



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**RAMAN SPEKTROSKOPİSİ VE YÜZEYDE
ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ RAMAN
SPEKTROSKOPİSİ (SERS) TEKNİKLERİNİN ADLI
TIP UYGULAMALARINDAKİ
ÜSTÜNLÜKLERİNİN İNCELENMESİ**

Güneş AÇIKGÖZ

**DOKTORA TEZİ
BİYOMÜHENDİSLİK VE BİLİMLERİ ANABİLİM DALI**

KAHRAMANMARAŞ 2017

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RAMAN SPEKTROSKOPİSİ VE YÜZEYDE
ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ RAMAN
SPEKTROSKOPİSİ (SERS) TEKNİKLERİNİN ADLİ
TIP UYGULAMALARINDAKİ
ÜSTÜNLÜKLERİNİN İNCELENMESİ

Güneş AÇIKGÖZ

Bu tez,
Biyomühendislik ve Bilimleri Anabilim Dalında
DOKTORA
derecesi için hazırlanmıştır.

KAHRAMANMARAŞ 2017

KABUL VE ONAY SAYFASI

Biyomühendislik ve Bilimleri Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Abdulkadir YILDIZ danışmanlığında, Güneş AÇIKGÖZ tarafından sunulan “**Raman Spektroskopisi ve Yüzeyde Zenginleştirilmiş Raman Spektroskopisi (SERS) Tekniklerinin Adli Tıp Uygulamalarındaki Üstünlüklerinin İncelenmesi**” isimli bu çalışma “Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği” ve “Fen Bilimleri Enstitüsü Yönergesi”nin ilgili hükümleri gereğince 08/05/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **oy birliği ile** başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Abdulkadir YILDIZ (DANIŞMAN)
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Prof. Dr. Mehmet TÜMER (ÜYE)
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Mehmet DEMİR (ÜYE)
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Adnan ÇELİKEL (ÜYE)
Mustafa Kemal Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Berna HAMAMCI (ÜYE)
Mustafa Kemal Üniversitesi

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. MUSTAFA ŞEKKELİ

Fen Bilimleri Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, alıntı yapılan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Güneş AÇIKGÖZ

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

RAMAN SPEKTROSKOPİSİ VE YÜZEYDE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ RAMAN SPEKTROSKOPİSİ (SERS) TEKNİKLERİNİN ADLİ TIP UYGULAMALARINDAKİ ÜSTÜNLÜKLERİNİN İNCELENMESİ

(DOKTORA TEZİ)

GÜNEŞ AÇIKGÖZ

ÖZET

Raman spektroskopisi ve Yüzeyde Zenginleştirilmiş Raman spektroskopisi (SERS) ile yapılan incelemeler sonucu her maddenin kendine ait titreşim spektrumu elde edilmektedir. Elde edilen titreşim spektrumu, analitin tanımlamasına ve yorumlanmasına olanak sağlamaktadır. Ayrıca, Raman spektroskopisinde suyun çözücü olarak kullanılması büyük avantaj sağlamaktadır. Bu tez çalışmasında, adli bakımdan dikkat çeken ve en çok karşılaşılan konulardan biri olan ev yapımı Boğma Rakı ve kan örnekleri Raman spektroskopisi ve SERS metodu ile çalışılmıştır. SERS metodu için Altın ve Gümüş nanoparçacık sentezlenmiştir. Elde edilen verilere PLS (Kısmi En Küçük Kareler) metodu uygulanmış ve araştırılan analitin kalitatif ve kantitatif analizi yapılmıştır. Ayrıca, etanol bulunan kan örneklerinde Etil Glukuronid (EtG)'in varlığı PLS-DA (Kısmi En Küçük Kareler -Diskriminant Analiz) metodu ile analiz edilmiştir.

Boğma Rakıda metanol ve etanol analizi için, hem GC-MS metodu ile hem de PLS metodu ile elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır. Metanol için, GC-MS metodu ile PLS metodu sonucunda elde edilen değerler arasındaki ilişki R^2 (Cal)=1.0 ve R^2 (Pred)=0.99 olarak bulunmuştur. Etanol için ise, GC-MS metodu ile PLS metodu sonucunda elde edilen değerler arasındaki ilişki R^2 (Cal)=0.997 ve R^2 (Pred)=0.994 olarak bulunmuştur.

SERS metodu ile elde edilen birçok veriye, PLS ve PLS-DA metodu uygulanarak, etanol ve EtG'nin kalitatif ve kantitatif analizi yapılmıştır. Alkol kullanan kişilerden alınan kan örneklerinde daha önceden GC-MS metodu ile ölçülen etanol miktarı ile yaptığımız çalışma sonucunda ölçülen etanol miktarı aynı bulunmuştur ($R^2=1$).

Bu çalışma, EtG'nin hem Raman hem de SERS metoduyla analizinin ilk kez yapılması ve alkol alımına bağlı olarak kandaki etanol miktarıyla ilişkili değişebileceğinin gösterilmesi bakımından önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Raman Spektroskopisi, Yüzeyde Zenginleştirilmiş Raman Spektroskopisi, Boğma Rakı, Kısmi En Küçük Kareler Metodu



Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyomühendislik ve Bilimleri Anabilim Dalı, Mayıs/2017

Danışman: Prof. Dr. Abdulkadir YILDIZ

Sayfa sayısı: 111

**INVESTIGATION OF RAMAN SPECTROSCOPY AND SURFACE ENHANCED
RAMAN SPECTROSCOPY METHODS OF ADVANTAGES IN FORENSIC
MEDICINE APPLICATIONS**

(Ph.D THESIS)

GÜNEŞ AÇIKGÖZ

ABSTRACT

Raman spectroscopy and Surface Enhanced Raman spectroscopy (SERS) are used to obtain the vibration spectrum of each resulting material. The resulting vibration spectrum allows the identification and interpretation of the analyte. In addition, the use of water as a solvent in the Raman spectroscopy is also a great advantage. In this thesis study, homemade Bogma Raki and blood samples, which are one of the most frequently encountered subjects in forensic care, were studied with Raman spectroscopy and SERS method. Gold and Silver nanoparticles were synthesized for SERS method. PLS (Partial Least Squares) method was applied to the obtained data and qualitative and quantitative analysis of the investigated analyte was performed. In addition, the presence of Ethyl Glucuronide (EtG) in blood samples in which ethanol was present was analyzed by the PLS-DA (Partial Least Squares-Discriminant Analysis) method.

In Bogma Raki, the results obtained by both the GC-MS method and the PLS method were compared for methanol and ethanol analysis. In Bogma Raki, the results obtained by both the GC-MS method and the PLS method for methanol and ethanol were compared. For methanol, the relationship between the values obtained by the GC-MS method and the PLS method was found to be R^2 (Cal) = 1.0 and R^2 (Pred) = 0.99. For ethanol, the relationship between the values obtained by the GC-MS method and the PLS method was found to be R^2 (Cal) = 0.997 and R^2 (Pred) = 0.994.

Quantitative and qualitative analysis of ethanol and EtG was carried out by applying the PLS and PLS-DA method to many of the samples obtained by the SERS method. In the blood samples taken from alcohol users, the amount of ethanol measured by the GC-MS method was found to be the same as the amount of ethanol measured in the study ($R^2 = 1$).

This study is also important to demonstrate that EtG can be analyzed both by Raman and SERS methods for the first time and may be related to the amount of ethanol in the blood due to alcohol intake.

Key words: Raman Spectroscopy, Surface Enhanced Raman Spectroscopy, Bogma Raki, Partial Least Squares Method



Kahramanmaraş Sütçü İmam University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Bioengineering and Sciences, May/2017

Supervisor: Prof. Dr. Abdulkadir YILDIZ

Page Numbers: 111

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasında, bilgi ve birikimlerinden yararlandığım ve çalışmamda sağladığı katkılardan dolayı Prof. Dr. Abdulkadir YILDIZ'a ve Yrd. Doç. Dr. Berna HAMAMCI'ya teşekkür ederim.

Çalışmalarımnda, hem bilimsel hem de manevi desteğini esirgemeyen kız kardeşim Öğr. Gör. Yıldız BORA'ya ve tez çalışmam boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, her daim yanımda olduğunu bildiğim sevgili eşim ve canım oğluma çok teşekkür ederim.

Ayrıca, çalışmam boyunca az veya çok emeği geçen herkese teşekkür ederim.

Güneş AÇIKGÖZ

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZET.....	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xii
EKLER DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Tezin Amacı ve Yapısı	3
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Raman Spektroskopisi	5
2.2. Teorik Bilgi.....	5
2.2.1. Raman'ın tarihçesi	10
2.3. Raman Cihazlarının Yapısı.....	11
2.4. Yüzeyde Zenginleştirilmiş Raman Spektroskopisi (SERS)	12
2.4.1 Elektromanyetik teori.....	15
2.4.2 Kimyasal teori	16
2.5. Nanoparçacık Sentezi	17
2.6. Yapısal Analiz (Spektrum Analizi)	19
3. ALKOL VE ADLİ TIP	23
3.1. İllegal Alkol.....	23
3.2. Etil Glukuronid (EtG).....	24
4. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	26
5. MATERYAL ve METOT	33
5.1. Altın ve Gümüş Nanoparçacık Sentezi.....	33
5.1.1. Kimyasallar ve kullanılan cihazlar.....	33
5.1.2. AgNP'lerin sentezlenmesi.....	33
5.1.3. AuNP'lerin sentezlenmesi.....	34
5.2. Boğma Rakıda Metanol ve Etanol Miktarının Raman Spektroskopisiyle Belirlenmesi.....	35
5.2.1. Numunelerin hazırlanması	35
5.2.2. Raman spektroskopisi	35

5.2.3. Kemometri	36
5.2.4. PLS metodunun uygulanması	40
5.2.5. Raman spektroskopisinde kullanılan parametreler	40
5.2.6. GC-MS sistemi.....	40
5.2.7. Veri analizi.....	41
5.3. Kan Örneklerinin SERS Metodu İle İncelenmesi.....	41
5.3.1. Kan örneklerinin hazırlanması	41
5.3.2. Raman spektroskopisinde kullanılan parametreler	41
5.4. EtG'nin Raman Spektroskopisi ve SERS Metodu İle İncelenmesi	43
5.4.1. Kimyasallar	43
5.4.2. EtG'nin hazırlanması	43
5.4.3. Raman spektroskopisinde kullanılan parametreler	43
5.5. Kanda Etanol Miktarının ve EtG'nin PLS (Kısmi En Küçük Kareler) Metodu İle Tayini	43
5.5.1. Kan örneklerinin hazırlanması	43
5.5.2. PLS metodunun uygulanması	43
5.6. Kanda EtG'nin PLS-DA (Kısmi En Küçük Kareler-Diskriminant Analizi) İle Analizi	45
6. BULGULAR VE TARTIŞMA	47
6.1. Altın ve Gümüş Nanoparçacıkların Karakterizasyonu	47
6.1.1. AuNP'lerin karakterizasyonu.....	49
6.1.2. AgNP'lerin karakterizasyonu.....	52
6.2. Boğma Rakıda Metanol ve Etanol Miktarının Raman Spektroskopisi İle Belirlenmesi	54
6.2.1. Geliştirilen deneysel metoda ait metanol ve etanol için elde edilen bulgular.....	54
6.2.2. Konsantrasyonlarda metanol miktarı için LOD (Tanımlama Limiti) ve LOQ (Ölçüm Limiti) değerlerinin belirlenmesi	59
6.2.3. Boğma Rakılarda metanol miktarının bulunması	60
6.2.4. Boğma Rakılarda etanol miktarının bulunması	62
6.3. Kan Örneklerinin SERS Metodu İle İncelenmesi.....	64
6.3.1. Kan örneklerinin haritalama yöntemi ile incelenmesi	68
6.3.2. Kanda farklı tür uyuşturucu maddelerin spektrumsal analizi	71
6.4. EtG'nin Raman Spektroskopisi ve SERS Metodu İle İncelenmesi	75
6.5. Kanda Etanol Miktarının ve EtG'nin Kısmi En Küçük Kareler Metodu (Partial Least Squares) İle Tayini.....	77
6.5.1. Kanda etanol miktarının tayini.....	77
6.5.2. Kanda EtG'nin SERS metodu ve PLS metodu ile analizi	79
6.6. Kanda EtG'nin PLS-DA (Kısmi En Küçük Kareler-Diskriminant Analiz) Metodu İle Analizi	84
7. SONUÇ VE ÖNERİLER	90
KAYNAKLAR.....	92
EKLER DİZİNİ.....	102
Ek 1. Adli Materyaller İçin Renishaw Raman Veritabanı.....	103
Ek 2. Etik Kurul Onayı ve İzinler.....	104
ÖZGEÇMİŞ	108

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 2.1. Spektral band aralıklarına karşılık gelen kimyasal gruplar ve grup titreşimleri [62].	21
Çizelge 2.1. (devamı) Spektral band aralıklarına karşılık gelen kimyasal gruplar ve grup titreşimleri [62].	22
Çizelge 5.1. AgNP ve AuNP'ların sentezlenmesi ve karakterizasyonunda kullanılan kimyasallar ve cihazlar.	33
Çizelge 5.2. Veri analizine uygun olarak kullanılan kemometrik teknikler ve özellikleri (y bağımlı, x bağımsız değişkenler).	39
Çizelge 5.3. AuNP ve AgNP'lar ile spektrumu alınan kanlara ait bilinen etanol miktarları. ..	45
Çizelge 6.1. Nanoparçacıkların karakterizasyonunda kullanılan temel metotlar ve kullanım amaçları [58, 125-127].	48
Çizelge 6.2. Tam kandan elde edilen Raman kaymaları.	67
Çizelge 6.3. PLS-DA analizinden elde edilen parametreler.	85

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Işın demetinin madde ile etkileşimi.	6
Şekil 2.2. 488 nm lazer ile uyarılan CCl ₄ 'ün Raman spektrumu.	7
Şekil 2.3. Stokes ve anti-Stokes türü Raman saçılması olaylarının molekül enerji diyagramı ile açıklanması [27].	10
Şekil 2.4. Zenginleştirilmiş Raman saçılımının gösterilmesi.	12
Şekil 2.5. Elektrik alanda bulunan metal nanoparçacığın elektronlarının yer değiştirmesi [28].	13
Şekil 2.6. Farklı şekillere sahip nanoparçacıklar [40].	14
Şekil 2.7. SERS'in "elektromanyetik" (EM) güçlendirmesi: yarıçap, dalga boyundan çok daha azdır [46].	16
Şekil 2.8. Aşağıdan yukarı (Bottom Up) ve yukarıdan aşağı (Top Down) metotları.	18
Şekil 2.9. Raman saçılması ve elde edilen Raman spektrumunun gösterilmesi [61].	20
Şekil 3.1. Glukuronidasyon yoluyla vücutta EtG oluşumu ve EtG'in kimyasal yapısı.	25
Şekil 4.1. LOOCV metodu kullanılarak hedef suşlar ve bilinmeyen suşların sınıflandırılması [100].	29
Şekil 4.2. Seyreltilmiş kan numunelerinin Raman dağılımı [17].	30
Şekil 4.3. Kurutulmuş tam kan ve kırmızı kan hücrelerinin Raman spektrumu [90].	31
Şekil 4.4. 785 nm uyarımlı (a) Kuru tam kanın normal Raman spektrumu (b) taze tam kanın SERS spektrumu (c) taze plazmanın SERS spektrumu [104].	31
Şekil 5.1. Sentezlenen AuNP'ların filtrelenmesi.	34
Şekil 5.2. Raman spektroskopisinin genel görünümü.	35
Şekil 5.3. Raman spektroskopisinin bileşenleri ve spektrumun elde edilmesi.	36
Şekil 5.4. Deneysel süreçte işlem basamakları.	38
Şekil 5.5. Kan örneklerinin hazırlanması; a. Kan serumunun elde edilmesi, b. Serumun AgNP veya AuNP'lar ile hazırlanması c. Tam kanın AgNP veya AuNP'lar ile hazırlanması.	42
Şekil 5.6. PLS metodunun şematik görünümü.	44
Şekil 5.7. EtG analizi için elde spektrumlara PLS-DA metodunun uygulanması.	46
Şekil 6.1. Farklı renk, boyut ve şekillerde bulunan nanoparçacıklar; a. AgNP'lar, b. AuNP'lar [124].	47

Şekil 6.2. AuNP'ların UV/Görünür bölge spektrometresinde elde edilen absorbanısı	49
Şekil 6.3. AuNP'lara ait SEM görüntüleri (X3 çözünürlükte)	50
Şekil 6.4. AuNP'lara ait SEM görüntüleri (X5 çözünürlükte)	51
Şekil 6.5. AgNP'ların UV/Görünür bölge spektrometresinde elde edilen absorbanısı	52
Şekil 6.6. AgNP'lara ait SEM görüntüleri (X5 çözünürlükte)	53
Şekil 6.7. AgNP'lara ait SEM görüntüleri (X10 çözünürlükte)	53
Şekil 6.8. Saf etanol için elde edilen Raman spektrumu	55
Şekil 6.9. Saf metanol için elde edilen Raman spektrumu	55
Şekil 6.10. Farklı oranlarda hazırlanmış etanol ve metanol konsantrasyonlarına ait Raman spektrumları	56
Şekil 6.11. Etanol metanol konsantrasyonlarında standart sapma ve ortalama değer	56
Şekil 6.12. Metanol ve etanol değeri bilinen konsantrasyonlarda metanol miktarının PLS metodu ile tayini	58
Şekil 6.13. Metanol ve etanol değeri bilinen referans konsantrasyonlarda etanol miktarının PLS metodu ile tayini	58
Şekil 6.14. Farklı oranlarda oluşturulan etanol ve metanol konsantrasyonları için kalibrasyon eğrisi	60
Şekil 6.15. Boğma Rakılarda metanol oranının PLS metodu ile tayini	61
Şekil 6.16. Boğma Rakılarda bulunan metanole ait PLS kalibrasyon spektrumları	61
Şekil 6.17. Boğma Rakılarda PLS metodu ile etanol miktar tayini	63
Şekil 6.18. GC-MS metodu ile elde edilen etanol miktarlarının PLS metodu ile tahmin edilen değerler ile karşılaştırılması	63
Şekil 6.19. AgNP'lar ile elde edilen kan serumlarına ait SERS spektrumları	66
Şekil 6.20. Mor tüp (EDTA) ile elde edilen tam kanın SERS spektrumu	66
Şekil 6.21. AgNP ve AuNP'lar kullanılarak elde edilen tam kan spektrumlarının karşılaştırılması	68
Şekil 6.22. Kuru kana ait Raman spektroskopisi ile görüntüsü ve haritalama yöntemi ile elde edilen SERS spektrumları	69
Şekil 6.23. Kuru kana ait Raman spektroskopisi ile görüntüsü ve haritalama yöntemi ile elde edilen SERS spektrumları	70
Şekil 6.24. Haritalama yöntemi ile elde edilen tek bir noktanın SERS spektrumları	71

Şekil 6.25. Farklı tür uyuşturucu madde kullanan kişilere ait kanların SERS spektrumları ...	72
Şekil 6.26. Farklı tür uyuşturucu madde kullanan kişilere ait kanların spektrumlarının 600-800 cm^{-1} arası bölgede incelenmesi.	72
Şekil 6.27. Farklı tür uyuşturucu madde kullanan kişilere ait kanların spektrumlarının 800-1000 cm^{-1} arası bölgede incelenmesi.	73
Şekil 6.28. Farklı tür uyuşturucu madde kullanan kişilere ait kanların spektrumlarının 1000-1230 cm^{-1} arası bölgede incelenmesi.	73
Şekil 6.29. Farklı tür uyuşturucu madde kullanan kişilere ait kanların spektrumlarının 1250-1510 cm^{-1} arası bölgede incelenmesi	74
Şekil 6.30. Farklı tür uyuşturucu madde kullanan kişilere ait kanların spektrumlarının 1510-1730 cm^{-1} arası bölgede incelenmesi.	74
Şekil 6.31. EtG'nin Raman spektrumu.....	76
Şekil 6.32. EtG'nin normal Raman ve SERS spektrumları.....	77
Şekil 6.33. PLS metodu ile elde edilen kalibrasyon eğrisi.....	78
Şekil 6.34. PLS metodu ile tahmin edilen etanol miktar tayini.....	79
Şekil 6.35. Tam kanda elde edilen SERS spektrumu ile EtG'nin Raman spektrumunun karşılaştırılması.	80
Şekil 6.36. 400-1100 cm^{-1} arası spektral bölgede tam kanda elde edilen SERS spektrumu ile EtG'nin Raman spektrumunun karşılaştırılması.	81
Şekil 6.37. 1000-1800 cm^{-1} arası spektral bölgede tam kanda elde edilen SERS spektrumu ile EtG'nin Raman spektrumunun karşılaştırılması.	81
Şekil 6.38. PLS metodu ile alkol kullanan kişilerin kanlarındaki EtG'nin kantitatif analizi ..	83
Şekil 6.39. PLS metodu ile etanol bulunan ve bulunmayan kan örneklerinde EtG analizi.	83
Şekil 6.40. Deneysel verilerin diskriminant analizi.	84
Şekil 6.41. Kan örneklerine ait istatistiksel değerlerin (R^2 , RMSEC, RMSECV) uygulanmasıyla tahmin edilen PLS-DA analizi. a. Alkol kullananlara göre (Sınıf 1), b. Alkol kullanmayanlara göre (Sınıf 0).....	86
Şekil 6.42. Oluşturulan sınıflara ait PLS-DA ile elde edilen ROC eğrileri.	89
Şekil 6.43. PLS-DA metodu ile elde edilen LV skorları.....	88

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Au	: Altın
Ag	: Gümüş
AuNP	: Altın nanoparçacık
AgNP	: Gümüş nanoparçacık
nm	: Nanometre
CCD	: Charge Coupled Device (Yük Eşlenikli Cihaz)
SERS	: Surface Enhanced Raman Spectroscopy (Yüzeyde Zenginleştirilmiş Raman Spektroskopisipolar)
LOD	: Limit of Detection (Tanımlama Limiti)
LOQ	: Limit of Quantification (Ölçüm Limiti)
IR:	: Infrared Raman
THz	: Tetahertz
E_s	: Son enerji
E_i	: İlk enerji
λ	: Dalga boyu
ν	: Frekans
h	: Plank sabiti
c	: Işık hızı
$\bar{\nu}$: Dalga numarası
α	: Polarizarlık
E	: Elektrik alanı
P	: İndüklenmiş elektrik dipolü
mm	: Milimetre
cm	: Santimetre
m	: Metre
mg	: Miligram
μg	: Mikrogram
mL	: Mililitre
μL	: Mikrolitre
s	: Saniye
ε	: Dielektrik sabiti
YPR	: Yüzey Plazmon Rezonansı

EtG	: Etil Glukuronid
EtS	: Etil Sülfat
YAEE	: Yağ asiti etil esterleri
PEth	: Fosfoditiletanol
BR	: Bogma Rakı
UV-Vis	: Ultraviyole görünür bölge spektroskopisi
R	: Regresyon Denkleminin Korelasyon Katsayısı
PLS	: Kısmi En Küçük Kareler (Partial Least Squares)
PLS-DA	:Kısmi En Küçük Kareler-Diskriminant Analizi (Partial Least Squares-Discriminant Analysis)
MLR	: Çoklu Doğrusal Regresyon
CLS	: Klasik En Küçük Kareler (Classical Least Squares)
ILS	: Ters En Küçük Kareler (Inverse Least Squares)
PCR	: Temel bileşen regresyon yöntemi (Principal Component Regression)
RMSE	: Hata Kareler Ortalamasının Karekökü (The Root Mean Square Error)
RMSEP	: Tahmini Artık Kareler Hatası
RMSECV	: Çapraz geçerliğin Hata Kareler Ortalamasının Karekökü (Root Mean Square Error Of Cross Validation)
LOOCV	: Birini Dışarıda Bırakma Çapraz Geçerlik Yöntemi (LOOCV) (Leave One Out Cross-Validation)
CV	: Çapraz Geçerlik (Cross Validation)
ROC	: İşlem Karakteristik Eğrisi (Receiver Operating Characteristic Curve)
AUC	: Area Under Curve
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
GC	: Gas Chromatography
GC-MS	: Gas Chromatography Mass Spectrometry
LC-MS	: Liquid Chromatography Mass Spectrometry
Cal	: Calculation
Pred	: Prediction

EKLER DİZİNİ

EK 1. Adli Materyaller İçin Renishaw Raman Veritabanı

EK 2. Etik Kurul Onayı ve İzinler



1. GİRİŞ

Raman spektroskopisi, bir bileşiğin hızlı bir şekilde tanımlanmasını sağlayan, birbirinden farklı numunelerin analizi için kullanılan bir araç olmasının yanı sıra tahribatsız analiz yapabilmesi nedeniyle de son yıllarda kullanımını giderek artırmıştır. Raman spektroskopisinin farklı numuneleri inceleme olanağı sayesinde, biyoteknoloji, mineraloji, gıda ve içecekler, adli bilimler, tıbbi ve klinik kimya, farmasötik, malzeme bilimi gibi farklı alanlardaki çeşitli maddelerin analizinde kullanılmıştır. Raman spektroskopilerinin enstrümantal tasarımındaki gelişmeler ile birlikte farklı inceleme metotlarının kullanılması, karışımlar içerisinde çok az miktarda ki analitin tespit edilmesine olanak tanımıştır.

Raman spektroskopisi ile yapılan incelemeler sonucu her maddenin kendine ait titreşim spektrumu elde edilmektedir. Elde edilen titreşim spektrumu, analitin tanımlanmasına ve yorumlanmasına olanak sağlamaktadır. Ayrıca, Raman spektroskopisinde suyun çözücü olarak kullanılması ve yapılan incelemelere engel olmaması da büyük avantaj sağlamaktadır [1-4].

Adli tıp doğası gereği çok disiplinli bir alan olup, bu alanda yer alan bilimlere “Adli Bilimler” denilmektedir. Adli bilimler başta “adli patoloji”, “adli toksikoloji”, “adli genetik” ve “adli psikiyatri” olmak üzere; birçok bilim ve mesleğin “adli” konularını veya disiplinlerini (adli arkeoloji, adli diş hekimliği, kriminalistik, tıp hukuku, adli mühendislik, adli hemşirelik, adli fizik, adli trafik, adli belge incelemeleri vb.) içermektedir [5]. Suç veya olay yerinde bulunan biyolojik delillerin incelenmesi, uyuşturucu madde analizi, vücut sıvılarında kötüye kullanılan maddelerin veya metabolitlerinin varlığının olup olmadığının tespit edilmesi gibi farklı birçok inceleme yapılmaktadır.

İnsanlar tarafından üretilen vücut sıvıları kan, meni, tükürük, vajinal sıvı, idrar, ter, anne sütü, gözyaşı ve mukus şeklinde sınıflandırılmaktadır. Biyolojik sıvılar, canlı varlığın bir göstergesi olduğu için Adli bakımdan dikkat çeken önemli bir unsurdur. Suç masallarında kan, meni ve tükürük gibi sıvılara diğerlerinden daha fazla karşılaşıldığından dolayı bu vücut sıvıları en çok çalışılan örnekler olmaktadır.

Adli tıpta en yaygın biçimde kullanılan biyolojik kanıtlardan biri olan kan, su, proteinler, mineral iyonları, amino asitler, hormonlar, kan hücreleri ve diğer bileşenlerden oluşan heterojen bir karışımdır. Vücut sıvılarını tanımlayan, doğrulayan ve halen kullanılmakta olan farklı tarama ve doğrulayıcı testler mevcuttur. Bu testler kendi özgünlükleri ve vücut sıvılarını tanımlanmasındaki güven seviyesi ile ayırt edilmektedirler.

Adli amaçlar bakımından önemli bir belirteç olan hemoglobinin tespit edilmesi amacıyla da bu testler kullanılmaktadır. En ayırmacı teknikler DNA/RNA analizine dayanmaktadır. Bu yöntemlerin yıkıcı olmaları, karmaşık prosedürleri ve yüksek maliyeti gibi dezavantajları bulunmasının yanı sıra, beklemeye bağlı kontaminasyon ve genetik materyal bozulması nedeniyle de DNA/RNA analizine devam etmek her zaman mümkün değildir [6,7].

Yapılan incelemeler adli soruşturmalarda önemli kanıtlar sağlamaktadır. Bundan dolayı, yıllardır pek çok metot olay yerindeki delilleri özellikle vücut sıvılarını incelemek amacıyla geliştirilmektedir. Fakat uygulanan metotların toplanan delillere zarar vermeyecek şekilde geliştirilmesi gerekmektedir. Bu nedenle Raman spektroskopisi adli bilimlerdeki farklı disiplinler bakımından popüleritesi giderek artan bir tekniktir [8-10].

İnfrared Raman (IR), Raman, THz spektroskopisi maddelerin moleküler yapılarının kendi titreşim spektrumlarından belirlenmesi veya tanımlanması bakımından Adli bilimlerde sıkça kullanılan yöntemlerdir. Özellikle bilinmeyen veya kanıtın bir parçası olabilecek numunelerden elde edilen spektrumlarda, fonksiyonel grupların varlığının bulunması veya bulunmaması bakımından yorumlanabilmekte ve referans spektrumun kütüphane veri tabanıyla karşılaştırma yapılabilmektedir.

Raman spektroskopisiyle biyolojik numuneler incelendiğinde, lazer kaynağından dolayı meydana gelen floresans emisyonu ve oluşan zayıf Raman sinyalleri olmak üzere iki dezavantaj ile karşılaşılmaktadır. Floresans emisyonunu aşmak için, elektromanyetik spektrumun görünür yakın kızılötesi bölgeye gelecek 785, 830 veya 1064 nm uzun dalga boylarında lazer ışık kaynağı gerekmektedir [11].

Zayıf Raman sinyalleri ortadan kaldırmak için Yüzeyle Zenginleştirilmiş Raman Spektroskopisi (SERS) metodunun gerekli olduğu kabul edilmektedir. SERS metodunda nanoyapılı metal parçacıkların etkisi Raman saçılmasının şiddetini değiştirmektedir. Işın; gümüş, altın, bakır gibi bazı metallerin iletim bandındaki elektronları uyarılmasıyla, bu metallerin üzerine absorblanan moleküllerde zenginleşme meydana getirmektedir.

1 – 100 nm aralığındaki büyüklüğe sahip parçacıklar nanoparçacık olarak adlandırılır. Son yıllarda, kontrol edilebilen büyüklük, şekil ve yapıya sahip nanoparçacıkların fizik, kimya, mühendislik ve tıp gibi alanlarda önemi ve kullanımı gittikçe artmaktadır. Nanoparçacığın rengi, şekli ve büyüklüğüne ayrıca bulunduğu ortamın dielektrik sabitine bağlı olduğu bulunmuştur ve bu nedenle farklı çalışmalarda kullanılmaktadır. Özellikle metal nanoparçacıklar arasında kontrollü sentezlenebilmesinden dolayı en fazla dikkat çeken altın

(Au) ve gümüş (Ag)'tür. Nanoparçacıkların plazmon rezonansı önemli yüzey zenginleştirilmesi sağlamaktadır ve bundan dolayı SERS substratlarında metal nanoparçacıklar kullanılmaktadır. Metal nanoparçacıkların kullanılması Raman saçılmasındaki zayıf sinyallerin artmasına neden olmaktadır. SERS yöntemi için en yaygın kullanılan Au ve Ag nanoparçacıklarıdır. Ag ve Au nanoparçacıkların sentezlenmesinde farklı yöntemlerin bulunmasıyla birlikte küreler, küpler, prizmalar, nanoçubuklar gibi farklı şekillerde bulunan nanoparçacıklar da sentezlenebilmektedir [12-14].

1.1. Tezin Amacı ve Yapısı

Bu tez çalışmasında adli bakımdan dikkat çeken en önemli ve en çok karşılaşılan vücut sıvılarından biri olan kan çalışılmıştır. Literatürde var olan belli başlı SERS yöntemlerinin ve bu yöntemlerde kullanılan nanoparçacık boyutlarının adli tıp analizlerinde kullanım alanları ve sınırlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, hem tam kan hemde kan serumu için SERS spektrumları elde edilmiştir ve elde edilen spektrumlara PLS (Kısmi En Küçük Kareler- Partial Least Square) metodu uygulanarak, içeriğinde bulmak istediğimiz bileşenin miktarı araştırılmıştır. SERS metodu için Au ve Ag nanoparçacıklar sentezlenmiştir.

Bu tez çalışmasının deneysel aşaması beş farklı kısımdan oluşmaktadır.

Birinci bölümde, Au ve Ag nanoparçacıkların sentezlenmesi ve karakterizasyonu sunulmuştur. UV/Görünür bölge spektrometresi ve Taramalı Elektron Mikroskobu kullanılarak elde edilen sonuçlar doğrultusunda sentezlenen nanoparçacıkların analizi yapılmıştır.

İkinci bölümde, yasal olmayan yollarla satılan Boğma Rakı numunelerinde metanol ve etanol değişimi Raman spektroskopisi ile incelenmiştir. Raman spektrumlarından elde edilen verilere PLS metodu uygulanarak metanol ve etanolün kalitatif ve kantitatif analizi yapılmıştır. Ayrıca, Raman spektroskopisinden elde edilen sonuçlar ile GC-MS metodundan elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır.

Üçüncü bölümde, kan örnekleri SERS metodu ile incelenmiş ve kalitatif analizi yapılmıştır. Ayrıca, farklı uyuşturucu madde türü tespit edilen kan örneklerinin Raman spektroskopisi ile elde edilen spektrumların kalitatif analizi yapılmıştır.

Dördüncü bölümde, alkol alımının bir göstergesi olan Etil β -D Glukuronid (EtG) hem Raman spektroskopisi ile hem de SERS metodu ile incelenmiştir.

Beşinci bölümde, alkol kullanan kişilerden alınan kanlarda etanolün varlığı ve etanol miktarı PLS metodu ile incelenmiştir. Ayrıca alkol kullananlardan alınan kan örneklerinde EtG'nin varlığının Raman spektroskopisi ile belirlenip belirlenmeyeceği araştırılmıştır. Bunun için ise, PLS-DA (Kısmi En Küçük Kareler -Diskriminant Analiz) metodu uygulanmıştır ve elde edilen sonuçlar tartışılmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Raman Spektroskopisi

Spektroskopi tekniği elektromanyetik radyasyon kullanılarak yapılan bir tekniktir. Atom, molekül veya iyonların farklı enerji düzeylerine geçişleri sırasında absorbe edilen veya yayılan elektromanyetik ışımaya oluşmaktadır. Oluşan bu ışımaların ölçülmesi ve yorumlanması spektroskopi teknikleri ile yapılmaktadır. Spektroskopi, maddelerin hem kimyasal yapıları hem de fiziksel formları hakkında bilgi sağlamak amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Bir numunede bulunan maddelerin tanımlanması, kantitatif madde miktarının belirlenmesi için spektroskopi yöntemleriyle elde edilen spektral desenlerden ('parmak izi') yararlanılır [15].

Raman spektroskopisi monokromatik lazer ışınlarının moleküllerle etkileşimi boyunca meydana gelen, inelastik saçılmaya bağlı titreşimsel bir tekniktir. Raman spektroskopisinde kullanılan dalga boyu ile incelenen numuneden elde edilen absorpsiyon demetinin dalga boyu birbirinden farklıdır [16].

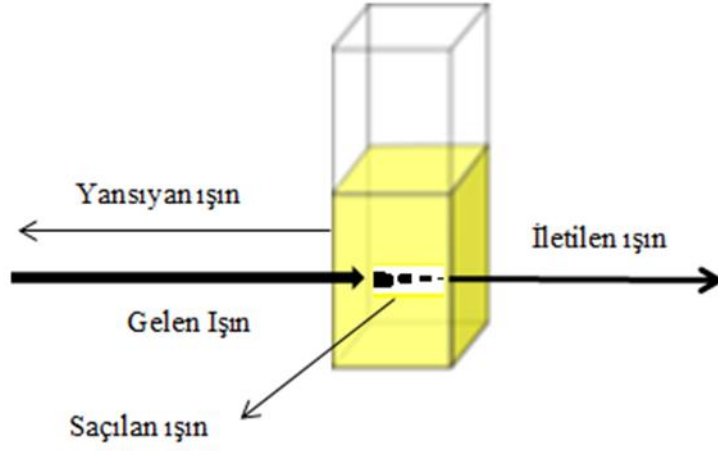
Raman spektroskopisi, Adli tıp, biyoloji, eczacılık, malzeme bilimi gibi birçok alanda kullanılan çok duyarlı bir tekniktir ve mikroskobik örnekler üzerinde hızlı, duyarlı, tahribatsız analiz sağladığından dolayı son yıllarda dünya çapında önemi gittikçe artmaktadır [17-19].

Adli bilimlerde, infrared Raman (IR), Raman, THz spektroskopisi maddelerin moleküler yapılarının kendi titreşim spektrumlarından belirlenmesi veya tanımlanması bakımından önemli bir rol oynar. Özellikle bilinmeyen veya kanıtın bir parçası olabilecek numunelerden elde edilen spektrumlarda, fonksiyonel grupların varlığının bulunması veya bulunmaması bakımından yorumlanabilir ve referans spektrumun kütüphane veri tabanı ile karşılaştırılabilir. Numunelerin adli bakımdan Raman spektroskopisi ile incelenmesi esnasında, lazer kaynağından dolayı meydana gelen floresans emisyonu ve zayıf Raman sinyallerinin oluşması olmak üzere iki farklı durum ile karşılaşılabilir. Floresans emisyonunu aşmak için, elektromanyetik spektrumun görünür yakın kızılötesi bölgeye gelecek 785, 830 veya 1064 nm uzun dalga boylarında lazer ışık kaynağı gerekmektedir.

2.2. Teorik Bilgi

Spektroskopi teknikleri, elektromanyetik radyasyonun maddenin atom veya molekülleriyle etkileşmesi teorisine dayanır. Dolayısıyla elektromanyetik radyasyonlar kendi dalga boyu veya frekansıyla tanımlanır. Dalga boyu λ olan monokromatik ışın demeti bir

maddeye çarptığı zaman 3 farklı durum gözlenebilir; fotonlar soğurulabilir, saçılabilir veya numune ile etkileşmeden geçebilir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Işın demetinin madde ile etkileşimi.

Saçılan ışınlar arasında monokromatik ışın demetinden farklı dalga boyuna sahip ışınlar bulunur. Gelen fotonun enerjisi $h\nu_0$ saçılan fotonun enerjisi $h\nu_s$ şeklinde gösterilirse, gelen ve saçılan foton arasındaki enerji farkı;

$$\Delta E = h\nu \quad (2.1)$$

$$\Delta E = h\nu_0 - h\nu_s \quad (2.2)$$

olur. (2.2) denkleminde ΔE enerji farkı, ν frekans ve h plank sabitidir. Frekans ile dalga boyu arasındaki ilişki;

$$\nu = \frac{c}{\lambda} \quad (2.3)$$

şeklinde gösterilir. Burada λ dalga boyu, c ışık hızıdır. (2.3) denklemini (2.2) denkleminde yerine yazarsak,

$$\Delta E = hc \left(\frac{1}{\lambda_0} - \frac{1}{\lambda_s} \right) \quad (2.4)$$

Dalga boyuna bağlı enerji değişimini elde edilir.

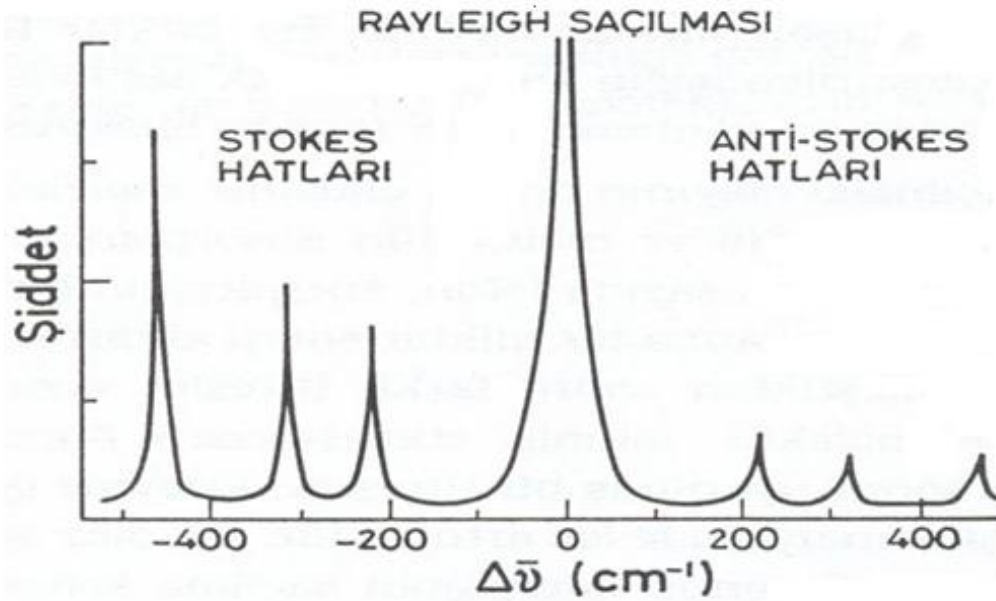
Dalga numarası $\bar{\nu}$ ise,

$$\bar{\nu} = 1/\lambda \quad (2.5)$$

denklemini ile ifade edilir.

Işın bir ortamdan geçtiği zaman gelen ışın demetinin bir kısmı farklı yönlerde saçılacağından dolayı bir maddenin Raman spektrumunda üç farklı pik görülür. Bunlar; Rayleigh ışını piki, Stokes ışını piki ve anti-Stokes ışını piki olarak sınıflandırılır. Işın saçıldığı zaman birçok fotonun elastik olarak saçılması olayına Rayleigh saçılması denir. Fotonların çok az bir kısmı ise Raman saçılmasına uğramaktadır. Saçılma frekansı başlangıç frekansından daha küçük ise Stokes Raman piki, daha büyük ise anti-Stokes Raman piki oluşur [20]. Şekil 2.2’de görüldüğü gibi 488 nm lazer ile uyarılan Karbon Tetraklorür (CCl_4)’ün Raman spektrumu görülmektedir. Bu spektrumda Rayleigh, Stokes ve anti-Stokes ışın pikleri bulunmaktadır.

Raman spektroskopisinin temeli inelastik saçılmaya dayanmasına rağmen Raman deneylerinde inelastik saçılmanın yanı sıra elastik saçılma da gözlemlenmektedir. Elastik saçılma Rayleigh saçılması, inelastik saçılma ise Raman saçılması olarak bilinmektedir. Işık maddeyle etkileştiği zaman elektromanyetik spektrumdaki kızılötesi ve ultraviyole kısmındaki belli bir dalga boyuna sahip fotonlar kolayca absorbe edilirler [15, 21, 22].



Şekil 2.2. 488 nm lazer ile uyarılan CCl_4 'ün Raman spektrumu.

Raman spektroskopisinde elektromanyetik alan Raman band yoğunluklarındaki birçok önemli özelliği açıklamaktadır. Bir molekül elektrik alana maruz kaldığı zaman elektronlar ve çekirdekler ters yönde itilmeye zorlanır ve elektrik alan şiddetiyle orantılı olarak dipol moment ve moleküler polarizabilite indüklenir.

$$P = \alpha E \quad (2.6)$$

denklemlerle polarizasyon ifade edilir ve α bir molekülün polarizabilite, E elektromanyetik dalgadaki elektrik alanı ve P ise molekül içinde indüklenmiş elektrik dipolünü ifade etmektedir.

Klasik teoriye göre, elektrik alanın zamana bağlı değişimi,

$$E = E_0 \cos(2\pi\nu_0 \cdot t) \quad (2.7)$$

denklemlerle ifade edilir. Bu denklemde E_0 titreşim genliği ve ν_0 ise lazer kaynağının yani gelen ışının frekansı olarak ifade edilmektedir. (2.7) denklemini (2.6) denklemine yerine yazarsak,

$$P = \alpha_0 E = \alpha E_0 \cos(2\pi\nu_0 \cdot t) \quad (2.8)$$

denklemler elde edilir. Gelen ışın molekülü ν_m frekansı ile titreştirirse nükleer yer değiştirme yani q ;

$$q = q_0 \cos(2\pi\nu_m \cdot t) \quad (2.9)$$

denklemlerle ifade edilir. Burada q_0 titreşimsel genliktir. Titreşimin küçük bir genliği için, α polarizabilite q 'nin lineer bir fonksiyonu olduğundan,

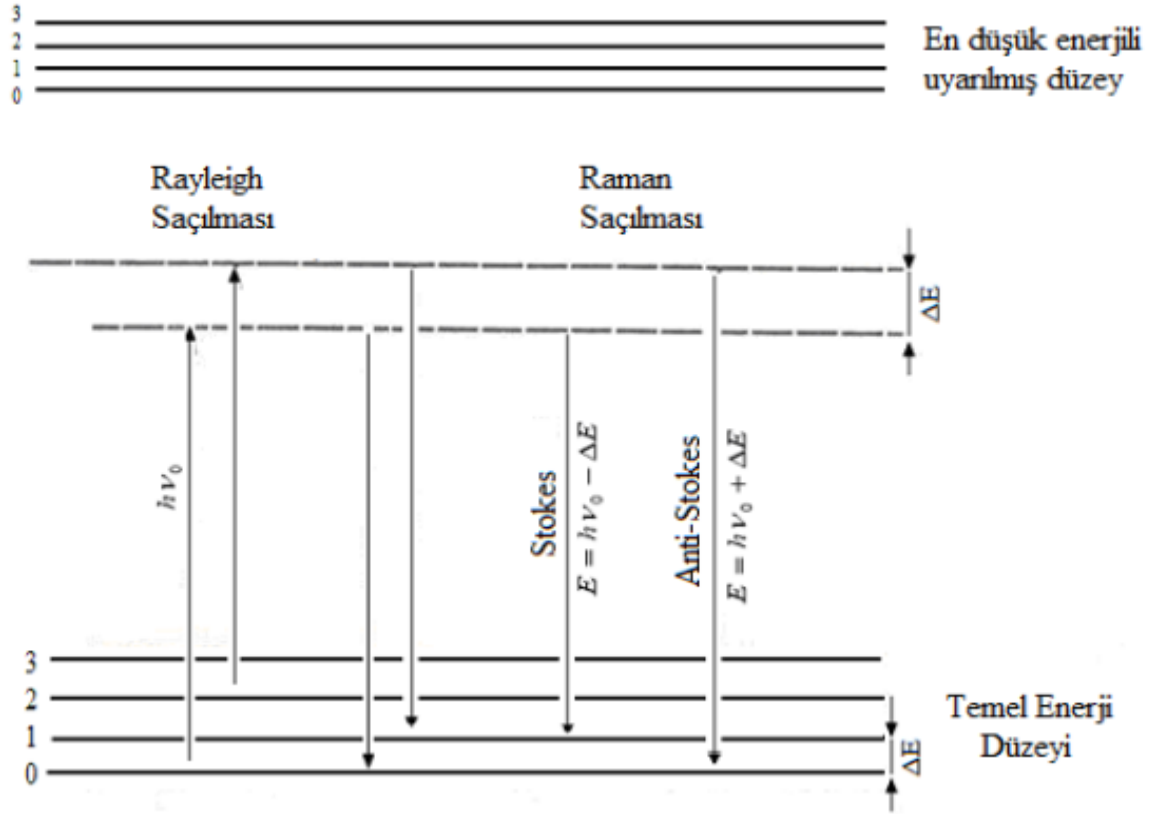
$$\alpha = \alpha_0 + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q} \right)_0 \cdot q + \dots \quad (2.10)$$

denklemlerle ifade edilir. $\partial \alpha / \partial q$ ise α 'nın q 'ya bağlı değişim oranını göstermektedir.

$$\begin{aligned}
P &= \alpha_0 E = \alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_0 \cdot t) + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q} \right)_{q=0} \cdot q_0 \cos(2\pi\nu_m \cdot t) \cdot E_0 \cos(2\pi\nu_0 \cdot t) \\
&= \underbrace{\alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_0 \cdot t)}_{\text{Rayleigh saçılması}} + \frac{1}{2} \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q} \right)_{q=0} \cdot q_0 E_0 \underbrace{[\cos(2\pi\{\nu_0 - \nu_m\} \cdot t) + \cos(2\pi\{\nu_0 + \nu_m\} \cdot t)]}_{\text{Stokes saçılması}} + \\
&\quad \underbrace{\cos(2\pi\{\nu_0 + \nu_m\} \cdot t)}_{\text{Anti-Stokes saçılması}} \tag{2.11}
\end{aligned}$$

(2.8) denkleminde E ve α_0 açılımlarını yerine yazarsak (2.11) denklemi elde edilir. Dolayısıyla Raman spektrumunda gözlenen 3 farklı pikin formüsel olarak ifadesi elde edilir. Rayleigh saçılması frekansında herhangi bir azalma gözlenmez iken, Stokes saçılmasında frekans ν_m kadar azalmakta, Anti- Stokes saçılmasında ise frekans ν_m kadar artmaktadır. Saçılmadaki frekans değişimine bağlı enerji değişimleri diyagramı Şekil 2.3'te gösterilmiştir [22-26].

