

**KANNABİNOİD TAYİNİNE YÖNELİK
KUVARS KRİSTAL MİKROTERAZİ
SENSÖR HAZIRLANMASI**

Özlem YAVUZ

Yüksek Lisans Tezi

Kimya Anabilim Dalı

Mayıs 2017

**KANNABİNOİD TAYİNİNE YÖNELİK KUVARS KRİSTAL
MİKROTERAZİ SENSÖR HAZIRLANMASI**

Özlem YAVUZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Sibel EMİR DİLTEMİZ

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Mayıs 2017

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Özlem YAVUZ' un "Kannabinoid Tayinine Yönelik Kuvars Kristal Mikroterazi Sensör Hazırlanması" başlıklı Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi .../.../2017 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği' nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

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

.....

Enstitü Müdürü

ÖZET

KANNABİNOİD TAYİNİNE YÖNELİK KUVARS KRİSTAL MİKROTERAZİ SENSÖR HAZIRLANMASI

Özlem YAVUZ

Kimya Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Mayıs, 2017

Danışman: Doç. Dr. Sibel EMİR DİLTEMİZ

Bu çalışmada; bir kannabinoid türü olan tetrahidrokannabinolik asidin tayini için hızlı ve basit bir yöntem geliştirilmiştir. Çalışmada temel olarak, Kuvars Kristal Mikroterazi (QCM) elektrotların tetrahidrokannabinolik asit (THCA) tayininde kullanılması, tasarlanılan moleküler baskılanmış polimerik (MIP) filmlerin QCM biyosensör olarak hazırlanması ve moleküler tanımlama açısından değerlendirilmesi araştırılmıştır. Bu amaçla; ilk olarak THCA'nın bağlanma bölgelerini tanıyan THCA baskılanmış polimer ve karşılaştırmanın yapılabilmesi için baskılanmamış polimer (NIP) sentezlenmiş ve karakterizasyonları yapılmıştır. Çalışmanın ikinci aşamasında, sentezlenen THCA baskılanmış polimerler, tetrahidrofuran (THF) ve polivinilklorür (PVC)'den oluşan immobilizasyon tabakası ile QCM elektrota sabitlenmiştir. Çalışmanın son aşamasında ise, hazırlanmış QCM biyosensör ile THCA tayininin yapılabilirliği ve bağlanma kinetikleri araştırılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Molekül Baskılanmış Polimer (MIP), Kuvars Kristal Mikroterazi (QCM), Kannabinoid, Tetrahidrokannabinolik Asit (THCA), Sensör.

ABSTRACT

QUARTZ CRYSTAL MICROBALANCE SENSOR PREPARATION FOR CANNABINOID DETERMINATION

Özlem YAVUZ

Chemistry Program

Anadolu University, Graduate School of Sciences, June, 2017

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Sibel EMİR DİLTEMİZ

In this study, a rapid and simple method for the determination of tetrahydrocannabinolic acid, a cannabinoid species, has been developed. In the research, the use of Quartz Crystal Microbalance (QCM) electrodes in the determination of tetrahydrocannabinolic acid (THCA) was investigated in order to prepare the molecularly-imprinted polymer (MIP) films as QCM biosensors and to evaluate them in terms of molecular identification. For this purpose; firstly The THCA-imprinted polymer, which is the recognized bonding region of THCA, and the non imprinted polymer (NIP) were synthesized and characterized for comparison. In the second step of the work, the synthesized THCA-imprinted polymers were immobilized on the QCM electrode with an immobilization layer consisting of tetrahydrofuran (THF) and polyvinylchloride (PVC). At the end of the study, feasibility and binding kinetics of the THCA assay with the prepared QCM biosensor were investigated.

Keywords: Molecularly Imprinted Polymers (MIP), Quartz Crystal Microbalance (QCM), Cannabinoid, Tetrahydrocannabinolic Acid (THCA), Sensor.

TEŞEKKÜR

Yaptığım çalışmalar süresince değerli bilgi ve önerileri ile beni yönlendiren, desteğini esirgemeyen ve birlikte çalıştığımız zaman zarfında güzel kalbiyle ve daima güler yüzü ile bana her daim destek olan değerli danışmanım Sayın Doç. Dr. Sibel EMİR DİLTEMİZ' e,

Çalışmalarım süresince her türlü desteğini, bilgisini ve sevgisini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Rıdvan SAY'a,

Tanıştığımız günden bugüne yardımını ve sevgisini esirgemeyen, desteğini her zaman hissettiğim Sayın Prof. Dr. Arzu ERSÖZ'e,

Bu süreçte katkılarını ve yardımlarını esirgemeyen, paylaşmayı ve destek olmayı, zor günlerde birlik olabilmeyi fiilen yaşatan Biyokimya Laboratuvarındaki tüm arkadaşlarım ve hocalarım,

Bir araya geldiğimiz günden itibaren gerek özel gerekse eğitim hayatımda her an yanımda olan, sıcakkanlıklarını, sevgi, destek ve iyi niyetlerini hiçbir zaman esirgemeyen çok sevgili Özlem KALABAK, Fatma DUMAN, Sevgi MİL ve Kardelen ECEVİT'e,

Maddi ve manevi destekleri ile her zaman yanımda olan ve varlıklarını her an hissettiğim, bu çalışmada ön plana çıkmayan ancak arkamdaki gizli güç olan çok sevgili ANNEM, çok kıymetli BABAM ve canım KARDEŞİME,
Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Özlem YAVUZ

Mayıs 2017

.../.../20....

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 edilemeyen 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 sonuçlara razı olduğumu bildiririm.

.....

Özlem YAVUZ

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Kannabinoidlerin Tarihçesi	1
1.2. Kannabinoidlerin Sınıflandırılması	2
1.2.1. Fitokannabinoidler	2
1.2.2. Sentetik kannabinoidler.....	3
1.2.3. Endokannabinoidler	5
1.3. Kannabinoidlerin Tayin Yöntemleri.....	5
1.4. Moleküler Baskılanmış Polimerler	6
1.4.1. Moleküler baskılamanın temel prensipleri.....	6
1.4.1.1. Kovalent baskılama.....	7
1.4.1.2. Non-kovalent baskılama.....	9
1.4.1.3. Yarı-kovalent baskılama.....	10
1.5. Moleküler baskılamanın temel bileşenleri.....	12
1.5.1. Moleküler baskılanmış polimerlerin uygulama alanları	17
1.6. Sensörler	18
1.6.1. Kimyasal sensörler	19
1.6.2. Kütle duyarlı sensörler	22
1.6.2.1. Piezoelektrik etki	23
1.6.2.2. Sauerbrey eşitliği.....	25
1.6.2.3. Kuvars kristal mikroterazi	27
2. MATERYAL VE METOT	29
2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	29
2.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	29

2.3. THCA Baskılanmış Polimer Hazırlanması (MIP).....	29
2.5. QCM Sensörün Hazırlanması	31
2.6. THCA Baskılanmış MIP QCM Elektrot İle Sensör Ölçümleri	31
2.7. Karakterizasyon Çalışmaları.....	32
2.7.1. FT-IR analizi	32
2.7.2. Yüzey morfolojisi analizi.....	32
2.7.3. Spektrofotometrik Analiz.....	32
2.7.4. ZetaSizer analizi.....	32
2.8. QCM İle Yapılan Analitik Ölçümler	33
2.8.1. THCA baskılanmış polimer ile QCM ölçümleri.....	33
2.8.2. THCA baskılanmış polimer ile hazırlanan QCM elektrodun analitik performansı	34
2.8.3. QCM elektrot ile THCA arasındaki bağlanma etkinliği	36
3. BULGULAR	39
3.1. Hazırlanan THCA Baskılanmış Polimerin Karakterizasyonu	39
4. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER.....	48
KAYNAKÇA	50
ÖZGEÇMİŞ	57

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Moleküler baskılanmış polimer eldesinin şematik gösterimi	7
Şekil 1.2. Kovalent baskılamanın şematik gösterimi.....	8
Şekil 1.3. Non-kovalent baskılamanın şematik gösterimi	9
Şekil 1.4. Yarı kovalent baskılamanın şematik gösterimi	11
Şekil 1.5. AIBN'nin termal bozunma reaksiyonu.....	11
Şekil 1.6. Moleküler baskılanmış polimerlerin kullanım alanları	17
Şekil 1.7. Sensörlerin genel çalışma prensibi	18
Şekil 1.8. Biyosensörlerin çalışma prensibi.....	19
Şekil 1.9. A: Through Beam optik sensör B. Cisimden yansımali optik sensör çalışma prensibi	20
Şekil 1.10. Potansiyometrik sistem.....	22
Şekil 1.11. AT-kesim kuvars kristal düzlemi	24
Şekil 1.12. Kuvars kristali üzerindeki piezoelektrik etki.....	25
Şekil 1.13. Kuvars kristal mikroterazinin basitleştirilmiş gösterimi	25
Şekil 1.14. Kuvars kristal elektrot	28
Şekil 2.1. THCA baskılanmış polimer sentezi.....	30
Şekil 2.2. QCM sensörün hazırlanması	31
Şekil 2.3. THCA baskılanmış ve baskılanmamış sensörün frekans değerleri	34
Şekil 2.4. THCA baskılanmış polimer ile hazırlanan sensör için kalibrasyon grafığı.....	35
Şekil 2.5. QCM sensör üzerine adsorplanan THCA miktarının THCA derişimine karşı değişim grafığı	35
Şekil 2.6. THCA baskılanmış MIP için Langmuir adsorpsiyon izotermi.....	36
Şekil 2.7. THCA baskılanmış MIP için Freundlich adsorpsiyon izotermi	37
Şekil 2.8. THCA baskılanmış MIP için Temkin adsorpsiyon izotermi	38
Şekil 3.1. THCA'nın açık yapısı.....	39
Şekil 3.2. THCA'nın IR spektrumu	40
Şekil 3.3. THCA baskılanmış MIP'in yıkama öncesi IR spektrumu.....	41
Şekil 3.4. MIP'a ait SEM görüntüleri	42
Şekil 3.5. NIP'a ait SEM görüntüleri.....	43
Şekil 3.6. QCM elektroda immobilize edilmiş THCA baskılı MIP görüntüleri....	44

Şekil 3.7. MIP için boyut analizi	45
Şekil 3.8. Yıkama çözeltilisine ait UV spektrumu.....	46
Şekil 3.9. Karıştırma öncesi UV spektrumu	46
Şekil 3.10. Karıştırma sonrası UV spektrumu	47
Şekil 3.11. Karıştırma öncesi ve sonrası karşılaştırmalı UV spektrumu	47

TABLolar DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1. Bazı fitokannabinoidler, açık yapıları ve etkileri	2
Tablo 1.2. Bazı sentetik cannabinoidlerin isimlendirilmesi ve açık yapıları.....	4
Tablo 1.3. Endocannabinoidlerin açık yapısı.....	5
Tablo 1.4. Kovalent baskılamanın avantaj ve dezavantajları	8
Tablo 1.5. Non-kovalent baskılamanın avantaj ve dezavantajları	10
Tablo 1.6. Başlıca kullanılan kalıp moleküller ve uygulama alanları	12
Tablo 1.7. Moleküler baskılamada kullanılan başlıca fonksiyonel monomerler ...	13
Tablo 1.8. MIP hazırlanmasında kullanılan başlıca çapraz bağlayıcılar	14
Tablo 1.9. Moleküler baskılamada kullanılan başlıca insiyatörler	16
Tablo 1.10. Sıcaklık değişimiyle AT-kesim kuvars kristaldeki frekans kayması .	27
Tablo 2.1. THCA baskılanmış QCM sensörün Langmuir, Freundlich ve Temkin analizlerinin karşılaştırılması	38
Tablo 3.1. Literatürde bulunan çalışmalarda elde edilen tayin sınırları	49

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AEA	: Araşidonoil etanolamid, anandamid
AIBN	: 2,2'-azobis(izobutironitril)
CBD	: Cannabidiol
CBG	: Cannabigerol
CB1	: Kannabinoid reseptör 1
CB2	: Kannabinoid reseptör 2
DVB	: Divinil benzen
EDMA	: Etilen glikol dimetakrilat
GC	: Gaz kromatografisi
GC/MS	: Gaz kromatografisi/kütle spektroskopisi
HPLC-ECD	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi-elektrokimyasal dedeksiyon
JWH	: John William Huffman
KBr	: Potasyum bromür
LC-IT-MSn	: Sıvı kromatografisi-iyon tutucu kütle spektroskopisi
MAA	: Metakrilik asit
MIP	: Moleküler baskılanmış polimer
NIP	: Baskılanmamış polimer
PDMS	: Polidimetilsiloksan
PVC	: Polivinilklorür
SDS	: Sodyum n-dodesil sülfat
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
THCA	: Tetrahidrokannabinolik asit
THF	: Tetrahidrofuran
UV-Vis	: Mor ötesi-görünür bölge
QCM	: Kuvars kristal mikroterazi
Δ^9 -THC	: Δ^9 -tetrahidrokannabinol
Δ^9 -THCV	: Δ^9 -tetrahidrokannabivarin
2-AG	: 2-araşidonoilgliserol

1. GİRİŞ

Kannabinoid, dünyada Spice, Kannabinoid Citrus, K2, Jamaican, Scope, Smoke gibi isimlerle bilinen, bazı kurutulmuş bitki yapraklarına emdirilerek sıvı ve toz şeklinde ambalajlanıp sağlığa zararlı olmadığı algısı oluşturularak piyasaya sürülen, esrarla benzer etkilere sahip ve metabolizmayı tamamen olumsuz etkileyen uyuşturucu bir maddedir. Kannabinoidler, CB1 ve CB2 reseptörleri üzerinden vücutta geniş bir yelpazede etki eder. Kannabinoid alındıktan sonra vücuttaki etki süresi, içindeki etken maddelerin çeşidine ve dozajına göre değişir ve saatlerce sürebilir.

1.1. Kannabinoidlerin Tarihçesi

Cannabis ilaç olarak kullanılan ilk bitkilerdendir, dini törenler, dinlenme ve eğlence gibi amaçlar için kullanımı 5000 yıl öncesine dayanmaktadır [1]. Cannabisin tedavi edici etkileri çok eskiden bu yana bilinmektedir. Tarihte ilk olarak Çin İmparatoru Shen- Nung'un (M.Ö. 2737), cannabisin sıtma ve romatizmaya karşı etkili olduğundan bahsettiği bildirilmiştir [2]. Günümüzde ise AIDS' de iştah açıcı, kanser hastalarında antiemezis, multipl sklerozda spazmolitik, crohn hastalığında antidiyareik, romatoid artritte antiinflamatuvar amaçlarla kullanılmaktadır [3]. “Kannabinoid” *cannabis sativa* bitkisinde doğal olarak bulunan ve oksijen içeren 21 karbonlu hidrokarbonların genel adıdır. Bununla birlikte bu davranışı taklit edebilen doğal ya da sentetik bileşikler de kannabinoid olarak adlandırılır [4].

Esrara ilişkin araştırmalar, bitkisel kaynaklı kannabinoidlerin yapılarının aydınlatılmasıyla başlamıştır. 1899'da kannabinol ve 1964'te delta-9-tetrahidrokannabinol'un (Δ^9 -THC) yapılarının aydınlatılmasıyla fitokannabinoidlerin etki mekanizmaları araştırılmaya başlanmıştır. 1990'larda John William Huffman ve arkadaşları, JWH maddeleri olarak bilinen naftoilpirolleri, naftoilindoller ve kannabinoid reseptör aktivitesi bulunan bileşikleri sentezlemişlerdir. Zamanla bu maddeler, sentetik kannabinoid içeren yeni maddelerin ana bileşeni olarak kullanılmaya başlanmıştır [5]. Sentetik kannabinoidler 2004'ten bu yana piyasada bulunabilmektedir [6].

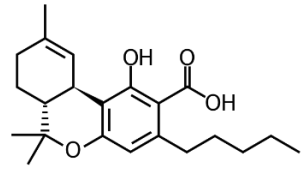
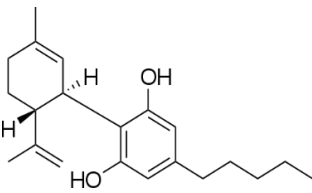
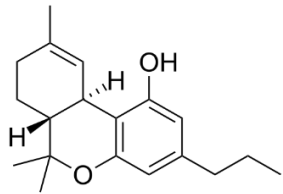
1.2. Kannabinoidlerin Sınıflandırılması

Kannabinoidler kendi reseptörleri aracılığıyla beyinde nörotransmitter salınımını baskılayan bir çeşit kimyasal bileşik türüdür [7]. Kannabinoidler fitokannabinoidler (doğal kannabinoidler), sentetik kannabinoidler ve endokannabinoidler olmak üzere üç başlık altında sınıflandırılabilirler.

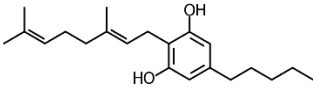
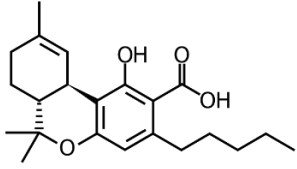
1.2.1. Fitokannabinoidler

Fitokannabinoidler başta cannabis olmak üzere bitkilerden elde edilebilen bir kannabinoiddir ve en bilinen örneği esrarın ana aktif bileşeni olan delta-9-tetrahidrokannabinol (Δ^9 -THC)'dür. Δ^9 -THC psikoaktif etkisi en fazla olan kannabinoiddir. Δ^9 -THC dışında cannabis bitkisinden izole edilebilen en az 85 çeşit kannabinoid vardır [8]. Cannabidiol, Δ^9 -tetrahidrocannabivarin (Δ^9 -THCV), Δ^9 -tetrahidrocannabiorkol, Cannabigerol, Cannabikromen diğer fitokannabinoid örneklerindedir. Tablo 1.1' de bazı fitokannabinoidlerin açık yapıları ve etkileri verilmiştir [9-12].

Tablo 1.1. Bazı fitokannabinoidler, açık yapıları ve etkileri

İsmlendirmesi	Açık Yapısı	Olumlu Etkileri	Olumsuz Etkileri
Δ^9 -tetrahidrokannabinol (THC)		<ul style="list-style-type: none">-Kusma ve bulantıyı azaltır,-Acıyı hafifletir,-İştah açar,-Kas spazmlarını bastırır.	<ul style="list-style-type: none">-Kalp krizi riskini artırır,-Yaşam işlevlerinin aşırı ölçüde zayıfladığı, çok derin ve sürekli, uyku durumu oluşturur,-Konuşma bozukluğu oluşturur,-Anksiyete ve paranoyaya sebep olur.
Kannabidiol (CBD)		<ul style="list-style-type: none">-Antibakteriyeldir,-Kanser hücrelerinin büyümesini engeller,-Kandaki şekeri düşürür,-İltihaplanmayı azaltır,-Ağrı ve kaygıyı azaltır.	Bu konuda yapılan çalışmalar sınırlıdır ve devam etmektedir.
Tetrahidrokannabivarin (THCV, THV)		<ul style="list-style-type: none">-İstemsiz kasılma ve nöbetleri azaltır,-Kemik büyümesine yardımcı olur.	Psikoaktif etkileri tanımlanmamıştır.

Tablo 1.1. (Devam) *Bazı fitokannabinoidler, açık yapıları ve etkileri*

Kannabigerol (CBG)		-Uyumaya yardımcıdır, -Kanser hücrelerinin büyümesini engeller, -Bakteriyel büyümeyi yavaşlatır.	Bilinen olumsuz yan etkisi yoktur.
Tetrahidro-kannabinolik asit (THCA, Δ^9 -THCA, 2-COOH-THC)		-Uyumaya yardımcıdır, - Kanser hücrelerinin büyümesini engeller, - Kas spazmlarını bastırır.	Bilinen olumsuz yan etkisi yoktur.

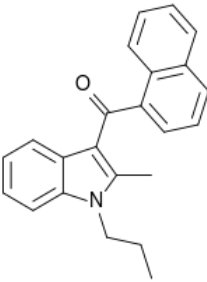
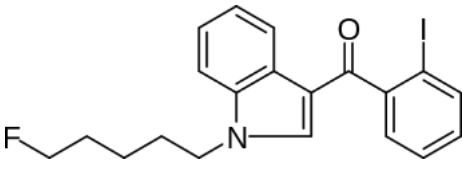
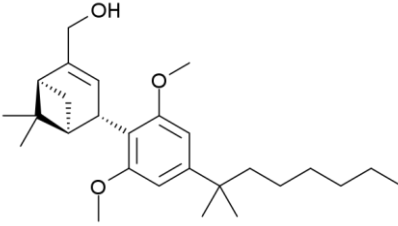
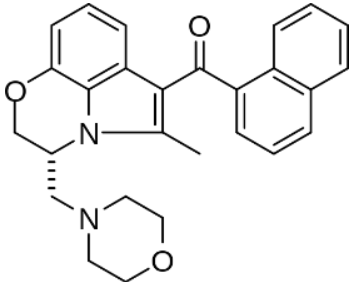
1.2.2. Sentetik kannabinoidler

Sentetik kannabinoid, laboratuvar ortamında ot ve benzeri maddelerin kimyasal sıvılarla püskürtülmesi sonucu oluşturulan ve normal esrarın (marihuana) içinde bulunan Δ^9 -THC ile benzer etki göstermesi beklenen bir uyuşturucu türüdür. Püskürtme sonrası çözücü buharlaştıktan ve bitkisel karışım tekrar kurduktan sonra paketlenir. Sentetik kannabinoidler beyinde ve diğer periferik organlarda Δ^9 -THC ile aynı kannabinoid reseptörlere bağlanırlar. Beyindeki etkilerini doğal kannabinoidler gibi CB1 reseptörleri aracılığı ile yaparlar. Sentetik kannabinoidler tam agonisttir. Reseptörlere yüksek potens ve afinite gösterirler. Bu sebepten dolayı dozda artış olduğunda plato etkisi olmadan etkide artışa neden olurlar. Sentetik kannabinoidlerin psikoaktif etkileri Δ^9 -THC'ye benzemesine karşın, doğal kannabinoidlere göre etkileri çok daha güçlüdür [13]. Ayrıca yapılan araştırmalarda etkilerinin Δ^9 -THC'den daha uzun süreli ve daha yoğun olduğu belirtilmiştir [14]. 2004 yılında Avrupa'da üretildiğinde "zararsız", "marihuana'ya yasal bir alternatif" ve "tasarımcı uyuşturucusu" gibi açıklamalarla pazarlanmıştır [15]. Sentetik kannabinoidler klasik kannabinoidler, klasik olmayan kannabinoidler, hibrit kannabinoidler, aminoalkilindoller, eikozanoidler ve diğerleri şeklinde alt sınıflara ayrılırlar. Klasik kannabinoidler THC analogları olarak CB1 ve CB2 reseptörlerinde seçici olmayan tam agonist etki gösterirler. Örnek olarak HU-210 ve Nabilone verilebilir. Klasik olmayan kannabinoidler sikloheksilfenoller veya 3-arilsikloheksanollerdir. CB1 reseptörlerine bağlanmaya daha yatkındırlar. Örnek olarak CP-55,244, CP-55,940 verilebilir. Hibrit kannabinoidler klasik ve klasik olmayan kannabinoidlerin yapısal özelliklerinin kombinasyonlarından oluşurlar ve AM-4030 bir örneğidir. Aminoalkilindoller ayrıca aşağıdaki gibi alt gruplara ayrılabilir, parantez içinde bazı örnekler verilmiştir:

- Naftolindoller (JWH-015, JWH-018)
- Fenilasetilindoller (JWH-250, JWH-251)
- Benzolindoller (pravadin, AM-694)
- Naftilmetilindoller (JWH-184)
- Siklopropolindoller (UR-144, XLR-11)
- Adamantolindoller (AB-001, AM-1248)
- İndol karboksamidler (APICA, STS-135)

Eikozanoidler anandamid gibi endokannabinoidler ve bunların sentetik analoglarıdır örnek olarak metanandamid verilebilir [16]. Tablo 1.2’ de bazı sentetik cannabinoidlerin kimyasal yapıları verilmiştir.

