

**PROPAKLOR İÇİN MOLEKÜLER BASKILI
POLİMER VE KRİYOJEL KATI FAZ
EKSTRAKSİYON SİSTEMLERİNİN
HAZIRLANMASI VE
ADSORPSİYON KAPASİTELERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

Melike ÖZHAN
Yüksek Lisans Tezi
Eskişehir, 2019

**PROPAKLOR İÇİN MOLEKÜLER BASKILI POLİMER VE KRİYOJEL KATI
FAZ EKSTRAKSİYON SİSTEMLERİNİN HAZIRLANMASI VE
ADSORPSİYON KAPASİTELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Melike ÖZHAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Analitik Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ayça Özcan

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Nisan, 2019

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Melike ÖZHAN'ın “**Propaklor İçin Moleküler Baskılı Polimer ve Kriyojel Katı Faz Ekstraksiyon Sistemlerinin Hazırlanması ve Adsorpsiyon Kapasitelerinin Karşılaştırılması**” başlıklı tezi 19/04/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek “Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği”nin ilgili maddeleri uyarınca, **Kimya** Anabilim dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Unvanı Adı Soyadı

İmza

Üye (Tez Danışmanı)

: Doç. Dr. Ayça ÖZCAN

.....

Üye

: Prof. Dr. Ebru BİRLİK ÖZKÜTÜK

.....

Üye

: Doç. Dr. Sibel EMİR DİLTEMİZ

.....

Prof.Dr. Ersin YÜCEL

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

PROPAKLOR İÇİN MOLEKÜLER BASKILI POLİMER VE KRİYOJEL KATI FAZ EKSTRAKSİYON SİSTEMLERİNİN HAZIRLANMASI VE ADSORPSİYON KAPASİTELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Melike ÖZHAN

Kimya Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Nisan 2019

Danışman: Doç. Dr. Ayça ÖZCAN

Propaklor yaygın olarak kullanılan kloroasetanilid herbisit grubundan bir pestisitir. Kloroasetanilid herbisitler yabancı otların kontrol edilmesinde kullanılmaktadır. Bundan dolayı yer altı su kaynaklarında ve toprak kaynaklarında kirlenmeler meydana gelmektedir. Pestisitlerin uzaklaştırılması ve tayin edilmesinde yüksek afinite, sağlamlık, seçicilik gibi avantajlarından dolayı yaygın olarak MIP tercih edilmektedir. Bu çalışmada, çapraz bağlanmış polimerde propaklor kalıp olarak kullanılmıştır. Kalıp molekül propaklor, fonksiyonel monomer metakrilik asit, çapraz bağlayıcı EDGMA, çözücü hekzadekan ve başlatıcı olarak AIBN kullanılarak MIP sentezi yapılmıştır. Kriyojeller ise adsorpsiyon ve elüsyonun kısa sürede gerçekleşmesi, kısa difüzyon yolu, düşük basınç gibi avantajlı özelliklerinden dolayı ayırma ve saflaştırma için iyi bir alternatiftir. MIP gömülü kriyojel, çapraz bağlayıcı MBAAm, fonksiyonel monomer HEMA ve başlatıcılar olarak APS, TEMED kullanılarak hazırlanmıştır. MIP'in yapısı SEM ve FT-IR, MIP gömülü kriyojelin yapısı ise SEM kullanılarak tanımlanmıştır. MIP için en yüksek adsorpsiyon kapasitesi 30 ppm propaklor kullanıldığında 7,45 mg/g olarak bulunmuştur. MIP gömülü kriyojel için en yüksek adsorpsiyon kapasitesi 30 ppm propaklor kullanıldığında ise 14,38 mg/g olarak bulunmuştur. Bulunan bu değerin, yapılan bu çalışma ve literatürde MIP'in adsorpsiyon kapasitesinden daha yüksek olduğu bulunmuştur. Propaklorun MIP gömülü kriyojele bağlandığında K_d değeri $7.90 \times 10^3 M^{-1}$ ve Q_{max} 26.15 mg/g olarak bulunmuştur. Propaklorun çevresel numunelerdeki adsorpsiyon ve desorpsiyonu için MIP gömülü kriyojel kullanılmıştır. Çevresel numunelerdeki propaklor konsantrasyonu HPLC ile analiz edilmiştir. Yapılan bu çalışmanın amacı; MIP ve kriyojelin avantajlarını birleştirerek propaklorun önderiştirilmesine dair iyi bir kromatografi malzemesi hazırlamaktır.

Anahtar Sözcükler: Propaklor, Moleküler baskılı polimer, Katı faz ekstraksiyonu, Kriyojel

ABSTRACT

PREPARATION OF MOLECULAR PRINTED POLYMER AND CRIOGRAPHIC SOLID PHASE EXTRACTION SYSTEMS AND COMPARISON OF ADSORPTION CAPACITIES FOR PROPAKLOR

Melike ÖZHAN

Department of Chemistry

Anadolu University, Graduate School of Sciences, April 2019

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ayça ÖZCAN

Propaclor is a pesticide of commonly used chloroacetanilide herbicide group. which are used to control weeds. Due to this usage, contamination occurs in underground water and soil resources. MIP were preferred for their advantages like high affinity, selectivity and strength in the removal and determination of pesticides. In this study, propaclor was used as a template in the crosslinked polymer. MIP synthesis is performed using the template molecule propachlor, functional monomer methacrylic acid, crosslinker EDGMA, solvent hexadecane, AIBN as initiator. Cryogels are good alternatives for separation and purification because of their advantages like short diffusion, low pressure, adsorption and elution quickly. MIP embedded cryogels were prepared by using, crosslinkers MBAAm, functional monomer HEMA, APS and TEMED as initiators. The structure of MIP was determined by SEM and FT-IR; MIP embedded cryogel structure was determined by using SEM. The highest adsorption capacity for MIP was 7,45 mg/ g, when 30 ppm propaclor was used and for MIP embedded cryogel was found to be 14,38 mg/g when 30 ppm propachlor was used. It was found that this value is higher than the adsorption capacity of MIP in this study and literature. When propachlor was bound to MIP embedded cryogel, k_d value was found as $7.90 \times 10^3 M^{-1}$ and Q_{max} 26.15 mg/g. MIP embedded cryogels were used for adsorption and desorption of propaclor in environmental samples of which the concentrations was analyzed by HPLC. The study objective is to prepare a good chromatography material for the preconcentration by combining the advantages of MIP and cryogel.

Keywords: Propachlor, molecular imprinted polymer, solid phase extraction, cryogel

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana bilgi ve tecrübesiyle yok gösteren, her konuda yardımcı olan ve beni yönlendiren danışman hocam Sayın Doç. Dr. Ayça ÖZCAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam sırasında bilgi birikiminden yararlandığım ve yardımlarını gördüğüm değerli hocam Sayın Doç. Dr. Ali ÖZCAN'a çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamda bilgi ve birikimi ile beni yönlendiren değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Özlem ÜNLÜER'e çok teşekkür ederim.

Tezimin değerlendirilmesinde jüri üyesi olarak görev alan Sayın Prof. Dr. Ebru BİRLİK ÖZKÜTÜK ve Sayın Doç. Dr. Sibel EMİR DİLTEMİZ'e teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel süreçlerde bana yardımcı olan, destek veren çalışma arkadaşım Semra Özgün KÖSE ve tüm arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Her daim yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini hiç esirgemeyen, sevgilerini ve ilgilerini hep hissettiğim çok değerli aileme,

Ve tez çalışmam sırasında hep yanımda olan, desteğini her zaman hissettiğim, en değerlim Sadettin Ege ARTUN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Melike ÖZHAN

19/04/2019

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

.....

Melike ÖZHAN

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Pestisitler.....	3
2.1.1. Pestisitlerin tarihçesi	3
2.1.2. Pestisitlerin sınıflandırılması	3
2.1.2.1. Formülasyon şekillerine göre sınıflandırma	4
2.1.2.2. Kullanıldıkları zararlı gruba göre sınıflandırma	4
2.1.2.3. Etki şekillerine göre sınıflandırma.....	4
2.1.2.4. Kimyasal yapılarına göre sınıflandırma	4
2.1.3. Pestisitlerin zararları.....	5
2.1.4. Pestisitlerin insan ve çevre sağlığına etkilerini azaltmak için alınması gereken önlemler	6
2.2. Propaklor	6
2.3. Katı Faz Ekstraksiyonu (SPE).....	8
2.4. Moleküler Baskılı Polimerler (MIP)	12

2.4.1. Moleküler baskılama yönteminde bağlanma	13
2.4.1.1. Kovalent baskılama	13
2.4.1.2. Non-Kovalent baskılama	13
2.4.2. Moleküler baskılamada temel bileşenler	14
2.4.3. Moleküler baskılı polimer hazırlama yöntemleri	16
2.4.4. Moleküler baskılı polimer uygulama alanları	18
2.5. Moleküler Baskılı Katı Faz Ekstraksiyon Yöntemi (MISPE)	18
2.6. Kriyojel	19
2.7. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)	21
2.7.1. Hareketli faz	22
2.7.2. Pompa sistemi	23
2.7.3. Numune enjeksiyon sistemi	23
2.7.4. Kolon	23
2.7.5. Dedektör	24
3. MATERYAL VE YÖNTEM	25
3.1. Materyal	25
3.1.1. Kullanılan kimyasallar	25
3.1.2. Kullanılan cihazlar	26
3.2. Metod	27
3.2.1. Propaklor için moleküler baskılı polimerin hazırlanması	27
3.2.2. Kriyojel sentezi	27
3.2.3. MIP ve MIP gömülü kriyojel için karakterizasyon çalışmaları	28
3.2.4. SPE şartlarının optimizasyonu	29
3.2.4.1. MIP için adsorpsiyon koşullarının optimizasyonu	29
3.2.4.2. MIP için desorpsiyon koşullarının optimizasyonu	30
3.2.4.3. Kriyojeller için adsorpsiyon koşullarının optimizasyonu	30
3.2.4.4. Kriyojeller için desorpsiyon koşullarının optimizasyonu	30
3.2.5. Seçiciliğin belirlenmesi	30

3.2.6. MIP ve MIP gömülü kriyojel için tekrar kullanılabilirliğinin belirlenmesi	31
3.2.7. MIP gömülü kriyojel ile gerçek numunelerin incelenmesi	31
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	32
4.1. MIP ve MIP Gömülü Kriyojel İçin Karakterizasyon Çalışmaları.....	32
4.2. SPE Koşullarının Optimizasyonu.....	34
4.2.1. MIP için adsorpsiyon koşullarının optimizasyonu	34
4.2.1.1. Optimum etkileşim süresinin belirlenmesi.....	34
4.2.1.2. Başlangıç derişiminin etkisinin belirlenmesi.....	34
4.2.1.3. pH etkisinin belirlenmesi	35
4.2.2. MIP gömülü kriyojel için adsorpsiyon koşullarının optimizasyonu	36
4.2.2.1. Başlangıç derişimin belirlenmesi.....	36
4.2.2.2. Akış hızının belirlenmesi.....	37
4.2.3. Desorpsiyon koşullarının optimizasyonu.....	38
4.2.3.1. MIP için desorpsiyon koşullarının optimizasyonu	38
4.2.3.2. MIP gömülü kriyojel için desorpsiyon koşullarının optimizasyonu	39
4.3. Propaklor Baskılı Polimer Ve MIP Gömülü Kriyojel İçin Adsorpsiyon İzotermi	39
4.3.1. Langmuir adsorpsiyon izotermi	40
4.3.2. Freundlich adsorpsiyon izotermi.....	41
4.4. MIP Gömülü Kriyojelin Propaklor Bağlanma Etkinliğinin Belirlenmesi .	43
4.5. Tekrar Kullanılabilirliğin Belirlenmesi	44
4.6. Seçiciliğin Belirlenmesi Çalışması	44
4.7. Gerçek Numunelerin MIP Gömülü Kriyojel Önderiştirilmesi	46

5. SONUÇLAR.....	49
KAYNAKÇA.....	51
ÖZGEÇMİŞ	

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. SPE yönteminde sık kullanılan çözücüler	10
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan kimyasallar	25
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan cihazlar	26
Çizelge 4.1. MIP için çözücülerin % desorpsiyon oranı	38
Çizelge 4.2. MIP gömülü kriyojel için çözücülerin % desorpsiyon oranı.....	39
Çizelge 4.3. Su ve mısır numelerinde geri kazanım değerleri.....	48

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Propaklorun kimyasal formülü	7
Şekil 2.2. Propaklor sentezi	7
Şekil 2.3. SPE yöntemi işlem basamakları	9
Şekil 2.4. Moleküler baskılı polimerlerin genel sentezi	12
Şekil 2.5. Moleküler baskılama yöntemi çeşitleri	14
Şekil 2.6. Kriyojel oluşumunun şematik gösterimi. 1.basamakta donma işlemi, 2. basamakta donmuş halde polimerizasyon ve 3. basamakta oda sıcaklığında erime gösterilmiştir	20
Şekil 2.7. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi cihazının şekli	22
Şekil 4.1. Propaklor molekülünün kalıp oluşturulmadan önce ve oluşturulduktan sonra propaklor baskılı polimerin FTIR spektrumları	32
Şekil 4.2. (A) propaklor baskılı polimer, (B) kör kriyojel, (C) MIP gömülü kriyojelin SEM görüntüleri	33
Şekil 4.3. Propaklor adsorpsiyonuna etkileşim süresi etkisi	34
Şekil 4.4. Propaklorun adsorpsiyonuna başlangıç derişiminin etkisi	35
Şekil 4.5. Propaklor adsorpsiyonuna pH etkisi.....	36
Şekil 4.6. MIP gömülü kriyojel için propaklor adsorpsiyonuna başlangıç derişiminin etkisi.....	37
Şekil 4.7. Farklı akış hızlarında propaklor adsorpsiyon kapasitesi	38
Şekil 4.8. MIP için Langmuir izoterm grafiği	40

Şekil 4.9. MIP gömülü kriyojel için Langmuir izoterm grafiği.....	41
Şekil 4.10. MIP için Freundlich izoterm grafiği.....	42
Şekil 4.11. MIP gömülü kriyojel için Freundlich izoterm grafiği	42
Şekil 4.12. MIP gömülü kriyojel için Scatchard grafiği.....	43
Şekil 4.13. MIP gömülü kriyojelin tekrar kullanılabilirliği.....	44
Şekil 4.14. Propaklor baskılı polimer için seçicilik.....	45
Şekil 4.15. Kriyojeller için seçicilik	45
Şekil 4.16. HPLC kalibrasyon grafiği	46
Şekil 4.17. Su numunesi için kromatogramlar	47

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
DDT	: Diklorodifenil trikloroetan
MS	: Kütle spektrometresi
GC	: Gaz kromatografisi
MIP	: Moleküler baskılanmış polimer
SPE	: Katı Faz Ekstraksiyonu
C18	: Oktadesil
C8	: Oktil
μm	: Mikrometre
MISPE	: Moleküler Baskılı Katı Faz Ekstraksiyon Yöntemi
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
mL	: Mililitre
dk	: Dakika
μL	: Mikrolitre
mm	: Milimetre
cm	: Santimetre
MAA	: Metakrilik asit
EGDMA	: Etilen glikol dimetakrilat

AIBN	: Azobisisobütironitril
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
MeOH	: Metanol
mBAAM	: N,N'-Metilenbisakrilamid
HEMA	: Hidroksi etil metakrilat
APS	: Amonyum per sülfat
TEMED	: N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine
FTIR	: Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrofotometresi
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
mmol	: Milimol
μmol	: Mikromol
°C	: Santigrat derece
g	: Gram
nm	: Nanometre
ppm	: Milyonda bir birim
Q	: Adsorpsiyon kapasitesi
RSD	: Bağlı standart sapma

1.GİRİŞ

Dünya nüfusundaki hızlı artışın en büyük problemlerinden biri gıda problemidir. Artan nüfusun ihtiyaçlarını karşılayabilmek için tarımsal üretiminin verimini artırmak gerekir. Bunun için de bilimsel yaklaşımlar ve sürdürülebilir yaklaşımların olması gerekmektedir. Tarımsal verim artışının en etkili yöntemlerinden biri haşere yöntemidir. Pestisitler tarımsal verimliliği artırmak ve ürünleri korumak için önemli bir araçtır [1].

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)' ya göre pestisit tanımı; bitkilerin büyümesini düzenleyen, gıdaların, tarımsal ürünlerin, hayvansal yemlerin üretimi, işlenmesi, taşınması sırasında olumsuz etki yapabilecek her türlü zararlının önlenmesi, kontrol altına alınması, yok edilmesi amacıyla kullanılan maddelerdir [2]. Pestisitleri kimyasal yapılarına göre, etki şekillerine göre, kullanıldıkları zararlılara göre, zararlılara etki şekillerine göre sınıflandırmak mümkündür [3]. Propaklor ise kloroasetanilit herbisit grubundan olan bir pestisittir [4]. Propaklor genellikle mısır, soya fasulyesi gibi çeşitli sebzelerin korunmasında kullanılmaktadır [5]. Propaklorun da diğer pestisitlerde olduğu gibi çevreye, hayvanlara zararı olmaktadır. Zararlı etkilerinden dolayı pestisitlerin uzaklaştırılması ve tayin yöntemi önem taşımaktadır. Bu amaçla kullanılan bazı adsorbanslar; jeller, killer, aktif karbon, modifiye killer ve moleküler baskılanmış polimerlerdir (MIP) [4,6].

Moleküler baskılama yöntemi, ayırma, kimyasal tayin gibi yöntemlerde en uygun malzeme olarak kullanılmaktadır. Moleküler baskılama tekniği kullanılarak hazırlanan sentetik reseptörler, doğal reseptörlere göre yüksek afinite, sağlamlık, düşük maliyet gibi avantajlara sahip olması moleküler baskılama tekniğinin araştırmacılar tarafından ilgi odağı haline gelmesini sağlamıştır [7].

Moleküler baskılanmış polimer (MIP), baskılanacak molekül çevresi ile etkileşim sonucu kalıp olarak davranır ve monomer ile etkileşime girer. Baskılanacak molekülün çevresinde çapraz bağlı monomerler kalıp şeklinde bir tabaka oluşturarak polimerleşirler. Polimerleşme işlemi UV ışınımı ya da ısı kullanılarak başlatılır. Kalıp molekülünün katı polimerden uzaklaşması sonucunda baskılanacak olan moleküle özgü bağlanma bölgeleri oluşur. Moleküler baskılanmış polimerler, yüksek kararlılık ve seçicilik özelliklerinden dolayı çeşitli analitik tekniklerde uygulanmıştır [8,9].

MIP'lerin son yıllarda çoğunlukla kullanıldığı yöntemlerden biri katı faz ekstraksiyonudur. Moleküler baskılı katı faz ekstraksiyon (MISPE) yönteminin

üstünlükleri; ortamdan istenmeyen maddelerin uzaklaştırılması, yüksek seçicilik ve hassasiyet, organik çözücü kullanımında azalmadır [10].

Kriyojeller, monomerik veya polimerik öncüllerin dondurulmuş çözeltilerinde hazırlanan jel matrikstir. Kriyojeller, makro ve süper makro gözeneklere sahiptir. Kriyojeller biyolojik gözenekli maddelerin saflaştırılması ve uzaklaştırılmasında kullanılan çok iyi bir yöntemdir. Fakat kriyojel sahip olduğu geniş gözeneklerden ötürü biyomoleküller için düşük adsorpsiyon kapasitesine sahiptir [11].

Yapılan bu çalışmanın amacı, MIP'ler ve kriyojellerin avantajlarını birleştirerek propaklorun tayin edilmesi çalışmasında matriks etkisini ortadan kaldırmak ve düşük derişimlerde tayininin gerçekleşmesini sağlayacak kromatografi malzemesi hazırlamaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pestisitler

Dünya nüfusunda endişe verici oranda artma meydana gelmektedir. Bu artmaya bağlı olarak gıda üretiminin artmasıyla birlikte toprak, tarım, su gibi birçok kaynaklarda kıtlık görülmeye başlanmıştır. Bu sorunlara çözüm bulabilmek ve tarımsal verimliliği sağlayabilmek açısından böcek ilaçları ve sentetik gübreler geliştirilmiştir. Tüm bu uğraşlara rağmen tarımsal verimlilik ve bitkiler olumsuz etkilenmişlerdir. Pestisit kullanımı bitkileri, yabani otlardan, mantarlardan ve zararlılardan korumak için uygundur. Ancak sentetik ilaçların kontrolsüz kullanımı sonucunda pestisit kirliliği meydana gelmektedir [12].

Pestisitler, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından yapılan tanıma göre; insan ve hayvan rahatsızlıklarını taşıyan canlılar toprak, su, gıda, orman ürünleri gibi birçok kaynakların depolanması, taşınması esnasında istenmeyen zararlara neden olabilecek canlıların etkisini ortadan kaldırmak ve önlem almak amacıyla kullanılan virüs, mikroorganizma veya herhangi madde karışımları olarak tanımlanmaktadır [13].

2.1.1. Pestisitlerin tarihçesi

Pestisitler en eski zamanlardan beri böcek kontrolünde kullanılmıştır. İlk pestisit olarak arsenik ve kükürt kullanılmıştır. 19. yy ortalarında böcekler için temas zehiri çok yüksek olan diklorodifenil trikloroetan (DDT) bulunmuştur. DDT'nin sadece haşere böceklerine etki etmediği, memeliler, kuşlar, sürüngenler gibi birçok organizmaya zararlı olduğu keşfedildiği için kullanılması bırakılmıştır. Daha sonrasında organik fosforlu parathion bulunmuştur ve kullanılmaya başlanmıştır. Tarihteki ilk pestisit yasası ABD tarafından 1947 yılında yürürlüğe konmuştur ve Environmental Protection Agency (EPA) 1970 yılında kurulmuştur [14,15].