Fotonlar, Raman saçılmasına uğradığı zaman, gözlenen dalga boyu değişimi bir molekülün titreşim durumlarındaki uyarılmasına veya serbest kalmasına sebep olur. Farklı fonksiyonel gruplar farklı karakteristik titreşim enerjilerine sahiptir ve her molekülün tek bir Raman spektrumu vardır.



Şekil 2.3. Stokes ve anti-Stokes türü Raman saçılması olaylarının molekül enerji diyagramı ile açıklanması [27].

2.2.1. Raman'ın tarihçesi

Raman saçılması olarak bilinen ışının inelastik saçılması teorik olarak ilk kez Smekal tarafından 1923 yılında keşfedilmiştir [29]. Daha sonra bu olgu deneysel olarak 1928 yılında Raman ve Krishnan tarafından gözlemlenmiş ve Nature'da rapor edilmiştir [30]. Raman 1930'da Raman etkisinin keşfinden dolayı Nobel Fizik Ödülünü kazanmıştır.

Raman etkisinin en büyük yararı, gelen ve çıkan fotonların kaybettiği enerjiye dayanır. Bu nedenle, Raman saçılması uyarılmış radyasyonun enerjisindeki değişim olarak tanımlanmaktadır ve Δcm^{-1} olarak gösterilmektedir. Fakat yapılan çalışmalarda cm^{-1} olarak gösterilmektedir. Farklı frekanslarda saçılan ışınların fotonları Raman spektrumunun yapısını oluşturarak moleküler yapının karakteristiğinin belirlenmesini sağlar [15, 31, 32].

Su zayıf Raman saçıcı olduğu için sulu çözeltilerin Raman spektrumu su titreşimleri olmaksızın da elde edilebilir. Böylelikle Raman spektroskopisi sulu çözeltilerdeki biyolojik bileşikler incelenmesi bakımından idealdir. Bu nedenle FTIR ve İnfrared spektroskopisine göre daha üstün bir yöntemdir [22].

2.3. Raman Cihazlarının Yapısı

Tipik Raman analiz sistemleri dört temel bileşenden oluşur:

1. Uyarma veya ışın kaynağı (Lazer)
2. Numune aydınlatma ve toplama sistemi
3. Dalga boyu seçiciler (spektrometre veya filtre)
4. Algılama ve bilgisayar kontrol sistemi.

Raman saçılması zayıf bir saçılmadır ve yoğun monokromatik uyarılma ve hassas detektör olmadan gözlemlemek zordur. Raman spektroskopisinde ışın kaynakları lazerlerdir. Lazer kullanılmasının sebebi koherent ışın oluşturabilmesi ve numunenin küçük bir noktasına kolayca odaklanabilmesidir. Lazer kaynağı gerekli Raman sinyali oluşturması için yeterince güçlü olmalıdır. Numuneyi etkileyen lazer gücü, termal stabilitesine bağlı olarak 10 ile 1000 mW arasında değişebilir. Raman spektroskopisinde birkaç tane farklı lazer kullanılmaktadır. Bunlar; Argon iyonu (488.0 ve 514.5 nm), Kripton iyonu (530.9 ve 647.1 nm), Helyum Neon (632.8 nm), Nd:YAG (1064 nm), ve diyod (630 ve 980 nm) lazerler olarak sıralanır [33].

Diyod lazerler, spektroskopiler özellikle de Raman spektroskopisi için birçok nedenden dolayı daha fazla dikkat çekmektedir. Bu nedenler,

1. Yüksek verimlilikleri, güç ve soğutma gereksinimlerini en aza indirmesi,
 2. Çok küçük boyutta bulunabilmeleri (birkaç milimetre),
 3. Raman için uygun diyod lazerleri yaklaşık 670 ile 860 nm arasında bir dalga boyuna sahip iken bireysel diyod lazerleri daha sınırlı bir aralıkta ayarlanabilmesi,
 4. Diyot lazerlerinin ucuz olmaları,
- olarak sıralanabilir.

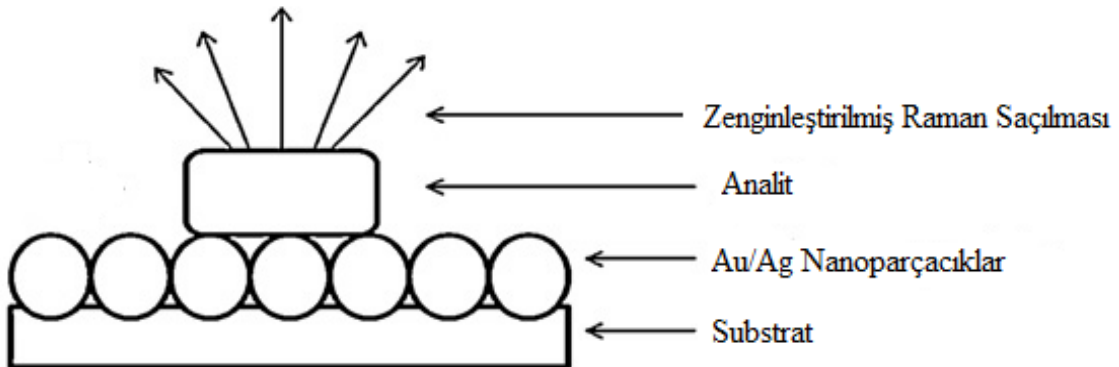
Tek dalga boylu tarama cihazlarının aksine CCD (Charge Coupled Device-Yük Eşlenikli Cihaz)'ın iki boyutlu dizi formatı, megahertz sırasındaki çok yüksek okuma hızı ile birleştiğinde, gerçek zamanlı olarak tüm kanalların aynı anda ölçülmesine olanak tanır. Eşzamanlı ölçümün avantajı, lazer gücündeki geçici sürüklenmenin spektral çizgiyi etkilememesi, yalnızca spektrumun normalize edilerek telafi edilebilen tam genlik olmasıdır [34].

2.4. Yüzeyde Zenginleştirilmiş Raman Spektroskopisi (SERS)

Yüzeyde Zenginleştirilmiş Raman Saçılması (Surface Enhanced Raman Spectroscopy, SERS) ilk kez 1974 yılında Fleischman ve ark. tarafından pürüzlendirilmiş gümüş (Ag) elektrot yüzeyine absorblanmış piridin molekülünün Raman sinyallerini zenginleştirilmesiyle keşfedilmiştir. Daha sonra Jeanmaire ve Van Duyne (1977) ve Albercht ve Creighton (1977) yaptıkları çalışmalarda gümüş (Ag) elektrot kullanarak Raman sinyallerindeki zenginleşmeyi göstermişlerdir [35-38].

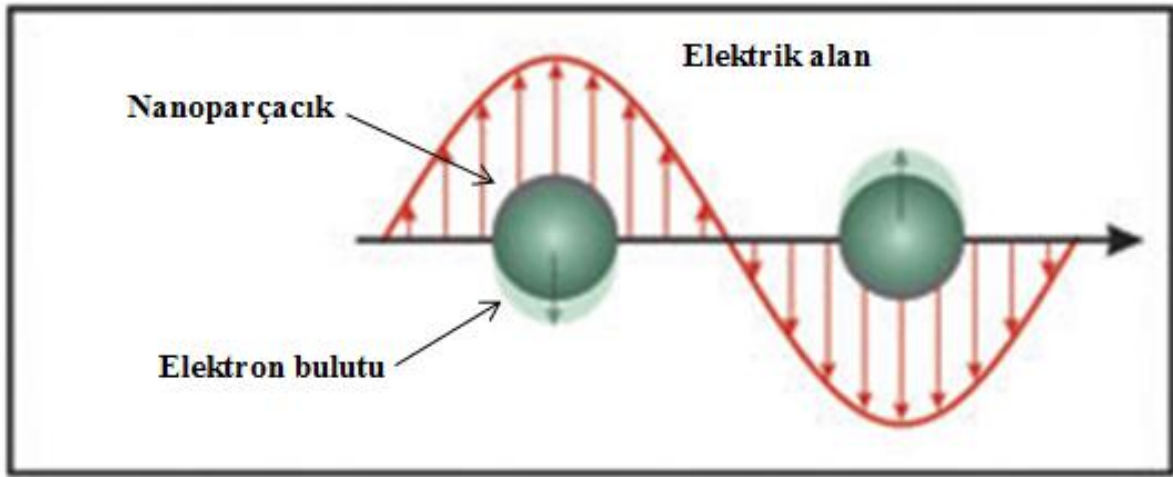
Bazı durumlarda Raman spektroskopisinin tek başına yeterli olmadığı ve SERS metodunun gerekli olduğu kabul edilmektedir. Raman spektroskopisi ile SERS metodunu karşılaştırdığımızda, SERS metodunda integral bir bileşen olan metal nanoparçacık kullanılır. SERS için kullanılan metal substratlar birkaç gruba ayrılır. Bunlar soy metaller (örn. Ag, Cu ve Au), serbest elektronlu metaller (örn, Al, Na ve K) ve geçiş metalleri (örn, Ni, Pd ve Pt) olarak sınıflandırılır. SERS metodunu anlamak için ışının hem madde veya molekülle hem de metal nanoparçacık ile etkileşmesinin göz önünde bulundurulması gerekir.

Raman saçılmasında zenginleşmenin sağlanabilmesi için, SERS aktif metal elektrotlar, metal nanoparçacık kolloidleri ve metalik nanoyapılara dayalı geliştirilen SERS substratları kullanılmaktadır. Dolayısıyla, SERS metodunda nanoyapılı metal parçacıkların etkisi Raman saçılmasının en temel süreci üzerinde kullanılır. Işının gümüş, altın, bakır gibi bazı metallerin iletim bandındaki elektronları uyarmasıyla üzerine absorbe edilen moleküllerde görülen zenginleşmeye Raman zenginleşmesi veya SERS denir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Zenginleştirilmiş Raman saçılımının gösterilmesi.

Metal nanoparçacığın optik özelliği plazmoniğin temelini oluşturmaktadır. Metal nanoparçacıkların yüzey plazmonları lazer tarafından uyarıldığı zaman metal çevresinde artan bir elektrik alan oluşur. Şekil 2.5’de ışın ve metal parçacığındaki elektronların etkileşmesi gösterilmektedir. Nanoparçacıkların yüzey plazmonlarının üst üste çakışması ile sıcak noktalar (hot spots) oluşmakta ve Raman zenginleşmesi artmaktadır. SERS etkisi, koloidal kümenin sözde sıcak noktalarında bulunan çok güçlü elektromanyetik alanlar ve alan gradiyentleri nedeniyle oluşur. Bu nedenle, SERS etkisindeki moleküller ağırlıklı olarak uygun yüzey plazmon rezonanslarına sahip, absorbe edilen moleküllerdir. SERS zenginleşmesinin ortalama değeri yaklaşık 10^6 iken lokalize zenginleştirme yüzeyin bazı oldukça etkili alt dalga boyu bölgelerinde 10^{10} ’a ulaşabilir [39].



Şekil 2.5. Elektrik alanda bulunan metal nanoparçacığın elektronlarının yer değiştirmesi [28].

Küçük bir metal küre lazer tarafından uygulanan elektrik alana maruz kaldığı zaman yüzey alanı;

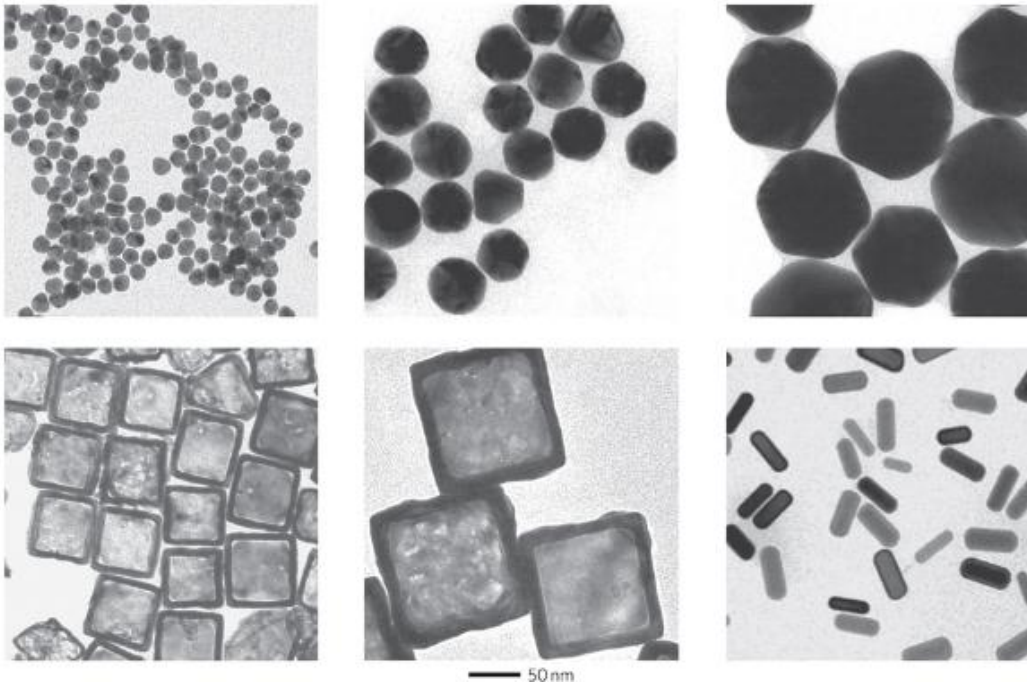
$$E_r = E_0 \cos\theta + g \left(\frac{a^3}{r^3} \right) E_0 \cos\theta \quad (2.12)$$

formülüyle ifade edilir. Bu formülde E_r küreden r kadar uzaklıktaki toplam elektrik alanı, a kürenin yarıçapı, θ elektrik alanıyla göreceli açı ve g ise dielektrik sabitiyle ilişkili büyüklük şeklinde tanımlanır.

$$g = \left(\frac{\varepsilon_1(\nu_L) - \varepsilon_0}{\varepsilon_1(\nu_L) + 2\varepsilon_0} \right) \quad (2.13)$$

denkleminde, ν_L gelen radyasyonun frekansdır. Bu denklemde görüldüğü gibi, g sabiti ε_0 ve ε_1 ile tanımlanan iki farklı dielektrik sabitine bağlı olduğu görülmektedir. Bu sabitler sırasıyla kürenin çevresindeki ortamın ve metal kürenin dielektrik sabitleridir. ε_1 -2'ye eşit olduğunda ε_0 maksimum değerine ulaşır ve 1'e yakın bir değer alır. Bu durumda plazmon rezonans frekansı, yüzey plazmonun uyarılması ile metal yüzeyde absorbe edilen molekülün bulunduğu lokal alanı oldukça artırmaktadır. Aslında, molekül serbestçe hareket eden birçok elektron bulutu tarafından çevrelenir ve bu hareket yüzey elektronlarının polarizasyonunu yoğunlaştırır [15].

SERS plazmonik uyarımı destekleyen metalik yüzey üzerinde veya yakınında moleküler titreşimleri saptamak için kullanılan hassas spektroskopik bir yöntemdir. SERS spektrumlarını toplamak için, nanoboyutlu yapılar genellikle ya büyük yüzeylere sabitlenir ya da nanopartikül biçiminde süspansiyon halinde serbest bırakılır. SERS metodu için kullanılan parçacıkların basit küresel parçacıklar, çubuklar, pirinç benzeri şekiller, denizkestaneleri hatta kafesler gibi çeşitli biçimleri mevcuttur. Boyutlarının birbirinden farklı olması yüzey plazmon rezonans bakımından önemli bir etkiye sahiptir (Şekil 2.6) [23].



Şekil 2.6. Farklı şekillere sahip nanoparçacıklar [40].

Genel olarak, SERS metodu ile yapılan incelemelerde iki farklı teori sayesinde Raman saçılmalarındaki zenginleşmenin büyük oranda artabileceği kabul edilmektedir. Hem elektromanyetik hem de kimyasal zenginleştirme teorileri Raman saçılmalarındaki artışı desteklemektedir. SERS aktif metal nanoparçacıkları geliştirmek için, metal kolloidler veya farklı büyüklüklerde nanoparçacıklar kimyasal olarak solüsyon içinde oluşturulabilir. Dolayısıyla bu solüsyonlar SERS ölçümlerinde hazır şekilde kullanılabilir. Aynı zamanda yüzeye bağlı SERS substratları olarak kullanmak amacıyla metal nanoparçacıklar farklı katı ortamlarda hareketsiz konuma getirilebilirler.

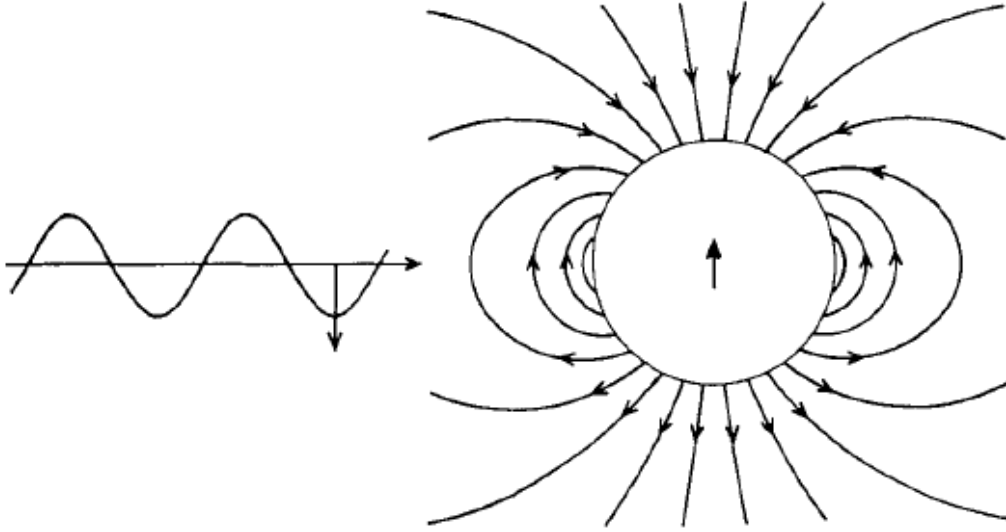
Elektromanyetik teori, metal nanoyapıların yakınındaki lokal rezonans plazmonik alanlarla ilgili iken, kimyasal teori ise, Raman saçılma molekülleri ile metalik yüzey arasındaki bir yük transfer absorpsiyon bandının oluşumundan kaynaklanmaktadır. Elektromanyetik ve kimyasal veya yük transfer teorileri sayesinde metalik nanoparçacıklar SERS uygulamalarında oldukça yaygın kullanılırlar. Elektromanyetik teori, SERS etkisine büyük katkıda bulunur, çünkü yüzeydeki plazmonik nanoyapılar zenginleştirilen alan meydana getirmektedir. [36, 41-44].

2.4.1 Elektromanyetik teori

Elektromanyetik teori metaller gibi serbest elektron sistemlerinin optik özellikleri ile ilgili olan Yüzey Plazmon Rezonansı (YPR) uyarım modeline dayanır. YPR, ışığın elektromanyetik alan tarafından uyarılan elektronların salınımından oluşur [41, 45].

Pürüzlü bir metal yüzeyde elektrik alanının nasıl güçlendirilebileceğini göstermek için, gelen optik dalga boyuna kıyasla küçük olan bir metalik kürede meydana gelen değişimler Creighton (1988) tarafından detaylı olarak tartışılmıştır. Metal küre ışın ile ışınlandığında kürenin iletken elektronlarında yer değiştirmeye neden olur. Bundan dolayı, Şekil 2.7'de gösterildiği gibi ikincil bir alana yayılan küre içinde titreşen bir dipol oluşturulur. Yüzeyde salınım yapan alan E, gelen ve ikincil alanların toplamıdır. Bununla birlikte, iletim elektronları mekânsal olarak sınırlandırıldığından, plazma frekansı olarak bilinen karakteristik bir frekansa ve plazmon olarak adlandırılan nicelenmiş bir enerjiye sahiptir. Böylece, gelen frekans plazma frekansı ile çakışırsa, alana bir rezonans tepki oluşur ki bu da büyük bir indüklenmiş dipol ve dolayısıyla yüzeyde arttırılmış bir sekonder alana neden olur. Plazma frekansı metalin türüne, parçacığın şekline ve boyutuna bağlıdır. Pürüzlü veya parçacıklı gümüş, altın veya bakır yüzeyler için bu rezonanslar görünür veya yakın kızıl ötesi spektral

bölgededir. Gelen dalga, SERS artışına temel katkılardan biri olan rezonans plazma frekansına yakın olduğunda, yüzey elektromanyetik alanda artış olmaktadır [46].



Şekil 2.7. SERS'in "elektromanyetik" (EM) güçlendirmesi: yarıçap, dalga boyundan çok daha azdır [46].

Elektromanyetik teori dalga boyu, polarizasyon, nanoyapı morfolojisi ve metalin tipi ile artış varyasyonunu içeren SERS'in temel bütün özellikleri hakkında kantitatif anlayış sağlar [47].

Nanometre boyutlarındaki elektron bulutu parçacık üzerinde salındığı zaman belli enerjili elektromanyetik radyasyonu absorbe eder. Bu durum nanoparçacıkların plazmon rezonansı olarak adlandırılır. Plazmon rezonansı nanoparçacıkların yapılarından kaynaklanır, çözücü gibi değişik faktörler tüm frekansı etkileyebilmektedir. Metal nanoparçacığın şekli ve büyüklüğü plazmon band absorpsiyonunun spektral pozisyonunu belirler [48].

2.4.2 Kimyasal teori

Kimyasal teori, Raman saçılma molekülleri ile metalik yüzey arasındaki bir yük transfer absorpsiyon bandının oluşumundan kaynaklanmaktadır. Analit veya moleküller ile metal yüzey arasındaki yük transferini içerir. Etkileşim ile analit ve bazı yüzey metal atomlarını içeren yüzey türlerini ürettiği düşünülür. Bu durum metal yüzeyden analite doğru yük transferini mümkün kılar. Bu yüzey türlerindeki oluşum moleküldeki metal elektronlarla etkileşimden dolayı oluşan moleküler polarizasyonu arttırmaktadır [15].

Metal nanoparçacıkların nanoteknolojideki avantajları nedeniyle çubuklar, prizmalar, diskler, yıldızlar gibi değişik şekil ve büyüklükte metal parçacıklar hazırlanmasına yol açmıştır. Bu nedenle metalik nanoparçacıkları hazırlamak için pek çok metot geliştirilmiştir [47].

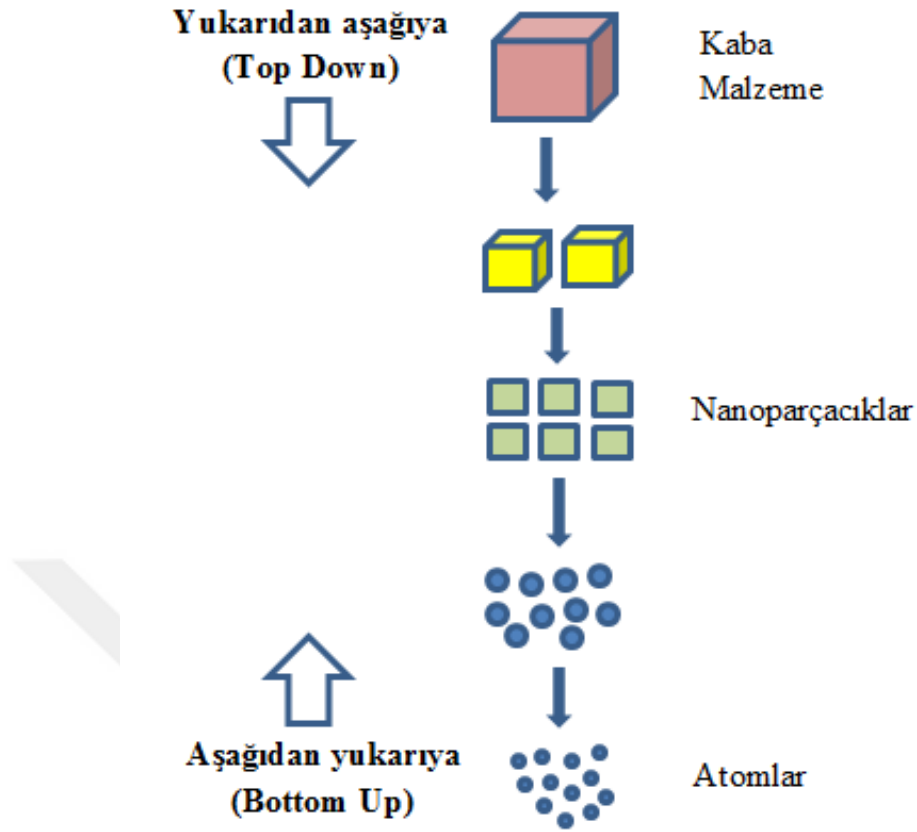
2.5. Nanoparçacık Sentezi

Nanoteknoloji fikri ilk olarak 1959'da Richard Feynman tarafından Amerikan teknoloji Enstitüsünde ki "En altta biraz yer var" adlı konuşmasında sunulmuştur. Nanoparçacıkların kendilerine özgün optoelektronik, termodinamik, mekanik ve katalitik özelliklerinden dolayı son yıllarda giderek artan ilgi uyandırmıştır [49, 50].

1 – 100 nm aralığındaki büyüklüğe sahip parçacıklar nanoparçacık olarak adlandırılır. Nanoparçacığın rengi, nanoparçacığın şekli ve büyüklüğüne ayrıca bulunduğu ortamın dielektrik sabitine bağlı olduğundan dolayı farklı çalışmalarda kullanılmasına olanak tanımıştır. Özellikle metal nanoparçacıklar arasında en fazla dikkat çeken altın (Au) ve gümüş (Ag)'tür [12, 13].

Metal nanoparçacıkları sentezlemek için pek çok farklı metot bulunmaktadır. Farklı boyut ve şekillerde nanoparçacıkların üretilmesi amacıyla genel olarak iki farklı üretim metodu geliştirilmiştir. Bunlar aşağıdan yukarı "Bottom Up" ve yukarıdan aşağı "Top Down" olarak adlandırılan iki temel yaklaşım bulunmaktadır [Şekil 2.8]. Aşağıdan-yukarıya sentez metodunda iyonların indirgenmesiyle oluşan atomlar nanoyapılar oluşturmak üzere birleştirilir. Yukarıdan aşağıya metodunda, büyük boyutlardaki ham materyal küçültülerek nanoparçacık elde edilir [13, 51-53].

Genel Top Down teknikleri fotolitografi ve elektron ışın litografidir. Bottom Up tekniklerinde ise kimyasal indirgeme, sonokimyasal sentez, radyolitik indirgeme ve fotokimyasal indirgeme teknikleri örnek verilmektedir [54, 55].

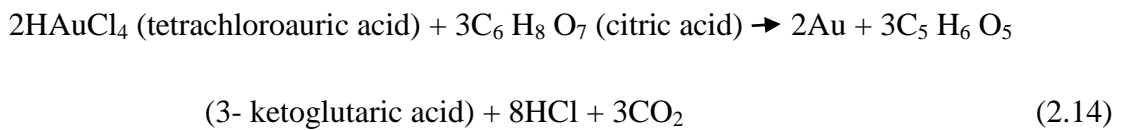


Şekil 2.8. Aşağıdan yukarı (Bottom Up) ve yukarıdan aşağı (Top Down) metotları.

Altın kolloidler olarak adlandırılan altın nanoparçacıklar (AuNP'lar) multidisipliner araştırma alanlarında gittikçe dikkat çekmektedir. İlk kez 1951'de Turkevich [56] tarafından rapor edilen sitrat indirgeme metodu en popüler ve en basit AuNP sentezi metotlarından biridir. Daha sonra 1973'te Frens [57] tarafından modifiye edilmiştir.

Nanoparçacıkların sitrat indirgeme metoduna göre sulu bir fazda gerçekleştirilmesi, ayarlanabilir bir boyut aralığında neredeyse düzgün küresel parçacıklar üretilmesi bakımından avantaj sağlamaktadır. Elde edilen AuNP'lar ve AgNP'lar görünür ultraviyole (UV-vis) spektrofotometresi, X-ışını difraksiyonu (XRD), elektron mikroskobu (TEM), taramalı elektron mikroskobu (SEM) gibi çeşitli cihazlarla karakterize edilirler [58].

AuNP reaksiyon sentezi;



denklemleriyle ifade edilir.

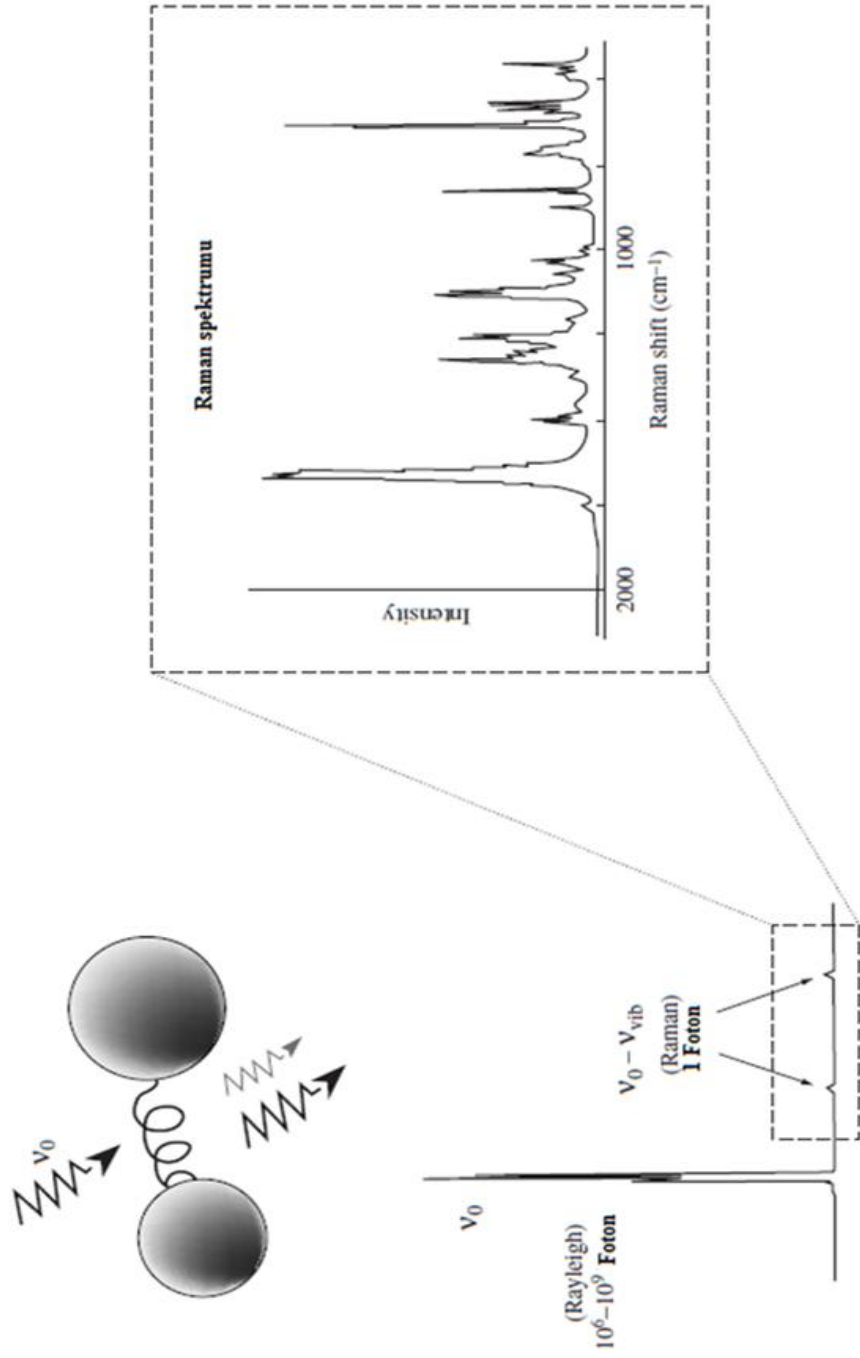
2.6. Yapısal Analiz (Spektrum Analizi)

Elde edilen spektrumları incelemek için son zamanlarda farklı fiziksel ilkelere sahip Raman ve İnfrared spektroskopileri yaygın olarak kullanılmaktadır. Her kimyasal bileşiğin kendine ait karakteristik IR spektrumu vardır (Şekil 2.9). Bu spektrum araştırılan numunenin moleküler yapısı hakkında tüm bilgiyi içerir. Cihazdan elde edilen sonuçlar spektrum olarak adlandırılır. Raman ve infrared spektroskopisinde gözlemlenen titreşimsel spektrumları araştırmak için farklı fiziksel kurallara dayanmaktadır. İnfrared spektroskopi kendi titreşim frekanslarına sahip molekülün ışığı absorbe etmesi ile ilgiliyken Raman spektroskopisi ışığın saçılmasına değinmektedir [20, 60].

İnfrared spektrum 3 temel bölüme ayrılır ve bu bölümler uzak infrared ($<400 \text{ cm}^{-1}$), orta infrared ($400\text{--}4000 \text{ cm}^{-1}$) ve yakın infrared ($13000\text{--}4000 \text{ cm}^{-1}$) şeklinde isimlendirilmektedir. Yakın ve uzak infrared bölgeleri temel maddeler hakkında önemli bilgiler sağlamaktadır fakat pek çok infrared uygulamaları orta infrared bölgesinde rol oynar. $650 - 1500 \text{ cm}^{-1}$ arası bölge parmak izi bölgesi (fingerprint) olarak adlandırılmaktadır [20].

IR spektroskopisinde titreşimsel geçiş oluşumu molekülün elektrik dipol momentinde değişime neden olurken, titreşim sırasında Raman hatları ile birlikte polarizabilitede de değişim oluşur [60]. Raman ve orta IR benzer bilgiler sağlamasına rağmen, gözlem seçim kuralları birbirinden farklıdır. Seçim kuralları spektrumda hangi titreşim modlarının gözlemlendiğini belirler. Raman saçılımı, titreşim sırasında polarize edilebilirlik değişikliği nedeniyle oluşurken, IR absorpsiyonu dipol momentindeki bir değişiklik nedeniyle oluşur. Örneğin homonükleer diatomik moleküller (N_2 , O_2 , H_2 , vb.) Raman bandlarını göstermesine rağmen tek titreşim modu molekülün dipol momentini değiştirmedikinden dolayı orta IR absorpsiyon bandlarını göstermez. [62].

Raman spektroskopisi kullanılarak gözlemlenebilen ve kantitatif olarak analiz edilebilen çeşitli moleküler işlevsel gruplar Çizelge 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.9. Raman saçılması ve elde edilen Raman spektrumunun gösterilmesi [61].

Çizelge 2.1. Spektral band aralıklarına karşılık gelen kimyasal gruplar ve grup titreşimleri [62].

Spektral aralık, cm^{-1}	Kimyasal grup	Grup titreşimi
3700 – 3200	– OH	O – H Bağı
3400 – 3330	– NH ₂	Antisimetrik Gerilme
3300 – 3250	– NH ₂	Simetrik Gerilme
3065 – 3030	– C – H _{aromatik}	C – H bağı
3020 – 2950	– CH ₃	Antisimetrik Gerilme
2960 – 2910	– CH ₂	Antisimetrik Gerilme
2970 – 2860	– CH ₃	Simetrik Gerilme
2860 – 2840	– CH ₂	Simetrik Gerilme
2590 – 2560	– SH	S – H Gerilme
2600 – 2350	– B – H	S – H Gerilme
2450 – 2275	– P – H	P – H Gerilme
2300 – 2230	– C \equiv C –	C \equiv C Gerilme
2260 – 2230	– C \equiv N	C \equiv N Gerilme
2250 – 2100	– Si– H	– Si – H
2250 – 2100	– C– D	CD, CD ₂ , CD ₃
1760 – 1720	– C= O	Organik asitler
1740 – 1700	N – C= O	Ketonlar
1660 – 1650	– C= O	Amidlerde
1660 – 1640	– C = N –	Gerilme
1700 – 1625	– C= O	Amid I
1660 – 1640	– C = C –	Gerilme
1600 – 1595	– COO ⁻	Antisimetrik – COO ⁻ gerilmesi
1600 – 1450	– N= O	Organik nitratlarda N= O gerilmesi
1470 – 1440	– CH ₃	Antisimetrik deformasyon
1470 – 1440	– CH ₂	Simetrik ve antisimetrik deformasyon

Çizelge 2.1. (devamı) Spektral band aralıklarına karşılık gelen kimyasal gruplar ve grup titreşimleri [62].

Spektral aralık, cm^{-1}	Kimyasal grup	Grup titreşimi
1430 – 1420	– CO – OH	Organik asitlerde CO gerilmesi
1410 – 1390	– COO ⁻	Simetrik – COO ⁻ gerilmesi
1400 – 1310	– S = O ₂ –	Antisimetrik gerilme
1390 – 1370	– CH ₃	Simetrik deformasyon
1380 – 1300	– CF ₃	Gerilme
1340 – 1250	– CO – NH	Amid III
1330 – 1250	– CH	Deformasyon
1265 – 1250	– CO – OH	Organik asitlerde CO – OH deformasyonu
1280 – 1250		Oxirane, nefes alma halkası
1300 – 1140	– P = O	Gerilme
1300 – 1120	– CF ₂	Gerilme
1200 – 1120	– S = O ₂ –	Simetrik gerilme
1120 – 1060	– C – F	Gerilme
1300 – 1100	– C – O –	Gerilme
1150 – 950	– C – C –	Gerilme
1070 – 1040	– S = O	Gerilme
1040 – 980	– C ₆ H ₅	Benzen halkasının düzlemsel deformasyonları
900 – 670	– CCH _{aromatik}	Düzlem dışı aromatik CH bükülmesi
930 – 830	– COC –	Eterlerde simetrik gerilme
760 – 680	– C – Cl	Gerilme
780 – 720	– CCl ₂	Simetrik gerilme
700 – 660	– CCl ₃	Simetrik gerilme
650 – 600	– C – Br	Gerilme
620 – 600	– CBr ₂	Simetrik gerilme
560 – 540	– CBr ₃	Simetrik gerilme
560 – 500	– C – I	Gerilme

3. ALKOL VE ADLİ TIP

Alkol, kimyada fonksiyonel hidroksil grubu karbon atomuna bağlı olan organik bir bileşiktir. Alkollerin genel formülleri $C_nH_{2n}+1OH$ veya $C_nH_{2n}+2O$ şeklindedir. Alkollü içeceklerin üretimi ve tüketimi pek çok kültürde yüzyıllardır devam etmekte hatta giderek artmaktadır. Alkol tüketimi birçok yaralanmanın, kazanın, hatta ölümün bir parçası olarak düşünülmektedir [63, 64].

Alkol tüketimi dünyada en yaygın karşılaşılan bağımlılıklardan biridir. Etanolün biyokimyasal belirteçlerinin insan vücudunda meydana getireceği değişimleri teşhis etmek ve yoğun alkol alımının hamilelikte, araba kullanırken gibi durumlarda meydana getirebileceği tehlikeleri belirlemek bakımından adli ve klinik tıpta dikkat çekmektedir. Dünya çapında ölümlerin %5.9'u alkol tüketiminden kaynaklanmaktadır. Alkol kaynaklı ölümler diğer ölüm şekilleriyle karşılaştırıldığında daha büyük bir orana sahip olduğu anlaşılmaktadır. Alkol alımına bağlı olarak gerçekleşen ölüm riskinin araştırılması adli açıdan büyük bir öneme sahiptir.

Alkol tüketiminin yol açtığı zararların temel üç tane etkisi vardır. Bunlar;

1. Organlara ve dokulara toksik etkisi,
2. Zehirlenme, fiziksel koordinasyon, bilinç, biliş, algıyı etkileyen davranış,
3. Bağımlılık ve bundan dolayı oluşan davranış bozukluğuyla birlikte içicinin kendi kontrolünü sağlayamaması olmak üzere sıralanır.

3.1. İlegal Alkol

Alkol pek çok kültürde yüzyıllardır devam etmekte olan bir maddedir. Alkol tüketimi bazı kültürlerde gelenek haline gelmiştir. Neredeyse bütün toplumlarda alkol tüketiminin sağlık ve sosyal problemlerle ilişkisi bulunmaktadır [66].

Alkol tüketimi zehirlenme, insan vücudunda organlara ve dokulara toksik etkisi gibi etkilerinin yanı sıra fiziksel koordinasyon bozukluğu, bilinci ve algıyı etkileyen değişik etkileri de vardır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün 2014'te yayınladığı raporda 2012' de ölümlerin yaklaşık 3.3 milyonu veya %5.9'unun alkolden kaynaklandığı bildirilmiştir. Ayrıca alkol kaynaklı ölümler diğer ölüm şekilleriyle karşılaştırıldığında daha büyük bir orana sahip olduğu görülmektedir [65].

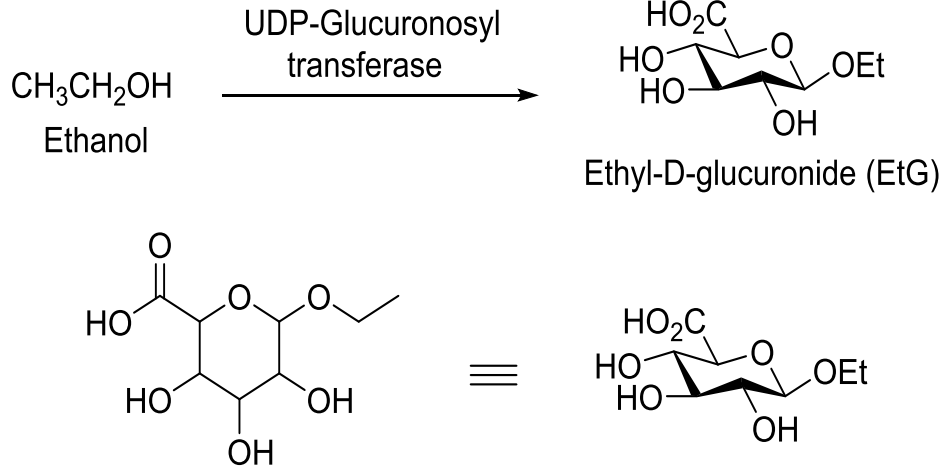
'Kayıtlı olmayan alkol' denilen maddelerin kullanımı ölüm veya ölümcül sonuçlara neden olmaktadır. Yasa dışı olarak üretilen veya kaçak alkol ürünleri (yasadışı ev yapımı alkol dahil) ve yasal ancak kayıtlı olmayan alkol ürünleri (ev yapımı ya da diğerleri) kayıtlı olmayan alkol ürünleri olarak tanımlanmaktadır. Kaçak alkol tüketiminden dolayı oluşan sağlık problemleri dünya çapında yaygındır [67]. Özellikle ev yapımı veya illegal olarak üretilen ve satılan alkollü içeceklerde çok fazla miktarda metanol veya toksik madde bulunduğundan dolayı insan sağlığı açısından büyük risk oluşturmaktadır [68]. Türkiye'de kaçak yollarla üretilen ve tüketilen ev yapımı ve damıtık alkollü içki olma özelliğine sahip içki Boğma Rakı olarak adlandırılmaktadır. Boğma Rakı düşük fiyatı ve özel tadından dolayı çok fazla tüketilmektedir fakat standartlara uygun üretilmediğinde ise içinde fazla miktarda metil alkol bulunabilmektedir [69].

Ticari olarak satılan rakının aksine, Boğma Rakıda meyvelerdeki pektinden ve doğru distilasyon aparatı kullanılmadığından dolayı daha yüksek seviyelerde metanol bulunabilir. AB mevzuatına göre, meyve kökenli etil alkolde 1000 g/hl metanol bulunabilir. (ticari rakı üretimi için kullanılan nötr alkol için) [70].

Rakı kalitesini belirleyen ve rakıya karakteristik özellikler kazandıran en önemli unsur uçucu bileşiklerdir. Bunlar etanol, metanol, etanol ve metanol dışındaki uçucu bileşikler ve anasondan gelen eter yağlar olmak üzere dört grup altında sınıflandırılmaktadır. Türk Gıda Kodeksi Distile Alkollü İçkiler Tebliği'ne göre metil alkol içeriği hacmen %100 alkolün hektolitresinde en fazla 150 gram olacak şekilde sınırlandırılmıştır [71]. Özellikle ani metanol alımı formaldehit ve formik asit gibi yüksek toksik metabolitlerin birikmesi nedeniyle zehirlenmeye yol açar [72, 73].

3.2. Etil Glukuronid (EtG)

Etil glukuronid (EtG) molekül ağırlığı 222 g/mol olan, uçucu ve oksidatif olmayan, hidrofilik ve stabil bir alkol faz II metabolitidir. EtG, etanol alımını takiben, UDP-glukurontransferaz ile glukuronidasyon yoluyla üretilir ve böylece etanol molekülüne bir glukuronik asit kısmının eklenmesi sağlanır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Glukuronidasyon yoluyla vücutta EtG oluşumu ve EtG'in kimyasal yapısı.

Etil alkol karaciğerde önce asetaldehite daha sonra aldehite dönüşür, %10 kadarı ise değişmeden idrar, ter ve solunum yolu ile atılır. Etil glukuronid (EtG), etil sülfat (EtS), yağ asiti etil esterleri (YAEE), fosfoditiletanol (PEth) etil alkolün non oksidatif minör metabolitleridir. EtS ve EtG urine ve serumda belirlenmesi etanolden daha uzun zaman periyoduna sahiptir. Etanolün çok az miktarı (<0.1%) EtG olarak özütlenir.

Etanolün metabolize olmayan az miktarında serbest yağ asitleriyle glukurono konjügasyonu sonrası EtG oluşur ve dışarı atılır. EtG, çeşitli dokularda ve vücut sıvılarında alkol alımını belirlemek için kullanılmaktadır. EtG, kliniklerde alkol alımının gösterilmesinde kullanılabildiği gibi, adli incelemelerde alkol varlığı gösterilen olgularda alkol alımının antemortem dönemde olup olmadığının tespitinde de kullanılabilmektedir.

