



T.C

BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI

BİYOMÜHENDİSLİK TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**ADLI TIP UYGULAMALARINDA GİZLİ PARMAK İZLERİNİN TESPİTİNE
YÖNELİK YENİ APTAMER-SİLİKA BAZLI NANODEVELOPER KULLANIMI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SABUHI ABDULZADE

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. MUSTAFA OĞUZHAN ÇAĞLAYAN

BİLECİK, 2026

10759307

T.C
BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI
BİYOMÜHENDİSLİK TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**ADLİ TIP UYGULAMALARINDA GİZLİ PARMAK İZLERİNİN TESPİTİNE
YÖNELİK YENİ APTAMER-SİLİKA BAZLI NANODEVELOPER KULLANIMI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SABUHI ABDULZADE

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. MUSTAFA OĞUZHAN ÇAĞLAYAN

BİLECİK, 2026

10759307

BEYAN

Yüksek Lisans Tezi, hazırlık ve yazım aşamasında bilimsel araştırma ve etik kurallarına uyduğumu, Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Faaliyetlerinde Üretken Yapay Zekâ Kullanımına Dair Etik Rehberine uygun olarak tezimi hazırladığımı, başkalarının eserlerinden yararlandığım bölümlerde bilimsel etik kurallarına uygun olarak atıfta bulunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, çalışmamın herhangi bir kısmının başka bir tez projesi olarak sunulmadığını, aksinin tespit edilmesi durumunda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Bu çalışma Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı (TÜSEB) tarafından 46816 No'lu proje ile desteklenmiştir.

Sabuhı Abdulzade

../../20..

İmza:



YAPAY ZEKÂ KULLANIMINA İLİŞKİN ÖĞRENCİ BEYAN FORMU

BŞEÜ-KAYSİS Belge No	DFR-516
İlk Yayın Tarihi/Sayısı	30.04.2026/168
Revizyon Tarihi	00
Revizyon No.su	00
Toplam Sayfa	1

Bölüm I. Yapay Zekâ Kullanım Durumu

- ☒ Bu tezin/projenin yazım süreçlerinde yapay zekâ tabanlı araçlardan **faydalandım**.
☐ Bu tezin/projenin yazım süreçlerinde yapay zekâ tabanlı herhangi bir araçtan **faydalanmadım**.

Bölüm II. Yapay Zekâ Kullanım Detayları

**Bu bölüm yalnızca yapay zekâ kullanımı beyan edilmiş ise doldurulacaktır. Aksi durumda boş bırakılmalıdır.*

Tezinizde/projenizde kullandığınız yapay zekâ araçlarını ve sürümünü listeleyiniz: ChatGPT (GPT-4o)

Yapay zekâ araçlarını tezin/projenin aşağıdaki aşamalarında ilgili amaçlar için kullandım. (Birden fazla seçenek işaretlenebilir):

- ☐ Cümle oluşturma
- ☒ Literatür tarama
- ☒ Çeviri
- ☐ Düzenleme/dil kontrolü
- ☐ Veri işleme ve analizi
- ☐ Veri görselleştirme
- ☐ Görüntü üretme
- ☐ Kaynakça düzenleme
- ☐ Diğer (Belirtiniz):.....

Bu çalışmada yapay zekâ kullanımı **Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Faaliyetlerinde Üretken Yapay Zekâ Kullanımına Dair Etik Rehber**'e ve akademik dürüstlük ilkelerine uygun şekilde gerçekleştirilmiş olup yapay zekâ araçlarından alınan destek, etik kurallar ve kaynak gösterme esaslarına uygun biçimde belirtilmiştir. Yapay zekâ kullanımı, çalışmanın özgünlüğüne, bilimsel etik kurallarına ve ilgili mevzuata aykırı olmayacak biçimde gerçekleştirilmiştir. Usulsüz yapay zekâ kullanımı (örneğin: kaynak göstermeksizin metin üretimi, otomatik içerik üretiminin özgün eser gibi sunulması, yanıltıcı kaynak gösterimi vb.) tarafımdan kesinlikle yapılmamıştır. Yapay zekâ araçlarının sağladığı bilgilerin doğruluğunu kontrol ettiğimi, yanlış veya eksik bilgi bulunması halinde tüm sorumluluğun tarafıma ait olduğunu; ayrıca çalışmamla ilgili bu beyana aykırı bir durumun herhangi bir zamanda tespit edilmesi durumunda ortaya çıkabilecek akademik ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi beyan ederim.

Sabuhi Abdulzade

../../20..

İmza:

ÖN SÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilime ve bilim insanı olma yolunda ilerleyen öğrencilere verdiği değere şahit olduğum, yardım, bilgi ve tecrübeleri ile sürekli desteğini hissettiğim başta değerli Prof. Dr. Mustafa Oğuzhan Çağlayan hocama teşekkürlerimi sunarım. Eğitim hayatım boyunca hayallerimi gerçekleştirmem için maddi ve manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan, aileme teşekkür eder ve saygılarımı sunarım.

ÖZET

Parmak izleri, kriminal olaylarda delil olarak kullanılan önemli biyometrik verilerden biridir. Ancak, parmak izlerinin yüzeylerde genellikle çok düşük yoğunlukta ve görünmeyen şekillerde bulunması, tespitlerini zorlaştırmaktadır. Bu tez çalışmasında, gizli parmak izlerinin farklı yüzeylerde görünür hale getirilmesine yönelik, aptamer ile fonksiyonelleştirilmiş ve hidrofobik olarak modifiye edilmiş floresans silika nanoparçacıkların birlikte kullanıldığı kompozit bir nanogeliştirici sistem geliştirilmiş ve performansı değerlendirilmiştir. Çalışmanın ilk aşamasında, farklı FAM yükleme düzeylerine sahip silika nanoparçacıklar karşılaştırılarak floresans şiddeti, boya retansiyonu ve kolloidal özellikler açısından optimum nanoparçacık platformu (FAMSNp_OPT) belirlenmiştir. FAMSNp_OPT'nin anti-lizozim aptamer ile fonksiyonelleştirilmesi ve HDTMS ile hidrofobik modifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen Apt-FAMSNp ve Hfb-FAMSNp_OPT sistemleri farklı oranlarda birleştirilerek, görüntü kalitesi ve kolloidal özellikler açısından en dengeli formülasyon olan 50:50 oranındaki kompozit geliştirici (CD_OPT) belirlenmiştir. Geliştirilen sistemlerin performansı lifli kâğıt, kumaş, karton ve cam yüzeylerde deplesyon ve zaman serileri kullanılarak değerlendirilmiştir. Parmak izi görüntüleri; sırt-arka plan kontrastı, sırt keskinliği, görünür sırt kapsamı, sırt sürekliliği ve arka plan girişimini içeren ROI tabanlı Parmak İzi Kalite Skoru (FQS) ile nicel olarak analiz edilmiştir. CD_OPT özellikle düşük parmak izi kalıntısının bulunduğu ileri deplesyon basamaklarında lifli kâğıt, kumaş ve cam yüzeylerde daha dengeli görüntü kalitesi sağlamıştır. Zaman serilerinde de CD_OPT'nin görüntü kalitesini daha uzun süre koruduğu görülmüştür. PCA analizinde ilk iki ana bileşenin toplam varyansın %93,21'ini açıklaması, görüntü kalite değişkenleri arasındaki temel farklılıkların büyük ölçüde temsil edilebildiğini göstermiştir. Sonuç olarak, CD_OPT'nin özellikle düşük kalıntı ve zorlayıcı yüzey koşullarında uygulanabilir bir parmak izi görüntüleme yaklaşımı sunduğu ortaya konmuştur.

