

**ENDOKRİN SİSTEM ÜZERİNDE BOZUCU
ETKİ GÖSTEREN BAZI MOLEKÜLLERİN
ÖNDERİŞTİRİLMESİ İÇİN KATI FAZ
ADSORBANLARININ HAZIRLANMASI**

Fatma Betül KALKAN

Yüksek Lisans Tezi

Eskişehir, 2018

**ENDOKRİN SİSTEM ÜZERİNDE BOZUCU ETKİ GÖSTEREN
BAZI MOLEKÜLLERİN ÖNDERİŞTİRİLMESİ
İÇİN KATI FAZ ADSORBANLARININ HAZIRLANMASI**

Fatma Betül KALKAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Analitik Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ali Özcan

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kasım, 2018

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Fatma Betül KALKAN'ın “**Endokrin Sistem Üzerine Bozucu Etki Gösteren Bazı Moleküllerin Önderiştirilmesi İçin Katı Faz Adsorbanlarının Hazırlanması**” başlıklı tezi 19/11/2018 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.

<u>Jüri Üyeleri</u>	<u>Unvanı Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı)	: Doç. Dr. Ali ÖZCAN	
Üye	: Prof. Dr. Ebru BİRLİK ÖZKÜTÜK	
Üye	: Doç. Dr. Sibel EMİR DİLTEMİZ	

Prof.Dr. Ersin YÜCEL
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

ENDOKRİN SİSTEM ÜZERİNDE BOZUCU ETKİ GÖSTEREN BAZI MOLEKÜLLERİN ÖNDERİŞTİRİLMESİ İÇİN KATI FAZ ADSORBANLARININ HAZIRLANMASI

Fatma Betül KALKAN

Kimya Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kasım 2018

Danışman: Doç. Dr. Ali ÖZCAN

Endokrin sistem bozucu kimyasallar (EBK) endokrin sistemin düzenli çalışmasını engelleyerek canlılarda uzun süreli ve ciddi sağlık sorunlarına neden olmaktadır. EBK'lerden biri olan Bisfenol A (BPA) diyabet, obezite, kısırlık ve kardiyovasküler rahatsızlıklar gibi bazı hastalıklara ve bazı kanser türlerinin oluşmasına neden olmaktadır. Gıda ve içecek ambalajları, biberonlar, su şişeleri, plastik gıda saklama kapları, konserve ve diğer metal ürünlerin iç yüzey kaplaması BPA içermektedir ve içeriğindeki ürüne BPA salınımı gerçekleşmektedir. Tez çalışması kapsamında BPA'nın önderiştirilmesi için MIP temelli katı faz adsorbanı geliştirilmiştir. Miniemülsiyon polimerizasyon yöntemiyle elde edilen polimerde BPA kalıp molekül, metakrilik asit monomer, TRIM çapraz bağlayıcı ve AIBN polimerizasyon başlatıcısı olarak kullanılmıştır. Sentezlenen MIP'in katı faz ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi için adsorpsiyon ve desorpsiyon çalışmaları yapılmıştır. MIP nanopartiküllerin adsorpsiyon davranışı Langmuir, Freundlich, Sips ve Scatchard izoterm modelleriyle incelenmiş ve MIP'in BPA adsorpsiyonunun Langmuir modeline uyduğu görülmüştür. Langmuir izoterm modeline göre MIP nanopartiküllerin maksimum adsorpsiyon kapasitesi $86,207 \text{ mg g}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. 17 β -Estradiol, estron, fenol ve naftol gibi BPA'ya yapısal benzerliği bulunan moleküller ile gerçekleştirilen seçicilik deneyleri sonucunda, sentezlenen MIP adsorbanın BPA'ya karşı yüksek seçiciliğe sahip olduğu görülmüştür. MIP adsorban su numunesinde BPA önderiştirilmesinde test edilmiş ve %81 ile %101 aralığında geri kazanım değerleri elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, sentezlenen MIP'in, BPA tayin çalışmalarında matriks etkisini ortadan kaldırmak ve düşük derişimlerde tayinini gerçekleştirebilmek için uygun bir katı faz adsorbanı olduğunu göstermiştir.

Anahtar Sözcükler: Bisfenol A, Katı faz ekstraksiyonu, Miniemülsiyon polimerizasyonu, Molekül baskılı polimer

ABSTRACT

PREPARATION OF SOLID PHASE ADSORBENTS FOR THE PRECONCENTRATION OF SOME MOLECULES THAT SHOW DISRUPTIVE EFFECT ON THE ENDOCRINE SYSTEM

Fatma Betül KALKAN

Department of Chemistry

Anadolu University, Graduate School of Sciences, November, 2018

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ali ÖZCAN

Endocrine disrupting chemicals (EBK) cause long-term and serious health problems in living things by prevent the regular work of the endocrine system. Bisphenol A (BPA), one of the EBKs, causes some diseases such as diabetes, obesity, infertility and cardiovascular diseases and causes some types of cancer. BPA is existed inner surface of the food and beverage packaging, baby bottles, water bottles, plastic food storage containers, metal canned and other metal products and BPA is released into the product which is in the these materials. In this thesis, MIP based solid phase adsorbent has been developed for the preconcentration of BPA. BPA, methacrylic acid, TRIM, AIBN are used as mold molecule, monomer, crosslinker and polymerization initiator, respectively in the polymer that was obtained by miniemulsion polymerization method. Adsorption and desorption studies were investigated to determine the solid phase extraction conditions of MIP synthesized. The adsorption behavior of MIP nanoparticles was investigated with Langmuir, Freundlich, Sips and Scatchard isotherm models and it was observed that MIP's BPA adsorption was abided by the Langmuir model. According to Langmuir isotherm model, maximum adsorption capacity of MIP nanoparticles was calculated as 86,207 mg g⁻¹. It was seen that the synthesized MIP adsorbent has a high selectivity to the BPA, according to the results of the selectivity experiments performed by molecules with structural similarity to BPA such as β -Estradiol, estrone, phenol and naphthol. MIP adsorbent was tested in the preconcentration of the BPA in the water sample and recovery values in the range of 81% to 101% were obtained. The results showed that the synthesized MIP was a suitable solid-phase adsorbent in order to eliminate the matrix effect and determine in low concentrations in the BPA determination studies.

Keywords: Bisphenol A, Solid phase extraction, Miniemulsion polymerization, Molecular imprinted polymer

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresinde bilgi ve tecrübesiyle yol gösteren, kendisinden çok değerli bilgiler öğrendiğim danışman hocam Sayın Doç. Dr. Ali Özcan'a teşekkürü borç bilirim.

Tez çalışmamda bilgi birikimi ve deneyimi ile beni yönlendiren değerli hocam Sayın Doç. Dr. Ayça ATILIR ÖZCAN'a 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 çalışma arkadaşım Ayşegül ÖZBAL'a, hem manevi hem de deneysel süreçlerde bana çok destek olan çalışma ve ev arkadaşım Duygu TOPÇUOĞULLARI'na, bilgi ve tecrübesini benimle paylaşan ve yönlendiren Salih İLKBAŞ'a, gerek deneysel gerekse manevi desteğini benden hiç esirgemeyen, doğru kararlar vermeme sağlayan Mehmet Tolga GARİP'e çok teşekkür ederim.

Sevgilerini, ilgilerini, maddi ve manevi desteklerini her zaman hissettiğim, tüm zorluklara rağmen benden hiçbir şey esirgemedi beni bu günlere getiren, bana her zaman güvenen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Fatma Betül KALKAN

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.

.....

Fatma Betül KALKAN

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	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Endokrin Sistem.....	3
2.2. Endokrin Sistem Bozucu Kimyasallar	4
2.2.1. Endokrin sistem bozucu kimyasalların sınıflandırılması.....	5
2.2.1.1. Doğal endokrin bozucu kimyasallar.....	5
2.2.1.2. Sentetik endokrin bozucu kimyasallar	6
2.2.2. Endokrin sistem bozucu kimyasalların insan sağlığına etkileri	6
2.2.2.1. Endokrin sistem bozucu kimyasalların üreme sağlığı üzerine etkileri.....	7

2.2.2.2. <i>Endokrin sistem bozucu kimyasalların immün sistem üzerine etkileri</i>	7
2.2.2.3. <i>Endokrin sistem bozucu kimyasalların enerji metabolizması üzerine etkileri</i>	8
2.2.3. Endokrin sistem bozucu kimyasalların etki mekanizması.....	8
2.3. Bisfenol A.....	9
2.3.1. Bisfenol A'nın çevresel davranışı	10
2.3.2. Bisfenol A'nın insan sağlığına etki mekanizması ve zararları.....	11
2.3.2.1. <i>BPA'nın üreme sistemi üzerine etkileri</i>	12
2.3.2.2. <i>BPA'nın gelişim üzerine etkileri</i>	13
2.3.2.3. <i>BPA'nın metabolik hastalıklara etkileri</i>	13
2.3.2.4. <i>BPA'nın diğer etkileri</i>	13
2.3.3. BPA tayin yöntemleri ve literatürden örnek çalışmalar	14
2.4. Molekül Baskılı Polimerler	15
2.4.1. Moleküler baskılama tekniği	16
2.4.1.1. <i>Moleküler baskılama tekniğinde kullanılan reaktifler</i>	17
2.4.2. Moleküler baskılama yöntemleri.....	19
2.4.2.1. <i>Kovalent baskılama</i>	19
2.4.2.2. <i>Kovalent olmayan baskılama</i>	19
2.4.2.3. <i>Stokiyometrik kovalent olmayan baskılama</i>	20
2.4.3. Molekül baskılı polimer hazırlama teknikleri.....	20
2.4.4. Molekül baskılı polimerlerin kullanım alanları.....	21

2.4.4.1. Sensör çalışmalarında MIP'lerin kullanımı.....	21
2.4.4.2. Kataliz çalışmalarında MIP'lerin kullanımı.....	22
2.4.4.3. İlaç salınımı çalışmalarında MIP'lerin kullanımı	22
2.4.4.4. Ayırma tekniklerinde MIP'lerin kullanımı.....	23
2.5. Katı Faz Ekstraksiyonu	23
2.5.1. Katı faz ekstraksiyonu bileşenleri	25
2.5.1.1. Adsorban.....	25
2.5.1.2. Çözücü	26
2.5.2. KFE metodunda maddelerin ayrılma prensibi	26
2.5.2.1. Adsorpsiyon mekanizması.....	27
2.5.2.2. İyon değişimi mekanizması.....	27
2.5.2.3. Moleküler eleme mekanizması	27
2.5.2.4. Affinite mekanizması	27
2.6. BPA Tayinine Yönelik Hazırlanan MIP'ler	28
3. MATERYAL VE METOT	31
3.1. Materyal.....	31
3.1.1. Tez kapsamında kullanılan kimyasal maddeler	31
3.1.2. Tez kapsamında kullanılan cihazlar	31
3.2. Metot	32
3.2.1. BPA baskılı polimer nanopartiküllerinin hazırlanması.....	32
3.2.2. BPA baskılı polimer nanopartiküllerin karakterizasyon çalışmaları	32
3.2.3. BPA tayinine yönelik HPLC metodu oluşturulması.....	32

3.2.4. KFE koşullarının optimizasyonu.....	33
3.2.4.1. <i>MIP nanopartiküllerinin adsorpsiyon koşullarının optimizasyonu</i>	33
3.2.4.2. <i>MIP nanopartiküllerinin desorpsiyon koşullarının optimizasyonu</i>	34
3.2.5. MIP nanopartiküllerinin tekrar kullanılabilirliğinin belirlenmesi....	34
3.2.6. KFE'nin seçiciliğinin belirlenmesi	34
3.2.7. KFE ile gerçek numuneden BPA önderiştirilmesi.....	35
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	36
4.1. BPA Baskılı Polimer Nanopartiküllerinin Karakterizasyon Çalışmaları ...	36
4.1.1. SEM analizleri.....	36
4.1.2. FTIR analizleri	36
4.2. KFE Koşullarının Optimizasyonu	39
4.2.1. MIP nanopartikül adsorpsiyon koşullarının optimizasyonu	39
4.2.1.1. <i>Optimum etkileşim süresinin belirlenmesi</i>	39
4.2.1.2. <i>Başlangıç derişiminin etkisi</i>	39
4.2.1.3. <i>pH etkisi</i>	40
4.2.1.4. <i>Sıcaklığın etkisi</i>	41
4.2.2. MIP nanopartiküllerinin maksimum adsorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi	42
4.2.3. MIP nanopartikül desorpsiyon koşullarının optimizasyon çalışması	43
4.2.3.1. <i>Desorpsiyon çözücüsünün belirlenmesi</i>	43
4.2.3.2. <i>Desorpsiyon süresinin belirlenmesi</i>	43

4.3. BPA Baskılı Polimerin Adsorpsiyon İzotermi	44
4.3.1. Langmuir adsorpsiyon izotermi	44
4.3.2. Freundlich adsorpsiyon izotermi	45
4.3.3. Sips adsorpsiyon izotermi	46
4.4. BPA Baskılı Polimerin BPA Bağlama Etkinliğinin Belirlenmesi	47
4.5. MIP Nanopartiküllerinin Tekrar Kullanılabilirliğinin Belirlenmesi	48
4.6. KFE'nin Seçiciliğinin Belirlenmesi	49
4.7. KFE İle Gerçek Numunelerden BPA Önderiştirilmesi	50
5. SONUÇLAR	54
KAYNAKÇA	56
ÖZGEÇMİŞ	

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1. Endokrin sistem bozucu kimyasal sınıflandırılması, örnekleri ve kaynakları	5
Çizelge 2.2. Bisfenol A'nın kimyasal yapısı ve özellikleri	9
Çizelge 2.3. BPA'nın insan sağlığı üzerine olumsuz etkisi.....	11
Çizelge 2.4. Moleküler baskılama tekniğinde kullanılan bazı monomerler ve yapısal formülleri	18
Çizelge 2.5. Numune hazırlama teknikleri ve uygulanan işlemler	24
Çizelge 2.6. Adsorbanların sınıflandırılması ve örnek materyaller	26
Çizelge 2.7. Literatürde yer alan bazı BPA baskılı polimerlerin deney koşullarının özeti	28
Çizelge 3.1. Tez kapsamında kullanılan kimyasallar	31
Çizelge 4.1. Literatürdeki bazı BPA adsorbanlarının maksimum adsorpsiyon kapasiteleri	42
Çizelge 4.2. MIP adsorban materyalin seçiciliği	49
Çizelge 4.3. MIP adsorban ile su numunesinde adsorplanan BPA derişimleri	52
Çizelge 4.4. Su numunesindeki geri kazanım değerleri	52

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Hormonların vücut içindeki fonksiyonları	3
Şekil 2.2. Hormon-reseptör ilişkisi.....	4
Şekil 2.3. Endokrin sistem bozulma mekanizmalarından agonistik ve antagonistik etki.	9
Şekil 2.4. BPA'nın sentez reaksiyonu ile BPA'dan polikarbonat ve epoksi reçine sentezi	10
Şekil 2.5. Bisfenol A ve 17 β -estradiol molekül yapıları	12
Şekil 2.6. Molekül baskılı polimer oluşumunun şematik gösterimi	16
Şekil 2.7. Moleküler baskılama tekniğinin genel prensibi	17
Şekil 2.8. MIP'lerin kullanım alanları	21
Şekil 2.9. Sensör bileşenlerinin şematik gösterimi.....	22
Şekil 2.10. KFE yöntemi; A) analitin matriks bileşenlerinden uzaklaştırılması, B) analitin geri kazanımı.....	25
Şekil 4.1. Kalıp oluşturulduktan sonra (A), kalıp oluşturulmadan önce (B) BPA baskılı polimerin ve baskısız polimerin (C) SEM görüntüleri.....	37
Şekil 4.2. BPA molekülünün (a), kalıp oluşturulmadan önce (b) ve kalıp oluşturulduktan sonra (c) BPA baskılı polimerin ve baskısız polimerin (d) FTIR spektrumları	38
Şekil 4.3. BPA adsorpsiyonuna etkileşim süresinin etkisi	39
Şekil 4.4. Başlangıç derişiminin BPA adsorpsiyonuna etkisi	40
Şekil 4.5. BPA adsorpsiyonuna pH etkisi.....	41
Şekil 4.6. BPA adsorpsiyonuna sıcaklığın etkisi.....	41

Şekil 4.7. Çözücülerin % desorpsiyon oranları (A: MeOH, B: MeOH-NaOH-H ₂ O (5:2:3), C: MeOH-NaOH-H ₂ O (4:3:3) ve D: EtOH)	43
Şekil 4.8. Desorpsiyon süresinin % desorpsiyon oranına etkisi	44
Şekil 4.9. Langmuir izoterm grafiği	45
Şekil 4.10. Freundlich adsorpsiyon izotermi grafiği	46
Şekil 4.11. Sips izoterm grafiği	47
Şekil 4.12. Scatchard grafiği.....	48
Şekil 4.13. MIP adsorban materyalin tekrar kullanılabilirliği	49
Şekil 4.14. BPA çözeltisinin HPLC kromatogramı	50
Şekil 4.15. BPA kalibrasyon grafiği	51
Şekil 4.16. BPA standardı eklenmiş içme suyu numunesinin ve numunenin MIP nanopartikül ile muamele sonrasının HPLC kromatogramı	51

SİMGELER VE KISALTMALAR

Q	: Adsorpsiyon kapasitesi
AIBN	: Azobisisobütironitril
β	: Beta
BPA	: Bisfenol A
dk	: Dakika
EBK	: Endokrin sistem bozucu kimyasal
EDMA	: Etilen glikol dimetakrilat
g	: Gram
KFE	: Katı faz ekstraksiyonu
L	: Litre
MAA	: Metakrilik asit
MeOH	: Metil alkol
μ	: Mikro
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
ppb	: Milyarda bir birim
ppm	: Milyonda bir birim
M	: Molar
MIP	: Molekül baskılı polimer
nm	: Nanometre
C18	: Oktadesil
°C	: Santigrat
cm	: Santimetre
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
TRIM	: Trimetilolpropan trimetakrilat
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi

1. GİRİŞ

Endokrin sistem ile vücudun büyüme, metabolizma, cinsel gelişim ve üreme gibi fonksiyonları kontrol edilmektedir ve endokrin sistemde oluşan sorunlar hemen gözlenmediği için canlıda uzun vadeli ve ciddi olumsuz etkiler oluşabilmektedir. Bu nedenle endokrin sistemin doğal işleyişini değiştirerek canlı sağlığında olumsuz etki gösteren kimyasalların tayini oldukça önemlidir [1]. Endokrin sistem bozucu kimyasallar (EBK) olarak adlandırılan bu kimyasallar, bitki ve meyvelerde doğal olarak bulunabileceği gibi kimyasal olarak sentezlenerek endüstriyel ürünlerde ve ilaçlarda sentetik olarak bulunabilmektedir. Sentetik EBK'ler vücutta depolanmaktadırlar ve bu nedenle canlıya tahribatı oldukça fazla olmaktadır. EBK'ler doğal hormonların üretim, salınım, aktivite, reseptöre bağlanma ve vücuttan atılımı gibi süreçlerini olumsuz etkilemektedir [2].

Sentetik EBK'lerden biri olan Bisfenol A (BPA); yiyecek ve içecek kapları, su damacaneleri, biberonlar, su boruları, dişçilik malzemeleri, konservelerin iç yüzeyine kaplı reçinelerde bulunmaktadır. Ayrıca ham madde olarak pestisit, fungusit ve kağıt üretiminde de BPA kullanılmaktadır [3]. BPA'nın çevreye salınımının en önemli nedeni endüstriyel atık sularıdır. Ayrıca BPA içeren ürünlerden, difüzyon ve hidroliz yoluyla BPA salınımı gerçekleşmektedir. BPA salınımını sıcaklık, etkileşim süresi ve pH gibi faktörler etkilemektedir. BPA, östrojen reseptörüne bağlanarak östrojenik etki göstermektedir ve tiroid hormon reseptörleri ile etkileştiği rapor edilmiştir. BPA endokrin sistemi etkileyerek; yumurtalık, rahim ve vajinada lezyon oluşumu, polikistik over sendromu, meme ve prostat kanseri, kısırlık, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, obezite, davranış bozuklukları ve depresyon gibi sağlık sorunlarına neden olmaktadır [4].

BPA kromatografik yöntemler, elektrokimyasal sensörler ve kapiler elektroforez yöntemleriyle tayin edilmektedir [5]. Ayrıca, BPA tayini için kullanılan yöntemlerle moleküler baskılı polimer tekniği birleştirilerek yüksek seçicilik ile BPA tayini gerçekleştirilmektedir [6].

Moleküler baskılı polimerler (MIP), antijen-antikor, enzim-substrat, hormon-hormon reseptörü ilişkilerinin örnek olarak verilebileceği moleküler tanıma prensibinden ilham alınarak geliştirilen hedef moleküle spesifik bağlanma noktalarına sahip sentetik polimerlerdir. Hedef molekül ile monomerin polimerizasyonunun gerçekleşmesi ve oluşan polimerden hedef molekülün uzaklaştırılmasıyla polimerde hedef molekülün kalıbının oluşturulması prensibine dayanmaktadır. Bu sayede polimerde hedef moleküle

ait boşluklar ve bağlanma noktaları oluşmaktadır [7]. MIP'lerin hedef moleküle affinitesi yüksektir, geniş sıcaklık, basınç, pH aralığında kararlılığını korumaktadır ve maliyeti düşüktür. MIP'lerin sahip olduğu bu özellikleri sebebiyle ayırma ve saflaştırma, sensör, kataliz ve ilaç salınımı uygulamalarında kullanımı oldukça fazladır [8].

Ayırma ve saflaştırma yöntemlerinden biri olan katı faz ekstraksiyonu (KFE), analitlerin numuneden ayrılması ve önderiştirilmesi amacıyla kullanılan numune hazırlama tekniklerinden biridir ve analitin bir adsorbana adsorplanıp matriks bileşenlerinden ayrılmasından sonra uygun bir çözücüyle adsorbandan geri kazanılması prensibine dayanmaktadır [9]. KFE ile numune bileşenlerinden ayrılan analitin tayini, yüksek performanslı sıvı kromatografisi, yüksek performanslı sıvı kromatografisi-kütle spektroskopisi, gaz kromatografisi, gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi gibi kromatografik yöntemlerle veya UV-görünür bölge spektroskopisi, floresans spektroskopisi gibi spektroskopik yöntemler ile gerçekleştirilmektedir [10]. KFE'de kullanılan adsorban analitik uygulamanın performansını etkilemektedir. Bu nedenle bilimsel çalışmalarda yeni KFE adsorbanlarının sentezi ve uygulanabilirliklerinin araştırılması önemlidir [11].

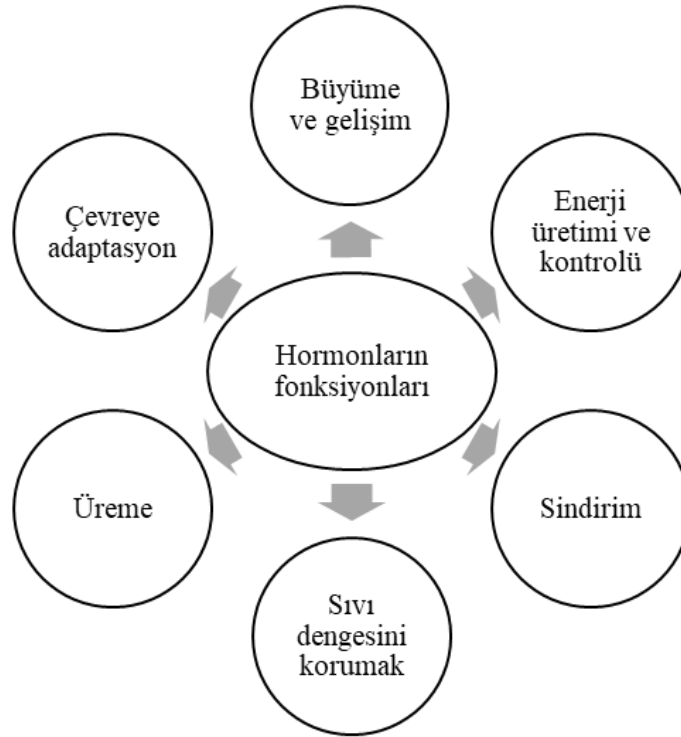
Tez çalışması kapsamında endokrin sistem bozucu kimyasallardan biri olan BPA'nın önderiştirilmesi için MIP temelli KFE adsorbanı sentezlenmiş ve adsorbanın karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Adsorban materyalin adsorpsiyon ve desorpsiyon süreçlerini etkileyen; derişim, adsorpsiyon süresi, pH, sıcaklık, desorpsiyon çözücüsü ve desorpsiyon süresi gibi parametrelerinin optimizasyon çalışmalarının ardından KFE prosedürü oluşturulmuştur. Sentezlenen MIP adsorbanı ile KFE prosesi gerçek numunelere uygulanıp yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile BPA tayini gerçekleştirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Endokrin Sistem

Canlı vücudunun kontrol ve iletişiminden nörolojik sistem ve endokrin sistem sorumlu olmaktadır. Endokrin sistem, vücut içinde dağılmış bezlerden oluşmaktadır. Bu bezler ile hormon adı verilen kimyasallar üretilmekte ve salgılanmaktadır [12]. İnsan vücudunda bulunan endokrin bezler; hipofiz, tiroit, paratiroit ve böbrek üstü bezleri ile pankreas, erkek ve dişi genital organlarıdır [13].

