



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Kafeik Asit için QCM Nanosensör Hazırlanması

Gamze KARANFİL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Temmuz-2013
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Gamze KARANFİL tarafından hazırlanan “Kafeik asit için QCM nanosensor hazırlanması” adlı tez çalışması 08/07/2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan

Yrd. Doç. Dr. Aytaç GÜLTEKİN

Danışman

Doç. Dr. Mahmut KUŞ

Üye

Yrd. Doç. Dr. Mustafa KARAMAN

Üye

Yrd. Doç. Dr. Aytaç GÜLTEKİN

İmza



Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Aşır GENÇ
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 13201004 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Gamze KARANFİL

Tarih: 08.07.2013

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KAFEİK ASİT İÇİN QCM NANOSENSÖR HAZIRLANMASI

Gamze KARANFİL

**Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı**

Danışman: Doç. Dr. Mahmut KUŞ

2013, 68 Sayfa

Jüri

**Doç. Dr. Mahmut KUŞ
Yrd. Doç. Dr. Mustafa KARAMAN
Yrd. Doç. Dr. Aytaç GÜLTEKİN**

Sunulan çalışmanın amacı, kafeik asit tayinine yönelik moleküler baskılanmış polimer (MIP) temelli kuvars kristal mikroterazi (QCM) nanosensör hazırlanmasıdır. QCM nanosensör, Metakrilamidoantipirin-Fe(III) [MAAP-Fe(III)]-Kafeik asit ön organize monomer sistemini kullanarak kafeik asidi tanıyan belleklerin QCM elektrot yüzeyinde oluşturulmasıyla hazırlanmıştır. Hazırlanan ön organize monomer sistemi Fourier Transform Infrared (FTIR) ile QCM nanosensörler Atomik Kuvvet Mikroskopuyla (AFM) karakterize edilmiştir. Karakterizasyon çalışmalarının ardından baskılanmış ve baskılanmamış sensörler QCM sistemine bağlanarak hedef moleküle bağlanma çalışmaları, seçicilik çalışmaları ve gerçek numunelerde hedef molekülün tayin çalışmaları yapılmıştır. Sonuçlar, baskılanmış QCM nanosensörün kafeik asit için yüksek seçiciliğe sahip olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Kafeik asit, Kuvars kristal mikroterazi, Moleküler baskılama, Nanosensör

ABSTRACT

MS THESIS

PREPARATION OF QCM NANOSENSOR FOR CAFFEIC ACID

Gamze KARANFİL

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
CHEMICAL ENGINEERING**

**Advisor: Assoc. Prof. Dr. Mahmut KUŞ
2013, 68 Pages**

**Jury
Assoc. Prof. Dr. Mahmut KUŞ
Asst. Prof. Dr. Mustafa KARAMAN
Asst. Prof. Dr. Aytaç GÜLTEKİN**

The aim of this study is the preparation of quartz crystal microbalance (QCM) nanosensor for the detection of amount of caffeic acid. QCM nanosensor was prepared by formation of caffeic acid memories on the gold surface of QCM electrode by using Methacrylamideantipyrine-Fe(III) [MAAP-Fe(III)]-Caffeic acid pre-organized monomer system. The designed pre-organized monomer system was characterized by Fourier Transform Infrared (FTIR) and QCM nanosensors was characterized by Atomic Force Microscope (AFM). After the characterization studies, imprinted and non-imprinted sensors was connected to QCM system for studies of connection of the target molecule, selectivity and the detection of amount of target molecule in real samples. The results showed that the imprinted QCM nanosensor has high selectivity for caffeic acid.

Keywords: Caffeic acid, Quartz crystal microbalance, Molecular imprinting, Nanosensor

ÖNSÖZ

Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır. Çalışmanın temelini, fenolik asitlerinden kafeik asit için QCM cihazında MIP temelli nanosensörler geliştirilmesi ve çeşitli bitki materyalleri içerisindeki kafeik asidin miktar tayini oluşturmaktadır.

Tez çalışmamı maddi yönden destekleyen Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca desteğini benden esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Mahmut KUŞ'a, çalışmalarım boyunca bana her türlü desteği sağlayan, çalışmamın her aşamasında yakın ilgisini esirgemeyen, bilgi ve önerileri ile beni her konuda yönlendiren hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Aytaç GÜLTEKİN'e, çalışmalarım esnasında ve tezin hazırlanması sürecinde yine katkılarını esirgemeyen hocam Sayın Doç. Dr. Savaş SÖNMEZOĞLU'na ve her zaman yanımda olan, desteklerini benden esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

Gamze KARANFİL
KONYA-2013

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Kafeik Asit	5
1.2. Sensörler	6
1.2.1. Gravimetrik sensörler	7
1.2.2. Piezoelektrik etki	7
1.3. Kuvars Kristal Mikroterazi (QCM)	8
1.4. Moleküler Baskılanmış Polimerler	11
1.4.1. Moleküler baskılama tekniği	12
1.4.2. Farklı MIP hazırlama yöntemlerinin avantajları ve dezavantajları	14
1.4.3. Moleküler baskılanmış polimer hazırlarken kullanılan malzemeler.....	15
1.4.3.1. Kalıp molekül	16
1.4.3.2. Fonksiyonel monomerler	16
1.4.3.3. Çapraz bağlayıcılar	16
1.4.3.4. Çözücüler	17
1.4.3.5. Başlatıcılar	18
1.5. Adsorpsiyon	18
1.5.1. Adsorpsiyonun oluşum mekanizması	18
1.5.2. Adsorpsiyon izotermi	19
1.5.2.1. Scatchard analizi	19
1.5.2.2. Langmuir analizi	20
1.6. Ekstraksiyon.....	21
1.7. Evaporasyon.....	22
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	23
2.1. Kafeik Asit Tayini ile İlgili Yapılmış Çalışmalar	23
2.2. Kuvars Kristal Mikroterazi Yüzeyinde Moleküler Baskılanmış Polimer Tekniğine Dayalı Çalışmalar	24
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	28
3.1. Materyal	28
3.1.1. Kullanılan kimyasal malzemeler	28
3.1.2. Kullanılan cihazlar	28
3.2. Yöntem.....	29
3.2.1. Metakrilamidoantipirin (MAAP) monomerinin sentezi	29

3.2.2. Metakrilamidoantipirin-Fe(III) [MAAP-Fe(III)] metal-selat monomeri sentezi	29
3.2.3. Metakrilamidoantipirin-Fe(III)-Kafeik asit [MAAP-Fe(III)]-Kafeik asit metal şelat monomerinin ön organizasyonu	29
3.2.4. Kafeik asit baskılanmış QCM elektrotun hazırlanması	30
3.2.5. Kafeik asit baskılanmış QCM elektrot ile sensör ölçümleri	32
3.2.6. Kafeik asit baskılanmış QCM elektrot ile seçicilik çalışmaları.....	32
3.2.7. Kafeik asit baskılanmış QCM elektrot ile gerçek numunelerde kafeik asit miktar tayini	33
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	34
4.1. MAAP, MAAP-Fe(III) monomerlerinin ve MAAP-Fe(III)-kafeik asit kompleksinin karakterizasyonu	34
4.2. Kafeik Asit Baskılı QCM elektrotun yüzey karakterizasyonu	37
4.3. Ligand Etkileşimi Aracılığıyla Kafeik Asit Baskılı QCM Nanosensörlerin Bağlama Etkileşimlerinin Ölçümü.....	40
4.4. Kafeik Asit Baskılanmış QCM Elektrotun Seçiciliği	43
4.5. Kafeik Asit Baskılanmış QCM Elektrot ile Gerçek Numunelerde Kafeik Asit Tayini	45
4.6. Kafeik Asit Baskılanmış QCM Elektrotun Analitik Performansı	45
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	47
5.1 Sonuçlar	47
5.2 Öneriler	49
KAYNAKLAR	50
EKLER	57
ÖZGEÇMİŞ	58

SİMGELER VE KISALTMALAR

SİMGELER

- A:** Kuvars kristal yüzey alanı
- b:** Langmuir sabiti
- C:** Serbest kafeik asit derişimi
- f_c :** Kuvars kristal ve yüzeyde oluşan film tabakası ile osilasyon frekansı
- f_0 :** Kuvars kristal rezonans frekansı
- Δf :** Frekans değişimi
- K_D :** Ligand-değişim temelli metal-şelat kopolimerinin ayırřma sabiti
- ΔM :** Eklenen kütle
- ρ_q :** 2.648 g/cm³ kuvars kristal yoğunluğu
- Q:** Polimere bağlanan kafeik asit miktarı
- Q_{max} :** Bağlanma bölgelerinin maksimum sayısı
- μ_q :** 2.947x10¹¹ g/cm.s² AT kesim kuvars kristal için shear modulus katsayısı

KISALTMALAR

- ADV N:** 2,2-azobis(2,4-dimetilvaleronitril)
- AFM:** Atomik kuvvet mikroskobu
- AIBN:** 2,2-azobis(izobütironitril)
- CE:** Kapiller elektroforez
- DVB:** Divinil benzen
- EDMA:** Etilen glikol dimetakrilat
- FTIR:** Fourier transform kızılötesi spektrometresi
- MAAP:** Metakrilamidoantipirin
- MIP:** Moleküler baskılanmış polimer
- QCM:** Kuvars kristal mikroterazi

1. GİRİŞ

Sağlık açısından, sentetik antioksidanların toksik ve kanserojen etkileri nedeniyle doğal antioksidan özellik gösteren fenolik bileşiklere olan ilgi her geçen gün artırmaktadır. Antioksidan olarak fenolik bileşikler kanser, kalp hastalıkları, katarakt, göz hastalıkları, yaşlılık hastalıkları vb. birçok hastalığı engelleyebildiği ifade edilmektedir. Bu nedenle fenolik madde içeriği yüksek olan meyve ve sebze tüketimi hastalıklara yakalanma riskini azaltmakta ve sağlık üzerine olumlu etkide bulunmaktadır. Fenolik bileşiklerin doğal antioksidan kaynağı olmaları ve dolayısı ile sağlık üzerine olumlu etkileri nedeniyle meyve ve sebze ürünlerine olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır (Nizamlioğlu, 2010). Bu nedenlerden dolayı, bitki, meyve ve sebzelerdeki fenolik bileşiklerin tayini önem taşımaktadır.

Bütüllenmiş hidroksi toluen (BHT) ve bütüllenmiş hidroksi anisol (BHA) gibi sentetik antioksidanların toksik ve kanserojen olabileceğini ortaya koyan çalışmalar sonucunda bazı ülkelerde kullanılmalarına ciddi sınırlamalar ve yasaklar getirilmiştir. Bu nedenle doğal antioksidan kaynağı olan meyve ve sebzeler, baharatlar ve bitkisel çaylara olan ilgi artmıştır. Serbest radikaller lipid, protein ve nükleik asitlere karşı oksidatif hasar yapmakta, hücre içindeki yapıları bozarak ve DNA yapısındaki biyokimyasal bileşiklerde bozulmalara yol açarak birçok farklı hastalığa yol açabileceği ifade edilmektedir. Serbest radikaller, kanser, kalp hastalıkları, akciğer hastalıkları, katarakt gibi pek çok hastalığa neden olmaktadır. Antioksidan maddeler, serbest radikallerin neden olduğu reaksiyonu durdurarak, oksijeni ve metalleri bağlayarak ve oksidasyonun teşvik etmiş olduğu zararlanmaları engeller. Bitkisel ürünlerin antioksidan etkileri özellikle flavonoidler başta olmak üzere sinamik asit türevleri, kumarinler gibi fenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır (Nizamlioğlu, 2010).

Fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Flavonoidler, bitkisel çayların, meyve ve sebzelerin doğal yapılarında bulunan polifenolik antioksidanlardır. Fenolik asitler son yıllarda özellikle kanser ve koroner kalp hastalıkları gibi ölümcül hastalıklara karşı koruyucu etkide bulunma potansiyelleri nedeniyle üzerinde oldukça yaygın çalışmalar yapılan bileşiklerdir (Mattila, 2002). Bununla birlikte anti-allerjik, antienflamatuvar (iltihap oluşumunu önleyici), antimikrobiyal, antioksidan, antitrombotik (kan pıhtılaşmasını engelleyici) ve vasodilatory (damar genişletici) olmak üzere pek çok etkisi olduğu kanıtlanmış ve bu

yararlı etkilerinin temel sebebinin antioksidan özellik göstermeleri olduğu rapor edilmiştir (Balasundram, 2006).

Fenolik asitler sinamik asitler (hidroksisinamik asitler) ve benzoik asitler (hidroksibenzoik asitler) olmak üzere iki gruptan oluşmaktadır. Fenolik asitler, genel olarak serbest halde bulunmamaktadır. Karboksil grupları karbonhidratlar, glikozitler, aminoasitler veya proteinlerle reaksiyona girebilmekte ve alkollerle fenol esterler, amino bileşikleri ile de amidleri oluşturmaktadırlar. Fenolik asitlerin, fenolik hidroksil grupları da çok aktif olup, sekerlerle bileşerek glikozitleri oluşturmaktadırlar (Maier, 1990 and Acar, 1998). Başlıca fenolik asitler Çizelge 1.1’de verilmiştir.

Meyve ve sebzelerde en yaygın bulunan hidroksisinamik asitler kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit ve sinapik asittir. (Maier, 1990; Acar, 1998; Rommel, 1993; Belitz, 1999 ve Cemeroglu, 2001). Birçok meyvede kafeik asit en baskın hidroksisinamik asittir ve erik, elma, kayısı, yaban mersini ve domateste bulunan toplam hidroksisinamik asidin %75’ini oluşturmaktadır (Macheix, 1990).

Çizelge 1.1. Gıdalarda bulunan başlıca fenolik asitler

Grup Adı	Fenolik Asitler
Hidroksisinamik (C ₆ -C ₃)	o-kumarik asit p-kumarik asit Kafeik asit Ferulik asit İzoferulik asit Sinapik asit
Hidroksibenzoik asitler (C ₆ -C ₁)	Salisilik asit m-hidroksibenzoik asit p-hidroksibenzoik asit o-protokatesuik asit Q-rezorsilik asit Gentisik asit Vanilik asit İzovanillik asit Sirinjik asit
Hidroksisinamik türevleri	Klorojenik asit Neoklorojenik asit Kritoklorojenik asit İzoklorojenik asit p-kumaroilquinik asit Kaftarik (kefeoiltartarik) asit Kutarik (p-kumaroiltartarik) asit

Fenolik asit profili belirlemek amacıyla; sıvı kromatografi-kütle spektrometresi (LC-MS) (Perez-Magarino,1999), gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) (Fiamegos, 2004), ince tabaka kromatografisi (TLC) (Schmidtlein ve Hermann, 1975) ve kapiller elektroforez (CE) (Cartoni, 1995) ve ters faz sıvı kromatografisi (RP-HPLC) gibi pek çok teknik uygulanmıştır (Robbins ve Bean, 2004, Tsao ve Deng, 2004, Escarpa ve Gonzalez, 2000). Bu çalışmalar, kafeik asit ve türevlerinin bitki materyalleri

ve birçok yararlı ürünlerdeki tespiti ve miktar tayinleri için analitik metot geliştirme yöntemlerini içermektedir. Fakat bu yöntemler pahalıdır ve ön hazırlık gerektirmektedir.

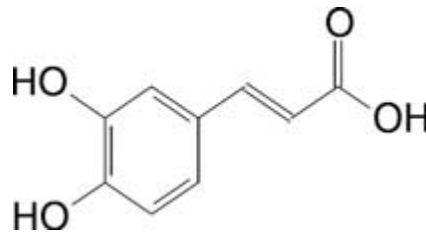
Kuvars kristal mikrotarazi (QCM), kütsel değişiklikleri, bir elektrik sinyaline çevirebilen cihazdır. Son yıllarda QCM bazlı piezoelektrik sensörler, kliniksel amaçlı olarak, patojen ve bakteri gibi çevresel kirlenmeleri izlemek ve biyomolekül etkileşiminin tespiti gibi alanlarda geniş uygulama alanı bulmuşlardır. QCM basit, ucuz, etkili, az yer kaplayan ve elektrot üzerine yüklenmiş nanogram seviyesindeki kütle değişikliklerine aşırı duyarlıdır. QCM, biyokimya, çevre, gıda ve klinik çalışmalar gibi birçok alanda uygulama bulmasına rağmen herhangi bir yapı için seçiciliğe sahip değildir. Bundan dolayı, QCM yüzeyinde herhangi bir moleküle dayalı seçicilik elde etmek için yüzeyi çeşitli kimyasallar ve biyo-malzemelerle modifiye edilir.

QCM elektrotunun yüzeyinde seçici bir polimer tabaka elde etmek için kullanılan en etkili yöntemlerden birisi moleküler baskılanmış polimerler (MIP) sentezlemektir. Moleküler baskılanmış polimerler (MIP), hazırlanması çok kolay kararlı, ucuz ve moleküler tanıma oldukça yeteneklidir. Bu teknikte seçici moleküler tanıma özelliklerine sahip olan oldukça kararlı sentetik polimerler hazırlanmaktadır. Hazırlanan bu polimer matrikslerindeki tanıma yerleri, analitin fonksiyonel gruplarının biçim ve konumlarını tamamlayıcı niteliktedir. Bu polimerlerin bazıları monoklonal antibadiler ve reseptörler gibi doğal tanıma sistemleriyle karşılaştırılabilir ölçüde yüksek seçicilik ve afiniteye sahiptirler, bu da onları analitik kimya için oldukça uygun bir kimyasal sensör üyesi yapmaktadır.

İnsan sağlığı üzerine de önemli etkileri bulunan fenolik maddelerin etki mekanizmalarının anlaşılması ve teknolojik olarak kullanılabilme yollarının araştırılmasının önemli olduğu görülmektedir. Bu doğrultuda, fenolik maddelerce zengin olan bitki, meyve ve sebze endüstrisi atıklarının da değerlendirilmesinde bu kaynakların içeriklerinin analiz edilmesini ve kullanılmasını sağlayabilecek yeni tekniklerin üzerinde çalışılması ve endüstriyel kullanım olanaklarının araştırılmasının önemli olduğu düşünülebilir. Bu bilgiler ve araştırmalar ışığında çalışmamızın temelini, fenolik asitlerinden kafeik asit için QCM cihazında MIP temelli nanosensörler geliştirilmesi ve çeşitli bitki materyalleri içerisindeki kafeik asidin miktar tayini oluşturmaktadır. Yöntemin ucuz, hızlı, az analiz prosedürü isteyen, fazla yer kaplamaması ve tekrar kullanılabilme özelliklerine sahip olması nedeniyle kullanım kolaylığı sağlaması mümkün olacaktır.

1.1. Kafeik Asit

Kafeik asit (3-(3,4-dihidroksifenil)-2-propenoik asit (Şekil 1.1), sebze, meyve, kahve ve çay gibi büyük ölçüde yayılmış bitki materyallerinde bulunan fenolik bileşiklerden bir tanesidir (Sondheimer, E.). Kafeik asit için özellikle kahvenin içinde bulunan bir fenolik bileşik olduğu düşünülmesine rağmen, kafein ile kimyasal olarak alakasızdır (Higdon and Frei, 2006; Omar et al., 2012). Kafeik asidin anti-enflamatuvar (iltihaplanmayı önleyici), antioksidan ve bağışıklık sistemini düzenleyici etkilerini içeren farmakolojik aktivitelerinin geniş spektrumuna sahip olduğu bilinmektedir (Challis and Bartlett, 1995; Chan and Ho, 1997; Gulcin, 2006). Farmakolojik çalışmalar, kafeik asidin beyinde (Pereira et al., 2006) ve beyin iskemisinde (Zhou et al., 2006) ki hidrojen peroksitle uyarılmış oksidatif zarara karşı koruyucu etki sergilediğini ve alüminyumun neden olduğu davranışsal ve biyokimyasal değişimler gibi beyin hasarlarını önlediğini ayrıca göstermiştir.



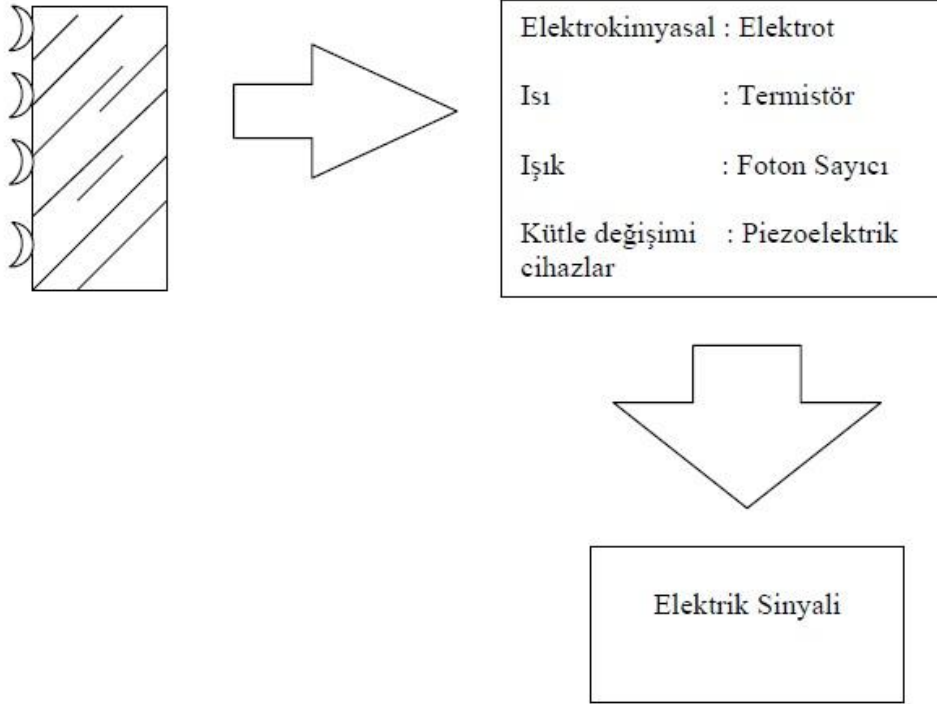
Şekil 1.1. Kafeik asidin kimyasal yapısı

Güçlü bir antioksidan olarak bilinen ve insan sağlığı üzerinde ki olumlu etkileri birçok çalışma ile gösterilmiş olan kafeik asidin doğa da çokça bulunan bitki, meyve ve sebzelerde ki varlığının tayini önem kazanmaktadır. Daha önceki yapılmış literatür çalışmalarında, kafeik asidin tayini için ekstraksiyon ve çeşitli kromatografik yöntemler gibi farklı metotlar (Onyeneho ve Hettiarachchy, 1993, Tuncel ve Yılmaz, 2010, Mangas ve ark., 1997; Lu ve Foo, 1997; De Sotillo ve ark., 1994; Madsen ve Betelsen, 1995; Chkikvishvili ve Gogiyo, 1995) kullanılmış olmasına rağmen, yapılan literatür incelemesinde kafeik asidin analizine dair QCM elektrotta moleküler baskılama temelli bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle yapılan bu çalışmada, kafeik asit için QCM elektrotta moleküler baskılama temelli nanosensör üretilecek ve bitki, meyve ve sebzelerde ki varlığının tayinine dair çalışmalar yapılacaktır.