Anahtar kelimeler: Adli Bilimler, Gizli parmak izleri, Aptamer, Silika Nanoparçacıklar, Nanoteknoloji

ABSTRACT

Fingerprints are among the most important biometric evidence used in forensic investigations. However, their detection can be challenging because latent fingerprints are generally deposited on surfaces at very low concentrations and are often invisible to the naked eye. In this thesis study, a composite nanodeveloper system was developed and evaluated for the visualization of latent fingerprints on different surfaces by combining aptamer-functionalized and hydrophobically modified fluorescent silica nanoparticles. In the first stage of the study, silica nanoparticles with different FAM loading levels were compared in terms of fluorescence intensity, dye retention, and colloidal properties, and the optimum nanoparticle platform (FAMSNp_OPT) was determined. FAMSNp_OPT was subsequently functionalized with an anti-lysozyme aptamer and hydrophobically modified using hexadecyltrimethoxysilane (HDTMS). The resulting Apt-FAMSNp and Hfb-FAMSNp_OPT systems were combined at different ratios, and the 50:50 composite developer (CD_OPT), which provided the most balanced formulation in terms of image quality and colloidal properties, was selected. The performance of the developed systems was evaluated on fibrous paper, fabric, cardboard, and glass surfaces using depletion series and time-course experiments. Fingerprint images were quantitatively analyzed using a region-of-interest (ROI)-based Fingerprint Quality Score (FQS), incorporating ridge-to-background contrast, ridge sharpness, visible ridge coverage, ridge continuity, and background interference. CD_OPT provided more balanced image quality, particularly at advanced depletion steps with low fingerprint residue, on fibrous paper, fabric, and glass surfaces. In the time-course experiments, CD_OPT also demonstrated a longer retention of image quality. Principal component analysis (PCA) showed that the first two principal components explained 93.21% of the total variance, indicating that the major differences among the image quality variables were largely represented by these components. Overall, the findings demonstrated that CD_OPT provides a promising fingerprint visualization approach, particularly under conditions involving low fingerprint residue and challenging surface characteristics.

Keywords: Forensic Science, Latent Fingerprints, Aptamer, Silica Nanoparticles, Nanotechnology

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖN SÖZ	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TABLolar LİSTESİ	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	ix
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL VE KAVRAMSAL TEMELLER.....	4
2.1. Parmak İzinin Tanımı ve Tarihçesi	4
2.2. Parmak İzi Yapısı ve Karakteristik Özellikleri	5
2.2.1. Parmak izi kalıntısının kimyasal bileşimi	5
2.2.2. Parmak izinin karakteristik özellikleri	6
2.3. Parmak İzi Sınıflandırılması	6
2.4. Gözenekli Yüzeylerde Gizli Parmak İzi Belirleme Yöntemleri.....	8
2.4.1. Ninhidrin yöntemi.....	8
2.4.2. DFO8 (1,8-Diazafluoren-9-one) yöntemi.....	10
2.4.3. Gümüş nitrat yöntemi.....	10
2.4.4. İyot buharı yöntemi	11
2.5. Gözeneksiz Yüzeylerde Gizli Parmak İzi Belirleme Yöntemleri	11
2.5.1. Tozlama yöntemi.....	11
2.5.2. Siyanoakrilat dumanlama yöntemi	12

2.5.3. Vakum metal biriktirme yöntemi (VMD).....	12
2.5.4. Çoklu metal biriktirme yöntemi (MMD)	13
2.6. Parmak İzi Görselleştirmede Nanomalzemeler	14
2.6.1. Gizli parmak izi tespiti için altın nanopartiküller	14
2.6.2. Gizli Parmak izi tespiti için gümüş nanopartiküller.....	15
2.7. Silika Nanopartiküller	16
2.7.1. Floresan boya yüklü ve yüzeyi işlevselleştirilmiş silika nanoparçacıklar	17
2.7.2. Silika nanoparçacıkların gizli parmak izi görüntülemeye kullanımı	19
2.8. Aptamerler	22
2.8.1. Aptamerlerin yapısı, seçimi ve moleküler tanıma özellikleri.....	22
2.8.2. Aptamerlerin nanoparçacıklarla birleştirilmesi	23
2.8.3. Aptamer tabanlı gizli parmak izi görüntüleme yaklaşımları.....	24
2.9. Tez Çalışmasının Kuramsal Tasarımı ve Özgün Yaklaşımı.....	26
3. MATERYAL VE YÖNTEM	29
3.1. FAM Yüklü Silika Nanoparçacıkların Sentezi	29
3.1.1. UV-Vis absorpsiyon analizi	30
3.1.2. Floresans emisyon analizi.....	31
3.1.3. 96-Kuyucuklu plaka ile FAM kalibrasyonu ve retansiyon analizi	31
3.1.4. DLS ve PDI analizi.....	32
3.2. FAMSNp_OPT Tabanlı Aptamer Fonksiyonelleştirmesi ve Hidrofobik Modifikasyonun Karakterizasyonu	33
3.2.1. FAMSNp_OPT başlangıç materyali.....	33
3.2.2. Aptamer fonksiyonlu FAM yüklü silika nanoparçacıkların hazırlanması	33
3.2.3. HDTMS ile hidrofobikleştirilmiş FAM yüklü silika nanoparçacıkların hazırlanması	35

3.2.4. UV-Vis absorbands analizi	36
3.2.5. Floresans emisyon analizi	36
3.2.6. DLS ve PDI Analizi	36
3.2.7. Zeta potansiyel analizi	36
3.2.8. SEM görüntüleme ve partikül boyut analizi	37
3.2.9. EDX elementel analiz	38
3.2.10. ATR-FTIR analizi	38
3.2.11. Su temas açısı nalizi	38
3.3. Apt-FAMSNp/Hfb-FAMSNp_OPT Karışımlarının Hazırlanması	39
3.4 Pilot Parmak İzi Uygulaması ve Görüntüleme	39
3.5. Görüntü Analizi ve Parmak İzi Kalite Skoru (FQS) Yöntemi	40
3.5.1. ROI seçimi ve görüntü ön işleme	40
3.5.2. Görüntü kalite metriklerinin hesaplanması	41
3.5.3. Parmak izi kalite skoru (FQS) matematiksel modeli	42
3.5.4. Python tabanlı görüntü analizi ve veri çıktıları	43
3.6. Parmak İzi Performans Deneyleri	43
3.6.1. Deney grupları ve substratlar	44
3.6.2. Ninhidrin referans kontrolünün uygulanması	44
3.6.3. Deplesyon serisinin hazırlanması ve değerlendirilmesi	45
3.6.4. Zaman serisinin hazırlanması ve değerlendirilmesi	45
3.7. Temel Bileşenler Analizi (PCA)	46
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.	47
4.1. FAM Yüklü Silika Nanoparçacıkların (FAM-SNp) Karakterizasyonu ve Optimizasyon Sonuçları	47
4.1.1. UV-Vis absorbands spektrumları	47

