

## **Gallik asidin saflaştırılması için phema temelli polimerik partiküllerin sentezlenmesi**

**Kardelen Cemek<sup>1</sup>, Barış Can Anar<sup>1</sup>, Okan Zenger<sup>1</sup>, Gözde Baydemir Peşint<sup>\*1</sup>**

<sup>1</sup>Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Adana, ORCID: 0000-0003-2841-2720, 0000-0001-5451-4208, 0000-0002-5669-0325, 0000-0001-8668-8296

**Geliş Tarihi:**09.06.2022

**Kabul Tarihi:**30.06.2022

### **Özet**

Gallik asit mantarlarda ve bitkilerde, özellikle mazı, meşe kabuğu, sumak, üzüm ve çay yapraklarında yaygın olarak bulunur. Sahip olduğu antioksidan, antikanser, anti-HIV, antiinflamatuar, antimikrobiyal ve antifungal özellikleri nedeniyle sağlık alanında; bunun yanı sıra kozmetik, gıda, baskı ve boyama endüstrileri gibi çeşitli alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yüzden, gallik asidin saflaştırılması büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada, gallik asidin saflaştırılması için VIM ile fonksiyonel hale getirilmiş partiküller sentezlenmiştir. Sentezlenen partiküller, taramalı elektron mikroskobu (SEM), şişme çalışmaları ve yüzey alanı ölçümleri (Brauner-Emmet-Teller; BET) ile karakterize edilmiştir. Partiküllerin polimerizasyon verimi %94, şişme oranı ise %92.5 olarak hesaplanmıştır. SEM analizi sonuçlarına göre yaklaşık 1 µm altında boyutlara sahip olduğu açıkça görülen partiküllerin yüzey alanı BET analizi ile 45 m<sup>2</sup>/g polimer olarak belirlenmiştir. Optimum koşullar altında maksimum gallik asit adsorpsiyonu 54.5 mg/g partikül olarak elde edilmiştir. Partiküllerin yeniden kullanılabilirliği tekrarlı adsorpsiyon-desorpsiyon döngüsü ile test edilmiş ve 10 döngü sonunda partiküllerin gallik asit adsorpsiyon kapasitesini yaklaşık %94.5 oranında koruduğu sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Afinite kromatografisi, Fenolik asitler, Gallik asit, Polimerik partiküller, Saflaştırma

## **Synthesis of PHEMA-based polymeric particles for gallic acid purification**

### **Abstract**

Gallic acid is commonly found in fungi and plants, particularly in thuja, oak bark, sumac, grapes, and tea leaves. Due to its antioxidant, anticancer, anti-HIV, anti-inflammatory, antimicrobial and antifungal properties, it is widely used in the field of health, as well as in various fields such as cosmetics, food, printing and dyeing industries. Therefore, the purification of gallic acid is of great importance. In this study, VIM functionalized particles were synthesized for the purification of gallic acid. The synthesized particles were characterized by scanning electron microscopy (SEM), swelling studies and surface area measurements (Brauner-Emmet-Teller, BET). The polymerization efficiency of the particles was calculated as 94% and the swelling rate as 92.5%. The surface area of the particles was determined as 45 m<sup>2</sup>/g polymer by BET analysis and it can be clearly seen that particles have size approximately below 1 µm according to the SEM analysis. Maximum gallic acid adsorption was obtained as 54.5 mg/g particles under optimum conditions. The reusability of the particles was tested with repeated adsorption-desorption cycle and it was concluded that the particles retained approximately 94.5% of the gallic acid adsorption capacity at the end of 10 cycles.

**Keywords:** Affinity chromatography, Phenolic acids, Gallic acid, Polymeric particles, Purification

---

\*Sorumlu yazar (Corresponding author): Gözde Baydemir Peşint, gpesint@atu.edu.tr.

Künye Bilgisi: Cemek, K., Anar, B.C., Zenger, O., Baydemir Peşint, G. (2022). Gallik asidin saflaştırılması için phema temelli polimerik partiküllerin sentezlenmesi. *Artibilim: Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 5(1), 20-32.

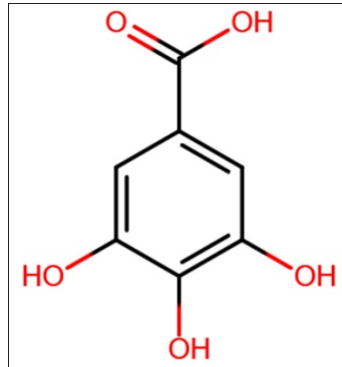
Doi: 10.55198/artibilimfen.1128003

## 1. Giriş

Dünya genelinde, fonksiyonel biyoaktif bileşenlerin ve nutrasötiklerin araştırılması, geliştirilmesi ve ticarileştirilmesine yönelik ilgi her geçen gün artmaktadır. Tüketiciler beslenme ve sağlık arasındaki ilişkinin farkına vardıkça, bitki temelli biyoaktif bileşenlerin tüketimi de son yirmi yılda artış göstermiştir. İnsanoğlu sürekli olarak biyolojik fonksiyonları iyileştirebilecek, insanların daha sağlıklı, zinde ve daha uzun yaşamalarına yardımcı olacak doğal ürünler arayışı içerisinde olmuştur [1]. Bu bağlamda bitkilerin gıda ve ilaç amaçlı kullanımı çok eskilere dayanmaktadır ve bitkiler, çevreleriyle olan etkileşimleri nedeniyle birçok kimyasal içermektedir [2].

