
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Gazi
1926

GERÇEK ZAMANLI ANTİDEPRESAN TESPİTİ İÇİN MOLEKÜLER OLARAK BASKILANMIŞ QCM SENSÖRÜ

Ezgi ALDEMİR

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

OCAK 2025

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Ezgi ALDEMİR

15/01/2025

GERÇEK ZAMANLI ANTİDEPRESAN TESPİTİ İÇİN MOLEKÜLER OLARAK BASKILANMIŞ QCM SENSÖRÜ

(Yüksek Lisans Tezi)

Ezgi ALDEMİR

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2025

ÖZET

Fluoksetin olarak da bilinen Prozac, merkezi nöronlarda seçici serotonin geri alımını engelleyen depresyon, sinir anoreksi, otizm ve bulimia nervozayı tedavi etmek için yüksek oranda tercih edilen bir serotonin gerialım inhibitörü (SSRI) ilacıdır. Depresyon, yaygın bir durumdur ve SSRI'lar, doktorlar tarafından yeni bir antidepresan sınıfı olarak kapsamlı bir şekilde kullanılmaktadır. Başlıca SSRI'lar arasında fluoksetinin oldukça etkili olduğu, majör depresyon ve panik bozuklukta iyi etkinlik gösterdiği kanıtlanmıştır. Farmasötik ilaç kalıntıları, genel yüksek seviyeli kullanımları nedeniyle tatlı ve yer altı su rezervuarlarında ve hastane atıklarında çeşitli şekillerde bulunur ve bunların çevreye kaybı özel bir endişe kaynağı haline gelmiştir. Antidepresan kullanımının artması ve ilaçların bozulmayan kısımlarının doğal atılımı çevre sularını da olumsuz etkilemiştir. Bu atıkların çevre sularında ve doğada belirlenmesi için birçok yöntem denenmiştir. Moleküler baskılı polimerlerin kuvars kristal mikro terazili (QCM) kullanımı, fluoksetin benzeri antidepresanların belirlenmesi için ümit verici bir tekniktir. Moleküler baskı tekniği, yüksek oranda çapraz bağlı bir polimerik matriste boşlukların oluşturulmasına dayanır. Bu boşluklar, şablon molekül boyutunu, şeklini tanıma yeteneğine sahiptir. Şablon molekülün herhangi bir desorpsiyon yöntemi ile çıkarılması, sabit pozisyonlarda, fonksiyonel monomer gruplarını ortaya çıkarır ve şablon moleküle konjüge edilmiş bir yapı oluşur. Bu çalışmada, moleküler baskılı destek malzemesi FTIR, SEM ve AFM kullanılarak hazırlanmış ve karakterize edilmiştir. Sentezlenen destek QCM sensörüne takılmıştır ve QCM çipinin yüzeyinde hedef molekül olan Prozac'ın belirlenmesi, farklı konsantrasyonlarda Prozac solüsyonları QCM'ye eklenerek kinetik ve afinite bağlanma çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Bilim Kodu	:	91227
Anahtar Kelimeler	:	Prozac, fluoksetin hidroklorür, moleküler olarak baskılı polimerler (MIP), kuvars kristal mikro terazi (QCM)
Sayfa Adedi	:	67
Danışman	:	Dr. Öğr. Üyesi Ceren OKTAR
İkinci Danışman	:	Prof. Dr. Lokman UZUN

MOLECULARLY IMPRINTED QCM SENSOR FOR REAL TIME ANTIDEPRESSANT DETECTION

(M. Sc. Thesis)

Ezgi ALDEMİR

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

January 2025

ABSTRACT

Prozac, also known as fluoxetine is a selective serotonin re-uptake inhibitor (SSRI) drug, widely used to treat depression, nervous anorexia, autism and bulimia nervosa, which inhibits the selective reuptake of serotonin in central neurons. Depression is a major prevailing condition, and SSRIs are comprehensively used by doctors as a new class of antidepressant. Among the major SSRIs, fluoxetine has been proved to be highly effective, showing good efficacy in major depression and panic disorder. Pharmaceutical drug residues are variously found in fresh and ground water reservoirs and in hospital effluent due to their general high-level usage, and their loss into the environment have become a particular cause for concern. The increase in the use of antidepressants and the natural excretion of the non-degradable parts of the drugs have also had negative effects on the surrounding waters. Many methods have been tried to determine these wastes in environmental waters and nature. The utilization of molecularly imprinted polymers with quartz crystal microbalance (QCM) is a promising technique for the determination of fluoxetine-like antidepressants. Molecular imprinting technique is based on the creation of cavities in a highly cross-linked polymeric matrix. These cavities have the ability to recognize the size and shape of the template molecule. Removal of the template molecule by any desorption method reveals functional monomer groups in fixed positions and a structure conjugated to the template molecule is formed. In this study, molecularly imprinted support material was prepared and characterized using FTIR, SEM and AFM. The synthesized support was attached to the QCM sensor and the determination of the target molecule, Prozac, on the surface of the QCM chip, and kinetic and affinity binding studies were carried out by introducing Prozac solutions of different concentrations to the QCM.

Science Code	:	91227
Key Words	:	Prozac, fluoxetine hydrochloride, molecularly imprinted polymers (MIP), quartz crystal microbalance (QCM)
Page Number	:	67
Supervisor	:	Asst. Prof. Dr. Ceren OKTAR
Co-Supervisor	:	Prof. Dr. Lokman UZUN

TEŞEKKÜR

Hiç bitmeyen enerjisi, pratik çözümleri, bilgisi, bilimsel katkıları, hep gülen yüzüyle ne zaman ihtiyaç duysam yanımda olduğunu ve varlığını hissettiren, değerli hocam, danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Ceren OKTAR'a,

Gerek manevi gerekse bilimsel katkılarıyla tezimin her basamağında bana yol gösteren; zekasına, bilgisine ama en çok güzel kalbine hayran olduğum, değerli bilim insanı, eş danışmanım Prof. Dr. Lokman UZUN'a,

Tez çalışmam sırasında bana laboratuvar imkanı sağlayan, pek çok güzel insan tanımama vesile olan, pek çok insanın hayatına dokunmuş olan saygıdeğer bilim insanı Prof. Dr. Adil DENİZLİ'ye,

Tez hazırlık sürecimde derslere katılım sağlamam yönünde desteğini esirgemeyen direktörüm Sayın Cem GÖZÜTOK ve genel müdürüm Sayın Ümit KARAOĞLU'na,

Uzakta olsalar bile hep en yakında hissettiren, ikinci ailem, anneannem Günser YILDIRIM, dayım Menderes YILDIRIM ve teyzem Berna YILDIRIM'a,

Ve hayatımın her anında hep yanıbaşımda duran, kendi ayaklarım üzerinde bir mühendis olmamı sağlayan annem Berrin ALDEMİR ve babam Ahmet ALDEMİR'e,

Sonsuz teşekkürler.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET iv

ABSTRACT v

TEŞEKKÜR vi

İÇİNDEKİLER vii

ÇİZELGELERİN LİSTESİ x

ŞEKİLLERİN LİSTESİ xi

RESİMLERİN LİSTESİ xiii

SİMGELER VE KISALTMALAR xiv

1. GİRİŞ 1

2. GENEL BİLGİLER 3

2.1. İlaçlar ve İlaç Atıkları 3

2.1.1. Çevre sularında ilaç atıklarının etkisi 5

2.1.2. Prozac nedir ve ne için kullanılır? 6

2.2. Moleküler Baskılama Metodu ve Tekniği 7

2.2.1. Moleküler baskılama (MIT), tekniği ve basamakları 8

2.2.2. Moleküler baskılama (MIP) bileşenleri 10

2.2.3. Moleküler baskılama yöntemleri 12

2.3. Sensörler 12

2.3.1. Biyosensörler 13

2.3.2. Kütle temelli biyosensörler (Piezoelektrik biyosensörler) 14

2.3.3. Kuvars kristal mikroterazi (QCM) 15

3. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI 19

3.1. Prozac (fluoksetin) ve Çevre Sularında İlaç ve Antidepresan Etkisi Literatür Örnekleri 19

3.2. Moleküler Baskılama Literatür Örnekleri 21

Sayfa

3.3. Kuvars Kristal Mikro Terazi (QCM) Literatür Örnekleri 23
4. DENEYSEL YÖNTEM 27
4.1. Kullanılan Kimyasallar 27
4.2. Sentez Çalışmaları 27
4.2.1. N- Metakroil- L -triptofan metil ester (MATrp) monomeri 27
4.2.2. MATrp-Fluoksetin ön polimer kompleksi 28
4.3. QCM Çipin Yüzey Modifikasyonu 29
4.4. Fluoksetin Baskılanmış (MIP) Nanofilm 29
4.5. Fluoksetin Baskılanmamış (NIP) Nanofilm 29
4.6. Kalıp Molekülün Desorpsiyonu 30
4.7. Karakterizasyon Çalışmaları 30
4.7.1. Fouirer dönüşümlü kızılötesi spektrofotometre (FTIR) Analizi 30
4.7.2. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi 30
4.7.3. Atomik kuvvet mikroskobu (AFM) analizi 30
4.8. QCM Sensör ile Etkinlik Çalışmaları 31
4.9. QCM Sensör ile Seçicilik Çalışmaları 33
4.10. MIP QCM Sensörün Tekrar Kullanılabilirliği Analizi 34
4.11. Denge İzoterm Modelleri 34
4.11.1. Langmuir izoterm modeli 34
4.11.2. Freundlich izoterm modeli 35
4.11.3. LF (Langmuir-Freundlich) izoterm modeli 35
5. BULGULAR VE TARTIŞMA 37
5.1. Sentez/Karakterizasyon Çalışmaları 37
5.1.1. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrofometresi (FTIR) analizi 39
5.1.2. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi 40
5.1.3. Atomik kuvvet mikroskobu (AFM) analizi 41

Sayfa

5.2. QCM Sensör-Etkinlik Çalışmaları 44
5.3. Denge İzotermi ve İzoterm Modelleri 49
5.4. QCM Sensör ile Yarışmalı Kinetik Analizler/Seçicilik Çalışmaları 53
5.5. MIP QCM Sensörün Tekrar Kullanılabilirlik İncelemesi 56
6. SONUÇ 57
KAYNAKLAR 61
ÖZGEÇMİŞ 67

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 5.1. MIP ve NIP QCM elektrotların Derişim-Delta Kütle ilişkisi verileri 45

Çizelge 5.2. İzoterm çeşitleri için MIP veri değerleri..... 49

Çizelge 5.3. İzoterm çeşitleri için NIP veri değerleri 49

Çizelge 5.4. Fluoksetin baskılanmış QCM elektrotların seçicilik katsayıları..... 53

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 2.1. İlaçların çevreye giriş yolları 4

Şekil 2.2. Moleküler baskılama yöntemi şematik görseli 8

Şekil 2.3. Moleküler baskılama bileşenleri şematik görseli 9

Şekil 2.4. Tipik biyosensör şeması 14

Şekil 2.5. Elektrokimyasal dönüştürücülü bir biyosensörün şeması..... 14

Şekil 2.6. QCM'in yapısal diyagramı 17

Şekil 4.1. Fluoksetin yapısı 28

Şekil 4.2. N- Metakroil -L -triptofan metil ester (MATrp) sentezi 28

Şekil 5.1. Fluoksetinin yapısal şekli 37

Şekil 5.2. N- Metakroil- L -triptofan metil ester (MATrp) sentez görseli 37

Şekil 5.3. MATrp monomeri için FTIR spektrum 38

Şekil 5.4. MATrp-HEMA polimeri 39

Şekil 5.5. MIP QCM sensörün salınım frakansının (Δf) zamanla değişimi 46

Şekil 5.6. MIP QCM sensörün kütle farkının (Δm) zamanla değişimi..... 46

Şekil 5.7. NIP QCM sensörün salınım frakansının (Δf) zamanla değişimi 47

Şekil 5.8. NIP QCM sensörün kütle farkının (Δm) zamanla değişimi..... 47

Şekil 5.9. Fluoksetin baskılanmış (MIP) QCM sensör derişim ($C_{fluoksetin}$)-Δm ilişkisi... 48

Şekil 5.10. Fluoksetin baskılanmamış (NIP) QCM sensör derişim ($C_{fluoksetin}$)-Δm ilişkisi 48

Şekil 5.11. Fluoksetin baskılı MIP sensör için Langmuir grafiği 50

Şekil 5.12. Fluoksetin baskılı MIP sensör için Freundlich grafiği 50

Şekil 5.13. Fluoksetin baskılı MIP sensör için Langmuir-Freundlich grafiği 51

Şekil 5.14. Fluoksetin baskılanmayan NIP sensör için Langmuir grafiği 51

Şekil 5.15. Fluoksetin baskılanmayan NIP sensör için Freundlich grafiği..... 52

Şekil 5.16. Fluoksetin baskılanmayan NIP sensör için Langmuir-Freundlich grafiği.... 52

Şekil **Sayfa**

Şekil 5.17. MIP-seçicilik Delta kütle değerleri..... 54

Şekil 5.18. NIP-seçicilik Delta kütle değerleri 55

Şekil 5.19. Tekrarlı analiz Delta kütle-zaman grafiği..... 56

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim **Sayfa**

Resim 4.1. QCM sistemi akış hücresi (a), peristaltic pompa (b), çözelti (c) 32

Resim 4.2. QCM sistemi kuvars kristal mikro terazi (d) Bağlantı kanalı (e) Bilgisayar (f) Yalıtım kabini (g) 33

Resim 5.1. Fluoksetin-MIP nanofilm SEM görüntüsü 40

Resim 5.2. NIP nanofilm SEM görüntüsü 41

Resim 5.3. MIP 3 boyutlu AFM görüntüsü 42

Resim 5.4. MIP 2 boyutlu AFM görüntüsü 42

Resim 5.5. NIP 3 boyutlu AFM görüntüsü 43

Resim 5.6. NIP 2 boyutlu AFM görüntüsü 43

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	**Açıklamalar**
hz	Hertz
μq	Kesme modülü
ρ	Yoğunluk
η	Viskozite
Δm	Toplam kütle
Δf	Toplam frekans
ppm	Milyonda bir (mikro)
ppb	Milyarda bir (nano)

Kısaltmalar	**Açıklamalar**
AFM	Atomik kuvvet mikroskobu
AIBN	Azobüsizobütironitril
DMSO	Dimetil sülfoksit
EDGMA	Etilen glikol dimetakrilat
FTIR	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
HEMA	2- hidroksi etil metakrilat
MATrp	N - metakroil - L- triptofan metil ester
MIP	Moleküler baskılanmış nanofilm
MIT	Moleküler baskı teknolojisi
NIP	Moleküler baskılanmamış nanofilm
PBS	Fosfat tamponlu salin çözeltisi
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
SSRI	Seçici serotonin geri alım inhibitörü
QCM	Kuvars kristal mikro terazi

1. GİRİŞ

Su ortamındaki ilaçlardan kaynaklanan kirlilik artık birçok ülkede çevresel bir sorun olarak kabul edilmektedir. Bu, diğerlerinin yanı sıra kapsamlı bir araştırma alanının yaratılmasına yol açmıştır: kimyasal tanımlama ve miktar tayini; atık su arıtma tesislerinde veya çevresel matrislerde mevcut olduğunda dönüşüm yollarının açıklanması; potansiyel biyolojik etkilerinin değerlendirilmesi ve bunların uzaklaştırılması ve/veya mineralizasyonu için ileri arıtma proseslerinin geliştirilmesi ve uygulanması gibi araştırma alanlarıdır. Farmasötikler, özel özellikleri nedeniyle benzersiz bir kirletici kategorisidir [1].

Yaygın olarak kullanılan bir antidepresan olan fluoksetinin (Prozac) tıbbi etkilerini neredeyse yalnızca serotonin alım sistemlerini bloke ederek gösterdiği söylenmektedir. Mevcut çalışma, hem kas hem de nöronal nikotinik asetilkolin reseptörlerinin, rekabetçi olmayan ve voltaja bağlı bir şekilde fluoksetin tarafından bloke edildiğini ve bunun da nikotinik reseptörlerin duyarsızlaşma oranını arttırdığını göstermektedir. Bu reseptörler hem merkezi hem de periferik sinir sistemlerinde çok yaygın olarak dağıldığı için, fluoksetinin nikotinik reseptörler üzerindeki bloke edici etkisi, onun antidepresan ve diğer terapötik etkilerinde önemli bir rol oynayabilir [2].

Farmasötik maddelerden kaynaklanan kirlilik, milyarda parça (ppb, µg/L), ancak daha sık olarak trilyonda parça (ppt, ng/L) konsantrasyonlarında meydana gelir. 3000'den fazla kayıtlı farmasötik içerik arasında, psikiyatrik ilaçlar, en az iki nedenden dolayı özel ilgiyi hak ediyor. İlk olarak, antidepresanlar ve benzodiazepinler gibi psikoaktif ilaçlar en yaygın şekilde reçete edilen farmasötiklere aittir. İkincisi, psikoaktif ilaçlar ve bunların metabolitleri çevreye çeşitli yollardan ortam konsantrasyonlarında antidepresanların balıklarda, yumuşakçalarda ve suda yaşayan omurgasızlarda biyolojik etkilere neden olduğunu göstermiştir. Bu bağlamda, moleküler olarak damgalanmış polimerler (MIP'ler), yani hazırlanmaları sırasında kullanılan şablon molekülle yapısal olarak ilgili analitlere karşı oldukça spesifik bir tanıma yeteneği gösteren sentetik polimerler umut verici bir potansiyel sunar [3].

Günümüzde moleküler baskı teknolojisi (MIT) çeşitli uygulama alanları için seçilen ve uygun olarak belirlenen malzemeler ile, analiz için belirlemesi yapılmış bir analit için, spesifik olarak seçicilik içeren bir uygulama tekniğidir. Baskı teknolojisi kullanılarak elde

edilen ve polimerik matrisler denilen moleküler baskılı polimerler (MIPler) biyolojik veya çevresel sıvılar gibi numunelerde seçicilik analizi sağlamak hususunda uygun olan antikorları tanıyan ve seçen moleküler olarak tanıma elemanlarıdır [4].

Bu çalışma kapsamında, bilinen ve sık kullanılan bir antidepresan ilaç olan Prozac (fluoksetin hidroklorür) kullanılmıştır. Prozac'ın çevre sularında gerçek zamanlı tayin edilebilmesi için moleküler olarak baskılanmış QCM sensörü geliştirilmiştir. QCM sensörde karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. FTIR, SEM, AFM kullanılmıştır. Hedef molekül Prozac'ın QCM çipinin yüzeyinde tayin edilebilmesi için Fluoksetin baskılanmış (MIP) ve baskılanmamış (NIP) nanofilmler kullanılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış olan fluoksetin çözeltileri çip yüzeyi ile etkileştirilerek, kinetik veriler alınmıştır. QCM sensörde etkinlik ve seçicilik çalışmaları yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İlaçlar ve İlaç Atıkları

İlaçlar, sağlık bakım araçları olarak toplum için oldukça önemli olan bir grup maddeyi oluşturur. Artık yüzey, yer altı ve içme sularında çeşitli ilaçlar tespit edilebilmektedir. Bu, bu kirlenmenin potansiyel olarak olumsuz çevresel sonuçlarına ilişkin endişeleri artırmaktadır. Risk, çeşitli çevresel bölgelerdeki (su, toprak vb.) kimyasal maddelerin aktif konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve farmasötik atık, uygun şekilde yönetilmezse bu riski artırır.

Atık ve imha sorunu, aktif farmakolojik bileşenin (API) üretimi ile başlar ve bir farmasötik ürünün nihai bertarafı ile biter. İlaç üretimi ve kullanımı sırasında, birçok malzeme, atık hacmini artıran bir API ile kontamine olur [5].

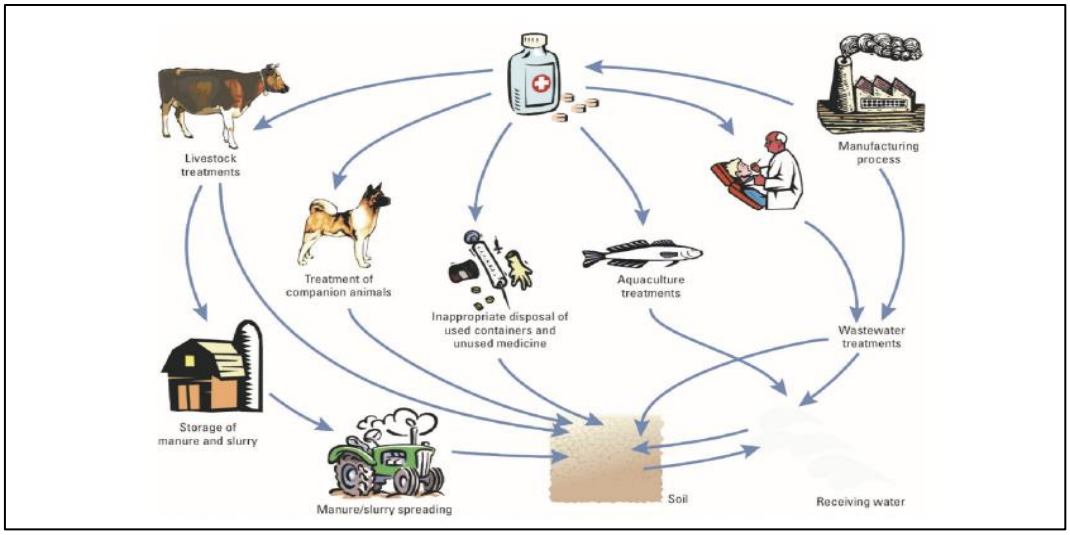
Farmasötik bileşikler, diğer bileşenlere kıyas yapılacak olursa daha düşük konsantrasyonlarda biyokimyasal aktivasyon sağlayacak şekilde, hedef organizmalarda tasarlanmıştır. Bununla bağlantılı olarak da, bu bileşiklerin trilyon başına düşük seviyeler olsa da ekolojik denge, ayrıca insan sağlığı üzerinde yüksek bir etkisi olabileceği hususunda pek çok endişeler mevcuttur. Su ortamlarında meydana gelen biyolojik ve fiziksel olarak tüm süreçler birçok farmasötik bileşiğin zayıflamasına neden olabilse de, yeraltı sularında, yüzey sularında ve ayrıca içme sularında da insan ve veterinerlik farmasötik bileşiklerinin ve metabolitlerinin eser miktarda konsantrasyonları tespit edilmiştir [6].

Farmasötik atık tanımı; istenmeyen veya kesilmiş ilaçlar, son kullanma tarihi geçmiş veya kontamine olmuş ilaçlar demektir. Metabolize edilmeyen ana bileşik ve metabolitler, doğal su ortamına atık deşarjları yoluyla alıcı akarsulara girer, bu da rekreasyonel gölleri ve hatta içme suyu arıtma tesislerinin girişlerini kirletebilir [5].

Farmasötik kimyasallar çevreye aşağıdaki gibi bir dizi geçiş yoluyla girebilir:

- Hindistan ve Çin gibi gelişmekte olan ülkelerdeki düşük maliyetli ilaç üretim endüstrilerinden,
- Hastalar/insanlar tarafından kullanılmamış/süresi dolmuş ilaçlar tarafından çöpe ve idrar veya dışkı atımı yoluyla doğrudan ve uygun olmayan şekilde imha edilmesi,
- Hastane atıklarından/çöplerinden salınım,
- Eczaneler tarafından bertaraf,
- İlaç olarak veteriner kullanımı ve hayvansal gıdalara katkı maddeleri; toprağa veya yüzey sularına atıkları,
- Süt atıkları bertarafı,
- Ev suyu/kanalizasyon, ilaç fazlası ile katı çöp karışımı,
- Arızalı depolama alanlarından sızıntı,
- İlaçlı yem içeren su ürünleri yetiştiriciliğinden salınmanın yanı sıra su ürünleri yetiştiriciliğinden atılım,
- Moleküler tarım/haşere kontrol ilaçlarından salınım,
- Ötenazi uygulanmış/ilaçlı hayvan leşlerinin imhası,
- Hindistan gibi pek çok gelişmekte olan ülkede bile şirketlerin satış promosyonu amacıyla tıbbi temsilcilere verdiği doktor numuneleri [6].

Farmasötik atıkların çevreye giriş yolları Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. İlaçların çevreye giriş yolları [6]

Malzeme ciddi bir tehlike arz ettiğinde, güvenliği sağlamak için özel işlem gerektirir. Kontrollü ilaçlar gibi daha yüksek riskli ürünlerle ilgili sorunların olduğu durumlarda, farmasötik atıkların işlenmesinde daha fazla güvenlik de gereklidir [5].

2.1.1. Çevre sularında ilaç atıklarının etkisi

İlaçlar hayatımızın kaçınılmaz bir parçasıdır. İnsan veya hayvan tedavisi için her gün çok sayıda ilaç kullanılmaktadır ve kullanımları artmaktadır. İlaçlar çevreye insan atılımından ve ayrıca kullanılmayan / son kullanma tarihi geçen ilaçların kanalizasyon sistemleri yoluyla uygun olmayan şekilde imha edilmesinden dolayı bozulmamış formda girerler.

İlaç endüstrileri çevreye doğrudan veya dolaylı çok toksik kirleticiler salmaktadır. Ayrıca farmasötik bileşikler, arıtılmış atık suyun deşarjı, düzenli depolama alanlarından sızma, kanalizasyon hatlarından sızma, hayvan atıklarından akış vb. gibi farklı yollarla çevreye girebilir [7].

Kullanılmayan ilaçları atmanın bir başka yolu da evsel atıklardır. Atığın yakılması, sorunu çözmenin en etkili ve çevre dostu yolu olarak kabul edilir, ancak birçok ülkede, özellikle de gelişmekte olanlarda bu teknik mevcut değildir ve evsel atıklar nihayetinde çöp sahalarında ilaçların sızıntı suyu olarak çevreye karışır. Bu çözüm yalnızca sorunu erteler ve ilaçlar muhtemelen birkaç yıl sonra çöp sahasının atık sularında ortaya çıkacaktır [8].

İlaçların üretim ve tüketim hacmi çevre kirleticileri haline gelmiştir. İdrar, dışkı veya cilt kullanımı durumunda durulama yoluyla atık suya transferleri içme suyu, tortular, topraklar, besin zinciri ve bitkiler de dahil olmak üzere hidrosferdeki kirliliği yaygınlaştırır [45].