1.2. Sensörler

Her geçen gün yeni ve yüksek hassasiyet gerektiren yöntemlere olan ihtiyaç artmaktadır. Bu yeni yöntemlerden birisi de yüksek seçiciliğe sahip sensörlerin kullanılmasıdır. Genel anlamda sensörler, fizik, kimya, biyoloji ve mühendislik gibi pek çok bilim alanının bilgi birikiminden yararlanıp moleküllerin veya sistemlerin seçicilik özellikleri ile modern elektronik tekniklerin birleştirilmesiyle geliştirilen analitik cihazlar olarak tanımlanabilir. Sensörler analiz edilen madde ile seçimli bir şekilde etkileşime giren aktif bir bileşenin, bu etkileşim sonucunda ortaya çıkan sinyali ileten bir iletici sistemle birleştirilmesi ve bunların bir ölçüm sistemiyle kombinasyonu ile oluşturulur (Wang, 1997). Bir sensörün genel gösterimi Şekil 1.2’de verilmiştir.

Sensörlerin doğası, girdi miktarına yanıt olarak gelen sinyalleri üretmektir. Çıkış sinyali genellikle elektrikseldir, dijital voltaj pulslarını veya girdi miktarının değerini frekansı halinde gösteren olası titreşen voltajı içerir. Belirli bir analiz için kullanılan sensörlerin uygunluğuna katkıda bulunan faktörler sıcaklık ve basınç gibi fiziksel parametreler ya da örnek matriksinden doğan kimyasal girişimler içerebilir. Sensörlerin hepsi idealden az ya da çok sapmaktadır. Ayrıca kabul edilebilir karakteristikler genellikle uygulama fonksiyonlarıdır. Bu nedenle, verilen matrikste bulunan belirli bir analiti saptamak için iyi bir performansa sahip sensör farklı koşullarda aynı analiti saptamak için uygun olmaz (Gültekin, 2009).

Aktif Yüzey**Transdüser**

Şekil 1.2. Sensörlerin genel gösterimi (Emir Diltemiz, 2006)

1.2.1. Gravimetrik sensörler

Gravimetrik sensörler, sensör yüzeyindeki nanogram seviyelerinde kütle değişimini ölçebilen son derece hassas yüzey sensörleridir. Kütle duyarlı bu sensörlerin çalışma prensibinin temeli asimetrik kristallerin sahip oldukları “piezoelektrik etki” özelliğine dayanmaktadır (Ralf ve ark., 2000).

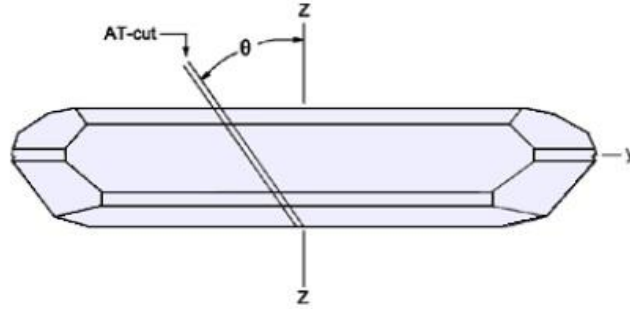
1.2.2. Piezoelektrik etki

Piezoelektrik etki, ilk kez 1880 yılında Paul Jaques Curie ve Pierre Curie tarafından gözlenmiştir. Latince’ de ‘bastırmak-press’ anlamına gelen ‘piezo’ ön ekinden türetilen ‘piezoelektrik’ kavramı, üzerine mekanik bir basınç uygulanan bazı kristal ve seramik malzemelerde bir elektriksel potansiyel oluşması olarak tanımlanabilir (Rodoplu, 2011). Bunun tersine kristalin yüzeyine potansiyel uygulandığı zaman kristal deforme olur. Bu özelliğe sahip bir kristal uygun bir elektrik devresine bağlanırsa kristalin kütlesine ve şekline bağlı olan sabit bir frekansta titreşim yapar (Yao, 1997). Piezoelektrik etki, bir elektrik potansiyelinin uygulanmasıyla asimetrik bir

kristalin deformasyonudur ve bu özellik oldukça duyarlı kütle sensörlerinin yapılmasında kullanılır.

Farklı türde kristaller piezoelektrik özellik gösterse de analitik uygulamalarda fiziksel, kimyasal ve elektriksel özellikleri sebebiyle kuvars kristaller tercih edilir. Kuvars çok ince kesilir ve iki yüzüne termal buharlaştırma yoluyla altın, gümüş, nikel, alüminyum, platin gibi metallerin kaplanmasıyla elektrotları hazırlanır. Yaygın olarak inert (aktif olmayan) olmaları nedeniyle altın elektrotlar tercih edilir. Kristalin çalışma frekans seviyesi, depozite edilen metal miktarıyla da ayarlanmaktadır. Piezoelektrik uygulamalarında kullanılan kristaller; 10-16 mm boyutlarında, yaklaşık 0.15 mm kalınlığında, disk, kare veya dikdörtgen şeklinde olmaktadır (Sözmen, 2008).

Kristalin doğal titreşim frekansı, kimyasal doğasına, şekline, kesimine, boyutuna ve kütlesine bağlı olarak değişmektedir (Heising, 1946). Yalnızca kalınlık makaslama modunda titreşen iki kesme tipinde kristal vardır. Bunlar; AT ve BT kesim kristaller olarak bilinmektedir. AT kesim kuvars tabaka z ekseninden $+35^{\circ}15'$ açıyla, BT kesim ise z ekseninden $-49^{\circ}00'$ açıyla kesilmiştir (O' Sullivan et al., 1999). AT kesme tipi kristallerde sıcaklık katsayısı, kesme şekline dolaylı 10- 50°C aralığında 1 ppm/°C civarında sifıra yakın olup kristalin geniş bir frekans aralığında rezonans frekansının kararlı kalmasını sağlamaktadır. AT kesim kuvars kristal düzlemi Şekil 1.3'te gösterilmiştir.



Şekil 1.3. AT kesim kuvars kristal (Kanazawa et al., 2009)

Piezoelektrik sensörlerin en önemli uygulaması ise “Kuvars Kristal Mikroterazi” (QCM) dir.

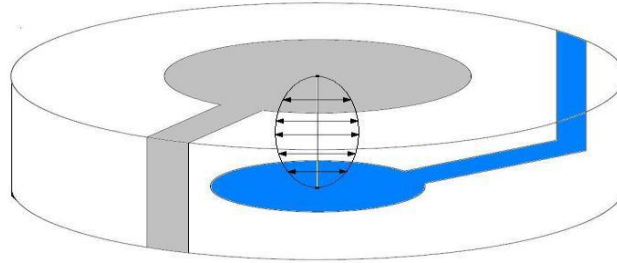
1.3. Kuvars Kristal Mikroterazi (QCM)

Kuvars kristal mikroterazi (QCM), kütleli değişiklikleri, bir elektrik sinyaline çevirebilen mükemmel bir yaklaşımdır. Çünkü oldukça hassastır ve frekansın çıkış

sinyaline dönüşümü kolaydır. QCM elektrokimyada çokça kullanılan piezoelektrik bir transdüserdir. İlk kullanımı 18. yüzyılın başlarına dayanır. Bu dönemlerde kalitatif tayinler için kullanılan QCM, Sauerbrey (1959) eşitliğinin oluşturulmasından sonra kantitatif tayinler için de kullanılmaya başlanmıştır. Bu cihazlar bir elektrokimyasal işlem sırasında meydana gelen kütle değişimlerini, kolayca ölçülebilen bir sinyal olan, rezonans frekansında sapmaya dönüştürürler. Cihazların en önemli özelliği çalışmalarda bir elektrokimyasal reaksiyon süresince yüksek kütle hassasiyeti göstermesidir.

QCM özel bir biçimde kesilmiş kuvars kristaller içerir. Bu kuvars kristal piezoelektrik etkiye sahiptir. QCM aparatları genellikle kuvars elektrot, osilatör ve PC yüzeyler arası frekans sayıcıdır. Alternatif, yüksek akımlı bir elektrik alan uygulanmasıyla, QCM mekanik rezonans modunda salınım yapar. Kütle hassasiyeti kristalin toplam kütlesi üzerindeki osilasyon frekansına bağlı olarak ortaya çıkar. Çözelti ile temas eden rezonatör (ki bu genellikle kuvars kristaldır) oldukça kararlı sinyal veren bir elektronik devreye bağlıdır. Rezonatör üzerindeki herhangi bir değişiklik osilasyon frekansında ani bir değişime neden olur.

Bir piezoelektrik kuvars kristal rezonatörü, kuvarsın tek kristalinden kesilmiş bir parçadır. Kristalin elektrotları arasına değişken potansiyel farkı uygulandığında PQC'de bir alternatif elektrik alanı oluşur. Uygulanan bu potansiyel farkı ile kristal örgüsünün fiziksel konumu bozulur. Bu durum kristal diskin içinde karakteristik titreşim frekansında kararlı dalga oluşmasına sebep olur (Şekil 1.4). Salınımın doğrultusu kristal örgünün elektrik alan içindeki düzenlenimine bağlıdır. Kalınlık kesme modundaki (thickness shear mode, TSM) salınım, kuvars alttaşın yüzeyine paralel bir yer değiştirme oluşturur. Bu salınım sadece elektrotlar arasındaki bölgede gerçekleşir dolayısıyla sadece elektrotlar arası bölge piezoelektriksel olarak aktiftir.



Şekil 1.4. Disk biçimindeki kuvars kristalin ve elektrotları arasında oluşan kararlı dalganın $n=1$ için gösterimi

Şekil 1.4'te elektrotlar arası bölgede oluşan kararlı dalga resmedilmiştir. Gri renkle gösterilen elektrot kristalin üst yüzeyinde, mavi renkle gösterilen elektrot ise kristalin alt yüzeyindedir. İki elektrot arasındaki hacimde parçacıklar $+x$ ile $-x$

doğrultusunda hareket ederken dalga hareketi +y ile -y doğrultusunda yani elektrot düzlemine dik doğrultudadır.

$$L = n \cdot (\lambda_n/2), (n=1,2,3,\dots,n) \quad (1.1)$$

$$\text{Eşitlik 2.1'den } \lambda_n \text{ çekilirse; } \lambda_n = 2L/n \quad (1.2)$$

$$f_n = V/\lambda_n = nV/2L \quad (1.3)$$

$n=1$ için temel frekans f_1 olduğuna göre, $n=n$ için rezonans frekansı $f_n = n \cdot f_1$ dir.

Her frekansta kararlı dalga oluşturmak mümkün değildir. Kararlı dalga oluşması için titreşim frekansı kaynağın frekansı ile aynı olmalıdır yani üretilen dalgalarla kaynak rezonans halinde olmalıdır. Titreşiciyi sadece temel frekansı ile değil tek (1,3,5,...) harmonikleriyle de uyarmak mümkündür.

Kristalde L yani kalınlık arttıkça frekans azalır. Daha hassas yani frekansı daha yüksek olan kuvars kristal üretmek için kristal daha ince kesilmelidir. Bu şekilde belirli fiziksel sınırlara kadar kristal kalınlığı düşürülebilir. Piyasada 5 MHz, 10 MHz ve 30 MHz' lik kuvars kristaller yaygın olarak kullanılmaktadır.

İlk kez Lord Rayleigh tarafından mekanik olarak rezonans halinde olan kristalin kütledeki değişimin kristalin rezonans frekansını değiştirdiği gösterilmiştir. Şekil 1.4'te gösterildiği gibi elektrotların arasındaki bölgenin dışında dalga hareketi olmayacağı için sadece elektrot yüzeyindeki kütle değişimleri kristalin titreşimini etkiler (Rodoplu, 2011).

Elektrot üzerindeki kütle birikiminin neden olduğu frekans değişimi Sauerbrey eşitliğinden elde edilir. Sauerbrey eşitliği 1959 yılında G. Sauerbrey tarafından piezoelektrik kristallerin üzerine bağlanan kütle değişimini osilasyon frekansı ile korele etmek amacıyla oluşturulmuştur (Srivastava, 2001).

Sauerbrey denklemi:

$$\Delta f = f_c - f_0 = \frac{2 f_0^2 \Delta M}{A (p_q \mu_q)^{1/2}} \quad (1.4)$$

f_c = Kuvars kristal ve yüzeyde oluşan film tabakası ile osilasyon frekansı

f_0 = Kuvars kristal rezonans frekansı

ΔM = Eklenen kütle

$p_q = 2.648 \text{ g/cm}^3$ kuvars kristal yoğunluğu

$\mu_q = 2.947 \times 10^{11} \text{ g/cm.s}^2$ AT kesim kuvars kristal için shear modulus katsayısı

$\Delta f = f_c - f_0 =$ Frekans değişimi

$A =$ Kuvars kristal yüzey alanı

Sauerbrey denklemi; K bir sabit sayı olacak şekilde yazılırsa,

$\Delta m = -K \cdot \Delta f$,

$\Delta f = f_c - f_0$, için

$\Delta m = K \times (f_0 - f_c)$ olacaktır,

Kütle artışı (Δm) durumunda, eşitliğin her iki tarafının bozulmaması için (f_0 , sabit), f_c frekans değerinin azalması gerekmektedir. Dolayısıyla kütle artışına göre frekansta azalma görülecektir.

Sauerbrey denkleminin kuvars kristal sensörlerde uygulanabilmesi için üç şartın sağlanması gerekmektedir.

- 1- Ölçümü yapılacak kütle katı olmalıdır,
- 2- Kuvars kristal yüzeyinde homojen olarak dağılmış olmalıdır,
- 3- Frekans değişimi, $\Delta f / f < 0.02$ olmalıdır.

1.4. Moleküler Baskılanmış Polimerler

Canlı organizmalardaki moleküler yapılar birbirleriyle etkileşip reaksiyona girerken yapısal ayırım yapma yeteneğine sahiptir. Bu yetenek “moleküler tanıma” olarak adlandırılmaktadır. Bilim insanları bunun altında yatan mekanizmayı anlamaya ve dolayısıyla antijen-antibadi, enzim-substrat, hormon-reseptör, DNA ve RNA arasındaki etkileşimleri ortaya koymaya çalışmaktadır. Protein ve nükleik asit yapıların ligand seçiciliği özellikleri yanında kararlılık problemleri, abiyotik çevrelerde kullanımlarını kısıtlamaktadır. Bu durum, doğal eşlenikleriyle aynı seçiciliğe ve etkinliğe sahip yapay tanıma sistemlerinin geliştirilmesini tetiklemiştir. Yapay moleküler tanıma için bir alternatif sağlamak amacıyla ortaya çıkan yeni bir teknoloji “Moleküler Baskılama” olarak adlandırılmıştır. Moleküler baskılama (bellekleme) yöntemi farklı matrikslerden iyonlar, organik moleküller ve biyomoleküllerin seçiciliği yüksek olarak ayrılması için akıllı polimer elde edilmesi ve bunun farklı uygulamalarda kullanılmasını yaygınlaştıran yeni bir malzeme geliştirme yöntemidir.

Moleküler baskılama tekniği, oldukça çapraz bağlı polimer matris içerisinde boşluklar oluşturulması temeline dayanmaktadır. Bu oyuklar kalıp molekülün boyut ve

şeklini tanıma özelliğine sahiptir. Kalıp molekülün herhangi bir desorpsiyon yöntemiyle uzaklaştırılması, sabit pozisyonlarda fonksiyonel monomer gruplarını açığa çıkarmakta ve kalıp molekülüne eşlenik bir yapı oluşmaktadır. Bu şekilde hazırlanan polimer, kalıp molekülün boyutunu, yapısını ve fizikokimyasal özelliklerini tanır ve herhangi bir ortamda bu kalıba karşı seçici ve etkin olarak davranarak kalıp molekülü bağlar.

Moleküler baskılanmış polimerler kalıp molekül için eşsiz bir seçiciliğe sahiptirler ve mekanik strese, ısıya, aside, baza, suya ve organik çözücülere karşı dirençlidirler (Wulff ve ark., 1997). Elde edilmeleri kolaydır, ucuzdurlar ve birkaç yıl boyunca performansında değişim olmaksızın saklanabilirler (Piletsky ve ark., 2001; Rao ve ark., 2004; Haupt ve Ye, 2004). Bu nitelikler moleküler baskılanmış polimerlerin yaşam, farmasötik ve çevre bilimleri gibi geniş bir alanda tanıma ve ayırma amaçlı kullanılmasına olanak sağlamaktadır (Yavuz ve ark., 2006; Spivak 2005; Ramstrom, Ye ve Mosbach, 1996; Anderson ve ark., 1990).

1.4.1. Moleküler baskılama tekniği

Moleküler baskılama yöntemi temel olarak üç basamaktan oluşmaktadır;

1. BASAMAK: Ön-kompleksleşme

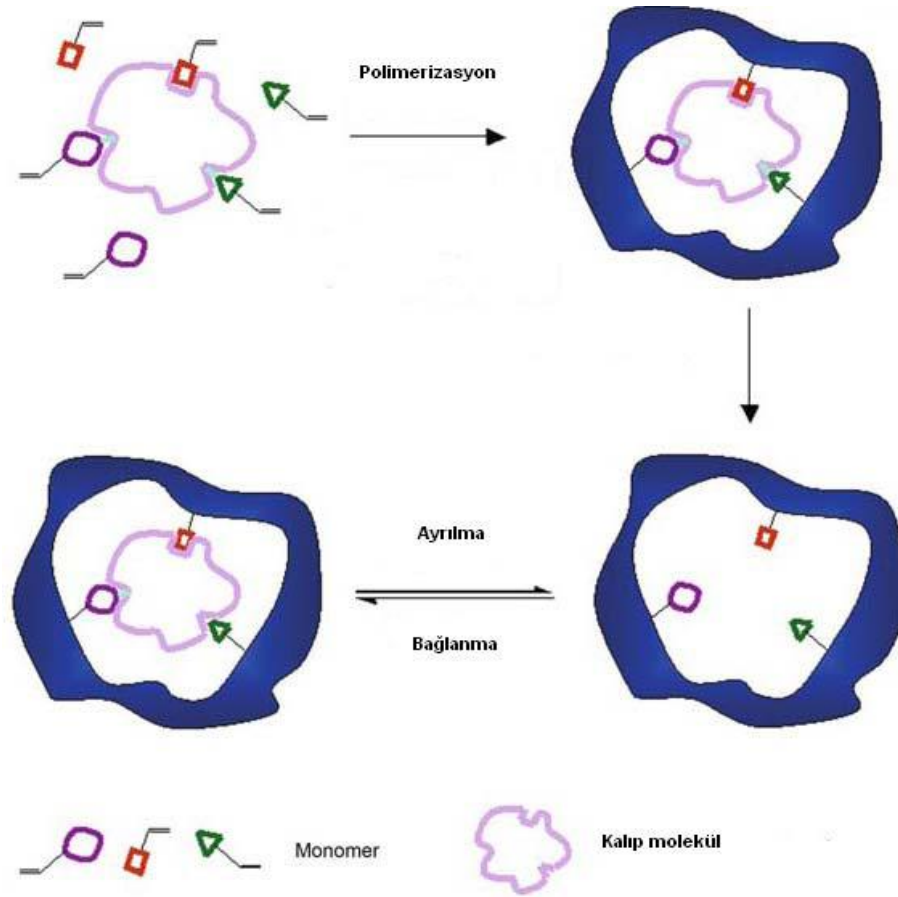
Fonksiyonel gruplar içeren polimerleşebilen uygun monomerler, kalıp ya da başka bir deyişle hedef moleküle kovalent veya kovalent olmayan etkileşimlerle bağlanarak kompleks oluşturur. Bu basamakta kalıp etrafında fonksiyonel monomerin bağlandığı bir yapı oluşumu söz konusudur. Bu etkileşimde hedef molekülün üç boyutlu yapısı ve kimyasal özellikleri önemli bir yer tutar.

2. BASAMAK: Polimerizasyon

Monomer-kalıp kompleksi, uygun bir çapraz bağlayıcının da kullanılmasıyla fonksiyonel monomer üzerinden polimerleştirilir.