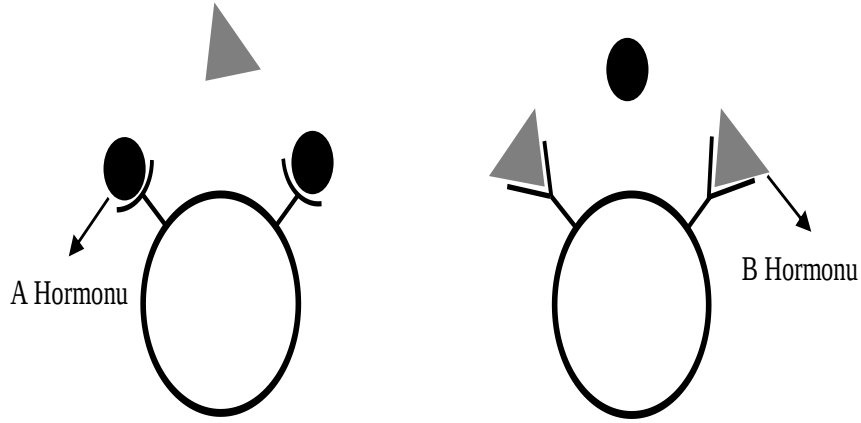
Hormonlar, çeşitli organ ya da hücrelerde fizyolojik cevap oluşturan kimyasal haberciler olarak tanımlanmaktadır. Endokrin bezler tarafından üretilen birçok hormon, kan yolu ile vücudun gerekli bölümlerine taşınmaktadır. Üretildikten sonra dolaşım sistemine salgılanmayıp ekstrasellüler alana difüzyon ile geçerek ilgili hücrelere etki eden hormonlara ise lokal hormon adı verilmektedir [14]. Hormonların vücut içindeki fonksiyonları Şekil 2.1’de verilmiştir.



Şekil 2.1. Hormonların vücut içindeki fonksiyonları

Hormonun alıcısı olan hücre, hedef hücre olarak adlandırılmaktadır. Hedef hücre yüzeyinde ya da sitoplazmasında bulunan reseptörler, etki etmesi istenen hormonu spesifik olarak tanıyıp etkileşime girebilmektedirler. Kan içinde bulunan hormonların

konsantrasyonları düşüktür ve bu nedenle reseptör hormonu için etkili bir tanıma mekanizmasına sahiptir. Hormon-reseptör etkileşiminin sonucu Şekil 2.2'deki gibi spesifik bir biyolojik yanıt oluşmaktadır [14].



Şekil 2.2. Hormon-reseptör ilişkisi

Üretilen hormonların miktarı ve bu hormonların reseptör ile oluşturdukları yanıt, insan vücudunun sağlıklı işleyişini doğrudan veya dolaylı olarak etkilemektedir. Çevrede bulunan birçok kimyasal, endokrin sistemin doğal işleyişini bozarak canlı sağlığını olumsuz etkilemektedir. “Endokrin sistem bozucu kimyasallar” olarak adlandırılan bu kimyasalların, hormonların aktivitesini azaltmak, konsantrasyonlarını değiştirmek ve reseptöre bağlanmasını engellemek gibi etkileri bulunmaktadır [15].

2.2. Endokrin Sistem Bozucu Kimyasallar

Hızlı nüfus artışı ile çoğalan evsel ve endüstriyel atıkların, tarım ve hayvancılıktan elde edilen verimi arttırmak için kullanılan kimyasalların doğaya ve canlılara birçok olumsuz etkisi bulunmaktadır. Endokrin sistem bozucu kimyasallar (EBK) da çevreye kontrolsüz şekilde salınan bu kirleticiler grubunda yer almaktadır. Dünya Sağlık Örgütü EBK’yi, “EBK’ler endokrin sistemin fonksiyonlarını değiştiren ve sağlıklı bir organizmada ya da onun alt popülasyonunda olumsuz sağlık etkilerine neden olan eksojen maddeler veya karışımlar” olarak tanımlanmaktadır [16]. EBK’ler, doğal hormonların üretim, salınım, aktivite, reseptöre bağlanma ve vücuttan atılımı gibi süreçlerini olumsuz etkilemektedir [17].

2.2.1. Endokrin sistem bozucu kimyasalların sınıflandırılması

EBK'ler doğada doğal ve sentetik olarak bulunabilmektedirler. [18]. EBK'lerin sınıflandırılması, örnekleri ve kaynakları Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Endokrin sistem bozucu kimyasal sınıflandırılması, örnekleri ve kaynakları

Kimyasal Sınıfı	Örnek Kimyasal Adı	Kaynakları
İlaçlar	17- β estradiol, Dietilstilbestrol (DES)	Menopoz ve doğum kontrol ilaçları
Fitoöstrojenler	İzoflavonlar, Lignanlar, Kumestanlar, Stilbenler	Bitki, meyve ve bakliyatlar
Pestisitler, Fungusitler, Herbisitler	Amitrol, Atrazin, Benomil, Fenitroton, Karbaril, Etilparation, Heptaklor	İstenmeyen organizma ve bitkileri engellemek, kontrol altına almak amacıyla kullanılan zirai ilaçlar
Ağır metaller	Arsenik, Kadmiyum, Kurşun, Civa	Metal atıkları, egzoz gazları, tarımda kullanılan gübreler
Dioksinler	Dioksin, Furan, Bifenil	Kâğıt, tekstil, metal üretimi ve yanma proseslerinde oluşan yan ürünler
Ftalatlar	Dietilheksil ftalat, Butilbenzil ftalat	Kozmetik, temizlik, yapı malzemeleri, boya vb. üretimi
Plastikler	Bisfenol A	Plastik türevi ürünler

2.2.1.1. Doğal endokrin bozucu kimyasallar

Dişi ve erkek bireylerin cinsiyet gelişiminden sorumlu olan östrojen ve testosteron hormonları ile benzer yapıdaki kimyasallar doğal EBK sınıfında bulunmaktadır. Fitoöstrojen ve Fitoandrojen olarak sınıflandırılan doğal EBK'ler bitki kökenlidir. Fitoöstrojenler, östrojen hormonu ile aynı yapıda olduğu için vücuttaki östrojenik aktiviteyi arttırmaktadır. Soya fasulyesi, kiraz, elma gibi besinlerde fitoöstrojenler doğal olarak bulunmaktadır [19]. Fitoandrojenler ise çam ağacı, deve dikenini gibi bitkilerde bulunmaktadır ve testosteron konsantrasyonunu arttırmaktadır [20]. Doğal EBK'lerin yarı ömürlerinin kısa olması sebebiyle vücutta depolanmadıkları ve kolayca parçalandıkları bilinmektedir [21].

2.2.1.2. Sentetik endokrin bozucu kimyasallar

Bu tip EBK'ler endüstri ve tıp alanlarında sıklıkla kullanılmaktadır. Endüstriyel temizlik maddeleri, tarım ilaçları (pestisit, herbisit, fungusit, vb.), plastik türevi tüketim maddeleri, kozmetik ürünleri ile sentetik hormonlar ve gıda katkı maddeleri bu grupta değerlendirilmektedirler. Endüstriyel üretimde yanma prosesi ve orman yangını gibi doğal yanma reaksiyonları sonucu açığa çıkan dioksinler de sentetik EBK grubu içinde bulunmaktadır [22]. Sentetik EBK'lerin yağda çözünürlüklerinin fazla olması sebebiyle yağ dokularında depolanmaları sonucu organizmaya tahribatı oldukça fazla olmaktadır. Ayrıca sentetik EBK'lere maruz kalınan dönem ve süre, canlıda oluşabilecek zararları belirleyen önemli faktörlerdendir. Maruz kalınan süre arttıkça vücutta oluşabilecek zararlı etkilerin şiddeti de artmaktadır [23].

2.2.2. Endokrin sistem bozucu kimyasalların insan sağlığına etkileri

Endokrin sistem, üreme ve gelişimin fizyolojik süreçlerini düzenlemenin yanında vücudun tüm doku ve organlarının iç dengesini (homeostasi) korumasından ve çevresel değişikliklere adaptasyonundan da sorumludur. Östrojen hormonunun dişi bireylerde üremeden sorumlu olmasının yanında, kemik, beyin, karaciğer ve dolaşım sisteme etkisi büyüktür. Tiroit hormonu metabolizmayı düzenlemektedir ve bu nedenden dolayı tüm dokuları etkilemektedir. [1]. Böbreküstü bezinden salgılanan adrenal hormonlar hayati önem taşımaktadırlar.

Endokrin sistem bozucu kimyasallar, endokrin sistemin düzenli çalışmasını engelleyerek canlıya birçok zararlı etki göstermektedir. EBK'lere maruziyet; içme suyu, hava, toprak ve ev tozu gibi yollarla ve gıda, kozmetik, temizlik ürünleri gibi tüketim malzemeleriyle gerçekleşmektedir. Yapılan bilimsel çalışmalar EBK'lerin, üreme ve bağışıklık sistemi üzerindeki olumsuz etkilerini; akciğer, prostat ve göğüs gibi kanser türleri oluşum riskini arttırdığını; obezite ve diyabet gibi metabolizma hastalıklarının oluşumundaki etkisini kanıtlamaktadır [22]. EBK'lerin Alzheimer ve Parkinson hastalığı gibi nörolojik hastalıkların birçoğuna ve davranış bozukluklarına neden olduğu bilinmektedir [24].

Endokrin bozucu kimyasala maruz kalma yaşı ve süresi, kimyasalın derişimi ve karşılaşılan diğer endokrin bozucu kimyasallar, EBK'lerin insan sağlığı üzerindeki etkisini değiştirmektedirler [25].

2.2.2.1. Endokrin sistem bozucu kimyasalların üreme sağlığı üzerine etkileri

Kadınların üreme sağlığında temel olarak hipofiz bezinden salgılanan folikül uyarıcı hormon (FSH) ve luteinleştirici hormon (LH) ile yumurtalıklardan salgılanan östrojen ve progesteron hormonları görev almaktadır. FSH, yumurtalıklardan östrojen sentezini tetiklemektedir ve yumurta hücresinin üretimini sağlamaktadır. LH ise yumurta hücresinin, yumurta kanalına iletilmesinde (ovulasyon) görev almaktadır. Ayrıca progesteron salınımına LH etki etmektedir. Östrojen ve progesteron hormonları; ses incilmesi, tüylenme, üreme organının gelişmesi gibi kadınsal özelliklerin kazanılmasında ve dişi üreme organının gebeliğe hazırlanmasında görev almaktadırlar [26].

EBK'ler üreme sistemindeki hormonların dengesini bozarak kadın üreme sağlığını ciddi şekilde etkilemektedir. EBK'ler kadınlarda; erken ya da geç ergenlik, menstrüel döngüde düzensizlik, doğurganlığın azalması ya da kısırlık, polikistik over sendromu, gebelik problemleri, erken menopoz, rahim kanseri ve meme kanseri gibi sağlık sorunlarına neden olmaktadır [27].

Erkek üreme sisteminde FSH, LH ve testosteron hormonları görev almaktadır. Hipofiz bezinden salgılanan FSH, erkek üreme organında spermatogenezde görev alırken, LH testosteron hormonunun sentezini başlatmaktadır. Sperm üretiminde ve ses kalınlaşması, kılınma gibi ikincil eşey özelliklerinin oluşmasında testosteron hormonu görev almaktadır [28].

EBK'ler erkek bireylerde, erken ya da geç ergenliğe, sperm hücrelerinin kalitesinin azalmasına, kısırlığa, cinsel kimlik değişimlerine, prostat bezi büyümesine ve prostat kanserine sebebiyet vermektedir [29].

2.2.2.2. Endokrin sistem bozucu kimyasalların immün sistem üzerine etkileri

İmmünite, yabancı ve zararlı olan her türlü maddeye karşı organizmanın verdiği reaksiyon olarak tanımlanmaktadır ve immün hücreler içerdiği hormon reseptörleri ile endokrin sistemden gelen sinyallere cevap vermektedir. EBK'lerin büyük bir kısmı immün sistemin bozulmasına doğrudan ya da dolaylı olarak neden olmaktadır. EBK'ler, alerji, astım, bağışıklık baskılanması ve otoimmün hastalıklara sebep olmaktadır [30]. Maruziyet dozu ve süresi, maruz kalan kişinin cinsiyeti ve yaşı, maruz kalma yolu ve stres, beslenme, diğer toksik maddelere maruz kalma gibi etmenler EBK'lerin immün sisteme etkisini değiştirmektedir [31].

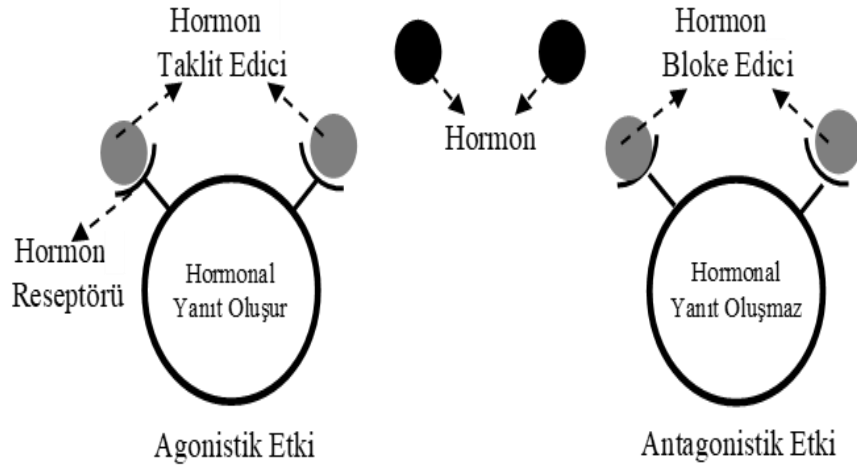
2.2.2.3. Endokrin sistem bozucu kimyasalların enerji metabolizması üzerine etkileri

Karbonhidrat, yağ ve proteinlerden elde edilen enerjinin depolanması ve depolanan enerjinin ihtiyaç durumunda kullanılması endokrin sistem ile düzenlenmektedir. Hormonlar ile kontrol edilen bu süreçlerin herhangi birinin değişmesi, metabolizma düzensizliklerine yol açarak obezite, metabolik sendrom, diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar gibi metabolizma hastalıklarına neden olabilmektedir [32].

2.2.3. Endokrin sistem bozucu kimyasalların etki mekanizması

Endokrin bezler tarafından üretilen hormonlar, plazmada çözünmüş olarak veya taşıyıcı proteinler yardımıyla kan yoluyla hedef hücreye taşınırlar. Hedef hücreye iletilen hormon, hormon-reseptör kompleksini oluşturarak spesifik bir yanıt oluşturur. EBK'ler bu süreçlerden herhangi birini etkileyerek canlıya zarar vermektedir [33]. EBK'lerin etki mekanizmaları beş madde ile sınıflandırılmaktadır [34].

1. Agonistik etki; EBK'ler hormonları taklit ederek, hormon reseptörlerine bağlanabilmekte ve hormonal bir yanıt oluşturmaktadırlar (Şekil 2.3). Bu durum anormal hücre aktivitelerine sebebiyet vermektedir.
2. Antagonistik etki; EBK'lerden bazıları hedef hücredeki reseptörlere bağlanıp bu alıcıları bloke etmektedirler. Böylece hormonal yanıt oluşumunu engelleyerek hücrelerin normal aktivitelerini bozmaktadırlar (Şekil 2.3).
3. EBK'ler hedef hücredeki reseptörlerin oluşumunu arttırarak, hormonların hücredeki aktivitelerini arttırmaktadırlar.
4. EBK'ler doğal hormonlarla etkileşime girerek hormonal mesajları değiştirebilmektedirler.
5. EBK'ler doğal hormon sentezini, metabolizmasını ve atılımını değiştirerek, hormonların konsantrasyonunu etkilemektedirler.



Şekil 2.3. Endokrin sistem bozulma mekanizmalarından agonistik ve antagonistik etki

2.3. Bisfenol A

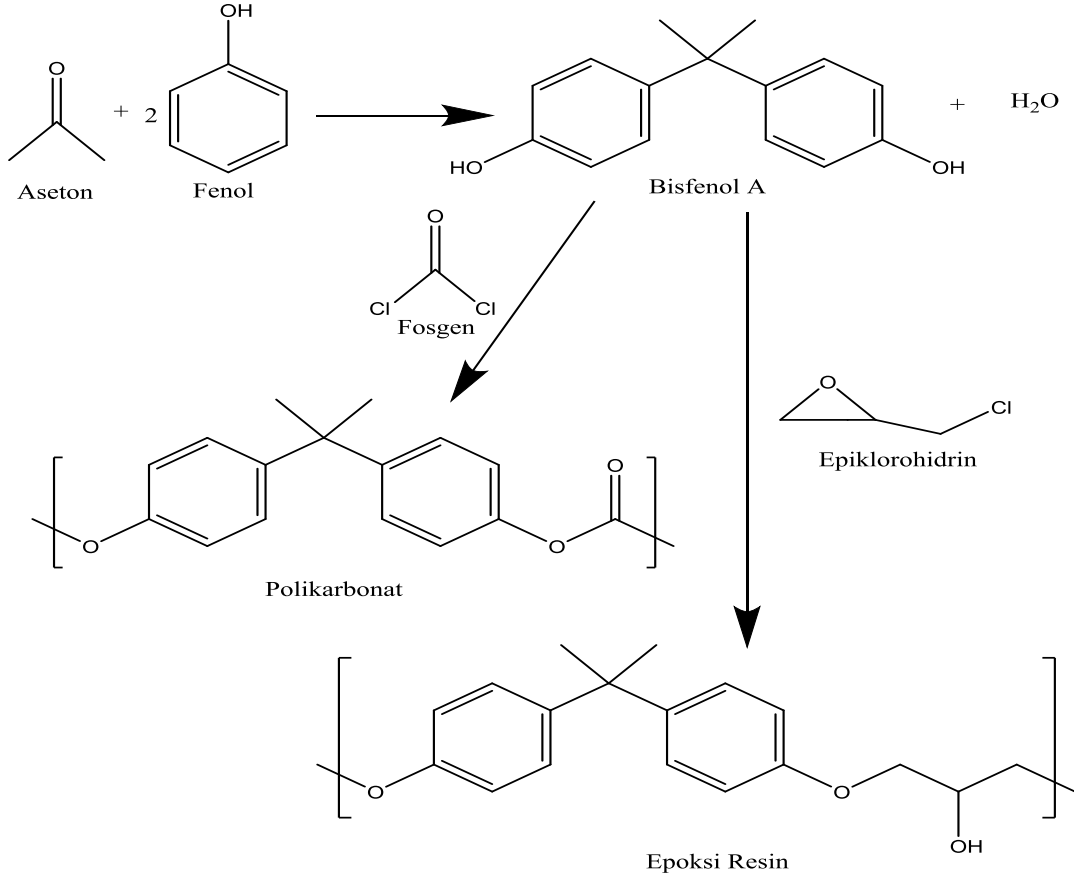
Bisfenol A (BPA) [2,2-bis (4- hidroksifenil) propan], 1891 yılında Rus kimyager Aleksandr Dianin tarafından fenol ve asetonun reaksiyonu sonucu sentezlenen organik bir bileşiktir [35]. Sentetik EBK'lerden biri olan BPA'nın östrojenik aktivite gösterdiği 1938 yılında belirlenmiştir [36]. Çizelge 2.2'de BPA'nın yapısı ve özellikleri verilmiştir.

Çizelge 2.2. Bisfenol A'nın kimyasal yapısı ve özellikleri

Yaygın adı	Bisfenol A
Kimyasal adı	[2,2-bis(4- hidroksifenil) propan],
Kimyasal formülü	$C_{15}H_{16}O_2$
Molekül yapısı	
Molekül ağırlığı	228,29 g/mol
Su içindeki çözünürlüğü	300 mg/L

BPA, polikarbonat gibi plastik ürünlerde ve epoksi reçinelerin üretiminde monomer olarak kullanılmaktadır [37]. Polikarbonat plastik ile yeniden kullanılabilir yiyecek ve içecek kapları, biberonlar, su boruları, tıbbi cihazlar, diş dolgu malzemeleri, oyuncaklar üretilmektedir. Konserve kutuların iç yüzeyleri, gıda cam kavanozlarının ve şişelerinin

kapakları koruyucu bir kaplama olarak epoksi reçine içermektedir. Ayrıca BPA, bazı polivinil klorür (PVC) plastik ürünlerinde, pestisit ve kağıt üretiminde, evsel yüzey aktif maddelerde de bulunmaktadır [35]. Şekil 2.4’de BPA’dan polikarbonat plastik ve epoksi reçine sentezi verilmiştir.



Şekil 2.4. BPA’nın sentez reaksiyonu ile BPA’dan polikarbonat ve epoksi reçine sentezi

2.3.1. Bisfenol A’nın çevresel davranışı

BPA’nın endüstride kullanımının fazla olmasından dolayı, atık su arıtma tesisi çıkış suları ve katı atık depolama alanlarından sızan sular çevreye salınan BPA’nın önemli bir kaynağıdır [38].

Polikarbonat türevi plastik ürünlerden, suya difüzyon yoluyla BPA salınımı gerçekleşmektedir. Ayrıca BPA, gıda ambalaj ürünlerinden hidroliz reaksiyonu ile gıda ve içecek maddelerine de geçebilmektedir. Etkileşim süresi, sıcaklık ve pH salınan BPA konsantrasyonunu etkilemektedir [39]. Etkileşim süresi artışının yüksek sıcaklığa kıyasla BPA salınımını daha fazla etkilediği ve bazik ortamda BPA salınımındaki artış yapılan çalışmalar ile belirlenmiştir [40].

Suya karışan BPA ile içme ve şebeke sularının dezenfeksiyon prosesinde kullanılan klorun reaksiyonu sonucu 3,3'-dikloro BPA gibi yan ürünler oluşmaktadır [41]. BPA'ya ek olarak oluşan yan ürünlerinin de canlı sağlığına birçok olumsuz etkisi bulunmaktadır.

2.3.2. Bisfenol A'nın insan sağlığına etki mekanizması ve zararları

Beslenme, insanlarda BPA maruziyetinin başlıca kaynağı olmaktadır. Hava, toprak ve su kaynaklarından da solunum yoluyla veya cilt teması ile vücut içine BPA alımı gerçekleşmektedir [42].

Bisfenol A, oral yol ile vücut içine alındıktan sonra insan karaciğerinde enzimler tarafından metabolize edilmektedir. Glukuronidasyon ve sülfasyon ile BPA konjugatlarına dönüşmektedir ve idrar ile vücuttan atılmaktadır. BPA'nın ortalama yarılanma ömrü altı saat olarak verilmektedir. Düşük yarılanma ömrüne karşılık BPA'ya maruziyetin fazla olması nedeniyle canlı sağlığına birçok olumsuz etkisi bulunmaktadır [43].

BPA için tolere edilebilir günlük alım miktarı, Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesinin (EFSA) 2015 yılında yayımladığı rapora göre 4 µg/kg olarak kabul edilmektedir [44]. Yapılan birçok çalışma ile günlük maruziyetin bu değerden daha fazla olduğu belirlenmiştir [45]. Ayrıca BPA'nın çok düşük dozlarda bile toksik etkisinin bulunduğu ve yüksek dozda gözlenmeyen bazı zararlı etkilerinin düşük konsantrasyonda ortaya çıktığı bilinmektedir [35].

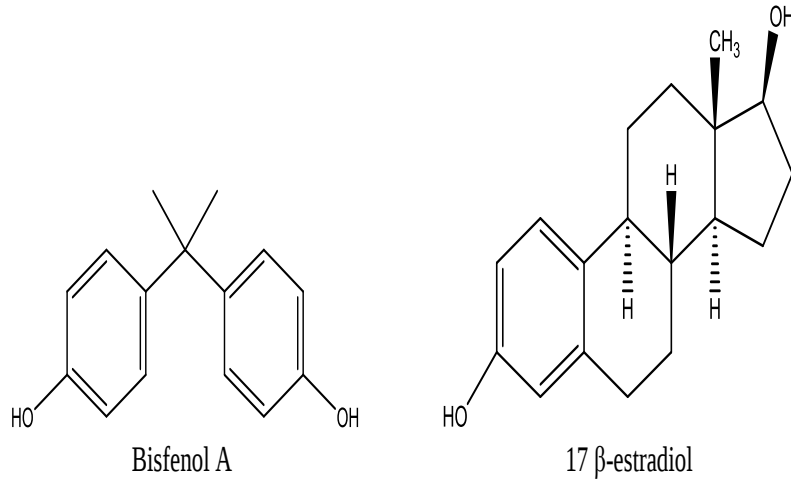
BPA'nın insan sağlığı üzerine olumsuz etkisi üreme, gelişim, metabolik hastalıklar ve diğer etkiler başlıkları altında Çizelge 2.3'de verilmektedir.

