

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SEÇİLMİŞ HEDEF MOLEKÜLLERE DUYARLI POLİMERİK JEL
SENTEZİ VE FİZİKSEL PARAMETRELERİN SEÇİCİLİK ÜZERİNE
ETKİSİ**

**DOKTORA TEZİ
Ali GELİR**

Anabilim Dalı : Fizik

Programı : Fizik Mühendisliği

MART 2009

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SEÇİLMİŞ HEDEF MOLEKÜLLERE DUYARLI POLİMERİK JEL
SENTEZİ VE FİZİKSEL PARAMETRELERİN SEÇİCİLİK ÜZERİNE
ETKİSİ**

**DOKTORA TEZİ
Ali GELİR
(509012020)**

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 30 Aralık 2008

Tezin Savunulduğu Tarih : 16 Mart 2009

**Tez Danışmanı : Doç. Dr. Yaşar YILMAZ (İTÜ)
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Fatma TEPEHAN (İTÜ)
Prof. Dr. Uğur YAHŞİ (MÜ)
Doç. Dr. Cemal ÖZEROĞLU (İÜ)
Doç. Dr. İsmail YILMAZ (İTÜ)**

MART 2009

ÖNSÖZ

Çalışmalarım süresince benden desteğini esirgemeyen sayın hocam Doç Dr. Yaşar Yılmaz'a, değerli fikir ve yorumları ile birçok konuda yardımcı olan sayın Doç. Dr. Mustafa Özcan'a, mesai arkadaşlarım Araş. Gör. Esra Alveroğlu ile Araş. Gör. Nihan Uysal sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Bu çalışmamı, zor zamanlarımda sürekli yanımda olup tavsiyeleri ile beni destekleyen ve benim en önemli moral kaynağım olan çok değerli eşim sayın Tuğba hanıma ve dünyalar tatlısı oğlum Kerem'e ithaf ediyorum.

Aralık 2008

Ali GELİR
Fizik Yük. Müh.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KISALTMALAR.....	vi
ÇİZELGE LİSTESİ.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
SEMBOL LİSTESİ.....	xi
ÖZET.....	xiii
SUMMARY.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. TEORİK ALTYAPI.....	5
2.1 Polimerik Jeller.....	5
2.2 Moleküler Algılama ve Kalıplama.....	9
2.3 Floresans Spektroskopisi Yöntemi.....	12
2.4 Jellerde Duygunluğun Modellenmesi.....	19
2.5 Jellerde Difüzyon Süreci.....	20
2.6 Kalıplanmış Jellerde Hafıza Parametresi.....	21
3. DENEYSEL ÇALIŞMA.....	27
3.1 Kullanılan Cihazlar ve Deney Koşulları.....	27
3.2 Hedef Molekül Piraninin Spektroskopik Özellikleri.....	32
3.3 Kompleks Oluşumu ve Kararlılık Deneyleri.....	40
3.4 Kalıplanmış ve Kalıplanmamış Jel Sentezi.....	45
3.5 Difüzyon Deneyleri.....	52
3.5.1 Difüzyonun çözelti derişimine bağıllığı.....	52
3.5.2 Difüzyonun sıcaklığa bağıllığı.....	54
3.5.3 Difüzyonun çözeltinin pH'ına bağıllığı.....	59
3.5.4 Difüzyonun çözeltinin tuz derişimine bağıllığı.....	63
4. SONUÇLAR, YORUMLAR VE ÖNERİLER.....	71
KAYNAKLAR.....	77

KISALTMALAR

LCST	: Kritik çözelti sıcaklığının alt değeri (Lower critical solution temperature)
NIPA	: Monomer (N-izopropillakrilamid)
BIS	: Çapraz bağlayıcı monomer (N,N'-etilenbisakrilamid)
AIBN	: Başlatıcı molekül (Azobisizobütilonitril)
DMSO	: Çözücü (Dimetilsülfoksit)
HCl	: Hidroklorik asit
NaOH	: Sodyum hidroksit
PAAm	: Akrilamid polimeri (Poliakrilamid)

ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1 : Kalıplanmış ve Rastgele jellerin kimyasal bileşimleri.....	30
Çizelge 3.2 : Kalıplanmış (K1) ve rastgele (R1) jeller için değişik piranin derişimlerdeki difüzyon katsayıları	54
Çizelge 3.3 : Kalıplanmış (K4) ve rastgele (R4) jeller için değişik sıcaklıklardaki difüzyon katsayıları	55
Çizelge 3.4 : Kalıplanmış (K3) ve rastgele (R3) jeller için değişik pH değerlerinde difüzyon katsayıları	63
Çizelge 4.1 : Kalıplanmış (K4) ve rastgele (R4) jeller için değişik tuz derişimlerdeki hafıza parametreleri.....	75

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Doğrusal polimer zinciri (a), dallanmış polimer zinciri (b) ve çapraz bağlayıcılarla birbirine bağlanmış uzun polimer zincirlerinin oluşturduğu ağ yapı veya diğer ismi ile jel (c).....	6
Şekil 2.2 : Klasik jelleşme teorisinin uygulandığı Cayley ağacı (a) ve sızma teorisinin uygulandığı periyodik örgü (b).....	7
Şekil 2.3 : Moleküler Kalıplama ile ilgili yapılan çalışmaların yıllara göre dağılımı.....	10
Şekil 2.4 : Farklı etkileşmelerin gerçekleştiği fonksiyonel gruplar (a) ve hedef molekül (b). Hidrojellerin kalıplanma (c), şişme/yıkama (d) ve tekrar çökme (e) aşamaları	12
Şekil 2.5 : Jablonski diyagramı.....	13
Şekil 2.6 : Benzen ve değişik gösterimleri.....	14
Şekil 2.7 : Piranin molekülünün molekül şeması (a) ve 10^{-4} M piren ve piranin moleküllerinin spektrumları. Spektrumlar sırasıyla toluen ve su içinde alınmıştır.....	17
Şekil 2.8 : Piranin moleküllerinin jelle difüzyonu. Difüzyon başlangıcı (a) ve sonu (b).....	20
Şekil 2.9 : Jelden alınan spektrumun bileşenlerini gösteren spektrum	24
Şekil 3.1 : Floresans Spektrofotometresinin dıştan görünümü (a) ve ölçüm ünitesi (b).....	27
Şekil 3.2 : 10^{-4} M piranin molekülünün suda (sürekli çizgi) ve DMSO (kesikli çizgi) içindeki UV spektrumları.....	33
Şekil 3.3 : 10^{-4} M piranin molekülünün suda (sürekli çizgi) ve DMSO (kesikli çizgi) içindeki floresan spektrumları.....	33
Şekil 3.4 : Piranin molekülünün floresans karakterinin ortamın pH'ına olan bağlılığı.....	34
Şekil 3.5 : Molekülün pK değeri ile ortamın pH değeri arasındaki ilişki	35
Şekil 3.6 : Piraninin floresans emisyon şiddetinin derişime bağlılığı.....	36
Şekil 3.7 : Piraninin floresans emisyon şiddetinin vizkoziteye bağlılığı	36
Şekil 3.8 : AAm polimerizasyonu süresince piranin molekülünün spektroskopik karakterinin (a) ve dalgaboyundaki kaymanın (b) zamanla değişimi	37
Şekil 3.9 : Polimerleşme süresince 515nm (kesikli çizgi) ve 425 nm'nin (sürekli çizgi) zamanla değişimi.....	38
Şekil 3.10 : Değişik AAm derişimlerinde piranin molekülünün spektroskopik karakterinin değişimi.....	38
Şekil 3.11 : Piranin ile sentezlenen PAAm jelinin yıkanması esnasında jelden (a) ve yıkama suyundan (b) alınan spektrumlar.....	39
Şekil 3.12 : Piren3 içermeyen jellere sonradan difüzyon yoluyla piranin gönderilmesi sırasında difüzyonun değişik zamanlarında çözeltiden (a) ve jelden (b) alınan spektrumlar	40

Şekil 3.13 :	Maptak ve piranin molekülleri arasında oluşan kompleks yapı.....	41
Şekil 3.14 :	Piraninin maptak içinde değişik derişimlerdeki floresans spektrumu ((a)= 1.9×10^{-4} M, (b)= 3.8×10^{-4} M, (c)= 3.8×10^{-3} M, (d)= 4.8×10^{-3} M)	41
Şekil 3.15 :	Piranin ile maptak arasında kompleks oluşumu deneyinde deriştirme (a) ve seyreltme (b) durumlarında. 520 nm'deki pikin kayması. Seyreltme su ile yapılmıştır.....	42
Şekil 3.16 :	2M Rastgele (R) ve Kalıplanmış (K) NIPA jellerinin, jelleşme öncesi (a) ve sonrası (b) spektrumları	43
Şekil 3.17 :	6M Rastgele (R4) ve Kalıplanmış (K4) NIPA jellerinin, jelleşme öncesi (a) ve sonrası (b) spektrumları.....	44
Şekil 3.18 :	2M NIPA jelinin jelleşme sürecinde Ekzimer (I_{480})/Monomer (I_{430}) oranının rastgele (R) ve kalıplanmış (K) jeller için zamanla değişimi....	45
Şekil 3.19 :	6M NIPA jelinin jelleşme sürecinde Ekzimer (I_{480})/Monomer (I_{430}) oranının rastgele (R4) ve kalıplanmış (K4) jeller için zamanla değişimi.....	45
Şekil 3.20 :	2M'lık rastgele NIPA jelinde piranin molekülünün monomer ve ekzimer emisyonlarının jelleşme süresince değişimi	47
Şekil 3.21 :	2M'lık kalıplanmış NIPA jelinde piranin molekülünün monomer ve ekzimer emisyonlarının jelleşme süresince değişimi	47
Şekil 3.22 :	6M'lık rastgele (R4) NIPA jelinde piranin molekülünün monomer ve ekzimer emisyonlarının jelleşme süresince değişimi	48
Şekil 3.23 :	6M'lık kalıplanmış (K4) NIPA jelinde piranin molekülünün monomer ve ekzimer emisyonlarının jelleşme süresince değişimi.....	49
Şekil 3.24 :	Kalıplanmış (K4) NIPA jelinin 0.1M HCl içinde yıkanması sırasında piranin molekülüne ait spektrumlar (I:jelden alınan spektrumlar ((a)=kuru jel, (b)=5.27s, (c)=10.13s, (d)=120.85sa, II:Yıkama suyundan alınan spektrumlar (b)=5.27s, (c)=4.86s, (d)=20.25sa)	50
Şekil 3.25 :	Kalıplanmış (K4) NIPA jelinin 0.1M NaOH içinde yıkanması sırasında piranin molekülüne ait spektrumlar (I:jelden alınan spektrumlar ((a)=3.45s, (b)=4.33s, (c)=5.22s, (d)=23.65s, II:Yıkama suyundan alınan spektrumlar)	51
Şekil 3.26 :	Kalıplanmış (K4) NIPA jelinin 0.1M NaOH içinde yıkanması sırasında piranin molekülüne ait 432 nm emisyon şiddetinin 414 nm'deki emisyon şiddetine olan oranının yıkama zamanı ile değişimi (uyarma dalgaboyu 370nm'dir).....	52
Şekil 3.27 :	İçinde aynı ölçü ve miktarlarda kalıplanmış (K1, sürekli çizgi) ve rastgele (R1, kesikli çizgi) NIPA jeli bulunan değişik piranin derişimlerindeki çözeltilerde 515nm'deki floresans şiddetlerinin zamanla değişimi (Piranin derişimleri: (a)= 10^{-5} M, (b)= 5×10^{-6} M, (c)= 10^{-6} M, (d)= 5×10^{-7} M)	53
Şekil 3.28 :	Rastgele (R4) NIPA jelinde değişik sıcaklıklarda difüzyon başlangıcı ve sonunda piranin çözeltilerinden alınan spektrumlar	56
Şekil 3.29 :	Kalıplanmış (K4) NIPA jelinde değişik sıcaklıklarda difüzyon başlangıcı ve sonunda piranin çözeltilerinden alınan spektrumlar.....	57
Şekil 3.30 :	Değişik sıcaklıklarda kalıplanmış (K4) ve rastgele (R4) NIPA jelleri için difüzyon süresince piranin çözeltilisinden alınan spektrumun 515nm'deki emisyon şiddetinin zamanla değişimi	58
Şekil 3.31 :	Değişik pH değerlerindeki 5×10^{-6} M piranin çözeltisi içindeki kalıplanmış (K3) NIPA jeline piranin difüzyonu sürecinin başlangıcı ve sonunda çözeltilerden alınan spektrumlar	60

Şekil 3.32 : Değişik pH değerlerindeki $5 \times 10^{-6} \text{M}$ piranin çözeltisi içindeki rastgele (R3) NIPA jeline piranin difüzyonu sürecinin başlangıcı ve sonunda çözeltilerden alınan spektrumlar	61
Şekil 3.33 : Değişik pH değerlerindeki $5 \times 10^{-6} \text{M}$ piranin çözeltisi içindeki kalıplanmış (K3) ve rastgele (R3) NIPA jellerine piranin difüzyonu sürecinde piranin molekülünün 515nm'deki emisyon şiddetinin zamana göre değişimi	62
Şekil 3.34 : Değişik tuz derişimlerinde rastgele jele (R4) piranin difüzyonunun UV absorbsiyonunun zamana göre değişimi (50mM (a), 100mM (b), 150mM (c) ve 200mM (d))	64
Şekil 3.35 : Rastgele (R4) jelin piranin moleküllerine olan uygunluğunun NaCl derişimi ile değişimi	65
Şekil 3.36 : Değişik tuz derişimlerinde kalıplanmış (K4) jele piranin difüzyonunun UV absorbsiyonunun zamana göre değişimi (50mM (a), 100mM (b), 150mM (c) ve 200mM (d))	66
Şekil 3.37 : Kalıplanmış (K4) jelin piranin moleküllerine olan uygunluğunun NaCl derişimi ile değişimi	67
Şekil 3.38 : Değişik tuz derişimlerinde rastgele (R4) jele piranin difüzyonu sonunda jelden alınan floresans spektrumları (uyarma dalgaboyu 400nm'dir)	68
Şekil 3.39 : Değişik tuz derişimlerinde kalıplanmış (K4)jele piranin difüzyonu sonunda jelden alınan floresans spektrumları (uyarma dalgaboyu 400 nm'dir.)	69
Şekil 3.40 : Değişik tuz derişimlerinde kalıplanmış (K4, sürekli çizgi) ve rastgele (R4, kesikli çizgi) jele piranin difüzyonu sonunda çökmüş (a) ve şişmiş (b) durumlarda jelden alınan floresans spektrumları (uyarma dalgaboyu 400 nm'dir.)	70

SEMBOL LİSTESİ

p	: Monomerin polimere dönüşme olasılığı
p_c	: Monomerin polimere dönüşme olasılığının kritik değeri
DP_W	: Polimerleşme derecesi
G	: Jel kesri
γ, β	: Kritik üsteller
Φ_0	: Kuantum verimi
n	: Foton sayısı
k	: Geçiş olasılığı
τ	: Enerji düzey yaşam süresi
I_F	: Floresans şiddet
M	: Molekül sayısı
K_{SV}	: Stern-Volmer katsayısı
C	: Derişim
β	: Boltzmann sabiti
ε	: Algılayıcı monomerin hedef molekül ile başka bir molekülü bağlama enerjileri arasındaki fark.
S	: Bağlanma ünitelerinin derişimi
K	: Jel tarafından adsorblanan hedef molekül için bağlanma sabiti
A	: Duygunluk
J_0, J_1	: Birinci türden Bessel fonksiyonları
R	: Jellerin yarıçapı
H	: Hafıza parametresi
f	: Fonksiyonel grup sayısı

SEÇİLMİŞ HEDEF MOLEKÜLLERE DUYARLI POLİMERİK JEL SENTEZİ VE FİZİKSEL PARAMETRELERİN SEÇİCİLİK ÜZERİNE ETKİSİ

ÖZET

Moleküler algılama; farklı türden molekülün bulunduğu bir ortamda, sadece belli bir molekülün, çoğunlukla zayıf fiziksel etkileşmeler aracılığıyla algılayıcı sisteme dönüşümlü olarak bağlanması ve salıverilmesi olarak tanımlanır. Biyolojik sistemlerde gözlemlenen moleküller arası özgün etkileşmelerin taklit edilerek endüstriyel/biyolojik amaçlı çalışmalara uygulanması son 20 yılın hızlı gelişen, disiplinler arası çalışma sahası haline gelmiştir.

Yapay polimerler ya da polimerik jeller çok farklı özelliklere sahip monomerlerle sentezlenebilmektedir. Polimer zincirlerinin birbiriyle ve içinde bulunduğu ortam ile elektrostatik, van der Waals, hidrojen bağları, hidrofilik ya da hidrofobik etkileşmeler yapması mümkün olmaktadır.

Polimerik jellerin en önemli özelliklerinden biri de dış etkiler ile çökmüş ve şişmiş durumları arasında faz geçişi yapabilmeleridir. Yani jeller dış uyarılara cevap verebilen *akıllı* malzemelerdir. Bu faz geçişi sürekli veya süresiz olabilir ve sıcaklığın, çözelti bileşiminin, çözelti pH'ının, jelin ağ yapısının iyonizasyon derecesinin değiştirilmesi veya elektrik alan ya da foton göndererek gerçekleştirilebilir. Jellerin bu özelliği ilk defa hidrojeller için Dusek ve Patterson tarafından 1968 yılında teorik olarak ortaya konulmuş ve 1978 yılında da Tanaka tarafından deneysel olarak ispatlanmıştır.

Yapay polimerlerin veya jellerin özel bir teknikle (kalıplama tekniği) sentezlenmesi durumunda, biyolojik sistemlerde olduğu gibi, doğal seçici sistemlere benzer davranış gösteren yapay sistemlerin geliştirilebileceği düşünülebilir. Bu yapay moleküler algılayıcı sistemlerde seçici molekül ile hedef molekül arasında kovalent, kovalent olmayan ve yarı kovalent (hibrid kalıplama olarak da adlandırılır) şeklinde üç farklı türden etkileşme olabilmektedir. Algılanacak hedef iyon ve molekül olabilir. Bu iyon ve moleküller, metaller, aminoasit, peptid ve şeker gibi küçük organik moleküller olabildiği gibi polipeptid gibi büyük organik moleküller ve yüksek molekül ağırlıklı proteinlerde olabilmektedir.

Bu tez çalışmasında hedef molekül olarak belirlenen floresans özelliğe sahip piranin molekülüne duyarlı jel sentezlenmesi ve bu jelin moleküler algılama kabiliyetinin jelin kompozisyonuna ve çevresel faktörlere bağlılığının araştırılması hedeflenmiştir. Karakterizasyon yöntemi olarak floresan spektroskopisi tekniği kullanılmıştır. Bu yöntemin en önemli üstünlükleri etkileşmeler hakkında oldukça zengin bilgi vermesi, uygulama kolaylığı ve maliyetinin düşük olmasıdır. Bu yöntem ile elde edilen spektrumlar değerlendirilerek jellerin Hafıza kabiliyetleri belirlenmiştir. Bu işlem bu tez kapsamında önerdiğimiz “Hafıza Parametresi” modeli ile gerçekleştirilmiştir.

Hedef molekülün jele difüzyonu zamana göre takip edilmiş ve difüzyon katsayıları bu verilerden hesaplanmıştır. Hedef molekülün jele difüzyonu sonrası, jellerden alınan spektrumlarda meydana gelen dalgaboyu kaymaları yoluyla ölçülen hafıza parametresinin kalıplanmamış jellerde sıfıra yakın çıkarken kalıplanmış jellerde en az 0.6 olarak bulunmuştur. Bu değerden jellerin başarılı bir şekilde kalıplandığı anlaşılmaktadır.

Jellerin algılama kabiliyetine dış parametrelerin etkileri de incelenmiştir. Bunlar sıcaklık, hedef molekül ve tuz derişimi, pH gibi parametrelerdir. Sıcaklığa göre yapılan deneylerde jellerin kalıplama sıcaklığı olan 60°C’de en uygun sonuçları verdiği gözlemlenmiştir. Tuz derişimine göre yapılan absorbsiyon deneylerinde hedef molekülün yapabileceği etkileşme sayısı kalıplanmış jel için 3.1 ± 0.9 , rastgele jel için ise 0.9 ± 0.1 olarak bulunmuştur. Bulunan bu değerler literatür ile oldukça uyumludur.

Bu tez kapsamında yaptığımız deneyler sentezlediğimiz jellerin başarılı bir şekilde kalıplandığını göstermekte ve kalıplanma etkisinin maksimum olması için en uygun ortam koşullarının ne olduğunu ortaya koymuştur. Bu sistemlerin karakterizasyonu için floresans tekniğinin oldukça uygun ve güçlü bir yöntem olduğu da yine bu tez kapsamında gözlemlenmiştir.

SYNTHESIS OF IMPRINTED GELS WHICH SENSITIVE TO SPECIFIC TARGET MOLECULES AND THE EFFECT OF THE PHYSICAL PARAMETERS ON THE SENSITIVITY

SUMMARY

The molecular recognition is defined as reversible adsorption -by means of weak physical interactions- of a specific molecule from a medium in which different kind of molecules are exist together. Imitating the specific interactions available in the biological systems, and applying them to industrial applications have been one of rapidly developing interdisciplinary fields of last 20 years.

Synthetic polymers or polymeric gels can be synthesized with monomers including different functionalities. The physical interactions, like electrostatic, van der Waals, hydrogen bonding, and hydrophilic or hydrophobic, having different nature are possible between the polymer chains themselves, and also between the polymer chains and the solvent molecules.

One of the most important properties of polymeric gels is undergoing phase transitions between collapsed and swollen states as a result of external stimuli. Namely, they are the *smart* materials which respond to external stimuli. This phase transition can be both continuous or not and can be induced by temperature, solvent composition, pH, ionization degree of network, electric field of light. This property of gels was first showed by Dusek and Patterson theoretically in 1968 and in 1978 Tanaka proved this phenomenon experimentally.

By synthesizing the polymeric gels with a special technique called as imprinting technique it is possible to construct artificial systems showing similar behaviors with natural selective systems as in the biological systems. In these systems there are three different interactions between the target molecule and the host molecule. These are the covalent, non-covalent and semi-covalent (hybrid) interactions. The targets can be ions and molecules such as metals, small organic molecules like aminoacids, peptide, sugar and large organic molecules like polypeptide, proteins.

In this thesis it is aimed to synthesis an imprinted gel recognizing the target molecule, pyranine, which has fluorescence characteristic, and to study the strength of the recognition as a function of the composition of the gel and the environmental factors. In these studies, fluorescence spectroscopy technique was used for characterization. The most important advantages of this technique are giving rich information about the interactions, flexibility and low cost. By evaluating the results of the fluorescence spectra the imprinting capability of the gels were determined according to the "Recognition Parameter" model which was suggested in the thesis.

The diffusion of the target molecules to the gel was observed in time and the diffusion coefficient were calculated. The recognition parameter was calculated by using the shifts in the wavelength of the fluorescence spectra of the gel in which the target molecules were diffused. This parameter was found to be almost zero for non-

imprinted gels while it becomes bigger than 0.6 for imprinted gels. It can be carried out that the gels were imprinted successfully.

The effects of the external parameters on the imprinting were also studied. These effects are the temperature, concentrations of target molecules and salts, and pH. We observed that maximum imprinting was obtained at 60°C. The absorption experiments done on the revealing the effects of salt showed that the number of functionality groups of the target molecules was 3.1 ± 0.9 for imprinted gel and 0.9 ± 0.1 for the random gel. These values are very close the values given in literature.

The results of the experiments showed that the gels were imprinted successfully and the most appropriate environmental conditions for the maximum imprinting. Also it was observed that the fluorescence technique is very suitable and powerful technique for the characterization of these systems.

1. GİRİŞ

Moleküler algılama (molecular recognition), bir molekülün hedef olarak seçilmiş belli bir iyon veya molekülü, birçok iyon veya molekül grupları içinden seçip onunla değişik kimyasal ve fiziksel etkileşmelere girerek kendisine bağlamasıdır. Buradaki etkileşmeler daha çok kovalent olmayan elektrostatik, van der Waals, hidrojen bağı, hidrofobik, yük transferi etkileşmesi, metal koordinasyonu, vb... etkileşmelerdir [1]. Biyolojik sistemlerde olduğu gibi, bu etkileşmelerle beraber seçici molekül algılamayı gerçekleştirmek için kendi konformasyonunu hedef molekülün konformasyonuna uygun hale getirir [2].

Moleküler algılama biyolojik ortamda sıkça karşılaşılan bir olaydır. 1936 yılında Landsteiner antijen-antikor arasındaki özel etkileşmelerin moleküllerin birbirlerinin moleküler yapıları arasındaki uyum sayesinde olduğunu belirtmiş ve 1940'ta Pauling antijen-antikor arasındaki bu özel etkileşmenin bir çeşit moleküler kalıplama olduğunu ifade etmiştir. Hücre zarı üzerindeki algılayıcılar, biyolojik ortamdaki seçici algılamaya başka bir örnektir. Bu algılayıcılar birçok tür hormon içerisinden sadece belli bir tür hormonu algılayıp onunla etkileşerek onu bağlar ve hormon konformasyonunu vücudun ihtiyaçları doğrultusunda değiştirir. Bu konformasyona bağlı olarak vücudun ihtiyacı algılayıcı molekül tarafından hücreye bildirilir ve hücre vücut için gerekli olan kimyasalları üretir [2]. Bunlara benzer yaşamın temelini oluşturan moleküler algılama olayına daha birçok örnek vermek mümkündür.

Moleküler algılama kavramı, Cram, Lehn ve Pederson tarafından yapılan ve 1987 yılında kimya alanında Nobel ödülünü alan çalışma ile literatüre girmiştir. Bu çalışmada moleküllerin yapıya özgü yüksek seçicilikteki etkileşmeleri konusu ele alınmıştır. Moleküler algılama olayının laboratuvar ortamında gerçekleştirme çalışmaları 1930'lu yıllarda Polyakov'un silika matrisinde çeşitli katkıları seçebilecek yapılar üzerine yaptığı çalışmalar ile başlamıştır [3]. Bugün kullanılan yöntemlerin temeli ise Wulff, Mosbach ve Shea [4-6, 35] tarafından oluşturulmuştur. Bu konudaki çalışmalar özellikle 1990'lı yıllardan itibaren çok hızlı bir artış göstermiştir (Şekil 2.4) [7].

Moleküler algılama olayının deneysel olarak gerçekleştirilebildiği en uygun ortamlar, sahip oldukları etkileşmelerin zenginliği ve çeşitliliği açısından, polimerik yapılardır. Bu amaçla tasarlanan polimerik sistemlere “Kalıplanmış veya Baskılanmış Polimerler (Imprinted Polymers)” adı verilir. Polimerik sistemler içerisinde ise en önemli yapılardan bir tanesi jellerdir. Jeller birbirlerine çapraz bağlayıcı moleküller ile bağlanmış uzun polimer zincirlerinden oluşan ağ yapılardır. Polimerik jellerin en önemli özelliklerinden biri dış etkiler ile büzülüp ve şişebilmeleri yani faz geçişi yaparak dış uyarılara cevap verebilen “akıllı” malzemeler olmalarıdır. Bu faz geçişini tetikleyen dış etkiler sıcaklık [8, 9], çözelti kompozisyonu [10], çözelti pH'ı [10, 11], jelin ağ yapısının iyonizasyon derecesi [12], elektrik alan [10] ya da foton [13] olabilir. İlk defa hidrojel için Dusek ve Patterson tarafından 1968 yılında teorik olarak ortaya konulmuş [14] olan bu özellik daha sonra 1978 yılında Tanaka tarafından da deneysel olarak ispatlanmıştır [15]. Bu faz geçişi jeli oluşturan moleküllerin birbiriyle ve su molekülleriyle olan van der Waals, hidrofobik, elektrostatik ve hidrojen bağı etkileşmeleri sonucu gerçekleşir [15]. Bu özelliğinin yanında karakterizasyon açısından elverişli bir ortam olması, dayanıklı olmaları ve maliyetlerinin düşük olması moleküler algılama alanındaki çalışmalarda tercih edilmeleri için diğer sebeplerdir.

Literatürde birçok iyon ve molekül için kalıplanmış polimer ve jel sistemleri tasarlanmıştır. Bu iyon ve moleküller, metaller [16, 17], aminoasit, peptid ve şeker gibi küçük organik moleküller olabildiği gibi polipeptid gibi büyük organik moleküller [18] ve yüksek molekül ağırlıklı proteinlerde [18, 19] olabilmektedir.

Moleküler algılama olayının gerçekleşeceği ortamda seçici molekül ile hedef molekül arasında kovalent, kovalent olmayan ve yarı kovalent (hibrid kalıplama olarak da adlandırılır) şeklinde üç farklı türden etkileşme olmaktadır. Kovalent etkileşme göz önüne alınarak yapılan kalıplama çalışmalarında hedef molekül seçici molekül ile kovalent bağ yapmaktadır [20]. Sentez sonrası hedef moleküller çeşitli kimyasal işlemler ile sökülmemekte ve kalıplanmış jel oluşturulmaktadır. Bu yöntemin en önemli avantajı seçici moleküllerin sadece hedef moleküller ile etkileşiyor olmasıdır. Kovalent olmayan etkileşmelerde ise hedef molekül seçici molekül ile hidrojen bağı, elektrostatik, dipol-dipol etkileşmeleri gibi etkileşmeler yapar ve sentez öncesi seçici molekül ile hedef molekülün kompleks bir yapı oluşturması gerekir [21]. Yarı kovalent etkileşmede ise sentez sırasında hedef molekül ile seçici

molekül birbirlerine kovalent olarak bağlanmaktadır. Kimyasal işlemler sonucunda hedef moleküllerin temizlenmesi ile kalıplanan jeldeki algılama süreci hedef molekül-seçici molekül arasındaki kovalent olmayan etkileşmelerle meydana gelir [22].

Kalıplanmış polimer ve jellerin teknolojik olarak önemli uygulama alanları vardır. Bunlardan bazıları şunlardır: Kontrollü ilaç salınımı ve taşınması [23, 24], biyoteknolojik uygulamalar [25, 26], gıda endüstrisi [27], kromatografi [28], çevresel uygulamalar [29], sensör/biyosensör tasarımı [16, 30], vb.

Moleküler kalıplanmış polimerik sistemlerin karakterizasyonunda farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bunlara örnek olarak optik yöntemler [31], yüzey plazmon rezonans spektroskopisi (SPR) [32] ve elektrokimyasal [33] yöntemleri verebiliriz. Ancak bunların bir kısmının çok yüksek maliyetli deneysel düzenek gereksinimleri olduğu için, bir kısmının da çok dar bir alanda kullanılabilir olduğu için daha genel, düşük maliyetli, kullanımı kolay olan bir yöntem ihtiyacı vardır [34]. Floresans spektroskopisi yöntemi bu ihtiyacın giderilmesi konusunda oldukça iddialı bir yöntemdir. Çünkü bu yöntem oldukça hassas, ucuz ve hem kullanımı hem de analizi çok daha rahat olan bir yöntemdir [35, 36]. Ve son zamanlarda bu yöntemi baz alarak yapılan önemli çalışmalar vardır [34, 37].

Bu yöntemde floresans olarak aktif bir molekülün varlığı gerekmektedir. Bazı durumlarda ya algılama ünitesinde [16, 17] ya da hedef molekül üzerinde [38, 39] floresans molekülleri olabilmektedir. Bu moleküller algılama ünitesine ya da hedef moleküle kimyasal işlemlerle etiketlenebilmekle birlikte bazı durumlarda incelenecek olan molekülün kendisi floresans olarak aktif olabilmektedir. Algılayıcı ünite ile hedef molekül etkileştiklerinde bu floresans aktif moleküllerinin floresans karakterleri değişmekte ve bu değişimlerden yola çıkarak etkileşme hakkında bilgi sahibi olunmaktadır. Bu değişimler floresans şiddetindeki artış [16, 17] veya azalışlar [40], molekülün uyarılmış durumdayken dönmesine bağlı anizotropideki değişimler [41], uyarma ve emisyon spektrumlarında meydana gelen dalgaboyu kaymaları, ekzimer oluşumları, floresans rezonans enerji transferi gibi değişimlerdir. Bu değişimlerin ölçülmesi ile algılama süreci ortaya çıkartılmaktadır.

Floresans spektroskopisi yönteminin diğer yöntemlere olan en büyük üstünlüğü algılama süreci ile ilgili hızlı ve pratik bir şekilde doğrudan bilgi verebiliyor olmasıdır. Bu hem zaman hem de malzeme tasarrufu demektir. Pratik bir yöntem

olması sebebiyle de çok küçük ebatlarda modüler el tipi cihaz tasarımına imkan vermekte ve laboratuvar dışı çalışmaları olanaklı kılmaktadır.

Bu tezdeki çalışmalarda, difüzyon sonrası jellerden alınan spektrumlarda meydana gelen dalgaboyu kaymaları jellerin algılama kabiliyetlerinin bir ölçüsü olarak kullanılmıştır. Bu kaymalar baz alınarak oluşturduğumuz hafıza parametresi modeli ile de jellerin molekülleri ne kadar hafızalarında tutup algılayabildikleri belirlenmiş ve bu yöntemin bu araştırmalarda uygulanabilirliği ortaya konulmuştur. Buna ek olarak sıcaklık, hedef molekül derişimi, pH, tuz derişimi gibi bazı dış parametrelerin bu algılama sürecine olan etkileri çalışılmıştır.

Tezin organizasyonu şu şekildedir: Giriş kısmında moleküler algılama konusuna giriş yapılmış, bu olayın biyolojik ortamlardaki karşılığı, sentetik ortamlarda nasıl gerçekleştirildiğinden tarihsel süreci ile bahsedilmiş ve moleküler algılama olayının karakterizasyonunda floresans spektroskopisi yönteminin nasıl uygulanabileceği ile ilgili bilgiler verilmiştir. Giriş bölümünden sonra Teorik Altyapı kısmı gelmektedir. Bu kısımda polimerler, jeller, jelleşme teorileri, jellerin nasıl kalıplandığı ile ilgili bilgiler verilerek moleküler algılama olayından daha geniş bir şekilde bahsedilmiştir. Bunu takiben, bu tezin temelini oluşturan floresans spektroskopisi yöntemi hakkında detaylı bilgi verilerek jellerde duygunluk modeli ile difüzyon modelleri ele alınmış ve bunlarla ilgili teorik altyapı oluşturulmaya çalışılmıştır. Yine bu bölümde oluşturulan jeller için *Hafıza Parametresi* kavramı tanımlanmış ve bunun floresans spektroskopisi ile nasıl hesaplanabileceği modellenmiştir. Bu kısımdan sonra gelen Deneysel Çalışma kısmında yapılan deneylerin ortam ve koşullar, kullanılan moleküller ile ilgili detaylı bilgi verilmiş ve yapılan deneysel ölçümler bu kısımda ele alınmıştır. Son kısım olan Sonuçlar ve Yorumlar kısmında ise yapılan deneylerin sonuçları yorumlanarak teorik modeller ile karşılaştırılmaları yapılmış ve yöntemimizin uygulanabilirliği tartışılmıştır.

