

**SEÇİCİ PARABEN TAYİNİ İÇİN MOLEKÜLER  
BASKILANMIŞ ELEKTROKİMYASAL SENSÖRLERİN  
GELİŞTİRİLMESİ**

**DEVELOPING OF MOLECULARLY IMPRINTED  
ELECTROCHEMICAL SENSOR FOR SELECTIVE  
PARABEN DETECTION**

**BEYHAN BUSE YÜCEBAŞ**

**DOÇ. DR. LOKMAN UZUN  
TEZ DANIŞMANI**

Hacettepe Üniversitesi

Lisans Üstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Kimya Anabilim Dalı için Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.


2018

BEYHAN BUSE YÜCEBAŞ'ın hazırladığı “Seçici Paraben Tayini İçin Moleküler Baskılanmış Elektrokimyasal Sensörlerin Geliştirilmesi” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından KİMYA ANABİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Handan YAVUZ  
Başkan



Doç. Dr. Lokman UZUN  
Danışman



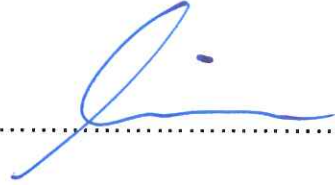
Prof. Dr. Serdar ABACI  
Üye



Doç. Dr. Filiz KURALAY  
Üye



Doç. Dr. Gökhan DEMİREL  
Üye



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Menemşe GÜMÜŞDERELİOĞLU

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

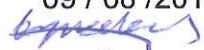
Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanması zorunlu metinlerin yazılı izin alarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan "***Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge***" kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H. Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir.
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 3 ay ertelenmiştir.
- Tezim ile ilgili gizlilik kararı verilmiştir.

09 / 08 /2018

  
Beyhan Buse YÜCEBAŞ

## ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

09/08/2018



BEYHAN BUSE YÜCEBAŞI

## ÖZET

# SEÇİCİ PARABEN TAYİNİ İÇİN MOLEKÜLER BASKILANMIŞ ELEKTROKİMYASAL SENSÖRLERİN GELİŞTİRİLMESİ

**BEYHAN BUSE YÜCEBAŞ**

**Yüksek Lisans, Kimya Bölümü**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Lokman UZUN**

**Ağustos 2018, 59 Sayfa**

Parabenler; vücuda alındıkları zaman hormonlar gibi davranarak veya onların görevlerini engelleyerek endokrin sistemin gelişimini ve işleyişini değiştiren endokrin bozucu maddeler (EDC'ler)'den biri olarak bilinmektedir. Para-hidroksibenzoik asidin türevleri; metilparaben, etilparaben, bütilparaben ve propilparaben olarak karşımıza çıkmaktadır.

Bu çalışmada moleküler baskılama tekniği kullanılarak para-hidroksibenzoik aside (paraben) seçici olan polimer yüzeyler tasarlanmıştır. Moleküler baskılama tekniğinden yararlanarak, parabenin tayini için voltametrik yöntemlerle yeni, basit, hızlı, duyarlı ve seçici bir analiz yöntemi geliştirilmiştir. L-Fenilalanin aminoasidinden sentezlenen işlevsel monomer N-metakriloil-L-fenilalanin (MAPA) ile parabenin ön kompleks yapısı hazırlanmıştır. Elde edilen MAPA ile parabenin ön kompleks yapısı 2-hidroksietilmetakrilat ile polivinil alkol (PVA) varlığında (ayarlanabilen gözenekli bir yapının eldesi için) altın bir yüzey üzerinde polimerleştirilmiştir. Aminoasit temelli polimerleşebilen fonksiyonel monomerlerin

sentezlenmesiyle protein, enzim vb. gibi pek çok biyomolekölün oldukça seçici bağlanma özelliği sentetik polimere [(poli(2-hidroksietilmetakrilat)] (pHEMA) aktarılmıştır.

Çalışma elektrodu olarak perde baskılı altın elektrot kullanılmıştır. Dönüşümlü voltametri (CV), diferansiyel puls voltametri (DPV), elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS), Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi (FTIR) ve atomik kuvvet mikroskobu (AFM) ile modifiye edilmiş olan elektrotlar karakterize edilmiştir. Parabenin elektrokimyasal davranışı için dönüşümlü voltametri (CV) ve kare dalga voltametrisi (SWV) yöntemi kullanılmıştır. Optimum koşullar altında doğrusal çalışma aralığı 1-30  $\mu\text{M}$  olarak bulunmuştur. Gözlenebilme sınırı (LOD) 0,706  $\mu\text{M}$  ve kantitatif ölçme sınırı (LOQ) 2,35  $\mu\text{M}$  olarak bulunmuştur. Geliştirilen yüzeyin seçicilik araştırması yapılmış ve baskılanmış olan parabene yüksek seçiciliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Geliştirilen yöntem kozmetik örneklerinde başarı ile uygulanabileceği belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** moleküler baskılama, elektroanalitik yöntem, paraben, perde baskılı elektrot

## **ABSTRACT**

# **DEVELOPING OF MOLECULARLY IMPRINTED ELECTROCHEMICAL SENSOR FOR SELECTIVE PARABEN DETECTION**

**BEYHAN BUSE YÜCEBAŞ**

**Master of Science, Department of Chemistry**

**Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Lokman UZUN**

**Agust 2018, 59 pages**

Parabens; they are known as endocrine disruptors (EDCs), which modify the development and functioning of the endocrine system by acting as hormones or blocking their function when they are taken in the body. They are para-hydroxybenzoic acid derivatives including methylparaben, ethylparaben, butylparaben and propylparaben.

In this work, polymer surfaces with para-hydroxybenzoic acid (paraben) selective are designed using molecular imprinted technique. A new, simple, fast, sensitive and selective analysis method has been developed for the detection of parabens by voltammetric methods via using molecular imprinted technique. The precursor complex of the paraben with the functional monomer synthesized from the amino acid L-phenylalanine N-methyl-L-phenylalanine (MAPA) was prepared. The pre-complex structure of the obtained paraben with MAPA was polymerized on a gold surface in the presence of polyvinyl alcohol (PVA) (for the purpose of an adjustable porous structure) with 2-hydroxyethyl methacrylate. By synthesizing

amino acid-based polymerizable functional monomers, synthetic polymers [poly(2-hydroxyethylmethacrylate)] (pHEMA) have been transferred to highly selective binding properties of many biomolecules such as proteins and enzymes.

Screen-printed gold electrode was used as a working electrode. The electrodes were characterized with cyclic voltammetry (CV), differential pulse voltammetry (DPV), electrochemical impedance spectroscopy (EIS), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and atomic force microscopy (AFM). For the electrochemical behavior of the paraben, the cyclic voltammetry (CV) and square wave voltammetry (SWV) methods were used. Under optimized conditions, working linear range was found as from 1 to 30  $\mu\text{M}$ . The limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) were obtained as 0,706  $\mu\text{M}$  and 2.35  $\mu\text{M}$ , respectively. The selectivity of the surface was investigated and imprinted paraben showed high selectivity against paraben. The developed method has been successfully applied in cosmetic samples.

**Key words:** molecular imprinted, electroanalytical method, paraben, screen printed electrode



## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans sürecimde, bilgi ve tecrübesiyle yardımlarını esirgemeyen, öğrencisi olmaktan guru duyduğum, danışmanım ve saygıdeğer hocam **Doç. Dr. Lokman Uzun'a**,

Tez çalışmalarımı yapabilmem için laboratuvar ve cihaz imkânlarını sunan sayın hocam **Prof. Dr. Serdar ABACI'ya**,

Çalışmalarım boyunca bana yol gösteren ve destek olan sevgili hocalarım, **Y. Tuğçe Yaman'a** ve **Dr. Gülçin Bolat'a**,

Deneylerime start veren ve bana yol gösteren değerli hocam **Dr. Erdoğan Özgür'e**

FHD-2017-13834 proje numarası ile tez çalışmama destek veren Hacettepe Üniversitesi Rektörlüğüne ve Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi çalışanlarına ve tezim için yoluma çıkıp beni aydınlatan herkese teşekkür ederim.

BEYHAN BUSE YÜCEBAŞ

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

ÖZET .....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR .....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
ŞEKİLLER.....	ix
ÇİZELGELER .....	iii
KISALTMALAR .....	iv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Parabenler .....	3
2.1.1. Parabenlerin İnsan Sağlığına Etkileri .....	3
2.1.2. Paraben Yapısı ve Özellikleri .....	5
2.1.3. Parabenin Elektrokimyasal Davranışı .....	6
2.1.4. Paraben Türevleri.....	6
2.2. Moleküler Baskılama .....	7
2.2.1. Kalıp (Hedef) Molekül.....	8
2.2.2. Fonksiyonel Monomer.....	9
2.2.3. Çapraz Bağlayıcılar .....	9
2.2.4. Çözücü (Porojen) .....	10
2.2.5. Başlatıcılar .....	10
2.3. Moleküler Baskılama Yöntemi .....	11
2.3.1. Kovalent Baskılama .....	11
2.3.2. Kovalent Olmayan Baskılama .....	12
2.4. Voltametri Yöntemi .....	13
2.4.1. Dönüşümlü Voltametri (CV).....	14
2.4.2. Kare Dalga Voltametrisi (SWV) .....	15

2.4.3.	Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi (EIS).....	16
2.4.4.	Diferansiyel Puls Voltametri (DPV) .....	17
2.4.5.	Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM).....	18
2.4.6.	Fourier Dönüşümlü Infrared (FT-IR) Spektroskopisi.....	19
2.5.	Kaynak Araştırması .....	19
3.	DENEYSEL YÖNTEMLER .....	24
3.1.	Elektrokimyasal Hücre ve Elektrotlar .....	24
3.2.	Elektronik Cihazlar .....	26
3.3.	Elektrokimyasal Tayini Gerçekleştirilen Kimyasallar .....	26
3.4.	Kullanılan Kimyasallar .....	26
3.5.	Gerçek Örnek Çözeltisinin Hazırlanması .....	26
3.6.	Modifiye Elektrotların Hazırlanması .....	27
3.7.	Elektrotların Karakterizasyonu .....	28
3.7.1.	Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektroskopisi (FTIR).....	28
3.7.2.	Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) .....	28
4.	SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	29
4.1.	Sensör Yüzeyinin Karakterizasyonu .....	29
4.1.1.	Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektroskopisi (FTIR).....	29
4.1.2.	Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) .....	31
4.1.3.	Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi.....	32
4.2.	Parabenin Elektrokimyasal Davranışı .....	36
4.3.	Tarama Hızı Çalışması .....	38
4.4.	Desorpsiyon Süresinin Optimizasyonu .....	40
4.5.	MIP-SPE ile Parabenin Elektrokimyasal Tayini .....	41
4.6.	Baskılama Seçiciliğinin Belirlenmesi.....	44
4.7.	Gerçek Örnek Çalışması .....	47

5. SONUÇLAR .....	49
6. KAYNAKÇA.....	51
7. ÖZGEÇMİŞ .....	59

## ŞEKİLLER

### Sayfa

<b>Şekil 2.1.</b> 4-Hidroksibenzoik asit (paraben) yapısı [21]. .....	5
<b>Şekil 2.2.</b> 4-Hidroksibenzoik asidin (parabenin) yükseltgenme mekanizması. ....	6
<b>Şekil 2.3.</b> Paraben esterlerinin kimyasal yapısı [24]. .....	7
<b>Şekil 2.4.</b> Kovalent baskılama [40]. .....	12
<b>Şekil 2.5.</b> Kovalent olmayan baskılama [40]. .....	13
<b>Şekil 2.6.</b> Voltametik ölçümlerde kullanılan hücre [43]. .....	14
<b>Şekil 2.7.</b> Dönüşümlü voltametri [43]. .....	15
<b>Şekil 2.8.</b> Kare dalga voltametrisi [43]. .....	16
<b>Şekil 2.9.</b> Nyquist Diyagramı [48]. .....	17
<b>Şekil 3.1.</b> Platin tel elektrot. ....	24
<b>Şekil 3.2.</b> Ag/AgCl (3M KCl) elektrodu. ....	25
<b>Şekil 3.3.</b> Perde baskılı altın elektrot (SPE). ....	25
<b>Şekil 3.4.</b> 30 mL'lik cam hücre. ....	25
<b>Şekil 4.1.</b> MAC kaplanmış SPE-Au elektroda ait IR spektrumu .....	29
<b>Şekil 4.2.</b> Baskılanmamış NIP SPE-Au elektroda ait IR spekturmu .....	30
<b>Şekil 4.3.</b> Paraben baskılanmış MIP SPE-Au elektroda ait IR spektrumu.....	30
<b>Şekil 4.4.</b> Paraben baskılanmış ve uzaklaştırılmış MIP SPE-Au elektroda ait IR spektrumu.....	31
<b>Şekil 4.5.</b> AFM görüntüleri a) modifiye edilmemiş altın yüzey, b) MAC ile modifiye edilmiş altın yüzey, c) paraben baskılanmış gözenekli yapıya sahip polimerik film ile modifiye edilmiş altın yüzey .....	32
<b>Şekil 4.6.</b> a) Paraben baskılanmış Au-SPE, b) paraben uzaklaştırılmış Au-SPE, c) paraben baskılanmamış Au-SPE, d) MAC kaplanmış Au-SPE ve e) boş Au-SPE yüzeylerin 5 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{-3/4}$ çözeltisi içinde dönüşümlü voltamogramları (tarama hızı 100 mV/s) .....	34

<b>Şekil 4.7.</b> a) Paraben baskılanmış Au-SPE, b) paraben uzaklaştırılmış Au-SPE, c) paraben baskılanmamış Au-SPE, d) MAC kaplanmış Au-SPE ve e) boş Au-SPE yüzeylerin 5 mM Fe(CN) <sub>6</sub> <sup>-3/-4</sup> çözeltisi içinde diferansiyel puls voltamogramları ...	35
<b>Şekil 4.8.</b> a) Paraben baskılanmış Au-SPE, b) paraben uzaklaştırılmış Au-SPE, c) paraben baskılanmamış Au-SPE, d) MAC kaplanmış Au-SPE, e) Boş Au-SPE yüzeylerin 5 mM Fe(CN) <sub>6</sub> <sup>-3/-4</sup> çözeltisi içinde Nyquist diyagramları (E=0,2/Frekans=100000-0,1 Hz) .....	36
<b>Şekil 4.9.</b> Modifiye edilmemiş boş Au-SPE elektodun 0.1 M PBS (pH: 7.0) tamponunda alınan voltamogramları (a: paraben yokluğunda, b: paraben (10 µM) varlığında) .....	37
<b>Şekil 4.10.</b> Paraben baskılanmış ve uzaklaştırılmış SPE elektrodunun 0.1 M PBS (pH: 7.0) tamponunda alınan voltamogramları (a: paraben yokluğunda, b: paraben (10 µM) varlığında).....	38
<b>Şekil 4.11.</b> Tarama hızının etkisi 100 µM paraben çözeltisi ile MIP ve paraben uzaklaştırılmış (MIP) SPE'lerin dönüşümlü voltamogramları (PBS, pH: 7.0).....	39
<b>Şekil 4.12.</b> Tarama hızı <sup>0,5</sup> ve akım (I) arasındaki ilişki.....	40
<b>Şekil 4.13.</b> Moleküler baskılanmış elektrodun %1 HAc:H <sub>2</sub> O (1:9) içerisinde farklı sürelerde bekletilerek ölçülen akım değerlerinin zamana bağlı değişimi. ....	41
<b>Şekil 4.14.</b> Farklı derişimlerdeki paraben çözeltisinin kare dalga voltamogramları (a. 0, b. 1, c. 5, d. 10, e. 15, f. 20, g. 30 µM paraben) (PBS, pH: 7.0). ....	42
<b>Şekil 4.15.</b> Farklı derişimlerdeki paraben çözeltilerine ait akım değeri-derişim ilişkisi (0.1 M PBS, pH: 7.0).....	43
<b>Şekil 4.16.</b> Seçicilik araştırması için tekli karışımlar halinde farklı derişimlerde alınan akım değerleri (A: Baskılanmış yüzeylerde (MIP) B: Baskılanmamış yüzeylerde (NIP)) .....	45
<b>Şekil 4.17.</b> Seçicilik araştırması için ikili karışımlar halinde farklı derişimlerde alınan akım değerleri (A: Baskılanmış yüzeylerde (MIP), B: Baskılanmamış yüzeylerde (NIP)). ....	47

## ÇİZELGELER

	<u>Sayfa</u>
<b>Çizelge 2.1.</b> 4-Hidroksibenzoik asit (paraben) özellikleri [21].....	5
<b>Çizelge 2.2.</b> Yaygın olarak kullanılan fonksiyonel monomerler [29]. .....	9
<b>Çizelge 2.3.</b> Moleküler baskılamada yaygın olarak kullanılan çapraz bağlayıcılar [33]. .....	10
<b>Çizelge 2.4.</b> Yaygın olarak kullanılan başlatıcılar [37].....	11
<b>Çizelge 3.1.</b> Tayini gerçekleştirilen kimyasallar.....	26
<b>Çizelge 4.1.</b> Paraben için elde edilen analitik parametreler. ....	44
<b>Çizelge 4.2.</b> Seçicilik ve bağıl seçicilik katsayıları.....	46
<b>Çizelge 4.3.</b> Gerçek örnek ölçümü ile ilgili sonuçlar.....	48
<b>Çizelge 4.4.</b> Karşılaştırmalı tablo. ....	48

## KISALTMALAR

4VP	4-Vinil Piridin
1VI	1-Vinil İmidazol
AA	Akrilik Asit
ADI	Günlük Alınabilecek Miktar
AFM	Atomik Kuvvet Mikroskobu
Au	Altın
BP	Bütilparaben
CHC	Kronokulometri
CNF	Karbon Nanofiber
CP	Karbon Pasta
CPE	Karbon Pasta Elektrodu
CV	Dönüşümlü Voltametri
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DPV	Diferansiyel Puls Voltametrisi
EDC	Endokrin Bozucu Madde
EIS	Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi
EP	Etilparaben
$E_{pa}$	Analite Ait Pik Gerilimleri
FDA	Amerikan Gıda Ve İlaç Dairesi
FTIR	Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi
GCE	Camsı Karbon Elektrot
GC-MS	Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometrisi
HAc	Asetik Asit
HEMA	2-Hidroksietil Metakrilat
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi



LC	Sıvı Kromatografisi
LC-MS	Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometresi
lnu	Tarama Hızının Logaritması
LOD	Alt Tayin Sınırı
LOQ	Gözlenebilme Sınırı
LSV	Doğrusal Taramalı Voltametri
MAA	Metakrilik Asit
MAC	N-Metakriloil-L-Sistein
MAPA	N-Metakriloil-L-Fenilalanin
MIP	Moleküler Baskılanmış Polimer
MISPE	Moleküler Baskılanmış Katı Faz Özütleme
MMA	Metilmetakrilat
MP	Metilparaben
NIP	Baskılanmamış Polimer
PP	Propilparaben
PVA	Polivinil Alkol
R <sub>ct</sub>	Yük Transfer Direnci
SPE	Perde Baskılı Altın Elektrot
SWV	Kare Dalga Voltametri
TFMAA	2-(Triflorometil)-Akrilik Asit
TNT	Trinitrotoluen
UV	Ultraviyole-Morötesi
XRD	X Işını Kırınım Yöntemi

# 1.GİRİŞ

Vücuda alındıklarında hormonlara benzer etkiler gösteren veya onların görevlerini engelleyen endokrin bozucu maddelerden (EDC'lerden) biri olarak bilinen parabenler ilaç, gıda, kozmetik endüstrisinde fazla kullanılan ucuz ve koruyucu kimyasallar olarak bilinmektedir. Birçok faydasının yanında son yıllarda çeşitli araştırmalara konu olmuştur ve zararlı yanları ortaya konulmaya başlanılmıştır.

Para-hidroksibenzoik asitin veya 4-hidroksibenzoik asitin kısaltılması olarak literatürde geçmektedir ve paraben ismi de buradan gelmektedir. En çok kullanılan parabenler metilparaben (MP), etilparaben (EP), propilparaben (PP) ve bütilparaben (BP) olarak karşımıza çıkmaktadır.

Parabenler;

- Gıda sektöründe; soslarda, donmuş gıdalarda, sebzelerde, meyve sularında,
- İlaç endüstrisinde; kremlerde, göz, kulak ve burun damlalarında, ilaçlarda, bandajlarda, antibiyotiklerde, vitaminlerde,
- Kozmetik sektöründe; makyaj malzemelerinde, diş macununda, temizleme ürünlerinde kullanılmaktadırlar.

Bu çalışma endokrin bozucu bileşenlerden biri olan parabenin elektrokimyasal tayinine yönelik yapılmıştır. Üretici firmalar tarafından parabenin sıklıkla kullanılması ve parabenin zararlı etkileri göz önüne alındığında az miktarda bu kimyasalların tayini için güvenli, hızlı ve seçici yöntemlerin geliştirilmesi önemlidir. Diğer kromatografik yöntemlerle karşılaştırıldığında elektrokimyasal sensörler basit, ucuz ve hızlı cevap vermesi gibi özellikleri ile üstünlüklere sahiptir. Ayrıca katı elektrotlara göre perde baskılı altın elektrot daha ucuz ekipman özelliği göstermektedir.

Aminoasit yapıdaki polimerleşebilen fonksiyonel monomerin sentezlenmesiyle protein, enzim vb. gibi pek çok biyomolekülün oldukça seçici bağlanma özelliği polimerik malzemelere aktarılabilir. Moleküler baskılama tekniği bu yaklaşımların başında gelmektedir. Bu bağlamda, sentetik olarak fenilalanin aminoasidinin polimerleşebilen türevi olan N-metakriloil-L-fenilalanin (MAPA) ile paraben etkileştirilmiş ve oluşan ön kompleks yapının 2-hidroksietilmetakrilat monomerinin polivinil alkol (PVA) varlığında (ayarlanabilen gözenekli bir yapının

eldesi için) SPE (perde baskılı elektrot) etilenglikoldimetakrilat (EDGMA) apraz bağlayıcı yardımıyla elektrodun altın yüzeyinde polimerleştirilmesi sağlanmıştır. Yüzeyde moleküler baskılanmış polimer (MIP) oluşturulmuştur. Böylelikle, SPE elektrot yüzeyi parabeni hem uzaysal hem de kimyasal olarak tanıyan kavitelere sahip polimerik yapı ile işlevselleştirilerek parabene özgü elektrokimyasal sensör geliştirilmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Parabenler

Paraben terimi para-hidroksibenzoik asidin kısaltması olarak kullanılmakta ve kimyasal formülü p-hidroksibenzoik asit veya 4-hidroksibenzoik asit olarak literatürde geçmektedir. Parabenler; kozmetik ve ilaç endüstrisinde fazlaca tercih edilen, ucuz, zararlı bakteri ve mantar üremesini engelleyen raf ömrünü uzatan koruyucu kimyasal maddeler olarak bilinmektedirler. Birçok faydasının yanında zararlı etkileri de olduğu bilinmektedir [1-7]. Parabenler çoğunlukla sentezlenebiliyor olsa da doğada bazı bitkilerde de bulunabilmektedirler; havuç, zeytin ve çilekte çok az miktarda paraben bulunmaktadır.

Parabenler, küf ve mayalara karşı çok etkili iken, bakterilere karşı düşük aktivite göstermektedir. Unlu mamullerde (kekler, ekmek kabuğu, dolgu malzemeleri vb.) hafif içeceklerde, balıkta, meyve ürünlerinde, jelatin, reçel, turşu ve şaraplarda sıklıkla paraben kullanıldığı görülmektedir [8].

#### 2.1.1. Parabenlerin İnsan Sağlığına Etkileri

Parabenler düşük toksik özellikte olmasına rağmen bazı çalışmalar göstermektedir ki; endokrin sistemini bozmakta; erkek ve kadın üreme sistemlerinin işlevlerini etkileyebilmekte ve kadınlarda meme kanseri riskini arttırabilmektedir [9]. Çeşitli araştırmalar sonucunda MP'nin ultraviyole-morötesi (UV) ışınları altında deriye verdiği zararın artmakta olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonuçtan anlaşılıyor ki; paraben içeren bir kremi sürdükten sonra güneşe çıkmanın cilt lekelerine, yaşlanmaya ve hatta deoksiribonükleik asit (DNA) birikimlerinin artmasıyla cilt kanserine neden olabileceği sonucuna varılmaktadır [10].

