

**T.C.**  
**BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**KİMYA ANABİLİM DALI**



**METAMFETAMİN TAYİNİ İÇİN MOLEKÜLER BASKILANMIŞ  
OPTİK TEMELLİ BİYOSENSÖRLERİN HAZIRLANMASI**

**HATİCE SUNGUR BİRİNCİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Jüri Üyeleri :** Prof. Dr. Oktay ARSLAN (Tez Danışmanı)  
Prof. Dr. Serap BEYAZTAŞ UZUNOĞLU  
Prof. Dr. Handan YAVUZ ALAGÖZ  
Doç. Dr. Semra IŞIK  
Doç. Dr. Başak GÖKÇE

**BALIKESİR, HAZİRAN - 2025**

## **ETİK BEYAN**

Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak tarafımda hazırlanan “**Metamfetamin Tayini İçin Moleküler Baskılanmış Optik Temelli Biyosensörlerin Hazırlanması**” başlıklı tezde;

- Tüm bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Kullanılan veriler ve sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tüm bilgi ve sonuçları bilimsel araştırma ve etik ilkelere uygun şekilde sunduğumu,
- Yararlandığım eserlere atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,

beyan eder, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ederim.

**Hatice SUNGUR BİRİNCİ**

## ÖZET

**METAMFETAMİN TAYİNİ İÇİN MOLEKÜLER BASKILANMIŞ OPTİK  
TEMELLİ BİYOSENSÖRLERİN HAZIRLANMASI  
DOKTORA TEZİ  
HATİCE SUNGUR BİRİNCİ  
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
KİMYA ANABİLİM DALI  
(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. OKTAY ARSLAN)**

**BALIKESİR, HAZİRAN - 2025**

Metamfetamin (METH), kolay sentezlenebilirliği, düşük maliyeti ve yüksek bağımlılık potansiyeli nedeniyle dünya genelinde en yaygın şekilde kötüye kullanılan yasadışı psikoaktif maddelerden biridir. Bu çalışmada, METH'in son derece seçici ve hassas tespiti amacıyla moleküler baskılama teknolojisine dayalı bir plazmonik sensör başarıyla geliştirilmiştir. Hedef analitin bağlanma bölgesine yönelik özgül tanıma sahaları oluşturmak amacıyla moleküler baskılama tekniği kullanılmış ve bu özgül tanıma, yüzey plazmon rezonansı (SPR) tabanlı plazmonik algılama yöntemiyle doğrulanmıştır.

Geliştirilen sistem, moleküler baskılanmış polimer (MIP) temelli bir SPR sensörü olarak yapılandırılmış ve kırılma indisindeki değişim, 1,67  $\mu\text{M}$  ile 167,5  $\mu\text{M}$  arasındaki METH derişimleri ile doğrusal bir ilişki göstermiştir. Optimize edilen deneysel koşullar altında, söz konusu sensörün tespit limiti yapay plazmada 0,66  $\mu\text{M}$  ve yapay idrarda 0,58  $\mu\text{M}$  olarak belirlenmiş olup, bu değerler METH tespiti için gerekli olan limitlerin altındadır.

Elde edilen bulgular, MIP tabanlı SPR sensör platformunun metamfetamin gibi hedef moleküllerin seçici ve doğru şekilde tespitine yönelik önemli bir potansiyel taşıdığını ortaya koymaktadır. Geliştirilen sensör, yüksek seçicilik ve duyarlılığa sahip analitik performansı, hızlı ve güvenilir uyuşturucu analizleri için uygun bir yöntem sunmakta; bu alanda yeni nesil algılama teknolojilerinin geliştirilmesine katkı sağlamaktadır.

**ANAHTAR KELİMELER:** Metamfetamin, moleküler baskılanmış polimerler, plazmonik tespit, yüzey plazmon rezonans sensörü

## **ABSTRACT**

### **PREPARATION OF MOLECULAR IMPRINTED OPTICAL-BASED BIOSENSORS FOR THE DETECTION OF METHAMPHETAMINE**

**PH.D THESIS**

**HATICE SUNGUR BIRINCI**

**BALIKESİR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE**

**CHEMISTRY**

**(SUPERVISOR: PROF. DR. OKTAY ARSLAN )**

**BALIKESİR, JUNE - 2025**

Methamphetamine (METH) is one of the most widely abused illicit psychoactive substances worldwide due to its easy synthesizability, low cost, and high addiction potential. In this study, a plasmonic sensor based on molecular imprinting technology was successfully developed for the highly selective and sensitive detection of METH. The molecular imprinting technique was used to create specific recognition sites for the binding site of the target analyte, and this specific recognition was confirmed by surface plasmon resonance (SPR)-based plasmonic sensing method.

The developed system was configured as a molecularly imprinted polymer (MIP)-based SPR sensor, and the change in refractive index showed a linear relationship with METH concentrations between 1.67  $\mu\text{M}$  and 167.5  $\mu\text{M}$ . Under the optimized experimental conditions, the detection limit of the sensor was determined as 0.66  $\mu\text{M}$  in artificial plasma and 0.58  $\mu\text{M}$  in artificial urine, which are below the limits required for METH detection.

The findings reveal that the MIP-based SPR sensor platform has significant potential for the selective and accurate detection of target molecules such as methamphetamine. The developed sensor offers a suitable method for rapid and reliable drug analysis with its analytical performance with high selectivity and sensitivity; and contributes to the development of next-generation detection technologies in this field.

**KEYWORDS:** Methamphetamine, molecularly imprinted polymers, plasmonic detection, surface plasmon resonance sensor

Science Code / Codes : 20104, 20112

Page Number : 103

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
İÇİNDEKİLER .....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ.....	vii
SEMBOL LİSTESİ.....	viii
ÖNSÖZ .....	ix
1. GİRİŞ .....	1
1.1 Metamfetamin.....	4
1.1.1 Metamfetaminin tarihçesi.....	5
1.1.2 Metamfetaminin fizikokimyasal özellikleri .....	7
1.1.3 Metamfetamin farmakolojik özellikleri ve metabolizması .....	10
1.1.4 Metamfetamin kullanım yaygınlığı.....	12
1.1.5 Metamfetaminin fizyolojik etkileri .....	15
1.2 Biyosensörler .....	16
1.2.1 Biyosensör tanımı .....	16
1.2.2 Biyosensörlerin tarihçesi .....	17
1.2.3 Biyosensörlerin temel bileşenleri .....	18
1.2.4 Biyosensörlerde immobilizasyon yöntemleri.....	20
1.2.5 Biyosensörlerin temel özellikleri .....	21
1.2.6 Biyosensör çeşitleri .....	22
1.2.6.1 Elektrokimyasal biyosensörler .....	24
1.2.6.2 Kütle Tabanlı Biyosensörler.....	25
1.2.6.3 Optik biyosensörler .....	25
1.2.7 Biyosensörlerin avantaj ve dezavantajları.....	25
1.2.8 Biyosensörlerin uygulama alanları.....	26
1.3 Moleküler Baskılama Yöntemi .....	27
1.3.1 Moleküler baskılamanın tarihçesi .....	27
1.3.2 Moleküler baskılanmış polimerler .....	27
1.3.3 Moleküler baskılama yöntemi basamakları .....	29
1.3.4 Moleküler baskılama yöntemleri.....	31
1.3.4.1 Kovalent baskılama .....	31
1.3.4.2 Kovalent olmayan baskılama .....	32
1.3.5 Moleküler baskılanmış polimerlerinin sentezinde kullanılan bileşenler.....	33
1.3.5.1 Hedef-kalıp molekül.....	33
1.3.5.2 Fonksiyonel monomer.....	33
1.3.5.3 Çarpaz bağlayıcılar .....	35
1.3.5.4 Çözücüler .....	36
1.3.5.5 Başlatıcılar.....	37
1.3.6 Moleküler baskılama uygulama alanları .....	38
1.3.7 Moleküler baskılanmış polimer temelli sensörler .....	38
1.4 Optik Sensörler.....	39
1.4.1 Yüzey plazmon rezonans (SPR) .....	41

## İÇİNDEKİLER (devam)

### Sayfa

1.4.2 Yüzey plazmonu .....	43
1.4.3 SPR sensörler .....	45
1.4.4 Altın nanopartikül temelli optik sensörler.....	48
<b>2. DENEYSEL ÇALIŞMALAR .....</b>	<b>49</b>
2.1 Kimyasal Malzemeler.....	49
2.2 Optik Sistem.....	49
2.3 Altın Nanopartiküllerin Sentezi.....	50
2.4 Monomerin Belirlenmesi.....	50
2.5 Tampon Çözeltinin Hazırlanması.....	51
2.6 Metamfetamin Baskılanmış Çiplerin Tasarlanması .....	51
2.6.1 SPR çip yüzeyinin modifikasyonu .....	51
2.6.2 Metamfetamin baskılanmış SPR çipin tasarlanması .....	52
2.7 Kalıp Moleküllerin Desorpsiyonu .....	54
2.8 Baskılanmamış Çiplerin Tasarlanması .....	54
2.9 SPR Nanosensör Çiplerinin Karakterizasyonu.....	55
2.9.1 Temas açısı belirlenmesi .....	55
2.9.2 Atomik kuvvet mikroskopisi (AFM) .....	58
2.10 Metamfetamin Tayini.....	59
2.11 Metamfetamin Çözeltilerinin Hazırlanması .....	60
2.12 Metamfetamin Seçicilik Çalışmaları .....	60
2.13 Tekrarlanabilirlik Sonuçları .....	62
2.14 Farklı pH değerlerinde inceleme .....	62
2.15 Plasma ve idrarda inceleme.....	62
2.16 Baskılanmamış Nanosensör ile Metamfetamin Tayini .....	63
2.17 Kinetik Modeli .....	63
2.18 Adsorpsiyon Modeli.....	65
2.18.1 Langmuir adsorpsiyon modeli.....	67
2.18.2 Freundlich izoterm modeli .....	67
<b>3. BULGULAR .....</b>	<b>69</b>
3.1 Metamfetamin- Metakrilik Asitin (MAA) Oranının Belirlenmesi.....	69
3.2 Metamfetamin Baskılanmış SPR Sensör Çiplerinin Karakterizasyon Sonuçları .....	70
3.2.1 Temas açısı analizi .....	70
3.2.2 Atomik kuvvet mikroskobu (AFM) analizi .....	72
3.3 Farklı pH Değerlerinde İnceleme .....	74
3.4 Farklı Metamfetamin Derişimlerinin Tespiti .....	75
3.5 Metamfetamin Tayini .....	76
3.6 Baskılanmamış Nanosensör ile Metamfetamin Tayini.....	78
3.7 Metamfetamin Seçicilik Çalışmaları .....	78
3.8 Tekrarlanabilirlik Sonuçları.....	82
3.9 Plazma ve İdrar Örnekleri .....	83
<b>4. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>89</b>
<b>5. KAYNAKLAR (APA).....</b>	<b>91</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>102</b>

# ŞEKİL LİSTESİ

## Sayfa

Şekil 1.1: Metamfetamin çeşitleri a) kristal formu b) toz formu c) hap formu.....	7
Şekil 1.2: METH'in kimyasal yapısı.....	8
Şekil 1.3: (+)-Psödoefedrin (b) ve (-)-Efedrin (c)' den METH (a) sentezi .....	9
Şekil 1.4: Fenil-2-propanon (P2P)' den METH sentezi .....	10
Şekil 1.5: METH metabolizması (Torre et al., 2012).....	11
Şekil 1.6: Dünya'da 2015-2019 yılları arasında metamfetamin üreten laboratuvarların dağılımı .....	13
Şekil 1.7: Türkiye'de 2020-2022 yılları arasında yakalanan metamfetamin miktarı ve olay sayısı .....	14
Şekil 1.8: Temelde sensörlerin çalışma mekanizması.....	17
Şekil 1.9: Biyosensörlerin sınıflandırılması (Thakur et al., 2024).....	23
Şekil 1.10: Moleküler baskılamanın genel süreci. ....	28
Şekil 1.11: Moleküler baskılama yönteminin basamakları .....	30
Şekil 1.12: Kovalent ve kovalent olmayan baskılama (Ertürk, 2015).....	33
Şekil 1.13: MIP'lerin sentezinde kullanılan fonksiyonel monomerler.....	34
Şekil 1.14: MIP'lerin sentezinde kullanılan çapraz bağlayıcılar .....	36
Şekil 1.15: MIP'lerin Sentezinde Kullanılan Başlatıcılar .....	37
Şekil 1.16: Dielektrik sınırlarda meydana gelen iç kırınım.....	42
Şekil 1.17: Bağlanma işleminin zamana göre izlendiği açı.....	43
Şekil 1.18: Yüzeysel plazmon rezonansı tekniği ile bir biyosensör uygulaması (Sabban, 2011) .....	45
Şekil 1.19: SPR ile etiketsiz tayinin şematik gösterimi.....	46
Şekil 1.20: SPR Sensör sensorgramında gerçekleşen fazlar .....	47
Şekil 2.1: (a) Yüzeysel plazmon rezonans (SPR) sensör sistemi; ve (b) SPR çip. ....	50
Şekil 2.2: SPR çip yüzeyine allil merkaptan çözeltisi ile gerçekleştirilen allil modifikasyonu.....	51
Şekil 2.3: UV lamba altında polimerizasyon.....	53
Şekil 2.4: METH baskılanmış çiplerin tasarımının şematik diyagramı .....	53
Şekil 2.5: Young denklemindeki miktarları gösteren bir sıvı damlasının şeması.....	56
Şekil 2.6: Bir su damlasının katı yüzeyi ile yaptığı farklı temas açıları ve buna bağlı ıslanmazlık durumu.....	57
Şekil 2.7: Temas Açısı Ölçüm Cihazı .....	58
Şekil 2.8: Diğer uyarıcı madde çözeltileri .....	60
Şekil 3.1: UV spektrofotometre.....	69
Şekil 3.2: Absorbans değerleri .....	70
Şekil 3.3: SPR nanosensör çip temas açısı görüntüleri (a) Boş çip b) Alil modifiyeli çip c)Metamfetamin baskılanmış çip.....	71
Şekil 3.4: SPR çiplerinin AFM görüntüleri (a) boş çip b) METH baskılanmış c) NIP (devamı) .....	73
Şekil 3.5: Metamfetamin baskılanmış çiplerin farklı PH değerlerinde incelenmesi .....	74
Şekil 3.6: METH-MIP sensörünün kalibrasyon eğrisi .....	76

<b>Şekil 3.7:</b> METH baskılanmış SPR çözeltileri ile olan etkileşimlerine dair elde edilen sensorgram verileri; 1,67 $\mu$ M - 167,5 $\mu$ M geniş derişim aralığında alınan sinyallerin karşılaştırılması.....	77
<b>Şekil 3.8:</b> METH baskılanmamış SPR çözeltileriyle ilgili etkileşimlere ilişkin sensorgramlar; 1,67 $\mu$ M - 167,5 $\mu$ M arasındaki geniş derişim aralığında elde edilen sinyallerin karşılaştırılması.....	78
<b>Şekil 3.9:</b> METH baskılanmış nanosensörün seçiciliğine dair sonuçlar .....	81
<b>Şekil 3.10:</b> METH baskılanmamış nanosensörün seçiciliğine dair sonuçlar.....	81
<b>Şekil 3.11:</b> MIP ve baskı faktörünün (IF) karşılaştırma sonuçları .....	82
<b>Şekil 3.12:</b> METH baskılanmış çiplerin tekrarlanabilirlik sonuçları.....	83
<b>Şekil 3.13:</b> Yapay idrar örnekleri .....	85
<b>Şekil 3.14:</b> Yapay plazma örnekleri .....	85

## TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
<b>Tablo 1.1:</b> Metamfetaminin kimyasal özellikleri .....	8
<b>Tablo 1.2:</b> Doğal biyomoleküller ve moleküler baskılama ile hazırlanan polimerlerin karşılaştırılması .....	31
<b>Tablo 2.3:</b> PBS Çözeltisi Hazırlama .....	51
<b>Tablo 3.1:</b> Metamfetamin- metakrilik asit (MAA) oranları .....	70
<b>Tablo 3.2:</b> Temas açısı ölçüm sonuçları.....	70
<b>Tablo 3.3:</b> METH-MIP SPR sensörünün seçicilik katsayıları (k) ve bağıl seçicilik katsayıları (k') değerleri .....	81
<b>Tablo 3.4:</b> METH tayininde kullanılan farklı sensör teknolojilerinin özetleri .....	88

## SEMBOL LİSTESİ

<b>Au</b>	: Altın
<b>b</b>	: Adsorpsiyon denge sabiti
<b><math>C_e</math></b>	: Denge analit
<b><math>K_a</math></b>	: Ayrışma sabiti
<b><math>K_b</math></b>	: Bağlanma sabiti
<b><math>K_f</math></b>	: Adsorpsiyon kapasitesi
<b>mg</b>	: Miligram
<b>mL</b>	: Mililitre
<b><math>\mu\text{L}</math></b>	: Mikrolitre
<b><math>n</math></b>	: Adsorpsiyon yoğunluğu Freundlich sabiti
<b><math>q_e</math></b>	: Analitin miktarı
<b><math>Q_0</math></b>	: Teorik tek tabakalı kapasite
<b><math>\theta_Y</math></b>	: Young temas açısı
<b><math>\Delta</math></b>	: Delta

## ÖNSÖZ

2019 yılında doktora eğitimine başladığım ilk günden beri desteğini benden hiçbir zaman esirgemeyen, bana her zaman inanan ve yanımda olmaktan pes etmeyen, sadece akademik değil manevi desteğini de esirgemeyen değerli hocam, akademik danışmanım Prof. Dr. Oktay Arslan'a,

Tez çalışmalarımda beni laboratuvarına kabul eden, desteğini benden esirgemeyen, kendilerinden bilimsel olarak çok fazla şey öğrendiğim, akademik kariyerimdeki çok büyük, değerli katkılarından ötürü, değerli hocalarım Prof. Dr. Adil Denizli'ye, Prof. Dr. Handan Yavuz Alagöz'e ve her başım sıkıştığında yanına koştuğum, akademik bilgisine hayran olduğum canım hocam Dr. Semra Akgönüllü'ye,

Bana hep inanan, güvenen ve yüreklendiren canım babama, beni bu günlere getiren en büyük destekçim canım anneme ve bana benden daha çok inanan kardeşlerime,

Ailemizin yeni üyeleri canım yeğenlerim Kağan ve Alp'e

Akademik sürecimde yanımda olan ve destekleyen sevgili eşime,

Küçücük kalplerinizle fedakarlığın en büyüğünü gösteren, benim hayallerime kavuşmam da en büyük izi, emeği olan canımın içi çocuklarım iyi ki varsınız; *Efe, Yiğit ve Yağız'ıma*

Sonsuz teşekkürler...

**Balıkesir, 2025**

**Hatice SUNGUR BİRİNCİ**

# 1. GİRİŞ

Metamfetamin (METH), hem ulusal hem de uluslararası düzeyde denetim altında tutulan, yasa dışı, sentetik uyuşturucu bir maddedir. Bu bileşik; bireylerin biyolojik, psikolojik ve sosyal yaşamlarında ciddi tahribata yol açar. Fenetilamin ailesinin bir üyesi olan METH, captagon, amfetamin ve ekstazinin de içinde bulunduğu Amfetamin Tipi Uyarıcılar (Amphetamine Type Stimulants - ATS) sınıfında yer alır (Metamfetamin; Türkiye ve Dünyadaki Durumu, 2022).

METH, nöradrenalin, serotonin ve dopamin reseptörlerinin dolaylı agonistidir (Bernheim et al., 2016), yani bir reseptöre bağlanarak o reseptörün doğal nörotransmitterininkine benzer bir fizyolojik etki oluşturan bileşendir. METH, yapısal benzerliği nedeniyle, veziküler monoamin taşıyıcıları, serotonin taşıyıcıları, norepinefrin taşıyıcıları ve dopamin taşıyıcıları gibi membran bağlı taşıyıcılar üzerinde monoaminlerin yerini alır (Cruickshank and Dyer, 2009).

METH, sentetik bir uyarıcı olarak bilinen ve merkezi sinir sistemini etkileyen oldukça güçlü bir psikoaktif maddedir. Bu madde, kullanımı sonrasında bireylerin ruh hali üzerinde önemli değişikliklere sebep olabilmektedir. METHin yoksunluk belirtileri arasında, kişilerde ağır depresyon halleri, şiddetli kasılmalar, psikoz durumu, sürekli bir yorgunluk hissi ve yoğun kaygı duyguları gözlemlenmektedir. Bu belirtiler, METH kullanımını bırakan kişilerde ciddi rahatsızlıklara yol açabilir ve tedavi gerektirebilir.

Ayrıca, METH fizyolojik etkileri oldukça çeşitlidir ve kullanımı sırasında bir dizi sağlık sorunu ortaya çıkabilir. Bu etkiler arasında iştahsızlık, solunum hızının artması ve kan basıncında yükselmeler yer almaktadır. Kullanım sonucu, göz bebeklerinin büyümesi, kas yorgunluğu, görme bozuklukları, bulantı ve kusma gibi durumlar da sıklıkla yaşanmaktadır. Bunun yanında, daha ciddi komplikasyonlar arasında böbrek yetmezliği, serebral kanama, kardiyak aritmi, koma veya ölüm riski bulunmaktadır. METH, merkezi sinir sistemi üzerindeki bu etkilerinden dolayısıyla ciddi ve hayati tehlike arz eden sonuçlarla ilişkilendirilebilmektedir. Yaygın kullanımı ve bağımlılık yapıcı özellikleri nedeniyle, METH, halk sağlığı için ciddi bir tehdit oluşturmakta ve bu maddenin etkin bir şekilde tespit edilmesi toplum sağlığı açısından oldukça önem taşımaktadır. Geleneksel analitik yöntemler, METH tayininde etkili olsa da bazı zorluklar içermekte ve sıklıkla uzmanlık

gerektirmekte, zaman almakta ve yüksek maliyetli ekipmanlar gerektirmektedir. Bu bağlamda, moleküler baskılama yöntemi, METH tespiti için çözümler sunmaktadır. Moleküler baskılama yöntemi, bir kalıp molekülü ile fonksiyonel monomer arasındaki etkileşimi ve oluşan bağların çeşidine göre gruplandırılan bir polimerizasyon sürecidir. Bu yöntem, belirli hedef molekülleri tanımak ve ayırt etmek için polimerler geliştirmeye olanak tanır. Polyakov, moleküler baskılama tekniğini ilk olarak 1931'de tanıtmıştır. Bu teknik, kalıp molekülüne benzer yerlere sahip spesifik bağlanma bölgelerinin oluşumunu içerir. Moleküler baskılayıcı polimerler (Molecularly Imprinted Polymers - MIPs), polimerizasyon reaksiyonu için hedef numuneleri, fonksiyonel monomerleri ve çapraz bağlayıcıyı içerir (Chen et al., 2011) Moleküler baskılama yöntemi, spesifik ve seçici etkileşimler sağladığı için, çeşitli bilimsel ve endüstriyel uygulamalarda önemli bir rol oynamaktadır.

MIP'ler, bir kalıp molekülü ile etkileşime giren fonksiyonel monomerlerin polimerizasyonu yoluyla sentezlenir. Polimerizasyon işlemi tamamlandıktan sonra, hedef molekülün bağlanabileceği boşluklar oluşturmak için kalıp molekül polimer matrisinden uzaklaştırılır. İdeal koşullar altında, bu boşluklar kalıp molekülünün boyutunu, şeklini ve fizikokimyasal özelliklerini ayırt edebilir ve böylece kalıp molekülünün seçici ve güçlü bir şekilde bağlanmasını mümkün kılar. MIP bazlı sensörlerin maliyeti, üretim kolaylığı ve neredeyse sınırsız kullanım ömürleri dikkate alındığında oldukça düşüktür. Ayrıca, MIP'lerin sentezi basittir, yüksek kararlılığa sahiptirler ve oldukça spesifik moleküler tanıma yetenekleri sergilerler. Bu belirgin fiziksel ve kimyasal dayanıklılık, biyomoleküllerin tanıma amaçlı kullanımının pratik olmadığı durumlarda avantaj sağlar. MIP'ler sentetik malzemeler olduklarından, üretim süreçlerinde hayvan kullanımına gerek duyulmaz, bu da onları toplumsal açıdan daha tercih edilebilir kılar (Ozgür vd., 2022).

MIP'ler, baskılı moleküler boşlukların belirli bir şekline ve boyutuna uyum sağlayabilen analitleri etkili bir şekilde tanıyabilme yeteneğine sahiptir. Moleküler baskılama teknolojisi, bu polimerlerin yalnızca belirli bir analit ile etkileşime girmesi için tasarlanmış olmasına olanak tanır. Bu teknoloji, özellikle amino asitler, proteinler, peptitler ve nükleotitler gibi biyolojik bileşikler tanıyabilen hedefe özel polimerlerin sentezlenmesini mümkün kılmaktadır. Bununla birlikte, MIP'ler yalnızca biyolojik bileşenlerle sınırlı kalmaz; aynı zamanda ilaçlar, gıda katkı maddeleri ve çevre kirliliğine neden olan zararlı maddeler gibi çeşitli kimyasalların tanınması ve ayrıştırılması için de etkili bir şekilde kullanılabilir. Bu

polimerler, farklı uygulamalara uyum sağlamak amacıyla mikro ve nanopartiküller gibi çeşitli şekil ve boyutlarda sentezlenebilir.

MIP'lerin sentez aşamaları, fonksiyonel monomerler ile kalıp molekülü arasındaki etkileşimlerin belirli bir düzen dahilinde gerçekleştirilmesiyle ilerler. Bu etkileşimler; kovalent baskılama, yarı-kovalent baskılama, kovalent olmayan baskılama ve metal iyon koordinasyonu aracılığıyla olan baskılama yöntemleri gibi dört ana stratejiye ayrılabilir. Moleküler baskılama teknolojisinin tercih edilmesinin sebeplerinden biri, kolay üretim süreci ve maliyet etkinliği ile birlikte üretim sonrası elde edilen ürünlerin yeniden kullanılabilir olmasıdır. Ayrıca, bu tür polimerlerin mekanik ve kimyasal stabilite özellikleri de oldukça yüksektir. Bu üstün özellikler, MIP'lerin biyosensörler, katalizörler, ilaç dağıtım sistemleri, ayrıştırma ve saflaştırma çalışmaları gibi birçok farklı alanda geniş bir ilgi görmesine neden olmuştur. Polimerlerin çok yönlülüğü ve geniş uygulama yelpazesi, onları modern bilim ve endüstrinin önemli bileşenleri haline getirmiştir.

Sensörler, hızlı ve özgül analiz imkanı sunmaları, kolay hazırlanabilmeleri ve kullanılabilmeleleri, düşük maliyetli olmaları ve saha uygulamalarına uygun olmaları nedeniyle gıda analizlerinde önemli bir potansiyele sahiptir (Cozzolino, 2025). Biyosensörler, biyolojik bir algılama elemanına bağlı ve bu elemandan alınan yanıt ölçülebilir bir elektrik sinyaline dönüştüren bir dönüştürücü içeren cihazlardır. Üretilen sinyalin şiddeti, biyolojik algılama elemanının etkileşimde bulunduğu spesifik kimyasal maddenin derişimi ile doğru orantılıdır. Biyosensörler, basit ve kullanımı kolay olmalarının yanı sıra yüksek özgüllük ve hassasiyet, hızlı yanıt verme, düşük maliyet, kullanıcı dostu işlem ve sürekli gerçek zamanlı analiz gibi üstün performans özellikleri gösterirler (Verma and Bhardwaj, 2015).

Yüzey plazmon rezonansı (Surface Plasmon Resonance - SPR), optik temelli biyosensörlerin çalışma prensibi, analitin biyolojik algılayıcı ile etkileşime girmesinin, ışığın emilimini, saçılımı, kırılmasını veya polarizasyonunu değiştirmesidir. Bu değişiklikler, analitin derişimini ölçmek için kullanılabilir. SPR, bir metal-dielektrik arayüzünde yüzey plazmonlarının uyarılmasını ve bunların ışıkla etkileşimini ölçer. METH tespitinde, SPR teknolojisi, özellikle düşük derişimlerde bile, yüksek hassasiyet ve hızlı yanıt süresi sağlar. SPR sensörleri, METH moleküllerinin bir metal yüzeye bağlanmasını ve bu bağlanmanın

neden olduğu dielektrik özelliklerdeki değişiklikleri tespit eder. SPR, bağlanma olaylarını etiketleme gerektirmeden izleyebilir, bu da analiz sürecini basitleştirir ve hızlandırır.

MIP'ler, özelleştirilmiş tanıma siteleri sayesinde METH gibi spesifik hedef molekülleri seçebilir ve yüksek oranda geri kazanım ve yeniden kullanım potansiyeline sahiptir. MIP tabanlı sensörler, hızlı tarama ve yerinde analiz için portatif cihazlarla entegre edilebilir, böylece hızlı ve etkin bir şekilde bu maddenin tespiti yapılabilir. Sunulan tez kapsamında, METH tayinine yönelik raf ömrü uzun, kullanılabilirliği kolay, hassasiyeti ve seçiciliği yüksek, eş zamanlı ölçüm yapılabilen, maliyeti düşük ve analiz süresi kısa olan optik temelli biyosensörlerin yapılması planlanmıştır.

### **1.1 Metamfetamin**

METH, yapısal olarak amfetamine son derece benzer bir bileşiktir; ancak onunla karşılaştırıldığında, çok daha güçlü bir etki sağladığı ve bu etkinin çok daha uzun sürdüğü için, bu madde çok daha fazla zarar verme potansiyeline sahip bir madde olarak öne çıkmaktadır. Bu nedenle, METH kullanımı, sağlık üzerinde ciddi ve kalıcı olumsuz etkiler yaratabilir (Gomes de Matos et al., 2018). Bu grup içerisinde amfetamin, ekstazi ve captagon gibi Amfetamin Tipi Uyarıcılar (ATS) sınıfına dahildir. METH, beyaz renkte, kokusuz ve acı tadında bir kristal toz şeklinde olup alkol ve suda çabucak çözünebilir. Merkezi sinir sistemini etkileyen bu sentetik madde, obezite, hiperaktivite ve dikkat eksikliği gibi çeşitli sağlık sorunlarının tedavisinde kullanılmaktadır ve amfetamin ile yapısal benzerlik taşır (Anglin et al., 2000). Uyarıcı etkisi, yasadışı kullanımını tetiklerken, kullanıcıda 6 ila 24 saat sürebilen eforik etkilerle bağımlılık riskini artırır. METH'in uzun süreli ve düzenli kullanımı, beyindeki dopamin salınım mekanizmalarında ciddi yapısal değişikliklere yol açarak çeşitli olumsuz sonuçlar doğurmaktadır. Bu değişiklikler, motor becerilerin bozulmasına yol açarken, aynı zamanda bireylerde yüksek düzeyde anksiyete, çeşitli psikotik bozukluklar, hızlı bir şekilde meydana gelen kognitif gerileme, sanrı ve halüsinasyon gibi ciddi psikiyatrik durumların ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Kişi, bu maddeleri uzun süreli ve yüksek dozlarda kullandığında, durum daha da kötüleşir. Psikomotor ajitasyon, disfori, kafa karışıklığı, panik atak ve paranoyak düşünceler gibi daha ağır psikolojik etkiler ortaya çıkabilir. Bu durumlar, bireyin günlük yaşamını olumsuz yönde etkileyerek sosyal ilişkilerinde, iş performansında ve genel yaşam kalitesinde ciddi sorunlar yaratmaktadır (Evren ve Bozkurt, 2018).

METH'in fizyolojik etkileri de oldukça çeşitlidir ve birçok sağlık sorununa yol açabilmektedir. Kullanımı sırasında iştahsızlık, solunum hızında artış, tansiyonun yükselmesi gibi belirtiler sıklıkla gözlemlenir. Bunun yanı sıra, göz bebeklerinde büyüme (midriyazis), kaslarda yorgunluk, görme sorunları ve mide bulantısı gibi belirtiler zaman zaman ortaya çıkabilir. Daha ileri evrelerde, bu madde vücutta ciddi komplikasyonlara yol açabilir; örneğin, böbrek yetmezliği, serebral kanama, kardiyak aritmi gibi hayati tehlike arz eden durumlar gelişebilir. Bu tür sağlık sorunları, bazen koma ya da ölüm ile sonuçlanabilecek kadar ciddi olabilmektedir. METH, çoğu ülkede yasa dışı yollarla kristal veya tablet formunda satılmaktadır. İlk olarak 1893 yılında keşfedilen METH, merkezi sinir sistemi üzerinde uyarıcı etki gösteren dekstro-metamfetamin ve yüksek periferik sempatomimetik özelliklere sahip levometamfetamin olmak üzere iki enantiyomeri bulunmaktadır. Dekstrometamfetamin genellikle yasadışı kullanılırken, levometamfetamin solunum hastalıklarında tercih edilmektedir (Chomchai et al., 2019).

Düşük dozlarda METH, ruh halini iyileştirir, yorgun kişilerde uyanıklık ve odaklanmayı artırır, enerji verir ve iştahı azaltır. Ancak yüksek dozları, iskelet kaslarının bozulmasına, nöbetlere, psikoza ve beyin kanamasına yol açabilir. Yüksek dozlarda kronik kullanım, duygu durum değişiklikleri, şiddet eğilimi, halüsinasyonlar, sanrılar, paranoya ve deliryum gibi psikolojik sorunları şiddetlendirebilir. METH'in uzun süreli veya aşırı kullanımı, kompulsif madde kullanımına ve yüksek bağımlılık yüküne (kullanımın sona ermesiyle yoksunluk belirtileri yüksek olasılıkla görülebilir) yol açabilir. Yoğun kullanım sonrası, METH çekilmesi, tipik yoksunluk sürecinden aylarca sürebilen ciddi akut sonrası yoksunluk sendromlarına sebebiyet verebilir. Yüksek dozda kullanıldığında, METH, beyindeki orta beyin dopaminerjik nöronlarda nörotoksik etkilere yol açar ve amfetamine göre serotonerjik nöronlara daha yüksek toksisite gösterir (Metamfetamin; Türkiye ve Dünyadaki Durumu, 2022; Sepulveda et al., 2021). METH'in nörotoksik etkileri, beyin yapısında ve fonksiyonlarında, farklı bölgelerdeki gri madde hacminde ve metabolik bütünlük belirteçlerinde olumsuz değişimlere yol açar (Jayanthi et al., 2021).

### **1.1.1 Metamfetaminin tarihçesi**

Amfetamin, "ana uyuşturucu" olarak bilinen METH'in kökenidir ve ilk olarak 1880'lerin sonlarında Almanya'da, ardından 1919'da Japon bir bilim insanı tarafından METH sentezlenerek üretilmiştir (Metamfetamin; Türkiye ve Dünyadaki Durumu, 2022). Her iki madde de benzer fizyolojik etkilere sahiptir, ancak METH, daha güçlü bir uyarıcı olarak ve

benzer dozlarda beyne daha fazla oranda geçmesi ile amfetaminden farklılık gösterir. Ayrıca, METH'in üretiminin kolay olması ve toz halinin su içinde iyi çözünmesi, enjeksiyon yoluyla kullanımını pratik hale getirmektedir (Anzar et al., 2024).

İkinci Dünya Savaşı esnasında Alman şirketi Pervitin, METH tabletlerini reçetesiz olarak piyasaya sürmüştür. Bu tabletlerin, kullanıcıya cesaret ve uyanıklık sağlamanın yanı sıra adrenalin artışı sebebiyle Alman, Amerikan, İngiliz ve Japon askerler arasında popülerliği artmıştır. 1960'ların artan kullanımı ile birlikte, enjekte edilebilir formu da piyasaya çıkmıştır (Isenberg, 2023).

ABD hükümeti 1971 yılında METH'i yasadışı maddeler listesine ekleyerek kullanımına kısıtlamalar getirmiştir (Boland et al., 2025). Birleşmiş Milletler'in 1971 ve 1988 tarihli sözleşmeleriyle, METH'in üretiminde kullanılan başlıca kimyasallar kontrol altına alınmış ve kullanımı, üretimi, kaçakçılığı ve dağıtımını suç kapsamına alınmıştır (Metamfetamin; Türkiye ve Dünyadaki Durumu, 2022). 1980'lerde, ABD hükümeti METH'in kristal formunun üretiminde kullanılan efedrin ve psödoefedrinin kullanımını ve satışını düzenlemeye başlamıştır (Boland et al., 2025). 1994 ile 2004 yılları arasında, METH kullanımı ABD yetişkin nüfusu içinde %2'den %5'e yükselmiş ve Meksikalı uyuşturucu kaçakçıları, Kaliforniya'da büyük laboratuvarlar kurarak üretimi ABD'nin diğer bölgelerine, Avrupa'ya ve dünya çapına yaymıştır (Lewis et al., 2021). Son yıllarda, METH kullanımı Amerika Birleşik Devletleri'nde güçlü kalmakla birlikte, daha önce büyük pazarları olmayan bölgelerde de yaygınlaşmıştır. Tarihsel olarak, en fazla kullanım Çek Cumhuriyeti ve Slovakya'da olmuştur, fakat son zamanlarda Almanya'da kristal formda, Yunanistan'da damar içine enjekte edilmesi, İskandinav ülkeleri ve Birleşik Krallık'ta kullanım artışları endişe yaratmaktadır (Evren ve Bozkurt, 2018). METH'in yaygın kullanılan formları Şekil 1.1 de gösterilmiştir (Metamfetamin; Türkiye ve Dünyadaki Durumu, 2022).



**Şekil 1.1:** Metamfetamin çeşitleri a) kristal formu b) toz formu c) hap formu

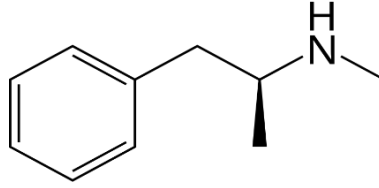
METH'in toz, kristal veya tablet formları mevcuttur. Klinik kullanım için onaylanan METH, tabletler halinde preslenir. METH'in hidroklorürün yeniden kristalleştirilmesi, yapısında değişiklik olmadan buharlaşan ve dolayısıyla solunabilen kristaller üretir. METH'in bu saflaştırılmış formunun kristal yapısı, "kristal", "cam" ve "buz" gibi yaygın isimlerle anılır (Abbruscato and Trippier, 2018).

### 1.1.2 Metamfetaminin fizikokimyasal özellikleri

METH'in IUPAC adı (S)-N-metil-1-fenilpropan-2-amindir. Efedrin veya psödoefedrin moleküllerinin hidrojenasyonu yoluyla "meth lab" olarak adlandırılan yasa dışı laboratuvarlarda kolaylıkla sentezlenebilmesi, maddenin yaygın bir şekilde üretilmesine olanak sağlamaktadır (Abbruscato and Trippier, 2018; Anglin et al., 2000). METH'in kimyasal özellikleri Tablo 1.1'de, kimyasal yapısı ise Şekil 1.2'de belirtilmiştir (Jangra et al., 2024).

