atomunun etkileşimiyle tamamlanan N7 / O6 şelasyon formundaki iki dişli bir ligandır (Kistenmacher ve Thomas, 1978; Cozak ve Daniel,1986).

2.1.1. Teofilinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Teofilin, acı, beyaz toz kristal şeklinde ve kokusuz bir maddedir. Amonyak, alkali asitlerde ve mineral asitlerde çözünmektedir. Alkol ve sudaki çözünürlüğü azdır (Sweetman, 2007; Sifton, 2003; Abernethy, Arnold ve Azarnoff, 2002) ve pKa değeri 8,77'dir (Susan, 1996).

Parental formu, sudaki çözünürlüğü nedeniyle yoktur. Bu nedenle, etilendiamin ile yaptığı suda çözünür bir kompleks olan aminofilin kullanılır (Kayaalp, 2005). Şekil 1’de teofilinin kimyasal yapısı, molekül ağırlığı, açık ve kapalı formülü gösterilmiştir.



Açık Formülü: (1,3-dimetil-3,7-dihidro-1H-pürin-2,6-dion)

Kimyasal Formülü: C₇H₈N₄O₂

Molekül Ağırlığı: 180,17 g/mol

m/z: 180.06 (% 100.0), 181.07 (% 7.7), 181.06 (% 1.5)

Elementel Analizi: C, 46.67; H, 4.48; N, 31.10; O, 17,76

Şekil 2. 1. Teofilinin, kimyasal yapısı, molekül ağırlığı, açık ve kapalı formülü, m/z ve elementel analizi.

2.1.2. Teofilin Kaynakları, Eldesi

1950’den bugüne kadar teofilin ve lökotrien ile ilgili yapılan çalışmalar, elektronik veri tabanları (Pubmed, National Library Of Medicine, Embase, Web Of Science, Index Copernicus, Google Scholar ve Indmed) “Tıbbi Konu Başlıkları” içeren indeks terimlerin kombinasyonu halinde (KOA), “Metilksantinler” (Ksantin Türevleri veya Teofilinler), “Lökotrien Değiştiriciler” (Lökotrien Reseptör Antagonistleri, Montelukast veya Zileuton)

ve ayrıca diğer adları ile ilgili terimler olarak “Oral İlaç Terapileri” (Obstrüktif Akciğer Hastalıkları) kullanılarak taranmıştır (Singh, Prasad ve Gupta, 2020).

Farmakolojik ajanlar arasında olan ksantin alkaloidleri, dünya çapında yaygın olarak kullanılmaktadır (Gilbert, 1984). Çay, kahve gibi popüler içeceklerde ve kakao çekirdeklerinde doğal olarak bulunur (Biradha ve ark., 2009).

Teofilin yiyecek ve içeceklerde tüketilen; biyolojik olarak önemli olan ve doğal olarak oluşan N-metillenmiş ksantinlerden biridir (Barnes ve Respir, 2013). Yapısal ve farmakolojik olarak teobromin ve kafeine benzeyen teofilin, bir ksantin sınıfına aittir (Johnson, Prakash ve Prathiba, 2012). Tıbbi aktiviteleri nedeniyle oldukça bilinen ve yaygın olarak kullanılan ksantinler; teobromin (Petrucchi ve ark., 2019), kafein ve teofilindir (Monteiro ve ark., 2019; Petrucci ve ark., 2018).

1881 yılında ilk kez Alman biyolog Albrecht Kossel tarafından çay yapraklarının ekstraksiyonundan elde edilmiştir (Baumann, 2006). 1895 yılında ise Emil Fischer tarafından ilk sentetik yöntemi ve kimyasal yapısı geliştirildi (Fischer ve Ach, 1985). 20. yüzyılın başında ilaç piyasasına giren teofilin, başlangıçta diüretik olarak uygulanmıştır (Francis ve ark., 2011). Aynı zamanda KOAH ve astım hastalığının tedavisinde kullanılmıştır (Santos ve ark., 2017).

2.1.3. Teofilin İzolasyonu ve Tayin Yöntemleri

Teofilin, doğal olarak fasulye, kakao ve çayda bulunan ve bir pürin türevinden ekstrakte edilen bir ilaçtır (Singh, Prasad ve Gupta, 2020).

Teofilinin plazma konsantrasyonu 20 ile 100 μ M arasındadır (Zi ve ark., 2012; Ahn ve ark., 2015). Plazmadaki teofilin seviyesi bu orandan daha fazla olduğunda; nöbet, uykusuzluk, bulantı, sinirlilik ve dahası ölüme sebep olabilir (Gowthaman, Kesavan ve

John, 2016; Ichikawa ve ark., 2017). Bu yüzden teofilinin normal plazma konsantrasyonundan yüksek olmaması ve ilaç toksisitesinden uzak durmak için hastanın kan plazmasındaki derişimi izlenmesi açısından önemlidir (Ghaemi Amiri ve ark., 2020). Bu yüzden, gıda ve farmasötik örneklerinde teofilinin analizini belirlemek için; hassas, hızlı ve basit yöntemlerin geliştirilmesine gereksinim duyulmaktadır (Hamidi ve Zarei, 2020).

Günümüzdeki yeni geliştirilen tespit yöntemleri hem maliyetten hem de zamandan tasarruf sağlamaktadır. Teofilin için yaygın kullanılan tayin yöntemleri; gaz kromatografisi (Pagliariussi ve ark., 2002), spektrofotometri (Barnes ve Respir, 2003; Iturriaga ve ark., 2002), elektrokromatografi (Chen, Zheng ve Feng, 2010), Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) (Al-Jenoobi ve ark., 2015; Zacharis ve ark., 2013), kulometri (Chernyseva, Abdullin ve Bundikov, 2001) ve iyon değişim kromatografisidir (Qing-Chun ve Wang, 2001).

Teofilinin tayininde, hızlı ve hassas algılama avantajları sayesinde yüzey plazmon rezonansı (SPR) (Jing ve ark., 2016), elektrokimya (Zhuang ve ark., 2017), floresans (Ling ve ark., 2016), yüzeyde geliştirilmiş raman saçılması (SERS) (Li ve ark., 2020) ve benzeri (Chavez ve ark., 2010) gibi farklı tekniklere dayalı olarak son birkaç yıl içinde bazı gelişmiş kimyasal sensörler ve biyosensörler geliştirilmiştir.

2.1.4. Teofilinin Uygulama Alanları

Teofilin, 1932'den beri klinik uygulamalarda kullanılmaktadır ve günümüzde egzersize bağlı bronkospazm ile çeşitli solunum rahatsızlıklarında kullanılmaktadır (Barnes ve Respir, 2013).

Teofilin, astım ve akciğer hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılan aktif bir farmasötik bileşenler sınıfındadır. Ayrıca, solunum uyarıcıları ve bronkodilatörler olarak kullanılır (Abosede ve ark., 2020). Teofilin akciğer sisteminin fizyolojik fonksiyonlarında,

depresyonun tedavisinde yaygın bir şekilde kullanılan ilaçlardan birisidir (Novena ve ark., 2017; Santos ve ark., 2017).

Teofilin, solunum yolu obstrüksiyonunun tedavisinde çok geniş ölçüde kullanılan ilaçlardan biridir. Ancak, serumda dar bir terapötik konsantrasyon aralığına (20–100 µM) sahiptir (Rowe ve ark., 1998; Ferapontova, Olsen ve Gothelf, 2008). Teofilinin aşırı dozu, kardiyovasküler ve nörolojik sistemlerde toksik olabilir. Aynı zamanda kalıcı hasara ve hatta ölüme neden olabilir (Mitenko ve Ogivie, 1973; Zwillich ve ark., 1975; Cook ve ark., 1990).

Toksik etkilerini azaltmak için teofilinin plazma seviyesi mutlaka kontrol edilmelidir. Ayrıca, bir metilksantin üyesi olan teofilin çay, kahve ve kakao gibi birçok bitkide yer aldığı için, insan beslenmesinde yaygın olarak mevcuttur ve aynı zamanda insan sağlığı bakımından potansiyel bir tehlike yaratır (Bartella ve ark., 2019). Sonuç olarak, gıda güvenliği ve biyotıp alanlarında teofilin analiz yöntemlerinin geliştirilmesi kaçınılmazdır.

Son zamanlarda, uyumluluğu nedeni ile kontrollü ilaç salım tasarımı bir ilaç taşıyıcı malzeme olarak kullanılan çeşitli biyopolimerler ilgi çekmektedir (García, 2018). Şu anda, doğal ve yapay polimerik hidrojel ağları kontrollü ilaç salım sistemlerinde kullanılmakta ve günümüzde bu önemli gelişme yol almaktadır (Anirudhan, Divya ve Nima, 2016; Pellá, Lima-Tenório ve Tenório Neto, 2018).

Sahip olduğu gözenekli yapıları ve yumuşak doku biyoyumluluğu sayesinde hidrojeller, içerisindeki ilaçları sorunsuz ve kontrollü bir şekilde salınmasına olanak sağlar. Böylece hidrojel ağlarından yapılan kendi kendine düzenli salım, devamlı ilaç salımını artırır (Rokhade ve ark., 2007).

Bunların yanı sıra, malzemelerin ilaç salım malzemesi olarak kullanılmasında en belirleyici faktör biyoyumluluktur. Çünkü, uyumlu olmayan maddeler canlı

organizmalardaki uygulamaları kısıtlayabilir ve in vivo' daki enflamatuvar reaksiyonlarını ortaya çıkarabilir (Rokhade ve ark., 2007).

Son yıllarda MIP'ler, moleküler tanıma sistemleri alanında en ümit verici ve ilgi çeken malzemelerden biri haline gelmiştir (Kan ve ark., 2010).

MIP'ler, geçtiğimiz on yıl içinde seçicilik ve ayırım en güçlü eğilimlerden olmuştur (Theodoridis ve Manesiotis, 2002). MIP'ler çeşitli ayrıştırılmalarda kullanılmak üzere analite karşı hazırlanmıştır. Zamanla ilgilenilen ve bir kalıp temsil eden grup ksantinlerdir. Bu yüzden, teofiline karşı MIP membranlar (Kobayashi, Wang ve Fujii, 1998), bağlanma deneyleri (Allender ve ark., 2000) farmasötik uygulamalar (Vlatakis ve ark., 1993), sensör cihazları (Yoshimi ve ark., 2001) kullanılmaktadır (Allender ve ark., 2000).

2.2. Moleküler Baskılama Teknolojisi

MIT, kullanılan moleküler kalıbın boyutuna, şekline ve kimyasal işlevselliğine göre makro gözenekli polimerik malzemeler oluşturmak için belirli bir moleküle özgü spesifik tanıma alanları yaratma tekniğidir.

Moleküler baskılama kavramı, ilk kez 1972 yılında, Gunter Wulff ve çalışma arkadaşları tarafından ortaya atılmıştır (Wulff ve Sarhan, 1972). Moleküler baskılama metodu, doğal ya da sentetik polimerlerden oluşan kalıp molekül, çapraz bağlayıcı ve monomerlerin işlevsel gruplarının üç boyutlu etkileşimine dayanır (Spivak, 2005).

MIT, moleküler tanıma kavramına dayanmaktadır. Fischer'in öne sürdüğü anahtar-kilit uyumu modeli moleküler baskılamanın temeli olmuştur.

Moleküler baskılama yönteminde, (MIP), hedef molekülün seçici olarak tanınmasına ve bağlanmasına olanak sağlar. Bunların yanı sıra, moleküler baskılanmış polimerlerin, ısıya

ve basınca olan dirençlerinden dolayı yüksek mekanik ve fiziksel dayanıklılıkları, asitler, bazlar, metal iyonları ve organik çözücüler gibi koşullardaki kararlılıklarından dolayı oldukça elverişlidirler. Böylece uygun şartlarda verimlilik sağlarlar (Vlatakis ve ark., 1993).

MIP'lerin hazırlanmaları kolay ve ucuz maliyetlidir (Zhang ve ark., 2005). Ayrıca MIP'ler, tekrar kullanılabilirlik ve birkaç yıl bozulmadan kalabilme özelliğine sahiptir (Oral ve Peppas, 2006).

MIP'lerin sahip olduğu üstün avantajlarından dolayı birçok biyoteknolojik uygulamalarda (örneğin; kimyasal sensörler, ilaç salınımı, katı faz ekstraksiyonu, kromatografik ayırma, kiral ayırma, protein tanıma vb.) yaygın olarak kullanılmaktadır (Hu ve ark., 2013).

Son zamanlarda moleküler baskılama teknolojisindeki ilerlemeler, farklı alanlarda, farklı uygulamaları için çeşitli şekillerde, farklı fiziksel ve kimyasal özellikteki malzemelerin üretilmesini mümkün kılmıştır (Baydemir ve ark., 2009). Örneğin; MIP'lerin dış etkilere karşı yüksek mekaniksel ve kimyasal kararlılıkları, kalıp moleküle özgü üç boyutlu gözenekleri sayesinde enantiyo olarak seçici olmaları ve geri besleme mekanizmasından dolayı da kontrollü ilaç salım sistemleri için oldukça uygun malzemelerdir (Kryscio ve Peppas, 2012).

2.2.1. Moleküler Baskılama Teknikleri

Moleküler baskılama yöntemi, hedef molekül ile fonksiyonel monomer grubu arasındaki etkileşime göre, kovalent ve kovalent olmayan baskılama olmak üzere iki gruba ayrılırlar.

2.2.2. Kovalent Baskılama Yöntemi

Kovalent baskılama yöntemi ilk olarak 1970'li yıllarda Wulf ve ekibi tarafından önerilmiştir (Wulff ve Akelah, 2003). Bu yöntemde, hedef molekül ile fonksiyonel monomer kompleksleri, ketal, esterler, schiff bazı, boronik asitler ve amidlerin tersinir kovalent olarak bağlanmasıyla meydana gelmektedir (Caro ve ark., 2002). Daha sonrasında da çapraz bağlı polimerler polimerizasyon işlemi ile meydana gelir.

Polimerizasyon işleminin tamamlanmasından sonra kovalent bağlar kırılarak hedef molekül ile polimer birbirinden ayrılır. Ayrılan hedef molekül baskılı polimerle tekrar bağlandığı zaman yine aynı kovalent bağ ile oluşur.

Kovalent baskılama yönteminin sahip olduğu özelliklerinden dolayı bazı avantaj ve dezavantajları mevcuttur.

2.2.3. Kovalent Baskılamanın Avantajları

1. Kararlı kovalent bağlarla çeşitli polimerizasyon şartlarında (çözücü, sıcaklık, pH) kovalent baskılama yapılabilir.
2. Hedef molekül ile monomer kompleksi, daha güçlü kovalent bağlardan dolayı kararlı bir yapıya sahiptir ve bu yüzden daha homojen bir dağılım meydana getirir.

2.2.4. Kovalent Baskılamanın Dezavantajları

1. Polimere hedef molekülünün tersinir bağlanma sayısı kısıtlıdır.
2. Hedef molekül-monomer kompleksinin polimerizasyonu sırasında sıkıntı oluşabileceğinden dolayı bu yöntem ekonomik değildir.

3. Polimerizasyon işlemi sonrasında hedef molekülünün ortamdan uzaklaştırılması kolay değildir.
4. Kovalent bağın karakteristik özelliğinden dolayı bağlanma kinetiği yavaştır (Takeuchi ve Haginaka, 1999).

2.2.5. Kovalent Olmayan Baskılama Yöntemi

MIP'lerin hazırlanmasında en çok kullanılan yöntem olan kovalent olmayan baskılama yöntemi, ilk olarak 1980'li yıllarda Mosbach ve arkadaşları tarafından önerilmiştir (Kempe ve Mosbach, 1994). Bu yöntem, hedef molekül ile monomer arasındaki (iyon-dipol ve dipol-dipol), hidrojen bağı, hidrofobik etkileşim, yük transferi, metal şelat ve Van der Waals kuvvetleri gibi elektrostatik etkileşimlerden kendiliğinden ve daha sonra çapraz bağlanmış bir kopolimerizasyonundan meydana gelmektedir (Michael ve ark., 1995).

Ayrıca, Mosbach ve ekibi moleküler baskılama yönteminde fonksiyonel monomer ile kalıp molekül arasındaki kovalent bağın gerekli olmadığını ve Kovalent olmayan baskılamada etkileşimlerin daha etkili olduğunu belirtmişlerdir (Arshady ve Mosbach, 1981).

Hedef moleküller ile kalıp moleküller arasındaki etkileşimler göz önünde bulundurularak polimerin moleküler seçiciliği kovalent olmayan baskılamada belirlenir.



Şekil 2.2. Kovalent olmayan ve kovalent baskılama yöntemlerinin şematik görüntüsü (Wulff, Sharhan ve Zabrocki, 1973; Wulff ve ark., 1977).

Günümüzde kovalent olmayan baskılama en sık kullanılan yöntem olmasına karşın bazı avantaj ve dezavantajlara sahiptir.

2.2.6. Kovalent Olmayan Baskılama Yönteminin Avantajları

1. Kovalent olmayan baskılamada, kovalent olmayan etkileşimler kovalent bağlardan daha zayıf olduğu için kalıp molekül, polimerden polimerizasyonun ardından basitçe uzaklaştırılır.
2. Hedef molekül ile fonksiyonel monomerin kovalent olarak bağlanmasına ihtiyaç yoktur.
3. Kovalent olmayan baskılama ile üretilen hedef moleküller kovalent baskılama ile üretilen hedef moleküllere kıyasla daha hızlı ve tersinir bağlanma kinetiği sergilerler.
4. Kovalent baskılama tekniğine göre daha kolay ve kullanışlıdır (Komiya ve ark., 2003).

Ayrıca, kovalent olmayan baskılama yöntemi, polimerize edilebilen biyolojik kökenli monomerler ile kovalent olmayan etkileşimler oluşturabilen çok sayıda değişik bileşikler için gelecekte çok daha iyi bir potansiyele sahip olacaktır (Mayes ve Mosbach, 1997).

2.2.7. Kovalent Olmayan Baskılama Yönteminin Dezavantajları

1. Kovalent olmayan baskılamanın seçiciliği, kovalent baskılamaya göre daha azdır.
2. Polimerizasyon şartları, kovalent olmayan etkileşimlerden dolayı kısıtlıdır (Dong ve ark., 2002).

Kovalent ve kovalent olmayan yöntem arasındaki ayırt edici özellik, hedef moleküller ile monomer oluşumundaki farklı adımların kullanılmasıdır.

Kovalent baskılamanın daha verimli olması için analit (hedef molekül veya iyon), çapraz bağlayıcı ve polimerizasyon işlemi için de başlatıcı ve çözücü kullanılmalıdır.

2.2.8. Yarı Kovalent Moleküler Baskılama Yöntemi

Yarı kovalent baskılama yöntemini, 1990'lı yılların sonunda Whitcombe ve arkadaşları tarafından geliştirmiştir. Bu yöntem, kovalent ve kovalent olmayan baskılama yönteminin avantajlarının kombinasyonuna imkân sağlamıştır (Whitcombe ve ark., 1995).

Yarı kovalent moleküler baskılama yönteminde, monomer ve kalıp molekül gibi iki farklı molekül yerine tek bir molekül kullanılır. Kalıp molekül ile monomer kovalent bağlar ile oluşur (Klein ve ark., 1999). Kalıp molekül, çapraz bağlayıcı ajan varlığında afinite polimerini veren bir reaksiyona girerek polimerizasyon gerçekleşir.

Polimerizasyon işleminin sonunda kalıp molekül, uzaklaştırılır ve kalıp moleküldeki bağlanma yerleri, kovalent olmayan etkileşimler ile tekrar bağlanmak için kullanılabilir (Whitcombe ve Vulfson, 2001).

Yarı kovalent yaklaşımı, hem kovalent baskılama karakteristiğinin ve kovalent baskılama karakteristiği olan yeniden bağlanma sırasında azalan kinetik sınırlamanın hem de fonksiyonel grup yerinin sıkı bir şekilde kontrol edilmesinin birleşimidir. Bu avantajları nedeniyle, yarı kovalent olarak baskılanmış polimerler, kuvvetli olarak tekrar bağlanma özelliği sergilerler (Mara ve ark., 2012).

Kovalent olmayan polimerlerde kalıp molekülün uzaklaştırılması, desorpsiyon ile gerçekleşirken, yarı kovalent olarak baskılanmış polimerlerden konuk molekül polimerlerin hidrolizi ile uzaklaştırılır (Qi ve ark., 2010).

MIP'lerin hazırlanmasında kullanılan kovalent baskılama, yarı kovalent ve kovalent olmayan baskılama yaklaşım türleri arasında kalıbın daha basit uzaklaştırılmasından dolayı, kovalent olmayan yaklaşım en pratik olanıdır (Sajini, Gigimol ve Mathew, 2019).

Çizelge 2.1. Kovalent baskılama ve kovalent olmayan baskılamanın avantajları ve dezavantajları (Osman ve ark., 2013).

	Kovalent Baskılama	Kovalent Olmayan Baskılama
Polimerizasyon şartları	Çok serbesttir.	Kısıtlıdır.
Baskılamanın etkisi	Kalıp molekül uzaklaştırıldığında etki azalır.	Aşırı miktardaki işlevsel monomerler ile kalıp molekülün spesifik olmayan bölgelerinden dolayı seçiciliği azaltır.
Kalıp molekül ile monomer sonucunda oluşan kompleks sentezi	İhtiyaç vardır.	İhtiyaç yoktur.
Polimerizasyon sonucunda kalıp molekülün uzaklaşması	Zordur.	Kolaydır.
Baskılanacak molekülün bağlanması ve ayrılması	Yavaştır.	Hızlıdır.

2.2.9. Moleküler Baskılamada Kullanılan Parametrelerin İşlevleri

Moleküler baskılamada hazırlanan polimerler kullanılan parametrelere (hedef molekül, fonksiyonel monomer, çapraz bağlayıcı, başlatıcı ve çözücü) bağlı olarak değişmektedir.

2.2.10. Hedef (Kalıp) Molekül

Moleküler baskılama yönteminde, baskılanacak hedef ya da kalıp molekülün veya iyonun fonksiyonel monomerler üzerindeki bağlanma bölgelerinin oryantasyonu açısından önemlidir. Baskılama sırasında, polimerleşebilen grubun olması, mekanizmayı kısıtlayacak veya yavaşlatacak grubun olup olmaması (hidrokinon veya tiyol grubu) ve yüksek sıcaklıklarda gerçekleşmesi gibi kritik faktörler baskılanacak moleküldeki kararlılığı belirler (Sellergren, 1994a).

Hedef molekülün içindeki bağ oluşturan fonksiyonel grup sayısı arttıkça bağlanma etkisi artar. Kimyasal reaksiyon şartları altında kalıp molekülün kararlı olması beklenmektedir (Davies, De Biasi ve Perrett, 2004).

Moleküler baskılamada genellikle, kalıp molekül olarak ilaçlar, amino asitler ve türevleri, proteinler, karbohidratlar, peptitler, koenzimler, nükleotidler, organik aminler, iyonlar, hormonlar ve pestisitler kullanılır (Cormack ve Mosbach, 1999).

Bu baskılama yöntemindeki en önemli özellik, farklı aralıklarda uygulanacak bir hedef molekülün olmasıdır. Ancak her durumda bu baskılama mümkün olmayabilir. Yapılan çalışmalar dikkate alındığında, hedef molekül ile uyumlu olması bakımından polimerizasyon esnasındaki uygun kimyasal bileşen ve fonksiyonel monomerlerin tercih edilmesi gerekmektedir.

2.2.11. Fonksiyonel Monomer

Moleküler baskılamada, hedef molekül ile monomerin kararlı bir şekilde etkileşmesi ve monomerin fonksiyonel grupları oldukça önemlidir (Zhao ve ark., 2018). Aynı zamanda da fonksiyonel monomerin kompleks oluşturmaya ve daha etkili bir baskılama için uygun fonksiyonel monomerlerdeki bağlanma bölgelerinin sayısı önem arz etmektedir. Bu

bağlamda, baskılanacak molekül veya iyonlarla fonksiyonel monomerlerin bağlanma bölgeleri uyumlu olmalıdır.

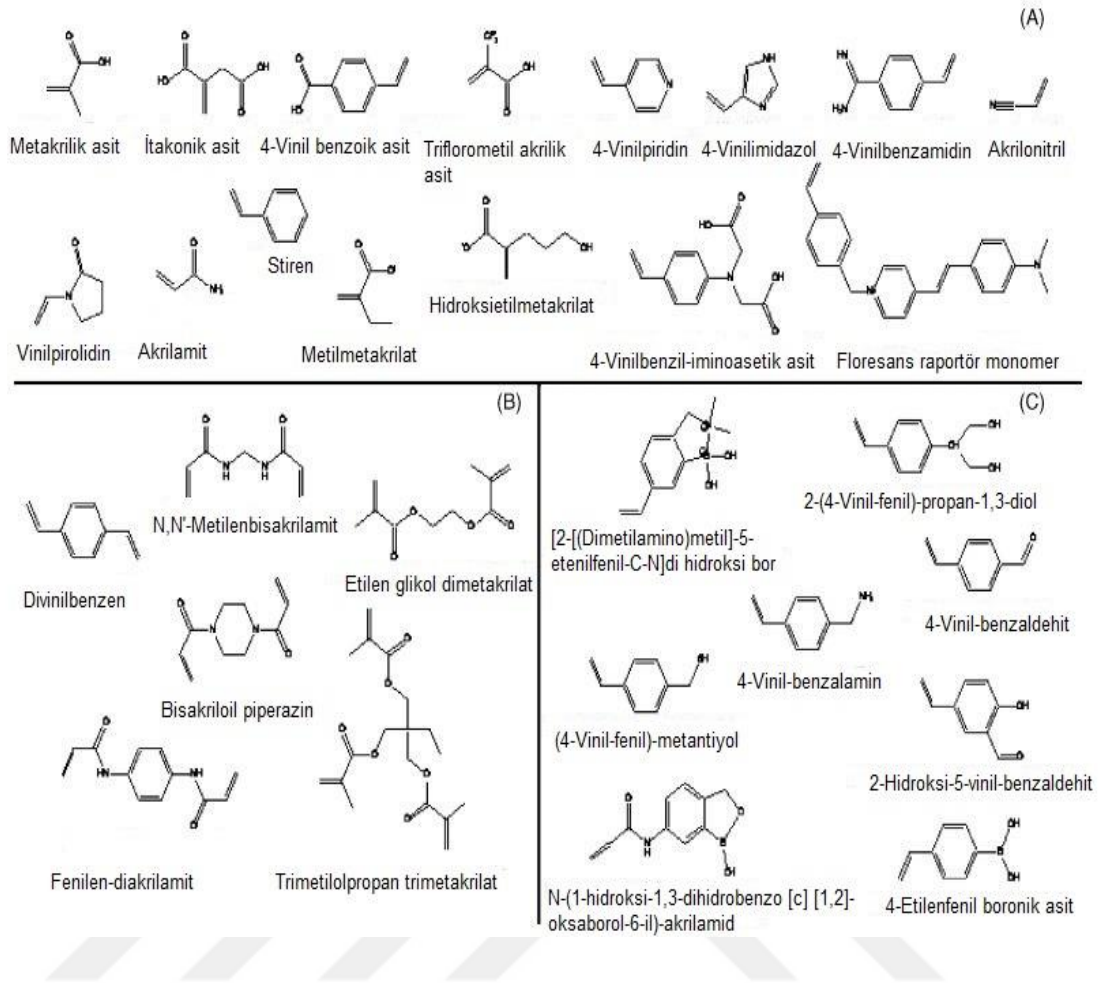
Fonksiyonel monomerler ile baskılı molekülün mol oranı, polimerizasyon sırasında özgün boşlukların meydana gelmesinde etkilidir (Makoto ve ark., 2003). Mol oranının düşük olması halinde polimer üzerindeki bağlanma bölgesi daha az gerçekleşir. Yüksek olması halinde ise polimerin bağlanma seçiciliği azalır. Sonuç olarak, en iyi moleküler baskılama için fonksiyonel monomerin hedef moleküle oranı çoğunlukla 1:4 alınmalıdır.

Polimerizasyon tamamlandığında hedef moleküller, monomerden uzaklaştırılır ve hedef molekül üzerinde analitle uyumlu şekilsel, boyutsal ve fonksiyonel olarak bağlanma bölgeleri oluşturulur. Meydana gelen polimerler farklı sıcaklık, çözücülere ve pH'a karşı dayanıklıdır (Ansari ve Karimi, 2017).

Kullanılan fonksiyonel monomerlerin karakteristik özelliklerine göre elde edilen polimer asidik, bazik ve nötral olabilmektedir. Bunların yanında metal-şelat etkileşimi olan monomerler de kullanılmaktadır (Cormack ve Elorza, 2004).

Aynı zamanda moleküler baskılama çalışmalarında çoğunlukla tekli fonksiyonel monomer tercih edilmesine karşın spesifik tanıma seviyelerini artırmak için iki ya da daha çok fonksiyonel monomerlerin aynı amaç için kullanımı da mevcuttur. İki ya da daha çok fonksiyonel monomerlerin kullanıldığı durumda ise iki monomer arasındaki etkileşimin en az olması için metakrilik asit (MAAc) ve 2-hidroksietil metakrilat (HEMA), akrilamid (AAm) gibi nötral monomerler kullanılır (Kowalska, Stobiecka ve Wysocki, 2009).

Moleküler baskılamada en yaygın kullanılan monomerler aşağıda verilmiştir.



Şekil 2. 3. (A) Tek başına veya kovalent olmayan moleküler baskıda kombinasyon halinde kullanılabilen organik polimerize fonksiyonel monomerlerin örnekleri. (B) Moleküler baskılı polimerlerin sentezi için kullanılabilen çapraz bağlama monomerlerinin örnekleri. (C) Kovalent moleküler baskılamada kullanılabilen organik polimerize olabilen fonksiyonel monomerlerin örnekleri (Holthoff ve Bright, 2007).

2.2.12. Çapraz Bağlayıcı

Etkili bir moleküler baskılama için çapraz bağlayıcılarla fonksiyonel monomerin birbiriyle uyumlu olması gerekir, aksi halde, ya çapraz bağlayıcı ya da fonksiyonel monomerler baskılamada üstün gelerek kopolimerizasyon işlemini başlatamaz. Aynı zamanda yüksek mol oranlarındaki çapraz bağlayıcıların fonksiyonel monomerlerle veya kalıp moleküllerle

kovalent olmayan etkileşimleri de moleküler baskılamada verimliliği azaltır (Demirci, 2013). Yine çapraz bağlayıcının düşük mol oranlarında olması da hedef moleküllerin birbirlerine yaklaşmasına ve kalıp molekül etrafındaki bölgelerce kapatılmasına neden olur. Bu da baskılamayı engelleyici bir durumdur (Chapuis, Pichon ve Hennion, 2004). Bu nedenle çapraz bağlayıcı ile fonksiyonel monomerler arasında bir stokiometrik oran olmalıdır.

Moleküler baskılamada çapraz bağlayıcı özgüllük ve seçicilik açısından önemli bir değişkendir. Bunun için fonksiyonel monomerle veya hedef molekülle çapraz bağlayıcı çok yüksek mol oranında kopolimerize olmalıdır. Üstelik, çapraz bağlayıcının polimerin fiziksel özelliklerinde de büyük bir etkisi olduğu ve hedef molekül-fonksiyonel monomer ilişkisindeki etkileşimlerinin de daha az olduğu yapılan incelemeler sonucunda ortaya konmuştur (Yeşilova ve ark., 2018).

Moleküler baskılamada çapraz bağlayıcının işlevleri, molekül arasında bir ağ yapısı oluşturmak, polimer zincir birimlerini ayarlamak ve iletmektir.