Çizelge 2.3. BPA'nın insan sağlığı üzerine olumsuz etkisi

Üreme	Gelişim	Metabolik Hastalıklar	Diğer Etkiler
Yumurtalık, rahim, vajinada lezyon oluşumu	Davranış bozuklukları	Diyabet	Tiroit fonksiyonlarında değişim
Polikistik over sendromu	Kemik gelişimi ve kemik doku	Kardiyovasküler hastalıklar	Bağışıklık sisteminin zayıflaması
Meme ve prostat kanseri	Depresyon	Hipertansiyon	Epigenetik etki
Erken doğum, düşük	Anksiyete	Obezite	
Sperm kalitesinde düşme	Hiperaktivite		

2.3.2.1. BPA'nın üreme sistemi üzerine etkileri

BPA ve steroid hormon 17 β -estradiol (E2)'un kimyasal yapı olarak benzerliği bulunmaktadır (Şekil 2.5) ve BPA düşük affinite ile östrojen reseptörlerine bağlanarak agonistik ve antagonistik etki gösterebilmektedir [46]. BPA östrojen reseptörlerine bağlanarak, dişi üreme organının doku yapısında değişim meydana getirebilmektedir. Doku yapısındaki bu değişiklikler, yumurtalık, rahim ve vajinada kanserleşmemiş veya kanserli lezyon oluşmasına neden olmaktadır [36]. Polikistik over sendromu, menstrüel döngüde düzensizlikler, menstrüel sürenin azalması ve insülin direncine neden olmaktadır. Polikistik over sendromu ile BPA seviyesi arasında ilişki olduğu bilinmektedir [47]. Ayrıca düşük, erken doğum ve rahim duvarı kalınlaşması görülen kadınlarda BPA seviyelerinin yüksek olduğu yapılan araştırmalarla belirlenmiştir [48].



Şekil 2.5. Bisfenol A ve 17 β -estradiol molekül yapıları

BPA, androjen reseptörüne antagonistik etki göstermektedir [43]. BPA'ya erken embriyonik maruziyet ile meme dokusunda bozulma ve dokunun kanserojenlere karşı duyarlılığında artış görülmektedir [46].

Yapılan çalışmalar ile yetişkin ve yeni doğanlarda BPA maruziyetine bağlı olarak, cinsiyet hormon konsantrasyonlarında değişimler gözlenmiştir [48].

Yetişkin erkeklerde yüksek dozda BPA, testis ağırlığının ve sperm üretiminin azalmasına ve prostat dokusunu etkileyerek prostat bezi büyümesine neden olmaktadır. Embriyonik dönemdeki BPA duyarlılığının daha fazla olmasından dolayı erken dönemdeki maruziyet ile BPA'nın olumsuz etkileri artmaktadır [49].

2.3.2.2. BPA'nın gelişim üzerine etkileri

Kemik doku, organik ve inorganik maddelerden oluşmaktadır. Genç yaşta kemiklerin büyümesi somatotropin (büyüme hormonu), tiroid hormonları ve cinsiyet hormonları ile kontrol edilmektedir. Endokrin sistemin düzensizliği kemik kaybına yol açmaktadır ve BPA endokrin sistemin düzenini bozarak kemik metabolizmasını etkilemektedir [37].

Çocuklarda yapılan araştırmalar ile davranış bozuklukları, hiperaktivite, anksiyete, dikkat dağınıklığı ve depresyon ile BPA konsantrasyonları arasında ilişki olduğu görülmüştür [50].

2.3.2.3. BPA'nın metabolik hastalıklara etkileri

Pankreas ve yağ dokusu beta hücrelerindeki östrojen reseptörlerine BPA bağlanması ile insülin direnci gelişmektedir. Tip 2 diyabet hastaların kan serumlarında yüksek konsantrasyonda BPA belirlenmiştir [48].

BPA, yağ dokusu fonksiyonundan ve farklılaşmasından sorumlu genlerde mutasyona neden olarak ve yağ dokusu hücrelerinin glukoz alımını artırarak obeziteye neden olmaktadır [51].

Obezite, metabolik sendrom ve diyabet, arterlerde yağ birikmesine neden olarak kardiyovasküler hastalıkları tetiklemektedirler. BPA; koroner kalp hastalığı, kalp yetmezliği, periferik arter hastalığı, venöz yetmezliği, hipertansiyon, inme gibi kardiyovasküler hastalıklarının görülme sıklığını arttırmaktadırlar [52].

2.3.2.4. BPA'nın diğer etkileri

BPA ve halojenlenmiş türevleri tiroit reseptörüne bağlanarak agonistik ve antagonistik etki gösterebilmektedir. BPA maruziyeti ile tiroit uyarıcı hormon (TSH) konsantrasyonu azalırken, triiyodotironin (T3) hormon konsantrasyonu artmaktadır [48].

BPA maruziyeti ile bağışıklık fonksiyonunun genel ölçümleri arasında ilişki bulunmaktadır. BPA konsantrasyonu arttıkça idrarda bulunan antikor miktarı düşmektedir [48].

BPA'nın gen fonksiyonlarında değişimlere neden olduğu yapılan çalışmalar ile belirlenmiştir [53].

2.3.3. BPA tayin yöntemleri ve literatürden örnek çalışmalar

BPA'nın bölüm 2.3.2'de anlatılan zararlı etkileri nedeniyle tayini oldukça önem taşımaktadır. Gıda ambalaj ürünlerinden yiyecek ve içeceklere salınan BPA, maruziyetin temel nedeni olarak gösterilmektedir. Maruz kalınan BPA vücut içinde yağ dokusunda, kanda, anne sütünde, plasenta ve fetüste, idrarda ve tükürükte bulunabilmektedir [54]. BPA tayin çalışmalarında, üretim aşamasında BPA kullanılan malzemelerin yanında vücut sıvıları gibi farklı matrisler içeren numuneler de kullanılmaktadır.

BPA tayini için uygulanan analitik yöntemler; yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), yüksek performanslı sıvı kromatografisi-kütle spektroskopisi (HPLC-MS) gaz kromatografisi (GC), gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi (GC-MS), elektrokimyasal sensörler ve kapiler elektroforez (CE) olarak verilmektedir [55, 56]. Moleküler baskılı polimer tekniği de BPA tayini için kullanılan yüksek seçiciliğe sahip başka bir analitik uygulamadır [57].

Najib Ben Messaoud ve ark. tarafından gerçekleştirilen çalışmada BPA tayini için elektrokimyasal sensör geliştirilmiştir. Çalışma elektrodu olarak çok duvarlı karbon nanotüp ve altın nanopartikül ile modifiye edilmiş camı karbon elektrot kullanılmıştır. Optimum deney koşulları altında sensörün gözlenebilme sınırı 4 nM ve çalışma aralığı 0,01-0,7 µM olarak belirlenmiştir [58].

Rongguang Shi ve ark. tarafından yürütülen çalışmada grafen oksit ve bakır oksit nanokompozit modifiye camı karbon elektrot ile BPA tayini gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan sensör ile 1×10^{-7} ile 8×10^{-5} M derişim aralığında doğrusallık elde edilmiştir ve gözlenebilme limiti $5,3 \times 10^{-8}$ M olarak hesaplanmıştır [59].

Gerçekleştirilen diğer bir elektrokimyasal sensör çalışmasında ise, kalem ucu grafit elektrot farklı elektrolitler ile elektrokimyasal olarak aktive edilmiş ve su numunelerinde BPA'nın tayini için kullanılmıştır. Gözlenebilme sınırı 3,1 nM olarak belirlenmiş ve su numunelerinde %97 ile %99,8 aralığında geri kazanım değerleri bulunmuştur [60].

Stephanie M. Zimmers ve ark. tarafından gerçekleştirilen çalışmada anne sütündeki BPA miktar tayini için ultra performanslı sıvı kromatografisi-tandem kütle spektrometresi metodu geliştirilmiştir. C18 kolon kullanılmış ve asetonitril, asetik asit ile gradient elüsyon gerçekleştirilmiştir. Numuneden BPA ayrımı katı faz ekstraksiyonu kartuşu ile sağlanmıştır. Gözlenebilme sınırı 0,22 ng/mL olarak hesaplanmıştır [61].

Yapılan başka bir çalışmada, BPA tayini için sıvı-sıvı mikro ekstraksiyon prosedürü geliştirilmiştir. Numuneden ayrılan ve önderiştirilen BPA ölçümleri floresans

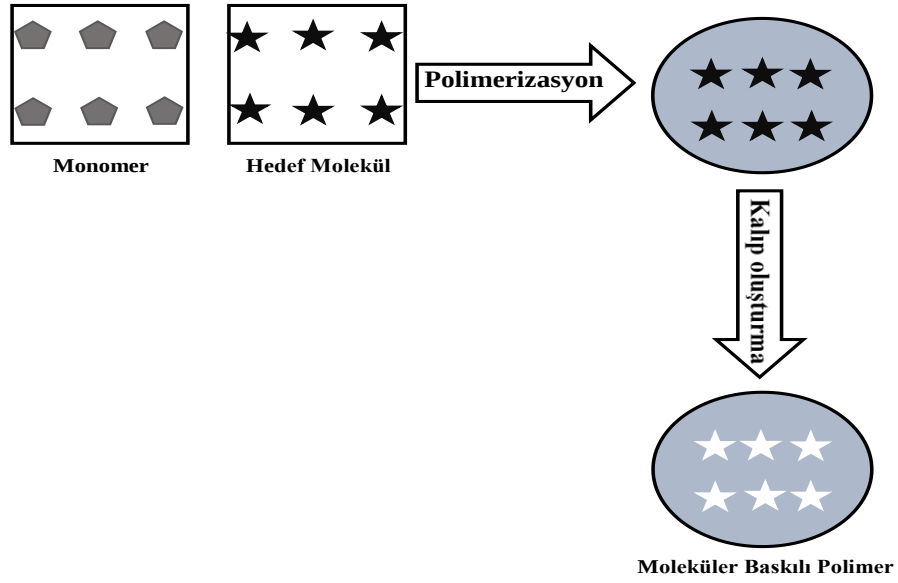
spektroskopisi ile gerçekleştirilmiştir ve doğrusal aralık 5-100 µg/L, gözlenebilme sınırı ise 1,8 µg/L olarak belirlenmiştir [62].

Zhaohui Zhang ve ark. manyetik moleküler baskılı polimer sentezleyerek BPA'ya karşı yüksek affiniteli katı faz ekstraksiyon adsorbanı üretmişlerdir. Üretilen adsorbanın maksimum adsorpsiyon kapasitesi 49,26 µmol/g olarak hesaplanmıştır. Su numunelerinde BPA tayini, katı faz ekstraksiyonu sonrasında yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile gerçekleştirilmiş ve geri kazanım değerleri %87,3 ile %95,4 aralığında bulunmuştur [63].

2.4. Molekül Baskılı Polimerler

Organizmada gerçekleşen birçok biyolojik olay moleküler tanıma prensibine dayanmaktadır ve antijen-antikor, enzim-substrat, hormon-hormon reseptörü arasındaki ilişki moleküler tanıma örnek olarak verilebilir. Moleküler tanıma prensibi ile farmakoloji çalışmaları ve sensör uygulamaları gerçekleştirilmektedir. Fakat biyomoleküllerin organizma dışında kararsız olmaları ve belirlenen birçok hedef molekül için doğal ligandların bulunmaması gibi nedenlerle hedef moleküle yüksek affiniteli moleküler baskılı polimerler sentezlenmiştir [64].

Molekül baskılı polimerler (MIP), hedef moleküle boyut, şekil ve işlevsellik açısından spesifik bağlanma noktalarına sahip çapraz bağlı polimerler olarak tanımlanmaktadır [65]. Hedef molekül ile uygun bir çözücü içinde çözünmüş monomerin kompleks oluşturmamasından sonra polimerizasyonunun gerçekleşmesi ve oluşan polimerden hedef molekülün uzaklaştırılması prensibine dayanmaktadır. Bu sayede Şekil 2.6'da görüldüğü gibi polimerde hedef moleküle yani kalıba uygun boşluklar ve bağlanma noktaları oluşmaktadır [66].



Şekil 2.6. Molekül baskılı polimer oluşumunun şematik gösterimi

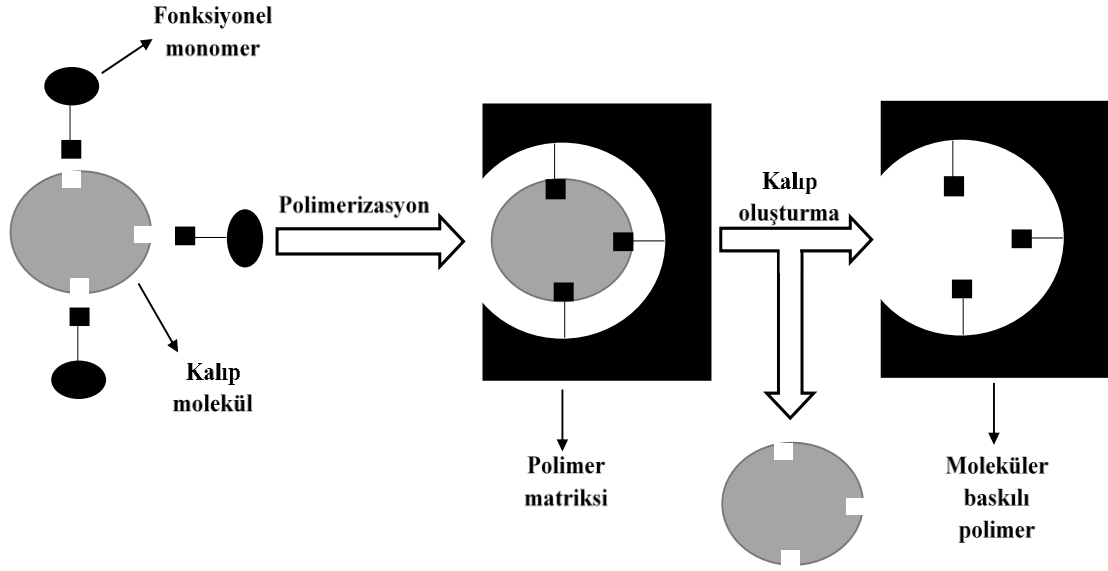
MIP polimerizasyonu sırasında kalıp-monomer kompleksi oluşum hızı ile monomer polimerizasyonu hızı farklı olmaktadır ve bu nedenle bağlanma bölgeleri homojen dağılmamaktadır. Bağlanma bölgelerinin heterojen dağılması ve farklı gözenek boyutları kütle aktarımını yavaşlatmaktadır [64]. MIP'ler, biyomoleküllere kıyasla daha fazla bağlanma bölgesine sahiptir ve geniş pH aralığında, yüksek basınç ve sıcaklıkta kararlı kalmaktadır. Belirlenen birçok hedef molekül için MIP hazırlanabilmektedir [67].

2.4.1. Moleküler baskılama tekniği

Moleküler baskılı polimer hazırlanma süreci üç basamakta özetlenmektedir [68].

1. Kompleks oluşumu: Kalıp molekülü, fonksiyonel monomer ve çapraz bağlayıcı arasında bir kompleks oluşur.
2. Polimerizasyon: Kalıp molekülü-monomer kompleksi polimerleştirilir.
3. Elüsyon: Polimer uygun çözücüyle yıkanarak polimerlerden kalıp molekül uzaklaştırılır. Böylece polimerde kalıp molekülünün bağlanma noktalarına sahip boşluklar oluşur.

Moleküler baskılama tekniğinin genel prensibi Şekil 2.7'de verilmiştir.



Şekil 2.7. Moleküler baskılama tekniğinin genel prensibi

Moleküler baskılanmış polimerler, uygulama kolaylığı ve düşük maliyet gibi nedenlerle serbest radikal polimerizasyon yöntemi ile üretilmektedir.

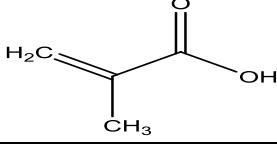
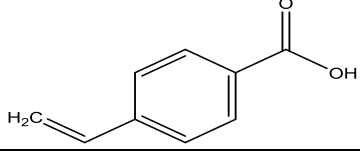
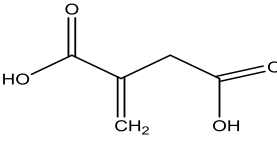
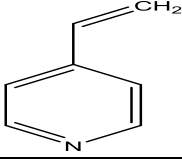
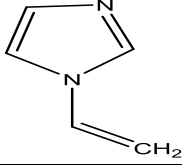
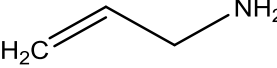
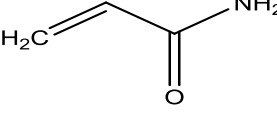
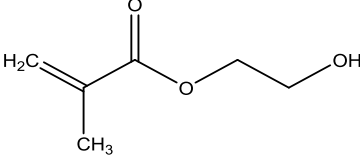
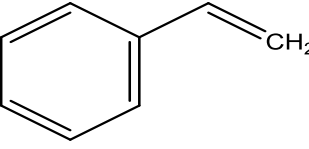
2.4.1.1. Moleküler baskılama tekniğinde kullanılan reaktifler

Moleküler baskılanmış polimerlerin hazırlanmasında hedef molekül, fonksiyonel monomer, çapraz bağlayıcı, polimerizasyon başlatıcısı ve çözücü kullanılmaktadır.

Moleküler baskılamada kullanılacak kalıp molekül; polimerizasyon sırasında inert olmalı, yapısında fonksiyonel bir grup içermeli ve yüksek sıcaklıklarda veya UV ışımaya maruz kaldığında bozulmamalıdır [69].

Fonksiyonel monomer, sentezlenen polimerin özelliklerini belirlemektedir. Monomer, kalıp molekül ile etkileşime girmelidir. Kalıp molekül ve fonksiyonel monomerin mol oranı polimerizasyon sırasında oluşacak spesifik boşlukları etkilemektedir. Fonksiyonel monomerin aşırısı, seçici olmayan bağlanma bölgelerindeki artışına neden olmaktadır [65]. Çizelge 2.4’de moleküler baskılama tekniğinde kullanılan bazı fonksiyonel monomerler verilmiştir.

Çizelge 2.4. Moleküler baskılama tekniğinde kullanılan bazı monomerler ve yapısal formülleri

Monomer Sınıfı	Kimyasal Adı	Yapısal Formülü
Asidik	Metakrilik Asit	
	p-vinilbenzoik asit	
	itakonik asit	
Bazik	4-vinilpiridin	
	1-vinylimidazol	
	Alilamin	
Nötral	Akrilamid	
	2-hidroksietil metakrilat	
	Stiren	

Çapraz bağlayıcı MIP'lerde bağlanma bölgelerinin oluşmasını sağlamaktadır. Ayrıca hazırlanan polimerin morfolojisini belirlemekte ve polimere dayanıklılık katmaktadır. [69]. Etilen glikol dimetakrilat (EDMA), trimetilolpropan trimetakrilat

(TRIM) ve divinilbenzen (DVB) MIP üretimi için yaygın olarak kullanılan çapraz bağlayıcılardır [65].

Başlatıcılar, serbest radikal polimerizasyonunda monomerleri radikallere dönüştürerek polimerizasyon başlatan ajanlardır. Polimerizasyon reaksiyonunun başlaması için başlatıcının aktive edilmesi gereklidir. Termal, fotokimyasal, elektrokimyasal vb. uyarıcılar ile başlatıcılar radikallere dönüştürülerek aktive edilmektedir. Moleküler baskılamada en çok kullanılan başlatıcılar; azobisisobütironitril (AIBN), azobisdimetilvaleronitril (ABDV), benzoilperoksittir [69].

Çözücünün yapısı ve hacmi moleküler baskılama tekniğinde önemli bir rol oynamaktadır. Çözücü, polimerizasyonda kullanılan tüm bileşenlerin aynı fazda bulunmasını ve polimerdeki gözeneklerin oluşmasını sağlamaktadır. MIP sentezinde kullanılan en yaygın çözücüler toluen, kloroform, diklorometan veya asetonitrildir [70].

2.4.2. Moleküler baskılama yöntemleri

Moleküler baskılama yöntemleri, kalıp molekül ile fonksiyonel monomer arasındaki etkileşime göre farklılık göstermektedir. Bunlar; kovalent baskılama, kovalent olmayan baskılama ve stokiyometrik kovalent olmayan baskılama olarak sınıflandırılmaktadır [71].

2.4.2.1. Kovalent baskılama

İlk olarak 1972 yılında Wulff ve ark. tarafından geliştirilen kovalent baskılama tekniğinde, monomer-kalıp molekül kompleksi tersinir kovalent bağ ile oluşmaktadır ve polimerizasyon sırasında kararlılığını korumaktadır. Polimerizasyon sonrasında ise kovalent bağın yıkımıyla kalıp molekül polimerden uzaklaştırılmaktadır [72]. Kovalent baskılama tekniğinin seçiciliği yüksek olmasına karşın, hedef molekülün MIP'e bağlanma kinetiklerinin yavaş olması ve kalıp molekülü polimerden uzaklaştırma zorluğu gibi olumsuz yönleri bulunmaktadır [66].

2.4.2.2. Kovalent olmayan baskılama

Mosbach ve ark. tarafından 1981 senesinde geliştirilen teknikte, kalıp molekül ile fonksiyonel monomer arasında hidrojen bağı, hidrofobik etkileşimler, elektrostatik kuvvetler ve van der Waals etkileşimleri gibi zayıf bağlarla kompleks oluşumu gerçekleşmektedir. Bu polimerizasyon yönteminde, monomer-kalıp oranı, genellikle 4:1

olarak ayarlanmaktadır. Polimerizasyon tamamlandıktan sonra kalıp molekül polimerden kolaylıkla uzaklaştırılmaktadır. Kovalent olmayan baskılama tekniği ile hazırlanan MIP'lerin hedef moleküle bağlanma kinetiği hızlı olmaktadır [73].

2.4.2.3. Stokiyometrik kovalent olmayan baskılama

Kovalent baskılama ile MIP'te sabit bağlanma bölgeleri oluşurken, kovalent olmayan baskılama yönteminde bağlanma kinetiği yüksektir. İki yöntemin avantajlarını birleştirmek amacıyla hibrit stokiyometrik kovalent olmayan baskılama yöntemi geliştirilmiştir. Bu yöntemde, kalıp ve fonksiyonel monomer aynı mol oranında karıştırılarak güçlü bir kompleks hazırlanmaktadır. Bu yöntem ile hazırlanan MIP'ler hidrojen bağlarıyla hedef moleküle bağlanmaktadır [66].

2.4.3. Molekül baskılı polimer hazırlama teknikleri

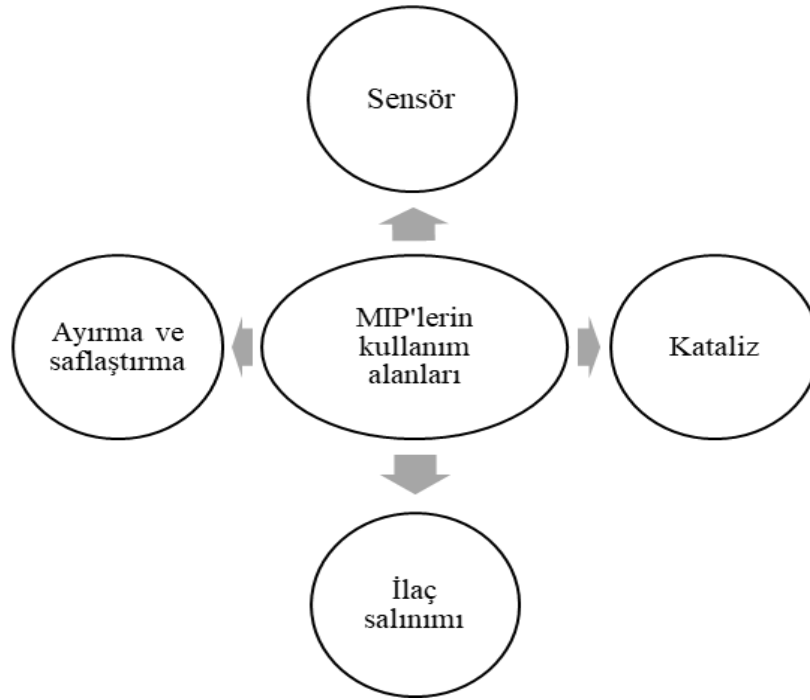
Molekül baskılı polimer sentezlenirken uygulanan polimerizasyon tekniği, MIP'lerin özelliklerini etkilemektedir. Uygulanan teknik, MIP'lerdeki tanıma bölgelerinin sayısını ve yerini, polimer boyutunu ve hedef molekülün MIP'e bağlanma kinetiğini değiştirmektedir [74]. Molekül baskılı polimer hazırlama teknikleri aşağıdaki gibi özetlenebilmektedir.