3. BASAMAK: Kalıp (hedef) molekülün uzaklaştırılması

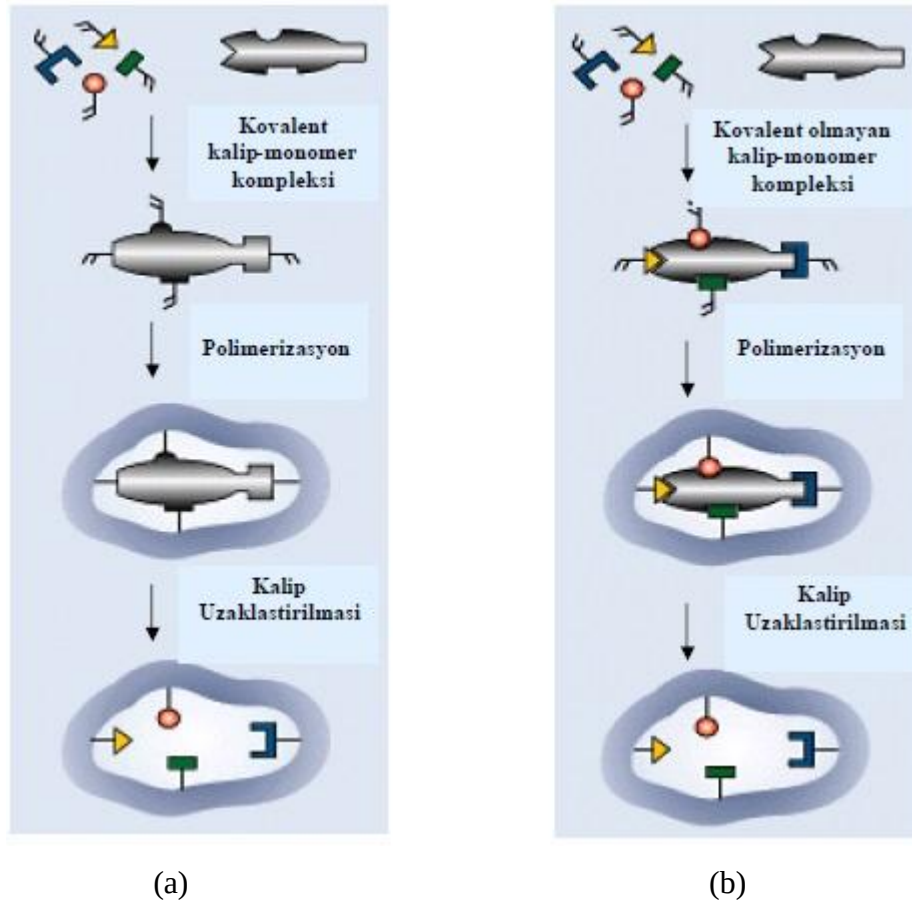
Yapıda hedef molekülün yerini alacak boşlukların oluşturulması amacıyla, kalıp molekül polimerden uzaklaştırılır. Uygun koşullar altında, bu boşluklar kalıp molekülün boyutunu, yapısını ve fizikokimyasal özelliklerini tanır, seçici ve etkin olarak kalıp molekülü bağlar (Komiya ve ark., 2003). Moleküler baskılanmış polimerlerin hazırlanma basamakları Şekil 1.5'te şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 1.5. Moleküler baskılanmış polimerin hazırlanma basamakları

Moleküler baskılı polimerleri hazırlamak için kalıp molekül ve fonksiyonel monomerler arasındaki etkileşime göre iki farklı yaklaşım kullanılır. Bunlardan biri Wulff ve ark. (1977) tarafından geliştirilen ön-organizasyon yöntemidir. Bu yöntemde kalıp molekül ve fonksiyonel monomerler birbirlerine kovalent bağlanma ile bağlanırlar ve polimerizasyon boyunca bu kompleks yapı kararlılığını korur (Şekil 1.6.a).

Diğer yaklaşım Mosbach ve ark. (1981) tarafından geliştirilmiş olan kovalent bağlanma yerine kalıp molekül ve fonksiyonel monomerler arasında hidrojen bağları, hidrofobik etkileşimler, van der Waals etkileşimleri ve iyonik gruplar arasında gerçekleşen Coulomb etkileşimleri gibi etkileşimleri içine alan kovalent olmayan yaklaşımdır (Vlatakis ve ark., 1993) (Şekil 1.6.b).



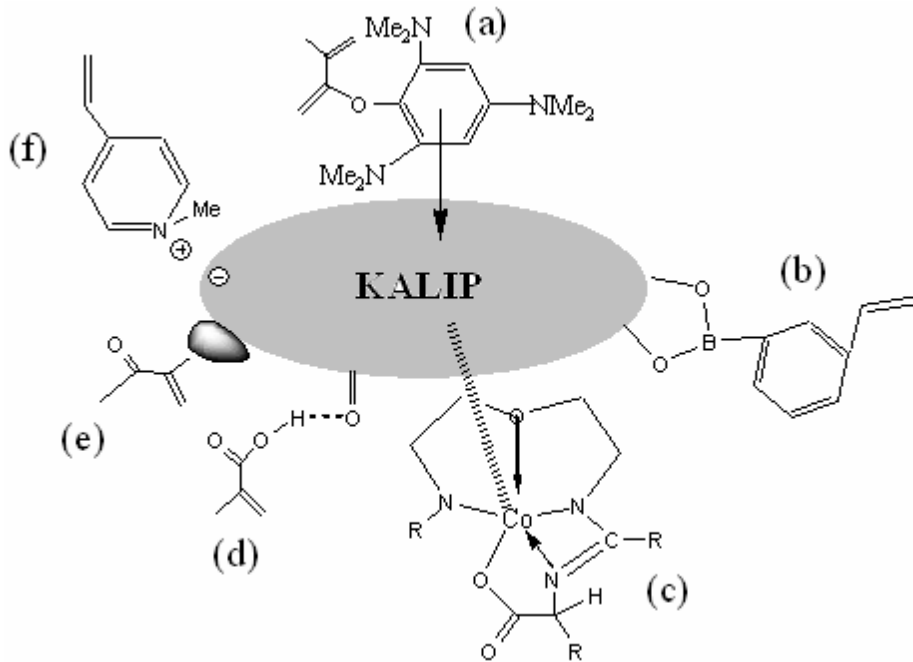
Sekil 1.6. (a) Kovalent ve (b) kovalent olmayan moleküler baskılama yönteminin şematik görünümü

1.4.2. Farklı MIP hazırlama yöntemlerinin avantajları ve dezavantajları

Kovalent ve kovalent olmayan baskılama yöntemlerinin her ikisinde avantaj ve dezavantajlara sahiptir (Haupt ve ark., 2002). Günümüzde pek çok araştırmacı baskılanmış polimer hazırlamak için kovalent olmayan yaklaşımı kullanmaktadır (Kriz ve ark., 1997; Zhong ve ark., 2001). Kovalent olmayan yaklaşım polimerizasyon öncesinde non-kovalent etkileşimlerle kalıp molekül etrafında fonksiyonel monomerlerin düzenlenmesine imkân tanıdığından basit ve sorunsuzdur. Kalıp molekülün kovalent modifikasyonuna gerek yoktur ve kalıp-monomer kompleksi oluşturmak için farklı bağlanma etkileşimleri kullanılabilir. Kovalent olmayan bağlanma kinetiği kovalent bağlanmayla kıyaslandığında enzim-substrat bağlanmalarına benzer (Sellergren, 1988). Baskılanmış polimerler, kalıp molekülün yapısı ve reaktivitesi hakkında spesifik bilgi gerektirmeksizin hazırlanabilir. Bununla birlikte kovalent olmayan baskılamada kalıp molekül ve fonksiyonel monomerler arasındaki etkileşimler spesifik değildir. Kovalent olmayan polimerlerde bağlanma bölgelerinin dağılımı heterojendir ve bu da non-spesifik bağlanmalara ve kalıp molekülün zayıf

moleküler tanınmasına neden olur (Katz ve Davis, 1999 ve Dong ve ark., 2002). Eğer hazırlanan polimer kromatografi çalışmalarında kullanılacaksa pik genişlemesi meydana gelebilir (Malik ve ark., 1994 ve Yoshizako ve ark., 1998).

Kovalent yaklaşımda baskılama işlemi öncesinde kararlı kalıp-monomer kompleksi oluşturulduğu için bağlanma bölgelerinin homojen dağılımı sağlanır (Ikegami ve ark., 2004). Bununla birlikte, dezavantajlarının çokluğu nedeniyle kovalent yaklaşımın kullanımı daha sınırlıdır. Kovalent yaklaşımda polimer ağ örgüsü içindeki monomer-kalıp molekül arasındaki kovalent bağları kırıp kalıbın polimerden uzaklaştırılması işlemi oldukça zordur (Kriz ve ark., 1997 ve Sellergren, 1988). Ayrıca polimeri kullanarak kalıp tanıma basamağında kalıp ile polimer arasında kovalent bağ oluşumu genellikle yavaş bir basamakta gerçekleştiği için ve kromatografik ayırmalarda polimer sabit fazı ve analit arasında hızlı bir etkileşim gerçekleştiğinden zayıf kromatografik sonuçlar elde edilir (Steinke ve ark., 1995 ve Caro ve ark., 2002). MIP hazırlama yönteminde kullanılan farklı kalıp-monomer etkileşimleri şekil 1.7'de görülmektedir.



Şekil 1.7. Moleküler baskılanmış polimerlerde kalıp-fonksiyonel monomer etkileşimleri: (a) p-p etkileşimi, (b) kovalent etkileşim, (c) metal-ligand etkileşimi, (d) hidrojen bağı ile etkileşim, (e) hidrofobik ya da van der Waals etkileşimi, (f) iyonik etkileşim

1.4.3. Moleküler baskılanmış polimer hazırlarken kullanılan malzemeler

Etkin bir moleküler baskılama için kalıp molekülün, fonksiyonel monomerin, çapraz bağlayıcının, polimerizasyon için çözücünün ve başlatıcının seçimi önemlidir.

1.4.3.1. Kalıp molekül

Baskılanan kalıp molekülün, fonksiyonel monomerle kompleks yapacak fonksiyonel grupları içermesi en önemli parametrelerden biridir. Kalıp molekülün hidrojen bağı ve elektrostatik etkileşim (karboksil, amino, hidroksil ve amid grupları) yapabilecek bölgeleri kompleks oluşumu için en çok tercih edilen bölgelerdir. Ayrıca kalıp molekül kimyasal reaksiyonun gerçekleştiği koşullar altında kararlı kalmalıdır. Örneğin ısı bir başlatıcı seçildiği takdirde kalıp molekülün (ve/veya ön-polimerizasyon kompleksin) yüksek sıcaklıklarda yapısında parçalanma olmaması ya da UV ile başlatılan polimerizasyon koşullarında oluşturulan ön organizasyonun kararlılığı göz önüne alınmalıdır. Kalıp molekülün konformasyonundaki ufak değişiklikler bile baskılama işleminin başarısını etkilemektedir (Davies ve ark., 2004). Baskılanacak molekül olarak ilaçlar, aminoasitler, karbonhidratlar, proteinler, nükleotid bazlar, hormonlar, pestisitler, koenzimler ve iyonlar kullanılabilir (Cormack ve Mosbach, 1999).

1.4.3.2. Fonksiyonel monomerler

Moleküler baskılı polimerlerde kalıp molekül ile fonksiyonel monomerler arasındaki geri-bağlanma basamağı çok önemli olduğu için fonksiyonel monomerlerin seçimi kritiktir. Fonksiyonel monomer için anahtar eleman, etkileşimin gerçekleşmesi için uygun bağlanma bölgelerinin sayısıdır. Kalıp molekül ve fonksiyonel monomer arasındaki sterik ve elektronik etki sayesinde kopolimerizasyon gerçekleşir. Asidik, bazik ve nötral özelliklere sahip yaygın olarak kullanılan bazı fonksiyonel monomerler vardır. Kovalent baskılamada, kalıp molekül vinil gruplarına kovalent olarak bağlanır. Akrilik asit türevleri ve esterleri veya metakrilik asit en sık kullanılan monomerlerdir. Kovalent olmayan baskılamada, uygun fonksiyonel gruplara bağlı vinil monomerleri kullanılır.

1.4.3.3. Çapraz bağlayıcılar

MIP hazırlarken bir diğer önemli nokta çapraz bağlayıcının seçimidir. Çapraz bağlayıcı, kalıbın polimerden uzaklaştırılmasından sonra kararlı ve analiti hafızasında tutan polimer ağ örgüsü oluşturmak için kullanılır (Idziak ve ark., 2001). Polimer matriksinin morfolojisinin kontrol edilmesini (jel tipi, makro gözenekli ya da mikro jel halinde olması), baskılanmış molekülün veya iyonun bağlanma bölgelerinin kararlı

olmasını, polimer matriksin mekanik kararlılığının yüksek olmasını sağlar. Yüksek oranda çapraz bağlama, polimer matriksin çözücüde çözünmesini önler ve kullanımı kolaylaştırır. Etkili bir baskılama için, çapraz bağlayıcının reaktifliği ile fonksiyonel monomerin reaktifliğinin uygunluğu, çapraz bağlayıcı ajanın fonksiyonel monomere olan mol oranı önemlidir. Aksi takdirde fonksiyonel monomerden veya çapraz bağlayıcıdan biri polimerizasyon sırasında baskın çıkabilir ve homojen kopolimerizasyon gerçekleşemez. Farklı çapraz bağlayıcı/fonksiyonel monomer derişim oranları moleküler baskılı polimerlerdeki farklı sayıda bağlanma bölgelerinin oluşumuna neden olur ve bu da seçiciliği etkiler (Dickert ve Hayden, 1999). Eğer mol oranları çok küçükse, kalıp moleküllerin bağlanma bölgeleri birbirlerine çok yaklaşır, hedef molekülün bağlanma bölgeleri komşu bölgeler tarafından kapatılır ve etkin bir sonuç elde edilemez. Çok büyük mol oranlarında da, çapraz bağlayıcılar fonksiyonel monomerlerle veya kalıp molekülle non-kovalent etkileşimler göstermesi sonucu baskılamanın etkinliği yine azalmaktadır (Cormack ve Elorza, 2004; Komiyama ve ark., 2003). Organik çözücülerde moleküler baskılama için etilen glikol dimetakrilat (EDMA) ve divinil benzen (DVB) en sık kullanılan çapraz bağlayıcılardır.

1.4.3.4. Çözücüler

Çözücüler, polimerizasyonda baskılanacak molekül, fonksiyonel monomer, çapraz bağlayıcı, başlatıcı gibi tüm bileşenlerin tek fazda bulunmasını ve polimerde gözeneklerin oluşmasını sağlar. Makrogözenekli polimerin hazırlanması aşamasında; çözücü, gözeneklerin yapısı ve seviyesi, morfolojisi ve toplam gözenek hacmini kontrol etmek için önemli bir unsurdur. Çözücünün, baskılanacak molekül ile fonksiyonel monomer arasındaki kompleks oluşumunu artırma gibi bir görevi de vardır. Gözeneklilik bağlanan hedef molekülün polimerden salınmasını kolaylaştırır. Çözücülerin bir diğer rolü de polimerizasyon sırasında reaksiyon ısını eşit olarak yaymaktır. Aksi takdirde, polimerizasyon sırasında reaksiyon sıcaklığı bölgesel olarak artar ve istenmeyen yan ürünlerin oluşumuna neden olur. Çözücü seçimi baskılamanın türüne bağlıdır. Kovalent baskılamada, tüm bileşenleri iyi çözebilecek birçok çözücü kullanılabilir. Kovalent olmayan baskılamada, etkileşimin oluşumunu ve baskılama etkisini arttırmak için çözücü seçimi daha önemlidir (Komiyama ve ark., 2003). Polimerizasyon çözücüsü, monomerlerle baskılanacak molekül arasındaki H-bağları ve elektrostatik etkileşimler gibi polar etkileşimlerin oluşmasını sağlamak için az polar ve

aprotik olmalıdır. Genellikle sentez için polar olmayan organik çözücülerin kullanıldığı MIP'ler polar organik çözücülerin kullanıldığı MIP'lerden daha iyi seçiciliğe sahiptir (Yu ve Mosbach, 1997). Hazırlanan polimerin analite seçiciliği için oluşan kavitenin analite tam uygun boyutta olması yani ne çok dar ne de çok gevşek olması çözücü seçimine bağlıdır (Sönmezler, 2011).

1.4.3.5. Başlatıcılar

Radikal polimerizasyon, radikal başlatıcıların ısı bozunmasıyla başlatılabilir. Monomer ile kalıp molekül arasındaki kovalent olmayan etkileşimlerin çok zayıf olduğu durumlarda çok yüksek sıcaklıklara çıkılamaz. Düşük sıcaklıklarda etkili olan fotokimyasal başlatıcılar tercih edilir. Genellikle 2,2'-azobis(izobütironitril) (AIBN) ve 2,2'-azobis(2,4-dimetilvaleronitril) (ADV N) kullanılır. Bu koşullarda, ısı bozunma yerine UV bozunma tercih edilmektedir.

1.5. Adsorpsiyon

Adsorpsiyon, bir yüzey veya arakesit üzerinde maddenin birikimi ve derişimin artmasıdır. Bu ara yüzey bir sıvı ile bir gaz, katı veya başka bir sıvı arasında olabilir. Başka bir deyişle atom, iyon ya da moleküllerin katı yüzeyinde tutunmasına *adsorpsiyon* denir. Bunun tersine, tutunan taneciklerin yüzeyden ayrılmasına *desorpsiyon* denir. Yüzeyi oluşturan katıya *adsorplayıcı* ve katı yüzeyinde tutunan maddeye ise *adsorplanan* adı verilir (Küçükosmanoğlu, 2006).

1.5.1. Adsorpsiyonun oluşum mekanizması

Adsorpsiyon, katı yüzeyi ile çözücünde çözünmüş gaz ya da çözünen maddenin teması ile gerçekleşmektedir. Katı yüzeyinde bulunan bir atom veya molekül dengelenmemiş kuvvetlerin etkisi altında bulunmaktadır. Molekülü içe çeken kuvvet dışa çeken kuvvetten daha büyük olmaktadır. Bu nedenle molekülü aşağı doğru çeken kuvvet yüzeyi küçültme eğilimi göstermektedir. Çözücünde çözünmüş veya gaz halindeki moleküller katı yüzeyindeki atomların doyurulmamış kuvvetleri tarafından katı yüzeyine doğru çekilmektedir ve böylece dengelenmemiş yüzey kuvvetleri gaz veya çözünmüş moleküller tarafından dengelenmektedir. Yani katı maddenin yüzey gerilimi gaz moleküllerinin adsorpsiyonu ile küçültülmüş olmaktadır. Bu olay, sistemin yüzey enerjisini azaltmaktadır. Yüzey enerjisini azaltma kendiliğinden gerçekleşen bir

olaydır. Adsorpsiyon olayı ile sistemin serbest enerjisinde bir azalma olmaktadır, dolayısıyla adsorpsiyon kendiliğinden olan bir olaydır (Özer, 2004).

1.5.2. Adsorpsiyon izotermi

Adsorpsiyonda adsorplanan madde miktarı, adsorbatın derişimine ve ortamın sıcaklığına bağlıdır. Genellikle sabit sıcaklıkta, adsorplanan madde miktarı, derişimin fonksiyonu olarak belirlenir. Denge durumunda sabit sıcaklıkta çözeltide adsorplanmadan kalan çözünenin derişimine karşı birim adsorban kütlesinde çözünenin adsorplanan miktarı grafiğe geçirilerek adsorpsiyon izotermi adı verilen sonuç fonksiyonu elde edilir (Lin ve Liu, 2000).

1.5.2.1. Scatchard analizi

Scatchard analizi adsorplanan maddenin karakteristik özelliklerinin ve çeşitli parametlerinin incelenmesi açısından belirgin sonuçlar verebilen bir metottur. Scatchard grafiğinde doğrusallıktan önemli derecede bir sapma gözlemlendiğinde, kimyasal adsorpsiyon yerine fiziksel adsorpsiyonun gerçekleştiği düşünülebilir.

Ligandların immobilize metal iyonuna bağlanması;



şeklindedir. Burada M metal iyonu, L ligand, m metal iyonunun koordinasyon sayısı, k_1 ileri ve k_2 de geriye doğru olan reaksiyonun hız sabitidir. Reaksiyon ileriye doğru 2. derece, geriye doğru 1. dereceden yürümektedir.

$$dq/dt = k_1 C (q_m - q) - k_2 q \quad (1.5)$$

Burada, C mobil fazdaki ligand konsantrasyonu, q matris üzerinde adsorbe olmuş ligand miktarı, q_m matrisin maksimum kapasitesini göstermektedir. Denge oluştuğunda ileriye veya geriye doğru olan reaksiyon hızları birbirine eşit hale geleceğinden $dq/dt = 0$ olur (zaman içinde q değişimi olmaz).

$$0 = k_1 C (q_m - q) - k_2 q$$

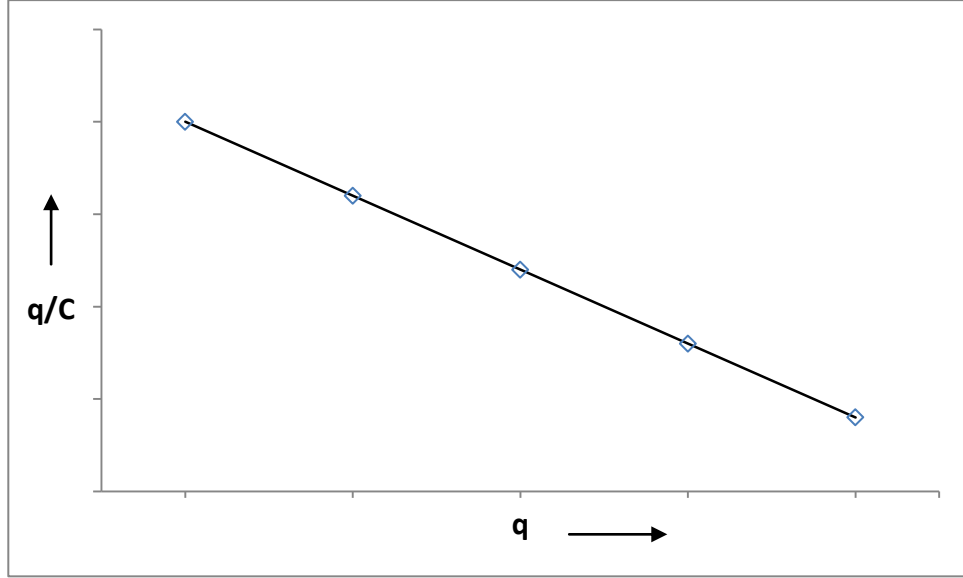
$$k_2 q/k_1 = k_1 C (q_m - q)/k_1$$

$$k_2 /k_1 = K_D$$

$$K_D q = C q_m - C q$$

$$q/C = (q_m/K_D) - q/K_D \quad (1.6)$$

Buradaki q_m maksimum kapasiteyi, K_D ayrışma sabitini, C de mobil fazdaki ligand konsantrasyonu verir. Bu denklemi kullanarak q/C 'nin q 'ya karşı grafiğinden hesaplanacak eğim $-1/K_D$ 'yi ve kayma değeri q_m/K_D 'yi verecektir (Uçan, 2002).