2.1.2. Pestisitlerin sınıflandırılması

Pestisitleri birçok farklı şekilde sınıflandırmak mümkündür. Formülasyon şekillerine göre, kullanıldıkları zararlı gruba göre, etki şekillerine göre, kimyasal yapılarına göre olan sınıflandırma türü daha yaygın olarak kullanılmaktadır.

2.1.2.1. Formülasyon şekillerine göre sınıflandırma

- Toz ilaçlar, ıslanabilir ya da suda çözünebilir toz ilaçlar
- Emülsiyon ve solüsyon konsantre ilaçlar
- Yazlık ve kışlık yağlar
- Granüller
- Tabletler
- Toz ve sıvı tohum ilaçları
- Aerosoller
- Zehirli yemler
- Kapsül şekli verilmiş formülasyonlar
- Akıcı konsantreler [16]

2.1.2.2. Kullanıldıkları zararlı gruba göre sınıflandırma

- Herbisitler (yabancı otları öldürenler)
- İnsektisitler (böcekleri öldürenler)
- Fungisitler (mantarları öldürenler)
- Bakterisitler (bakterileri öldürenler)
- Mitisitler (keneleri öldürenler)
- Larvasitler (larvaları öldürenler)
- Nematositler (solucanları öldürenler)
- Akarisitler (örümcekleri öldürenler)
- Mollusitler (salyangozları öldürenler)
- Rodendisitler (kemiricileri öldürenler) [2]

2.1.2.3. Etki şekillerine göre sınıflandırma

Bitkilerde, sistemik olmayanlar, yarı sistemikler ve sistemikler olarak iletim dokularının yardımıyla bitkinin bütün organlarına etki eden pestisitlerdir. Zararlıda, temas, mide, solunum ile zehirlenmeye sebep olurlar [16].

2.1.2.4. Kimyasal Yapılarına Göre Sınıflandırma

- *Organik fosforlu pestisitler:* Etken madde yapısında fosfor atomu bulunan genellikle trister yapıda olan fosforik asit türevleri pestisitlerdir.

Yapılarına göre gaz veya sıvı kromatografisi ile analiz edilirler [15]. Organik fosforlu pestisitler, oral alınımla, cilt emilimi veya solunum ile toksik etkilerini oluşturlar [17].

- *Organik klorlu pestisitler:* Yapılarında karbon, hidrojen ve klor atomu bulunduran pestisit grubudur. Heptaklor, DDT, endrin bu pestisit grubunun başlıca örneklerindendir. Genellikle gaz kromatografisi ile analiz edilmektedirler [15]. Zehirlenme belirtileri ağız, cilt ya da karaciğer ile ortaya çıkmaktadır. Zehirlenmelerin en başlıca sebepleri yanlış kullanımdır. Yaygın olan semptomları, mide bulantısı ve kusmadır. Daha sonrasında korku, heyecan, baş dönmesi şeklinde belirtileri olmaktadır [17].
- *Karbamatlı pestisitler:* Karbamatlı pestisitler, karbamik asit esterleridir. Gaz kromatografisi ile analiz etmek yapısal özelliklerinden dolayı zordur bu yüzden genellikle sıvı kromatografisi ile analiz edilirler [15]. Bu grup pestisitler temas yolu ile etkili olabildikleri gibi sistemik olarak da etki edebilirler. Zehirlenme etkileri organik fosforlu pestisitler ile aynı şekilde olmaktadır [16].
- *Pyrethrum grubu pestisitler:* Son dönemde önem kazanmış olan bu pestisit grubu pyrethrum cinsinde belirli çiçeklerin öğütülmesiyle %1-2 pirethins içeren ekstrakt elde edilir. Doğal piretrumların avantajı, doğada kolay şekilde bozulmaları ve memelilere karşı toksik etkisinin düşük olmasıdır. Dezavantajları, üretiminin devamlı olmasındaki zorluklar ve maliyetinin yüksek olmasıdır [16]. Gaz kromatografisi ile analiz edilirler. Temas ve mide zehiri olarak etki eder ve sinir hücrelerinin çalışmasını durdurarak etkilerini gösterir [15].

2.1.3. Pestisitlerin zararları

Zirai kimyasalların ve pestisitlerin tarım sektöründe popüler olmasının birçok nedeni bulunmaktadır. Pestisitlerin, zararlılara karşı etkili bir şekilde kontrol sağlaması, iş gücü ve enerji kullanımını azaltması, yaşam kalitesinin artması gibi etkenler bu nedenler arasındadır. Ancak son zamanlarda tarımda bu verim artışını sürdürmekte zorluklar yaşanmaktadır. Pestisitlerin çevreye kontrolsüz bırakılması, seçici olmayan davranış sergilenmesi, sudaki düşük çözünürlük gibi problemler verim artışını

engellemektedir ve ekosistemde kirlenmeye neden olmaktadır. Çevre uygulamasında pestisitlerin yalnızca %0,1'nin hedef zararlıya ulaştığı, %99,9 'nün ise çevreye sızdığı kabul edilmektedir [12]. Pestisitler çevreye birçok yol ile yayılabilir. Pestisitler, güneş ışığı yardımıyla suda biyokimyasal ya da kimyasal reaksiyonlar ile bozulabilir ve toprak parçaları tarafından adsorbe edilebilir. Aşındırıcı toprak, hareket ederek bozunmuş pestisitleri başka yere taşıyabilir. Ya da sıvı fazda çözünmüş olarak kalarak toprağın içerisinde yer altı sularına sızabilmektedir. Ayrıca pestisitler hava yolu ile de yayılım gösterirler [18].

Pestisitler, insanlara ağız yolu, deri yolu, solunum yolu ile etki etmektedir. Genellikle pestisit zehirlenmelerinin en önemli nedenleri; pestisitlere aşırı maruz kalma ve pestisitlerin yanlış uygulanmasıdır [12].

Pestisitlerin canlılar üzerinde etkili olduğu başlıca sağlık sorunları şunlardır: obezite, nörolojik sorunlar, kanser, doğum esnasında meydana gelen sorunlar, kemik iliği ve sinir bozuklukları, kısırlık ve solunum yolu hastalıklarıdır [12,14].

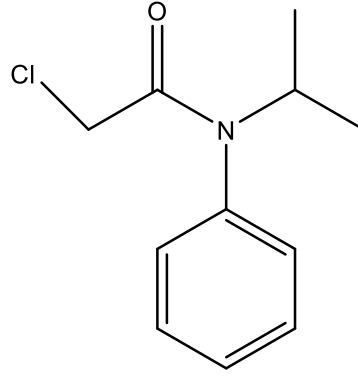
2.1.4. Pestisitlerin insan ve çevre sağlığına etkilerini azaltmak için alınması gereken önlemler

- Pestisit kullanımını ölçmeyi sağlayan göstergelerin belirlenmesi ve gerekli yasaların çıkartılması [19]
- Pestisit kullanıcılarının eğitimi zorunlu hale getirilmesi
- Pestisit kullanımı sırasında gerekli ekipmanların kullanılması
- İlaçlama sırasında kullanılan ekipmanların imha edilmesi
- İlaçlama zamanı hava koşullarına dikkat edilmeli ve arı üreticilerine haber verilmesi
- Her pestisit için LD 50 dozu açıkça yazılması
- Kalıcı kirliliğe neden olan pestisit türlerinin yasaklanması
- Gereksiz tekrar ve aşırı doz ilaçlamadan kaçınılması gerekmektedir [20].

2.2. Propaklor

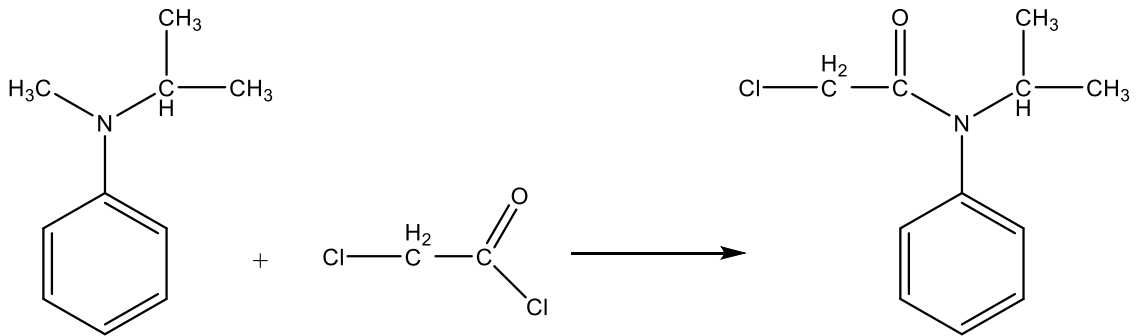
Propaklor (2-kloro-N-(1-metiletil)-N-fenilasetamit), tarımsal alanda geniş yapraklı yabancı otlar gibi istenmeyen otların büyümesi engellemek amacıyla kullanılan kloroasetanilit herbisit grubunda olan bir pestisittir. Alaklor ve metolaklor en yaygın

kullanılan çeşitleridir. Bunlardan sonra en yaygın olarak kullanılan propaklordur [21,22]. Bu herbisit çeşitlerinin fazla miktarda uygulanmasından dolayı toprakta ve yer altı suları kirlenmesinde önemli derecede bir artış meydana gelmektedir [6].



Şekil 2.1. Propaklorun kimyasal formülü

Asetanilit herbisitler, çoğunlukla ışık ile ayrışmaya veya bozunmaya karşı direnç gösterirler, pH'in nötr olduğu durumlarda kimyasal olarak kararlıdır, uçucu değildir. Propaklorun, aerobik solunumda mineralizasyona uğradığı görülmüştür. Anaerobik solunum sırasında ise molekülün toprakta hareketliliğinin ve polaritenin azalması ile sonuçlanan indirgeyici klorosuzlaştırmaya maruz kaldığı görülmüştür [23].



Şekil 2.2. Propaklor sentezi

Çevre ortamlarında ve gıdalarda bulunan propaklor kalıntılarının tespit amacıyla birçok analitik yöntem geliştirilmiştir. Kütle spektrometresi (MS), gaz kromatografisi

(GC) gibi yöntemler oluşturulmuştur. Son dönemlerde ise moleküler baskılama tekniği kimyasalların düşük miktarlarıyla çalışmaya uygunluğu ve seçici moleküler tanıma özelliklerine sahip olması ile ön plana çıkmıştır. Moleküler baskılanmış polimerler (MIP) bazı klasik yöntemler ile hazırlandığı zaman derinde gömülü tanıma alanları ve moleküle zayıf alana ulaşmasını sağlayan düzensiz şekil gibi dezavantajlara sahip olmaktadır. Bu problemleri çözebilmek için hedef molekül ve tanıma alanları arasında kütle transferinin geliştirilmesi için yüzey moleküler baskılama tekniği geliştirilmiştir [4].

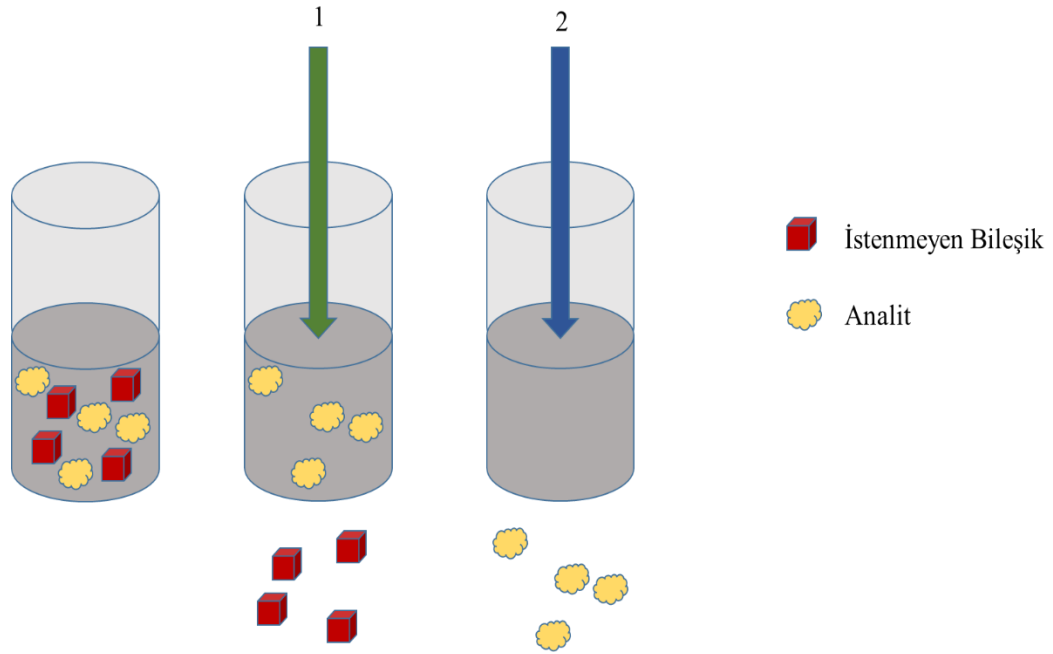
2.3. Katı Faz Ekstraksiyonu (SPE)

Kimyasal analizi yapılacak olan gıda numuneleri, biyolojik numuneler ve çevre numuneleri gibi birçok numuneler aranan madde haricinde farklı bileşenin olduğu karışık matriks içermektedirler. Bu istenmeyen maddelerin uzaklaştırılması için uygulanması gereken önemli bir adım, örnek hazırlamadır. Örnek hazırlamada kullanılan yöntemlerden birisi sıvı-sıvı ekstraksiyonudur. Ancak sıvı-sıvı ekstraksiyon yönteminin fazla zaman alması, yüksek maliyetli olması, fazla organik çözücü harcanması, bu çözücülerin çevre kirliliğine neden olması ve çalışması zor olmasından dolayı yeni yöntemler araştırılmaya başlanmıştır. 1970'li yılların ortalarına gelindiğinde katı faz ekstraksiyon (SPE) metodu kullanılmaya başlanmıştır. 1980'li yılların sonu ve 1990'lı yıllarda giderek yaygınlaşarak günümüzde kullanılan vazgeçilmez bir saflaştırma ve ayırma metodu olmuştur [24,25].

Katı faz ekstraksiyonu, sıvı bir numunenin bir sorbentin içinden geçirildiği tekniktir. Temelinde tek kullanımlık ve küçük olan ekstraksiyon kolon ve disklerine bazı tutucu maddelerin doldurulması, sıvı örneklerini istenmeyen bileşenlerden yoğunlaştırma, temizleme ve daha sonraki analiz aşamaları için örnek matriks yapısının değiştirilmesi amacıyla hazırlanmış kolon ve disklerden geçirilmesine dayanmaktadır [24].

Bu yöntemde kolondan geçirilme esnasında tutucu madde ile örnek moleküller arasında bir etkileşim meydana gelmektedir. Bu etkileşim sayesinde maddelerin ayrılması üç yol ile gerçekleşir. Birinci adımda, analizi yapılacak olan bileşik kolon içerisinde tutucu maddeye bağlanmış tutunurken istenmeyen bileşenler bu madde ile etkileşime girmezler. İstenmeyen bileşenler uygun yıkama çözeltisi kullanılarak

uzaklaştırılır ve yine uygun bir çözelti yardımı ile analizi yapılacak olan bileşen tutucu maddeden çözdürülerek alınmaktadır. İkinci adım daha az sıklıkla tercih edilmektedir ve tutucu madde ile istenmeyen bileşenler etki halindedir. Burada istenmeyen bileşenler tutucu madde tarafından bağlanmıştır ve esas aranan madde tutucu madde ile etkileşime girmediğinden uygun çözelti sayesinde çözdürülerek toplanır. Üçüncü yöntemde, numunede olan tüm türler kolonda tutulur ve uygun bir ayırma reaktifi ile sadece hedef madde ayrılır [26]. SPE yönteminin işlem basamakları şematik olarak Şekil 2.3’de verilmiştir.



Şekil 2.3. SPE yöntemi işlem basamakları

SPE yönteminde çözücüler ve tutucu maddeler ayrılma işlemi için oldukça önemlidir [27]. SPE metodunda çoğunlukla kullanılan çözücüler Çizelge 21.’de verilmiştir.

Çizelge 2.1. SPE yönteminde sık kullanılan çözücüler [27]

Polarite	Çözücü	Suyla Karışabilme
Nonpolar	Hekzan	Hayır
	Izooktan	Hayır
	Petrol eteri	Hayır
	Sikloheksan	Hayır
	Karbon tetraklorür	Hayır
	Kloroform	Hayır
	Metilen klorür	Hayır
	Tetraflüroren	Evet
	Dietil eter	Hayır
	Etil asetat	Zayıf
	Aseton	Evet
	Asetonitril	Evet
	Isopropanol	Evet
	Metanol	Evet
	Su	Evet
	Asetik asit	Evet
Polar		

SPE yönteminde kullanılan başlıca ayırma mekanizmaları şu şekildedir:

- *Ters faz:* Ters faz ayrılımların amacı, polar olmayan türleri daha polar olan numune matrisinden ayırmaktır. Bu teknikte en fazla kullanılan maddeler, oktadesil (C18), oktil (C8), bütül, fenil, siyano gibi maddelerdir [27].

- *Normal faz:* Normal faz ayrılmalarının amacı polar olmayan matrislerden polar bileşiklerin ayrılmasıdır [27]. Silika bu teknikte en çok kullanılan maddedir. Pestisitler için en uygun tutucu madde florosildir [24].
- *İyon değişimi:* Bu yöntem yüklü bileşikler için kullanılmaktadır. Amacı, iki molekül arasında iyonların karşılıklı değişmesine ve asit, bazların matristen elde edilmesidir [24]. Bu yöntemde, kolondan geçiş hızı, pH, iyonik kuvvet, zıt yüklü olma gibi faktörler önemlidir [27].
- *Moleküler eleme:* Bu yöntemde gözenekli maddeler örnek çözelti içerisinde bulunan maddelerin molekül büyüklüğüne göre ayrılmasına olanak sağlar [24].
- *Afinite:* Moleküler tanıma işlemi, SPE için oldukça spesifikdir. Aynı zamanda yüksek seçicilikte adsorbanların sentezlenmesi için kullanılmaktadır. Aptamerler, immünosorbentler, MIP'ler afinite mekanizmasında adsorbanlar olarak kullanılmaktadırlar. Aptamerler, hedef molekül ile yüksek bağlanma özelliğine sahip, tek iplikli, sentetik kısa oligonükleotittir. Düşük maliyet, sentez kolaylığı, yüksek seçicilik ve bağlanma afinitesi, iyi stabilite, kolay kontrol edilebilir olmalarından dolayı numune hazırlama tekniklerinde önemli sorbentlerdir. Küçük moleküllerden proteinlere, hücrelere ve dokulara kadar uzanan spesifik analitleri tanımak için çok çeşitli uygulama alanlarında kullanılırlar. İmmünosorbentler, doğal antikor olarak kullanılan ve yüksek moleküler seçicilik sağlayan SPE sorbentleridir. Yüksek seçicilik özelliğinden dolayı, hedef analiti numuneden tek seferde ayırabilmektedirler. MIP'ler ise, tanıma özelliklerine sahip sentetik polimerler üretmek için kullanılan bir yöntemdir. Moleküler baskı teknolojisi, şablon ve fonksiyonel monomer arasında kompleks bir oluşuma dayanmaktadır. Üç boyutlu bir polimer ağı oluşturmak için fazla miktarda çapraz bağlayıcı gerekir. MIP'lerin hedef molekülü tanınması için H bağı, iyonik kuvvet, dipol-dipol etkileşimi gibi moleküller arası meydana gelen etkileşimler sayesinde olmaktadır [28].

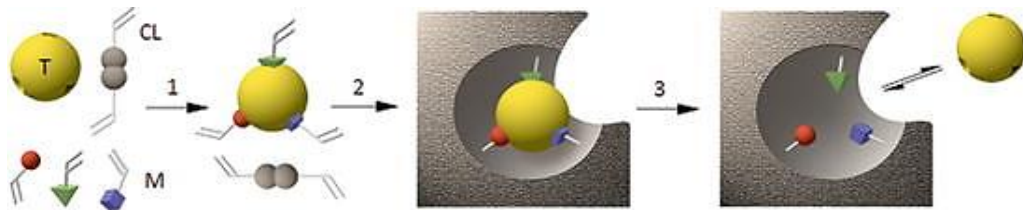
SPE yönteminin diğer yöntemler ve sıvı-sıvı, çözücü kullanımı ve zaman azalır, geri kazanım yüksektir, daha geniş kullanım alanına sahiptir ve yüksek doğrulukta sonuçlar elde edilmesine olanak sağlar [26,27,29].

2.4. Moleküler Baskılı Polimerler (MIP)

Moleküler baskılama kavramı ilk defa 1894 yılında Fischer' in "Anahtar-Kilit" modelini yani enzim-substrat etkileşimini ortaya çıkarmasıyla birlikte başlamıştır [30]. 1930'lu yıllara gelindiğinde Polyakov tarafından, sodyum silikat çözeltisinin asitlendirilmesi ve jelimsi silika polimerinin kurumasıyla sert matriks elde edilmesi ve kuruma süresi boyunca gözenek yapısına benzen, toluen ve ksilen gibi maddelerin etkisi ortaya konmuştur [31].