1. Yığın Polimerizasyonu: Monomer, polimerizasyon başlatıcısı ile polimerleştirilir. Bu teknikte polimerizasyona katılmayan reaktif kullanılmadığından oluşan polimeri saflaştırmak gerekmemektedir.
2. Çözelti Polimerizasyonu: Monomer, bir çözücü içinde çözülerek polimerizasyon gerçekleştirilmektedir.
3. Süspansiyon Polimerizasyonu: Bu yöntemde monomer genellikle su içinde dağıtılarak, polimerleştirilmektedir. Su içindeki monomer damlalarının birleşmesini önlemek için süspansiyon yapıcı maddeler kullanılmaktadır.
4. Emülsiyon Polimerizasyonu: Uygun bir çözücüde çözünmüş monomer, emülsiyon yapıcı maddeler yardımıyla su içinde dağıtılarak, polimerleştirilmektedir.
5. Çöktürme Polimerizasyonu: Monomer, uygun bir çözücü içinde polimerleştirilmektedir. Oluşan polimer, monomer-çözücü kompleksinde çözünmediğinden çökmektedir.

6. Elektropolimerizasyon: Elektrokimyasal hücrede gerçekleştirilen polimerizasyonda elektrot yüzeyine gerilim uygulanarak, destek elektrolit ve monomer içeren çözelti içinde polimerleşme gerçekleştirilmektedir.

2.4.4. Molekül baskılı polimerlerin kullanım alanları

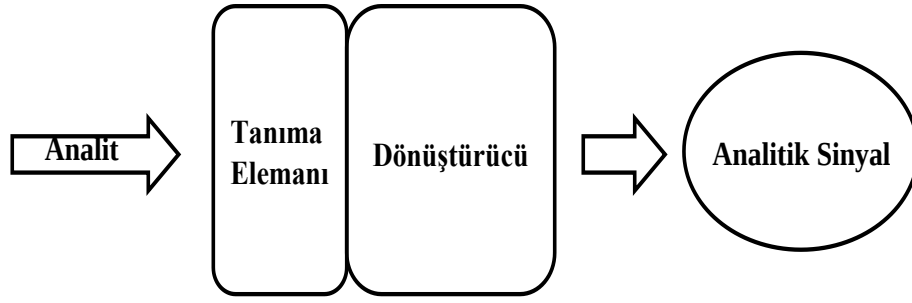
MIP'lerin hedef moleküle affinitesinin yüksek olması, geniş sıcaklık, basınç, pH aralığında kararlılığını koruması ve üretiminin kolaylığı, düşük maliyeti gibi özellikleri sebebiyle birçok alanda baskılı polimerler kullanılmaktadır [70]. Şekil 2.8'de MIP'lerin uygulama alanları verilmiştir.



Şekil 2.8. MIP'lerin kullanım alanları

2.4.4.1. Sensör çalışmalarında MIP'lerin kullanımı

Kimyasal sensörlerde ve biyosensörlerde MIP'lerin yaygın olarak kullanımı bulunmaktadır. Kimyasal sensörler, bir test örneği hakkında analitik bilgi sağlayabilen bağımsız cihazlar olarak tanımlanmaktadır. Numunedeki kimyasal türlerin derişimleri ve aktiviteleri numunenin kimyasal özelliklerinden yararlanılarak belirlenmektedir. Biyosensörler ise tanıma sisteminin biyolojik mekanizmalara dayandığı kimyasal sensörlerdir [75]. Sensörlerin bileşenleri Şekil 2.19'da verilmiştir.



Şekil 2.9. Sensör bileşenlerinin şematik gösterimi

Kimyasal veya biyolojik olarak analiti spesifik olarak tanıyabilen ve bağlayan sensör bileşeni tanıma elemanı olarak adlandırılmaktadır. Mikroorganizmalar, antikorlar, enzimler, dokular, DNA problemleri ve hücreler gibi çeşitli biyolojik yapılar, yüksek seçicilikleri nedeniyle biyosensörlerde tanıma elemanı olarak kullanılmaktadır. Biyomoleküllerin zayıf stabilitesinden kaynaklanan uygulama zorluğu ve çok sayıda analitin doğal reseptörlerinin bulunmaması gibi nedenlerle MIP'ler sensörlerde tanıma elemanı olarak kullanılmaktadır [76].

2.4.4.2. Kataliz çalışmalarında MIP'lerin kullanımı

Katalizörler, reaksiyonu hızlandıran ve reaksiyon sonunda yapısında değişiklik olmadan geri kazanılan maddelerdir. Asit-bazlar, iyonlar, radikaller, organometalik kompleksler, enzimler, metaller ve oksitler katalizör olarak kullanılmaktadır. Katalizör yardımıyla reaksiyon mekanizmasının değiştirilerek hızlandırılması işlemine kataliz denmektedir [77].

MIP'lerin yüksek seçiciliği ve dayanıklılığı, sentetik katalizör olarak kullanılmasında avantaj sağlamaktadır. Yan ürünlerin kontrol edilmesi veya engellenmesi MIP temelli sentetik katalizörler ile mümkün olmaktadır [78].

2.4.4.3. İlaç salınımı çalışmalarında MIP'lerin kullanımı

Kontrollü ilaç salınımı ile ilaçların farmakolojik ve tedavi edici özellikleri iyileştirilmektedir. İlaçların hedeflenen sürede ilaç yapısında bozulma olmaksızın hedeflenen dokulara ulaşması kontrollü ilaç salınım sistemleriyle gerçekleştirilmektedir. Kontrollü ilaç salınımında, ilaç taşıyıcı bir materyal içine yerleştirilmektedir. MIP'lerin güçlü ve seçici olarak biyomolekülleri bağlama yeteneği, yüksek yükleme kapasitesi ve

dayanıklılığı gibi özelliklerinden dolayı MIP'ler, kontrollü ilaç salınım sistemlerinde taşıyıcı materyal olarak kullanılmaktadır [79].

İlaç salınım sistemleri için kovalent olmayan baskılama yöntemi ile hazırlanan MIP'ler tercih edilmektedir. Böylece, hedef molekülün MIP'e bağlanma kinetiğinin yüksek olması sağlanmaktadır [70].

MIP'ler hazırlanırken ilaç etken maddesi kalıp molekül olarak kullanılmaktadır. Polimerizasyondan sonra polimerden etken madde çıkarılarak spesifik bağlanma noktaları oluşturulmaktadır. İlaç salınım sistemi, MIP'e ilaç yüklemesi yapılarak dermal ya da oral olarak veya damar yolu ile ilacın vücuda verilmesi ve vücut içinde MIP'ten ilaç salınımının gerçekleşmesi prensibine dayanmaktadır [80].

2.4.4.4. Ayırma tekniklerinde MIP'lerin kullanımı

Ayırma tekniklerinde MIP'lerin en geleneksel uygulaması, HPLC'de sabit faz dolgu maddesi olarak kullanımıdır. Fakat kolon dolgu maddesi olarak MIP'lerin kullanımının, MIP partikül boyut büyüklüğünün ve MIP bağlanma bölgeleri heterojenliğinin oluşturduğu sorunlar ile kromatogramda pik genişlemesi gibi olumsuz yönleri bulunmaktadır [70].

Sıvı kromatografisinin sabit fazı ile elektroforezi birleştiren hibrit ayırma tekniği kapiler elektrokromatografi (CEC) olarak adlandırılmaktadır. Numune bileşenleri, elektro-osmoz ile kılcal kolonda ilerletilmektedir. Örnek bileşenlerin ayrılması, sabit faz ve akan elektrolit arasındaki faz dağılımından kaynaklanmaktadır. MIP'ler, CEC'de sabit faz materyali olarak kullanılmaktadır [64].

Numune hazırlama tekniklerinden biri olan katı faz ekstraksiyonu, analiti matriks bileşenlerinden ayırmak amacıyla kullanılmaktadır. Katı faz ekstraksiyonunda seçici adsorban göreviyle MIP kullanımı yaygın olarak görülmektedir [81].

2.5. Katı Faz Ekstraksiyonu

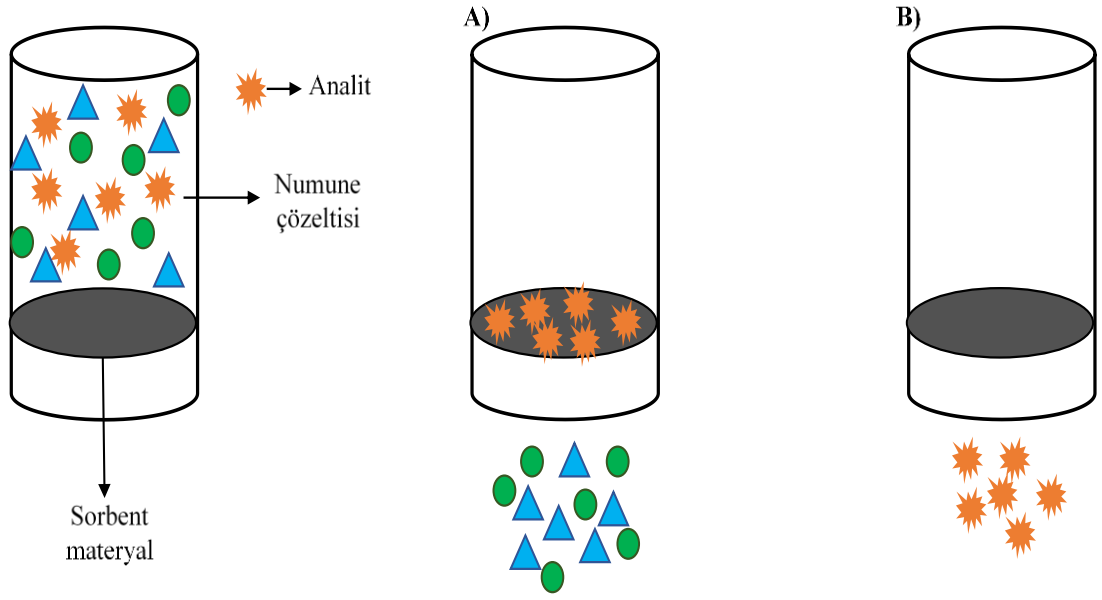
Bir numunenin analize uygun hale getirilmesi ve analiz performansının iyileştirilmesi için numunede gerçekleştirilen kimyasal veya fiziksel modifikasyon örnek hazırlama olarak isimlendirilmektedir. Numune hazırlama teknikleri ile analitin numuneden ayrılması, matriks sadeleştirilmesi, analit önderiştirilmesi ve gerekli durumlarda analitin tespit veya ayırma için daha uygun bir forma dönüştürülmesi

sağlanarak analiz sonuçları iyileştirilmektedir [82]. Çizelge 2.5’de örnek hazırlama teknikleri verilmiştir.

Çizelge 2.5. *Numune hazırlama teknikleri ve uygulanan işlemler*

Teknikler	Yöntem
Mekanik prosesler	Süzme Santrifüj
Faz transfer	Damıtma Buharlaştırma Kristallendirme Çöktürme
Ekstraksiyon	Sıvı-sıvı ekstraksiyonu Katı-sıvı ekstraksiyonu Katı faz ekstraksiyonu
Kromatografik ayırma	İnce tabaka kromatografisi Kolon kromatografisi Jel filtrasyon kromatografisi
Membran ayırma	İyon değişim membran Diyaliz Ters Ozmos
Elektrokimyasal ayırma	Elektrodiyaliz Elektroforez Elektrokromatografi

Katı faz ekstraksiyonu (KFE), analitlerin numuneden ayrılması ve önderiştirilmesi amacıyla kullanılan numune hazırlama tekniklerinden biridir. Şekil 2.10’da görüldüğü gibi KFE, analitin bir adsorbana adsorplanmasıyla matriks bileşenlerinden ayrılması ve uygun bir çözücüyle analitin adsorbandan geri kazanılması prensibine dayanmaktadır [81].



Şekil 2.10. KFE yöntemi; A) analitin matriks bileşenlerinden uzaklaştırılması, B) analitin geri kazanımı

KFE’de adsorban; kolon, kartuş, filtreye benzer şekilde kullanılan disk gibi materyallere doldurulabilir ya da numune çözeltisine direk olarak da eklenebilmektedir [83].

KFE’nin avantajları dört madde ile özetlenmektedir [84].

1. Numune hazırlama süresi kısadır ve ekonomik bir tekniktir.
2. Adsorban üzerine adsorplanan analitler, konsantrasyonlarında değişme olmadan belirli bir süre saklanabilmektedir.
3. KFE tekniği geliştirilen adsorbanlar sayesinde birçok numuneye uygulanabilmektedir.
4. KFE’de geri kazanım oranları yüksektir ve az miktarda reaktant gerekmektedir.

2.5.1. Katı faz ekstraksiyonu bileşenleri

Adsorpsiyonu sağlayan adsorban materyal ve çözücü KFE metodunda ayrılma işleminin gerçekleşmesini sağlamaktadır.

2.5.1.1. Adsorban

Adsorban malzemenin adsorpsiyon kapasitesi, analite karşı seçiciliği, fiziksel ve kimyasal kararlılığı KFE'nin performansını etkilemektedir. KFE prosedüründe kullanılan

en yaygın klasik adsorbanlar; farklı fonksiyonel gruplarla kimyasal olarak bağlı silika, polimer temelli adsorbanlar ve karbon bazlı materyallerdir.

Klasik adsorban malzemeler apolar, polar ve iyon değiştirici olarak sınıflandırılabilir [83]. KFE’de kullanılan klasik adsorban örnekleri Çizelge 2.6’da verilmiştir.

Çizelge 2.6. Adsorbanların sınıflandırılması ve örnek materyaller

Adsorban sınıfı	Örnek materyal	Fonksiyonel grup
Apolar	Oktadesil (C18)	$(CH_2)_{17}CH_3$
	Oktıl (C8)	$(CH_2)_7CH_3$
Polar	Siyano	CN
	Diol	2OH
	Amino	NH ₂
	Silika jel	SiOH
İyon deęiřtirici	Sülfonik asit	SO ₃ ⁻
	Karboksilik asit	COO ⁻
	Kuarterner amin	NH ₃ ⁺

Bu adsorbanların düşük veya yüksek pH'larda azalan kararlılıkları ve düşük adsorpsiyon kapasiteleri gibi kısıtlamaları nedeniyle, KFE için yeni adsorban materyalleri sentezlenmektedir [85]. Affinite ve immünoaffinite adsorbanları, manyetik nanopartiküller, metal organik kafesler ve MIP’lerin KFE’de adsorban olarak kullanımları araştırılmaktadır.

2.5.1.2. Çözücü

Çözücü ile adsorban üzerine adsorplanan analitin desorpsiyonu sağlanmaktadır. Kullanılacak çözücünün uçuculuğu, KFE’den sonra deriştirme ve çözücü uzaklaştırılması işlemlerini etkilemektedir. Ayrıca toksisite ve maliyet gibi parametreler çözücü seçimini etkilemektedir [83].

2.5.2. KFE metodunda maddelerin ayrılma prensibi

KFE’de maddelerin birbirinden ayrılması, analit ile adsorban arasındaki etkileşimlerle açıklanmaktadır. Analit; iyonik etkileşimler, hidrojen bağı, elektrostatik

kuvvetler ve van der Waals etkileşimleri ile adsorbana bağlanarak numune bileşenlerinden ayrılmaktadır.

Numunedeki analitin KFE ile ayrılma mekanizmaları; adsorpsiyon, iyon değişimi, moleküler eleme ve affinite olarak sınıflandırılmaktadır. Seçilen adsorban materyale göre ayrılma mekanizması değişmektedir [86].

2.5.2.1. Adsorpsiyon mekanizması

Adsorpsiyon mekanizmasında analit, van der Waals kuvvetleri veya hidrofobik etkileşimlerle adsorban üzerine adsorbe olmaktadır. Adsorpsiyon mekanizması, ters faz KFE ve normal faz KFE olarak adsorbanın polaritesine göre ayrılmaktadır. Ters faz KFE’de adsorban apolardır ve adsorban ile analit arasında hidrofobik etkileşim meydana gelmektedir. Ters faz KFE’de en yaygın kullanılan adsorban C-18 bağlı silikadır ve metanol ya da asetonitril gibi organik çözücüler tercih edilmektedir. Normal faz KFE’de ise silika en çok tercih edilen polar adsorbanlardandır. Çözücü olarak hekzan gibi apolar organik çözücüler kullanılmaktadır [87].

2.5.2.2. İyon değişimi mekanizması

İyon değişimi mekanizmasında, katyonik veya anyonik fonksiyonel grup içeren adsorbanlar kullanılmaktadır ve analit ile adsorban arasındaki iyonların tersinir olarak değişimi esasına dayanmaktadır. Genellikle silikaya bağlanmış sülfonik asit veya kuaterner amin gibi iyon değiştiriciler kullanılmaktadır [87].

2.5.2.3. Moleküler eleme mekanizması

Moleküler eleme tekniğinde ise dekstran jel gibi polar gözenekli materyaller, numune içerisindeki bileşenlerin molekül büyüklüklerine göre ayrılmasını sağlamaktadır. Boyut olarak küçük moleküllerin adsorban tarafından tutulmasıyla ayırım gerçekleşmektedir [86].

2.5.2.4. Affinite mekanizması

KFE için spesifik veya yüksek seçicilikte adsorbanlar sentezlenmesinde moleküler tanımadan da yararlanılmaktadır. Affinite mekanizması için, immünosorbentler, MIP’ler ve aptamer adsorbanlar kullanılmaktadır [88].

Aptamerler, tek iplikli ve kısa oligonükleotittir ve hedef molekülüne karşı yüksek bağlanma yeteneği bulunmaktadır. Enzimatik veya kimyasal olarak modifiye edilebilen aptamerler geniş bir uygulama alanında, spesifik analitleri tanımak için kullanılmaktadır [89].

İmmünosorbentler, yüksek derecede moleküler seçicilik sağlayan antikör adsorbanlarıdır. İmmünosorbentler hedef analiti tek bir adımda numuneden ayırabilmektedir. [88].

MIP'ler, biyolojik sıvılar ve çevresel numuneler gibi kompleks örneklerden analiti ayırmak için kullanılan güçlü moleküler tanıma elemanlarıdır. MIP'lerin hedef molekülünü tanıması; dipol-dipol etkileşimi, hidrojen bağı ve iyonik kuvvet gibi moleküller arası etkileşimler sayesinde gerçekleşmektedir. Adsorban olarak MIP'lerin kullanımı, kimyasal ve mekanik kararlılık, termal dayanıklılık, hedef analit için yüksek seçicilik ve yeniden kullanılabilirlik gibi özellikleri sebebiyle yaygın olarak tercih edilmektedir [90].

2.6. BPA Tayinine Yönelik Hazırlanan MIP'ler

Su kaynaklarından BPA'nın giderilmesi ve çeşitli numunelerde BPA tayininin gerçekleştirilmesi amacıyla literatürde sıklıkla BPA baskılı polimerler kullanılmaktadır. Çizelge 2.7'de literatürde yer alan ve BPA baskılı polimer hazırlamaya yönelik gerçekleştirilen çalışmalardan özetlenmiştir.

Çizelge 2.7. Literatürde yer alan bazı BPA baskılı polimerlerin deney koşullarının özeti

Kullanılan adsorban / sensör formu	Kullanılan monomer	Kullanılan çapraz bağlayıcı	Polimerizasyon yöntemi	BPA tayin yöntemi	Kaynak
Diazometan ön işlem MIP	Metakrilik asit	EDMA	Çözelti polimerizasyonu	CE-UV	[57]
MIP membran	Metakrilik asit	TRIM	Çöktürme polimerizasyonu	HPLC	[91]
MIP	N-metakrilol-L-fenilalanin metilester + Metil metakrilat	EDMA	Çöktürme polimerizasyonu	LC-MS	[92]
MIP	Aminopropil trietoksilan	TEOS (tetraetil ortosilikat)	Sol-jel polimerizasyonu	GC-MS	[45]

Çizelge 2.7. (Devam) *Literatürde yer alan bazı BPA baskılı polimerlerin deney koşullarının özeti*

Kullanılan adsorban / sensör formu	Kullanılan monomer	Kullanılan çapraz bağlayıcı	Polimerizasyon yöntemi	BPA tayin yöntemi	Kaynak
MIP-TiO ₂ /Grafen	o-Fenilendiamin	-	Fotokataliz	HPLC	[93]
Karbon dots@MIP	3-aminopropil-trietoksi-silan (APTES)	TEOS	Sol-jel polimerizasyonu	Floresans	[94]
MIP	DTPA	TEOS	Sol-jel polimerizasyonu	UV-vis	[95]
MWCNT@Fe ₃ O ₄ -MIP	Metakrilik asit + β-siklodekstrin	EDMA	Çöktürme polimerizasyonu	HPLC	[63]
MIP	4-vinilpiridin	EDMA	Çöktürme polimerizasyonu	HPLC-DAD	[96]
Au nanopartikül@MIP	2-aminothiofenol	-	Elektropolimerizasyon	Voltametri	[97]
MIP	Kitosan	Sülfürik asit	Elektropolimerizasyon	Voltametri	[98]
MIP	Ferrosenil metil metakrilat + 4- vinilpiridin	EDMA	Çöktürme polimerizasyonu	Voltametri	[99]
MIP	3-(Trietoksisilil) propil izosiyanat	TEOS	Sol-jel polimerizasyonu	HPLC-UV	[100]
Pt@MIP	3, 6-diamino-9-etilkarbazol	-	Elektropolimerizasyon	Voltametri	[101]

Çizelge 2.7’den de görüldüğü gibi farklı polimerizasyon teknikleri kullanılarak BPA baskılı pek çok MIP sentezlenmiştir. Miniemülsiyon polimerizasyonu ile hazırlanan MIP’lerin klasik yöntemlerle hazırlanan MIP’lere göre daha küçük partikül boyutuna ve daha yüksek aktif yüzey alanına sahip olmaları gibi belirli avantajları bulunmaktadır. Bu nedenle tez çalışması kapsamında, endokrin sistem üzerine bozucu etkiye sahip olan BPA’nın önderiştirilmesi için miniemülsiyon polimerizasyon yöntemiyle MIP temelli katı faz adsorbanı hazırlanmıştır. MIP sentezinde BPA kalıp molekül, MAA monomer, TRIM çapraz bağlayıcı ve AIBN polimerizasyon başlatıcı olarak kullanılmıştır.

Miniemülsiyon polimerizasyon yöntemiyle elde edilen polimerde BPA'ya özgü bağlanma noktalarının oluşması için kalıp molekül uygun çözücüyle polimerden uzaklaştırılmıştır. Sentezlenen MIP'in adsorpsiyon kapasitesini etkileyen parametrelerin optimizasyon çalışmaları yapılmış ve MIP nanopartiküllerine adsorplanmış BPA'nın optimum desorpsiyon koşulları belirlenmiştir. BPA'ya yapısal benzerliği bulunan moleküllerle gerçekleştirilen seçicilik deneyleri sonucunda sentezlenen MIP adsorbanın BPA'ya karşı yüksek seçiciliğe sahip olduğu görülmüştür. MIP adsorban içme suyu örneklerinde test edilmiş ve sentezlenen MIP'in, BPA tayin çalışmalarında matriks etkisini ortadan kaldırmak ve düşük derişimlerde tayinini gerçekleştirebilmek için uygun bir katı faz adsorbanı olduğu görülmüştür.

3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Tez kapsamında kullanılan kimyasal maddeler

Tez çalışması kapsamında kullanılan kimyasallar Çizelge 3.1’de listelenmiştir.

Çizelge 3.1. Tez kapsamında kullanılan kimyasallar

Kimyasal adı	Markası	Kimyasal adı	Markası
Bisfenol A (%99)	Sigma-Aldrich	Metanol (%99,9) (MeOH)	Sigma-Aldrich
17 β -Estradiol (%98)	Sigma-Aldrich	Etanol (%99,8) (EtOH)	Sigma-Aldrich
Estron (%99)	Sigma-Aldrich	Asetonitril (Ultra gradient grade) (ACN)	Carlo Erba
Fenol (%99)	Sigma-Aldrich	Fosforik asit (%85) (H ₃ PO ₄)	Sigma-Aldrich
2-Naftol (%98)	Fluka	Karbon tetraklorür (%99) (CCl ₄)	Sigma-Aldrich
Metakrilik asit (%99) (MAA)	Sigma-Aldrich	Potasyum dihidrojenfosfat (%99,5)	Merck
Trimetilolpropan trimetakrilat (TRIM)	Sigma-Aldrich	Potasyum hidroksit (%85) (KOH)	Sigma-Aldrich
Azobisisobutironitril (%98) (AIBN)	Fluka	Sodyum hidroksit (%98) (NaOH)	Sigma-Aldrich
n-Hekzadekan (%99)	Merck	Sodyum dodesil sülfat (%95) (SDS)	J.T. Baker

3.1.2. Tez kapsamında kullanılan cihazlar

MIP sentezinde homojenizasyon işlemi için Bandelin UW 2070 homejenizatör kullanılmıştır. Kalıp oluşturmak için yapılan yıkama kontrolleri SHIMADZU marka UV-1601 UV-Visible spektrofotometre ile gerçekleştirilmiştir.

