TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İÇECEKLERDE BULUNAN MAKROLİD ANTİBİYOTİKLERİN MOLEKÜLER BASKILI ELEKTROKİMYASAL SENSÖRLERLE SEÇİCİ VE HASSAS TAYİNİ

Fatma BUDAK

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Sibel A. ÖZKAN

ANKARA
2025

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İÇECEKLERDE BULUNAN MAKROLİD ANTİBİYOTİKLERİN MOLEKÜLER BASKILI ELEKTROKİMYASAL SENSÖRLERLE SEÇİCİ VE HASSAS TAYİNİ

Fatma BUDAK

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Sibel A. ÖZKAN

Bu araştırma YÖK 100/2000 Bursu ile desteklenmiştir.

Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nün
BAP TDK-2024-3412 proje numarasıyla desteklenmiştir.

ANKARA
2025

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum "İçeceklerde bulunan makrolid antibiyotiklerin moleküler baskılı elektrokimyasal sensörlerle seçici ve hassas tayini" başlıklı tez, bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan hazırlanmıştır. Tezimin fikri tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Fatma BUDAK

Tarih: 13/06/2025

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Analitik Kimya Anabilim Dalı'nda
Fatma BUDAK tarafından hazırlanan
"İçeceklerde Bulunan Makrolid
Antibiyotiklerin Moleküler Baskılı Elektrokimyasal Sensörlerle Seçici ve Hassas Tayini"
adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 13/06/2025

Prof. Dr. Emirhan NEMUTLU
Hacettepe Üniversitesi
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Sibel A. ÖZKAN
Ankara Üniversitesi
Üye

Doç. Dr. Mehmet Gökhan ÇAĞLAYAN
Ankara Üniversitesi
Üye

Doç. Dr. Mehmet GÜMÜŞTAŞ
Ankara Üniversitesi
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Ahmet ÇETİNKAYA
Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Raportör

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fügen AKTAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

İçeceklerde Bulunan Makrolid Antibiyotiklerin Moleküler Baskılı Elektrokimyasal Sensörlerle Seçici ve Hassas Tayini

Canlılar aleminde en yaygın kullanılan ilaç grubu antibiyotiklerdir. Antibiyotiklerin aşırı ve yaygın kullanımı nedeniyle canlılar ve ekosistem için tehdit oluşturmaktadırlar. Ayrıca, antibiyotikler mantar, bakteri gibi bulaşıcı hastalıklara ve enfeksiyonlara neden olan mikroorganizmalara engel olmak ve tedavi etmek amacıyla kullanılmaktadır. Bu nedenle, antibiyotikler genellikle insanlar, tarım ve hayvancılıkta yaygın şekilde kullanılmaktadır. Antibiyotiklerin yaygın kullanılmasından dolayı çevrede ve gıdalarda kalıntı olarak bulunmaktadır. Bu nedenle antibiyotik kalıntılarının hızlı ve hassas analizi gıda güvenliği ve insan sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır. Son yıllarda gıdalardaki antibiyotik kalıntılarının doğru, güvenilir, hassas, seçici ve hızlı analizi için birçok analitik teknik kullanılmaktadır. Bu analitik teknikler arasında elektrokimyasal sensörler, mükemmel hassasiyetleri, hızlı analiz süreleri, güvenilirlikleri, numune hazırlama kolaylıkları ve düşük organik çözücü kullanımları nedeniyle sıklıkla tercih edilmektedir. Ancak bu sensörler seçicilik açısından hala eksikliklere sahiptir. Bu eksiklikleri gidermek için son yıllarda yeni ve popüler olan moleküler baskılı polimer sensörler (MIP'ler) daha fazla kullanılmaya başlanmıştır. MIP'ler moleküler tanıma yeteneğine sahip ve hedef moleküle yönelik oldukça özgül çapraz bağlı polimerik bir yapı oluştururlar.

Bu tez kapsamında, içecek numunelerinde yaygın olarak kullanılan antibiyotikler (linkomisin (LIN), roksitromisin (ROK) ve spiramisin (SPR)) için geliştirilen MIP tabanlı elektrokimyasal sensörlerin uygulamaları ve sensör tasarımları ayrıntılı olarak incelendi. Tez kapsamında yer alan antibiyotikler için geliştirilen MIP tabanlı sensörlerin hem yüzey hemde elektrokimyasal karakterizasyonları dönüşümlü voltametri (DV), elektrokimyasal impedans spektroskopisi (EIS), ve taramalı elektron mikroskopisi (SEM) yöntemleri kullanılarak incelendi. LIN için nanopartikül katkılı MIP tabanlı elektrokimyasal sensör geliştirilmiştir. Çalışmada ilk olarak CKE yüzeyine 5 µL AuNP damlatıldı ve oda sıcaklığında kurutuldu. Daha sonra EP işlemi için polimerizasyon çözeltisi hazırlandı. Polimerizasyon çözeltisi; pH 7,4 fosfat tampon çözeltisi (FT) içerisine anilin (ANI, 0,1 M), LIN (1,0 mM) ve 3-aminofenil boronik asit (3-APBA, 1,0 mM) eklenerek hazırlandı. Tasarlanan MIP tabanlı elektrokimyasal sensör için hem DPV hemde EIS yöntemi kullanılarak kantitatif analizi yapılmıştır. Her iki elektrokimyasal yöntem için tasarlanan LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE sensörü LIN'in seçici, güvenilir, uygun maliyetli, kararlı ve hassas özellikler göstermiştir. Sonuçlara bakıldığında, sensörün doğrusallık aralığı her iki yöntem içinde $1x10^{-12}$ M ile $1x10^{-11}$ M arasında elde edilmiştir. ROK için geliştirilen ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sensörü kolay hazırlanabilen, ucuz, güvenilir, çevre dostu ve en önemlisi yeşil özelliği taşımaktadır. ROK için yapılan deneylerde elde edilen sonuçlara bakıldığında, sensörün doğrusal aralığı $1x10^{-13}$ M ile $1x10^{-12}$ M arasında, TS değeri ise oldukça düşük seviyede $1,51x10^{-14}$ M olarak bulundu. SPR için tasarlanan SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörü için detaylı validasyon çalışmaları yapılmıştır. Sensör tasarımında EP polimerizasyon yöntemi kullanılarak analiz yöntemi olarakta DPV kullanılmıştır. Elde edilen bulgulara göre, sensörün doğrusallık aralığı her iki yöntem içinde $1x10^{-12}$ M ile $1x10^{-11}$ M arasında elde edilmiştir.

Tez kapsamında geliştirilen sensörlerde hedef molekülleri daha yüksek hassasiyet ve seçicilik analiz etmekte ve uygulamakta en uygun malzemeleri oluşturmak amacıyla yeşil stratejiler kullanıldı. Yeşil stratejiler geliştirilirken, doğada iyi bilinen, çevre dostu ve kolayca bulunan malzemeler kullanılarak moleküler baskılama gerçekleştirildi. Yeşil kimyada doğada bulunan malzemeler kullanılarak toksik etkiyi, enerji tüketimini ve çevre kirliliğini en aza indirgemek amaçlanmaktadır.

Sonuç olarak; linkomisin, roksitromisin ve spiramisin antibiyotikleri için geliştirilen MIP tabanlı elektrokimyasal sensörlerin diğer yöntemlere göre daha avantajlı, hassas , seçici ve alternatif yöntemler olduğu kanıtlanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Antibiyotik, elektrokimyasal analiz, içecek numuneleri, MIP-sensör

SUMMARY

Selective and Sensitive Determination of Macrolide Antibiotics in Beverages with Molecularly Imprinted Electrochemical Sensors

The most widely used drug group in the living world is antibiotics. Due to the excessive and widespread use of antibiotics, they pose a threat to living beings and the ecosystem. In addition, antibiotics are used to prevent and treat infectious diseases and microorganisms such as fungi and bacteria that cause infections. For this reason, antibiotics are generally widely used in humans, agriculture and animal husbandry. Due to the widespread use of antibiotics, they are found as residues in the environment and foods. Therefore, rapid and sensitive analysis of antibiotic residues is of great importance in terms of food safety and human health. In recent years, many analytical techniques have been used for accurate, reliable, sensitive, selective and rapid analysis of antibiotic residues in foods. Among these analytical techniques, electrochemical sensors are frequently preferred due to their excellent sensitivity, fast analysis times, reliability, ease of sample preparation and low organic solvent usage. However, these sensors still have deficiencies in terms of selectivity. In order to overcome these deficiencies, new and popular molecularly imprinted polymer sensors (MIPs) have begun to be used more in recent years. MIPs form a highly specific cross-linked polymeric structure with molecular recognition ability and target molecule.

In this thesis, the applications and sensor designs of MIP-based electrochemical sensors for commonly used antibiotics (lincomycin (LIN), roxithromycin (ROK) and spiramycin (SPR)) in samples were investigated in detail. Both surface and electrochemical characterizations of the listed MIP system sensors for the antibiotics included in the thesis were examined using cyclic voltammetry (DV), electrochemical impedance spectroscopy (EIS), and scanning electron microscopy (SEM) methods. Nanoparticle-doped MIP-based electrochemical sensor was used for LIN. In the study, firstly, CKE was combined and 5 μL AuNP was dropped and dried at room temperature. Then, the polymerization composition was prepared for the EP process. The polymerization solution was prepared by adding aniline (ANI, 0.1 M), LIN (1.0 mM) and 3-aminophenyl boronic acid (3-APBA, 1.0 mM) to pH 7.4 phosphate buffer solution (FT). Quantitative analysis was performed for the designed MIP tiled electrochemical sensor using both DPV and EIS methods. Selective, reliable, convenient operation, stable and sensitive features were demonstrated for both electrochemical methods. According to the results, the linearity range of the sensor was obtained between $1x10^{-12}$ M and $1x10^{-11}$ M for both methods. Detailed ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sensor for ROK is easy to prepare, cheap, reliable, environmentally friendly and most importantly green. The results obtained in the studies conducted for ROK showed that the range of the sensors was between $1x10^{-13}$ M and $1x10^{-12}$ M, and the TS value was at a very low level of $1.51x10^{-14}$ M. Detailed validation studies were performed for the SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensor designed for SPR. In sensor design, EPization polymer method and DPV were used as analysis method. According to the findings, the linearity range of the sensor was obtained between $1x10^{-12}$ M and $1x10^{-11}$ M for both methods.

In the sensors developed within the scope of the thesis, green strategies were used to create the most suitable materials for analyzing and applying template molecules with higher sensitivity and selectivity. While developing green strategies, molecular imprinting was performed using well-known, environmentally friendly and easily found materials in nature. In green chemistry, it is aimed to minimize toxic effects, energy consumption and environmental pollution by using materials found in nature.

As a result; MIP-based electrochemical sensors developed for lincomycin, roxithromycin and spiramycin antibiotics have proven to be more advantageous, sensitive, selective and alternative methods compared to other methods.

Keywords: Antibiotics, beverage samples, electrochemical analysis, MIP-sensor

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN ii
KABUL VE ONAY iii
ÖZET iv
İÇİNDEKİLER vi
ÖNSÖZ ix
SİMGELER VE KISALTMALAR xii
ŞEKİLLER xiv
ÇİZELGELER xvii

1. GİRİŞ 1
1.1. Antibiyotiklerin Sınıflandırılması 4
1.1.1. Etki Güçlerine Göre Sınıflandırılması 4
1.1.2. Kimyasal Yapılarına Göre Sınıflandırılması 5
1.1.3. Etki Mekanizma Yapılarına Göre Sınıflandırılması 6
1.2. Tez Çalışmalarında Kullanılan Etken Maddeler 6
1.2.1. Linkomisin 6
1.2.2. Spiramisin 7
1.2.3. Roksitromisin 8
1.3. Moleküler Baskılı Polimerler (MIP) 10
1.3.1. MIP'lerin Bileşenleri 10
1.3.1.1. Hedef Molekül 11
1.3.1.2. Fonksiyonel Monomer 11
1.3.1.3. Çapraz Bağlayıcı 12
1.3.1.4. Porojenik Çözücü 12
1.3.1.5. Başlatıcı 12
1.3.2. Moleküler Baskı Teknolojisi ve Yaklaşımları 13
1.3.2.1. Kovalent Baskılama 14
1.3.2.2. Kovalent Olmayan Baskılama 14
1.3.2.3. Yarı Kovalent Baskılama 14
1.3.3. MIP'lerin Zorlukları 14
1.3.4. MIP'lerin Yeşil Analitik Yönleri 15
1.4. Elektrokimya 16
1.4.1. Elektrokimyada Kullanılan Elektrotlar 16
1.4.1.1. Çalışma Elektrotları 17
1.4.1.2. Referans Elektrotlar 17
1.4.1.3. Karşıt (Yardımcı) Elektrot 18
1.4.2. Elektroanalitik Teknikler 18
1.4.3. Voltametri 19
1.4.3.1. Sabit Elektrot Voltametri 21
1.4.3.1.1. Doğrusal Taramalı Voltametri (DTV) 21
1.4.3.1.2. Dönüşümlü Voltametri (DV) 21
1.4.3.2. Puls Voltametrisi (PV) 22
1.4.3.2.1. Normal Puls Voltametri 22
1.4.3.2.2. Diferansiyel Puls Voltametri 22
1.4.3.2.3. Kare Dalga Voltametri 23
1.4.3.2.4. Sıyırma Voltametri 23
1.4.3.3. Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi (EIS) 24
1.5. Elektrokimyasal Yöntemlerde Analitik Validasyon Parametreleri 25

1.5.1. Seçicilik 25
1.5.2. Çalışma Aralığı 26
1.5.3. Doğrusallık 26
1.5.4. Duyarlılık 27
1.5.5. Teşhis Sınırı (TS) 27
1.5.6. Tayin Alt Sınırı (TAS) 28
1.5.7. Doğruluk 29
1.5.8. Sağlamlık 30
1.5.9. Tutarlılık 30
1.5.10. Stabilite 30
1.6. Literatürde Tez Kapsamında Kullanılan Maddeler ile Yapılmış Elektrokimyasal Çalışmalar 31
1.6.1. LIN İçin Mevcut Elektrokimyasal Çalışmalar 31
1.6.2. SPR İçin Mevcut Elektrokimyasal Çalışmalar 31
1.6.3. ROK İçin Mevcut Elektrokimyasal Analiz Yöntemleri 32

2. GEREÇ VE YÖNTEM 34
2.1. Tez Kapsamındaki Kullanılan Kimyasallar 34
2.2. Tez Çalışmasında Kullanılan Ekipmanlar 35
2.3. Tez Çalışmasında Kullanılan Elektrokimyasal Cihazlar ve Bileşenler 35
2.4. Tez Çalışmasında Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması 36
2.4.1. Antibiyotik İlaç Etken Maddelerinin Hazırlanması 36
2.4.2. Destek Elektrolit Çözeltisinin Hazırlanması 36
2.4.3. Süt ve Meyve Suyu Numunelerinin Hazırlanması 37
2.4.4. Potasyum Ferrisiyanür/Ferrosiyanür Çözeltisinin Hazırlanması 37
2.4.5. Girişim Çalışmalarında Kullanılan Çözeltilerinin Hazırlanması 37
2.4.6. Geliştirilen MIP Tabanlı Elektrokimyasal Sensörlerin Karakterizasyonları 38
2.5. Tez Çalışmasında Kullanılan Voltametrik Yöntemler 38
2.5.1. Dönüşümlü Voltametri (DV) 38
2.5.2. Diferansiyel Puls Voltametri (DPV) 38
2.5.3. Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi (EIS) 38
2.6. Tez Çalışmasında Kullanılan MIP Tabanlı Elektrokimyasal Sensörlerin Hazırlanması 39
2.6.1. Linkomisin Analizi İçin LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE Hazırlanması 39
2.6.2. Roksitromisin Analizi İçin ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE Hazırlanması 40
2.6.3. Spiramisin Analizi İçin SPR/AuNP+CuNP/PRL/@MIP/CKE Hazırlanması 41

3. BULGULAR 43
3.1. Linkomisin Etken Maddesine Ait Bulgular 43
3.1.1. Polimerik Filmlerin Karakterizasyonu 43
3.1.1.1. Geliştirilen Sensörün Yüzey Karakterizasyonu 43
3.1.1.2. Geliştirilen Sensörün Elektrokimyasal Karakterizasyonu 45
3.1.2. Deneysel Parametrelerin Optimizasyonu 47
3.1.2.1. Metal ve Metal Oksit Nanopartiküllerinin Etkisi 47
3.1.2.2. AuNP Damlatma Miktarı 47
3.1.2.3. Monomer/Hedef Molekül Oranı 48
3.1.2.4. EP Döngü Sayısı 49
3.1.2.5. Hedef Molekülün Uzaklaştırma Çözeltileri ve Uzaklaştırma Süresi 49
3.1.2.6. Hedef Molekülün Yeniden Bağlanma Süresi 50
3.1.3. LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE Sensörünün Analitik Performansının Değerlendirilmesi 51

3.1.4. Süt, Portakal Suyu ve Elma Suyu Örneklerinde LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE Sensörünün Uygulanması 55
3.1.5. Geliştirilen Sensörlerin Baskılama Faktörü/Seçicilik Çalışmaları 57
3.1.6. Girişim Etkisinin Değerlendirilmesi 59
3.1.7. Stabilite ve Tekrar Kullanılabilirlik Değerlendirmesi 60
3.1.8. Kuantum Kimyasal Hesaplamalar 60
3.1.9. Geliştirilen Sensörün Yeşil Kimya Hesaplamaları 62
3.2. Roksitromisin Etken Maddesine Ait Bulgular 64
3.2.1. Polimerik Filmlerin Karakterizasyonu 64
3.2.2. Geliştirilen Sensörün Yüzey Karakterizasyonu 64
3.2.2.1. Geliştirilen Sensörün Elektrokimyasal Karakterizasyonu 65
3.2.3. Optimizasyon Parameterleri 67
3.2.3.1. Monomer: Hedef Molekül Oranı 67
3.2.3.2. EP İçin Döngü Sayısı 68
3.2.3.3. Uzaklaştırma Çözeltileri ve Süresi 68
3.2.3.4. Yeniden Bağlama Süresi 68
3.2.4. ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE Sensörünün Analitik Performansının Değerlendirilmesi 70
3.2.5. Gerçek Numunelerde ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE Sensörünün Uygulanması 72
3.2.6. ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE Sensörünün Baskılama Faktörü/Seçicilik Çalışmaları 73
3.2.7. Girişim Maddelerinin Değerlendirilmesi 75
3.2.8. Sensörün Kararlılık ve Yeniden Kullanılabilirlik Değerlendirmesi 76
3.2.9. Tasarlanan Sensörün Yeşil Profili 76
3.3. Spiramisin Etken Maddesine Ait Bulgular 78
3.3.1. Polimerik Filmlerin Karakterizasyonu 78
3.3.2. Polimerik Filmlerin Elektrokimyasal Karakterizasyon 79
3.3.3. Optimizasyon Parametreleri 82
3.3.3.1. Nanopartikül Etkisi 82
3.3.3.2. AuNP+CuNP Damlatma Miktarı 83
3.3.3.3. Monomer: Hedef Molekül Oranı 83
3.3.3.4. EP Döngü Sayısı 84
3.3.3.5. Uzaklaştırma Çözeltisi ve Döngü Sayısı 84
3.3.3.6. Yeniden Bağlanma Süresi 84
3.3.4. SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE Sensörünün Analitik Performansının Değerlendirilmesi 86
3.3.5. Gerçek Numunelerde SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE Sensörünün Uygulanması 88
3.3.6. SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE Sensörünün Baskılama Faktörü/Seçicilik Çalışmaları 89
3.3.7. Girişim Etkisinin Değerlendirilmesi 91
3.3.8. Sensörün Kararlılık ve Yeniden Kullanılabilirlik Değerlendirmesi 92
3.3.9. Tasarlanan Sensörün Yeşil Profili 93

4. TARTIŞMA 95
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 99
KAYNAKLAR 102

ÖNSÖZ

Bu tez, gıda numunelerinde sık rastlanılan antibiyotiklerden linkomisin, roksitromisin ve spiramisin antibiyotik etken maddelerinin nanopartikül katkılı MIP tabanlı elektrokimyasal sensörler kullanılarak seçici ve hassas tespit edilmesine yönelik bir çalışmanın sonuçlarını sunmaktadır. Antibiyotiklerin canlılar için aşırı ve yanlış kullanımı, çevre ve gıda üzerinde kalıntı olarak bulunmasından insanlar için ciddi sağlık problemlerine neden olmaktadır. Özellikle, bu antibiyotiklerin gıdalarda kalıntı olarak birikmesinden dolayı insanlar için hem ciddi sağlık sorunlarında hemde antibiyotik direncine neden olmaktadır. Bu nedenle, gıda örneklerde antibiyotiklerin hızlı, seçici, doğru, hassas ve yeşil olarak tespit edilmesi son derece önemlidir.

Mustafa Kemal Atatürk'ün rehberliğinde eğitim, hukuk ve bilim gibi her alanda gerçekleştirdiği büyük adımlar bizlere ve gelecek nesillere ışık olmaktadır. Ayrıca, Atatürk'ün gösterdiği yolda bizlere bıraktığı en değerli miras fikirleri, ilkeleri ve Cumhuriyetin temelleridir. Türk milletinin fikirlerinde ve gönlünde yaşamaya devam edek olan Atatürk'e bizlere kazanadırdığı Cumhuriyet için minnettarlığımız ve teşekkürlerimiz daima sonsuzdur. Onun açtığı yolda, gösterdiği hedefe ilerlemek ve bırakmış olduğu mirasları yaşatmak saygımız ve minnettarlığımızın en büyük göstergesidir.

Hayatımın her alanında benim için idol olan, Doktora eğitimime başaladığım ilk günden beri bana kattığı engin bilgileri ve öğretileriyle vermiş olduğu danışmanlığı, her zaman bizlere aileden biri gibi hissettiren, laboratuvarını açarak doktora tez çalışma sürecimde gerekli cihazlara ulaşmamı sağlayan, ulusal ve uluslarası her alanda hem duruşuyla hemde çalışmalarıyla her daim örnek aldığım, her koşulda öğrencisine karşı hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, büyük bir sabır ve anlayışla tüm bilgi ve tecrübelerinden faydalanmamı sağlayan, doktora tezimin şekillendirilmesinde ve yayımlanmasında her türlü desteğini sunan, sevgili ve çok kıymetli Tez Danışmanım sayın Prof. Dr. Sibel A. ÖZKAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunmaktan onur duyarım.

Doktora tez çalışmam sırasında engin bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen ve tez izleme komitesinde yer alan kıymetli hocalarım sayın Doç. Dr. Mehmet Gökhan ÇAĞLAYAN ve sayın Doç. Dr. Mehmet GÜMÜŞTA'a çok teşekkür ederim.

Doktora çalışmalarımda bilgilerinden her fırsatta faydalandığım, büyük bir sabır ve özveriyle yardımlarını esirgemeyen, her konuda rahatlıkla konuşup tartışabildiğim, sadece akademik anlamda değil her zaman çalışma arkadaşının yanında olan, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım kıymetli hocam sayın, Dr. Öğr. Üyesi Ahmet ÇETİNKAYA'a çok teşekkür ederim.

Doktora sürecimin boyunca çok güzel çalışmalar yaptığımız ve zorlu süreçleri kolaylaştıran, birlikte nice güzel anılar biriktirdiğimiz, her türlü sıkıntımda ve mutluluğumda yanımda olan, kıymetli ekip arkadaşlarım Doç. Dr. M. Mesud HÜRKUL, Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Altay ÜNAL, Doç. Dr. Göksu ÖZÇELİKAY-AKYILDIZ, Dr. Merve YENCE, Dr. Şeyda YAYLA, Şeyda Nur SAMANCI, Ensar PİŞKİN, ve Zeynep ALAKUŞ'a çok teşekkür ederim.

Doktora çalışmalarım süresince sağladıkları katkılar ve desteklerinden dolayı Analitik Kimya Anabilim Dalı'nın değerli öğretim üyeleri, öğretim elemanları, idari personeline çok teşekkür ederim.

Doktora çalışmalarımda bursiyerleri olduğum 2247-C BİÇABA, 2250-Lisansüstü Bursları Performans Programı, 1004-Mükemmeliyet Merkezi Destek Programı (Proje No: 20AG003) için Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK), 100/2000 YÖK Doktora Bursu Programı kapsamında Yükseköğretim Kurulu Başkanlığı'na (YÖK) maddi ve manevi yardımları için çok teşekkür ederim.

Hazırlamış olduğum tez projemle (Proje No:TDK-2024-3412) doktora çalışmalarım için maddi destek sağlayan Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü'ne sonsuz teşekkür ederim.

Doktora çalışmalarım süresince sağladıkları katkılar ve desteklerinden dolayı Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü sayın Prof. Dr. Fügen AKTAN'a, değerli öğretim üyelerine ve tüm çalışan personele çok teşekkür ederim.

Hayatımın her alanının en özel mimarları olan aileme, her koşulda tüm desteklerini esirgemeyen, bana güvenen, hayatımı ellerinden gelenin daha fazlasıyla kolay hale getiren, yeri geldiğinde anne baba yeri geldiğinde bir arkadaş gibi her derdimi dinleyip doğruya, iyiye yönlendiren ve en önemlisi akademik hayatıma devam etmem için bana sınırsız güç veren,

babam Mehmet Mustafa BUDAK ve annem Güllü BUDAK'a sonsuz minnet ve teşekkür ederim. Ayrıca, bu yolun en güzel detekçisi olan ablam Funda BUDAK'a ve Gülsüm BUDAK'a bana sunduğu imkanlar, sevgisi, anlayışı, her koşulda sınırsız desteği için çok teşekkür ederim.

Son olarak, bu yolda hayatıma eşlik eden, her anımda yanımda olan, aldığım kararlarda beni destekleyen, hayatımı kolaylaştıran ve bu süreçte maddi manevi bütün desteğini bana sunan arkadaşım Sefai ÖZDEMİR'e sonsuz teşekkür ederim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACN	Aseton
AdSDPV	Adsoptif Sıyırmalı Diferansiyel Puls Voltametri
AdSV	Adsorptif Sıyırma Voltametrisi
AgNP	Gümüş Nanopartikül
AGRRE	Analitik Yeşillik Metriği
AGRREMIP	Moleküler Baskılı Polimer Sentezi İçin Analitik Yeşillik Değerlendirme Aracı
AGRREprep	Analitik Yeşillik Hazırlığı
ANI	Anilin
ASV	Anodik Sıyırma Voltametrisi
AuNP	Altın Nanopartikül
AZI	Azitromisin
BAGI	Mavi Uygulanabilirlik Derecesi İndeksi
BH	Bağıl Hata
BSS	Bağıl Standart Sapma
C	Derişim
CdI	Çift Katmanın Kapasistanı
CHIT	Kitosan
CKE	Camsı Karbon Elektrot
CTAB	Setiltrimetilamonyum Bromür
CuNP	Bakır Nanopartikül
DCE	Damlayan Civa Elektrot
DPP	Diferansiyel Puls Polarografisi
DPV	Diferansiyel Puls Voltametri
DTV	Doğrusal Taramalı Voltametri
DV	Dönüşümlü Voltametri
ECL	Elektrokemilüminesans
ES	Elektrokimyasal Sensörler
EtOH	Etanol
f	Frekans
FDA	Gıda ve İlaç İdaresi
FT	Fosfat Tamponu
HAc	Asetik Asit
I	Akım
ICH	Uluslararası Uyum Konseyi
Ip	Pik Akımı

KAdSV	Katalitik Adsorptif Sıyırma Voltametrisi
KDV	Kare Dalga Voltametri
KE	Kapiler Elektroforez
KS	Kütle Spektrometri
KSV	Katodik Sıyırma Voltametrisi
LIN	Linkomisin
M	Molar
m	Kalibrasyon Eğrisinin Eğimi
MeOH	Metanol
MIP	Moleküler Baskılanmış Polimer
mM	Milimolar
NaOH	Sodyum Hidroksit
NP	Nanopartikül
NPV	Normal Puls Voltametri
PdNP	Palladyum Nanopartikül
PRL	Pirol
PV	Puls Voltametri
r	Korelasyon Katsayısı
R^2	Regresyon Katsayısı
Rs	Çözelti Direnci
Rct	Yük Transfer Direnci
ROK	Roksitromisin
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SPAuE	Perde Baskılı Altın Elektrot
SPCE	Perde Baskılı Karbon Elektrot
SPR	Spiramisin
SS	Standart Sapma
SV	Sıyırma Voltametri
TAS	Tayin Alt Sınırı
TiO_2NP	Titanyum IV Oksit
TS	Teşhis Sınırı
YAK	Yeşil Analitik Kimya
ZnO	Çinko Oksit
W	Warbug İmpedansı
v	Tarama Hızı
X_{ort}	Ortalama Değeri

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Antibiyotiklerin çevre ve insanlar üzerine etkisi 4

Şekil 1.2. LIN molekül yapısı 7

Şekil 1.3. SPR molekül yapısı 7

Şekil 1.4. ROK molekül yapısı 8

Şekil 1.5. MIP'in hazırlanma aşamaları 10

Şekil 1.6. Yeşil analitik kimya özellikleri 16

Şekil 1.7. Elektrokimyasal yöntemlerin sınıflandırılması 19

Şekil 1.8. Voltametrik yöntemlerin sınıflandırılması 21

Şekil 2.1. LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE sensörünün hazırlanış şeması 40

Şekil 2.2. ROX/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sensörünün uygulanması 41

Şekil 2.3. SPR/AuNP+CuNP/PRL/@MIP/CKE sensörünün tasarımı 42

Şekil 3.1. Elektrot yüzeyinin karakterizasyonu. A) LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE (hedef molekül uzaklaştırılmadan önce), B) LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE (hedef molekül uzaklaştırıldıktan sonra), C) LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE (hedef molekül yeniden bağlandıktan sonra) ve D) LIN/AuNP/ANI@3-APBA/NIP/CKE yüzeylerinin SEM görüntüleri 44

Şekil 3.2. LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/GCE'nin XPS sonuçları (a-c-d) XPS araştırması, MIP'lerin B1s ve N1s pikleri, (b-d-f) XPS araştırması, MIP'lerin B1s ve N1s pikleri 45

Şekil 3.3. LIN için tasarlanan LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE sensörünün her adımında (A) DV ve (B) EIS ölçümleri. Ölçümler 5,0 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ çözeltisinde gerçekleştirildi ve referans elektrot olarak Ag/AgCl kullanıldı (DV koşulları: potansiyel tarama aralığı: − 0,2 V ila +0,8 V, tarama hızı: 0,05 V/s, adım potansiyeli: 0,01 V; EIS için: minimum frekans: 0,1 Hz, maksimum frekans: 100.000 Hz, Eac: 0,01 V) 46

Şekil 3.4. MIP tabanlı sensörün hazırlanmasında kullanılan farklı nanomalzemelere göre ΔI_2 değerleri 47

Şekil 3.5. AuNP damlatma miktarı 48

Şekil 3.6. Monomer/Hedef molekül oranının değerleri A) ΔI_1 (DPV) ve B) ΔR_2 (EIS) 49

Şekil 3.7. EP döngü sayısının değerleri A) ΔI_1 (DPV) ve B) ΔR_2 (EIS) 49

Şekil 3.8. ΔI_1 (DPV) değerleri; A) uzaklaştırma çözeltisi, B) uzaklaştırma süresi; ΔR_2 (EIS) değerleri; C) uzaklaştırma çözeltisi, D) uzaklaştırma süresi 50

Şekil 3.9. Yeniden bağlanma süresinin değerleri A) ΔI_1 (DPV) ve B) ΔR_2 (EIS) 51

Şekil 3.10. Standart (A) ve süt (C) çözeltilerinde çeşitli LIN konsantrasyonlarının yeniden bağlanmasından sonra elde edilen DPV voltamogramları. Standart (B) ve süt (D) çözeltilerinde LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE için kalibrasyon eğrisi (0,1 M KCl varlığında 5,0 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$çözeltisinde) 53

Şekil 3.11. Standart (A) ve süt (C) çözeltilerinde çeşitli LIN konsantrasyonlarının yeniden bağlanmasından sonra elde edilen EIS grafikleri. Standart (B) ve süt (D) çözeltilerinde LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE için kalibrasyon eğrisi (0,1 M KCl varlığında 5,0 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$çözeltisinde) 54

Şekil 3.12. A) DPV ve B) EIS girişim etkisi değerleri 60

Şekil 3.13. 3-APBA'nın 1. konformasyonunun (A, B ve C) analizinde, azot atomuna bağlı hidrojenlerden birinin donör, LIN atomuna bağlı oksijenlerden birinin akseptör olarak davrandığı hidrojen bağı uzunluğu 1,81 angstromdur. 3-APBA'nın Bor atomuna bağlı oksijenlerden birine bağlı hidrojen donör olarak davranırken, LIN'e ait oksijen akseptör olarak davranarak 2,31 angstrom uzunluğunda başka bir hidrojen bağı oluşturur. 1. konformasyonda ayrıca aromatik halkanın neden olduğu bir pi-sigma bağı da vardır. Bu bağın uzunluğu 2,81 Angstromdur (A). 3ABA ile LIN arasındaki etkileşimin elektron yük yoğunluğu incelendiğinde, atomların akseptör olarak davrandığı bölgelerde (kırmızı bölgeler) (B) yük yoğunluğunun arttığı görülmektedir. HOMO-LUMO analizi perspektifinden bakıldığında, 3-APBA'nın 1. konformasyonunda, HOMO-LUMO boşluğu düşük olduğundan kolayca bağ kurabilir. Ancak, molekül küçük olduğundan, yük geçişleri Şekil (C)'de majör olarak görülmemektedir. 2. Konformasyonun (1-E, F ve G) analizinde, 3-APBA'nın azot atomuna bağlı hidrojenler donör olarak hareket eder. Bu hidrojenlerin yaptığı bağların uzunluğu sırasıyla 2,1 ve 2,2 angstromdur (A). Bağların bulunduğu azot atomu etrafındaki elektropozitif yük yoğunluğu (mavi bölge) ve aynı bölgenin karşısında bulunan LIN'in oksijen atomu etrafındaki elektronegatif yük yoğunluğu (kırmızı bölge) kolayca görülebilir (E). HOMO-LUMO analizine göre, yük kayması 1. konformasyona göre daha net görülmektedir. Çizelge 3.1-5'ye göre, HOMO-LUMO boşluğu 1. konformasyondan (F) daha düşüktür 62

Şekil 3.14. A) BAGI, B) AGREEprep, C) AGREE ve D) AGREEMIP için piktogramlar 64

Şekil 3.15. ROK için geliştirilen sensörün elektrot yüzeyinin karakterizasyonu A) ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE ve B) ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@NIP/CKE yüzeylerinin SEM görüntüleri 65

Şekil 3.16. Geliştirilen sensörün elektrokimyasal karakterizasyonu: ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sensörü için A) DV, B) EIS, ROK/TiO_2 NP/ALG/CHIT@NIP/CKE sensörü için C) DV, D) EIS 67

Şekil 3.17. ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sesörünün 5 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ çözeltisi içerisinde optimizasyon parametreleri; A) Hedef molekül/monomer oranı, B) EP'nin tarama döngü sayısı, C) Uzaklaştırma çözeltileri, D) Uzaklaştırma süresi, E) Yeniden bağlanma süresi 69

Şekil 3.18. Standart (A) ve süt (C) çözeltilerinde çeşitli ROK konsantrasyonlarının yeniden bağlanmasından sonra elde edilen DPV voltamogramları. Standart (B) ve süt (D) çözeltilerinde (0,1 M KCl varlığında 5,0 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ çözeltisinde) ROK/TiO_2NP'leri/ALG/CHIT@MIP/CKE için kalibrasyon eğrisi 71

Şekil 3.19. ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sensörünün 1:1, 1:10, 1:100 ve 1:1000 oranlarında benzer moleküllere sahip maddelerin varlığında DPV yöntemi kullanılarak elde edilen çubuk grafikler 75

Şekil 3.20. ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sensörünün 1:1, 1:10, 1:100, 1:500 ve 1:1000 oranlarında girişim yapan maddelerin varlığında DPV yöntemi kullanılarak elde edilen çubuk grafikler 76

Şekil 3.21. A) BAGI, B) AGREEmip, C) AGREE ve D) AGREEprep için piktogramlar 78

Şekil 3.22. SPR için geliştirilen sensörün elektrot yüzeyinin karakterizasyonu A) SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE ve B) SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@NIP/CKE yüzeylerinin SEM görüntüleri 79

Şekil 3.23. Tasarlanan sensörün elektrokimyasal karakterizasyonu: SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörü için A) DV, B) EIS, SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@NIP/CKE sensörü için C) DV, D) EIS 81

Şekil 3.24. MIP tabanlı sensörün hazırlanmasında kullanılan farklı nanomalzemelere göre ΔI_2 değerleri 82

Şekil 3.25. AuNP+ CuNP damlatma miktarı 83

Şekil 3.26. SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sesörünün 5 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ çözeltisi içerisinde optimizasyon parametreleri; A) Hedef molekül/monomer oranı, B) EP'nin tarama

döngü sayısı, C) Uzaklaştırma çözeltileri, D) Uzaklaştırma döngü sayısı, E) Yeniden bağlanma süresi 85

Şekil 3.27. Standart (A) ve süt (C) çözeltilerinde farklı SPR konsantrasyonlarının yeniden bağlanmasından sonra elde edilen DP voltamogramları. Standart (B) ve süt (D) çözeltilerinde (0,1 M KCl varlığında 5,0 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ çözeltisinde) SPR/AuNPs+CuNPs/PRL/2-TBA@MIP/CKE için kalibrasyon eğrisi 87

Şekil 3.28. SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörünün 1:1, 1:10, 1:100 ve 1:1000 oranlarında benzer moleküllere sahip ilaç etken maddelerin varlığında DPV yöntemi kullanılarak elde edilen çubuk grafikler 90

Şekil 3.29. SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörünün 1:1, 1:10, 1:100, 1:500 ve 1:1000 oranlarında girişim yapan maddelerin varlığında DPV yöntemi kullanılarak elde edilen çubuk grafikler 92

Şekil 3.30. A) BAGI, B) AGREEmip, C) AGREE ve D) AGREEprep için piktogramlar 94

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Tez kapsamında kullanılan antibiyotik ilaç etken maddelerine yönelik genel bilgiler 9

Çizelge 1.2. LIN analizine yönelik elektrokimyasal yöntemler ile yapılmış çalışmalar 31

Çizelge 1.3. SPR analizine yönelik elektrokimyasal yöntemler ile yapılmış çalışmalar 32

Çizelge 1.4. ROK analizi için yapılmış elektrokimyasal çalışmalar 32

Çizelge 2.1. Tez çalışmasında kullanılan kimyasal maddeler 34

Çizelge 2.2. Tez çalışmalarında kullanılan cihazlar ve ekipmanlar. 35

Çizelge 2.3. Tez çalışması sürecinde kullanılan elektrokimyasal cihazlar ve bileşenleri 36

Çizelge 3.1. LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE için kalibrasyon çizgisinin regresyon verileri 55

Çizelge 3.2. DPV için süt, portakal suyu ve elma suyu örneklerinde yapılan geri kazanım deneylerinin sonuçları 56

Çizelge 3.3. EIS için süt, portakal suyu ve elma suyu örneklerinde yapılan geri kazanım deneylerinin sonuçları 57

Çizelge 3.4. DPV ve EIS kullanılarak LIN'in belirlenmesinde LIN/AuNPs/ANI@3-APBA/MIP/CKE'nin seçiciliği 59

Çizelge 3.5. DPV ve EIS kullanılarak LIN'in belirlenmesinde LIN/AuNPs/ANI@3-APBA/MIP/CKE'nin seçiciliği 61

Çizelge 3.6. ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE için kalibrasyon çizgisinin regresyon verileri 72

Çizelge 3.7. Süt, portakal suyu ve elma suyu örnekleri üzerinde yapılan geri kazanım çalışmasının verileri 73

Çizelge 3.8. ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sensörünün ROK tayini için seçiciliği (ROK konsantrasyonu: 5,0 x 10^{-13} M) 74

Çizelge 3.9. SPR/AuNPs+CuNPs/PRL/2-TBA@MIP/CKE için kalibrasyon çizgisinin regresyon verileri 87

Çizelge 3.10. SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörünün SPR tayini için seçiciliği (SPR konsantrasyonu: 5,0 x 10^{-12} M) 89

Çizelge 3.11. SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörünün SPR tayini için seçiciliği (SPR konsantrasyonu: 5,0 x 10^{-12} M) 91

1. GİRİŞ

Canlılar aleminde en yaygın kullanılan ilaç grubu antibiyotiklerdir. İlk antibiyotik keşfedilmeden önce, mikropların neden olduğu enfeksiyonlar canlılar için ölümcül sonuçlara neden olmaktadır. Ancak 1929 yılında ilk antibiyotik olan penisilinin keşfedilmesiyle canlıların mikroplara karşı mücadelesinde başarı elde edildi ve "antibiyotiklerin altın çağı" olarak adlandırıldı (Petchiappan ve Chatterji, 2017). Antibiyotikler, mikroorganizmaların büyümesini durduran veya öldüren en etkili biyoaktif maddelerdir; yani biyolojik veya sentetik olarak elde edilirler. Bu nedenle, insanlarda, hayvanlarda ve bitkilerde çeşitli enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde ve bakterileri yok etmede yaygın olarak kullanılırlar (Petchiappan ve Chatterji, 2017a; Singhal vd., 2022). Antibiyotikleri biyolojik, yani doğal yapılarına göre sentezlemek ve mevcut antibiyotik spektrumunu genişletmek ve geliştirmek için birçok çalışma yürütülmektedir. Bu çalışmalar sonucunda, doğal antibiyotikler bakteri hücre zarlarından geçmek için evrimleşirken, kimyasal olarak sentezlenen antibiyotiklerin aynı etkiyi sağlamak için bazı değişikliklere ihtiyacı vardır. Bu ilaçların etki mekanizması çoğunlukla replikasyon, hücre duvarı sentezi ve transkripsiyondur. Bu nedenle antibiyotikler, canlı organizmalarda karmaşık etkiler göstererek birçok hücresel hedefe sahiptir (Megale ve De Souza, 2023; Petchiappan ve Chatterji, 2017; Singhal vd., 2022). Antibiyotikler fiziksel ve kimyasal yapılarına göre gruplara ayrılır. Bu gruplar makrolidler, florokinolonlar, sefalosporinler, monobaktamlar, karbapenemler, aminoglikozitler, penisilinler, kinolinler, sülfonamitler ve tetrasiklinlerdir (Megale ve De Souza, 2023; Petchiappan ve Chatterji, 2017; Singhal vd., 2022).

İnsanlarda ve hayvanlarda en sık kullanılan ilaçlar antibiyotiklerdir. Antibiyotiklerin yaygın kullanımı nedeniyle insanlarda antibiyotik direncinin ortaya çıkması insan sağlığı için ciddi, yaşamı tehdit eden tehditler oluşturmaktadır (Majdinasab vd., 2020). Antibiyotik direnci (AD), enfeksiyon hastalıklarına neden olan bakterilerin antibiyotiklerin etkilerinden korunmak için geliştirdikleri ve büyümeye devam eden savunma mekanizmasıdır (Megale ve De Souza, 2023; Petchiappan ve Chatterji, 2017; Singhal vd., 2022). AD, enfeksiyonların neden olduğu hastalıkların tedavisinden önce de vardı. Bu nedenle antibiyotiklerin aşırı ve yaygın kullanımı nedeniyle küresel bir sağlık sorununa ve dünya çapında antibiyotik kıtlığına neden olmaktadır (Petchiappan ve Chatterji, 2017). Ayrıca AD, gıda güvenliği ve genel kalkınma gibi büyük tehditlerin de başlıca nedenidir. Antibiyotiklerin yaygın ve aşırı kullanımının bazı nedenleri enfeksiyon hastalıklarının önlenmesi ve tedavisi, gıda yetiştirmek ve hayvanları hastalık ve kalkınma için kullanmaktır. Bu nedenle AD sadece insanlarda değil hayvanlar, gıda, çiçekler,

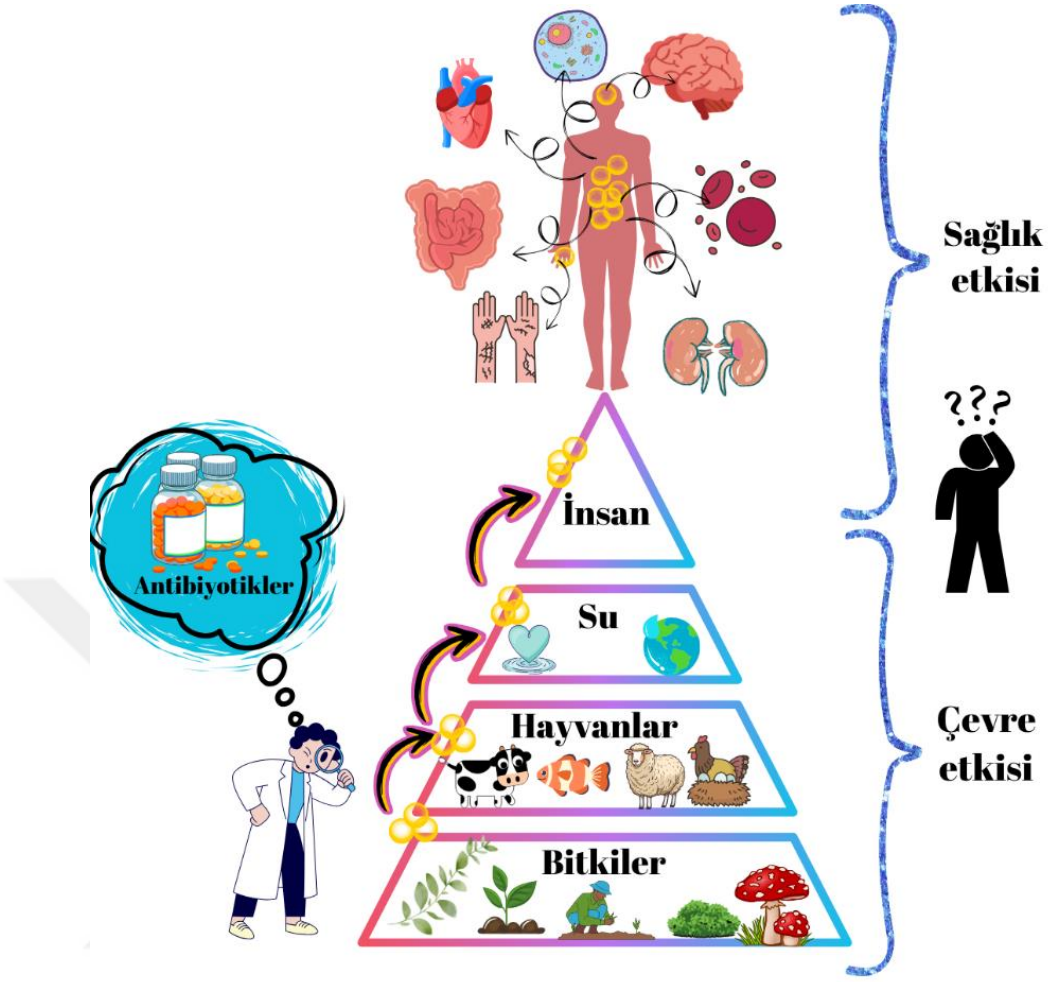
su canlıları gibi birçok alanda da etkilidir (Kapoor vd., 2017; Petchiappan ve Chatterji, 2017; Singhal vd., 2022). Aşırı antibiyotik kullanımında birikim hem hayvansal gıdalarda (yumurta, süt, et, bal, tavuk vb.) meydana gelir hem de dışkı ürünlerinin, ölü veya çürüyen canlıların yayılması yoluyla doğada birikime neden olabilmektedir (Singhal vd., 2022). Bu durum insan ve hayvan sağlığını ve ekosistemi tehdit etmektedir **(**Şekil 1.1**)**. Bu durumda gıda güvenliği insan ve hayvan sağlığı için önemli olduğundan gıdalardaki antibiyotik kalıntılarının hızlı ve hassas bir şekilde analiz edilmesi önem taşımaktadır.