4.2. FAMSNp Örneklerinin Karşılaştırmalı Karakterizasyon Sonuçları	52
4.3. Apt-FAMSNp/Hfb-FAMSNp_OPT Karışımının Hazırlanması.....	66
4.3.1. Nihai kompozit developer oranının belirlenmesi	67
4.4. Parmak İzi Görüntüleme Performansı ve FQS Analizi	73
4.4.1. Anonim ROI tabanlı görüntü panelleri	73
4.4.2. Deplesyon serisi FQS sonuçları.....	80
4.4.3. Zaman serisi FQS sonuçları.....	88
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	100
KAYNAKÇA	104

TABLÖLER LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1. Karışım optimizasyonunda kullanılan dispersiyon formülasyonları ve oranları...	39
Tablo 4.1. Aptamer konjugasyonu ve HDTMS ile hidrofobik modifikasyon kapsamında türevlendirilmiş FAMSNp örneklerinin zeta potansiyel değerleri	58
Tablo 4.2. FAMSNp_OPT, Apt-FAMSNp ve Hfb-FAMSNp_OPT örneklerinin EDX elementel bileşimi.....	61
Tablo 4.3. Aptamer konjugasyonu ve HDTMS ile hidrofobik modifikasyon örneklerine ait başlıca FTIR pik atamaları	63
Tablo 4.4. Aptamer konjugasyonu ve HDTMS ile hidrofobik modifikasyon işlemlerinin örneklerinin statik su temas açısı değerleri	65
Tablo 4.5. Apt-FAMSNp/Hfb-FAMSNp_OPT karışım oranlarının genel seçim kriterlerine göre karşılaştırılması	68
Tablo 4.6. DP4 pilot parmak izi metriklerine göre karışım oranlarının karşılaştırılması	69
Tablo 4.7. CD karışım oranlarının kısa süreli karışım stabilitesi	71

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Parmak izi desenlerinin yaygın sınıfları.....	7
Şekil 2.2. Ninhidrin ile görselleştirilmiş parmak izi	9
Şekil 2.3. DFO ile görselleştirilmiş parmak izi	10
Şekil 2.4. Vakum metal kaplama cihazı	13
Şekil 2.5. MMD yöntemi ile çeşitli yüzeylerde görünür hâle getirilmiş gizli parmak izleri .	14
Şekil 4.1. Serbest FAM ve FAM yüklü silika nanoparçacıkların UV-Vis absorbans spektrumları.....	47
Şekil 4.2. Serbest FAM ve FAM yüklü silika nanoparçacıkların floresans emisyon spektrumları.....	48
Şekil 4.3. 96-kuyucuklu plaka formatında serbest FAM kalibrasyon eğrisi	49
Şekil 4.4. FAM kalibrasyonu ve FAM-SNp formülasyonlarında floresans retansiyonunun 96-kuyucuklu plaka görüntüsü	49
Şekil 4.5. FAM-SNp formülasyonlarında FAM tutulması ve kayıp fraksiyonlarının değerlendirilmesi.	50
Şekil 4.6. FAM-SNp formülasyonlarının hidrodinamik çap (A) ve PDI değerleri (B).	51
Şekil 4.7. FAMSNp_OPT ve türevlendirilmiş nanoparçacıkların UV-Vis absorbans spektrumları.....	52
Şekil 4.8. FAMSNp_OPT ve türevlendirilmiş nanoparçacıkların floresans emisyon spektrumları.....	54
Şekil 4.9. FAMSNp_OPT ve türevlendirilmiş nanoparçacık dispersiyonlarının görünür ışık ve UV altındaki görüntüleri.	55
Şekil 4.10. FAMSNp_OPT ve türevlendirilmiş nanoparçacıkların DLS/PDI karakterizasyonu.	57
Şekil 4.11. FAMSNp_OPT, Apt-FAMSNp ve Hfb-FAMSNp_OPT örneklerinin SEM görüntüleri ve SEM tabanlı partikül çap dağılımları.	60
Şekil 4.12. FAMSNp_OPT, Apt-FAMSNp ve Hfb-FAMSNp_OPT örneklerinin SEM tabanlı ortalama partikül çapları.....	61

Şekil 4.13. FAMSNp_OPT, Apt-FAMSNp ve Hfb-FAMSNp_OPT örneklerinin ATR-FTIR spektrumları.....	63
Şekil 4.14. Apt-FAMSNp/Hfb-FAMSNp_OPT karışım oranlarının DP4 pilot parmak izi performansına etkisi	70
Şekil 4.15. Apt-FAMSNp/Hfb-FAMSNp_OPT karışımlarının hazırlanması kapsamında değerlendirilen floresan nanoparçacık dispersiyonlarının UV ışık altındaki görsel karşılaştırması.....	72
Şekil 4.16. Lifli kağıt substratta NC, C ve CD yöntemlerinin deplesyon serisine bağlı floresans ROI görüntüleri	74
Şekil 4.17. Kumaş substratta NC, C ve CD yöntemlerinin deplesyon serisine bağlı floresans ROI görüntüleri	76
Şekil 4.18. Lifli kağıt substratta NC, C ve CD yöntemlerinin zamana bağlı floresans ROI görüntüleri	77
Şekil 4.19. Kumaş substratta NC, C ve CD yöntemlerinin zamana bağlı floresans ROI görüntüleri	78
Şekil 4.20. Lifli kağıt substratta ninhidrin kontrolünün deplesyon ve zaman serilerine ait visible/brightfield ROI görüntüleri.....	80
Şekil 4.21. Lifli kağıt substratta N, NC, C ve CD yöntemlerinin deplesyon serisine bağlı FQS değişimi	81
Şekil 4.22. Kumaş substratta N, NC, C ve CD yöntemlerinin deplesyon serisine bağlı FQS değişimi	83
Şekil 4.23. Karton substratta N, NC, C ve CD yöntemlerinin deplesyon serisine bağlı FQS değişimi	85
Şekil 4.24. Cam substratta N, NC, C ve CD yöntemlerinin deplesyon serisine bağlı FQS değişimi	86
Şekil 4.25. Lifli kağıt substratta N, NC, C ve CD yöntemlerinin zamana bağlı FQS değişimi	88
Şekil 4.26. Kumaş substratta N, NC, C ve CD yöntemlerinin zamana bağlı FQS değişimi..	90
Şekil 4.27. Karton substratta N, NC, C ve CD yöntemlerinin zamana bağlı FQS değişimi..	92
Şekil 4.28. Cam substratta N, NC, C ve CD yöntemlerinin zamana bağlı FQS değişimi	93
Şekil 4.29. Floresans görüntülerden elde edilen ortalama ROI kalite metriklerine dayalı PCA skor ve yük grafiği (NC, C ve CD yöntemleri)	95

Şekil 4.30. Floresans görüntülerden elde edilen ortalama ROI kalite metriklerine dayalı substrat-merkezli PCA centroid grafiği..... **97**