Sentezlenen MIP’in morfolojisinin belirlenmesinde ZeissUltraplus model taramalı elektron mikroskobu (SEM) cihazı ve karakterizasyon çalışmalarında Perkin Elmer Spektrum-100 marka Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektrofotometresi kullanılmıştır.

Çözeltilerin hazırlanmasında; Sartorius-Arium Comfort I-1-UV-T model ultra-saf su cihazı, OHAUS marka analitik terazi, Radiometer-IONcheck45 model pH metre, ISOLAB marka ultrasonik banyo ve manyetik karıştırıcı kullanılmıştır.

KFE’de adsorbanın uzaklaştırılması için Hettich universal 320 model santrifüj cihazı kullanılmıştır. KFE adsorpsiyon sıcaklığı Clifton marka sıcak su banyosuyla

ayarlanmış ve KFE sonrası çözeltilerin derişimleri SHIMADZU marka UV-1601 UV-Visible ve Agilent 1100 marka yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) cihazları ile belirlenmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. BPA baskılı polimer nanopartiküllerinin hazırlanması

MIP nanopartikül sentezi miniemülsiyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemde monomer, çapraz bağlayıcı, başlatıcı içeren organik faz, SDS içeren sulu faz üstüne eklenerek polimer çözeltisi hazırlanmaktadır. 0,38 mmol BPA kalıp molekülü 1 mL karbon tetraklorür (CCl₄) içinde çözülmüştür. Fonksiyonel monomer olarak 1,72 mmol metakrilik asit (MAA), çapraz bağlayıcı 4 mmol TRIM, 80 µL hekzadekan ve polimerizasyon başlatıcı olarak 30 mg AIBN sırasıyla BPA çözeltisine eklenerek organik faz hazırlanmıştır. 18 mL 38,5 mg sodyum dodesil sülfat (SDS) içeren sulu çözelti ile organik faz karıştırılmıştır. Polimerleşme için polimer çözeltisi 18 saat 65 °C’de karıştırılmıştır. Polimerleşmeden sonra reaksiyona girmeyen reaktantları uzaklaştırmak amacıyla deiyonize su, metanol-deiyonize su ve metanol (MeOH) ile polimer yıkanmıştır. Kalıp oluşturmak için polimer, potasyum hidroksit-metanol (KOH-MeOH) (3:7) çözeltisi ile BPA kalmayana kadar yıkanmış ve BPA derişim kontrolleri UV-vis spektrofotometre ile gerçekleştirilmiştir. Kalıp molekül olmadan polimerizasyon süreci tekrarlanarak baskısız polimer (NIP) sentezlenmiştir.

3.2.2. BPA baskılı polimer nanopartiküllerin karakterizasyon çalışmaları

MIP nanopartiküllerin karakterizasyonunda SEM cihazı ve FTIR spektrofotometresi kullanılmıştır. MIP, NIP ve MIP kalıp öncesi nanopartiküllerinin potasyum bromür (KBr) ile tableti oluşturularak FTIR spektrumları alınmıştır.

3.2.3. BPA tayinine yönelik HPLC metodu oluşturulması

HPLC, bir numunedeki bileşenlerin kalitatif ve kantitatif analizini gerçekleştirmek için uygulanan kromatografik bir yöntemdir. Bir kolona doldurulmuş mikro boyuttaki sabit faz materyal ile yüksek basınçta verilen hareketli faz arasındaki polarite farkı nedeniyle numune bileşenleri birbirinden ayrılmaktadır. HPLC cihazı bileşenleri; çözücü

rezervuarı, pompa, enjeksiyon bloğu, kolon, dedektör ve verilerin oluşturulduğu bilgisayar sistemidir [102].

Tez çalışmasında Agilent 1100 marka HPLC sistemi ve inertsil ODS-3 (5 µm, 4,6x250 mm) marka kolon kullanılmıştır. 0,9 mL/dk akış hızı ve %75 MeOH-%25 deiyonize su çözeltisi hareketli faz olarak belirlenmiştir. Enjeksiyon miktarı ise 20 µL olarak ayarlanmıştır. Analizler esnasında kolon sıcaklığı 30°C’de sabit tutulmuştur. UV dedektör 276,4 nm dalga boyunda seçilip kromatogramlar oluşturulmuştur.

3.2.4. KFE koşullarının optimizasyonu

KFE başarısı, adsorpsiyon ve desorpsiyon koşullarından doğrudan etkilenmektedir. Tüm deneyler paralel üç seri şeklinde gerçekleştirilmiştir. Adsorplanan BPA miktarları başlangıç ve dengedeki derişim farkından yararlanarak, adsorban başına adsorbe edilen BPA miktarı (Q_e) ile aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır.

$$Q_e = \frac{(C_0 - C_e)V}{W} \quad (3.1)$$

Burada, Q_e polimerlerin birim miktarı başına adsorplanan madde miktarıdır (mg g^{-1}); C_0 ve C_e , BPA çözeltilerinin sırasıyla, başlangıç ve dengedeki derişimleridir (mg L^{-1}); V sulu faz hacmi (L) ve W ise kullanılan MIP adsorban miktarıdır (g).

Desorplanan BPA miktarı ise denklem 3.2’deki gibi hesaplanmıştır.

$$\%Desorpsiyon = \frac{\text{Desorplanan BPA derişimi}}{\text{Adsorplanan BPA derişimi}} \times 100 \quad (3.2)$$

3.2.4.1. MIP nanopartiküllerinin adsorpsiyon koşullarının optimizasyonu

MIP nanopartiküllerinin adsorpsiyon koşullarını etkileyen etkileşim süresi ve çözeltinin derişim, pH ve sıcaklık parametreleri optimize edilmiştir.

Adsorpsiyon süresi optimizasyonunda 2 mg MIP adsorban üzerine 2 mL 50 ppm BPA çözeltisi eklenerek adsorpsiyon farklı sürelerde (0, 5, 10, 15, 30, 60, 120 ve 240dk) gerçekleştirilmiş ve MIP adsorban 15.000 rpm 45 dk santrifüj edilerek uzaklaştırılmıştır. Adsorpsiyon süzöntüsünün absorbanı UV-vis spektroskopisi ile ölçülmüştür.

Adsorpsiyon süresi optimizasyonundan sonra 2 mg MIP adsorban ile 2 mL BPA çözeltisi farklı derişimlerde (5, 10, 25, 50 ve 100 ppm) optimum süre boyunca karıştırılarak BPA adsorpsiyonu gerçekleştirilmiştir. MIP adsorban materyal santrifüj ile

uzaklaştırılarak süzütünün absorbansı belirlenmiş ve bu şekilde optimum başlangıç derişimi saptanmıştır.

BPA çözeltisinin pH'ı 0,01 M fosfat tamponu (PBS) ile farklı pH'lara ayarlanarak (2, 3, 4, 5, 6, 7,4 ve 10) MIP adsorban ile çözelti içindeki BPA'nın adsorpsiyonu sağlanıp absorbansı ölçülmüş ve optimum adsorpsiyon pH'sı belirlenmiştir.

Belirlenen optimum koşullarda 2 mg MIP adsorban ile 2 mL BPA çözeltisinin 15, 25 ve 35 °C'de adsorpsiyonu gerçekleştirilmiştir. MIP adsorban süzütünden uzaklaştırıldıktan sonra süzütünün derişimi HPLC ile belirlenmiştir.

Ayrıca, NIP nanopartikül ile adsorpsiyon süresi ve BPA derişim taramaları gerçekleştirilerek adsorpsiyon kapasiteleri hesaplanmıştır.

3.2.4.2. MIP nanopartiküllerinin desorpsiyon koşullarının optimizasyonu

MIP nanopartiküllerinin desorpsiyon koşullarını etkileyen parametrelerden desorpsiyon çözücüsü ve desorpsiyon süresi belirlenmiştir. Optimum koşullarda adsorpsiyon sağlandıktan sonra farklı çözeltelerde (MeOH, MeOH-NaOH-H₂O (5:2:3), MeOH-NaOH-H₂O (4:3:3) ve EtOH) BPA desorpsiyonu sağlanmıştır ve adsorban uzaklaştırıldıktan sonra HPLC ile desorplanan BPA derişimi belirlenmiştir.

Desorpsiyon çözeltisi optimizasyonundan sonra desorpsiyon işlemi farklı sürelerde (5, 15, 30, 60, 120 ve 180dk) gerçekleştirilmiş, HPLC ile desorplanan BPA derişimi saptanmıştır.

3.2.5. MIP nanopartiküllerinin tekrar kullanılabilirliğinin belirlenmesi

MIP nanopartikülleri ile BPA adsorpsiyonu sağlandıktan sonra optimum desorpsiyon çözücüsü ve desorpsiyon süresinde BPA'nın MIP adsorban materyalinden geri kazanımı sağlanmıştır. Kullanılan MIP adsorban tekrar BPA adsorpsiyonunda kullanılmıştır. Deneyler 10 kez aynı MIP adsorban materyal ile tekrarlanarak MIP nanopartiküllerin tekrar kullanılabilirliği incelenmiştir.

3.2.6. KFE'nin seçiciliğinin belirlenmesi

BPA'ya yapı olarak benzerliği bulunan 17 β -Estradiol, estron, fenol ve naftol molekülleri, MIP adsorban ile optimum koşullarda işleme tabi tutulduktan sonra adsorban

santrifüjle uzaklaştırılmıştır. Adsorpsiyon süzüntülerinin derişimleri HPLC ile ölçülerek seçicilik faktörleri denklem 3.3 ile hesaplanmıştır.

$$\alpha = \frac{Q_{BPA}}{Q_{Seçicilik}} \quad (3.3)$$

3.2.7. KFE ile gerçek numuneden BPA önderiştirilmesi

Sentezlenen MIP nanopartikül adsorbanla gerçekleştirilen KFE, su numunesinde test edilmiştir. KFE ile su numunesinin önderiştirilmesi gerçekleştirilerek numunedeki BPA derişimi belirlenmiştir.

Su numunesine KFE prosedürü, 0,01 M PBS içerisinde 20 kat seyreltilerek uygulanmıştır. Bu amaçla; 5 mL su örneği 50 mL'ye deiyonize su ile tamamlanmış, 30 dk ultrasonik su banyosunda tutulmuş ve 0,45 µm membran filtre ile süzölmüştür. Bu çözeltiden 5'er mL alınarak 10 mL 0,01 M PBS (pH 4) içerisinde BPA derişimleri 0, 0,25, 0,5, 1, 1,5 ve 2,5 ppm olan numune çözeltileri hazırlanmıştır. 2 mL numune çözeltisi ve 2 mg MIP adsorban optimum koşullarda 60 dk manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Adsorpsiyondan sonra MIP nanopartikül, santrifüj ile süzöntüden ayrılmıştır. Ayrılan adsorban üzerine 1 mL desorpsiyon çözöcüsü eklenerek MIP'e adsorplanan BPA'nın geri kazanımı sağlanmıştır. Desorplanan BPA derişimi HPLC ile analiz edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. BPA Baskılı Polimer Nanopartiküllerinin Karakterizasyon Çalışmaları

BPA baskılı polimer nanopartiküllerin karakterizasyonu SEM analizleri ve FTIR spektrumları ile gerçekleştirilmiştir.

4.1.1. SEM analizleri

BPA baskılı polimer nanopartiküllerinin yüzey morfolojisi ZeissUltraplus SEM cihazı ile incelenmiştir. Şekil 4.1'de BPA baskılı polimerin kalıp oluşturulduktan sonra ve kalıp oluşturulmadan önceki görüntüleri ile baskısız polimerin SEM görüntüleri verilmiştir. Şekil 4.1 A'da BPA baskılı polimerin 200 nm civarında mikro kürelerden oluştuğu ve mikrokürelerin oldukça homojen yapıda olduğu görülmektedir. Şekil 4.1 A ve B kıyaslandığında kalıp molekül uzaklaştırıldıktan sonra nanopartiküllerin gözenekliliğinin arttığı görülmüştür. Baskısız polimere ait SEM görüntüsü (Şekil 4.1 C) incelendiğinde oluşan polimer partiküllerin büyüklü küçüklü kürelerden oluştuğu görülmektedir. Bu da partikül boyutu anlamında homojen olmadığını göstermektedir.

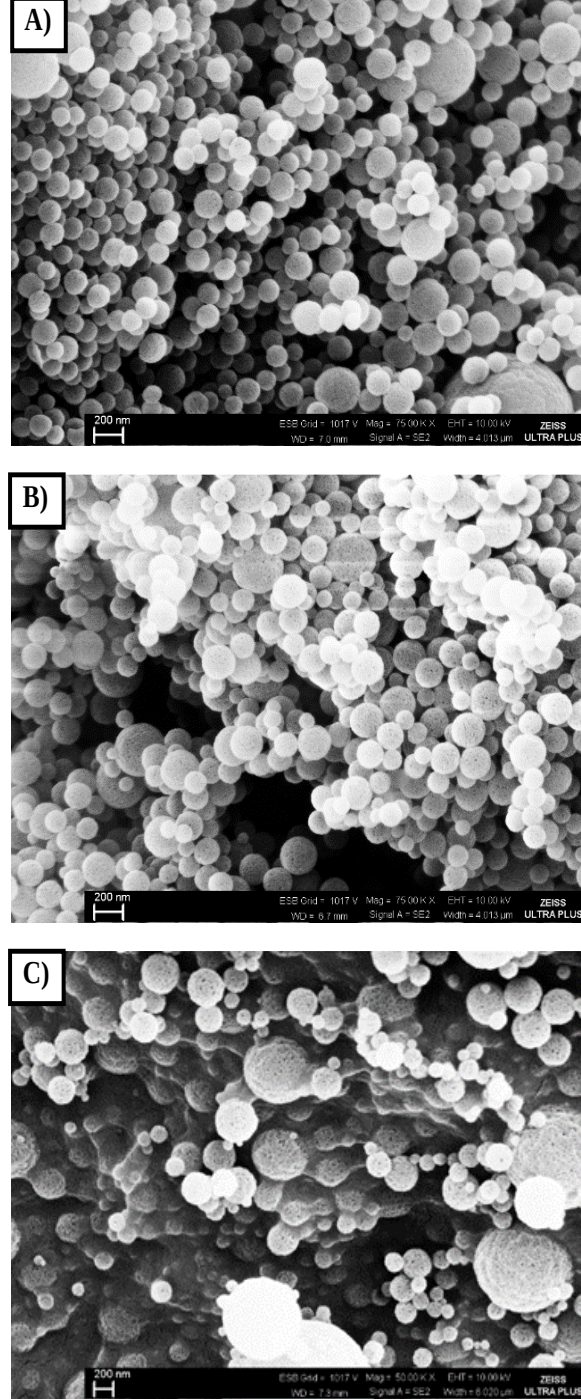
4.1.2. FTIR analizleri

BPA baskılı polimerde kalıp oluşturulması işleminin kontrolü amacıyla, kalıp oluşturulduktan sonra ve kalıp oluşturulmadan önce BPA baskılı polimer ile NIP'in FTIR ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

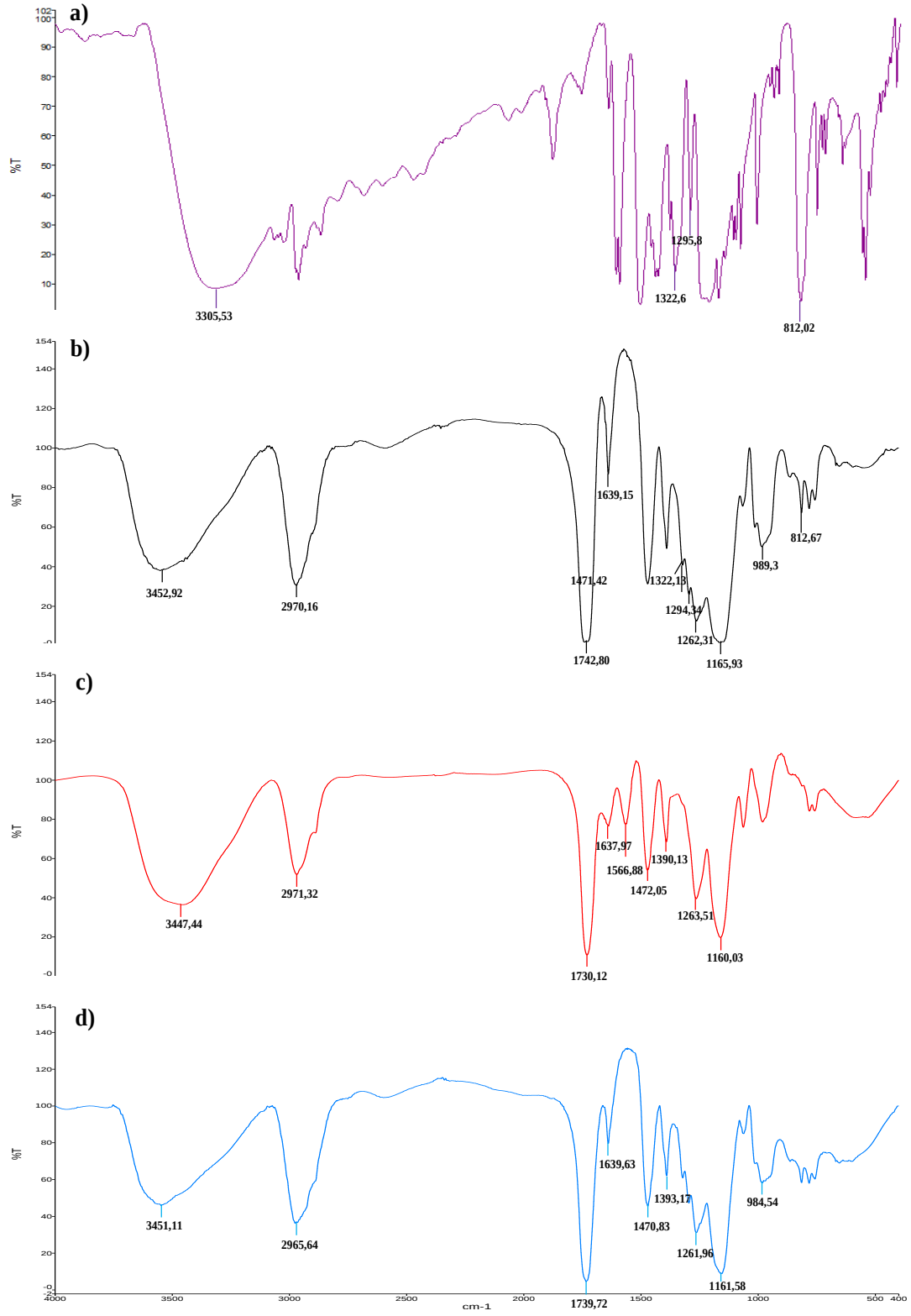
MIP, NIP ve kalıp oluşturulmamış polimerin FTIR spektrumları, Şekil 4.2'de verilmiştir. 3450 cm^{-1} 'deki geniş pik, metakrilik asitte bulunan hidroksil gruplarının O-H gerilmesinden kaynaklanmaktadır. Polimerde bulunan CH_3 ve CH_2 gruplarının C-H bağı gerilmesi 2970 cm^{-1} , CH_2 ve CH_3 düzlem içi eğilmesi sırasıyla 1471 ve 1390 cm^{-1} 'deki pikler ile açıklanmaktadır. 1730 cm^{-1} 'deki pik, TRIM ve metakrilik asitte bulunan karboksilik asit gruplarından gelen C=O gerilmesidir. 1639 cm^{-1} 'deki orta yoğunluklu pik, cis konumun C=C gerilmesinden kaynaklanmaktadır. 1262 cm^{-1} frekansındaki C-O gerilmesi ve 1160 cm^{-1} 'de gözlenen C-O-C gerilmesi, metakrilik asit ve TRIM'daki karbonil grubundaki çiftli bağı açılarak polimerleşmenin gerçekleştiğini göstermektedir.

Şekil 4.2a'da verilen BPA molekülünün ve şekil 4.2b'de verilen kalıp oluşturulmamış polimerin FTIR spektrumlarında 1322 cm^{-1} 'de fenol grubuna ait O-H eğilmesi görülmektedir. 1294 cm^{-1} 'de görülen zayıf pik ve 812 cm^{-1} frekansında görülen

şiddetli pik aromatik para konumuna ait C-H bağının düzlem içi ve düzlem dışı eğilmesidir. Bu karakteristik piklerin şekil 4.2c’de verilen baskılı polimerin FTIR spektrumunda görülmemesi, kalıp molekülünün başarıyla polimerden uzaklaştırıldığını kanıtlamaktadır.



Şekil 4.1. Kalıp oluşturulduktan sonra (A), kalıp oluşturulmadan önce (B) BPA baskılı polimerin ve baskısız polimerin (C) SEM görüntüleri



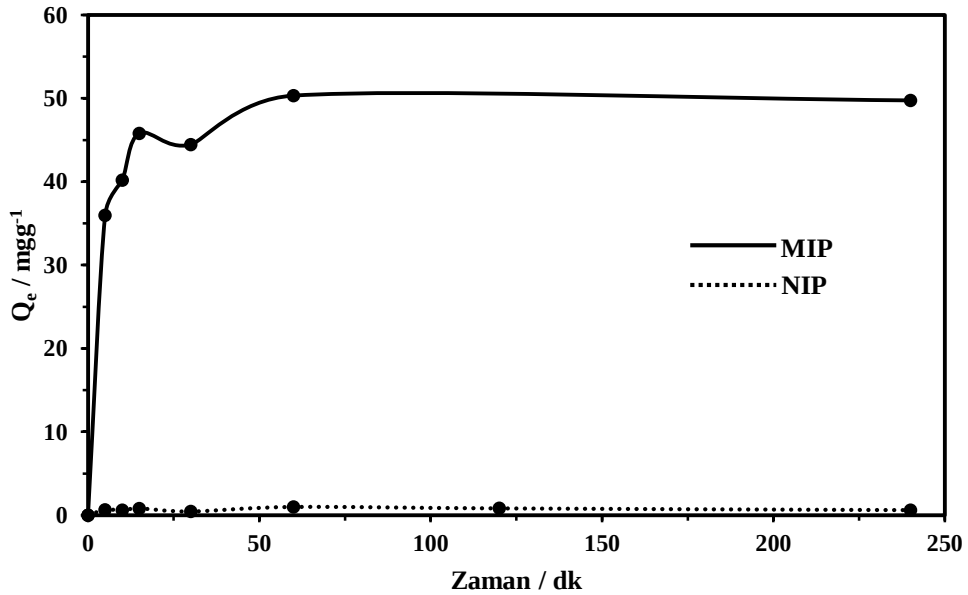
Şekil 4.2. BPA molekülünün (a), kalıp oluşturulmadan önce (b) ve kalıp oluşturulduktan sonra (c) BPA baskılı polimerin ve baskısız polimerin (d) FTIR spektrumları

4.2. KFE Koşullarının Optimizasyonu

4.2.1. MIP nanopartikül adsorpsiyon koşullarının optimizasyonu

4.2.1.1. Optimum etkileşim süresinin belirlenmesi

Etkileşim süresinin belirlenmesi için BPA baskılı ve baskısız polimere 0 dk ile 240 dk aralığında BPA adsorpsiyonu gerçekleştirilmiştir. UV-vis spektroskopisi ile adsorpsiyon süzüntülerinin derişimleri belirlenip Q değerleri hesaplanmıştır. Şekil 4.3'te 50 ppm BPA çözeltisi içindeki MIP adsorbanın ve NIP'in adsorpsiyon kapasitesinin etkileşim süresiyle değişimi verilmiştir. MIP adsorban materyalinin BPA adsorpsiyonunun 60 dk'ye kadar artması ve 60 dk'den sonra Q_{BPA} değerinde belirgin bir değişim gözlenmemesinden dolayı optimum etkileşim süresi 60 dk olarak belirlenmiştir. NIP'in BPA'ya karşı affinitesinin olmadığı ve 0 dk ile 240 dk aralığında BPA adsorplamadığı gözlenmiştir.

