

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
2022-YL-021

KURKUMİNİN GIDA ÖRNEKLERİNDE
AYIRMA, ZENGİNLEŞTİRME VE TAYİNİ

ONUR KARABIYIK
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Gülşen GÜVEN

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından FEF 21004 proje numarası ile desteklenmiştir

AYDIN-2022

TEŞEKKÜR

Tez çalıőmamın baőından sonuna kadar, her konuda bana yardımcı olan, yol gösteren, değerli bilgilerini, desteğini ve zamanını benden esirgemeyen, çalıőmalarımın tamamlanmasında büyük pay sahibi olan tez danıőmanım Doç.Dr. Gülşen GÜVEN'e,

Çalıőmamızı FEF 21004 nolu proje ile destekleyen Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Rektrlğine ve sunduğu olanaklar için Kimya Bölümüne,

Benden maddi manevi desteğini esirgemeyen, her zaman yanımda olduklarını hissettiren sevgili aileme,

Sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Onur KARABIYIK

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
ÖZET	x
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Kurkumin.....	2
1.2. Kriyojeller.....	4
1.2.1. Kriyojellerin Sentezlenmesi	5
1.2.1.1. Polimer Çözeltilsinin Hazırlanması	5
1.2.1.2. Sistemin Dondurulması ve İnkübasyonu	5
1.2.2. Kriyojellerin Yapısı ve Özellikleri	7
1.2.3. Kriyojel Yapısını Etkileyen Etkenler	8
1.3. Siklodekstrinler.....	8
1.4. Katı Faz Ekstraksiyonu (SPE)	9
1.4.1. SPE Yönteminde Kullanılan Ayırma Mekanizmaları	10
1.4.2. SPE Metodunun Avantajları	11

1.4.3. SPE Metodunun Başlıca Kullanım Alanları	12
2. KAYNAK ÖZETLERİ	13
2.1. Kurkumin ile İlgili Bazı Literatür Çalışmaları	13
2.2. Kriyojeller ile İlgili Bazı Literatür Çalışmaları	15
3. MATERYAL VE YÖNTEM	18
3.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler	18
3.2. Deneylerde Kullanılan Cihazlar	18
3.3. Kriyojel Sentezi	18
3.3.1. Poli (HEMA-EH) Kriyojellerin Hazırlanması.....	18
3.3.2. β -siklodekstrin Modifiye Poli(HEMA-EH) Kriyojellerin Hazırlanması	19
3.4. Karakterizasyon Çalışmaları.....	20
3.4.1. Şişme Testleri	20
3.4.2. Yüzey Morfolojisi	20
3.5. Kurkuminin Ayırma ve Zenginleştirme Çalışmaları	21
3.5.1. Adsorpsiyon Koşullarının Belirlenmesi	21
3.5.2. Desorpsiyon Çözeltisinin Belirlenmesi	21
3.5.3. Çözelti Hacminin ve Desorpsiyon Çözeltisi Hacminin Etkisi.....	21
3.5.4. Adsorpsiyon Kapasitesinin Belirlenmesi	22
3.5.5. Yöntemin Gıda Örneklerine Uygulanması	22
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	23
4.1. Kurkuminin UV-VIS Spektrumu	23

4.2. Poli (HEMA-EH) Kriyojellerin Görüntüleri	24
4.3. Poli (HEMA-EH) Kriyojellerin Karakterizasyonu.....	24
4.3.1. Şişme Deneyleri.....	24
4.3.2. IR Spektrumları	25
4.3.3. SEM Görüntüleri	26
4.4. Katı Faz Ekstraksiyonu (SPE) Koşullarının Optimizasyonu.....	28
4.4.1. Adsorpsiyon Ortamının Belirlenmesi.....	28
4.4.2. Ortam pH'ının Etkisi	30
4.4.3. Eluent Çözeltisinin Belirlenmesi.....	30
4.4.4. Kurkumin Çözeltisi ve Eluent Çözeltisi Hacminin Etkisi.....	31
4.4.5. Adsorpsiyon Kapasitesinin Belirlenmesi.....	32
4.4.6. Yöntemin Analitik Özellikleri.....	33
4.4.7. Yöntemin Gıda Örneklerine Uygulanması	34
4.4.8. Yöntemin Literatürdeki Çalışmalarla Karşılaştırılması	37
5. SONUÇ	38
KAYNAKLAR.....	40
BİLİMSEL ETİK BEYANI.....	47
ÖZGEÇMİŞ	48

SİMGELER DİZİNİ

APS	Amonyum persülfat
DMF	Dimetil formamid
DNA	Deoksiribonükleik asit
EH	1,2-epoksi-5-hekzen
FTIR	Fourier Transform Infrared
HEMA	Hidroksietil metakrilat
HPLC	Yüksek performans sıvı kromatografisi
LOD	Gözlenebilme sınırı
LOQ	Tayin sınırı
MBAAm	Metilen bisakrilamid
PF	Zenginleştirme faktörü
poli(HEMA-EH)	Poli(hidroksietil metakrilat- 1,2-epoksi-5-hekzen)
BSS	Bağıl standart sapma
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
SPE	Katı faz ekstraksiyonu
TEMED	N,N,N',N'-tetrametilen diamin
UV-VIS	Ultraviyole - Görünür bölge

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Kurkuminin kimyasal yapısı	1
Şekil 1.2. Kurkuminin doğal görüntüsü	3
Şekil 1.3. Kriyojelin sentez basamakları	6
Şekil 1.4. Farklı monomerlerden hazırlanan kriyojellerin SEM görüntüleri a) Poli(N-izopropilakrilamit) kriyojeli, b) Kitosan-jelatin kriyojeli, c) Poli(Akrilonitril) kriyojeli.....	6
Şekil 1.5. Hidrojelin şematik gösterimi.....	7
Şekil 1.6. Çeşitli şekillerde üretilen kriyojeller.....	8
Şekil 1.7. Kurkumine bağlanmış γ -siklodekstrin.....	9
Şekil 4.1. Kurkuminin UV-VIS Spektrumu	23
Şekil 4.2. Kriyojellerin kuru ve şişmiş haldeki görüntüleri	23
Şekil 4.3. poli(HEMA-EH) ve β -siklodekstrin immobilize poli (HEMA-EH) kriyojellerinin şişme izotermeleri.....	24
Şekil 4.4. (1) poli(HEMA-EH) ve (2) β -siklodekstrin immobilize poli (HEMA-EH) kriyojellerinin FTIR spektrumları	25
Şekil 4.5. poli(HEMA-EH) ((a) ve (b)) ve β -Siklodekstrin immobilize poli(HEMA-EH) ((c) ve (d)) kriyojellerinin farklı büyütme oranlarındaki SEM görüntüleri	26
Şekil 4.6. (a) 2 mg/L kurkumin çözeltisi (b) β -Siklodekstrin immobilize poli(HEMA-EH) kriyojeli (c) 2 mg/L kurkumin çözeltisi, β -Siklodekstrin immobilize poli(HEMA-EH) kriyojelinden geçirildikten sonraki fotoğrafları.	28
Şekil 4.7. Örnek çözeltisinin içerdiği % metanol değerlerine karşılık elde edilen adsorpsiyon yüzdeleri.	29

Şekil 4.8. % Geri kazanım üzerine eluent çözeltisi türünün etkisi.....	30
Şekil 4.9. % Geri kazanım üzerine örnek çözeltisi hacminin etkisi.....	31
Şekil 4.10. % Geri Kazanım üzerine eluent çözeltisi hacminin etkisi.	32
Şekil 4.11. Poli(HEMA-EH) ve β -siklodekstrin immobilize poli(HEMA-EH) kriyojelleri kurkumin adsorpsiyonuna kurkumin derişiminin etkisi	33
Şekil 4.12. Standart kurkumin çözeltileri ile elde edilen kalibrasyon grafiği	34



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Yöntemin analitik özellikleri.....	34
Çizelge 4.2. Meyve suyu örneklerinde kurkumin tayini	35
Çizelge 4.3. Baharat örneklerinde kurkumin tayini	35
Çizelge 4.4. Kurkumin eklenen örneklerin analiz sonuçları	36
Çizelge 4.5. Yöntemin literatürdeki çalışmalarla karşılaştırılması	37



ÖZET

KURKUMİNİN GIDA ÖRNEKLERİNDE AYIRMA, ZENGİNLEŞTİRME VE TAYİNİ

KARABIYIK O. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2022.

Amaç: Sunulan bu tezde poli(HEMA-EH) kriyojel sentezi, β -siklodekstrin ile modifikasyonu incelendi. Gıda örneklerinde kurkumin tayini için katı faz adsorbanı olarak β -siklodekstrin immobilize poli(HEMA-EH) kriyojel kullanılması amaçlandı.

Materyal ve Yöntem: Bunun için kriyojeller kriyokopolimerizasyon tekniği ile hazırlandı ve β -siklodekstrin ile kovalent olarak modifiye edildi. Hazırlanan kriyojeller FTIR, SEM çalışmaları ve şişme testi ile karakterize edildi. Numune hacmi, eluent tipi ve hacmi gibi deneysel parametrelerin kurkuminin kantitatif geri kazanımı üzerindeki etkileri araştırıldı.

Bulgular ve Sonuç: β -siklodekstrin immobilize poli(HEMA-EH) kriyojelin maksimum kurkumin adsorpsiyon verimi 43.8 mg/g kriyojel olarak bulundu. Gıda örneklerinde kurkuminin UV-VIS spektrofotometrik tayini için önerilen ayırma ve zenginleştirme yöntemi uygulandı. Kurkumin için gözlenebilme sınırı ve tayin sınırı sırasıyla $17.7 \mu\text{gL}^{-1}$ ve $59.1 \mu\text{gL}^{-1}$ 'dir. Bu β -siklodekstrin immobilize kriyojeller, kurkumin tanıma kapasitelerinde önemli bir azalma olmaksızın 20 kez tekrar tekrar kullanıldı.

Anahtar kelimeler: Kurkumin, kriyojel, β -siklodekstrin, katı faz ekstraksiyonu.

ABSTRACT

SEPARATION, PRECONCENTRATION AND DETERMINATION OF CUCUMIN IN FOOD SAMPLES

KARABIYIK O. Aydın Adnan Menderes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Chemistry Program, Master Thesis, Aydın, 2022.

Objective: In this thesis presented, poly(HEMA-EH) cryogel synthesis and its modification with β -cyclodextrin were investigated. It was aimed to use β -cyclodextrin immobilized poly(HEMA-EH) cryogel as solid phase adsorbent for the determination of curcumin in food samples.

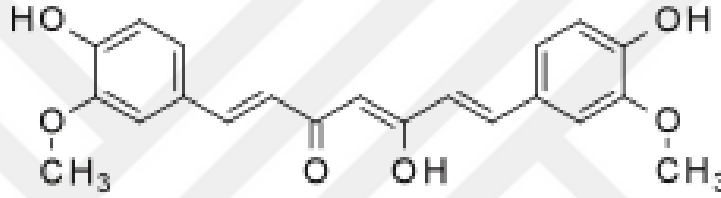
Material and Methods: For this, cryogels were prepared by cryocopolymerization technique and modified covalently by β -cyclodextrin. Prepared cryogels were characterized by FTIR, SEM studies and swelling test. The influences of the experimental parameters including sample volume, eluent type and volume etc. on the quantitative recovery of curcumin was investigated.

Results and Conclusion: Maximum curcumin adsorption efficiency of the β -cyclodextrin immobilized poly(HEMA-EH) cryogel was found to be as 43.8 mg/g cryogel. Proposed separation and preconcentration method was applied for the UV-VIS spectrophotometric determination of curcumin in food samples. The detection limit and quantitation limit for curcumin were $17.7 \mu\text{gL}^{-1}$ and $59.1 \mu\text{gL}^{-1}$, respectively. These β -cyclodextrin immobilized cryogels were used repeatedly for 20 times without any significant decrease in their curcumin recognition capability.

Keywords: Curcumin, cryogel, β -cyclodextrin, solid phase extraction.

1. GİRİŞ

Biyoaktif bir doğal antioksidan olan kurkumin sarımsı renkte polifenolik pigmenttir ve zerdeçalın (*Curcuma longa*) temel bileşenidir. Kurkuminin kimyasal yapısı Şekil 1.1'de görülmektedir. Kurkuminin sağlığa pek çok faydası vardır. Anti-kanser, antimikrobiyal, anti-inflamatuar, antitümör, anti HIV ve anti-oksidan özelliklere sahip olması nedeniyle tüketimi, kanser, alerji, diyabet ve diğer kronik sendromlar gibi bazı kötü hastalıkların önlenmesine ve tedavisine yardımcı olur (Chang vd., 2014; Feng vd., 2016; May vd., 2005; Menghwar vd., 2018; Ruby vd., 1995; Wilken vd., 2011).



Şekil 1.1. Kurkuminin kimyasal yapısı

Fenolik bileşikler, ikincil metabolitler olarak kabul edilir ve meyve, sebze ve diğer gıda takviyelerinde yaygın olarak bulunur (Lee ve Choung, 2011; Naczki ve Shadidi, 2004). Bu bileşikler, besleyici ve tıbbi değerleri nedeniyle çok ilgi görmektedir (Parr ve Bolwell, 2000).

Kurkumin pek çok amaçla kullanılmaktadır. Kapsül veya şurup gibi farmasötik ürünler (Asai vd., 1999) olarak tıbbi tedavide, peynir, tereyağı ve diğer gıda ürünlerinde gıda boyası olarak (Lee ve Choung, 2011; Jayaprakasha vd., 2005) kozmetik ürünlerde aroma ve tedavi edici olarak kullanılır (Miquel vd., 2002; Modasiya ve Patel, 2012). Ortadoğu ve Güney Asya ülkelerinde sıklıkla baharat olarak kullanılmaktadır. Birçok Güney Asya ülkesinde yaraları, kesikleri ve yanıkları kurkumin ile tedavi etmek yaygın bir uygulamadır (Benzie ve Wachtel-Galar, 2011). Dünya Sağlık Örgütü, gıda katkı maddesi olarak kurkumin için günlük izin verilen alım sınırının 3 mg/kg'a kadar olduğunu öne sürmüştür (Petrova vd., 2016). Kurkumin, besin değeri kadar sağlık açısından da faydalıdır. Bu nedenle farmasötik ürünlerde, gıda takviyelerinde ve diğer doğal ürünlerde doğru kurkumin konsantrasyonunu değerlendirmek oldukça önemlidir.

Gıda ürünlerinde, farmasötik ürünlerde ve gıda takviyelerinde kurkumin miktarının belirlenmesi veya ekstraksiyonu için önerilen birkaç analitik yöntem vardır. Rapor edilen

yöntemlerde kurkumin tayini için kullanılan analitik teknikler, ince tabaka kromatografi dansitometrisi (Pothitirat, 2005), matriks destekli lazer desorpsiyon iyonizasyon uçuş zamanlı kütle spektrometrisi (May vd., 2005), sıvı kromatografi kütle spektrometrisi (Herebian vd., 2009), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) (Li vd., 2009; Wichitnithad vd., 2009), ve yüksek performanslı ince tabaka kromatografisinden (Paramasivam vd., 2009; Pathania vd., 2006) oluşur. Yüksek hassasiyet ve iyi tekrarlanabilirliğin sağlandığı numune hazırlama ve analiz süreci genellikle zaman alıcı, zahmetli ve önemli miktarda reaktif gerektirir. Karmaşık numune matriksinden hedeflenen eser seviye analitlerin belirlenmesi için seçici ve hassas ayırma/zenginleştirme yöntemi geliştirilmesi oldukça önemlidir. Bu yöntemler, kolay, ucuz ve basit numune hazırlama yöntemlerinin planlanmasına dayanmaktadır. Son zamanlarda, katı faz ekstraksiyon ve sıvı faz mikro ekstraksiyon yöntemleri, ekstraksiyon çalışmalarında en iyi ayırma/zenginleştirme yöntemleri olarak bilinmektedir (İsgoren vd., 2017; Menghwar vd., 2018; Soylak ve Yılmaz, 2011). Spektrofotometri en çok kullanılan basit ve ucuz bir tekniktir. Spektrofotometri, düşük maliyeti ve cihazın basitliği ile diğer yöntemlerden ayrılır.

Bu tezde UV-VIS spektrofotometre kullanılarak kurkuminin ekstraksiyonu ve zenginleştirilmesi için bir katı faz ekstraksiyonu yöntemi geliştirildi. Kurkumin için katı faz adsorbantı olarak β -siklodekstrin immobilize poli(HEMA-EH) kriyojel kullanıldı. Bunun için kriyojeller kriyokopolimerizasyon tekniği ile hazırlandı ve β -siklodekstrin ile kovalent olarak modifiye edildi. Numune hacmi, eluent tipi ve hacmi gibi deneysel parametrelerin kurkuminin adsorpsiyon ve desorpsiyonuna etkileri araştırıldı. Geliştirilen yöntem kurkumin içerdiği düşünülen baharat ve meyve suyu örneklerine uygulandı.

1.1. Kurkumin

Güney Asya'nın yerli bir türü olan zencefil bitkisi en iyi gelişim için 20-30°C sıcaklık ve bol yağışa ihtiyaç duymaktadır. Bitkinin kök sapı kurutulduğu zaman zencefile benzetilmektedir. Zerdeçal baharatı ise zencefil ailesinden olan *Curcuma Longa L.* Kökünden gelir. İçerdiği sarı renk pigmentinden dolayı gıda boyası olarak uzun zamandır baharat çeşidi olarak ve çeşitli tıbbi özellikleri için kullanılmaktadır. Gıdalarda koruyucu özelliği de vardır (Popuri ve Pagala, 2013).