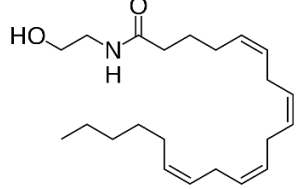
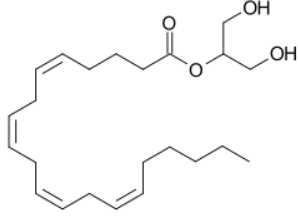
Tablo 1.2. Bazı sentetik cannabinoidlerin isimlendirilmesi ve açık yapıları

İsimlendirilmesi	Açık Yapısı
JWH-015	
AM-694	
HU-308	
WIN 55,212-2	

1.2.3. Endokannabinoidler

İlk olarak 1992 yılında Devane ve arkadaşları tarafından domuz beyininden izole edilen araşidonoil etanolamid (AEA), anandamid olarak isimlendirilmiş ve THC'ye yüksek afinite gösterdiği saptanmıştır, böylelikle endokannabinoidlerin varlığından söz edilmeye başlanmıştır. 1995 yılında ise birbirinden bağımsız iki bilim adamı tarafından 2-araşidonoilgliserol (2-AG) adındaki ikinci endokannabinoid keşfedilmiştir [7,17]. Tablo 1.3'te endokannabinoidlerin yapısı verilmiştir.

Tablo 1.3. Endokannabinoidlerin açık yapısı

İsmlendirilmesi	Açık Yapısı
Anandamid (AEA)	
2-araşidonoilgliserol (2-AG)	

1.3. Kannabinoidlerin Tayin Yöntemleri

Günümüzde pek çok yolla kannabinoidlerin tayini yapılabilmektedir. Biyolojik sıvılardaki kannabinoidlerin tayini için kullanılan yöntemler radyoimmunoassay, gaz kromatografisi (GC), gaz kromatografisi/kütle spektroskopisi (GC/MS) ve enzim immunoassaydir [18,19].

Literatürde bu yöntemlerin dışında kannabinoid metabolitlerinin sıvı kromatografisi-iyon tutucu kütle spektroskopisi (LC-IT-MSn) ile de tayini yapılmıştır. LC-IT-MSn yöntemi ile yapılan çalışmalarda THC için tayin sınırı 0,28 g/kg, THCA için 9,9 g/kg olarak bulunmuştur [20].

Yapılan bir başka çalışmada kannabinoidlerin tayini için yüksek performanslı sıvı kromatografisi-elektrokimyasal dedeksiyon (HPLC-ECD) metodu kullanılmış ve THC için tayin sınırı 0,9 ng, THCA için ise 1,9 ng olarak bulunmuştur [21].

LC-MS yöntemi ile yapılan çalışmada THC için tayin sınırı 0,1 ng/ml, THCA için ise tayin sınırı 0,25 ng/ml olarak saptanmıştır [22].

Kannabinoidlerin uyuşturucu olarak kullanıldığı düşünölen ve tayininin yapılması gerektiği durumlarda biyolojik sıvılar olarak kan, idrar ve ağız sıvısı analiz edilmektedir.

1.4. Moleküler Baskılanmış Polimerler

Moleküler etkileşim enzim substrat ilişkisinin açıklanmasıyla ilk olarak 19. yüzyılda Ficsher tarafından ortaya koyulmuştur. Burada söz edilen etkileşim enzim ile substrat arasında oluşan “anahtar-kilit” ilişkisidir. Bu modele dayanarak geliştirilen önemli uygulama yöntemlerinden biri de moleküler baskılama yöntemidir. Moleküler baskılama yöntemi ile enzim-substrat veya antikör-antijen gibi birbirlerine karşı tanıma özelliğine sahip ve afinite gösteren türlerin polimerik yapılara aktarılması hedeflenmiştir. Moleküler baskılama farklı matrikslerden iyonlar, organik moleküller ve biyomoleküllerin seçiciliği yüksek şekilde ayrılması için akıllı polimerler elde edilmesi ve farklı uygulamalarda kullanılmasını yaygınlaştıran yeni bir malzeme oluşturma yöntemi olarak geliştirilmiştir.

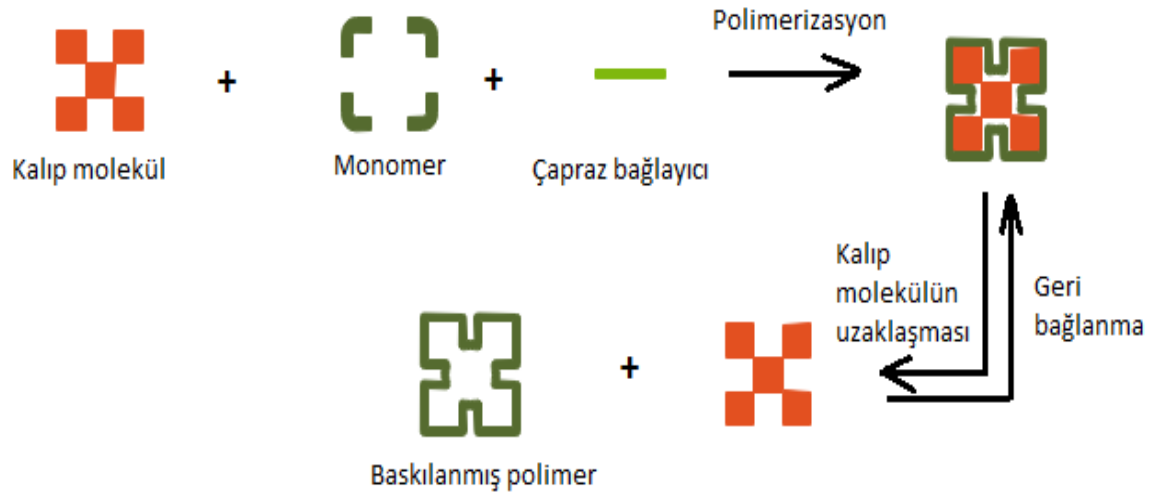
Moleküler baskılama tekniğinde hedef molekülün etrafı kalıp oluşturacak şekilde bir polimer ile sarılır. Çapraz bağlı monomerler hedef molekül çevresinde düzenlenir ve kalıp benzeri bir tabaka oluşturacak şekilde polimerleşirler. Temel olarak monomerler kovalent veya non-kovalent etkileşimler aracılığıyla kalıp molekül ile bir kompleks oluştururlar. Polimerizasyon sonunda kalıp molekül ortamdan uzaklaştırılır ve polimerin içerisinde molekül ile aynı büyüklük ve şekle sahip bir kalıp elde edilir. Bu yolla kalıp molekülü seçici olarak tekrar bağlayabilen polimer üzerine bir moleküler ‘bellek’ baskılanmış olur. Moleküler baskılanmış polimerlerler (MIP) biyolojik reseptörlerin en önemli iki özelliği olan tanıma yeteneği ve spesifik kalıp molekülleri bağlama yeteneğine sahiptirler. MIP’ler yüksek mekanik dayanıklılığa, ısı, basınç, asitler, bazlar, metal iyonları ve organik çözücüler gibi zorlayıcı şartlar altında yüksek kararlılığa sahiptirler. Bozulmadan birkaç yıl boyunca saklanabilirler [23].

1.4.1. Moleküler baskılamanın temel prensipleri

Moleküler baskılama özetle, üzerinde kalıp molekülü tanıma özelliği bulunduran bölgeler içeren polimerlerin sentezlenmesidir. Sentez için, kalıp molekül ve kalıp molekül ile etkileşebilecek (kovalent ya da non-kovalent bağlanma ile) işlevsel bir

monomer olmak üzere iki temel gereksinim vardır. Bu temel gereksinimlerin yanı sıra çözücü, çapraz-bağlayıcı gibi yan gereksinimler de mevcuttur.

Moleküler baskılama üç basamaktan meydana gelmektedir. Bunlar; ön kompleksleşme, polimerizasyon ve hedef molekülün ayrılmasıdır. Ön kompleksleşme basamağında baskılanacak molekül ile fonksiyonel monomer(ler) etkileşerek bir kompleks oluştururlar. Bu işlemde hedef molekülün üç boyutlu yapısı ve kimyasal özellikleri belirleyici rol oynamaktadır. İkinci basamakta oluşan kompleks yapı, uygun çapraz bağlayıcı ile polimerleştirilir. Son aşamada baskılanan molekül, yıkama işlemiyle polimerik yapıdan uzaklaştırılır ve kalıp elde edilir. Moleküler baskılanmış polimer eldesinin şematik gösterimi Şekil 1.1’de verilmiştir.



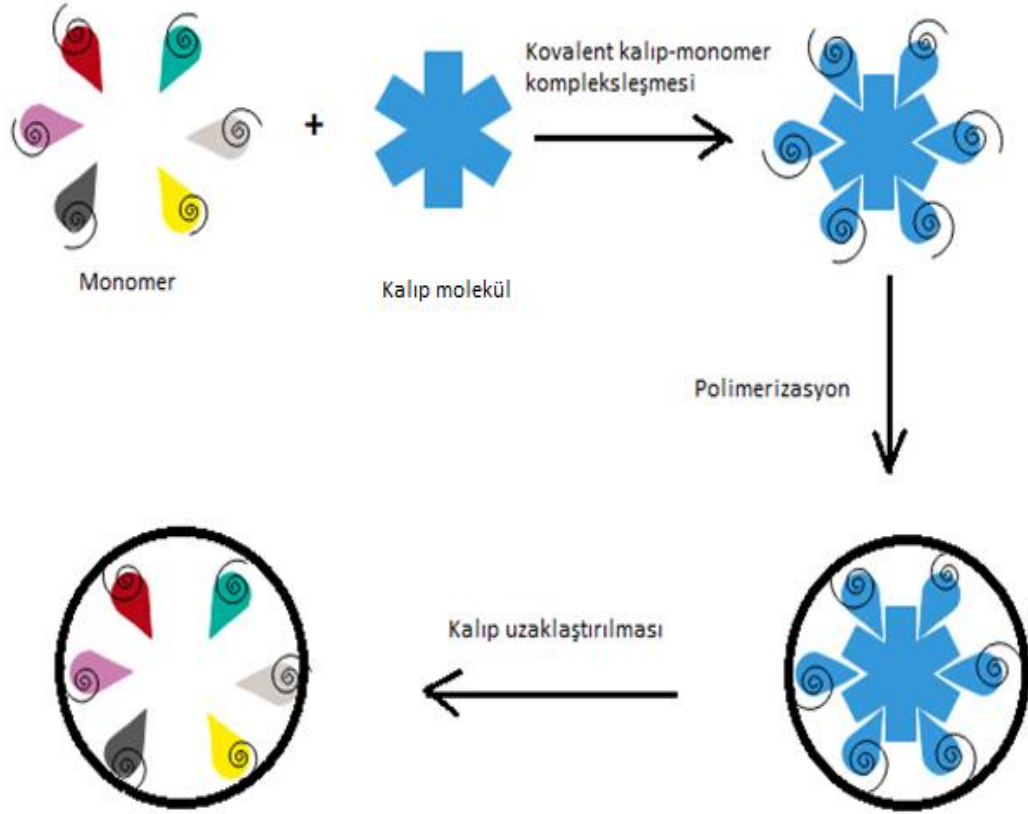
Şekil 1.1. Moleküler baskılanmış polimer eldesinin şematik gösterimi

İlk basamakta hedef molekül ve fonksiyonel monomer, kovalent ya da non-kovalent etkileşimlerle bağlanabilir. Bu bakımdan moleküler baskılama yöntemi kovalent, non-kovalent moleküler baskılama ve ikisinin avantajlarının bir araya getirildiği yarı-kovalent moleküler baskılama olarak üç gruba ayrılabilir.

1.4.1.1. Kovalent baskılama

Kovalent baskılama işleminde, polimerizasyon basamağından önce fonksiyonel monomer ile kalıp molekül birbirine kovalent bağlarla bağlanır. Polimerizasyondan sonra kovalent bağlar kırılır ve kalıp oluşturmak için polimerden uzaklaştırılır. Kalıp molekül, baskılanmış polimerlerle etkileştirildiğinde kovalent bağ yeniden oluşur

[24,25]. Tablo 1.4.'te kovalent baskılamanın avantaj ve dezavantajları verilmiştir [26-30].



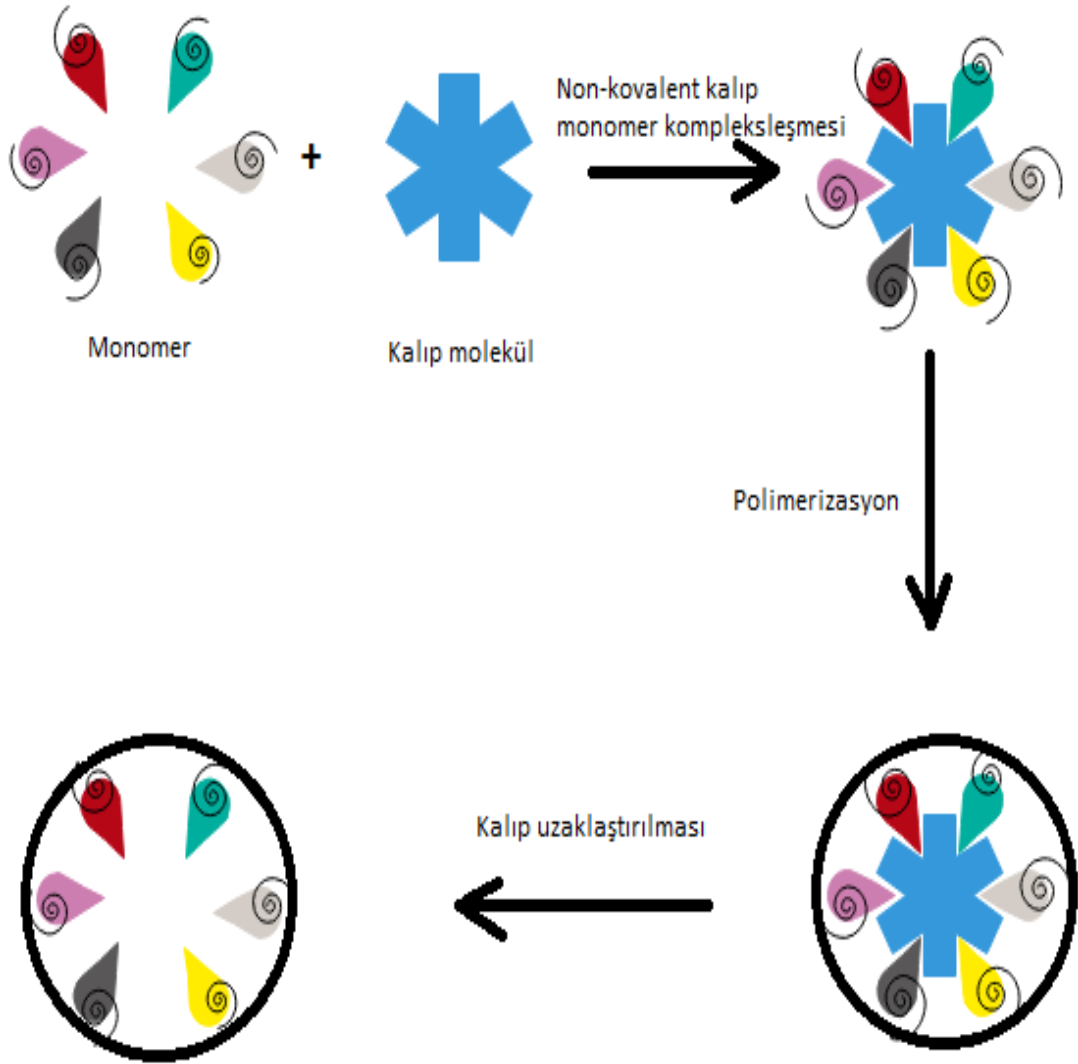
Şekil 1.2. Kovalent baskılamanın şematik gösterimi

Tablo 1.4. Kovalent baskılamanın avantaj ve dezavantajları

Kovalent Baskılamanın	
Avantajları	Dezavantajları
Monomer-kalıp molekül kompleksi oldukça kararlıdır,	Sentez prosesi ekonomik değildir,
Monomer-kalıp molekül kompleksi stokiyometrik oranlarda gerçekleşir ve homojen bir dağılım sağlanır,	Kalıp molekülün polimere tersinir olarak bağlanma sayısı sınırlıdır,
Polimerizasyon koşulları yüksek sıcaklık, yüksek veya düşük pH ve polar solventler için istenildiği gibi uygulanabilir.	Kovalent bağ oluşumu nedeniyle bağlanma kinetikleri yavaştır.

1.4.1.2. Non-kovalent baskılama

Bu yöntem 1981 yılında Mosbach ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir. Non-kovalent baskılamada fonksiyonel monomer ile kalıp molekülün bağlanması kovalent olmayan (hidrojen bağı, elektrostatik etkileşimler, van der Waals etkileşimleri gibi) etkileşimlerle meydana gelir. Polimerizasyon işleminin ardından uygun çözücülerle kalıp molekül polimerden uzaklaştırılır [31,32]. Non-kovalent etkileşimle baskılama tekniği Şekil 1. 3’de gösterilmiştir. Non-kovalent baskılama tekniğinin avantaj ve dezavantajları Tablo 1.5’ te verilmiştir [33-36].



Şekil 1.3. Non-kovalent baskılamanın şematik gösterimi

Tablo 1.5. Non-kovalent baskılamanın avantaj ve dezavantajları

Non-kovalent Baskılamanın

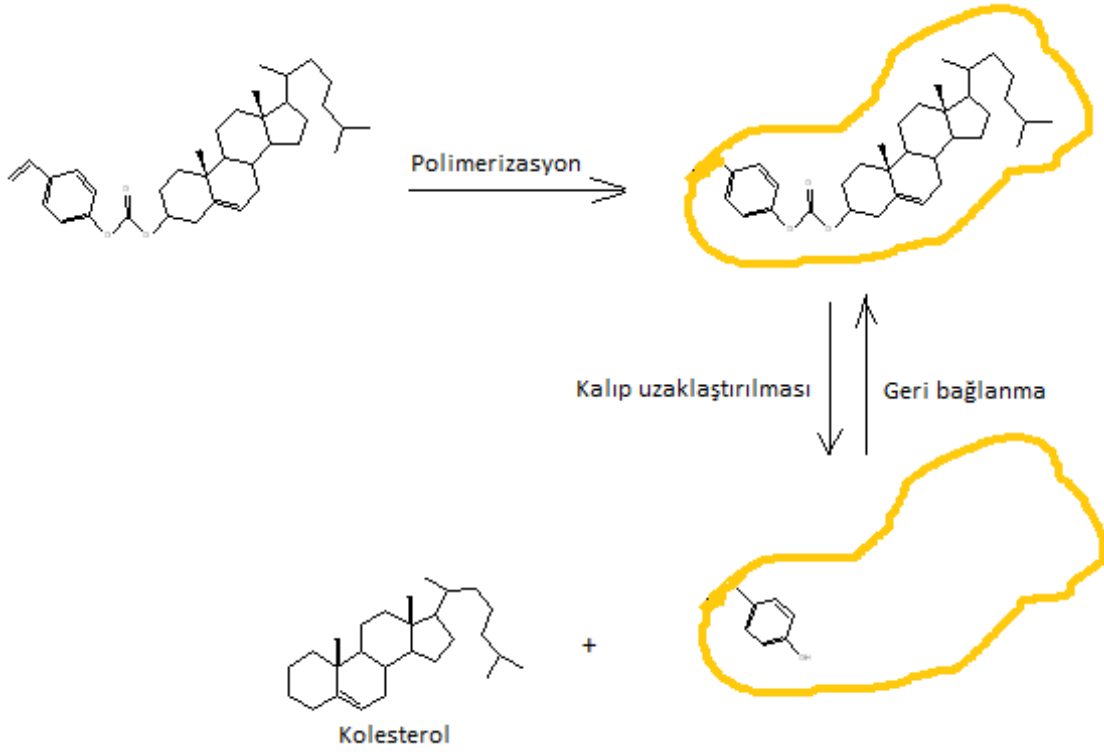
Avantajları	Dezavantajları
Basit ve sorunsuzdur,	Polimerizasyon koşulları sınırlıdır,
Kovalent monomer-kalıp konjugatının sentezine gerek yoktur ve kalıp monomer kompleksi oluşturmak için farklı bağlanma etkileşimleri kullanılabilir,	Fonksiyonel monomerler bağ oluşum dengesini arttırmak amacıyla fazlaca kullanılır ve non-spesifik bağlanma bölgelerinin oluşumuna neden olabilir,
Polimerizasyondan sonra kalıp molekül polimerden kolayca uzaklaştırılabilir,	Kromatografide pik genişlemesine neden olabilir,
Kalıp molekülün bağlanma kinetiği hızlıdır,	Bağlanma bölgelerinin dağılımı heterojendir,
Kalıp molekülün yapısı ve reaktivitesi hakkında spesifik bilgi gerektirmeksizin hazırlanabilir.	Non-spesifik bağlanmalara ve kalıp molekülün zayıf moleküller tanımasına sebep olabilmektedir.

1.4.1.4. Yarı-kovalent baskılama

Bu yöntem kovalent ve non-kovalent baskılamanın avantajlarının birleştirilmesiyle oluşturulmuştur. Kovalent ya da kısmi kovalent bağ yapabilecek kalıp molekül, fonksiyonel monomer ile kovalent olmayan bağlar oluşturarak polimerleşir. Kalıp molekül ortamdan hidroliz ile uzaklaşır ve kalıp molekülün uzaklaşmasıyla fonksiyonel bölgeler polimer içerisinde düzenli şekilde dağılır. Kalıp molekülün tekrar bağlanması non-kovalent etkileşimlere dayanır. Bazı moleküller (sterol akrilat kalıp molekülleri) hidrolizle ortamdan uzaklaştırılmazlar, bu durumda ortama LiAlH_4 eklenir [37,38].