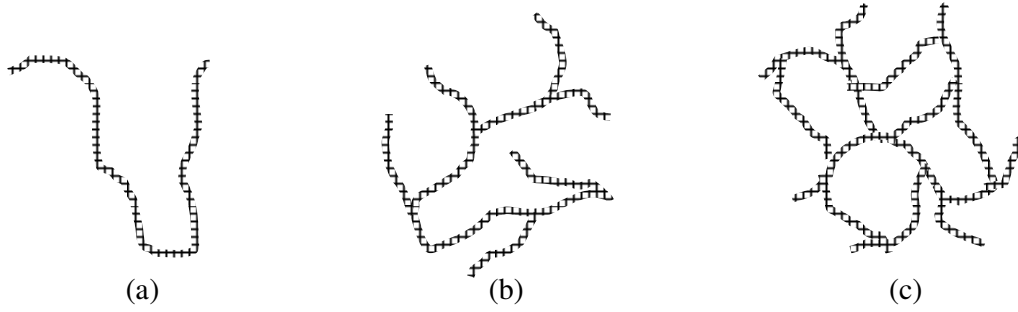
2. TEORİK ALTYAPI

Bu kısımda ilk olarak jellerin genel bir tanımı yapılarak jelleşme modellerinden bahsedilecektir. Ardından moleküler algılama ve kalıplama konusu genel olarak ele alınarak çalışmamızda analiz için kullandığımız floresans spektroskopisi yöntemi ile jele molekül difüzyonu ve floresans spektroskopisinin difüzyon sürecine uygulanmasının modellenmesi hakkında bilgi verilecektir. Jellerin duymunluğu için literatürde verilen Tanaka modeli ve Langmuir izotermelerinden bahsedilerek kalıplanmış jellerin algılayacakları molekülleri hafızalarında tutup onları tanıyabilmelerinin ölçüsünü ortaya koyan “*hafıza parametresi*” modelinden ve floresans spektroskopisi yöntemiyle olan ilişkisinden bahsedilecektir.

2.1 Polimerik Jeller

Polimerlerin temel yapı taşları monomerlerdir. Monomerler genellikle çiftli bağ yapabilen moleküllerdir ve bunlar uc uca eklenerek polimer zincirlerini oluştururlar. Oluşan polimere yeteri kadar büyüyemediyse bu polimerlere oligomer, yeteri kadar büyüyebildiyse makromolekül denir. Aynı türden monomerlerin oluşturduğu polimerler homopolimerler, farklı türden monomerlerin oluşturduğu polimerler ise heteropolimerler veya kopolimerler olarak adlandırılırlar. Polimer zinciri sadece çiftli bağ yapabilen monomerler ile oluştuysa, bu polimerler doğrusal polimerlerdir. Eğer ikiden fazla sayıda bağ yapabilen monomerlerde varsa bu durumda oluşan polimer zinciri doğrusal değil dallanmış polimer zinciridir. Dallanmış polimer zinciri oluşan sistemlerde eğer monomer derişimleri belli bir değerden büyükse, polimer zincirlerinin dalları birbirleriyle karşılaşp zincirlerin birbirlerine bağlanmalarına neden olurlar. Bu bağlanmaların sonucunda ağ yapı yani jel meydana gelir. İkiden fazla sayıda bağ yapabilen monomerler, polimer zincirlerinin birbirlerine bağlanmalarına neden olduklarından jellerde çapraz bağlayıcı olarak adlandırılırlar. Polimerik jeller, bulunduğu kabın bir ucundan diğer ucuna kadar uzanan ve birbirlerine çapraz bağlayıcı moleküller ile bağlanmış olan uzun polimer zincirleri

tarafından oluşturulmuş ağ yapılarıdır. Bunlar ile ilgili temsili bir çizim Şekil 2.1’de verilmiştir.

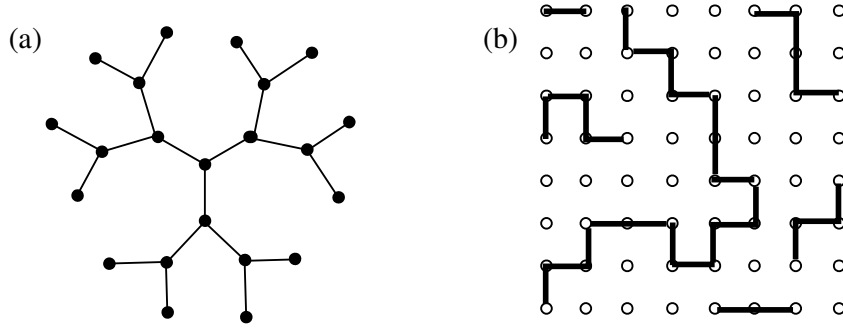


Şekil 2.1: Doğrusal polimer zinciri (a), dallanmış polimer zinciri (b) ve çapraz bağlayıcılarla birbirine bağlanmış uzun polimer zincirlerinin oluşturduğu ağ yapı veya diğer ismi ile jel (c).

Polimerler temelde iki tip reaksiyon mekanizması ile meydana gelirler. Bunlardan biri kondenzasyon polimerizasyonudur. Bu reaksiyon tipinde çiftli fonksiyonel grup içeren farklı tipteki iki monomer etkileşip birbirlerine bağlanarak uzun zincirleri oluşturur. Bu reaksiyon sonucu küçük moleküller yan ürün olarak çıkar. İkinci tip reaksiyon ise katılma reaksiyonudur veya serbest radikal polimerizasyonudur. Bu reaksiyon tipinde monomerler uc uca eklenerek polimer zincirlerini oluştururlar. Bu tip polimerizasyonun 3 aşaması vardır. Bunlar başlama, büyüme ve sonlanma aşamalarıdır. Başlama aşamasında monomerler bazı etkilerle radikal haline gelirler ve monomerlere bağlanarak zincire takılan monomerleri radikal haline getirirler. Başlangıçtaki radikal oluşturma süreci fiziksel veya kimyasal etki ile olabilir. Mesela reaksiyon ortamına basınç uygulamak, hızlı karıştırmak, ısıtmak veya başlatıcı molekül olarak bir katalizör kullanmak bu etkilere örnek olarak verilebilir. Büyüme aşamasında ise radikal haline gelen monomerlerin diğer monomerleri bağlayarak zincirin büyümesini sağladığı aşamadır. Sonlanma aşamasında ise polimer zincirinin ucundaki monomerin radikal özelliğini kaybederek büyümesinin sonlanmasıdır. Sonlanma aşaması ya ucunda radikal halde monomer olan iki zincirin reaksiyona girerek sonlanması veya bu radikal haldeki monomere bağlandığında radikal özelliğini yok edecek başka bir molekülün bağlanması ile gerçekleşir [42].

Jelleşmenin teorik modellenmesi ile ilgili literatürde önemli çalışmalar yapılmıştır. Bu konu ile ilgili ilk çalışma *klasik teori* veya *ortalama alan teorisi* olarak da bilinen teoridir ve Flory [43] ve Stockmayer [44] tarafından oluşturulmuştur. Bu teoride jelleşme kapalı çevrimlerin ihmal edildiği ve Bethe latisi veya Cayley ağacı olarak

bilinen özel bir örgü üzerinde incelenmiştir (Şekil 2.2a). Daha sonra ise 1976 yılında Stauffer ve de Gennes [45, 46] tarafından *sızma teorisi* olarak da adlandırılan daha gerçekçi bir teori ortaya atılmıştır. Bu teoride jelleşme periyodik bir örgü üzerinde incelenmiştir (Şekil 2.2b). Monomerlerin bu periyodik örgü üzerinde köşelerde olduğu ve kimyasal bağların ise monomerlerin bulunduğu köşeleri birbirine bağlayan kenarlar olduğu kabul edilmektedir. Bu kenarlar belli bir p olasılığı ile oluşmakta ve bu p olasılığı herhangi bir t anındaki kenar (bağ) sayısının örgüde olabilecek tüm kenar (bağ) sayısına olan oranı olarak tanımlanmaktadır. p olasılığının değeri bize ortamda meydana gelen polimerleşme hakkında bilgi verir. Eğer p çok küçük ise sistemde çok küçük kümeler oluşmuş demektir. p 1'e yakın ise sistem hemen hemen tamamen polimerleşmiş yani bir uçtan diğer uca uzanan büyük (sonsuz) kümeler oluşmuştur. Büyük makro kümelerin oluşmaya başladığı, vizkozitenin ani ve şiddetli artış gösterdiği özel bir p değeri vardır. Bu p değeri *jel noktası* veya *sızma eşik değeri* diye adlandırılır ve p_c ile gösterilir.



Şekil 2.2: Klasik jelleşme teorisinin uygulandığı Cayley ağacı (a) ve sızma teorisinin uygulandığı periyodik örgü (b).

Bu p_c değerinin altında sistem *sol* fazında, üstünde ise *jel* fazındadır yani sistemde *sol-jel* faz geçişi olmaktadır. Bu kritik değere çok yakın bir civarda oluşan sonsuz küme fraktal yapıdadır. Sızma teorisine göre yapılan hesaplamalarda 3 boyutlu örgü için kritik nokta civarında fraktal boyut 2.5 olarak belirlenmiştir [47-49]. Yakın bir zamanda floresans spektroskopisi yöntemine kullanarak yaptığımız deneylerle, jellerdeki fraktal boyut ilk kez laboratuvar deneyleriyle ölçülmüş ve bu değere çok yakın değerler gözlemlenmiştir [50]. Aynı zamanda bu faz geçişinde polimerleşme derecesinin ağırlık ortalaması ve jel kesrinin kritik davranışı aşağıdaki denklemler ile verilir.

$$DP_W \propto (p_c - p)^{-\gamma}, \quad p \rightarrow p_c^- \quad (2.1)$$

$$G \propto (p - p_c)^\beta, \quad p \rightarrow p_c^+ \quad (2.2)$$

Benzetim ve bazı yaklaşımlar ile yapılan hesaplamalarda, klasik teori için $\gamma = \beta = 1$ [16], sızma teorisi için ise $\gamma \cong 1.8$, $\beta \cong 0.42$ [7, 48] olarak bulunmuştur. Kritik davranışın deneysel olarak gözlemlenmesi üzerine yapılan çalışmalar içerisinde floresans spektroskopisi yöntemi oldukça önemlidir. Çünkü kritik davranış deneysel olarak gözlemlenirken kullanılan yöntemin sisteme gerek kimyasal gerek fiziksel çok fazla müdahale etmemesi, hızlı cevap vermesi ve verdiği sinyalin ortamda kaybolmayacak kadar şiddetli olması gerekmektedir. Bu yöntemle yapılan çalışmalarda kritik üsteller deneysel olarak tayin edilebilmişlerdir [50, 56-65].

Polimerik jellerin en önemli özelliklerinden biri dış etkiler ile çökmüş ve şişmiş durumları arasında faz geçişi yapabilmeleridir. Yani jeller dış uyarılara cevap verebilen *akıllı* malzemelerdir. Bu faz geçişi sürekli veya süreksiz olabilir ve sıcaklığın [8, 9], çözelti bileşiminin [10], çözelti pH'ının [10, 11], jelin ağ yapısının iyonizasyon derecesinin [12] değiştirilmesi veya elektrik alan [10] ya da foton [13] göndererek gerçekleştirilebilir. Jellerin bu özelliği ilk defa hidrojjeller için Dusek ve Patterson tarafından 1968 yılında teorik olarak ortaya konulmuş [14] ve 1978 yılında da Tanaka tarafından deneysel olarak ispatlanmıştır [15]. Bu faz geçişi jeli oluşturan moleküllerin birbiriyle ve su molekülleriyle olan van der Waals, hidrofobik, elektrostatik ve hidrojen bağı etkileşimleri sonucu gerçekleşir [15].

Sıcaklık değişikliklerine cevap veren jeller arasında en çok N-izopropilakrilamid (NIPA) jeli kullanılır ve bu çalışmada da bu jel kullanılmıştır. Diğer örnekler arasında N,N-diethylakrilamid (DEAAm) ve vinilmetileteri (VME) verebiliriz. Bu jeller içlerinde bulundukları çözelti sıcaklığı belli bir kritik değerde iken faz değişimine uğrarlar. Bu kritik sıcaklık değerine en küçük kritik sıcaklık değeri (LCST) denir. NIPA jellerinin kritik hacim geçişi sıcaklığının ($T=37^\circ\text{C}$) vücut sıcaklığına yakın olması bu jeller üzerindeki çalışmaları daha önemli hale getirmektedir.

Sıcaklığa duyarlı jellerin yapılarında metil, etil ve propil gibi hidrofobik gruplar vardır ve bunlar sıcaklığa bağlı olarak çökme ve şişme süreçlerinin gerçekleşmesini sağlarlar. Sıcaklık kritik değerin üstüne çıktığında çöken jellerde (negatif sıcaklık katsayılı jeller) bu hidrofobik grupların derişimi ortalama bir değerdedir yani bu

jellerde hidrofilik ve hidrofobik grupların bir karışımı vardır. Düşük sıcaklıklarda polimer zincirlerindeki bu hidrofilik gruplar ile su arasındaki etkileşme baskındır ve meydana gelen hidrojen bağları sayesinde jel içine su girerek jelin şişmesini sağlar. Sıcaklık arttığında ise durum tersine döner. Hidrojen bağları zayıflar buna karşın hidrofobik etki baskın hale gelir. Bunun sonucunda ise su molekülleri jelin dışına çıkar ve jel çöker [10]. Jelin faz değişimine uğradığı bu LCST değeri jel içindeki hidrofobik/hidrofilik grupların oranı değiştirilerek ayarlanabilir [51, 52] ve bu oran ne kadar fazla hidrofobik tarafına kayarsa LCST değeri o kadar düşük olur [51].

pH'a duyarlı jellerin ise yapılarında hem asidik (örnek karboksilik ve sülfonik asit) hem de bazik (örnek amonyum tuzları) gruplar vardır [10]. Belli pH değerlerinde bu gruplar iyonlaşarak jelin içinde elektriksel yük meydana getirirler. Jel içindeki bu yükler arasındaki elektrostatik etkileşmeler sonucu jel genişler ve içine çözeltiyi alarak şişer. pH'a duyarlı jellerin en önemli uygulama alanı biyolojik ortamlardaki kontrollü salınım uygulamaları yani ilaç taşınması uygulamalarıdır [53].

Polimerik jeller üstün özellikleri sayesinde birçok uygulama alanına sahiptirler. Örnek uygulama alanı olarak, oyuncak ve kozmetik alanı, gıda endüstrisi, tarım, kimya sanayisi, biyolojik uygulamalar, çevresel uygulamalar, elektronik sanayisindeki uygulamalar verilebilir [54]. Bunlara ek olarak bizimde bu çalışmada üzerinde durduğumuz bir uygulama olarak polimerik jellerin kalıplanma uygulamalarını da sayabiliriz. Kalıplanmış polimerik jellerin özellikleri ve uygulama alanları ile ilgili daha geniş bilgi Kısım 1.5' te verilmiştir.

2.2 Moleküler Algılama ve Kalıplama

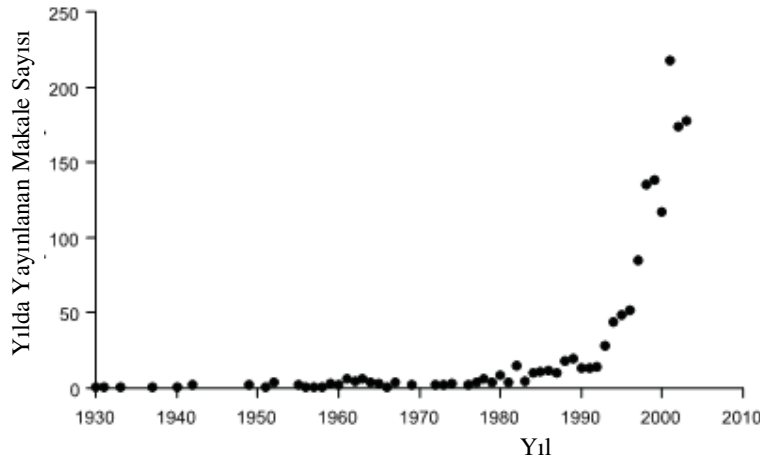
Moleküler algılama, bir molekülün belli bir atom veya molekülü (hedef molekül), birçok atom veya molekül grupları içinden seçip onunla kovalent olmayan etkileşmelere girerek kendisine bağlamasıdır. Seçici molekül bu algılama sürecini iki şekilde gerçekleştirebilir. Bunlardan ilki kendi konformasyonunu seçeceği atom veya molekülün geometrik yapısına göre ayarlamasıdır. Diğeri ise kendi üzerinde bulunan fonksiyonel gruplar vasıtasıyla seçeceği atom veya molekül ile kovalent olmayan özel etkileşmeler [3] (elektrostatik, van der Waals, hidrojen bağı, hidrofobik, yük transferi etkileşmesi, metal koordinasyonu, vb...) yapmasıdır. Konformasyonun uygun forma gelebilmesi, fonksiyonel grupların sayısı ve dağılımı seçiciliğin artırılması için oldukça önemlidir [4].

Moleküler algılama biyolojik ortamda meydana gelen süreçlerin temelini oluşturur. Biyolojik ortamdaki moleküler algılama olaylarına çok sayıda örnek vermek mümkündür. Bunlardan bazıları antijen-antikor etkileşimleri, DNA yapısının meydana gelmesi sürecindeki etkileşimler, hücre zarının sadece tek bir türdeki hormonu bağlaması sürecinde yaptığı seçici etkileşimlerdir.

Moleküler algılama kavramı, Cram, Lehn ve Pederson'un 1987 yılında kimya alanındaki Nobel ödülünü alan, moleküllerin yapıya özgü yüksek seçicilikteki etkileşimleri üzerine yaptıkları çalışmalar ile literatüre girmiş oldu.

Yapay polimerik sistemler moleküler algılama olayının sentetik ortamda gerçekleştirilmesini sağlayacak en uygun sistemlerdir. Bu amaçla tasarlanan polimerik sistemlere "Kalıplanmış veya Baskılanmış Polimerler" adı verilir. Kalıplanmış polimer çalışmaları 1930'lu yıllarda MV Polyakov'un silika matrisinde çeşitli katkıları seçebilecek yapılar üzerine yaptığı çalışmalar ile başlamıştır [5]. Bugünkü çalışmalarda oldukça fazla kullanılan yüksek çapraz bağlayıcı kalıplanmış polimerik yapılar ilk olarak Wulff, Mosbach ve Shea [6] tarafından sentezlenmiştir.

Moleküler kalıplama ile ilgili yapılan bilimsel çalışmaların yıllara göre dağılımı Şekil 2.3'te görülmektedir [7]. Bu grafiğe göre moleküler kalıplama 1990'lı yıllardan sonra oldukça hızlı gelişmeye başlamış bir araştırma alanıdır.



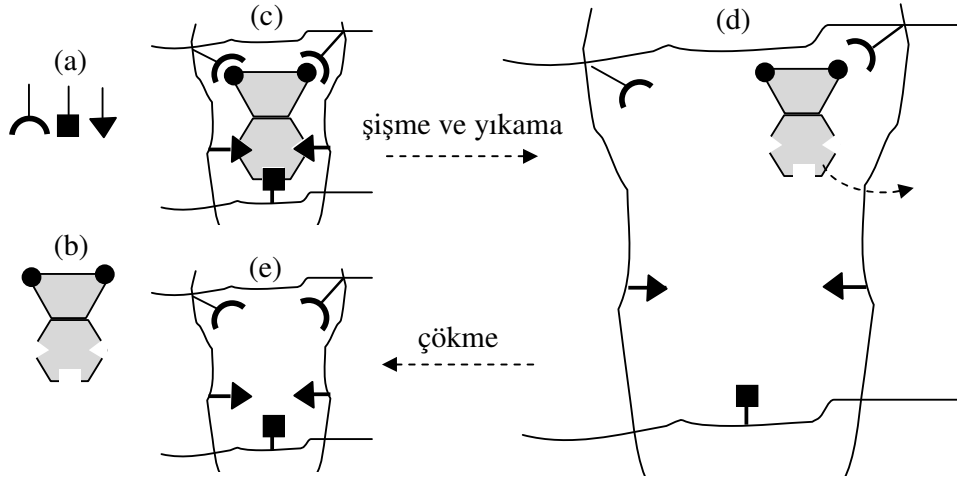
Şekil 2.3: Moleküler Kalıplama ile ilgili yapılan çalışmaların yıllara göre dağılımı [7].

Kalıplanmış polimerik sistemler içinde hidrojeller (içerisinde su bulunduran ve su içinde şişen polimerik ağ sistemleri) önemli bir yer tutar. Çünkü hidrojeller kendilerine özgü ve moleküler algılama açısından uygun özelliklere sahiptirler. Bu özelliklerin başında Kısım 2.1'de bahsedildiği gibi hidrojellerin çökme ve şişme

şeklinde kendini ortaya koyan fiziksel faz geçişi yapabilme özelliği gelir. Kalıplanmış jel tasarlama işlemi literatürde oldukça çalışılmış ve iyi bilinmektedir. Hedef molekül (template) kullanılarak [16, 17, 38] veya kullanılmadan [55] ve seçici molekül ile hedef molekül arasındaki değişik etkileşmeler kullanılarak jelleri kalıplamak mümkündür. Hedef molekül olarak metaller [16, 17], aminoasit, peptid ve şeker gibi küçük organik moleküller, polipeptid gibi büyük organik moleküller [18] ve yüksek molekül ağırlıklı proteinlerin [19] kullanıldığı birçok çalışmaya literatürde rastlamak mümkündür. Seçici molekül ile hedef molekül arasında kovalent, kovalent olmayan ve yarı kovalent (hibrid kalıplama) şeklinde üç farklı türden etkileşme olabilir. Kovalent etkileşme göz önüne alınarak yapılan kalıplama çalışmalarında hedef molekül seçici molekül ile kovalent bağ yapmaktadır [20]. Sentez sonrası hedef moleküller çeşitli kimyasal işlemler ile sökülmekte ve kalıplanmış jel oluşturulmaktadır. Bu yöntemin en önemli avantajı seçici moleküllerin sadece hedef moleküller ile etkileşiyor olmasıdır. Kovalent olmayan etkileşmelerde ise hedef molekül seçici molekül ile hidrojen bağı, elektrostatik, dipol-dipol etkileşmeleri gibi etkileşmeler yapar ve sentez öncesi seçici molekül ile hedef molekülün kompleks bir yapı oluşturması gerekir [21]. Yarı kovalent etkileşmede ise sentez sırasında hedef molekül ile seçici molekül birbirlerine kovalent olarak bağlanmaktadır. Kimyasal işlemler sonucunda hedef moleküllerin temizlenmesi ile kalıplanan jeldeki algılama süreci hedef molekül-seçici molekül arasındaki kovalent olmayan etkileşmelerle meydana gelir [22]. Bu çalışmada kalıplanmış jeller, literatürde belirtildiği şekilde hedef molekül kullanılarak ve seçici molekül ile hedef molekül arasında kovalent olmayan elektrostatik etkileşme olacak şekilde sentezlenmişlerdir [39].

Hedef molekül kullanılarak hidrojin kalıplanabilmesi için iki tür monomere ihtiyaç vardır. Bunlardan birincisi hidrojin şişmesi ve büzülmesini sağlayacak ana monomer diğeri ise sahip olduğu fonksiyonel grup sayesinde moleküler algılama yapacak olan fonksiyonel monomerdur. Kalıplama işlemi birkaç adımdan oluşur. İlk olarak fonksiyonel monomerin ve hedef molekülün (hidrojele tanıtılacak yani hidrojelde kalıbı olacak olan molekül) uygun bir çözelti içinde kompleks oluşturmaları sağlanır. Daha sonra bu kompleks jeli oluşturacak diğer monomer ve moleküller ile beraber karıştırılarak jel sentezi gerçekleştirilir. Sentezlenen bu jel uygun bir çözücü ortamında ve uygun şartlarda şişirilerek yıkanır. Yıkama sonunda

hedef moleküllerin çok büyük bir kısmı jel içinden temizlenir. Temizlenen jel tekrar çöktürülür ve jel kendi içinde hedef moleküller için uygun yuvalara (kalıplara) ve bu yuvalardaki fonksiyonel monomerler ile de istenilen etkileşimleri yapabilecek hale gelir. Bu anlatılan süreçler Şekil 2.4'te görsel hale getirilmiştir.

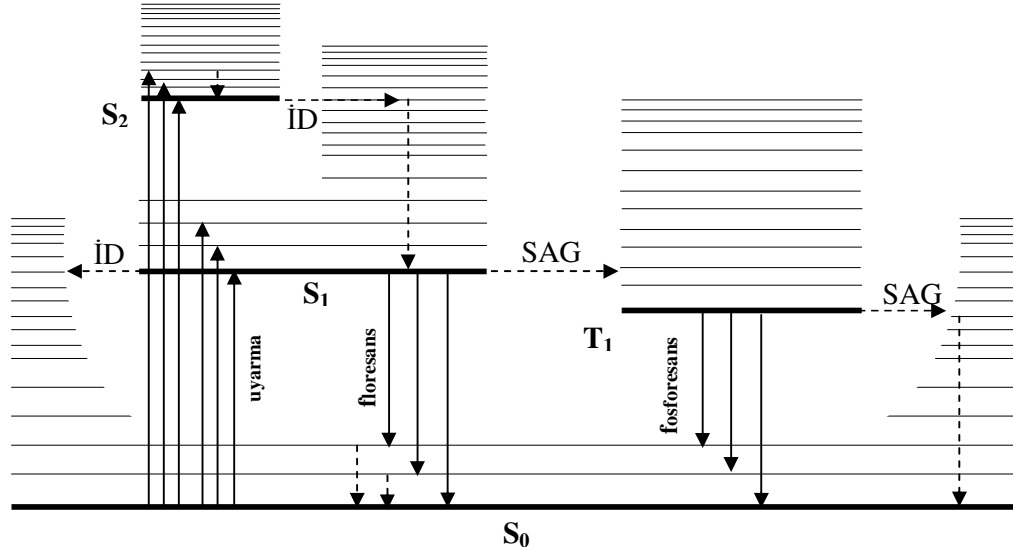


Şekil 2.4: Farklı etkileşmelerin gerçekleştiği fonksiyonel gruplar (a) ve hedef molekül (b). Hidrojellerin kalıplanma (c), şişme/yıkama (d) ve tekrar çökme (e) aşamaları.

Kalıplanmış polimer ve jellerin teknolojik olarak önemli uygulama alanları vardır. Bunlardan bazıları şunlardır: Kontrollü ilaç salınımı ve taşınması [23, 24], biyoteknolojik uygulamalar [25, 26], gıda endüstrisi [27], kromatografi [28], çevresel uygulamalar [29], sensör/biyosensör tasarımı [16, 17, 30], vb.

2.3 Floresans Spektroskopisi Yöntemi

Dışarıdan enerji vererek molekülü daha yüksek enerjili bir duruma uyarmak mümkündür. Uyarılan bu molekül aldığı enerjiyi çeşitli yollarla kaybederek kararlı olduğu minimum enerjili durumuna dönecektir. Şekil 2.5'te enerjinin olası kaybedilme mekanizmaları Jablonski diyagramı kullanılarak gösterilmiştir.



Şekil 2.5: Jablonski diyagramı.

Şekil 2.5'te koyu çizgiler ilgili elektronik enerji düzeylerini, diğer çizgiler ise titreşim enerji düzeylerini temsil etmektedir. Geçişlere ait sürekli çizgiler ışımalı, kesikli çizgiler ise ışımasız geçişlere karşılık gelmektedir. Üzerinde herhangi bir ibare yazmayan ışımasız geçişler molekülün enerjisini titreşim yoluyla kaybettiğini göstermektedir. Yukarıdaki geçişlere ait kısa açıklamalar aşağıda yapılmıştır.

Uyarma: Taban durumunda bulunan (S_0) bir elektrona enerji vererek daha yüksek enerjili bir duruma getirmektir. Zaman ölçeği 10^{-15} s civarındadır.

İç Dönüşüm (İD): Enerji düzeyleri arasında meydana gelen ışımasız geçiştir. Zaman ölçeği 10^{-11} - 10^{-9} s mertebesindedir. Çözelti ortamında daha etkilidir.

Sistemler Arası Geçiş (SAG): Farklı yozluk derecesine sahip ($T_i \rightarrow S_j$), aynı enerjili titreşim enerji düzeyleri arasında meydana gelen ışımasız geçiştir. Zaman ölçeği 10^{-10} - 10^{-8} s mertebesindedir. Bu geçişten sonra titreşim enerji düzeyleri arasında ışımasız geçiş, gecikmiş floresans veya fosforesans geçişleri meydana gelir.

Floresans: Yozlaşmamış enerji düzeyleri arasında meydana gelen ışımalı geçiştir. Zaman ölçeği 10^{-10} - 10^{-7} s arasındadır.

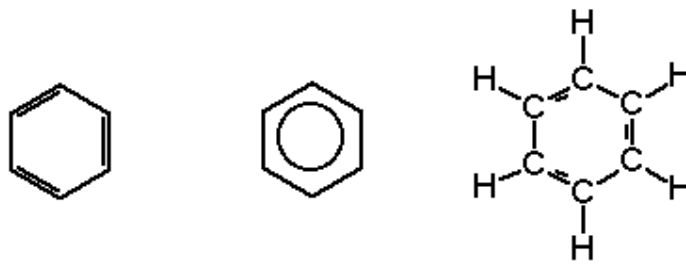
Fosforesans: Yozlaşmış enerji düzeyleri (triplet enerji düzeyleri) arasında meydana gelen ışımalı geçiştir. Zaman ölçeği 10^{-6} -1s arasındadır. Özellikle katı haldeki örneklerde ve düşük sıcaklıklarda daha verimli gözlemlenir.

Floresans Şekil 2.5'te de gösterildiği gibi genellikle S_1 enerji düzeyinden S_0 enerji düzeyine olan ışımalı bir geçiştir. Ancak nadir olarak bazı moleküllerde, mesela indol, diğer S düzeylerinden geçişler de gözlemlenmektedir.

Floresans üzerine ilk ciddi çalışmalar Stokes ve Becquerel tarafından 19. yüzyılda gerçekleştirilmiş ve floresans terimi ilk olarak Stokes tarafından 1853 yılında yayınladığı makalesinde tanımlanmıştır. Bu bilim adamlarının moleküllerin spektroskopik özellikleri üzerine yaptıkları öncü çalışmalar diğer bilim adamları tarafından devam ettirilerek günümüzde oldukça yoğun bir şekilde çalışılan bir bilim dalı haline gelmiştir.

Floresans çalışmalarında moleküllerin uyarma spektrumu oldukça önemlidir ve ilk olarak 1905 yılında L. Nichols tarafından gözlemlenmiştir. Uyarma ve floresans spektrumlarının birbirlerinin ayna simetrisi oldukları 1907 yılında L. Nichols ve E. Merriott tarafından ortaya çıkarılmıştır. Floresans moleküllerin fotokimyasal teorisi ise ilk olarak 1918 yılında J. Perrin tarafından oluşturulmuştur. 1919 yılında Stern ve Volmer floresans sönümlenme üzerinde oldukça başarılı çalışmalar yapmışlar sönümlenme üzerine bugün bile oldukça kullanılan önemli modeller oluşturmuşlardır. Floresans spektroskopisinin temelini oluşturan bu öncü çalışmaların üzerine birçok çalışma yapılmış ve bu çalışmalar günümüzde de devam etmektedir.

Floresans spektroskopisine dayalı çalışmalar floresans olarak aktif bir molekülün varlığını gerektirir. Bu moleküller daha çok aromatik hidrokarbonlardır ve floresans karakterleri sahip oldukları π elektron sistemi ve çevrimsel yapıdaki çift bağların ardışık olarak yer değiştirmesinden (delokalizasyon) kaynaklanmaktadır. Şekil 2.6'da aromatik hidrokarbonların en basit yapıda olanlarından benzen görülmektedir. Bu şekle baktığımızda bazı karbonlar arasında çift bağ vardır. Bu çift bağlar belli bir yönde sürekli olarak yer değiştirirler yani delokalizedirler.



Şekil 2.6: Benzen ve değişik gösterimleri.

Bu moleküllerin floresans kabiliyetleri kuantum verimleri ile ölçülür. Kuantum verimi; molekül tarafından yayımlanan foton sayısının absorpsiyon esnasında yuttuğu foton sayısına oranıdır ve aşağıdaki şekilde ifade edilir:

$$\Phi_0 = \frac{n_{yayılan}}{n_{yutulan}} = \frac{k_I}{k_I + k_T} = \frac{\tau_D}{\tau_I} \quad (2.3)$$

Bu bağıntıda Φ_0 ; molekülün ilgilenilen enerji düzeyine ait kuantum verimini, $n_{yayılan}$ ve $n_{yutulan}$; molekülün sırasıyla ilgili enerji düzeyinden geçişte gönderilen ve uyarma anında ilgili enerji düzeyine elektronu çıkarmak için yutulan foton sayılarını, k_I ; ilgilenilen enerji düzeyinden temel seviyeye ışımalı geçiş yapma olasılığını, k_T ; ilgilenilen enerji düzeyinden temel seviyeye ışımalı ve ışımasız toplam geçiş yapma olasılığını, τ_I ; elektronun ilgili enerji düzeyinde ışımalı geçiş yapana kadar geçirdiği süreyi (ışımalı geçiş yaşam ömrü) ve τ_D , elektronun ilgili enerji düzeyinde ışımalı ve ışımasız tüm geçişleri yapana kadar geçirdiği süreyi (toplam yaşam ömrü) ifade etmektedir.

Kuantum verimi ile floresans emisyon şiddeti birbirlerine bağlıdır. Eğer kararlı durum floresans emisyonu, yani zaman içinde uyarılmış molekül sayısının değişmediği durum, söz konusuysa aşağıdaki gibi bir ifade yazmak mümkün olabilir:

$$I_F = k_I[M^*] \propto k_I \frac{k_a n_0}{k_I + k_T} = I_0 \Phi_0 \quad (2.4)$$

Burada I_F ; Birim zamanda, birim hacimdeki floresans emisyon şiddeti, M^* ; Uyarılmış molekül derişimi, I_0 ; Molekül üzerine gönderilen ışığın şiddeti, n_0 ; Molekül üzerine gönderilen foton sayısı, k_a ; Molekülün üzerine gelen fotonları yutma olasılığını göstermektedir.

Floresans aktif moleküllerin floresans karakterlerini etkileyen birçok parametre vardır. Bu parametrelerin ne olduğu ve nasıl etkilediği ile ilgili detaylı bilgi [36] referansında mevcuttur. Burada sadece kısa bir özet şeklinde ve bu çalışmada önemli olan yönleri ele alınacaktır.

Floresansı etkileyen parametrelerden bir tanesi π elektron sayısıdır. π elektron sayısı arttıkça emisyon ve absorpsiyon dalga boyları yüksek değerlere kayar ve kuantum verimi büyür. Diğer bir etki ise bu molekülün etrafındaki çevresel gruplardır. Bu grupların cinsine göre floresans karakteri değişik şekillerde etkilenir.