EtG uçucu olmayan, suda çözülebilen, vücut sıvılarında, saçta ve dokularda belirlenebilen bir metabolittir. Birkaç hafta ya da birkaç ay önce alınan alkol tüketiminin belirlenebilmesi için saçta ve kanda EtG analizi yapılabilmektedir [74-77].

4. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Vücut sıvılarının tanımlanması için yıllardır çeşitli yöntemler geliştirilmiş olmakla birlikte, bu testlerin tahribatsız olması önemli olmuştur. Raman spektroskopisi, vücut sıvılarını tahribatsız bir şekilde tanımlanmasından dolayı, son zamanlarda özellikle Adli tıpta en fazla kullanılan teknik olmuştur.

İnsan vücudunda üretilen vücut sıvıları kan, meni, tükürük, vajinal sıvı, idrar, ter, anne sütü, gözyaşı ve mukus şeklinde sınıflandırılmaktadır ve bu sıvılar canlı varlığın bir göstergesi olduğu için Adli bakımdan dikkat çeken bir unsur olmaktadır. Suç masallarında kan, meni ve tükürük diğerlerinden daha fazla miktarda bulunduğundan dolayı, bu vücut sıvıları en çok çalışılan örnekler olmaktadır.

Adli tıpta yaygın bir biçimde kullanılan biyolojik kanıtlardan biri olan kan; su, proteinler, mineral iyonları, amino asitler, hormonlar, kan hücreleri ve diğer bileşenlerden oluşan heterojen bir karışım şeklinde bulunmaktadır. Kan örneklerini doğrulayıcı ve tanımlayıcı testler bulunmakta ve halen kullanılmaktadır. Bu testler kendi özgünlükleri ve vücut sıvılarının tanımlanmasındaki güven seviyesi ile ayırt edilmektedirler. Adli incelemelerde önemli bir belirteç olan hemoglobinin tespit edilmesi amacıyla da bu testler kullanılmaktadır. En ayırıcı teknikler DNA/RNA analizine dayanmaktadır. Bu yöntemlerin yıkıcı olmaları, karmaşık prosedürleri ve yüksek maliyeti gibi dezavantajları bulunmaktadır. Bunlara ilaveten, beklemeye bağlı kontaminasyon ve genetik materyal bozulması nedeniyle DNA/RNA analizine devam etmek her zaman mümkün değildir. Fakat, Raman spektroskopisi vücut sıvılarının tahribatsız, hızlı, spesifik ve düşük maliyetli olarak tanımlanmasına olanak sağlamaktadır. Ayrıca az miktarda numunenin bile inceleme için yeterli olmasından dolayı önerilmektedir [7, 78].

Tıp ve Adli tıp bakımından Raman spektroskopisi ile yapılan incelemelerde floresans emisyonunun oluşmaması için, elektromanyetik spektrumun görünür yakın kızılötesi bölgeye gelecek 785, 830 veya 1064 nm dalga boylarında lazer ışık kaynağı gerekmektedir. Adli bilimlerde bilinmeyen veya kanıtın bir parçası olabilecek numunelerden elde edilen spektrumlarda, fonksiyonel grupların varlığının araştırılması, yorumlanabilmesi ve referans spektrumun kütüphane veri tabanı ile karşılaştırılabilir olması da ayrı bir avantaj sağlamaktadır [79].

Raman spektroskopisinden elde edilen verilerin kemometrik teknikler kullanılarak yorumlanması, Raman spektroskopisi uygulamalarına avantaj sağlamaktadır. Kemometrik

yöntemlerde kalibrasyon, bir dizi numunenin bilinen konsantrasyonları ve aynı numunelerin spektroskopik ölçüm sonucu elde edilen sayısal bilgiler ile oluşturulmuş matematiksel bir modeldir. Kalibrasyon metotları veya Temel Bileşenler Analizi (PCA) ve Kısmi En Küçük Kareler (PLS) metotları gibi kemometrik metotlar kullanılarak elde edilen spektrumların kantitatif analizi yapılmaktadır. Çok değişkenli kalibrasyon yöntemlerinin uygulanması ile karışımın bileşenleri yüksek korelasyon ve seçicilik ile saptanabilmektedir.

Bir suç mahallinde farklı vücut sıvılarına rastlanmaktadır. Rastlanan bu vücut sıvılarının tanımlanması ve incelenmesi adli tıp bakımından çok önemlidir. Raman spektroskopisi ile kan, sperm, vajinal sıvı, tükürük ve ter ile ilgili yapılmış birçok yayın bulunmaktadır. Yapılan bu çalışmalarda, Raman spektroskopisi kullanarak elde edilen spektral bandlardan, incelenen numuneye ait özgün pikler elde edilmiştir [16, 80-86]. Ayrıca, Raman spektroskopisi ile bilinen vücut sıvılarının ayrımının yapılabilmesinin yanı sıra bilinmeyen sıvıları veya maddeleri karışımlarda bile tanımlamak ve sınıflandırmak için, çok değişkenli sınıflandırma modelleri kullanılmıştır [16, 87, 88].

Raman spektroskopisi ile yapılan çalışmalarda metal koloidal nanoparçacıklar yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Pürüzlü metal yüzeylere absorbe edilen moleküller Raman sinyalinde önemli artış sağlanmaktadır. Dolayısıyla, SERS metodu ile son zamanlarda tek moleküllerin dahi spektrumları elde edilebilmektedir [89].

Cheng ve ark. (1995) patlayıcı izlerinin belirlenmesinde Raman spektroskopisi kullanmışlardır [90].

Pérez-Ponce ve ark. (1998) etanol ve metanol konsantrasyonlarını FTIR ile analiz etmişler ve elde ettikleri verilere PLS metodunu uygulamışlardır. PLS metodu için, 1000-1100 cm^{-1} arası spektral bölgeyi seçmişlerdir. Sonuç olarak, PLS yönteminin orantılı denklem yönteminden daha iyi sonuç verdiğini belirtmişlerdir [91].

Berger ve ark. (1999) serum ve tam kan örneklerinde pek çok önemli bileşenin konsantrasyonunu ölçmek için 830-nm diod lazerli Raman spektroskopisi kullanmışlardır. Glikoz, kolesterol, üre ve diğer analitlerin kalibrasyonları için PLS metodunu kullanmışlardır. 66 hastadan elde ettikleri sonuca göre, serumda altı analitin belirgin bir şekilde ve kısa sürede elde edilebileceği sonucuna ulaşmışlardır [92].

Ryder ve ark. (1999) narkotik karışımların içerisinde kokain, eroin ve MDMA'yı mikro-raman spektroskopisi ile 450-1100 cm^{-1} arasındaki bandlarda incelemişlerdir. Her bir maddenin tespiti için ayrı kemometrik metot uygulamışlardır. 700 cm^{-1} ile 900 cm^{-1} arasında 4

farklı Raman pikini MDMA piki olarak göstermişlerdir. Sonuç olarak; kokain, eroin ve MDMA'nın karışımlarda az miktarda dahi olsa belirlenebileceği sonucuna varmışlardır [93].

Claybourn ve Ansell (2000) yaptığı çalışmada Raman spektroskopisinin mürekkep analizinde kullanılabileceği gösterilmiştir. Ayrıca, tarihsel olarak mesleki belge incelemesi için siyah topuz mürekkeplerinin karşılaştırılması ve çapraz mürekkep çizgilerinin kronolojik sıralaması gibi iki önemli konu üzerinde çalışmışlardır. Çapraz mürekkep çizgilerinin kronolojik sıralaması için konfokal Raman mikroskopisi kullanılarak incelemişlerdir. Ayrıca, elde ettikleri verileri gelecekte referans olması için bir veri tabanına dönüştürülmüşlerdir [94].

Ryder ve ark. (2000) 785 nm dalga boylu Raman spektroskopisi ile kokain, kafein ve glikoz içeren 33 tane katı karışımı kemometrik metotlar kullanarak analiz etmişlerdir. Kokain spektrumunu analiz ettiklerinde, kokaine ait en belirgin bandın 996 cm^{-1} de olduğunu bulmuşlardır. Karışımların kantitatif analizi için PLS ve PCA metodunu kullanmışlar ve sonuç olarak PLS ile elde edilen sonuçların daha uygun olduğu kanısına varmışlardır [95].

Sagmüller ve ark. (2001) Amphetamine (AMP), methamphetamine (MAMP), 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDA), 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) ve 3,4-methylenedioxyethamphetamine (MDE) analizlerini SERS metodu ile incelemişler ve referans spektrumları elde etmişlerdir. Elde ettikleri referans spektrumlar ile yasadışı tabletlerin içerisinde bu maddelerin varlığını araştırmışlardır. Uyguladıkları yöntem ile AMP, MAMP, MDA, MDMA, MDE'nin yasadışı tabletlerde kolay bir şekilde tespit edilebileceğini göstermişlerdir [96].

Day ve ark. (2004) Raman spektroskopisi ile parmak izinde uyuşturucu madde analizi yapmışlardır [97].

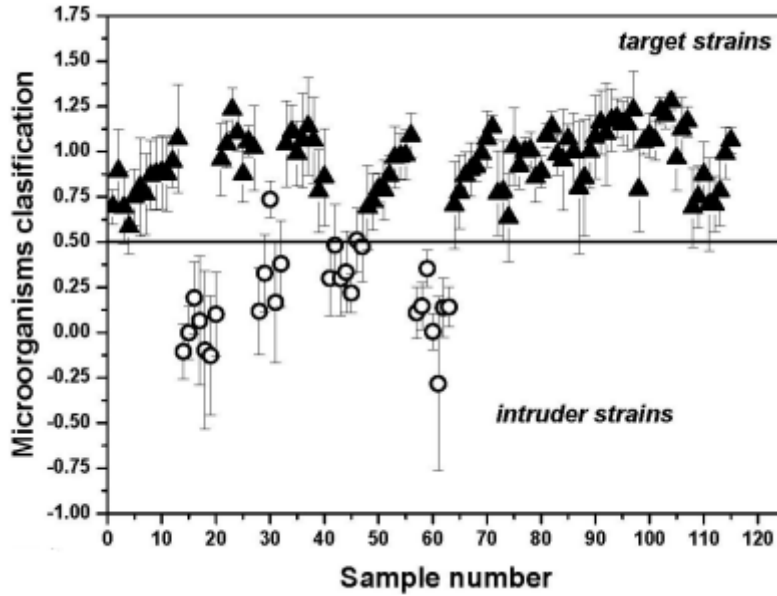
Virkler ve Lednev (2008) adli araştırmalar bakımından önemli olan vücut sıvılarının ayırımı Raman spektroskopisi ve kemometrik tekniklerle yapmışlardır. Her bir vücut sıvısının kendine özgü spektrumu elde edilmiştir. Kan için temel Raman bandları sırasıyla 742 cm^{-1} (triptofan), 1001 cm^{-1} (fenilalanin), 1123 cm^{-1} (Glikoz), 1247 cm^{-1} (Protein), 1341 cm^{-1} (Triptofan), 1368 cm^{-1} (Hemoglobin), 1446 cm^{-1} (Triptofan), 1576 cm^{-1} ve 1619 cm^{-1} (Hemoglobin) olarak ifade etmişlerdir [80].

Noonan ve ark. (2009) yasadışı ilaçları ve karışımlarını analiz etmek ve sınıflandırmak için Raman spektroskopisi kullanmışlardır. Spektrumları, hem HeNe lazerli ev yapımı bir enstrüman ile hem de 785 nm'lik bir ışın kaynağına sahip el tipi ticari Raman spektroskopisi ile elde etmişlerdir. Lidokain, norephedrin, benzokain ve izokssüprin arasındaki spektral

farklılıkları gidermek ve bunları hızla ve doğru bir şekilde sınıflandırmak için kemometrik bir metot olan PCA yöntemini uygulamışlardır. Sonuç olarak rahatlıkla bu ilaçların ayırımının yapılabileceği sonucuna ulaşmışlardır [98].

Ali ve ark. (2009) ise kıyafetler üzerindeki patlayıcı madde parçacıklarını incelemek için konfokal Raman mikroskopunu kullanmışlardır ve patlayıcı maddelerin tespit edilebileceği sonucuna varmışlardır. [99].

Mobili ve ark. (2010) PCA ve PLS metotlarını kullanarak toplanan farklı türden mikroorganizmaların Raman spektrumlarını analiz etmişlerdir (Şekil 4.1). Kemometrik analizler için, Raman spektroskopisi ile elde ettikleri spektrumlardan 1500 ile 1700 cm^{-1} aralığındaki spektral bölgeyi seçmişlerdir. Geliştirdikleri ve uyguladıkları metot sayesinde belli türdeki mikroorganizmaların ayırımını ve sınıflandırılmasının yapılabildiğini göstermişlerdir [100].



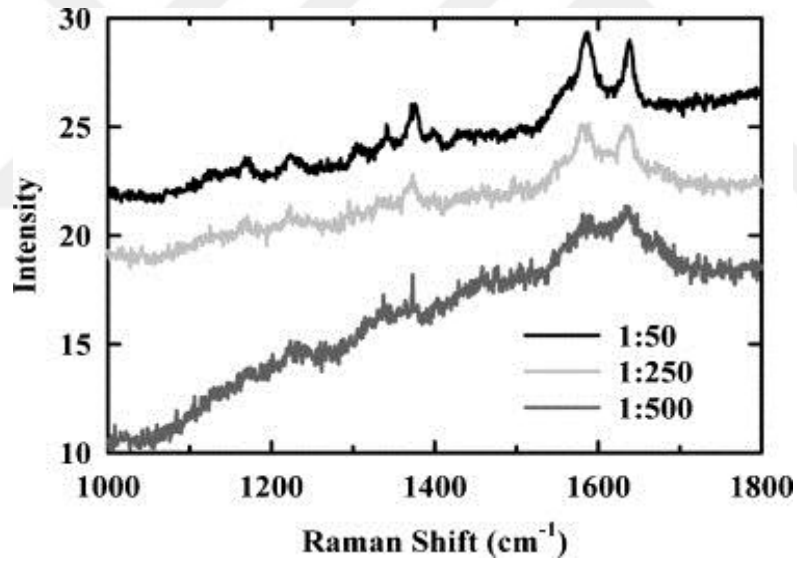
Şekil 4.1. LOOCV metodu kullanılarak hedef suşlar ve bilinmeyen suşların sınıflandırılması [100].

Virkler ve ark.nın (2010) yaptığı çalışmada kan örneklerinden elde edilen Raman spektrumlarının vericiye kuvvetle bağlı olmadığını ve spektrumun iki ana bileşenden meydana geldiği gösterilmiştir. 752 nm dalga boyuna sahip lazer kullanılarak incelenen kan örneklerinden elde edilen verilere göre, kırmızı kan hücrelerinin kurutulmuş ağırlığının % 95'ine katkıda bulunduğu için en önemli temel bileşen olan hemoglobin için 1000, 1368, 1542

ve 1620 cm^{-1} 'de pikler elde etmişlerdir. İkinci bileşen fibrin için $967, 1248, 1342$ ve 1575 cm^{-1} 'de fibrine ait pikler olduğu göstermişlerdir. 1000 cm^{-1} 'deki Raman pikinin, albumin içerisinde fenilalaninin varlığına bağlı olduğunu belirtmişlerdir [81].

Bankabur ve ark. (2010) fizyolojik koşullar altında kırmızı ve beyaz kan hücrelerinin Raman spektrumlarını elde etmişlerdir. Bu spektrumlardan elde ettikleri Raman piklerini yorumlamışlardır. Tek granülositlerin ve lenfositlerin Raman spektrumları, standart protein ve nükleik asit titreşim spektroskopisi verileri temelinde yorumlanmasıyla sonuca verimli bir şekilde ulaştıklarını kaydetmişlerdir [101].

Boyd ve ark. (2011) Raman spektroskopisi ve 532.1 nm dalga boylu lazer kullanarak kan örneklerini incelemişlerdir. Kan örneklerini incelemenden önce 1:50, 1:250, 1:500 gibi farklı oranlarda seyreltilmişlerdir (Şekil 4.2). Kan örneklerindeki karakteristik pikler 1:250 oranına kadar kolaylıkla ayırt edilebileceği olduğu sonucuna ulaşmışlardır [17].



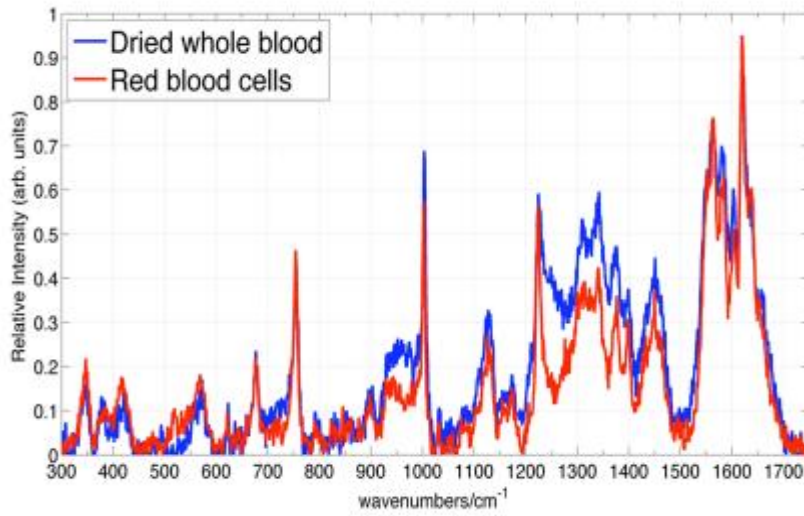
Şekil 4.2. Seyreltilmiş kan numunelerinin Raman dağılımı [17].

West ve ark. (2011) literatür taraması yapmışlar ve yaptıkları çalışmada MDMA için en belirgin Raman pikinin 716 cm^{-1} ve 810 cm^{-1} de olduğunu ifade etmişlerdir [18].

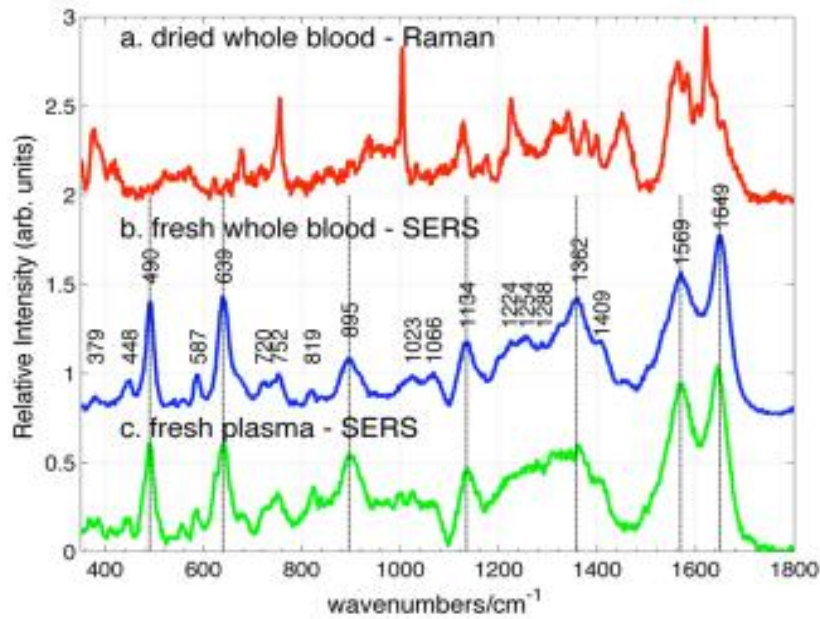
Inscore ve ark. (2011) SERS metodu ile tükürükte uyuşturucu madde analizi yapmışlardır. Tükürükte 1 ppm veya daha az miktarda uyuşturucu maddeleri (amfetamin, diazepam ve metadonun gibi) 10 dakika içinde tutarlı şekilde tespit etmişlerdir. Ayrıca yaptıkları çalışmada kullanılan uyuşturucu maddenin türüne ve aynı maddenin değişen miktarına göre elde edilen Raman piklerinin farklı olduğunu da göstermişlerdir [102].

Ali ve ark. (2011) doğal sentetik üzerinde Kokain Hidroklorür ve N-methyl-3,4-methylenedioxy amphetamine (MDMA) eser miktarlarını mikro Raman spektroskopisi ile incelemiştir. Bu maddelerin az miktarda dahi olsa tespit edilebildiğini göstermişlerdir [103].

Premasiri ve ark.nın (2012) yaptığı çalışmada kuru tam kan ve kırmızı kan hücrelerinin Raman spektrumunu elde etmişlerdir (Şekil 4.3). Ayrıca 785 nm uyarımlı lazer kullanarak kuru tam kanın normal Raman spektrumu, taze tam kanın ve plazmanın SERS spektrumunu elde etmişler ve buldukları sonuçları karşılaştırmışlardır (Şekil 4.4) [104].



Şekil 4.3. Kurutulmuş tam kan ve kırmızı kan hücrelerinin Raman spektrumu [90].



Şekil 4.4. 785 nm uyarımlı (a) Kuru tam kanın normal Raman spektrumu (b) taze tam kanın SERS spektrumu (c) taze plazmanın SERS spektrumu [104].

Massonnet ve ark. (2012) pamuk elyafının üstündeki reaktif boyaların belirlenmesinde [105], Heudt ve ark. (2012) siyah ve renkli mürekkep püskürtmeli basılı belgelerin incelenmesinde, Raman spektroskopisi kullanmışlardır [106].

Boyd ve ark. (2013) SERS metodunu kullanarak farklı yüzeylerde seyreltilmiş kan lekelerinin tanımlanmasına ilişkin çalışmışlardır. SERS metodu için AgNP sentezlemişlerdir. Kanın bu yöntemle belirlenmesinin kesin bir şekilde yapılabileceği sonucuna varmışlardır [107].

Barnett ve Rathmell'in (2015) yaptığı çalışmada, THC konsantrasyonları değiştirilerek THC'ye ait Raman pikleri incelenmiş ve bu piklerin 710, 999, 1130, 1232, 1352 and 1390 cm^{-1} olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca artan THC konsantrasyonlarda daha güçlü piklerin elde edilebileceği de göstermişlerdir [108].

Witkowska ve ark. (2017) ForcespinningTM yöntemiyle yapılmış bir polimer nanofiber matına dayanan SERS aktif bir platform geliştirmişlerdir. Bu yöntem ile kan plazmasından Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa ve Salmonella Typhimurium olmak üzere 3 farklı bakteri türünün belirlenebileceğini göstermişlerdir.

Spektroskopi teknikleri alkollü içeceklerde de alkol bileşenlerinin miktarını bulmada da önemli rol oynamaktadır. Özellikle Raman spektroskopisi sıvı numunelerde bir veya birden çok bileşeni belirlemede güçlü bir yöntemdir. Alkollü içecekler ile yapılan bazı çalışmalarda etanol ve metanol pikleri Raman spektroskopisi ile elde edilmiştir.

Picard ve ark. (2007) etanolü 883 cm^{-1} bandında bulmuşlardır [110], Boyacı ve ark. (2012) etanolü 879 cm^{-1} bandında, metanolü 1019 cm^{-1} bandında [73], Vaskova (2014) etanolü 881 cm^{-1} bandında, metanolü 1035 cm^{-1} bandında bulmuşlardır [111]. Yapılan çalışmalarda geliştirdikleri metot ile birbirinden farklı alkollü içeceklerin içindeki etanol ve metanol miktarının bulunabileceğini göstermişlerdir.

Ashok ve ark. (2013) ise metanolü 1030 cm^{-1} bandında bulmuşlar ve sonuçlarını GC metodu ile karşılaştırmışlardır. Ayrıca Raman spektroskopisinin alkollü içecekler için daha iyi bir performansa sahip olduğu sonucuna ulaşmışlardır [112].

5. MATERYAL ve METOT

5.1. Altın ve Gümüş Nanoparçacık Sentezi

5.1.1. Kimyasallar ve kullanılan cihazlar

Çizelge 5.1. AgNP ve AuNP'ların sentezlenmesi ve karakterizasyonunda kullanılan kimyasallar ve cihazlar.

Kimyasallar ve cihazlar	Marka
Gümüş Nitrat (AgNO_3)	Sigma-Aldrich
Tri-Sodyum Sitrat dihidrat ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	Sigma Aldrich
Nitrik asit	Across
Hidroklorik asit	Sigma-Aldrich
Hidrojen tetrakloroavrat trihidrat ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ >99.9%)	Sigma Aldrich
Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM / EDS) analiz ünitesi	JEOL 5500 / OXFORD Inca-X
UV/Görünür bölge spektrofotometresi	Thermo scientific-evolution 160
Karıştırmalı ısıtıcı	MS3000HS-MTAPO
Hassas terazi	Precisa-XB220A

5.1.2. AgNP'ların sentezlenmesi

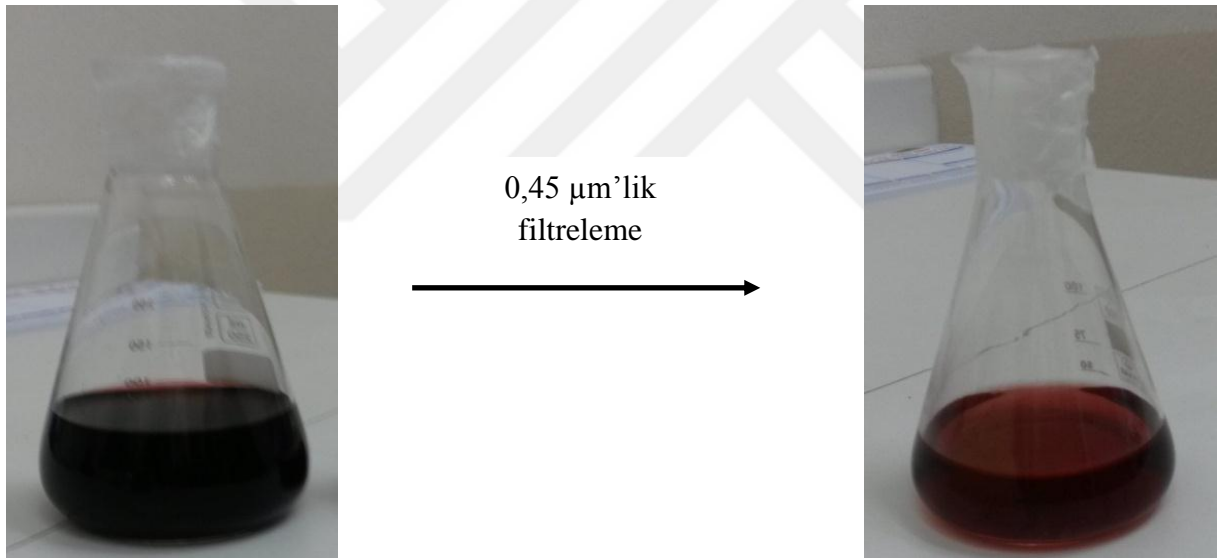
AgNP'lar Lee ve Meisel metoduna göre sentezlenmiştir [113]. Aqua regia için nitrik asit ve hidroklorik asit 1:3 oranında hazırlanmış ve erlen flask aqua regia ile yıkanmıştır. Bu yöntemle göre 10 mg Gümüş Nitrat (AgNO_3) tartılarak 100 mL saf su içerisinde çözdürülmüştür. Bir balık yardımı ile manyetik karıştırıcıda 1000 rpm'de karıştırılmıştır. Karıştırılan çözelti kaynayıncaya kadar ısıtıldı ve kaynayan çözelti üzerine damla damla 400 μL sodyum sitrat (%1) çözeltisi eklenmiş ve süspansiyonun hacmi yarıya düşene kadar kaynatılmaya devam edilmiştir.

Oluşan AgNP'ları karakterize etmek için UV/Görünür bölge spektrofotometresi ve Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM / EDS) analiz ünitesi (JEOL 5500 / OXFORD Inca-X) kullanılmıştır.

5.1.3. AuNP'ların sentezlenmesi

AuNP'lar Turkevich metoduna (sitrat indirgeme metodu) göre sentezlenmiştir [114]. Aqua regia için nitrik asit ve hidroklorik asit 1:3 oranında hazırlanmış ve erlen flask aqua regia ile yıkanmıştır.

Karıştırmalı ısıtıcı (hot plate) 300 derece sıcaklığına ve 1000 rpm karıştırma hızına getirildi. Erlen flask içine 200 ml distile su eklenmiş ve içine çözelti 400 µg/ml olacak şekilde 0,08 g Hidrojen tetrakloroavrat trihidrat ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) eklenmiştir. Bu karışım kaynayana kadar ısıtılmış ve kaynadığında karışıma 20 ml'de 38,8 mM sodyum sitrat tek seferde hızlıca eklenmiştir. Karışım önce renksizleşip ardından siyahlaşmaya başlamış ve en son olarak da kırmızı renk almıştır. Bu işlemler sonucunda AuNP'lar sentezlenmiştir. Soğuduktan sonra AuNP'ları safsızlıklardan ya da büyük agregasyonlardan kurtarmak için 0,45 µm'lik filtreden geçirilmiştir (Şekil 5.1).



Şekil 5.1. Sentezlenen AuNP'ların filtrelenmesi.

Oluşan AuNP'ları karakterize etmek için UV/Görünür bölge spektrofotometresi ve Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM/EDS) analiz ünitesi (JEOL 5500/OXFORD Inca-X) kullanılmıştır.

5.2. Boğma Rakıda Metanol ve Etanol Miktarının Raman Spektroskopisiyle Belirlenmesi

5.2.1. Numunelerin hazırlanması

Referans numuneler saf etanol (Sigma Aldrich) ve saf metanol (Sigma Aldrich) kullanılarak hazırlanmıştır ve hacimce farklı yüzdelerde etanol metanol konsantrasyonları elde edilmiştir (%0 v/v - %40 v/v). Tüm ölçümlerde 4000 µl (4ml) sıvı numune kullanılmış ve bu numuneler kapalı kuvarz küvetlere konulmuştur. Quartz küvetlerin içindeki numunelerin buharlaşmaması için küvetin kapağı sıkıca kapatılmıştır. Yerel marketlerden satın alınan toplam 20 farklı Boğma Rakı numunesinin ölçümü hem Raman spektroskopisi ile hem de GC-MS metoduyla yapılmıştır.

5.2.2. Raman spektroskopisi

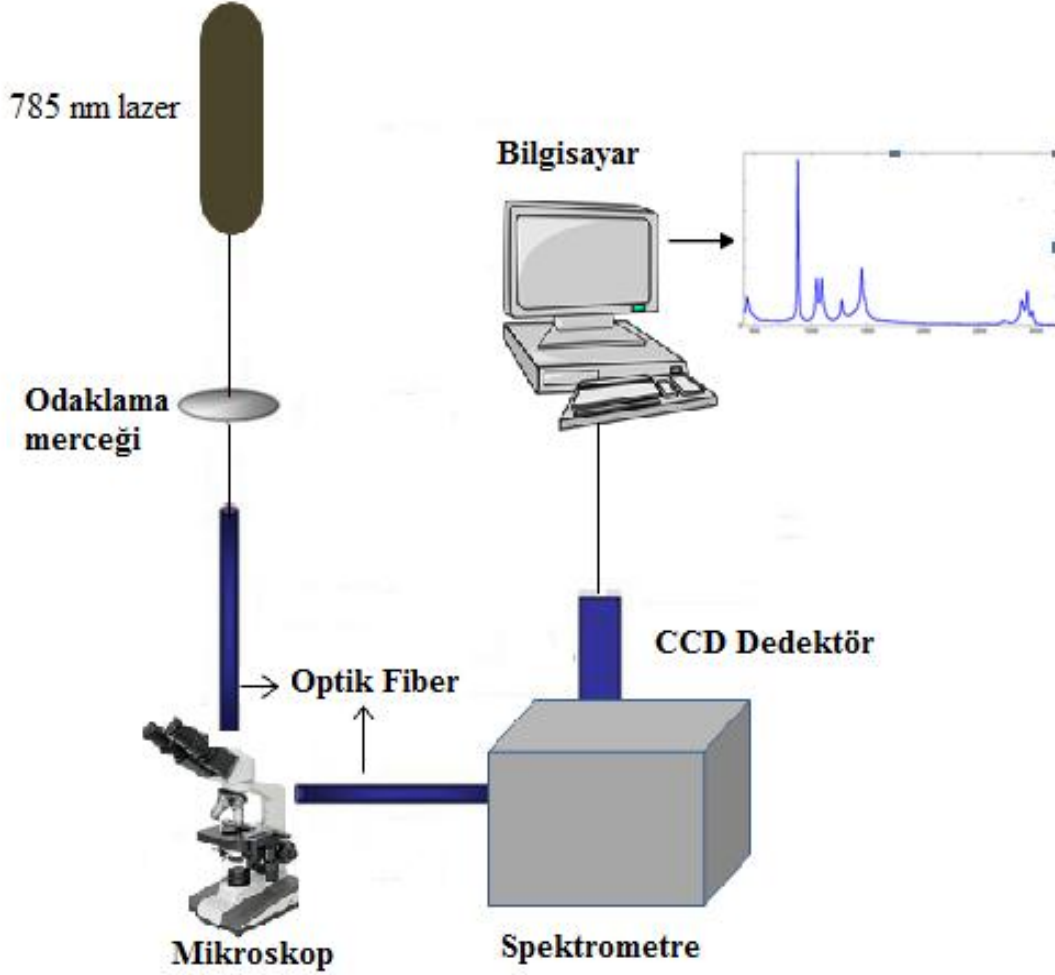
Çalışmamız boyunca tüm numunelerin incelenmesi Yük Eşlenikli Cihaz (CCD – Charge Coupled Device) ile donatılmış Renishaw in Via Raman Spektroskopisiyle yapılmıştır (Şekil 5.2).

Raman spektroskopisini kullanılmadan önce kalibrasyonu yapılmıştır. Spektrumların elde edilmesi sürecinde özellikle heterojen bir ortamda gürültü filtreleme, düzleştirme, normalleştirme ve floresans arka plan kaldırma gibi işlemler yapılmıştır.



Şekil 5.2. Raman spektroskopisinin genel görünümü.

Işın Raman spektroskopisinde bulunan mikroskop ile inceleneceği zaman numunelerdeki belirlenen noktalara odaklanılmış ve görüntü net alındıktan sonra ölçümler yapılmıştır. Numunelerin incelenmesinde 785 nm dalga boyuna sahip lazer kullanılmış ve istenen spektrumlar elde edilmiştir (Şekil 5.3). Numunenin yapısına göre sadece lazer gücü, objektif, ekspozur süresi gibi parametreler değiştirilmiştir.



Şekil 5.3. Raman spektroskopisinin bileşenleri ve spektrumun elde edilmesi.

5.2.3. Kemometri

Kemometri, kimyasal bilgilerin anlaşılmasını sağlamak ve kalite parametrelerini veya fiziksel özellikleri analitik araç verileriyle ilişkilendirmek için matematiksel ve istatistiksel yöntemlerin kullanılmasını sağlayan bir disiplindir. Ayrıca, kimyasal ölçümlerden istenen bilgileri matematiksel yöntemlerle çıkarmanın bilimi olarak da tanımlanabilmektedir.

İleri kimyasal araçlar ve süreçlerin geliştirilmesi ile deneysel tasarım, enstrümanları kalibre etme ve elde edilen verilerin analiz edilmesi konusunda gelişmiş metodlara ihtiyaç duyulmuştur. Kemometri, yöntemlerin geliştirilmesini arttırmak ve veri analizi için istatistiksel modellerin rutin olarak kullanılmasını sağlamak amacıyla da kullanılabilir [115, 116].

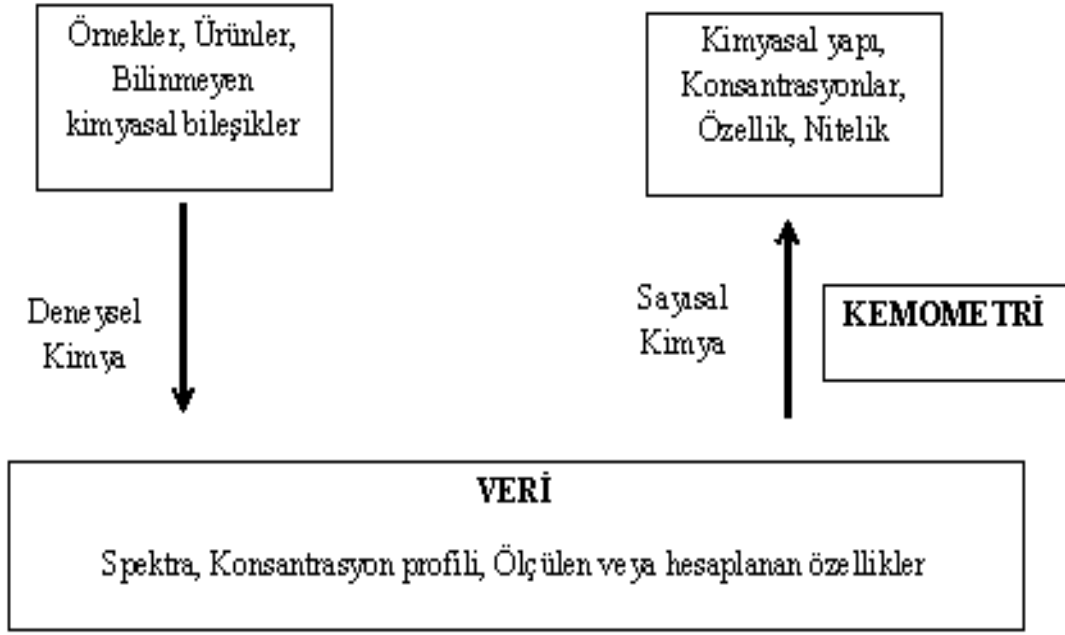
Kemometri kavramı, 1972 yılında Svante Wold ve Bruce R. Kowalski tarafından ileri sürüldü. Ardından uluslararası kemometri topluluğu (International Chemometrics Society) kuruldu. O zamanlardan beri, kemometri gelişmekte ve şimdi özellikle analitik kimya olmak üzere kimyanın farklı alanlarına uygulanmaktadır. Çok sayıda yayın yapılmış olmasıyla birlikte ulusal ve uluslararası kemometri konferansları da organize edilmiştir. Kemometri bazı kimyacılar tarafından modern analitik kimya için temel teori ve yöntem sağlayan yan disiplin olarak kabul edilmesine rağmen, kemometricilerin kendisi kimyanın yeni bir disiplini olarak kabul etmektedirler [117-119].

Kemometri bilimi, spektroskopi ile çalışma yapanlara, spektral verilerin analizi için kalibrasyon problemini çözmenin etkili yollarını sunmaktadır. Kemometri stratejisi genel olarak;

- a) Verilerin toplanması,
- b) Genellikle çok değişkenli istatistiklere veya sinir ağlarına dayanan bir matematiksel modelin üretilmesi,
- c) Temel kimya açısından model parametrelerin yorumlanması,
- d) Modelin yeni durumlara uygulanması ya da çoğu zaman daha iyi bir modelin ya da daha uygun değişkenlerin araştırılması

gibi basamaklardan oluşmaktadır. Bu işlem basamakları sırasında elde edilen verilerin ilk verilerle önemli bir ilişkisinin bulunmadığı veya uygulanan yöntemlerle çıkarılamayacağı ihtimali de düşünülmelidir.

Kimyasal metotlardaki veri odaklı felsefeyle önyargıların bir dereceye kadar önlendiği halde diğer yandan artefakt korelasyon bulma tehlikesi de söz konusudur. Sonuç olarak, kemometrik yöntemlerin sonuçları aşırı yorumlanmamalı ve elde edilen model parametreler kimya açısından açıklamaya çalışılmalıdır.



Şekil 5.4. Deneysel süreçte işlem basamakları.

Raman spektroskopisi kısa zamanda çok fazla miktarda sayısal veri sağlamaktadır. Dolayısıyla birden çok değişkenle karakterize edilebilen ve numune sayısı arttıkça elde edilen ham verilerin anlamlı hale dönüşebilmesi için kemometrik teknikler kullanılmaktadır (Şekil 5.4). Çok fazla miktarda verinin tanımlanması, anlaşılması, tahmin edilmesi gibi işlemler için kemometrik teknikler kullanılmaktadır.

Kemometrik teknikler deneysel çalışmalar sonucu elde edilen verilerin kantitatif ve kalitatif analizini yapmak amacıyla ikiye ayrılır. Kantitatif kemometrik teknikleri, Çoklu Doğrusal Regresyon (MLR), Klasik En Küçük Kareler (CLS), Ters En Küçük Kareler (ILS), Temel Bileşen Regresyonu (PCR) ve Kısmi En Küçük Kareler (PLS) metotlarıdır. Bu teknikler aynı zamanda lineer metotlar olarak bilinmekte ve uygulanabilirlik bakımından farklılık (Çizelge 5.2) göstermektedir [120].

Çizelge 5.2. Veri analizine uygun olarak kullanılan kemometrik teknikler ve özellikleri (y bağımlı, x bağımsız değişkenler).

Veri	Veri analizinin amacı	Gizli değişkenler için kriterler	Metot
<div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 60px; margin: 0 auto; display: flex; align-items: center; justify-content: center;"> x </div>	Kümeleme analizi	Maksimum varyans	PCA
<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 60px; display: flex; align-items: center; justify-content: center;"> x </div> <div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 60px; display: flex; align-items: center; justify-content: center;"> y </div> </div>	Sınıflandırma	İki sınıfın optimum ayrımı	LDA PLS
<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 60px; display: flex; align-items: center; justify-content: center;"> x </div> <div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 60px; display: flex; align-items: center; justify-content: center;"> y </div> </div>	Kalibrasyon	y ile optimum kalibrasyon	MLR PCR PLS

PLS metodunun bazı avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır [62, 121].

PLS metodunun avantajları;

- ✓ Tam spektrumun kullanılabilmesi,
- ✓ En sağlam kalibrasyonun yapılabilmesi,
- ✓ Yalnızca araştırılan bileşen hakkında bilgi edinilebilmesi,
- ✓ Çok karmaşık karışımların analiz edilebilmesi,
- ✓ Faktörlerin hesaplanabilmesi ve regresyonun tek bir aşamada yapılabilmesi

olarak sıralanabilir.

PLS metodunun dezavantajları ise;

- ✓ Soyut bir model olması sonuçlarının iyi bir yorum gerektirmesi,
- ✓ Çok sayıda spektrum için doğru kalibrasyon gerekmesi,
- ✓ En uygun faktör sayısının belirlenmesinin zor olması

olarak sıralanabilir.

5.2.4. PLS metodunun uygulanması

Deneyel yöntemler sonucunda elde edilen verilerin PLS metodu ile analizi genel olarak iki adımda gerçekleşmektedir. İlk adım, bir metodun veya cihazın karakteristiği için bir modelin geliştirilmesidir. Y (kimyasal/fiziksel veri) bağımlı, X (ölçülen spektrum) bağımsız iki değişken olmak üzere $Y = f(X)$ yani Y, X'in bir fonksiyonu oluşturulur. Bu adım kalibrasyon veya deney seti olarak adlandırılır. İkinci adım, bir veya daha fazla numune için bağımsız değişkenlerin elde edildiği adımdır. Bu adım ise tahmin veya test adımı olarak adlandırılmaktadır. Bu adımda kullanılan veri seti test seti olarak bilinmektedir.

Hata Kareler Ortalamasının Karekökü (The Root-Mean Square Error-RMSE), modelin kullanılan veri kümesine uyumu konusunda bilgi verir [122].

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (y_i - y_{tahmin})^2}{N}} \quad (5.1)$$

$$RMSECV = \sqrt{\frac{PRESS(RMSE)}{N}} \quad (5.2)$$

5.1 ve 5.2 denklemlerinde;

N: örnek sayısı

i : Örnek indisi,

y_{tahmin} : Tahmin edilen değer

y_i : Ölçülen değer

olarak alınmıştır.

5.2.5. Raman spektroskopisinde kullanılan parametreler

Lazer gücü: 10 mW

Objektif: 50 L

Ekspozur süresi: 1 s

5.2.6. GC-MS sistemi

Alkollü içeceklerde bulunan metanol oranı GC-MS sistemi (Hewlett-Packard (Palo Alto, CA)) HP-6890 gaz kromatografi, Kütle Seçici Dedektör (HP-5972), ve Otomatik Sıvı Tutucu (HP-6890) kullanılarak analiz edilmiştir.

5.2.7. Veri analizi

Raman spektroskopisinden elde edilen tüm veriler Matlab® (Matlab 7.13, The Mathworks, Natick, MA) Programına aktarılmış ve Matlab kullanıcıları için PLS Toolbox (Eigenvector Research, USA) kullanılarak veriler analiz edilmiştir. GC-MS ve Raman spektroskopisindeki sonuçlar ise istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

5.3. Kan Örneklerinin SERS Metodu İle İncelenmesi

5.3.1. Kan örneklerinin hazırlanması

Kanlar alınmadan önce Mustafa Kemal Üniversitesi'nden 17/12/2015/135 protokol kodlu etik kurul izni ve etanol analizi yapılacak kanlar için gerekli izinler ilgili kurumlardan alınmıştır (Ek 1 ve Ek 2).

Kan örnekleri sağlıklı kişilerden yaşı ve cinsiyeti göz önüne alınmaksızın sarı kapaklı ve mor kapaklı (EDTA) tüplere alınmıştır. Alınan kan örnekleri 3500 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek serumları elde edilmiştir. Sonra, bu serumlar eppendorf tüplerine alınarak incelenene kadar -20°C' de saklanmıştır. Yapılan tüm incelemelerde Raman spektroskopisi ile uyumlu olan ve numunenin pikini değiştirmeyen CaF₂'lü slaytlar kullanılmıştır.