Özellikle de COVID-19 pandemisi aralarında antidepresanların da mevcut olduğu birçok ilacın tüketimini değiştirmiştir. COVID-19 öncesi ve sonrası antidepresan kullanım sıklığını değerlendirildiğinde kullanım sıklığı gözler önüne serilmiştir. Antidepresanların tespit edildiği, daha fazla konsantrasyonun olduğu yerler belirtilmiştir. Su yaşamı üzerindeki etkilere dair farklı canlılar (balık, kabuklular, yumuşakçalar, planktonik kabuklular, algler gibi) üzerinden değerlendirilmeler yapıldığında en çok kullanılan antidepresanların pek çoğunun, su canlıları üzerindeki olası olumsuz etkilerine ilişkin, özellikle de en çok reçete edilen antidepresanların yaşam döngüsüne odaklanarak daha fazla araştırma yapılmasının

gerekliliğini gözler önüne sermektedir. Özellikle, pandemiden sonra en çok kullanılan antidepresanların su ortamındaki oluşumunu ve de olumsuz etkilerini bilmek bir öncelik olmalıdır [43].

Psikotropik ilaçlar olarak özellikle sudaki kalıntı antidepresanlar dikkatlice izlenmeli ve insan sağlığının tehlikeye girebileceği seviyelerin kesinlikle altında tutulmalıdır. Bu tür kirleticiler doğal ortamlarına girdiğinde ise suda yaşayan canlıların hareketinin, üreme fonksiyonlarının veya sosyal davranışlarının ciddi şekilde etkilendiği bilinmektedir [44].

İlaç endüstrileri tarafından arıtılmamış veya kısmen arıtılmış atık sular salınmasına rağmen, içme suyu kaynakları kirlenmektedir. mg/L'den µg/L'ye kadar olan su örneklerinde analjezik, antidepresan, antihipertansif, kontraseptif, antibiyotik, steroidler ve hormonlar gibi farklı farmasötik bileşik sınıfları tespit edilmiştir. Tespit edilen miktarlar çok küçük olmasına rağmen insan, hayvan ve sucul yaşamlar için oldukça zehirlidir. Çevreyi ve canlıları sağlık tehlikelerinden kurtarmak için içme suyu kaynaklarına giren farmasötik atıklardaki farmasötik bileşiklerin konsantrasyonunun düzenli olarak izlenmesine ihtiyaç vardır [7].

Hareketsiz yaşam tarzı, yetersiz beslenme alışkanlıkları ve yüksek strese yol açan yoğun çalışma saatleri insan zihnini ve psikolojisinde zorlayıcıdır. Birçok insan bu hayata dayanamamakta, bu nedenle profesyonel desteğe ihtiyaç duymaktadır. Profesyonel destek sonucu kullanılan antidepresanlar kısa vadede fayda sağlayıcı olsa dahi; kişisel atıklar, düzensiz ve aşırı doz nedeniyle çevre ve su yaşamına ciddi zararlar vermeye devam etmektedir. Takip ve çevresel uzaklaştırma yapılmaz ise, çok kısa sürede hedef olan insanın dışındaki tüm canlılar ve ortamlar da zarar görecek ve dolayısıyla bu zarar bumerang gibi insana geri dönecektir. Kirliliğin ortaya çıktığı ortamda yeni ajan ve yöntemlerin geliştirilmesi gerektiği açıktır [46].

2.1.2. Prozac nedir ve ne için kullanılır?

1970'lerin başlarında, serotoninin (5-hidroksitriptamin veya 5-HT) depresyondaki rolüne dair kanıtlar ortaya çıkmaya başladı. 5-HT nörotransmisyonunu arttırmanın antidepresan yanıta aracılık etmek için geçerli bir mekanizma olacağı hipotezi ortaya atıldı. Bu hipoteze dayanarak, sinaptik yarıktan 5-HT alımını inhibe eden ajanlar geliştirme çabaları başlatıldı.

Bu çalışmalar, 1987'de ABD FDA tarafından depresyon tedavisi için onaylanan seçici serotonin geri alım inhibitörü fluoksetin hidroklorürün keşfedilmesine ve geliştirilmesine yol açtı [9].

Fluoksetin hidroklorür, beyaz ila beyazımsı, kristalin, kokusuz bir tozdur. Fluoksetin hidroklorürün erime aralığı 158.4 158.9ºC'dir. Fluoksetin hidroklorür, metanol ve etanol içinde serbestçe çözünür; asetonitril, kloroform ve asetonda çözünür; etil asetat, diklorometan ve suda biraz çözünür. Öncelikle depresyon tedavisi için çalışılmış olmasına rağmen, son zamanlarda bulimia ve şiddetli obezite tedavisinde kullanılmaktadırlar [10].

Fluoksetin olarak da bilinen Prozac, merkezi nöronlarda seçici serotonin geri alımını engelleyen depresyon, sinir anoreksi, otizm ve bulimia nervozayı tedavi etmek için oldukça yaygın şekilde kullanılan serotonin geri alım inhibitörü (SSRI) ilacıdır [11].

Nörolojik ve psikolojik rahatsızlık vakalarındaki artış nedeniyle farklı kategorilerdeki antidepresanlar tüm dünyada yaygın olarak reçete edilmektedir. Bu ilaçların insanlarda boğaz ağrısı, huzursuzluk, mide problemleri, yorgunluk, baş ağrısı, konsantre olamama ve diğerleri gibi farklı riskli yan etkilere neden olduğu bildirilmiştir. Diğer çalışmalar, antidepresanların hayvanlarda hipotalamus-gonadal eksen, vücut ağırlığı, cinsiyet oranı, libido, baş dönmesi, dengesizlik, kısırlık, kas zayıflığı, anemi, hiperlipidemi üzerindeki etkileri gibi kötü etkileri olduğunu bildirmiştir [12].

Gıda ve İlaç Dairesi-Amerika Birleşik Devletleri Sağlık Bakanlığı'na bağlı büro (FDA) tarafınca onaylanmış olan ilk seçici serotonin geri alım inhibitörüdür (SSRI), üstün etkinlik ve azaltılmış yan etkiler sunar. Fluoksetinin klinik etkinliğinin ortaya çıktığı kesin mekanizma ile ilgili bir tartışma devam etse de, fluoksetinin ve ilgili SSRI'ların bu alandaki önemi tartışılmazdır. Prozac ticari adı, popüler kültüre nüfuz etmiş, depresyon farkındalığını artırmaya ve bu hastalıkla ilişkili uzun süredir devam eden yaygınlığı azaltmaya yardımcı olmuştur [13].

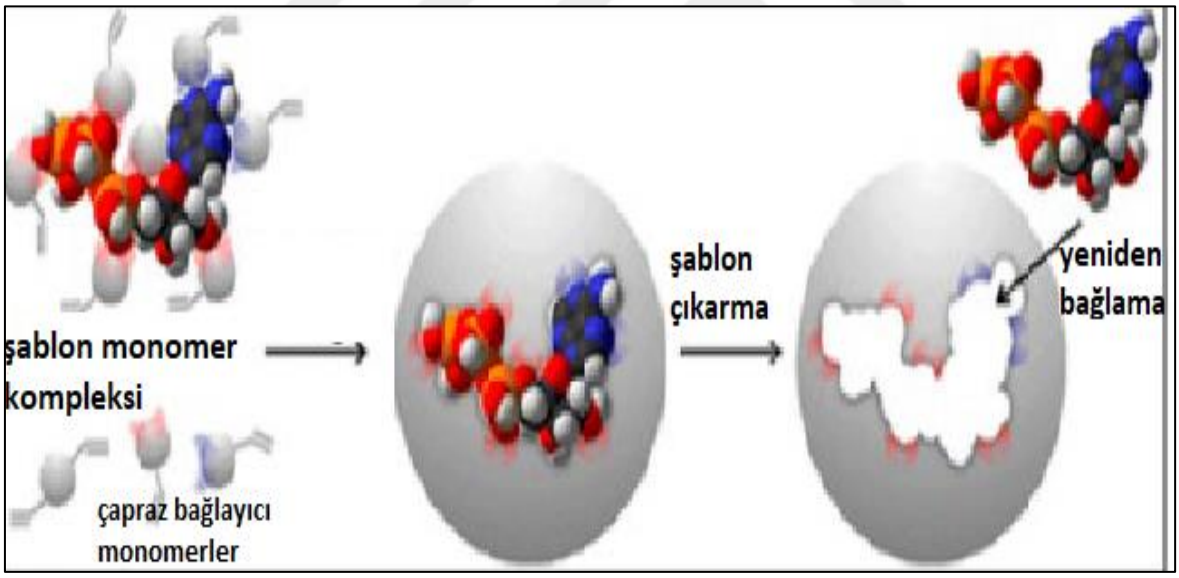
2.2. Moleküler Baskılama Metodu ve Tekniği

Moleküler baskı teknolojisi (MIT) tanımı genellikle; bir moleküler anahtar-kilit yöntemi şeklinde çalışan, hedef (şablon) moleküller kullanılarak, bu moleküle özel olarak oluşturulan

bağlanma bölgeleri ihtiva eden, baskılı polimerler (MIPler) oluşturulmasıdır. Moleküler baskılama (MIT) işlemi, fonksiyonel bir monomerin bir çapraz bağlayıcı kullanılarak hedef molekül ile polimerizasyonudur [14].

Hedef (şablon) molekül, polimerizasyondan sonra baskılı malzemeden çıkarıldığında, boyut, şekil ve kimyasal işlevsellik açısından şablona tamamlayıcı olan özel boşlukları geride bırakır. MIP'ler, saflaştırma, izolasyon, kiral ayırma, sensörler, kataliz ve biyosensörler dahil olmak üzere birçok uygulamada başarıyla kullanılmıştır [15].

Diğer tanıma sistemleri ile kıyaslandığında, üç ana benzersiz yapı öngörülebilirliği, tanıma özgüllüğü ve uygulama evrenselliği özelliğine sahip olan MIP'ler, saflaştırma ve ayırma, kemo / biyoalgılama, yapay antikorlar, ilaç dağıtımı, kataliz ve bozunma gibi birçok alanda yüksek fiziksel stabiliteleri, kolay hazırlıkları, dikkat çekici sağlamlıkları ve düşük maliyetleri sayesinde. yaygın ilgi görmüş ve çekici hale gelmiştir [14].

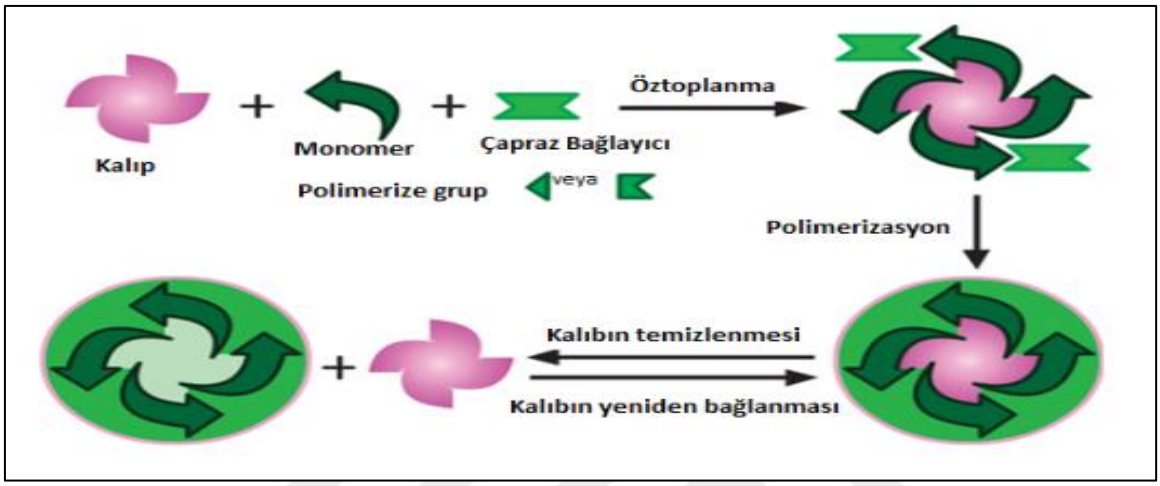


Şekil 2.2. Moleküler baskılama yöntemi şematik görseli [16]

2.2.1. Moleküler baskılama (MIT), tekniği ve basamakları

Moleküler baskılama ilk olarak 1931'de Polyakov tarafından silika parçacıkları kullanılarak rapor edilmiştir. Daha sonra konsept, 1972'de MIP'leri tanımlayan Wulff ve Klotz tarafından organik polimerlerle damgalanmak üzere geliştirilmiştir. MIP'ler bağlanma için hem kovalent hem de kovalent olmayan etkileşimleri kullanabilir [17].

Genel olarak şablon moleküller, analitik süreçlerde hedef bileşiklerdir. İdeal bir şablon molekül aşağıdaki üç gereksinimi karşılamalıdır. İlk olarak, polimerizasyona dahil olan veya engelleyen gruplar içermemelidir. İkincisi, polimerizasyon reaksiyonu sırasında mükemmel kimyasal stabilite sergilemelidir. Son olarak, fonksiyonel monomerlerle bir araya gelmek için iyi adapte edilmiş fonksiyonel grupları içermelidir [18].



Şekil 2.3. Moleküler baskılama bileşenleri şematik görseli [18]

Moleküler baskılama (MIT) şu şekilde gerçekleşir;

- Bir hedef (şablon) molekül ile birlikte, fonksiyonel monomerlerin birleştirilmesi yöntemiyle, ön-polimer kompleksi oluşturulur.
- Polimerizasyon basamağı, ön-polimer kompleksi ile moleküler tanıma yapılacak olan hedef molekülü, çapraz bağlayıcı (fonksiyonel grupların konumu için) ile bağlanması olarak tamamlanmış olur.
- Polimerizasyon işlem basamağı sonucunda uygun desorpsiyon ajanları ile hedef molekülün çıkarılmasından sonra; polimerler spesifik tanıma bölgelerine sahip olur [16].

Moleküler baskılama yöntemi aşağıda açıklamaları verilen 3 basamakta gerçekleşir:

Ön-polimer oluşturulması

Tanımlaması yapılmak istenen hedef molekül (şablon, kalıp) ile uygun bir fonksiyonel gruba sahip ve polimerleşebilen bir monomer kovalent ya da kovalent olmayan etkileşimler

göstererek bir kompleks polimer oluşturur. Bu etkileşim esnasında hedef (şablon, kalıp) molekülün üç boyutlu yapısı, ayrıca kimyasal tüm özellikleri önem taşır.

Polimerizasyon basamağı

Hedef molekül-monomer kompleksinin polimerizasyonu için; uygun bir çapraz bağlayıcı ve başlatıcı bir kimyasal kullanılmalıdır.

Desorpsiyon (kalıp molekülün uzaklaştırılması)

Kalıp molekülün uzaklaştırılması için uygun olan çözücü/çözücü karışımları kullanılarak, polimerik yapıdan hedef (şablon, kalıp) molekül uzaklaştırılır. Baskılanan hedef molekülün polimerden uzaklaştırılması sonrasında, polimerde baskılanan hedef moleküle kimyasal ve topolojik (büyüklük/şekil/üç boyutlu yapı) olarak seçici bellekler elde edilir. Bir karışımda baskılanan hedef (şablon, kalıp) molekül, oluşturulan polimere seçici olarak tekrar bağlanabilir.

2.2.2. Moleküler baskılama (MIP) bileşenleri

Moleküler baskılama **(**MIP) sentez işlemi, hedef (şablon, kalıp) molekül, fonksiyonel monomer, çapraz bağlayıcı, başlatıcı kimyasal madde ve çözücü maddeden oluşur.

Hedef (şablon, kalıp) molekül

Uygun bir hedef molekül üç ihtiyaca göre belirlenmelidir.

- Fonksiyonel gruplar, polimerizasyona uyum sağlayabilecek şekilde belirlenmelidir.
- Polimerizasyon işlemi esnasında iyi düzeyde kimyasal stabilite göstermelidir.
- Fonksiyonel gruplar, fonksiyonel monomerlerle kompleksler oluşturabilmelidir.

Fonksiyonel monomer

Fonksiyonel monomer; hedef (şablon, kalıp) molekül ile fonksiyonel gruplar belirleyerek bir ön-polimer kompleksi oluşturma işlevine sahiptir. Bu çerçevede, hedefle kuvvetli şekilde etkileşime girebilen ve polimerizasyon basamağından önce, spesifik donör - reseptör ya da

antikor - antijen kompleksleri oluşturabilen, uygun bir fonksiyonel monomer seçmek önem arz etmektedir.

Çapraz bağlayıcı

Polimerizasyon sürecinde uygun monomerleri hedef (şablon, kalıp) moleküller etrafında sabitleyebilmek için, bir çapraz bağlayıcı kullanılır. Buna bağlı olarak, hedef moleküllerin çıkarılmasından sonra dahi yüksek oranda çapraz bağlanmış sert bir polimer oluşturur. MIP'lerin seçiciliği ve bağlanma kapasitesi üzerinde çapraz bağlayıcının türü ve miktarı yüksek etkilere sahiptir. Çok düşük miktarda bir çapraz bağlayıcı (düşük çapraz bağlanma derecesine bağlı olarak) kararsız mekanik özelliklere sebep olur.

Çok yüksek miktarda çapraz bağlayıcı ise MIP'lerin tanıma alanlarının, birim kütlelerdeki sayılarının azalmasına yol açacaktır.

Çözücü

Çözücü maddeler polimerizasyon işlem basamağında, dağılım ortamı ve gözenek oluşturmak için gereken maddeler olarak görev alırlar. Buna istinaden, polimerizasyon basamağında da önemli bir bileşendirler. Hedef (şablon, kalıp) molekül ile fonksiyonel monomer arasındaki etkileşimi, buna bağlı olarak da özellikle kovalent olmayan bağlanmalarda MIP'lerin adsorpsiyon özellikleri üzerinde etki gösterebilir.

Başlatıcı

MIP'lerin büyük bir bölümü, fotopolimerizasyon, serbest radikal polimerizasyon ve elektropolimerizasyon yolu ile hazırlanır. Serbest radikal polimerizasyon çok çeşitli fonksiyonel gruplar ve hedef moleküller için fotokimyasal olarak ya da termal şekilde başlatılır. Sıklıkla kullanılan başlatıcı kimyasallar; peroksi bileşikleri ve azo bileşikleri gibidir [14].

2.2.3. Moleküler baskılama yöntemleri

Kovalent baskılama

Hedef (şablon, kalıp) molekül ve fonksiyonel monomerler kovalent bağlarla birbirine bağlanır. Bu bağlar polimerizasyon işlemi sonrasında, hedef molekülü çıkarmak için kimyasal olarak birbirinden ayrılır.

Kovalent olmayan baskılama

Şablon ve fonksiyonel monomer ve monomerler yalnızca birbirleriyle kovalent olmayan bir şekilde etkileşime girer (hidrojen bağlanması veya elektrostatik etkileşimler gibi) ve kalıp molekül, bu kovalent olmayan etkileşimleri bozmak için polimerin uygun çözücü ile yıkanmasıyla çıkarılır.

Genel olarak konuşursak, kovalent baskılama, polimerizasyon sırasında şablon ve monomer sert bir şekilde bağlandığından, yüksek seçicilik için kovalent olmayan baskılamadan daha uygundur. Diğer yandan, kovalent olmayan baskılama, işlevsel monomer ve şablon arasındaki katkı maddesinin sentezinin gereksiz olması ve dolayısıyla, çeşitli sistemler için, seçimlerinde fazla kısıtlama olmaksızın baskı yapılabilmesi açısından avantajlıdır.

Her iki tip baskıda da, şablon moleküllerin çıkarılmasından sonra, polimerizasyon karışımlarında barındırıldıkları boşluk, polimerlerdeki boşluklar olarak bırakılır.

Reaksiyon koşulları, şablon çıkarma koşulları ve diğer faktörler yeterince uygun olduğunda, polimerlerde oluşan boşluklar, karşılıklı tamamlayıcılık açısından şablonun yapısını ve fizikokimyasal özelliklerini hatırlar. Bu nedenle hedef bileşik, yeniden bağlama adımında güçlü ve seçici bir şekilde yakalanır. Hedefin yakından benzer yapılara sahip diğer bileşiklerden ince farklılıkları kesin olarak ayırt edilebilir [19].

2.3. Sensörler

Tanıma mekanizması, kimyasal algılama ve biyoalgılama için çok önemlidir örneğin nanomalzemelerin dahil edilmesi yoluyla tanıma elemanlarındaki iyileştirmeler, kimyasal sensörlerin ve biyosensörlerin analitik performansını, özellikle seçiciliği büyük ölçüde

artırabilir. Kimyasal sensör; bir bileşenin konsantrasyonundan toplam bileşim analizine kadar değişen tüm kimyasal bilgileri analitik olarak yararlı bir sinyale dönüştürür. Bu sinyale dönüşen kimyasal bilgiler analitin kimyasal reaksiyonundan ya da araştırılacak olan sistemin fiziksel özelliği sebebi ile olabilir.

Günümüzde, hızlı teşhis ve seçicilik, kararlılık ve maliyet etkinliği gibi algılama özelliklerinde iyileştirme ihtiyacı nedeniyle, kimyasal algılama ve biyoalgılamada tanınmayı iyileştirmek için yeni tanıma öğeleri ve bunların kombinasyonları üzerinde çalışılmaktadır [20].

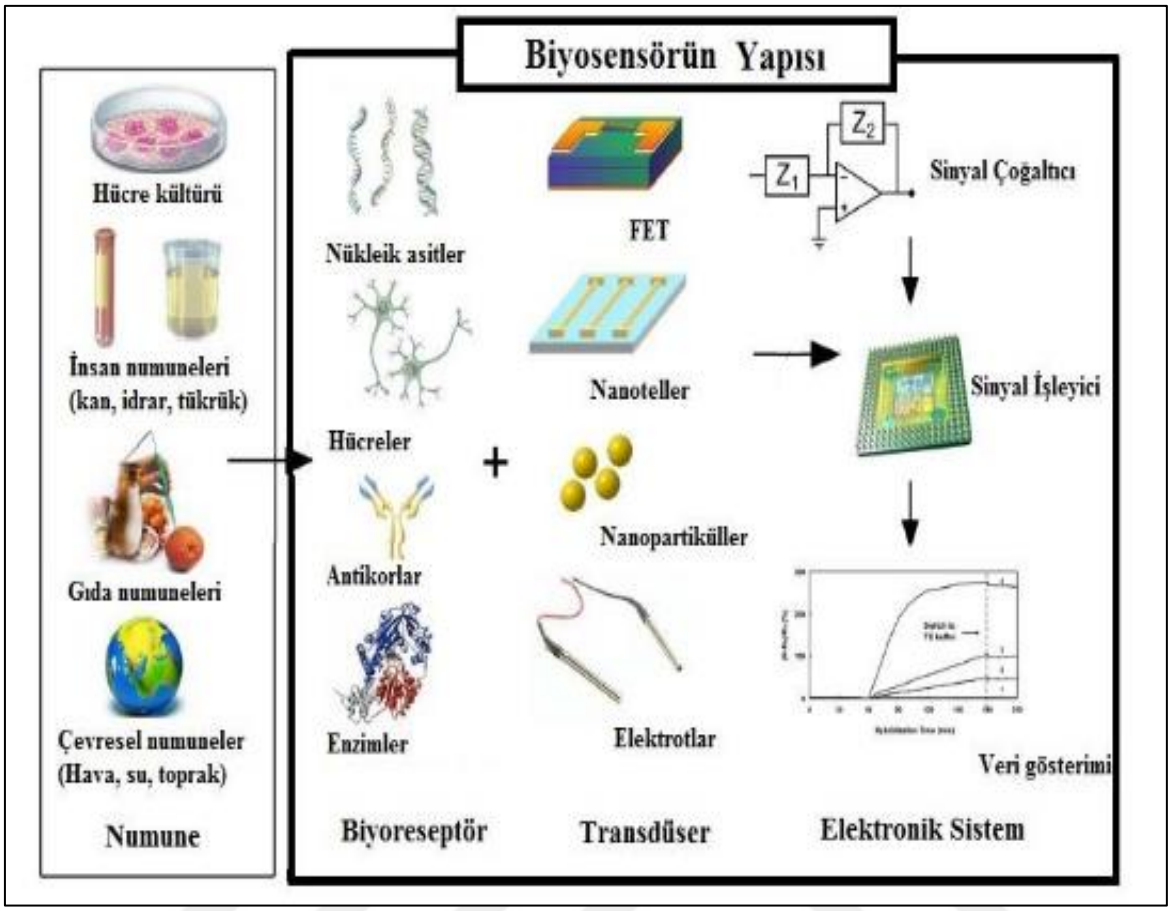
2.3.1. Biyosensörler

Biyosensörler, biyolojik bir yanıtı şekil 2.5'te gösterildiği biçimde elektrik sinyaline dönüştüren analitik cihazlardır. Biyosensörler; pH, sıcaklık gibi fiziksel parametreler dışında yüksek düzeyde spesifik olmalıdır. Ayrıca, yeniden kullanıma da müsait olmalıdır. Biyosensörlerde kullanılan maddeler mekanizmaları doğrultusunda üç ayrı grupta incelenir. Bu gruplar; biyokatalitik grup (enzimler ile oluşan), biyoafinite grubu (antikorlar nükleik asitler dahil) ve mikroorganizmalardır.

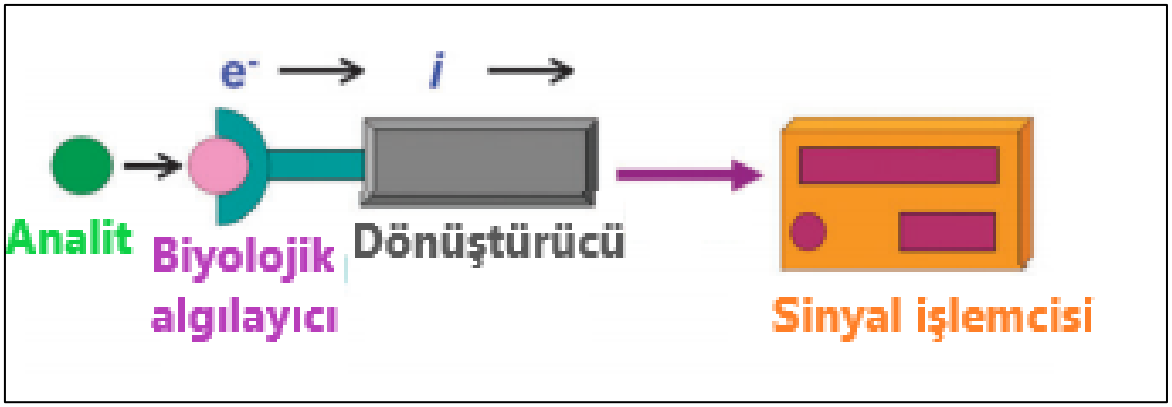
Biyosensörler 1960'larda öncü Clark ve Lyons tarafından başlatıldı. Kullanılan çeşitli biyosensörler şekil 2.4'te görülebileceği üzere enzim bazlı, doku bazlı, immünosensörler, DNA biyosensörler ve termal ve piezoelektrik biyosensörlerdir.