Şekil 1.8. Scatchard grafiği

1.5.2.2. Langmuir analizi

Yüzey kimyası alanında ki çalışmalarından dolayı 1932 yılında Nobel ödülü alan Amerikalı bilim adamı Irving Langmuir (1881-1957) tarafından 1916 yılında kimyasal adsorpsiyon için çok basit izoterm denklemi türetilmiştir. Tek tabakalı adsorpsiyon ve çözeltiden adsorpsiyon için de geçerli bu eşitliğe Langmuir denklemi denir. Adsorpsiyon ve desorpsiyon hızları birbirine eşitlenerek Langmuir denklemine kolaylıkla geçilebilmektedir.

Tek tabaka adsorpsiyon için en basit teorik model Langmuir modelidir ve aşağıdaki varsayımları içerir:

- Katı yüzeyindeki bütün noktalar aynı adsorpsiyon aktivitesi göstermektedir.
- Yüzey homojen enerjiye sahiptir.
- Adsorplanmış moleküller arasında karşılıklı etkileşim yoktur. Bu nedenle birim yüzeyde adsorplanmış madde miktarının adsorpsiyon hızına herhangi bir etkisi yoktur.

- Adsorpsiyon işlemi aynı mekanizmaya göre oluşur ve adsorplanmış kompleksler aynı yapıya sahiptir.
- Adsorpsiyon tek tabaka halinde oluşur ve maksimum adsorpsiyon, adsorplayıcı yüzeyine bağlanan moleküllerin doygun bir tabaka oluşturduğu andaki adsorpsiyondur.
- Desorpsiyon hızı sadece yüzeyde adsorplanmış madde miktarına bağlıdır. Bu kabullere dayanarak aşağıdaki bağıntı verilebilir.

$$\frac{1}{Q} = \left(\frac{1}{[Q_{max} \cdot b]} \times \frac{1}{C} \right) + \frac{1}{[Q_{max}]} \quad (1.7)$$

Burada b Langmuir sabitini, Q polimere bağlanan madde miktarını, C serbest madde derişimini, Qmax bağlanma bölgelerinin maksimum sayısını göstermektedir. 1/C'ye karşı 1/Q grafiğı çizildiğinde kesim noktası 1/ Qmax'ı ve doğrunun eğimi de 1/ Qmax*b'yi verecektir. Bu değerler kullanılarak Qmax ve Langmuir sabiti (b) hesaplanır.

1.6. Ekstraksiyon

Ekstraksiyon bir tepkime karışımından bir bileşiği ayırmada en çok kullanılan yöntem olup, kısaca bir karışımından bir bileşiği çözücü ile çekme işlemi olarak tanımlanabilir. Amaç, çözeltilerden, katı veya sıvı karışımlardan bir maddeyi ayırmak ve istenmeyen safsızlıklardan uzaklaştırmaktır.

Ekstraksiyon;

- Katı-Sıvı Ekstraksiyonu
- Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu

olmak üzere iki ana başlık altında toplanır.

Katı-sıvı ekstraksiyonu, çok bileşenli bir katıdan istenilen bileşenin bir çözücü ile çözülerek ayrılmasıdır. Sıvı-sıvı ekstraksiyonuna benzer bir işlem gibi gözükmesine rağmen katı-sıvı ekstraksiyonu daha zor bir süreçtir. Çünkü katı içinde difüzyon sıvı içindeki difüzyondan çok daha yavaştır ve bu yüzden dengeye ulaşması daha zordur (Gülbaran, 1981).

Katı-sıvı ekstraksiyonuna etki eden faktörler üç ana grupta toplanabilir.

Çözücü ile madde teması: Katının hazırlanması, kırma, öğütme, parçalara bölme veya yeniden şekillendirme olarak gerçekleştirilebilir. Çözünmesi istenen madde katı yüzeyinde ise, çözücü ile ekstrakte edilmesi kolaydır. Çözünmesi istenen madde katının

içinde ise, katının bir ön işleminden geçirilerek parçacık boyutunun küçültülmesi ile katı-çözücü temas yüzeyi arttırılarak ekstraksiyon verimi yükselir.

Kullanılan çözücünün seçimi: Ekstraksiyon işlemi için seçilen çözücü istenilen maddeyi çözebilen yapıda olmalıdır. Çözücüde çözünen maddenin doygunluk noktasına bağlı olarak çözücü kapasitesi belirlenir. Ancak çözücü kapasitesi ne olursa olsun, kullanılan çözücü miktarı inert katının miktarına göre seçilmelidir. Çözücü ekstrakte edilen katıdan ve ekstre çözücünden (çözünen+çözücü) kolayca ayrılabilme özelliğine sahip olmalıdır. Ekstraksiyonda düşük kaynama noktasına sahip çözücülerin kullanılması tercih edilir.

Sıcaklık: Ekstraksiyon işleminde yüksek sıcaklıklarda çalışmak çözünen maddenin çözücüye geçişini hızlandırır. Ekstre edilecek katının yapısına bağlı olarak sıcaklıkla ekstraksiyon verimi artmasına rağmen, yüksek sıcaklıkta bazı bileşenlerin yapısında bozunmalar oluşabilir ve arzu edilmeyen bileşikler de çözünebilir. (Mccabe, 2001; Seader, 1998; Treybal, 1980 ve Wingard, 1951).

Soxhlet Metodu bir katının sıcak çözücüm ile ekstraksiyonunda kullanılır. Ekstraksiyon boyunca balonda kaynayan çözücünden gelen buhar cam tüp içerisinde yükselmeye baslar. Yükselen buhar ekstraksiyon çemberine girer ve su ile soğutulmuş kondensatör tarafından yoğusturulur. Yoğusturulan çözücü ekstraksiyon çemberini doldurur ve çemberdeki kağıt ekstraksiyon yüksüğü içindeki elde edilmek istenen maddeyi çözer. Çemberin altına bağlı olan sifon tüp de çözücüyle dolar. Çözücü seviyesi çember içerisinde yükseldikçe, sifon otomatik olarak çözücüü ve ekstrakte edilmiş olan maddeyi aşağıda bulunan balona geri akıtmaya baslar. Bu ekstraksiyon döngüsü tüm madde ekstrakte edilene kadar 10-15 dakikada bir kendiliğinden tekrarlanır.

1.7. Evaporasyon

Evaporasyon (buharlaştırma) biri uçucu diğeri uçucu olmayan veya uçuculuğu çok düşük bileşenlerden oluşan çözeltiden, daha uçucu olan bileşenin buharlaştırılması ile çözeltiyi derişikleştirme işlemidir. Buharlaştırma işlemini kurutmadan ayıran fark; işlem sonunda ürünün katı değil daha çok derişik sıvı olmasıdır. Distilasyondan farkı; maddelerin uçuculukları arasında, ayırımı kolaylaştıracak ve buhar ayırımına gerek kalmayacak kadar fark olmasıdır. Kısacası buharlaştırmada ürün, çoğunlukla derişik çözeltidir. Buharlaştırma işlemi buharlaştırmacılar (evaporator) yapılır ve buharlaştırmacılar, ürün verimini arttıracak şekilde tasarlanmaktadır. Günümüzde laboratuarlarda döner buharlaştırmacı olarak bilinen özel cihazların kullanımı yaygındır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Kafeik Asit Tayini ile İlgili Yapılmış Çalışmalar

Bitki, meyve ve sebzelerde ki kafeik asit miktarının tayini ve kullanılan analiz metotlarının araştırılması için literatür taraması yapılmış ve kafeik asit içeriği bulunan çalışmaların sonucu şu şekilde verilmiştir.

Patates kabuğu ekstraktında bulunan fenolik asitler içinde prekatekuik, klorojenik ve kafeik asitin en güçlü antioksidanlar olduğu, esasen ekstraktın antioksidan etkisini önemli ölçüde bu asitlerin verdiği kaydedilmiştir. Bu ekstraktın yağlarda kullanılması durumunda oksidatif bozulmayı yavaşlatması yanında yağın doğal rengini etkilemediği ve tadını yumuşattığı bildirilmiştir. Ekstraksiyon ve saflaştırma yöntemleri geliştirilerek elde edilecek patates kabuğu ekstraktının doğal bir antioksidan olarak yapay olanlara alternatif olabileceği açıktır (Onyeneho ve Hettiarachchy, 1993).

Kekikteki fenolik bileşiklerin tayini için HPLC metodu kullanılmış ve yüksek oranda klorojenik asit bulunduğu saptanmıştır (Tuncel ve Yılmaz, 2010). Klorojenik asit bir kafeik ve kuinik asit esteridir. Kekik Güney Fransa'da depolanan tarım ürünlerini haşarattan korumak için kullanılmaktadır. Farmakolojik deneyler kekik suyunun uzun sürelerde asırı miktarda alınması durumunda bile hiç bir toksik etkisinin olmadığını ortaya koymuştur. Mide ve bağırsaklardaki ağrıları giderdiği, safra salgılanmasını arttırarak hazmı kolaylaştırdığı saptanmıştır (Baser, 2001). Kekik geleneksel olarak soğuk algınlığı, baş ağrısı ve midevi ağrılar için kullanılmaktadır. Kekik bileşenlerinin antibakteriyal, antipazmodik ve antiseptik etkileri olduğu bilimsel olarak saptanmıştır (Oflaz ve ark., 2002).

Kantaronda kafeik asit miktarı yüksek olduğu HPLC metodu ile tayin edilmiştir (Tuncel ve Yılmaz, 2010). Kantaron son yıllarda antidepresan etkilerinden dolayı popülarite kazanmıştır. Bu bitkiden hazırlanan yağlı maseratın yara iyileştirici etkisi çok uzun zamandır bilinmektedir. Haricen ve dahilen kullanılan bu kırmızı yağın yangıları önleyici ve iyileştirici etkisi vardır. Almanya'da sarı kantaron ruhsatlı ilaç ve tıbbi çay olarak piyasada bulunur. Muhtelif dozaj formlarında hafif depresyonun tedavisinde kullanılır. ABD'de tentür ve sulu ekstre halinde gıda bütünleyici olarak, yağlı maseratı haricen, kuru ekstresi ise kapsül ve tablet halinde kullanılmaktadır (Baser, 2002).

Bununla birlikte kantaron ekstraktlarında yoğun olarak bulunan hiperisinin anti tümör etki göstermektedir (Hısıl ve ark., 2005).

Çileğin yapay bir peroksi radikal model sisteminde güçlü bir antioksidan olan troloksa kıyasla 15 kat daha fazla antioksidan aktiviteye sahip olduğu bildirilmektedir (Wang et al., 1996). Çilekte antioksidan etkiyi sağlayan fenolik bileşiklerin arasında kafeik asidin olduğu bilinmektedir (Shahidi ve Nacz, 1995).

Kafeik asit ile ilgili literatür taramaları yapıldığında, kalıp molekül olarak kullanılan kafeik asidin kullanıldığı MIP temelli çalışmaların yapıldığı görülmüştür. Bu çalışmaları şu şekilde özetleyebiliriz.

Li ve arkadaşları (2005), kalıp olarak kafeik asidi kullanarak yerinde sentez yöntemiyle kromatografik kolonda MIP monolitik sabit faz hazırlamışlardır. E. *Ulmodies* yapraklarında aynı zamanda var olan klorojenik asit, kalıp ve safsızlık moleküllerinin MIP monolit üzerindeki tutulma davranışları çalışılmıştır. Kalıp olarak kafeik asidin kullanıldığı MIP monolitik sabit faz malzemesi, kafeik asidin benzer molekülü olan klorojenik asidin ekstrede aynı anda bulunan safsızlıklardan ayrılması ve saflaştırılması için başarıyla uygulanmıştır.

Michailof ve arkadaşları (2008) yaptıkları çalışmada kafeik asit ve p-hidroksibenzoik asidi kalıp molekül olarak kullanarak MIP sentezi yapmışlardır ve karakterizasyon için yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanmışlardır. Çalışma sonucunda, pH gerektiği gibi ayarlandığında iki polimerin de, yağ fabrikası atık suyu gibi çevresel kompleks örneklerden polifenol kısmının uzaklaştırılması ve geri kazanımı için kullanılabileceği düşünülmektedir.

Kafeik asidin kalıp olarak kullanıldığı kromatografik kolonda hazırlanan MIP monolitik malzemesi, *Salicornia herbacea* L. ekstresinden üç tane organik asidin ekstraksiyonuna başarılı bir biçimde uygulanmıştır. Katı faz ekstraksiyonuyla yapılan karakterizasyon sonuçları göstermiştir ki bu yöntem, gerekli kesinlik, doğruluk ve geri kazanımın yanı sıra yüksek özgünlük ve hassaslık da sergilemiştir (Zhu, 2011).

2.2. Kuvars Kristal Mikroterazi Yüzeyinde Moleküler Baskılanmış Polimer Tekniğine Dayalı Çalışmalar

Kuvars kristal mikroterazi (QCM) yüzeyinde moleküler baskılanmış polimer (MIP) tekniğine dayalı yapılmış çalışmalar ile ilgili literatür taraması yapılmış ve bazı çalışmaların sonuçları şu şekilde özetlenmiştir.

Lin ve arkadaşları (2004), yaptıkları çalışmada albumin protein karışımlarını analiz etmek için QCM tarafından mikrokütle tayini ile MIP'in seçici adsorpsiyonunu birleştirme girişiminde bulunmuşlardır. Çalışmanın sonucunda albumin, MIP-QCM altın elektrodu üzerine başarı bir biçimde yüklenmiştir. Klinik analizlerle karşılaştırıldığında MIP-QCM sonuçlarının iyi olduğu gözlenmiştir.

Piacham ve arkadaşları (2005) bu çalışmada yüzey başlatılmış radikal polimerizasyon kullanarak ultra-ince MIP filmler hazırlamak için mümkün bir yol geliştirmişlerdir. Polimer filmler direk olarak, polimer büyümesinin kolaylıkla izlenmesine olanak sağlayan altın kaplı kuvars kristal rezonatörlerinin üzerinde oluşturulmuştur. Bu çalışmada kanıtlandığı gibi, farklı miktarlardaki MIP yüklü sensörler iyi yeniden üretilebilirlik ve uzun dönem kararlılığa sahiptirler.

Reimhult ve arkadaşları (2008), yaptıkları çalışmada iki ana amaca sahiptirler. Bunlardan birincisi destekleyici polimer film içerisine MIP nanopartiküllerinin yüklenmesinin biyobenzetim sensörlerini birleştirmek için kapsamlı yaklaşım olarak kullanabilmek ve diğeri de ileride ki gravimetri uygulaması için bu filmlerin alma ve geri bırakma kinetiklerinin karakterizasyonunda QCM-D tekniğini kullanmaktır. Bu çalışma, MIP nanopartiküllerinin daha kompleks yapılar ve aygıtlar hazırlamak için yapıtaş olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Diltemiz ve arkadaşları (2009), bu çalışmada DNA/RNA algılaması için hızlı metotlar sağlayan nükleobazların algılaması için yeni yüzey baskılama metodu geliştirmişlerdir. Sonuç olarak, timin baskılanmış sensörler, timin için sensör olarak geniş tanınırlılık kazanmıştır, çünkü baskılama metotları, tanımlanmış baskılanmış molekülün fonksiyonel gruplarının pozisyonları, boyutu ve çukur belleklerinin şekline dayalı biyosensör oluşturmuştur.

Say ve arkadaşları (2009), yapılan çalışmada önceden düzenlenmiş iki farklı monomere dayalı yeni metal şelat etkileşimi kullanarak QCM elektrodu yüzeyinde 8-OHdG seçici bellek oluşturmuş ve bu moleküler belleklerin 8-OHdG teşhis etkinliğini araştırmıştır. Kan serumundaki 8-OHdG seviyesini hazırlanan QCM sensörü ile belirlemiştir. Bu çalışma da 8-OHdG için daha seçici ve kolay bir yöntem geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, 8-OHdG baskılanmış film MAH-Pt (II) ve MAH-Fe(III) metal-şelat monomerleri kullanarak QCM altın elektrodu yüzeyine sentezlenmiştir. Yüzeye oluşturulan bu film hazırlanan sensörün analitik performansını arttırmış ve katı faz ekstraksiyonunun kullanımını önlemiştir. Ayrıca hazırlanan çip, yaklaşık 20 defa

tekrar kullanım için oluşturulabilen algılama ünitesi ve iyi bir depolama kararlılığına sahiptir.

Yang ve Zhang (2009), bu çalışmada Cu (II) iyonlarının tayini için kuvars kristal üzerine Cu (II)-IPP modifikasyonuna dayalı MIP-QCM sensör geliştirmişlerdir. Çalışmada sonuç olarak, Cu (II) iyonlarının tayini için, antibadi-mimik tanıma malzemesi olarak Cu (II)-IPP filmini kullanarak iyi tekrar üretilebilirlik, kısa tepki süresi, geniş lineer aralık, düşük algılama limiti ve yüksek seçiciliği ile yeni QCM sensör geliştirilmiştir.

Apodaca ve arkadaşları (2010), bu çalışmada folik asit QCM sensörü üretmek için politerttiyofene dayalı elektro-polimerleştirilmiş moleküler baskılanmış polimer (E-MIP) kullanmışlardır. Yapılan çalışma sonucunda, E-QCM aracılığıyla izlenen folik asidin algılanması için bis-terttiyofer dendron-temelli E-MIP sensör filmlerinin başarıyla hazırlandığı gözlenmiştir. Folik asit için, 0 ile 100 μM arasındaki konsantrasyon aralığı içerisinde E-MIP/QCM film sensörüyle oldukça iyi bir lineerlik ($R^2=0.985$) gerçekleştirilmiştir.

Zhou ve arkadaşları (2010), yaptıkları çalışmada QCM kristali üzerinde MIP üretimi için, kalıp molekül varlığında dopaminin polimerizasyonuna dayalı, QCM kristaline yüklenmiş bağlı moleküler baskılanmış polidopamin üretebilecek basit, ucuz ve hızlı bir metot tanımlamışlardır. Elde edilen m-MIP filmi domoik asit için iyi bir seçicilik ve afinite göstermiştir. Bu çalışmada ayrıca m-MIP-QCM sensörün gerçek örneklerde domoik asidin algılanması için kullanılabileceği gösterilmiştir. Önerilen metodun miktar tayin limiti 0.005 mg/L (5 ppb) olarak bulunmuştur ki bu değer Avrupa Birliği ve Amerika'nın yanı sıra Kanada yazarları tarafından belirlenmiş maksimum artık limitinin altındadır.

Hussain ve arkadaşları (2013), bazik ve asidik olan iki farklı polimere dayalı folik asit MIP-ince filmleri ve MIP-nanopartikülleri üzerinde çalışma yapmışlar ve sensör ölçümleri için QCM kullanmışlardır. Yapılan çalışma sonucunda, QCM sensör sisteminin düşük ppm aralığında ki algılama limiti ile sulu sistemlerde folik asidi algılamak için kullanılabileceği gözlenmiştir.

Yukarıdaki çalışmalar incelendiğinde kafeik asidin tayini için farklı metotlar kullanıldığı, kafeik asit ve bir çok farklı molekül için moleküler baskılanmış polimer temelli çalışmaların yapıldığı ve yine bir çok molekül tayini için kuvars kristal mikroterazi üzerinde moleküler baskılanmış polimer temelli çalışmalar yapıldığı görülmektedir. Ancak yapılan literatür incelemesinde kafeik asitin analizine dair QCM

elektrotta moleküler baskılama temelli bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle yapılan bu çalışmada, kafeik asit için QCM elektrotta moleküler baskılama temelli nanosensör sentezlenmiş ve çeşitli bitki, meyve ve sebzelerdeki miktar tayinine dair çalışmalar yapılmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Sunulan çalışma kapsamında yapılan deneysel çalışmaları şu başlıklar altında toplamak mümkündür:

1. Metakrilamidoantipirin (MAAP) ve metakrilamidoantipirin-Fe(III) [MAAP-Fe(III)] monomerlerinin sentezi ve karakterizasyonu
2. Metakrilamidoantipirin-Fe(III) [MAAP-Fe(III)]-Kafeik asit ön organize monomer sistemini kullanarak QCM sensörünün hazırlanması ile kafeik asidi tanıyan belleklerin QCM elektrot yüzeyinde oluşturulması
3. QCM nanosensörlerinin kafeik asit tayininde kullanılması, seçicilik çalışmaları ve gerçek numunelerdeki miktar tayini

3.1.1. Kullanılan kimyasal malzemeler

Kafeik asit, Azobisisobutironitril (AIBN), etilenglikoldimetakrilat (EDMA) Fluka AG (Buchs, Switzerland) firmasından alınmış ve etilenglikoldimetakrilat hidrokinonin inhibitörü ile vakum altında distile edilerek kullanılmadan önce 4°C’da saklanmıştır. Etanol, kafeik ve klorojenik asit Aldrich (Milwaukee, WI, USA) firmasından alınmıştır.