Kurkumin iki yüz yıl kadar önce Vogel tarafından keşfedilmiştir. Şekil 1.2'de görüldüğü gibi zerdeçalın sarı renginin kaynağı da kurkumin maddesidir (Manolova vd., 2014).



Şekil 1.2. Kurkuminin doğal görüntüsü

Kurkumin parlak sarı renginden dolayı gıda boyar maddesi olarak kullanılmaktadır. Gıda boyar maddelerine E numarası verilir ve kurkumin E 100 olarak adlandırılır (Vogel ve Pelletier, 1815).

Kurkuminin içerisinde % 69.4 karbonhidrat, % 6.3 protein, % 5.1 yağ, % 3.5 mineral ve % 13.1 nem bulunmaktadır. Kurkuminin anti bakteriyel özelliklerinden dolayı 1900'lü yıllarda *Staphylococcus aureus*, *Salmonella paratyphi*, *Mycobacterium tuberculosis* ve *Trichophyton gypseum* mikroorganizmalara karşı biyolojik açıdan etken madde olabileceği tespit edildi. 1953 yılında kromatografik yöntemler kullanılarak Srinivasan tarafından zerdeçalın bir bileşeni olan kurkuminoid maddesi bulundu. İlerleyen yıllarda kurkuminin antienflamatuvar, antioksidan, anti-diyabetik ve kolesterol düşürücü özellikleri olduğu keşfedildi. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) kurkuminin güvenli bir bileşik olduğunu yapılan klinik çalışmaları sonucunda onayladı (Kocaadam ve Sanlier, 2017).

Safran, köri ve hardala sarı rengini veren ana pigment de kurkumindir (Busquets vd, 2001). Sarı renkli kristalimsi bir toz olan kurkumin eter ve suda kolay çözünmez fakat etanol, metanol, aseton ve dimetilsülfoksitte kolayca çözünür (Morales vd., 2017).

100 g zerdeçalın içerisinde 390 kcal enerji, 10 g toplam yağ, 3 g doymuş yağ, 0 mg kolesterol, 0.2 g kalsiyum, 0.26 g fosfor, 10 mg sodyum, 2500 mg potasyum, 47.5 mg demir, 0.9 mg tiamin, 0.19 mg riboflavin, 4.8 mg niasin, 50 mg askorbik asit, 69.9 g toplam karbonhidrat, 21 g diyet lifi, 3 g şeker ve 8 g protein yer almaktadır (Fan vd., 2017).

Araştırmalar sonucunda kişi başı günde 1-5 g zerdeçal tüketimeinin herhangi bir yan etkisinin olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Bu da yaklaşık olarak 150 mg kurkumine eşdeğer bir miktardır. Bir silme tatlı kaşığı zerdeçal ise ortalama 30-90 mg arası kurkumin içerir. İnsanlar 12000 mg/gün'e kadar kurkumin tüketilmesini tolere edebilmektedir (Hatcher vd., 2008).

Kurkuminin toksisitesi üzerine yapılan farmokinetik çalışmalar genellikle insanlar üzerinde benzer sonuçlar vermektedir. Kurkuminin doz denemesinin yapıldığı bir klinik çalışmada (faz-I insan klinik çalışması) 3 ay boyunca 3 hastaya 500 mg/gün başlangıç dozu ile kurkumin uygulanmıştır. 2. derece veya daha yüksek toksisiteler görölmediği durumda 1000, 2000, 4000, 8000 ve son olarak 12000 mg/gün'e kadar kurkumin dozu arttırılmıştır. Çalışma sonucunda kurkuminin 8000 mg/gün ve daha düşük dozlarda toksik olmadığı rapor edilmiştir (Hsieh, 2001).

Kurkumin geniş bir kullanım alanına sahiptir. Sarı rengiyle gıda sektöründe boyar madde olarak kullanılmaktadır. Süt ürünleri, sebze ve meyve ürünleri, şekerlemeler, yağ, tahıl ürünleri, balık ürünleri, çorbalar ve baharatlar buna örnek olarak verilebilir. Zerdeçalın içerdiği kurkumin nedeniyle kanser, kardiyovasküler hastalık ve inflamasyonun tedavisinde yararlı etkilere sahip olduğu birçok çalışmada ortaya koyulmuştur (Kulkarni vd., 2012).

1.2. Kriyojeller

Kriyojel bir jel çeşidi olup kökeni Yunanca'da kri'os (kryos) buz ya da donma anlamına gelir (Lozinsky, 2018). Kriyojeller, serbest radikal polimerizasyonu ile monomer veya polimer öncüleri kullanılarak sıfırın altındaki sıcaklıklarda sentezlenir. Genellikle süngerimsi bir yapıya sahiplerdir. Süper makro gözenekleri vardır ve hidrofilik yapılardır (Andaç vd., 2016).

Kriyojeller kullanılması planlanan alana göre farklı özelliklerde ve şekilde sentezlenebilir. Bunun için farklı öncüler ve farklı kimyasal reaksiyonlar kullanılır (Plieva vd., 2007).

Kriyojeller sahip oldukları büyük gözenekler ve süngerimsi yapıları sayesinde farklı boyuttaki moleküllerin jel içerisinden düzgün akışını sağlar. Kriyojel içerisinden çözelti hem difüzyon hem de taşınım yoluyla hareket etmektedir. Bu sayede çok verimli ve etkin bir şekilde kütle aktarımı gerçekleşir. Bu da kolon desorpsiyonunun başarılı bir şekilde gerçekleşmesini sağlamaktadır (Efe, 2015).

Kriyojeller sahip oldukları aktif tanıma bölgeleri yardımıyla çoğu hedefe karşı yüksek seçiciliğe sahiptir. Bu da adsorpsiyon kapasitelerinin artmasını sağlar (Lan vd., 2014). Aynı zamanda kriyojeller %100 oranında sıkıştırılıp çözücü eklenerek tekrar eski konumlarına kolaylıkla dönebilmektedir (Yetişkin, 2015).

1.2.1. Kriyojellerin Sentezlenmesi

Kriyojellerin sentezlenmesi 3 basamaktan meydana gelmektedir. Bunlar sırasıyla polimer çözeltinin hazırlanması, sistemin dondurulması ve inkübasyonu ve sistemin erimesidir.

1.2.1.1. Polimer Çözeltisinin Hazırlanması

İlk olarak uygun polimer öncülleri/monomerler çözücü içerisinde çözülür ve polimerizasyon başlatıcılar ve çapraz bağlayıcılar eklenerek polimer çözeltisi elde edilir (Bakhshpour vd., 2019).

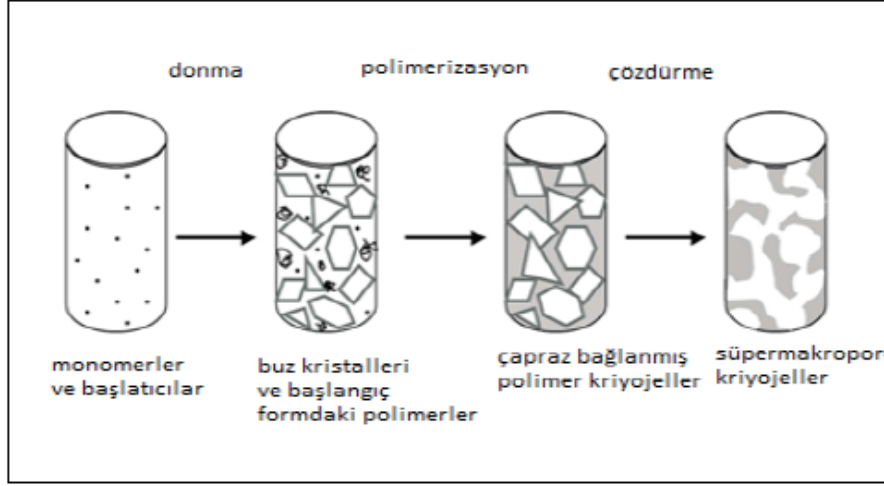
Bu aşamada en kritik olan nokta hazırlanan sistemin oda sıcaklığında polimerleşmeye başlamasıdır. Çünkü bu istemeyen bir durumdur. Kriyojeller soğuk ortamda polimerleşerek sentezlenmezler ise kendilerine özgü makro gözenekli yapıları oluşmamaktadır. Bu durumun önüne geçmek için çapraz bağlayıcı ve reaksiyon başlatıcılarını polimer çözeltisine eklemeyen önce çözeltiyi soğutmak gerekir (Mattiasson, 2014).

1.2.1.2. Sistemin Dondurulması ve İnkübasyonu

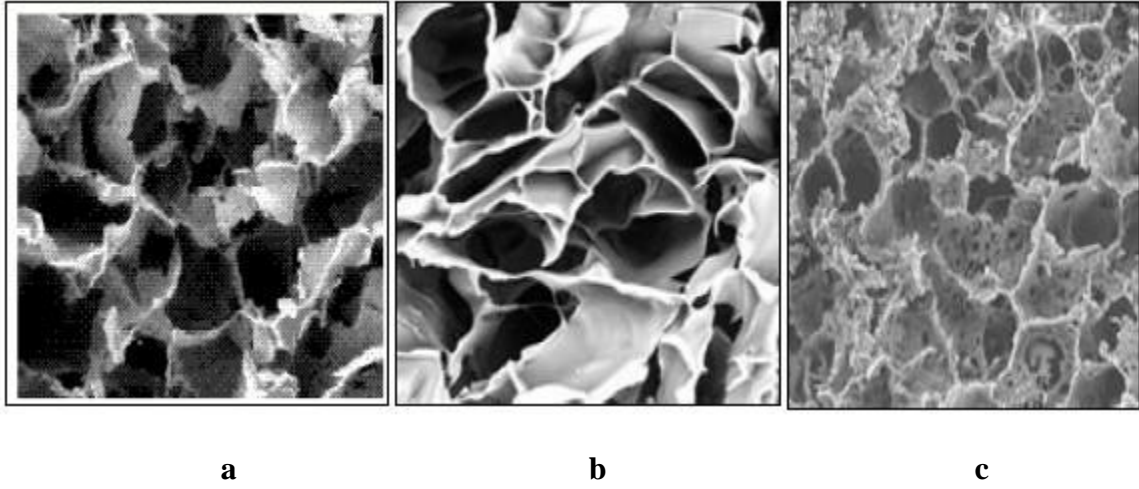
Hazırlanan polimer çözeltisi için uygun sıcaklık ve koşullar sağlanarak polimerizasyon işlemi başlatılır ve 17-24 saat süresince inkübasyona bırakılır. İnkübasyondan sonra mikro veya makro gözeneklere sahip kriyojel yapımı tamamlanır (Mattiasson, 2014). Dondurma sıcaklığı sentezlenmesi planlanan kriyojel yapısına göre değişmekle beraber -10°C ile -20°C arasındadır. (Plieva vd., 2007).

Dondurma sıcaklığı sentezlenen kriyojelin özellikleri açısından en önemli parametrelerden birisidir. Soğutma işleminin hızlı olması buz kristallerinin genişlemesine engel olur, böylece sayıca çok daha küçük boyutlu kristal oluşmasına yol açar. Bu durumda düzensiz ve mikro gözenekli, katı ve esnek olmayan yapıda mekanik olarak dayanıksız kriyojeller meydana gelir. Hızlı soğutma yapılmadığı zaman ise buz kristalleri genişleme için

yeterli süreye sahip olur. Bu da büyük gözenekler içeren daha geniş kristaller oluşmasını sağlar. Böylece düzenli yapıya sahip mekanik olarak sağlam ve esnek kriyojeller elde edilir. Kriyojelin kullanım alanına ve amacına göre dondurulma sıcaklığında değişiklik yapılarak istenen boyutta ve miktarda gözeneklere sahip kriyojeller sentezlenebilir (Memic vd., 2019).



Şekil 1.3. Kriyojelin sentez basamakları (Eren vd., 2019)

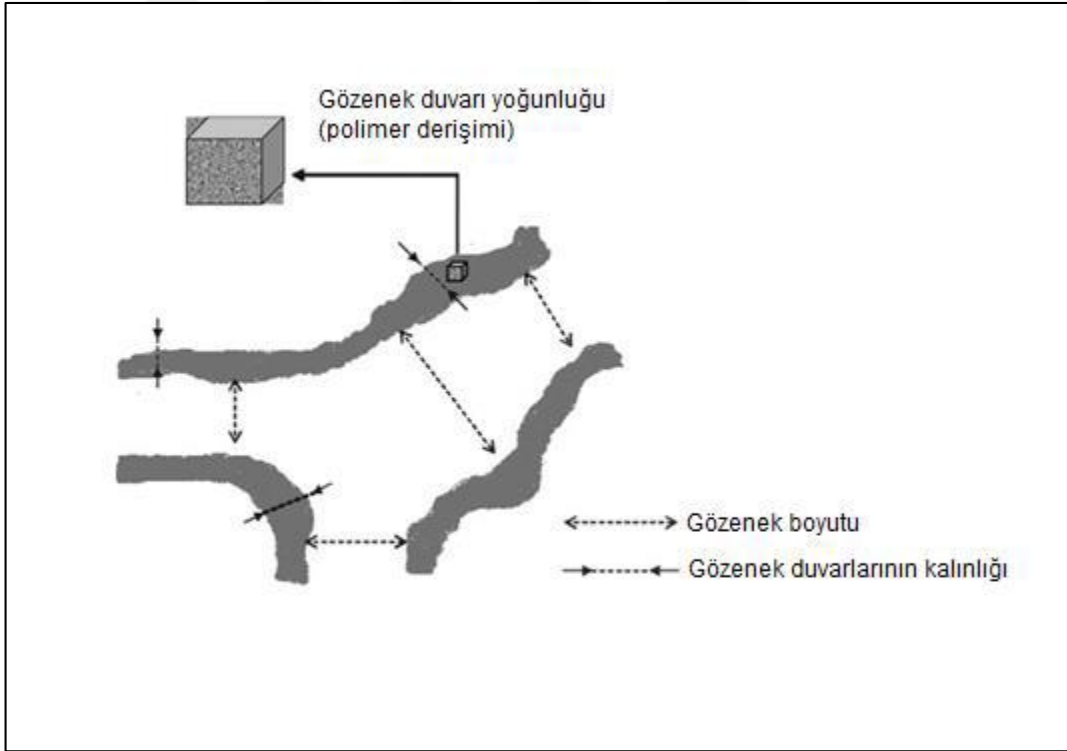


Şekil 1.4. Farklı monomerlerden hazırlanan kriyojellerin SEM görüntüleri a) Poli(N-izopropilakrilamit) kriyojeli, b) Kitosan-jelatin kriyojeli, c) Poli(Akrilonitril) kriyojeli (Biçen, 2010).

1.2.2. Kriyojellerin Yapısı ve Özellikleri

Kriyojeller çok çeşitli özellikler ile belirli bir uygulama için üretilebilirler. Heterojen, transparan olmayan, mikro veya makro gözenekli ürünlerdir. Bu özellikler monomer, çözücü, başlatıcı, çapraz bağlayıcının derişimleri, oranları, sıcaklık ve donma hızı gibi sentez koşullarına bağlı olarak değişebilir (Plieva vd., 2007).

Kriyojellerin özellikleri gözenek yapısına, gözenek duvar kalınlığına ve gözenek duvarındaki şişmiş olan polimer yoğunluğuna göre değişim gösterir. Gözenek boyutu toplam gözenek hacmi ile ilişkilidir. Gözenek boyutu ile gözenekleri arasındaki bağlantı, kriyojelin kütle transferini kontrol eden bir parametredir. Gözenek duvarının kalınlığı ve yoğunluğu ise kriyojelin mekanik özelliklerini belirler (Plieva vd., 2005).



Şekil 1.5. Hidrojelin şematik gösterimi (Mikhalovsky vd, 2011).

1.2.3. Kriyojel Yapısını Etkileyen Etkenler

Çapraz bağlanma: Çapraz bağlayıcı miktarı artarsa sudaki şişme oranı azalır.

Konsantrasyon: Reaksiyon başlangıcında konsantrasyon miktarı arttıkça yapıdaki matriks miktarı da artmaktadır. Bu da matriksin daha yoğun ve kırılğan olmasına neden olur. Konsantrasyon azaldıkça da yapı süngerimsi ve elastik bir hal alır (Arvidsson vd., 2003).

Dondurma işlemi: Donma sıcaklığı düştükçe donmamış sıvı mikro fazın hacmi azalır ve daha ince ancak daha yoğun gözenek duvarları oluşur. Bunun sebebi ise jel başlatıcıların donmamış mikro fazda artması ve hacminin azalmasıdır (Plieva vd., 2006).