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

LFP: Gizli parmak izleri

NHS: N-hidroksisüksinimid

FAM-SE: Karboksifloresin süksinimidil ester

FAMSNp: Floresan moleköl taşıyıcı silika nanoparçacık

APTES: 3-aminopropil trietoksisilan

TEOS: Tetraetil ortosilikat

PBS: Fosfat Salin Tamponu

HDTMS: Hegzadesil trimetoksisilan

ATR: Zayıflatılmış Toplam Yansıma

FTIR: Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektrometresi

SEM: Taramalı Elektron Mikroskobu

EDX: Enerji Dağılımı X-Işını Spektrometrisi

UV: Ultraviyole

VMD: Vakum Metal Biriktirme

MMD: Çoklu Metal Kaplama

AuNP: Altın Nanoparçacık

QDs: Kuantum Noktaları

SELEX: Ligandların Üstel Zenginleştirme Yoluyla Sistemik Evrimi

FQS: Parmak izi kalite skoru

PDI: Polidispersite indeksi

DLS: Dinamik ışık saçılması

1. GİRİŞ

Parmak izlerinin kişisel kimlik tespiti amacıyla ilk kez 19. yüzyılın sonlarında kullanılmasından bu yana, parmak izleri suç soruşturmalarında vazgeçilmez olmuştur (Datta vd., 2001). Fakat parmak izlerinin çoğu çıplak gözle görülmezler. Parmak ucundaki ter ve yağ birikimleri ile altta yatan yüzey arasındaki düşük görsel kontrast nedeniyle bu tür parmak izleri gizli parmak izleri (Latent fingerprints, LFP) olarak adlandırılır. Bu tür kanıtlar, olay yerinde görülen en yaygın parmak izidir. LFP'leri görünür hale getirmek için fiziksel veya kimyasal işlemler dahil olmak üzere çeşitli teknikler kullanılmaktadır (Lennard, 2007). Parmak izinin bırakıldığı yüzeyin türü, parmak izinin kalıcılığını ve görünürlük derecesini belirleyen önemli bir etkidir (Gino ve Omedei, 2011). Parmak izinin bırakıldığı yüzeyler, genellikle gözenekli, gözeneksiz ve yarı gözenekli olarak sınıflandırılmaktadır. Gözenekli yüzeylerde parmak izleri genellikle daha uzun süre kalabilir, ancak bunların görünür hale getirilmesi daha zordur. Öte yandan, gözeneksiz yüzeyler daha kolay tanımlanabilir, ancak hasara daha yatkındır (Girod vd., 2012). Parmak izi görselleştirme için birçok yöntem geliştirilmiştir (Ramotowski, 2013). Geleneksel parmak izi geliştirme yöntemleri, görüntü detayları üzerinde yıkıcı etkilere sahip olabilir, düşük hassasiyet sunabilir ve yüksek toksisite sorunları içerebilir (Jelly vd., 2009). Bazı kimyasal teknikler, parmak izlerinin detaylarını olumsuz etkileyebilirken, diğerleri yüksek düzeyde toksik bileşenler içermektedir (Wang vd., 2017). Bu nedenle, daha az toksik ve daha etkili alternatif yöntemlerin geliştirilmesi de gerekmektedir (Wang vd., 2017; Sharma vd., 2021). Bu gereksinim doğrultusunda, son yıllarda nanoteknolojideki gelişmelerle birlikte yüksek yüzey alanı, ayarlanabilir yüzey kimyası ve güçlü optik özelliklere sahip nanomalzemelerin parmak izi kalıntılarıyla fiziksel, kimyasal veya hedefe yönelik etkileşiminden yararlanan yeni görüntüleme sistemleri geliştirilmiştir (Wang vd., 2017; Prabakaran ve Pillay, 2021). Aptamerler, belirli hedef moleküllere bağlanabilen üç boyutlu yapılara katlanan kısa DNA veya RNA dizileridir. Kimyasal olarak sentezlenebilmeleri, farklı fonksiyonel gruplarla modifiye edilebilmeleri ve nanoparçacık yüzeylerine bağlanabilmeleri, aptamerlerin hedefe yönelik görüntüleme sistemlerinde biyotanıma elemanı olarak kullanılmasına olanak sağlamaktadır (Bayat vd., 2018). Parmak izi kalıntısındaki lizozim gibi belirli moleküler bileşenlerin aptamer aracılığıyla tanınabileceği ve bu etkileşimin floresan veya nanoparçacık temelli sistemlerle görüntülenebileceği daha önce gösterilmiştir (Wood vd., 2012; Wang vd., 2014). Son yıllarda, geleneksel parmak izi tespit yöntemlerinin yanı sıra nanomalzemeler kullanılarak daha hassas ve etkili tespit yöntemleri geliştirilmiştir (Wang vd.,

2017; Prabakaran ve Pillay, 2021). Nanomalzemeler, küçük boyutları ve yüksek yüzey alanları sayesinde parmak izi kalıntılarındaki bileşenlerle fiziksel ve kimyasal etkileşim kurarak görüntü elde edilmesini kolaylaştırmaktadır. Aptamer gibi biyotanıma elemanlarıyla işlevselleştirildiklerinde ise belirli parmak izi bileşenlerine yönelik seçicilik kazandırılabilir. (Wood vd., 2012; Wang vd., 2014). Bu yaklaşımların birlikte değerlendirilmesi, parmak izi kalıntılarının tek bir bileşen üzerinden değil, ekrin ve sebum kökenli farklı bileşenler üzerinden tamamlayıcı biçimde hedeflenmesine olanak sağlamaktadır. Aptamerlerin moleküler tanıma yeteneği ile floresan silika nanoparçacıkların yüksek yüzey alanı, optik kararlılığı ve yüzey fonksiyonelleştirmesine uygunluğu bir araya getirildiğinde, gizli parmak izlerinin görüntülenmesine yönelik çok bileşenli sistemler geliştirilebilir (Wood vd., 2012; Wang vd., 2014; Montalti vd., 2014; Prabakaran ve Pillay, 2021).

Bu çalışmada, parmak izi kalıntısında ekrin kökenli olarak bulunabilen lizozimi hedeflemek üzere anti-lizozim aptamer ile fonksiyonelleştirilmiş floresan silika nanoparçacıkların ve sebum salgısındaki lipit bileşenlerle hidrofobik etkileşimi artırılmış floresan silika nanoparçacıkların geliştirilmesi ve birlikte kullanılması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda öncelikle FAM yüklü silika nanoparçacıklar hazırlanmış ve boya yükleme miktarı optimize edilmiştir. Seçilen floresan silika nanoparçacık platformu, anti-lizozim aptamer ile fonksiyonelleştirilerek Apt-FAMSNp sistemi; HDTMS ile hidrofobik olarak modifiye edilerek Hfb-FAMSNp sistemi elde edilmiştir. Daha sonra bu iki nanoparçacık sistemi farklı oranlarda bir araya getirilerek ekrin kökenli lizozime yönelik moleküler tanıma ile sebum/lipit kökenli kalıntılara yönelik hidrofobik etkileşimi tamamlayıcı biçimde birleştiren kompozit bir nanogeliştirici formülasyonunun oluşturulması amaçlanmıştır.