Piezoelektrik biyosensörler ise iki grupta incelenir. Bunlar; kuvars kristal mikroterazi- (QCM) ve yüzey akustik dalga cihazıdır. Çalışma prensipleri ise piezoelektrik kristalin yapısındaki kütle değişimlerine bağlı olarak rezonans frekansındaki değişimin ölçülmesine ilişkin bir sistemdir [21].

Son yıllarda, nanomalzemeler kullanarak çevreyi izlemek amacı ile biyosensörlerin genişletilmesinde önemli ilerlemeler kaydedilmektedir. Klinik, farmasötik ve biyonanomateryal tabanlı elektrokimyasal biyosensör platformları oldukça dikkat çekmektedir [55].



Şekil 2.4. Tipik biyosensör şeması [22]



Şekil 2.5. Elektrokimyasal dönüştürücülü bir biyosensörün şeması [23]

2.3.2. Kütle temelli biyosensörler (Piezoelektrik biyosensörler)

Piezoelektriklik doğrusal bir etkileşim olarak açıklanabilir. 1880'de Curie kardeşler tarafından ilk kez keşfedilmiş olan merkezsiz kristal ve benzeri yapıdaki mekanik/elektrik

sistemleri arasında yerini alır. Aslında piezoelektrik tabanlı biyosensörlerin çalışmasının prensibi; kristalin doğal bir rezonans frekansı içinde rezonansa girmesi olayına dayanır.

Bir biyosensördeki temel olan iki öge dönüştürücü ve biyo tanıma ögeleridir. Bu nedenle piezoelektrik biyosensörlerdeki dönüştürücü öge piezoelektrik malzeme ile (kuvars vb.) yapılır. Biyoalgılama malzemesi doğal frekans üzerinde titreşen piezoelektrik malzemeyle kaplanmaktadır. Frekans; belli bir akım üreten bir dış elektrik sinyali tarafından kontrol edilmektedir. Hedef molekülü algılama malzemesi ile bağlanma reaksiyonu seçilen hedef (şablon, kalıp) molekülün kütlesiyle karışan ve okuma esansında değişim üreten bir frekans kaymasına yol açar [24].

2.3.3. Kuvars kristal mikroterazi (QCM)

Kuvars kristali bir piezoelektrik malzemedir. Alternatif bir voltaj uygulandığı zaman, mekanik şekilde salınır. Bir QCM cihazı ince bir kuvars diskten oluşur ve bu disk bir çift elektrot arasına sıkıştırılmış durumdadır. Kuvars kristalinin kesim ve geometrisi kristalin salınım moduna etki eder. Kuvars rezonatörün yüzeyine kütle uygulanırsa salınımın frekansı azalır. Frekans değişimini ölçerek, kütle değişimini belirlemek mümkündür [25].

QCM cihazlarının kütlesel duyarlılık durumu bazı parametrelere göre oldukça fazla değişir. Bu parametrelerden bazıları; metal elektrotların malzemesi, kalınlığı, şekli ve boyutu gibi parametrelerdir [27].

1959 yılında Sauerbrey, kristalin rezonans frekansındaki (Δfm) tespit edilebilir kayma ile gazlı/vakum ortamında biriken kütleye (Δm) ilişkin denklem 2.1'deki gibi bir ifade sunmuştur. Bu rezonans frekansı kayması aynı zamanda yüksüz kristalin rezonans frekansına (fo), tek harmonik tonuna (N= 1,3,…), kristalin etkin yüzey alanına (Ae), yoğunluğuna (ρq) ve kristalin malzemesinin kesme modülüne (μq) bağlıdır.

$$\frac{\Delta fM}{f0} = \frac{2Nf0\Delta m}{Ae\sqrt{\mu_q \rho_q}} \tag{2.1}$$

Birçok uygulama, tipik olarak milyonda parça (ppm) ile ölçülen daha düşük frekans değişimleriyle sınırlıdır. Ancak, bu sınırlamanın üstesinden gelmek için 'Z-Match' yöntemine dayalı genişletilmiş bir model sunulmaktadır. Denklem 2.1'den farklı olarak, bu model, bir kristal malzeme uzantısı olarak ele almak yerine, biriken katı katmanların akustik özelliklerini dikkate alır. Bununla birlikte, diğer faktörler (örneğin sıcaklık), QCM frekans kararlılığını da etkileyebilir. Genel olarak, oda sıcaklığında sıfıra yakın sıcaklık katsayıları nedeniyle QCM sensörleri için AT kesimli kuvars kristalleri kullanılır. Tipik olarak, 10 ila 50 ◦C aralığında AT-cut kuvars için salınım frekansında 1 ppm/◦ bir değişiklik gözlenir. Bununla birlikte, sensörün yüksek sıcaklık ortamlarında çalışması gerektiğinde sıcaklığa bağlı frekans değişimi (Δf) gözlenir ve bu kaymanın buna göre telafi edilmesi gerekir.

1980'lerin başında, QCM sensörlerinin kullanımı, özellikle biyoalgılama uygulamalarında, sıvı ortamda çalışma düşünülerek önemli ölçüde genişletildi.

Kanazawa ve Gordon'un çalışması, sıvılarda çalıştırıldığında QCM'nin rezonans frekansı kaymasını yöneten Denklem 2.2'nin geliştirilmesine yol açmıştır.

$$\frac{\Delta f_L}{f_0} = \sqrt{\frac{f_0\,\rho_L\,\eta_L}{\pi\,\rho_q\,\mu_q}} \tag{2.2}$$

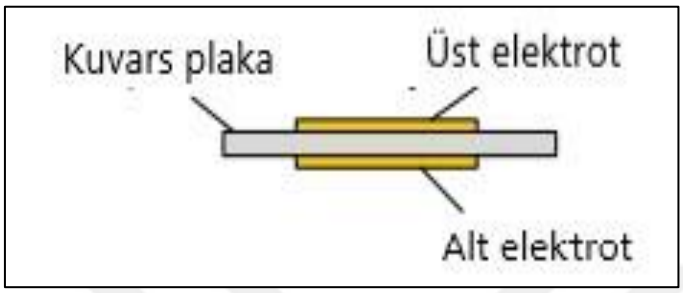
burada ρL ve ηL sırasıyla sönümleme ortamının yoğunluğu ve viskozitesidir. Bu nedenle, mikro terazi uygulamalarında genel rezonans frekansı kayması, Denklem 2.3'te özetlendiği gibi, esas olarak kütle, sıcaklık ve viskozitenin birleşik etkisini içerir.

$$\Delta f \approx \Delta f_M + \Delta f_T + \Delta f_L \tag{2.3}$$

Genel olarak QCM'ler, bazı uygulamalarda son zamanlarda gaz sensörleri olarak kullanılmasına ek olarak, kütle, viskozite, sıcaklık ve nem ölçümleri için kimyasal ve biyolojik sensörler olarak kullanılmaktadır [26].

QCM, şekil 2.6'da gösterildiği gibi elektrotların ve kuvars levhanın sandviç yapısından oluşur. Kuvars kristallerinin AT-kesimi rezonans frekansının oda sıcaklığı civarındaki bir

bölgedeki sıcaklık değişimlerine duyarsızlığı nedeniyle en çok uygulanan QCM türüdür. QCM'ler, frekansı, rezonans frekansının ölçüldüğü bir osilatör devresinin belirleyici öğesi olarak kullanır. Son birkaç on yılda, QCM'ler basit yapısı, etiketsiz analizi, düşük fiyatı ve biyosensörler, çevresel izleme ve elektrokimyasal analiz gibi hem gaz hem de sıvı fazda gerçek zamanlı çıktıları nedeniyle yaygın olarak uygulanmıştır [27].



Şekil 2.6. QCM'in yapısal diyagramı [27]

3. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

3.1. Prozac (fluoksetin) ve Çevre Sularında İlaç ve Antidepresan Etkisi Literatür Örnekleri

- Garcia, Awad ve Miledi'nin yaptığı çalışmada (1997), oldukça bilindik bir antidepresan ilaç Fluoksetin'in tıbbi etkilerini serotonin alım sistemlerini bloke ederek göstermekte olduğu belirtilmiştir. Mevcut çalışma, hem kas hem de nöronal nikotinik asetilkolin reseptörlerinin, nikotinik reseptörlerin desensitizasyon oranını da artıran fluoksetin tarafından, rekabetçi olmayan ve voltaja bağlı bir şekilde bloke edildiğini göstermiştir. Bu reseptörler hem merkezi hem de periferik sinir sistemlerinde çok yaygın bir şekilde dağılmış olduğundan, fluoksetinin nikotinik reseptörler üzerindeki bloke edici etkisi, antidepresan ve diğer terapötik etkilerinde önemli bir rol oynayabilmiştir. Bulgular, fluoksetinin etki biçimini anlamalarına yardımcı olmuştur [2].

- Wenthur, Cody, Bennett ve Lindsley'in yaptığı çalışmada (2014), fluoksetin yaklaşık 30 yıl önce trisiklik antidepresanlar (TCA'lar) ve monoamin oksidaz inhibitörlerinin (MAOI'ler) piyasaya sürülmesinden bu yana depresyon tedavisindeki ilk büyük atılım olmuştur. FDA (U.S. Food and Drug Administration)- *Gıda ve İlaç Dairesi-Amerika Birleşik Devletleri Sağlık Bakanlığı'na bağlı büro* tarafınca onaylı seçici serotonin gerialım inhibitörü SSRI ilki olmuştur. TCA'lar ve MAOI'lere kıyasla üstün etkinlik ve azaltılmış yan etkiler sunmuştur. Fluoksetinin klinik etkinliğinin tam olarak hangi mekanizmayla ortaya çıktığı konusunda bir tartışma devam etse de, fluoksetin ve ilgili SSRI'lerin alandaki önemi tartışılmaz olmuştur. Prozac ticari adı popüler kültüre nüfuz ederek depresyon konusunda farkındalığı artırmaya ve bu hastalıkla ilişkili uzun süredir devam eden damgaların yaygınlığını azaltmaya yardımcı olmuştur. Bu İncelemede, fluoksetinin genel olarak nörobilimdeki ve depresyon tedavisindeki tarihi ve önemi sergilenmiş ve fluoksetinin sentezi, farmakolojisi, ilaç metabolizması ve ayrıca yan etkileri incelenmiştir [13].

- Patneedi, Chanti Babu ve K. Durga Prasadu'nun yaptığı çalışmada (2015), ilaç endüstrisi atık suyu da dahil olmak üzere su ve atık suda bulunabilen aktif ilaç bileşenleri, çözücüler, ara maddeler ve ham maddelerin oluşumu ve kaderi hakkındaki endişeler giderek daha fazla ilgi görmüştür. Aktif çamur gibi geleneksel atık su arıtma yöntemleri, aktif ilaç

bileşenlerinin ve diğer atık su bileşenlerinin bu sulardan tamamen uzaklaştırılması için yeterli değildir. Çevre ve sağlık, özellikle de ilaç endüstrisi bölgelerinin yakınında olduğunda, ilaç atıklarından doğrudan veya dolaylı olarak oldukça etkilenir. İlaç endüstrileri tarafından salınan arıtılmamış veya kısmen arıtılmış atıklar olmasına rağmen, içme suyu kaynakları kirlenmiştir. Su örneklerinde mg/L ila µg/L aralığında analjezik, antidepresan, antihipertansif, kontraseptif, antibiyotik, steroid ve hormonlar gibi farklı sınıflarda ilaç bileşikleri tespit edilmiştir. Tespit edilen miktarlar çok küçük olsa da insan, hayvan ve su canlıları için oldukça toksiktir. Hem çevreyi hem de canlıları sağlık tehlikelerinden korumak için, içme suyu kaynaklarına giren ilaç atıklarındaki ilaç bileşiklerinin konsantrasyonunun düzenli olarak izlenmesi gerektiği, farmasötik kirleticilerin neden olduğu toksisite, sağlık riski ve çevresel tehlikelerin değerlendirilmesi vurgulanmıştır [7].

- Gould, Sophie L. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2021), antidepresanlar, psikiyatrik rahatsızlıkların tedavisi için en sık reçete edilen ilaç sınıflarından biri olmuştur. Çeşitli hayvan şubelerinde yüksek derecede yapısal koruma gösteren beyin monoaminerjik sinyal sistemlerinin (çoğunlukla serotoninerjik, adrenerjik, dopaminerjik) modülasyonu yoluyla etki etmiştir. Bu nedenle, maruz kalan balıkların ve diğer su canlılarının doğal ortama salınan antidepresanlardan etkilenebileceği makul bir varsayımdır. Balıklardaki maruz kalma etkileri için bildirilen önemli veriler vardır, ancak çoğu doğal ortamlarda meydana gelenleri aşan maruz kalma konsantrasyonları için bildirilmiştir. Balıklardaki etkilere ilişkin mevcut kanıtların kritik bir analizinden, su ortamında en sık tespit edilen antidepresanların bir seçkisi için laboratuvar tabanlı çalışmalardan risk katsayıları (RQ'lar) türetilmişti. Çevresel olarak ilgili maruziyetler için davranış üzerinde bazı etkiler bildirilmiştir. Antidepresanlar balık dokularında biyolojik olarak birikmiştir. RQ'ları hesaplamak için kullanılan veri kümelerindeki sınırlamalar, gelecekteki araştırmaların antidepresanların balıklar için oluşturduğu riskleri daha doğru bir şekilde değerlendirmek için yönlendirilmesi gereken önemli boşlukları ortaya koymuştur. Antidepresanların balıklar için oluşturduğu risk etrafında, özellikle de çevreye salınan benzer şekilde etki eden bileşiklerin geniş bir yelpazesi göz önüne alındığında, çevresel olarak da gerçekçi maruziyet seviyelerinin kronik maruziyet senaryolarına daha fazla dikkat gösterilmesini gerektirmiştir [28].

- Weimin Wang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2024), antidepresanların su ortamında yaygınca bulunması ve görünen ekotoksisite endişe vermiştir. Belediye atık su arıtma tesisleri; atık su-su ortamı arasında önemli bir bağlantı kanalı olarak görülür. Su arıtmaları sırasında toksisitesine dair kritik bir bakış sunmuştur. Giriş ve çıkışlarda tespit edilen antidepresan ve metabolitlerinin toplam konsantrasyonu küresel ölçek ile 72,62–5011,80 ng/L ve 114,48–6992,40 ng/L'dir. Suda yaşam sağlayan organizmalara karşı gösterdiği artan toksisite atık su arıtma tesislerinde takip ve izlenmelere oldukça fazla dikkat edilmesini gerektirdiği belirlenmiştir [47].

3.2. Moleküler Baskılama Literatür Örnekleri

- Müge Andaç ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2006), alüminyum iyonlarının [Al^{3+}] sulu çözeltilerden selektif çıkarılmasında kullanılabilecek iyon-baskılı polimerler hazırlanmıştır. Baskılanan MIP taneciklerinin Al^{3+} / Ni^{2+}, Al^{3+} / Cu^{2+} ve Al^{3+} / Fe^{3+} için seçicilik katsayıları; baskısız matrisinkinden sırasıyla 1427, 14.8 ve 6.2 kat daha büyük bulunmuştur [31].

- Mehmet Odabaşı ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2007), fonksiyonel monomer MAH ile Cu^{2+} kompleksleştirilmiştir. Kompleksleştirme işlemi sonrasında, bu kompleksleştirilmiş monomer ile lizozim baskılanmış poli(HEMA - MAH) [Lys - MIP] polimeri sentezlenirken yığın polimerizasyon tekniği kullanılmıştır. Yumurta akından lizozim saflaştırılmış. Lizozim - insan serum albumin ve lizozim / sitokrom -c için baskılanmış polimere ait seçicilik kat sayısı, baskılanmamış olan diğer polimere nazaran sırası ile; 3,6 ve 4,1 kat olmak üzere, çok daha yüksek bulunmuştur [29].

- Jun Haginaka ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2008), baskılanmış polimerler monolitik baskılama ile oluşturuldu. α-lactalbuminin (Lac) 2-dimetilamino etil metakrilat (DMA) monomeri ile daha kuvvetli etkileşime girmesi düşünülürken, Sitokrom - c ve Ribonükleaz A asidik monomer - akrilik asit ile çok daha kuvvetli bir etkileşim sergilediği görülmüştür. Bu çalışmada hazırlanan tüm baskılanmış polimerlerin kendi hedef proteinine karşı daha seçici olduğu açık bir şekilde gözlenmiştir [30].

- Guangli Zhao ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2023), antibiyotiklere ait kalıntılar çevre ve organizmalar üzerinde büyük bir etkiye sahip olmuştur ve belirlenmesi önem

teşkil etmiştir. Düşük içerikleri, fazla çeşitleri ve karmaşık matrisleri sebepli belirlemeden önce genellikle etkili tanıma, ayırma ve zenginleştirme gibi işlemler gerektirmiştir. Burada antibiyotik kalıntı analizi için moleküler baskı teknolojisi kullanılmıştır. MIP tabanlı sensörler, elektrokimyasal, optik, kütle algılama dahil olmak üzere özetlenmiştir. Çevresel ve gıda için örneklerde çeşitli antibiyotik kalıntılarının tespiti için moleküler olarak basılmış SPE olan MISPE'ler ve baskılanmış tabanlı elektrokimyasal/ optik/ kütle sensörleri üzerindeki araştırması sülfonamidler, kinolonlar, β-laktamlar incelenmiştir. Antibiyotikleri tespit etmek için MIP'ların hazırlanışı, uygulama durum ve olasılıkları özetlenmiştir [48].

- Semra Akgönüllü ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2023), plastik antikorlar olarak da adlandırılan moleküler olarak basılmış polimerler belirli bir molekül veya bileşik için yüksek afiniteli bağlanma bölgeleri içeren yapay reseptörlerdir. Protein tanıma için baskılanma uygulanmış polimer matrisleri, hedef proteinin birden fazla işlevsel grubu arasındaki çok fazla sayıda etkileşim yolu ile yüksek afiniteye sahip olması beklenmiştir. Bu çalışmadaki inceleme, proteinleri tespit etmek için kullanılan MIP-baskılanmış tabanlı sensör platformları sentezi, yapılan karakterizasyonlar ve uygulamasındaki son gelişmeleri açıklamıştır [49].

- Semra Akgönüllü ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2023), ilaç salınımı için kullanılabilecek, işlevsel polimer formları arasında moleküler olarak basılmış polimerler ilaç salınımında kullanılan benzersiz bir gruptur. Bu baskılama yöntemi ayırma, tanıma ve zenginleştirme için enzimleri, antikorları ve diğer biyomolekülleri taklit edebilen yapay malzemeler oluşturmuştur. Bu nedenle akıllı algılama, analit adsorpsiyonu, kimyasal analizde de yaygın olarak kullanılmıştır. Bu çalışma içeriğinde, baskılanmış polimerlerin temel prensipleri, ayrıca üretim adımları tanımlanmıştır. MIP-tabanlı polimerik taşıyıcılar hakkında daha fazla bilgi sunulmuş ve mevcut MIP-tabanlı kontrollü ilaç salınım sistemi uygulamalarının gelecekteki eğilimlerin değerlendirmesi araştırılmıştır [50].

- Yeşeren Saylan, Seçkin Kılıç ve Adil Denizli'nin yaptığı çalışmada (2024), moleküler baskı yönteminin büyüyen alanı ile uygulamaları hakkında kapsamlı bir araştırma yapılmıştır. Son gelişmeler incelenmiş ve baskılanmış parçacık ve jel tabanlı sensörlerdeki ilerlemeler ayrıntılı olarak sunulmuş, yeni algılama sistemlerinin

yaratılmasına ışık tutulmuştur. Bu inceleme değerli bir kaynak görevi görmüş ve MIP-tabanlı sensör gelişiminin dinamik manzarasını çeşitli bilimsel ve teknolojik alanlar üzerindeki potansiyel etkisini ortaya koymuştur [54].

3.3. Kuvars Kristal Mikro Terazi (QCM) Literatür Örnekleri

- Takaomi Kobayashi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2001), moleküler olarak baskılanmış poliakrilonitril (PAN) kopolimerlerini hazırlanmıştır. Kafein (CAF) baskısı için piridin ve stiren kısımları olan üç tip PAN kopolimeri kullanılmıştır. CAF ve CAF benzeri moleküllerin CAF-baskılı polimere bağlanma miktarları, 6 MHz kuvars-kristal mikro-balans (QCM) kullanılarak değerlendirilmiştir. Çeşitli baskılı ve baskısız polimerler için frekans değişiminin gözlemlenmesiyle CAF baskılı polimerlerin tanıma özelliklerini göstermiştir. 4-vinilpiridin (4-Py) kısımlarına sahip olan PAN kopolimerinin, baskılı ve baskısız polimerler arasında frekans düşüşünde büyük bir fark gösterdiği görülmüştür. 4-Py parçalarına sahip olan CAF-baskılı polimerin CAF moleküllerini çok iyi tanıdığına dair kanıtlar sunulmuştur [32].

- Lin, ThongYueh, ChihHsien Hu ve Tse ChuanChou'nun yaptığı çalışmada (2004), MIP albümin konsantrasyonlarını tespit edebilen bir MIP-QCM sensörü, albüminin 3 dimetilaminopropil metakrilamid-akrilat ile baskılanmasıyla hazırlanmıştır. Albümin MIP, bir QCM Au elektrodu üzerine kaplanmıştır. Au–OH, Au–COOH, Au–NH_2 ve Au elektrotları gibi farklı elektrotların albümin veya karışım ile adsorpsiyon özellikleri incelenmiştir. Adsorpsiyon seçiciliğinde, albumin MIP-QCM, albumine daha yüksek yanıt göstermiş, sitokrom c:lizozim:albümin:miyoglobin adsorpsiyon kütle oranı 160:1:1942:30 değerlerinde olmuştur. Öte yandan, MIP-QCM olmayanda, sitokrom c:lizozim:albümin:miyoglobin adsorpsiyon kütle oranı 13:1:249:86 'dır. Ek olarak, doğrusal bir uyum sağlanmış ve klinik gerçek bir örnek test edilmiştir. Moleküler baskının bir MIP-QCM sensörünün tanıma elemanına bu yeni potansiyel uygulaması umut verici olmuştur [34].

- Oğuz Çakır'ın yaptığı çalışmada (2019), gerçek-zamanlı bir ölçüm yaparak, klorpirifos tayininde moleküler baskı tekniğini kullanmıştır. Bu teknikteki amaç; çevre sularında fazlasıyla duyarlı, seçiciliği fazla, ayrıca da hızlı yeni bir kuvars kristal mikroterazi (QCM) sensör hazırlanmasıdır. Bu yöntem ile klorpirifos baskılı nanofilmler

polimerleştirilmiştir. Nanofilmler, QCM sensör çiplerinin altın olan yüzeylerine bağlandı, atomik kuvvet mikroskobu (AFM) / temas açısı ölçüm metotları kullanılmış ve karakterizasyon analizleri bu şekilde yapılmıştır. Sonuç olarak, nanofilmlerin duyarlılık durumu incelenmiştir. Baskılanmış olanların hedef molekül duyarlılık oranı, baskılanmamışlara nazaran çok daha fazla olmuştur [33].

- Nesrin Çapar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2023), kanserojen etkiye sahip ve sıklıkla tüketilen gıdalarda da yüksek oranda zearalenon (ZEN) bulunmuştur. Pirinç örneklerinde ZEA'nın seçici olarak belirlenmesi için molibden disülfür nanopartikül (MoS2NPs) karbon nanotüp (MWCNT) nanokompozit (MoS_2NPs-MWCNTs) bazlı karakteristik bir moleküler baskılı kuvars kristal mikroterazi (QCM) sensörü sunulmuştur. Molibden disülfür nanopartikül (MoS_2NP)-çok duvarlı karbon nanotüp nanokompozitleri karakterize edilmiştir. ZEA baskılı QCM çip monomer olarak metakriloilamidoglutamika asit (MAGA) ve başlatıcı olarak N,N′-azobisizobütironitril (AIBN), hedef molekül olarak ise ZEA ile UV polimerizasyonu yapılarak hazırlanmıştır. Geliştirilen bu sensörün yeniden kullanılabilirliği, seçiciliği, kararlılığına bakıldığında pirinç numunelerinde güvenilir olarak ZEA tespitini mümkün kılmıştır [51].

- Vanish Kumar ve Kutner Wlodzimierz'ın yaptığı çalışmada (2024), lizozim algılamada moleküler olarak basılmış polimerler hassas, seçici belirleme için güvenilir olarak kendilerini kanıtlamışlardır. Lizozim için MIP-tabanlı kemosensörlerin başarıları, dinamik konsantrasyon aralığı, seçicilik, duyarlılık, tekrarlanabilirlik ve algılama süresi olmak üzere analitik parametreler temelinde değerlendirilmiştir. Lizozim için MIP-tabanlı materyaller seçilmiş ve verimli sensörler tasarlamada faydalı olmuştur [52].

- Mary Donnabelle L. Balela ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2024), pestisitlerin yaygın kullanımı aşırı maruziyete, toprakta suda kalıntılara neden olur. Bazı sebzelerde malathion kalıntıları bulunmuştur. Moleküler olarak basılmış polimerler pestisit kalıntılarının algılanması için geliştirilmiştir. Çökelme polimerizasyonu yoluyla malathion baskılı polimerler hazırlanmış ve kuvars kristal mikro terazi elektrotlarına biriktirmiştir. Malathion-MIP sensörün, Malthion sensöründen daha büyük bir tepkiye sahip olduğu görülmüştür. Malathion-MIP sensörünün üç döngüye kadar kararlı olduğu ve yeniden kullanılabilir olduğu belirlenmiştir [53].

- Shuang Liao ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2024), antibiyotik sparfloksasin (SPFK) tespiti için moleküler olarak baskılı polimerin tasarımı yüksek hassasiyetli bir kuvars kristal mikro terazisi (QCM) sensörüyle sunulmuştur. Geleneksel SPFK tespit yöntemlerinin sınırlamalarını aşmış ve pratik uygulamalar için hem doğru hem hızlı tepkiler sunmuştur. MIP-QCM sensörü, 10,3 ng/mL tespit sınırına ulaşmış, gelişmiş hassasiyet göstermiştir. MIP-SPFK sensörün seçiciliği hedef molekül olmayan diğer moleküllerden daha üstün olmuştur. %96,16-%104,64 arasında değişen geri kazanımlar; %4,64'ten düşük bağıl standart sapma ile süt içindeki SPFK kalıntılarını kabul edilebilir doğrulukla tespit etmiştir. Bu sonuçlara göre, baskılanmış sensörünün hayvansal ürünlerdeki SPFK kalıntılarını tespit etmek için doğru ve gıda güvenliği testlerinde yüksek hassasiyetli sensörlerin yaygın olabilmesini teşvik etmiştir [56].