Ülkemizde Sağlık Bakanlığı'nın yaptığı bir açıklamaya göre: "Parabenler insan vücudunda östrojen hormonuna benzer etkiler gösterebilmektedir." [10].

Amerikan gıda ve ilaç dairesi (FDA); gıdalarda MP'lerin %0,1 oranına kadar kullanılabilirlerini söylemektedir. MP ve PP karışım olarak ise unlu mamullerde (3:1), %0,03-0,06 oranında, karbonatlı içeceklerde MP ve PP karışımı (2:1) %0,03-0,05 oranında koruyucu olarak kullanılabilirler. Ayrıca küflenmeyi engellemek için de %3,5 oranında PP çözeltisi üreticiler tarafından

kullanılmaktadır. Yine EP ve MP gıda ambalaj ürünlerinde koruyucu olarak kullanılmaktadırlar [11].

Avrupa Birliği Kozmetik Direktifinde de bu maddeler ile ilgili sınırlar belirlenmiş ve tek bir paraben türevi kullanılacak ise sınır %0,4, birden çok paraben türevi kullanılacak ise bu sınır %0,8 olarak belirlenmiştir. Medikal ilaç ve benzeri ürünlerde %0,25 konsantrasyona kadar kullanılabileceğini belirtmektedir [11].

Avrupa İlaç Ajansı 2010 yılında parabenlerle ilgili bir değerlendirme yapmıştır. Bu değerlendirmeye göre MP ve EP'lerin günlük alınabilecek miktarını (ADI) 10 mg/kg olarak belirlemiştir. Hayvanlar üzerinde yapılan bu çalışmada PP'in erkek üreme sisteminde ve gelişme üzerinde olumsuz etkileri görülmüştür. Bu sebeple PP'lerin bebek ve küçük çocuklar için üretilen medikal ilaç ve benzeri ürünlerde kullanılmaması gerektiğini bildirmektedir [11].

Parabenlerin geniş bir etkiye sahip olmasından dolayı son yıllarda çokça kullanılmaya başlanmış ve oldukça popüler koruyucu madde olarak kullanılmaya başlanmıştır. Popüler olması araştırmalara konu olmasına sebep olmuş ve yapılan araştırmalarda da parabenlerin zararlı etkileri ortaya çıkmıştır [12].

Yapılan bu araştırmalarda parabenlere meme kanseri dokularında rastlanmış olup bu sebeple bu konuda çeşitli araştırmalar yapılmaya başlanılmıştır [13-15].

Yapılan bir araştırmada parabenle etkileşime girmediği halde erişkin insanların idrarında parabene rastlanması da bu maddenin temas yoluyla vücutta biriktiğinin göstergesi olarak sunulmuştur [16]. Birçok araştırmacı, parabenlerin östrojen gibi davrandığını ve yan etkilerinin bu sebepten ötürü olduğunu söylemişlerdir [17-19]. Çeşitli araştırmaların olumsuz sonuçlarından dolayı parabenlerin kullanımında tüketicilerin endişeleri ortaya çıkmıştır.

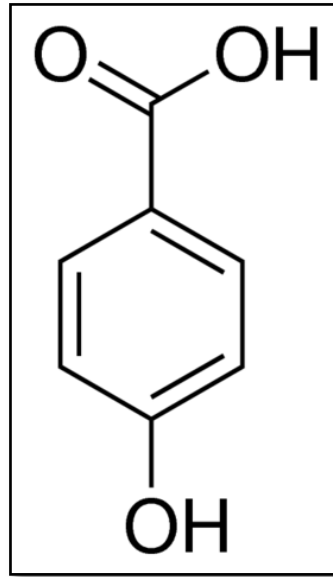
Danimarka Çevre Koruma Ajansı 2009 yılında endokrin bozucu maddelerin küçük çocuklar üzerinde etkisini araştırmak üzere bir çalışma yapmıştır. Bu çalışmada PP ve BP içeren ürünlerin küçük çocukların gelişimi üzerinde olumsuz etkileri görülmüştür. Gelişim süresindeki çocuklar endokrin bozucu maddelere maruz kaldığında organ gelişimleri etkilenmekte ve bağışıklık sistemleri üzerinde olumsuz etki yaratmaktadır. Bu yüzden Danimarka, 2011 yılında küçük çocuklar için üretilen ürünlerde PP ve BP kullanıma yasak getirmiştir. Avrupa Komisyonunda da parabenler ile ilgili bir yasak getirilmesi beklenmektedir ve üye olan ülkelerinde

bunu desteklemesi istenmektedir. Bunlara ek olarak Fransa da 2011 yılında parabenlerle ilgili yasak getirmiştir.

Parabenlerle ilgili Amerika'da bebeklerle ilgili ürünlerde paraben kullanımını yasaklanmış ve farmasötik ve kozmetik ürünlere izin verilen maksimum propilparaben ve bütilparabenler konsantrasyonu düşürülmüştür. Uluslararası sertifikalandırma kuruluşları Uluslararası Organik Tarım Kontrol ve Sertifikasyon firması ve çeşitli organik kozmetik sertifika firmaları ürünlerde paraben kullanılması durumunda organik ürün sertifikası vermemektedir [20].

### 2.1.2. Paraben Yapısı ve Özellikleri

4-Hidroksibenzoik asit (paraben), su ve kloroformda çözünebilen bir yapıya sahiptir ve alkol, eter ve asetonda çok yüksek çözünürlük göstermektedir. Parabenin kimyasal yapısı Şekil 2.1'de özellikleri ise Çizelge 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. 4-Hidroksibenzoik asit (paraben) yapısı [21].

Çizelge 2.1. 4-Hidroksibenzoik asit (paraben) özellikleri [21].

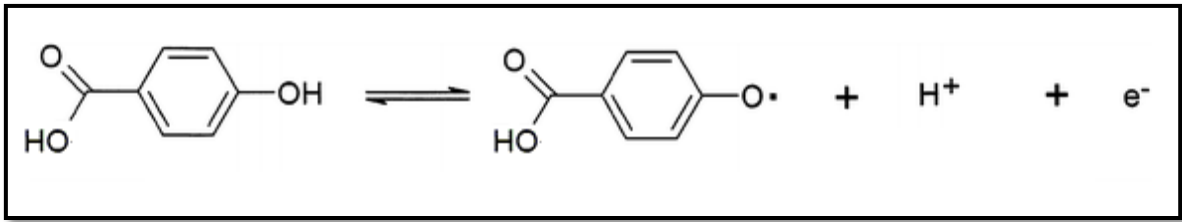
<i>Parametre</i>	<i>Değer</i>
Kimyasal formül	HOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> CO <sub>2</sub> H
Moleküler ağırlık	138,12 g/mol
Erime noktası	213-217 °C
Suda çözünürlük	5 g/L

### 2.1.3.Parabenin Elektrokimyasal Davranışı

Fenolik grupların redoks aktivitesi (ArOH), paraben gibi en az iki mekanizmadan oluşmaktadır. Birinci basamak H atomu transferi (2.1), ikinci basamak 1 tek elektron ve proton transferidir (2.2) [22].



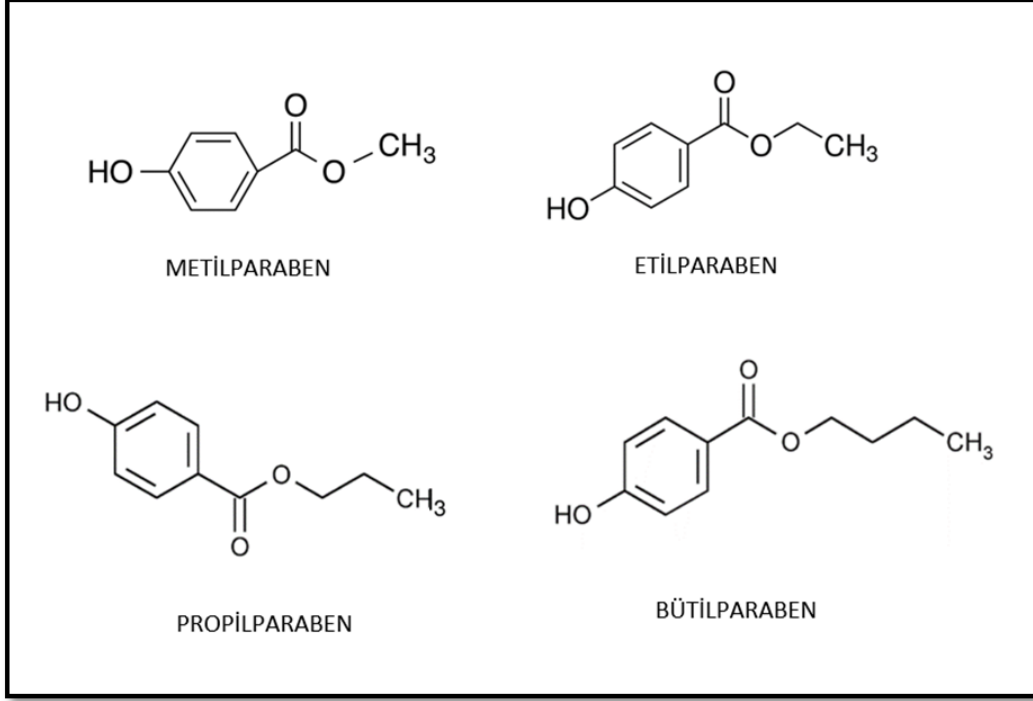
Bu mekanizmaya göre parabenin yükseltgenme mekanizması Şekil 2.2'de gösterilmektedir.



**Şekil 2.2.** 4-Hidroksibenzoik asidin (parabenin) yükseltgenme mekanizması.

### 2.1.4.Paraben Türevleri

Çoğunlukla yaygın olarak kullanılan çeşitli para-hidroksibenzoik asit esterleri vardır ve bunlar; metilparaben, etilparaben, propil paraben, izopropil paraben ve bütül parabendir. Kimyasal yapısındaki farklılıklara göre her bir parabenin farklı çözünürlük davranışı vardır. Yani alkil zinciri arttıkça, suda çözünürlük azalır yağda çözünürlük artmaktadır [23]. Çeşitli kozmetik ürünlerinde tek bir paraben esteri kullanıldığı gibi, iki veya daha fazla paraben esteri birlikte de kullanılmaktadır. Şekil 2.3'de paraben esterlerinin yapısı gösterilmektedir.



**Şekil 2.3.** Paraben esterlerinin kimyasal yapısı [24].

## 2.2. Moleküler Baskılama

1984 yılında Fisher bir model geliştirmiş ve bu modeli anahtar-kilit modeli olarak bilim dünyasına sunmuştur. Bu modelden yola çıkarak moleküler baskılama terimi ortaya atılmıştır. Daha sonraki yıllarda da çeşitli araştırmalara konu olmuştur. Öncelikle kovalent olmayan baskılama yöntemleri geliştirilmiştir. Sonrasında ikincil etkileşimlerle kovalent baskılama yöntemleri geliştirilmiş ve son 20 yıldır da bu yöntemin kullanılması artmıştır. Gün geçtikçe de üstel olarak gelişme göstermektedir.

Yüksek afinite ve seçicilik, kolay hazırlama, kararlı olmaları ve değişik durumlara kolay adaptasyon özellikleri göstermeleri, moleküler baskılanmış polimerlere yoğun ilgi olmasına sebep olmuştur. Ayrıca; bu polimerlerin mekanik özelliklerinin yüksekliği, ısıya dirençleri, basınca karşı dayanıklılık göstermeleri, asitler-bazlar ve organik çözücülerin olduğu ortamlarda kararlılık göstermeleri de tercih edilme sebepleri olmuştur.

Birkaç yıl boyunca yapısı ve kararlılığında bir değişiklik olmadan saklanabilmektedirler. Moleküler baskılanmış polimerlerin bu özellikleri geniş



alanda hem tanıma hem de ayırma amacıyla kullanılabilmesine olanak sağlamaktadır.

Polimerde moleküler baskılama;

- Fonksiyonel monomerler kalıp molekül ile birleşerek reaksiyon oluştururlar ve hem fonksiyonel gruba hem de polimerleşebilecek doymamış bağlara sahip olan uygun monomerler hedef moleküle kovalent veya kovalent olmayan reaksiyonlarda bulunarak kompleks oluşturmaktadır. Hedef molekülün kimyasal yapısı ve özellikleri bu kompleks oluşumunda önem arz etmektedir [25,26].
- Monomer-hedef molekül kompleksi uygun bir çapraz bağlayıcı ve başlatıcı yardımıyla fonksiyonel monomer üzerinden polimerleştirilmektedirler [26].
- Polimerizasyon aşamasında çapraz bağlı polimer ağ oluşmaktadır [25].
- Kalıbın uzaklaştırılmasıyla kalıba uygun, yüksek seçicilikte, tamamlayıcı bağlanma bölgeleri içeren polimer elde edilmiş olmaktadır [25]. Oluşan bu yapıdaki kalıp moleküller uygun bir çözücü yardımıyla yapıdan uzaklaştırılmakta ve sonuçta kalıp molekülü tanıyan bu molekülün özelliklerine uygun boşluklar elde edilmiş olmaktadır [26].

İyi bir MIP oluşturmak için bazı kriterlere dikkat etmek gerekmektedir. Bu kriterler; monomer-kalıp oranı, projen (çözücü) seçimi, fonksiyonel monomerin asidik ya da bazik karakterde olması, kalıp molekülün ve polimerin özellikleri, polimerizasyon şartları, çapraz bağlayıcının miktarı olarak sayılabilmektedir.

### **2.2.1. Kalıp (Hedef) Molekül**

Seçilecek olan fonksiyonel grupların baskılanacak hedef moleküle etkileşime girmesi beklenmektedir. Monomer-hedef molekül kompleks oluşumu için hedef molekülün etkileşime girebilecek bölgelerinin (hidrojen bağı ve elektrostatik etkileşim) tercih edildiği görülmektedir [27]. Molekülün reaksiyonun gerçekleştirileceği koşullar içinde yapısını bozmayacak şekilde kararlı olması beklenmektedir.

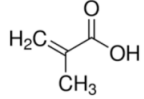
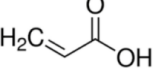
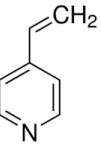
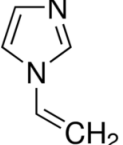
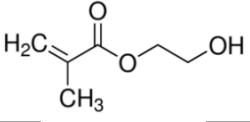
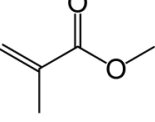
Kullanılan kalıp moleküller; küçük moleküller (farmosötik ilaçlar, peptidler, aminoasitler, nükleotidler, şekerler), peptidler, proteinler ve bakteri, virüs ve maya gibi tüm hücreler olabilmektedir [25].

## 2.2.2. Fonksiyonel Monomer

Polimerizasyon sonrasında seçilmiş olan fonksiyonel monomer hedef molekül için ayırt edici ve yüksek seçicilikte bağlanmak noktaları oluşturmakta ve bu boşluklara hedef molekül uygun ortamlarda tekrar bağlanabilmektedir [28].

4000'in üzerinde polimerleşmeye uygun fonksiyonel monomer olduğunu Karim ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmalarında ortaya koymuşlardır [30]. Bunlar; yüklü, asidik, bazik ve nötral olarak gruplandırılmaktadırlar [31,32]. Asidik özelliklere sahip olan fonksiyonel monomerler; metakrilik asit (MAA) ve akrilik asit (AA) örnek verilebilir. Bazik yapıya sahip olan fonksiyonel monomerler 4-vinil piridin (4VP) ve 1-vinil imidazol (1VI), nötral olanlar ise 2-hidroksi metakrilat (HEMA) ve metil metakrilat (MMA)'dır [28]. Bazı fonksiyonel monomerlerin adı ve kimyasal yapısı Çizelge 2.2'de gösterilmektedir.

**Çizelge 2.2.** Yaygın olarak kullanılan fonksiyonel monomerler [29].

Monomer Yapısı	Monomer adı	Asit/Baz/Nötr Özellikleri
	Metakrilik Asit MAA	Asit
	Akrilik Asit AA	Asit
	4-Vinil Piridin 4VP	Baz
	1-Vinil İmidazol 1VI	Baz
	2-Hidroksietil Metakrilat HEMA	Nötral
	Metil Metakrilat MMA	Nötral

## 2.2.3.Çapraz Bağlayıcılar

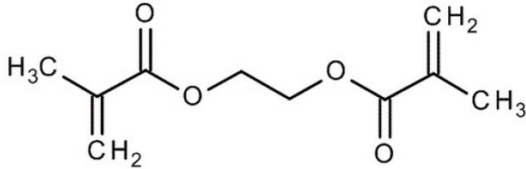
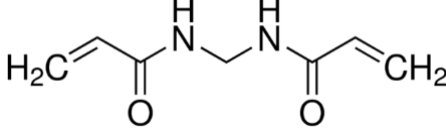
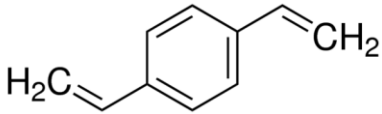
Çapraz bağlayıcının baskılanmış bir polimerde üç temel görevi vardır.

1. Polimerin gözenekli yapısını kontrol etmektedir.

2. Bağlanma merkezinin kararlılığının sağlanmasına neden olmaktadır.
3. Polimer matrisinin kararlılığını belirlemektedir.

Yaygın olarak kullanılan bazı çapraz bağlayıcıların kimyasal yapısı Çizelge 2.3'de gösterilmektedir.

**Çizelge 2.3.** Moleküler baskılamada yaygın olarak kullanılan çapraz bağlayıcılar [33].

Çapraz Bağlayıcı	Kimyasal Yapısı
EDGMA (Etilenglikol dimetakrilat)	
MBA (N,N'-metilen bisakrilamid)	
DVB 4-Divinilbenzen	

#### 2.2.4.Çözücü (Porojen)

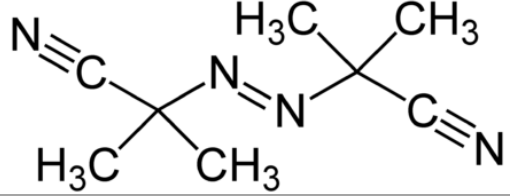
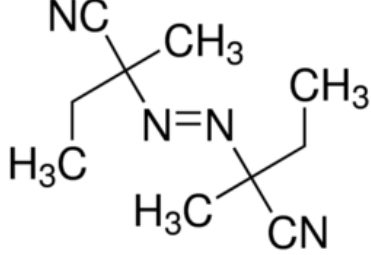
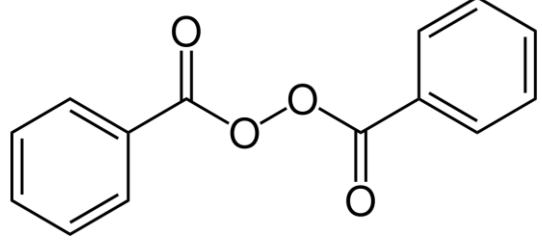
Çözücüler temelde baskılanmış olan polimerde gözeneklerin oluşmasını sağlamaktadırlar. Polimerde oluşan gözeneklerin seçici olması yapısına bağlı olmaktadır [34]. Baskılamanın türüne göre çözücü seçimi de değişmektedir. Kovalent baskılama için bütün bileşenleri çözen bir çözücü seçilirken, kovalent olmayan baskılamada ise etkiyi artırmak için çözücü seçimi daha önem arz etmektedir [35]. Seçilecek çözücünün monomer ile hedef molekül arasında elektrostatik etkileşimler ve H bağları oluşturması beklenmektedir ve bu yüzden çözücünün az polar olması gerekmektedir. Çoğunlukla polar olmayan çözücüler kullanılarak sentezlenen MIP'lerin daha seçici olduğu gözlenmektedir [34]. Sentezlenen polimerdeki boşlukların hedef moleküle fiziksel ve kimyasal olarak tam ve uygun olması gerekmektedir [36].

#### 2.2.5. Başlatıcılar

Polimerizasyon koşullarına göre uygun kimyasal etkileşimleri sağlayan başlatıcılar kullanılmaktadır. H bağı oluşumuna bağlı bir polimerizasyon yapılırken UV başlatıcılar kullanılabilir. Hedef molekülün ısı kararlılığı başlatıcı seçimini

etkilemektedir [36]. Yaygın olarak kullanılan bazı başlatıcıların kimyasal yapısı Çizelge 2.4'de verilmiştir.

**Çizelge 2.4.** Yaygın olarak kullanılan başlatıcılar [37].

Başlatıcı Adı	Kimyasal Yapısı
Azobisisobutironitril (AIBN)	
Azobisdimetilvaleronitril (ADMVN)	
Benzoilperoksit (BPO)	

### 2.3.Moleküler Baskılama Yöntemi

Moleküler baskılama kovalent ve kovalent olmayan bağlanma yöntemlerine göre iki şekilde olabilir.

#### 2.3.1. Kovalent Baskılama

Fonksiyonel monomer ve hedef molekülün arasında polimerizasyondan önce tersinir bir kovalent bağ oluşmaktadır. Polimerizasyondan sonra bu kovalent bağlar kırılmaktadır ve sonrasında kalıp molekül baskılanmış polimerle etkileşime girdiğinde bu bağlar tekrar oluşmaktadır [38]. Kovalent baskılama yöntemi Şekil 2.4'de gösterilmiştir.

- Avantajları
  - ❖ Kovalent baskılanma işleminde fonksiyonel monomer ile kalıp molekül stokiometrik oranlarda etkileşime girmekte ve kovalent bağ oluşumu ile monomer-kalıp molekül kompleksinin kararlılığı

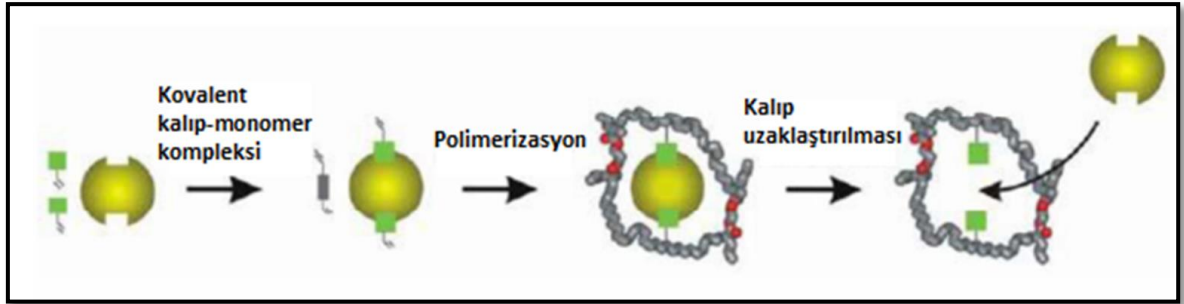
artırılmakta ve oluşan boşlukların homojen dağılımı gerçekleşmektedir [31].

❖ Kovalent bağlarla yapılan bu baskılama türünde polimerizasyon şartları istenilen şekilde ayarlanabilmektedir [31].

- Dezavantajları

❖ Kalıp molekülün uzaklaşma ve geri bağlanma hızı yavaş olduğu için, polimerden kalıp molekülün uzaklaştırılması zordur.

❖ Kovalent baskılama yöntemi, kromatografi gibi hızlı bağlanma kinetiği gösteren uygulamalarda, yavaş kinetiğe sahip olduğu için ilgi çekici değildir ve zayıf kromatografik sonuçlar ortaya çıkmasına sebep olmaktadır [39].



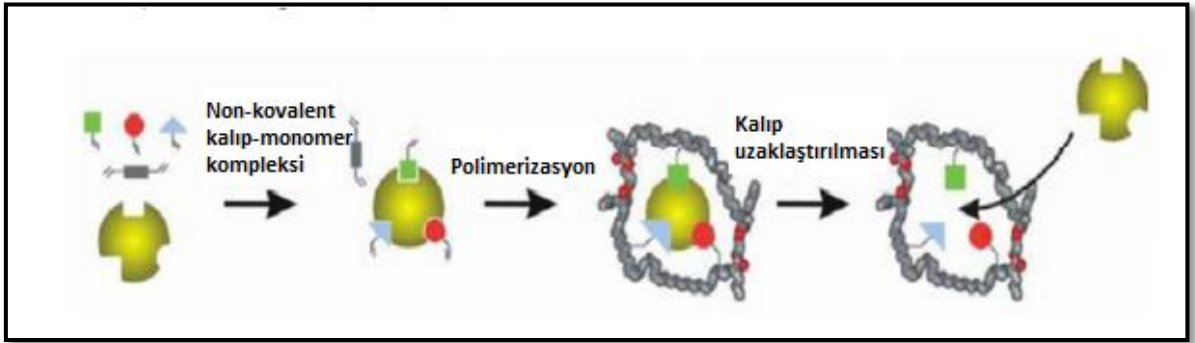
Şekil 2.4. Kovalent baskılama [40].