Şekil 1.6. Çeşitli şekillerde üretilen kriyojeller

1.3. Siklodekstrinler

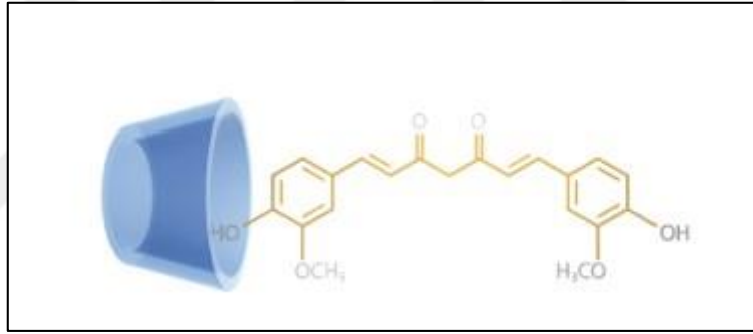
Siklodekstrinler, 100 yılı aşkın bir süredir bilim ve araştırmalarca bilinen teknik özelliklere sahip halka şeklindeki şeker molekülleridir (kiral siklik oligosakkaritler). Glikoz birimlerinin sayısına göre α -, β - ve γ -siklodekstrin olarak sınıflandırılır: α -, β - ve γ -siklodekstrin, sırasıyla altı, yedi ve sekiz glikoz ünitesinden oluşur.

Siklodekstrinler, özel yeteneklere sahip moleküllerdir. Seçilen hidrofobik molekülleri barındırabilir, koruyabilir veya stabilize edebilir ve denge kontrollü bir süreçle serbest

bırakabilirler. Bu prensip özellikle kurkumin gibi hidrofobik yapıdaki bileşenlerin biyoyararlanımını artırır.

Bu prensip, gıda endüstrisinde ilgi çeken uygulamaların oluşmasını sağlayan yenilikçi bir teknoloji platformunun yolunu açar. Özellikle kurkumin gibi hidrofobik yapıdaki sağlığa yararlı bileşenlerin biyoyararlanımını artırır.

Kurkumini gıda ürünleri için formüle etmenin en temel problemi, yüksek oranda hidrofobik özellikler sergilemesidir. Bu yüzden kurkumin kan tarafından çok az miktarda emilir, büyük bölümü vücuda alınmadan atılır. Tersine, hidrofilik bileşiklerin çok daha fazla emilimi vardır. Burada γ -siklodekstrin devreye girer. Siklodekstrinlerin iç yüzeyi hidrofobiktir, oysa dış yüzeyi hidrofiliktir. Yağda çözünebilen kurkumin, γ -siklodekstrin çekirdeğine girer. Oluşan yapının hidrofilik yüzeyi, biyoyararlanımı ve dolayısıyla insan vücudundaki kurkuminin çözünürlüğünü artırır.



Şekil 1.7. Kurkumine bağlanmış γ -siklodekstrin

1.4. Katı Faz Ekstraksiyonu (SPE)

Analiz yapılacak olan numuneler, aranan madde haricinde farklı bileşenlere sahip karışık bir matriksten oluşmaktadır. Bu istenmeyen maddeleri uzaklaştırmak için örnek hazırlama adımının uygulanması gerekir. Sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi örnek hazırlamada kullanılan adımlardan birisidir. Fakat bu yöntem fazla zaman almakta ve yüksek maliyete sahip olmaktadır. Kullanılan çözücülerin çevre kirliliğine neden olması ve çalışma zorlukları nedeniyle yeni yöntemler araştırılmaya başlanmıştır. 1970'li yıllarda SPE metodu kullanılmaya

başlanmıştır, ilerleyen yıllarda ise bu yöntem giderek yaygınlaşmış ve günümüzde kullanılan önemli bir saflaştırma ve ayırıştırma metodu haline almıştır (Yavuz ve Aksoy, 2006).

Katı faz ekstraksiyonunda sıvı bir numune bir sorbent içerisinden geçirilir. Genel olarak tek kullanımlık ve küçük boyutlu ekstraksiyon kolon ve disklerine bazı adsorplayıcı maddeler doldurulmakta ve sıvı örneklerinin bu kolon ve disklerden geçirilerek istenmeyen bileşenlerden temizleme ve analiz aşamaları için örnek matrisinin istenilen yapıya getirilmesi amaçlanmaktadır (Aksoy ve Yavuz, 2006).

Bu yöntem kolondan geçirilen örnek molekülleri ile kolonda bulunan adsorbanın etkileşimi sayesinde gerçekleşir. Bu etkileşim ile maddelerin ayrılmasında üç yöntem kullanılmaktadır. İlk yöntemde analizi yapılmak istenen bileşenler kolon içerisindeki adsorbana tutunurken, istenmeyen bileşenler bu madde ile etkileşime girmezler. Uygun bir yıkama çözeltisi ile kolondan uzaklaştırılırlar. Kolonda kalan, analizi yapılacak olan bileşenler ise yine uygun bir çözelti yardımıyla adsorbandan çözdürülerek alınır. İkinci yöntemde adsorban, istenmeyen maddeleri tutmakta ve bu bileşenler adsorban tarafından bağlanmaktadır. Analizi yapılacak madde ise adsorban ile etkileşime girmeyerek ortamdan alınır. Bu yöntem, daha az tercih edilmektedir. Üçüncü yöntemde ise numunede yer alan tüm bileşenler, adsorban tarafından tutulur ve uygun bir ayırma reaktifi kullanılarak sadece hedef madde ortamdan alınır (Camel, 2003).

1.4.1. SPE Yönteminde Kullanılan Ayırma Mekanizmaları

Ters faz: Polar olmayan türleri daha polar olan numune matrisinden ayırmak için kullanılan tekniktir. Bu teknikte en fazla kullanılan maddeler, oktadesil (C18), oktil (C8), bütül, fenil, siyano dur (Types, 1998).

Normal faz: Polar olmayan matrislerden polar bileşiklerin ayrılmasında kullanılan tekniktir. Bu teknikte en çok kullanılan madde silikadır (Types, 1998).

İyon değişimi: Yüklü olan bileşikler için kullanılan tekniktir. İki molekül arasında iyonların karşılıklı değişmesi ile ayırım sağlanır (Aksoy ve Yavuz, 2006). Kolondan geçiş hızı, pH, iyonik kuvvet, zıt yüklü olma gibi parametreler bu teknik için çok önemlidir (Types, 1998).

Moleküler eleme: Bu teknikte ise molekül büyüklüğüne göre örnek çözelti içerisindeki maddeler gözenekli maddelere tutunur ve ayırma sağlanır (Aksoy ve Yavuz, 2006).

Afinite: Katı faz ekstraksiyonu için moleküler tanıma işlemi oldukça spesifiktir. Yüksek seçiciliğe sahip olan adsorbanların sentezlenmesi için de kullanılmaktadır. Aptamerler, immünosorbentler, moleküler baskılı polimerler afinite mekanizmasında adsorban olarak kullanılmaktadırlar (Płotka-Wasyłka vd., 2016).

1.4.2. SPE Metodunun Avantajları

Bu metot, sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemine göre daha hızlı sonuç vermektedir ve örnek hazırlama süresinin kısılmasını sağlamaktadır (Macherey-Nagel, 2004).

Pratik ve kolay uygulanabilen bir metottur (Stevenson, 2000).

Kullanılan kimyasal madde miktarı az olduğu için daha ekonomik bir örnek hazırlama yöntemidir (Macherey-Nagel, 2004).

Geri kazanım oranı yüksektir. Yüksek yoğunluk ve saflıkta örnekler elde edilmesine olanak sağlar (Majors, 2001).

Çapraz bulaşma riski düşük olduğundan doğruluk oranı yüksek sonuçlar elde edilir (Majors, 2001).

Düşük miktarda örnek ile çalışıldığından sıvı-sıvı ekstraksiyonunda olduğu gibi emülsiyon oluşma sorunu yoktur (Majors, 2001).

Az miktarda çözücü ve örnekle çalışıldığı için zehirli maddeler ile temas daha azdır ayrıca az cam malzeme kullanıldığı için analiz yapanlar açısından oldukça güvenlidir ve çevreyi kirletme olasılığı daha düşüktür (LeBlanc ve Majors, 2001).

Birden fazla örneğin aynı anda ve tekrarlanabilir şekilde çalışılmasına olanak sağladığı için kolaylıkla otomasyon uygulanabilir (LeBlanc ve Majors, 2001).

1.4.3. SPE Metodunun Başlıca Kullanım Alanları

SPE metodu, birçok avantaja sahip olduğu için çevre ve gıda, biyoanaliz, adli tıp ve toksikoloji, analitik biyokimya, organik sentez gibi geniş bir kullanım alanına sahip örnek hazırlama metodlarından birisi olmuştur (Rossi ve Zhang, 2000).

Gıdalarda besin maddelerinin analizleri ve içerisinde bulunan kirleticilerin tespit edilmesinde önemli bir örnek hazırlama metodudur. Fındıkta bulunan mikotoksin, hayvansal

gıdalarda yer alan pestisitler, et ürünlerinde steroid hormonunun tespit edilmesi SPE metodunun kullanılmasına verilebilecek örneklerdir (Wardencki vd., 2004).

SPE, sudaki organik kirleticilerin analizinde de önemli bir kullanım alanına sahiptir. $\mu\text{g/L}$ (ppb) ve daha alt düzeylerde bulunan bu maddelerin tespit edilebilmesi için çok düşük tayin sınırları gereklidir. SPE metodu yüksek geri kazanım oranlarına sahip olduğu için bu gibi analizlerde tercih edilmektedir (Pichon, 2000).



2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Kurkumin ile İlgili Bazı Literatür Çalışmaları

Moradi vd. (2015), zerdeçal ve spagetti içinde bulunan kurkuminin tayini için UV-VIS spektrofotometrisine bağlı, dar delikli bir tüpte dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yöntemini geliştirmişlerdir. Ekstraksiyon işlemleri, sulu numune içeren dar delikli bir tüp içinde gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyondan sonra, tüpün üzerinde toplanan bir mikro damla ekstraksiyon çözücüsü, bir kuartz mikro hücreye enjekte edilmiş ve UV-VIS spektrofotometre ($\lambda_{max}=427nm$) ile analiz edilmiştir. Yöntemin ekstraksiyon ve disperser çözücülerin tipi ve hacmi, sulu numune hacmi, tuz etkisi ve pH gibi etkili parametreleri araştırılmış ve optimize edilmiştir. Optimize edilmiş koşulda, zenginleştirme faktörü ve gözlenebilme sınırı (LOD) sırasıyla 176 ve 30 $\mu g L^{-1}$, bağıl standart sapma % 4.2 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada zerdeçal ve spagetti örneklerinde, kurkumin tayini için önerilen yöntem başarıyla gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara dayanarak, sulu örneklerde kurkumin tayini için yöntemin uygun olduğu gösterilmiştir.

Menghwar vd. (2018), kurkuminlerin potansiyel kullanım alanlarını araştırmak için yeni bir mikroekstraksiyon yöntemi geliştirmişlerdir. Bunun için çevreye duyarlı uzun zincirli asit (C7-C14) bazlı supramoleküler çözücüler (SUPRA'lar) oluşturmuşlardır. SUPRA'lar, dekanolik asidin tetrahidrofuran ile karıştırılmasıyla hazırlanmıştır. Kurkuminin ultrasonik destekli kısıtlı erişimli supramoleküler solvent sıvı faz mikro ekstraksiyonu, SUPRA'lar kullanılarak pH 6'da 200 μL ile elde edilmiştir. pH, solvent hacmi, ultrasonikasyon süresi ve numune hacmi dahil olmak üzere çeşitli parametreler optimize edilmiştir. Gözlenebilme sınırı 5.3 $\mu g L^{-1}$, tayin sınırı 17.5 $\mu g L^{-1}$, bağıl standart sapma % 2.2 ve zenginleştirme faktörü 50 olarak bulunmuştur.

Asfaram vd. (2016), gıda örnekleri ve atıksularda kurkumin tayini için dağılımlı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DLLME) ile spektrofotometrik tayini birleştiren bir yöntem geliştirmişlerdir. DLLME'yi etkileyen parametrelerin (ekstraksiyon çözücüsü ($CHCl_3$), dağıtıcı çözücü (etanol), pH, santrifüj süresi ve KCl konsantrasyonu) etkileri, merkezi kompozit tasarımı ve yanıt yüzey metodu ile optimize edilmiştir. Zenginleştirme faktörü 23, tayin sınırı 0.78 $ng mL^{-1}$ olarak bulunmuştur. Bağıl standart sapması (BSS) % 3'ten ($n=4$) az olan ve % 91.76-100 aralığındaki geri kazanımlara sahip kurkuminin, gerçek örneklerde başarıyla ölçülebildiği belirtilmiştir.

Aydın vd. (2018), yeşil çözücü olarak adlandırılan derin ötektik çözücü yardımı ile kurkumin ayırması ve zenginleştirilmesi için yeni bir mikroekstraksiyon yöntemi geliştirmişlerdir. Kolin klorür ve fenolün karıştırılmasıyla oluşturulan derin ötektik çözücü (DES), kurkumini pH 4.0'da ekstrakte etmek için mikroekstraksiyon çalışmasında ekstraksiyon solventi olarak kullanılmıştır. Zenginleştirilmiş DES fazındaki kurkumin konsantrasyonu, UV-VIS spektrofotometre ile analiz edilmiştir. pH, DES bileşiminin mol oranı, DES hacmi, tetrahidrofur (THF) hacmi ve numune hacmi gibi parametrelerin etkisi incelenmiştir. Matriks bileşenlerinin girişim etkileri araştırılmıştır. Zenginleştirme faktörü 12.5 olarak bulunmuştur. Yöntemin saptama limiti ($n = 10$) $2.86 \mu\text{g L}^{-1}$, ve bağıl standart sapma (BSS, $n = 8$) % 1.8 olarak bulunmuştur. Yöntem, gıda ve bitki çayı örneklerinde kurkumin tayini için başarıyla uygulandığı bildirilmiştir. Ortalama geri kazanımlar % 96 ile % 102 arasında ve standart sapmalar % 1-6 aralığında bulunmuştur.

Hashemi vd. (2013), insan kanında bulunan kurkumin miktarının hassas tayini için dar boyunlu cam bir tüp kullanarak yüzen organik damlacığın santrifüjlenip su banyosunda soğutulmasını sağlamışlardır. Sonrasında katılaştıran örneği dağılımlı sıvı-sıvı mikroekstraksiyon yöntemi ile analiz etmişlerdir. Optimize edilmiş koşullarda kan numunelerinden kurkumin miktarının tayini için geri kazanım % 95.5, bağıl standart sapma % 8.0, zenginleştirme faktörü 25.3 ve tayin sınırı 1.2 ng mL^{-1} olarak bulunmuştur. Yöntemin, uygun sonuçlarla insan serum örneğinde kurkumin tayinine uygulandığı rapor edilmiştir.

Kalın (2018), yaptığı çalışmada farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanarak bitkilerin antimikrobiyal aktivitesini incelemiştir. Çalışmada, Zingiberaceae familyasından üç farklı rizom zencefil (*Zingiber officinale*), havlıcan (*Alpinia officinarum*) ve zerdeçal (*Curcuma longa*) ile çalışmalar yapılmıştır. Örnekler % 70 etanol kullanılarak, sokslet için petrol eteri, n-hekzan, kloroform, aseton, metanol ve su ile ekstrakte edildikten sonra antimikrobiyal aktivitesi belirlenmiştir. Elde edilen ekstraktlar 18 farklı mikroorganizmaya karşı test edilmiştir. Elde edilen sonuçlar ekstraksiyon yönteminin bitki örneklerinden alınan aktif maddenin etkisini nasıl değiştirdiğini göstermiştir. Bu tarz araştırmalarda birden fazla ekstraksiyon yöntemi kullanılmasının önem arz ettiğini ifade edilmiştir.

2.2. Kriyojeller ile İlgili Bazı Literatür Çalışmaları

Karakutuk ve Okay (2010), yaptıkları bir çalışmada su yüzeyinde biriken gaz yağı, dizel, akaryakıt vb. yağların gideriminde makro gözenekli izobütülen ve izopren birimlerinden oluşan bütül kauçuğun organo jellerini kullanmışlardır. Bu çalışmanın deniz yüzeyinde deniz taşıtlarının oluşturdukları petrol atıklarının giderimi açısından önemli olduğu belirtilmiştir. Makro gözenekli organojeller, çeşitli kauçukların, 18°C'de benzen içinde çözeltiyle çapraz bağlanmasıyla hazırlanmıştır. Kauçuk olarak bütül kauçuk (PIB), cis-polibütadien (CBR) ve stiren-bütadien kauçuk (SBR) kullanılmıştır. Kükürt monoklorür ise jel hazırlanmasında çapraz bağlayıcıdır. Organojel ağları, 101 adet büyük gözenekten oluşmuştur. Tüm organojellerin çok sert ve herhangi bir çatlak oluşumu olmadan tamamen sıkıştırılabildiği bildirilmiştir. Soğurum testlerinin, organojellerin ham petrol, benzin, dizel, akaryakıt ve zeytinyağının çıkarılmasında etkili olduğu ve organojellerin yeniden kullanılabilirdiği ifade edilmiştir. Sıkıştırıldıklarında, ham petrol için CBR veya SBR jellerinin adsorpsiyon kapasiteleri sırasıyla 33-38 g/g ve 24-27 g/g zeytinyağı olarak bulunmuştur.