Çapraz Bağlayıcının Molekül Baskılamadaki Görevleri

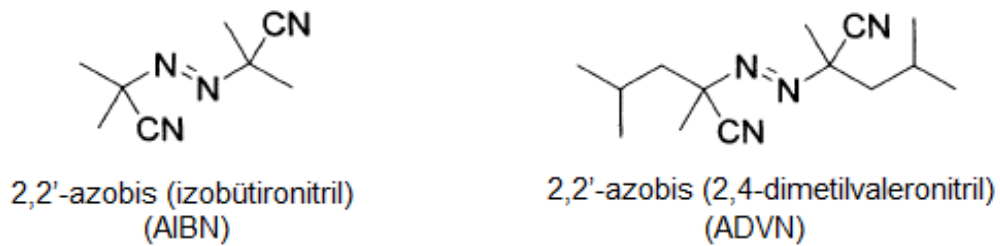
1. Kalıp molekül çevresindeki monomerlerin fonksiyonel gruplarını yönlendirmek ve denetlemek.
2. MIP'lerin çözücü içerisinde çözünmesini engellemek.
3. Baskılı polimerlerin morfolojik yapısını (makro gözenekli, jel tipi veya mikro jel toz şeklinde olması) kontrol etmek.
4. MIP'ler mekaniksel kararlılığını sağlamak.
5. MIP'lerdeki boşlukları dengelemek (Chapuis, Pichon ve Hennion, 2004).

Etilenglikol dimetakrilat (EGDMA), trimetakrilat, trimetilolpropan, divinilbenzen ve N', N'-metilenbisakrilamid (MBAAm) moleküler baskılamada en yaygın olarak kullanılan çapraz bağlayıcılardır (Şekil 2.3).

2.2.13. Başlatıcılar (Radikal Oluşturucular)

Serbest radikalik polimerizasyon, MIP sentezinde en yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biridir. Serbest radikalik polimerizasyonda çok farklı kimyasal özelliklere sahip olan başlatıcılar kullanılmaktadır (Cormack ve Elorza, 2004). Serbest radikalik oluşturucu olarak spesifik polimerizasyon başlatıcıları kullanılmaktadır. Aynı zamanda bu başlatıcılar fotolitik ve termal radikalik polimerizasyonda görev alan serbest radikallere parçalanma eğilimi göstermektedirler (O'Shannessy, Ekberg ve Mosbach, 1989). Başlatıcıların kimyasal yapısına göre birçok özellikler (Işık, ısı, elektrokimyasal veya kimyasal özellikler vb.) radikallere parçalanma şeklini ve hızını değiştirebilmektedir (Dolak ve ark., 2018).

Genel olarak moleküler baskılamada en çok kullanılan radikal başlatıcılar, 2,2'-azobis (izobütironitril) ve 2,2'-azobis (2,4-dimetilvaleronitril)'dir.



Şekil 2. 4. Moleküler baskılamada kullanılan bazı radikal başlatıcılar (Takeuchi ve ark., 2001).

2.2.14. Çözücüler (Gözenek Oluşturucular)

Moleküler baskılamada çözücülerin işlevleri, polimerizasyon sırasında hedef/kalıp molekülü, fonksiyonel monomeri, çapraz bağlayıcıyı ve başlatıcıyı tek bir fazda birleştirmek ve polimerlerde gözenek oluşumunu sağlamaktır. Bu nedenle çözücüler “gözenek oluşturucu” olarak da bilinirler. Aynı zamanda çözücüler, kalıp molekülün bağlanma hızını da artırırlar. Bu da bağlı kalıp molekülün polimerden salınmasına ve yapıda gözenekliliğin oluşmasına neden olur.

MIP’lerin hazırlanması aşamasında kullanılan hem baskılama gidişatı hem de polimerin fiziksel hali (şişme özellikleri, gözenek yapısı, sağlamlık, gözenek boyut dağılımı ve morfolojik özellikleri vb.) gözenek oluşturucunun miktarı ve seçimi açısından önemli bir etmendir (Alexander ve ark., 2006).

Aynı zamanda çözücüler, kovalent olmayan baskılama esnasında ön kompleks meydana gelmesi ve baskılamayı artırma gibi büyük işlevleri de üstlenmektedir (Komiya ve ark., 2003).

Molekül baskılamada gözenek oluşturucu olarak çoğunlukla kloroform, asetonitril ve toluen gibi aprotik ve apolar çözücüler kullanılır ve kompleks oluşması esnasında hidrofobik kuvvetler etkili ise protik veya su gibi çözücüler tercih edilebilir.

Çözücü seçiminde çözücünün polaritesi de önemli bir kriterdir. Polaritesi daha az olan toluen ve kloroformun, kovalent etkileşimleri artıracığından kompleksin oluşma olasılığını da artırır. Daha polar çözücüler ise kompleks oluşumu sırasındaki kovalent olmayan etkileşimleri azaltır.

2.3. Moleküler Baskılı Polimerler (MIP'ler)

MIP'ler, hedef analitlerini deriştirmek için veya analiz öncesinde kompleksi matrilden uzaklaştırmak için etkili bir yoldur (Schwarz ve ark., 2011).

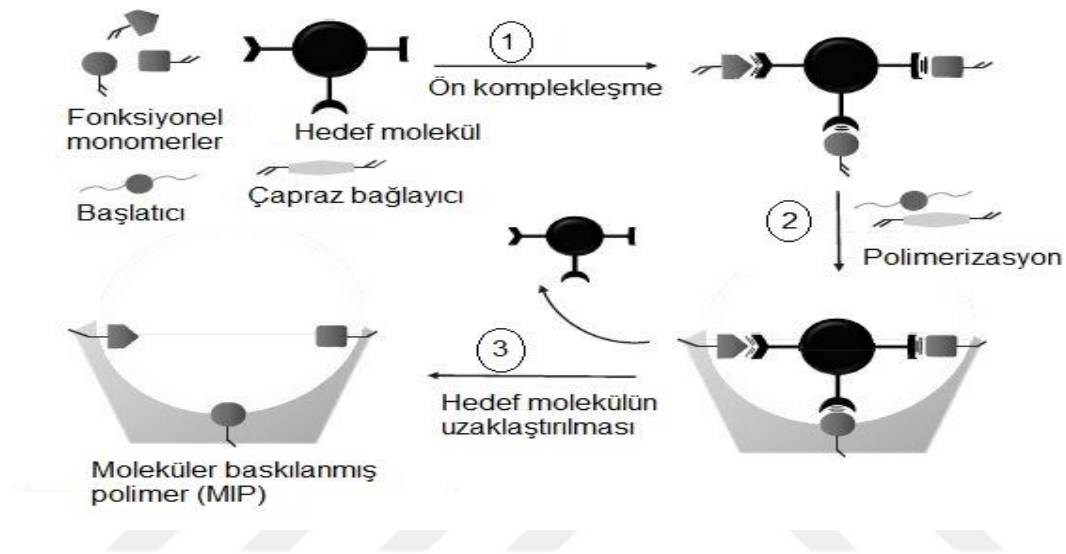
MIP'ler, tanımlanan hedef moleküller için önceden belirlenmiş bir seçiciliğe sahip olacak şekilde tasarlanan sentetik malzemelerdir. MIP'ler, bir kalıp molekül ile uygun gözenekteki fonksiyonel monomerler arasındaki ön polimerizasyon komplekslerinin kovalent birleşimi (Wulff, Sarhan ve Zabrocki, 1973) ya da kovalent olmayan birleşimi (Andersson, Sellergren ve Mosbach, 1984) ile sentezlenebilir. Daha sonra ön polimerizasyon kompleksi, bir çapraz bağlayıcı varlığında polimerize olur ve ardından kalıp uzaklaştırılır. Kalıbın uzaklaştırılması, monomer(ler) ile kalıp arasındaki etkileşimin cinsine bağlı olarak kimyasal parçalanma ya da basit ekstraksiyon işlemi ile gerçekleştirilebilir. Bu durum, kalıp moleküle veya yakından alakalı yapısal analoglarına şekil, boyut ve işlevsellik bakımından spesifik ve tamamlayıcı tanıma bölgelerine sahip gözenekli bir polimer sağlar (Mayes ve Mosbach, 1997).

Moleküler baskılama, akıllı polimerlerik sistemleri üretmek için hedef molekülün yüksek seçici olarak tanınmasına ve bağlanması olanak sağlayan bir tekniktir. MIP'lerin oluşması üç adımda gerçekleşmektedir.

- 1. Ön Polimerizasyon İşlemi:** Hedef molekül, uygun bir çapraz bağlayıcı ve fonksiyonel monomerin kovalent veya kovalent olmayan etkileşimlerle kompleks oluşturulması için seçilmesi işlemidir (Parmpi ve Kofinas, 2004).
- 2. Polimerizasyon İşlemi:** Termal polimerizasyon, elektropolimerizasyon, fotopolimerizasyon ve benzeri kimyasal reaksiyonlarla oluşan hedef moleküle tutunmuş çapraz bağlayıcıların, fonksiyonel monomer kompleksinin ve uygun başlatıcının kopolimer oluşturmasıdır. Böylece polimerik sistemdeki fonksiyonel

monomer grupları uzaydaki düzenlenmeyle üç boyutlu gözenekli polimer ağ yapısı meydana getirir (Yu ve Mosbach, 2000).

3. **Elüsyon İşlemi:** Hedef molekülün uygun çözücü/çözücü karışımları kullanılarak polimerik yapıdan uzaklaştırılmasıyla kalıp moleküle özgü seçici bağlanma bölgeleri oluşturulması işlemidir (Mullett ve Lai, 1998).



Şekil 2. 5. Moleküler baskılanmış polimerlerin hazırlanmasının şematik görüntüsü (Denizli, 2015).

Moleküler tanıma yeteneğine sahip olan MIP kolay hazırlanır ve kararlıdır (Bereli ve ark., 2011). MIP'lerde kararlılığın önemli olmasıyla birlikte, doğal biyomoleküllere kıyasla birçok avantaja sahiptir. Bu nedenle, MIP'ler organik çözücüler, basınç, yüksek sıcaklık ve aşırı asidik/bazik pH gibi zorlu şartlarda kullanılabilirler (Mirsky ve Yatsimirsky, 2010).

Aynı zamanda, ucuz, maliyetli, spesifik tanıma özellikli ve kısa zamanlı sentezleme özelliğine sahip olan MIP'ler, sensörlerde seçicilik artırıcı bir modifiye malzeme olarak da kabul edilebilir (Ma ve ark., 2020). Sahip olduğu çeşitli avantajlarından dolayı MIP'ler, ilaç dağıtım sistemlerinde, katı-faz ekstrasyonlarında, analitik ayırma işlemlerinde sensör

uygulamalarında ve kütüphane tarama araçlarında sık olarak kullanılır (Moreira ve ark. 2010; Ertürk ve ark., 2011; Şener ve ark., 2011; Türkoğlu ve ark., 2013).

MIP'lerin sahip olduğu bu özelliklerinden dolayı çevre, yaşam ve ilaç bilimleri gibi çok farklı alanlardaki elektrokimyasal uygulamalarda bu malzemelerin kullanılmasına olanak sağlar (Wang ve ark., 2018; Lahcen ve ark., 2018; Li ve ark., 2018; Lopes ve ark., 2017).

2.4. Kriyojeller

Yunanca'da Krios (Kryos) kelimesinden türetilmiş ve polimerik bir jel olan “kriyojel”, buz ya da don anlamına gelmektedir (Dainiak ve ark., 2006). İlk olarak 1960'lı yıllarda önce ortaya çıkan kriyojeller, sahip olduğu süngerimsi, morfolojik yapısı ve makrogözenekliliğinden dolayı son yıllarda bilim insanlarının ilgi odağı haline gelmiştir (Lozinsky ve ark., 2007).

Sistematik bilimsel araştırmalarla yarı dondurulmuş ortamda hazırlanan kriyojeller, 1980'li yıllarda literatüre girmiştir (Lozinsky, 2014).

Kriyojeller, polimerik çözeltinin veya kısmen donmuş monomerin düşük sıcaklıklarda sıcaklıklarda (-10 ile -20 °C) radikal polimerizasyonu ile oluşmuş üç boyutlu jel matrikslerdir (Babac ve ark., 2006).

Kriyojel oluşumunda, kısmen donmuş monomer veya polimer çözeltileri kullanılarak, buz kristalleri oluşturulur. Bu işlem kriyojelleşme olarak bilinir. Daha sonra oda sıcaklığına getirilen donmuş çözücündeki buz kristalleri erir ve kriyojel olarak adlandırılan birbirine üç boyutlu ağlarla bağlı süpermakrogözenekli polimer yapısı elde edilir.

Kriyojellerin süpermakrogözenekli yapıda olması ve birbirine üç boyutlu ağ ile bağlanması, kromatografik matris gibi çok küçük akış direncine sahip olmasını sağlar (Arvidsson ve ark., 2002). Bu sayede kriyojeller, kütle aktarımı ve difüzyon akışı gibi birçok kromatografik çalışmalarda kullanılır (Baydemir ve ark., 2009).

Kriyojeller, esnek ve elastik malzemelerdir. Bu nedenle, kriyojeller gözenekli yapılarını bozmadan birkaç kez sıkıştırılabilirler ve sıkıştırma anında esas hacimlerinin yarısı veya daha fazla oranda aldığı suyu salabilir. Sulu ortam ile temasında ise hızlıca şişmektedirler (Ertürk ve Mattiasson, 2014a).

Birbirine ara bağlarla bağlı makrogözeneklerin varlığının başka bir avantajı ise, çözünen maddelerin engel olmadan geçişine izin vermeleridir (Bhat, Tripathi ve Kumar, 2011). Bu karakteristik özellik, doku mühendisliği alanında kriyojellerin uygulanmasını kolaylaştırır.

Doku mühendisliğinde biyomalzeme sistemleri planlarken, gözeneklerin birbirine bağlılığı, gözenek boyutu ve gözeneklilik derecesi ve önemli bir rol oynar. Birbirine bağlı makrogözenekler, besin akışın ve değişimi, oksijen ve atıkların giderilmesine yardımcı olur. Aynı zamanda hücre göçünü, çoğalmasını ve hücrenin yapışmasını kolaylaştırır (Bencherif, Braschler ve Renaud, 2013).

Yukarıdaki bilgiler ışığında, kriyojeller çok yönlü malzemelerdir ve özellikle doku mühendisliği gibi biyo ilişkili alanlarda (Petrenko ve ark., 2011), protein ayırma ve saflaştırma (Carvalhove ark., 2014), kromatografi (Alkan, 2015), kontrollü ilaç salımı (Martinez ve ark., 2012), yara onarımı (Dainiak ve ark., 2010), hücre immobilizasyonu (Lozinsky ve Plieva, 1998) ve su arıtma (Şahiner ve ark., 2015) gibi çeşitli uygulama alanları mevcuttur.

2.4.1. Moleküler Baskılı Kriyojeller

Moleküler olarak baskılanan kriyojeller, olağanüstü karakteristik özellikleri sebebiyle son zamanlarda ilgi çekici hale gelmiştir. Moleküler baskılanmış kriyojeller, düşük maliyetli olması, kolay sentezlenmesi ve hazırlanmasının kolay olmasından ötürü çok çeşitli uygulama alanlarında kullanılmaktadır (Bereli ve ark., 2008).

Gözenekli yapısından kaynaklı kriyojeller, parçacıkları arasında boşlukları olmayan dolgu kolonu malzemesi olmasıyla bilinmektedir. Bu sebepten dolayı kriyojeller, hem makrogözenekli hem de kontrollü bir şekilde oluşturularak, daha yüksek bir seçicilik sağlanır. Bu durumda, lineer akış hızında artma olurken, minimum geri akışta ve yüksek hızda daha iyi bir ayırma elde edilir (Baydemir ve ark., 2009).

Makrogözenekliliğe sahip olmasından dolayı moleküler baskılanmış kriyojeller, çok seçici geçirgenlik özelliğine sahiptir. Bu özelliğinden dolayı MIP kriyojelleri, ticari olarak üretilen membranların az seçiciliği ve geleneksel yığın polimerlerin spesifik tanıma bölgelerinin kısıtlanması gibi sorunlarla baş edebilir (Tamahkar ve ark., 2011).

2.4.2. Moleküler Baskılı Kriyojellerin Sentezi

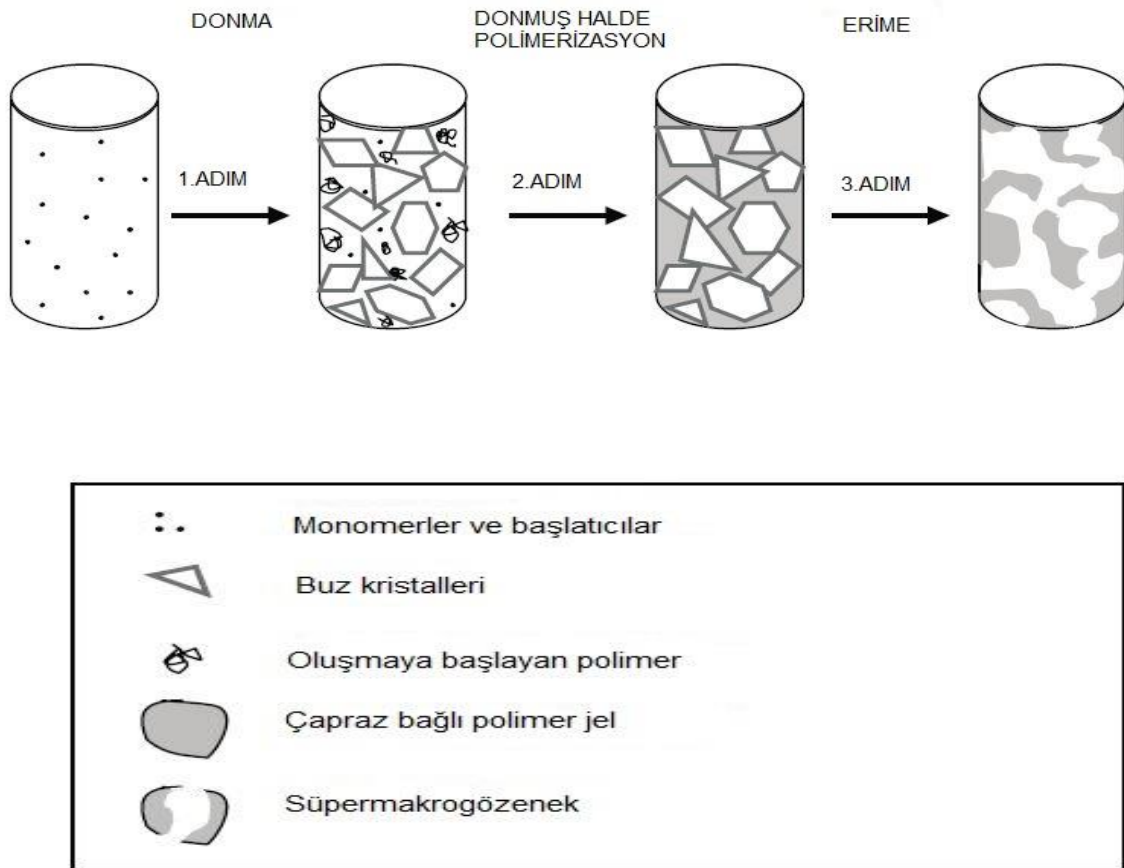
Kriyojellerin sentezi genel olarak üç adımda gerçekleşmektedir:

1. Adım: Polimer sisteminin hazırlanması ve sisteminin dondurulması,
2. Adım: Polimerizasyon işleminin gerçekleşmesi,
3. Adım: Polimer sisteminin erimesi.

1.Adım: Çapraz bağlayıcı ve başlatıcı içeren polimerik öncüller hazırlanır ve sulu sistem, çözücü noktasının altındaki sıcaklıklarda dondurulur.

2.Adım: Donmuş karışım içerisinde donmamış sıvı mikrofazda yer alan polimer sistemindeki hızla büyüyen buz kristallerinin etrafında yer alan öncüller polimerleşerek bir ağ yapısı meydana gelir. Olay polimerizasyon olarak adlandırılır.

3.Adım: Donmuş haldeki buz kristalleri oda sıcaklığında erir. Birbirine çapraz olarak bağlanan ve “kriyojel” olarak adlandırılan süpermakrogözenekli polimerik ağ yapıları meydana gelir.



Şekil 2. 6. Süpermakrogözenekli kriyojel sentezinin şematik görüntüsü (Plieva ve ark., 2004).

Ancak donmamış sıvı mikrofaza ve donmuş katı faza sahip olan kriyojeller heterofazlı bir ortamda oluşurlar (Sergeev ve Batyuk, 1976). Bu nedenle kriyojel oluşumu esnasında hızla büyüyen buz kristalleri “porojen” olarak davranır.

Birbirine bağlı olan bu süpermakrogözenekler, hareketli fazın minimum akış direnç ile akmasına olanak sağlar (Plieva ve ark., 2005).

Polimerik veya monomerik yapıların cinsi, konsantrasyonu ve polimerizasyonun olduğu sıcaklık gibi önemli etmenler kriyojel porların boyutunu ve şeklini etkilemektedir.

Kriyojel gözeneklerin şekil ve boyutlarını etkileyen birçok faktör içerisinde, monomerik veya polimerik öncülerin türü ve derişimi ile polimerizasyonun gerçekleştiği sıcaklık en önemli faktörlerdir.

Aynı şekilde kriyojellerin farklı alanlardaki performanslarını etkileyen gözenek duvarlarının kalınlığı, yoğunluğu ve büyüklüğü de önemli etmenlerdir (Plieva ve ark., 2005).

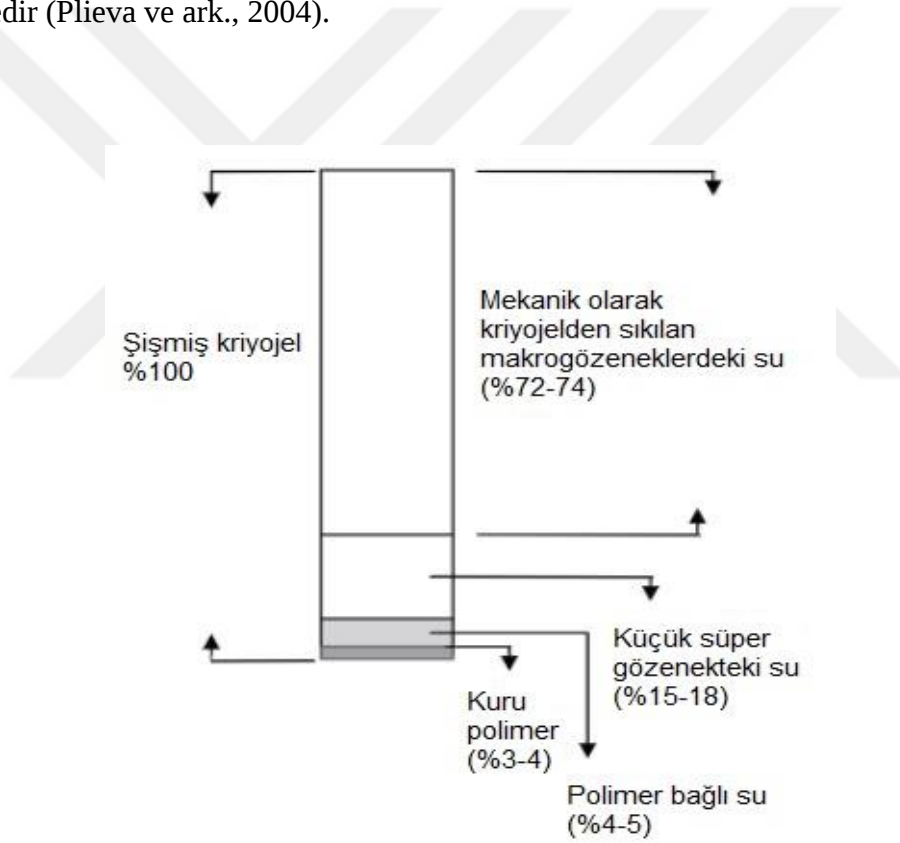
Kriyojellerin gözenek boyutu birkaç ile yüzlerce mikrometre arasında değişmektedir. Literatürde 10 ile 200 μm arasındaki gözenek aralığı süpermakrogözenekler olarak adlandırılmaktadır (Plieva ve ark., 2005).

Genel olarak kriyojelin gözenek boyutu, monomerlerin donma derecesine, oranına, fizikokimyasal özelliklerine ve başlangıç konsantrasyonuna büyük oranda bağlıdır (Buchtova ve Budtova, 2016).

Şişmiş kriyojel hacminin %90' ına kadar su ile içerebilir. Bu da yapı gözenekleri boyunca kütesinin yaklaşık %90' ının su olduğu anlamına gelmektedir (Henderson ve ark., 2013).

Hidratlanmış polimerin gözenek duvarları, toplam hacminin sadece %10'unu oluşturur. Gözenek duvarlarındaki yüksek polimer konsantrasyonu, mekanik kararlılık ile kriyojelleri süngersi ve elastik hale getirir (Gun'ko, Savina ve Mikhalovsky, 2013).

Kromatografik malzemenin gözenek hacmi çok önemlidir. Tamamen su ile şişmiş kriyojeldeki ortalama toplam kütlelerinin %(3-4)'ü kuru polimere aittir. Toplam kütlelerinin %(4-5)'i polimer bağlı su ve kriyojelin geriye kalan toplam kütlelerinin %90'ını gözeneklerdeki su oluşturmaktadır. Kriyojellerin elastikliğinden dolayı geniş gözeneklerdeki suyun %70'i mekanik olarak sıkıştırımla uzaklaştırılabilir. Bu da kriyojel hacminin büyük bir kısmının ara bağlantılı gözeneklerden oluştuğu anlamına gelmektedir (Plieva ve ark., 2004).



Şekil 2.7. (-12°C)' de hazırlanan süper makrogözenekli monolitik kriyojelin bileşimi (Adrados ve ark., 2001).

Kriyojellerdeki süngersi özellikler poli(2-hidroksimetakrilat) P(HEMA), polietilen glikol (PEG), poliakrilamid (PAAm), polivinilalkol (PVA) ve dekstranmetakrilat esaslıdır (çizelge 2.2) (Savina, Galaev ve Mattiasson, 2006).

Çizelge 2. 2.Kriyojel sistemler ve potansiyel uygulamalarına genel bakış.

Monomer/Polimer Öncülleri	Gösterimi	Gözenek Boyutu(μm)	Morfolojisi	Kullanılan İşlemler
Akrilamid	P(AAm)	1-200	Süngersi ve elastik	Partikül içeren sıvıların Kromatografisi; hücre kültürü için kalıp
Akrilamid	Aşı-P(AAm)	1-100	Süngersi ve elastik	Partikül içeren sıvıların Kromatografisi; hücre kültürü için kalıp
Dimetilmetakrilat	P(DMAA)	1-120	Süngersi ve elastik	Partikül içeren sıvıların

				Kromatografisi; Hücre kültürü İçin kalıp
Polivinilalkol	m-PVA	1-80	Süngersi ve Elastik	Hücre kültürü parçalanamayan veya kromatografi monolitik ortamı için kalıp
Polivinilalkol	b-PVA	0.1-1	Elastik	Mekanik kafesle hücrenin immobiliasyonu ve enzimlerin kimyasal immobilizasyonu
2-Hidroksietil metakrilat	HEMA	1-200	Süngersi ve elastik	Hücre kültürü için kalıp

Desktran	Dex-MA	1-100	Süngersi ve elastik	Hücre kültürü
Metakrilat				için kalıp
Hidroksietil				
Metakrilat-L	HEMA-LLA-D	1-100	Süngersi ve elastik	Hücre kültürü
				için
				parçalanabilir
				kalıp
Lasetat Desktran				
Dekstran Agaroz	Ags-MG	1-100	Süngersi ve elastik	Hücre kültürü
				için kalıp
Polietilenglikol	PEG	1-100	Süngersi ve elastik	Hücre kültürü
				için kalıp
N-İzopropil akrilamid	NIPAAM	1-100	Süngersi ve elastik	Hücre kültürü
				için kalıp

2.4.3. Moleküler Baskılamada Kriyojellerin Avantajları ve Dezavantajları

MIT’de, kriyojelde makrogözenekli yapının avantajlarını, spesifik tanınmasını ve yüksek akışını birleştiren özel bir afinite ayırma yöntemi olan moleküler baskılı kriyojeli (MIC), 2008 yılında Bereli ve arkadaşları (Bereli ve ark., 2008) ortaya koymuştur (Denizli, Say ve Pişkin, 2003).

Kriyojeller, donmuş şartlar altında sentezlenir (Plieva, Galaev ve Mattiasson, 2007). Hızlı şişme kinetikleri, düşük basınç, kararlılık, büyük gözeneklilik, viskoz ortamda çalışma olanağı ve esneklik gibi benzersiz özelliklere sahiptir. Bu bakımdan kriyojeller, birçok araştırma alanlarında alternatif bir araçtır (Kumar ve ark., 2006; Çorman ve ark., 2015).

MIC, biyolojik yapıları ayırması, hedeflenen toksinlerin giderilmesi, yüksek seçicilikte kiral tanınması ve pratik olmasının yanı sıra, et suyunun fermantasyonu, karmaşık çevredeki ağır metal iyonlarının uzaklaştırılması, ayrılmadan sonra, kan, idrar ve hücre süpernatanı gibi biyolojik numunelerden analitlerin uzaklaştırılmasını içerir (Çetin ve Denizli, 2015; Fan ve ark., 2009). Daha spesifik olarak MIC’ler, nükleik asit, protein ve polipeptit gibi biyo makro moleküllerin afinite ekstraksiyonunda, küçük mikromoleküllerin ve hatta mikroorganizmaların, virüs, organellerin ve hücrelerin ayrılması ve hareketsizleştirilmesinde uygulanmaktadır (Ünlüer ve ark., 2013).

Düşük sıcaklıklardaki polimerizasyon, makromoleküler baskılama anında, yüksek seçici boşlukları tekrar bağlar ve konuk yapı olan proteinlerin konformasyonel değişimlerini önler. Fonksiyonel gruplar oluşturmak için modifiye edilerek (Singh ve ark., 2014) veya edilmeden (Plieva, Galaev ve Mattiasson, 2007; Zhan ve ark., 2013) ve mikro veya makro dolu katı partiküller (Yao ve ark., 2007; Baggiani ve ark., 2010; Savina ve ark., 2011) olarak kullanılabilirler. Üstelik, kriyojeller uygun maliyetlidir ve hazırlanmaları kolaydır. Bu nedenle, örneklerin ardışık yığınları arasındaki çapraz kirliliği önlemek için kullanımdan sonra atılabilirler (Kirsebom ve ark., 2010).

Kriyojeller, makrogözenekleri sayesinde çok düşük akış direnci gösterirler. Bundan dolayı, geleneksel afitinite temelli kromatografi matrislerine birer iyi alternatiftir (Arvidsson ve ark., 2003). Kriyojellerin bu özellikleri, ayırma matrisleri olarak kromatografik ortamda (Andaç, Galaev ve Denizli, 2012; Perçin ve ark., 2012), biyokimyasal, çevresel ve biyomoleküler gibi çeşitli uygulamalar sağlar (Ertürk ve ark., 2014 b; Tamahkar ve ark., 2017).

Kriyojellerin sahip olduğu makrogözenekli yapılar, yüksek biyoyumluluk gösteren makromolekülerin bileşiklerin etkili şekilde taşınmasını, mekanik kararlılığı ve hücrelerin göçünü, sağlar (Gun'ko, Savina ve Mikhalovsky, 2013). Kriyojellerin bu özellikleri, kromatografi (Arvidsson ve ark., 2002; Aydoğan ve ark., 2012), biyoreaktörler (Jespersen ve ark., 2013; Kumar ve ark., 2006), doku mühendisliği (Andac ve ark., 2008; Dispınar ve ark., 2012) ayırma matrisleri gibi uygulamaların yapılmasını sağlar.