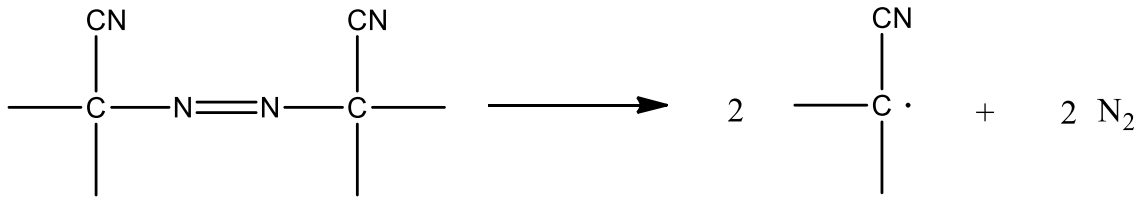
Yarı-kovalent baskılamanın sınırlamalarını yok edebilmek için fonksiyonel molekül ile kalıp molekül arasına kalıp molekülle beraber polimerden uzaklaşabilecek aracı gruplar kullanılabilir. Bu gruplar hem polimerizasyon sırasında monomer ve kalıp molekülün birbirine bağlanmasını sağlar hem de non-kovalent geri bağlanmada sterik engellemeleri yok eder. Bu amaçla ilk kullanılan aracı grup, karbonat esterinin karbonil grubudur. Aynı zamanda salisilat(2-hidroksibenzoat) da aracı grup olarak kullanılabilir. Salisilat(2-hidroksibenzoat) aracılı baskılamada oluşan hidrojen bağı bağlanma etkinliğini artırır ve fenil metakrilat esterinin ortamdan uzaklaştırılması da diğer gruplara göre daha kolaydır [39]. Yarı-kovalent baskılama emülsiyon

polimerizasyonunda ve süspansiyon polimerizasyonunda da kullanılmaktadır. Şekil 1.4’ de yarı kovalent baskılamanın şematik gösterimi verilmiştir.



Şekil 1.4. Yarı kovalent baskılamanın şematik gösterimi

Moleküler baskılama tekniğinde en çok kullanılan polimerizasyon yöntemi serbest radikal polimerizasyonudur. Çünkü radikal polimerizasyonu ekonomik ve hazırlanışı kolay bir yöntemdir. Radikal polimerizasyonu kullanılan başlatıcının termal olarak bozulmasıyla başlamaktadır [23,40-44]. 2,2'-azobis(izobutironitril) (AIBN)'in bozunma reaksiyonu Şekil 1.5’ te gösterildiği gibidir.



Şekil 1.5. AIBN'nin termal bozunma reaksiyonu

Radikal polimerizasyonu yönteminde foto başlatıcılarda kullanılabilir. Foto başlatıcılar özellikle fonksiyonel monomer ile kalıp molekül arasında non-kovalent bağların kararsız olduğu durumlarda kullanılmaktadır.

1.5. Moleküler baskılamanın temel bileşenleri

Moleküler baskılı polimer hazırlanması aşamasında polimerizasyon bileşenlerinin; kalıp/hedef molekül, fonksiyonel monomer(ler), çapraz bağlayıcı ve uygun çözücü tespiti başarılı bir polimer tasarımı için önemlidir. Uygun bileşenlerin seçilmesi baskılanmış polimerin amaca uygunluğunu ve kullanılabilirliğini sağlayan en önemli faktördür.

Bütün moleküler baskılama yöntemlerinde kalıp molekül, baskılamanın başarısı yönünden önemli rol oynar. Bağlanan monomerlerde bulunan fonksiyonel gruplar kalıp molekülle etkileşime girer. Ancak, tüm kalıp moleküller doğrudan kalıp olmaya elverişli olmayabilir. Polimerleşme aşamasında uyumsuzluğa yol açmaması bakımından, kalıp molekül polimerizasyon koşullarında kimyasal olarak inert olmalıdır. Kalıp molekülün farklı reaksiyonlara girmesi veya polimerizasyon şartlarında kararsız olması gibi durumlarda farklı baskılama teknikleri ortaya çıkabilir.

Tablo 1.6. Başlıca kullanılan kalıp moleküller ve uygulama alanları

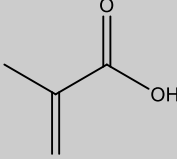
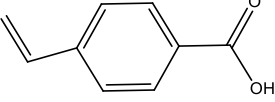
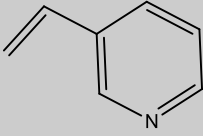
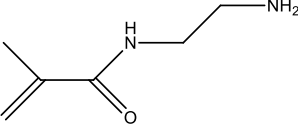
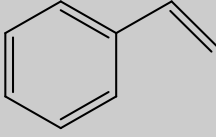
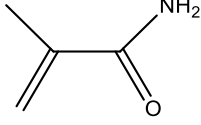
SINIF	BİLEŞİK	YAKLAŞIM	UYGULAMA
Hormonlar	Enkefalin	Non-kovalent	Immunoassay
İlaçlar	Timolol	Non-kovalent	Kiral ayırma
	Teofilin	Non-kovalent	Immunoassay
	Pentamidine	Non-kovalent	Ayırma
Böcek İlaçları	Atrazin	Non-kovalent	Immunoassay/Ayırma
Proteinler	Transferrin	Kovalent	Ayırma
	RNase A	Non-kovalent	Ayırma
Amino Asitler	Amino asit türevleri	Non-kovalent	Kiral ayırma
	Dansyl-Phe-OH	Non-kovalent	Sensör
Peptidler	Ac-Trp-Phe-OMe	Non-kovalent	Kiral ayırma
	Boc-Phe-Gly-OEt	Non-kovalent	Kiral ayırma
	Cbz-Ala-Gly-Phe-OMe	Non-kovalent	Immunoassay/Ayırma
Karbonhidratlar	Galaktoz türevleri	Non-kovalent	Kiral ayırma
	Glukoz türevleri	Kovalent	Immunoassay/Ayırma
	Fruktoz türevleri	Non-kovalent	Kiral ayırma
		Non-kovalent	Katalizör
Koenzimler	Pyridoksal türevleri	Non-kovalent	Ayırma
Nükleotidler	NAD+	Kovalent	Ayırma
Steroidler	Kolesterol	Kovalent	Ayırma

Tablo 1.6. (Devam) *Başlıca kullanılan kalıp moleküller ve uygulama alanları*

Metal iyonları	Ca(II)	Metal	Sensör
	Cu(II)	Metal	Ayırma
Diğer	Bis-imidazoller	Metal	Ayırma
	Mandelik Asit	Non-kovalent	Kiral ayırma

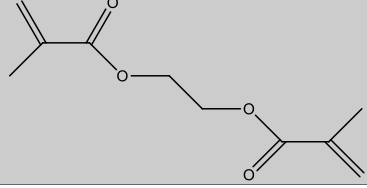
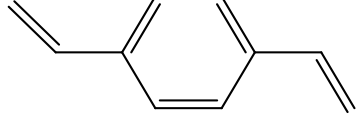
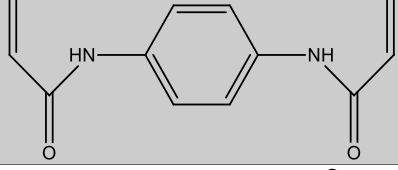
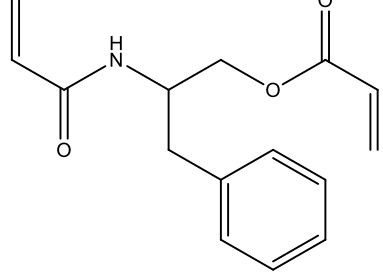
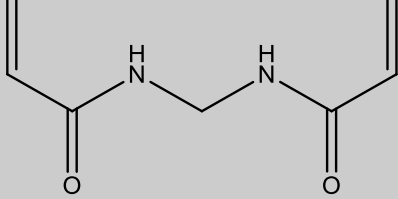
Moleküler baskılanmış polimerlerde kalıp molekül ile fonksiyonel monomer arasındaki geri-bağlanma çok önemli olduğundan fonksiyonel monomerlerin seçimi kritiktir. Fonksiyonel monomerin seçiminde önemli nokta, etkileşimin gerçekleşmesi için uygun bağlanma bölgelerinin sayısıdır. Asidik, bazik ve nötral özelliklere sahip yaygın olarak kullanılan bazı fonksiyonel monomerler Tablo 1.7’ de verilmiştir.

Tablo 1.7. *Moleküler baskılamada kullanılan başlıca fonksiyonel monomerler*

FONKSİYONEL MONOMER	AÇIK YAPISI	ASİDİK/BAZİK KARAKTER
Metakrilik Asit (MAA)		Asidik
p-vinilbenzoik Asit		Asidik
Vinilpiridin		Bazik
N-(2-aminetil)-metakrilamid		Bazik
Stiren		Nötral
Metakrilamid		Nötral

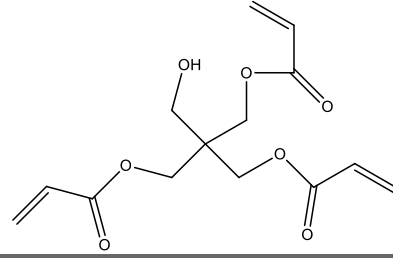
MIP hazırlanırken bir diğer önemli nokta çapraz bağlayıcının seçimidir. Moleküler baskılanmış polimerlerde çapraz-bağlayıcının üç temel fonksiyonu bulunur. İlk olarak çapraz-bağlayıcı, polimerin matris yapısını kontrol eder ve buna bağlı olarak polimer jel formunda, makro gözenekli ya da mikrojel pudra şeklinde olabilir. İkinci fonksiyon baskılanmış bağlanma merkezinin kararlı olmasıdır ve son olarak polimer, matrisin kararlılığını belirler. Organik fazda moleküler baskılama için etilen glikol dimetakrilat (EDMA) ve divinil benzen (DVB) en sık kullanılan çapraz bağlayıcılardır. Tablo 1.8’de yaygın olarak kullanılan çapraz bağlayıcıların listesi verilmiştir [45-47].

Tablo 1.8. MIP hazırlanmasında kullanılan başlıca çapraz bağlayıcılar

ÇAPRAZ BAĞLAYICI	AÇIK YAPISI
Etilen glikol dimetakrilat (EDMA)	
p-divinilbenzen	
N,N'-1,4-fenilendiakrilamid	
N,O-bisakriloil-L-fenilalaninol	
N,N'-metilendiakrilamid	

Tablo 1.8. (Devam) *MIP hazırlanmasında kullanılan başlıca çapraz bağlayıcılar*

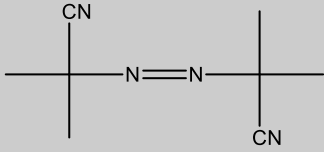
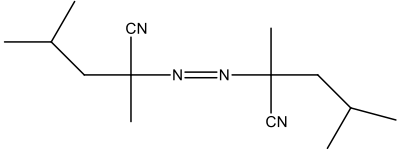
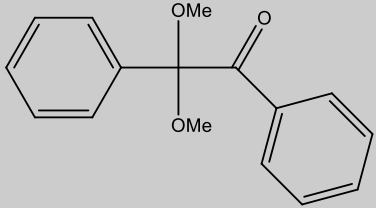
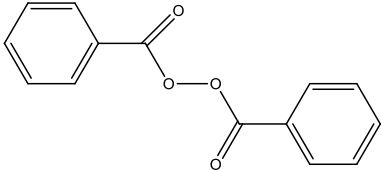
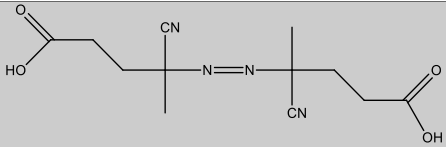
Pentaeritrol triakrilat



Çözücü; kalıp molekül, fonksiyonel monomerler, çapraz bağlayıcı, başlatıcı ve tüm bileşenlerin tek bir fazda bir araya gelmesini sağlaması nedeniyle önemli bir ajandır. Buna ek olarak gözenek oluşumunu gerçekleştirerek makro gözenekli yapılar elde edilmesini sağlar. Bu nedenle “çözücü” kelimesi yerine çoğunlukla “porojen” kelimesi kullanılır. Moleküler baskılama işlemi bazik ortamlarda uygulanır. Çözücünün seçimi uygulanacak olan baskılama yöntemine bağlıdır. Kovalent baskılama yapılacaksa çözücüde aranan özellik reaksiyon ortamındaki bileşenlerin çözünmesinin sağlanmasıdır ve bir çok çözücü kullanılabilir [23,48]. Non-kovalent baskılamada ise amaç, bir etkileşimin meydana gelmesi olduğundan çözücünün seçimi daha önem kazanır. Polimerizasyon da kullanılacak olan çözücü hidrojen bağları ve elektrostatik etkileşimlerin sağlanması amacıyla az polar ya da aprotik olmalıdır. Genellikle sentez için polar olmayan organik çözücülerin kullanıldığı moleküler baskılı polimerler polar organik çözücülerin kullanıldığı moleküler baskılı polimerlerden daha iyi seçiciliğe sahiptir [23,49]

Serbest radikal polimerizasyonunun başlamasını sağlayan moleküller başlatıcı ya da inisyatör olarak adlandırılır. Polimerleşmenin yapılacağı duruma göre örneğin hidrojen bağı oluşumuna dayanan polimerler hazırlanırken çoğunlukla düşük sıcaklıklarda reaksiyonu başlatan UV inisyatörler kullanılır. Ayrıca kalıp molekülün termal ve UV kararlılığı da başlatıcı seçiminde önemlidir [50]. Moleküler baskılamada kullanılan başlıca inisyatörler Tablo 1.9’da verilmiştir.

Tablo 1.9. Moleküler baskılamada kullanılan başlıca inisyatörler

İSİMLENDİRİLMESİ	AÇIK YAPISI
2,2'-azobis(izobutironitril)	
Azobisdimetilvaleronitril	
Dimetilasetal benzil	
Benzoil peroksit	
4,4'-azo(4-siyanovalerik asit)	

İyi bir MIP oluşturulması;

- ✓ Monomer-kalıp oranına,
- ✓ Fonksiyonel monomerin asidik/bazik karakterine,
- ✓ Çözücü seçimine,
- ✓ Polimerizasyon koşuluna,
- ✓ Kalıp molekülün ve polimerin konformasyonuna,
- ✓ Çapraz bağlayıcının oranına bağlıdır.

Fonksiyonel monomer ve kalıp molekül oranı polimerleşme aşamasında dikkat edilmesi gereken en önemli noktadır. Ortamda kalıp molekülün derişiminden fazla monomer derişiminin bulunması spesifik olmayan etkileşimleri artırır ve çok az oranda

monomer, kalıp molekül ile kompleksleşerek uygun bağlanma bölgeleri oluşturur. Uygun fonksiyonel monomer kalıp molekül oranı deneme yoluyla ya da bilgisayar modellemesi ile saptanabilir. Genelde iyi baskılanmış polimerler düşük sıcaklıkta termal ya da fotokimyasal başlatıcıların kullanılması gerçekleşir. Yapılan çalışmalarda polimerizasyon reaksiyon ortamının dış sıcaklığı 80°C iken reaksiyon sıcaklığı 187°C olarak ölçülmüştür [51].

1.5.1. Moleküler baskılanmış polimerlerin uygulama alanları

Moleküler baskılı polimerler analitik, farmakolojik ve biyolojik çalışmalarda moleküle özgü seçici yapılar olarak kullanılmaktadırlar [52]. Moleküler baskılanmış polimerlerin kullanım alanları sıvı kromatografisi, kapiler elektroforez, kapiler elektrokromatografi ve katı faz ekstraksiyon gibi tekniklerde gün geçtikçe artmaktadır [53,54]. Moleküler baskılı polimerlerin diğer bir kullanım alanı ise sensörlerdir, bu yolla amino asitlerin, ilaçların, şeker türevlerinin ayırımı için, organik reaksiyonlarda enzim benzeri olarak ve iyon seçici tabaka olarak kullanılmaktadır [55,56]. Şekil 1.6' da moleküler baskılanmış polimerlerin kullanım alanları kategorize edilmiştir.



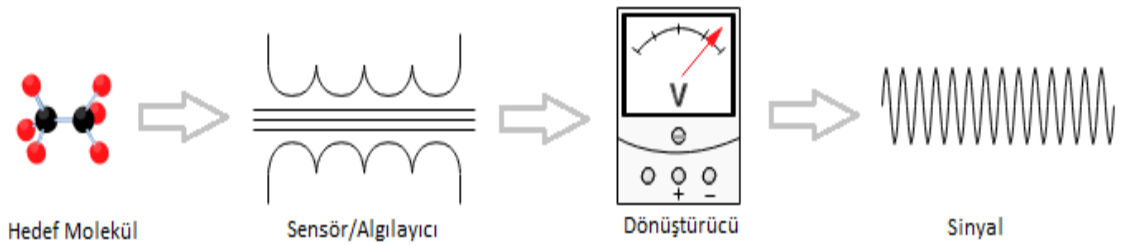
Şekil 1.6. Moleküler baskılanmış polimerlerin kullanım alanları

1.6. Sensörler

Elektronik uygulamalarda algılama işlemini yapan sistem ya da elemanlara sensör denir. Sensörler algılayıcı ya da duyurga olarak da adlandırılabilirler. Sensörler, fiziksel ortam ile elektronik cihazları birbirine bağlayan bir köprü gibi çalışırlar. Sistemdeki sensör veya sensör grupları yapısı hangi değişkene duyarlı ise sistem dışındaki değişkeni algılar ve elde ettiği değerleri sistemin karar verme birimine gönderir. Kısacası fiziksel bir parametreyi uygun sinyale dönüştürürler.

İnsan vücudu da duyu organlarımızda olduğu gibi çeşitli doğal sensörler ile donatılmıştır. Dış dünyadan alınan sinyaller duyu organlarımız (algılayıcı) tarafından algılanır ve beyne iletilir. Beyinde elde edilen veriler sonucu ilgili birime komut gönderilir ve tepki gerçekleşir.

Sensörler enerji kullanımına göre aktif ve pasif olarak ayrılabilirler. Çalışırken çevreden enerji alan sensörler, aktif sensörler olarak adlandırılırken; çevreden enerji almayan sensörler pasif sensörlerdir. Sensörlerin genel çalışma prensibi Şekil 1.7’ de gösterilmiştir.



Şekil 1.7. Sensörlerin genel çalışma prensibi

İdeal bir sensörün sahip olması gereken özellikler:

- ✓ Seçicilik,
- ✓ Tekrarlanabilirlik,
- ✓ Kararlılık,
- ✓ Geniş ölçüm aralığı,
- ✓ Tayin sınırı,
- ✓ Hızlı cevap süresi,
- ✓ Hızlı geriye dönme süresi,
- ✓ Yüksek duyarlılık,

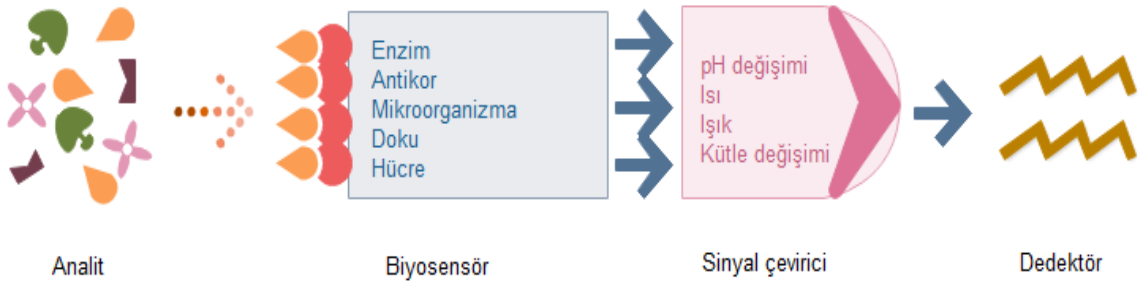
- ✓ Basitlik ve ucuzluk,
- ✓ Kullanım ömrünün uzunluğu,
- ✓ Küçültülebilirlik olarak sıralanabilir.

1.6.1. Kimyasal sensörler

Kimyasal sensörler, analiz edilen bileşene karşı özel hazırlanmış bir numunenin derişiminden yararlanılarak elde edilen kimyasal bilginin analitiksel sinyale dönüştüren sistemler olarak tanımlanabilir. Kimyasal sensörlerin özellikleri aşağıdaki gibi sıralanabilir:

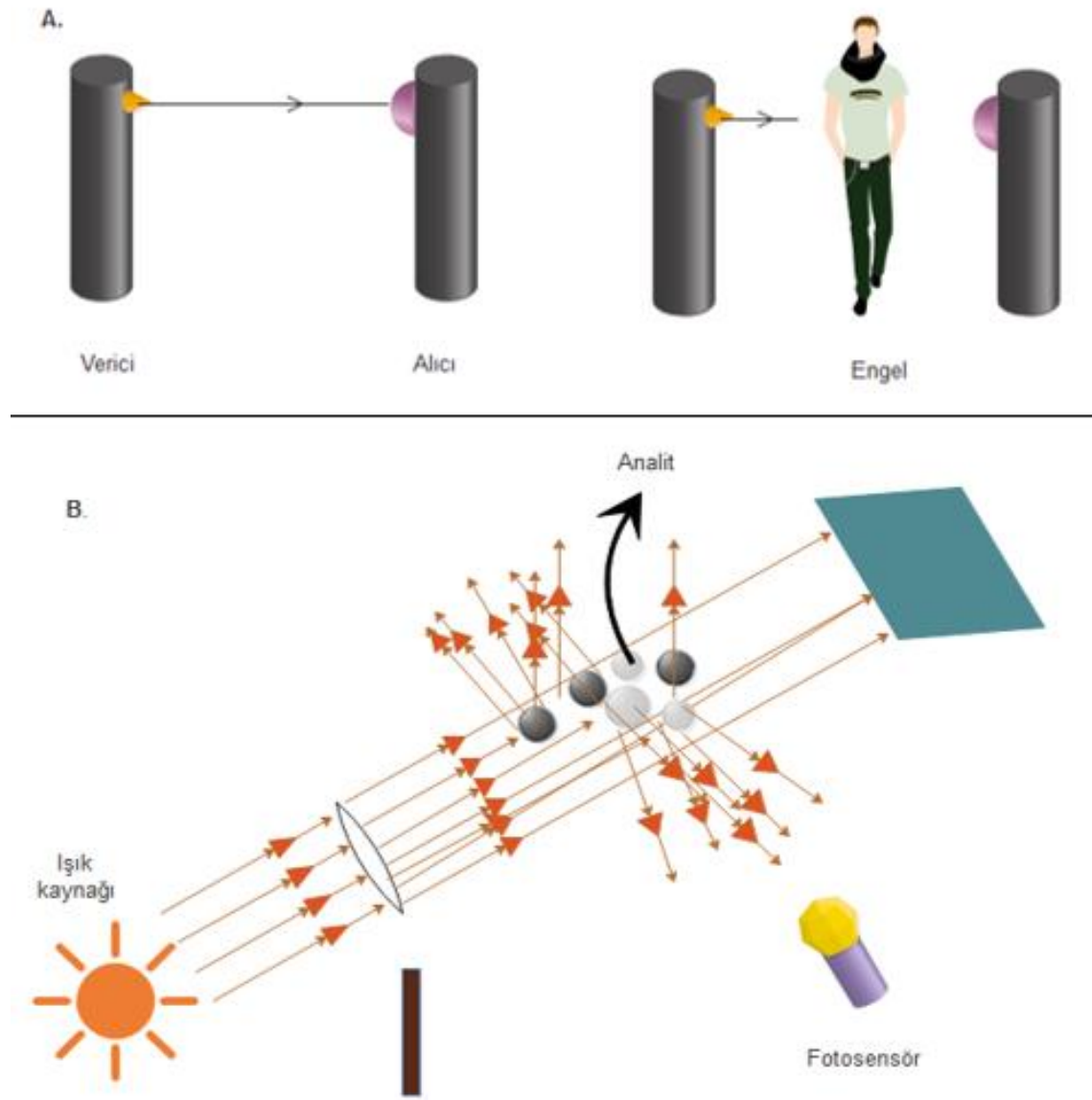
- ✓ Kimyasal sensörde bulunan algılayıcı tabaka, analit ile kimyasal etkileşim halindedir.
- ✓ Ölçüm sonunda algılayıcı tabakanın kimyasal özelliklerinde değişim yoktur.
- ✓ Küçük boyutlara getirilebilirler.
- ✓ Tek bir fiziksel ya da kimyasal ölçüm yapılması zorunluluğu yoktur.
- ✓ Ekonomiktir [57].