Hazırlanan nanoparçacık sistemlerinin optik, koloidal, kimyasal, morfolojik ve yüzey özellikleri uygun karakterizasyon yöntemleriyle değerlendirilmiştir. Geliştirilen sistemlerin parmak izi görüntüleme performansı karton, lifli kâğıt, kumaş ve cam yüzeylerde; farklı bekleme süreleri ve ardışık temaslardan oluşan deplesyon serileri kullanılarak incelenmiştir. Tam parmak izi görüntüleri yerine anonimleştirilmiş ilgi bölgeleri (ROI) kullanılmış ve görüntü kalitesi Python tabanlı analizle hesaplanan Parmak İzi Kalite Skoru (FQS) aracılığıyla değerlendirilmiştir. Bu skor; sırt–arka plan kontrastı, sırt keskinliği, görünür sırt alanı, sırt sürekliliği ve arka plan girişimi gibi temel görüntü özelliklerinin birlikte değerlendirilmesine dayanmaktadır.

Çalışmanın temel hipotezi, aptamer aracılı lizozim tanınması ile sebum/lipit kökenli kalıntılara yönelik hidrofobik etkileşimin aynı geliştirici sistem içerisinde tamamlayıcı biçimde kullanılmasının, farklı yüzey, deplesyon ve bekleme süresi koşullarında parmak izi sırtlarının görüntülenmesini tek bir etkileşim mekanizmasına dayanan sistemlere göre destekleyebileceği yönündedir.

2. KURAMSAL VE KAVRAMSAL TEMELLER

2.1. Parmak İzinin Tanımı ve Tarihçesi

Parmak bir nesnenin yüzeyine dokunduğunda, ter gibi sulu salgılar ve sebum gibi yağlı maddeler yüzeye aktarılır ve bu durum parmak izinin oluşmasına yol açar (Champod vd., 2004). Bu nedenle parmak izleri, parmak uçlarındaki papiller sırtların yüzey üzerinde oluşturduğu temas izlerini temsil eder (Saferstein ve Hall, 2001). Papiller sırt desenlerinin karmaşıklığı, benzersizliği ve kararlılığı nedeniyle, parmak izleri adli bilimlerde kişisel kimlik tespiti için kullanılan en yaygın ve güvenilir biyometrik araçlardan biri olarak kabul edilmektedir (Maltoni vd., 2009).

Tarihsel veriler göz önünde bulundurulduğunda Çin ve Roma medeniyetlerinin antik çağlarda parmak izlerini kimlik belirleme amacıyla kullandığını gösteren çeşitli tarihsel kayıtlar bulunmaktadır. Parmak izlerinin bilinen en eski örnekleri arasında, M.Ö. ikinci binyılda Babil’de kullanılan seramikler, mühürler ve kil tabletler üzerinde bulunan izler yer almaktadır (Caplan, 1990). Hammurabi yönetimi sırasında (M.Ö. 1792–1750), yetkililerin tutukluların parmak izlerini kayıt altına aldığı bilinmektedir (Al-Ani, 2013). Benzer şekilde, parmak izi izleri antik Babil ve Roma tuğlalarında, Yunan ve Çin seramiklerinde, Mısır mezar duvarlarında ve diğer tarihi yapılarda da tespit edilmiştir. Çin’de çeşitli dönemlerde , parmak, el ve ayak izleri toplanarak adli inceleme ve kimlik tespitinde kullanılmıştır (Fieldhouse ve Stow, 2016). Çinli tarihçi Kia Kung Yen ve Arap tüccar Abu Zayd Hasan, 851 yılı öncesinde parmak izlerinin kimlik belirlemede kullanıldığını aktarmışlardır (Tewari ve Ravikumar, 2000). Önde gelen Fars hekimi Reşidüddin Hemedani (1247–1318), parmak izlerinin bireyler arasında farklılık gösterdiğini ve kişisel kimlik tespitinde kullanılabileceğini belirttiği aktarılmıştır (Lambourne, 1977). Sürtünme sırtı derisi (friction ridge skin) ilk olarak 1684 yılında Dr. Nehemiah Grew tarafından tanımlanmıştır. Derinin yapısı, işlevi ve sürtünme sırtlarının formu, 1687’de Marcello Malpighi tarafından yayımlanan eserde ayrıntılı biçimde açıklanmıştır (Haylock, 1988). 1788 yılında Alman hekim J.C.A. Mayer, parmak izlerinin kişiye özgü olduğunu ortaya koymuştur (Mukhaiyar, 2017). 1823’te Jan Evangelista Purkyně, parmak izi desenlerini dokuz grupta sınıflandırmış ve her gruba bir ad vermiş; bu çalışması sonraki parmak izi sınıflandırma çalışmalarına temel oluşturmuştur (Cole, 2004). William James Herschel ise 1858’den itibaren Hindistan’da sözleşmelerin doğrulanmasında el ve parmak izlerini sistematik biçimde kullanmış ve parmak izi desenlerinin zaman içindeki kalıcılığına ilişkin gözlemler yapmıştır (Caplan, 1990). 1880 yılında Dr. Henry Faulds, parmak izlerinin bireysel kimlik belirlemede

kullanılabileceğini vurgulayan ilk araştırmayı yapmış ve izlerin adli kanıt niteliğini ön plana çıkarmıştır (Karu ve Jain, 1996). Sir Francis Galton, parmak izleri ve sürtünme sırtları üzerinde araştırmalarını devam ettirmiş, bu izlerin sınıflandırılması ve karşılaştırılmasına ilişkin çalışmalar yayımlamış ve iki parmak izinin tesadüfen aynı olma olasılığı için yaklaşık 64 milyarda bir düzeyinde tarihsel bir tahminde bulunmuştur (Faulds, 1917). Arjantin’de merkezi polis teşkilatında görevli Juan Vucetich 1892’de dünya çapındaki ilk parmak izi bürosunu kurmuş ve parmak izlerini bireyleri tanımlamada tek başına kullanan ilk ülke Arjantin olmuştur. Bu yöntem, mahkemelerde hükümlülerin kimlik tespitinde de başarıyla uygulanmıştır (Stigler, 1995). Parmak izlerinin kimliklendirmedeki değeri sırt desenlerinin benzersizliğine dayanırken, gizli parmak izlerinin yüzey üzerinde görünür hâle getirilmesi büyük ölçüde iz kalıntısının kimyasal bileşimine bağlıdır.

2.2. Parmak İzi Yapısı ve Karakteristik Özellikleri

2.2.1. Parmak İzi Kalıntısının Kimyasal Bileşimi

Parmak izi kalıntılarında; epidermisten kaynaklanan maddeler, dermiste bulunan salgı bezlerinin ürettiği bileşenler, metabolitler ve ilaç kalıntıları gibi endojen maddeler ile kan, kir, yağ, makyaj malzemeleri, gıda artıkları, nemlendirici ve saç bakım ürünleri gibi dış kaynaklı maddeler bulunur (Cadd vd., 2015). Bu maddelerin miktarı, farklı bireyler arasında olduğu kadar, aynı bireyde farklı günlerde veya günün farklı zamanlarında da değişebilir (Michalski vd., 2013).