4. DENEYSEL YÖNTEM

4.1. Kullanılan Kimyasallar

- Hedef (şablon, kalıp) molekül Fluoksetin- *(Sigma firmasından alınmıştır)*
  N -Metakroil - L- triptofan metil ester (MATrp) sentezi için;
- L -triptofan metil ester- *(Sigma firmasından alınmıştır)*
- Metakroil klorür- *(Sigma firmasından alınmıştır)*
- Nanopartiküllerin sentezinde gerekli 2-hidroksietil metakrilat (HEMA)- *(FlukaA.G -Buchs-İsviçre firmasından alınmıştır)*
- Etilen glikol dimetakrilat (EGDMA)- *(FlukaA.G -Buchs-İsviçre firmasından alınmıştır)*
- Çözücü olarak kullanılan Dimetil sülfoksit (DMSO)- *(FlukaA.G -Buchs-İsviçre firmasından alınmıştır)*
- Başlatıcı Azobüsizobütironitril (AIBN)- *(FlukaA.G -Buchs - İsviçre firmasından alınmıştır)*

Deneylerin uygulanması esnasında kullanılan bütün kimyasal maddeler, analitik saflıkta kullanılmaktadır.

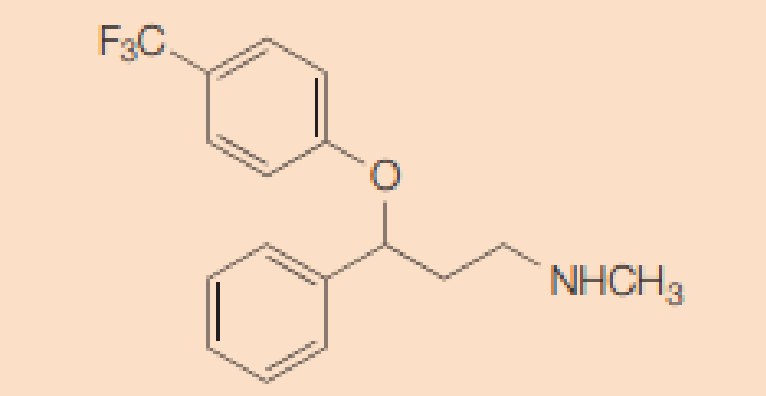
4.2. Sentez Çalışmaları

4.2.1. N- Metakroil- L -triptofan metil ester (MATrp) monomeri

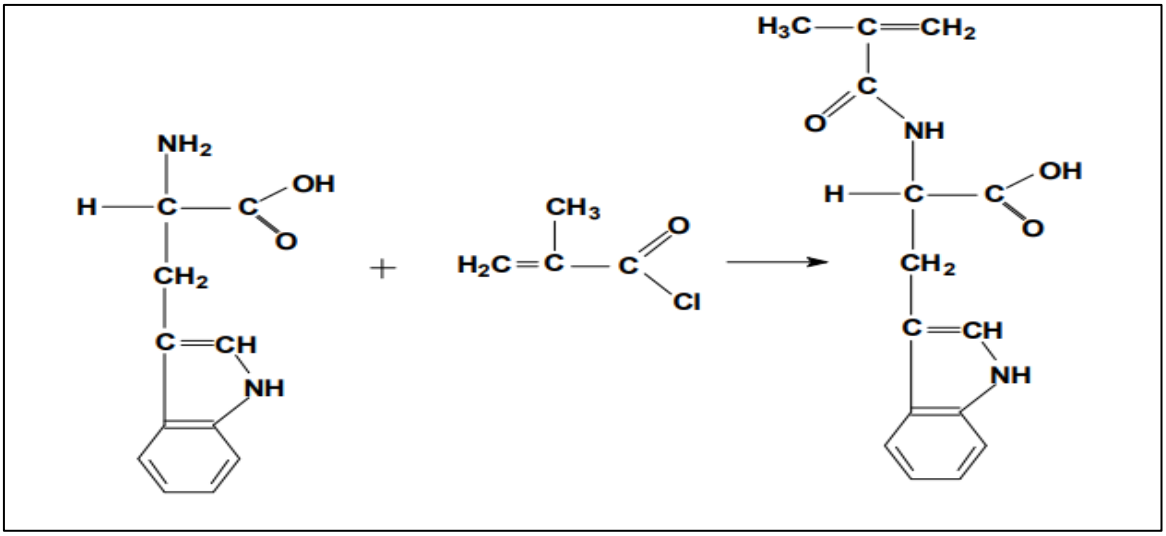
L -triptofan 5,0 g ve hidrokinon 0,2 g CH_2CI_2 (diklorometan) çözeltisi (100 mL) içerisinde çözüldü. Bu çözelti 0^oC ye kadar soğutulmuştur ve sonra içerisine trietil amin 12,74 g eklenmiştir. Metakroil klorür 5,0 mL, mevcut çözeltiye yavaş yavaş eklenmiştir (azot gazı atmosferinde). Bu karışım, manyetik bir ortam içerisinde 2 saat süre ile karıştırılmıştır. Reaksiyon sonunda, metakroil klorür çözeltisinin reaksiyona girmeyen kısmı için %10' luk NaOH kullanılmış ve bu şekilde ekstrakte edilmiştir. Sıvı faz bölümü için dönen evaporator kullanılmış ve buharlaştırılmıştır. Katı faz ise (MATrp) etanol içinde çözülmüş ve kullanıma hazır bir hale getirilmesi sağlanmıştır [35].

4.2.2. MATrp-Fluoksetin ön polimer kompleksi

MATrp monomeri ve Fluoksetin (Prozac) kalıp molekülünden (Şekil 4.1) oluşan ön-polimer kompleksi hazırlanması için; fluoksetin çözeltisi 4 mg/mL derişiminde fosfat tamponlu salin çözeltisinde (10 Nm PBS, pH: 7,4) hazırlanmıştır. Fonksiyonel monomer çözeltisi olan L-metakriloil-L-triptofan (MATrp) şekil 4.2'de gösterilen sentez ile 8 mg/mL derişiminde PBS (10 mM, pH 7.4) içerisinde hazırlanmıştır. Oluşan bu iki çözeltiden alınan 1 mL'lik örnekler karıştırılmış ve 2 saat rotatörde karıştırılarak (manyetik ortamda ve güneş ışınlarına maruz kalmadan) ön polimer kompleksi oluşturulmuştur. Hedef (şablon, kalıp) molekül/monomer oranı ise 1:2 şeklinde belirlenmiştir. Ön-polimer kompleksi oluşturuldu ve karanlık ortamda tutulmuştur.



Şekil 4.1. Fluoksetin yapısı [9]



Şekil 4.2. N- Metakroil -L -triptofan metil ester (MATrp) sentezi [36]

4.3. QCM Çipin Yüzey Modifikasyonu

QCM çipin (Al/Ti kaplı, 5 MHz, AT kesim, Kuvars) yüzey modifikasyonu öncesinde, 5 M NaOH (50 µL) damlatılarak ve 2 saat etüvde kurutularak yüzey temizleme işlemi gerçekleştirilmiştir. Sonrasında yüzey modifikasyonu için, temizlenmiş yüzey öncelikle su ve sonrasında ise etanol (1.0 mL) ile yıkandı. Yüzeye fonksiyonel silan monomeri [3-(trimetoksisilil) propil metakrilat, TMSPM] (hacimce %5'lik, mutlak etanol içerisinde) damlatılmış ve etüvde 50°C'de kurutulmuştur. Sonuç olarak, Al/Ti kaplı QCM çip yüzeyi fonksiyonel silan monomeri 3-(trimetoksisilil) propil metakrilat (TMSPM) ile modifiye edilmiştir.

4.4. Fluoksetin Baskılanmış (MIP) Nanofilm

Oluşturulan ön-polimer kompleksinden 100 µL, 200 µL fonksiyonel monomer HEMA (2 - hidroksi etil metakrilat), 20 µL çapraz bağlayıcı olan EGDMA (etilen glikol dimetakrilat) içeren karışım hazırlanmıştır. Karışımın homojen olması için çözücü olarak DMSO (dimetil sülfoksit) eklenmiştir. Homojen karışıma 10 µL foto-başlatıcı AIBN (azobisizobütironitril) eklenmiştir. Elde edilen bu monomer karışımdan 2 µL alınarak, yüzeyi modifiye edilmiş QCM çip üzerine damlatılmıştır. UV lamba altında (100 W, 365 nm) 5 dakika polimerizasyona bırakılmıştır. Polimerizasyon sonrası çip yüzeyi etanol ile yıkanarak kurumaya bırakılmıştır.

4.5. Fluoksetin Baskılanmamış (NIP) Nanofilm

Karşılaştırma amaçlı hazırlanan fluoksetin baskılanmamış nanofilm, fluoksetin baskılanmış nanofilm ile yöntem olarak aynı şekilde hazırlanmıştır. Ancak kalıp molekül olarak seçilen fluoksetin kullanılmamıştır. Ön polimer kompleksi yerine, PBS (fosfat tamponlu salin çözeltisi) kullanılmıştır. 100 µL PBS (fosfat tamponlu salin çözeltisi), 200 µL fonksiyonel monomer HEMA (2 - hidroksi etil metakrilat), 20 µL çapraz bağlayıcı olan EGDMA (etilen glikol dimetakrilat) içeren karışım hazırlanmıştır. Karışımın homojen olması için çözücü olarak DMSO (dimetil sülfoksit) eklenmiştir. Homojen karışıma 10 µL foto-başlatıcı AIBN (azobisizobütironitril) eklenmiştir. Elde edilen bu monomer karışımdan 2 µL alınarak, yüzeyi modifiye edilmiş QCM çip üzerine damlatılmıştır. UV lamba altında (100 W, 365

nm) 5 dakika polimerizasyona bırakılmıştır. Polimerizasyon sonrası çip yüzeyi etanol ile yıkanarak kurumaya bırakılmıştır.

4.6. Kalıp Molekülün Desorpsiyonu

QCM çip yüzeyine tutturulan Fluoksetin baskılanmış (MIP) nanofilmde, fluoksetin kalıp molekülünü yapıdan uzaklaştırmak için ortama desorpsiyon çözeltisi olarak %20'lik etilen glikol çözeltisi ilave edilmiştir ve oda sıcaklığında çalkalamalı inkübatörde 2 saat süre boyunca 200 rpmde çalkalanmıştır. QCM sensör çipleri desorbe edilmiş, sonra deiyonize su kullanılmış ve yıkanmıştır. Vakum etüvünde 200 mm-Hg , 25°C şartlarında kurutulmuştur.

4.7. Karakterizasyon Çalışmaları

4.7.1. Fouirer dönüşümlü kızılötesi spektrofotometre (FTIR) Analizi

QCM sensörün yüzey karakterizasyonu için; FTIR spektrofotometresi (FTIR8000-series-Shimadzu-Japonya) kullanılmıştır. Ölçüm yapılan hazne içerisinden, 10 dk süre boyunca azot gazı geçirilmiştir. Havadan kaynaklı nem ve ayrıca karbondioksiti uzaklaştırma sebebiyle yapılmıştır. Ölçümler 400 - 4000 cm^{-1} dalga sayısı arasında yapılmış, gerekli spektrumlar alınmıştır.

4.7.2. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi

Fluoksetin baskılı (MIP) ve baskılanmayan (NIP) nanofilmlerin yüzeylerinin yapısı taramalı elektron mikroskobu (SEM) (Nova Nanosem430-FEIComp-ABD) ile görüntülenmiştir. Nanofilmler görüntüleme öncesi -20°C'de dondurulmuş ve enkübatörde kurutulmuştur. MIP ve NIP nanofilmleri SEM örnek plakası üzerine tutturmak amacıyla iletken bir yapıştırıcı kullanılmış ve plaka üzerine tutturma işlemi yapılmıştır. İşlem sonrası örnek yüzeyi 50Å kalınlığına sahip metalik altın ile kaplanmıştır. Vakum altında yüzey iletken hale getirilmiştir, farklı oranlardaki büyütmelerde fotoğrafları çekilmiştir.

4.7.3. Atomik kuvvet mikroskobu (AFM) analizi

Fluoksetin baskılanmış (MIP) ve baskılanmamış (NIP) nanofilmlerin yapısal karakterizasyonu yüzey derinliği ölçümü için atomik kuvvet mikroskobu (AFM)

(Nanomagnetics Instruments-Oxford-İngiltere) kullanılmıştır. Çalışma hava ortamında ve yarı değen modda gerçekleştirilmiştir. QCM çip örnek tutturucuya yerleştirilirken çift yüzlü karbon bant kullanılmıştır. 341.30 kHz salınım rezonans frekansı uygulanmıştır. Tarama hızında 2 µm/s'dir ve 256x256 piksel olan çözünürlükte 2x2 μm^2'lik alanda görüntüleme yapılmıştır.

4.8. QCM Sensör ile Etkinlik Çalışmaları

Fluoksetin baskılanmış (MIP) ve fluoksetin baskılanmamış (NIP) nanofilmler, QCM sensörde fluoksetin tayini amacıyla kullanılmıştır. Kuvars Kristal mikroterazi (QCM);

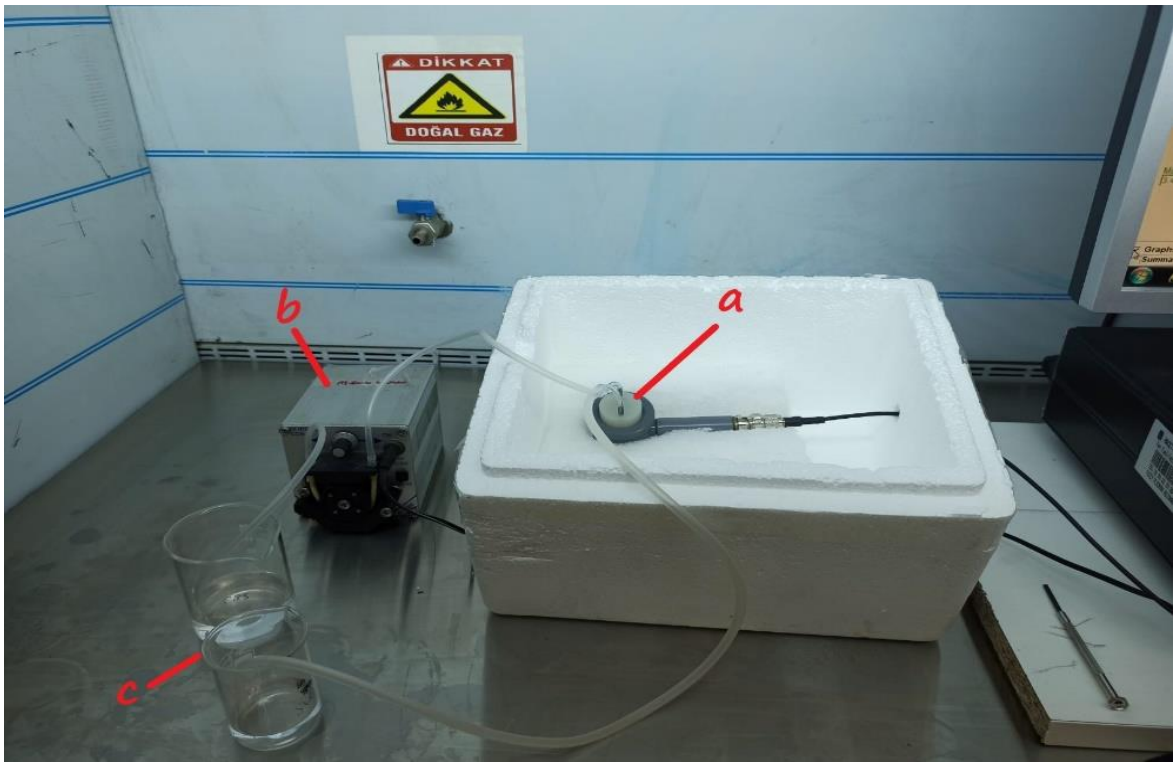
- Frekans sayacı
- Gerilim kaynağı
- Osilatör devre
- Peristaltik pompa
- Yalıtım kabini
- Bilgisayar

bölümlerinden oluşmaktadır (Resim 4.1, Resim 4.2).

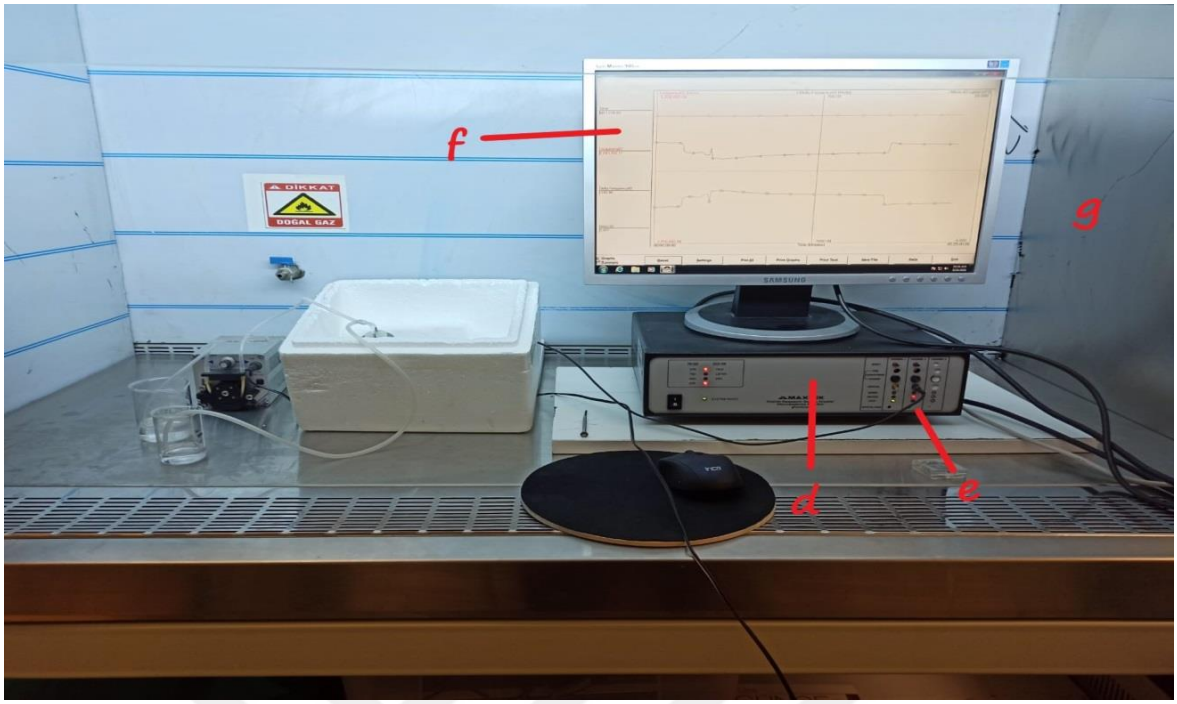
5 ppb (µg/L)-1000 ppb (µg/L) aralığında farklı derişimlerde fluoksetin çözeltileri (PBS pH:7.4 100 milimolar) hazırlanmıştır. Hazırlanan farklı derişimlerdeki bu çözeltiler peristaltik pompa aracılığıyla, QCM sensörlerle etkileştirilmiştir. QCM sensör yüzeyi 50 mL deiyonize su kullanılarak yıkanmıştır. Fluoksetin baskılanmış sensör, PBS pH: 7.4 100 milimolar ve oda sıcaklığında dengelenmiştir ve bu şekilde rezonans frekansı (fo) belirlenmiştir. Daha sonra 3 dakika süreyle QCM'den PBS pH:7.4 100 milimolar geçirilmiştir. Bu dengeleme işlemi sonrasında, farklı derişimlerde hazırlanan fluoksetin çözeltileri sırasıyla 5 mL ve 1,0 mL/dakika akış hızı ile sisteme verilmiştir. Her bir çözelti verildiğinde, çip Rezonans frekans kaymaları anlık olarak gözlenmiştir. Sistem yaklaşık 20 dk'da dengeye gelmiştir. Dengeye geldiği zaman sisteme elusyon ajanı verilmiş ve bu şekilde desorpsiyon (uzaklaştırma) işlemi gerçekleştirilmiştir. Desorpsiyon (uzaklaştırma) işlemi sonrası QCM sensör su, PBS pH: 7.4 ve 100 milimolar ile tekrar yıkanmıştır ve dengelenmiştir.

Fluoksetin çözeltilerinin farklı derişimlerde hazırlanan versiyonlarının her biri sisteme gönderilmeden önce tüm bu basamaklar tekrarlanmıştır.

RQCM (Maxtek) yazılımı kullanılarak kinetik analizi verileri sistem üzerinden alınmıştır. Alınan tüm bu veriler eş ve gerçek zamanlı olacak şekilde izlenmiştir. Farklı derişimlerde fluoksetin çözeltilerinde frekans değişiminin (Δf) ve sensör yüzeyindeki kütle değişiminin (Δm) zamanla değişimini gösteren sensorgramlar elde edilmiştir.



Resim 4.1. QCM sistemi akış hücresi (a), peristaltic pompa (b), çözelti (c)



Resim 4.2. QCM sistemi kuvars kristal mikro terazi (d) Bağlantı kanalı (e) Bilgisayar (f) Yalıtım kabini (g)

4.9. QCM Sensör ile Seçicilik Çalışmaları

Fluoksetin baskılanmış (MIP) ve baskılanmamış (NIP) nanofilmlerin QCM sensör yüzeyinde fluoksetin seçiciliğini göstermek ve seçicilik karşılaştırması yapmak için, yarışmacı moleküller kullanılmıştır. 500 ppb derişiminde melatonin, serotonin ve triptofan çözeltileri hazırlanmıştır. Bu moleküllerin tercih edilme sebebi fluoksetin (Prozac) ile benzer etkiler gösteren moleküller olmasıdır. Yarışmacı çözeltiler baskılanmış (MIP) ve baskılanmamış (NIP) nanofilm içeren QCM çip yüzeyinden geçirilmiştir. Melatonin, serotonin ve triptofan moleküllerine göre K seçicilik katsayıları, MIP nanofilmin NIP nanofilme kıyasla bağıl seçicilik değerinin belirlenmesi denklem 4.1. ve 4.2. kullanılmıştır. RQCM (Maxtek) yazılımı kullanılarak kinetic analiz verileri system üzerinden alınmıştır. Alınan tüm bu veriler eş ve gerçek zamanlı olacak şekilde izlenmiştir. Frekans değişiminin (Δf) ve sensör yüzeyindeki kütle değişiminin (Δm) zamanla değişimini gösteren sensorgramlar elde edilmiştir.

$$K = \Delta m_{Fluoksetin}/\Delta m_{Yarışmacı} \quad (4.1)$$

$$K' = K_{MIP}/K_{NIP} \quad (4.2)$$

4.10. MIP QCM Sensörün Tekrar Kullanılabilirliği Analizi

QCM sensör çip yüzeyinde MIP nanofilmin tekrar kullanılabilirlik analizi için, 500 ppb fluoksetin içeren sulu çözelti ile 4 kez ard arda tekrarlanmış olan çalışmalar yapılmıştır. Fluoksetin baskılanmış (MIP) QCM çip yüzeyi pH: 4 tampon çözeltisi; 3 dakika süre boyunca kararlı bir duruma getirilmiştir. 500 ppb fluoksetin çözeltisi ile 5 dakika süre boyunca etkileştirme yapılmıştır. Desorpsiyon (uzaklaştırma) çözeltisi olan elusyon ajanı kullanılmış, 2 dakika süre boyunca desorpsiyon (uzaklaştırma) işlemi gerçekleştirilmiştir. Her tekrarda rezonans frekansı belirlenmiş ve sistemin aynı frekans değerine ulaşıp ulaşmadığı test edilmiştir.

4.11. Denge İzoterm Modelleri

Fluoksetin ile Fluoksetin baskılanmış QCM sensör çip yüzeyleri arasında olan etkileşim için doğru izoterm modelini belirlemek amacı ile, 3 farklı izoterm modeli uygulaması yapılmıştır. Bu izoterm modelleri;

- Langmuir
- Freundlich
- Langmuir-Freundlich

modelleridir. Bu modellere ait incelemeler yapılmış ve gerekli veriler incelenmiştir.

4.11.1. Langmuir izoterm modeli

Langmuir izotermi aşağıdaki varsayımlara dayanmaktadır:

- Adsorbantın bir monokatmanı, adsorban doygun hale geldiğinde adsorbanın yüzeyi üzerinde oluşur.
- Her nokta yalnızca bir adsorbat türünü tutabilir.
- Tüm noktalar enerjik olarak eşdeğerdir;
- Adsorbant türleri arasında etkileşimler yoktur [39].

Langmuir izoterm modeli şu varsayımlara dayanmaktadır: adsorpsiyon bir tek tabaka ile sınırlıdır, sorpsiyon enerjisi tüm siteler için aynıdır ve yüzey kaplama derecesinden

bağımsızdır ve bir bölgeye adsorpsiyon, bitişik bölgelerin doluluk koşullarından bağımsızdır ve bitişik adsorbe edilmiş moleküller arasında etkileşim yoktur [40].

4.11.2. Freundlich izoterm modeli

Freundlich izoterm modeli üstel denklemdir. Adsorban yüzeyindeki adsorbat konsantrasyonunun, adsorbat konsantrasyonu arttıkça arttığını varsayar. Teorik olarak, bu ifadeyi kullanarak sonsuz miktarda adsorpsiyon meydana gelecektir. Buna benzer olarak model adsorpsiyonun, tek katman yerine, birden fazla katman aracılığıyla meydana gelebileceğini varsayar. Denklemin heterojen sistemlerde geniş bir uygulaması vardır [39].

Adsorplanan miktar, adsorpsiyon enerjisi adsorpsiyon süreci tamamlandıktan sonra üssel olarak azalıncaya kadar tüm bölgelerdeki adsorpsiyonun toplamıdır. Freundlich adsorpsiyon izoterminin 1906'da evrimleştirilmesiyle elde edilen temel varsayım, adsorbanın çeşitli adsorpsiyon noktalarından oluşan heterojen bir yüzeye sahip olmasıdır [40].

4.11.3. LF (Langmuir-Freundlich) izoterm modeli

LF (Langmuir-Freundlich) izotermi, yüzeylere gaz adsorpsiyonu, poliklonal antikorlara ligand afinitesi ve metal iyonlarının çevresel örneklere adsorpsiyonu dahil olmak üzere birçok heterojen sistemin adsorpsiyon davranışını modellemede başarılı olmuştur. Adından da anlaşılacağı gibi, LF izotermi, Langmuir ve Freundlich izotermlerinin bir bileşimidir ve sınırlarında herhangi birine indirgenebilir. Böylece, LF bağlanma modeli hem homojen hem de heterojen bağlanma yüzeylerini modelleyebilir [41].