Bu moleküllerin etrafında çevresel grup olarak ağır atomlar varsa kuantum verimi azalır. Çünkü ağır atomlar molekülde uyarılan elektronun sistemler arası geçiş yapma olasılığını artırır. Bu da foton gönderme olasılığının dolayısı ile kuantum veriminin azalması manasına gelir. Eğer molekülün tek yozluk derecesine sahip (singlet) enerji düzeyine yakın enerjide herhangi bir üç yozluk derecesine sahip (triplet) enerji düzeyi yoksa bu durumda ağır atom etkisi önemsenebilir. Veya kuantum verimi oldukça büyük veya oldukça küçük olduğu durumlarda da oransal olarak ağır atom etkisi önemsenebilir.

Eğer çevresel grup olarak elektron verici moleküller varsa bunların varlığı genel olarak molar absorpsiyon katsayısının artmasına, emisyon ve absorpsiyon dalga boylarının daha büyük değerlere kaymasına ve spektrumun genişleyerek spektrumda titreşim enerji düzeylerine ait yapıların yok olmasına neden olur.

Çevresel grup olarak elektron çekici gruplar varsa bunların etkileri floresans aktif molekül ile bunlar arasındaki geometrik duruma oldukça bağlıdır. Mesela bu gruplar floresans molekülün düzlemine dik olduğu durumda floresans karakterini çok fazla etkilemezler. Ancak eğer floresan molekül ile aynı düzlemde ise spektrumun genişleyerek spektrumda titreşim enerji düzeylerine ait yapıların yok olmasına neden olur.

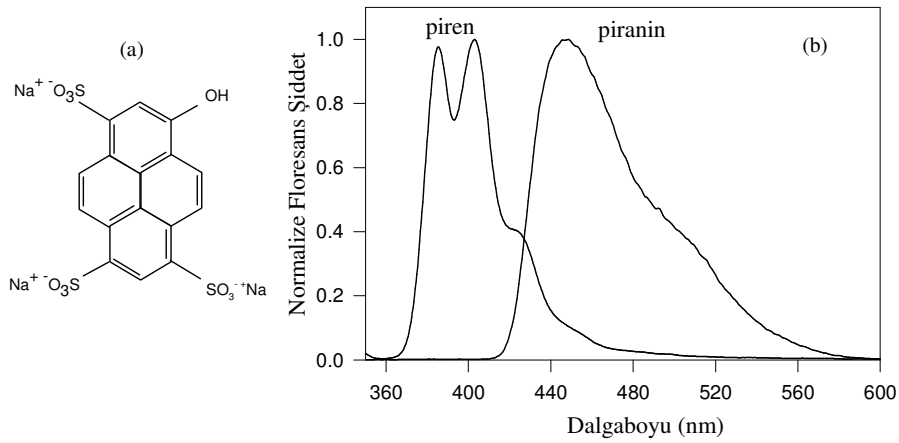
Floresans aktif molekülün etrafında sülfonat bileşikler varsa bunlar daha çok floresans aktif molekülün suda çözünmelerini sağlarlar. Bu gruplar spektrumun çok az kaymasına ve kuantum veriminin de az miktarda azalmasına neden olmaktadır.

Bizim çalışmamızda kullandığımız floresans aktif molekül Şekil 2.7a'da molekül şeması verilen piranin'dir. Piranin literatürde çok iyi bilinen piren molekülünün etrafına bir tane elektron verici *OH* grubunun ve 3 tane sülfonat grubunun çevresel grup olarak eklenmesiyle elde edilmiştir. Yukarıda bahsedildiği gibi sülfonat grupları piranin molekülünü suda çok iyi çözünür hale getirmiştir. *OH* grubu ise yine bahsedildiği gibi piren molekülünün titreşim düzeylerine ait yapıları içeren spektrumunu yüksek dalga boyuna kaydırmış ve bu yapıları yok etmiştir (Şekil 2.7b).

Buraya kadar molekülün kendi yapısının floresans karakterine olan etkisi hakkında bilgi verildi. Molekülün kendi yapısının dışında floresans karakterini etkileyen bir diğer parametre de molekülün içinde bulunduğu ortamın fiziksel ve kimyasal özellikleridir. Bunlar ortamın polaritesi, pH'ı, viskozitesi, sıcaklığı, basıncı, ortamda

bulunan iyonlar gibi etkiler olabilir. Bu çalışmada kullandığımız piranin molekülünün bu parametrelerden nasıl etkilendiği ile ilgili daha detaylı bilgiler kısım 3.2’de verilmiştir.

Bunların dışında floresans aktif molekülün etrafındaki diğer moleküller ile olan etkileşimleri de floresans karakterini etkiler. Bu etkileşimler elbette moleküllerin içinde bulundukları ortamın parametrelerine bağlıdır. Moleküller arası etkileşimler floresans aktif molekülün hem floresans şiddetinin azalmasına hem de dalgaboyunun kaymasına neden olabilir ve bu etki floresans sönümleme olarak tanımlanır. Floresans sönümlemenin iki şekli vardır: bunlar dinamik ve statik sönümlemedir.



Şekil 2.7: Piranin molekülünün molekül şeması (a) ve 10^{-4} M piren ve piranin moleküllerinin spektrumları. Spektrumlar sırasıyla toluen ve su içinde alınmıştır.

Dinamik sönümlemede sönüme sebep olan molekül uyarılmış haldeki floresans molekülle yaşam süresi içinde etkileşerek ışımasız geçiş yapmasına neden olur. Bu sönümlemenin kinetiği literatürde Stern-Volmer denklemi olarak bilinen Denklem 2.5 ile verilir.

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{SV}[S] \quad (2.5)$$

Bu denklemde I_0 ; söndürücü yokken ki floresans şiddetini, I ; söndürücünün varlığındaki floresans şiddetini, K_{SV} ; Stern-Volmer katsayısını ve $[S]$: söndürücü atom veya molekül derişimini göstermektedir.

Statik sönümleme ise iki farklı şekilde gerçekleşir. Bunlardan ilki etkin sönümleme küresidir. Buna göre floresans ölçüm zamanı içerisinde sönümleyici molekül

floresans aktif molekülün yeterince yakınındadır ve pozisyonunu çok fazla değiştirmemektedir. Bu yüzden ölçüm zamanı içerisinde floresans aktif molekülden sinyal almak mümkün olmaz. Floresans aktif molekül ile sönmüleyici molekülün arasındaki sönmülemenin başladığı mesafe etkin sönmüleme küresinin yarıçapı olarak tanımlanır. Eğer sönmüleyici molekül floresans aktif molekülden bu mesafeden daha uzakta bulunuyorsa sönmüleme gerçekleşmez. Diğer bir statik sönmüleme çeşidi ise floresans olmayan bir kompleksin oluşmasıdır. Bu türde sönmüleyici molekül ile floresans aktif molekül reaksiyona girer ve sonuç olarak floresans aktif olmayan bir kompleks ortaya çıkar.

Floresans karakterini etkileyen başka bir moleküller arası etkileşimde floresans aktif molekülün proton transferi yapmasıdır. Bizim çalışmamızda kullandığımız piranin molekülünün böyle bir özelliği vardır ve bununla ilgili detaylı bilgi kısım 3.2’de verilmiştir.

Diğer önemli bir moleküller arası etkileşimde ekzimer veya ekzipleks oluşumudur. Bu olay biri uyarılmış diğeri taban durumunda iki floresans aktif molekülün yeterince birbirlerine yakın geldikleri durumda meydana gelir. Ve spektrumun yüksek dalgaboylarına kaymasına neden olur. Eğer birbirlerine yakın gelen floresans aktif moleküller aynı türden ise ekzimer, farklı türden ise ekzipleks oluşur. Bu çalışmada piranin moleküllerinin ekzimer emisyonu yaptığı durumlar gözlemlenmiştir ve yeri geldiğinde bu özelliğinden daha detaylı bahsedilecektir.

Floresans aktif moleküller bilimsel ve teknolojik açıdan pek çok uygulamada önemli bir yere sahiptir. Bunlardan bazıları şunlardır: Polimer alanında polimer zincirlerinin dinamiği, mikrovizkozite, serbest hacim, zincirlerin yönelimi, faz ayrımı, faz geçişleri, difüzyon süreçleri, polimerleşme kinetiği incelemelerinde [56-65], biyolojik ortamlarda protein etkileşimleri, kompleks oluşumu ve bağlanma süreçleri, hücre zarı görüntülenmesi, zar potansiyelleri, DNA, RNA incelemelerinde, sensör tasarımı alanında pH sensörü [36, 66], metal iyon ve iyon sensörü tasarımlarında [14, 16] ve burada saymadığımız birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır.

2.4 Jellerde Duygunluğun Modellenmesi

Jellerin algılayacakları moleküle olan duygunlukları (A) literatürde Tanaka denklemiyle verilir [39]:

$$A \sim \frac{[C_A]^p}{p[C_{tuz}]^p} e^{-p\beta\epsilon} e^{-(p-1)c \frac{[C_X]}{[C_A]^{2/3}}} \quad (2.6)$$

Bu denklemde, p fonksiyonel grup sayısını, C_A , C_{tuz} , C_X sırasıyla algılayıcı monomer, tuz (yer değiştirici olarak kullanılan molekül) ve çapraz bağlayıcı derişimlerini, β Boltzman sabitini, ϵ ise algılayıcı molekülün hedef molekülü bağlama enerjisi ile tuzu bağlama enerjisi arasındaki farkı göstermektedir.

Tanaka modeli üç temel parametrenin duygunluk üzerinde nasıl etkili olduğu ile ilgili bilgi verir. Bunlar algılayıcı molekül derişimi, tuz derişimi ve çapraz bağlayıcı derişimidir. Duygunluk hesabı çözeltideki hedef molekül derişimi ile absorblanan hedef molekül derişimi arasında çizilen absorbsiyon eğrilerinin başlangıç eğimi olarak kabul edilir. Bu eğim absorblanan hedef molekül molar derişiminin çözeltideki hedef molekül molar derişimine olan oranı olarak tanımlanır [38].

Adsorbsiyon çalışmaları genellikle izotermeler kullanılarak analiz edilir. İzoterm adsorblayıcı üzerinde adsorblanan madde miktarının basınç (gaz adsorbsiyonunda) veya derişime (sıvı içindeki adsorbsiyonda) bağlı olarak değişimidir. Literatürde bu amaçla en çok kullanılan model 1916 yılında yarı ampirik olarak Langmuir tarafından oluşturulan izoterm modelidir [67]. Bu modelin ifadesi aşağıdaki denklem ile verilir:

$$[C_{abs}] = S \frac{[C_{\text{çöz}}]}{K[C_{\text{çöz}}] + 1} \quad (2.7)$$

Bu denklemde, C_{abs} , $C_{\text{çöz}}$ sırasıyla absorblanan ve çözeltideki hedef molekül derişimlerini, S algılayıcı ünite derişimini, K bağlanma sabitini göstermektedir. Toplam duygunluk A ise aşağıdaki şekilde verilir.

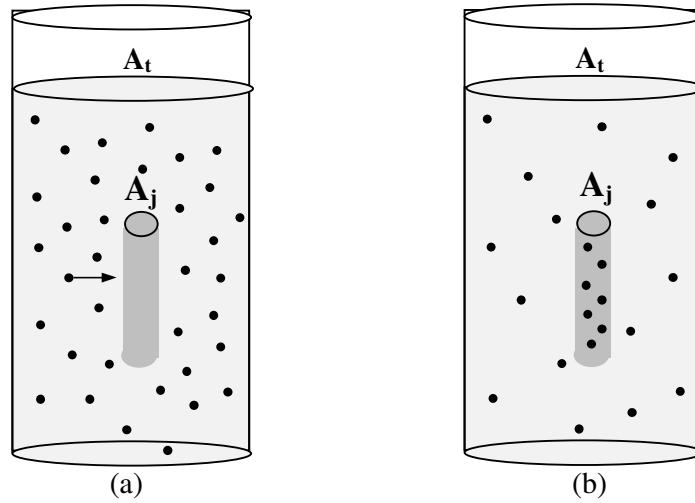
$$A = SK \quad (2.8)$$

Çıkarılan Langmuir izotermelerinden giderek hesaplanan duygunluk değerlerinin dış parametreler ile olan değişimleri belirlenip Tanaka modeli kullanılarak fonksiyonel

grup sayısı veya etkileşme sayısı bulunmaktadır. Bu parametre üzerinden de sistemdeki algılamanın veya jelin kalıplanmasının ne kadar verimli olduğu sonucu çıkartılmaktadır [39].

2.5 Jellerde Difüzyon Süreci

Bu çalışmada kullanılan jeller silindirik geometride olup difüzyon sürecinde kullanılan deney kabının temsili bir çizimi Şekil 2.8’de verilmiştir.



Şekil 2.8: Piranin moleküllerinin jele difüzyonu. Difüzyon başlangıcı (a) ve sonu (b).

Silindirik geometrideki bir jele, başlangıçta derişimi sabit olan çözelti içindeki bir molekülün difüzyonu aşağıdaki denklem ile verilir [68]:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \sum_{n=1}^{\infty} \frac{4\alpha(1+\alpha)}{4+4\alpha+\alpha^2 q_n^2} e^{-Dq_n^2 t/r^2} \quad (2.9)$$

Bu denklemdeki M_t ve M_∞ sırasıyla t anında ve $t=\infty$ ’da jele giren molekül miktarı, α jelin kesit alanının deney tüpünün kesit alanına olan oranı, $\alpha=A_t/A_j$, r jelin yarıçapı, D difüzyon katsayısı, q_n ise Bessel fonksiyonlarını içeren Denklem 2.10’un kökleridir:

$$\alpha q_n J_0(q_n) + 2J_1(q_n) = 0 \quad (2.10)$$

Bu denklemdeki J_0 ve J_1 birinci türden Bessel fonksiyonlarıdır.

Difüzyon sürecini floresans spektroskopisi yöntemiyle gerçekleştirdiğimiz için jele giren madde miktarını floresans şiddet ile ilişkilendirmeliyiz. Bizim deneylerimizde difüzyon yolu ile jele giren molekül piranin molekülüdür ve floresans emisyonu bu moleküllerden gelmektedir. Difüzyon sırasında kullandığımız başlangıç çözelti derişimi $5 \times 10^{-6} \text{M}$ 'dır. Bu derişimdeki piraninin emisyon şiddeti piranin derişimi ile doğrusal bir değişim gösterir (Şekil 3.6) ve bu yüzden difüzyon deneyinde jele giren piranin miktarını doğrudan floresans şiddet ile orantılı olarak değerlendirebiliriz yani $I \propto M$. Denklem 2.11'de floresans şiddet ile molekül miktarları arasındaki ilişki verilmiştir:

$$M_t = I_0 - I(t) \text{ ve } M_\infty = I_0 - I_\infty \quad (2.11)$$

Buradaki I_0 , I_s ve $I(t)$ sırasıyla $t=0$, $t=\infty$ ve t anındaki çözeltilerden alınan floresans şiddetlerini göstermektedirler. Denklem 2.11'de verilen ifadeleri Denklem 2.9'da uygun şekilde yerine koyarsak Denklem 2.12'yi elde ederiz:

$$\frac{I(t) - I_\infty}{I_0 - I_\infty} = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{4\alpha(1 + \alpha)}{4 + 4\alpha + \alpha^2 q_n^2} e^{-Dq_n^2 t/r^2} \quad (2.12)$$

Denkem 2.12'yi $n=1$ için yazar [69] ve doğal logaritmasını alırsak Denklem 2.13'ü elde ederiz:

$$\ln\left(\frac{I(t) - I_\infty}{I_0 - I_\infty}\right) = \ln\left(\frac{4\alpha(1 + \alpha)}{4 + 4\alpha + \alpha^2 q_1^2}\right) - \frac{Dq_1^2}{r^2} t \quad (2.13)$$

Bu denkleme göre floresans şiddetlerin uygun bir kombinasyonun doğal logaritması zaman ile doğrusal değişmekte ve eğim difüzyon katsayısı ile orantılı olmaktadır. Deneyisel verilerin bu denkleme göre değerlendirilmesiyle elde edilen difüzyon katsayıları kısım 3'te verilmiştir.

2.6 Kalıplanmış Jellerde Hafıza Parametresi

Kalıplanmış polimerik malzeme tasarımlarında jelin algılayacağı hedef molekülü ne kadar verimli bir şekilde algıladığı önemli bir problemdir. Literatürde bu problem genellikle jelin o moleküle olan duygunluğu ile çözülmeye çalışılmaktadır [39, 39]. Duygunluğun bulunabilmesi için ise bazı dış parametreler değiştirilerek deneyin birkaç defa tekrarlanması gerekmektedir. Bu ise hem zaman hem de malzeme

kaybına neden olmaktadır. Bu kısımda difüzyon sonrası jelden alınan floresans spektrumlarındaki kaymaların algılama veriminin tayin edilmesinde direkt olarak nasıl kullanılabileceği ile ilgili oluşturduğumuz model hakkında bilgi verilecektir. Bundan sonra jelin ilgili molekülü algılama verimi “*hafıza parametresi, H*” tanımlanacaktır.

Hafıza parametresi en genel olarak Denklem 2.14’de tanımlanabilir.

$$H = \frac{N_{f_{max}}}{N_k} Y \quad (2.14)$$

N_k jel içerisindeki kalıplanmış bölge sayısını, $N_{f_{max}}$ ise yapabileceği maksimum etkileşme sayısı kadar etkileşme yapan hedef molekül sayısını göstermektedir. Y ise aşağıdaki denklem ile ifade edilir:

$$Y = \frac{f_{max} N_{f_{max}} - \sum_{i=0}^{f_{max}-1} N_i}{f_{max} \sum_{i=0}^{f_{max}} N_i} \quad (2.15)$$

Bu denklemdeki f_{max} hedef molekülün yapabileceği maksimum etkileşme sayısını, N_i ise i ($i < f_{max}$) tane fonksiyonel grup üzerinden etkileşen hedef molekül sayısını göstermektedir. Piranin için $f_{max} = 3$ değerini yerine koyup, bu denklemi bizim çalışmamıza uyarlayarak aşağıdaki ifadeyi elde ederiz:

$$H = \frac{N_3}{N_k} \left[\frac{4N_3 - N_T}{3N_T} \right] \quad (2.16)$$

Burada N_T jelin içine girmiş olan tüm piranin moleküllerinin sayısıdır.

Dikkat edilmesi gereken önemli bir nokta N_k ile N_T arasındaki ilişkidir. Doğru bir hafıza parametresi ölçümü için $N_k \leq N_T$ olmalıdır. Bu şartın sağlanmadığı durumda kalıplanmış yuvalar hedef moleküllere yetmeyecek ve bu bölge dışında kalan piraninler birbirleriyle veya başka moleküllerle etkileşerek floresans karakteristiğini değiştireceklerdir. Ayrıca $N_T \leq N_k$ olması durumunda jel seçicilik sebebiyle değil hedef molekülü “zoraki” bağlamak durumunda olacaktır. Bu problemin ortadan kaldırılması için difüzyon deneylerinde $N_k \leq N_T$ şartına dikkat edilmesi gerekmektedir. Bu şartın sağlandığı durum için hafıza parametresi ise Denklem 2.16 ile verilir.

Şimdi bazı özel durumlar için hafıza parametresinin hangi değerleri alabileceğine bakalım:

i) $N_0 = N_1 = N_2 = 0, N_3 = N_T$ olduğu yani bütün piraninlerin 3 tane SO_3^- üzerinden etkileştiği durum. Bu durumda;

$$H = \frac{N_3}{N_T} \left[\frac{4N_3 - N_T}{3N_T} \right] = \frac{N_T}{N_T} \left[\frac{4N_T - N_T}{3N_T} \right] = 1$$

Yani jel tamamen hedef molekülü tanımaktadır.

ii) $N_0 = N_1 = N_2 = N_3 = N$ olduğu, yani her bir fonksiyon ya da farklı sayıdaki fonksiyonel gruplar üzerinden etkileşmeler eşit olasılıkla gerçekleştiği durum. Bu durumda;

$$H = \frac{N_3}{N_T} \left[\frac{4N_3 - N_T}{3N_T} \right] = \frac{N}{4N} \left[\frac{4N - 4N}{12N} \right] = 0$$

hafıza değeri 0 olmaktadır. Bu durum zaten iyi bir kalıplamanın, yani seçiciliğin veya uygunluğun, olmadığı bir durumdur.

iii) $N_3 = 0$ olduğu durum. Bu durumda $H=0$ değeri elde edilir. Buda beklenen bir durumdur. Çünkü eğer jel içerisinde beklenen etkileşme hiç olmuyorsa bu jel rastgele bir jeldir.

Hafıza parametresini floresans emisyon şiddetleri cinsinden verebilmek için aşağıdaki tanımlamaları yapmalıyız:

$$N_T = I_{\zeta}^b - I_{\zeta}^s = \Delta I_{\zeta} \quad (2.17)$$

Bu denklemdeki I_{ζ}^b , I_{ζ}^s ve ΔI_{ζ} sırasıyla çözeltide difüzyon başlangıcındaki, sonundaki şiddetleri ve bunlar arasındaki farkı göstermektedirler. Olabilecek en fazla fonksiyonel grup üzerinden etkileşen molekül sayısı ise

$$N_{fmax} = \frac{I_g(\lambda_{fmax})}{I_g^T} \Delta I_{\zeta} \quad (2.18)$$

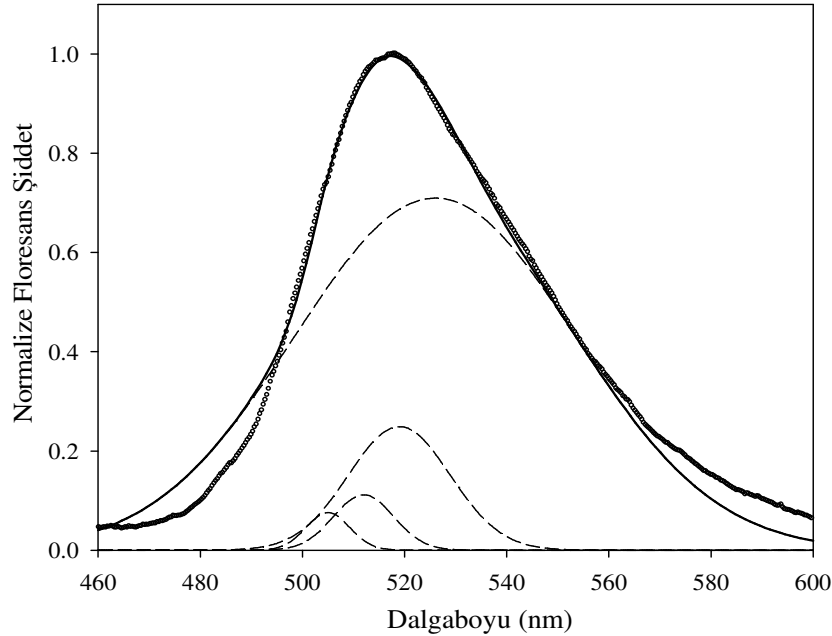
Şeklinde ifade edilir. Buradaki I_g^T jelden alınan floresans spektrumun toplam şiddetini, $I_g(\lambda_{fmax})$ ise bu spektrumda hedef molekülün maksimum sayıda fonksiyonel grup üzerinden etkileştiğinde yapacağı emisyon dalgaboyundaki şiddeti

göstermektedir. Bu ifadeleri ve $R = \frac{I_g(\lambda_{fmax})}{I_g^T}$ tanımını Denklem 2.16'da yerine koyarsak, hafıza parametresi için

$$H = \frac{1}{3}R(4R - 1) \quad (2.19)$$

ifadesi elde edilmiş olur.

Deneysel çalışmada jel içerisinde aynı anda farklı sayıda fonksiyonel gruplar üzerinden etkileşen piraninler olduğu için jelden alınan spektrumlar genellikle geniş bir spektrumdur. Hafıza parametresinin hesaplanabilmesi için bu geniş spektrum içinde her bir fonksiyonel grup üzerinden etkileşen piranin sayısını çıkartabilmek gerekir. Bunu yapmak için ilk önce piranin molekülünün floresans özellikleri iyi bilinmeli ve her bir fonksiyonel grup üzerinden yaptığı etkileşimde floresans spektrumunun ne olacağının belirlenmiş olması gerekmektedir. Bu çalışma içerisinde yapılan deneyler sonucunda hiç etkileşme yapmayan piranin molekülünün 505nm'de emisyon yaptığı ve her bir fonksiyonel grup üzerinden etkileşmenin bu emisyonu 7nm yüksek dalgaboyuna doğru kaydıracağı belirlenmiştir.



Şekil 2.9: Jelden alınan spektrumun bileşenlerini gösteren spektrum.

Bu önemli adımdan sonra jelden alınan floresans spektrumu, merkezleri 505nm, 512nm, 519nm ve 526nm'de olan 4 tane Gauss fonksiyonuna fit edilmiştir. Elde

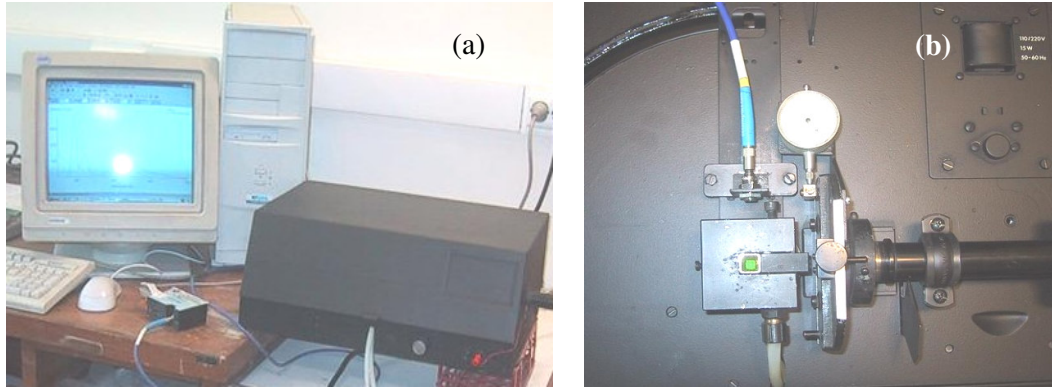
edilen 526nm'deki Gauss fonksiyonunun alanı (maksimum fonksiyonel grup üzerinden etkileşen piranin moleküllerinin sayısı ile orantılı) toplam alana (toplam floresans şiddetiyle orantılı) bölünerek ve Denklem 2.19'de yerine konularak hafıza parametresi hesaplanmıştır. Bu yöntemle ilişkin örnek bir spektrum Şekil 2.9'da verilmiştir.

Şekil 2.9'da içi boş daireler deneysel verileri, kesikli çizgiler; toplamı bu spektrumu oluşturduğu düşünülen ve maksimumları 505nm, 512nm, 519nm ve 526nm'de olan dört tane Gauss fonksiyonunu ve sürekli çizgide bunların toplamını göstermektedir. Şekle bakıldığında uyumun gayet iyi olduğu görülmektedir.

3. DENEYSEL ÇALIŞMA

3.1 Kullanılan Cihazlar ve Deney Koşulları

Çalışmamda floresans spektrumları kendi tasarladığımız spektrofotometre ile alınmıştır. Spektrofotometrenin dıştan görünüşünün ve ölçüm ünitesinin fotoğrafı Şekil 3.1’de verilmiştir. Sistemimizde uyarma ışık kaynağı olarak 40W’lık xenon lamba kullanılmakta ve bir kolimatör, mercek ve yarık vasıtasıyla bu kaynaktan çıkan ışık numune üzerine düşürülmektedir. Yarık genişliği ayarlı olup numune üzerine düşen ışık şiddeti miktarı rahatlıkla ayarlanmaktadır. Ölçüm ünitesi sıcaklık kontrollü olarak tasarlanmıştır. Dedektör olarak OceanOptics firması tarafından üretilen 10nm çözünürlüğünde, 180-850nm dalgaboyu aralığında ölçüm yapabilen, 200µm yarık genişliği olan USB2000 model 2048 elemanlı, lineer silikon CCD dedektörü kullanılmıştır. Fiberoptik kablo ile ölçüm ünitesinden veriler bu dedektöre aktarılmaktadır. Floresans ölçümlerini tasarladığımız sistemde motor kontrollü emisyon kolu sayesinde gelen ışığa göre 0° ile 90° arasında herhangi bir açıda gerçekleştirilmek mümkündür.



Şekil 3.1: Floresans Spektrofotometresinin dıştan görünümü (a) ve ölçüm ünitesi (b).

UV absorbsiyon ölçümleri ise Perkin Elmer Lamda 35 model UV/Vis Spektrofotometresi ile gerçekleştirilmiştir.

Yapılan çalışmada kullanılan moleküllere ait genel bilgiler ve molekül şemaları aşağıda verilmiştir.

N-isopropilakrilamid (NIPA) molekülü çalışmamızda ana monomer ünitesi olarak kullanılmıştır. Yaptığımız jellerin fiziksel özellikleri bu monomer tarafından belirlenmektedir. NIPA kullanılarak yapılan jellerin en önemli özellikleri sıcaklığa duyarlı olmalarıdır. Yani jel belli bir sıcaklığın üstünde çökmekte, altında ise şişmektedir. Bu jel için bu kritik sıcaklık değeri yaklaşık 37°C civarındadır.

Piranin (8-Hidroksi-1,3,6-pirentrisülfonik asit trisodyum tuz) molekülü hedef olarak seçilen moleküldür. Aynı zamanda floresans özelliğe sahiptir. Jeller bu moleküle duyarlı olarak sentezlenmişlerdir. Difüzyon ve algılama süreçleri bu molekülün floresans özelliklerinde meydana gelen değişiklikler kullanılarak ölçülmektedir.

Maptak (Metakrilamidopropiltrimetil amonyum klorür) molekülü NIPA gibi polimerleşmeye katılan bir monomerdır. Sahip olduğu pozitif N^+ çevre grubuyla piranin molekülünün negatif SO_3^- çevresel grupları ile elektrostatik etkileşmekte ve bu molekülleri bağlayabilmektedir. Yani kalıplanmış jel içinde algılayıcı üniteyi oluştururlar.

BIS (N,N'-metilen bisakrilamid) molekülleri sahip oldukları çoklu bağ yapabilme kabiliyeti sayesinde birçok taraftan bağ yaparak polimer zincirlerinin birbirine bağlanmasına dolayısıyla bir ağ yapının oluşmasını sağlarlar. Çalışmamızda çapraz bağlayıcı olarak kullanılmaktadırlar.

AIBN (2,2-Azobisisobütilonitril) molekülü polimerleşme reaksiyonunu başlatmakla görevlidir.

Yukarıda bahsedilen moleküllerin özellikleri ve molekül şemaları aşağıda verilmiştir.

N-izopropilakrilamid (NIPA)

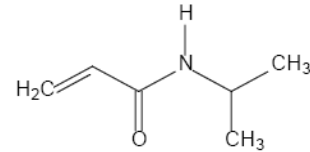
MSDS Adı: N-izopropilakrilamid

Fiziksel Durumu: Kristal Toz

Görünümü: Beyaz toz

Molekül Formülü: $C_6H_{11}NO$

Molekül Ağırlığı: 113.16 g/mol



Piranin

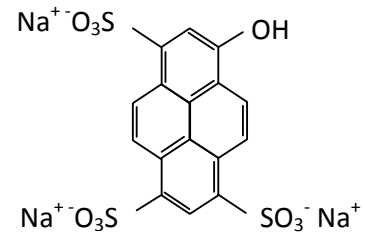
MSDS Adı: 8-Hidroksi-1,3,6-pirentrisülfonik asit trisodyum tuz

Fiziksel Durumu: Sarı Kristal Toz

Görünümü: Sarı Toz

Molekül Formülü: $C_{16}H_7Na_3O_{10}S_3$

Molekül Ağırlığı: 524.38 g/mol



Dimetilsülfoksit (DMSO)

MSDS Adı: Dimetilsülfoksit

Fiziksel Durumu: Sıvı

Görünümü: Renksiz

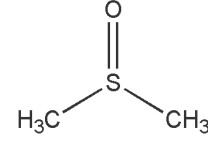
Kokusu: Kokusuz

pH: 8.5 suda

Donma ve Erime Noktası: 18.4 °C

Molekül Formülü: C₂H₆OS

Molekül Ağırlığı: 78.13 g/mol



Çapraz Bağlayıcı (BIS)

MSDS Adı: N,N'-metilen bisakrilamid

Fiziksel Durumu: Kristal yapıda

Görünümü: Beyaz

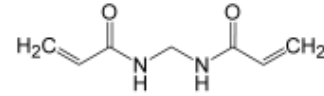
Kokusu: Kokusuz

pH: 7.0 suda

Donma ve Erime Noktası: 300°C

Molekül Formülü: C₇H₁₀N₂O₂

Molekül Ağırlığı: 154.2 g/mol



Başlatıcı (AIBN)

MSDS Adı: 2,2- Azobisisobütilonitril

Fiziksel Durumu: Beyaz Kristal

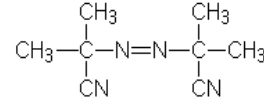
Görünümü: Beyaz

Kokusu: Kokusuz

Donma ve Erime Noktası: 103°C

Molekül Formülü: C₈H₁₂N₄

Molekül Ağırlığı: 164.2 g/mol



Maptak

MSDS Adı: Metakrilamidopropiltrimetil amonyum klorür

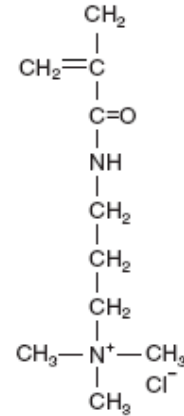
Fiziksel Durumu: Sıvı (%50 suda çözünmüştür)

Görünümü: sarımsı renkte

pH: 7-8

Molekül Formülü: C₁₀H₂₀N₂OCl

Molekül Ağırlığı: 220.5 g/mol



Pirandin molekülleri ile maptak molekülleri arasındaki kompleks oluşumu ve kararlılığı deneyleri şu şekilde gerçekleştirilmiştir. 0.3mM'lık sulu maptak çözeltisi içinde pirandin ile maptak arasında meydana gelen kompleks yapı floresans spektroskopisi yöntemiyle belirlenmeye çalışılmıştır. Bu deneyde pirandin molekülünün derişimi 0.1mM'dan 5mM'a kadar değiştirilmiştir. Her bir pirandin

derişimi için 400nm’lik uyarma dalgaboyunda floresans spektrumu alınmıştır. En derişik çözelti olan 5mM’lık piranin çözeltisi su ile seyreltilmiş ve her seyreltme için aynı uyarma dalgaboyunda floresans spektrumu alınmıştır. Bütün ölçümler oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

Deneylerde kullanılmak üzere gerekli olan jellerin sentez koşulları şöyledir. Deneylerde 6M’lık iki çeşit jel dört farklı BIS derişimi için ve 2M’lık iki çeşit jelde bir BIS derişimi için hazırlanmıştır. Bu iki çeşit jel kalıplanmış (K) ve rastgele (R) jellerdir. Bu jellerin bileşimleri, 1ml’lik DMSO çözücüsü için Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Kalıplanmış jeller hazırlanmadan önce Çizelge 3.1’de verilen miktar kadar piranin ve maptak ayrı bir kapta iyice karıştırılıp kompleks oluşumu için beklemeye bırakılmıştır. Bu işlemde sonra 2716mg NIPA 4ml DMSO içinde çözülüp içinden 20 dakika kadar azot geçirilmiştir. Dört farklı tüpe sırasıyla 3.1mg, 9,3mg, 15.5mg ve 23.3 mg BIS koyduktan sonra içinden azot geçirilmiş NIPA çözeltisi bu tüplere 1er ml olarak dökülüp iyice karıştırılmışlardır. Bu çözeltilere daha önce hazırlanan piranin ve maptak çözeltisi ile 1.64mg AIBN’de ilave edildikten sonra tüpler vakumlanıp teflon bir kapak ile sıkıca kapatılarak 60°C’de reaksiyon başlatılmıştır. Reaksiyon 24 saat devam ettirilmiştir.