Kimyasal sensörlerde algılayıcının özelliğine göre ortam ve algılayıcı arasında bir kimyasal reaksiyon sonucu ya da yalnızca fiziksel değişimlerden yola çıkarak ölçüm yapılması da mümkündür. Fiziksel değişimlerden yararlanarak ölçüm yapılan kimyasal sensörlerde refraktif indeks, absorbands, iletkenlik, sıcaklık ve kütle değişimi ölçülebilmektedir. Algılayıcı tabakada biyolojik bir türün olduğu ve oluşan sinyalin biyokimyasal bir sürece ait olduğu kimyasal sensörler biyokimyasal sensör olarak adlandırılmaktadırlar [58].



Şekil 1.8. Biyosensörlerin çalışma prensibi

Kimyasal sensörler dönüştürücü kısmının çalışma prensibine göre sınıflandırılabilirler. Algılayıcı kısım ile analit arasındaki etkileşim sonucunda optik değişimi anlamlı verilere dönüştüren sensörler mevcuttur. Optik sensörler; analit ile algılayıcının etkileşmesi sonucu oluşan absorpsiyon değişimini, reflektans, luminesans, floresans, kırılma indeksini, ışık absorpsiyonunun neden olduğu optotermal etkiyi ve saçılmayı ölçerler [59]. Optik kimyasal sensörlerin en önemli avantajı bir referansa ihtiyaç duymamasıdır. Optik sensörün çalışma prensibi Şekil 1.9’ da verilmiştir.

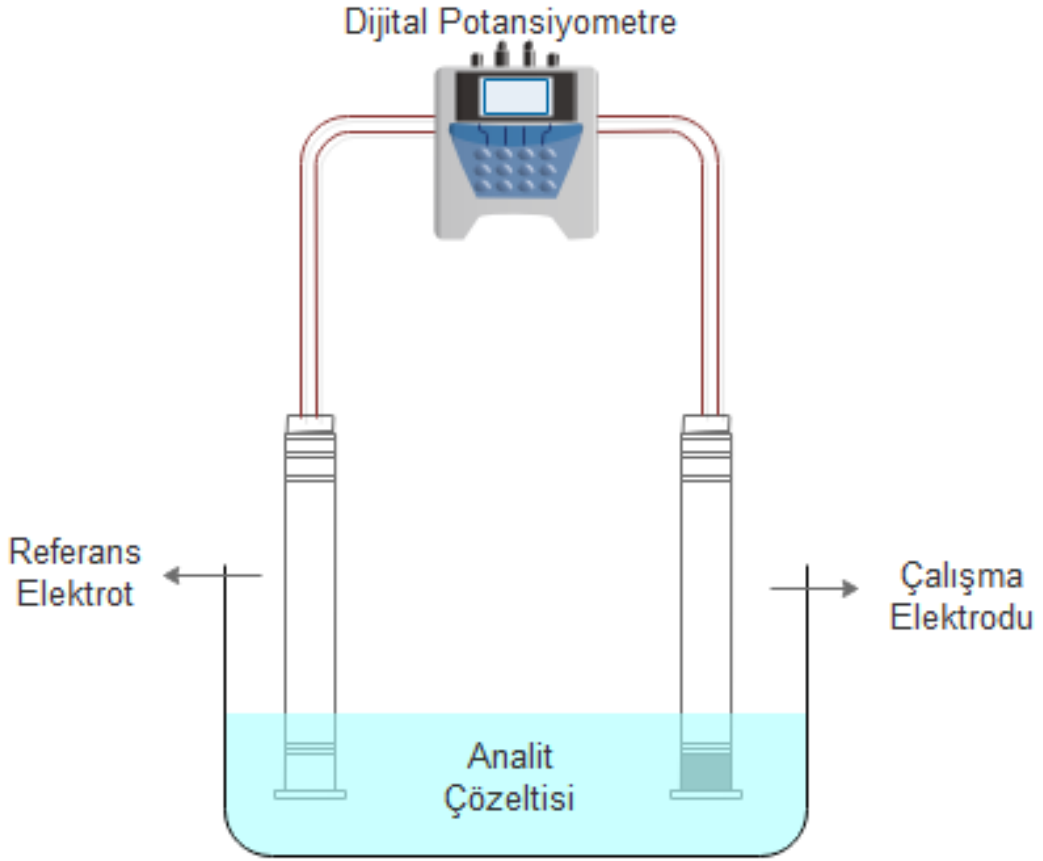


Şekil 1.9. A: Through Beam optik sensör B: Cisimden yansımali optik sensör çalışma prensibi

Kimyasal sensörlerde meydana gelen değişimi doğrudan elektriksel veriye dönüştüren sensörler elektrokimyasal sensörler olarak adlandırılmaktadır. Voltametik

sensörlerde doğru ve alternatif akım ölçümleri yapılmaktadır [59]. Voltametrik sensörler, voltametrik oksijen sensör ve enzim esaslı voltametrik sensörler olarak ikiye ayrılırlar. Elektrot yüzeyinde oluşan bir indirgenme/yükseltgenmeden meydana gelen akımın ölçülmesi ve elektrokimyasal hücreye bir potansiyelin uygulanmasına dayanan ölçüm yöntemi amperometrik sensörler tarafından yapılmaktadır. Elektrolit çözeltilerin elektrik akımını iletmeleri üzerine kurulmuş metotlarla oluşturulan sensörler kondüktometrik sensörler olarak adlandırılmaktadır. Referans elektroda göre çalışma elektrodundaki potansiyel değişimin ölçüldüğü yöntem potansiyometrik sensörler ile gerçekleştirilmektedir ve elektrotun daldırıldığı çözeltide bulunan analit iyonlarının elektrot yüzeyinde potansiyel oluşturması ilkesine dayanmaktadır. Gravimetrik sensörler, sensör yüzeyindeki nanogram seviyesindeki kütle değişimini ölçebilen son derece hassas kütle sensörleridir. Kütle duyarlı bu sensörlerin çalışma prensibi asimetrik kristallerin sahip olduğu piezoelektrik etkiye dayanmaktadır.

Akımın çok az geçtiği ya da hiç geçmediği sistemlerde indikatör elektrodun referans elektroda karşı gösterdiği, derişime bağılı olarak değişen potansiyelin ölçüldüğü yöntem potansiyometri olarak adlandırılmaktadır. Potansiyometrik ölçüm yapan sistemler genel olarak referans elektrot, indikatör elektrot ve potansiyel ölçme cihazı olmak üzere üç kısımdan oluşur. Şekil 1.10' da basit bir potansiyometrik sistem gösterilmektedir.



Şekil 1.10. Potansiyometrik sistem

Sistemde, analit çözeltisine daldırılan indikatör elektrodun mevcut iyon ya da iyonların derişim değişimine bağlı olarak referans elektroda karşı gösterdiği potansiyelin değişimi ölçülür. Ölçülen bu potansiyel değişimi ile iyonların derişimi tayin edilebilir [60]. Potansiyometrik sistemlerde potansiyel ölçümü için potansiyometre dışında pH metre de kullanılabilir. Kullanılacak olan devre sisteminin direnci yüksek olduğunda pH metre tercih edilmektedir.

1.6.2. Kütle duyarlı sensörler

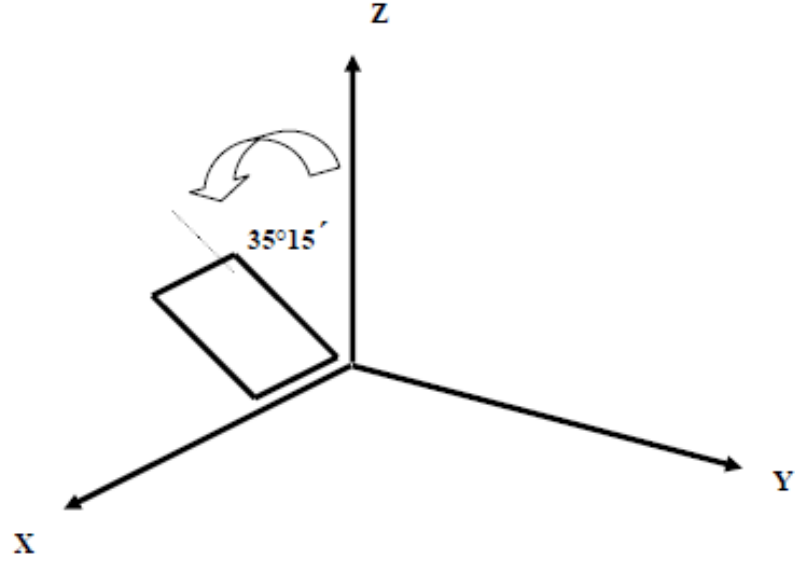
Kütle duyarlı sensörler, sensör yüzeyinde meydana gelen çok düşük düzeylerdeki kütle değişimlerini ölçebilen son derece hassas yüzey sensörleridir. Mikrogravimetrik sensörler olarak da isimlendirilmektedirler. Kütle duyarlı bu sensörlerin çalışma prensibinin temeli genel olarak asimetrik kristallerin sahip oldukları “piezoelektrik etki” özelliğine dayanmaktadır [61].

1.6.2.1. Piezoelektrik etki

Piezoelektrik etki, ilk kez Paul Jaques Curie ve Pierre Curie tarafından 1880 yılında keşfedilmiştir. Latince’ de ‘bastırmak-press’ anlamına gelen ‘piezo’ ön ekinden türetilen ‘piezoelektrik’ kavramı, üzerine mekanik bir basınç uygulanan bazı malzemelerde bir elektriksel gerilim oluşması olarak açıklanabilir [62]. Piezoelektrik etki, asimetrik bir kristalin elektrik potansiyeli uygulanmasıyla deforme olmasıdır ve bu özellik oldukça duyarlı kütle sensörlerinin yapılmasında kullanılır. Bu özelliğe sahip bir kristal uygun bir elektrik devresine bağlandığında kristalin kütesine ve şekline bağlı olan sabit bir frekansta titreşim yapar [63].

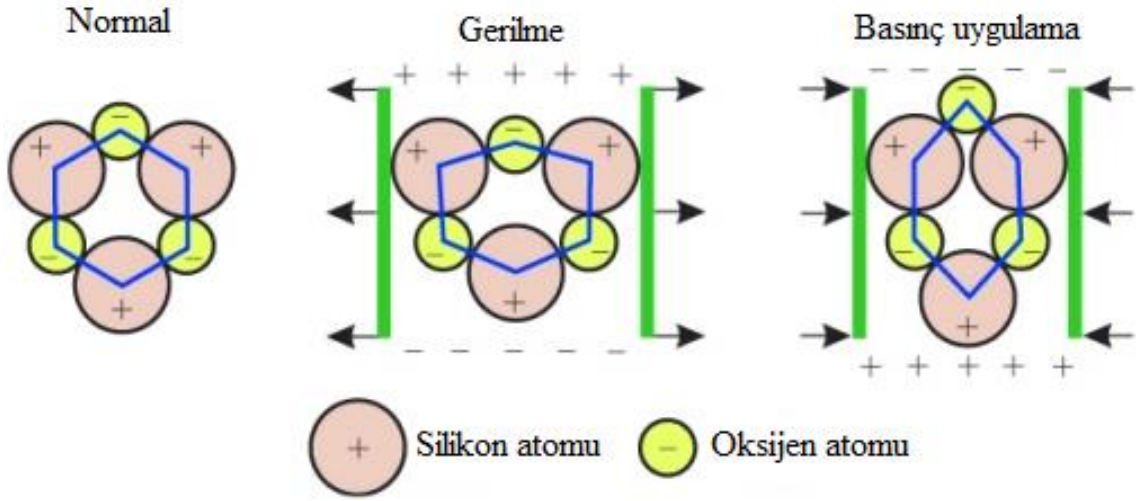
Farklı türlerdeki kristaller piezoelektrik özellik gösterebilirler ancak analitik uygulamalarda elektriksel, fiziksel ve kimyasal ve özellikleri nedeni ile kuvars kristaller tercih edilmektedir. Kuvars elektrotlar hazırlanırken, kuvars çok ince kesilir ve iki yüzüne termal buharlaştırma yöntemi kullanılarak altın, gümüş, nikel, alüminyum, platin gibi metaller kaplanır. Çoğunlukla inert olan altın elektrotlar tercih edilir. Kristalin çalışma frekans aralığı, kuvars yüzeyine kaplanan metal miktarı ile ayarlanmaktadır. Piezoelektrik uygulamalarında kullanılan kristaller; 10-16 mm boyutlarında, yaklaşık 0.15 mm kalınlığında, disk, kare ya da dikdörtgen şeklinde olabilmektedir [64].

Kristalin doğal titreşim frekansı, kimyasal doğasına, şekline, kesimine, boyutuna ve kütesine bağlı olarak değişmektedir [65]. Kuvars kristallerin sensör uygulamalarında kullanılmaları için Y- kesme ailesine bağlı AT- kesim ve BT- kesim kristaller kullanılmaktadır. AT kesim kuvars tabaka z ekseninden $+35^{\circ}15'$ açıyla, BT kesim ise z ekseninden $-49^{\circ}00'$ açıyla kesilmiştir [66]. AT-kesim kristallerde sıcaklık katsayısı, kesme şeklinden dolayı 10-50°C aralığında 1 ppm/°C civarında sıfıra yakın olup kristalin geniş bir frekans aralığında rezonans frekansının kararlı kalmasını sağlamaktadır. AT-kesim kuvars kristal düzlemi Şekil 1.11’de gösterilmiştir.



Şekil 1.11. *AT-kesim kuvars kristal düzlemi*

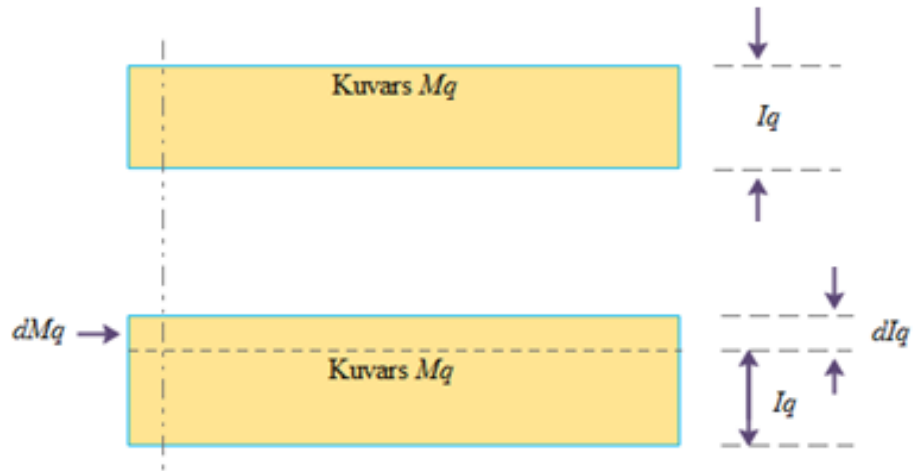
Kuvars kristali ilk olarak 1823 yılında Jöns Jakob tarafından keşfedilmiştir ve yapısında silikon ve oksijen atomları bulunmaktadır. Kimyasal formülü SiO_2 'dir. Kuvars kristali üç boyutlu simetrik bir eksene sahiptir ve merkezi bir simetriye sahip değildir. Bundan dolayı oksijen ve silikon atomları hareket edebilirler. Bu özelliği sayesinde kuvars kristali bir gerilmeye tabii tutulduğunda elektriksel polarizasyona uğramaktadır. Kuvars kristalleri, diğer piezoelektrik etki gösteren malzemeler gibi kendine özgü bir titreşim frekansına sahiptir [67]. Kuvars kristal üzerindeki piezoelektrik etki Şekil 1.12' de verilmiştir.



Şekil 1.12. Kuvars kristali üzerindeki piezoelektrik etki

1.6.2.2. Sauerbrey eşitliği

Piezoelektrik etkiden yararlanarak kütle ölçümü için bağıl boşluk ve rezonans frekans ile kütle artışı arasındaki nicel ilişkinin geliştirilmesi gerekmektedir. Önceleri bu ilişki sadece nitel olarak açıklanabilmekte iken 1959 yılında Sauerbrey kuvars kristal bir rezonatörün frekans boşluğunun eklenen kütle ile orantılı olduğunu göstermiştir. Sauerbrey'in bu buluşu ile çok küçük kütledeki numunelerin ölçülmesinin önü açılmıştır. Kuvars plakadaki kütle artışı rezonans frekansının düşmesine neden olmaktadır [23].



Şekil 1.13. Kuvars kristal mikroterazinin basitleştirilmiş gösterimi

Şekil.1.13'de M_q kütle ve l_q kalınlığa sahip bir kuvars kristalin çalışma şekli basit olarak gösterilmiştir. Kuvars kristal levhasının salınım yapması için rezonans frekansı şu şekilde tanımlanmaktadır [67]:

$$f_q = \frac{V_q}{\lambda_q} = \frac{V_q}{2l_q} \quad (1.1)$$

Eşitlik (1.1)'de verilen f_q rezonans frekansını, V_q dalga hızının kırılmasını, λ_q dalga boyunu gösterir ve değeri $2l_q$ 'ya eşittir. Kristalin kalınlığındaki küçük bir değişim (dl_q), titreşim frekansında kaymaya (df_q) neden olmaktadır.

$$\frac{df_q}{f_q} = -\frac{dl_q}{l_q} \quad (1.2)$$

M_q kütleli kuvars kristal için dM_q kütle değişimi aşağıdaki eşitlikle verilir.

$$\frac{df_q}{f_q} = -\frac{dM_q}{M_q} \quad (1.3)$$

Eşitlik (1.2) ve (1.3)'ün birleştirilmesiyle eşitlik (1.4) elde edilir.

$$\Delta f_q = -\left(\frac{2f_q^2}{\rho_q}\right) \frac{\Delta M_q}{A} \quad (1.4)$$

Eşitlik (1.4)'de geçen Δf_q frekans değişimini, f_q değişiklikten önceki rezonatörün rezonans frekansını, ΔM_q kütle değişimini, A osilasyon altındaki kuvars düzlemin alanını, ρ_q kuvarsın yoğunluğunu göstermektedir.

Pek çok madde gibi kuvars kristaller de sıcaklık değişiminden önemli ölçüde etkilenmektedir. Sıcaklığın değişmesiyle birlikte kristale ait fiziksel sabitlerde değişiklikler meydana gelmektedir. Farklı tekniklerle üretilen ve farklı kesit alanlarına sahip piezoelektrik kristallerin sıcaklık değişimine karşı gösterdikleri tepkiler de birbirinden farklıdır [68]. Bu sayede kendine özgü sıcaklık özelliklerine sahip pek çok kuvars kristal rezonans cihazı geliştirmek mümkün olmaktadır [69-71].

Sıcaklığın değişmesiyle birlikte değişen rezonans frekansının kristallografik yönlenmeye bağlı olduğu ortaya koyulmuştur. AT-kesimli kuvars kristale ait rezonans frekansının oda sıcaklığında sıcaklık değişimlerine duyarlılığı daha azdır. Tablo 1.10'da AT-kesimli kuvars kristale ait frekans kaymasının sıcaklık değişimine bağlılığı verilmiştir [67].

Tablo 1.10. Sıcaklık değişimiyle AT-kesim kuvars kristaldeki frekans kayması

T (°C)	$\Delta f/f$ (ppm)
20	0
30	0
60	4
80	18
100	45

1.6.2.3. Kuvars kristal mikroterazi

Kuvars kristal mikroterazi (QCM) piezoelektrik kristal olarak kuvarsın kullanıldığı, kütle değişimlerini elektrik sinyaline dönüştürebilen bir sistemdir. Hassasiyeti oldukça yüksektir ve frekansın çıkış sinyaline dönüşümü kolaydır. Kullanımı 18. yüzyılın başlarına dayanan bu yöntem elektrokimyasal bir işlem esnasında meydana gelen kütle değişimlerini rezonans frekansında kaymaya dönüştürürler. Başlangıçta kalitatif tayinler için kullanılan QCM, Sauerbrey (1959) eşitliğinin oluşturulmasından sonra kantitatif tayinler için de kullanılmaya başlanmıştır. QCM'in en önemli özelliği çalışmalarda bir elektrokimyasal tepkime boyunca yüksek kütle hassasiyeti göstermesidir [23,41].

QCM'de kullanılan kuvars kristallerin kesit alanları değiştirilerek farklı kayma modlarında cihazlar elde edilir. En yaygın kullanılan kesit, AT-kesim metodu ile elde edilen kuvars kristalidir. AT-kesim kuvars, kristalin Z-ekseninde 35°'lik açıyla kesilmesi ile elde edilir. QCM cihazı; kuvars elektrot, osilatör ve frekans sayıcı parçalarından oluşmaktadır. QCM üzerine alternatif, yüksek akımlı bir elektrik alan uygulandığında, rezonans modunda salınım yapar. Sistemde oluşan kütle değişimine karşı hassasiyet kristalin toplam kütlesi üzerinde meydana gelen osilasyon frekansına bağlı olarak ortaya çıkar. QCM üzerinde bir elektronik devreye bağlı olan rezonatör (genellikle kuvars kristal) numune çözeltisi ile temas ettiğinde titreşim frekansında kütle değişiminden kaynaklanan bir değişim meydana gelir. Kütle değişiminin neden olduğu frekans değişikliği Sauerbrey eşitliği yardımıyla belirlenmektedir.

QCM cihazında biri referans diğeri örnek olmak üzere iki adet kuvars kristal bulunmaktadır. Sisteme elektrik akımı uygulandığında kristaller yaklaşık 15 MHz'lik (kristal sıcaklığına bağlı olarak) rezonans frekansına ulaşırlar. Referans elektrot ile

örnek elektrot arasında yaklaşık olarak 1 kHz'lik frekans farkı vardır. Kullanılan kristaller optik olarak parlatılmış ve elektrik iletkenliğinin sağlanabilmesi için metal ile kaplanmıştır. Kaplama da yaygın olarak kullanılan metaller altın ve gümüştür. Örnek kristali numune çözeltisi ile etkileştiğinde elektrot yüzeyinde analit birikimine bağlı olarak rezonans frekansında değişim oluşmaktadır. Sauerbrey eşitliğinin kullanılmasıyla frekans değişimi kütle değişimine dönüştürülür.

QCM yönteminde elektrotun yüzeyi analite özgü tanıma tabakasıyla ince bir film halinde kaplanır. Bu şekilde kaplanan elektrodun yüzeyinde biriken analitin meydana getirdiği kütle artışından yararlanılarak analiz yapılır. QCM'de kullanılan kuvars kristal elektrot Şekil 1.14'te gösterilmiştir.