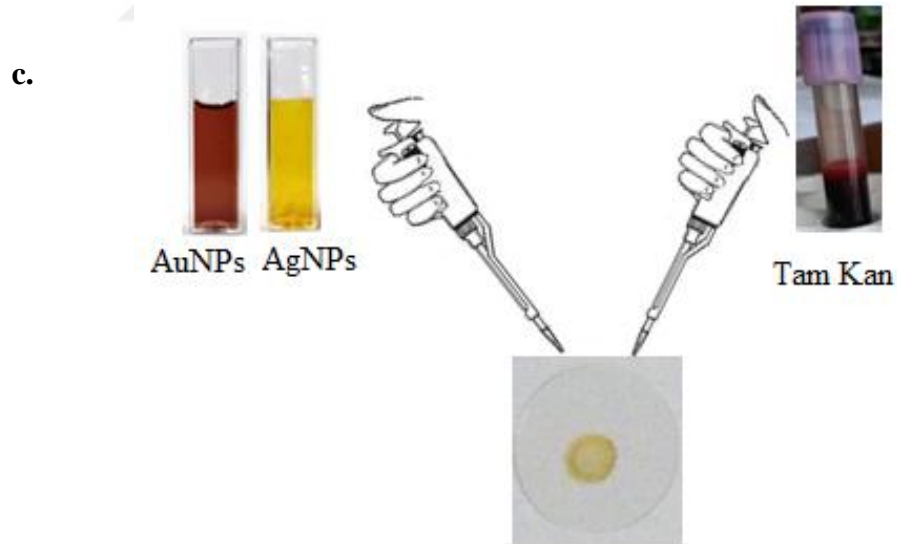
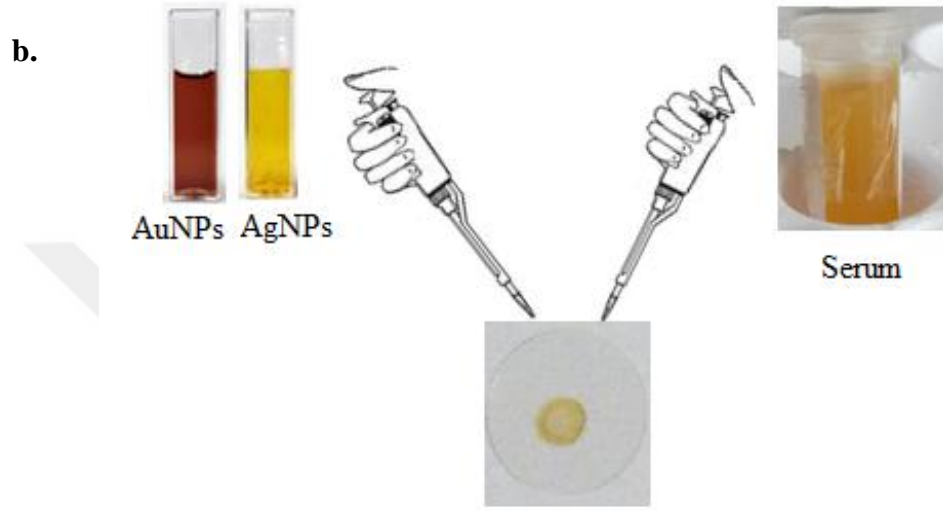
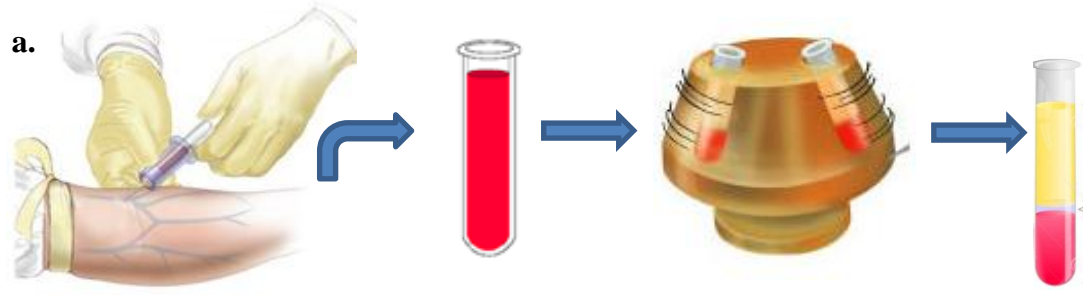
Hem serum hem de tam kan örneklerinden 20 µl alınarak her biri ayrı ayrı 20 µl AgNP ve 20 µl AuNP ile Raman spektroskopisi ile uyumlu slaytlar üzerinde pipet ucu ile karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. Daha sonra SERS spektrumlarının alınması amacıyla karışım 1 saat oda sıcaklığında inkübe edilerek kurutulmuştur (Şekil 5.5).

5.3.2. Raman spektroskopisinde kullanılan parametreler

Lazer gücü: 5 mW

Objektif: 50 x

Ekspozur süresi: 40 s



Şekil 5.5. Kan örneklerinin hazırlanması; a. Kan serumunun elde edilmesi, b. Serumun AgNP veya AuNP'lar ile hazırlanması c. Tam kanın AgNP veya AuNP'lar ile hazırlanması.

5.4. EtG'nin Raman Spektroskopisi ve SERS Metodu İle İncelenmesi

5.4.1. Kimyasallar

Etil β -D glukuronid (EtG-C₈H₁₄O₇) (İpomed)

5.4.2. EtG'nin hazırlanması

Saf EtG ve SERS yöntemine uygun olarak AgNP'lar kullanılarak Raman spektroskopisi ile spekturumları elde edilmiştir.

5.4.3. Raman spektroskopisinde kullanılan parametreler

Lazer gücü: 5 mW

Objektif: 50 x

Ekspozur süresi: 40 s

5.5. Kanda Etanol Miktarının ve EtG'nin PLS (Kısmi En Küçük Kareler) Metodu İle Tayini

5.5.1. Kan örneklerinin hazırlanması

Etanol analizi yapılacak kan örneklerinin alınması, saklanması, analiz yapılacak laboratuvara ulaştırılmasına dikkat edilmiştir. Kan örnekleri, alkol kaybını önlemek için tespit maddesi olarak Sodyum Florid (NaF)'li tüplere alınarak inceleme yapılincaya kadar +4⁰C'de saklanmıştır.

Hem plazma hem de tam kan örneklerinden 20 μ l alınarak her biri ayrı ayrı 20 μ l AgNP ve 20 μ l AuNP ile Raman spektroskopisi ile uyumlu slaytlar üzerinde pipet ucu ile karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. Daha sonra SERS spektrumlarının alınması amacıyla karışım 1 saat oda sıcaklığında inkübe edilerek kurutulmuştur.

5.5.2. PLS metodunun uygulanması

Kısmi En Küçük Kareler metodunda, bağımsız X değişkenleri ve bağımlı Y değişkenlerinin oluşturduğu iki veri bloğu için elde edilmiş gizli değişkenler kullanılarak, bu iki veri bloğu arasında ilişki bulunmuştur. PLS metoduna ait uygulanan işlem basamakları sırasıyla aşağıdaki gibi oluşturulmuştur.

1. İçinde etanol miktarı tespit edilen 10 kan örneği hem AgNP'lar hem de AuNP'lar ile ayrı ayrı hazırlanmıştır.

2. AuNP'lar ile elde edilen SERS spektrumları a, AgNP'lar ile elde edilen SERS spektrumları ise g ile adlandırılmıştır.

3. Elde edilen tüm spektrumların 400 ile 2000 cm^{-1} arasında bulunan sayısal veriler alınmıştır. Toplam 20×1478 veri elde edilmiştir.

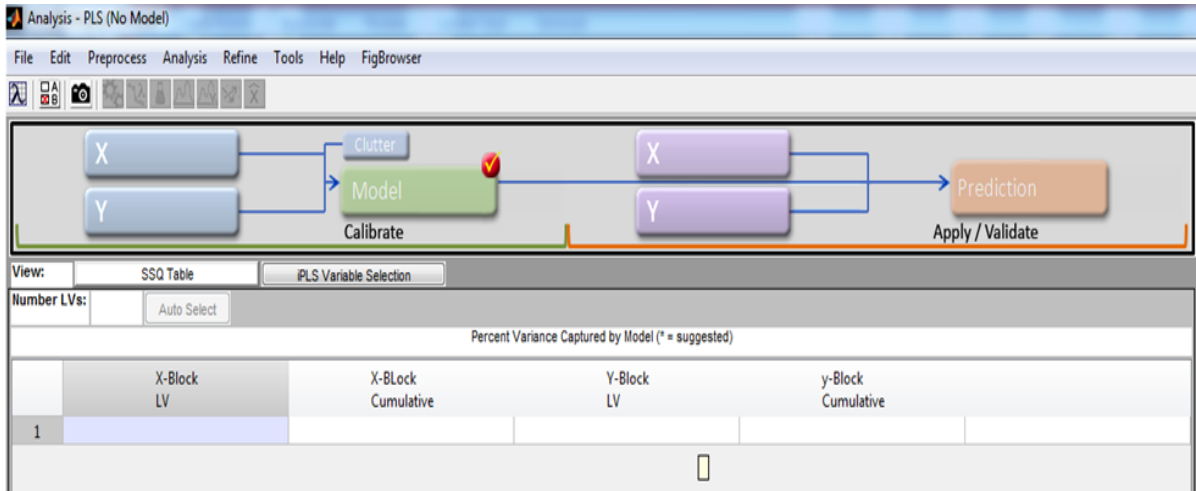
4. Oluşturulan veriler PLS Toolbox'a aktarılmıştır (Şekil 5.7). PLS Toolbox'a aktarılan veriler PLS metoduyla analiz edilmesi için X bağımsız değişkeni olarak seçilmiştir.

5. Kan örneklerinde tayin edilen etanol miktarları Y bağımlı değişkeni olarak seçilmiştir (Çizelge 5.3).

6. Çapraz geçerlilik (Cross validation) metodu seçilmiştir.

7. PLS modeli oluşturulduktan ve kalibre edildikten sonra incelenecek test verisi seçilmiştir. Toplam 27 kan örneği (9 tanesi alkol kullandığı, 18 tanesi ise kullanmadığı bilinen kişilerden alınan kan örnekleri) 400 ile 2000 cm^{-1} arası 27×1478 veri etanol miktarının belirlenmesi için programa aktarılmıştır.

8. Oluşturulan PLS modeline göre EtG'nin analizi için, EtG ve kan örnekleri ile birlikte 47×1478 veri aktarılmış ve etanol ile EtG arasındaki ilişki araştırılmıştır.



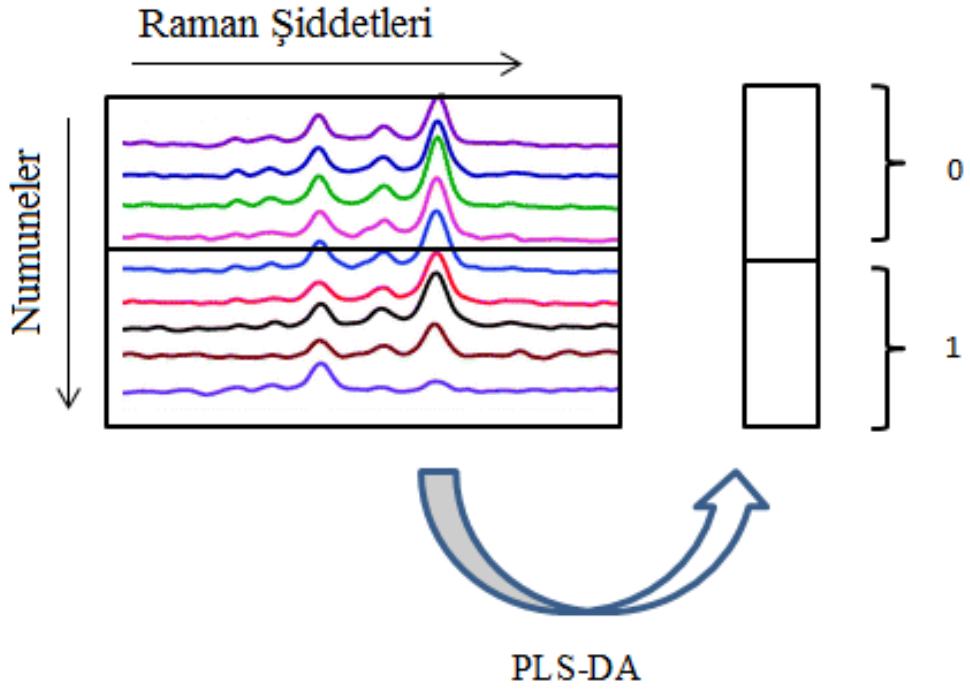
Şekil 5.6. PLS metodunun şematik görünümü.

Çizelge 5.3. AuNP ve AgNP'lar ile spektrumu alınan kanlara ait bilinen etanol miktarları.

AuNP ile spektrumları alınan kanlara ait miktarlar	AgNP ile spektrumları alınan kanlara ait miktarlar
a1. 386,8 mg/dl	g1. 386,8 mg/dl
a2. 382 mg/dl	g2. 382 mg/dl
a3. 319,6 mg/dl	g3. 319,6 mg/dl
a4. 318 mg/dl	g4. 318 mg/dl
a5. 288 mg/dl	g5. 288 mg/dl
a6. 274 mg/dl	g6. 274 mg/dl
a7. 263mg/dl	g7. 263mg/dl
a8. 253,7 mg/dl	g8. 253,7 mg/dl
a9. 250 mg/dl	g9. 250 mg/dl
a10. 232 mg/dl	g10. 232 mg/dl

5.6. Kanda EtG'nin PLS-DA (Kısmi En Küçük Kareler-Diskriminant Analizi) İle Analizi

PLS-DA sınıflandırma modeli için alkol kullananlar, kullanmayanlar olmak üzere iki sınıftan elde edilen veriler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. EtG'den elde edilen veriler test veri seti olarak kullanılmıştır. Bu yöntemde PLS metodundan farklı olarak en basit yaklaşım olarak yalnızca iki sınıf oluşturulmuştur. Böyle bir durumda, bir örneğin hangi sınıfa ait olduğunu gösteren bir sayıdan oluşan veya '1' ve '0' veya '+1' ve '-1' kullanan iki yaygın varyasyon vardır. Her iki yaklaşım arasında temel bir fark olmamasına rağmen, yapılan çalışmada farklı iki sınıf için '1' ve '0' değerleri kullanılmıştır (Şekil 5.7).



Şekil 5.7. EtG analizi için elde spektrumlara PLS-DA metodunun uygulanması.

6. BULGULAR VE TARTIŞMA

Yapılan bu tez çalışmasında amacımıza uygun olarak;

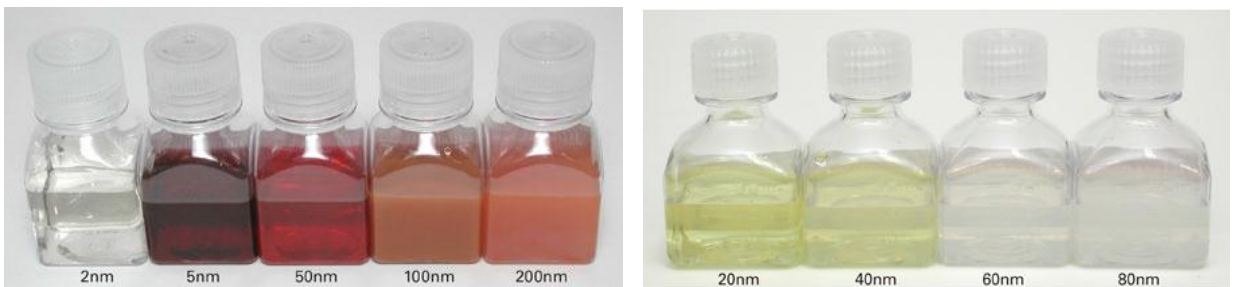
- ✓ Boğma rakıda etanol ve metanolün kalitatif ve kantitatif analizinin kemometrik yöntemle tayini,
- ✓ Kan örneklerinin analiz edilmesi,
- ✓ Uyuşturucu kullanan kişilerden alınan kanlarında farklılık oluşup oluşmadığı,
- ✓ Alkol alımının bir göstergesi olan EtG'nin Raman ve SERS metoduyla spektrumlarının elde edilmesi,
- ✓ Alkol kullanan kişilerden alınan kan örneklerinde ise etanol ve EtG'nin kalitatif ve kantitatif analizinin kemometrik yöntemle analizi için

Raman spektroskopisi ve SERS metodunun uygunluğu araştırılmıştır.

Kemometrik (çok değişkenli) tekniklerin ve SERS metodunun kullanılması Raman spektroskopisi ile oluşacak sınırlamaları ortadan kaldırmıştır. Özellikle Raman sinyallerinin zayıf olduğu ve yabancı maddeler nedeniyle oluşan kuvvetli floresans, SERS tekniği ile aşılmıştır.

6.1. Altın ve Gümüş Nanoparçacıkların Karakterizasyonu

AuNP ve AgNP'ların yüzey plazmon özelliği, bu nanoparçacıkları en uygun nanometeryal haline getirmektedir. AgNP ve AuNP'lar, plazmon rezonansına bağlı olarak görünür bölgede ışık absorpsiyonu ve saçılması nedeniyle farklı renkler gösterirler. Rezonans dalga boyu parçacığın büyüklüğüne ve şekline bağlı olarak değişmektedir (Şekil 6.1) [123].



a.

b.

Şekil 6.1. Farklı renk, boyut ve şekillerde bulunan nanoparçacıklar; a. AgNP'lar, b. AuNP'lar [124].

AuNP ve AgNP'ları karakterize etmek için farklı metotlar kullanılmaktadır. Her bir metodun nanoparçacıkları karakterize etmede farklı amaçları bulunmaktadır (Çizelge 6.1).

Çizelge 6.1. Nanoparçacıkların karakterizasyonunda kullanılan temel metotlar ve kullanım amaçları [58, 125-127].	
Metot	Kullanım amacı
TEM (Transmission electron microscopy)	Morfoloji ve büyüklük belirlenmesi
AFM (Atomic Force Microscopy)	Morfoloji ve büyüklük belirlenmesi
SEM (Scanning Electron Microscopy)	Morfoloji ve büyüklük belirlenmesi
UV/Görünür bölge spektrometresi	Nanoparçacık konsantrasyonunun belirlenmesi ve büyüklük tahmini
Zeta potansiyel ölçüm	AuNP'ların ve konjüгатlarının yüzey yükünün ve kararlılığının ölçülmesi

UV/Görünür bölge spektrometresi AgNP ve AuNP'ların karakterizasyonu için en yaygın kullanılan tekniktir. Çünkü nanoparçacıklar YPR'dan dolayı UV/Görünür bölge spektrometresinde yoğun absorpsiyon piki sergilemektedirler. AgNP'lar için absorpsiyon bandı nanoparçacığın boyutuna göre 350 nm ile 450 nm arasında bulunmaktadır [128].

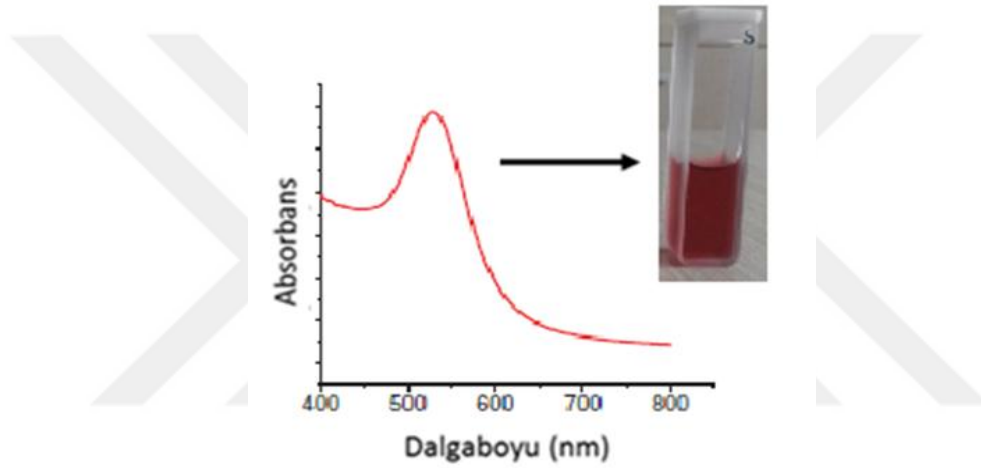
AuNP'ların YPR bandının soğurma azami değeri, nanoparçacıkların boyutuna bağlı iken absorpsiyon yoğunluğu aynı büyüklükteki AuNP'ların konsantrasyonuna bağlıdır. AuNP'ların küresel boyutunu göstermek için 510-550 nm'de maksimum dalga boyu kullanılır [129].

Farklı boyut ve şekillerde metal nanoparçacıkların kontrollü sentezi mevcut nanoteknoloji gelişiminde dikkate değer bir hale gelmektedir. Metal nanoparçacıklar arasında, AuNP ve AgNP'ların kontrol edilebilir olarak sentezlenebilmesi, mükemmel optik ve elektriksel özelliklere sahip olmasından dolayı araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Fakat Au'nın sentezlenmesi Ag ve Cu'dan daha pahalı olduğu için Ag ve Cu sentezi, maddi açıdan daha elverişli hale gelir. Özellikle Ag, arzu edilen fiziksel özelliklere sahip olması, daha bol bulunması ve düşük maliyeti sebebiyle SERS uygulamalarında daha fazla tercih edilmektedir [12, 130].

6.1.1. AuNP'ların karakterizasyonu

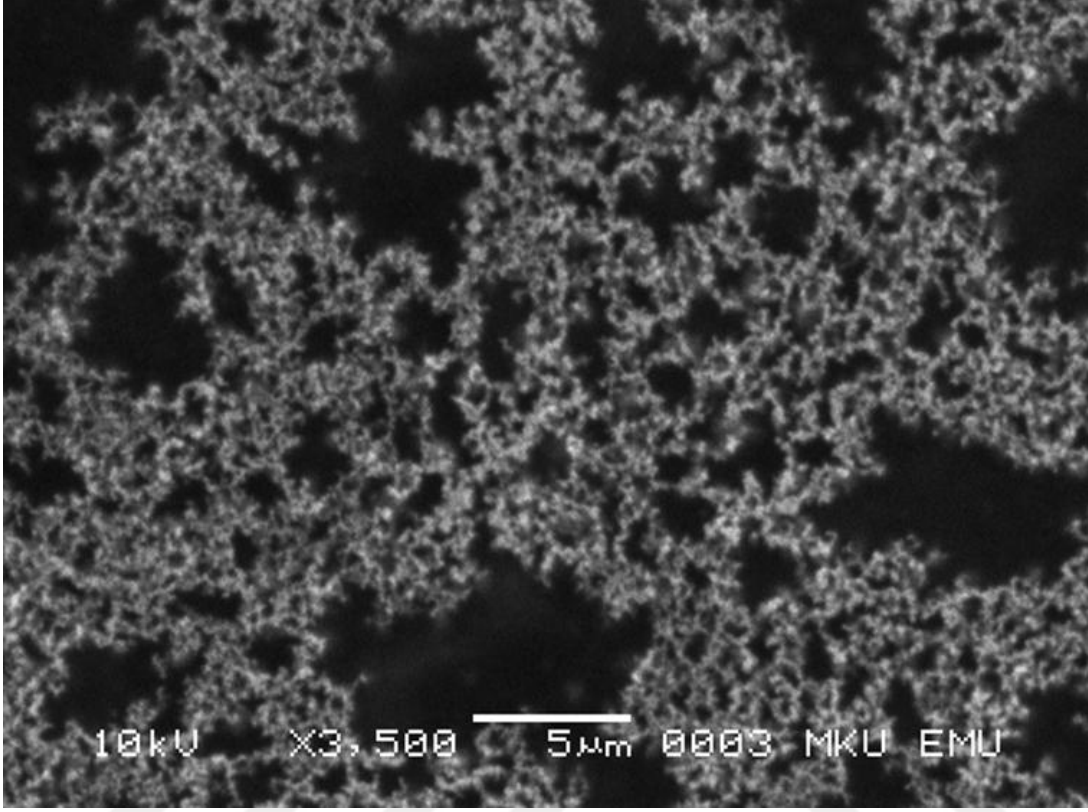
UV/Görünür bölge spektrometresi ve Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM/EDS) analiz ünitesi (JEOL 5500/OXFORD Inca-X) AuNP'ları karakterize etmek için kullanılmıştır.

Turkevich metoduna (sitrat indirgeme metodu) göre sentezlenen AuNP'ların boyutu yaklaşık olarak 13 nm olarak bulunmuştur. Parçacık boyutunun artması ile absorpsiyon piki daha uzun dalga boyuna kayar. Deneysel olarak elde edilen altın nanoparçacığa ait UV/Görünür bölge spektrometresinde maksimum absorpsiyon yaklaşık olarak 521 nm'de elde edilmiştir (Şekil 6.2).

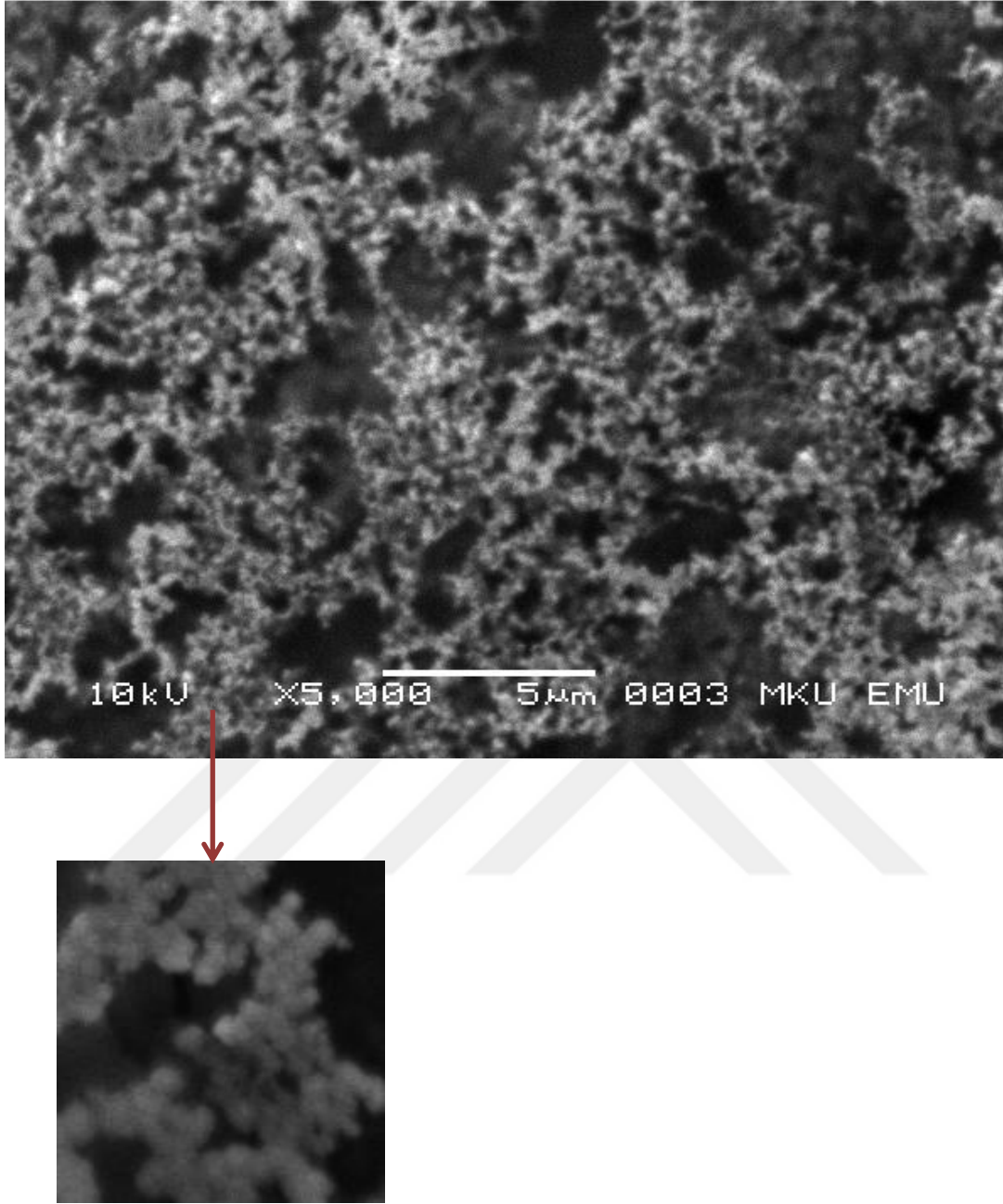


Şekil 6.2. AuNP'ların UV/Görünür bölge spektrometresinde elde edilen absorpsiyonu.

Şekil 6.3 ve Şekil 6.4'te AuNP'ları karakterize etmek için kullanılan metotlardan biri olan SEM görüntüleri gösterilmiştir. AuNP'lar çok küçük boyuta sahip olduklarından dolayı yapılarının veya şekillerinin daha net analizi için farklı çözünürlükte SEM görüntüleri alınmıştır. AuNP'ların çoğunun yuvarlak veya küresel şeklide oldukları görülmüştür.



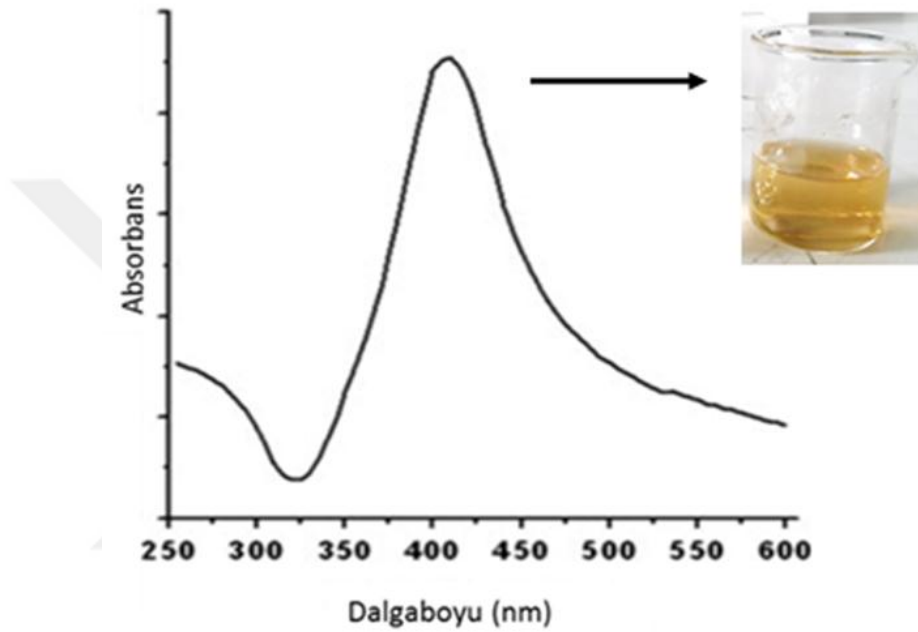
Şekil 6.3. AuNP'lara ait SEM görüntüleri (X3 çözünürlükte).



Şekil 6.4. AuNP'lara ait SEM görüntüleri (X5 çözünürlükte).

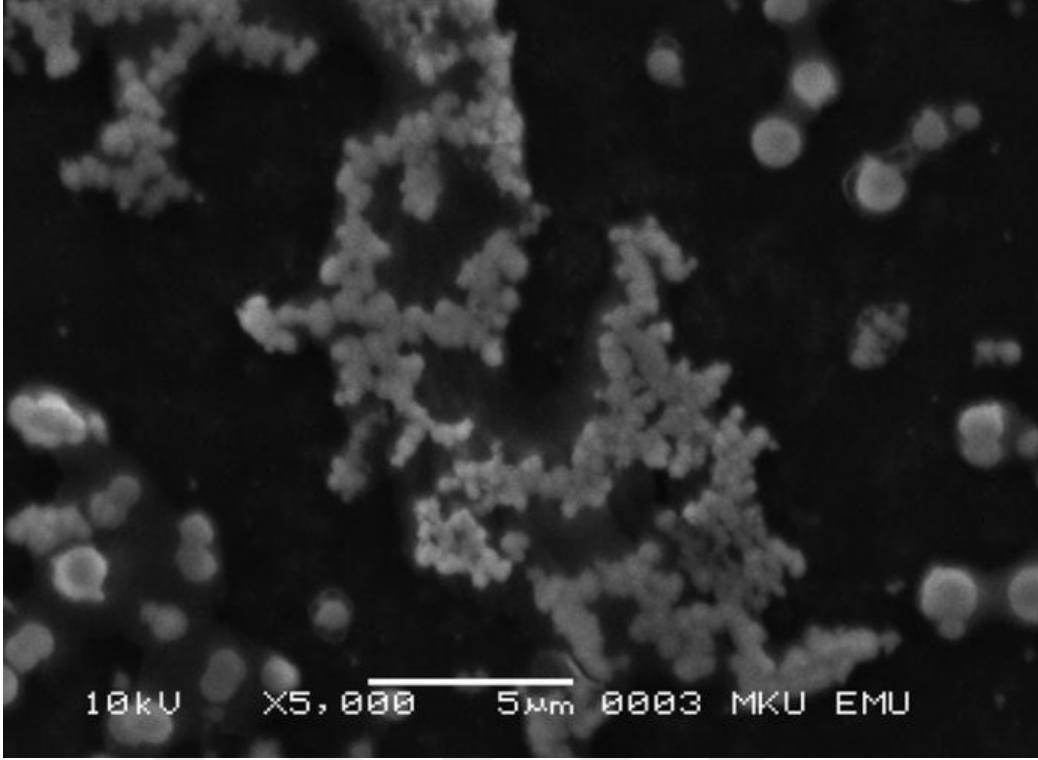
6.1.2. AgNP'ların karakterizasyonu

UV/Görünür bölge spektrometresi ve Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM/EDS) analiz ünitesi (JEOL 5500/OXFORD Inca-X) sentezlenen AgNP'ları karakterize etmek için kullanılmıştır. Yaptığımız çalışmada AgNP'lar önce UV/Görünür spektrometresi ile incelenmiş ve yaklaşık 420 nm'de maksimum absorban elde edilmiştir (Şekil 6.5).

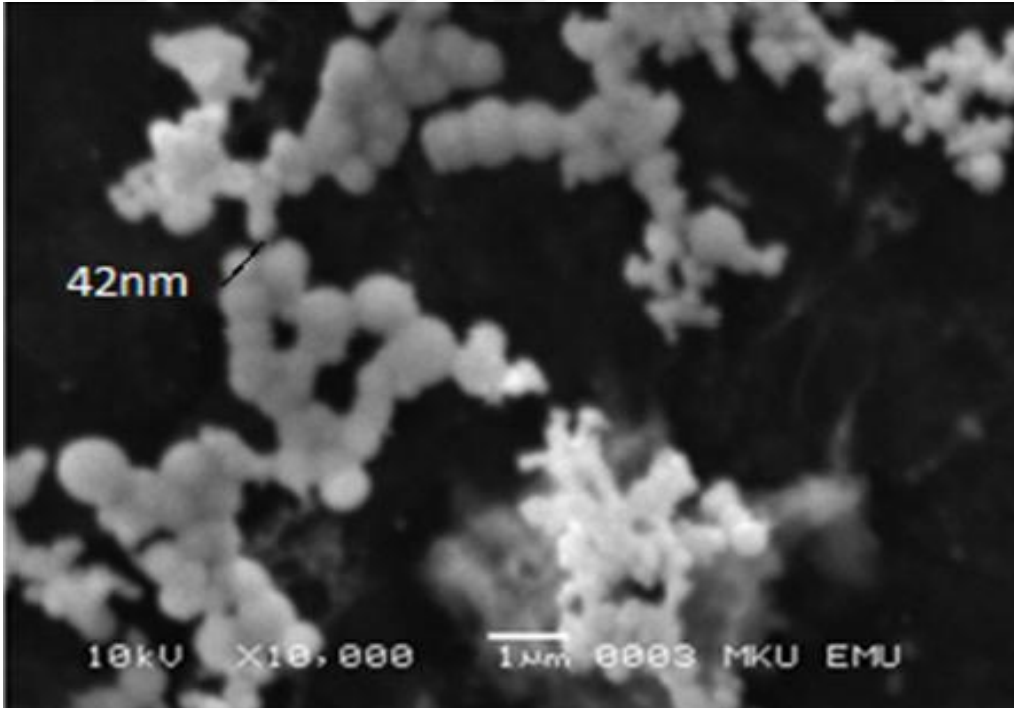


Şekil 6.5. AgNP'ların UV/Görünür bölge spektrometresinde elde edilen absorbanı.

Şekil 6.6 ve Şekil 6.7 AgNP'ları karakterize etmek için kullanılan metotlardan biri olan SEM görüntüleri gösterilmiştir. AgNP'ların yapısını net görmek için farklı çözünürlükte SEM görüntüleri alınmıştır ve gümüş nanoparçacıkların yuvarlak veya küresel şeklinde olduğu literatüre uygun olarak elde edilmiştir.



Şekil 6.6. AgNP'lara ait SEM görüntüleri (X5 çözünürlükte).



Şekil 6.7. AgNP'lara ait SEM görüntüleri (X10 çözünürlükte).

6.2. Boğma Rakıda Metanol ve Etanol Miktarının Raman Spektroskopisi İle Belirlenmesi

DeneySEL metodun oluşturulması için etanol ve metanol farklı konsantrasyonlarda (%0-40) karışımlar hazırlanmıştır. Referans konsantrasyonların spektrumları alınmadan önce saf etanol ve metanolün tek başına Raman spektrumları elde edilmiştir. Bu spektrumlar ile etanol ve metanolün kimyasal yapısına ait olarak karakteristik piklerin nerede olduğu belirlenmiştir. Hazırlanan karışımlarla elde edilen deneySEL metot ile Boğma Rakıda metanol ve etanol oranının ölçülebilirliği gösterilmiştir.

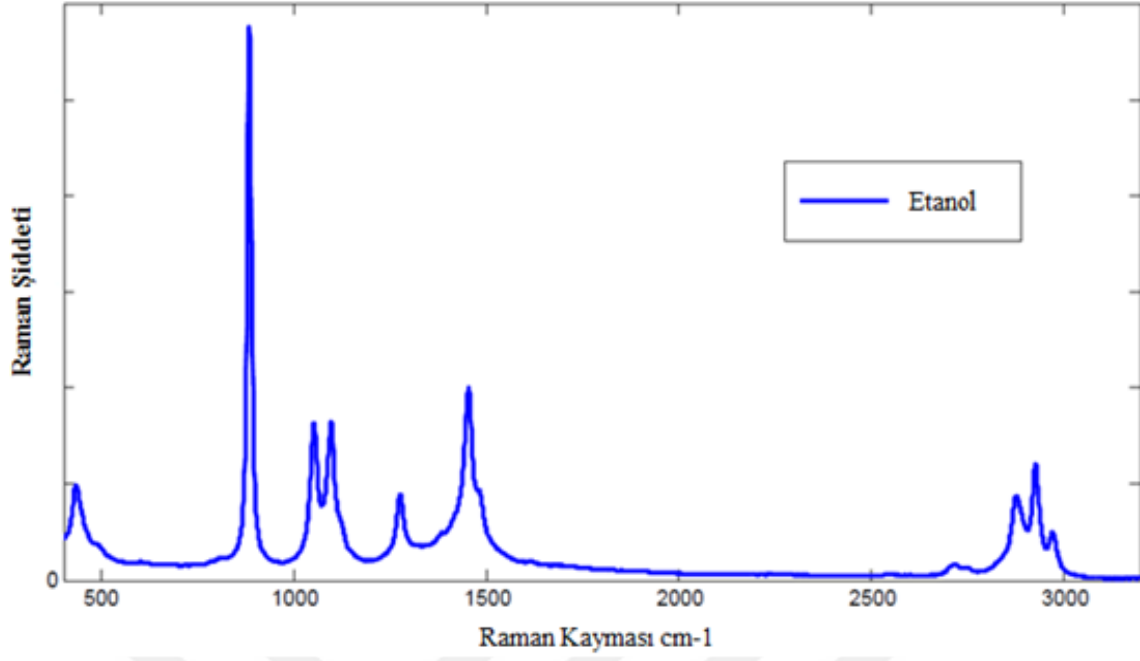
%0 (v/v) ile %40 (v/v) arasında 10 farklı konsantrasyon hazırlanmış ve Raman spektrumu 0-3200 cm^{-1} arasında ölçülmüştür. PLS metodu ile metanol miktarını ölçmek için metanola ait karakteristik değişim 1034 cm^{-1} 'de olduğu için bu bölgeyi arayabilmek için 1000-1100 cm^{-1} arası spektral band seçilmiştir. Bu bölgede toplam 10x90 sayısal veri elde edilmiştir ve PLS metodu ile analizleri yapılmıştır.

Etanole ait karakteristik pik noktası 882 cm^{-1} 'de olduğu için 820-920 cm^{-1} arası spektral bölge seçilmiştir. Bu bölgede toplam 10x87 sayısal veri elde edilmiştir ve PLS metodu ile analizleri yapılmıştır.

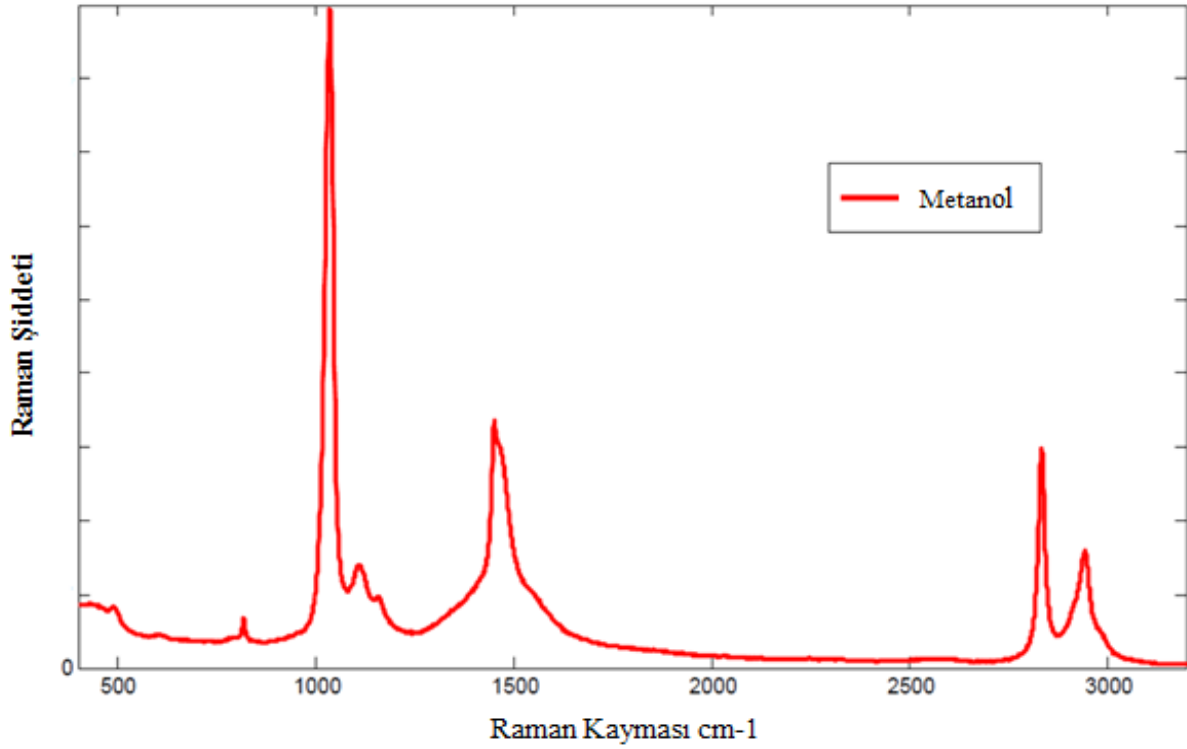
Oluşturulan modelin kalibrasyonu ve geçerlik (validation) için Birini Dışarıda Bırakma Çapraz Geçerlik Yöntemi (LOOCV) kullanılmıştır.

6.2.1. Geliştirilen deneySEL metoda ait metanol ve etanol için elde edilen bulgular

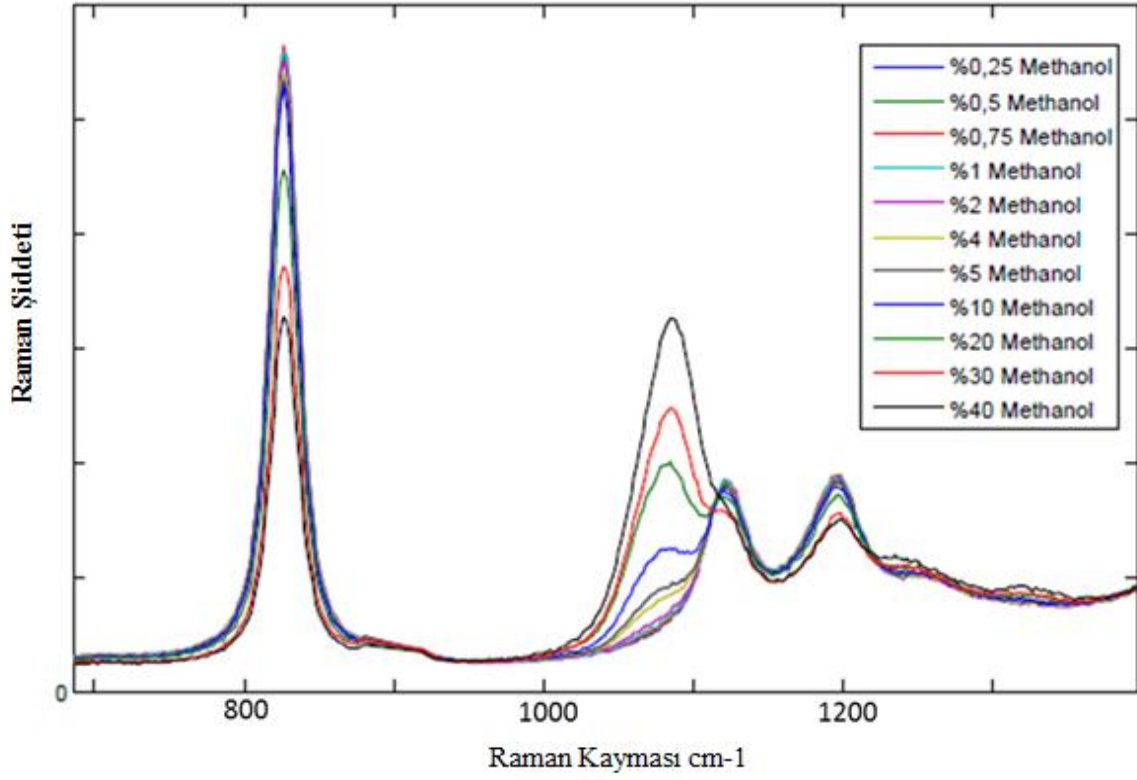
Etanol ve metanolün Raman spektroskopisi ile elde edilen spektrumları incelendiğinde; etanol (CH_3OH)'e ait en belirgin pik 882 cm^{-1} 'de görülürken (Şekil 6.8), metanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$)'e ait en belirgin pik ise 1034 cm^{-1} 'de görülmektedir (Şekil 6.9). Etanol için 882 cm^{-1} C-C gerilmesi, metanol için 1034 cm^{-1} C-O gerilmesi olarak bulunmuştur. Ayrıca, saf etanol ve metanole ait 2500-3000 cm^{-1} arasında bulunan belirgin piklerin ise X-H titreşim bandlarından kaynaklı olduğu bilinmektedir.



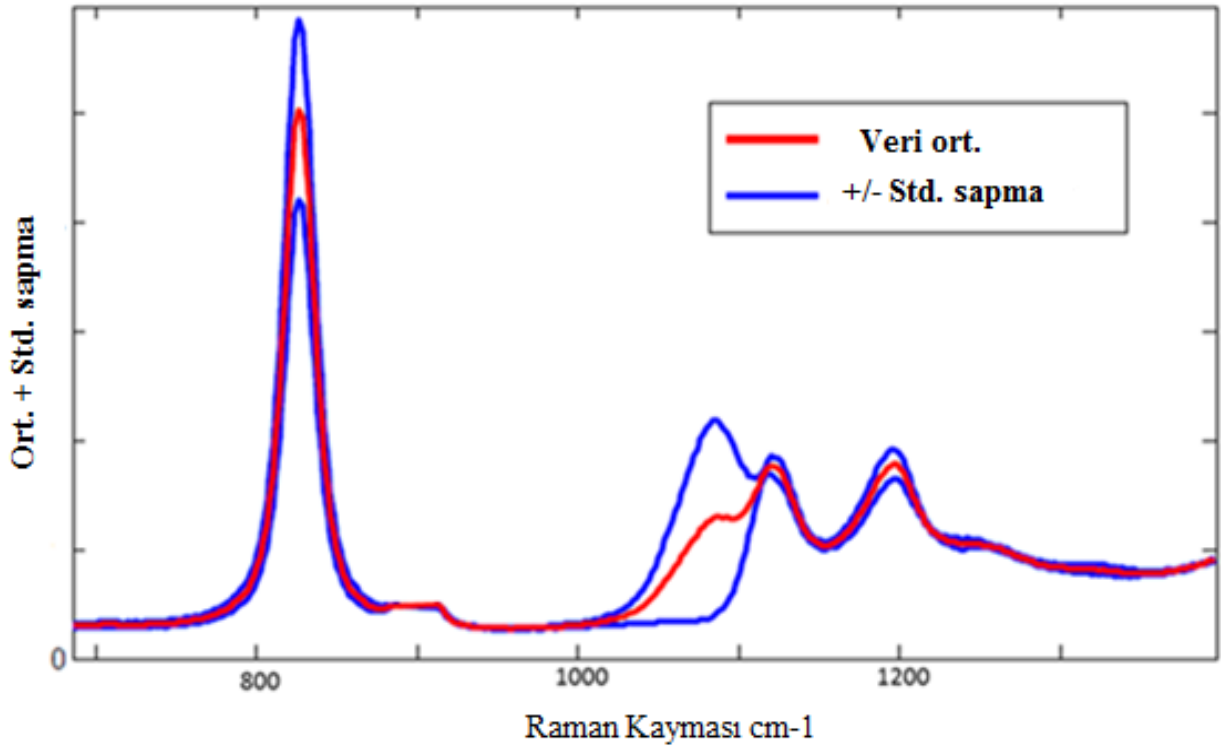
Şekil 6.8. Saf etanol için elde edilen Raman spektrumu.