**Tablo 1.1:** Metamfetaminin kimyasal özellikleri

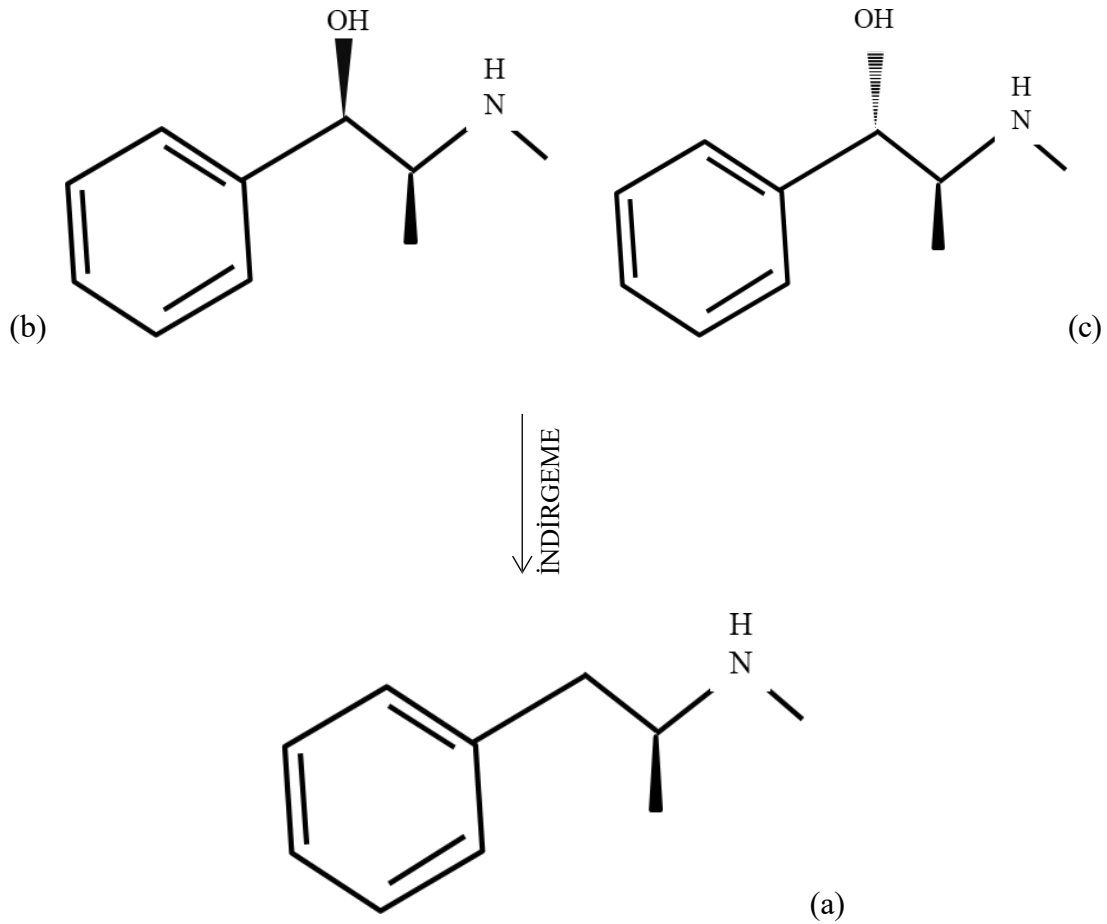
Kimyasal formülü:	C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> N
Molekül ağırlığı	149,233 g/mol
Erime noktası	170 °C
Kaynama noktası	212 °C
Çözünürlük (suda)	Alkol veya suda hızlıca çözünebilir (20 °C)



**Şekil 1.2:** METH'in kimyasal yapısı

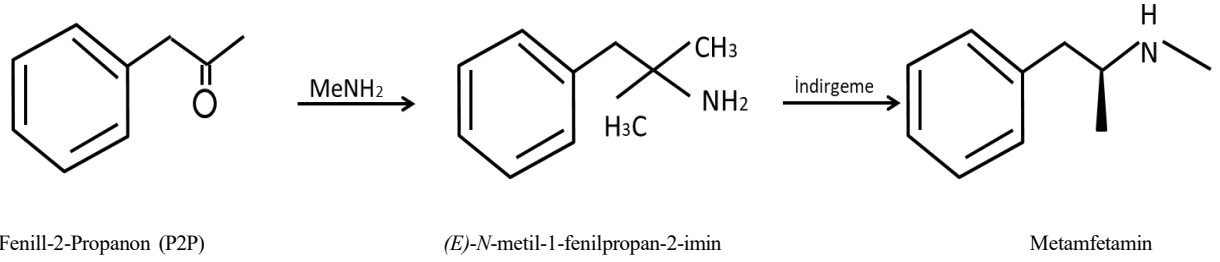
METH'in (S)-(+)-enantiyomer daha aktif uyarıcı (ötimer) ve yasadışı sokak uyuşturucusuyken, (R)-(-)-enantiyomer çeşitli tezgah üstü ürünlerde bulunan yasal bir dekonjestandır (Mendelson et al., 2008).

pK<sub>a</sub> değeri 9,87 ve topolojik polar yüzey alanı 12 Å<sup>2</sup>'dir. Hidroklorür tuzu formunda beyaz kristal bir tozdur; METH hidroklorürün yeniden kristalleştirilmesi renksiz kristaller verir, dolayısıyla kristal meth adını alır. Molekülün bir hidrojen bağı vericisi ve bir hidrojen bağı alıcısı vardır (ikincil amin her iki rolde de hareket eder). 1989'da Amerika Birleşik Devletleri'nde en sık karşılaşılan üç sentetik yol, başlangıç maddesi olarak (-)-efedrin ve (+)-psödoefedrin ve Fenil-2-Propan (P2P) kullanmıştır (Allen and Cantrellb, 1989). Bu sentetik yollardan, (-)-efedrinin SOCl<sub>2</sub>, PCl<sub>5</sub>, POCl<sub>3</sub> veya PCl<sub>3</sub> ile METH reaksiyona sokulmasıyla üretilen (-)-efedrinin klor türevinin paladyum katalizli indirgenmesini ve (-)-efedrinin S-(+)-METH hidroiyodik asit indirgenmesini içerir (Allen and Kiser, 1987).



**Şekil 1.3:** (+)-Psödoefedrin (b) ve (-)-Efedrin (c)' den METH (a) sentezi

Reçetesiz satılan dekonjestanlarda yaygın bir bileşen olan (+)-psödoefedrin, yaygın olarak efedrinin yerine kullanılmaktadır (Eccles, 2007). “Shake and Bake” yöntemi olarak bilinen, reçetesiz satılan dekonjestanlardan elde edilen (+)-psödoefedrin ile başlayan modifiye Birch indirgemesi, METH’i elde etmek için Şekil 1.3’te görüldüğü üzere popüler bir sentetik yol haline gelmiştir (Chambers et al., 2018). Bu nedenle, 2005 yılında METH Salgınıyla Mücadele kongresinde bir kişinin bir günde satın alabileceği (+)-psödoefedrin içeren ürün miktarına kısıtlamalar getirilen yasa kabul edilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri’ndeki bazı eyaletler (+)-psödoefedrini sadece reçeteye satılan bir ilaç haline getirmiştir. Bu kısıtlamalar nedeniyle, başlangıç malzemesi olarak P2P kullanımı yaygınlaşmıştır. Hidrojen kaynağı olarak alüminyum folyo ve susuz amonyak kullanılarak (E)-N-metil-1-fenilpropan-2-imin ara maddesi üzerinden ilerleyen Fenil-2-Propanon (P2P) 'in metilamin ile indirgeyici aminasyonu 1990' lardan beri bilinmektedir.



**Şekil 1.4:** Fenil-2-propanon (P2P)' den METH sentezi

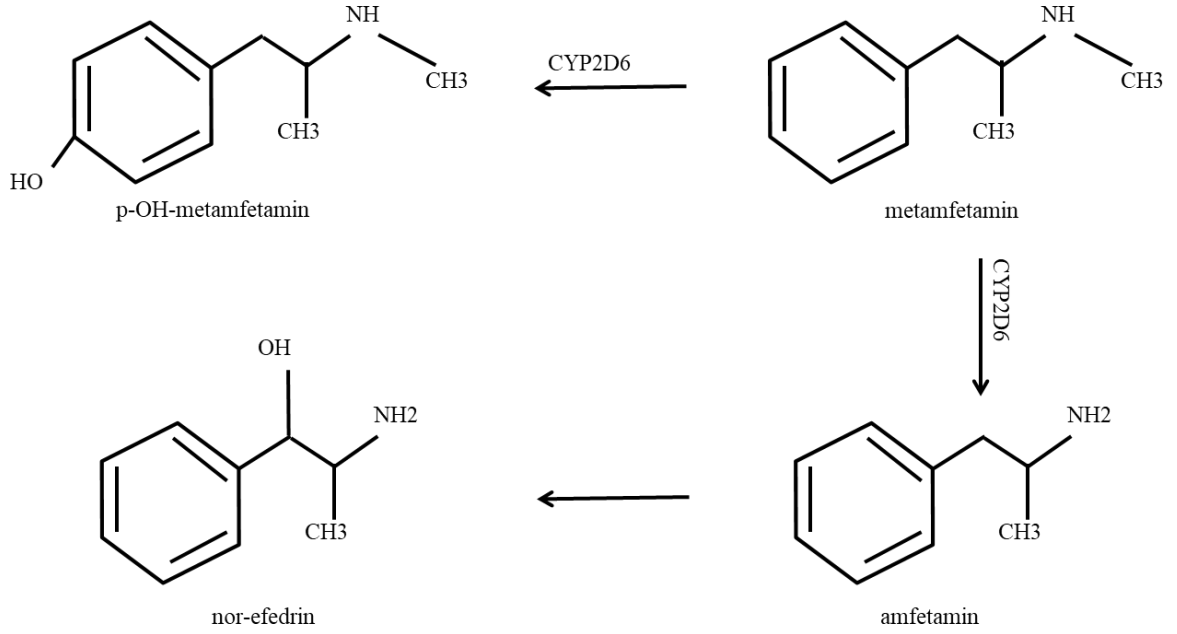
METH fenil-2-propanon (P2P)' den erişmek için diğer ana yol olan Leuckart yöntemi, Şekil 1.4' te görüldüğü gibi ara amid (*E*)-*N*-metil-1-fenilpropan-2-imin ile ilerler (Kunalan et al., 2009). Şekil 1.4'te görüldüğü gibi başlangıç malzemesi olarak Fenil-2-Propanon (P2P)'i kullanan yollar rasemik METH oluştururken, 2 veya 3'ün kullanılmasında ise fazla potansiyel ve daha fazla uyarıcı etki sağlayan enantiyomerik olarak saf (S)-(+)-METH'e erişim sağlar (Abbruscato and Trippier, 2018).

### 1.1.3 Metamfetamin farmakolojik özellikleri ve metabolizması

METH oral yolla alındığında, kan dolaşımına iyi emilerek yaklaşık 3-6 saat içinde plazma derişimlerinin zirveye ulaşması gözlemlenir (Karch and Goldberger, 2023). İntranazal veya oral kullanım, hemen başlayan ve 8-12 saat süren öfori hissine neden olur (Papaseit et al., 2021). METH'in yüksek lipofilitesi, monoamin oksidaz enzimlerinin bozumu karşısında daha dirençli olmasını sağlar, bu da diğer uyarıcı maddelerle kıyaslandığında beyin-kan bariyerini daha hızlı geçmesine olanak tanır (de Souza Santos et al., 2019). Oral yolla alınan tek bir dozdan sonra, yaklaşık 24 saat içinde dozun %70'i idrarla atılır. Bu atılan miktarın %30-54'ü METH, %10-23'ü ise amfetamin formundadır. İntravenöz kullanım durumunda ise bu oranlar sırasıyla %45 ve %7 olarak değişmektedir. METH'in yarı ömrü 5 ile 30 saat arasında değişmektedir (Rau et al., 2016).

METH'in beyne hızlı geçişi ve orada hemen etki göstermeye başlaması (Nordahl et al., 2003) dikkat çekicidir. METH, merkezi sinir sisteminde katekolaminlerin sentezlenmesini ve geri alınmasını bloke eder, bunların salınımını teşvik eder. Veziküler monoamin taşıyıcı- 2, noradrenalin, dopamin ve serotonin taşıyıcıları için bir substrat olarak hareket eder, bu taşıyıcıların endojen işlevlerini tersine çevirerek, depo veziküllerinden sitoplazmaya monoaminlerin yeniden dağıtılmasını sağlar. Bu süreç, periferik ve santral sinir

sistemlerinde monoaminerjik yolların uyarılmasına neden olur ve beyinde geniş kapsamlı disfonksiyonlara ve nöral dejenerasyona yol açar (Miller et al., 2021). METH'in karmaşık monoamin sistemleri üzerindeki etkileri artarak karmaşıklık kazanırken, METH kullanımının dopamin salınımını artırdığı ve kullanım sonrası dopaminerjik, serotonerjik, noradrenerjik ve opioiderjik nörotransmitterler üzerinde bilişsel ve davranışsal farklılıklar yarattığı gözlenmektedir (Čechová and Šlamberová, 2021).



**Şekil 1.5:** METH metabolizması (Torre et al., 2012)

METH, amfetamine benzer bir yapıya sahip dolaylı bir semptomimetik ajandır. Bununla birlikte, eklenen bir N-metil grubu, lipid çözünürlüğünü artırarak merkezi sinir sistemine daha hızlı difüzyona izin verir. METH'in etkileri, başta dopaminerjik olmak üzere serotonerjik, noradrenerjik ve glutamaterjik sistemler gibi bir dizi nörotransmitter sistemiyle etkileşiminden kaynaklanır. Kardiyovasküler ve psikoaktif olanlar da dahil olmak üzere akut yan etkiler nörotransmitterlerin fazlalığı ile ilişkilidir. Daha önce açıklandığı gibi, METH kaynaklı uzun vadeli etkiler dopaminerjik sistemin nörodejenerasyonunun bir sonucudur (Schep et al., 2010).

Şekil 1.5'te açıklandığı gibi METH metabolik klirensinde yer alan üç ana biyotransformasyon yolu vardır: (1) amfetamin üretmek için N-demetilasyon, (2) 4-hidroksimetamfetamin (pholedrine) üreten aromatik hidroksilasyon -her iki reaksiyon da kısmen CYP2D6 tarafından düzenlenir- ve (3) norefedrin üretmek için beta-hidroksilasyon. Metabolik klirens, toplam plazma klirensinin %50'sinden fazlasını temsil eder (Torre et al., 2012).

CYP2D6, Sitokrom P450 ailesine ait karma fonksiyonlu bir oksidaz enzimidir ve vücutta ksenobiyotiklerin metabolizmasında önemli bir rol oynar. Bu enzim, özellikle belirli fonksiyonel grupların eklenmesi ya da çıkarılması (örneğin hidroksilasyon, demetilasyon ve dealkilasyon gibi süreçler) yoluyla, klinik kullanımda olan ilaçların yaklaşık %25'inin metabolizması ve eliminasyonu üzerinde etkili olmaktadır (Zhou, 2009). Kısaca, insanlarda rasemik bileşik METH öncelikle CYP2D6 tarafından metabolize edilir ve aromatik hidroksilasyon ve N-demetilasyon ile sonuçlanarak iki ana metabolit sağlar: parahidroksimetamfetamin (pOH-MA) ve amfetamin (AMP). Amfetamin daha ileri metabolik değişikliklere uğrayarak para-hidroksiamfetamin (p-OH-AMP), fenilaseton, N-hidroksiamfetamin ve norefedrin üretimiyle sonuçlanır (Abbruscato and Trippier, 2018).

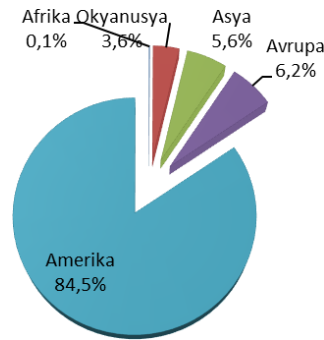
#### **1.1.4 Metamfetamin kullanım yaygınlığı**

2020 yılında EMCDDA raporlarına göre, METH kullanan kişilerin %93'ü Çekya, Almanya, Slovakya ve Türkiye'de yoğunlaşmıştır. 2006 ile 2011 yılları arasında, önceki yıllara kıyasla ele geçirilen METH miktarı altı katına çıkmıştır. Bu süreçte, Türkiye, Norveç, Litvanya ve İsveç, en yüksek METH yakalamalarının yapıldığı ülkeler olmuştur. Türkiye, İran gibi bir uyuşturucu üretici komşuya sahip olması ve Asya-Pasifik bölgesine uyuşturucu ihraç etmede bir geçiş noktası olarak kullanılması nedeniyle, 2009'da ilk kez METH yakalama vakasını raporlamıştır. Avrupa'da ise ilk defa Kıbrıs, Türkiye ve Yunanistan'da sigara formunda kristal METH kullanımını, havayı soluyan kişiler aracılığıyla yayılma potansiyeli göstererek yeni bir tehdit oluşturabileceği belirtilmiştir (European Union Drugs Agency, 2024).

Son yıllarda Avrupa Birliği'nde METH ele geçirme vakalarında ciddi bir artış gözlemlenmektedir. Bu artışın hem bölgesel üretim hem de İran, Meksika ve Nijerya gibi AB dışı ülkelere gerçekleştirilen kaçakçılık faaliyetleriyle bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, Afganistan'da üretilen METH'in, mevcut eroin ticaret yollarını kullanarak Avrupa'ya ulaşma riski de potansiyel bir tehdit olarak değerlendirilmektedir.

Türkiye'deki ele geçirme rakamlarındaki yükseliş ise bu eğilimi destekleyen bir gösterge olarak öne çıkmaktadır (European Union Drugs Agency, 2024).

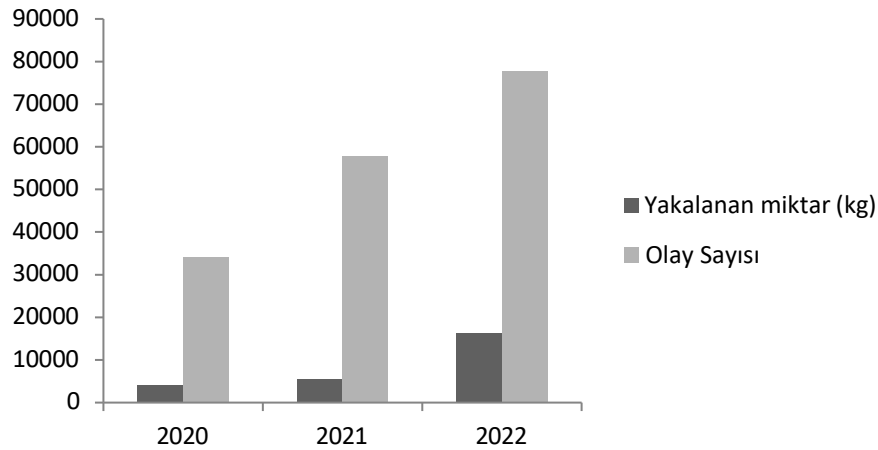
Ayrıca, METH'in Avrupa Birliği dışındaki pazarlara ihraç edilmek üzere büyük miktarlarda üretim yapan daha büyük ölçekli tesislerin varlığına dair kanıtların giderek arttığına dikkat çekmek önemlidir. Son yıllarda, büyük ölçekli METH üretimi için kritik bir prekürsör olan BMK'nin glisidik türevlerinin ele geçirilmesi 2022 yılı itibarıyla önemli ölçüde artış göstermiştir. Bunun yanı sıra, BMK'nin üretiminde kullanılabilecek yeni alternatif kimyasallar da başarılı bir şekilde ele geçirilmiştir. Bu gelişmeler, METH üretim zincirinin ne kadar çeşitli ve karmaşık hale geldiğini göstermektedir. Ek olarak, büyük hacimlerde tartarik asit ele geçirilme olaylarının da sürdüğü gözlemlenmektedir. Tartarik asit, METH'in en güçlü ve en çok aranan formu olan "kristal meth" üretiminde önemli bir rol oynamaktadır; özellikle *d*-metamfetaminin üretiminde kritik bir malzeme olarak kullanılmaktadır. Bu bilgilerin bir arada değerlendirilmesi, Avrupa Birliği'nde büyük ölçekli METH üretiminin artık yaygın bir hale geldiğini net bir şekilde ortaya koymaktadır. Görünen o ki, bu ölçekteki üretim büyük oranda Avrupa Birliği dışındaki pazarlara ihracat amacıyla gerçekleştirilmektedir. Bu durum, tek başına bir endişe kaynağı olmanın yanı sıra, piyasa koşullarının bu tür üretim ve dağıtım için elverişli hale gelmesi durumunda, bu uyuşturucunun kullanımının Avrupa Birliği içerisinde daha da yaygınlaşma riski taşıdığı anlamına gelmektedir. Bu koşullar, toplumsal ve sağlık açısından ciddi sorunları beraberinde getirebilir ve bu konuda dikkatli olunması gerektiği açıktır. Uyuşturucu ticaretinin bu şekilde büyümesi, denetim ve önleme çabalarını da zorlaştırmakta ve hukuki düzenlemelerin ne kadar acil hale geldiğini göstermektedir (European Union Drugs Agency, 2024).



**Şekil 1.6:** Dünya'da 2015-2019 yılları arasında metamfetamin üreten laboratuvarların dağılımı

2015-2019 yılları arasında yapılan incelemeler sonucunda, dağıtım yapan METH laboratuvarlarının Şekil 1.6'da belirtildiği üzere büyük bir kısmının Kuzey Amerika bölgesinde yoğunlaştığı tespit edilmiştir. Bu dönemde, ele geçirilen METH miktarları ve bu maddelerin menşei konusunda detaylı veriler elde edilmiştir. METH'in kaynak ülkeleri açısından en fazla çeşitliliği Asya kıtasında görmekteyiz; burada 19 farklı ülke, bu yasa dışı maddenin yapımında ve dağıtımında rol oynamaktadır. Bunu takiben, Avrupa ülkeleri de aynı sayıda, yani 19 ülke ile önemli bir paya sahip olup, bu durum Avrupa'nın da METH üretiminde ve dağıtımında önemli bir merkez olduğunu göstermektedir. Amerika kıtasında ise bu tür faaliyet gösteren 7 ülke bulunmakta, ayrıca Afrika'dan da 6 ülke bu süreçte yer almakta ve METH trafiğine katkıda bulunmaktadır. Bu veriler, dönemin genel eğilimleri ve METH'in dünya genelindeki dağılımı hakkında değerli bilgiler sunmaktadır (World Drug Report 2021 Methodological Annex, 2022).

Ülkemizde ise 2019 yılı itibarıyla METH ile ilgili yakalamalarda gözlemlenen keskin artışın, yalnızca o yıl ile sınırlı kalmadığı onu takip eden 2020 ve 2021 yıllarında da bu artışın devam ettiği görülmektedir. Şekil 1.7' de de görüldüğü gibi özellikle 2022 yılında, ülkemiz tarihinde en yüksek miktarda METH yakalaması gerçekleştirilmiştir ki bu durum, dikkat çeken bir gelişmedir. Yapılan bu yakalamaların miktarlarındaki artış, aynı zamanda METH kullanım olaylarına da doğrudan yansıyor, toplumdaki bu maddenin yaygınlığına dair endişeleri artırmıştır. (Türkiye Uyuşturucu Raporu, 2024).



**Şekil 1.7:** Türkiye’de 2020-2022 yılları arasında yakalanan metamfetamin miktarı ve olay sayısı

### 1.1.5 Metamfetaminin fizyolojik etkileri

METH kullanımı, merkezi sinir sistemi üzerinde tekrarlayan monoamin salınımını tetikleyerek çeşitli psikiyatrik ve nörolojik problemlere yol açmaktadır. Yüksek doz METH, bu nörotransmitter yollarında ciddi hasar ve tahribata neden olur (Wallace et al., 1999). METH kullanımının başlıca olumsuz etkileri, genellikle nöropsikiyatrik sorunlardır. Yüksek dozlarda yapılan akut kullanım, beyinde artan nörotransmitter salınımı nedeniyle anksiyete, paranoya, halüsinasyonlar, deliryum ve duygudurum bozuklukları gibi psikiyatrik semptomlar meydana getirebilir. Uzun süreli intravenöz kullanıcılarında bu semptomlar daha belirgindir. Akut METH kullanımının biliş üzerindeki etkileri ise çelişkili sonuçlar göstermektedir; bazı çalışmalar bilişsel performansta iyileşme, bazıları ise bilişsel eksiklikler olduğunu göstermektedir (Abbruscato and Trippier, 2018).

METH'in kronik kullanımı, çeşitli sağlık sorunlarını tetikleyebilir ve bu durum ciddi sonuçlar doğurmaktadır. Örneğin, bu maddelerin aşırı ve uzun süreli kullanımı, miyokard enfarktüsünün ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Aynı zamanda inme, akut aort diseksiyonu ve anevrizma riski de artar (Chen, 2007). Özellikle akciğerlerde büyük miktarda METH birikimi, doğal olarak pulmoner hipertansiyona yol açmaktadır (Chin et al., 2006). Bunun yanı sıra, kronik kullanımın diğer olumsuz etkileri arasında daha önce belirtildiği gibi akıl sağlığı ile ilgili çeşitli sorunlar da bulunmaktadır. METH bağımlıları arasında yaygın olarak bilinen ve halk arasında "meth ağzı" olarak adlandırılan, hızlı diş çürümesi durumu da bu olumsuz etkilerin bir parçasıdır (Padilla and Ritter, 2008). Ayrıca, kronik kullanıcılar genellikle hem olumlu hem de olumsuz semptomları içeren psikotik bozukluklar yaşamaktadır. Bu tür psikozların ortaya çıkma sıklığı, özellikle intravenöz kullanıcılar arasında çok daha yüksek seviyelerde görülmektedir. Bu nedenle, METH kullanımı ciddi sağlık sorunlarını beraberinde getirir ve kullanıcılar üzerinde ağır etkiler ortaya çıkarabilir (Glasner-Edwards and Mooney, 2014).

GABAerjik, kolinerjik ve opioidderjik sistemlerdeki işlev bozuklukları agresif davranışlar, motor koordinasyon problemleri, depresyon ve uyku sorunlarına neden olurken, dopaminerjik sistemin bozulması psikotik belirtilere yol açmaktadır. METH'in kısa süreli etkileri arasında artan özgüven, öfori, uyanıklık, hiperaktivite, enerji ve iştah kaybı bulunmaktadır (Moszczyńska and Callan, 2017; Pike et al., 2016). Bu öforik etkiler, dopamin salınımıyla ilişkilidir.

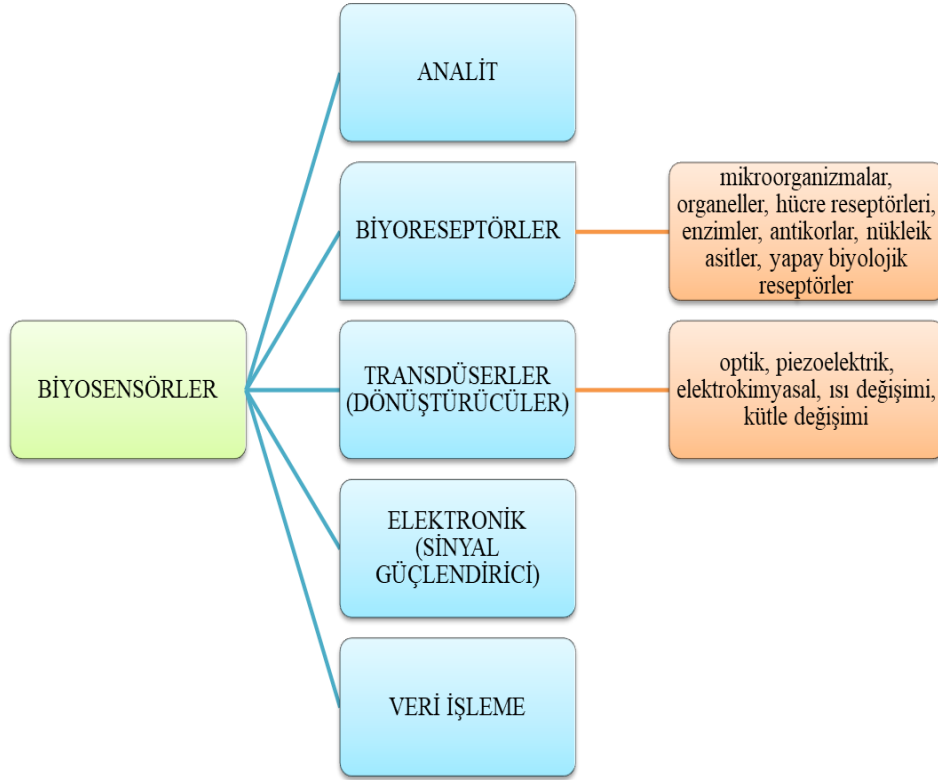
METH'in düzenli kullanımı, dopamin sistemine zarar vererek motor fonksiyonlarında bozulmalar, artan anksiyete, şiddete meyilli davranışlar, depresyon, halüsinasyon ve sanrılar gibi sorunlara sebebiyet vermektedir. Aşırı kullanım sonucu merkezi sinir sisteminde meydana gelen değişiklikler, agresyon, anksiyete, sinirlilik, psikomotor bozukluklar, işitsel halüsinasyonlar ve paranoya gibi psikiyatrik problemlere dönüşmektedir (Paulus and Stewart, 2020).

Ek olarak, fizyolojik etkiler arasında iştahsızlık, artan solunum hızı ve tansiyon bulunur. Baş dönmesi, yükselen vücut sıcaklığı, terleme, bulanık görme, baş ağrısı, kas yorgunluğu, titreme, mide krampları, bulantı ve kusma gibi semptomlar da yaygındır (Harro, 2015). Bu durumlar yanında, kardiyak aritmiler, hipertermi, hipertansiyon, inme, serebral kanama, böbrek yetmezliği, koma ve ölüm riskleri de artmaktadır (Moszczyńska and Callan, 2017).

## **1.2 Biyosensörler**

### **1.2.1 Biyosensör tanımı**

Biyosensör kelimesi geniş bir yelpazeyi kapsar ve farklı bağlamlarda kullanılır. Bu cihazlar, biyolojik tepkileri elektriksel sinyallere çeviren analitik araçlardır (Keskin ve Arslan, 2020). Daha teknik bir tanımlamayla, biyosensörler biyolojik tanıma unsurlarını fiziksel bir transdüksiyon yöntemi ile entegre eden moleküler detektörler olarak işlev görür (Akkilic vd., 2020). Kısaca biyosensör, kimyasal bir maddenin saptanması için biyolojik bir bileşeni fizikokimyasal bir detektörle birleştiren, kullanılan analitik bir cihazdır. Bu cihazlar, biyolojik algılayıcılar ile fiziksel dönüştürücüler arasındaki etkileşimler sayesinde çalışır ve genellikle hızlı, yüksek doğrulukta sonuçlar verir. Biyosensörler, biyolojik bileşenlerin (enzimler, antikorlar, hücreler gibi) hedef analitlerle etkileşime girmesi sonucu ölçülebilir sinyaller oluşturan cihazlardır. Şekil 1.8'de gösterildiği gibi, biyosensörler, biyolojik bir algılayıcı element ile bu elementin ürettiği yanıtı elektriksel sinyale dönüştüren bir dönüştürücüden oluşur. Elde edilen sinyalin büyüklüğü, algılayıcı elementin bağlandığı spesifik kimyasal maddenin derişimine bağlıdır. Biyosensörler, basit ve kullanışlı yapılarının yanı sıra yüksek spesifiklik, hassasiyet, hızlı yanıt süresi, düşük maliyet, kullanıcı dostu işlemler ve gerçek zamanlı analiz gibi üstün performans özellikler sergiler (Verma and Bhardwaj, 2015).



**Şekil 1.8:** Temelde sensörlerin çalışma mekanizması

Biyosensörlerin, pH ve sıcaklık gibi fiziksel faktörlerden etkilenmeden yüksek özgüllük sergilemeleri ve tekrar tekrar kullanıma uygun olmaları beklenir. 'Biyosensör' kavramı, literatüre ilk kez Cammann tarafından tanıtılmıştır (Bhattacharai and Hameed, 2020). IUPAC'ın tanımına göre, biyosensör, biyolojik tanıma elemanı ile doğrudan temas halinde bulunan bir transdüser aracılığıyla spesifik, nicel veya yarı nicel analitik bilgi sağlayan entegre bir cihazdır. Biyosensörler, kimya, biyoloji ve mühendislik gibi farklı disiplinleri tek bir çatı altında birleştirerek, biyoanalitik moleküllerin örneklerden tespit edilmesi amacıyla tasarlan sistemlerdir (Akça, 2022).

### 1.2.2 Biyosensörlerin tarihçesi

Biyosensörlerin tarihçesi, Clark ismiyle özdeşleşen ve "biyosensörlerin babası" olarak anılan bir figürle başlar; Clark, 1962 yılında glikoz oksidazın (GOX) bir oksijen elektrodunda diyaliz membranı aracılığıyla sabitlendiği bir deneyi yayımlamıştır (Pakmode et al., 2023). 1975 yılında, Ohio, ABD merkezli Yellow Spring Instrument Co., dünya genelinde üretilen ilk biyosensör bazlı laboratuvar analizörlerini geliştirmiştir. Guilbault ve Montalvo (1969), hareketsizleştirilmiş üreaza temelli bir potansiyometrik enzim elektrotunu, bir amonyum seçici sıvı membran elektrodu kullanarak tanımlayan ilk çalışmayı yapmıştır.

Lubbers ve Opitz (1975), hareketsiz göstergeli bir fiber optik sensör kullanarak, karbondioksit veya oksijen ölçümü için bir yöntem geliştirmiş ve bu yöntemi alkol oksidazının sabitlendiği fiber optik oksijen sensörlerinde alkol deteksiyonuna uygulamışlardır.

Yapay pankreasların içine dahil edilen elektrokimyasal bir glikoz biyosensörü, daha sonrasında Miles (Elkhart) tarafından Biostator markası altında piyasaya sürülmüştür (Newman and Turner, 2007) Aynı dönemde, İsviçre'den La Roche, laktat dehidrojenazdan elektron transferi için hekzasiyanoferrati kullanan Laktat Analiz Cihazı LA 640'ı piyasaya sunmuştur.

İlk subkütan iğne tipi enzim elektrodu, glikoz biyosensörlerinin *in vivo* kullanımı için bildirilmiştir (Shichiri et al., 1982). Evde kan şekeri ölçümü için, 1987'de MediSense (Cambridge, ABD) tarafından kalem büyüklüğünde bir ölçüm cihazı geliştirilmiştir. Bu cihaz, serigrafik enzim elektrotlar kullanılarak yapılmıştır. Yine bu dönemde, antikorların bir piezoelektrik veya potansiyometrik dönüştürücü ile sabitlenmesi ve doğrudan immünosensörler oluşturulması fikri üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Bu alandaki ticari bir model, 1990'da İsveç'ten BIAcore tarafından sunulmuştur (Meshram et al., 2018).

### **1.2.3 Biyosensörlerin temel bileşenleri**

Biyosensörler, fizyolojik değişimlerin veya çeşitli kimyasal ve biyolojik maddelerin varlığının tespiti, kaydı ve iletimini sağlayan cihazlardır. Bu cihazlar, enzimler, dokular, mikroorganizmalar, antikorlar ve hücre reseptörleri gibi biyolojik maddeleri içerir. Ayrıca, biyosensörler fiziksel-kimyasal transdüserler ile yakın temas içinde olup, ortamdaki transdüksiyon sistemleri üzerinden bir simülasyon bileşeni içermektedir. Başka bir deyişle, biyosensörler, biyolojik tanıma süreçleri vasıtasıyla, bio-afiniteler veya biyometabolizmalar aracılığıyla işler ve bu süreçlerin sonucunda, biyokimyasal sinyaller ölçülebilir elektrik sinyallerine dönüştürülür; bu dönüşüm transdüserler ve sinyal dönüştürme mekanizmaları aracılığıyla gerçekleşir (Bhattarai and Hameed, 2020).

Biyosensörler temel olarak üç ana bileşene ayrılır:

(i) Ligand: Biyolojik duyarlılık gösteren bileşenler (örneğin nükleik asitler, organeller, doku, enzimler, antikorlar, mikroorganizmalar, hücre reseptörleri gibi),

- (ii) Transdüser (sinyal dönüştürücü): Analit ile etkileşimden dolayı oluşan sinyalleri algılayan ve bu sinyalleri kullanıcıya anlaşılır biçimde sunan dedektör elemanıdır (optik, piezoelektrik, elektrokimyasal gibi fizikokimyasal yöntemlerle çalışır),
- (iii) Üçüncü bileşen ise sinyal koşullandırma devresi, işlemci ve gösterge ünitesi gibi ilişkili elektronikleri içerir. Analit, biyosensör sisteminde hedeflenen maddedir (Metkar and Girigoswami, 2019).

Biyoreseptörler veya ligandlar, biyosensör teknolojilerinin spesifitesinin merkezindedir. Bunlar, ilgili analitin ölçüm için sensöre bağlanmasından sorumlu olan elemanlardır. Bu reseptörler çeşitli biçimlerde olabilir ve kullanılan reseptörler, izlenen analitler kadar çeşitlilik gösterir (Kozitsina et al., 2018). Biyoreseptörlerin temel türleri arasında antikorlar, enzimler, nükleik asitler, aptamerler, bakteriyofajlar, organeller ve mikroorganizmalar bulunur. Biyoreseptörler, biyosensör teknolojisinde immobilizasyon (sabitleme) süreçlerinde kilit bir rol oynar ve bu süreçte kullanılan yöntem, etkili bir biyosensör geliştirilmesi açısından büyük önem taşır. Bu yöntemler arasında adsorpsiyon, mikrokapsülleme, sensör yüzeyine bağlanma, kovalent bağlanma ve çapraz bağlama gibi teknikler yer alır (Chadha et al., 2022).

Dönüştürücü, algılanan sinyalleri genellikle elektriksel alanlara taşıyan elemanıdır. Bu işlevi nedeniyle, dönüştürücü çift yönlü sinyal iletimi sağlar. Sensörün bu bölümü ayrıca detektör veya elektrot olarak da adlandırılabilir, ancak karışıklığı önlemek amacıyla dönüştürücü terimi kullanılmaktadır. Biyosensörlerin en önemli bileşenleri substrat ve dönüştürücüdür. Biyoaktif madde ile substrat arasındaki reaksiyon sonucu ortaya çıkan ürünler (ses, ışık, sıcaklık veya kimyasal bileşenler gibi), elektrot, yarı iletken, termistör veya ses dedektörü gibi dönüştürücüler tarafından ölçülebilir verilere dönüştürülür (Polat vd., 2022).

İstenen biyolojik materyaller, çeşitli immobilizasyon teknikleri (fiziksel veya membran sıkıştırması, kovalent veya kovalent olmayan bağlama) ile sabitlenir. Bu hareketsizleştirilmiş biyomateryal, dönüştürücüyle yakın temas içinde olup, analit ile bağlanarak ölçülebilir bir elektronik yanıt üretir. Bazı durumlarda, analit bir ürüne dönüşür ve bu ürün, ısı, gaz (oksijen), elektron veya hidrojen iyonları gibi maddelerin salınımı ile ilişkilidir. Dönüştürücü, bu üründen kaynaklanan değişiklikleri yükseltilebilir ve ölçülebilir elektrik sinyallerine çevirir (Naresh and Lee, 2021).

#### 1.2.4 Biyosensörlerde immobilizasyon yöntemleri

Biyosensörlerin yapımı sürecinde, biyomoleküllerin transdüserine sabitlenmesi, bilinen adıyla immobilizasyon, bu sürecin en kritik ve ilk adımını oluşturur. Biyosensör tasarımında yaygın olarak kullanılan immobilizasyon (sabitlenme) yöntemleri arasında fiziksel adsorpsiyon, kovalent bağlanma, matris içine yerleştirme, moleküler çapraz bağlama ve membran ile tutma teknikleri yer alır (Jiang et al., 2024).

Fiziksel adsorpsiyon tekniği, biyomoleküllerin sensör yüzeyine Van der Waals kuvvetleri, hidrofobik etkileşimler, hidrojen bağları ve iyonik bağlar gibi çeşitli fiziksel kuvvetlerle tutturulmasını içerir. Bu yöntemde selüloz, kolodion, silika jel, cam, hidroksiapatit ve kollajen gibi malzemeler kullanılır; bu malzemeler, biyolojik bileşenleri yüksek oranda adsorbe etme özelliğine sahiptir. Bu teknik basit olmakla birlikte, bağlayıcı kuvvetler çok güçlü olmadığı için biyomoleküller zamanla serbest kalabilir ya da sabitlenme kalıcı olmayabilir (Sandhyarani, 2019).

Kovalent bağlama yöntemi, sensör yüzeyinin, biyolojik materyallerin tutunabileceği reaktif gruplarla değiştirilmesini gerektirir. Bu süreçte, genellikle proteinlerin amino asit yan zincirlerinde yer alan amino, karboksil, imidazol, tiyol ve hidroksil gibi nükleofilik fonksiyonel gruplardan yararlanır. Bu yöntem, biyo-elemanların yüzey üzerindeki homojenliğini, yoğunluğunu ve düzenini artırırken, aynı zamanda yüzeylerin tekrar kullanılabilirliği ve tutarlılığını iyileştirir. Kovalent bağlama, biyomoleküllerin instabilitesi, difüzyonu, agregasyonu ve inaktivasyonu gibi problemleri minimize eder veya ortadan kaldırabilir. Bu amaçla, glutaraldehit, karbodiimid, süksinimid esterler, maleinimidler ve periyodat gibi farklı reaktifler sıklıkla kullanılmaktadır (Nguyen et al., 2019).

Matris içine gömme yöntemi, biyomoleküllerin polimerik jel matrisleri içerisinde tutulmasını içerir. Bu işlem için poliakrilamid, nişasta, aljinat, pektat, polivinil alkol, polivinil klorür, polikarbonat, selüloz asetat ve silika jel gibi malzemeler tercih edilmektedir. Ancak bu yöntem, uygulama sırasında biyolojik materyallerin matristen sızması nedeniyle aktivite kaybına yol açabilir (Wang et al., 2024).

Moleküler çapraz bağlama, biyomoleküller arasında glutaraldehit, heksametilen di-izosiyanat, 1,5-difloro 2,4-dinitrobenzen ve bisdiazobenzidin-2,2'-disülfonik asit gibi iki ya da çok fonksiyonlu reaktifler kullanılarak gerçekleştirilir. Bu teknikte, biyosensör

uygulamalarında glutaraldehit, birincil amin gruplarıyla reaksiyon gerçekleştirmesinden dolayı en sık kullanılan çapraz bağlayıcıdır (Guan et al., 2022).

Enkapsülasyon, biyolojik materyali, örneğin lipid çift katmanları gibi gözenekli bir kapsülleme matrisi içine alarak gerçekleştirilir. Ayrıca, biyolojik moleküllerin immobilizasyonu için seramik, cam ve diğer inorganik materyaller kullanılarak gerçekleştirilen sol-jel yöntemi de bu kapsamda değerlendirilebilir. Sol-jel prosedürü, biyolojik molekülleri gözenekli, polimerik okso köprülü SiO<sub>2</sub> matrisleri içinde tutar ve bu matrisler kimyasal etkileşimleri optik olarak izlemeye olanak tanır. Bu yöntem, biyomolekülleri denatürasyona karşı koruyarak oda sıcaklığında uygulanabilir, ancak gözenek boyutlarının tekrarlanabilirliği ve matrisin kırılabilirliği gibi sorunlar çözümlenmelidir (Thangaraj and Solomon, 2019).

Etkili bir biyosensör inşası için seçilen immobilizasyon tekniği, biyomoleküllerin transdüserden süzülmesi, uzun ömür ve algılama sürecinde biyomoleküllerin özgünlüğünü koruma gibi çeşitli özellikler taşınmalıdır (Ramesh et al., 2023).