Moleküler baskılanmış polimerler (MIP), monomer, çapraz bağlayıcı ve kalıp moleküllerin polimerizasyonu ile elde edilir. İlk olarak baskılanacak molekül çevresiyle etkileşen bir kalıp olarak davranır. Baskılanacak molekül ile monomerler etkileşime girer. Çapraz bağlı monomerler baskılanacak molekül çevresinde düzenlenir. Bunlar kalıp benzeri bir tabaka oluşturarak polimerleşirler. Katı polimerden kalıp molekül uzaklaştırılıp baskılanacak moleküle uygun özel bağlanma bölgeleri oluşur [32]. Şekil 2.4'de moleküler baskılı polimerlerin genel sentezi verilmiştir.

Moleküler baskılama yönteminin, hazırlanmaları kolay, uygun fiyatlı, çok çeşitli deney koşulları, çözücüler üzerinde iyi bir kimyasal ve fiziksel stabilite gibi pek çok avantajı bulunmaktadır [33,34].



Şekil 2.4. Moleküler baskılı polimerlerin genel sentezi

Şekil 2.4'de (T) kalıp molekül, (M) fonksiyonel monomerler, (CL) çapraz bağlayıcı. (1) molekül ile monomer kompleks oluşturur. (2) kompleks yapı monomer üzerinden polimerleşir. (3) polimerizasyon gerçekleştikten sonra baskılanan molekül

yıkama işlemiyle polimerik yapıdan uzaklaştırılır. Geriye hedef molekülü spesifik olarak tanıyan ve baskılanmış bağlanma bölgelerine sahip bir polimer kalır [35].

2.4.1. Moleküler baskılama yönteminde bağlanma

Moleküler baskılama yönteminde ilk basamakta gerçekleşen baskılanacak molekül ile fonksiyonel monomerler arasındaki bağlanma kovalent ya da nonkovalent etkileşimlerle gerçekleşmektedir.

2.4.1.1. Kovalent baskılama

Kovalent baskılama yönteminde, polimerizasyon işlemi gerçekleşmeden önce baskılanacak molekül ile fonksiyonel monomer birbirlerine kovalent bağ ile bağlanmıştır. Polimerizasyon işlemi gerçekleştikten sonra kovalent bağlar kırılarak kalıp oluşturmak için polimerden uzaklaşır. Kalıp molekül ile baskılanacak polimer etkileştiğinde aynı kovalent bağ tekrardan oluşur [31,36].

Bu yöntemin üstünlüğü, oldukça kararlı olması ve polimerizasyon işleminin yüksek sıcaklık, düşük ya da yüksek pH' da gerçekleşebilmesidir [37].

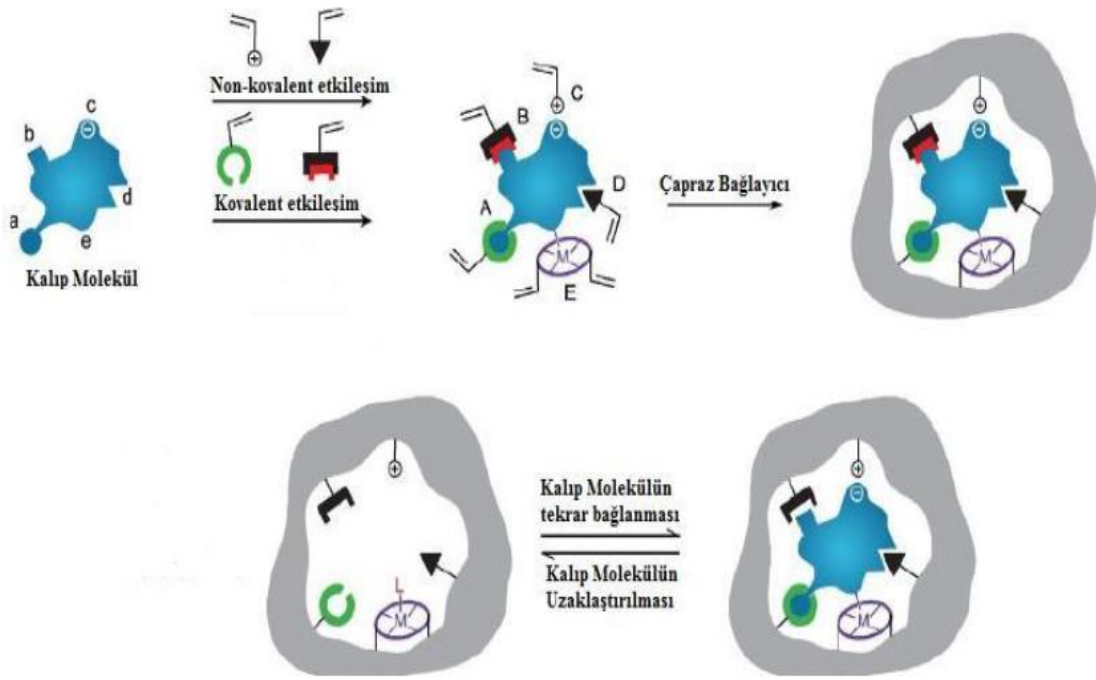
Bu yöntemin dezavantajı çok fazla olduğundan dolayı sık kullanılmamaktadır. Ekonomik olarak uygun değildir ve zayıf kromatografik sonuçlar elde edildiğinden dolayı fazla tercih edilmemektedir [36].

2.4.1.2. Non-Kovalent baskılama

Non-kovalent baskılama yöntemi yaygın olarak kullanılmaktadır. Uygulanmasının kolay olması, çok sayıda baskılanacak molekül ile etkileşime giren fonksiyonel monomer olması nedeniyle daha çok tercih edilmektedir. Bu baskılama yönteminde, baskılanacak molekül ile fonksiyonel monomerin bağlanması non-kovalent etkileşimler (hidrojen bağları, koordinasyon bağ oluşumu, iyonik bağlar gibi) ile olmaktadır. Polimerizasyon işleminden sonra baskılanacak molekül uygun çözücüler yardımıyla polimerden uzaklaştırılır. Non-kovalent etkileşim ile baskılanacak molekül ve polimerler birbirine bağlanır [35].

Non-kovalent baskılama yöntemi, kalıp molekülün polimerden kolay uzaklaştırılması ve kalıp molekülün bağlanma kinetiğinin hızlı olması gibi birçok

avantajının yanı sıra polimerde bağlanma bölgelerinin heterojen olması bunun da baskılanacak molekülün zayıf moleküller tanınması ve kromatografide kullanıldığında pik genişlemesine neden olması gibi dezavantajları bulunmaktadır [38].



Şekil 2.5. Moleküler baskılama yöntemi çeşitleri [39]

2.4.2. Moleküler baskılamada temel bileşenler

Moleküler baskılı polimer hazırlamada polimerizasyon işleminin bileşenleri, kalıp molekül, fonksiyonel monomer, çapraz bağlayıcı ve uygun bir çözücüdür.

Moleküler baskılama yönteminin başarısı açısından kalıp molekül önemli bir yere sahiptir. Kalıp molekülü seçimi esnasında dikkat edilecek hususlar şu şekildedir; polimerizasyon şartlarında kimyasal kararlı olması, polimerizasyonu önlemeye neden olacak gruplar içermemesi ve monomerlerle uyum sağlayacak fonksiyonel grup içermesidir [31,40].

Moleküler baskılama yönteminde fonksiyonel monomerin kimyasal yapısı oldukça önemlidir. Baskılama işleminde monomer, non-kovalent ve kovalent etkileşimler sayesinde baskılanacak molekül ile kompleks oluşumunu sağlayan fonksiyonel gruplar oluşturur. Baskılanacak molekül ve monomer etkileşimin kuvveti,

MIP'in bağlanma özelliğini, tanıma bölgelerinin en iyi seçilmesi ve seçici olması gibi özellikleri belirler. Bu etkileşimin güçlü olması daha fazla tanıma bölgelerine sahip olunmasına ve kompleksin daha kararlı olmasına sebep olur. Fonksiyonel monomer seçimi bu nedenlerden ötürü oldukça önem taşımaktadır [41].

Non-kovalent etkileşimde, baskılanacak molekül ve fonksiyonel monomer arasında oluşan kompleks iyonik bağlar, hidrojen bağları, Van der Waals kuvvetleri, hidrofobik etki gibi etkileşimlerden meydana gelmektedir. Baskılanacak molekül ile fonksiyonel monomer arasındaki etkileşimi denge tarafından yönetilir ve bu etkileşimi artırmak için fazla oranda fonksiyonel monomer kullanılması gerekir. (1:4 veya üzerinde baskılanacak molekül / fonksiyonel monomer oranı olabilir) [35].

Son zamanlarda moleküler baskılı polimerler ile ilgili yapılan çalışmalarda non-kovalent etkileşimler ile vinil grubuna sahip çapraz ve fonksiyonel monomerlerin radikal polimerizasyonu kullanılarak sentezlenen polimerler elde edilmektedir. Bu malzemelerin kolay olarak sağlanması ve hızlı bir şekilde sentezlenebilmesinde monomer seçimi önemlidir. Yaygın olarak kullanılan fonksiyonel monomer örnekleri; asidik olarak metakrilik asit, bazik olarak vinil pirdin, nötral olarak metakrilamid ve striendir [35].

Moleküler baskılı polimerde çapraz bağlayıcının üç önemli özelliği vardır:

- Polimer matrisin yapısını kontrol etmek
- Bağlanma merkezlerinin kararlı olmasını sağlamak
- Polimer matrisin kararlı olmasını sağlamaktır [30,42].

Moleküler baskılı polimer sentezlenirken çapraz bağlayıcı oranının %80'den fazla olmaması önemlidir. Çapraz bağlayıcı az miktarda olduğu zaman baskılı polimerlerin boşluk yapısı kararlı olmaz ve tanıma kabiliyetleri azalır. Çapraz bağlayıcı miktarı fazla olduğunda ise, tanıma bölgeleri ve fonksiyonel monomer sayısında azalma görülür [41,43].

Yaygın olarak kullanılan çapraz bağlayıcı çeşitleri: etilen glikol dimetakrilat (EGDMA), N,N'- Etilen bis metakrilamid, p – divinilbenzen (DVB) gibi [30].

Çözücü önemli ajanlardan biridir. Fonksiyonel monomer, baskılanacak molekül, çapraz bağlayıcı ve başlatıcının tek bir fazda toplanmasını sağlar. Diğer bir önemli özelliği ise, gözenekli yapı oluşumunu sağladığından dolayı makro gözenekli yapılar elde edilmesini sağlar. Polimerizasyon işlemi gerçekleşirken çözücü polimer içerisine

girer ve yıkama işlemi ile uzaklaştırılır. Ve polimer yapıda gözenekler oluşur. Çözücünün özellikleri, makro gözenekli polimerik yapı oluşumunda toplam gözenek hacmi ve polimerin yapısının kontrol edilmesinde kullanılır [44,45].

Çözücünün non-kovalet baskılanmış polimerlerde fonksiyonel monomer ve hedef molekül arasında önemli etkileri bulunmaktadır. Çözücünün baskılanmış polimerde yüksek çözünürlüğe sahip olmasının yanı sıra fonksiyonel monomer ve hedef molekülün arasındaki etkileşime de destek sağlamalıdır. Polar çözücüler fonksiyonel monomer ve hedef molekül arasında gerçekleşmesi gereken etkileşimi azaltabilir ve hidrojen bağlarının oluşumuna etki ederek polimerin tanınmasını azaltacaktır. Bu sebeplerden ötürü düşük dielektrik sabitli çözücüler, benzen, toluen, ksilen, metilen klorür, kloroform kullanımı daha çok tercih edilmektedir [41].

Başlatıcı olarak ise reaksiyon türlerine göre farklı başlatıcı çeşitleri kullanılabilir. Fakat başlatıcıda olması gereken en önemli özellik aktif olmasıdır. En yaygın olarak kullanılan başlatıcı çeşitleri; azobisbutironitril (AIBN), azobisdimetilvaleronitril, dimetilasetal benzil, benzoil peroksit, 4,4'-azo(4-siyanovalerik asit) [30,46].

2.4.3. Moleküler baskılı polimer hazırlama yöntemleri

Moleküler baskılı polimerler hazırlamak için çeşitli polimerizasyon teknikleri bulunmaktadır.

- *Çökeltme Polimerizasyonu:* küresel parçacıkları elde etmek amacıyla kullanılan en yaygın yöntemdir. Bu yöntemin temel prensibi, çözelti içerisinde büyümekte olan polimerik zincirler fazla miktarda kütleye ulaştığı zaman çözücüden çökmesine dayanmaktadır ve çok miktarda çözücü kullanılması gerekmektedir [47].
- *Süspansiyon Polimerizasyonu:* bu yöntem monomerin, monomer ile karışmayan bir sıvı içerisinde dağılıp asılı kalmasıdır. Bu sıvı genellikle sudur. Monomer / su oranı 1/4 ya da 1/1 olması gerekmektedir. Yöntemde stabilizör adı verilen kimyasallar katılmaktadır. Bunun amacı, oluşan polimer parçacıklarının birbirine yapışmaması ve süspansiyonun kararlı olmasıdır. Ayrıca mekanik karıştırma yöntemi ile de parçacıkların birbirine yapışması engellenebilmektedir. Polimerizasyon yönteminde başlatıcı olarak organik fazda çözünen başlatıcılar kullanılmaktadır. Isı

aktarımı ve sıcaklık kontrolünün olması, organik çözücü kullanılmaması yöntemin avantajlarından. Ortamda bulunan maddelerin neden olduğu polimer kirlenmesi, kesikli üretime daha uygun olması ve yan işlemler gerektirdiğinden dolayı ekonomik olarak pahalı olması yönünden dezavantajlıdır. Metal iyonları, proteinler ve ilaç sentezlenmesi için uygun bir polimerizasyon yöntemidir [48,49].

- *Yığın Polimerizasyonu:* en sık kullanılan yöntemdir. Bu polimerizasyon işleminde monomer içerisine uygun başlatıcı ilavesinden sonra belirli basınç ve sıcaklıkta polimerleştirilir. En önemli özelliği de oldukça saf polimerler üretilmesidir. Parçacık boyutu 25-50µm istenildiğinde öğütme ve eleme işlemlerinden geçirilmesi gerekmektedir. Ancak öğütme ve eleme işleminden dolayı heterojenik bağlanma bölgeleri değişkenlik gösterir ve düzensiz şekil oluşumuna sebep olur. Düzensiz şekiller HPLC kolonlarında akış problemlerine sebep olur. Ayrıca ısı kontrolünün zor olmasından dolayı etkili bir yöntem değildir [30,46].
- *Emülsiyon Polimerizasyonu:* bu yöntem, suyun içerisinde çok ince bir şekilde dağıtılmış olan monomerlerin emülgatörler yardımı ile polimerleştirilmesidir. Emülgatörler suda çözüldükten sonra suyu seven kısımları içe dönük olarak yan yana top şeklinde dizilmektedirler. Bunlara misel adı verilir. Başlatıcı moleküllerin sulu fazda çözünür ve eklenen emülgatör monomer damlacıklarını ve misellerini standart hale getirir. Monomer molekülleri, başlatılacak olan misellerden sulu faz yönünde harekete geçer ardından monomer damlacıkları miselin içine girerek polimerleşme meydana gelir. Bu işlem sonunda oluşan polimer tanecikleri çok ince haldedir. Diğer yöntemlere göre daha fazla katkı maddesi ilavesinden dolayı kirlenme olması dezavantajlarından [50].
- *Dispersiyon polimerizasyonu:* moleküler baskılı polimer hazırlamada en az kullanılan yöntemdir. Modifiye edilmiş çökelme polimerizasyonu olarak da adlandırılır. Bu yöntemde 1-10 µm boyutlarında küresel polimer tanecikleri elde edilebilmektedir. Monomer faz, dağılma fazında çözünmekteyken oluşan polimer dağılma fazında çözünmemektedir [51].

Bunların dışında, kimyasal aşılama, şişme polimerizasyonu, kılcal elektrokromatografi gibi yöntemler de bulunmaktadır.

2.4.4. Moleküler baskılı polimer uygulama alanları

MIP'ler yüksek seçicilik, düşük maliyet, hazırlama kolaylığı, fiziksel ve kimyasal koşullarda yüksek kararlılık, yeniden kullanılabilirliği gibi birçok avantaja sahiptir. Kromatografi, katı faz ekstraksiyonu, elektrokimyasal sensörlerin geliştirilmesi, ilaç salınımı, saflaştırma, biyolojik antikorlar ve yapay reseptörlerin geliştirilmesi gibi birçok alanda kullanımı söz konusudur [9,52].

2.5. Moleküler Baskılı Katı Faz Ekstraksiyon Yöntemi (MISPE)

Bir kimyasal analizde en önemli aşamalardan biri numune hazırlamadır. Uygun yöntemlerle hazırlanmış bir numune hazırlamada çok düşük konsantrasyonlarda bile olan bileşikler belirlenebilir. Katı faz ekstraksiyon yöntemi basitliği, verimliliğinin ve geri kazanımının yüksek olması gibi nedenlerden dolayı numunenin hazırlanması ve saflaştırılmasında büyük rol oynamıştır. SPE'de kullanılan adsorbanlar (C18, C8, Silika gibi kolonlar) düşük seçiciliğe ve saflaştırmaya neden olmaktadır. SPE'nin bu eksiklerinden dolayı, yüksek seçicilik, kararlılık, kolay hazırlanma gibi daha fazla avantaja sahip olan MIP'ler yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. MIP'ler son yıllarda katı faz ekstraksiyon yönteminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Çevresel, gıda ve klinik analizlerinde kullanımı artmaktadır [53–56].

Bu yöntemin avantajları; ortamda bulunan istenmeyen bileşiklerin uzaklaştırılması, organik çözücü tüketiminin azaltılması, yüksek seçicilik ve hassasiyettir. Dezavantajları; non-kovalent baskılama tekniği ile hazırlanmış MIP'lerin spesifik olmayan bağlanmalar sebebiyle bağlanma bölgelerinde verimin düşmesi ve fazla miktarda fonksiyonel monomer kullanılmasıdır [57,58].

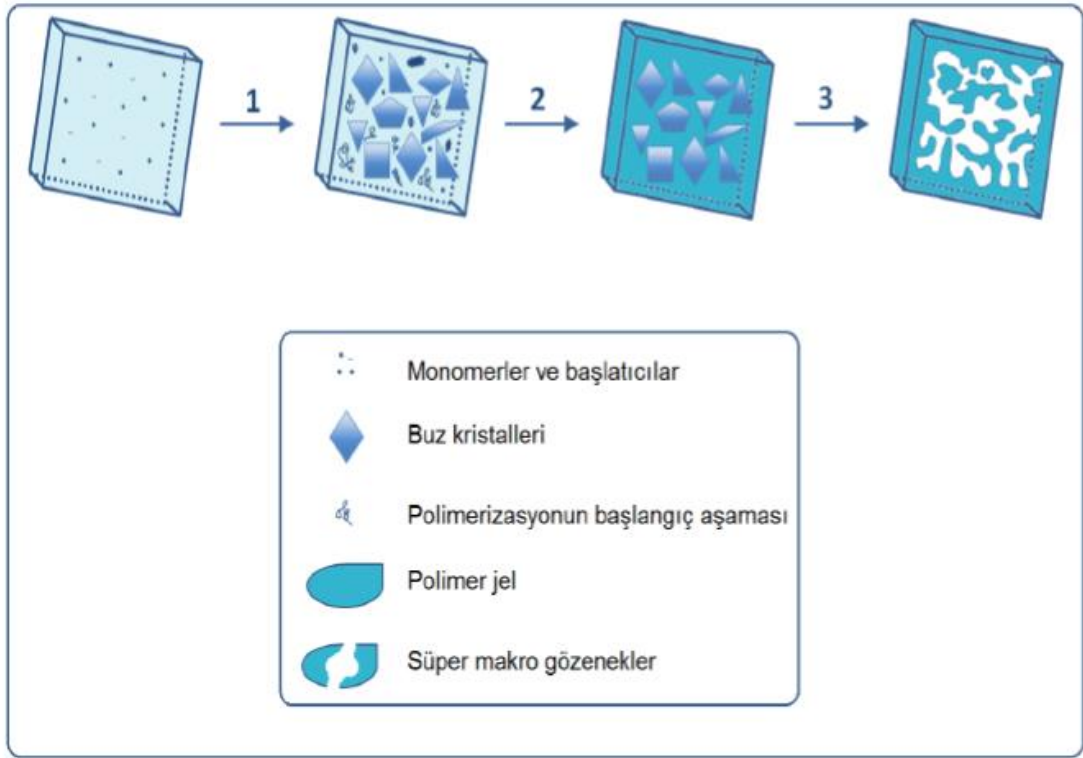
MISPE yönteminin aşamaları SPE yönteminin aşamalarından farklı değildir. Şartlandırma, numune yüklenmesi, yıkama ve elüsyon olmak üzere 4 adımdan oluşmaktadır. İlk olarak kalıp molekülü içeren karışıma spesifik hazırlanan polimeri bulunduran karışım eklenir. Ardından polimerde bulunan spesifik boşluklara kalıp molekülü bağlanır ve uygun çözücüde yıkanır. Polimerden kalıp molekülün elüe olmasının ardından seçilen uygun analitik yöntem ile tayin edilir. Son olarak, online MISPE diğer cihazlar ile birleşerek gerçek örneklerdeki bileşikleri karmaşık olan matrikslerinden hızlı bir şekilde analiz etmektedir [59,60].

2.6. Kriyojel

Hidrojeller, fazla miktarda su tutabilen, kimyasal veya fiziksel yollar ile çapraz bağlanmış üç boyutlu aė yapısında bileşiklerdir. Hidrojeller, doku mühendisliği, veterinerlik, ziraat, tekstil gibi sektörlerde; kontak lens, ilaç salınımı, nem tutucu gibi kullanılabilmektedir [61,62].