Çizelge 3.1: Kalıplanmış ve Rastgele jellerin kimyasal bileşimleri.

jel	NIPA		BIS		AIBN		MAPTAK		Piranin	
	(M)	(mg)	(mM)	(mg)	(mM)	(mg)	(mM)	(µl)	(mM)	(mg)
K1	6	679	20	3.1	10	1.7	30	12.5	10	5.2
K2	6	679	60	9.3	10	1.7	30	12.5	10	5.2
K3	6	679	100	15.5	10	1.7	30	12.5	10	5.2
K4	6	679	150	23.3	10	1.7	30	12.5	10	5.2
R1	6	679	20	3.1	10	1.7	30	12.5	10	5.2
R2	6	679	60	9.3	10	1.7	30	12.5	10	5.2
R3	6	679	100	15.5	10	1.7	30	12.5	10	5.2
R4	6	679	150	23.3	10	1.7	30	12.5	10	5.2
K	2	226	20	3.1	3.3	0.6	30	12.5	10	5.2
R	2	226	20	3.1	3.3	0.6	30	12.5	10	5.2

Rastgele jeller kalıplanmış jeller ile aynı koşullarda sentezlenmişlerdir. Tek fark piranin ve maptak moleküllerinin önceden karıştırılmayıp, diğer tüm moleküller ile

beraber konulmuş olmasıdır. Yani jelleşme öncesi piranin ve maptak arasında herhangi bir kompleksleşmeye müsaade edilmemiştir.

2M'lık jellerde madde miktarları tabloda verilenler kullanılmak kaydıyla 6M'lık jeller ile aynı şartlar ve yöntemle sentezlenmişlerdir.

Sentezlenen jeller bol miktarda 0.1M'lık asitte (HCl) ve daha sonra bazda (NaOH) bekletilerek yıkanmışlardır. Yıkamanın başlarında, ilk birkaç gün, yıkama suları sık sık değiştirilmiştir ve yıkama işlemi yaklaşık 2 hafta sürmüştür. Yıkamaların ilk gününde hem jeller hem de yıkama sularının belli aralıklarla floresans spektrumları alınmıştır.

Difüzyon deneyleri dört farklı durumda gerçekleştirilmiştir. Bu durumlar; dış ortamdaki çözeltinin derişim, sıcaklık, pH ve tuz derişiminin değiştiği durumlardır. Her bir difüzyon deneyi için 3mm çapında ve 14mm uzunluğunda silindirik geometriye sahip kalıplanmış ve rastgele jeller kullanılmıştır. Her bir durum için deney şartları aşağıda anlatılmıştır.

Difüzyon sürecinin jelin içinde bulunduğu çözelti derişimine bağıllığını anlamak için 4 farklı piranin derişimine sahip sulu çözelti hazırlanmıştır. Çözelti derişimleri sırasıyla 10^{-5} , 5×10^{-6} , 10^{-6} , 5×10^{-7} M'dır. Çözeltiler 2ml olacak şekilde silindirik cam tüplere konulmuş ve tüplerin ağız sıkıca kapatılarak spektrofotometrenin sıcaklık kontrollü ölçüm düzeneğine yerleştirilmiştir. Sıcaklık 60°C'ye ayarlanmış ve çözelti sıcaklığı 60°C'ye geldikten sonra daha önce 60°C deki saf suda çöktürülmüş olan K1 ve R1 jelleri ayrı ayrı çözelti içine atılmıştır. Difüzyon süreci spektrofotometrenin zamana bağıl izleme modunda, çözelti 400nm'lik uyarma dalgaboyu ile uyarılarak 515nm'deki emisyon şiddeti izlenmiştir. Deney düzeneğinin gerçek resmi Şekil 3.1'de verilmiştir.

Difüzyonun çözelti sıcaklığına ve pH'ına bağıllığını ortaya koyduğumuz deneyler, kalıplanmış ve rastgele jellerin 2ml 10^{-5} M piranin çözeltisine konulup yaklaşık 24 saat boyunca floresans spektrometresinde zamana bağıl izleme modunda 5'er saniye aralıklarla ölçüm yapılarak gerçekleştirilmiştir. Sıcaklığın değiştirildiği deneylerde K4 ve R4 jelleri kullanılmış ve ölçümler 60°C, 40°C ve 30°C sıcaklıklarda gerçekleştirilmişlerdir. Her bir sıcaklık için jeller çözelti içine atılmadan önce saf su içinde istenilen sıcaklık dengesine getirilmiş ve ondan sonra çözelti içine atılmışlardır. pH bağımlılığı deneyleri ise K3 ve R3 jelleri için gerçekleştirilmiş ve

ölçümler 60°C'lik sabit sıcaklıkta ve pH=2, pH=4 ve pH=11 değerlerinde gerçekleştirilmiştir. Floresans spektrometresinde 400nm'lik uyarma sonucunda 515nm'deki emisyon şiddeti izlenmiştir.

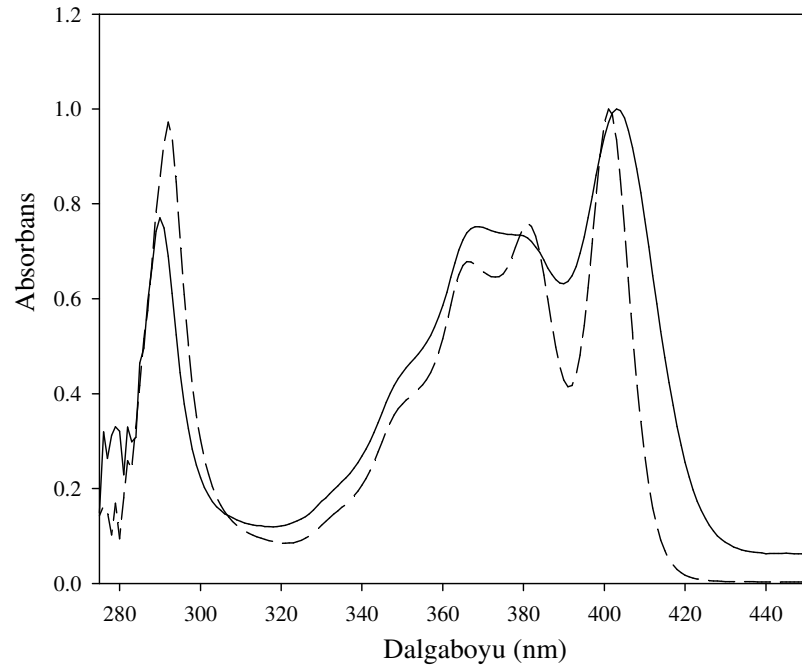
Difüzyonun çözeltideki tuz derişimine bağıllığı deneyleri K4 ve R4 jelleri için 60°C'lik sıcaklıkta ve 50, 100, 150, 200mM'lık tuz derişimi içeren 5×10^{-6} M piranin çözeltisi içinde gerçekleştirilmiştir. Deney hem floresans spektroskopisi hemde UV absorbsiyon spektroskopisi yöntemiyle izlenmiştir. Floresans spektroskopisinde difüzyon sonrasında ve jelin şişmiş durumlarında rastgele ve kalıplanmış jellerin spektrumları alınmıştır. UV absorbsiyon çalışmasında ise 60°C'lik bir ısıtıcının üzerinde başlatılan difüzyon deneyinden belli aralıklarla 10'ar mikrolitre örnekler alınıp UV spektrofotometresinin ölçüm kabına eklenerek 403nm'deki absorbsiyon şiddetinin değışimi izlenmiştir.

3.2 Hedef Molekül Piraninin Spektroskopik Özellikleri

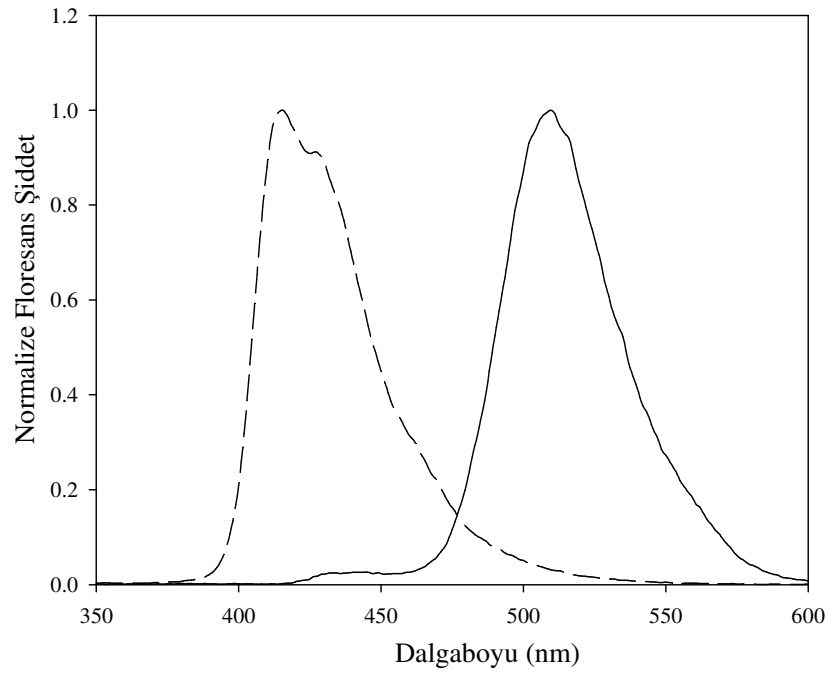
Bu bölümde deneysel çalışmamızda kullandığımız piranin molekülünün spektroskopik özelliklerinden bahsedilecektir. Normal şartlardaki su ve DMSO içindeki UV ve floresans spektrumları verildikten sonra, pH, derişim, vizkozite, polimerleşme gibi dış parametrelerin piranin'in floresans karakterine olan etkileri verilecektir.

Şekil 3.2 ve 3.3'de piranin molekülünün su ve DMSO içindeki UV ve floresans spektrumları verilmiştir. Piranin molekülünün su ve DMSO içindeki floresans davranışı Şekil 3.3'den de görüldüğü gibi birbirinden farklıdır. Piraninin DMSO içinde asidik bir ortamdaki (Şekil 3.4) davranışı ile benzer bir davranış sergilemektedir. Yani *OH* grubundaki hidrojene uzun bir süre bağıllı kalmaktadır. DMSO normalde asidik olmamasına rağmen asidik gibi davranmaktadır.

Şekil 3.4'de piranin molekülünün floresans karakterinin ortamın pH'ına olan bağıllığı görülmektedir. Piranin molekülünün floresans karakterinin pH'a duyarlı olduğu literatürde oldukça iyi bilinmektedir.



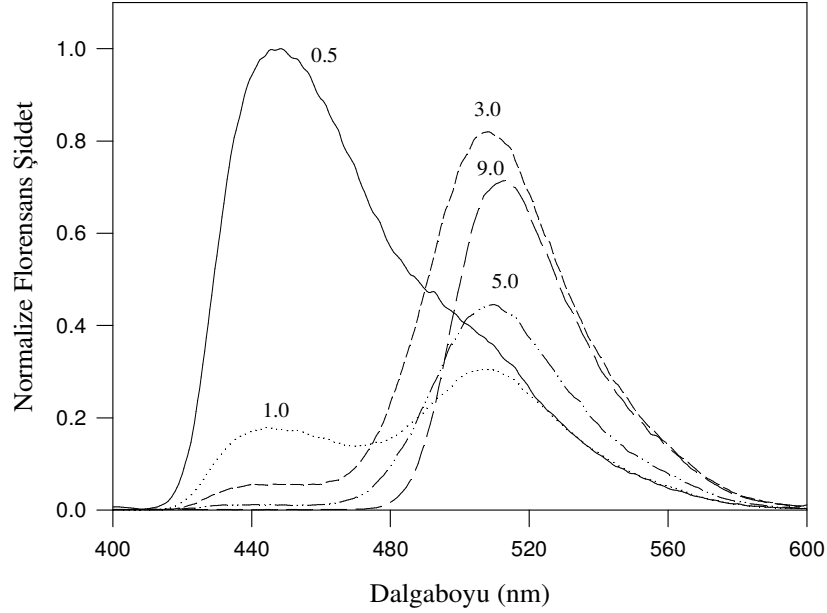
Şekil 3.2: 10^{-4} M piranin molekülünün suda (sürekli çizgi) ve DMSO (kesikli çizgi) içindeki UV spektrumları.



Şekil 3.3: 10^{-4} M piranin molekülünün suda (sürekli çizgi) ve DMSO (kesikli çizgi) içindeki floresan spektrumları.

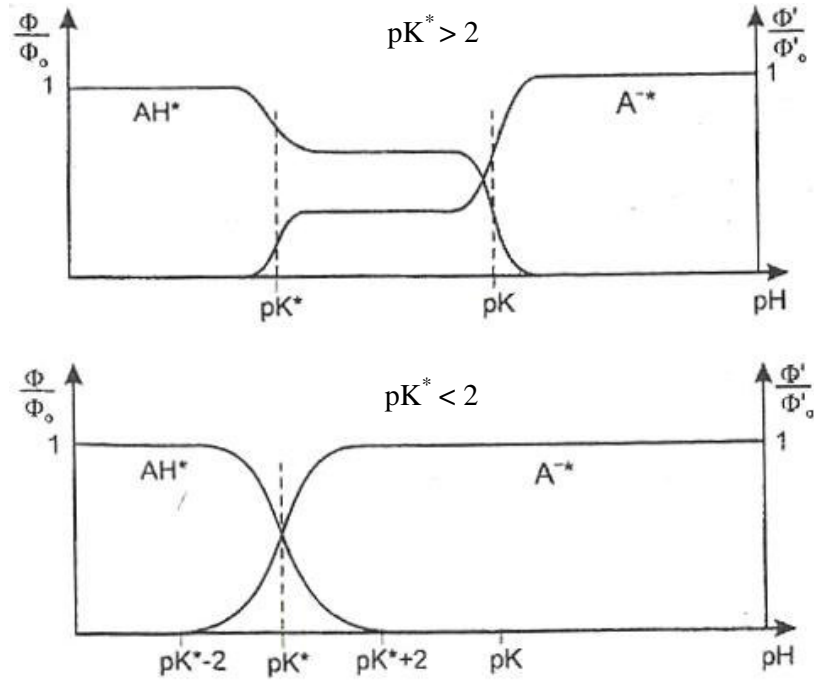
Şekil 3.4’de bunu açıkça görmekteyiz. $pH < 1$ değerlerinde piranin molekülü *OH* gurubundaki hidrojenini (protonunu) floresans gözlem zamanı içinde atamamakta ve bu zaman zarfı içinde hidrojenini atamamış piranin emisyonu (445nm)

gözlemlenmektedir. $pH > 5$ değerlerinde ise piranin molekülü hidrojenini atabilmekte ve etkin olarak 515nm’de emisyon gözlemlenmektedir. $1 < pH < 5$ aralığında ise hem 445 nm hem de 515 nm dalgaboylarının her ikisi de gözlemlenmektedir. Herhangi bir molekülün protonunu atabilip atamamasını belirleyen etki nedir? Bu tamamen molekülün pK değeri ile ortamın pH’ına bağlıdır. Şekil 3.5’de ortamın pH’ına bağlı olarak olabilecek olaylar verilmiştir [36].



Şekil 3.4: Piranin molekülünün floresans karakterinin ortamın pH'ına olan bağıllığı.

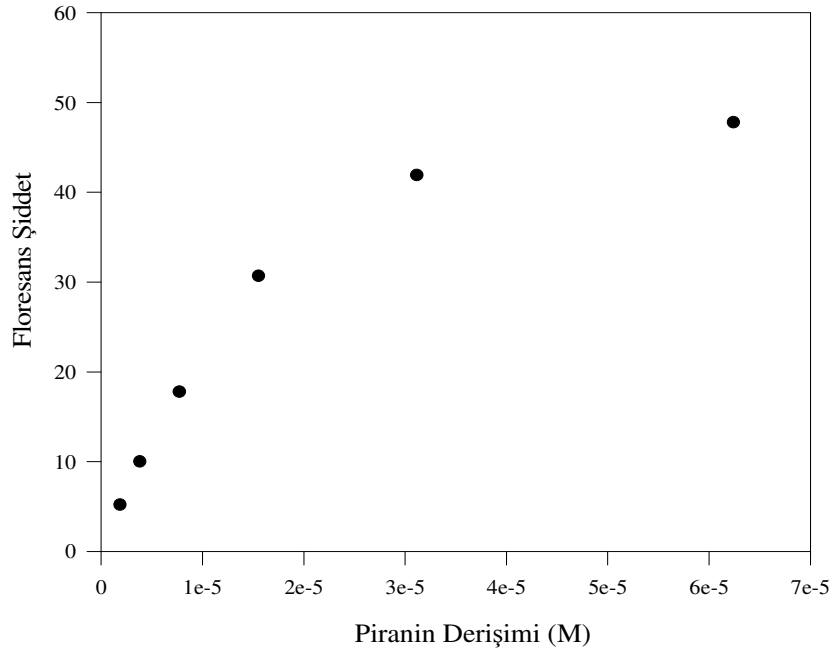
Herhangi bir molekülün herhangi bir ortamdaki davranışı bu molekülün pK değeri ile ortamın pH değerlerinin karşılaştırılması ile belirlenebilir. Uyarılmış durumdaki molekülün pK^* değerine bağlı olarak iki farklı durum olabilir. Bunlar pK^* ’nın 2’den küçük olduğu ve büyük olduğu durumlardır. pK^* 2’den büyük olduğu durumda; ortamın pH’ı, pK^* (uyarılmış molekül) değerinden küçük ise molekül protonunu atamamakta, eğer pH değeri pK (taban durumundaki molekül) değerinden büyükse molekül protonunu atabilmekte, eğer pH değeri pK ile pK^* arasındaysa proton atabilme ve atamama durumunun her ikisi birden olabilmekte ancak proton atabilme olasılığı daha az olmaktadır. pK^* ’ın 2’den küçük olduğu durumda ise pK^* ile $pK^* \pm 2$ noktaları sınır noktalarını oluştururlar. Ortamın pH’ı $pK^* - 2$ değerine gelinceye kadar molekül proton transferi yapamaz, pH $pK^* - 2$ ile $pK^* + 2$ arasında ise proton atabilme ve atamama birlikte olabilir, pH $pK^* + 2$ ’den büyük ise molekül proton transferi yapılabilir.



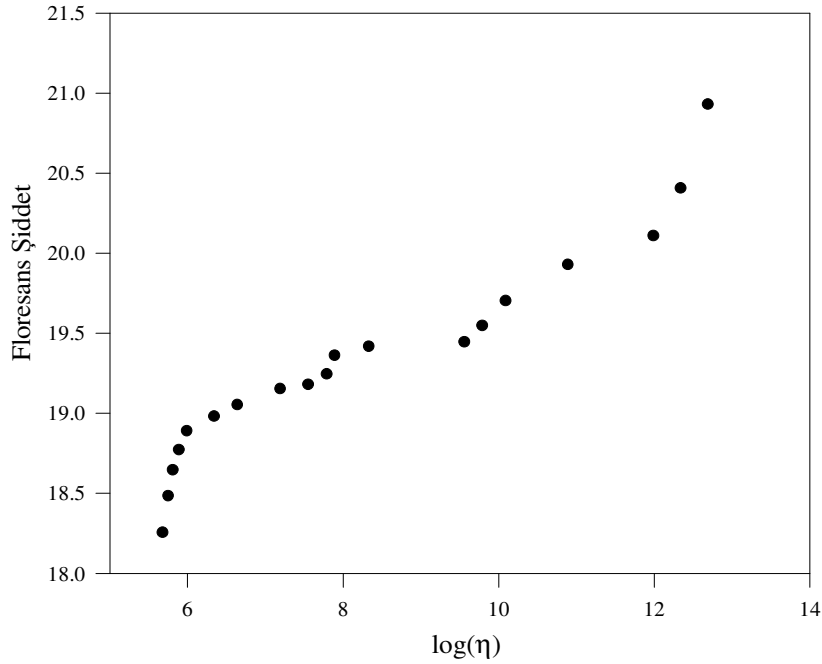
Şekil 3.5: Molekülün pK değeri ile ortamın pH değeri arasındaki ilişki [36].

Şekil 3.6’da piranin molekülünün su içindeki floresans şiddetinin konsantrasyona bağlı olarak değişimi görülmektedir. Şekilden de görüldüğü gibi floresans şiddet derişim arttıkça lineerlikten sapmakta ve artış miktarı azalmaktadır. Bunun sebebi literatürde de oldukça iyi bilindiği üzere piranin molekülerinin iç absorbsiyon olasılığının artmasıdır. Yani emisyon yapan bir piranin molekülünün gönderdiği foton hemen yakınındaki başka bir piranin molekülü tarafından absorblanmaktadır. Ve bu absorblanma olasılığı ortamdaki piranin derişimi ile artmaktadır.

Şekil 3.7’de ortamın vizkozitesinin piranin molekülünün floresans şiddetine olan etkisi görülmektedir. Ortamın vizkozitesi arttıkça piranin molekülünün ısımalı geçiş yapma olasılığı yani kuantum verimi artmakta, titreşim geçiş olasılığı azalmaktadır [36].



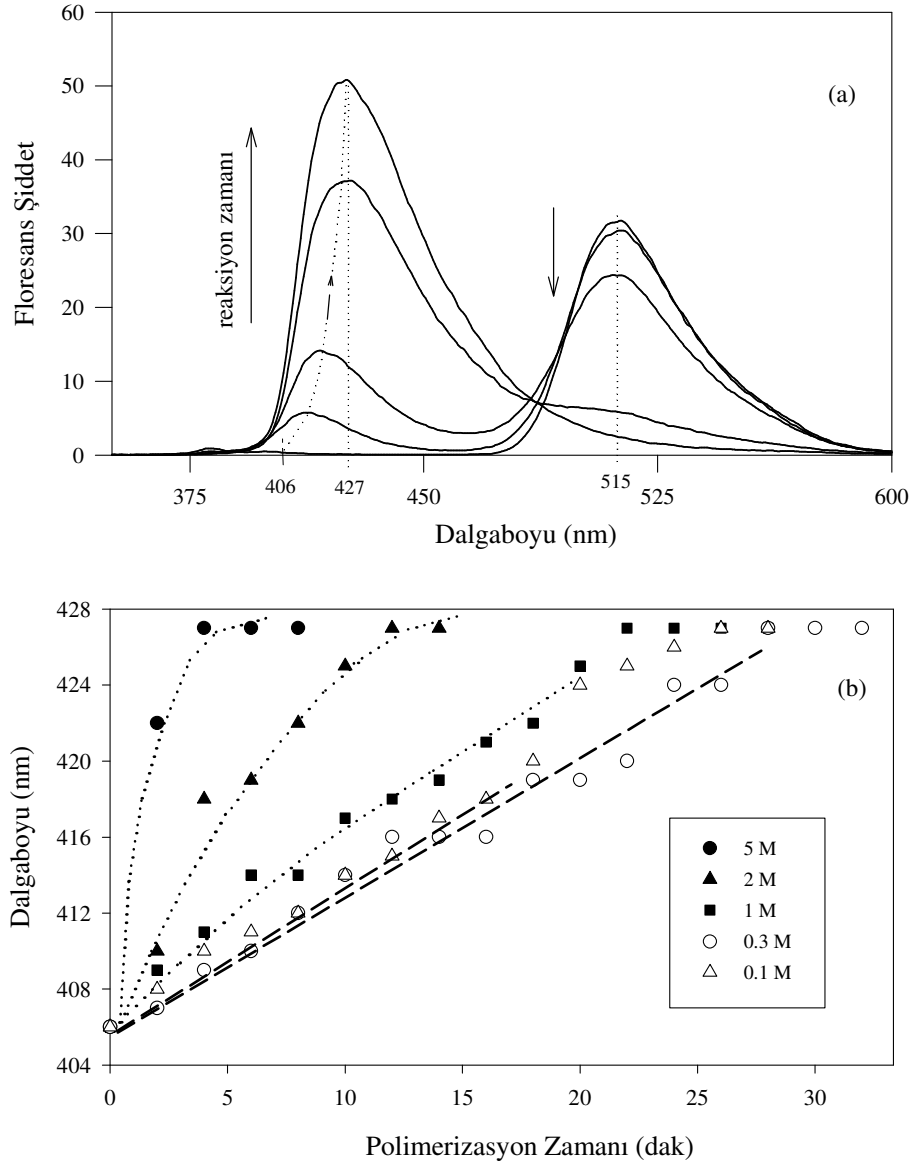
Şekil 3.6: Piraninin floresans emisyon şiddetinin derişime bağılılığı



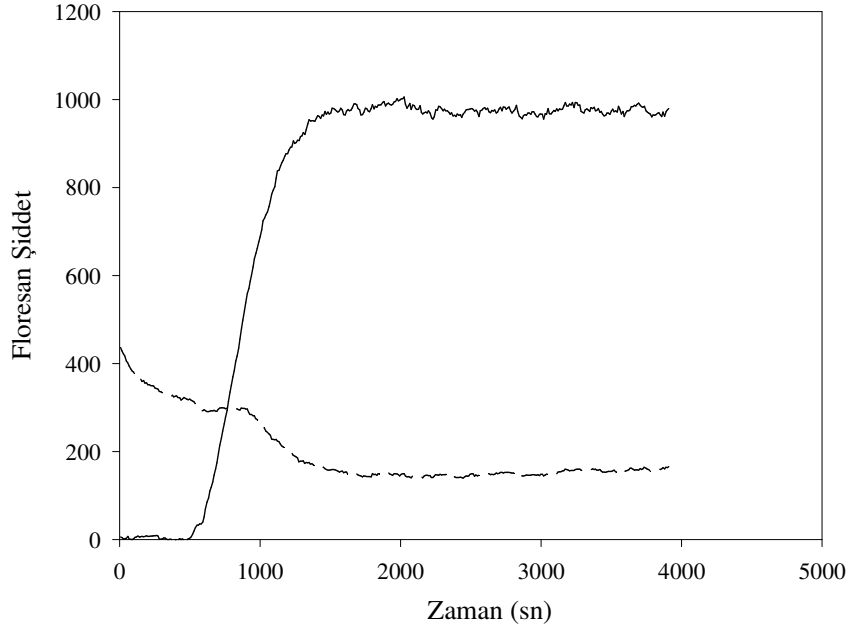
Şekil 3.7: Piraninin floresans emisyon şiddetinin vizkoziteye bağılılığı

Şekil 3.8a ve 3.8b’de AAm polimerizasyonu süresince piranin molekülünün floresans karakterindeki değişimler verilmiştir. Bu şekillerden de görüldüğü gibi başlangıçta 515 nm’de emisyon yapan piranin molekülü polimerleşme ilerledikçe emisyonu önce 406 nm civarına ve zamanla da 428 nm’ye kaymaktadır. İlk kaymanın sebebi piranin molekülünün *OH* üzerinden PAAm zincirlerinin uçlarına kimyasal olarak bağlanmasıdır. Diğer kaymanın (406nm’den 428nm’ye) sebebi ise

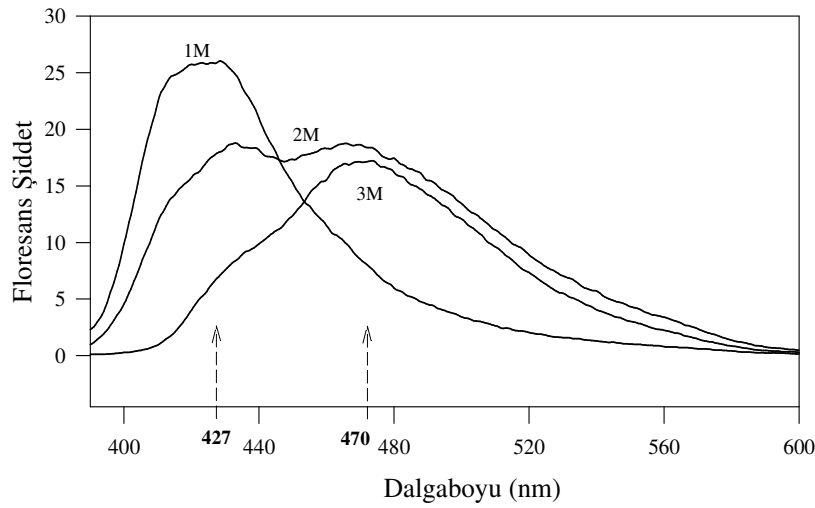
piranin molekülü etrafında bulunan üç tane SO_3^- iyonik grubunun PAAm zincirleri üzerindeki pozitif amid grupları ile olan elektrostatik etkileşimleridir. Şekil 3.9’da görüldüğü gibi jelleşme noktasına yakın yerlerde polimerleşme çok hızlı ilerlemekte ve buna bağlı olarak floresans şiddet çok hızlı bir değişim göstermektedir [70].



Şekil 3.8: AAm polimerizasyonu süresince piranin molekülünün spektroskopik karakterinin (a) ve dalgaboyundaki kaymanın (b) zamanla değişimi.



Şekil 3.9: Polimerleşme süresince 515nm (kesikli çizgi) ve 425 nm'nin (sürekli çizgi) zamanla değişimi.

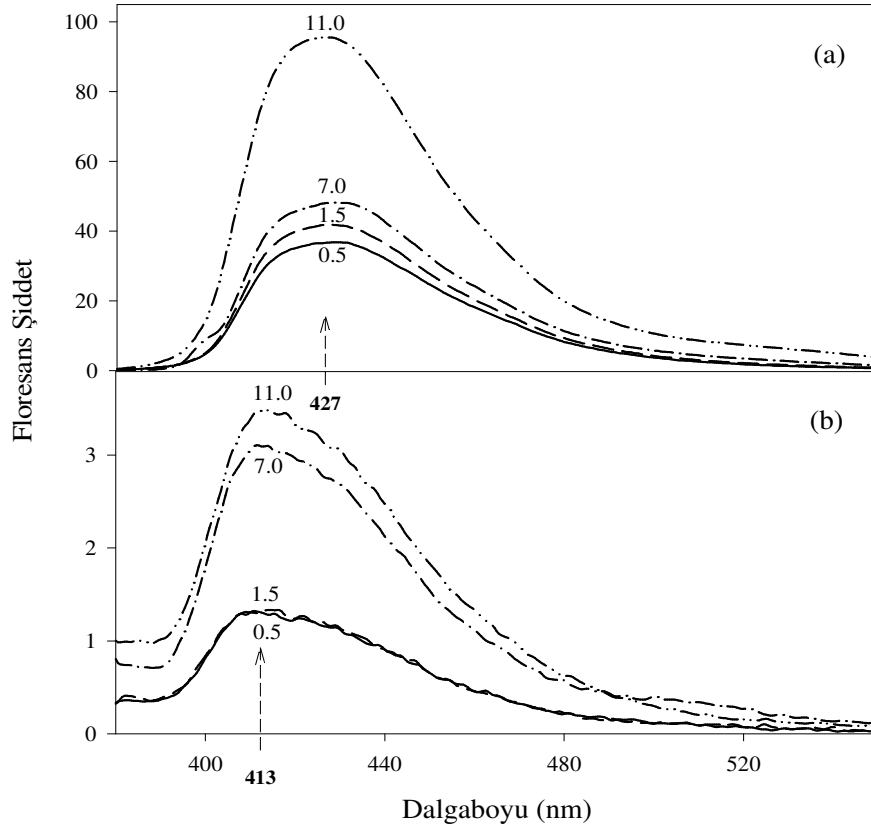


Şekil 3.10: Değişik AAm derişimlerinde piranin molekülünün spektroskopik karakterinin değişimi.

Şekil 3.10'da ise AAm monomer derişimine bağlı olarak piranin'in floresans spektrumları verilmiştir. Dikkat edilirse yüksek monomer derişimlerinde spektrumda belirgin bir biçimde 480nm'lik bir pik görülmektedir. Bu piranin'in excimer emisyonuna karşılık gelmektedir. Çok yüksek monomer derişimlerinde piranin'ler yeterince birbirlerine yakın gelebilmekte ve excimer oluşturmaktadır.

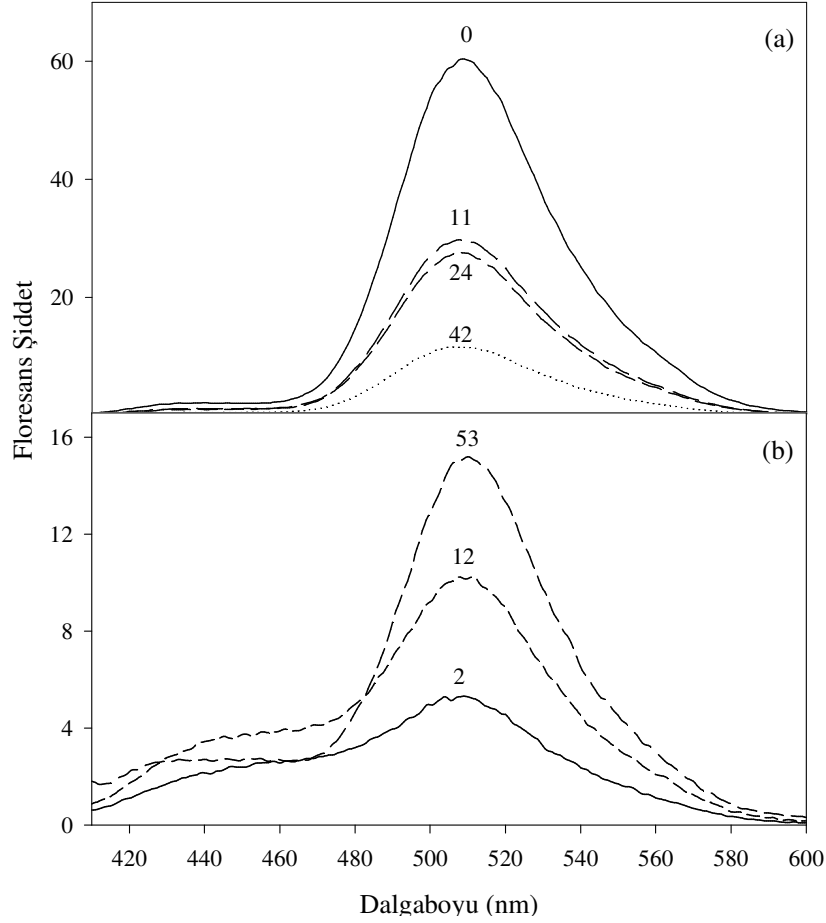
Piranin'lerin polimerleşme esnasında PAAm zincirlerine bağlanıp bağlanmadığını anlamak için piranin ile sentezlenen jeller değişik pH koşullarında yıkanmışlardır.