### **1.2.5 Biyosensörlerin temel özellikleri**

Biyosensörlerde öne çıkan temel nitelikler şunlardır (Bhattarai & Hameed, 2020):

**Doğrusallık:** Sensörün kalibrasyon eğrisinin en yüksek doğrusal değerine ulaşmasıdır. Bu, sensörün yüksek substrat derişimlerini doğru bir şekilde algılayabilmesi anlamına gelir.

**Hassasiyet:** Sensörün, analit derişimindeki çok küçük değışiklikleri bile tespit edebilme yeteneğini kapsar.

**Seçicilik:** Biyosensörün, ölçümünü gerçekleştirdiği belirli bir analite özgü olarak tepki verebilme özelliğidir.

**Yanıt Süresi:** Biyosensörden gelen yanıtın mümkün olan en kısa sürede elde edilmesi gerekliliğini vurgular.

**Düşük Tespit Limiti:** Biyosensörün, küçük ölçüm hacimlerinde (1-100 mL) analiti tespit edebilme kapasitesini tanımlar.

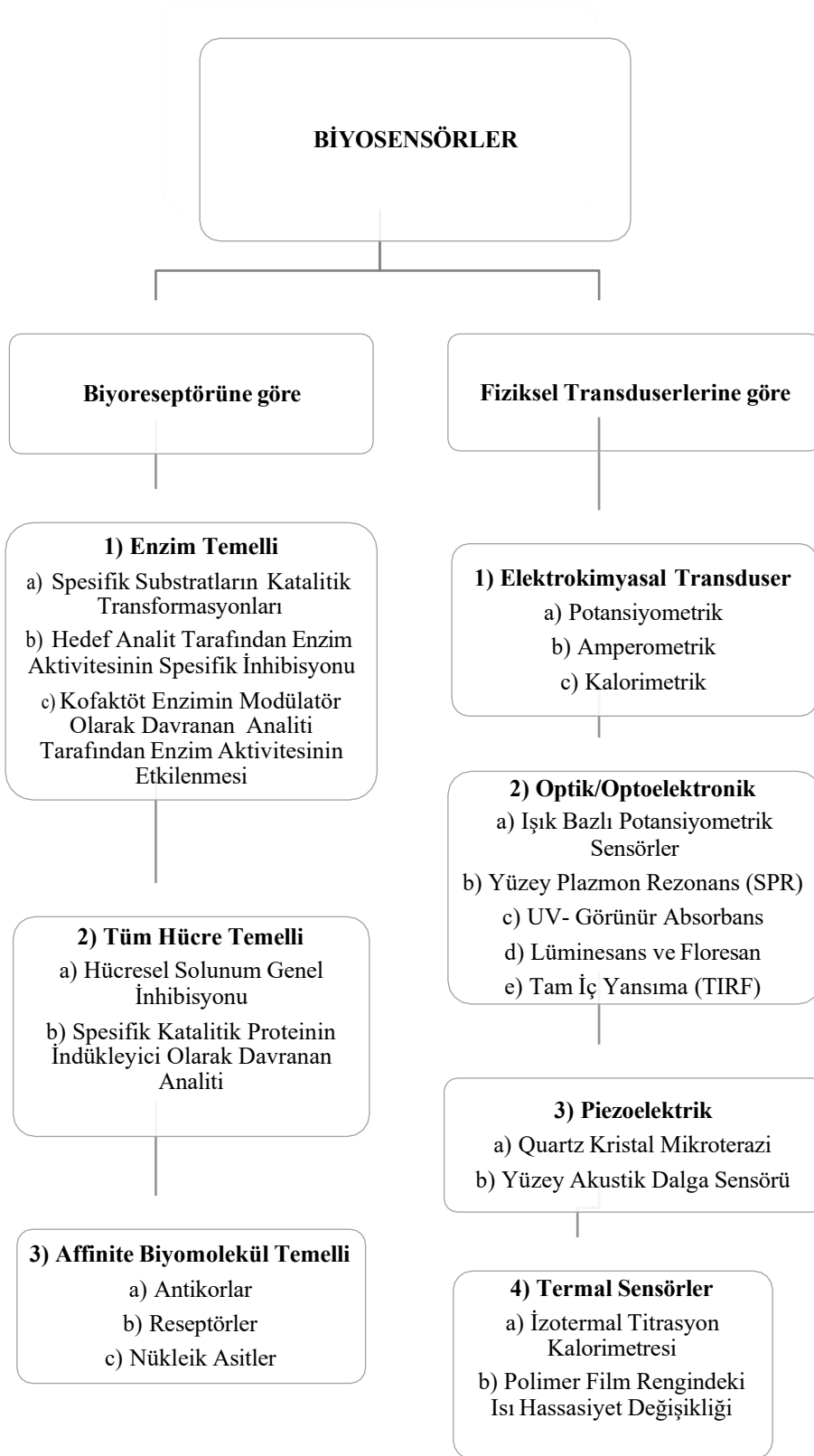
**Boyut:** Cihazın saha kullanımına uygun olacak şekilde kompakt, taşınabilir ve elde taşınabilir bir tasarıma sahip olması gerektiğini belirtir.

Tekrarlanabilirlik: Aynı koşullar altında yapılan ölçümlerin, üst üste yapıldığında tutarlı sonuçlar vermesi gerektiğini ifade eder.

### **1.2.6 Biyosensör çeşitleri**

Biyosensörler, Şekil 1.9' da belirtildiği gibi kullanılan biyolojik sinyalleme türü veya iletim mekanizması ve içerdiği biyolojik elemanın çeşitliliğine göre çeşitli kategorilere ayrılır (Thakur et al., 2024). Transdüksiyon işlemleri birçok farklı yöntemle yapılabilmekte olup, bu işlemler genellikle üç ana kategori altında incelenir. Bunlar; elektrokimyasal algılama yöntemleri, optik algılama yöntemleri ve kütle algılama yöntemleridir. Ayrıca, biyosensör teknolojilerinde kullanılmak üzere yeni transdüser türleri sürekli olarak geliştirilmektedir (Chadha et al., 2022).

Biyosensörlerde kullanılan biyolojik bileşenler arasında enzimler, antikorlar, mikroorganizmalar, biyolojik dokular ve organeller yer alır. Biyosensörler, analit ile biyolojik bileşen arasındaki etkileşimler ve bu etkileşimler sonucu ortaya çıkan ürünlere göre de kategorize edilir. Biyolojik bileşenin analite bağlanması durumunda, bu tür sensörler afinite sensörü olarak tanımlanır. Biyolojik bileşen, analit ile etkileşime girerek kimyasal bir değişim meydana getiriyorsa, bu tür sensörler metabolik sensör olarak adlandırılır. Biyolojik bileşen analit ile birleştiğinde kimyasal bir değişikliğe neden olmuyor ancak bir alt tabakaya dönüşüm sağlıyorsa, bu durumda kullanılan biyosensörler katalitik sensör olarak tanımlanır (Singh et al., 2020).



**Şekil 1.9:** Biyosensörlerin sınıflandırılması (Thakur et al., 2024)

Biyosensörlerde kullanılan biyolojik sinyal mekanizmaları beş temel kategoriye ayrılır (Chadha et al., 2022):

- a. Antikor/Antijen: Bu kategori, bir antikorun bir antijenle olan yüksek düzeyde özgül bağlanmasını içerir. Bu tür sensörlerde, spesifik olmayan etkileşimler minimuma indirilerek yüksek hassasiyet sağlanmalıdır.
- b. Enzimler: Enzim tabanlı biyosensörler, bu proteinlerin katalitik özelliklerini ve özgül bağlanma yeteneklerini kullanır. Bu enzimler tarafından katalize edilen reaksiyonlar, doğrudan veya bir gösterge molekülü aracılığıyla algılanabilir.
- c. Nükleik Asitler: DNA'nın yapısal özellikleri, özellikle adenozin ile timin ve sitozin ile guanozin arasındaki eşleşmeler, nükleik asit tabanlı biyosensörlerde kullanılır. Bu yöntem, bilinen bir DNA dizisiyle uyumlu olan mikroorganizma DNA'sının izini sürmeye yarar.
- d. Hücreler ve Virüsler: Bazı mikroorganizmalar örneğin, bakteri ve mantarlar belirli moleküllerin veya çevresel koşulların algılanmasında kullanılır. Bu tür biyosensörler, hücre davranışlarındaki değişiklikleri, örneğin metabolizma, canlılık, solunum ve biyoluminesansı, özellikle ağır metallerin varlığını belirlemek için kullanır.
- e. Biyomimetik Malzemeler: Biyomimetik biyosensörler, doğal biyosensörlerin fonksiyonlarını taklit eden yapay veya sentetik sensörlerdir. Bu sensörler, aptasensörler gibi, belirli biyo-molekülleri tanımak üzere tasarlanmış sentetik nükleik asit dizileri olan aptamerleri kullanabilir. Aptamerler, amino asitler, oligosakkaritler, peptitler ve proteinleri algılama yeteneğine sahiptir.

#### **1.2.6.1 Elektrokimyasal biyosensörler**

Elektrokimyasal biyosensörler, özellikle hibritleştirilmiş DNA, DNA'ya bağlanan ilaçlar ve glukoz seviyeleri gibi bileşenlerin tespit edilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu sensörlerin temel çalışma ilkesi, bir dizi kimyasal reaksiyonun çözeltinin elektriksel özelliklerinde ölçülebilir değişiklikler yaratmasıdır; bu değişiklikler, iyon veya elektronların üretilmesi ya da tüketilmesi şeklinde olabilir. Elektrokimyasal biyosensörler, iletkenlik, amperometri ve potansiyometri gibi elektriksel ölçüm parametrelerine göre kategorize edilir.

Optik yöntemlere kıyasla, elektrokimyasal yöntemler analistin bulanık numuneler üzerinde çalışmasına olanak tanır ve daha düşük sermaye maliyetine sahiptir. "Ancak, elektrokimyasal yöntemler, optik yöntemlerle karşılaştırıldığında genellikle daha düşük seçicilik ve hassasiyet sağlar (Khorablou et al., 2021).

#### **1.2.6.2 Kütle Tabanlı Biyosensörler**

Kütle tabanlı biyosensörler arasında piezoelektrik ve akustik dalga biyosensörleri yer alır. Piezoelektrik biyosensörler, genellikle altın elektrotlarla kaplı bir kuvars kristalinden oluşan piezoelektrik bir bileşeni içerir. Bu bileşen, uygulanan bir elektrik sinyaliyle belirlenen bir frekansta titreşir ve yüzeyi biyolojik olarak aktif bir madde ile kaplanmıştır. Bu sensörler, analit içeren bir çözeltiye daldırıldıklarında, yüzeye bağlanan analitler sayesinde sistem kütlesi artar ve bu durum, titreşim frekansındaki azalma ile ölçülür (Tamayo et al., 2013). Akustik dalga biyosensörleri de benzer bir prensiple çalışır; yüzeylerine eklenen kütle, analit derişimini dolaylı yoldan belirlemek için kullanılan çıkış frekansındaki değişikliği tetikler. Bu biyosensörlerin kullanımı kolay ve maliyeti düşüktür, fakat spesiflik, seçicilik ve hassasiyet açısından sınırlamaları vardır (Ozgür vd., 2022).

#### **1.2.6.3 Optik biyosensörler**

Optik biyosensörlerin yüksek seçicilik ve hassasiyeti, bu tür cihazları tespit amaçlı kullanımda son derece popüler hale getirmiştir. Bu kategorideki ilk ticari optik biyosensör, Research International (Monroe, WA) tarafından piyasaya sürülen fiber optik sensördür. Optik biyosensörler, emilim, kırılma, yansıma, saçılma, kızılötesi, polarizasyon, kemilüminesans, floresans ve fosforesans gibi farklı sinyal türlerini kullanarak yüksek doğrulukta sonuçlar elde etme kapasitesine sahiptir. Bu sensörler, işaretleme yöntemine bağlı olarak iki gruba ayrılır: bir kısmı işaretleyici gerektirirken, diğerleri etiketsiz çalışabilir (Singh vd., 2020). Floresan, optik fiberler ve SPR gibi yöntemler, işaretleyicili veya etiketsiz optik biyosensör örneklerindedir. Optik biyosensörlerin başlıca avantajları, kesin ve hassas sonuçlar, gerçek zamanlı izleme kabiliyeti ve etiket gerektirmeyen uygulamaların mümkün olmasıdır. Bu alandaki en yaygın kullanılan yöntem SPR'dır (Chen and Wang, 2020).

#### **1.2.7 Biyosensörlerin avantaj ve dezavantajları**

Biyosensörlerin günümüzdeki kullanımında hem avantajları hem de dezavantajları bulunmaktadır. Aşağıda, bu cihazların başlıca özellikleri ve kullanım alanları detaylıca ele alınmıştır (Chaplin, 2021):

## Avantajlar

- Biyosensörler, polar olmayan molekülleri bile ölçebilme yeteneği ile birçok ölçüm aracından üstündür.
- Kullanılan statik (hareketsiz) sistem sayesinde yüksek düzeyde spesifik olabilirler.
- Hızlı ve sürekli ölçüm yapabilme kabiliyetleri ile dikkat çekerler.
- Yanıt süreleri oldukça kısa (genellikle bir dakikadan daha az) ve kullanımı pratiktir.

## Dezavantajlar

- Biyolojik materyalin denatürasyon riski, ısıyla sterilizasyon yöntemini kullanılamaz hale getirir.
- Biyolojik materyalin stabilitesi, enzim, hücre, antikor veya doku gibi bileşenlerin pH, sıcaklık veya iyon derişimi gibi çevresel faktörlerden etkilenerek bozulma olasılığı nedeniyle sınırlıdır.
- Biyosensörlerde kullanılan hücreler, zardan geçebilen toksik moleküller tarafından zarar görebilir.

### 1.2.8 Biyosensörlerin uygulama alanları

Biyosensörler, ekonomik maliyetleri, kompakt boyutları, hızlı sonuç verme özellikleri ve kullanım kolaylıkları nedeniyle geniş bir kullanım alanına sahiptir. Klinik analizlerden genel sağlık takibine, hastalık taramalarından veterinerlik ve tarım uygulamalarına kadar geniş bir yelpazede kullanılır. Özellikle diyabet hastaları tarafından sıklıkla kullanılan glikoz oksidaz bazlı sensörler, kan şeker seviyelerini izlemede popülerdir. Biyosensörler, endüstriyel süreç izleme, çevre kirliliği kontrolü ve gıda güvenliği gibi alanlarda da etkili bir şekilde kullanılmaktadır. Biyosensörlerin kullanım biçimleri aşağıdaki maddelerde verilmektedir (Chadha et al., 2022):

- **In-vivo:** Biyosensör, canlı bir organizmanın içinde çalışır ve içsel süreçleri izler.
- **In vitro:** Test tüpleri veya kültür tabakları gibi laboratuvar ortamlarında kullanılan biyosensörlerdir.
- **At-line:** Üretim hattında, örneğin süt işleme tesislerinde laktoz izlemek için kullanılan biyosensörlerdir.
- **In-line:** Su arıtma gibi sürekli üretim süreçlerinde otomatik olarak entegre edilen biyosensörlerdir.

Biyosensörler, personel, zaman, tesis ve bütçe gibi kaynakların yönetiminde büyük öneme sahiptir ve laboratuvar işlerini ortadan kaldırarak zaman ve maliyet tasarrufu sağlayabilir.

### **1.3 Moleküler Baskılama Yöntemi**

#### **1.3.1 Moleküler baskılamanın tarihçesi**

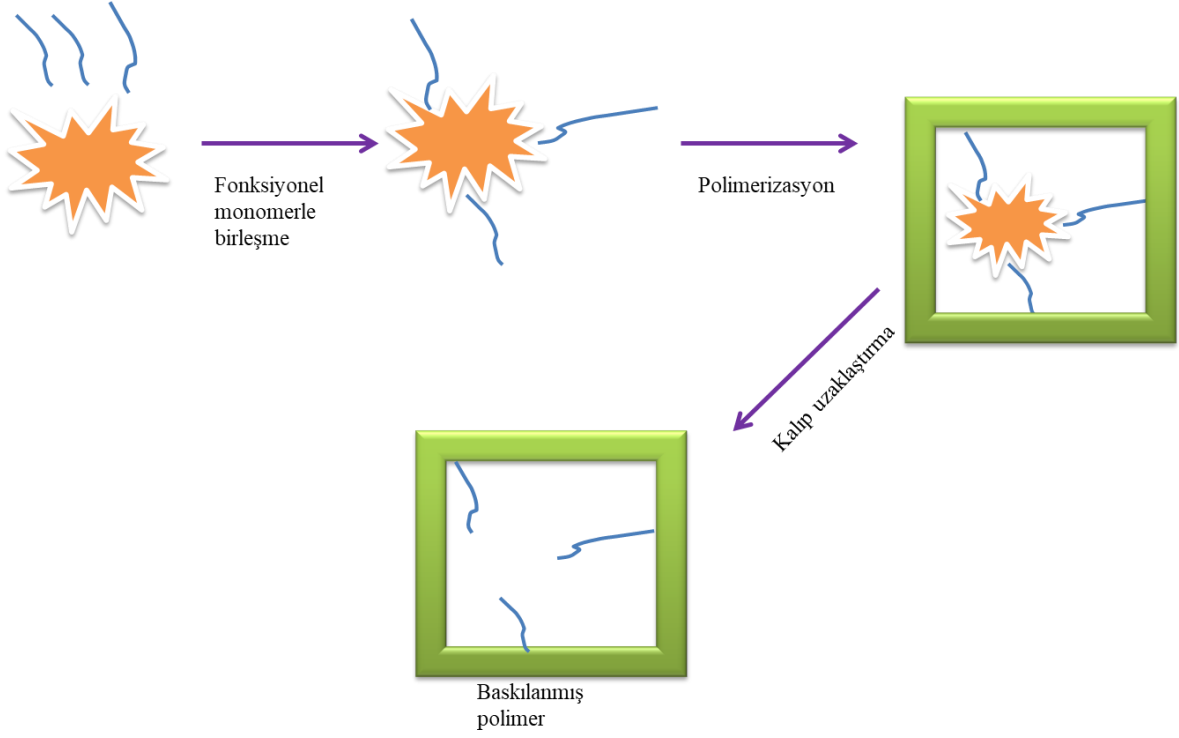
Moleküler baskılama yöntemine olan ilgi son zamanlarda artmış olmakla birlikte, moleküler etkileşimler üzerine çalışmalar oldukça eski bir tarihe dayanmaktadır. Wulff ve Kloz, 1972 yılında, özel ligand seçiciliğine sahip organik polimerler geliştirerek, moleküler baskılama teknolojisinde öncü bir çalışmayı gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışma, moleküler baskılama teknolojisinin temelini oluşturmuş olmasına rağmen, Wulff ve ekibinin bu keşfi ilk olarak kabul edilse de 1930'ların başlarında bu konsepti destekleyen 40 civarında makale zaten yayımlanmıştı (Arabi et al., 2021).

Moleküler baskılama, kalıp moleküllerinin özel bağlanma bölgeleri oluşturma tekniğidir. İlk olarak 1931'de Polyakov tarafından yeni bir sentezle hazırlanan silika parçacıklarının adsorpsiyon özellikleri olarak tanımlanmıştır. Moleküler olarak basılmış polimerler (MIP'ler), işlevsel monomerler ve çapraz bağlayıcıların şablon moleküllerle birlikte kopolimerizasyonu ile sentezlenir. Kalıp moleküllerin çıkarılmasından sonra, bu benzer tanıma boşlukları, molekülleri seçici olarak bağlamaktadır (Chen et al., 2011).

Moleküler baskılamanın önemli bir dönüm noktası da, 1980'lerin başında Mosbach grubunun kovalent olmayan yöntemi geliştirmesiyle gerçekleşmiş ve bu yenilik, yöntemin uygulama alanını büyük ölçüde genişletmiştir (Arabi et al., 2021). 1992 yılında S. Piletsky tarafından ilk defa “moleküler baskılanmış polimer sensör” terimi kullanılmıştır.

#### **1.3.2 Moleküler baskılanmış polimerler**

Moleküler baskılama tekniği, son yıllarda hızla yaygınlaşan bir yöntem olup, sentetik reseptörler ve biyomimetik sensörler için moleküler tanıma bölgeleri oluşturma amacıyla kullanılmaktadır. Bu teknik Şekil 1.10'da görüldüğü gibi temel olarak moleküler tanımaya dayanır ve seçici tanıma, monomerler ile kalıp molekül arasındaki etkileşimlerin yoğunluğu üzerine kuruludur. Kalıp molekülün çevresinde monomerlerin polimerleşmesi sonucu, yapay tanıma alanlarının geliştirilmesi bu teknikle gerçekleştirilir (Dong et al., 2021).



**Şekil 1.10:** Moleküler baskılamanın genel süreci

Moleküler baskılama, belirli bir hedef molekölü tanıma yeteneğine sahip polimerlerin sentezini içeren bir yöntemdir. Bu işlem için, öncelikle hedef moleköl ve bu molekölle etkileşim kurabilecek işlevsel bir monomer gereklidir. Sentez sürecinde çözücü ve çapraz bağlayıcı gibi ek malzemelere de ihtiyaç duyulabilir. Moleküler baskılama işlemi üç temel adımdan oluşur: İlk adımda, hedef moleköl ile monomer arasında etkileşim gerçekleşerek bir kompleks oluşur. İkinci adımda, bu kompleks, işlevsel monomer üzerinden polimerizasyon işlemine tabi tutulur. Son adımda ise, polimer yapıdan hedef moleköl uzaklaştırılır ve geriye, hedef moleköl için spesifik bağlanma bölgeleri içeren bir polimer kalır. Bu sayede, elde edilen polimer, hedef molekölü yüksek seçicilikle tanıyıp bağlanabilme özelliği kazanır. Bu sayede, hedef moleköl içeren bir karışımda, bu polimer yalnızca hedef molekölle etkileşime girer ve onu karışımdan uzaklaştırarak saflaştırma işlemi gerçekleştirilir. Moleküler baskılama, temel olarak, hedef molekölü tanıyabilen özel bağlanma bölgelerine sahip polimerlerin sentezlenmesi işlemidir. Bu sentez için iki temel bileşen gereklidir: 1) hedef moleköl (baskılanacak moleköl) ve 2) hedef molekölle etkileşime girebilen (kovalent veya kovalent olmayan bağlarla) işlevsel bir monomer (monomerler, polimerlerin temel yapı taşlarıdır). Bu temel gereksinimlerin yanı sıra çözücü, çapraz bağlayıcı gibi yan gereksinimler de söz konusudur.

### 1.3.3 Moleküler baskılama yöntemi basamakları

Moleküler baskılama tekniği, son yıllarda polimerlerin kolay ve maliyet etkin üretimi, yüksek tanıma yeteneği ve stabilitesi ile araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Moleküler baskılama, çeşitli avantajlara sahiptir. Bu avantajlar şunlardır:

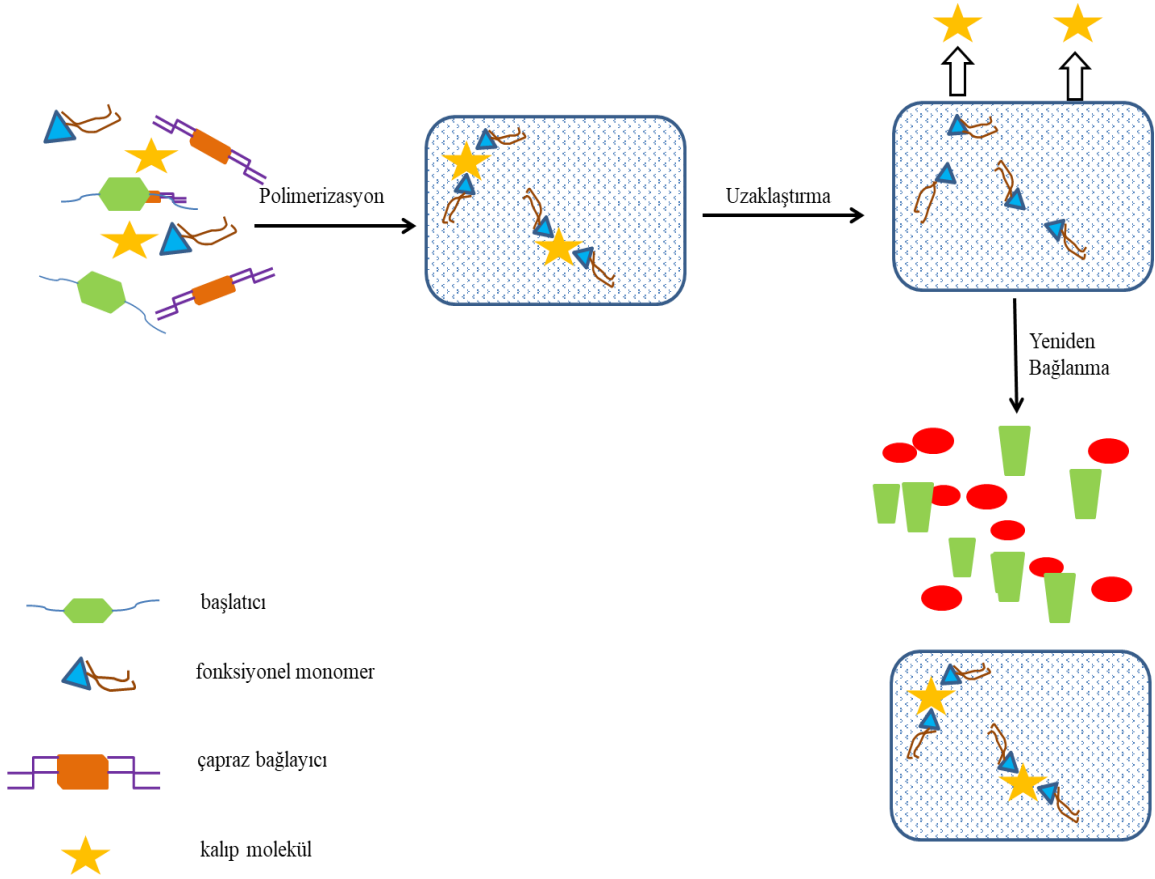
**Yüksek seçicilik:** Moleküler baskılanmış matrisler, hedef moleküller için yüksek seçiciliğe sahip olabilir. Bu, hedef molekülleri diğer moleküllerden ayırmak için faydalıdır.

**Yüksek hassasiyet:** Moleküler baskılanmış matrisler, hedef molekülleri yüksek hassasiyetle tespit edebilir.

**Yüksek tekrarlanabilirlik:** Moleküler baskılanmış matrisler, yüksek tekrarlanabilirlik ile üretilir.

Bu yöntem, Şekil 1.11'de gösterildiği üzere bir kalıp molekülün etrafında monomerlerin önceden kompleksleşmesi, polimerleşmesi ve sonrasında kalıp molekülün uzaklaştırılması adımlarından oluşmaktadır (Arabi et al., 2021):

- **Ön-Kompleksleşme:** Seçilen monomerler, kalıp molekül etrafında kovalent veya kovalent olmayan bağlar oluşturarak bir kompleks meydana getirir. Bu etkileşimler, polimer üzerinde kalıp molekülün yapısının fiziksel ve kimyasal özelliklerini şekillendirir (Dong et al., 2021).
- **Polimerizasyon:** Oluşan monomer-kalıp molekül kompleksine başlatıcı ve çapraz bağlayıcılar eklenerek polimerizasyon gerçekleştirilir. Fonksiyonel monomerler, kalıp molekülünün boyut ve şekline tam olarak uyan yapılar olarak işlev görür (Sajini and Mathew, 2021)
- **Kalıp Molekülünün Uzaklaştırılması:** Polimerden kalıp molekülünü çıkarmak için uygun bir çözücü kullanılır, böylece polimerde kalıp moleküle özgü tanıma boşlukları oluşur. Bu boşluklar, kalıp moleküle karşı yüksek seçicilik ve afinite gösterir (Dong et al., 2021).



**Şekil 1.11:** Moleküler baskılama yönteminin basamakları

Moleküler baskılama tekniği, zorlu çevresel koşullarda bile yüksek performans göstermesi, maliyet etkinliği, tekrar kullanılabilir olması, yüksek mekanik dayanıklılığı ve sıcaklık gibi zorlayıcı faktörlere karşı direnci nedeniyle geniş kapsamlı uygulamalarda tercih edilmektedir. MIPlar, özellikle proteinler, antikorlar ve bakteriler gibi biyomolekülleri seçici olarak tanıyabilir (Zaidi, 2020). Kullanım alanları arasında protein saflaştırma, sensör teknolojileri, ilaç ve gıda analizleri ile çevresel testler bulunmaktadır. Bu teknik, küçük moleküllerden büyük biyomoleküllere kadar geniş bir yelpazede etkili tanıma kapasitesine sahiptir. Farklı polimerizasyon yöntemleri arasında fotopolimerizasyon, serbest radikal polimerizasyonu, yığın polimerizasyon, sol-jel ve elektropolimerizasyon teknikleri yer almaktadır (Dong et al., 2021).

**Tablo 1.2:** Doğal biyomoleküller ve moleküler baskılama ile hazırlanan polimerlerin karşılaştırılması

<b>Doğal Biyomoleküller</b>	<b>Moleküler Baskılanmış Polimerler</b>
Düşük kararlılık	Yüksek kararlılık
Pahalı	Ucuz
Organik çözücülerde düşük performans	Organik çözücülerde yüksek performans
Daha fazla operasyonel sistem gerekli	Gerekli minimum sistemler
Sınırlı analizler ile çalışmak	Herhangi bir analiz ile çalışılır
Diğer teknolojilerle düşük uyumlu	Diğer teknolojilerle yüksek uyumlu

### 1.3.4 Moleküler baskılama yöntemleri

Moleküler baskılama teknikleri, temel etkileşim mekanizmalarına göre iki ana sınıfa ayrılmaktadır. Bunlar Şekil 1. 12’de gösterildiği gibi kovalent baskılama yöntemleri ve kovalent olmayan baskılama yöntemleridir.

#### 1.3.4.1 Kovalent baskılama

Wulff tarafından öncüleştiren kovalent baskılama yaklaşımı, daha karmaşık bir ön işlem gerektirir. Bu yöntemde, polimerizasyon başlamadan önce, kullanılacak kalıp molekül ile fonksiyonel monomer arasında kovalent bağlar kurulur. Bu bağlar, polimerizasyonun tamamlanmasını takiben kırılarak, kalıp molekülün polimerden uzaklaştırılmasına ve böylece polimerde kalıp molekülünün izinin oluşmasına izin verir. Kalıp molekülünün polimerle yeniden etkileşime girmesi durumunda bu kovalent bağlar tekrar oluşabilir (Huang et al., 2021).

#### Kovalent Baskılamanın Avantajları:

- Kovalent bağlar, daha stabil yapılar oluşturur, bu nedenle fonksiyonel monomer ve kalıp molekül kompleksi stokiometrik oranlarda birleşir ve son derece stabil yapılar sergiler.
- Polimerizasyon sırasında sıcaklık ve pH gibi dış koşullardan etkilenmez, bu durum da polimerin stabilitesini artırır.
- Bağlanma bölgeleri daha homojen bir yapıdadır.

#### Kovalent Baskılamanın Dezavantajları:

- Kovalent bağlar, yavaş bağlanma kinetiği sergileyebilir ve kalıp molekülünün polimere sınırlı sayıda tersinir bağlanmasına izin verir.

- Sadece belirli kalıp molekülleri ile uyumlu çalışabilir, bu da kullanım alanlarını sınırlar.
- Kalıp molekülünün polimerden uzaklaştırılması, bağların yüksek kararlılığı nedeniyle zor olabilir.

Bu özellikler, moleküler baskılama tekniğinin kullanımını bazı uygulamalarda kısıtlayabilir, ancak yine de belirli uygulamalar için ideal bir seçenek sunar.

#### **1.3.4.2 Kovalent olmayan baskılama**

Günümüzde, moleküler baskı teknikleri arasında Mosbach ve ekibi tarafından geliştirilen kovalent olmayan baskılama yöntemi oldukça popülerdir. Bu teknikte, monomer ve kalıp molekül arasında spontan şekilde oluşan bağlar vasıtasıyla özel tanıma bölgeleri meydana gelir. Söz konusu süreçte, moleküler tanıma ve yeniden bağlanma evreleri, iyonik etkileşimler, hidrofobik etkileşimler ve hidrojen bağları gibi çeşitli etkileşim mekanizmaları aracılığıyla gerçekleşir. Bu bağlar nispeten zayıf olsa da oldukça stabil kompleksler oluştururlar (Chen et al., 2022).

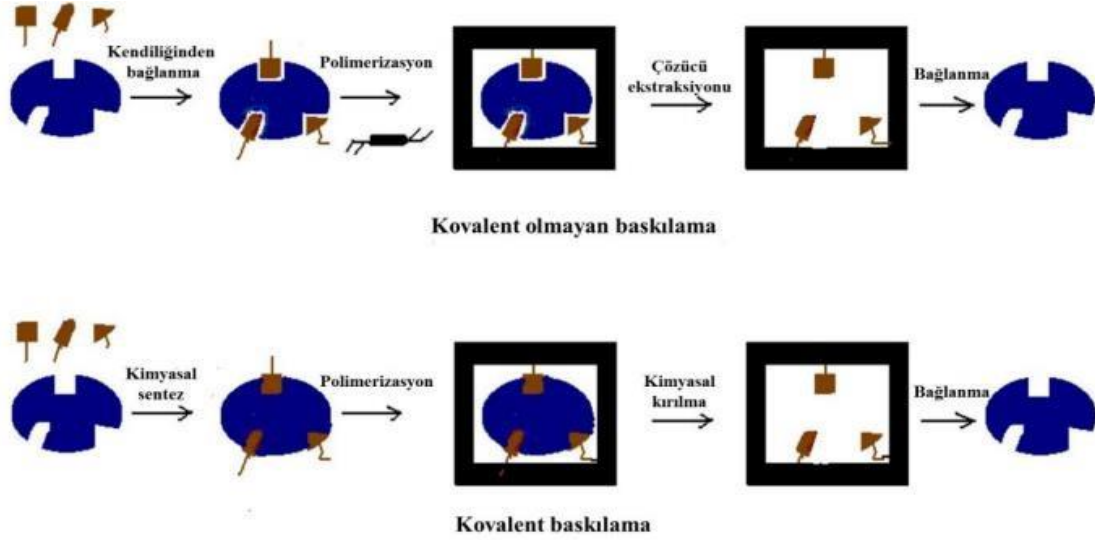
#### **Kovalent Olmayan Baskılamanın Avantajları:**

- Bu yöntem, yüksek afiniteli bağlanma bölgeleri sağlar, bu da fonksiyonel monomer ile kalıp molekül arasındaki etkileşimin kolay ve hızlı bir şekilde gerçekleşmesine olanak tanır. Polimerizasyon süreci sonrasında, kalıp molekülünün polimerden ayrılması da kolaydır, bu da zayıf moleküler bağlar (hidrojen bağı, iyonik bağlar) sayesinde. Ayrıca, metodolojisi nispeten daha basittir.

#### **Kovalent Olmayan Baskılamanın Dezavantajları:**

- Kovalent olmayan etkileşimler hidrofobik ortamlarda stabil olabilirken, polar ortamlarda bu etkileşimler zarar görme eğilimindedir. Fazla kullanılan fonksiyonel monomerler, spesifik olmayan bağlanma bölgelerinin oluşumuna neden olabilir ve bu da bağlanma bölgelerinin dağılımının homojen olmamasına yol açar.

Bu bağlamda, kovalent olmayan baskılama, moleküler tanıma ve sensör teknolojilerinde önemli bir yer tutarken, kullanım alanları ve koşullarına bağlı olarak avantaj ve dezavantajlar dikkatle değerlendirilmelidir.



**Şekil 1.12:** Kovalent ve kovalent olmayan baskılama (Ertürk, 2015)

### 1.3.5 Moleküler baskılanmış polimerlerinin sentezinde kullanılan bileşenler

#### 1.3.5.1 Hedef-kalıp molekül

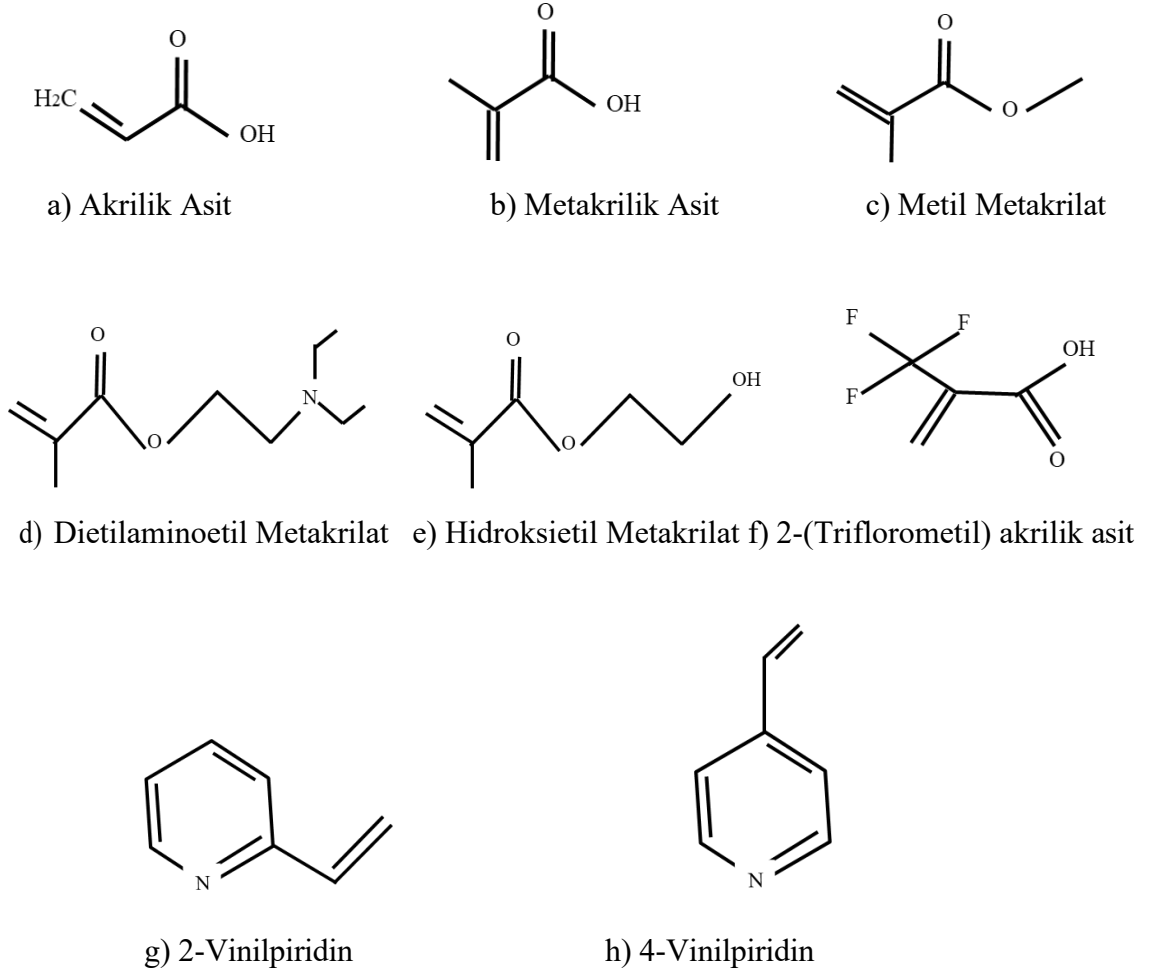
Molekül baskılama tekniğinde, analit olarak kullanılan kalıp molekül, işlemin başarısı için kritik öneme sahiptir. Doğru kalıp molekülün seçimi, fonksiyonel monomerin belirlenmesinde ve baskılama sürecinin verimliliğinde temel bir rol oynar. Kalıp molekül, monomerle etkileşime girebilmek için gerekli fonksiyonel gruplara sahip olmalıdır; örneğin, amit, karboksil ve hidroksil grupları hidrojen bağlarıyla etkileşebilir. Ancak tüm moleküller kalıp molekül olarak uygun değildir. Seçilen kalıp molekül, yüksek sıcaklık gibi kimyasal reaksiyon koşullarında stabil bir yapı göstermeli ve reaksiyonu olumsuz etkileyen şartlara dayanıklı olmalıdır (Kalecki et al., 2020).

#### 1.3.5.2 Fonksiyonel monomer

Baskılama için kullanılabilen moleküller arasında ilaçlar, aminoasitler, proteinler, nükleik asitler, hormonlar, enzimler, antikorlar, virüsler, bakteriler, metaller ve mikroorganizmalar bulunmaktadır (Akgönüllü vd., 2023). Fonksiyonel monomerler, moleküler baskılama sürecinde bağlanma bölgeleri oluşturarak tanıma merkezlerini kurar. Bu monomerler, kalıp molekül ile kompleks oluşturarak polimerizasyon öncesi etkileşim düzeyini belirler. Bu etkileşim, etkili bir MIP geliştirmek için yüksek afiniteli olmalıdır (Zhang and Liu, 2019). Fonksiyonel monomerin seçimi, baskılanacak molekülün fonksiyonel gruplarıyla uyum göstermeli ve monomerin fonksiyonallitesine uymalıdır. Fonksiyonel monomerler asidik, bazik ve nötral özellikler gösterebilir ve son araştırmalar, iki monomer kullanılarak

hazırlanan moleküler baskılanmış polimerlerin tek monomerli olanlara göre daha üstün tanıma performansı sunduğunu ortaya koymuştur (Morsi et al., 2023).