Fitokimyasallar, hastalıkları önleyici özelliklere sahip, besleyici olmayan bitki temelli biyoaktif bileşenlerdir [1]. Bitki büyümesi ve fizyolojik süreçler, gelişme ve savunma için oldukça önemlidir [2]. Fenolik bileşikler, en az bir hidroksillenmiş benzen halkasına sahip bir fitokimyasal grubudur. Bu büyük ve çeşitli kimyasal bileşikler grubunun üyeleri, genellikle yapılarındaki karbon atomlarının sayısına göre sınıflandırılır. Basit fenolikler, fenolik asitler, asetofenonlar, sinamik asit türevleri, kumarinler, kromonlar, kalkonlar, auronlar, flavonoidler, antosiyaninler, betasiyaninler, benzofenonlar, ksantonlar, stilbenler, kinonlar, lignanlar, ligninler, tanenler ve flobafenler, doğal fenolik bileşiklerin ana alt gruplarını oluşturur. Fenolik asitler, bir fenolik halka ve bir karboksil substitüentinden oluşan, C6-C1 (hidroksibenzoik asitler) veya C6-C3 (hidroksisinnamik asitler) temel kimyasal yapısına sahip fenolik bileşiklerin önemli ve bol miktarda bulunan bir sınıfıdır. Bitki metabolizmasının şikimik asit veya fenilpropanoid yolu genellikle fenolik asitlerin biyosentezini düzenler. Bazı durumlarda fenolik asitler, tanenler, kumarinler, benzokinonlar ve naftokinonlar gibi diğer önemli fitokimyasalların öncüsüdür [3].

Başlıca fenolik asitlerden biri olarak kabul edilen gallik asit (3,4,5 trihidroksibenzoik asit) (**Şekil 1**), bir birim şeker ve değişken sayıda fenol asit molekülü tarafından oluşturulan galatotanin ile hidrolize edilebilir tanenler grubunun oluşumu için büyük öneme sahip bir benzoik asittir [4]. Beyaz, sarımsı beyaz veya açık kahverengi kristal katıdır. Molekül ağırlığı 170.12 g/mol ve moleküler formülü C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub>'tir. Erime noktası 260°C (500°F; 533 K), yoğunluğu 1.694 g/cm<sup>3</sup>'tür [5]. Su, alkol, eter ve gliserolde çözünürken benzen, kloroform ve petrol eterinde çözünmez [4].

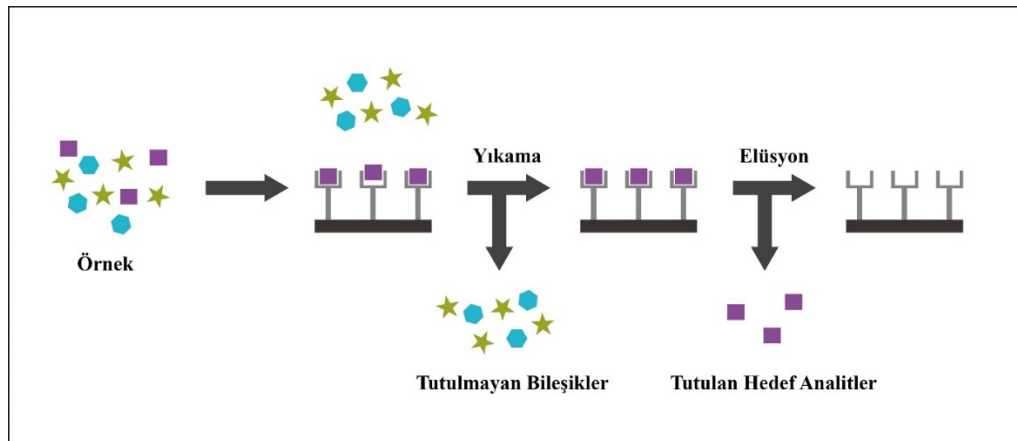


**Şekil 1.** Gallik asidin kimyasal yapısı.

### Gallik asidin saflaştırılması için phema temelli polimerik partiküllerin sentezlenmesi

Gallik asit ve türevleri *Anacardiaceae*, *Fabaceae* ve *Myrtaceae* gibi bitkiler ailesinin farklı ailelerinin yanı sıra *Termitomyces* cinsinin mantarlarında ve de fındık, mazı, meşe kabuğu, sumak, safran, bal, nar, mango, üzüm ve çay yapraklarında yaygın olarak bulunur. İlk olarak 1786'da Carl Wilhelm Scheele tarafından tanımlanmış ve sahip olduğu antioksidan, antikanser, anti-HIV, antiinflamatuvar, antimikrobiyal ve antifungal özellikleri nedeniyle araştırmacıların ilgisini çekmiştir. Son dönemlerde, Alzheimer hastalığının ilk basamağı olarak kabul edilen amiloid plaklarının oluşumuna karşı gallik asidin etkisinin araştırıldığı bazı çalışmalar yayınlanmıştır. Gallik asit sağlık üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle tıbbi uygulamaların yanı sıra kozmetik ve gıda endüstrileri başta olmak üzere birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır [4, 6-9]. Ayrıca çeşitli analitlerin fenol içeriğini belirlemek için analitik araştırmalarda bir standart olarak da kullanılır [6]. Bu özelliklerinden dolayı, çeşitli sistemlerden gallik asidin tespiti, son on yılda analitik kimyanın temel araştırma konularından biri haline gelmiştir. Böylece gallik asidi tespit edebilecek yeni tekniklerin arayışı ortaya çıkmıştır [7].

Afinite kromatografisi, karmaşık numunelerden biyoaktif maddelerin tanımlanması, ayrılması ve saflaştırılması için biyospesifik ve geri dönüşümlü etkileşimlerin kullanıldığı bir kromatografi yöntemidir. Afinite kromatografisinde, belirli bir tanıma kabiliyetine sahip bir ligand molekülü, genellikle polimer temelli bir malzeme olan uygun bir taşıyıcı üzerine immobilize edilir. Saflaştırılacak molekül, hedef molekülleri içeren bir solüsyonunun uygun koşullar altında kromatografik kolondan geçirilmesi sonucu taşıyıcıya bağlı ligand tarafından seçici olarak yakalanır. Hedef moleküller daha sonra pH, iyonik kuvvet, sıcaklık gibi optimal koşullarda spesifik çözücüler ve/veya serbest ligandlar gibi uygun ayrıştırıcılar kullanılarak ayrıştırılır, böylece ligand ve hedef arasındaki etkileşimler kırılır ve hedef moleküller saf bir şekilde elde edilir (**Şekil 2**) [10]. Afinite kromatografisi, enzimler, antikorlar ve proteinler gibi çeşitli biyokimyasal molekülleri izole etmek ve ayrıca hedef ile onun bağlayıcı ajanı arasındaki etkileşimin bağlanma bölgelerinin, termodinamiğinin ve kinetiğinin sayısını belirlemek için kullanılabilir. Bu özellikleri afinite kromatografisini çeşitli kimyasal ve biyokimyasalların izolasyonunda, klinik veya biyokimyasal tahlillerde, biyoteknolojide ve biyolojik süreçlerin incelenmesinde kullanım için popüler bir yöntem haline getirmiştir [11].