Son yıllarda gıdalardaki antibiyotik kalıntılarının doğru, güvenilir, duyarlı, seçici ve hızlı analizi için birçok analitik teknik kullanılmaktadır. Kütle spektrometrisi (KS), kromatografik yöntemler, kapiler elektroforez (KE), enzim bağlı immünosorbent testi (ELISA) gibi bu analitik teknikler, doğrulukları ve duyarlılıkları nedeniyle gıdalardaki antibiyotik kalıntılarının analizinde sıklıkla kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemlerin uzman personele ihtiyaç duyulması, analiz süresinin uzun olması, ağır ve pahalı cihazlar kullanılması, çok miktarda çözelti kullanılması gibi dezavantajları da bulunmaktadır (Majdinasab vd., 2020; Singhal vd., 2022). Bu nedenle alternatif bir yöntem olarak elektrokimyasal yöntemler kullanılabilir. Bu yöntemler hızlı analiz süresi, uygun maliyetli, duyarlı, güvenilir ve çevre dostu olmaları açısından birçok avantaj sunmaktadır (Cetinkaya vd., 2024). Ayrıca, gıdalardaki antibiyotik kalıntılarını daha duyarlı ve seçici bir şekilde analiz etmek için elektrokimyasal sensörler (ES'ler) geliştirilmektedir. Geliştirilen ES'ler diğer yöntemlere kıyasla daha duyarlı, seçici, güvenilir, hızlı, basit, daha az numune gerektirme ve taşınabilir cihazlara entegre edilebilme gibi birçok önemli özelliğe sahiptir (Cetinkaya vd., 2022, 2024). Bu özellikler nedeniyle, bu sensörler gıdalardaki antibiyotik kalıntılarının hızlı ve seçici analizinde popüler hale geliyor. Gıda analizinde birçok farklı ES türü kullanılıyor, ancak yeni ve popüler moleküler baskılı polimer sensörler (MIP) son yıllarda daha fazla kullanılmaktadır.

MIP'ler moleküler tanıma yeteneğine sahip oldukça spesifik çapraz bağlı polimerik bir yapı oluşturmaktadır. Dahası, polimerik yapı şablon molekülü hedefleyerek oluşturulur. Bu nedenle, MIP'lerin oluşum mekanizması şablon molekülün yapısı için fonksiyonel gruplar kullanarak seçici tanıma boşlukları oluşturmaktır (Banan vd., 2022). Ancak, MIP sensörlerinde en yüksek verimliliği görmek için şablon molekül için fonksiyonel monomerler ve çapraz bağlayıcılar dikkatlice seçilmeli ve optimize edilmelidir (Belbruno, 2019). MIP sensörleri uzun bir süre boyunca daha sağlam, kararlı, oldukça seçici ve hassas olma avantajları sunar. Ek olarak, MIP sensörleri termal ve fiziksel dayanıklılık, basınç dayanımı, yeniden kullanılabilirlik ve uzun raf ömrü avantajlarına sahiptir. Son zamanlarda, MIP'lerin

biyotanıma için diğer sensörlere kıyasla daha fazla avantaj sağladığı bulunmuştur. Bu nedenle, MIP sensörleri biyolojik, gıda ve çevresel örneklerde antibiyotikler, kanser önleyici ilaçlar, gıda katkı maddeleri, pestisitler gibi birçok analitin tespiti için yaygın olarak kullanılmaktadır (Banan vd., 2022; Belbruno, 2019; Singhal vd., 2022).

Bu tez kapsamında, gıda güvenliğinde endişelere neden olan antibiyotik kalıntıları için tasarlanmış nanopartikül katkılı MIP tabanlı elektrokimyasal sensörler kullanılarak yürütülen çalışmalara dair ayrıntılı bir bakış sunmayı amaçlamaktadır. İlk olarak, yaygın olarak kullanılan bazı antibiyotikler ve MIP sensörlerinin yapıları kısaca açıklanmaktadır. Daha sonra, son yıllarda, gıdalarda kalıntı olarak bulunabilen antibiyotiklerin analizi için nanopartikül katkılı MIP tabanlı ES'nin nasıl tasarlandığı ve uygulandığı ayrıntılı olarak tartışılmaktadır. Tez kapsamında geliştirilen nanopartikül katkılı MIP tabanlı ES'lerin elektrokimyasal ve yüzey karakterizasyonları gerçekleştirildi. Ayrıca, çalışılan antibiyotikler için ayrı ayrı geliştirilen sensörlerin süt, elma suyu ve portakal suyu içecek numunelerinde analizinde kullanılması literatürde bir ilk özelliği göstermektedir. Bu nedenle, tezde çalışılan linkomisin, roksitromisin ve spiramisin antibiyotikleri için geliştirilen nanopartikül katkılı MIP sensörleri ve içecek numunelerinde uygulanmalarının ilk kez yapılması çalışmaların özgünlüğünü ortaya koymaktadır. Son olarak, tez kapsamında geliştirilen sensörlerde yeşil analitik kimya stratejilerinin de kullanılması geliştirilen sensörlerin güvenilir, yeşil ve çevre dostu olduğunu ortaya koymaktadır.



Şekil 1.1. Antibiyotiklerin çevre ve insanlar üzerine etkisi

1.1. Antibiyotiklerin Sınıflandırılması

Antibiyotik tanımı, çok geniş bir yelpazesi olan hem doğal hemde sentetik yapıya sahip bileşenleri kapsamaktadır (Leisner, 2020). Bu nedenle antibiyotiklerin kendi içlerinde kriterlerine göre farklı sınıflara ayrılmaktadırlar. Antibiyotikler, etki güçlerine, mekanizmalarına ve kimyasal yapılarına göre sınıflandırılmaktadır.

1.1.1. Etki Güçlerine Göre Sınıflandırılması

Mikroorganizmalar üzerinde bıraktıkları etkilere göre antibiyotikler, bakteriyostatikler ve bakterisidler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadırlar. Bakterilerin gelişimlerini ve çoğalmalarını engelleyenler bakteriyostatikler, ağır hasarlar vererek bakterileri yok edip ölmelerini sağlayanlar ise bakterisidlerdir (Topal vd., 2015).

Bakteriyostatik antibiyotikler;

- Tetrasiklinler,
- Makrolid,
- Sülfonamidler,
- Amfenikoller,
- Linkozamidler,
- Metronidazol
- Mikonazol

Bakterisid antibiyotikler;

- Beta laktamlar (penisilinler, sefalosparinler, monobaktamlar, karbapenemler, beta laktamaz inhibitiörleri),
- Polipeptidler,
- Florokinolonlar,
- Vankomisin,
- Rifamisin,
- Teikoplanin

1.1.2. Kimyasal Yapılarına Göre Sınıflandırılması

Kimyasal yapılarına göre antibiyotikler (Topal vd., 2015);

- Beta laktamlar,
- Fenikoller,
- Sülfonamidler,
- Tetrasiklinler,
- Aminoglikozidler,
- Makrolidler,
- Linkozamidler,
- Polipeptidler,
- Kinolonlar,
- Nitrofuranlar,
- İmidazoller
- Rifamisinler olarak sınıflandırılırlar.

1.1.3. Etki Mekanizma Yapılarına Göre Sınıflandırılması

Etki mekanizmalarına göre antibiyotikler 5 gruba ayrılır (Baran vd., 2023). Bunlar;

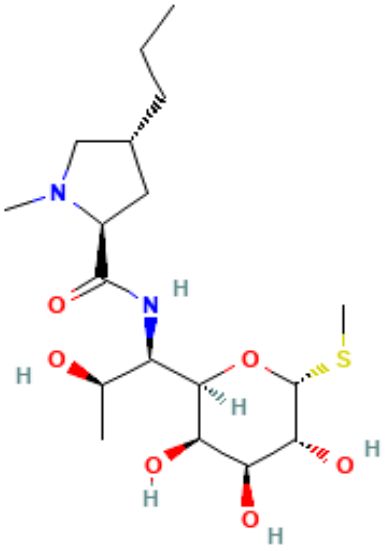
- Protein sentezini bozanlar
- Hücre zarı parçalanması
- Hücre duvarı sentezini bozanlar
- Nükleik asit sentezini bozanlar
- Bakteriyel antimetabolitler'dir.

Bu tez kapsamında çalışmalar makrolid grubu üyesi spiramisin, roksitromisin ve linkomisin için MIP tabanlı elektrokimyasal sensörler tasarlanması üzerine gerçekleştirilmiştir.

1.2. Tez Çalışmalarında Kullanılan Etken Maddeler

1.2.1. Linkomisin

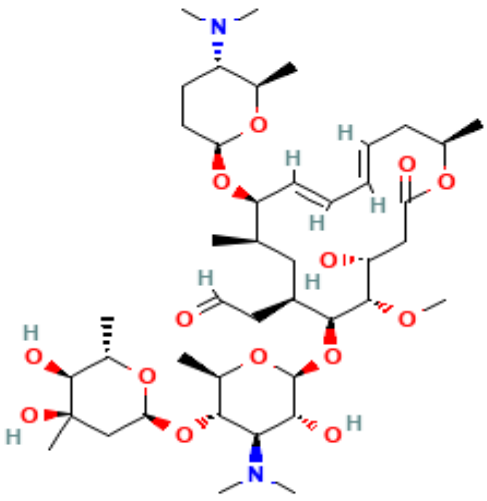
1962 yılında streptomisin mutantlarının fermentasyonuyla elde edilen linkomisin (LIN), dar spektrumlu ve biyosentetik bir antibiyotiktir (Şekil 1.2) (Y. Zhang vd., 2024). Linkozamid antibiyotik grubundan olan LIN, genellikle hayvanlarda kullanılır. Bu nedenle, hayvansal gıdalarda kalıntılara neden olur (J. Xie vd., 2024). Gıda kalıntısı oluşumu, insanlarda alerjilere, antibiyotik direncine ve birçok olumsuz etkiye neden olur. Bu nedenle, gıdalardaki LIN kalıntılarının hızlı ve hassas bir şekilde analiz edilmesi için bir yöntem geliştirmek hayati önem taşımaktadır (Hou vd., 2024).



Şekil 1.2. LIN molekül yapısı

1.2.2. Spiramisin

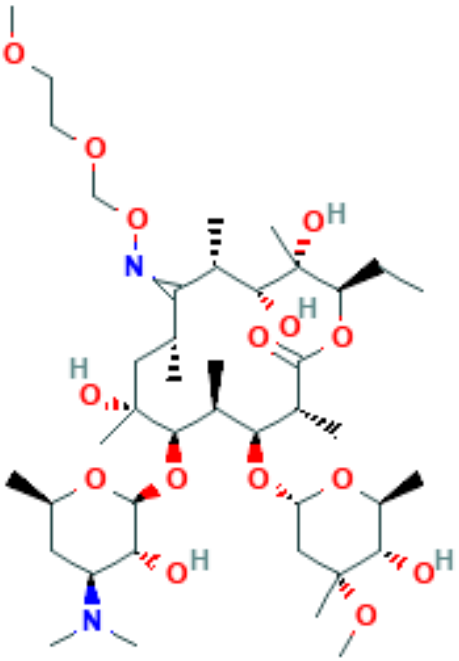
Spiramisin (SPR), yaklaşık 70 yıldır kullanılan ve çeşitli üst ve alt solunum yolu enfeksiyonlarını, özellikle genital enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılan bir makrolid antibiyotiktir (Şekil 1.3) (Bunnag vd., 1998; Gamea vd., 2022). Ayrıca gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı da yaygın olarak kullanılır (Kang vd., 2022). Bakterilerin antibiyotiklere direnci nedeniyle spiramisin, eritromisine umut verici bir lternatif olarak ortaya çıkmıştır. Dahası, bu antibiyotik, mikaminoz, forozamin ve mikaroza β-glikozidik bir bağ ile oluşan 16 üyeli bir halka yapısına sahiptir (Calcagnile vd., 2023; Yao vd., 2025).



Şekil 1.3. SPR molekül yapısı

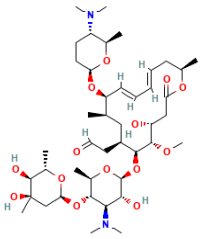
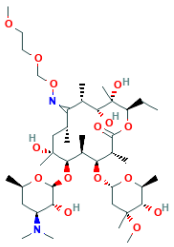
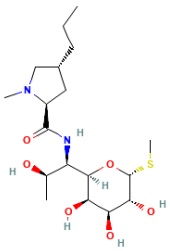
1.2.3. Roksitromisin

Roksitromisin (ROK), geniş spektrumlu bir makrolid antibiyotiktir. ROK eritromisinden türetilmiştir (Şekil 1.4) (Markham vd., 1994.). Bu antibiyotik ilaç çoğunlukla insanlarda ve çiftlik hayvanlarında enfeksiyonların tedavisinde kullanılır. ROK doğal ortamda kolayca bulunur ve kalıntıya neden olur (Jiang vd., 2021). Bu nedenle, çevre ve gıdada çevresel bir kirletici olarak bulunur. Dahası, ROK'un canlı organizmada uzun bir yarı ömrü vardır ve bu nedenle insan ve hayvan dışkısı yoluyla çevreye kolayca salınır. Çevre ve gıdada ROK'un hızlı ve hassas bir şekilde tespit edilmesi için etkili bir yöntem geliştirmek hayati önem taşımaktadır (Jiang vd., 2021; Markham vd., 1994.; Ni vd., 2020; W. Xie vd., 2024).



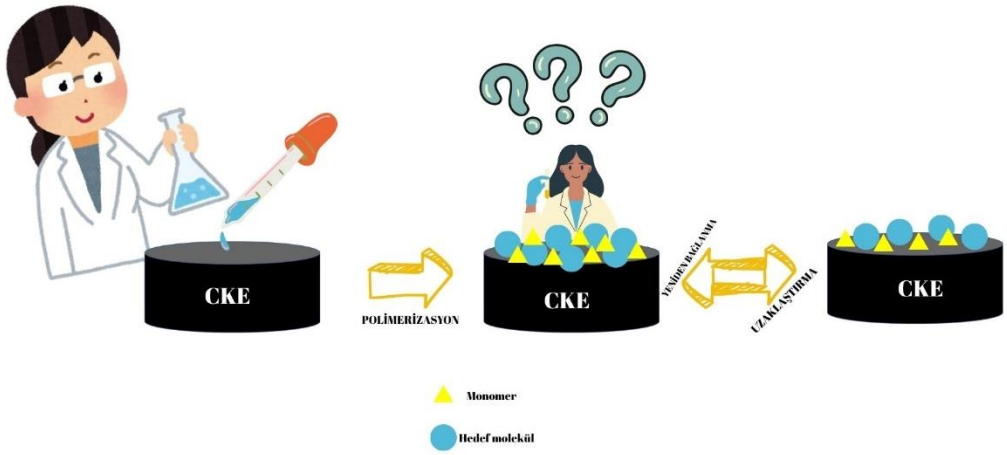
Şekil 1.4. ROK molekül yapısı

Çizelge 1.1. Tez kapsamında kullanılan antibiyotik ilaç etken maddelerine yönelik genel bilgiler

Antibiyotik	IUPAC Adı	Kimyasal Yapısı	Mekanizması	FDA Onaylı Klinik Kullanım	Ref.
SPR	2-[(4R,5S,6S,7R,9R,10R,11E,13E,16R)-6-[(2S,3R,4R,5S,6R)-5-[(2S,4S,5S,6S)-4,5-dihidroksi-4,6-dimetiloksan-2-il]oksi-4-(dimetilamino)-3-hidroksi-6-metiloksan-2-il]oksi-10-[(2S,5S,6R)-5-(dimetilamino)-6-metiloksan-2-il]oksi-4-hidroksi-5-metoksi-9,16-dimetil-2-okso-1-oksasikloheksadeka-11,13-dien-7-il]asetaldehit		SPR, antibakteriyel ve antiparaziter aktiviteye sahip bir makroliddir.	SPR, çeşitli üst ve alt solunum yolu enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanılan bir makrolid antibiyotiktir.	(Calcagnile vd., 2023)
ROK	(3R,4S,5S,6R,7R,9R,11S,12R,13S,14R)-6-[(2S,3R,4S,6R)-4-(dimetilamino)-3-hidroksi-6-metiloksan-2-il]oksi-14-etil-7,12,13-trihidroksi-4-[(2R,4R,5S,6S)-5-hidroksi-4-metoksi-4,6-dimetiloksan-2-il]oksi-10-(2-metoksietoksimetoksiimino)-3,5,7,9,11,13-hekzametil-oksasiklotetradekan-2-on		ROK, bakterilerin protein sentezine müdahale ederek çoğalmasını engeller.	ROK, kulak, burun ve boğaz enfeksiyonları gibi solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde onaylanmıştır.	(Markham vd., 1994)
LIN	(2S,4R)-N-[(1R,2R)-2-hidroksi-1-[(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihidroksi-6-metilsülfaniloksan-2-il]propil]-1-metil-4-propilpirolidin-2-karboksamid		LIN, 50S ribozomal alt birimlere bağlanarak duyarlı organizmalarda protein sentezini engelliyor gibi görünmektedir	LIN, enfeksiyonun niteliğine ve duyarlılığına bağlı olarak bakteriyostatik veya bakterisidal etkiye sahip olabilir.	(Dong vd., 2020)

1.3. Moleküler Baskılı Polimerler (MIP)

Moleküler baskılı polimerler (MIP), hedef molekülün miktarı, formu ve molükeler yapısı tarafından baskılanan benzersiz polimerik yapılardır. Bu polimerik yapılar antikor, enzim, reseptörler vb. doğal biyolojik türevleri taklit eden sentetik biyolojik tanıma boşlukları oluşturan yenilikçi yapılardır (Çorman vd., 2022). Moleküler baskılamanın temeli, hedef moleküle yönelik seçilen fonksiyonel monomerin çapraz bağlayıcılar ile polimerizasyonuna dayanır. Ayrıca, MIP'ler hedef molekülün uzaklaştırılmasıyla sentetik boluklar meydana gelir ve bu boşluklara hedef molekülün yeniden bağlanmasından sorumludurlar. Buradaki amaç, MIP'inin doğal reseptörlerle kıyaslanabilecek yüksek spesifik bağlanmaya ve doğal biyomoleküllere göre daha kararlı biyo-taklit reseptörlere imkan sağlamaktır (Alexander vd., 2006). MIP'lerin pek çok avantajları vardır ve bu avantajlardan en önemlileri mükemmel seçicilik, hassasiyet, uygun maliyetli olması, kimyasal ve fiziksel kararlılık, geniş uygulama alanı ve kolay hazırlanabilir olmalarıdır. Özetle, MIP'ler moleküler bir anahtar-kilit ilişkisi oluşturma yaklaşımlarını kapsar (Şekil 1.5.) (Bhakta ve Mishra, 2021; Martín-Esteban, 2013; Pan vd., 2018; Piletska vd., 2009; W. Chen vd., 2015; W. Li vd., 2021).



Şekil 1.5. MIP'in hazırlanma aşamaları

1.3.1. MIP'lerin Bileşenleri

MIP'ler fonksiyonel monomer, hedef molekül, çapraz bağlayıcı, başlatıcı ve poronejik çözücü gibi bazı bileşenlerden meydana gelmektedir. MIP'lerin bu bileşenlerin en uygun şekilde seçilmesi ve oranlarının optimize edilmesi oluşturulan polimerik yapının kararlı ve etkili oluşumunu doğrudan etkilemektedir (Çorman vd., 2022).

1.3.1.1. Hedef Molekül

MIP'nin tasarlanmasında ilk önce hedef molekül olan analit seçilir. Hedef moleküle yönelik polimerik yapı oluşturulur. MIP'lerin tasarımında, yapıda amino, karboksil, amid gibi fonksiyonel grupların olması önemlidir. İdeal bir polimerik yapının oluşması için üç gereksinim vardır;

- Hedef molekülün diğer MIP bileşenleri ile polimerizasyonu sırasında mükemmel kimyasal kararlılık göstermesidir.
- Fonksiyonel monomerlerle birlikte hedef molekül:monomer kompleks yapısı oluşturabilecek zengin fonksiyonel grupların olmasıdır.
- Hedef molekül ile fonksiyonel monomer arasında oluşan bağ yapısının polimerizasyonunu olumsuz etkilememesidir.

Proteinler veya hücreler gibi pek çok biyolojik makromoleküllerde hedef molekül olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Adumitrăchioaie vd., 2018; L. Chen vd., 2016). Makro moleküllerin baskılanmasına yönelik bu yaklaşımın, bu moleküllerin karmaşık yapıları, yapılarında spesifik olmayan tanıma bölgelerinin olması ve sınırlı polimerizasyon teknikleri gibi bazı önemli zorlukları vardır. Bu zorluklarla başa çıkabilmek için son gelişmeler, hedef proteinlerin moleküler baskılanması için hedef molekül olarak bazı senstetik resptörlerin (glikan, monosakarit, oligosakarit, epitop, aptamer vb.) kullanımını ortaya çıkarmıştır (L. Chen vd., 2016).

1.3.1.2. Fonksiyonel Monomer

MIP'lerin çok geniş uygulama alanları dolayısıyla, MIP'nin hazırlanmasındaki en önemli faktör olan fonksiyonel monomer ve çapraz bağlayıcılar hedef moleküle yönelik seçilmektedir. Fonksiyonel monomerler hem tanıma birimleri hemde polimerize edebilme birimleri olarak iki bağımsız tipte birimlerden oluşmaktadır. Hedef molekül için seçilen monomerler, hedef moleküle ile etkileşim yapacak fonksiyonel gruplara sahip olmalıdırlar (Turiel ve Esteban, 2019; Włoch ve Datta, 2019). MIP'lerin üç boyutlu polimerik ağ oluşturması için, fonksiyonel monomerler ile hedef molekülün yeterli oranda etkileşime girdiğinde kompleks yapılar oluştururlar ve baskılı moleküller üzerinde fonksiyonel monomerlerin fonksiyonel gruplarını hareketsiz hale getirmek için çapraz bağlayıcıları eklenerek hazırlanmaktadır (Turiel ve Esteban, 2019). Dahası, bu monomerler, MIP'lerin

başarılı şekilde sentezi ve tasarımında önemli olmasının yanı sıra polimer matrisine kararlı bağlanma parçaları oluşturmaya yardımcı olmaktadırlar (Çorman vd., 2022).

1.3.1.3. Çapraz Bağlayıcı

MIP tasarımında çapraz bağlayıcıların kullanılması her zaman gerekli değildir. Fakat, çapraz bağlayıcılar hedef molekülün uzaklaştırılmasında karalı ve sağlam polimerik yapı oluştururlar. Çapraz bağlayıcıların türü, yapısı ve miktarı polimerik yapıda oldukça önemlidirler. Bu nedenle, polimerik yapı oluşturulurken çapraz bağlayıcının miktarı ve derişimi dikkatli bir şekilde optimize edilmelidir. Ayrıca, çapraz bağlayıcılar bağlanma özellikleri, seçicilik, kararlılık ve morfolojik yapı üzerindeki özellikleri de etkilemektedirler. Yeterli miktarda çapraz bağlayıcı kullanılmazsa polimerik yapıda kararsız mekanik özelliklere yol açabilirler (Turiel ve Esteban, 2019; Włoch ve Datta, 2019). En yaygın kullanılan çapraz bağlayıcılar; etilen glikol dimetakrilat (EGDMA), trimetilolpropan trimetakrilat (TRIM) ve 1,4-divinil benzen (DVB)'dır (Çorman vd., 2022).

1.3.1.4. Porojenik Çözücü

Porojenik çözücüler polimerizasyon işleminde gözenekli yapı oluşturmk ve polimerizasyon reaksiyonunu meydana getirmek için kullanılmaktadırlar. Bu nedenle bu çözücüler MIP'nin morfolojik yapısı üzerinde önemli etkiye sahiptirler. En yaygın kullanılan porojenik çözücüler, kloroform ve asetonitril gibi düşük polariteye sahip yada polar olmayan çözücüler kovalent olmayan baskılama yönteminde kullanılırlar. Metanol, dimetilformanit gibi polar çözücüler ise kovalent baskılama yönteminde kullanılırlar. Porojenik çözücünün türü ve polaritesi, polimerik yapının gözenek oluşturmasında, hedef molekül ile fonksiyonel monomer arasındaki etkileşimlerle doğrudan ilişkilidir (Włoch ve Datta, 2019).

1.3.1.5. Başlatıcı

MIP'nin temel bileşenlerinden olan başlatıcılar, serbest radikalleri oluşturmak için termal ve fotokimyasal olarak uyarılırlar. Polimerizasyon işlemi esnasında düşük sıcaklığın kullanılması lazım olduğunda fotokimyasal olarak aktif olan başlatıcılar uygulanmaktadır (Adumitrăchioaie vd., 2018; Malik vd., 2019). MIP'lerde polimerizasyon işlmeinde her zaman başlatıcılar kullanılmayabilir. En çok tercih edilen başlatıcılar, serbest redikaller olan

azobisnitrillerden 2,20-azobis-(izobütironitril) (AIBN) ve 2,20-azobis-(2,4-dimetilvaleronitril) (ADVN)'dir (Çorman vd., 2022).

1.3.2. Moleküler Baskı Teknolojisi ve Yaklaşımları

1940 yılında Pauling tarafından önerilen doğal antikorlar ile spesifik antijenlerin hedef modeller olarak etkileşimi, yapay moleküler tanımanın temelini oluşturmaktadır (H. Zhu vd., 2018). Biyomimetrik katalitik uygulamalar için Wulff ve arkadaşları, MIP'nin sentez ve tasarımına büyük öncülük etmişlerdir. Bu nedenle, MIP yaklaşımları, hedef molekülün belirlenmesinde ve tanınmasında en umut verici yöntemlerden biri olarak sınıflandırılmaktadır. MIP'lerin en önemli bileşenleri hedef molekül, fonksiyonel monomer, çapraz bağlayıcı ve başlatıcılardır. Polimerizasyon işleminde hedef molekül: fonksiyonel monomer kompleksi, 3D-polimer zincirlerini uygun şartlar altında stabilize etmek için yüksek miktarda çapraz bağlayıcı maddesi varlığında polimerize edilmelidirler. Hedef moleküllerin polimerik yapıdan uzaklaştırılmasından sonra, baskılama ile elde edilen boşluklar, boşlukları tamamlayıcı geometrik boyuta ve kimyasal yapılara sahip sentetik reseptörler olarak ortaya çıkmaktadırlar. Bu nedenle moleküler baskılama stratejiler, "anahtar-kilit" biyotanıma modeli olarakta bilinmektedir. MIP temelli yapıların geliştirilmesi en çok biyolojik materyallerin seçici ve hasas tespitine odaklanmışlardır (Lu et vd., 2014). Moleküler baskılama polimerik matrislerin yapısı ve hedef molekül ile polimer arasındaki bağlanma etkileşimi olmak üzere iki ana noktaya dayanmaktadır. Bu nedenle, hedef molekül – fonksiyonel monomer arasındaki uygun bağlanma gruplarına sahip tersinir üç farklı bağlanma yaklaşımına (kovalent, yarı kovalent ve kovalent olmayan) izin verilmektedir. Geleneksel olarak kullanılan baskılama yöntemlerinde polimerizasyon sırasında hedef moleküller ile fonksiyonel monomerler kovalent olarak bağlanır. Kovalent olmayan baskılama stratejileri ilk olarak 1988'de Klaus Mosbach ve arkadaşları tarafından rapor edilmiştir. Burada, hedef molekül-monomer arasındaki bağ yapıları kovalent olmayan yani van der Waals kuvvetleri, hidrojen bağları ve dipol-dipol etkileşimler gibi bağlanmaların da mümkün olabileceği bildirilmiştir (Shi vd., 2015).

MIP tabanlı malzemelerin spesifik ve seçici olarak geliştirilmesi için MIP sentezindeki en önemli aşama, uygun polimerizasyon yönteminin belirlenmesi ve iyi yönlendirilmiş boşlukların tasarlanmasıdır. Hedef molekül ile foksiyonel monomer arasında kovalent ve kovalent olmayan bağlanma yaklaşımları gerçekleşir. Bu nedenle, fonksiyonel monomerlerin hedef moleküller arasındaki bağlanma etkileşimlerine ve düzenlenmelerine

bağlı olarak kullanılan baskılamalar üç tipte özetlemek mümkündür: kovalent baskılama, kovalent olmayan baskılama ve yarı kovalent baskılamadır.

1.3.2.1. Kovalent Baskılama

Polimerizasyondan önce, hedef molekül ve fonksiyonel monomerlerin kararlı polimerik yapı oluşturması için kovalent bağ ile birbirlerine bağlanırlar. Bu bağ ile baskılama yönteminin yüksek bağ kuvveti ve kararlılığı daha seçici bir MIP'nin tasarlanmasına olanak sağlar. Hedef molekül ile fonksiyonel monomer arasındaki stokiyometrik etkileşimlerden dolayı kovalent baskılama yönteminde seçici olmayan bağlanma olasılığı düşüktür. Ayrıca, kovalent bağları koparmak için hedef molekülün uzaklaştırılması aşamasında sert uzaklaştırma işlemi yapılmalıdır (Wulff, 2002).

1.3.2.2. Kovalent Olmayan Baskılama

Kovalent olmayan baskılama yöntemi MIP'lerin tasarımında en yaygın kullanılan etkileşim türüdür. Polimerizasyon esnasında hedef molekül ile fonksiyonel monomer arasında hidrojen bağı, elektrostatik etkileşimler, π-π etkileşimleri, van der Waals kuvvetleri gibi zayıf moleküller arası etkileşimlere izin vermektedirler. Dahası, MIP'nin kararlı olması için uygun bir çözücü ve fonksiyonel monomerin seçilmesi oldukça önemlidir (Ashley vd., 2017).

1.3.2.3. Yarı Kovalent Baskılama

MIP tasarımında kullanılan bir diğer baskılma yöntemi ise yarı kovalent baskılamada kullanılmakatadır. Ayrıca, bu baskılama yöntemi kovalent ve kovalent olmayan baskılama hibrit yaklaşımı olarakta bilinir (Ansari, 2017).

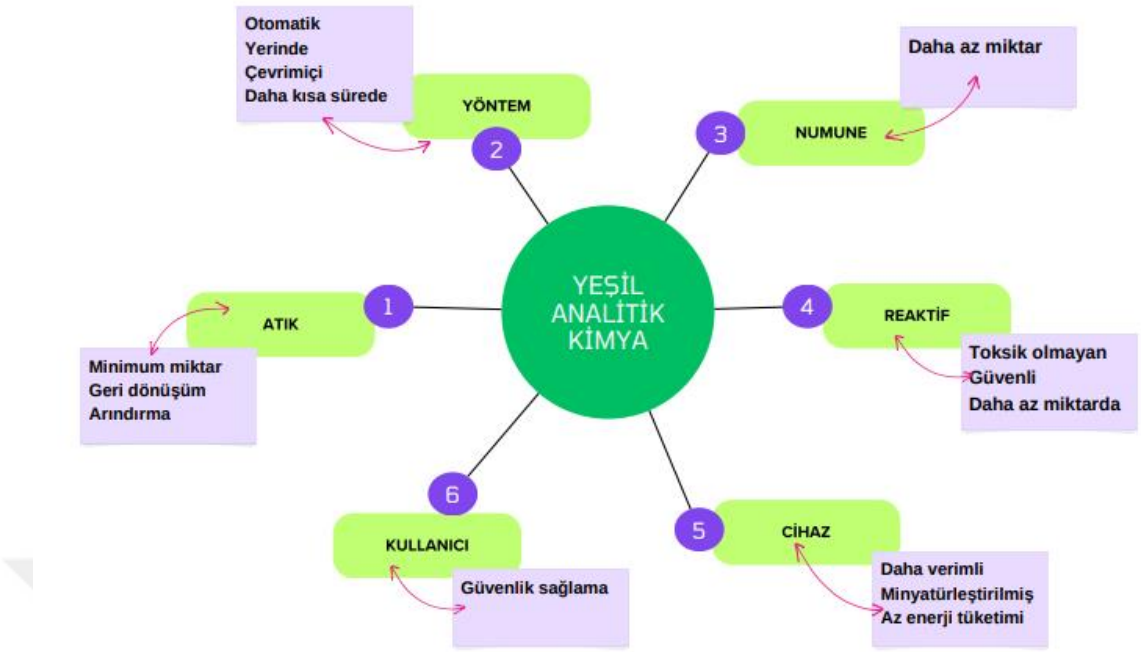
1.3.3. MIP'lerin Zorlukları

Biyolojik ve gıda numune analizlerinde seçiciliği, duyarlılığı ve güvenilirliği arttırmak MIP tasarımının amaçlarından biridir. MIP tasarımında kullanılan malzemelerin fizikokimyasal yapıları, meydana gelen polimerik yapının, analitin molekül yapılarının fizyolojisiyle ve gereksinimleriyle uyumlu olmalıdır (Kryscio ve Peppas, 2012). Geliştirilen baskılama yöntemi uygun şartlar altında en iyi performansı göstermelidirler. Bu baskılama yönteminde polimerik yapı geleneksel olarak polimerizasyon esnasında meydana gelen yoğun

ağ yapılarından oluşmaktadır (Alexander vd., 2006). Hedef molekülün büyük polimerik yapı içerisine sıkışması ve bağlanma alanlarını bulabilmek için kolay şekilde polimerik ağa geri yayılamaması MIP'nin zorluklarındandır (Manjunatha vd., 2021). Ağ yapısında oluşabilecek bu sınırlamalar, başarısız bir analiz edebilme mekanizmasına neden olur. MIP'lerin, heterojen boşluklar, aşırı miktarda çapraz bağlayıcıdan yavaş şekilde kütle aktarımı ve sulu ortamlarda baskılama hataları gib pek çok sınırlamaları bulunmaktadır (Çorman vd., 2022; Zelikovich vd., 2023).

1.3.4. MIP'lerin Yeşil Analitik Yönleri

Kimyasal süreçlerin tasarımında çevreye, gıdalara ve canlılara karşı zararlı maddelerin kullanımını en aza indirmek yada ortadan kaldırmak için son yıllarda yeşil kimyaya yönelim artmaktadır. Ayrıca, yeşil analitik kimya (YAK), yeşil kimya ile analitik kimya tekniklerinin birleştirilmesidir. MIP'lerin tasarımında hem sürdürebilir hemde çevre dostu analizler yapmak için yeni yaklaşımlar geliştirmek oldukça önemlidir. Bu nedenle MIP tasarımında bileşenleri seçerken öncelik olarak en az toksik olan ve çok az enerji harcayan daha yeşil stratejiler seçilmelidir (Şekil 1.6). Dahası, MIP'lerin optimizasyon adımlarından biri olan uzaklaştırma çözeltileri yeşil olarak seçilmelidir. YAK kullanılarak geliştirilen MIP'ler yeniden kullanılabilir, güvenilir, kısa analiz süresi, en az toksisite içeren çözeltiler kullanılmalı, daha hızlı polimerizasyon teknikleri kullanılmalı, ve MIP bileşenlerini güvenilir şekilde optimize edilmesi tercih edilmelidir. MIP tasarımında iyonik sıvılar, biyolojik malzemeler, biyokütle türevi malzemeler fonksiyonel monomer olarak kullanılabilirler (Cetinkaya vd., 2025). Ayrıca, kullanılan bir yöntemin yeşil olma profili çeşitli parametrelere göre değerlendirilmelidir. Bir yöntemde genel performansı etkileyen birçok faktör vardır ve bunların hepsi farklı açılardan ele alınmalıdır. Bu değerlendirmeleri ve hesaplamaları gerçekleştirmek için birden fazla araç önerilmiştir. Bu araçlar, amaç ve içeriklerindeki farklılıklara rağmen bir analitik yöntemin kalitesinin ve yeşil olma durumunun değerlendirilmesi için değerli bilgiler sunar. 2020 yılında önerilen bir araç olan Analitik GREEnness metriği (AGREE), YAK'ın 12 ilkesine dayalı bir değerlendirme sunar. Değerler, 0'dan 1'e kadar artan yeşilliğe sahip bir ölçekte elde edilir (Cetinkaya vd., 2025). YAK günümüzde ve gelecekteki MIP tasarımı için çok önemli yer edinmektedir.



Şekil 1.6. Yeşil analitik kimya özellikleri

1.4. Elektrokimya

Maddenin elektrik enerjisiyle etkileşmesinden sonra oluşan fiziksel değişikleri, kimyasal enerjinin elektrik enerjisine dönüşmesini ve kimyasal olayları inceleyen bilim dalına elektrokimya denir. Bu bilim dalı iki madde arasındaki elektron transferini inceleyerek, elektron transferi esnasında tayini yapılacak olan madde hakkında bilgi verecek akım üretir (Skoog vd., 1998). Dahası, elektrokimyasal hücre içerisinde meydana gelen elektrokimyasal tepkimeler redoks yani yükseltgenme ve indirgenme tepkimeleridir. Elektrokimyasal hücre, bir elektrolit çözeltisi içerisine elektriksel iletkenlik özelliğe sahip iki elektrodun daldırılmasıyla oluşmaktadır (Ozkan vd., 2015; Skoog vd., 1998). Elektokimyasal hücre içerisinde elektrik akımını oluşturmak için kullanılan elektrotların dışardan bir iletken ile bağlantı kurması gerekmektedir. Ayrıca, bu hücrede anotta yükseltgenme, katotta ise indirgenme tepkimesi gerçekleşir (Skoog vd., 1998).

1.4.1. Elektrokimyada Kullanılan Elektrotlar

Elektrokimyasal hücrelerde, ikili yada üçlü elektrot sistemi kullanılmaktadır. İkili elektrot sisteminde referans ve çalışma elektrodu vardır. Fakat üçlü elektrot sisteminde referans, çalışma ve karşıt (yardımcı) elektrot olmak üzere üç elektrot vardır. Elektrokimyasal analizlerde çoğunlukla üçlü elektrot sistemi kullanılmaktadır (S. Chen, 2007).

Elektrokimyasal analizde, analize ve analitin yapısına göre en uygun elektrokimyasal hücre sistemi ve elektrotları seçilmektedir (Wang, 2006).

1.4.1.1. Çalışma Elektrotları

Elektrokimyasal analiz esnasında çalışma elektrodu olarak kullanılan elektrotlar kimyasal olarak kararlı, çok iyi bilinen yüzey alanına ve morfolojiye sahip malzemeler kullanılarak yapılmaktadır. Bu elektrotlar; potansiyeli referans elektroda bağlı olarak değişen ve analitle ilgili reaksiyonun oluştuğu elektrotlardır. Bu potansiyeli kontrol etmek için kullanılan cihazlar potantiyostatlardır. Elektrokimyasal hücre içerisinde yapılan analiz esnasındaki elektron transferlerinin reaksiyonları çalışma elektrodunun yüzeyinde meydana gelmektedir. Analit derişimindeki farklılıklar akımın potansiyele göre farklılaşmasına neden olmaktadır (S. Chen, 2007).

Yaygın olarak kullaılan çalışma elektrotları genellikle cilalı disk ya da mikroelektrot olarak camsı karbon ya da platinden oluşmaktadır. Çalışma elektrotları kendi içlerinde karbon temelli, metal temelli veya civa temelli olarak sınıflara ayrılmaktadırlar. Yaygın olarak kullanılan çalışma elektrotları;

- Camsı karbon elektrot (CKE), karbon pasta elektrot (KPE) ve perde baskılı karbon elektrot (SPCE) gibi karbon temelli elektrotlar,
- Platin, altın, gümüş ve perde baskılı altın elektrotlar (SPAuE) gibi metal temelli elektrotlar (ME),
- Asılı cıva elektrot (ACE) ve damlayan cıva elektrot (DCE) gibi cıva temelli elektrotlardır (Ozkan vd., 2003; Ozkan vd., 2015).

1.4.1.2. Referans Elektrotlar

Elektrokimyasal analizde potansiyeli dış etkenlerden etkilenmeyen ve sabit kalabilen elektrotlara referans elektrot denir. Ayrıca, referans elektrtodun potansiyeli analitin derişiminden etkilenmez ve sabittir. Bu nedenle referans elektrot çalışma elektrodunun potansiyelinin kıyaslanmasında kullanılır (Bott, 1995). Referans elektrotların sahip olması gereken özellikleri;

- Potansiyeli sabittir,
- Polarize olmamalı,

- Tekraredilebilir olmalı,
- En küçük akımlarda bile potansiyeli etkilenmemelidir (Ozkan vd., 2003; Ozkan vd., 2015).

Bu özellikleri sağlamak için elektrokimyasal analizlerde en çok tercih edilen referans elektrotlar Ag/AgCl elektrot ve doymuş kalomel elektrot (Hg/Hg2Cl2) gibi redoks çiftlerinden oluşan elektrotlardır. AgCI ile doyurulmuş KCI çözeltisi içerisine daldırılan Ag elektrottan oluşan elektrotlar Ag/AgCl elektrotlarıdır. Doymuş kalomel elektrot ise, doymuş Hg/Hg_2Cl_2 ile KCI içeren çözelti ile temas halinde civadan oluşmaktadır (Ozkan vd., 2015; Skoog vd., 2014; Wang, 2006).

1.4.1.3. Karşıt (Yardımcı) Elektrot

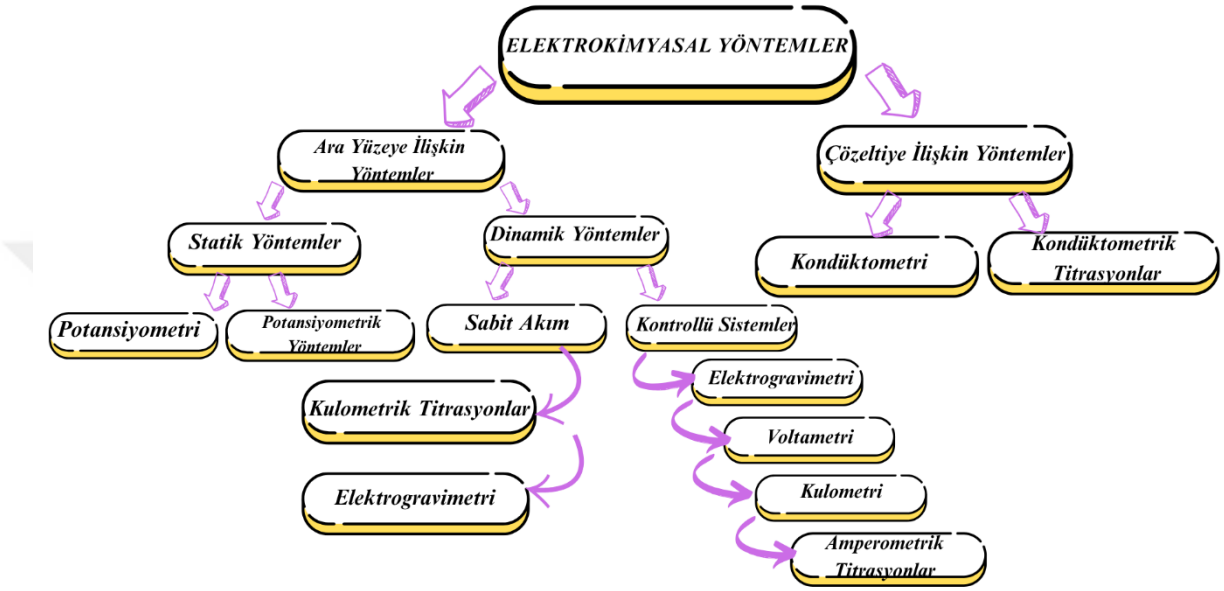
Üçlü elektrot sistemlerinde kullanılan referans elektrottan önemli düzeyde akım geçirmeden hücre içerisinde akım geçmesi için bir olanak sağlayan elektrotlar karşıt (yardımcı) elektrotlardır. Bu elektrotlar elektrokimyasal hücre içerisinde devreyi tamamlayarak akımın geçmesini sağlamaktadırlar (Bott, 1995). Platin ve titantum gibi inert metaller karşıt elektrotların yapımında tercih edilmektedir (Pletcher vd., 2001; Scholz, 2010).

1.4.2. Elektroanalitik Teknikler

Çözelti ve elektrottan oluşan sistemlerde bir elektriksel kuvvetle elektrokimyasal parametrelerin yani akım, potansiyel, direnç, yük gibi elektriksel özellikleri ölçen yöntemler elektroanalitik yöntemlerdir. Ayrıca, elektrokimyasal yöntemler analitin derişimini belirlemek için en uygun elektriksel özelliğin kullanılmasıdır (Skoog vd., 1998).

Elektrokimyasal yöntemlerin kapsamlı karakterizasyon olanağı sunması,çok düşük tespit limitlerinde analiz edilebilmesi, ve oldukça uygun maliyetli analizlere imkan sunmaktadırlar. Bu özelliklerinden dolayı bu yöntemler çevre, biyolojik ortamlarda, sanayi ve gıdalarda uygulama alanlarını kapsayan geniş uygulama ve kullanım alanlarına sahiptirler. Ayrıca, bu yöntemlerle analitin elektriksel özelliklerine göre hem kalitatif hemde kantitatif analiz yapılmaktadır. Elektrokimyasal yöntemler sayesinde akımı, direnci, yükü ve potansiyeli gibi elektriksel parametreler ile analitin özellikleri ve kimyasal yapıları arasındaki ilişkiler değerlendirilmektedir (Skoog vd., 2018; Wang, 2006).

Elektrokimyasal yöntemler net akımın denge halinden uzak olduğu (i≠0) dinamik yöntemler ve denge halinde dtatik yani net akımın sıfır olduğu (i = 0) yöntemler olarak da sınıflandırılabilirler. Bu yöntemler hem arayüze yönelik hemde çözeltiye yönelik yöntemler olarak kategorize edilirler. Şekil 1.7'de elektrokimyasal yöntemlere ait sınıflandırmalar yer almaktadır (D. Skoog vd., 1998; Kissinger ve Heineman, 1996).



Şekil 1.7. Elektrokimyasal yöntemlerin sınıflandırılması

1.4.3. Voltametri

Voltametrik yöntemler elektroanalitik yöntemler arasında en sık kullanılan yöntemlerdir. Bu yöntem, 1920 yıllarda Çek bilim insanı tarafından Polarografik yöntemlerin çalışma ilkelerine dayandırarak keşfedilmiştir. Günümüzde polarografi halen voltametrinin önemli dalıdır ve çalışma elektrodu olarak damlayan civa elektrodu kullanılmaktadır. Voltametri elektrokimyasal hücre içerisinde gerçekleşen analizde çalışma elektrodunun, uygulanan sabit olmayan potansiyele karşılık gelen sinyalin ölçülmesi sonucu elde edilen değerlerin incelendiği bir yöntemdir (Bagotsky, 2006; Bond, 1980; Skoog vd., 1998).