Orakdogen vd. (2011), yaptıkları bir çalışmada makro gözenekli DNA kriyojelleriyle, kanserojen fenantren bileşiğinin adsorpsiyonunu gerçekleştirmişlerdir. Çapraz bağlayıcı olarak etilen glikol diglisidil eter ve katalizör olarak N,N,N',N'-tetrametiletilediamin kullanılmıştır. Boncukların, 4.0 mM NaBr'de kuru ağırlıklarının 74-212 katı kadar şiştiği rapor edilmiştir. Boncukların kuru haldeyken, jelleşme reaksiyonları sırasında kalıp görevi gören buz kristalleri nedeniyle $10^1 - 10^2$ µm boyutlarında düzensiz büyük gözenekler içerdiği bilinmektedir. DNA boncuklarının, herhangi bir çatlak gelişimi olmaksızın yaklaşık % 80'ine kadar sıkıştırılabildiği belirtilmiştir. Ayrıca sırasıyla suyun ve asetonun da tersinir şişme-şişme döngüleri sergilediği ve % 51 oranında aseton içeren sulu aseton çözeltilerinde ayrı bir faz geçişine maruz kaldığı ifade edilmiştir. Boncukların sulu çözeltilerden kanserojen ajanları uzaklaştırma kabiliyeti, model bileşik olarak fenantren kullanılarak da gösterilmiştir. Boncukların adsorpsiyon kapasitesi 420 µg fenantren/g DNA olarak bulunmuştur.

Özhan (2019), yaptığı çalışmada propaklor için moleküler baskılı polimer ve kriyojel katı faz ekstraksiyon sistemlerini hazırlamış ve adsorpsiyon kapasitelerini karşılaştırmıştır. Kloroasetanilid herbisitler, yabancı otların kontrol edilmesinde kullanılmaktadır. Propaklor da yaygın olarak kullanılan kloroasetanilid herbisit grubundan bir pestisitir. Yeraltı su kaynakları ve toprak kaynaklarında kirlenmelere neden olmaktadır. Pestisitlerin uzaklaştırılması ve tayin edilmesinde yüksek afinite, sağlamlık, seçicilik gibi avantajlarından dolayı moleküler

baskılanmış polimerler (MIP) tercih edilmektedir. Bu çalışmada, çapraz bağlanmış polimerde propaklor kalıp olarak kullanılmıştır. Kalıp molekül propaklor, fonksiyonel monomer metakrilik asit, çapraz bağlayıcı EDGMA, çözücü heksadekan ve başlatıcı olarak AIBN kullanılarak MIP sentezi yapılmıştır. Kriyojellerin ise adsorpsiyon ve elüsyonun kısa sürede gerçekleşmesi, kısa difüzyon yolu, düşük basınç gibi avantajlı özelliklerinden dolayı ayırma ve saflaştırma için iyi bir alternatift olduğu bildirilmiştir. MIP gömülü kriyojel, çapraz bağlayıcı MBAAm, fonksiyonel monomer HEMA ve başlatıcılar olarak APS, TEMED kullanılarak hazırlanmıştır. MIP'in yapısı SEM ve FT-IR, MIP gömülü kriyojelin yapısı ise SEM kullanılarak tanımlanmıştır. MIP için en yüksek adsorpsiyon kapasitesi 30 ppm propaklor kullanıldığında 7.45 mg/g olarak bulunmuştur. MIP gömülü kriyojel için en yüksek adsorpsiyon kapasitesi 30 ppm propaklor kullanıldığında ise 14.38 mg/g olarak bulunmuştur. Bulunan bu değer, yapılan bu çalışma ve literatürde MIP'in adsorpsiyon kapasitesinden daha yüksek olduğu bulunmuştur. Propaklorun MIP gömülü kriyojele bağlandığında K_d değeri 7.90×10^3 M^{-1} ve Q_{max} 26.15 mg/g olarak bulunmuştur. Propaklorun çevresel numunelerdeki adsorpsiyon ve desorpsiyonu için MIP gömülü kriyojel kullanılmıştır. Çevresel numunelerdeki propaklor konsantrasyonu HPLC ile analiz edilmiştir. Çalışmanın amacının; MIP ve kriyojelin avantajlarını birleştirerek propaklorun önderiştirilmesine dair iyi bir kromatografi malzemesi hazırlamak olduğu ifade edilmiştir.

Yeşilova (2019), yaptığı çalışmada, tetrasiklinin (TC) seçici adsorpsiyonu için kriyojel bir kolon sentezlemiştir. TC baskılanmış poli(hidroksietil metakrilat-N-metakriloil-L-glutamik asit metil ester) [poli(HEMA-MAGA)] partiküller poli(hidroksietil metakrilat) [PHEMA] kriyojel içerisine gömülmüştür. TC baskılanmış poli(HEMA-MAGA) partikül gömülü kriyojel [PHEMA-MIP] FTIR, SEM ve BET analizleri ile karakterize edilmiştir. PHEMA-MIP kriyojel sulu çözeltiden TC adsorpsiyonunda kullanılmıştır. Adsorpsiyon kapasitesine akış hızı, pH, başlangıç TC derişimi, sıcaklık, temas süresi ve iyonik şiddetin etkisi araştırılmıştır. Maksimum adsorpsiyon kapasitesi 25 °C'de 680 mg TC/g olarak belirlenmiştir (pH 5.0). PHEMA-MIP kriyojelin seçicilik çalışmalarında siprofloksasin ve amoksisilin kullanılmıştır. Adsorpsiyon verilerinin izoterm ve kinetik modellere uygunluğu modellere ait lineer ve lineer olmayan eşitlikler kullanılarak araştırılmıştır. TC adsorpsiyon verilerinin Freundlich adsorpsiyon izoterm modeline uygun olduğu belirlenmiş. PHEMA-MIP kriyojele TC adsorpsiyon kinetiğinin yalancı-ikinci derece ve partikül içi difüzyon modeline uygun olduğu belirlenmiştir. PHEMA-MIP kriyojelin TC adsorpsiyonuna ait ΔH_o değeri -5.306 kJ/mol, ΔS_o değeri 0.0656 kJ/mol.K olarak hesaplanmış. ΔG_o (kJ/mol) değerleri 4 °C, 13 °C ve 25 °C sıcaklık için sırasıyla

-23.477, -24.067 ve -24.854 kJ/mol olarak bulunmuştur. Termodinamik parametrelerin, TC adsorpsiyonunun ekzotermik ve istemli olduğunu gösterdiği belirtilmiştir.

Kartal Ersoy (2018) yaptığı çalışmada gıdalardan kolesterolün uzaklaştırılması için moleküler baskılanmış kriyojel mikroküreleri sentezlemiş ve adsorpsiyon özelliklerini incelemiştir. Çalışma kapsamında öncelikle gıdalardan kolesterolün seçici olarak uzaklaştırılması için mevcut yöntemlere alternatif, kolesterole seçici bağlanma bölgelerinin oluşmasına olanak sağlayacak fonksiyonel monomer ile moleküler baskılanmış poli(hidroksietil metakrilat-metakriloilamidotriptofan metil ester) kriyojel mikroküreler hazırlanmıştır. Kolesterol baskılanmış kriyojel mikrokürelerin karakterizasyon çalışmaları, FTIR spektroskopisi, taramalı elektron mikroskobu, termogravimetrik analiz ve elementel analiz ile gerçekleştirilmiştir. Kolesterol baskılanmış kriyojel mikroküreler ile kolesterol arasındaki etkileşimler incelenmiş ve kolesterolün adsorpsiyonuna etki eden faktörler incelenerek optimum koşullar belirlenmiştir. Bu çalışma kapsamında adsorpsiyon izotermine ve adsorpsiyon kinetik analizlerine yer verilmiş, gerçek gıda örneklerinden kolesterolün seçimli ve etkin olarak uzaklaştırılması çalışmaları sentezlenen kolesterol baskılanmış kriyojel mikroküreler ile gerçekleştirildiği rapor edilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

Yapılan çalışmalarda 2-hidroksietil metakrilat (HEMA), metilen bisakrilamid (MBAAm), N,N,N',N'-tetrametilen diamin (TEMED), β -siklodekstrin Sigma Aldrich firmasından, 1,2-epoksi-5-hekzen (EH) Acros firmasından, amonyum persülfat (APS) AFG Bioscience firmasından, dimetilformamid (DMF) Isolab firmasından, kurkumin Sigma Aldrich ve BLDpharm firmalarından, metanol ve asetik asit Merck firmasından, aseton J.T. Baker firmasından temin edildi. Kullanılan tüm kimyasal maddeler analitik saflık derecesindedir.

Kullanılan cam malzemelerin tümü HNO₃ asit çözeltisinde (V/V, 1:10) 24 saat bekletildi. Daha sonra distile sudan geçirilerek kullanıldı.

3.2. Deneylerde Kullanılan Cihazlar

Poli(HEMA-EH) ve β -Siklodekstrin ile modifiye edilmiş poli(HEMA-EH) kriyojellerinin yüzey yapısı İnönü Üniversitesi İBTAM'da bulunan taramalı elektron mikroskobu (SEM) (LEO EVO 40, Cambridge, İngiltere) ile görüntülendi. Poli(HEMA-EH) ve β -Siklodekstrin ile modifiye edilmiş poli(HEMA-EH) kriyojellerinin IR spektrumları İnönü Üniversitesi İBTAM'da bulunan IR cihazı ile alındı.

Kurkumin tayini için Shimadzu UV-1601 UV-VIS Spektrofotometre kullanıldı.

3.3. Kriyojel Sentezi

3.3.1. Poli(HEMA-EH) Kriyojellerin Hazırlanması

Poli(HEMA-EH) monolitik kriyojelleri serbest radikal kriyopolimerizasyonu tekniği kullanılarak sentezlendi (Uygun, 2015).

Poli(HEMA-EH) kriyojel sentez aşamaları:

- ❖ Monomer çözeltisi 1.3 mL HEMA ile 100 µL EH'in 5.0 mL distile suda çözülmesiyle hazırlandı. Bu karışımda HEMA yapısal monomer, EH ise fonksiyonel monomer olarak görev aldı.
- ❖ Çapraz bağlama çözeltisi 0.283 g MBAAm'in 10.0 mL distile suda çözünmesiyle hazırlandı.
- ❖ Monomer çözeltisi ve çapraz bağlama çözeltileri karıştırıldı ve buz banyosu içerisine yerleştirildi.
- ❖ Üzerine 20 mg APS ve 25 µL TEMED eklendi.
- ❖ Hızlı bir şekilde 5 mL'lik plastik enjektörler içerisine aktarıldı.
- ❖ -12 °C'de 24 saat inkübe edildi.
- ❖ Polimerizasyon işlemi sonunda 24 saat boyunca bekletilen kriyojeller oda sıcaklığına alındı ve donan sıvı fazın erimesi sağlandı.
- ❖ 20 mL distile su ile yıkanarak reaksiyona girmeyen monomer ve başlatıcı artıklarından temizlendi.
- ❖ Kullanılana kadar üzeri su ile kapatılarak +4 °C'de bekletildi.

3.3.2. β-siklodekstrin Modifiye Poli(HEMA-EH) Kriyojellerin Hazırlanması

β-siklodekstrin molekülünün poli(HEMA-EH) polimeri üzerine immobilizasyonu işleminde EH monomeri üzerinde yer alan epoksi grupları kullanıldı.

β-siklodekstrin modifiye poli(HEMA-EH) kriyojel sentez aşamaları:

- ❖ Monomer çözeltisi 1.3 mL HEMA ile 100 µL EH'in 5.0 mL distile suda çözülmesiyle hazırlandı. Bu karışımda HEMA yapısal monomer, EH ise fonksiyonel monomer olarak görev aldı.
- ❖ Çapraz bağlama çözeltisi ise 0.283 g MBAAm'in 10.0 mL distile suda çözünmesiyle hazırlandı.
- ❖ Monomer çözeltisi ve çapraz bağlama çözeltileri karıştırıldı ve buz banyosu içerisine yerleştirildi.
- ❖ Üzerine 20 mg APS ve 25 µL TEMED eklendi.
- ❖ Hızlı bir şekilde 5 mL'lik plastik enjektörler içerisine aktarıldı.
- ❖ -12 °C'de 24 saat inkübe edildi.
- ❖ Polimerizasyon işlemi sonunda 24 saat boyunca bekletilen kriyojeller oda sıcaklığına alındı ve donan sıvı fazın erimesi sağlandı.

- ❖ 20 mL distile su ile yıkanarak reaksiyona girmeyen monomer ve başlatıcı artıklarından temizlendi.
- ❖ Hazırlanan poli(HEMA-EH) kriyojelleri ilk olarak dimetilformamid (DMF) ile dengelendi.
- ❖ Bu amaçla, ve daha sonra kriyojel kolon içerisinde % 6'lık β-siklodekstrin çözeltisi (DMF içerisinde ve 1.0 M NaCl ve % 1.0 NaOH içeren çözelti) 80 °C'de 2 saat süresince geçirildi.
- ❖ Reaksiyon işlemi sonunda modifiye edilen kriyojeller sıcak su, aseton, metanol ve distile su ile yıkandı.
- ❖ Kullanılana kadar üzeri su ile kapatılarak +4 °C'de bekletildi.

3.4. Karakterizasyon Çalışmaları

3.4.1. Şişme Testleri

Hazırlanan kriyojellere şişme testi uygulandı. Kriyojeller sabit kütleyle ulaşıncaya kadar etüv içerisinde kurutuldu. Kurutulan kriyojellerin şişme testleri öncesi kütlesi 0.1 mg hassasiyetteki analitik terazide tartıldı. Daha sonra sabit tartıma gelen kriyojeller 25 C'deki 50 mL distile suyun içinde 1 saat boyunca inkübe edildi. İlk önce kısa daha sonra biraz daha uzun zaman aralıklarında olmak üzere kütlesi 1 saat boyunca tartıldı. Kriyojel kütlesi tartılırken fazla su filtre kağıdı ile alındı, tartıldı ve tekrar su içerisine bırakıldı.

Şişme oranı aşağıdaki eşitlik ile hesaplandı:

$$\%Şişme = \frac{m_{şişmiş} - m_{kuru}}{m_{kuru}} \times 100$$

burada $m_{şişmiş}$ ve m_{kuru} sırası ile şişmiş ve kuru kriyojellerin kütlesidir.

3.4.2. Yüzey Morfolojisi

Hazırlanan kriyojellerin gözenek yapıları, gözenek açıklıkları ile genel yüzey özellikleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak incelendi. Sentezlenen kriyojellerin üzerinde

taşıdığı fonksiyonel gruplar FTIR spektrumu alınarak tartışıldı. FTIR analizleri için, sentezlenen kriyojeller 60 °C'de 5 gün boyunca kurutuldu ve daha sonra toz haline getirilerek FTIR cihazına yerleştirildi.

3.5. Kurkuminin Ayırma ve Zenginleştirme Çalışmaları

3.5.1. Adsorpsiyon Koşullarının Belirlenmesi

100 ppm stok kurkumin çözeltisi metanolde hazırlandı. Adsorpsiyon çalışmaları metanol yüzdesi %10-100 aralığında değişen 10 mL 1 ppm kurkumin çözeltileri ile gerçekleştirildi. Yapılan bu çalışma ile en iyi adsorpsiyon ortamı belirlenmiş oldu.

3.5.2. Desorpsiyon Çözeltisinin Belirlenmesi

Kriyojel tarafından adsorbe edilen kurkuminin desorpsiyonu için çeşitli çözücüler kullanıldı. Bu amaçla izopropil alkol, metanol, asetonitril ve metanol-asetik asit (9:1) çözeltileri denendi.

3.5.3. Çözelti Hacminin ve Desorpsiyon Çözeltisinin Hacminin Etkisi

Zenginleştirme çalışmalarında çözelti hacmi oldukça önemli bir faktördür. Uygulanabilir en yüksek örnek hacmi 5-100 mL aralığında değişen örnekler ile tespit edilmeye çalışıldı. Çözeltilerin içerdiği kurkumin miktarı 0.01 mg'da sabit tutuldu. Böylelikle çözelti hacmi arttıkça seyrelen bir dizi çözelti elde edilmiş oldu.

En iyi desorpsiyon verimine sahip çözücü belirlendikten sonra desorpsiyon çözeltisi hacmi belirlendi. Bu amaçla desorpsiyon çözeltisi hacmi 1-10 mL aralığında değiştirilerek en uygun desorpsiyon hacmi belirlendi.

3.5.4. Adsorpsiyon Kapasitesinin Belirlenmesi

1-8 mg/mL aralığında kurkumin içeren çözeltiler hazırlandı. Kriyojeller bu çözeltiler içerisine bırakıldı. Kurkumin çözeltisinin başlangıç ve final derişimlerinden kriyojellerin kapasitesi hesaplandı. Kriyojellerin adsorpsiyon kapasitesi aşağıdaki eşitlik ile hesaplandı:

$$q = \left(\frac{C_0 - C}{m} \right) V$$

Burada, q birim kriyojel kütlesi başına adsorplanan kurkumin miktarı (mg/g); C_0 ve C sırasıyla başlangıç ve final kurkumin derişimi (mg/mL). V çözelti hacmi (mL) ve m kriyojel kütlesidir (g).