Şekil 6.9. Saf metanol için elde edilen Raman spektrumu.



Şekil 6.10. Farklı oranlarda hazırlanmış etanol ve metanol konsantrasyonlarına ait Raman spektrumları.



Şekil 6.11. Etanol metanol konsantrasyonlarında standart sapma ve ortalama değer.

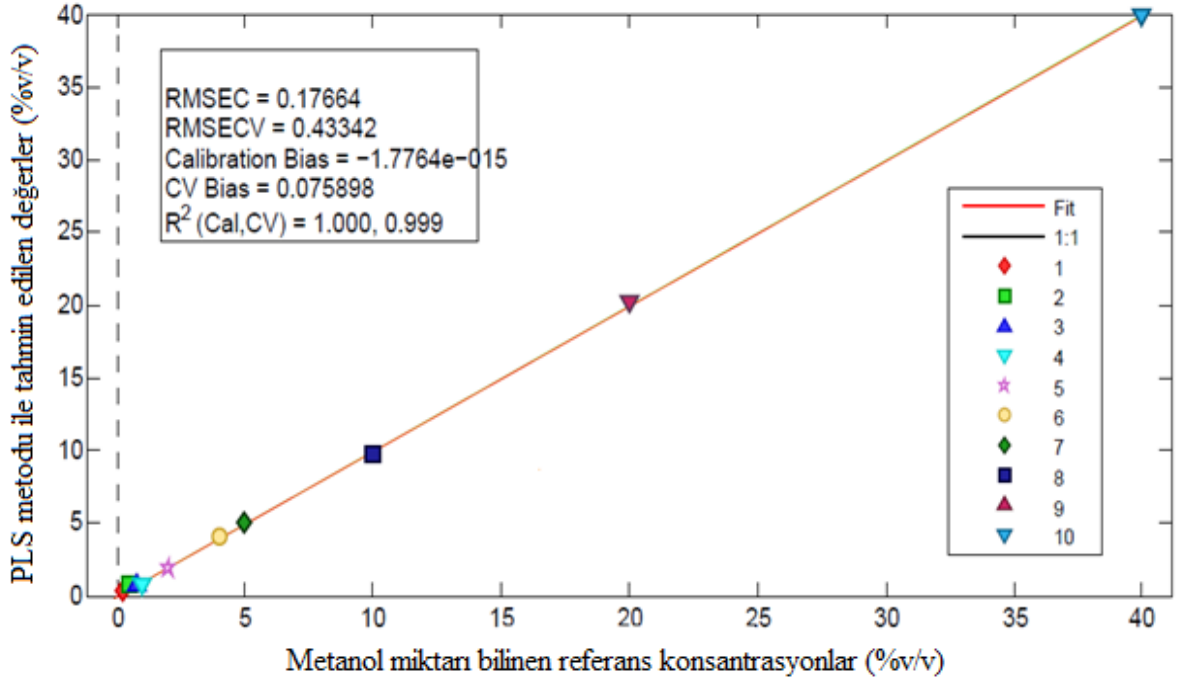
Farklı oranlarda oluşturulan etanol ve metanol konsantrasyonlarının Raman spektrumlarından elde edilen veriler düzenlenerek Matlab programına aktarılmıştır. PLS yöntemi ile verilerin kalibrasyonları yapıldıktan sonra elde edilen verilerin spektrumları çizilmiştir.

Elde edilen spektrumlardan Şekil 6.10'da görüldüğü gibi metanole ait olması gereken pikin bulunduğu kısımda değişim olduğu gözlenmiştir. Bu değişimin konsantrasyon farklılıklarından kaynaklandığı saptanmıştır. Bu durum Şekil 6.11' de gösterildiği gibi spektrumların ortalama ve standart sapması incelendiğinde de etanol ve metanoldaki değişimlerin doğrulandığı gösterilmiştir.

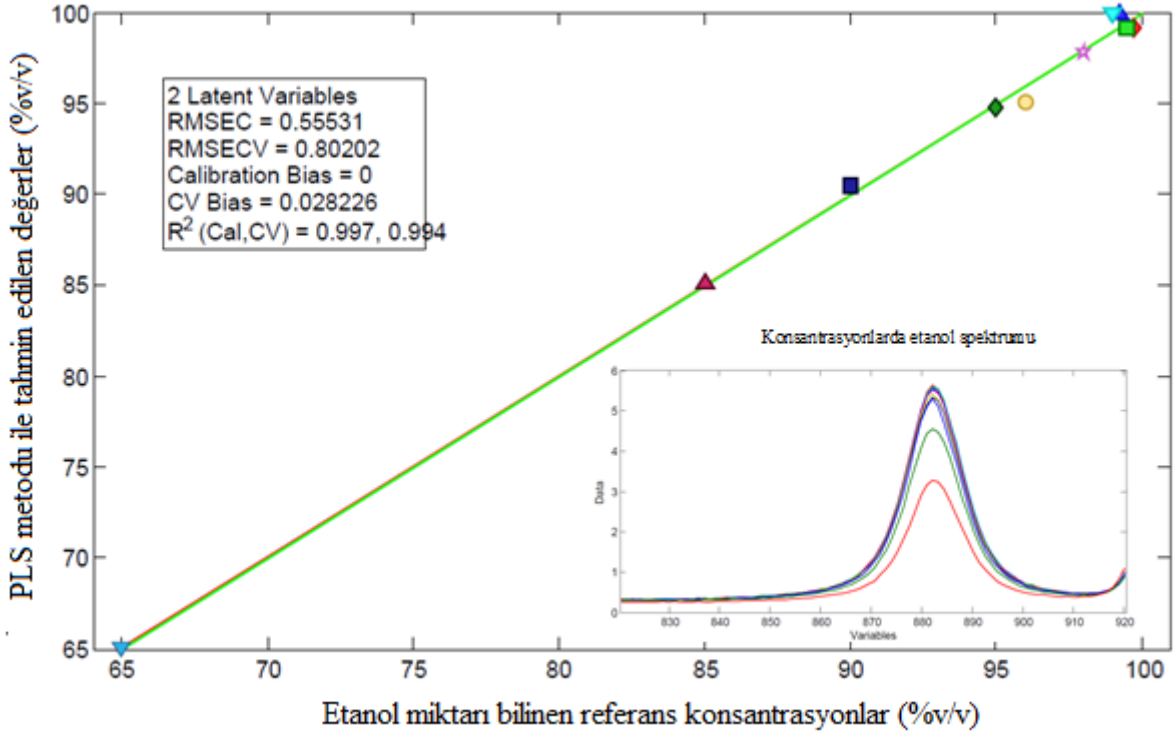
PLS metodunda amaç, bağımsız X değişkenleri ve bağımlı Y değişkenlerinin oluşturduğu iki veri bloğu için elde edilmiş gizli değişkenler kullanılarak, bu iki veri bloğu arasında ilişkiyi ortaya koymaktır. Bu nedenle metanol değişimi için 1000 cm^{-1} ile 1100 cm^{-1} arası spektral bölgedeki veriler kullanılarak PLS modeli oluşturulmuştur.

Oluşturulan model için seçilen spektral bölge kalibrasyon için seçilmiştir ve test datasına uygulanmıştır. Deneysel metottan elde edilen konsantrasyon veya bilinen konsantrasyon değerleri ile PLS metodundan elde edilen değerler karşılaştırıldığında aralarında yüksek bir korelasyon olduğu gözlenmiştir ($R^2 = 1$) (Şekil 6.12).

Etanol değişimi için 820 cm^{-1} ile 920 cm^{-1} arası spektral bölgedeki veriler kullanılarak PLS modeli oluşturulmuştur. Oluşturulan model için seçilen spektral bölge kalibrasyon için seçilmiştir ve test datasına uygulanmıştır. Deneysel metottan elde edilen konsantrasyon veya bilinen konsantrasyon değerleri ile PLS metodundan elde edilen değerler karşılaştırıldığında aralarında yüksek bir korelasyon olduğu gözlenmiştir ($R^2 = 0.997$) (Şekil 6.13). Ayrıca PLS metodundan elde edilen $R^2 = 0.997$ değerinde 2 farklı gizli değişken (latent variables) elde edilmiştir. Bu iki farklı değişkenlerin etanol ve metanole ait olduğu saptanmıştır. Bu farklı değişkenlerin yüzdelik oranları karşılaştırıldığında ise yüzdesi fazla olanın etanole, az olanın ise metanole karşılık geldiği saptanmıştır.



Şekil 6.12. Metanol ve etanol değeri bilinen konsantrasyonlarda metanol miktarının PLS metodu ile tayini.



Şekil 6.13. Metanol ve etanol değeri bilinen referans konsantrasyonlarda etanol miktarının PLS metodu ile tayini.

6.2.2. Konsantrasyonlarda metanol miktarı için LOD (Tanımlama Limiti) ve LOQ (Ölçüm Limiti) değerlerinin belirlenmesi

LOD (Tanımlama Limiti) ve LOQ (Ölçüm Limiti) geliştirilen herhangi bir deneysel metodun geçerliliği veya güvenilirliği bakımından önemli performans limitleridir. Bu performans limitleri lineer regresyon eğrilerine göre aşağıda gösterilen formüller yardımıyla metanol için LOD ve LOQ değerleri hesaplanmıştır.

$y=ax+b$ veya $y=61781x+6454,8$ değeri yardımıyla,

$$\text{LOD} = \frac{3S_b}{a} \quad (6.1)$$

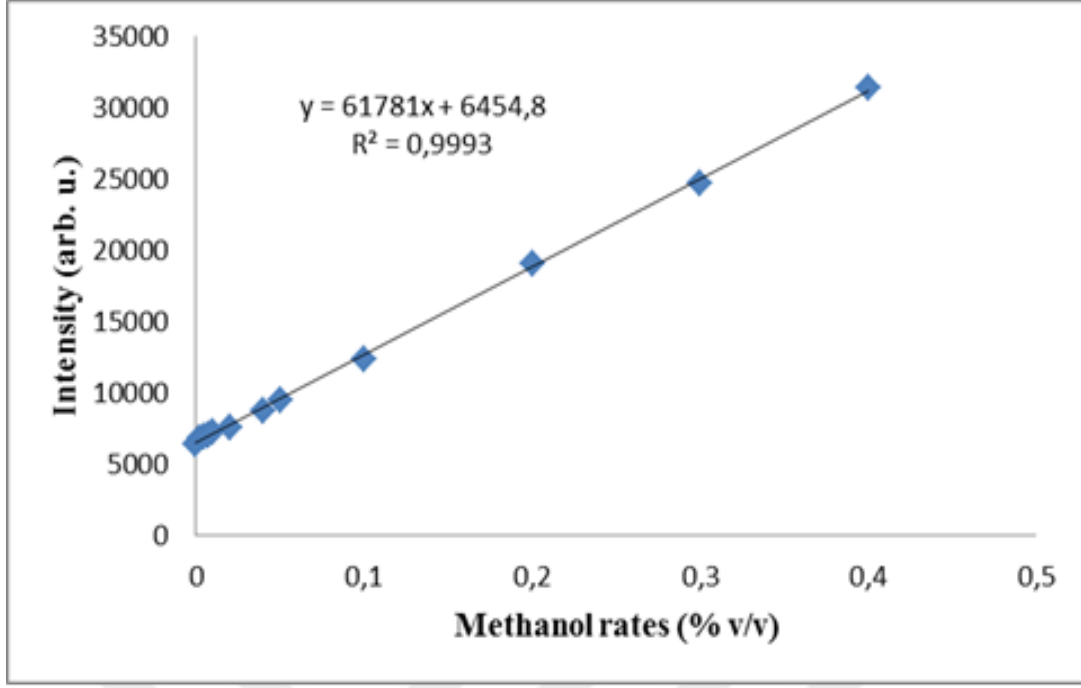
$$\text{LOQ} = \frac{10S_b}{a} \quad (6.2)$$

(6.1) ve (6.2) denklemlerinde;

- ✓ a, kalibrasyon eğrisinin alanı,
- ✓ S standart sapmayı göstermektedir [131].

Yapılan çalışmada LOD ve LOQ değerleri lineer regresyon eğrisiyle elde edilmiştir. Hesaplamalar sonucunda LOD ve LOQ değerleri sırasıyla 0.03 µl ve 0.11 µl olarak bulunmuştur. Raman spektrumlarından elde edilen metanole ait şiddet piklerinin konsantrasyon değerlerine karşılık çizilen lineer regresyon eğrisinde yüksek bir kolerasyon ($R^2 = 0.9993$) elde edilmiştir (Şekil 6.14).

Yapılan çalışmada etanol için LOD ve LOQ değerleri ayrıca hesaplanmamıştır. Çünkü Boğma Rakıda etanol miktarı saptanabilecek seviyelerde bulunmaktadır. Önemli olan ve bu çalışmanın amacına uygun olarak tıp ve adli tıp alanlarında iz miktarda dahi olsa metanol miktar tayininin yapılması ve saptanması oldukça önemlidir. Özellikle Boğma Rakıyı kaçak olarak tüketenlerde alkol içerisinde bulunacak metanolün standartlara uygun olmamasından kaynaklanan ölümler söz konusudur. Fazla miktarda alkol tüketiminin bu ölümlere neden olabileceği ve bu nedenle etanol değil metanol miktar tayini yapılması çok daha önemlidir. Elde edilen bulgulara göre, iz miktardaki metanol tayininin yapılabileceği gösterilmiştir.

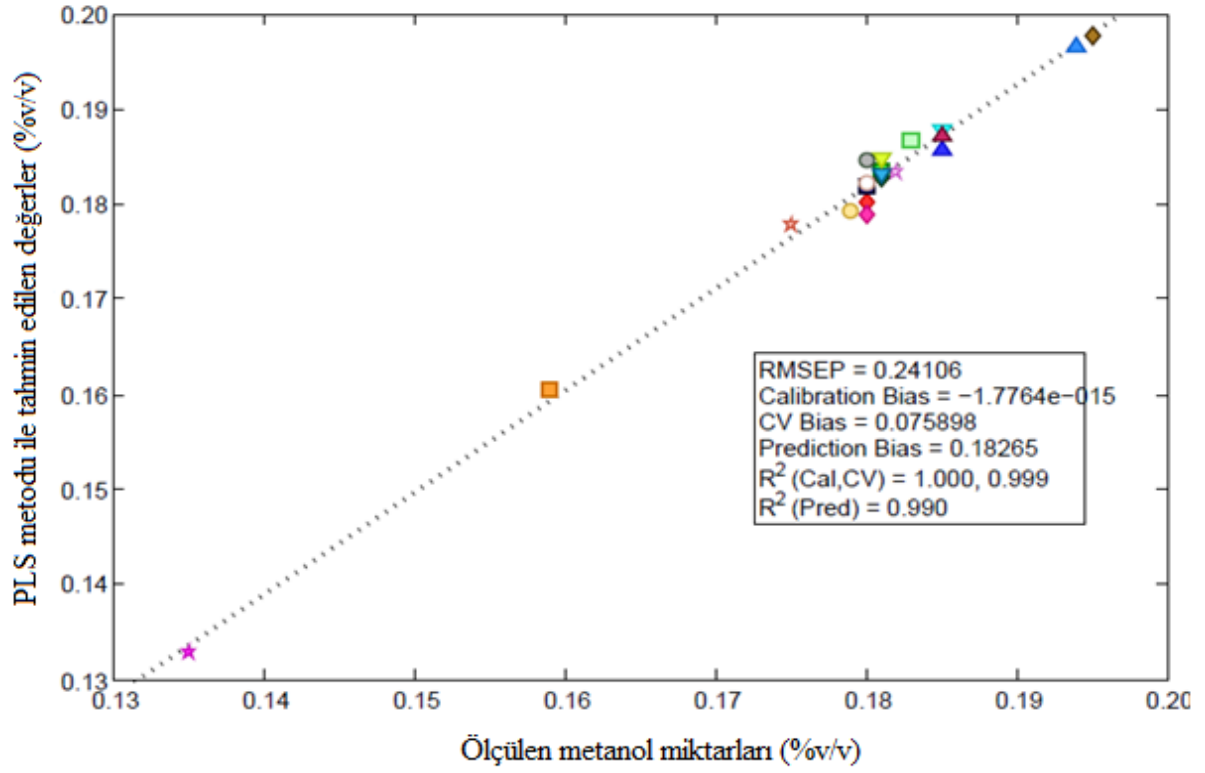


Şekil 6.14. Farklı oranlarda oluşturulan etanol ve metanol konsantrasyonları için kalibrasyon eğrisi.

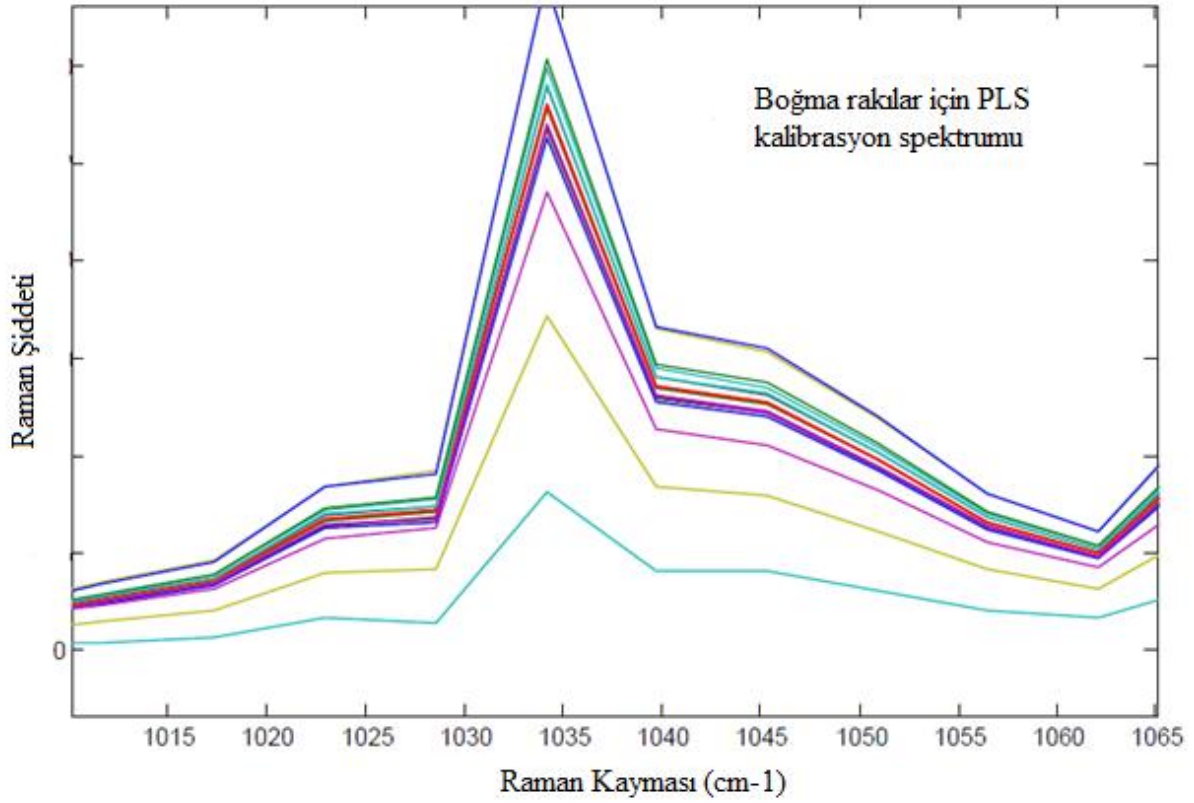
6.2.3. Boğma Rakılarda metanol miktarının bulunması

20 tane farklı Boğma Rakı Raman spektroskopisi ile incelenerek elde edilen veriler PLS metoduyla test verisi olarak aktarılmış ve metanol miktarları PLS metodu yardımıyla bulunmuştur. Bulunan değerler ile GC-MS metodundan elde edilen sonuçlar Paired-Samples t testi yardımıyla karşılaştırıldı [132]. İki metot arasında anlamlı bir fark olmadığı ($p=0,75$ veya $p>0,05$) ve yüksek bir korelasyon ($R^2 \approx 0,99$) olduğu bulundu (Şekil 6.15).

PLS kalibrasyon metodu ile Boğma Rakı numunelerine ait Raman spektrumlarında tüm Boğma Rakıların metanol pikindeki farklılık, rahatlıkla ayırt edilebilmektedir (Şekil 6.16).



Şekil 6.15. Boğma Rakılarda metanol oranının PLS metodu ile tayini.



Şekil 6.16. Boğma Rakılarda bulunan metanole ait PLS kalibrasyon spektrumları.

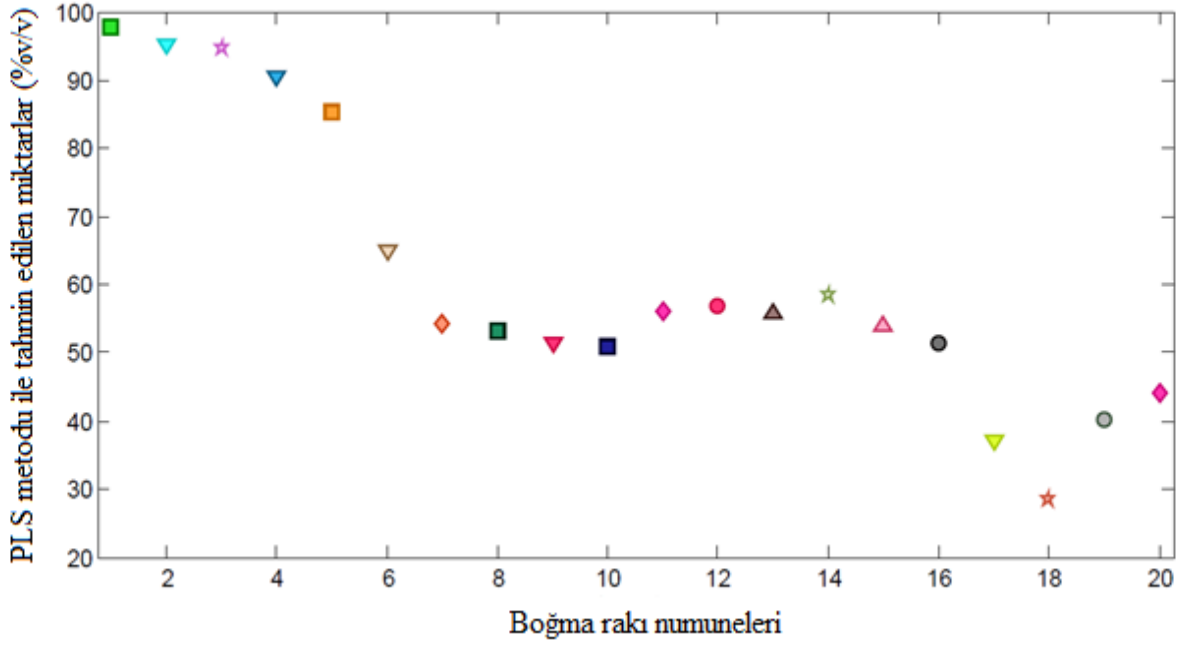
6.2.4. Boğma Rakılarda etanol miktarının bulunması

Piyasadan toplanan ve farklı şekillerde üretimi yapılan toplam 20 farklı Boğma Rakı Raman spektroskopisi ile incelenmiştir. İnceleme sonucu elde edilen sayısal veriler Matlab programına aktarılmış ve PLS metoduna test verisi olarak tanımlanmıştır. PLS metodunun amacına uygun miktar tayini ile Boğa rakı içerisinde var olan hatta hesaplanamayan etanol miktarları gösterilmiştir (Şekil 6.17).

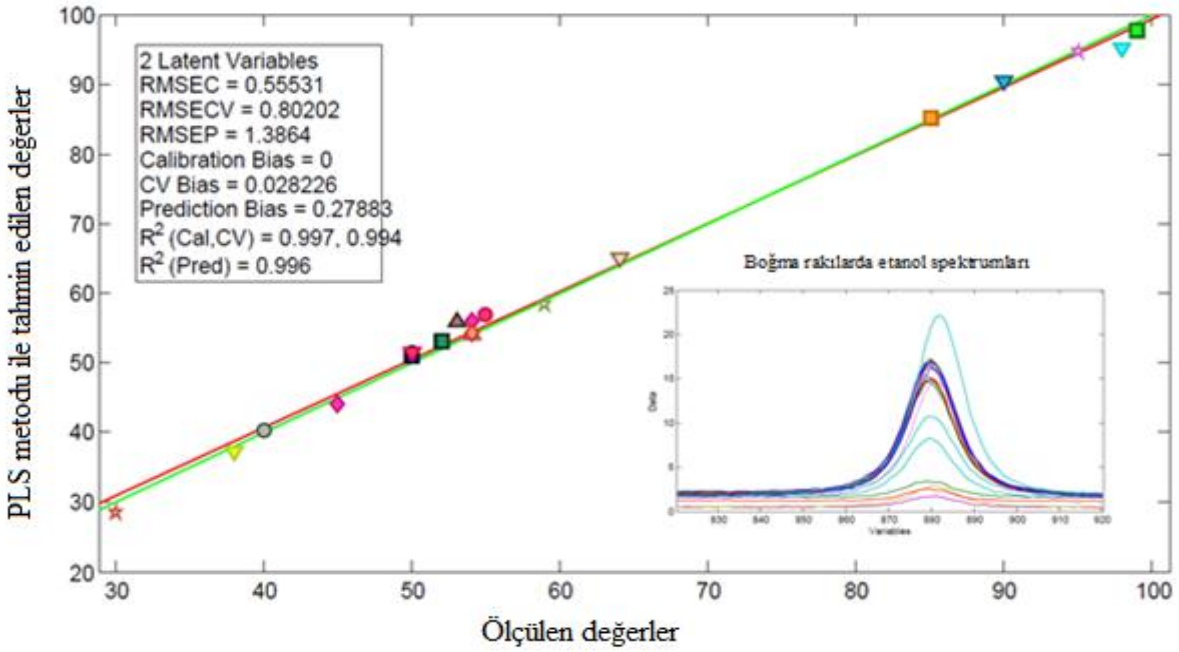
PLS metodu ile bulunan etanol miktarları ile alkol miktar tayininde kullanılan farklı bir yöntem olan GC-MS metodundan elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında birbiri ile uyumlu olduğu bulunmuştur ($R^2=0.997$). Bu iki yöntemin karşılaştırılması sonucu elde edilen değerler şekil 6.18 de gösterildiği gibidir.

Literatürde yasadışı alkollerin toksik içerikleri ile ilgili çok sayıda çalışma bulunmaktadır ve yasadışı alkollü içeceklerin insan sağlığı üzerindeki toksik etkilerini araştırmaya daha fazla dikkat edilmelidir. Türkiye'de, neredeyse tüm metanol zehirlenmesine bağlı gerçekleşen ölümler, yasadışı satılan ve çok fazla miktarda metanol içeren alkollü içeceklerden ve ev yapımı Boğma Rakıdan kaynaklanmaktadır [132]. Türkiye'de yapılan çalışmalar genellikle alkollü içkilerin içeriğinde bulunan etanol, metanol ve alkol fermantasyonu sonucu oluşan aroma maddeleri üzerinde yoğunlaşmıştır [73, 133, 134]. Bu nedenle, yasadışı alkollerin ve Boğma Rakı'nın içeriğinde bulunan metanolün yeni ve hızlı bir teknolojik cihazla ölçülebilirliği bu amaç için önemli bir role sahiptir. Ayrıca Dünya çapında yapılan çalışmalara göre alkol tüketiminin oldukça yüksek olduğu bu nedenle, üretilen alkollü içkilerin kalitesi buna bağlı olarak toksitesinin belirlenmesi oldukça önemli olmuştur. Bu sebeple bu yöndeki çalışmaların sayısı oldukça fazla olmasına rağmen önemli olan alkol içeriğini hızlı ve güvenilir olarak tespitini yapılması tıp ve adli tıp açısından daha da önemli hale gelmiştir.

Ülkemizde ve dünyada yapılan çalışmalar doğrultusunda, yapmış olduğumuz bu çalışmada, Boğma Rakıda bulunan metanol ve etanolün miktarı ve değişimi Raman spektroskopisinden elde edilen verilerin PLS yönteminin uygulanmasıyla ölçülebilirliği gösterilmiştir. Yakın gelecekte gıda kontrolünde yasadışı alkol belirlenmesinde Raman spektroskopisinin önemli bir rol oynadığını ve ülkemizde bu yöntemin literatüre katkı sağlayacağı gibi birçok laboratuvarında rutin olarak kullanılabileceği kanısına varmaktayız.



Şekil 6.17. Boğma Rakılarda PLS metodu ile etanol miktar tayini.



Şekil 6.18. GC-MS metodu ile elde edilen etanol miktarlarının PLS metodu ile tahmin edilen değerler ile karşılaştırılması.

6.3. Kan Örneklerinin SERS Metodu İle İncelenmesi

Her kimyasal bileşiğin kendine ait karakteristik IR spektrumu vardır. IR spektrumu, incelenen numunenin moleküler yapısı hakkında tüm bilgiyi içerir. Asıl problem spektral bandların belirlenmesidir. Temel titreşim bandlarına ek olarak, çoğu kez sözde kombinasyon ve fazla bandlar bulunmaktadır. Fermi rezonansı, bandların yoğunluk değişikliklerine ve frekans kaymalarına neden olabilmektedir. Moleküller arası etkileşimler (hidrojen bağı gibi) ek bandlara neden olabileceği gibi çözücülerin, sıcaklık ve basıncın etkileri de göz önüne alınması gerekmektedir.

Inelastik saçılma Raman saçılması olarak bilinir ve ışının madde ile etkileşmesi sonucu moleküllerin titreşim ve dönme hareketinden kaynaklanmaktadır. Moleküllerin titreşim spektrumlarından tanımlanması için en uygun araç spektral veri tabanlarıdır. Bu veri tabanlarından farklı olarak Raman spektroskopisinin kendine ait bilinmeyen spektruma rakamsal olarak çok yakın eşleşen referans bileşiklerini listelemesi söz konusudur. Fakat Raman spektroskopisinden elde edilen referans bileşiklerin spektral deseni, araştırılan molekülün spektral desenine benzemesi bu moleküle ait olduğunu garanti etmemektedir. Dolayısıyla, karakteristik veya grup frekanslarının değerlendirilmesi gerekmektedir.

Bazı kimyasal gruplar içerdikleri molekül türüne bakılmaksızın çok karakteristik bandlar sergilemektedirler. Grup frekansı yaklaşımı, yapısal analiz için çok yararlıdır. Bazı spektral bandların frekansları ve yoğunluklarından, molekül içerisinde ne tür kimyasal grupların mevcut olduğunu, diğer gruplara nasıl bağlı olduklarını ve nihayetinde araştırılan molekülün yapısının tahmin etmek mümkündür [62]. Bu sebeple Raman spektroskopisi ve kemometrik tekniklerin kullanılması adli bilimlerde biyolojik numunelerin incelenmesinde, hem sınıflandırma hem tanımlamada muhteşem bir potansiyele sahiptir.

Raman spektrumu bir molekülün kimyasal yapısına bağlı olduğundan dolayı herhangi bir Raman spektrumu, söz konusu materyalin moleküler yapısına özgüdür ve moleküler parmak izi olarak kullanılır.

Birçok durumda, numune hazırlama Raman spektroskopisinde yapılacak ölçümler için genellikle daha basit veya gerekli değildir. Numunelerin analizi cam veya plastik malzemeler içerisinde yapılabilmektedir. Aynı zamanda su zayıf bir Raman saçıcısı olduğundan dolayı, sulu örnekler de kolayca analiz edilmektedir.

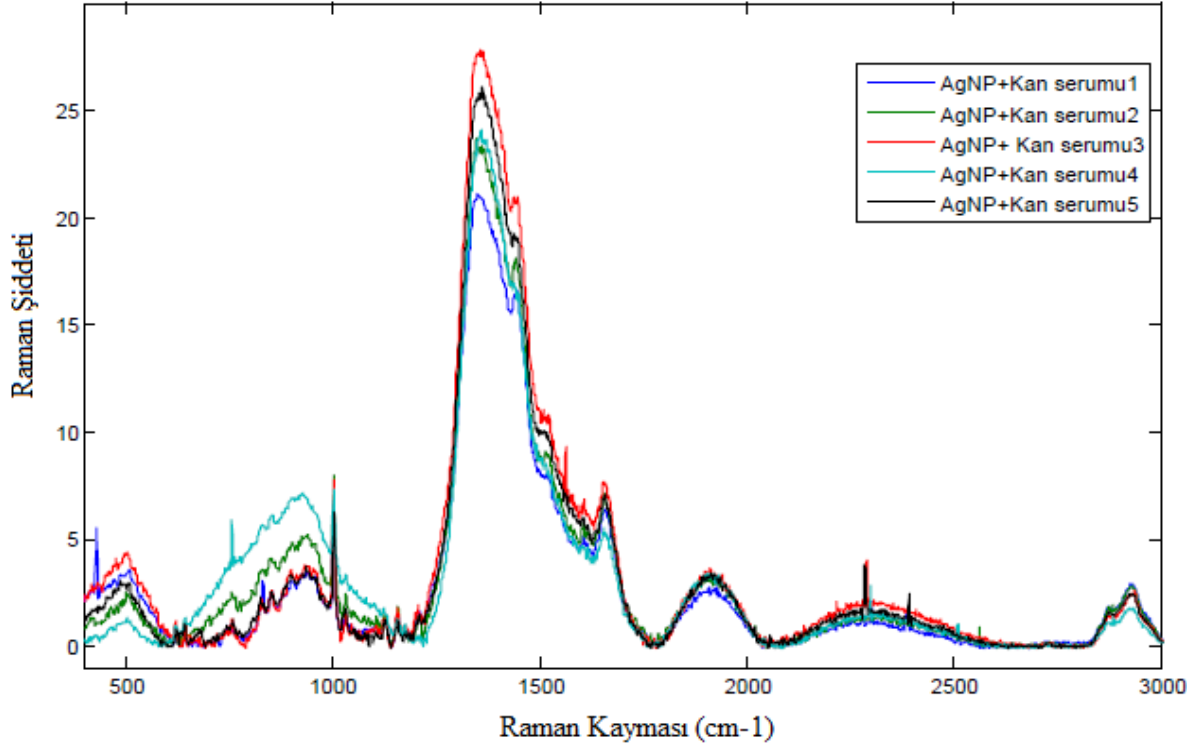
İnsanlar tarafından üretilen vücut sıvıları kan, meni, tükürük, vajinal sıvı, idrar, ter, anne sütü, gözyaşı ve mukus şeklinde sınıflandırılmaktadır ve biyolojik sıvılar özellikle de kan canlı varlığın bir göstergesi olduğu için Adli bakımdan dikkat çeken bir unsurdur.

Bu sebeple suç yerinde, bazı adli vakaların değerlendirilmesinde kan, meni ve tükürük gibi örneklerle daha sık karşılaşılmaktadır. İnsan kanının kalitatif ve kantitatif kimyasal analizi ile farklı hastalıkların tanı ve teşhisi de yapılmaktadır.

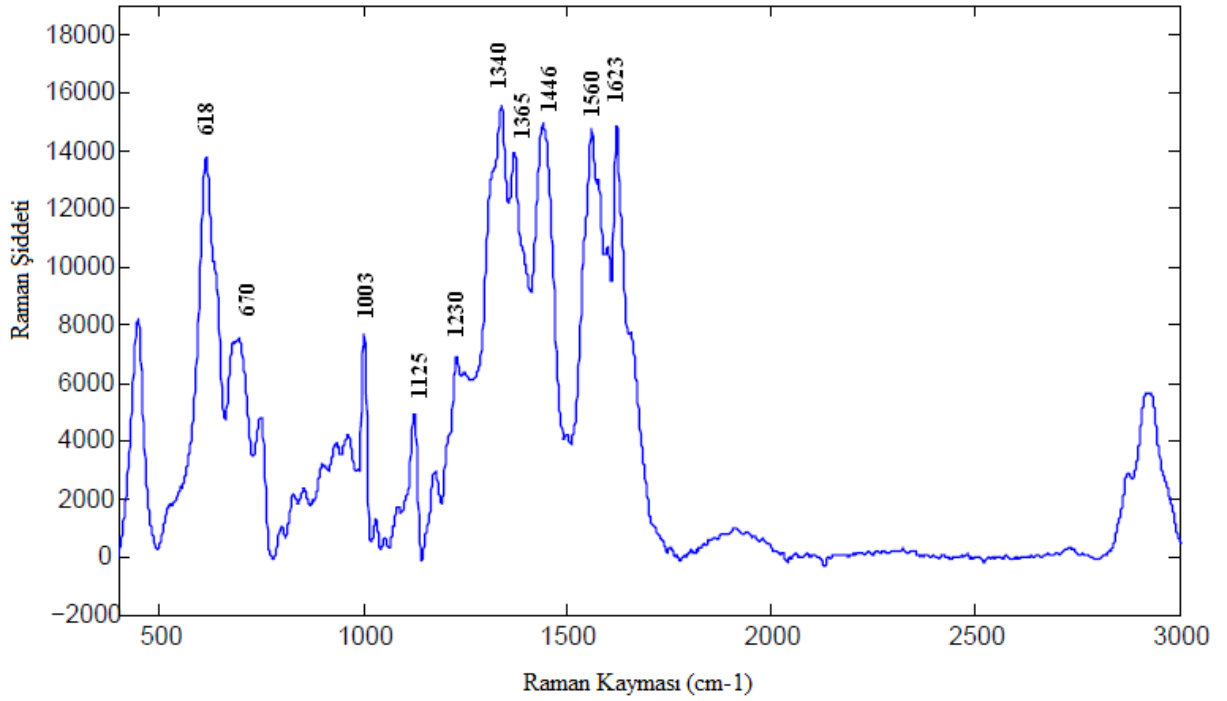
Bu çalışmada, tıp ve adli tıp bakımından önemli olan ve en çok karşılaşılan vücut sıvılarından biri olan kan çalışılmıştır. Bu amaçla, hem tam kan hem de kan serumu için SERS spektrumları elde edilmiştir. SERS metodunda kullanılmak üzere AuNP ve AgNP'lar sentezlenmiş ve kan örneklerinin incelenmesi için kullanılmıştır. SERS metodunun kullanılmasının amacı, yüzeyde normal Raman spektroskopisine oranla daha fazla zenginleştirme meydana getirmesidir. Bu nedenle kompleks biyolojik örneklerdeki analitin çok düşük konsantrasyonlarda olsa bile SERS metodu ile analizi yapılmaktadır [90].

AgNP'lar kullanılarak beş kişiden elde edilen kan serumlarında SERS spektrumları elde edilmiştir. Şekil 6.19'da görüldüğü gibi Raman şiddetlerinin değişebilmesine rağmen Raman kaymasının (cm^{-1}) değişmediği görülmektedir. Raman şiddeti numunenin miktarına, lazer arasında ki mesafeye, kullanılan parametrelere ve numunenin faz haline göre değişebilmektedir. Ancak 5 farklı kan serumu değerlendirildiğinde, elde edilen bandların ise yaş ve cinsiyete bağlı olmaksızın içeriğinde bulunan protein, enzim, yağ gibi moleküler yapılarından kaynaklanabileceğini kanımsındayız.

Tam kandan elde edilen spektrum Şekil 6.20'de gösterilmiştir. Bu piklere karşılık gelen titreşim modları ve biyomoleküller Çizelge 6.2'de gösterilmiştir. Kan içerisinde yer alan ana proteinler hemoglobin, albumin ve fenilalaninin olup bunların oluşturmuş olduğu pikler 618, 1003, 1365 ve 1623 cm^{-1} 'de saptanmıştır. Hemoglobin, kırmızı kan hücrelerinin kurutulmuş ağırlığının% 95'ine katkıda bulunduğu için en önemli kısmını oluşturmaktadır [135]. Kırmızı kan hücrelerinde yer alan hemoglobini gösteren pikler 1365 ve 1623 cm^{-1} olup yapılan çalışma sonucunda da tespit edilmiştir. Diğer pıhtılaşmadan sorumlu olan fibrin proteini ise 1230 ve 1560 cm^{-1} 'de pikleri elde edilmiştir.



Şekil 6.19. AgNP'lar ile elde edilen kan serumlarına ait SERS spektrumları.



Şekil 6.20. Mor tüp (EDTA) ile elde edilen tam kanın SERS spektrumu.

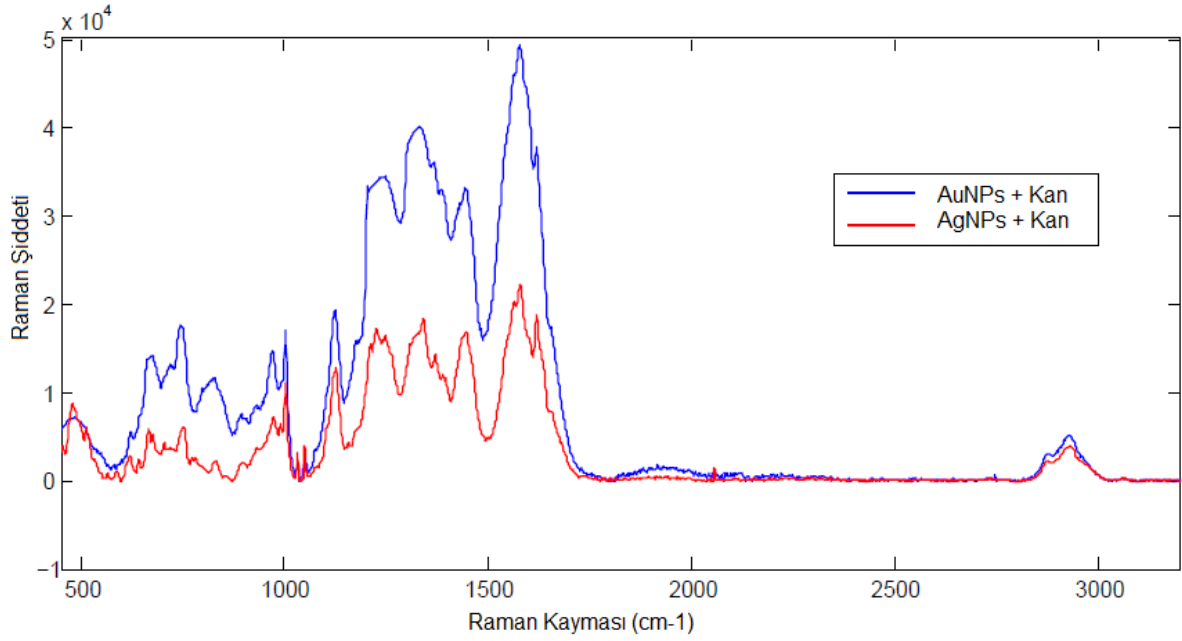
SERS metodu ile tam kandan elde edilmiş olan Raman bandları sonucu kan içerisinde ki biyomoleküller Çizelge 6.2’de gösterildiği gibi elde edilmiştir. Piklerin kan içerisinde hangi proteine ait olduğu ve titreşim modları yapılan çalışmalarla da uyumlu olarak bulunmuştur.

Çizelge 6.2. Tam kandan elde edilen Raman kaymaları.

Raman Kayması (cm^{-1})	Titreşim modu	Biyomolekül
618		Fenilalanin
670		Tirozin
1003	Aromatik zincir	Fenilalanin
1125	C-O-C antisimetrik gerilme	Protein
1230	Amide III bükülme	Fibrin
1340	C-H bükülmesi	Triptofan
1365	CH_3 simetrik gerilme	Hemoglobin, Triptofan
1446	CH_2 , CH_3 bükülmesi	Triptofan, Fosfolipid
1560	C=C gerilme	Fibrin
1623	C=N gerilme	Hemoglobin, tirozin

Aynı kişilere ait, aynı ortam koşullarında ve eşit kuruma sürelerine tabi tutulan tam kan örnekleri AuNP ve AgNP’lar kullanılarak Raman spektrumları incelenmiştir. AuNP’lar ile elde edilen spektrumların piklerinin şiddetinin daha güçlü olduğu gözlenmiştir (Şekil 6.21). Bunun sebebi ise Au’nun YPR’sının ve optik özelliklerinin Ag’ten farklı olmasından kaynaklanmaktadır.

Daha sonraki çalışmalarda kanda herhangi bir maddeye ait miktar tayini araştırıldığında, piklerin şiddetinde bir değişimin olduğu ancak madde miktarında değişim olmadığı gösterilmiştir. Sonuç olarak pik şiddetinin değişmesinin sebebi kullanılan AuNP ve AgNP’lardan kaynaklanmaktadır.



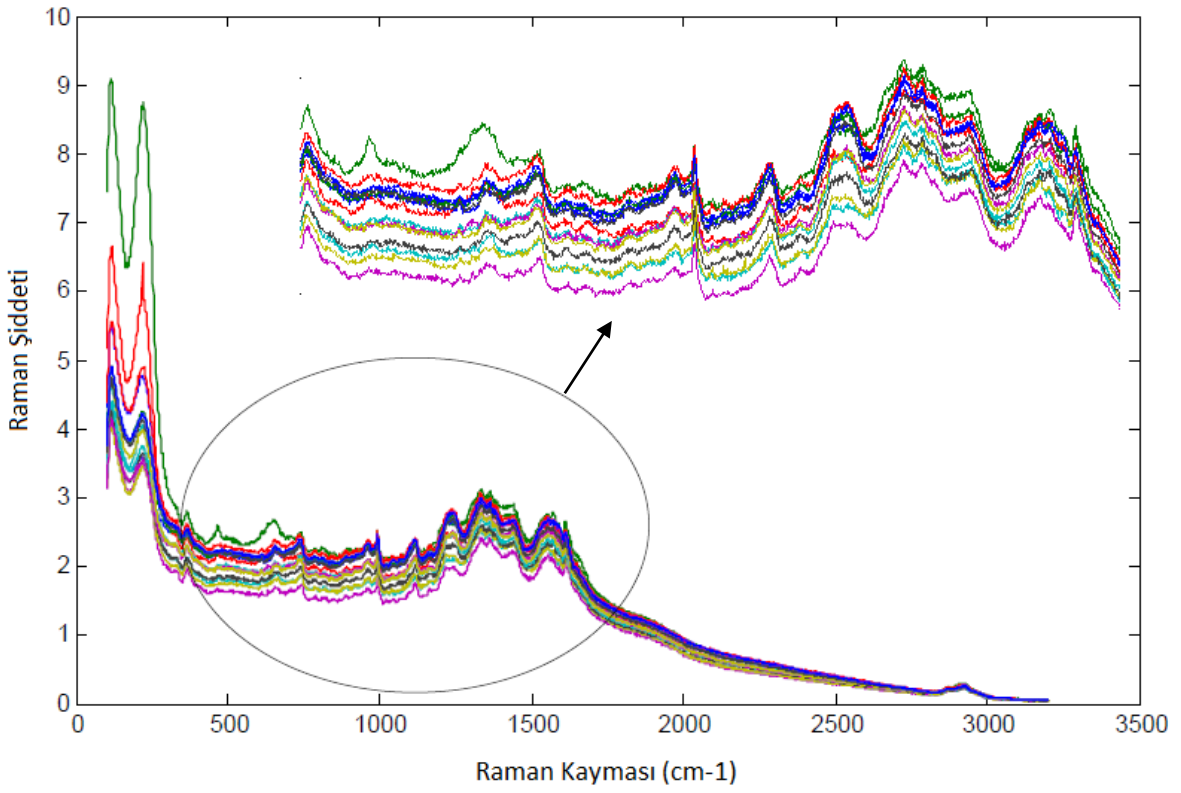
Şekil 6.21. AgNP ve AuNP'lar kullanılarak elde edilen tam kan spektrumlarının karşılaştırılması.