Şekil 1.14. Kuvars kristal elektrot

QCM'in ilk uygulamalarında elektrot yüzeyine seçici olmayan bağlanmaların oluşturduğu kütlelerin algılanmasına yönelik çalışmalar vardı. İlerleyen yıllarda hedef molekülün elektrot yüzeyine bağlanması veya adsorpsiyonu amacıyla elektrot yüzeyi algılayıcı malzemelerle kaplanmaya başlanmıştır. Bu şekilde sistem kimyasal bir sensör olarak kullanım alanı bulmuştur. Örneğin modifiye metal yüzeylerinde, gaz sensörü olarak, antijen-antibadi etkileşimleri ile spesifik molekül tayinlerinde kullanımı popülerleşmiştir. QCM ile kütle ölçümü dışında da çalışmalar yapılabilmektedir. Sıvı örneklerle yapılan çalışmalarda sıvının yoğunluğu ve viskozitesi kristalin rezonant davranışını etkileyeceğinden yoğunluk, elastikiyet ve viskozite gibi ölçümlerde de kullanılabilirler [42,72]

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Baskılanmış polimer sentezinde; tetrahidrokannabinolik asit (THCA) Redoks Kimya firmasından, n-hekzadekan, etilen glikol dimetakrilat (EDMA) ve metanol MERCK firmasından, metakrilik asit (MAA) %99 ALDRICH (St. Louis, USA) firmasından, 2,2'-Azoizobütironitril FLUKA firmasından, sodyum n-dodesil sülfat (SDS) %99 ALFA AESER firmasından, tetrahidrofuran (THF) VWR International firmasından, polivinilklorür (PVC) ve izopropanol SIGMA (St. Louis, USA) firmasından temin edilmiştir.

Karakterizasyon çalışmalarında; potasyum bromür (KBr) ve asetonitril SIGMA (St. Louis, USA) firmasından, formik asit %99 FLUKA firmasından temin edilmiştir.

Saf su Thermo Scientific Barnstead™ Smart2Pure™ saf su cihazından temin edilmiş olup iletkenliği 18 megaohmcm-1'dir.

2.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

Bu çalışmada baskılanmış polimer sentezinde Bandelin Sonorex marka sonikatör ve Bandelin Sonoplus marka homojenizatör kullanılmıştır. Elde edilen MIP morfolojisi Carl Zeiss marka SEM cihazı ile incelenmiştir. Karakterizasyon çalışmalarında Shimadzu 8000 model FT-IR, Malvern Instruments Nano ZS zetasizer, Shimadzu 3150 model UV kullanılmıştır. QCM ölçümleri; Maxtek RQCM kristal analizörü ile gerçekleştirilmiştir.

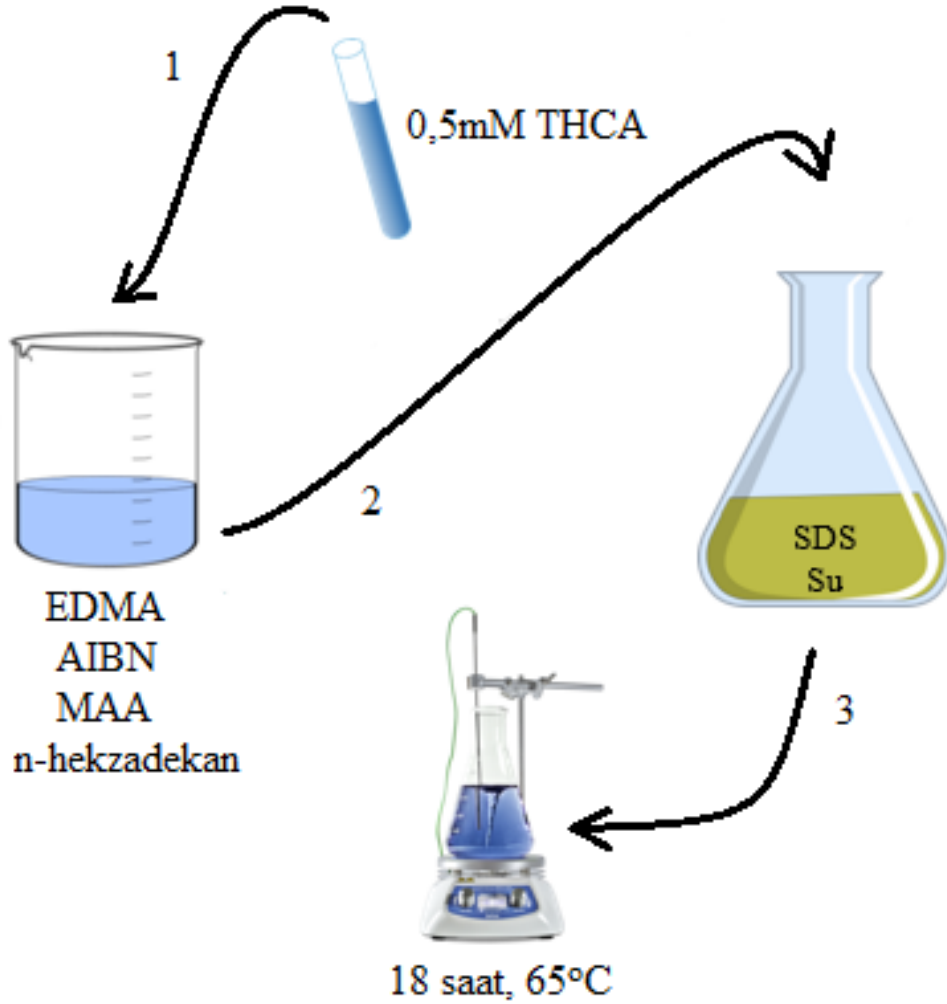
2.3. THCA Baskılanmış Polimer Hazırlanması (MIP)

Baskılanmış polimer sentezinde hedef molekül olarak THCA kullanılmıştır. Organik faz olarak THCA (0,5 mM 500 ul), metakrilik asit (1,72 mmol), etilen glikol dimetakrilat (6,9 mmol), n-hekzadekan (40 ul) ve 2,2'-Azoizobütironitril (15 mg)'den oluşan bir karışım hazırlanarak 5 dk karıştırılmıştır.

Sodyum n-dodesil sülfatın (19,25 mg) saf su (9 ml) içerisinde çözünmesiyle su fazı hazırlanmıştır. Su fazı homojenizatörde karışırken, organik faz yavaşça su fazına eklenmiştir ve 1 dk boyunca homojenizatörde bekletilmiştir.

Elde edilen çözelti polimerleşme reaksiyonu için 65° C sıcaklıkta 18 saat boyunca karıştırılmıştır. 18 saatin sonunda çözelti santrifüjlenerek THCA baskılanmış polimer

ortamdan alınmıştır. Baskılanmış polimer her biri 3'er kez olmak koşulu ile saf su, metanol:asetik asit (4:1) ve metanol ile yıkanmıştır. Yıkama işlemi tamamlanan polimerler kurumaya bırakılmıştır. Şekil 2.1' de THCA baskılanmış polimer sentezi gösterilmektedir.



Şekil 2.1. THCA baskılanmış polimer sentezi

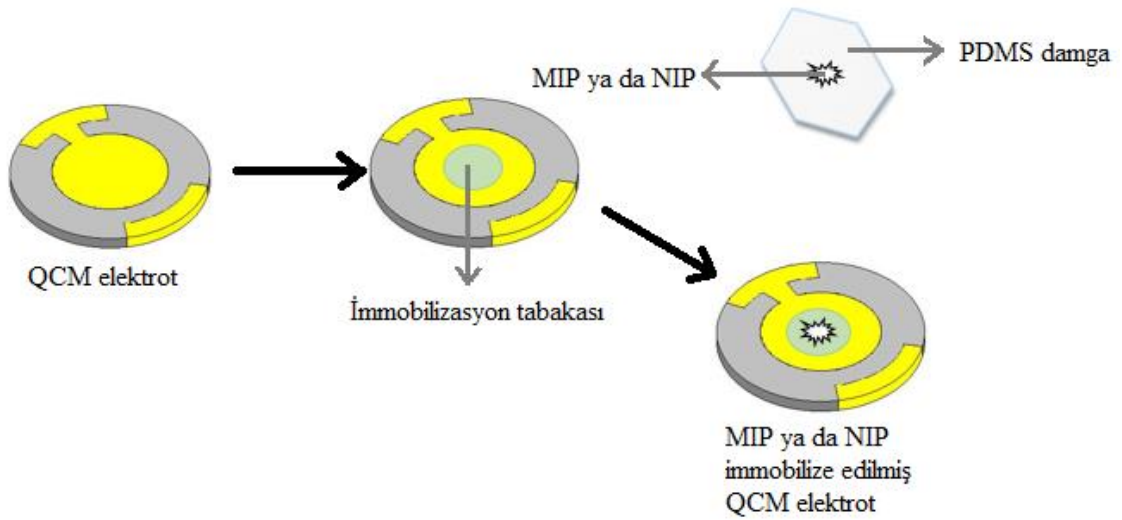
2.4. Baskılanmamış Polimer Hazırlanması (NIP)

Baskılanmamış polimer sentezinde hedef molekül kullanılmaksızın organik faz olarak metakrilik asit (1,72 mmol), etilen glikol dimetakrilat (6,9 mmol), n-hekzadekan (40 ul) ve 2,2'-Azoizobütironitril (15 mg)'den oluşan bir karışım hazırlanarak 5 dk karıştırılmıştır. Sodyum n-dodesil sülfatın (19,25 mg) saf su (9 ml) içerisinde çözünmesiyle su fazı hazırlanmıştır. Su fazı homojenizatörde karışırken, organik faz yavaşça su fazına eklenmiştir ve 1 dk boyunca homojenizatörde bekletilmiştir. Elde edilen çözelti polimerleşme reaksiyonu için 65° C sıcaklıkta 18 saat boyunca

karıştırılmıştır. 18 saatin sonunda çözelti santrifüjlenerek baskılanmamış polimer ortamdan alınmıştır. Baskılanmamış polimer her biri 3'er kez olmak koşulu ile saf su, metanol:asetik asit (4:1) ve metanol ile yıkanmıştır. Yıkama işlemi tamamlanan polimerler kurumaya bırakılmıştır.

2.5. QCM Sensörün Hazırlanması

Sensör ölçümleri için QCM elektrotlar tetrahidrofur (THF) içinde çözülmüş % 0,7 polivinilklorür (PVC) çözeltisi spincoater yardımı ile kaplanmıştır. Bu katman MIP ve NIP partikülleri için immobilizasyon tabakasını oluşturmaktadır. Bu partiküller bir polidimetilsiloksan (PDMS) damgası kullanılarak polimer tabakasına yapıştırılmıştır. Damgalama işleminden sonra kuvars kristaller 10 dk 120° C'de bekletilmiştir ve böylelikle MIP ve NIP partikülleri kısmen PVC içine gömülmüştür. Oda sıcaklığına soğutma işleminden sonra yüzeyde bulunan aşırı MIP ve NIP partiküllerinin uzaklaştırılması amacıyla kuvars kristaller izopropanol ile yıkanmıştır ve azot gazı ile kurutulmuştur. Şekil 2.2' de QCM sensörün hazırlanması gösterilmiştir.



Şekil 2.2. QCM sensörün hazırlanması

2.6. THCA Baskılanmış MIP QCM Elektrot İle Sensör Ölçümleri

THCA baskılanmış MIP immobilize edilmiş QCM elektrotlar oda sıcaklığında kararlı hale getirilmiş ve sabit rezonans frekansı (F_0) belirlenmiştir. Daha sonra metanol içindeki THCA'nın standart çözeltileri QCM elektrotta damlatılmış ve 1 saat boyunca etkileştirilmiştir. Sensörün frekansı kararlı hale gelene kadar (F_1) izlenmiştir. THCA'nın

her bir derişimi için frekans kayması $\Delta F = F_1 - F_0$ eşitliğinden hesaplanmıştır. Her bir ölçüm sonunda ortamdaki THCA çözeltisi uzaklaştırılıp 30 dk boyunca elektrot kurutulmuştur. Sensör frekansı her defasında yaklaşık F_0 değerinde ölçülmüştür.

2.7. Karakterizasyon Çalışmaları

2.7.1. FT-IR analizi

Sentezlenen THCA baskılanmış MIP partikülleri 100° C' de kurutulmuştur. MIP oranı %10 olacak şekilde tartım işlemi yapılarak KBr ile pellet hazırlanmış ve ölçüm alınmıştır.

2.7.2. Yüzey morfolojisi analizi

Sentezlenen THCA baskılanmış MIP partiküllerinin ve baskılanmamış partiküllerin yüzey morfolojisi SEM cihazı (Zeiss Ultra Plus) kullanılarak belirlenmiştir. Baskılanmış polimerden alınan numuneler analiz edilmeden önce oda sıcaklığında kurutulmuştur. Kuru partiküller örnek haznesine yerleştirilmiş ve vakum altında yaklaşık 100 Å kalınlığında altın ile kaplanmış ve sonra SEM ile 10 kV hızlandırma geriliminde ve farklı büyütme oranlarında görüntüleri alınmıştır.

2.7.3. Spektrofotometrik Analiz

Hazırlanan THCA baskılanmış MIP'in THCA'yı tutup tutmadığını incelemek için 25 ppm'lik THCA (metanol içinde) çözeltisi hazırlanmıştır. Baskılanmış polimer ile karıştırma öncesi ve 1 gece boyunca karıştırma sonrası UV spektrumları alınmıştır.

2.7.4. ZetaSizer analizi

THCA baskılanmış MIP karakterizasyonu için çok seyreltik bir süspansiyon oluşturulmuştur. Mikrogram seviyesindeki MIP 10 ml su içerisinde 1 saat boyunca sonikatörde dispers edilip boyut analizi yapılmıştır.

2.8. QCM İle Yapılan Analitik Ölçümler

2.8.1. THCA baskılanmış polimer ile QCM ölçümleri

Altın kuvars kristaller üzerine THCA baskılanmış polimerin immobilizasyonu için THF ve PVC'den oluşan çözelti kullanılmıştır ve polimer PDMS yardımı ile damgalama yöntemi kullanılarak kuvars kristale sabitlenerek baskılı polimerinin THCA seçiciliği incelenmiştir. Hedef molekülün polimere bağlanması kristalin frekansına yansıyan kütlede bir değişime (Δm) neden olmaktadır. Δm ve frekans kayması (ΔF_0) arasındaki ilişki aşağıda verilen Sauerbrey Eşitliği ile ifade edilir.

$$\Delta F = - \frac{2F_0^2 \Delta m}{A\sqrt{\rho\mu}} \quad (2.1)$$

Bu eşitlikte;

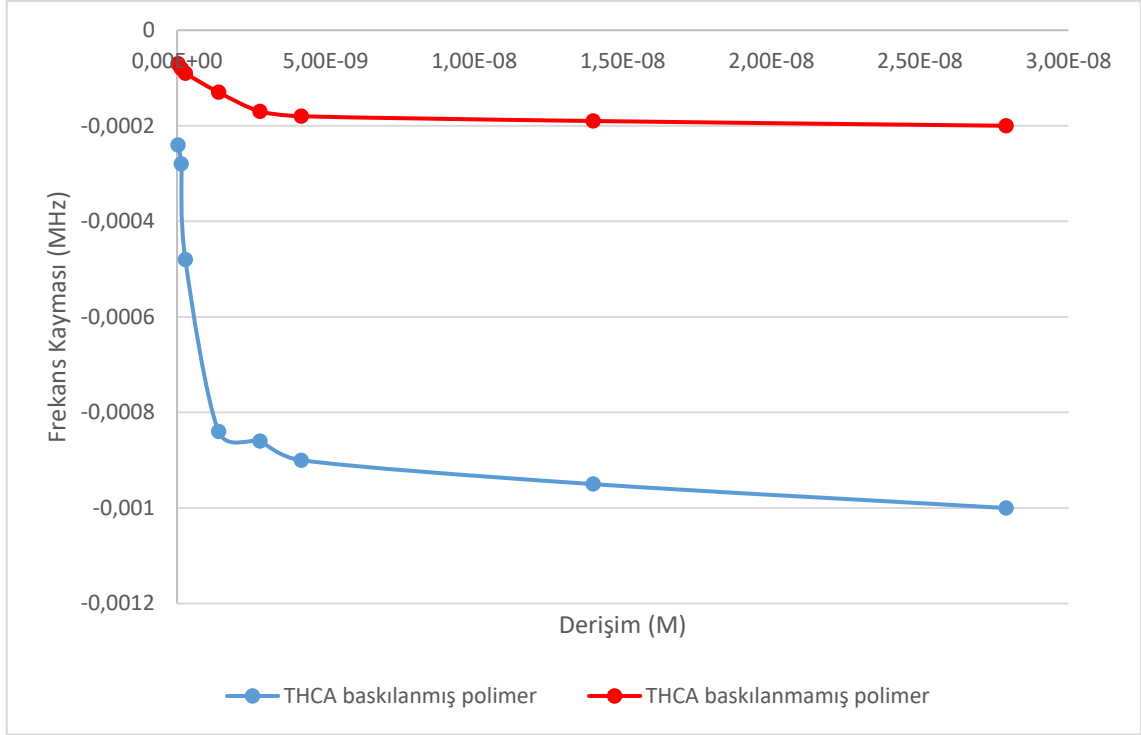
F_0 : temel frekans

A : piezoelektriksel yüzey alanı

ρ : Kuvars yoğunluğu

μ : Kuvars kayma modülünü ifade etmektedir.

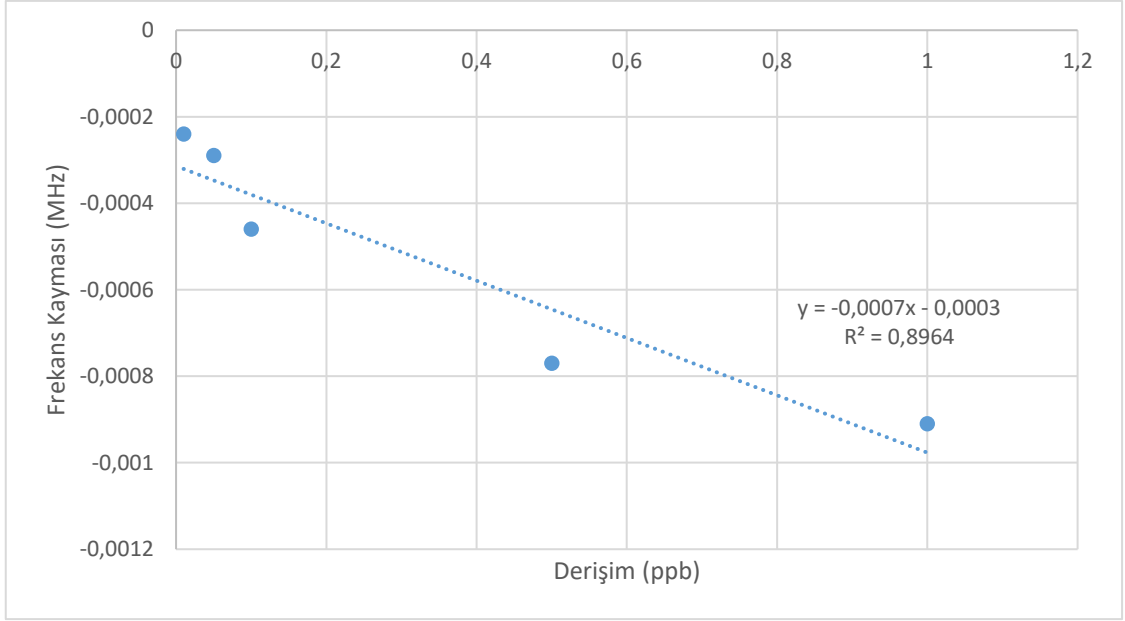
Metanol içinde baskılı polimer kaplı sensörün frekansı kararlı hale geldiği zaman THCA çözeltisi dedektör hücresinin üzerine damlatılmıştır. THCA çözeltisi ilave edildikten sonra sensörün frekansı azalmıştır ve 1 saat içinde sabit bir değere ulaşmıştır. Bu frekans değişimleri kuvars kristal üzerindeki baskılanmış polimere THCA moleküllerinin tutunduğunu göstermiştir. Bunun yanı sıra baskılanmamış polimere THCA bağlanmasının çok daha zayıf olduğu gözlenmiştir. THCA baskılanmış ve baskılanmamış polimerin kullanılmasıyla elde edilen QCM sensör verileri Şekil 2.3'te verilmiştir.



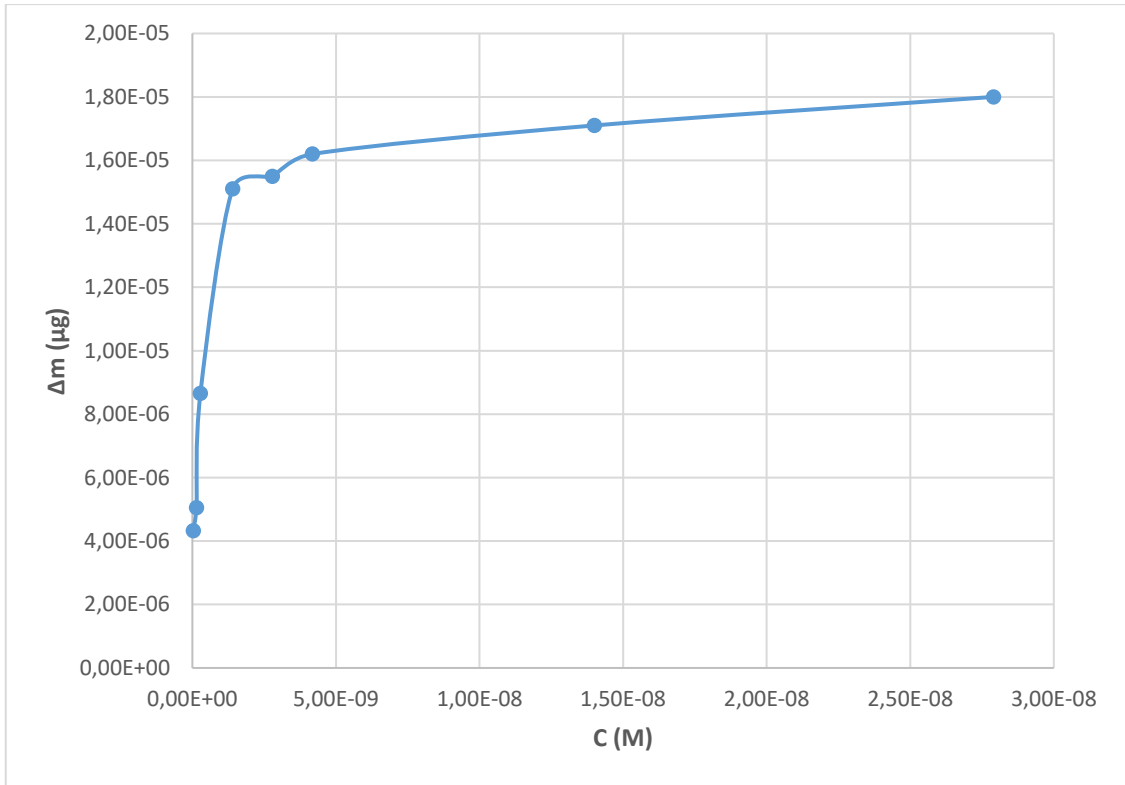
Şekil 2.3. THCA baskılanmış ve baskılanmamış sensörün frekans değerleri

2.8.2. THCA baskılanmış polimer ile hazırlanan QCM elektrodun analitik performansı

Şekil 2.4'te THCA baskılı kuvars kristalin THCA derişim değerlerine karşı frekans kayması değerlerinden elde edilen kalibrasyon grafiği görölmektedir. THCA'nın 0,01 ve 0,5 ppb derişim aralığında doğrusal bir grafik elde edilmiştir ve THCA baskılı kuvars kristalin tespit edebildiği gözlenebilme sınırı $6,58 \times 10^{-12}$ M, tayin sınırı $1,99 \times 10^{-11}$ M olarak hesaplanmıştır. THCA derişimi arttıkça frekans değerlerinin de azaldığı görölmüştür ve elde edilen doğru eğimi $0,7 \text{ Hz} \cdot \text{mmol}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Deneyler en az üç kez tekrar edilmiştir. Her bir veri seti için ortalama değerler ve standart sapmayı hesaplamak üzere standart istatistiksel yöntemler uygulanmıştır. Güven aralığı %95 tutulmuştur.