İzoterm modellerine ilişkin denklemler aşağıda görülmektedir:

Bağlanma kinetik analizi: $d\Delta R/dt = k_a C\Delta R_{maks} - (k_a C + k_d)\Delta R$ (4.3)

Scatchard: $\Delta R denge/C = K_A\Delta R_{maks} - K_A\Delta R_{denge}$ (4.4)

Langmuir: $\Delta R=\{\Delta R_{maks}[C]/(K_D+[C])\}$ (4.5)

Freundlich: $\Delta R=\Delta R_{maks}[C]^{1/n}$ (4.6)

Langmuir-Freundlich: $\Delta R=\{\Delta R_{maks}[C]^{1/n}/K_D+[C]^{1/n}\}$ (4.7)

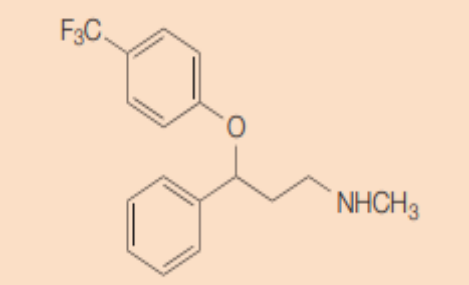
dΔR/dt SPR sinyal değişim hızı, m ve ΔRmaks ölçülen sinyali bağlama ve kütle (nM/cm2) artışından gelen maksimum sinyali, C konsantrasyon (nM), ka (1/nM s) bağlanma hız sabiti, kd (1/s) ayrışma hız sabiti, 1/n ise Freundlich heterojenite indeksini ifade etmektedir [42].

5. BULGULAR VE TARTIŞMA

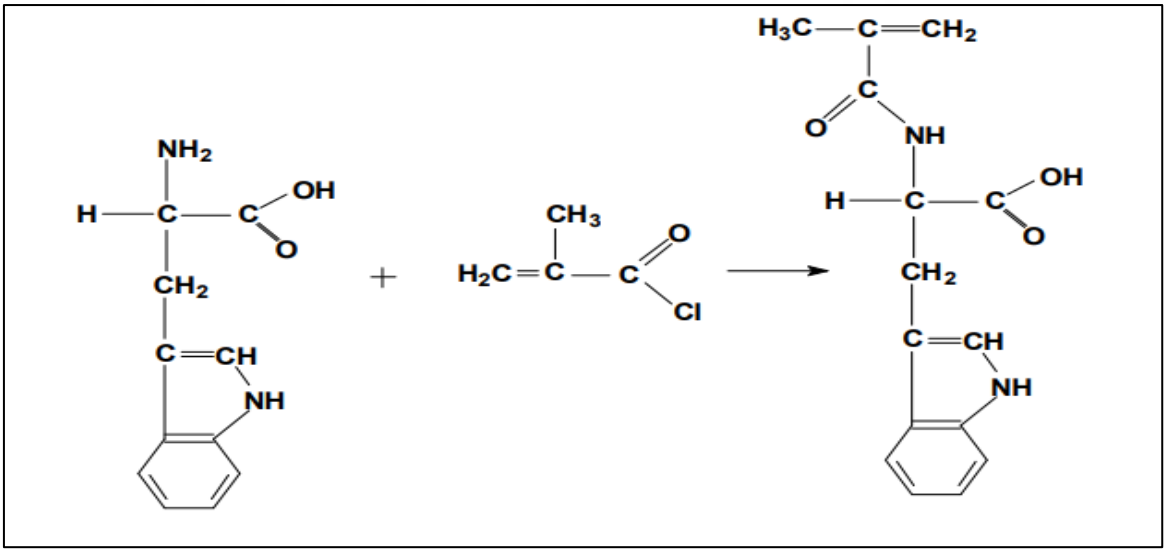
5.1. Sentez/Karakterizasyon Çalışmaları

MATrp monomer ve fluoksetin-MATrp ön-polimer kompleksi

MATrp monomeri L-Triptofan ve Metakroil klorür moleküllerinden sentez edilmiştir. Şekil 5.1'de kalıp (hedef) molekül fluoksetin ve Şekil 5.2.'de MATrp monomerinin sentez reaksiyonu görülmektedir.



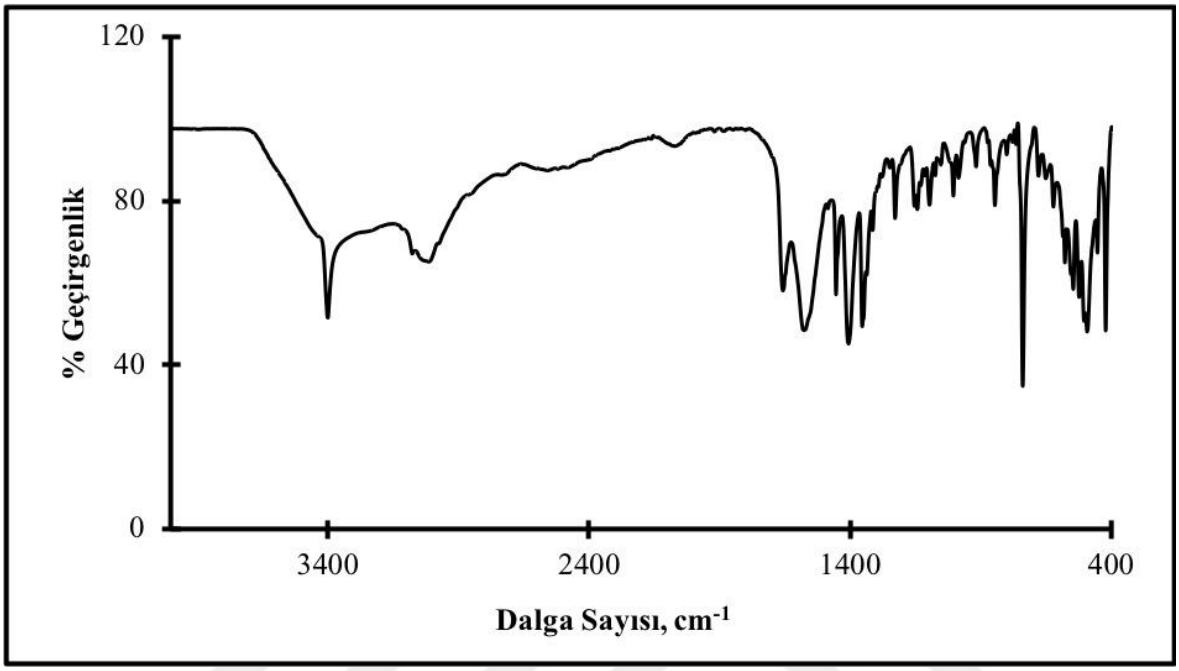
Şekil 5.1. Fluoksetinin yapısal şekli [9]



Şekil 5.2. N- Metakroil- L -triptofan metil ester (MATrp) sentez görseli [36]

MATrp monomerine ait, FTIR spektrumu Şekil 5.3.'te gösterilmektedir. 3401 cm^{-1}de bulunan adsorpsiyon bandı, NH gerilme bandına aittir. 3100-3000 cm^{-1} arasında aromatik olan CH gerilme bandları görülmektedir. Alkil grubundaki CH gerilme bandı, 2998 cm^{-1} deki absorpsiyon bandıdır. Esterkarbonil (C=O) grubuna ait gerilme bandı, 1659 cm^{-1} 'deki

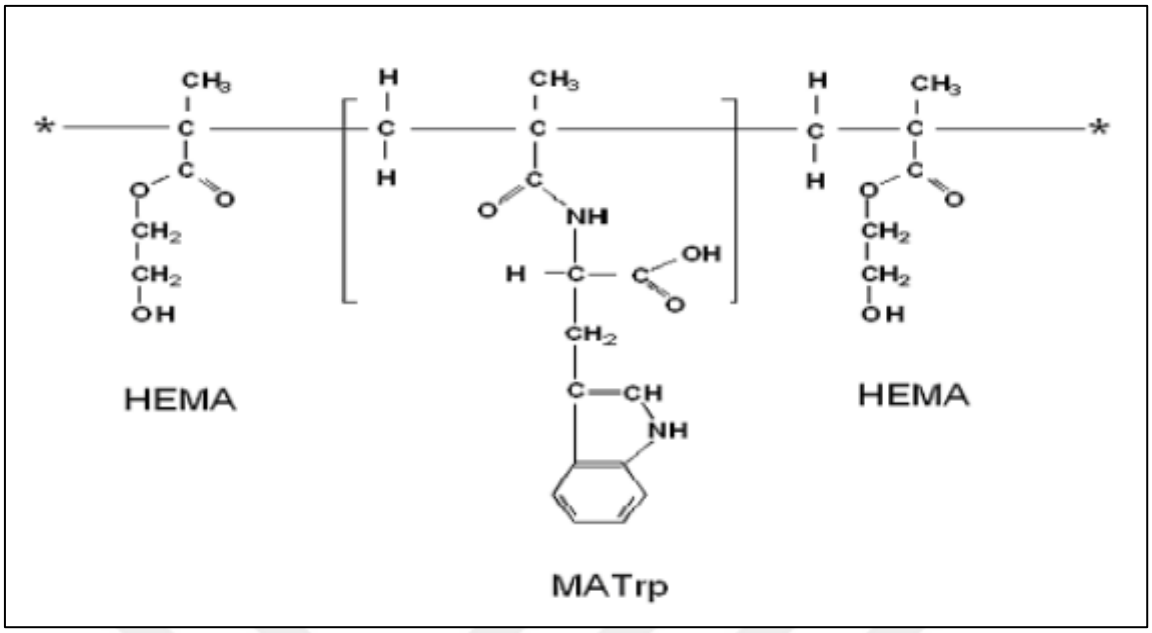
ve amidkarbonil grubu gerilme bandı, 1579 cm-1'dekidir. 1456 cm^{-1} de C=C gerilme bandı vardır. 1407 cm^{-1} de NH eğilme bandı vardır. C-N aromatik gerilme bandı ise 1407-1356 cm^{-1} dedir. C=O grubunun eğilme bandı 1356-1198 cm^{-1} deki eğilme bandıdır.



Şekil 5.3. MATrp monomeri için FTIR spektrum

Fluoksetin baskılanmış (MIP) ve baskılanmamış (NIP) nanofilmlerin yüzey karakterizasyonu

Moleküler baskılama yöntemi kullanılarak baskılanmış (MIP) nanofilm sentezi gerçekleştirilmiştir. Kalıp molekül olarak kullanılan fluoksetin, sentezlenen MATrp monomeri ile birlikte ön monomer kompleksi oluşturmuştur. Çapraz bağlayıcı kimyasal olan etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) ve fonksiyonel monomer olarak kullanmış olduğumuz 2-hidroksietil metakrilat (HEMA) ile polimerizasyon gerçekleştirilmiştir. Polimerizasyon sonrası oluşturulan MATrp-HEMA polimeri şekil 5.4. ile gösterilmektedir.



Şekil 5.4. MATrp-HEMA polimeri [37]

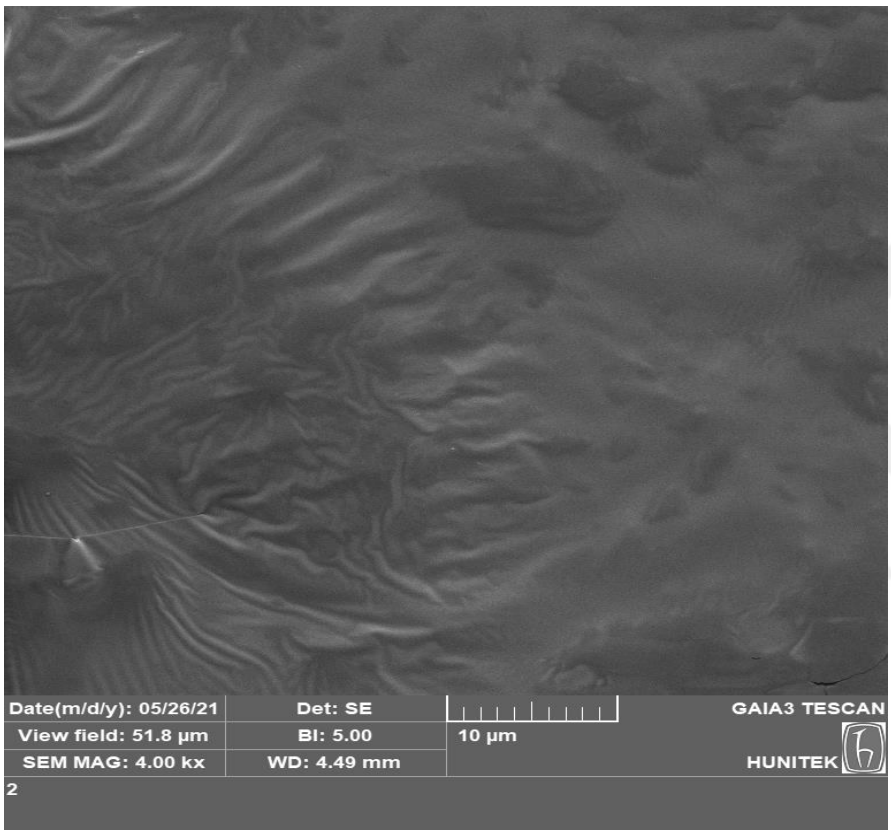
Polimerizasyon işlemi sonrasında, kalıp (hedef) molekül olarak seçilen fluoksetin desorbe edilmiş ve bu şekilde uzaklaştırılmıştır. Böylelikle, MIP sensör yüzeyinde hedef molekül fluoksetini tanımlayabilecek olan yapısal boşluklar oluşturulmuştur. Karşılaştırmalı deneylerde kullanılabilmesi için NIP nanofilm sentezi gerçekleştirilmiştir. Bu sentezde kalıp (hedef) molekül fluoksetin kullanılmamıştır. Fluoksetin baskılanmış (MIP) ve baskılanmamış (NIP) nanofilm QCM sensörün yapısal ve yüzey özellikleri incelenmesi için taramalı elektron mikroskobu (SEM), Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrofometresi (FTIR) ve de atomik kuvvet mikroskobu (AFM) kullanılmıştır.

5.1.1. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrofometresi (FTIR) analizi

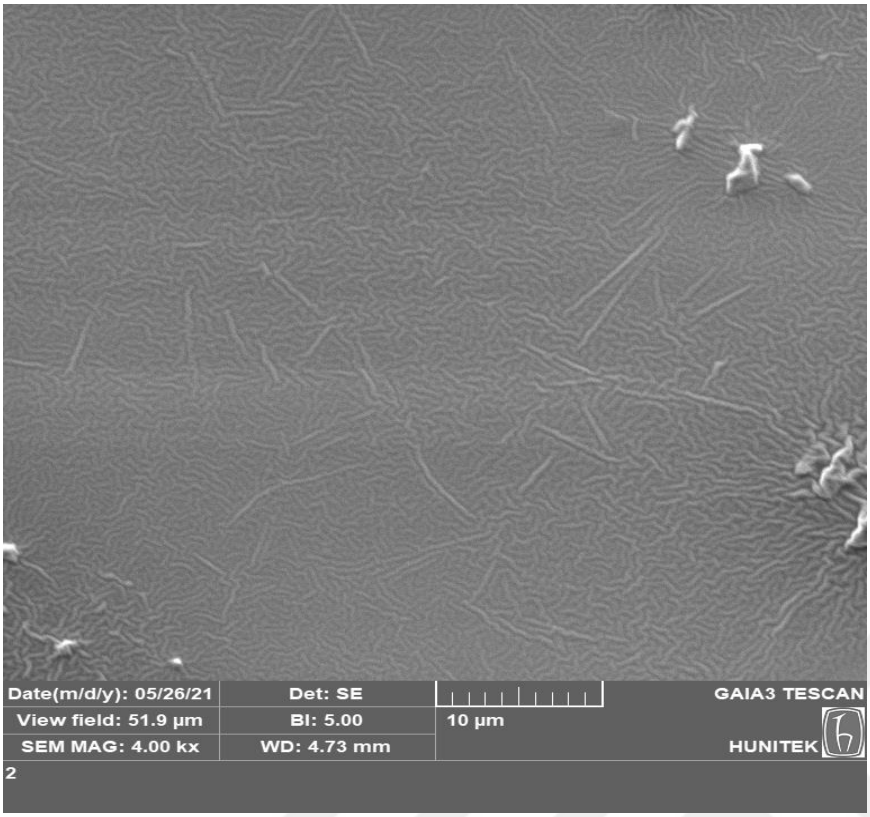
Fluoksetin baskılanmış (MIP) nanofilmin yapısal yüzey karakterizasyonu için FTIR cihazı kullanılmıştır. MIP nanofilm için karakteristik pikler sırasıyla belirlenmiştir. 3401 cm^{-1}de bulunan adsorpsiyon bandı, MATrp monomeri ile gelmiş olan N-H O-H gruplarından kaynaklıdır. 1723 cm^{-1}'de bulunan bant, ester karbonil grubuna (C=O) aittir. 1682 cm^{-1} de bulunan bant, amid karbonil grubuna (C=O) aittir. 2954 cm^{-1}'deki bant ise, polimer yapıda tekrarlı olan alifatik C-H'a ait gerilmeler kaynaklıdır. FTIR analizi MIP nanopartiküllerin yapısına, MATrp gruplarının girdiğini doğrular niteliktedir.

5.1.2. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi

Fluoksetin baskılanmış (MIP), baskılanmamış (NIP) nanofilmlerin yüzeylerinin yapıları ve ortalama boyut çaplarının görüntülemesi için SEM cihazı kullanılmıştır. Resim 5.1'de fluoksetin-MIP ve resim 5.2.'de ise fluoksetin-NIP nanofilme ait SEM görüntüleri gösterilmektedir.



Resim 5.1. Fluoksetin-MIP nanofilm SEM görüntüsü

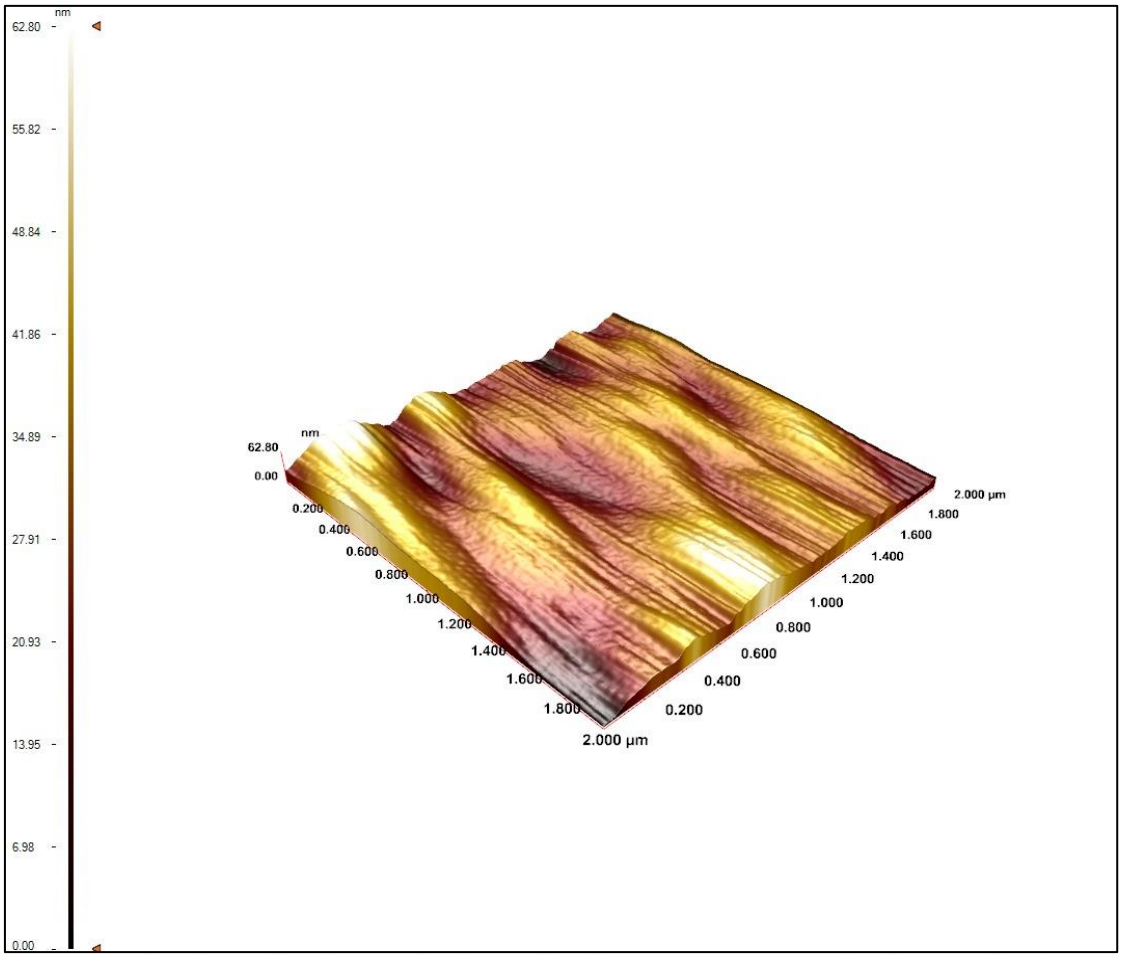


Resim 5.2. NIP nanofilm SEM görüntüsü

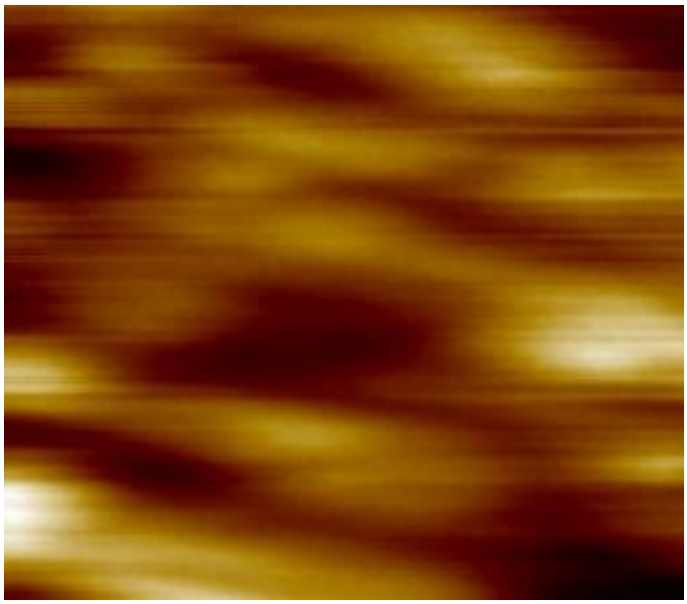
SEM görüntülerinden alınan sonuçlar değerlendirildiğinde; fluoksetin baskılanmış (MIP) nanofilmin yüzey morfolojisinde geniş dalgalı, akıcı bir doku mevcuttur. Yüzeyde bir pürüzsüzleşme ve homojenlik görülmektedir. Baskılama kompakt bir yüzey yapısı oluşturmuştur. Yüzeye bağlanan fluoksetin, yapının daha homojen forma geçmesine neden olmuştur. Fluoksetin baskılanmamış (NIP) nanofilmde ise, daha düzensiz ve çizgili bir yapı sergilemektedir. Bunlardan yola çıkarak; fluoksetin moleküllerinin yüzeyle başarılı bir etkileşim sağladığını, fluoksetin moleküllerinin polimerde iyi bir biçimde dağıldığını ve morfolojik özellikleri iyileştirdiğini göstermektedir.

5.1.3. Atomik kuvvet mikroskobu (AFM) analizi

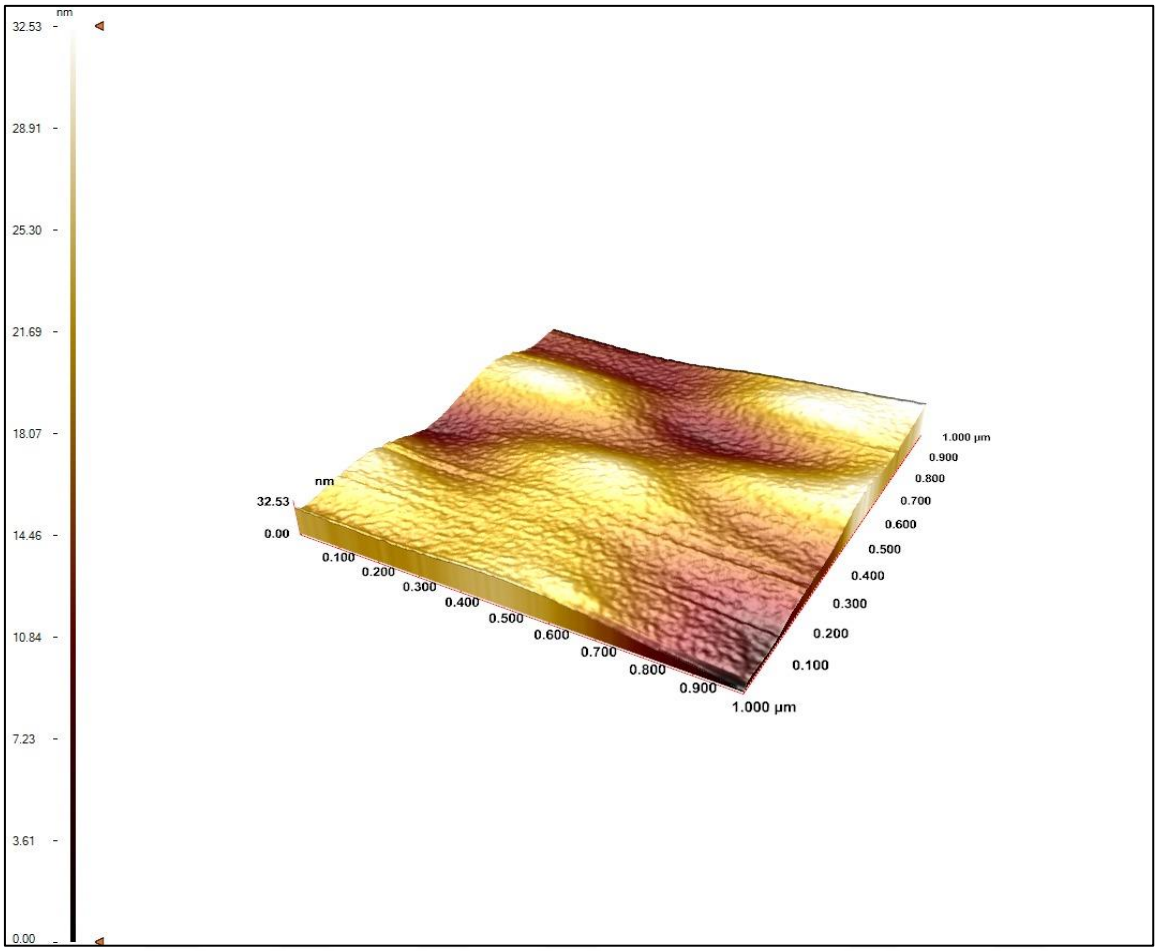
Fluoksetin baskılanmış (MIP) ve baskılanmamış (NIP) nanofilmlerin yüzey morfolojisini belirlemek amacıyla AFM cihazı kullanılmıştır. Yarı değen modda AFM görüntüleri alınmıştır. Resim 5.3.'de fluoksetin-MIP nanofilm sensöre ait 3 boyutlu, resim 5.4'de 2 boyutlu AFM görüntüleri; resim 5.5'de fluoksetin-NIP nanofilm sensöre ait 3 boyutlu, şekil 5.6'da ise 2 boyutlu AFM görüntüleri gösterilmektedir.