100 µm'ye kadar olan büyük gözenek boyutları, esneklik, kısa difüzyon yolu, yüksek dayanıklılık ve iyi biyoyumluluk gibi üstün özellikleri ile kriyojeller ayırma ve biyo ayırma süreçleri için vazgeçilmezdir (Lalatsa, Schatzlein ve Uchegbu, 2011; Gao ve ark., 2013). Spesifik gözenekli yapıya sahip olan kriyojellerin çok sayıdaki aktif tanıma bölgeleri, hedefte hem yüksek seçicilik hem de yüksek adsorpsiyon kapasitesi sağlar (Lan ve ark., 2014).

Kriyojellerin, polimerlere göre bazı avantajları mevcuttur. Kriyojeller, farklı şekillere sahip tabakalar, diskler veya monolitler halinde farklı boyut ve kalıplarda şekillenebilir. Kriyojellerin birbirine bağlı olan makrogözenekli yapısı çeşitli uygulamalarda uygunluk sağlar. Ayrıca kriyojeller, metal iyonlarını içeren atık su gibi viskoz ortamlarda kullanıma uygundur (Mafu, Msagati ve Mamba, 2013).

Ortamın direkt işlenmesiyle analitin ayrılması için eşsiz morfolojik özelliklere sahip kriyojeller, biyoteknolojik uygulamalarda ilgi odağı olmuştur (Kim ve Lee, 2019). Son zamanlarda MIP kriyojelleri, matris boyunca hızlı akışı, verimli kalıp moleküller için

yüksek afiniteleri ve birbirine bağlı kanalları gibi benzersiz özellikleriyle çevre alanında ümit verici bir emici malzeme haline gelmiştir (Keçili ve ark., 2018; Huseynli ve ark., 2020).

Kriyojel gözeneklerinin elastik duvarı, emici özellikleri, iç yüzeyi, kriyojel gözenek yapısının %50'den fazla çoklu baskılanması ve geri kazanımdan sonra veya tekrardan kurutma ve şişmeden sonra bile iyi bir mekanik kararlılık özelliğine sahiptir. Bu da, kriyojelin birden fazla tekrar kullanılabilirliği, ıslak durumda yenilemesi ve kuru durumunda ise depolaması açısından uygundur (Hu ve ark., 2010).

Genellikle kriyojeller, bir başlatıcı sistemi kullanılarak yarı donmuş haldeki serbest radikal polimerizasyonu ile sentezlenen üç boyutlu makrogözenekli hidrojel matrislerdir (Andaç, Galaev ve Denizli, 2016). Monomerlerin sulu çözeltisindeki düşük yoğunluklu polimerizasyonu ile oluşurlar. Birbirine ara bağlantılarla bağlanan ve gözenekli yapıyı oluşturan üç boyutlu polimerik yapı ise donmuş buz kristallerini oluşturur (Hajizadeh ve ark., 2013; Gun'ko, Savina ve Mikhalovsky, 2013).

Kriyojellerin en önemli özellikleri, gözenekli yapıda olması, hidrofilik yapıları sebebiyle spesifik olmayan etkileşimlerin olması, ozmotik kararlılıkta ve minimum mekanik özellikte olmasıdır. Kriyojellerin dezavantajı ise düşük yüzey alanına sahip olmasıdır.

2.4.4. Teofilin Adsorpsiyonu ve Baskılanması İle Yapılmış Literatür Çalışmaları

Yüksek çapraz bağlı polimerik adsorbenler, ayırma, su kirliliğinin kontrolü ve adsorpsiyon alanlarında son yıllarda giderek ilgi görmektedir (Vinodh ark., 2015; İpek ve ark., 2012).

Yüksek çapraz bağlı polimerik adsorbenler, üstün mikrogözenekleri ile bilinir (Zhang ve ark., 2014; Meng, Yang ve Lee, 2013). Bu nedenle birçok bilim insanı, yüksek çapraz bağlı polimerik adsorbenlerin, mikro gözeneklerinin doldurma kapasitesi nedeniyle normal makro gözenekli polimerik adsorbenlerin aromatik bileşiklere göre daha üstün adsorpsiyon özelliklerine sahip olduklarını belirlemişlerdir (Xiao ve Long, 2012; Jiang ve Huang, 2016).

Katı faz ekstraksiyonu (SPE), analitleri karmaşık örneklerden önceden konsantre etmek ve izole etmek için kullanılır. Bu yöntem, geleneksel sıvı-sıvı ekstrasyonuna göre daha çevre dostu, ekonomik, hızlı, basittir (Wang, Hong ve Row, 2004). SPE için MIP'leri adsorben olarak kullanımını ilk kez Sellergen tanımlamıştır (Sellergren, 1994b). Genel olarak SPE'de kullanılan malzemeler, hedeflerin spesifik olmayan bağlanmasından kaynaklanmaktadır. Bu, genel olarak düşük seçiliğe ve spesifiklik gibi bazı dezavantajlara neden olur (Baggiani ve ark., 2001).

Son zamanlarda, sentez kolaylığı, düşük maliyetli hazırlığı, zor koşullarda özellikle aşırı düşük/yüksek pH ve organik çözücülerdeki çalışabilirliği ve yüksek seçiciliği gibi özellikleri nedeniyle, moleküler baskılanmış polimerleri içeren katı-faz ekstraksiyon sistemlerinin başarılı olduğu uygulamalar yapılmıştır (Blomgre ve ark., 2002; Meng ve Liu, 2001; Theodoridis ve Manesiotis, 2002; Jodlbauer, Maier ve Lindner, 2002; Kugimiya ve Takeuchi, 1999).

Son yıllarda Mullet ve Lai, teofilinin seçici SPE'si için bir MIP kolonunu ve ardından doğrudan UV absorpsiyon spektrofotometrik tayini için birkaç 20 µL'lik protik polar çözücü ile bağlı teofilinin titreşimli elüsyonunu kullanan bir çevirim içi yöntemini başarıyla geliştirmişlerdir (Mullett ve Lai, 1998).

Moleküler baskılı katı faz ekstraksiyonu yöntemi, analitin önceden konsantrasyonuna veya kısmen büyük hacimdeki seyreltilmiş örnek çözeltisinin enjeksiyonuyla değiştirilmesine olanak sağlar. Bu nedenle, Moleküler baskılı katı faz ekstraksiyonu yöntemi, serumdaki

teofilini izlemek için geleneksel HPLC yöntemine kıyaslandığında büyük ölçüde azalan analiz süresi (Schreiber-Deturmeny ve Bruguerolle, 1996), her bir numune tayini için düşük maliyet, çok rekabetçi bir saptama hızı ve antikör hazırlığı olmayan bir hazırlık sağlar (Masque, Marce ve Borrull, 1998).

Teofilin baskılanmış polimerler ile ilgili çalışmaları Tunç ve arkadaşları, kovalent olmayan baskılama yöntemi ile çeşitli monomerleri bir arada kullanarak hazırlamışlardır. Çalışmada, çapraz bağlayıcı olarak EGDMA, ana monomer olarak MAAC ve komonomer olarak HEMA ve AAm seçilmiştir. Çok sayıda hidrojen bağı oluşturan gruplarının olması, kararlı yapısı ve fonksiyonel monomerlerle kovalent olmayan etkileşimler için uygun olduğundan Teofilin, bu çalışmada kalıp molekül olarak seçilmiştir. Hazırlanan polimerlerin bağlanma bölgelerinin Langmuir izoterm modeline göre heterojen dağılımında olduğunu açıklamışlardır (Tunç ve ark., 2006).

Baggiani ve arkadaşları, teofilin bağlayıcı bir polimeri kovalent olmayan moleküler baskılama polimerizasyonu tekniği kullanarak hazırlamışlardır. Çalışmada elde ettikleri polimeri, HPLC kolona göndermişler ve yüzeysel ve bölgesel kromatografi ile metanolün afinite sabitini, pH'ını, bağlanma davranışını belirleyen moleküler tanıma mekanizmasını ve bağlanma bölgelerinin konsantrasyonu üzerindeki etkilerini incelemişlerdir (Baggiani ve ark. 1997). Bulunan bağlanma kapasitesi değerleri, organik ortamdaki aynı polimer için literatürdeki değerlere kıyasla azaltılmış olsa bile, baskılı polimerlerin tamponda teofilinin bağlanabilme yeteneğini göstermişlerdir ve tanıma mekanizmasında hidrojen bağına ana etkileşim olarak kanıtlamışlardır (Baggiani ve ark. 1997).

Che ve arkadaşları, fonksiyonel monomer olarak akrilik asit kullanarak teofilin baskılı poli (akrilonitril-ko-akrilik asit) filmlerini üretmişlerdir. Bir grup konsantrasyona bağlı Fourier dönüşümlü infrared (FTIR) spektrumları toplanmışlardır. Spektrumların iki boyutlu (2D) korelasyon analizi ve yoğunluk fonksiyonel teorisi hesaplaması yapılarak moleküler tanıma mekanizmasını değerlendirilmiştir. Yoğunluk fonksiyonel teorisi temelli teorik tahminlerin, rapor ettikleri sonuçlarla uyuştuğunu göstermişlerdir (Che ve ark., 2009).

Jafari ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada moleküler baskılı polimer-katı faz ekstraksiyonu ekstraksiyonu prosedürü ile gerçek numunelerden doğrudan kafein ve teofilini ekstrakte etmeyi başarıyla gerçekleştirmişlerdir. Model kalıp olarak teofilin ve kafein karışımı ile çapraz bağlayıcı olarak ve yine polimerin sertliğini sağlamak amacıyla EGDMA kullanarak moleküler baskılı polimer sentezlemişlerdir. MAAC, seçici hidrojen bağı ile analit grupları oluşturması için en iyi işlevsel monomer olduğundan tamamlayıcı fonksiyonel monomer olarak kullanmıştır. Önerilen yöntem, çeşitli gerçek yeşil çay ve katılmış insan plazma örneklerini analiz etmek için kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlarda, iyon hareketliliği spektrometresi ile teofilin ve kafeinin ayrılarak analiz edildiklerini değerlendirmişlerdir (Jafari, Rezaei ve Javaheri, 2011).

Khorrami ve Rashidpur, yaptıkları çalışmada, MIP'ler kullanılarak seçici SPE için yeni bir kartuşun tasarımını geliştirmişlerdir. Çözücü ekstraksiyon kartuşu olarak adlandırılan bu cihaz, geleneksel bir mikro test tüpünden oluşur. Sulu numune çözeltisinden bir organik faza analitin aynı anda ön ekstraksiyonunu ve MIP katı fazına geri ekstraksiyonunu gerçekleştirmek için geliştirmişlerdir. Bu yöntemin performansı için insan serum örneğinden teofilinin ekstraksiyonunu araştırmışlardır. Sonuçlarda, teofilinin önerilen kartuş ile teobromin ve kafein gibi yapısal olarak ilişkili olan diğer bileşiklerden önemli ölçüde ayrıldığını göstermişlerdir (Khorrami ve Rashidpur, 2009).

Lv ve arkadaşları, çalışmasında 3-aminopropiltrioksilanlar ve AAm ile sentezlenen hibrid monomeri moleküler baskılı polimerlere uygulamışlardır. Elde ettikleri polimerleri, yeşil çayda teofilinin saflaştırılması için katı faz ekstraksiyonunda sorbent olarak kullanmışlardır. Yaptıkları deney sonucunda elde ettikleri polimerlerin analite karşı oldukça yüksek seçici baskılama gösterdiğini ve kalıpların sayısının, polimerlerin seçici tanıma kabiliyetini etkileyen bir etmen olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca, hibrit monomer baskılı polimerleri ile ilgili uyguladıkları yöntemin yeşil çaydaki teofilinin saflaştırılmasını başarıyla uygulamışlardır (Lv ve ark., 2020).

Li ve arkadaşları, çalışmalarında uygun bir elektrokimyasal yöntemle yeni bir taşınabilir (MIP-SERS) nanoprobunu üretmişlerdir. Tek katmanlı olan MoS₂, yapı olarak ekran

baskılı bir elektrot üzerinde elektrokimyasal olarak indirgenmiştir. Fonksiyonel monomerler olarak o-fenilendiamin (oPD), kalıp olarak teofilin ve SERS aktif Au nanopartiküller (AuNP'ler) daha sonra yapıda tek adımlı elektropolimerize edilmiştir. 45 ~ 50 nm boyutundaki bol AuNP'ler, yüzeyle sınırlanmak yerine büyüyen MIP içinde hapsedilmiştir. Kalıp çıkarıldıktan sonra, teofilinin seçici bağlanması için baskılamadan uzaklaştırılmış nanoprob üretilmiştir. Yaptıkları çalışmada, nanoprob morfolojisinin üç boyutlu ve gözenekli bir yapıda olduğunu bulmuşlardır (Li ve ark, 2020).

Zhao ve arkadaşları, çalışmasında monomer olarak N-izopropilakrilamid ve kalıp molekül olarak teofilin kullanılarak elektropolimerizasyon yöntemiyle yeni bir MIP temelli ısı duyarlı elektrokimyasal sensör üretmişlerdir. Hazırlanan sensörün elektrokimyasal davranışını araştırmak için elektrokimyasal prob olarak $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} / [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ kullanılmıştır. Elektropolimerizasyon döngüleri dahil olmak üzere çapraz bağlayıcıların kullanımı, etki faktörleri ve ekstraksiyon çözeltisi ayrıntılı olarak incelenmiştir. Çalışma sonucunda, sensörün, çevresel sıcaklık uyarıcılarına karşı mükemmel ısı hassasiyetli davranışı sergilediğini ve analoglarından kalıp moleküller için iyi bir tanıma kapasitesi gösterdiğini belirtmişlerdir (Zhao ve ark., 2013).

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Tez çalışması için kullanılan bütün kimyasal malzemeler analitik saflıktadır ve herhangi bir ileri saflaştırma işlemine tabi tutulmadan temin edildiği gibi kullanılmışlardır. Kalıp molekül teofilin (1,3-Dimethylxanthine, $C_7H_8N_4O_2$, % 99 saflıkta), polimerin bileşenleri olan monomerler 2-hidroksietil metakrilat (HEMA, $C_6H_{10}O_3$, % 97 saflıkta) ve akrilamid (AAm, C_3H_5ON , %99 saflıkta), çapraz bağlayıcı olarak kullanılan N,N'-metilenbisakrilamid ($C_7H_{10}O_2N_2$, MBAAm, %99 saflıkta), başlatıcı olarak kullanılan amonyum persülfat (APS, $[(NH_4)_2S_2O_8]$, %98 saflıkta), katalizör olarak kullanılan N,N,N',N'-Tetrametil etilendiamin (TEMED, $C_6H_{16}N_2$, %99,5 saflıkta) ve konuk molekülü kriyojelden ayırmak için kullanılan sodyum klorür ($NaCl$, %99) Merck firmasından (Darmstadt, Almanya) temin edilmiştir. Çözeltinin pH değerini kontrol etmek için hazırlanan fosfat tampon çözeltilerinde fosforik asit (H_3PO_4 , %85 sulu çözeltisi), sodyum dihidrojen fosfat monohidrat ($NaH_2PO_4 \cdot H_2O$, %98 saflıkta), sodyum hidrojen fosfat heptahidrat ($Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$, %98 saflıkta) ve sodyum fosfat (Na_3PO_4 , %98 saflıkta) Alfa Aesar (Massachusetts, Amerika Birleşik Devletleri) firmasından temin edilmiştir. Hazırlanan tüm çözeltilerde kullanılan deiyonize su Smart2Pure ultra safsu sisteminden elde edilmiştir. Elde edilen deiyonize suyun iletkenliği 18-20 $M\Omega/cm$ olarak ölçülmüştür. Deneylerde kullanılan bütün cam malzemeler bir gün boyunca kromik asit çözeltisinde bekletilerek safsızlıklar uzaklaştırılmıştır.

3.2. Teofilin Baskılanmış Kriyojel Membranların Hazırlanması

Bu çalışmada, poli(2-hidroksietil metakrilat/akrilamid) P(HEMA/AAm) kriyojeline teofilin baskılanmış, membran formunda sentezlenen kriyojellere teofilin için adsorpsiyon/desorpsiyon çalışmaları yapılmıştır. İlk olarak optimum bileşen oranları saptanmış, daha sonra baskılanmış/baskılanmamış kriyojel membranlar sentezlenmiştir. Çizelge 3.1'de optimum bileşenlerin belirlenmesi için denenen monomer, çapraz bağlayıcı, konuk molekül ve su miktarları verilmiştir. Örnek 3 en uygun bileşim olarak

değerlendirilmiş, teofilin baskılanmış/baskılanmamış kriyojeller bu bileşimde sentezlenmiştir. Kriyojel sentezinde kullanılan bileşenlerin türü, molekül ağırlıkları, moleküller arası etkileşimler, kullanılan çapraz bağlayıcı ve bileşenlerin derişimleri önemlidir (Lozinsky, 2014).

Çizelge 3. 1. Optimum koşulların belirlenmesi için sentezlenen kriyojel membranların bileşimi.

Örnek	HEMA (mmol)	AAm (mmol)	Teofilin (μ mol)	MBAAm (mmol)	Su (mL)	Sonuç
1	24	0,137	13,9	3,89	24,5	Oluşmadı
2	26	0,137	13,9	3,89	24,5	Oluşmadı
3	32	0,137	13,9	3,89	24,5	Süngerimsi yapı
4	38	0,137	13,9	3,89	24,5	Sert Yapı

Sentez için ilk olarak değişik miktarlarda HEMA bir vial şişesine alınmıştır. Başka bir vialde, AAm ve teofilin karışımı çözülerek etkileşimleri sağlanmıştır. Üçüncü bir vialde çapraz bağlayıcı olan MBAAm çözülerek karıştırılmıştır. Bütün vial şişeler buz banyosunda bekletilmiştir. Daha sonra, üç vial şişe buz banyosunda karıştırıldıktan sonra karışıma 10 mg APS ve 50 μ L TEMED eklenerek hızlıca karıştırılıp -18°C de bir gün süre ile bekletilmiştir. Optimum miktarlar/koşullar belirlendikten sonra elde edilen tablet formundaki kriyojel membranlar saf su ile yıkandıktan sonra, teofilinin uzaklaştırılması için NaCl çözeltisi ile muamele edilmiştir. Uygun pH ortamında yeniden teofilin yüklemesi yapıldıktan sonra, NaCl/fosfat tamponu çözeltisi ile yüklenen teofilin alınmış ve adsorpsiyon/desorpsiyon verimi incelenmiştir. Teofilin miktarı 271 nm dalga boyunda opisi spektrometresi ile takip edilmiştir.

Şekil 3.1’de tablet formunda sentezlenen teofilin baskılanmış kriyojel membranlar verilmiştir. Bu çalışmada adsorpsiyon/desorpsiyon çalışmaları için kullanılan bütün kriyojel membranlar tablet formundadır.



Şekil 3. 1. Teofilin baskılanmış tablet formundaki HEMA/AAm kriyojelleri.

3.3. Karakterizasyon Çalışmaları

Elde edilen baskılanmış/baskılanmamış kriyojel membranların oluşumu çeşitli analitik yöntemlerle takip edilerek değerlendirilmeler yapılmıştır.

3.3.1. Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi (FTIR) Analizleri

Sentezlenen P(HEMA), baskılanmış/baskılanmamış P(HEMA/AAm) kriyojellerinin oluştuğunu gözlemek için FTIR spektrumları alınmıştır. FTIR spektrumları Nicolet is50 (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, Amerika Birleşik Devletleri) model spektrometre ile (4000-400) cm^{-1} dalgasayısı aralığında alınmıştır. Spektrum alınmadan önce toz haline getirilen kriyojeller etüvde 3 saat süre ile kurutulmuştur.

3.3.2. Termogravimetrik (TGA) Analizler

Elde edilen kriyojellerin termal karakterizasyonu Q600 SDT (TA Instruments, New Castle, Amerika Birleşik Devletleri) model cihaz ile yapılmıştır. Bileşenlerin termal kararlılığa olan etkileri değerlendirilmiştir. Toz haline getirilen kriyojel örnekler etüvde 3 saat

kurutulduktan sonra (25-800)°C sıcaklık aralığında azot atmosferi altında 10°C/dakika ısıtma hızı ile sıcaklık artırılmıştır. Örnekler analizlerden önce ısıtma haznesinde 100°C'ye ısıtılıp soğutulmuştur.

3.3.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizleri

Elde edilen kriyojellerin morfolojik yapısı GAIA 3 (Tescan, Brno, Çekya) taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile aydınlatılmıştır. Toz haline getirilen kriyojel membranlar etüvde 3 saat süre ile kurutulduktan sonra, örnekler vakum altında metalik altın ile kaplanarak SEM örnek yuvasına yerleştirilerek değişik büyütme oranlarında görüntüleri alınmıştır.

3.3.4. Braunauer Emmett Teller (BET) Analizleri

Elde edilen kriyojellerin yüzey alanı ve gözenekliliği hakkındaki veriler Tristar II model BET (Micrometrics, Ottawa, Kanada) cihazı ile değerlendirilmiştir. Baskılanmış ve baskılanmamış kriyojellerin gözenekliliği, konuk molekül kriyojelde varken ve tuz çözeltisi ile alındıktan sonraki gözeneklilik değerlendirmeleri yapılmıştır. Analizlerden önce toz haline getirilmiş örnekler etüvde 3 saat süre ile kurutulmuşlardır. Örnekler 40 noktalı -198°C'deki sıvı azot varlığında 110°C'de N₂ gazının adsorpsiyon ölçümleri ile yapılmıştır.

3.3.5. Şişme Davranışlarının İncelenmesi

Teofilin baskılı kriyojellerin şişme davranışlarının incelenmesi için tablet formundaki örnekler etüvde 3 saat süre ile kurutulmuşlardır ve sabit tartıma getirilmişlerdir. Örneklerin fiziksel şeklini koruduğu gözlemlendikten sonra, oda sıcaklığında 20 mL saf su içerisinde örnekler bekletilmiş ve ara ara kütleleri kaydedilmiştir. Kriyojel tabletler için şişme oranı ve makrogözeneklilik aşağıdaki eşitliklere göre belirlenmiştir.

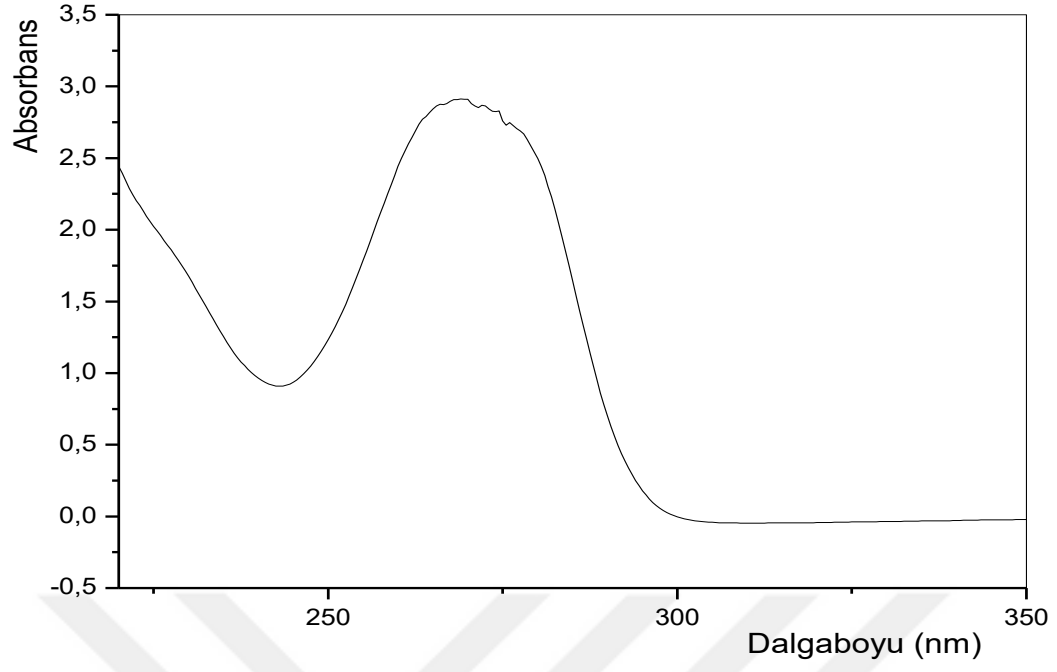
$$\text{Şişme Yüzdesi} = \frac{M_s - M_0}{M_0} \times 100 \quad (3.1)$$

$$\text{Makrogözeneklilik Yüzdesi} = \frac{M_s - M_{sık}}{M_{sık}} \times 100 \quad (3.2)$$

Eşitliklerdeki M_s şişmiş tabletlerin kütlelerini, M_0 sabit tartıma getirilmiş kuru tabletin kütlelerini, $M_{sık}$ ise sıkılarak suyu salınan tabletin kütlelerini ifade etmektedir.

3.4. Adsorpsiyon ve Desorpsiyon Verilerinin Analizi

Optimum koşullarda elde edilen kriyojel membranlar için adsorpsiyon ve desorpsiyon çalışmaları yapılmıştır. Adsorpsiyon için optimum pH değeri belirlenmiş olup, bütün analizler için bu pH değerinde kriyojel tabletlere teofilin yüklemeleri yapılmıştır. Tablet kütleleri, tablet-teofilin etkileşim zamanı, konuk molekülün derişiminin ve iyonik şiddetin adsorpsiyona etkisi çalışılmıştır. Buna ek olarak, sıcaklığın adsorpsiyona etkisi de değerlendirilerek bazı termodinamik parametreler hesaplanmıştır. Bazı desorpsiyon parametreleri de hesaplanarak teofilin salımıyla ilgili veriler değerlendirilmiştir. (10-80)°C arasında sıcaklık ayarı yapılabilen çalkalamalı inkübatör ile sıcaklığın etkisi incelenmiştir. Teofilin salımı için pH taraması yapılmış, en iyi salımın yapıldığı pH değerinde tuzlu fosfat tampon çözeltisi ile çalışmalar yapılmıştır. Adsorbe olan teofilin miktarı, ortamdaki derişimin azalması ile hesaplanmıştır. Çözeltide kalan ve salınan teofilin miktarı Shimadzu (Tokyo, Japonya) marka Ultraviyole ve görünür ışık absorpsiyon spektroskopisi (UV-Vis) ile 271 nm dalga boyunda belirlenmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3. 2. Teofilin çözeltisi için UV-Vis spektroskopisi (50 ppm, saf suda, $\lambda_{\text{max}} = 271 \text{ nm}$).

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

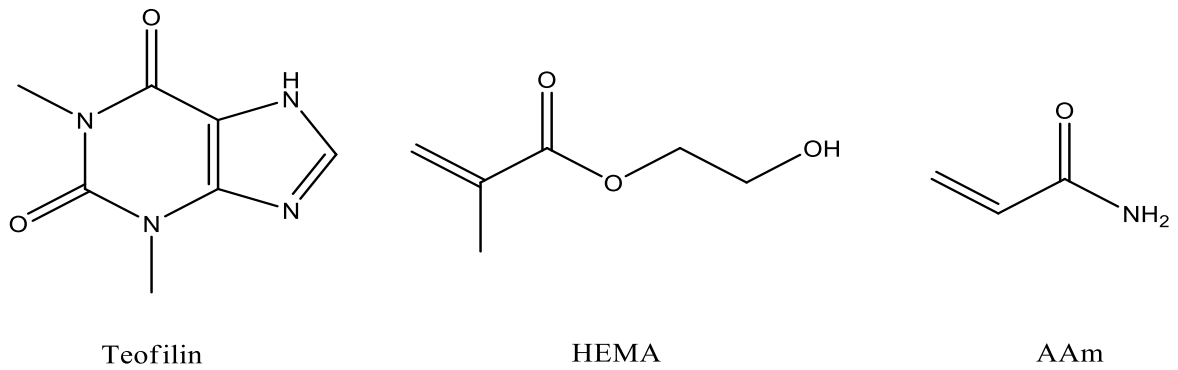
Teofilin (1, 3-dimetil-7H-Pürin-2, 6-dion), akut akciğer enfeksiyonları ve astım gibi solunum yolu hastalıklarının tedavisinde kullanılan bir metilksantin ilacıdır (Malode, Shetti ve Nandibewoor, 2012; Zi ve ark., 2012). Literatürde teofilin baskılanmış polimerler ile ilgili çeşitli çalışmalar mevcuttur. Teofilin baskılanmış polimerlerin salım kinetiği incelenerek kontrollü ilaç salımı üzerine değerlendirmeler yapılmıştır (Norell, Andersson ve Nicholls, 1999). San ve arkadaşları, teofilin baskılanmış monolitik kolon yardımıyla, teofilini diğer analoglarından ayırmayı hedeflemiştir (Sun, Qiao ve Liu, 2006). Baleviciute ve arkadaşları teofilin baskılanmış polipirol filmlerin iletkenlikleri üzerine incelemeler yapmıştır (Baleviciute ve ark., 2015). Philip ve arkadaşları, EGDMA ile çapraz bağlanmış MAAC bazlı polimerlere teofilini baskılamış, çapraz bağ yoğunluğuna bağlı olarak teofilinin ayrılması ve seçimliliği üzerine çalışmalar yapmıştır (Philip ve Mathew, 2008).

Bu tez çalışmasında, teofilin baskılı P(HEMA/AAM) kriyojel membranları hazırlanarak, elde edilen kriyojellerin karakterizasyon, adsorpsiyon ve desorpsiyon çalışmaları yapılmıştır. Adsorpsiyon çalışmaları ile atık sularda bulunan teofilinin alınması, desorpsiyon çalışmaları ile, adsorplanan teofilinin geri kazanımı ve buna ek olarak sentezlenen membranların potansiyel ilaç salım malzemesi olarak değerlendirilmesi hedeflenmektedir.

4.1. Karakterizasyon Çalışmaları

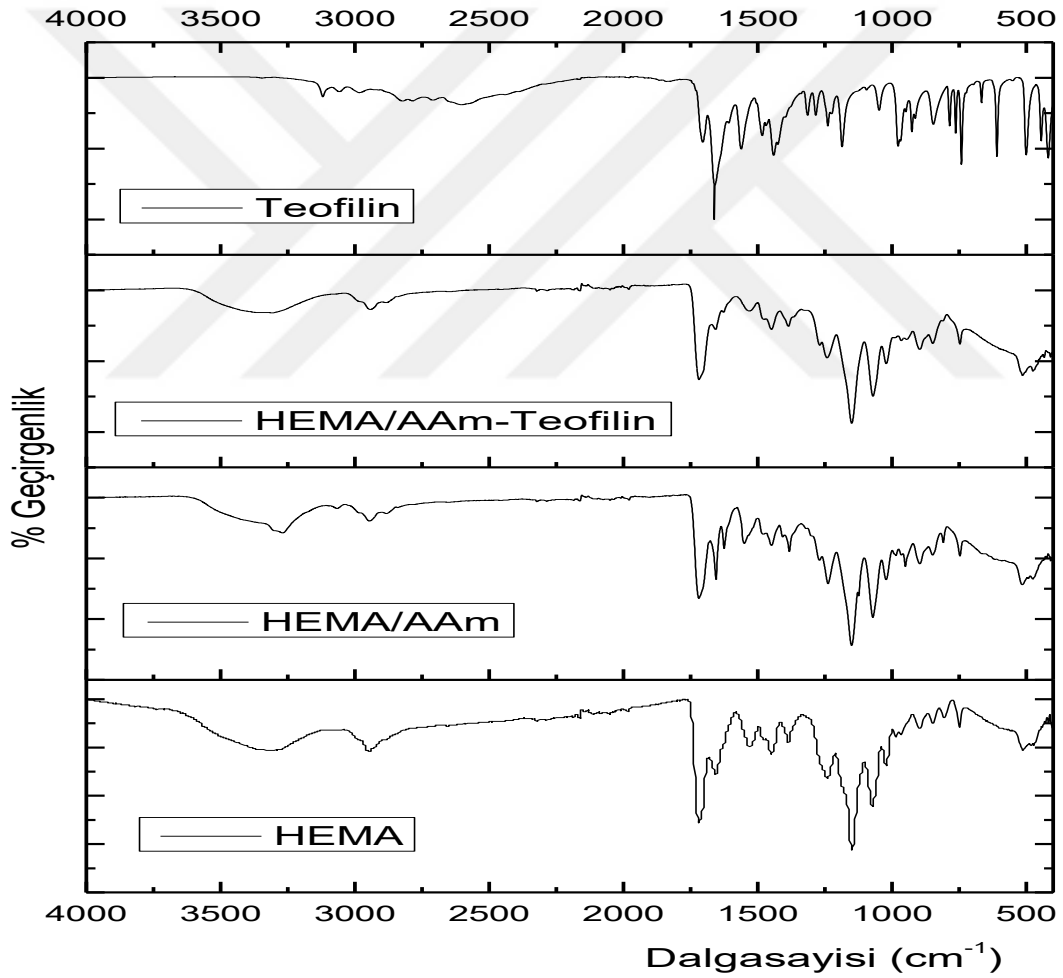
Teofilin baskılanmış kriyojellerde kullanılan bileşiklerin yapıları Şekil 4.1’de verilmiştir. Elde edilen kriyojel membranlar süngerimsi bir yapıda olup, fiziksel bir müdahale görmesi durumunda yeniden eski şekline dönebilmektedir.