Sık kullanılan fonksiyonel monomerler sırasıyla aşağıdaki gibi Şekil 1.13'te gösterilmektedir. Bunlar akrilik asit, metakrilik asit, metil metakrilat, dietilaminoetil metakrilat 2-Hidroksietil metakrilat, 2-(triflorometil) akrilik asit, 2-Vinilpiridin, 4-Vinilpiridin şeklindedir.

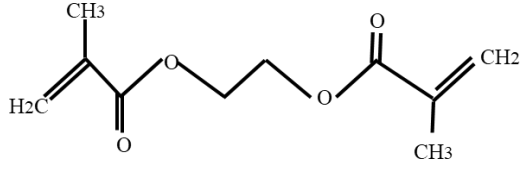


**Şekil 1.13:** MIP'lerin sentezinde kullanılan fonksiyonel monomerler [a) akrilik asit, b) metakrilik asit, c) metil metakrilat, d) dietilaminoetil metakrilat e) 2-Hidroksietil metakrilat, f) 2-(triflorometil) akrilik asit, g) 2-Vinilpiridin, h) 4- Vinilpiridin]

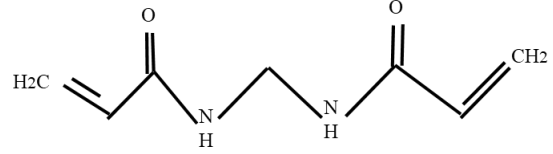
### 1.3.5.3 Çarpaz bağlayıcılar

MIP'lerin hazırlanmasında çarpaz bağlayıcılar önemli bir role sahiptir. Bu bağlayıcıların temel üç işlevi vardır. İlk olarak, polimerin yapısal formunu, makrogözenekli veya mikrojel biçimde oluşumunu düzenler. İkinci olarak, baskılama sürecinden sonra polimerin yapısal bütünlüğünü korumasını sağlar. Üçüncüsü ise, polimer matrisinin mekanik olarak stabil kalmasına katkıda bulunur. Yüksek miktarlarda kullanıldığında, çarpaz bağlayıcılar polimer matrisin stabilitesini artırır ve çözücülerde çözünmesini engelleyerek daha kullanışlı hale getirir. Bu, özellikle mekanik dayanıklılık gerektiren uygulamalarda tercih edilir (Chen et al., 2020).

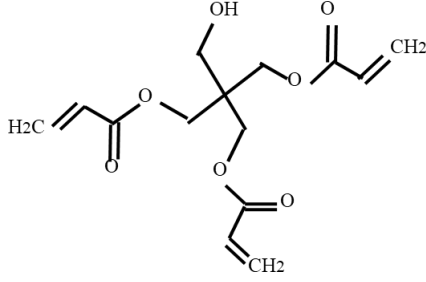
Başarılı baskılama işlemi için, tercih edilen çarpaz bağlayıcı ve fonksiyonel monomerlerin reaksiyon hızlarının birbirleriyle uygun olması elzemdir. Bu oranlar arasında uyumsuzluk, fonksiyonel monomer veya çarpaz bağlayıcıların birinin diğerine göre daha dominant hale gelmesine yol açabilir, bu da homojen kopolimerizasyonun gerçekleşmemesine neden olabilir (H. Xie et al., 2019). Çarpaz bağlayıcı ve fonksiyonel monomerlerin düşük oranlarda kullanılması, kalıp molekülünün bağlanma bölgelerini birbirine yakınlaştırır ve bu durum, bu bölgelerin komşu moleküller tarafından bloke edilmesine yol açarak etkinliği azaltabilir (Ninciuleanu et al., 2021). Aşırı yüksek mol oranlarıyla yapılan çarpaz bağlayıcı kullanımı, kalıp molekül veya fonksiyonel monomer ile kovalent olmayan etkileşimlere yol açabilir ve bu, baskılamanın genel etkinliğini düşürebilir. Sık kullanılan çarpaz bağlayıcılar ilgili Şekil 1.14'te yer almaktadır (Ahmad and Rodrigue, 2022). Yaygın olarak kullanılan çarpaz bağlayıcılar etilen glikol dimetakrilat, *N, N*-Metilen Bisakramilamit, pentaeritritol triakrilat, pentaeritritol tetraakrilat, trimetilolpropan trimetakrilat şeklindedir.



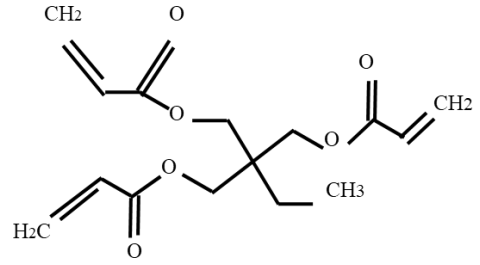
a) Etilen Glikol Dimetakrilat



b) *N, N*-Metilen Bisakramilamit



c) Pentaeritritol Triakrilat



d) trimetilolpropan trimetakrilat

**Şekil 1.14:** MIP'lerin sentezinde kullanılan çapraz bağlayıcılar

a) etilen glikol dimetakrilat, b) *N, N*-metilen bisakramilamit, c) pentaeritritol triakrilat, d) trimetilolpropan trimetakrilat

#### 1.3.5.4 Çözücüler

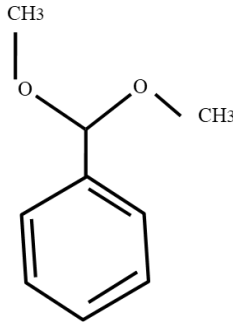
Çözücüler, baskılama yönteminde kritik bir rol oynarlar ve çeşitli görevleri bulunmaktadır. Çözücüler, reaktif özellikler gösterir ve sentez işlemi sırasında tüm maddeleri tek bir fazda çözme yeteneğine sahiptirler. Çözücüler, polimerlerde makrogözenekli yapıların oluşumunda gözeneklerin boyutu ve yapısını belirleme, gözenek hacmini koruma ve gözenek morfolojisini düzenleme gibi önemli işlemlere sahiptir. Yüksek çözünürlük etkisi olan çözücüler, düşük gözenek dağılımı ve yüksek yüzey alanı ile polimerlerin oluşumuna katkıda bulunurken, düşük çözünürlük etkisi olanlar ise bu etkilerin tam tersini sağlar (Arabi et al., 2021).

Çözücüler ayrıca, polimere bağlı kalıp molekülün kolay salınımını destekler ve polimerizasyon sırasında reaksiyon ısısının homojen bir şekilde dağılmasını sağlar (Velásquez et al., 2021). Homojen olmayan ısı dağılımı, yerel sıcaklık artışlarına yol açarak istenmeyen yan ürünlerin oluşumuna sebep olabilir. Çözücü türü, baskılama metodunun çeşidine göre değişiklik gösterir. Kovalent baskılama işleminde, çözücüler bileşenleri daha

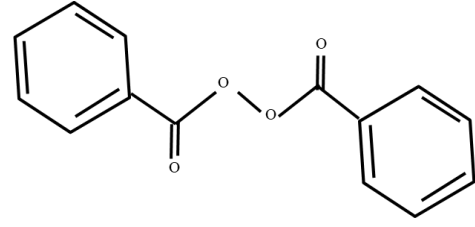
iyi çözebilmek için kullanılırken, kovalent olmayan baskılama işleminde çözücü seçimi, etkileşimlerin meydana gelmesi ve baskılama etkinliğini artırmak için daha kritik bir öneme sahiptir (Syed Yaacob et al., 2023). Polimerlerin kalıp moleküle olan seçiciliği ve etkinliği, oluşturulan boşluğun kalıp molekül tanıma alanlarına uygun boyutta olabilmesi için çözücülerin doğru seçilmesine bağlıdır. Bu, baskılamanın genel başarısını önemli ölçüde etkileyebilir (Y. Liu et al., 2024).

### 1.3.5.5 Başlatıcılar

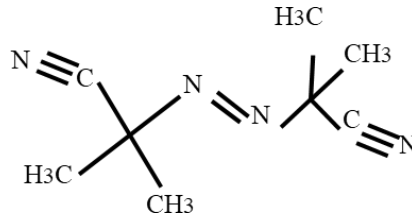
Polimerizasyon, tek bir monomer molekülünün aktivasyonu ile tetiklenen ve reaksiyonun tüm aktif merkezini oluşturan zincirleme bir süreçtir. Bu reaksiyonun başlaması genellikle polimerizasyon karışımındaki bir başlatıcı molekülün tetiklemeyle gerçekleşir (Beck and Narain, 2020). Başlatıcılar, kullanılan kalıp moleküle ve polimerizasyon metoduna bağlı olarak değişiklik gösterir. Yaygın olarak tercih edilen başlatıcılar arasında, 2,2'-azobis(2-metilpropiyonitril) (AIBN,  $C_8H_{12}N_4$ ) (Şekil 1.15) özellikle 50-70°C arasındaki ayrışma sıcaklıklarında etkili bir şekilde kullanılır (Trevino, 2019). Sık kullanılan başlatıcılar benzil dimetilasetal, benzoil peroksit, azobisdimetilvaleronitril şeklinde örneklendirilebilir.



a) Benzil Dimetilasetal



b) Benzoil Peroksit



c) Azobisizobütironitril

**Şekil 1.15:** MIP'lerin Sentezinde Kullanılan Başlatıcılar

a) benzil dimetilasetal, b) benzoil peroksit,

c) azobisizobütironitril

### **1.3.6 Moleküler baskılama uygulama alanları**

Son zamanlarda moleküler baskılama (MIP) alanına olan ilgi artış göstermiş ve bu teknoloji birçok uygulama alanında kendini göstermeye başlamıştır. Özellikle biyolojik ve kimyasal sensörlerde kullanımı dikkat çekmektedir. MIP'lar, kullanım kolaylığı ve düşük maliyeti sayesinde ilaç ve tıp sektörü, boya sanayi, gıda sahteciliği ve çevreyi tehdit eden herbisit/pesitistlerin tespiti gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. İlaç sektöründe, özellikle proses validasyonu sırasında ilaç izleme ve içerik kontrolü gibi kritik süreçlerde etkin bir rol oynamaktadırlar (Dong et al., 2021). MIP'lar, tıp sektöründe de yeni uygulamalarla gündeme gelmektedir; ilaç taşıyıcı sistemlerde ve vücut içi ilaç izlemelerinde reseptör olarak kullanılarak tersinir bağlanma kapasitelerinden yararlanılmaktadır (R. Liu and Poma, 2021). Gıda sektöründe ise, sahteciliğin tespitinde önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca, moleküler baskılama yöntemi ile protein benzeri yapay polimerlerin üretilmesi son yıllarda yapılan dikkate değer çalışmalardan biridir (Tse Sum Bui et al., 2023). Bu yapay polimerler, yüksek sıcaklıklarda bozulma, hassas yapılar ve yüksek maliyet gibi dezavantajları kaldırmaya yönelik olarak tasarlanmıştır. Moleküler baskılama, çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadır. Bazı yaygın uygulamalar şunlardır:

**Moleküler tanıma:** Moleküler baskılanmış matrisler, hedef moleküller için seçici bir yakalama ortamı olarak kullanılabilir. Bu, hedef molekülleri ayırmak, tespit etmek veya ölçmek için kullanılabilir.

**Analitik kimya:** Moleküler baskılanmış matrisler, analitik kimya uygulamalarında kullanılmaktadır. Örneğin, moleküler baskılanmış matrisler, ilaç, zehir ve kirletici maddeleri tespit etmek için kullanılabilir.

**Biyomedikal uygulamalar:** Moleküler baskılanmış matrisler, biyomedikal uygulamalarda kullanılmaktadır. Örneğin, moleküler baskılanmış matrisler, ilaç dağıtımı, hücre kültürü ve doku mühendisliği için kullanılabilir.

### **1.3.7 Moleküler baskılanmış polimer temelli sensörler**

MIP'ler, son dönemde küçük moleküllerin saptanmasında SPR sensörlerinde sıklıkla uygulama alanı bulmaktadır (Fodey et al., 2011). Hedef molekülün, polimerin özgül bağlanma bölgeleriyle gerçekleştirdiği etkileşimler, SPR algılama yüzeyinde dielektrik özelliklerde meydana gelen değişimlerle sonuçlanmaktadır. Antikorlarla kıyaslandığında,

MIP'ler daha zorlu yeniden kullanım koşullarına dayanıklıdır ve bağlanma yeteneklerini daha az kaybetme eğilimindedir. SPR sensör çiplerinde seçici bir MIP tabakası oluşturmaya yönelik çeşitli metotlar geliştirilmiştir. Bu metotlar arasında MIP filminin fiziksel olarak yüzeye aktarılması, kovalent bağlarla yüzeye bağlanması veya doğrudan yüzey üzerinde polimerizasyon işlemleri yer almaktadır.

MIP'ler, sensör teknolojileri alanında da çeşitli uygulama potansiyeline sahiptir. Örneğin, siyanazin (SNZ), simazin (SMZ) ve atrazin (ATZ) pestisitlerinin tespiti için (Li et al., 2015; Matsui et al., 2009) yüksek afiniteye sahip SPR sensörleri çeşitli tekniklerle geliştirilmiştir. Farmasötik bileşiklerin (Olaru et al., 2015; Li et al., 2015) dopamin (Matsui et al., 2005), amoksisilin (Ayankojo et al., 2018), protein (Akgönüllü vd., 2023), DNA hibridizasyonunu ve DNA-protein etkileşimlerini ölçümü (Pollet et al., 2009) gibi birçok çalışma yapılmıştır.

Son zamanlarda yapılan bir başka çalışma, çeşitli gıda örnekleri kullanılarak moleküler olarak baskılanmış SPR tabanlı nanosensör Aflatoxin B1 (AFB1) tespit çalışmaları gerçekleştirildiği görülmüştür. AFB1 baskılanmış bir nanosensör ile gerçekleştirilen deneylerde 0.0001 ng/mL ila 10.0 ng/mL aralığındaki AFB1 derişimlerinin logaritması ile yanıt sinyali arasında doğrusal bir ilişki tespit edilmiştir. Aflatoxin B2, aflatoxin M1 (AFM1), okratoksin A ve sitrinin bağlanmasına yönelik seçicilik çalışmaları yapılarak mükemmel seçicilik kanıtlanmıştır. Ayrıca, tasarlanan nanosensör, rekabetçi aflatoxinlere karşı AFB1'e karşı dikkate değer bir seçicilik sağlamıştır. Bu bulgular, tasarlanan biyoalgılama sisteminin gerçek tarım ürünlerinde AFB1 ve süt ürünlerinde AFM1 analizleri için uygulanabilirliğini işaret etmektedir (Akgönüllü vd., 2020). AFM1 tayini için çiğ sütte süt örneği hazırlandıktan sonra AFM1 ile kirletilerek yapılan analizde de 0 ng/mL-10 ng/mL derişim aralığında AFM1 tayini gerçekleştirilmiştir (Akgönüllü vd., 2021).

#### **1.4 Optik Sensörler**

Biyosensörlerin biyomolekül türüne göre enzimatik biyosensörler, immünosensörler ve DNA tabanlı biyosensörler (genosensörler) olarak sınıflandırılmaktadır (Asal vd., 2018). Bununla birlikte, dönüştürücü mekanizmalarına göre de optik, elektrokimyasal, piezoelektrik ve termal gibi çeşitli şekillerde sınıflandırılmaları mümkündür (Malekzad et al., 2018). Optik dönüştürücüler; biyomoleküler analiz, klinik tanı, biyomühendislik, ilaç geliştirme, çevresel izleme ve gıda sektörü gibi pek çok alanda kullanılan optik tabanlı biyosensörlerin geliştirilmesine olanak tanımıştır. Bu alandaki en yaygın uygulamalardan

biri, ince altın filmler üzerinde SPR değişimlerine dayanan optik biyosensörlerdir (Homola, 2008). Ayrıca, optik nano-biyosensörler; geleneksel ince filmler yerine, nanoyapılı metal yüzeyler kullanılarak teşhis ve analiz amacıyla da geliştirilebilmektedir (Sepúlveda et al., 2009).

Optik temelli biyosensörler, ışıkla etkileşime giren biyomolekülleri kullanarak analitlerin tespiti veya ölçümü için kullanılan cihazlardır. Bu sensörler, çeşitli biyomedikal uygulamalarda, örneğin kan şekeri, kandaki oksijen seviyeleri ve hastalık belirteçlerinin ölçümü gibi yaygın olarak kullanılmaktadır.

Optik temelli biyosensörlerin çalışma prensibi, analitin biyolojik algılayıcı ile etkileşime girmesinin, ışığın emilimini, saçılımı, kırılmasını veya polarizasyonunu değiştirmesidir. Bu değişiklikler, analitin derişimini ölçmek için kullanılabilir. Optik tabanlı sensörlerde ölçüm prensibi, hedef maddenin derişimine bağlı olarak absorpsiyon ya da lüminesans şiddetindeki değişimlere dayanmaktadır. Bunun yanında, CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> ya da pH gibi fizikokimyasal parametrelerdeki farklılıklar da algılama sürecinde kullanılmaktadır. Sensörün algılama yapabilmesi için gerekli olan ışık kaynağı ise ultraviyole (UV) ve kızılötesi (IR) bölgelerde yer alan elektromanyetik dalgalardan oluşmaktadır (Kenan, 2014).

Optik temelli biyosensörlerin birkaç farklı tipi vardır. En yaygın tipler şunlardır:

- Absorpsiyon temelli sensörler: Bu sensörlerde, analitin biyolojik algılayıcı ile etkileşimi, ışığın belirli dalga boylarının emilimini artırır.
- Floresan temelli sensörler: Bu sensörlerde, analitin biyolojik algılayıcı ile etkileşimi, algılayıcının floresan parlaklığını artırır.
- Polarizasyon temelli sensörler: Bu sensörlerde, analitin biyolojik algılayıcı ile etkileşimi, ışığın polarizasyonunu değiştirir.
- Raman spektroskopisi temelli sensörler: Bu sensörlerde, analitin biyolojik algılayıcı ile etkileşimi, ışığın Raman saçılımını artırır.

Optik temelli biyosensörlerin çeşitli avantajları vardır. Bu avantajlar şunlardır:

- a) Yüksek hassasiyet: Optik sensörler, diğer sensör türlerine göre genellikle daha yüksek hassasiyete sahiptir. Bu, analitin derişimini daha doğru bir şekilde ölçmek için faydalıdır.

- b) Yüksek tekrarlanabilirlik: Optik sensörler, genellikle yüksek tekrarlanabilirlik ile üretilebilir. Bu, sensörlerin tutarlı sonuçlar üretmesini sağlar.
- c) Taşınabilirlik: Optik sensörler, genellikle küçük ve taşınabilirdir. Bu, onları çeşitli uygulamalar için uygun hale getirir.

Optik temelli biyosensörler, biyomedikal uygulamalarda önemli bir rol oynamaktadır. Bu sensörler, çeşitli analitlerin hızlı, hassas ve taşınabilir bir şekilde tespiti veya ölçümü için kullanılabilir.

#### **1.4.1 Yüzey plazmon rezonans (SPR)**

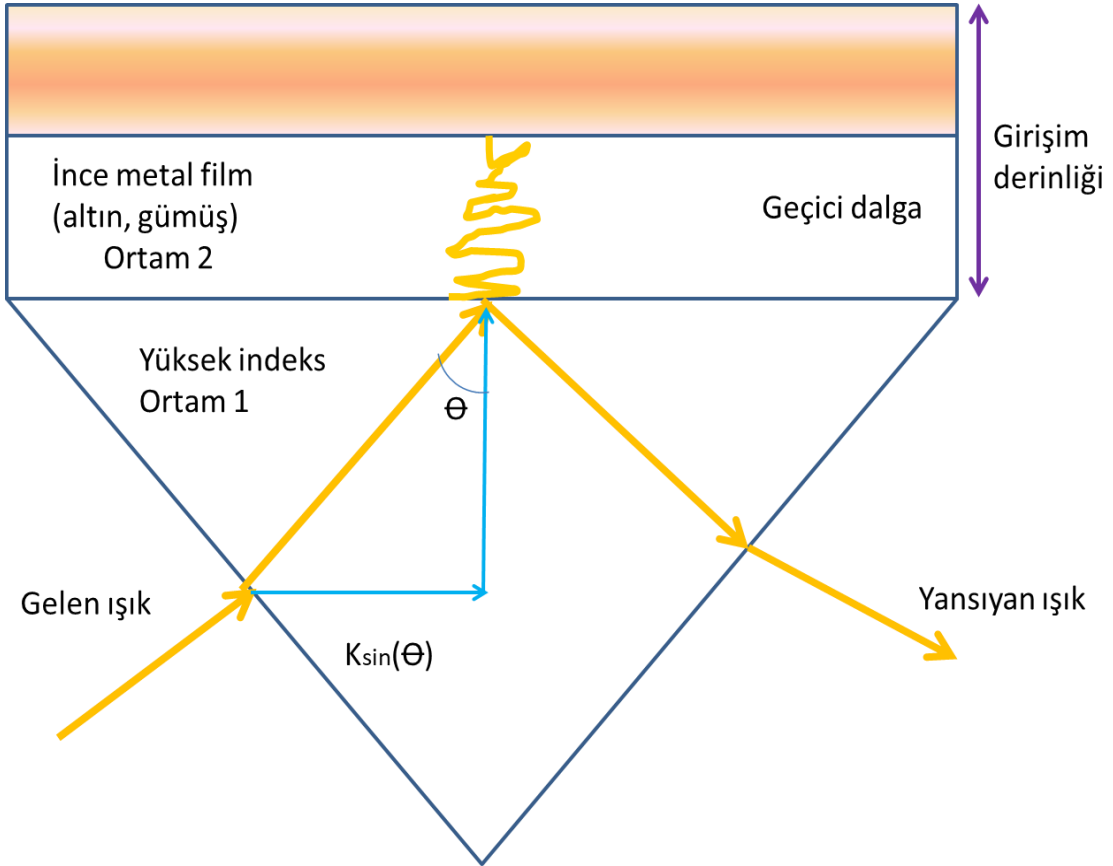
1902'de Wood, polarize ışığın kırınım düzenleyici bir yüzeye yansıtılmasıyla yüzey plazmon dalgalarının uyarılması sonucu ortaya çıkan düzensiz kırılma fenomenini tanımlamıştır. Bu çalışmada, aynaya yansıyan ışık üzerinde aydınlık ve karanlık bölgeler gözlemlenmiştir. 1968'de Otto, zayıflatılmış toplam yansıma (ATR) tekniğini tanıtarak SPR'nın daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır (Wang et al., 2024). 1971'de ise Kretschmann, ATR yöntemini kullanarak yüzey plazmonlarını optik olarak uyarmak için Kretschmann konfigürasyonunu geliştirmiştir (Srivastava et al., 2022). 1982'de Liedberg ve Nylander tarafından SPR, optik biyosensör olarak ilk kez kullanılmıştır ve bu gelişme sonrasında, SPR sensör teknolojisi üzerine birçok araştırma yapılmıştır (Ravindran et al., 2023). SPR teknolojisi, özellikle temel biyolojik araştırmalar, ilaç geliştirme, klinik tanı, çevresel ve tarımsal izleme gibi çeşitli alanlarda uygulama popülaritesini artırmıştır.

Şekil 1.16'da gösterildiği üzere, polarize ışık, üst yüzeyi ince bir metal tabaka ile kaplı sensör çipi üzerine yerleştirilmiş prizma aracılığıyla yönlendirilir ve metal film, bir ayna gibi davranarak ışığın bir kısmını yansıtır. Polarize ışık altın kaplı prizmaya ulaştığında, ışığın bir bölümü absorbe edilirken diğer kısmı yansıtılır. Geliş açısının ayarlanması ve yansıyan ışık şiddetinin izlenmesiyle, ışığın minimum yoğunlukta yansıdığı bir açı tespit edilir. Bu belirli açıda, yüzey plazmonları olarak adlandırılan iletken elektron grupları uyarılır ve SPR gerçekleşir. Bu olay sonucunda yansıyan ışığın şiddeti en düşük seviyeye ulaşır ve bu özel açıya rezonans açısı ya da SPR açısı adı verilir (Spadavecchia et al., 2005).

Metal tabakadaki iletken elektronlar, metalin kristal yapısı boyunca serbestçe hareket edebilme özelliğine sahiptir ve bazen sahip oldukları kinetik enerji nedeniyle yüzeyden uzaklaşabilirler. Bir elektron yüzeyden ayrıldığında, ortaya çıkan yük dengesizliği,

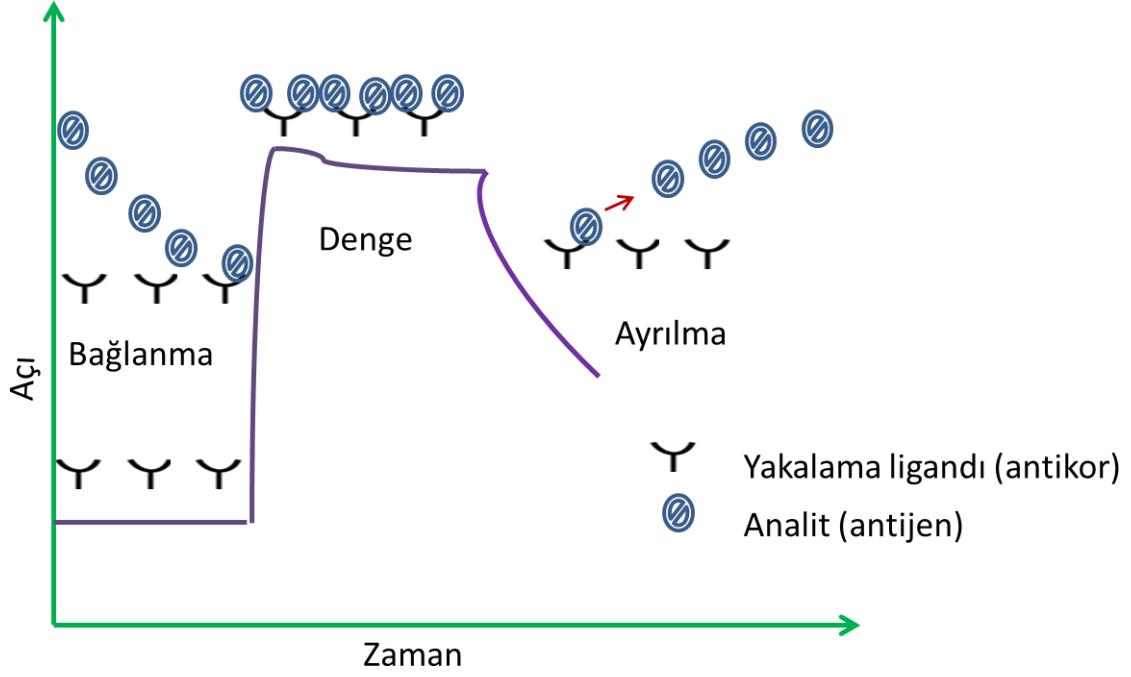
elektronun geri çekilmesine neden olan bir çekim kuvveti oluşturur. Bu enerji transferi, belli bir dalga boyu aralığında meydana gelir (Diltemiz, 2006). Metal yüzeyindeki bu elektronların yüzeyin normaline dik ortalama hareketi, harmonik osilatör benzeri bir frekansta ölçülebilir.

SPR açısı, hem kullanılan metalin – genellikle altın – hem de çevresindeki ortamın kırılma indislerine bağlı olarak değişiklik gösterir. Prizmanın tarafındaki kırılma indisi sabit kalırken, metal yüzeyine yakın bölgedeki kırılma indisi yüzey üzerinde gerçekleşen kütle birikimi nedeniyle farklılık arz edecektir. Bu durum, SPR koşullarının değişmesine yol açar ve SPR açısında meydana gelen kayma, yüzeydeki adsorpsiyon kinetiği hakkında önemli bilgiler sunar (Schasfoort, 2008).



**Şekil 1.16:** Dielektrik sınırlarda meydana gelen iç kırınım

SPR sadece gelen açıya karşı yansıtılan ışık yoğunluğunun arasındaki farkı ölçmekle kalmaz. Şekil 1.17’de görüldüğü gibi biyomoleküler bir etkileşime içindeyse etkileşimin kinetiği gerçek zamanlı ölçülebilir. Bu kaymaya da “sensorgram” denir.



Şekil 1.17: Bağlanma işleminin zamana göre izlendiği açı

#### 1.4.2 Yüze plazmonu

Yüze plazmonlarının oluşumu optik yöntemlerle gerçekleştirilmektedir. Bu süreç, metal ve dielektrik ara yüzeylerde serbest elektronlar ile fotonların varlığı gerektirir (Achanta, 2020). Yüze plazmonları, metal-dielektrik sınırlarında serbest elektronların kolektif salınımları sonucu oluşur ve bu salınımlar, arayüzde üssel olarak azalan ve bozulan bir dalga formu yaratır. Bu elektron salınımları ve yüze etrafında bozulan dalga, elektromanyetik ışık dalgalarının bir etkisi olarak meydana gelir (Nickelson, 2019). Yüze plazmonu, transversal bir elektromanyetik dalga (p-polarize) formunda olup, arayüzde yoğunlaşır ve metal ile dielektrik içinde üssel olarak zayıflar. Bu süreç yüze boyunca ilerleyen yüze plazmon polaritonları (SPP) oluşturur (Aftab et al., 2024).

SPR'in meydana geldiği yansıyan ışığın açısını etkileyen üç temel parametre bulunmaktadır. Bunlar; metal tabakanın optik özellikleri, kalınlığı ve yüze düzgünlüğü gibi fiziksel özellikleri; kullanılan ışığın dalga boyuna bağlı geliş açısı ve metal tabakanın her iki tarafında yer alan ortamların kırılma indisleridir (Kara, 2010).

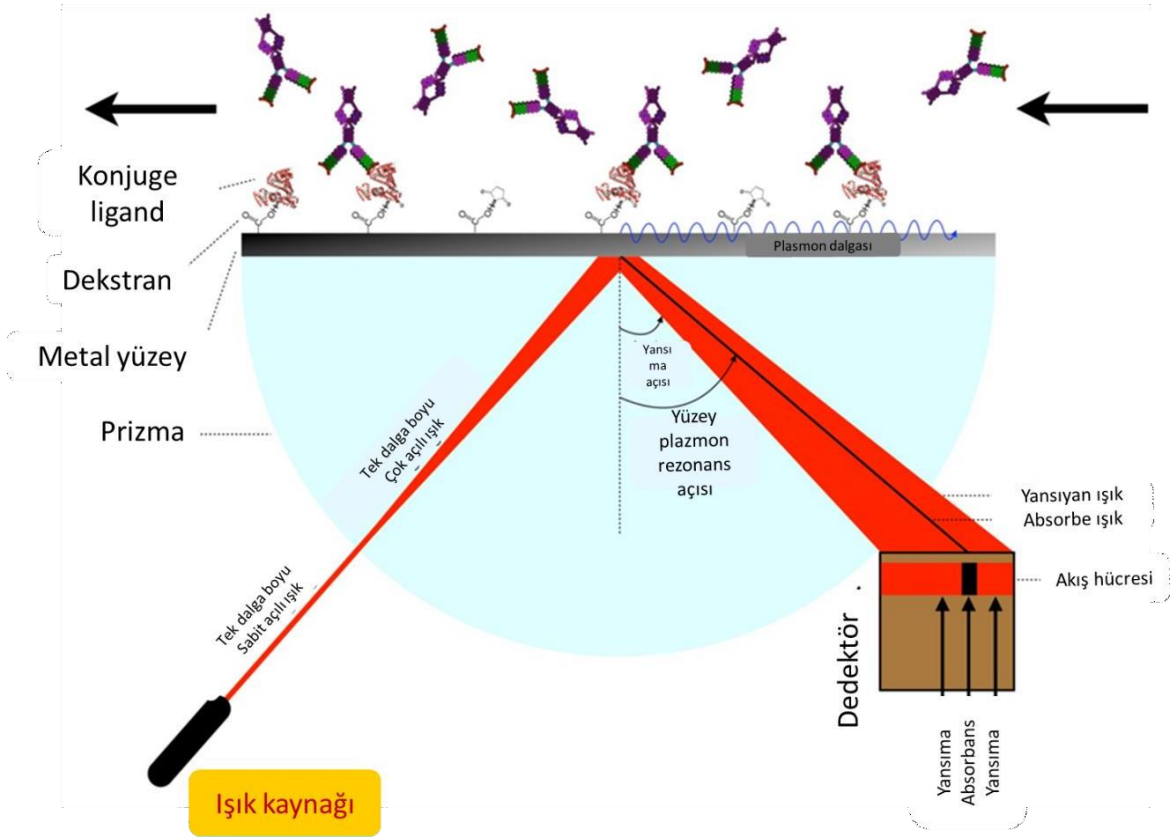
Yüze plazmonlarının optik uyarımı için en yaygın kullanılan yöntem, zayıflatılmış toplam yansıma olarak bilinen Kretschmann konfigürasyonudur. Bu durumda, bir prizma dielektrik

geçirgenliklerin ölçümü için kullanılır ve yaklaşık 50 nm kalınlığında ince bir plazmonik metal yüzey ile temas halindedir (Borah et al., 2022). Yüksek kırılma indisine sahip bir prizmadan geçen düzlem polarize ışık, kritik bir açı üzerinde toplam iç yansıma yapar. Bu iç yansıma, yüzey plazmonlarının uyarılması için gerekli olan transversal manyetik polarize dalgaların kullanılmasını sağlar (Aftab et al., 2024).

Yüzey plazmonlarının uyarılması, gelen ışığın momentumu ve enerjisinin yüzey plazmon dalga vektörü ile eşleştiğinde gerçekleşir ve sonuç olarak yansıyan ışığın yoğunluğunda bir düşüş gözlemlenir (Şekil 1.18). Bu tür konfigürasyonlarla, sensör yüzeyindeki kırılma indisindeki değişiklikler, herhangi bir etiketleme ihtiyacı olmadan, gerçek zamanlı olarak ölçülebilir (Aftab et al., 2024).

Dalga penetrasyon derinliği, fotonun yoğunluğu, kırılma indeksi oranı ve ışık dalgasının boyutuna bağlı olarak değişiklik gösterir. SPR profilini, sensör yüzeyinde kullanılan metalin türü belirler (Oliveira et al., 2019). Her metal, kendine özgü optik özelliklere sahiptir ve en sık kullanılan metaller altın, gümüş, indiyum, sodyum, bakır ve alüminyumdur. Gümüş, yüzey plazmon salınımlarının metal yüzeyde doğal olarak azalmasından dolayı net bir rezonans zirvesi oluşturur. Sensör yüzeyinde kullanılan metallerin yüzeyleri temiz ve saf olmalıdır zira oksitlenme ve sülfidasyon gibi atmosferik koşullar, rezonansı olumsuz etkileyebilir (Kolwas and Derkachova, 2020). Sensör olarak kullanılacak metal, bağlanma kimyasalları ile uyum göstermeli ve iki özelliği aynı anda karşılayan nadir metallerden biri altındır (Akgönüllü, 2020). Altın, yüksek kimyasal kararlılığı ve serbest elektron taşıma kapasitesi nedeniyle SPR temelli uygulamalarda yaygın olarak tercih edilen bir metaldir. Diğer yandan, sodyum reaktif bir yapıda olup, indiyum pahalı bir metaldir ve gümüş, atmosferik şartlar altında kolayca oksitlenebilir.

Kretschmann-Raether konfigürasyonu kullanılarak SPR tekniği ile bir biyosensör uygulaması Şekil 1.18 'de gösterilmiştir.



Şekil 1.18: Yüzey plazmon rezonansı tekniği ile bir biyosensör uygulaması (Sabban, 2011)

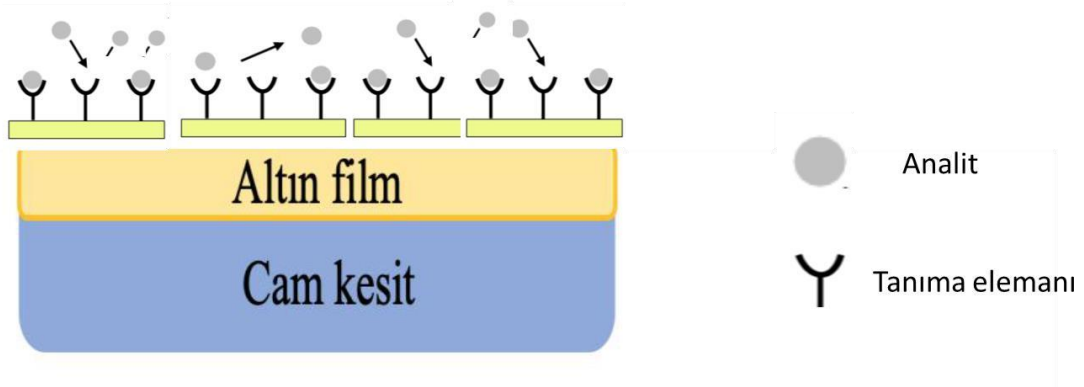
### 1.4.3 SPR sensörler

SPR sensörler, kompakt tasarımı, düşük maliyeti ve yüksek hassasiyeti sayesinde son yirmi yıl içinde birçok araştırmacının ilgisini çekmiştir. Bu teknoloji, ticarileşerek genotip analizleri, çevresel ve gıda analizleri, tıbbi teşhis ve biyomedikal alanlarda geniş bir uygulama yelpazesi sunmaktadır. SPR sensörleri, antikorlar, proteinler, lipitler, virüsler ve ilaç keşfi gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır ve optik sensör teknolojileri arasında en ileri teknoloji olarak kabul edilir. Bu sensörler, etiketleme gerektirmeyen, yüzey plazmonlarının kırılma indeksindeki değişiklikleri ölçen yüzeye duyarlı bir optik yöntemdir (Wang et al., 2024).

Metal yüzeydeki analitler ile reseptörler arasındaki etkileşimleri karakterize edip nicelleyen SPR, etiketlemeye gerek kalmadan çalışır (Steglich et al., 2022). Rezonans açısındaki değişiklikleri ölçerek, analitlerin varlığını ve derişimlerini belirler. Çözelti içindeki analit SPR sensörü ile etkileşime girdiğinde, metal yüzeydeki yoğunluk artışı net bir rezonans tepe noktasının oluşmasına neden olur (Steglich et al., 2022). Bu yoğunluk artışı sonucunda

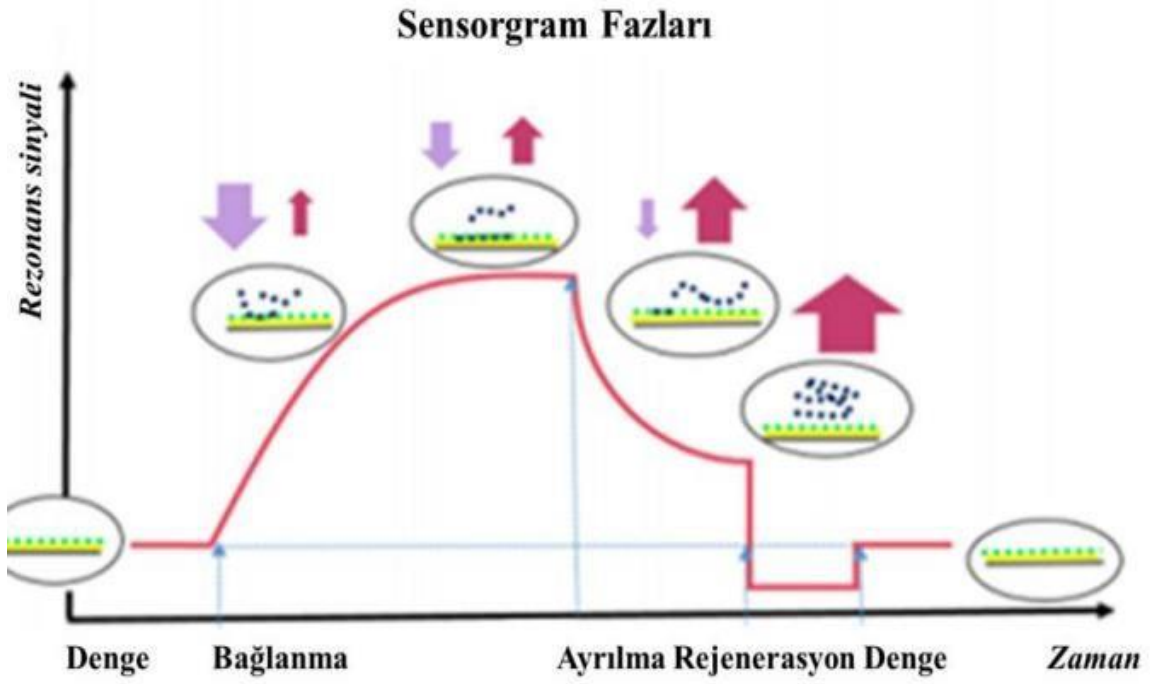
rezonans açısında kaymalar meydana gelir, böylece analitin tespiti sağlanır. Desorpsiyon çözeltisi verildiğinde, bağlanmış moleküller yüzeyden ayrılarak sensorgramda bu ayrılma süreci gözlemlenir (Baio et al., 2020).