Voltametrik yöntemlerin çalışma prensibleri; elektrokimyasal hücre içerisinde referans elektrot ile polarize olabilen çalışma elektrodu arasında değeri zamanla değiştirilen potansiyel uygulanmasıyla ortaya çıkan akımın üç elektrotlu sistemlerde çalışma elektrodu ile

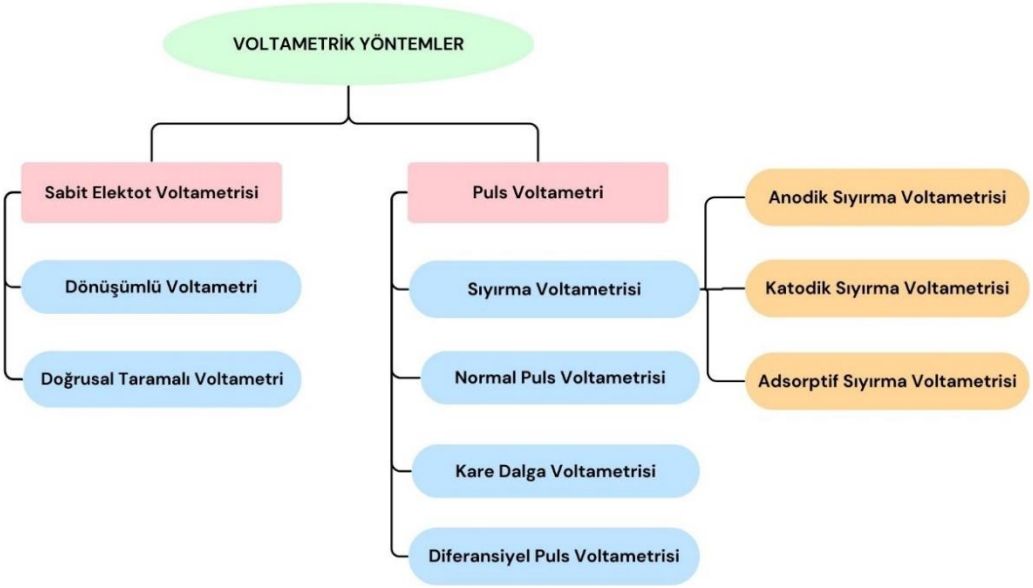
karşıt elektrot, iki elektrotlu sistemlerde ise referans elektrodu ile çalışma elektrodu arasında ölçülmesi esasına dayanmaktadır (Bond, 1980).

Voltametrik analizlerde oluşan akım, kütle transferi yani maddenin çözeltiden elektroda ulaşma oranı ve yük transferi olarak bilinen çözelti elektrot ara yüzeyinde meydana gelen elektron transferi ile ilişkilidir. Bu ilişkiler (Skoog vd., 1998);

- **Konveksiyon,** karıştırma veya göç gibi mekanik etkiyle ya da titreşim, sıcaklık ve yoğunluk gibi doğal etkilerden meydana gelmektedir.
- **Göç,** kütle transferi ile yüklü parçacıkların elektrik alanıyla hareketiyle oluşmaktadır.
- **Difüzyon** ise iyon ve moleküllerin hareketi yüksek konsantrasyondan daha düşük konsantrasyona geçmesiyle meydana gelmektedir.

Nerst eşitliği, uygulanan potansiyelin etkilerini ve redoks akımının davranışını tanımlayan yasadır. Yani bu yasa da indirgenme ve yükseltgenme reaksiyonlarında konsantrasyonla potansiyel arasında bir denge vardır. Elektrokimyasal reaksiyonların hepsinde olduğu gibi voltametrik analizlerde de Nerst eşitliği kullanılmaktadır (Bagotsky, 2006; Bond, 1980; Skoog vd., 1998).

Voltametride çalışma elektrodunun sinyali sonucunda potansiyele karşı akımın grafiğe geçirilmesiyle voltamogramlar elde edilir. Voltamogram grafikleriyle çeşitli kinetik ve analitik parametreler hakkında detaylı bilgi sağlanmaktadır. Ayrıca, voltametrik yöntemlerde elektroda uygulanan potansiyelin zamana karşı değişimine göre farklılıklar oluşmaktadır (Skoog vd., 2018; Wang, 2006). Voltametrik yöntemlerin sınıflandırılması Şekil 1.8'da şematize edilmiştir.



Şekil 1.8. Voltametrik yöntemlerin sınıflandırılması

1.4.3.1. Sabit Elektrot Voltametri

Sabit elektrot voltametri kendi içinde doğrusal taramalı ve dönüşümlü voltametri olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır.

1.4.3.1.1. Doğrusal Taramalı Voltametri (DTV)

Doğrusal taramalı voltametri (DTV), elektrot potansiyelinin tek yönlü olarak belirli bir potansiyel aralığında ve tarama hızında çalışıldığı yöntemdir. Bu yöntem miktar analizlerinde kullanılması sınırlıdır fakat metal organik sistemlerde redoks (yükseltgenme-indirgenme) işlemlerinin mekanizmalarının aydınlatılmasında kullanılmaktadır. Ayrıca, DTV potansiyel değişimi zamana karşı doğrusallık gösterir (Ozkan vd., 2015; Pletcher vd., 2001).

1.4.3.1.2. Dönüşümlü Voltametri (DV)

Dönüşümlü voltametri, elektroaktif maddelerin analizinde mekanizmanın aydınlatılmasında, optimizasyon çalışmasında, karakterizasyon çalışmalarında ve tepkimeye dahil olan maddelerin tespit edilmesinde kullanılan ve kantitatif analiz de yaygın olarak tercih edilen voltametrik yöntemdir. Elektrokimyasal analizlerin ilk ve temel basamağı olarak bilinen DV potansiyel taramasında, potansiyel belirli bir değere geldikten sonra ya da farklı bir değere

döndürülerek yapılmaktadır. Potansiyel taraması isteğe bağlı olarak bir veya daha fazla döngü sayısı kullanılarak yapılabilir. DV yönteminde analitin voltametrik tepkisini araştırmada tarama hızı (υ) önemli yere sahiptir. Bu yöntemde υ değiştirilmesi yükseltgenme-indirgenme reaksiyonlarının kinetiğini değiştirir. Ayrıca, DV tekniğiyle elektrot yüzeyinde meydana gelen oksidasyon sürecinin adsorpsiyon veya difüzyon kontrollü olduğu değerlendirilir (Ozkan vd., 2015; Pletcher vd., 2001; Skoog vd., 2018).

1.4.3.2. Puls Voltametrisi (PV)

Puls voltametrisi yöntemleri gelişip farklılaştıkça ölçüm hassasiyetlerini arttırma eğilimlerindedirler. PV teknikleriyle puls genişliği, örnekleme periyodu, puls genliği gibi parametreler optimize edilmesi kritik öneme sahiptir. Bu yöntemler dört farklı grupta sınıflandırılırlar (Ozkan vd., 2015; Pletcher vd., 2001).

1.4.3.2.1. Normal Puls Voltametri

1958 yılında Barker tarafından icat edilen normal puls voltametri (NPV), artan puls genliği ile bir dizi potansiyel darbesinden meydana gelir. NPV'de elde edilen tepe akım sinyallerinin ölçümü her darbenin sonuna yakın gerçekleştirilir. Bu yöntemde ortaya çıkan akım sıfıra eşittir. Ayrıca, NPV tekniği DTV'den yaklaşık olarak on kat daha hassasiyet gösterir (Ozkan vd., 2015).

1.4.3.2.2. Diferansiyel Puls Voltametri

Diferansiyel puls voltametrisi (DPV), elektroaktif maddelerin eser miktarının tayininde yaygın olarak kullanılır. DPV yönteminde akım, analiz esnasında pulstan önce ve pulsun bitmesine yakın zamanda iki defa ölçümü yapılarak bunların farkı sinyal olarak elde edilir. Bu yöntem yüksek oranda faradaik akım sağlamaktadır ve bu nedenle en hassas voltametrik yöntemler arasında yer almaktadır (Ozkan vd., 2015; Pletcher vd., 2001).

DPV tekniğinde potansiyel darbelerinin uygulanmasıyla sinyal gürültü oranını en aza indirgeyebilir. Bu tekniğin, hassasiyet, karmaşık elektrokimyasal sistemlerin araştırılması, çok düşük miktarlarda analiz edebilme, düşük duyarlılık sınırına ulaşabilme gibi pek çok avantajları vardır (Amatore vd., 2004; Dorledo de Faria vd., 2019; Weng vd., 2023).

1.4.3.2.3. Kare Dalga Voltametri

Kare dalga voltametri (KDV), yüksek frekansa sahiptir ve bu sayede çok hızlı analiz sağlamasıyla avantaj sağlamaktadır. Büyük genliğe sahip bu teknikte çalışma elektroduna merdiven veya kare dalga potansiyeli uygulanarak kullanılmaktadır. Akım ölçümü bakımında DPV yöntemine benzeyen bu yöntem elektrokimyasal analizlerde yaygın kullanılan yöntemlerden birisidir (Ozkan vd., 2015; Pletcher vd., 2001).

1.4.3.2.4. Sıyırma Voltametri

Çok yönlü elektrokimyasal yöntem olan sıyırma voltametrisi (SV), analiz edilecek maddenin çalışma elektrodu yüzeyinde biriktirilmesiyle duyarlılığın arttırılarak çok düşük seviyelerde teşhis sınırı seviyesine ulaşmayı sağlar. Analiz edilecek maddenin biriktirilmesi ve akışı elektrodun çözelti içerisinde karıştırılmasıyla ya da döndürülmesiyle arttırılabilir. Bu yöntem genellikle KDV ve DPV yöntemleriyle birleştirilerek kullanılmaktadır. İki yöntemin birleştirilmesi durumunda bazı parametrelerle birlikte birikim potansiyeli ve birikim süresi parametreleri optimize edilmelidir (Ozkan vd., 2015; Pletcher vd., 2001).

SV yöntemi kendi içerisinde üç gruba ayrılmaktadır:

Anodik sıyırma voltametrisi (ASV); metal iyonların tayininin yapıldığı ve en yoğun kullanılan SV yöntemidir. Bu yöntemde analit analiz esnasında çalışma elektrodu yüzeyinde biriktirme aşamasında indirgendikten sonra tekrar oksitlenir. ASV iki adımdan meydana gelir (Figura ve McDuffie, 1979);

- İlk adım olan ön konsantrasyon adımında analit küçük hacimli civa elektroduna elektron biriktirme yoluyla önceden yoğunlaştırılır. Böylelikle analit civa elektrodunda indirgenir ve sonra katodik potansiyelde amalgam meydana gelir.
- Son adımda ise, amalagam haline gelmiş analit tekrardan oksitlenir. Oksitlenen analit anot potansiyel uygulanarak elektrottan sıyırma işlemi yapılır.

ASV yönteminin pek çok önemli avantajları vardır. Bunlar, çok yönlü analiz yapabilme, mükemmel doğruluk ve oldukça düşük seviyede teşhis sınırıdır (Ozkan vd., 2015).

Katodik sıyırma voltametrisi (KSV), ASV yönteminden farkı ön derişim esnasında analitin oksidasyonudur. KSV yönteminde organik ve inorganik iyonlardan meydana gelen

bileşiklerin analizi yapılır. KSV yönteminde seçicilik ve girişim açısından zorluklar olmasından dolayı çok fazla tercih edilmemektedir (Ozkan vd., 2015).

Adsorptif sıyırma voltametrisi (AdSV), KSV ve ASV yöntemlerinden tek farkı analitin elektrot yüzeyinde biriktirilmesi çözeltinin karıştırılması sonucunda adsorsiyon ile yapılmaktadır. Bu yöntemde çeşitli organik ve inorganik bileşiklerin çok düşük konsantrasyonlarda tespiti yapılabilir. AdSV yönteminde çok düşük derişimlerde analiz edebilme ve mükemmel hassasiyet özelliklerinden dolayı ilaç analizlerdinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Fakat AdSV yönteminde çözeltideki diğer maddelerin girişim yapması bir dezavantajdır (Ozkan vd., 2015).

1.4.3.3. Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi (EIS)

Elektrokimyasal analizlerde yük transfer değerleri hakkında bilgi veren ve bir devredeki empedansın direnç (ohm) olarak ölçüldüğü elektrokimyasal yöntemlerden biri elektrokimyasal impedans spektroskopi (EIS) yöntemidir (Magar vd., 2021). EIS yönteminin uygun maliyetli, sabit durum tekniği, küçük sinyallerde bile analiz yapılabilme özelliği, ve hızlı olması gibi avantajları vardır. Bu yöntem elektrokimyasal analizlerde karakterizasyon içinde kullanılır ve sıvı-katı ara yüzeyleri arasındaki dielektrik özelliği hakkında bilgi verir (Wang, 2006).

EIS, elektrokimyasal hücre içerisinde redoks türleriyle elektrot etkileşimleri, elektrolit çözeltisinin direncine ek olarak elektroaktif maddelerin konsantrasyonları, yük ve kütle transferlerinin aktarımı keşfetmek için kullanılabilir. Bu nedenle, EIS elektrokimyasal sistemin direncini, kapasitansını ve iletkenliğini etkileyecek malzemelerin özelliklerini veya yapısını incelemeye sahip bir yöntemdir (Magar vd., 2021).

EIS yönteminde bir sinüzoidal potansiyel uygulayarak ve geniş frekans aralığında potansiyeldeki frekans (f) etkilerini tespit edilmesiyle akım akış tepkisi ölçülür. Uyarma frekanslarındaki farklılıkların oluşması impedans üzerinde tepki oluşturmaktadır. İmpedans etkisi hem gerçek hemde sanal bileşenlerden meydana gelen ve frekansın fonksiyonu olarak karmaşık sayılar şeklinde ortaya çıkmaktadır (Wang, 2006).

EIS yönteminde sistemin impedans davranışını değerlendirmek için uygu eşdeğer devrenin seçilmesi için gereken dört önemli unsur vardır. Bunlar;

- Direnç
- Kapasitans
- Sabit faz elemenaı
- Warbug impedansı (W)

Paralel ve/veya seri impedans bileşenlerinden oluşan eşdeğer devreler, deneysel impedans değerlerine yaklaşmak için yararlı araçlardır. Bu eşdeğer devrelerden en yaygın kullanılanı randles devresidir. Randles devresi bileşenleri, çözelti direncini (Rs), yük transfer direncini (Rct), çift katmanın kapasitansını (Cdl) ve Warburg impedansı (W) olarak gösterilen kütle transfer elemanından oluşaktadır (Bard ve Faulkner, 2001).

1.5. Elektrokimyasal Yöntemlerde Analitik Validasyon Parametreleri

1978 yılında Amerika Birleşik Devletleri tarafından ortaya çıkan validasyon ve gerekliliği ilaç ve kimyasal maddelerin analizinde validasyonun önemini ortay koymaktadır ve yapılan analizlerde/yöntemlerde validasyon parametreleri olmadan kabul almamaya başlamıştır (Rao, 2018). Elektrokimyasal yöntemlerde yapılan analizin amaçlanan amaç için güvenirliğini, etkinliğini, uygun olduğunu, tutarlılığını, ve kalitesini doğrulamak amacıyla tasarlanmış birçok validasyon parametreleri vardır. Bu validasyon parametreleri uluslararası kuruluşlar olan Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu (FDA) ve Uluslarası Uyum Konferansı (ICH) tarafından yayınlanan klavuzlar ile açıklanmaktadır (Ozkan vd., 2015; "Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology," 1995). Elektrokimyasal analizlerde mevcut yöntem yada yeni bir yöntem geliştirildiğinde uygulanması gereken validasyon parametreleri aşağıda detalı olarak açıklanmaktadır.

1.5.1. Seçicilik

Elektrokimyasal yöntemlerde ilk değerlendirilen validasyon parametresi seçiciliktir. Seçicilikte, yöntemin safsızlığı, girişim yapan maddelerin ve bozunma ürünleri varlığında analitin doğru ve güvenilir şekilde analiz edilebilmesidir (Rao, 2018). Bu parametre tasarlanan yöntem ile analizi yapılacak maddenin girişim yapan ve diğer benzer maddelerle kalitatif ve kantitatif olarak ayırt edilmesini sağlamaktadır. Ayrıca, seçicilik biyolojik numunelerde ve farmasötik dozaj formlarda yer alan girişim ajanlarının varlığında analiti tespit etmek için yöntemin nasıl kullanılabileceğini de ortaya koymaktadır.

Bir elektrokimyasal yöntemde seçiciliği etkileyen pek çok etken yer almaktadır. Bu etkenler, girişim maddelerininden gelen safsızlıklar, yardımcı etken maddeler, analite benzer yapıdaki maddeler, bozunma bileşikleri ve numune matrisleridir. Bu nedenle elektrokimyasal yöntemde seçicilik, seçiciliği etkileyen unsurların göz ardı edilerek yeterince iyi düzeyde analitin analiz yapılabilmesidir. Eğer elde edilen yanıtlar test prosedürleri ve istatistiksel hesaplamalar kullanılarak karşılaştırıldığında ve analitin doğru ve kesin şekilde tespit edildiğinde yöntem seçicidir denir (Krull ve Swartz, 1999; Ozkan vd., 2015; "Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology," 1995).

1.5.2. Çalışma Aralığı

Elektrokimyasal analizlerde kantitatif yöntemlerin çalışma aralığı belirtilmelidir. Çalışma aralığı doğrusaldır ve ilaç aktif maddelerin üst ve alt konsantrasyonları arasında kalan kısımdır. Ayrıca, bu aralık analitik prosedüree uygun düzeyde doğruluk, kesinlik ve doğrusallık göstermelidir (ICH Harmonised Tripartite Guideline, 2006).

1.5.3. Doğrusallık

Doğrusallık, deneysel çalışmalarda belirli bir çalışma aralığında analiz edilecek maddenin farklı konsantrasyonlarında elde edilen sinyalin analit konsantrasyonuyla doğru orantılı olduğu parametredir. Analiti konsantrasyonu arttıkça sinyalin artması da beklenir ve en az beş konsantrasyonda değerlendirilmelidir. Ayrıca, bu değerlendirmede her bir konsantrasyon için en az üç tekraredilebilir sonuçlar elde edilmelidir. Standart çözeltilerde doğrusal aralığı belirlemek için, analitin derişiminin %50 ile %150 arasında doğrusallık sağlamalı ve analit içeriğini tam yansıtmalıdır. Elektrokimyasal analizlerde doğrusallığın en alt sınırının belirlenmesi hassasiyetin hesaplanması için gerekli bir parametredir (Krull ve Swartz, 1999; Ozkan vd., 2015; "Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology," 1995).

Elektrokimyasal analizdeki sinyal ile analitin konsantrasyonu arasındaki ilişki değerlendirilirken regresyon yöntemi kullanılır. Regresyon yönteminde, analitin konsantrasyonuna karşı ölçümlerden elde edilen sinyallerden oluşan bir grafik elde edilir. Bu grafikte yer alan eğim (m), grafiğin kesişim noktası (n), korelasyon katsayısına (r) ve regresyon katsayısı (r2) paramtereleri doğrusallık hakkında önemli bilgiler sunarlar. Grafikte yer alan regresyon katsayısı en küçük kareler yöntemi kullanılarak hesaplanmaktadır. ICH'e

göre korelasyon katsayısının 0.999 yani 1' çok yakın olması gerekmektedir. Fakat m ve n değerleri ölçüm yöntemine bağlıdır (Krull ve Swartz, 1999; Ozkan vd., 2015; "Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology," 1995).

1.5.4. Duyarlılık

Doğrusallık çalışmalarında elde edilen eğim değeri yöntemin duyarlılığını yani hassasiyetini göstermektedir. Duyarlılık, analizde analitin konsantrasyonunda meydana gelen ufak değişiklikleri ve iki farklı derişimi tespit etme özelliğidir. Analitin yapısına ve elektrokimyasal yönteme bağlı olan duyarlılık, eğim ne kadar yüksek olursa analizin duyarlılığı da o kadar yüksek olur (Burgess, 2001; Ozkan vd., 2015). Ayrıca, duyarlılık analiz esnasında kullanılan yöntemin analitin farklı konsantrasyonları arasında ne kadar etkili ayrım yapabildiğininde bir göstergesidir. Özellikle çok düşük konsantrasyonlarda analitik sonuçların güvenilir, kesin ve doğru olduğunu sağlamak için çok önemlidir (Burgess, 2001; Ozkan vd., 2015).

1.5.5. Teşhis Sınırı (TS)

Teşhis sınırı (TS), elektrokimyasal yöntemlerde analitin teşhis edilebildiği en küçük konsantrasyondur. Fakat bu en küçük konsantrasyon belirli bir değerle tayin edilemez. TS'nin birimi analitin derişimiyle ifade edilmektedir ve yöntemin hassasiyetinin gösteren bir validasyon parametresi değildir. TS, elektrokimyasal çalışmalarda hem enstrümental hemde enstrümental olmayan tekniklerle ifade edilebilir. TS'nin hesaplama yöntemleri aşağıda açıklanmaktadır (Krull ve Swartz, 1999; Ozkan vd., 2015; "Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology," 1995):

- ***Görsel olarak değerlendirme:*** Bu değerlendirmede TS, konsantrasyonları bilinen ilaç aktif maddelerin çözeltileri hazırlanarak analiz yapılır ve analitin güvenilir şekilde analiz edilip edilemeyeceği değerlendirmektir.

- ***Sinyal-gürültü oranı değerlendirme:*** Bu değerlendirme yönteminde, genellikle gözlenebilir şekilde gürültülü sonuçlar elde edilen yöntemlerde yani ayırma ve spektrometrik tekniklerde kullanılmaktadır.

- ***Standart sapma ve eğim kullanılarak yapılan değerlendirme:*** Elektrokimyasal çalışmada kalibrasyonda elde edilen eğim ve standart sapma kullanılarak TS hesaplanmaktadır. Bu hesaplama aşağıdaki formülle yapılmaktadır:

$$TS = 3x\frac{SS}{m}$$

SS: Standart sapma
m: Eğim

Bu değerlendirme yöntemi genellikle elektrokimyasal yöntemlerde kullanılmaktadır. Ayrıca, bu denklem eğime bağlı olarak TS ile duyarlılık arasındaki ilişkiyi değerlendirmek amacıyla da kullanılır (Krull ve Swartz, 1999; Ozkan vd., 2015; "Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology," 1995).

1.5.6. Tayin Alt Sınırı (TAS)

Tayin alt sınırı (TAS), analitin güvenilir, doğru ve hassas şekilde ölçülebileceği en küçük konsantrasyonudur. TAS numunede safsızlıkların ya da bozunma ürünlerinin tespit edilmesinde kullanılır. TS değeri TAS değerinden her zaman düşüktür (Krull ve Swartz, 1999; Ozkan vd., 2015; "Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology," 1995). TAS değeri belirlenirken TS'de olduğu gibi farklı değerlendirme yöntemleri vardır.

- ***Görsel olarak değerlendirme:*** Bu değerlendirmede TAS, konsantrasyonları bilinen ilaç aktif maddelerin çözeltileri ile analize uygun düzeyde doğruluk ve hassasiyette analizin yapılabildiğin en küçük derişim belirlenir.

- ***Sinyal-gürültü oranı değerlendirme:*** Bu değerlendirmede genellikle ayırma ve spektrometrik yöntemlerde TAS hesabı yapılır. Ayrıca, sinyal-gürültü oranı 10:1 olduğu derişim TAS olarak kabul edilmektedir.

- ***Standart sapma ve eğim kullanılarak yapılan değerlendirme:*** Elektrokimyasal çalışmada kalibrasyonda elde edilen eğim ve standart sapma kullanılarak TAS hesaplanmaktadır. Bu hesaplama aşağıdaki formülle yapılmaktadır:

$$TAS = 10x\frac{SS}{m}$$

Formülde TS hesaplamasında kullanılan “m” ve “SS” değerleri kullanılmaktadır.

1.5.7. Doğruluk

Elektrokimyasal yöntemler için oldukça önemli olan doğruluk parametresi, kantitatif analiz sonucunda elde edilen değerin kabul edilen değere ya da gerçek değere yakınlığını olarak ifade edilir (ICH Harmonised Tripartite Guideline, 2006). Yöntemin doğruluğu hem rastgele hatalardan hemde sistematik hatalardan etkilenmektedir. Elektrokimyasal çalışmalarda yapılan geri kazanım doğruluğun göstergesi olarak kabul edilmektedir. Bu parametre, kabul edilen referans standart bir yöntem ile karşılaştırma yapılabilir ve gerçek numunenin içerisine bilinen konsantrasyonda analit eklenerek yani standart ekleme yöntemiyle karşılaştırma yapılabilir. Yöntemin doğruluğu kanıtlamak için yapılan geri kazanım çalışması üç farklı konsantrasyon kullanılarak gerçekleştirilir (Krull ve Swartz, 1999; Ozkan vd., 2015; “Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology,” 1995).

Standart ekleme yöntemi kullanılarak yapılan karşılaştırmada student-t ve F testi kullanılarak değerlendirilir. Student-t testi otalamaya, F testi ise standart sapmaya bağlıdır. Geri kazanımın yanında % bağıl hata (BH) hesaplanır (Ozkan vd., 2015; Rao, 2018).

$$Bağıl\ Hata = Ortalama\ Değer - Referans\ Değer$$

$$\%Bağıl\ Hata = 100\ \times \frac{Ortalama\ Değer - Referans\ Değer}{\text{Referans Değer}}$$

$$\%Geri\ Kazanım = 100\ \times \frac{\bar{x}_i}{\mu T}\ = 100\ -\ \%\text{Bağıl Hata}$$

x_i : Ortalama değer

μT: Referans değeri

Elektrokimyasal çalışmalarda validasyon parametreleri olan kesinlik ve doğruluk iki farklı parametre gibi görülsede pratik olarak doğruluğun kesinlikle alakalı olduğu söylenebilir. Bir yöntemin kesinliği, homojen çözelti içerisinde elde edilen değerlerin birbirine yakınlığıdır.

Fakat her kesin yöntem doğru değildir. Elektrokimyasal yöntemin kesinliği için standart sapması, varyansı ve bağıl standart hatası (BSS) hesaplanmasıyla anlaşılmaktadır (Ozkan vd., 2015).

$$\% \, BSS = 100 \times \frac{Standart \; sapma}{Hesaplanan \; değer \; ortalaması}$$

1.5.8. Sağlamlık

Sağlamlık, elektrokimyasal analizlerde yöntemin güvenirliğinin bir göstergesidir. Ayrıca, elde edilen verilerin küçük değişiklikler olduğunda etkilenmeden aynı kalabilmesinin ölçüsüdür. Sağlamlık parametresinin temel amacı, elektrokimyasal çalışmalar sürecinde şartları ugun ve güvenilir düzeyde tutmak ve en önemli unsurların yönetilebilmesi için belirlenebilmesi ve kontrol altına alınabilmesidir (ICH Harmonised Tripartite Guideline, 2006).

1.5.9. Tutarlılık

Tutarlılık, analiz için kullanılan yöntemde laboratuvarın, deneyi yapan kişinin veya kullanılan kimyasalların değişmesi sonucunda analizin aynı şekilde tekraredilebilirliğinin göstergesidir. Bu validasyon parametresinde elde edilen sonuçlar % BSS değerleri temel alınarak ifade edilir (Burgess, 2001; Swartz ve Krull, 2012).

1.5.10. Stabilite

Stabilite, belirli şartlar altında analiz için hazırlanan standart çözelti, numune çözeltileri ve çalışma çözeltileri kararlı yapılarını koruyarak kullanılabilmesidir. Analizin sağlam ve güvenilir olduğuyla ilişkili olan stabilite, analizde kullanılan çözeltiler deneysel ve saklama koşulları için değerlendirilmelidir. Ayrıca, ana stok çözeltisi içerisinde bulunan analitin stabilitesi çalşıma yönteminin bir parçasıdır. Analiz edilen ilaç etken maddesinin ve varsayılan metabolitlerinin stabiletisini belirlenmelidir (Ozkan vd., 2015).

1.6. Literatürde Tez Kapsamında Kullanılan Maddeler ile Yapılmış Elektrokimyasal Çalışmalar

Bu tez kapsamında LIN, ROX ve SPR antibiyotik ilaç etken maddeleri çalışılmıştır. Bu antibiyotik ilaç etken maddeleri için literatürde yer alan elektrokimyasal çalışmalar özetlenmiştir.

1.6.1. LIN İçin Mevcut Elektrokimyasal Çalışmalar

Literatürde LIN ilaç etken maddesi için yapılan elektrokimyasal yöntemler ile yapılmış çalışmalar Çizelge 1.2'de özetlenmiştir.

Çizelge 1.2. LIN analizine yönelik elektrokimyasal yöntemler ile yapılmış çalışmalar

Yöntem	Doğrusal Aralık	Teşhis Sınırı	Uygulama	%Geri Kazanım	Ref
CV	$4{,}5x10^{-7}$ – $1{,}5x10^{-4}$ M	$2{,}0x10^{-7}$ M	Farmasötik dozaj formu	-	(Wu vd., 2006)
ECL	$1{,}0x10^{-15}$ – $1{,}0x10^{-5}$ M	$4{,}37x10^{-16}$ M	Musluk suyu Nehir suyu	98,8 - 99,3 % 97,7 - 103,4 %	(Zhi vd., 2024)
ECL	$1{,}0x10^{-14}$ – $5{,}0x10^{-9}$ M	$1{,}7x10^{-15}$ M	Süt Su Biftek Domuz eti	96,8 – 102,0 % 99,6 – 104,0 % 98,7 – 101,0 % 98,4 - 99,2 %	(Pi vd., 2025)
ECL	$1{,}0x10^{-11}$ – $1{,}0x10^{-6}$ M	$2{,}88x10^{-13}$ M	Süt	95,5–104,2 %	(Y. Zhang vd., 2024)
ECL	$1{,}0x10^{-1}$ - $1{,}0x10^{4}$ ng mL^{-1}	0,025 ng mL^{-1}	Süt	94,4 - 106,0%	(H. Zhang vd., 2024)
ECL	0,10 ng mL^{-1} - 0,10 mg mL^{-1}	0,028 ng mL^{-1}	Süt	96,15 - 108,40%	(Liu vd., 2021)
ECL	0,05 ng mL^{-1} - 100 μg mL^{-1}	0,02 ng mL^{-1}	Süt	93,7–105,2%	(Du vd., 2024)
ECL	$1{,}0x10^{-4}$ - $1{,}0x10^{2}$ nmol/L	$6{,}17 \times 10^{-5}$ nmol	Süt Musluk su	93,9 - 105,8 %	(X. Du vd., 2022)
Photoelectrochemical	0,0001 - 1,25 nM	0,067 pM	Süt	98,5 – 113,0 %	(R. Zhang vd., 2023)
Photoelectrochemical	$1{,}0x10^{-14}$ - $1{,}0x10^{-8}$ mol/L	$3{,}57x10^{-15}$ mol/L	Atık su	95,8 - 101,7%	(Wei vd., 2022)
Self-powered aptasensor	$1{,}0x10^{-11}$ – $1{,}0x10^{-5}$ M	$3{,}33 \times 10^{-12}$ M	Süt Tavuk	96,3–98,6%, 98,8–107,0%	(Wen vd., 2023)

1.6.2. SPR İçin Mevcut Elektrokimyasal Çalışmalar

Literatürde SPR ilaç etken maddesi için yapılan elektrokimyasal yöntemler ile yapılmış çalışmalar Çizelge 1.3'de özetlenmiştir.

Çizelge 1.3. SPR analizine yönelik elektrokimyasal yöntemler ile yapılmış çalışmalar

Yöntem	Doğrusal Aralık (µM)	Teşhis Sınırı (µM)	Uygulama	%Geri Kazanım	Ref
KDV	4,97 – 450,0	0,49	Farmasötik dozaj formları	98,57 – 100,98%	(Ahmed ve Hussien, 2022)
DPV	0,008 - 85,0 85,0 - 310,0	0,002	Süt İdrar	98,1 – 102,0% 98,4 – 101,0%	(Noureldin vd., 2023)
Potansiyometri	1,0 - 1x10^4	1,0	Farmasötik dozaj form Musluk suyu	97,89 – 101,27% 98,38 – 100,94%	(Ahmed ve Hussien, 2022)
DPP	23,72 – 94,89	10,1	Farmasötik dozaj formu	98,59%	(Youssef ve Maher, 2010)

1.6.3. ROK İçin Mevcut Elektrokimyasal Analiz Yöntemleri

Literatürde ROK ilaç etken maddesi için yapılan elektrokimyasal yöntemler ile yapılmış çalışmalar Çizelge 1.4'de özetlenmiştir.

Çizelge 1.4. ROK analizi için yapılmış elektrokimyasal çalışmalar

Yöntem	Doğrusal Aralık (µM)	Teşhis Sınırı (µM)	Çalışma Alanı	%Geri Kazanım	Ref
Kronokolometri	5,0 – 100,0	0,5	Kapsül	100,9%	(Wan vd., 2011)
DV	0,08 – 20,0	0,0267	Kapsül	98,9 - 102,0%	(L. Zhang vd., 2012)
DPV	0,02 – 10,0	0,00667	İnsan serumu	97,5 - 102,1%	(X. Zhang vd., 2014)
KDV	10,0 - 200,0	2,0	Sıçan Tam Kanı	96,68 - 105,24%	(Peng vd., 2017)
KDV	0,597 – 10,85 10,85 – 44,80	0,179	Farmasötik dozaj form	-	(Vajdle vd., 2020)
DPV	5,0 - 100,0	0,03225	Farmasötik dozaj formu Serum	95 – 101,49%	(Mahmoudi vd., 2020)
Amperometri	1,0 – 190,0	0,18	Gölet suyu	99,9 – 102,6%	(Veloso vd., 2022)

Bu tez kapsamında gıdalarda yaygın olarak bulanan antibiyotik ilaçlardan LIN, ROK ve SPR etken maddelerinin ayrı ayrı tayini için nanopartikül katkılı MIP temelli elektrokimyasal sensörler geliştirilmesi amaçlanmıştır. Şimdiye kadar bilimsel literatürde eksik kalan bu antibiyotik maddelerin daha seçici ve hassas tayini için spesifik sensörlerin geliştirilmesi literatüre önemli katkılar sağlayacaktır. Geliştirilen sensörün diğer analitik tekniklere kıyasla gıda numunelerinde antibiyotik ilaçların seçici ve hassas tayinine yönelik

etkili bir çözüm üretmelerinin yanı sıra hızlı analiz süresi, düşük maliyet ve verimli analitik sinyalin başarılı bir şekilde üretildiğini kanıtlayacaktır. Ayrıca dayanıklı, hızlı, hassas, seçici, kullanıcı ve çevre dostu MIP temelli sensörlerin geliştirilmesi hedeflenmiştir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Tez Kapsamındaki Kullanılan Kimyasallar

Tez çalışması sürecinde kullanılan tüm kimyasal maddeler ön saflaştırma yapılmadan analitik saflıkta kullanılmıştır ve Çizelge 2.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Tez çalışmasında kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasal madde	Saflık Derecesi (%)	Firma
Linkomisin		Sigma-Aldrich
Roksitromisin		Sigma-Aldrich
Spiramisin		Sigma-Aldrich
Azitromisin		Sigma-Aldrich
Anilin	≥99,5	Sigma-Aldrich
Kitosan		Sigma-Aldrich
Aljinat		Sigma-Aldrich
Trikloroasetik asit	≥99,0	Sigma-Aldrich
Kloroform ($CHCl_3$)		Sigma-Aldrich
Soydum hidroksit (NaOH)	>97	Sigma-Aldrich
Magnezyum klorür ($MgCI_2$)	≥98,0	Sigma-Aldrich
Laktoz		Sigma-Aldrich
Kreatin		Sigma-Aldrich
L-Sukroz		Sigma-Aldrich
L-Fruktoz		Sigma-Aldrich
Glikoz		Sigma-Aldrich
Askorbik asit ($C_6H_8O_6$)		Sigma-Aldrich
Altın nanopartikül (Au NP)		Sigma-Aldrich
Gümüş nanopartikül (AgNP)		Sigma-Aldrich
Çinko oksit nanopartikül (ZnONP)		Sigma-Aldrich
Titanyum oksit nanopartikül (TiO_2 Np)		Sigma-Aldrich
Asetonitril (C_2H_3N)	≥99,9	Merck
Aseton	≥99,9	Merck
Etanol (C_2H_6O)	≥99,9	Merck
Metanol (CH4O)	≥99,9	Merck
Potasyum nitrat (KNO_3)	≥99,0	Merck
Hidroklorik asit (HCl)	%37	Merck
Fosforik asit (H_3PO_4)	>85,0	Merck
Potasyum ferrisiyanür ($K_4[Fe(CN)_6]$)	≥99,0	Merck
Potasyum ferrisiyanür ($K_3[Fe(CN)_6]$)	≥98,5	Merck
3-Aminofenil boronik asit	≥98,0	Merck
2-Tienilboronik asit	≥95,0	Merck
Asetik asit (CH_3COOH)	≥99,7	Merck
Pirol		Merck

2.2. Tez Çalışmasında Kullanılan Ekipmanlar

Tez çalışmasında yapılan deneyler için kullanılan cihazlar ve diğer ekipmanlar Çizelge 2.2'de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Tez çalışmalarında kullanılan cihazlar ve ekipmanlar

Cihaz	**Marka – Model**
Hassas terazi	Ohaus Instruments (Shangai, China)
Ultra saf su cihazı	PURELAB Option-Q (ELGA LabWater, Birleşik Krallık)
pH metre	Mettler-Toledo pH/ion S220 pH meter (Switzerland).
Termal çalkalayıcı	Thermo-Shaker (Biosan TS-100)
Farklı hacimlerde kapaklı cam balon jojeler	ISOLAB Laborgeräte GmbH (Eschau, Almanya)
Ultrasonik banyo	J.P. Selecta (Barcelona, Spain)
İnkübatör	EN 055/120 – Nüve (Ankara, Turkey)
Vorteks karıştırıcı	ISOLAB Laborgeräte GmbH (Eschau, Germany)
Taramalı elektron mikroskobu	SEM, TESCAN GAIA 3, (Brno – Kohoutovice, Czech Republic)
Santrifüj cihazı	Nüve NF-200 (Ankara, Turkey)
Otomatik mikro pipetler ve uygun pipet uçları	Eppendorf AG (Almanya)/ ISOLAB Laborgeräte GmbH (Eschau,Almanya)
Etüv	Nüve EN120
0,22 µm steril Millipore membrane filtre	İsolab
X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS)	PHI 5000 VersaProbe XPS analizörü

2.3. Tez Çalışmasında Kullanılan Elektrokimyasal Cihazlar ve Bileşenler

Tez çalışması boyunca kullanılan elektrokimyasal cihazlar ve bileşenleri Çizelge 2.3'de verilmiştir.

Çizelge 2.3. Tez çalışması sürecinde kullanılan elektrokimyasal cihazlar ve bileşenleri

Elektrotlar	**Marka / Model**
Potansiyostat/Galvanostat	Metrohm Autolab PGSTAT101
Üç elektrotlu voltametrik deney hücresi	BASi® MR-1208
Kahverengi yumuşak yüzeyli parlatma pedleri	BASi® MF-2060
Çalışma elektrodu (Camsı karbon elektrot, 3 mm çap)	BASi® MF-2012
Referans elektrodu (3 M NaCl, Ag/AgCl)	BASi® MF-2052
Yardımcı elektrot (Platin tel, 7,5 cm)	BASi® MW-1032
Cam hücre	BASi® - MR 1208

2.4. Tez Çalışmasında Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

Tez çalışması kapsamında hazılanan bütün stok çözeltiler +4 °C buzdolabında saklandı.

2.4.1. Antibiyotik İlaç Etken Maddelerinin Hazırlanması

Tez kapsamında antibiyotik etken maddeleri LIN, ROK ve SPR ana stok konsantrasyonu 1,0 mM olacak şekilde hazırlandı. ROK ve SPR etken maddeleri metanolda çözünmektedir. LIN ise suda çözünmektedir. ROK ve SPR ilaç etken maddeleri hesaplanan miktarda hassas terazi yardımıyla tartıldı, 10 mL'lik balon jojeye aktaıldı ve metanol ile tamamlanarak hazırlandı. LIN ilaç etken maddesi ise uygun miktarda tartıldı ve üzerine 10 mL'lik ultra saf su ilave edilerek hazırlandı. +4 °C derece buzdolabında saklanan stok çözelti kullanılmadan önce çıkartılıp çalışılacak ortam sıcaklığına gelmesi beklendi.

2.4.2. Destek Elektrolit Çözeltisinin Hazırlanması

Tez kapsamında elektrokimyasal analizlerde, elektropolimerizasyonla tasarlanan sensörlerde hem camsı karbon elektrot yüzeyine sensörün tasarımı hemde hedef molekülün elektrot yüzeyinde uzaklaştırılmasında destek elektrolit çözeltisi kullanılarak yapıldı. pH 7,4 fosfat tamponu (FT) hazırlamak için istenilen miktarlarda tartıldı ve ultra saf su da çözüldü. Destek elektrolit çözeltisi hazırlandıktan sonra pH metre yardımıyla pH'ı ölçüldü. +4 °C derece buzdolabında saklanan destek elektrolit çözeltisi kullanılmadan önce çıkartılıp çalışılacak ortam sıcaklığına gelmesi beklendi.

2.4.3. Süt ve Meyve Suyu Numunelerinin Hazırlanması

Süt numuneleri literatürdeki prosedürlere göre hazırlandı ve analiz edildi. Süt örneği hazırlama prosedürü; 2 mL süt örneğine 0,5 mL kloroform ($CHCl_3$) (yağ giderme), 1 mL trikloroasetik asit (TCA) (%1) (deproteinizasyon) ve 1 mL ilaç etken maddesi (1,0 mM) eklendi. Hazırlanan süt örnekleri 10 dakika ultrasonik banyoda tutuldu ve ardından 13000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Daha sonra süt örneğindeki berrak sıvı bir şırınga yardımıyla alındı ve 0,22 µm steril Millipore membran kullanılarak filtrelendi.

Elma suyu ve portakal suyu örneklerinin hazırlanmasında herhangi bir ön işlem uygulanmadan 0,22 µm steril Millipore membran kullanılarak filtre edildi. Elde edilen berrak sıvıdan 1,8 mL meyve suyu alınarak üzerine 0,2 mL ilaç etken maddesi (1,0 mM) solüsyonu eklendi ve hazırlanan solüsyon 10000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Son olarak işlem sonunda örnek üzerinde kalan berrak sıvı şırınga ile alınarak tekrar 0,22 µm steril Millipore membran kullanılarak filtre edildi.

Geliştirilen sensörler için elde edilen kalibrasyon denklemine ait veriler kullanılarak geri kazanım çalışmaları gerçekleştirildi. Geri kazanım sonuçları, bilinen bir derişimde süt, portakal suyu ve elma suyu numunelerine saf antibiyotik ilaç etken çözeltisi eklenerek hesaplandı ve her derişim için yüzde bağıl standart sapma (% BSS) değerleri bulundu.

2.4.4. Potasyum Ferrisiyanür/Ferrosiyanür Çözeltisinin Hazırlanması

Tez kapsamında yapılan elektrokimyasal ölçümler redoks probu olarak 5,0 mM potasyum ferrisiyanür/ferrosiyanür ($[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$) çözeltisi içerisinde yapılmıştır. Bu redoks prob çözeltisinin hazırlanması için 0,1 M KCl içinde ayrı ayrı hazırlanan 10 mM'lık potasyum ferrisiyanür ve potasyum ferrosiyanür çözeltileri belirlenen miktarlarda alınarak karıştırıldı.

2.4.5. Girişim Çalışmalarında Kullanılan Çözeltilerinin Hazırlanması

Girişim çalışmalarında süt, portakal suyu ve meyve suyu numunelerinde yaygın olarak bulunan bileşiklerden KNO_3, $MgCI_2$, glikoz (GLU), laktoz (LAK), L-sukroz (L-SUK), L-fruktoz (L-FRU), kreatin (KRE) ve askorbik asit (AA) 10 mM'lık stok çözeltileri ultra saf su ile hazırlandı. Tasarlanan MIP tabanlı elektrokimyasal sensörlere bu girişim ajanların ettkisi olup olmadığı detaylı şekilde incelenmiştir.

2.4.6. Geliştirilen MIP Tabanlı Elektrokimyasal Sensörlerin Karakterizasyonları

Tez çalışmasında LIN, ROK ve SPR için geliştirilen MIP tabanlı elektrokimyasal sensörlerin karakterizasyonları için hem elektrokimyasal hemde yüzey karakterizasyonları yapıldı. Elektrokimyasal karakterizasyonlar, DV ve EIS teknikler ile gerçekleştirilirken, yüzey karakterizasyonu ise taramalı elektron mikroskopisi (SEM) ve X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) kullanılarak gerçekleştirildi.

2.5. Tez Çalışmasında Kullanılan Voltametrik Yöntemler

2.5.1. Dönüşümlü Voltametri (DV)

Tez kapsamında yapılan çalışmalarda antibiyotik ilaç etken maddelerin analiz edilmesine yönelik yapılan çalışmalarda tasarlanan sensör yüzeyi çalışma elektrotu olarak camsı karbon elektrot (CKE) kullanılarak yapılmıştır. Polimerizasyon aşamasında yapılan elektropolimerizasyon işlemi MIP ve NIP için elektrodun hazırlanmasında -0,2 ile 1,6 V arasında 100 mV/s'lik bir tarama hızında belirli sayıda döngü ile gerçekleştirilmiştir. Yapılan polimerizasyon işleminde MIP ve NIP elektrotların hazırlanma aşamaları aynı yöntemle yapıldı, sadece elektrotlar hazırlanırken NIP yönteminde hedef molekül eklenmemektedir. DV yöntemi ayrıca LIN, ROK, ve SPR için geliştirilen sensörlerin hazırlama aşamalarında karşılaştırma ve elektrokimyasal karakterizasyon için de kullanılmıştır.

2.5.2. Diferansiyel Puls Voltametri (DPV)

LIN, ROK ve SPR için tasarlanan MIP tabanlı elektrokimyasal sensörlerin analitik performanslarının değerlendirilmesi için 5,0 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ ölçüm çözeltisi içerisinde DPV yöntemi kullanılarak deneyler yapılmıştır.

2.5.3. Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi (EIS)

LIN için tasarlanan MIP tabanlı elektrokimyasal sensörün analitik performansını değerlendirmek için EIS yöntemi kullanılmıştır. Ayrıca, tasarlanan MIP tabanlı elektrokimyasal sensörlerin elektrokimyasal karakterizasyonu için EIS yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Deney sürecinde ölçüm çözeltisi olarak redoks probu 5,0 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ çözeltisi kullanılmıştır.