Şekil 2. Afinite kromatografisinin çalışma prensibi

Polimerik partiküllerin kromatografi tekniklerinde kolon destek malzemesi olarak kullanımı üzerine yapılan çalışmalar, bu partiküllerin araştırmacılar için büyük önem taşıdığını göstermektedir [12]. Polimerik destek malzemelerinin kullanımı, karmaşık bir numuneden hedef molekülleri doğrudan izole etme ve saflaştırma yeteneği sağladığı ve de işlem süresini önemli ölçüde azalttığı için önemli bir avantaj sunmaktadır. Partikülün geometrik şekli, afinite destek malzemesi için geniş bir yüzey alanı sağlayacağından, destek malzemesi ile hedef arasındaki etkileşim, yüzey alanını artıracaktır. Partikül yapıda kullanılan destek malzemeleri kolon uygulamalarında minimum difüzyon kısıtlaması ile daha iyi akış özellikleri sağlamaktadır [13].

2-Hidroksietil metakrilat (HEMA) monomeri, kolayca polimerize olan, kriyojel ve hidrojel gibi çeşitli polimerik yapıları üretmek için kullanılan renksiz, viskoz bir sıvıdır. HEMA, su ve etanol gibi yaygın çözücüler ile tamamen karışabilir, ancak HEMA monomerinden elde edilen polimerik yapılar çözücülerde pratik bir şekilde çözünmez [14]. Sulu çözeltilerde çözünmezlik özelliği, pH, sıcaklık gibi çevresel koşullara karşı dirençleri HEMA temelli polimerleri öne çıkarmaktadır. HEMA bazlı polimerler sulu çözeltilerde çözünmezlik, biyouyumluluk, yüksek termal kararlılık, asidik ve alkali ortama karşı yüksek direnç ve ayarlanabilir mekanik özellikler gibi avantajları ile öne çıkmaktadır. Ayrıca hidrofilik yapı, HEMA temelli polimerlerin su veya biyolojik sıvıları tutarak kolayca şişmesini sağlamaktadır. HEMA temelli polimerler kuru haldeyken sert ve kırılğan malzemelerdir. Sıvı tutarak şişmeleri halinde ise esnek ve yumuşak bir yapı elde edilir. Gözenekli yapıları sayesinde, sıvı ve oksijen difüzyonu ve madde transferi sağlanır [14, 15].

Bu çalışmada çok sayıda biyoaktif özelliğe sahip olan gallik asit molekülüne afinite gösteren 1-vinil imidazol (VIM) içeren HEMA temelli polimerik partiküller sentezlenerek karakterize edilmiş ve polimerlerin gallik asit adsorpsiyon özellikleri çalışılmıştır.

## **2. Deneysel**

### **2.1. Malzemeler**

Gallik asit, amonyum persülfat (APS), N,N,N',N'-tetrametilen diamin (TEMED), 2-hidroksietil metakrilat (HEMA), etilen glikol dimetakrilat (EGDMA), 1-vinil imidazol (VIM), tolüen ve etanol Sigma'dan (St. Louis, MO, ABD) satın alındı. Deneysel olarak kullanılan tüm su, bir Millipore Direct-Q 3 UV Ultrapure (Tip 1) su arıtma sistemi (MerckAG, Darmstadt, Almanya) kullanılarak saflaştırıldı.

### **2.2. Yöntem**

VIM ile işlevselleştirilmiş partiküller sentezlenerek, şişme testleri, taramalı elektron mikroskopu (SEM), Brunauer-Emmett-Teller (BET) yüzey alanı analizi ile karakterize edildi. Sulu gallik asit çözeltileri ile adsorpsiyon çalışmaları gerçekleştirildi. Partiküllerin yeniden kullanılabilirliği 10 adsorpsiyon-desorpsiyon döngüsü sonunda belirlendi. Karakterizasyon basamağındaki tartımlar ve adsorpsiyon çalışmalarındaki spektrofotometrik ölçümler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi.

## *Gallik asidin saflaştırılması için phema temelli polimerik partiküllerin sentezlenmesi*

### *2.2.1. Partiküllerin sentezi*

VIM ile işlevselleştirilmiş partiküllerin sentezi için monomer olarak HEMA (2000 µl) ve çapraz bağlayıcı olarak EGDMA (500 µl) cam test tüpüne döküldü, ardından 30 µl VIM eklendi ve vorteks ile homojen bir karışım elde edildi. Gözenek yapıcı ve çözücü olarak 500 µl tolüen kullanıldı. Tolüenin eklenmesinin ardından başlatıcı olarak 100 µl APS çözeltisi (100 mg/ml, w/v) ve katalizör olarak 20 µl TEMED reaksiyon ortamına eklendi. Elde edilen polimer çözeltisi oda sıcaklığında 3 saat polimerizasyona bırakıldı. Polimerizasyon tamamlandıktan sonra monolitik kolon etüvde 40°C'de kırılğan bir yapı elde edilene kadar kurutuldu. Elde edilen monolitik kolon öğütüldü ve partiküller elekten geçirilerek 1 µm boyutun altındaki partiküller adsorpsiyon çalışmalarında kullanılmak üzere seçildi (AS200, Retsch Standard sieves, Retsch, Haan, Gemany). Üretilen partiküller, reaksiyona katılmayan monomerlerin ve safsızlıkların uzaklaştırılması için oda sıcaklığında etanol/saf su (30/70, v/v) çözeltisi ile yıkandı [16].