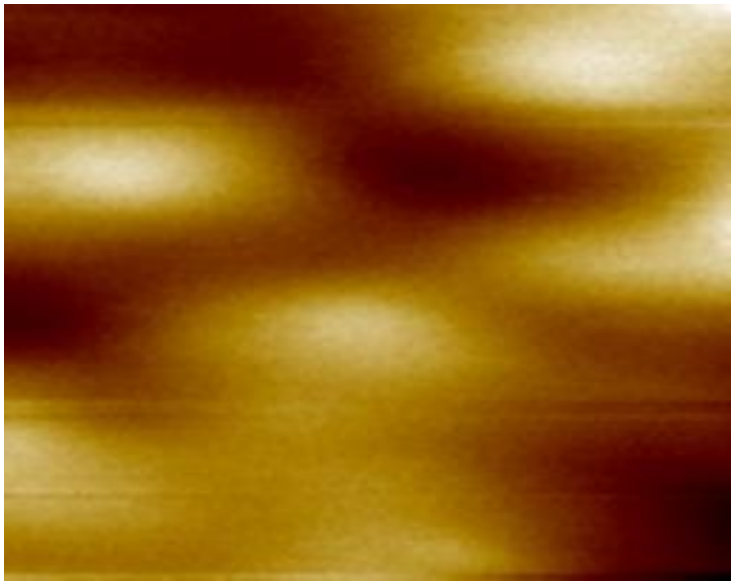
Resim 5.3. MIP 3 boyutlu AFM görüntüsü



Resim 5.4. MIP 2 boyutlu AFM görüntüsü



Resim 5.5. NIP 3 boyutlu AFM görüntüsü



Resim 5.6. NIP 2 boyutlu AFM görüntüsü

AFM görüntüsünden alınan sonuçlar değerlendirildiğinde, MIP nanofilm sensörün yüzey derinliği 62.80 nm ve NIP nanofilm sensörün yüzey derinliği de 32.53 nm değerinde olduğu

tespit edilmiştir. Resim 5.3'te görülen fluoksetin baskılanmış nanofilm sensör için AFM görüntüsü incelendiği zaman, QCM çip yüzeyinde fluoksetin baskılanmış nanofilm varlığı açıkça görülmektedir. AFM analizi sonuçlarına istinaden; fluoksetin molekülü baskılanmış olan nanofilmin, QCM sensörün yüzeyine oldukça başarılı, homojen olarak tutunduğu tespit edilmiştir.

5.2. QCM Sensör-Etkinlik Çalışmaları

Bu çalışma kapsamında hedef molekül olarak seçilen fluoksetin tayini amaçlanmıştır. Bunun için de moleküler baskılanmış (MIP) ve karşılaştırma yapabilmek için de moleküler baskılanmamış (NIP) QCM sensörler hazırlanmıştır. 5 ppb (µg/L)-1000 ppb (µg/L) aralığında, 11 farklı derişimde fluoksetin çözeltisi hazırlanmıştır. Bunun nedeni, derişim farklılıklarının, QCM sensör etkinliğine etkisini gözlemlemektir. Öncelikle daha büyük derişimlerde çözeltiler hazırlanmış, sonra derişimler gittikçe düşürülmüştür. Hazırlanan bu çözeltiler sırasıyla, peristaltik pompa yardımıyla QCM sensörlere iletilmiştir. Her bir çözelti verildiğinde, çip rezonans frekans kaymaları anlık olarak gözlenmiştir. RQCM (Maxtek) yazılımı kullanılmıştır. Farklı derişimlerde çözeltilere ait veriler bu yazılım ile eş zamanlı olarak izlenmiştir. Bu şekilde kinetik veriler alınmıştır. Çizelge 5.1'de bu verilere ait değerler gösterilmektedir.

Şekil 5.5'te farklı derişimlerde fluoksetin çözeltilerinin, moleküler baskılanmış (MIP) QCM sensör yüzeyi ile etkileştirilmesiyle elde edilen zamana karşı frekans değişimine (Δf) ait sensorgram, şekil 5.6'da farklı derişimlerde fluoksetin çözeltileri verilmesiyle MIP QCM sensör yüzeyindeki kütle değişiminin (Δm) zamanla değişimini gösteren sensorgram verilmiştir.

Karşılaştırma amaçlı hazırlanmış olan moleküler baskılanmamış (NIP) QCM sensör ile de aynı şekilde farklı derişimlerde fluoksetin çözeltileri etkileştirilmiştir. Şekil 5.7'de farklı derişimlerde fluoksetin çözeltilerinin, moleküler baskılanmamış (NIP) QCM sensör yüzeyi ile etkileştirilmesiyle elde edilen zamana karşı frekans değişimine (Δf) ait sensorgram ve şekil 5.8'de farklı derişimlerde fluoksetin çözeltileri verilmesiyle NIP QCM sensör yüzeyindeki kütle değişiminin (Δm) zamanla değişimini gösteren sensorgram verilmiştir.

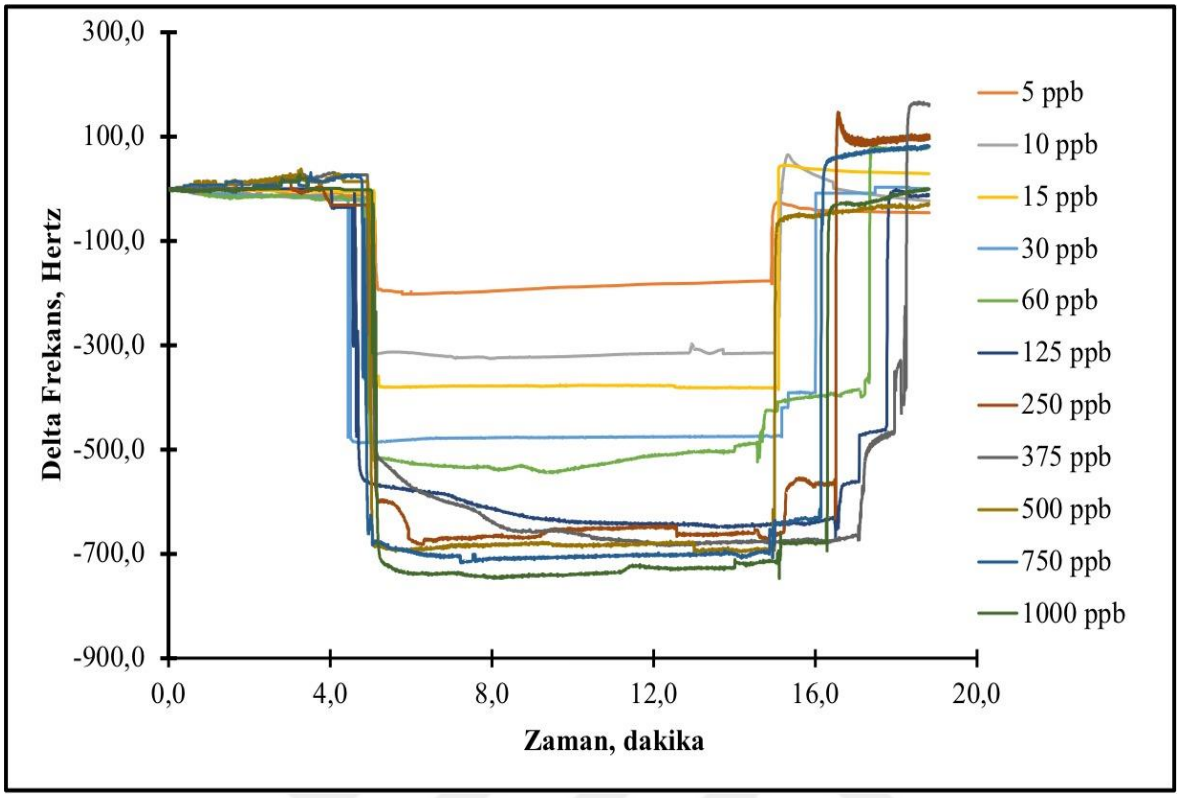
Öncelikle denge tampon sistemden 3 dakika süresince geçirilmiş, sonra da sistem yeniden dengelenene kadar fluoksetin çözeltisi geçirilmiştir (yaklaşık 10 dk). Son olarak da desorpsiyon çözeltisi 20 dakika süre ile geçirilmiştir. Sistemin toplam dengeye gelme süresi 20 dakikadır.

Şekillerden de gözlemleyebildiğimiz üzere, fluoksetin çözeltilerinin moleküler baskılanmış (MIP) sensör yüzeyi ile etkileşmesi ile birlikte artan çözelti derişimleriyle zamanla kristalin salınım frekans değişiminde (Δf) azalma, sensör yüzeyindeki kütle değişiminde (Δm) ise zamanla artış görülmüştür.

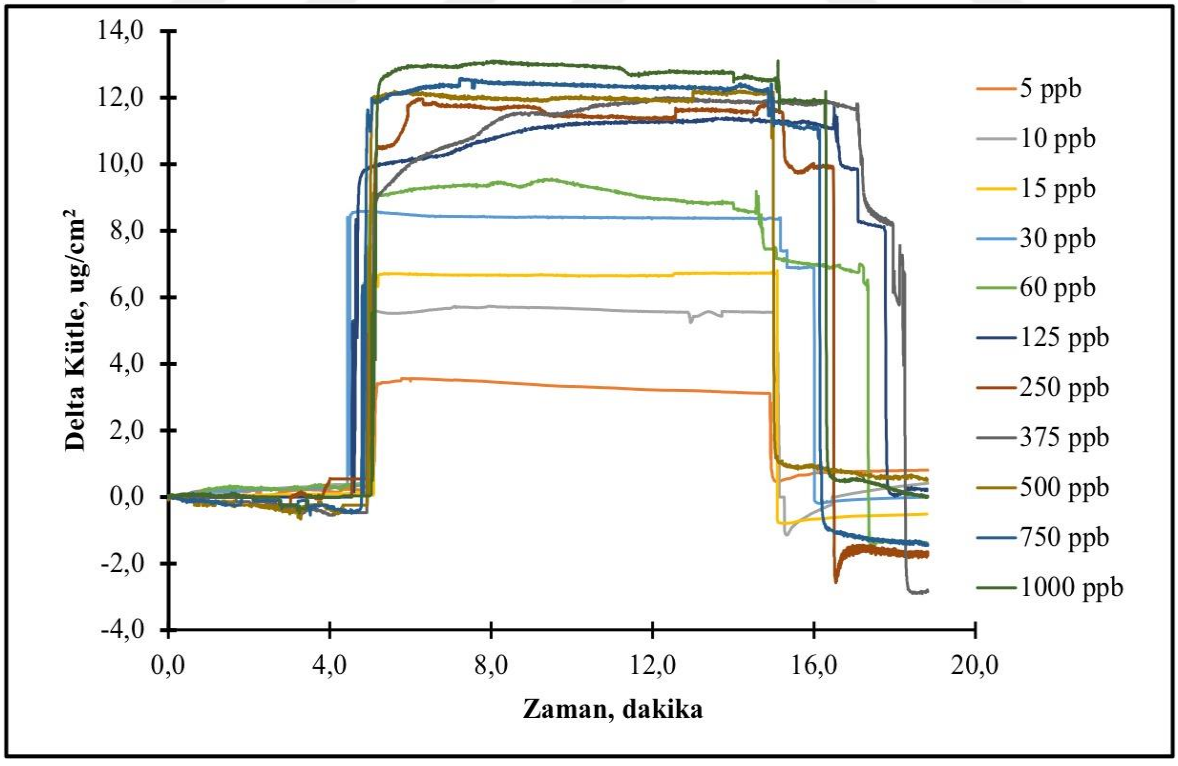
Karşılaştırma amaçlı hazırlanan moleküler baskılanmamış (NIP) sensör verilerinde de aynı şekilde artan çözelti derişimleriyle zamanla kristalin salınım frekans değişiminde (Δf) azalma ve sensör yüzeyindeki kütle değişiminde (Δm) artış gözlenmiştir.

Çizelge 5.1. MIP ve NIP QCM elektrotların Derişim-Delta Kütle ilişkisi verileri

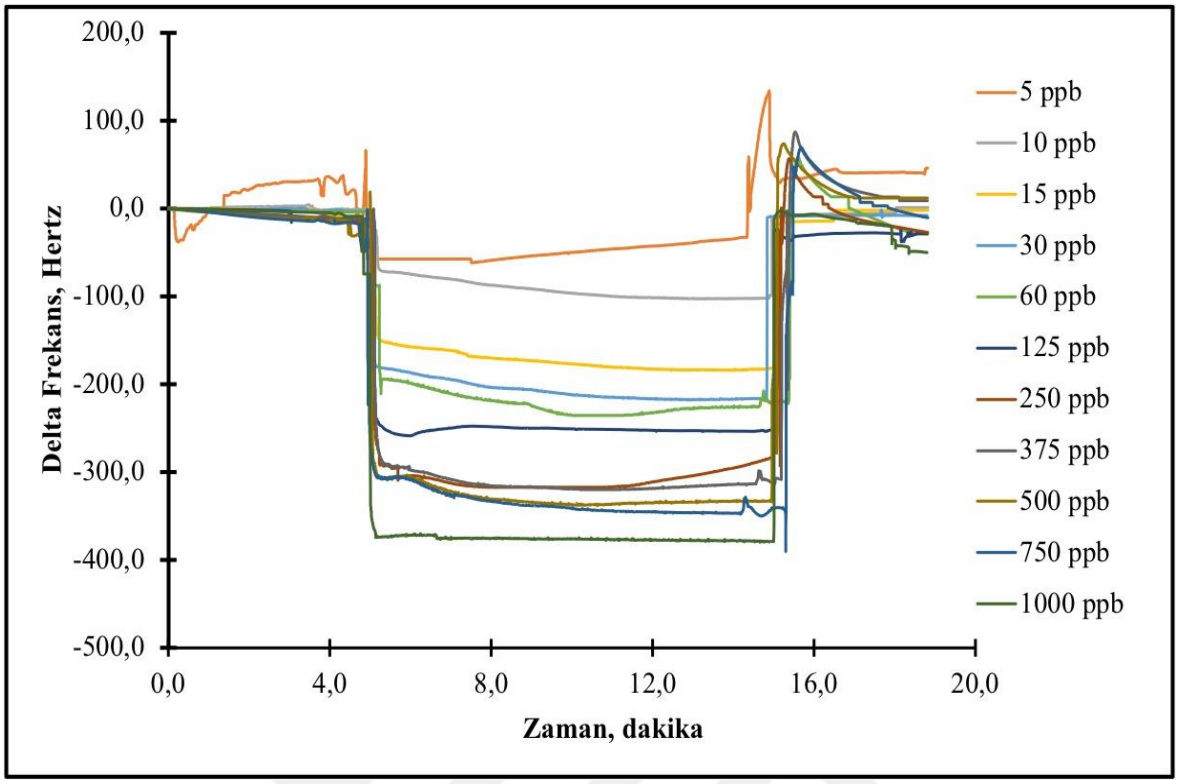
MIP		NIP	
Derişim, ppb	Delta m, µg/cm^2	Derişim, ppb	Delta m, µg/cm^2
5	3,4	5	0,99
10	5,6	10	1,4
15	6,7	15	2,8
30	8,3	30	3,0
60	9,1	60	4,2
125	10,1	125	4,4
250	11,6	250	5,4
375	12,0	375	5,4
500	12,6	500	5,6
750	12,7	750	6,0
1000	13,2	1000	6,7



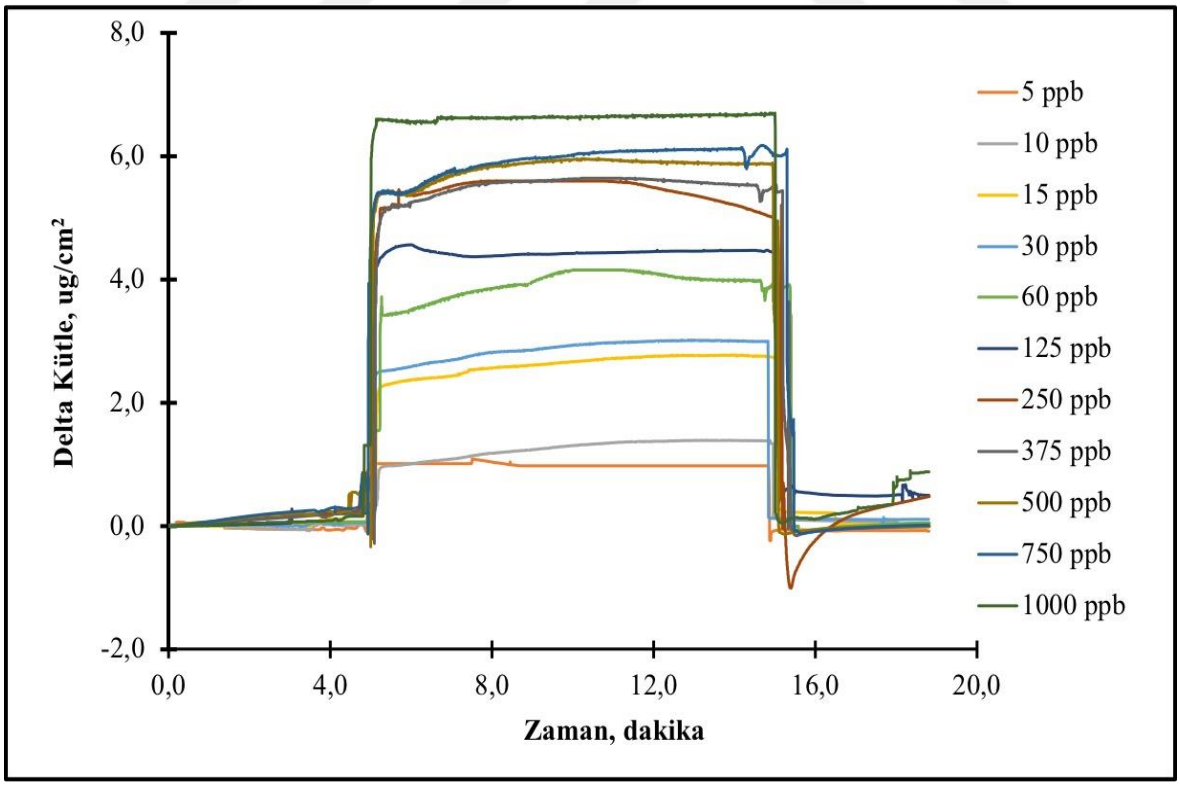
Şekil 5.5. MIP QCM sensörün salınım frakansının (Δf) zamanla değişimi



Şekil 5.6. MIP QCM sensörün kütle farkının (Δm) zamanla değişimi

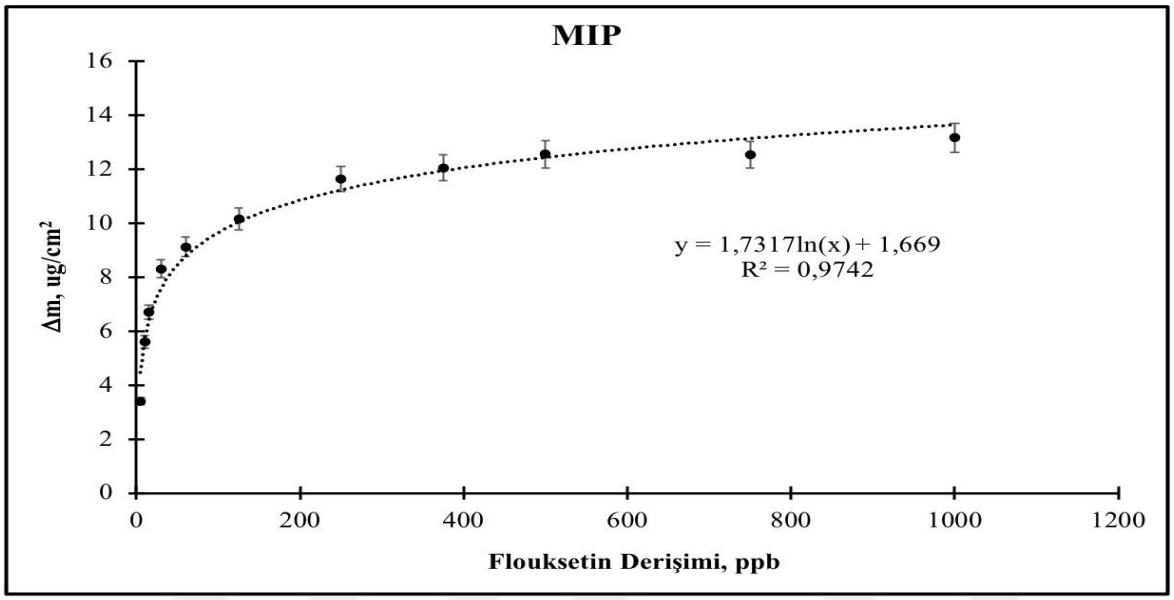


Şekil 5.7. NIP QCM sensörün salınım frakansının (Δf) zamanla değişimi

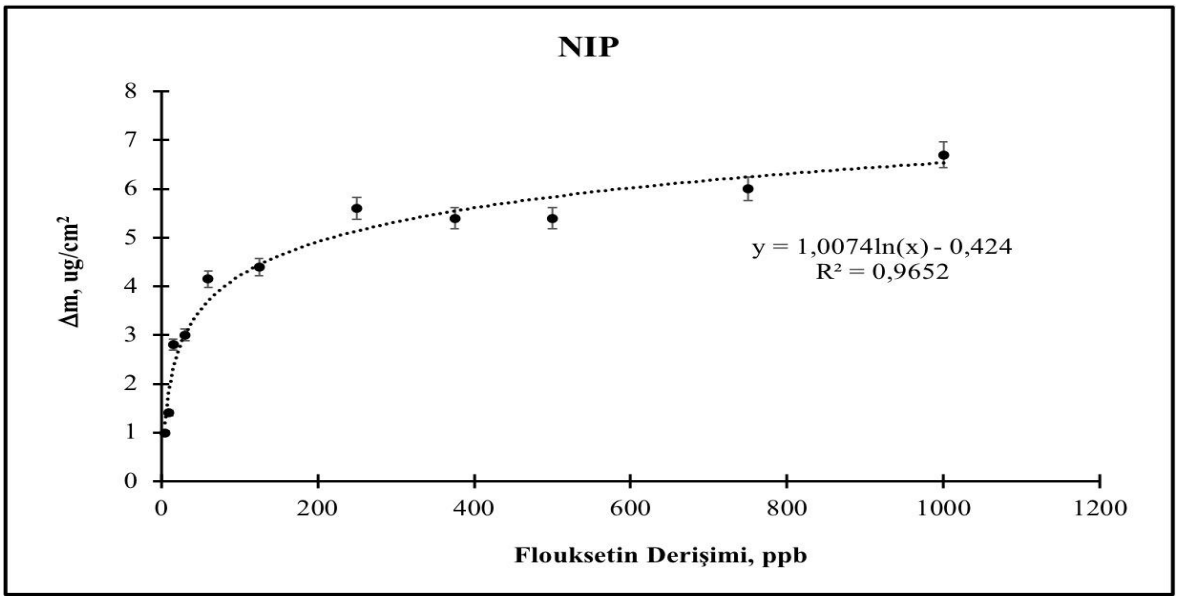


Şekil 5.8. NIP QCM sensörün kütle farkının (Δm) zamanla değişimi

Şekiller incelendiğinde moleküler baskılanmış (MIP) sensörde kristalin frekans değişimindeki azalma, moleküler baskılanmamış (NIP) sensördekine göre daha fazladır. Moleküler baskılanmış (MIP) sensör yüzeyindeki kütle farkı değerleri, moleküler baskılanmamış (NIP) sensör ile karşılaştırıldığında daha fazla kütle farkı oluştuğu görülmektedir.



Şekil 5.9. Fluoksetin baskılanmış (MIP) QCM sensör derişim ($C_{fluoksetin}$)-Δm ilişkisi



Şekil 5.10. Fluoksetin baskılanmamış (NIP) QCM sensör derişim ($C_{fluoksetin}$)-Δm ilişkisi

Fluoksetin baskılama yapılmış (MIP) ve yapılmamış (NIP) QCM sensörlere ait derişim ($C_{fluoksetin}$) ile Δm arasındaki ilişki şekil 5.9 ve şekil 5.10'da sırası ile görülmektedir. Fluoksetin derişiminin artması ile birlikte Δm değeri de artmaktadır. Seçilen 5 ppb (µg/L)-1000 ppb (µg/L) fluoksetin derişim aralığında sinyal alınmıştır ve elde edilen denklem MIP grafiğinde y=1,7317ln(x)+1,669 ve doğrusallığı R^2 = 0,9742'dir. Buradan anlaşılabileceği gibi, QCM sensör %97 doğrusallıkta ölçüm yapmıştır. NIP grafiğinde y=1,0074ln(x)-0,424 ve doğrusallığı R^2 = 0,9652'dir. QCM sensör %96 doğrusallıkta ölçüm yapmıştır.