Şekil 3.11’de bu yıkamaya ilişkin sonuçlar verilmiştir. Bu şekle bakıldığında jel hangi koşulda olursa olsun, ne kadar yıkanırsa yıkansın floresan şiddet sıfırlanmamakta ve dalgaboyunda herhangi bir kaymada gözlemlenmemektedir. Bu da bize piranin’lerin jele kimyasal bağlandığını ve yıkama ile çıkmadığını göstermektedir [70]. Yıkama suyunda da jeldekine benzer bir spektrum gözlemlenmiştir. Ancak yıkama suyundan alınan spektrum yıkama esnasında jelden suya çıkan mikro jellerden gelmektedir. Aksi takdirde en azından yüksek pH’lı yıkama suyunda 515 nm’leri görmemiz gerekir.



Şekil 3.11: Piranin ile sentezlenen PAAm jelinin yıkanması esnasında jelden (a) ve yıkama suyundan (b) alınan spektrumlar.

Şekil 3.12’de piranin içermeyen jele sonradan piranin difüzyonuna ait spektrumlar görülmektedir. Bu şekilden de görüldüğü gibi çözeltideki şiddet git gide azalmakta yani piranin’ler jele geçmektedir. Ancak ilginç olan nokta; floresans spektrumunda herhangi bir kaymanın olmamasıdır. Ancak jelleşme anında katılan piranin’lerin floresans spektrumları ciddi olarak değişikliğe uğramaktadır. Bunun tek nedeni jelleşme anında piranin’lerin kimyasal olarak PAAm zincirlerinin uçlarına kimyasal olarak bağlanmalarıdır [70].

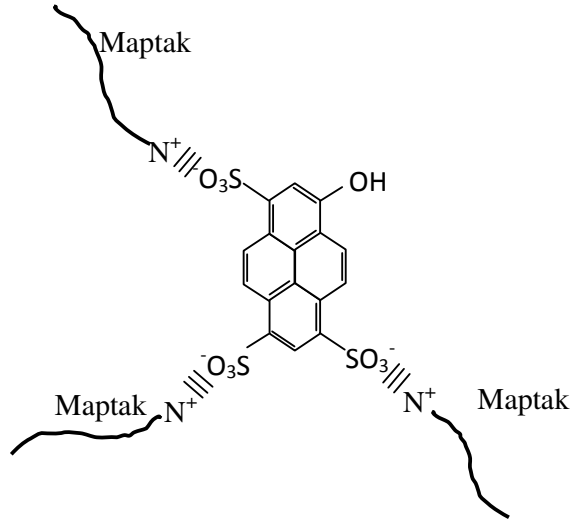


Şekil 3.12: Piranin içermeyen jellere sonradan difüzyon yoluyla piranin gönderilmesi sırasında difüzyonun değişik zamanlarında çözeltiden (a) ve jelden (b) alınan spektrumlar.

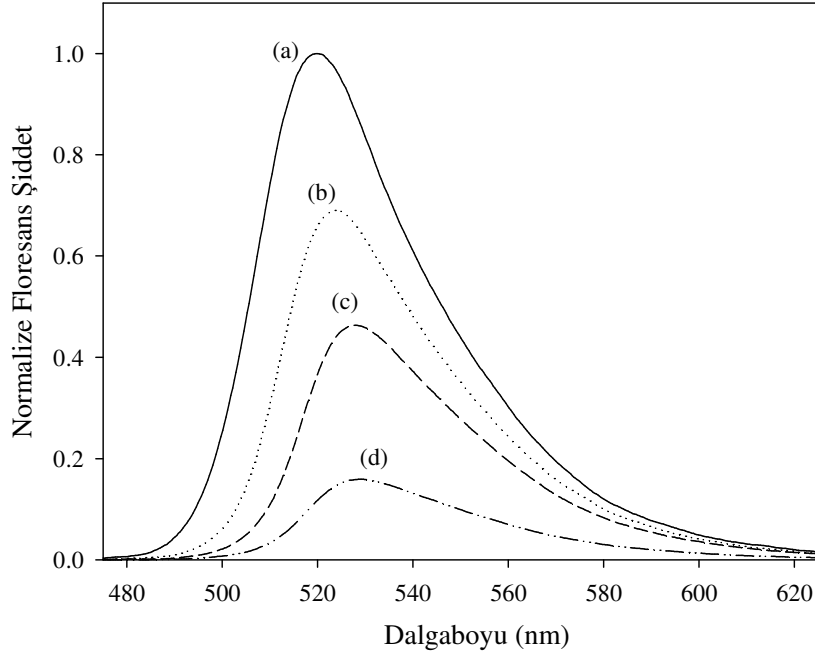
3.3 Kompleks Oluşumu ve Kararlılık Deneyleri

Jellerin kalıplanmış olabilmesi için piranin ile maptak molekülleri arasında kompleks yapının oluşması ve bu kompleks yapının jelleşme süresince belli bir oranda yaşıyor olması gerekmektedir. Yani kompleks yapılar kararlı olmalıdır.

Kompleks yapılar piranin molekülündeki negatif SO_3^- iyonları ile maptak molekülündeki pozitif N^+ iyonları arasındaki elektrostatik etkileşmeler sonucu oluşmaktadır. İstenilen kompleks yapı Şekil 3.13'de görüldüğü gibi 3 tane maptak tarafından çevrelenmiş piranin molekülü içeren yapılardır.



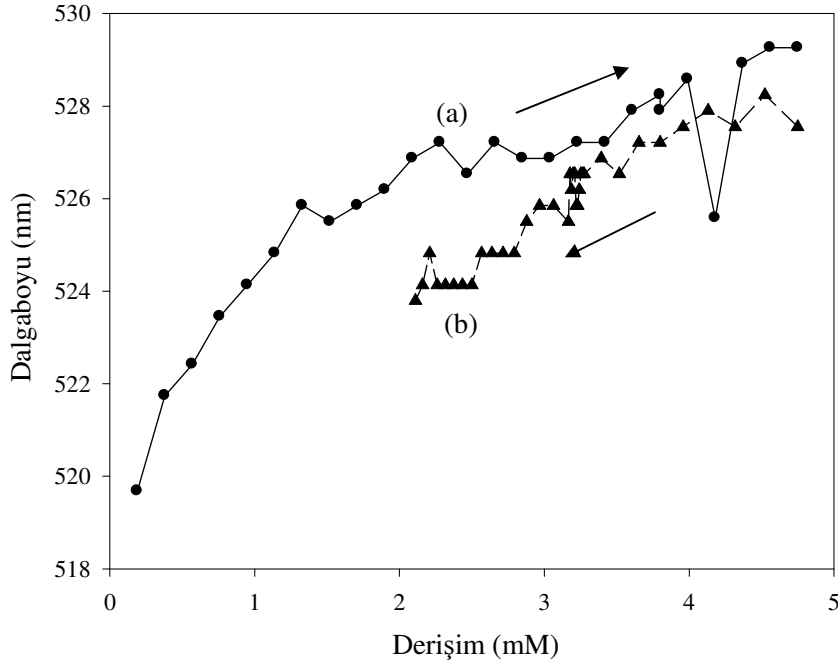
Şekil 3.13: Maptak ve piranin molekülleri arasında oluşan kompleks yapı.



Şekil 3.14: Piraninin sulu maptak içinde değişik derişimlerdeki floresans spektrumu ((a)= 1.9×10^{-4} M, (b)= 3.8×10^{-4} M, (c)= 3.8×10^{-3} M, (d)= 4.8×10^{-3} M).

Şekil 3.14 ve 3.15’de ise su içerisinde piranin ile maptak’ın etkileşmesine ait spektrumlar görülmektedir. Şekil 3.14’de 520 nm’deki pik artan piranin derişimine bağlı olarak yüksek dalgaboyuna kaymaktadır. Bu kayma Şekil 3.15’de daha iyi görülmektedir. 520 nm’deki pikte meydana gelen bu kayma derişirme ve seyreltme durumlarında tersinir olarak değişmektedir. Daha önce su ve DMSO içinde derişime göre yapılan çalışmalarda bu türden bir kayma gözlemlenmemiştir [71]. Buda bize

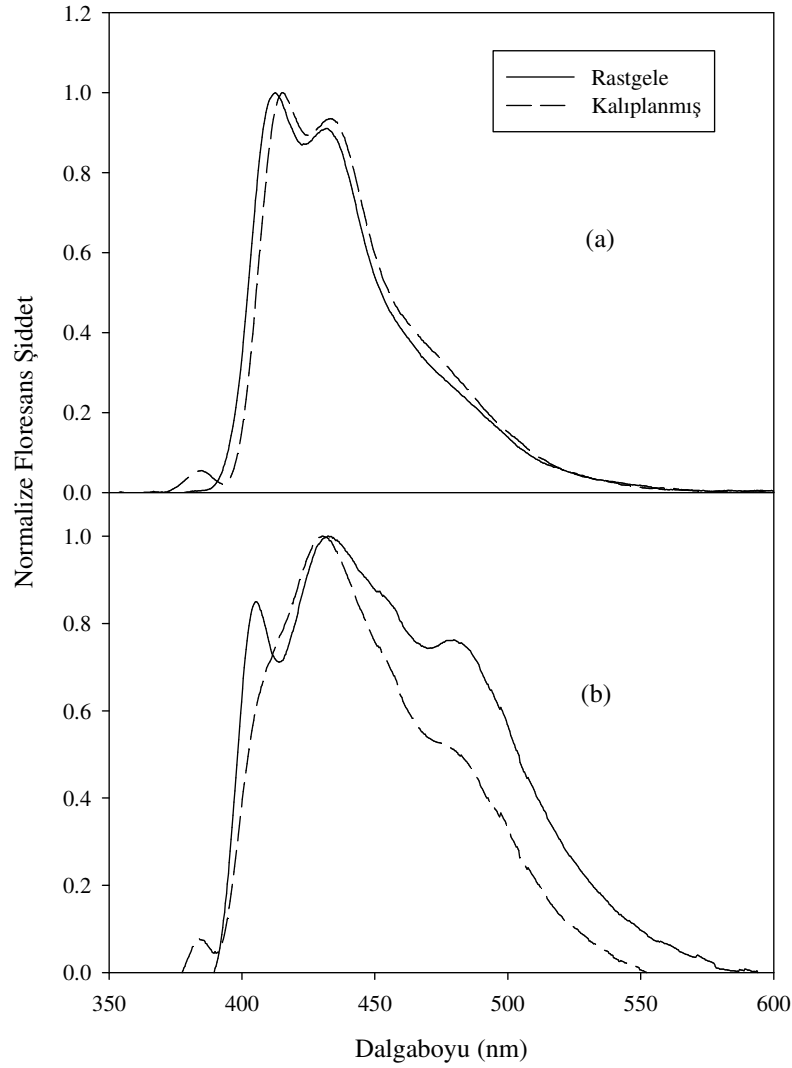
ortamdaki maptak moleküllerinin piranin moleküllerinin emisyon karakteristiğini etkilediğini açıkça göstermektedir. Bu etkileşme aynen jelleşme deneylerinde gözlemlenen etkileşme gibidir. Jelleşme süresince piranin molekülleri SO_3^- ’ler üzerinden polimer zincirleri üzerindeki pozitif amid grupları ile etkileştikçe 400nm civarındaki spektrum uzun dalga boyuna doğru kaymaktadır [70]. Aynı etki burada yine negatif SO_3^- grupları ile maptak moleküllerinin üzerinde bulunan pozitif N^+ ler arasında elektrostatik etkileşme sonucunda gözlemlenmektedir.



Şekil 3.15: Piranin ile maptak arasında kompleks oluşumu deneyinde derişirme (a) ve seyreltme (b) durumlarında. 520 nm’deki pikin kayması. Seyreltme su ile yapılmıştır.

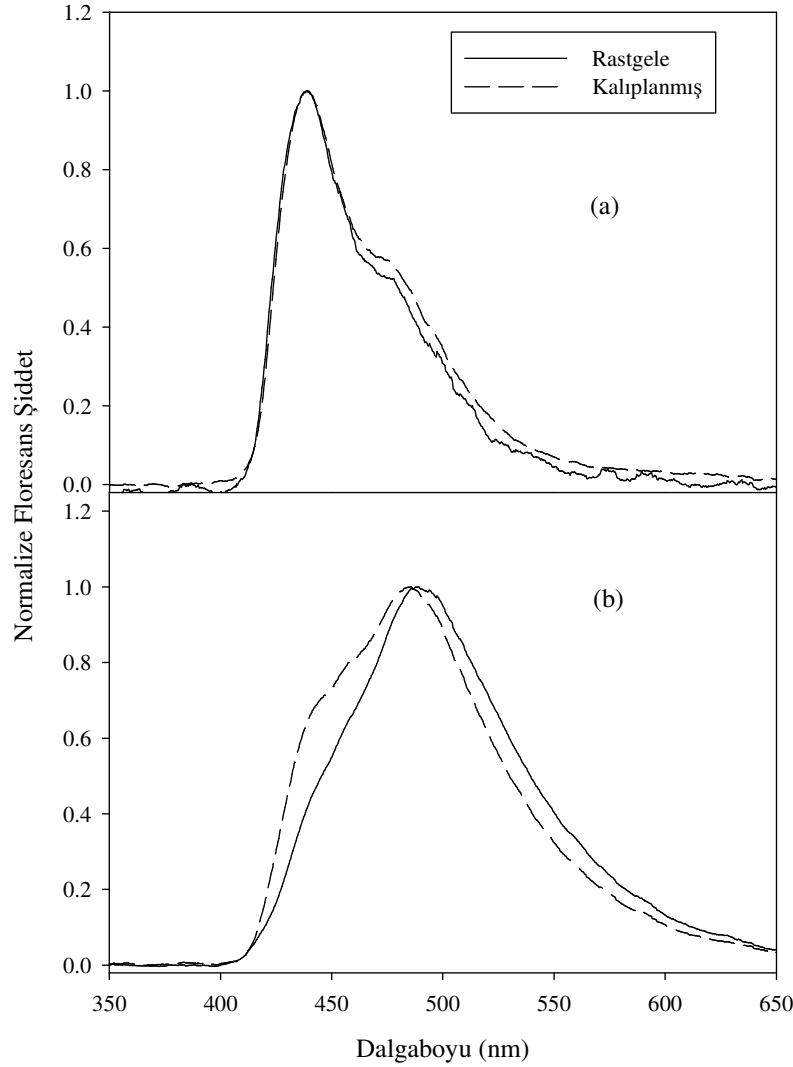
Yukarıdaki paragraflarda çözelti içindeki piranin ile maptak arasında kompleks oluşup oluşmadığı ile ilgili derişime bağlı çalışmalar özetlenmiştir. Aşağıdaki şekillerde ise iki farklı monomer derişimi, 2M ve 6M, için jelleşme süresince alınan spektrumlar verilmiştir.

Şekil 3.16 ve 3.17’de sırasıyla 2M ve 6M NIPA jellerinin jelleşme öncesi ve sonrası spektrumları verilmiştir. Jelleşme öncesi rastgele ve kalıplanmış jellerin spektrumları hemen hemen aynı iken jelleşme sonunda spektrumlarda farklılıklar gözlemlenmektedir. Bu farklılık ekzimer ve monomer emisyon şiddetlerinin jelleşme sonunda değişmesidir. Bu değişim Şekil 3.18 ve 3.19’da daha açık olarak görülmektedir.



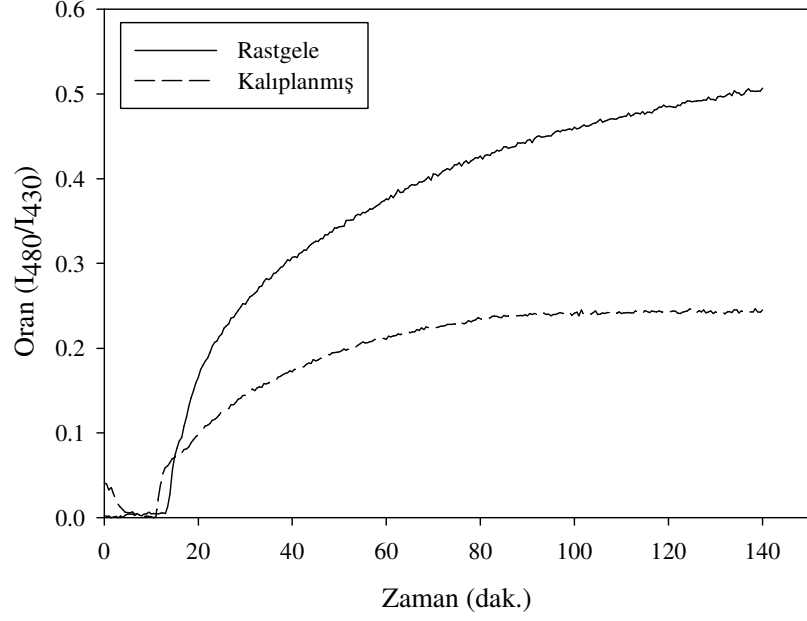
Şekil 3.16: 2M Rastgele (R) ve Kalıplanmış (K) NIPA jellerinin, jelleşme öncesi (a) ve sonrası (b) spektrumları.

Şekil 3.18 ve 3.19'a baktığımızda oranlar beklendiği gibi 6M jel için daha büyüktür. Çünkü 6M jelin a  yapısı 2M jele göre daha sıktır, dolayısıyla yoğun bir yapıya sahiptir. Bu yoğunluk piranin moleküllerinin daha küçük bölgelerde (yerel olarak) birbirlerine daha yakın olmalarına sebep olmaktadır. Yine her iki jelde de rastgele ve kalıplanmış jeller için oranlar birbirlerinden farklıdır. Bunun sebebi kalıplanmış jellerde piranin ile maktak molekülleri arasındaki kompleks yapıdır. Bu kompleks yapı kalıplanmış jellerdeki piranin moleküllerinin birbirlerine yeterince yakın gelmesini engellemektedir.

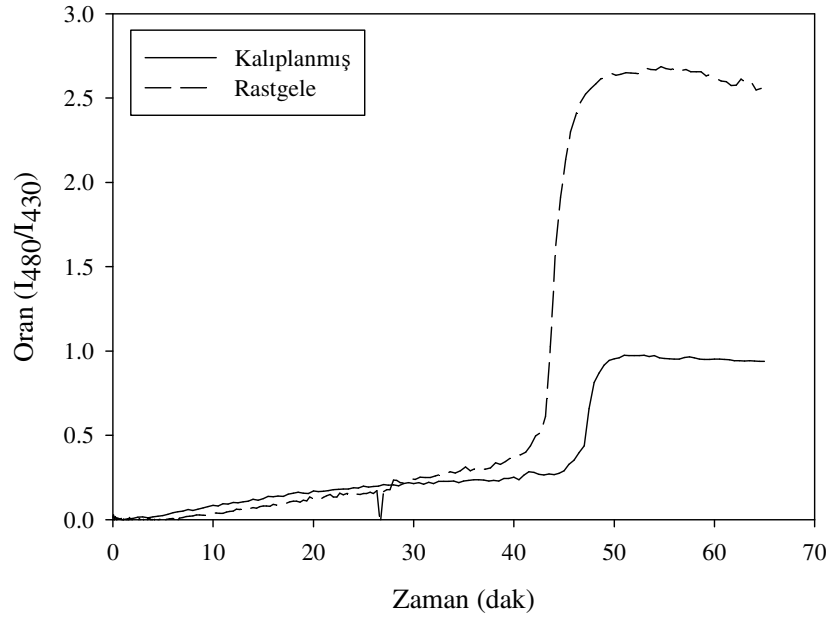


Şekil 3.17: 6M Rastgele (R4) ve Kalıplanmış (K4) NIPA jellerinin, jelleşme öncesi (a) ve sonrası (b) spektrumları.

6M'lık jelde rastgele ve kalıplanmış jellerin oranları 2M'lık jele göre daha farklıdır. Bunun en önemli sebebi 6M'lık jeldeki reaksiyonun ve kompleks yapıları çevreleyen düzenli bölgelerin daha hızlı meydana gelmesidir. Hızlı bir şekilde oluşan ağ yağıda kompleksler kendilerine uygun yerler bulup buralarda yaşamaya devam etmektedirler. 2M'lık jelde ise hem reaksiyonun 6M'lık jele göre daha yavaş olması hem de ağ yapının daha geniş olması sonucunda kompleks yapının kendine uygun bir yer bulana kadar bozulma olasılığı yüksektir. Bozulan her kompleks yapı kalıplama etkisinin daha da azalması anlamına gelmektedir. Bu yüzden de 2M'lık jelde kalıplanmış ve rastgele jeller arasındaki fark 6M'lık jele göre daha azdır.



Şekil 3.18: 2M NIPA jelinin jelleşme sürecinde Ekzimer (I_{480})/Monomer (I_{430}) oranının rastgele (R) ve kalıplanmış (K) jeller için zamanla değişimi.



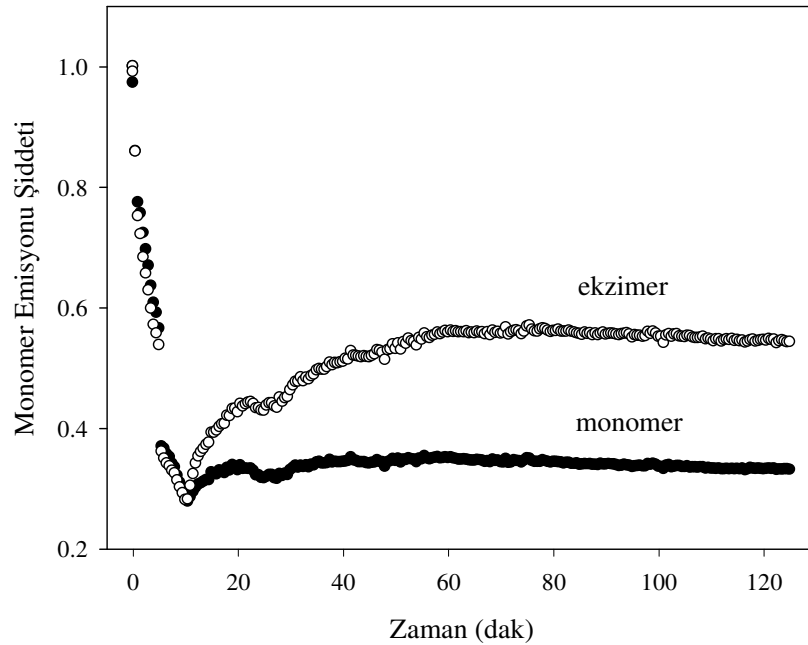
Şekil 3.19: 6M NIPA jelinin jelleşme sürecinde Ekzimer (I_{480})/Monomer (I_{430}) oranının rastgele (R4) ve kalıplanmış (K4) jeller için zamanla değişimi.

3.4 Kalıplanmış ve Kalıplanmamış Jel Sentezi

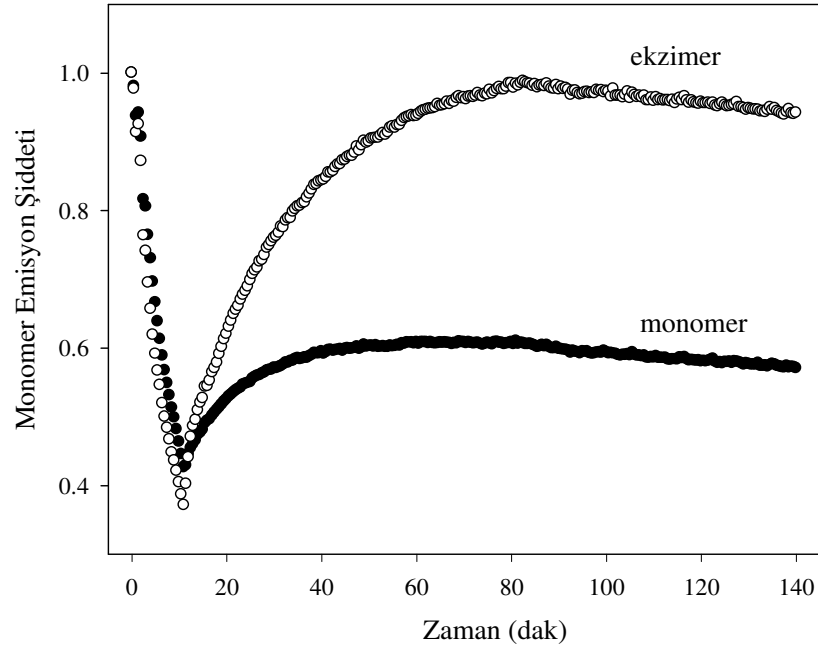
Şekil 3.20 ve Şekil 3.21'de 2M'lık rastgele ve kalıplanmış NIPA jellerindeki piranın molekülüne ait monomer ve ekzimer emisyonlarının jelleşme süresince değişimi görülmektedir. Bu şekiller beraber incelendiğinde emisyon şiddetleri ilk olarak

azalmakta daha sonra ise artmaktadır. Azalmanın nedeni jelleşmeye doğru sistemin opaklığının artmasıdır. Bu artış ortam içine giren uyarma ışığı şiddetini azaltarak uyarılan piranın molekülü sayısının dolayısı ile de emisyon şiddetlerinin azalmasına sebep olmaktadır. Jel noktası geçildikten sonra ise sistemin opaklığı tekrar azalarak eski haline dönmekte ve vizkozitenin de artmasıyla emisyon şiddetleri yukarıdaki şekillerde de görüldüğü gibi tekrar artmaktadır. Aynı zamanda ekzimer emisyonunun monomer emisyonuna göre daha fazla arttığını yine bu şekillerden görmekteyiz. Yani piranın molekülleri jelleşme sonuna doğru birbirlerine ekzimer oluşturacak kadar yakın gelebilmektedirler.

Dikkat çekici diğer bir nokta ise kalıplanmış jeldeki emisyon şiddetinin jelleşme sonunda rastgele jele göre daha fazla olmasıdır. Bu kalıplanmış jelin daha homojen olmasına işaret ediyor olabilir. Böylece jel içine daha fazla ışık girmekte ve daha fazla piranın molekülü uyarılarak emisyon şiddeti artmaktadır.

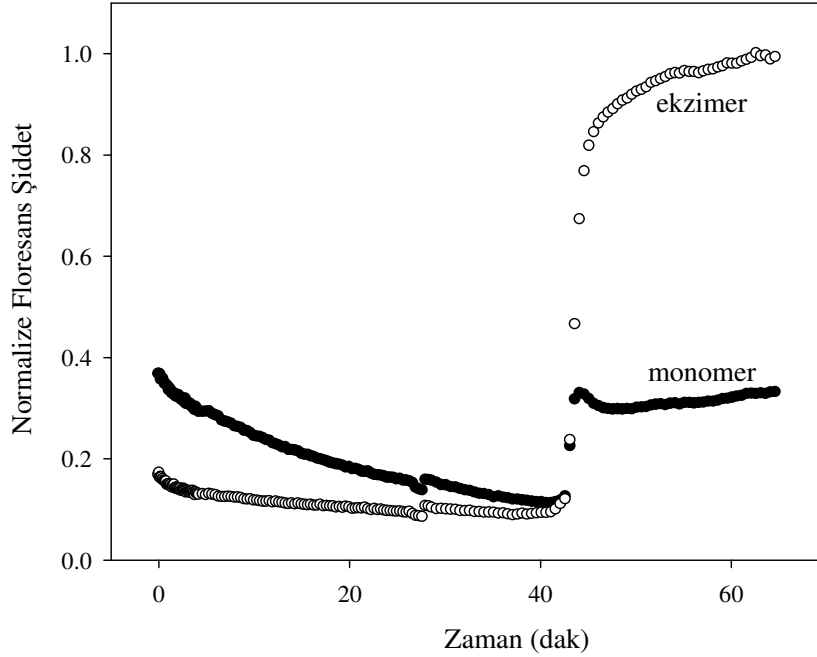


Şekil 3.20: 2M'lık rastgele NIPA jelinde piranın molekülünün monomer ve ekzimer emisyonlarının jelleşme süresince değişimi.



Şekil 3.21: 2M’lık kalıplanmış NIPA jelinde piranin molekülünün monomer ve ekzimer emisyonlarının jelleşme süresince değişimi.

Şekil 3.22 ve 3.23’te ise rastgele ve kalıplanmış 6M’lık NIPA jellerindeki piranin molekülüne ait ekzimer ve monomer emisyonlarının jelleşme süresince değişimi görülmektedir. Başlangıçtaki emisyon 2M’lık jellerde olduğu gibi sistemin opaklık artışından dolayı azalmaktadır. Jelleşme sonuna doğru her iki örnek içinde monomer ve ekzimer emisyonu artmakta ancak ekzimer emisyon şiddetinin monomer emisyon şiddetine oranı rastgele jelde çok daha büyük olmaktadır. Yani piranin moleküllerinin büyük bir kısmı ekzimer emisyonu yapacak şekilde bir araya gelmektedirler. Bunun sebebi kalıplanmış jelde piranin moleküllerinin maptak molekülleri ile kompleks oluşturmaları sonucunda maptaklar tarafından dengeli bir biçimde tutulmalarıdır. Bu kompleks yapılar jel içinde dağılarak piranin moleküllerinin bir araya gelmeleri engellenmektedir. Ancak rastgele jelde durum böyle değildir. Jel içinde herhangi bir kompleks yapı olmadığı için piranin molekülleri rahatça hareket edebilmekte ve bir araya gelebilmektedirler. Bu sonuç başlı başına jellerin içinde kompleks yapıların yaşayıp yaşamadığını gösteren bir sonuçtur.



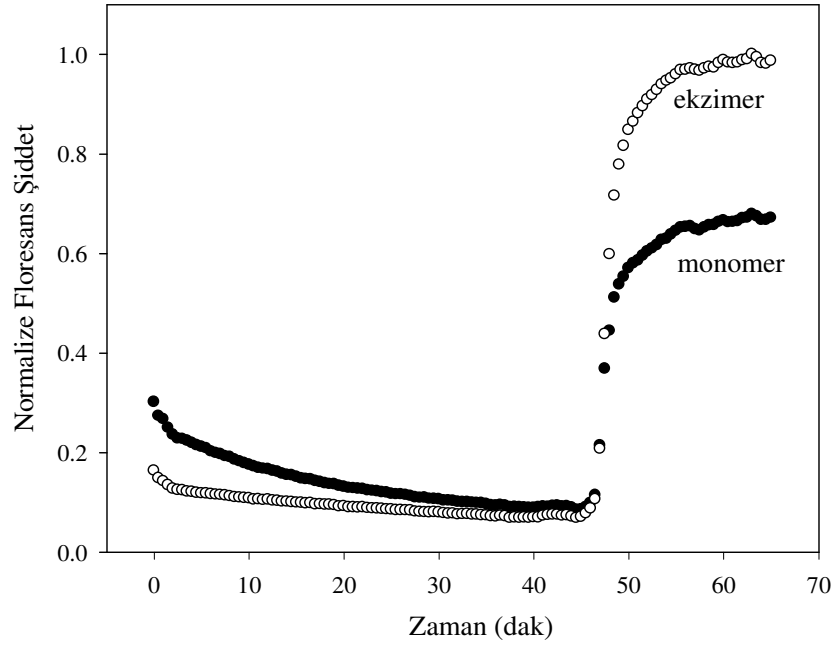
Şekil 3.22: 6M'lık rastgele (R4) NIPA jelinde piranin molekülünün monomer ve ekzimer emisyonlarının jelleşme süresince değişimi.

Literatürde NIPA jelleri için monomer derişimine bağı olarak kalıplanma etkisinin 6M'da gözlemlendiğı bildirilmektedir. Şekil 3.20'den Şekil 3.23'e kadar olan şekiller beraberce değeriendirildiğinde 2M'lık jeller için kalıplanma etkisi gözlemlenemezken 6M'lık jeller için bu fark bariz olarak görülmektedir. Literatürdeki bu bilgi değışik bir şekilde doğrulanmıştır.

Şekil 3.24'te 0.1M HCl asit içinde yıkanan 6M kalıplanmış NIPA jeline ve yıkama suyuna ait spektrumlar verilmiştir. Bu spektrumlar 400nm'lik uyarma dalgaboyu ile uyarılma sonucu alınmıştır.

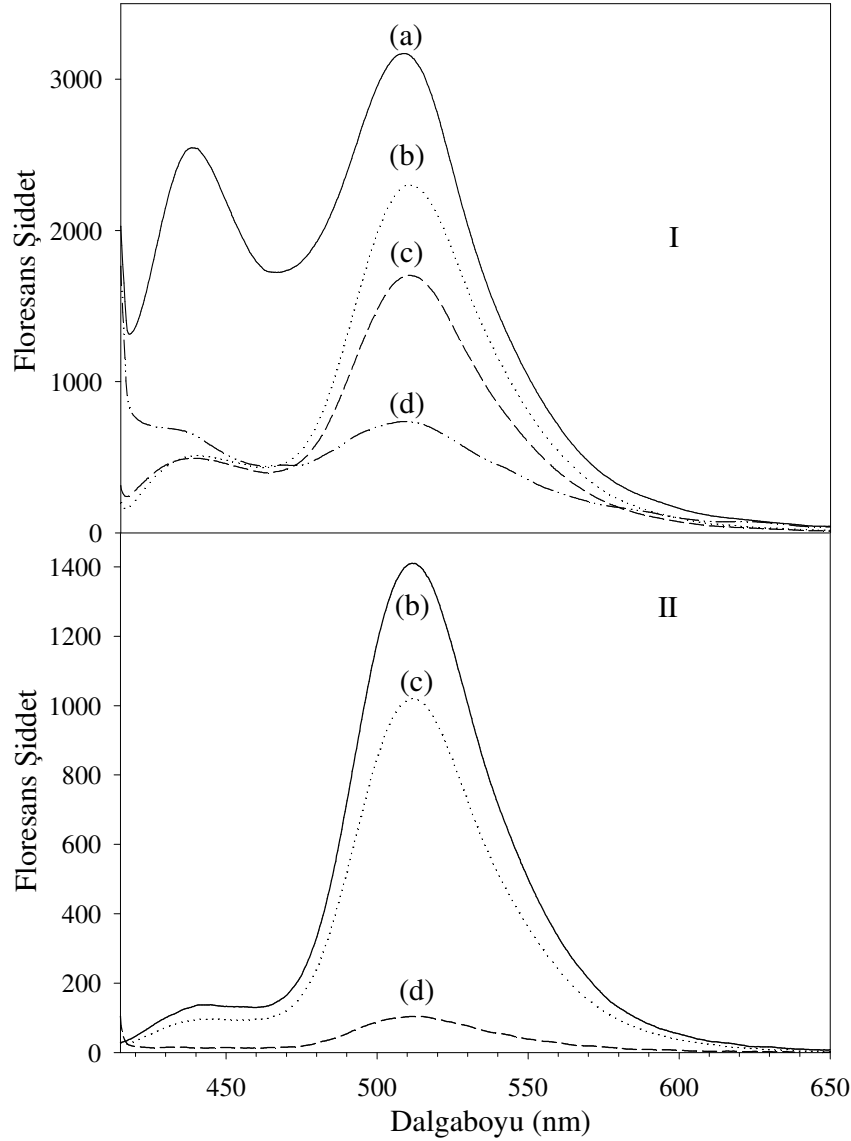
Kuru haldeki (çökmüş) jelin spektrumuna bakıldığında hem 440nm hem de 510nm'de iki pik görülmektedir. 440 nm'deki pik normalde OH üzerindeki hidrojenini atamayan veya O üzerinden kimyasal olarak başka bir moleküle bağlanan ve SO_3^- 'ler üzerinden elektrostatik etkileşme yapan piranin'e aittir [70]. Bizim sentezlediğimiz NIPA jelinde 440 nm'de, kuruyken yüksek şiddette ve ilk yıkamada belirgin bir şekilde azalan, bir şiddet görüyor olmamız jel ortamında sentez şartlarından gelen DMSO'nun varlığını göstermektedir. Zira sentez DMSO çözücü ortamında gerçekteşirilmıştir. Daha önce yapılan çalışmalarda piranin molekülünün DMSO içinde asidik bir ortamdaki davranışı ile aynı davranışı sergilediğı ortaya

konmuştur [72]. Ancak baz ortamında yıkamaya ait sonuçlar buna ek başka durumların da olabileceğini göstermektedir.