Elde edilen kriyojel membranlar FTIR, TGA, SEM ve BET yöntemleri ile karakterize edilmiştir.



Şekil 4.1. Teofilin baskılı kriyojel membranların sentezinde kullanılan bileşiklerin kimyasal yapıları.

sayısında gözlenen pikler -C=O ve -C-C=O gruplarından, 927 cm^{-1} ve 978 cm^{-1} dalga sayısında gözlenen pik ise -N-CH_3 gruplarından, 610 cm^{-1} dalga sayısında gözlenen pik ise -C=C-N gruplarından kaynaklanmaktadır (Gunasekaran, Sankari ve Ponnusamy, 2005). Teofilin baskılanmış P(HEMA/AAm) kriyojel membranların FTIR spektrumları incelendiğinde, $(3000\text{-}3500)\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısındaki pikteki yayvanlaşma en önemli değişim olarak göze çarpmaktadır. Diğer bir önemli değişim ise, teofilin baskılandıktan sonra $(1600\text{-}1200)\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı aralığındaki bazı piklerin şiddetinin azalmasıdır. Bu değişimler teofilin ile P(HEMA/AAm) arasındaki etkileşimi göstermektedir (Chauhan ve ark., 2008).



Şekil 4. 2. Teofilin ve sentezlenen kriyojel membranlar için FTIR spektrumları.

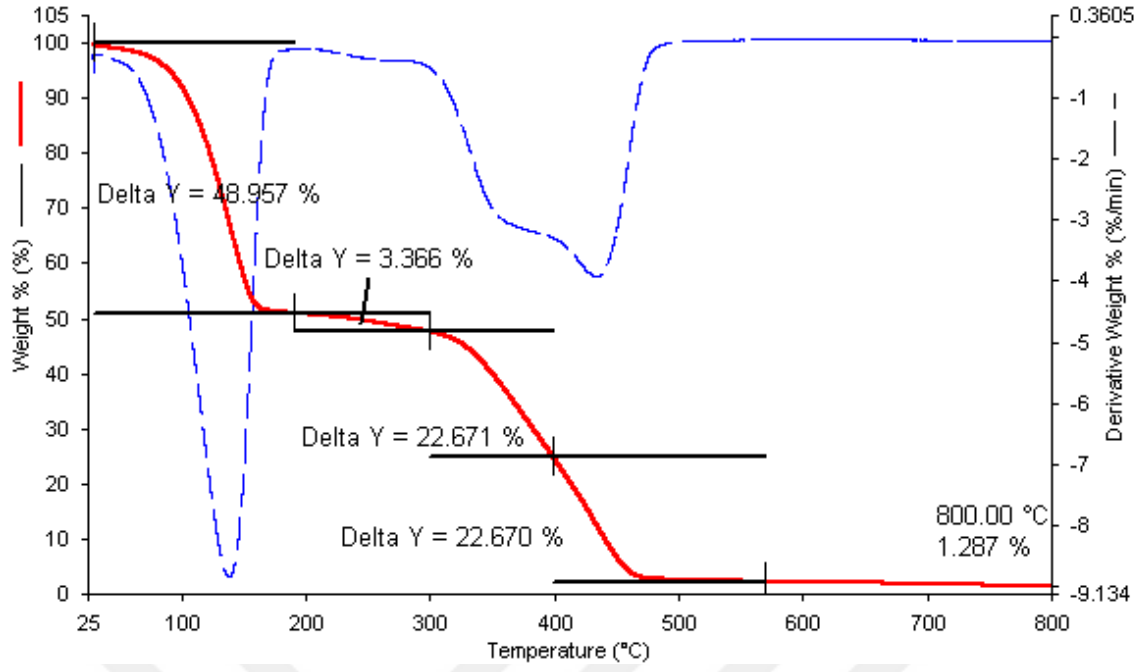
4.1.2. Termogravimetrik (TGA) Analizleri

Bütün örnekler analizlerden önce 100°C sıcaklığa ısıtılarak üzerinde bulunan bağlı su uzaklaştırılmıştır. Şekiller (4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7)'de sırasıyla P(HEMA), P(HEMA/AAm) kriyojel membranlarına, teofilin, teofilin baskılanmış P(HEMA/AAm) kriyojel membranlarına ve NaCl ile teofilin uzaklaştırılmış P(HEMA/AAm) kriyojel membranlarına ait termogramlar verilmiştir. P(HEMA) kriyojel membranı sıcaklık ile üç ana basamakta bozunmaktadır (Şekil 4.3). İlk ana basamakta bozunma 165°C'ye kadar devam etmektedir ve maksimum bozunma hızı 138°C'de gözlenmektedir. P(HEMA) kriyojel membranının %49'u bu sıcaklıkta bozunmuştur. Burada muhtemelen ana zincir bozunması oluşmaktadır. İkinci termal bozunma basamağı 301°C ile 399°C arasında olmaktadır, burada kriyojel membranların %22,67'si bozunmakta iken maksimum bozunma hızı 365°C'de gözlenmiştir. Son bozunma basamağı 400°C'den başlayıp 510°C'ye kadar devam etmiştir, yine bu basamakta burada kriyojel membranların %22,67'si bozunmakta ve maksimum bozunma hızı 448°C'de gözlenmektedir. Son iki bozunma basamağı, kararlı karbon bileşiklerinin bozunmasını içermektedir. Yüksek sıcaklıklarda bozunmadan kalan %1,3 oranında bir bileşen gözlenmiştir. Literatürde, P(HEMA) EGDMA çapraz bağlanılarak elde edilen hidrojel ile yapılan çalışmalarda bozunmanın yaklaşık 200°C'de başladığı gözlenmiştir (Bat, 2016), P(HEMA) kriyojelinin UV ışınları ile poli(etilenglikol diakrilat) çapraz bağlayıcı varlığında sentezlenmesi ile yapılan çalışmalarda dört basamaklı bir bozunma mekanizması gözlemlendiği halde 300°C'ye kadar maksimum %25 bozunma gözlenmiştir. Değişik türlerdeki UV lambaların kullanılmasının termogramları önemli oranda değiştirdiği gözlenmiştir (Ali ve ark., 2018). Bu çalışmada, P(HEMA) kriyojel membranları temel olarak literatürde sentezlenenlere temel bozunma mekanizmasına göre benzerlik gösterse de, çapraz bağlayıcı türü ve yoğunluğu farkı, sentez yönteminin farklı olması nedeniyle sıcaklığa bağlı olarak farklı davranmaktadır.

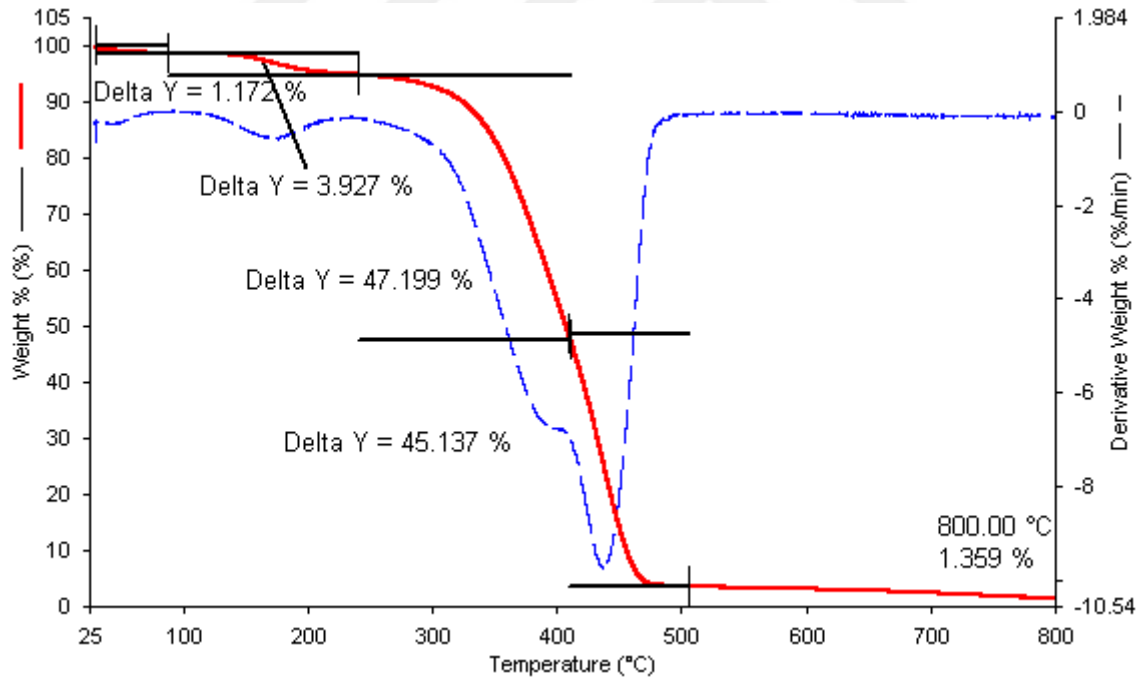
P(HEMA/AAm) kriyojel membranlarına ait termogram Şekil 4.4'te verilmiştir. P(HEMA/AAm) kriyojel membranlarıda, aynı P(HEMA)'da olduğu gibi üç basamak üzerinden termal bozunmaya uğramaktadır. Düşük sıcaklıklarda oluşan bozunma basamağında kriyojel membranların kütle kaybı % 1,8'dir. Burada yapının tuttuğu suyu

bıraktığı düşünülmektedir. Birinci bozunma basamağı, 130°C ile 204°C arasında oluşmaktadır. Maksimum bozunma hızı 164°C’de gözlenen bu termal bozunma basamağında, kriyojel membranın %3,9’u termal olarak bozunmuştur. İkinci bozunma basamağı 205°C ile 402°C arasında gözlenirken, kütle kaybı %47,2 olarak ölçülmüştür. Maksimum bozunma hızı ise 380°C’de gözlenmiştir. Üçüncü ve son bozunma basamağı ise, 403°C ile 504°C arasında gözlenmiştir. Bu basamakta, P(HEMA/AAm) kriyojel membranların %45,14’ü bozunmuşken, maksimum bozunma hızı 443°C’de gözlenmiştir. P(HEMA/AAm) kriyojel membranların neredeyse tamamı ikinci ve üçüncü basamaklarda bozunmuştur. Azot ve oksijen atomlarını içeren yapıların üçüncü basamakta termal olarak bozunduğu, son bozunma basamağında ise kararlı karbon bileşiklerin ısıya direnç gösteremediği düşünülmektedir. P(HEMA/AAm) kriyojel membranların yüksek sıcaklıklarda %1,36 atık bıraktığı gözlenmiştir. Literatürde yapılan çalışmalarda, metakrilat yapısındaki polimer ortamına AAm eklenmesinin termal kararlılığı arttırdığı gözlenmiştir (Mohammed and Jubair, 2020). Şekil 4.5’te teofilin ait termogram verilmiştir. Düşük sıcaklıklardaki kütle kaybı ihmal edilebilir düzeyde olduğu için, bu bozunma basamağı dışında, teofilin de termal olarak üç bozunma basamağı içermektedir. İlk bozunma basamağı, 185°C ile 339°C arasında olmaktadır. %40,1 teofilin bu basamakta bozunmuşken, maksimum bozunma hızı 295°C’de gözlenmiştir. Sıcaklık artışı ile bozunma sonucu oluşabilecek uçucu türler bu basamakta uzaklaşmıştır. İkinci bozunma basamağında %54,7 teofilin bozunmuşken, 340°C ile 445°C arasında bozunma gerçekleşmiştir. Maksimum bozunma hızı 383°C’de gözlenmiştir. Sıcaklığa karşı biraz daha kararlı olan bileşenler bu basamakta bozunmuşlardır. Son bozunma basamağı olan üçüncü basamakta, 446°C ile 520°C arasında gözlenmiştir, maksimum bozunma hızı 480°C olarak gözlenmişken, teofilinin %5,06’sı bu basamakta bozunmuştur. Yüksek sıcaklıklarda, teofilinin fazla atık bırakmadığı, %99,5’ten daha büyük oranda gözlenmiştir. Literatürde, teofilinin sıcaklığa karşı davranışı incelendiğinde, sıcaklık artış hızı ile bozunma mekanizmasının ve yüzdesinin değiştiği gözlenmiştir (Nunes, Mahendrasingam ve Suryanarayanan, 2006). Şekil 4.6’da teofilin baskılanmış P(HEMA/AAm) kriyojel membranlar için üç tane bozunma basamağı içeren termogram verilmiştir. Düşük sıcaklıklarda kriyojel membranların kütle kaybı %1,22’dir. Burada yapının tuttuğu suyu bıraktığı düşünülmektedir. Birinci bozunma basamağı 99°C ile 280°C arasında gerçekleşmektedir, kriyojel membranların %4,7’si bozunmaya uğramıştır, maksimum bozunma hızı 220°C’de gözlenmiştir. Bu basamakta, teofilin baskılanması,

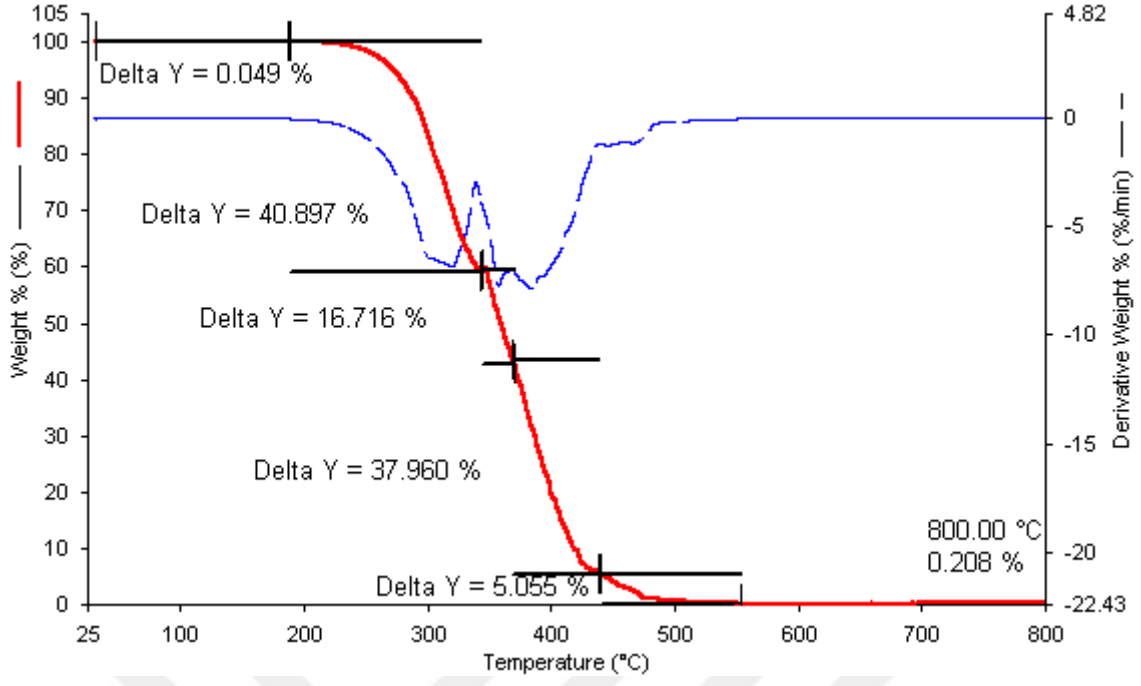
P(HEMA/AAm) için bozunma sıcaklık aralığı ve maksimum bozunma hızı ile bozunma yüzdesini arttırmıştır. İkinci bozunma basamağı 281°C ile 371°C arasında gözlenmiştir. Maksimum bozunma hızı 310°C’de gözlenen bu basamakta yapının %19,32’si bozunmuştur. Bu basamakta teofilin baskılanması, P(HEMA/AAm) kriyojel membranlarının termal kararlılığını azaltmıştır. Üçüncü bozunma basamağı 282°C ile 530°C arasında gözlenmiştir. Maksimum bozunma sıcaklığı 431°C olarak gözlenmiştir. Yapının %67,82’si bu basamakta bozunmuştur. Teofilin baskılanması, bu basamak için termal kararlılığı biraz arttırmıştır. Yüksek sıcaklıklarda yapının %1,57’sinin bozunmadan atık olarak kaldığı gözlenmiştir. Genel olarak, P(HEMA/AAm) kriyojel membranlarına teofilin baskılanması bazı sıcaklık aralıklarında termal kararlılığı azaltsa da, yüksek sıcaklıklara kadar daha fazla yapının kararlı kalmasını sağlamaktadır. Şekil 4.7’de, teofilin uzaklaştırılmış kriyojel membranlar için termogram verilmiştir. Gözenek oluşan yapının termal özellikleri incelenerek gözlenen değişimler değerlendirilmiştir. Diğer kriyojel membranlardan farklı olarak, bu yapıda iki tane bozunma mekanizması gözlenmiştir. Birinci bozunma sıcaklığı, 151°C ile 380°C arasında olmaktadır. Maksimum bozunma hızı 330°C’de gözlenen bu basamakta, yapının %21,46’sı bozunmaktadır. 381°C ile 510°C arasında ikinci bozunma mekanizması oluşmakta, yapının %71,81’i bu sıcaklık aralığında bozunmaktadır. Bu basamak için maksimum bozunma hızı 454°C’de gözlenmiştir. Yüksek sıcaklıklarda kalan atık %2,88 olarak gözlenmiştir. Yapıdan teofilinin uzaklaştırılması sonucu oluşan gözenekler, bozunma mekanizmasını hem sadeleştirmiştir hem de termal kararlılığını azaltmıştır.



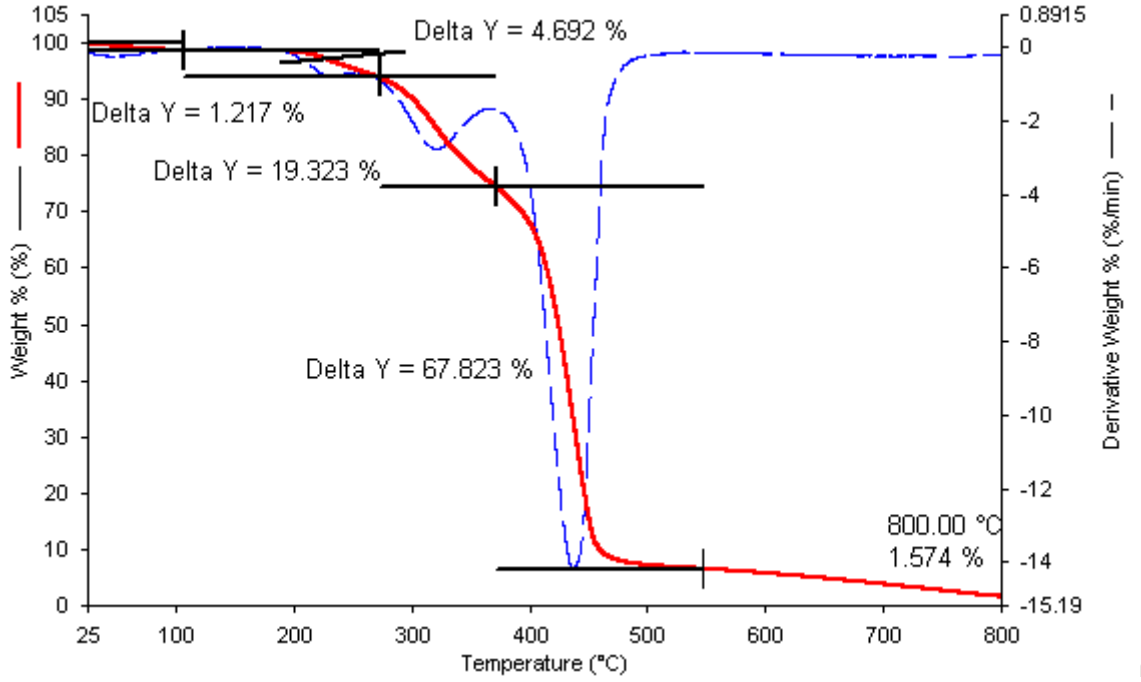
Şekil 4. 3. P(HEMA) kriyojeline ait termogram.



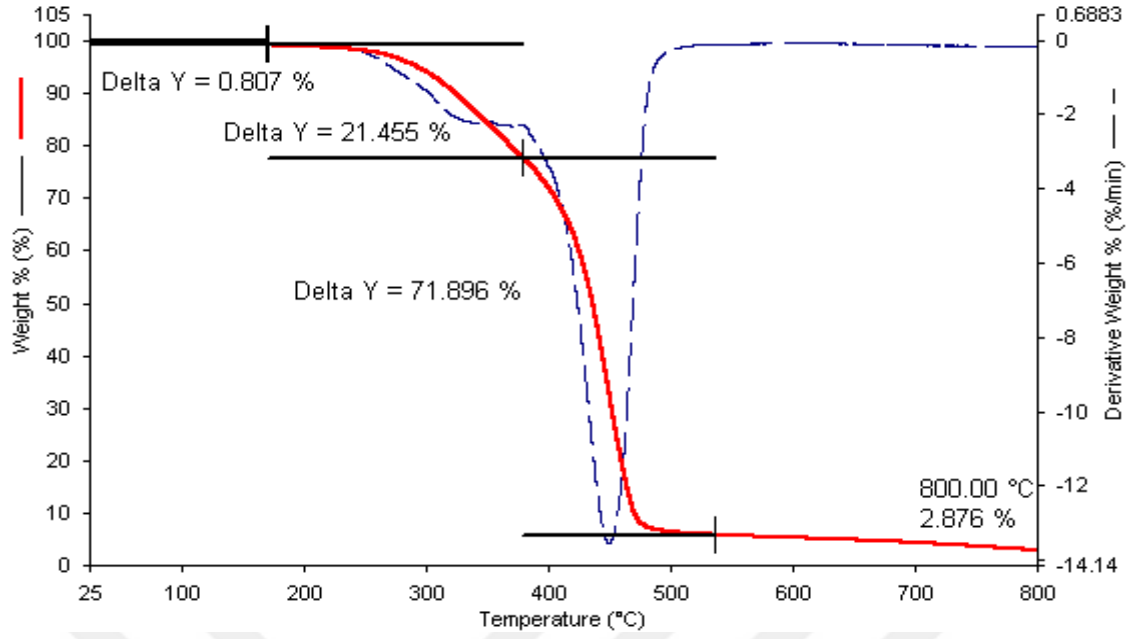
Şekil 4. 4. P(HEMA/AAm) kriyojeline ait termogram.



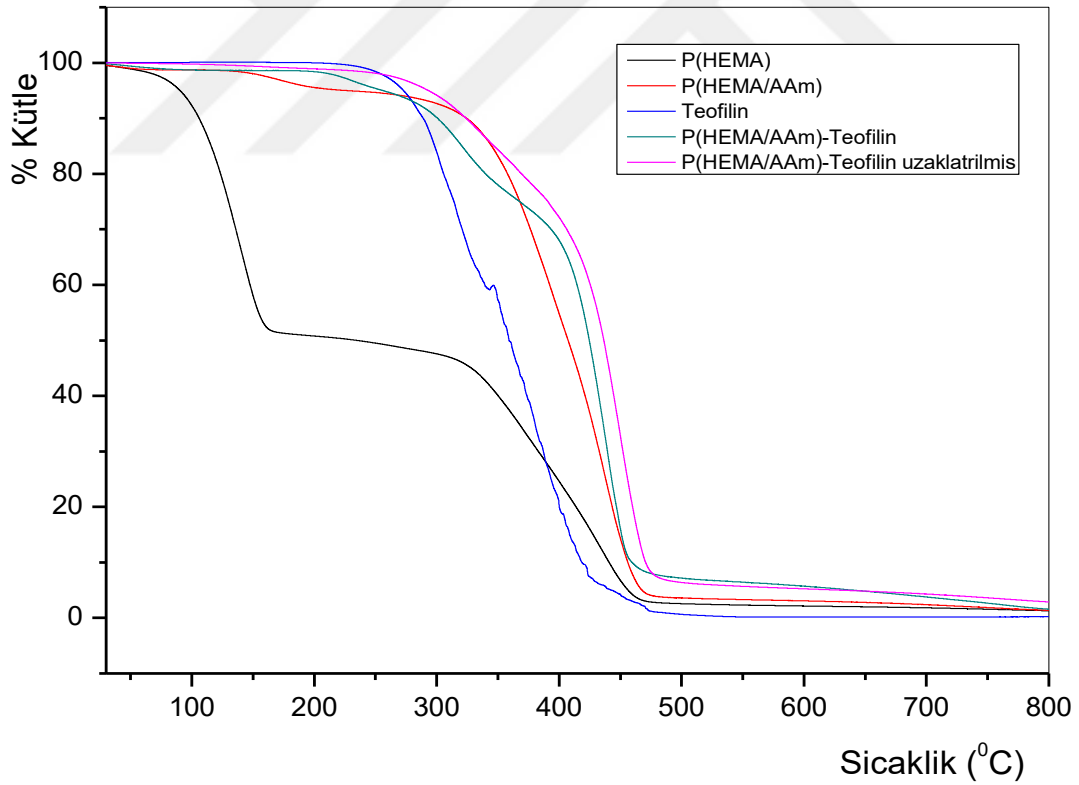
Şekil 4. 5 . Teofiline ait termogram.



Şekil 4. 6. Teofilin baskılanmış P(HEMA/AAm) kriyojeline ait termogram.



Şekil 4. 7. Teofilin uzaklaştırılmış P(HEMA/AAm) kriyojeline ait termogram.



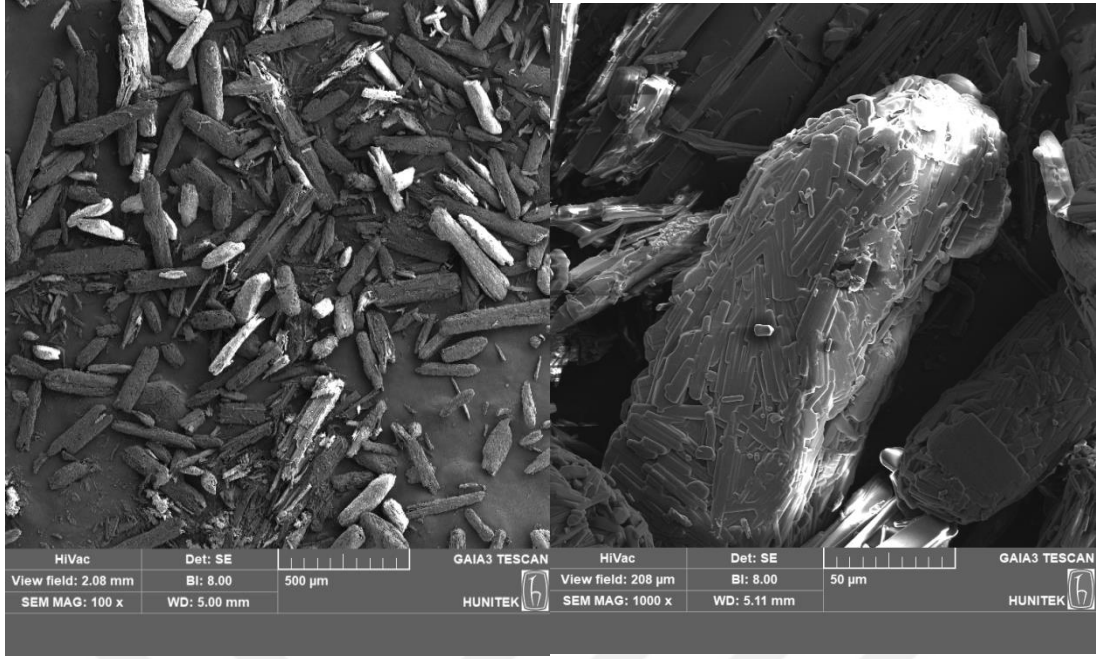
Şekil 4. 8. Teofilin ve kriyojel membranlar için termogların kıyaslanması.

Çizelge 4. 1. Elde edilen termogram verilerinin toplu gösterimi.

	Bozunma Basamakları			
	1	2	3	Kalan Atık
P(HEMA)	165°C R _{max} =138°C %49	(301-399)°C R _{max} =365°C %22,67	(400-510)°C R _{max} =448°C %23	%1,3
P(HEMA/AAm)	(130-204)°C R _{max} =164°C %3,9	(205-402)°C R _{max} =380°C %47,2	(403-504)°C R _{max} =443°C %45,14	%1,36
P(HEMA/AAm)- Teofilin	(99-280)°C R _{max} =220°C %4,7	(281-371)°C R _{max} =310°C %19,32	(282-530)°C R _{max} =431°C %67,82	%1,57
P(HEMA/AAm)- Teofilin uzaklaştırılmış	(151-380)°C R _{max} =330°C %21,46	(381-510)°C R _{max} =454°C %71,81		%2,88
Teofilin	(185-339)°C R _{max} =295°C %40,1	(340-445)°C R _{max} =383°C %54,7	(446-520)°C R _{max} =480°C %5,06	%0,16

4.1.3. Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) Görüntüleri

Şekil 4.9’de teofilin baskılanmış P(HEMA/AAm) kriyojel membranları için değişik büyütme oranlarındaki SEM görüntüleri verilmiştir. Teofilinin yüzey görüntüleri SEM ile alınmış, daha ayrıntılı yüzey analizleri BET ile yapılmıştır.



Şekil 4. 9. Teofilin baskılanmış P(HEMA/AAm) kriyojel membranların SEM görüntüleri.

4.1.4. Yüzey Alanı Analizleri ve Şişme Testleri

Kriyojel membranlar karakteristik olarak makrogözenekli yapılardır ve bazı parametreler değiştirilerek gözenek boyutları bir aralıkta sabit olarak tutulabilir (Lozinsky, 2008; Lozinsky, 2014). Çizelge 4.2’de P(HEMA/AAm) kriyojel membranlarına ait veriler ve dengedeki şişme yüzdeleri verilmiştir.

Çizelge 4. 2. P(HEMA/AAm) kriyojel membranlarına ait gözeneklilik ve şişme özellikleri.