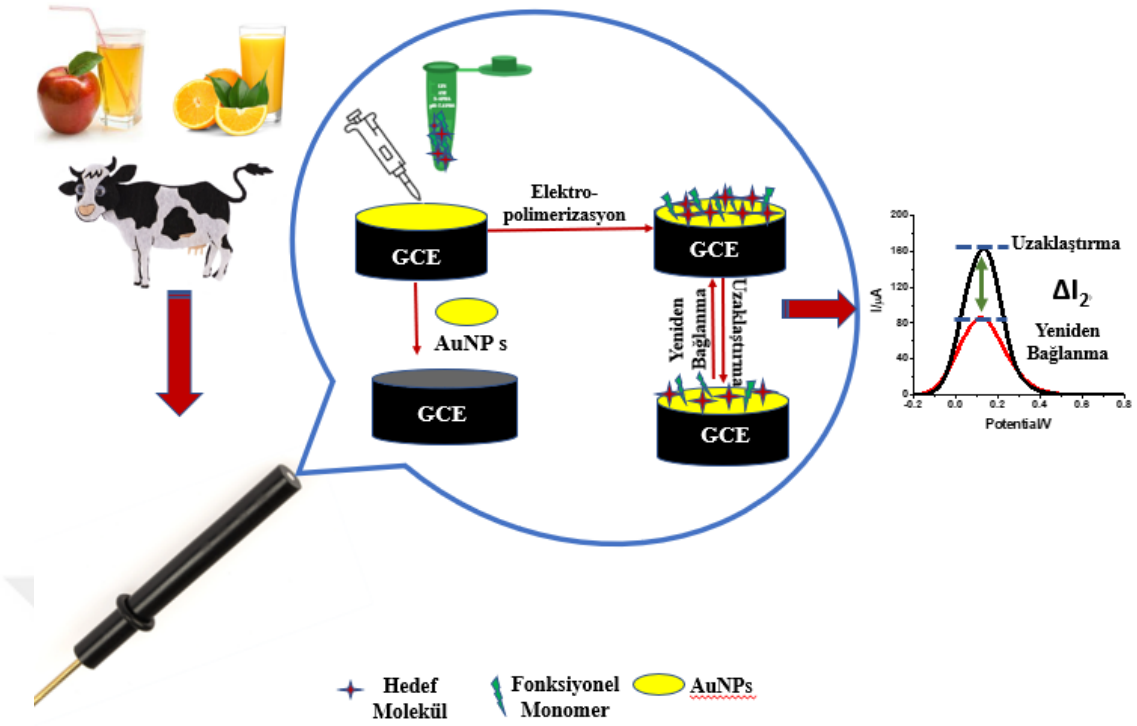
2.6. Tez Çalışmasında Kullanılan MIP Tabanlı Elektrokimyasal Sensörlerin Hazırlanması

LIN, ROK ve SPR için hazırlanan MIP tabanlı elektrokimyasal sensörlerinin hazırlanma koşulları aşağıda detaylı olarak anlatılmıştır.

2.6.1. Linkomisin Analizi İçin LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE Hazırlanması

Çalışma elektrodu olarak kullanılan CKE, EP işlemine başlamadan önce ön işleme tabi tutuldu. CKE önce 1:1 (h:h) metanol:saf su oranında 10 dakika boyunca sonikasyona tabi tutuldu. Daha sonra elektrot, bir alümina çözeltisiyle parlatıldı.

Polimerizasyon için önce elektrot yüzeyine 5 µL AuNP damlatıldı ve oda sıcaklığında kurutuldu. EP çözeltisi, pH 7,4 fosfat tampon (FT) çözeltisine ANI (0,1 M), LIN (1,0 mM) ve 3-APBA (1,0 mM) eklenerek hazırlandı. Polimerizasyon, AuNP kaplı CKE'nin hazırlanan EP çözeltisine daldırılmasıyla gerçekleştirildi. EP işlemi, DPV ölçümleri için 5 tarama DV'si ve EIS ölçümleri için 100 mV/s'de (tarama hızı) -0,2 V ile 1,6 V arasında 7 tarama DV'si ile gerçekleştirildi. Polimerizasyon işleminden sonra, elektrot yüzeyi saf su ile yıkandı ve hedef molekül, termal çalkalayıcı (Thermo-shaker (650 rpm, 25 °C)) kullanılarak 5 dakika/10 M HAc uzaklaştırma çözeltisinde polimerik yapıdan uzaklaştırıldı. Son olarak, uzaklaştırma işleminden sonra, yeniden bağlama işlemi, bilinen konsantrasyonda LIN çözeltisi ile 15 dakika boyunca bir termal çalkalayıcı (Thermo-shaker (250 rpm, 25 °C)) ile gerçekleştirildi (Şekil 2.1).

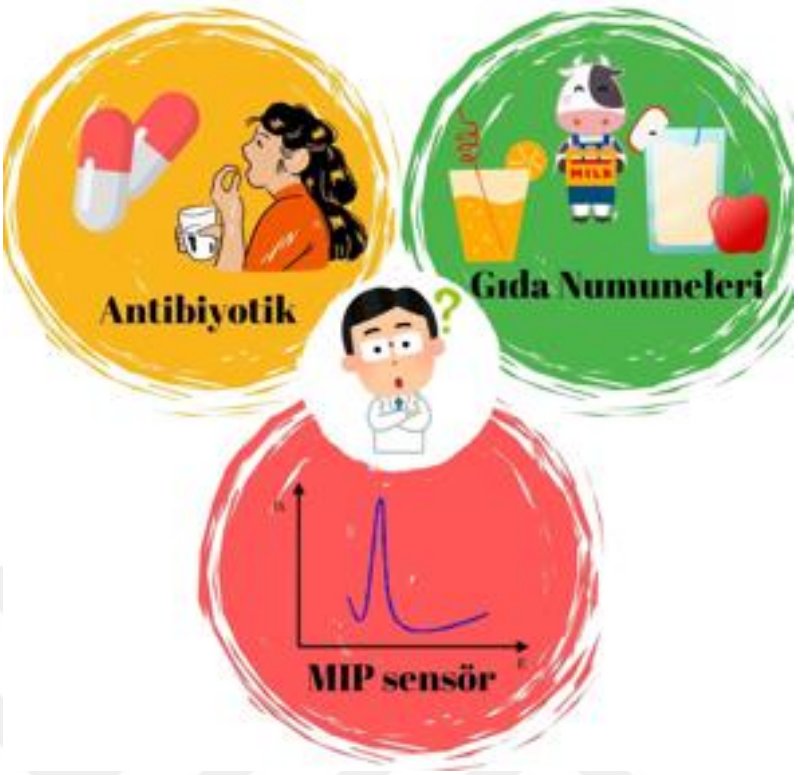


Şekil 2.1. LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE sensörünün hazırlanış şeması

2.6.2. Roksitromisin Analizi İçin ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE Hazırlanması

Deneyde kullanılan çalışma elektrodu CKE, sensör tasarımına başlamadan önce 1:1 (h:h) metanol:saf su oranında 10 dakika boyunca sonikasyona tabi tutuldu. Daha sonra CKE, bir alümina çözeltisi ile parlatıldı ve kurutuldu.

Roksitromisin ilaç etken maddesinin analizi için geliştirilen sensörün hazırlanması; 5 µL TiO_2NP, CKE yüzeyine damlatıldı ve 60 °C'de 20 dakika kurutuldu. Sensör tasarımında kullanılan EP çözeltisi, pH 7,4 FT çözeltisi içerisine ALG (%1), CHIT (%1) ve ROK (1,0 mM) eklenerek hazırlandı. Polimerizasyon işlemi, TiO_2NP kaplı CKE'nin EP çözeltisine daldırılmasıyla gerçekleştirildi. EP işlemi, 100 mV/s'de (tarama hızı) -0,2 V ile 1,6 V arasında 30 tarama DV'si ile DV yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. Daha sonra, EP ölçümünden sonra, polimerik yapı CTAB+HAc uzaklaştırma çözeltisi içerisinde 10 dakika boyunca termal çalkalayıcı (650 rpm, 25 °C) cihazı kullanılarak uzaklaştırıldı. Son adım olan yeniden bağlama adımı, bilinen konsatrasyonda ROK çözeltisi kullanılarak 15 dakika boyunca termal çalkalayıcı (Thermo-shaker (250 rpm, 25 °C)) ile gerçekleştirildi (Şekil 2.2).

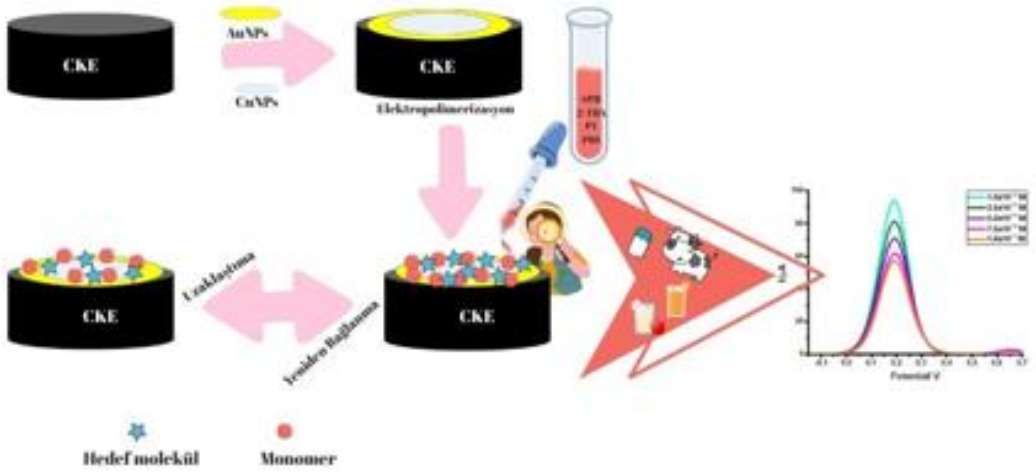


Şekil 2.2. ROX/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sensörünün uygulanması

2.6.3. Spiramisin Analizi İçin SPR/AuNP+CuNP/PRL/@MIP/CKE Hazırlanması

EP'ye başlamadan önce çalışma elektrodu olarak kullanılan CKE'ye ön işlem uygulandı. CKE önce 1:1 (h:h) metanol:saf su oranında 10 dakika boyunca sonikasyona tabi tutuldu. Daha sonra çalışma elektrodu, bir alümina çözeltisiyle parlatıldı ve kurutuldu.

SPR ilaç etken maddesinin kantitatif analizi için geliştirilen sensörün hazırlanmasında ilk önce 1:1 oranında AuNP ile CuNP karıştırılarak CKE yüzeyine 0,75 µL damlatıldı ve oda sıcaklığında kurutuldu. Sensör tasarımında kullanılan EP çözeltisi, pH 7,4 FT çözeltisi içerisine 2-TBA (1,0 mM), pirol (PRL) (1,0 mM) ve SPR (1,0 mM) eklenerek hazırlandı. Polimerizasyon işlemi, AuNP+CuNP kaplı CKE'nin EP çözeltisine daldırılmasıyla gerçekleştirildi. EP işlemi, 100 mV/s'de (tarama hızı) -0,2 V ile 1,6 V arasında 3 tarama DV'si ile DV yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. EP ölçümünden sonra, polimerik yapı pH 7,0 FT çözeltisi kullanılarak uzaklaştırıldı. Uzaklaştırma işlemi 100 mV/s'de (tarama hızı) -0,2 V ile 1,6 V arasında 15 döngü ile DV yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. Sensör tasarımındaki son adım olan yeniden bağlama işlemi, bilinen konsantrasyonda SPR çözeltisine daldırılarak 10 dakika boyunca termal çalkalayıcı (Thermo-shaker (250 rpm, 25 °C)) ile gerçekleştirildi (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. SPR/AuNP+CuNP/PRL/@MIP/CKE sensörünün tasarımı

3. BULGULAR

3.1. Linkomisin Etken Maddesine Ait Bulgular

3.1.1. Polimerik Filmlerin Karakterizasyonu

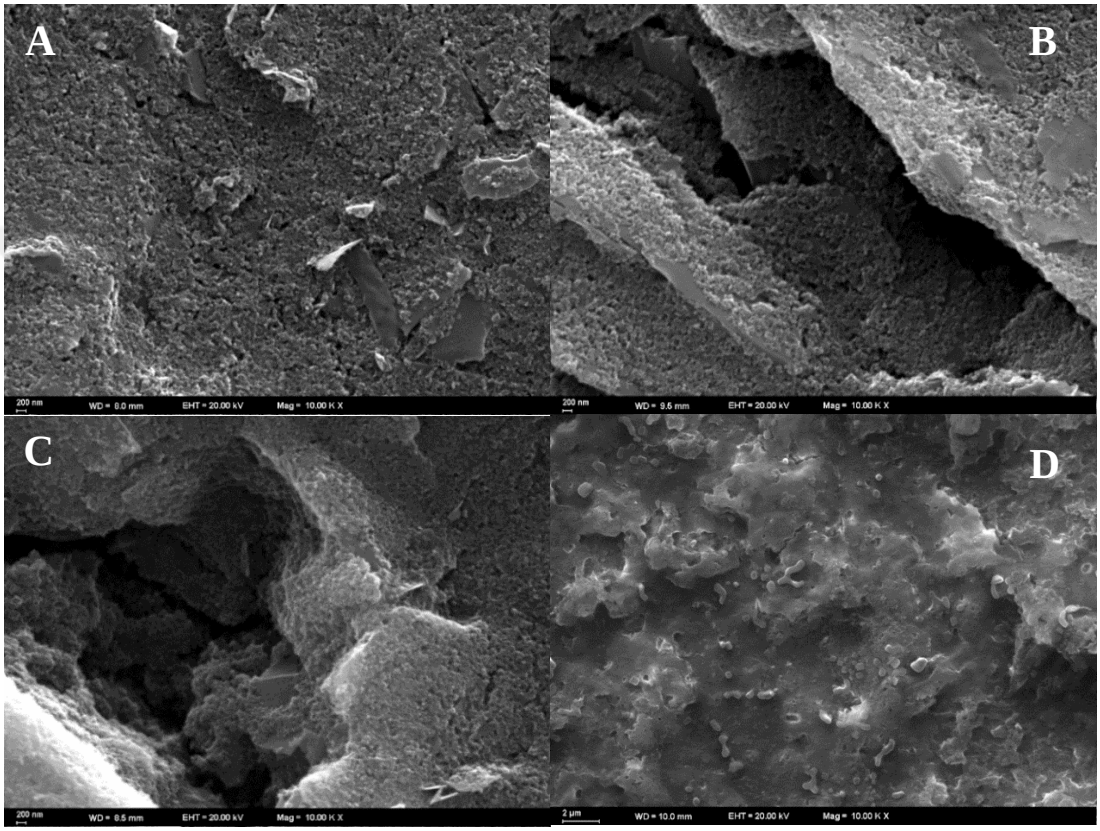
3.1.1.1. Geliştirilen Sensörün Yüzey Karakterizasyonu

LIN'nin seçici ve hassas tayini için geliştirilen LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE sensörünün yüzey özelliklerinin morfolojik analizi ilk olarak SEM teknolojisi görüntüleri kullanılarak gerçekleştirildi. Bu elektrokimyasal sensörünün 10,00 KX ölçeğinde SEM ile belirlenen yüzey morfolojisi Şekil 3.1'de gösterilmektedir. SEM görüntüleri sensör yüzeyinin morfolojisini ayrıntılı olarak incelemek için kullanıldı ve MIP ile NIP yüzeyleri arasındaki ayrımlar detaylı olarak tartışıldı. SEM görüntülerine göre LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE sensörlerinin MIP ve NIP versiyonlarının topografileri farklıydı. Hedef molekülün çıkarma prosedürü hedef moleküle belirli üç boyutlu fiziksel ve kimyasal bağlanmalar için gözenekli dokular oluşturduğundan, MIP yüzeyinin pürüzlü görünmesi beklenmektedir (Şekil 3.1A).

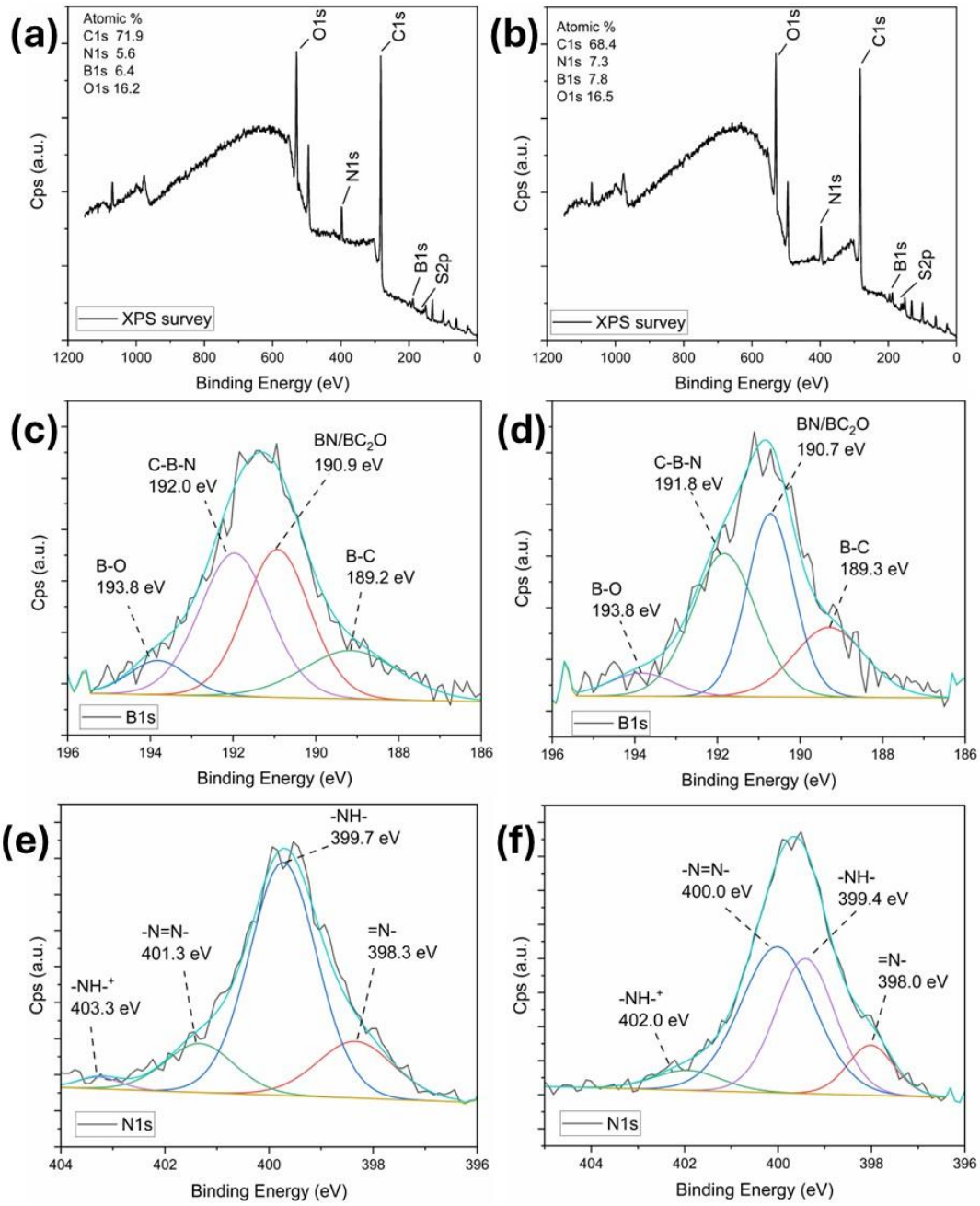
Ayrıca, MIP'lerin bağlanma kapasitesi büyük ölçüde pürüzlü ve gözenekli yapılarından etkilenir. Şablon molekülü olmadan, polimer gözenekli bir yapıya sahip değildir ve bu da Şekil 3.1D'deki yüzeyin SEM görüntülerinde görüldüğü gibi NIP tabanlı yüzeye pürüzsüz bir yapı oluşturmaktadır. NIP'lerin yüzeyi, MIP'lerde oluşturulan benzersiz bağlanma yerlerinin aksine her zaman pürüzsüzdür ve gözeneklerden arındırılmıştır. Bulgular, sensör yüzeylerinin MIP ve NIP için öngörülen morfolojik özellikleri gösterdiğini doğruladı.

Ek olarak, elementlerin bağlanma durumlarını ortaya çıkarmak ve MIP'lerin yüzey element bileşimlerini belirlemek için XPS analiziyle yüzey karakterizasyonu gerçekleştirildi. Şekil 3.2a ve Şekil 3.2b'deki XPS araştırmaları, MIP katmanlarında C, O, B, N ve S elementlerinin varlığını gösterdi. Sonuçlardaki S atomlarının varlığının şablonla ilişkili olduğu ve çok zayıf yoğunluklu bir tepe noktasına sahip olması nedeniyle S'nin atomik konsantrasyonunun hesaplanamadığı bulunmuştur. 3-aminofenil borik asit, polimerizasyon sürecindeki tek B kaynağı olduğundan, sonuçlar 3-aminofenil borik asit monomerinin nihai polimer yapısına başarılı bir şekilde dahil edildiğini doğruladı. Dahası, daha uzun

elektrokaplama süresi, B ve N elementlerinin atom oranlarını artırarak elektrot yüzeyinde daha fazla ANI ve 3-APBA birikimini doğruladı. B ve N elementlerinin bağlanma durumları, B1s ve N1s XPS tepelerinin çözülmesiyle açıklandı. B1s tepeleri B-C, BN/BC2O, C-B-N ve B-O bağlarının varlığını gösterdi (Şekil 3.2(c-d)) [1-3]. =N-, -NH-, -N=N ve -NH-+ kısımları N1s tepelerinin dekonvolüsyonuyla gözlemlendi (George vd., 2024; Kim vd., 2017; Thiruppathi vd., 2024).



Şekil 3.1. Elektrot yüzeyinin karakterizasyonu. A) LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE (hedef molekül uzaklaştırılmadan önce), B) LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE (hedef molekül uzaklaştırıldıktan sonra), C) LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE (hedef molekül yeniden bağlandıktan sonra) ve D) LIN/AuNP/ANI@3-APBA/NIP/CKE yüzeylerinin SEM görüntüleri



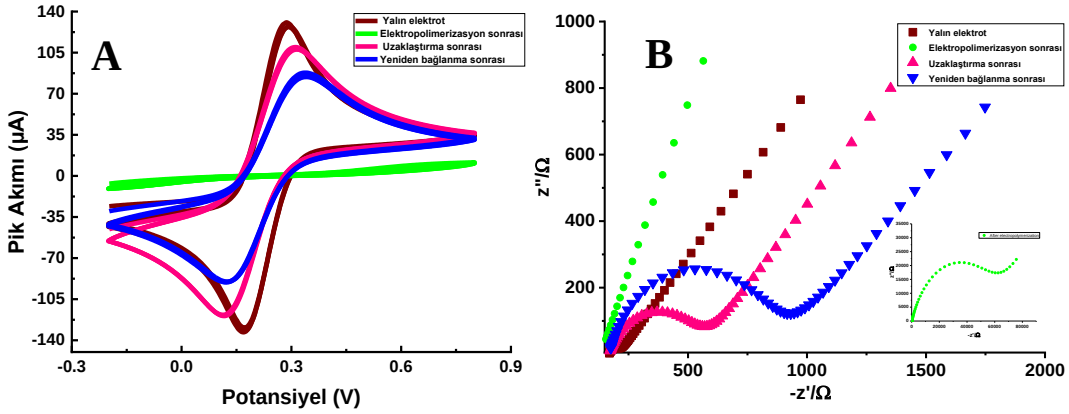
Şekil 3.2. LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/GCE'nin XPS sonuçları (a-c-d) XPS araştırması, MIP'lerin B1s ve N1s piklerinin sırasıyla 50 döngüden sonra, (b-d-f) XPS araştırması, MIP'lerin B1s ve N1s piklerinin sırasıyla 80 döngüden sonra

3.1.1.2. Geliştirilen Sensörün Elektrokimyasal Karakterizasyonu

LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE sensörünün elektrokimyasal karakterizasyonu elektrokimyasal yöntemler kullanılarak gerçekleştirildi. DV ve EIS ölçümleri sensör yalın elektrot halinde, EP'den sonra, hedef molekül uzaklaştırıldıktan sonra ve daha sonra 5,0 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ redoks prob çözeltisi kullanılarak analit bağlandıktan sonra olmak üzere farklı

adımlarda gerçekleştirildi. Şekil 3.3A, anodik ve katodik tepe yüksekliklerinin her modifikasyon aşamasında değiştiğini göstermektedir. Elektron taşınımını engelleyen hiçbir faktör olmadığından yalın CKE yüzeyi en yüksek tepe akımlarını göstermiştir (kahverengi çizgi). Görüldüğü gibi, redoks probunun anodik ve katodik tepe akımı değerleri EP işlemi boyunca önemli ölçüde düşmüştür ve bu da baskının elektron taşınım sınırlamaları nedeniyle başarılı olduğunu göstermektedir (yeşil çizgi). LIN molekülünün polimerik yapıdan uzaklaştırılması, elektron geçişine izin veren belirli boşluklar üretmiş ve bu da polimerize edilmiş sensöre kıyasla redoks tepe akımı değerinde (pembe çizgi) belirgin bir artışa yol açmıştır. Belirli bir miktarda analit bağlanmasından sonra, tepe akım değeri düştü. Konsantrasyonlarına bağlı olarak, LIN molekülleri MIP sensöründeki belirli boşlukları tekrar işgal ederek elektron iletimini belirli bir dereceye kadar engeller (mavi çizgi).

EIS, film oluşumunun daha kapsamlı bir incelemesini sunan bir diğer önemli elektroanalitik yöntemdir. Nyquist grafiklerinde gösterilen spektrumlar, bir elektrot-çözelti arayüzü yük transfer direncini (Rct) hesaplamak için kullanıldı (Şekil 3.3B). EIS verilerine göre, en düşük Rct değeri (330,8 Ω) çıplak CKE yüzeyinde bulunurken, en yüksek Rct değeri (89306 Ω) polimerizasyonun ardından bulundu. LIN moleküllerinin çıkarılması, MIP arayüzünde deliklerin oluşmasına neden olarak elektron taşınmasını artırır ve Rct değerini (925,1 Ω) azaltır. Ancak, LIN'in analit bağlanması, Rct değerinin yükselmesine neden olur (1301,5 Ω). Bu durum, LIN'in belirli delikleri işgal ederek elektron geçişini engellemesi ve bunun da direnci artırmasıyla açıklanabilir (Şekil 3.3B).

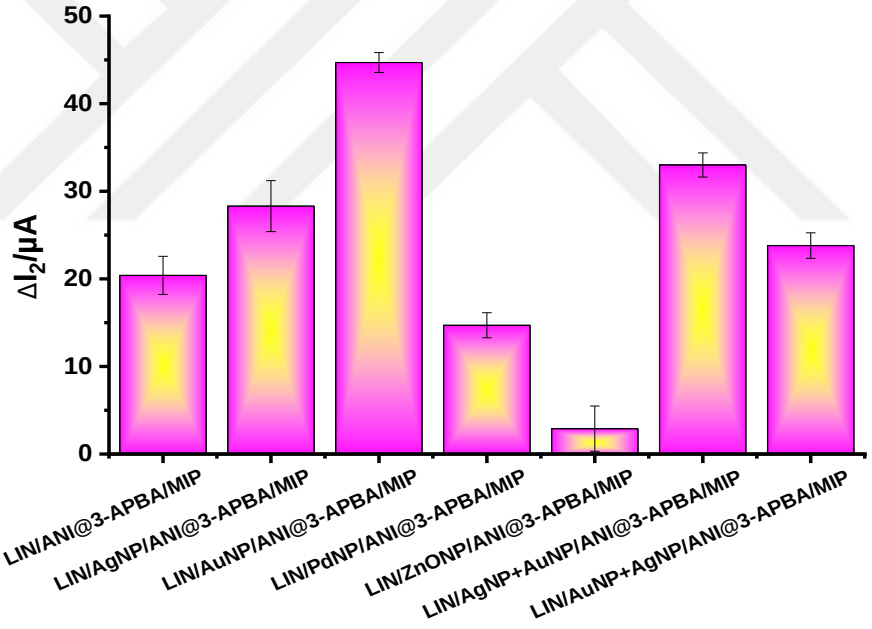


Şekil 3.3. LIN için tasarlanan LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE sensörünün her adımında (A) DV ve (B) EIS ölçümleri. Ölçümler 5,0 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ çözeltisinde gerçekleştirildi ve referans elektrot olarak Ag/AgCl kullanıldı (DV koşulları: potansiyel tarama aralığı: − 0,2 V ila +0,8 V, tarama hızı: 0,05 V/s, adım potansiyeli: 0,01 V; EIS için: minimum frekans: 0,1 Hz, maksimum frekans: 100.000 Hz, Eac: 0,01 V)

3.1.2. Deneysel Parametrelerin Optimizasyonu

3.1.2.1. Metal ve Metal Oksit Nanopartiküllerinin Etkisi

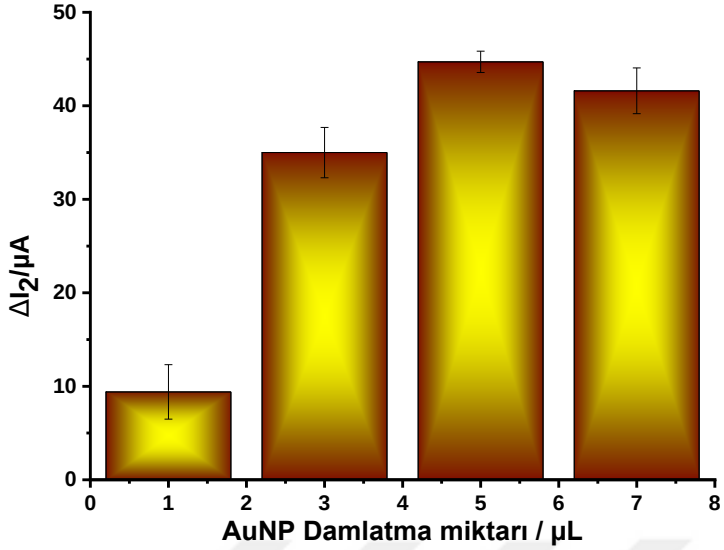
LIN'in seçici ve hassas tayini için tasarlanan MIP elektrokimyasal sensörün optimum parametreleri adım adım belirlendi. Sensörün iletkenliğini ve elektron taşınmasını artırmak için çeşitli nanopartiküller kullanıldı ve en uygun nanopartikül seçildi. Bu nanopartiküller çinko oksit nanopartiküller (ZnONP), altın nanopartiküller (AuNP), gümüş nanopartiküller (AuNP), paladyum nanopartiküller (PdNP) ve AuNP ve AgNP'in karışımlarıydı. Deneysel sonuçlara göre en uygun nanopartikül bulundu ve en uygun nanopartikül AuNP olarak seçildi (Şekil 3.4). Deneysel sonuçlar şablon uzaklaştırma ve analit bağlamada elde edilen akım değerleri (ΔI_2) arasındaki farkın hesaplanmasıyla bulundu.



Şekil 3.4. MIP tabanlı sensörün hazırlanmasında kullanılan farklı nanomalzemelere göre ΔI_2 değerleri

3.1.2.2. AuNP Damlatma Miktarı

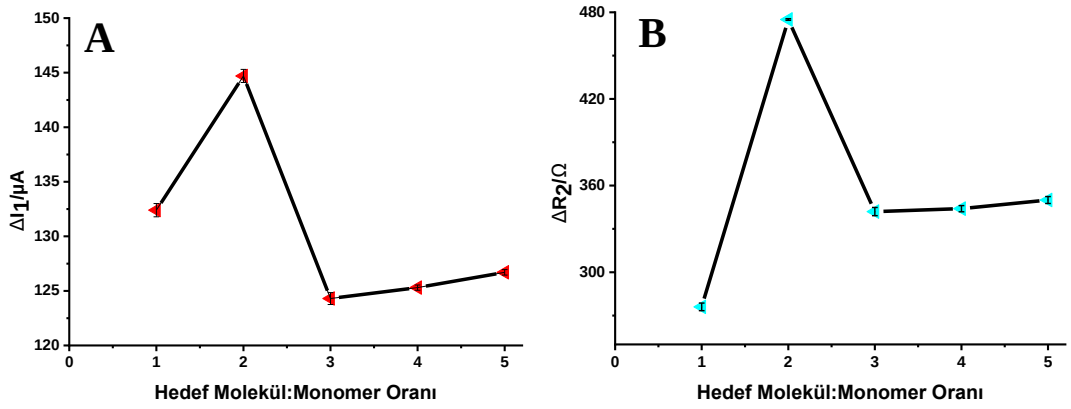
LIN için tasarlanan sensör LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE, AuNP'nin damlatma hacminin LIN'in ΔI_2'i üzerindeki etkisini değerlendirdi. Bu nedenle, AuNP 1, 3, 5 ve 7 µL olarak damlatıldı ve elde edilen sonuçlar incelendiğinde AuNP için optimum damlatma miktarı 5 µL olduğu bulundu (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. AuNP damlatma miktarı

3.1.2.3. Monomer/Hedef Molekül Oranı

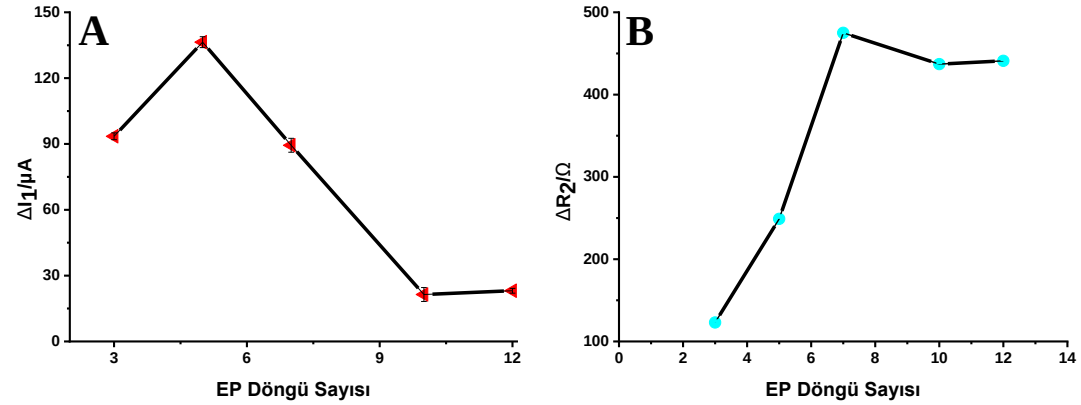
Tasarlanan nanopartikül katkılı MIP sensöründe en temel adım, fonksiyonel monomer ile hedef molekül arasında en uygun oranı seçmektir. Bu adım, analiz edilecek hedef molekül için hayati öneme sahiptir. Etkili bir MIP sensörü ve fonksiyonel monomer ile hedef molekül arasındaki polimerik etkileşimin geliştirilmesi, polimerik yapının diğer bileşenler aracılığıyla oluşturulmasında en etkili adımdır. Monomer oranı idealden düşükse, beklenen benzersiz boşluklar ve gözenekli yapılar elde edilemez. Ayrıca, monomer oranı idealden yüksek olduğunda, polimerik yapı rastgele oluşabilir ve gözenekli yapı tam olarak oluşturulamaz. Bu nedenle, hedef molekül ile fonksiyonel monomer arasında farklı oranlar (1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5) kullanılarak optimize edildi (Şekil 3.6A ve Şekil 3.6B). Her iki tasarlanan yöntem için de optimizasyon gerçekleştirildi. Sonuçlar incelendiğinde her iki yöntem (DPV ve EIS) için en kararlı ve tekrarlanabilir sonuçları veren monomer/ hedef molekül oranının 1:2 olduğu görüldü.



Şekil 3.6. Monomer/Hedef molekül oranının değerleri A) ΔI_1 (DPV) ve B) ΔR_2 (EIS)

3.1.2.4. EP Döngü Sayısı

Tasarlanan sensör için kararlı ve ince bir polimerik film yapısı oluşturmada EP taraması önemlidir. En uygun nanopartikül ve monomer oranı belirlendikten sonra, farklı döngü sayılarında (3, 5, 7, 10 ve 12) kullanılarak DV yöntemi ile EP taraması gerçekleştirildi. Değerlendirme, her iki yöntem için (DPV, EIS) tepe akımlarındaki değişikliklere göre yapıldı. EP taramasının DPV (Şekil 3.7A) ve EIS yöntemi (Şekil 3.7B) için sırasıyla 5 ve 7 döngü sayısı daha uygun olduğu bulundu.

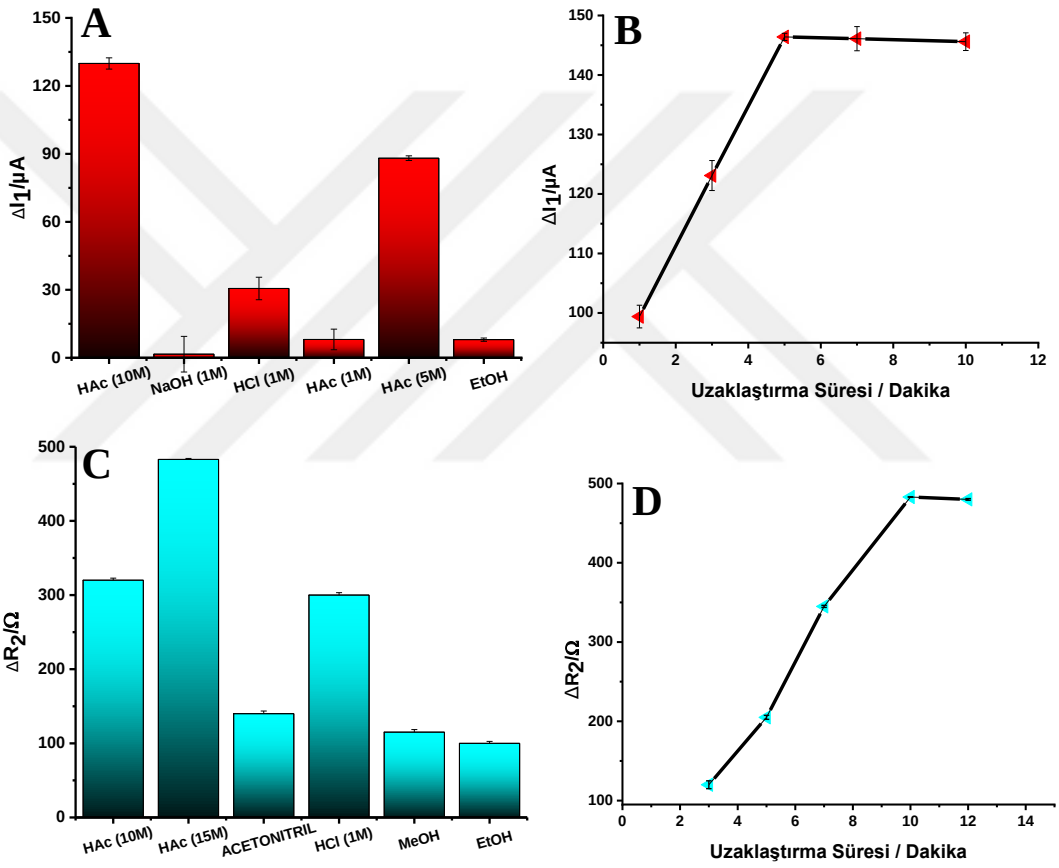


Şekil 3.7. EP döngü sayısının değerleri A) ΔI_1 (DPV) ve B) ΔR_2 (EIS)

3.1.2.5. Hedef Molekülün Uzaklaştırma Çözeltileri ve Uzaklaştırma Süresi

Hedef molekülü polimerik yapıdan düzgün bir şekilde uzaklaştırmak için uzaklaştırma çözeltisi ve süresi optimize edilmelidir. Öncelikle uzaklaştırma çözeltisi optimize edildi. Bu işlemde polimerik yapıya zarar vermeden farklı çözeltiler kullanıldı. Bu çözeltiler asidik olup

1, 5 ve 10 M HAc, 1 M NaoH, 1 M HCl, EtOH, MeOH ve ACN'yi içerir. En etkili uzaklaştırma için LIN molekülleri belirli çözeltilere daldırıldı ve tepe akımı üzerindeki etkiyi gözlemlemek için belirli bir süre Termal çalkalayıcıda (25 ^{o}C, 650 rpm) bırakıldı. Şekil 3.8A ve Şekil 3.8B, en uygun uzaklaştırma çözeltisinin 10 M HAc olduğunu gösterdi. Daha sonra, uzaklaştırma süresi optimizasyonu için Termal çalkalayıcı (25 ^{o}C, 650 rpm) yardımıyla 10 M HAc'de 1, 3, 5, 7 ve 10 dakika gerçekleştirildi. ΔI_1 ve ΔR_2 akım değerleri üzerindeki etki incelendiğinde, DPV için optimum ekstraksiyon sürelerinin 5 dakika, EIS için ise 7 dakika olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.8).

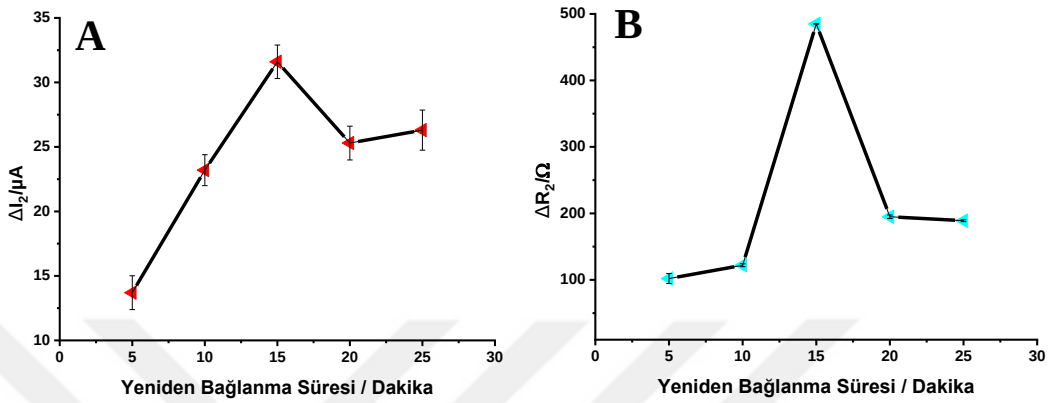


Şekil 3.8. ΔI_1 (DPV) değerleri; A) uzaklaştırma çözeltisi, B) uzaklaştırma süresi; ΔR_2 (EIS) değerleri; C) uzaklaştırma çözeltisi, D) uzaklaştırma süresi

3.1.2.6. Hedef Molekülün Yeniden Bağlanma Süresi

Sensör geliştirmede optimizasyon parametrelerinin son aşaması olan yeniden bağlanma işlemi analiz süresini ve performansını belirleyen önemli bir parametredir. LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE sensörünün uzaklaştırma aşamasından sonra bilinen bir konsantrasyona ($1x10^{-10}$ M LIN) daldırılması ve bir Termal çalkalayıcı (25 ^{o}C, 250 rpm)

kullanılmasıyla gerçekleştirildi. Uzaklaştırma ve yeniden bağlama arasındaki akım farkı ΔI_2 ve ΔR_2 olarak bulundu. ΔI_2 ve ΔR_2 değerleri üzerindeki etkiler, analit bağlanma süresi için 5, 10, 15, 20 ve 25 dakika kullanılarak değerlendirildi ve optimum analit bağlanma süresi DPV ve EIS yöntemleri için 15 dakika olarak belirlendi (Şekil 3.9A ve Şekil 3.9B).