Şekil 3.23: 6M'lık kalıplanmış (K4) NIPA jelinde piranin molekülünün monomer ve ekzimer emisyonlarının jelleşme süresince değişimi.

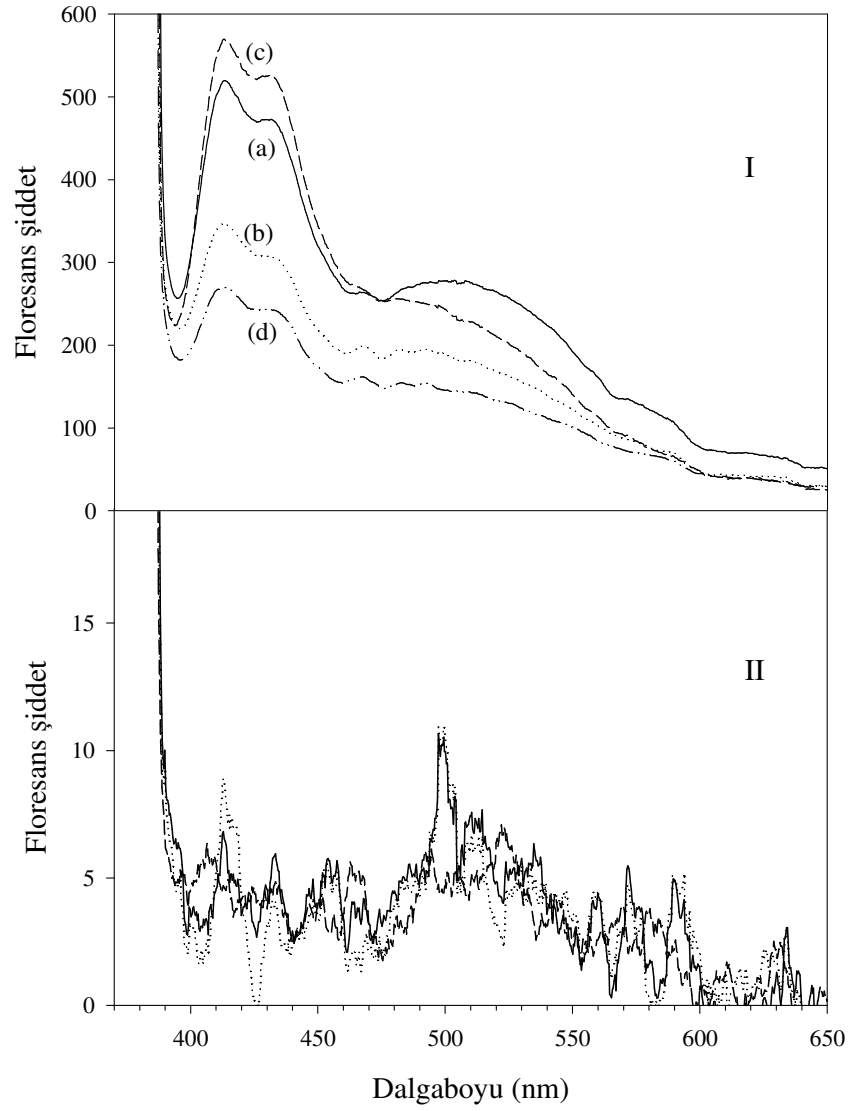
Şekil 3.25'de asitte yıkanan jelin NaOH içinde yıkanmasına ait spektrumlar görülmektedir. Buradaki spektrumlar 370nm'lik foton ile uyarmalar sonucunda alınmıştır. Jel spektrumlarına bakıldığında 414 ve 432nm'ler de baskın olan geniş bir pik görmekteyiz. Ve oldukça fazla yıkamalar sonucunda dahi bu pik var olmaya devam etmekte yani moleküller jel içerisinde kalmaktadırlar. Ayrıca yıkama suyundaki spektrumlara baktığımızda da suya herhangi bir molekülün çıkmadığını görmekteyiz. Bu sonuçlar bize, piranin moleküllerinin bir kısmının jele kimyasal olarak bağlanabileceği ve bu piranin moleküllerinden bir ve birden fazla bacadan maptaklar ile elektrostatik olarak etkileşenlerin olabileceği ihtimalini göstermektedir. Yakın zamanda yaptığımız bir çalışmada piranin moleküllerinin akrilamid polimer zincirlerine bağlanabileceğini göstermiş ve yayınlamış bulunmaktayız [70].



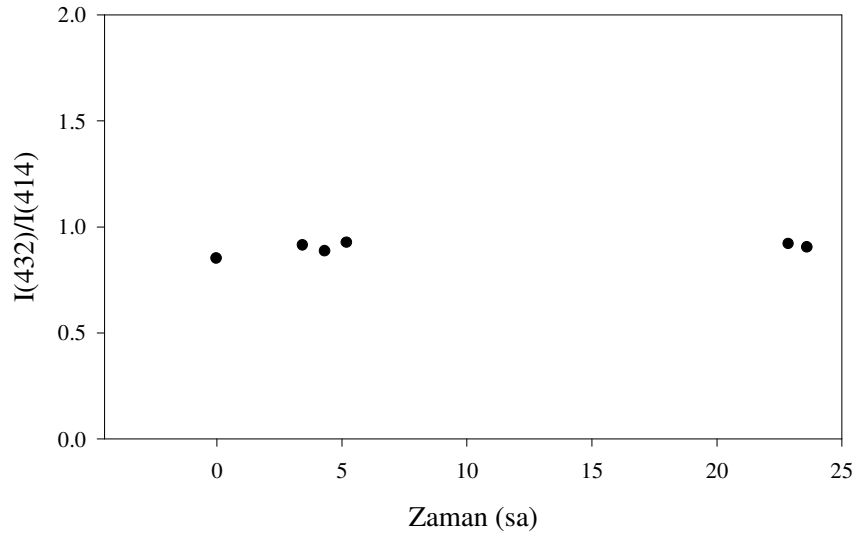
Şekil 3.24. Kalıplanmış (K4) NIPA jelinin 0.1M HCl içinde yıkanması sırasında piranin molekülüne ait spektrumlar (I:jelden alınan spektrumlar ((a)=kuru jel, (b)=5.27s, (c)=10.13s, (d)=120.85sa, II:Yıkama suyundan alınan spektrumlar (b)=5.27s, (c)=4.86s, (d)=20.25sa).

Şekil 3.26’da baz içinde yıkanan NIPA jelindeki piranin molekülünün 370 nm ile uyarılması sonucu elde edilen emisyon şiddetlerinin oranının, $I(432\text{nm})/I(414\text{nm})$, yıkama zamanına bağlı olarak değişimi verilmektedir. Bu oran yıkama zamanı süresince hemen hemen sabittir. Buda yıkama zamanı içerisinde ortamda bulunan bol miktardaki Na^+ iyonu nedeniyle bir, iki veya üç SO_3^- grubu üzerinden etkileşen piranin’lerin sayısında değişim olmadığını göstermektedir. Buda bir şekilde kimyasal bağlanan piranin’lerin olabileceğine işaret etmektedir. Benzer sonuçlar

kalıplanmamış jel içinde gözlemlenmiştir. Aynı şekilde piranin molekülünün bir kısmı polimer zincirlerine kimyasal olarak bağlanmaktadır.



Şekil 3.25. Kalıplanmış (K4) NIPA jelinin 0.1M NaOH içinde yıkanması sırasında piranin molekülüne ait spektrumlar (I:jelden alınan spektrumlar ((a)=3.45s, (b)=4.33s, (c)=5.22s, (d)=23.65s, II:Yıkama suyundan alınan spektrumlar).



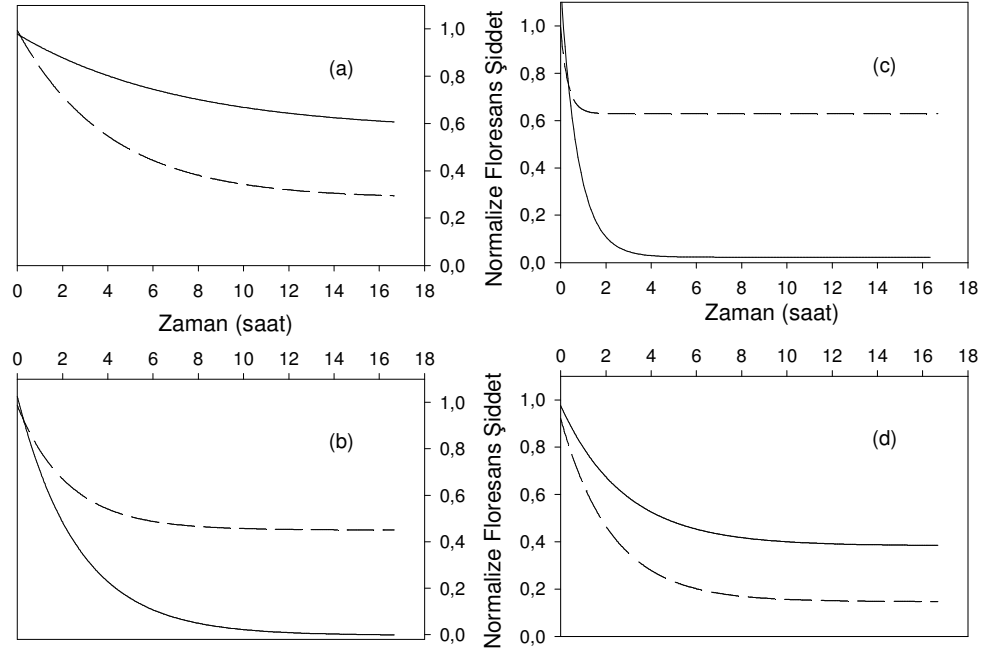
Şekil 3.26. Kalıplanmış (K4) NIPA jelinin 0.1M NaOH içinde yıkanması sırasında piranin molekülüne ait 432 nm emisyon şiddetinin 414nm'deki emisyon şiddetine olan oranının yıkama zamanı ile değişimi (uyarma dalgaboyu 370nm'dir).

3.5 Difüzyon Deneyleri

Bu bölümde kalıplanmış ve rastgele jellere farklı durumlarda piranin molekülü difüzyonu sonuçları verilecektir. İlk olarak jellerin içine atıldığı piranin çözeltisi derişimi değiştirilecek ve daha sonra sırasıyla sabit piranin derişiminde sıcaklık, pH ve tuz miktarları değiştirilerek gerçekleştirilen difüzyon deneylerinin sonuçları verilecektir.

3.5.1 Difüzyonun çözelti derişimine bağıllığı

Şekil 3.27'de kalıplanmış ve rastgele jellerin dört farklı piranin çözeltisi içindeki difüzyon sonuçları verilmiştir. Bu şekilde çözelti içindeki piranin molekülünün 400nm'lik uyarma sonucunda gönderdiği 515nm'deki emisyon şiddeti zamana göre gözlemlenmiştir. Şekillerden görüldüğü gibi 515nm'deki şiddet bütün örnekler için azalmaktadır. Buda çözelti içindeki piranin moleküllerinin miktarının azaldığını dolayısıyla piranin moleküllerinin jel içine difüzyon yoluyla girdiğini göstermektedir.



Şekil 3.27: İçinde aynı ölçü ve miktarlarda kalıplanmış (K1, sürekli çizgi) ve rastgele (R1, kesikli çizgi) NIPA jeli bulunan değişik piranin derişimlerin-deki çözeltilerde 515nm’deki floresans şiddetlerinin zamanla değışimi (Piranin derişimleri: (a)= 10^{-5} M, (b)= 5×10^{-6} M, (c)= 10^{-6} M, (d)= 5×10^{-7} M).

Şekil 3.27’ye baktığımızda bazı piranin derişimlerinde (5×10^{-6} M, 10^{-6} M) jele giren piranin molekülü miktarı kalıplanmış jel için oldukça fazladır. Diğer iki derişim değeriinde ise rastgele jel için fazladır.

Çizelge 3.2’de ise bu piranin derişimlerindeki difüzyonlara ait difüzyon katsayıları verilmiştir. Rastgele jeldeki difüzyon katsayıları tüm derişimler için kalıplanmış jelden daha büyüktür.

Dış çözeltili derişimine bağılı olarak yapılan bu deneylerde kalıplanmış ve rastgele jeller arasındaki farklılık kararlı değildir. Bunun iki nedeni vardır. Birincisi difüzyon deneylerinde herhangi bir elektrolit (tuz) kullanılmamıştır. Elektrolitin yokluğunda piranin molekülleri bir bacadan da, iki bacadan da, üç bacadan da maptak molekülleri ile etkileşebilmektedirler. Hâlbuki jelin seçici olabilmesi için çoğunlukla üç bacadan bağlama yapması gerekmektedir. Belli miktardaki elektrolitin varlığı seçiciliği mümkün hale getirebilmektedir [46]. İkinci bir etkide çapraz bağlayıcı (BIS) derişiminin az yani jeldeki ağ yapının daha gevşek olmasıdır. Düşük BIS derişimlerinde jel içerisinde yeteri kadar büyük boşluklar kalabilmekte ve bu

boşluklar özel geometrik şekil kazanamamaktadır [38, 39]. Reaksiyon anında istenilen geometriyi kazanmış bölgelerde tekrar şişme ve çökme durumunda geometrilerini koruyamamaktadırlar. Buda jelin seçicilik özelliğinin azalması hatta yok olması demektir.

Çizelge 3.2: Kalıplanmış (K1) ve rastgele (R1) jeller için değişik piranin derişimlerdeki difüzyon katsayıları.

Piranin Derişimi (μM)	$D_{\text{KJ}} (\times 10^{-5})$	$D_{\text{RJ}} (\times 10^{-4})$
10	0.679 ± 0.002	0.117 ± 0.002
5	1.707 ± 0.006	0.233 ± 0.005
1	5.854 ± 0.112	1.412 ± 0.008
0.5	1.642 ± 0.003	0.202 ± 0.004

3.5.2 Difüzyonun sıcaklığa bağıllığı

Şekil 3.28’de rastgele NIPA jeline piranin moleküllerinin 30, 40 ve 60°C’lerdeki difüzyon sürecinin başlangıcında ve bitiminde alınan spektrumlar verilmiştir. Spektrumlar jelin içinde bulunduğu piranin çözeltilerinden alınmıştır. Bu şekle bakıldığında düşük sıcaklıklarda yani jelin şişmiş olduğu durumda piranin moleküllerinin jele difüzyonları daha fazladır. Bu aslında beklenen bir durumdur. Çünkü jel şiştikçe içindeki gözeneklerde büyümekte ve bu gözeneklere piranin molekülleri daha rahat girebilmektedirler. Yüksek sıcaklıkta ise jel çökmekte ve gözenekler oldukça küçülmektedir. Bu geometrik kısıtlamadan dolayı piranin moleküllerinin difüzyonu oldukça güçleşmektedir. Spektrumdan da bunu görmekteyiz.

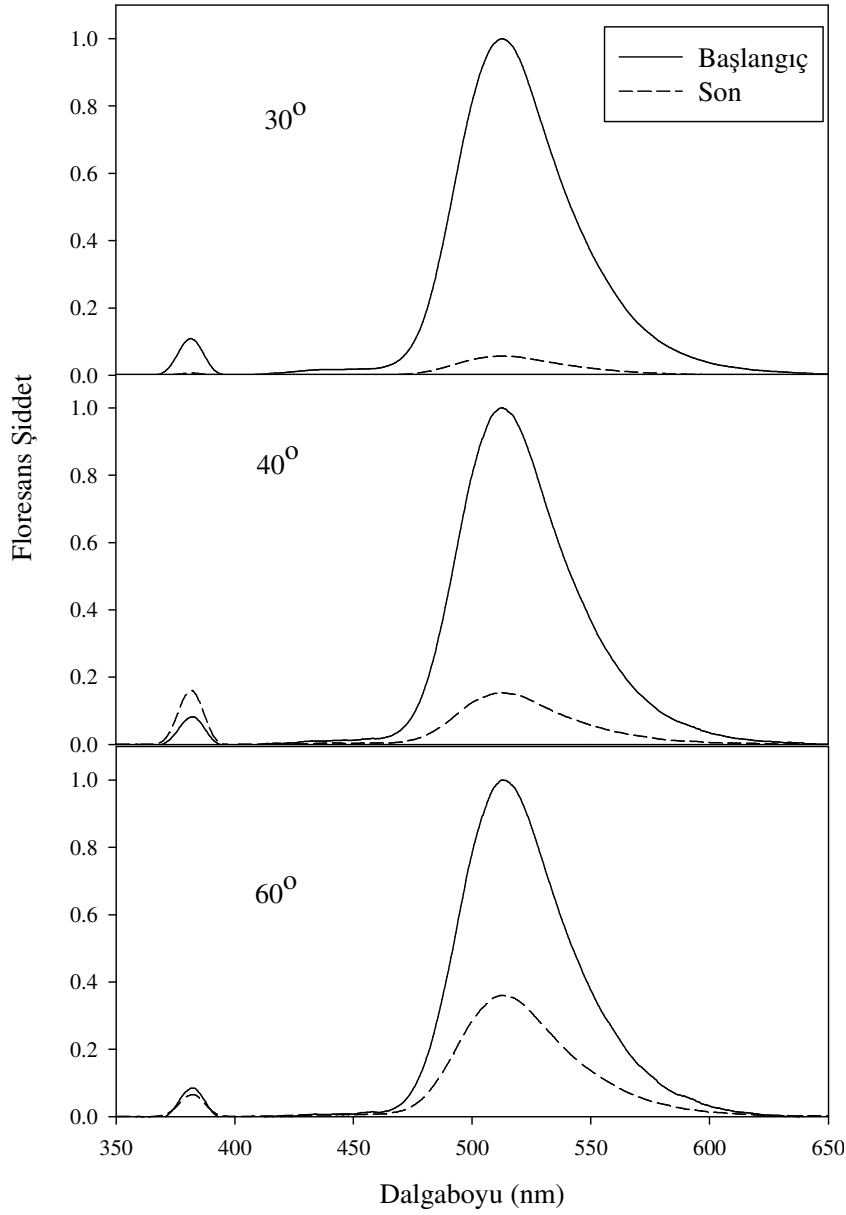
Şekil 3.29’de ise aynı deney kalıplanmış jel için tekrarlanmıştır. Ancak sonuçlar rastgele jel için elde edilen sonuçlardan farklıdır. Düşük sıcaklıklardaki (30 ve 40°C) difüzyon 60°C’deki difüzyondan daha azdır. İlk bakışta garip gelen bu durum kalıplanma açısından değerlendirildiğinde anlaşılır hale gelmektedir. Kalıplanmış jel 60°C’de uygun geometrik düzene gelir. Çünkü 60°C reaksiyon sıcaklığıdır yani başlangıçtaki geometrik düzen bu sıcaklıkta oluşturulmuştur. 60°C’deki başlangıçta tuhaf gibi karşılaşılan hızlı difüzyonun iki şekilde açıklanabilmesi mümkündür. Bunlardan birinin geometrik düzenin getirdiği avantaj olduğunu düşünüyorum. Bu geometrik düzen, deney sonuçlarından da anlaşılacağı gibi, piranin molekülleri için uygun geometrik yerlerin oluşmasının yanında piranin moleküllerinin yerlerine

gitmesini kolaylaştıracak bir düzen anlamına da gelebilir. Diğer bir açıklama ise Donnan potansiyeli açısından yapılabilir. Jel şişmiş durumdayken, kalıplanmış veya rastgele jelde, yüzeye yakın büyük gözeneklere hızlı bir piranin difüzyonu gerçekleşmekte ve buralarda piranin derişimi dolayısıyla yük miktarı oldukça artmaktadır. Bu hızlı artan yük miktarı jelin iç ve dış yük farkını ortadan kaldırıp difüzyonun yavaşlamasını veya sonlanmasını sağlayabilir. 60°C’deki kalıplanmış jelde ise böyle aşırı yük birikmelerinin olacağı bölgeler olmadığı için difüzyon daha fazla olmaktadır. Bunu destekler nitelikte başka bir veride Çizelge 3.3’de verilen difüzyon katsayılarıdır. Bu çizelgede 60°C için rastgele jelin difüzyon katsayısı kalıplanmış jelden daha büyüktür. Buda daha önce bahsettiğimiz gibi rastgele jeldeki büyük gözeneklerin varlığından kaynaklanmaktadır. Bu gözeneklere piraninler çok hızlı girmekte ve difüzyon kısa sürede doyuma ulaşp fazla piranin molekülü girmesi engellenmektedir.

Çizelge 3.3: Kalıplanmış (K4) ve rastgele (R4) jeller için değişik sıcaklıklardaki difüzyon katsayıları.

Sıcaklık (°C)	$D_{KJ} (x10^{-4})$	$D_{RJ} (x10^{-4})$
30	2.83 ± 0.01	0.73 ± 0.02
40	1.17 ± 0.03	2.52 ± 0.12
60	5.82 ± 0.12	9.04 ± 0.01

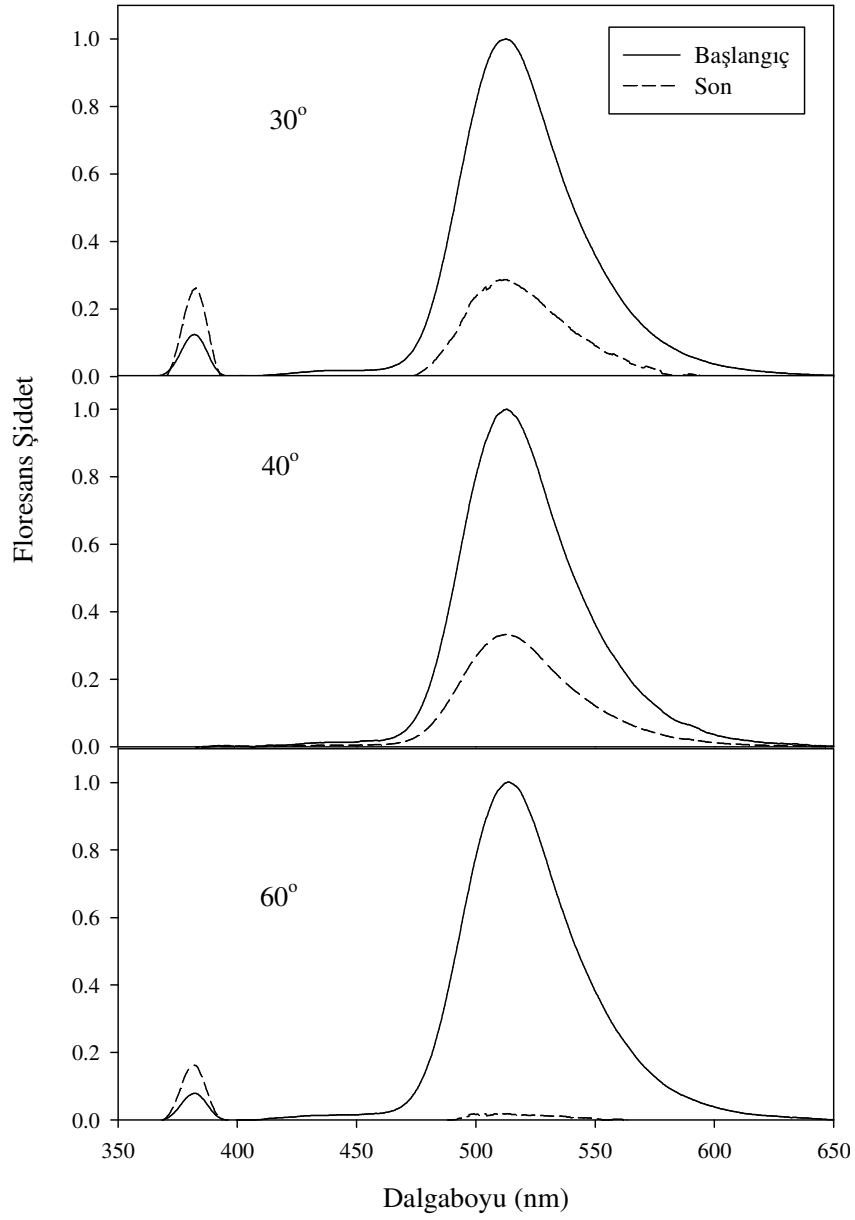
Difüzyon süreci boyunca piranin molekülünün 515nm’deki emisyon şiddeti zamana bağlı olarak gözlemlenmiş ve sonuçlar tüm sıcaklıklar için kalıplanmış ve rastgele jelleri içerecek şekilde Şekil 3.30’da verilmiştir. 30°C’deki difüzyona bakıldığında kalıplanmış ve rastgele jeller arasında herhangi bir fark görülmemektedir. Buda beklenen bir sonuçtur. Çünkü her iki jelde şişmiştir ve piranin moleküllerinin difüzyonunun kolay olabilmesi için yeteri kadar geniş gözeneklere sahiptirler.



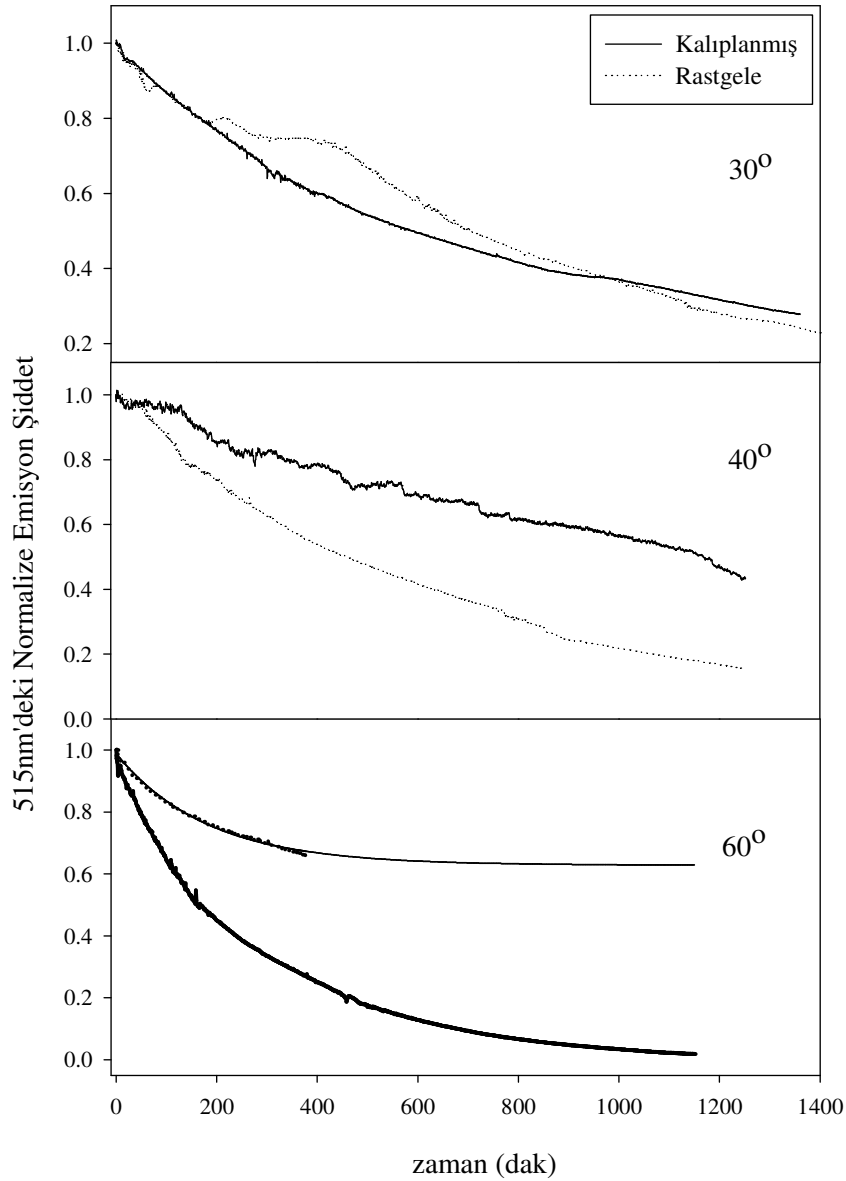
Şekil 3.28: Rastgele (R4) NIPA jelinde değişik sıcaklıklarda difüzyon başlangıcı ve sonunda piranin çözeltilerinden alınan spektrumlar.

40°C’de ise rastgele jelde daha fazla piranin molekülü difüzyonunun görmekteyiz. Bu sonucun kalıplanmış ve rastgele jellerin mikro yapılarının zaman içinde nasıl düzene girdiği hakkında hatta kalıplama etkisi ile ilgili bilgi verebileceği düşünülebilir. Çünkü 40°C jelin tam çökme sıcaklığı değildir. Jel hala belli miktar şişmiş durumdadır. Ancak kalıplanmış jelde jelin reaksiyon anındaki geometrik düzenine doğru hızlı bir gidiş söz konusudur. Rastgele jelde ise böyle bir durumdan bahsedemeyiz. Ayrıca rastgele jel bu sıcaklıkta

kalıplanmış jele göre daha büyük gözeneklere sahiptir. Bundan dolayı da daha fazla piranin molekülü difüzyonu gözlemlenmektedir.



Şekil 3.29: Kalıplanmış (K4) NIPA jelinde değişik sıcaklıklarda difüzyon başlangıcı ve sonunda piranin çözeltilerinden alınan spektrumlar.



Şekil 3.30: Değişik sıcaklıklarda kalıplanmış (K4) ve rastgele (R4) NIPA jelleri için difüzyon süresince piranin çözeltisinden alınan spektrumun 515nm'deki emisyon şiddetinin zamanla değişimi.

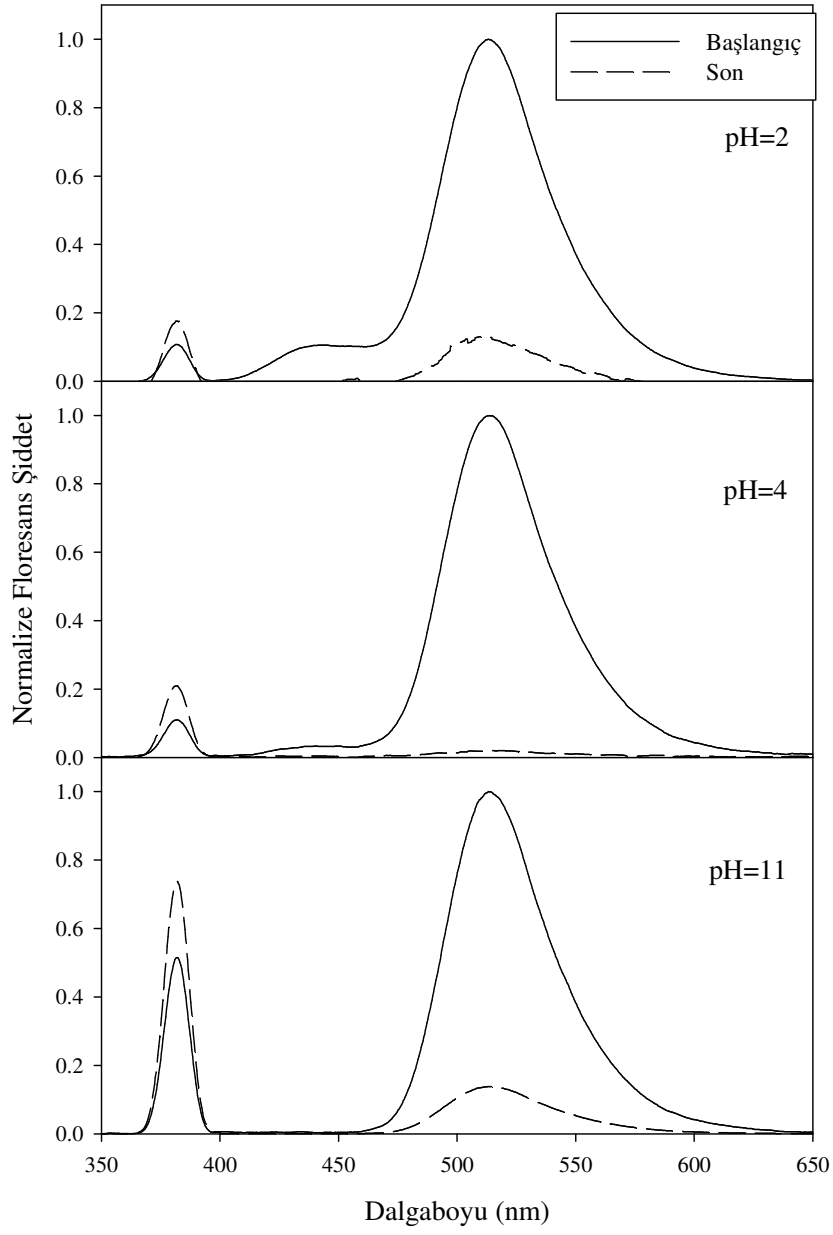
60°C'de ise kalıplanmış jel reaksiyon (kalıplama) anındaki çökme durumuna yani en uygun geometrik düzene gelmiştir. Rastgele jelin ise başlangıçtaki geometrik yapısından daha küçük bir geometrik yapıya geldiğini söyleyebiliriz. Çünkü reaksiyon anında jel içinde piranin molekülleri vardı ancak difüzyon deneyleri öncesinde jeller tamamen yıkanmış ve piranin moleküllerinin büyük bir çoğunluğu çıkartılmıştır. Daha önce piranin molekülleri bulunan gözenekler piranin moleküllerinin dışarı çıkması sonucu çökmüşler ve jelin daha küçük bir hacime gelmesine neden olmuşlardır. Kalıplanmış jelde de piranin molekülleri yıkama

sonucu dışarı çıkartılmışlardır. Ancak reaksiyon anında oluşan ve 3 pozitif yüklü maptak molekülü içeren piranin yuvalarının geometrisi korunmaktadırlar. Bu 3 pozitif yüklü maptak moleküllerinin arasındaki elektrostatik etkileşme jelin büzülme yönünde yaptığı baskıyı dengelemekte ve yuvaların geometrisini koruyarak jelin en uygun geometrik düzende kalmasını sağlamaktadırlar. Yıkanmış rastgele jelin daha küçük bir geometrik yapıya gelmesi piranin moleküllerinin bu jel içine difüzyonunu zorlaştırmakta ve bu yüzden kalıplanmış jelde difüzyon yoluyla giren piranin miktarı çok daha fazla olmaktadır.