Hidrojellerin cevap hızını artırmak amacıyla geliştirilen teknikler arasından büyük bir öneme sahip olanlardan bir tanesi kriyojellerdir. Kriyojeller hakkında bilgilerin rapor edilmesi 1960'lı yıllara dayanmaktadır. Biyoteknoloji alanındaki önemi ise yeni keşfedilmektedir. Kriyojel, yunanca 'don, buz' anlamına gelen 'krios' kelimesinden türetilmiştir [63]. Kriyojeller, polimerik öncülerin veya monomerlerin dondurulmuş çzeltiilerinde hazırlanan üç boyutlu jel matrikslerdir. Süngerimsi bir yapıda makro ve süper makro gözeneklerine sahip jellerdir [64].

Kriyojel oluşumunda ilk olarak, polimer öncüleri uygun çözücü (su vb.) içerisinde çzölür. Bu karışım çözücünün donma noktasının biraz altında dondurulur. Donmuş bu katı sistem tek parça halinde görölse bile içerisinde donmamış sıvı mikro faz bulunduran heterojen karışımıdır. Mikro faz içerisinde çözücünün donması sonucu jelin oluşmasını sağlayan ajanlarının derişiminde yükselme meydana gelir. Buna kriyo derişim denilir. Donmuş haldeki çözücü kristalleri gözenek yapıcı olarak görev almaktadır. Çözücü eridiğinde ise makro gözenekli bir aė yapısı meydana gelir. Oluşan gözeneklerin boyutu ve şekli, sıcaklığa ve monomerin boyutuna bağlıdır. Gözenek boyutu 10-200 m arasında değişebilmektedir [65]. şekil 2.6'da kriyojel oluşumu şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.6. Kriyojel oluşumunun şematik gösterimi. 1.basamakta donma işlemi, 2.basamakta donmuş halde polimerizasyon ve 3.basamakta oda sıcaklığında erime gösterilmiştir [66].

Kriyojel yapımında kullanılan monomerler; hidroksietil metakrilat (HEMA), N, N-dimetilakrilamid (DMAM), akrilamid (AAM), etilen glikol dimetakrilat (EGDMA), akrilamido metil propan sülfonik asit (AMPS) gibidir. Yapısal monomeri olarak en çok kullanılan HEMA'dır. Bunun nedeni, HEMA'nın biyolojik ve kimyasal olarak kararlı olması, biyo uyumluluğun iyi olması, kimyasal inert olması gibi özelliklerinden dolayıdır [67].

Kriyojel yapımında kullanılan çapraz bağlayıcılar ise, sahip oldukları fonksiyonel gruplar sayesinde kriyojelin hedef maddelere tanınma kapasitesinin artmasını ve yüksek şişme kapasitesi, sertlik gibi özellikler üretilmesini sağlar. En çok kullanılan çapraz bağlayıcı ise, N, N'- metilen bisakrilamid (MBAAm)'dir [67].

Kriyojellerin diğer jellere göre üstünlükleri; istenilen şekilde üretiminin sağlanması (silindir, disk, tüp), iyonik ya da kovalent olmayan bağlarla ve kimyasal-kovalent bağlarla oluşması, üç boyutlu gözenekli yapının elde edilmesine olanak

sağlaması, üretimi ekonomik olması, uzun süre kullanılması ve süngerimsi bir yapıya sahip olmasıdır [68].

2.7. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Kromatografi, renk ve yazmak anlamına gelen Yunanca ‘chroma, graphein’ sözcüklerinin birleşmesi ile meydana gelmiştir. 1903 yılında ilk defa Rus bilim adamı Mikhail Tsvett tarafından geliştirilmiştir. Rus bilim adamı kromatografi yöntemini renkli bitki pigmentlerini ayırmak için kullanmıştır. 1952-1960 yılları arasında kromatografi yönteminde meydana gelen hızlı gelişmeler yöntemin analitik yöntemler arasında önemli bir yer edinmesini sağlamıştır [69].

Kromatografi, karışımdaki maddelerin ayrılmasını ve kalitatif, kantitatif analizlerin yapılmasını sağlayan yöntemlerin genel adıdır. Mobil faz ve sabit faz olmak üzere iki bileşenden oluşur. Sabit fazın üzerinde, mobil faz sayesinde maddelerin sürüklenmesi ya da farklı hızlarla hareket etmesine dayanmaktadır [70].

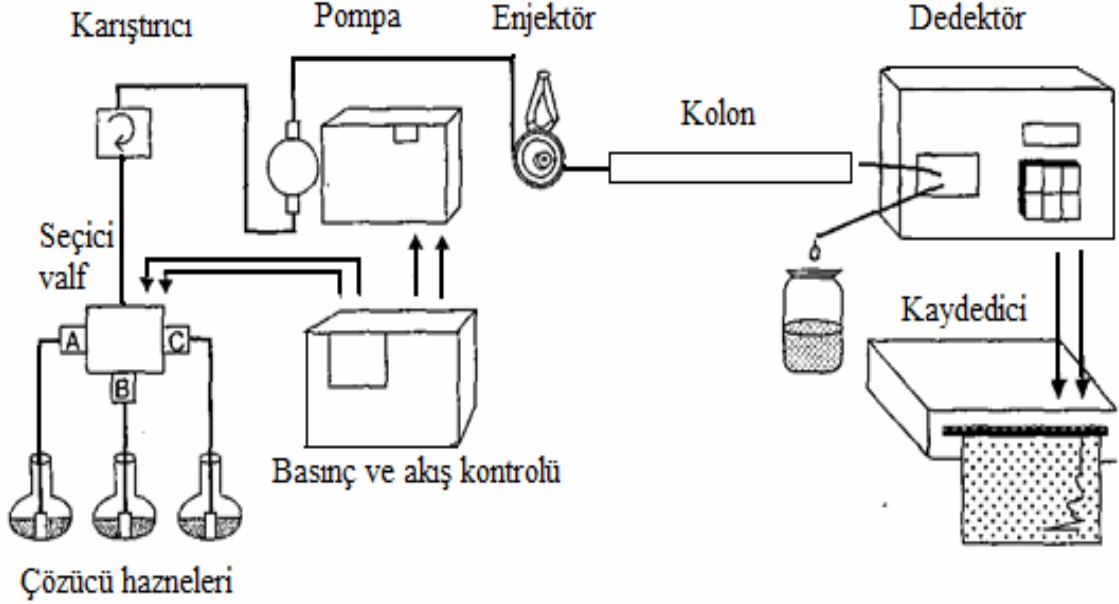
Kromatografinin sınıflandırılması; uygulama biçimlerine göre, faz tiplerine göre, ayrılma mekanizmalarına göre yapılabilir. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi de en yaygın kullanılan tekniklerinden bir tanesidir.

Yüksek performanslı sıvı kromatografisinin (HPLC) temel prensibi, karışımda bileşenleri ayırmak için sıvı hareketli faz kullanılmaktadır. Bileşenlerin çözücüde çözülmesinin ardından kromatografi kolonundan yüksek basınç altından geçirilmektedirler. Farklı tipte olan HPLC kolonlarından çözünebilir olan her şey ayrılabilir. Analiz edilecek madde miktarı pikogram, nanogram, mikrograma olabilmektedir [71].

HPLC yöntemi; çok hassas olması, çok yönlü ayırma yapması, kolonun birçok defa rejenere olmadan kullanılabilmesi, analiz süresinin kısa olması, basit ve düşük maliyetli olması gibi çok fazla avantaja sahiptir. Klinik tip (ilaç metabolitleri, safra asitleri), biyokimyasallar (antibiyotikler steroidler), gıda maddeleri (antioksidanlar, suni tatlandırıcılar), kirleticiler (pestisitler, herbisitler) gibi fazlaca uygulamada miktar tayini, bileşiklerin tanınması ve saflaştırılması için yaygın olarak kullanılmaktadır [72].

HPLC cihazı, hareketli faz, pompa, enjektör, kolon ve dedektör kısımlarından oluşmaktadır. Diğer kromatografik yöntemlere göre, hareketli fazın pompa yardımıyla

kolon boyunca numuneyi sürüklemesi daha fazla yüksek basınç altında yapıldığından dolayı Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi olarak adlandırılmaktadır [73].



Şekil 2.7. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi cihazının şekli [74]

2.7.1. Hareketli faz

Bir karışımı etkili bir şekilde ayırabilmek için hareketli fazın uygun olan sabit fazla etkileşime girmesi gerekmektedir. Hareketli faz seçimi; inertlik, toksisite, viskozite, saflık, kaynama noktası, UV geçirgenliği, kırılma indisi gibi birçok farklı özelliklere bakılarak seçilmektedir. Genel olarak hareketli faz haznesi gaz uzaklaştırma sistemi (degazör) ile birlikte bulunmaktadır. Bu sistem, sıvının içerisinde inert bir gaz geçirilmesi ya da vakum-ultrason yoluyla hareketli fazın içerisinde bulunmakta olan gaz baloncuklarının uzaklaşmasını sağlar. Böylelikle temiz bir kromatogram alınmış olur. Hareketli faz 3 şekilde uygulanabilir:

- *İzokratik elüsyon*, HPLC sisteminde tek hareketli faz kullanılarak yapılır. Kolonda bileşenler farklı hızlar ile aynı anda geç ederler.
- *Gradiyenet elüsyon*, analiz esnasında hareketli fazın bileşimde değişiklik yapılabilmesidir. Elüsyonda, iyonik kuvvetlerin değiştirilmesi ile pH veya polarite gibi özelliklerin değiştirilmesi ile analiz daha iyi bir hale gelebilir ve analiz süresinde ciddi bir azalma görülebilir.

- *Politipik hareketli faz*, aynı kolon ile birden fazla kromatografi tekniği için uygulanabilmektedir. Karışık tip kromatografilerde daha çok tercih edilir [75].

2.7.2. Pompa sistemi

Sıvı kromatografisi için önemli kısımlardan biri HPLC pompasıdır. Enjektör, kolon ve dedektör boyunca elüentin sabit akışını sağlamaktadır. Pompaların özellikleri şunlardır; çok fazla çözücünün korozyon etkilerine karşı dayanıklı olma, basınç üretimi 400 atm'e kadar olması, akış hızı 0,1'den 10 mL/dk ya kadar ayarlanabilir olunması, pulssuz basınç çıkışı, sıvı akış hızlarının tekrarlanabilirliği %0,5 ya da daha iyi olmasıdır. En yaygın kullanılan pompa çeşitleri; şırınga ya da sürgülü pompalar, sabit basınç pompalar ve pistonlu pompalardır [76].

2.7.3. Numune enjeksiyon sistemi

Bu sistem, enjektör ve enjeksiyon hücresinden oluşmaktadır. Enjektör 100 µL, enjeksiyon sistemi ise 100-1000 µL hacminde olmaktadır [77].

2.7.4. Kolon

HPLC cihazında kullanmakta olan ayırma kolonları, paslanmaz çelikten yapılmaktadır ve yüksek basınca karşı dayanıklıdırlar. Çoğunlukla, 4,5-5 mm iç çaplı ve 10-30 cm uzunluğundaki kolonlar tercih edilmektedir. İçerisine enjekte edilen madde ile hareketli kolondan belirli bir akış hızıyla geçirilir. Kolonun çapı ve boyu, kolon dolgu maddesinin şekli, yüzey alanı, parçacık büyüklüğü gibi faktörler büyük önem taşır. Kolon uzunluğunun artması bileşenlerin ayrımının daha iyi olmasını sağlamakla birlikte analiz süresinin artmasına neden olduğu için fazla mobil faz harcanmasına neden olur. En yaygın kolon dolgu maddeleri silika esaslıdır. Silika esaslı kolonların pH aralığının dar olması dezavantajlarından bir tanesidir [69,78].

HPLC de kolona göre ayırım yapılmakta ve normal, ters faz olmak üzere iki faz çeşidi kullanılmaktadır. Normal fazda, hareketli faz apolar ve sabit faz polardır. Normal faz kromatografisinin, denge haline gelmesi çok yavaştır ve yayvan pik oluşumu gözlenmesi gibi birçok dezavantajı vardır. Ters fazda ise, hareketli faz polar, sabit faz apolardır [79].

HPLC de kullanılan kolon çeşitleri farklılık göstermektedir. En yaygın olarak kullanılan kolon çeşidi silika bazlı kolonlardır. Kolon dolgu maddesi olarak silika bazlı, metal oksit bazlı ve polimer bazlı olmak üzere 3 tip kullanılmaktadır [80].

- *Silika bazlı sabit fazlar:* yüzey alanının büyük olması, kolay bir şekilde fonksiyonlandırılabilmesi, daha homojen olması gibi özelliklerinden dolayı HPLC de en çok kullanılan dolgu maddeleridir. Dezavantajları ise, uygun pH çalışma aralığının 2.5-8.0 olması, kimyasal, mekanik ve termal kararlılığının düşük olmasıdır. C18 (oktadesilsilan) silika bazlı kolonu yaygın olarak kullanılmaktadır.
- *Metal oksit sabit fazlar:* silika bazlı sabit fazlar ile karşılaştırıldığında bazı üstünlükleri bulunmaktadır. En yaygın olarak, zirkonyum oksit (ZrO_2), titanyum oksit (TiO_2) ve alüminyum oksit (Al_2O_3) kullanılmaktadır. Özellikle zirkonyum oksit bazlı sabit fazların kimyasal ve termal kararlılığının silika bazlı sabit fazlara göre daha iyi olması silika bazlı sabit fazların dezavantajlarının giderilmesini sağlar. Metal oksit sabit fazların yüzey modifikasyonunun zor olmasında dolayı tekrar üretilmesi oldukça zordur.
- *Polimer bazlı sabit fazlar:* silika bazlı sabit fazlar ile karşılaştırıldığında kimyasal ve termal kararlılığa sahiptir ancak polimerin düşük mekanik kararlılığa sahip olması ve bazı çözücülerde şişmesi dezavantajlarındandır.

2.7.5. Dedektör

İdeal bir dedektör; düşük gürültü seviyesine, yüksek duyarlılığa, geniş konsantrasyon aralığına sahip, tekrarlanabilirliği iyi, sıcaklık ve basınç değişimlerinden etkilenmeyen, güvenilir ve kullanımı kolay olmalıdır. Çoğunlukla sıvı kromatografisinde yığın ve analit özelliği dedektör tipleri kullanılmaktadır. Analit özelliği olan dedektörler; ultraviyole dedektörler (UV), fotodiyot ışın demeti dedektörleri (DAD), infrarad dedektörler (IR), floresans dedektörler (FD), iletkenlik dedektörleri, elektrokimyasal dedektörler, kütle spektrometre dedektörler (MS) gibidir.[81].

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan kimyasallar

Tez çalışması esnasında kullanılan kimyasalların listesi Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan kimyasallar

Kimyasal Adı	Marka
Propaklor (%99,8)	Sigma-Aldrich
Metakrilik asit (MAA) (%99)	Alfa Aesar
Etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) (%97)	Fluka
n-Hekzadekan (%99)	Merck
Azobisisobütironitril (AIBN) (%98)	Fluka
Sodyum dodesil sülfat (SDS) (%99)	Alfa Aesar
Metanol (MeOH) (%99,9)	Sigma-Aldrich
Potasyum dihidrojenfosfat (KH ₂ PO ₄) (%99,5)	Merck
Potasyum hidroksit (KOH) (%85)	Riedel-de Haën
Hidrojen klorür (HCl) (%37)	Merck
Glisin (%98,5)	Fluka
Metolaklor (%98,2)	Sigma-Aldrich
Acetanilide (%99)	Sigma-Aldrich
N,N'-Metilenbisakrilamid (mBAAM) (%98)	Fluka
Hidroksi etil metakrilat (HEMA) (%97)	Sigma-Aldrich
Amonyum per sülfat (APS) (%98)	Sigma-Aldrich
N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine (TEMED) (%99)	Fluka
Sodyum klorür (NaCl) (%99,5)	Merck

3.1.2. Kullanılan cihazlar

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan cihazlar

Homejenizatör	Bandelin UW 2070	MIP sentezi işleminde homojenizasyon işlemi için kullanılmıştır.
UV-Visible spektrofotometre	SHIMADZU UV-3150	Kalıp oluşturma esnasında yapılan yıkama kontrolleri için kullanılmıştır.
Taramalı elektron mikroskobu (SEM)	ZeissUltraplus	Sentezlenmiş olan MIP'in morfolojisini belirlemek amacıyla kullanılmıştır.
Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrofotometresi (FTIR)	Perkin Elmer Spektrum-100	MIP'in karakterizasyon çalışmalarında kullanılmıştır.
Ultra-saf su cihazı	Sartorius-Arium Comfort I-1-UV-T	Ultra saf su elde edilmesinde kullanılmıştır.
Ultrasonik banyo	ISOLAB	Çözünürleştirme işlemlerinde kullanılmıştır.
Manyetik karıştırıcı	Velp Scientifica	Karıştırma işlemleri için kullanılmıştır.
Analitik terazi	OHAUS	Tartım işlemlerinde kullanılmıştır.
pH metre	Velp Scientifica	Çözeltilerin pH'nin ayarlamasında kullanılmıştır.
Santrifüj	Hettich Universal 320	SPE işleminde adsorban uzaklaştırılması için kullanılmıştır.

Çizelge 3.2. (Devam) Çalışmada kullanılan cihazlar

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)	Agilent 1100 Series	SPE sonrasında ve kriyojelden geçirilen çözeltilerin derişimini belirlemek amacıyla kullanılmıştır.
Peristaltik pompa	Heidolph Pumpdrive 5201	Kriyojel kolondan çözeltilerin geçirilmesi amacıyla kullanılmıştır.
Elementel analiz cihazı	Leco, CHNS-932	N,C ve H yüzdelerinin belirlenmesinde kullanılmıştır.

3.2. Metod

3.2.1. Propaklor için moleküler baskılı polimerin hazırlanması

Propaklor baskılı moleküler sentezi hazırlanmasında; 0,245 mmol propaklor, 0,84 mmol metakrilik asit ve 3,4 μ mol EGDMA, 0,34 mmol hekzadekan içerisinde çözülmüştür. 0,066 mmol SDS'nin 9 ml saf su içerisinde çözülmesiyle dispersiyon ortamı hazırlanmıştır. 0,09 mmol AIBN'nin ilk çözeltiye eklenmesinin ardından çözelti homojenleştirici kullanılarak dispersiyon ortamına aktarılmıştır. Elde edilen çözelti termostatik su banyosunda 70-80°C' de 24 saat boyunca karıştırılmıştır. Polimerizasyon işleminden sonra, oluşan MIP'ler polimerizasyon ortamından ayrılmıştır. Dönüştürülmemiş monomer, başlatıcı, çözücü gibi reaksiyona girmeyen maddelerin uzaklaşmasını sağlamak için metanol ve su ile polimerin yıkanması işlemi gerçekleştirilmiştir. Şablon oluşumu için polimer, termostatik su banyosunda 70°C'de 24 saat boyunca metanol- KOH ile yıkanmıştır.

3.2.2. Kriyojel sentezi

MIP gömülü kriyojel hazırlanmasında; 4,74 mL deiyonize suya, 0,37 mmol N,N'-Metilenbisakrilamid (MBAAm), 0,260 mL hidroksi etil metakrilat (HEMA) ve 0,024 mmol MIP ilave edilmiştir. Oda sıcaklığında 1-2 saat boyunca karışmaya bırakılmıştır.

Ardından karışım buz banyosuna konularak 1-2 saat boyunca soğutulmuştur. Redoks başlatıcı çiftleri 0,017 mmol amonyum persülfat (APS) ve 0,033 mmol N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine (TEMED) hızlı bir şekilde ilave edilmiştir. Ardından karışım plastik şırınganın içerisine dökülmüştür. Şırınga etanol içerisinde -20°C'de 18 saat boyunca donmaya bırakılmıştır. Dondurma işleminin ardından şırınga oda sıcaklığına getirilerek erime işlemine bırakılmıştır. Çözünme sonucunda jel matrisler meydana gelmiştir. Reaksiyona girmeyen maddeleri uzaklaştırmak için kriyojel 3 kez debbbiyone su ile yıkanmıştır. Aynı koşullarda MIP olmadan kör kriyojel de hazırlanmıştır. Kriyojeller kullanacağı zamana kadar %0,02'lik sodyum azid çözeltisi içerisinde tutulmuştur.

3.2.3. MIP ve MIP gömülü kriyojel için karakterizasyon çalışmaları

MIP için, FTIR (KOH ile yıkanmadan önce ve sonra) FTIR spektrumları FTIR spektrofotometre ile analiz edilmiştir. Kuru numune (~ 0,1 g) ile KBr (0,1 g) iyice karıştırılmış ve pelet haline bastırılmıştır. FTIR spektrumları kaydedilmiştir.

Baskılama öncesi ve sonrası MIP'lerin elementel analiz cihazı ile N,C,H yüzdeleri belirlenmiştir. Kurutulmuş kriyojeller ve propaklor baskılı polimerin morfolojisi taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir.