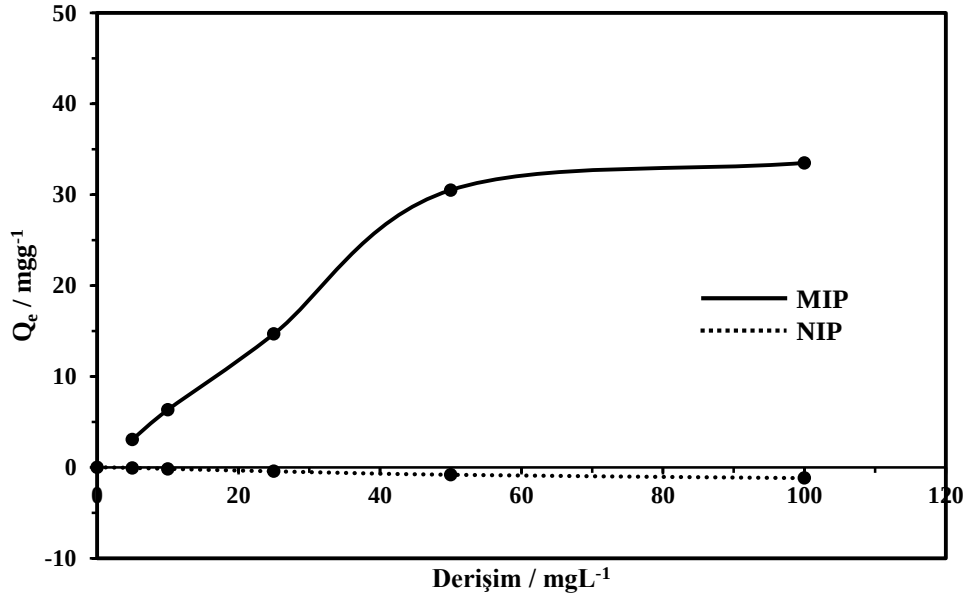


Şekil 4.3. BPA adsorpsiyonuna etkileşim süresinin etkisi

4.2.1.2. Başlangıç derişiminin etkisi

Başlangıç derişiminin BPA adsorpsiyonuna etkisinin belirlenmesi amacıyla 5, 10, 25, 50 ve 100 ppm BPA çözeltisi içerisinde MIP nanopartiküllerinin ve NIP'in BPA adsorpsiyonu gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.4). Görüldüğü gibi Q_{BPA} değerleri, 50 ppm başlangıç derişimine kadar hızla artmış ve 50 ppm derişiminde doygunluğa ulaşmıştır. Bu

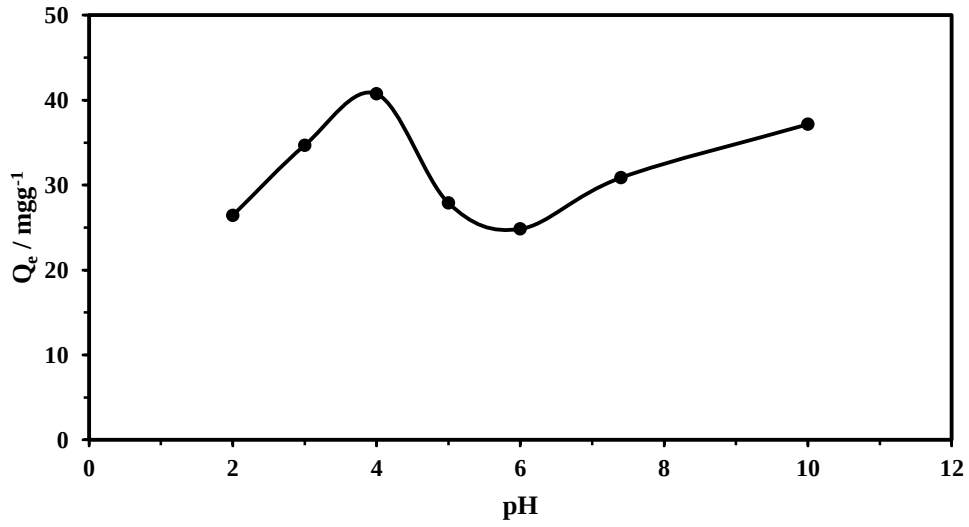
nedenle optimum başlangıç derişimi 50 ppm olarak belirlenmiştir. NIP'in BPA'ya affinitesinin olmadığı farklı başlangıç derişimlerinde gerçekleştirilen deneylerle de belirlenmiştir.



Şekil 4.4. Başlangıç derişiminin BPA adsorpsiyonuna etkisi

4.2.1.3. pH etkisi

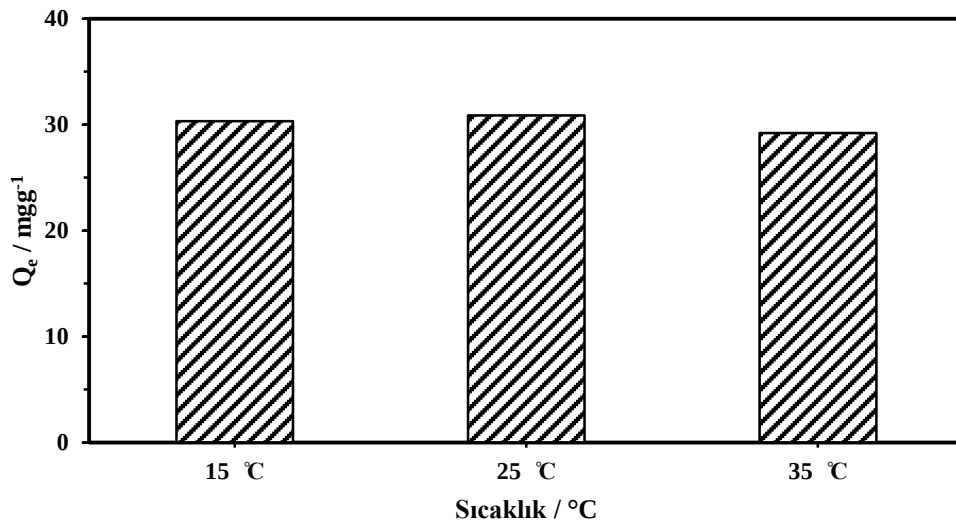
Çözeltilerin pH'si, BPA'da bulunan fenil grupları ile MIP arasındaki etkileşimi ve MIP adsorbandaki bağlanma bölgelerini değiştirerek sentezlenen MIP'in BPA adsorpsiyonunu etkilemektedir. MIP nanopartiküllerinin BPA adsorpsiyonuna pH etkisi Şekil 4.5'de verilmiştir. 50 ppm BPA çözeltisinin pH'si 0,01 M fosfat tamponu ile ayarlanmış ve MIP adsorban ilave edilerek BPA çözeltisinin adsorpsiyonu sağlanmıştır. pH 4 ve 10'da BPA adsorpsiyonunun yüksek olduğu gözlenmiştir. Adsorpsiyon kapasitesi pH 4'e kadar hızla artmış ve pH 4 ile 6 arasında azalmıştır. pH 4'de Q_{BPA} değerinin yüksek olmasının nedeni; düşük pH'lerde MIP'deki karboksil gruplarının indirgenerek adsorban üzerindeki bağlanma bölgelerinin azalması olarak açıklanabilir. Grafikte pH 6'dan sonra Q_{BPA} değerlerinin arttığı görülmüştür. Fakat düşük BPA konsantrasyonlarında ve yüksek pH'lerde çözeltideki hidroksil iyonlarının BPA'daki hidroksil iyonlarıyla yarışabileceği ve bağlanma bölgelerine bağlanarak BPA adsorpsiyonunu azaltabileceği düşünüldüğünden optimum adsorpsiyon pH'si 4 olarak seçilmiştir.



Şekil 4.5. BPA adsorpsiyonuna pH etkisi

4.2.1.4. Sıcaklığın etkisi

Optimum adsorpsiyon sıcaklığının belirlenmesi amacıyla 15, 25 ve 35 °C’de MIP nanopartikülle belirlenen optimum koşullarda BPA adsorpsiyonu gerçekleştirilmiştir. HPLC ile yapılan analizler sonrası Q_{BPA} değerleri hesaplanmış ve BPA adsorpsiyonuna sıcaklığın etkisi grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.6). Grafikte de görüldüğü gibi BPA adsorpsiyonuna sıcaklığın etkisi oldukça azdır. Deney koşullarının stabilizasyonunun sağlanması amacıyla adsorpsiyon deneyleri 25 °C’de gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.6. BPA adsorpsiyonuna sıcaklığın etkisi

4.2.2. MIP nanopartiküllerinin maksimum adsorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi

Optimum adsorpsiyon koşullarında MIP adsorban materyalle gerçekleştirilen BPA adsorpsiyonu sonucu maksimum adsorpsiyon kapasitesi ($Q_{\max}$) belirlenmiştir. Deneysel $Q_{\max}$ değeri $43,11 \text{ mg g}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Çizelge 4.1’de literatürdeki bazı BPA adsorbanları ve $Q_{\max}$ değerleri verilmiştir. Çizelge 4.1’de miniemülsiyon polimerizasyonu ile sentezlenen MIP nanopartiküllerinin $Q_{\max}$ değerinin, literatürdeki MIP adsorbanlarla kıyaslandığında yüksek olduğu görülmüştür. İndirgenmiş grafen oksit gibi yüksek yüzey alanına sahip adsorbanların, adsorpsiyon kapasitelerinin fazla olmasına karşın seçiciliklerinin düşük olması nedeniyle kullanımları yaygın değildir.

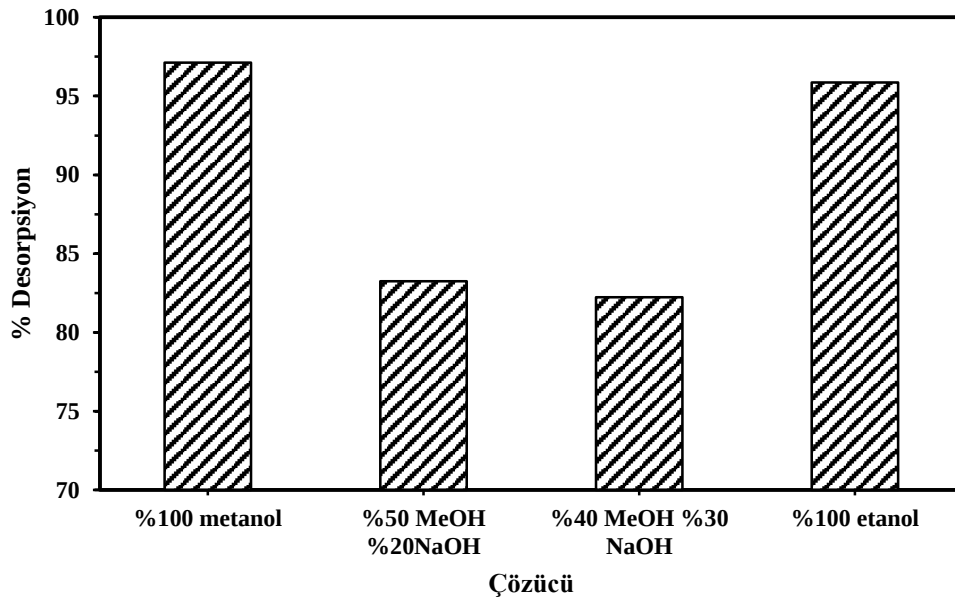
Çizelge 4.1. Literatürdeki bazı BPA adsorbanlarının maksimum adsorpsiyon kapasiteleri

Kullanılan Adsorban	$Q_{\max} / \text{mg g}^{-1}$	Kaynaklar
İndirgenmiş Grafen oksit	94,06	[103]
Kitosan	34,48	[104]
MIP Monomer: 4-vinilpiridin	6,14	[105]
MIP Monomer: 4-vinilpiridin	40,04	[96]
Molekül baskılı gözenekli silika	27,9	[100]
MIP Monomer: Metakrilik asit + N-isopropilakrilamit	8,29	[106]
MIP Monomer: 4-vinilpiridin + N-isopropilakrilamit	5,03	[107]
MWNTs@MIP Monomer: metakrilik asit, + β -siklodekstrin	11,25	[63]
MIP Monomer: dietilentriaminpentaasetik asit	6,91	[95]
MIP Monomer: 4-vinilpiridin + β -siklodekstrin	17,98	[108]
MIP Monomer: Metakrilik asit	43,11	Bu çalışma

4.2.3. MIP nanopartikül desorpsiyon koşullarının optimizasyon çalışması

4.2.3.1. Desorpsiyon çözücüsünün belirlenmesi

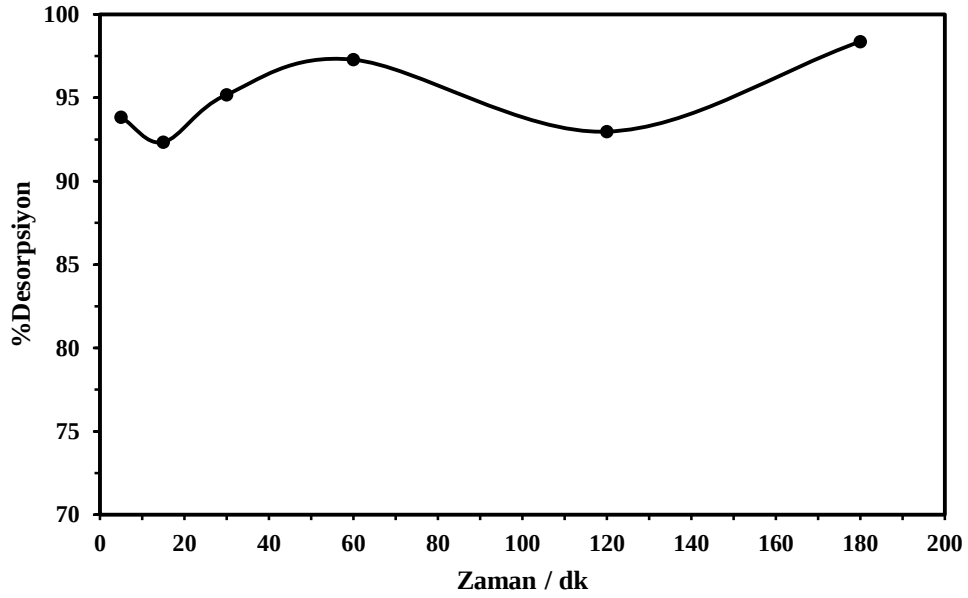
Optimum koşullarda (60 dk etkileşim süresi, 50 ppm başlangıç derişimi, pH 4 ve 25 °C sıcaklık) MIP nanopartikülle BPA adsorpsiyonu sağlandıktan sonra BPA desorpsiyonu seçilen çözeltilerle 15 saat karıştırılarak denenmiştir. Çözeltiler; MeOH, MeOH-NaOH-H₂O (5:2:3), MeOH-NaOH-H₂O (4:3:3) ve EtOH'tır. Adsorpsiyon ve desorpsiyon süzöntülerindeki BPA derişimi HPLC ile belirlenerek % desorpsiyon hesaplanmıştır. En yüksek % desorpsiyon oranı MeOH çözücüsüyle elde edildiği için desorpsiyon çözücüsü MeOH olarak seçilmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Çözücülerin % desorpsiyon oranları

4.2.3.2. Desorpsiyon süresinin belirlenmesi

Optimum koşullarda MIP ile BPA adsorpsiyonundan sonra MeOH ile 5, 15, 30, 60, 120 ve 180 dk'de desorpsiyon işlemi gerçekleştirilmiş HPLC ile desorplanan BPA derişimi saptanmıştır. Şekil 4.8'de görülen desorpsiyon süresinin % desorpsiyon oranına etkisi grafiği çizilmiştir. Maksimum desorpsiyon miktarı 180 dk'de elde edilmiştir. Fakat 60 dk'de desorplanan BPA miktarı ile 180 dk'deki kıyaslandığında desorplanan BPA miktarlarında belirgin bir fark olmadığı gözlenmiştir. Deney sırasında oluşabilecek zaman kaybının önlenmesi için optimum desorpsiyon süresi 60 dk olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.8. Desorpsiyon süresinin % desorpsiyon oranına etkisi

4.3. BPA Baskılı Polimerin Adsorpsiyon İzotermi

Adsorpsiyon izotermi, adsorpsiyon sonrası çözeltinin derişimi ile adsorbana adsorplanan madde miktarı arasındaki dengeyi açıklamaktadır. Adsorpsiyon çalışmalarında Langmuir, Freundlich ve Sips izotermi sıklıkla kullanılmaktadır.

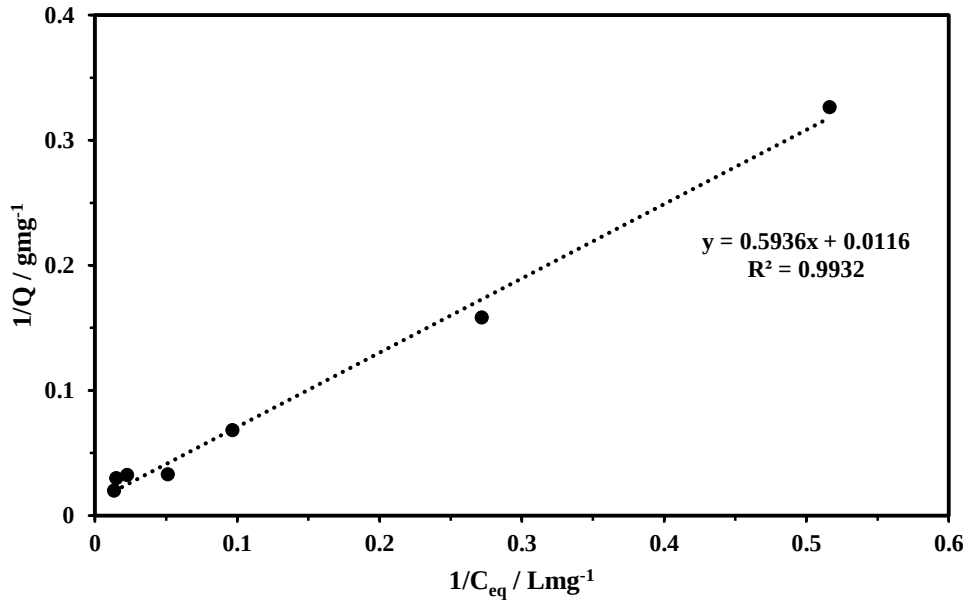
4.3.1. Langmuir adsorpsiyon izotermi

Langmuir izoterm modeline göre adsorban üzerinde homojen ve belirli sayıda bağlanma bölgesi bulunmaktadır. Adsorpsiyon tek tabaka halinde, tersinirdir. Adsorplanmış moleküller arasında etkileşim bulunmamaktadır. Langmuir denklemi aşağıdaki gibi gösterilebilir [109].

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

Burada Q_e , adsorplanmış BPA miktarı (mg/g), Q_{max} , maksimum adsorpsiyon kapasitesi (mg/g), b Langmuir sabiti (L/mg) ve C_{eq} çözeltideki dengedeki BPA derişimi (mg/L)'dir.

Denklem 4.1'den yola çıkılarak Şekil 4.9'daki Langmuir izoterm grafiği çizilmiştir.



Şekil 4.9. Langmuir izoterm grafiği

Bu grafikten korelasyon katsayısı (R^2) 0,9932 olan denklemden $Q_{\max}$ 86,207 mg g⁻¹, b ise $1,954 \times 10^{-2}$ L mg⁻¹ olarak hesaplanmıştır.

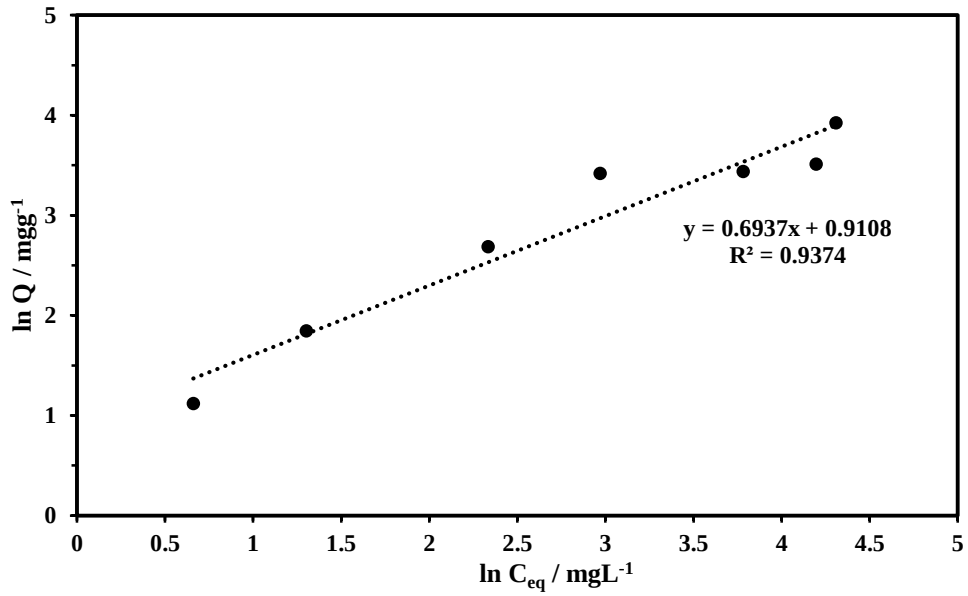
4.3.2. Freundlich adsorpsiyon izotermi

Freundlich adsorpsiyon izoterm modelinde, adsorpsiyonun heterojen bir yüzeyde gerçekleştiği ve bağlanma bölgelerinin enerjilerinin farklı olduğu varsayılmaktadır. Denklem 4.3'te Freundlich eşitliği verilmiştir [110].

$$\ln Q_e = n \ln C_{eq} + \ln K_f \quad (4.3)$$

Bu denklemde Q_e birim adsorbana adsorplanmış BPA miktarı (mg g⁻¹), K_f adsorpsiyon kapasitesine bağlı Freundlich sabiti (L g⁻¹), n adsorpsiyon şiddetine bağlı Freundlich sabiti ve C_{eq} ise dengedeki BPA derişimi (mg L⁻¹)'dir.

Şekil 4.10'da Freundlich izoterm grafiği verilmiştir. Grafik denkleminin R^2 'si 0,9674'tür. Grafik denkleminin eğimi n değerini vermektedir ve y eksenini kesim noktasından ise K_f sabiti hesaplanmaktadır. n sabiti 0,6937, K_f sabiti ise 2,4863 L g⁻¹ olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.10. Freundlich adsorpsiyon izotermi grafiği

4.3.3. Sips adsorpsiyon izotermi

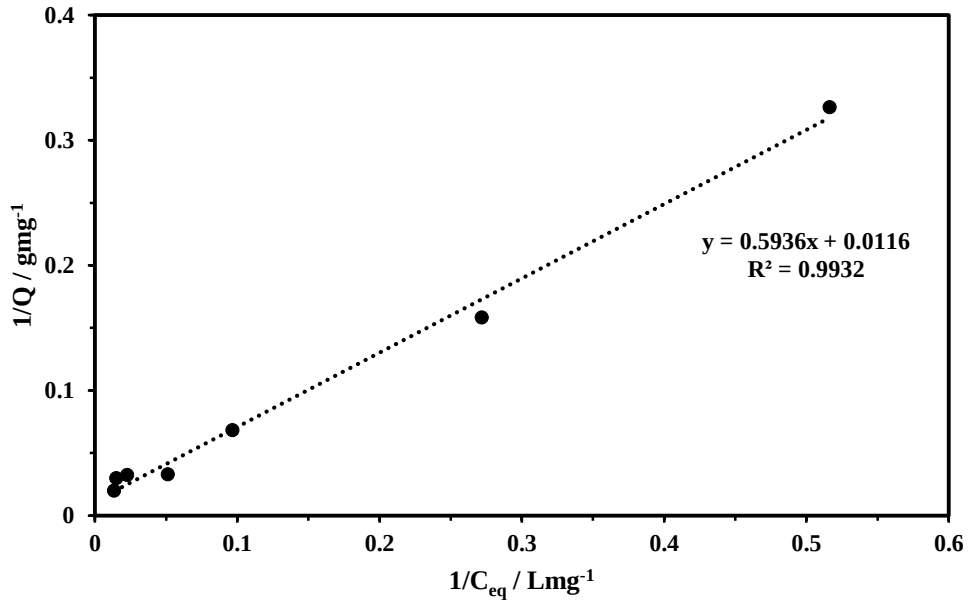
Sips izoterm modeli, Langmuir-Freundlich izotermi olarak da adlandırılmaktadır ve bu iki izoterm birleştirilmesiyle oluşturulmuş hibrit bir modeldir. Sips izoterm modeline göre adsorpsiyon hem homojen yüzeyde hem de heterojen yüzeyde gerçekleşmektedir. Aşağıda Sips denklemi verilmiştir.

$$\frac{1}{Q_e} = \frac{1}{Q_{max}a} \times \frac{1}{C_{eq}^n} + \frac{1}{Q_{max}} \quad (4.4)$$

Bu denklemde Q_e , adsorplanmış BPA miktarı (mg/g), Q_{max} , tek tabakalı maksimum adsorpsiyon kapasitesi (mg g⁻¹), a adsorplama enerjisine bağlı Sips sabiti (L mg⁻¹), C_{eq} çözeltideki dengedeki BPA derişimi (mg L⁻¹) ve n ise heterojenlik indeksidir.

Adsorpsiyon homojen bir yüzeyde gerçekleşiyorsa $n=1$ değerini alır ve Sips denklemi Langmuir eşitliğine dönüşür. n değeri 0 ile 1 arasında bir değer aldığı anda adsorpsiyonun heterojen yüzeyde gerçekleştiği anlaşılmaktadır. Ayrıca Sips izotermi tüm sistemlerde düşük konsantrasyonda Freundlich izotermine dönüşmektedir [111].

Sips izoterm denkleminde bulunan n değerleri OriginPro Evaluation 2018b programı ile belirlenmiştir ve heterojenlik sabiti olan n 1 olarak hesaplanmıştır. Heterojenlik sabiti değeri 1 olduğunda Sips izotermi Langmuir izotermine dönüşmektedir. Şekil 4.11’de Sips izoterm grafiği verilmiştir.