Şekil 2.4. THCA baskılanmış polimer ile hazırlanan sensör için kalibrasyon grafiği



Şekil 2.5. QCM sensör üzerine adsorplanan THCA miktarının THCA derişimine karşı değişim grafiği

2.8.3. QCM elektrot ile THCA arasındaki bağlanma etkinliği

Elektrot yüzeyi ile THCA arasındaki bağlanma etkinliğinin incelenebilmesi için adsorpsiyon izotermelerinden yararlanılmıştır. Langmuir adsorpsiyon izoterminin çizilebilmesi için yararlanılan denklem aşağıdaki şekildedir.

$$\Delta m = \frac{\Delta m_{max} \times C}{K_L} + C \quad (2.2)$$

Bu eşitlikte;

K_L : Langmuir bağlanma sabiti

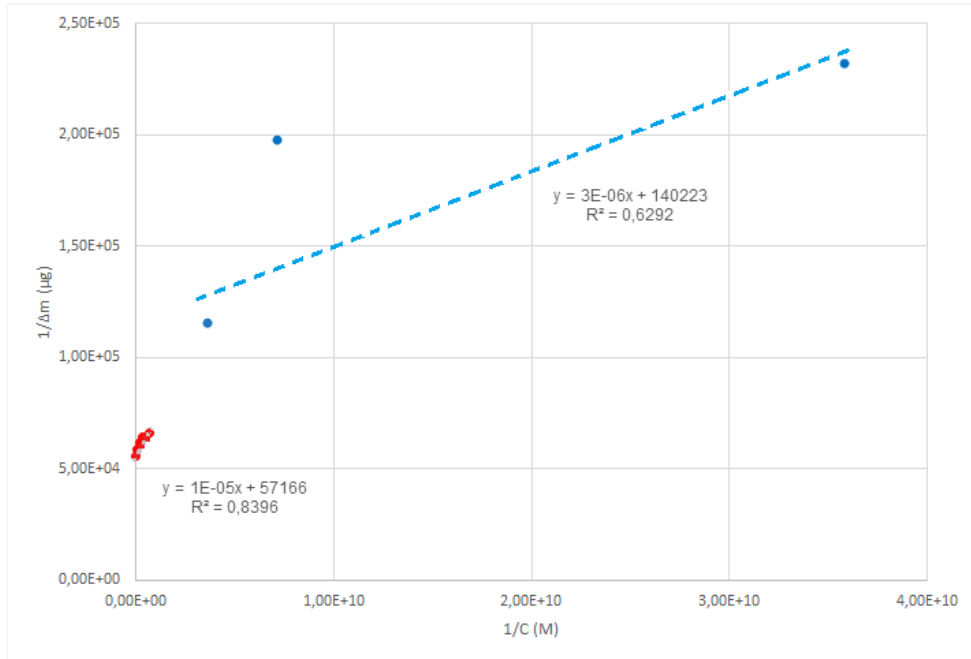
Δm : Elektrot yüzeyinde değişen kütle miktarı

Δm_{max} : Elektrot yüzeyindeki maksimum kütle artışı

C : THCA çözeltisinin derişimi

K_L değerini hesaplamak için $1/\Delta m(\mu g)$ değerine karşı $1/C (M^{-1})$ grafiğe geçirilmiştir.

Bunun sonucunda elde edilen grafik Şekil 2.6'da gösterilmiştir.



Şekil 2.6. THCA baskılanmış MIP için Langmuir adsorpsiyon izotermi

Grafiğin çizilmesiyle elde edilen denklemden yararlanarak K_L değeri, $5,7 \times 10^9 M$ ve Δm_{max} değeri $1,75 \times 10^{-5} \mu g$ olarak bulunmuştur. Bulunan K_L değeri bağlanma bölgelerinin hedef molekül olan THCA'ya yüksek afinite gösterdiğini belirtmektedir.

Freundlich adsorpsiyon izoterminin çizilebilmesi için yararlanılan denklem aşağıdaki şekildedir.

$$\ln \Delta m = \frac{1}{n} \ln C + \ln K_F \quad (2.3)$$

Bu eşitlikte;

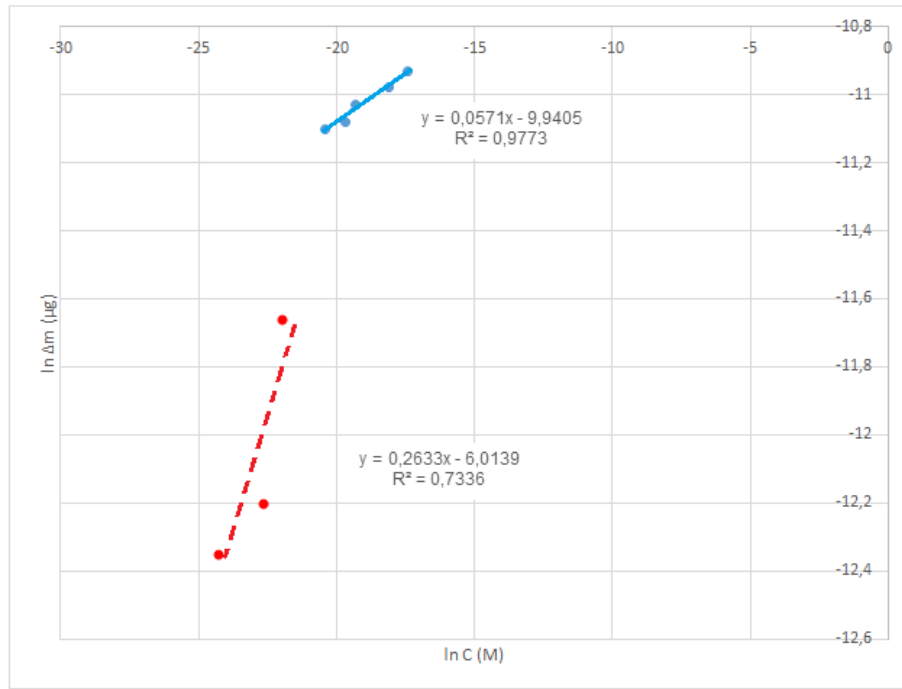
K_F : Freundlich sabiti

C : THCA çözeltisinin derişimi

n : Adsorpsiyon kuvvetinin büyüklüğü ve adsorban alanı enerji dağılımı

Δm : Elektrotta gerçekleşen kütle artışı

Freundlich adsorpsiyon izotermi Şekil 2.7'de verildiği gibidir.



Şekil 2.7. THCA baskılanmış MIP için Freundlich adsorpsiyon izotermi

Eşitlikten K_F değeri, $4,82 \times 10^{-5}$ M ve n değeri, 17,51 olarak bulunmuştur.

THCA baskılı polimerin Temkin eğrisi aşağıda verilen eşitlik yardımıyla çizilmiştir.

$$\Delta m = B \ln K_T + B \ln C_e \quad (2.4)$$

Bu eşitlikte;

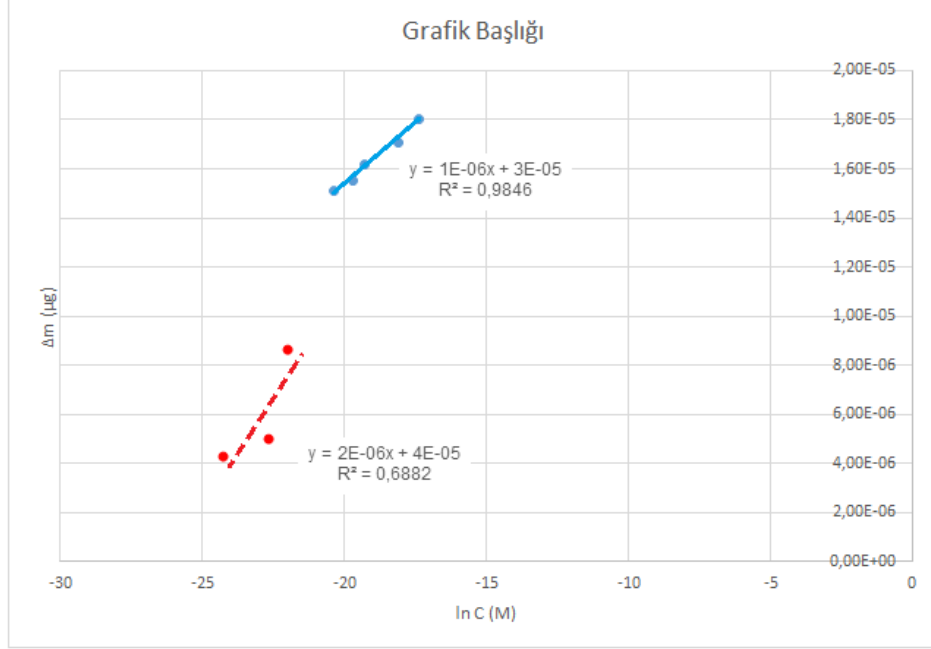
K_T : Temkin bağlanma sabiti (L/gr)

C_e : THCA derişimi

Δm : Elektrottaki kütle artışı

B: Adsorpsiyonun ısı ile ilgili sabiti (J/mol)

Şekil 2.8’de Temkin adsorpsiyon izotermi verilmiştir.



Şekil 2.8. THCA baskılanmış MIP için Temkin adsorpsiyon izotermi

Eşitlikten K_T değeri, $1,07 \times 10^{13}$ M ve B değeri, 1×10^{-6} olarak bulunmuştur.

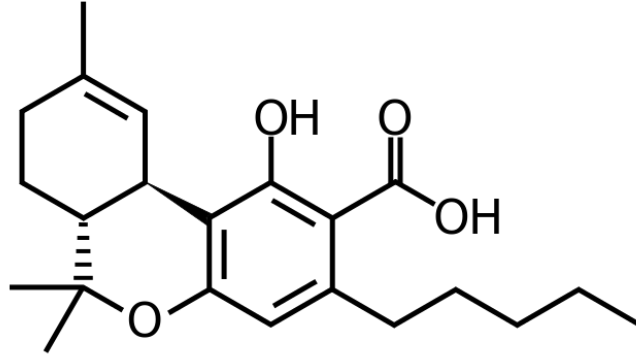
Tablo 2.1. THCA baskılanmış QCM sensörün Langmuir, Freundlich ve Temkin analizlerinin karşılaştırılması

Langmuir		Freundlich		Temkin	
R^2	0,8396	R^2	0,9773	R^2	0,9846
Δm_{max}	$1,75 \times 10^{-5}$	$1/n$	0,0571	B	1×10^{-6}
K_L	$5,7 \times 10^9$	K_F	$4,82 \times 10^{-5}$	K_T	$1,07 \times 10^{13}$

3. BULGULAR

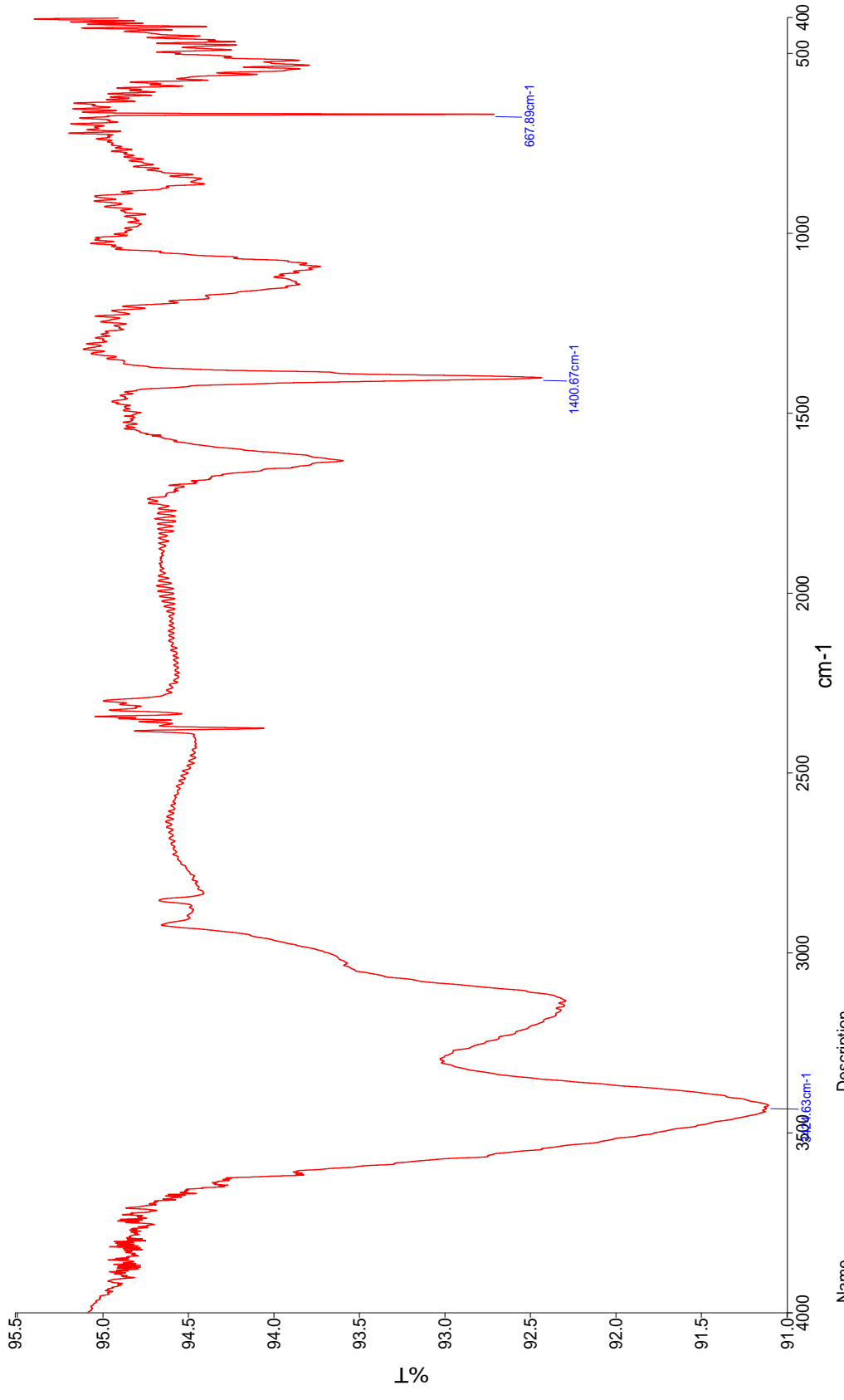
3.1. Hazırlanan THCA Baskılanmış Polimerin Karakterizasyonu

MIP sentezinde kullanılan tetrahidrokannabinolik asidin (THCA) açık yapısı Şekil 3.1’de verildiği gibidir.



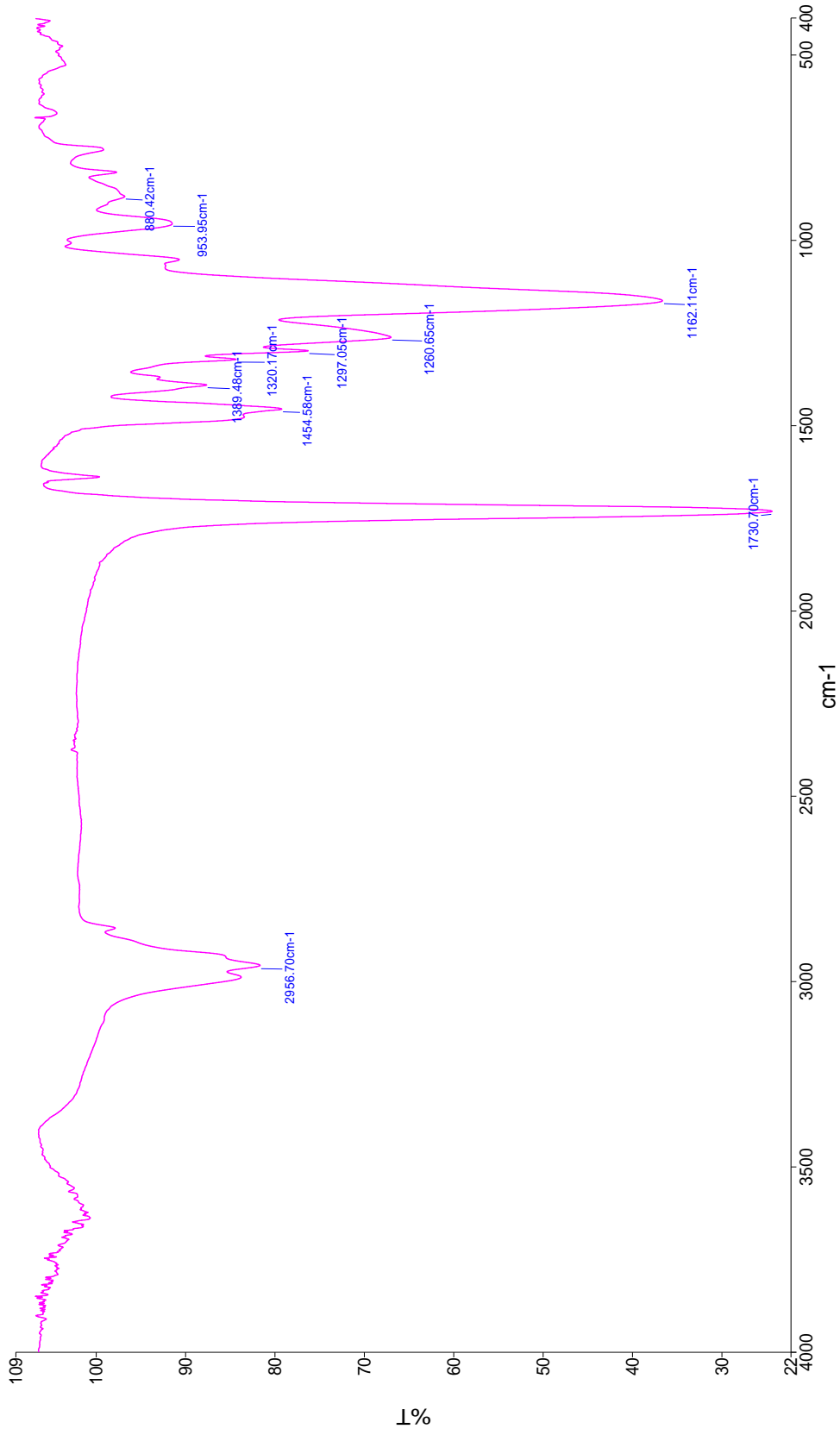
Şekil 3.1. THCA'nın açık yapısı

Baskılanmış polimerde hedef molekül olan THCA'nın karakterize edilebilmesi için ilk olarak FT-IR spektrumları alınmıştır. THCA baskılanmış polimerlerin yıkama öncesi ve yıkama sonrası olmak üzere hedef molekülün varlığı ve kalıptan ayrılmış olduğu karakterize edilmiştir. Şekil 3.2’de THCA’nın FTIR spektrumu, Şekil 3.3’de THCA baskılanmış MIP’in yıkama öncesi FTIR spektrumu verilmiştir. Şekil 3.2’deki FTIR spektrumunda görülen karakteristik pikler; 3424 cm⁻¹’de karboksilik aside ait olan -OH bandına, 3200 cm⁻¹ civarında gelen yayvan bant =CH, C=C ve aromatik halkaya, 1728 cm⁻¹’de karbonil pikine (C=O), 1400 cm⁻¹’de -CH₂ gerilmelerine ve 1120cm⁻¹ C-O bağlanmasına aittir. Şekil 3.3’de THCA baskılanmış MIP’in yıkama öncesi FTIR spektrumunda görülen karakteristik pikler; 3430 cm⁻¹ -OH bağına, 2958 cm⁻¹ alifatik C-H gerilmesine, 1730 cm⁻¹ C=O bağına, 1454 cm⁻¹ -CH₂ gerilmelerine ve 1162 cm⁻¹ C-O bağlanmasına aittir.