Damıtılmış suda kriyojelin şişme oranları belirlenmiştir. İlk olarak kriyojel, yıkama suyu berrak olana kadar yıkanmıştır. Sonrasında örnek numunesi sabit kütleye kurutulmuş ve tartılmıştır. Kurutulmuş numuneler oda sıcaklığında 24 saat boyunca suya yerleştirilmiştir. Islak numunenin kütlesi tartılmıştır. Şişme oranı şu formül ile hesaplanmıştır:

$$\%Şişme Oranı = \frac{W_s - W_o}{W_o} \times 100 \quad (3.1)$$

W_o : Şişme öncesi kriyojellerin ağırlıkları

W_s : Şişme sonrası kriyojellerin ağırlıkları

3.2.4. SPE şartlarının optimizasyonu

Adsorpsiyon ve desorpsiyon koşullarının SPE'nin başarısı üzerine doğrudan etkisi bulunmaktadır. MIP gömülü kriyojel ve boş kriyojel için adsorpsiyon kapasitesi yığın modelinde gerçekleştirilmiştir. Kriyojeller ve MIP için adsorpsiyon kapasitesi şu formül ile hesaplanmıştır:

$$Q = \frac{(C_0 - C)v}{m} \quad (3.2)$$

Bu formülde, Q kriyojelin ve MIP'in birim miktarı başına adsorplanan madde miktarı (mg/g), C_0 ve C sırasıyla propaklorun başlangıç ve dengedeki derişimleri (mg/L), V sulu çözelti hacmi (L), m kurutulmuş kriyojelin ve MIP'in kütlesidir (g). Tüm deneyler paralel 3 seri halinde gerçekleştirilmiştir.

Propaklorun adsorpsiyonunu optimize etmek için; etkileşim süresi, başlangıç konsantrasyonu, pH ve akış hızı gibi bazı parametreler de değerlendirilmiştir. Desorplanan propaklor miktarı aşağıda verilmiştir:

$$\%Desorpsiyon = \frac{Desorplanan\ propaklor\ derişimi}{Adsorplanan\ propaklor\ derişimi} \times 100 \quad (3.3)$$

3.2.4.1. MIP için adsorpsiyon koşullarının optimizasyonu

Adsorpsiyon süresi optimizasyonunda, 3 mg MIP adsorban üzerine 2 mL 15 ppm propaklor çözeltisi eklenerek 10, 30, 60, 120, 180 dk olmak üzere farklı sürelerde adsorpsiyon gerçekleştirilmiştir. MIP 30 dk 15.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Ardından adsorpsiyon süzöntüsünün absorbansı 210 nm'de UV-vis spektroskopisi ile ölçülmüştür.

Farklı derişim optimizasyonunda ise, 3 mg MIP adsorban üzerine 5, 10, 20, 30, 40 ppm olmak üzere farklı derişimlerde 2 mL propaklor çözeltisi eklenerek optimum süre boyunca karıştırılmıştır. MIP adsorban santrifüj edilerek uzaklaştırılmıştır. Optimum başlangıç derişimi belirlenmiştir.

pH optimizasyonunda, 3 mg adsorban üzerine 2 mL farklı pH aralıklarında (3, 5, 7, 9) hazırladığımız çözeltileri ekleyerek optimum süre boyunca karıştırılmıştır. MIP adsorbandan uzaklaştırıldıktan sonra optimum pH değeri belirlenmiştir.

3.2.4.2. MIP için desorpsiyon koşullarının optimizasyonu

Desorpsiyon koşullarının optimizasyonunda, kullanılacak desorpsiyon çözeltileri belirlenmiştir. %100 metanol, %100 etanol, glisin + HCl, %50 metanol- %50 su olmak üzere dört farklı çözücü hazırlanmıştır. Optimum koşullarda MIP ile propaklor etkileştirildikten sonra hazırlanan çözeltiler ile adsorplanan MIP uzaklaştırılıp UV-vis spektroskopisi ile desorplanan derişim miktarı belirlenmiştir.

3.2.4.3. Kriyojeller için adsorpsiyon koşullarının optimizasyonu

MIP gömülü kriyojel ve boş kriyojel için farklı derişim optimizasyonunda, 5-10-20-30-40 ppm olmak üzere farklı derişimlerde çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltilerden 4 mL alınarak peristaltik pompa ile kriyojellerden geçirilmiştir. Elde edilen süzüntünün absorbandsı 210 nm’de UV-vis spektroskopisi ile ölçülmüştür.

MIP gömülü kriyojel için akış hızı optimizasyonunda, 4 mL 20 ppm propaklor çözeltisi 0,1-0,2-0,4 mL min⁻¹ hızlarla MIP gömülü kriyojelden geçirilmiştir. Elde edilen süzüntünün adsorbansı UV-vis ile ölçülmüştür.

3.2.4.4. Kriyojeller için desorpsiyon koşullarının optimizasyonu

MIP gömülü kriyojel ve boş kriyojelin desorpsiyon optimizasyonun koşullarında kullanılacak desorpsiyon çözeltisini belirlemek için farklı çözücüler kullanılmıştır. 5 mL metanol, 5mL etanol, metanol ve su (5:5), metanol-su-NaCl (5:5:5), glisin+HCl, denenmiş çözücülerdendir. Bu çözücüler arasında metanol-su-NaCl karışımından en iyi desorpsiyon değeri elde edilmiştir.

3.2.5. Seçiciliğin belirlenmesi

Bir kloroasetanilit grubundan olan propaklorun seçiciliğin belirlenmesi için MIP ve MIP gömülü kriyojelde metaloklor ve asetanilit ile denemeler yapılmıştır. Bu amaçla her madde için 210 nm’de kalibrasyon çizelgeleri oluşturulmuştur. Bu maddeler MIP ve MIP gömülü kriyojelde optimum koşullarda işleme tabi tutulmuştur. Adsorpsiyon süzüntülerinin derişimleri UV-vis spektroskopisi ile ölçülmüştür. Sonuçlar benzerlik göstermiştir. Seçicilik faktörleri aşağıdaki denklem ile hesaplanmıştır:

$$Q = \frac{(co-c)x V}{m} \quad (3.4)$$

Baskılı polimerin Q değerlerinin bu moleküller ile karşılaştırılması, baskılanmanın seçicilik üzerindeki etkisinin tahmin edilmesini sağlamıştır.

3.2.6. MIP ve MIP gömülü kriyojel için tekrar kullanılabilirliğinin belirlenmesi

MIP'in propaklor ile adsorpsiyonun gerçekleşmesinin ardından uygun desorpsiyon çözücüsü ile optimum şartlarda propaklorun MIP adsorbanından geri kazanımı sağlanmıştır. Bu döngü 10 kez tekrar edilmiştir.

MIP gömülü kriyojelin stabilitesini ve yeniden kullanılabilirliğini göstermek için, adsorpsiyon - desorpsiyon döngüsü aynı kriyojel kullanılarak en az 15 kez tekrar edilmiştir.

3.2.7. MIP gömülü kriyojel ile gerçek numunelerin incelenmesi

Yapılan çalışmada gerçek numune olarak, Eskişehir ili, Keskin bölgesinde bulunan tarım alanlarındaki birikmiş su ve mısır taneleri kullanılmıştır. Su numunesi sadece filtreden geçirilmiştir. Öğütülen mısır örneğinden 3 g alınıp 30 mL metanol içerisinde 1 gün boyunca karıştırılmaya bırakılmıştır. Daha sonra çözelti membran filtre ile süzölmüştür sonrasında bu ekstrakta propaklor ilavesi yapılmıştır. Su ve mısır numuneleri MIP gömülü kriyojelden optimum koşullar altında geçirilmiştir. Elde edilen propaklor konsantrasyonları Agilent 1100 marka HPLC sistemi, UV dedektörü, Inertsil ODS-3 (4,6x150 mm) kolon kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz koşulları; mobil faz metanol / deiyonize su (70:30), 220 nm dalga boyunda, akış hızı 1 mL/dk ve oda sıcaklığında olacak şekilde gerçekleşmiştir. Bu koşullar altında propaklor piki 4.3 dk elde edilmiştir. Kalibrasyon grafiğinde 0-100 ppm aralığında çalışmalar yapılmıştır. Her analiz 3 kez tekrar edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

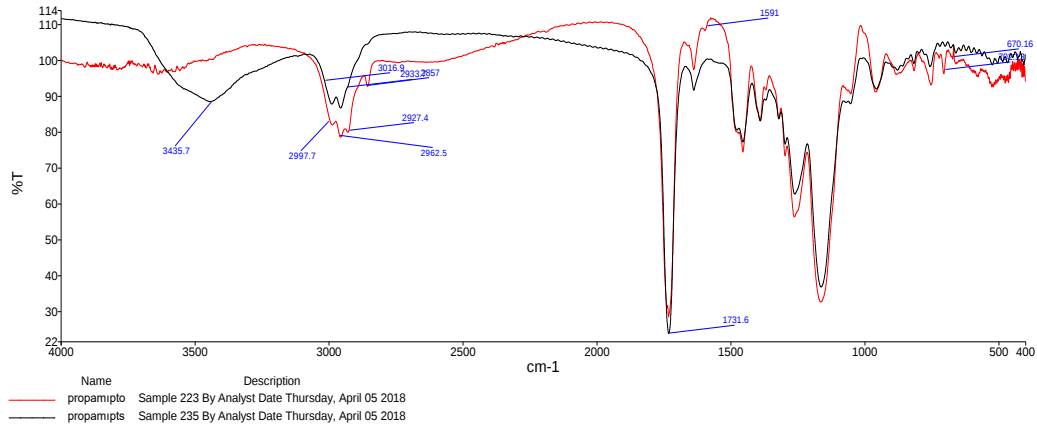
4.1. MIP ve MIP Gömülü Kriyojel İçin Karakterizasyon Çalışmaları

Propaklor baskılı polimer ve MIP gömülü kriyojelin karakterizasyonu SEM analizleri ve FTIR spektrumlarıyla gerçekleştirilmiştir.

Propaklor baskılı polimerde kalıp oluşumunun kontrolünü sağlamak için kalıp oluşturulmadan önce ve kalıp oluşturulduktan sonra FTIR analizleri gerçekleştirilmiştir.

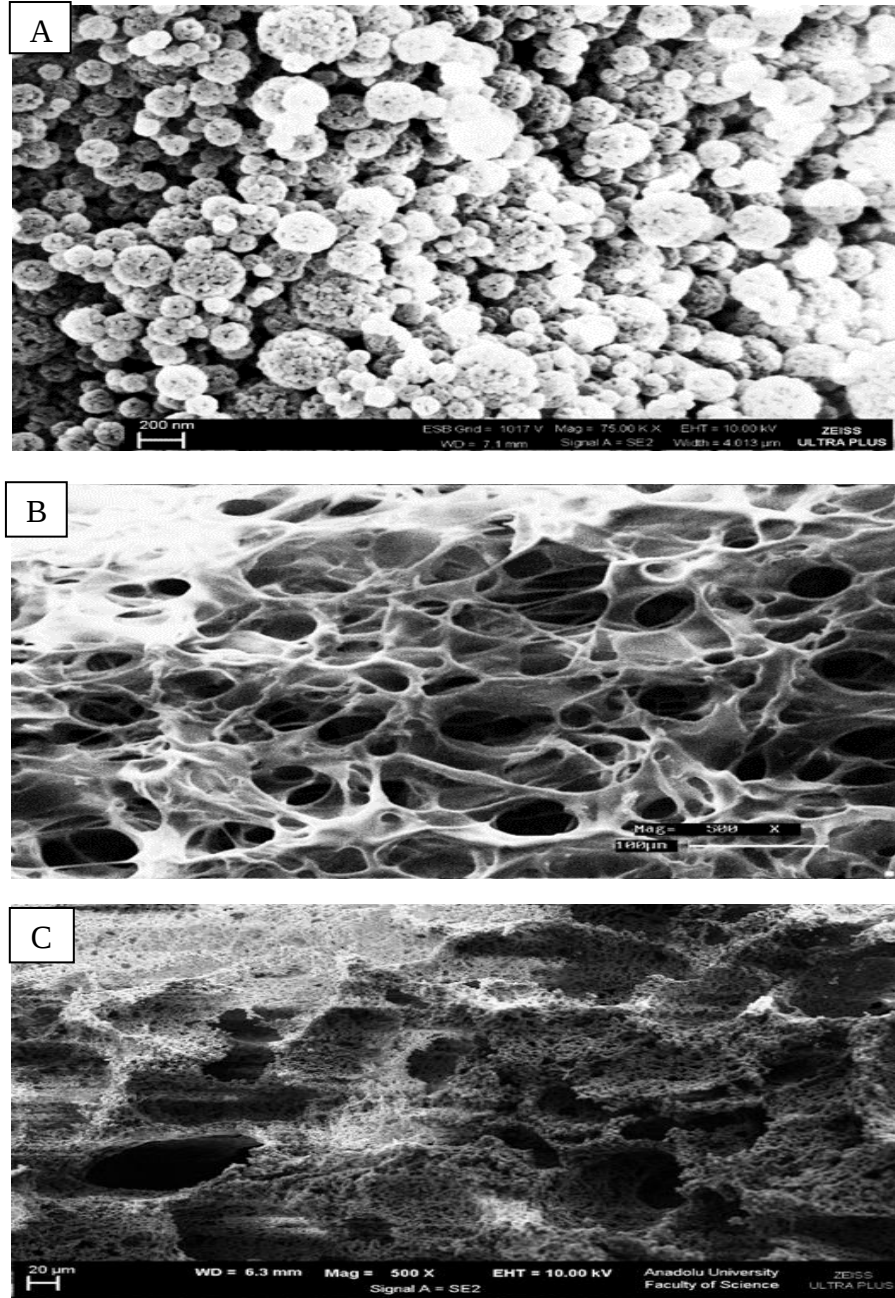
MIP için kalıp uzaklaştırılmadan önce ve kalıp uzaklaştırıldıktan sonra polimerin FTIR spektrumları Şekil 4.1’de gösterilmiştir. Kalıp uzaklaştırılmadan önce $3435,7\text{ cm}^{-1}$ de geniş pik metakrilik asitte bulunmakta olan hidroksi gruplarının O-H gerilmelerinden dolayı oluşmaktadır. Polimerde bulunan CH_2 ve CH_3 gruplarının neden olduğu C-H bağı gerilmeleri $2997,7\text{--}2962,5\text{--}2927,4\text{ cm}^{-1}$ piklerinde görülmektedir. $1731,6\text{ cm}^{-1}$ ‘de olan pik C=O gerilmesi karboksilik asit gruplarından kaynaklanmaktadır. 1591 cm^{-1} ’de C=C gerilmesi ve $670,6$ ve $702,13\text{ cm}^{-1}$ piklerinde ise C-H gerilmeleri görülmektedir.

Elementel analiz sonuçlarına göre propaklordan kalıp molekül uzaklaştırılmadan önce MIP’in %56,26 C, %10,42 H ve %0,273 N içerdiğini göstermiştir. Kalıp molekülün uzaklaştırılmasının ardından MIP’in %58,77 C, %7,384 H ve %0,069 N içerdiği bulunmuştur. Artan C oranı ve azalan N oranı kalıp olan propaklorun yapıdan uzaklaştığını göstermektedir.



Şekil 4.1. Propaklor molekülünün kalıp oluşturulmadan önce ve oluşturulduktan sonra propaklor baskılı polimerin FTIR spektrumları

MIP, MIP gömülü kriyojel ve boş kriyojelin morfolojisi ZeissUltraplus SEM cihazı ile incelenmiştir. Şekil 4.2.'de görüldüğü gibi sentezlenen MIP yaklaşık 200 nm çapında nanopartiküllerdir. MIP gömülü kriyojel ve boş kriyojelin geniş gözeneklere sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca MIP gömülü kriyojelin SEM görüntülerinde; kriyojelin çeperlerinin MIP nanopartikülleri ile kaplandığı görülmüştür.



Şekil 4.2. (A) propaglor baskılı polimer, (B) boş kriyojel, (C) MIP gömülü kriyojelin SEM görüntüleri

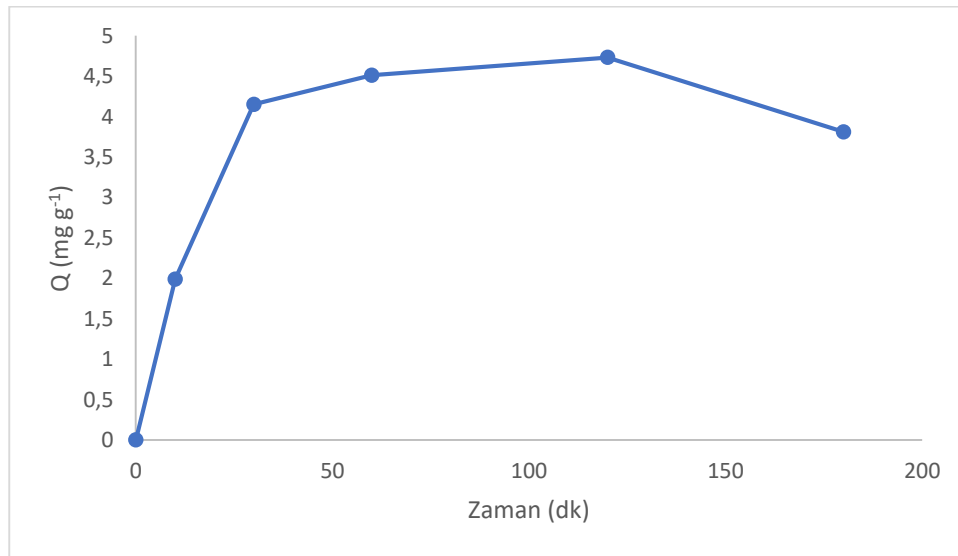
MIP gömülü kriyojel ve kör kriyojel için şişme testi yapılmıştır. Kriyojeller tamamen kurutulduktan sonra 10 mL deiyonize su içerisinde 24 saat boyunca bekletilmişlerdir. Şişme testi sonucunda kör kriyojel 12,69 g H₂O / g kriyojel, MIP gömülü kriyojel ise 11,86 g H₂O / g kriyojel olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre kriyojellerin oldukça yüksek su tutma kapasitesine sahip olduğu görülmüştür.

4.2. SPE Koşullarının Optimizasyonu

4.2.1. MIP için adsorpsiyon koşullarının optimizasyonu

4.2.1.1. Optimum etkileşim süresinin belirlenmesi

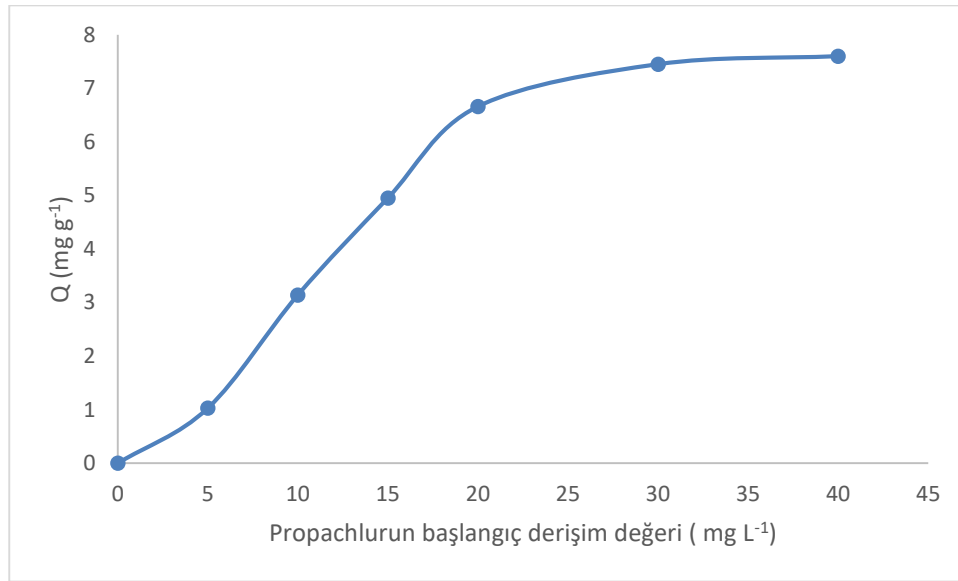
Etkileşim süresinin belirlenmesinde, MIP'in propaklor adsorpsiyonu üzerindeki etkisine bakılmıştır. Bu amaçla 15 ppm propaklor çözeltisi 10-30-60-120-180 dakikalarda MIP partikülleri ile karıştırılmıştır. Elde edilen adsorpsiyon süzüntülerinin derişimi UV-vis spektroskopisi ile incelenmiş ve Q değerleri hesaplanmıştır. Şekil 4.3'de görüldüğü gibi propaklorun adsorpsiyonu 60 dk içerisinde doygunluğa ulaşmıştır. Bundan dolayı optimum etkileşim süresi 60 dk olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.3. Propaklor adsorpsiyonuna etkileşim süresi etkisi

4.2.1.2. Başlangıç derişiminin etkisinin belirlenmesi

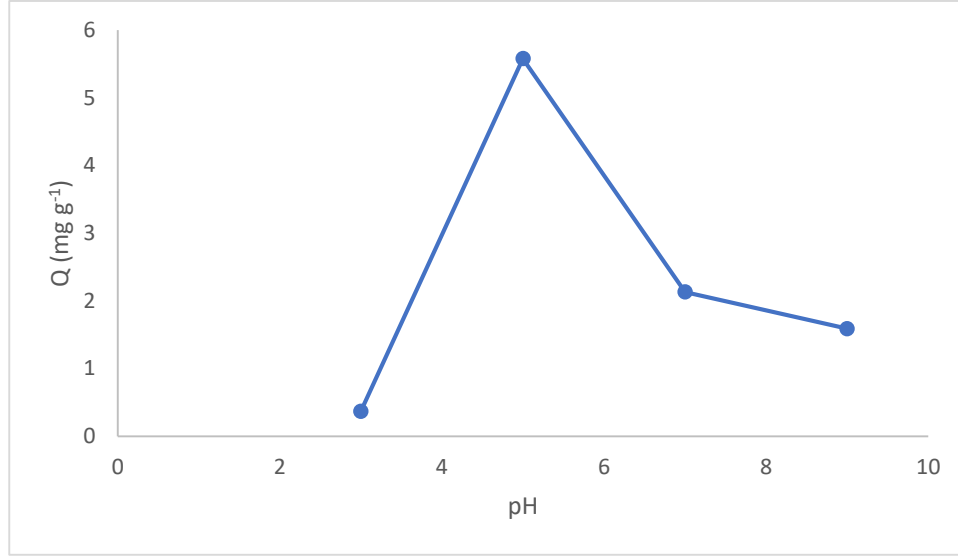
Propaklor adsorpsiyonuna başlangıç derişiminin etkisinin belirlenmesi için, 5-10-15-20-30-40 ppm propaklor çözeltileri MIP ile 60 dk boyunca karıştırılmıştır. Şekil 4.4’de görüldüğü üzere propaklorun adsorpsiyonu, 30 ppm derişiminde doygunluğa ulaşmıştır. Bundan dolayı optimum başlangıç derişimi 30 ppm olarak belirlenmiştir. 30 ppm’de MIP için elde edilen maksimum adsorpsiyon kapasitesi 7,45 mg g⁻¹ dır.