6.3.1. Kan örneklerinin haritalama yöntemi ile incelenmesi

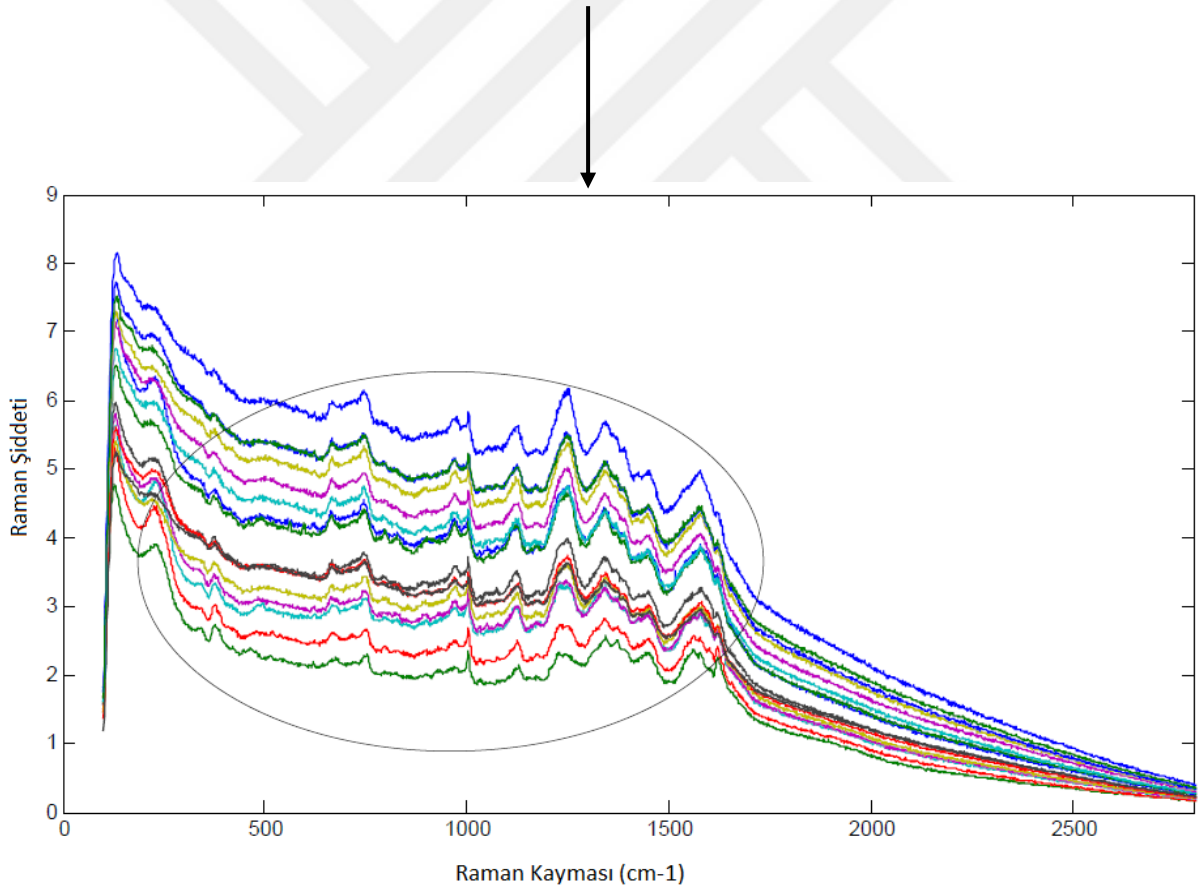
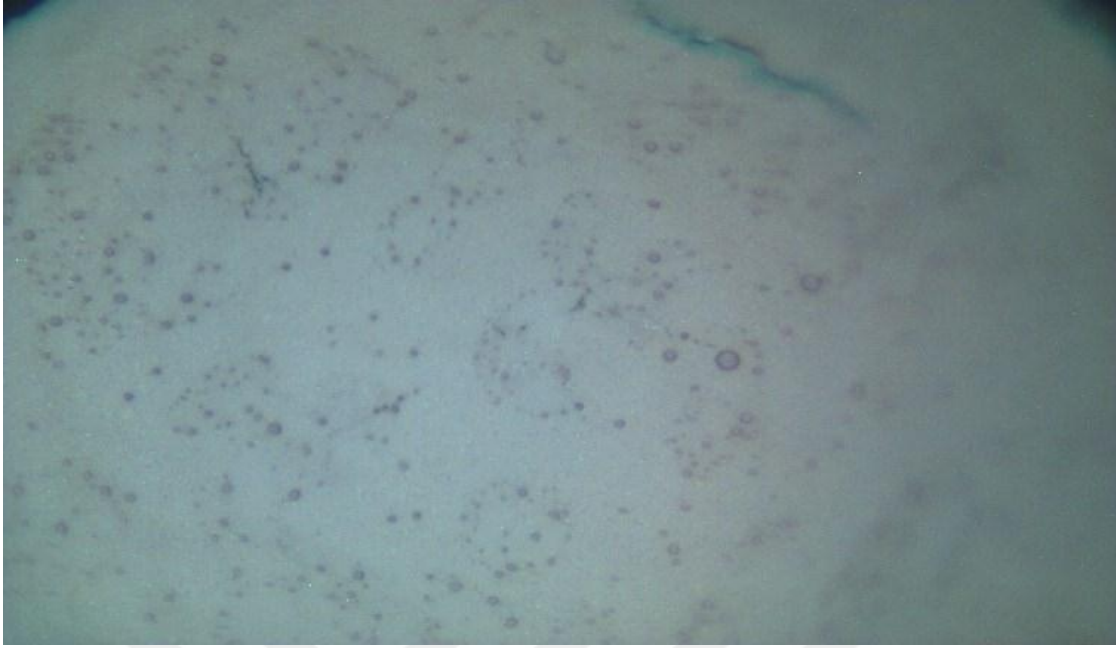
Numunelerin Raman spektroskopisi ile spektrumları alınacağı zaman, istenilen bölgenin görüntüsü netleştikten sonra lazer ışını numunenin seçilen bölgesinde tek bir noktadan çekim yapmaktadır. Dolayısıyla, farklı noktalarda da elde edilen spektrumlarda değişimin olup olmadığını görmek için haritalama (mapping) yöntemi ile çekim yapılmıştır. Haritalama yönteminde numunenin farklı kısımlarının aynı anda incelenmesi mümkündür.

Haritalama yöntemi için iki ayrı kan örneğinin 16 farklı noktasında AgNP'lar kullanılarak SERS spektrumları elde edilmiştir (Şekil 6.22 ve Şekil 6.23). Aynı numunenin 16 farklı noktasındaki spektrumların aynı olduğu Şekil 6.22 ve Şekil 6.23'de görülmektedir. Kan örneklerinin farklı derinliklerinde ölçümlerine bağlı kalmaksızın kuruma sürelerinin birbirinden farklı olması Raman şiddetinde bir değişmeye neden olduğu görülmüştür. Fakat her iki numunede de neredeyse aynı pikler elde edilmiştir.

Sonuç olarak ister haritalama yöntemi kullanılsın isterse normal yöntem kullanılsın her iki yöntemde de elde edilen spektrumlar değişmemektedir. Fakat haritalama yöntemi normal yöntemle göre daha uzun sürmekte ve numunenin bekletilme süresinde artmaktadır. Bu sebeple normal yöntemlerle tayin yapılmasının uygun olacağı kanısındayız.

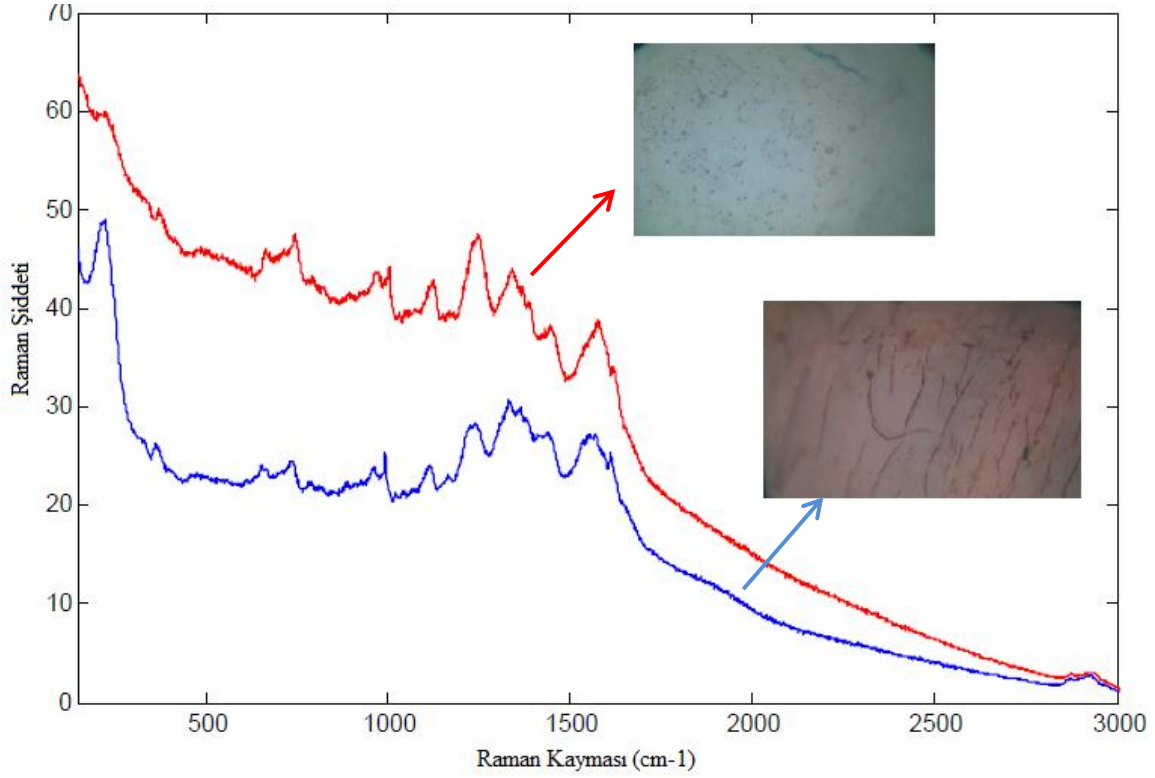


Şekil 6.22. Kuru kana ait Raman spektroskopisi ile görüntüsü ve haritalama yöntemi ile elde edilen SERS spektrumları.



Şekil 6.23. Kuru kana ait Raman spektroskopisi ile görüntüsü ve haritalama yöntemi ile elde edilen SERS spektrumları.

Haritalama yöntemi ile tam kan örnekleri inceleme sonucunda Raman piklerinin kayma noktaları sırasıyla 670, 1003, 1125, 1230, 1340, 1365, 1446, 1560, 1623 cm^{-1} olarak bulunmuştur (Şekil 6.24). Bu pikler hem diğer yapılan çalışmalarla hem de SERS metodu ile elde ettiğimiz kan pikleri ile uyumlu olduğu görülmüştür.



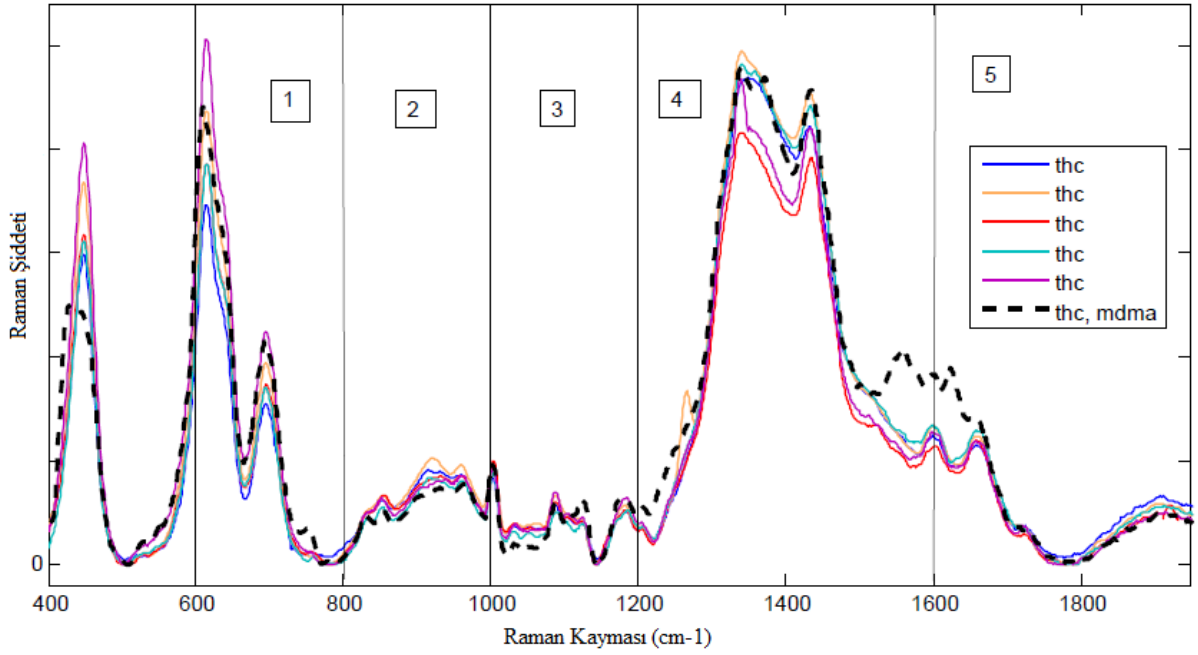
Şekil 6.24. Haritalama yöntemi ile elde edilen tek bir noktanın SERS spektrumları.

6.3.2. Kanda farklı tür uyuşturucu maddelerin spektrumsal analizi

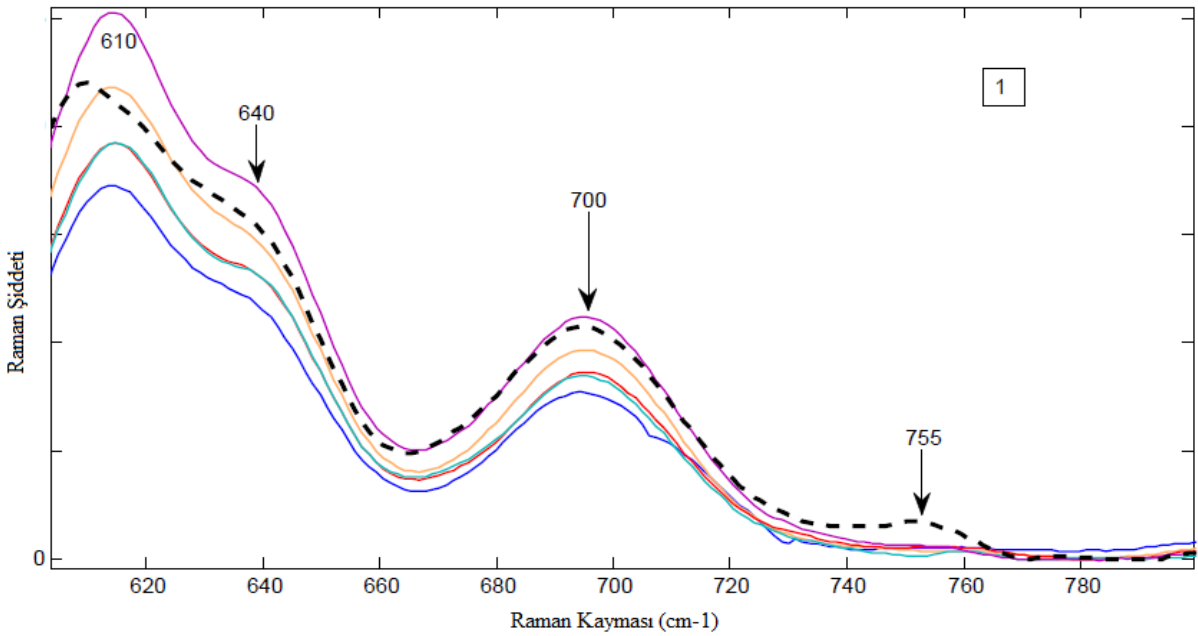
GC-MS metoduyla uyuşturucu madde kullandıkları ve hangi türe ait madde olduğu belirlenmiş olan kan örnekleri SERS metodu ile incelenmiş ve spektrumları elde edilmiştir (Şekil 6.25). Elde edilen spektrumun 400 ile 2000 cm^{-1} arasındaki Raman bandı incelenmiştir. Ölçülen spektrumların yorumlanabilmesi için 400 ile 2000 cm^{-1} arasında ki bölge 5 kısma bölünerek ayrı ayrı incelenmiştir. THC ve THC+MDMA kullandığı belirlenen toplam 6 tane kanın AgNP'lar kullanılarak SERS spektrumları alınmıştır.

Çalışmamızda, MDMA+THC türü uyuşturucu madde kullandığı bilinen ve sadece THC türü uyuşturucu madde kullandığı bilinen kişilerin kan örnekleri incelenmiştir. İnceleme sonucunda elde edilen spektrumlar arasında farklılıklar olduğu saptanmıştır. Bu farklılık MDMA türü uyuşturucudan kaynaklandığı ancak THC piklerinin aynı olduğu görülmüştür.

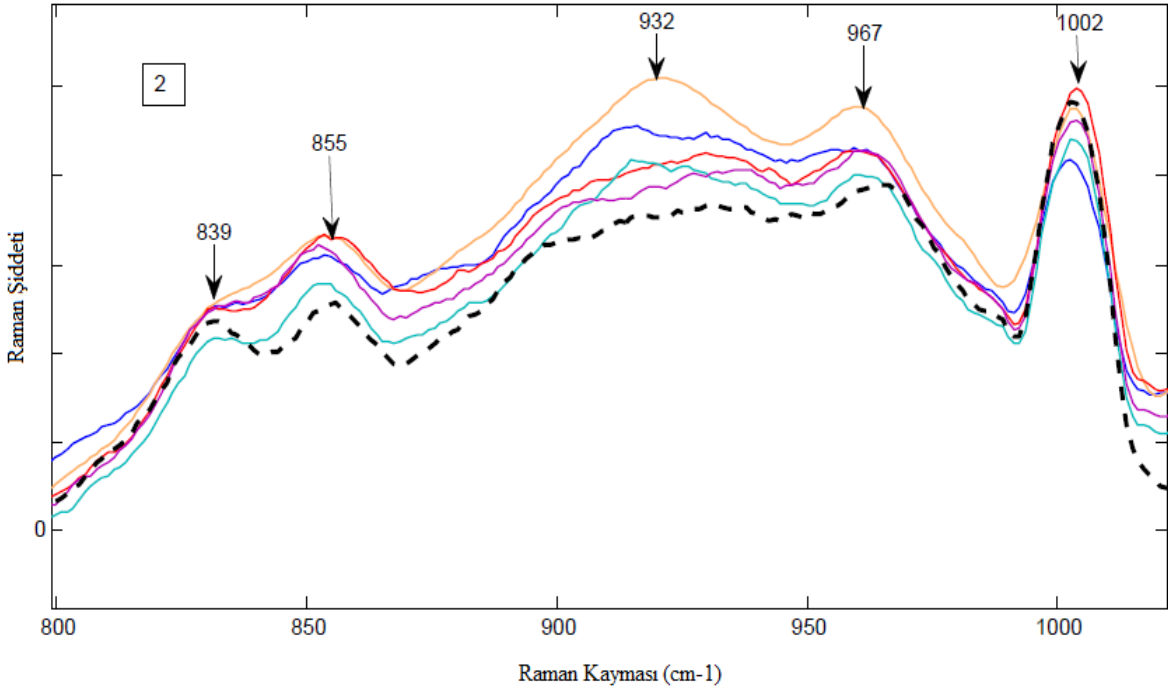
Sonuç olarak, kan örneklerinde uyuşturucu madde analizinin yapılabildiği ve her uyuşturucu maddenin farklı noktalarda spektrum vererek pik oluşturduğu görülmüştür.



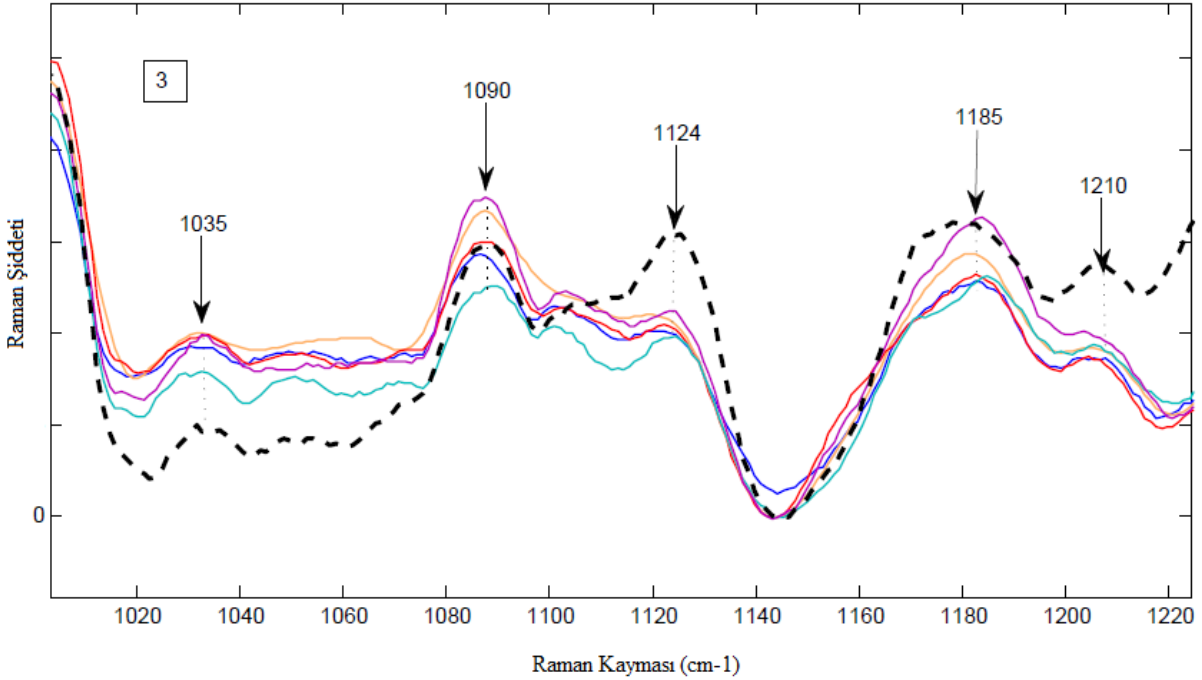
Şekil 6.25. Farklı tür uyuşturucu madde kullanan kişilere ait kanların SERS spektrumları.



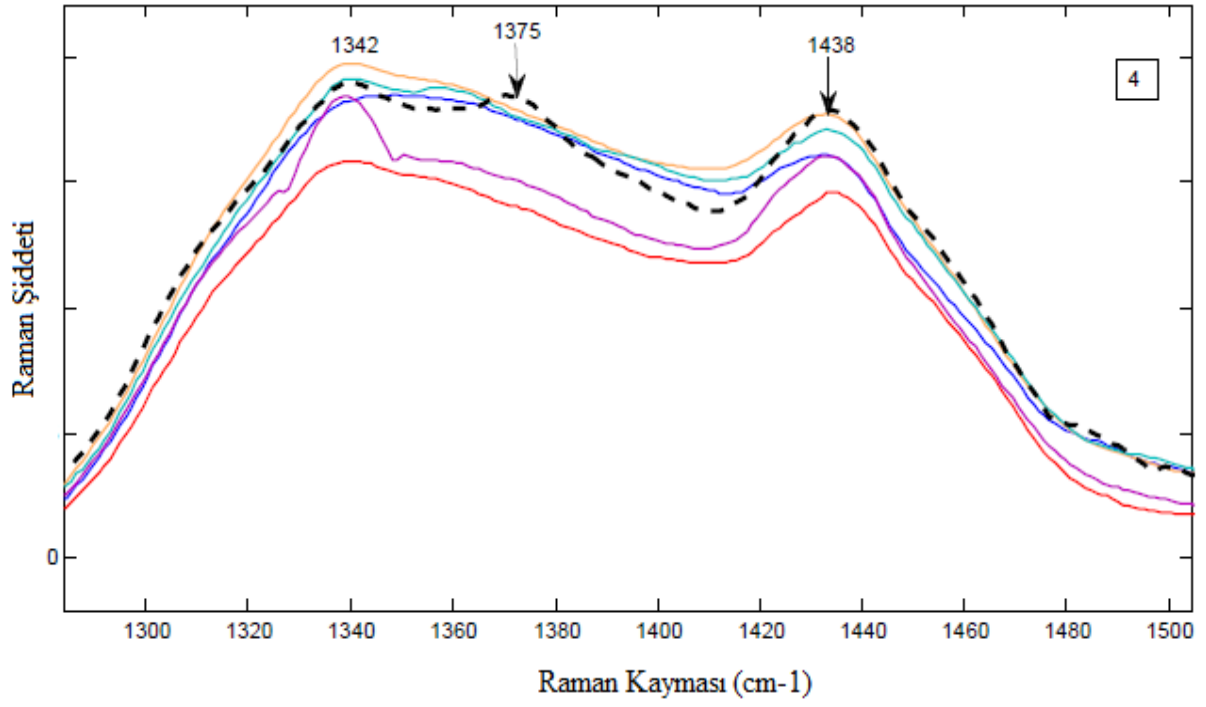
Şekil 6.26. Farklı tür uyuşturucu madde kullanan kişilere ait kanların spektrumlarının 600-800 cm⁻¹ arası bölgede incelenmesi.



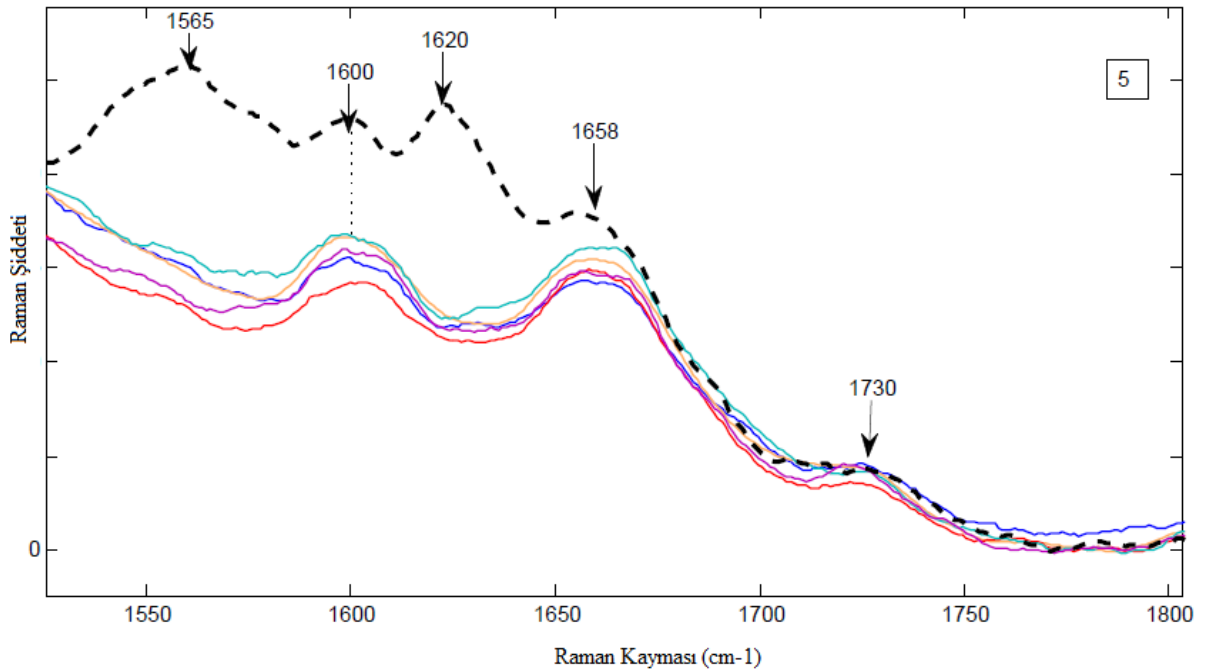
Şekil 6.27. Farklı tür uyuşturucu madde kullanan kişilere ait kanların spektrumlarının 800-1000 cm^{-1} arası bölgede incelenmesi.



Şekil 6.28. Farklı tür uyuşturucu madde kullanan kişilere ait kanların spektrumlarının 1000-1230 cm^{-1} arası bölgede incelenmesi.



Şekil 6.29. Farklı tür uyuşturucu madde kullanan kişilere ait kanların spektrumlarının 1250-1510 cm^{-1} arası bölgede incelenmesi.



Şekil 6.30. Farklı tür uyuşturucu madde kullanan kişilere ait kanların spektrumlarının 1510-1730 cm^{-1} arası bölgede incelenmesi.

Elde edilen spektrumlarda 600-800 cm^{-1} arası bölgeyi kapsayan kısım 1. bölge olarak alınmıştır (Şekil 6.25). Bu bölgede 610, 640, 700 cm^{-1} olan pikler bütün kanlarda aynı olduğu belirlenmiştir. Fakat 755 cm^{-1} 'de farklı bir pik elde edilmiştir. Elde edilen bu pik THC+ MDMA türü uyuşturucu madde kullanan kişiden alınan kan numunesinde farklılık göstermiştir. Diğer piklerin ise birbiriyle uyumlu olduğu görülmüştür (Şekil 6.26).

Elde edilen spektrumlarda 800-1000 cm^{-1} arası bölgeyi kapsayan kısım 2. bölge olarak alınmıştır (Şekil 6.25). Bu bölgedeki 839, 885, 932, 967, 1002 cm^{-1} 'de elde edilen piklerin tüm kanlar için uyumlu olduğu görülmüştür (Şekil 6.27).

Elde edilen spektrumlarda 1000-1230 cm^{-1} arası bölgeyi kapsayan kısım 3. bölge olarak alınmıştır (Şekil 6.25). Bu bölgedeki 1035, 1090, 1124, 1185 ve 1210 cm^{-1} 'de elde edilen piklerin tüm kanlar için uyumlu olduğu görülmüştür (Şekil 6.28).

Elde edilen spektrumlarda 1250-1510 cm^{-1} arası bölgeyi kapsayan kısım 4. bölge olarak alınmıştır (Şekil 6.25). Bu bölgedeki 1342 ve 1438 cm^{-1} 'de elde edilen piklerin tüm kanlar için uyumlu olduğu görülmüştür.

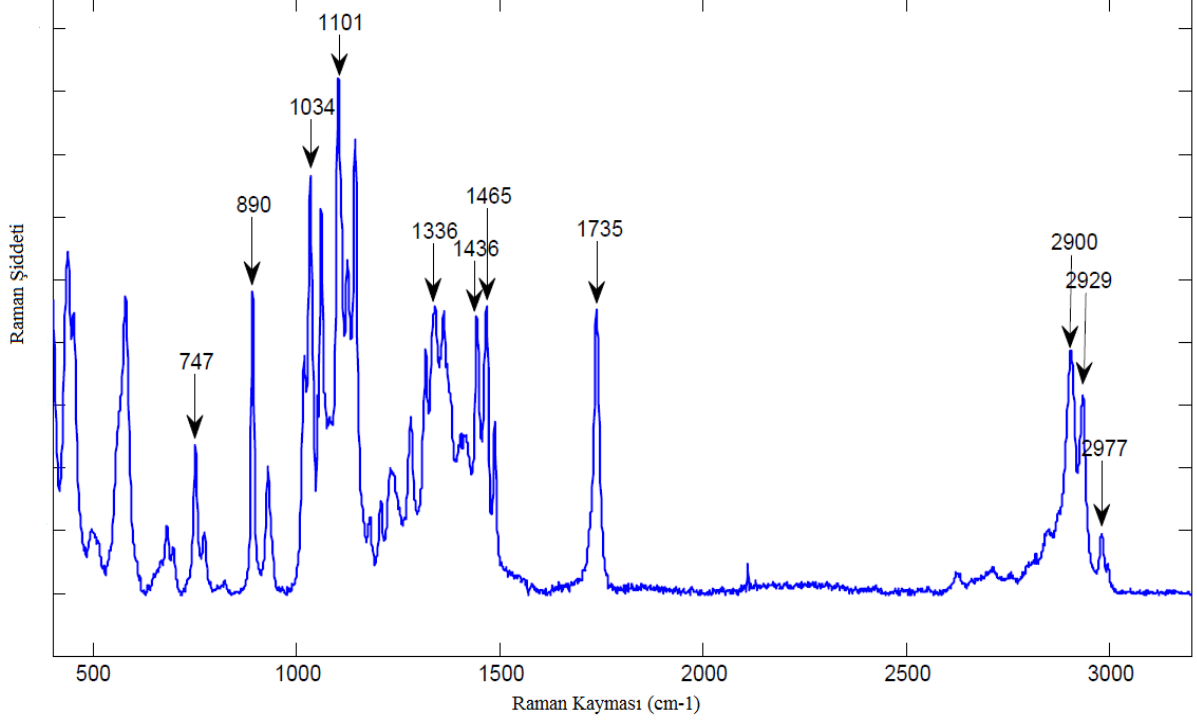
Fakat 1375 cm^{-1} 'de farklı bir pik elde edilmiştir. Elde edilen bu pik THC+ MDMA türü uyuşturucu madde kullanan kişiden alınan kan numunesinde farklılık göstermiştir. Diğer piklerin ise birbiriyle uyumlu olduğu görülmüştür (Şekil 6.29).

Elde edilen spektrumlarda 1510-1810 cm^{-1} arası bölgeyi kapsayan kısım 5. bölge olarak alınmıştır (Şekil 6.25). Bu bölgedeki 1600, 1658 ve 1730 cm^{-1} 'de elde edilen piklerin tüm kanlar için uyumlu olduğu görülmüştür.

Fakat 1620 ve 1565 cm^{-1} 'de farklı bir pik elde edilmiştir. Elde edilen bu pik THC+ MDMA türü uyuşturucu madde kullanan kişiden alınan kan numunesinde farklılık göstermiştir. Diğer piklerin ise birbiriyle uyumlu olduğu görülmüştür (Şekil 6.30).

6.4. EtG'nin Raman Spektroskopisi ve SERS Metodu İle İncelenmesi

Etanolün glukuronik asit ile konjugasyonu etil- β -D-glukuronid (EtG) faz II metabolitini üretir. Bu reaksiyon, üridin difosfat-glukoronil transferaz enzimleri tarafından katalizlenmektedir.



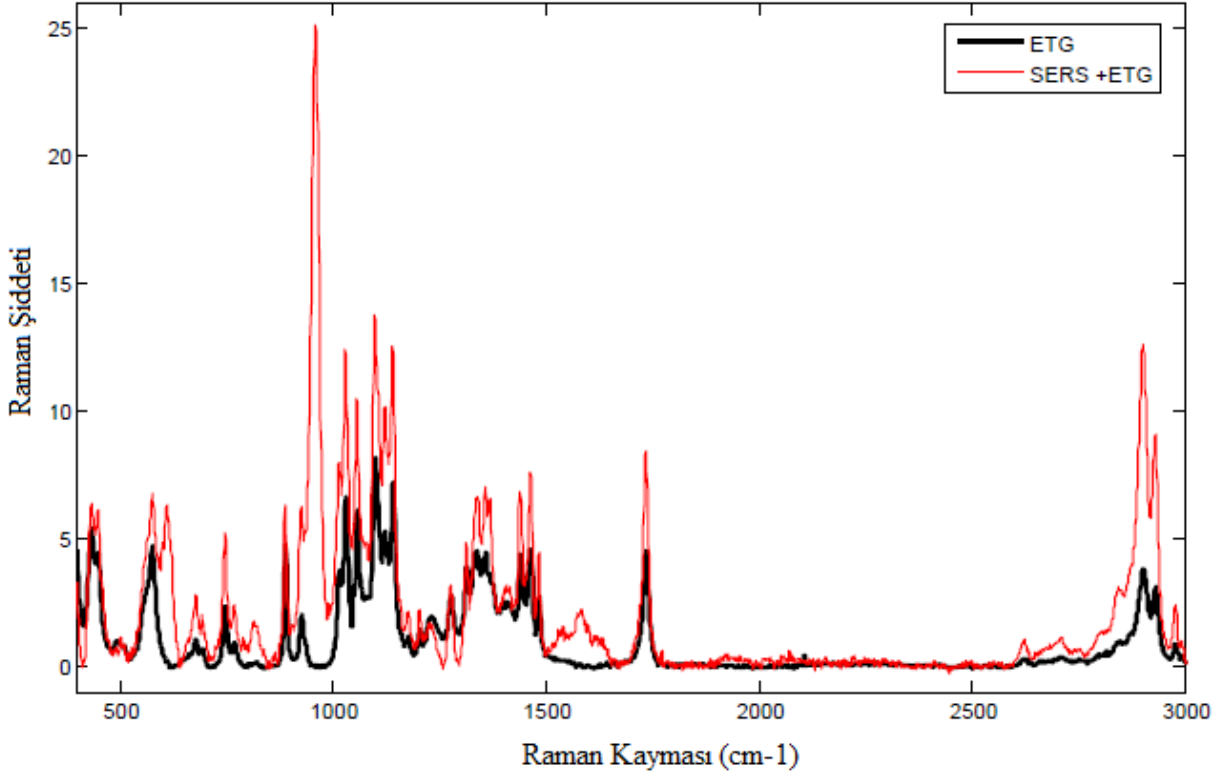
Şekil 6.31. EtG'nin Raman spektrumu.

Şekil 6.31'de EtG'nin normal Raman spektrumu gösterilmiştir. Bu bandların titreşimleri tek tek değerlendirildiğinde diğer çalışmalarla uyumlu olduğu bulunmuştur.

Yapılan bu çalışma sonucunda, 2900 ve 2977 cm^{-1} arasındaki bandlar EtG'nin C-H titreşimleri olarak kabul edilmektedir. Karboksilik asitten elde edilen karbonil grubunun bandı ise 1735 cm^{-1} 'de görülmektedir. 1436 ve 1465 cm^{-1} 'deki bandlar sırasıyla CH_2 ve CH_3 asimetrik titreşimler olarak kabul edilmektedir. Sırasıyla 890 ve 1101 cm^{-1} 'de C-O-C simetrik ve C-O-C asimetrik titreşimleri görülmektedir.

Şekil 6.32'de hem normal Raman hem de SERS metodu ile EtG'ye ait elde edilen spektrumlar gösterilmiştir.

EtG'nin normal Raman spektrumunda 890, 1101, 1436, 1465, 2900 ve 2977 cm^{-1} 'de pikler elde edilmiştir. Bu piklerin SERS metodu ile elde edilen spektrumunda da aynı olduğu bulunmuştur. SERS metodu ile elde edilen şiddetin daha güçlü olduğu fakat bu piklerde ki Raman kaymasının değişmediği görülmektedir. Bunun sebebi ise, AgNP'ların yüzeyde zenginleştirme meydana getirmesi ve bu sayede Raman saçılmalarının artmasına neden olmaktadır. Dolayısıyla, karışımlar içinde bulunan çok az miktarda maddenin SERS metodu ile ayrımının yapılabilir veya varlığı tespit edilebilir.



Şekil 6.32. EtG'nin normal Raman ve SERS spektrumları.

6.5. Kanda Etanol Miktarının ve EtG'nin Kısmi En Küçük Kareler Metodu (Partial Least Squares) İle Tayini

Alkol kullanan kişilerden alınan kan örnekleri hem AuNP'lar hem de AgNP'lar kullanılarak SERS spektrumları elde edilmiştir. SERS spektrumlarından elde edilen verilere, etanolün kantitatif tayini için uygun bir kemometrik metot kullanılmıştır. Bu nedenle etanolün miktar tayininde PLS metodu kullanılmıştır. Sınırlı sayıda veri bulunmasından dolayı çapraz geçerlik yöntemi uygulanmıştır.

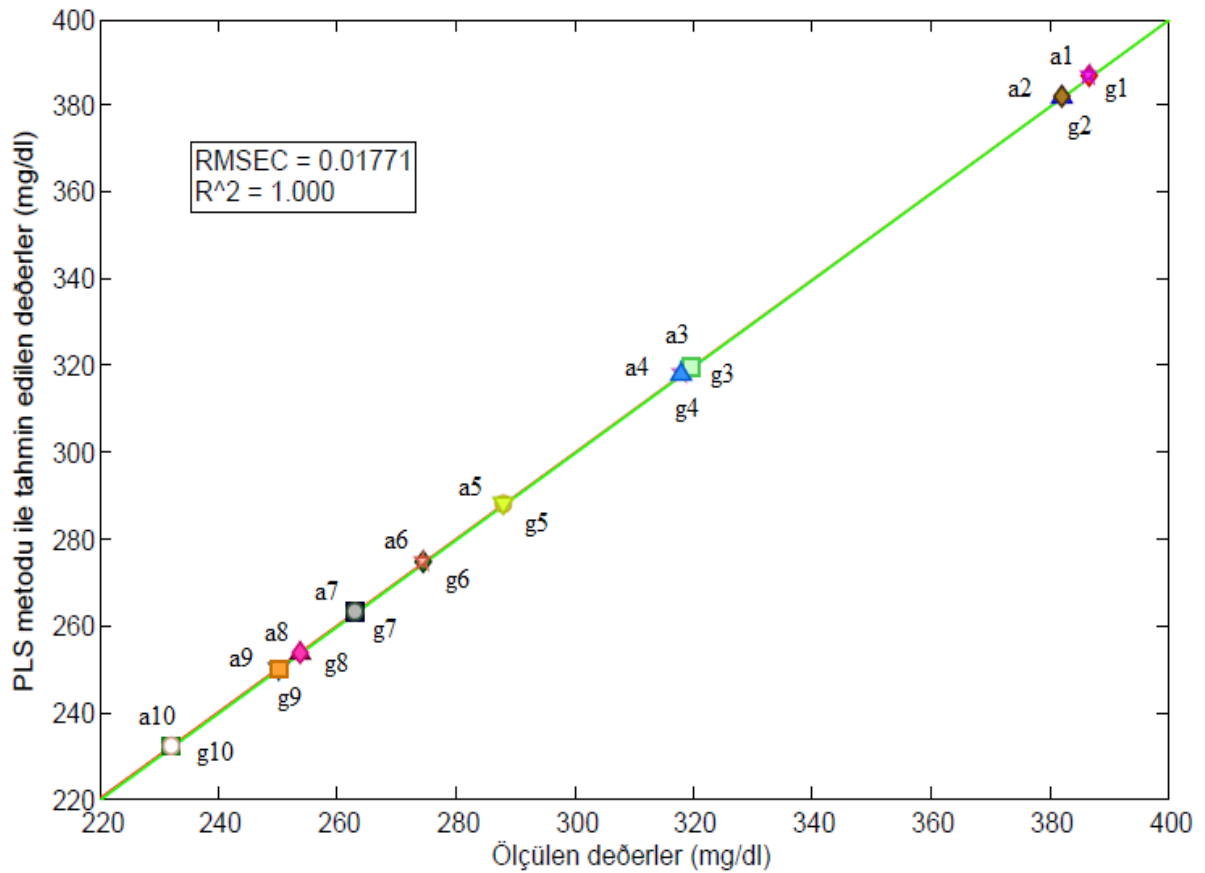
6.5.1. Kanda etanol miktarının tayini

Kanda etanol miktarının tayini için ilk olarak bir model oluşturulmuştur ve daha sonra kan örnekleri bu modelle incelenmiş ve etanol miktarı tespit edilmiştir. PLS modellerinin uyumluluk derecesi, 0 ile 1 arasında değişen R^2 değeri ile nitelendirildi. R^2 'nin 1.0 olması mükemmel bir korelasyonu temsil ederken, R^2 'nin 0.0 veya sıfıra yakın olması X değişkeni ile Y değişken matrisi arasında hiçbir korelasyon bulunmadığını belirtir. Oluşturulan bu modele göre, bilinen etanol miktarları ile PLS metodu ile tahmin edilen değerler arasında uyumlu bir korelasyon bulunmuştur (Şekil 6.33).

Aynı etanol miktarına sahip kan örnekleri AuNP ve AgNP'lar ile ayrı ayrı incelenmiştir. Sonuç olarak farklı nanoparçacıklarda kanda ki etanol miktarının değişmediği görülmüştür ($R^2=1$).

Oluşturulan bu modele göre etanol miktarı bilinen ve iyi bir korelasyon sağladığımız veriler kontrol grubu olarak alınmış ve etanolün olup olmadığı bilinmeyen kan örnekleri ise test grubu olarak alınmış ve oluşturulan PLS modeli uygulanmıştır.

AuNP'lar kullanılarak elde edilen SERS spektrumları AgNP'lar kullanılarak elde edilen SERS spektrumlarından daha şiddetli pik vermesine rağmen incelenen numunenin içeriğindeki araştırılan maddelerin miktarında bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir.

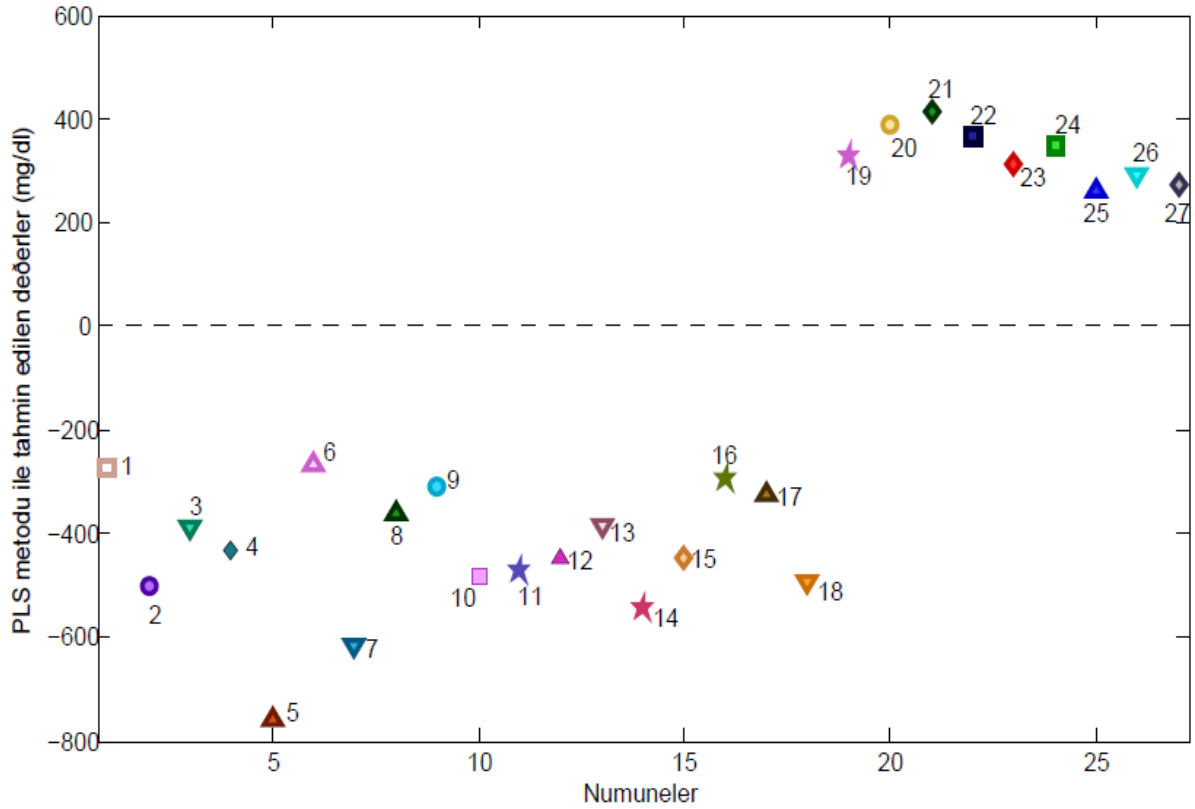


Şekil 6.33. PLS metodu ile elde edilen ait kalibrasyon eğrisi.