5.3. Denge İzotermi ve İzoterm Modelleri

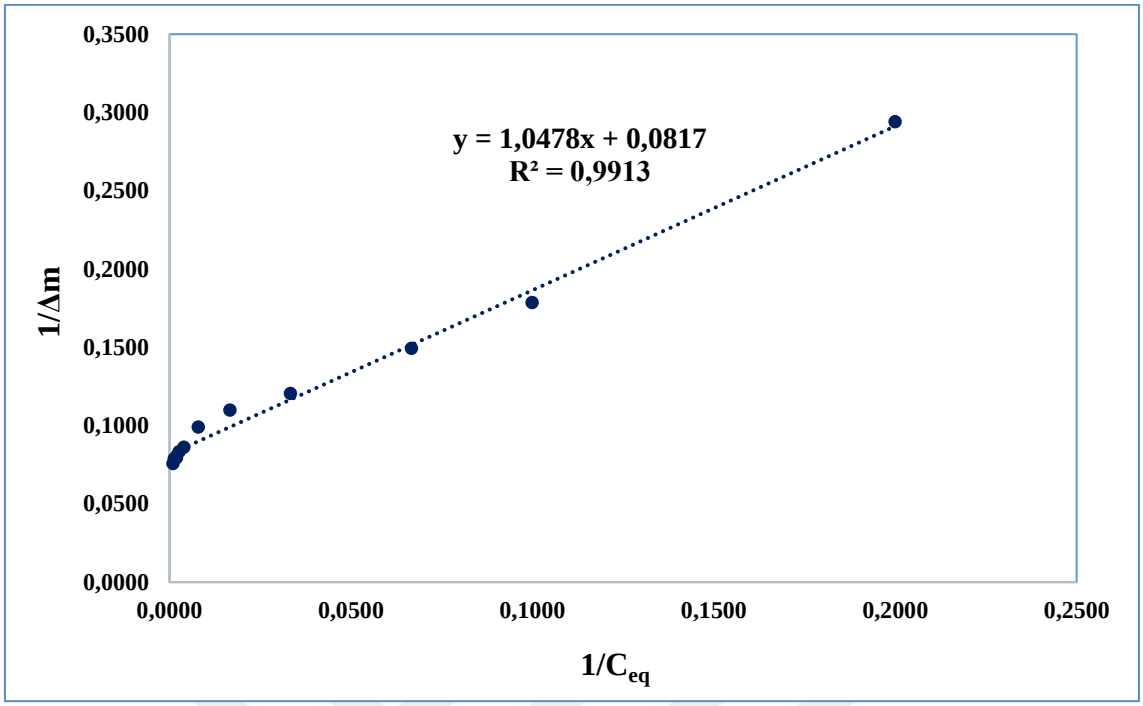
Farklı derişim değerlerinde fluoksetin baskılı ve fluoksetin baskılanmayan QCM sensörler için, çeşitli denge izoterm modellerinin incelemesi yapılmıştır. Langmuir için 1/Δm değerine karşı 1/Ceq'ya ait grafikler şekil 5.11 ve şekil 5.14'te gösterilmiştir. Freundlich için lnΔm değerine karşı lnCeq'ya ait grafikler şekil 5.12 ve 5.15'te gösterilmiştir. Langmuir-Freundlic için ise 1/Δm değerine karşı $1/Ceq^{(1/n)}$ 'e ait grafikler şekil 5.13 ve şekil 5.16'da gösterilmiştir. Eğimler belirlenmiş ve derişimin değerlerinin adsorpsiyon üzerine olan etkisi değerlendirmesi yapılmıştır. R^2-belirlilik katsayısı değerleri de grafik üzerinde ayrıca belirtilmektedir. Grafiklerden edinilen belirlilik değerleri MIP için çizelge 5.2'de ve NIP için çizelge 5.3'de görülmektedir.

Çizelge 5.2. İzoterm çeşitleri için MIP veri değerleri

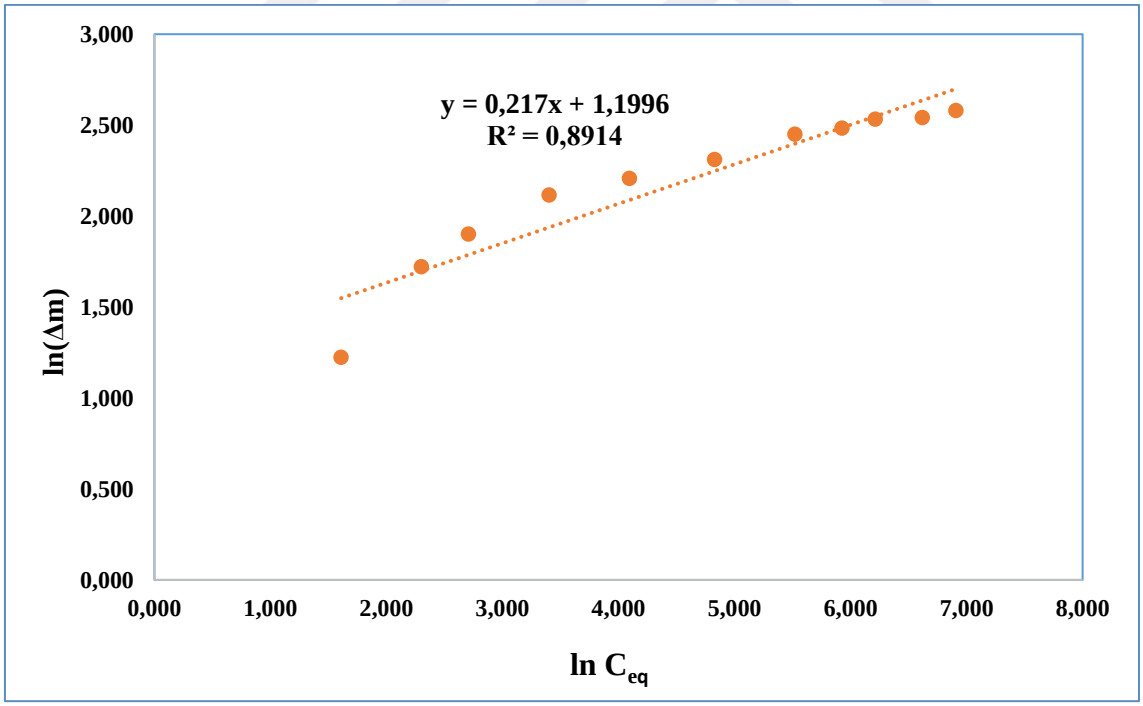
MIP Langmuir		MIP Freundlich		MIP Langmuir – Freundlich	
R^2	0,9915	R^2	0,8914	R^2	0,8409

Çizelge 5.3. İzoterm çeşitleri için NIP veri değerleri

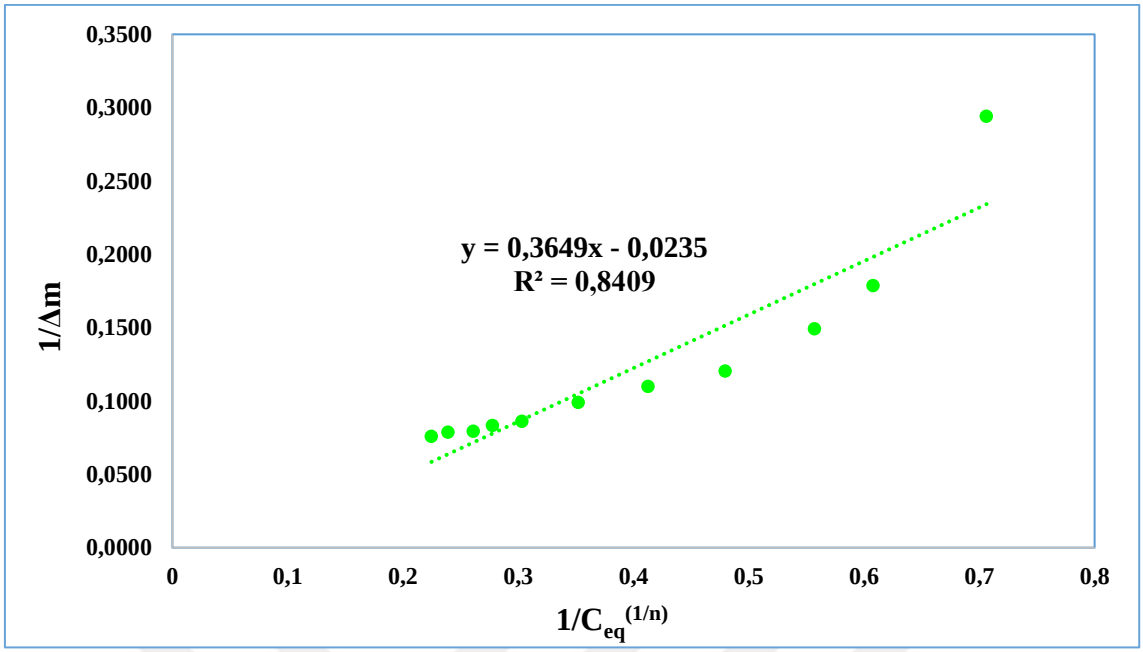
NIP Langmuir		NIP Freundlich		NIP Langmuir – Freundlich	
R^2	0,9668	R^2	0,8759	R^2	0,8543



Şekil 5.11. Fluoksetin baskılı MIP sensör için Langmuir grafiği

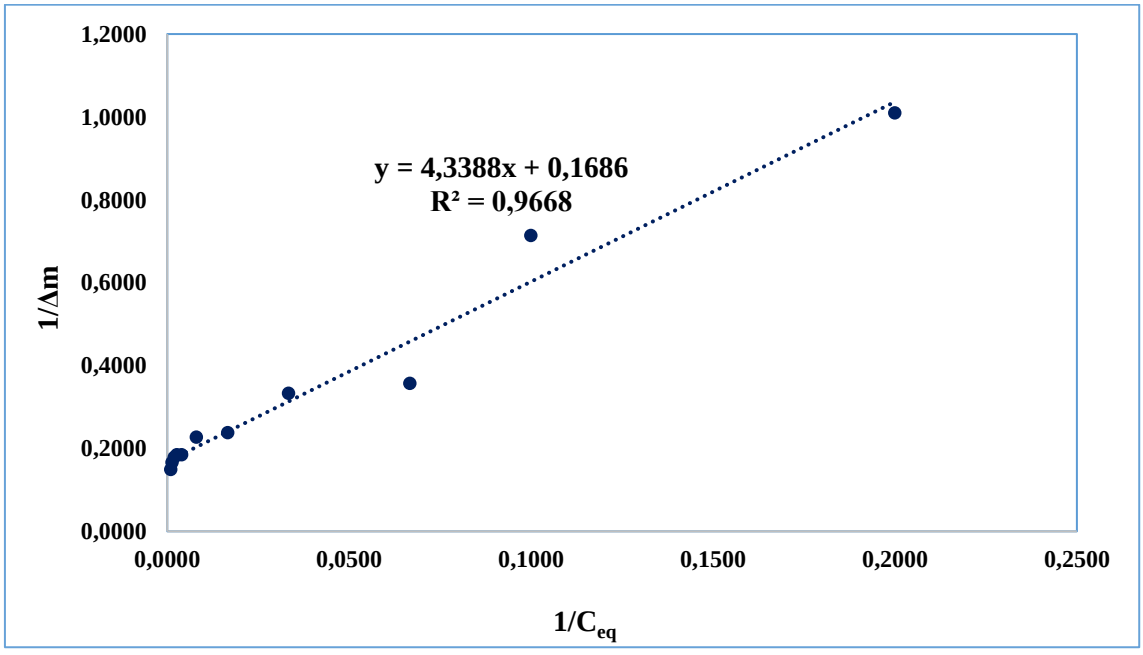


Şekil 5.12. Fluoksetin baskılı MIP sensör için Freundlich grafiği

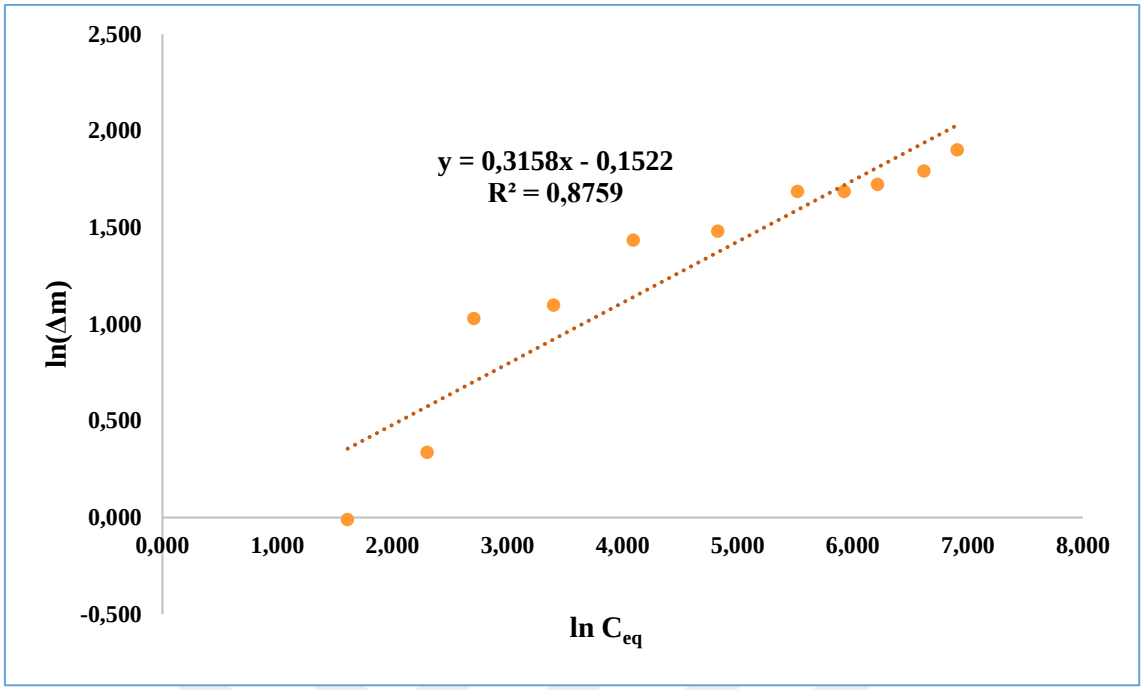


Şekil 5.13. Fluoksetin baskılı MIP sensör için Langmuir-Freundlich grafiği

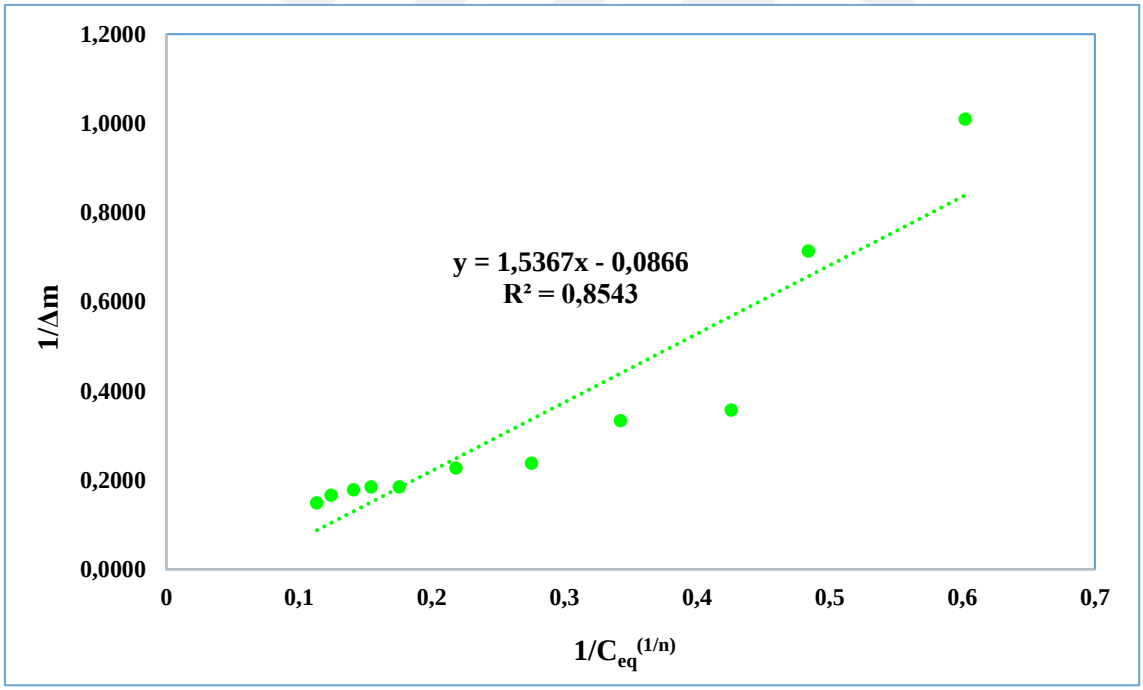
Tüm grafikler incelendiğinde bu bağlamda MIP için şekil 5.11 değerlendirildiğinde deneyselde ortaya çıkan verilerin (R^2 değeri: 0,9913) Langmuir modeli ile uyum gösterdiği görülmüştür. Fluoksetin baskılı QCM sensörün yüzeydeki bağlanma bölgeleri için homojen dağılımlı ve düşük etkileşimli olduğu kanısına varılmıştır.



Şekil 5.14. Fluoksetin baskılanmayan NIP sensör için Langmuir grafiği



Şekil 5.15. Fluoksetin baskılanmayan NIP sensör için Freundlich grafiği



Şekil 5.16. Fluoksetin baskılanmayan NIP sensör için Langmuir-Freundlich grafiği

Tüm grafikler incelendiğinde bu bağlamda NIP için şekil 5.14 değerlendirildiğinde deneyselde ortaya çıkan verilerin (R^2 değeri: 0,9668) Langmuir modeli ile uyum gösterdiği görülmüştür. Fluoksetin baskılanmayan QCM sensörün yüzeydeki bağlanma bölgeleri için homojen dağılımlı ve düşük etkileşimli olduğu kanısına varılmıştır.

5.4. QCM Sensör ile Yarışmalı Kinetik Analizler/Seçicilik Çalışmaları

Fluoksetin baskılanmış (MIP) ve baskılanmamış (NIP) nanofilmlerin QCM sensör yüzeyinde fluoksetin seçiciliğini göstermek ve seçicilik karşılaştırması yapmak için 500 ppb derişimlerinde melatonin, serotonin ve triptofan çözeltileri kullanılmıştır. Bu çözeltiler için fluoksetin çözeltisine ilişkin dağılma, seçicilik katsayıları aşağıda görüldüğü üzere ilgili eşitlikler doğrultusunda belirlenmiştir.

$$K_d = [(C_i - C_f)/C_f] \times V/m \quad (5.1)$$

Denklem 5.1'de K_d dağılma katsayısı (1/nM), C_i çözelti başlangıç derişimi (nM), C_f çözelti son derişimi (nM), m polimerin ağırlığını (g), V kullanılan çözelti hacmi (mL) parametrelerini belirtmektedir. Fluoksetinin yarışmacı çözeltilere göre seçicilik katsayıları aşağıdaki eşitlik 5.2 kullanılarak belirlenmiştir:

$$K = \Delta m_{Fluoksetin}/\Delta m_{Yarışmacı} \quad (5.2)$$

Baskılanma seçiciliğinin belirlenmesi için ise aşağıdaki eşitlik 5.3'ten faydalanılmıştır:

$$K' = K_{MIP}/K_{NIP} \quad (5.3)$$

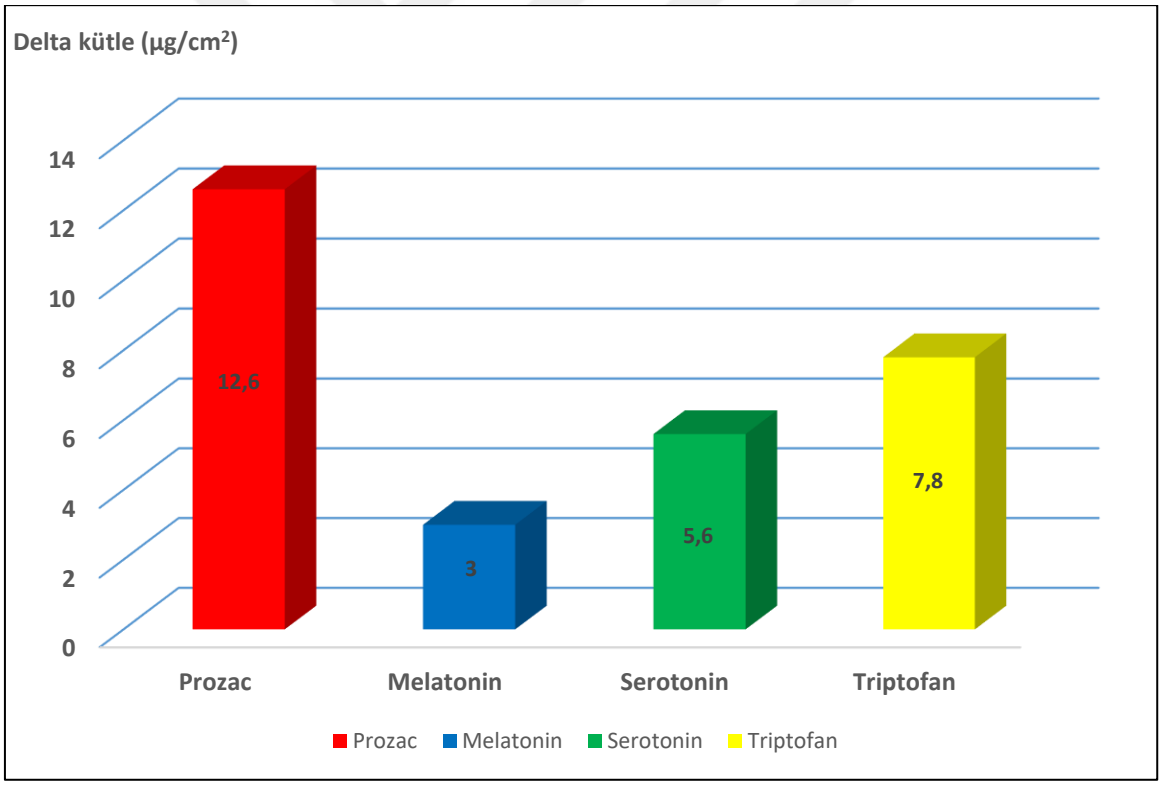
Çizelge 5.4. Fluoksetin baskılanmış QCM elektrotların seçicilik katsayıları

	MIP		NIP		
Analit	Delta Kütle, µg/cm^2	Seçicilik katsayısı, k	Delta Kütle, µg/cm^2	Seçicilik katsayısı, k	Göreceli Seçicilik Katsayısı, k'
Fluoksetin	12,6		5,4		
Melatonin	3,0	4,18	4,4	1,23	3,41
Serotonin	5,6	2,24	5,3	1,02	2,19
Triptofan	7,8	1,61	5,2	1,04	1,55

Çizelge 5.4'te açıkça görülebileceği üzere, karşılaştırmalı analiz için seçili moleküller olan melatonin, serotonin ve triptofan için, baskılama yapılmış olan ve yapılmamış durumda, tüm

moleküller için ayrı ayrı delta kütle ve seçicilik ve bağıl seçicilik katsayısı değerleri yer almaktadır.

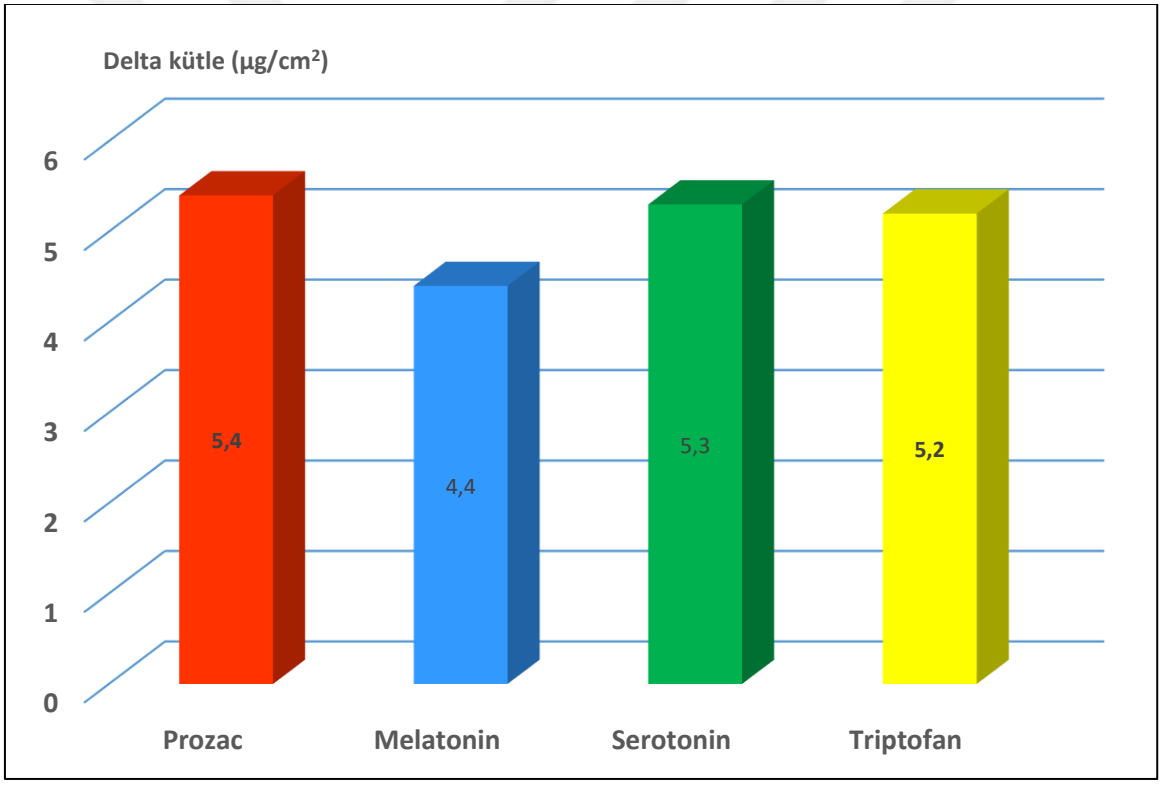
Şekil 5.17'de fluoksetin baskılanmış (MIP) sensörün yarışmacı çözeltilere karşı tepkisi ve zamana karşı Δm ilişkilerine ait grafik görülmektedir. Fluoksetin baskılanmış (MIP) sensörün yarışmacı çözeltilere karşı verdiği sinyal Δm değerleri sırasıyla melatonin 3,0; serotonin 5,6 ve triptofan 7,8 µg/cm^2'dir. Aynı derişimde verilen fluoksetin çözeltisi için ölçülen sinyalin Δm değeri 12,6 µg/cm^{2}dir. Elde edilen veriler incelendiğinde, fluoksetin baskılanmış (MIP) sensör fluoksetini, melatonine göre 4,18 kat; serotonine göre 2,24 kat ve triptofana göre 1,61 kat daha duyarlı olarak tayin etmektedir. Hedef (kalıp) molekül olarak seçilen ve sensöre baskılanan fluoksetinin yapısının sensör hafızasına alınmasından kaynaklı olarak hedef moleküle hassasiyet oluşmaktadır.



Şekil 5.17. MIP-seçicilik Delta kütle değerleri

Şekil 5.18'de fluoksetin baskılanmamış (NIP) sensörün fluoksetine ve yarışmacı çözeltilere karşı tepkisi ve zamana karşı Δm değerlerini gösteren sensorgram görülmektedir. Moleküler baskılanmamış (NIP) sensör, baskılanmış (MIP) sensörün baskılama seçiciliğini göstermek için hazırlanmıştır. Fluoksetin baskılanmamış (NIP) sensörün verdiği sinyal Δm değerleri

sırasıyla fluoksetin (Prozac) 5,4; melatonin 4,4; serotonin 5,3 ve triptofan 5,2 µg/cm^2'dir. Elde edilen sonuçlara göre, fluoksetin baskılanmamış (NIP) sensörün aynı derişimlerdeki fluoksetin (Prozac), melatonin, serotonin ve triptofana verdiği sinyaldeki artışın daha az olduğu görülmektedir. 5.1'deki eşitliğin kullanılması ile hesaplanan seçicilik katsayıları (k) baskılanmış sensörde melatonin için 4,18 ve baskılanmamış sensörde 1,23; baskılanmış sensörde serotonin için 2,24 baskılanmamış sensörde 1,02 ve baskılanmış sensörde triptofan için 1,61 baskılanmamış sensörde ise 1,04 değeri belirlenmiştir. Bağıl seçicilik katsayısı (k'), baskılama seçiciliğini gösterir. Hesabı için ise eşitlik 5.2 kullanılmıştır. (Fluoksetin/melatonin) seçicilik katsayısı 3,40; (fluoksetin/serotonin) seçicilik katsayısı 2,20 ve (fluoksetin/triptofan) seçicilik katsayısı 1,55 olarak hesaplanmıştır.