Şekil 4.4. Propaklorun adsorpsiyonuna başlangıç derişiminin etkisi

4.2.1.3. pH etkisinin belirlenmesi

Propaklorun adsorpsiyonuna pH’in etkisini incelemek için, 15 ppm propaklor çözeltilisi, farklı pH ‘lar da HCl, NaOH ve fosfat tamponu kullanılarak hazırlanmıştır. Şekil 4.5’de görüldüğü üzere pH 5’de 5,58 mg g⁻¹ olarak en yüksek adsorpsiyon kapasitesi gözlenmiştir. Propaklorun kendi sulu çözeltilisinde pH’i yaklaşık 5 olduğu için, adsorpsiyon kapasitesine yönelik yapılan tüm deneyler pH ayarlaması yapılmadan sulu ortamda gerçekleştirilmiştir. Bu durum çalışma esnasında kolaylık sağlamıştır.

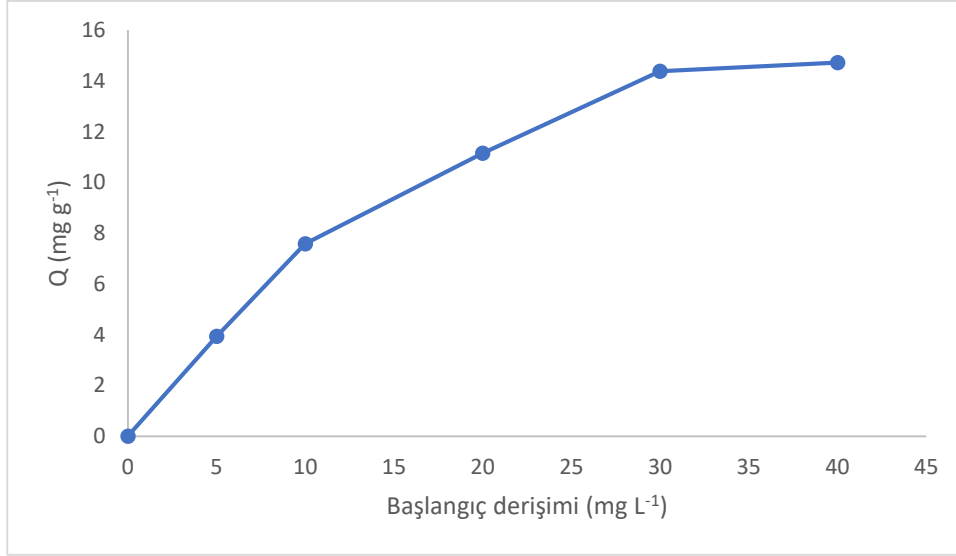


Şekil 4.5. Propaklor adsorpsiyonuna pH etkisi

4.2.2. MIP gömülü kriyojel için adsorpsiyon koşullarının optimizasyonu

4.2.2.1. Başlangıç derişimin belirlenmesi

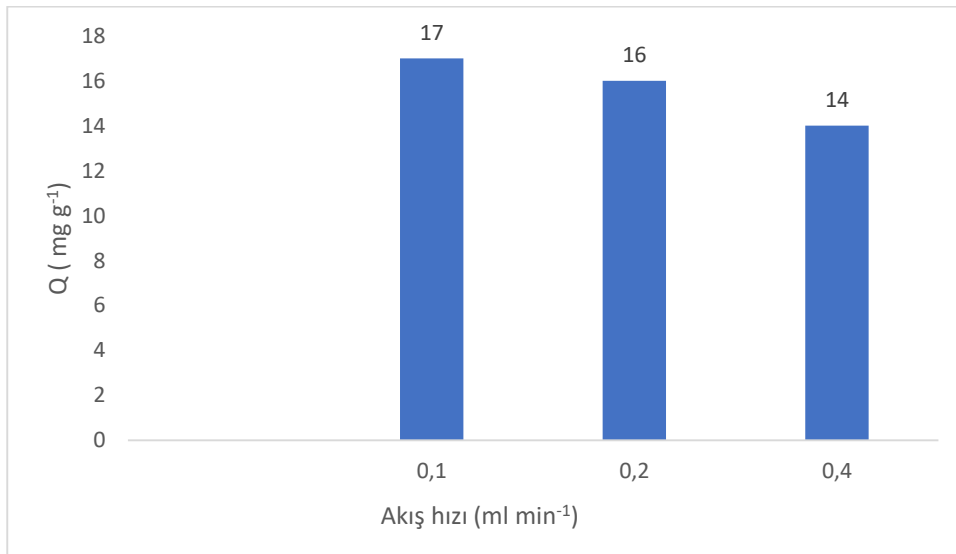
MIP gömülü kriyojel için propaklor adsorpsiyonuna başlangıç derişiminin etkisi incelenmiştir. Bu amaçla hazırlanan 5-10-20-30-40 ppm propaklor çözeltilerinden 4 mL alınıp MIP gömülü kriyojel kolondan geçirilmiştir. Elde edilen adsorpsiyon süzüntülerinin derişimi UV-vis spektroskopisi ile incelenmiştir. Şekil 4.6’da görüldüğü gibi propaklor konsantrasyonlarının artması ile adsorpsiyon kapasitelerinin de arttığı görülmüştür. Başlangıç konsantrasyon değeri 30 mg L⁻¹ (0.14 mM) ulaştığında doygunluk gözlenmiştir ve maksimum adsorpsiyon kapasitesi 14,38 mg g⁻¹ olarak bulunmuştur. Rong Qu ve arkadaşları, 2mM başlangıç konsantrasyonunda MIP ile modifiye edilmiş silika jelleri kullandıklarında propaklorun maximum adsorpsiyon kapasitesini 12,82 mg g⁻¹ olarak bulmuşlardır. Bu çalışmamızda elde ettiğimiz değerin literatürdeki ve çalışmamızdaki MIP adsorpsiyon kapasitesinden (7,45 mg g⁻¹) daha yüksek olduğu görülmüştür.



Şekil 4.6. MIP gömülü kriyojel için propaklor adsorpsiyonuna başlangıç derişiminin etkisi

4.2.2.2. Akış hızının belirlenmesi

MIP gömülü kriyojel için propaklor adsorpsiyonuna akış hızının etkisini incelemek amacıyla, 20 ppm propaklor çözeltisi kolondan 0,1-0,2-0,4 mL dk⁻¹ olmak üzere farklı hızlarda geçirilmiştir. MIP gömülü kriyojel kolon her ölçümden sonra su-metanol-NaCl çözeltisi ile yıkanarak yeniden kullanıma uygun hale getirilmiştir. Şekil 4.7’de görüldüğü üzere akış hızı artığında adsorpsiyon kapasitesinde azalma meydana gelmiştir. Adsorpsiyon kapasitesinde çok düşüşe neden olmadığı ve daha hızlı olduğu için 0,2 mL dk⁻¹ optimum akış hızı olarak seçilmiştir.



Şekil 4.7. Farklı akış hızlarında propaklor adsorpsiyon kapasitesi

4.2.3. Desorpsiyon koşullarının optimizasyonu

4.2.3.1. MIP için desorpsiyon koşullarının optimizasyonu

MIP için propaklor desorpsiyonunu sağlamak amacıyla, MIP nanopartikülle propaklor adsorpsiyonu gerçekleştikten sonra propaklor desorpsiyonu için %100 metanol, %100 etanol, glisin + HCl, %50 metanol- %50 su çözeltileri denenmiştir. Bu çözeltilerden 4 mL alınarak adsorplanan MIP nanopartiküllerine ilave edilmiş, optimum süre boyunca karıştırılmıştır. Propaklorun adsorplanan ve desorplanan süzüntülerindeki derişimi UV-vis spektroskopisi ile belirlenmiş ve % desorpsiyon miktarları hesaplanmıştır. Çizelge 4.1’de görüldüğü üzere en yüksek % desorpsiyon oranı metanol çözücüsü ile elde edilmiştir ve desorpsiyon çözücüsü metanol olarak seçilmiştir.

Çizelge 4.1. MIP için çözücülerin % desorpsiyon oranı

Elüent Çeşidi	% Desorpsiyon Oranı
%100 metanol	%100
%100 etanol	%88
Glisin+ HCl	%49
%50 metanol+%50 su	%50

4.2.3.2. MIP gömülü kriyojel için desorpsiyon koşullarının optimizasyonu

MIP gömülü kriyojelin ideal rejenerasyonunu bulmak amacıyla farklı çözücüler denenmiştir. Bir adsorpsiyon deneyinden sonra 0,2 mL dk⁻¹ akış hızında %100 metanol, %100 etanol, %50 metanol-%50 su, %50 metanol-%50 su- 5mg NaCl desorpsiyon çözücülerini denenmiştir. Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi en yüksek desorpsiyon oranı %100 metanol kullanıldığında elde edilmiştir. Ancak metanolun tek başına kullanıldığında kriyojele zarar verildiği görülmüştür. Metanol-su kullanıldığı zaman da desorpsiyon miktarında azalma görülmüştür. Bu sorun metanol-su karışımına 5 mg NaCl ilave ederek çözülmüştür. Bu karışım uygun desorpsiyon çözücüsü olarak seçilmiştir. Kriyojelin sterilizasyonu için 10 dakika desorpsiyon çözücüsü ile yıkandıktan sonra 15 dakikada damıtılmış su ile yıkanmıştır.

Çizelge 4.2. MIP gömülü kriyojel için çözücülerin % desorpsiyon oranı

Elüent Çeşidi	% Desorpsiyon Oranı
%100 Metanol	%100
% Etanol	%92
Glisin+HCl	%54
%50 Metanol-%50 Su	%53
%50 Metanol-%50 Su-5mg NaCl	%100

4.3. Propaklor Baskılı Polimer ve MIP Gömülü Kriyojel İçin Adsorpsiyon İzotermi

Pek çok etkene bağlı olarak gerçekleşen adsorpsiyon olayında davranış, adsorpsiyon izotermi denilen bağıntılarla ifade edilir. Sabit bir sıcaklıkta denge basıncı ya da konsantrasyonu ile adsorplanan madde miktarı arasındaki bağıntıya adsorpsiyon izotermi denir [82].

4.3.1. Langmuir adsorpsiyon izotermi

Bu izoterm modeli varsayımına göre, adsorpsiyonun tek bir tabaka halinde ve homojen olduğu, enerji bakımından sabit ve adsorpsiyonun tersinir olduğu, adsorplanmış moleküller arasında etkileşim olmadığını, adsorban üzerinde sınırlı sayıda bağlanma bölgesi olduğu belirtilir. Langmuir denklemi aşağıdaki gibi belirtilebilir [83].

$$\frac{1}{Q_e} = \frac{1}{Q_{max}bC_{eq}} + \frac{1}{Q_{max}} \quad (4.1)$$

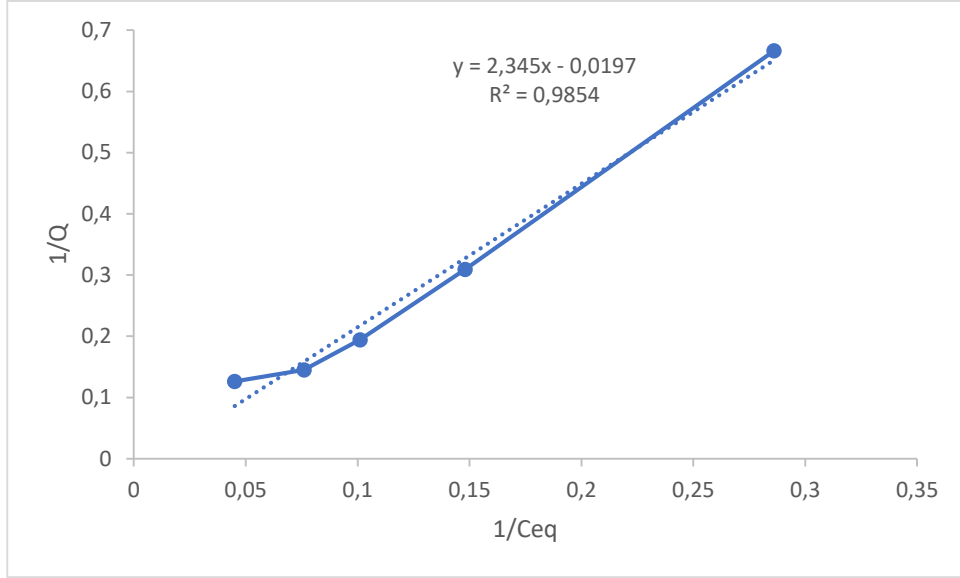
Q_e : adsorplanan propaklor miktarını (mg/g)

Q_{max} : maksimum adsorpsiyon kapasitesi (mg/g)

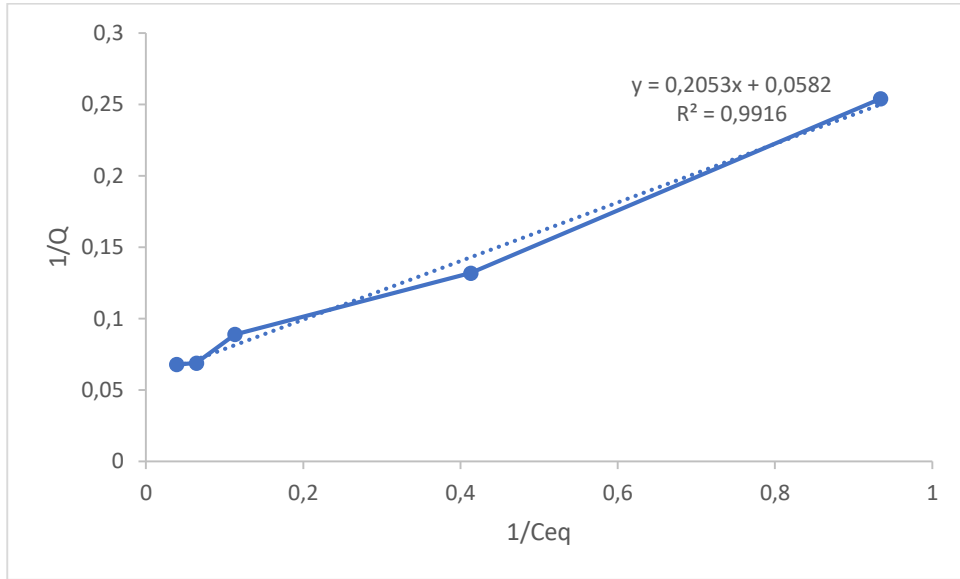
b : Langmuir sabiti (L/mg)

C_{eq} : çözeltide dengedeki propaklor derişimi (mg/L)

Bu denklemden yola çıkılarak MIP ve MIP gömülü kriyojel için Langmuir izoterm grafiğı çizilmiştir.



Şekil 4.8. MIP için Langmuir izoterm grafiği



Şekil 4.9. MIP gömülü kriyojel için Langmuir izoterm grafiği

Şekil 4.8'den MIP için kolerasyon katsayısı (R^2) 0,9854 olan denklemden Q_{max} 50,76 mg g⁻¹ ve b 8,4x10⁻³ L mg⁻¹ hesaplanmıştır. Şekil 4.9'dan MIP gömülü kriyojel için kolerasyon katsayısı (R^2) 0,9916 olan denklemden Q_{max} 17,18 mg g⁻¹ ve b 2,83x10⁻¹ L mg⁻¹ hesaplanmıştır.

4.3.2. Freundlich adsorpsiyon izotermi

Bu izoterm modeli varsayımda, bağlanma bölge enerjilerinin farklı olduğu ve adsorpsiyon alanlarının heterojen olduğu belirtilmektedir. Freundlich denklemi aşağıdaki gibi belirtilebilir [84].

$$\ln Q_e = n \ln C_{eq} + \ln K_f \quad (4.2)$$

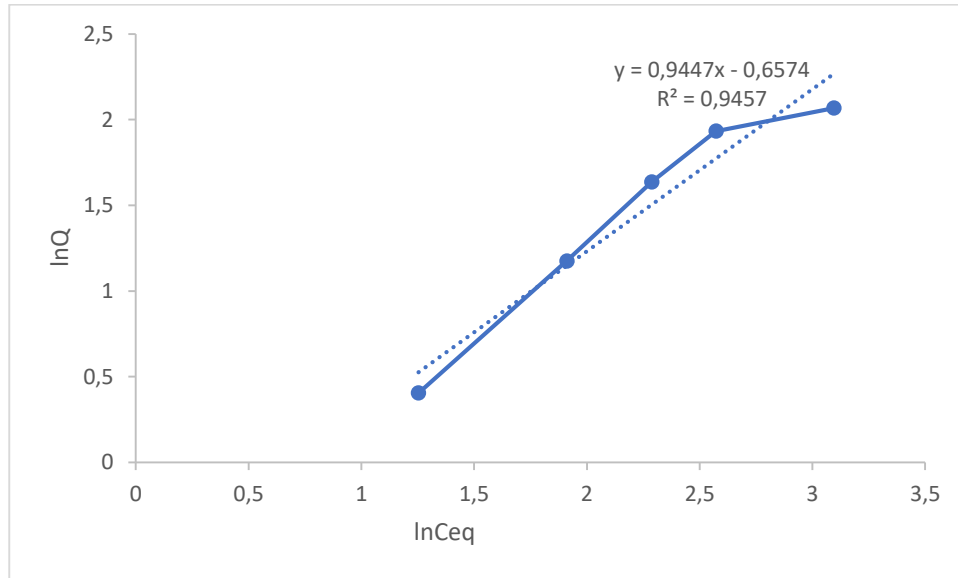
Q_e : birim kütledeki adsorbent üzerinde adsorplanan propaklor miktarı (mg/g)

n : adsorpsiyon şiddetine bağlı Freundlich sabiti

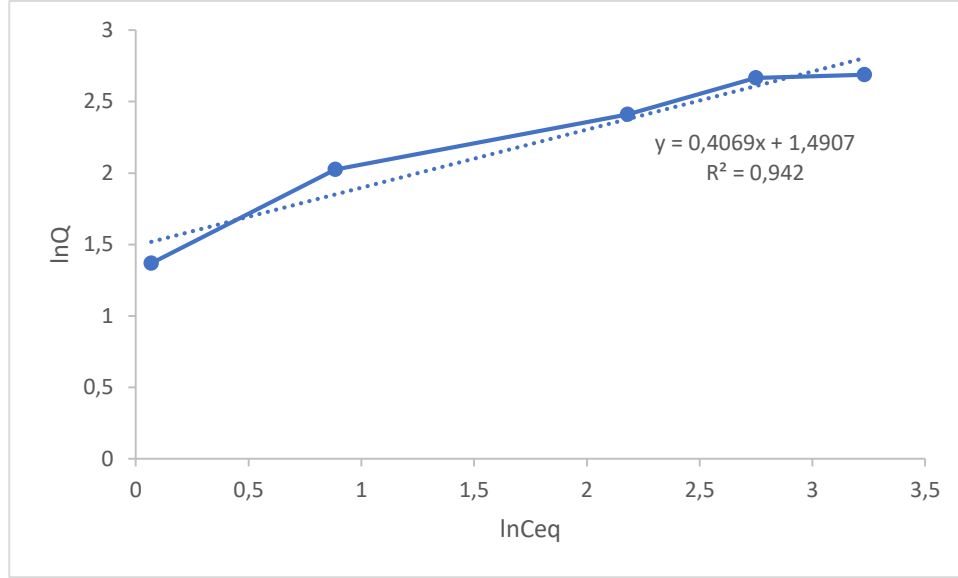
C_{eq} : dengedeki propaklor derişimi (mg/L)

K_f : adsorpsiyon kapasitesine bağlı Freundlich sabiti (L/g)

Bu denkleme bağlı olarak MIP ve MIP gömülü kriyojelin Freundlich izoterm grafiğı çizilmiştir.



Şekil 4.10. MIP için Freundlich izoterm grafiğı



Şekil 4.11. MIP gömülü kriyojel için Freundlich izoterm grafiği

Şekil 4.10’da MIP için grafik denklemin R^2 ’si 0,9457 olarak bulunmuştur. n sabiti 0,9447 ve Kf sabiti ise 1,929 L g⁻¹ olarak bulunmuştur. Şekil 4.11’de ise MIP gömülü kriyojel için grafik denklemin R^2 ’si 0,942 olarak bulunmuştur. n sabiti 0,4069 ve Kf sabiti 4,440 L g⁻¹ olarak bulunmuştur.