3.5.6. Yöntemin Gıda Örneklerine Uygulanması

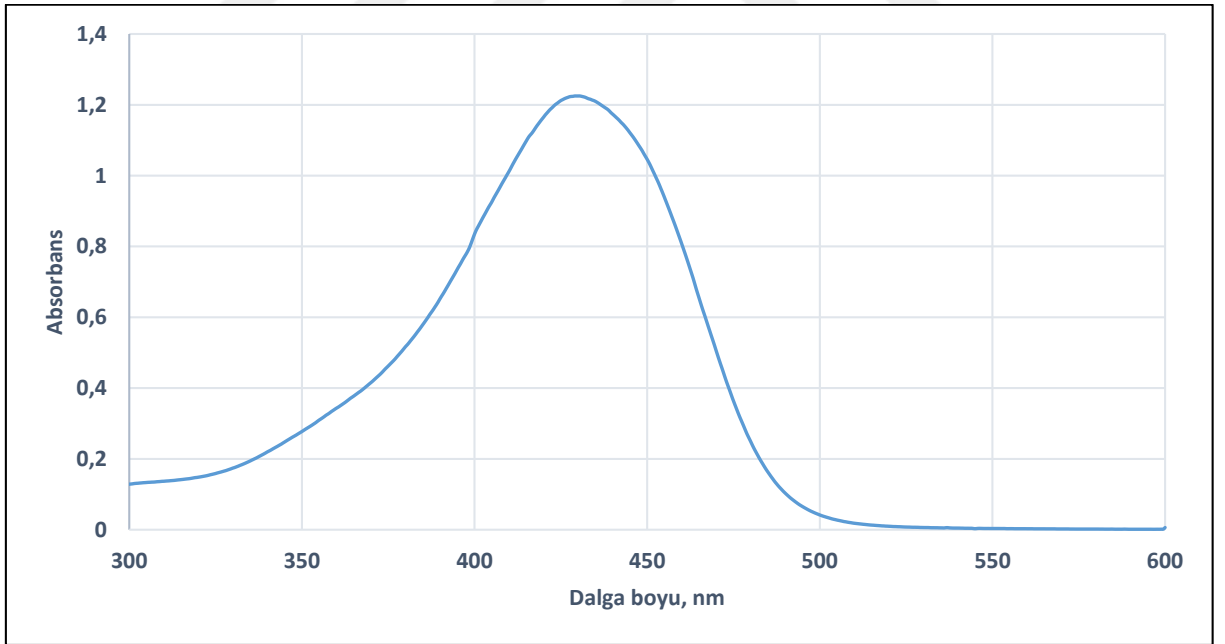
Kurkumin adsorpsiyonunu ve desorpsiyonunu etkileyen çeşitli parametreler optimize edildikten sonra yöntem kurkumin içerebileceği düşünölen veya bilinen gıda örneklerine uygulandı.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Yapılan çalışmada kurkuminin gıda örneklerinden ayırma ve zenginleştirilmesi için β -siklodekstrin immobilize poli(HEMA-EH) kriyojelleri sentezlendi. İlk olarak sentezlenen kriyojellerin karakterizasyon çalışmaları yapıldı. Daha sonra katı faz ekstraksiyonu için optimum koşullar belirlenmeye çalışıldı ve geliştirilen yöntem gıda örneklerinde kurkumin tayinine uygulandı.

4.1. Kurkuminin UV-VIS Spektrumu

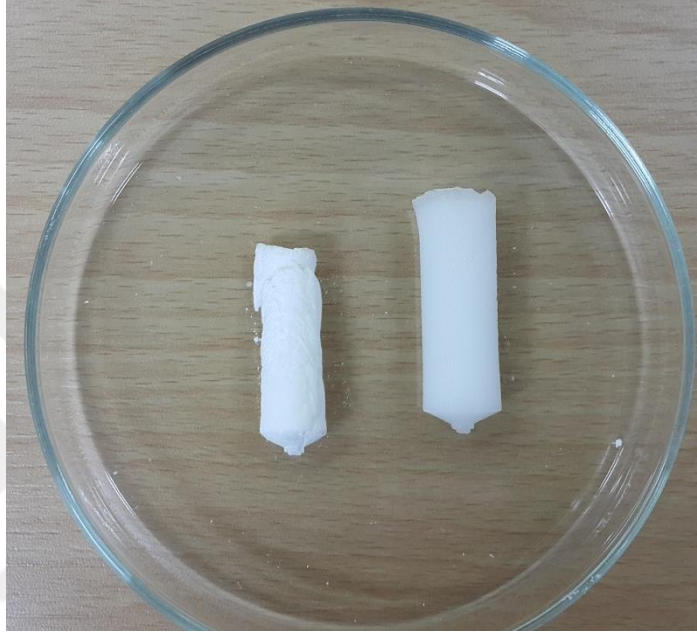
Kurkuminin maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyunu tespit etmek amacıyla UV-VIS spektrofotometrede spektrum alındı. Şekil 4.1’de görülen spektrumdan kurkuminin maksimum absorpsiyon yaptığı dalga boyunun 425 nm olduğu tespit edildi. Kurkumin için elde edilen bu spektrum kalitatif amaçlı kullanılabilir.



Şekil 4.1. Kurkuminin UV-VIS Spektrumu

4.2. Poli (HEMA-EH) Kriyojellerin Görüntüleri

Poli(HEMA-MAH) kriyojellerin saydam, süngerimsi ve elastik olduğu gözlemlendi. Sıkıldıklarında gözeneklerindeki suyu bırakabilmektedirler. Kriyojellerin kuru ve şişmiş haldeki görüntüleri Şekil 4.2’de görülmektedir.

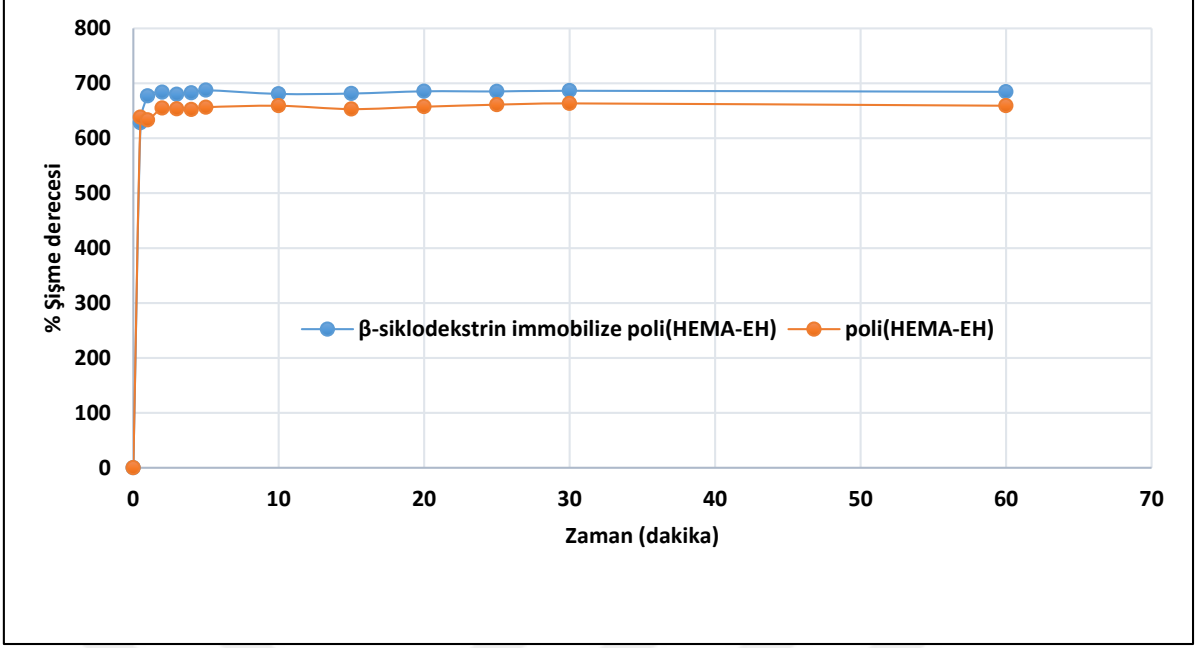


Şekil 4.2. Kriyojellerin kuru ve şişmiş haldeki görüntüleri

4.3. Poli (HEMA-EH) Kriyojellerin Karakterizasyonu

4.3.1. Şişme Deneyleri

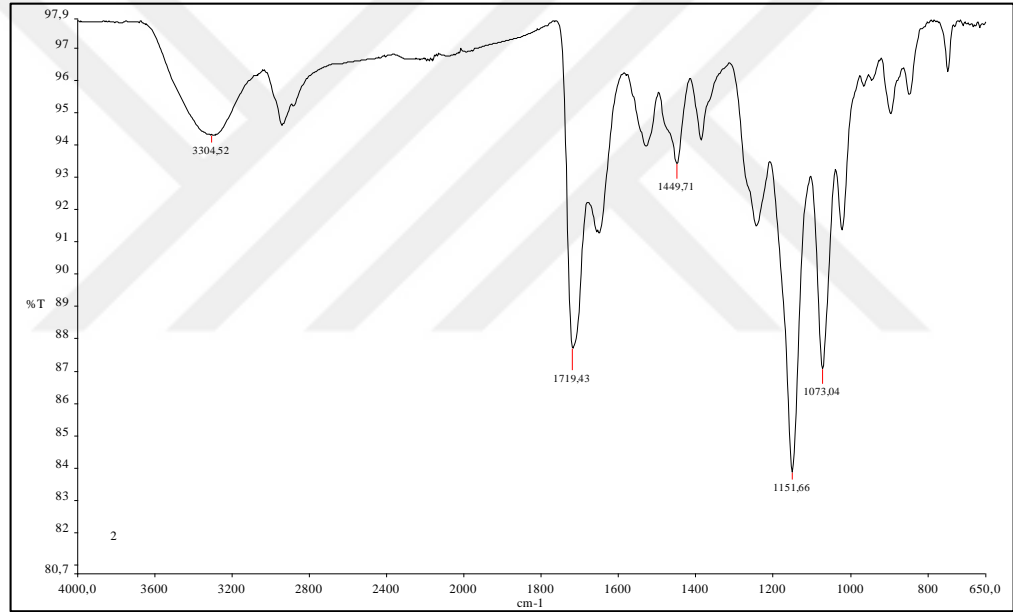
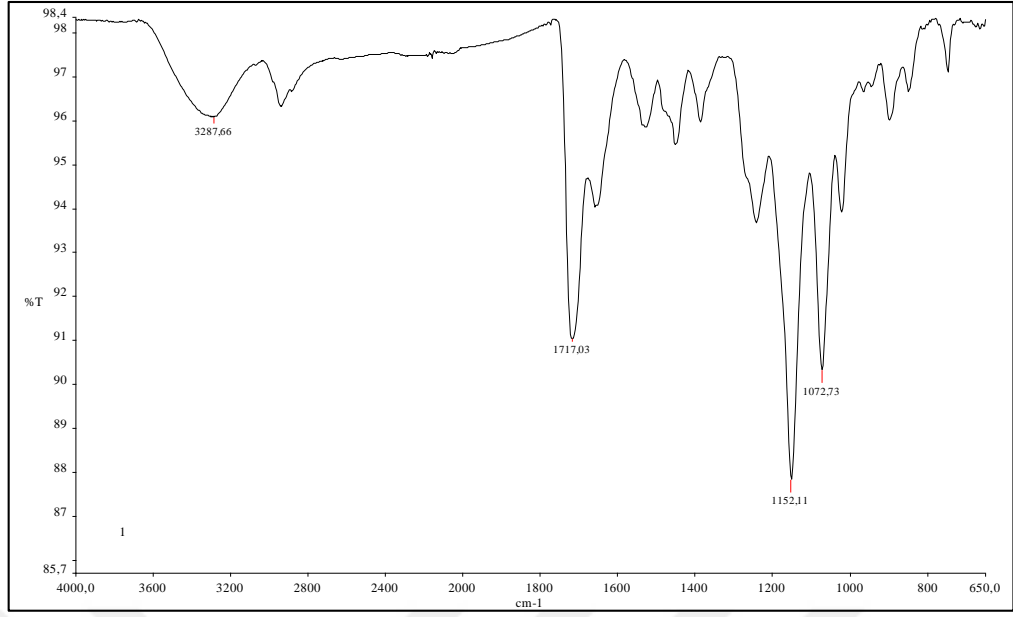
Poli (HEMA-EH) kriyojellerin zamana karşı % şişme değerleri grafiği Şekil 4.2’de görülmektedir. Şekil 4.3 incelendiğinde β -siklodekstrin immobilize poli (HEMA-EH) kriyojelinin poli(HEMA-EH) kriyojeline göre daha yüksek şişme yüzdelerine sahip olduğu görülmektedir. β -siklodekstrin immobilize poli (HEMA-EH) kriyojeli için su tutma kapasitesi 6.87 g H₂O/g kriyojel, poli (HEMA-EH) kriyojeli için su tutma kapasitesi 6.60 g H₂O/g kriyojeldir. Bulunan sonuçlar literatürdeki çalışmalar ile uyumludur.



Şekil 4.3. poli(HEMA-EH) ve β-siklodekstrin immobilize poli (HEMA-EH) kriyojellerinin şişme izotermi.

4.3.2. IR Spektrumları

Bu çalışmada, kriyojeller HEMA ve EH monomerleri ve MBAAm çapraz bağlayıcısı kullanılarak APS/TEMED varlığında sentezlendi. β-siklodekstrinin fonksiyonel grupları, poli(HEMA-EH) kriyojelleri üzerindeki epoksi gruplarına halkaların açılması yoluyla bağlandı. Şekil 4.4, poli(HEMA-EH) ve β-siklodekstrin immobilize poli(HEMA-EH) kriyojellerinin FTIR spektrumlarını göstermektedir. 1717-1719 cm^{-1} 'de karbonil grubu (C=O) gerilmesi, 1449 ve 1390 cm^{-1} 'de sırasıyla $-\text{CH}_2$ ve $-\text{CH}_3$ 'e ait gerilme absorpsiyon bantları görülmektedir. 1270 cm^{-1} 'de gözlenen absorpsiyon bantı ise karbonil grubuna bağlı C-O gerilmelerinden kaynaklanmaktadır. poli(HEMA-EH) ve β-siklodekstrin immobilize poli(HEMA-EH) kriyojellerinin FTIR spektrumlarının oldukça benzer olduğu görülmektedir. poli(HEMA-EH) yapısındaki $-\text{OH}$ bağı bandı 3287.66 cm^{-1} 'de gözlenmektedir. β-siklodekstrin yapısındaki $-\text{OH}$ grupları nedeniyle $-\text{OH}$ bağı bandının yeri değişmiş olup 3304.52 cm^{-1} 'de görülmektedir. β-siklodekstrin hidroksil grupları EH epoksi gruplarına bağlanabilen nükleofilik merkezler olarak davranırlar.

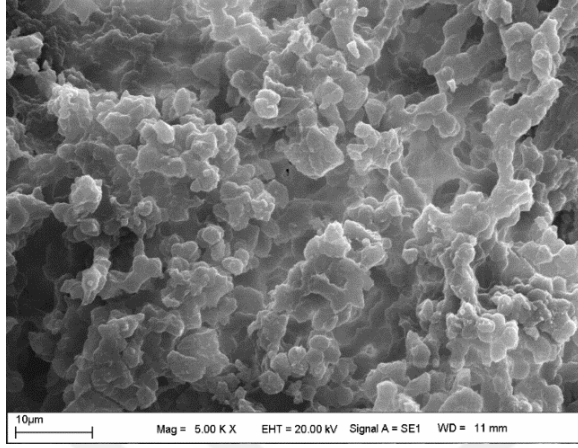


Şekil 4.4. (1) poli(HEMA-EH) ve (2) β -siklodekstrin immobilize poli (HEMA-EH) kriyojellerinin FTIR spektrumları.

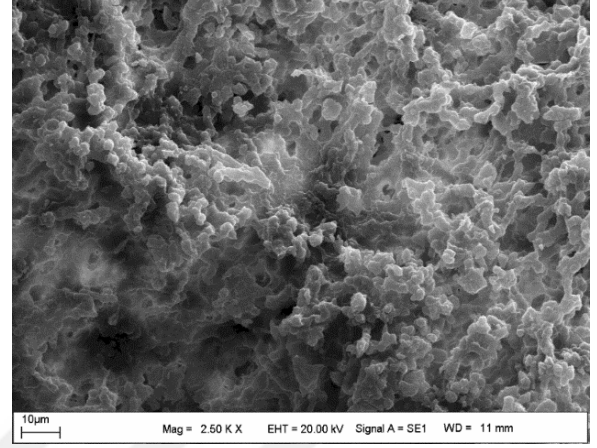
4.3.3. SEM Görüntüleri

Şekil 4.5’de, poli(HEMA-EH) ((a) ve (b) fotoğrafları) ve β -siklodekstrin bağlı poli(HEMA-EH) ((c) ve (d) fotoğrafları) kriyojellerinin SEM görüntüleri görülmektedir. Burada görüldüğü gibi, sentezlenmiş kriyojeller oldukça gözeneklidir. Gözenekler birbirine

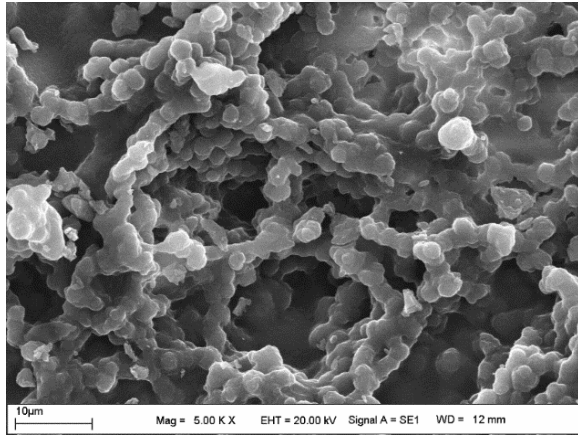
bağlıdır ve makrogözeneklidir. β -siklodekstrin bağlı poli(HEMA-EH) kriyojelinde gözenek boşluklarının daha belirgin olduğu gözlemlenmektedir.