### *2.2.2. Karakterizasyon çalışmaları*

Sentezlenen partiküller şişme testleri, taramalı elektron mikroskopu (SEM), Brunauer-Emmett-Teller (BET) yüzey alanı analizi ile karakterize edildi. Partiküllerin şişme özelliklerini belirlemek için ilk olarak kuru partiküller tartıldı. Kuru ağırlığı belirlenen partiküller ultra saf su içerisinde oda sıcaklığında dengeye ulaşana kadar bekletildi ve partiküllerin şişmiş ağırlığı belirlendi. Partiküllerin şişme oranı eşitlik (1) kullanılarak hesaplandı:

$$\text{Şişme Oranı (\%)} = [(W_s - W_o)/W_o] \times \%100 \quad [16, 17] \quad (1)$$

Burada;  $W_o$  kuru partikül ağırlığı,  $W_s$  ise şişmiş partikül ağırlığıdır.

Partiküllerin polimerizasyon verimini belirlemek için polimerizasyonda kullanılan reaktiflerin toplam miktarları ( $m_t$ ) ve polimerizasyon sonunda elde edilen kuru partiküllerin ağırlıkları ( $m_{kuru}$ ) belirlendi. Polimerizasyon verimi eşitlik (2) kullanılarak hesaplandı:

$$\text{Polimerizasyon verimi (\%)} = (m_{kuru}/m_t) \times \%100 \quad [16, 17] \quad (2)$$

Partiküllerinin yüzey alanı, BET analizinin (Flowsorb II 2300, Micromeritics Instrument Corp., Norcross, ABD) çok noktalı azot adsorpsiyon yöntemiyle ölçüldü. Sentezlenen partiküllerin yüzey yapısı ise SEM analizi kullanılarak incelendi. İlk olarak partiküller ultra saf su ile şişirilerek -20°C'de donduruldu ve bunu takiben liyofilizatörde kurutuldu. Partiküller vakum altında altın/paladyum (40/60) ile kaplandıktan sonra farklı büyütmelerde SEM görüntüleri alındı (**Şekil 3**).

### *2.2.3. Adsorpsiyon çalışmaları*

Partiküllerin adsorpsiyonu, kesikli sistemde sulu gallik asit çözeltilerinde saf su kullanılarak gerçekleştirildi. Başlangıç gallik asit derişiminin (0.1-10 mg/ml; oda sıcaklığında, 2 saat), etkileşim süresinin (0-120 dakika; 5 mg/ml gallik asit, oda sıcaklığında 2 saat) ve sıcaklığın (4-40°C; 5 mg/ml gallik asit, 2 saat), gallik asit adsorpsiyonuna etkisi incelendi. İlk olarak, 100 mg partikül adsorpsiyon çalışmalarında kullanılmak üzere tartılarak 5 ml etanol/saf su (30/70, v/v) çözeltisi içinde dengelendi. Partiküller santrifüj ile çöktürülerek çeşitli koşullarda gallik

Kardelen Cemek, Barış Can Anar, Okan Zenger, Gözde Baydemir Peşint asit çözeltileri ile muamele edildi. Partiküllerin adsorpsiyon kapasitesi (Q) her adım için eşitlik (3) kullanılarak hesaplandı.

$$Q = (C_i - C_f) \times V / m_{\text{kuru}} [16, 17] \quad (3)$$

Burada;  $C_i$  ve  $C_f$ , mg/ml olarak sırasıyla partiküllerle muameleden önce ve sonra adsorpsiyon çözeltisindeki denge gallik asit derişimleri; V, adsorpsiyon çözeltisinin hacmi;  $m_{\text{kuru}}$  ise partiküllerin kuru ağırlığıdır.

#### 2.2.4. Desorpsiyon çalışmaları

Adsorbe olan gallik asit moleküllerinin desorpsiyonu için, partiküller etanol/saf su (30/70, v/v) içinde her adsorpsiyon çalışmasından sonra kesikli sistemde rotatör ile döndürülerek 2 saat inkübe edildi. Desorpsiyon ortamındaki gallik asit derişimi, UV spektrofotometre kullanılarak 273 nm'de belirlendi. Desorpsiyon miktarı (DR), eşitlik (4) ile adsorbe edilen ve desorbe edilen gallik asit miktarları kullanılarak hesaplandı. Her desorpsiyon adımından sonra, partiküller bol miktarda saf su ile yıkandı ve yeniden kullanım öncesinde 5 ml etanol/saf su (30/70, v/v) çözeltisi içinde dengelendi.

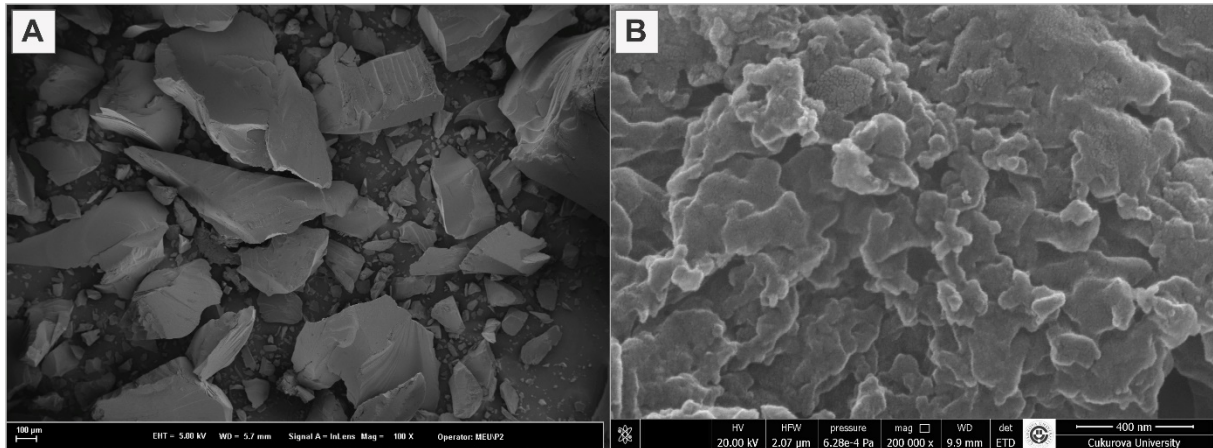
$$DR(\%) = \frac{\text{Desorbe edilen gallik asit miktarı}}{\text{Adsorbe edilen gallik asit miktarı}} \times \%100 [16, 17] \quad (4)$$

### 3. Sonuçlar ve tartışma

#### 3.1. Karakterizasyon çalışmaları

Sentezlenen partiküllerin şişme özellikleri ultra saf su kullanılarak incelendi, gözeneklilik ve şişme yüzdesi hesaplandı. Polimerik sistemlerin verimlilik hesabı, sentezlenen polimerin toplam kuru ağırlığının polimerizasyon reaksiyonuna katılan toplam monomer miktarına oranı şeklinde hesaplanır. Sentezlenen partiküllerin polimerizasyon verimi %94, şişme oranı ise %92.5 olarak hesaplandı.