3.1.2. Kullanılan cihazlar

Bu çalışmada mikrogravimetrik ölçümler için 5 MHz, teflon tutturucuda AT-cut kuartz kristaller ve kuvars kristal analizör (SRS Stanford Research Systems, Model QCM200 Quartz Crystal Microbalance Digital Controller) kullanılmıştır. AFM görüntüleri (hpAFM, Nanomagnetics Instruments, Oxford, UK) ile alınmıştır. Fourier Transform Infrared (FTIR) spektrumları FTIR (Spectrum 100, Perkin Elmer, USA) ile ve ^1H ve ^{13}C NMR spektrumları DMSO- d_6 ’li TMS de Bruker 500 MHz NMR cihazı ile elde edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Metakrilamidoantipirin (MAAP) monomerinin sentezi

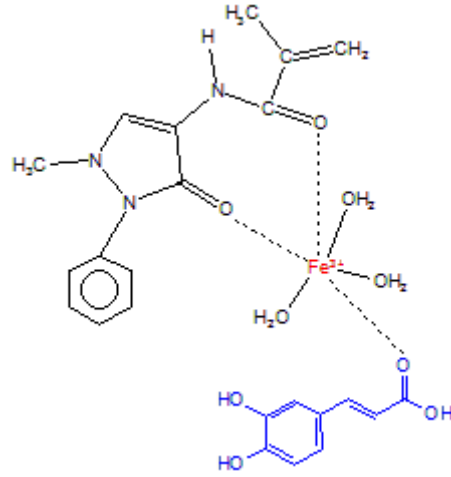
MAAP monomerinin sentezi için uygulanan yöntemde; 0.5 g (2.463 mmol) antipirin ve 0.2 mL (2.46 mmol) piridin, kuru kloroform (100 mL) çözücüsü içerisinde çözülmüştür. Çözelti 0 °C'a soğutulmuş ve 0.26 mL (2.46 mmol) metakrilklorür yavaşça çözeltiye ilave edilmiştir. Bu çözelti azot atmosferi altında manyetik karıştırıcı ile oda sıcaklığında 2 saat karıştırılmıştır. Kimyasal reaksiyon sonunda, çözelti 50 mL seyreltik HCl ve sonra 50 mL seyreltik NaOH ile yıkanmıştır. Daha sonra organik faz döner buharlaştırıcı kullanılarak uzaklaştırılmış ve kalan kısım (MAAP), petrol benzini ve etil asetat ile kristallendirilerek saflastırılmıştır (Ersöz ve ark., 2004).

3.2.2. Metakrilamidoantipirin-Fe(III) [MAAP-Fe(III)] metal-selat monomeri sentezi

MAAP-Fe(III) kompleksini sentezlemek için uygulanan yöntemde; 0.271 g (1.0 mmol MAAP) 20 mL etil alkolde çözülmüştür. Bu çözeltiye oda sıcaklığında 0,270 g ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) (1 mmol) ilave edilmiştir. Çözelti koyu kırmızıya dönünceye kadar oda sıcaklığında 12 saat süre ile reaksiyona devam edilmiştir. Daha sonra oluşan MAAP-Fe(III) monomer kompleksi çökertilip, süzölmüş % 99'luk etanol (300 mL) çözeltisi ile yıkanmış ve vakum etüvünde 60 °C'de 48 saat kurutulmuştur.

3.2.3. Metakrilamidoantipirin-Fe(III)-Kafeik asit [MAAP-Fe(III)]-Kafeik asit metal şelat monomerinin ön organizasyonu

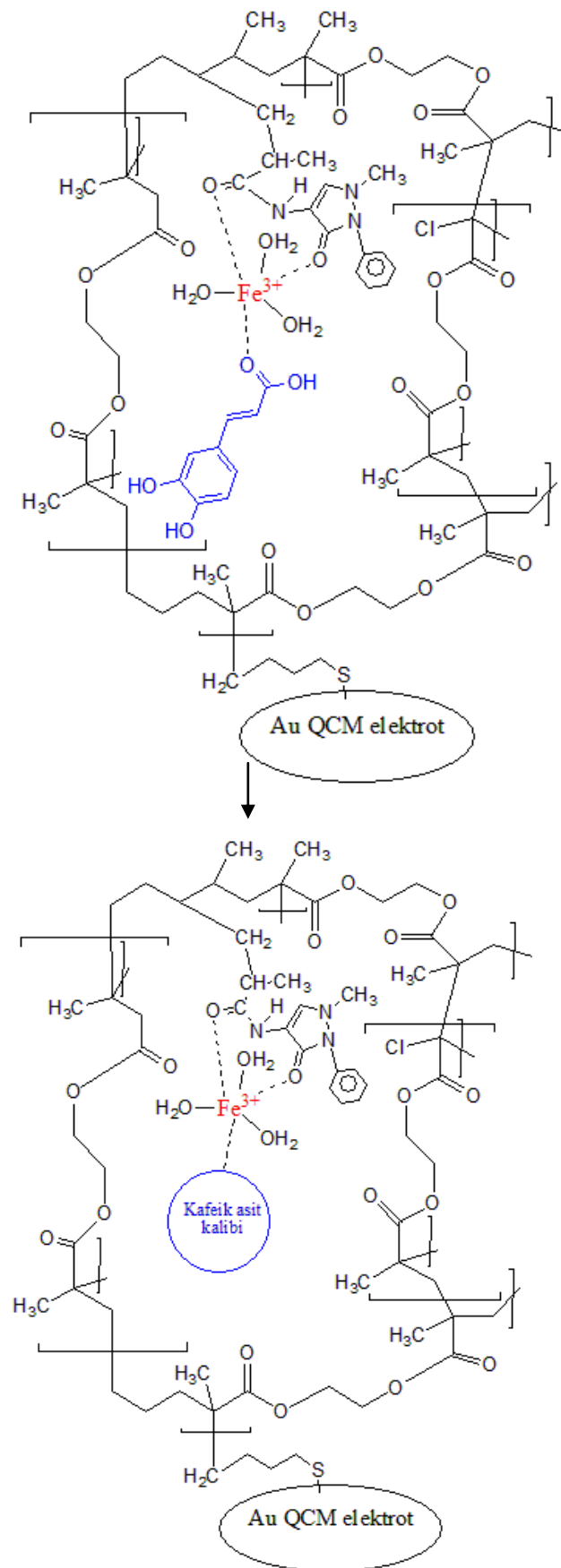
MAAP-Fe(III)-Kafeik asit metal şelat monomerini sentezlemek için 0.01 mmol MAAP-Fe(III) ve 0.01 mmol kafeik asit içeren etanol çözeltileri hazırlanmıştır. Bu çözeltiler birbiri içerisine eklenerek karıştırma işlemi 24 saat devam ettirilmiştir.



Şekil 3.1. MAAP-Fe(III)-Kafeik asit yapısı

3.2.4. Kafeik asit baskılanmış QCM elektrotun hazırlanması

Polimerizasyon öncesinde elektrotlar piranha çözeltisi ($\text{H}_2\text{SO}_4:\text{H}_2\text{O}_2$, 3:1) ile temizlenmişlerdir. Kristaller 10 dakika boyunca bu çözelti içinde bekletilmiş, etanol ve en son deiyonize su ile yıkandıktan sonra kurumaya bırakılmıştır. QCM'in temizlenmiş altın yüzeyinde polimerizasyona açık uç elde edebilmek için kristal, 2 propen 1 tiol (allil merkaptan, $\text{SH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$) içeren etanol/su (4:1, v/v) çözeltisinde 24 saat süreyle tutulmuştur. Tiyol gruplarının aşırısını uzaklaştırmak için kristal, etanol ve deiyonize su ile yıkanmıştır. Metal-şelat (MAAP-Fe(III)-Kafeik asit) monomeri (50 μL), çapraz bağlayıcı (EDMA) (250 μL) ve polimerizasyon başlatıcının (AIBN) etanol içerisinde çözülerek hazırlanan polimerizasyon çözeltisi QCM elektrot yüzeyine damlatılmıştır. Polimerizasyon UV ışığı ile oda sıcaklığında 4 saat boyunca gerçekleştirilmiştir. Kalıp uzaklaştırılması için elektrot metanol/glasiyal asetik asit (9:1) geri yıkama çözeltisinde 24 saat bekletilmiştir.



Sekil 3.2. QCM nanosensör yüzeyindeki kafeik asit bellek oluşumu

3.2.5. Kafeik asit baskılanmış QCM elektrot ile sensör ölçümleri

Kafeik asit baskılı kristaller geri yıkama çözeltisinde bekletildikten sonra deiyonize su ile yıkanmış ve kurutulma işleminden sonra sabit rezonans frekansı (F_0) belirlenmiştir. Daha sonra etanol içerisinde hazırlanan kafeik asit standart çözeltisi (16 μ L) QCM elektrodun üzerine damlatılmış ve 24 saat süre ile etkinleştirilmiştir. Sensörün frekansı kararlı hale gelene kadar (F_1) izlenmiştir. Kafeik asit her bir konsantrasyon için frekans kayması, $\Delta F = F_0 - F_1$ eşitliğinden hesaplanmıştır. Her bir ölçümden sonra kafeik asit geri yıkama çözeltisi ile yıkanarak uzaklaştırılmıştır. Sensörün frekansı yaklaşık olarak F_0 değerine kadar geri elde edilmiştir.



Şekil 3.3. Kuvars kristal mikroterazi

3.2.6. Kafeik asit baskılanmış QCM elektrot ile seçicilik çalışmaları

Kafeik asit baskılanmış QCM elektrot ile seçicilik çalışmaları için klorojenik asit kullanılmıştır. Kafeik asit baskılı kristaller öncelikle deiyonize su ile yıkanmış ve kurutulma işleminden sonra sabit rezonans frekansı (F_0) belirlenmiştir. Daha sonra etanol içerisinde hazırlanan klorojenik asit standart çözeltisi (16 μ L) QCM elektrotun üzerine damlatılmış ve 24 saat süre ile etkinleştirilmiştir. Sensörün frekansı kararlı hale gelene kadar (F_1) izlenmiştir. Klorojenik asit için frekans kayması, $\Delta F = F_0 - F_1$ eşitliğinden hesaplanmıştır. Her bir ölçümden sonra klorojenik asit geri yıkama çözeltisi ile yıkanarak uzaklaştırılmıştır. Sensörün frekansı yaklaşık olarak F_0 değerine kadar geri elde edilmiştir.

3.2.7. Kafeik asit baskılanmış QCM elektrot ile gerçek numunelerde kafeik asit miktar tayini

Gerçek numunelerde analiz için, literatürde araştırma yapılmış ve kafeik asitçe zengin olduğu bilinen elma, patates, kantaron, adaçayı ve siyah çay malzeme olarak seçilmiştir. Kafeik asidin seçilen malzemelerden izole edilmesinde çözücü ekstraksiyonu metodu kullanılmıştır (Tuncel, 2010). Bu yöntem için örneklerden 5'er gram tartılarak kaba filtre kağıdından kartuşlar hazırlanmıştır. Kartuşlar Soxhlet düzeneğine yerleştirilerek 9 saat boyunca dietileter ile muamele edilmiş ve örnekler yağ ve mum (wax) gibi organik çözücülerde çözünen bazı safsızlıklardan arındırılmıştır. Aynı kartuşlar yine Soxhlet düzeneğinde bu defa uygun çözücüsü ile 7 saat muamele edilerek ekstrakte edilmiştir. Çözücüler, vakumlu döner buharlaştırıcıda uçurulmuştur. Gerçek numune analizi için seçilen malzemeler için uygun çözücüler Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Gerçek numune analizi için seçilen malzemelerden fenolik asitlerin elde edilmesi

Malzeme	Metot	Çözücü	Süre
Kantaron	Soxhlet Ekstraksiyonu	Metanol	7 saat
Adaçayı	Soxhlet Ekstraksiyonu	Hekzan	7 saat
Siyah çay	Soxhlet Ekstraksiyonu	Etanol	7 saat
Elma	Soxhlet Ekstraksiyonu	Metanol	7 saat
Patates	Soxhlet Ekstraksiyonu	Metanol	7 saat



(a)

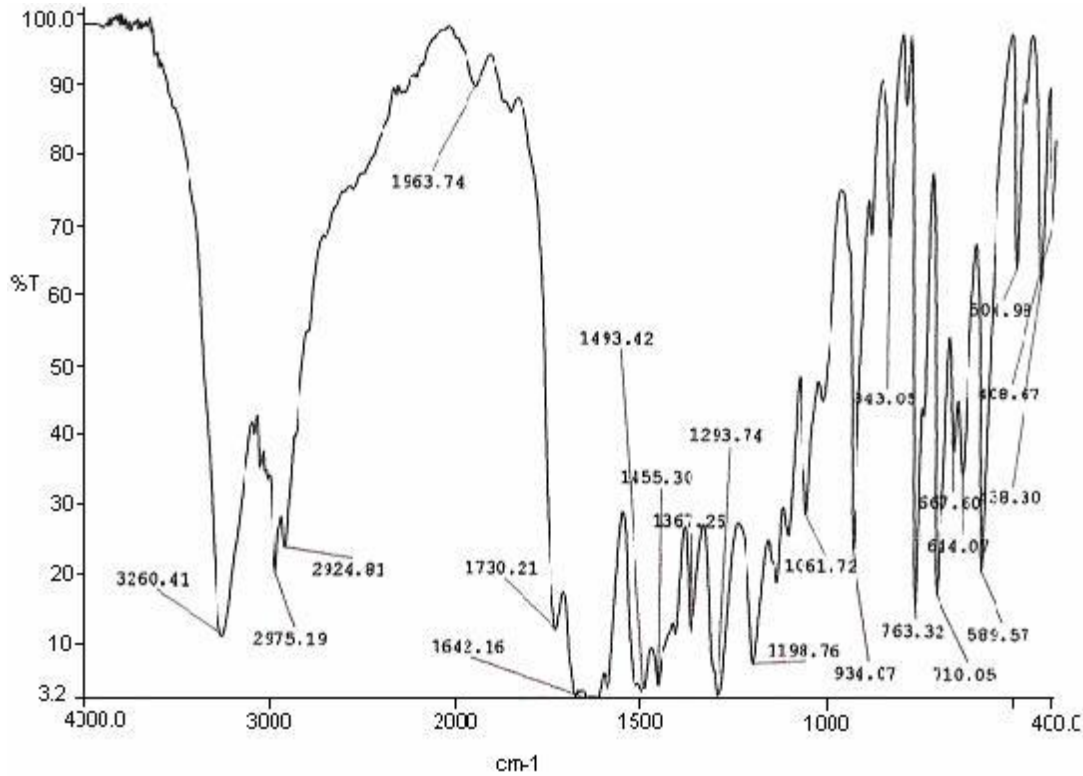


(b)

Şekil 3.4. (a) Soxhlet ekstraksiyon düzeneği (b) Döner buharlaştırıcı düzeneği

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. MAAP, MAAP-Fe(III) monomerlerinin ve MAAP-Fe(III)-kafeik asit kompleksinin karakterizasyonu

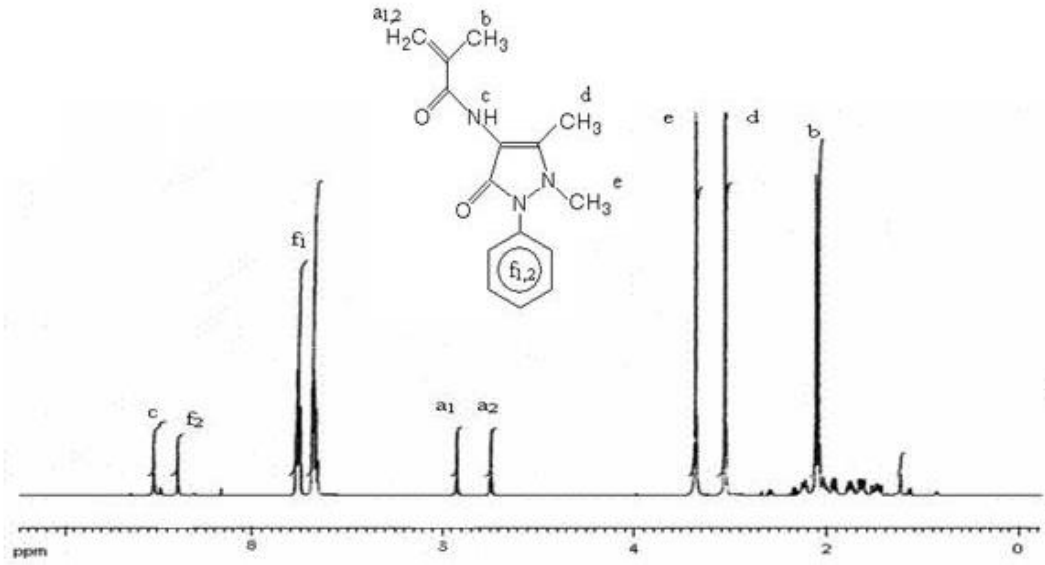


Sekil 4.1. MAAP monomerinin FTIR spektrumu

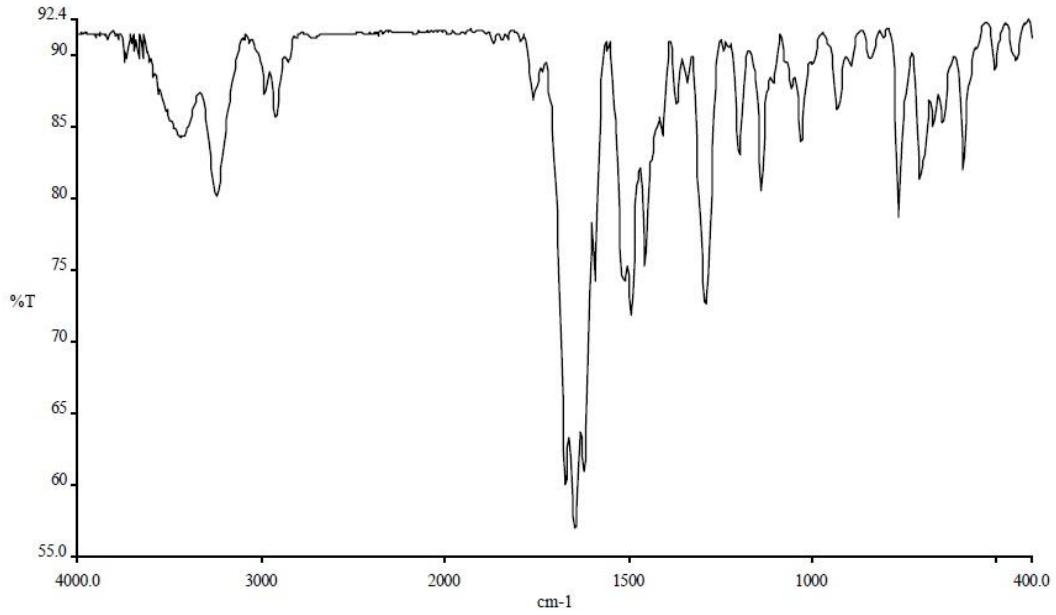
Sekil 4.1’de MAAP monomerinin karakterizasyonu için kullanılan FTIR analizlerinin karakteristik pikleri şöyledir: FT-IR (KBr, cm^{-1}): 763–710 cm^{-1} (monosubstitüe benzen halkası), 1580 ve 1500 cm^{-1} (aromatik halkadaki konjugasyon, kuvvetli iki veya üç pik), (1600 cm^{-1} (metakril çift bağı), 1642 cm^{-1} (amid karbonil piki), 1730 cm^{-1} (siklik keton pozisyonunda karbonil piki), 2975 ve 2924 cm^{-1} (C-H piki), 3260 cm^{-1} (N-H piki).

MAAP monomerinin kimyasal yapısının belirlenmesinde ^1H -NMR kullanılmıştır. ^1H -NMR spektrumunda MAAP monomerinde bulunan gruplara ait karakteristik pikler Sekil 4.2’de görülmektedir. Bu karakteristik pikler şunlardır: 2.05 ppm 3H singlet ($-\text{C}=\text{C}-\text{CH}_3$, vinil metil), 3.0 ppm 3H singlet ($-\text{C}-\text{CH}_3$), 3.35 ppm 3H singlet ($-\text{N}-\text{CH}_3$), 5.5 ppm 1H singlet ($-\text{CH}_a=\text{C}-$), 5.8 ppm 1H singlet ($-\text{CH}_b=\text{C}-$), 7.25–8.80 ppm 4H multiplet (aromatik, 7.3 ppm’de CDCl_3 pikide aromatik pikler içine

karışmış durumdadır), 8.80 ppm 1H singlet (aromatik), 9.1 ppm 1H singlet (N-H) şeklindedir.



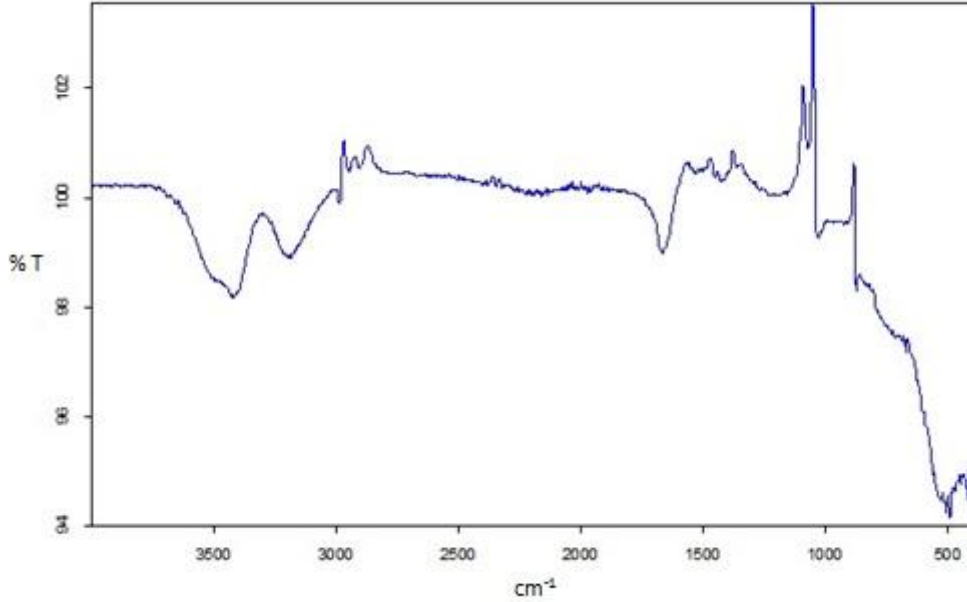
Sekil 4.2. MAAP monomerinin ^1H -NMR spektrumu



Sekil 4.3. MAAP-Fe kompleksinin FTIR spektrumu

Hazırlanan MAAP-Fe(III) kompleksinin FTIR (KBr, cm^{-1}) spektrumunda; 472 ve 647 cm^{-1} pikleri Fe-O piki, 768 cm^{-1} pik (monosubstitüye benzen halkası) ait olan pik, 1642 cm^{-1} deki karbonil piki 1617 cm^{-1} 'de ortaya çıkmıştır. 1730 cm^{-1} sıklık keton pozisyonundaki karbonil piki 1672 cm^{-1} 'de ortaya çıkmıştır. Bu sonuçlar C=O'daki oksijen atomunun metal iyonuyla koordinasyona girdiğini göstermiştir. Sonuç olarak

Fe(III) iyonuyla MAAP yapısındaki (C=O)'daki oksijen atomu arasında bir etkileşimin olduğu anlaşılmıştır. Şekil 4.3'te metakroilamido antipirin MAAP-Fe(III) kompleksinin FTIR sektrumu verilmiştir.