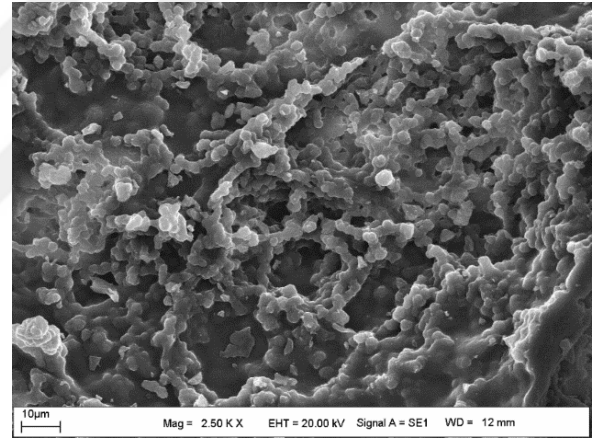
(a)



(b)



(c)



(d)

Şekil 4.5. poli(HEMA-EH) ((a) ve (b)) ve β -Siklodekstrin immobilize poli(HEMA-EH) ((c) ve (d)) kriyojellerinin farklı büyütme oranlarındaki SEM görüntüleri.

4.4. Katı Faz Ekstraksiyonu (SPE) Koşullarının Optimizasyonu

4.4.1. Adsorpsiyon Ortamının Belirlenmesi

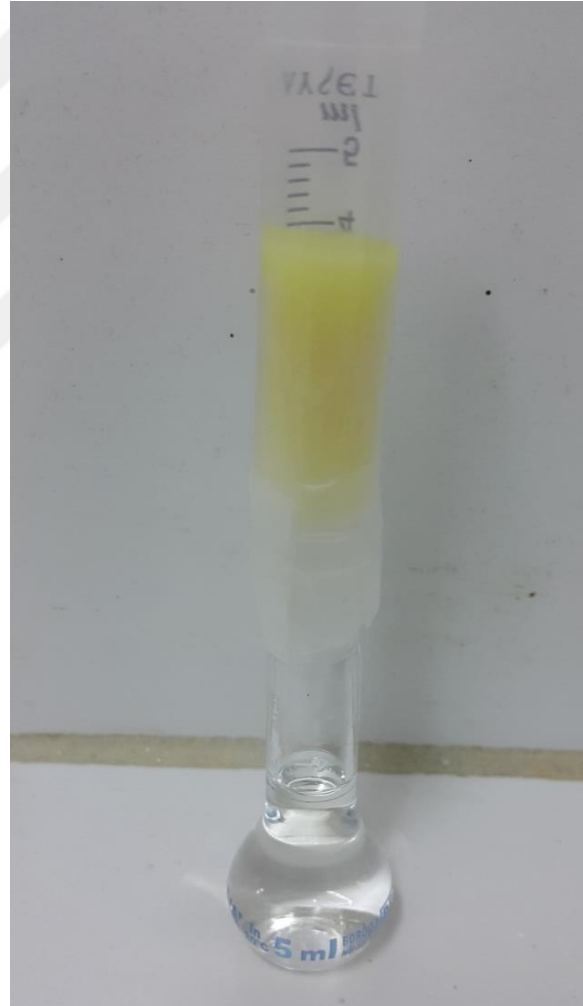
Kurkumin çözeltisi renginin sarı olması nedeniyle, kriyojel ile yapılan adsorpsiyon çalışmalarında kurkuminin kriyojel tarafından adsorplanıp adsorplanmadığı UV-spektrofotometredeki absorpsiyon ölçümlerinden takip edilebildiği gibi aynı zamanda deney esnasında çözelti renginden de gözlenebilmektedir. Bu durumla ilgili olarak laboratuvarında yapılan deneyler esnasında çekilen fotoğraflar Şekil 4.6'da görülmektedir.



(a)



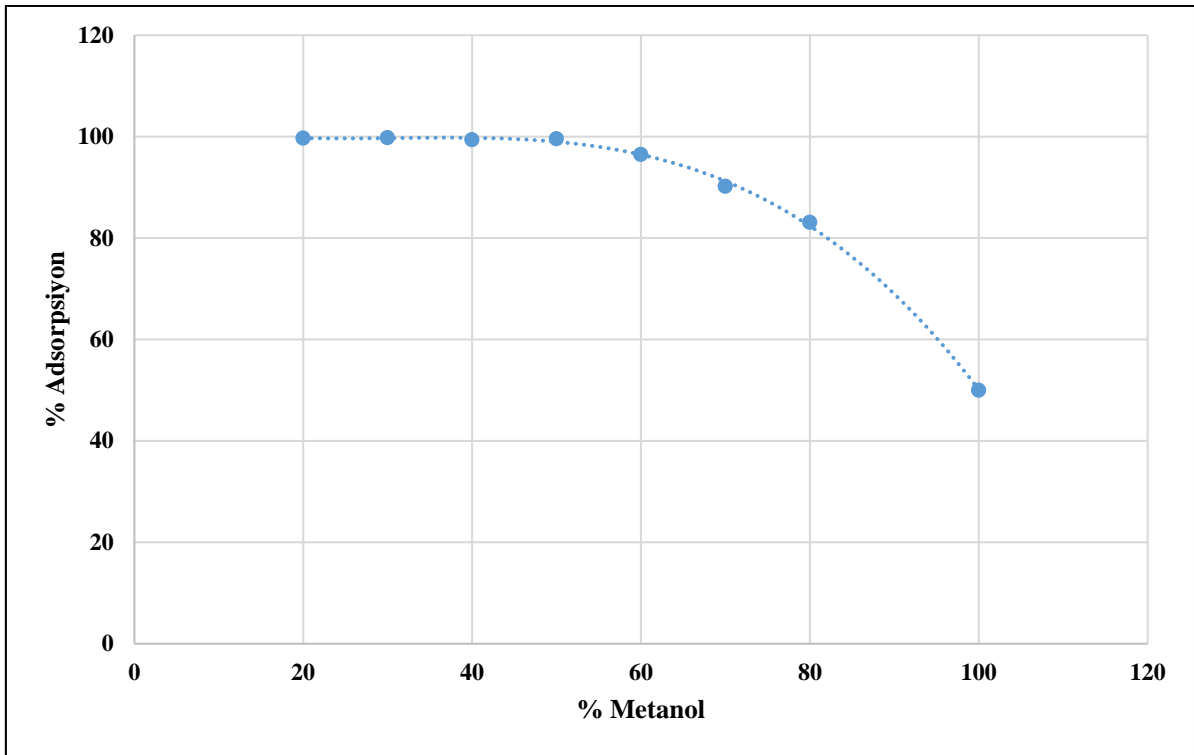
(b)



(c)

Şekil 4.6. (a) 2 mg/L kurkumin çözeltisi (b) β -Siklodekstrin immobilize poli(HEMA-EH) kriyojeli (c) 2 mg/L kurkumin çözeltisi, β -Siklodekstrin immobilize poli(HEMA-EH) kriyojelinden geçirildikten sonraki fotoğrafları.

Adsorpsiyon ortamını belirlemek amacıyla 1.0 mg/L 10 mL kurkumin çözeltileri ile çalışıldı. Metanol ile seyreltilen çözeltilerle yapılan deneylerde düşük adsorpsiyon sonuçları elde edildi. Bu nedenle çözelti polariteleri değiştirilerek deneyler tekrarlandı. Kurkumin çözeltisindeki hacimce metanol yüzdesi % 20-80 aralığında değiştirilerek en iyi adsorpsiyon ortamı belirlenmeye çalışıldı. Bu amaçla kriyojel içerisinden geçirilen çözeltilerin absorbansları UV spektrofotometrede 425 nm’de okundu. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.7’de verilen grafikte görülmektedir.



Şekil 4.7. Örnek çözeltisinin içerdiği % metanol değerlerine karşılık elde edilen adsorpsiyon yüzdeleri.

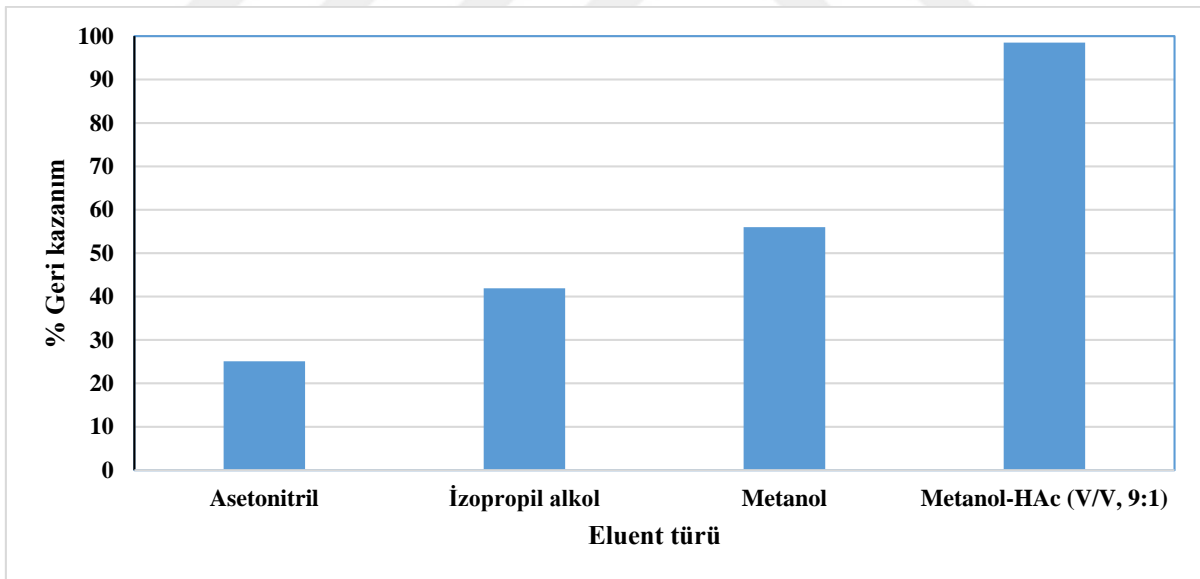
Hacimce % 20-%50 aralığında metanol içeren çözeltilerde adsorpsiyon yüzdeleri % 100’e yakın bulundu. % 20 metanol içeren çözeltide kurkuminin çözünürlüğü azalmaya başladığı için % 50 metanol içeren çözelti en iyi adsorpsiyon ortamı olarak belirlendi ve takip eden deneylerde bu ortam kullanıldı.

4.4.2. Ortam pH'ının Etkisi

Ortam pH'ı ayarlanmadan % 100'e yakın adsorpsiyon yüzdesi elde edildiğinden pH etkisi incelenmedi. Ayrıca β -siklodekstrin ve kurkumin arasındaki etkileşim hidrofobik etkileşimdir. Bu nedenle de ortam pH'ının adsorpsiyon üzerine etkisinin olmayacağı düşünülmüştür.

4.4.3. Eluent Çözeltisinin Belirlenmesi

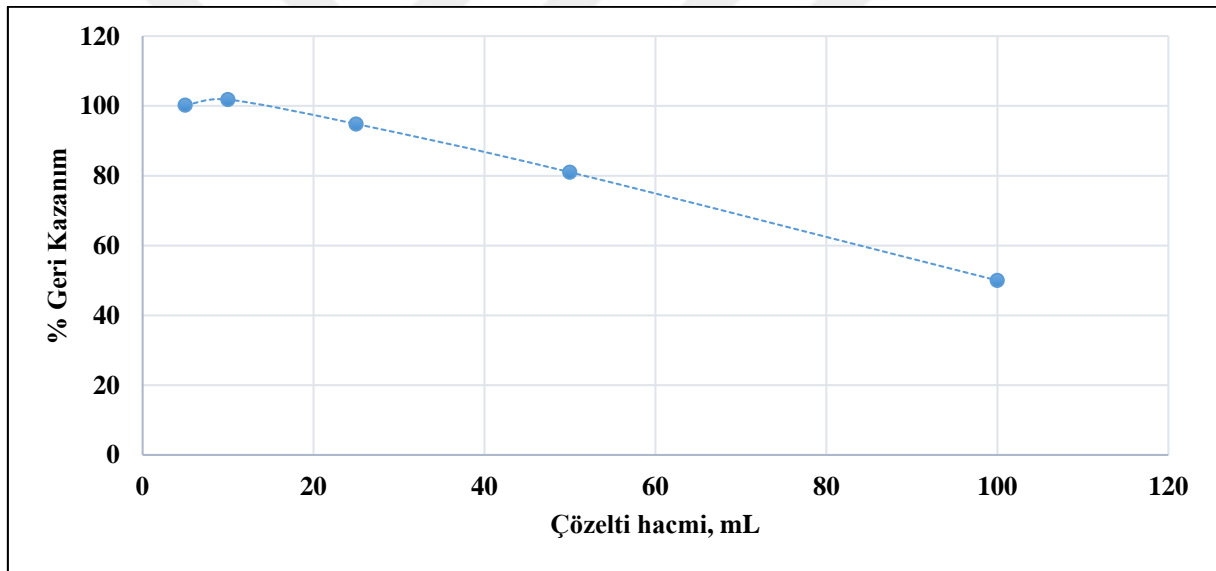
Kurkumin adsorpsiyon ortamı belirlendikten sonra kurkumin desorpsiyonu için en uygun eluent çözeltisi tespit edilmeye çalışıldı. Bu amaçla isopropil alkol, aseton, metanol eluent olarak denendi. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.8'de verilmektedir. Sonuçlar incelendiğinde üç çözücü içerisinde en yüksek geri kazanım % 56 ile metanol için elde edildi. Ancak bu sonuç yeterli bir geri kazanım değildir. Liu vd. (2016)'nin yaptıkları çalışmada kullandıkları metanol : asetik asit (v:v, 9:1) eluent olarak kullanıldığında geri kazanım % 98.5 olarak elde edildi. Devam eden çalışmalarda eluent olarak metanol : asetik asit (v:v, 9:1) kullanıldı.



Şekil 4.8. % Geri kazanım üzerine eluent çözeltisi türünün etkisi.

4.4.4. Kurkumin Çözeltisi ve Eluent Çözeltisi Hacminin Etkisi

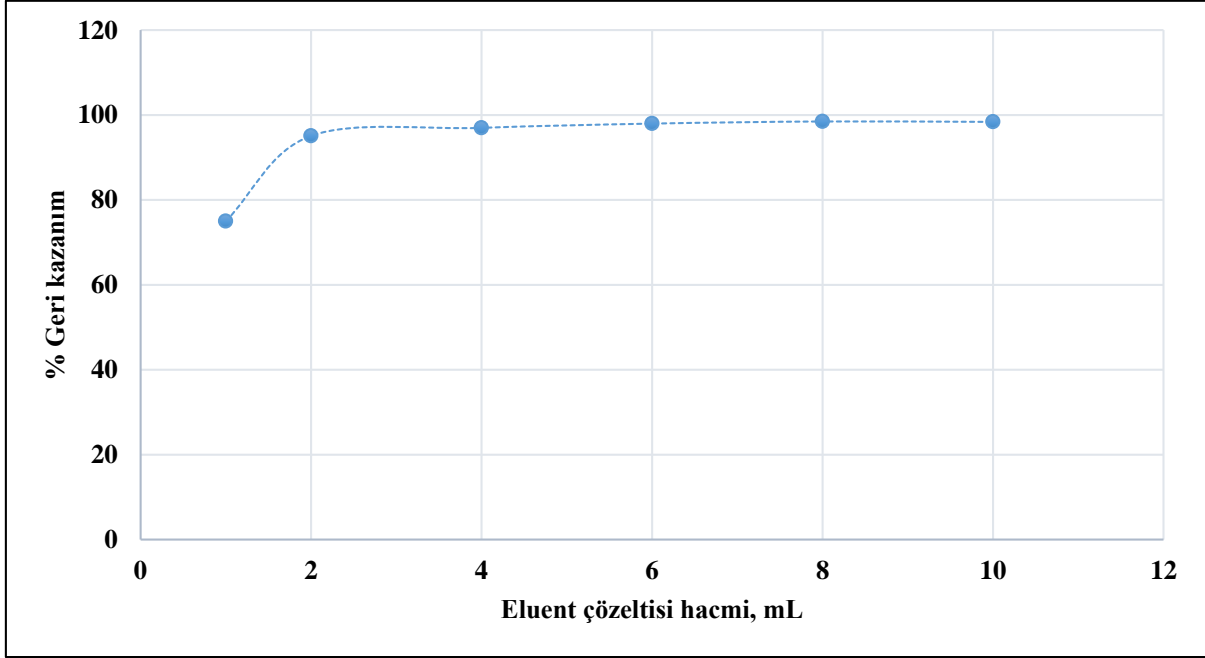
Ayırma ve zenginleştirme çalışmalarında, numune hacmi, maksimum zenginleştirme faktörü (PF) elde etmek için önemli bir parametre olarak kabul edilir. En yüksek hacimden maksimum ekstraksiyon oldukça önemlidir, çünkü zenginleştirme faktörü (PF), gözlenebilirlik sınırı (LOD) ve tayin sınırını (LOQ) kapsayan analitik performans parametrelerinin çoğu, ekstraksiyon fazında elde edilen analit derişimi ve örnek çözelti fazındaki ilk analit derişimi arasındaki oran ile ilgilidir. Bu nedenle, optimum koşullar kullanılarak 5-100 mL aralığında numune hacmi değiştirilerek kurkuminin geri kazanımı araştırıldı. 25 mL numune çözeltisi için % 94.8 geri kazanım elde edildi (Şekil 4.9). 25 mL'den yüksek örnek hacimler için kantitatif sonuçlar elde edilemedi.