Kriyojel	Yüzey Alanı (m²/g)	Gözenek Hacmi (cm³/g)	Gözenek Boyutu (Å)	% Şişme Oranı	% Makrogözeneklilik
P(HEMA/AAm)	0,54	0,0014	69-108	628,3	64,1
Teofilin baskılanmış P(HEMA/AAm)	1,37	0,0028	56-60	614,2	56,3
Teofilin salmış P(HEMA/AAm)	3,09	0,0054	52-62	612,2	55,2

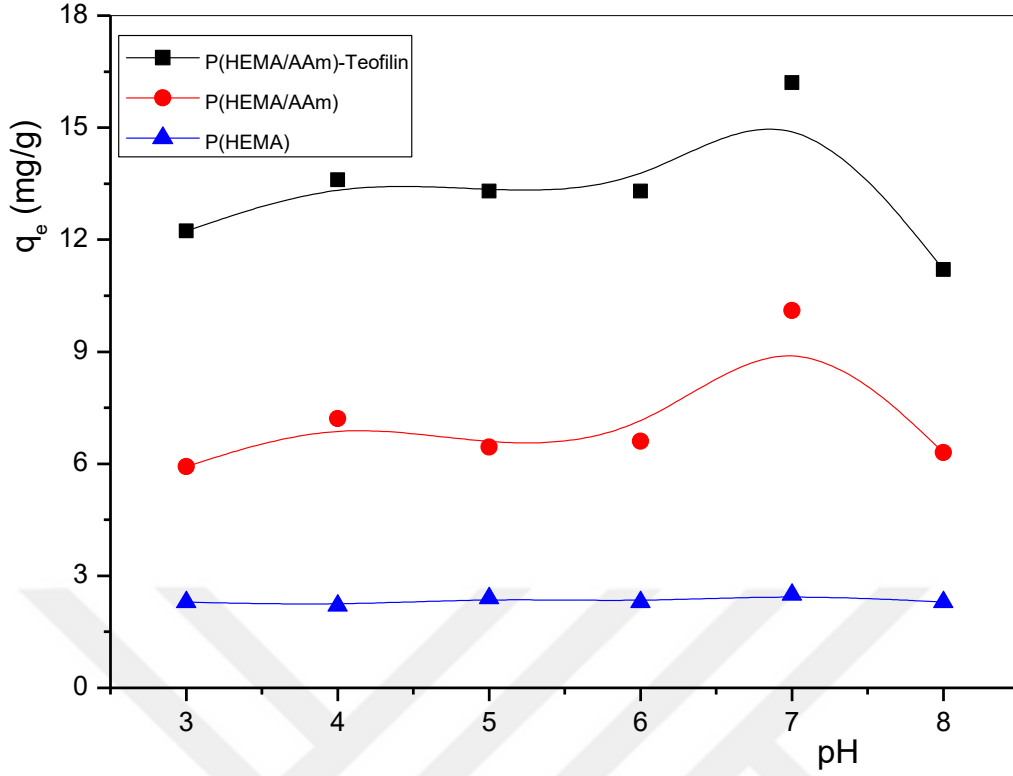
Çizelge 4.2’den anlaşıldığı üzere, yüzey alanı, toplam gözenek hacmi en düşük yapı P(HEMA/AAm) kriyojel membranlardır, bunun yanında gözenek boyutu en büyük olan yapılar P(HEMA/AAm) kriyojel membranlardır. Yapıya teofilin baskılanması, yüzey alanını ve toplam gözenek hacmini arttırdığı gibi, gözenek boyutunu da düşürmektedir. Teofilin molekülünün polimer zincirlerinin arasına yerleşmiş olması, polimer zincirlerinin kendi arasındaki etkileşimi azaltmakta ve gözenek boyutunu arttırmaktadır. Teofilinin P(HEMA/AAm) kriyojel membranlarından uzaklaştırılması, yüzey alanını P(HEMA/AAm) kriyojeline göre yaklaşık 6 kat, gözenek hacmini yaklaşık 3 kat arttırmıştır. Teofilin baskılanmış P(HEMA/AAm) kriyojel membranlarına göre de, teofilinin yapıdan uzaklaşması bu değerlerde bir artışa neden olmuştur. P(HEMA/AAm) kriyojel membranlarına teofilin baskılanması, gözenek boyutunu düşürmektedir. Teofilinin P(HEMA/AAm) kriyojelinden uzaklaştırılması sonucu elde edilen kriyojeller için adsorpsiyon kapasitesinin artması beklenmektedir. Gözenek boyutları incelendiğinde, teofilin baskılanmış ve baskılanmamış P(HEMA/AAm) kriyojellerin ortalama olarak mezogözenekli yapıda olduğu, şişme testlerinden elde edilen veriler sonucunda, baskılanmış/baskılanmamış P(HEMA/AAm) kriyojellerin belirgin bir oranda makrogözenekli bir yapıya sahip olduğu belirlenmiştir.

4.2. Adsorpsiyon Çalışmaları

Adsorpsiyon kapasitesine teofilin baskılanmanın etkisi, değişik parametrelerin P(HEMA/AAm) kriyojel membranların teofilini adsorplamasına etkisi ve elde edilen verilerin baz alınarak bazı parametrelerin değerlendirilmesi bu bölümde yapılmıştır. Adsorpsiyon kapasitesi, q_e , gram polimerin adsorpladığı mg teofilin olarak (mg teofilin/g polimer) verilmiştir. Teofilinin değişik adsorbenler için adsorpsiyon kapasitesi (2,77-22,52) mg/g olarak bulunmuştur (Lee ve ark., 2014).

4.2.1.pH Değerinin Adsorpsiyon Kapasitesine Etkisi

Adsorben malzemelerde bulunan fonksiyonel gruplar, çözeltinin pH değerine göre anyonik, katyonik halde bulunabilir veya bir kimyasal tepkime verebilir. Şekil 4.10'da sentezlenen kriyojel membranlar için adsorpsiyon kapasitesi değerleri verilmiştir. P(HEMA) kriyojel membranlarının adsorpsiyon kapasitesi pH değerine bağlı olarak değişmemektedir. P(HEMA/AAm) kriyojel membranlarında pH değerine bağlı olarak adsorpsiyon kapasitesinde bir değişim gözlenmekte, en yüksek adsorpsiyon kapasitesi ise pH 7 değerinde olmaktadır. Teofilin baskılanmış P(HEMA/AAm) kriyojel membranlarında adsorpsiyon kapasitesinin pH değerine göre değişim eğrisi, teofilin baskılanmamış P(HEMA/AAm) kriyojel membranlarında olduğu gibidir, ancak gram polimer başına adsorplanan miktar bütün pH değerlerinde daha fazladır. En yüksek adsorpsiyon kapasitesi pH 7 değerinde 16,2 mg/g olarak bulunmuştur. P(HEMA/AAm) kriyojelinde bulunan AAm'nin HEMA'ya teofilin adsorpsiyonu için bir üstünlük getirdiği görülmektedir. P(HEMA/AAm) kriyojel membranlarına teofilin baskılanması ise teofiline karşı adsorpsiyon kapasitesini arttırarak adsorpsiyon kapasitesini arttırmaktadır. P(HEMA/AAm) kriyojel membranlarında, pH değerine karşı q_e değişimine yapıdaki AAm'nin katkısı olmaktadır. P(AAm) düşük pH değerlerinde hidrolize olduğu için adsorpsiyon kapasitesi asidik bölgede düşüktür (Choi, 2008). Bazik bölgedeki pH değerlerinde ise (pH=8) yapıdaki hidroksil iyonlarının AAm'deki karbonil grubuna saldırarak yapıyı bozduğu düşünülmektedir. Elde edilen verilerden sonra tüm adsorpsiyon çalışmaları için pH 7 değerinin kullanılmıştır.

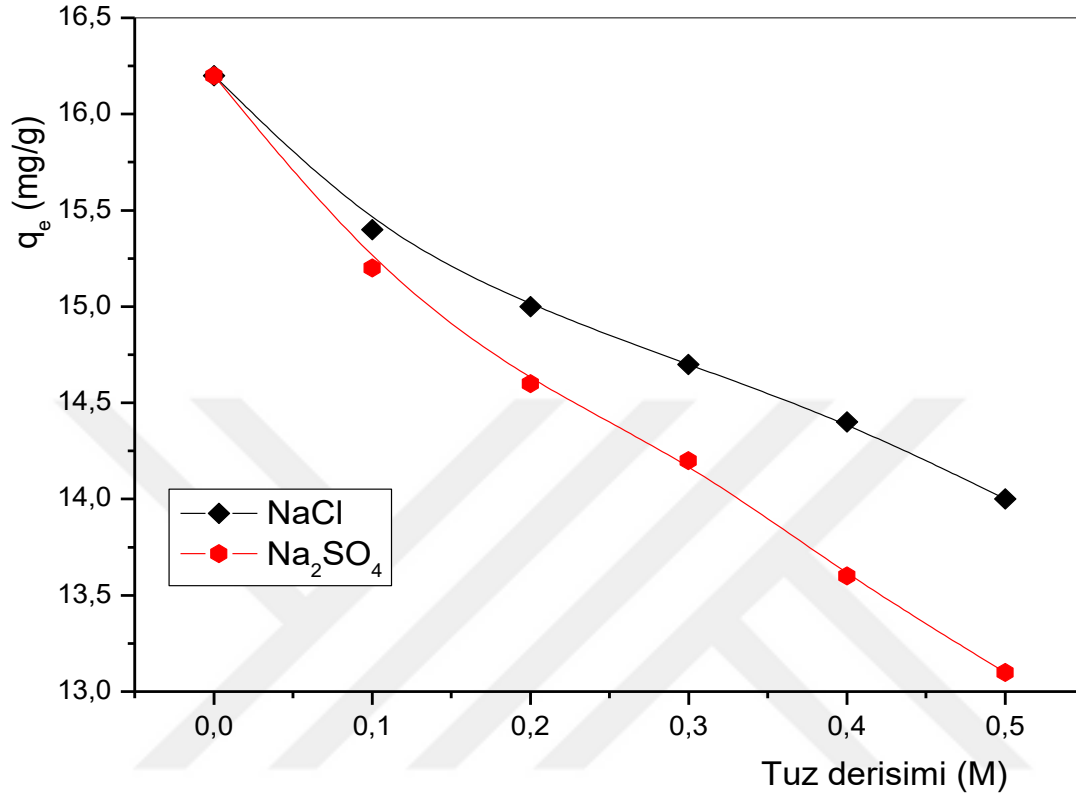


Şekil 4. 10. P(HEMA), P(HEMA/AAm) ve teofilin baskılanmış (PHEMA/AAm) kriyojel membranların adsorpsiyon kapasitesinin pH değerine göre değişimi (25 mL 400 ppm teofilin, 0,12 gram kriyojel, fosfat tamponu, 25°C, 3 saat).

4.2.2. İyonik Şiddetin Adsorpsiyon Kapasitesine Etkisi

Suda tamamen iyonlaşan tuzların varlığı adsorpsiyon kapasitesini etkileyen faktörlerden birisidir. Tuzu oluşturan iyonların türü, derişimi ve yükseltgenme basamağı adsorpsiyon prosesleri için önemli parametrelerdir. Teorik olarak, adsorben yüzeyi ile adsorbat arasında elektrostatik olarak bir çekim kuvveti varsa, iyonik şiddetin artması adsorpsiyon kapasitesini düşürmektedir, bunun tam tersi, eğer elektrostatik olarak bir itme kuvveti varsa iyonik şiddet adsorpsiyon kapasitesini arttırmaktadır (Newcombe ve Drikas, 1997; Alberghina ve ark., 2000; German-Heins and Flury, 2000). Bu çalışmada, P(HEMA/AAm) kriyojel membranlar ile teofilin arasında hidrojen bağı ve polar etkileşimlerin olduğu düşünülmektedir. Dolayısıyla, Şekil 4.11’de verildiği üzere, NaCl ve Na₂SO₄ varlığında, iyonik şiddetin artması adsorpsiyon kapasitesini düşürmektedir. Na₂SO₄, NaCl’e göre hem daha fazla iyon hem de iyonlaşmış halde daha fazla molar yük içerdiği için adsorpsiyon

kapasitesine etkisi daha fazladır. 0,5 M NaCl çözeltisi saf suya göre adsorpsiyon kapasitesini %13,6 azaltırken, 0,5 M Na₂SO₄ çözeltisi bu değeri % 19 azaltmaktadır.

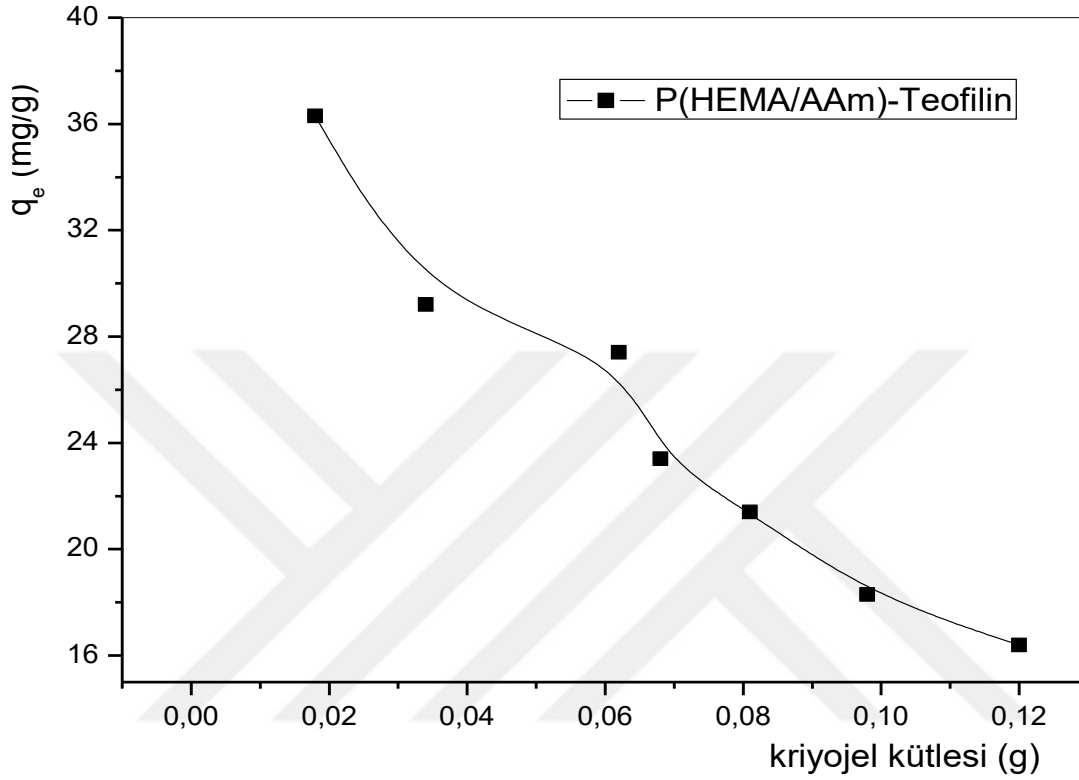


Şekil 4.11. (PHEMA/AAm) kriyojel membranların adsorpsiyon kapasitesine iyonik şiddetin etkisi (25 mL 400 ppm teofilin, 0,12 gram kriyojel, fosfat tamponu, pH=7, 25°C, 3 saat).

4.2.3. Kriyojel Membran Miktarının Adsorpsiyon Kapasitesine Etkisi

Adsorben miktarının adsorpsiyon kapasitesine etkisinin incelenmesi için değişik miktarlarda (0,02-0,12 gram) P(HEMA/AAm) kriyojelleri içerisinde 400 ppm teofilin çözeltisi 3 saat bekletilerek adsorpsiyon dengesine ulaşılmıştır. Şekil 4.12’de, teofilin baskılanmış P(HEMA/AAm) kriyojel membranları için adsorpsiyon kapasitesinin kriyojel miktarı ile değişimi verilmiştir. Kriyojel membran miktarı ile adsorpsiyon kapasitesi azalmaktadır. Tablet formunda 0,12 gram kriyojel için adsorplanan teofilin miktarında belirgin bir azalma gözlenmiştir ve analizlerde elde edilen verilerin daha iyi ölçülmesi için

bu kriyojel miktarı seçilmiştir. Gram polimer başına çözeltide bulunan teofilin miktarının artması, adsorpsiyon kapasitesinin artmasına neden olmaktadır (Zhang ve ark., 2006; Yapar ve ark., 2005). Polimer miktarının 6 kat artması, adsorpsiyon kapasitesini % 55 oranında düşürmüştür.

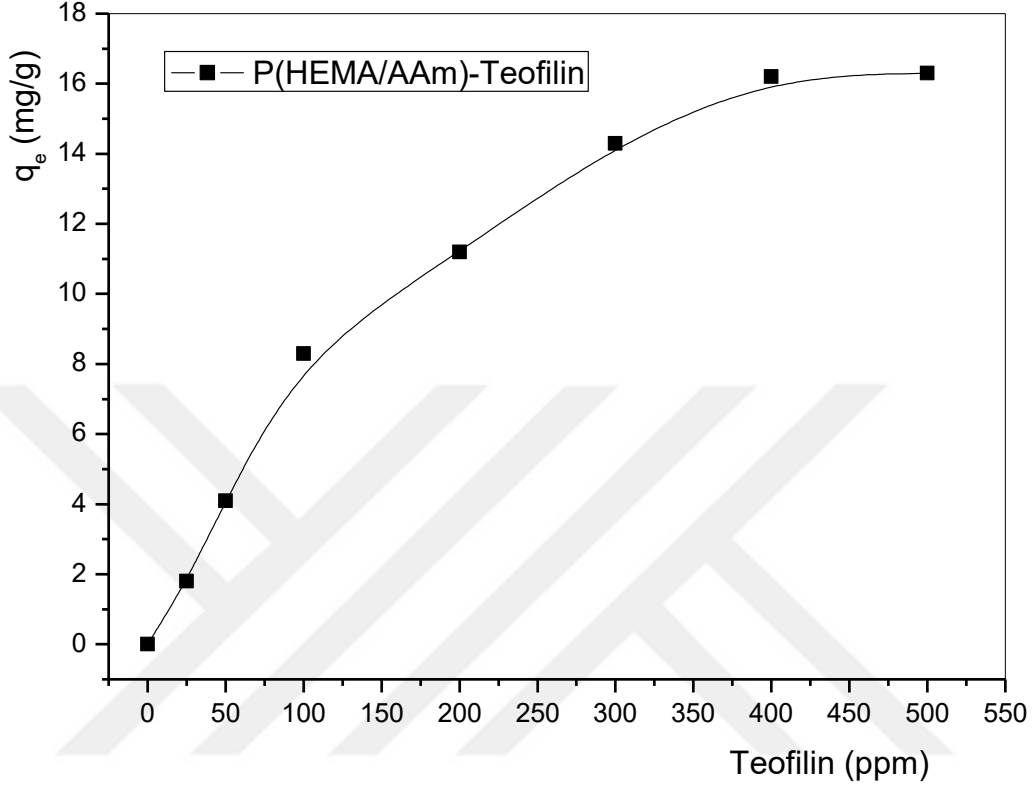


Şekil 4. 12. (PHEMA/AAm) kriyojel membran miktarının adsorpsiyon kapasitesine etkisi (25 mL 400 ppm teofilin, fosfat tamponu, pH=7, 25°C, 3 saat).

4.2.4. Teofilin Başlangıç Derişiminin Adsorpsiyon Kapasitesine Etkisi

Sabit P(HEMA/AAm) kriyojel membran miktarı alınarak değişik derişimlerdeki teofilinin (25-400 ppm) adsorpsiyon kapasitesine etkisi incelenmiştir. Şekil 4.13 incelendiğinde, adsorpsiyon kapasitesi 400 ppm teofilin derişiminden sonra değişmemektedir. P(HEMA/AAm) kriyojel membranlarında bulunan gözeneklerin dolması ve adsorpsiyon işlemi için sınırlı hale gelmesi, adsorbe olan yapılar arasında çekim kuvvetinden ziyade itme kuvvetlerinin etkin hale gelmesi, adsorpsiyon kapasitesinin azalmasını açıklamaktadır (Zulfika, Bayini ve Zauzi, 2017; Zhang ve ark., 2006). Teofilin derişiminin 16 kat artması,

adsorpsiyon kapasitesini 9 kat arttırmıştır. Teofilinin değişik adsorbenler için adsorpsiyon kapasitesi (2,77-22,52) mg/g olarak bulunmuştur (Lee ve ark., 2014).

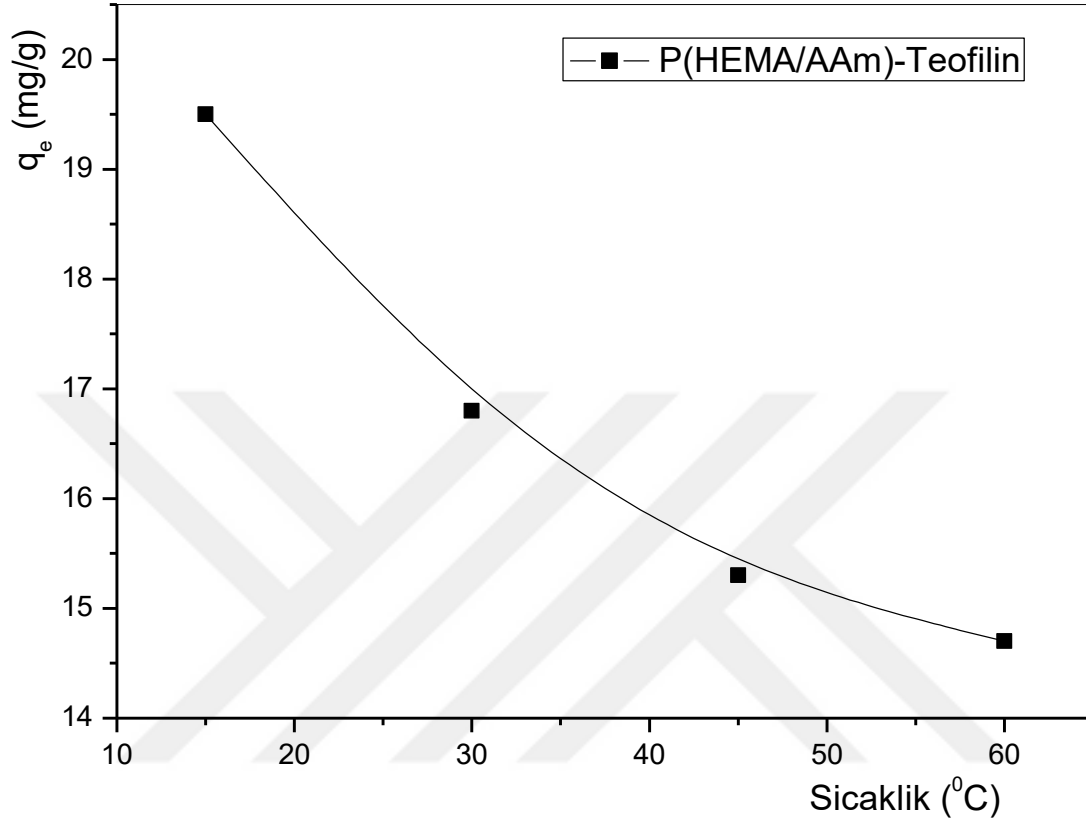


Şekil 4. 13. Teofilin derişiminin adsorpsiyon kapasitesine etkisi (25 mL teofilin, 0,12 gram kriyojel, fosfat tamponu, pH=7, 25°C, 3 saat).

4.2.5. Sıcaklığın Adsorpsiyon Kapasitesine Etkisi ve Adsorpsiyon Termodinamiği

Çoğu polimerik malzemelere adsorbat için adsorpsiyon kapasitesi sıcaklık değişimine duyarlı olarak artma veya azalma eğilimi gösterebilir. Bu çalışmada, P(HEMA/AAm) kriyojellerine teofilin için adsorpsiyon kapasitesinin sıcaklıkla azaldığı gözlenmiştir, literatürde bu durumun hidrojen bağının etkinliğinden kaynaklandığı saptanmıştır (Abasi, Abia ve Igwe, 2011; Tosun, 2012) ve adsorpsiyon prosesi ekzotermiktir (Anber, 2011). Şekil 4.14'ten görüleceği üzere, 60°C sıcaklıkta 14,7 mg/g olan adsorpsiyon kapasitesi, bir

miktar artarak 30° ve 45°C sıcaklıklarda sırasıyla 16,8 mg/g ve 15,3 mg/g olarak gözlenmiştir. 15°C sıcaklıkta adsorpsiyon kapasitesi 19,5 mg/g değerine sıçrama yapmıştır.



Şekil 4. 14. Sıcaklığın adsorpsiyon kapasitesine etkisi (25 mL teofilin, 0,12 gram kriyojel, fosfat tamponu, pH=7, 3 saat).

Bazı termodinamik parametrelerin hesaplanması için aşağıdaki bağıntılar kullanılmıştır:

$$K_e = \frac{q_e}{C_e} \quad (4.1)$$

$$\Delta G^\circ = -RTK_e \quad (4.2)$$

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ \quad (4.3)$$

$$\ln K_e = \frac{\Delta S^\circ}{R} - \frac{\Delta H^\circ}{RT} \quad (4.4)$$

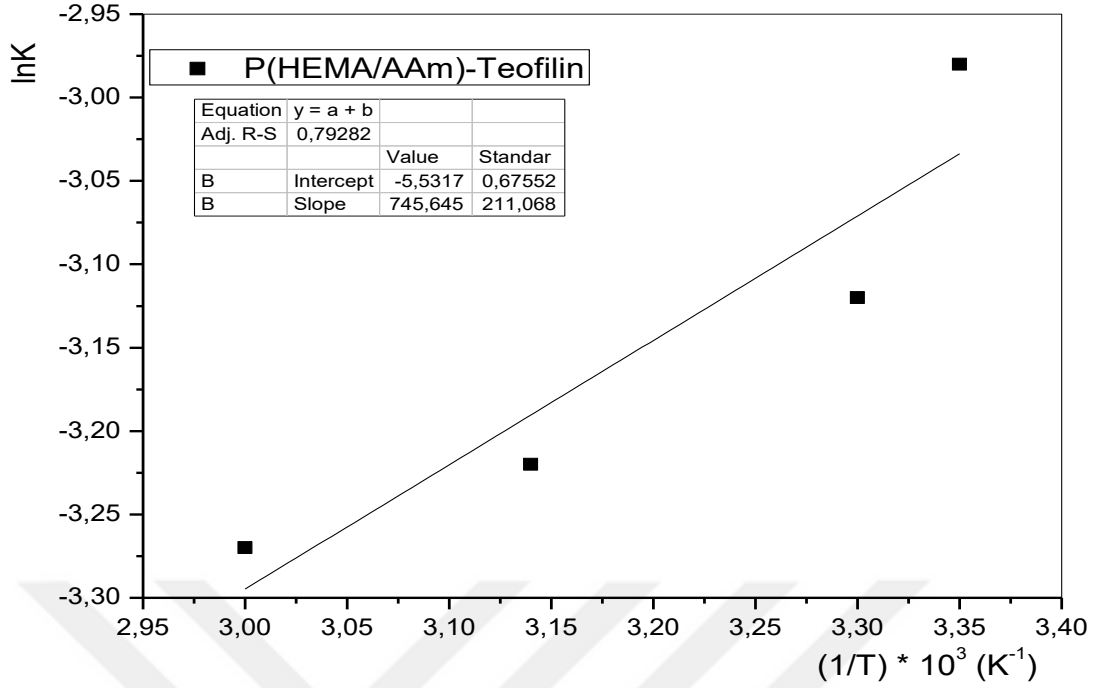
Bu eşitliklerde K_e termodinamik denge sabiti, ΔG° standart Gibbs serbest enerjisi değişimi, R gaz sabiti, T Kelvin cinsinden mutlak sıcaklık, ΔH° standart entalpi değişim değeri, ΔS°

standart entropi değişimi olarak verilmiştir. Değişik sıcaklıklarda hesaplanan termodinamik denge sabiti ve standart Gibbs Enerjisi değerleri çizelge 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4. 3. Değişik sıcaklıklarda bulunan standart Gibbs serbest enerjisi değişimi.

T (°C)	T(K)	q _e (mg/g)	C _e (mg/L)	K _e	ΔG° (kJ/mol)
15	288,15	19,5	380,5	0,051	7,126
30	303,15	16,8	383,2	0,044	7,868
45	318,15	15,3	384,7	0,040	8,510
60	333,15	14,7	385,3	0,038	9,053

Çizelgeden de görüleceği üzere, bütün sıcaklıklar için standart Gibbs serbest enerji değişim değeri pozitifdir, teofilinin P(HEMA/AAm) kriyojel membranlarına adsorpsiyonu istemli değildir. Sıcaklık azaldıkça, adsorpsiyon prosesi için istemlilik artmaktadır. Standart entalpi ve entropi değişim parametreleri de teofilinin P(HEMA/AAm) kriyojellerine adsorpsiyonu prosesi için değerlendirilmiştir. Şekil 4.15’te verilen grafik incelendiğinde, doğrunun eğimi 746 K^{-1} olarak bulunmuştur ve standart entalpi değişim değeri ise $-6,2 \text{ kJ/mol}$ olarak bulunmuştur. Yukarıda, sıcaklık artışı ile adsorpsiyon kapasitesinin azalmasının ekzotermik bir proses olduğu belirtilmişti, bulunan verilerle de prosesin ekzotermik olduğu onaylanmıştır. Şekil 4.15’de verilen doğrunun kesim noktası $-5,53$ olarak bulunmuş, buradan da standart entropi değişim değeri -46.0 J/mol olarak bulunmuştur. Standart entalpi değişim değeri ve standart entropi değişim değeri negatif olarak bulunduğu halde, standart Gibbs serbest enerjisindeki pozitif değişime standart entropi değişiminin katkısının daha fazla olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4. 15. Adsorpsiyon prosesinin termodinamik olarak değerlendirilmesi.