Yeni bırakılmış parmak izi kalıntısının büyük bir bölümü, yaklaşık olarak %95–99 oranında su ve üç boyutlu bir matris içinde bulunan organik ve inorganik bileşiklerden oluşur (Girod vd., 2012). Parmak uçlarındaki ekrin salgı ise çoğunlukla (%98) sudan oluşmakta ve buna ek olarak çeşitli organik ve inorganik bileşenler içermektedir (Ramotowski, 2001; Croxton vd., 2010). Yapılan çalışmalar, parmak izi kalıntılarında 20 farklı amino asidin bulunabildiğini göstermektedir (Oro ve Skewes, 1965; Croxton vd., 2006).

Sebase salgı, diğer bir ifadeyle sebum, ağırlıklı olarak lipidlerden meydana gelir ve bunlar arasında yağ asitleri, gliseridler, uzun zincirli yağ asidi esterleri, skualen ve steroller (kolesterol dahil) ile çeşitli lipid esterleri yer alır (Croxton vd., 2010).

Avuç içi ve parmak uçlarında sebase bez bulunmadığından, parmak izi kalıntılarındaki sebumun önemli bir kısmı yüz ve saç gibi sebum bakımından zengin bölgelerle temas sonucunda parmaklara taşınmaktadır (Girod vd., 2012; Cadd vd., 2015). Parmak izi kalıntısının

ekrin ve sebum kökenli bileşenleri ile dış kaynaklı maddelerden oluşan bu değişken kimyasal yapısı, kullanılan geliştirme yöntemlerinin etkileşim mekanizmasını ve görüntüleme performansını doğrudan etkileyebilmektedir (Girod vd., 2012; Cadd vd., 2015).

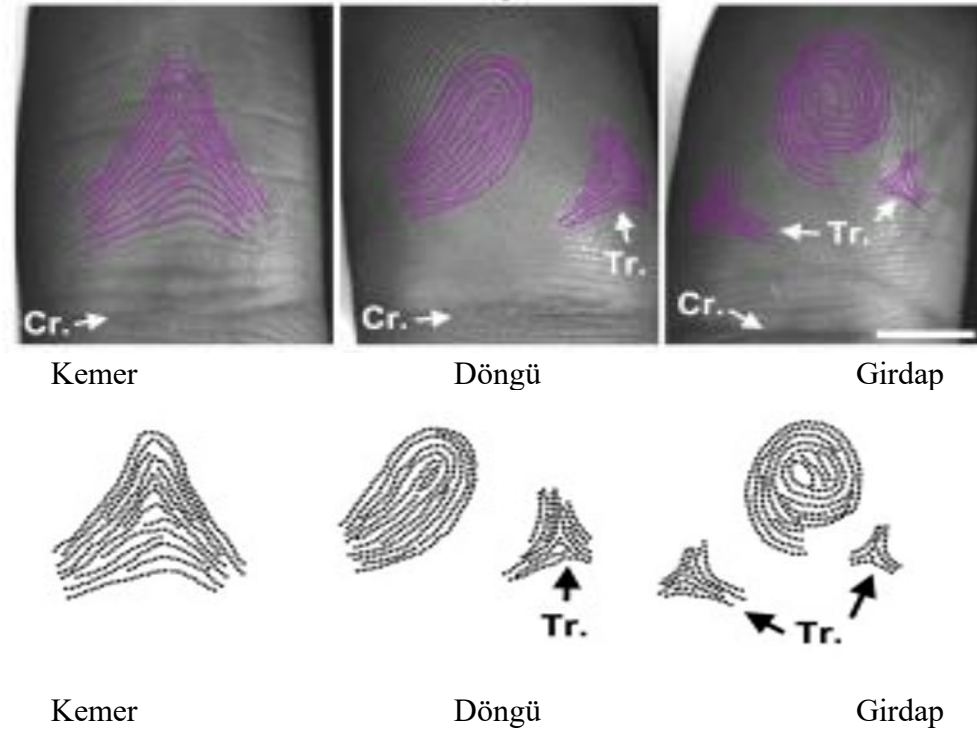
2.2.2. Parmak İzinin Karakteristik Özellikleri

Parmak izlerinin üç temel özelliği bulunmaktadır: benzersizlik, kalıcılık ve sınıflandırılabilirlik. Bu özellikler, parmak izlerini kimlik belirleme ve adli bilimler uygulamalarında güvenilir bir araç haline getirmektedir. Parmak izi sırt desenlerinin bireyler arasında farklılık göstermesi, parmak izlerinin kişisel kimlik tespitinde kullanılmasının temelini oluşturmaktadır. Parmak izi sırt düzeni doğum öncesi dönemde oluşmakta ve yaşam boyunca temel yapısını korumaktadır. Parmak büyüklüğü ile birlikte parmak izinin boyutları değişebilir; ancak temel karakteristik özellikleri ve bu özelliklerin birbirlerine göre konumları büyük ölçüde değişmeden kalır. Bununla birlikte, derinin sırt yapısını oluşturan tabakalarına ulaşan derin kesikler, yanıklar veya kimyasal yaralanmalar kalıcı yara izi (skar) oluşumuna neden olarak parmak izinin yerel yapısını değiştirebilir. Parmak izlerinin sınıflandırılabilirliği, desenlerin standart sınıflandırma sistemlerine göre kullanılarak gruplara ayrılmasıyla sağlanır. Bu gruplar, kendi içinde harf ve sayılarla kodlanır. Parmak izi kayıtları, on parmak veya tek parmak kayıtları gibi farklı veri yapıları kapsamında sınıflandırılabilir. Teknolojinin gelişmesiyle birlikte parmak izlerinin sınıflandırılması, arşivlenmesi ve karşılaştırılması dijital sistemlere aktarılmıştır. Dijital sistemlerde, parmak izi verileri arşivlenir ve bir olay yerinden alınan parmak izi, veri tabanında bulunan kayıtlarla karşılaştırılır.(Deniz, 2016). Otomatik Parmak İzi Tanıma Sistemleri, veri tabanındaki olası eşleşmeleri benzerlik düzeylerine göre sıralamakta; nihai kimliklendirme kararı ise parmak izi uzmanının ayrıntılı karşılaştırması sonucunda verilmektedir (Maltoni vd., 2009). Parmak izlerinin sınıflandırılmasında kullanılan genel desen türleri ve bireysel tanımlamaya katkı sağlayan sırt karakteristikleri bir sonraki bölümde ele alınmıştır.

2.3. Parmak İzi Sınıflandırılması

Parmak izi desenlerinin bilimsel olarak sınıflandırılmasına yönelik temel çalışmalardan biri Sir Francis Galton tarafından yürütülmüştür. Galton, parmak izi desenlerini üç ana kategoriye ayırmıştır: kemer, döngü ve girdap. Daha sonra geliştirilen Henry sınıflandırma sisteminde bu desenler; kemer, çadır tipi kemer, radyal döngü, ulnar döngü ve girdap olmak üzere beş temel sınıfta ele alınmıştır. Çekirdek ve delta bölgeleri ise desenlerin yönünün

belirlenmesi ve sınıflandırılmasında kullanılan temel referans noktalarıdır (Cappelli vd., 1999; Maltoni vd., 2009; Galton, 1892).