Sekil 4.4. MAAP-Fe-kafeik asit kompleksinin FTIR spektrumu

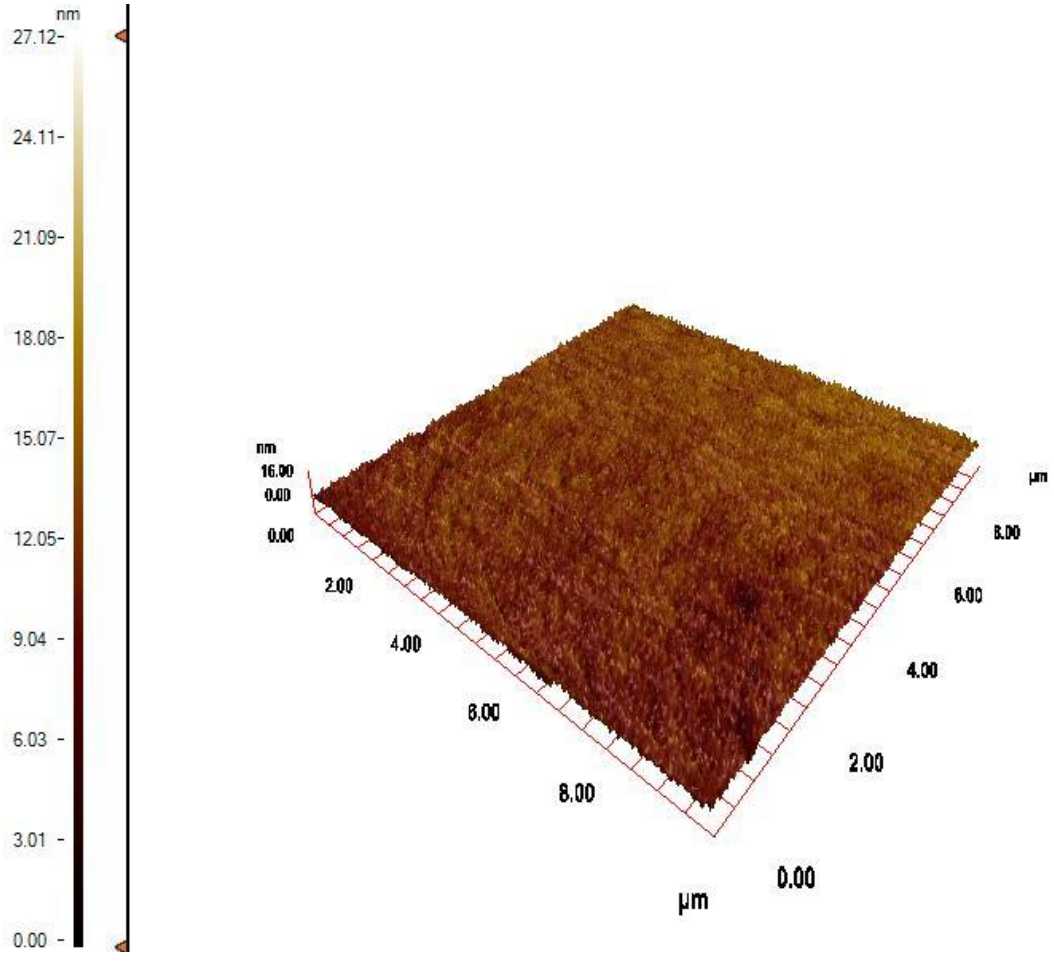
Hazırlanan MAAP-Fe(III)-kafeik asit kompleksinin FTIR (cm^{-1}) spektrumunda; 1520 cm^{-1} pik ($\text{C}=\text{C}$, benzen halkası), 1621 cm^{-1} piki ($-\text{C}=\text{C}$), 3240 cm^{-1} piki ($=\text{C}-\text{H}$, benzen halkası), $2500-3000 \text{ cm}^{-1}$ piki ($-\text{OH}$, $-\text{COOH}$) ve $3000-3500 \text{ cm}^{-1}$ piki ($-\text{OH}$, fenol piki) ortaya çıkmıştır. Özellikle $2500-3000 \text{ cm}^{-1}$ aralığında görülen pik kafeik asidin bünyesinde bulunan karboksilik asidin $-\text{OH}$ esneme titreşimlerinden ve ayrıca $3200-3550 \text{ cm}^{-1}$ aralığında görülen geniş $-\text{OH}$ pikinin kafeik asit bünyesindeki fenol grubundan kaynaklandığı görülmektedir. Bu sonuçlar ile birlikte hazırlanan çözeltilerdeki renk değişimi de (Şekil 4.5), kafeik asidin MAAP-Fe(III) kompleksiyle etkileşime girdiğini doğrulamaktadır.



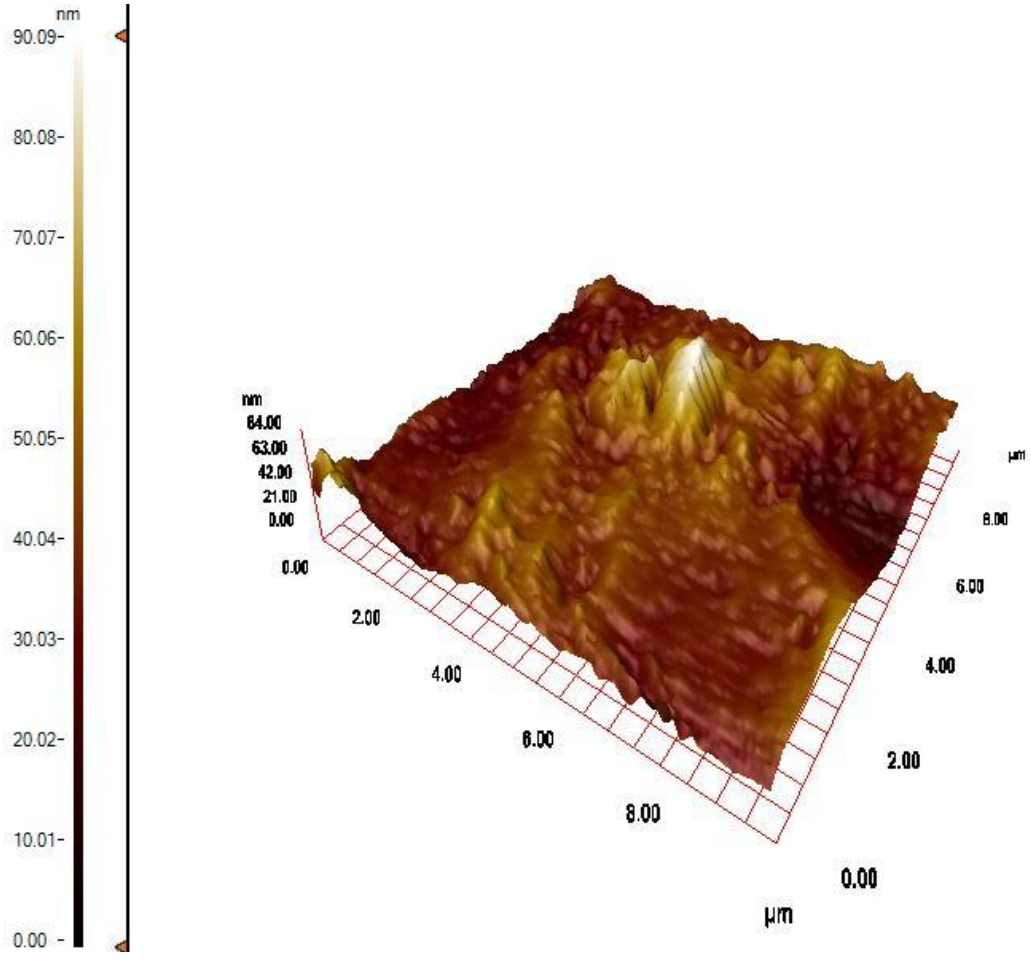
Şekil 4.5. MAAP-Fe ve MAAP-Fe(III)-kafeik asit çözeltileri

4.2. Kafeik Asit Baskılı QCM elektrotun yüzey karakterizasyonu

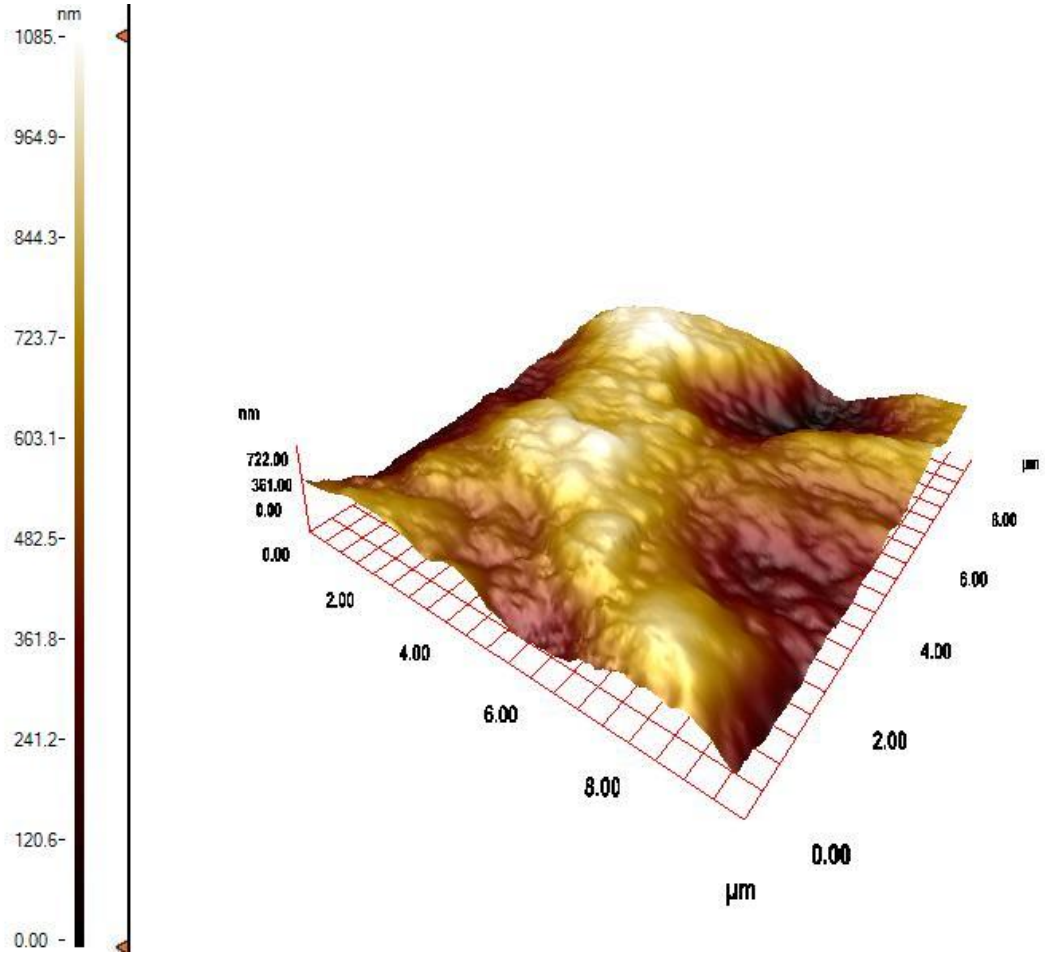
QCM elektrotun altın yüzeyinin, allil merkaptan ile modifiye edildikten sonraki Au-S halinin ve polimerleşmeden sonraki Au-S-polimer halinin yüzey karakterizasyonu atomik güç mikroskobu (AFM) kullanılarak incelenmiştir. Şekil 4.6'da Au elektrotun saf halinin AFM görüntüsü görülmektedir. Şekil 4.7'de allil merkaptan ile modifiye edilmiş Au elektrotun yüzeyi görülmektedir. Şekil 4.8'de polimerizasyon işleminden sonra yüzeyin yapısı görülmektedir. Yüzeyin modifiye edildiği ve yüzeyde polimerizasyonun gerçekleştiği, yüzey morfolojisindeki değişikliklerden görülmektedir.



Şekil 4.6. QCM elektrotun altın yüzeyinin AFM görüntüsü



Şekil 4.7. Allil mercaptan ile modifiye edilmiş QCM elektrotun altın yüzeyinin AFM görüntüsü



Şekil 4.8. Polimerleştikten sonra QCM elektrotun altın yüzeyinin AFM görüntüsü

4.3. Ligand Etkileşimi Aracılığıyla Kafeik Asit Baskılı QCM Nanosensörlerin Bağlama Etkileşimlerinin Ölçümü

Altın kuartz kristaller üzerine kafeik asit ligand-değişim metoduyla baskılı polimerlerini hazırlamak için metakroil bazlı yeni bir yöntem geliştirilmiş ve kafeik baskılı Fe(III)-MAAP-Kafeik asit polimerinin kafeik asit seçiciliği incelenmiştir. Hedef molekülün metakroil temelli metal-şelat kopolimerine bağlanması kristalin frekansına yansıyan kütlede bir değişime (Δm) neden olmaktadır. Δm ve frekans kayması (ΔF_0) arasındaki ilişki aşağıdaki eşitlik ile ifade edilebilir.

$$\Delta F = - \frac{2 F_0^2 \Delta m}{A \sqrt{\rho \mu}} \quad (4.1)$$

Bu eşitlikte;

F_0 : Temel frekans

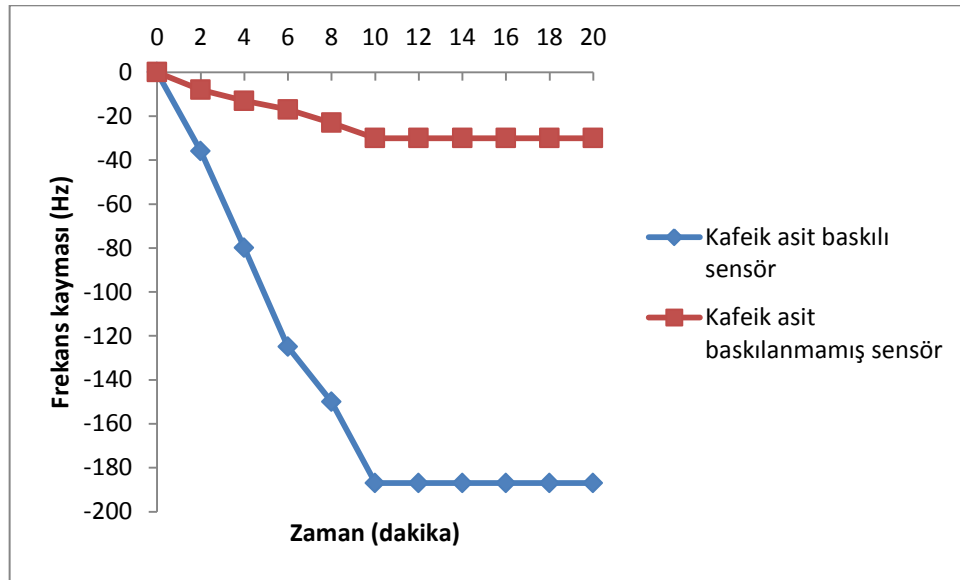
A : Piezoelektriksel yüzey alanı

p : Kuartzın yoğunluğu

m : Kuartzın kayma modülünü ifade etmektedir.

Saf su içinde baskılı polimer kaplı sensörün frekansı kararlı hale geldiği zaman kafeik asit çözeltisi dedektör hücresinin üzerine damlatılmıştır. Kafeik asit çözeltisi ilave edildikten sonra sensörün frekansı azalmıştır ve 10 dakika içinde sabit bir değere ulaşmıştır (Sekil 4.9).

Ligand değişim reaksiyonunun oldukça çabuk dengeye geldiği görülmüştür ve bu frekans değişimleri kuartz kristal üzerindeki baskılanmış polimere kafeik moleküllerinin tutunduğunu göstermiştir. Bunun yanı sıra baskılanmamış polimere kafeik bağlanmasının çok daha zayıf olduğu gözlenmiştir.



Şekil 4.9. Kafeik asit baskılanmış ve baskılanmamış nanosensörün frekans değerleri

Baskılı polimer ve kafeik asit kalıp arasındaki bağlanma etkileşimleri ve eşitlikleri Scatchard analizi yöntemi ile elde edilmiş ve bu yöntem MIP çalışmalarında daha önceleri de kullanılmıştır. Bu analizde aşağıdaki eşitlik kullanılmaktadır.

$$\frac{Q}{C} = \frac{Q_{max}}{K_D} - \frac{Q}{K_D} \quad (4.2)$$

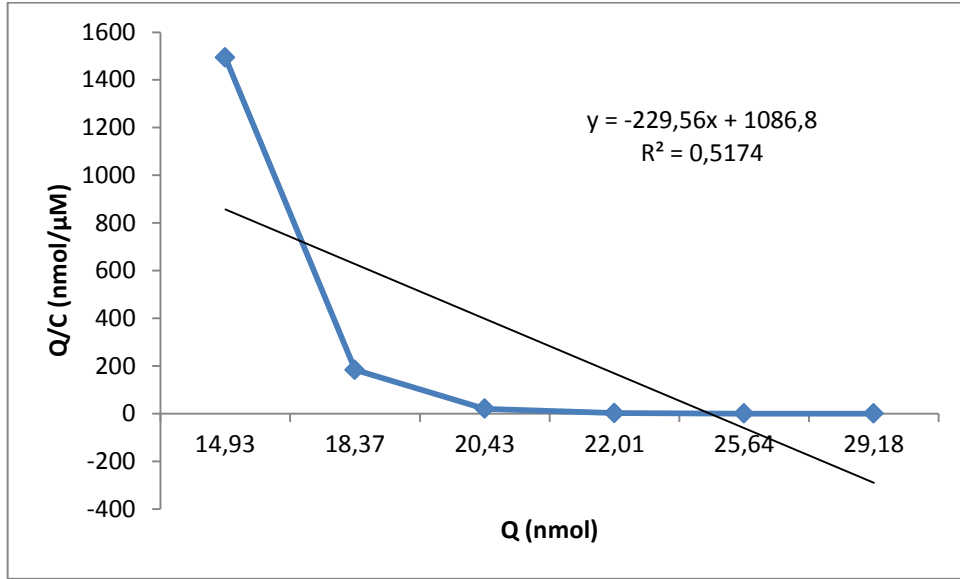
Bu eşitlikte;

Q : Polimere bağlanan kafeik asit miktarını

C : Serbest kafeik asit derişimini

Q_{max} : Bağlanma bölgelerinin maksimum sayısını

K_D : Ligand-değişim temelli metal-şelat kopolimerinin ayrışma sabitini ifade etmektedir.



Şekil 4.10. Kafeik asit baskılı polimerin Scatchard eğrisi

Şekil 4.10’da 0.01-1000 μM aralığındaki kafeik asit çözeltisinin Scatchard grafiği görülmektedir.

$$\frac{Q}{C} = -229.56 Q + 1086.8 \quad (4.3)$$

Eşitlik 4.3’ten MIP nanosensöre kafeik bağlanması için Scatchard bağlanma sabiti (K_a) $229.56 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}$ ve ligand-değişim bölgelerinin sayısı, $Q_{\max}$ 4.73 nmol olarak bulunmuştur. Şekil 4.10’dan görüldüğü üzere, elde edilen grafiğin lineer olmamasından dolayı R^2 değeri çok küçük çıkmış ve bağlanma sabiti (K_a) ve ligand-değişim bölgelerinin sayısı ($Q_{\max}$) doğru bir şekilde hesaplanamamıştır. Sonuç olarak, kafeik asit baskılı MIP nanosensörünün Scathard analizi için uygun olmadığı söylenebilir.

Baskılı polimer ve kafeik asit kalıp arasındaki bağlanma etkileşimleri ve eşitlikleri Langmuir analizi yöntemi ile elde edilmiş ve bu yöntem MIP çalışmalarında daha önceleri de kullanılmıştır. Bu analizde aşağıdaki eşitlik kullanılmaktadır.

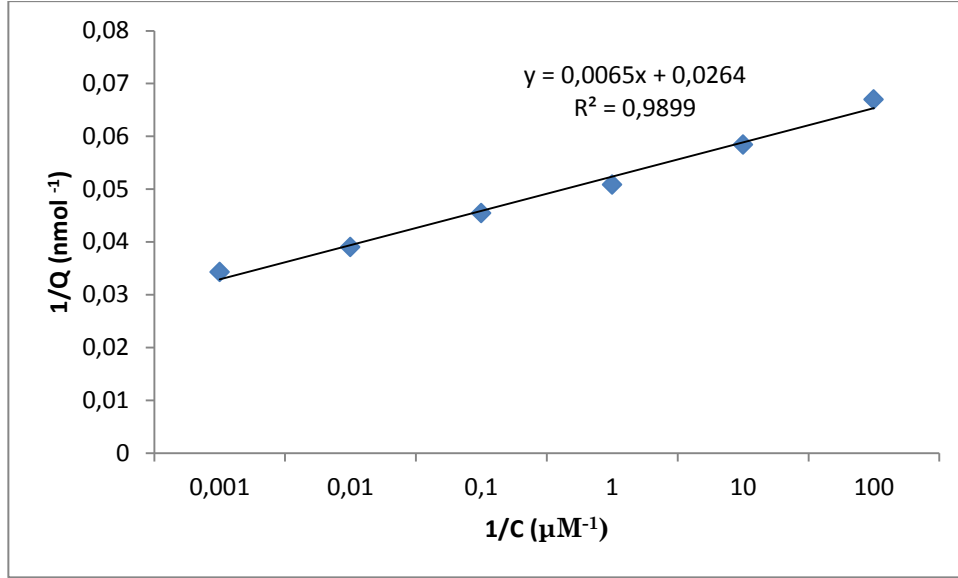
$$\frac{1}{Q} = \left(\frac{1}{[Q_{\max} \cdot b]} \times \frac{1}{C} \right) + \frac{1}{[Q_{\max}]} \quad (4.4)$$

b :Langmuir sabiti

Q : Polimere bağlanan kafeik asit miktarını

C : Serbest kafeik asit derişimini

$Q_{\max}$: Bağlanma bölgelerinin maksimum sayısını



Şekil 4.11. Kafeik asit baskılı polimerin Langmuir eğrisi

Şekil 4.11’de 0.01-1000 μM aralığındaki kafeik asit çözeltisinin Langmuir eğrisi görülmektedir.

$$\frac{1}{Q} = \left(\frac{0.0065}{C} \right) + 0.0264$$

Esitlik 4.4’ten MIP sensöre kafeik asit bağlanması için Langmuir bağlanma sabiti (b) 4061538 M^{-1} ve ligand-değişim bölgelerinin sayısı, Q_{max} 37.88 nmol olarak bulunmuştur. Şekil 4.11’den görüldüğü üzere elde edilen yüksek R^2 değeri (0.9899) kafeik asit baskılı QCM nanosensörünün Langmuir analizi için uygun olduğunu göstermektedir. Ayrıca, yüksek (b) değeri bağlanma bölgelerindeki afinitenin oldukça güçlü olduğunu belirtir.