### 2.3.2. Kovalent Olmayan Baskılama

Kovalent olmayan baskılama, non-kovalent etkileşimlerle (hidrojen bağı, elektrostatik etkileşimler, hidrofobik etkileşim, dipol-dipol kuvvetler ya da etkileşimler ve koordinasyon bağ oluşumu gibi) kalıp molekül ve fonksiyonel monomer arasında oluşmaktadır. Uygun bir çözücü yardımıyla kalıp molekül yapıdan uzaklaştırılabilmekte ve daha sonra hedef molekül kovalent olmayan bağlarla tekrar polimere bağlanabilmektedir [26]. Kovalent olmayan baskılama Şekil 2.5'te gösterilmiştir.

- Avantajları

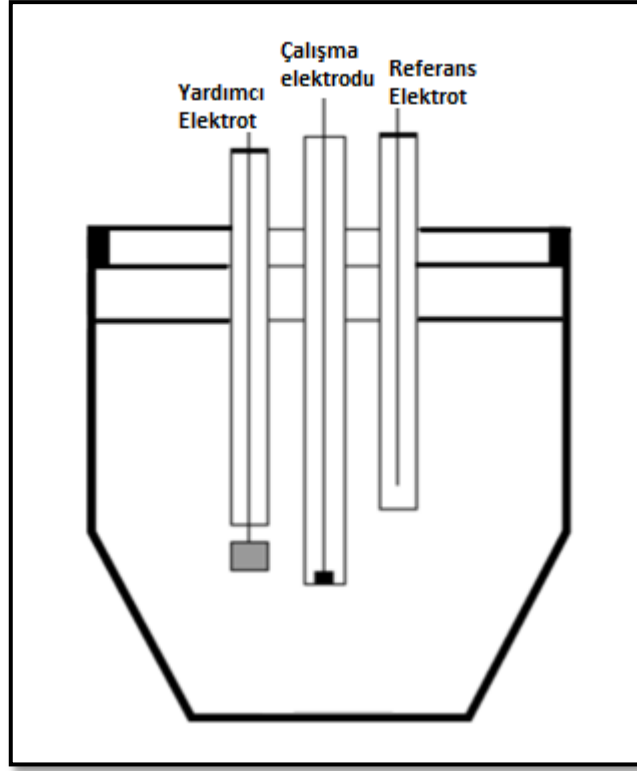
- ❖ Biyomolekül temelli tanımayı göre ucuz, hazırlaması kolay, ısı ve kimyasal kararlılığı yüksek bir yöntemdir.
- ❖ İstenilen şekilde farklı formlarda (küre, film, monolit, membran) yıllarca formunu bozmadan uygun koşullarda saklanabilmektedir.
- Dezavantajları
  - ❖ Bu tür baskılamada istenilen koşullarda başarı sağlanamamaktadır (kalıp molekül ve monomer bağlanması farklılık göstermektedir.).
  - ❖ Bağ oluşum dengesini arttırmak için fonksiyonel monomer çokça kullanılmaktadır ve spesifik olmayan bağlanma yerleri oluşmasına neden olabilmektedir [41,42].



**Şekil 2.5.** Kovalent olmayan baskılama [40].

#### 2.4. Voltametri Yöntemi

Polarize edilmiş çalışma elektrodun değişen potansiyele göre akım-gerilim ve derişim ilişkilerinin gözlemlendiği bir yöntemdir. Çalışma, referans ve yardımcı elektrot kullanılarak akım-gerilim eğrileri elde edilmektedir. Voltametrik analiz yapılırken kullanılan kabın adsorpsiyon gibi durumlara sebep olmaması için genellikle cam, kuvars ve teflon kaplar kullanılmaktadır [43].

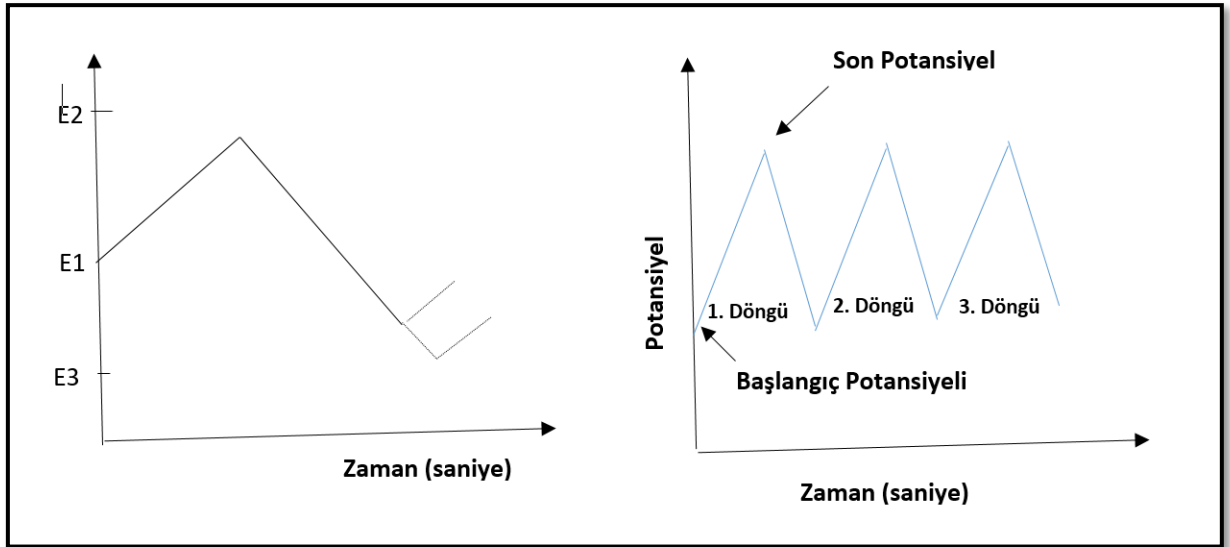


**Şekil 2.6.** Voltametrik ölçümlerde kullanılan hücre [43].

Voltametrik yöntem temelde çalışma elektroduyla referans elektrot arasında uygulanan gerilime karşı çalışma elektrodunun ile karşıt elektrot arasındaki akımın ölçülmesine dayanmakta ve bu değerler (akım-gerilim) grafiğe geçirildiğinde voltamogramlar elde edilmektedir. Voltametri yöntemi birçok alanda birçok türün tayini için kullanılan önemli bir yöntemdir [44].

#### **2.4.1.Dönüşümlü Voltametri (CV)**

Bu yöntemde analitin yükseltgenme ve indirgenme özellikleri aynı anda tayin edilebilmesine olanak sağlayan ve en yaygın olarak kullanılan voltametrik yöntemlerdendir. Zamanla doğrusal olarak değişen bir potansiyel uygulaması yapılmaktadır. Potansiyel belli bir değere ulaştıktan sonra yine doğrusal olarak azalarak ters yönde uygulanmaktadır. Bu yöntemde tarama hızını değiştirerek farklı tarama hızlarında da ölçüm alınabilmekte ve bu ölçüm birçok kez tekrarlanabilmektedir. Bu yöntemle elde edilen voltamogramlara "dönüşümlü voltamogram" adı verilmektedir. Dönüşümlü voltametri yöntemine ait potansiyel-zaman grafikleri Şekil 2.7'de gösterilmektedir.



**Şekil 2.7.** Dönüşümlü voltametri [43].

Dönüşümlü voltametri ile;

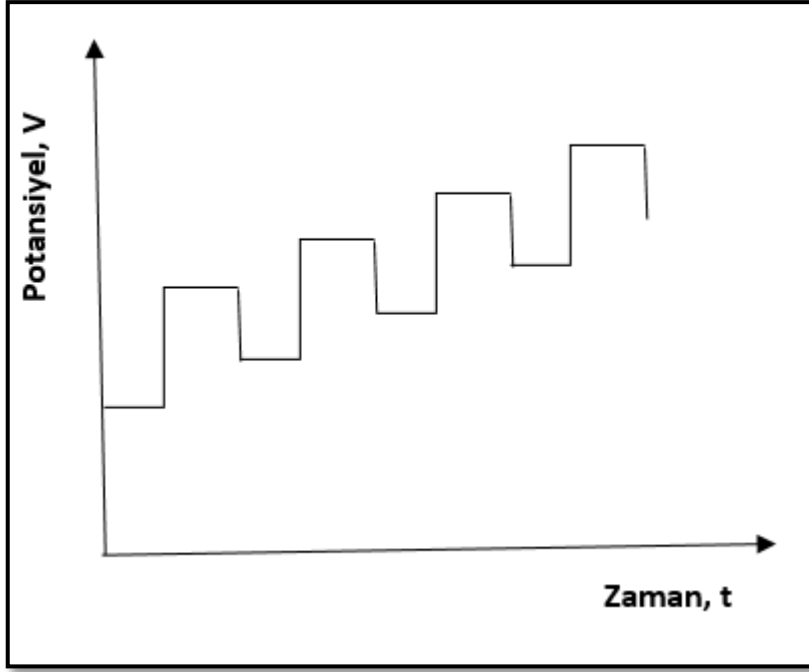
- Bir reaksiyonun tersinir olup olmadığı,
- İncelenecek olan maddenin pik gerilimi,
- Sistemin adsorpsiyon veya difüzyon kontrollü olduğu anlaşılabilmekte,
- Çalışma elektrodun aktif yüzey alanı hesabı yapılabilmekte,
- Oluşan ürünlerin kararlı olup olmadığı anlaşılabilmekte,
- Tepkimeye giren maddelerin yüzeye absorbe olup olmadığı anlaşılabilmektedir [45].

#### **2.4.2. Kare Dalga Voltametrisi (SWV)**

Bu yöntem voltametrik yöntemler arasında en hızlı cevap veren yöntemdir. Potansiyeli zamana göre grafiğe geçirilmesiyle elde edilen voltamogramlardan sonuca varılmaktadır. Şekil 2.8'de görüldüğü gibi dalga şekilleri simetrik kare dalgalardan oluşmaktadır. Bu yöntemin kullanılmasında yüksek duyarlılık ve hızlı cevap verme sebepleri olarak gösterilebilmektedir [46,47].

Bu yöntem birçok firma tarafından ticari olarak piyasaya sürülmüş olup, çeşitli maddelerin analizinde büyük öneme sahip olacağı düşünülmektedir. Aynı zamanda bu yöntemin yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) dedektörü olarak da kullanılabileceği düşünülmektedir.

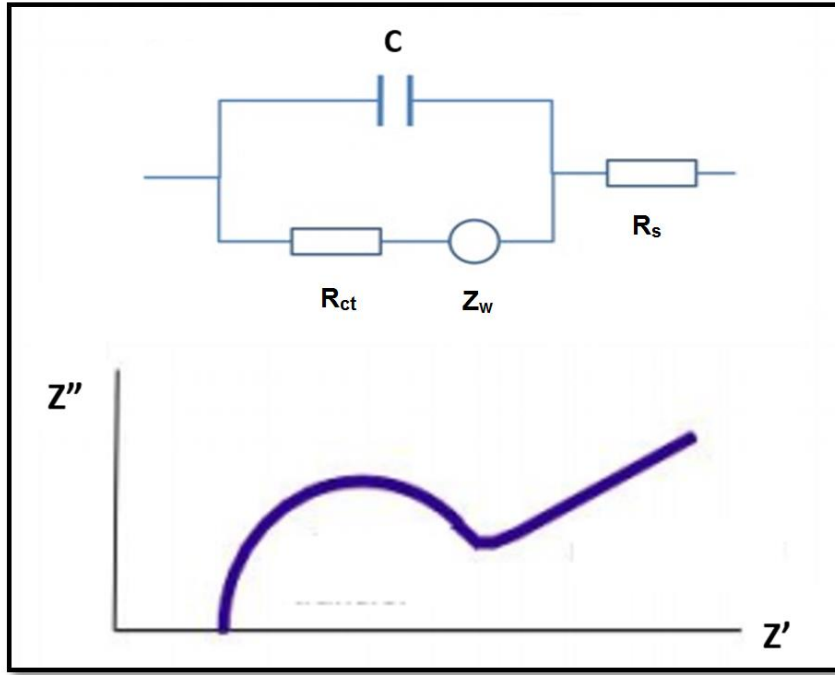




**Şekil 2.8.** Kare dalga voltametri [43].

#### **2.4.3. Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi (EIS)**

Bu yöntemde sabit bir gerilim uygulanmaktadır ve elektrot-çözelti ara yüzeyinde oluşmuş olan bu çifte tabakanın alternatif akım empedansı ölçülmektedir. Bu alternatif akım elektrot yüzeyine düşük frekans değerinde ve düşük genlik değerinde belirli aralıklarda uygulanarak elde edilen grafik ara yüzey hakkında bilgi vermektedir. Elde edilen grafiğe Nyquist diyagramı denir (Şekil 2.9.) ve bu grafikten faydalanarak yüzeyin iç direnci veya bir diğer ifade ile yalıtkanlığı hesaplanabilmektedir [48].



**Şekil 2.9.** Nyquist Diyagramı [48].

Nyquist eğrisinde yarım daire elektron transferine karşı direnci göstermektedir. Yarım dairenin çapı da elektron transferi direncini ifade etmektedir [49]. Empedans yüksek frekanslar uygulandığında direncin ölçümlerini göstermektedir. Bütün bu bileşenler geniş bir frekans aralığında elektrokimyasal hücre boyunca empedansta değişen çalışmalar olarak ifade edilebilmektedir [49,50].

$R_{ct}$ : Elektrot/çözelti ara yüzeyindeki yük transfer direnci ( $\Omega$ )

$R_s$ : Çözelti direnci ( $\Omega$ )

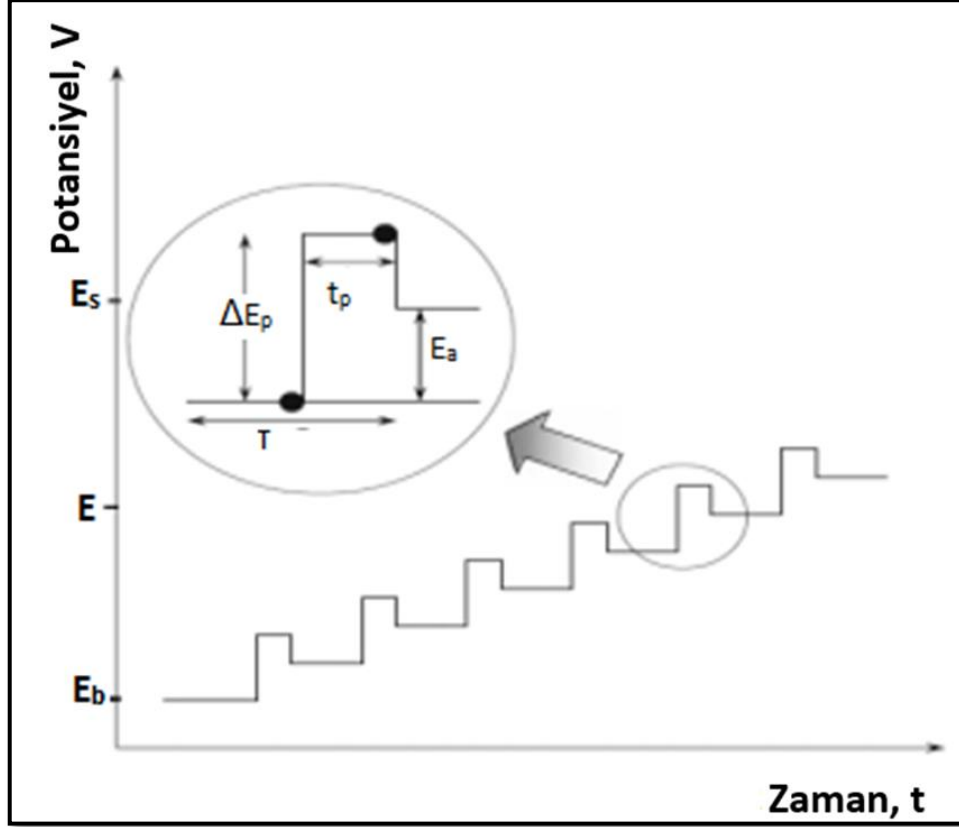
C: Sabit faz elemanı

W: Warburg sabiti ( $\Omega / \text{sn}^{-1/2}$ )

#### 2.4.4. Diferansiyel Puls Voltametrisi (DPV)

Bu yöntem düşük yoğunluktaki organik, inorganik ve metalik iyonların tayini için kullanılan elverişli voltametrik bir yöntemdir. Bu yöntemde doğrusal olarak artan bir potansiyel üzerine sabit şiddetle bindirilen pulslar, istenilen zaman aralıklarında çalışma elektroduna uygulanmakta ve akım, puls uygulamasından hemen önce ve uygulamanın sonuna doğru akımın yaklaşık olarak sıfır olduğu noktada iki kez ölçüm alınmaktadır [51].

Alınan akımlar arasındaki fark potansiyelle karşı grafiğe geçirilerek voltamogramlar elde edilmektedir. Pik yüksekliği analitin derişimi ile doğru orantılı grafik eğrileri elde edilmektedir. Bu yöntem karşılaştırmalı ve destekleyici bir yöntem olarak günümüzde, yaygın olarak tercih edilmektedir. Şekil 2.10'da bu yöntemle elde edilen akım-potansiyel eğrisi görülmektedir.



Şekil 2.10. Diferansiyel Puls Voltametri [51].

#### 2.4.5. Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM)

Bu yöntem yüzeyin üç boyutlu olarak görüntülenmesini sağlamak için kullanılmaktadır. Atomik boyutlarda inceltilmiş olan bir iğne ucu kullanılarak yüksek çözünürlükte görüntüler elde edilebilmesine imkan sağlamaktadır. Elde edilmek istenen sonuçlara göre iğne ucu seçimi yapılabilmektedir. Bu yöntemde üç farklı teknik kullanılarak görüntü edilebilmektedir. Bunlar;

1. Sivirilmiş iğne ucunun yüzeye temas ettirilmesi yöntemi,
2. İğne ucunun yüzeye temas ettirilmemesi yöntemi,
3. İğne ucunun yüzeye vurulması yöntemi olarak bilinmektedir [52].

#### **2.4.6. Fourier Dönüşümlü Infrared (FT-IR) Spektroskopisi**

Her maddenin içerdiği kimyasal bağların türü ve çevresine bağlı olarak kendine özgü spektrumu vardır ve maddeyi oluşturan atomlar arasındaki bağların titreşimleriyle oluşan frekanslarına karşılık gelen absorpsiyon pikleri, FTIR spektroskopisi sayesinde belirlenebilmektedir. Böylece madde hakkında detaylı bilgiye sahip olunabilmektedir. Elde edilen veriler farklı moleküler bağlardan kaynaklanan farklı titreşim frekanslarını temsil etmektedir [53-56].

#### **2.5. Kaynak Araştırması**

Blanco-Lopez ve arkadaşları moleküler baskılanmış elektrokimyasal sensörler hakkında literatür araştırması yapmışlardır. Kondüktometrik, kapasitif, empedans spektroskopisi, potansiyometrik, amperometrik ve voltametrik iletimi araştırmışlardır. Duyarlı sonuçlar için amperometrik ve voltametrik cihazların daha iyi sonuç verdiği rapor edilmiştir. Ve sonuç olarak önümüzdeki 10 yıl içinde yeni nesil sensörlerin kurulması ihtimalinin yüksek olduğu kanısına varmışlardır [57].

Piletsky ve Turner'ın yaptığı bir çalışmada moleküler baskılanmış polimerlerin sensörlere uygulanması ile ilgili problemler vurgulanmış ve olası çözümler aranmıştır [58]. Malitesta ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışma MIP teknolojisinin gelişmiş algılama aygıtlarının geliştirilmesi için elektrokimyasal tekniklerle birleştirilmesinin önemini vurgulanmıştır. Bu alanda yapılmış olan ilk çalışmadan başlayarak en yenilikçi ve en başarılı çalışmaya uzanan genel bir bakış sunulmuştur [59].

Alizadeh'nın yaptığı bir çalışmada trinitrotoluen (TNT) için yüksek seçicilikte voltametrik bir sensör tasarlamışlardır. TNT için MIP ve baskılanmamış polimer (NIP) sentezlenmiş karbon pasta (CP) elektron hazırlanması için kullanılmıştır. Karbon pasta elektroduna (CPE) entegre edilen MIP'ler TNT tayini için seçici tanıma elemanı ve ön deriştirme özütlemesi olarak işlev görmüştür. Hazırlanan elektrot, TNT'nin ölçümü için, elektrotta analit ekstraksiyonu, elektrot yıkama ve TNT'nin elektrokimyasal ölçümü de dâhil olmak üzere üç aşamalı işlem uygulanmıştır. MIP-CP elektrodu, NIP-CP'ye kıyasla çok yüksek tanıma gücü göstermektedir. Önerilen elektrot ile TNT tayini için kare dalga voltametrinin cevabı diferansiyel puls voltametreinkinden daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Sensör tepkisini etkileyen bazı parametreler optimize edilmiş ve daha sonra bir

kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir.  $5 \times 10^{-9}$  ile  $1 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> arasında bir dinamik doğrusal aralığa sahip olduğu belirlenmiştir. Sensörün algılama limiti,  $1.5 \times 10^{-9}$  mol L<sup>-1</sup>'e eşit olarak hesaplanmış ve sensör, farklı su ve toprak örneklerinde TNT tayini için başarıyla uygulanabileceği rapor edilmiştir [60].

Vembu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada MIP malzemelerin elektrokimyasal sensörler alanında uygulamaları araştırılmıştır. Farklı polimerler içeren MIP'lerin tasarımları, bunların hazırlanması ve transdüser yüzeyinde immobilizasyonu tartışılmıştır. Ayrıca, analitlerin saptanması için farklı elektrokimyasal teknikler temelinde MIP'ler içeren çeşitli transdüserlerin kullanılması da değerlendirilmiştir. Buna ek olarak, analitin MIP'ler ile bağlanma kabiliyetine dayanan elektrokimyasal sinyal alma protokolleri verilmiştir. İnceleme, yukarıdaki elektrokimyasal tabanlı MIP sensörlerinin kapsam ve sınırlamalarını ayrıntılı ve karşılaştırmalı bir şekilde sunmuştur [61].

Fang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada paraben tayin etmek için cam elektrot üzerine etilparaben (EP) baskılanmış MIP sentezlenmiştir. EP'nin elektrokimyasal davranışları kare dalga voltametri kullanılarak araştırılmıştır. Baskılı elektrot, gerçek örneklerde parabenlerin analizi için kullanılmış ve %90'dan fazla geri kazanım elde edilmiştir. Moleküler baskılanmış polimer içeren, elektrot, iyi duyarlılık ve seçicilik gösterdiği rapor edilmiştir [62].

Juan ve arkadaşları kütle spektroskopisi yöntemini kullanarak karmaşık karışımlarda paraben miktarının ölçülmesine olanak tanımışlardır. Kozmetik ve doğal ürünlerdeki paraben miktarını ölçmek için yeni ve alternatif teknikler geliştirmişlerdir [63].

Çeşitli paraben türevlerinin tayinine yönelik literatürde yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) [64-66], sıvı kromatografisi (LC) [67], LC-elektrokimyasal ve UV dedektörü [68], gaz kromatografik-kütle spektroskopisi (GC-MS) [69], sıvı kromatografisi-kütle spektroskopisi (LC-MS) [70] ve kapiler elektroforez [71] gibi yöntemler sıklıkla kullanılmıştır.

Diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında elektroanalitik yöntemlerin üstünlükleri görülmektedir. Bu yöntemlerde analite ait veya oluşan ürüne özel yükseltgenme basamağı olmakta ve diğer cihazlara göre daha ucuz olduğu bilinmektedir.

Literatürde tayini düşünölen birçok maddenin elektrokimyasal davranışları ve tayin koşulları mevcuttur [72-74].

Kerti ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada metilparaben (MP) elektrokimyasal tayini gerçekleştirilmiştir. Sensör yüzey olarak altın (Au) ve tayinde dönüşümlü (CV), doğrusal taramalı (LSV) ve kare dalga voltametrisi (SWV) yöntemleri kullanılmıştır. MP'nin yükseltgenmenin tersinmez ve difüzyon kontrollü bir işlem olduğu gösterilmiş ve oksidasyon mekanizması önerilmiştir. Optimum koşullar altında alt tayin sınırı (LOD) 1.71 µM olarak bulunmuştur. Geliştirilen yöntem farmasötik ürünlerde ve idrarda MP tayininde başarıyla uygulanmıştır [75].