4.4. MIP Gömülü Kriyojelin Propaklor Bağlanma Etkinliğinin Belirlenmesi

Propaklor ile MIP gömülü kriyojel arasındaki bağlanma etkileşimi Scatchard analizi ile belirlenmiştir. Bu analiz yöntemi ile adsorplanan maddenin belirgin özellikleri ve çeşitli değişkenlerin incelenmesi bakımından önemli sonuçlar veren bir metottur [85]. Denklem 4.3’de Scatchard eşitliği gösterilmiştir.

$$\frac{Q}{C} = \frac{1}{kd} Q + \frac{Q_{max}}{kd} \quad (4.3)$$

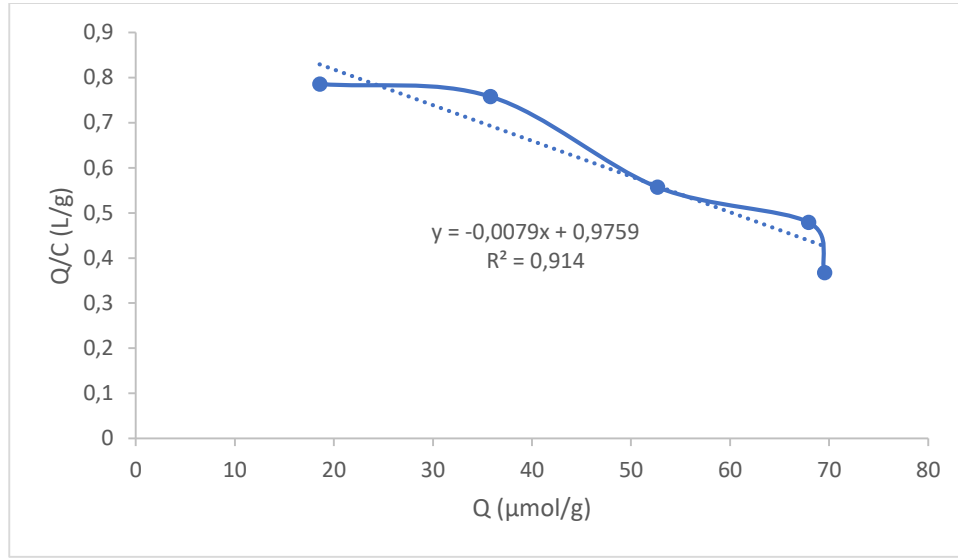
Q: propaklorun birim adsorbana adsorpalanan miktarı (mol/g)

C: serbest propaklor derişimi (mg/L)

kd: bağlanma sabiti

Qmax: maksimum bağlanma bölge sayısı

Bu eşitlikten yararlanarak Şekil 4.12’de veriler grafiğe geçirilmiştir.

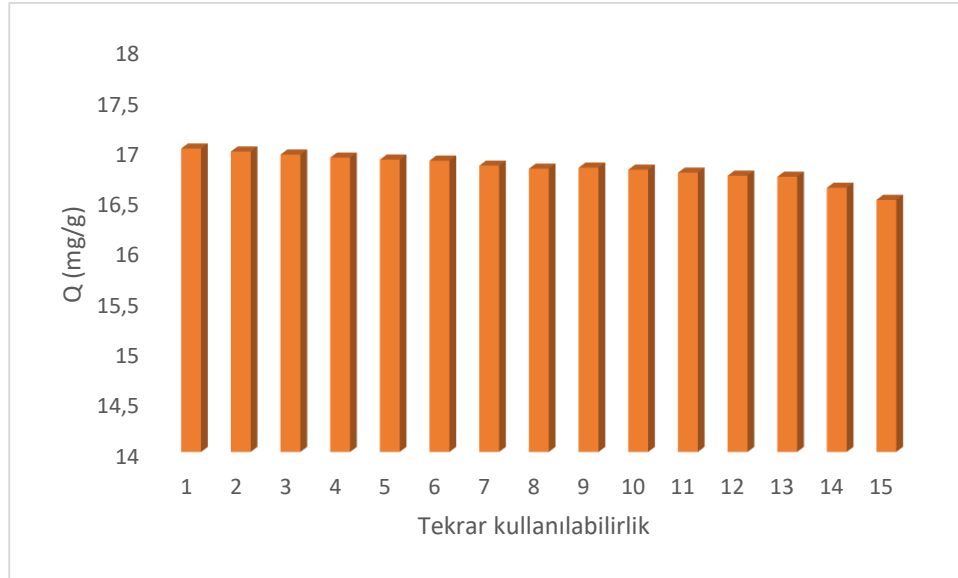


Şekil 4.12. MIP gömülü kriyojel için Scatchard grafiği

Bu grafiğin denklemi oluşturularak, propaklorun MIP gömülü kriyojele bağlanması için $K_d 7,90 \times 10^{-3} \text{ M}$, $K_a 126,58 \text{ M}^{-1}$, $Q_{\text{max}} 26,15 \text{ mg/g}$ olarak bulunmuştur.

4.5. Tekrar Kullanılabilirliğin Belirlenmesi

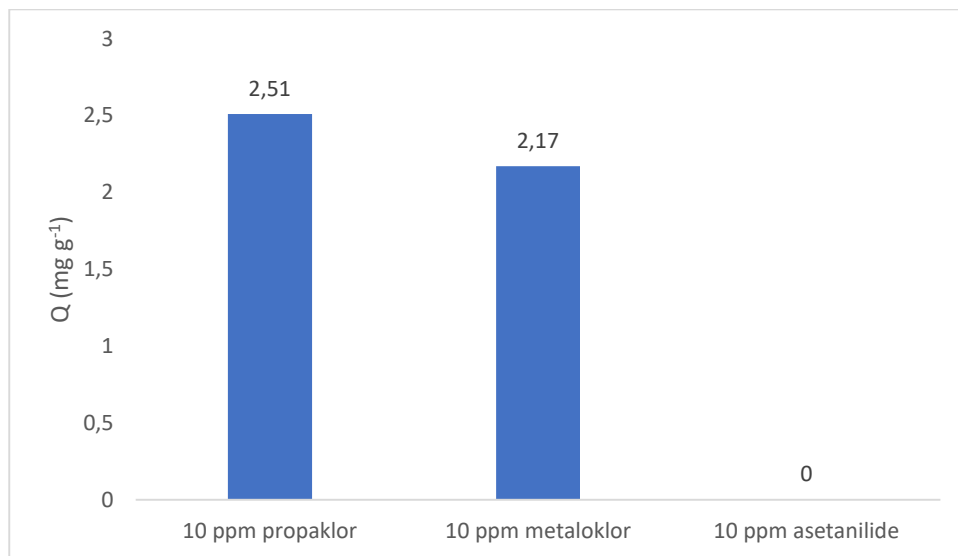
Optimum şartlar altında propaklorun adsorpsiyon ve desorpsiyon döngüsü aynı MIP adsorbanı kullanılarak 10 kez tekrar edilmiştir. Kriyojelin stabilitesini ve yeniden kullanılabilirliğini göstermek için adsorpsiyon ve desorpsiyon döngüsü aynı kriyojel kullanılarak 15 kez tekrar edilmiştir. Şekil 4.13’de görüldüğü gibi MIP gömülü kriyojel çok kararlıdır ve kapasitesinde ciddi bir düşüş olmadan (%3) en az 15 kez kullanılabilir.



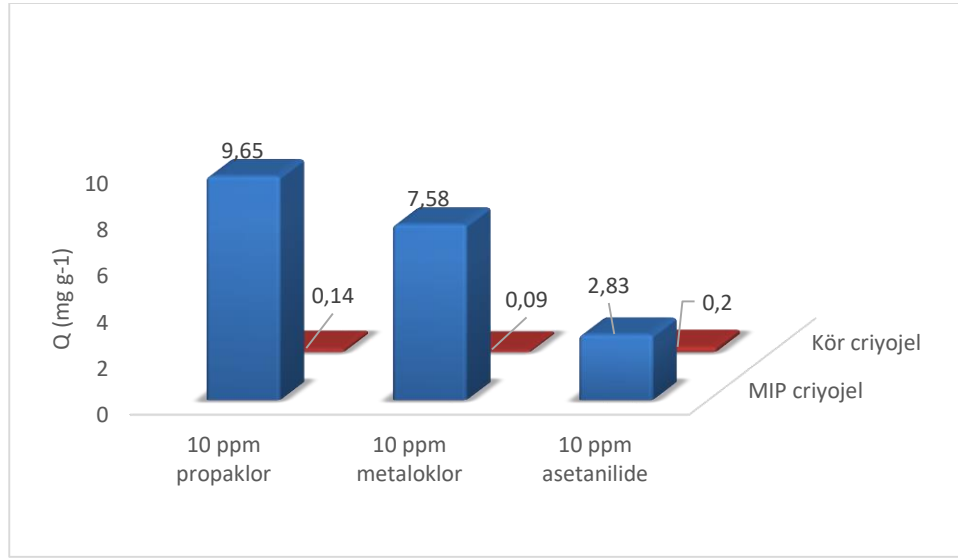
Şekil 4.13. MIP gömülü kriyojelin tekrar kullanılabilirliği

4.6. Seçiciliğin Belirlenmesi Çalışması

Propaklor baskılı polimerin ve hazırlanan kriyojellerin seçiciliği çalışmalarında propaklor yerine metaloklor ve asetanilit kullanılarak incelemeler yapılmıştır. Metaloklor, propaklor gibi kloroasetanilit grubu pestisittir ve yapıları çok benzerdir. Asetanilit ise bu moleküllerden daha küçüktür. Propaklor baskılı polimer ve kriyojeller için 10 ppm de optimum koşullar altında çalışmalar gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.14. Propaklor baskılı polimer için seçicilik



Şekil 4.15. Kriyojeller için seçicilik

Şekil 4.14 ve 4.15’de görüldüğü gibi sentezlenen propaklor baskılı polimer ve MIP gömülü kriyojelin propaklora seçiciliği yapısal olarak çok benzediği metaloklordan bile daha fazladır. Deney boş kriyojel için tekrarlandığında ise adsorpsiyon miktarları arasında büyük bir fark gözlenmemiştir. Bunun nedeni, kör kriyojelin gözeneklerinde seçici olmayan adsorpsiyonun meydana gelmesidir.

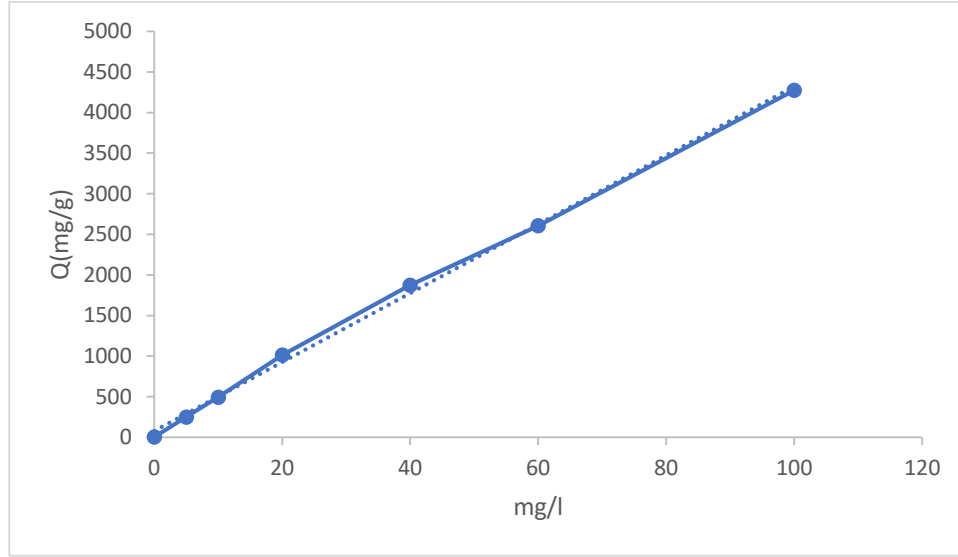
4.7. Gerçek Numunelerin MIP Gömülü Kriyojel İle Önderiştirilmesi

MIP gömülü kriyojelin başarısını test etmek için su ve mısır numuneleri kullanılmıştır. Propaklorun derişimi Agilent 1100 marka HPLC sistemi kullanılarak belirlenmiştir. Deneylerde mobil faz olarak %70 metanol - %30 su kullanılmıştır. Akış hızı 1,0 mL/dk dır. UV dedektöründe 220 nm dalga boyunda propaklor pikleri elde edilmiştir. Standart propaklor çözeltileri kullanılarak elde edilen kalibrasyon grafiği Şekil 4.16’da verilmiştir. Bu grafiğe göre, gözlenebilme sınırı 0,035 ppm, tayin sınırı 0,106 ppm ve çalışma aralığı 0,106-100 ppm olarak bulunmuştur.

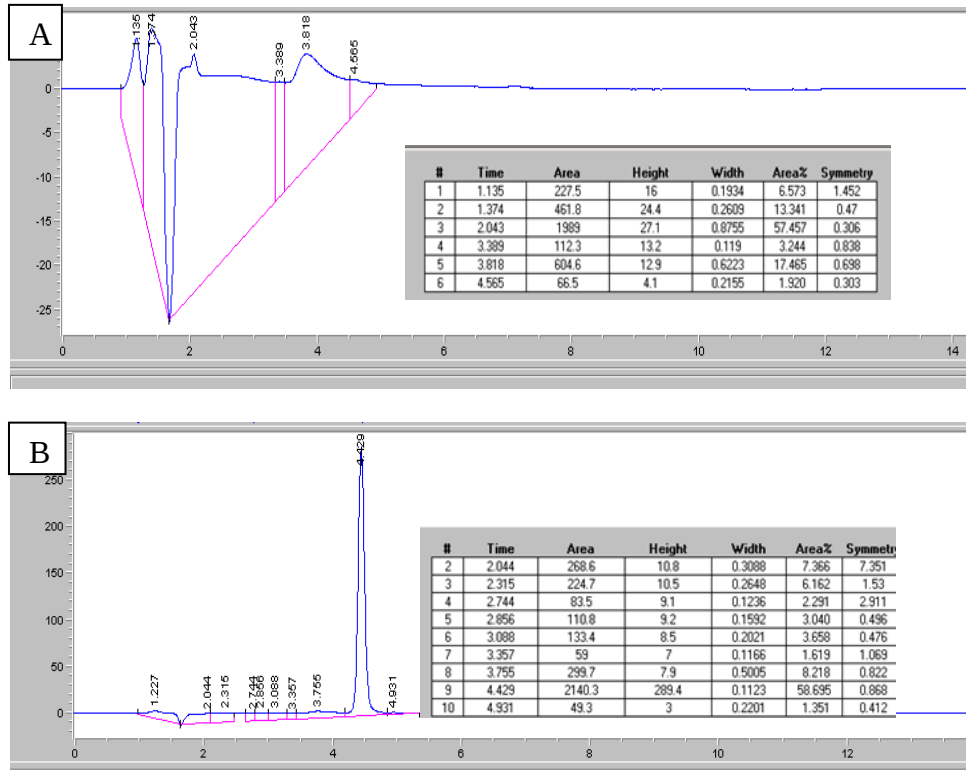
İlk olarak 10-25-50 ppm propaklor standart çözeltileri su ve mısır numuneleri ile karıştırılmıştır. Bu numuneler HPLC ile analiz edilmiştir. Daha sonra bu numunelerden 4 mL alınıp MIP gömülü kriyojelden geçirilmiştir. Elde edilen elüentlerin derişimi HPLC ile analiz edilmiştir. MIP gömülü kriyojel desorpsiyon ve rejenerasyon için 5mL

metanol, 5mL su ve 5 mg NaCl içeren bir karışım ile yıkanmıştır. Yıkama işlemi sonucu elde edilen süzöntülerin derişimi HPLC ile analiz edilmiştir.

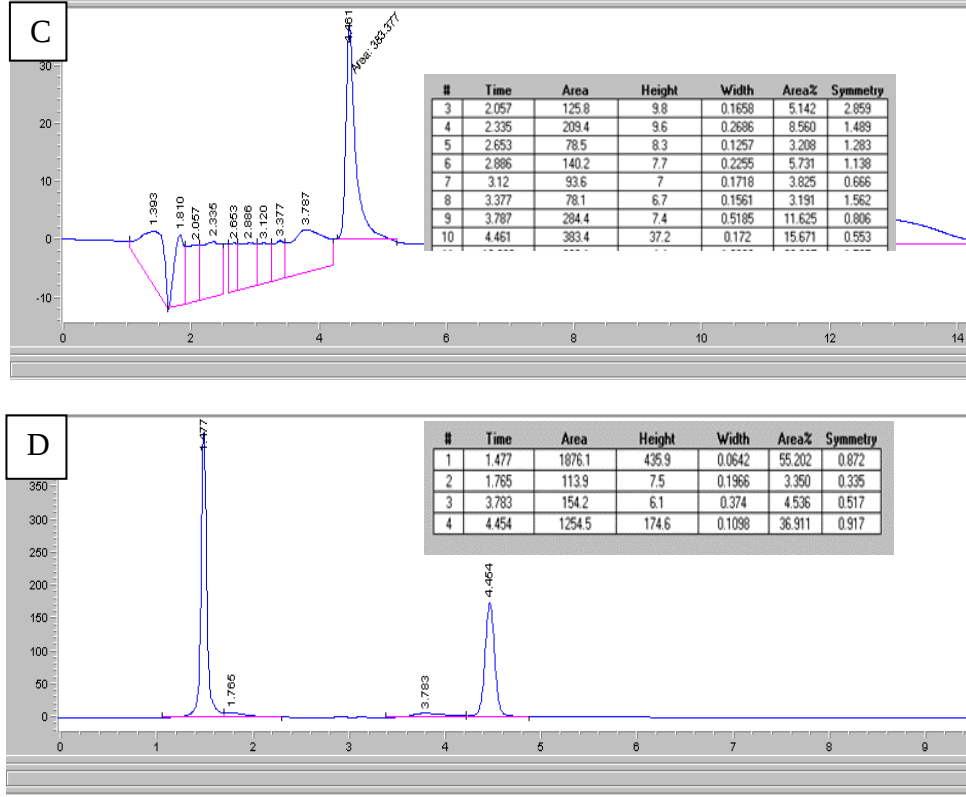
Su numunesi için elde edilen kromatogramlar örnek olarak şekil 4.17’da verilmiştir. Çizelge 4.3’de ise elde edilen tüm sonuçlar verilmiştir.



Şekil 4.16. HPLC kalibrasyon grafiğı



Şekil 4.17. Su numunesi için kromatogramlar



Şekil 4.17. (Devam) Su numunesi için kromatogramlar

Şekil 4.17’de (A) keskin atık su numunesinin kromatogramı, (B) spike propaklor su numunesi, (C) MIP gömülü kriyojelden elde edilen elüent, (D) spike propaklor su numunesi için desorpsiyon kromatogramları görülmektedir. Çizelge 4.3’den görüldüğü gibi MIP gömülü kriyojel ile gerçek numunelerin test edilmesi başarılı bir şekilde gerçekleştirilip %67-98 arasında bir geri kazanım sağlanmıştır.

Çizelge 4.3. *Su ve mısır numunelerinde geri kazanım değerleri*

Numune	Spike konsantrasyon (mg L ⁻¹)	Geri Kazanım %			Ortalama Geri Kazanım %	RSD (%n=3)
		1	2	3		
Su	10	72.02	66.94	64.20	67.72	5.86
	25	77.14	80.16	82.44	79.91	3.33
	50	81.14	79.65	84.56	81.78	3.08
Mısır	10	86.57	90.59	94.80	90.65	4.53
	25	100.65	96.42	99.75	98.94	2.25
	50	90.64	86.35	81.41	86.12	5.36

5. SONUÇLAR

Dünya nüfusunda meydana gelen hızlı artışın etkileri olarak, tarım, su, toprak gibi birçok doğal kaynakta azalma görülmeye başlanmıştır. Bu sorunlara çözüm bulunması ve tarımsal faaliyetlerin artırılması için pestisitlerden yararlanılmıştır. Pestisitler hayvansal yemlerin ve tarımsal ürünlerin üretilmesinde, taşınmasında, kontrol edilmesinde her türlü canlıya karşı korunmasında kullanılmaktadır. Kloroasetanilit herbisit grubundan olan propaklor pestisiti ise mısır gibi çeşitli sebzelerin korunmasında kullanılmaktadır. Pestisitlerin doğal kaynakların korunması sırasında çevreye ve hayvanlara verdiği zararları azaltmak için tayini ve uzaklaştırılması oldukça önem taşımaktadır. Yapılan bu tez çalışmasında, propaklorun tayinini ve uzaklaştırılmasını gerçekleştirmek için katı faz adsorbanı hazırlanmıştır. Katı faz adsorbanın sentezinde ilk olarak, afinitesi yüksek, yüksek seçiciliğe sahip, yeniden kullanılabilirliği fazla olan moleküler baskılama tekniği kullanılmıştır. Katı faz adsorbanın sentezi için ikinci aşamada, düşük basınç, kısa difüzyon yolu, adsorpsiyon için kısa süreler gibi avantajlarından dolayı ayırma ve saflaştırmaya iyi bir alternatif olan kriyojeller kullanılmıştır.

Propaklor baskılı polimerin sentezi, kovalent olmayan baskılama ve emülsiyon polimerizasyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Propaklor kalıp molekülü ve metakrilik asit monomeri ile polimer oluşturulmuştur. Sentezlenen polimer uygun çözücü ile yıkanmıştır. Kriyojellerin sentezinde ise, MIP ve hidroksi etil metakrilat monomeri kullanılarak MIP gömülü kriyojel ve kör kriyojel hazırlanmıştır. Hazırlanan kriyojeller, reaksiyona girmeyen maddeleri uzaklaştırmak için, deiyonize su ile yıkanmıştır.

MIP için karakterizasyon çalışmaları FT-IR spektroskopisi ve SEM analizleri ile gerçekleştirilmiştir. SEM görüntülerinde MIP'in 200 nm çapında nanopartiküler yapıda olduğu görülmüştür. Kriyojellerin karakterizasyonu için SEM analizleri yapılmıştır. MIP gömülü kriyojelin SEM görüntülerinde kriyojelin çeperlerinde MIP nanopartikülleri görülmüştür.