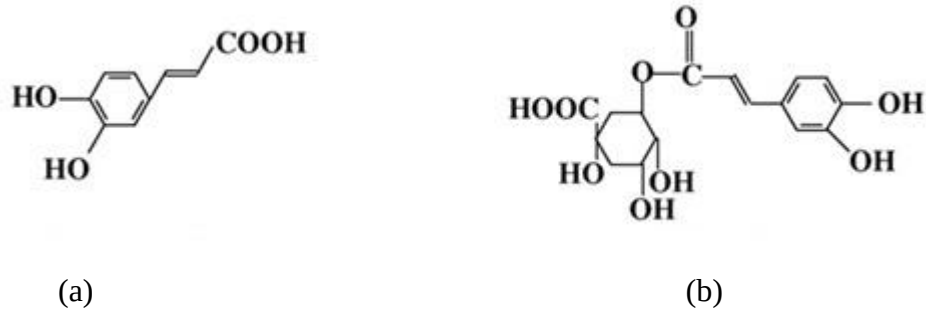
Çizelge 4.1. Kafeik asit baskılı QCM sensörün Langmuir ve Scatchard analizlerinin karşılaştırılması

Molekül	Langmuir b (M^{-1})	Q_{max} (nmol)	Scatchard Ka (M^{-1})	Q_{max} (nmol)
Kafeik asit	$4.06 \cdot 10^6$	37.88	$229.56 \cdot 10^6$	4.73

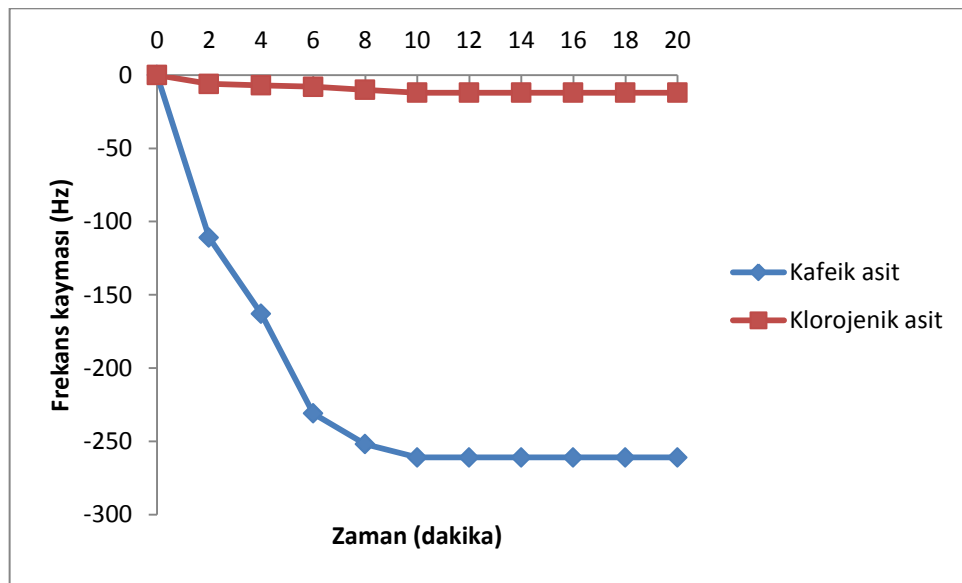
4.4. Kafeik Asit Baskılanmış QCM Elektrotun Seçiciliği

Kalıp molekül ve MIP-QCM sensörün metal-şelat bağlanma bölgeleri arasındaki etkileşiminin seçiciliğinin anlaşılması için kafeik asit ile benzer yapıya sahip olan klorojenik asidin (Şekil 4.12.b), baskılı kuartz kristal nanosensör üzerine adsorpsiyonları incelenmiştir. Klorojenik asidin de 100 μM ’lik çözeltisi hazırlanmış ve kafeik asit baskılı polimer ile 24 saat süresince etkinleştirilmiştir. Elde edilen sonuç

Şekil 4.13 ve Çizelge 4.2 'de verilmiştir. Kafeik asit baskılanmış sensörün klorojenik aside göre 22 kat daha seçici olduğu gözlenmiştir.



Şekil 4.12. (a) Kafeik asit (b) Klorojenik asidin kimyasal yapısı



Şekil 4.13. Kafeik asit baskılı sensörün kafeik asit ve klorojenik asit için frekans değerleri (100 μ M için)

Dolayısıyla kafeik asit baskılı polimerin, kafeik asit için oldukça yüksek seçiciliğe sahip olduğu söylenebilir.

Çizelge 4.2. Kafeik asit baskılı polimerin seçiciliği

	Q(mg/g) (baskılanmış)	Q (mg/g) (baskılanmamış)	k (baskılanmış)	k (baskılanmamış)	k'
Kafeik asit	16026	921			
Klorojenik asit	736	552	21.77	1.67	13

4.5. Kafeik Asit Baskılanmış QCM Elektrot ile Gerçek Numunelerde Kafeik Asit Tayini

Gerçek numune analizi için seçilen elma, patates, kantaron, adaçayı ve siyah çaydan ekstraksiyon sonucu elde edilen ekstraktların kafeik asit baskılanmış QCM elektrotla muamelesi sonucunda elde edilen frekans kaymaları ve Şekil 4.14’de verilen kalibrasyon grafiğinden elde edilen sonuçlar ve bu sonuçlar kullanılarak MATLAB programı ile hesaplanan kafeik asit miktarları Çizelge 4.3’te verilmiştir.

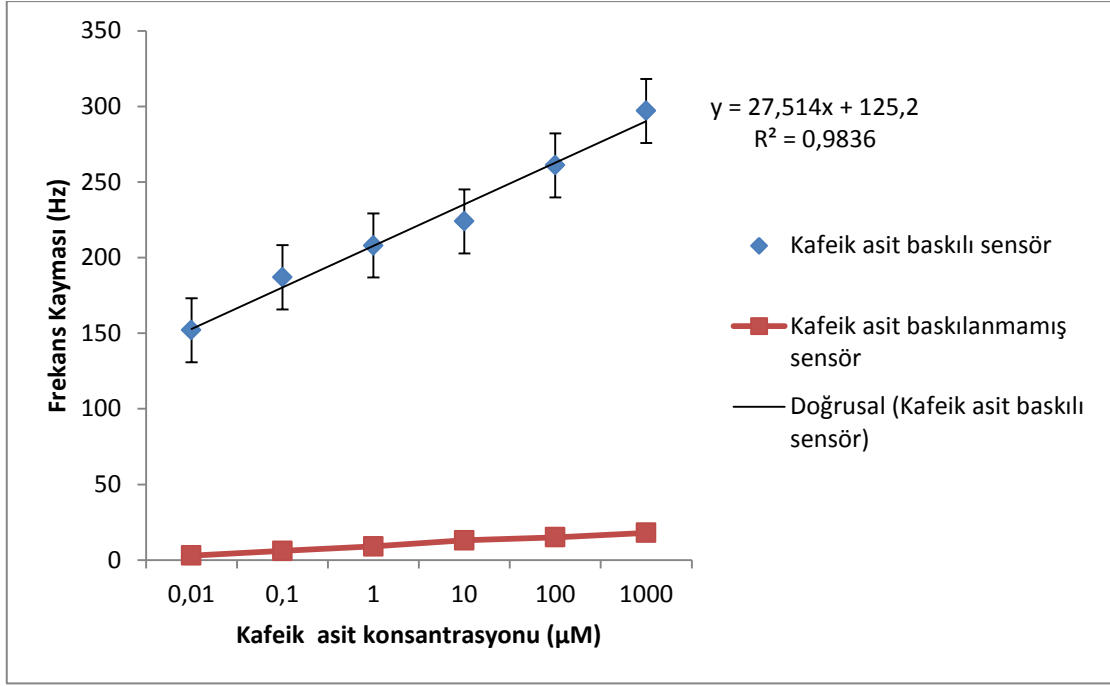
Çizelge 4.3. Gerçek numune analizi sonuçları

Malzeme	Frekans Kayması (Hz)	Kafeik asit derişimi (μM)	Kafeik asit miktarı (mg/kg)
Kantaron*	289	811.80	70.15
Adaçayı*	280	563.54	32.46
Siyah çay*	283	652.78	3.76
Elma	194	0.4	0.0012
Patates	223	9.44	0.0272

*İçerdikleri kafeik asit derişimi çalışma aralığı dışında çıktığı için uygun oranda seyreltme yapılmış ve ölçümler tekrarlanmıştır. Hesaplanan kafeik asit miktarları yapılan seyrelme oranlarıyla çarpılmış halidir.

4.6. Kafeik Asit Baskılanmış QCM Elektrotun Analitik Performansı

Şekil 4.14’de kafeik asit baskılı kuartz kristalin kafeik asit derişim değerlerine karşı frekans kayması değerlerinden elde edilen kalibrasyon grafiği görülmektedir. Kafeik asit 0.01 ile 1000 μM derişim aralığında doğrusal bir grafik elde edilmiştir ve kafeik asit baskılı kuvars kristalin tayin sınırı 0,0078 μM ’dır. Kafeik asit derişimi arttıkça frekans kayması değerlerinin de arttığı görülmüştür ve elde edilen doğrunun eğimi 27.514 Hz mmol⁻¹ olarak bulunmuştur. Deneyler en az üç kez tekrar edilmiştir. Her bir veri seti için ortalama değerler ve standart sapmayı hesaplamak üzere standart istatistiksel yöntemler uygulanmıştır. Güven aralığı % 95 tutulmuştur.



Şekil 4.14. Kafeik asit baskılı sensör için kalibrasyon grafiği

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Bu çalışmada, MAAP-Fe(III) metal şelat monomeri ile MAAP-Fe(III)-Kafeik asit metal şelat monomeri ön organizasyonu monomer sistemi hazırlanmış ve bu sistem kullanılarak MIP temelli QCM elektrot üzerinde nanosensör oluşturulmuştur. Bitki materyalleri içerisindeki kafeik asit miktarını tayin etmek için kullanılan bu nanosensörün moleküler tanımlama açısından değerlendirilmesi çalışmaları yapılmıştır.

MAAP monomerinin karakterizasyonu için kullanılan FTIR analizlerinin karakteristik pikleri şöyledir: FT-IR (KBr, cm^{-1}): 763–710 cm^{-1} (monosubstitüe benzen halkası), 1580 ve 1500 cm^{-1} (aromatik halkadaki konjugasyon, kuvvetli iki veya üç pik), (1600 cm^{-1} (metakril çift bağı), 1642 cm^{-1} (amid karbonil piki), 1730 cm^{-1} (siklik keton pozisyonunda karbonil piki), 2975 ve 2924 cm^{-1} (C-H piki), 3260 cm^{-1} (N-H piki).

Hazırlanan MAAP-Fe(III) kompleksinin FTIR (KBr, cm^{-1}) spektrumunda; 472 ve 647 cm^{-1} pikleri Fe-O piki, 768 cm^{-1} pik (monosubstitüye benzen halkası) ait olan pik, 1642 cm^{-1} deki karbonil piki 1617 cm^{-1} 'de ortaya çıkmıştır. 1730 cm^{-1} siklik keton pozisyonundaki karbonil piki 1672 cm^{-1} 'de ortaya çıkmıştır. Bu sonuçlar C=O'daki oksijen atomunun metal iyonu ile koordinasyona girdiğini göstermiştir. Sonuç olarak Fe(III) iyonu ile MAAP yapısındaki (C=O)'daki oksijen atomu arasında bir etkileşimin olduğu anlaşılmıştır.

Ayrıca MAAP-Fe(III)-kafeik asit kompleksinin FTIR (cm^{-1}) spektrumunda; 1520 cm^{-1} pik (C=C, benzen halkası), 1621 cm^{-1} piki (-C=C), 3240 cm^{-1} piki (=C-H, benzen halkası), 2500-3000 cm^{-1} piki (-OH, -COOH) ve 3000-3500 cm^{-1} piki (-OH, fenol piki) ortaya çıkmıştır. Özellikle 2500-3000 cm^{-1} aralığında görülen pik kafeik asidin bünyesinde bulunan karboksilik asidin -OH esneme titreşimlerinden ve ayrıca 3200-3550 cm^{-1} aralığında görülen geniş -OH pikinin kafeik asit bünyesindeki fenol grubundan kaynaklandığı görülmektedir. Bu sonuçlar ile birlikte hazırlanan çözeltilerdeki renk değişimi de, kafeik asidin MAAP-Fe(III) kompleksi ile etkileşime girdiğini doğrulamaktadır.

QCM elektrotun altın yüzeyinin, allil merkaptan ile modifiye edildikten sonraki Au-S halinin ve polimerleşmeden sonraki Au-S-Polimer halinin yüzey karakterizasyonu atomik güç mikroskobu (AFM) kullanılarak incelenmiştir. Yüzeyin modifiye edildiği ve

yüzeyde polimerizasyonun gerçekleştiği, yüzey morfolojisindeki değişikliklerden görülmektedir.

Kafeik asit baskılı QCM nanosensörün affinite sabitleri, Scatchard ve Langmuir yaklaşımları kullanılarak bulunmuştur. QCM nanosensöre kafeik bağlanması için Scatchard bağlanma sabiti (K_a) $229.56 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ ve ligand-değişim bölgelerinin sayısı, $Q_{\max}$ 4.73 nmol olarak bulunmuştur. Elde edilen grafiğin lineer olmamasından dolayı R^2 değeri çok küçük çıkmış ve bağlanma sabiti (K_a) ve ligand-değişim bölgelerinin sayısı ($Q_{\max}$) doğru bir şekilde hesaplanamamıştır. Sonuç olarak, kafeik asit baskılı QCM nanosensörünün Scatchard analizi için uygun olmadığı söylenebilir. Bu sonucun eldesinden sonra, tek tabakalı adsorpsiyon ve çözeltiden adsorpsiyon için kullanılan Langmuir analizi yapılmış ve kafeik asit baskılı polimer ile QCM ölçümleri sonucunda, kafeik asit baskılı QCM nanosensöre kafeik asit bağlanması için Langmuir bağlanma sabiti (b) 4061408 M^{-1} ve ligand-değişim bölgelerinin sayısı, $Q_{\max}$ 37.88 nmol olarak bulunmuştur. Yüksek (b) değeri bağlanma bölgelerindeki afinitenin oldukça güçlü olduğunu göstermektedir.

Kalıp molekül ve MIP-QCM nanosensörün metal-şelat bağlanma bölgeleri arasındaki etkileşiminin seçiciliğinin anlaşılması için kafeik aside ile benzer yapıya sahip olan klorojenik asit ile çalışılmış ve kafeik asit baskılı kuartz kristal nanosensör üzerine adsorpsiyonları incelenmiştir. Sentezlenen nanosensörün kafeik asit için, klorojenik aside göre 22 kat daha fazla seçici olduğu tespit edilmiştir. Kafeik asit baskılı kuartz kristalin tayin sınırı $0.0078 \mu\text{M}$ olarak bulunmuştur.

Gerçek numune analizi için seçilen elma, patates, kantaron, adaçayı ve siyah çaydan ekstraksiyon sonucu elde edilen ekstraktların kafeik asit baskılanmış QCM elektrotla muamelesi sonucunda elde edilen frekans kaymaları ve Şekil 4.8’de verilen kalibrasyon grafiğinden elde edilmiş ve Çizelge 4.3’de verilen konsantrasyon sonuçları literatür çalışmalarıyla karşılaştırılmıştır. Çizelge 4.3’te verilen bitki materyalleri kullanılarak gerçekleştirilmiş analiz sonuçlarına bakıldığında, kafeik asit baskılı QCM sensörden elde edilen sonuçların diğer metotlarla yapılmış analiz sonuçlarını destekler nitelikte olduğu görülmüştür. Bu karşılaştırma sonucunda, MIP temelli QCM nanosensörün başarıyla hazırlandığı ve gerçek numune analizine uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

5.2 Öneriler

Bu çalışmada hazırlanan kafeik asit baskılı QCM nanosensörünün, düşük tayin sınırı, yüksek seçiciliği ve gerçek numunelere uygunluğu bakımından, ileride patenti alınarak, özellikle gıda laboratuvarlarında sağlık açısından çok önemli fenolik bileşiklerden biri olan kafeik asit tayininde kullanılmak üzere, daha ucuz ve kullanımı kolay bir yöntem olarak geliştirilebileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Acar, J., 1998, Fenolik bileşikler ve doğal renk maddeleri, Gıda kimyası, Ed: Saldamlı, F., Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 435-452.
- Anderson, L.I., Miyabayashi, A., O'Shannessy, D.J., Mosbach, K., 1990, Enantiomeric resolution of amino acid derivatives on molecular imprinted polymers as monitored by potentiometric measurements, *J. Chromatogr. A*, 516, 323-331.
- Apodaca, D. C., Pernites, R. B., Ponnappati, R. R., Del Mundo, F. R., and Advincula, R. C., 2010, Electropolymerized Molecularly Imprinted Polymer Films of a Bis-Terthiophene Dendron: Folic Acid Quartz Crystal Microbalance Sensing, *ACS Appl. Mater. Interface*, dx.doi.org/10.1021/am100805y.
- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S., 2006, Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses, *Food Chemistry*, 99, 191-203.
- Baser, K.H.C., 2001, Her derde deva bir bitki kekik, *Bilim ve Teknik*, Mayıs, 74-77.
- Baser, K.H.C., 2002, Fonksiyonel gıdalar ve nutrasötikler, *14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, Bildiriler, 29-31 Mayıs 2002, Eskişehir, ISBN 975-94077-2-8.
- Belitz, H.D. and Grosch, W., 1999, Food chemistry, Springer-Verlag Heidelberg, Berlin, 764- 781.
- Caro, E., Masqué, N., Marcé, R.M., Borrull, F., Cormack, P.A.G. ve Sherrington, D.C., 2002, Non-covalent and semi-covalent molecularly imprinted polymers for selective on-line solid-phase extraction of 4-nitrophenol from water samples, *J. Chromatogr. A*, 963, 169-178.
- Cartoni, G., Cocciol, F., Jasionowska, R., 1995, Capillary electrophoretic separation of phenolic acids, *Journal of Chromatography A*, 709, 209-214.
- Cemeroğlu, B., Yemenicioğlu, A. ve Özkan, M., 2001, Fenolik bileşikler. Meyve ve sebzelerin bileşimi, soğukta depolanmaları, Gıda Teknolojileri Derneği Yayınları No:24, Ankara, 78.
- Challis, B.C., Bartlett, C.D., 1995, Possible carcinogenic effects of coffee constituents, *Nature*, 254, 532-533.
- Chan, J.H., Ho, C., 1997, Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxy cinnamic acid compounds, *J Agric Food Chem*, 45, 2374-2378.
- Chkikvishvili, I.D., Gogiyo, N.N., 1995, Flavonoids of mandarin fruit wastes and their fungistatic effect on the fungus *Phoma tracheiphila*, *Applied Biochem. Microb.*, 31 (3), 292-296.
- Cormack, P.A.G., Elorza, A.Z., 2004, Molecularly imprinted polymers: synthesis and characterisation, *Journal of Chromatography B*, 804, 173-182.

- Cormack, P.A.G., Mosbach, K., 1999, Molecular imprinting: recent developments and the road ahead, *React. Funct. Polym.*, 41, 115-124.
- Çakmak, M. E., 2010, Adsorpsiyon teorisi ders notları, *Çukurova Üniversitesi Çevre Mühendisliği*.
- Davies, M.P., De Biasi, V., Perrett, D., 2004, Approaches to the rational design of molecularly imprinted polymers, *Anal Chim Acta*, 504, 7-14.
- De Sotillo, D.R., Hadley, M., Holm, E.T., 1994, Potato peel waste: Stability and antioxidant activity of a freeze-dried extract, *J. Food Sci.*, 59 (5), 1031-1033.
- Dickert, F.L., Hayden, O., 1999, Imprinting with sensor development on the way to synthetic antibodies, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 364, 506-511.
- Diltemiz, S., Hür, D., Ersöz, A., Denizli, A., Say, R., 2009, Designing of MIP based QCM sensor having thymine recognition sites based on biomimicking DNA approach, *Biosensors and Bioelectronics*, 25, 599-603.
- Dong, X.C., Sun, H., Lu, X.Y., Wang, H.B., Liu, S.X., Wang, N., 2002, Separation of ephedrine stereoisomers by molecularly imprinted polymers influence of synthetic conditions and mobile phase compositions on the chromatographic performance, *Analyst.*, 127, 1427-1432.
- Emir Diltemiz, S., 2006, DNA'yı tanıma bölgelerine sahip moleküler baskılanmış polimer tekniğine dayalı biyosensör geliştirilmesi, Doktora Tezi, *Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı.
- Escarpa, A., Gonzalez, M. C., 2000, Evaluation of high-performance liquid chromatography for determination of phenolic compounds in pear horticultural cultivars, *Chromatographia*, 51, 37-43.
- Fiamegos, Y.C., Nanos, C.G., Vervoort, J., Stalikas, C. D., 2004, Analytical procedure for the in-vial derivatization-extraction for phenolic acids and flavonoids in methanolic and aqueous plant extracts followed by gas chromatography with mass selective detection, *Journal of Chromatography A*, 1041, 11-18.
- Gülbaran, E., 1981, Kimya Mühendisliği Ünit Operasyonları Cilt-III Kütle İletimi ve Uygulamaları, *İTÜ Mühendislik Mimarlık Fakültesi Yayınları Sayı 137*, İstanbul.
- Gulcin, I., 2006, Antioxidant activity of caffeic acid, *Toxicology*, 217, 213-220.
- Gültekın, A., 2009, Sentetik reseptörlere dayalı nano algılama sistemleri, Doktora Tezi, *Trakya Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi*, 16-32.
- Haupt, K., Cormack, P.A.G. ve Mosbach, K., 2002, Imprinted Polymers As Tailor-Made Stationary Phases for Affinity Separation, *Biochromatography*, 419, 419-431.
- Haupt, K., Ye, L., 2004, Molecularly imprinted polymers as antibody and receptor mimics for assays, sensors and drug discovery, *Anal. Bioanal. Chem.*, 378, 1887-1897.