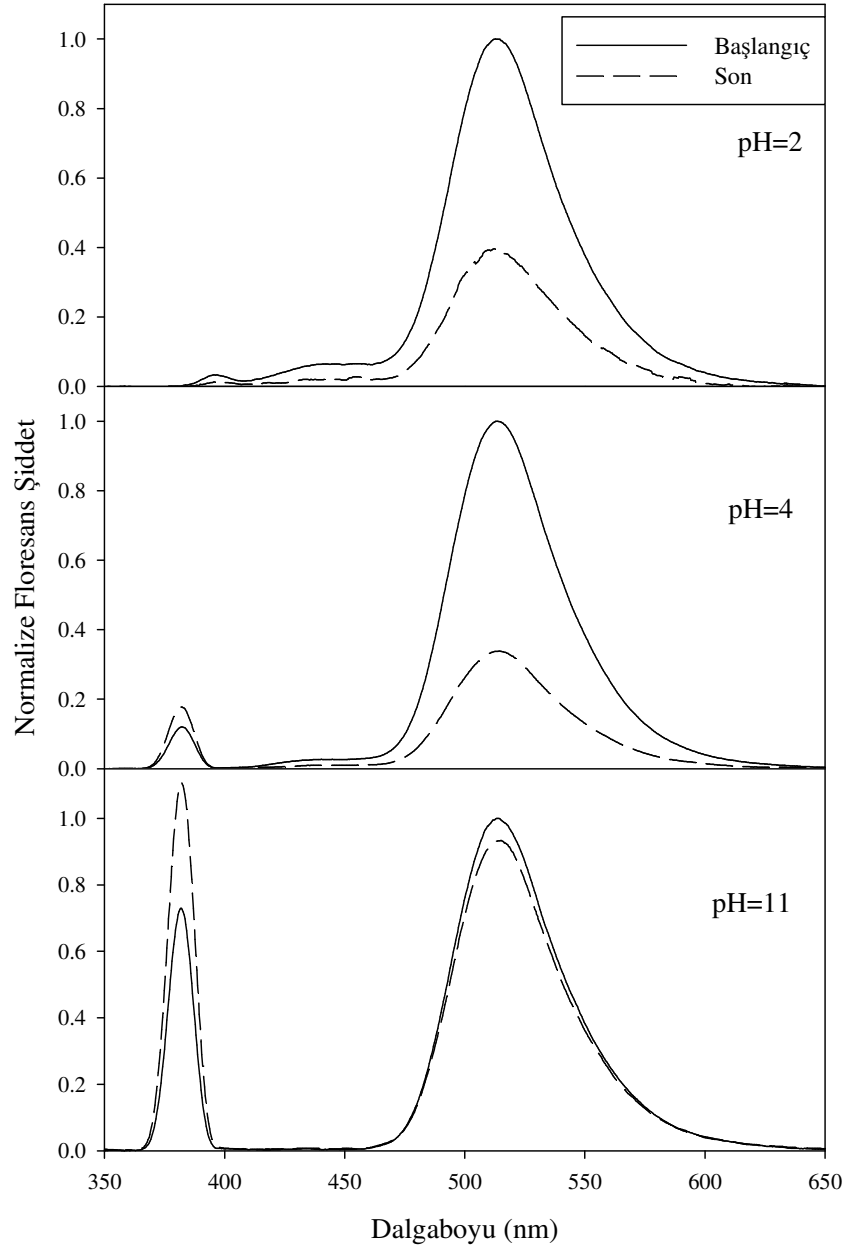
3.5.3 Difüzyonun çözeltinin pH'ına bağlılığı

Şekil 3.31'de değişik pH değerlerindeki $5 \times 10^{-6} \text{M}$ piranin çözeltisi içindeki kalıplanmış NIPA jeline piranin difüzyonu sürecinin başlangıcı ve sonunda çözeltilerden alınan spektrumlar verilmiştir. Bu spektrumlara bakıldığında her pH değeri için jellere piranin difüzyonu gerçekleşmiştir. Ancak $\text{pH}=4$ değerinde difüzyon maksimumdur. Bunun iki sebebi olabilir. Bunlardan ilki jellerin $\text{pH}'ı$ yaklaşık 4 olan bir çözelti ortamında sentezlenmiş olmalarıdır. Difüzyon ortamının pH değeri bu değere yaklaştıkça difüzyon daha verimli olmaktadır. İkinci bir sebep ise $\text{pH}=2$ ve $\text{pH}=11$ değerlerinde ortamda oldukça fazla H^+ , Cl^- , Na^+ ve OH^- iyonlarının olmalarıdır. Düşük pH değerlerinde Cl^- iyonları, yüksek pH değerlerinde ise OH^- iyonları jelle piranin moleküllerinden daha hızlı difüz edip Donnan potansiyeli dengesini sağladıkları düşünülebilir. Bol miktardaki H^+ veya Na^+ iyonları da piranin moleküllerini çevreleyip etrafında kümelenip molekül boyutunu büyütürken difüzyonu zorlaştırıyor olabilirler.

Şekil 3.32'da ise değişik pH değerlerindeki $5 \times 10^{-6} \text{M}$ piranin çözeltisi içindeki rastgele NIPA jeline piranin difüzyonu sürecinin başlangıcı ve sonunda çözeltilerden alınan spektrumlar verilmiştir. Yine bu şekilde de kalıplanmış jelde gözlemlenen bir sonuç görülmektedir. Kalıplanmış jeldeki kadar baskın olmasa da $\text{pH}=4$ değerindeki difüzyon diğer pH değerlerinden daha büyüktür. Bunun sebeplerinin kalıplanmış jellerde bahsedilen sebepler ile aynıdır.

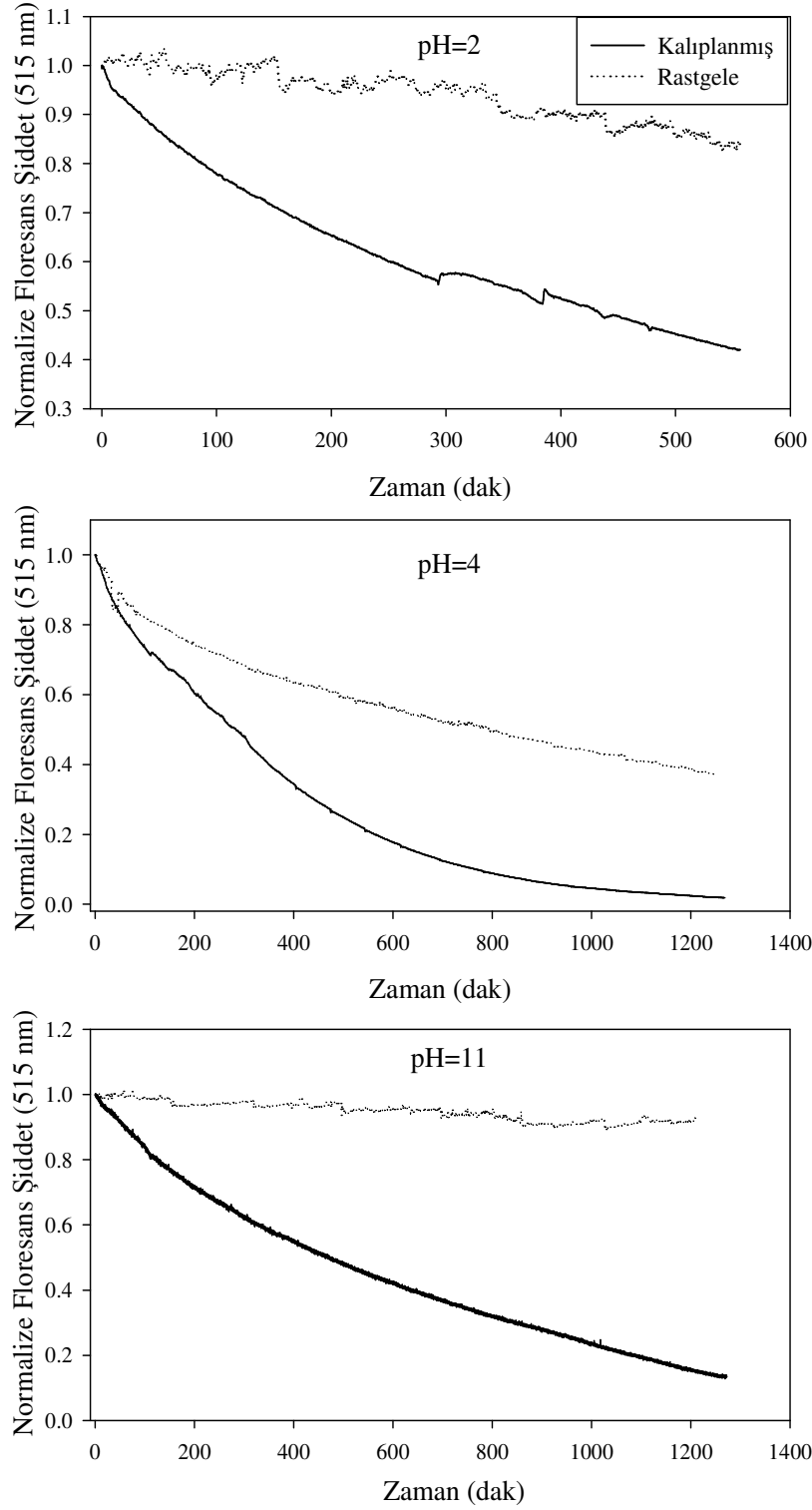


Şekil 3.31: Değişik pH değerlerindeki 5×10^{-6} M piranin çözeltisi içindeki kalıplanmış (K3) NIPA jeline piranin difüzyonu sürecinin başlangıcı ve sonunda çözeltilerden alınan spektrumlar.



Şekil 3.32: Değişik pH değerlerindeki $5 \times 10^{-6} \text{M}$ piranin çözeltisi içindeki rastgele (R3) NIPA jeline piranin difüzyonu sürecinin başlangıcı ve sonunda çözeltilerden alınan spektrumlar.

Şekil 3.33’de her pH değeri için kalıplanmış ve rastgele jellere piranin difüzyonunun zamanla değişimi karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Zamanla izlenen büyüklük, çözelti içindeki piranin molekülünün 515nm’deki emisyon şiddetidir.



Şekil 3.33: Değişik pH değerlerindeki $5 \times 10^{-6} \text{M}$ piranin çözeltisi içindeki kalıplanmış (K3) ve rastgele (R3) NIPA jellerine piranin difüzyonu sürecinde piranin molekülünün 515nm'deki emisyon şiddetinin zamana göre değişimi.

Zaman ilerledikçe bu şiddet azalmakta buda piranin moleküllerinin jel içine difüzyon yoluyla girdiğini göstermektedir. Difüzyon yolu ile giren piranin miktarı her pH değeri için kalıplanmış jelde daha büyüktür.

Çizelge 3.4’de değişik pH değerlerindeki çözelti içerisinde kalıplanmış ve rastgele jellere olan difüzyon sürecindeki difüzyon katsayıları verilmiştir. Tüm pH değerlerinde kalıplanmış jel için olan difüzyon katsayıları rastgele jel için olandan daha büyüktür.

Çizelge 3.4: Kalıplanmış (K3) ve rastgele (R3) jeller için değişik pH değerlerinde difüzyon katsayıları.

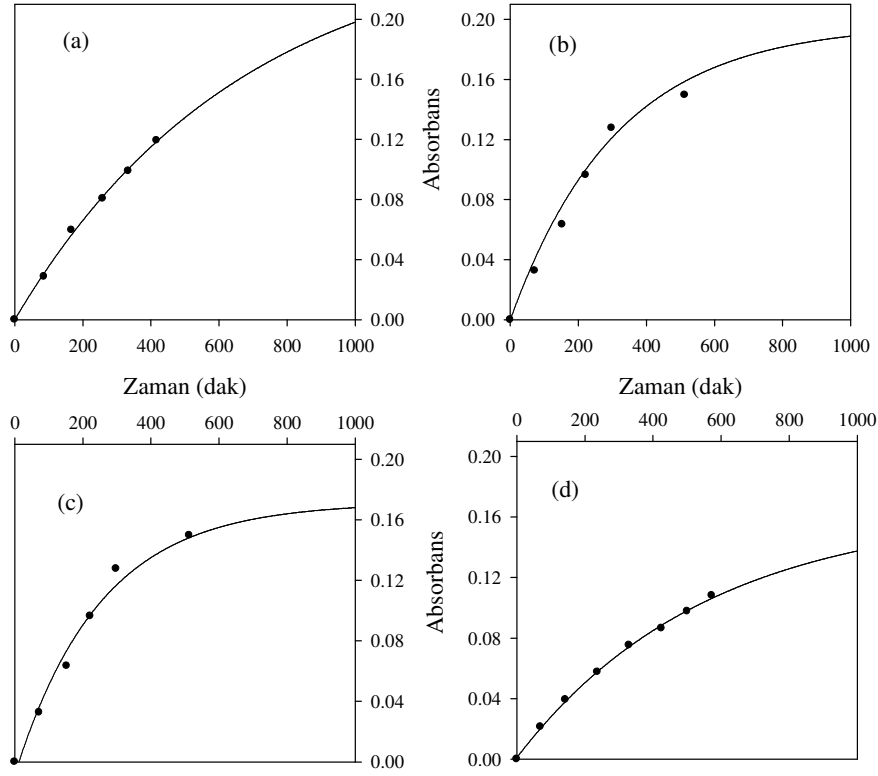
pH	$D_{KJ} (x10^{-4})$	$D_{RJ} (x10^{-4})$
2	$2.966 \pm 0,008$	$0.893 \pm 0,005$
4	$3.792 \pm 0,011$	$1.933 \pm 0,007$
11	$2.431 \pm 0,007$	$1.293 \pm 0,007$

Şekil 3.31, 3.32, 3.33 ve Çizelge 3.4 beraber değerlendirildiğinde her pH değeri için kalıplanmış jelle difüzyon yolu ile giren piranin miktarı rastgele jelden daha büyüktür. Bunun en önemli sebebi jellerin mikro yapılarının birbirlerinden farklı olmalarıdır. Rastgele jel içinde oldukça büyük gözenekler mevcuttur, yani daha heterojen bir yapıya sahiptir. Bu büyük gözeneklerin sebebi reaksiyon anında kümeler haline gelip jelin bazı bölgelerinde biriken moleküllerdir. Jel yıkanınca bunlar dışarı çıkmış ve yerlerinde büyük boşluklar bırakmışlardır. İşte difüzyon esnasında bu boşluklarda biriken moleküller jelin içi ve dışı arasında meydana getirdikleri iyon dengesi dolayısıyla difüzyonun yavaşlayıp sonlanmasına neden olmaktadır.

3.5.4 Difüzyonun çözeltinin tuz derişimine bağıllığı

Şekil 3.34 ve 3.36’da sırasıyla rastgele ve kalıplanmış jellerin içinde bulunduğu piranin çözeltisinden 10’ar µl alınıp UV spektrofotometresinde bulunan ölçüm kabına konularak alınan UV spektrumunda 403nm’deki absorpsiyon şiddetinin zamana göre değişimi verilmiştir. Deney 50, 100, 150 ve 200mM’lık dört farklı tuz çözeltisi için yapılmıştır. Her iki şekilden de görüldüğü gibi şiddetteki artış miktarı zaman ilerledikçe azalmakta ve doyuma gitmektedir. Çünkü difüzyon kabındaki piranin miktarı difüzyon sonucu gitgide azalmaktadır. Doyuma gittiği değer ise artı

difüzyonun sonlandığı değerdir. Doyum değerleri tuz derişimi arttıkça azalmaktadır ve bu sonuç literatür ile uyumlu bir sonuçtur [39].



Şekil 3.34: Değişik tuz derişimlerinde rastgele jele (R4) piranin difüzyonunun UV absorpsiyonunun zamana göre değişimi (50mM (a), 100mM (b), 150mM (c) ve 200mM (d)).

Şekil 3.35 ve 3.37’de jelin piranin moleküllerine olan duygunluğunun tuz derişimine olan bağıllığı verilmiştir. Duygunluk jelin ne kadar piranin molekülü absorbladığının bir ölçüsüdür ve aşağıdaki bağıntı ile ifade edilir [39].

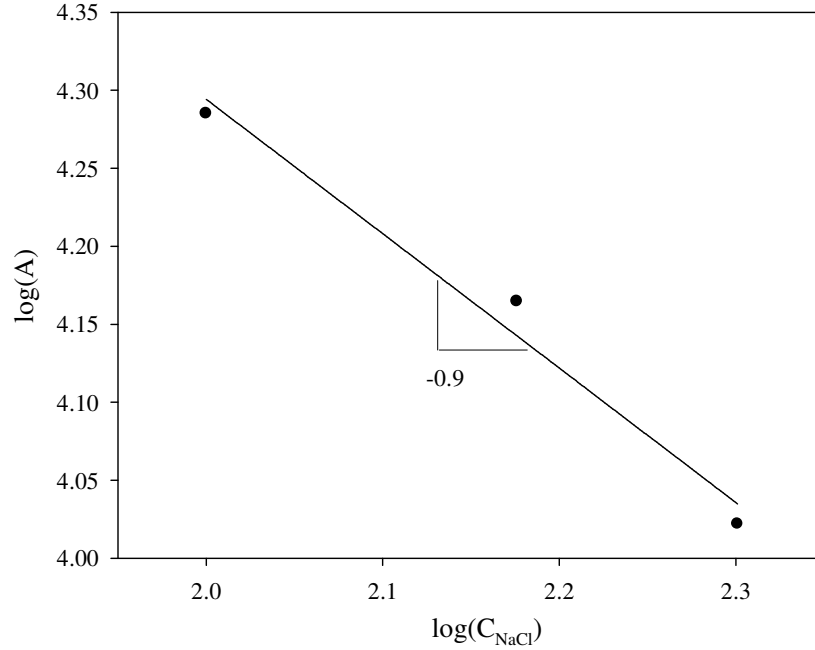
$$A = \frac{C_{abs}}{C_{\text{çöz}}} \quad (4.1)$$

Bu denklemdeki A: Duygunluk, C_{abs} : Jeldeki difüzyon yolu ile giren piranin derişimi, $C_{\text{çöz}}$: Çözeltideki piranin derişimidir.

Tanaka’ya göre duygunluğun tuz derişimine olan bağıllığı aşağıdaki bağıntı ile verilmektedir.

$$A = C_{NaCl}^{-p} \quad (4.2)$$

Bu denkleme göre duygunluk tuz derişiminin $-p$ kuvveti ile orantılı. Bu p sayısı jele difüzyon yolu ile gönderilen molekülün jel içerisinde kaç farklı türden etkileşme yapabileceğini gösteren bir sayıdır.



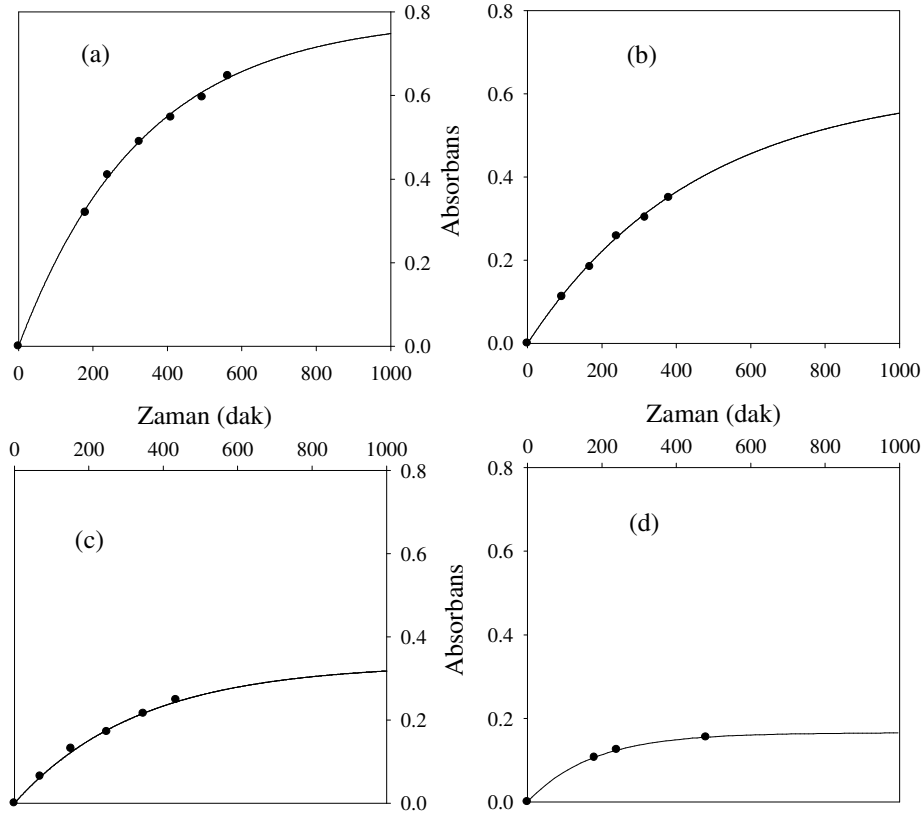
Şekil 3.35: Rastgele (R4) jelin piranin moleküllerine olan duygunluğunun NaCl derişimi ile değişimi.

Bizim çalışmamızda kullandığımız hedef molekül piranin'in etrafında 3 tane SO_3^- grubu vardır ve bunlar üzerinden 3 tane farklı maptak molekülü ile elektrostatik etkileşme yapabilir. Şekil 3.35'e baktığımızda rastgele jel için bu p sayısının 0.9 ± 0.1 yani yaklaşık 1 olduğunu görürüz. Buda rastgele jel içindeki piranin moleküllerinin çoğunlukla 1 tane SO_3^- üzerinden etkileştiğini göstermektedir. Dolayısıyla rastgele jel içinde arzu edilen aynı anda 3 SO_3^- üzerinden etkileşme mümkün değildir. Buda rastgele jel için beklenen bir sonuçtur.

Şekil 3.37'den p sayısının 3.1 ± 0.9 olduğu görülmektedir. Buda bizim kullandığımız piranin moleküllerinin yapabileceği etkileşim sayısına eşittir. Bu sonuçlar literatürde daha önce Tanaka tarafından yapılan benzer deneylerin sonuçları ile oldukça uyumludur. Difüzyonun tuz derişimine olan bağılılığının UV analizi bizim çalışmamızın literatür ile olan uyumunun sınanması için gerçekleştirilmiştir.

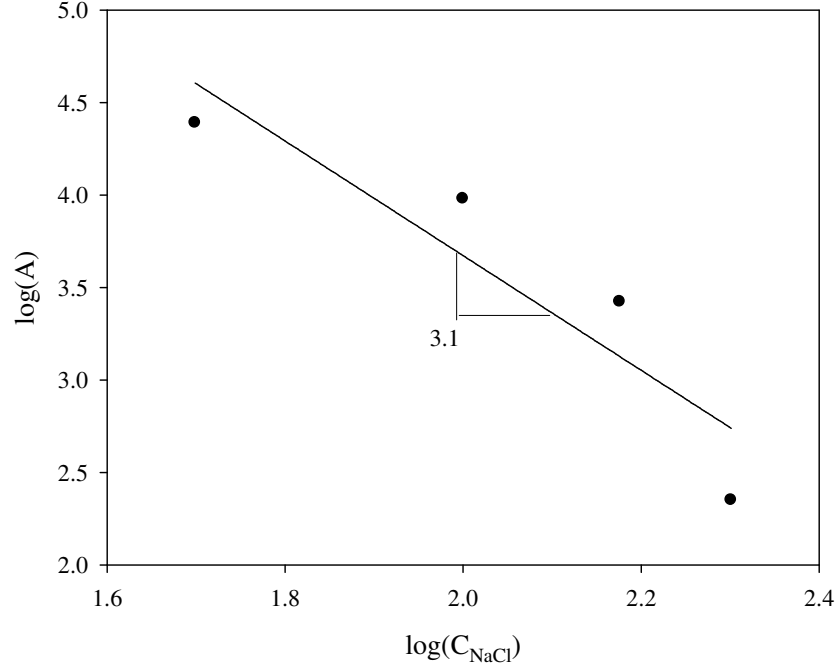
Şekil 3.38 ve 3.39'de rastgele ve kalıplanmış jellerin difüzyon sonrasında alınan floresans spektrumları verilmiştir. Rastgele jelden alınan spektrumlarda emisyon maksimumu 50mM ve 100mM'lık tuz çözeltilerinde 525nm'ler civarındadır. Tuz

derişimi 150mM ve 200mM olduğunda ise spektrumda 430nm civarında ikinci bir şiddet gözlemlenirken 525nm'deki maksimumda 510nm civarına kaymıştır. Kalıplanmış jelde ise başlangıçta 525nm'de gözlemlenen emisyon maksimumu tuz derişimi arttıkça 520nm civarına kaymaktadır. Rastgele jele göre bu kayma çok daha az ve ek olarak 430nm civarında herhangi bir emisyon gözlemlenmemiştir. Bu önemli bir noktadır.



şekil 3.36: Değişik tuz derişimlerinde kalıplanmış (K4) jele piranin difüzyonunun UV absorpsiyonunun zamana göre değişimi (50mM (a), 100mM (b), 150mM (c) ve 200mM (d)).

Daha önce bahsettiğimiz piranin ile maptak molekülleri arasındaki kompleksleşmeyi izlediğimiz deneylerde sulu maptak çözeltisi içindeki piranin derişimi arttıkça piraninin spektrumu 525nm'ler civarına kaydığı gözlemlenmiştir. Piranin derişiminin artması piraninin üç tane SO_3^- üzerinden üç tane maptak ile etkileşme olasılığının artması anlamına gelir.

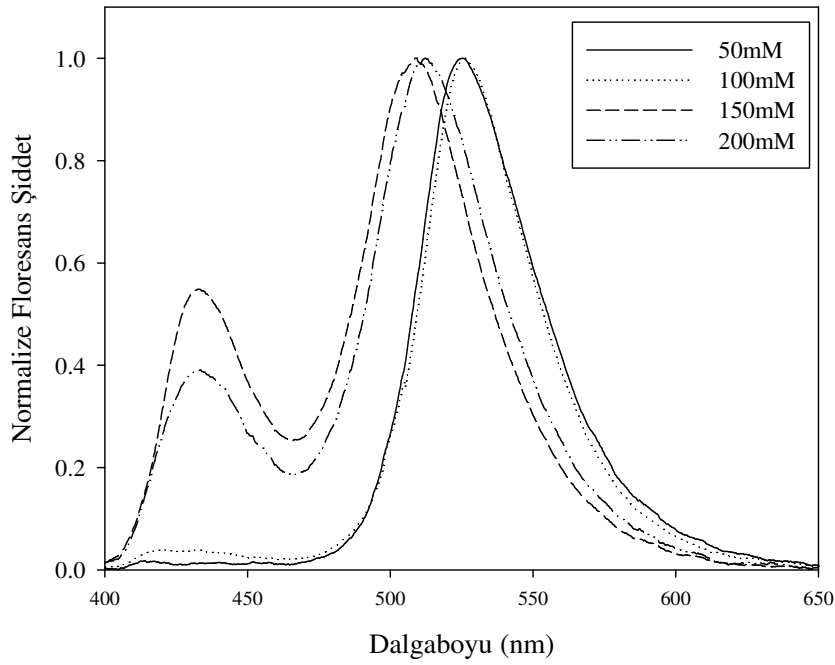


Şekil 3.37: Kalıplanmış (K4) jelin piranin moleküllerine olan duygunluğunun NaCl derişimi ile değişimi.

Şekil 3.38 ve 3.39’da rastgele ve kalıplanmış jellerden difüzyon sonrası alınan spektrumlarda düşük tuz derişimlerinde 525nm civarında gözlemlenen emisyon bize ilk olarak piranin moleküllerinin jel içinde üç tane SO_3^- grubu üzerinden elektrostatik etkileşme yaptığını göstermektedir. Kalıplanmış jelde bu etkileşmeler jelleşme anında piraninlere uygun geometride oluşan özel boşluklara (kalıplara) giren piranin moleküllerinin buradaki üç tane maptak molekülü ile yaptığı elektrostatik etkileşmelerdir. Ancak rastgele jelde durum biraz farklıdır. Çünkü rastgele jelde kalıplanmış jelde olduğu gibi piranin molekülleri için üç tane maptak molekülünün olduğu özel boşluklar yoktur. Belki çok az miktarda oluşmuş olabilir ancak spektrumda önemli değişikliğe sebep verecek kadar olmadığını tuz derişimini arttırdığımızda spektrumdaki kaymalardan anlamaktayız.

Rastgele jelde düşük tuz derişimlerinde 525nm civarındaki emisyon jelin büyük gözenekleri içinde tuz moleküllerinin oluşturduğu köprüler üzerinden kümelenmiş piraninlerden geldiği olasılığı yüksektir. Piraninler arasındaki tuz köprüleri piraninin SO_3^- grupları üzerinden elektrostatik bağlarla gerçekleşmekte ve gözenekler içindeki piraninler proton transferi yapabilmektedirler. Bu yüzden bu piraninlerin emisyonu kalıplanmış jelde özel geometrik boşluklarda üç tane maptak ile elektrostatik etkileşerek 525nm’de emisyon yapan piraninlerle aynıdır. Ancak tuz derişimini

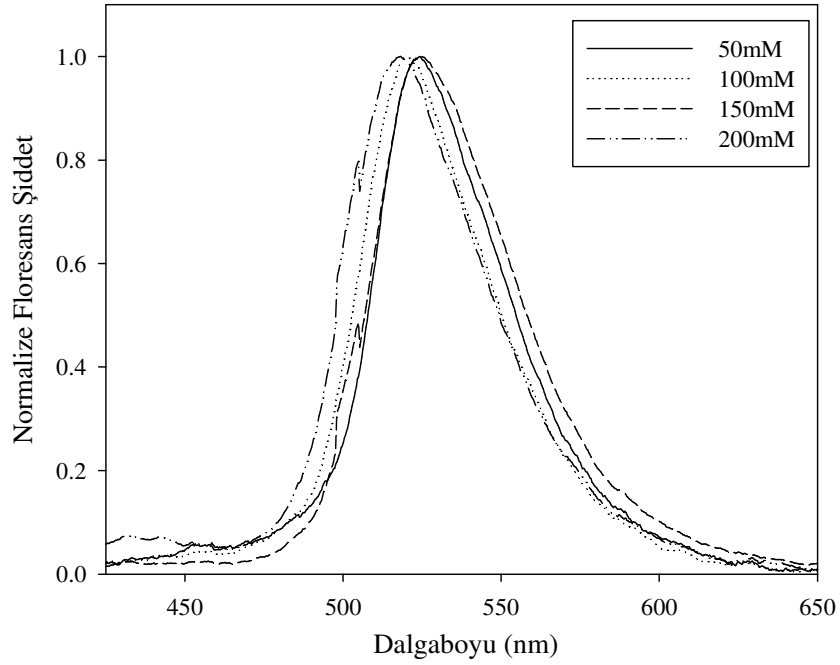
arttırdığımızda durum farklılaşmaktadır. Yüksek tuz derişiminde piranin kümeleri dağılıp parçalanmış olup her bir SO_3^- grubu ucunda bir tuz kümesi bulunan piraninler vardır. Bunları bir kısmı da yüksek Na^+ derişimi dolayısıyla da OH grubundaki hidrojenini Na^+ ile yerdeğıştirir [72]. Daha önce yaptığımız çalışmada da [72] gözlemlediğimiz üzere hidrojenini sodyum ile değıştiren piranin molekülleri 430nm civarında emisyon yaparlar. Yüksek tuz derişiminde gözlemlenen 430nm'deki emisyon bu piraninlerden gelmektedir. 525nm'deki emisyonun 510nm civarına kayması ise SO_3^- gruplarına takılı olan tuz kümeleri ile olan etkileşme hızının sadece Na^+ ile olan etkileşme hızından daha yavaş olması ve floresans gözlem zamanı içerisinde bu etkileşmelerin sanki yokmuş gibi davranmasından kaynaklanıyor olabilir.



Şekil 3.38: Değışik tuz derişimlerinde rastgele (R4) jele piranin difüzyonu sonunda jelden alınan floresans spektrumları (uyarma dalgaboyu 400nm'dir).

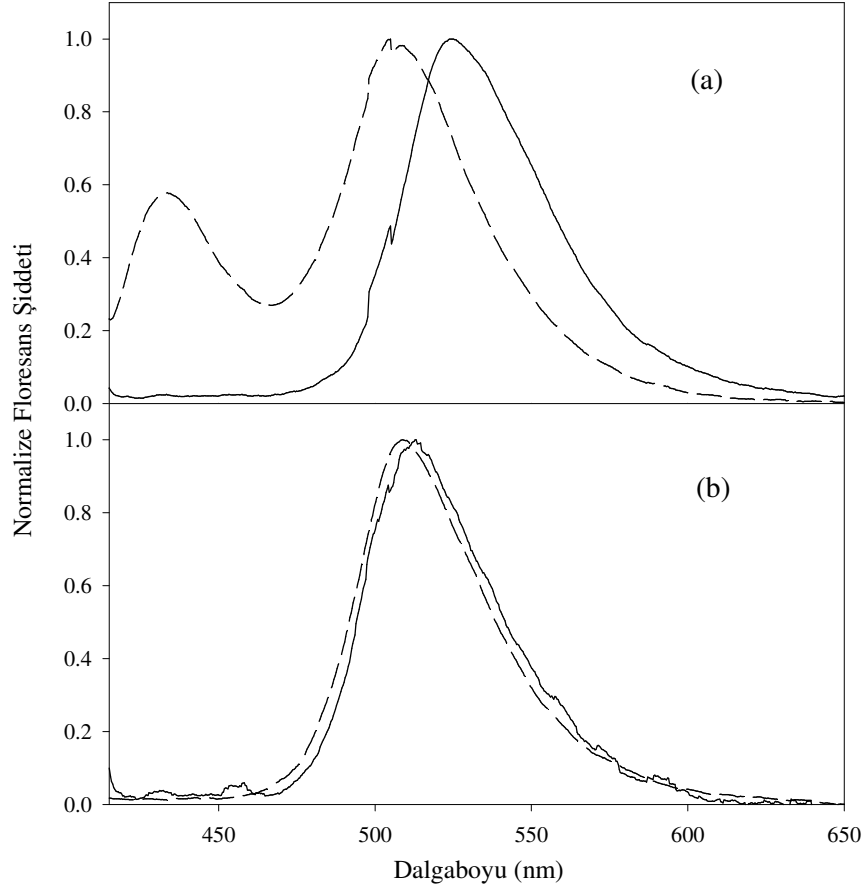
Kalıplanmış jelde ise artan tuz derişimi ile spektrumda birkaç nanometrelik çok küçük kaymalar olmuştur. Bunun sebebi ortamda bulunan bol miktardaki Cl^- iyonlarının özel geometrideki boşluklarda maptaklar ile etkileşen piraninlerin bir kısmının SO_3^- etkileşmelerini yok etmesidir. Ancak bu oran çok miktardaki Cl^- iyonuna rağmen fazla değıildir. Çünkü fazla olsaydı spektrum Şekil 3.38'deki gibi 510nm civarına kayması gerekiyordu. Değıişimin az olması piranin moleküllerinin

jelin sahip olduğu özel geometrik yuvalarda, kalıplarda, maptak molekülleri vasıtasıyla korunuyor olmasıdır.