Şekil 2.1. Parmak izi desenlerinin yaygın sınıfları: kemer, döngü ve girdap (James vd., 2023)

Genel popülasyonun yaklaşık %60–65’inde döngü tipi desenler görülürken, %30–35’inde girdap tipi desenler, yalnızca %5’inde ise kemer tipi desenler görüldüğü bildirilmektedir. Kemerler düz kemer ve çadır tipi kemer olmak üzere iki alt grupta değerlendirilebilir. Girdap desenleri ise basit girdap (plain whorl), merkezi cepli döngü girdabı (central pocket loop whorl), çift döngülü girdap (double loop whorl) ve rastlantısal girdap (accidental whorl) olmak üzere alt türlere ayrılmaktadır (Kaushal ve Kaushal, 2011).

Sürtünme sırtı derisinin detaylı incelenmesi, çoğu durumda sırt çizgilerinin parmak yüzeyi boyunca kesintisiz olmadığını ortaya koymaktadır. Sırt çizgilerinin sona erdiği noktalar sırt sonlanması (ridge ending), iki kola ayrıldığı noktalar ise çatallanma (bifurcation) olarak adlandırılır. Bunun yanı sıra, çok kısa ve diğer sırt çizgilerinden ayrı bulunan sırt parçaları nokta (dot) olarak tanımlanabilir. Bu tür sırt özellikleri, minütiyelerin parmak izi üzerindeki konumları, yönelimleri ve birbirlerine göre dağılımları, parmak izi karşılaştırması ve bireysel kimlik tespiti için önemlidir (Champod vd., 2004; Maltoni vd., 2009).

Kemer (arch) desenlerinde sırt çizgileri, desenin bir tarafından girer, ortada yükselerek bir yay oluşturur ve karşı taraftan çıkar. Döngü (loop) desenlerinde sırt çizgileri parmak izinin bir tarafından girer, merkez bölgede kıvrılarak yön değiştirir ve çoğunlukla girdikleri taraftan çıkar. Girdap (whorl) desenlerinde ise sırt çizgileri genellikle dairesel veya spiral bir yol izler. Parmak izi incelemesinde sırt çizgilerinin akış yönünün belirlenmesi ile çekirdek ve delta bölgelerinin tanımlanması, desenin sınıflandırılması açısından önem taşımaktadır. Desen türü tek başına bireyselleştirme için yeterli olmasa da, parmak izlerinin ön sınıflandırılmasında ve karşılaştırılacak olası kayıtların daraltılmasında kullanılabilir (Maltoni vd., 2009). Bu desen ve minütîyelerin adli incelemede değerlendirilebilmesi için, yüzey üzerinde çoğunlukla görünmez durumda bulunan parmak izi kalıntısının uygun fiziksel veya kimyasal yöntemlerle görünür hâle getirilmesi gerekir.

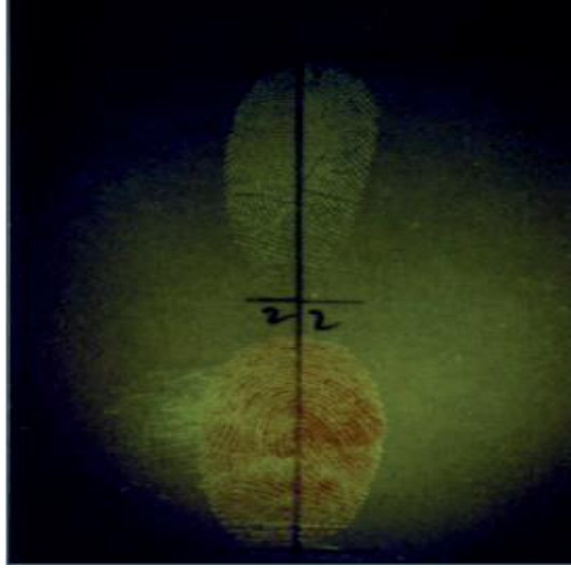
2.4. Gözenekli Yüzeylerde Gizli Parmak İzi Belirleme Yöntemleri

Gözenekli yüzeylerde gizli parmak izlerinin geliştirilmesinde kullanılacak yöntem; yüzeyin fiziksel ve kimyasal özellikleri, parmak izi kalıntısının bileşimi, izin yaşı ve yüzeyin maruz kaldığı çevresel koşullar dikkate alınarak seçilir. Ninhidrin ve 1,8-diazafluoren-9-on (DFO), kâğıt ve karton gibi gözenekli yüzeylerde parmak izi kalıntısındaki amino asitleri hedefleyen yaygın geliştirme reaktifleridir. Gümüş nitrat kalıntısındaki klorür iyonlarıyla, iyot buharı ise başta lipitler olmak üzere organik bileşenlerle etkileşime dayanmaktadır. Termal kâğıtlarda ise yüzeyin ısıya ve çözücülere duyarlı olması nedeniyle Thermanin gibi özel formülasyonlardan yararlanılabilmektedir (Jelly vd., 2009; Girod vd., 2012; Yadav, 2019; Hacımurtazaoglu, 2016).

2.4.1. Ninhidrin Yöntemi

Ninhidrin (2,2-dihidroksi-1,3-indanedion), renksiz veya soluk sarı renkte bulunabilen kristal yapılı bir bileşiktir ve su ile çeşitli polar çözücülerde çözünmektedir. Gözenekli yüzeylerde, örneğin kâğıt, karton, işlenmiş ahşap gibi malzemelerde bulunan gizli parmak izlerinin görselleştirilmesinde sıklıkla başvuru yöntemlerinden biridir (Yadav, 2019 ; Jelly vd., 2009; Girod vd., 2012). Ninhidrinin gizli parmak izlerinin geliştirilmesinde kullanımı, Oden ve von Hofsten tarafından 1954 yılında rapor edilmiştir (Oden ve HOFSTEN, 1954). Ninhidrin yönteminin temel prensibi parmak izi kalıntılarında yaygın olarak bulunan amino asitlerle kimyasal reaksiyona girmesidir. Reaksiyon sonucunda, “Ruhemann moru” olarak bilinen mor renkli bir bileşik oluşur ve parmak izinin sırt çizgileri görünür hâle gelir (Oden ve HOFSTEN,

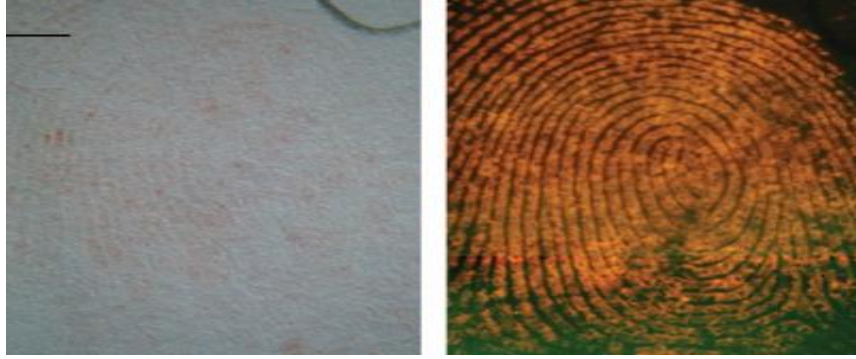
1954, Sodhi ve Kaur, 2001, Girod vd., 2012). Kâğıt ve diğer selüloz esaslı gözenekli yüzeylerde ninhidrin, gizli parmak izlerinin geliştirilmesinde yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biridir. Yöntemin yaygın kullanılmasında, gözenekli yüzeylerdeki amino asit kalıntılarına duyarlı olması ve uygun geliştirme koşullarında belirgin renkli sırt çizgileri oluşturması etkili olmaktadır (Jelly vd., 2009 ; Sodhi ve Kaur, 2001).