- Heising, R.A., 1946, Quartz crystals for electrical circuits, their design and manufacture, Van Nostrand, New York.
- Hısıl, Y., Sahin, F., Omay, S.B., 2005, Kantaronun (*Hypericum perforatum L.*) bileşimi ve tıbbi önemi, *International Journal of Hematology and Oncology*, 4 (15), 212-218.
- Higdon, J.V, Frei, B., 2006, Coffee and health: a review of recent human research, *Crit Rev Food Sci*, 46, 101–23.
- Hussain, M., Igbal, N., Lieberzeit, P.A., 2013, Acidic and basic polymers for molecularly imprinted folic acid sensors-QCM studies with thin films and nanoparticles, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 176, 1090-1095.
- Idziak, L., Benrebouh, A. ve Deschamps, F., 2001, Simple NMR experiments as a means to predict the performance of an anti-17 alpha-et hynylestradiol molecularly imprinted polymer, *Analytica Chimica Acta.*, 435, 137-140.
- Ikegami, T., Mukawa, T., Nariai H. ve Takeuchi, T., 2004 , Bisphenol A-recognition polymers prepared by covalent molecular imprinting, *Anal. Chim. Acta.*, 504, 131–135.
- Kanazawa, K., Joon, C.N., 2009, Quartz CrystalMicrobalance as a Sensor to Characterize Macromolecular Assembly Dynamics, *Journal of Sensors*, 2009.
- Katz, A., Davis, M. E., 1999, Investigations into the Mechanisms of Molecular Recognition with Imprinted Polymers, *Macromolecules*, 32, 4113-4121.
- Komiyama, M. Takeuchi, T., Mukawa, T. And Asanuma, H., 2003, *Molecular imprinting (From Fundamentals To Applications)*, Wiley-VCH Verlag.
- Kriz, D., Ramstrom, O. ve Mosbach, K., 1997, Molecular imprinting: new possibilities for sensor technology, *Anal. Chem.*, 69, 345 A-349 A.
- Küçükosmanoğlu, M., 2006, Breakthroug tekniği ile bazı boyaların katı faz üzerindeki adsorpsiyon davranışlarının incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, 7-19.
- Li, L., Liu, Y., Zhang, Z., Liao, H., Nie, L., Yao, S., 2005, Separation and purification of chlorogenic acid by molecularly imprinted polymer monolithic stationary phase, *Journal of Chromatography A*, 1098, 66-74.
- Lin, C.C., Liu, H.S., 2000. Adsorption in a centrifugal field: Basic dye adsorption by activated carbon, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 39 (1), 161-167.
- Lin, T., Hu, C., Chou, T., 2004, Determination of albumin concentration by MIP-QCM sensor, *Biosensors and Bioelectronics*, 20, 75-81.
- Lu, Y., Foo, L.Y., 1997, Identification and quantification of major polyphenols in apple pomace, *Food Chemistry*, 59 (2), 187-194.

- Macheix, J-J., Fleuriet, A. and Billot, J., 1990, Fruit phenolics, CRC Pres, Boca Raton, FL.
- Madsen, H.L., Betelsen, G., 1995, Spices as antioxidants, *Trends in Food Sci. and Tech.*, 6, 271-277.
- Maier, G., Mayer, P., Dietrich, H. and Wucherpennig, K., 1990, Polyphenoloxidasen und ihre Anwendung bei der Stabisierung von Fruchtsaften, *Flussiges Obst*, 57 (4), 230-239. (Polyphenol oxidases and their application in the stabilization of fruit juices, *Flussiges Obst.*, 56 (4), 249-251).
- Mallik, S., Plunkett, S.D., Dhal, P.K., Johnson, R.D., Pack, D.W., Shnek D.R. ve Arnold, F.H. , 1994, Towards materials for the specific recognition and separation of proteins, *New Journal of Chemistry*, 18, 299-304.
- Mangas, J.J., Suarez, B., Picinelli, A., Moreno, J., Blanco, D., 1997, Differentiation by phenolic profile of apple juices prepared according to two membrane techniques, *J. Agric. Food Chemistry*, 45 (12), 4777-4784.
- Mattila, P., Kumpulainen, J., 2002, Determination of free and total phenolic acids in plant-derived foods by HPLC with diode-array detection, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3660-3667.
- Mccabe, W.L., Smith, J.C. ve Harriott, P., 2001, Unit Operations of Chemical Engineering (6th Edition), *McGraw-Hill*, Singapore.
- Michailof, C., Manesiotis, P., Panayiotou, C., 2008, Synthesis of caffeic acid and p hydroxybenzoic acid molecularly imprinted polymers and their application for the selective extraction of polyphenols from olive mill waste waters, *Journal of Chromatography A*, 1182, 25-33.
- Nizamlioğlu, N.M. ve Nas, S., 2010, Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler, yapıları ve önemleri, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5, 20-35.
- Oflaz, S., Kürkçüoğlu, M., Baser, K.H.C., 2002, Origanum Onites ve Origanum vulgare subsp. hirtum üzerinde farmakognozik araştırmalar, *14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, Bildiriler, 29-31 Mayıs 2002, Eskisehir, ISBN 975-94077-2-8.
- Omar, M, Mullen, W, Stalmach, A, Auger, C, Rounated, J, Teissedere, P, et al., 2012, Absorption, disposition, metabolism and excretion of caffeic acid in rats, *J Agric Food Chem*, 60, 5205–5214.
- Onyeneho, S.N., Hettiarachchy, N.S., 1993, Antioxidant activity fatty acids and phenolic acids of potato peels, *J. Sci. Food and Agric.*, 62, 345-350.
- O'Sullivan, C.K., Guilbault, G.G., 1999, Commercial quartz crystal microbalances Theory and applications, *Biosens. Bioelectron*, 14, 663–670.
- Özer, A., 2004, Adasorpsiyon Kinetikleri Ders Notları, *Mersin Üniversitesi Kimya Bölümü*.

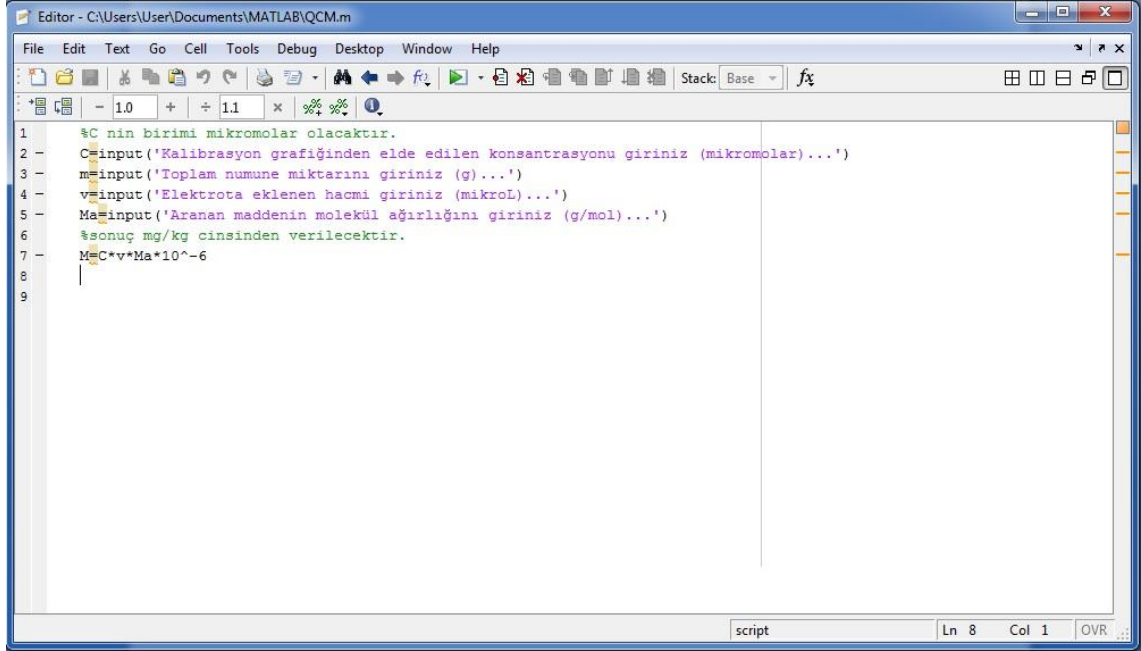
- Pereira, P, Oliveira, P, Ardenghi, P, Rotta, L, Henriques, J, Piccada, J., 2006, Neuropharmacological analysis of caffeic acid in rats, *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 99, 374–378.
- Perez-Magarino, S., Revilla, I., Gonzalez-SanJose, M.L., Beltran, S., 1999, Various applications of liquid chromatography-mass spectrometry to the analysis of phenolic compounds, *Journal of Chromatography A*, 847, 75-81.
- Piacham, T., Josell, A., Arwin, H., Prachayasittikul, V., Ye, L., 2005, Molecularly imprinted polymer thin films on quartz crystal microbalance using a surface bound photo-radical initiator, *Analytica Chimica Acta*, 536, 191-196.
- Piletsky, S. A., Alcock, S., Turner, A.P.F., 2001, Molecular imprinting: at the edge of the third millennium, *Trends Biotechnol.*, 19, 9-12.
- Ralf, L., Carsten, B. ve Peter H., 2000, Gravimetric and non-gravimetric chemical quartz crystal resonators, *Sensors and Actuators B.*, 65, 277-283.
- Ramstrom, O., Ye, L., Mosbach, K., 1996, Artificial antibodies to corticosteroids prepared by molecular imprinting, *Chem. Biol.*, 3, 471-477.
- Rao, T.P., Daniel, S., Gladis, J.M., 2004, Tailored materials for preconcentration or separation of metals by ion-imprinted polymers for solid-phase extraction (IIP-SPE), *Trends. Anal. Chem.*, 23, 28-35.
- Reimhult, K., Yoshimatsu, K., Risveden, K., Chen, S., Ye, L., Krozer, A., 2008, Characterization of QCM sensor surfaces coated with molecularly imprinted nanoparticles, *Biosensors and Bioelectronics*, 23, 1908-1914.
- Robbins, R.J., Bean, S. R., 2004, Development of a quantitative high-performance liquid chromatography-photodiode array detection measurement system for phenolic acids, *Journal of Chromatography A*, 1038, 97-105.
- Rodoplu, D., 2011, Biyosensör uygulamalarına yönelik olarak kuvars kristal mikroterazi yüzeylerin elektro-eğirme yöntemi ile modifikasyonu, *Hacettepe Üniversitesi Nanoteknoloji ve Nanotıp Anabilim Dalı*, 3-14.
- Rommel, A. and Wrolstad, R.E., 1993, Composition of flavonols in red raspberry juice as innuenced by cultivar, processing and environmental factors, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 1941-1950.
- Say, R., Gültekin, A., Özcan, A., Denizli, A., Ersöz, A., 2009, Preparation of new molecularly imprinted quartz crystal microbalance hybride sensor system for 8-hydroxy-2 deoxyguanosine determination, *Analytica Chimica Acta*, 640, 82-86.
- Schmidtlein, H., Hermann, K., 1975, Quantitative analysis for phenolic acids by thin layer chromatography, *Journal of Chromatography A*, 115, 123-128.
- Seader, J.D. ve Henley, E.J., 1998, Separation Process Principles, *John Wiley and Sons, USA*.

- Sellergen, B., Lepistö, M., Mosbach, K., 1988, Highly enantioselective and substrate-selective polymers obtained by molecular imprinting utilizing non-covalent interaction-NMR and chromatographic studies on the nature of recognition, *J. Am. Chem. Soc.*, 110, 5853-5860.
- Shahidi, F., Naczki, M., 1995, Food Phenolics, Chemistry, Effects, Applications, *Technomic*, USA.
- Sondheimer, E., 1958, On the distribution of caffeic acid and the chlorogenic acid isomers in plants, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 74 (1), 131-138.
- Sönmezler, M., 2011, Kuartz kristal mikroterazi (QCM) temelli histidin sensörler, Yüksek Lisans Tezi, *Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, 13-21.
- Sözmen N.N., 2008, Biyomedikal Uygulamalarında Akıllı Polimer Kullanılması ve Karakterizasyon Yönteminin Kuvars Kristal Mikro Dengeleyici Sistemler ile Geliştirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Başkent Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 94.
- Spivak, D. A. ve Shea, K.J., 1998, Binding of Nucleotide Bases by Imprinted Polymers, *Macromolecules*, 31, 2160-2165.
- Srivastava A.K., and Sakthivel P., 2001, Quartz-crystal microbalance study for characterizing atomic oxygen in plasma ash tools, *Vac. Sci. Technol*, 19, 97-100.
- Steinke, J., Sherrington, D. ve Dunkin, I., 1995, Imprinting of Synthetic Polymers Using Molecular Templates, *Adv. Polym. Sci.* 123, 80-125
- Tsao, R., Deng, Z., 2004, Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals, *Journal of Chromatography B*, 812, 85-99.
- Treybal, R.E., 1980, Mass Transfer Operations, *McGraw Hill International Editions*, Singapore.
- Tuncel, N.B. Ve Yılmaz, N., 2010, Kaz Dağları'ndan Toplanan Bazı Bitkilerin Fenolik Asit Kompozisyonlarının Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi ile Belirlenmesi, *Akademik Gıda* 8, 3, 18-23.
- Uçan, M., 2002, Co (II) komplekslerinin Ligand Adsorpsiyonlarının İncelenmesi ve Adsorpsiyon Parametrelerinin Belirlenmesi, Doktora Tezi, *Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.
- Vlatakis, G., Andersson, L.I., Müller, R. ve Mosbach, K., 1993, Drug assay using antibody mimics made by molecular imprinting, *Nature*, 361, 645-647.
- Wang, J., 1997, Remote electrochemical sensors for monitoring inorganic and organic pollutants, *Trends Anal. Chem.*, 16, 84-88.
- Wang, H., Nair, M.G., Strasburg, G.L., Brooren, A.M. and Gray, J.I., 1999, Antioxidant polyphenols from tart cherries (*Prunus cerasus*), *J. Agric. Food chem*, 47, 840-844.

- Wingard, M.R. ve Philips, R.C., 1951, The Effects of Temperature on Extraction Rate, *J. Am. Oil Chemists Society*, 149-152.
- Wulff, G., Vesper W., Grobeeinsler R., Sarhan A., 1977, Enzymeanalogue built polymers: 4. Synthesis of polymers containing chiral cavities and their use for resolution of racemates, *Makromol Chem.*, 178, 2799-2816.
- Yang, Z. and Zhang, C., 2009, Designing of MIP-based QCM sensor for the determination of Cu (II) ions in solution, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 142, 210-215.
- Yao, S.Z., 1997, *Piezoelectric Chemistry and Biosensors*, Hunan Normal University Press.
- Yavuz, H., Karakoc, V., Turkmen, D., Say, R., Denizli A., 2006, Synthesis of cholesterol imprinted polymeric particles, *Int. J. Biol. Macromol.*, 41, 8-15.
- Yoshizako, K., Hosoya, K., Iwakoshi, Y., Kimata, K. ve Tanaka, N., 1998, Porogen imprinting effects, *Anal. Chem.*, 70, 386–389.
- Yu, C., Mosbach, K., 1997, Molecular Imprinting Utilizing an Amide Functional Group for Hydrogen Bonding Leading to Highly Efficient Polymers, *J. Org. Chem.*, 62, 4057-4064.
- Zhong, N., Byun, H.S. ve Bittman, R., 2001, Hydrophilic cholesterol-binding molecular imprinted polymers, *Tetrahedron Letters*, 42, 1839-1841.
- Zhou, W., Tang, S., Yao, Q., Chen, F., Yang, H., Wang, X., 2010, A quartz crystal microbalance sensor based on mussel-inspired molecularly imprinted polymer, *Biosensors and Bioelectronics*, 26, 585–589.
- Zhou, Y., Fang, G., Ye, Y., Chu, L., Zhang, W., Wang, M, et al., 2006, Caffeic acid ameliorates early and delayed brain injuries after focal cerebral ischemia in rats, *Acta Pharmacol Sin*, 27, 1103–1110.
- Zhu, T., Li, S., Row, K.H., 2011, Molecularly imprinted monolithic material for extraction of three organic acids from *Salicornia herbacea* L, *Journal of Applied Polymer Science*, 121, 1691-1696.

EKLER

EK-1 Kafeik asit miktarının hesaplanması için hazırlanan MATLAB programı



The image shows a MATLAB Editor window with the following code:

```
1 %C nin birimi mikromolar olacaktır.  
2 C=input('Kalibrasyon grafiğinden elde edilen konsantrasyonu giriniz (mikromolar)...')  
3 m=input('Toplam numune miktarını giriniz (g)...')  
4 v=input('Elektrota eklenen hacmi giriniz (mikroL)...')  
5 Ma=input('Aranan maddenin molekül ağırlığını giriniz (g/mol)...')  
6 %sonuç mg/kg cinsinden verilecektir.  
7 M=C*v*Ma*10^-6  
8  
9
```

The status bar at the bottom indicates the file is named 'script', the cursor is at line 8, column 1, and the current view is 'OVR'.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Gamze KARANFİL
Uyruğu : TC
Doğum Yeri ve Tarihi : Bursa 02/08/1986
Telefon : 0533 817 74 22
Faks :
e-mail : gamzekaranfil86@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Çınar Lisesi, Osmangazi, BURSA	2004
Üniversite	: Anadolu Üniversitesi, ESKİŞEHİR	2010
Yüksek Lisans	: Selçuk Üniversitesi, KONYA	2013

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
------------	--------------	---------------

UZMANLIK ALANI

Nanosensörler
 Nanomalzeme sentezi

YABANCI DİLLER

İngilize

BİLİMSEL YAYINLAR ve FAALİYETLER

- **Ulusal ve Uluslararası kongre, sempozyum, panel, çalıştay gibi bilimsel, sanatsal toplantılarda poster olarak sunulan ve özet metin olarak yayımlanan bildiri**
- 1. Tevfik Çırpar, Seçkin Akın, **Gamze Karanfil**, Aytaç Gültekin, Savaş Sönmezoğlu “*Determination of optical characteristics of CdS quantum dots-doped CdO thin films*”, **8th Nanoscience and Nanotechnology Conference**, 25 Haziran - 29 Haziran 2012, Ankara-Türkiye. (Poster)
- 2. **Gamze Karanfil**, Tevfik Çırpar, Seçkin Akın, Aytaç Gültekin, Savaş Sönmezoğlu “*Synthesis and optical characterizations of CdS quantum dots, Au and Au+Ag nanoparticles*”, **8th Nanoscience and Nanotechnology Conference**, 25 Haziran - 29 Haziran 2012, Ankara-Türkiye. (Poster)

3. Seçkin Akın, **Gamze Karanfil**, Tefik Çırpar, Aytaç Gültekin, Savaş Sönmezoğlu “*Optical constants of Au nanoparticles-doped TiO₂ thin films by sol-gel spin coating method*”, **8th Nanoscience and Nanotechnology Conference**, 25 Haziran - 29 Haziran 2012, Ankara-Türkiye. (Poster)
4. **Gamze Karanfil**, Seçkin Akın, Aytaç Gültekin, Savaş Sönmezoğlu, Cem Tozlu “*Optical characterizations of CdO-TiO₂ compound thin films*”, **Turkish Physical Society 29 th International Physics Congress**, 05- 08 Eylül 2012, Bodrum (Muğla)-Türkiye. (Sözlü)
5. **Gamze KARANFİL**, Seçkin AKIN, Aytaç GÜLTEKİN, Savaş SÖNMEZOĞLU ‘*Synthesis and Optical Characterizations of Au NPs doped CdO and TiO₂ Thin Films for Solar Cells*’, **2nd Solar Electricity Conference & Exhibition**, 7-9 Kasım 2012, Antalya-Türkiye (Poster)
6. Seçkin AKIN, **Gamze KARANFİL**, Aytaç GÜLTEKİN, Savaş SÖNMEZOĞLU ‘*Synthesis and Surface Characterizations of CdS QDs doped CdO Thin Films for Photovoltaic Devices*’, **2nd Solar Electricity Conference & Exhibition**, 7-9 Kasım 2012, Antalya-Türkiye (Poster)
7. **Gamze KARANFİL**, Aytaç GÜLTEKİN, Mahmut KUŞ, ‘*Kafeik asit için MIP temelli QCM nanosensör hazırlanması*’, Kromatografi 2013, 19-22 Haziran 2013, Bursa-Türkiye (Sözlü)

Sonuçlandırılmış/Devam Eden Araştırma Projeleri

- **Ulusal kuruluşlarca desteklenen projede görev almak**
 1. ‘*Kafeik asit için QCM nanosensör hazırlanması*’, Selçuk Üniversitesi BAP Tez Projesi, **Araştırmacı**.
 2. ‘*Kolik asit için QCM nanosensör hazırlanması*’, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi BAP Projesi, Proje No: 49-M-12, **Araştırmacı**, (Eylül 2012 – Eylül 2013).
 3. ‘*Alaşım CdTeSe kuantum noktalarının sentezi ve karakterizasyonu*’, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi BAP Projesi, Proje No: 14-M-13, **Araştırmacı**, (Haziran 2013 – Haziran 2014).