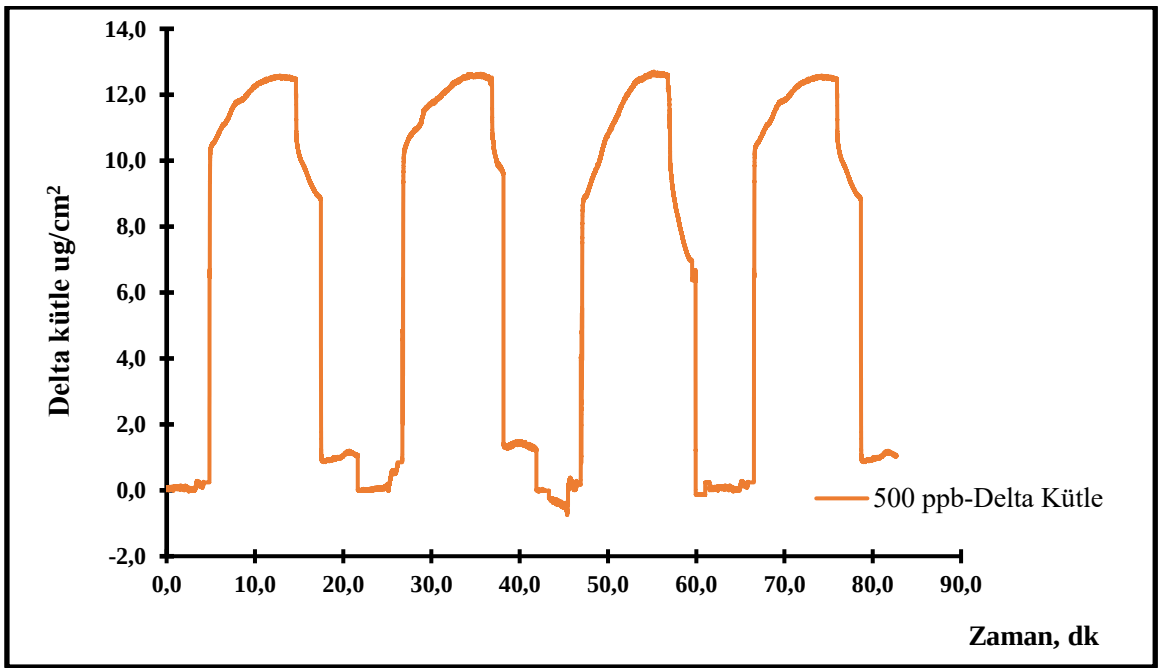


Şekil 5.18. NIP-seçicilik Delta kütle değerleri

Molekül yapıları birbirine benzerlik gösterdiği için seçilmiş olan; fluoksetin, melatonin, serotonin ve triptofan molekülleri için sonuç tablosuna bakıldığında, MIP (fluoksetin baskılı olan) sensördeki seçicilik oranının, baskılanma yapılmamış olan sensöre göre çok daha başarılı olduğu sonucu çıkarılabilir. Verisel analiz yapıldığında; fluoksetin baskılı (MIP) sensör; fluoksetini melatonine göre 3,41 kat; serotonine göre 2,19 kat ve triptofana göre 1,55 kat seçicilik ile tanımaktadır.

5.5. MIP QCM Sensörün Tekrar Kullanılabilirlik İncelemesi

Fluoksetin baskılanmış olan (MIP) QCM sensörün yeniden tekrarlı kullanılabilirliğini incelemek amacı ile, 500 ppb derişimlerde fluoksetin içeren çözeltiler, QCM sistemine ardışık enjeksiyonlar ile ve 4 ayrı tekrarlı olacak şekilde enjekte edilmiştir. Bu analiz sonucunda alınan sonuçlara ait veriler şekil. 5.19da grafik halinde gösterilmiştir.



Şekil 5.19. Tekrarlı analiz Delta kütle-zaman grafiği

6. SONUÇ

Sunulan tez çalışmasında gerçek zamanlı anti-depresan (fluoksetin) tayini için moleküler olarak baskılanmış (MIP) QCM sensörü araştırılmıştır.

- L -triptofan metil ester ve metakroil klorür reaksiyonu sonucunda N- Metakroil- L -triptofan metil ester (MATrp) elde edilmiştir. FTIR Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrofometresi analizi kullanılarak karakterizasyon yapılmıştır.

- MATp monomerinin karakterizasyonunda kullanılan FTIR spektrumundaki, MATrp monomerinde NH eğilme 1407 cm-1 de, CN aromatik 1407-1356 cm-1de, esterkarbonil (C=O) grubuna ait gerilme bandı, 1659 cm^{-1} 'deki ve amidkarbonil grubu gerilme bandı, 1579 cm-1'deki bant olarak görülmüştür.

- Moleküler baskılama yöntemi kullanılarak baskılanmış (MIP) nanofilm sentezlenmiştir. Fonksiyonel monomer 2-hidroksi etil metakrilat (HEMA) ve çapraz bağlayıcı kimyasal etilen glikol dimetakrilat (EGDMA) ile polimerizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

- Fluoksetin baskılanmış (MIP) nanofilmin yapısal yüzey karakterizasyonu için FTIR cihazı kullanılmıştır. MIP nanofilm için karakteristik pikler sırasıyla belirlenmiştir. 3401 cm-1de bulunan adsorpsiyon bandı, MATrp monomeri ile gelmiş olan N-H O-H gruplarından kaynaklıdır. 1723 cm-1'de bulunan bant, ester karbonil grubuna (C=O) aittir. 1682 cm-1 de bulunan bant, amid karbonil grubuna (C=O) aittir. 2954 cm -1'deki bant ise, polimer yapıda tekrarlı olan alifatik C-H'a ait gerilmeler kaynaklıdır. FTIR analizi MIP nanopartiküllerin yapısına, MATrp gruplarının girdiğini doğrular niteliktedir.

- Fluoksetin baskılanmış (MIP)-fluoksetin baskılanmamış (NIP) nanofilmlerin yüzey yapıları, morfolojisi için SEM cihazı kullanılmıştır. Fluoksetin baskılanmış (MIP) nanofilmin yüzey morfolojisinde geniş dalgalı, akıcı bir doku mevcuttur. Yüzeyde bir pürüzsüzleşme ve homojenlik görülmektedir. Baskılama kompakt bir yüzey yapısı oluşturmuştur. Yüzeye bağlanan fluoksetin, yapının daha homojen forma geçmesine neden olmuştur. Fluoksetin baskılanmamış (NIP) nanofilmde ise, daha düzensiz ve çizgili bir yapı sergilemektedir. Bunlardan yola çıkarak; fluoksetin moleküllerinin yüzeyle

başarılı bir etkileşim sağladığını, fluoksetin moleküllerinin polimerde iyi bir biçimde dağıldığını ve morfolojik özellikleri iyileştirdiğini göstermektedir.

- Fluoksetin baskılanmış (MIP)-fluoksetin baskılanmamış (NIP) nanofilmlerin yüzey morfolojilerinin belirlenmesi amacı ile atomik kuvvet mikroskobu (AFM) kullanılmış ve yarı değen modda karakterize edilmiştir. AFM görüntüsünden alınan sonuçlar değerlendirildiğinde, MIP nanofilm sensörün yüzey derinliği 62.80 nm ve NIP nanofilm sensörün yüzey derinliği de 32.53 nm olarak tespit edilmiştir. AFM analizi sonuçları değerlendirilerek fluoksetin baskılanmış nanofilmin QCM sensör yüzeyine oldukça başarılı, homojen bir şekilde tutunduğu tespit edilmiştir.

- Fluoksetin baskılanmış olan QCM sensörlerle değişik derişimlerde fluoksetin çözeltileri etkileştirilmiştir. Çözelti derişimleri arttıkça, Δf frekans değerleri azalırken, sinyal Δm değerlerinde belirgin bir artış olduğu görülmüştür.

- Δm'ye karşı zaman grafiklerinden elde edilen sensorgramlara bakıldığında fluoksetin derişimi ile doğru orantılı olduğu belirlenmiştir.

- 5 ppb (µg/L)-1000 ppb (µg/L) fluoksetin derişim aralığında alınan veriler değerlendirildiğinde elde edilen deklem elde edilen denklem MIP grafiğinde y=1,7317ln(x)+1,669 ve doğrusallığı R^2 = 0,9742'dir. Buradan anlaşılabileceği gibi, QCM sensör %97 doğrulukta ölçüm yapmıştır. NIP grafiğinde y=1,0074ln(x)-0,424 ve doğrusallığı R^2 = 0,9652'dir. QCM sensör %96 doğrulukta ölçüm yapmıştır.

- İzoterm modelleri üç ayrı model olacak şekilde hem fluoksetin baskılı MIP hem de fluoksetin baskılanmayan NIP sensörler için incelenmiştir. Langmuir izotermler için belirlilik katsayısı R^2 grafiklerden MIP için 0,9913 ve NIP için 0,9668 olarak en yüksek verimde olduğu belirlenmiştir. Bu izoterm modelleri arasında sensörlere göre en uygun modelin Langmuir modeli olduğu denklemlerden edinilen veriler, hesaplanan değerler ve çizilen grafikler doğrultusunda açık bir şekilde tespit edilmiştir.

- Fluoksetin baskılı QCM sensörün hedef molekül fluoksetin seçicilik düzeyinin belirlenebilmesi için, yarışmacı moleküller ile deneyler yapılmıştır. Melatonin, serotonin ve triptofan çözeltileri kullanılmıştır. Fluoksetin baskılı (MIP) sensörün yarışmacı

çözeltilere karşı verdiği sinyal Δm değerleri sırasıyla melatonin 3,0; serotonin 5,6 ve triptofan 7,8 μg/cm^2'dir. Aynı derişimde verilen fluoksetin çözeltisi için alınan sinyalin Δm değeri 12,6 μg/cm^{2}dir. Elde edilen veriler incelendiğinde, fluoksetin baskılanmış (MIP) sensör fluoksetini, melatonine kıyasla 4,18 kat; serotonine kıyasla 2,24 kat ve triptofana kıyasla 1,61 kat fazla duyarlı olarak tayin etmektedir. Hedef (kalıp) molekül olarak seçilen ve sensöre baskılanan fluoksetinin yapısının sensör hafızasına alınmasından kaynaklı olarak hedef moleküle hassasiyet oluşmaktadır.

- Moleküler baskılanmamış (NIP) sensör, baskılanmış (MIP) sensörün baskılama seçiciliğini göstermek için hazırlanmıştır. Fluoksetin baskılanmamış (NIP) sensörün verdiği sinyal Δm değerleri sırasıyla fluoksetin (Prozac) 5,4; melatonin 4,4; serotonin 5,3 ve triptofan 5,2 μg/cm^2'dir. Elde edilen sonuçlara göre, fluoksetin baskılanmamış (NIP) sensörün aynı derişimlerdeki fluoksetin, melatonin, serotonin ve triptofana verdiği sinyaldeki artış ile kıyasla daha az olduğu tespit edilmiştir. Fluoksetin baskılanmış (MIP)-fluoksetin baskılanmamış (NIP) sensörlerin karşılaştırılması durumunda, fluoksetine karşı hassasiyetin 4,18 kattan 1,23 kata düştüğünü görülmektedir. 4.7'deki eşitliğin kullanılması ile hesaplanan seçicilik katsayıları (k) baskılanmış sensörde melatonin için 4,18 baskılanmamış sensörde 1,23; baskılanmış sensörde serotonin için 2,24 baskılanmamış sensörde 1,02 ve baskılanmış sensörde triptofan için 1,61 baskılanmamış sensörde ise 1,04 değeri belirlenmiştir. Bağıl seçicilik katsayısı (k') baskılama seçiciliğini gösterir. Hesabı için ise eşitlik 4.8 kullanılmıştır. (Fluoksetin/melatonin) seçicilik katsayısı 3,40; (fluoksetin/serotonin) seçicilik katsayısı 2,20 ve (fluoksetin/triptofan) seçicilik katsayısı 1,55 olarak hesaplanmıştır.

- Sonuçlar değerlendirildiğinde, fluoksetin baskılanmış (MIP) sensör; fluoksetini melatonine kıyasla 3,40 kat; serotonine kıyasla 2,20 kat ve triptofana kıyasla 1,55 kat fazla seçicilik ve duyarlılık ile tanımıştır. Mehmet Odabaşı ve arkadaşlarının yaptığı çalışma (2007) ile karşılaştırıldığında, lizozim baskılanmış poli(HEMA - MAH) [Lys - MIP] polimeri sentezlenmiştir. Lizozim - insan serum albumin ve lizozim / sitokrom -c için baskılanmış polimere ait seçicilik kat sayısı, baskılanmamış olan diğer polimere nazaran 3,6 ve 4,1 kat olmak üzere, yüksek bulmuştu. Fluoksetin baskılanmış sensör fluoksetini, melatonine göre 4,18 kat; serotonine göre 2,24 kat ve triptofana göre 1,61 kat daha duyarlı olarak tayin etmektedir. Her iki çalışmada da baskılanma metodunun çok daha duyarlı seçim yapılmasına sebep olduğu görülmüştür. Polimer farkları sebebi ile

seçicilik katsayıları değişiklik gösterse de metodun işlevselliğini gözler önüne sermektedir.

- Fluoksetin baskılanmış (MIP) QCM sensörün ardışık enjeksiyonlarla tekrarlanan 4 döngü sonucunda, fluoksetin bağlanmasında ciddi bir düşüş olmadığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar ve veriler, QCM sensörün tekrarlı olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Mary Donnabelle L. Balela ve arkadaşlarının yaptığı çalışma (2024) ile karşılaştırıldığında, moleküler olarak basılmış polimerler pestisit kalıntılarının algılanması için geliştirilmiş ve malathion-MIP sensörünün üç döngüye kadar kararlı olduğu ve yeniden kullanılabilir olduğu belirlenmişti. Her iki çalışmada da sensörün tekrarlı kullanılabilirliği analizi hususunda olumlu ve ortak bir sonuç mevcuttur.

KAYNAKLAR

1. Fatta-Kassinos, D., Meriç, S. and Nikolaou, A. (2011). Pharmaceutical residues in environmental waters and wastewater: current state of knowledge and future research. *Analytical And Bioanalytical Chemistry*, 399(1), 251-275.

2. Garcia-Colunga, J., Awad, J. N. and Miledi, R. (1997). Blockage of muscle and neuronal nicotinic acetylcholine receptors by fluoxetine (Prozac). *Proceedings Of The National Academy of Sciences*, 94(5), 2041-2044.

3. Demeestere, K., Petrovic, M., Gros, M., Dewulf, J., Van Langenhove, H. and Barcelo, D. (2010). Molecularly imprinted polymers (MIPs) as an innovative solid-phase extraction sorbent for the analysis of antidepressants in environmental waters. *20th SETAC Europe Annual Meeting: Science And Technology For Environmental Protection*. SETAC Europe Office.

4. Vasapollo, G., Del Sole, R., Mergola, L., Rosaria Lazzoi, M., Scardino, A., Scorrano, S. and Mele, G. (2011). Molecularly imprinted polymers: Present and future prospective. *International Journal Of Molecular Sciences*, 12(9), 5908-5945.

5. Castensson, S. (2008). Pharmaceutical waste. *Pharmaceuticals in the Environment*. Berlin: Springer, 489-499.

6. Kadam, A., Patil, S., Patil, S. and Tumkur, A. (2016). Pharmaceutical waste management an overview. *Indian Journal of Pharmacy Practice*, 9(1), 3.

7. Patneedi, C. B. and Durga Prasadu K. (2015). Impact of pharmaceutical wastes on human life and environment. *Rasayan Journal of Chemistry*, 8(1), 67-70.

8. Shaaban, H., Alghamdi, H.; Alhamed, N., Alziadi, A. and Mostafa, A. (2018). Environmental contamination by pharmaceutical waste: Assessing patterns of disposing unwanted medications and investigating the factors influencing personal disposal choices. *J Pharmacol Pharm Res*, 1(1), 003.

9. Wong, D. T., Perry, K. W. and Bymaster, F. P. (2005). The discovery of fluoxetine hydrochloride (Prozac). *Nature Reviews Drug Discovery*, 4(9), 764-774.

10. Risley, D. S. and Bopp, R. J. (1990). Fluoxetine. *Analytical Profiles Of Drug Substances.* SanDiego, CA: Academic Press, 19, 193-219.

11. Feroz, M., Lopes, I. C., Rehman, H. u., Ata, S. and Vadgama, P. (2020). A novel molecular imprinted polymer layer electrode for enhanced sensitivity electrochemical determination of the antidepressant fluoxetine. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 878, 114693.

12. Hanoon, S. A., Hashim, W. S. and Arean, A. G. (2020). Physiological effects of Prozac on cellular and Humoral components of blood of laboratory mice. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 12(4), 821-824.

13. Wenthur, C. J., Bennett, M. R. and Lindsley, C. W. (2014). Classics in chemical neuroscience: fluoxetine (Prozac). *ACS Chemical Neuroscience*, 5(1), 14-23.

14. Chen, L., Wang, X., Lu, W., Wu, X. and Li, J. (2016). Molecular imprinting: Perspectives and applications. *Chemical Society Reviews*, 45(8), 2137-2211.

15. Ertürk, G. and Mattiasson, B. (2017). Molecular imprinting techniques used for the preparation of biosensors. *Sensors*, 17(2), 288.

16. Saylan, Y., Yılmaz, F., Özgür, E., Derazshamshir, A., Yavuz, H. and Denizli, A. (2017). Molecular imprinting of macromolecules for sensor applications. *Sensors*, 17(4), 898.

17. Zhang, Z. and Liu, J. (2019). Molecular imprinting with functional DNA. *Small*, 15(26), 1805246.

18. Shen, X., Zhu, L., Wang, N., Ye, L. and Tang, H. (2012). Molecular imprinting for removing highly toxic organic pollutants. *Chemical Communications*, 48(6), 788-798.

19. Komiyama, M., Mori, T. and Ariga, K. (2018). Molecular imprinting: materials nanoarchitectonics with molecular information. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 91(7), 1075-1111.

20. Justino, C. I. L., Freitas, A. C., Pereira, R., Duarte, A. C. and Rocha Santos, T. A. P. (2015). Recent developments in recognition elements for chemical sensors and biosensors. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 68, 2-17.

21. Mehrotra, P. (2016). Biosensors and their applications–A review. *Journal of Oral Biology And Craniofacial Research*, 6(2), 153-159.

22. Touhami, A. (2014). Biosensors and nanobiosensors: Design and applications.

23. Ronkainen, N. J., Halsall, H. B. and Heineman, W. R. (2010). Electrochemical biosensors. *Chemical Society Reviews*, 39(5), 1747-1763.

24. Perumal, V. and Hashim, U. (2014). Advances in biosensors: Principle, architecture and applications. *Journal Of Applied Biomedicine*, 12(1), 1-15.

25. Uludağ, Y., Piletsky, S. A., Turner, A. P. F. and Cooper, M. A. (2007). Piezoelectric sensors based on molecular imprinted polymers for detection of low molecular mass analytes. *The FEBS Journal*, 274(21), 5471-5480.

26. Alassi, A., Benammar, M. and Brett, D. (2017). Quartz crystal microbalance electronic interfacing systems: A review. *Sensors*, 17(12), 2799.

27. Hu, J. And Huang, X. (2018). QCM mass sensitivity analysis based on finite element method. *IEEE Transactions on Applied Superconductivity*, 29(2), 1-4.

28. Gould, S. L., Winter, M. J., Norton, W. H. J. and Tyler, C. R. (2021). The potential for adverse effects in fish exposed to antidepressants in the aquatic environment. *Environmental Science & Technology*, 55(24), 16299-16312.

29. Odabaşı, M., Say, R. and Denizli, A. (2007). Molecular imprinted particles for lysozyme purification. *Materials Science and Engineering*, 27(1), 90-99.

30. Haginaka, J. (2008). Monodispersed, molecularly imprinted polymers as affinity-based chromatography media. *Journal of Chromatography B*, 866(1-2), 3-13.

31. Andaç, M., Özyapı, E., Şenel, S., Say, R. and Denizli, A. (2006). Ion-selective imprinted beads for aluminum removal from aqueous solutions. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 45(5), 1780-1786.

32. Kobayashi, T., Murawaki, Y., Reddy, P. S., Abe, M. and Fujii, N. (2001). Molecular imprinting of caffeine and its recognition assay by quartz-crystal microbalance. *Analytica Chimica Acta*, 435(1), 141-149.

33. Çakır, O. (2019). Moleküler baskılama temelli kuvars kristal mikroterazi (QCM) sensörler ile klorpirifos tayini. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 9(1), 48-56.

34. Lin, T. Y., Hu, C. -H. And Chou, T. -C. (2004). Determination of albumin concentration by MIP-QCM sensor. *Biosensors and Bioelectronics*, 20(1), 75-81.

35. Altıntaş, E. B. and Denizli, A. (2009). Monosize magnetic hydrophobic beads for lysozyme purification under magnetic field. *Materials Science and Engineering*, 29(5), 1627-1634.

36. Çorman, M. E. (2010). *Moleküler baskılanmış nanopartiküllerin hazırlanması, karakterizasyonu ve lizozim saflaştırılmasında kullanılması*. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.

37. Odabaşı, M., Yavuz, H., Uzun, L. (2008). *Kolesterol baskılanmış polimerik membranların tasarımı ve üretilmesi*. (Proje No. 105M278). TÜBİTAK Projesi, Aksaray Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Aksaray.

38. Haliç Poslu, A., Osman, B., Kaya, Y., Koz, Ö. and Koz, G. (2022). L-(+)-Tryptophan methyl ester derived polymeric microbeads as an efficient heterogeneous catalyst for green synthesis of 2-amino-4-(nitromethyl)-4H-chromene-3-carbonitriles. *Turkish Journal of Chemistry*, 46(5), 1642-1650.

39. Lima, É. C., Adebayo, M. A. and Machado, F. M. (2015). Kinetic and equilibrium models of adsorption. *Carbon Nanomaterials as Adsorbents for Environmental and Biological Applications*. Cham: Springer International, 33-69.

40. Can, N., Ömür, B. C. and Altındal, A. (2016). Modeling of heavy metal ion adsorption isotherms onto metallophthalocyanine film. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 237, 953-961.

41. Umpleby, R. J., Baxter, S. C., Chen, Y., Shah, Y. N. and Shimizu, K. D. (2001). Characterization of molecularly imprinted polymers with the Langmuir-Freundlich isotherm. *Analytical chemistry*, 73(19), 4584-4591.

42. Çakır, O., Bakhshpour, M., Yılmaz, F. and Baysal, Z. (2018). Pestisit tayini için nanopartiküllerle duyarlılığı arttırılmış moleküler baskılama temelli yüzey plazmon rezonans sensörlerin hazırlanması. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 8(3), 219-226.

43. Puga, A., Moreira, M. M., Sanromán, M. A., Pazos, M. M. and Delerue-Matos, C. (2024). Antidepressants and COVID-19: Increased use, occurrence in water and effects and consequences on aquatic environment. A review. *Science of The Total Environment*, 953(11), 1-6.

44. Racovita, R. C. and Ciuca, M. D. (2024). Wastewater treatment approaches for the removal of antidepressant residues. *Wastewater Treatment-Past and Future Perspectives*, London: IntechOpen, 1-18.

45. Vaudin, P., Augé, C., Just, N., Mhaouty-Kodja, S., Mortaud, S. and Pillon, D. (2022). When pharmaceutical drugs become environmental pollutants: Potential neural effects and underlying mechanisms. *Environmental Research*, 205, 112495, 1-14.

46. Köse, K., Yalçın Kehribar, D., Goodarzi, V. and Uzun, L. (2024). Strategies for the detection, removal and elimination of antidepressants. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 104(2), 323-354.

47. Wang, W., Zhang, J., Hu, M., Liu, X., Sun, T. and Zhang, H. (2023). Antidepressants in wastewater treatment plants: Occurrence, transformation and acute toxicity evaluation. *Science of The Total Environment*, 903(11), 166120.

48. Zhao, G., Zhang, Y., Sun, D., Yan, S., Wen, Y., Wang, Y., Li, G., Liu, H., Li, J. and Song, Z. (2023). Recent advances in molecularly imprinted polymers for antibiotic analysis. *Molecules*, 28(1), 335.

49. Akgönüllü, S., Kılıç, S., Esen, C. and Denizli, A. (2023). Molecularly imprinted polymer-based sensors for protein detection. *Polymers*, 15(3), 629.

50. Akgönüllü, S., Bakhshpour, M., Topçu, A. A., Bereli, N. and Denizli, A. (2023). Chapter 5-Molecularly imprinted polymeric carriers for controlled drug release. *Novel Platforms for Drug Delivery Applications*. Cambridge: Woodhead, 85-103.

51. Çapar, N., Polat, İ., Bankoğlu Yola, B., Atar, N., Yola, M. L. (2023). A novel molecular imprinted QCM sensor based on MoS2NPs-MWCNT nanocomposite for zearalenone determination. *Microchimica Acta*, 190(7), 262.

52. Kumar, V. and Kutner, W. (2024). Advancements and potentials of molecularly imprinted polymer-based sensors for lysozyme determination in food and clinical samples. *Chemical Engineering Journal*, 499(3), 155828.

53. Balela, M. D. L., Vega, G. Z. D. And Suyat, Y. Y. A. (2024). Malathion detection using molecularly-imprinted polymer quartz crystal microbalance sensor. *Applied Mechanics and Materials*, 918(4), 147-154.

54. Saylan, Y., Kılıç, S. and Denizli, A. (2024). Biosensing applications of molecularly imprinted-polymer-based nanomaterials. *Processes*, 12(1), 177.

55. Ramya, M., Kumar, P. S., Rangasamy, G., Shankar, V. U., Rajesh, G., Nirmala, K., Saravanan, A. and Krishnapandi, A. (2022). A recent advancement on the applications of nanomaterials in electrochemical sensors and biosensors. *Chemosphere*, 308(5), 136416.

56. Liao, S., Wang, L., Chen, C., Xu, L., Wang, H., Ye, P., Sun, M. and Tan, F. (2024). Molecularly imprinted QCM sensor based on hollow ZIF-67@ PDA for sparfloxacin detection. *Electronics*, 13(23), 4799.



Gazili olmak ayrıcalıktır