SPR ölçümünde hedef molekül genellikle uygun bir immobilizasyon yöntemi kullanılarak çip yüzeyine tutturulur. Bu yöntemler arasında kimyasal bağlama, fiziksel adsorpsiyon veya biyomoleküler etkileşimler (örneğin, antikor-antijen etkileşimleri) gibi çeşitli yöntemler yer alır. Hedef molekül çip yüzeyine bağlandıktan sonra, SPR tekniği kullanılarak yüzeydeki kırılma indisi değişikliği ölçülür. Bağlanma olayı sonrasında oluşan kırılma indisi değişimi, dedektör aracılığıyla ölçülerek, hedef molekülün varlığı ve miktarı hakkında bilgi verir. Bu süreç, gerçek zamanlı ve etiket gerektirmeyen bir analiz sunarak biyolojik ve kimyasal araştırmalar için değerli bir araç oluşturur (Şekil 1.19). Tanıma olayının ardından ortamın kırılma indisinde meydana gelen değişim, ölçülebilir bir sinyal oluşturarak dedektör aracılığıyla tespit edilir.



**Şekil 1.19:** SPR ile etiketsiz tayinin şematik gösterimi

SPR sensörlerinin sunduğu avantajlar; gerçek zamanlı ve hızlı ölçüm, yüksek hassasiyet ve özgüllük, etiketleme gereksinimi olmaması, kolay numune hazırlığı ve düşük maliyetidir. Son yıllarda, SPR teknolojisi özellikle ağır metal iyonlarının tespiti gibi çeşitli uygulamalarda etkili bir optik yöntem olarak öne çıkmıştır (Soler et al., 2019).



**Şekil 1.20:** SPR Sensör sensorgramında gerçekleşen fazlar

Tipik bir SPR sensorgramına ilişkin grafiksel temsil, ayrıntılı olarak Şekil 1.20’de sunulmaktadır. Bu grafikte, her bir basamağın dinamikleri ayrıntılı olarak şu şekilde açıklanmıştır;

**Denge fazı:** Sürecin başlangıcında, denge tamponu, sensör yüzeyine doğrudan temas ederek denge çizgisini oluşturur. Bu aşamanın önemi, sensörün doğru bir şekilde kalibre edilmesi için kritik bir rol oynamasıdır. Bu denge aşamasında, analit tamponunun kırılma indisine (RI) bağlı yığın etkilerini dengeleyebilmek adına, belirli bir miktarda kalibrasyon çözeltisinin enjekte edilmesi yararlı olacaktır.

**Bağlanma aşaması:** İkinci aşamada, hedef bileşiği içeren örnek, sensör sistemine enjekte edilir. Bu aşamada, sensör yüzeyindeki yakalama elemanları, hedef bileşiği yakalayıp birbirleriyle etkileşimde bulunur ve sonuç olarak karmaşık bir formasyon yaratır. Bu süreç, hedef bileşenin doğru bir şekilde tanınması ve bağlanması açısından kritik öneme sahiptir ve özellikle hedef bileşiğin yüzey üzerindeki yerleşimi son derece belirleyicidir.

**Ayrılma fazı:** Üçüncü aşamada, denge çizgisi, sistem tamponu olarak bilinen bir adsorpsiyon çözeltisinin enjeksiyonu ile değiştirilir. Bu uygulama neticesinde, yüzeye bağlı olan hedef

bileşikler (ve ek olarak spesifik olarak bağlanmayan moleküller) yüzeyden ayrılma sürecine girer.

Rejenerasyon adımı: Son olarak, rejenerasyon aşamasında, özel bir rejenerasyon çözeltisi, örneğin, düşük pH değerine sahip bir tampon, sistemdeki kalan bağlı hedef bileşikleri uzaklaştırmak üzere enjekte edilmektedir. Bu aşama, sensörün yeniden kullanılabilirliği açısından kritik öneme sahiptir ve düzenli olarak uygulandığında, sistemin verimliliğini artırarak süreklilik sağlar (Schasfoort, 2008).

#### **1.4.4 Altın nanopartikül temelli optik sensörler**

Altın nanopartiküller, optik sensörlerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu nanopartiküllerin sahip oldukları farklı yüksek yüzey alanı ve optik özellikleri, elektronik, kimyasal ve biyomoleküler özelliklerinden dolayı altın nanopartiküller (AuNPs), tespit hassasiyet ve seçicilik sağlamak için önemlidir.

Altın nanopartiküller (AuNP'ler), yüksek yüzey/hacim oranları, şekle bağlı optoelektronik özellikleri, düşük toksisitelerinin yanı sıra üstün biyoyumlulukları sayesinde, biyoteknolojik uygulamalarda öne çıkan ve tercih edilen nanomalzemeler arasında yer almaktadır (Elahi et al., 2018). Özellikle AuNP SPR bantları, partiküllerin şekli, yüzey morfolojisi, çözeltideki ortam özellikleri, ligandlarla olan etkileşimleri, çekirdek yükü ve sıcaklık gibi parametrelerle doğrudan ilişkilidir. Buna bağlı olarak, AuNP'lerin bu fiziksel özellikleri, onların biyomedikal uygulamalardaki performanslarını önemli derecede etkilemektedir.

Moleküler baskılama (MIP) teknolojileri, analitik tayinlerde düşük tespit limitleri sunmalarına rağmen, kalıp molekül sızıntısı, sınırlı bağlanma kapasitesi ve çözelti ortamında zayıf algılama performansı gibi bazı dezavantajlara sahiptir (Malekzad et al., 2018). Bu kısıtlamaları aşmak amacıyla, son dönemde yapılan çalışmalar, altın nanopartiküller (AuNP'ler) ile MIP'lerin entegrasyonuna odaklanmıştır. Bu yaklaşım, ince kompozit filmler ve koloidal kompozit partiküller olmak üzere iki temel formda nanokompozitlerin geliştirilmesine olanak tanımaktadır. Bu kombinasyonlar farklı uygulama alanlarında sensör performansını artırarak daha yüksek seçicilik ve hassasiyet elde edilmesine olanak tanımaktadır.

## 2. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

### 2.1 Kimyasal Malzemeler

SPR sensör sisteminde denge tampon çözeltisi olarak pH 7.4 olan fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) kullanılmıştır. Bu tampon, 0.01 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.0027 M KCl, 0.002 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ve 0.137 M NaCl derişimlerinde hazırlanmıştır. Potasyum dihidrojen fosfat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) ve disodyum hidrojen fosfat (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) Merck A.G. (Germany) firmasından alınmıştır. Fluka A.G. (Buchs, Switzerland) firması tarafından potasyum klorür (KCl) ve sodyum klorür (NaCl) sağlanmıştır. Asetik asit ve sülfürik asit Fluka A.G. (Buchs, Switzerland) firmasından temin edilmiştir. Altın (III) klorür trihidrat, etilen glikol dimetakrilat (EGDMA), 2-hidroksietil metakrilat (HEMA), tri-sodyum sitrat dihidrat ve tween 20 Sigma-Aldrich (St. Louis, ABD) firmasından elde edilmiştir. Hidrojen peroksit, etanol ve azobisizobutironitril (AIBN) Merck A.G. (Almanya) tarafından temin edilmiştir. Deneyleerde kullanılan tüm cam malzemeler, olası kontaminasyonları gidermek amacıyla bir gece boyunca 4 M nitrik asit çözeltisi içerisinde bekletilmiştir Deneyleerde kullanılan ultra saf suyun (deiyonize su) direnci 18 MΩ/cm olarak ölçülmüştür. Bu deiyonize su, yüksek akışlı selüloz asetat membran (Barnstead D2731) ile ters ozmoz prensibine dayalı Barnstead (Dubuque, IA) ROpure LP® ünitesi ve ardından organik/kolloid uzaklaştırma amaçlı Barnstead D3804 NANOpure® ünitesi ile iyon değiştirici reçine kolon sistemi kullanılarak saflaştırılmıştır.

### 2.2 Optik Sistem

Çalışmada optik tabanlı SPR sensör sisteminin gerçekleştirilmesinde, SPR Imager II (GWC Technologies, WI, ABD) cihazı kullanılmıştır (Şekil 2.1(a)). Deneyleerde kullanılan SPRchip™ altın sensör çip, SPRImager®II cihazıyla uyumlu olacak şekilde GWC Technologies firmasından temin edilmiştir. Altın çipin yüzey kalınlığı yaklaşık olarak 50 nm olup, boyutları 1 mm x 18 mm x 18 mm'dir (Şekil 2.1.(b)). Sistemde lazer ışık kaynağı olarak Quartz Halogen Lamps (6 volt, 10 watt, 2000 H) (4 mm taban) (Katalog No. L6402, International Light Technologies, Peabody, MA, USA) kullanılmıştır. Optik eleman olarak SF10 eşkenar prizma (GWC Technologies WI, ABD) tercih edilmiş ve prizmanın yüzeyi, olası kontaminasyonları engellemek amacıyla fisherbrand lens kâğıdı 4" x 6" (Katalog No: 11-996, Fisher Scientific, ABD) ile temizlenmiştir (Akgönüllü, 2020).



**Şekil 2.1:** (a) Yüzey plazmon rezonans (SPR) sensör sistemi; ve (b) SPR çip

### 2.3 Altın Nanopartiküllerin Sentezi

Altın nanopartiküllerinin (AuNPs) sentezi sürecinde aşağıdaki adımlar izlenmiştir: İlk olarak, 8.5 mg altın (III) klorür trihidrat ( $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ), 5.0 mL deiyonize su içinde çözülmüştür. Elde edilen bu çözelti, manyetik karıştırıcı bir ısıtma sistemi üzerinde kaynamakta olan 95 mL saf suya ilave edilmiştir. Hazırlanan karışıma, 12 mL %1 (v/v) sodyum sitrat ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ) çözeltisi kaynatıldıktan sonra eklenmiştir. Karıştırma işlemi esnasında çözeltinin renginin koyu kırmızıya dönüştüğü gözlemlenmiştir. Son olarak, karışımın toplam hacmi deiyonize su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır (Akgönüllü, 2020).

### 2.4 Monomerin Belirlenmesi

MIP oluşumu için kalıp molekül ve mevcut monomer etkileşimi elzemdir. Bağ etkileşimi sırasında, çözücüdeki çapraz bağlayıcının ve aktif monomer etkileşimi de çok önemlidir. Metakrilik asit, MIP'i sentezlemek için özel olarak kullanılır ve etkileşim sırasında çözücülerin çapraz bağlayıcılar ile zayıf etkileşime sahip olması beklenir. Çapraz bağlayıcı, MIP'lerin tasarımında hayati bir rol oynar.

Kalıp molekül olarak belirlediğimiz METH molekül ağırlığı 149,23 g/mol, polimerizasyon işleminde kullanacağımız metakrilik asitin (MAA) moleküler ağırlığı ise 86,09 g/mol'dür. Çalışmamızda kullanacağımız monomer metakrilik asittir. Ölçümlerimizde 100  $\mu\text{mol}$  METH ile çalışma yapacağız.

## 2.5 Tampon Çözeltinin Hazırlanması

Çalışmamızda kullanacağımız PBS tampon çözeltimiz 1 Litre saf su için Tablo 2.1’de belirtilen tuzlar ile belirlenen miktarlar kullanılarak çözündürülür. Daha pH 7,4 ayarlaması yapılarak PBS tampon çözeltisi hazırlanır.

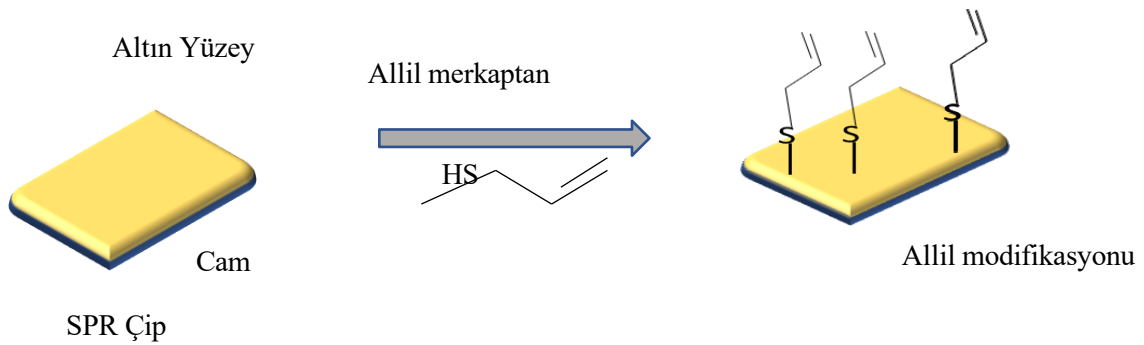
**Tablo 2.1:** PBS Çözeltisi Hazırlama

PBS TAMPON ÇÖZELTİSİ (pH 7,4)	
NaCl	8 g
KCl	0,2 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1,44 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,240 g

## 2.6 Metamfetamin Baskılanmış Çiplerin Tasarlanması

### 2.6.1 SPR çip yüzeyinin modifikasyonu

SPR sensör çipinin METH baskılanmasından evvel, sensörün altın yüzeyi asidik pirana çözeltisi (3:1 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, v/v) ile temizlenmiştir. Altın yüzey, asidik pirana çözeltisi içinde 20 saniye süreyle bekletilmiştir. Ardından, deiyonize su ve saf etil alkolle durulanan sensör, 40°C’de 3 saat boyunca etüvde kurutulmuştur. Allil grubu modifikasyonu için allil merkaptan (CH<sub>2</sub>=CHCH<sub>2</sub>SH) çözeltisi kullanılmıştır. Temizlenmiş altın yüzeye 10 µL allil merkaptan çözeltisi damlatılmış ve 24 saat süreyle yüzeyde allil gruplarının bağlanması sağlanmıştır (Şekil 2. 2).



**Şekil 2.2:** SPR çip yüzeyine allil merkaptan çözeltisi ile gerçekleştirilen allil modifikasyonu

### 2.6.2 Metamfetamin baskılanmış SPR çipin tasarlanması

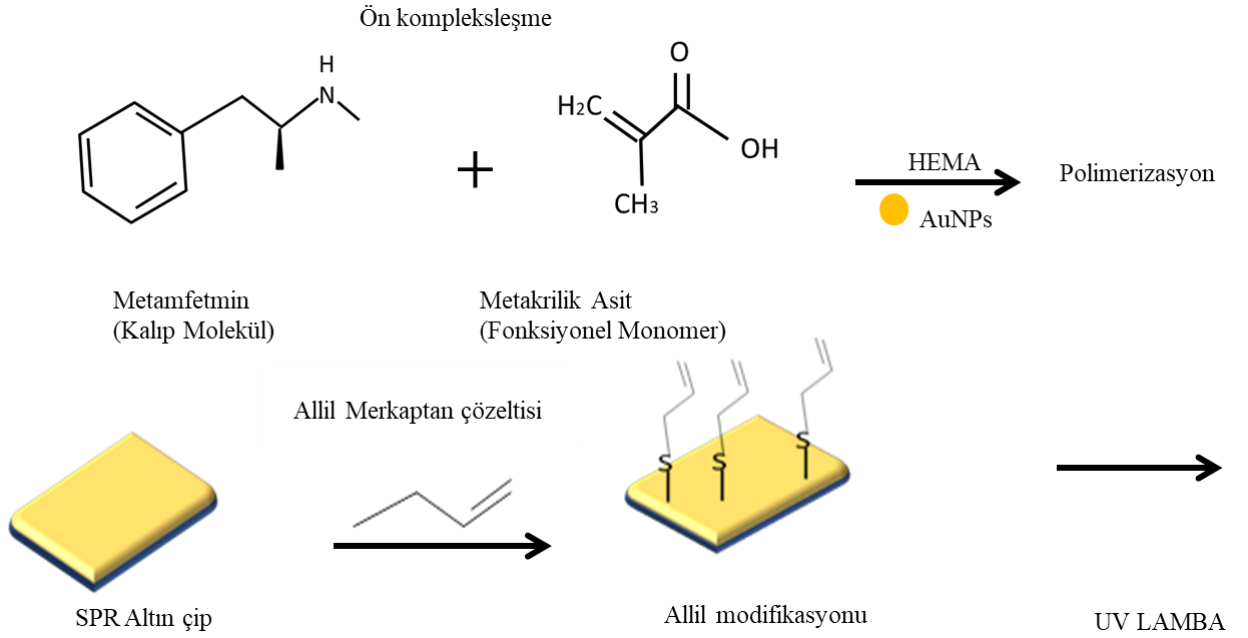
METH baskılanmış SPR sensör çipi hazırlanmasından önce, SPR sensörünün altın yüzeyi, hacimsel oranı 3:1 olan sülfürik asit ( $H_2SO_4$ ) ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ihtiva eden asidik pirana çözeltisi ile temizlenmiştir. Bu temizleme aşamasında, altın yüzey 20 saniye süreyle asidik pirana çözeltisine maruz bırakılmıştır. Müteakiben, deiyonize su ve saf etil alkol ile durulanan sensör,  $40^\circ C$  sıcaklıkta bir etüvde 3 saat müddetince kurutulmuştur.

METH baskılanmış SPR sensör çiplerinin hazırlanması için izlenen işlem şu şekilde sıralanmıştır: (a) METH, metakrilik asit (MAA) monomeri ile koordinasyona girerek METH-MAA ön kompleksi teşkil edilmiştir; (b) bu ön-komplekse etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) ve hidroksietil metakrilat (HEMA) ajanları eklenmiştir; (c) monomer karışımına polimerizasyon başlatıcısı olan azobisisobütironitril (AIBN) ilave edilmiştir; (d) elde edilen son karışım, allil gruplarıyla modifiye edilmiş çip yüzeyine damlatılmıştır; (e) polimerik bir film oluşması amacıyla çip yüzeyinde polimerizasyon reaksiyonunun gerçekleşmesi için ultraviyole (UV) lamba altında tutulmuştur (Şekil 2.3); (f) son olarak hedef molekül olan MET polimer filminden uygun bir desorpsiyon ajanı ile uzaklaştırılma işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.4).

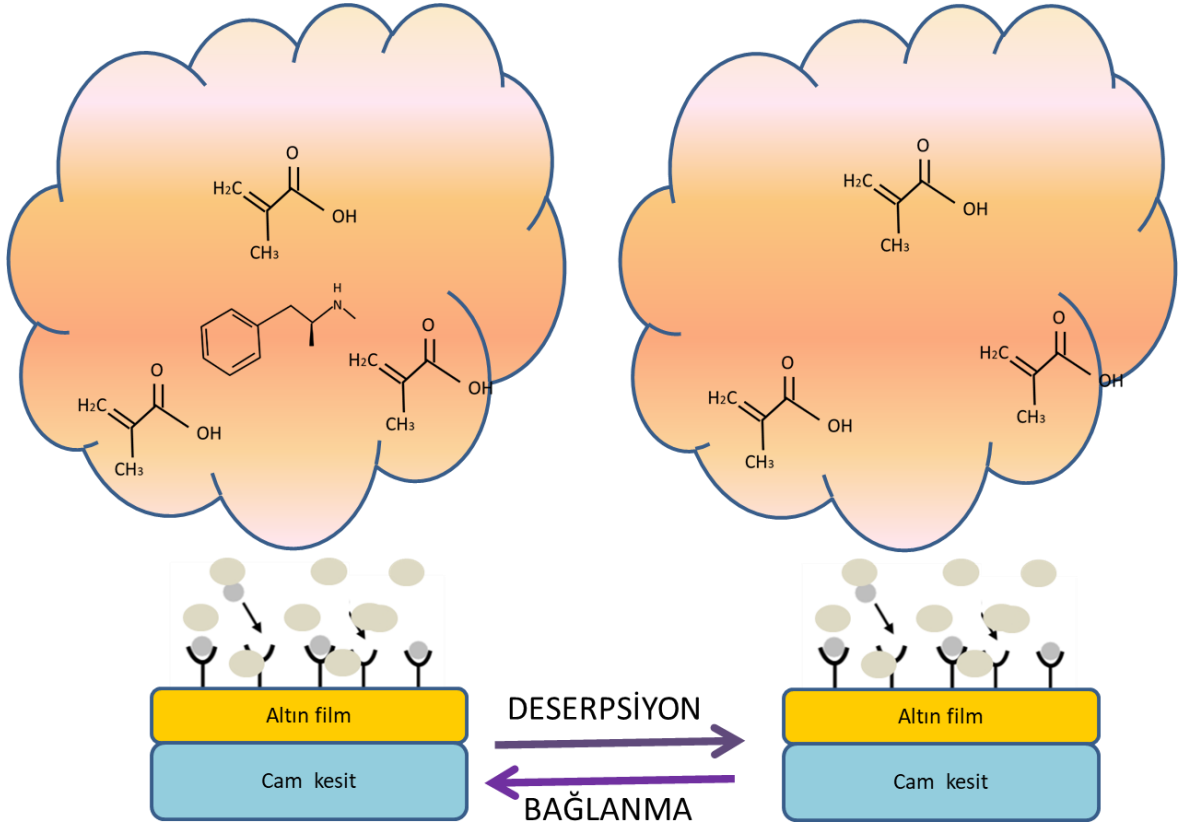
METH:MAA fonksiyonel monomer ön-kompleksi 20:1  $\mu moL$  oranında hazırlanmıştır. MAA monomeri, METH ile sekonder etkileşimler kurabilmesi için fonksiyonel monomer olarak tercih edilmiştir. Oluşturulan ön kompleks, sonrasında 2 saat boyunca 2  $\mu moL$  çapraz bağlayıcı (EGDMA) ve 1  $\mu moL$  monomer (HEMA) ile karıştırılmıştır. Ardından monomer karışımına başlatıcı olan AIBN eklenmiştir. Allil merkaptan ile modifiye edilen SPR çipin altın yüzeyine, 10  $\mu L$  polimer çözeltisi aktarılmıştır. UV lamba (UVP, Cambridge, UK) altında, tozsuz bir ortamda (365 nm, 100 W)  $37^\circ C$  sıcaklıkta 30 dakika süresince polimerizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir (Black-Ray B-100AP High Intensity UV Lamb). Polimer ile kaplanmış SPR çip yüzeyi, deiyonize su ve saf etil alkol ile yıkanmış ve  $40^\circ C$ 'deki bir etüvde kurutulmuştur (Akgönüllü, 2020).



Şekil 2.3: UV lamba altında polimerizasyon



Şekil 2.4: METH baskılanmış çiplerin tasarımının şematik diyagramı



**Şekil 2.4:** METH baskılanmış çiplerin tasarımının şematik diyagramı (devamı)

## 2.7 Kalıp Moleküllerin Desorpsiyonu

METH'in polimerik yapıdan sökülebilmesi için kalıp molekülün desorpsiyon ajanı ile etkileşime girmesi gerekmektedir. Desorpsiyon ajanının taşıması gereken nitelik ikincil etkileşimleri kırabilecek özellikte olmasıdır. Bu amaçla, desorpsiyon ajanı olarak hacimsel oranı 8:1:1 olan PBS/Metanol/Asetik Asit (HAc) çözeltisi kullanılmıştır. Buna ek olarak, METH baskılanmış polimer film kaplı çipler, 20 mL desorpsiyon çözeltisi içerisinde, 100 rpm çalkalama hızında bir inkübatörde oda sıcaklığında 2 saat süreyle çalkalama işlemine tabi tutulmuştur. Desorpsiyon işlemi tamamlanan sensör çipler, deiyonize su ile yıkanmış ve 25°C sıcaklıktaki bir etüvde kurumaya bırakılmıştır.

## 2.8 Baskılanmamış Çiplerin Tasarlanması

METH baskılanmamış (NIP: Non-Imprinted Polymer) sensör çipi, kalıp molekül olmaksızın üretilmiştir. Bu amaçla, hidroksietil metakrilat (HEMA) ve metakrilik asit (MAA) monomerleri kullanılarak bir polimer çözeltisi hazırlanmıştır. Polimerizasyonun başlatılması için 2 mg azobisisobütironitril (AIBN), hazırlanan polimer çözeltisine ilave edilmiştir. Ardından, 10 µL polimer çözeltisi, allil merkaptan ile modifiye edilen SPR çipin altın

yüzeyine damlatılmıştır. UV lamba (UVP, Cambridge, UK) altında, tozsuz bir ortamda (365 nm, 100 W) 37°C sıcaklıkta 30 dakika süresince polimerizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir (Black-Ray B-100AP High Intensity UV Lamb). Bu işlemler neticesinde elde edilen polimer kaplı SPR çip yüzeyi, deiyonize su ve saf etil alkol ile yıkanmış ve müteakiben 40°C sıcaklıktaki bir etüvde kurutulmuştur.

## 2.9 SPR Nanosensör Çiplerinin Karakterizasyonu

### 2.9.1 Temas açısı belirlenmesi

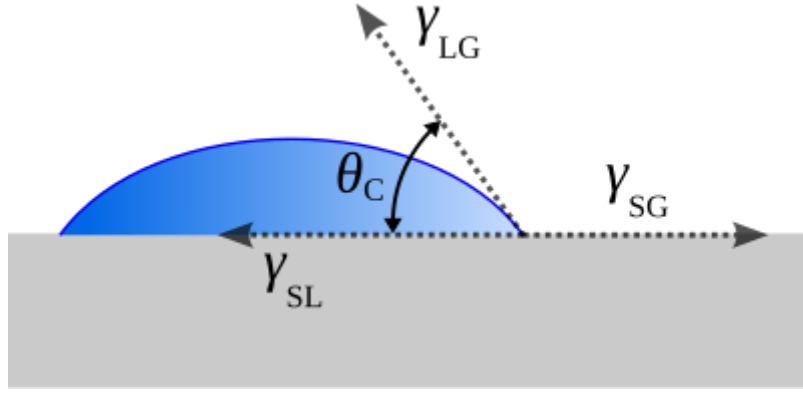
METH baskılanmış (MIP) ve baskılanmamış (NIP) yüzeylerin yanı sıra, modifiye edilmemiş ve allil merkaptan ile modifiye edilmiş çiplerin karakterizasyon analizlerinde temas açısı (CA) ölçüm cihazından yararlanılmıştır. Temas açısı ile tasarlanan çip yüzeyinin hidrofilitesi ölçülmüştür. Temas açısı hesaplama için sessile drop yöntemi, sıvı damlasının düz bir yüzey üzerinde bırakılması ve damlanın yüzeye yaptığı açının ölçülmesi ile gerçekleştirilir. Bu ölçümler için KRÜSS DSA100 (Hamburg, Almanya) cihazı kullanılmıştır. Sıvı-sıvı arayüzey gerilimi ve yüzey gerilimi ölçümleri Sessile Drop metodu ile gerçekleştirilmiş olup, SPR çiplerine ait ortalama temas açısı değerleri bu yöntemle hesaplanmıştır. Temas açısı analizi ile modifiye edilmiş SPR çip yüzeyinin yüzey hidrofilikliği tespit edilmiştir. Çip yüzeyi gibi katı bir yüzey ile bir sıvı arasındaki temas açısı, temas açısı cihazı kullanılarak tespit edilmiştir.

Young denklemi, bir sıvı damlasının bir katı yüzey üzerindeki davranışını açıklamak için kullanılan önemli bir fiziksel denklemdir. Bu denklem, sıvı-katı ve sıvı-gaz yüzey gerilimlerini dikkate alarak temas açısını hesaplamaya yardımcı olur. Katı bir yüzey ile temas halindeki bir sıvının oluşturduğu ara yüzeyde bir teğet açısı ( $\theta$ ) meydana gelmektedir. 1805'te Young tarafından tanımlanan Şekil 2.5'te gösterilen denklem şu şekilde ifade edilir:

$$\gamma_{SG} = \gamma_{SL} + \gamma_{LG} \cdot \cos\theta \quad (2.1)$$

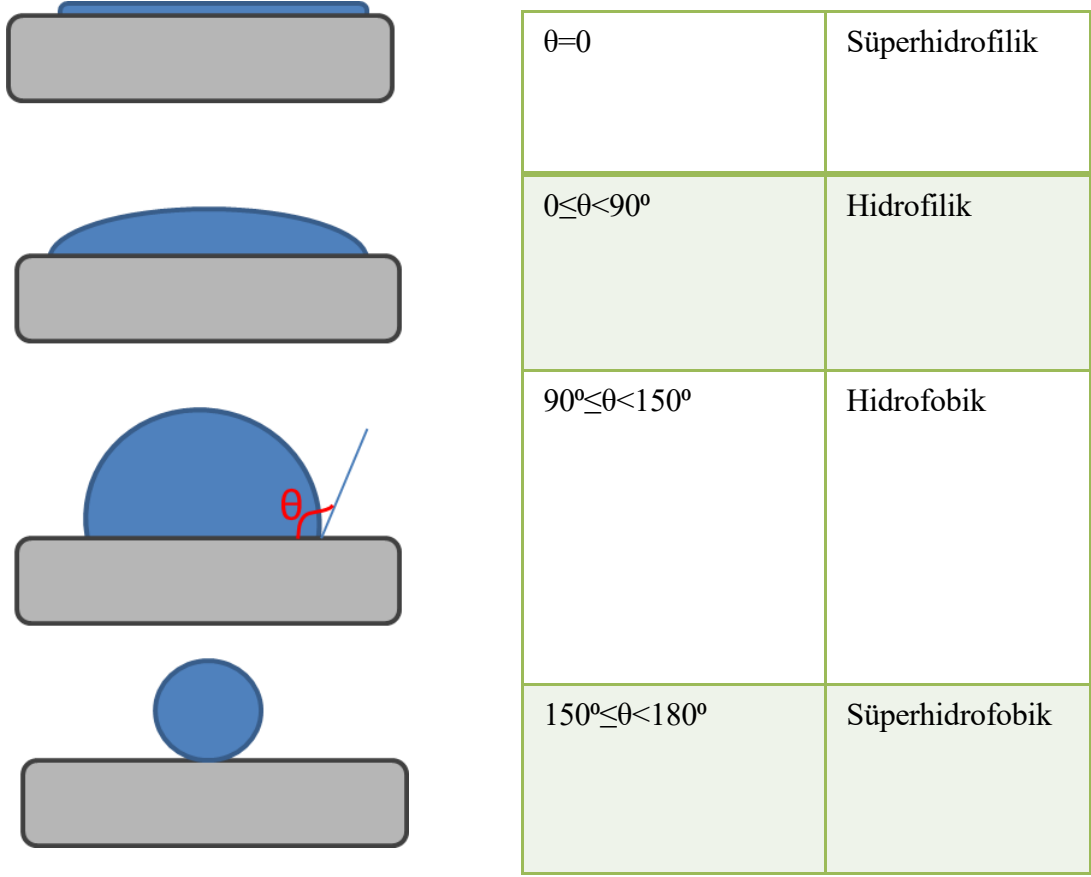
Burada:

- $\gamma_{SG}$  = Katı yüzey ile gaz arasındaki yüzey gerilimi (katı-gaz yüzey gerilimi)
- $\gamma_{SL}$  = Katı yüzey ile sıvı arasındaki yüzey gerilimi (katı-sıvı yüzey gerilimi)
- $\gamma_{LG}$  = Sıvı ile gaz arasındaki yüzey gerilimi (sıvı-gaz yüzey gerilimi)
- $\theta$  = Temas açısı



**Şekil 2. 5:** Young denklemindeki miktarları gösteren bir sıvı damlasının şeması

Temas açısı, bir sıvının katı bir yüzey üzerindeki ıslatılabilirliğini belirlemek için kritik bir değerdir. Temas açısının  $90^\circ$ 'den küçük olması, katı yüzeyin iyi derecede ıslandığını ve sıvının yüzey üzerinde geniş bir alana yayıldığını işaret etmektedir. Buna karşılık,  $90^\circ$ 'den büyük bir temas açısı, çoğunlukla katı yüzeyin zayıf ıslandığını, sıvının yüzey ile temasını minimize ederek daha yoğun bir damla formasyonu sergilediğini göstermektedir (Şekil 2.6). Bir su damlasının katı yüzeyi ile yaptığı farklı temas açıları ve buna bağlı ıslanmazlık durumu Şekil 2.7'de gösterilen temas açısı ölçüm cihazı ile ölçülmektedir.



**Şekil 2.6:** Bir su damlasının katı yüzeyi ile yaptığı farklı temas açıları ve buna bağlı ıslanmazlık durumu

### Uygulama Adımları

1. **Yüzey Gerilimlerinin Belirlenmesi:** İlk olarak, belirli sıvı ve katı kombinasyonları için yüzey gerilimlerini deneysel olarak belirlemek gerekir.
2. **Temas Açısının Ölçülmesi:** Sessile drop yöntemi kullanılarak sıvı damlasının katı yüzey üzerindeki temas açısı ( $\theta$ ) ölçülür. Bu açıyı doğrudan bir mikroskop veya görüntüleme sistemi ile ölçmek mümkündür.
3. **Young Denklemine Uygulanması:** Ölçülen temas açısı ve bilinen yüzey gerilimleri kullanılarak Young denklemi çözülür. Bu, sıvının katı yüzey üzerindeki ıslatma özelliklerini anlamada yardımcı olur.
4. **Sonuçların Yorumlanması:** Uygulanan denklemler ve elde edilen veriler, sıvının katı üzerindeki ıslatma davranışını analiz etmek için kullanılır. Bu, malzeme seçiminde veya yüzey modifikasyonlarında önemli bilgi sağlar.

Young denklemi ile temas açısının belirlenmesi, kaplama, boya uygulamaları ve biyomedikal uygulamalar gibi birçok mühendislik ve bilimsel uygulamada kritik öneme sahiptir.



**Şekil 2.7:** Temas Açısı Ölçüm Cihazı

### **2.9.2 Atomik kuvvet mikroskopisi (AFM)**

Yüzeylerin yüksek çözünürlükte taranmasını sağlayan gelişmiş bir teknik olan atomik kuvvet mikroskopunun (AFM) temel işlevi, katı yüzeylerin topografisini oldukça yüksek bir çözünürlükle görüntülemektir. Bunun yanı sıra, AFM, çeşitli uygulamalar için kuvvet-mesafe eğrilerini ölçme yeteneği ile de dikkat çekmektedir (Butt, Cappella, & Kappl, 2005). Bu çalışmada, üretilen SPR çiplerinin yüzey topografyasının karakterizasyonu amacıyla atomik kuvvet mikroskopu (AFM; Park System, XE-100E, Kore) kullanılmıştır. Bu yöntem, özellikle polimer film kaplı SPR çiplerin ve modifiye edilmemiş SPR çiplerin yüzey morfolojilerinin incelenmesinde kayda değer bir etkinlik sergilemiştir. Bu analizler non-contact modda gerçekleştirilmiş olup, bu sayede yüzeylerin incelenmesi sırasında hem hassasiyet hem de güvenilirlik sağlanmıştır. “Noncontact Mode” yönteminde, atomik kuvvet mikroskopu (AFM) atomik kuvvetlerinin kullanımıyla cantileverin eğilmesi sayesinde, örneğe fiziksel olarak dokunmadan detaylı bir topografik görüntü elde edilmektedir. Bu görüntüleme işlemi için, iğne örnek yüzeyinden 50-150 Angstrom uzaklıkta tutulur. Belirtilen bu uzaklık aralığında, prob ile örnek arasındaki Wan der Waals kuvvetlerinin etkileri baş göstermeye başlamaktadır. Bu kuvvetler, doğal olarak göreceli olarak zayıf

oldukları için, iğne saniyede 100.000 defa titreşerek bu zayıf etkileşimlerin doğru bir şekilde tespit edilmesini kolaylaştırmaktadır. Noncontact Mode'un en belirgin avantajlarından biri, iğnenin herhangi bir hasar görmeden inceleme yapabilmesi ve ayrıca yumuşak materyallerin ölçümünde daha yüksek doğruluk sağlamasıdır. Bu özellik, özellikle nazik yapıdaki örneklerin incelenmesi gerektiğinde büyük bir avantaj sunar. Farklı ölçeklerde, detaylı yüzey görüntüleri ve üç boyutlu (3D) görüntüler elde edilmiştir.

## 2.10 Metamfetamin Tayini

METH tayini amacıyla üretilen METH baskılanmış SPR çipler kullanılarak, SPR imager II sensör sistemi aracılığıyla kinetik analizler gerçekleştirilmiştir. Bu kinetik çalışmalar için, belirlenen derişim aralığında METH çözeltileri hazırlanmıştır. METH çözeltilerini 1.67  $\mu\text{M}$  ile 167.5  $\mu\text{M}$  derişimleri arasında hazırlamak için pH 7.4 olan PBS tamponu kullanılmış, akabinde SPR sensör sistemi üzerinde analiz edilmiştir. Hem METH baskılanmış hem de baskılanmamış polimer film kaplı SPR çipler, bu kinetik analiz çalışmalarında kullanılmıştır. Deneyde uyguladığımız işlem basamakları şu şekildedir:

- ✓ SPR çip yüzeyinin temizlenmesi için deiyonize su kullanılmış böylece yüzeyin yıkama işlemi yapılmıştır.
- ✓ Ardından METH baskılanmış çip, pH 7.4 olan PBS tamponuyla oda sıcaklığında dengelenmiştir. Bu işlemler sonunda plazmon rezonans açısı saptanmıştır.
- ✓ Müteakiben, pH 7.4 olan PBS tamponu, SPR sisteminden beş dakika boyunca geçirilerek sistemin dengelenmesi sağlanmıştır. Bu dengeleme aşamasının ardından, farklı derişimlerdeki METH çözeltileri sisteme ardışık olarak uygulanmıştır.
- ✓ Kırılma indisindeki değişimler eş zamanlı olarak izlenmiş ve dengeye ulaşıldığında, hacimsel oranı 8:1:1 olan PBS/Metanol/Asetik Asit çözeltisi kullanılarak 5 dakika süresince desorpsiyon işlemi uygulanmıştır.
- ✓ Desorpsiyon prosedürünün ardından sonraki aşamaların sorunsuz bir şekilde yürütülebilmesi için, SPR sensör sistemi su ve PBS tamponu ile titizlikle yıkanmış ve sistemde tekrar denge kurulmuştur. Bu dengeleme işlemi, sensörün hassasiyetini artırmak ve daha doğru sonuçlar elde etmek için son derece önemlidir. Ek olarak, farklı derişimlerdeki METH çözeltileri sisteme uygulanmadan önce, sistem güvenilirliğinin temini için adsorpsiyon, ardından desorpsiyon ve nihai olarak da temizleme basamakları özenle tekrar edilmiştir.
- ✓ SPR sensör sisteminde tespit edilen birincil SPR yanıtı parametresi, Piksel Yoğunluk Birimi anlamına gelen PIU (Pixel Intensity Unit) olarak adlandırılmaktadır. Bu birim

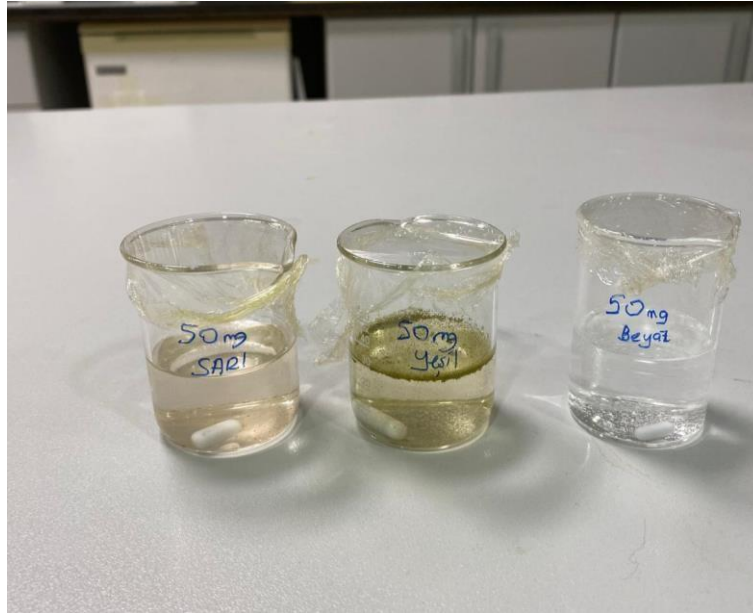
içerisinde elde edilen SPR sinyal değişimi, yansımada meydana gelen gerçek değişimi temsil edecek şekilde  $\% \Delta R$  şeklinde dönüştürülmüştür. SPR sensörünün sağladığı sinyal yanıtı ise belirli bir yüzey kapsamının  $\% \Delta R \leq 10\%$  aralığında, lineer bir fonksiyon olarak değerlendirilmektedir. Bu lineer fonksiyon, yüzeydeki değişimlerin SPR yanıtına olan etkisini daha anlaşılır bir şekilde ortaya koymaktadır.

### 2.11 Metamfetamin Çözeltilerinin Hazırlanması

METH çözeltilerini farklı derişimlerde hazırlamak için öncelikle 50 mg metamfetamin 50 mL PBS tampon çözeltisine eklenmiştir. Hazırlanan karışıma 3500 rpm'de 10 dak santrifüj işlemi uygulanmıştır. Bu sayede stok çözeltiden seyreltme işlemi ile 1.67  $\mu\text{M}$  ile 167.5  $\mu\text{M}$  derişimlerde çözeltiler elde edilmiştir. Bu derişimler METH-MIP SPR nanosensörü ile analiz edilmiştir.

### 2.12 Metamfetamin Seçicilik Çalışmaları

Moleküler baskılama yönteminde seçicilik, hedef moleküller için özel olarak tasarlanmış polimerlerin kullanılmasıyla sağlanır. Bu polimerler, hedef molekülle yüksek seçicilik gösteren üç boyutlu yapılar ve bağlanma bölgeleri içerir. Bu yapıların, hedef molekülleri etkili bir şekilde ayırt edebilme yeteneği vardır. METH baskılanmış nanosensörlerin seçiciliklerinin belirlenmesi için diğer uyarıcı maddeler esrar (yeşil), eroin (sarı), kokain (beyaz) ile yapıca METH'e benzer histidin 33.5  $\mu\text{M}$  (PBS) derişim kullanılmıştır (Şekil 2.8).