Wang ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği çalışmada ise camsı karbon elektrot (GCE) yüzeyi dikey olarak çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT)'ün yüzeyde Langmuir-Blodgett (LB) filmi oluşturarak modifiye edilmiştir. MWCNT-LB/GCE yüzeyinin sahip olduğu üstün elektrokimyasal özellikler sayesinde metilparabenin elektrokimyasal tayini yüksek duyarlılıkla gerçekleştirilmiştir. Doğrusal çalışma aralığı 1 µmol L<sup>-1</sup>– 80 µmol L<sup>-1</sup> olarak ve LOD değeri 4×10<sup>-7</sup> mol L<sup>-1</sup> olarak hesaplanmıştır. MWCNTs-LB/GCE yüzeyinin elektrokimyasal karakterizasyonu araştırılmış ve metil parabenin reaksiyon mekanizması tartışılmıştır. Önerilen yöntem kozmetik ürünlerde uygulanmış ve tatmin edici sonuçlar elde edilmiştir [76].

MP ve propilparaben (PP)'nin eş zamanlı elektrokimyasal tayini Behpour ve arkadaşları tarafından GCE kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Öncelikle MP ve PP'nin elektrokimyasal çalışmaları CV, kronokulometri (CHC) ve LSV yöntemleriyle yapılmıştır. Çeşitli deneysel parametreler (pH, tarama hızı ve puls aralığı vb) her iki analit içinde optimize edilmiştir. Ayrıca bu analitlerin tayininde kemometrik yöntem de geliştirilmiştir. En son olarak ise, geliştirilen yöntem kozmetik ürünlerde test edilmiş ve rutin analizlerin yerine geçebileceği belirtilmiştir [77].

Bir başka çalışmada karbon nanofiber (CNF) nikel-kobalt-paladyum nanopartikülleri (Co-Ni-Pd NPs) ile yeni bir platform hazırlanarak MP'in farmasötik, kozmetik ve üre örneklerinde elektrokimyasal tayini gerçekleştirilmiştir. X ışını kırınım yöntemi (XRD) ve Fourier dönüşümlü infrared spektrometrisi (FTIR) gibi yöntemlerle yüzey karakterizasyonu yapılmıştır. Önerilen sensör yüzeyinin yüksek

elektro-katalitik etkisi olduğu görülmüş ve MP'nin voltametrik pikinin arttığı belirtilmiştir. Doğrusal derişim aralığı 3-300 nM aralığında belirlenmiş ve LOD değeri 1,2 nM olarak hesaplanmıştır. Önerilen elektrot sisteminin MP'ye karşı yüksek tekrarlanabilirlik, kesinlik ve doğruluk gösterdiği kanıtlanmıştır [78].

Hajian ve arkadaşları tarafından MP'nin tayinine yönelik amperometrik bir sistem önerilmiştir. Burada hidrojen peroksit varlığından hemoglobinin elektrokatalitik özelliklerinden yararlanılmıştır. MP'nin voltametrik oksidasyonu fizyolojik pH olan ve pH: 7.0 fosfat tamponunda incelenmiş ve bu şartlarda MP'nin difüzyon kontrollü bir işleme sahip olduğu belirlenmiştir. Geliştirilen biyosensör MWCNT ile hemoglobinin karbon pasta elektrot yüzeyindeki modifikasyonundan oluşmaktadır. Modifiye elektrot ile çalışma aralığı 0,1-13 µM olarak bulunmuştur. Geliştirilen sensör farklı gerçek örneklerde uygulanmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir [79].

Baytak ve arkadaşlarının yaptıkları bir diğer çalışmada ise EP'nin elektrokimyasal tayinine yönelik önerilen çalışmada karbon nanofiber (CNF) ve 3'lü metalik (altın, kobalt ve nikel) nanopartiküllerle modifiye edilmiş bir platform geliştirilmiştir. Bu yöntem farmasötik ve kozmetik ürünlerde EP tayinine yönelik tasarlanmıştır. Yüzey karakterizasyonu XRD ve FTIR yöntemiyle yapılmıştır. Elektrot sistemi yüksek katalitik aktivite gösterdiği ve EP'nin elektrokimyasal cevabını arttırdığı belirlenmiştir. EP'nin yükseltgenme basamağı 0,760 V olarak rapor edilmiştir. EP'nin tayini SWV metoduyla gerçekleştirilmiş ve doğrusal çalışma aralığı 1-100 nM olarak belirlenmiştir. LOD değeri ise 0,35 nM olarak bulunmuştur. İyi tekrarlanabilirlik ve yüksek doğrulukla EP'nin tayini gerçekleştirilebildiği rapor edilmiştir [80].

Lorenzo ve arkadaşları ise bütülpabenin (BP) tayinini MWCNT modifiye GCE sensörü ve adsorptif sıyırma voltametri (ASV) yöntemiyle gerçekleştirmişlerdir. Birçok deneysel koşullar ve voltametrik parametreler incelenmiş ve optimize edilmiştir. Optimum şartlar altında diferansiyel puls voltametri (DPV) ile LOD değeri 0,2 µM olarak hesaplanmıştır. Gerçek örnek çalışmalarında seçiciliği ve duyarlılığı arttırmak için moleküler baskılanmış katı faz özütleme (MISPE) yöntemi geliştirilmiştir. Önerilen yöntem ile BP'nin su örneklerinde geri kazanımı %82-85 aralığında bulunmuştur. Ayrıca potansiyel girişim yapabilecek maddelerin varlığında geliştirilen MISPE yöntemi BP'nin seçici tayinine olanak vermiştir [81].

Literatürde yapılan çalışmalar göstermektedir ki çeşitli paraben türevlerinin tayini için elektrokimyasal çalışmalar bulunmaktadır. Ancak, bu maddelerin yaygın kullanımı ve insan sağlığı üzerine olumsuz etkileri bilindiğinden, bu maddelerin tayinine yönelik hızlı, duyarlı ve seçici analitik yöntemlere ihtiyaç her geçen gün artmaktadır. Literatüre baktığımızda paraben molekülünün esterlerine yönelik tayinleri olduğu görülmekte; ancak MIP'ler özellikle ön-deriştirme kartuşu olarak kullanılmıştır. Bu çalışmada parabenin (p-hidroksibenzoik asitin) tayinine yönelik MIP temelli filmler doğrudan elektrot yüzeyinde hazırlanmış ve seçici paraben tayininde kullanım potansiyeli incelenmiştir.



### 3. DENEYSEL YÖNTEMLER

#### 3.1. Elektrokimyasal Hücre ve Elektrotlar

Voltametik analiz yöntemlerinde üçlü elektrot sistemi kullanılmıştır. Çalışma elektrot: modifiye edilmiş perde baskılı altın elektrot (SPE); karşıt elektrot: platin tel ve referans elektrot: gümüş gümüş klorür elektrodu (Ag/AgCl) kullanılmıştır. Çalışma hücresi olarak 30 mL büyüklüğünde cam kap kullanılmıştır.

Karşıt elektrotlar yardımcı elektrot olarak kullanılmaktadırlar ve elektronlar için kaynak oluşturmaktadırlar. Karşıt elektrot olarak platin veya altın elektrotlar sıklıkla kullanılmaktadırlar. Şekil 3.1'de kullanılmış olan platin tel elektrot gösterilmiştir. Bu tür elektrotlar başarılı elektron transferi sağlamaktadır ve akımı kontrol etmektedirler [48].



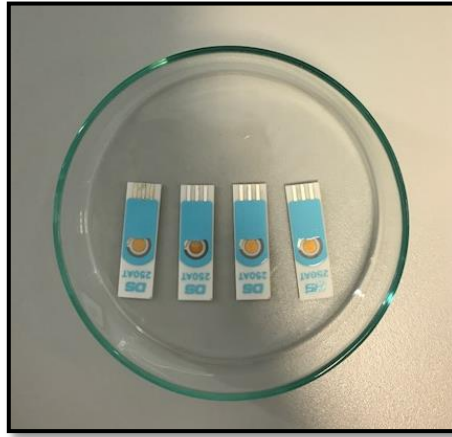
**Şekil 3.1.** Platin tel elektrot.

Ag/AgCl elektrodu referans elektrot olarak seçilmiştir. Şekil 3.2'de gösterilen ucu AgCl ile kaplanmış gümüş telin 1M AgCl (doğru KCl çözeltisine daldırılmış) çözeltisi içerisine daldırılması ile elde edilen referans elektrodudur. Kullanıma uygun referans elektrotların özellikleri; tersinir olmalı, Nerst eşitliğine uygun, gerilimin zamanla değişmemesi ve sıcaklık değişimlerinden etkilenmemesi gibi özelliklere sahip olmalıdır [48].

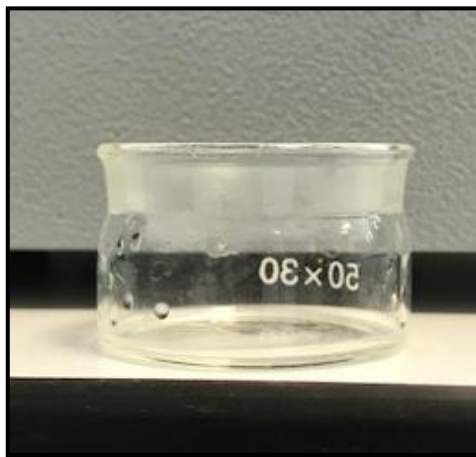


**Şekil 3.2.** Ag/AgCl (3M KCl) elektrodu.

Şekil 3.3'de altın yüzeyinin modifiye edilerek deneylerde kullanılan perde baskılı altın elektrotlar gösterilmektedir. Şekil 3.4'de ise kullanılan cam hücre gösterilmektedir.



**Şekil 3.3.** Perde baskılı altın elektrot (SPE).



**Şekil 3.4.** 30 mL'lik cam hücre.

### 3.2. Elektronik Cihazlar

Elektrokimyasal yöntem olarak çalışmada dönüşümlü voltmetri (CV), elektrokimyasal empedans spektroskopisi (EIS), diferansiyel puls voltmetrisi (DPV) ve kare dalga voltmetrisi (SWV) kullanılmıştır. Ölçümler Gamry Interface 1000 model potansiyostat ile gerçekleştirilmiştir. Atomik kuvvet mikroskobu olarak Nanomagnetics Instruments, Oxford, İngiltere ve FTIR ölçümleri için Nicolet™ IS™ 50 (Thermo Fisher Scientific, ABD) model cihaz ile ölçümler alınmıştır. pH ölçümleri için Hannah model pH metre kullanılmıştır.

### 3.3. Elektrokimyasal Tayini Gerçekleştirilen Kimyasallar

Modifiye edilen sensör yüzeyleri kullanılarak ölçümler alınan ve tayinleri gerçekleştirilen kimyasallar Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Tayini gerçekleştirilen kimyasallar.

Kimyasal	Formül	Marka	Katolog No
Paraben	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	Sigma Aldrich	STBB2361
Metilparaben	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	Spelco	LB82828V
Etilparaben	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	Fluka	BCBD0732V
Propilparaben	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	Fluka	BCBD1297V
Bütilparaben	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	Fluka	BCBD1321V

### 3.4. Kullanılan Kimyasallar

Deneylerde kullanılan kimyasallar, aksi belirtilmedikçe Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir.

Para-hidroksibenzoik asit (paraben), 2-hidroksietil metakrilat (HEMA), etilenglikol dimetakrilat (EDGMA), asetik asit (CH<sub>3</sub>COOH), fosfat tampon çözeltisi için; sodyum klorür (NaCl), sodyum fosfat (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>), sodyum dihidrojen fosfat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), demirsiyanür çözeltisi K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]/K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>], etanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH), N-metakriloil-L-sistein (MAC), N-metakriloil-L-fenilalanin (MAPA), metilparaben (C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>) (Spelco), etilparaben (C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>) (Fluka), bütil paraben (C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>) (Fluka), propil paraben (C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>) (Fluka) ve polivinil alkol (PVA).

### 3.5. Gerçek Örnek Çözeltisinin Hazırlanması

Paraben içeren kozmetik ürünlerinden krem seçilmiştir. 0.1 g krem tartılmış ve 2 mL etanolde çözülmüştür. 20 dk manyetik karıştırıcıda 120 rpm karıştırma hızında

homojen olana kadar bekletilmiştir. Süzgeçten geçirilmiş ve 100 mL balon jöjeye aktarılarak PBS (pH: 7.0) ile seyreltilerek stok çözelti hazırlanmıştır.

### 3.6. Modifiye Elektrotların Hazırlanması

SPE elektrotların altın yüzeyi, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (7/3, v/v) asidik pirana çözeltisi ile temizlenmiştir. Asidik pirana çözeltisi altın yüzeyde 20 saniye bekletilmiştir. Bu işlem 5 defa tekrarlanmış ve her tekrar arasında deiyonize su ile durulanmıştır. Elektrot yüzeyleri, DI ve saf etil alkol (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O) ile yıkanmıştır. Daha sonra vakum etüvünde (200 mmHg, 40°C) 3 saat kuruması sağlanmıştır.

SPE elektrotların altın yüzeyleri, N-metakriloil-L-sistein (MAC) sulu çözeltisinden (5 mg/mL) 100 µL damlatılıp 12 saat boyunca oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Yüzeye bağlanmayan MAC molekülleri DI ile yıkanarak uzaklaştırılmıştır. Böylelikle altın yüzey, L-sistein ile aktive edilmiştir.

N-Metakriloil-L-sistein (MAC) monomerinin sentezi [82]: 5.52 mmol (0.67 g) L-sistein, 1 M NaOH sulu çözeltisi içerisinde çözülmüştür. Metakriloil amido-benzotriazol (MA-Bt) (5.52 mmol, 1.033 g) çözeltisi içeren 25 mL 1,4-dioksan yavaşça aminoasit çözeltisi içine eklenmiş ve oda sıcaklığında 10-20 dakika boyunca karışımın reaksiyonunu tamamlaması için bekletilmiştir. Reaksiyon bittiğinde vakum altında 1,4-dioksan buharlaştırılarak uzaklaştırılmış ve çökelti su ile seyreltilmiştir. Oluşan 1H-benzotriazol, etil asetat (3 x 50 mL) ile çekilmiştir. Elde edilen sulu monomer çözeltisi %10'luk HCl çözeltisi ile pH 6-7 olacak şekilde nötrleştirilmiştir. Buharlaştırıcı kullanılarak su uzaklaştırılmış ve sonucunda ürün olarak MAC monomeri (turuncu çökelek) elde edilmiştir.

Sonrasında fonksiyonel monomer olarak kullanılan N-metakriloil-L-fenilalenin (MAPA) aynı şekilde hazırlanmıştır [82]. Sonraki basamakta, MAC ile modifiye edilmiş altın yüzeyde aminoasit temelli moleküler baskılanmış polimerik filmin sentezlenmesi için molce 1-1 oranda MAPA-paraben ön kompleksi içeren sulu çözelti hazırlanmış ve bu çözeltiden 100 µL alınarak 300 µL HEMA ve 100 µL EGDMA içeren stok çözelti hazırlanmıştır. Ayrıca gözenekli bir yapının elde edilmesi için PVA (25 mg/mL) sulu stok çözeltisi hazırlanmıştır. Başlatıcı olarak kullanılan AIBN (2 mg/mL) DMSO içinde çözülmüştür. Hazırlanan stok çözeltiden 100 µL, PVA stok çözeltisinden 20 µL ve AIBN çözeltisinden 40 µL alınarak polimer çözeltisi hazırlanmıştır. Bu polimer çözeltisinden 3 µL alınarak SPE

elektrotların MAC ile modifiye edilmiş altın yüzeyine damlatılmış ve UV ışığının altında 30 dakika bekletilerek polimerik filmin sentezi gerçekleştirilmiştir. Polimerizasyon süreci sonrasında polimerik film yapısından PVA uzaklaştırılması için SPE elektrotlar çalkalamalı etüv içinde 1 saat boyunca oda sıcaklığında yıkanmıştır. Ayrıca, hedef molekül parabenin yapıdan uzaklaştırılması için asetik asit-su (1:9) karışımı ile gerçekleştirilmiştir. Sonrasında DI su ve saf etil alkol ile yıkanmıştır. Vakum etüvünde (200 mm Hg, 40°C) 1 saat kurutulmuştur. Böylece, yüzeyi paraben baskılanmış gözenekli polimerik film ile işlevselleştirilmiş SPE elektrotlar hazırlanmıştır. Baskılama seçiciliğinin belirlenmesi amacıyla fonksiyonel monomer MAPA olmaksızın MAC kaplanmış altın yüzeylerde aynı polimerizasyon yöntemiyle baskılanmamış (NIP) SPE elektrotlar hazırlanmıştır.

### **3.7. Elektrotların Karakterizasyonu**

Modifiye edilmiş elektrotların karakterizasyonu için Fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi (FTIR) ve atomik kuvvet mikroskobu (AFM) yöntemleri kullanılmıştır.

#### **3.7.1. Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektroskopisi (FTIR)**

Yapılan yüzeylerin FTIR analizleri Nicolet™ IS™ 50 (Thermo Fisher Scientific, ABD) model cihazla yapılmıştır. Spektrumlar 4000-800 cm<sup>-1</sup> dalga sayısı aralığında 16 sayımda düz uç kullanılarak alınmıştır.

#### **3.7.2. Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM)**

Tüm Au-SPE elektrotların yüzey morfolojisi için hava ortamında yarı degen şekilde atomik kuvvet mikroskobu (Nanomagnetics Instruments, Oxford, İngiltere) ile karakterize edilmiştir. Bu cihaz ile 4096 x 4096 piksel gibi çok yüksek çözünürlükte ölçüm alınabilmektedir. Salınım rezonans frekansı 341.30 kHz olarak seçilmiştir. Ölçümlerde 1RMS titreşim genliği ve 2 RMS boş titreşim genliği kullanılmıştır. Yüzeyler tarama hızı 2 µm/s, çözünürlük 256 x 256 piksel ve 2 x 2 µm'lik ve 4 x 4 µm'lik bir alanın görüntüsü alınmıştır.

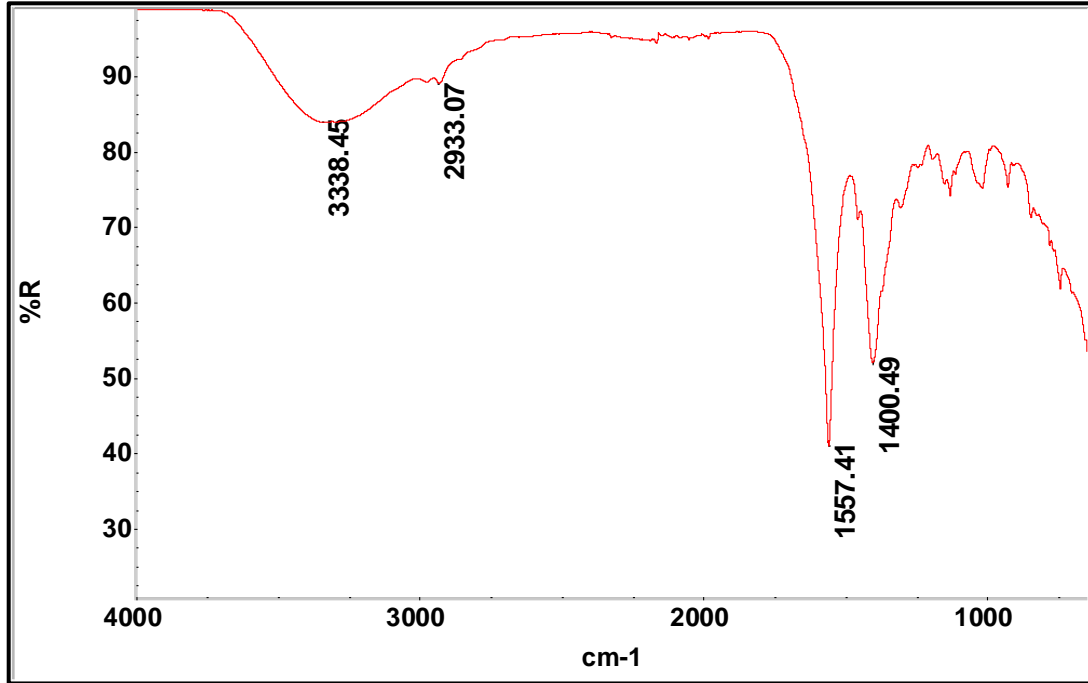
## 4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Sensör Yüzeyinin Karakterizasyonu

#### 4.1.1. Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi (FTIR)

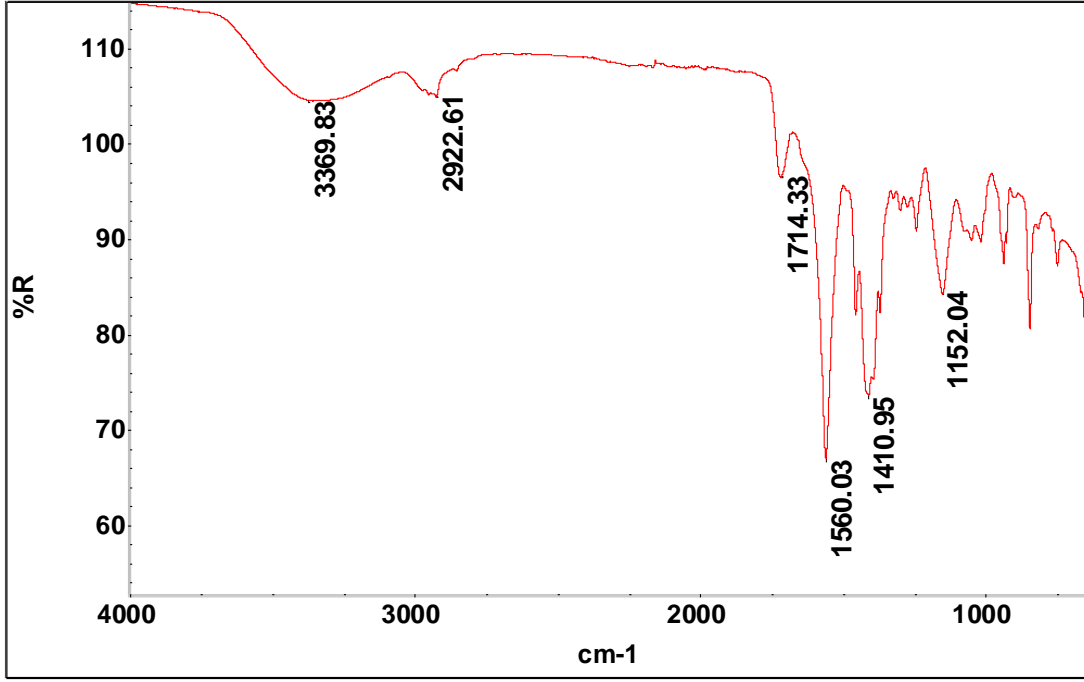
Yüzeyler modifiye edilerek hazırlanmış ve spektrumlar düz uç kullanılarak 16 sayımda 4000-800  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyu aralığında alınmıştır.

Şekil 4.1' da görüldüğü gibi MAC'a ait spektrumda 3338  $\text{cm}^{-1}$ 'de -OH gerilmesi görülürken, -CH gerilmesi 2933  $\text{cm}^{-1}$  de, karbonil gerilmesi 1557  $\text{cm}^{-1}$ , amide I-II gerilmesi 1400  $\text{cm}^{-1}$ , -S-H gerilmesi de 840  $\text{cm}^{-1}$  görülmektedir. Bu değerler yüzeyin MAC ile kaplanabildiğinin göstergesidir.