4.2.6. Adsorpsiyon İzotermi

Adsorpsiyon izotermi için Freundlich (Freundlich, 1906) ve Langmuir (Langmuir, 1918) modelleri test edilmiştir. Freundlich (eşitlik 4.5 ve 4.6) ve Langmuir (eşitlik 4.7 ve 4.8) izotermi tanımıyla eşitlikler aşağıda verilmiştir.

$$q_e = K_f C_e^{1/n} \quad (4.5)$$

Bu eşitlik doğrusal hale getirilirse

$$\ln q_e = \ln K_f + (1/n) \ln C_e \quad (4.6)$$

Eşitlikteki q_e dengedeki adsorpsiyon kapasitesini (mg/g), C_e çözeltide dengede bulunan adsorplanan madde derişimini, K_f Freundlich sabitini, n ise adsorpsiyon prosesinin doğrusallıktan sapmasını belirleyen terimlerdir. $\ln q_e - \ln C_e$ grafiğinin doğrusal çıkması halinde, adsorpsiyon prosesinin Freundlich modeline uyduğu değerlendirilir. Eğim ve kesim noktasından K_f ve n sabitleri hesaplandıktan sonra, adsorpsiyon dengesi, yüzey heterojenitesi, adsorpsiyonun türü (fiziksel veya kimyasal) üzerinde değerlendirmeler yapılır.

$$q_e = \frac{q_m K_L C_e}{1 + K_L C_e} \quad (4.7)$$

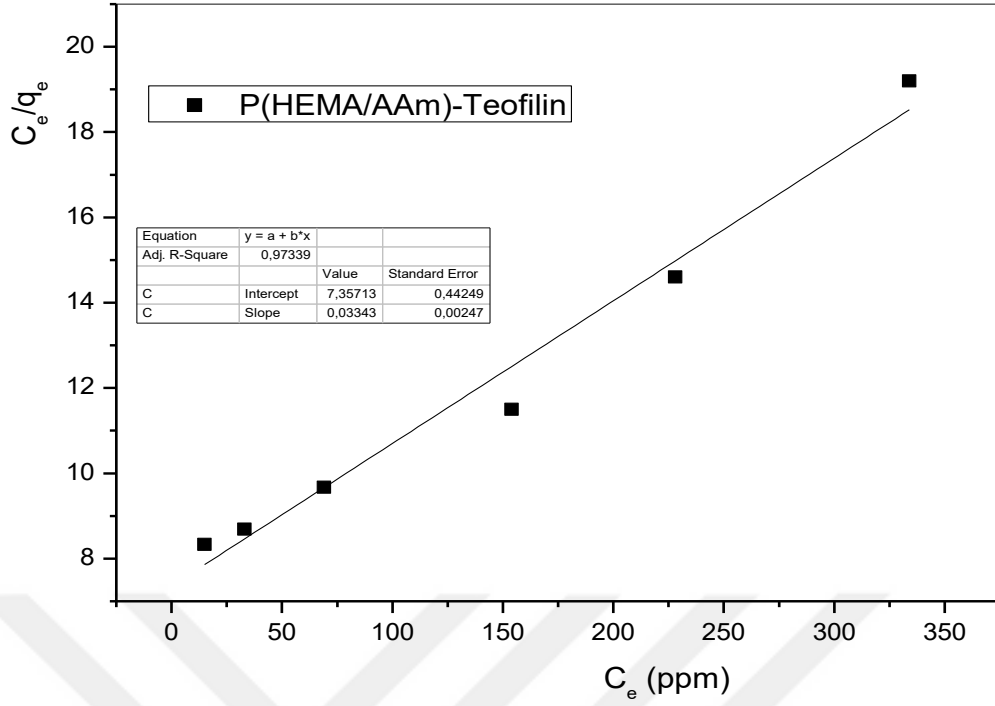
Bu eşitlik doğrusal hale getirilirse,

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{C_e}{q_m} + \frac{1}{K_L q_m} \quad (4.8)$$

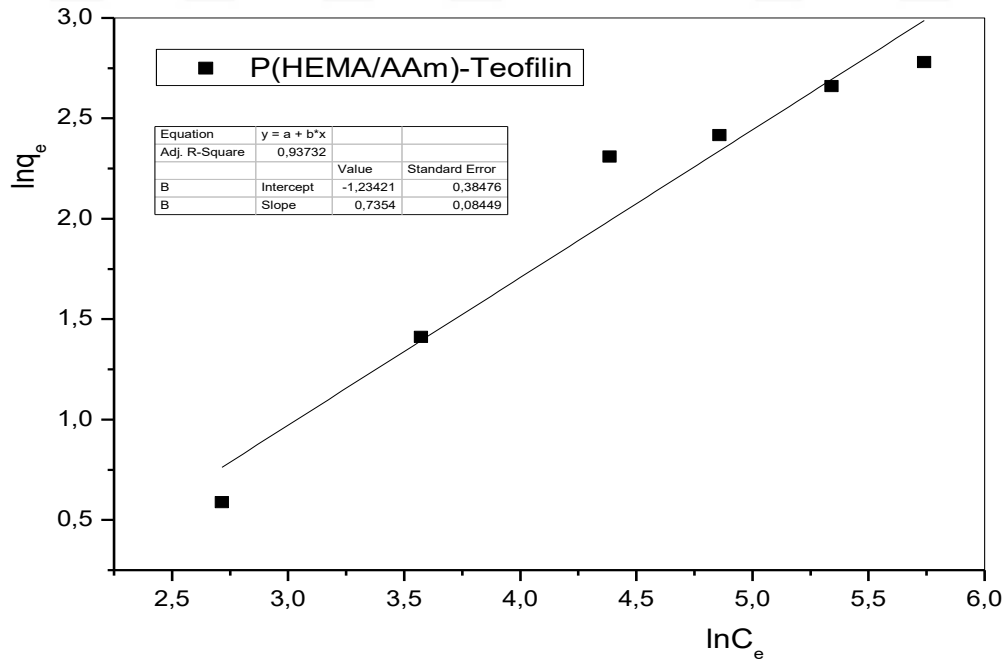
Eşitlikteki q_e dengedeki adsorpsiyon kapasitesini (mg/g), C_e çözeltide dengede bulunan adsorplanan madde derişimini, q_m teorik maksimum adsorpsiyon kapasitesini, K_L ise adsorpsiyon serbest enerjisi ile bağlantılı Langmuir sabitini (L/mg) ifade etmektedir. Langmuir modeline uyan adsorpsiyon izotermi için, boyutsuz bir sabit olan ayırma faktörü (R_L) aşağıdaki eşitlikte ifade edilmiştir.

$$R_L = \frac{1}{1 + K_L C_o} \quad (4.9)$$

Bu eşitlikte diğerlerinden farklı olarak C_o adsorbe edilen maddenin başlangıç derişimini ifade etmektedir. R_L değerinin sonucuna göre adsorpsiyonun uygun olmadığı ($R_L > 1$), uygun olduğu ($0 < R_L < 1$), doğrusal olduğu ($R_L = 1$) veya tersinmez olduğu ($R_L = 0$) değerlendirilir. Teofilinin P(HEMA/AAm) kriyojellerine adsorpsiyonu için Langmuir (Şekil 4.16, $R^2 = 0,973$) ve Freundlich (Şekil 4.17, $R^2 = 0,937$) adsorpsiyon modelleri denenmiş olup, adsorpsiyon prosesinin Langmuir modeline uyduğu saptanmıştır (Şekil 4.16, Şekiller üzerinde doğru denklemleri ve R^2 değerleri gösterilmiştir). Doğrunun eğiminden maksimum adsorpsiyon kapasitesi (q_m) 30,3 mg/g olarak bulunmuştur. 400 ppm teofilin için adsorpsiyon kapasitesi 16,2 mg/g olarak saptanmıştır. Adsorpsiyon prosesi için standart Gibbs serbest enerjisi değişim değerinin sıfırdan büyük olması ve adsorpsiyon prosesinin istemsizliği, gerçek değer ile teorik değer arasında fark olmasına neden olmaktadır. Doğrunun kesim noktasından, Langmuir sabiti (K_L) ise $4,49 \times 10^{-3}$ L/mg olarak bulunmuştur.



Şekil 4.16. Teofilinin P(HEMA/AAm) kriyojeline adsorpsiyonu için Langmuir izoterm modeli (25 mL teofilin, 0,12 gram kriyojel, fosfat tamponu, pH=7, 25°C, 3 saat).



Şekil 4.17. Teofilinin P(HEMA/AAm) kriyojeline adsorpsiyonu için Freundlich izoterm modeli (25 mL teofilin, 0,12 gram kriyojel, fosfat tamponu, pH=7, 25°C, 3 saat).

Ayrırma faktörü R_L , bütün başlangıç derişimleri için 0 ile 1 arasındadır, yani teofilinin P(HEMA/AAm) kriyojellerine adsorpsiyon prosesi uygundur. Çizelge 4.4'te adsorpsiyon prosesi ile ilgili veriler özetlenmiştir. Teofilinin P(HEMA/AAm) kriyojellerine adsorpsiyonu kısıtlı, tek tabakalı olup teofilin partikülleri arasında etkileşim yoktur (Langmuir, 1918).

Çizelge 4. 4. Langmuir modeli adsorpsiyon prosesi için izoterm verileri ve katsayıları.

C_o (mg/L)	C_e (mg/L)	q_e (mg/g)	R_L
25	15,1	1,8	0,9
50	35,6	4,1	0,82
100	80,2	8,3	0,69
200	128,8	11,2	0,53
300	208,9	14,3	0,43
400	311,1	16,2	0,36

$q_m = 30,3$ mg/g

$K_L = 4,49 \times 10^{-3}$ L/mg

4.2.7.Etkileşim Süresinin Adsorpsiyon Kapasitesine Etkisi ve Kinetik Çalışmalar

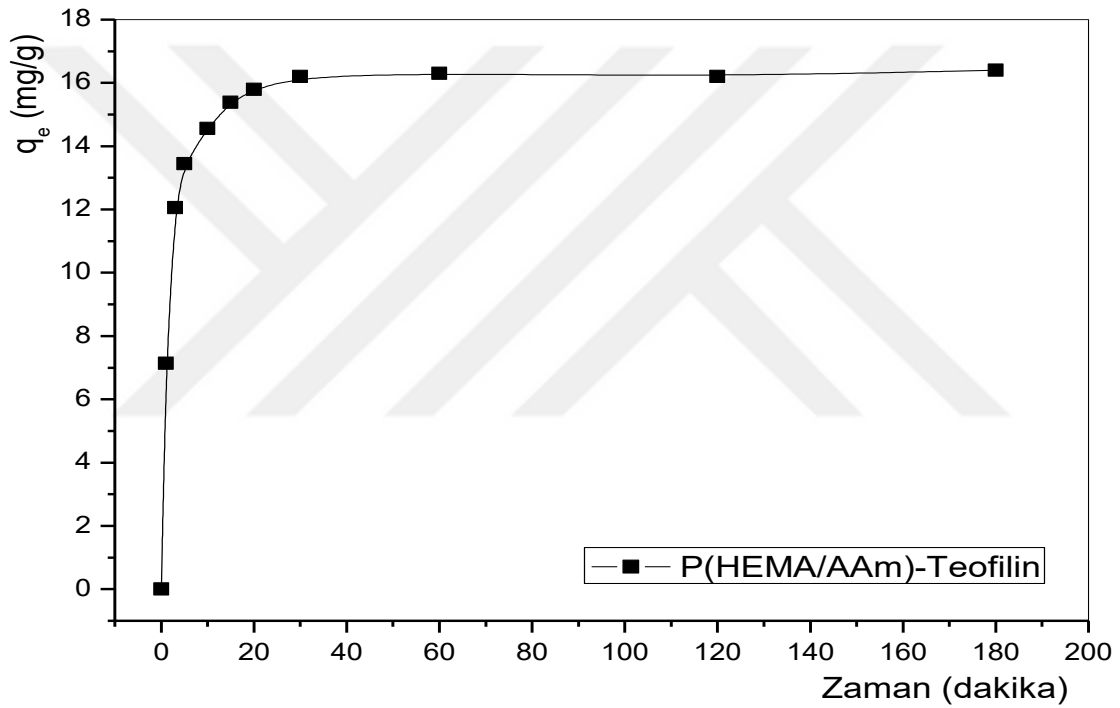
Şekil 4.18'de teofilinin P(HEMA/AAm) kriyojel membranlar tarafından adsorpsiyonu için dengeye gelme süresi 30 dakika olarak belirlenmiştir. İlk üç dakikada adsorpsiyon kapasitesi çok hızlı değişmekte, daha sonraki sürelerde değişim hızı azalmakta ve 30 dakika sonrasında 16,2 mg/g olarak sabit kalmaktadır. Adsorpsiyon dengesinin çok kısa sürede kurulmasının nedeni P(HEMA/AAm) kriyojel membranların çok ince tablet kesitinde olmasından dolayı difüzyonun kısa sürede sağlanmasından dolayı olduğu düşünülmektedir. Adsorpsiyon kinetiği için yalancı birinci derece ve yalancı ikinci derece modellemeler uygulanmıştır. Yalancı birinci dereceden tepkime modellemesi için

Lagergren tarafından türetilen eşitlik 4.10 kullanılmıştır (Lagergren, 1898). Yalancı ikinci dereceden tepkime modellemesi için Ho tarafından önerilen eşitlik 4.11 kullanılmıştır (Ho, 1995).

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - kt \quad (4.10)$$

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{kq_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad (4.11)$$

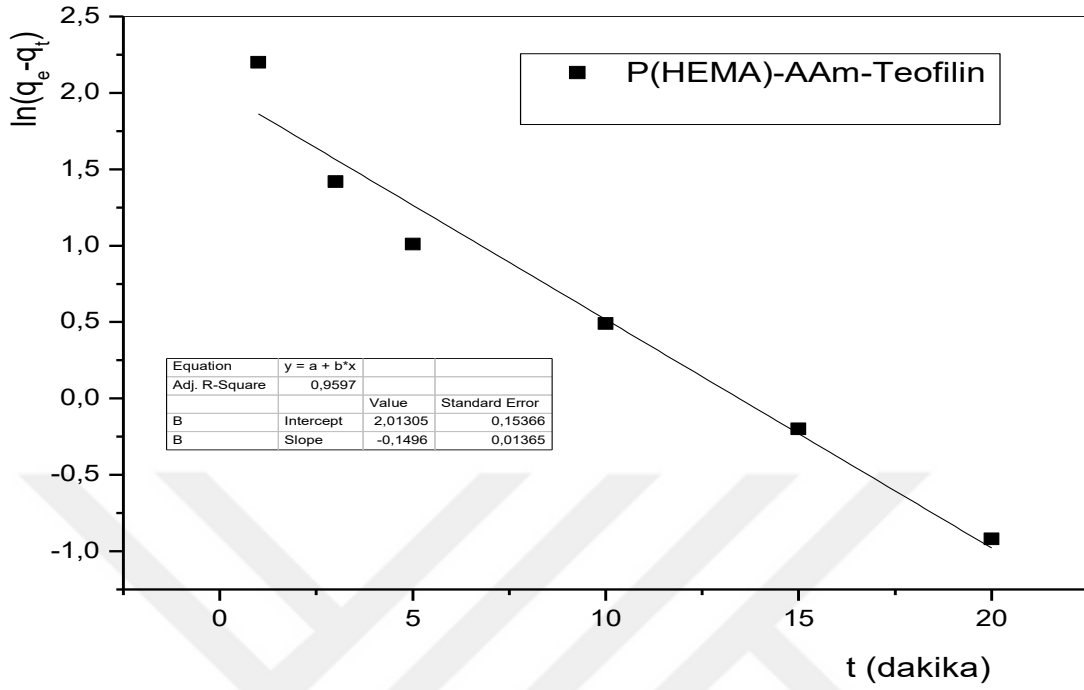
Eşitliklerde q_e (mg/g) dengedeki adsorpsiyon kapasitesini, q_t (mg/g) herhangi bir zamandaki adsorpsiyon kapasitesini, k adsorpsiyon hız sabitini, t (dakika) ise geçen zamanı ifade etmektedir.



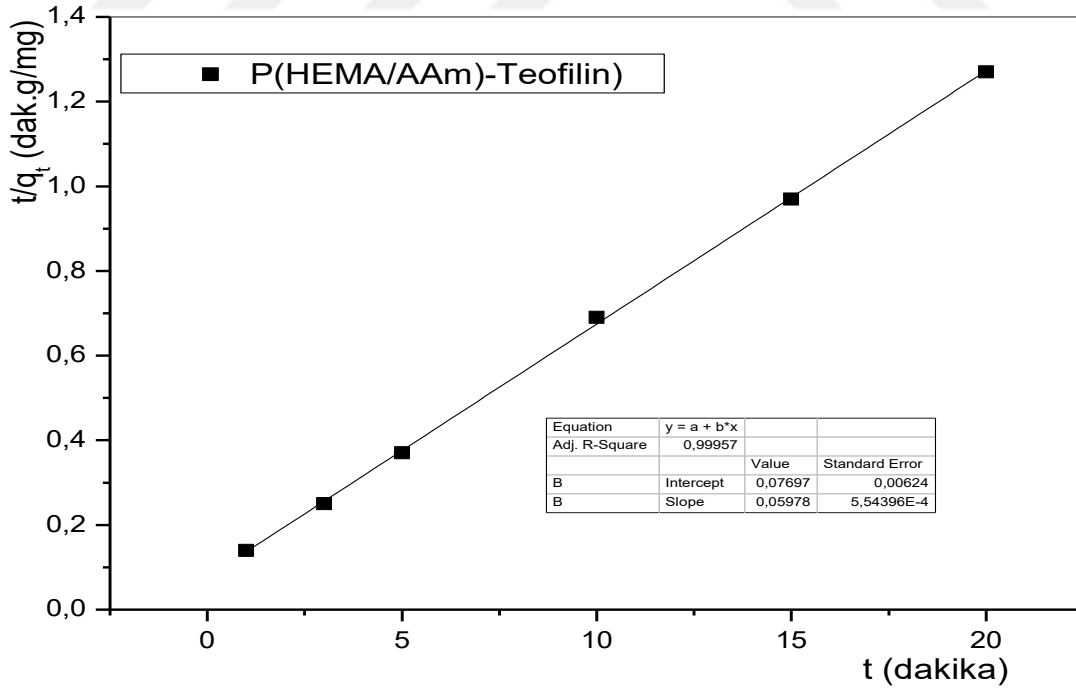
Şekil 4.18. Etkileşim süresinin adsorpsiyon kapasitesine etkisi (25 mL 400 ppm teofilin, 0,12 gram kriyojel, fosfat tamponu, pH=7, 25°C).

Şekil 4.19 ve 4.20 değerlendirildiğinde, yalancı ikinci dereceden adsorpsiyon kinetik modellemesinin teofilinin P(HEMA/AAm) kriyojel membranlarına adsorpsiyonuna daha uygun olduğu kanaatine varılmıştır. Yalancı ikinci derece basamak kinetik modellemesine göre, hız belirleyen basamağın teofilin ile kriyojel membran arasındaki etkileşim olduğu değerlendirilmiştir. Şekil 4.20 değerlendirildiğinde, kesim noktasından teorik adsorpsiyon

kapasite değeri (q_e) değeri 13 mg/g, eğimden adsorpsiyon hız sabiti (k) 0.1 mg/(L.dakika) olarak bulunmuştur.



Şekil 4. 19. Yalancı birinci dereceden adsorpsiyon kinetiği değerlendirilmesi.



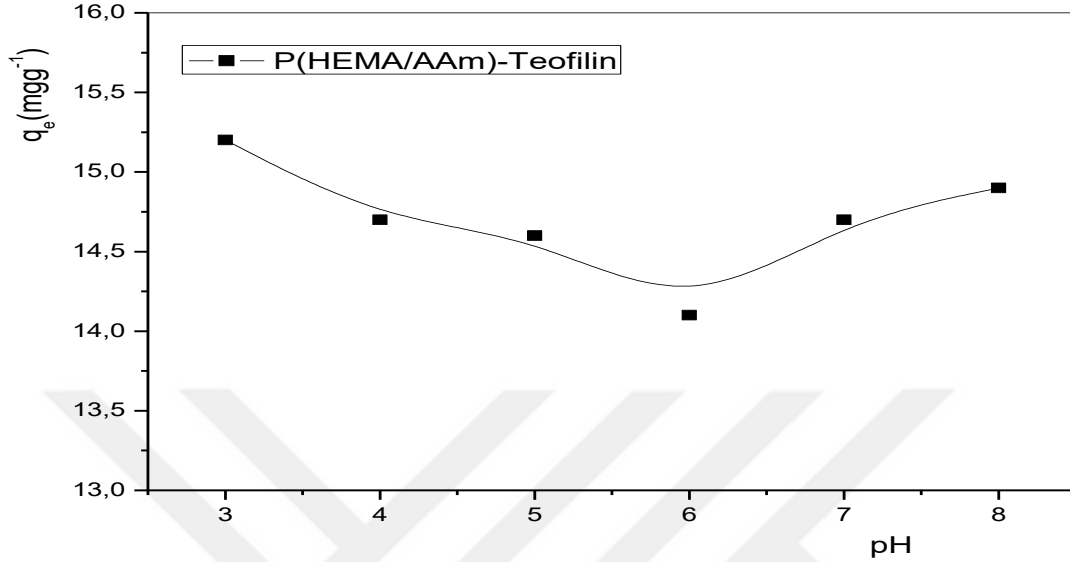
Şekil 4. 20. Yalancı ikinci dereceden adsorpsiyon kinetiği değerlendirilmesi.

4.3. Desorpsiyon ve Kriyojel Membranların Tekrar Kullanılabilirliği

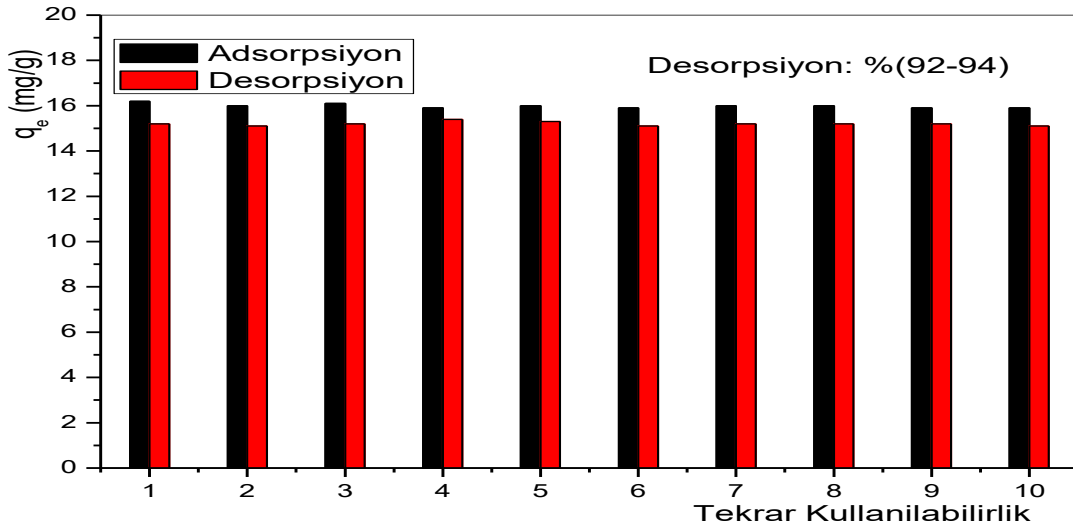
Desorpsiyon çalışmaları 1 M NaCl varlığında fosfat tamponunda yapılmıştır. 400 ppm teofilin çözeltisinde üç saat bekletilen kriyojel membranlar daha sonra tuzlu fosfat tamponunda bir saat bekletildikten sonra çözeltinin UV-Vis spektrometre ölçümü yapılmıştır ve salımın etkin olduğu pH değeri saptanmıştır. Şekil 4.21'den görüleceği üzere, pH 3 değerinde en yüksek desorpsiyon kapasitesi olan 15,2 mg/g değerine ulaşılmıştır. pH 6 değerine kadar desorpsiyon kapasitesinde azalma eğilimi olsa da, pH 7 ve 8 değerlerinde desorpsiyon kapasitesinde artış eğilimi gözlenmektedir. Asidik bölgede desorpsiyon kapasitesinin fazla olması, ortamda bulunan hidrojen iyonlarının teofilin-kriyojel membran arasındaki hidrojen bağı kırarak iyon-dipol etkileşimini etkin hale getirmesinden olduğu düşünülmektedir. Bazik çözelti bölgesinde ise, desorpsiyon kapasitesinin artması ise oluşan hidroksil iyonlarının yine aynı etkiyi göstermesindendir. Asidik bölgede bazik bölgeye göre daha fazla desorpsiyon kapasitesi gözlenmesinin nedeni, hidrojen iyonunun göreceli olarak küçük çapından dolayı kriyojele daha kolay difüzlenmesindendir. P(HEMA/AAm) kriyojel membranları, teofilin etken maddesi için kontrollü salım sistemi olarak kullanılabilir, vücutta midede en verimli salımı yaptığı düşünülebilir.

Tekrar kullanılabilirlikte, çevre uygulamaları açısından ekonomik olarak aranan bir parametredir. Şekil 4.22'de kriyojel membranların teofilin için tekrar kullanılabilirlik verileri değerlendirilmiştir. Fosfat tamponu içeren pH 7 değerinde 400 ppm teofilin çözeltisinde 3 saat bekletilen kriyojel membranlar, adsorpsiyon dengesine ulaştıktan sonra, pH 3 değerinde 1 saat 1 M NaCl içeren fosfat tamponu çözeltisinde bekletildikten sonra çözeltinin UV-Vis absorbans ölçümü alınmıştır. Kriyojel membranlar çözeltiden ayrıldıktan sonra, üzerinde kalan teofilinin uzaklaşması için yeniden 1 M NaCl içeren fosfat tamponu çözeltisinde bekletildikten sonra, saf suda yıkanarak kurutulmuştur. Aynı işlem 10 defa yapılarak tekrar kullanılabilirlik test edilmiştir. Kriyojellerin fiziksel ve kimyasal kararlılığını koruduğu kanaatine 10 test sonucunda varılmıştır. Çevre uygulamaları için sentezlenen kriyojel ekonomik olarak değerlendirilebilir. Birinci çevrimde hesaplanan adsorpsiyon kapasitesi 16,2 mg/g iken, çevrim sayısı arttıkça bu değerin 15,9-16,1 mg/g değeri arasında değiştiği bulunmuştur. Desorpsiyon kapasitesi ise

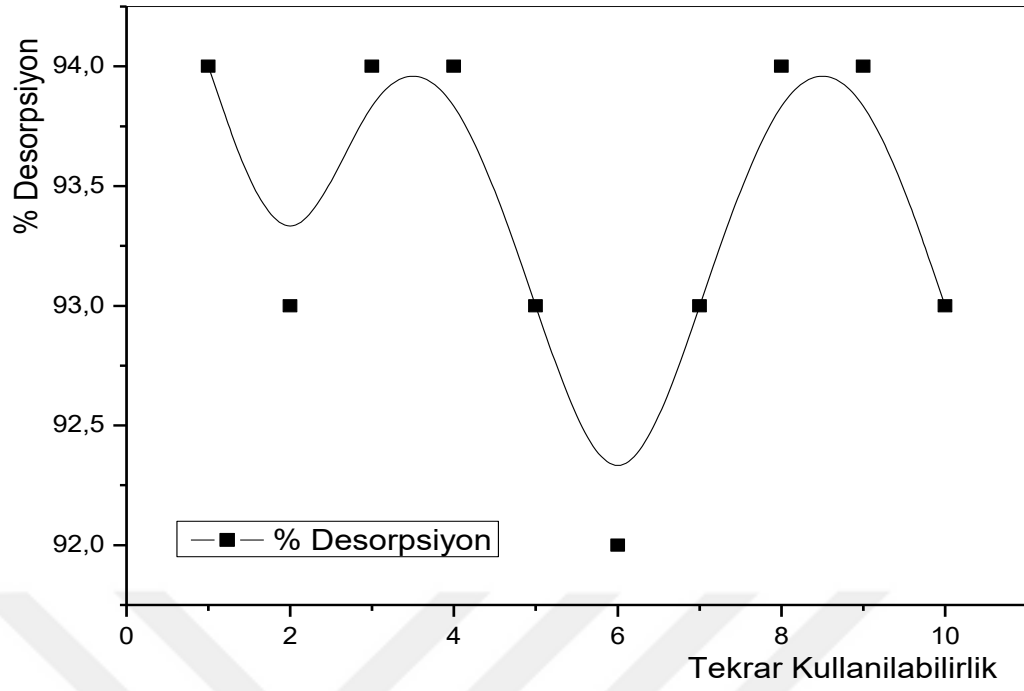
ilk çevrimde 15,2 mg/g olarak bulunmuş olup, diğer çevrimler süresince 15,1-15,3 mg/g arasında değiştiği saptanmıştır.



Şekil 4.21. Teofilin baskılanmış (PHEMA/AAm) kriyojel membranların desorpsiyon kapasitesinin pH değerine göre değişimi (0,12 gram kriyojel, 10 mL tuzlu fosfat tamponu, 25°C, 1 saat).



Şekil 4.22. Teofilin baskılanmış (PHEMA/AAm) kriyojel membranların adsorpsiyon-desorpsiyon kapasitesinin değerlendirilmesi (Ads.:25 mL 400 ppm teofilin, 0,12 gram kriyojel, fosfat tamponu pH=7, 25°C, 3 saat Des: 0,12 gram kriyojel, 10 mL tuzlu fosfat tamponu, pH=3, 25°C, 1 saat).



Şekil 4.23. Teofilin baskılanmış (PHEMA/AAm) kriyojel membranların adsorpsiyon-desorpsiyon kapasitesinin yüzde olarak değişimi.

5. YORUM

Teofilin (1, 3-dimetil-7H-Pürin-2, 6-dion), akut akciğer enfeksiyonları ve astım gibi solunum yolu hastalıklarının tedavisinde kullanılan bir metilksantin ilacıdır. Bu çalışmada teofilin baskılı P(HEMA/AAm) kriyojel membranlar sentezlenmiş olup FTIR, TGA, SEM ve BET ile karakterize edilmiştir. FTIR ve TGA ile kriyojel membranların sentezlendiği onaylanmıştır. P(HEMA) kriyojel membranlarına AAm katılması, termal kararlılığı arttırmıştır.

BET ve dengedeki yüzme şişme verileri değerlendirildiğinde yapının makrogözenekli, mezogözenekli ve mikrogözenekli olduğu değerlendirilmiştir. Toplam yüzey alanı sırasıyla P(HEMA/AAm), teofilin içeren P(HEMA/AAm) ve teofilin salmış P(HEMA/AAm) 0.54, 1,37 ve 3,09 m²/g, toplam gözenek hacmi 0,0014, 0,0028 ve 0,0054 cm³/g, ortalama gözenek boyutları aralığı ise 69-108, 56-60 ve 52-62 Å olarak gözlenmiştir. Yapıya teofilin baskılanması, yüzey alanını ve toplam gözenek hacmini arttırdığı gibi, gözenek boyutunu da düşürmektedir, dolayısıyla, teofilin baskılı kriyojel membranlar için adsorpsiyon kapasitesinde artış olması beklenmektedir.

P(HEMA/AAm) kriyojel membranlarında pH değerine bağlı olarak adsorpsiyon kapasitesinde bir değişim gözlenmekte, en yüksek adsorpsiyon kapasitesi ise pH 7 değerinde olmaktadır. pH 7 değerinde teofilin baskılanmış kriyojel membranlar için adsorpsiyon kapasitesi 16,2 mg/g olarak bulunmuştur. Bu değer teofilin baskılanmamış P(HEMA/AAm) ve P(HEMA) kriyojel membranlar için sırasıyla pH 7 değerinde 10,1 ve 2,5 mg/g'dır. P(HEMA) kriyojel membranlarının adsorpsiyon kapasitesinin pH ile değişmediği gözlenmiştir.

İyonik şiddetin adsorpsiyon kapasitesini düşürdüğü gözlenmiştir. Aynı derişimlerde değişik iyonik şiddet ortamı sağlayan NaCl ve Na₂SO₄ tuzlarının etkisi kıyaslandığında, 0,5 M NaCl ve Na₂SO₄ için, sırasıyla adsorpsiyon kapasitesini %13,6 ve %19 düşürdüğü

saptanmıştır. P(HEMA/AAm) kriyojel membranlar ile teofilin arasında hidrojen bağı ve polar etkileşimlerin olduğu düşünülmektedir. Dolayısıyla, iyonik şiddetin artması bu tür etkileşimlerde adsorpsiyon kapasitesini düşürmektedir.

P(HEMA/AAm) kriyojel membranlarının miktarının artması ile adsorpsiyon kapasitesi azalmakta, yüksek kriyojel membran miktarlarında ise adsorpsiyon kapasitesi dengeye yaklaşmaktadır.

Teofilin derişiminin artması ile P(HEMA/AAm) kriyojel membranlarının adsorpsiyon kapasitesi artmaktadır. Teofilin derişiminin 16 kat artması, adsorpsiyon kapasitesini 9 kat arttırmıştır.

60°C sıcaklıkta 14,7 mg/g olan adsorpsiyon kapasitesi, bir miktar artarak 30° ve 45°C sıcaklıklarda sırasıyla 15,3 mg/g ve 16,8 mg/g olarak gözlenmiştir. 15°C sıcaklıkta adsorpsiyon kapasitesi 19,5 mg/g değerine sıçrama yapmıştır. Hidrojen bağlarının etkinliği nedeniyle sıcaklık artışı ile adsorpsiyon kapasitesinin azaldığı gözlenmiştir, bu tür eğilimlerde adsorpsiyon prosesi ekzotermiktir. Gürün sıcaklıklarda ΔG° değeri positif bulunmuştur, termodinamik sabiti K_e 'nin değeri 0,038 (60°C) ile 0,051 (15°C) arasında bulunmuştur. ΔH° ve ΔS° değerleri sırasıyla, -6,2 kJ/mol ve -46,0 J/mol olarak bulunmuştur. Termodinamik olarak adsorpsiyon prosesinin istemsiz olduğu saptanmıştır.