Partiküllerin yüzey alanı civa porozimetresi BET yöntemi ile  $45 \text{ m}^2/\text{g}$  polimer olarak belirlendi. Sentezlenen partiküllerin yüzey ve yığın yapıları SEM fotoğrafları ile karakterize edildi (Şekil 3). SEM fotoğrafları partiküllerin yaklaşık  $1 \mu\text{m}$  altında boyutlara ve gözeneklere sahip olduğunu göstermektedir.

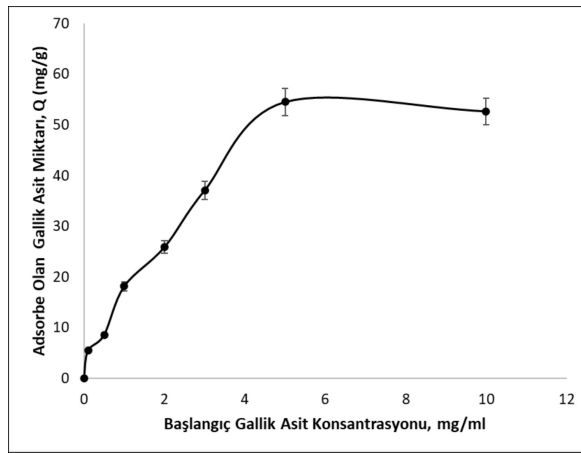


Şekil 3. PHEMA temelli polimerik partiküllerin SEM fotoğrafları (A: 100 X büyütme, B: 200.000 X büyütme).

### 3.2. Adsorpsiyon çalışmaları

#### 3.2.1. Başlangıç gallik asit derişiminin gallik asit adsorpsiyonu üzerine etkisi

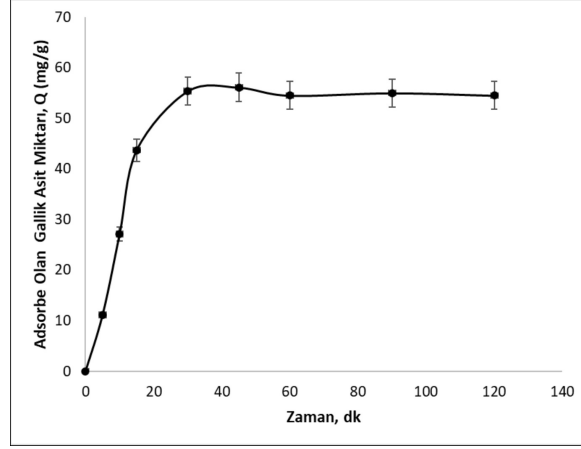
Başlangıç gallik asit derişiminin gallik asit adsorpsiyonu üzerindeki etkisi 0.1 ila 10 mg/ml arasında değişen derişimlerde gallik asit çözeltilerinin, aynı koşullarda partiküllere ultra saf su içinde uygulanmasıyla belirlendi. Beklendięi gibi, parçacıklar düşük derişimlerde gallik asidin tamamına yakını adsorbe etmiştir. Partiküllerin maksimum adsorpsiyon kapasitesi, bağlanma bölgelerinin doygunluğa ulaşmasından dolayı, 5 mg/ml'lik derişimden sonra başlangıç gallik asit derişimi artsa bile değişmediği gözlemlendi. Partiküllerin maksimum gallik asit adsorpsiyon kapasitesi 54.5 mg/g olarak belirlendi (Şekil 4).



Şekil 4. Başlangıç gallik asit derişiminin gallik asit adsorpsiyonu üzerine etkisi (hacim: 5 ml, partikül miktarı: 100 mg, sıcaklık: 25°C, etkileşim süresi: 2 saat).

#### 3.2.2. Etkileşim zamanının gallik asit adsorpsiyonu üzerine etkisi

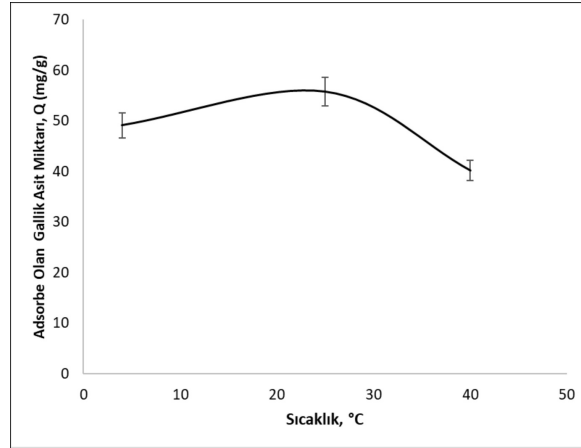
Etkileşim süresinin gallik asit adsorpsiyonu üzerindeki etkisini belirlemek için, ultra saf su içinde 5 mg/ml gallik asit çözeltisi hazırlanarak 100 mg partikül ile etkileştirilmiştir. 0-120 dakika arasında farklı zamanlarda örnek alınarak gallik asit adsorpsiyon miktarının zamana bağlı değişimi hesaplanmıştır. Şekil 5'te gösterildiği gibi, maksimum gallik asit adsorpsiyonu 45. dakikada elde edilmiş olup, bu noktadan sonra adsorpsiyon miktarında kayda değer bir değişiklik gözlenmemiştir.



Şekil 5. Etkileşim zamanının gallik asit adsorpsiyonu üzerine etkisi (hacim: 5 ml, partikül miktarı: 100 mg, başlangıç gallik asit derişimi: 5 mg/ml, sıcaklık: 25°C).