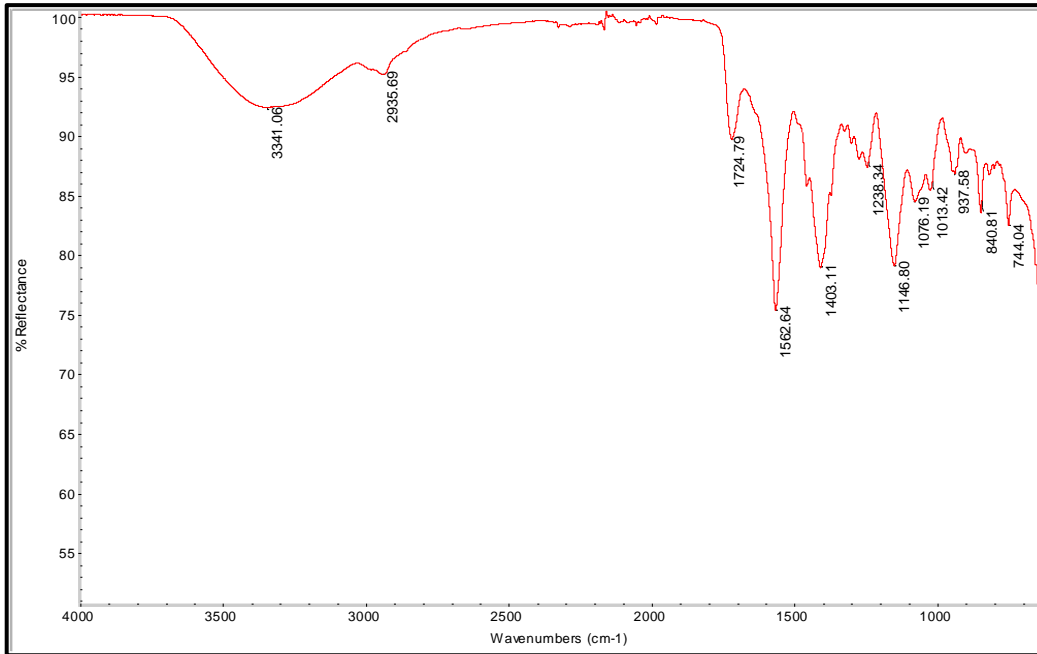
Şekil 4.1. MAC kaplanmış SPE-Au elektroda ait IR spektrumu

Şekil 4.2'de 3369  $\text{cm}^{-1}$ 'de -OH gerilmesi, 2922  $\text{cm}^{-1}$ 'de alifatik -CH gerilmesi, 1714  $\text{cm}^{-1}$ 'de karbonil gerilmesi, 1560  $\text{cm}^{-1}$ 'de -COOH gerilmesi, amit I-II gerilmesi 1410  $\text{cm}^{-1}$  'da, estere ait gerilme 1152  $\text{cm}^{-1}$  'de ve -SH gerilmesi 840  $\text{cm}^{-1}$  'de gözlenmiştir. Bu sonuçlar yüzeyin baskılanmamış polimer ile kaplandığı sonucunu vermektedir.



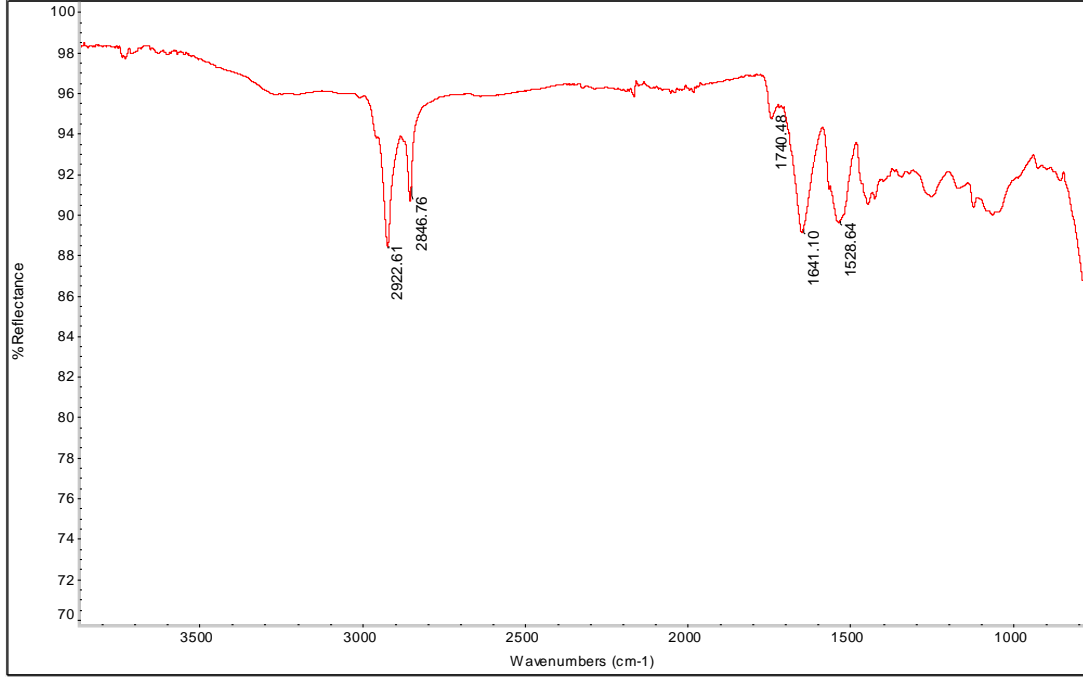
**Şekil 4.2.** Baskılanmamış NIP SPE-Au elektroda ait IR spektrumu

Şekil 4.3'de 3341 cm<sup>-1</sup>'de –OH gerilmesi gözlenirken 2935 cm<sup>-1</sup>'de alifatik –CH gerilmesi, 1724 cm<sup>-1</sup>'de –C=O gerilmesi, 1562 cm<sup>-1</sup>'de –COOH gerilmesi, amit I-II gerilmesi 1403, 1238 cm<sup>-1</sup> 'da, estere ait gerilme 1146 cm<sup>-1</sup> 'de, 1146 cm<sup>-1</sup>'de aromatik halkaya ait gerilme ve –SH gerilmesi 840 cm<sup>-1</sup> 'de gözlenmiştir. Böylece yüzeyin paraben baskılanmış polimer ile kaplandığı sonucuna varılmıştır.



**Şekil 4.3.** Paraben baskılanmış MIP SPE-Au elektroda ait IR spektrumu

Şekil 4.4'de görüldüğü gibi –OH gerilmesi 3350  $\text{cm}^{-1}$ 'de, -CH gerilmesi 2922  $\text{cm}^{-1}$ 'de, C=C gerilmesi 1641  $\text{cm}^{-1}$ 'de görülmektedir. Bu sonuçlar yüzeyden paraben moleküllerinin başarılı bir şekilde uzaklaştırıldığını göstermektedir.

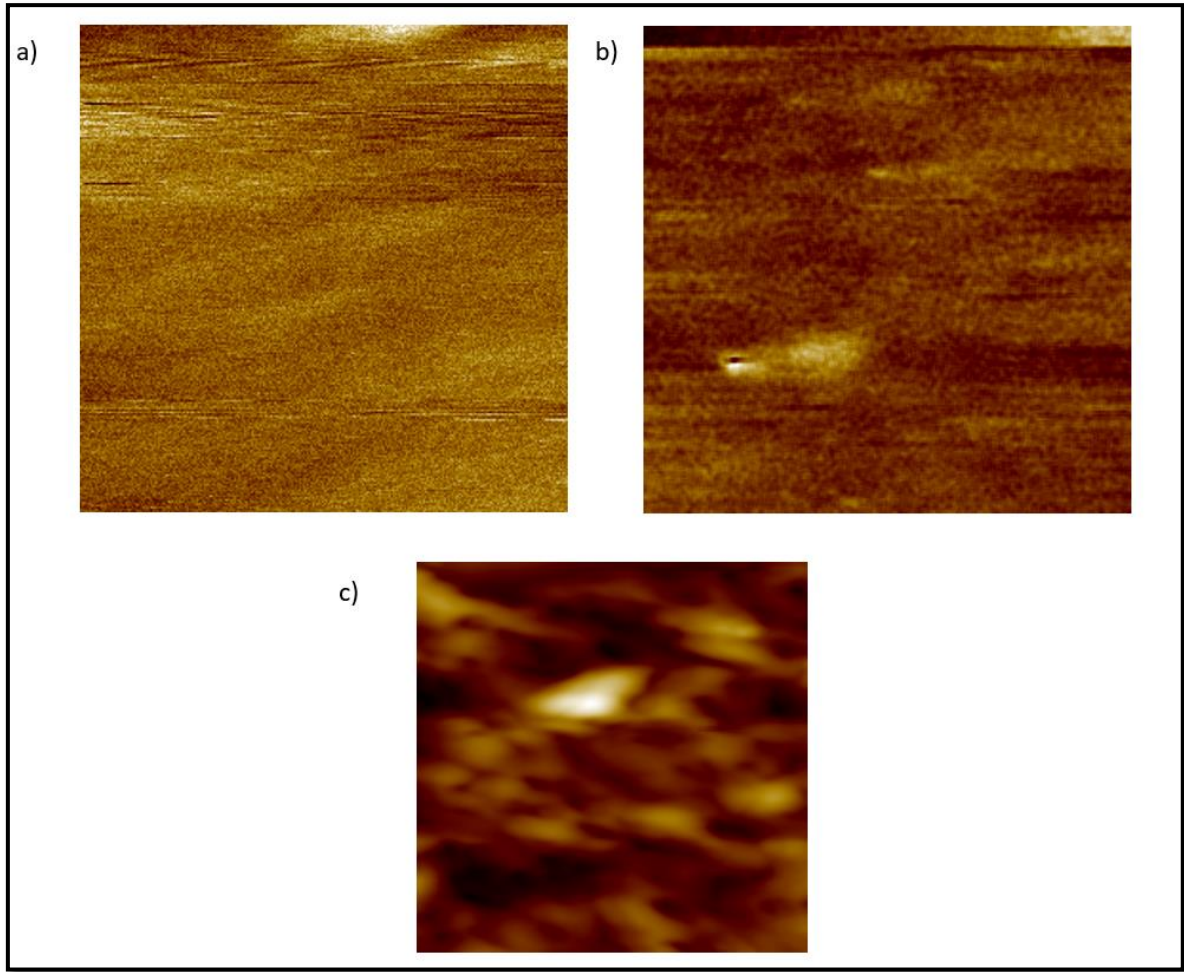


**Şekil 4.4.** Paraben baskılanmış ve uzaklaştırılmış MIP SPE-Au elektroda ait IR spektrumu

#### 4.1.2. Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM)

Bu çalışmada perde baskılı altın elektrot yüzeyi moleküler baskılama yöntemi ile modifiye edilerek parabenin elektrokimyasal tayini gerçekleştirilmiştir. AFM görüntüleri incelendiği zaman PVA varlığında sentezlenen polimerik filmin gözenekli ve daha amorf bir topografiye sahip olduğu görülmektedir (Şekil 4.6). AFM görüntülerinden anlaşıldığı gibi polimerizasyonun PVA varlığında gerçekleştirilmesiyle sentezlenen polimerik filmlerde nano boyuttan mikro boyuta değişen gözenekler oluşmuştur.





**Şekil 4.5.** AFM görüntüleri a) modifiye edilmemiş altın yüzey, b) MAC ile modifiye edilmiş altın yüzey, c) paraben baskılanmış gözenekli yapıya sahip polimerik film ile modifiye edilmiş altın yüzey

#### 4.1.3. Elektrokimyasal Davranışının İncelenmesi

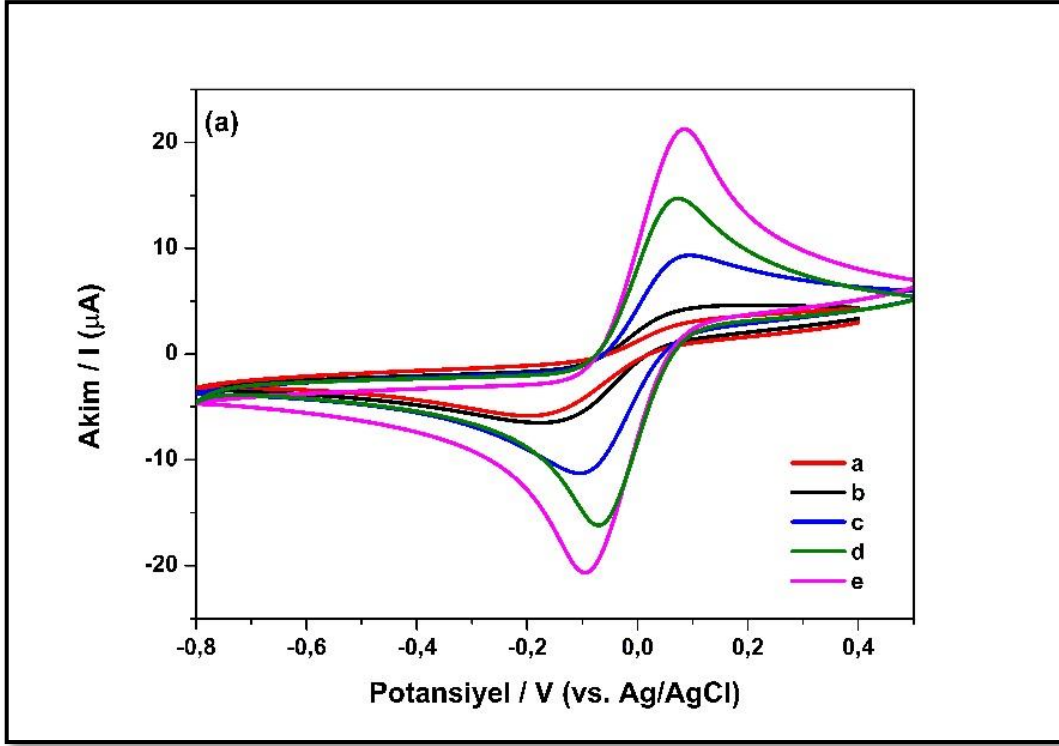
Elektrokimyasal biyosensör çalışmalarında elektrokimyasal karakterizasyon, elektrokimyasal davranışı iyi bilinen redoks problemleri kullanılarak gerçekleştirilir. Bu amaçla, moleküler baskılama tekniği ile modifiye edilen altın çalışma elektrotlarının dönüşümlü voltamogramları 0.1 M KCl içinde 5 mM  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$  redoks çifti kullanılarak alınmıştır. Elde edilen voltamogramlar Şekil 4.6'de verilmiştir.

SPE modifiye elektrodun elektrokimyasal davranışı için  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$  redoks çifti kullanılmıştır.



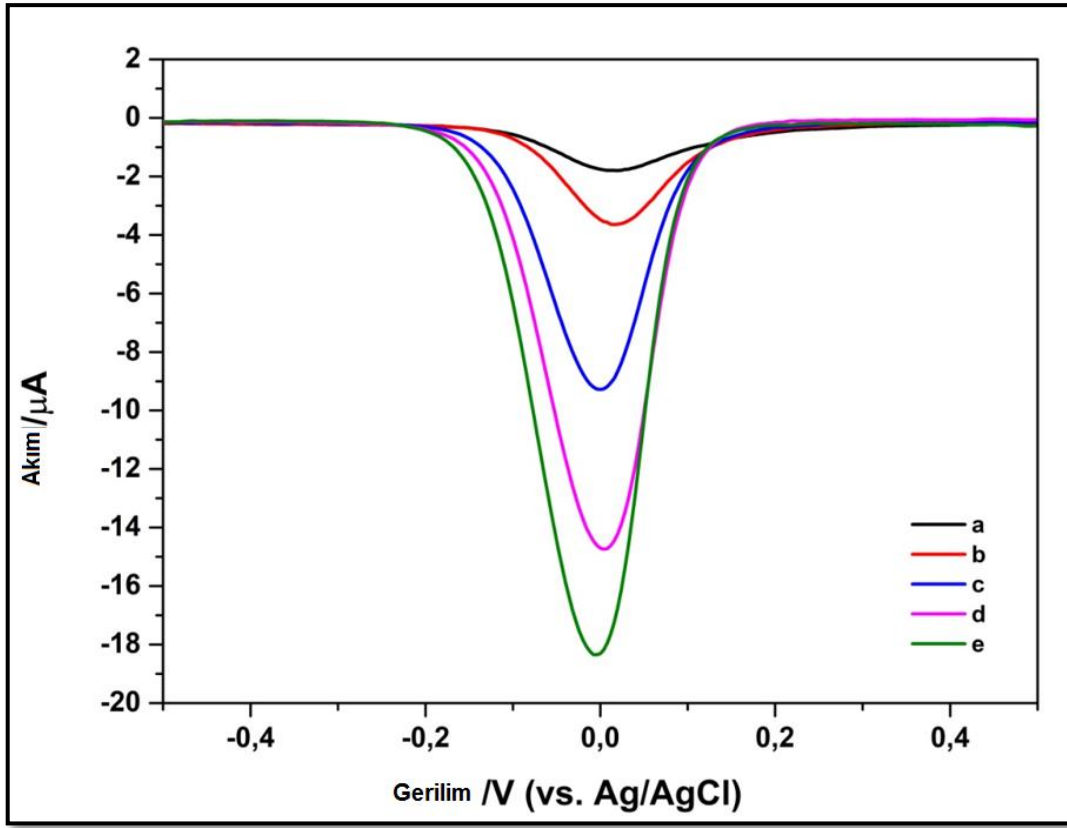
İlk basamakta boş perde baskılı altın elektrotların (Au-SPE) voltamogramı alınmıştır. Şekil 4.6'de modifiye edilmiş ve edilmemiş yüzeylere ait dönüşümlü voltamogramlar verilmiştir. Şekil 4.6.e'den görüleceği üzere boş elektrotta redoks çiftinin indirgenme/yükseltgenme pik akımları yaklaşık birbirine eşit ve tersinir olarak gözlenmiştir. Burada altın elektrodun metalik özelliğinden dolayı elektron transferinin modifiye edilen yüzeylere göre daha hızlı gerçekleştiği söylenebilir. Aminoasit temelli MAC ile modifiye edilen altın yüzeyde alınan voltamogramda pik akımlarında azalma olduğu görülmüştür. Bu durum elde edilen yüzeyin  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{-3/-4}$  iyon çiftinin indirgenme/yükseltgenme olaylarındaki elektron transferinin sınırlandırıldığı bir göstergesidir.

Altın yüzeyler paraben baskılanmış gözenekli polimerik film ile modifiye edildiğinde pik akım değerleri Şekil 4.6.a'da görüldüğü gibi oldukça azalmış ve pik potansiyel değerleri negatife kaymıştır. Elektrik iletkenliğinin azalması beklenen bir durumdur; çünkü yüzey yalıtkan organik tabaka (MAC ve/veya polimer) içermektedir. Yüzeyden baskılanmış olan paraben molekülleri uzaklaştırıldığında ise gözlenen pik akımlarında artma olmuştur. Yükseltgenme pik akımı 30  $\mu\text{A}$ 'den 62  $\mu\text{A}$ 'e yükselmiştir. Bu durum parabenin yüzeyden uzaklaştırmasının başarılı bir şekilde gerçekleştiğinin bir göstergesidir.



**Şekil 4.6.** a) Paraben baskılanmış Au-SPE, b) paraben uzaklaştırılmış Au-SPE, c) paraben baskılanmamış Au-SPE, d) MAC kaplanmış Au-SPE ve e) boş Au-SPE yüzeylerin 5 mM  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{-3/4}$  çözeltisi içinde dönüşümlü voltamogramları (tarama hızı 100 mV/s)

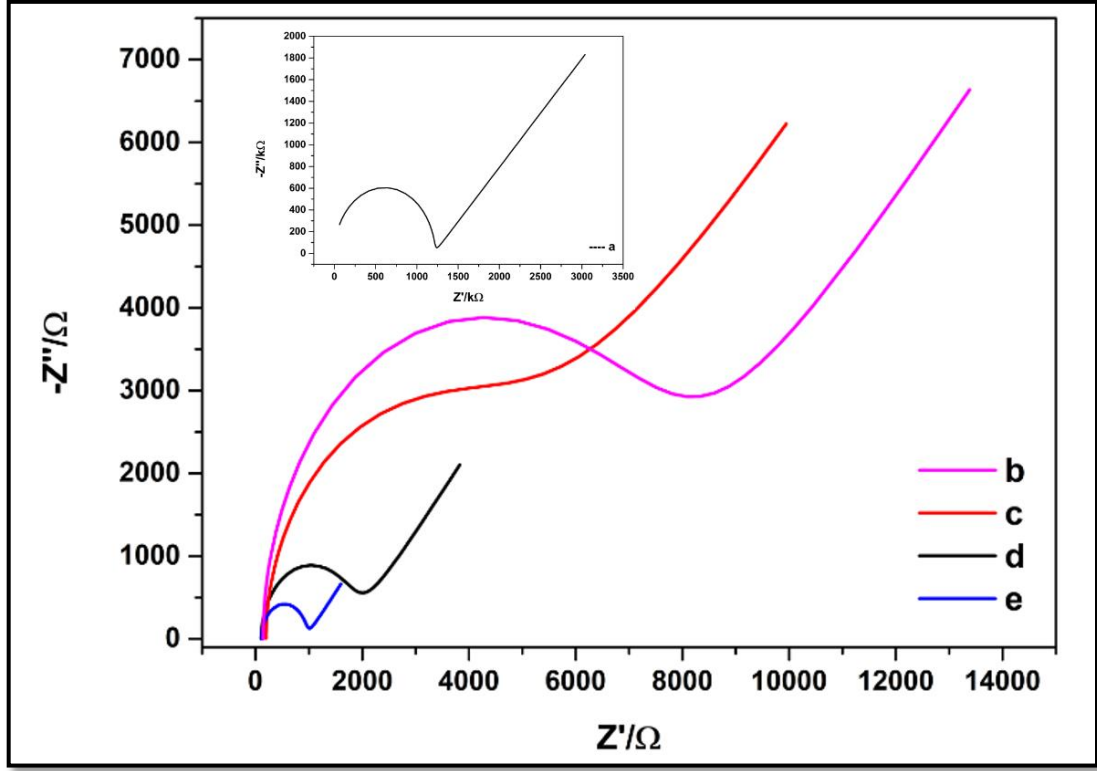
Şekil 4.7.e'de modifiye edilmemiş boş Au-SPE elektrot pik akımının beklendiği üzere yüksek olduğu gözlenmiştir. Pik akımı, 181.4  $\mu\text{A}$  olarak ölçülmüştür. Şekil 4.7.d'de yüzey MAC ile kaplandığında ölçülen akım değeri azalmış ve 145.8  $\mu\text{A}$  olarak ölçülmüştür. Yüzeye paraben baskılanmamış (NIP) gözenekli polimerik film kaplandığında Şekil 4.7.c'de görüldüğü gibi akım değeri biraz daha azalmıştır ve 90.52  $\mu\text{A}$  olarak ölçülmüştür. Şekil 4.7.a'de görüldüğü gibi yüzeye paraben baskılanmış gözenekli polimerik film (MIP) kaplandığında akım değeri oldukça düşmüştür ve 14.73  $\mu\text{A}$  olarak ölçülmüştür. Parabenin polimerik yapıdan uzaklaştırılmasıyla akım değerinde artma meydana gelmiş ve 33.65  $\mu\text{A}$  olarak bulunmuştur. Yüzeyde bulunan paraben molekülleri elektron transferini blokladığından iletkenlikte azalma meydana getirmişlerdir.