Şekil 3.9. Yeniden bağlanma süresinin değerleri A) ΔI_1 (DPV) ve B) ΔR_2 (EIS)

3.1.3. LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE Sensörünün Analitik Performansının Değerlendirilmesi

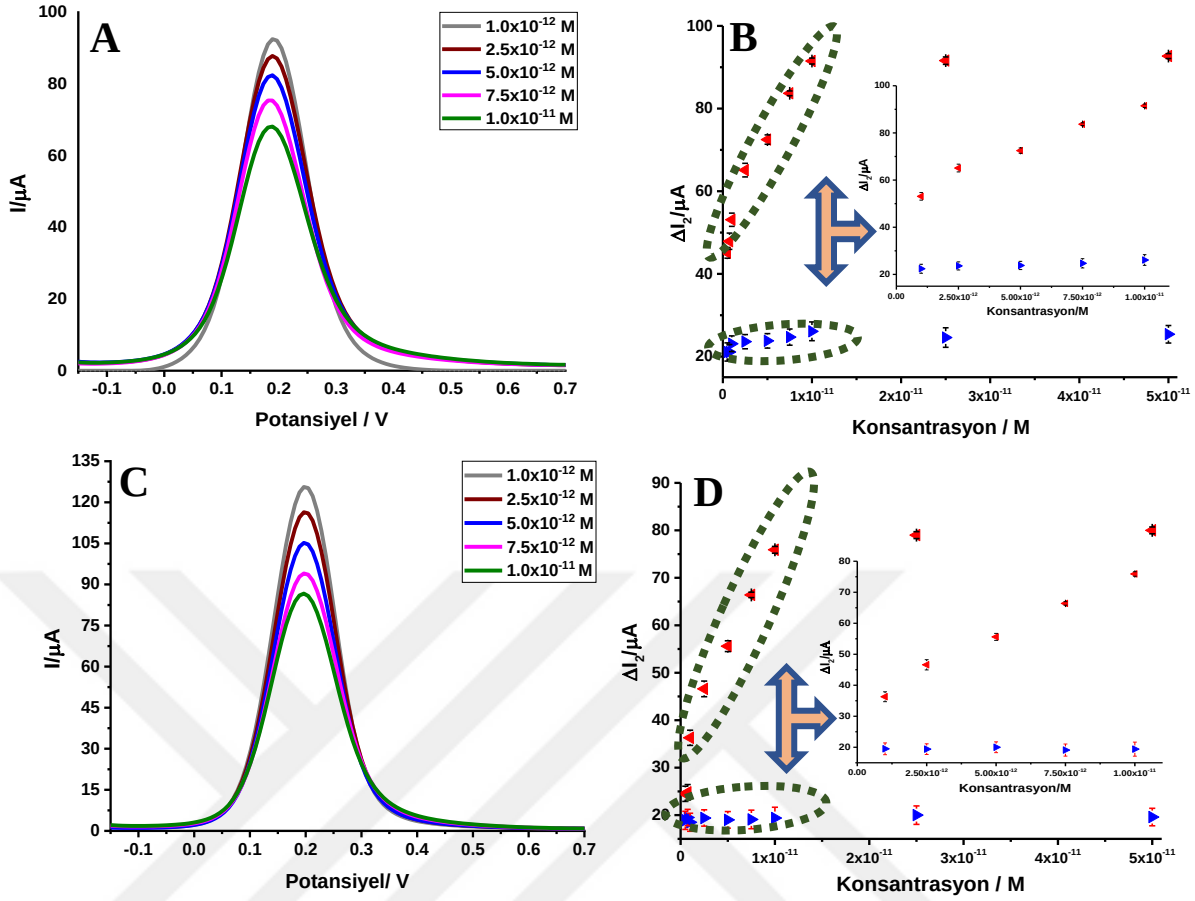
LIN için tasarlanan MIP tabanlı elektrokimyasal sensör için DPV ve EIS teknikleri LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE sensörünün analitik performansını değerlendirmek için kullanıldı. DPV ve EIS için doğrusal dinamik kalibrasyon aralığı $1x10^{-12}$ M ve $1x10^{-11}$ M olarak bulundu. Şekil 3.10A ve Şekil 3.11A, Nyquist grafiğini ve DPV voltamogramını göstermektedir ve kalibrasyon aralığında artan konsantrasyonla birlikte tepe akım değerinde bir artış elde edildi. Ayrıca, hedef molekülün yokluğunda belirli boşluklar olmadan NIP kullanılarak ölçüldüğünde artan konsantrasyonla doğrusallık elde edilmedi. Bu, tasarlanan sensörlerin LIN için doğru ve güvenilir olduğunu kanıtladı. Dahası, elde edilen kalibrasyon aralığında DPV ve EIS için regresyon denklemleri aşağıda verilmiştir:

$$\Delta Ip_2\ (\mu A) = 3{,}99x10^{12}\ (\mu A/M)\ x\ C(M) + 52{,}82\ (r= 0{,}998)\ (DPV)$$

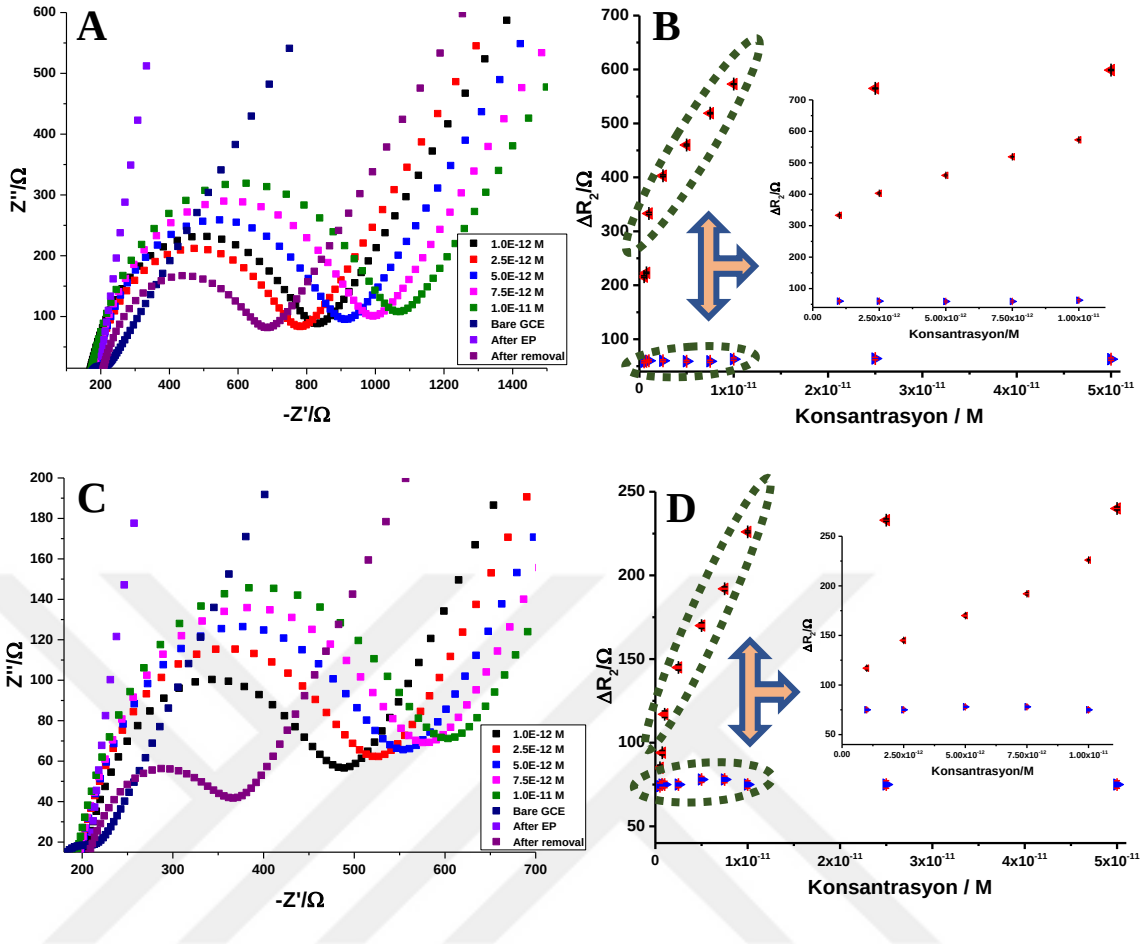
$$\Delta Rct\ (\Omega) = 2{,}43x10^{13}\ (\Omega/M)\ x\ C(M) + 331{,}79\ (r= 0{,}997)\ (EIS)$$

Tüm bu ölçümler, redoks probu olarak 5,0 mM [Fe(CN)6]3−/4– çözeltisi kullanılarak gerçekleştirildi. Regresyon parametrelerinin sonuçlarının ayrıntılı bir özeti Çizelge 3.1'de verilmiştir. Teşhis sınırı (TS) değerleri, EIS ve DPV için sırasıyla $1{,}22x10^{-13}$ M ve $2{,}14x10^{-13}$ M olarak hesaplandı (Ozkan vd., 2015; Procedures, 1996). ICH yönergelerinden alınan aşağıdaki formüller, TS ve TAS değerlerini belirlemek için kullanılmıştır: (TS=3x (standart sapma)/eğim) ve (TAS=10x (standart sapma)/eğim) (Ozkan vd., 2015; Procedures, 1996). LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE sensörü, optimum koşullar altında olağanüstü sonuçlar üretmiştir (Şekil 3.10).

NIP tabanlı sensörlerin performansı, çalışılan konsantrasyon aralığında LIN'i belirlemek için LIN/AuNP/ANI@3-APBA/NIP/CKE kullanılarak da incelendi. MIP eğrisi (kırmızı renk) LIN konsantrasyonlarına göre değişen ΔI_2 değerleriyle doğrusal bir tepki göstermesine rağmen, NIP doğrusallık göstermedi. LIN için NIP'ye özgü tanıma bölgelerinin olmaması, MIP ile karşılaştırıldığında NIP eğrisinde (mavi renk) nispeten küçük ΔI_2 değişikliklerine neden oldu (Şekil 3.10B ve Şekil 3.11B). Bu sonuçlar, LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE sensörünün LIN tespiti için iyi bir hassasiyete sahip olduğunu gösterdi. DPV ve EIS prosedürlerini kullanarak sensör için elde edilen doğrulama parametreleri karşılaştırıldığında, DPV tekniğinin EIS tekniğinden daha iyi tekrarlanabilirlik/yeniden üretilebilirlik, yeniden kullanılabilirlik ve daha düşük TS ve BSS% değerlerine sahip olduğu bulundu.



Şekil 3.10. Standart (A) ve süt (C) çözeltilerinde çeşitli LIN konsantrasyonlarının yeniden bağlanmasından sonra elde edilen DPV voltamogramları. Standart (B) ve süt (D) çözeltilerinde LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE için kalibrasyon eğrisi (0,1 M KCl varlığında 5.0 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$çözeltisinde)



Şekil 3.11. Standart (A) ve süt (C) çözeltilerinde çeşitli LIN konsantrasyonlarının yeniden bağlanmasından sonra elde edilen EIS grafikleri. Standart (B) ve süt (D) çözeltilerinde LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE için kalibrasyon eğrisi (0,1 M KCl varlığında 5.0 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$çözeltisinde)

Çizelge 3.1. LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE için kalibrasyon çizgisinin regresyon verileri

	Standart Çözeltisi		**Süt Numune**	
	DPV	**EIS**	**DPV**	**EIS**
Doğrusal çalışma aralığı (M)	$1x10^{-12} – 10^{-11}$	$1x10^{-12} – 10^{-11}$	$1x10^{-12} – 10^{-11}$	$1x10^{-12} – 10^{-11}$
Eğim, DPV (µA/M.cm^{-2})/ for EIS (Ω/M)	$3,99x10^{12}$	$2,43x10^{13}$	$4,20x10^{12}$	$1,15x10^{13}$
Eğimin standart hatası, (µA/M.cm^{-2})/ for EIS (Ω/M)	$3,21x10^{11}$	$1,37x10^{12}$	$1,86x10^{11}$	$5,71x10^{11}$
Kesişim, DPV (µA)/ for EIS (Ω)	52,82	331,79	34,47	110,51
Kesişimin standart hatası, (µA/M.cm^{-2})/ for EIS (Ω/M)	2,47	11,82	1,43	4,93
Korelasyon katsayısı (r)	0,998	0,997	0,998	0,996
Teşhis sınırı (M)	$2,14x10^{-13}$	$1,22x10^{-13}$	$2,46x10^{-13}$	$1,32x10^{-13}$
Tayin alt sınırı (M)	$7,13x10^{-13}$	$4,08x10^{-13}$	$8,22x10^{-13}$	$4,40x10^{-13}$
Tekrarlanabilirlik BSS%)*	0,56	0,69	0,63	0,85
Tekrar üretilebilirlik (BSS%)*	2,20	3,40	1,31	1,70

***** *Elde edilen %BSS değerlerinin ölçüm sayısı 5'tir.*

3.1.4. Süt, Portakal Suyu ve Elma Suyu Örneklerinde LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE Sensörünün Uygulanması

Sensörlerin süt, portakal suyu ve elma suyu örneklerine uygulanabilirliğini test etmek için, Bölüm 2.3.3'te verilen prosedür izlenerek hazırlandı. Süt örnekleri için, DPV ve EIS yöntemlerinin her ikisi de kullanılarak 1×10^{-12} M ile 1×10^{-11} M konsantrasyon aralıklarında standart çözeltiye benzer doğrusal tepkiler elde edildi (Şekil 3.10C, Şekil 3.10D, Şekil 3.11C ve Şekil 3.11D**).** LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE sensörünün süt örneklerindeki LIN'i belirlemesi için hesaplanan tüm parametreler, tekrarlanabilirlik ve yeniden üretilebilirlik tepe akımı (% BSS) değerleri ile TS ve TAS değerleri dahil olmak üzere Çizelge 3.1'de gösterilmiştir. Tasarlanan sensörlerin doğruluğu, süt, portakal suyu ve elma suyu örneklerine üç farklı bilinen konsantrasyonda standart LIN çözeltisi eklenerek değerlendirildi. Çizelge 3.2 ve Çizelge 3.3'de elde edilen sonuçlara göre, sensörün performansı ayrıntılı olarak incelendi

ve geri kazanım yüzdesi ve ilişkili BSS yüzdesi değerlerinin oldukça iyi olduğu bulundu. DPV ve EIS metodolojilerini kullanan geri kazanım ve ilişkili BSS% sonuçları, tasarlanan sensörün uygunluğunu gösterdi ve işlevselliğini doğruladı (Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. DPV için süt, portakal suyu ve elma suyu örneklerinde yapılan geri kazanım deneylerinin sonuçları

Süt Numune			
Numune miktarı (M)	$1{,}00\text{x}10^{-12}$	$2{,}50\text{x}10^{-12}$	$5{,}00\text{x}10^{-12}$
Eklenen miktar (M)	$6{,}50\text{x}10^{-12}$	$5{,}00\text{x}10^{-12}$	$2{,}50\text{x}10^{-12}$
Bulunan miktar (M)*	$7{,}67\text{x}10^{-12}$	$7{,}59\text{x}10^{-12}$	$7{,}69\text{x}10^{-12}$
Geri kazanım (%) *	102,34	101,29	102,47
BSS%	2,49	1,45	1,08
BH%	+2,34	+1,29	+2,47
Portakal Suyu			
Numune miktarı (M)	$1{,}00\text{x}10^{-12}$	$2{,}50\text{x}10^{-12}$	$5{,}00\text{x}10^{-12}$
Eklenen miktar (M)	$6{,}50\text{x}10^{-12}$	$5{,}00\text{x}10^{-12}$	$2{,}50\text{x}10^{-12}$
Bulunan miktar (M)*	$7{,}62\text{x}10^{-12}$	$7{,}67\text{x}10^{-12}$	$7{,}68\text{x}10^{-12}$
Geri kazanım (%) *	102,16	102,38	102,50
BSS%	2,12	2,61	2,92
BH%	+2,16	+2,38	+2,50
Elma Suyu			
Numune miktarı (M)	$1{,}00\text{x}10^{-12}$	$2{,}50\text{x}10^{-12}$	$5{,}00\text{x}10^{-12}$
Eklenen miktar (M)	$6{,}50\text{x}10^{-12}$	$5{,}00\text{x}10^{-12}$	$2{,}50\text{x}10^{-12}$
Bulunan miktar (M)*	$7{,}66\text{x}10^{-12}$	$7{,}70\text{x}10^{-12}$	$7{,}69\text{x}10^{-12}$
Geri kazanım (%) *	102,33	102,72	102,63
BSS%	2,11	2,23	4,18
BH%	+2,33	+2,72	+2,63

***** *Elde edilen %BSS değerlerinin ölçüm sayısı 5'tir.*

Çizelge 3.3. EIS için süt, portakal suyu ve elma suyu örneklerinde yapılan geri kazanım deneylerinin sonuçları

		Süt Numune	
Numune miktarı (M)	$1{,}00\text{x}10^{-12}$	$2{,}50\text{x}10^{-12}$	$5{,}00\text{x}10^{-12}$
Eklenen miktar (M)	$6{,}50\text{x}10^{-12}$	$5{,}00\text{x}10^{-12}$	$2{,}50\text{x}10^{-12}$
Bulunan miktar (M)*	$7{,}79\text{x}10^{-12}$	$7{,}83\text{x}10^{-12}$	$7{,}88\text{x}10^{-12}$
Geri kazanım (%) *	103,86	104,36	105,10
BSS%	1,54	1,54	1,93
BH%	+3,86	+4,36	+5,10
		Portakal Suyu	
Numune miktarı (M)	$1{,}00\text{x}10^{-12}$	$2{,}50\text{x}10^{-12}$	$5{,}00\text{x}10^{-12}$
Eklenen miktar (M)	$6{,}50\text{x}10^{-12}$	$5{,}00\text{x}10^{-12}$	$2{,}50\text{x}10^{-12}$
Bulunan miktar (M)*	$7{,}79\text{x}10^{-12}$	$7{,}69\text{x}10^{-12}$	$7{,}92\text{x}10^{-12}$
Geri kazanım (%) *	103,87	102,63	105,59
BSS%	4,55	3,33	3,44
BH%	+3,87	+2,63	+5,59
		Elma Suyu	
Numune miktarı (M)	$1{,}00\text{x}10^{-12}$	$2{,}50\text{x}10^{-12}$	$5{,}00\text{x}10^{-12}$
Eklenen miktar (M)	$6{,}50\text{x}10^{-12}$	$5{,}00\text{x}10^{-12}$	$2{,}50\text{x}10^{-12}$
Bulunan miktar (M)*	$7{,}66\text{x}10^{-12}$	$7{,}70\text{x}10^{-12}$	$7{,}69\text{x}10^{-12}$
Geri kazanım (%) *	102,33	102,72	102,63
BSS%	2,11	2,23	4,18
BH%	+2,33	+2,72	+2,63

***** *Elde edilen %BSS değerlerinin ölçüm sayısı 5'tir.*

3.1.5. Geliştirilen Sensörlerin Baskılama Faktörü/Seçicilik Çalışmaları

MIP'leri elektrokimyasal sensörlere entegre etmek, öncelikle hedef molekül için artan seçicilik ve afinite avantajı sunar. Bu avantajı vurgulamak ve sensörün benzer yapılara sahip diğer bileşiklerle (örneğin SPI, ROK ve azitromisin (AZI)) ilgili seçiciliğini göstermek için

bağıl seçicilik katsayısı (k') testleri gerçekleştirildi. Seçicilik katsayısı (k) ve bağıl seçicilik katsayısı (k′) değerleri, LIN ile karşılaştırılabilir kimyasal yapılara sahip SPI, ROK ve AZI gibi bileşikler kullanılarak hesaplandı. Yapılan hesaplamalarda aşağıdaki formüller uygulandı:

$$k_{(MIP)} = \frac{\Delta I_2(MIP)\ (LIN)}{\Delta I_2(MIP)\ (model\ ilaç)}$$

$$k_{(NIP)} = \frac{\Delta I_2(NIP)\ (LIN)}{\Delta I_2(NIP)\ (model\ ilaç)}$$

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

Tasarlanan LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE sensörü, DPV ve EIS yöntemleri kullanılarak LIN'e karşı benzer moleküllerin 1:1, 1:10, 1:100 ve 1:1000 kat konsantrasyonlarının varlığında k' değerleri için hesaplandı. SPI, ROX ve AZI'nin 1000 kat konsantrasyonlarının varlığında bile, DPV yöntemi kullanılarak tasarlanan sensör, LIN'i diğer benzer moleküllere karşı sırasıyla 1,75, 1,84 ve 1,83 kat daha spesifik olarak tanıdı. EIS yöntemini DPV ile karşılaştırmak için, LIN'in diğer benzer moleküllerin 1000 kat konsantrasyonunun varlığındaki sensör performansı test edildi. EIS yöntemi için tasarlanan sensör LIN'i SPI, ROX ve AZI moleküllerine karşı sırasıyla 2,99, 4,47 ve 3,87 kat daha fazla seçicilik sağladı. Sonuç olarak tasarlanan LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE sensörünün EIS yöntemi kullanılarak benzer moleküllerin varlığında hedef molekül LIN'i DPV'den daha seçici bir şekilde tespit edebildiği gözlemlendi (Çizelge 3.4).

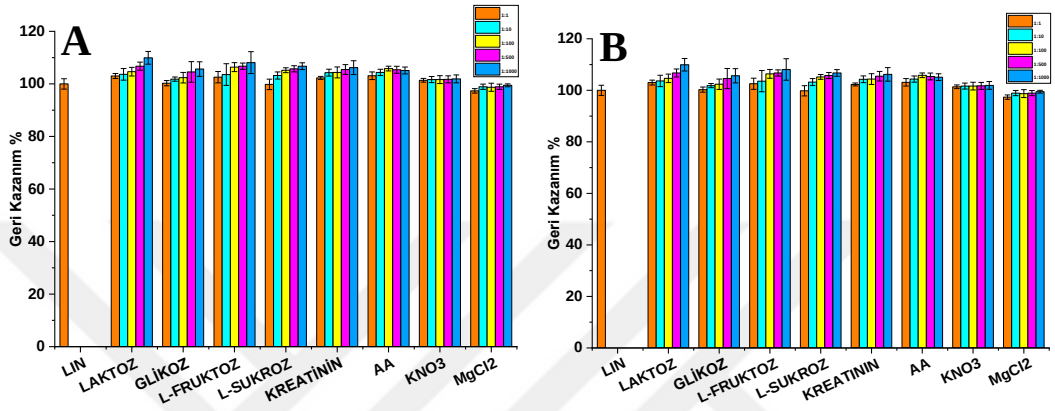
Çizelge 3.4. DPV ve EIS kullanılarak LIN'in belirlenmesinde LIN/AuNPs/ANI@3-APBA/MIP/CKE'nin seçiciliği

Moleküller	DPV					EIS				
	MIP/CKE		NIP/CKE			MIP/ CKE		NIP/ CKE		
	ΔI/μA	$k_{(MIP)}$	ΔI/μA	$k_{(NIP)}$	$k'_{(MIP/NIP)}$	ΔI/μA	$k_{(MIP)}$	ΔI/μA	$k_{(NIP)}$	$k'_{(MIP/NIP)}$
	Moleküllerin konsantrasyonu: 5,0 x 10^{-12} M					**Moleküllerin konsantrasyonu: 5,0 x 10^{-12} M**				
LIN	66,8	–	22,6	-	**–**	460	–	64	–	**–**
SPI	64,5	1,04	37,9	0,60	**1,73**	457	1,01	153	0,42	**2,41**
ROK	65,9	1,01	37,3	0,60	**1,68**	446	1,03	209	0,31	**3,32**
AZI	66,2	1,01	36,9	0,61	**1,66**	455	1,01	217	0,29	**3,48**
	Moleküllerin konsantrasyonu: 5,0 x 10^{-11} M					**Moleküllerin konsantrasyonu: 5,0 x 10^{-11} M**				
LIN	66,8	–	22,6	–	–	460	–	64	–	–
SPI	66	1,01	39,2	0,58	**1,74**	455	1,01	155	0,41	**2,46**
ROK	66	1,01	38,4	0,59	**1,71**	442	1,04	224	0,29	**3,59**
AZI	65,5	1,02	38,6	0,59	**1,73**	443	1,03	229	0,28	**3,69**
	Moleküllerin konsantrasyonu: 5,0 x 10^{-10} M					**Moleküllerin konsantrasyonu: 5,0 x 10^{-10} M**				
LIN	66,8	–	22,6	–	–	460	–	64	–	–
SPI	67	1,00	40,9	0,55	**1,82**	454	1,01	164	0,39	**2,59**
ROK	66,1	1,01	39	0,58	**1,74**	448	1,03	259	0,25	**4,12**
AZI	65,9	1,02	39,9	0,57	**1,79**	436	1,06	224	0,29	**3,66**
	Moleküllerin konsantrasyonu: 5,0 x 10^{-9} M					**Moleküllerin konsantrasyonu: 5,0 x 10^{-9} M**				
LIN	66,8	–	22,6	–	–	460	–	64	–	–
SPI	67	1,00	39,7	0,57	**1,76**	440	1,05	183	0,35	**3,00**
ROK	67,2	0,99	41,9	0,54	**1,83**	455	1,01	282	0,24	**4,21**
AZI	65,7	1,02	40,6	0,56	**1,82**	468	1,00	252	0,25	**4,00**

3.1.6. Girişim Etkisinin Değerlendirilmesi

LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE sensörünün potansiyel girişim yapan ajanlarla etkileşimi için, süt, portakal ve elma suyunda bulunabilen laktoz, glikoz, L-fruktoz, L-sükroz, kreatinin, AA, KNO_3 ve $MgCl_2$ gibi girişim yapan ajanlar kullanılarak hem DPV hem de EIS yöntemleri için analiz gerçekleştirildi. Çeşitli girişim yapan ajanların 1, 10, 100, 500 ve 1000 kat daha fazlasını içeren $5{,}0\times10^{-12}$ M LIN çözeltisine daldırıldıktan sonra tepe akım değerleri,

girişim etkisini görmek için bu aşamada hem DPV hem de EIS yöntemleri için ölçüldü. Şekil 3.12., analit bağlanması ve uzaklaştırılmasından sonra tepe akım değerlerinin farkı alınarak değerlendirilmesinin sonuçlarını göstermektedir. Elde edilen sonuçlara göre, LIN'in girişim yapan maddelerin varlığındaki geri kazanım aralığı DPV için %97,35-109,9 ve EIS için %98,08-108,56 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar göz önüne alındığında, tasarlanan LIN/AuNPs/ANI@3-APBA/MIP/CKE sensörünün seçiciliği kanıtlanmıştır.



Şekil 3.12. A) DPV ve B) EIS girişim etkisi değerleri

3.1.7. Stabilite ve Tekrar Kullanılabilirlik Değerlendirmesi

LIN için tasarlanan LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE sensörü kararlılık ve tekrar kullanılabilirlik deneyleri için yapılmıştır. Tasarlanan sensör optimum koşullar altında hazırlanmıştır. Daha sonra sensörün 10 günlük kararlılığı için günler arasında (1, 3, 5, 7 ve 10. gün) ölçümler alınmıştır. Kararlılık çalışmasında deneysel sonuçlar %97,68 (1. gün), %95,22 (3. gün), %91,12 (5. gün) ve %85,48 (10. gün) olarak elde edilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde tasarlanan sensörün 5 gün kararlı olduğu görülmüştür. Optimum koşullar altında hazırlanan sensörün tekrar kullanılabilirlik çalışması için farklı konsantrasyonlarda 8 ölçüm alınmıştır. Elde edilen sonuçlara göre bu sensörün sağlamlığı ve kararlılığı kanıtlanmıştır.

3.1.8. Kuantum Kimyasal Hesaplamalar

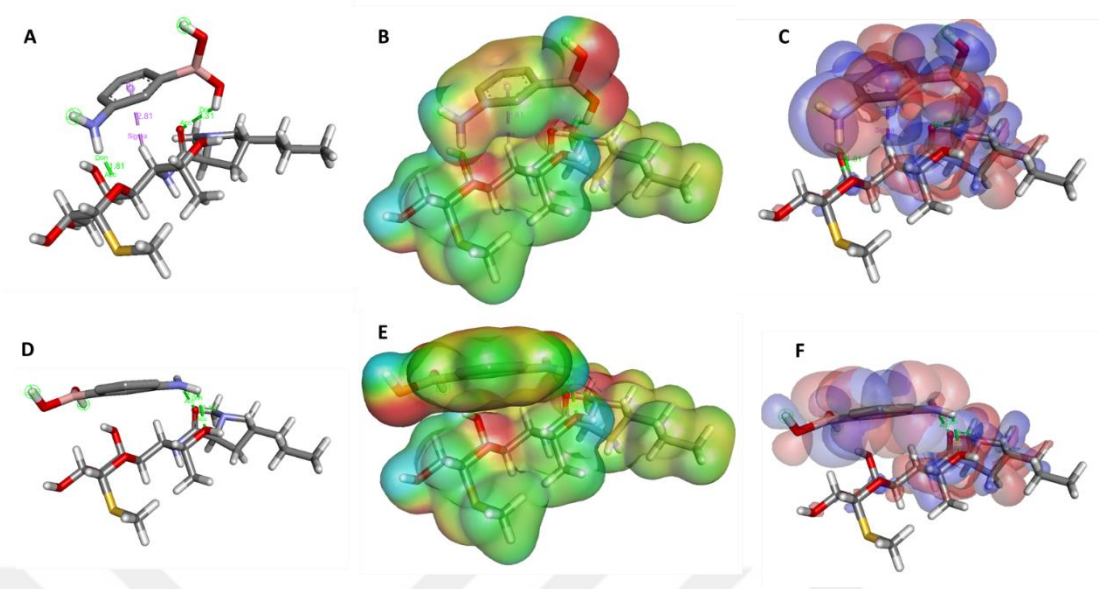
Çalışmanın teorik kısmında LIN ve 3-APBA'nın kimyasal etkileşimleri araştırılmıştır. İlk olarak LIN ve 3-APBA'nın etkileşimi yerleştirme analizi ile hesaplanmıştır. Hesaplama LIN'i daha büyük bir molekül olduğu için reseptör olarak belirlemiştir. Bu hesaplamaya göre iki konformasyon en düşük bağlanma enerjisine ve RMSD değerine sahip olup 0'dır. Bu iki konformasyon deneysel olarak da orana eşittir ve en yüksek etkileşimi verir. Her iki

konformasyon için HOMO-LUMO enerjileri ve elektron yoğunlukları hesaplanmıştır (Çizelge 3.5). 3-APBA'nın her iki konformasyonu için HOMO-LUMO geçiş enerjileri aşağıda gösterilmiştir:

Çizelge 3.5. DPV ve EIS kullanılarak LIN'in belirlenmesinde LIN/AuNPs/ANI@3-APBA/MIP/CKE'nin seçiciliği

Konformasyon	**Bağlanma Enerji (Kcal/mol)**	**Dipol Momenti (Debye)**	**HOMO (eV)**	**LUMO (eV)**	**HOMO-LUMO (eV)**
1	-1,95	4,5373	-5,114	-1,521	3,593
2	-1,89	3,4298	-4,956	-2,367	2,591
LIN	N/A	7,6527	-4,237	-0,925	3,312

Çizelge 3.5, iki konformasyon (1 ve 2) ve LIN molekülü için bağlanma enerjisi, dipol momenti ve elektronik özellikler (HOMO, LUMO ve HOMO-LUMO enerji boşluğu) dahil olmak üzere temel moleküler özellikleri sunar. Yüksek dipol momenti değerleri, özellikle LIN (7.6527 Debye) ve konformasyon 1 (4.5373 Debye) için önemli moleküler polarizasyonu vurgular. Bu güçlü polarizasyon, bu moleküllerin moleküler tanıma ve bağlanma gibi süreçler için kritik olan dipol-dipol veya elektrostatik etkileşimler yoluyla diğer türlerle etkileşime girme konusunda belirgin bir yeteneğe sahip olduğunu göstermektedir. HOMO-LUMO enerji boşlukları, moleküllerin elektronik özellikleri ve reaktifliği hakkında daha fazla bilgi sağlar. Konformasyon 2, en küçük HOMO-LUMO boşluğunu (2.591 eV) sergiler ve bu da konformasyon 1 (3.593 eV) ve LIN'e (3.312 eV) kıyasla daha yüksek kimyasal reaktifliği gösterir. LIN'in nispeten büyük dipol momenti, ara HOMO-LUMO boşluğuyla birleştiğinde, karmaşık sistemlerde güçlü etkileşimler oluşturma yeteneğini artırabilecek bir reaktivite ve kararlılık dengesi olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, yüksek dipol moment değerleri ve belirgin HOMO-LUMO enerji boşluklarının birleşimi, bu moleküllerin güçlü polarizasyonunu ve değişken reaktivitesini vurgular ve onları diğer moleküler sistemlerle etkileşimler için umut verici adaylar haline getirir (Şekil 3.13).



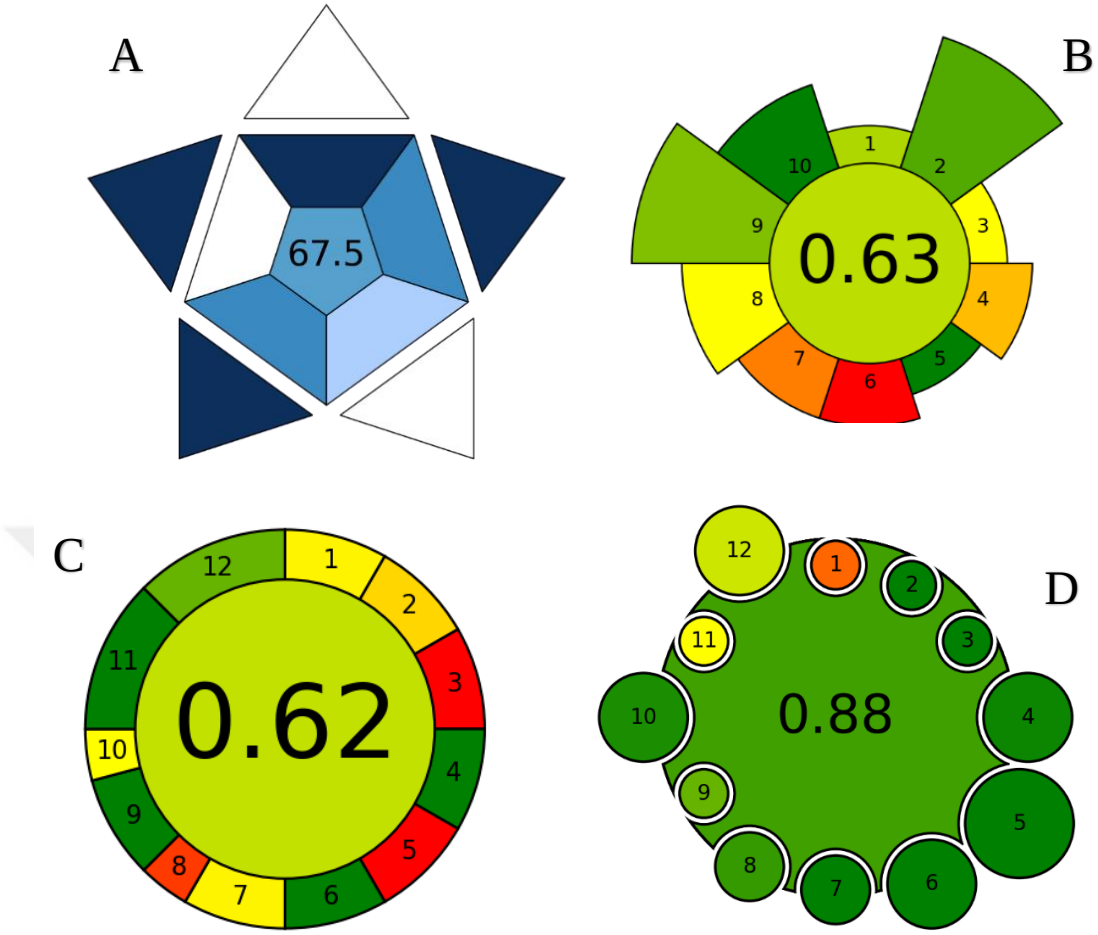
Şekil 3.13. 3-APBA'nın 1. konformasyonunun (A, B ve C) analizinde, azot atomuna bağlı hidrojenlerden birinin donör, LIN atomuna bağlı oksijenlerden birinin akseptör olarak davrandığı hidrojen bağı uzunluğu 1,81 angstromdur. 3-APBA'nın Bor atomuna bağlı oksijenlerden birine bağlı hidrojen donör olarak davranırken, LIN'e ait oksijen akseptör olarak davranarak 2,31 angstrom uzunluğunda başka bir hidrojen bağı oluşturur. 1. konformasyonda ayrıca aromatik halkanın neden olduğu bir pi-sigma bağı da vardır. Bu bağın uzunluğu 2,81 Angstromdur (A). 3ABA ile LIN arasındaki etkileşimin elektron yük yoğunluğu incelendiğinde, atomların akseptör olarak davrandığı bölgelerde (kırmızı bölgeler) (B) yük yoğunluğunun arttığı görülmektedir. HOMO-LUMO analizi perspektifinden bakıldığında, 3-APBA'nın 1. konformasyonunda, HOMO-LUMO boşluğu düşük olduğundan kolayca bağ kurabilir. Ancak, molekül küçük olduğundan, yük geçişleri Şekil (C)'de majör olarak görülmemektedir. 2. Konformasyonun (1-E, F ve G) analizinde, 3-APBA'nın azot atomuna bağlı hidrojenler donör olarak hareket eder. Bu hidrojenlerin yaptığı bağların uzunluğu sırasıyla 2,1 ve 2,2 angstromdur (A). Bağların bulunduğu azot atomu etrafındaki elektropozitif yük yoğunluğu (mavi bölge) ve aynı bölgenin karşısında bulunan LIN'in oksijen atomu etrafındaki elektronegatif yük yoğunluğu (kırmızı bölge) kolayca görülebilir (E). HOMO-LUMO analizine göre, yük kayması 1. konformasyona göre daha net görülmektedir. Çizelge 3.5'ye göre, HOMO-LUMO boşluğu 1. konformasyondan (F) daha düşüktür

3.1.9. Geliştirilen Sensörün Yeşil Kimya Hesaplamaları

Bir sensörün yeşil profili, sürdürülebilirliği ve çevre dostu olması hakkında ayrıntı bilgi sağlar, az atık, çevre dostu bileşenler ve enerji açısından verimli sentez vurgulanır. Yeşil kimya ilkeleri, çevresel sürdürülebilirliği korumak için geri dönüştürülebilir parçalara, azaltılmış emisyonlara ve kaynak tasarrufuna öncelik verir (Locatelli vd., 2023). Sürdürülebilirlik ve çevre dostu olma, LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE sensörlerinin geliştirilmesinde anahtardır. AuNPs'nin yeşil kimyada kullanımı avantajlıdır çünkü genellikle diğer nanopartiküllerden daha az enerji kullanırlar ve oda sıcaklığında düzenlenmiş reaksiyonlara izin verirler.

Çalışmanın yeşil kimya puanını hesaplamak için BAGI, AGREEprep, AGREE ve AGREEMIP kullanıldı. BAGI, oluşturulan yöntemin uygulanabilirliğini değerlendirmek için bazı ölçütler kullanır. Bu testteki mümkün olan en düşük puan 25'tir ve genellikle 60 veya daha yüksek bir puan önerilir. 100'lük ideal puan, analitik yaklaşımın tamamen uygun olduğu anlamına gelir. 60, mevcut soruşturmada elde edilen puandı (Şekil 3.14A). Bu, yerleşik yöntemin uygulanabilirliğini göstermiştir (Manousi vd., 2023). Sensör yeniden kullanılabilir olduğundan, daha az çevresel etki yaratır ve kaynakları korur. YAK ilkeleri, genellikle LIN'in hassas ve seçici belirlenmesi için sürdürülebilir bir yöntemi destekleyen yeşil kimya ilkeleriyle uyumludur. Daha ulaşılabilir bir yöntem, testin numune hazırlama bölümünü on parametreye göre 0 ila 1 arasında derecelendiren AGREEprep'tir.

1 civarındaki bir puan güçlü performansı gösterirken, 0'a yakın bir puan zayıf performansı gösterir. Şekil 3.14B'ye göre, mevcut çalışma için AGREEprep puanı 0,63 olarak belirlendi. Bu stratejinin AGREE yaklaşımıyla aynı avantajları ve dezavantajları vardır (Wojnowski vd., 2022). AGREE, YAK'ın 12 ilkesini 0 ile 1 arasında derecelendirir; 0'a yakın bir puan daha düşük bir çevre dostu olma derecesini, 1'e yakın bir puan ise daha yüksek bir "yeşillik" derecesini gösterir. AGREE'nin sonuçlarına göre, mevcut araştırmanın puanı 0,62'dir (Şekil 3.14C). Bu sonuç, daha az enerji tüketildiğini ve daha az tehlikeli kimyasalın kullanıldığını göstermektedir. Ancak, yöntemin yerinde analiz yapamama, tam otomasyonun olmaması ve yenilenebilir kaynakların kullanılamaması gibi birçok dezavantajı vardır (Pena-Pereira vd., 2020). AGREEMIP aracı, MIP'leri üretmek için önerilen daha ekolojik olarak dost yöntemlerden biridir. AGREEMIP, enerji ihtiyaçlarını, farklı reaksiyon bileşenlerinin çevresel etkilerini ve MIP sentez ayrıntılarını değerlendirmek için 12 kriter kullanır. Her kriter için girdi verileri, genel bir puan oluşturmak için 0 ila 1 ölçeğinde ayrı puanlara dönüştürülür. Daha sonra bu puanlar, ağırlıklı ortalamalarıyla çarpılır (Marć vd., 2024). Sonuçlar, sürecin genel yeşilliğini ve karşılık gelen ağırlıkları vurgulayan anlaşılır bir piktogramda sunulur. Mevcut çalışma için AGREEMIP puanının 0,88 olduğu göz önüne alındığında, üretilen sensör "son derece yeşil" olarak değerlendirilebilir. (Şekil 3.14D). MIP sentez süreçlerinin çevre dostu olup olmadığını değerlendirirken, AGREEMIP diğer yaklaşımlardan daha güçlü bir YAK tekniğidir.



Şekil 3.14. A) BAGI, B) AGREEprep, C) AGREE ve D) AGREEMIP için piktogramlar

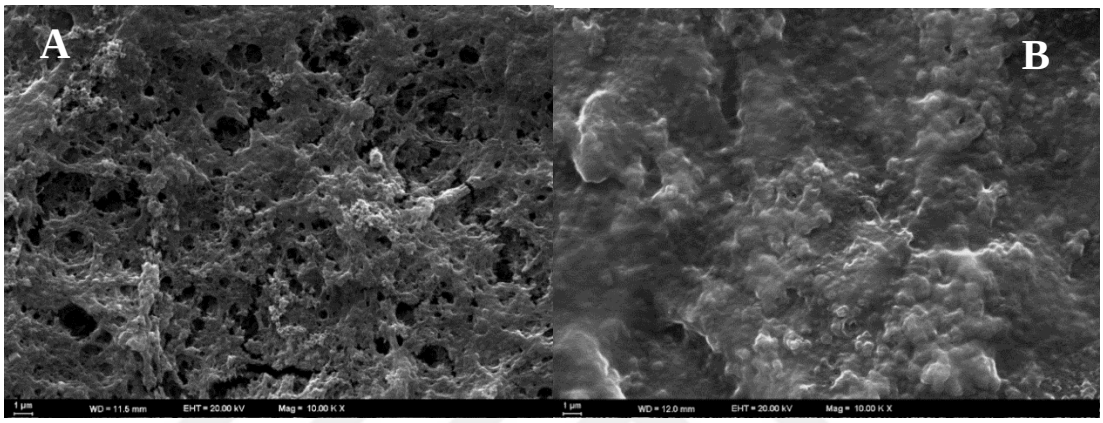
3.2. Roksitromisin Etken Maddesine Ait Bulgular

3.2.1. Polimerik Filmlerin Karakterizasyonu

3.2.2. Geliştirilen Sensörün Yüzey Karakterizasyonu

Geliştirilen sensörün polimerik filmlerin morfolojisini ve kimyasal özelliklerini incelemek için SEM kullanıldı. ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE ve ROK/TiO_2 NP/ALG/CHIT@NIP/CKE'nin yüzey görüntüleri sırasıyla Şekil 3.15A ve Şekil 3.15B'de gösterilmektedir. Şekil 3.15A, CKE yüzeyinde geliştirilen ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sensörünün morfolojisini göstermektedir. Mikrografta, ROK'un seçici olarak bağlanması için tasarlanmış entegre yarım küresel parçacıklar ve açıkça tanımlanmış boşluklara sahip pürüzlü, gözenekli bir yapı görülmektedir.

MIP'in yapısal bütünlüğü, polimerik matrise TiO_2NP eklenmesiyle iyileştirilir; bu da elektrokimyasal aktivitesini ve moleküler baskı verimliliğini büyük ölçüde artırır. Aksine, NIP yüzeyi (Şekil 3.15B), MIP'te bulunan baskı boşluklarından yoksundur ve belirgin şekilde daha pürüzsüz görünmektedir. Bu pürüzsüz şekil, belirli bağlanma bölgelerinden yoksun olan baskılanmamış polimerlerin tipik özelliğidir. Seçici moleküler tanıma özelliğine sahip baskılı bir polimerin başarılı bir şekilde yaratıldığı, MIP ve NIP arasında gözlemlenen yapısal farklılıklarla doğrulanmaktadır.



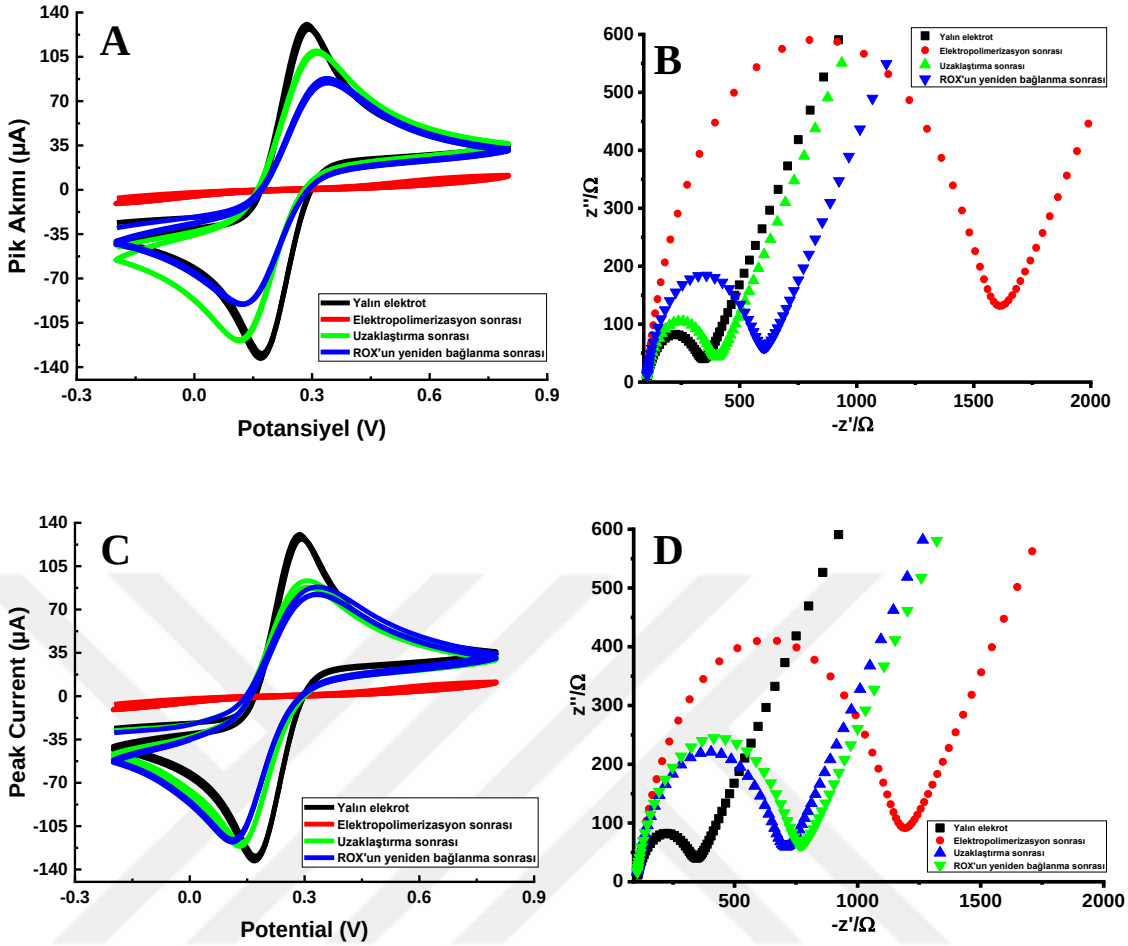
Şekil 3.15. ROK için geliştirilen sensörün elektrot yüzeyinin karakterizasyonu A) ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE ve B) ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@NIP/CKE yüzeylerinin SEM görüntüleri

3.2.2.1. Geliştirilen Sensörün Elektrokimyasal Karakterizasyonu

ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sensörünün elektrokimyasal özelliklerini doğrulamak için, 0,1 M KCl'de $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$'ün 5,0 mM redoks prob çözeltisinde yalın, polimerizasyon, uzaklaştırma ve yeniden bağlama dahil olmak üzere çeşitli aşamalarda CV ve EIS çalışmaları gerçekleştirildi. Şekil 3.16A ve Şekil 3.16C, her bir modifikasyon aşamasının ardından anodik ve katodik tepe akımlarında değişiklikler kaydedildiğini göstermektedir. En belirgin tepe akımı değerleri yalın CKE'de (siyah çizgi) görüldü çünkü elektron hareketine engel yoktu. EP işleminden sonra CKE yüzeyi ince bir polimerik filmle kaplandığından elektron transferi engellenir ve redoks probunun anodik ve katodik tepe akımları azalır (kırmızı çizgi). ROK molekülü polimerik matristen uzaklaştırıldığında, yeşil çizgiyle gösterildiği gibi, redoks tepe değerini polimerize edilmiş sensöre kıyasla yükselten belirgin boşluklar oluştu. Daha sonra, yeniden bağlanmada tepe akım değeri bir kez daha azaldı; bu, ROK moleküllerinin MIP sensöründeki boşlukların bir kısmını doldurduğunu gösteren mavi çizgiyle açıklanmaktadır (Şekil 3.16A). Şekil 3.16C'de, NIP tabanlı sensör hedef molekül

olmadan hazırlandı ve MIP tabanlı sensöre benzer şekilde, yalın (siyah çizgi) ve EP'den (kırmızı çizgi) sonra redoks probunun tepe akım değerleri elde edildi. Ancak, uzaklaştırıldıktan sonra yüzeyde hedef molekül olmadığından (yeşil çizgi), yeniden bağlanma adımında (mavi çizgi) tepe akım değerinde bir azalma beklenmez. Hedef tanımada basılı boşlukların işlevsel önemi, DV verileriyle elektrokimyasal karakterizasyon açısından doğrulanır ve bu, sensörün ROK varlığına yanıt olarak elektron taşınmasını kontrol etme yeteneğini gösterir.