### 3.2.3. Ortam sıcaklığının gallik asit adsorpsiyonu üzerine etkisi

Ortam sıcaklığının gallik asit adsorpsiyonu üzerindeki etkilerini incelemek için, 5 mg/ml gallik asit çözeltisi, farklı sıcaklıklarda 100 mg partikül ile etkileştirilmiştir. Şekil 6 da gösterildiği gibi gallik asit adsorpsiyon miktarı önce sıcaklık arttıkça (25°C'ye kadar) artmış, daha yüksek sıcaklıklarda ise adsorpsiyon miktarı azalmıştır. Ortamın artan sıcaklığı ile kinetik enerjisi artışı sonucu moleküllerin etkileşimlerinin artması ancak sıcaklığın daha fazla artırılması ile moleküllerin kinetik enerjilerini daha da artırması ve elektrostatik kuvvetler gibi ikincil etkileşimleri engelleyerek adsorpsiyon miktarının azalması ile açıklanabilir. Sıcaklık deneyleri sonucunda partiküllerin gallik asit ile etkileşimlerinin elektrostatik etkileşimler ile gerçekleştiği yorumu yapılabilir (Şekil 6).



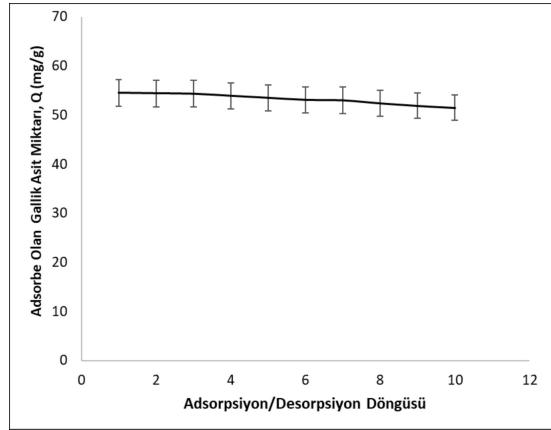
Şekil 6. Sıcaklığın gallik asit adsorpsiyonu üzerine etkisi (hacim: 5 ml, partikül miktarı: 100 mg, başlangıç gallik asit derişimi: 5 mg/ml, etkileşim süresi: 2 saat).



## Gallik asidin saflaştırılması için pHEMA temelli polimerik partiküllerin sentezlenmesi

### 3.3. Desorpsiyon ve tekrar kullanılabilirlik çalışmaları

Üretilen malzemelerin tekrar kullanılabilir olması bu malzemelere ticari bir değer kazandırmaktadır. Partiküllerin yeniden kullanılabilirliğini incelemek için aynı partiküllere 10 kez aynı koşullarda gallik asit çözeltisi uygulanmış ve 10 adsorpsiyon-desorpsiyon döngüsü sonunda elde edilen sonuçlar Şekil 7'de gösterilmiştir. Gallik asit adsorpsiyonu için partiküllerin kapasitesi 54.5 mg/g dan 51.5 mg/g a düşmüştür. Burada 10 kullanımdan sonra partiküllerin gallik asit adsorpsiyon kapasitesini yaklaşık %94.5 oranında koruduğunu ve kapasitedeki düşüşün ihmal edilebilir olduğu sonucuna varılmıştır. Tekrar kullanılabilirlik çalışmaları malzemenin adsorpsiyon kapasitesinde önemli bir azalma olmadan birçok kez kullanılabileceğini göstermektedir.



Şekil 7. Tekrarlı kullanımın gallik asit adsorpsiyonu üzerine etkisi (hacim: 5 ml, partikül miktarı: 100 mg, başlangıç gallik asit derişimi: 5 mg/ml, sıcaklık: 25°C, etkileşim süresi: 2 saat).

### 3.4. Literatür özeti

Literatürde gallik asidin polimerik adsorbentler kullanılarak saflaştırılmasına yönelik çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Croitoru ve Patachia (2009) tarafından yapılan çalışmada, gallik asit baskılı poli(vinil alkol) filmleri elde edilerek karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Adsorpsiyon ve desorpsiyon analizleri sonucunda poli(vinil alkol) ile gallik asit etkileşiminin başarılı olduğu ve baskılı filmlerin gallik aside karşı seçiciliğinin yüksek olduğu belirlenmiştir [18]. Pardeshi ve ark. (2014), *Emblica officinalis*'ten gallik asidin spesifik izolasyonu için çöktürme polimerizasyon yöntemi kullanarak moleküler baskılanmış polimerler elde etmişlerdir [19]. Hu ve ark. (2015), üzüm, elma, şeftali ve portakal sularından gallik asidin seçici ekstraksiyonu ve tespiti için manyetik mezogözenekli silika (MMS) üzerinde moleküler baskılanmış polimerler (MIP) sentezlemiştir. Yeni hidrofilik MMS-MIP'ler, katı destek olarak MMS, kalıp molekül olarak gallik asit ve fonksiyonel monomer olarak dopamin kullanılarak başarılı bir şekilde hazırlanmıştır. Sentezlenen polimerler, iyi geri kazanım ve yüksek seçicilik ile meyve sularından gallik asit ekstraksiyonu ve tespiti için başarılı bir şekilde uygulanmıştır [20]. Hao ve ark. (2015), nar kabuğundan gallik asitin hızlı ekstraksiyonu ve tespiti için manyetik karbon nanotüplere dayalı yüzey baskılı polimerler sentezlemiştir. Elde edilen polimerlerin özellikleri, transmisyon elektron mikroskobu (TEM), Xray kırınımı (XRD), Fourier-dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) ve titreşimli numune manyetometresi (VSM) ile değerlendirilmiştir.