Şekil 2.8: Diğer uyarıcı madde çözeltileri

Seçicilik katsayısı (k), bağlanma sabiti ve rekabetçi bağlanma dinamikleri göz önüne alınarak belirlenir. METH için seçicilik katsayısı, METH bağlanma seçicilik katsayısı (k) denge bağlanma sabiti üzerinden elde edilir. Diğer uyarıcı maddeler ve histidin için METH'e göre seçicilik katsayısı olan k aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmaktadır:

$$k = \frac{\Delta R_{kalıp}}{\Delta R_{yarışmacı}} \quad (2.2)$$

Bağlı seçicilik katsayısı (k'), moleküler baskılama yönteminin etkinliğini değerlendirmek için son derece önemli bir parametredir. Bu katsayının önemi şunlardır:

**Seçicilik Ölçüsü:** Bağlı seçicilik katsayısı, belirli bir hedef molekülün diğer moleküllere göre ne ölçüde seçildiğini gösterir. Yüksek bir k' değeri, istenen hedef molekül için daha yüksek bir seçiciliği ifade eder.

**Moleküler Tasarım:** Moleküler baskılama yöntemi ile tasarım yaparken, bağlı seçicilik katsayısı hedef moleküllerin nasıl optimize edileceği ve hangi özelliklerin öncelikli olması gerektiği konusunda bilgi verir.

**Klinik Uygulamalar:** İlaç tasarımı ve geliştirme süreçlerinde k' değeri, ilaçların etkinliği ve güvenliği açısından kritik bir role sahiptir. Daha yüksek bağlı seçicilik katsayıları, istenmeyen etkileşimlerin azalmasına yardımcı olabilir.

**Performans Değerlendirmesi:** Yöntemin farklı koşullardaki performansını değerlendirmek için kullanılır. Farklı baskılama stratejileri veya moleküler yapılar arasındaki karşılaştırmalar yapmak kolaylaşır.

**Geliştirme Sürecine Katkı:** Bağlı seçicilik katsayısı, araştırmacıların hangi moleküllerin daha iyi baskılanacağını anlamalarına yardımcı olur ve dolayısıyla daha etkili baskılama yöntemlerinin geliştirilmesine katkıda bulunur.

Sonuç olarak, bağlı seçicilik katsayısı, moleküler baskılama yönteminin etkinliğini değerlendirme ve optimize etme açısından kritik bir parametre olarak kabul edilir.

Verilen denklem vasıtasıyla bağlı seçicilik katsayısı (k') hesaplanmaktadır;

$$k = \frac{k_{MIP}}{k_{NIP}} \quad (2.3)$$

METH baskılanmış çiplerin seçilicilerinin belirlenmesi için diğer uyarıcı maddeler ve histidin karşılaştırılmıştır. 33.5 µM derişimde hazırlanan numuneler sisteme uygulanmış ve elde edilen veriler kaydedilmiştir.

### 2.13 Tekrarlanabilirlik Sonuçları

Moleküler baskılama yönteminde tekrarlanabilirlik, belirli ölçüm koşulları altında aynı analitin ardışık ölçümleri arasındaki sonuçların uyumlu olmasını ifade eder. Yani, aynı hedef molekül ile yapılan tekrarlı deneylerin benzer sonuçlar vermesi beklenir. MIP esaslı SPR nanosensörlerin önemli üstünlüklerinden biri, tekrar tekrar kullanılabilir olmalarıdır. SPR tabanlı sensörler aracılığıyla analitlerin doğrudan ve etiketsiz tayininin tekrarlanabilir bir şekilde gözlemlenmesi ve sensör tepkisinde kayda değer kapasite değişimlerinin saptanmaması, bu avantajın önemini vurgulamaktadır. Bu bağlamda, METH baskılanmış polimer kaplı nanosensörlerin yeniden kullanılabilirliğini değerlendirmek amacıyla 67.01 µM METH çözeltisi SPR sistemine 5 defa tekrarlı bir şekilde uygulanmıştır.

### 2.14 Farklı pH değerlerinde inceleme

METH baskılanmış polimer kaplı nanosensörlerin farklı pH larda uygulanabilirliğini incelemek için pH 4, pH 5 ve pH 6 çözeltileri ile 67.01 µM çözeltileri hazırlanmıştır. PBS 7,4 yerine farklı pH çözeltileri kullanılarak sisteme verilmiştir.

### 2.15 Plasma ve idrarda inceleme

Moleküler baskılama tekniğiyle (MIP) üretilmiş SPR sensörünün METH tayinindeki duyarlılığı ve seçiciliği, yapay idrar ve plazma matrislerinde çözülmüş METH standartları kullanılarak değerlendirilmiştir. Kalıp molekülünün tekrar bağlanma davranışının incelenmesi amacıyla, MIP esaslı SPR sensörleri beş dakika süreyle farklı derişimlerdeki METH çözeltilerine (yapay idrar ve plazma içinde hazırlanmış) maruz bırakılmıştır. İdrar bazlı analizlerde kontrol materyali olarak Cerilliant (ABD) firmasının Surine™ negatif idrar kontrolü kullanılmıştır. Bu materyal, insan idrarının temel bileşenlerini içeren stabil ve biyolojik olmayan bir matris sunmaktadır. Aynı zamanda kullanım kolaylığı ve tam homojenliğe sahip, kokusuz bir ortam sağlamaktadır. Yapay insan plazması ise Tokra Medical (Ankara, Türkiye) firmasından temin edilmiştir. MTI™ kontrol plazması, rutin ve

özel koagülasyon analizlerinde kullanılmak üzere insan kaynaklı normal plazmadan elde edilmektedir. Yapay idrar ve plazma örneklerinde METH tayini için AuNP-MIP SPR sensörler kullanılabilir. Bu amaçla, çalışmada uyguladığımız tüm derişimlerdeki stok çözeltiler yapay idrar ve yapay plazma ile hazırlanmıştır. METH stok çözeltisi 167,5 µM (PBS çözeltide) derişimlerde hazırlanmıştır ve daha sonra yapay idrar ve plazmada 1,67 µM ile 167,5 µM arasındaki derişimlerde seri olarak seyreltilmiştir. 150 sn boyunca pH 7.4 fosfat tamponu sisteme verilerek sistem dengeye getirilmiş sonrasında 5 dakika boyunca sadece yapay plazma çözeltisi sisteme verilmiş ve son aşama olarak da 3 dakika boyunca desorpsiyon çözeltisi sistemden geçirilmiştir. Aynı işlem yapay idrar çözeltileri için de gerçekleştirilmiştir.

### 2.16 Baskılanmamış Nanosensör ile Metamfetamin Tayini

METH baskılanmış nanosensörlerin seçicilik ve baskılama etkinliğinin saptanması amacıyla, baskılanmamış bir nanosensör çipi de tasarlanmıştır. Farklı derişimlerde METH çözeltileri hazırlanmıştır ve NIP nanosensör sisteminden geçirilmiştir.

### 2.17 Kinetik Modeli

SPR kinetik modeli, moleküller arası etkileşimlerin dinamiklerini anlamak için kullanılan bir yöntemdir. Bu model, belirli bir bağlanma dinamiğine sahip molekül çiftlerinin bağlanma ve ayrılma oranlarını analiz etmek amacıyla uygulanır.

SPR sensörlerin hedef molekül ile polimer film arasındaki etkileşimlerin detaylı bir şekilde incelenmesi amacıyla METH baskılanmış SPR nanosensörlerinin kinetik ve izoterm analizi yapılmıştır. Bu çalışmada, toplam bağlayıcı taraf miktarı [BS]<sub>0</sub>, SPR çip yüzeyinde bulunan toplam METH miktarına eşdeğer olarak, maksimum analit bağlama kapasitesini ifade etmektedir. Bu yaklaşım, tüm derişimlerini bir SPR tepki sinyaline dönüştürme olanağı tanır. Elde edilmiş olan tepki sinyali  $\Delta R$ , maddenin kütlesinin molar derişime dönüştürülmesini gereksiz kılarak daha sade bir veri analizi sunar. Ek olarak, serbest analit derişiminin akış hücresinde sabit kaldığı varsayılan birinci dereceden kinetik şartlar altında bağlanma olayı aşağıdaki matematiksel denklemler aracılığıyla belirtilebilir;

$$\frac{d\Delta R}{dt} = k_a C(\Delta R_{max} - \Delta R) - k_d \Delta R \quad (2.4)$$

$d\Delta R/dt$ : SPR yanıt sinyalinin değişim hızını  
 $\Delta R$  ve  $\Delta R_{max}$ : analit bağlandıktan sonra ölçülen ve maksimum tepki sinyalini  
 $C$ : hedef analit derişimini (ng/mL)  
 $k_a$ : bağlanma hız sabitini ((ng/mL)<sup>-1</sup> · s<sup>-1</sup>)  
 $k_d$ : ayrılma hızı (s<sup>-1</sup>) sabitlerini temsil etmektedir.

Denge durumunda  $d\Delta R/dt = 0$  olur. O halde denklem şu şekilde yeniden yazılır:

$$\frac{\Delta R_{eq}}{C} = K_A \Delta R_{max} - K_A - \Delta R_{eq} \quad (2.5)$$

Hız sabitleri  $k_a$  ve  $k_d$  kullanılarak  $K_A$  değeri hesaplanabilir ( $K_A = k_a/k_d$  (ng/mL) eşitliği kullanılabilir).

$$\frac{d\Delta R}{dt} = k_a C \Delta R_{max} - (k_a C + k_d) \Delta R \quad (2.6)$$

Derişimsinyalleri, analit derişimi ile doğrusal bir korelasyon gösteren başlangıç bağlanma hızı ( $\Delta R = 0$  anındaki hız) kullanılarak elde edilmektedir. Yüzeyin tam anlamıyla doyurulması için oldukça yüksek bir analit derişimi gerekmekte olduğundan,  $\Delta R_{max}$  değerini deneysel bir şekilde belirlemenin oldukça zor olduğu belirtilmelidir. Eğer  $\Delta R_{max}$  değeri önceden belirlenmişse, bu durum hem  $k_a$  (bağlanma hızı) hem de  $k_d$  (kopma hızı) parametrelerinin yalnızca bir tekleştirilmiş sensorgram üzerinden hesaplanabilmesine olanak tanır. Genellikle, farklı analit derişimlerine bağlı olarak bağlanma sensorgramlarının değerlendirilmesi, bilimsel ve analitik çalışmalar açısından uygun bir metodolojik yaklaşım olarak kabul edilir. İleri ve geri oranların  $S$  değeri ile ilişkili biçimde ele alınması, toplam dedektör yanıtındaki değişimlerin ( $d\Delta R/dt$ ) ve  $\Delta R$ 'nin zamana bağlı değişiminin gözlemlenmesi sonucunda elde edilen verilerin derinlemesine analizinde önemli rol oynar. Söz konusu değişimler, aşağıda belirtilen yöntem çerçevesinde grafiğe dökülerek ve eğim hesaplanarak belirlenebilir.

$$S = k_a C + k_d \quad (2.7)$$

S'nin C'ye göre grafiği, eğimi  $k_a$  olduğundan dolayı düz bir çizgi şeklinde görünmektedir. Bu düz çizginin koordinat ekseninde kesiştiği nokta,  $C=0$  koşuluna karşılık gelen  $k_d$  değerine dayanmaktadır. Ancak pratikte gözlemlenen bu durum,  $k_a C > k_d$  olduğu süre boyunca, ayrılma hızı sabitinin güvenilir bir ölçüsü olarak her zaman kullanılabilir bir yöntem sunmamaktadır. Bu bağlamda, söz konusu değer, doymuş bağlanma bölgelerinden ayrışmanın daha kesin ve doğru bir şekilde değerlendirilmesi için, analit içermeyen bir tampon çözelti akışının doğrudan ölçülmesi yoluyla elde edilebilir. Ayrışma süreci şu şekilde ölçülmektedir:

$$\ln (\Delta R_0 / \Delta R_t) = k_d (t - t_0) \quad (2.8)$$

$\Delta R_0$ ,  $t_0$  anındaki başlangıç tepki seviyesini ifade ederken,  $(\Delta R)$ , ayrılma eğrisi boyunca  $(t)$  zamanlarında elde edilen değerleri göstermektedir. Bağlanma kinetiğinin analizi aşğıdaki yaklaşıma göre yürütülmüştür:

$$\frac{\Delta R_{ex}}{C} = K_a \Delta R_{max} - K_A \Delta R_{eq} \quad (2.9)$$

Bağlanma bölgelerinin sayısının belirlenmesi ve serbest geri bağlanmalı hedef/polimer yüzey etkileşimlerine ait verilerin analizi genellikle Scatchard metodu kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Bu yöntem, özellikle bağlanma bölgelerinin özelliklerini belirlemek ve etkileşimlerin dinamik yapısını anlamak açısından önemli bir rol oynamaktadır. Kinematik hız sabitlerinin belirlenmesinde ise bağlanma kinetik analizi yaklaşımının yanı sıra denge analizi yaklaşımı (Scatchard metodu) ile bu yaklaşımların birbirleriyle olan etkileşimleri ayrıntılı olarak incelenmiştir. Bu iki yaklaşım, bağlanma olaylarının zaman içindeki gelişimini ve denge durumlarını daha iyi anlamaya yardımcı olmaktadır (Akgönüllü, 2020).

## 2.18 Adsorpsiyon Modeli

Adsorpsiyon olayı, maddenin ara yüzeylerinde bulunan moleküller arasında meydana gelen kuvvetlerin dengesizliğinden ve bu kuvvetlerin bir türü olan Van der Waals kuvvetlerinden kaynaklanmaktadır. Genel olarak bu süreç, iki ana kategoriye ayrılmaktadır; bunlar fiziksel

ve kimyasal adsorpsiyon olarak adlandırılmaktadır. Fiziksel adsorpsiyon durumunda, adsorbant ve adsorbent arasındaki etkileşimler oldukça zayıf bir karakter taşımaktadır. Bu tür zayıf etkileşimler, genellikle Van der Waals etkileşimleri olarak tanımlanır ve moleküller arasındaki çekim kuvvetlerinin hafif fakat sürekli bir etki yarattığı durumları ifade eder. Öte yandan, kimyasal adsorpsiyon süreci, moleküller arasında kimyasal bağların kurulmasından ve bu bağların oluşturulmasından kaynaklanmaktadır. Bu durum, kimyasal değişimlerin ve güçlü etkileşimlerin meydana geldiği bir süreçtir.

Adsorpsiyon olayının davranışları, pek çok faktöre bağlı olarak değişebilmektedir. Bu değişimlerin incelenmesi, "adsorpsiyon izotermi" adı verilen bağıntıların kullanılmasıyla gerçekleştirilmektedir. Sabit bir sıcaklıkta, adsorban tarafından belirli bir miktarda adsorplanan madde ile denge noktasındaki basınç veya derişimarasındaki ilişkiyi tanımlayan bu bağıntılar, adsorpsiyon sürecinin dinamiklerini anlamada önemli bir rol oynamaktadır. Adsorpsiyon izotermi, bu süreçte meydana gelen etkileşimleri ve sistemin genel davranışını açıklamak amacıyla kısaca adsorpsiyonun denge özelliklerini özetlemek için çeşitli izoterm denklemlerinden yararlanılmaktadır.

Moleküler baskılama temelli nanosensörlerin tanıma performansı, seçiciliği ve yüzey homojenliğinin karakterizasyonunda adsorpsiyon modellerinden yararlanılmaktadır. Bu modeller, sensörlerin performansını ve verimliliğini anlamak açısından hayati bir öneme sahiptir. Elde edilen deneysel verilerin açıklanması ve analizi amacıyla Langmuir, Freundlich ve Langmuir–Freundlich izoterm modelleri hesaplanmış ve literatüre kazandırılmıştır. Langmuir izoterm modeli, homojen bir bağlanma bölge modeli olarak öne çıkmaktadır ve MIP temelli etkileşim modeli ile uyumlu olduğu için bu model yaygın bir şekilde tercih edilmektedir. MIP'lerin etkileşim özelliklerinin anlaşılması açısından Langmuir modeli oldukça faydalı ve kullanışlıdır. MIP'lerin heterojen bağlanma bölgelerine sahiptir. Bu durum, yüzeylerde farklı özelliklere sahip alanların varlığını belirtmektedir. Freundlich modeli ise, heterojen bir yapıya sahip bir modeldir. Düşük derişimbölgesindeki MIP adsorpsiyon izoterm verilerine mükemmel bir uyum sergilemekte, bu özellik onu bu tür verilerin analizi için uygun kılmaktadır. Ancak, Freundlich modeli doyunluk davranışını açıklama konusunda yetersiz kalmakta ve yüksek derişimbölgelerinde deneysel izotermi belirsiz sapmalar sergilemektedir. Bu nedenle, Freundlich modeli, analit moleküllerinin çok katmanlı bağlanmasını ifade etmede değerli bir araç olarak kabul edilmektedir (Abu-Alsoud et al., 2020). Yüksek regresyon katsayısına sahip olan ve

deneysel verilerle uyum gösteren Langmuir-Freundlich modeli ise heterojen sistemlere uygulanabilmektedir.

### 2.18.1 Langmuir adsorpsiyon modeli

Langmuir adsorpsiyon modeli, bir adsorbatın izotermal koşullar altında ideal bir gaz olarak davrandığını varsayarak, adsorpsiyon sürecini detaylı bir şekilde açıklar. Bu model, adsorpsiyon ve desorpsiyonun birbirinin tersine gerçekleşen işlemler olduğunu kabul eder ve bu durum, gaz ve katı arasındaki etkileşimler açısından oldukça önemlidir. Langmuir izotermi, adsorpsiyon ve desorpsiyon süreçlerini dengeleyerek, özellikle yüzey içeriğinin nasıl oluştuğunu ve dinamik denge durumunda bu süreçlerin birbirleriyle nasıl etkileşimde bulunduğunu detaylı bir şekilde açıklar. Bu bağlamda, adsorpsiyon olayı, adsorban yüzeyinin henüz açık olan fraksiyonu ile doğrusal bir orantılılık gösterirken, diğer yandan desorpsiyon olayı, kaplanan yani dolmuş olan adsorban yüzeyinin fraksiyonu ile orantılı bir ilişki sergilemektedir. Yüzeyin bu iki durumda dengeye ulaşabilmesi için, her iki olayı etkileyecek birçok faktör bulunmaktadır (Nimibofa et al., 2017). Böylece, adsorpsiyon ve desorpsiyon süreçlerinin dinamikleri, Langmuir modelinin temel parametreleri üzerinden anlaşılabilir hale gelir. Langmuir adsorpsiyon denklemi:

$$qe = \frac{bQ_0Ce}{1+bCe} \quad (2.10)$$

- $C_e$ : denge analit (adsorbat) derişimini ifade etmektedir: (mg/L)
- $q_e$ : analitin miktarı: mg/g
- $Q_0$ : teorik tek tabakalı kapasite (mg/g)
- $b$ : adsorpsiyon denge sabitidir.

### 2.18.2 Freundlich izoterm modeli

Adsorpsiyon süreçlerini tanımlayan en eski ve en bilinen bağlantılardan birisi Freundlich izoterm adsorpsiyon denklemdir. Bu izoterm, heterojen yüzeylerde meydana gelen adsorpsiyon olaylarına uygulanabilme özelliğine sahiptir. Freundlich izotermi, aktif alanların ve bu alanların enerjilerinin yüzey heterojenliğini göstermekle birlikte, ayrıca bu alanların üstel dağılımını da tanımlayan önemli bir ifadedir (N. Ayawei et al., 2015). Temel olarak, çözültideki analit derişiminin artması ile birlikte, adsorban yüzeyindeki analit derişiminin de arttığını ifade eder. Bu artış, yüzeydeki mevcut alanların doygunluğuna kadar devam eder ve dolayısıyla, bu ilişki üstel bir ifadeye sahip olduğu varsayılır. Bu durum,

çözeltinin derişim düzeyleri ile yüzeydeki analit derişimi arasındaki güçlü bağlantıyı ortaya koymaktadır.

Freundlich İzoterm denklemleri:

$$q_e = K_f \cdot C_e^{1/n} \quad (2.11)$$

Denklemlerde yer alan  $K_f$  ve  $n$  ( $n > 1$ ), sırasıyla adsorpsiyon kapasitesini ve adsorpsiyon yoğunluğunu temsil eden Freundlich sabitleridir.  $K_f$ , adsorpsiyon kapasitesinin bir göstergesidir. Maksimum kapasite ne kadar yüksekse,  $K_f$  de o kadar yüksektir.  $1 / n$ , adsorpsiyon yoğunluğunun bir ölçüsüdür.  $1 / n$  değeri ne kadar yüksekse, adsorpsiyon daha uygundur.

Adsorpsiyon süreçlerinden elde edilen doğruluk düzeyi, büyük oranda adsorpsiyon izotermelerinin başarılı bir şekilde modellenmesi ve yorumlanmasına bağlı olarak farklılık arz etmektedir. Bu nedenle, çeşitli adsorpsiyon sistemlerinde karşılaşılan farklı koşullar ve dinamikler göz önünde bulundurularak, bu sistemler için uygun olan çeşitli modellerin belirlenmesi ve detaylı bir şekilde açıklığa kavuşturulması son derece önemlidir. Her bir adsorpsiyon sisteminin kendine özgü özellikleri, bu doğrultuda en uygun modelin seçimini ve uygulanmasını zorunlu kılmaktadır.

### 3. BULGULAR

#### 3.1 Metamfetamin- Metakrilik Asitin (MAA) Oranının Belirlenmesi

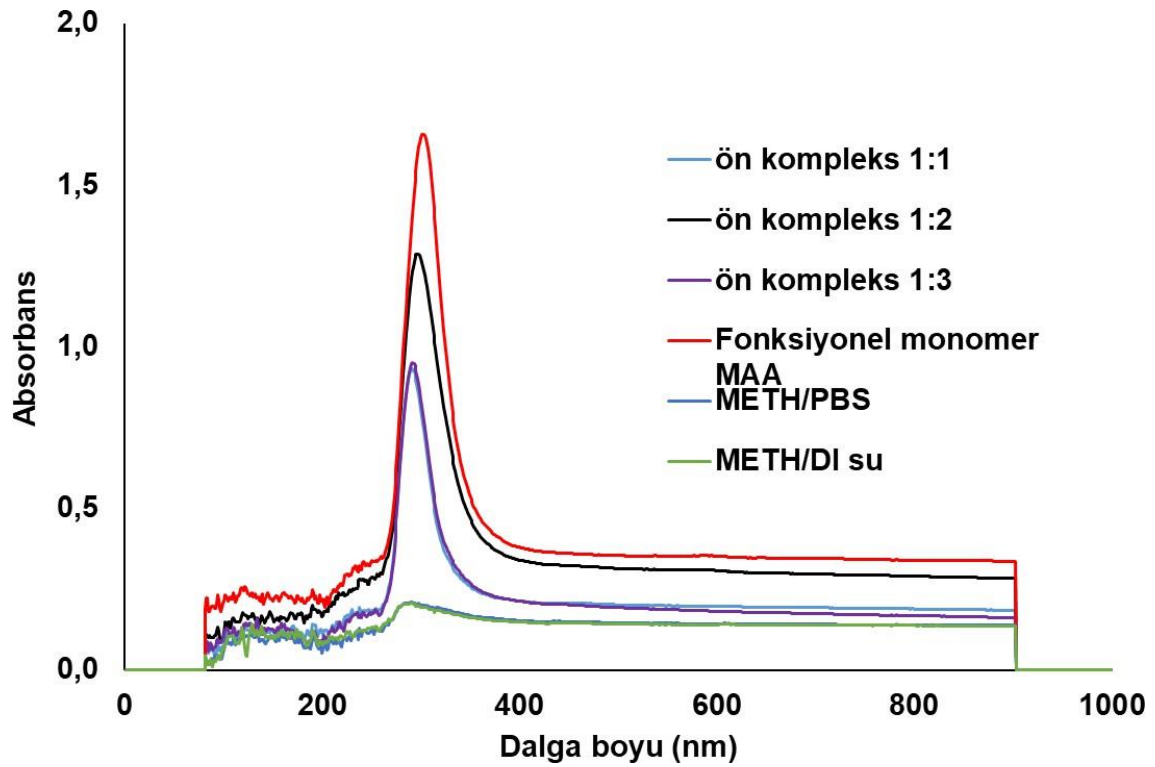
Kalıp molekül METH belirli bir oranda sabit tutularak Tablo 3.1’ de görülen değişen mol oranlarında MAA monomeri ile ön karışım oluşturulmuştur. Bu karışım 100, 200 ve 300 µmol değişen oranlarda MAA ve 100 µmol METH ile hazırlanmıştır. Daha sonra elde edilen karışımlardan Şekil 3.1’de gösterilen UV spektrofotometrede dalga boyu taraması yapılmış 268 nm dalga boyunda pik elde edilmiştir. Elde edilen absorbans değerleri ait Şekil 3.2’de gösterilmiştir. Şekil 3.2’de de görüldüğü gibi en yüksek absorbans değerine 1:2 önkompleks oranıyla elde edilmiştir. Tüm analizlerde çalışılmak üzere bu oranda METH stok çözeltisi olarak hazırlanmıştır.

**Tablo 3.1:** Metamfetamin- metakrilik asit (MAA) oranları

Metamfetamin (METH)	Miktarı	Metakrilik Asit (MAA)	Miktarı	Çalışma Oranı (µmol)
14.9 mg		85 µL		1:1
14.9 mg		170 µL		1:2
14.9 mg		255 µL		1:3



**Şekil 3.1:** UV spektrofotometre



Şekil 3.2: Absorbans değerleri

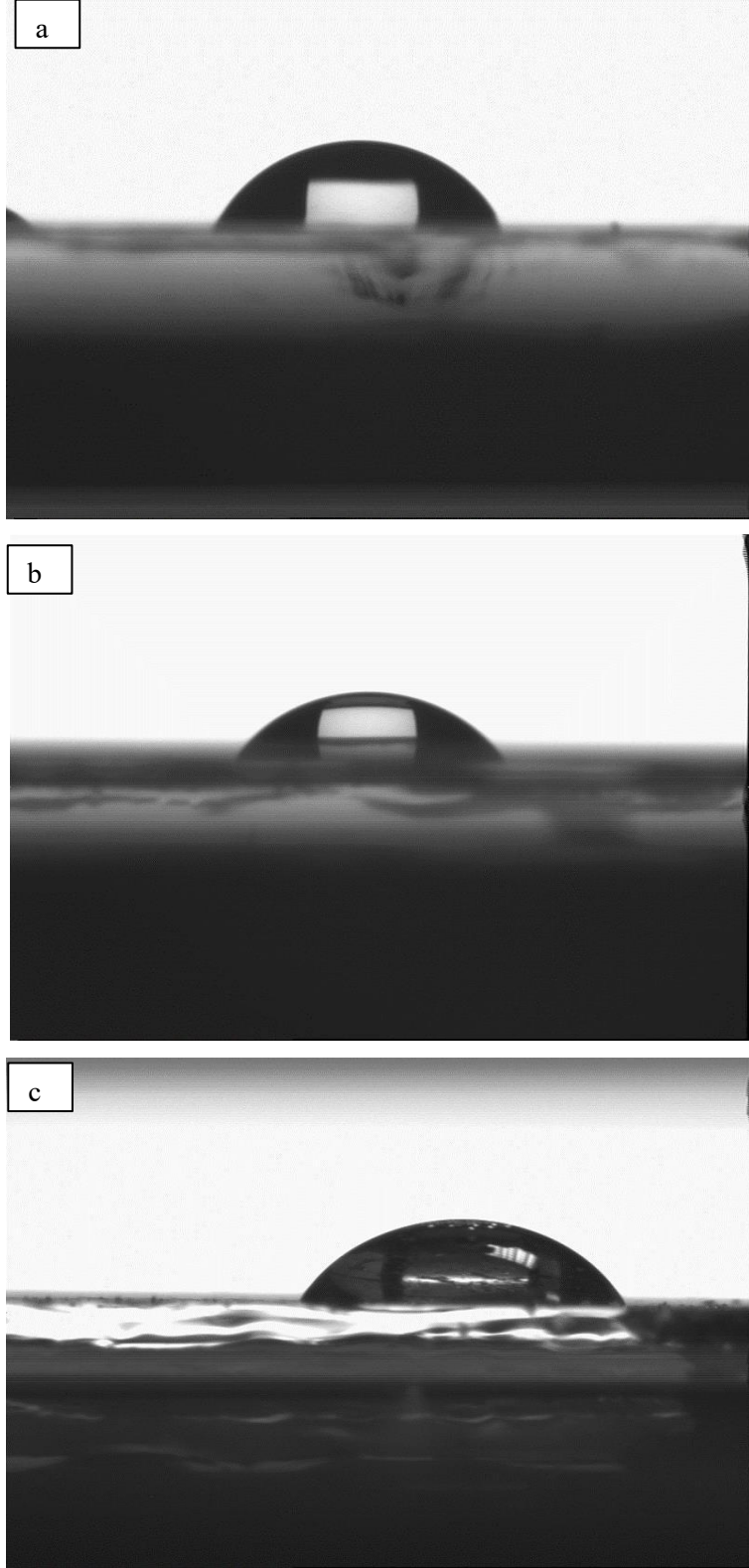
### 3.2 Metamfetamin Baskılanmış SPR Sensör Çiplerin Karakterizasyon Sonuçları

#### 3.2.1 Temas açısı analizi

Yapışık damla (Sessile Drop) yöntemiyle, SPR çiplerin polimer kaplı altın yüzeyine yerleştirilen su damlacıkları aracılığıyla temas açıları hesaplanmıştır. Farklı altın yüzey bölgelerine su damlatılarak üç ayrı fotoğraf çekilmiştir. Her damla için özel olarak temas açıları belirlenmiş; bu süreçte sol ve sağ temas açısı (damlacığın katı yüzeyle temas noktaları) ayrı ayrı saptanmıştır. Elde edilen bu verilerin ortalaması alınarak genel bir temas açısı değeri hesaplanmıştır. Elde edilen temas açısı değerleri Tablo 3.2’ de görselleri de Şekil 3.3 ’te gösterilmiştir.

Tablo 3.2: Temas açısı ölçüm sonuçları

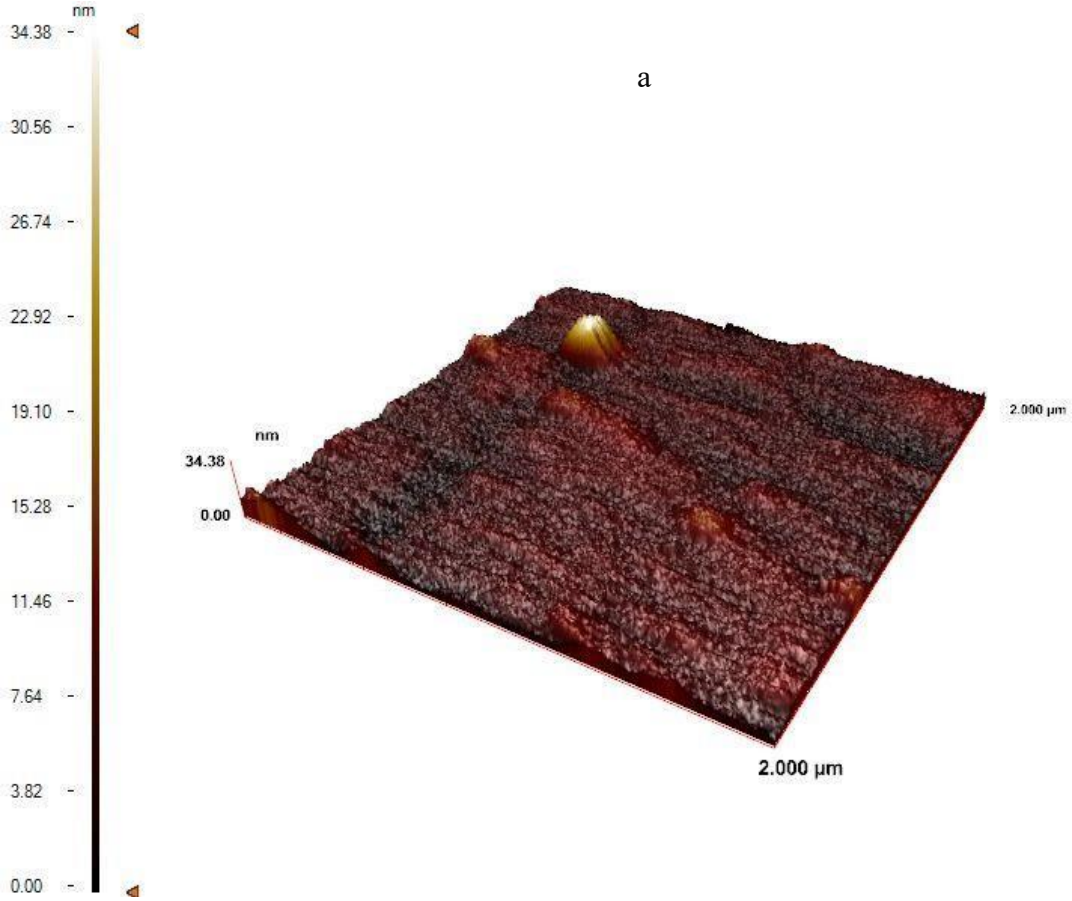
Yüzey	Temas Açısı Değerleri
Boş Çip	67.6
Alil Modifiyeli Çip	57.3
MIP Çip	53.3



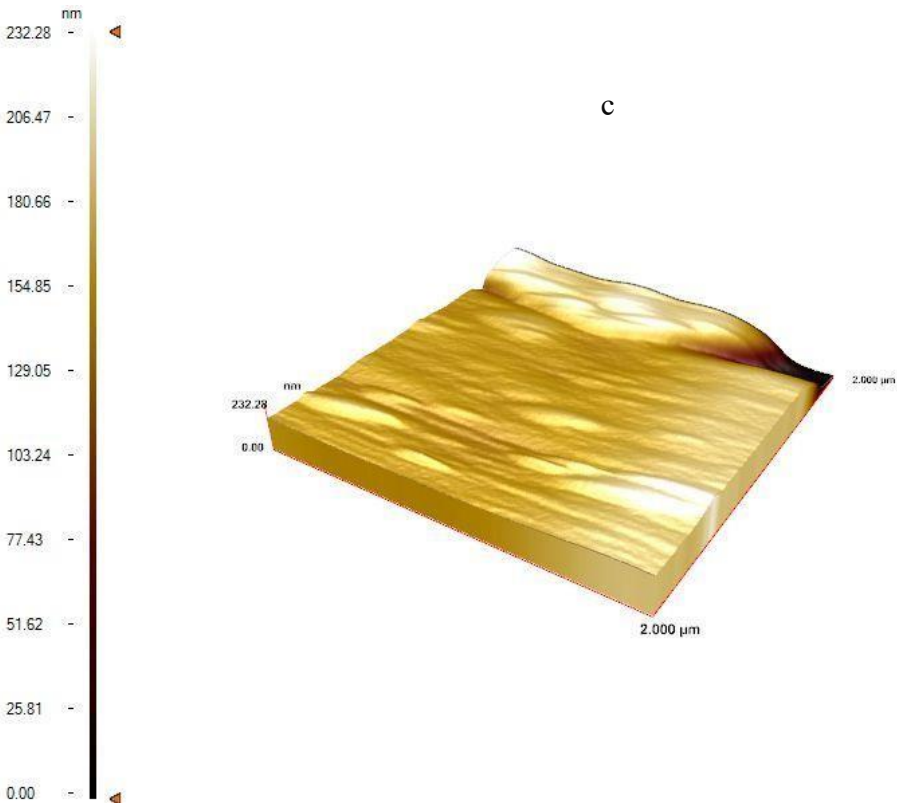
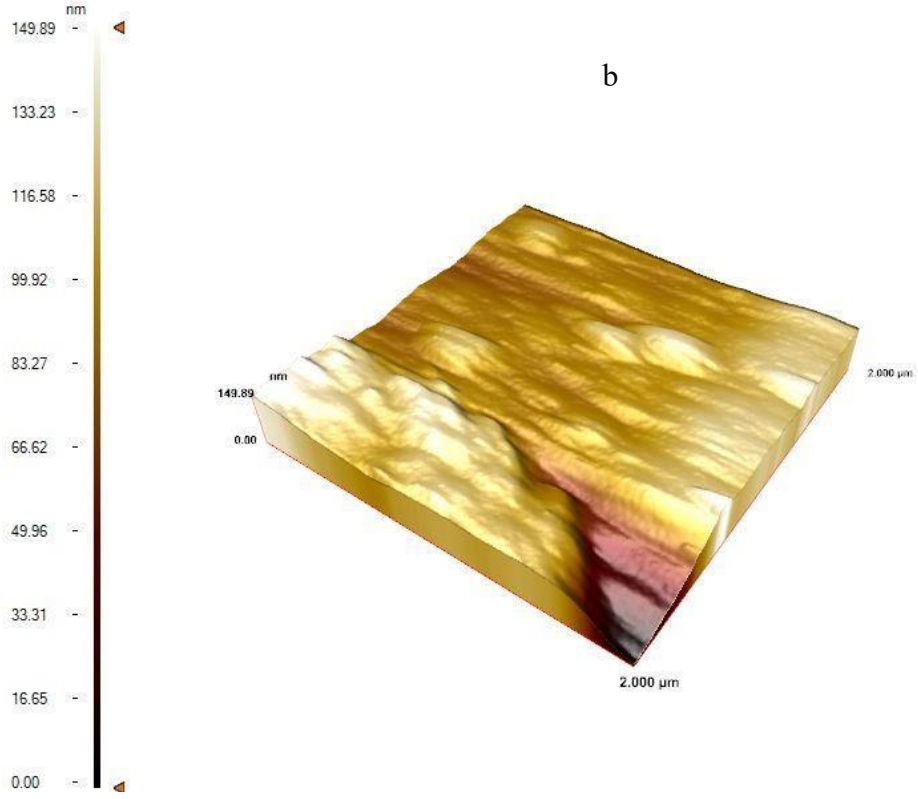
**Şekil 3.3:** SPR nanosensör çip temas açısı görüntüleri (a) Boş çip (b) Alil modifiyeli çip (c) Metamfetamin baskılanmış çip

### 3.2.2 Atomik kuvvet mikroskobu (AFM) analizi

AFM görüntüleri, temassız modda elde edilen bir yöntemle SPR çiplerinin yapısını detaylı bir şekilde incelemek için kullanılmıştır. Bu çalışma ile çeşitli SPR çiplerinde yer alan farklı filtrelerin yüzey pürüzlülüğünü karşılaştırılmıştır. İlk olarak, modifikasyon yapılmamış çipler 1,41 nm'lik bir pürüzlülüğe sahip iken, alil ile modifiye edilmiş çiplerde bu değer 9,40 nm'ye çıkmaktadır. METH-MIP filmleri ile kaplanmış çipler 13,33 nm gibi daha yüksek bir pürüzlülük göstermektedir (Şekil 3.4 (a-c)). Elde edilen AFM görüntüleri, polimer nanofilmlerin SPR çip yüzeylerinde eşit şekilde dağıldığını ve homojen bir birikim sergilediğini açıkça ortaya koymaktadır. Bu bulgular, çip yüzeylerindeki polimer tabakalaşmasının kontrollü bir düzenlilikte gerçekleştiğini göstermektedir.