Sensörün impedimetrik özelliklerini daha iyi incelemek için çeşitli modifikasyon fazlarında yük transfer direncini (Rct) ölçmek için EIS yöntemi kullanıldı. Şekil 3.16B ve Şekil 3.16D'de görüldüğü gibi yalın CKE (siyah çizgi) en düşük Rct değerine sahipti ve bu iletken, pürüzsüz yüzeyi üzerinde etkili elektron transferini gösteriyordu. Yük transferini engelleyen MIP katmanının yalıtım karakteri, EP'yi takiben Rct değerindeki önemli artışla doğrulandı (kırmızı çizgi). Polimerik yapıdan ROK'un uzaklaştırılmasından sonra (yeşil çizgi), Rct değeri azaldı ve bu da yeni oluşturulan basılı boşluklar aracılığıyla gelişmiş elektron transferini gösterdi. Ancak, ROK'un yeniden bağlanmasından sonra (mavi çizgi), işgal edilen boşluklar elektron transferini engelledi ve Rct değerinde bir artışa neden oldu. Sensörün kantitatif tespit kabiliyeti, bu artışın boyutu ile ROK içeriği arasındaki dikkate değer korelasyonla daha da desteklendi.



Şekil 3.16. Geliştirilen sensörün elektrokimyasal karakterizasyonu: ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sensörü için A) DV, B) EIS, ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@NIP/CKE sensörü için C) DV, D) EIS

3.2.3. Optimizasyon Parameterleri

3.2.3.1. Monomer: Hedef Molekül Oranı

Kararlı ve tekrarlanabilir bir polimerik yapı elde etmek için en önemli adım monomer: hedef molekül oranının belirlenmesidir. Polimer oranı optimum orandan düşük veya yüksek olduğunda beklenen benzersiz polimerik boşluklar ve gözenekli yapılar elde edilemez. Bu, hedef molekülün uygun boşluklara yeniden bağlanmasını önleyecektir. Bu bölümde, uzaklaştırma ve yeniden bağlanma ölçümlerinden sonra elde edilen piklerin tepe akımı değerleri arasındaki fark (ΔI_2) değerlendirildi. Farklı monomer: hedef molekül oranları (1:1, 1:2, 1:3, 1:4 ve 1:5) incelendi ve 1:1'lik optimum oran seçildi **(**Şekil 3.17A).

3.2.3.2. EP İçin Döngü Sayısı

Tasarlanan sensörün kararlı ve ince polimerik yapı oluşturması için bir diğer önemli adım EP tarama sayısıdır. En uygun monomer: hedef molekül oranı bulunduktan sonra DV yöntemi ile 10, 15, 20, 30 ve 40 farklı döngü kullanıldı. ΔI_2 değerlerindeki değişimlere göre en uygun ve kararlı EP tarama sayısı 30 döngü olarak belirlendi **(**Şekil 3.17B**)**.

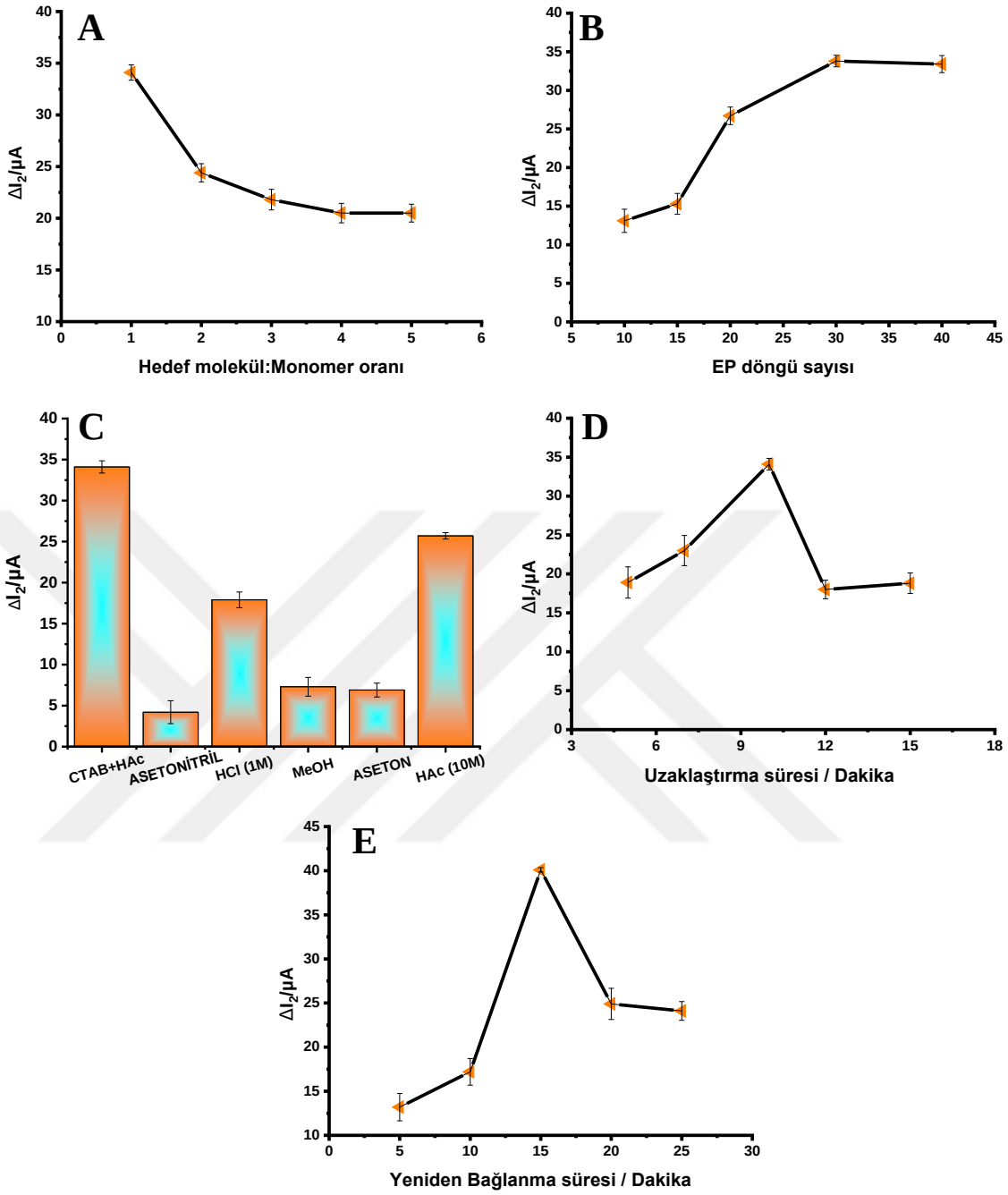
3.2.3.3. Uzaklaştırma Çözeltileri ve Süresi

Hedef molekülü polimerik yapıdan uzaklaştırmak için uzaklaştırma süresi ve çözeltisi optimize edilmelidir. Polimerik yapıya zarar vermeden CTAB (%1)/HAc(%37), HAc (10 M), HCl (1 M), MeOH, asetonitril ve ACN gibi farklı çözeltiler kullanılmıştır. Şekil 3.17C'de görüldüğü gibi en uygun ve en kararlı uzaklaştırma çözeltisinin CTAB (%1)/HAc(%37) olduğu bulunmuştur.

Daha sonra uzaklaştırma süresi optimizasyonu için CTAB (%1)/HAc(%37), Termal-çalkalayıcı (25 ^{o}C, 250 rpm) yardımıyla farklı sürelerde (5, 7, 10, 12 ve 15 dakika) gerçekleştirilmiştir. Pik akım değerleri üzerindeki etkisi incelendiğinde geliştirilen sensör için en uygun uzaklaştırma süresi 10 dakika olduğu bulunmuştur (Şekil 3.17D).

3.2.3.4. Yeniden Bağlama Süresi

Tasarlanan ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sensörü için son aşama, yeniden bağlanma süresinin optimizasyonudur. Bu aşama, uzaklaştırma aşamasından sonra sensörü bilinen bir ROK çözeltisi konsantrasyonuna daldırarak ve farklı süreler (5, 10, 15, 20 ve 25 dakika) için bir Termal-çalkalayıcı (25 ^{o}C, 250 rpm) kullanarak gerçekleştirildi. Şekil 3.17E'de görüldüğü gibi, ΔI_2 değerleri değerlendirildi ve optimum yeniden bağlanma süresi 15 dakika olarak bulundu.



Şekil 3.17. ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sesörünün 5 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ çözeltisi içerisinde optimizasyon parametreleri; A) Hedef molekül/monomer oranı, B) EP'nin tarama döngü sayısı, C) Uzaklaştırma çözeltileri, D) Uzaklaştırma süresi, E) Yeniden bağlanma süresi

3.2.4. ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE Sensörünün Analitik Performansının Değerlendirilmesi

Geliştirilen sensör ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE'nin ROK'un kantitatif analizi için analitik performansı DPV yöntemi ile değerlendirildi. DPV yöntemi için farklı ROK konsantrasyonlarını yeniden bağlayarak $1x10^{-13}$ M ile $1x10^{-12}$ M arasında bir kalibrasyon aralığı bulundu. DP voltamogramları Şekil 3.18A'da gösterilmiş olup, kalibrasyon aralığında konsantrasyon arttıkça tepe akımında bir artış gözlenmiştir. Deneydeki tüm ölçümler redoks probu 5,0 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ çözeltisinde yapılmıştır. Geliştirilen sensör için elde edilen kalibrasyon aralığının regresyon denklemi aşağıda verilmiştir (Ozkan vd., 2015; Procedures, 1996):

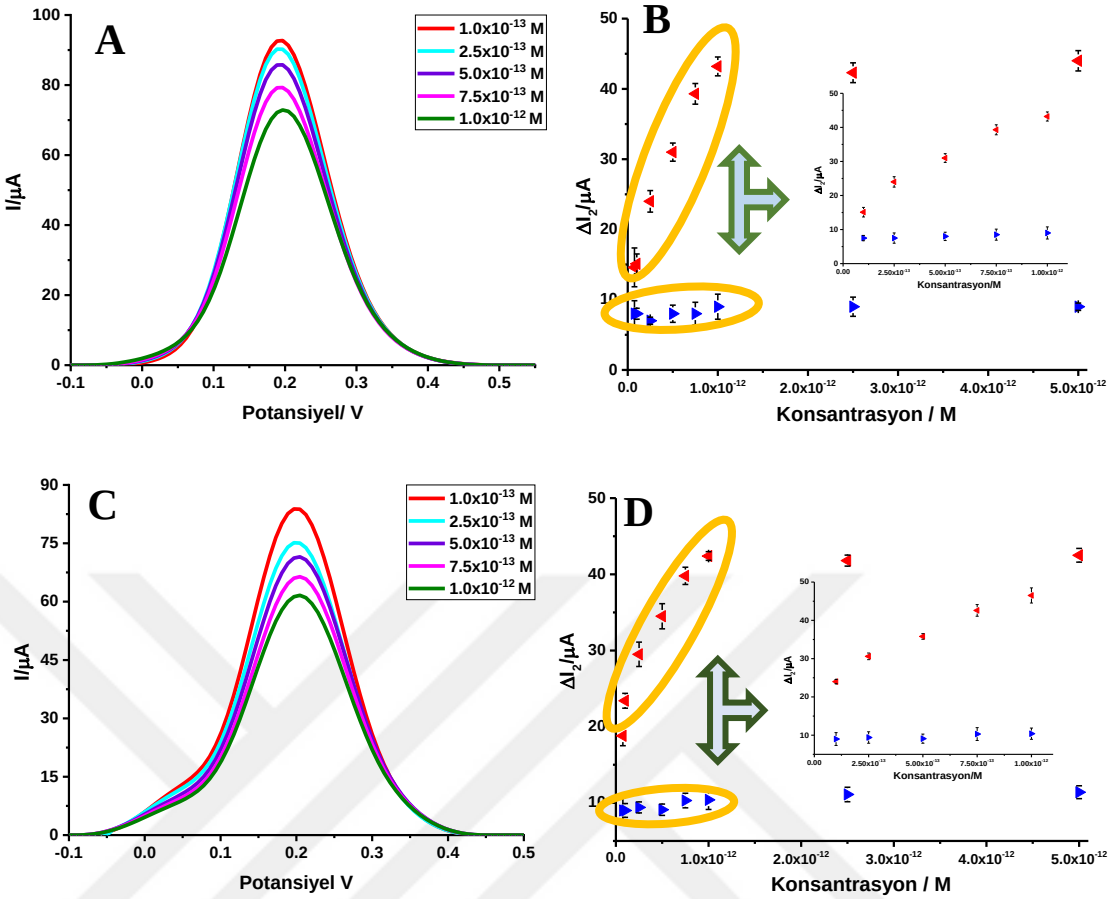
$$\Delta Ip_2\ (\mu A) = 3{,}06x10^{13}\ (\mu A/M)\ x\ C(M) + 14{,}55\ (r= 0{,}995)$$

Çizelge 3.6, regresyon parametrelerinin sonuçlarını ayrıntılı olarak ele almaktadır. Ek olarak, tespit sınırı (TS) ve kantifikasyon sınırı (TAS) değerlerinin sırasıyla $1{,}51x10^{-14}$ M ve $5{,}03x10^{-14}$ M olduğu bulunmuştur. ICH'ye göre, TS ve TAS değerleri aşağıdaki formüllerden hesaplanır (Ozkan vd., 2015; Procedures, 1996):

$$\left(TS = 3x\frac{standart\ sapma}{eğim}\right)$$

$$\left(TAS = 10x\frac{standart\ sapma}{eğim}\right)$$

ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sensörünün sonuçları göz önüne alındığında, optimum koşullar altında olağanüstü sonuçlar elde edilmiştir (Şekil 3.18). Geliştirilen MIP tabanlı elektrokimyasal sensörün ROK'un seçici ve hassas tayini için doğruluğunu ve güvenirliğini kanıtlamak amacıyla, NIP tabanlı elektrokimyasal sensörün performansı aynı kalibrasyon aralığında analiz edilmiştir. Şekil 3.18B'de görüldüğü gibi, ROK konsantrasyonlarına göre değişen akım değerleri (ΔI_2), MIP tabanlı sensörde doğrusallık göstermektedir (kırmızı renk), ancak NIP tabanlı sensörde doğrusallık elde edilememiştir (mavi renk). Elde edilen deneysel sonuçlara göre, ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sensörü, ROK'un kantitatif analizinde mükemmel seçicilik ve hassasiyet göstermiştir.



Şekil 3.18. Standart (A) ve süt (C) çözeltilerinde çeşitli ROK konsantrasyonlarının yeniden bağlanmasından sonra elde edilen DPV voltamogramları. Standart (B) ve süt (D) çözeltilerinde (0,1 M KCl varlığında 5,0 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ çözeltisinde) ROK/TiO_2NP'leri/ALG/CHIT@MIP/CKE için kalibrasyon eğrisi

Çizelge 3.6. ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE için kalibrasyon çizgisinin regresyon verileri

	Standart çözelti	**Süt Numune**
Doğrusal çalışma aralığı (M)	$1x10^{-13}$- $1x10^{-12}$	$1x10^{-13}$- $1x10^{-12}$
Eğim, DPV (µA/M.cm^{-2})	$3,06x10^{13}$	$2,72x10^{13}$
Eğimin standart hatası, (µA/M.cm^{-2})	$3,311x10^{12}$	$2,50x10^{12}$
Kesişim, DPV (µA)	14,55	21,95
Kesişimin standart hatası, (µA/M.cm^{-2})	2,07	0,96
Korelasyon katsayısı (r)	0,995	0,994
Teşhis sınırı (M)	$1,51x10^{-14}$	$1,31x10^{-14}$
Tayin alt sınırı (M)	$5,03x10^{-14}$	$4,34x10^{-14}$
Tekrarlanabilirlik BSS%)*	0,53	0,97
Tekrar üretilebilirlik (BSS%)*	0,99	1,89

***** *Elde edilen %BSS değerlerinin ölçüm sayısı 5'tir.*

3.2.5. Gerçek Numunelerde ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE Sensörünün Uygulanması

Geliştirilen sensör ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE'nin uygulanabilirliğini test etmek için gerçek örnekler (süt, elma suyu ve portakal suyu) bölüm 2.4.3'te açıklandığı gibi hazırlandı. Süt örneği analizinde doğrusallık, DPV yöntemi kullanılarak 1×10^{-13} M ile 1×10^{-12} M kalibrasyon aralığında elde edildi ve standart çözeltiye benzer tepkiler elde edildi (Şekil 3.18C ve Şekil 3.18D). Süt örneklerinde oldukça düşük TS ($1,31x10^{-14}$ M) ve TAS ($4,34x10^{-14}$ M) değerleri elde edildi ve geliştirilen sensör için mükemmel tekrarlanabilirlik ve yeniden üretilebilirlik tepe akımı (BSS%) değerleri bulundu (Çizelge 3.6). Ayrıca, geliştirilen sensörün doğruluğu ve uygulanabilirliği, süt, portakal suyu ve elma suyu örneklerine üç farklı bilinen konsantrasyonda standart ROK çözeltisi eklenerek değerlendirildi (Çizelge 3.7). Bulgulara göre, sensörün performansı ayrıntılı olarak analiz edildi ve mükemmel geri kazanım değerleri bulundu. Çizelge 3.7'ye göre, geliştirilen sensör ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE'nin uygulanabilirliği ve işlevselliği doğrulandı.

Çizelge 3.7. Süt, portakal suyu ve elma suyu örnekleri üzerinde yapılan geri kazanım çalışmasının verileri

		Süt	
Numune miktarı (M)	$1{,}00x10^{-13}$	$2{,}50x10^{-13}$	$5{,}00x10^{-13}$
Eklenen miktar (M)	$6{,}50x10^{-13}$	$5{,}00x10^{-13}$	$2{,}50x10^{-13}$
Bulunan miktar (M)*	$7{,}59x10^{-13}$	$7{,}61x10^{-13}$	$7{,}63x10^{-13}$
Geri kazanım (%) *	101,27	101,37	101,67
BSS%	0,84	2,15	1,65
BH%	+1,27	+1,37	+1,67
		Portakal suyu	
Numune miktarı (M)	$1{,}00x10^{-13}$	$2{,}50x10^{-13}$	$5{,}00x10^{-13}$
Eklenen miktar (M)	$6{,}50x10^{-13}$	$5{,}00x10^{-13}$	$2{,}50x10^{-13}$
Bulunan miktar (M)*	$7{,}57x10^{-13}$	$7{,}59x10^{-13}$	$7{,}61x10^{-13}$
Geri kazanım (%) *	100,92	101,18	101,53
BSS%	1,34	1,16	1,55
BH%	+0,92	+1,18	+1,53
		Elma suyu	
Numune miktarı (M)	$1{,}00x10^{-13}$	$2{,}50x10^{-13}$	$5{,}00x10^{-13}$
Eklenen miktar (M)	$6{,}50x10^{-13}$	$5{,}00x10^{-13}$	$2{,}50x10^{-13}$
Bulunan miktar (M)*	$7{,}47x10^{-13}$	$7{,}56x10^{-13}$	$7{,}59x10^{-13}$
Geri kazanım (%) *	99,617	100,84	101,18
BSS%	2,55	1,66	1,76
BH%	-0,383	+0,84	+1,18

***** *Elde edilen %BSS değerlerinin ölçüm sayısı 5'tir.*

3.2.6. ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE Sensörünün Baskılama Faktörü/Seçicilik Çalışmaları

MIP tabanlı elektrokimyasal sensörlerin en önemli özelliği, seçici tanıma bölgeleri nedeniyle hedef moleküle olan yüksek afiniteleridir. Bu avantajı göstermek için, benzer moleküllere sahip ilaçlar (LIN, SPI ve AZI) kullanılarak seçicilik çalışmaları yapılmış ve bağıl seçicilik katsayısı (k′) ve seçicilik katsayısı (k) değerleri hesaplanmıştır (Çizelge 3.8). Karşılaştırma, farklı oranlarda model ilaçlar LIN, SPI ve AZI varlığında ROK ile yapılmıştır. Geliştirilen ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sensörü, 1000 kat LIN, AZI ve SPI konsantrasyonlarının varlığında bile ROK'u 2,66, 2,56 ve 2,90 kat daha spesifik olarak

tanımıştır (Çizelge 3.8). Elde edilen verilere göre, geliştirilen sensör yüksek seçicilik göstermiştir (Şekil 3.19). Seçicilik hesaplamalarında aşağıdaki formüller kullanılmıştır:

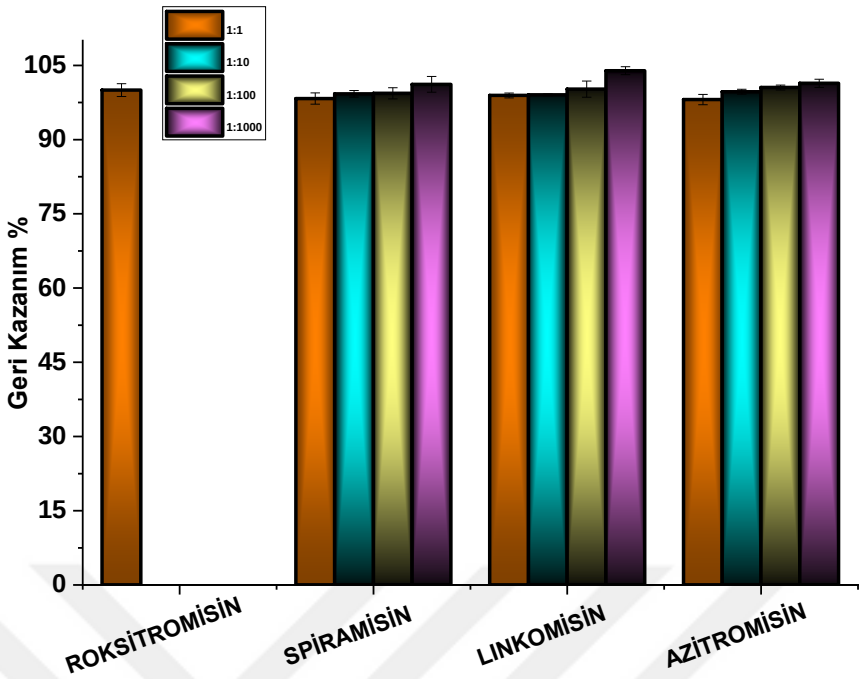
$$k_{(MIP)} = \frac{\Delta I_2(MIP)\ (ROK)}{\Delta I_2(MIP)\ (model\ ilaç)}$$

$$k_{(NIP)} = \frac{\Delta I_2(NIP)\ (ROK)}{\Delta I_2(NIP)\ (model\ ilaç)}$$

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

Çizelge 3.8. ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sensörünün ROK tayini için seçiciliği (ROK konsantrasyonu: 5,0 x 10^{-13} M)

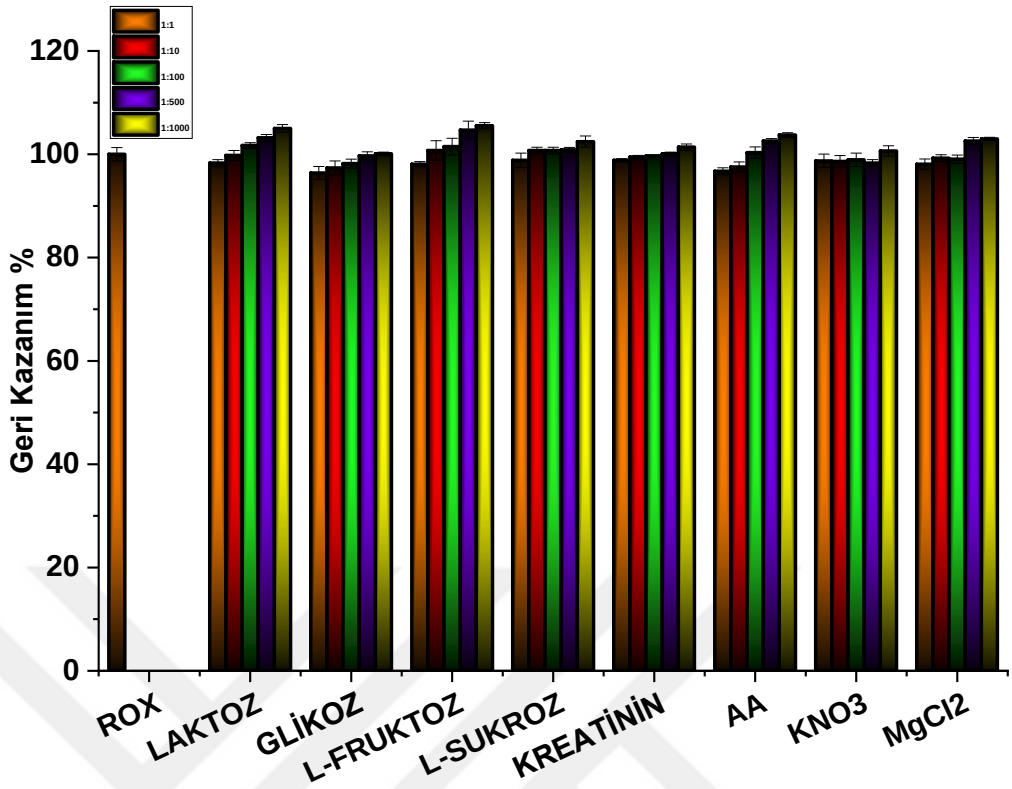
Moleküller	**MIP/CKE**		**NIP/CKE**		
	ΔI/μA	**$k_{(MIP)}$**	**ΔI/μA**	**$k_{(NIP)}$**	**$k'_{(MIP/NIP)}$**
	Molekülün konsantrasyonu: 5,0 x 10^{-13} M				
ROK	31,8	–	8	–	–
SPI	30,5	1,042	16,5	0,485	**2,150**
LIN	30,9	1,029	16,8	0,476	**2,161**
AZI	30,4	1,046	17,7	0,452	**2,314**
	Molekülün konsantrasyonu: 5,0 x 10^{-12} M				
ROK	31,8	–	8	–	–
SPI	30,9	1,029	17,2	0,465	**2,213**
LIN	31	1,025	17,8	0,449	**2,282**
AZI	31,3	1,015	18,8	0,426	**2,388**
	Molekülün konsantrasyonu: 5,0 x 10^{-11} M				
ROK	31,8	–	8	–	–
SPI	30,8	1,032	19,5	0,410	**2,517**
LIN	31,3	1,016	19,8	0,404	**2,515**
AZI	31,1	1,023	19,7	0,406	**2,518**
	Molekülün konsantrasyonu: 5,0 x 10^{-10} M				
ROK	31,8	–	8	–	–
SPI	31,2	1,019	22,7	0,352	**2,892**
LIN	32,3	0,984	21,6	0,370	**2,658**
AZI	31,5	1,009	20,3	0,394	**2,562**



Şekil 3.19. ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sensörünün 1:1, 1:10, 1:100 ve 1:1000 oranlarında benzer moleküllere sahip maddelerin varlığında DPV yöntemi kullanılarak elde edilen çubuk grafikler

3.2.7. Girişim Maddelerinin Değerlendirilmesi

ROK'un kantitatif analizi için geliştirilen MIP tabanlı elektrokimyasal sensörün performansı, içecek örneklerinde bulunan laktoz, glikoz, L-fruktoz, L-sükroz, kreatinin, AA, KNO_3 ve $MgCl_2$ gibi girişim yapan maddelerden etkilenip etkilenmediğini belirlemek amacıyla test edilmiştir. DPV yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen girişim çalışmasında, 1, 10, 100, 500 ve 1000 kat daha fazla çeşitli girişim yapan madde içeren $5{,}0x10^{-13}$ M ROK çözeltisine daldırıldıktan sonra tepe akım değerleri ölçülmüştür. Böylece girişim yapan maddelerin varlığında BSS% ve geri kazanım% değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen veriler göz önüne alındığında, ROK tespiti için tasarlanan ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sensörü, girişim yapan maddelerin varlığında mükemmel geri kazanım özellikleri göstererek sensörün doğruluğunu ve seçiciliğini kanıtlamıştır (Şekil 3.20).



Şekil 3.20. ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sensörünün 1:1, 1:10, 1:100, 1:500 ve 1:1000 oranlarında girişim yapan maddelerin varlığında DPV yöntemi kullanılarak elde edilen çubuk grafikler

3.2.8. Sensörün Kararlılık ve Yeniden Kullanılabilirlik Değerlendirmesi

ROK için geliştirilen elektrokimyasal sensör üzerinde kararlılık ve tekrar kullanılabilirlik deneyleri yapılmıştır. Hazırlanan sensör 10 gün boyunca oda sıcaklığında bir desikatörde tutulmuştur. Bu süre zarfında farklı günlerde (1, 3, 5, 7 ve 10. gün) ölçümler alınmış ve %98,28 (1. gün), %94,27 (3. gün), %90,12 (5. gün) ve %83,57 (10. gün) sonuçlar elde edilmiştir. Sonuçlara göre ROK için geliştirilen sensör 5 gün boyunca kararlı kalmıştır. Ayrıca sensörün tekrar kullanılabilirliği için farklı konsantrasyonlarda yedi ölçüm alınmıştır. Bu sonuçlar dikkate alındığında ROK/TiO_2 NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sensörünün sağlamlığı ve kararlılığı kanıtlanmıştır.

3.2.9. Tasarlanan Sensörün Yeşil Profili

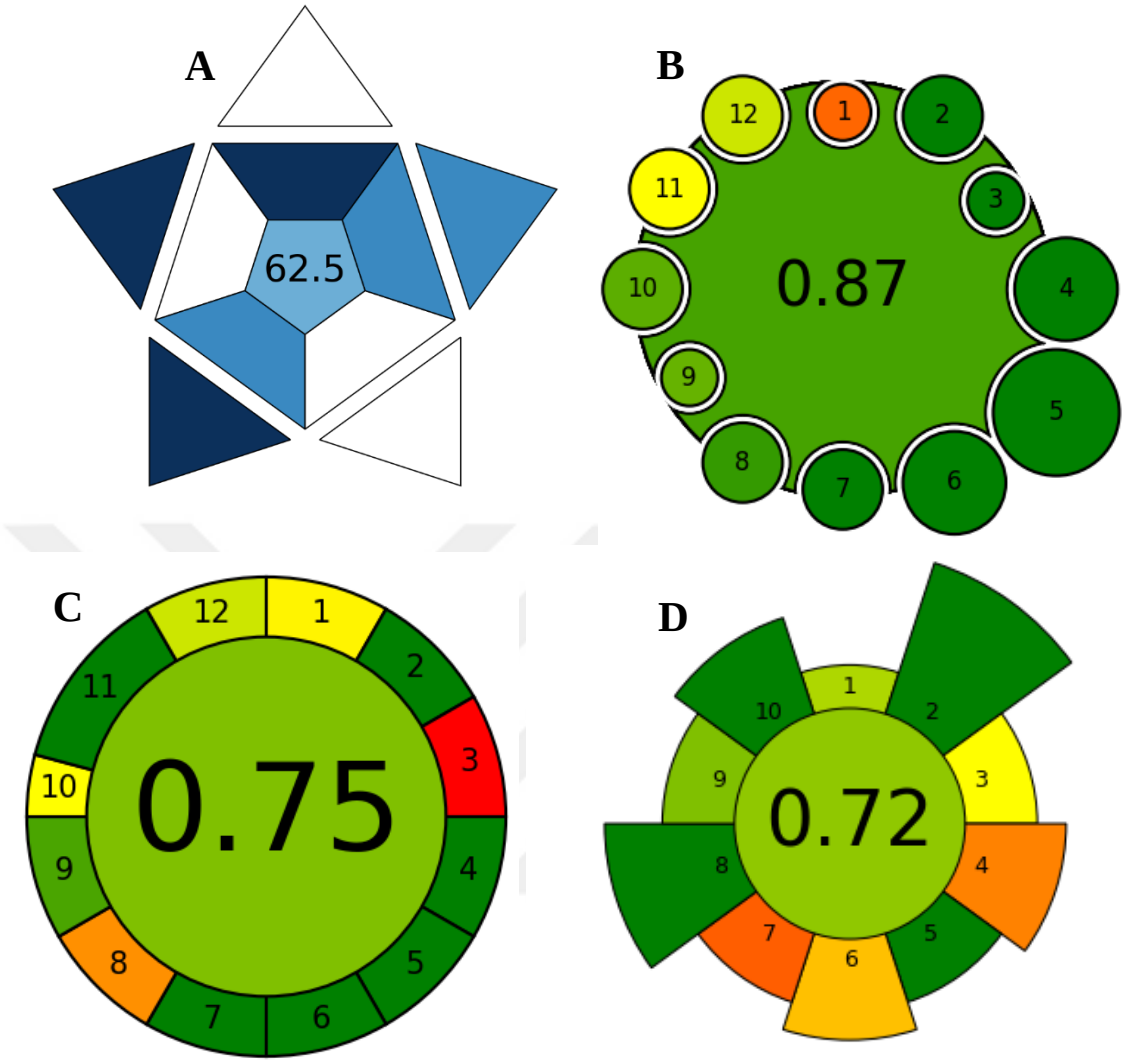
Bir sensörün yeşil profili, sürdürülebilirliği ve çevre dostu olması hakkında ayrıntılar sağlar, az atık, çevre dostu bileşenler ve enerji açısından verimli sentez vurgulanır. Yeşil kimya ilkeleri takip edilir ve çevresel sürdürülebilirliği korumak için kaynakların korunmasına,

azaltılmış emisyonlara ve geri dönüştürülebilir bileşenlere büyük önem verilir. Çevre dostu olma ve sürdürülebilirlik, ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sensörleri oluşturulurken ilk önceliktir. Çalışmanın yeşil profil puanını hesaplamak için BAGI, AGREEMIP, AGREE ve AGREEprep kullanıldı. BAGI, oluşturulan yöntemin uygulanabilirliğini değerlendirmek için çeşitli ölçütler kullanır. Bu testteki en düşük olası puan 25'tir ve genellikle 60 veya daha yüksek bir puan önerilir. 100'lük ideal puan, analitik yaklaşımın tamamen uygun olduğu anlamına gelir. Mevcut araştırmada 62,5'lik bir puan elde edildi (Şekil 3.21A). Bu, yerleşik yöntemin uygulanabilirliğini kanıtladı (Manousi vd., 2023). Sensörün tekrar kullanılabilir olması, çevreye olan etkisini azaltır ve kaynak tasarrufu sağlar.

AGREEMIP aracı yakın zamanda MIP'leri üretmenin daha ekolojik olarak dost bir yöntemi olarak önerildi. AGREEMIP, enerji ihtiyaçlarını, farklı reaksiyon bileşenlerinin çevresel etkilerini ve MIP sentez ayrıntılarını değerlendirmek için 12 kriter kullanır. Genel bir puan oluşturmak için, her kriter için girdi verileri 0 ila 1 ölçeğinde ayrı puanlara dönüştürülür. Daha sonra bu değerler ağırlıklı ortalamalarıyla çarpılır. Sonuçlar, sürecin genel yeşilliğini ve karşılık gelen ağırlıkları vurgulayan estetik açıdan hoş ve kolayca anlaşılabilir bir piktogramda sunulur. Geliştirilen sensör, mevcut çalışmanın 0,87'lik AGREEMIP puanına göre "son derece yeşil" olarak kategorize edilebilir (Şekil 3.21B). MIP sentez yöntemlerinin ne kadar çevre dostu olduğunu değerlendirirken, AGREEMIP yüksek derecede ayrımcılık yeteneği göstermiştir (Marć vd., 2024).

AGREE, YAK'ın 12 ilkesini değerlendirir ve 0 ile 1 arasında değişen bir puan kullanır. Daha yüksek "yeşillik" seviyeleri 1'e yakın puanlarla gösterilirken, daha düşük çevre dostu olma seviyeleri 0'a yakın puanlarla gösterilir. AGREE'nin sonuçlarına göre, mevcut araştırmanın puanı 0,75'ti (Şekil 3.21C). Bu sonuç, daha az enerji tüketildiğini ve daha az tehlikeli madde kullanıldığını göstermektedir. Ancak, yöntemin yerinde analiz yapamama, tam otomasyonun olmaması ve yenilenebilir kaynakların kullanılamaması gibi birçok dezavantajı vardır (Pena-Pereira vd., 2020).

Daha ulaşılabilir bir yöntem, testin örnek hazırlama bölümünü on parametreye göre 0 ila 1 arasında derecelendiren AGREEprep'tir. 1 civarındaki bir puan güçlü performansı gösterirken, 0 civarındaki bir puan kötü performansı gösterir. Mevcut araştırmanın sonuçlarına göre, AGREEprep puanı 0,72'dir (Şekil 3.21D). Bu yaklaşımın avantajları ve dezavantajları AGREE yaklaşımının avantajları ve dezavantajlarıyla tutarlıdır.



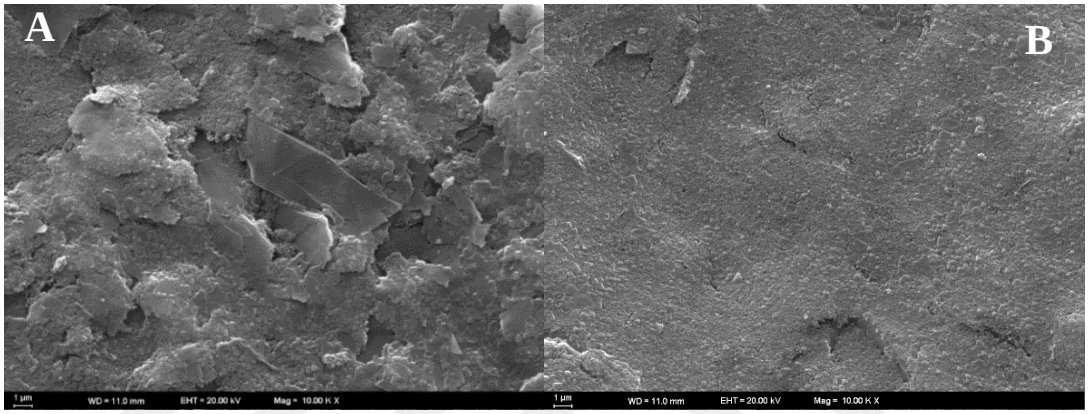
Şekil 3.21. A) BAGI, B) AGREEmip, C) AGREE ve D) AGREEprep için piktogramlar

3.3. Spiramisin Etken Maddesine Ait Bulgular

3.3.1. Polimerik Filmlerin Karakterizasyonu

SPR'nin seçici ve hassas analizi için tasarlanan sensörün polimerik filmlerin morfolojisini ve kimyasal özelliklerini incelemek için SEM kullanıldı. Sem yönteminde hem MIP hemde NIP yüzeyleri için analiz yapıldı (Şekil 3.22). Şekil 3.22A, CKE yüzeyinde geliştirilen SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörünün morfolojisini göstermektedir. Morfolojik yapı incelendiğinde SPR'nin seçici olarak bağlanması için tasarlanmış entegre yarım küresel parçacıklar ve boşluklara sahip pürüzlü, gözenekli yapılar

elde edildiği gözlemlenmektedir. AuNP ve CuNP eklenmesiyle MIP'nin yapısal bütünlüğü ve polimerik yapısı korunmaktadır. Bu sayede elektrokimyasal aktivitesini ve moleküler baskı verimliliğini büyük ölçüde artırır. MIP'nin aksine, NIP yüzeyinde (Şekil 3.22B), MIP'te bulunan baskı boşlukları yer almamakta ve belirgin şekilde daha pürüzsüz görünmektedir. Bu pürüzsüz şekil, belirli bağlanma bölgelerinden yoksun olan baskılanmamış polimerlerin tipik özelliğidir. MIP ve NIP yüzeylerinin morfolojik yapısı incelendiğinde SPR için seçici moleküler tanıma özelliğine sahip baskılı bir polimerin başarılı bir şekilde yaratıldığı doğrulanmaktadır.



Şekil 3.22. SPR için geliştirilen sensörün elektrot yüzeyinin karakterizasyonu A) SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE ve B) SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@NIP/CKE yüzeylerinin SEM görüntüleri

3.3.2. Polimerik Filmlerin Elektrokimyasal Karakterizasyon

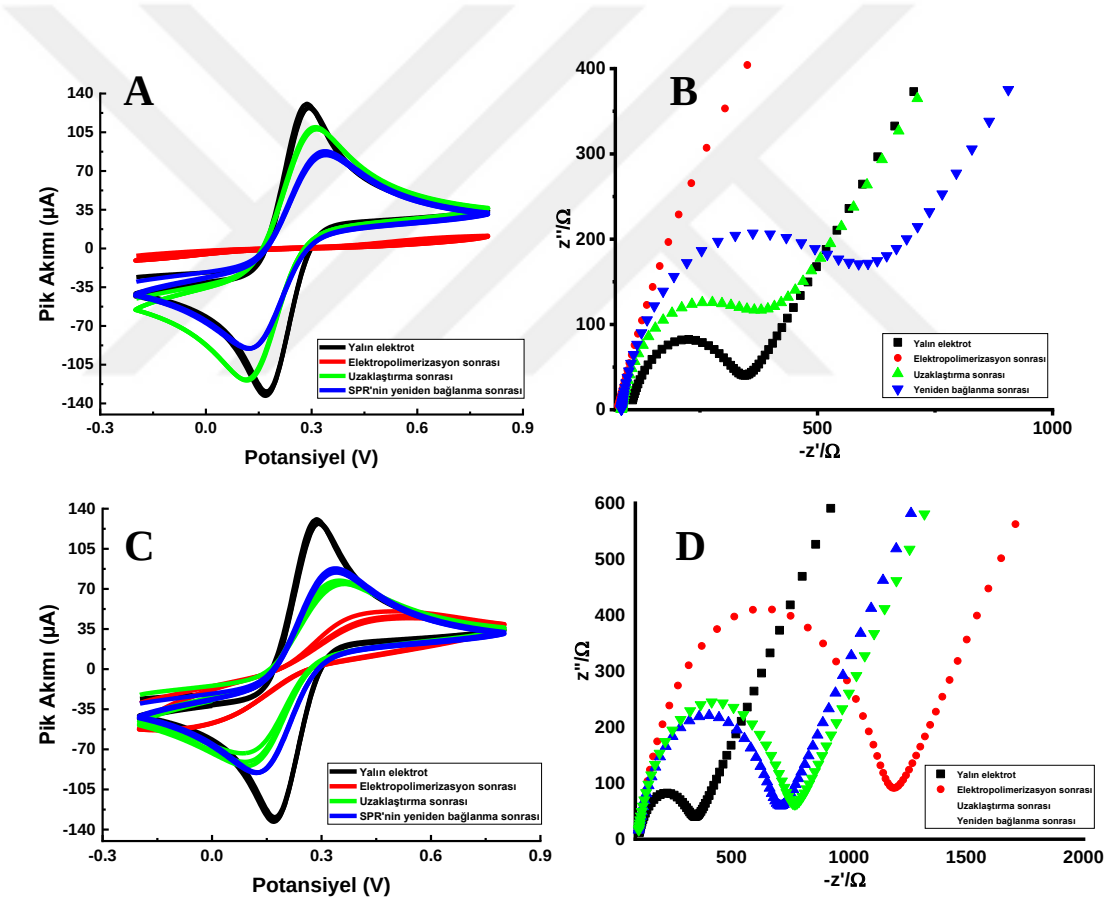
MIP tabanlı elektrokimyasal ssensörlerin hem yüzey hemde elektrokimyasal karakterizasyonları yapılmaktadır. SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörünün elektrokimyasal özelliklerini doğrulamak için, 0,1 M KCl'de $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$'ün 5,0 mM redoks prob çözeltisi içerisinde yalın elektrotk, polimerizasyon, uzaklaştırma ve yeniden bağlama dahil olmak üzere çeşitli aşamalarda DV ve EIS ölçümleri alınmıştır. DV yöntemi için, sensörün her aşaması için alınan ölçümlerdeki anodik ve katodik tepe akım değerleri Şekil 3.23B ve Şekil 3.23D'ye bakıldığında görülmektedir. En belirgin tepe akımı değerleri yalın CKE'de (siyah çizgi) görüldü çünkü elektron transferi için herhangi bir engel yoktu. CKE yüzeyi EP işlemi yapılarak ince bir polimerik film ile kaplandıktan sonra polimerizasyon ölçümleri alındı ve polimerizasyon işleminin elektron transferini engellediği için redoks probunun anodik ve katodik tepe akımları azalır (kırmızı çizgi). SPR hedef molekülünün polimerik yapıdan uzaklaştırma işleminden sonra yeşil çizgiyle gösterildiği gibi redoks tepe

değerini yükselten belirgin boşluklar oluştuğu görülmektedir. Son olarak, yeniden bağlanma işleminden sonra tepe akım değerlerinde azalma meydana geldi. Bu durumda, SPR moleküllerinin MIP sensöründeki boşluklu yapının bazı kısımlarına bağlandığını görülmektedir (mavi çizgi) (Şekil 3.23B). Şekil 3.23D'de ise hedef molekül olmadan hazırlanan NIP tabanlı sensörün MIP sensöre benze şekilde yalın CKE, ve EP işleminden sonra redoks probunun tepe akım değerleri ölçüldü. Fakat, uzaklaştırma işleminden ve yeniden bağlanmadan sonra tepe akım değerlerinde azalma beklenmez. Hedef molekülü tanımada oluşturan boşlukların işlevsel önemi, DV yöntemiyle elde edilen verilerin elektrokimyasal karakterizasyon açısından doğrulanır. Bu durumda sensörün SPR varlığında yanıt olarak elektron taşınmasını kontrol etme yeteneğini kanıtlamaktadır.

SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörünün impedimetrik özelliklerini incelemek için çeşitli modifikasyon fazlarındaki yük transfer direncini (Rct) ölçmek için EIS yöntemi kullanıldı. Şekil 3.23A ve Şekil 3.23C'de görüldüğü gibi yalın CKE en düşük Rct değerine sahiptir ve bu iletken, pürüzsüz yüzeyi üzerinde etkili elektron transferinin kolay şekilde olduğunu göstermektedir. Yük transfer akışını engelleyen MIP katmanının yalıtım karakteri, EP'yi takiben Rct değerindeki önemli artışla doğrulandı (kırmızı çizgi). Tasarlanan sensörün polimerik yapısından SPR'nin uzaklaştırılmasından sonra (yeşil çizgi), Rct değerinde azalma meydana geldi ve bu da yeni oluşturulan seçici boşluklar aracılığıyla gelişmiş elektron transferini gösterdi. Ancak, SPR'nin yeniden bağlanmasından sonra (mavi çizgi), seçici boşluklara SPR'nin bağlanması sonucunda elektron transferi engellendi ve Rct değerinde bir artışa neden oldu.

SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörünün impedimetrik özelliklerini incelemek için çeşitli modifikasyon fazlarındaki yük transfer direncini (Rct) ölçmek için EIS yöntemi kullanıldı. Şekil 3.23A ve Şekil 3.23C'de görüldüğü gibi yalın CKE en düşük Rct değerine sahiptir ve bu iletken, pürüzsüz yüzeyi üzerinde etkili elektron transferinin kolay şekilde olduğunu göstermektedir. Yük transfer akışını engelleyen MIP katmanının yalıtım karakteri, EP'yi takiben Rct değerindeki önemli artışla doğrulandı (kırmızı çizgi). Tasarlanan sensörün polimerik yapısından SPR'nin uzaklaştırılmasından sonra (yeşil çizgi), Rct değerinde azalma meydana geldi ve bu da yeni oluşturulan seçici boşluklar aracılığıyla gelişmiş elektron transferini gösterdi. Ancak, SPR'nin yeniden bağlanmasından sonra (mavi çizgi), seçici boşluklara SPR'nin bağlanması sonucunda elektron transferi engellendi ve Rct değerinde bir artışa neden oldu.

SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörünün impedimetrik özelliklerini incelemek için çeşitli modifikasyon fazlarındaki yük transfer direncini (Rct) ölçmek için EIS yöntemi kullanıldı. Şekil 3.23A ve Şekil 3.23C'de görüldüğü gibi yalın CKE en düşük Rct değerine sahiptir ve bu iletken, pürüzsüz yüzeyi üzerinde etkili elektron transferinin kolay şekilde olduğunu göstermektedir. Yük transfer akışını engelleyen MIP katmanının yalıtım karakteri, EP'yi takiben Rct değerindeki önemli artışla doğrulandı (kırmızı çizgi). Tasarlanan sensörün polimerik yapısından SPR'nin uzaklaştırılmasından sonra (yeşil çizgi), Rct değerinde azalma meydana geldi ve bu da yeni oluşturulan seçici boşluklar aracılığıyla gelişmiş elektron transferini gösterdi. Ancak, SPR'nin yeniden bağlanmasından sonra (mavi çizgi), seçici boşluklara SPR'nin bağlanması sonucunda elektron transferi engellendi ve Rct değerinde bir artışa neden oldu.

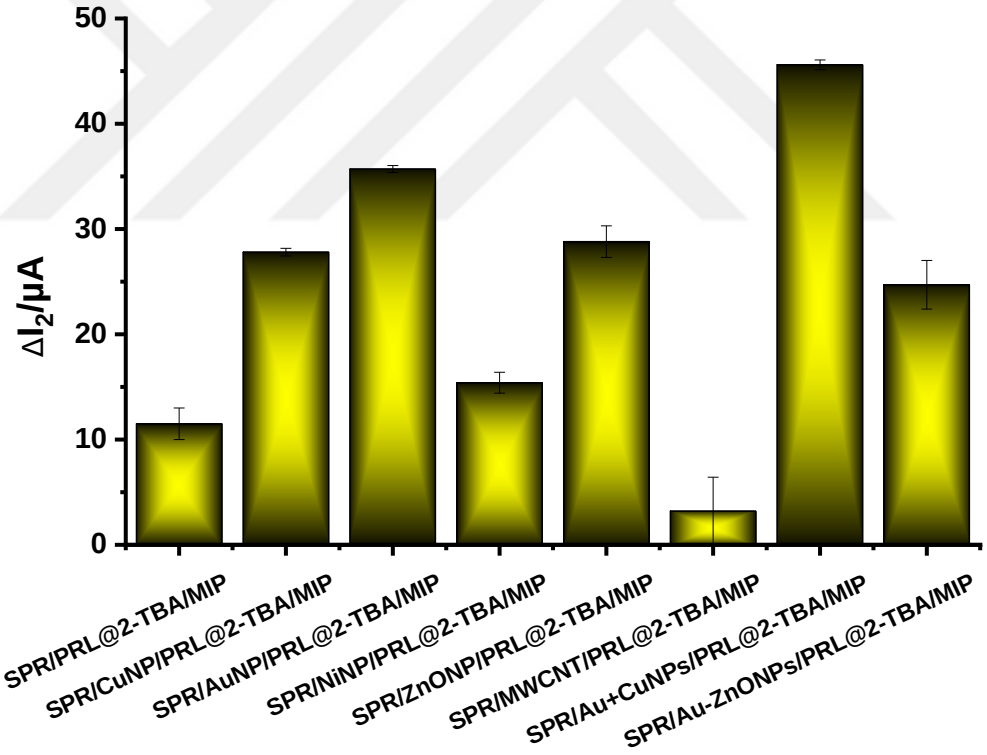


Şekil 3.23. Tasarlanan sensörün elektrokimyasal karakterizasyonu: SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörü için A) DV, B) EIS, SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@NIP/CKE sensörü için C) DV, D) EIS

3.3.3. Optimizasyon Parametreleri

3.3.3.1. Nanopartikül Etkisi

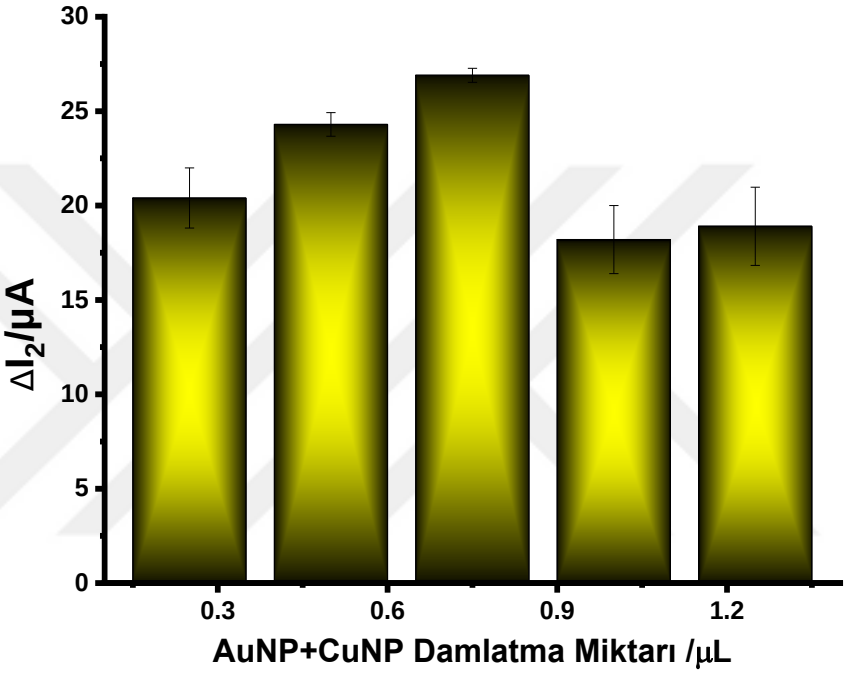
SPR için tasarlanan nanopartikül katkılı MIP tabanlı elektrokimyasal sensör için ilk olarak nanopartikül etkisine bakıldı. Naopartiküllerin sensör tasarımında kullanılmasının en önemli nedeni sensörün iletkenliğini artırması ve elektron transferinin taşınmasını kolaylaştırmaktır. Bu aşama da nikel nanopartiküller (NiNP), çinko oksit nanopartiküller (ZnONP), altın nanopartiküller (AuNP), çok duvarlı karbon nanotüpler (MWCNT), AuNP ile ZnONP karışımı ve AuNP ile CuNP'in (AuNP+CuNP) karışımları gibi farklı nanopartiküller kullanıldı. Elde edilen sonuçlara bakıldığında en uygun nanopartikül AuNP+CuNP olarak belirlendi **(**Şekil 3.24**).** Deneysel sonuçlar hedef molekülün uzaklaştırma ve yeniden bağlamada elde edilen akım değerleri (ΔI_2) arasındaki farkın hesaplanmasıyla bulundu.



Şekil 3.24. MIP tabanlı sensörün hazırlanmasında kullanılan farklı nanomalzemelere göre ΔI_2 değerleri

3.3.3.2. AuNP+CuNP Damlatma Miktarı

SPR'nin seçici ve hassas tayini için tasarlanan sensör SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE, AuNP+CuNP'nin damlatma miktarının SPR'in ΔI_2'i üzerindeki etkisini incelenerek belirlendi. Bu nedenle, AuNP+CuNP 0,25, 0,5, 0,75, 1,0 ve 1,25 µL olarak damlatıldı ve elde edilen sonuçlar incelendiğinde AuNP+CuNP için en uygun damlatma miktarı 0,75 µL olduğu bulundu (Şekil 3.25).



Şekil 3.25. AuNP+ CuNP damlatma miktarı

3.3.3.3. Monomer: Hedef Molekül Oranı

Sensör tasarımında kararlı ve tekrarlanabilir bir polimerik yapı oluşturmak için en önemli adım hedef molekül ile monomer oranının belirlenmesidir. Polimerik yapıda fazla miktarda yada düşük miktarda monomer olması beklenenin aksine benzersiz polimerik boşluklar ve gözenekli yapılar elde edilemez. Bu durumda elde edilen boşluklu yapıya hedef molekülün yeniden bağlanmasını engelleyecektir. Hedef molekül ile monomer oranının tespit edilebilmesi için uzaklaştırma ve EP ölçümlerinden sonra elde edilen piklerin tepe akımı değerleri arasındaki fark (ΔI_1) değerlendirildi. 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 ve 1:5 gibi farklı oranlerde hedef molekül:monomer oranları incelendi ve en uygun oran 1:1olarak bulundu (Şekil 3.26A).

3.3.3.4. EP Döngü Sayısı

SPR için tasarlanan sensörün kararlı ve ince polimerik yapı oluşturması için EP döngü sayısı önemlidir. Bu aşamada hedef molekül:monomer oranı belirlendikten sonra DV yöntemi kullanılarak farklı döngü sayısılarında (1, 3, 5, 7 ve 10) deney yapıldı. Elde edilen ΔI_1 değerlerine bakıldığında EP döngü sayısı 3 döngü olarak bulundu **(**Şekil 3.26B**)**.

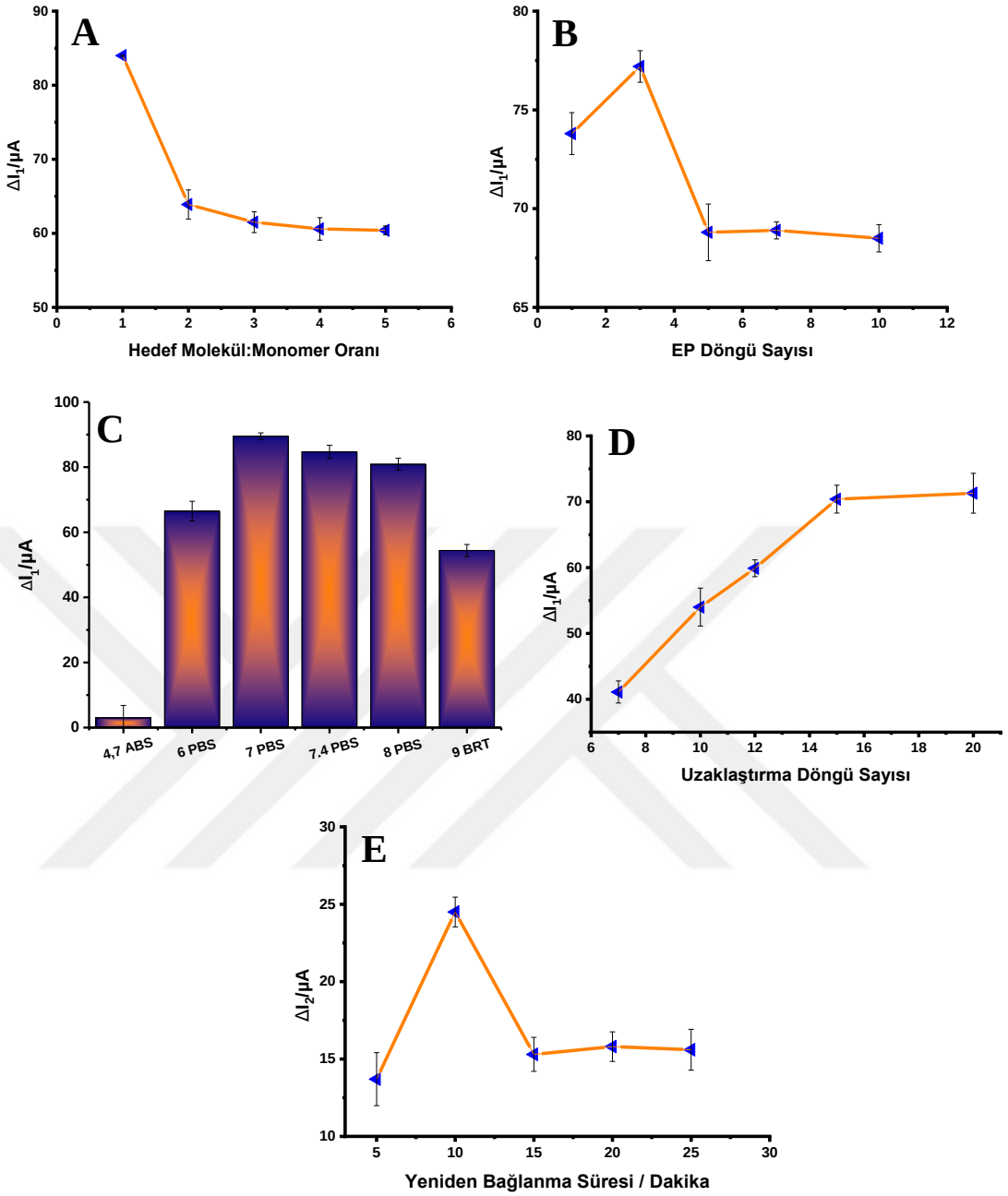
3.3.3.5. Uzaklaştırma Çözeltisi ve Döngü Sayısı

Hedef molekülü polimerik yapıdan uzaklaştırmak için uzaklaştırma çözeltileri ve döngü sayısı optimize edilmelidir. Elde edilen polimerik yapıya zarar vermeden farklı elektrolit çözeltileri (pH 4.7 ABS, pH 6 FT, pH 7 FT, pH 7.4 FT, pH 8 FT ve pH 9 BRT) kullanılmıştır. En uygun uzaklaştırma çözeltisini belirlemek için DV yöntemi kullanıldı. Şekil 3.26C'de görüldüğü gibi en uygun ve en kararlı uzaklaştırma çözeltisi pH 7 FT olarak bulundu.

Uzaklaştırma çözeltisi bulunduktan sonra uzaklaştırma döngü sayısı optimize edildi. Bu aşamada DV yöntemi kullanılarak pH 7 FT içerisinde 7, 10, 12, 15 ve 20 farklı döngü sayılarında deney yapıldı ve en uygun döngü sayısı 10 döngü olarak bulundu (Şekil 3.26D).

3.3.3.6. Yeniden Bağlanma Süresi

Tasarlanan SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörünün son aşaması olan yeniden bağlanma optimizasyonu, uzaklaştırma işleminden sonra sensörün bilinen konsantrasyonda SPR çözeltisi içerisine daldırılarak ve farklı sürelerde (5, 10, 15, 20 ve 25 dakika) bir Thermo-çalkalayıcı (25 ^{o}C, 250 rpm) yardımıyla gerçekleştirildi. Uzaklaştırma ve yeniden bağlanmadan sonra elde edilen piklerin tepe akımları arasındaki fark (ΔI_2) alınarak değerlendirme yapıldı. Şekil 3.26E'de görüldüğü gibi, ΔI_2 değerleri değerlendirildi ve optimum yeniden bağlanma süresi 10 dakika olarak bulundu.



Şekil 3.26. SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sesörünün 5 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ çözeltisi içerisinde optimizasyon parametreleri; A) Hedef molekül/monomer oranı, B) EP'nin tarama döngü sayısı, C) Uzaklaştırma çözeltileri, D) Uzaklaştırma döngü sayısı, E) Yeniden bağlanma süresi

3.3.4. SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE Sensörünün Analitik Performansının Değerlendirilmesi

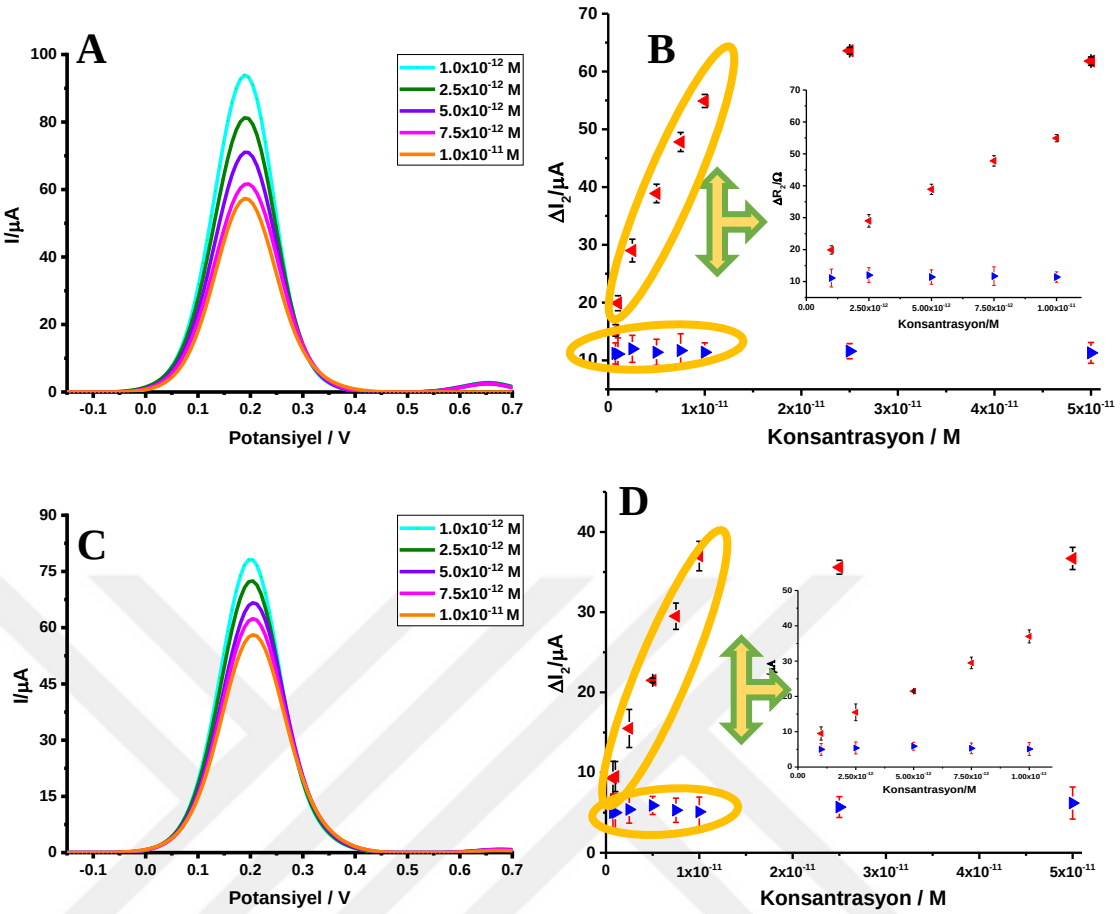
SPR için geliştirilen SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörünün analitik performansı DPV yöntemi kullanılarak değerlendirildi. DPV yöntemi için farklı SPR derişimlerinde yeniden bağlayarak $1x10^{-12}$ M ile $1x10^{-11}$ M arasında bir kalibrasyon aralığı elde edildi. Şekil 3.27A'da görüldüğü gibi DP voltamogramları, kalibrasyon aralığında konsantrasyon arttıkça tepe akımında bir artış gözlemlenmektedir. Deneydeki tüm ölçümler redoks probu 5,0 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ çözeltisi içerisinde gerçekleşmiştir. Geliştirilen sensör için elde edilen kalibrasyon aralığının regresyon denklemi ΔIp_2 (μA) = $4,00x10^{12}$ (μA/M) x C(M) + 19,23 (r= 0,999) olarak elde edildi (Ozkan vd., 2015; Procedures, 1996).

Çizelge 3.9'e bakıldığında standart kalibrasyona ait regresyon parametrelerinin sonuçlarını ayrıntılı şekilde görülmektedir. Ayrıca, sensörün tespit sınırı (TS) ve kantifikasyon sınırı (TAS) değerlerinin sırasıyla $2,651x10^{-13}$ M ve $8,84x10^{-13}$ M olduğu bulunmuştur. ICH'ye göre, TA ve TAS değerleri aşağıdaki formüllerden hesaplanır (Ozkan vd., 2015; Procedures, 1996):

$$\left(TS = 3x\frac{standart\ sapma}{eğim}\right)$$

$$\left(TAS = 10x\frac{standart\ sapma}{eğim}\right)$$

SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörünün sonuçlarına bakıldığında, optimum koşullar altında mükemmel sonuçlar elde edilmiştir (Şekil 3.27). Tasarlanan nanopartikül katkılı MIP tabanlı elektrokimyasal sensörün SPR için seçici ve hassas tayinindeki doğruluğunu kanıtlamak amacıyla, NIP tabanlı elektrokimyasal sensörün performansı aynı kalibrasyon aralığında analiz edilmiştir. Şekil 3.27B'de bakıldığında, SPR konsantrasyonlarına göre değişen akım değerleri (ΔI_2), MIP tabanlı sensörde doğrusallık göstermektedir (kırmızı renk), fakat NIP tabanlı sensörde doğrusallık elde edilememiştir (mavi renk). Elde edilen sonuçlara bakıldığında, SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörü, ROK'un kantitatif analizinde mükemmel seçicilik ve hassasiyet göstermiştir.



Şekil 3.27. Standart (A) ve süt (C) çözeltilerinde farklı SPR konsantrasyonlarının yeniden bağlanmasından sonra elde edilen DP voltamogramları. Standart (B) ve süt (D) çözeltilerinde (0,1 M KCl varlığında 5,0 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ çözeltisinde) SPR/AuNPs+CuNPs/PRL/2-TBA@MIP/CKE için kalibrasyon eğrisi

Çizelge 3.9. SPR/AuNPs+CuNPs/PRL/2-TBA@MIP/CKE için kalibrasyon çizgisinin regresyon verileri

	Standart Çözelti	**Süt Numune**
Doğrusal çalışma aralığı (M)	$1x10^{-12}$- $1x10^{-11}$ M	$1x10^{-12}$- $1x10^{-11}$ M
Eğim, DPV (µA/M.cm^{-2})	$3,82x10^{12}$	$3,03x10^{12}$
Eğimin standart hatası, (µA/M.cm^{-2})	$2,43x10^{11}$	$1,06x10^{11}$
Kesişim, DPV (µA)	17,71	6,37
Kesişimin standart hatası, (µA/M.cm^{-2})	1,65	0,55
Korelasyon katsayısı (r)	0,999	0,998
Teşhis sınırı (M)	$2,82x10^{-13}$	$2,65x10^{-13}$
Tayin alt sınırı (M)	$9,42x10^{-13}$	$8,84x10^{-13}$
Tekrarlanabilirlik BSS%)*	0,67	0,86
Tekrar üretilebilirlik (BSS%)*	1,83	2,37

** Elde edilen %BSS değerlerinin ölçüm sayısı 5'tir.*

3.3.5. Gerçek Numunelerde SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE Sensörünün Uygulanması

Tasarlanan nanopartikül katkılı MIP tabanlı elektrokimyasal sensörün farklım içecek numunelerinde (süt, elma suyu ve portakal suyu) gerçek numune analizi yapıldı. Gerçek numunelerde uygulanabilirliği test etmek için Bölüm 2.3.3'te verilen prosedür izlenerek hazırlandı. Süt numunesinde DPV yöntemi kullanılarak 1×10^{-12} M ile 1×10^{-11} M konsantrasyon aralıklarında standart çözeltiye benzer şekilde doğrusal aralık elde edildi (Şekil 3.27).

Çizelge 3.9'da SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörünün süt numunelerinde SPR'yi tespit etmesi için hesaplanan tüm parametreler, tekrarlanabilirlik ve yeniden üretilebilirlik tepe akımı (% BSS) değerleri ile TS ve TAS değerleri dahil olmak üzere gösterilmektedir. SPR için geliştirilen sensörün doğruluğu, süt, portakal suyu ve elma suyu örneklerine üç farklı bilinen konsantrasyonda standart SPR çözeltisi eklenerek değerlendirildi.

Çizelge 3.9 ve Çizelge 3.10'da gösterilen sonuçlara göre, sensörün analitik performansı detaylı olarak incelendi ve geri kazanım yüzdesi ve ilişkili BSS yüzdesi değerlerinin oldukça iyi olduğu bulundu. DPV yöntemi kullanılarak geri kazanım ve ilişkili BSS% sonuçları, tasarlanan sensörün uygunluğunu ve performansını doğruladı.

Çizelge 3.10. SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörünün SPR tayini için geri kazanım (SPR konsantrasyonu: 5,0 x 10^{-12} M)

	Süt Numune		
Numune miktarı (M)	1,00x10^{-12}	2,50x10^{-12}	5,00x10^{-12}
Eklenen miktar (M)	6,50x10^{-12}	5,00x10^{-12}	2,50x10^{-12}
Bulunan miktar (M)*	7,69x10^{-12}	7,70x10^{-12}	7,76x10^{-12}
Geri kazanım (%) *	102,54	102,68	103,57
BSS%	0,58	1,35	1,93
BH%	+2,54	+2,68	+3,57
	Portakal Suyu		
Numune miktarı (M)	1,00x10^{-12}	2,50x10^{-12}	5,00x10^{-12}
Eklenen miktar (M)	6,50x10^{-12}	5,00x10^{-12}	2,50x10^{-12}
Bulunan miktar (M)*	7,60x10^{-12}	7,73x10^{-12}	7,69x10^{-12}
Geri kazanım (%) *	101,34	103,05	102,51
BSS%	1,11	0,69	1,16
BH%	+1,34	+3,05	+2,51
	Elma Suyu		
Numune miktarı (M)	1,00x10^{-12}	2,50x10^{-12}	5,00x10^{-12}
Eklenen miktar (M)	6,50x10^{-12}	5,00x10^{-12}	2,50x10^{-12}
Bulunan miktar (M)*	7,71x10^{-12}	7,79x10^{-12}	7,85x10^{-12}
Geri kazanım (%) *	102,87	103,85	104,69
BSS%	0,65	0,35	0,94
BH%	+2,87	+3,85	+4,69

***** *Elde edilen %BSS değerlerinin ölçüm sayısı 5'tir.*

3.3.6. SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE Sensörünün Baskılama Faktörü/Seçicilik Çalışmaları

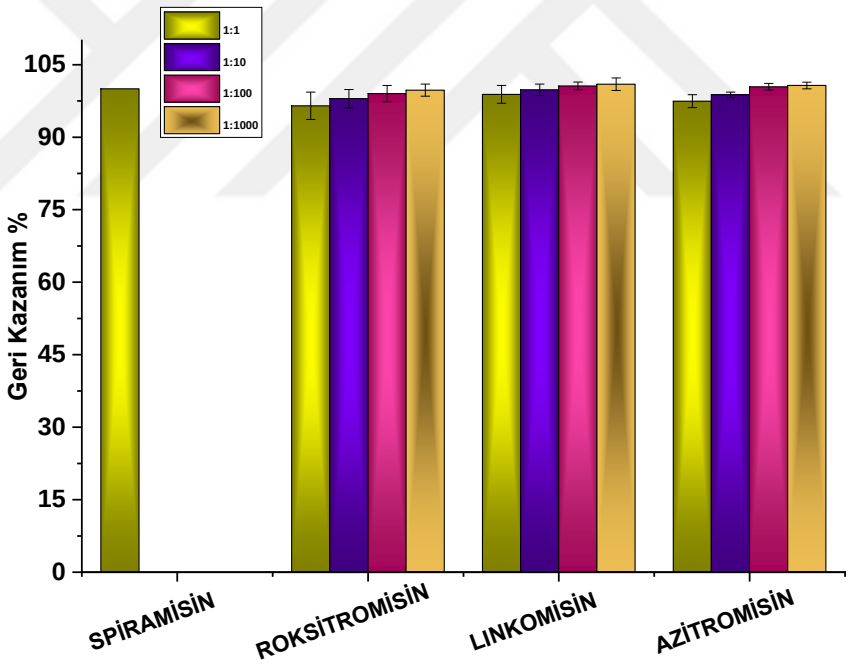
Tasarlanan MIP tabanlı elektrokimyasal sensörlerin en önemli özelliği seçiciliktir. Bu sensörler seçici tanıma bölgeleri nedeniyle hedef moleküle olan yüksek afiniteye sahiptirler. Sensörün seçiciliği kanıtlamak için hedef moleküle benzer yapıya sahip moleküller kullanılarak seçicilik çalışması yapılır. SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörünün seçiciliğini kanıtlamak için yapılan seçicilik çalışmasında LIN, ROK ve AZI ilaç etken maddeleri kullanıldı ve bağıl seçicilik katsayısı (k′) ve seçicilik katsayısı (k) değerleri hesaplanmıştır (Çizelge 3.11). 1:1, 1:10, 1:100, 1:1000 gibi farklı oranlarda model ilaçlar

varlığında SPR ile karşılaştırma yapılmıştır. Tasarlanan SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörü, 1000 kat benzer moleküle sahip ilaçların varlığında bile SPR'ye 1,62, 2,04 ve 1,76 kat daha seçici olduğu görülmüştür (Çizelge 3.11). Elde edilen bulgulara bakıldığında, tasarlanan sensör yüksek seçicilik göstermiştir **(**Şekil 3.28). Seçicilik hesaplamalarında aşağıdaki formüller kullanılmıştır:

$$k_{(MIP)} = \frac{\Delta I_2(MIP)\ (SPR)}{\Delta I_2(MIP)\ (model\ ilaç)}$$

$$k_{(NIP)} = \frac{\Delta I_2(NIP)\ (SPR)}{\Delta I_2(NIP)\ (model\ ilaç)}$$

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



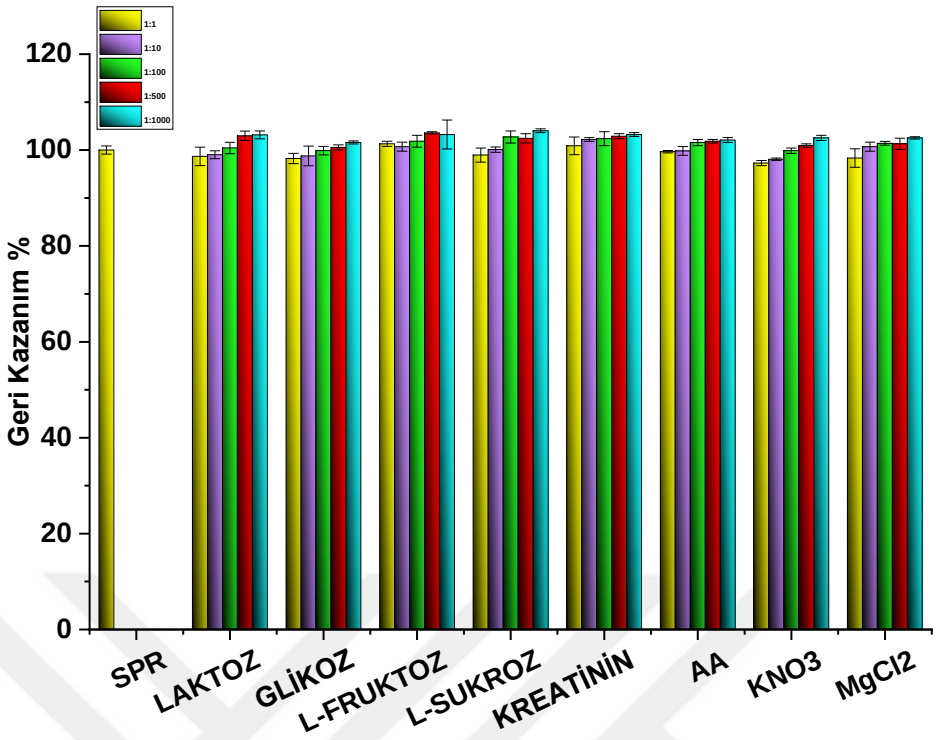
Şekil 3.28. SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörünün 1:1, 1:10, 1:100 ve 1:1000 oranlarında benzer moleküllere sahip ilaç etken maddelerin varlığında DPV yöntemi kullanılarak elde edilen çubuk grafikler

Çizelge 3.11. SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörünün SPR tayini için seçiciliği (SPR konsantrasyonu: 5,0 x 10^{-12} M)

Moleküller	MIP/CKE		NIP/CKE		
	ΔI/μA	**$k_{(MIP)}$**	**ΔI/μA**	**$k_{(NIP)}$**	**$k'_{(MIP/NIP)}$**
	Molekülün Konsantrasyonu: 5,0 x 10^{-12} M				
SPR	38,4	–	11,84	–	–
ROK	36,1	1,06	16,3	0,69	1,52
LIN	37,2	1,03	19,5	0,58	1,77
AZI	36,5	1,05	16,6	0,68	1,53
	Molekülün Konsantrasyonu: 5,0 x 10^{-11} M				
SPR	38,4	–	11,84	–	–
ROK	36,5	1,05	17,1	0,66	1,58
LIN	38	1,01	21,7	0,52	1,92
AZI	37,4	1,02	17	0,67	1,54
	Molekülün Konsantrasyonu: 5,0 x 10^{-10} M				
SPR	38,4	–	11,84	–	–
ROK	37,3	1,02	17,5	0,65	1,58
LIN	38,2	1,00	23	0,49	2,03
AZI	37,9	1,01	18,9	0,60	1,68
	Molekülün Konsantrasyonu: 5,0 x 10^{-9} M				
SPR	38,4	–	11,84	–	–
ROK	37,1	1,03	17,8	0,64	1,62
LIN	38,9	0,98	23,5	0,48	2,04
AZI	38	1,01	19,8	0,57	1,76

3.3.7. Girişim Etkisinin Değerlendirilmesi

SPR'nin seçici ve hassas analizi için tasarlanan nanopartikül katkılı MIP tabanlı elektrokimyasal sensörün performansını gıda numunelerinde bulunan laktoz, glikoz, L-fruktoz, L-sükroz, kreatinin, AA, KNO_3 ve $MgCl_2$ gibi girişim yapan maddelerden etkilenip etkilenmediğini belirlemek amacıyla değerlendirilmiştir. Girişim maddelerinin değerlendirilmesi için DPV yöntemi kullanıldı ve farklı oranlarda (1-10-100-500-1000) girişim maddeleri içeren 5, 0x10^{-12} M SPR çözeltisine daldırılarak tepe akım değerleri elde edildi. Böylece girişim yapan maddelerin varlığında BSS% ve geri kazanım% değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen bulgulara bakıldığında, SPR tespiti için tasarlanan SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörü, girişim yapan maddelerin varlığında olağanüstü geri kazanım özellikleri göstererek sensörün doğruluğunu ve seçiciliğini kanıtlamıştır (Şekil 3.29).



Şekil 3.29. SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörünün 1:1, 1:10, 1:100, 1:500 ve 1:1000 oranlarında girişim yapan maddelerin varlığında DPV yöntemi kullanılarak elde edilen çubuk grafikler

3.3.8. Sensörün Kararlılık ve Yeniden Kullanılabilirlik Değerlendirmesi

Tasarlanan SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörünün kararlılık ve tekrar kullanılabilirlik deneyleri yapılmıştır. Kararlılık çalışması için hazırlana ssensör 10 gün boyunca oda sıcaklığında desikatör içerisinde tutuldu. Bu süre içerisinde farklı zaman dilimlerinde (1, 3, 5, 7 ve 10 gün) ölçümleri alındı, Elde edilen verilere göre sensörün kararlılığı %98,12 (1. gün), %93,24 (3. gün), %89,31 (5. gün) ve %81,75 (10. gün) sonuçlar bulundu. Sonuçlara bakıldığında SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörünün SPR için 3 gün boyunca kararlı olduğu görülmüştür.

Ayrıca sensörün tekrar kullanılabilirliği için farklı konsantrasyonlarda 8 ölçüm alınmıştır. Bu sonuçlara bakıldığında SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörünün SPR'nin seçici ve hassas analizi için oldukça sağlam ve kararlı olduğu kanıtlanmıştır.

3.3.9. Tasarlanan Sensörün Yeşil Profili

MIP tabanlı elektrokimyasal sensörün yeşil profili, sürdürülebilirliği ve çevre dostu olması hakkında önemli bilgiler verir, az atık, çevre dostu bileşenler ve enerji açısından verimli sentez vurgulanır. Yeşil kimya ilkelerinde, çevresel sürdürülebilirliği korumak için kaynakların korunması, azaltılmış emisyonlara ve geri dönüştürülebilir bileşenlere önem verilmektedir. SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörünün tasarlanmasındaki ilk öncelik çevre dostu olması ve sürdürülebilir olmasıdır. Bu nedenle yapılan çalışmanın yeşil profil puanını hesaplamak için 4 farklı yöntem (BAGI, AGREEMIP, AGREE ve AGREEprep) kullanıldı.

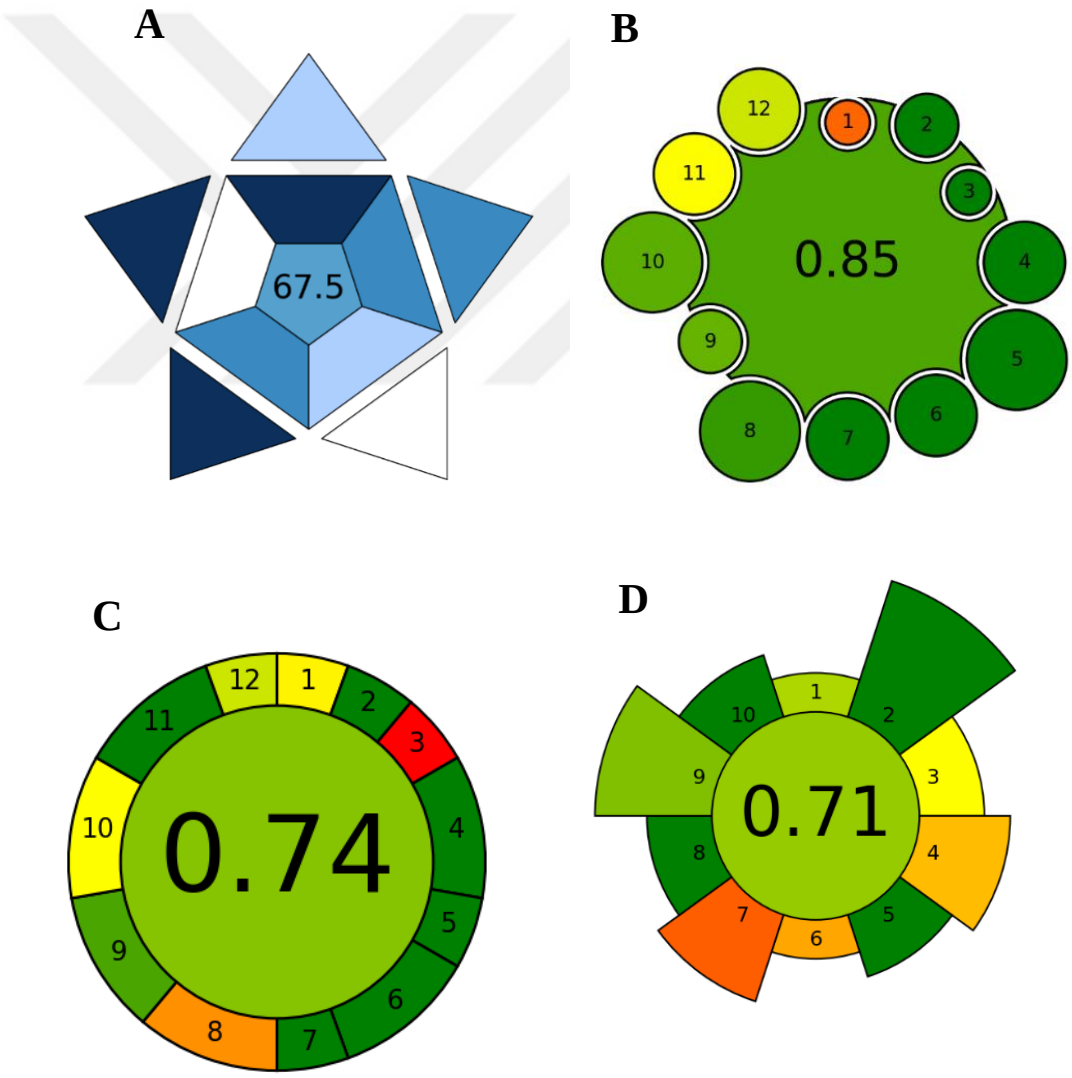
Yeşil profil yöntemlerinden biri olan BAGI, yöntemin uygulanabilirliğini değerlendirmek için farklı ölçütler kullanılarak hesaplanmaktadır. Bu yöntemdeki en düşük olası puan 25'tir ve genellikle 60 veya daha yüksek bir puan önerilir. 100'lük ideal puan, analitik yaklaşımın tamamen uygun olduğu anlamına gelir. Tasarladığımız sensörde BAGI testi sonucunda 72,5'lik bir puan elde edildi (Şekil 3.30A). Bu, tasarlanan sensörün uygulanabilirliğini kanıtladı (Manousi vd., 2023). Sensörün tekrar kullanılabilir olması, çevreye olan etkisini azaltır ve kaynak tasarrufu sağlamaktadır.

MIP'lerin üretiminde daha çevreci dost yöntemi olarak önerilen AGREEMIP yöntemi, enerji ihtiyaçlarını, farklı reaksiyon bileşenlerinin çevresel etkilerini ve MIP sentez ayrıntılarını değerlendirmede 12 kriter kullanır. AGREEMIP yeşil hesaplama yönteminde puan hesaplamak için, her kriter için girdi verileri 0 ila 1 ölçeğinde ayrı puanlara dönüştürülür. Daha sonra elde edilen değerler ağırlıklı ortamalarıyla çarpılmaktadır. Sonuçlar, sürecin genel yeşilliğini ve karşılık gelen ağırlıkları vurgulayan estetik açıdan hoş ve kolayca anlaşılabilir bir piktogramda sunulur. Tasarlanan MIP tabanlı elektrokimyasal sensör, mevcut çalışmanın 0,85'lik AGREEMIP puanına göre "son derece yeşil" olarak kategorize edilebilir (Şekil 3.30B). MIP sentez yöntemlerinin ne kadar çevre dostu olduğunu değerlendirirken, AGREEMIP yüksek derecede ayrımcılık yeteneği göstermiştir (Marć vd., 2024).

Yeşil Analiti Kimya'nın (YAK) 12 ilkesini değerlendiren yöntem ise AGREE'dir. AGREE, 0 ile 1 arasında değişen bir puan kullanır ve en yüksek "yeşillik" seviyeleri 1'e yakın puanlarla gösterilirken, en düşük çevre dostu olma seviyeleri 0'a yakın puanlarla gösterilir. AGREE'nin sonuçlarına bakıldığında, SPR için tasarlanan sensörün araştırmanın puanı 0,74'ti (Şekil 3.30C). Bu sonuca göre, daha az enerji tüketildiğini ve daha az tehlikeli madde

kullanıldığını göstermektedir. Ancak, yöntemin yerinde analiz yapamama, tam otomasyonun olmaması ve yenilenebilir kaynakların kullanılamaması gibi birçok dezavantajı vardır (Pena-Pereira vd., 2020).

Son olarak YAK yöntemleri içerisinde daha ulaşılabilir bir yöntem olan ve testin örnek hazırlama bölümünü on parametreye göre 0 ila 1 arasında derecelendiren AGREEprep'tir. AGREEprep yönteminde de 1 civarındaki bir puan güçlü performansı gösterirken, 0 civarındaki bir puan kötü performansı gösterir. Tasarlanan sensörün sonuçlarına göre, AGREEprep puanı 0,71'dir (Şekil 3.30D). Bu yaklaşımın avantajları ve dezavantajları AGREE yaklaşımının avantajları ve dezavantajlarıyla tutarlıdır.



Şekil 3.30. A) BAGI, B) AGREEmip, C) AGREE ve D) AGREEprep için piktogramlar

4. TARTIŞMA

Doktora tezi kapsamında makrolid grubu antibiyotik ilaç etken maddelerinden olan LIN, ROK ve SPR için nanopatikül katkılı elektrokimyasal sensörler tasarlanmıştır. Tasarlanan sensörlerin hazırlanması, yüzey ve elektrokimyasal karakterizasyonu, nanopartiküllerin etkisi, deney sürecinin optimizasyon parametreleri, sensörlerin analitik performansları, ve validasyon parametreleri için çeşitli tekniklerden (elektrokimyasal, mikroskobik vb.) faydalanılmıştır. Tasarlanan nanopartikül katkılı MIP tabanlı elektrokimyasal sensörlerin doğruluğu ve güvenirliğini kanıtlamak amacıyla gerçek numunelerde (süt, elma suyu ve portakal suyu) analizleri yapılmıştır ve oldukça başarılı şekilde sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca, sensörlerin yeşil profili için birbirinden farklı dört yöntem kullanılarak hesaplamalar yapılmıştır ve tasarlanan sensörlerin yeşillik düzeylerinin fazla olduğu görülmüştür.

Gıdalar insanların gelişim ve hayatta kalması için hayati önem taşımaktadır. Son yıllarda antibiyotiklerin aşırı ve gereksiz kullanımı insanlar, hayvanlar ve çevre için ciddi endişelere yol açmaktadır. Özellikle antibiyotiklerin gıdalarda kalıntı olarak birikmesi şiddetli ishal, alerjik reaksiyonlar ve antibiyotik direnci gibi bir dizi halk sağlığı tehdidine neden olur. Bu nedenle, gıda güvenliğinin sağlanması ulusal ve ekonomik büyümeyle bağlantılıdır (Chi ve Liu, 2023). Gıda güvenliğiyle ilgili en büyük sorunlar, gıdalarda bulunan zararlı maddeler ve ilaç kalıntılarıdır. Özellikle, antibiyotik grubu ilaçların aşırı kullanımı, hayvan gübreleri, hastane ve endüstriyel atıklar, su arıtma tesisleri vb. gıda ürünlerinde kalıntılar oluşturmaktadır. Bu nedenle, gıdalardaki antibiyotik kalıntılarının ve zararlı maddelerin tespiti ve risk analizi için yapılan çalışmalar ve teknikler dünya çapında büyük ilgi görmektedir (Ben vd., 2019; Negarian vd., 2019). Literatüre bakıldığında gıdalarda antibiyotik ve zararlı gıda kalıntılarının tespiti üzerine çok sayıda çalışma yer almaktadır. İnceleme sonucunda, tez kapsamında çalışılan antibiyotik ilaçlar üzerine genellikle kromatografi (Traunmuller vd., 2010; Zander vd., 2014), spektrofotometri (Hegazy vd., 2014) ve elektroforez (Michalska vd., 2008) gibi geleneksel analitik teknikler kullanılmıştır. Bu teknikler gıda örneklerindeki antibiyotik ve zararlı madde kalıntılarını ng/L'ye kadar düşük seviyelerde güvenilir bir şekilde analiz edebilir. Ancak pahalı ekipman, uzman personel ihtiyacı, uzun analiz süreleri, karmaşık ön işlemler ve çok miktarda organik çözücü kullanımı gibi dezavatajlara sahiptirler. Bu nedenle klasik yöntemlere kıyasla basit, ucuz, hazırlanması kolay, analiz süreleri kısa, seçici, hassas, güvenli ve yerinde tespit yapabilen elektrokimyasal yöntemler kullanılabilir. Elektrokimyasal sensörler çevre dostu, hassas ve güvenilir olma açısından birçok önemli

avantaja sahip olsa da seçicilik açısından dezavantajları vardır (Uslu ve Ozkan, 2011). Bu nedenle, moleküler baskılı polimer (MIP) tabanlı elektrokimyasal sensörler seçicilik açısından önemlidir. MIP'ler, analiz altındaki hedef moleküle seçici olarak bağlanabilen ve seçiciliği ve duyarlılığı artırmak için elektrokimyasal sensörlere entegre edilebilen bir "anahtar ve kilit" mekanizmasına sahiptir (Li vd., 2024). Dahası, MIP sensörlerinin tasarımında nanopartiküllerinde kullanılarak, sensörün iletkenliğini, seçiciliğni, kararlılığını, yüzey alanı genişliğini, elektriksel özelliklerini mükemmel düzeyde arttırmaktadır. Bu sensörler, gıda antibiyotik kalıntılarının hızlı ve seçici analizi için giderek daha fazla ilgi görmektedir. Bu tez kapsamında LIN, ROK ve SPR antibiyotik ilaç etken maddesinin seçici ve hassas tayini için son derece seçici, kararlı, güvenilir ve en önemlisi yeşil sensörler tasarlanmıştır.