Adsorpsiyon sonuçları, elde edilen baskılı polimerlerin hızlı kinetiklere, 479.9 mg/g'lık yüksek adsorpsiyon kapasitesine ve kalıp moleküle karşı yüksek seçiciliğe sahip olduğunu göstermiştir [21]. Zhang ve ark. (2017), nar kabuğundan gallik asidi seçici olarak ayırmak ve tespit etmek için yüzey baskılama tekniği ve hareketsizleştirilmiş kalıp molekül stratejisi kullanarak gallik asit baskılı manyetik nanoparçacıklar sentezlemiştir. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-COOH, dopamin ve gallik asit sırasıyla destekleyici malzeme, fonksiyonel monomer/çapraz bağlayıcı ve kalıp molekül olarak kullanılmıştır. Elde edilen nanomalzemelerin özellikleri, polimerizasyon koşulları ve adsorpsiyon performansları detaylı olarak incelenmiştir ve sonuçlar nanomalzemelerin yüksek adsorpsiyon kapasitesine ve yeniden kullanılabilirliğe sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca 17.5 baskılama faktörü ile gallik aside karşı oldukça etkili bir seçicilik göstermiştir. Bu nedenle, polimerlerin, karmaşık doğal kaynaklardan gallik asidin spesifik ekstraksiyonu için büyük potansiyellere sahip olduğu belirlenmiştir [22]. İnanan (2021) yaptığı bir çalışmada moleküler baskılama yöntemi ile gallik asit tanıyıcı polimerler sentezleyerek gallik asidin bitki örneklerinden seçici ekstraksiyonunu gerçekleştirmiştir. Yapılan adsorpsiyon çalışmaları sonucunda gallik asit baskılanmış polimerlerin, baskılanmamış polimerlere kıyasla çok daha fazla gallik asit adsorpladığı görülmüştür. Ek olarak baskılanmış polimerlerin seçiciliğini belirlemek amacıyla gallik asit analogları ile yarışmalı adsorpsiyon çalışması yapılmış ve sonuçlar gallik asit baskılanmış polimerlerin gallik asidi analoglarına kıyasla çok daha fazla adsorpladığını göstermiştir [23].

**Tablo 1.** Gallik asiti çeşitli örneklerden saflaştırmak için sentezlenen adsorbanlar.

Malzeme	Polimerizasyon Yöntemi	Örnek	Maksimum Adsorpsiyon Kapasitesi / Saflaştırma Verimi	Kaynak
Moleküler baskılı manyetik nanopartiküller	Yüzey baskılama tekniği ve hareketsizleştirilmiş kalıp molekül stratejisi	Nar kabuğu	101.7 mg/g maksimum adsorpsiyon kapasitesi	[22]
Akrilamid ve poli(vinil alkol) monomerleri ile hazırlanan gallik asit baskılanmış polimerler	Emülsiyon polimerizasyonu	Yeşil çay, siyah çay, karanfil	Karanfil örneklerinden 43.2 mg/g maksimum adsorpsiyon kapasitesi; %95.3 geri alım	[23]
GA-MIP polimer boncuklar	Çöktürme polimerizasyonu	İdrar	%80 saflaştırma verimi	[24]
Çift baskı yüzeyli içi boş manyetik moleküler baskılı polimerler	Yüzey baskı polimerizasyonu	Yeşil çay	2.815 mmol/g maksimum adsorpsiyon kapasitesi, %78.076 saflaştırma verimi	[25]
Akrilik asit fonksiyonel monomeri ve EGDMA çapraz bağlayıcısı ile hazırlanan GA-MIP polimerler	Yığın polimerizasyonu/ Mikroemülsiyon polimerizasyonu	-	Mikroemülsiyon yöntemi ile 275 mg/g maksimum adsorpsiyon kapasitesi	[26]
Arginin ile modifiye edilmiş manyetik kitosan	İyonik çapraz bağlama tekniği	Şeker çözeltisi	48.38 mg/g maksimum adsorpsiyon kapasitesi	[27]
Poli (diallildimetilamonyum klorür) ile modifiye edilmiş nanokil	-	-	238.45 mg/g maksimum adsorpsiyon kapasitesi	[28]

#### 4. Sonuç

Sağlık alanı başta olmak üzere kozmetik, gıda, baskı ve boyama endüstrileri gibi çeşitli alanlarda yaygın olarak kullanılan gallik asidin saflaştırılması büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada, gallik asidin saflaştırılması için VIM ile işlevsel hale getirilmiş partiküller sentezlenmiştir. Partiküllerin polimerizasyon verimi %94, şişme oranı ise %92.5 olarak hesaplanmıştır. Ortalama partikül boyutunun 1 µm altında olduğu SEM fotoğraflarından anlaşılmaktadır. Partiküllerin yüzey alanı BET analizi ile 45 m<sup>2</sup>/g polimer olarak belirlenmiştir. Optimum koşullar altında tekrarlı kullanımda, 10 adsorpsiyon-desorpsiyon döngüsü sonunda partiküllerin gallik asit adsorpsiyon kapasitesini yaklaşık %94.5 oranında koruduğu sonucuna varılmıştır. Üstün şişme özellikleri, yaklaşık 1 µm'nin altında partikül boyutları sayesinde 45 m<sup>2</sup>/g'ye kadar ulaşan yüzey alanı, 54.5 g/mg maksimum adsorpsiyon kapasitesi ve yeniden kullanılabilirliği ile sentezlenen partiküller gallik asidin saflaştırılması için literatürdeki yöntem ve malzemelere güçlü bir alternatif olma potansiyeli taşımaktadır.

**Yazar katkısı:** Barış Can Anar, Kardelen Çemek ve Okan Zenger araştırmayı eşit katkı sunarak gerçekleştirmiştir. Okan Zenger, Kardelen Çemek, Gözde Baydemir Peşint, makale tasarımına ve yazımına katkı vermiştir.

**Çıkar çatışması beyanı:** Çıkar çatışması yoktur.

**Araştırma ve yayın etiği beyanı:** Çalışma Etik Onay gerektirmemektedir.

#### Kaynakça

- [1] Thakur, M., Singh, K., Khedkar, R. (2020). Phytochemicals: Extraction process, safety assessment, toxicological evaluations, and regulatory issues. In *Functional and Preservative Properties of Phytochemicals* (pp. 341-361). Academic Press.
- [2] Guan, R., Van Le, Q., Yang, H., Zhang, D., Gu, H., Yang, Y., Sonne, C., Lam, S.S., Zhong, J., Jianguang, Z., Liu, R., Peng, W. (2021). A review of dietary phytochemicals and their relation to oxidative stress and human diseases. *Chemosphere*, 271, 129499.
- [3] Kahkeshani, N., Farzaei, F., Fotouhi, M., Alavi, S. S., Bahramsoltani, R., Naseri, R., Momtaz, S., Abbasabadi, Z., Rahimi, R., Farzaei, M.H., Bishayee, A. (2019). Pharmacological effects of gallic acid in health and diseases: A mechanistic review. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 22(3), 225.
- [4] Fernandes, F. H. A., Salgado, H. R. N. (2016). Gallic acid: review of the methods of determination and quantification. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 46(3), 257-265.
- [5] Pal, S. M., Avneet, G., Siddhraj, S. S. (2018). Gallic acid: Pharmacological promising lead molecule: A review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Research*, 10, 132-138.
- [6] Badhani, B., Sharma, N., Kakkar, R. (2015). Gallic acid: a versatile antioxidant with promising therapeutic and industrial applications. *Rsc Advances*, 5(35), 27540-27557.