Elde edilen modelin test verisine uygulanması ile tahmin edilen etanol miktarları Şekil 6.34'te gösterilmiştir. Alkol kullanmayan 18, alkol kullandığı bilinen 9 olmak üzere toplam 27 kan örneğine ait veriler PLS modeli ile incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre verilerin sadece 9 tanesinde etanol miktarı tespit edilmiştir.

Etanol miktarı tayin edilen kanlar alkol kullandığı bilinen kişilerden alınan kan örneklerine ait olduğu görülmüştür (Şekil 6.34). Yani uygulanan model ile alkol kullanan kişilerin kanında etanol miktarı rahatlıkla saptanabilmektedir.

Sonuç olarak; SERS metodu ve elde edilen verilerin PLS yöntemi ile kantitatif analizlerinin sonucunun sensitif ve spesifik olduğu kanısındayız. Tıp özellikle de adli tıp laboratuvarlarında hızlı bir teknik olarak SERS metotları kullanılabilceği hatta rutin çalışmalar için de hızlı ve duyarlı bir yöntem olduğunu düşünmekteyiz.



Şekil 6.34. PLS metodu ile tahmin edilen etanol miktar tayini.

6.5.2. Kanda EtG'nin SERS metodu ve PLS metodu ile analizi

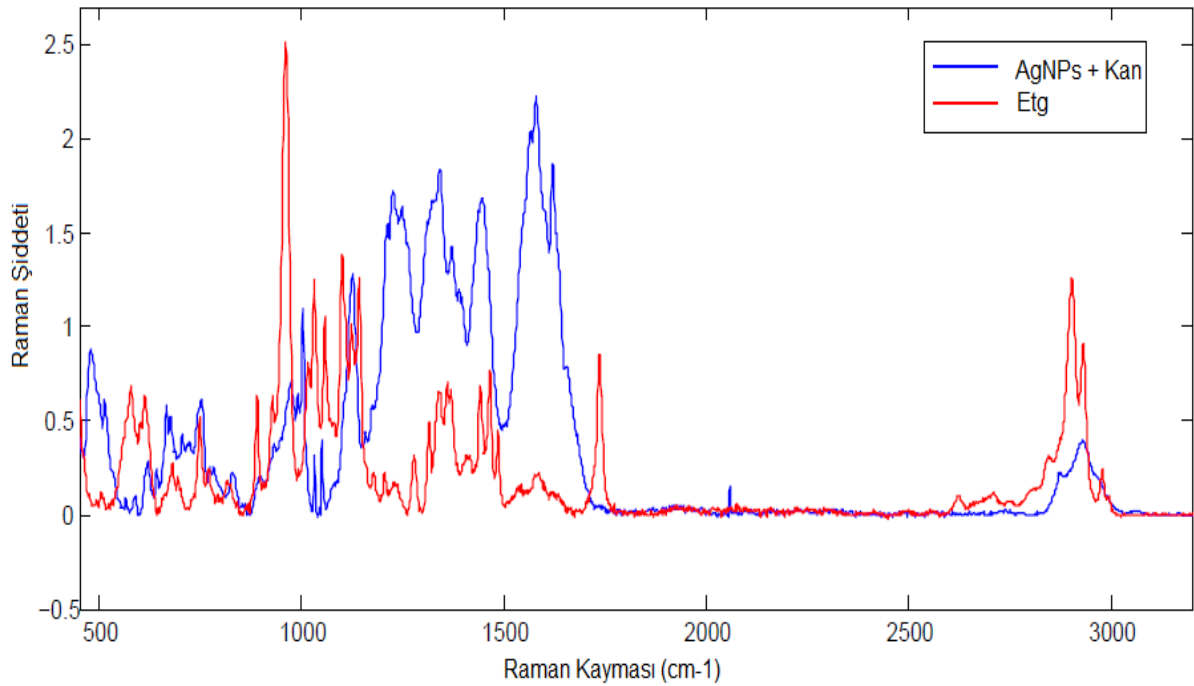
EtG, alkol alımının minör bir göstergesidir. Bundan dolayı; idrar, kan, gözyaşı gibi vücut sıvılarında EtG'nin belirlenmesine yönelik yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır.

Etanolün metabolize olmayan az miktarının serbest yağ asitleriyle glukurono konjügasyonu sonucunda EtG'nin oluştuğu ve kan, ter, idrar gibi vücut sıvılarıyla dışarı atıldığı bilinmektedir.

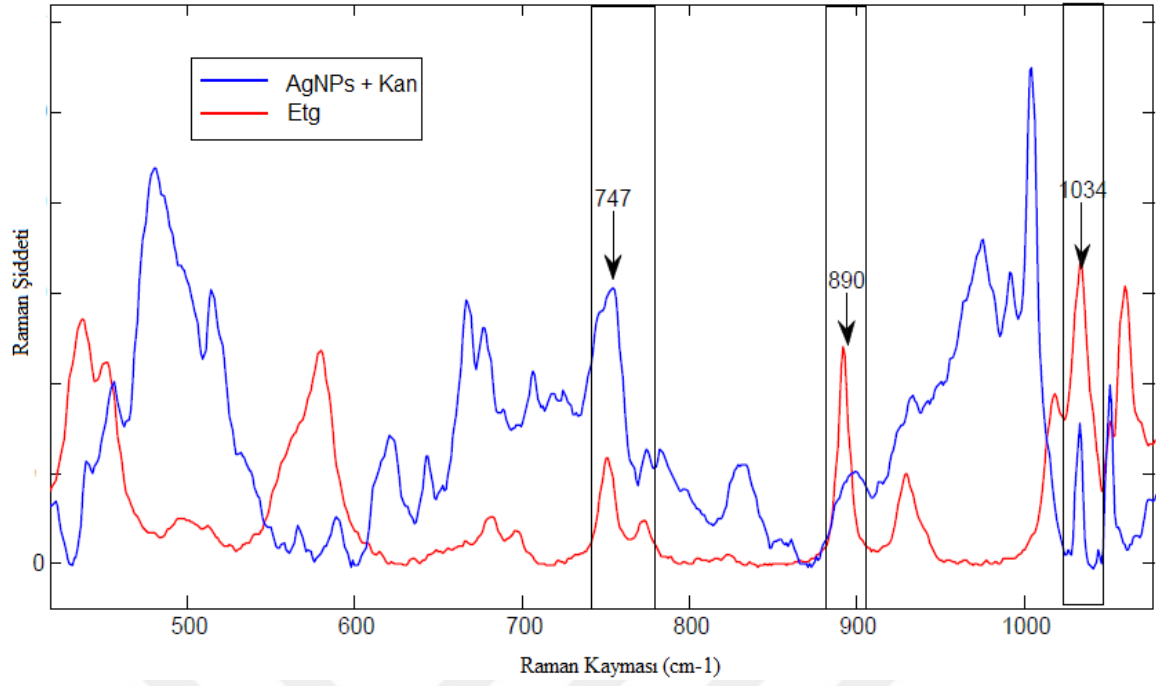
Çalışmamızda, alkol kullanan ve kanında etanol miktarı tespit edilen kişilerin kan örneklerinde alkol alımının bir belirteci olan EtG'nin Raman spektroskopisi ve SERS metodu ile tespit edilip edilemeyeceği araştırılmıştır.

EtG'nin analiz sonuçlarına göre, kanda EtG seviyesi ile alkol tüketimi arasında bir ilişkinin olduğu yapılan çalışmalarla da desteklenmiştir [74-77]. Yaptığımız çalışmada da alkol kullananlarda alkol alımının belirteci olan EtG seviyesi ile alkol tüketimi veya kandaki etanol miktarı arasında bir ilişkinin olduğu saptanmıştır. Yani, etanol seviyesine göre EtG seviyesinin de değiştiği gözlenmiştir.

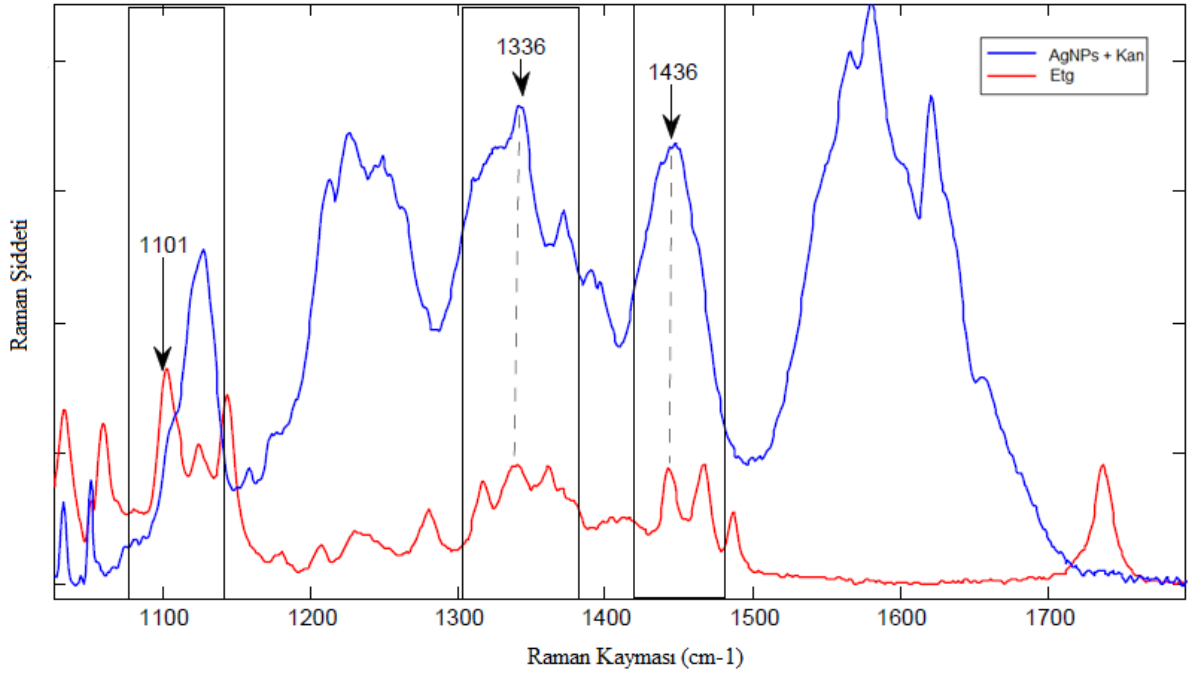
Alkol kullanan bir kişiden alınan kan örneğinde elde edilen SERS spektrumu ile EtG'nin Raman spektrumu Şekil 6.35'de gösterilmiştir. Şekil 6.35'de gösterilen iki spektrumun daha net analizinin yapılması ve alkol kullanan kişilerden alınan kan örneklerinde EtG'ye ait piklerin elde edilip edilemeyeceğini göstermek için spektrum iki ayrı bölgede incelenmiştir.



Şekil 6.35. Tam kanda elde edilen SERS spektrumu ile EtG'nin Raman spektrumunun karşılaştırılması.



Şekil 6.36. 400-1100 cm^{-1} arası spektral bölgede tam kanda elde edilen SERS spektrumu ile EtG'nin Raman spektrumunun karşılaştırılması.



Şekil 6.37. 1000-1800 cm^{-1} arası spektral bölgede tam kanda elde edilen SERS spektrumu ile EtG'nin Raman spektrumunun karşılaştırılması.

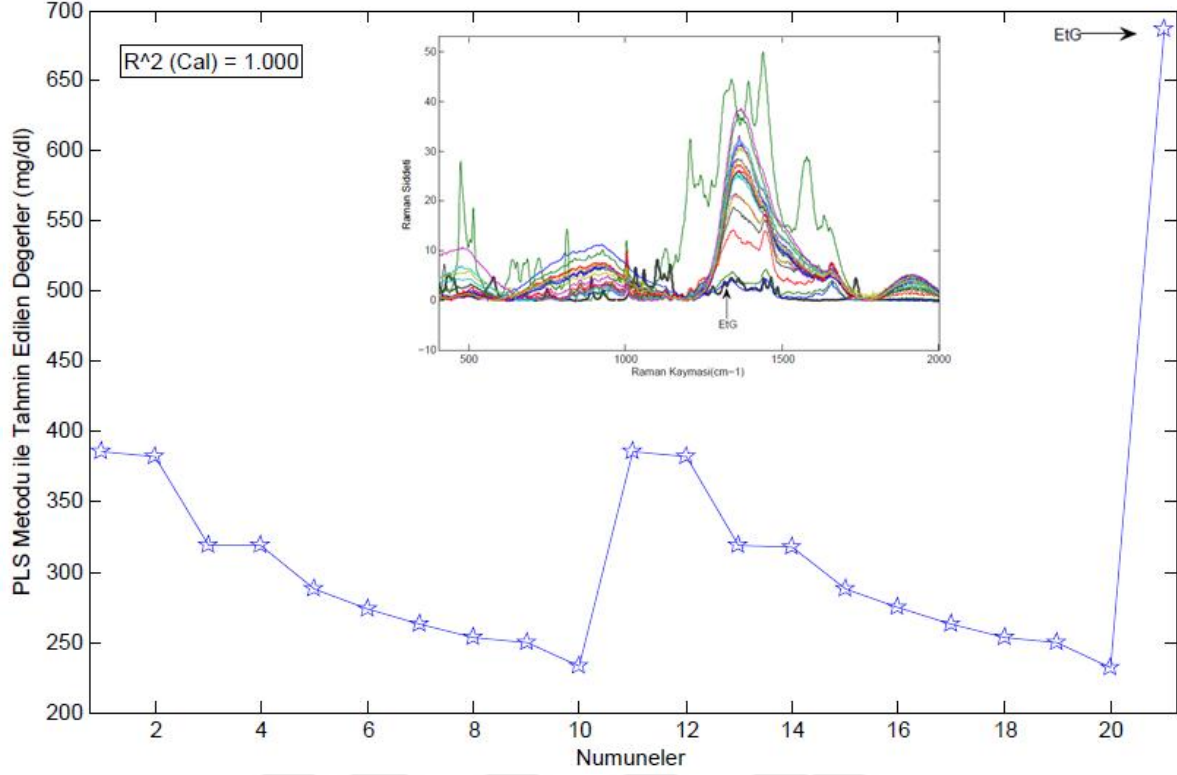
Şekil 6.36 ve Şekil 6.37’de görüldüğü gibi, iki ayrı bölgeye ait sırasıyla 747, 890, 1034, 1101, 1336 cm^{-1} ’deki piklerin aynı olduğu görülmüştür. Fakat Şekil 6.31’de gösterilen ve saf EtG için belirlediğimiz bazı piklere kan örneklerinde rastlanmadığı görülmüştür. Saf EtG’de karboksilik asitten elde edilen karbonil grubunun bandı ise 1735 cm^{-1} ’de görülürken etanol bulunan kanlarda bu pike rastlanmamıştır.

Çizelge 5.3’te belirtildiği gibi GC-MS metodu ile etanol miktarı belirlenen 10 tane kan örneğinin SERS spektrumlarının elde edilmesinde hem AuNP’lar hem de AgNP’lar ayrı ayrı kullanılmıştır. Analiz için 400-2000 cm^{-1} arasındaki bölge alınmıştır. PLS metoduna aktarılan ve kalibrasyonu yapılan kanlardaki EtG ve ayrıca saf EtG analizi yapılmıştır. Daha sonra test verisi eklenmiş ve EtG’nin analiz edilip edilmeyeceği araştırılmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlara göre kandaki etanol miktarlarıyla uyumlu olarak EtG oranı da kemometrik tekniklerle kantitatif olarak elde edilmiştir (Şekil 6.38).

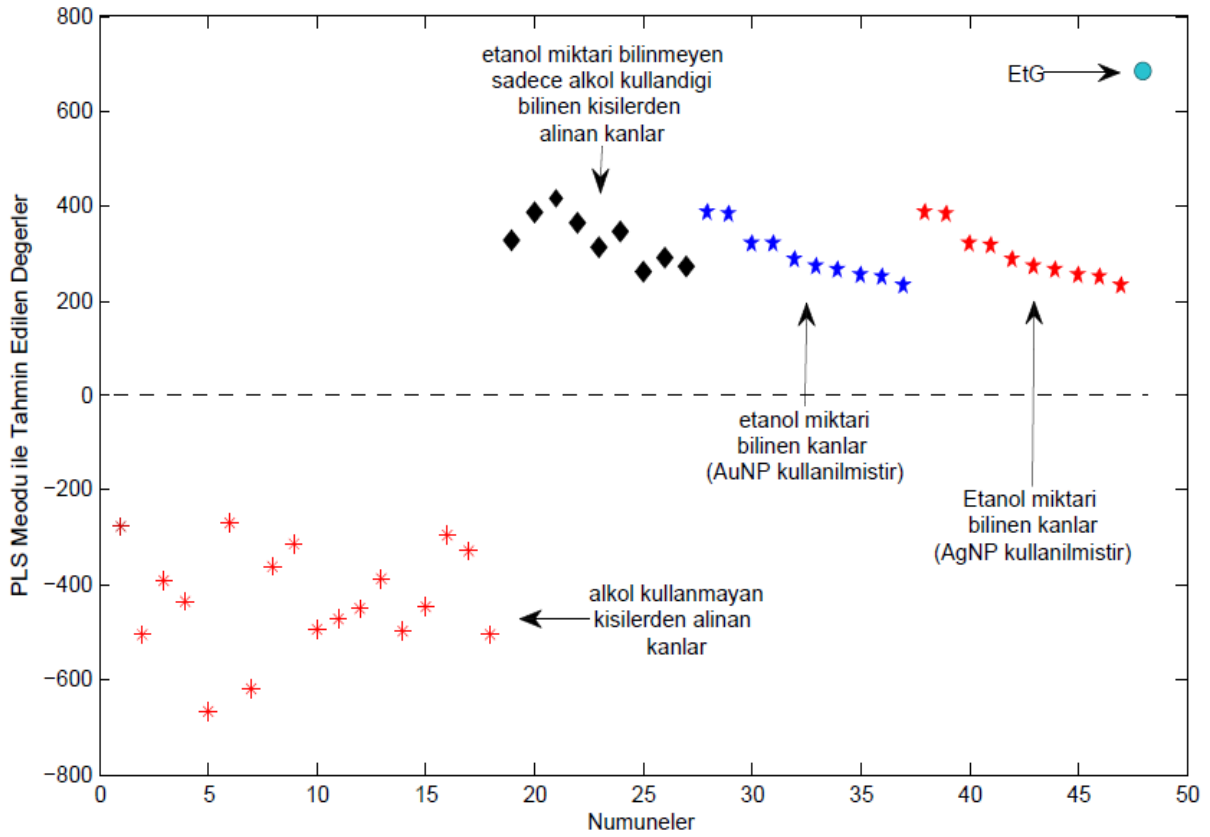
Aynı kanların kantitatif olarak analizi yapıldığında Au veya Ag nanoparçacık kullanılması sonucu değiştirmedeği gözlenmiştir. Uygun kemometrik analizin yapılması ile istenilen bileşik veya analit Raman spektroskopisi ile elde edilmiştir. Fakat Raman spektroskopisinde cihaza daha sonra eklediğimiz adli tıp kütüphanesindeki verilerle uyumlu olmadığı görülmüştür. Raman spektroskopisinden elde edilen referans bileşikler ile incelenen molekülün spektral desenine yakınlığı bu moleküle ait olup olmadığını garanti etmemektedir. Bundan dolayı spektrum analizi için karakteristik veya grup frekanslarının değerlendirilmesi gerekmektedir. Miktar tayininin yapılmasında ise uygun kemometrik tekniğin seçilmesi ve uygulanması oldukça önemlidir.

Alkol kullandığını bildiğimiz kişilerden alınan kanlar, etanol miktarı farklı bir cihazla belirlenen kanlar, alkol bulunmayan kanlar ve EtG arasındaki fark PLS metodu ile kolaylıkla elde edilebilmektedir (Şekil 6.39).

PLS modeli ile alkol kullanan ve kullanmayan toplam 47 kişinin kan örneği ile saf EtG’nin analizi yapılmıştır. Saf EtG miktarının oldukça yüksek olduğu bulunmuştur. Kanda ki EtG ile saf EtG karşılaştırıldığında ise aralarında bir uyumun olduğu ancak alkol alımına bağlı olarak EtG miktarının da değişebileceği gösterilmiştir. Ayrıca, aynı kanlar farklı nanoparçacık ile SERS spektrumları alındığında dahi EtG’nin belirlenen etanol miktarı ile orantılı olduğu gözlenmiştir. Yani EtG miktarı fazla olan kanda etanol miktarı da fazla olduğu bilinmektedir.



Şekil 6.38. PLS metodu ile alkol kullanan kişilerin kanlarındaki EtG'nin kantitatif analizi.

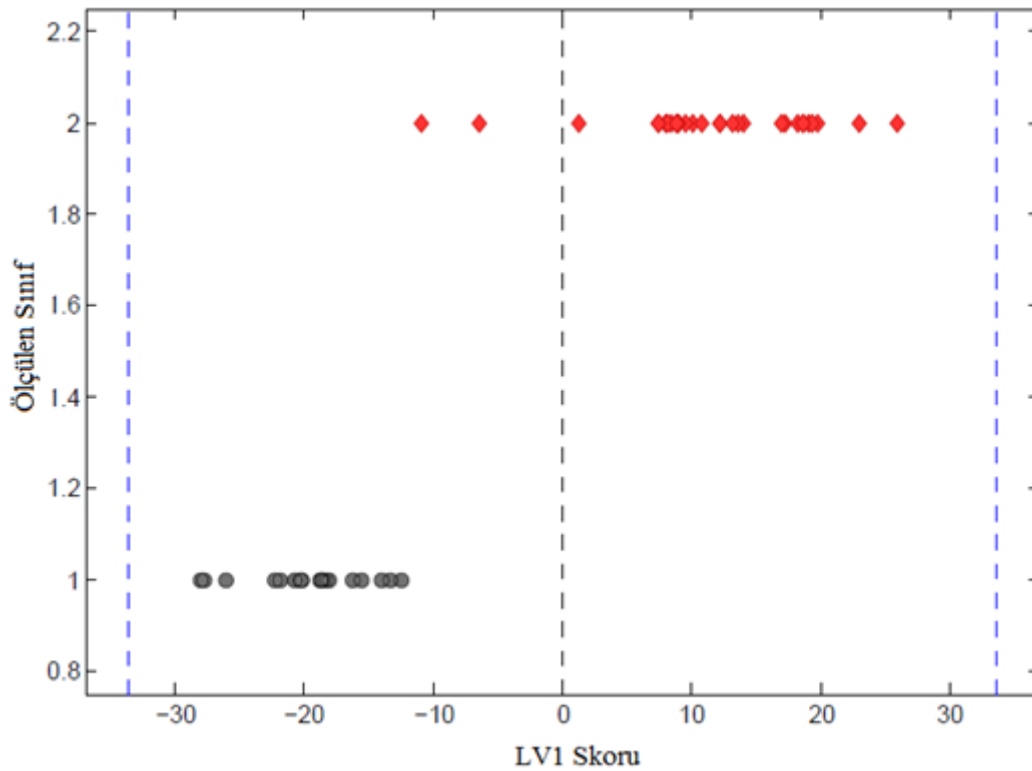


Şekil 6.39. PLS metodu ile etanol bulunan ve bulunmayan kan örneklerinde EtG analizi.

6.6. Kanda EtG'nin PLS-DA (Kısmi En Küçük Kareler-Diskriminant Analiz) Metodu İle Analizi

PLS-DA (Kısmi En Küçük Kareler -Diskriminant Analiz) metodu kemometride en iyi bilinen sınıflandırma yöntemlerinden biridir. EtG, alkol kullanan kişilerden alınan kan örnekleri ve alkol kullanmayanlardan alınan kan örnekleri PLS-DA metodu ile istatistiksel olarak analizi yapılmıştır. Alkol kullanan kişilerde EtG'nin pozitifliği veya bulunup bulunmadığının analizi için iki farklı sınıf elde oluşturuldu. PLS-DA sınıflandırma modeli için alkol kullananlar, kullanmayanlar olmak üzere iki sınıftan elde edilen veriler kullanılarak gerçekleştirildi. EtG'den elde edilen veriler bir test veri seti olarak kullanılmıştır.

Şekil 6.40'ta, CV (Çapraz geçerlik) metodu kullanılarak elde edilen kalibrasyon sonuçları gösterilmektedir. Kalibrasyon sonucuna göre, Gizli değişkene (Latent Variable) karşı öngörülen sınıfların planı, gerçekleştirilen filtrasyondan sonra elde edilen spektral veri değişkenliğinin seviyesini yansıtmaktadır. Raman spektrumlarının yüksek değişkenliği, numunelerin doğal heterojenliğini yansıtmaktadır. Kalibrasyon sonucu elde edilen parametreler Çizelge 6.3'te gösterilmiştir. Bu parametreler girdi olarak kullanılmış ve tüm kan örnekleri ve EtG'nin analizi yapılmıştır.



Şekil 6.40. Deneysel verilerin diskriminant analizi.

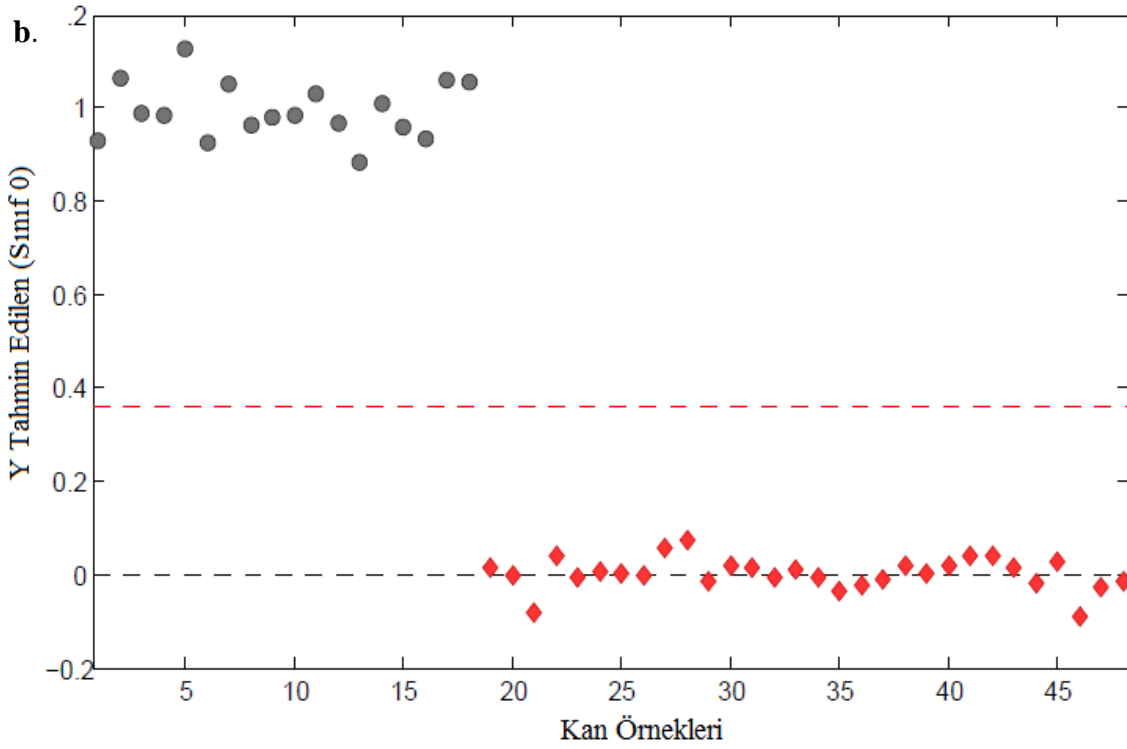
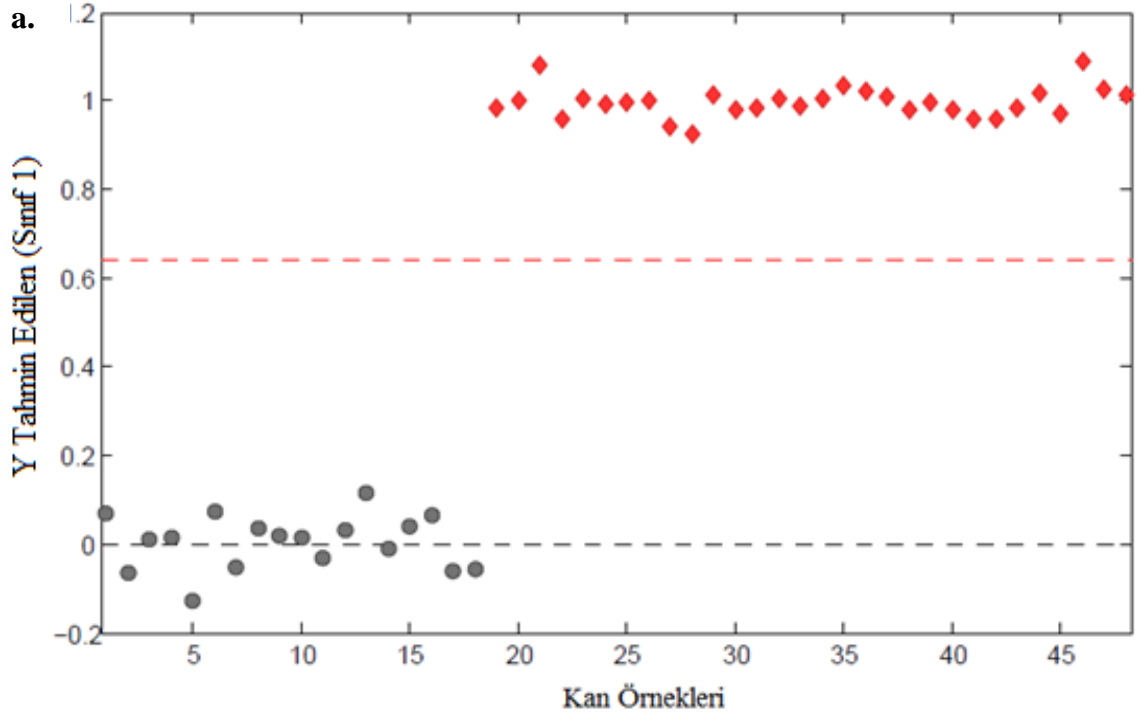
Çizelge 6.3. PLS-DA analizinden elde edilen parametreler.

Sınıflar	Sınıf 0 (Alkol kullanmayanlar)	Sınıf 1 (Alkol kullananlar)
Sensitivity (Cal)	1	1
Specificity (Cal)	1	1
Sensitivity (CV)	1	0.967
Specificity (CV)	0.967	1
RMSEC	0.0452	0.0452
RMSECV	0.1511	0.1511
R ² Cal	0.99	0.90

Şekil 6.41’de R² ve RMSE değerlerinin girdi olarak kullanılarak uygulanan PLS-DA analizinin sonuçları gösterilmektedir. Eşik (threshold) değeri, yanlış pozitiflerin ve yanlış negatiflerin sayısının en aza indirildiği Y-değerinde seçilmiştir. İki farklı sınıfa göre (EtG’nin bulunup bulunmadığı) analizi yapılan kan örneklerinde, uygulanan PLS-DA metodu ile Y eksenini yani diskriminant skorlarında yanlış sınıflandırma olmadığı görülmüştür.

Şekil 6.41’deki Y eksenini, belirli bir Raman spektrumunun öngörülen "sınıf değerleri" ya da bu spektrumun EtG miktarının belirlenebilme eğilimine karşılık gelmektedir. Yatay kırmızı kesikli çizgi, tahmini kan tanımlama eşliğidir. 1 değeri, bir spektrumun bir sınıfa (EtG) ait olduğunu ve 0 değeri ise olmadığını gösterir.

Şekil 6.41’de alkol kullananlardan elde edilen kan örnekleri ile EtG’nin birbirine yakın olduğu fakat alkol kullanmayanlardan alınan kan örneklerinin ise farklı olduğu gözlenmiştir. Yani, tüm kan örneklerinden alınan verilerin PLS-DA metodu ile doğru sınıflandırıldığı ve eşik çizgisine (kırmızıçizgi) yakın kan örneğinin bulunmadığı gözlemlenmiştir.



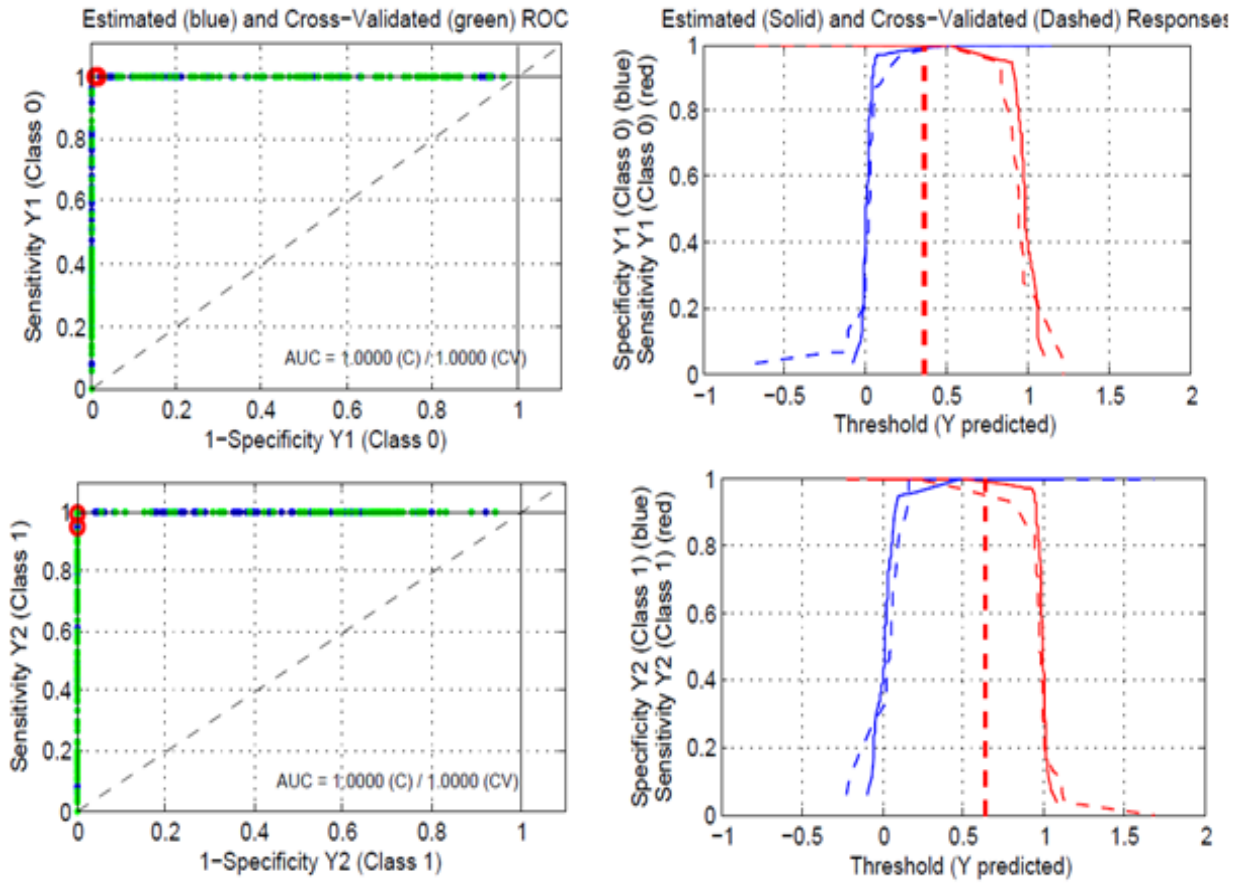
Şekil 6.41. Kan örneklerine ait istatistiksel değerlerin (R^2 , RMSEC, RMSECV) uygulanmasıyla tahmin edilen PLS-DA analizi. a. Alkol kullananlara göre (Sınıf 1), b. Alkol kullanmayanlara göre (Sınıf 0).

İşlem Karakteristik Eğrisi (ROC- Receiver Operating Characteristic Curve), farklı eşik değerleri için dikey eksen üzerinde doğru pozitifler (duyarlılık) ve yatay eksen üzerinde yanlış pozitiflerin (1-specificity) oranlarının yer aldığı bir eğridir. Şekil 6.42’de ROC eğrisi değerleri ile sınıflara ait elde edilen duyarlılık (sensitivity) ve 1-özgüllük (1-specificity) grafikleri gösterilmiştir.

Duyarlılık ve özgüllük, ROC eğrisinin tasarımına izin veren temel özelliklerdir. ROC eğrisine bakarak, en uygun eşik değeri (yani optimal sınıflandırma modeli) tanımlanabilir. Mümkün olan en iyi sınıflandırma yöntemi, ROC alanının sol üst köşesinde, maksimum duyarlılık ve özgüllüğü temsil eden bir nokta verirken, rastgele sınıflandırmada sol alttan sağ üst köşelere diyagonal çizgi boyunca noktalar verir.

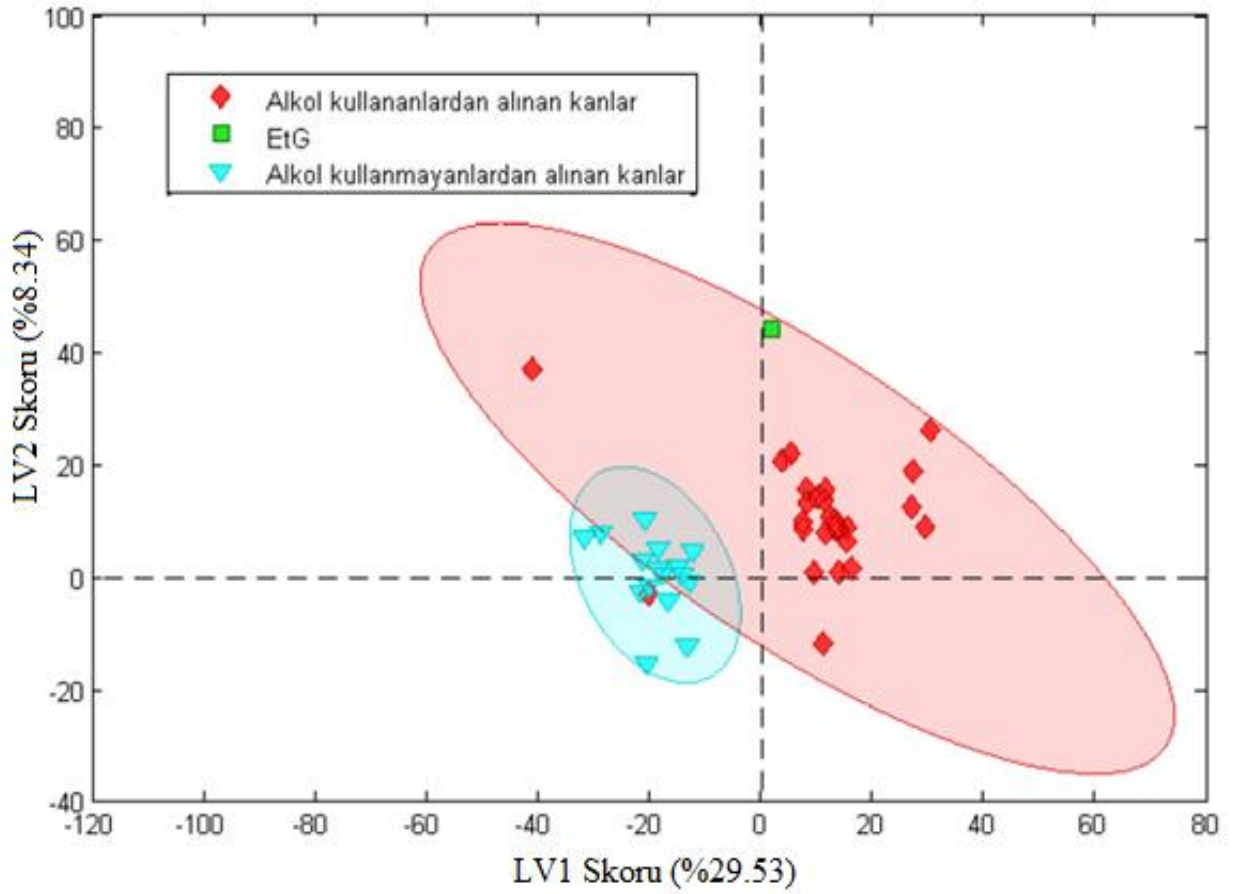
ROC eğrisi altındaki alan (AUC-Area Under Curve), seçilen kesim (cut off) değerinden bağımsız olarak model performansının önemli bir göstergesidir. Bir tanı testi için ROC eğrisi altında kalan alan, etkinlik düzeyine bağlı olarak 0.50 ile 1.00 arasında değerler alabilir. Bu değer büyüdükçe tanı testinin ayırt etme yeteneği artar. ROC'nin 1'e yakın olması sınıflandırmanın performansı o kadar iyi olur [136, 137]. Dolayısıyla, yaptığımız çalışmada elde edilen sonuçlara göre, ROC eğrisinde elde edilen değerler 1 ve 1'e yakın çıkmıştır.

ROC eğrisi altındaki alanlar (AUC) ise hem alkol kullanmayan hem de alkol kullananlardan oluşan farklı iki sınıf için 1 olarak bulunmuştur. Özellikle tıpta hastalıkların tahmini için kullanılan AUC değerinin 1.0 olması mükemmel tanı konulabilmesi için kullanılmaktadır. Dolayısıyla Raman spektroskopisindeki verileri PLS-DA metodu ile kanda EtG ve etanolün tespiti için kullanılmasının yanı sıra farklı hastalıkların tanısının yapılabilmesini de sağlayacaktır.



Şekil 6.42. Oluşturulan sınıflara ait PLS-DA ile elde edilen ROC eğrileri.

Uygulanan PLS-DA metodu ile farklı gizli değişkenler (LV) elde edilmiştir. Bu gizli değişkenler ile elde edilen iki boyutlu şekil incelendiğinde EtG ile alkol kullanan kişilerden alınan kan örneklerinin aynı kümede yer aldığı, alkol kullanmayanlardan alınan kan örneklerinin EtG'nin bulunmadığı ayrı bir kümede olduğu gözlenmiştir. Bu ayrımın en iyi gözlendiği gizli değişkenlerin oranı sırasıyla % 29.53 ve % 8.34 olarak bulunmuştur (Şekil 6.43). Dolayısıyla, PLS-DA metodu ile kanda EtG'nin bulunup bulunmadığı kolaylıkla elde edilmektedir.



Şekil 6.43. PLS-DA metodu ile elde edilen LV skorları.

7. SONUÇ VE ÖNERİLER

Moleküllerin titreşim spektrumlarından tanımlanması için en uygun araç olan spektral veri tabanlarıdır. Bu veri tabanlarından farklı olarak Raman spektroskopisinin kendine ait bilinmeyen spektruma rakamsal olarak çok yakın eşleşen referans bileşiklerini listelemesi söz konusudur. Fakat Raman spektroskopisinden elde edilen referans bileşiklerin incelenen molekülün spektral desenine yakın olması, bu moleküle ait olduğunu garanti etmemesinden dolayı karakteristik veya grup frekanslarının değerlendirilmesi gerekmektedir.

Zayıf Raman sinyallerinden dolayı düşük hassasiyet ve yabancı maddeler veya renkli ambalaj malzemesi nedeniyle oluşan kuvvetli floresans oluşmaktadır. Bu sorunların yapılan çalışmalara engel olmaması için, SERS metodu ve 785 nm dalga boylu lazer kullanılarak aşılmıştır. Raman spektroskopisi ve SERS metodu, biyolojik sistemlerin analiz edilmesi bakımından oldukça güçlüdür. Adli Bilimlerin yanı sıra çeşitli tıp uygulamalarında etkili ve çok yönlü analitik bir teknik olduğu kanıtlanmıştır. Biyolojik sıvılarda, organik ve inorganik bileşiklerin varlığının tespitinde, insana ait dokuların kimyasal bileşimlerinde, kan metabolitlerinin ve tedavi edici ilaçların kimyasal ölçümlerinde, klinik tanı ve biyolojik örneklerin kalitatif ve kantitatif analizi ve daha birçok çalışmada kullanılmaktadır. Bazı numunelerin incelenmesinde tek başına Raman spektroskopisi yeterli olmadığı veya elde edilen Raman piklerinin zayıf olduğu durumda ise SERS metodunun uygulanması ile daha net sonuçlar elde edilmektedir.

Raman spektroskopisi kullanılarak yapılan kalitatif tayinler, kemometri kullanılmadan yapılabilmektedir. Klasik olarak, veri analizi, nitelenmesi gereken fonksiyonel grup hakkında bilgi içeren bilinen değişkenler üzerinde gerçekleştirilir. Ancak, spektral bilgi mevcut olduğunda kemometri kullanmak son derece avantajlıdır. PLS metodu, karışımlarda bulunan bileşenlerin miktar tayininde orijinal kalibrasyon yöntemiyle elde edilmesinde ve karışımlarda bulunan ve numunede spektrum yoluyla belirlenebilen bileşenlerin miktar tayininde kullanılmaktadır. Bu bileşenlere uygun olarak bir lineer regresyon eğrisi elde edilmektedir. Birçok metoda göre spektral kantitatif analizlerde tahmin gücü oldukça yüksektir. Ancak, PLS'nin bileşenlerin konsantrasyonlarına göre elde edilen doğrusallıktan uzaklaşmaları nedeniyle anlaşılması ve yorumlanmasını zordur. Bu nedenle rutin dışında yapılan bilimsel çalışmalarda kullanılması ve yorumlanması oldukça önemlidir. Yapılan tez çalışmasında, alkol kullanan kişilerden alınan kan örnekleri hem AuNP hem de AgNP'lar kullanılarak SERS spektrumları elde edilmiştir. AuNP'lar kullanılarak elde edilen Raman spektrumları

AgNP'lar kullanılarak elde edilen Raman spektrumlarından daha şiddetli pik verdiği görülmektedir. Fakat incelenen numunenin içeriğinde araştırılan maddelerin miktarında bir değişiklik herhangi bir değişiklik meydana getirmemiştir. Bu durum Raman spektroskopisi özellikle SERS metodu ile yapılan incelemelerde büyük bir avantaj sağlamaktadır.