Name Description
 THCA Sample 186 By Analyst Date Thursday, May 04 2017

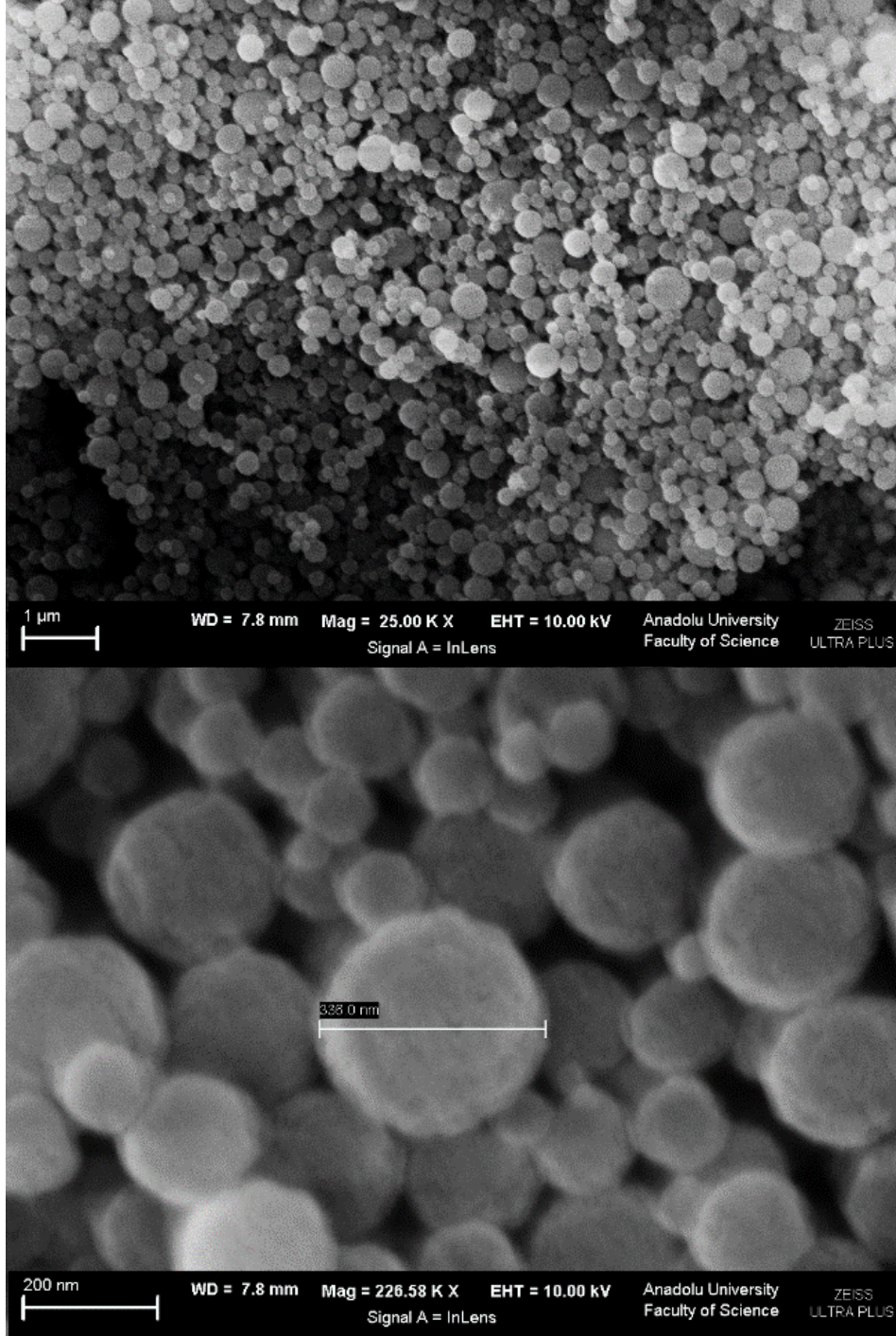
Şekil 3.2. THCA'nin IR spektrumu



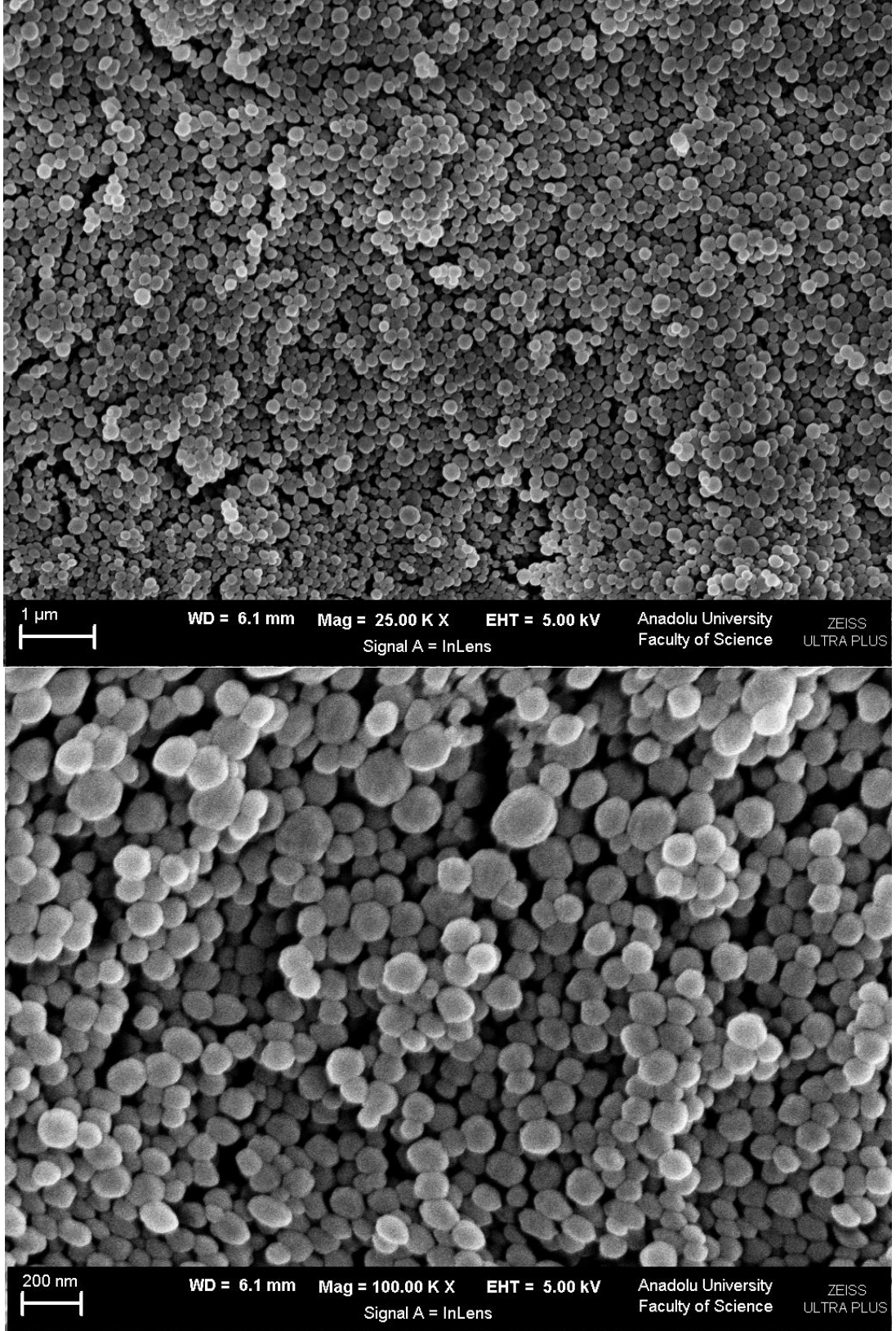
Name: MIP.y.ö.1_1
 Description: Sample 060 By Analyst Date Monday, December 26 2016

Şekil 3.3. THCA baskılanmış MIP'in yıkama öncesi IR spektrumu

Hazırlanan MIP ve NIP partiküllerin yüzey morfolojisi Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile görüntülenmiştir ve elde edilen THCA baskılı partiküllerin yaklaşık 300nm boyutta olduğu bulunmuştur. THCA baskılı polimerin SEM görüntüleri Şekil 3.4'te, baskılanmamış polimerin SEM görüntüleri Şekil 3.5'de verilmiştir.

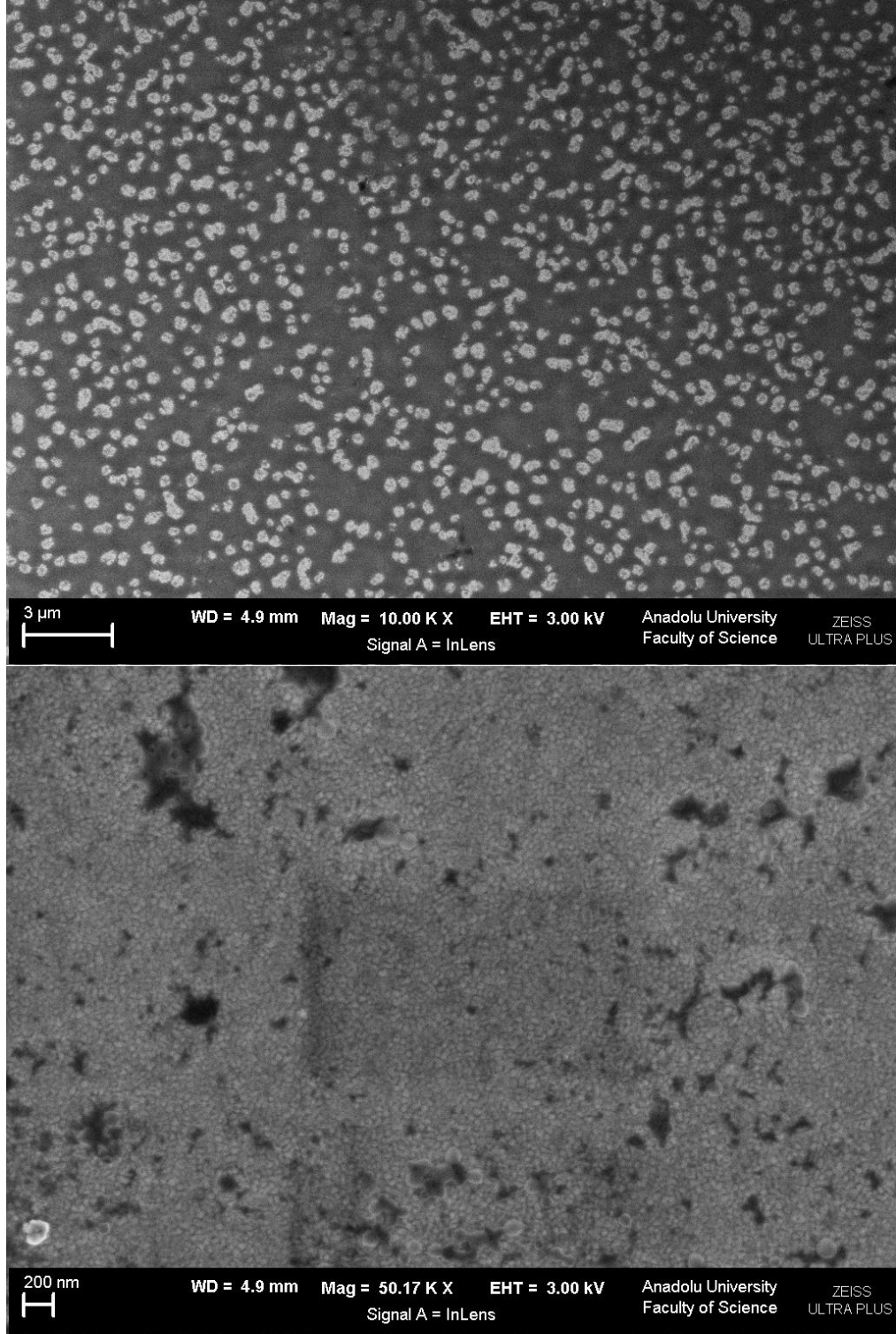


Şekil 3.4. MIP'a ait SEM görüntüleri



Şekil 3.5. NIP'a ait SEM görüntüleri

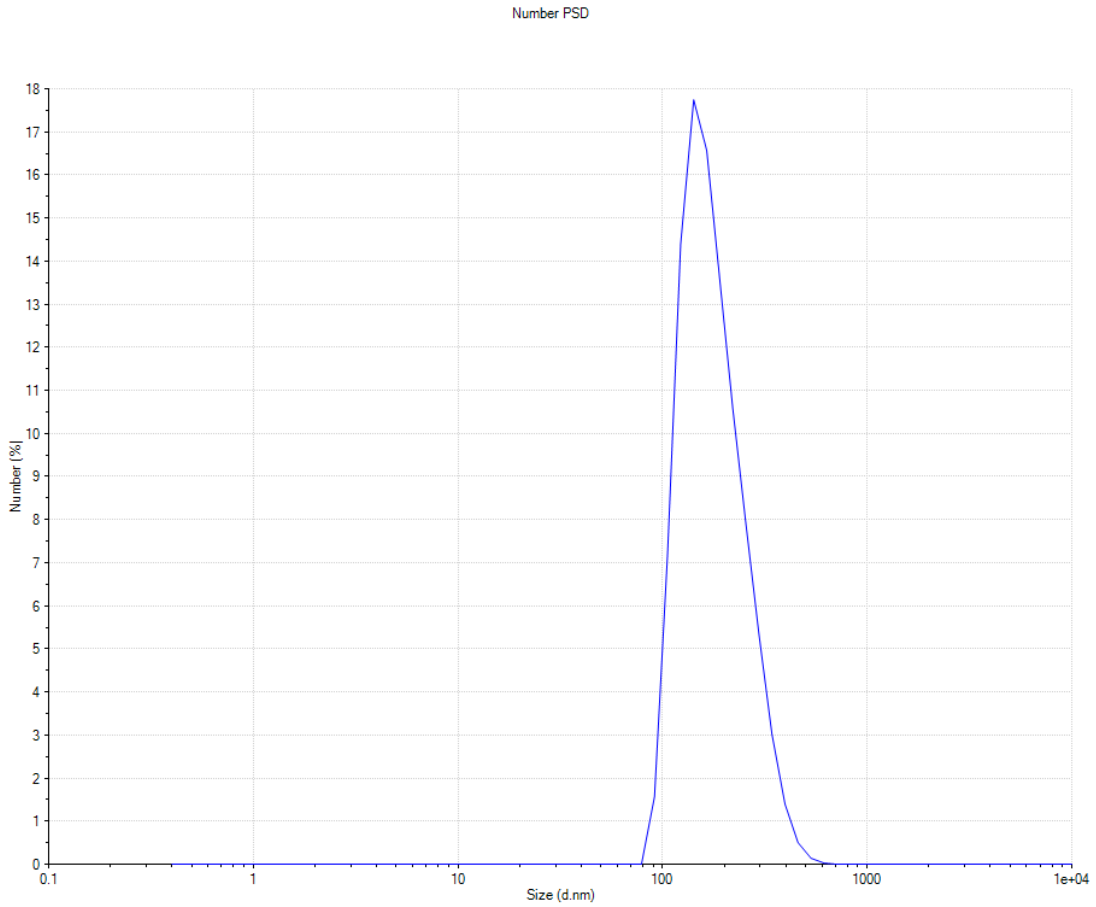
QCM elektroda immobilize edilmiş THCA baskılanmış polimerin SEM görüntüleri Şekil 3.6'da verilmiştir.



Şekil 3.6. QCM elektroda immobilize edilmiş THCA baskılı MIP görüntüleri

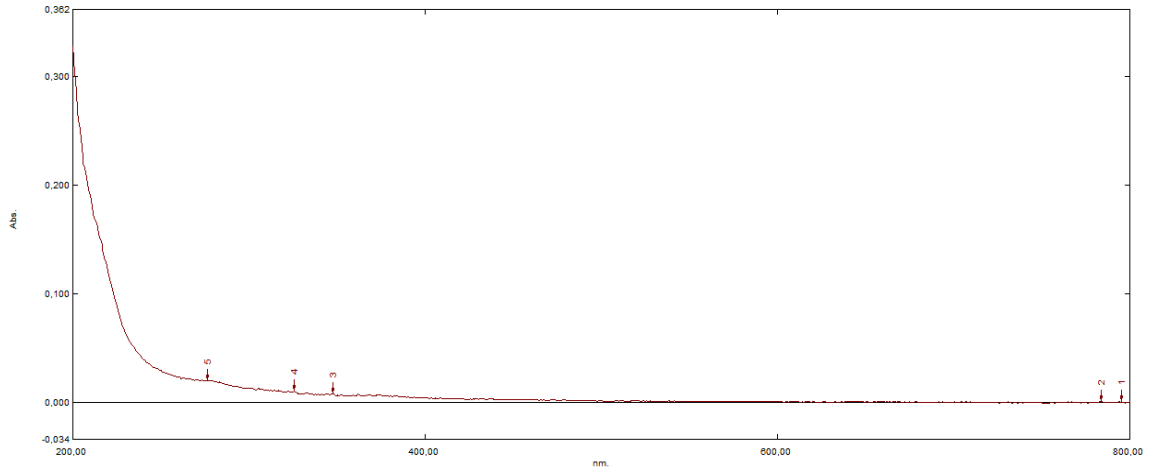
Yüzey analizi sonucu partikül büyüklükleri 80-369 nm olarak ölçülmüştür. Ayrıca yüksek büyütmelede partiküller üzerinde gözeneklerin bulunduğu ve fonksiyonel MIP'in THCA tayin çalışmalarında kullanılabilir nitelikte olduğu belirlenmiştir.

Sentezlenen baskılanmış polimerin boyut analizi ZetaSizer ile yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar SEM'de elde edilen verileri desteklemektedir. Zetasizer analizi sonucu elde edilen grafik Şekil 3.7'de gösterilmiştir. Yapılan boyut analizi sonucunda partiküllerin ortalama büyüklüğü 230,3 d.nm olarak saptanmıştır.



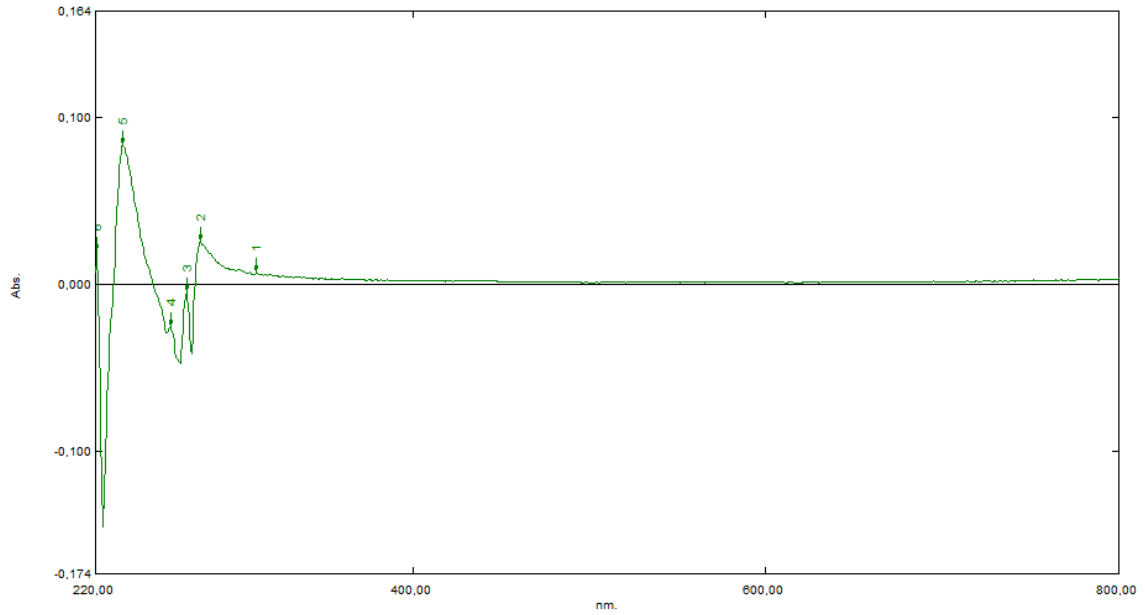
Şekil 3.7. MIP için boyut analizi

Sentezlenen MIP'tan yıkama sonrasında hedef molekülün (THCA) tamamen uzaklaştığını göstermek amacıyla son yıkama çözeltisinin (metanol) UV spektrumu alınmıştır ve THCA'ya ait herhangi bir pik gözlenmemiştir. Yıkama çözeltisine ait UV spektrumu Şekil 3.8'de verilmiştir.



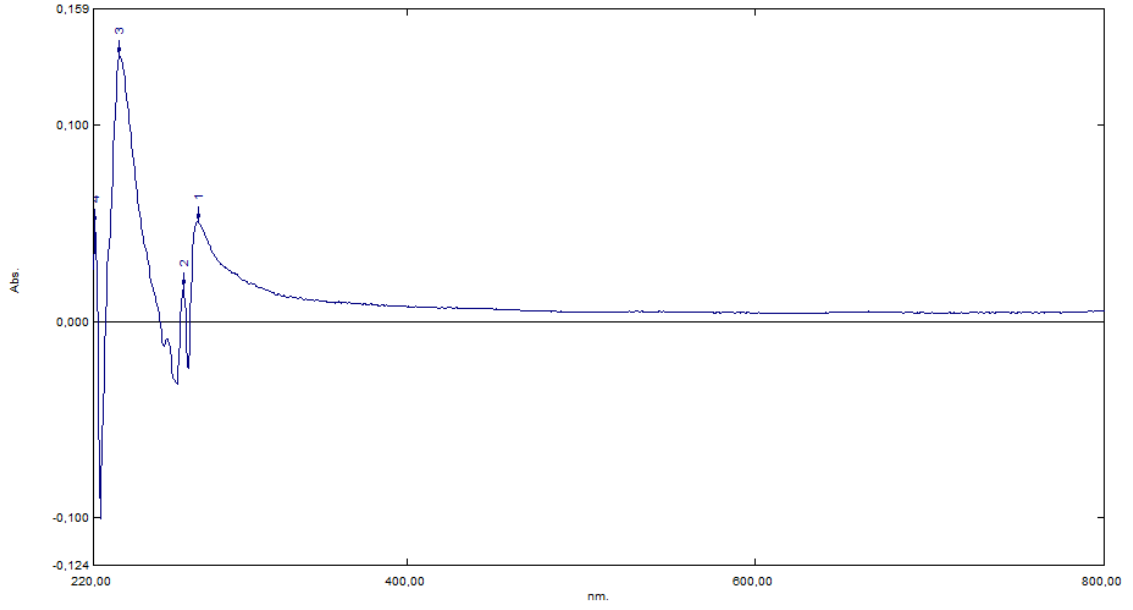
Şekil 3.8. *Yıkama çözeltisine ait UV spektrumu*

Yıkanmış ve kurutulmuş baskılanmış polimerin, THCA'yı tutup tutmadığını göstermek amacıyla 25 ppm'lik THCA (metanolde) çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan THCA çözeltisinin MIP ile karıştırma öncesi UV spektrumu alınmıştır. Elde edilen spektrum Şekil 3.9'da gösterilmiştir.



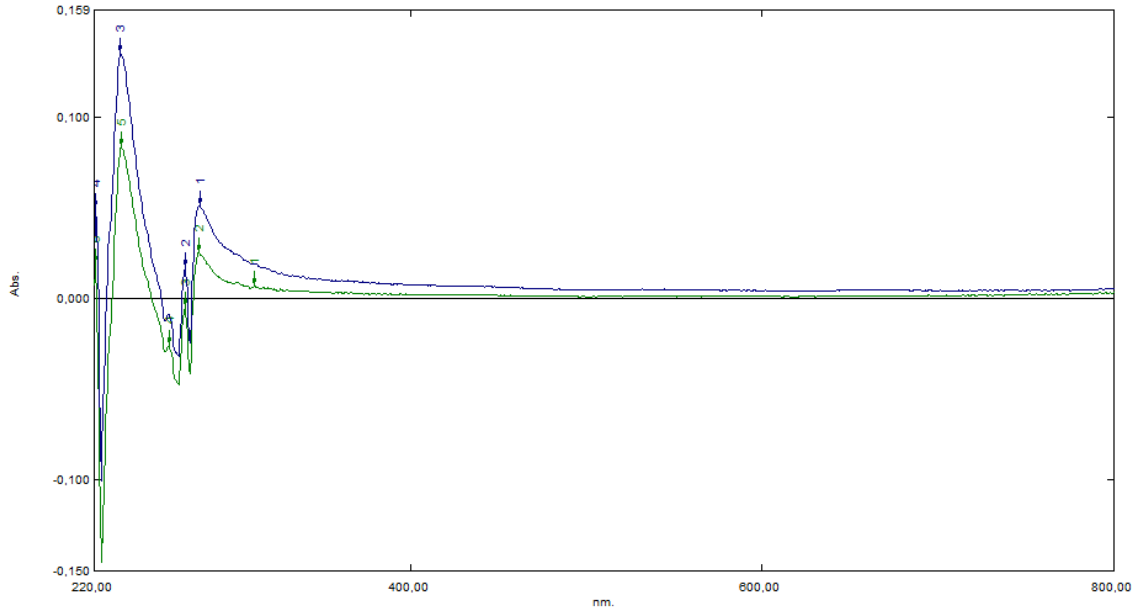
Şekil 3.9. *Karıştırma öncesi UV spektrumu*

25 ppm'lik THCA çözeltisi ile MIP 1 gece boyunca oda sıcaklığında karıştırılmış ve karıştırma sonrası UV spektrumu alınmıştır. Alınan UV spektrumu Şekil 3.10'da verilmiştir.