Şekil 4.11. Sips izoterm grafiği

Heterojenlik sabiti 1 olan Sips izoterm grafiğinin korelasyon sayısı 0,9932'dir ve bu denklemden Q_{max} değeri $86,207 \text{ mgg}^{-1}$ ve adsorpsiyon enerjisine bağlı sips sabiti $1,954 \times 10^{-2} \text{ Lmg}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır.

Langmuir ve Freundlich izoterm grafiklerinin korelasyon değerleri sırasıyla, 0,9932 ve 0,9374'tür. Langmuir izoterm grafiğinin korelasyon değeri 1'e daha yakındır bu sebeple MIP adsorban materyalin BPA adsorpsiyonunun Langmuir izotermine uyduğu belirlenmiştir. Bu durum Sips izoterm modeliyle de kanıtlanmış olup BPA adsorpsiyonunun yüzey üzerine tek tabakalı gerçekleştiği ve adsorbanın homojen ve belirli sayıda bağlanma bölgesi içerdiği anlaşılmıştır [109].

4.4. BPA Baskılı Polimerin BPA Bağlama Etkinliğinin Belirlenmesi

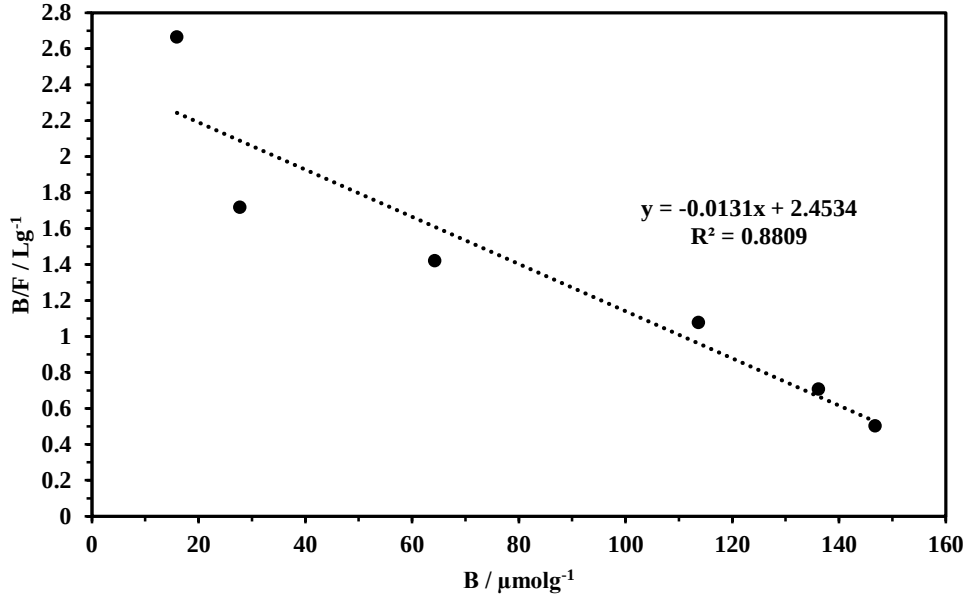
BPA baskılı polimer ile BPA arasındaki bağlanma etkileşimleri Scatchard analiz yöntemi ile belirlenmiştir. Denklem 4.4'te Scatchard eşitliği verilmiştir.

$$\frac{B}{F} = -\frac{1}{K_d} B + \frac{B_{max}}{K_d} \quad (4.4)$$

Bu eşitlikte B birim adsorbana adsorplanan BPA miktarı ($\mu\text{mol g}^{-1}$), F serbest BPA derişimi (mg L^{-1}), B_{max} maksimum bağlanma bölgesi sayısı ve K_d ise bağlanma sabitidir.

Scatchard eşitliğinden yararlanılarak B'ye karşı B/F verileri grafiğe geçirilmiştir (Şekil 4.12). Scatchard grafik denkleminin eğimi $-K_a$ yani $-1/K_d$ değerini, y kayması ise

$B_{\max}/K_d$ değerini vermektedir. Scatchard grafiğinin eğiminde bir veya iki kırılma olması, çoklu bağlama bölgeleri bulunduğunu göstermektedir [112].

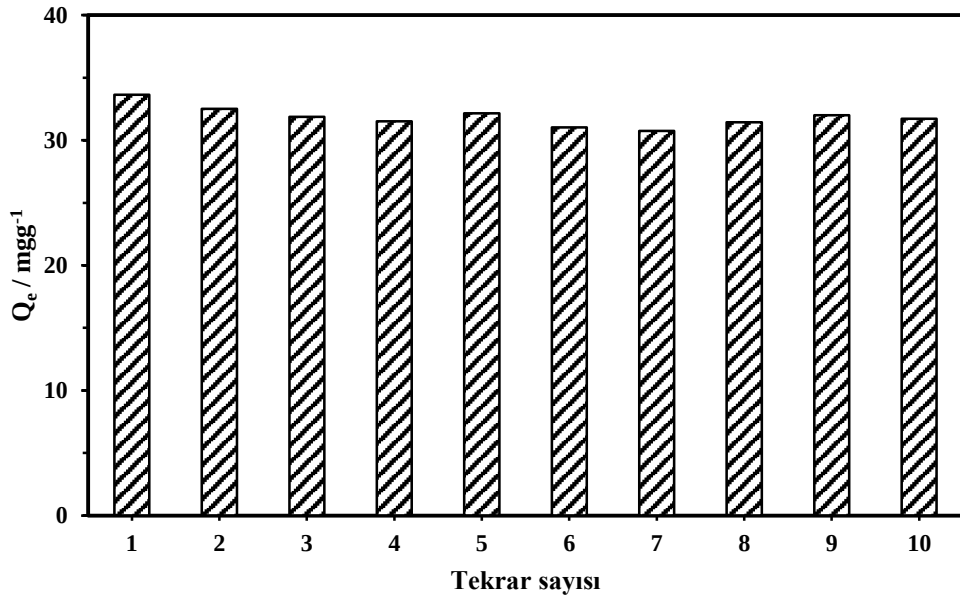


Şekil 4.12. Scatchard grafiği

Scatchard grafiğinin denklemi oluşturularak $B_{\max}$, K_a ($1/K_d$) ve K_d değerleri hesaplanmıştır. R^2 0,9647 olan denklemden $B_{\max}$ 187,268 $\mu\text{mol g}^{-1}$, K_d $7,633 \times 10^{-5}$ M, ve K_a 13100 M^{-1} olarak saptanmıştır.

4.5. MIP Nanopartiküllerinin Tekrar Kullanılabilirliğinin Belirlenmesi

Optimum koşullarda BPA adsorpsiyonu ve desorpsiyonu gerçekleştirilmiş MIP adsorban tekrar BPA adsorpsiyonunda kullanılmış ve deneyler aynı MIP adsorban ile 10 kez tekrar edilmiştir. Şekil 4.13’de verilen grafikte MIP adsorbanın tekrar kullanılmasıyla değişen birim adsorban başına adsorplanan BPA miktarı verilmiştir. MIP adsorbanın 10 kez tekrar kullanılmasıyla BPA adsorpsiyonundaki %5,7 azalma ile MIP nanopartiküllerinin BPA adsorpsiyonunda tekrar kullanılabileceği belirlenmiştir.



Şekil 4.13. MIP adsorban materyalin tekrar kullanılabilirliği

4.6. KFE'nin Seçiciliğinin Belirlenmesi

17 β -Estradiol, estron, fenol ve naftol'ün MIP nanopartikül ile optimum koşullarda adsorpsiyonu sağlandıktan adsorpsiyon süzüntülerinin derişimleri HPLC ile ölçülerek Çizelge 4.2'de verilen Q değerleri ve seçicilik faktörleri hesaplanmıştır.

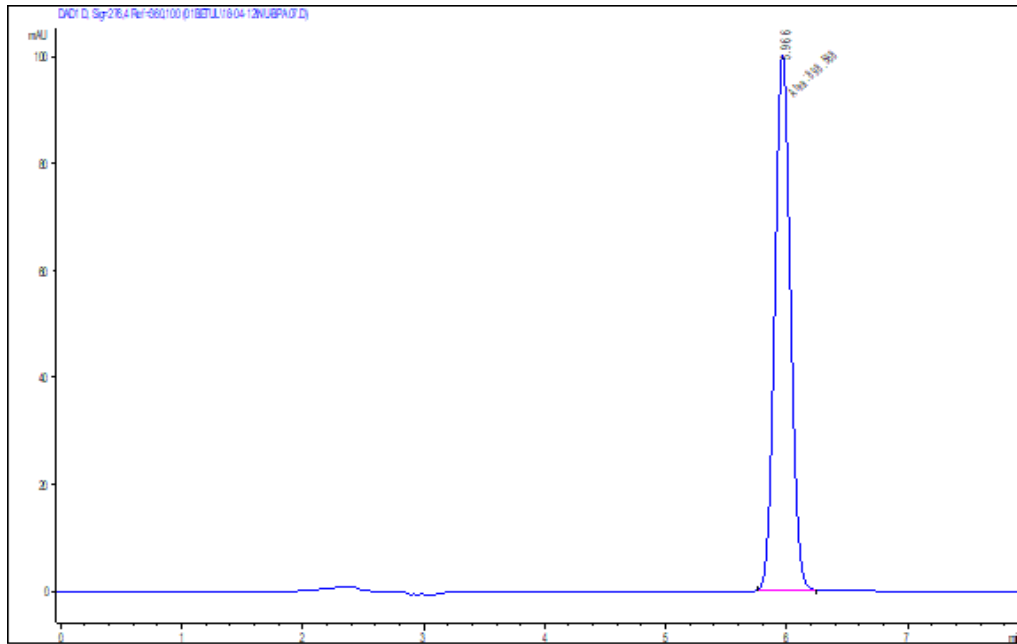
Çizelge 4.2. MIP adsorban materyalin seçiciliği

Kimyasalın ismi	Q_e	α
BPA	43,11596	
17 β -Estradiol	0,618413	71,8615
Estron	0,892666	52,521
Fenol	5,276431	8,235553
Naftol	14,3509	3,044332

Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi sentezlenen BPA baskılı polimerin seçiciliği yapı olarak benzediği 17 β -Estradiol ve Estrona karşı bile oldukça yüksektir. Fenol ve yapısında fenolik grup içeren naftole karşı seçicilik faktörü ise sırasıyla 8,236 ve 3,044 olarak hesaplanmıştır.

4.7. KFE İle Gerçek Numunelerden BPA Önderiştirilmesi

Sentezlenen MIP adsorbanın KFE’de başarısı su numunesinde test edilmiştir. BPA derişimleri Agilent 1100 marka HPLC sistemi ile belirlenmiştir. Inertsil ODS-3 (5 µm, 4,6x250 mm) marka kolonla gerçekleştirilen deneylerde hareketli faz olarak %75 MeOH-%25 deiyonize su kullanılmıştır. Akış hızı 0,9 mL/dk ve enjeksiyon miktarı ise 20 µL olarak ayarlanmıştır. 276,4 nm dalga boyunda UV dedektör ile kromatogramlar oluşturulmuştur. Şekil 4.14’de 50 ppm standart BPA çözeltisine ait HPLC kromatogramı verilmiştir.

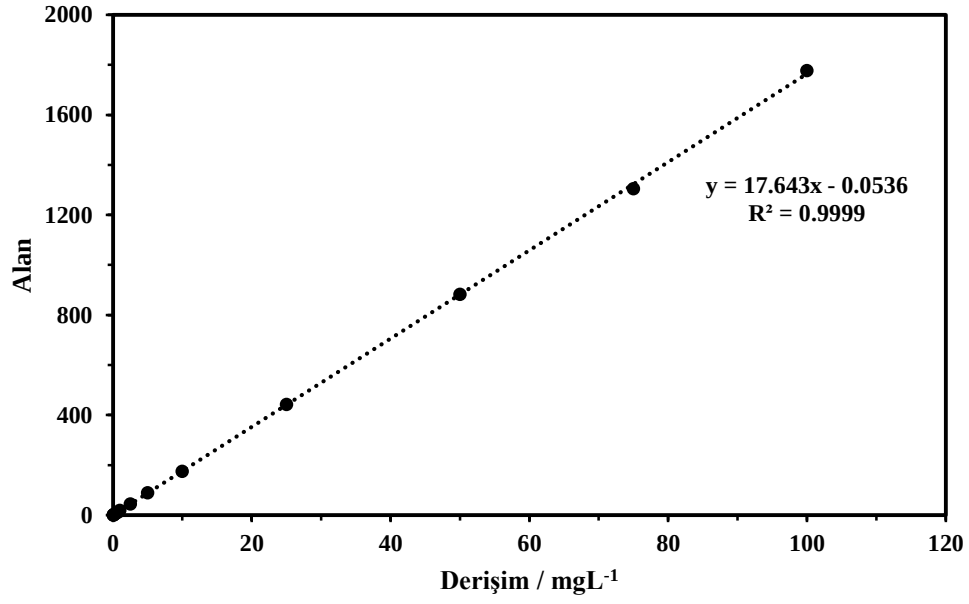


Şekil 4.14. BPA çözeltisinin HPLC kromatogramı

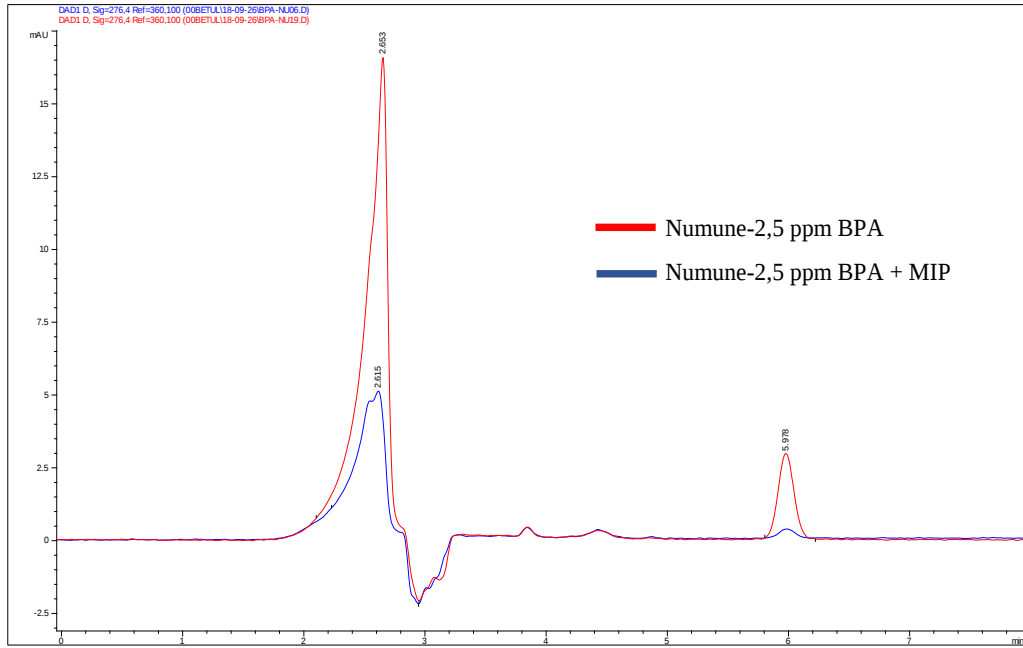
Adsorplanan ve desorplanan BPA miktarlarının hesaplanması için 0,05 ppm ile 100 ppm aralığındaki standart BPA çözeltileriyle kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Şekil 4.15’de BPA kalibrasyon grafiği verilmiştir.

Sentezlenen MIP ile su numunesine KFE işlemi uygulanarak numuneden BPA önderiştirilmesi gerçekleştirilmiştir. 0,01 M PBS (pH 4) içerisinde 20 kat seyreltilmiş su numunesine BPA derişimleri 0, 0,25, 0,5, 1, 1,5 ve 2,5 ppm olacak şekilde BPA standartları eklenmiştir ve optimum koşullarda 2 ml numune çözeltisindeki BPA’nın 2 mg MIP nanopartikülle adsorpsiyonu gerçekleştirilmiştir. Adsorpsiyondan sonra MIP adsorban santrifüj ile uzaklaştırılmıştır. BPA adsorplamış MIP nanopartikül 1 mL MeOH ile 60 dk karıştırılarak adsorbandaki BPA geri kazanılmıştır. Şekil 4.16’da 2,5 ppm BPA

standartı eklenmiş içme suyu numunesinin MIP nanopartikül ile muamele öncesi ve sonrası HPLC kromatogramı verilmiştir.



Şekil 4.15. BPA kalibrasyon grafiği



Şekil 4.16. BPA standardı eklenmiş içme suyu numunesinin ve numunenin MIP nanopartikül ile muamele sonrasının HPLC kromatogramı

Numune çözeltilerinin MIP adsorban ile muamele öncesindeki ve sonrasındaki BPA derişimleri (Çizelge 4.3) ve MIP adsorbandan desorplanan BPA derişimleri HPLC ile belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. MIP adsorban ile su numunesinde adsorplanan BPA derişimleri

Numune çözeltilisine eklenen BPA standart derişimi (mg L ⁻¹)	HPLC analizi sonucu hesaplanan BPA derişimi (mg L ⁻¹)	Adsorpsiyon sonrası çözeltide kalan serbest BPA derişimi (mg L ⁻¹)	Adsorban materyale adsorplanan BPA derişimi (mg L ⁻¹)
0	-	-	-
0,25	0,252429	0,012026	0,240402
0,5	0,552831	0,01991	0,532921
1	1,040277	0,024505	1,015771
1,5	1,567398	0,076722	1,490676
2,5	2,553625	0,173077	2,380548

Desorpsiyon işlemi sonrasında su numunesindeki BPA derişimi 2 kat deriştirilerek belirlenmiştir. Korelasyon sayısı 0,9983 olan denklem ile BPA derişimi 46,64 ppb olarak bulunmuştur. Su numunesindeki BPA derişimi 466,4 ppb olarak hesaplanmıştır. Çizelge 4.4’de MIP adsorbanla gerçekleştirilen KFE prosedürü sonucunda su numunesindeki geri kazanım değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.4. Su numunesindeki geri kazanım değerleri

Eklenen BPA / mg g ⁻¹	Bulunan BPA / mg g ⁻¹	E _r %
0	0,0466	-
0,5	0,4565	81,97
1	1,0346	98,79
2	2,0378	99,56
3	3,0864	101,33
5	4,8435	95,94

Çizelge 4.4’de görüldüğü gibi MIP adsorbanla gerçekleştirilen KFE ile BPA’nın numuneden önderiştirilmesi başarıyla sağlanarak %81 ile %101 aralığında geri kazanım değerleri elde edilmiştir.

5. SONUÇLAR

Endokrin sistem bozucu kimyasallar, endokrin sistemin düzenli işleyişini olumsuz etkileyerek canlıda uzun süreli ve ciddi sağlık sorunlarına neden olmaktadır. Endokrin sistem bozucu kimyasallardan biri olan Bisfenol A, aseton ve fenol bileşiklerinin tepkimesi sonucunda sentezlenen organik bir bileşiktir. Endüstride sıklıkla polikarbonat plastik ve epoksi reçine üretiminde kullanılmaktadır. Gıda ve içecek ambalajları, biberonlar, su şişeleri, plastik gıda saklama kapları, konserveler ve gıdayla teması olan diğer metal ürünlerin iç yüzey kaplaması BPA içermektedir ve içeriğindeki ürüne BPA salınımı gerçekleşmektedir. BPA hormonları taklit ederek; kanser, kısırlık, diyabet, obezite, damar tıkanıklığı, hiperaktivite gibi sağlık sorunlarına neden olmaktadır. BPA'nın bu zararlı etkileri nedeniyle tayini oldukça önemlidir. Tez çalışması kapsamında, BPA'nın daha düşük derişimlerde tayinini gerçekleştirmek ve matriks etkisini ortadan kaldırmak amacıyla BPA'ya yüksek seçicilikte katı faz adsorbanı hazırlanmıştır. Katı faz adsorbanının BPA'ya affinitesinin yüksek olmasını sağlamak amacıyla adsorban sentezinde moleküler baskılama tekniği kullanılmıştır. Moleküler baskılı polimerlerin yüksek seçiciliğe sahip olmasının yanında kimyasal ve mekanik kararlılık, termal dayanıklılık ve yeniden kullanılabilirlik gibi özellikleri sebebiyle adsorban materyal olarak yoğun bir şekilde tercih edilmektedirler.

BPA baskılı polimer, miniemülsiyon polimerizasyon yöntemiyle sentezlenmiştir. Bu kapsamda BPA kalıp molekülü kullanılarak metakrilik asit monomeriyle polimer oluşturulmuştur. Sentezlenen polimerde BPA'ya özgü bağlanma noktalarının oluşumunu sağlamak için polimer uygun çözücüyle BPA kalmayana kadar yıkanmıştır. MIP nanopartiküllerin karakterizasyon çalışmaları FT-IR spektroskopisi ve SEM analizi ile gerçekleştirilmiştir. FT-IR sonuçlarından MIP adsorban materyalde BPA'nın uzaklaştırılarak bağlanma bölgelerinin oluştuğu belirlenmiştir ve SEM görüntülerinden sentezlenen MIP materyalin özdeş nano boyutlu yapıda olduğu gözlenmiştir (~200 nm).

MIP nanopartiküllerinin BPA adsorpsiyonunu ve desorpsiyonunu etkileyen parametrelerin optimizasyon çalışmalarının ardından adsorban materyalin maksimum adsorpsiyon kapasitesi 43,11 mg g⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Literatürdeki MIP adsorbanlarla kıyaslandığında, miniemülsiyon polimerizasyonu ile sentezlenen MIP nanopartiküllerinin maksimum adsorpsiyon değerinin yüksek olduğu görülmüştür.

MIP'e adsorplanan BPA, metil alkol ile %98 oranında geri kazanılmıştır. Desorpsiyonu sağlanmış MIP ile 10 kez tekrarlanan BPA adsorpsiyonu sonucunda

sentezlenen MIP adsorbanın adsorpsiyon kapasitesinde belirgin bir değişim olmaksızın tekrar kullanılabilir olduğu belirlenmiştir.

BPA'ya yapısal benzerliği bulunan 17 β -estradiol, estron, fenol ve naftol molekülleriyle MIP adsorbanın optimum adsorpsiyon koşullarında muamelesi sonucunda sentezlenen MIP'in BPA'ya seçiciliğinin oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir.

Sentezlenen MIP adsorbanın adsorpsiyon davranışı Langmuir, Freundlich, Sips ve Scatchard izoterm modelleriyle incelenmiştir. MIP nanopartiküllerinin adsorpsiyonunun Langmuir izoterm modeline uyduğu belirlenerek adsorpsiyonun homojen bir yüzeyde tek tabakalı gerçekteştiği sonucuna ulaşılmıştır. Scatchard modeli ile maksimum bağlanma bölge sayısı 187,268 $\mu\text{mol g}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır.

MIP nanopartikül kullanılarak içme suyu örneklerinde BPA geri kazanımı araştırılmıştır. Gerçekleştirilen çalışmalar neticesinde %81 ile %101 aralığında geri kazanım değerlerine ulaşılmıştır. Bu sonuçlar, sentezlenen adsorban materyalle gerçekteşen numunelerde BPA önderiştirilmesinin başarıyla gerçekteştirildiğini kanıtlamaktadır.

Sonuç olarak, miniemülsiyon polimerizasyonu ile hazırlanan MIP nanopartiküllerinin, BPA tayin çalışmalarında matriks etkisini ortadan kaldırmak ve BPA'nın düşük derişimlerde tayinini gerçekteştirmek amacıyla katı faz adsorbanı olarak başarıyla kullanılabilir olacaktır.

KAYNAKÇA

- [1] Scsukova, S., Rollerova, E. and Bujnakova Mlynarcikova, A. (2016). Impact of endocrine disrupting chemicals on onset and development of female reproductive disorders and hormone-related cancer. *Reprod Biol.* 16(4), 243-254.
- [2] Omar, T.F.T., Ahmad, A., Aris, A.Z. and Yusoff, F.M. (2016). Endocrine disrupting compounds (EDCs) in environmental matrices: Review of analytical strategies for pharmaceuticals, estrogenic hormones, and alkylphenol compounds. *TrAC Trends in Analytical Chemistry.* 85, 241-259.
- [3] Hiratsuka, Y., Funaya, N., Matsunaga, H. and Haginaka, J. (2013). Preparation of magnetic molecularly imprinted polymers for bisphenol A and its analogues and their application to the assay of bisphenol A in river water. *J Pharm Biomed Anal.* 75, 180-5.
- [4] Shim, K., Kim, J., Shahabuddin, M., Yamauchi, Y., Hossain, M.S.A. and Kim, J.H. (2018). Efficient wide range electrochemical bisphenol-A sensor by self-supported dendritic platinum nanoparticles on screen-printed carbon electrode. *Sensors and Actuators B: Chemical.* 255, 2800-2808.
- [5] Kong, Q., Wang, Y., Zhang, L., Ge, S. and Yu, J. (2017). A novel microfluidic paper-based colorimetric sensor based on molecularly imprinted polymer membranes for highly selective and sensitive detection of bisphenol A. *Sensors and Actuators B: Chemical.* 243, 130-136.
- [6] Lasagabáster-Latorre, A., Cela-Pérez, M.C., Fernández-Fernández, S., López-Vilariño, J.M., González-Rodríguez, M.V., Abad, M.J. and Barral-Losada, L.F. (2013). Insight into BPA–4-vinylpyridine interactions in molecularly imprinted polymers using complementary spectroscopy techniques. *Materials Chemistry and Physics.* 141(1), 461-476.
- [7] De Middeleer, G., Dubruel, P. and De Saeger, S. (2016). Characterization of MIP and MIP functionalized surfaces: Current state-of-the-art. *TrAC Trends in Analytical Chemistry.* 76, 71-85.
- [8] Pichon, V. and Chapuis-Hugon, F. (2008). Role of molecularly imprinted polymers for selective determination of environmental pollutants--a review. *Anal Chim Acta.* 622(1-2), 48-61.