Şekil 4.9. % Geri kazanım üzerine örnek çözeltisi hacminin etkisi.

En düşük eluent hacminin bulunması örnek çözeltisi hacminde olduğu gibi PF, LOD ve LOQ değerlerini etkilemektedir. Bu nedenle optimum koşullar kullanılarak eluent çözeltisi hacmi 1-10 mL aralığında incelendi. Kantitatif sonuçlar 2 mL eluent hacminden itibaren elde edilmeye başlandı. Analitik parametreler açısından kantitatif sonuçların elde edildiği en küçük eluent hacminin bulunması gerekir. Şekil 4.10'da görüldüğü gibi eluent hacmi 2 mL için

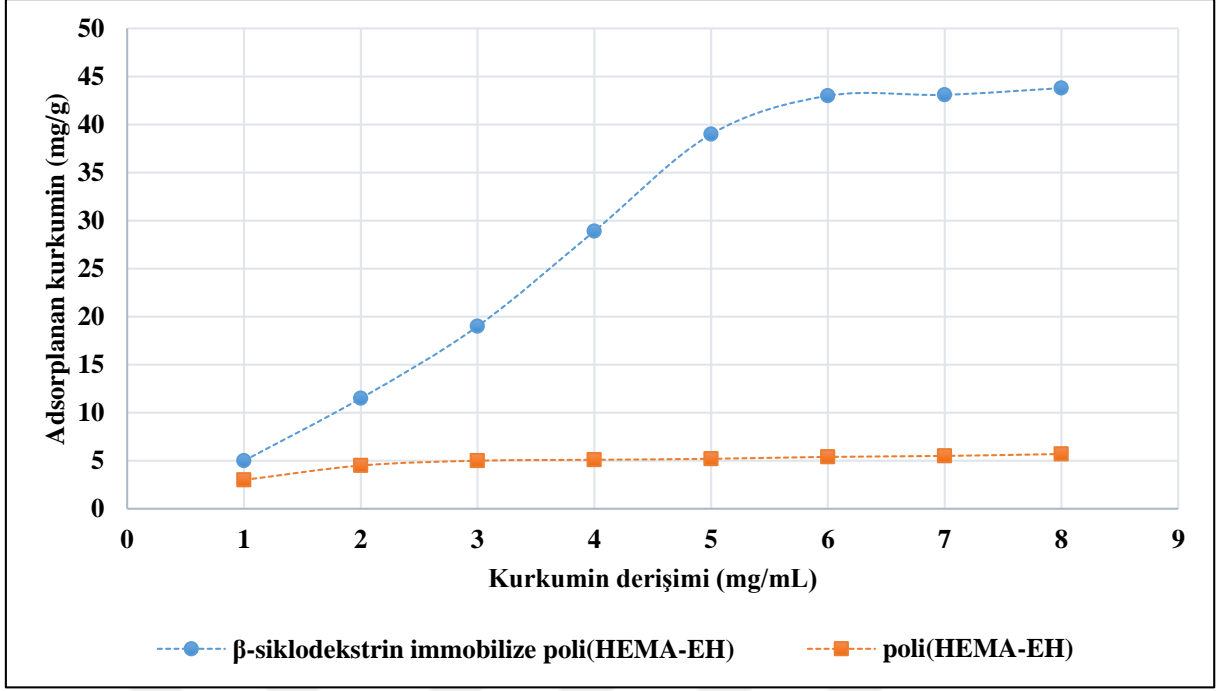
kantitatif sonuçlar elde edildi ve geri kazanım % 95.1 olarak bulundu. Bu nedenle, kurkumin için PF 12.5, 25 mL numune hacmi ve 2.0 mL son hacim kullanılarak elde edildi.



Şekil 4.10. % Geri Kazanım üzerine eluent çözeltisi hacminin etkisi.

4.4.5. Adsorpsiyon Kapasitesinin Belirlenmesi

Poli(HEMA-EH) ve β -siklodekstrin immobilize poli(HEMA-EH) kriyojelleri, kurkumin adsorpsiyonuna kurkumin derişiminin etkisi 1-8 mg/mL kurkumin içeren çözeltiler ile çalışıldı. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.11’da verilmektedir. β -siklodekstrin immobilize poli(HEMA-EH) kriyojelinin adsorpsiyon kapasitesi 43.8 mg kurkumin/g kriyojel olarak bulundu. poli(HEMA-EH) kriyojeli için spesifik olmayan tutma nedeniyle β -siklodekstrin immobilize poli(HEMA-EH) kriyojel ile karşılaştırıldığında oldukça düşük (5.5 mg kurkumin/g kriyojel) bulundu.

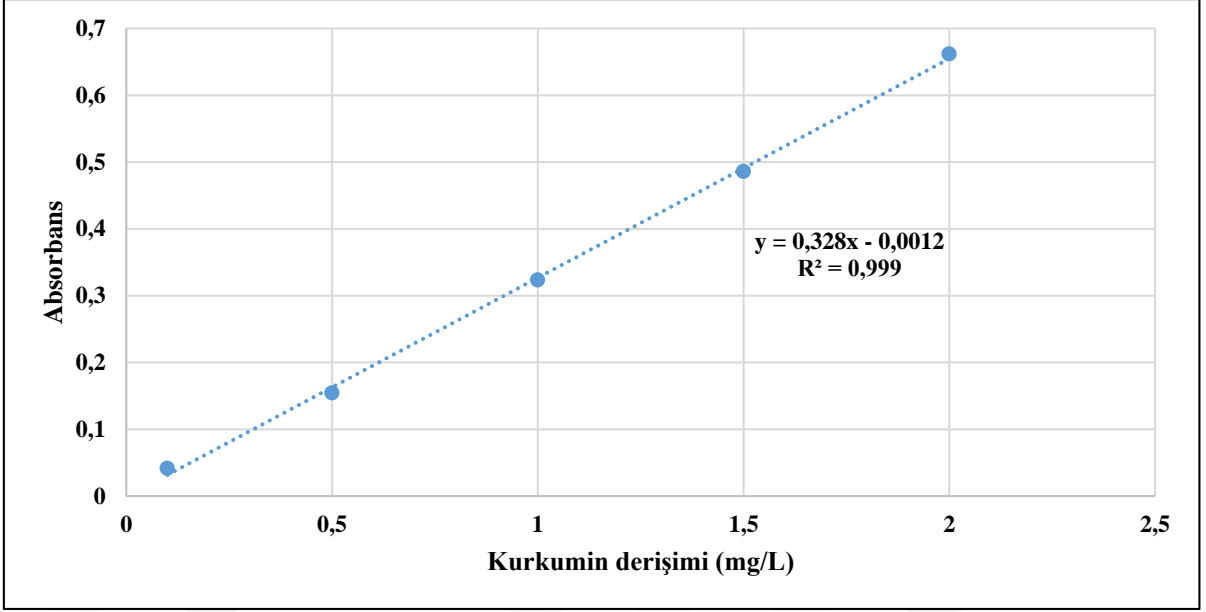


Şekil 4.11. Poli(HEMA-EH) ve β -siklodekstrin immobilize poli(HEMA-EH) kriyojelleri kurkumin adsorpsiyonuna kurkumin derişiminin etkisi.

4.4.6. Yöntemin Analitik Özellikleri

Kurkumin için çizilen kalibrasyon grafiği Şekil 4.12’de verilmektedir. 100 mg/L stok kurkumin çözeltisi hazırlandı ve buradan 10 mg/L standart kurkumin çözeltisi hazırlandı. Standart çözeltiden yapılan seyreltmeler ile 0.1, 0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 mg/L kurkumin içeren çözeltiler hazırlandı. Bu çözeltilerin absorbans değerleri kurkumin için maksimum absorbansın elde edildiği 425 nm’de ölçüldü. Elde edilen grafiğin R^2 değeri 1’e çok yakın bir değeri olan 0.999 olarak bulundu.

Yöntemin analitik performansı, elde edilen optimum şartlar altında ölçüldü. Kalibrasyon grafiğinde doğrusal aralık $0.1-5.0 \text{ mgL}^{-1}$ olarak bulundu. Gözlenebilme sınırı ve tayin sınırı belirlenmesi için kalibrasyon grafiğinin en küçük derişiminin bir üst değeri olan 0.5 mgL^{-1} kurkumin içeren 10 adet örneğe yöntem uygulandı. Bu çözeltilerden elde edilen absorbans değerlerinden hesaplanan derişimlerin standart sapmasının 3 katının kalibrasyon denkleminin eğim değerine (m) bölünmesi ile gözlenebilme sınırı (LOD) hesaplandı. LOD değeri 3.3 ile çarpılması sonucu tayin sınırı değeri elde edildi.



Şekil 4.12. Standart kurkumin çözeltileri ile elde edilen kalibrasyon grafiği.

Çizelge 4.1. Yöntemin analitik özellikleri

Parametre	Bulunan Değer
Kalibrasyon denklemi	$A=0.328C-0.0012$
Korelasyon katsayısı	0.999
Doğrusal aralık, mgL^{-1}	0.1-5.0
LOD, μgL^{-1}	17.7
LOQ, μgL^{-1}	59.1

4.4.7. Yöntemin Gıda Örneklerine Uygulanması

Geliştirilen yöntem kurkumin içermesi muhtemel limonata, kayısı suyu, şeftali suyu, zerdeçal, köri, kekik, kimyon, hardal, yenibahar ve karabiber örneklerine uygulandı. Limonata, kayısı suyu ve şeftali suyu örneklerinden 25 mL 3 paralel örnek alınarak üzerine 25 mL metanol ilave edildi ve 1 saat boyunca manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırıldı. İşlem sonunda örnekler 0.45 μm membran filtreden süzüldü ve süzülen örneğin 25 mL'si ile ekstraksiyon işlemi gerçekleştirmek üzere kriyojel içeren kolondan geçirildi. Daha sonra 2 mL eluent çözeltisi ile

elue edildi ve UV-spektrofotometrede 425 nm’de absorbans değerleri okundu. Çeşitli meyve suyu örneklere için elde edilen sonuçlar izelge 4.2.’de verilmektedir.

Çizelge 4.2. Meyve suyu rneklereinde kurkumin tayini

Örneklere	Derişim ($\mu\text{g mL}^{-1}$) ($\bar{X} \pm \text{S.Sapma}$) (n=3)
Limonata	1.66 \pm 0.09
Kayısı suyu	0.45 \pm 0.03
şeftali suyu	0.63 \pm 0.07

Kurkumin içeriği yüksek olduğu bilinen baharatlardan kri için 20 mg ve zerdeçal için 5 mg örneklere, diğer baharatlar için 0.1 gram örneklere tartıldı ve üzerine 25 mL metanol eklenerek manyetik karıştıcı üzerinde 1 saat boyunca karıştırıldı. Örneklere zerine 25 mL saf su ilave edildi, 0.45 μm membran filtreden süzüldü ve süzülen örneğin 25 mL’si ile ekstraksiyon işlemi gerçekleştirmek üzere kriyojel içeren kolondan geçirildi. Daha sonra 2 mL eluent çözeltisi ile elue edildi ve UV-spektrofotometrede 425 nm’de absorbans değerleri okundu. Çeşitli baharat örneklere için elde edilen sonuçlar izelge 4.3.’de verilmektedir.

Çizelge 4.3. Baharat rneklereinde kurkumin tayini

Örneklere	Derişim ($\mu\text{g g}^{-1}$) ($\bar{X} \pm \text{S.Sapma}$)
Zerdeçal	15730 \pm 258
Kri	5526 \pm 51
Kekik	20.1 \pm 0.2
Kimyon	19.3 \pm 0.3
Hardal	2.3 \pm 0.1
Yenibahar	28.0 \pm 2.2
Karabiber	10.2 \pm 0.4

Geliştirilen yöntemin doğruluğunu test etmek üzere limonata ve yenibahar rneklereine standart ekleme yapıldı. Yukarıda anlatıldığı şekilde hazırlanan 25 mL limonata örneklere

üzerine 10, 20 ve 40 µg kurkumin eklendi ve ekstraksiyon işlemine tabi tutuldu. Limonata örneği 25 mL ve derişimi 1.66 µg mL⁻¹'dir. Buna göre limonata örneğindeki kurkumin miktarı;

$$1.66 \mu\text{g mL}^{-1} \times 25 \text{ mL} = 41.5 \mu\text{g}'\text{dır.}$$

Yukarıda anlatıldığı şekilde hazırlanan 0.1 g yenibahar örneklerine 10, 20 ve 40 µg kurkumin eklendi. Yenibahar için derişim 28.0 µg g⁻¹ olarak bulunmuştu. Buna göre yenibahar örneğindeki kurkumin miktarı;

$$28.0 \mu\text{g g}^{-1} \times 0.1 \text{ g} = 2.8 \mu\text{g}'\text{dır.}$$

Kolondan geçirilen örnekler 2 mL eluent çözeltisi ile elue edildi ve UV-spektrofotometrede 425 nm'de absorbans değerleri okundu. Kurkumin eklenen örnekler için elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4.'de verildi. Standart eklenen limonata ve yenibahar örneklerinde geri kazanımlar % 93-84 aralığında bulundu.

Çizelge 4.4. Kurkumin eklenen örneklerin analiz sonuçları

Örnek	Eklenen (µg)	Bulunan (µg) (Xort±S.Sapma)	% Geri Kazanım
Limonata	0	41.5 ± 2.2	-
	10	50.6 ± 3.6	91
	20	59.1 ± 5.3	88
	40	75.2 ± 6.1	84
Yenibahar	0	2.8 ± 0.2	-
	10	12.1 ± 0.8	93
	20	20.7 ± 2.1	90
	40	38.0 ± 2.8	88

4.4.8. Yöntemin Literatürdeki Çalışmalarla Karşılaştırılması

Bu çalışma kurkuminin ekstraksiyonu için kriyojellerin kullanıldığı ilk çalışmadır. β -siklodekstrin ile modifiye edilmiş poli(HEMA-EH) kriyojelleri kullanılarak gıda örneklerinden kurkuminin ayırma ve zenginleştirmesine dayanan çalışmamız literatürde yer alan benzer çalışmalar ile karşılaştırıldı (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Yöntemin literatürdeki çalışmalarla karşılaştırılması

Yöntem	Tayin Cihazı	PF	LOD, μgL^{-1}	Referans
DLLME	UV-VIS	176	30	Moradi vd.,2015
LPME	UV-VIS	50	5.3	Mengwar vd., 2018
DLLME	UV-VIS	23	0.78	Asfaram vd., 2016
LLME	UV-VIS	12.5	2.86	Aydın vd., 2018
DLLME	HPLC	25.2	1.2	Hashemi vd., 2013
SPE	UV-VIS	12.5	17.7	Bu çalışma

5. SONUÇ

Bu çalışmada kurkuminin katı faz ekstraksiyonu yöntemi ile ayırma ve zenginleştirilmesi için β -siklodekstrin ile fonksiyonelleştirilmiş poli(HEMA-EG) kriyojeli sentezlemek ve yöntemi gıda örneklerine uygulamak amaçlandı. Yapılan çalışmalar sonunda aşağıdaki sonuçlar elde edildi.

✓ Bu çalışmada gıda örneklerinden kurkuminin ayırma ve zenginleştirilmesi için β -siklodekstrin ile modifiye edilmiş poli(HEMA-EH) kriyojelleri sentezlendi.

✓ Sentezlenen kriyojeller saydam ve süngerimsi bir yapıya sahiptir. Sulu ortama bırakıldıktan hızlı bir şekilde şişmekte ve sıkıldıklarında ise absorplamış oldukları suyu kolayca verebildikleri gözlemlendi. β -siklodekstrin immobilize poli (HEMA-EH) ve poli (HEMA-EG) kriyojellerin su tutma kapasitesi sırasıyla 6.87 ve 6.60 g H₂O/g kriyojeldir. Bulunan bu sonuçlar literatürdeki kriyojel çalışmaları ile uyumludur.

✓ Sentezlenen kriyojellerin karakterizasyonu FTIR ve SEM ile gerçekleştirildi. FTIR ölçümleri poli (HEMA-EH) yapısına β -siklodekstrinin katıldığını göstermektedir. SEM fotoğraflarında ise poli (HEMA-EH) yapısına β -siklodekstrinin katılması ile kriyojelin gözenek boşluklarının daha belirgin hale geldiği tespit edildi.

✓ β -siklodekstrin immobilize poli(HEMA-EH) kriyojel materyali ile kurkuminin katı faz ekstraksiyonu adsorpsiyon ortamı, eluent çözeltisi türü, örnek ve eluent çözelti hacmi gibi analitik parametreler açısından optimize edildi.

✓ Kriyojel kolonda kurkumin için en iyi adsorpsiyon ortamının % 50 metanol içeren çözelti olduğu belirlendi. Kriyojel kolonda adsorplanan kurkuminin desorpsiyonu için metanol : asetik asit (v:v, 9:1) en uygun eluent olarak belirlendi.

✓ Optimum koşullar altında kurkumin derişiminin adsorpsiyon üzerine etkisi incelendi ve kurkumin derişiminin artışı ile adsorpsiyon kapasitesinin arttığı tespit edildi. Ancak 6 mg/mL derişiminden itibaren doygunluk noktasına ulaşıldığı gözlemlendi. poli(HEMA-EH) kriyojeli için adsorpsiyon kapasitesinin β -siklodekstrin immobilize poli(HEMA-EH) kriyojel ile karşılaştırıldığında oldukça düşük olduğu belirlendi.