**Şekil 4.7.** a) Paraben baskılanmış Au-SPE, b) paraben uzaklaştırılmış Au-SPE, c) paraben baskılanmamış Au-SPE, d) MAC kaplanmış Au-SPE ve e) boş Au-SPE yüzeylerin 5 mM  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{-3/4}$  çözeltisi içinde diferansiyel puls voltamogramları

EIS yönetimi, modifiye edilmiş yüzeyler hakkında bilgi edinmek için sıklıkla kullanılan bir elektroanalitik yöntemdir. MIP-SPE modifikasyonu kontrolü için CV ve DPV'ye ek alternatif bir yöntem olarak uygulanmıştır. Randles devresi yardımıyla elde edilen spektrumlardan Şekil 4.8'de elektrot çözelti ara yüzeyindeki yük transfer ( $R_{ct}$ ) direnci hesaplanmıştır. Boş elektrotta  $R_{ct}$  değeri 823  $\Omega$  olarak ölçülmüştür (Şekil 4.8.e). Yüzeye MAC kaplandığında Şekil 4.8.d'de görüldüğü gibi ölçülen  $R_{ct}$  değeri 1657  $\Omega$ 'a yükselmiştir. Bu durum yüzeye bağlanan MAC moleküllerinin altına göre yük transferine karşı direnci artırması ile ilgilidir. Yüzeyde baskılanmamış polimerleşme sağlandığında (NIP) Şekil 4.8.c'de görüldüğü gibi direnç artmış, iletkenlik azalmış ve  $R_{ct}$  değeri 4476  $\Omega$  olarak bulunmuştur. Yüzeye paraben baskılanmış polimer kaplandığında Şekil 4.8.a'de olduğu gibi direnç oldukça artmış ve  $R_{ct}$  değeri  $12 \times 10^5 \Omega$  olarak ölçülmüştür. Yüzeye bağlanan paraben moleküllerinin iletkenliği azalttığı gözlenmiştir. Elde edilen spektrumlardan boş elektrot ve modifiye edilmiş elektrot davranışlarının

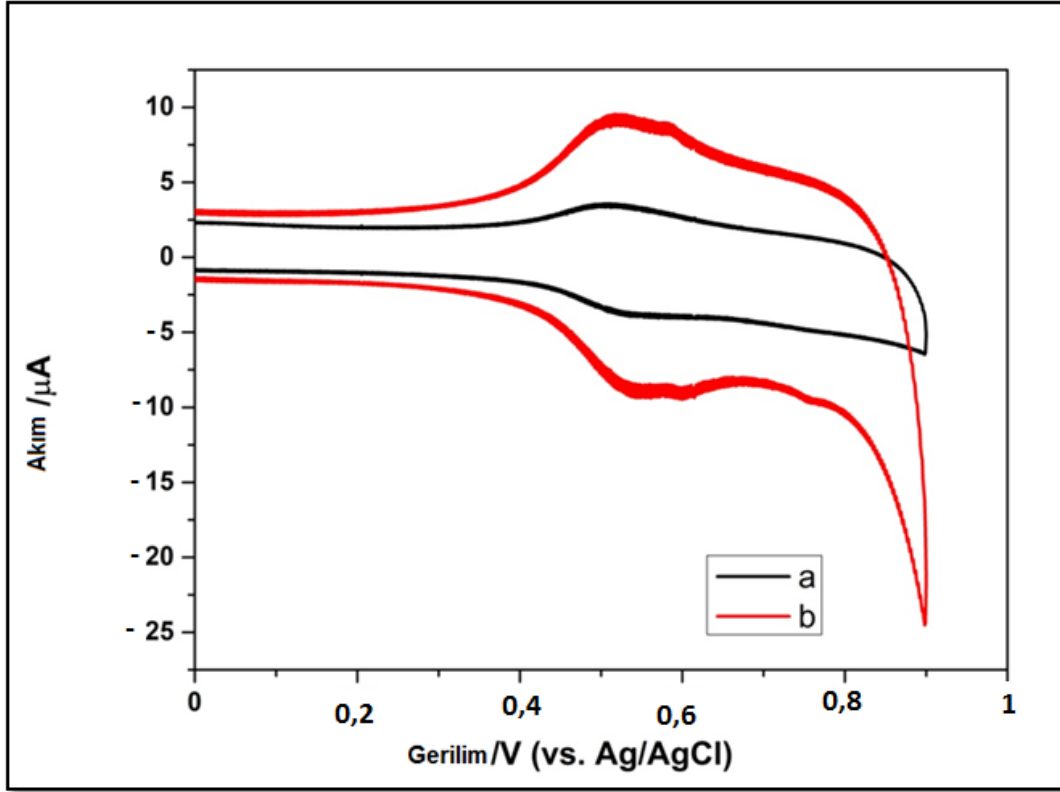
birbirinden farklı olduğu sonucuna varılmış ve yüzey özelliklerinin her modifikasyon işlemiyle değiştiği belirlenmiştir. Alınan CV, DPV ve EIS ölçümlerine ait sonuçlar uyumlu ve birbirini desteklemektedir.



**Şekil 4.8.** a) Paraben baskılanmış Au-SPE, b) paraben uzaklaştırılmış Au-SPE, c) paraben baskılanmamış Au-SPE, d) MAC kaplanmış Au-SPE, e) Boş Au-SPE yüzeylerin 5 mM  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{-3/-4}$  çözeltisi içinde Nyquist diyagramları ( $E=0,2/\text{Frekans}=100000-0,1$  Hz)

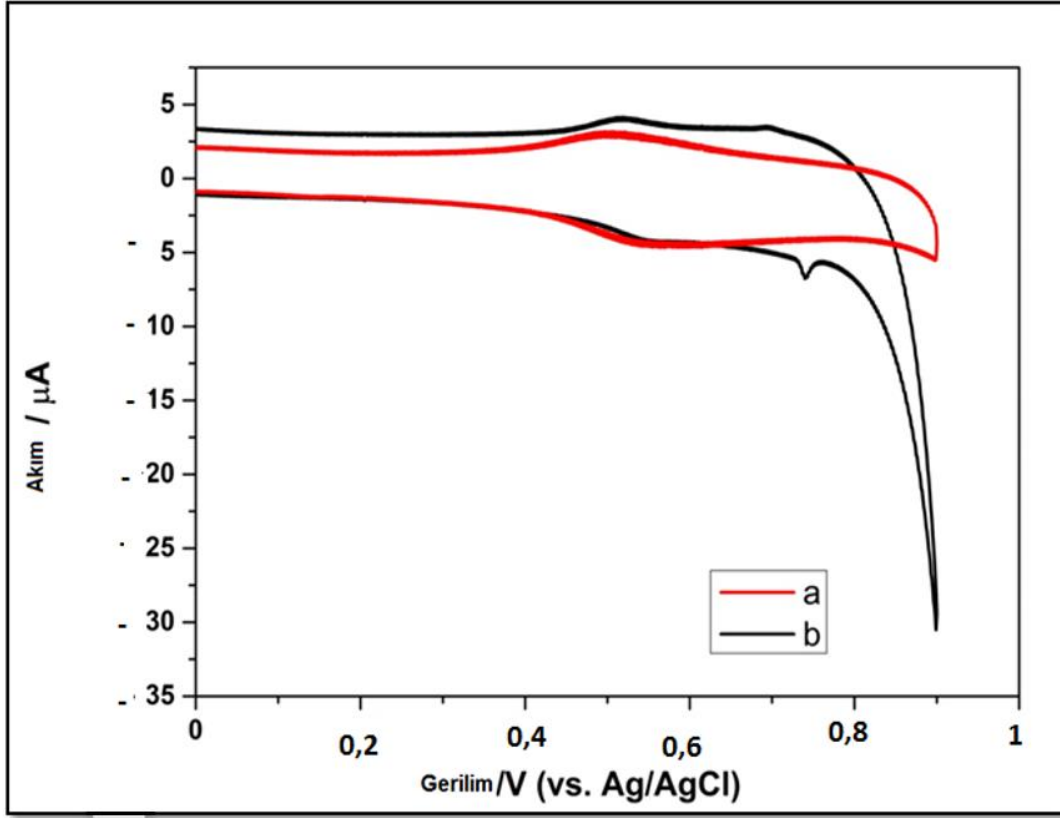
#### 4.2.Parabenin Elektrokimyasal Davranışı

Dönüşümlü voltametri yöntemi elektrokimyasal tayinlerde analitin davranışının ortaya çıkarılmasında başvurulan ilk yöntemdir. Bu nedenle parabenin elektrokimyasal davranışını anlamak için boş ve modifiye elektrotlar kullanılarak dönüşümlü voltamogramları alınmıştır. Öncelikle boş Au-SPE ile PBS tamponunda (pH: 7.0) anodik yönde tarama yapılarak 0.0 V ile 0.9 V (vs. Ag/AgCl) aralığında ortamda analit varlığında ve yokluğunda dönüşümlü voltamogram alınmıştır. Destek elektrolit ortamında paraben varlığında yaklaşık 0.800 V (vs. Ag/AgCl) geriliminde 0.0866  $\mu\text{A}$  yükseltgenme pik akımı gözlenmiştir. Geri yöndeki taramada ise bir indirgenme pikine rastlanmamıştır (Şekil 4.9.b)



**Şekil 4.9.** Modifiye edilmemiş boş Au-SPE elektodun 0.1 M PBS (pH: 7.0) tamponunda alınan voltamogramları (a: paraben yokluğunda, b: paraben (10  $\mu$ M) varlığında)

Şekil 4.10.'de paraben baskılanmış Au-SPE ile alınan dönüşümlü voltamogramda boş çözeltilerden farklı olarak parabenin 0,734 V (vs. Ag/AgCl)'da 3,075  $\mu$ A değerinde yükseltgenme piki gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlar göstermektedir ki; çalışma elektrodunun modifiye edilmesiyle birlikte parabenin yükseltgenme pik akımında yaklaşık 35 kat bir artış olduğu belirlenmiştir. Buradan moleküler baskılama teknolojisinin kullanılarak modifiye edilmesi ve altın elektrot kullanılarak parabenin tayini için oldukça uygun bir yüzey olduğu sonucuna varılmıştır.



**Şekil 4.10.** Paraben baskılanmış ve uzaklaştırılmış SPE elektrodunun 0.1 M PBS (pH: 7.0) tamponunda alınan voltamogramları (a: paraben yokluğunda, b: paraben (10 µM) varlığında)

Fenolik grupların redoks aktivitesi bölüm 2.1.3'de anlatılmıştır ve parabene ait yükseltgenme mekanizması Şekil 2.2'de gösterilmiştir.

### 4.3. Tarama Hızı Çalışması

Elektroaktif bir türün yükseltgenme/indirgenme mekanizması ile ilgili veriler almak için tarama hızı çalışması hem işlemin aydınlatılması hem de en uygun elektrokimyasal yöntemin seçimi için önemlidir. Çünkü tarama hızı çalışması ile işlemin adsorpsiyon ve/veya difüzyon kontrollü olup olmadığını anlamak mümkündür.

Bu sebeple, parabenin yükseltgenme/indirgenme mekanizmasının daha iyi anlaşılabilmesi için tarama hızı 60-300 mV/s arasında değiştirilerek CV ölçümleri alınmıştır.

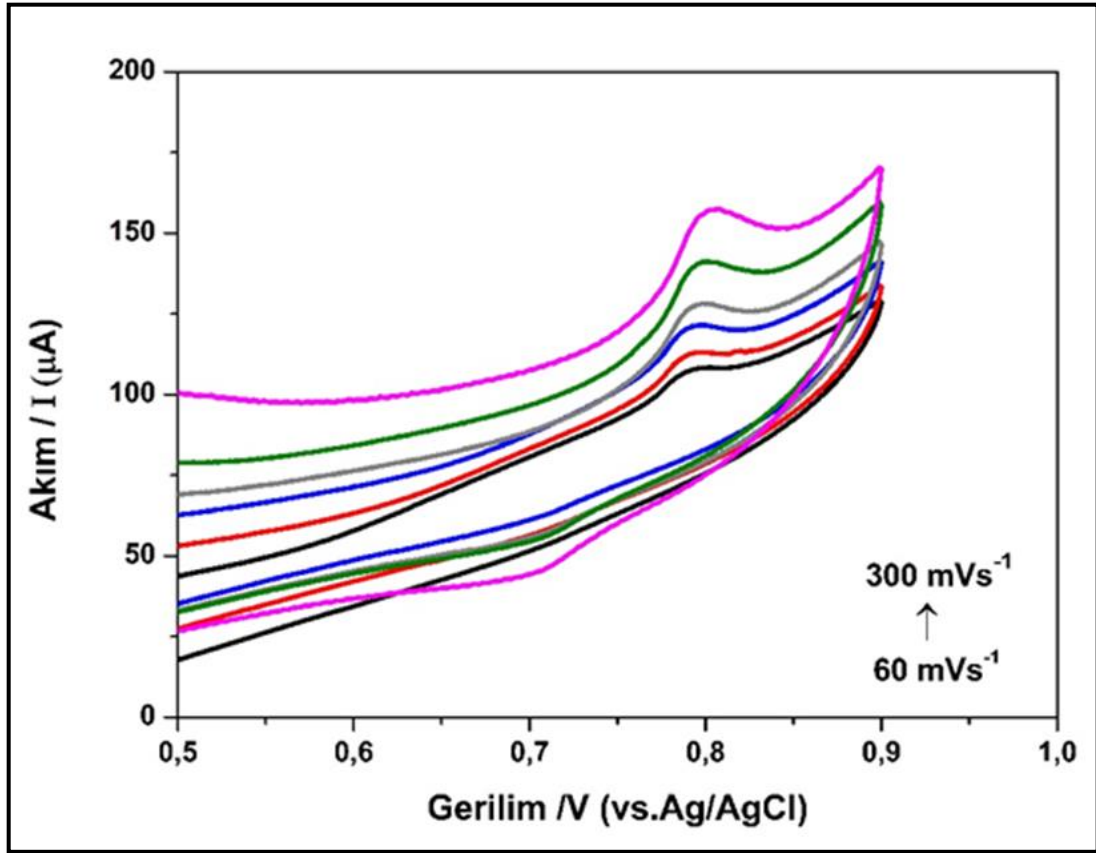
60-300 mV/s tarama hızı aralığında CV voltamogramları, Şekil 4.11'de verilmiştir. Farklı tarama hızlarında ölçülen CV voltamogramlarda görüldüğü üzere; pik akımı



değerleri tarama hızının artmasıyla yükselmektedir. Pik akımı-tarama hızının karekökü arasındaki doğrusal ilişki Şekil 4.12’de verilmiştir. Elde edilen grafiğe ait eşitlik:

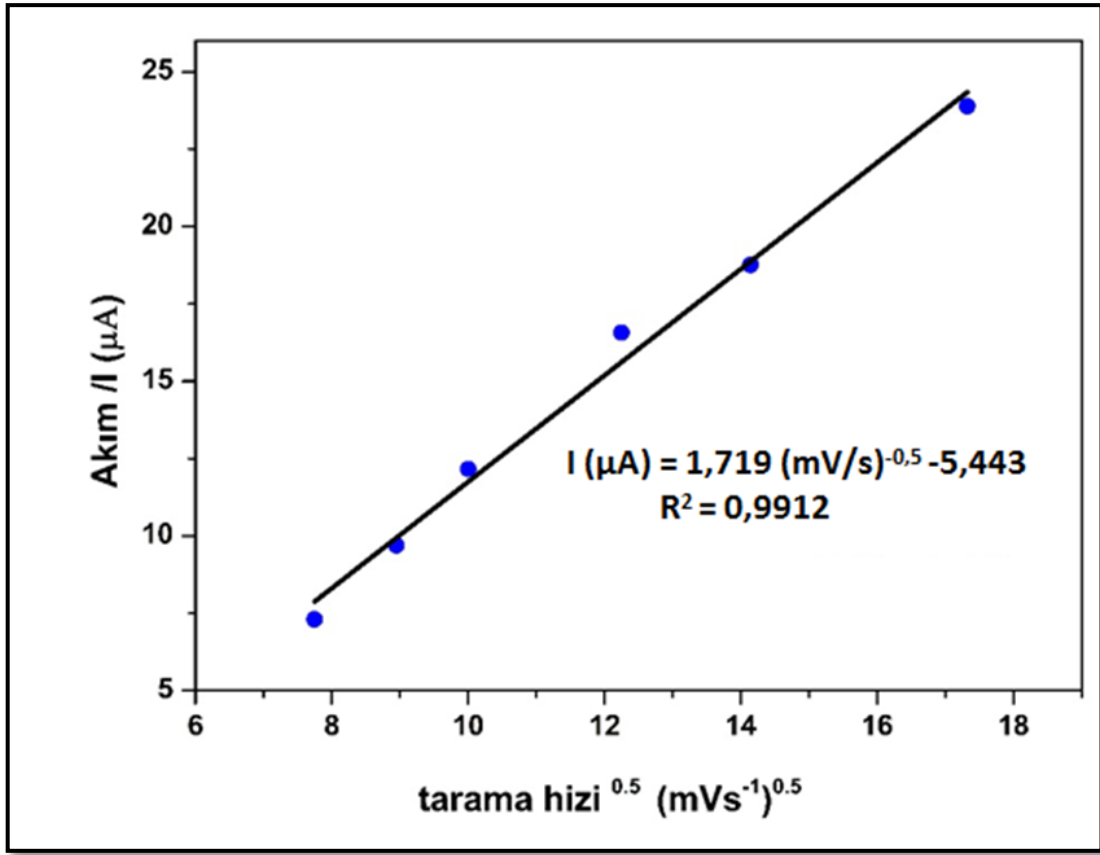
$$I(\mu A) = 1,719 \sqrt{(mV s^{-1})} - 5,443 \quad (R^2 = 0,9912) \quad (4.2)$$

olarak belirlenmiştir. Bu doğrusal artış paraben tayin sürecinin difüzyon kontrollü olduğunun göstergesidir. Bir diğer ifade ile; hedef molekölü öncelikle baskılanmış yüzeye seçici olarak bağlanmaktadır ve iç kesimler ile çözeltinin arasındaki derişim farkı ve elektroaktif madde ile difüzyon kütle aktarım hızı arasında bir ilişki vardır.



**Şekil 4.11.** Tarama hızının etkisi 100 µM paraben çözeltisi ile MIP ve paraben uzaklaştırılmış (MIP) SPE’lerin dönüşümlü voltamogramları (PBS, pH: 7.0).

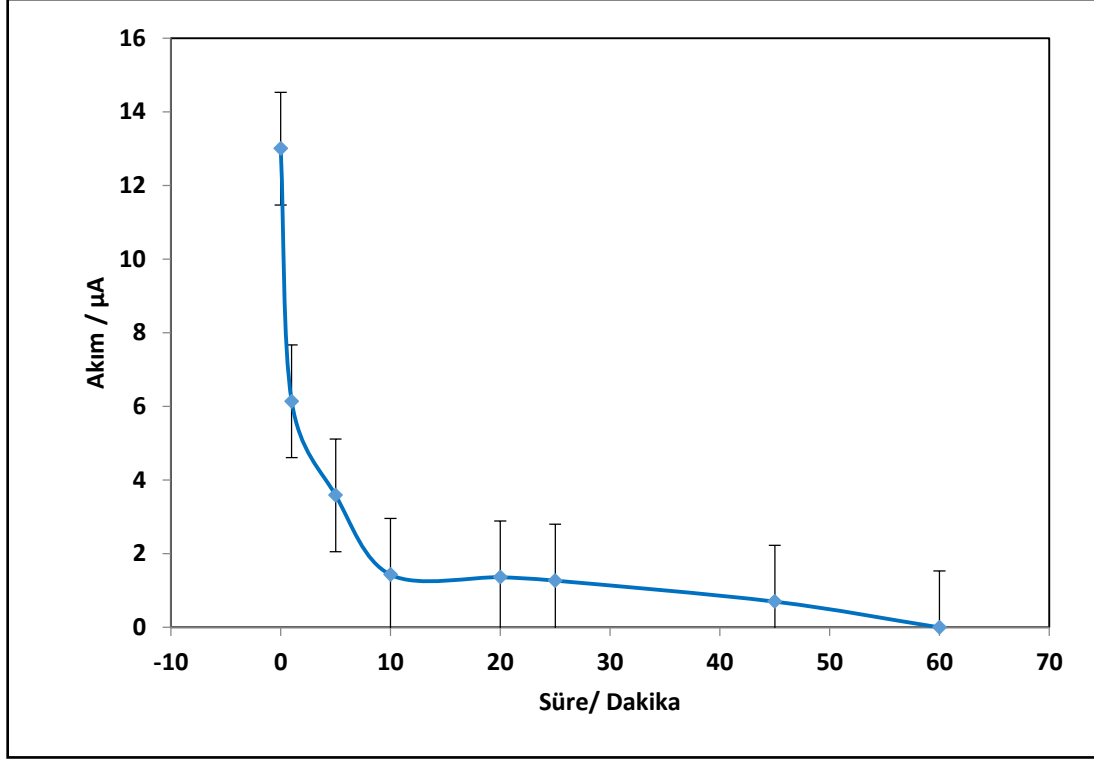




Şekil 4.12. Tarama hızı<sup>0.5</sup> ve akım (I) arasındaki ilişki.

#### 4.4.Desorpsiyon Süresinin Optimizasyonu

Moleküler baskılama işleminin performansını etkileyen en kritik basamaklardan biri en uygun desorpsiyon süresinin belirlenmesidir. Bu nedenle paraben baskılanmış yüzeyler %1 asetik asit:su (%1 HAc:H<sub>2</sub>O) (1:9) çözeltisinde farklı sürelerde desorpsiyona tabi tutularak kare dalga voltamogramları alınmıştır. Parabene ait okunan pik akımlarının desorpsiyon süresi ile azaldığı ve 60 dk'nın sonunda ise parabene ait pikin tamamen kaybolduğu gözlenmiştir (Şekil 4.14).



**Şekil 4.13.** Moleküler baskılanmış elektrodun %1 HAc:H<sub>2</sub>O (1:9) içerisinde farklı sürelerde bekletilerek ölçülen akım değerlerinin zamana bağlı değişimi.

Bu nedenle yapılan optimizasyon çalışması sonucunda; MIP-Au-SPE yüzeyinden parabenin uzaklaştırılma süresi 60 dk olarak belirlenmiş ve deneysel süreçte hep bu süre kullanılarak paraben uzaklaştırılmıştır.

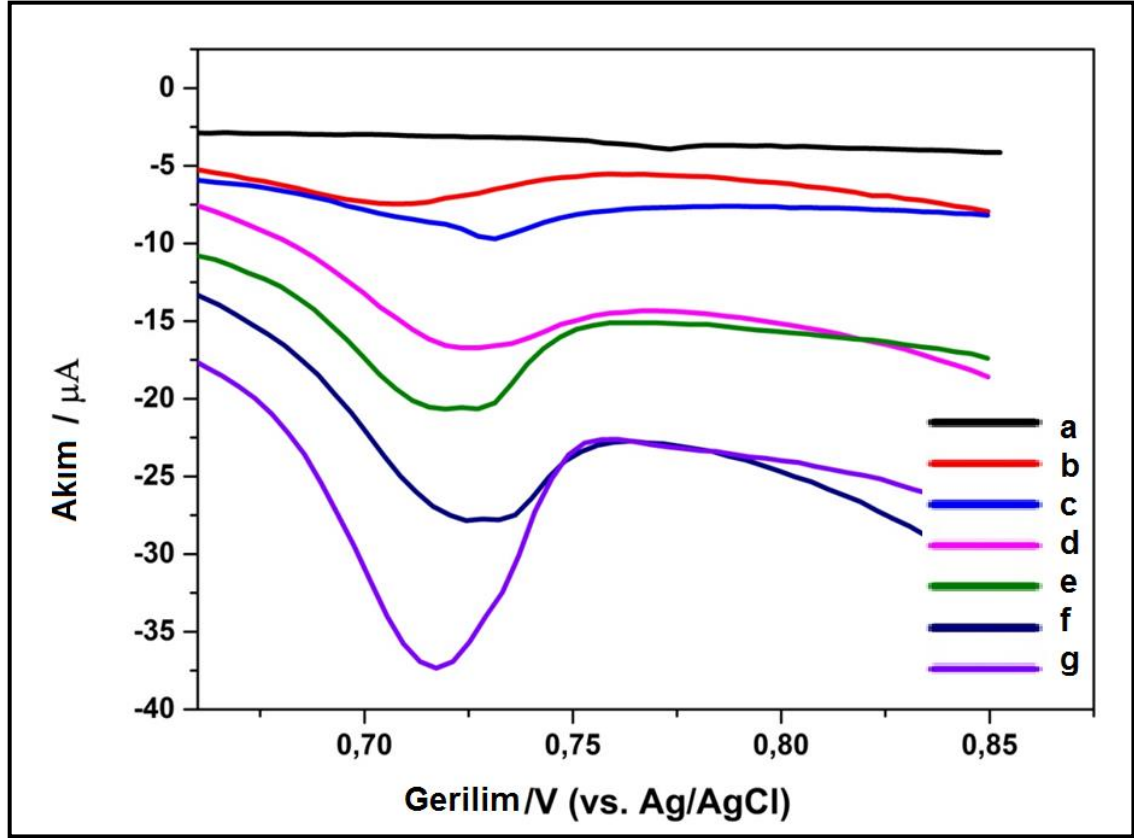
#### 4.5. MIP-SPE ile Parabenin Elektrokimyasal Tayini

Kare dalga voltametri (SWV), gelişmiş sinyal/gürültü karakteristiği nedeniyle elektrokimyasal tayin çalışmalarında oldukça yaygın kullanılan bir yöntemdir. Bu çalışmada da parabenin elektrokimyasal tayini için SWV yöntemi tercih edilmiştir. Belirli koşullar altında farklı derişimlerde paraben çözeltileri hazırlanmıştır. Elektrot ortamına farklı derişimlerde paraben çözeltisi eklenerek kare dalga voltamogramları ölçülmüştür. Ölçülen akım değerleri derişime karşı grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Şekil 4.16'da görüldüğü gibi derişim aralığı 1-30 µM olarak belirlenmiş ve elde edilen eğrinin doğrusal olduğu görülmüştür. 30 µM'dan daha yüksek derişimlerde ölçüm alındığında pik akımında kayda değer bir artış gözlenmemiştir. Bu durum yüzeyin doygunluk noktasına ulaştığının bir göstergesidir. Bu sebeple 30 µM derişim değeri üst sınır olarak kabul edilmiştir.