- [9] Pyrzynska, K., Kubiak, A. and Wysocka, I. (2016). Application of solid phase extraction procedures for rare earth elements determination in environmental samples. *Talanta*. 154, 15-22.
- [10] Al-Mallah, Z. and Amin, A.S. (2018). Utility of solid phase extraction for colorimetric determination of lead in waters, vegetables, biological and soil samples. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*.
- [11] Devasurendra, A.M., Palagama, D.S.W., Rohanifar, A., Isailovic, D., Kirchhoff, J.R. and Anderson, J.L. (2018). Solid-phase extraction, quantification, and selective determination of microcystins in water with a gold-polypyrrole nanocomposite sorbent material. *J Chromatogr A*. 1560, 1-9.
- [12] Lu, X., Zhu, Y. and Zhu, T. (2017) *Endocrine System*, in *Adverse Effects of Engineered Nanomaterials*. p. 339-355.
- [13] Nacher, V., Ruberte, J., Navarro, M. and Carretero, A. (2017) *The endocrine glands*, in *Morphological Mouse Phenotyping*. p. 349-375.
- [14] Norman, A.W. and Henry, H.L. (2015) *Hormones*, in *Hormones*. p. 1-25.
- [15] Darbre, P.D. (2015) *What Are Endocrine Disrupters and Where Are They Found?*, in *Endocrine Disruption and Human Health*. p. 3-26.
- [16] Bergman, Å., Heindel, J., Jobling, S., Kidd, K. and Zoeller, R.T. (2012). State of the science of endocrine disrupting chemicals. *Toxicology Letters*. 211, 3.
- [17] Diamanti-Kandarakis, E., Bourguignon, J.P., Giudice, L.C., Hauser, R., Prins, G.S., Soto, A.M., Zoeller, R.T. and Gore, A.C. (2009). Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr Rev*. 30(4), 293-342.
- [18] Bhatnagar, A. and Anastopoulos, I. (2017). Adsorptive removal of bisphenol A (BPA) from aqueous solution: A review. *Chemosphere*. 168, 885-902.
- [19] Bingham, S.A., Atkinson, C., Liggins, J., Bluck, L. and Coward, A. (2007). Phyto-oestrogens: where are we now? *British Journal of Nutrition*. 79(05).
- [20] Turan, F. (2011). Androstenedionun karabalık'ta (*Clarias gariepinus* (Burchell, 1822)) cinsiyet dönüşümü ve gonad gelişimi üzerine etkileri. *Journal of FisheriesSciences.com*.
- [21] Rowland, I., Faughnan, M., Hoey, L., Wahala, K., Williamson, G. and Cassidy, A. (2003). Bioavailability of phyto-oestrogens. *Br J Nutr*. 89 Suppl 1, S45-58.

- [22] Kabir, E.R., Rahman, M.S. and Rahman, I. (2015). A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. *Environ Toxicol Pharmacol.* 40(1), 241-58.
- [23] Gökerik, M. (2012). *Endokrin bozucu kimyasallar ve insan sağlığı üzerine etkileri*, in *Eczacılık Fakültesi*. Erciyes Üniversitesi: Kayseri.
- [24] Darbre, P.D. (2015). *How Could Endocrine Disrupters Affect Human Health?*, in *Endocrine Disruption and Human Health*. p. 27-45.
- [25] Çetinkaya, S. (2009). Endokrin çevre bozucular ve ergenlik üzerine etkileri. *Dicle Tıp Dergisi*. 36(1), 8.
- [26] Rudmann, D.G. and Foley, G.L. (2018). *Female Reproductive System*, in *Fundamentals of Toxicologic Pathology*. p. 517-545.
- [27] Darbre, P.D. (2015). *Endocrine Disruption and Female Reproductive Health*, in *Endocrine Disruption and Human Health*. p. 143-158.
- [28] Creasy, D.M. and Chapin, R.E. (2018). *Male Reproductive System*, in *Fundamentals of Toxicologic Pathology*. p. 459-516.
- [29] Darbre, P.D. (2015). *Endocrine Disruption and Male Reproductive Health*, in *Endocrine Disruption and Human Health*. p. 159-175.
- [30] DeWitt, J.C. and Patisaul, H.B. (2018). Endocrine disruptors and the developing immune system. *Current Opinion in Toxicology*. 10, 31-36.
- [31] Dietert, R.R. (2015). *Effects of Endocrine Disruptors on Immune Function and Inflammation*, in *Endocrine Disruption and Human Health*. p. 257-272.
- [32] Fenichel, P. and Chevalier, N. (2017). Environmental endocrine disruptors: New diabetogens? *C R Biol.* 340(9-10), 446-452.
- [33] Boyd, C., DeMaster, D.P., Waples, R.S., Ward, E.J. and Taylor, B.L. (2017). Consistent Extinction Risk Assessment under the U.S. Endangered Species Act. *Conservation Letters*. 10(3), 328-336.
- [34] Arukwe, A. (2001). Cellular and molecular responses to endocrine-modulators and the impact on fish reproduction. *Marine Pollution Bulletin*. 42(8), 643-655.
- [35] Miyagawa, S., T. Sato, and T. Iguchi, *Bisphenol A*, in *Handbook of Hormones*. 2016. p. 577-578.
- [36] Allard, P. (2014). *Bisphenol A*, in *Biomarkers in Toxicology*. p. 459-474.

- [37] Thent, Z.C., Froemming, G.R.A. and Muid, S. (2018). Bisphenol A exposure disturbs the bone metabolism: An evolving interest towards an old culprit. *Life Sci.* 198, 1-7.
- [38] Bryjak, M. and Duraj, I. (2011). Molecularly Imprinted Membranes for Removal of Bisphenol A. *Solvent Extraction and Ion Exchange.* 29(3), 432-439.
- [39] Hoekstra, E.J. and Simoneau, C. (2013). Release of bisphenol A from polycarbonate: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 53(4), 386-402.
- [40] Taniş, M.B. (2015). *Şebeke Sularında Ve Şişelenmiş İçme Sularında Östrojenik Aktivitenin Araştırılması Ve Endokrin Sistemini Bozucu Maddelerin Varlığı İle İlişkilendirilmesi*, in *Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı*. İstanbul Teknik Üniversitesi: İstanbul.
- [41] Fukazawa, H., Watanabe, M., Shiraishi, F., Shiozawa, T., Matsushita, H., Shiraishi, H. and Terao, Y. (2002). Formation of Chlorinated Derivatives of Bisphenol A in Waste Paper Recycling Plants and Their Estrogenic Activities. *Journal of Health Science.* 48(3), 242-249.
- [42] Geens, T., Aerts, D., Berthot, C., Bourguignon, J.P., Goeyens, L., Lecomte, P., Maghuin-Rogister, G., Pironnet, A.M., Pussemier, L., Scippo, M.L., Van Loco, J. and Covaci, A. (2012). A review of dietary and non-dietary exposure to bisphenol-A. *Food Chem Toxicol.* 50(10), 3725-40.
- [43] Jalal, N., Surendranath, A.R., Pathak, J.L., Yu, S. and Chung, C.Y. (2018). Bisphenol A (BPA) the mighty and the mutagenic. *Toxicol Rep.* 5, 76-84.
- [44] Authority, E.F.S. (2015). *Report on the two-phase public consultation on the draft EFSA scientific opinion on bisphenol A (BPA)*. Italy.
- [45] Brigante, T.A.V., Miranda, L.F.C., de Souza, I.D., Acquaro Junior, V.R. and Queiroz, M.E.C. (2017). Pipette tip dummy molecularly imprinted solid-phase extraction of Bisphenol A from urine samples and analysis by gas chromatography coupled to mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 1067, 25-33.
- [46] Shafei, A., Ramzy, M.M., Hegazy, A.I., Husseny, A.K., El-Hadary, U.G., Taha, M.M. and Mosa, A.A. (2018). The molecular mechanisms of action of the endocrine disrupting chemical bisphenol A in the development of cancer. *Gene.* 647, 235-243.

- [47] Takeuchi, T., Tsutsumi, O., Ikezuki, Y., Takai, Y. and Taketani, Y. (2004). Positive Relationship between Androgen and the Endocrine Disruptor, Bisphenol A, in Normal Women and Women with Ovarian Dysfunction. *Endocrine Journal* 51(2), 165–169.
- [48] Rochester, J.R. (2013). Bisphenol A and human health: a review of the literature. *Reprod Toxicol.* 42, 132-55.
- [49] Kawai, K., Nozaki, T., Nishikata, H., Aou, S., Takii, M. and Kubo, C. (2002). Aggressive Behavior and Serum Testosterone Concentration during the Maturation Process of Male Mice: The Effects of Fetal Exposure to Bisphenol A. *Environmental Health Perspectives.* 111(2), 175-178.
- [50] Noszczyńska, M. and Piotrowska-Seget, Z. (2018). Bisphenols: Application, occurrence, safety, and biodegradation mediated by bacterial communities in wastewater treatment plants and rivers. *Chemosphere.* 201, 214-223.
- [51] Vom Saal, F.S., Nagel, S.C., Coe, B.L., Angle, B.M. and Taylor, J.A. (2012). The estrogenic endocrine disrupting chemical bisphenol A (BPA) and obesity. *Mol Cell Endocrinol.* 354(1-2), 74-84.
- [52] Darbre, P.D. (2015). *Endocrine Disruption and Disorders of Energy Metabolism*, in *Endocrine Disruption and Human Health*. p. 273-285.
- [53] Fan, A.M., Chou, W.C. and Lin, P. (2017). *Toxicity and Risk Assessment of Bisphenol A*, in *Reproductive and Developmental Toxicology*. p. 765-795.
- [54] Services, U.S.D.o.H.a.H. (2008). *NTP-CERHR monograph on the potential human reproductive and developmental effects of Bisphenol A*.
- [55] Mirzajani, H., Cheng, C., Wu, J., Chen, J., Eda, S., Najafi Aghdam, E. and Badri Ghavifekr, H. (2017). A highly sensitive and specific capacitive aptasensor for rapid and label-free trace analysis of Bisphenol A (BPA) in canned foods. *Biosens Bioelectron.* 89(Pt 2), 1059-1067.
- [56] Li, Y., Wang, H., Yan, B. and Zhang, H. (2017). An electrochemical sensor for the determination of bisphenol A using glassy carbon electrode modified with reduced graphene oxide-silver/poly- l -lysine nanocomposites. *Journal of Electroanalytical Chemistry.* 805, 39-46.
- [57] Alenazi, N.A., Manthorpe, J.M. and Lai, E.P.C. (2015). Selective extraction of BPA in milk analysis by capillary electrophoresis using a chemically modified molecularly imprinted polymer. *Food Control.* 50, 778-783.

- [58] Ben Messaoud, N., Ghica, M.E., Dridi, C., Ben Ali, M. and Brett, C.M.A. (2017). Electrochemical sensor based on multiwalled carbon nanotube and gold nanoparticle modified electrode for the sensitive detection of bisphenol A. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 253, 513-522.
- [59] Shi, R., Liang, J., Zhao, Z., Liu, A. and Tian, Y. (2017). An electrochemical bisphenol A sensor based on one step electrochemical reduction of cuprous oxide wrapped graphene oxide nanoparticles modified electrode. *Talanta*. 169, 37-43.
- [60] Özcan, A. (2014). Synergistic Effect of Lithium Perchlorate and Sodium Hydroxide in the Preparation of Electrochemically Treated Pencil Graphite Electrodes for Selective and Sensitive Bisphenol A Detection in Water Samples. *Electroanalysis*. 26(7), 1631-1639.
- [61] Zimmers, S.M., Browne, E.P., O'Keefe, P.W., Anderton, D.L., Kramer, L., Reckhow, D.A. and Arcaro, K.F. (2014). Determination of free Bisphenol A (BPA) concentrations in breast milk of U.S. women using a sensitive LC/MS/MS method. *Chemosphere*. 104, 237-43.
- [62] Nascimento, C.F. and Rocha, F.R.P. (2018). Spectrofluorimetric determination of bisphenol A in tap waters by exploiting liquid-liquid microextraction in a sequential injection system. *Microchemical Journal*. 137, 429-434.
- [63] Zhang, Z., Chen, X., Rao, W., Chen, H. and Cai, R. (2014). Synthesis and properties of magnetic molecularly imprinted polymers based on multiwalled carbon nanotubes for magnetic extraction of bisphenol A from water. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 965, 190-6.
- [64] Haupt, K., Linares, A.V., Bompert, M. and Bui, B.T.S. (2012). *Molecularly Imprinted Polymers*, in *Molecular Imprinting*, K. Haupt, Editor. Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. p. 1-28.
- [65] Figueiredo, L., Erny, G.L., Santos, L. and Alves, A. (2016). Applications of molecularly imprinted polymers to the analysis and removal of personal care products: A review. *Talanta*. 146, 754-65.
- [66] Mujahid, A. and Dickert, F.L. (2016). *Molecularly Imprinted Polymers*, in *Molecularly Imprinted Catalysts*. p. 79-101.
- [67] Piletsky, S., Piletsky, S. and Chianella, I. (2012). *MIP-based Sensors*, in *Molecularly Imprinted Sensors*. p. 339-354.

- [68] Li, J., Wei, G. and Zhang, Y. (2012). *Molecularly Imprinted Polymers as Recognition Elements in Sensors*, in *Molecularly Imprinted Sensors*. p. 35-55.
- [69] Cormack, P.A. and Elorza, A.Z. (2004). Molecularly imprinted polymers: synthesis and characterisation. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 804(1), 173-82.
- [70] Vasapollo, G., Sole, R.D., Mergola, L., Lazzoi, M.R., Scardino, A., Scorrano, S. and Mele, G. (2011). Molecularly imprinted polymers: present and future prospective. *Int J Mol Sci.* 12(9), 5908-45.
- [71] Martín-Esteban, A. (2013). Molecularly-imprinted polymers as a versatile, highly selective tool in sample preparation. *TrAC Trends in Analytical Chemistry.* 45, 169-181.
- [72] Wulff, G. and Biffis, A. (2001). *Molecular imprinting with covalent or stoichiometric non-covalent interactions*, in *Molecularly Imprinted Polymers - Man-made Mimics of Antibodies and their Applications in Analytical Chemistry*. p. 71-111.
- [73] Sellergren, B. (2001). *The non-covalent approach to molecular imprinting*, in *Molecularly Imprinted Polymers - Man-made Mimics of Antibodies and their Applications in Analytical Chemistry*. p. 113-184.
- [74] Wang, Z., Qiu, T., Guo, L., Ye, J., He, L. and Li, X. (2019). The building of molecularly imprinted single hole hollow particles: A miniemulsion polymerization approach. *Chemical Engineering Journal.* 357, 348-357.
- [75] Banica., F.G. (2012). *Chemical Sensors and Biosensors: Fundamentals and Applications*. Norway.
- [76] Cao, S., Chen, J., Sheng, W., Wu, W., Zhao, Z. and Long, F. (2012). *The Fabrication and Development of Molecularly Imprinted Polymer-based Sensors for Environmental Application*, in *Molecularly Imprinted Sensors*. p. 57-72.
- [77] Murzin, D.Y. and Salmi, T. (2016). *Catalysis*, in *Catalytic Kinetics*. p. 35-100.
- [78] Ramstrom, O. and Ansell, R.J. (1998). Molecular Imprinting Technology: Challenges and Prospects for the Future. *CHIRALITY.* 10, 195-209.
- [79] Santos, L.F., Correia, I.J., Silva, A.S. and Mano, J.F. (2018). Biomaterials for drug delivery patches. *Eur J Pharm Sci.* 118, 49-66.

- [80] Lulinski, P. (2017). Molecularly imprinted polymers based drug delivery devices: a way to application in modern pharmacotherapy. A review. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 76, 1344-1353.
- [81] Sellergren, B. and Lanza, F. (2001). *Molecularly imprinted polymers in solid phase extractions*, in *Molecularly Imprinted Polymers - Man-made Mimics of Antibodies and their Applications in Analytical Chemistry*. p. 355-375.
- [82] Moldoveanu, S. and David, V. (2015). *Preliminaries to Sample Preparation*, in *Modern Sample Preparation for Chromatography*. p. 3-32.
- [83] Moldoveanu, S. and David, V. (2015). *Solid-Phase Extraction*, in *Modern Sample Preparation for Chromatography*. p. 191-286.
- [84] Mateos, R., Vera, S., Díez-Pascual, A.M. and San Andrés, M.P. (2017). Graphene solid phase extraction (SPE) of synthetic antioxidants in complex food matrices. *Journal of Food Composition and Analysis.* 62, 223-230.
- [85] Hashemi, B., Zohrabi, P. and Shamsipur, M. (2018). Recent developments and applications of different sorbents for SPE and SPME from biological samples. *Talanta.* 187, 337-347.
- [86] ZIEF, M. and KAKODKAR, S.V. (2005). *Solid Phase Extraction for Sample Preparation*, P.J. Baker, Editor.
- [87] Camel, V. (2003). Solid phase extraction of trace elements. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy.* 58(7), 1177-1233.
- [88] Płotka-Wasyłka, J., Szczepańska, N., de la Guardia, M. and Namieśnik, J. (2016). Modern trends in solid phase extraction: New sorbent media. *TrAC Trends in Analytical Chemistry.* 77, 23-43.
- [89] Płotka-Wasyłka, J., Szczepańska, N., de la Guardia, M. and Namieśnik, J. (2015). Miniaturized solid-phase extraction techniques. *TrAC Trends in Analytical Chemistry.* 73, 19-38.
- [90] Augusto, F., Hantao, L.W., Mogollón, N.G.S. and Braga, S.C.G.N. (2013). New materials and trends in sorbents for solid-phase extraction. *TrAC Trends in Analytical Chemistry.* 43, 14-23.
- [91] Wu, Y.T., Zhang, Y.H., Zhang, M., Liu, F., Wan, Y.C., Huang, Z., Ye, L., Zhou, Q., Shi, Y. and Lu, B. (2014). Selective and simultaneous determination of trace bisphenol A and tebuconazole in vegetable and juice samples by membrane-based

- molecularly imprinted solid-phase extraction and HPLC. *Food Chem.* 164, 527-35.
- [92] Bayramoglu, G., Arica, M.Y., Liman, G., Celikbicak, O. and Salih, B. (2016). Removal of bisphenol A from aqueous medium using molecularly surface imprinted microbeads. *Chemosphere.* 150, 275-284.
- [93] Lai, C., Wang, M.M., Zeng, G.M., Liu, Y.G., Huang, D.L., Zhang, C., Wang, R.Z., Xu, P., Cheng, M., Huang, C., Wu, H.P. and Qin, L. (2016). Synthesis of surface molecular imprinted TiO₂/graphene photocatalyst and its highly efficient photocatalytic degradation of target pollutant under visible light irradiation. *Applied Surface Science.* 390, 368-376.
- [94] Liu, G., Chen, Z., Jiang, X., Feng, D.-Q., Zhao, J., Fan, D. and Wang, W. (2016). In-situ hydrothermal synthesis of molecularly imprinted polymers coated carbon dots for fluorescent detection of bisphenol A. *Sensors and Actuators B: Chemical.* 228, 302-307.
- [95] Ren, Y., Ma, W., Ma, J., Wen, Q., Wang, J. and Zhao, F. (2012). Synthesis and properties of bisphenol A molecular imprinted particle for selective recognition of BPA from water. *J Colloid Interface Sci.* 367(1), 355-61.
- [96] Herrero-Hernandez, E., Carabias-Martinez, R. and Rodriguez-Gonzalo, E. (2011). Behavior of phenols and phenoxyacids on a bisphenol-A imprinted polymer. Application for selective solid-phase extraction from water and urine samples. *Int J Mol Sci.* 12(5), 3322-39.
- [97] Huang, J., Zhang, X., Liu, S., Lin, Q., He, X., Xing, X. and Lian, W. (2011). Electrochemical sensor for bisphenol A detection based on molecularly imprinted polymers and gold nanoparticles. *Journal of Applied Electrochemistry.* 41(11), 1323-1328.
- [98] Deng, P., Xu, Z., Li, J. and Kuang, Y. (2013). Acetylene black paste electrode modified with a molecularly imprinted chitosan film for the detection of bisphenol A. *Microchimica Acta.* 180(9-10), 861-869.
- [99] Ekomo, V.M., Branger, C., Bikanga, R., Florea, A.M., Istamboulie, G., Calas-Blanchard, C., Noguer, T., Sarbu, A. and Brisset, H. (2018). Detection of Bisphenol A in aqueous medium by screen printed carbon electrodes incorporating electrochemical molecularly imprinted polymers. *Biosens Bioelectron.* 112, 156-161.

- [100] Zhang, Z., Li, L., Wang, H., Guo, L., Zhai, Y., Zhang, J., Yang, Y., Wang, H., Yin, Z. and Lu, Y. (2018). Preparation of molecularly imprinted ordered mesoporous silica for rapid and selective separation of trace bisphenol A from water samples. *Applied Surface Science*. 448, 380-388.
- [101] Zheng, W., Xiong, Z., Li, H., Yu, S., Li, G., Niu, L. and Liu, W. (2018). Electrodeposited Pt@Molecularly imprinted polymer core-shell nanostructure: Enhanced sensing platform for sensitive and selective detection of bisphenol A. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 272, 655-661.
- [102] Moldoveanu, S.C. and David, V. (2013). *Basic Information about HPLC*, in *Essentials in Modern HPLC Separations*. p. 1-51.
- [103] Bele, S., Samanidou, V. and Deliyanni, E. (2016). Effect of the reduction degree of graphene oxide on the adsorption of Bisphenol A. *Chemical Engineering Research and Design*. 109, 573-585.
- [104] Dehghani, M.H., Ghadermazi, M., Bhatnagar, A., Sadighara, P., Jahed-Khaniki, G., Heibati, B. and McKay, G. (2016). Adsorptive removal of endocrine disrupting bisphenol A from aqueous solution using chitosan. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 4(3), 2647-2655.
- [105] Cela-Perez, M.C., Castro-Lopez, M.M., Lasagabaster-Latorre, A., Lopez-Vilarino, J.M., Gonzalez-Rodriguez, M.V. and Barral-Losada, L.F. (2011). Synthesis and characterization of bisphenol-A imprinted polymer as a selective recognition receptor. *Anal Chim Acta*. 706(2), 275-84.
- [106] Wu, X., Wang, X., Lu, W., Wang, X., Li, J., You, H., Xiong, H. and Chen, L. (2016). Water-compatible temperature and magnetic dual-responsive molecularly imprinted polymers for recognition and extraction of bisphenol A. *J Chromatogr A*. 1435, 30-8.
- [107] Dong, R., Li, J., Xiong, H., Lu, W., Peng, H. and Chen, L. (2014). Thermosensitive molecularly imprinted polymers on porous carriers: preparation, characterization and properties as novel adsorbents for bisphenol A. *Talanta*. 130, 182-91.
- [108] Yuan, Y., Liu, Y., Teng, W., Tan, J., Liang, Y. and Tang, Y. (2016). Preparation of core-shell magnetic molecular imprinted polymer with binary monomer for the fast and selective extraction of bisphenol A from milk. *J Chromatogr A*. 1462, 2-7.

- [109] Allen, S.J., McKay, G. and Porter, J.F. (2004). Adsorption isotherm models for basic dye adsorption by peat in single and binary component systems. *J Colloid Interface Sci.* 280(2), 322-33.
- [110] Gao, J.J., Qin, Y.B., Zhou, T., Cao, D.D., Xu, P., Hochstetter, D. and Wang, Y.F. (2013). Adsorption of methylene blue onto activated carbon produced from tea (*Camellia sinensis* L.) seed shells: kinetics, equilibrium, and thermodynamics studies. *J Zhejiang Univ Sci B.* 14(7), 650-8.
- [111] Umpleby, R.J., Baxter, S.C., Chen, Y., Shah, R.N. and Shimizu, K.D. (2001). Characterization of molecularly imprinted polymers with the Langmuir-Freundlich isotherm. *Anal Chem.* 73(19), 4584-91.
- [112] Ferguson, D.C. (2018). *Principles of Pharmacodynamics and Toxicodynamics*, in *Fundamentals of Toxicologic Pathology*. p. 47-58.