Tez kapsamında kullanılan bütün kimyasallar, cihazlar ve elektrokimyasal sistemlerden Gereç ve Yöntem bölümünde detaylı olarak bahsedilmiştir. Ayrıca, bu bölümde tez çalışması boyunca hazırlanan ilaç etken maddelerinin standart çözeltiler, içecek numunelerinin, girişim ajanlarının, model ilaç olarak kullanılan ilaç etken maddelerinin ve detek elektrolit çözeltilerinin deteyları anlatılmıştır. Tasarlanan nanopartikül katkılı MIP sensörlere ait veriler Bulgular bölümünde detaylı olarak incelenmiştir.

DPV, DV ve EIS elektrokimyasal yöntemler tez kapsamında kullanılmıştır. Bu yöntemlerde ölçümler redoks probu olarak 5.0 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ çözeltisi içerisinde gerçekleşmiştir. Bu redoks prob çözeltisi analiz yapılacak maddeye yani hedef moleküle ait pik akımlarını ölçmek yerine hedef molekülün uzaklaştırma işlemi ve yeniden bağlanmadan sonra elde edilen pik akımları arasındaki farkların hesaplanmasıyla analizlerin dolaylı yöntem ile yapılabilmesini sağlamaktadır. Dolaylı yöntemin kullanılması sayesinde oldukça düşük konsantrasyonlarda analiz yapabilme ve çok daha düşük TS ve TAS verilerini elde edebilme imkanı sunmaktadır.

Doktora tezi kapsamında kullanılan antibiyotik ilaçlardan ilk olarak LIN için nanopartikül katkılı MIP tabanlı elektrokimyasal sensör geliştirilmiştir. Sensör tasarımında MIP polimerizasyonda tekniklerinden biri olan elektropolimerizasyon yöntemi kullanıldı. Çalışmada ilk olarak CKE yüzeyine 5 µL AuNP damlatıldı ve oda sıcaklığında kurutuldu. Daha sonra EP işlemi için polimerizasyon çözeltisi hazırlandı. Polimerizasyon çözeltisi; pH 7,4 fosfat tampon çözeltisi (FT) içerisine anilin (ANI, 0,1 M), LIN (1,0 mM) ve 3-aminofenil boronik asit (3-APBA, 1,0 mM) eklenerek hazırlandı. Polimerizasyon, AuNP ile kaplı CKE'nin polimerizasyon çözeltisi içerisine daldırılarak ve DV yöntemi kullanılarak EP işlemi

100 mV/s tarama hızında -0,2 ile +1,6 V arasında 5 döngü (DPV) ve 7 döngü (EIS) için yapıldı. Deneysel sürecin en başında nanopartikül etkisi ve sensör için seçilen en uygun nanopartikülün damlatma miktarı optimize edildi. Daha sonra MIP tabanlı sensörlerin en önemli aşaması olan optimizasyon deneyleri yapıldı. Optimizasyon deneyleri; hedef molekül:monomer oranı, EP döngü sayısı, uzaklaştırma çözeltisi ve süresi, son olarakta yeniden bağlanma süresi olarak yapıldı. Ayrıca, optimizasyon deneyleri hem DPV hemde EIS yöntemi için ayrı ayrı yapıldı ve her iki yöntem içinde en uygun değerler bulundu. Böylelikle her iki elektrokimyasal yöntemle LIN'in kantitatif analizi gerçekleştirildi. Tasarlanan sensörün performansını değerlendirmek için üç farklı içecek numunelerinde analiz yapıldı ve başarıyla uygulandı. Ayrıca, her iki yöntem içinde kullanılan sensör için seçicilik, interferans, kararlılık ve yeşil puan hesaplama çalışmaları yapıldı. Yapılan deneyler validasyon parametreleri kullanılarak değerlendirildi. Değerlendirme sonucunda her iki yönteminde birbirine göre avantajları olduğu görüldü.

ROK için ilk kez nanopartikül katkılı MIP tabanlı elektrokimyasal sensör geliştirilmiştir. Geliştirilen sensör validasyon çalışmaları yapılarak değerlendirilmiştir. Polimerik yapıyı oluşturmak için yöntem olarak EP yöntemi kullanıldı. EP işlemi için hazırlanan polimerizasyon çözeltisi içerisine; aljinat (ALG, %1), kitosan (CHT, %1), ROK (1,0 mM) ve destek elektroilt çözeltisi olarakta pH 7,4 FT eklendi. İlk olarak CKE yüzeyi 5 µL TiO_2NP ile kaplandı. Daha sonra TiO_2NP ile kaplı olan CKE, EP çözeltisi içerisine daldırıldı ve DV yöntemi ile polimerizasyon işlemi yapıldı. ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sensörünü farklı ROK derişimleriyle bağlanmasıyla miktar analiz yapıldı ve doğrusallık aralığı $1x10^{-13}$ M ile $1x10^{-12}$ M olarak bulundu. Ayrıca, ROK için tasarlanan sensörün hem elektrokimyasal hemde morfolojik karakterizasyonları yapıldı. Sensörün doğruluğunu kanıtlamak amacıyla içecek numunelerinde geri kazanım çalışması yapıldı. Dahası, ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sensörü için seçicilik, stabilite çalışmaları yapıldı. Son olarak, çalışmanın yeşil profil puanının hesaplanmasında Mavi Uygulanabilirlik Derecesi İndeksi (BAGI), Analitik Yeşillik Metriği (AGREE), Analitik Yeşillik Hazırlığı (AGREEprep) ve Moleküler Baskılı Polimer Sentezi için Analitik Yeşillik Değerlendirme Aracı (AGRREMIP) da kullanılmıştır. Tasarlanan sensör, ROX hedef molekülüne karşı oldukça hassas, tutarlı, seçici, tekrarlanabilir ve yeniden üretilebilir olmuştur.

Tez kapsamında son olarak SPR makrolid antibiyotiği için nanopartikül katkılı MIP tabanlı elektrokimyasal sensör tasarlanmışıtr ve bu sensör literatürde ilk özelliği taşımaktadır.

SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörü için detaylı validasyon çalışmaları yapılmıştır. Sensör tasarımında EP polimerizasyon yöntemi kullanılarak analiz yöntemi olarakta DPV kullanılmıştır. EP işlemi 100 mV/s tarama hızında -0,2 ile +1,6 V arasında 3 döngü DV yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. İlk olarak SPR için tasarlanan sensöre nanopartikül etkisi ve sensör için seçilen en uygun nanopartikülün damlatma miktarı optimize edildi. En uygun nanopartikül olarak AuNP ile CuNP'nin 1:1 oranında karışımı belirlendi. Bu aşamadan sonra MIP tabanlı sensörlerin en önemli aşaması olan optimizasyon parametreleri deneyleri gerçekleştirildi. Tasarlanan sensörde SPR için mükemmel doğrusal aralık ve oldukça düşük seviylerde TAS ve TS değerleri elde edildi. Sensörün yeşil profili dört farklı teknik kullanılarak hesaplandı ve sensörün yeşil ve çevre dostu olduğu gözlemlendi. Ayrıca, sensörün uygulanabilirliğini görmek amacıyla süt, portakal suyu ve elma suyunda standart ekleme yöntemiyle SPR içeren numuneler hazırlandı ve geri kazanım çalışmalarıyla sensörün uygulanabilirliği ve doğruluğu kanıtlanmıştır. SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörü, SPR için mükemmel seçici, hassas, uygun maliyetli, kolay hazırlanabilir, fiziksel ve kimyasal kararlılık gibi avantajlar sağladığı görülmüştür.

Sonuç olarak, tez kapsamında çalışılan LIN, ROK ve SPR antibiyotik ilaç etken maddelerinin kantitatif analizi için geliştirilen nanopartikül katkılı MIP tabanlı elektrokimyasal sensörler bu moleküllerin analizi için literatürde yer alan diğer çalışmalara göre seçici, hassas, kararlı, çevre dostu ve yeşil profil gibi pek çok önemli avantajlara sahiptirler. Ayrıca, tasarlanan sensörler literatürde ilk özelliği taşımaktadırlar. Tez kapsamında geliştirilen sensörlerin diğer analitik yöntemlere göre hem avantajları hemde dezavantajları bulunmaktadır. Sensörlerin doğrusallık aralığının dar olması dezavantajken doğrusallık aralığının oldukça düşük seviyede olması avantajdır. Ayrıca, tasarlanan sensörlerin seçicilik, kararlılık, tekraredilebilirlik ve yeşil olmalarından dolayı diğer analitik yöntemlere kıyasla avantaj sunmaktadırlar. Her üç antibiyotik ilaç etken maddesi için geliştirilen sensörlerin detaylı olarak validasyonu yapılmıştır ve elde edilen sonuçlara göre bu sensörlerin LIN, ROK ve SPR'nin rutin ve gıda numunelerindeki analizleri için kullanılabileceği öngörülmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez kapsamında; linkomisin (LIN), roksitromisin (ROK) ve spiramisin (SPR) antibiyotik ilaç etken maddeleri için nanopartikül katkılı MIP tabanlı elektrokimyasal sensörler tasarlanmıştır. Tasarlanan sensörler her bir madde için ayrı ayrı deneyler yapılarak tasarlandı ve literatürde ilk özelliği taşımaktadırlar. Bu sensörlerin performanslarını değerlendirmek amacıyla gerçek numunelere (süt, elma suyu ve portakal suyu) uygulandı. Ayrıca, geliştirilen sensörlere analitik yöntem validasyonu yapılarak sensörlerin hızlı, hassas, seçici, kararlı, tekraredilebir ve basit hazırlanabilir olması hedeflenmiştir.

Doktora tezi kapsamında çalışılan her bir antibiyotik için ayrı ayrı nanopartikül katkılı malzeme moleküler baskılı polimerik elektrokimyasal sensör tasarlanmıştır. Çalışmaya ilk olarak 1962'de keşfedilen linkosamid ailesinin bir üyesi olan ve ribozom üzerine etkisiyle makrolidlerle bağlanma bölgesini aktive eden LIN antibiyotik etken maddesiyle başlanmıştır. LIN'in içecek numunelerinde seçici, güvenilir ve kararlı analizi için MIP'ler AuNP'lerle birleştirilerek bir elektrokimyasal sensör tasarlanmıştır. Tasarlanan MIP tabanlı elektrokimyasal sensör için hem DPV hemde EIS yöntemi kullanılarak kantitatif analizi yapılmıştır. Her iki elektrokimyasal yöntem için tasarlanan LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE sensörü LIN'in seçici, güvenilir, uygun maliyetli, kararlı ve hassas özellikler göstermiştir. Sonuçlara bakıldığında, sensörün doğrusallık aralığı her iki yöntem içinde $1x10^{-12}$ M ile $1x10^{-11}$ M arasında elde edilmiştir. Elde edilen doğrusallık aralığına göre TS değerleri oldukça düşük seviyede DPV yöntemi için $2,13x10^{-13}$ M, EIS yöntemi için ise $2,42x10^{-13}$ M olarak bulunmuştur. LIN için geliştirilen LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE sensörünün doğruluğunu kanıtlamak için içecek numunelerinde geri kazanım çalışması yapılmıştır. Geri kazanım çalışması içecek numunlerinin bilinen konsantrasyonunda yapıldı ve elde edilen aralık %101,29-102,72 (DPV) ve %102,63-105,59 (EIS) olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlara bakıldığında sensörün tekraredilebilir olduğu, hassas, güvenilir ve en önemlisi içecek numunlerinde LIN'e yönelik seçici ve doğru olduğu görülmüştür. Ayrıca, sensörün seçiciliği hem model ilaç hemde girşim maddeleri kullanılarak bulundu. Model ilaç çalışmasında sensörün baskılama faktörü yani k' değerleri hesaplandı. Model ilaçların ve girişim maddelerinin farklı oranlarda kullanılmasıyla yapılan seçicilik çalışmasında tasarlanan sensörün LIN için mükemmel seçici olduğu görülmüştür. LIN/AuNP/ANI@3-APBA/MIP/CKE sensörü, EIS yöntemine kıyasla DPV yönteminde daha kararlı ve tekraredilebilir avantajlar sağlarken TS, TAS ve yeniden kullanılabilirlik açısından performansı avantajlar sağlayamamaktadır. Sonuç olarak, LIN antibiyotik etken maddesi için

tasarlanan sensör, içecek numunlerinde LIN'i analiz etmek için hem mükemmel özellikler hemde yeşil profil sergilemektedir.

Geniş spektrumlu bir makrolid antibiyotiği olan ROK, insanlarda ve hayvanlarda bulaşıcı hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu nedenle ROK seçici ve hassas tayini oldukça önemlidir. Bu tez kapsamında içecek numunelerinde ROK'un seçici ve hassas kantitatif analizi için MIP'yi TiO_2NP ile birleştirerek elektrokimyasal sensör tasarlanmıştır. Tasarlanan sensörde analiz metodu olarak DPV kullanılmıştır. ROK için geliştirilen ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sensörü kolay hazırlanabilen, ucuz, güvenilir, çevre dostu ve en önemlisi yeşil özelliği taşımaktadır. ROK için yapılan deneylerde elde edilen sonuçlara bakıldığında, sensörün doğrusal aralığı $1x10^{-13}$ M ile $1x10^{-12}$ M arasında, TS değeri ise oldukça düşük seviyede $1,51x10^{-14}$ M olarak bulundu. ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sensörünün doğruluğunu kanıtlamak amacıyla bilinen konsantrasyonda süt, elma suyu ve portakal suyu numuneleri kullanılarak geri kazanım çalışmaları yapıldı. Elde edilen geri kazanım değerlerine bakıldığında tasarlanan sensörün ROK için kararlı, hassas, seçici ve tekrarlanabilir olduğunu doğrulanmıştır. Sensör için seçicilik çalışması ROK'un yapısına benzer moleküle sahip model ilaçlar kullanılarak gerçekleştirildi ve hesaplanan k' değerlerine göre, model ilaçların 1, 10, 100 ve 1000 kat konsantrasyonlarda ROK'u etkilemediği görülmüştür. Ayrıca, seçicilik çalışması girişim yapan maddeler kullanılarakta yapıldı ve herhangi bir etki gözlenmemiştir. Ek olarak, geliştirilen sensörün yeşil profil puanı yeşil metrik hesaplamaları ile doğrulandı. Geliştirilen ROK/TiO_2NP/ALG/CHIT@MIP/CKE sensörü, ROK'un kantitatif analizi için kararlı, tekrarlanabilir, hassas ve seçici özellikler gösterdi. Ek olarak, gıda örneklerinde ROK'u analiz etmek için önemli avantajlar sunar ve ROK çalışması için geliştirilen nanopartikül destekli MIP tabanlı elektrokimyasal sensör literatürde ilktir. Özellikle, bu tasarlanmış sensörün gelecekte gıda uygulamalarında antibiyotik tespiti için taşınabilir cihazlara entegre edilme potansiyeli vardır.

Bakteriyel enfeksiyonlarında tedavisinde kullanılan ve makrolid antibiyotik grubundan olan SPR için tez kapsamında nanopartikül katkılı MIP tabanlı elektrokimyasal sensör tasarlanmıştır. Tasarlanan sensörde içecek numunelerinde SPR'nin seçici ve hassas kantitatif analizi için MIP'ler AuNP+CuNP'lerle birleştirildi. Analiz metodu olarak DPV kullanılmıştır. SPR için geliştirilen SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörü kolay hazırlanabilen, ucuz, güvenilir, çevre dostu ve en önemlisi yeşil profil özelliği göstermektedir. Sensörün doğrusal aralığı $1x10^{-12}$ M ile $1x10^{-11}$ M arasında elde edildi ve çok

düşük seviyelerde TAS ($9{,}42 \times 10^{-13}$ M) ve TS ($2{,}82 \times 10^{-13}$ M) değerleri elde edildi. SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörünün doğruluğunu kanıtlamak amacıyla bilinen konsantrasyonda farklı içecek numunelerinde (süt, elma suyu ve portakal suyu) geri kazanım çalışmaları yapıldı ve 101,34-104,69 % arasında mükemmel geri kazanım sonuçları elde edildi. Bu sonuçlara göre sensörün SPR için kararlı, hassas, seçici ve tekrarlanabilir olduğunu doğrulanmıştır. SPR için sensörün seçiciliğini kanıtlamak amacıyla hem benzer moleküle sahip model ilaçların etkisine hemde girişim maddelerinin etkisine bakılmıştır. Model ilaç çalışmasında hesaplanan k' değerlerine göre, model ilaçların 1, 10, 100 ve 1000 kat konsantrasyonlarda SPR'nin seçici ve hassas tayini üzerinde herhangi bir etkiye sahip olmadıkları görülmüştür. Girişim yapan maddeler kullanılarak yapılan seçicilik çalışmasında da farklı oranlar kullanıldı ve elde edilen bulgulara göre herhangi bir etki gözlenmemiştir. Ayrıca, geliştirilen sensörün yeşil profil puanı yeşil metrik hesaplamaları ile doğrulandı. Tasarlanan SPR/AuNP+CuNP/PRL/2-TBA@MIP/CKE sensörü, SPR'nin kantitatif analizi için kararlı, tekrarlanabilir, hassas ve seçici özellikler gösterdi. Ek olarak, içecek numunelerinde SPR'yi tespit etmek için önemli avantajlar sunar ve SPR çalışması için geliştirilen nanopartikül katkılı MIP tabanlı elektrokimyasal sensör literatürde ilk özelliği taşımaktadır. Özellikle, bu tasarlanmış sensörün gelecekte gıda uygulamalarında antibiyotik tespiti için taşınabilir cihazlara entegre edilme potansiyeli vardır.

Sonuç olarak doktora tez çalışması kapsamında antibiyotik ilaç etken maddeleri olan LIN, ROK ve SPR'nin seçici ve hassas tayini için nanopartikül katkılı MIP temelli elektrokimyasal sensörler geliştirilmiştir. Geliştirilen sensörlerin uygun maliyetli, kolay hazırlanabilir, çevre dostu, yeşil profile sahip ve içecek numunelerine kolaylıkla uygulanabilmesi bakımından sensörün ilaçların rutin ve gıda analizlerinde avantajlı sensörler olarak değerlendirilebileceği ön görülmektedir.

KAYNAKLAR

Adumitrăchioaie, A., Tertiş, M., Cernat, A., Săndulescu, R. & Cristea, C. (2018). Electrochemical methods based on molecularly imprinted polymers for drug detection. A review. *International Journal of Electrochemical Science*, 13(3), 2556-2576. https://doi.org/10.20964/2018.03.75

Ahmed, N. and Hussien, E. (2022). Square Wave Voltammetric and Ion Selective Potentiometric Strategies for Spiramycin Determination in Pharmaceutical Formulations. *Analytical & Bioanalytical Electrochemistry*, 14(6), 621-637.

Alexander, C., Andersson, H.S., Andersson, L.I., Ansell, R.J., Kirsch, N., Nicholls, I.A., O'Mahony, J. & Whitcombe, M.J. (2006a). Molecular imprinting science and technology: A survey of the literature for the years up to and including 2003. *Journal of Molecular Recognition*, 19(2), 106-180. https://doi.org/10.1002/jmr.760

Amatore, C., Oleinick, A. & Svir, I. (2004). Simulation of diffusion at microring electrodes through conformal mapping. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 564, 245-260. https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2003.10.016

Ansari, S. (2017). Combination of molecularly imprinted polymers and carbon nanomaterials as a versatile biosensing tool in sample analysis: Recent applications and challenges. Içinde *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* (C. 93, ss. 134-151). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.05.015

Ashley, J., Shahbazi, M.A., Kant, K., Chidambara, V.A., Wolff, A., Bang, D.D. & Sun, Y. (2017). Molecularly imprinted polymers for sample preparation and biosensing in food analysis: Progress and perspectives. Içinde *Biosensors and Bioelectronics* (C. 91, ss. 606-615). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.01.018

Bagotsky, V.S. (2006). Fundamentals of Electrochemistry, 2nd Edition. *Fundamentals of Electrochemistry*, 51-60.

Banan, K., Hatamabadi, D., Afsharara, H., Mostafiz, B., Sadeghi, H., Rashidi, S., Beirami, A.D., Shahbazi, M.A., Keçili, R., Hussain, C.M. & Ghorbani-Bidkorbeh, F. (2022). MIP-based extraction techniques for the determination of antibiotic residues in edible meat samples: Design, performance & recent developments. Içinde *Trends in Food Science and Technology* (C. 119, ss. 164-178). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.022

Baran, A., Kwiatkowska, A. & Potocki, L. (2023). Antibiotics and Bacterial Resistance—A Short Story of an Endless Arms Race. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(6), 5777. https://doi.org/10.3390/ijms24065777

Bard, A.J. and Faulkner, L.R. (2001). *Electrochemical Methods Fundamentals and Applications* (Second Edi). John Wiley & Sons, Inc. https://doi.org/10.1038/s41929-019-0277-8

Belbruno, J.J. (2019). Molecularly Imprinted Polymers. Içinde *Chemical Reviews* (C. 119, Sayı 1, ss. 94-119). American Chemical Society. https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00171

Bhakta, S. And Mishra, P. (2021). Molecularly imprinted polymer-based sensors for cancer biomarker detection. *Sensors and Actuators Reports*, 3(August), 100061. https://doi.org/10.1016/j.snr.2021.100061

Bond, A.M. (Alan M. (1980). *Modern polarographic methods in analytical chemistry*. 518.

Bott, A.W. (1995). Practical Problems in Voltammetry 3: Reference Electrodes for Voltammetry. *Current Separations*, 14(2), 64-68.

Bunnag, C., Jareoncharsri, P., Voraprayoon, S., Vitavasiri, A., Supatchaipisit, P. & Kongpatanakul, S. (1998). Efficacy of Spiramycin as an Alternative to Amoxicillin in the Treatment of Acute Upper Respiratory Tract Infections. Içinde *CLINICAL USE Clin Drug Invest* (C. 15, Sayı 6).

Burgess, C. (2001). *Valid Analytical Methods and Procedures*. Royal Society of Chemistry.

Calcagnile, M., Jeguirim, I., Tredici, S.M., Damiano, F. & Alifano, P. (2023). Spiramycin Disarms Pseudomonas aeruginosa without Inhibiting Growth. *Antibiotics*, 12(3). https://doi.org/10.3390/antibiotics12030499

Cetinkaya, A., Kaya, S.I., Budak, F. & Ozkan, S.A. (2024). Current Analytical Methods for the Sensitive Assay of New-Generation Ovarian Cancer Drugs in Pharmaceutical and Biological Samples. Içinde *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. Taylor and Francis Ltd. https://doi.org/10.1080/10408347.2024.2339962

Cetinkaya, A., Kaya, S.I., Ozcelikay, G., Budak, F. & Ozkan, S.A. (2022). Carbon Nanomaterials-Based Novel Hybrid Platforms for Electrochemical Sensor Applications in Drug Analysis. Içinde *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. Taylor and Francis Ltd. https://doi.org/10.1080/10408347.2022.2109125

Cetinkaya, A., Kaya, S.I. & Ozkan, S.A. (2025). Green analytical chemistry. Içinde *Sample Handling and Trace Analysis of Pollutants* (ss. 739-772). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85601-0.00004-7

Chen, L., Wang, X., Lu, W., Wu, X. & Li, J. (2016). Molecular imprinting: Perspectives and applications. Içinde *Chemical Society Reviews* (C. 45, Sayı 8, ss. 2137-2211). Royal Society of Chemistry. https://doi.org/10.1039/c6cs00061d

Chen, S. (2007). Practical electrochemical cells. Içinde C. G. Zoski (Ed.), *Handbook of Electrochemistry* (ss. 33-56). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/B978-044451958-0.50003-3

Chen, W., Ma, Y., Pan, J., Meng, Z., Pan, G. & Sellergren, B. (2015). Molecularly imprinted polymers with stimuli-responsive affinity: Progress and perspectives. *Polymers*, 7(9), 1689-1715. https://doi.org/10.3390/polym7091478

Çorman, M. E., Ozcelikay, G., Cetinkaya, A., Kaya, S. I., Armutcu, C., Özgür, E., Uzun, L., ve Ozkan, S. A. (2022). Metal-organic frameworks as an alternative smart sensing platform for designing molecularly imprinted electrochemical sensors. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, *150*. https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116573

Dong, Z., Lu, J., Wu, Y., Meng, M., Yu, C., Sun, C., Chen, M., Da, Z. &Yan, Y. (2020). Antifouling molecularly imprinted membranes for pretreatment of milk samples: Selective separation and detection of lincomycin. *Food Chemistry*, 333. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127477

Dorledo de Faria, R.A., Dias Heneine, L.G., Matencio, T. & Messaddeq, Y. (2019). Faradaic and non-faradaic electrochemical impedance spectroscopy as transduction techniques for sensing applications. *International Journal of Biosensors ve Bioelectronics*, 5(1). https://doi.org/10.15406/ijbsbe.2019.05.00148

Du, L., Zhang, H., Zhang, F., Xia, J., Meng, Q., Huang, H. & Wang, Z. (2024). An electrochemiluminescence aptasensor based on Ti3C2 QDs-1T/2H MoS2 nano-hybrid

material for the highly sensitive detection of lincomycin. *Talanta*, 270. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2023.125574

Du, X., Sun, J., Li, Y., Du, W. & Jiang, D. (2022). Self-accelerated electrochemiluminescence luminophor of Ag3PO4-Ti3C2 for trace lincomycin aptasensing. *Microchemical Journal*, 179. https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107578

Figura, P. and McDuffie, B. (1979). Use of Chelex Resin for Determination of Labile Trace Metal Fractions in Aqueous Ligand Media and Comparison of the Method with Anodic Stripping Voltammetry. *Analytical Chemistry*, 51(1), 120-125.

Gamea, G.A., Elmehy, D.A., Salama, A.M., Soliman, N.A., Afifi, O.K., Elkaliny, H.H., Abo El gheit, R.E., El-Ebiary, A.A., Tahoon, D.M., Elkholy, R.A., Shoeib, S.M., Eleryan, M.A. & Younis, S.S. (2022). Direct and indirect antiparasitic effects of chloroquine against the virulent RH strain of Toxoplasma gondii: An experimental study. *Acta Tropica*, 232. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106508

George, A., M, B., Ghosh, M. & Varghese, A. (2024). Single-monomer dual templated MIP based electrochemical sensor for tartrazine and brilliant blue FCF. *Electrochimica Acta*, 475. https://doi.org/10.1016/j.electacta.2023.143682

Hegazy, M.A.E.-M., Eissa, M.S., Abd El-Sattar, O.I. & Abd El-Kawy, M. (2014). Two and three way spectrophotometric-assisted multivariate determination of linezolid in the presence of its alkaline and oxidative degradation products and application to pharmaceutical formulation. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 128, 231-242. https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.02.140

Hou, L., Jiang, Z., Ye, M., Sun, X., Liu, K., Zhu, Y., Wang, X., Chen, L., Gu, R. ve Fang, B. (2024). Determination of lincomycin residues of animal derived food by pre-column derivatization with HPLC -UVD. *Arabian Journal of Chemistry*, 17(1). https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2023.105439

ICH Harmonised Tripartite Guideline. (2006). Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. Içinde *European Medicines Agency ICH* (C. 2, Sayı June 1995). European Medicines Agency ICH.

Jiang, L., Wang, M., Zhang, Y., Chen, H., Su, Y., Wang, Y. & Lin, J.S. (2021). Preparation and characterization of DNA aptamers against roxithromycin. *Analytica Chimica Acta*, 1164. https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.338509

Kang, J.K., Kang, H.K. & Hyun, C.G. (2022). Anti-Inflammatory Effects of Spiramycin in LPS-Activated RAW 264.7 Macrophages. *Molecules*, 27(10). https://doi.org/10.3390/molecules27103202

Kapoor, G., Saigal, S. & Elongavan, A. (2017). Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. Içinde *Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology* (C. 33, Sayı 3, ss. 300-305). Medknow Publications. https://doi.org/10.4103/joacp.JOACP_349_15

Kim, D.M., Moon, J.M., Lee, W.C., Yoon, J.H., Choi, C.S. & Shim, Y.B. (2017). A potentiometric non-enzymatic glucose sensor using a molecularly imprinted layer bonded on a conducting polymer. *Biosensors and Bioelectronics*, 91, 276-283. https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.12.046

Kissinger, P.T. and Heineman, W.R. (1996). *Laboratory techniques in electroanalytical chemistry*. 986.

Krull, I.S. and Swartz, M. (1999). Analytical method development and validation for the academic researcher. Içinde *Analytical Letters* (C. 32, Sayı 6, ss. 1067-1080). Marcel Dekker Inc. https://doi.org/10.1080/00032719908542878

Kryscio, D.R. and Peppas, N.A. (2012). Critical review and perspective of macromolecularly imprinted polymers. Içinde *Acta Biomaterialia* (C. 8, Sayı 2, ss. 461-473). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.11.005

Leisner, J.J. (2020). The Diverse Search for Synthetic, Semisynthetic and Natural Product Antibiotics From the 1940s and Up to 1960 Exemplified by a Small Pharmaceutical Player. *Frontiers in Microbiology*, *11*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00976

Li, W., Zhang, X., Li, T., Ji, Y. & Li, R. (2021). Molecularly imprinted polymer-enhanced biomimetic paper-based analytical devices: A review. *Analytica Chimica Acta*, 1148, 238196. https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.12.071

Liu, X.P., Huang, B., Mao, C.J., Chen, J.S. & Jin, B.K. (2021). Electrochemiluminescence aptasensor for lincomycin antigen detection by using a SnO2/chitosan/g-C3N4 nanocomposite. *Talanta*, 233. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2021.122546

Locatelli, M., Kabir, A., Perrucci, M., Ulusoy, S., Ulusoy, H.I. & Ali, I. (2023). Green profile tools: Current status and future perspectives. *Advances in Sample Preparation*, 6, 100068. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.sampre.2023.100068

Lu, W., Li, H., Meng, Z., Liang, X., Xue, M., Wang, Q. & Dong, X. (2014). Detection of nitrobenzene compounds in surface water by ion mobility spectrometry coupled with molecularly imprinted polymers. *Journal of Hazardous Materials*, 280, 588-594. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.08.041

Magar, H.S., Hassan, R.Y.A. & Mulchandani, A. (2021). Electrochemical impedance spectroscopy (Eis): Principles, construction, and biosensing applications. Içinde *Sensors* (C. 21, Sayı 19). MDPI. https://doi.org/10.3390/s21196578

Mahmoudi, A., Tertiş, M., Simon, L.-M., Van Schepdael, A., De Francia, S., Junie, L.-M. & Săndulescu, R. (2020). Correlated quantification using microbiological and electrochemical assays for roxithromycin determination in biological and pharmaceutical samples. *Talanta*, 211(October 2019), 120703. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.120703

Majdinasab, M., Mishra, R.K., Tang, X. & Marty, J.L. (2020). Detection of antibiotics in food: New achievements in the development of biosensors. Içinde *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* (C. 127). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115883

Malik, M.I., Shaikh, H., Mustafa, G. & Bhanger, M.I. (2019). Recent Applications of Molecularly Imprinted Polymers in Analytical Chemistry. *Separation and Purification Reviews*, 48(3), 179-219. https://doi.org/10.1080/15422119.2018.1457541

Manjunatha, H., Janardan, S., Ratnamala, A., Ratnam, K.V., Rao, L.V., Ramesh, S., Naidu, K.C.B., Kumar, N.S., Khan, A. & Asiri, A.M. (2021). Electrochemical aspects of metal-organic frameworks. Içinde *Metal-Organic Frameworks for Chemical Reactions* (ss. 65-109). Elsevier. https://doi.org/10.1016/b978-0-12-822099-3.00004-6

Manousi, N., Wojnowski, W., Płotka-Wasylka, J. & Samanidou, V. (2023). Blue applicability grade index (BAGI) and software: a new tool for the evaluation of method practicality. *Green Chemistry*, 25(19), 7598-7604. https://doi.org/10.1039/D3GC02347H

Marć, M., Wojnowski, W., Pena-Pereira, F., Tobiszewski, M. & Martín-Esteban, A. (2024). AGREEMIP: The Analytical Greenness Assessment Tool for Molecularly Imprinted

Polymers Synthesis. *ACS Sustainable Chemistry ve Engineering*, 12(33), 12516-12524. https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.4c03874

Markham, A., Faulds, D., Casal Roman, M., Guay, D., Kerr, K. & Peters lund, N. (1994). *DRUG EVALUATION Roxithromycin An Update of its Antimicrobial Activity, Pharmacokinetic Properties and Therapeutic Use*.

Martín-Esteban, A. (2013). Molecularly-imprinted polymers as a versatile, highly selective tool in sample preparation. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 45(1), 169-181. https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.09.023

Megale, J.D. and De Souza, D. (2023). New approaches in antibiotics detection: The use of square wave voltammetry. Içinde *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* (C. 234). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2023.115526

Michalska, K., Pajchel, G. & Tyski, S. (2008). Determination of linezolid and its achiral impurities using sweeping preconcentration by micellar capillary electrophoresis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 48(2), 321-330. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2008.01.025

Ni, B.J., Zeng, S., Wei, W., Dai, X. & Sun, J. (2020). Impact of roxithromycin on waste activated sludge anaerobic digestion: Methane production, carbon transformation and antibiotic resistance genes. *Science of the Total Environment*, 703. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134899

Noureldin, H.A.M., Abdel-Aziz, A.M., Mabrouk, M.M., Saad, A.H.K. & Badr, I.H.A. (2023). Green and cost-effective voltammetric assay for spiramycin based on activated glassy carbon electrode and its applications to urine and milk samples. *RSC Advances*, 13(2), 844-852. https://doi.org/10.1039/D2RA06768D

Ozkan, S.A., Kauffmann, J.-M., Hubert, P. & Rozet, E. (2015). Electroanalytical Method Validation in Pharmaceutical Analysis and Their Applications. Içinde S. A. Ozkan, J.-M. Kauffmann, & P. Zuman (Ed.), *Electroanalysis in Biomedical and Pharmaceutical Sciences* (ss. 235-263). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-662-47138-8

Ozkan, S.A., Kauffmann, J.-M. & Zuman, P. (2015). Electroanalysis in Biomedical and Pharmaceutical Sciences. Içinde F. Scholz (Ed.), *Monographs in Electrochemistry*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-662-47138-8

Ozkan, S.A., Oliveira-Brett, A.M. & Brett, C.M.A. (2015). Electroanalytical Techniques Most Frequently Used in Drug Analysis. Içinde S. A. Ozkan, J.-M. Kauffmann, & P. Zuman (Ed.), *Electroanalysis in Biomedical and Pharmaceutical Sciences* (ss. 45-78). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-662-47138-8

Özkan, S.A., Uslu, B. & Aboul-Enein, H.Y. (2003). Analysis of pharmaceuticals and biological fluids using modern electroanalytical techniques. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 33(3), 155-181. https://doi.org/10.1080/713609162

Pan, J., Chen, W., Ma, Y. & Pan, G. (2018). Molecularly imprinted polymers as receptor mimics for selective cell recognition. *Chemical Society Reviews*, 47(15), 5574-5587. https://doi.org/10.1039/c7cs00854f

Pena-Pereira, F., Wojnowski, W. ve Tobiszewski, M. (2020). AGREE—Analytical GREEnness Metric Approach and Software. *Analytical Chemistry*, 92(14), 10076-10082. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c01887

Peng, A., Yan, H., Luo, C., Wang, G., Wang, Y., Ye, X. & Ding, H. (2017). Electrochemical Determination of Theophylline Pharmacokinetic under the Effect of Roxithromycin in Rats by the MWNTs/Au/poly-L-lysine Modified Sensor. *International Journal of Electrochemical Science*, 12(1), 330-346. https://doi.org/10.20964/2017.01.03

Petchiappan, A. and Chatterji, D. (2017). Antibiotic resistance: Current perspectives. Içinde *ACS Omega* (C. 2, Sayı 10, ss. 7400-7409). American Chemical Society. https://doi.org/10.1021/acsomega.7b01368

Pi, X., Wang, Y. & Kan, X. (2025). A self-enhanced electrochemiluminescence aptasensor Zr-porphyrin modified with polyamidoamine for sensitive detection of lincomycin. *Food Chemistry*, 464. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.141846

Piletska, E.V., Guerreiro, A.R., Whitcombe, M.J. & Piletsky, S.A. (2009). Influence of the Polymerization Conditions on the Performance of Molecularly Imprinted Polymers. *Macromolecules*, 42(14), 4921-4928. https://doi.org/10.1021/MA900432Z

Pletcher, D., Greff, R., Peat, R. & Robinson, J. (2001). *Instrumental Methods in Electrochemistry*. Woodhead Publishing Limited. https://doi.org/10.1016/s0003-2670(00)87868-x

Procedures, A. (1996). *Guidance for Industry Q2B Validation of Analytical Procedures: Methodology*. 20857(November), 301-827.

Rao, T.N. (2018). Validation of Analytical Methods. Içinde *Calibration and Validation of Analytical Methods - A Sampling of Current Approaches*. InTech. https://doi.org/10.5772/intechopen.72087

Scholz, F. (Ed.). (2010). *Electroanalytical Methods* (2nd, revis bs). Springer-Verlag. https://doi.org/10.1007/978-3-642-02915-8

Shi, L., Hou, A.G., Chen, L.Y. & Wang, Z.F. (2015). Electrochemical sensor prepared from molecularly imprinted polymer for recognition of TNT. *Polymer Composites*, 36(7), 1280-1285. https://doi.org/10.1002/pc.23032

Singhal, A., Sadique, M.A., Kumar, N., Yadav, S., Ranjan, P., Parihar, A., Khan, R. & Kaushik, A.K. (2022). Multifunctional carbon nanomaterials decorated molecularly imprinted hybrid polymers for efficient electrochemical antibiotics sensing. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10(3). https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.107703

Skoog, D.A., Holler, J.F. & Nieman, T.A. (1998). *Principles of instrumental analysis*.

Skoog, D.A., Holler, J.F. & Crouch, S.R. (2018). Principles of Instrumental Analysis. Içinde *Principles of Instrumental Analysis* (Seventh Ed).

Skoog, D.A., West, D.M., Holler, J.F. & Crouch, S.R. (2014). *Fundamentals of Analytical Chemistry* (Ninth Edit). Brooks/Cole, Cengage Learning.

Skoog, D., Holler, F. & Nieman, T. (1998). *Principles of instrumental analysis (fifth ed.)*.

Swartz, M.E. and Krull, I.S. (2012). Handbook of Analytical Validation. Içinde *Handbook of Analytical Validation*. Taylor ve Francis Group, LLC. https://doi.org/10.1201/b12039

Thiruppathi, M., Natarajan, T., Chang, J.L. & Zen, J.M. (2024). Fluoride-Free Synthesis of Poly(4-aminophenylboronic Acid) Nanowires on a Screen-Printed Carbon Electrode. *ACS Applied Polymer Materials*, 6(16), 9705-9714. https://doi.org/10.1021/acsapm.4c01572

Topal, M., Uslu Şenel, G., Işıl, E., Topal, A. & Öbek, E. (2015). Antibiyotikler ve kullanım alanları. Içinde *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* (C. 31, Sayı 3).

Traunmuller, F., Mauric, O., Popovic, M. & Joukhadar, C. (2010). Rapid and Sensitive Determination of the Antibiotic Linezolid in Low Plasma Volumes by High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Chromatographic Science*, 48(5), 325-327. https://doi.org/10.1093/chromsci/48.5.325

Turiel, E. and Esteban, A.M. (2019). Molecularly imprinted polymers. Içinde *Solid-Phase Extraction* (ss. 215-233). Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816906-3.00008-X

Uslu, B. vand Ozkan, S.A. (2011). Electroanalytical Methods for the Determination of Pharmaceuticals: A Review of Recent Trends and Developments. *Analytical Letters*, 44(16), 2644-2702. https://doi.org/10.1080/00032719.2011.553010

Vajdle, O., Šekuljica, S., Guzsvány, V., Nagy, L., Kónya, Z., Avramov Ivić, M., Mijin, D., Petrović, S. & Anojčić, J. (2020). Use of carbon paste electrode and modified by gold nanoparticles for selected macrolide antibiotics determination as standard and in pharmaceutical preparations. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 873, 114324. https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2020.114324

Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. (1995). Içinde *International Conference on Harmonisation (ICH) Guideline*.

Veloso, W.B., Almeida, A.T. de F.O., Ribeiro, L.K., de Assis, M., Longo, E., Garcia, M.A.S., Tanaka, A.A., Santos da Silva, I. & Dantas, L.M.F. (2022). Rapid and sensitivity determination of macrolides antibiotics using disposable electrochemical sensor based on Super P carbon black and chitosan composite. *Microchemical Journal*, 172, 106939. https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106939

Wan, H., Zhao, F., Wu, W. & Zeng, B. (2011). Direct electron transfer and voltammetric determination of roxithromycin at a single-wall carbon nanotube coated glassy carbon electrode. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 82(2), 427-431. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.09.014

Wang, J. (2006). Analytical Electrochemistry. Içinde *John Wiley ve Sons, Inc* (Third Edit). John Wiley & Sons, Inc. https://doi.org/10.1002/0471790303

Wei, M., Du, X., Zhang, Y., Shan, X., Wang, W., Chen, Y., Jiang, D., Xu, F., Shiigi, H. & Chen, Z. (2022). Ultrasensitive self-driven photoelectrochemical aptasensor for lincomycin detection based on oxygen vacancy-tunable BiOBr nanosheet coupled with dual-function of N-doped Ti3C2 quantum dots. *Biosensors and Bioelectronics: X*, 12. https://doi.org/10.1016/j.biosx.2022.100266

Wen, Z., Ding, L., Zhang, M., You, F., Yuan, R., Wei, J., Qian, J. & Wang, K. (2023). A membrane/mediator-free high-power density dual-photoelectrode PFC aptasensor for lincomycin detection in milk and chicken. *Analytica Chimica Acta*, 1245. https://doi.org/10.1016/j.aca.2023.340880

Weng, A., Siegel, J.B. & Stefanopoulou, A. (2023). Differential voltage analysis for battery manufacturing process control. *Frontiers in Energy Research*, 11. https://doi.org/10.3389/fenrg.2023.1087269

Włoch, M. and Datta, J. (2019). Synthesis and polymerisation techniques of molecularly imprinted polymers. Içinde *Comprehensive Analytical Chemistry* (C. 86, ss. 17-40). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/BS.COAC.2019.05.011

Wojnowski, W., Tobiszewski, M., Pena-Pereira, F. & Psillakis, E. (2022). AGREEprep – Analytical greenness metric for sample preparation. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 149, 116553. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116553

Wu, Y., Ye, S. & Hu, S. (2006). Electrochemical study of lincomycin on a multi-wall carbon nanotubes modified glassy carbon electrode and its determination in tablets. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(3), 820-824. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.01.037

Wulff, G. (2002). Enzyme-like catalysis by molecularly imprinted polymers. *Chemical Reviews*, 102(1), 1-27. https://doi.org/10.1021/cr980039a

Xie, J., Zhu, J., Min, B., He, R., Wang, W. & Xie, L. (2024). Effect of zero-valent iron and magnetite on mitigating sulfate and lincomycin stress in anaerobic digestion: microbial succession and antibiotic resistant genes removal. *Journal of Water Process Engineering*, 68. https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2024.106376

Xie, W., Chen, J., Cao, X., Zhang, J., Luo, J. & Wang, Y. (2024). Roxithromycin exposure induces motoneuron malformation and behavioral deficits of zebrafish by interfering with the differentiation of motor neuron progenitor cells. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 276. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.116327

Yao, Y., Wang, Q., Lu, Y., Zhang, J., Yao, W. & Yuan, Y. (2025). Optimized analysis for related substances in spiramycin based on high performance liquid chromatography with hybrid particle column and characterization of its impurities by single heartcut two-dimensional liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometer. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 252. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2024.116486

Youssef, R.M. and Maher, H.M. (2010). Electrochemical study of spiramycin and its determination in pharmaceutical preparation. *Drug Testing and Analysis*, 2(8), 392-396. https://doi.org/10.1002/dta.137

Zander, J., Maier, B., Zoller, M., Teupser, D. & Vogeser, M. (2014). Quantification of linezolid in serum by LC-MS/MS using semi-automated sample preparation and isotope dilution internal standardization. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 52(3), 381-389. https://doi.org/10.1515/cclm-2013-0594

Zelikovich, D., Dery, L., Sagi-Cohen, H. & Mandler, D. (2023). Imprinting of nanoparticles in thin films: Quo Vadis? Içinde *Chemical Science*. Royal Society of Chemistry. https://doi.org/10.1039/d3sc02178e

Zhang, H., Wei, Z., Zhang, F., Xia, J., Li, C., Chen, J. & Wang, Z. (2024). A novel electrochemiluminescence aptasensor for ultrasensitive lincomycin detection using Ti3C2–TiO2–Ru probe. *Food Chemistry*, *461*. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140921

Zhang, L., Duan, X., Wen, Y., Xu, J., Yao, Y., Lu, Y., Lu, L. & Zhang, O. (2012). Electrochemical behaviors of roxithromycin at poly(3,4-ethylenedioxythiophene) modified gold electrode and its electrochemical determination. *Electrochimica Acta*, 72, 179-185. https://doi.org/10.1016/j.electacta.2012.04.019

Zhang, R., Zheng, D., Chen, J., Zhang, C. & Wang, C. (2023). Design of NiS@Ni3S2/CdS heterostructure with intimate contact interface for sensitive photoelectrochemical detection of lincomycin. *Food Chemistry*, *418*. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136028

Zhang, X., Gu, S. & Ding, Y. (2014). Simultaneous detection of roxithromycin and dopamine using a sensor platform based on poly(sulfosalicylic acid) and its application in human serum studies. *Anal. Methods*, 6(10), 3316-3321. https://doi.org/10.1039/C4AY00009A

Zhang, Y., Wang, J. & Dong, Y. (2024). Sensitive detection of lincomycin based on ECL resonance energy transfer between Ir complex nanosheets and gold nanoparticles decorated Cu2O nanocomposites. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 968. https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2024.118511

Zhi, J., Wang, W., Mei, X., Li, Q., Jiang, D., Shan, X., Chen, X. & Chen, Z. (2024). An electrochemiluminescence sensor based on Ag NPs amplifying PDDA-modified TbPO4:Ce NWs signal for sensitive detection of lincomycin. *Bioelectrochemistry*, 158. https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2024.108702

Zhu, H., Zhang, H. & Xia, Y. (2018). Planar Is Better: Monodisperse Three-Layered MoS2 Quantum Dots as Fluorescent Reporters for 2,4,6-Trinitrotoluene Sensing in Environmental Water and Luggage Cases. *Analytical Chemistry*, 90(6), 3942-3949. https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b04893