P(HEMA/AAm) kriyojeline teofilin adsorpsiyonu için Langmuir ve Freundlich izoterm modelleri denenmiş olup adsorpsiyon prosesinin Langmuir izotermine uyduğu gözlenmiştir. Teorik olarak maksimum adsorpsiyon kapasitesi (q_m) 30,3 mg/g olarak bulunmuştur. Teorik değerin deneysel değerden fazla çıkmasının nedeni adsorpsiyon prosesinin istemsizliğinden dolayıdır. Langmuir sabiti (K_L) $4,49 \times 10^{-3}$ L/mg, ayırma faktörü R_L , bütün başlangıç derişimleri için 0 ile 1 arasında bulunmuştur. Bu sonuçlara göre teofilinin P(HEMA/AAm) kriyojellerine adsorpsiyon prosesi uygundur. Teofilinin

P(HEMA/AAm) kriyojellerine adsorpsiyonu kısıtlı, tek tabakalı olup teofilin partikülleri arasında etkileşim yoktur.

400 ppm teofilin çözeltisi ile P(HEMA/AAm) kriyojel membranları etkileştiğinde 30 dakikada adsorpsiyon dengesi kurulmuştur. Adsorpsiyon kinetiği için yalancı birinci derece ve yalancı ikinci derece modellemeler uygulanmış olup, adsorpsiyon prosesinin yalancı ikinci dereceden tepkime modellemesine uyduğu bulunmuştur ve hız belirleyen basamağın teofilin ile kriyojel membran arasındaki etkileşim olduğu değerlendirilmiştir. Teorik adsorpsiyon kapasite değeri (q_e) değeri 13 mg/g, eğimden adsorpsiyon hız sabiti (k) 0.1 mg/(L.dakika) olarak bulunmuştur.

Sentezlenen kriyojel membranlar için en yüksek desorpsiyon kapasitesi 15,2 mg/g olarak pH 3 değerinde saptanmıştır. Asidik bölgede desorpsiyon kapasitesinin fazla olması, ortamda bulunan hidrojen iyonlarının teofilin-kriyojel membran arasındaki hidrojen bağıını kırarak iyon-dipol etkileşimini etkin hale getirmesinden olduğu düşünülmektedir. P(HEMA/AAm) kriyojel membranları, teofilin etken maddesi için kontrollü salım sistemi olarak kullanılabilir, vücutta midede en verimli salımı yaptığı düşünülebilir.

P(HEMA/AAm) kriyojellerinin tekrar kullanılabilirliğini test etmek için 10 defa çevrim uygulanmıştır. Birinci çevrimde hesaplanan adsorpsiyon kapasitesi 16,2 mg/g iken, çevrim sayısı arttıkça bu değer 15,9-16,1 mg/g değeri arasında değiştiği bulunmuştur. Desorpsiyon kapasitesi ise ilk çevrimde 15,2 mg/g olarak bulunmuş olup, diğer çevrimler süresince 15,1-15,3 mg/g arasında değiştiği saptanmıştır. Kriyojel membranların kimyasal ve fiziksel kararlılığını koruduğu tüm çevrimlerde onaylanmıştır.

6. KAYNAKLAR

- Abasi, C.Y., Abia, A.A., Igwe, J.C., Adsorption of Iron(III), Lead(II) and Cadmium(II) ions by unmodified raphia palm (*Raphia hookeri*) Fruit Endokarp, Environmental Research Journal, 5, **(2011)**, 104-113.
- Abernethy, D.R., Arnold G.J., & Azarnoff D. (Eds.). Mosby's Drug Consult., St. Louis: Mosby Inc. **(2002)**.
- Abosede, O., Gordon, A., Dembaremba, T.O., Lorentino, C.M., Frota, H.F., Santos, A.L., Hosten, E., & Ogunlaja, A.S. Trimesic acid–Theophylline and Isophthalic acid–Caffeine Cocrystals: Synthesis, Characterization, Solubility, Molecular Docking, and Antimicrobial Activity. Crystal Growth & Design, 20, **(2020)**, 3510-3522.
- Adrados, B. P., Galaev, I. Y., Nilsson, K., & Mattiasson, B. Size exclusion behavior of hydroxypropylcellulose beads with temperature-dependent porosity. Journal of chromatography. A, 930(1-2), **(2001)**, 73–78.
- Ahn, J. K., Park, K. S., Won, B. Y., & Park, H. G. A novel electrochemical method to detect theophylline utilizing silver ions captured within abasic site-incorporated duplex DNA. Biosensors & bioelectronics, 67, **(2015)**, 590–594.
- Alberghina, G., Bianchini, R., Fichera, M., Fisichella, S., Dimerization of Cibacron Blue F3GA and other dyes: influence of salts and temperature, Dyes and Pigments, 46, **(2000)**, 129-137.
- Al-Anber, M.A., Thermodynamics Interaction Studies Solids, liquids and gases, Moreno-Pirajan J.C. (ed.), IntechOpen, Londra, Chapter 3, Thermodynamics Interaction Approach in the Adsorption of Heavy Metals, **(2011)**.

- Ali, S., Shehzad, F.K., Maitlo I., Valiev S., Muhyodin G., Nie J., Binary phase solid-state photopolymerization behaviour of acrylate cryogels under different light sources, *Journal of Applied Polymer Science*, 135, **(2018)**, 46686.
- Alkan, H. Poly hydroxyethyl methacrylate-co-N-methacryloyl-L-histidine methyl ester Based Cryogel for the Removal of Fe³⁺ from Human Plasma effected with Beta Thalassemia. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 43 (3), **(2015)**, 179-185.
- Al-Jenoobi, F. I., Ahad, A., Mahrous, G. M., Raish, M., Alam, M. A., & Al-Mohizea, A. M. A simple HPLC-UV method for the quantification of theophylline in rabbit plasma and its pharmacokinetic application. *Journal of chromatographic science*, 53(10), **(2015)**, 1765–1770.
- Alexander, C., Andersson, H. S., Andersson, L. I., Ansell, R. J., Kirsch, N., Nicholls, I. A., O'Mahony, J., & Whitcombe, M. J. Molecular imprinting science and technology: a survey of the literature for the years up to and including 2003. *Journal of molecular recognition: JMR*, 19(2), **(2006)**, 106–180.
- Allender, C. J., Richardson, C., Woodhouse, B., Heard, C. M., & Brain, K. R. Pharmaceutical applications for molecularly imprinted polymers. *International journal of pharmaceutics*, 195(1-2), **(2000)**, 39–43.
- Andac, M., Plieva, F. M., Denizli, A., Galaev, I. Y., & Mattiasson, B. Poly(hydroxyethyl methacrylate)-based macroporous hydrogels with disulfide cross-linker. *Macromolecular Chemistry And Physics*, 209(6), **(2008)**, 577-584.
- Andac, M., Galaev, I., & Denizli, A. Dye attached poly(hydroxyethyl methacrylate) cryogel for albumin depletion from human serum. *Journal of separation science*, 35(9), **(2012)**, 1173–1182.
- Andac, M., Galaev, I. Y., & Denizli, A. Molecularly imprinted poly(hydroxyethyl methacrylate) based cryogel for albumin depletion from human serum. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 109, **(2013)**, 259–265.

- Andac, M., Galaev, I. Y., & Denizli, A. Affinity based and molecularly imprinted cryogels: Applications in biomacromolecule purification. *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*, 1021, **(2016)**, 69–80.
- Andersson, L., Sellergren, B., & Mosbach, K. Imprinting of amino acid derivatives in macroporous polymers. *Tetrahedron Letters*, 25(45), **(1984)**, 5211–5214.
- Anirudhan, T., Divya, P.L., & Nima, J. Synthesis and characterization of novel drug delivery system using modified chitosan based hydrogel grafted with cyclodextrin. *Chemical Engineering Journal*, 284, **(2016)**, 1259-1269.
- Ansari, S., & Karimi, M. Recent configurations and progressive uses of magnetic molecularly imprinted polymers for drug analysis. *Talanta*, 167, **(2017)**, 470–485.
- Arshady, R. & Mosbach, K. Synthesis of substrate-selective polymers by host-guest polymerization. *Makromol. Chem.*, 182, **(1981)**, 687-692.
- Arvidsson, P., Plieva, F. M., Savina, I. N., Lozinsky, V. I., Fexby, S., Bülow, L., Galaev, I. Y., & Mattiasson, B. Chromatography of microbial cells using continuous supermacroporous affinity and ion-exchange columns. *Journal of chromatography. A*, 977(1), **(2002)**, 27–38.
- Arvidsson, P., Plieva, F. M., Lozinsky, V. I., Galaev, I. Y., & Mattiasson, B. Direct chromatographic capture of enzyme from crude homogenate using immobilized metal affinity chromatography on a continuous supermacroporous adsorbent. *Journal of chromatography. A*, 986(2), **(2003)**, 275–290.
- Ashley, J., Shahbazi, M. A., Kant, K., Chidambara, V. A., Wolff, A., Bang, D. D., & Sun, Y. Molecularly imprinted polymers for sample preparation and biosensing in food analysis: Progress and perspectives. *Biosensors & bioelectronics*, 91, **(2017)**, 606–615.
- Aydoğan, C., Andaç, M., Bayram, E., Say, R., & Denizli, A. Molecularly imprinted cryogel for L-glutamic acid separation. *Biotechnology progress*, 28(2), **(2012)**, 459–466.

- Babac, C., Yavuz, H., Galaev, I. Y., Piskin, E., & Denizli, A., Binding of antibodies to concanavalin A-modified monolithic cryogel. *Reactive & Functional Polymers*, 66(11), **(2006)**, 1263-1271.
- Baggiani, C., Baravalle, P., Giovannoli, C., Anfossi, L., & Giraudi, G. Molecularly imprinted polymer/cryogel composites for solid-phase extraction of bisphenol A from river water and wine. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 397(2), **(2010)**, 815–822.
- Baggiani, C., Giovannoli, C., Anfossi, L., & Tozzi, C. Molecularly imprinted solid-phase extraction sorbent for the clean-up of chlorinated phenoxyacids from aqueous samples. *Journal of chromatography. A*, 938(1-2), **(2001)**, 35–44.
- Baggiani, C., Trotta, F., Giraudi, G., Moraglio, G., & Vanni, A. Chromatographic Characterization Of A Molecularly Imprinted Polymer Binding Theophylline In Aqueous Buffers. *Journal of Chromatography A*, 786, **(1997)**, 23-29.
- Baleviciute, I., Ratautaite, V., Ramanaviciene, A., Balevicius, Z., Broeders, J., Croux, D., McDonald, M., Vahidpour, F., Thoelen, R., De Ceuninck W., Haenen, K., Nesladek, M., Reza, A., Ramanavicius, A., Evaluation of theophylline imprinted polypyrrole film, *Synthetic Metals*, 209, **(2015)**, 206-211.
- Barnes, P. J. Theophylline. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 188(8), **(2013)**, 901–906.
- Barnes P. J. Theophylline: new perspectives for an old drug. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 167(6), **(2003)**, 813–818.
- Bartella, L., Di Donna, L., Napoli, A., Siciliano, C., Sindona, G., & Mazzotti, F. A rapid method for the assay of methylxanthines alkaloids: Theobromine, theophylline and caffeine, in cocoa products and drugs by paper spray tandem mass spectrometry. *Food chemistry*, 278, **(2019)**, 261–266.

- Bat, E., Hydroxyethyl methacrylate based nanocomposite hydrogels with tunable pore architecture, *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, 3, **(2016)**, 607-622.
- Baumann, T. W. Some thoughts on the physiology of caffeine in coffee- and a glimpse of metabolite profiling. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 18(1), (2006), 243-251.
- Baydemir, G., Bereli, N., Andaç, M., Say, R., Galaev, I. Y., & Denizli, A. Bilirubin recognition via molecularly imprinted supermacroporous cryogels. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 68(1), **(2009)**, 33–38.
- Bencherif, S. A., Braschler, T. M., & Renaud, P. Advances in the design of macroporous polymer scaffolds for potential applications in dentistry. *Journal of periodontal & implant science*, 43(6), **(2013)**, 251–261.
- Bereli, N., Andaç, M., Baydemir, G., Say, R., Galaev, I. Y., & Denizli, A. Protein recognition via ion-coordinated molecularly imprinted supermacroporous cryogels. *Journal of chromatography. A*, 1190(1-2), **(2008)**, 18–26.
- Bereli, N., Saylan, Y., Uzun, L., Say, R., & Denizli, A. L-Histidine Imprinted Supermacroporous Cryogels For Protein Recognition. *Separation And Purification Technology*, 82, **(2011)**, 28-35.
- Bhat, S., Tripathi, A., & Kumar, A. Supermacroporous chitosan-agarose-gelatin cryogels: in vitro characterization and in vivo assessment for cartilage tissue engineering. *Journal of the Royal Society, Interface*, 8(57), **(2011)**, 540–554.
- Biradha, K., Samai, S., Maity, A.C., & Goswami, S. Supramolecular Assembly of Protonated Xanthine Alkaloids in Their Perchlorate Salts. *Crystal Growth & Design*, 10, **(2010)**, 937-942.
- Blomgren, A., Berggren, C., Holmberg, A., Larsson, F., Sellergren, B., & Ensing, K. Extraction of clenbuterol from calf urine using a molecularly imprinted polymer followed by quantitation by high-performance liquid chromatography with UV detection. *Journal of chromatography. A*, 975(1), **(2002)**, 157–164.

- Buchtová, N., & Budtova, T. Cellulose aero-, cryo- and xerogels: towards understanding of morphology control. *Cellulose*, 23, **(2016)**, 2585-2595.
- Caro, E., Masqué, N., Marcé, R. M., Borrull, F., Cormack, P. A., & Sherrington, D. C. Non-covalent and semi-covalent molecularly imprinted polymers for selective on-line solid-phase extraction of 4-nitrophenol from water samples. *Journal of chromatography. A*, 963(1-2), **(2002)**, 169–178.
- Carvalho, B. M., Carvalho, L. M., Silva, W. F., Jr, Minim, L. A., Soares, A. M., Carvalho, G. G., & da Silva, S. L. Direct capture of lactoferrin from cheese whey on supermacroporous column of polyacrylamide cryogel with copper ions. *Food chemistry*, 154, **(2014)**, 308–314.
- Chauhan, G.S., Chauhan S., Sen U., Garg D., Synthesis and characterization of acrylamide and 2-hydroxy-ethyl methacrylate hydrogels for use in metal ion uptake studies, *Desalination*, 243, **(2009)**, 95-108.
- Chapuis, F., Pichon, V., & Hennion, M.-C. Molecularly Imprinted polymers: Developments and applications of New selective Solid-Phase Extraction Materials. *LC-GC Europe*, 17(7), **(2004)**, 408-417.
- Chávez, J. L., Lyon, W., Kelley-Loughnane, N., & Stone, M. O. Theophylline detection using an aptamer and DNA-gold nanoparticle conjugates. *Biosensors & bioelectronics*, 26(1), **(2010)**, 23–28.
- Che, A. F., Wan, L. S., Ling, J., Liu, Z. M., & Xu, Z. K. Recognition mechanism of theophylline-imprinted polymers: two-dimensional infrared analysis and density functional theory study. *The journal of physical chemistry. B*, 113(20), **(2009)**, 7053–7058.
- Chen, M. L., Zheng, M. M., & Feng, Y. Q. Preparation of organic-inorganic hybrid silica monolith with octyl and sulfonic acid groups for capillary electrochromatography and application in determination of theophylline and caffeine in beverage. *Journal of chromatography. A*, 1217(21), **(2010)**, 3547–3556.

- Chen, Q. C., & Wang, J. Simultaneous determination of artificial sweeteners, preservatives, caffeine, theobromine and theophylline in food and pharmaceutical preparations by ion chromatography. *Journal of chromatography. A*, 937(1-2), **(2001)**, 57–64.
- Chernysheva, N.N., Abdullin, I.F. & Budnikov, G.K. Coulometric Determination of Purine Alkaloid Series with Electrogenated Chlorine. *Journal of Analytical Chemistry*, 56, **(2001)**, 663–665.
- Choi, S.K., pH Sensitive Polymers for Novel Conformance Control and Polymer Flooding Applications, Doktora Tezi, Faculty of the Graduate School of the University of Texas at Austin, Austin, ABD, **(2008)**.
- Cook, J. D., Platoff, G. E., Koch, T. R., & Knoblock, E. C. Accuracy and precision of methods for theophylline measurement in physicians' offices. *Clinical chemistry*, 36(5), **(1990)**, 780–783.
- Cormack, P.A.G., & Mosbach, K. Molecular imprinting: recent developments and the road ahead. *Reactive and Functional Polymers*, 41(1-3), **(1999)**, 115-124.
- Cormack, P. A., & Elorza, A. Z. Molecularly imprinted polymers: synthesis and characterisation. *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*, 804(1), **(2004)**, 173–182.
- Cozak, D., Mardhy, A., Olivier, M. J., & Beauchamp, A.L. N7/O6 chelation in a complex with an analog of guanine. Preparation, spectroscopic study, and crystal structure of bis(.eta.5-cyclopentadienyl)(theophyllinato)titanium(III). *Inorganic Chemistry*, **(1986)**, 2600-2606.
- Cui, F., & Zhang, X. A method based on electrodeposition of reduced graphene oxide on glassy carbon electrode for sensitive detection of theophylline. *J Solid State Electrochem*, 17, **(2013)**, 167–173.

- Çetin, K., & Denizli, A. 5-Fluorouracil delivery from metal-ion mediated molecularly imprinted cryogel discs. *Colloids & Surfaces B: Biointerfaces*, 126, **(2015)**, 401–406.
- Çorman, M. E., Armutcu, C., Uzun, L., Denizli, A., & Özkara, S. Molecularly imprinted cryogel cartridges for the specific filtration and rapid separation of interferon alpha. *RSC Advances*, 5(56), **(2015)**, 45015–45026.
- Dainiak, M. B., Kumar, A., Galaev, I. Y., & Mattiasson, B. Detachment of affinity-captured bioparticles by elastic deformation of a macroporous hydrogel. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(4), **(2006)**, 849–854.
- Dainiak, M. B., Galaev, I. Y., Kumar, A., Plieva, F. M., & Mattiasson, B. Chromatography of living cells using supermacroporous hydrogels, cryogels. *Advances in biochemical engineering/biotechnology*, 106, **(2007)**, 101–127.
- Dainiak, M. B., Allan, I. U., Savina, I. N., Cornelio, L., James, E. S., James, S. L., Mikhailovsky, S. V., Jungvid, H., & Galaev, I. Y. Gelatin-fibrinogen cryogel dermal matrices for wound repair: preparation, optimisation and in vitro study. *Biomaterials*, 31(1), **(2010)**, 67–76.
- Davies, M. P., De-Biasi, V., & Perrett, D. Approaches to the rational design of molecularly imprinted polymers, *Analytica Chimica Acta*, 504(1), **(2004)**, 7-14.
- Demirci, B. Protein C Saflaştırılması İçin Molekuler Baskılanmış Adsorbenler, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı, **(Haziran, 2013)**.
- Denizli, A. Kokain Teşhisinde Yeni Bir Yöntem Moleküler Baskılanmış Sensörler. *Bilim ve Teknik*, **(Mart, 2015)**, 80-83,
- Denizli, A, Say., R., & Pişkin, E. Removal of aluminium by Alizarin Yellow-attached magnetic poly (2-hydroxyethyl methacrylate) beads, *Reactive and Functional Polymers*, 55(1), **(2003)**, 99–107.

- Dispınar, T., Van Camp, W., De Cock, L. J., De Geest, B. G., & Du Prez, F. E. Redox-responsive degradable PEG cryogels as potential cell scaffolds in tissue engineering. *Macromolecular bioscience*, 12(3), **(2012)**, 383–394.
- Dolak, İ, Keçili, R., Onat, R., Ziyadanoğulları, B., Ersöz, A., & Say, R. Molecularly imprinted affinity cryogels for the selective recognition of myoglobin in blood serum. *Journal of Molecular Structure*, 1174, **(2018)**, 171-176.
- Dong, X., Sun, H., Lu, X., Wang, H., Liua, S., & Wang, N. Separation of ephedrine stereoisomers by molecularly imprinted polymers--influence of synthetic conditions and mobile phase compositions on the chromatographic performance. *The Analyst*, 127(11), **(2002)**, 1427–1432.
- Erturk, G., Uzun, L., Tumer, M. A., Say, R., & Denizli, A. F-ab fragments imprinted SPR biosensor for real-time human immunoglobulin G detection. *Biosensors & Bioelectronics*, 28(1), **(2011)**, 97-104.
- Ertürk, G., and Mattiasson, B. Cryogels-versatile tools in bioseparation. *Journal of chromatography. A*, 1357, **(2014)**, 24–35.
- Ertürk, G., Bereli, N., Ramteke, P. W., & Denizli, A. Molecularly imprinted supermacroporous cryogels for myoglobin recognition. *Applied biochemistry and biotechnology*, 173(5), **(2014)**, 1250–1262.
- Fan, H., Sun, T., Dong, J., Tong, G., & Sui, D. Ion imprinted polymer and its application in the analytical chemistry. *Chemistry Bulletin / Huaxue Tongbao*, 72(1), **(2009)**, 10–14.
- Ferapontova, E. E., Olsen, E. M., & Gothelf, K. V. An RNA aptamer-based electrochemical biosensor for detection of theophylline in serum. *Journal of the American Chemical Society*, 130(13), **(2008)**, 4256–4258.
- Fischer, E., & Ach, L. Synthese des Caffëins. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, 28, **(1895)**, 3135-3143.

- Francis, S. H., Sekhar, K. R., Ke, H., & Corbin, J. D. Inhibition of cyclic nucleotide phosphodiesterases by methylxanthines and related compounds. *Handbook of experimental pharmacology*, (200), **(2011)**, 93–133.
- Freundlich, H.M., Over the adsorption in solution, *Journal of Physical Chemistry*, 57, **(1906)**, 385-470.
- Gacki, M., Kafarska, K., Pietrzak, A., Wolf, W. M., & Korona-Glowniak, I. Synthesis, characterisation, crystal structure and biological activity of metal (II) complexes with theophylline. *Journal of Saudi Chemical Society*, 23(3), **(2019)**, 346–354.
- Gad, S.E. *Encyclopedia of Toxicology (Third Edition)*, Polymers, Wexler, P. (Eds.), Academic Press, 3, **(2014)**, 1045-1050.
- Gan, T., Zhao, A., Wang, Z., Liu, P., Sun, J., & Liu, Y. An electrochemical sensor based on SiO₂@TiO₂-embedded molecularly imprinted polymers for selective and sensitive determination of theophylline. *J Solid State Electrochem* 21, **(2017)**, 3683–3691
- Gao, F.-X., Zhao, X.-L., He, X.-W., Li, W.-Y., Zhang Y.-K., A pH and temperature dual-responsive macroporous molecularly imprinted cryogel for enhanced recognition capability towards ovalbumin. *Anal. Methods*, 5, **(2013)**, 6700–6708.
- García, M. C. Drug delivery systems based on nonimmunogenic biopolymers. *Engineering of Biomaterials for Drug Delivery Systems*, **(2018)**, 317-344.
- German-Heins, J., Flury, M., Sorption of Brilliant Blue FCF in soils as affected by pH and ionic strength, *Geoderma*, 97, **(2000)**, 87-101.
- Ghaemi-Amiri, F., Aghaie, H., Giah, M., & Mozaffari, M. Electrocatalytic Oxidation Study of Theophylline on a Copper Nanoparticles-Modified, Carbon Paste Electrode Based on Cyclic Voltammetry. *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering (IJCCE)*, 39(4), **(2020)**, 99-112.

- Gilbert, R. M. Caffeine consumption. Progress in clinical and biological research, 158, (1984), 185–213.
- Gowthaman, N. S. K., Kesavan, S., & John, S.A. Monitoring Isoniazid Level in Human Fluids in the Presence of Theophylline Using Gold @ Platinum Core @ Shell Nano Particles Modified Glassy Carbon Electrode. Sensors and Actuators B: Chemical, 230, (2016), 157-166.
- Gunasekaran, S., Sankari, G., Ponnusamy, S., Vibrational spectral investigation on xanthine and its derivatives-theophylline, caffeine and theobromine, Spectrochimica Acta Part A, 61, (2005), 117-127.
- Gun'ko, V. M., Savina, I. N., & Mikhalovsky, S. V. Cryogels: morphological, structural and adsorption characterisation. Advances in colloid and interface science, 187-188, (2013), 1–46.
- Hajji, L., Saraiba-Bello, C., Segovia-Torrente, G., Scalambra, F., & Romerosa, A. (n.d.), CpRu Complexes Containing Water Soluble Phosphane PTA and Natural Purines Adenine, Guanine and Theophylline: Synthesis, Characterization, and Antiproliferative Properties. European Journal of Inorganic Chemistry, 38, (2019), 4078–4086.
- Hajizadeh, S., Xu, C., Kirsebom, H., Ye, L., & Mattiasson, B. Cryogelation of molecularly imprinted nanoparticles: a macroporous structure as affinity chromatography column for removal of β -blockers from complex samples. Journal of chromatography. A, 1274, (2013), 6–12.
- Hamidi, M., & Zarei, K. Electrochemical determination of theophylline on a glassy carbon electrode modified with reduced graphene oxide-sodium dodecyl sulfate-Nafion composite film. Russ Chem Bull 69, (2020), 2107–2112.
- Hanafy, A.F., Yousef, M.I., Mortada, S.A., & Molokhia, A.M. Assessment of localized therapeutic effect for prolonged release biodegradable implants loaded with 5-Fluorouracil on rats with induced liver cancer, Journal of Taibah University Medical Sciences, 9(1), (2014), 14-22.

- Henderson, T., Ladewig, K., Haylock, D. N., McLean, K. M., & O'Connor, A. J. Cryogels for biomedical applications. *Journal of materials chemistry. B*, 1(21), **(2013)**, 2682–2695.
- Hicks, M. B., Hsieh, Y.-H.P., & Bell, L.N. Tea preparation and its influence on methylxanthine concentration. *Food Research International*, 29(3-4), **(1996)**, 325–330.
- Ho, Y.S., McKay, G., Pseudo-second order model for sorption processes, *Process Biochemistry*, 34, **(1999)**, 451-465.
- Holthoff, E. L., & Bright, F. V. Molecularly templated materials in chemical sensing. *Analytica chimica acta*, 594(2), **(2007)**, 147–161.
- Hu, Y., Pan, J., Zhang, K., Lian, H., & Li, G. Novel applications of molecularly-imprinted polymers in sample preparation. *Trends in Analytical Chemistry*, 43, (2013), 37-52.
- Hu, Y., Wang, Y., Chen, X., Hu, Y., & Li, G. A novel molecularly imprinted solid-phase microextraction fiber coupled with high performance liquid chromatography for analysis of trace estrogens in fishery samples. *Talanta*, 80(5), **(2010)**, 2099–2105.
- Huseynli, S., Bakhshpour, M., Qureshi, T., Andac, M., & Denizli, A. Composite Polymeric Cryogel Cartridges for Selective Removal of Cadmium Ions from Aqueous Solutions. *Polymers*, 12(5), **(2020)**, 1149.
- Hwang, Y., Zhang, C., & Varghese, S. Poly(ethylene glycol) cryogels as potential cell scaffolds: effect of polymerization conditions on cryogel microstructure and properties. *J. Mater. Chem.*, 20, **(2010)**, 345-351.
- İpek, İ.Y., Kabay, N., Yüksel, M., Yapıcı, D., & Yüksel, Ü. Application of adsorption-ultrafiltration hybrid method for removal of phenol from water by hypercrosslinked polymer adsorbents. *Desalination*, 306, **(2012)**, 24–28.

- Ichikawa, K., Wada, T., Nishihara, T., Tsuji, M., Mori, A., Yokohama, F., Hasegawa, D., Kawamoto, K., Tanakaya, M., Katyama, Y., Sakuragi, S., & Ito, H. A case of life-threatening supraventricular tachycardia storm associated with theophylline toxicity. *Journal of cardiology cases*, 15(4), **(2017)**, 125–128.
- Ismail, A. H., Al-Bairmani, H. K., Abbas, Z. S., & Rheima, A. M. Synthesis, Characterization, Spectroscopic and Biological Studies of Zn(II), Mn(II) and Fe(II) Theophylline Complexes in Nanoscale. *Nano Biomedicine & Engineering*, 12(3), **(2020)**, 253–261.
- Iturriaga, H., Coello, J., Maspoch, S., & Porcel, M. Kinetic-spectrophotometric determination of theophylline, dyphylline, and proxyphylline by use of partial least-squares regression. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 374(1), **(2002)**, 33–38.
- Jafari, M. T., Rezaei, B., & Javaheri, M. A new method based on electrospray ionisation ion mobility spectrometry (ESI-IMS) for simultaneous determination of caffeine and theophylline. *Food chemistry*, 126(4), **(2011)**, 1964–1970.
- Jespersen, C.R., Nielsen, A.L., Matthiesen, F., Andersen, H.S., & Kirsebom, H. Dual application of cryogel as solid support in peptide synthesis and subsequent protein-capture. *J. Appl. Polym. Sci.*, 130, **(2013)**, 4383-4391.
- Jiang, X., & Huang, J. Adsorption of Rhodamine B on two novel polar-modified post-cross-linked resins: Equilibrium and kinetics. *Journal of colloid and interface science*, 467, **(2016)**, 230–238.
- Jing, L., Zhang, Q., Wang, Y., Xuehui, L., & Wei, T. Surface plasmon resonance sensor for theophylline using a water-compatible molecularly imprinted film. *Analytical Methods*, 8, **(2016)**, 2349-2356.
- Jodlbauer, J., Maier, N. M., & Lindner, W. Towards ochratoxin A selective molecularly imprinted polymers for solid-phase extraction. *Journal of chromatography. A*, 945(1-2), **(2002)**, 45–63.

- Johnson, I. M., Prakash, H., Prathiba, J., Raghunathan, R., & Malathi, R. Spectral analysis of naturally occurring methylxanthines (theophylline, theobromine and caffeine) binding with DNA. *PloS one*, 7(12), **(2012)**, e50019.
- Kan, X., Liu, T., Zhou, H., Li, C., & Fang, B. Molecular imprinting polymer electrosensor based on gold nanoparticles for theophylline recognition and determination. *Microchimica Acta*, 171, **(2010)**, 423-429.
- Katiyar, N., Selvakumar, L.S., Patra, S., & Thakur, M.S. Gold Nanoparticles Based Colorimetric Aptasensor For Theophylline. *Anal. Methods*, 5(3), **(2013)**, 653–659.
- Kayaalp, S.O., (Ed.) Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 11th ed. Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık, **(2005)**.
- Keçili, R., Dolak, İ., Ziyadanoğulları, B., Ersöz, A., & Say, R. Ion imprinted cryogel-based supermacroporous traps for selective separation of cerium(III) in real samples. *Journal of Rare Earths*, 36(8), **(2018)**, 857–862.
- Kempe, M., & Mosbach, K. Direct resolution of naproxen on a non-covalently molecularly imprinted chiral stationary phase. *Journal of Chromatography A*, 664, **(1994)**, 276-279.
- Khorrami, A. R., & Rashidpur, A. Design of a new cartridge for selective solid phase extraction using molecularly imprinted polymers: selective extraction of theophylline from human serum samples. *Biosensors & bioelectronics*, 25(3), **(2009)**, 647–651.
- Kim, M. Y., & Lee, T. G. Removal of Pb(II) ions from aqueous solutions using functionalized cryogels. *Chemosphere*, 217, **(2019)**, 423–429.
- Kirsebom, H., Topgaard, D., Galaev, I. Y., & Mattiasson, B. Modulating the porosity of cryogels by influencing the nonfrozen liquid phase through the addition of inert solutes. *Langmuir: the ACS journal of surfaces and colloids*, 26(20), **(2010)**, 16129–16133.