- [7] Ghaani, M., Nasirizadeh, N., Ardakani, S. A. Y., Mehrjardi, F. Z., Scampicchio, M., Farris, S. (2016). Development of an electrochemical nanosensor for the determination of gallic acid in food. *Analytical Methods*, 8(5), 1103-1110.
- [8] Rajan, V. K., Muraleedharan, K. (2017). A computational investigation on the structure, global parameters and antioxidant capacity of a polyphenol, Gallic acid. *Food Chemistry*, 220, 93-99.
- [9] Gao, J., Hu, J., Hu, D., Yang, X. (2019). A role of gallic acid in oxidative damage diseases: a comprehensive review. *Natural Product Communications*, 14(8), 1934578X19874174.
- [10] Denizli, A. (2011). Purification of antibodies by affinity chromatography. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 39(1), 1-18.
- [11] Li, Z., Rodriguez, E., Azaria, S., Pekarek, A., Hage, D. S. (2017). Affinity monolith chromatography: A review of general principles and applications. *Electrophoresis*, 38(22-23), 2837-2850.
- [12] Chaudhary, V., Sharma, S. (2019). Suspension polymerization technique: parameters affecting polymer properties and application in oxidation reactions. *Journal of Polymer Research*, 26(5), 1-12.
- [13] Saylan, Y. (2011). Boronat afinite kromatografisi için monolitik HPLC kolonlarının hazırlanması (Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- [14] Andrade-Vivero, P., Fernandez-Gabriel, E., Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A., "Improving the loading and release of NSAIDs from pHEMA hydrogels by copolymerization with functionalized monomers", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 96: 802-813, (2007).
- [15] Zare, M., Bigham, A., Zare, M., Luo, H., Rezvani Ghomi, E., Ramakrishna, S. (2021). pHEMA: An overview for biomedical applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(12), 6376.
- [16] Oktay Başeğmez, H. İ., Baydemir Peşint, G., Nergiz, M., Zenger, O. (2021). Determination of mold contamination using ergosterol imprinted particles. *Biotechnology Progress*, 37(1), e3089.
- [17] Yıldırım, M., Baydemir Peşint, G. (2021). Molecularly imprinted spongy columns for Angiotensin (II) recognition from human serum. *Biotechnology Progress*, 37(2), e3112.
- [18] Croitoru, C., Patachia, S. (2009). Molecularly imprinted poly (vinyl alcohol) for the selective absorption of gallic acid from aqueous solutions. *Bulletin of the Transilvania University of Brasov. Engineering Sciences. Series I*, 2, 109.
- [19] Pardeshi, S., Dhodapkar, R., Kumar, A. (2014). Molecularly imprinted microspheres and nanoparticles prepared using precipitation polymerization method for selective extraction of gallic acid from *Emblica officinalis*. *Food Chemistry*, 146, 385-393.
- [20] Hu, X., Xie, L. W., Guo, J. F., Li, H., Jiang, X. Y., Zhang, Y. P., Shi, S. Y. (2015). Hydrophilic gallic acid-imprinted polymers over magnetic mesoporous silica microspheres with excellent molecular recognition ability in aqueous fruit juices. *Food Chemistry*, 179, 206-212.
- [21] Hao, Y., Gao, R., Liu, D., Tang, Y., Guo, Z. (2015). Selective extraction of gallic acid in pomegranate rind using surface imprinting polymers over magnetic carbon nanotubes. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(25), 7681-7690.

*Gallik asidin saflaştırılması için phema temelli polimerik partiküllerin sentezlenmesi*

[22] Zhang, J., Li, B., Yue, H., Wang, J., Zheng, Y. (2017). Highly selective and efficient imprinted polymers based on carboxyl-functionalized magnetic nanoparticles for the extraction of gallic acid from pomegranate rind. *Journal of Separation Science*, 41(2), 540–547.

[23] İnanan, T. (2021). Bitki örneklerinden seçici gallik asit ayrılması için gallik asit baskılanmış polimerlerin hazırlanması. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 23(2), 560-576, (2021).

[24] Bhawani, S. A., Sen, T. S., Ibrahim, M. N. M. (2018). Synthesis of molecular imprinting polymers for extraction of gallic acid from urine. *Chemistry Central Journal*, 12(1), 1-7.

[25] Li, J., Zhou, X., Yan, Y., Shen, D., Lu, D., Guo, Y., Xie, L., Deng, B. (2022). Selective recognition of gallic acid using hollow magnetic molecularly imprinted polymers with double imprinting surfaces. *Polymers*, 14(1), 175.

[26] Nicolescu, T. V., Meouche, W., Branger, C., Margailan, A., Sarbu, A., Fruth, V., Donescu, D. (2013). A new microemulsion approach for producing molecularly imprinted polymers with selective recognition cavities for gallic acid. *Polymer International*, 62(6), 949-956.

[27] Chai, Z., Li, C., Zhu, Y., Song, X., Chen, M., Yang, Y., Chen, D., Liang, X., Wu, J. (2020). Arginine-modified magnetic chitosan: Preparation, characterization and adsorption of gallic acid in sugar solution. *International Journal of Biological Macromolecules*, 165, 506-516.

[28] Celestino, G. G., Henriques, R. R., Shiguihara, A. L., Constantino, V. R., de Siqueira Melo, R., Amim Júnior, J. (2019). Adsorption of gallic acid on nanoclay modified with poly (diallyldimethylammonium chloride). *Environmental Science and Pollution Research*, 26(28), 28444-28454.