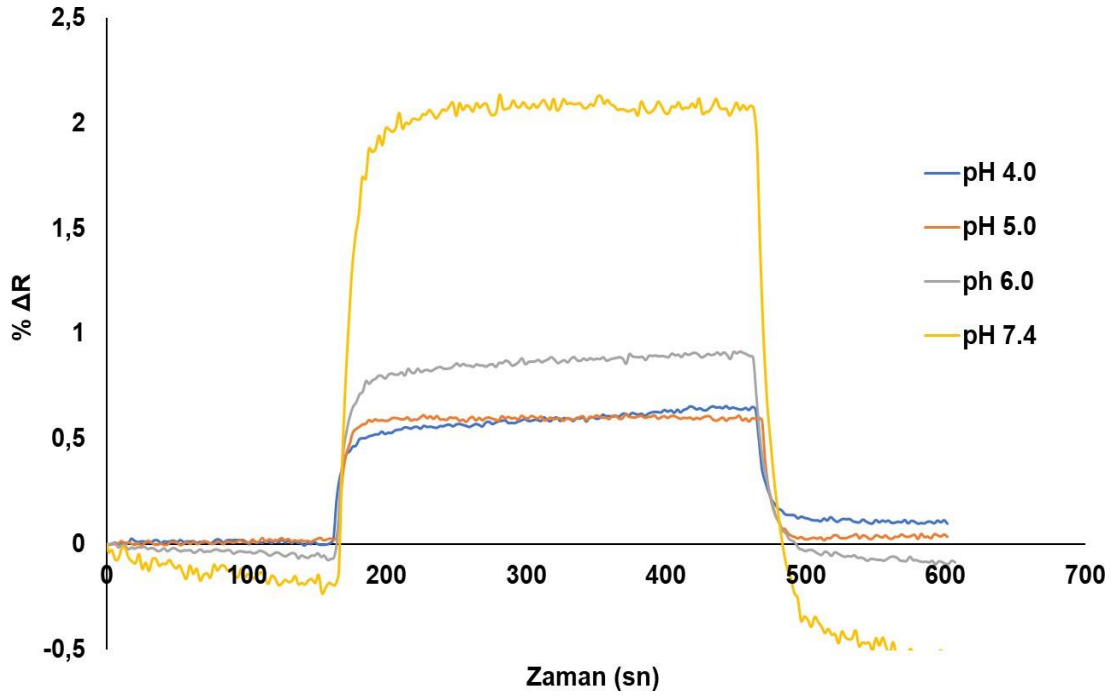
Şekil 3.4: SPR çiplerinin AFM görüntüleri (a) boş çip b) METH baskılanmış c) NIP



**Şekil 3.4:** SPR çiplerinin AFM görüntüleri (a) boş çip; (b) METH-baskılanmış; (c) NIP (devamı)

### 3.3 Farklı pH Değerlerinde İnceleme

SPR sensörünün tepkisi üzerindeki çözelti pH'ının potansiyel etkilerini sistematik olarak incelemek amacıyla, 67.01  $\mu\text{M}$  derişimindeki METH çözeltileri farklı pH değerlerine sahip fosfat tampon çözeltileri içerisinde hazırlanmıştır. METH baskılanmış polimer kaplı nanosensörlerin farklı pH larda uygulanabilirliğini incelemek için pH 4, pH 5 ve pH 6 çözeltileri ile 67.01  $\mu\text{M}$  derişimindeki çözeltiler hazırlanmıştır. Bu farklı pH aralıklarındaki METH çözeltilerinin SPR sensörü ile etkileşimleri gerçek zamanlı olarak izlenmiş ve elde edilen etkileşim kinetiklerini gösteren sensogramlar kaydedilmiştir. Bu sensogramlar, Şekil 3.5' de görsel olarak sunulmaktadır ve farklı pH tamponları ile hazırlanan METH çözeltilerinin sensör yüzeyiyle olan bağlanma ve çözülme davranışlarını karşılaştırmalı olarak göstermektedir. METH tespiti için gerçekleştirilen pH optimizasyon çalışmaları sonucunda, en yüksek sensör sinyalinin pH 7.4 fosfat tamponu kullanıldığında elde edildiği belirlenmiştir. Bu bulgu, çözelti pH'ının analit-sensör etkileşimini önemli ölçüde etkileyebileceğini ve pH 7.4'ün METH'in MIP tabanlı SPR sensörü üzerindeki bağlanması için optimal koşulları sağladığını göstermektedir. Dolayısıyla, sonraki tüm deneysel çalışmalar, elde edilen bu optimizasyon sonucu doğrultusunda pH 7.4 fosfat tamponu kullanılarak yürütülmüştür.



Şekil 3.5: Metamfetamin baskılanmış çiplerin farklı PH değerlerinde incelenmesi

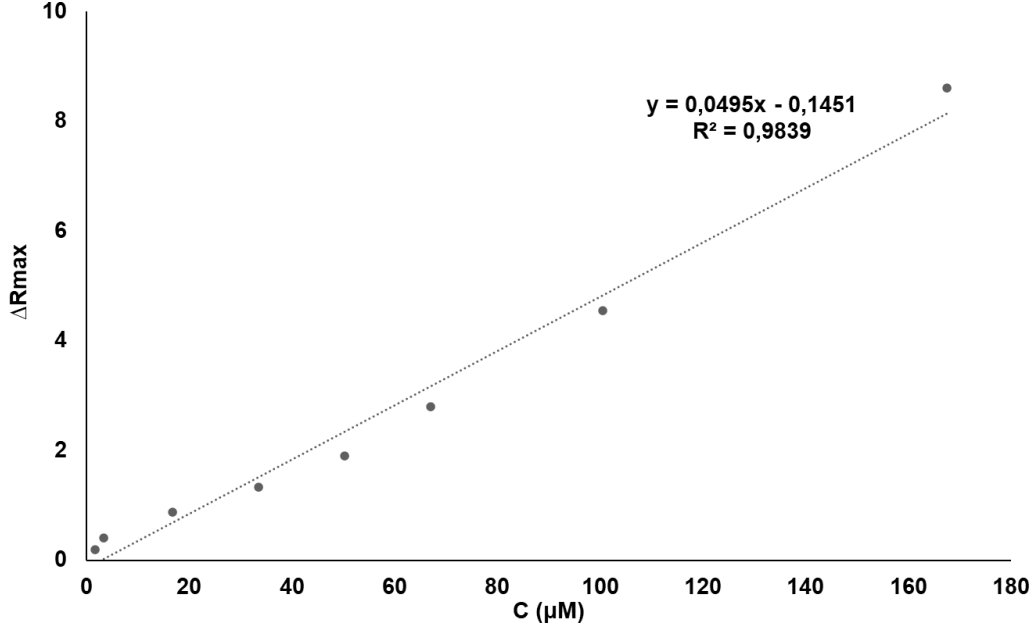
### 3.4 Farklı Metamfetamin Derişimlerinin Tespiti

SPR, bir altın elektrot yüzeyinde meydana gelen yansıtma indeksindeki değişimleri yüksek hassasiyetle tespit edebilen analitik bir tekniktir. Bu çalışmada, METH gerçek zamanlı olarak algılanması amacıyla moleküler baskılama tekniğiyle (MIP) üretilmiş SPR çipleri kullanılmıştır. Geliştirilen METH-MIP SPR çipi ile gerçekleştirilen deneylerde, 1.67 µM ile 167.5 µM arasındaki doğrusal derişimliliğinde METH tayini mümkün kılınmıştır. Sensogramlar, kalıp analit moleküllerinin SPR çip yüzeyine bağlanmasıyla METH-MIP SPR çipinin hızlı ve belirgin yanıt sinyalleri ürettiğini göstermektedir.

Analitik prosedür kapsamında, METH içeren örnekler SPR sensör cihazına enjekte edilmeden önce, yüzeyde tutunan potansiyel diğer türleri uzaklaştırmak amacıyla PBS/metanol/asetik asit karışımından oluşan bir elüsyon çözeltisi ve ardından deiyonize su kullanılmıştır. Şekil 3.6'de gösterilen grafik, SPR sensör sinyal değerlerindeki değişimlerin artan METH derişimleriyle doğru orantılı bir ilişki sergilediğini açıkça ortaya koymaktadır. Şekil 3.6, farklı METH derişimlerinin METH baskılı SPR sensörü uygulamasıyla elde edilen %ΔR grafiğinin zamana göre değişimini göstermektedir. MIP tabanlı SPR sensörünün doğrusal aralık denklemi;

$$y = 0,0495x - 0,1451 \quad (3.1)$$

olup, belirleme katsayısı ( $R^2$ ) 0,9839 olarak hesaplanmıştır. METH-MIP SPR çipi için denge ve kinetik izoterm parametreleri, ilişki kinetik analizi ve Scatchard analizinden tespit edilmiştir.



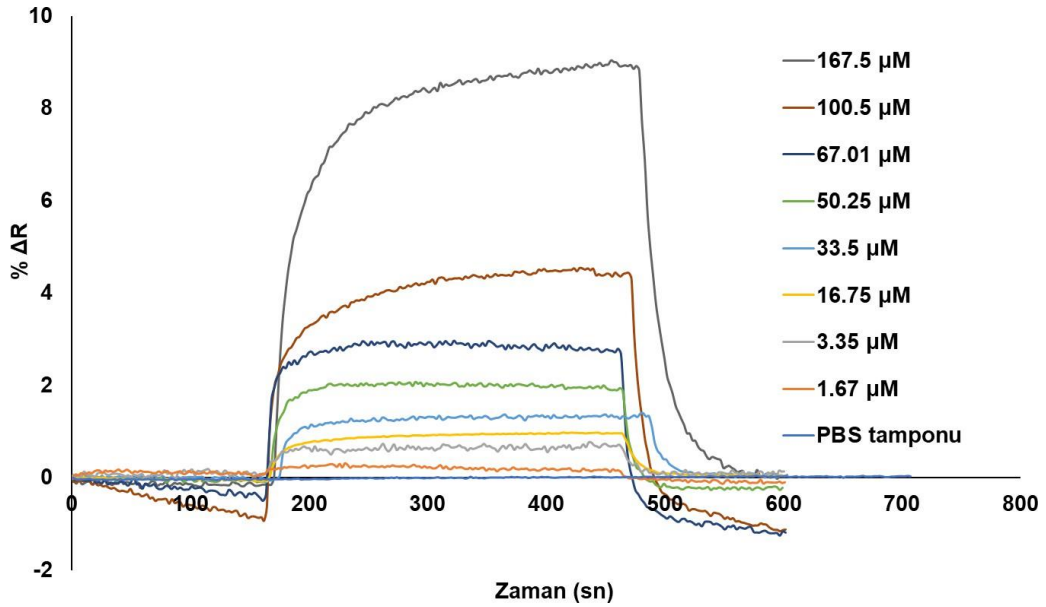
**Şekil 3.6:** METH-MIP sensörünün kalibrasyon eğrisi

Tespit sınırı (LOD), sensörün farklı METH derişimlerine verdiği ayırt edilebilir tepkilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesiyle belirlenmiştir Şekil 3.6' da açıkça görüldüğü üzere, SPR sensörü hedef molekülün derişimindeki artışa paralel olarak sinyal yoğunluğunda kademeli bir artış göstermiştir. Belirli bir derişim aralığında, sinyal tepkisi (y) ile analit derişimi (x) arasındaki ilişki,  $y = a + bx$  şeklinde ifade edilen doğrusal bir kalibrasyon eğrisi ile güvenilir bir şekilde modellenenmektedir. Bu doğrusal model temel alınarak, METH baskılı sensör için tespit sınırı (LOD) PBS tamponunda  $0.48 \mu\text{M}$  ve kantifikasyon sınırı (LOQ) ise  $1.49 \mu\text{M}$  olarak hesaplanmıştır. Bu değerler, geliştirilen MIP tabanlı SPR sensörünün METH tayini için oldukça düşük derişimlerde bile hassas ve güvenilir sonuçlar verebildiğini göstermektedir.

### 3.5 Metamfetamin Tayini

METH baskılanmış SPR çiplerinin hazırlanmasını takiben, METH tayini amacıyla kinetik çalışmalara başlanmıştır. Bu çalışmalar, SPR imager II sensör sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kinetik araştırmalar, hazırlanan METH çözeltilerinin geniş bir derişim aralığında incelenmesiyle yürütülmüştür. pH 7.4 olan PBS tamponu içerisinde  $1.67 \mu\text{M}$  ile  $167.5 \mu\text{M}$  arasındaki derişimlerde hazırlanan METH çözeltileri, SPR sensör sistemine uygulanmıştır (Şekil 3.7). Hem METH baskılanmış hem de baskılanmamış polimer film kaplı SPR çipler, bu kinetik analiz çalışmalarında kullanılmıştır. Uygulanan deneysel prosedür şu şekilde özetlenebilir:

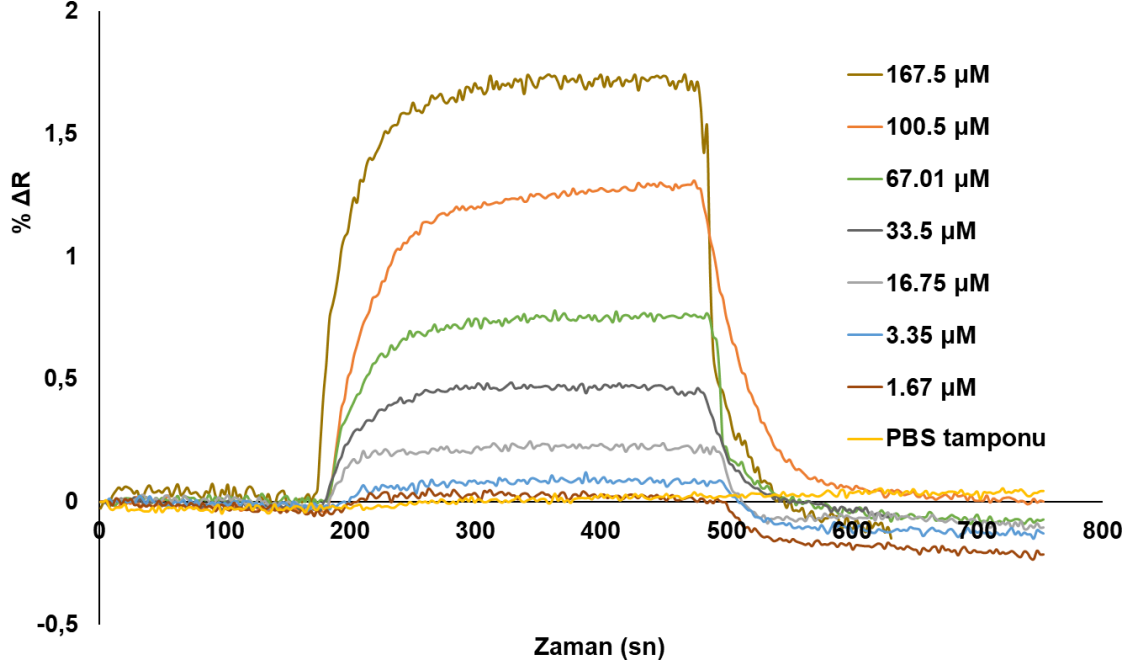
- SPR çip yüzeyi, 30 mL deiyonize su ile yıkanmıştır.
- Ardından, METH baskılanmış çip oda sıcaklığında pH 7.4 PBS tamponu ile dengelenmiş ve plazmon rezonans açısı belirlenmiştir.
- SPR sisteminden beş dakika süreyle pH 7.4 PBS tamponu geçirilmiştir. Bu dengeleme aşamasının ardından, farklı derişimlerdeki METH çözeltileri sırasıyla sisteme verilmiştir.
- Kırılma indisindeki değişimler eş zamanlı olarak izlenmiş, dengeye ulaşıldığında, sisteme 8:1:1 oranında PBS/Metanol/Asetik Asit çözeltisi 5 dakika süreyle uygulanarak desorpsiyon gerçekleştirilmiştir.
- Desorpsiyon işlemini takiben, SPR sensör sistemi su ve PBS tamponu ile yeniden yıkanarak dengelenmiştir. Farklı derişimlerdeki METH çözeltilerinin uygulanmadan evvel adsorpsiyon, desorpsiyon ve temizleme aşamaları tekrarlanmıştır.
- Bu SPR sensör sisteminde, temel SPR yanıtı Piksel Yoğunluk Birimi (PIU; Pixel Intensity Unit) olarak tanımlanmaktadır. PIU cinsinden elde edilen SPR sinyalindeki değişim, yansımadaki gerçek değişime  $\% \Delta R$  dönüştürülmüştür. SPR sensör sinyal yanıtı, sağlanan yüzey kapsamının  $\% \Delta R \leq 10\%$  aralığında doğrusal bir fonksiyonu olarak ifade edilmektedir.



**Şekil 3.7:** METH baskılanmış SPR çözeltileri ile olan etkileşimlerine dair elde edilen sensorgram verileri; 1.67 µM ile 167.5 µM geniş derişimaralığında alınan sinyallerin karşılaştırılması.

### 3.6 Baskılanmamış Nanosensör ile Metamfetamin Tayini

METH baskılanmış nanosensörlerin seçiciliğini ve baskılama etkinliğini değerlendirmek amacıyla, baskılanmamış bir nanosensör çipi kontrol grubu olarak tasarlanmış ve üretilmiştir. Farklı derişimlerde hazırlanan METH çözeltileri, NIP nanosensör sisteminden geçirilmiştir. Şekil 3.8’de baskılanmamış nanosensörün seçicilik sonuçları gösterilmektedir.



Şekil 3.8: METH baskılanmamış SPR çözeltileriyle ilgili etkileşimlere ilişkin sensorgramlar; 1.67 µM ile 167.5 µM arasındaki geniş derişim aralığından elde edilen sinyallerin karşılaştırılması.

### 3.7 Metamfetamin Seçicilik Çalışmaları

Moleküler baskılama ile oluşturulan polimerik film (MIP), hedef analit olan METH için yüksek düzeyde özgüllük sergilemektedir. Bu seçicilik, temel olarak METH molekülü ile polimer matrisinde oluşturulan baskılanmış boşluklar arasındaki spesifik etkileşimlere atfedilebilmektedir. Sensörün seçiciliğini nicel olarak değerlendirmek amacıyla, her biri 33.5 µM derişiminde olmak üzere esrar, eroin, kokain ve histidin çözeltileri test edilmiştir. Bu interferant moleküllerin yapısal özellikleri ve moleküler ağırlıkları Tablo 3.3’te detaylı olarak sunulmaktadır. METH için tasarlanan çiplerin seçicilik seviyeleri, 33.5 µM derişimindeki farklı analit çözeltilerinin SPR sensör sistemine gönderilerek incelenmiştir. Baskılanmış nanosensörlerden elde edilen sinyal verileri METH için Şekil 3.9’da gösterilmiştir. METH varlığında METH’e özgü MIP filminin yansıma oranındaki değişim (%ΔR) değerinin, test edilen diğer potansiyel interferant maddelere kıyasla istatistiksel

olarak anlamlı derecede daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bu durum, MIP matrisindeki baskılanmış boşlukların yalnızca hedef molekül olan METH ile tercihli olarak etkileştiğini desteklemektedir. Eroin, kokain, esrar ve histidin için hesaplanan bağıl seçicilik katsayıları ( $k'$ ) sırasıyla 1.75, 3.14, 4.05 ve 4.84 olarak bulunmuştur. Bu değerler, METH'e kıyasla bu interferantların sensör yüzeyine daha zayıf bağlandığını ve dolayısıyla METH tespitinde önemli bir interferans oluşturma potansiyellerinin düşük olduğunu göstermektedir. METH baskılanmış nanosensörün baskılama faktörü 1.4 olarak belirlenmiş olup, diğer potansiyel interferentlere karşı hesaplanan bağıl seçicilik katsayılarının 1'in üzerinde olduğu gözlemlenmiştir. Bu bulgular, Elde edilen seçicilik ( $k$ ) ve bağıl seçicilik katsayısı ( $k'$ ) değerlerinin yüksek olması her bir SPR nanosensörün hedef molekül olan METH'e karşı yüksek seçicilik ve hassasiyete sahip olduğunu desteklemektedir.

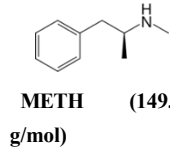
Ek olarak, METH-MIP sensörünün seçiciliği,  $\Delta R$ -MIP'nin  $\Delta R$ -NIP'e oranı ile değerlendirilmiştir. Burada  $\Delta R$ -MIP ve  $\Delta R$ -NIP terimleri, sırasıyla MIP ve baskılanmamış polimer (NIP) kullanılarak 33.5  $\mu\text{M}$  derişimindeki METH için gözlemlenen yansıma değişimlerini temsil etmektedir. METH-MIP SPR sensörünün hesaplanan seçicilik katsayıları ( $k$ ) ve bağıl seçicilik katsayıları ( $k'$ ) değerleri, daha detaylı bir inceleme için Tablo 3.3'te özetlenmiştir. Bu veriler, geliştirilen MIP tabanlı sensörün METH tayininde yüksek bir seçicilik performansı sergilediğini ve potansiyel interferantların varlığından önemli ölçüde etkilenmediğini desteklemektedir.

METH için MIP esaslı sensörün, baskılanmamış polimer esaslı kontrol NIP sensöre kıyasla sergilediği baskılama faktörü 5.78 olarak hesaplanmıştır. Bu nicel değer, METH için elde edilen baskılama etkinliğinin, aynı deneysel koşullar altında test edilen diğer yapısal olarak benzer uyarıcı bileşikler için gözlemlenen değerleri aştığını açıkça göstermektedir. Bu bulgu, MIP film tabakasıyla kaplanmış sensörün, alternatif uyarıcı moleküllerine kıyasla METH'e karşı daha yüksek bir bağlanma eğilimi (afinite) sergilediğini ve dolayısıyla MIP filminin, analitin adsorpsiyon seçiciliğini artırmada kritik bir rol üstlendiğini desteklemektedir. Gözlemlenen bu seçicilik artışı, polimer matrisinde METH molekülünün kalıp molekül olarak kullanılmasıyla oluşturulan, diğer uyarıcı moleküllerin bağlanmasına sterik veya elektrostatik olarak elverişli olmayan spesifik tanıma bölgelerinin varlığına işaret etmektedir. Bu özelleşmiş bağlanma bölgeleri, hedef analitin seçici olarak yakalanmasını sağlayarak sensörün performansını önemli ölçüde iyileştirmektedir. Ek olarak, NIP ile

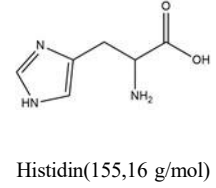
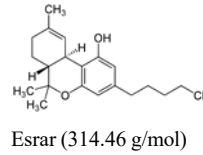
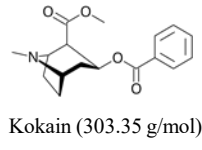
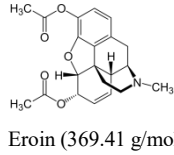
modifiye edilmiş SPR sensöründen elde edilen yansıma sinyalindeki ( $\Delta R$ ) zamana bağlı değişimler, karşılaştırmalı bir analiz sunmak amacıyla Şekil 3.10' da sunulmuştur.

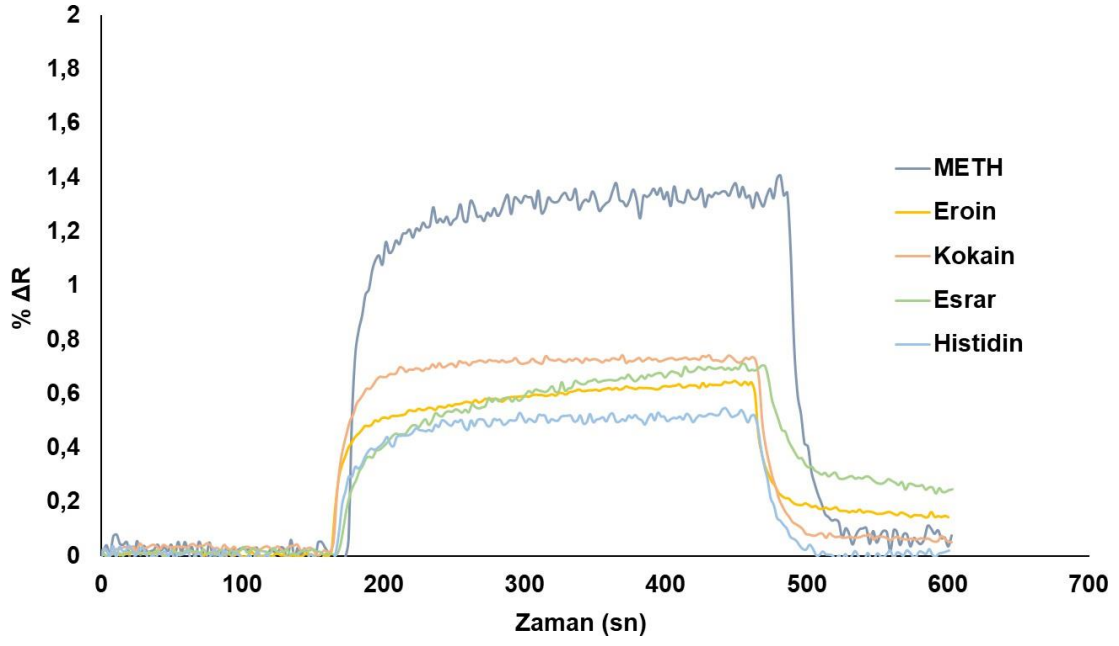
**Tablo 3.3:** METH-MIP SPR sensörünün seçicilik katsayıları (k) ve bağlı seçicilik katsayıları (k') değerleri

Stimulants	MIP	k	NIP	k	k'
<b>METH</b>	1.33		1,23		
<b>Eroin</b>	0.94	1.41	1.65	0.74	1.89
<b>Kokain</b>	0.72	1.84	0.85	1.44	1.27
<b>Esrar</b>	0.61	2.18	0.93	1.32	1.64
<b>Histidin</b>	0.5	2.66	0.91	1.35	1.96

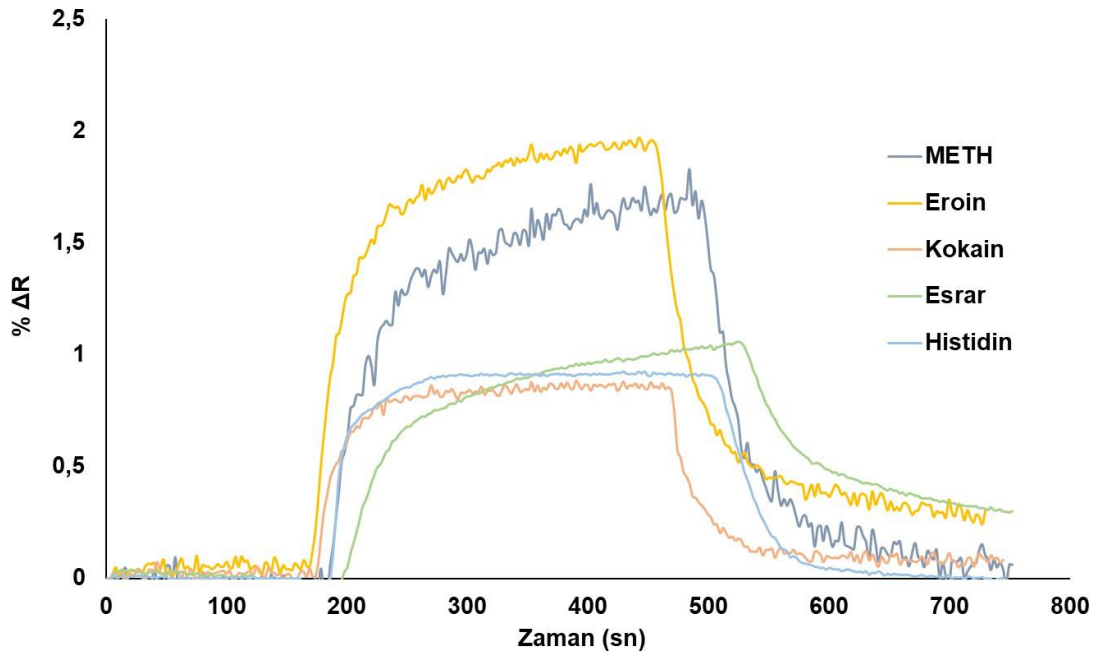


(149.23

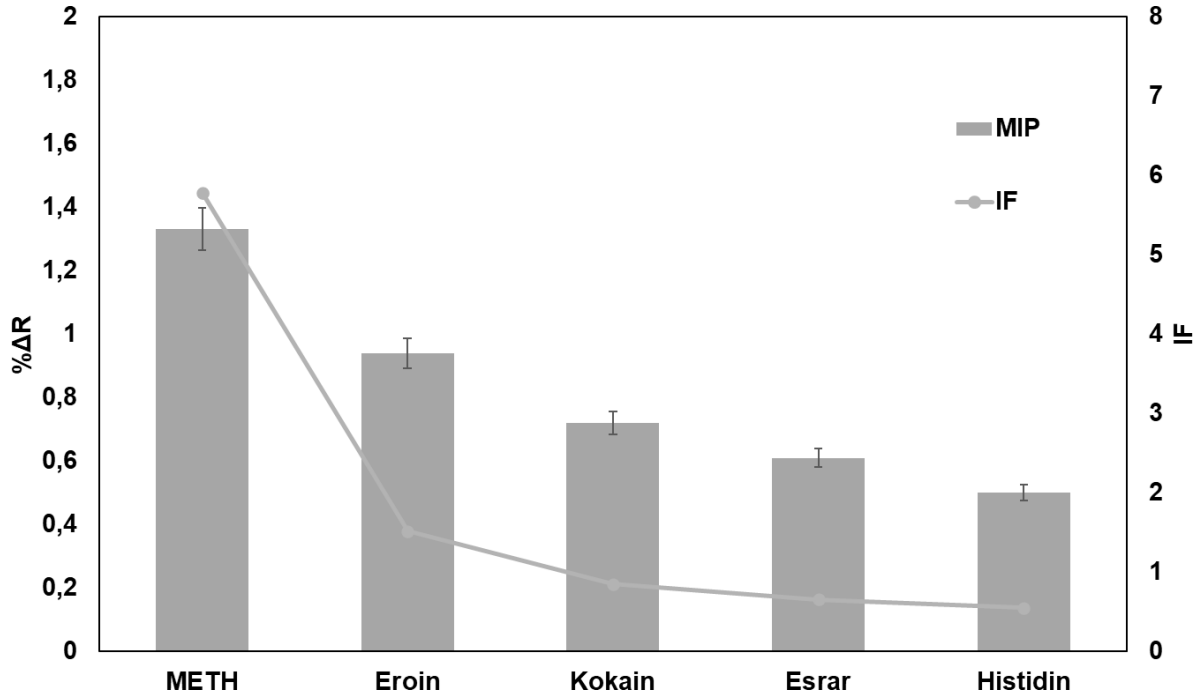




Şekil 3.9: METH baskılanmış nanosensörün seçiciliğine dair sonuçlar



Şekil 3.10: METH baskılanmamış nanosensörün seçiciliğine dair sonuçlar



Şekil 3.11: MIP ve baskı faktörünün (IF) karşılaştırma sonuçları

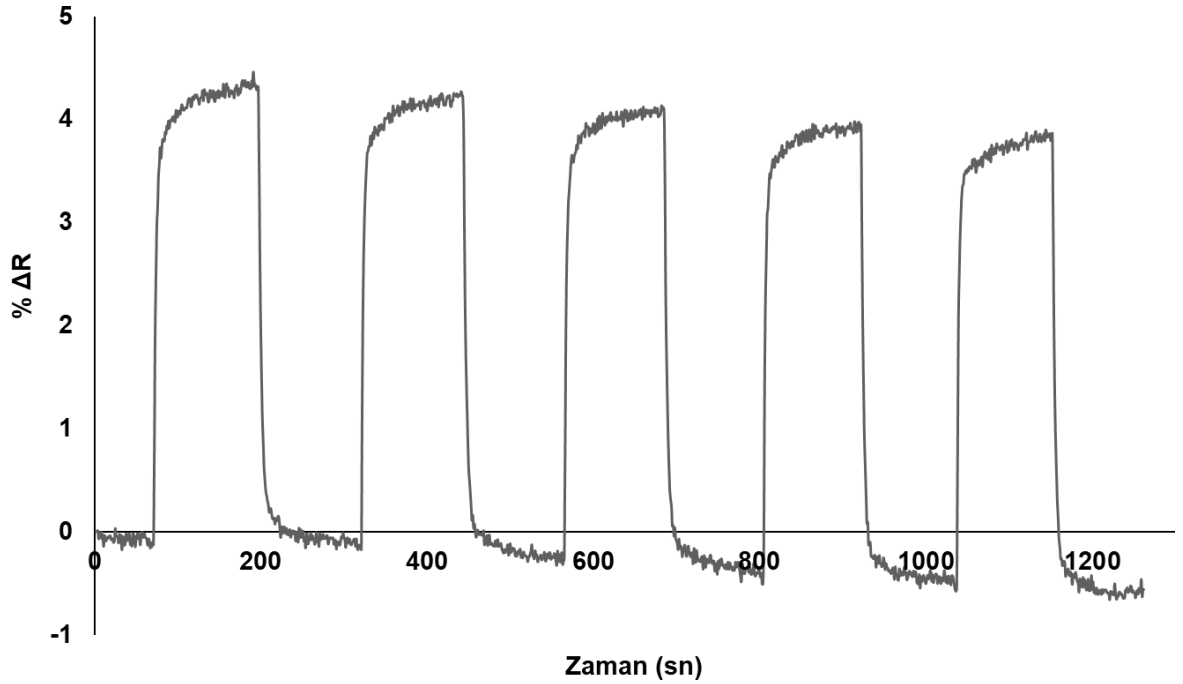
### 3.8 Tekrarlanabilirlik Sonuçları

Moleküler baskılama polimeri (MIP) temelli SPR nanosensörlerin belirgin üstünlüklerinden biri, yüksek tekrarlanabilirlik ölçümler sunabilmeleridir. Bu sensörler aracılığıyla ile analitlerin doğrudan etiketsiz analit tayinini güvenilir bir şekilde gerçekleştirebilir ve sensör yanıtında önemli kapasite değişiklikleri gözlenmemesi, bu özelliğin değerini ortaya koymaktadır. Bu avantajı daha iyi anlamak amacıyla, METH baskılanmış polimer kaplı nanosensörlerin tekrar kullanılabilirliğini değerlendirmek için 67.01  $\mu\text{M}$  derişimindeki METH çözeltisi SPR sistemine art arda beş kez uygulanmıştır. METH baskılanmış bu nanosensörler kullanılarak gerçekleştirilen ardışık METH tayinlerinde sinyal yanıtında herhangi bir azalma gözlemlenmemiştir.

Geliştirilen analitik yöntemin tekrarlanabilirliğini istatistiksel olarak değerlendirmek amacıyla, aynı derişimde (67.01  $\mu\text{M}$ ) hazırlanmış altı farklı METH çözeltisinin analizi için METH'e özgü MIP ile kaplanmış SPR çipi kullanılmıştır. Elde edilen sonuçların istatistiksel analizi, yöntemin tatmin edici düzeyde tekrarlanabilirliğe sahip olduğunu doğrulayan %4.89' luk bir bağıl standart sapma (RSD) değeri ortaya koymuştur.

SPR sensör çipinin tekrar kullanılabilme potansiyeli ise, 67.01  $\mu\text{M}$  derişimindeki METH'in PBS çözeltisi içerisinde tespiti için MIP tabanlı biyoalgılama cihazının ardışık performans testleri aracılığıyla detaylı bir şekilde incelenmiştir. Her bir tespit işleminden sonra, MIP biyoalgılama arayüzü, yüzeyde tutunan METH moleküllerini etkin bir şekilde uzaklaştırmak amacıyla PBS, metanol ve asetik asit çözeltisinin 8:1:1 (v/v) oranındaki karışımı ile yıkanmış ve ardından kalan analitin tamamen uzaklaştırıldığından emin olmak için PBS yıkama tamponunda durulanmıştır. Bu temizleme protokolünü takiben, aynı METH derişimi kullanılarak tekrar kullanılabilirlik çalışması yürütülmüş ve beş ardışık döngüden elde edilen sinyal yanıtları Şekil 3.12' de sunulmuştur. Elde edilen veriler, MIP sensörünün belirgin bir performans kaybı olmaksızın en az altı kez yenilenebildiğini ve dolayısıyla tekrar kullanılabilirliğinin yüksek olduğunu teyit etmektedir.

Sonuç olarak, geliştirilen MIP tabanlı biyosensör cihazı, daha dayanıklı ve ekonomik bir şekilde tekrar tekrar kullanılabilme potansiyelini açıkça ortaya koymuştur.



Şekil 3.12: METH baskılanmış çiplerin tekrarlanabilirlik sonuçları

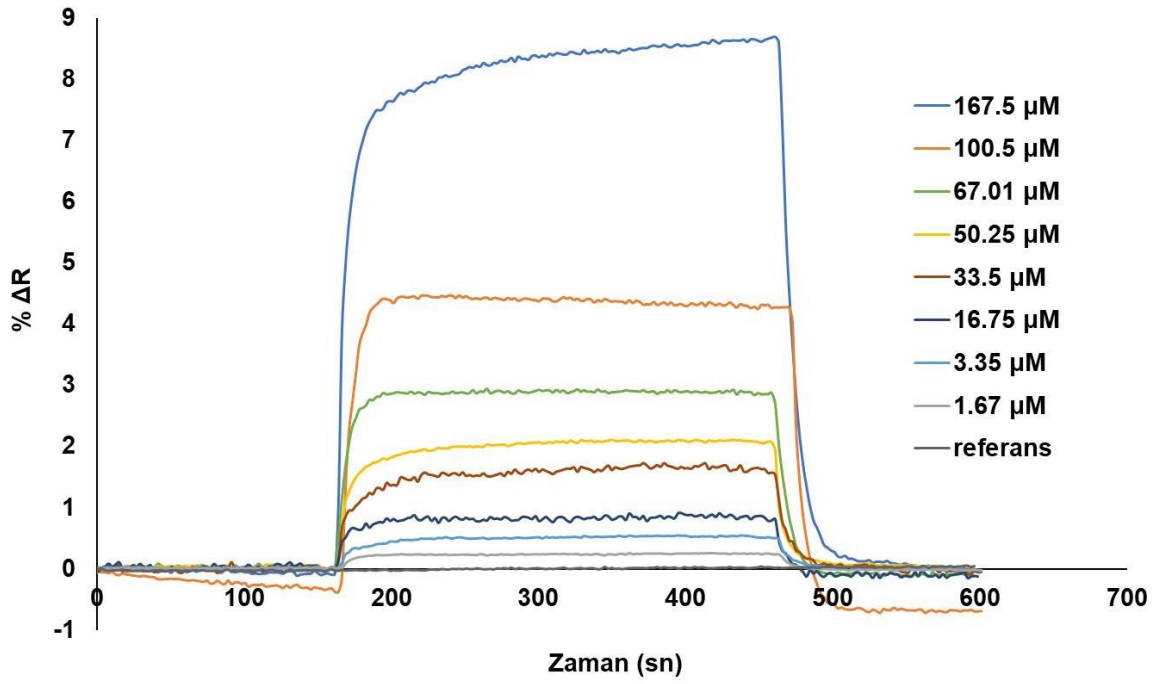
### 3.9 Plazma ve İdrar Örnekleri

Geliştirilen moleküler baskılama tekniğiyle (MIP) üretilmiş SPR sensörünün, karmaşık biyolojik matrislerdeki METH tayinindeki etkinliğini değerlendirmek amacıyla, yapay plazma ve yapay idrar örneklerinde standart ekleme yöntemi uygulanarak geri kazanım

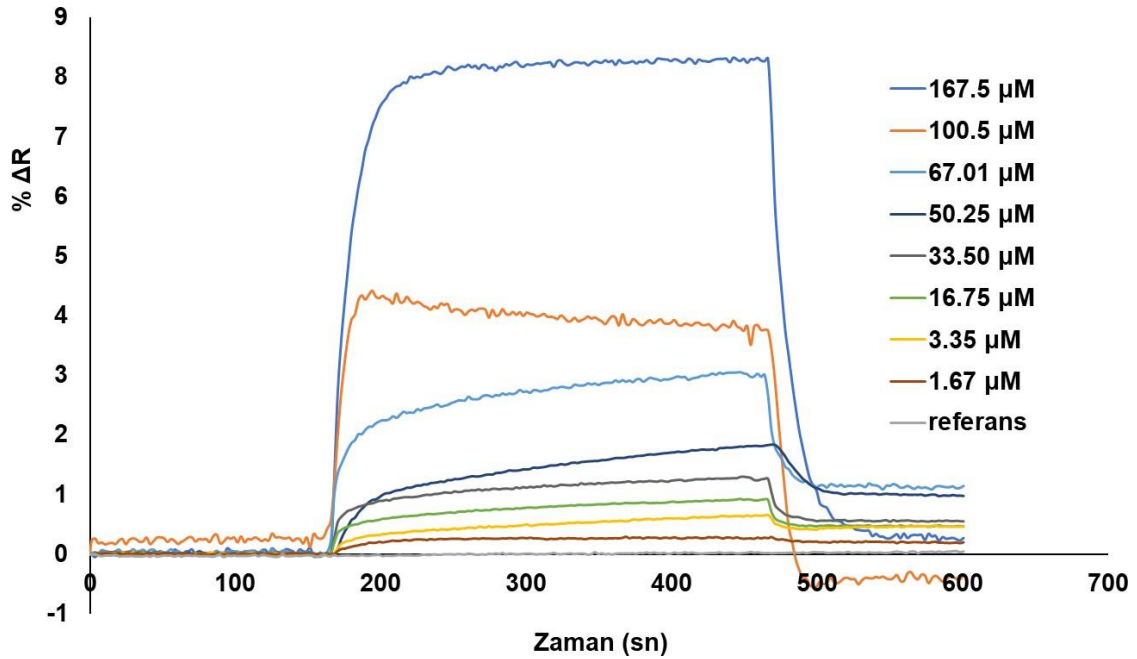
çalışmaları yürütülmüştür. Bu amaçla, 167.5 µM derişiminde bir METH ana çözeltilisi (PBS içerisinde hazırlanmış) kullanılmış ve ardından bu stok çözelti, yapay idrar ve plazma matrislerinde 1.67 µM ile 167.5 µM arasındaki farklı derişimlerde seri dilüsyonlar halinde hazırlanmıştır. Tasarlanan MIP-temelli SPR sensörünün yapay plazma ve yapay idrar örneklerindeki etkinliği, METH eklenmiş örnekler ile araştırıldı. METH stok çözeltisi 167,5 µM derişimde (PBS içinde) hazırlanmıştır ve daha sonra yapay idrar ve plazmada 1,67 µM ile 167,5 µM arasındaki derişimlerde seri olarak seyreltilmiştir.

Sensör sisteminin işleyişi için pH 7,4 PBS tamponu kullanılarak 150 saniye boyunca dengeleme işlemi yapılmıştır. Bu denge aşamasının tamamlanmasını takiben, yapay plazma içerisinde hazırlanmış METH standart çözeltisi sisteme 5 dakika boyunca enjekte edilmiştir. Bağlanan analit moleküllerinin uzaklaştırılmasını kolaylaştırmak amacıyla, sistemden 3 dakika boyunca bir desorpsiyon çözeltisi geçirilmiştir. Bu prosedür, yapay idrar matrisinde hazırlanmış METH standartları için de benzer şekilde uygulanmıştır. Bu deneysel süreç boyunca, hem yapay insan plazması hem de yapay insan idrarı örneklerinde farklı METH derişimleri sistematik olarak analiz edilmiştir.