- Kistenmacher, T. J., Szalda, D. J., Chiang, C. C., Rossi, M., & Marzilli, L.G. The N (7), O(6) Chelation Mode Of 6-Oxopurines. Preparation And Structure Of (N-Salicylidene-N',N'-Dimethylethylenediamine) (Theophyllinato) Copper (II)-3.5-Water. *Inorganic Chemistry*, American Chemical Society, 17(9), **(1978)**, 2582-2584.
- Klein, J. U., Whitcombe, M. J., Mulholland, F., & Vulfson, E. N. Template-mediated synthesis of a polymeric receptor specific to amino acid sequences. *Angewandte Chemie-International Edition*, 38(13-14), **(1999)**, 2057-2060.
- Kobayashi, T., Wang, H., & Fujii, N. Molecular imprint membranes of polyacrylonitrile copolymers with different acrylic acid segments. *Analytica Chimica Acta*, 365, **(1998)**, 81-88.
- Kobayashi, T., Fukaya, T., Abe, M., & Fujii, N. Phase Inversion Molecular Imprinting by Using Template Copolymers for High Substrate Recognition. *Langmuir*, 18 (7), **(2002)**, 2866-2872.
- Komiyama, M., Takeuchi, T., Mukawa, T., & Asanuma, H. *Molecular Imprinting: From Fundamentals to Applications*, **(2003)**.
- Komiyama, M., Takeuchi, T., Mukawa, T., & Asanuma, H. Fundamentals of Molecular Imprinting. *Molecular Imprinting: From Fundamentals to Applications*, **(2002)**, 9-19.
- Kowalska, A., Stobiecka, A., & Wysocki, S. A computational investigation of the interactions between harmane and the functional monomers commonly used in molecular imprinting, *Journal of Molecular Structure: Theochem*, 901(1-3), **(2009)**, 2009, 88-95.
- Kryscio, D. R., & Peppas, N. A. Critical review and perspective of macromolecularly imprinted polymers. *Acta biomaterialia*, 8(2), **(2012)**, 461-473.
- Kugimiya, A., & Takeuchi, T. Application of Indoleacetic Acid-imprinted Polymer to Solid Phase Extraction. *Analytica Chimica Acta*, 395, **(1999)**, 251-255.

- Kumar, A., Bansal, V., Andersson, J., Roychoudhury, P. K., & Mattiasson, B. Supermacroporous cryogel matrix for integrated protein isolation. Immobilized metal affinity chromatographic purification of urokinase from cell culture broth of a human kidney cell line. *Journal of chromatography. A*, 1103(1), **(2006)**, 35–42.
- Kumar, A., Mishra, R., Reinwald, Y., & Bhat, S. Cryogels: Freezing unveiled by thawing. *Materials Today*, 13, **(2010)**, 42-44.
- Lagergren S., About the Theory of so Called Adsorption of Soluble Substances, *Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar*, 24, **(1898)**, 1-39.
- Lahcen, A.A., Arduini, F., Lista, F., & Amine A. Label-free electrochemical sensor based on spore-imprinted polymer for *Bacillus cereus* spore detection, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 276, **(2018)**, 114-120.
- Lalatsa, K., Schatzlein, A. G., & Uchegbu, I. F. Drug delivery across the blood-brain barrier. In M. Moo-Young, & Z. Cui (Eds.), *Comprehensive biotechnology. Medical biotechnology and healthcare*, Elsevier, 2nd ed., 5, **(2011)**, 657-668.
- Lan, H., Gan, N., Pan, D., Hu, F., Li, T., Long, N., & Qiao, L. An automated solid-phase microextraction method based on magnetic molecularly imprinted polymer as fiber coating for detection of trace estrogens in milk powder. *Journal of chromatography. A*, 1331, **(2014)**, 10–18.
- Langmuir, I., The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum, *Journal of American Chemical Society*, 40, **(1918)**, 1361-1403.
- Lee, Y.R., Tian, M., Kim, S., Ahn W. Adsorption isotherms of caffeine and theophylline on metal-organic frameworks, *Adsorption Science and Technology*, 32, **(2014)**, 725-735.
- Lee, H. Y., & Kim, B. S. Grafting of molecularly imprinted polymers on iniferter-modified carbon nanotube. *Biosensors & bioelectronics*, 25(3), **(2009)**, 587–591.

- Li, Y. T., Yang, Y. Y., Sun, Y. X., Cao, Y., Huang, Y. S., & Han, S. Electrochemical fabrication of reduced MoS₂-based portable molecular imprinting nanoprobe for selective SERS determination of theophylline. *Mikrochimica acta*, 187(4), **(2020)**, 203.
- Li, Y., Xu, W., Zhao, X., Huang, Y., Kang, J., Qi, Q., & Zhong, C. Electrochemical sensors based on molecularly imprinted polymers on Fe₃O₄/graphene modified by gold nanoparticles for highly selective and sensitive detection of trace ractopamine in water. *The Analyst*, 143(21), **(2018)**, 5094–5102.
- Ling, K., Jiang, H., Li, Y., Tao, X., Qiu, C., & Li, F. R. A self-assembling RNA aptamer-based graphene oxide sensor for the turn-on detection of theophylline in serum. *Biosensors & bioelectronics*, 86, **(2016)**, 8–13.
- Lopes, F., Pacheco, J.G., Rebelo, P., & Delerue-Matos, C. Molecularly imprinted electrochemical sensor prepared on a screen printed carbon electrode for naloxone detection. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 243, **(2017)**, 745–752.
- Lozinsky, V., & Plieva, F. Poly(vinyl alcohol) cryogels employed as matrices for cell immobilization. 3. Overview of recent research and developments. *Enzyme and Microbial Technology*, 23, **(1998)**, 227–242.
- Lozinsky, V. I., Damshkaln, L.G., Shaskol'skii, B. L., Babushkina, T. A., Kurochkin, I. N., & Kurochkin, I. I. Study of cryostructuring of polymer systems: 27. Physicochemical properties of poly (vinyl alcohol) cryogels and specific features of their macroporous morphology. *Colloid J*, vol. 69(6), **(2007)**, 747–764.
- Lozinsky, V.I., A Brief History of Polymeric Cryogels. In: *Polymeric Cryogels, Advances in Polymer Science*; Okay, O., Ed. Springer, Cham., **(2014)**, 263.
- Lozinsky, V.I., Polymeric cryogels as a new family of macroporous and supermacroporous materials for biotechnological purposes, *Russian Chemical Bulletin, International Edition*, 57, **(2008)**, 1015-1032.

- Lv, Y., Qu, Q., Li, C., & Zhu, T. Acrylamide-Modified 3-Aminopropyltriethoxysilanes Hybrid Monomer for Highly Selective Imprinting Recognition of Theophylline. *Journal of chromatographic science*, 58(1), **(2019)**, 75–82.
- Ma, X., Tu, X., Gao, F., Xie, Y., Huang, X., Fernandez, C., Qu, F., Liu, G., Lu, L., & Yu, Y. Hierarchical porous M Xene/amino carbon nanotubes-based molecular imprinting sensor for highly sensitive and selective sensing of fisetin, *Sensors & Actuators: B. Chemical*, 309, **(2020)**, 1278152.
- Mafu, L. D., Msagati, T. A., & Mamba, B. B. Ion-imprinted polymers for environmental monitoring of inorganic pollutants: synthesis, characterization, and applications. *Environmental science and pollution research international*, 20(2), **(2013)**, 790–802.
- Malode, S. J., Shetti, N. P., & Nandibewoor, S. T. Voltammetric behavior of theophylline and its determination at multi-wall carbon nanotube paste electrode. *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, 97, **(2012)**, 1–6.
- Martinez, Y. N., Piñuel, L., Castro, G. R., & Breccia, J. D. Polyvinyl alcohol-pectin cryogel films for controlled release of enrofloxacin. *Applied biochemistry and biotechnology*, 167(5), **(2012)**, 1421–1429.
- Masque, N., Marce, R. M., & Borrull, F. New polymeric and other types of sorbents for solid-phase extraction of polar organic micropollutants from environmental water. *Trends In Analytical Chemistry*, 17, **(1998)**, 384–394.
- Mayes, A.G., & Mosbach, K. Molecularly imprinted polymers: useful materials for analytical chemistry?, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 16(6), **(1997)**, 321-332.
- Meng, Q.B., Yang, G.-S., & Lee, Y.-S. Preparation of highly porous hypercrosslinked polystyrene adsorbents: Effects of hydrophilicity on the adsorption and microwave-assisted desorption behavior toward benzene. *Microporous and Mesoporous Materials*, 181, **(2013)**, 222-227.

- Meng, Z.-H., & Liu, Q. Determination of Degradation Products of Nerve Agents in Human Serum by Solid Phase Extraction Using Molecularly Imprinted Polymer. *Analytica Chimica Acta*, 435, **(2001)**, 121.
- Mirsky, V. M., & Yatsimirsky, A. *Artificial Receptors for Chemical Sensors*. Wiley-VCH, **(2010)**.
- Mitenko, P. A., & Ogilvie, R. I. Rational intravenous doses of theophylline. *The New England journal of medicine*, 289(12), **(1973)**, 600–603.
- Monteiro, J., Alves, M. G., Oliveira, P. F., & Silva, B. M. Pharmacological potential of methylxanthines: Retrospective analysis and future expectations. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59(16), **(2019)**, 2597–2625.
- Moreira, F. T., Kamel, A. H., Guerreiro, J. R., & Sales, M. G. Man-tailored biomimetic sensor of molecularly imprinted materials for the potentiometric measurement of oxytetracycline. *Biosensors & bioelectronics*, 26(2), **(2010)**, 566–574.
- Mosbach, K., & Ramström, O. The Emerging Technique of Molecular Imprinting and Its Future Impact on Biotechnology. *Nat Biotechnol* 14, **(1996)**, 163–170.
- Mohammed, A.H., Jubair, S.R., Study of copolymerization acrylamide with methyl methacrylate, *International Journal of Biology and Medicine* 2, **(2020)**, 1-9.
- Mullett, W. M., & Lai, E. P. Determination of theophylline in serum by molecularly imprinted solid-phase extraction with pulsed elution. *Analytical chemistry*, 70(17), **(1998)**, 3636–3641.
- Newcombe, G., Drikas, M., Adsorption of NOM activated carbon: electro-static and non-electrostatic effects, *Carbon*, 35, **(1997)**, 1239-1250.
- Nie, H., Zhang, G., Liu, M., Ding, X., Huang, Y., & Hu, S. Efficacy of theophylline plus salmeterol/fluticasone propionate combination therapy in patients with asthma. *Respiratory medicine*, 107(3), **(2013)**, 347–354.

- Norell, M.C., Andersson, H.S., Nicholls, I.A., Theophylline molecularly imprinted polymer dissociation kinetics: a novel sustained release drug dosage mechanism, *Journal of Molecular Recognition*, 11 **(1999)**, 98-102.
- Novena, L.M., Kumar, S., Athimoolam, S., Saminathan, K., & Sridhar, B. Single crystal, vibrational and computational studies of Theophylline (a bronchodilator drug) and its chloride salt. *Journal of Molecular Structure*, 1133, **(2017)**, 294-306.
- Nunes, C., Mahendrasingam, A., Suryanarayanan, R., investigation of the multi-step dehydration deaction of theophylline monohydrate using 2-dimensional powder X-ray diffractometry, *Pharmaceutical Research*, 23, **(2006)**, 2393-2404.
- O'Shannessy, D. J., Ekberg, B., & Mosbach, K. Molecular imprinting of amino acid derivatives at low temperature (0 degrees C) using photolytic homolysis of azobisnitriles. *Analytical biochemistry*, 177(1), **(1989)**, 144–149.
- Oral, E., & Peppas, N. A. Hydrophilic molecularly imprinted poly(hydroxyethyl-methacrylate) polymers. *Journal of biomedical materials research. Part A*, 78(1), **(2006)**, 205–210.
- Osman, B., Özer, E. T., Demirbel, E., Gücer, S. & Beşirli, N. Synthesis and characterization of L-tryptophan containing microbeads for removal of dimethyl phthalate from aqueous phase, *Separation and Purification Technology*, 109, **(2013)**, 40-47.
- Pagliariussi, R., S. Frietas, A.P. Luis and J.K. Bastos. A quantitative method for the analysis of xanthine alkaloids in Paullinia cupana (guarana) by capillary gas chromatography. *J. Sep. Sci.*, 25, **(2002)**, 371- 374.
- Park, K. S., Oh, S. S., Soh, H. T., & Park, H. G. Target-controlled formation of silver nanoclusters in abasic site-incorporated duplex DNA for label-free fluorescence detection of theophylline. *Nanoscale*, 6(17), **(2014)**, 9977–9982.
- Parmpi, P., & Kofinas, P. Biomimetic glucose recognition using molecularly imprinted polymer hydrogels. *Biomaterials*, 25(10), **(2004)**, 1969–1973.

- Pellá, M., Lima-Tenório, M. K., Tenório-Neto, E. T., Guilherme, M. R., Muniz, E. C., & Rubira, A. F. Chitosan-based hydrogels: From preparation to biomedical applications. *Carbohydrate polymers*, 196, **(2018)**, 233–245.
- Perçin, I., Yavuz, H., Aksöz, E., & Denizli, A. Mannose-specific lectin isolation from *Canavalia ensiformis* seeds by PHEMA-based cryogel. *Biotechnology progress*, 28(3), **(2012)**, 756–761.
- Petrenko, Y. A., Ivanov, R. V., Lozinsky, V. I., & Petrenko, A. Y. Comparison of the methods for seeding human bone marrow mesenchymal stem cells to macroporous alginate cryogel carriers. *Bulletin of experimental biology and medicine*, 150(4), **(2011)**, 543–546.
- Petrucci, R., Chiarotto, I., Mattiello, L., Passeri, D., Rossi, M., Zollo, G., & Feroci, A. M. Graphene Oxide: A Smart (Starting) Material for Natural Methylxanthines Adsorption and Detection. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(23), **(2019)**, 4247.
- Petrucci, R., Zollo, G., Curulli, A., & Marrosu, G. A new insight into the oxidative mechanism of caffeine and related methylxanthines in aprotic medium: May caffeine be really considered as an antioxidant?. *Biochimica et biophysica acta. General subjects*, 1862(8), **(2018)**, 1781–1789.
- Philip, M.C., Mathew, B., Design of EGDMA-Crosslinked theophylline imprinted polymer with high specificity and selectivity, *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, 45, **(2008)**, 335-343.
- Plieva, F. M., Savina, I. N., Deraz, S., Andersson, J., Galaev, I. Y., & Mattiasson, B. Characterization of supermacroporous monolithic polyacrylamide based matrices designed for chromatography of bioparticles. *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*, 807(1), **(2004)**, 129–137.
- Plieva, F. M., Karlsson, M., Aguilar, M. R., Gomez, D., Mikhalovsky, S., & Galaev', I. Y. Pore structure in supermacroporous polyacrylamide based cryogels. *Soft matter*, 1(4), **(2005)**, 303–309.

- Plieva, F. M., Galaev, I. Y., & Mattiasson, B. Macroporous gels prepared at subzero temperatures as novel materials for chromatography of particulate-containing fluids and cell culture applications. *Journal of separation science*, 30(11), **(2007)**, 1657–1671.
- Plieva, F. M., Galaev, I. Y., Noppe, W., & Mattiasson, B. Cryogel applications in microbiology. *Trends in microbiology*, 16(11), **(2008)**, 543–551.
- Rang, Y., Zeng, H., Nakajima, H., Kato, S., & Uchiyama, K. Quantitative on-line concentration for capillary electrophoresis with inkjet sample introduction technique. *Journal of separation science*, 38(15), **(2015)**, 2722–2728.
- Rao, T.P., Daniel, S., & Gladis, J.M. Tailored Materials for Preconcentration or Separation of Metals by Ion-imprinted Polymers for Solid-phase Extraction (IIP-SPE), *Trends in Analytical Chemistry*, 23, **(2004)**, 28-35.
- Reichelt, S., Becher, J., Weisser, J., Prager, A., Decker, U., Möller, S., Berg, A., & Schnabelrauch, M. Biocompatible polysaccharide-based cryogels. *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*, 35, **(2014)**, 164–170.
- Rokhade, A.P., Shelke, N., Patil, S., & Aminabhavi, T. Novel interpenetrating polymer network microspheres of chitosan and methylcellulose for controlled release of theophylline. *Carbohydrate Polymers*, 69, **(2007)**, 678-68.
- Rowe, D. J., Watson, I. D., Williams, J., & Berry, D. J. The clinical use and measurement of theophylline. *Annals of clinical biochemistry*, 25 (Pt 1), **(1988)**, 4–26.
- Sahiner, N., Demirci, S., Sahiner, M., Ashle, S., & Al-Lohedan, H. The use of superporous p(3-acrylamidopropyl) trimethyl ammonium chloride cryogels for removal of toxic arsenate anions. *Journal of environmental management*, 152, **(2015)**, 66–74.
- Sajini, T., Gigimol, M.G., & Mathew, B. A brief overview of molecularly imprinted polymers supported on titanium dioxide matrices. *Materials Today Chemistry*, 11, **(2019)**, 283-295.

- Santos, Cecilia I.A.V., Ramos, M. Luísa, Justino, Licínia L.G., Burrows, Hugh D., Valente, Artur J.M., Estes, Miguel A., Leaist, Derek G., & Ribeiro, Ana C.F. Effect of pH in the structure and mass transport by diffusion of theophylline. *Journal of Chemical Thermodynamics*, **(2017)**, 162-170.
- Savina, I. N., Galaev, I. Y., & Mattiasson, B. Ion-exchange macroporous hydrophilic gel monolith with grafted polymer brushes. *Journal of molecular recognition: JMR*, 19(4), **(2006)**, 313–321.
- Savina, I. N., English, C. J., Whitby, R. L., Zheng, Y., Leistner, A., Mikhalovsky, S. V., & Cundy, A. B. High efficiency removal of dissolved As (III) using iron nanoparticle-embedded macroporous polymer composites. *Journal of hazardous materials*, 192(3), **(2011)**, 1002–1008.
- Schreiber-Deturmeny, E., & Bruguerolle, B. Simultaneous high-performance liquid chromatographic determination of caffeine and theophylline for routine drug monitoring in human plasma. *Journal of chromatography. B, Biomedical applications*, 677(2), **(1996)**, 305–312.
- Schwarz, L. J., Danylec, B., Yang, Y., Harris, S. J., Boysen, R. I., & Hearn, M. T. Enrichment of (E)-resveratrol from peanut byproduct with molecularly imprinted polymers. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(8), **(2011)**, 3539–3543.
- Sellergren, B. Enantiomer Separation Using Tailor-Made Phases Prepared by Molecular imprinting. *Practical Approach Chiral Separation Liquid Chromatography*, **(1994)**, 69-93.
- Sellergren, B. Direct Drug Determination by Selective Sample Enrichment on an Imprinted Polymer. *Analytical Chemistry*, 66, **(1994)**, 1578-1582.
- Sergeev, G.B. and Batyuk, V. Reactions in Frozen Multicomponent Systems, *Russian Chemical Reviews*, 45 (5), **(1976)**, 391–408.
- Shyاملal, B. R. K., Mathur, M., Yadav, D. K., & Chaudhary, S. Microwave-assisted modified synthesis of C 8 -analogues of naturally occurring methylxanthines: Synthesis, biological evaluation and their practical applications. *Fitoterapia*, 143, **(2020)**, 104533.

- Sifton, D.J. (Ed.), Physicians Desk Reference (57th ed) Montvale: Thomson PDR, **(2003)**.
- Silva, M., Viveiros, R., Aguiar-Ricardo, A., Bonifácio, V., & Casimiro, T. Supercritical fluid technology as a new strategy for the development of semi-covalent molecularly imprinted materials. RSC Advances, 2, **(2012)**, 5075-5079.
- Singh, A., Prasad, R., & Gupta, N. Theophylline And Leukotriene Modifiers: Is There Any Compelling Role In COPD?. Indian J. Respir Care, 9, **(2020)**, 153-61.
- Singh, N. K., Dsouza, R. N., Grasselli, M., & Fernández-Lahore, M. High capacity cryogel-type adsorbents for protein purification. Journal of chromatography. A, 1355, **(2014)**, 143–148.
- Spivak D. A. Optimization, evaluation, and characterization of molecularly imprinted polymers. Advanced drug delivery reviews, 57(12), **(2005)**, 1779–1794.
- Sun, H., Qiao, F., Liu, G., Characteristic of theophylline imprinted monolithic column and its application for determination of xanthine derivatives caffeine and theophylline in green tea, Journal of Chromatography A, 1134, **(2006)**, 194-200.
- Susan, B. (Ed.). The Merck Index (12nd ed.) USA: Merck Research Laboratories, **(1996)**.
- Sweetman, S.C. (Ed.), Martindale the Complete Drug Reference (35th ed) London: Pharmaceutical Press, **(2007)**.
- Şener, G., Uzun, L., Say, R., & Denizli, A., Use of molecular imprinted nanoparticles as biorecognition element on surface plasmon resonance sensor. Sensors And Actuators B-Chemical, 160(1), **(2011)**, 791-799.
- Takeuchi, T., & Haginaka, J. Separation and sensing based on molecular recognition using molecularly imprinted polymers. Journal of chromatography. B, Biomedical sciences and applications, 728(1), **(1999)**, 1–20.

- Takeuchi, T., Mukawa, T., Matsui, J., Higashi, M., & Shimizu, K. D. Molecularly imprinted polymers with metalloporphyrin-based molecular recognition sites coassembled with methacrylic acid. *Analytical chemistry*, 73(16), **(2001)**, 3869–3874.
- Tamahkar, E., Bereli, N., Say, R., & Denizli, A. Molecularly imprinted supermacroporous cryogels for cytochrome c recognition. *Journal of separation science*, 34(23), **(2011)**, 3433–3440.
- Tamahkar, E., Bakhshpour, M., Andaç, M., & Denizli, A., Ion imprinted cryogels for selective removal of Ni(II) ions from aqueous solutions. *Separation and Purification Technology*, 179, **(2017)**, 36-44.
- Theodoridis, G., & Manesiotis, P. Selective solid-phase extraction sorbent for caffeine made by molecular imprinting. *Journal of chromatography. A*, 948(1-2), **(2002)**, 163–169.
- Tosun, İ., Ammonium removal from aqueous solutions by clinoptilolite: determination of isotherms and thermodynamic parameters and comparison of kinetics by the double exponential model and conventional kinetics, *International Journal of Environmental Research Public Health*, 9, **(2012)**, 970-984.
- Tunc, Y., Hasirci, N., Yesilada, A., & Ulubayram, K. Comonomer Effects on Binding Performances and Morphology of Acrylate-Based Imprinted Polymers. *Polymer*, 47(20), **(2006)**, 6931-6940.
- Türkoğlu, E. A., Yavuz, H., Uzun, L., Akgöl, S., & Denizli, A. The fabrication of nanosensor-based surface plasmon resonance for IgG detection. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 41(3), **(2013)**, 213–221.
- Ünlüer, Ö. B., Ersöz, A., Denizli, A., Demirel, R., & Say, R. Separation and purification of hyaluronic acid by embedded glucuronic acid imprinted polymers into cryogel. *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*, 934, **(2013)**, 46–52.

- Vargün, E., Sankir, M., Aran, B., Sankir, N.D., Usanmaz A., Synthesis and characterization of 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) and methyl methacrylate (MMA) Copolymer Used as Biomaterial, *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, 47, **(2010)**, 235-240.
- Vinodh, R., Jung, E.M., Ganesh, M., Peng, M.M., Abidov, A., Palanichamy, M., Cha, W.S., & Jang, H.T. Novel microporous hypercross-linked polymers as sorbent for volatile organic compounds and CO₂ adsorption. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 21, **(2015)**, 1231-1238.
- Vlatakis, G., Andersson, L. I., Müller, R., & Mosbach, K. Drug assay using antibody mimics made by molecular imprinting. *Nature*, 361(6413), **(1993)**, 645–647.
- Yapar, S., Özbudak V., Dias, A., Lopes, A., Effect of adsorbent concentration to the adsorption of phenol on hexadecyl trimethyl ammonium-bentonite, *Journal of Hazardous Materials*, B121, **(2005)**, 135-139.
- Yao, K.J., Yun, J.X., Shen, S.C., Wang, L.H., Chen, F., & Yu, X.M. Protein adsorption in supermacroporous cryogels with embedded nanoparticles. *Biochemical Engineering Journal*, 36(2), **(2007)**, 139–146.
- Ye, L., Weiss, R., & Mosbach, K. Synthesis and Characterization of Molecularly Imprinted Microspheres. *Macromolecules*, 33(22), **(2000)**, 8239-8245.
- Yeşilova, E., Osman, B., Kara, A., & Özer, E.T. Molecularly imprinted particle embedded composite cryogel for selective tetracycline adsorption, *Separation and Purification Technology*, 200, **(2018)**, 155-163.
- Yoshimi, Y., Ohdaira, R., Iiyama, C., & Sakai, K. Gate effect of thin layer of molecularly-imprinted poly(methacrylic acid-co-ethyleneglycol dimethacrylate). *Sensors and Actuators B: Chemical*, 73 (1), **(2001)**, 49-53.
- Yu, C., & Mosbach, K. Influence of mobile phase composition and cross-linking density on the enantiomeric recognition properties of molecularly imprinted polymers. *Journal of chromatography. A*, 888(1-2), **(2000)**, 63–72.

- Zacharis, C. K., Kika, F. S., Tzanavaras, P. D., & Fytianos, K. Development and validation of a rapid ultra high pressure liquid chromatographic method for the determination of methylxanthines in herbal infusions. *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*, 927, **(2013)**, 218–222.
- Zhan, X.-Y., Lu, D.-P., Lin, D.-Q., & Yao, S.-J. Preparation and characterization of supermacroporous polyacrylamide cryogel beads for biotechnological application. *J. Appl. Polym. Sci.*, 130, **(2013)**, 3082-3089.
- Zhao, Z., Teng, Y., Xu, G., Zhang, T. and Kan, X. Molecular Imprinted Polymer Based Thermo-Sensitive Electrochemical Sensor For Theophylline Recognition. *Analytical Letters*, 46, **(2013)**, 2180–2188.
- Zhao, W., Zhang, R., Xu, S., Cai, J., Zhu, X., Zhu, Y., Wei, W., Liu, X., & Luo, J. Molecularly imprinted polymeric nanoparticles decorated with Au NPs for highly sensitive and selective glucose detection. *Biosensors & bioelectronics*, 100, **(2018)**, 497–503.
- Zhang, M.C., Li, A.M., Zhou, Q., Shuang, C.D., Zhou, W.W., & Wang, M.Q. Effect of pore size distribution on tetracycline adsorption using magnetic hypercrosslinked resins. *Microporous and Mesoporous Materials*, 184, **(2014)**, 105-111.
- Zhang, Z., Li, H., Liao, H., Nie, L., & Yao, S. Influence of cross-linkers' amount on the performance of the piezoelectric sensor modified with molecularly imprinted polymers. *Sensors and Actuators B-chemical*, 105, **(2005)**, 176-182.
- Zhang, X., Li, A., Jiang Z., Zhang Q., Adsorption of dyes and phenol from water on resin adsorbents: Effect of adsorbate size and pore size distribution, *Journal of Hazardous Materials*, B137, **(2006)**, 1115-1122.
- Zhang, W., Li, J.-X., Tang, R.-C., & Zhai, A.-D. Hydrophilic and antibacterial surface functionalization of polyamide fabric by coating with polylysine biomolecule. *Progress in Organic Coatings*, 142, **(2020)**, 105571.

- Zhuang, X., Chen, D., Wang, S., Liu, H., & Chen, L. Manganese dioxide nanosheet-decorated ionic liquid-functionalized graphene for electrochemical theophylline biosensing. *Sensors and Actuators B-chemical*, 251, **(2017)**, 185-191.
- Zi, L.J., Li, J.J., Mao, Y.X., Yang, R., & Qu, L.B. High sensitive determination of theophylline based on gold nanoparticles/l-cysteine/Graphene/Nafion modified electrode. *Electrochimica Acta*, 78, **(2012)**, 434-439.
- Zulfika, H.B.Z.M., Baini, R., Zauzi, N.S.A., Effect of pH, dosage and concentration on the adsorption of congo red onto untreated and treated aluminium dross, *Materials Science and Engineering*, 205, **(2017)**, 12-26.
- Zwillich, C. W., Sutton, F. D., Neff, T. A., Cohn, W. M., Matthay, R. A., & Weinberger, M. M. Theophylline-induced seizures in adults. Correlation with serum concentrations. *Annals of internal medicine*, 82(6), **(1975)**, 784–787.
- Xiao, G., and Long, L. Efficient removal of aniline by a water-compatible microporous and mesoporous hyper-cross-linked resin and XAD-4 resin: A comparative study. *Applied Surface Science*, 258, **(2012)**, 6465-6471.
- Wang, D., Hong, S.P., & Row, K.H. Solid extraction of caffeine and theophylline from green tea by molecular imprinted polymers. *Korean J. Chem. Eng.*, 21(4), **(2004)**, 853–857.
- Wang, H. H., Chen, X. J., Li, W. T., Zhou, W. H., Guo, X. C., Kang, W. Y., Kou, D. X., Zhou, Z. J., Meng, Y. N., Tian, Q. W., & Wu, S. X. ZnO nanotubes supported molecularly imprinted polymers arrays as sensing materials for electrochemical detection of dopamine. *Talanta*, 176, **(2018)**, 573–581.
- Whitcombe, M., Rodriguez, M.E., Villar, P., & Vulfson, E. A new method for the introduction of recognition site functionality into polymers prepared by molecular imprinting: Synthesis and characterization of polymeric receptors for cholesterol. *Journal of the American Chemical Society*, 117, **(1995)**, 7105-7111.
- Whitcombe, M.J., & Vulfson, E.N. Imprinted Polymers. *Adv. Mater.*, 13, **(2001)**, 467-478.

- Wulff, G., & Sarhan, A. The Use of Polymers with Enzyme-Analogous Structures for the Resolution of Racemates. *Angewandte Chemie International Edition*, 11, **(1972)**, 341-344.
- Wulff, G., Sarhan, A., & Zabrocki, K. Enzyme-analogue built polymers and their use for the resolution of racemates. *Tetrahedron Letters*, 14, **(1973)**, 4329-4332.
- Wulff, G., Vesper, W., Grobe-Einsler, R., & Sarhan, A. Enzyme-analogue built polymers, 4. On the synthesis of polymers containing chiral cavities and their use for the resolution of racemates. *Makromol. Chem.*, 178, **(1977)**, 2799-2816.
- Wulff, G., & Akelah, A. Enzyme-analogue built polymers, 6. Synthesis of 5-vinylsalicylaldehyde and a simplified synthesis of some divinyl derivatives. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 179, **(1978)**, 2647-2651.
- Qi., P., Wang, J., Wang, L., Li, Y., Jin, J., Su, F., Tian, Y. & Chen, J. Molecularly imprinted polymers synthesized via semi-covalent imprinting with sacrificial spacer for imprinting phenols. *Polymer*, 51(23), **(2010)**, 5417-5423.
- Qing-Chun, C., and Wang, J. Simultaneous determination of artificial sweeteners, preservatives, caffeine, theobromine, and theophylline in food and pharmaceutical preparations by ion chromatography. *J. Chromatogr. A*, 937, **(2001)**, 57-64.

EKLER

EK 1 - Teofilin çözeltisi için kalibrasyon doğrusu