Yaptığımız çalışmada, kan örneklerinde etanol miktarı ve EtG'nin pozitifliği, Raman spektroskopisi ile kemometrik metotlar kullanılarak ilk kez bulunmuştur. Ayrıca, EtG'nde hem Raman hem de SERS metoduyla analizinin ilk kez yapılması ve alkol alımına bağlı olarak kandaki etanol miktarıyla ilişkili olarak değişebileceğinin gösterilmesi bakımından da önem taşımaktadır. Literatüre baktığımızda, etanol ve EtG'ye ait Raman spektroskopisi ile yapılmış çalışma bulunmamaktadır. Yaptığımız çalışma, Raman spektroskopisinden elde edilen verilerin uygun bir kemometrik yöntem ile analizi sonucu özellikle etanol tespit edilen kan örneklerinde EtG'nde yüksek bir özgüllük ve duyarlılık ile tespit edilmesi bakımından da ayrı bir önem taşımaktadır. Özellikle, Türkiye'de adli tıp laboratuvarlarında Raman spektroskopisi yaygın olarak kullanılmamaktadır. Hızlı, tahribatsız analiz sağladığından dolayı Raman spektroskopisinin yaygın olarak kullanılması avantaj sağlayacaktır. Ayrıca taşınabilir Raman spektroskopilerinin alınması ve adli tıp kütüphanesindeki verilerle desteklenmesi de olay yerinde delillerin hemen analiz edilmesini sağlayacaktır. Alkol kullanan kişilerin kanlarında EtG'nin varlığının araştırılması ile birlikte idrarda da varlığının desteklenmesi ile daha kesin sonuçların elde edilebileceği kanısındayız.

Boğma Rakıda bulunan etanol ve metanolün değişimi ve miktarı, Raman spektroskopisinden elde edilen veriler ve PLS yöntemi yardımıyla ölçülebilirliği gösterilmiştir. Yakın gelecekte gıda kontrolünde yasadışı alkol belirlenmesinde Raman spektroskopisinin önemli bir rol oynayacağını umuyoruz. Özellikle kaçak üretilen rakılardan alınan numunelerin laboratuvarında incelenmesi ve sonuçların elde edilmesi yerine, olay yerinde analizinin hemen yapılabilmesi de büyük bir avantaj sağlayacaktır.

Tıbbi laboratuvarlarda, tam kan, serum ve idrar gibi biyolojik sıvılarda etanolün tespiti ve miktar ölçümü için hızlı ve güvenilir metotlara ihtiyaç duymaktadır. Alkolün tükürük, idrar ve kan serumu gibi biyolojik sıvılarda algılanması, alkollü içki tüketimi, toksikoloji ve adli bilimlerle ilgili önemli bir görev oluşturmaktadır. Özellikle, GC veya GC-MS, en yaygın kullanılan ve doğru sonuçlar elde edilen tekniklerdir. Fakat yüksek maliyet ve uzman personel gerektirmesi gibi dezavantajları bulunmaktadır. Dolayısıyla, Raman spektroskopisi ve SERS metodu ilerleyen teknoloji çağına uygun olarak oldukça hızlı ve spesifik olduğu için tıp özellikle adli tıp alanlarında kullanılmasının önemli olacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

- [1] Das, R. S., & Agrawal, Y.K. Raman spectroscopy: Recent advancements, techniques and applications. *Vibrational Spectroscopy*, 57, 163– 176 (2011).
- [2] Triplett, J.S., Hatfield, J.A, Kaeff, T.L., Ramsey, C.R., Robinson, S.D., & Standifer, A.F. Raman spectroscopy as a simple, rapid, nondestructive screening test for methamphetamine in clandestine laboratory liquids. *Journal of Forensic Sciences*, 58(6), 1607–14 (2013).
- [3] Grasselli, J. *Chemical Applications of Raman Spectroscopy*, John Wiley & Sons, New York, 1981.
- [4] Virkler, K., & Lednev, I.K. Analysis of body fluids for forensic purposes: From laboratory testing to non-destructive rapid confirmatory identification at a crime scene. *Forensic Science International*, 188,1–17 (2009).
- [5] Koç, S., & Biçer, Ü. (Editörler: Koç, S., Can, M.) Birinci Basamakta ADLİ TIP http://www.istabip.org.tr/dosyalar/adli_tip.pdf. s.1 (2009).
- [6] Zapata, F., Gregório, I., & García-Ruiz, C. Body Fluids and Spectroscopic Techniques in Forensics: A Perfect Match? *Journal of Forensic Medicine*, 1,1(2015).
- [7] Sikirzhyskaya, A., Sikirzhyski, V., McLaughlin, G., & Lednev, I.K. Forensic Identification of Blood in the Presence of Contaminations Using Raman Microspectroscopy Coupled with Advanced Statistics: Effect of Sand, Dust, and Soil. *Journal Forensic Sciences*. 58 (5),1141-1148 (2013).
- [8] Sikirzhyski, V., Virkler, K., & Lednev, I.K. Discriminant Analysis of Raman Spectra for Body Fluid Identification for Forensic Purposes. *Sensors*, 10, 2869-2884 (2010).
- [9] An, J.H., Shin, K.J., Yang, W.I., & Lee H.Y. Body fluid identification in forensics. *BMB Reports*, 45 (10) , 545-553 (2012).
- [10] Yayatürk, A. E., Ertaş, H., Akgür, S. A., & Ertaş, F. N. Kötüye Kullanılan Maddelerin Analizi. (Editörler Akgür, S. A., Coşkunol, H.). Ege Üniversitesi Basımevi, s. 211-236 (2014).
- [11] Chalmers, J.M., Edwards, H.G.M., & Hargreaves, M.D. *Infrared and Raman Spectroscopy in Forensic Science*, First Edition. (Editors: Chalmers, J. M., Edwards, H.G.M., & Hargreaves, M. D.) John Wiley & Sons, Ltd. Sayfa: 6 (2012).
- [12] Tan, K.S., & Cheong, K.Y. Advances of Ag, Cu, and Ag–Cu alloy nanoparticles synthesized via chemical reduction route. *Journal of Nanoparticle Research*, 15, 1537 (2013).
- [13] Eustis, S., & El-Sayed, M. A. Why gold nanoparticles are more precious than pretty gold: Noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes. *Chemical Society Reviews*. 35, 209–217 (2006).

- [14] Sharma, B., M. Cardinal, F., Kleinman, S. L., Greeneltch, N.G., Frontiera, R.R., Blaber, M.G., Schatz G.C., & Duyne, R.P.V. High-performance SERS substrates: Advances and challenges. *Mrs Bulletin*, 38, 615-624 (2013).
- [15] Smith, W.E. & Dent, G. *Modern Raman Spectroscopy – A Practical Approach*. Chapter 1: Introduction, Basic Theory and Principles. John Wiley & Sons, Ltd ISBNs: 0-471-49668-5 (HB); 0-471-49794-0 (2005).
- [16] Sikirzhyski, V., Sikirzhyskaya, A., & Lednev I.K. Multidimensional Raman spectroscopic signatures as a tool for forensic Identification of body fluid traces: a review. *Applied spectroscopy*, 65, 1223-1232 (2011).
- [17] Boyd, S., Bertino, M.F., & Seashols, S.J. Raman spectroscopy of blood samples for forensic applications. *Forensic Science International*, 208, 124–128 (2011).
- [18] West, M. J. & Went, M. J. Detection of drugs of abuse by Raman spectroscopy. *Drug Test. Analysis*, 3, 532–538 (2011).
- [19] Zhang, Y., Hong, H., & Cai, W. Imaging with Raman Spectroscopy. *Curr Pharm Biotechnol*, 11(6), 654–661 (2010).
- [20] Stuart, B. *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. Chapter 3: Spectral Analysis John Wiley & Sons, Ltd ISBNs: 0-470-85427-8 (HB); 0-470-85428-6 (2004).
- [21] Xie, W., Qiu, P., & Mao, C. Bio-imaging, detection and analysis by using nanostructures as SERS substrates. *J Mater Chem*, 21(14), 5190–5202 (2011).
- [22] Ferraro, J.R., Nakamoto, K., & Brown, C.W. *Introductory Raman Spectroscopy*, Second edition, Elsevier (2003).
- [23] Kumar, C.S.S.R. *Raman Spectroscopy for Nanomaterials Characterization*. 553-586. Springer-Verlag Berlin Heidelberg (2012).
- [24] Izake, E.L. Forensic and homeland security applications of modern portable Raman spectroscopy. *Forensic Science International*, 202, 1–8 (2010).
- [25] Thompson, T. Fundamental Raman spectroscopy. *Laser Focus World: Editorial Digest*. 1-16, Technical Note.
- [26] McCreery, R.L. *Raman Spectroscopy for Chemical Analysis*, 3rd ed., Wiley, New York: (2000).
- [27] Kılıç, E., Köseoğlu, F., & Yılmaz, H. *Enstrümantal Analiz İlkeleri*, Bilim Yayıncılık, Ankara, (1998).
- [28] Haynes, C.L., McFarland, A.D., & Duyne, R.P.V. Surface Enhanced Raman Spectroscopy. *Analytical Chemistry*, 338-346, (2005).
- [29] Smekal, A. Zur quantentheorie der dispersion. *Naturwiss*, 11: 873-875 (1923).
- [30] Raman, C.V. & Krishnan, K.S.A new type of secondary radiation. *Nature*, 121:501-502 (1928).

- [31] Ball, D.W. *Spectroscopy*, 16 (2), 28–30 (2001).
- [32] Braz A., Lopez-Lopez, M., & Garcí'a-Ruiz C. Raman spectroscopy for forensic analysis of inks in questioned documents. *Forensic Science International*, 232, 206–212 (2013).
- [33] Lam, T.A. New Era in Affordable Raman Spectroscopy. *Raman Technology For Today's Spectroscopists*, 30-37 (2004).
- [34] McCreery, R.L. *Raman Spectroscopy for Chemical Analysis*. Copyright John Wiley & Sons, Inc. ISBN: 0-471-25287-5 (2000).
- [35] Schrader, B. *Infrared and Raman Spectroscopy*, VCH, 1995, ISBN:3-527-26446-9
- [36] Fleischmann, M., Hendra, P.J., McQuillan, A.J. Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode. *Chem Phys Lett*, 26,163–166 (1974).
- [37] Jeanmaire, D. L., Duyne R. P. V. J. *Electroanal. Chem.* 84, 1 (1977).
- [38] Albrecht, M.G., Creighton, J.A. *J. Am. Chem. Soc.* 99, 5215 (1977).
- [39] Schlücker, S. *Surface-Enhanced Raman Spectroscopy: Concepts and Chemical Applications*. *Angew. Chem. Int. Ed.* 53, 4756 – 4795 (2014).
- [40] Cho, E. C., Zhang, Q., & Xia, Y. The effect of sedimentation and diffusion on cellular uptake of gold nanoparticles. *Nature Nanotechnology* 6, 385–391 (2011).
- [41] Laserna, J.J. Combining fingerprinting capability with trace analytical detection: surface-enhanced Raman spectrometry, *Anal. Chim. Acta*, 283, 607 (1993).
- [42] Moskovits, M. Surface-enhanced spectroscopy. *Rev. Mod. Phys.* 57, 783 (1985).
- [43] Tsvetkov M. Y., Khlebtsov B. N., Khanadeev V. A., Bagratashvili V. N., Timashev P. S., Samoylovich, M.I., & Khlebtsov, N.G. SERS substrates formed by gold nanorods deposited on colloidal silica films. *Nanoscale Research Letters*, 8, 250 (2013).
- [44] Fan, M., Andrade, G.F.S., & Brolo, A.G. A review on the fabrication of substrates for surface enhanced Raman spectroscopy and their applications in analytical chemistry *Anal. Chim. Acta* 693:7–25 (2011).
- [45] Garcia, M.A. Surface plasmons in metallic nanoparticles: fundamentals and applications. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 44, 283001–283042 (2011).
- [46] Creighton, J.A. (1988) In: *Spectroscopy of Surfaces*, Clark RJH, Hester RE (eds). Wiley, p 37 in B. Schrader, *Infrared and Raman Spectroscopy*, VCH, 1995, ISBN:3-527-26446-9.
- [47] Kneipp, K., Moskovits, M., & Kneipp, H. (Eds.). *Surface-Enhanced Raman Scattering – Physics and Applications*, © Springer-Verlag Berlin Heidelberg (2006).
- [48] Smitha, S.L., Nissamudeen, K.M., Philip, D., & Gopchandran, K.G. Studies on surface plasmon resonance and photoluminescence of silver nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A*, 71, 186–190 (2008).

- [49] Madhumitha, G., & Roopan, S.M. Devastated Crops: Multifunctional Efficacy for the Production of Nanoparticles. *Journal of Nanomaterials*, 1-12, (2013).
- [50] Curri, M.L., Comparelli, R., Striccolia, M., & Agostiano, A. Emerging methods for fabricating functional structures by patterning and assembling engineered nanocrystals. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 12, 11197-11207 (2010).
- [51] Shenhar, R., & Rotello, V.M. Nanoparticles: Scaffolds and Building Blocks. *Acc. Chem. Res.*, 36, 549–561 (2003).
- [52] Schmid, G. Large clusters and colloids. Metals in the embryonic state,” *Chemical Reviews*, 92 (8), 1709–1727 (1992).
- [53] Israelsen, N. D., Hanson, C., & Vargis, E. Nanoparticle Properties and Synthesis Effects on Surface-Enhanced Raman Scattering Enhancement Factor: An Introduction. *Scientific World Journal*. 1-12 (2014).
- [54] Li, K., Jia, X., Tang, A., Zhu, X., Meng, H., & Wang, Y. Preparation of Spherical and Triangular Silver Nanoparticles by a Convenient Method. *Integrated Ferroelectrics*, 136,1, 9-14 (2012).
- [55] Gopinath, A., Boriskina, S.V., Reinhard, B.M., & Negro, L.D. Deterministic aperiodic arrays of metal nanoparticles for surface-enhanced Raman scattering (SERS). *Optics Express*, 17(5) (2009).
- [56] Turkevich, J., Garton, G., & Stevenson, P.C. The color of colloidal gold. *Colloid Sci*, 9, 26 – 35 (1954).
- [57] Frens, G. Controlled nucleation for regulation of particle size in monodisperse gold suspensions. *Nature-Physical Science*, 241, 20 – 2 (1973).
- [58] Azzazy, H.M.E., Mansour, M. M.H., Samir, T.M., & Franco R. Gold nanoparticles in the clinical laboratory: principles of preparation and applications. *Clin Chem Lab Med*, 50(2),193–209 (2012).
- [59] Verma, H.N, Singh, P., & Chavan, R.M. Gold nanoparticle: synthesis and characterization. *Veterinary World*, 7(2), 72-77 (2014).
- [60] Rykhlinakaya, K., & Fritzsche, S. Use of group theory for the analysis of vibrational spectra. *Computer Physics Communications*, 162, 124–142 (2004).
- [61] Liptak, B.G. (Editors) *Instrument Engineers' Handbook* (4th ed.). CRC Press. ISBN 0-8493-1083-0. 1127- 1755 (2003).
- [62] Gauglitz, G., & Vo-Dinh, T. (Editors) *Handbook of Spectroscopy, Volume 1*. Copyright WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. ISBN 3-527-29782-0. 89-1 (2003).
- [63] Küçükibrahimoğlu, E. *Alkol*. (Editörler Akgür S. A., Coşkunol H.). Ege Üniversitesi Basımevi, (2014).

- [64] Zeren, C., Keten, A., Çelik, S., Damlar, I., Daglıoğlu, N., Çeliker, A., & Karaarslan, B. Demonstration of ethyl glucuronide in dental tissue samples by liquid chromatography/electro-spray tandem mass spectrometry. *J Forensic Leg Med*, 20(6), 706-10 (2013).
- [65] WHO, The World Health Organization Global Status Report on Alcohol in 2014.
- [66] Rehm, J., Mathers, C., Popova, S., Thavorncharoensap, M., Teerawattananon, Y., & Patra, J. Global Burden of Disease and Injury and Economic Cost Attributable to Alcohol Use and Alcohol-Use Disorders. *Lancet*, 373, 2223–33 (2009)
- [67] Lachenmeier, D.W., Kanteres, F., & Rehm, J. Alcoholic Beverage Strength Discrimination by Taste May Have an Upper Threshold. *Alcohol Clin. Exp. Res*, 2014, 38(9); 2460-2467.
- [68] Rehm, J., Kanteres, F., & Lachenmeier, D.W. Unrecorded consumption, quality of alcohol and health consequences. *Drug Alcohol Rev*, 29(4), 426-36 (2010).
- [69] Zeren, C., Aydın, Z., Yonden, Z., & Bucak, S. Composition of Bogma Raki, Turkish Traditional Alcoholic Beverage. *Journal of Food Technology*, 10(3): 87-91 (2012).
- [70] Blakeney, M. The Protection of Geographical Indications: Law and Practice. United Kingdom: Edward Elgar Publishing, pp.259 (2014).
- [71] Türk Gıda Kodeksi Distile Alkollü İçkiler Tebliği (Tebliğ No: 2005/11). <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2005/03/20050316-3.htm>.
- [72] Pontes, M.J.C., Santos, S.R.B., Araujo, M.C.U., Almeida, L.F., Lima, R.A.C., Gaiao, E.N., & Souto, U.T.C.P. Classification of distilled alcoholic beverages and verification of adulteration by near infrared spectrometry. *Food Res. Int*, 39, 182 (2006)
- [73] Boyacı, I.H., Genis, H.E., Guven, B., Tamer, U., & Alper, N.A. novel method for quantification of ethanol and methanol in distilled alcoholic beverages using Raman spectroscopy. *J. Raman Spectrosc*, 43, 1171–1176 (2012).
- [74] Halter, C.C., Dresen, S., Auwaerter, V., Wurst, F.M., & Weinmann, W. Kinetics in serum and urinary excretion of ethyl sulfate and ethyl glucuronide after medium dose ethanol intake. *Int J Legal Med*, 122, 123–128 (2008).
- [75] Lostia, A.M., Vicente, J.L., & Cowan, D.A. Measurement of Ethyl Glucuronide, Ethyl Sulphate and Their Ratio in the Urine and Serum of Healthy Volunteers after Two Doses of Alcohol. *Alcohol and Alcoholism*, 48(1), 74–82 (2013).
- [76] Tümer, A.R, Keten, A., Karacaoğlu, E., Odabaşı, A.B., & Akçan, R. Etil alkol minör metabolitlerinden etil glukuronidin olgular eşliğinde değerlendirilmesi. *Hacettepe Tıp Dergisi*; 42, 141-145 (2011).
- [77] Crunelle, C. L., Yegles, M., Nuijsa, A.L.N.V., Covaci, A., Doncker, M.D., Maudens, K.E., Sabbe, B., Dom, G., Lambert, W.E., Michielsen, P., & Neels, H. Hair ethyl glucuronide levels as a marker for alcohol use and abuse: A review of the current state of the art. *Drug and Alcohol Dependence*, 134, 1– 11 (2014).

- [78] Zapata, F., Gregório I., & García-Ruiz C. Body Fluids and Spectroscopic Techniques in Forensics: A Perfect Match? *Journal of Forensic Medicine*, 1,1 (2015).
- [79] Hayward, I.P., Kirkbride, T.E., Batchelder, D.N., & Lacey, R.J. Use of a fiber optic probe for the detection and identification of explosive materials by Raman spectroscopy. *Journal of Forensic Sciences*, 40(5), 883-884 (1995).
- [80] Virkler, K., & Lednev, I.K. Raman spectroscopy offers great potential for the nondestructive confirmatory identification of body fluids. *Forensic Sci Int*; 181: e1-5 (2008).
- [81] Virkler, K., & Lednev, I.K. Raman spectroscopic signature of blood and its potential application to forensic body fluid identification. *Anal Bioanal Chem*, 396, 525-534 (2010).
- [82] Virkler K., & Lednev, I.K. Raman spectroscopic signature of semen and its potential application to forensic body fluid identification. *Forensic Sci Int* 2009; 193:56-62.
- [83] Virkler K., & Lednev, I.K. Forensic body fluid identification: the Raman spectroscopic signature of saliva. *Analyst*, 135, 512-517 (2010).
- [84] Sikirzhyskaya, A., Sikirzhyski, V., & Lednev, I.K. Raman spectroscopic signature of vaginal fluid and its potential application in forensic body fluid identification. *Forensic Sci Int*; 216, 44-48 (2012).
- [85] Sikirzhyski, V., Sikirzhyskaya, A., & Lednev, I.K. Multidimensional Raman spectroscopic signature of sweat and its potential application to forensic body fluid identification. *Anal Chim Acta*, 718, 78-83 (2012).
- [86] DeWael, K., Lepot, L., Gason, F., & Gilbert, B. In search of blood— detection of minute particles using spectroscopic methods. *Forensic Sci Int* 180:37–42 (2008).
- [87] Sikirzhyski, V., Virkler, K., & Lednev, I.K. Discriminant analysis of Raman spectra for body fluid identification for forensic purposes. *Sensors (Basel)*, 10, 2869-2884 (2010).
- [88] Sikirzhyski, V., Sikirzhyskaya, A., & Lednev, I.K. Advanced statistical analysis of Raman spectroscopic data for the identification of body fluid traces: semen and blood mixtures. *Forensic Sci Int*; 222: 259-265 (2012).
- [89] Mock, J.J., Barbi, M., Smith, D.R., Schultz, D.A., & Schultz, S. Shape effects in plasmon resonance of individual colloidal silver nanoparticles. *Journal of Chemical Physics*, 115(15), 6755-6759 (2002).
- [90] Cheng, C., Kirkbride, T.E., Batchelder, D.N., Lacey, R.J., & Sheldon, T.G. In Situ detection and identification of trace explosives by Raman Spectroscopy. *Journal of Forensic Sciences*, 40(1), 31-37 (1995).
- [91] Pérez-Ponce, A., Rambla, F.J., Garrigues, J.M., Garrigues, S., & Guardia, M. Partial least-squares–Fourier transform infrared spectrometric determination of methanol and ethanol by vapour-phase generation. *Analyst*, 123, 1253–1258 (1998).

- [92] Berger, A.J., Koo, T.W., Itzkan, I., Horowitz, G., & Feld, M.S. Multicomponent blood analysis by near-infrared Raman spectroscopy. *Applied Optics*, 38(13); 2916-2926 (1999).
- [93] Ryder, A.G., O'Connor, G.M., & Glynn, T.J. Identifications and quantitative measurements of narcotics in solid mixtures using near-IR Raman spectroscopy and multivariate analysis. *Journal of Forensic Sciences*, 44 (5), 1013-1019 (1999).
- [94] Claybourn, M., & Ansell, M. Using Raman Spectroscopy to solve crime: inks, questioned documents and fraud. *Science & Justice*; 40: 261-271 (2000).
- [95] Ryder A.G., O'Connor G.M., & Glynn, T.J. Quantitative analysis of cocaine in solid mixtures using Raman spectroscopy and chemometric methods. *Journal of Raman Spectroscopy*, 31(3), 221-227 (2000).
- [96] Sagmuller, B., Schwarze, B., Brehma, G. & Schneider, S. Application of SERS spectroscopy to the identification of (3,4-methylenedioxy) amphetamine in forensic samples utilizing matrix stabilized silver halides. *Analyst*, 126, 2066–2071 (2001).
- [97] Day, J.S., Edwards, H.G.M., Dobrowski, S.A., & Voice, A.M. The detection of drugs of abuse in fingerprints using Raman spectroscopy II: cyanoacrylate-fumed fingerprints. *Spectrochimica Acta Part A*, 60, 1725–7130 (2004).
- [98] Noonan, K.Y., Tonge, L.A., Fenton, O.S., Damiano, D.B., Frederick, & K.A. Rapid classification of simulated street drug mixtures using Raman spectroscopy and principal component analysis. *Appl Spectrosc*, 63(7),742–7 (2009).
- [99] Ali, E.M.A., Edwards, H.G.M., & Scowen, I.J. In situ detection of single particles of explosive on clothing with confocal Raman microscopy. *Talanta*, 78, 1201–1203 (2009).
- [100] Mobili, P., Londero, A., Antoni, G.D., & G´omez-Zavaglia, A. Multivariate analysis of Raman spectra applied to microbiology: Discrimination of microorganisms at the species level. *Revista Mexicana Defisica*, 56 (5):378–385 (2010).
- [101] Bankapur, A., Zachariah, E., Chidangil, S., Valiathan, M., & Mathur, D. Raman Tweezers Spectroscopy of Live, Single Red and White Blood Cells. *Plos One.*; 5(4): e10427 (2010).
- [102] Inscore, F., Shende, C., Sengupta, A., Huang, H., & Farquharson, S. Detection of Drugs of Abuse in Saliva by Surface- Enhanced Raman Spectroscopy (SERS). *Applied Spectroscopy*, 65(9), 1004-1008 (2011).
- [103] Ali, E.M.A., Edwards, H.G.M., & Scowen, I.J. Rapid in situ detection of street samples of drugs of abuse on textile substrates using micro Raman spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A*, 80, 2–7 (2011).
- [104] Premasiri, W.R., Lee, J.C., & Ziegler, L.D. Surface-Enhanced Raman Scattering of Whole Human Blood, Blood Plasma, and Red Blood Cells: Cellular Processes and Bioanalytical Sensing. *The Journal of Physical Chemistry*, 116, 9376–9386 (2012).

- [105] Massonnet, G., Buzzini, P., Monard, F., et al. Raman spectroscopy and micro spectrophotometry of reactive dyes on cotton fibres: Analysis and detection limits. *Forensic Science International*, 222, 200–207 (2012).
- [106] Heudt, L., Debois, D., Zimmerman, T.A., et al. Raman spectroscopy and laser desorption mass spectro-metry for minimal destructive forensic analysis of black and color inkjet printed documents. *Forensic Science International*, 219, 64–75 (2012).
- [107] Boyd, S., Bertino, M.F., Ye, D., White, L.S., & Seashols, S.J. Highly sensitive detection of blood by surface enhanced Raman scattering. *J Forensic Sci*, 58, 753-756 (2013).
- [108] Barnett, N., & Rathmell, C. Detecting Drugs in Saliva. *Optik&Photonik*, 10(5); 31-34 (2015).
- [109] Witkowska, E., Szymborski, T., Kamińska, A., & Waluk, J. Polymer mat prepared via Forcespinning™ as a SERS platform for immobilization and detection of bacteria from blood plasma. *Materials Science and Engineering C 71* (2017) 345–350.
- [110] Picard, A., Daniel, I., Montagnac, G., & Oger, P. In situ monitoring by quantitative Raman spectroscopy of alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* under high pressure. *Extremophiles*, 11:445–452 (2007).
- [111] Vaskova, H. Quantitative Evaluation of Methanol Content in Beverages Based on Raman Spectral Data. *Mathematics and Computers in Biology and Biomedical Informatics*, 8, 27-34 (2014).
- [112] Ashok, P.C., & Praveen, B.B. Optofluidic Raman Sensor for Simultaneous Detection of the Toxicity and Quality of Alcoholic Beverages. *Dholakia K Journal of Raman Spectroscopy*, DOI: 10.1002/jrs.4301 (2013)
- [113] Lee, P.C., & Meisel, D. Adsorption and Surface-Enhanced Raman of Dyes on Silver and Gold Sols, *J. Phys. Chem*, 86, 3391-3395 (1982).
- [114] Turkevich, J., Stevenson, P.C., & Hillier, J. A Study of the Nucleation and Growth Processes in the Synthesis of Colloidal Gold. *Discuss. Faraday Soc*, 11, 55-75 (1951).
- [115] Hopke, P.K. The evolution of chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 500, 365–377 (2003).
- [116] Anonim. Chemometrics. <https://nau.edu/lci/isl/chemometrics/> Erişim tarihi: 17.12.2016.
- [117] Wold, S. Chemometrics; what do we mean with it, and what do we want from it? *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 30 (1), 109–115 (1995).
- [118] Brown, S.D. Has the ‘chemometrics revolution’ ended? Some views on the past, present and future of chemometrics. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 30 (1), 49-58 (1995).
- [119] Haaland, D.M., & Thomas, E.V. Partial Least-Squares Methods for Spectral Analyses. 1. Relation to Other Quantitative Calibration Methods and the Extraction of Qualitative Information. *Analytical Chemistry*, 60(11), 1193-1202 (1988).

- [120] Shah, R.B., Tawakkul, M.A., & Khan, M.A. Process Analytical Technology: Chemometric Analysis of Raman and Near Infra-red Spectroscopic Data for Predicting Physical Properties of Extended Release Matrix Tablets. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 96 (5), (2007).
- [121] Varmuza, K. *Applied Chemometrics: From Chemical Data to Relevant Information*. Laboratory for Chemometrics, Vienna University of Technology, Getreidemarkt 9/160, A-1060 Vienna, Austria.
- [122] Yeniay, Ö., & Göktaş, A. A comparison of partial least squares regression with other prediction methods. *Hacettepe Journal of Mathematics and Statistics* 31, 99-111 (2002)
- [123] Zielinska, A., Skwarek, E., Zaleska, A., Gazdac, M., & Hupka, J. Preparing of silver nanoparticles with controlled particle size. *Procedia Chemistry*, 1, 1560–1566 (2009).
- [124] Anonim. https://www.tedpella.com/gold_html/goldsols.htm. Alındığı tarih 08.11.2016
- [125] Daniel, M.C., & Astruc, D. Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. *Chem Rev*, 104, 293 – 346 (2004).
- [126] Philip, D. Synthesis and spectroscopic characterization of gold nanoparticles. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 71, 80–5 (2008).
- [127] Dorris, A., Rucareanu, S., Reven, L., & Barrett, C.J, & Lennox R.B. Preparation and characterization of polyelectrolyte-coated gold nanoparticles. *Langmuir*, 24, 2532 – 8 (2008).
- [128] Kadir, A., Joseph, R., Lakowicz and Geddes C.D. Rapid deposition of triangular silver nanoplates on planar surfaces: application to metal-enhanced fluorescence. *J. Phys. Chem. B*. 109, 6247-6251 (2005).
- [129] Kalmodia, S., Harjwani, J., Rajeswari, R., Yang, W., Barrow, C.J, Ramaprabhu, S., Krishnakumar, S., & Elchuri, S.V. Synthesis and characterization of surface-enhanced Raman-scattered gold nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*:8 4327–4338 (2013).
- [130] Santos, E.B., Madalossi, N.V., Sigoli, F.A. & Mazali, I.O. Silver nanoparticles: green synthesis, selfassembled nanostructures and their application as SERS substrate. *NewJ.Chem*, 39, 2839 (2015).
- [131] Shrivastava, A., & Gupta, V.B. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. *Chron Young Sci*, 2, 21-5 (2011). Available from: <http://www.cysonline.org/text.asp?2011/2/1/21/79345>.
- [132] Arslan, M.M, Zeren, C., Aydin, Z., Akcan, R., Dokuyucu, R., Keten, A., & Cekin, N. Analysis of methanol and its derivatives in illegally produced alcoholic beverages. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 33, 56-60 (2015).
- [133] Geniş, Hüseyin Efe. Alkollü İçeceklerde Bulunan Etanol ve Metanolün Raman Spektroskopisi İle Kantitatif Tayini. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi (2012).

- [134] Bulur, Ayşen. Çukurova Bölgesinde Üretilen Boğma Rakıların Kimyasal Bileşimleri Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi (2010).
- [135] Bonifacio, A., S. Marta, D., Spizzo, R., Cervo, S., Steffan, A., Colombatti, A., & Sergio, V. Surface-enhanced Raman spectroscopy of blood plasma and serum using Ag and Au nanoparticles: a systematic study *Anal. Bioanal. Chem.*, 406, 2355–2365 (2014).
- [136] Rizzi, A., & Fioni A. Virtual Screening Using PLS Discriminant Analysis and ROC Curve Approach: An Application Study on PDE4 Inhibitors. *J. Chem. Inf. Model.* 48, 1686–1692 (2008).
- [137] Tomak L., & Bek, Y. İşlem Karakteristik Eğrisi Analizi ve Eğri Altında Kalan Alanların Karşılaştırılması. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*, 27(2), 58-65 (2010).





EKLER DİZİNİ

Ek 1. Adli Materyaller İçin Renishaw Raman Veritabanı

Renishaw Raman Database of Forensic Materials



- 126 entries
- 110 different substances, including:
 - common narcotics and their precursors, cutting agents and diluants
 - explosives
 - gunshot residue (GSR) and gunpowder

Sample list:

- | | |
|---|---|
| 1 (+) methamphetamine | 60 MDA HCL |
| 2 2,4 dinitrotoluene (DNT) | 61 MDMA:HCL |
| 3 2,3 dimethyl 2,3 dinitrobutane (DMNB) | 62 Mercury (II) chloride |
| 4 2,5 dimethoxybenzaldehyde 99% | 63 Mescaline hydrochloride |
| 5 2-hydroxy-5-nitro benzoic acid | 64 (+) Methamphetamine |
| 6 3,4,5-trimethoxybenzaldehyde (98%) | 65 Methylamine hydrochloride |
| 7 3,4 dinitrotoluene (DNT) | 66 Morphine sulfate pentahydrate |
| 8 4 mononitrotoluene (MNT) | 67 Morphine 3-beta-D-glucuronide |
| 9 7-diethyl-4-methylcoumarin | 68 Nitroethane (98%) |
| 10 Acetic anhydride | 69 Nitromethane |
| 11 Acetone | 70 N-methyl formamide |
| 12 Allylbenzene, 98% | 71 Norcocaine |
| 13 Alpha-lactose monohydrate | 72 Normorphine hydrochloride monohydrate |
| 14 Alpha D-glucose | 73 Noscapine hydrochloride |
| 15 Alprazolam | 74 Papaverine hydrochloride |
| 16 Aluminium nitrate | 75 Pentobarbital |
| 17 Amberlite | 76 PETN (Pentaerythritol Tetranitrate), ECDN Free |
| 18 Ammonium Formate (97%) | 77 Phenyl acetic acid |
| 19 Ammonium nitrate | 78 Phenyl acetone |
| 20 Amobarbital, sodium salt | 79 Piperonyl alcohol |
| 21 Barbitol | 80 Piperonal |
| 22 Barium nitrate | 81 Piperidine (99%) |
| 23 Benzaldehyde (99+%) | 82 Polyethylene |
| 24 Benzene | 83 Potassium nitrate |
| 25 Benzoylcegonine hydrate | 84 Potassium permanganate |
| 26 Benzyl cyanide | 85 Procaine |
| 27 Benzyl chloride | 86 Pseudoephedrine |
| 28 Blue dextran | 87 RDX |
| 29 Boron carbide | 88 Saffrole |
| 30 Boron oxide | 89 Salicylic acid |
| 31 Bromazepan | 90 Secobarbital |
| 32 Butabarbital | 91 Sodium hydrogen carbonate |
| 33 Buta bital | 92 Sodium sulfate (anhydrous) |
| 34 Caffeine | 93 Sodium stearate |
| 35 Calcium nitrate | 94 Sodium chlorate |
| 36 Charcoal | 95 Starch |
| 37 Chlordiazepoxide hydrochloride | 96 Stearic acid |
| 38 Cocaine hydrochloride | 97 Strontium nitrate |
| 39 Cocaine free base | 98 Sulfur |
| 40 D-amphetamine sulfate | 99 Temazepan |
| 41 Diamorphine hydrochloride | 100 Tetracaine |
| 42 Di-amphetamine sulfate | 101 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) |
| 43 D-Mannitol | 102 Toluene |
| 44 D-sorbitol | 103 Trisodium citrate |
| 45 Egonine methyl ester hydrochloride hydrate | 104 Urea |
| 46 Egonine hydrochloride | 105 Vanillin (99%) |
| 47 Ephedrine | 106 Isosafrole |
| 48 Ethylamine | 107 Flour |
| 49 Ethyl p-amino benzoate | 108 Sugar |
| 50 Formamide | 109 Talc |
| 51 Graphite | 110 Diazepam (Valium) |
| 52 Gunpowder | |
| 53 Hexamethyltetramine | |
| 54 Hydroxylamine hydrochloride | |
| 55 l methadone hydrachloride | |
| 56 Levorphanol | |
| 57 Lidocaine | |
| 58 Lithium nitrate | |
| 59 Magnesium nitrate hexahydrate | |

Ek 2. Etik Kurul Onayı ve İzinler

MKÜ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	'Raman spektroskopisi ve yüzeyde zenginleştirilmiş raman Sspektroskopisi (SERS) tekniklerinin adli tıp uygulamalarındaki üstünlüklerinin incelenmesi'
ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	17/12/2015/135

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	MKÜ TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
	AÇIK ADRESİ:	MKÜ Alahan Kampüsü Antakya HATAY
	TELEFON	0326 245 51 14
	FAKS	0326 245 51 14
	E-POSTA	tipetik@gmail.com

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Öğr.Gör. Güneş AÇIKGÖZ			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Anabilim Dalı			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	MKÜ Sağlık Hizmetleri MYO			
	DESTEKLEYİCİ				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 4	<input type="checkbox"/>		
		Gözlemsel ilaç çalışması	<input type="checkbox"/>		
İlaç dışı klinik araştırma		<input type="checkbox"/>			
	Diğer ise belirtiniz:				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLAR ARASI <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanı
Unvanı/Adı/Soyadı: Doç. Dr. Nazan SAVAS
İmza:



MKÜ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	'Raman spektroskopisi ve yüzeyde zenginleştirilmiş raman Spektroskopisi (SERS) tekniklerinin adli tıp uygulamalarındaki üstünlüklerinin incelenmesi'
ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	17/12/2015/135

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	2015/133	1
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU		1	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama		
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>		
		<input type="checkbox"/>		
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>		
	İLAN	<input type="checkbox"/>		
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>		
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>		
DİĞER:	<input type="checkbox"/>			

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:6	Tarih: 17/12/2015
	Yukarıda bilgileri verilen başvuruya dorpası ile ilgili belgeler araştırması/çalışmasını gerekçe, araç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırması/çalışmasını başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.	

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	DOÇ.DR.NAZAN SAVAŞ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile İlgili		Katılım +		İmza
			E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr.Nazan SAVAŞ	Halk Sağlığı	MKÜ T.A.S. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Cemal GÖKÇE	İç Hastalıkları	MKÜ T.A.S. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Aydiner KALACI	Ortopedi ve Travmatoloji	MKÜ T.A.S. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr.Zafer YÖNDEN	Tıbbi Biyokimya	MKÜ T.A.S. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr.Barçın ÖZER	Tıbbi Mikrobiyoloji	MKÜ T.A.S. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı
Yrd.Doç.Dr.Nerlihan PINAR	Tıbbi Farmakoloji	MKÜ T.A.S. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanı
Unvanı/Adı/Soyadı : Doç.Dr.Nazan SAVAŞ
İmza:

(Handwritten signature)



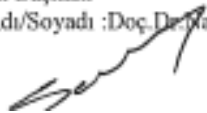
MKÜ
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		'Raman spektroskopisi ve yüzeyde zenginleştirilmiş raman Sspektroskopisi (SERS) tekniklerinin adli tıp uygulamalarındaki üstünlüklerinin incelenmesi'							
ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU		17/12/2015/135							
Yrd.Doç.Dr.Fatih SEFİL	Fizyoloji	MKÜ T.A.S. Tıp Fakültesi	E ✓	K □	E □	H ✓	E ✓	H □	
Av.Süleyman TENBEKÇİOĞLU	Hukuk	MKÜ Hukuk Müşavirliği	E ✓	K □	E □	H ✓	E □	H ✓	Katılmadı
Yusuf COŞKUN	Enfeksiyon	Serbest Çalışan	E ✓	K □	E □	H ✓	E ✓	H □	
Özcan ÖZKAN	Eğilimci	Aile ve Sosyal Politikalar Bakanlığı	E ✓	K □	E □	H ✓	E □	H ✓	Katılmadı
Marat EKENER	Kimyager	Serbest Çalışan	E ✓	K □	E □	H ✓	E ✓	H □	

*:Toplantıda Bulunma



Etik Kurul Başkanı
Unvanı/Adı/Soyadı :Doç.Dr.Özcan SAVAŞ
İmza:



HATAY DEVLET HASTANESİ BAŞHEKİMLİĞİ'NE

'Raman Spektroskopisi ve Yüzeyle Zenginleştirilmiş Raman Spektroskopisi (SERS) Tekniklerinin Adli Tıp Uygulamalarındaki Üstünlüklerinin İncelenmesi' isimli çalışmayı yapmak üzere alkol kullananların kanının alınmasına izin verilmesi hususunda,

Gereğini bilgilerinize arz ederim. 25.04.2016


Öğr. Gör. Güneş AÇIKGÖZ

26.04.2016
- uygun


Dr. Bayram KERKEZ
HATAY ANTAKYA DEVLET HASTANESİ
Hastane Fonetikçisi

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı, soyadı : Güneş AÇIKGÖZ
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 15.08.1981, Van
Medeni hali : Evli
Telefon : 03262140720
e-posta : gunesani@hotmail.com, gacikgoz@mku.edu.tr

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	YYÜ / Fizik BD/Nükleer Fizik ABD	2010
Lisans	YYÜ/ Fizik Öğretmenliği	2005

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2011-	MKÜ	Öğretim Görevlisi

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

A. Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler

1. Zeren C., Açıköz G., Kahraman S. Using Raman Spectroscopy for Determination Methanol Quantity in Illegal Alcoholic Beverages SPECTROSCOPY AND SPECTRAL ANALYSIS, Accepted (2016).
2. Zeren C., Açıköz G. Using Raman spectroscopy of counterfeit amber examinations. International Journal of Multidisciplinary Research and Development. 2016; 3(2): 216-219.
3. Bora A., Yavuz A., Alpaslan M., Açıköz G., Bulut MD., Arslan H. Demographic and Radiologic Characteristics of Patients with an Accessory Spleen: An Octennial Experience. International Journal of Diagnostic Imaging, 2015; 2(1): 10-15.

4. Arvas G., Bora A., Özsarı T., Kaya B., **Acıkgöz G.** Investigation of Hepatitis A Seropositivity in Children with Different Age Groups in Iğdır, Turkey. Comprehensive Research Journal of Medicine and Medical Science (CRJMMS) 2014; 2 (1): 8 – 13.
5. Arvas G., Akkoyunlu Y., **Acikgoz G.** Brucella and importance of the fight against brucellosis. Balkan Journal of Health Science. 2013; 3(1): 160-166.

B. Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler

1. Hamamcı B., **Acıkgöz G.**, Kiliç E., Çetinkaya Ü., Yetim TD., Yetim İ. Kist Sıvısı ve Germinal Membranın Sers Metodu İle İncelenmesi. 8. Ulusal Hidatidoloji ve 1. Uluslararası Hidatidoloji Kongresi. 13-15 Nisan 2017, ÇORUM.
2. Bora G., **Acıkgöz G.**, Hamamcı B. Knowledge and Attitudes of Students in Medical Imaging Techniques About First Aid. 5th International Vocational Schools Symposium, "importance of vocational education in world" , Prizren/ KOSOVA. 18-20 May 2016. (Tam Metin Sözlü Bildiri)
3. Arasoğlu A., **Acıkgöz G.**, Özdemir Ö.F. Neutron Spectrum Calculations in APEX Fusion Reactor with Flinabe Blanket Using MCNPX Program, International Conference on Engineering and Natural Sciences (ICENS), 24 - 28 May 2016, Sarajevo.
4. Zeren C., **Acıkgöz G.**, Kahraman S.. Using Raman Spectroscopy for Determination Methanol Quantity in Illegal Alcoholic Beverages. 7th European Academy of Forensic Science Conference, Prague 6-11 September 2015.
5. Zeren C., **Acıkgöz G.** Using Raman Spectroscopy of Counterfeit Amber Examinations. 7th European Academy of Forensic Science Conference, Prague 6-11 September 2015.
6. **Acıkgöz G.**, Bora G., Hamamcı B. The Importance of Using Raman Spectroscopy in Pharmacy. 11th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS-11) Ankara, Turkey. June 09-12, 2015.
7. Berköz M., Arvas G., Yalın S., Yıldırım M., **Acıkgöz G.** Investigation of protein oxidation in brucellosis cases. 5th International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress: Focus on Calcium Signaling and TRP Channels, Isparta, Turkey, 9-12 September, 2014.
8. Arvas G., Akkoyunlu Y., Berköz M., **Acikgoz G.**, Bora A., Altındag F. Investigation of Brucella seroprevalence in human and livestock in Iğdır, Turkey. Emerging infectious diseases ECCMID 2014, Barcelona, Spain 10-13 May 2014
9. Yönden Z., Özcan O., Okuyan HM., Geyik E., Zeren C., **Acıkgöz G.**, Kokaçya H., Hamamcı B., İğci YZ. The effects of bogma raki and walnut consumption on expression of NR2A and NR2B in rat hippocampus. IFCC WorldLab Istanbul, 22-26 June 2014.

C. Ulusal Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler

1. Zeren C., Açıkgöz G., Hamamcı B. Tıp ve Adli Bilimlerde Raman Uygulamaları. Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences) 2015; 24 (2).
2. Bora A., Açıkgöz G., Yavuz A., Bulut MD. Computed Tomography: Are We Aware of Radiation Risks in Computed Tomography? Eastern Journal of Medicine 19; (2014): 164-168.

D. Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan Ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildiriler

1. Zeren C, Açıkgöz G., Hamamcı B. Tıp ve Adli Bilimler'de Raman Uygulamaları. 12. Adli Bilimler Kongresi; 4-6 Haziran 2015 Isparta.

E. Görev Aldığı Araştırma Projeleri

1. Rat Hipokampal NMDA Reseptörleri Üzerine Ceviz ve Boğma Rakı Tüketiminin Etkisi 2013 Mayıs, MKU Bilimsel Araştırmalar Projeler Birimi, Yardımcı Araştırmacı.
2. Tez Projesi, Yüksek Lisans, 2008-FBE-YLO18, Flinabe Blanketli APEX Hibrit Reaktöründe Nötron Akısı Hesaplamaları.

F. Katıldığı Bilimsel Toplantı Ve Kurslar

1. 11th International Symposium on Pharmaceutical Sciences (ISOPS-11) Ankara, Turkey. June 09-12, 2015.
2. Renishaw in Via Cihazı Eğitimi; 07 August 2014.
3. 5th International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress: Focus on Calcium Signaling and TRP Channels, Isparta, Turkey, 9-12 September, 2014.
4. Tübitak Akademik Ar-ge Destek Programları Bilgilendirme ve Eğitim Semineri, 17.01.2012, Antakya.
5. İnsan Kaynaklarının Geliştirilmesi Operasyonel Programı IPA IV. Bileşeni EuropeAid/133086/M/ACT/TR/691 İlk Yardım Acildir! AB Projesi. 2013.
6. Proje Ön teklifi Hazırlama Eğitim Programı, 19-20 Haziran, 2012, Antakya

G. Katıldığı Dersler ve Uygulamalar

- Radyoloji Fiziği I (Teorik ve Uygulama)
Radyoloji Fiziği II (Teorik ve Uygulama)
Radyasyon Sağlığı ve Koruma (Teorik ve Uygulama)
Fizik
Tıbbi Görüntüleme I (Teorik ve Uygulama)

Tıbbi Görüntüleme IV (Teorik ve Uygulama)

Tıbbi Görüntüleme III (Teorik ve Uygulama)

Araştırma Yöntem ve Teknikleri

Araştırma Teknikleri

Bilgi ve İletişim Teknolojisi

Tıp Kütüphaneciliği

Psikolojiye Giriş

Biyomedikal Cihaz ve Teknolojileri

Biyomedikal Teknolojileri

İletişim

Davranış Bilimleri

Toplumsal Hizmet Projesi