Şekil 3.10. Karıştırma sonrası UV spektrumu

Karıştırma öncesi ve sonrası alınan spektrumların karşılaştırmalı gösterimi Şekil 3.11’de verilmiştir. Karıştırma sonrası pik şiddetlerinin düştüğü görülmüştür. Bu durum karıştırma sonrası çözeltide bulunan THCA miktarının azaldığını göstermektedir. Sentezlenen MIP THCA bağlama özelliğine sahiptir.



Şekil 3.11. Karıştırma öncesi ve sonrası karşılaştırmalı UV spektrumu

4. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER

THCA, esrar maddesinin psikoaktif ve tıbbi özelliklerinden sorumlu birincil aktif bileşen olan Δ^9 -THC'nin biyolojik öncüsüdür. Bununla birlikte THCA'nın kendisi psikoaktif değildir. Kurutma sırasında veya yoğun ısı altında, THCA dekarboksile olur ve psikoaktif olan Δ^9 -THC oluşur. Cannabis sativa bitkisinden doğal olarak izole edilen kannabinoidler kanser hastalarında ağrı kesici, AIDS ve Alzheimer hastalarında tedavi sürecinde rahatlatıcı olarak kullanılır. Tedavi amacının dışında kannabinoidlerin uyuşturucu madde olarak kullanılması bünyede çeşitli yan etkilere sebep olmaktadır. THCA'nın doğrudan bilinen bir yan etkisi olmamasına karşın dekarboksile olması sonucu oluşan Δ^9 -THC, kalp krizi riskini artırma, yaşam işlevlerinin aşırı ölçüde zayıflaması, çok derin ve sürekli uyku durumu oluşturma, konuşma bozukluğu oluşturma, anksiyete ve paranoyaya sebep olma gibi olumsuz etkilere yol açmaktadır.

THCA'nın saptanması amacı ile gerçekleştirilen bu çalışmada öncelikle THCA baskılı polimer sentezlenmiştir. Bu aşama da baskılı polimerin oluşturulabilmesi için mikroemülsiyon yöntemi kullanılmıştır. Yöntemde fonksiyonel monomer olarak MAA, çapraz bağlayıcı olarak ise EDMA kullanılmıştır.

Sentezlenen THCA baskılı polimerin karakterizasyon işlemi için SEM, zetasizer, UV-Vis ve FT-IR analizleri yapılmıştır. SEM ile yapılan incelemelerde elde edilen THCA baskılı partiküllerin yaklaşık 300 nm olduğu bulunmuştur ve yüksek büyütmelerde gözlenen partiküller üzerindeki gözenekli yapı, THCA baskılı polimerin tayin çalışmalarında kullanılır nitelikte olduğunu göstermiştir. SEM görüntülerine ek olarak zetasizer ile THCA baskılı polimerlerin boyut analizi yapılmış ve partiküllerin ortalama büyüklüğü 230,3 nm olarak bulunmuştur. THCA baskılanmış polimerin THCA tutabilme yeteneğinin karakterizasyon işlemi için UV-Vis spektrumları alınmıştır. Yorum yapılabilmesi için baskılanmış polimer 25ppm'lik THCA çözeltisi ile karıştırılmış ve karıştırma öncesi ve sonrasının UV-Vis analizi yapılmıştır. Karıştırma sonrası spektrumda bant şiddetinin azalmış olması çözeltide bulunan THCA'ların baskılanmış polimere tutunduğunu göstermiştir. Pellet hazırlama yöntemi ile alınan saf THCA'nın FTIR spektrumu ile THCA baskılanmış polimerin FTIR spektrumu karşılaştırıldığında THCA'ya ait karakteristik piklerin (3424 cm^{-1} 'de karboksilik aside ait olan -OH bandı, 3200 cm^{-1} civarında gelen yayvan bant =CH, C=C ve aromatik halka, 1728 cm^{-1} 'de karbonil piki (C=O), 1400 cm^{-1} 'de -CH₂ gerilmeleri ve 1120 cm^{-1} C-O bağlanması) THCA baskılanmış polimerde de (3430 cm^{-1} -OH bağı, 2958 cm^{-1}

alifatik C-H gerilmesi, 1730 cm⁻¹ C=O bağı, 1454 cm⁻¹ -CH₂ gerilmeleri ve 1162 cm⁻¹ C-O bağlanması) bulunduğu gözlenmiştir. Bu durum göstermektedir ki sentezlenen MIP'ta THCA molekülleri yerleşik halde bulunmaktadır ve yıkama işlemi sonrası THCA baskılanmış polimer, THCA seçici QCM sensör olarak kullanılabilir haldedir.

Çalışmanın ikinci aşamasında THCA baskılanmış polimerin QCM elektroda immobilizasyonu sağlanmıştır. Kalıp molekül ve MIP-QCM sensörün bağlanma bölgeleri arasındaki etkileşimin incelenebilmesi için Langmuir, Freundlich ve Temkin analiz yöntemleri kullanılmıştır. Yapılan analizler sonucu, grafiklerden elde edilen korelasyon katsayıları (R²) göz önünde bulundurularak, THCA ve THCA baskılı polimer arasındaki etkileşimin Freundlich ve Temkin izotermine uyduğu saptanmıştır. Freundlich izotermi, heterojen yüzeyde meydana gelen fiziksel ve tersinir olabilen bir adsorpsiyona işaret eder. Aynı zamanda bu izoterm, heterojen yüzey üzerinde adsorpsiyon ısısının ve ilgisinin eşit dağılmadığı, çok tabakalı adsorpsiyon için de kullanılabilir. Temkin izoterminde, adsorbe olan maddeler arasındaki etkileşimler göz önüne alınmaktadır. Buna göre THCA için tabakadaki tüm moleküllerin adsorpsiyon ısısı, adsorbent ve adsorbat etkileşimlerinden dolayı yüzey kaplandıkça lineer olarak azalmıştır. Özetle, bu durum QCM sensörü üzerinde çok tabakalı ve heterojen bir adsorpsiyon olduğunu göstermiştir.

Hazırlanan THCA baskılı sensörün THCA molekülünü bağlama miktarı kör çözeltinin 3 istatistik verisi kullanılarak hesaplanmıştır. Bulunan gözlenebilme ve tayin sınırı değerleri sırasıyla 6,58x10⁻¹² M, 1,99x10⁻¹¹ M olarak hesaplanmıştır.

Tablo 3.1. Literatürde bulunan çalışmalarda elde edilen tayin sınırları

Yöntem	Tayin Sınırı (M)
HPLC-ECD	5,30x10 ⁻⁹
LC-MS	6,97x10 ⁻¹⁰

Geliştirilen MIP-QCM sensör ile LC-MS yöntemine kıyasla 35 kat daha düşük tayin sınırı elde edilmiştir. Literatürde THCA'nın QCM ile tayinine ait bir çalışmaya rastlanmamış olmasına karşın bir adet THCA baskılanmış polimer sentezi mevcuttur [73]. Literatürde ilk kez THCA baskılı MIP-QCM sensör ile THCA tayini gerçekleştirilmiştir.

KAYNAKÇA

- [1] British Journal of Pharmacology (2006) 147, S163–S171. doi:10.1038/sj.bjp.0706406. (Erişim tarihi :28.04.2017)
- [2] Drummer, O. ve Odell, M. (2001). The Forensic Pharmacology Of Drugs Of Abuse. *Forensic Science Communications.*, 4-4.
- [3] Yargıç, İ. (2013). *Sentetik kannabinoidler.* <http://www.atk.gov.tr/Pdf/psikoakifmaddeler.pdf>. (Erişim tarihi: 05/03/2014)
- [4] Pertwee, R.G. (2005). Pharmacological Actions of Kannabinoids. *Springer-Verlag.*,HEP (2005) 168, 1–51 c.
- [5] Huffman, J.W., Dai, D., Martin, B.R. ve Compton, D.R. (1994). Design, synthesis and pharmacology of cannabimimetic indoles. *Bioorg Med Chem Lett.*, 4,563-6.
- [6] Hoyte, C.O., Jacob, J., Monte, A.A., Al-Jumaan, M., Bronstein, A.C. ve Heard, K.J. (2012). A characterization of synthetic kannabinoid exposures reported to the National Poison Data System in 2010. *Ann Emerg Med.*, 60,435-8.
- [7] Pacher, P., Bátkai, S. ve Kunos, G. (2006). The endokannabinoid system as an emerging target of pharmacotherapy. *Pharmacol Rev.*, 58, 389-462.
- [8] El-Alfy, A.T., Ivey, K. ve Robinson, K., et al. (2010). Antidepressant-like effect of delta9-tetrahydrocannabinol and other kannabinoids isolated from *Cannabissativa L.* *Pharmacol Biochem Behav.*, 95, 434-42.
- [9] "Cannabis and Cannabinoids". National Cancer Institute. <https://www.cannabisinternational.org/cancer.php>. (Erişim tarihi: 28.04.2017)
- [10] Haney, M., Gunderson, E.W., Rabkin, J., Hart, C.L., Vosburg, S.K., Comer, S.D. ve Foltin, R.W. (2007). Dronabinol and marijuana in HIV-positive marijuana smokers. Caloric intake, mood, and sleep. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes.*, 45 (5), 545–54.
- [11] Thomas, G., Kloner, R.A. ve Rezkalla, S., (2014). Adverse cardiovascular, cerebrovascular, and peripheral vascular effects of marijuana inhalation: what cardiologists need to know. *Am. J. Cardiol.* 113 (1), 187–90.
- [12] Aryana, A. ve Williams, M.A. (2007). Marijuana as a trigger of cardiovascular events: speculation or scientific certainty?. *Int. J. Cardiol.*, 118 (2), 141–4.
- [13] Geller, T. (2007). Kannabinoids: a secret history. *Chem. Herit. Newsmagazine* 25,2.

- [14] Castaneto, M.S., Gorelick, D.A., Desrosiers, N.A., Hartman, R.L., Pirard, S. ve Huestis, M.A. (2014). Synthetic kannabinoids: epidemiology, pharmacodynamics, and clinical implications. *Drug Alcohol Depend.*, 1,144,12-41.
- [15] Huffman, J.W., Dai, D., Martin, B.R. ve Compton, D.R. (1994). Design , synthesis and pharmacology of cannabimimetic indoles. *Bioorg Med Chem Lett.*, 4, 563-6.
- [16] Recommended Methods for The Identification and Analysis of Synthetic Kannabinoid Receptor Agonists in Seized Materials., *UNODC*. http://www.unodc.org/documents/scientific/STNAR48_Synthetic_Kannabinoids_ENG.pdf. (Erişim tarihi: 28.04.2017)
- [17] Devane, W.A., Hanus, L., Breuer, A., Pertwee, R.G., Stevenson, L.A., Griffin, G., Gibson, D., Mandelbaum, A., Etinger, A. ve Mechoulam, R. (1992). Isolation and structure of a brain constituent that binds to the kannabinoid receptor. *Science.*, 258(5090),1946-1949.
- [18] Baselt, R.C. ve Cravey, R.H. (1990). Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. *Year Book Medical Publishers.*, 780–783.
- [19] Ellenhorn, M.J. ve Barceloux, D.G. (1988). Medical Toxicology. New York: *Elsevier Science Publishing Company.*, 675–682.
- [20] Stolker, A.A., van Schoonhoven, J., Vries, A.J., Bobeldijk-Pastorova, I., Vaes, W.H.J. ve van den Berg, R. (2004). Determination of kannabinoids in cannabis products using liquid chromatography–ion trap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A.*, 1058,143–151.
- [21] Nakahara, Y. ve Sekine, H. (1985). Studies on Confirmation of Cannabis Use. I. Determination of the Kannabinoid Contents in Marijuana Cigarette, Tar, and Ash Using High Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detection. *Journal of Analytical Toxicology.*, 9.
- [22] Pascali, J.P. Determination Of Kannabinoids, THC And THC-COOH, In Oral Fluid Using An Agilent 6490 Triple Quadrupole Lc/Ms. <http://www.agilent.com/cs/library/applications/5991-3977ENE.pdf>. (Erişim tarihi: 10.05.2017)

- [23] Diltemiz, S. (2006). *DNA'yı tanıma bölgelerine sahip moleküler baskılanmış polimer tekniğine dayalı biyosensör geliştirilmesi*. Doktora Tezi. Eskişehir: Anadolu Üniversitesi.
- [24] Shea, K.J. ve Dougherty, T.K. (1986). Molecular recognition on synthetic amorphous surfaces. The influence of functional group positioning on the effectiveness of molecular recognition. *J. Am. Chem. Soc.*, 108: 1091-1102.
- [25] Molinelli, A. (2004). *Molecular imprinted polymers: Towards a rational understanding of biomimetic materials*. Georgia Institute of Technology.
- [26] Ikegami, T., Mukawama, T., Nariai, H. ve Takeuchi, T. (2004). Bisphenol A recognition polymers prepared by covalent molecular imprinting. *Analytica Chimica Acta.*, 504: 131-135.
- [27] Kriz, D., Ramstrom, O. ve Mosbach, K. (1997). Molecular imprinting: new possibilities for sensor technology. *Anal. Chem.*, 69: 345-349.
- [28] Sellergren, B., Lepistö, M. ve Mosbach, K. (1988). Highly enantioselective and substrate-selective polymers obtained by molecular imprinting utilizing noncovalent interactions - NMR and chromatographic studies on the nature of recognition. *J. Am. Chem. Soc.*, 110: 5853-5860.
- [29] Caro, E., Masqué, N., Marcé, R.M., Borrull, F., Cormack, P.A.G. ve Sherrington D.C. (2002). Noncovalent and semi-covalent molecularly imprinted polymers for selective on-line solid-phase extraction of 4-nitrophenol from water samples. *J. Chromatogr.*, 963: 169-178.
- [30] Steinke, J., Sherrington, D. ve Dunkin, I. (1995). Imprinting of synthetic polymers using molecular templates. *Adv. Polym. Sci.*, 123: 80-125.
- [31] Nishide, H., Deguchi, J. ve Tsuchida, E. (1977). Adsorption of metal ions on crosslinked poly(4-vinylpyridine) resins prepared with a metal ion as template. *J. Polym. Sci. Polym. Chem.*, 15, 3023-3029 63.
- [32] Ersöz, A., Denizli, A., Özcan, A. ve Say, R. (2005). Molecularly Imprinted Ligand-Exchange Recognition Assay of Glucose by Quartz Crystal Microbalance. *Biosensors and Bioelectronics.*, 20 (11), 2197-2202.
- [33] Katz, A. ve Davis, M.E. (1999). Investigations into the Mechanisms of Molecular Recognition with Imprinted Polymers. *Macromolecules.*, 32, 4113-4121.

- [34] Dong, X.C., Sun, H., Lu, X.Y., Wang, H.B., Lui, S.X. ve Wang, N. (2002). Separation of ephedrine stereoisomers by molecular imprinted polymers influence of synthetic condition and mobile phase compositions on the chromatographic performance. *Analist.*, 127,1427-1432.
- [35] Mallik, S., Plunkett, S.D., Dhal, P.K., Johnson, R.D., Pack, D.W., Shnek, D.R. ve Arnold, F.H. (1994). Towards materials for the specific recognition and separation of proteins. *New Journal of Chemistry.*, 18,299-304.
- [36] Yoshizako, K., Hosoya, K., Iwakoshi, Y., Kimata, K. ve Tanaka, N. (1998). Porogen imprinting effects. *Anal. Chem.*, 70,386–389.
- [37] Bystrom, A.B. ve Akermark, B. (1993). Selective reduction of steroid 3-ketones and 17-ketones using LiAlH₄ activated template polymers. *J. Am. Chem. Soc.*, 115,2081– 2083
- [38] Sellergren, B. ve Andersson, L. (1990). Molecular recognition in macroporous polymers prepared by a substrate-analog imprinting strategy. *J. Org. Chem.*, 55,3381–3383.
- [39] Klein, J.U., Whitcombe, M.J., Mulholland, F. ve Vulfson, E.N. (1999). Template mediated synthesis of a polymeric receptor specific to amino acid sequences. *Angew. Chem. Int.*, 38,2057–2060.
- [40] Shons, A., Dorman, F. ve Najarian, J. (1972). The piezoelectric Quartz immunosensor. *J.Biomed. Manter Res.*, 576-570.
- [41] Pavey, K.D. (2002). Quartz crystal analytical sensors: the future of label-free, real-time diagnostics. *Expert review of Molecular Diagnostics*, 2, 173-286
- [42] Çökeliler, D. (2006). *Alfatoksin tayini için plazma polimerizasyon yöntemi ile kütle hassas immünoensör hazırlanması*. Doktora Tezi. Ankara: Hacettepe Üniversitesi.
- [43] Karagöz, F. (2015). *Hedef kimyasala duyarlı floresan malzemelerin sentezi ve kimyasal sensörlerde kullanımı*. Doktora Tezi. İstanbul: İstanbul Teknik Üniversitesi.
- [44] Komiyama, M., Takeuchi, T., Mukawa, T., Asanuma, H. (2002). Molecular imprinting: from fundamentals to applications. *Wiley-Vch*, New York.
- [45] Gültekin, A. (2009). *Sentetik reseptörlere dayalı nano algılama sistemleri*. Doktora Tezi. Edirne: Trakya Üniversitesi

- [46] İdziak, L., Benrebouh, A. ve Deschamps, F. (2001). Simple NMR experiments as a means to predict the performance of an anti-17 alpha-ethynylestradiol molecularly imprinted polymer. *Anal. Chim. Acta.*, 435, 137-140.
- [47] Sellergen, B., Lepistö, M. ve Mosbach, K. (1988). Highly enantioselective and substrate-selective polymers obtained by molecular imprinting utilizing noncovalent interactions - NMR and chromatographic studies on the nature of recognition. *J. Am. Chem. Soc.*, 110, 5853-5860.
- [48] Lanza, F. ve Sellergren, B. (1999). Method for synthesis and screening of large groups of molecularly imprinted polymers. *Anal. Chem.*, 71, 2092-2096.
- [49] Dimtrienko, S.G., Irkha, V.V. ve Kuznetsova, A.Y. (2004). Use of molecular imprinted polymers for the separation and preconcentration of organic compounds. *J. Anal. Chem.*, 59, 808-817.
- [50] Okutucu, B. (2007). *Serotonin'e Spesifik Moleküler Damgalı Polimerlerin Hazırlanması Ve Karakterizasyonu*. Doktora Tezi. İzmir: Ege Üniversitesi.
- [51] Mahony, J.O., Nolan, K. ve Smyth, M.R. (2005). Molecularly imprinted polymers—potential and challenges in analytical chemistry. *Anal. Chim. Acta.*, 534, 31-39.
- [52] Zhong, N., Byun, H.S. ve Bittman, R. (2001). Hydrophilic cholesterol-binding molecular imprinted polymers. *Tetrahedron Letters.*, 42, 1839-1841.
- [53] Andersson, L.I. (2000). Molecular imprinting for drug bioanalysis A review on the application of imprinted polymers to solid phase extraction and binding assay. *J. Chromatography.*, B, 739, 163-173.
- [54] Haupt, K. (2001). Molecularly imprinted polymers in analytical chemistry. *Analyst.*, 126, 747-756.
- [55] Yu, C. ve Mosbach, K. (1997). Molecular imprinting utilizing an amide functional group for hydrogen bonding leading to highly efficient polymers. *J. Org. Chem.*, 62, 4057-4064.
- [56] Spégel, P., Schweitz, L. ve Nilsson, S. (2002). Molecularly imprinted polymers. *Anal Bioanal Chem.*, 372, 37-8.
- [57] Stetter, J. ve Penrose, W. (2002). Understanding chemical sensors and chemical sensors arrays; past, present and future. *Sensors Update.*, 10, 189-229.
- [58] Hulanicki, A., Glab, S. ve Ingman, F. (1991). Chemical sensors definitions and classification. *Pure&apl. Chem.*, 63 (9), 1247-1250.

- [59] Dondurmacioğlu, F. (2011). *Ağır metal iyonlarının tayini için optik sensörlerin geliştirilmesi*. Doktora Tezi. İstanbul: İstanbul Üniversitesi.
- [60] Yolcu M., (2001). *Yeni Aza Crown Eter Nötral İyonoforları ile Katyon Seçici Elektrotlar ve Potansiyometrik Performans Karakteristikleri*. Yüksek Lisans Tezi, Samsun: Ondokuz Mayıs Üniversitesi.
- [61] Ralf, L., Carsten, B. ve Peter H. (2000). Gravimetric and non-gravimetric chemical quartz crystal resonators. *Sensors and Actuators B.*, 65, 277-283.
- [62] Rodoplu, D. (2011). Biyosensör uygulamalarına yönelik olarak kuvars kristal mikroterazi yüzeylerin elektro-eğirme yöntemi ile modifikasyonu, Hacettepe Üniversitesi Nanoteknoloji ve Nanotıp Anabilim Dalı, 3-14.
- [63] Yao, S.Z. (1997). Piezoelectric Chemistry and Biosensors. *Hunan Normal University Pres.*
- [64] Sözmen, N.N. (2008). *Biyomedikal Uygulamalarında Akıllı Polimer Kullanılması ve Karakterizasyon Yönteminin Kuvars Kristal Mikro Dengeleyici Sistemler ile Geliştirilmesi*. Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Başkent Üniversitesi.
- [65] Heising, R.A. (1946). Quartz crystals for electrical circuits, their design and manufacture, Van Nostrand, New York.
- [66] O'Sullivan, C.K. ve Guilbault, G.G. (1999). Commercial quartz crystal microbalances Theory and applications. *Biosens. Bioelectron.*, 14, 663-670.
- [67] Lu, C. ve Czanderna, A.W. (1984). Applications of piezoelectric quartz crystal microbalances. *Elsevier*.
- [68] Thompson, M. Stone, D.C. (1997). Surface-launched acoustic wave sensors: chemical sensing and thin-film characterization. *John Wiley & Sons*. New York.
- [69] Shons, A., Dorman, F. ve Najarian, J. (1972). The piezoelectric Quartz immunosensor. *J.Biomed. Manter Res.*, 576-570.
- [70] Hauden, D., Jaillet, G. ve Coquerel, R. (1981). Temperature sensor using SAW delay lines. *IEEE Ultrason Symp. (Proc.)*, 148.
- [71] Neumeister, J., Thum, R. ve Lüder, E. (1990). A SAW delay-line oscillator as a high-resolution temperature sensor. *Sens. Actuators A.*, A21-23, 670.
- [72] Behling, C., Luucklum, R. ve Hauptmann, P. (1998). Response of quartz crystal resonators to gas and liquid analyte exposure. *Sensors and Actuators A.*, 68, 388-398.

- [73] Lendoiro, E., Castro, A., Fernández-Vega, H., Cela-Pérez, M.C., López-Vilariño, J.M., González-Rodríguez, M.V., Cruz, A. ve López-Rivadulla, M. (2013). Molecularly imprinted polymer for selective determination of Δ^9 -tetrahydrocannabinol and 11-nor- Δ^9 -tetrahydrocannabinol carboxylic acid using LC-MS/MS in urine and oral fluid. *Anal Bioanal Chem.*