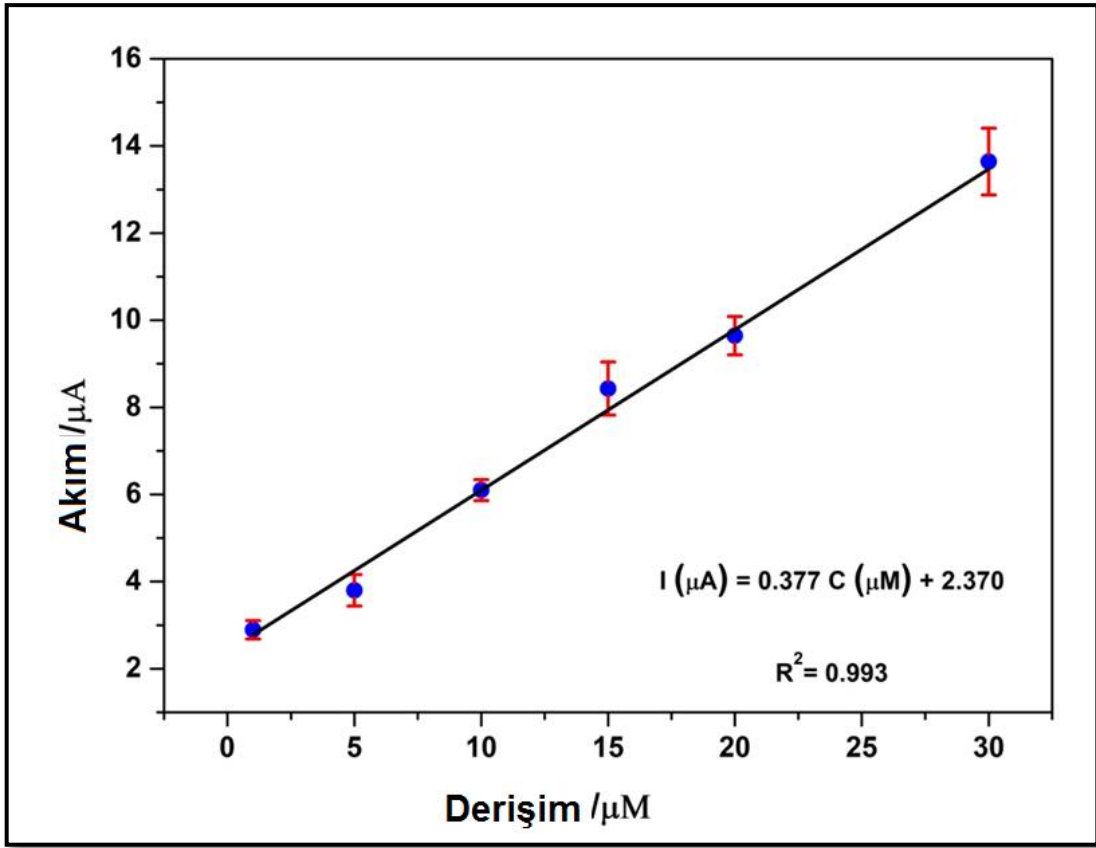
Parabenin değişen derişimlere karşı elde edilen kare dalga voltamogramları Şekil 4.15'da verilmiştir. 1 µM-30 µM paraben derişim aralığında yükseltgenme pik akımları grafiğe geçirilmiş ve derişim-pik akımı arasındaki ilişkinin doğrusal olduğu bulunmuştur (Şekil 4.16).

İlgili grafiğe ait eşitlik;

$$I_{pa}(\mu\text{M}) = 0,3777 (\mu\text{M}) + 2,370 \quad (R^2 = 0,993) \quad (4.5)$$



**Şekil 4.14.** Farklı derişimlerdeki paraben çözeltisinin kare dalga voltamogramları (a. 0, b. 1, c. 5, d. 10, e. 15, f. 20, g. 30 µM paraben) (PBS, pH: 7.0).



**Şekil 4.15.** Farklı derişimlerdeki paraben çözeltilerine ait akım değeri-derişim ilişkisi (0.1 M PBS, pH: 7.0).

n=4 için standart sapma hesaplaması yapılmış ve standart sapma 0,089  $\mu\text{A}$  olarak bulunmuştur.

LOD=  $3sb/m$  eşitliği kullanılarak tayin sınırı (LOD) değeri 0,706  $\mu\text{M}$  olarak belirlenmiş ve bu değer gözlenebilme sınırı olarak kabul edilmiştir.

LOQ=  $10sb/m$  eşitliğinden faydalanılarak kantitatif ölçme sınırı (LOQ) değeri 2,35  $\mu\text{M}$  olarak hesaplanmıştır.

sb: blank çözeltinin standart sapması (n=4)

m: kalibrasyon grafiğinin eğimi

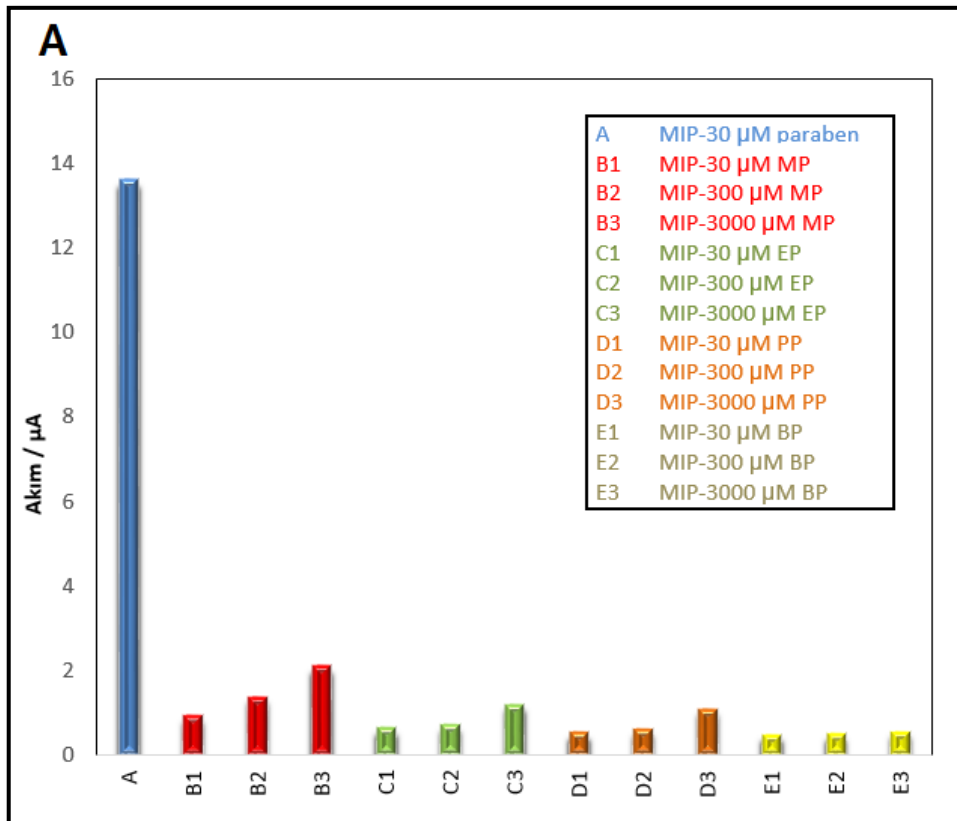
Paraben tayini için belirlenen analitik parametreler Çizelge 4.1'de özetlenmiştir.

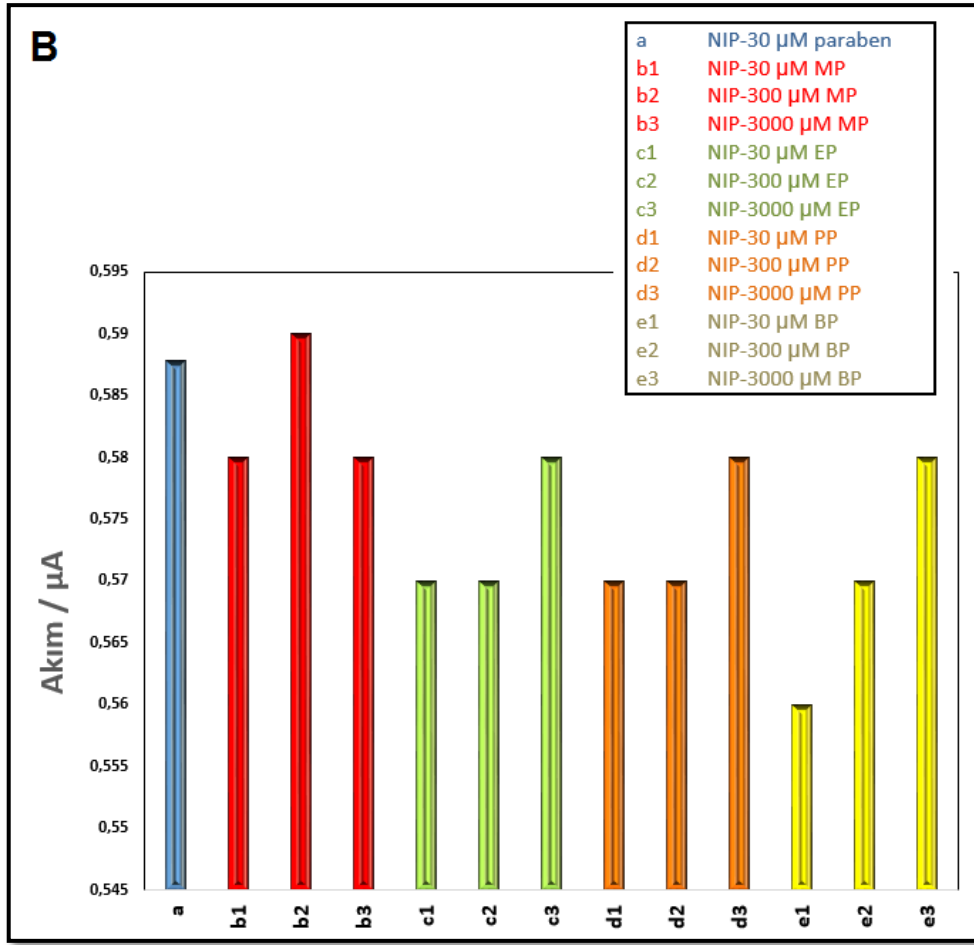
**Çizelge 4.1.** Paraben için elde edilen analitik parametreler.

<b>Parametre</b>	<b>Değer</b>
Pik gerilimi	0,73 V (vs Ag/AgCl)
Doğrusal çalışma aralığı	1-30 $\mu$ M
Eğim, m ( $\mu$ A.L/mol)	0,377
Regresyon katsayısı, R <sup>2</sup>	0,993
LOD	0,706 $\mu$ M
LOQ	2,35 $\mu$ M
Tekrarlanabilirlik (%RSD)	2,45

#### 4.6.Baskılama Seçiciliğinin Belirlenmesi

Geliştirilen sensör yüzeyinin parabene karşı seçiciliğinin araştırılması için parabenin çeşitli türevleri yarışmacı olarak kullanılmıştır. Etil paraben (EP), metil paraben (MP), propil paraben (PP) ve bütül paraben (BP) molekülleri kullanılarak yarışmalı adsorpsiyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Seçicilik deneyleri iki farklı yaklaşımla gerçekleştirilmiştir. Öncelikle; tekli yarışmacı moleküllerle hem MIP hem de NIP elektrotlar etkileştirilmiştir ve akım değerleri ölçülmüştür (Şekil 4.17). Bu veriler kullanılarak; baskılama seçiciliğinin göstergesi olan seçicilik katsayısı ve göreceli seçicilik katsayısı hesaplanmıştır.





**Şekil 4.16.** Seçicilik araştırması için tekli karışımlar halinde farklı derişimlerde alınan akım değerleri (A: Baskılanmış yüzeylerde (MIP) B: Baskılanmamış yüzeylerde (NIP))

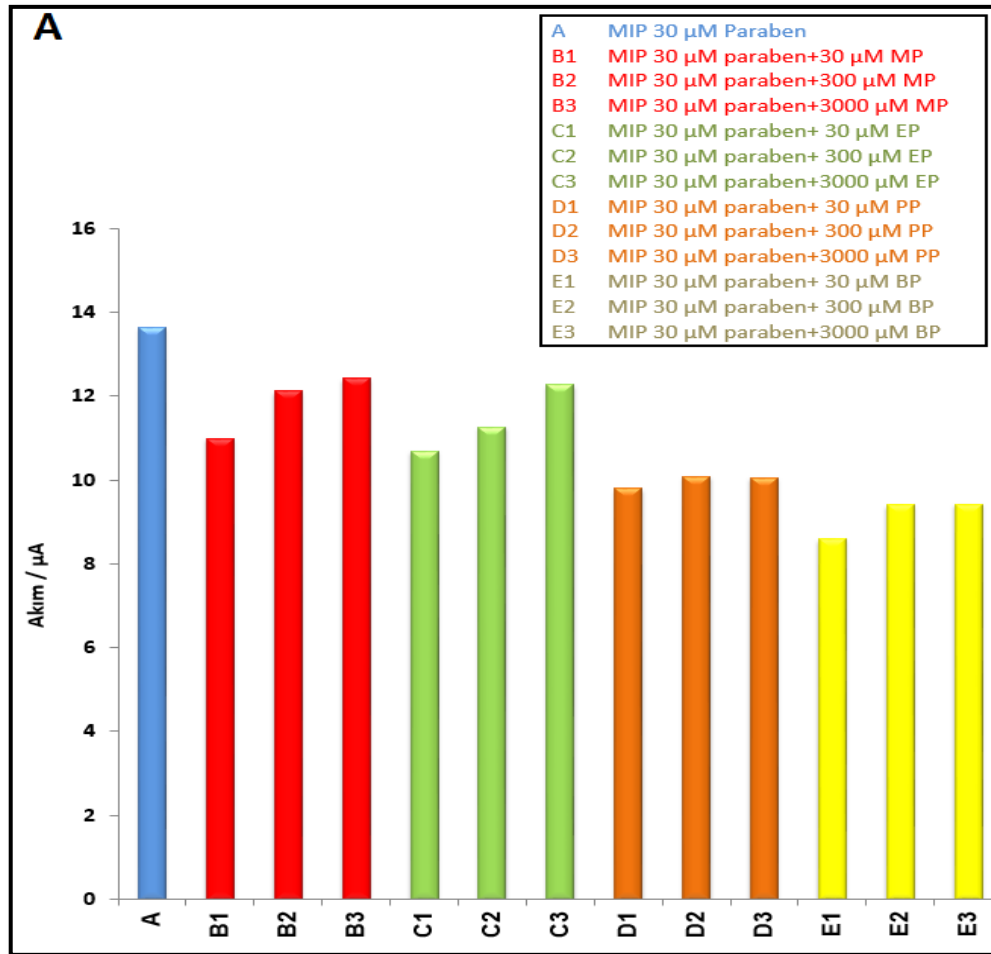
Seçicilik katsayısı,  $k = \frac{\text{akım değeri}_{\text{kalıp}}}{\text{akım değeri}_{\text{girişimci}}}$  şeklinde ifade edilmektedir. Baskılama seçiciliğinin ( $k'$ ) ise  $k_{\text{baskılanmış}}$  değerinin  $k_{\text{kontrol}}$  değerine oranı şeklinde ifade edilmektedir. Paraben baskılanmış olan yüzeyin seçiciliğini tespit etmek için yarışmalı adsorpsiyon deneyleri MP, EP, PP ve BP moleküllerinin çözeltileri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Paraben baskılanmış sensörün MP, EP, PP ve BP karşı verdiği akım değerleri sırasıyla 0.95, 0.68, 0.57 ve 0.51'dir. Aynı derişimdeki paraben için elde edilen akım değeri ise 13.64'tür. Bu sonuçlara göre baskılanmış sensör parabeni, MP'ye göre 14.35 kat, EP'ye göre 20.11 kat, PP'ye göre 23.84 kat ve BP'ye göre 26.74 kat daha duyarlı tayin edebilmektedir. Bu sonuçlar sensör yüzeyindeki boşluklara paraben moleküllerinin hem fiziksel hem de kimyasal yapısını polimerik hafızaya aldığına göstergesidir. Baskılama seçiciliğini gösteren bağıl seçicilik katsayısı 14,17 (paraben/MP), 19,85

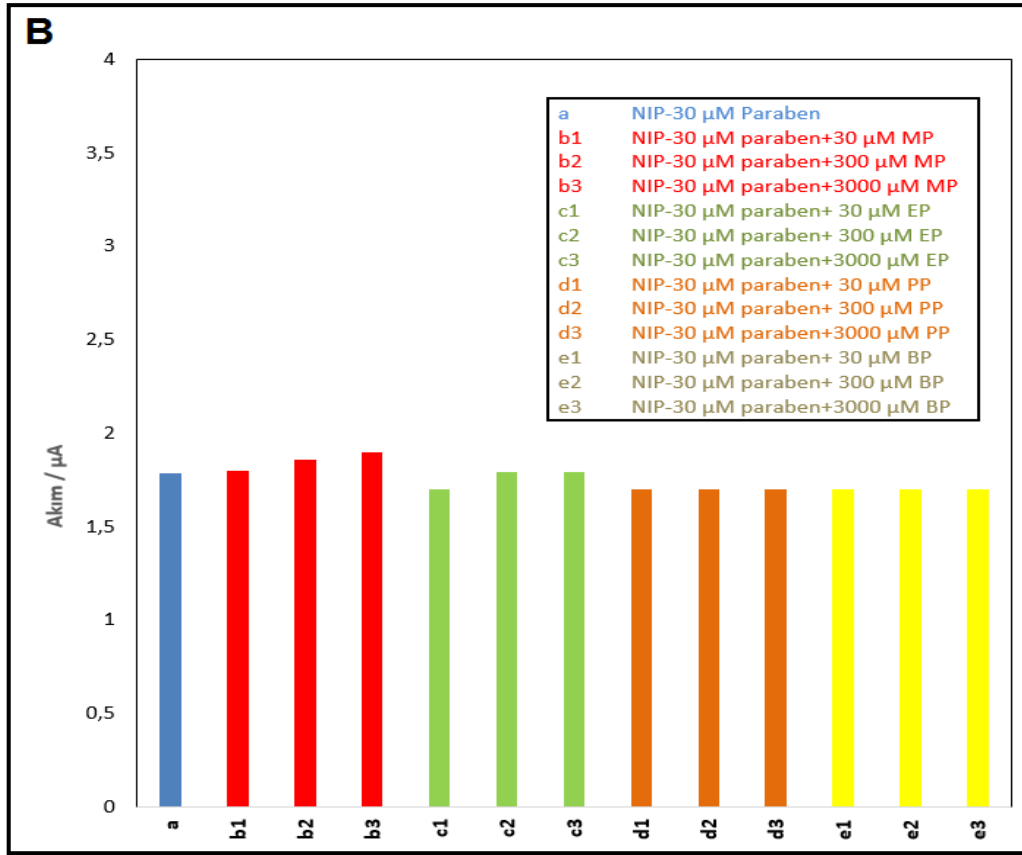
(paraben/EP), 23,08 (paraben/PP), 25,48 (paraben/BP) olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.2).

**Çizelge 4.2.** Seçicilik ve bağıl seçicilik katsayıları.

Paraben Türevleri	k (MIP)	k (NIP)	k'
MP	14,35789	1,0136	14,16524
EP	20,11799	1,0134	19,85197
PP	23,84615	1,0332	23,07989
BP	26,74509	1,0498	25,47636

Seçicilik deneylerinin ikinci bölümünde; hedef molekül paraben, diğer yarışmacı moleküllerle ikili karışımlar hazırlanmış ve yarışmacı moleküllerin girişim değerleri incelenmiştir (Şekil 4.18). Alınan ölçümlerde girişim yapabilecek türlerin varlığında MIP temelli polimerik filmin parabene (p-hidroksibenzoik aside) karşı seçici olduğu gözlenmiştir. Paraben piklerinde çok az değişim meydana gelmiştir. Bu değişim karbon zinciri arttıkça azalmıştır.





**Şekil 4.17.** Seçicilik araştırması için ikili karışımlar halinde farklı derişimlerde alınan akım değerleri (A: Baskılanmış yzeylerde (MIP), B: Baskılanmamış yzeylerde (NIP)).

#### 4.7.Gerçek rnek alışması

Parabenin elektrokimyasal tayinini yapabilmek için geliştirilen sensr rn pratikte uygulanabilirliğini g rrebilmek için gerçek rnek ile çalışılmıştır. Gerçek rnek olarak kozmetik r r nlerinden krem seçilmiş ve geri kazanım çalışması yapılmıştır. B r l r m 3.5’de hazırlanan  r zelti kullanılarak optimum koşullarda belirli derişimlerde hazırlanan paraben  r zelteleri iç standart olarak eklenerek SWV voltamogramları alınmıştır. Bu y r ntem ile elde edilen geri kazanım deneylerinin sonuçları izelge 4.3’de r zetlenmiştir. Çizelgede verildiği gibi; eklenen iç standart r l r mlerine g r re geri kazanım değeri; %91.9 - 116.6 arasında değişmektedir. G r receli standart sapma değerleri ise oldukça d r ř r k olup %2.35 ile 5.52 arasında hesaplanmıştır. Bu sonuçlar, geliştirilen sensr r n doğal r nreklere uygulanabileceğine işaret etmektedir.



**Çizelge 4.3.** Gerçek örnek ölçümü ile ilgili sonuçlar.

Örnek	Ölçülen ( $\mu\text{M}$ )	Eklene ( $\mu\text{M}$ )	Elde edilen ( $\mu\text{M}$ )	%RSD	%Geri kazanım
Krem	-	1	$0,76 \pm 0,44$	2,35	91,88
		20	$24,1 \pm 3.30$	5,52	119,60

(%95 güven aralığında, N=3, t=4,30 )

Yapılan bu çalışma literatürdeki diğer çalışmalarla karşılaştırılmış ve bazı çalışmalara göre daha hassas ve seçici olduğu bazı çalışmalara göre ise kıyaslanabilir olduğu görülmüştür (Çizelge 4.4.).

**Çizelge 4.4.** Karşılaştırmalı tablo.

Çalışma Aralığı (mM)	Tayin Sınırı (mM)	Metod	RSD	Referans
0,019-0,650	1,9	RP-HPLC	3	[83]
0,034-2,630	14	HPLC with MWCN	3,8	[84]
0,003-0,048	2,14	kapiler elektroforez	1,86	[85]
0,011-0,20	3,28	Elektrokimyasal yöntem (cam elektrot)	1,73	[86]
0,04-1,00	1,71	Elektrokimyasal yöntem (altın elektrot)	0,38	[75]
0,1-0,02	0,0004	Elektrokimyasal yöntem (altın elektrot)		[72]
0,001-0,03	0,0007	Elektrokimyasal yöntem (SPE altın elektrot)	2,45	Tez Çalışması

## 5. SONUÇLAR

Bu çalışmada perde baskılı altın elektrot yüzeyi, moleküler baskılama yöntemi ile modifiye edilmiş ve paraben baskılanmış sensörler hazırlanmıştır. Bu sensörlerin elektrokimyasal özellikleri ile seçicilik araştırması yapılmıştır. Modifiye edilmiş Au yüzeyin karakterizasyonu FTIR, AFM ve elektrokimyasal ölçümlerle yapılmıştır. Sensör yüzeyine ait EIS, CV ve DPV sonuçlarının uyumlu ve birbirini desteklediği belirlenmiştir.

Parabenin elektrokimyasal davranışının incelenmesi için modifiye edilmemiş ve paraben baskılanarak modifiye edilmiş elektrotlar, hem boş tampon çözeltide hem de 10 µM paraben içeren çözeltide CV voltagramları alınarak paraben tayini için uygun akım-gerilim ilişkisi belirlenmiştir. Modifiye edilmiş elektrot için parabenin yükseltgenme mekanizmasına bağlı olarak 0,734 V'da pik gözlenmiştir.