MIP ve MIP gömülü kriyojelin adsorpsiyon-desorpsiyon optimizasyonunun yapılmasının ardından MIP'in pH 5'de 15 ppm propaklor kullanıldığında en yüksek adsorpsiyon kapasitesi 5,58 mg/g, maksimum adsorpsiyon kapasitesi 30 ppm propaklor kullanıldığında ise 7,45 mg/g olarak bulunmuştur. MIP gömülü kriyojel için maksimum adsorpsiyon kapasitesi ise 30 ppm propaklor kullanıldığında 14,38 mg/g olarak

bulunmuştur. MIP gömülü kriyojelin bu değerinin literatürdeki ve yapılan bu çalışmadaki MIP adsorpsiyon kapasitesinden daha yüksek olduğu görülmüştür.

MIP için adsorplanan propaklor, metanol ile %100 oranında geri kazanılmıştır. Desorpsiyonu sağlanan MIP ile adsorpsiyon-desorpsiyon döngüsü 10 kez tekrar edilmiştir. MIP gömülü kriyojel için adsorplanan propaklor miktarı metanol-su-NaCl karışımı ile %100 oranında geri kazanılmıştır. Adsorpsiyon-desorpsiyon döngüsü kriyojelin kapasitesinde bir düşüşe neden olmadan (%3) en az 15 kez tekrar edilmiştir.

MIP ve MIP gömülü kriyojelin optimum adsorpsiyon koşulları altında asetanilit ve propaklora yapısal benzerliği bulunan metaloklor ile çalışılmasının sonucunda MIP'in ve MIP gömülü kriyojelin propaklora seçiciliğinin oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir.

MIP ve MIP gömülü kriyojel için propaklorun adsorpsiyon verileri Langmuir ve Freundlich izotermine göre incelendiğinde Langmuir izotermi ile uyduğu belirlenmiştir. Scatchard modeli ile propaklorun MIP gömülü kriyojele bağlanması için maksimum bölge sayısı 26,15 mg/g olarak bulunmuştur.

MIP gömülü kriyojel kullanılarak tarım alanlarındaki birikmiş su ve mısır taneleri örneğinde propaklorun geri kazanımına bakılmıştır. Su örneği için % 67-81 aralığında, mısır örneği için % 86-98 aralığında geri kazanım elde edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar MIP gömülü kriyojelin gerçek numuneler ile önderiştirilmesinin başarılı olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada MIP nanopartiküllerinin yüksek seçiciliği, kriyojellerin yüksek gözenekliliği ve kromatografik kullanım kolaylığı ile birleştirilerek propaklor pestisitinin önderiştirilmesi ve uzaklaştırılması için oldukça başarılı bir katı-faz ekstraksiyon sorbenti hazırlanmıştır. Hazırlanan bu sorbent gerçek numunelerde başarılı bir şekilde uygulanmıştır.

KAYNAKÇA

- [1] Chawla, P., Kaushik, R., Swaraj, V.J.S., and Kumar, N. (2018) Environmental Nanotechnology , Monitoring & Management Organophosphorus pesticides residues in food and their colorimetric detection. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*. 10 (July), 292–307.
- [2] Altikat, A. and Torun, F.E. (2009) Türkiye’de Pestisit Kullanımı ve Çevreye Olan Etkileri. 40 (2), 87–92.
- [3] Ar, K. and Boyraz, N. (n.d.) Kirlenmesinde Pestisitler ve Korunma Yolları. *Çevre Dergisi*.
- [4] Qu, J.R., Zhang, J.J., Gao, Y.F., and Yang, H. (2012) Synthesis and utilisation of molecular imprinting polymer for clean-up of propachlor in food and environmental media. *Food Chemistry*. 135 (3), 1148–1156.
- [5] Muñoz, A., Vera, T., Sidebottom, H., Ródenas, M., Borrás, E., Vázquez, M., et al. (2012) Studies on the atmospheric fate of propachlor (2-chloro-N-isopropylacetanilide) in the gas-phase. *Atmospheric Environment*. 49 33–40.
- [6] Yang, H., Yang, L., Hu, Z., Liu, H., Pang, H., and Yi, B. (2015) Journal of Water Process Engineering General transformation law of chlorinated acetanilide herbicides by reactive oxidative species (ROSs) during photocatalytic process. *Journal of Water Process Engineering*. 8 e66–e74.
- [7] Ahmad, O.S., Bedwell, T.S., Esen, C., Garcia-cruz, A., Piletsky, A., and Le, L. (2018) Molecularly Imprinted Polymers in Electrochemical and Optical Sensors. *Trends in Biotechnology*. 1–16.
- [8] Schweitz, L. (2003) Molecularly imprinted polymers in capillary electrochromatography : Recent developments. 3892–3899.
- [9] Rebocho, S., Cordas, C.M., Viveiros, R., and Casimiro, T. (2018) The Journal of Supercritical Fluids Development of a ferrocenyl-based MIP in supercritical carbon dioxide : Towards an electrochemical sensor for bisphenol A. *The Journal of Supercritical Fluids*. 135 (January), 98–104.
- [10] Amabile, T., Brigante, V., Felipe, L., Miranda, C., Donizeti, I., Souza, D., et al.

- (2017) Pipette tip dummy molecularly imprinted solid-phase extraction of Bisphenol A from urine samples and analysis by gas chromatography coupled to mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*. 1067 (September), 25–33.
- [11] Ersöz, A., Denizli, A., Demirel, R., and Say, R. (2013) Separation and purification of hyaluronic acid by embedded glucuronic acid imprinted polymers into cryogel Özlem Bic. 934 46–52.
- [12] Kumar, S., Nehra, M., Dilbaghi, N., Marrazza, G., Aly, A., and Kim, K. (2019) Nano-based smart pesticide formulations: Emerging opportunities for agriculture. *Journal of Controlled Release*. 294 (November 2018), 131–153.
- [13] Das, Y.K. and Aksoy, A. (2016) Pestisitler. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Pharmacol Toxicol-Special Topics* 2016;2(2):1-17. (October), 18.
- [14] Chawla, P., Kaushik, R., Swaraj, V.J.S., and Kumar, N. (2018) Environmental Nanotechnology , Monitoring & Management Organophosphorus pesticides residues in food and their colorimetric detection. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*. 10 (June), 292–307.
- [15] Çetinkaya Açar, Ö. (2015) Pestisit Analizleri Eğitim Notu. *T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı*. 32.
- [16] Bakanlığı, M.E. (2012) Çevre Sağlığı Pestisitler.
- [17] KINIK, D.D.Ö. and KAVAS, Y.D.D.G. (1994) Süt ve Ürünlerinde Pestisitler. *Gıda Mühendisliği Dergisi*. 31–38.
- [18] Demir, A.E.A., Dilek, F.B., and Yetis, U. (2019) A new screening index for pesticides leachability to groundwater. *Journal of Environmental Management*. 231 (May 2018), 1193–1202.
- [19] Möhring, N., Gaba, S., and Finger, R. (2019) Science of the Total Environment Quantity based indicators fail to identify extreme pesticide risks. *Science of the Total Environment*. 646 503–523.
- [20] Yıldız, M., Gürkan, O., Turgut, C., Kaya, Ü., and Ünal, G. (2005) Tarımsal savaşımında kullanılan pestisitlerin yol açtığı çevre sorunları. *VI. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi, TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, Ankara*.
- [21] Liu, C.S., Shih, K., Wei, L., Wang, F., and Li, F.B. (2011) Chemosphere Kinetics and mechanism of propachlor reductive transformation through

- nucleophilic substitution by dithionite. 85 1438–1443.
- [22] Gençten, M. and Özcan, A. (2015) A detailed investigation on electro-Fenton treatment of propachlor: Mineralization kinetic and degradation intermediates. *Chemosphere*. 136 167–173.
- [23] Stamper, D.M. and Tuovinen, O.H. (1998) Biodegradation of the Acetanilide Herbicides Alachlor, Metolachlor, and Propachlor. *Critical Reviews in Microbiology*. 24 (1), 1–22.
- [24] Oğuzhan YAVUZ Abdurrahman AKSOY (2006) Örnek Hazırlamada Katı Faz Ekstraksiyonu Metodu. *F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi*. 20 (3), 259–269.
- [25] DURMAZ, F. (2008) Akış Enjeksiyon – Katı Faz Ekstraksiyon Sistemi İle Bazı Metal İyonlarının Tayin Edilmesi. *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. 42–72.
- [26] Vale'rie Camel (2003) Solid phase extraction of trace elements. 58 1177–1233.
- [27] Types, P. (1998) Ion exchange packings Normal phase SPE Ion exchange SPE. *Sigma Aldrich*. 1–12.
- [28] Płotka-wasyłka, J. and Szczepan, N. (2016) Trends in Analytical Chemistry Modern trends in solid phase extraction : New sorbent media. 77 23–43.
- [29] Salemi, A., Khaleghifar, N., and Mirikaram, N. (2019) Optimization and comparison of membrane-protected micro-solid-phase extraction coupled with dispersive liquid-liquid microextraction for organochlorine pesticides using three different sorbents. *Microchemical Journal*. 144 (September 2018), 215–220.
- [30] Harun Hadi KUŞ (2013) Moleküler Baskılanmış Polimerler ve Uygulamaları. *Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi*. 17–55.
- [31] Zaidi, S.A. (2017) Molecular imprinting polymers and their composites: A promising material for diverse applications. *Biomaterials Science*. 5 (3), 388–402.
- [32] Ensa, A.A., Zakery, M., and Rezaei, B. (2019) Spectrochimica Acta Part A : Molecular and Biomolecular Spectroscopy An optical sensor with specific binding sites for the detection of thioridazine hydrochloride based on ZnO-QDs coated with molecularly imprinted polymer. 206 460–465.
- [33] Xing, R., Wen, Y., He, H., Guo, Z., and Liu, Z. (2019) Trends in Analytical

Chemistry Recent progress in the combination of molecularly imprinted polymer-based affinity extraction and mass spectrometry for targeted proteomic analysis *. *Trends in Analytical Chemistry*. 110 417–428.

- [34] Djozan, D. and Ebrahimi, B. (2008) Preparation of new solid phase micro extraction fiber on the basis of atrazine-molecular imprinted polymer: Application for GC and GC / MS screening of triazine herbicides in water, rice and onion. 6 152–159.
- [35] Haupt, K., Linares, A. V, and Bompart, M. (2011) Molecularly Imprinted Polymers. *TOPCURRCHEM*. 325 (May 2014), 4–29.
- [36] Marce, R.M. and Caro, E. (2002) Non-covalent and semi-covalent molecularly imprinted polymers for selective on-line solid-phase extraction of 4-nitrophenol from water samples. *Journal of Chromatography A*. 963 (1–2), 169–178.
- [37] Ikegami, T., Mukawa, T., Nariai, H., and Takeuchi, T. (2004) Bisphenol A-recognition polymers prepared by covalent molecular imprinting. *Analytica Chimica Acta*. 504 (1), 131–135.
- [38] Zhang, H., Ye, L., and Mosbach, K. (2006) Non-covalent molecular imprinting with emphasis on its application in separation and drug development y. (June), 248–259.
- [39] Sev, Y., Tez, L., Bilim, K.A., Yal, Y., and Yarman, A. (2018) Aspartamin yapay reseptörlere dayalı moleküler baskili polimerleri ve moleküler modellenmesi. 16–20.
- [40] Panjan, P., Monasterio, R.P., Carrasco-pancorbo, A., Fernandez-gutierrez, A., Sesay, A.M., and Fernandez-sanchez, J.F. (2018) Development of a folic acid molecularly imprinted polymer and its evaluation as a sorbent for dispersive solid-phase extraction by liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1576 26–33.
- [41] Fehmi KARAGÖZ (2015) Hedef Kimyasala Duyarlı Floresan Malzemelerin Sentezi ve Kimyasal Sensörlerde Kullanımı. *İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. 45–54.
- [42] Cai, J., Chen, T., Xu, Y., Wei, S., Huang, W., Liu, R., et al. (2019) Biosensors and Bioelectronics A versatile signal-enhanced ECL sensing platform based on molecular imprinting technique via PET-RAFT cross-linking polymerization

- using bifunctional ruthenium complex as both catalyst and sensing probes. *Biosensors and Bioelectronic*. 124–125 (June 2018), 15–24.
- [43] Zhu, X., Zeng, Y., Zhang, Z., Yang, Y., Zhai, Y., and Wang, H. (2018) Biosensors and Bioelectronics A new composite of graphene and molecularly imprinted polymer based on ionic liquids as functional monomer and cross-linker for electrochemical sensing 6-benzylaminopurine. *Biosensors and Bioelectronic*. 108 (November 2017), 38–45.
- [44] Roushani, M., Jalilian, Z., and Nezhadali, A. (2018) Colloids and Surfaces B : Biointerfaces A novel electrochemical sensor based on electrode modified with gold nanoparticles and molecularly imprinted polymer for rapid determination of trazosin. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 172 (September), 594–600.
- [45] Schwarz, L.J., Danylec, B., Harris, S.J., Boysen, R.I., and Hearn, M.T.W. (2016) Sequential molecularly imprinted solid-phase extraction methods for the analysis of resveratrol and other polyphenols. *Journal of Chromatography A*. 1438 22–30.
- [46] Middeleer, G. De, Dubruel, P., and Saeger, S. De (2016) Trends in Analytical Chemistry Characterization of MIP and MIP functionalized surfaces : Current state-of-the-art. 76 71–85.
- [47] Science, F. and Chemistry, A. (2013) Molecularly Imprinted Polymers and Their Synthesis by Different Methods. 21 (3), 145–151.
- [48] Saçak, M. (1998) POLİMER KİMYASINA GİRİŞ. A.Ü.F.F. Döner Sermaya İşletmesi Yayınları. 50.
- [49] Milli Eğitim Bakanlığı (2013) Kimya teknolojisi polimer eldesi. 15–20.
- [50] Lv, Y., Zhao, C., He, Y., Yang, Z., and Sun, H. (2013) Preparation of doxycycline-imprinted magnetic microspheres by inverse-emulsion suspension polymerization for magnetic dispersion extraction of tetracyclines from milk samples. *Separation Science*. 36 (16), 2656–2663.
- [51] Lin, C., Chu, W., Lee, Y. Der, Wong, Y., and Chang, C. (2003) Molecularly Imprinted Polymeric Beads for Decaffeination. *Journal of Medical and Biological Engineering*. 23 (2), 53–55.
- [52] Ayankojo, A.G., Reut, J., Öpik, A., and Furchner, A. (2018) Biosensors and Bioelectronics Hybrid molecularly imprinted polymer for amoxicillin detection. *Biosensors and Bioelectronic*. 118 (June), 102–107.

- [53] Lian, Z. and Wang, J. (2018) Selective detection of chloramphenicol based on molecularly imprinted solid-phase extraction in seawater from Jiaozhou Bay , China. *Marine Pollution Bulletin*. 133 (March), 750–755.
- [54] Lian, Z. and Wang, J. (2017) Selective isolation of gonyautoxins 1 , 4 from the dino fl agellate *Alexandrium minutum* based on molecularly imprinted solid-phase extraction. *Marine Pollution Bulletin*. 122 (1–2), 500–504.
- [55] Zhao, X., Wang, J., Wang, J., and Wang, S. (2018) Development of water-compatible molecularly imprinted solid-phase extraction coupled with high performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry for the detection of six sulfonamides in animal-derived foods. *Journal of Chromatography A*. 1574 9–17.
- [56] Henrique, P., Luiza, M., Diniz, V., Antônio, G., César, C., Elisa, M., et al. (2018) Talanta Molecularly imprinted polymer for determination of lumefantrine in human plasma through chemometric-assisted solid-phase extraction and liquid chromatography. *Talanta*. 184 (January), 173–183.
- [57] Guo, X., Xia, Z., Wang, H., Kang, W., Lin, L., and Cao, W. (2017) Talanta Molecularly imprinted solid phase extraction method for simultaneous determination of seven nitroimidazoles from honey by HPLC-MS / MS. *Talanta*. 166 (October 2016), 101–108.
- [58] Reza, A., Arabi, M., Ghaedi, M., Ostovan, A., and Wang, X. (2019) Talanta Dummy molecularly imprinted polymers based on a green synthesis strategy for magnetic solid-phase extraction of acrylamide in food samples. *Talanta*. 195 (November 2018), 390–400.
- [59] Lian, Z. and Wang, J. (2016) Determination of cipro fl oxacin in Jiaozhou Bay using molecularly imprinted solid-phase extraction followed by high-performance liquid chromatography with fl uorescence detection. *MPB*. 111 (1–2), 411–417.
- [60] Tamayo, F.G., Turiel, E., and Mart, A. (2007) Molecularly imprinted polymers for solid-phase extraction and solid-phase microextraction : Recent developments and future trends. *Journal of Chromatography A*. 1152 (1–2), 32–40.
- [61] Andac, M., Plieva, F.M., Denizli, A., Galaev, I.Y., and Mattiasson, B. (2008) Poly(hydroxyethyl methacrylate)-based macroporous hydrogels with bisulfide

- cross-linker. *Macromolecular Chemistry and Physics*. 209 (6), 577–584.
- [62] Bal, A., Özkahraman, B., Gök, M.K., and Acar, I. (2014) Investigation of Swelling, Adsorption and Mechanical Properties of Sodium Acrylate Based Hydrogel and Cryogels. *Pamukkale University Journal of Engineering Sciences*. 20 (7), 258–265.
- [63] ÇULHA, S. (2014) İmmunoglobulin G Saflaştırılması İçin L-Lizin Baskılanmış Seçici Kriyojellerin Hazırlanması. *Hacettepe Üniversitesi*.
- [64] Ünlüer, Ö.B., Özcan, A., and Uzun, L. (2014) Preparation of a novel hydrophobic affinity cryogel for adsorption of lipase and its utilization as a chromatographic adsorbent for fast protein liquid chromatography. *Biotechnology Progress*. 30 (2), 376–382.
- [65] Malko, M.W. and Wróblewska, A. (2016) The importance of R-(+)-limonene as the raw material for organic syntheses and for organic industry. *Chemik*. 70 (4), 198–202.
- [66] ÇetİN, K. (2013) FLOROURASİL Salinimi Fluorouracil Delivery From Molecularly Imprinted Cryogel Disks.
- [67] Jian, W., Qin-mei, W., Li-li, T., Chen, Y., Su-hua, Y.U., and Chun, Y. (2015) Research Progress of the Molecularly Imprinted Cryogel. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*. 43 (11), 1777–1784.
- [68] Gun, V.M., Savina, I.N., and Mikhalovsky, S. V (2013) Cryogels : Morphological , structural and adsorption characterisation. *Advances in Colloid and Interface Science*. 187–188 1–46.
- [69] Bakanlığı, M.E. (2013) KROMATOĞRAFİK ANALİZLER.
- [70] Weston, A. and Brown, P.R. (1997) High-Performance Liquid Chromatography. in: HPLC CE, pp. 1–23.
- [71] Dr.Donald A.Wellings (2005) The history and development of preparative HPLC. in: A Pract. Handb. Prep. HPLC, pp. 1–15.
- [72] Zhao, Y., You, X.M., Jiang, H., Zou, G.X., and Wang, B. (2019) Spectrum–effect relationships between high-performance liquid chromatography fingerprints and anti-inflammatory activities of *Leontopodium leontopodioides* (Willd.) Beauv. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the*

Biomedical and Life Sciences. 1104 (September 2018), 11–17.

- [73] Serkan ERDEMİR (2011) The history and development of preparative HPLC. *SELÇUK ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ*. 34–39.
- [74] Aysen HÖL (2011) Bazı Metal ve Organometalik Bileşiklerin Kromatografik ve Spektroskopik Tayinleri. *Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.
- [75] Dr.Donald A.Wellings (2005) Modes of chromatographic separation. in: *A Pract. Handb. Prep. HPLC*, pp. 29–56.
- [76] R.Brown, A. (1997) Instrumentation for High-Performance Liquid Chromatography. in: *HPLC CE Princ. Pract.*, pp. 71–133.
- [77] Lynch, K.B., Chen, A., and Liu, S. (2018) Miniaturized high-performance liquid chromatography instrumentation. *Talanta*. 177 (September 2017), 94–103.
- [78] Serban C.Moldoveanu, V. (2013) Basic Information about HPLC. in: *Essentials Mod. HPLC Sep.*, pp. 1–51.
- [79] Regarding, B.I. and Techniques, H. (2017) Basic Information Regarding the HPLC Techniques 4.1. .
- [80] Regarding, G.A. and Column, H.A. (2017) General Aspects Regarding the HPLC Analytical Column. .
- [81] Abdullah AKDOĞAN (2011) Bazı Pestisitlerin Kromatografik Ayrılmaları ve Tayinleri. *Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. 40–41.
- [82] Klenniburgh, D.G. (1986) General Purpose Adsorption Isotherms. 20 (9), 895–904.
- [83] Azizian, S., Eris, S., and Wilson, L.D. (2018) Re-evaluation of the century-old Langmuir isotherm for modeling adsorption phenomena in solution. *Chemical Physics*. 513 (June), 99–104.
- [84] Kim, Y. and Kim, J. (2019) Isotherm, kinetic and thermodynamic studies on the adsorption of paclitaxel onto Sylopute. *The Journal of Chemical Thermodynamics*. 130 104–113.
- [85] Lopez, C., Claude, B., Morin, P., Max, J., Pena, R., and Ribet, J. (2011) Analytica Chimica Acta Synthesis and study of a molecularly imprinted polymer for the specific extraction of indole alkaloids from Catharanthus roseus extracts. *Analytica Chimica Acta*. 683 (2), 198–205.