METH ile zenginleştirilmiş sentetik idrar ve plazma örneklerinden elde edilen yansıma oranındaki değişimler (%ΔR), sırasıyla Şekil 3.13 ve Şekil 3.14 'da görsel olarak sunulmaktadır. Elde edilen veriler, METH baskılı SPR sensörünün sinyal yanıtındaki değişimlerin, uygulanan METH derişimindeki artışla doğru orantılı bir ilişki sergilediğini açıkça göstermektedir. Bu bulgular, geliştirilen MIP tabanlı SPR sensörünün, karmaşık biyolojik örneklerdeki METH miktarının güvenilir bir şekilde analiz edilmesi için uygun bir potansiyele sahip olduğunu desteklemektedir.



Şekil 3.13: Yapay idrar örnekleri



Şekil 3.14: Yapay plazma örnekleri

Bu deneysel çalışmalarda, METH molekülünü yüksek seçicilikle tanıyabilen moleküler baskılama tekniğiyle (MIP) üretilmiş SPR sensörleri kullanılmıştır. Geliştirilen bu MIP esaslı sensörlerin METH'in kantitatif olarak belirlenmesindeki etkinliği, kontrol deneyleri aracılığıyla (yani, NIP) ile modifiye edilmiş sensörler kullanılarak) kapsamlı bir şekilde

doğrulanmıştır. Tablo 3.4' te sunulan özet, METH analitinin tespiti amacıyla literatürde ve bu çalışmada kullanılan farklı sensörlerin temel performans parametrelerini karşılaştırmalı olarak göstermektedir.

Bu araştırmada geliştirilen MIP nanofilm tabanlı yeni SPR sensörü, gerçek biyolojik matrisler olan plazma ve idrar örneklerinde sırasıyla 0.66  $\mu\text{M}$  ve 0.58  $\mu\text{M}$  gibi oldukça düşük METH derişimlerini dahi güvenilir bir şekilde tespit edebilme kapasitesine sahiptir. Ayrıca, bu yeni sensör 1.67  $\mu\text{M}$  ile 167.5  $\mu\text{M}$  arasında geniş bir dinamik aralık sunmaktadır. Tablo 3.4' teki veriler incelendiğinde, bu performansın, literatürdeki diğer METH baskılı polimer tabanlı SPR sensörlerine kıyasla (örneğin, PBS tamponunda yalnızca 0.48  $\mu\text{M}$ 'ye kadar tespit edebilen bir sensör) belirgin bir iyileşme gösterdiği açıkça görülmektedir.

Geliştirilen yeni sensörün literatürdeki diğer MIP tabanlı algılama yaklaşımlarıyla daha detaylı bir karşılaştırması Tablo 3.4 aracılığıyla sunulmaktadır, bu çalışmanın özgünlüğü ve elde edilen SPR sensörünün üstün özellikleri vurgulanmaktadır. Sonuç olarak, bu çalışmada geliştirilen altın nanopartiküllü MIP nanofilm tabanlı SPR sensörü, yüksek hassasiyet, seçicilik ve potansiyel maliyet etkinliği gibi önemli avantajlar sunarak, METH analizi alanında umut vadeden bir alternatif oluşturmaktadır.

Yapılan bu kapsamlı karşılaştırmalı analiz, söz konusu çalışmanın, tıbbi ortamlarda immünoassay yöntemleriyle sıklıkla ilişkilendirilen ve hastane kaynaklı yaygın bir yasa dışı madde olan METH hızlı ve güvenilir bir şekilde saptanmasına yönelik kayda değer bir ilerleme sunduğunu açıkça ortaya koymaktadır. Geliştirilen bu yeni MIP tabanlı SPR sensör teknolojisi, mevcut yöntemlere kıyasla sağladığı iyileştirilmiş hassasiyet, seçicilik ve potansiyel maliyet etkinliği sayesinde, adli analitik toksikoloji alanında, özellikle METH izleme ve kontrol süreçlerinde önemli bir atılımı temsil etmektedir. Bu çalışma, klinik ve adli toksikoloji laboratuvarlarında METH analizinin daha etkin ve verimli bir şekilde gerçekleştirilmesine olanak tanıyarak, madde kullanımının tespiti ve takibi açısından değerli bir araç sunmaktadır.

**Tablo 3.4:** METH tayininde kullanılan farklı sensör teknolojilerinin özetleri

Sensör	Tanıma Malzemesi	Matriks	DerişimAralığı ve LOD	Ref.
<b>Floresan</b>	MIP içinde kapsüllenmiş GQD'ler	METH derişimleri	0–50 µM 1.7 ng/mL	(Masteri-Farahani, Mashhadi-Ramezani, & Mosleh, 2020)
	CdS kuantum noktalarına dayalı hassas floresans	idrar	6.7–400 ng/mL	(Hassanzadeh, Khataee, & Lotfi, 2017)
<b>Elektrokimyasal</b>	Elektrokimyasal olarak ön işlem görmüş kalem grafit elektrot (PPGE)	biyolojik örnekler	0.074–54 µM 7.5 ng/mL	(Oghli, Alipour, & Asadzadeh, 2015)
	Altın nanopartikül (GNP)/çok duvarlı karbon nanotüp (MWCNT)-Nafion (Nf) modifiye edilmiş ekran baskılı elektrot (SPE)	sulu çözeltiler	0.02–50 µM 0.05 ng/mL	(Rafiee, Fakhari, & Ghaffarzadeh, 2015)
	N,N'-(1,4-fenilen)-dibenzensülfonamit serigrafı baskılı karbon elektrot	seyreltilmemiş tükürük	0-1 µg/mL 400 ng/mL	(Bartlett et al., 2016)
	Nanomanyetik çekirdek kabukları (Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @SiO <sub>2</sub> -Si-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -SH) ile modifiye edilmiş camı karbon elektrot (GCE)	idrar	5.0*10 <sup>-8</sup> - 5.0*10 <sup>-5</sup> M 2.4 ng/mL	(Haghighi, Shahlacai, Irandoust, & Hassanpour, 2020)
	Elektrokimyasal aptamer bazlı (EAB) sensörü	seyreltilmemiş serum	0.02-20 µM 4.5 ng/mL	(Y. Xie, Wu, Chen, Jiang, & Sun, 2022)
		seyreltilmemiş idrar	7.5 ng/mL	
		%50 tükürük	3.0 ng/mL	
<b>Raman spektrometresi</b>	Nanoyapı tabanlı Yüzey geliştirilmiş Raman saçılımı (SERS) çipi	idrar	50 µg/mL-5.0 pg/mL. 50 ng/mL	(Nuntawong et al., 2017)

**Tablo 3.4:** (devam)

<b>Optik</b>	L-Sistein başlıklı CdS kuantum noktaları (QD'ler)	gerçek örnekler	5.0–250 $\mu$ M 240 ng/mL	(Mandani, Rezaei, & Ensafi, 2020)
	Fiber optik parçacık plazmon rezonans immünosensörü	standard örnekler	1 – 1000 ng/mL 0.16 ng/mL	(Chang et al., 2020)
	MA monoklonal antikor (MA-Ab)	tükürük	0.1-1000 ng/mL 0.95 ng/mL	(Yao et al., 2022)
<b>Yüzey Plazmon Rezonansı (SPR)</b>	Moleküler baskılanmış polimer nanofilm	PBS çözeltiler	1.67 $\mu$ M – 167.5 $\mu$ M (244.2 ng/mL- 25 $\mu$ g/mL)	(Birinci, Akgönüllü, Yavuz, Arslan, & Denizli, 2025)
		plazma&idrar	0.48 $\mu$ M (72 ng/mL), 0.66 $\mu$ M & 0.58 $\mu$ M	

---

#### 4. SONUÇ VE ÖNERİLER

METH kullanımı, bireysel ve toplumsal düzeyde çok boyutlu sorunlara yol açan ciddi bir halk sağlığı meselesidir. Nörotoksik etkileri nedeniyle merkezi sinir sisteminde kalıcı hasara neden olabilen bu güçlü uyarıcı madde, bilişsel işlevlerde bozulma, hafıza problemleri, dikkat eksikliği ve karar verme yeteneğinde azalma gibi uzun vadeli nöropsikiyatrik sonuçlar doğurabilmektedir. Kronik METH kullanımı, psikotik bozukluklar, şiddet eğilimi, anksiyete ve depresyon gibi ciddi psikiyatrik durumların gelişme riskini önemli ölçüde artırmaktadır.

Fizyolojik açıdan bakıldığında, METH kullanımı kardiyovasküler sistem üzerinde olumsuz etkilere sahiptir. Taşikardi, aritmi, hipertansiyon ve hatta miyokard enfarktüsü gibi akut ve kronik kardiyovasküler olayların insidansını artırır. Ayrıca, madde kullanımı bağışıklık sistemini zayıflatarak enfeksiyonlara karşı savunmasızlığı artırır ve beslenme yetersizliklerine yol açar.

Sosyoekonomik düzeyde ise, METH bağımlılığı bireylerin iş hayatında başarısız olmasına, eğitimlerini tamamlayamamalarına ve sosyal ilişkilerinin bozulmasına neden olmaktadır. Madde arayışı ve kullanımıyla ilişkili yasa dışı faaliyetler, suç oranlarının artmasına ve toplumsal huzurun bozulmasına sebep olmaktadır. Aile içi şiddet, ihmal ve çocuk istismarı gibi sorunlar da METH bağımlılığı olan bireylerin ailelerinde daha sık görülmektedir.

Kamu sağlığı açısından, METH kullanımının yaygınlaşması tedavi merkezlerine olan talebi artırırken, adli tıp ve emniyet birimleri üzerinde de önemli bir yük oluşturmaktadır. Madde kullanımına bağlı sağlık sorunlarının tedavisi ve suçla mücadele, önemli ekonomik kaynakların ayrılmasını gerektirmektedir.

Sonuç olarak, METH kullanımı, nörobiyolojik, psikolojik, fizyolojik ve sosyoekonomik alanlarda ciddi ve uzun süreli sorunlara neden olan karmaşık bir olgudur. Bu sorunlarla etkili bir şekilde mücadele etmek için multidisipliner yaklaşımlar, kapsamlı önleme stratejileri, etkili tedavi yöntemleri ve destekleyici sosyal politikaların geliştirilmesi ve uygulanması büyük önem taşımaktadır.

Tez kapsamında, HEMA monomeri ve EGDMA çâğraz bağlayıcı temel alınarak oluşturulmuş, METH baskılı polimer nanofilm tabanlı yeni bir SPR sensörü sunulmuştur.

Bu sensörün üretimi, radikal başlatıcı olarak AIBN varlığında, UV lamba kullanılarak 360 nm dalga boyunda gerçekleştirilen fotopolimerizasyon yöntemiyle sağlanmıştır. Üretilen SPR sensör çipinin yüzey özellikleri, temas açısı ölçümleri ve atomik kuvvet mikroskobu (AFM) teknikleri kullanılarak detaylı bir şekilde karakterize edilmiştir.

Elde edilen sonuçlar, geliştirilen MIP tabanlı SPR sensörünün, PBS tampon çözeltisi içerisinde 0.48  $\mu\text{M}$  gibi düşük bir tespit sınırına ve 1.67  $\mu\text{M}$  ile 167.5  $\mu\text{M}$  arasında geniş bir doğrusal tespit aralığına sahip olarak METH'i yüksek hassasiyetle tespit edebildiğini göstermiştir. Literatürde de belirtildiği üzere, küçük moleküllerin analizinde MIP ile modifiye edilmiş sensör çiplerinin kullanımı, küçük moleküllerin sensör çiplerinin dielektrik sabitlerinde yalnızca sınırlı değişikliklere neden olabilmesi nedeniyle bazı zorluklar içermektedir. Bu bağlamda, hassasiyeti korurken SPR sinyallerini artırmak önemli bir araştırma odağı olmaya devam etmektedir.

Bu çalışmada, altın nanopartiküller (AuNPs), SPR sinyalini önemli ölçüde artıran bir güçlendirici ajan olarak işlev görmüştür. Aynı zamanda, AuNPs' nin yüksek kırılma indisi ve yüzeylerinde oluşturulan baskılanmış bölgeler, sensörün seçiciliğini artıran özel bir tanıma elemanı olarak hareket etmiş ve 0.48  $\mu\text{M}$ 'lik düşük tespit sınırına ulaşılmasında kritik bir rol oynamıştır. Geliştirilen bu sensör, daha sonra karmaşık biyolojik örnekler olan yapay plazma ve idrar içerisinde METH'in seçici olarak tespiti amacıyla uygulanmıştır. SPR tekniği, METH'i seçici olarak tanıma yeteneğini başarıyla göstermiş her iki biyolojik örnek türü için yapay idrar için 0.66  $\mu\text{M}$  ve yapay plazma için 0.58  $\mu\text{M}$  tespit sınırları elde edilmiştir. Kapsamlı bir doğrulama sürecinden geçen bu metodoloji, saha örneklerinin analizinde potansiyel uygulama için yeterli hassasiyeti ve güvenilirliği ortaya koyan umut verici sonuçlar sunmaktadır.

## 5. KAYNAKLAR (APA)

- Abbruscato, T. J., & Trippier, P. C.** (2018). DARK classics in chemical neuroscience: methamphetamine. *ACS chemical neuroscience*, *9*(10), 2373-2378.
- Abu-Alsoud, G. F., Hawboldt, K. A., & Bottaro, C. S.** (2020). Assessment of cross-reactivity in a tailor-made molecularly imprinted polymer for phenolic compounds using four adsorption isotherm models. *Journal of Chromatography A*, *1629*, 461463.
- Achanta, V. G.** (2020). Surface waves at metal-dielectric interfaces: Material science perspective. *Reviews in Physics*, *5*. <https://doi.org/10.1016/j.revip.2020.100041>
- Aftab, M., Mansha, M. S., Iqbal, T., & Farooq, M.** (2024). Surface plasmon excitation: theory, configurations, and applications. *Plasmonics*, *19*(4), 1701-1719.
- Ahmad, H., & Rodrigue, D.** (2022). Crosslinked polyethylene: A review on the crosslinking techniques, manufacturing methods, applications, and recycling. *Polymer Engineering & Science*, *62*(8), 2376-2401.
- Akça, M. E. (Ed.).** (2022). *Matematik ve Fen Alanında Uluslararası Araştırmalar VII*. Eğitim Yayınevi.
- Akgönüllü, S.** (2020). Yüzey plazmon rezonans (SPR) temelli aflatoksin sensörlerin hazırlanması.
- Akgönüllü, S., Kılıç, S., Esen, C., & Denizli, A.** (2023). Molecularly imprinted polymer-based sensors for protein detection. *Polymers*, *15*(3), 629.
- Akgönüllü, S., Yavuz, H., & Denizli, A.** (2020). SPR nanosensor based on molecularly imprinted polymer film with gold nanoparticles for sensitive detection of aflatoxin B1. *Talanta*, *219*, 121219.
- Akgönüllü, S., Yavuz, H., & Denizli, A.** (2021). Development of gold nanoparticles decorated molecularly imprinted-based plasmonic sensor for the detection of aflatoxin M1 in milk samples. *Chemosensors*, *9*(12), 363.
- Akkilic, N., Geschwindner, S., & Höök, F.** (2020). Single-molecule biosensors: Recent advances and applications. *Biosensors and Bioelectronics*, *151*, 111944.
- Allen, A. C., & Kiser, W. O.** (1987). Methamphetamine from ephedrine: I. Chloroephedrines and aziridines. *Journal of Forensic Sciences*, *32*(4), 953–962.
- Allen, A., & Cantrell, T. S.** (1989). Synthetic reductions in clandestine amphetamine and methamphetamine laboratories: a review. *Forensic science international*, *42*(3), 183-199.

## KAYNAKLAR (devam)

- Anglin, M. D., Burke, C., Perrochet, B., Stamper, E., & Dawud-Noursi, S.** (2000). History of the methamphetamine problem. *Journal of psychoactive drugs*, 32(2), 137-141.
- Anzar, N., Suleman, S., Singh, Y., Kumari, S., Parvez, S., Pilloton, R., & Narang, J.** (2024). The Evolution of Illicit-Drug Detection: From Conventional Approaches to Cutting-Edge Immunosensors—A Comprehensive Review. *Biosensors*, 14(10), 477.
- Arabi, M., Ostovan, A., Li, J., Wang, X., Zhang, Z., Choo, J., & Chen, L.** (2021). Molecular imprinting: green perspectives and strategies. *Advanced Materials*, 33(30), 2100543.
- Asal, M., Özen, Ö., Şahinler, M., & Polatoğlu, İ.** (2018). Recent developments in enzyme, DNA and immuno-based biosensors. *Sensors*, 18(6), 1924.
- Ayankojo, A. G., Reut, J., Boroznjak, R., Öpik, A., & Syritski, V.** (2018). Molecularly imprinted poly (meta-phenylenediamine) based QCM sensor for detecting Amoxicillin. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 258, 766-774.
- Ayawei, N., Ekubo, A. T., Wankasi, D., & Dikio, E. D.** (2015). Adsorption of congo red by Ni/Al-CO<sub>3</sub>: equilibrium, thermodynamic and kinetic studies. *Oriental Journal of Chemistry*, 31(3), 1307.
- Ayawei, N., Ebelegi, A. N., & Wankasi, D.** (2017). Modelling and interpretation of adsorption isotherms. *Journal of chemistry*, 2017(1), 3039817.
- Baio, J. E., Graham, D. J., & Castner, D. G.** (2020). Surface analysis tools for characterizing biological materials. *Chemical Society Reviews*, 49(11), 3278-3296.
- Bartlett, C. A., Taylor, S., Fernandez, C., Wanklyn, C., Burton, D., Enston, E., ... & Murphy, L.** (2016). Disposable screen printed sensor for the electrochemical detection of methamphetamine in undiluted saliva. *Chemistry central journal*, 10, 1-9.
- Beck, S., & Narain, R.** (2020). Polymer synthesis. In *Polymer Science and Nanotechnology* (pp. 21-85). Elsevier.
- Bernheim, A., See, R. E., & Reichel, C. M.** (2016). Chronic methamphetamine self-administration disrupts cortical control of cognition. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 69, 36-48.
- Bhattarai, P., & Hameed, S.** (2020). Basics of biosensors and nanobiosensors. *Nanobiosensors: From Design to Applications*, 1-22.

## KAYNAKLAR (devam)

- Birinci, H. S., Akgönüllü, S., Yavuz, H., Arslan, O., & Denizli, A.** (2025). Design of molecularly imprinted polymer-based biomimetic surface plasmon resonance sensor for detection of methamphetamine in plasma and urine. *Microchemical Journal*, 213, 113668. [Tezden türetilmiştir]
- Boland, P., Sturm, T., & Shorter, G. W.** (2025). (Dealing with) Illegal Drugs and “Unwanted Land-Use”: A Socially Inclusive Future Planning Imagination for Drug Consumption Rooms. *Journal of Planning Education and Research*, 0739456X251318245.
- Borah, R., Ninakanti, R., Bals, S., & Verbruggen, S. W.** (2022). Plasmon resonance of gold and silver nanoparticle arrays in the Kretschmann (attenuated total reflectance) vs. direct incidence configuration. *Scientific reports*, 12(1), 15738.
- Čechová, B., & Šlamberová, R.** (2021). Methamphetamine, neurotransmitters and neurodevelopment. *Physiological research*, 70(Suppl 3), S301.
- Chadha, U., Bhardwaj, P., Agarwal, R., Rawat, P., Agarwal, R., Gupta, I., ... & Chakravorty, A.** (2022). Recent progress and growth in biosensors technology: A critical review. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 109, 21-51.
- Chambers, S. A., DeSousa, J. M., Huseman, E. D., & Townsend, S. D.** (2018). The DARK side of total synthesis: strategies and tactics in psychoactive drug production. *ACS chemical neuroscience*, 9(10), 2307-2330.
- Chang, T. C., Chiang, C. Y., Lin, M. H., Chen, I. K., Chau, L. K., Hsu, D. S., ... & Chen, Y. F.** (2020). Fiber optic particle plasmon resonance immunosensor for rapid and sensitive detection of methamphetamine based on competitive inhibition. *Microchemical Journal*, 157, 105026.
- Chaplin, M. F.** (2021). Biosensors.
- Chen, H., Guo, J., Wang, Y., Dong, W., Zhao, Y., & Sun, L.** (2022). Bio-inspired imprinting materials for biomedical applications. *Advanced Science*, 9(28), 2202038.
- Chen, J., Garcia, E. S., & Zimmerman, S. C.** (2020). Intramolecularly cross-linked polymers: from structure to function with applications as artificial antibodies and artificial enzymes. *Accounts of chemical research*, 53(6), 1244-1256.
- Chen, L., Xu, S., & Li, J.** (2011). Recent advances in molecular imprinting technology: Current status, challenges and highlighted applications. *Chemical Society Reviews*, 40(5), 2922–2942.

## KAYNAKLAR (devam)

- Chomchai, S., Phudithshinnapatra, J., Mekavuthikul, P., & Chomchai, C.** (2019, April). Effects of unconventional recreational drug use in pregnancy. In *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* (Vol. 24, No. 2, pp. 142-148). WB Saunders.
- Cozzolino, D.** (2025). The contribution of digital and sensing technologies and big data towards sustainable food supply and value chains. *Sustainable Food Technology*.
- Cruickshank, C. C., & Dyer, K. R.** (2009). A review of the clinical pharmacology of methamphetamine. *Addiction, 104*(7), 1085-1099.
- de Souza Santos, E., Spinelli, E., Vieira, A. A., & Rodrigues, S. V.** (2019). Postmortem analysis of famprofazone and its metabolites, methamphetamine and amphetamine, in porcine bone marrow. *Talanta, 191*, 545-552.
- Diltemiz, S. E.** (2006). *Dna'yi Tanuma Bölgelerine Sahip Moleküler Baskılanmış Polimer Tekniğine Dayalı Biyosensör Geliştirilmesi* (Doctoral dissertation, Anadolu University (Turkey)).
- Dong, C., Shi, H., Han, Y., Yang, Y., Wang, R., & Men, J.** (2021). Molecularly imprinted polymers by the surface imprinting technique. *European Polymer Journal, 145*, 110231.
- Eccles, R.** (2007). Substitution of phenylephrine for pseudoephedrine as a nasal decongestant. An illogical way to control methamphetamine abuse. *British journal of clinical pharmacology, 63*(1), 10-14.
- Elahi, N., Kamali, M., & Baghersad, M. H.** (2018). Recent biomedical applications of gold nanoparticles: A review. *Talanta, 184*, 537-556.
- Ertürk, G.** (2015). Prostat Kanseri Tayini İçin Moleküler Baskılama Temelli Yüzey Plazmon Rezonans (Spr) Sensörlerin Hazırlanması.
- European Union Drugs Agency.** (2024). *Understanding Europe's drug situation in 2024-key developments*.
- Evren, C., & Bozkurt, M.** (2018). Update on methamphetamine: an old problem that we have recently encountered. *Dusunen Adam Journal of Psychiatry and Neurological Sciences, 31*(1), 1.
- Fodey, T., Leonard, P., O'Mahony, J., O'Kennedy, R., & Danaher, M.** (2011). Developments in the production of biological and synthetic binders for immunoassay and sensor-based detection of small molecules. *TrAC Trends in Analytical Chemistry, 30*(2), 254-269.

## KAYNAKLAR (devam)

- Gomes de Matos, E., Hannemann, T. V., Atzendorf, J., Kraus, L., & Piontek, D.** (2018). The consumption of new psychoactive substances and methamphetamine analysis of data from 6 German federal states. *Deutsches Ärzteblatt International*, 115(4), 49-55.
- Guan, Y., Huang, Y., & Li, T.** (2022). Applications of gelatin in biosensors: recent trends and progress. *Biosensors*, 12(9), 67
- Haghighi, M., Shahlaei, M., Irandoust, M., & Hassanpour, A.** (2020). New and sensitive sensor for voltammetry determination of Methamphetamine in biological samples. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 31(14), 10989-11000.
- Hassanzadeh, J., Khataee, A., & Lotfi, R.** (2017). Sensitive fluorescence and chemiluminescence procedures for methamphetamine detection based on CdS quantum dots. *Microchemical Journal*, 132, 371-377.
- Homola, J.** (2008). Surface plasmon resonance sensors for detection of chemical and biological species. *Chemical Reviews*, 108(2), 462-493.
- Huang, C., Wang, H., Ma, S., Bo, C., Ou, J., & Gong, B.** (2021). Recent application of molecular imprinting technique in food safety. *Journal of Chromatography A*, 1657, 462579.
- Isenberg, M.** (2024). Volksdrogen: The Third Reich Powered by Methamphetamine. *The Macksey Journal*, 4(1).
- Jangra, A., Khajuria, H., Nayak, B. P., Goyal, K., & Sarin, R. K.** (2024). Implementation of Modified D-SPE Method for Simultaneous Quantification of Methamphetamine & Mephedrone Using LC-MS/MS. *Letters in Applied NanoBioScience*, 13(2).
- Jiang, Y., Zheng, J., Wang, M., Xu, W., Wang, Y., Wen, L., & Dong, J.** (2024). Pros and cons in various immobilization techniques and carriers for enzymes. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 1-23.
- Kalecki, J., Iskierko, Z., Cieplak, M., & Sharma, P. S.** (2020). Oriented immobilization of protein templates: a new trend in surface imprinting. *ACS sensors*, 5(12), 3710-3720.
- Kara, M.** (2010). Nanodesenlenmiş ve moleküler baskılanmış kloramfenikol biyosensörünün hazırlanması, karakterizasyonu ve gıda güvenliği amacıyla kullanım potansiyelinin belirlenmesi.

## KAYNAKLAR (devam)

- Karch, S. B., & Goldberger, B. A. (Eds.).** (2022). *Karch's Drug Abuse Handbook*. CRC Press.
- Kenan, S.** (2014). Institute for Graduate Studies in Pure and Applied Sciences Polymer Based Optical Sensor for Determination of Au(III).
- Keskin, M., & Arslan, F.** (2020). Biyosensörler. *Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*, 1(1-2), 51-60.
- Kolwas, K., & Derkachova, A.** (2020). Impact of the interband transitions in gold and silver on the dynamics of propagating and localized surface plasmons. *Nanomaterials*, 10(7), 1411.
- Kunalan, V., Nic Daéid, N., Kerr, W. J., Buchanan, H. A., & McPherson, A. R.** (2009). Characterization of route specific impurities found in methamphetamine synthesized by the Leuckart and reductive amination methods. *Analytical chemistry*, 81(17), 7342- 7348.
- Lewis, D., Kenneally, M., van denHeuvel, C., & Byard, R. W.** (2021). Methamphetamine deaths: Changing trends and diagnostic issues. *Medicine, Science and the Law*, 61(2), 130-137.
- Li, X., He, Y., Zhao, F., Zhang, W., & Ye, Z.** (2015). Molecularly imprinted polymer- based sensors for atrazine detection by electropolymerization of o- phenylenediamine. *RSC Advances*, 5(70), 56534-56540.
- Liu, R., & Poma, A.** (2021). Advances in molecularly imprinted polymers as drug delivery systems. *Molecules*, 26(12), 3589.
- Liu, Y., Wang, L., Li, H., Zhao, L., Ma, Y., Zhang, Y., ... & Wei, Y.** (2024). Rigorous recognition mode analysis of molecularly imprinted polymers—Rational design, challenges, and opportunities. *Progress in polymer science*, 150, 101790.
- Malekzad, H., Zangabad, P. S., Mohammadi, H., Sadroddini, M., Jafari, Z., Mahlooji, N., ... & Hamblin, M. R.** (2018). Noble metal nanostructures in optical biosensors: Basics, and their introduction to anti-doping detection. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 100, 116-135.
- Mandani, S., Rezaei, B., & Ensafi, A. A.** (2020). Sensitive imprinted optical sensor based on mesoporous structure and green nanoparticles for the detection of methamphetamine in plasma and urine. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 231, 118077

## KAYNAKLAR (devam)

- Masteri-Farahani, M., Mashhadi-Ramezani, S., & Mosleh, N.** (2020). Molecularly imprinted polymer containing fluorescent graphene quantum dots as a new fluorescent nanosensor for detection of methamphetamine. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 229, 118021.
- Matsui, J., Akamatsu, K., Hara, N., Miyoshi, D., Nawafune, H., Tamaki, K., & Sugimoto, N.** (2005). SPR sensor chip for detection of small molecules using molecularly imprinted polymer with embedded gold nanoparticles. *Analytical Chemistry*, 77(13), 4282-4285.
- Matsui, J., Takayose, M., Akamatsu, K., Nawafune, H., Tamaki, K., & Sugimoto, N.** (2009). Molecularly imprinted nanocomposites for highly sensitive SPR detection of a non-aqueous atrazine sample. *Analyst*, 134(1), 80-86.
- Mendelson, J. E., McGlothlin, D., Harris, D. S., Foster, E., Everhart, T., Jacob, P., & Jones, R. T.** (2008). The clinical pharmacology of intranasal l- methamphetamine. *BMC clinical pharmacology*, 8, 1-9.
- Meshram, B. D., Agrawal, A. K., Adil, S., Ranvir, S., & Sande, K. K.** (2018). Biosensor and its application in food and dairy industry: a review. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci*, 7(2), 3305-3324.
- Metamfetamin; Türkiye ve Dünyadaki Durumu.** (2022). *Emniyet Genel Müdürlüğü Narkotik Suçlarla Mücadele Daire Başkanlığı*. Ankara.
- Miller, D. R., Bu, M., Gopinath, A., Martinez, L. R., & Khoshbouei, H.** (2021). Methamphetamine dysregulation of the central nervous system and peripheral immunity. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 379(3), 372-385.
- Morsi, S. M., Abd El-Aziz, M. E., & Mohamed, H. A.** (2023). Smart polymers as molecular imprinted polymers for recognition of target molecules. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 72(8), 612-635.
- Newman, J. D., & Turner, A. P.** (2007). Historical perspective of biosensor and biochip development. *Handbook of Biosensors and Biochips*, Wiley-Interscience.
- Nguyen, H. H., Lee, S. H., Lee, U. J., Fermin, C. D., & Kim, M.** (2019). Immobilized enzymes in biosensor applications. *Materials*, 12(1), 121.

## KAYNAKLAR (devam)

- Nickelson, L., & Nickelson, L. (2019). Plasmonics. *Electromagnetic Theory and Plasmonics for Engineers*, 611-695.
- Ninciuleanu, C. M., Ianchiș, R., Alexandrescu, E., Mihăescu, C. I., Scomoroscenco, C., Nistor, C. L., ... & Teodorescu, M. (2021). The effects of monomer, crosslinking agent, and filler concentrations on the viscoelastic and swelling properties of poly (methacrylic acid) hydrogels: A comparison. *Materials*, 14(9), 2305.
- Nordahl, T. E., Salo, R., & Leamon, M. (2003). Neuropsychological effects of chronic methamphetamine use on neurotransmitters and cognition: a review. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences*, 15(3), 317-325.
- Nuntawong, N., Eiamchai, P., Somrang, W., Denchitcharoen, S., Limwichean, S., Horprathum, M., ... & Chindaudom, P. (2017). Detection of methamphetamine/amphetamine in human urine based on surface-enhanced Raman spectroscopy and acidulation treatments. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 239, 139-146.
- Oghli, A. H., Alipour, E., & Asadzadeh, M. (2015). Development of a novel voltammetric sensor for the determination of methamphetamine in biological samples on the pretreated pencil graphite electrode. *RSC advances*, 5(13), 9674-9682.
- Olaru, A., Bala, C., Jaffrezic-Renault, N., & Aboul-Enein, H. Y. (2015). Surface plasmon resonance (SPR) biosensors in pharmaceutical analysis. *Critical reviews in analytical chemistry*, 45(2), 97-105.
- Oliveira, L. C., Lima, A. M. N., Thirstrup, C., & Neff, H. F. (2015). *Surface plasmon resonance sensors: a materials guide to design and optimization*. Springer.
- Ozgür, E., Saylan, Y., Akgönüllü, S., & Denizli, A. (2022). Mass-sensitive based biosensors. In *Biosensors* (pp. 89-104). CRC Press.
- Pakmode, K., Krishnamachary, P. C., Sultana, T., Pradhan, P. K., Chatterjee, S., & Jana, A. (2023, December). Biosensors: Pioneering Progress in Sensing Technologies across Generations. In *2023 16th International Conference on Sensing Technology (ICST)* (pp. 1-6). IEEE.
- Papaseit, E., Olesti, E., Pérez-Mañá, C., Torrens, M., Fonseca, F., Grifell, M., ... & Farré, M. (2021). Acute pharmacological effects of oral and intranasal mephedrone: An observational study in humans. *Pharmaceuticals*, 14(2), 100.

## KAYNAKLAR (devam)

- Pollet, J., Delpont, F., Janssen, K. P., Jans, K., Maes, G., Pfeiffer, H., ... & Lammertyn, J.** (2009). Fiber optic SPR biosensing of DNA hybridization and DNA–protein interactions. *Biosensors and Bioelectronics*, 25(4), 864-869.
- Rafiee, B., Fakhari, A. R., & Ghaffarzadeh, M.** (2015). Impedimetric and stripping voltammetric determination of methamphetamine at gold nanoparticles-multiwalled carbon nanotubes modified screen printed electrode. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 218, 271-279.
- Ramesh, M., Janani, R., Deepa, C., & Rajeshkumar, L.** (2022). Nanotechnology-enabled biosensors: a review of fundamentals, design principles, materials, and applications. *Biosensors*, 13(1), 40.
- Rau, T., Ziemniak, J., & Poulsen, D.** (2016). The neuroprotective potential of low-dose methamphetamine in preclinical models of stroke and traumatic brain injury. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 64, 231-236.
- Ravindran, N., Kumar, S., S, R., CA, M., Thirunavookarasu S, N., & CK, S.** (2023). Recent advances in Surface Plasmon Resonance (SPR) biosensors for food analysis: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(8), 1055-1077.
- Sabban, S.** (2011). *Development of an in vitro model system for studying the interaction of Equus caballus IgE with its high-affinity FcεRI receptor*. The University of Sheffield.
- Sajini, T., & Mathew, B.** (2021). A brief overview of molecularly imprinted polymers: Highlighting computational design, nano and photo-responsive imprinting. *Talanta Open*, 4, 100072.
- Sandhyarani, N.** (2019). Surface modification methods for electrochemical biosensors. In *Electrochemical biosensors* (pp. 45-75). Elsevier.
- Schasfoort, R. B. (Ed.)**. (2017). *Handbook of surface plasmon resonance*. Royal Society of Chemistry.
- Schep, L. J., Slaughter, R. J., & Beasley, D. M. G.** (2010). The clinical toxicology of metamfetamine. *Clinical Toxicology*, 48(7), 675-694.
- Sepúlveda, B., Angelomé, P. C., Lechuga, L. M., & Liz-Marzán, L. M.** (2009). LSPR-based nanobiosensors. *Nano today*, 4(3), 244-251.

## KAYNAKLAR (devam)

- Sepulveda, M., Manning, E. E., Gogos, A., Hale, M., & van den Buuse, M.** (2021). Long-term effects of young-adult methamphetamine on dorsal raphe serotonin systems in mice: Role of brain-derived neurotrophic factor. *Brain Research*, 1762, 147428.
- Shichiri, M., Yamasaki, Y., Kawamori, R., Hakui, N., & Abe, H.** (1982). Wearable artificial endocrine pancreas with needle-type glucose sensor. *The Lancet*, 320(8308), 1129-1131.
- Singh, S., Kumar, V., Dhanjal, D. S., Datta, S., Prasad, R., & Singh, J.** (2020). Biological biosensors for monitoring and diagnosis. *Microbial biotechnology: basic research and applications*, 317-335.
- Soler, M., Huertas, C. S., & Lechuga, L. M.** (2019). Label-free plasmonic biosensors for point-of-care diagnostics: a review. *Expert review of molecular diagnostics*, 19(1), 71-81.
- Spadavecchia, J., Manera, M. G., Quaranta, F., Siciliano, P., & Rella, R.** (2005). Surface plasmon resonance imaging of DNA based biosensors for potential applications in food analysis. *Biosensors and Bioelectronics*, 21(6), 894-900.
- Srivastava, A., Dwivedi, L. K., Singh, S. K., & Dwivedi, L. K.** (2022). Smart materials and devices for sustainable technologies application of surface plasmon resonance (SPR) technique in sensing application. *In Association with International Journal of Scientific Research in Science and Technology*, 9(14), 16–22.
- Steglich, P., Lecci, G., & Mai, A.** (2022). Surface plasmon resonance (SPR) spectroscopy and photonic integrated circuit (PIC) biosensors: A comparative review. *Sensors*, 22(8), 2901.
- Syed Yaacob, S. F. F., Suwaibatu, M., Raja Jamil, R. Z., Mohamed Zain, N. N., Raoov, M., & Mohd Suah, F. B.** (2023). Review of molecular imprinting polymer: Basic characteristics and removal of phenolic contaminants based on the functionalized cyclodextrin monomer. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 98(2), 312-330.
- Tamayo, J., Kosaka, P. M., Ruz, J. J., San Paulo, Á., & Calleja, M.** (2013). Biosensors based on nanomechanical systems. *Chemical Society Reviews*, 42(3), 1287-1311.

## KAYNAKLAR (devam)

- Thakur, N., Sood, R., & Kumar, D.** (2024). Teaming up biosensor technology with agriculture: a detection approach for reframing agricultural sustainability and food security. In *Functionalized Nanomaterials for Biosensing and Bioelectronics Applications* (pp. 191-208). Woodhead Publishing.
- Thangaraj, B., & Solomon, P. R.** (2019). Immobilization of lipases—a review. Part II: carrier materials. *ChemBioEng Reviews*, 6(5), 167-194.
- Torre Fornell, R. D. L., Lahoz, Y., Pardo Lozano, R., & Farré Albaladejo, M.** (2012). MDMA, methamphetamine, and CYP2D6 pharmacogenetics: what is clinically relevant?
- Trevino, A. P. D.** (2019). *Elaboration of TiO<sub>2</sub> nanoparticle-based organic-inorganic hybrids: modification and study of the organic component* (Doctoral dissertation, Université Paris-Nord-Paris XIII).
- Tse Sum Bui, B., Mier, A., & Haupt, K.** (2023). Molecularly imprinted polymers as synthetic antibodies for protein recognition: the next generation. *Small*, 19(13), 2206453.
- Türkiye Uyuşturucu Raporu.** (2024). *Emniyet Genel Müdürlüğü Narkotik Suçlarla Mücadele Başkanlığı*. Ankara.
- Velásquez, E., Patiño Vidal, C., Rojas, A., Guarda, A., Galotto, M. J., & Lopez de Dicastillo, C.** (2021). Natural antimicrobials and antioxidants added to polylactic acid packaging films. Part I: Polymer processing techniques. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(4), 3388-3403.
- Verma, N., & Bhardwaj, A.** (2015). Biosensor technology for pesticides—a review. *Applied biochemistry and biotechnology*, 175, 3093-3119.
- Wang, Q., Zhang, D., Qian, Y., Yin, X., Wang, L., Zhang, S., & Wang, Y.** (2024). Research on fiber optic surface plasmon resonance biosensors: a review. *Photonic Sensors*, 14(2), 240201.
- World Drug Report 2021.** (2022). Methodological Annex. *UNODC*. Vienna.
- Xie, H., Yang, K. K., & Wang, Y. Z.** (2019). Photo-cross-linking: a powerful and versatile strategy to develop shape-memory polymers. *Progress in Polymer Science*, 95, 32-64.
- Xie, Y., Wu, S., Chen, Z., Jiang, J., & Sun, J.** (2022). Rapid nanomolar detection of methamphetamine in biofluids via a reagentless electrochemical aptamer-based biosensor. *Analytica chimica acta*, 1207, 339742.

## **KAYNAKLAR (devam)**

- Yao, W., Wang, B., Wu, Y., Wang, J., Xu, Z., Meng, F., & Wang, P.** (2022). Rapid determination of methamphetamine and cocaine in saliva by portable surface plasmon resonance (SPR). *Analytical Letters*, 55(18), 2944-2953.
- Zaidi, S. A.** (2020). Molecular imprinting: A useful approach for drug delivery. *Materials Science for Energy Technologies*, 3, 72-77.
- Zhang, Z., & Liu, J.** (2019). Molecular imprinting with functional DNA. *Small*, 15(26), 1805246.
- Zhou, S. F.** (2009). Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance: part II. *Clinical pharmacokinetics*, 48, 761-804.

# ÖZGEÇMİŞ

## Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Hatice SUNGUR BİRİNCİ

Doğum tarihi ve yeri :

e-posta :

## Öğrenim Bilgileri

Derece	Okul/Program	Yıl
Doktora	Balıkesir Üniversitesi /Kimya Bölümü	2025
Y. Lisans	İstanbul Teknik Üniversitesi /Gıda Mühendisliği	2018
Lisans	Hacettepe Üniversitesi/ Gıda Mühendisliği	2009
Lise	Antalya Metin Nuran Çakallıklı A.L.	2004

## Yayın Listesi

Birinci, H. S., Akgönüllü, S., Yavuz, H., Arslan, O., & Denizli, A. (2025). Design of molecularly imprinted polymer-based biomimetic surface plasmon resonance sensor for detection of methamphetamine in plasma and urine. *Microchemical Journal*, 213, 113668.

[Tezden türetilmiştir]