Parabenin yükseltgenme mekanizmasının adsorpsiyon veya difüzyon kontrollü olup olmadığını anlamak için tarama hızı çalışması yapılmıştır. 75 mV/s- 300 mV/s aralığında çalışılmış ve tarama hızı ile akım arasında doğrusal bir ilişki olduğu gözlenmiştir. Bu da mekanizmanın adsorpsiyon kontrollü gerçekleştiğine kanıt olmuştur. Ayrıca  $E_{pa}$  ya karşın  $\ln v$  grafiği de doğrusal olarak bulunmuştur.

Modifiye yüzeyde baskılanmış olan parabenin uzaklaştırılması için süre optimizasyonu yapılmıştır. Uzaklaştırma için H<sub>2</sub>O/ %1 CH<sub>3</sub>COOH (9:1) kullanılmış ve optimum süre 60 dk olarak belirlenmiştir.

Parabenin elektrokimyasal tayini için farklı derişimlerde SWV ölçümler alınmıştır ve paraben miktarı arttıkça pik akımında da artış gözlenmiştir. LOD değeri 0,706 µM, LOQ değeri ise 2,35 µM olarak bulunmuştur. Tekrarlanabilirlik çalışması için 4 kez alınan SWV voltamogramları sonucunda %RSD değeri % 2,45 (n=4) bulunmuştur.

Yüzeyin seçiciliği iki farklı çalışma ile incelenmiştir. Öncelikle ortamda tek başına bulunan yarışmacı moleküllerle ölçümler alınmış ve seçicilik katsayı ile göreceli seçicilik katsayıları hesaplanmıştır. Bağlı seçicilik katsayısının 1'den büyük çıkması ile yüzeyin baskılanmış olan parabene seçici olduğu belirlenmiştir. İkinci olarak ise ortamda hem hedef molekül paraben hem de diğer yarışmacı moleküller varlığında ölçümler alınarak girişim değerleri incelenmiştir. Ölçülen akım

değerlerinde çok fazla değişiklik olmadığı görülmüş ve karbon zinciri arttıkça da bu değişim miktarı azalmıştır.

Geliştirilen yöntem kozmetik örneklerinde başarı ile uygulanmıştır. Elde edilen geri kazanım oranları % 95 güven seviyesinde % 91-119,6 aralığında elde edilmiştir. Bu geri kazanım değerlerine bakıldığında geliştirilen yöntemin iyi sonuç verdiğinin göstergesidir. Yöntemin analitik duyarlılığı sayesinde kozmetik örneklerinde daha düşük düzeyde paraben içeriklerinin belirlenmesi ve kontrolünde kullanılabileceğini göstermektedir.

Bu çalışmada PVA varlığında gözenekli yapının oluşması sağlanarak diğer yapılan çalışmalara göre üstünlük kazanılmıştır. Ayrıca katı elektrotlara göre ve diğer kullanılan kromatografik yöntemlere göre daha ucuz ve seçici bir yöntem geliştirilerek literatüre katkı sağlanmıştır.

## 6. KAYNAKÇA

- [1] Croo F., Schutter J., Bossche W., Moerloose P., Gas chromatographic determination of parabens in various pharmaceutical dosage forms, *Chromatographia*, 18, 260–264, **1984**.
- [2] Szymula M., Narkeviccz-Michalek J., The effect of surfactant adsorption at a glassy carbon electrode on electrochemical oxidation of propyl gallate, *Journal of Applied Electrochemistry*, 36, 455–462, **2006**.
- [3] Morales M.D., Gonzales M.C., Revejo, A.J., Pingarron, J.M., A composite amperometric tyrosinase biosensor for the determination of the additive propyl gallate in foodstuffs, *Microchemical Journal*, 80, 71–78, **2005**.
- [4] Litescu, S. C., Radu, G.-L., Estimation of the antioxidative properties of tocopherols an electrochemical approach, *European Food Research Technology*, 211, 218–221, **2000**.
- [5] Litescu, S. C., Cioffi, N., Sabbani, L., Radu, G. L., Study of phenol-like compounds antioxidative behavior on low-density lipoprotein gold modified electrode, *Electroanalysis*, 14, 858–865, **2002**.
- [6] Giacomelli, C., Giacomelli, F.C., Alves, L.O., Timbola, A.K., Spinelli, A., Electrochemistry of vitamin E hydro-alcoholic solutions, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 15, 748–755, **2004**.
- [7] Timbola, A.K., Souza, C.D., Giacomelli, C., Spinelli, A., Electrochemical oxidation of quercetin in hydro-alcoholic solutions, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 17, 139–148, **2006**.
- [8] Okamoto Y., Hayashi T., Matsunami S., Ueda K., Kojima N., Combined activation of methyl paraben by light irradiation and esterase metabolism toward oxidative DNA damage, *Chemical Research Toxicology*, 21, 1594–1599, **2008**.
- [9] Djatmika R., Hsieh C., Chen J., Ding W., Determination of paraben preservatives in seafood using matrix solid-phase dispersion and on-line acetylation gas chromatography mass spectrometry, *Journal of Chromatography B Analytical Technologies in the Biomedical Life Science*, 1036, 93–99, **2016**.
- [10] CNN TÜRK HABER  
(<http://www.cnnturk.com/2011/saglik/05/28/saglik.bakanligindan.paraben.aciklamasi/618212.0/index.html>), (Nisan, **2018**).
- [11] Martins I., Carreira F. C., Canaes L. S., De Souza Campos Junior F.A., Da Silva Cruz L. M., Rath S., Determination of parabens in sampoo using high

- liquid chromatography with amperometric detection on a boron diamond electrode, *Talanta*, 85, 1-7, **2011**.
- [12] Sox T.E. , Mechanisms of action of cosmetic preservatives. *In: Braman, D.K (Ed.), Cosmetic Microbiology, A Practical Handbook*. CRC Press LLC, Boca Roton, 163-167, **1997**.
- [13] Byford J.R., Shaw L.E., Drew M.G.B., Pope G.S., Saver M.J., Darbre P.D., Oestrogenic activity of parabens in MCF7 human breast cancer cells, *The Journal of Steroid biochemistry and Molecular Biology*, 80, 49-60, **2002**.
- [14] Darbre P.D., and Harvey P.W., Paraben esters: Review of recent studies of endocrine toxicity, absorption, esterase and human exposure, and discussion of potential human health risks, *Journal of Applied Toxicology*, 28, 561-578, **2008**.
- [15] Martin J.M., Peropadre A., Herrero O., Freire P.F., Labrador V., Hazen M.J., Oxidative DNA damage contributes to the toxic activity of propylparaben in mammalian cells, *Mutation Research*, 702, 86-91, **2002**.
- [16] Xiayun Y., Amber M.B., John A.R., Larry L.N., Antonia M.C., Parabens as urinary biomarkers of exposure in humans. *Environmental Health Perspectives*, 114, 1843-1846, **2006**.
- [17] Lemini C., Silva G., Timessi C., Lague D., Valverse A., Gonzalez-Martinez M., Hernández A., Rubio-Póo C., Chavez Lara B., Valenzuela F., Estrogenic effects of p-hydroxybenzoic acid in CD1 mice, *Environmental Research*, 75, 130-134, **1997**.
- [18] Routledge E.J., Parker J., Odum J., Ashby J. and Sumpter J., Some alkyl hydroxyl benzoate preservatives (parabens) are estrogenic, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 153, 12-19, **1988**.
- [19] Kawaguchi M., Morohoski K., Masuda J., Watanabe G., Morita M., Imai H., Taya K., Himi T., Maternal isobutyl-paraben exposure decreases the plasma corticosterone level in dams and sensitivity to estrogen in female offspring rats, *Journal of Veterinary Medical Science*, 71, 1027- 1033, **2009**.
- [20] Piriñ B., Türkoğlu Ş., Etil paraben ve metil parabenin caenorhabditis elegans'ta yumurta verimi, yaşama yüzdesi ve fiziksel büyüme üzerine olan etkilerinin araştırılması: *Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 37, 4, **2016**.
- [21] Aalto T.R., Firman M.C., Rigler N.E., p-Hydroxybenzoic acid esters as preservatives: Uses, antibacterial and antifungal studies, properties and determination, *Journal of the American Pharmaceutical*, 42, 446-457, **1953**.
- [22] Slawomir M. , Magdalena J., Agata S. , Voltammetric determination of total content of parabens at a carbon fiber microelectrode in pharmaceutical

- preparations, *International Journal of Electrochemical Science*, 11, 1661-1675, **2016**.
- [23] Cashman A., Warshaw E., Parabens: A review of epidemiology, structure, allergenicity, and hormonal properties, *Journal Dermatitis*, 16, 57-66, **2005**.
- [24] 123RF company, [https://tr.123rf.com/photo\\_27906126\\_structural-chemical-formulas-of-parabens-food-and-cosmetic-preservatives-2d-illustration-vector-isol.html?fromid=cjRZUXRqeUZ6cW0zMVJaRGN4RVdiQT09](https://tr.123rf.com/photo_27906126_structural-chemical-formulas-of-parabens-food-and-cosmetic-preservatives-2d-illustration-vector-isol.html?fromid=cjRZUXRqeUZ6cW0zMVJaRGN4RVdiQT09), (Nisan **2018**).
- [25] Denizli A., Moleküler Baskılama Teknolojisi, [http://maycalistaylari.comu.edu.tr/calistay2007/sunumlar/konferans/adil\\_denizli1.pdf](http://maycalistaylari.comu.edu.tr/calistay2007/sunumlar/konferans/adil_denizli1.pdf), (Mayıs **2007**).
- [26] Çiçek Ç., *Bilirubin Tayini İçin Moleküler Baskılanmış Sensörlerin Hazırlanması*, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, **2014**.
- [27] Wulff, G., The role of binding-site interactions in the molecular imprinting of polymers, *Trends Biotechnology*, 11, 85-87, **1993**.
- [28] Komiyama M., Takeuchi T., Mukawa T., Asanuma H., *Molecular Imprinting: From Fundamentals to Applications*, Wiley-VCH Verlag GmbH&Co. KGaA, Weinheim, Tokyo, **2003**.
- [29] Shea, K. J., Spivak D. A., Sellergren B., Polymer complements to nucleotide bases, Selective binding of adenine derivatives to imprinted polymers, *Journal of American Chemical Society*, 115, 3368–3369, **1993**.
- [30] Karim, K., Breton, F., Rouillon, R., Piletska, EV., Guerreiro, A., Chianella, I., Piletsky, S. A., How to find effective functional monomers for effective molecularly imprinted polymers, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57, 1795-808, **2005**.
- [31] Mayes, A. G., Whitcombe, M. J., Synthetic strategies for the generation of molecularly imprinted organic polymers, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57, 1742-1748, **2005**.
- [32] Cormack, P., Elorza, A., Molecularly imprinted polymers: synthesis and characterisation, *Journal of Chromatography*, 804, 173-182, **2004**.
- [33] Yılmaz E., *Preparation of Molecular Imprinting Based Lysozyme Sensors*, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2013**.
- [34] Spivak, A.S., Optimization, evaluation and characterization of molecularly imprinted polymers, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1780, 1779-1794, **2005**.

- [35] Zhao C., Ma X., Li J., An insulin molecularly imprinted electrochemical sensor based on epitope imprinting, *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 45, 1360-1366, **2017**.
- [36] Okutucu B, *Serotonin'e Spesifik Moleküler Damgalı Polimerlerin Hazırlanması Ve Karakterizasyonu*, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü, İzmir, **2007**.
- [37] Yan, H., Row, K. R., Characteristic and synthetic approach of molecularly imprinted polymer, *International Journal of Molecular Science*, 7, 155-178, **2006**.
- [38] Wulff, G., Sarhan, A., The use of polymers with enzyme-analogous structures for the resolution of racemates, *Angewandte Chemi-International Edition in English*, 11, 341-344, **1972**.
- [39] Dickey, F. H., The preparation of spesifik adsorbents, *Proceeding of National Academy of Sciences of USA*, 35, 227- 229, **1949**.
- [40] Kuş, H., *Moleküler Baskılanmış Polimerler ve Uygulamaları*, Bitirme Tezi, Erciyes Üniversitesi, Kayseri, **2013**.
- [41] Katz, A., Davis, M. E., Investigations into the mechanisms of molecular recognition with imprinted polymers, *Macromolecules*, 32, 4113-412, **1999**.
- [42] Yang B., Fu C., Frontiers in high sensitive molecularly imprinted electrochemical sensors: Challenges and strategies, *Trends in Analytical Chemistry*, 105, 52-67, **2018**.
- [43] Yılmaz, S., *Analitik Voltametri*, 1.Basım, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Yayınları, Çanakkale, **2008**.
- [44] Wang J., *Analytical Electrochemistry*, 3rd Edition, Newyork, NY, USA, 262, **2006**.
- [45] Tural, H., Ertaş, F. N., Gökçel, H., Enstrümental analiz ve elektroanalitik yöntemler, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Baskı Atölyesi, İzmir, 339, **2010**.
- [46] Kounaves S. P., Voltammetric techniques, *Handbook of Instrumental Techniques Analytical Chemistry*, 120, 709–726, **1997**.
- [47] Mofidi Z., Norouzi P., Larijani B., Seidi S., Ganjali M., Morshedi M., Simultaneous determination and extraction of ultra- trace amounts of estradiol valerate from whole blood using FFT square wave voltammetry and low-voltage electrically enhanced microextraction techniques, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 813, 83-91, **2018**.
- [48] Yaman T., *Ambalaj Malzemelerinden Gıdaya Bulaşan Ve Gıda Güvenilirliğini Tehdit Eden Maddelerin Elektrokimyasal Yöntemle Tespiti*,

Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Fakültesi, Ankara, **2016**.

- [49] Chen, S., Yuan, R., Chai, Y., Xu, Y., Min, L. ve Li, N., A new antibody immobilization technique based on organic polymers protected Prussian blue nanoparticles and gold colloidal nanoparticles for amperometric immunosensors, *Sensor and Actuators B: Chemical*, 135, 236–244, **2008**.
- [50] Tepeli Y., *Kanser Hücresi Belirlenmesine Yönelik Elektrokimyasal Yöntemlerin Ve Elektrokimyasal Platformların Geliştirilmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, **2015**.
- [51] Çimenkaya A., *Moleküler Baskılanan Aşırı Yükseltgenmiş Polipirol Elektrotlar İle Sülfonamitlerin Elektrokimyasal Kontrollü Katı-Faz Mikroekstraksiyonu Ve Voltametrik Tayini*, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, **2015**.
- [52] ODTÜ Merkez Laboratuvarı, <https://merlab.metu.edu.tr/tr/atomik-kuvvet-mikroskopu>, (Nisan **2018**).
- [53] Ergin Ç., Ikit M., Gök Y., Özel M. Z., Çon A. H., Kabay N., Söyleyici S., Dönen A., Fourier transform infrared spectral evaluation for the differentiation of clinically relevant Trichophyton species, *Journal of Microbiological Methods*, 218-223, **2013**.
- [54] Ono D., Bamba T., Oku Y., Yonetani T., Fukusaki E., Application of Fourier transform near-infrared spectroscopy to optimization of green tea steaming process conditions, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 112, 247-251, **2011**.
- [55] Lin S. Y., Wang S. L., Advances in simultaneous DSC–FTIR microspectroscopy for rapid solid-state chemical stability studies: Some dipeptide drugs as examples, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 461-478, **2012**.
- [56] Gündüz T., *Enstrümental Analiz*. Gazi Kitabevi, ISBN: 978-975-7313-43-4, 1357 s., Ankara, **2007**.
- [57] Blanco L. M., Guiterrez F. S., Castanon M. L., Miranda O. A., Tunon P., Electrochemical sensing with electrodes modified with molecularly imprinted polymer films, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 378, 1922-1928, **2003**.
- [58] Piletsky, S. A., Turner, A. P. F., Electrochemical sensors based on molecularly imprinted polymers, *Sensor and Bioelectronic Devices*, 45, 317-323, **2001**.



- [59] Malitesta C., Mazzotta E., Picca R. A., Poma A., Chianella I., Piletsky S. A., MIP sensors – the electrochemical approach, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 40, 1827-1846, **2012**.
- [60] Alizadeh T., Zare M., Ganjali M. R., Norouzi P., Tavana B., A new molecularly imprinted polymer (MIP)-based electrochemical sensor for monitoring 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) in natural waters and soil samples, *Biosensors and Bioelectronics*, 25, 1166-1172, **2010**.
- [61] Vembu S., Cheng-Tar W., Kuo-Chuan H., Molecularly imprinted electrochemical sensors, *Electroanalysis*, 22, 1795-1811, **2010**.
- [62] Fang C., Wang Y., Cao Y., Preparation of electrochemical sensor for parabens based on molecularly imprinted polymers, *Analytica Chimica Acta*, 673, 145-160, **2010**.
- [63] Juan F. Noguera-Ortí Rosa M. Villanueva-Camañas G., Determination of parabens in cosmetics without previous extraction by micellar liquid chromatography, *Journal of Chromatographic Science*, 37, 83-87, **1999**.
- [64] Sosvorova L., Chlupacova T., Vitku J., Vlk M., Heracek J., Starka L., Saman D., Simkova M., Hampl R., Determination of selected bisphenols, parabens and estrogens in human plasma using LC-MS/MS, *Talanta*, 174, 21-28, **2017**.
- [65] Zhang Q., Lian M., Liu L., Cui H., High-performance liquid chromatographic assay of parabens in wash-off cosmetic products and foods using chemiluminescence detection, *Analytica Chimica Acta*, 537, 31-39, **2005**.
- [66] Moreta C., Tena M. T., Kannan K., Analytical method for the determination and a survey of parabens and their derivatives in pharmaceuticals, *Environmental Research*, 142, 452-460, **2015**.
- [67] Maneenuch C., Sudkate C., Weena S., Orawon C., A rapid separation and highly determination of paraben species by ultra-performance liquid chromatography-electrochemical detection, *Scientific Research*, 1, 21-29, **2013**.
- [68] Chopra, S., Manyanga V., Hoogmartens J., and Adams E., LC with electrochemical and UV detection for analysis of a formulation containing gentamicin and parabens, *Analytical Methods*, 5, 2491- 2496, **2013**.
- [69] Saraji M., Mirmahdieh S., Single-drop microextraction followed by in-syringe derivatization and GC-MS detection for the determination of parabens in water and cosmetic products, *Journal of Separation Science*, 32, 988–995, **2009**.
- [70] Lee M.R., Lin C.Y., Li Z.G., Tsai T.F., Simultaneous analysis of antioxidants and preservatives in cosmetics by supercritical fluid extraction combined

- with liquid chromatography–mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1120, 244–251, **2006**.
- [71] Wang Y. W., Wang Y.P., Zhang J.B., Chu Q.C., Ye J.N., Simultaneous determination of electroactive and non-electroactive food preservatives by novel capillary electrophoresis with amperometric detection, *Analytica Chimica Acta*, 678, 39–43, **2010**.
- [72] Wang Y., Cao Y., Fang C., Gong Q., Electrochemical sensor for parabens based on molecular imprinting polymers with dual-templates, *Analytica Chimica Acta*, 673, 145-150, **2010**.
- [73] Frontistis Z., Antonopoulou M., Yazirdagi M., Kilinc Z., Konstantinou I., Katsaounis A., Mantzavinos D., Boron-doped diamond electrooxidation of ethyl paraben: The effect of electrolyte on by-products distribution and mechanisms, *Journal of Environmental Management*, 195, 148-156, **2017**.
- [74] Murakami K., Watanabe H., Tateno T., Kauffmann J.M., Comparative study of the determination of parabens in shampoos by liquid chromatography with amperometric and coulometric detection, *Sensor and Bioelectronic Devices*, 22, 1702-1706, **2010**.
- [75] Naik K.M., Nandibewoor S.T., Electroanalytical method for the determination of methylparaben, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 211, 127-132, **2014**.
- [76] Wang L., Li Y., Li G., Ye B., A new strategy for enhancing electrochemical sensing from MWCNT's modified electrode with Langmuir-Blodgett film and used in determination of methylparaben, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 211, 332-338, **2015**.
- [77] Behpour M., Masoum S., Lalifar A., Khoobi A., A novel method based on from MWCNT's modified electrode and multivariate calibrations for study and determination of methylparaben in the presence of unexpected interference in cosmetics, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 214, 332-338, **2015**.
- [78] Baytak A. K., Düzmen S., Teker T., Aslanoğlu M., Voltammetric determination of methylparaben and its DNA interaction using a novel platform based on carbon nanofibers and cobalt-nicel-palladium nanoparticles, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 239, 330-337, **2017**.
- [79] Hajian A., Ghadsi J., Afroz A., Yurchenko O., Urban G., Nanomolar detection of methylparaben by a cost-effective hemoglobin-based biosensor, *Materials Science and Engineering C*, 69, 122-127, **2016**.
- [80] Baytak A. K., Teker T., Duzmen S., Aslanoğlu M., A novel electrochemical platform based on carbon nanofibers and tri-metallic nanoparticles of gold, nicel and cobalt for the quantification of ehlyparaben, *Materials Science and Engineering C*, 72, 301-307, **2017**.

- [81] Lorenzo M. A., Sanchez A., Moreno M., Bermejo E., Chicharro M., Zapardiel A., Determination of butylparaben by adsorptive stripping voltammetry at glassy carbon-electrode modified with multi-wall carbon nanotubes, *Microchemical Journal*, 110, 510-516, **2013**.
- [82] Özgür E., *Metabolit Tayinine Yönelik Biyoesinlenmiş Nanomalzemelerin Geliştirilmesi ve Uygulamaları*, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2017**.
- [83] Saad B., Bari M.F., Saleh M.I., Ahmad K., Talib M.K.M., Simultaneous determination of preservatives (benzoic acid, sorbic acid, methylparaben and propylparaben) in foodstuffs using high-performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography, A* 1073, 393–397, **2005**.
- [84] 2. I.M. Sillero, E.A. Herrador, S. Cárdenas, M. Valcárcel, Determination of parabens in cosmetic products using multi-walled carbon nanotubes as solid phase extraction sorbent and corona-charged aerosol detection system, *Journal of Chromatography, A* 1217, 1–6, **2010**.
- [85] 3. U.D. Uysal, U.D.T. Guray, Determination of parabens in pharmaceutical and cosmetic products by capillary electrophoresis, *Journal of Analytical Chemical*, 63, 982–986, **2008**.
- [86] 4. K.M. Łukasiewicz, H.P. Tarasiewicz, A. Niedzielko, Electrooxidation of some antifungal agents and their square-wave voltammetric determination in cosmetics and pharmaceuticals, *Analytical Letter*, 44, 955–967, **2011**.

## 7.ÖZGEÇMİŞ

### Kimlik Bilgileri:

Adı Soyadı: Beyhan Buse YÜCEBAŞ

Doğum Yeri: Ankara

Medeni Hali: Bekâr

E-posta: [buseyuc@hotmail.com](mailto:buseyuc@hotmail.com)

Adresi: Hacettepe Üniversitesi, Kimya Bölümü

### Eğitim:

**Lisans:** Hacettepe Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü

**Yüksek Lisans:** Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü,  
Biyokimya Anabilim Dalı

### Yabancı Dil ve Düzeyi

**İngilizce:** iyi

**YDS:** 62,5

**YÖKDİL:** 78

### İş deneyimi

Türk Hava Yolları (3 YIL)

Ulaştırma ve Altyapı Bakanlığı (Halen)

### Deneyim Alanları

Elektrokimyasal sensörler, voltametri, moleküler baskılama

### Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

### Tezden Üretilmiş Yayınlar

### Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar



HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
YÜKSEK LİSANS TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ  
KİMYA ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

Tarih: 13/08/2018

Tez Başlığı / Konusu: Seçici Paraben Tayini İçin Moleküler Baskılanmış Elektrokimyasal Sensörlerin Geliştirilmesi

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş, c) Ana bölümler d) Sonuç kısımlarından oluşan toplam 59 sayfalık kısmına ilişkin, 13/08/2018 tarihinde ~~çalışmam~~/tez danışmanım tarafından *Turnitin* adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 6 'tür.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kaynakça hariç
- 2- Alıntılar hariç/dâhil
- 3- 5 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Çalışması Orjinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

13.08.2018

Adı Soyadı: Beyhan Buse YÜCEBAŞ  
Öğrenci No: N10228698  
Anabilim Dalı: KİMYA  
Programı: BİYOKİMYA  
Statüsü:  Y.Lisans  Doktora  Bütünleşik Dr.

**DANIŞMAN ONAYI**

UYGUNDUR.

Doç. Dr. Lokman UZUN