Şekil 3.39: Değişik tuz derişimlerinde kalıplanmış (K4) jele piranin difüzyonu sonunda jelden alınan floresans spektrumları (uyarma dalgalıoyu 400 nm'dir).

Şekil 3.40'te ise kalıplanmış ve rastgele jellerin çökmüş ve şişmiş durumlarındaki spektrumları verilmiştir. Çökmüş durumdan kastımız reaksiyon anındaki fiziksel durum, şişmişten kastımız ise jelden dışarıya piranin difüzyonuna sebep olmayacak kadar az miktardaki saf su içinde jelin şişmesidir. Şekil 3.40'daki çökmüş durumdaki spektrumları yukarıdaki paragraflarda daha önce tartışmıştık. Şekil 3.40b'de jellerin şişmiş durumdaki spektrumlarına baktığımızda emisyon maksimumu 510nm civarına kaymış ve jeller arasında önemli bir fark kalmamıştır. Bu beklenen bir sonuçtur. Rastgele jelde ortama su girip jel şişince gözenekler büyümekte ve çökmüş durumdayken kümelenmiş olan piranin molekülleri gerek su miktarının gerekse gözenek hacminin artmasıyla birbirlerinden uzaklaşmakta ve oldukça serbest hale gelmektedirler. Kalıplanmış jelde ise ortama su girip jel şişince piranin molekülleri için jelde mevcut olan özel yerlerde genişlemekte ve piranin molekülleri üzerindeki SO_3^- grupları ile maptak molekülleri arasındaki etkileşmeler ortadan kalkmaktadır. Buda spektrumun kaymasına neden olmaktadır.



Şekil 3.40: Değişik tuz derişimlerinde kalıplanmış (K4, sürekli çizgi) ve rastgele (R4, kesikli çizgi) jele piranin difüzyonu sonunda çökmüş (a) ve şişmiş (b) durumlarda jelden alınan floresans spektrumları (uyarma dalgaboyu 400 nm'dir).

Difüzyonun tuz derişimine bağılılığı konusunda yapılan floresans ölçümlerindeki spektrum kaymalarından jel içine difüzyon yolu ile girmiş piranin moleküllerinin durumlarının belirlenmesi ve UV deneyleri ile sentezlediğimiz jellerin hem teori hem de literatür ile olan uyumu ile ilgili bilgi edinmek mümkün olmuştur.

4. SONUÇLAR, YORUMLAR VE ÖNERİLER

Jellerin hedef molekül kullanılarak kalıplama çalışmalarında en önemli nokta jelleşme sırasında hedef molekül ile algılayıcı ünite arasındaki kompleks yapının bozulmaması yani kararlı olmasıdır. Kısım 3.3'te bu tez kapsamında sentezlenen jellerin, 2M ve 6M kalıplanmış ve rastgele NIPA jelleri, içindeki komplekslerin kararlılığı ile ilgili ölçümler verilmiştir. Bu ölçümlere göre rastgele jellerdeki piraninlerin floresans spektrumları jelleşme sonuna doğru hızlı bir şekilde ekzimere doğru kaymaktadır. Bu hem 2M hem de 6M'lık jeller içinde aynıdır. Bunun en önemli sebebi bu jeller içinde kompleks yapıların (bir piranin molekülünün üç maptak tarafından çevrelendiği yapı) oluşmaması ve serbest kalan piranin moleküllerinin de kısmen hidrofobik doğası sebebiyle birbirlerine yeteri kadar yakın gelebilmesidir. 2M'lık rastgele jelde aynı zamanda hiçbir molekülle etkileşmeyen serbest piraninlerin olduğu da gözlemlenmiştir. Kalıplanmış jellerde ise durum biraz farklıdır. Bu jellerde belirgin olarak maptaklar ile etkileşen kompleks yapıdaki piraninlerin emisyonu gözlemlenmektedir. Aynı zamanda bu jellerde de ekzimer emisyonu gözlemlenmektedir. Ancak bu beklenen bir sonuçtur. Çünkü komplekslerin tamamının yaşaması mümkün değildir. Bunların bir kısmı dağılarak serbest kalan piraninler bir araya gelmiş ve ekzimer emisyonu yapabilmektedirler. Sonuç olarak jelleşme sonunda rastgele ve kalıplanmış jellerin spektrumlarında bariz farklılıklar gözlemlenmekte ve bu farklılıklarda bize jellerin kalıplandığı ile ilgili ilk bilgileri vermektedir.

Sentezlenen jellerin uygun bir şekilde yıkanmaları sonucunda hedef moleküllerinin büyük bir kısmı temizlenebilmiştir. Kalıplanmış jellerde çok az miktarda piraninin jelle kimyasal olarak bağlandığı da gözlemlenmiştir. Ancak bu miktarın jelin karakterini etkileyecek düzeyde olmadığı yapılan difüzyon deneylerinde ortaya konulmuştur.

Yıkanan jellere piranin (hedef molekül) difüzyonu çalışması farklı koşullarda gerçekleştirilmiştir. Bunlardan ilki; dış çözeltideki piranin derişiminin değiştiği

difüzyon deneyleridir. Bu deneylerde kalıplanmış (K1) ve rastgele (R1) jellerin arasındaki farklılığın kararlı olmadığı gözlemlenmiş ve bunun da iki nedenden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Birincisi difüzyon deneylerinde herhangi bir elektrolit (tuz) kullanılmamıştır. Elektrolitin yokluğunda piranin molekülleri bir bacadan da, iki bacadan da, üç bacadan da maptak molekülleri ile etkileşebilmektedirler. Halbuki jelin seçici olabilmesi için çoğunlukla üç bacadan bağlama yapması gerekmektedir buda ancak belli miktardaki elektrolitin varlığında test edilebilir. İkinci bir etkide çapraz bağlayıcı (BIS) derişiminin az, yani jeldeki ağ yapının daha gevşek olmasıdır. Düşük BIS derişimlerinde jel içerisinde yeteri kadar büyük boşluklar kalabilmekte ve bu boşluklar özel geometrik şekil kazanamamaktadır. Reaksiyon anında istenilen geometriyi kazanmış bölgelerde tekrar şişme ve çökme durumunda geometrilerini koruyamamakta buda jelin seçicilik özelliğinin azalması hatta yok olmasına sebep olmaktadır. Bu deneydeki bu gözlemlerimizden sonra diğer difüzyon deneyleri daha yüksek BIS derişimlerinde gerçekleştirilmiştir.

Sıcaklığa bağlı olarak yapılan difüzyon deneylerinde rastgele (R4) ve kalıplanmış (K4) jeller arasında farklılık 60°C’de çok net olarak gözlemlenmiştir. Diğer sıcaklıklarda ise bu fark kararlı değildir. 60°C’ye gelindiğinde kalıplanmış jelle difüzyon yoluyla giren piranin miktarı oldukça artmıştır. Bunun en önemli nedeni 60°C’de kalıplanmış jelin reaksiyon (kalıplama) anındaki çökme durumuna yani en uygun geometrik düzene gelmesidir. Rastgele jelin ise başlangıçtaki geometrik yapısından daha küçük bir geometrik yapıya geldiğini söyleyebiliriz. Çünkü reaksiyon anında jel içinde piranin molekülleri vardır, ancak difüzyon deneyleri öncesinde jeller tamamen yıkanmış ve piranin moleküllerinin büyük bir çoğunluğu çıkartılmıştır. Daha önce piranin molekülleri bulunan gözenekler piranin moleküllerinin dışarı çıkması sonucu çökmüşler ve jelin daha küçük bir hacime gelmesine neden olmuşlardır. Kalıplanmış jelde de piranin molekülleri yıkama sonucu dışarı çıkartılmışlardır. Ancak reaksiyon anında oluşan ve 3 pozitif yüklü maptak molekülü içeren piranin yuvalarının geometrisi korunmaktadırlar. Bu 3 tane pozitif yüklü maptak moleküllerinin arasındaki elektrostatik etkileşme jelin büzülme yönünde yaptığı baskıyı dengelemekte ve yuvaların geometrisini koruyarak jelin en uygun geometrik düzende kalmasını sağlamaktadırlar. Yıkanmış rastgele jelin daha

küçük bir geometrik yapıya gelmesi difüzyon yolu ile giren piranin miktarını azaltmıştır.

Değişik pH değerlerinde yapılan difüzyon deneylerinde her pH değeri için kalıplanmış (K3) jelle olan difüzyon rastgele (R3) jelle olan difüzyondan daha büyüktür. Bunun en önemli sebebi jellerin mikro yapılarının birbirlerinden farklı olmalarıdır. Rastgele jel içinde oldukça büyük gözenekler mevcuttur, yani daha heterojen bir yapıya sahiptir. Bu büyük gözeneklerin sebebi reaksiyon anında kümeler haline gelip jelin bazı bölgelerinde biriken moleküllerdir. Jel yıkanınca bunlar dışarı çıkmış ve yerlerinde büyük boşluklar bırakmışlardır. İşte difüzyon esnasında bu boşluklarda biriken moleküller jelin içi ve dışı arasında bir çeşit perdeleme etkisi yapması sebebiyle difüzyonun yavaşlayıp sonlanmasına neden olmaktadır.

Tuz derişimine bağılı olarak yapılan difüzyon deneyleri kalıplanmış (K4) ve rastgele (R4) jeller için hem UV hem de floresans spektroskopisi yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. UV sonuçları Denklem 2.5 ile verilen duygunluk modeline göre değerlendirilmiştir. Bu modele göre duygunluk tuz derişiminin negatif bir üsteli ile orantılıdır. Bu üstel hedef molekülün etkileşme yapabileceği fonksiyonel grup sayısına eşittir. Deney sonuçlarımızın bu modele göre değerlendirilmesinden bu üsteller rastgele ve kalıplanmış jeller için sırasıyla 0.9 ± 0.1 ve 3.1 ± 0.9 çıkmıştır. Kalıplanmış jel için bulunan değer oldukça gerçekçi bir sonuçtur ve kullandığımız hedef molekül olan piranin'in fonksiyonel grup sayısı olan 3'e, nispeten daha büyük deneysel hata içermesine rağmen, çok yakındır. Bu sonuç bize piranin moleküllerinin kalıplanmış jel içerisinde çoğunlukla 3 grup üzerinden etkileştiğini yani kalıplamanın gerçekleşmiş olduğunu göstermektedir. Rastgele jel için bulunan 0.9 değeri ise piranin moleküllerinin çoğunlukla 1 grup üzerinden etkileşme yaptığını göstermektedir. Bu çalışmanın benzeri [39] referansında daha önce yapılmıştır. O çalışmada floresans yöntem kullanılmayıp sadece UV absorpsiyon yöntemi kullanılmıştır. Bu deney yaptığımız çalışmanın literatürle uyumunun sınanması açısından da faydalı olmuştur

UV çalışmasının yanında rastgele ve kalıplanmış jellerin difüzyon başlangıcı ve sonrasında floresans spektrumları alınmıştır. Rastgele jelden alınan spektrumlarda emisyon maksimumu 50mM ve 100mM'lık tuz çözeltilerinde 525nm'ler

civarındadır. Tuz derişimi 150mM ve 200mM olduğunda ise spektrumda 430nm civarında ikinci bir şiddet gözlemlenirken 525nm'deki maksimumda 510nm civarına kaymaktadır. Kalıplanmış jelde ise başlangıçta 525nm'de gözlemlenen emisyon maksimumu tuz derişimi arttıkça 520nm civarına kaymakta ve bu rastgele jele göre çok daha az buna ilaveten 430nm civarında herhangi bir emisyon gözlemlenmemektedir. 525nm'deki emisyon kompleksleşme deney sonuçlarından 3 tane SO_3^- grupları üzerinden etkileşen piraninin emisyonudur. Düşük tuz derişimlerinde her iki jelde de bu dalgaboyunda emisyon gözlemlenmektedir. Kalıplanmış jelde bu etkileşmeler jelleşme anında piraninlere uygun geometride oluşan özel boşluklara (kalıplara) giren piranin moleküllerinin buradaki üç tane maptak molekülü ile yaptığı elektrostatik etkileşmelerdir. Çünkü bu jellerden alınan spektrumlar dış etkilere karşı oldukça kararlıdır yani piraninler oldukça muhafazalı bölgelerdedir. Ancak rastgele jelde bu kararlılığı görememekteyiz. Tuz derişimi arttırıldığında spektrum oldukça değişmektedir. Bunun sebebi; rastgele jelde kalıplanmış jelde olduğu gibi piranin molekülleri için üç tane maptak molekülünün olduğu özel boşlukların olmayışdır. Çok az miktarda oluşmuş olsa da spektrumda önemli değişikliğe sebep verecek kadar olmadığını tuz derişimini arttırdığımızda spektrumdaki ciddi değişimlerden anlamaktayız.

Rastgele jelde büyük gözeneklerin içinde kümelenmiş piraninlerin 525nm civarında emisyon yapması beklenen bir durumdur. Bu kümelenmeler tuz molekülleri ile piraninlerdeki SO_3^- grupları arasındaki elektrostatik bağlarla gerçekleşmekte ve gözenekler içindeki piraninler proton transferi yapabilmektedirler. Bu yüzden bu piraninlerin 525nm civarında emisyon yapabilmektedirler. Ancak yüksek tuz derişiminde piranin kümeleri dağılıp parçalanmakta ve jel içinde her bir SO_3^- grubu ucunda bir tuz kümesi bulunan piraninler meydana gelmektedir. Bunların bir kısmı da yüksek Na^+ derişimi dolayısıyla da OH grubundaki hidrojenini Na^+ ile yer değiştirip spektrumun 430nm civarına kaymasına neden olurlar. 525nm'deki emisyonun 510nm civarına kayması ise SO_3^- gruplarına takılı olan tuz kümeleri ile olan etkileşme hızının sadece Na^+ ile olan etkileşme hızından daha yavaş olması ve floresans gözlem zamanı içerisinde bu etkileşmelerin sanki yokmuş gibi davranmasından kaynaklanmaktadır.

Kalıplanmış jelde artan tuz derişimi ile spektrumda gözlemlenen birkaç nanometrelik çok küçük kaymaların sebebi ortamda bulunan bol miktardaki Cl^- iyonlarının özel geometrideki boşluklarda maptaklar ile etkileşen piraninlerin bir kısmının SO_3^- etkileşmelerini yok etmesidir. Ancak bunların miktarı çok fazla değildir.

Çizelge 4.1’de kalıplanmış ve rastgele jeller için hesaplanan hafıza parametreleri verilmiştir. Buradaki değerlere göre kalıplanmış jeldeki hafıza rastgele jelle göre oldukça fazladır. Tuz derişimi arttıkça hafıza değeri bazı kompleks yapıların fazla miktardaki Cl^- iyonları tarafından yok edilmesinden dolayı azalmaktadır. Düşük tuz derişimleri için hafıza parametresinin hesaplanması mümkün değildir. Çünkü bu derişimlerdeki emisyonun maptaklarla etkileşen piraninlerden veya kümelenen piraninlerden gelip gelmediği ayırt edilememektedir. Ancak yüksek tuz derişimlerinde ise kümelenmiş olan piraninler dağılarak 430 civarına kaymış ve 510 civarında ise bir grup üzerinden maptaklar üzerinden etkileşen piraninler kalmıştır. Bu derişimler için yapılan hafıza parametresi hesabında bunun 0’a yakın olduğu bulunmuştur. Buda neredeyse 3 grup üzerinden etkileşip kompleks yapıda olan piraninlerin olmadığını göstermektedir.

Çizelge 4.1: Kalıplanmış (K4) ve rastgele (R4) jeller için değişik tuz derişimlerindeki hafıza parametreleri.

Tuz Derişimi (mM)	H _{KJ}	H _{RJ}
50	0.999	-
100	0.998	-
150	0.836	0.0003
200	0.678	0

Sonuç olarak yaptığımız bu çalışmada floresans özelliğe sahip hedef molekül veya floresans moleküllerle etiketlenmiş hedef moleküllerin tanınması ve dönüşümlü adsorpsiyonlarının incelenmesi konusunda yeni bir yöntem önerilmektedir. Floresans yönteminin diğer yöntemlere olan üstünlüğü açıkça ortaya konulmaktadır. Diğer yöntemlerde hedef molekülün kaç bacadan bağlandığı açıkça gösterilememesine karşın bizim geliştirdiğimiz yöntemde floresans spektrumlarındaki kaymalarla bu durum açıklanabilmektedir. Teknik olarak birçok molekül ya da proteinin floresans gruplarla etiketlenmesinin mümkün olduğu düşünüldüğünde, bizim geliştirdiğimiz bu yöntemin daha da genelleştirilebileceği beklenebilir.

KAYNAKLAR

- [1] **Lehn, J.-M., Atwood, J. L., Davies, J. E. D., MacNicol, D. D.**, 1996: *Comprehensive Supramolecular Chemistry*, Pergamon, Oxford.
- [2] **Komiyama, M., Takeuchi, T., Mukawa, T., Asanuma, H.**, 2003: *Molecular Imprinting: From Fundamentals to Applications*, Wiley-VCH.
- [3] **Polyakov, M.V.**, 1940: Adsorption properties and structure of silica gel, *Zhurnal Fizieskoj Khimii/Akademiya SSSR*, **2**, 799-805.
- [4] **Wulff, G.**, 2002: Enzyme-like catalysis by molecularly imprinted polymers, *Chem. Rev.*, Vol. **102**, pp. 1-28.
- [5] **Haupt, K. Mosbach, K.**, 2000: Molecularly Imprinted Polymers and Their Use in Biomimetic Sensors, *Chem Rev.*, Vol. **100**, pp. 2495-2504.
- [6] **M. J. Whitcombe, E. N. Vulfson**, 2001: Imprinted Polymers, *Adv. Mater.*, Vol. **13**, pp. 467-478.
- [7] **Alexander, C., Andersson, H.S., Andersson, L., Ansell, R.J., Kirsch, N., Nicholls, I.A., O'Mahony, J., Whitcombe, M.J.**, 2006: Molecular imprinting science and technology: a survey of the literature for the years up to and including 2003, *J. Mol. Recognit.*, **19**, 106-180.
- [8] **Hirokawa, Y., Tanaka, T., Mutsuo, E., S.**, 1984: Volume phase transition in a nonionic gel, *J. Chem. Phys.* Vol. **81**, p. 6379.
- [9] **Qiu, Y., Park, K.**, 2001: Triggering in Drug Delivery Systems Environment-sensitive hydrogels for drug delivery, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **53**, 321-339.
- [10] **Ilavsky, M.**, 1982: Phase transition in swollen gels. 2. Effect of charge concentration on the collapse and mechanical behavior of polyacrylamide Networks, *Macromolecules*, Vol. **15**, p. 782.
- [11] **Siegel, R. A., Firestone, B. A.**, 1988: pH-dependent equilibrium swelling properties of hydrophobic poly-electrolyte copolymer gels., *Macromolecules*, **21**, 3254-3259.
- [12] **Tanaka, T.**, 1980: Phase Transitions in Ionic Gels, *Phys. Rev. Lett.*, Vol. **45**, pp. 1636-1639.
- [13] **Suziki, A., Tanaka, T.**, 1990: Phase transition in polymer gels induced by visible light, *Nature (London)*, Vol. **346**, pp. 345-347.
- [14] **Dusek, K., Patterson, D.**, 1968: Transition in swollen polymer networks induced by intramolecular condensation, *J. Polym. Sci.. Part A2*, **6**, 1209-1216.
- [15] **Tanaka, T.**, 1978: Collapse of Gels and critical endpoint, *Phys. Rev. Lett.*, **40**, 820-823.

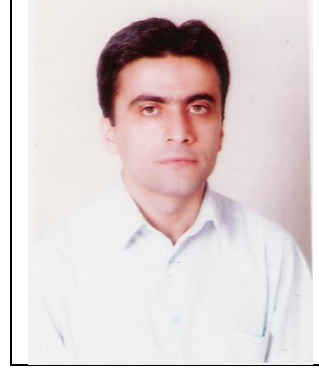
- [16] **Guney, O., Yilmaz, Y., Pekcan, O.,** 2002: Metal ion templated chemosensor for metal ions based on fluorescence quenching, *Sensors and actuators. B*, Vol. **85**, pp. 86-89.
- [17] **Guney, O.,** 2003: Multiple-point adsorption of terbium ions by lead ion templated thermosensitive gel: elucidating recognition of conformation in gel by terbium probe, *JMR. Journal of molecular recognition*, Vol. **16**, pp. 67-71.
- [18] **Rachkov, A, Minoura, N.,** 2001: Towards molecularly imprinted polymers selective to peptides and proteins. The epitope approach., *Biochim Biophys Acta* , **1544**, 255-266.
- [19] **Shi, H.Q., Tsai, W.B., Garrison, M.D., Ferrari, S., Ratner ,B.D.,** 1999: Template-imprinted nanostructured surfaces for protein recognition. *Nature*, **398**, pp. 593–597.
- [20] **Wulff, G.,** 1982: Selective binding to polymers via covalent bonds-the construction of chiral cavities as specific receptor-sites., *Pure Appl. Chem.*, pp. 2093–2102.
- [21] **Sellergren, B.,** 1989: Molecular imprinting by noncovalent interactions-tailor-made chiral stationary phases of high selectivity and sample load-capacity, *Chirality*, pp. 63–68.
- [22] **Umpleby, R.J., Bode, M., Shimizu, K.D.,** 2000: Measurement of the continuous distribution of binding sites in molecularly imprinted polymers, *Analyst*, pp. 1261–1265.
- [23] **Peppas, N.A., Keys, K.B., Torres, L.M, Lowman, A.M.,** 1999: Poly(ethylene glycol)-containing hydrogels in drug delivery, *J. Controlled Release*, pp. 81–87.
- [24] **Bures, P., Huang, Y.B., Oral, E., Peppas, N.A.,** 2001: Surface modifications and molecular imprinting of polymers in medical and pharmaceutical applications, *J. Controlled Release*, pp. 25–33.
- [25] **Lye, G.J., Woodley, J.M.,** 1999: Application of in situ product-removal techniques to biocatalytic processes, *Trends Biotechnol.*, **17**, pp. 395–402.
- [26] **Ramstro, O., Ye, L., Krook, M., Mosbach, K.,** 1998: Applications of molecularly imprinted materials as selective adsorbents: emphasis on enzymatic equilibrium shifting and library screening, *Chromatographia*, pp. 465–469.
- [27] **DelaCruz, E.O., Muguruma, H., Jose, W.I., Pedersen H.,** 1999: Molecular imprinting of methyl pyrazines. *Anal. Lett.*, pp. 841–854.
- [28] **Shea, K.J.,** 1994: Molecular Imprinting of Synthetic Network Polymers: The De Novo Synthesis of Macromolecular Binding and Catalytic Sites, *Trends Polym. Sci.*, Vol. **2**, pp. 166-173.
- [29] **Janotta, M., Weiss, R., Mizaikoff, B., Bruggemann, O., Ye, L., Mosbach, K.,** 2001: Molecularly Imprinted Polymers for Nitrophenols - An Advanced Separation Material for Environmental Analysis. *Int. Journ. Environm. Anal. Chem.*, **80(2)**, pp. 75-86.

- [30] **Kriz, D., Ramström, O., Svensson, A., Mosbach, K.,** 1995: Introducing Biomimetic Sensors Based on Molecularly Imprinted Polymers as Recognition Elements, *Anal. Chem.*, **67**, pp. 2142-2144.
- [31] **Baird, CL, Myszka, DG.,** 2001: Current and emerging commercial optical biosensors. *J. Mol. Recognit.* **14**, 261–268.
- [32] **Homola, J.,** 2003: Present and future of surface plasmon resonance biosensors, *Anal. Bioanal. Chem.* **377**: pp. 528–539.
- [33] **Warsinke, A., Benkert, A., Scheller, F.W.,** 2000: Electrochemical immunoassays. Fresenius, *J. Anal. Chem.* **366**: pp. 622–634.
- [34] **Altschuh, D., Oncul, S., Demchenko, A. P.,** 2006: Fluorescence sensing of intermolecular interactions and development of direct molecular biosensors, *Journal of Molecular Recognition*; **19**, pp. 459–477.
- [35] **Lakowicz, J.R.,** 1983: *Principles of fluorescence spectroscopy*, Plenum Press, NewYork.
- [36] **Valeur, B.,** 2002: *Molecular fluorescence: principles and applications*, Wiley-VCH, Weinheim.
- [37] **Flint, N.J., Garderrecht, S., Swanson L.,** 1998: Fluorescence Investigations of Smart Microgel Systems, *J of Fluorescence*, **8**, p. 4.
- [38] **Oya, T. ,et.all.** 1998: Reversible Molecular Adsorption Based on Multiple-Point Interaction by Shrinkable Gels, *Science*, **286**.
- [39] **Ito, K., Chuang, J., Alvarez-Lorenzo, C., Watanabe, T., Ando, N., Grosberg, A. Y.,** 2003: Multiple point adsorption in a heteropolymer gel and the Tanaka approach to imprinting: experiment and theory , *Progress in Polymer Science*, **28**, pp. 1489-1515.
- [40] **Marchesi, JR.,** 2003: A microplate fluorimetric assay for measuring dehalogenase activity. *J. Microbiol. Meth.*, **55**, pp. 325–329.
- [41] **Nielsen, K., Lin, M., Gall, D., Jolley, M.,** 2000: Fluorescence polarization immunoassay: detection of antibody to Brucella abortus., *Methods*, Vol. **22**, pp.71–76.
- [42] **Saçak, M.,** 2008: *Polimer Kimyası*, Gazi Kitabevi, Ankara.
- [43] **Flory, P. J.,** 1941: Molecular Size Distribution in Three Dimensional Polymers., *J. Am. Chem. Soc.* Vol. **63**, pp. 3083-3100.
- [44] **Stockmayer, W.,** 1943: Theory of molecular size distribution and gel formation in branched-chain polymers, *J. Chem. Phys.*, Vol. **11**, pp. 45.
- [45] **de Gennes, P. G.,** 1976: On a relation between percolation theory and the elasticity of gels, *J. Phys. Lett.*, Vol. **37**, pp 1.
- [46] **Stauffer, D.,** 1976: Gelation in concentrated critically branched polymer solutions. Percolation scaling theory of intramolecular bond cycles, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* Vol. **72**, p. 1354.
- [47] **Bunde, A. and Havlin, S.,** 1991: *Fractals and Disordered Systems*, Springer-Verlag, Berlin.

- [48] **Stauffer, D. and Aharony, A.**, 1994: *Introduction to Percolation Theory*, Taylor & Francis, London.
- [49] **Aharony, A.**, 1980: Universal Critical Amplitude Ratios for Percolation, *Phys. Rev. B* **22**, 400.
- [50] **Yilmaz, Y., Gelir, A., Alveroglu, E., Uysal, N.**, 2008: Testing percolation theory in the laboratory: Measuring the critical exponents and fractal dimension during gelation, *Physical Review E*, **77**, 051121-1,4.
- [51] **Schild, H.G.**, 1992: Poly(N-izopropillakrilamid): experiment, theory and application. *Prog. Polym. Sci.*, **17**, pp. 163–249.
- [52] **Hirotsu, S.**, 1993: Coexistence of phases and the nature of first-order phase transition in poly(N-izopropillakrilamid) gels. *Adv. Polym. Sci.* Vol. **110**, pp. 1–26.
- [53] **Siegel, R.A., Falamarzian, M., Firestone, B.A. and Moxley, B.C.**, 1988: pH-controlled release from hydrophobic/polyelectrolyte copolymer hydrogels. *J. Controlled Release*, Vol. **8**, pp. 179–182.
- [54] **Osada, Y., Gong, J. P. and Tanaka Y.**, 2004: Polymer Gels, *Journal Of Macromolecular Science Part C—Polymer Reviews*, Vol. **44**, 1, pp. 87–112.
- [55] **D’Oleo, R., Alvarez-Lorenzo, C. and Sun, G.**, 2001: A New Approach To Design Imprinted Polymer Gels without Using a Template, *Macromolecules*, **34**, 4965-4971.
- [56] **Winnik, M.A.**, 1986: *Photophysical and Photochemical Tools in Polymer Science*, D. Reidel, Dordrecht, Holland,.
- [57] **Pekcan, Ö., Yilmaz, Y.**, 1999: *Fluorescence method for monitoring gelation and gel swelling in real time*, in Rettit, W., Strehmel, B., Schrader, S., Seifert, H., eds, *Applied Fluorescence in Chemistry, Biology and Medicine*, Springer-Verlag, 371-388, Berlin Heidelberg, Germany.
- [58] **Pekcan, Ö., Yilmaz, Y., Okay, O.**, 1996: In situ fluorescence experiments to test the reliability of random bond and site bond percolation models during sol-gel transition in free-radical crosslinking copolymerization, *Chem. Phys. Lett.*, Vol. **229**, pp. 2049-2053.
- [59] **Serrano, B., Levenfeld, B., Bravo, J., Baselga, J.**, 1996: Studies of polymerization of acrylic monomers using luminescence probes and differential scanning calorimetry, *Polym. Eng. and Sci.* Vol. **36(2)** pp. 175-181.
- [60] **Okay, O., Yilmaz, Y., Kaya, D., Keskinel, M., Pekcan, Ö.**, 1999: Heterogeneities during the formation of poly(sodium acrylate) hydrogels, *Polymer Bull.* Vol. **43**, pp. 425-431.
- [61] **Pekcan, Ö., Yilmaz, Y.**, 1997: Modeling of swelling by fluorescence technique in poly (methyl methacrylate) gels, *J. Appl. Polym. Sci.*, Vol. **63**, pp. 1777-1784.

- [62] **Pekcan, Ö., Yilmaz, Y., Uğur, Ş.**, 1997: In situ fluorescence study of slow release and swelling processes in gels formed by solution free radical copolymerization, *Polym. Int.*, Vol. **44**, pp. 474-480.
- [63] **Yilmaz, Y., Pekcan, Ö.**, 1998: Critical exponents and fractal dimension at the sol-gel phase transition via in situ fluorescence experiments, *Physical Rev. E*, Vol. **58**, pp. 7487-7491.
- [64] **Yilmaz, Y.**, 2002: Fluorescence study on the phase transition of hydrogen bonding gels, *Phys. Rev. E*, Vol. **66**.
- [65] **Kaya, D., Pekcan, Ö., Yilmaz, Y.**, 2004: Direct test of the critical exponents at the sol-gel transition, *Phys. Rev. E*, Vol. **69**, p. 016117.
- [66] **Ramachandram Badugu Joseph R. Lakowicz, Chris D. Geddesa**, 2004: A wavelength-ratiometric pH sensitive probe based on the boronic acid moiety and suppressed sugar response, *Dyes and Pigments*, Vol. **61**, pp. 227-234.
- [67] **Langmuir, I.**, 1918: The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. *J Am Chem Soc* Vol. **40(9)**, pp.1361-1403.
- [68] **Crank, J.**, 1979:, *The Mathematics of Diffusion*, Oxford University Press.
- [69] **Yilmaz, Y., Pekcan, Ö.**, 1998: In situ fluorescence experiments to study swelling and slow release kinetics of disc-shaped poly(methyl methacrylate) gels made at various crosslinker densities, *Polymer*, Vol. **39**, pp. 5351-5357.
- [70] **Yilmaz, Y., Uysal, N., Gelir, A., Guney, O., Aktas, D.K., Gogebakan, S., Oner, A.**, 2009: Elucidation of multiple-point interactions of Pyranine fluoroprobe during gelation, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, Vol. **72(2)**, pp. 332-338.
- [71] **Deniz, E., Karahasanoğlu, C.**, 2005: *Pirin Türevlerinin Spektroskopik Özelliklerinin Belirlenmesi*, İleri Fizik Projesi, İTÜ Fizik Mühendisliği Bölümü.
- [72] **Gelir, A., Yilmaz, İ., Yilmaz, Y.**, 2007: In Situ Monitoring of the Synthesis of a Pyranine-Substituted Phthalonitrile Derivative via the Steady-State Fluorescence Technique , *J. Phys. Chem. B*, Vol. **111 (2)**, pp 478-484.

ÖZGEÇMİŞ



Ad Soyad: Ali GELİR

Doğum Yeri ve Tarihi: Bakırköy, 08/03/1975

Adres: İTÜ Fizik Bölümü, 34469, Maslak, İSTANBUL.

Lisans Üniversitesi: İstanbul Teknik Üniversitesi, Fizik Bölümü, 1998.

Yüksek Lisans Üniversitesi: İstanbul Teknik Üniversitesi, Fizik Bölümü, 2001.

Yayın Listesi:

B. Belin, T.Yalçın, F.Suner, E. Bozkurtoglu, A. Gelir, H. Güven. 2002: Earthquake-related chemical and radioactivity changes of thermal water in Kuzuluk-Adapazari, Turkey, *Journal of Environmental Radioactivity*, **63**.

Ali Gelir, Demet Kaya Aktaş, Ioan Cianga, Luminita Cianga, Yusuf Yağcı, and Yaşar Yılmaz, 2006: Studying the Sol-Gel Transition of Styrene-Divinyl benzene Crosslinking Copolymerization via Excimer Forming Dye Molecules, *Polymer*, **47**, 5843.

Y. Yılmaz, A. Gelir, F. Salehli, R.R. Nigmatullin, A. A. Arbuzov, 2006: Dielectric study of neutral and charged hydrogels during the swelling process, *The Journal of Chemical Physics*, **125**, 234705.

Gelir, A., Yılmaz, İ., Yılmaz, Y., 2007: In Situ Monitoring of the Synthesis of a Pyranine-Substituted Phthalonitrile Derivative via the Steady-State Fluorescence Technique, *J. Phys. Chem. B*, Vol. **111** (2), pp 478–484.

Yılmaz, Y., Uysal, N., Gelir, A., Guney, O., Aktas, D.K., Gogebakan, S., Oner, A., 2008: Elucidation of multiple-point interactions of Pyranine fluoroprobe during gelation, *Spectrochimica Acta Part a: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, Vol. **72**(2), pp. 332-338..

Yılmaz, Y., Gelir, A., Alveroglu, E., Uysal, N., 2008: Testing percolation theory in the laboratory: Measuring the critical exponents and fractal dimension during gelation, *Physical Review E*, **77**, 051121-1,4.

Irfan Kızılcıklı, Songul Eglence, Ali Gelir, Bahri Ulkuseven, 2008: The ONN-complexes of dioxomolybdenum(VI) with dibasic 2-hydroxy-1-naphthaldehyde S-methyl/allyl-4-phenyl-thiosemicarbazones, *Transition Met Chem*, **33**, 775–779.