✓ Optimum koşullar altında yöntemin doğrusal aralığı, zenginleştirme faktörü (PF), gözlenebilirlik sınırı (LOD) ve tayin sınırını (LOQ) kapsayan analitik performans parametreleri belirlendi.

✓ β -siklodekstrin immobilize poli(HEMA-EH) kriyojel ile gerçekleştirilen ayırma ve zenginleştirme yöntemi gıda örneklerinde kurkumin tayinine başarılı bir şekilde uygulandı.

✓ Bu çalışma kurkuminin ayırma ve zenginleştirilmesi için kriyojellerin kullanıldığı ilk çalışmadır. Çalışmamız literatürde kurkumin ekstraksiyonu için kriyojel esaslı katı fazların kullanıldığı çalışmalar olmaması nedeniyle kıyaslanamamıştır. Literatürde yer alan en yakın çalışmalar dağılımlı sıvı-sıvı mikroekstraksiyonunu (DLLME) esas alan çalışmalardır. Bu çalışmaların sonuçları mevcut çalışma ile karşılaştırıldı.

✓ Kriyojellerin hazırlanması oldukça kolaydır. Sentez sırasında sadece 24 saat süren inkübasyon süresi bulunmaktadır. İnkübasyon süresi dışında yöntem oldukça hızlıdır. β -siklodekstrin immobilize kriyojeller, kurkumin tanıma kapasitelerinde önemli bir azalma olmaksızın 20 kez tekrar tekrar kullanılmaktadır ve 4 °C'deki buzdolabında üzeri saf su ile kapatılarak aylarca bozulmadan saklanabilmektedir.

✓ Yöntem pahalı cihazlar gerektirmemektedir, UV-VIS spektrofotometre hemen hemen her yerde kolaylıkla bulunabilen bir cihazdır. Yöntemde çözücü miktarı oldukça az kullanılmaktadır ve bu yönüyle de çevreye duyarlı bir yöntemdir.

KAYNAKLAR

- Aksoy, A., Yavuz, O. (2006). Örnek hazırlamada katı faz ekstraksiyonu metodu. *Samsun FÜ Sağlık Bil. Derg*, 20(3): 259-269.
- Andac, M., Galaev, I. Y., Denizli, A. (2016). Affinity based and molecularly imprinted cryogels: Applications in biomacromolecule purification. *Journal of Chromatography B*, 1021, 69-80.
- Arvidsson, P., Plieva, F.M., Lozinsky, V.I., Galaev, I.Y., Mattiasson, B. (2003). Direct Chromatographic Capture of Enzyme From Crude Homogenate Using Immobilized Metal Affinity Chromatography on a Continuous Supermacroporous Adsorbent, *Journal Chromatography A*, 986, p.275- 290.
- Asai, A., Nakagawa, K., Miyazawa, T. (1999). Antioxidative effects of turmeric, rosemary and capsicum extracts on membrane phospholipid peroxidation and liver lipid metabolism in mice. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 63: 2118–2122.
- Asfaram, A., Ghaedi, M., Alipanhpour, E., Agarwal, S., Gupta, V. K. (2016). Application of response surface methodology and dispersive liquid–liquid microextraction by microvolume spectrophotometry method for rapid determination of curcumin in water, wastewater, and food samples. *Food Analytical Methods*, 9(5), 1274-1283.
- Aydin, F., Yilmaz, E., Soylak, M. (2018). Vortex assisted deep eutectic solvent (DES)-emulsification liquid-liquid microextraction of trace curcumin in food and herbal tea samples. *Food Chemistry*, 243, 442-447.
- Bakhshpour, M., Idil, N., Perçin, I., Denizli, A. (2019). Biomedical applications of polymeric cryogels. *Applied Sciences*, 9(3), 553.
- Benzie, I.F., Wachtel-Galor, S. (2011). *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects*; CRC Press Boca Raton, FL, USA.
- Biçen, Ö. (2010). Moleküler baskılanmış polimer tabanlı kriyojel ayırma sistemleri ve biyo-ayırma uygulamaları, Doktora tezi, Anadolu Üniversitesi.
- Busquets, S., Carbó, N., Almendro, V., Quiles, M. T., López-Soriano, F. J., Argilés, J. M. (2001). Curcumin, a natural product present in turmeric, decreases tumor growth but does not behave as an anticachectic compound in a rat model. *Cancer Letters*, 167(1), 33-38.
- Camel, V. (2003). Solid phase extration of trace elements. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 58, 1177-1233.

- Chang, Y.-F., Chen, C.-P., Wu, H., Du, L.-M., Yi, R.-N., Jing, X., Fu, Y.-L. (2014). High sensitivity method for determination of trace curcumin in the aqueous phase. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 59: 2341–2346.
- Demirkapı Kalın, D. (2018). Ekstraksiyon yöntemlerinin bitkilerin antimikrobiyal aktivitesine etkisinin incelenmesi. Doktora tezi, Kastamonu Üniversitesi.
- Efe, H. (2015). Lizozim Adsorpsiyonu için Yeni Nesil Kriyojellerin Sentezi, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Eren, B., Zenger, O., Peşint, G. B. (2019). Kriyojellerin Afinite Uygulaması. *Artıbilim: Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 2(2), 9-15.
- Fan, C. D., Li, Y., Fu, X. T., Wu, Q. J., Hou, Y. J., Yang, M. F., Sun, B. L. (2017). Reversal of beta-amyloid-induced neurotoxicity in PC12 cells by curcumin, the important role of ROS-mediated signaling and ERK pathway. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 37(2), 211-222.
- Feng, J., Wu, S., Wang, H., Liu, S. (2016). Improved bioavailability of curcumin in ovalbumin-dextran nanogels prepared by Maillard reaction. *Journal of Functional Foods*, 27: 55–68.
- Hashemi, P., Naderlou, M., Safdarian, M., Ghiasvand, A. R. (2013). A Simple Device for Collection of Extraction Phase in Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Method Based on Solidification of Floating Organic Droplet for Sensitive Determination of Curcumin in Human Serum. *Analytical Chemistry Letters*, 3(2), 92-101.
- Hatcher, H., Planalp, R., Cho, J., Torti, F. M., Torti, S. V. (2008). Curcumin: from ancient medicine to current clinical trials. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 65(11), 1631-1652.
- Herebian, D., Choi, J.H., Abd El-Aty, A., Shim, J.H., Spitteller, M. (2009). Metabolite analysis in *Curcuma domestica* using various GC-MS and LC-MS separation and detection techniques. *Biomedical Chromatography*, 23: 951–965.
- Hsieh, C. J. A. R. (2001). Phase I clinical trial of curcumin, a chemopreventive agent, in patients with high-risk or pre-malignant lesions. *Anticancer Research*, 21(2895), e2900.
- Isgoren, M., Gengec, E., Veli, S. (2017). Evaluation of wet air oxidation variables for removal of organophosphorus pesticide malathion using Box-Behnken design. *Water Science and Technology*, 75: 619–628.
- Jayaprakasha, G.; Rao, L.J.M.; Sakariah, K. (2005). Chemistry and biological activities of *C. Longa*, *Trends in Food Science and Technology*, 16: 533–548.

- Karakutuk, I., Okay, O. (2010). Macroporous rubber gels as reusable sorbents for the removal of oil from surface waters. *Reactive and Functional Polymers*, 70(9), 585-595.
- Kartal Ersoy, F. (2018). Gıdalardan kolesterolün uzaklaştırılması için moleküler baskılanmış kriyojel mikroküreler. Doktora tezi, Hacettepe Üniversitesi.
- Kocaadam, B., Şanlıer, N. (2017). Curcumin, an active component of turmeric (*Curcuma longa*), and its effects on health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(13), 2889-2895.
- Kulkarni, S. J., Maske, K. N., Budre, M. P., Mahajan, R. P. (2012). Extraction and purification of curcuminoids from Turmeric (*Curcuma longa* L.). *International Journal of Pharmacology and Pharmaceutical Technology*, 1(2), 81-84.
- Lan, H., Gan, N., Pan, D., Hu, F., Li, T., Long, N., Qiao, L. (2014). An automated solid-phase microextraction method based on magnetic molecularly imprinted polymer as fiber coating for detection of trace estrogens in milk powder. *Journal of Chromatography A*, 1331, 10-18.
- LeBlanc, G., Majors, R. E. (2001). A review of EPA sample preparation techniques for organic compound analysis of liquid and solid samples: collecting, preserving, and preparing samples are critical to producing accurate and reliable results in the analysis of organic compounds. *LC-GC North America*, 19(11), 1120-1127.
- Lee, J.H., Choung, M.G. (2011). Determination of curcuminoid colouring principles in commercial foods by HPLC. *Food Chemistry*, 124: 1217–1222.
- Li, J., Jiang, Y., Wen, J., Fan, G., Wu, Y., Zhang, C. (2009). A rapid and simple HPLC method for the determination of curcumin in rat plasma: assay development, validation and application to a pharmacokinetic study of curcumin liposome. *Biomedical Chromatography*, 23: 1201–1207.
- Liu, X., Zhu, L., Gao, X., Wang, Y., Lu, H., Tang, Y., Li, J. (2016). Magnetic molecularly imprinted polymers for spectrophotometric quantification of curcumin in food. *Food Chemistry*, 202, 309-315.
- Lozinsky, V. I. (2018). Cryostructuring of polymeric systems. 50.† cryogels and cryotropic gel-formation: Terms and definitions. *Gels*, 4(3), 77.
- Macherey-Nagel (2004). Sample Preparation, Solid Phase Extraction. In: Macherey-Nagel Catalogue:184-241.
- Majors, R. E. (2001). New designs and formats in solid-phase extraction sample preparation. *LC-GC North America*, 19(7), 678-687.

- Manolova, Y., Deneva, V., Antonov, L., Drakalska, E., Momekova, D., Lambov, N. (2014). The effect of the water on the curcumin tautomerism: A quantitative approach. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 132, 815-820.
- Mattiasson, B. (2014). Cryogels for biotechnological applications. *Polymeric Cryogels*, 245-281.
- May, L.A., Tourkina, E., Hoffman, S.R., Dix, T.A. (2005). Detection and quantitation of curcumin in mouse lung cell cultures by matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry. *Analytical Biochemistry*, 337: 62–69.
- Memic, A., Colombani, T., Eggermont, L. J., Rezaeeyazdi, M., Steingold, J., Rogers, Z. J., Navare, K.J., Mohammed, H.S., Bencherif, S. A. (2019). Latest advances in cryogel technology for biomedical applications. *Advanced Therapeutics*, 2(4), 1800114.
- Menghwar, P., Yilmaz, E., & Soylak, M. (2018). Development of an ultrasonic-assisted restricted access supramolecular solvent-based liquid phase microextraction (UA-RAS-LPME) method for separation-preconcentration and UV-VIS spectrophotometric detection of curcumin. *Separation Science and Technology*, 53(16), 2612-2621.
- Mikhailovsky, S. V., Savina, I. N., Dainiak, M., Ivanov, A. E., Galaev, I. Y. (2011). 5.03-Biomaterials/Cryogels. *Comprehensive Biotechnology*, 11-22.
- Miquel, J., Bernd, A., Sempere, J., Diaz-Alperi, J., Ramirez, A. (2002). The curcuma antioxidants: pharmacological effects and prospects for future clinical use. A Review, *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 34: 37–46.
- Modasiya, M.K., Patel, V.M. (2012). Studies on solubility of curcumin. *International Journal of Pharmaceutical Life Sciences*, 3: 1490–1497.
- Moradi, M., Haeri, F., Ghiasvand, A., (2015). Spectrophotometric determination of curcumin in turmeric (*Curcuma longa*) and spaghetti after dispersive liquid liquid microextraction in a narrow-bore tube. 7th Seminar Of Chemistry And Environment, August 26-27, 2015 Tehran, Iran.
- Morales, I., Cerda-Troncoso, C., Andrade, V., & Maccioni, R. B. (2017). The natural product curcumin as a potential adjuvant in Alzheimer's treatment. *Journal of Alzheimer's Disease*, 60(2), 451-460.
- Naczki, M., Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054: 95–111.

- Orakdogan, N., Karacan, P., Okay, O. (2011). Macroporous, responsive DNA cryogel beads. *Reactive and Functional Polymers*, 71(8), 782-790.
- Özhan, M. (2019). Propaklor için moleküler baskılı polimer ve kriyojel katı faz ekstraksiyon sistemlerinin hazırlanması ve adsorpsiyon kapasitelerinin karşılaştırılması. Yüksek lisans tezi, Anadolu Üniversitesi.
- Paramasivam, M., Poi, R., Banerjee, H., Bandyopadhyay, A. (2009). High-performance thin layer chromatographic method for quantitative determination of curcuminoids in *Curcuma longa* germplasm. *Food Chemistry*, 113: 640–644.
- Parr, A.J., Bolwell, G.P. (2000). Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 985–1012.
- Pathania, V., Gupta, A.P., Singh, B. (2006). Improved HPTLC method for determination of curcuminoids from *Curcuma longa*. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 29: 877–887.
- Petrova, A., Dar'in, D., Ivanov, A., Moskvina, L., Ishimatsu, R., Nakano, K., Imato, T., Bulatov, A. (2016). Determination of curcumin in biologically active supplements and food spices using a mesofluidic platform with fluorescence detection. *Talanta*, 159: 300–306.
- Plieva, F. M., Karlsson, M., Aguilar, M. R., Gomez, D., Mikhailovsky, S., Galaev, I. Y. (2005). Pore structure in supermacroporous polyacrylamide based cryogels. *Soft Matter Journal*, 1(4), 303-309.
- Plieva, F., Bober, B., Dainiak, M., Galaev, I. Y., Mattiasson, B. (2006). Macroporous polyacrylamide monolithic gels with immobilized metal affinity ligands: the effect of porous structure and ligand coupling chemistry on protein binding. *Journal of Molecular Recognition: An Interdisciplinary Journal*, 19(4), 305-312.
- Plieva, F. M., Galaev, I. Y., Mattiasson, B. (2007). Macroporous gels prepared at subzero temperatures as novel materials for chromatography of particulate-containing fluids and cell culture applications. *Journal of Separation Science*, 30(11), 1657-1671.
- Płotka-Wasyłka, J., Szczepańska, N., de La Guardia, M., Namieśnik, J. (2016). Modern trends in solid phase extraction: new sorbent media. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 77, 23-43.
- Popuri, A. K. And Pagala, B. (2013). Extraction of curcumin from turmeric roots. *International Journal of Innovative Research and Studies*, 2(5), 289-299.

- Pothitirat, W., Gritsanapan, W. (2005). Quantitative analysis of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin in the crude curcuminoid extract from *Curcuma longa* in Thailand by TLC-densitometry. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 32: 23–30.
- Rossi, D. T., Zhang, N. (2000). Automating solid-phase extraction: current aspects and future prospects. *Journal of Chromatography A*, 885(1-2), 97-113.
- Ruby, A., Kuttan, G., Babu, K.D., Rajasekharan, K.; Kuttan, R. (1995). Anti-tumour and antioxidant activity of natural curcuminoids. *Cancer Letters*, 94: 79–83.
- Stevenson, D. (2000). Immuno-affinity solid-phase extraction. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 745(1), 39-48.
- Soylak, M.; Yilmaz, E. (2011). Ionic liquid dispersive liquid–liquid microextraction of lead as pyrrolidinedithiocarbamate chelate prior to its flame atomic absorption spectrometric determination. *Desalination*, 275: 297–301.
- Types, P. (1998). Ion exchange packings Normal phase SPE Ion exchange SPE. Sigma Aldrich, 1-12.
- Uygun, M. (2015). Ni(II) Chelated IDA Functionalized Poly(HEMA-GMA) Cryogels for Urease Adsorption. In “Affinity Chromatography, Methods and Protocols Third Edition” (Eds, Senta Reichelt). Humana Press, New York.
- Vogel, H. ve Pelletier, J., (1815). Curcumin-biological and Medicinal Properties, *Journal de Pharmacie I*, 289.
- Wardencki, W., Michulec, M., Curyło, J. (2004). A review of theoretical and practical aspects of solid-phase microextraction in food analysis. *International Journal of Food Science and Technology*, 39(7), 703-717.
- Wilken, R., Veena, M.S., Wang, M.B., Srivatsan, E.S. (2011). Curcumin: a review of anti-cancer properties and therapeutic activity in head and neck squamous cell carcinoma. *Molecular Cancer*, 10: 12.
- Yeşilova, E. (2019). Tetrasiklin baskılanmış nanopartikül gömülü kriyojel sentezi, karakterizasyonu ve adsorpsiyon parametrelerinin incelenmesi. Doktora tezi, Uludağ Üniversitesi.
- Yetişkin B. (2015). Mekanik Olarak Dayanıklı Tek-, Çift- ve Üç-Ağ Yapılı Fibroin Kriyojellerinin Sentezi ve Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Wichitnithad, W., Jongaroonngamsang, N., Pummangura, S., Rojsitthisak, P. (2009). A simple isocratic HPLC method for the simultaneous determination of curcuminoids in commercial turmeric extracts. *Phytochemical Analysis*, 20: 314–319.



T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“Kurkuminin Gıda Örneklerinde Ayırma, Zenginleştirme ve Tayini” başlıklı Yüksek Lisans tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Onur KARABIYIK

13/04/2022