Şekil 2.2. Ninhidrin ile görselleştirilmiş parmak izi (Kaynak: Bleay ve Sears, 2012 aktaran Bağçeci, 2015, ss.15-20)

2.4.2. DFO8 (1,8-Diazafluoren-9-one) Yöntemi

DFO (1,8-diazafluoren-9-one), ninhidrine benzer biçimde parmak izi kalıntılarındaki amino asitleri hedefleyen bir reaktiftir. Amino asitlerle gerçekleşen reaksiyon sonucunda soluk pembe renkli ve güçlü floresan özellik gösteren bir ürün meydana gelir (Jelly vd., 2009). DFO ile işlenen parmak izleri normal ışık altında soluk kırmızı bir renk gösterirken, reaksiyon ürünü yaklaşık 470 nm’de uyarıldığında 570–585 nm aralığında maksimum floresans emisyonu gösterir. DFO–amino asit reaksiyonunun gelişmesi genellikle ısı uygulanmasıyla hızlandırılmakta ve oluşan floresans uygun bir ışık kaynağı ile görüntüleme filtresi kullanılarak incelenmektedir. DFO, özellikle kağıt ve diğer gözenekli yüzeylerde kullanılan yaygın floresan parmak izi geliştirme reaktiflerinden biridir (Luo vd., 2013).



Şekil 2.3. DFO ile görselleştirilmiş parmak izi (S.M.Bleay, 2012)

2.4.3. Gümüş Nitrat Yöntemi

Gümüş nitrat, 19. yüzyılın sonlarından itibaren gözenekli yüzeylerdeki gizli parmak izlerinin geliştirilmesinde kullanılan klasik reaktiflerden biridir. Yöntemin temelini, parmak izi kalıntısındaki klorür iyonlarının gümüş nitrat çözeltisindeki gümüş iyonlarıyla reaksiyona girerek beyaz renkli gümüş klorür oluşturması oluşturmaktadır. Oluşan gümüş klorür, ışığa maruz bırakıldığında fotokimyasal olarak parçalanır ve metalik gümüş oluşumu sonucunda parmak izi sırtları kahverengi, mor veya siyaha yakın bir renk kazanarak görünür hâle gelir (Lennard, 2007; Ramotowski, 2013).. Reaksiyon hızı UV ışığı altında artırılabilir ve verimlilik dalga boyuyla ters orantılıdır; bu nedenle daha kısa dalga boyları (254 nm) daha uzun dalga boylarına (365 nm) göre daha etkili sonuçlar verir (Wang vd., 2017). Gümüş nitrat yöntemi özellikle kâğıt ve işlenmemiş ahşap gibi gözenekli yüzeylerde uygulanabilmekle birlikte, klorür iyonlarının nem veya su etkisiyle yüzey içinde dağılabilmesi nedeniyle ıslanmış örneklerde

yöntemin etkinliği azalabilir. Ayrıca yüzey arka planının zamanla koyulaşması, geliştirilen izlerin kontrastını olumsuz etkileyebilir.

2.4.4. İyot Buharı Yöntemi

Parmak izlerinin ortaya çıkarılmasında uzun yıllardır kullanılan yöntemlerden biri iyot buharı yöntemidir. Bu yöntemde, kapalı bir ortamda bulunan iyot kristalleri süblimleşerek buhar fazına geçer; gerektiğinde ısı uygulanması buhar oluşumunu hızlandırabilir. Parmak izi içeren yüzey bu buhara maruz bırakılır. Ortamda oluşan iyot buharı, parmak izi kalıntılarında yer alan yağ ve lipid bileşenleriyle etkileşime girerek izlerin bulunduğu bölgede sarı-kahverengi bir renk oluşmasını sağlar. Ancak bu renk geçici niteliktedir; bu nedenle parmak izinin görünürlüğünü kalıcı kılmak için farklı sabitleme işlemleri uygulanması gerekmektedir (Yadav, 2019 ; Ramotowski, 2013).

2.5. Gözeneksiz Yüzeylerde Gizli Parmak İzi Belirleme Yöntemleri

Gözeneksiz yüzeyler, parmak izi kalıntısını bünyelerine emmek yerine büyük ölçüde yüzey üzerinde tuttuğundan, bu yüzeylerde tozlama, siyanoakrilat dumanlama ve vakum metal biriktirme gibi fiziksel veya kimyasal geliştirme yöntemlerinden yararlanılmaktadır (Lennard, 2007; Ramotowski, 2013).

2.5.1. Tozlama Yöntemi

Bu yöntem, gözeneksiz yüzeylerde gizli parmak izlerini görselleştirmek amacıyla en eski ve yaygın yöntemlerden biri olarak bilinir. Yöntemin adli incelemelerdeki kullanımı 19. yüzyılın sonlarına kadar uzanmaktadır. Tozlama yönteminin temel çalışma prensibi, ince toz parçacıklarının parmak izi kalıntısındaki sulu ve yağlı bileşenlere fiziksel olarak tutunmasına dayanır. Tozun sırt çizgilerine tutunması ve kalıntı bulunmayan oluklardan uzaklaştırılması sonucunda parmak izi deseni görünür hâle gelir (Sodhi ve Kaur, 2001). Olay yeri incelemelerinde sıklıkla geleneksel metalik, manyetik ve floresan toz formülasyonları tercih edilir. Toz formülasyonlarının bileşimi kullanım amacına göre değişmekte; metal, metal oksit, karbon veya polimer esaslı parçacıklar ile renk veya floresans sağlayan bileşenler kullanılabilmektedir. Manyetik tozlar ise, ferromanyetik parçacıklar içermekte ve manyetik bir aplikatör aracılığıyla yüzeye uygulanmaktadır. Bu uygulama, geleneksel fırçalamaya kıyasla yüzeyle doğrudan teması ve hassas sırt çizgilerinin zarar görme riskini azaltabilmektedir. Manyetik tozların ve manyetik aplikatörlerin parmak izi geliştirmede kullanımı MacDonell tarafından 1960'ların başında tanımlanmıştır (Sodhi ve Kaur, 2001; Wang vd., 2017).

2.5.2. Siyanoakrilat Dumanlama Yöntemi

Siyanoakrilat veya süper yapıştırıcı dumanlama olarak da bilinen bu yöntem, gözeneksiz yüzeylerdeki gizli parmak izlerini görünür hâle getirmek için sıkça kullanılmaktadır. Yöntemin temel mantığı, siyanoakrilat ester monomerlerinin parmak izi kalıntıları üzerinde hızlı bir şekilde polimerleşmesine dayanır. Buharlaştan siyanoakrilat monomerleri parmak izi kalıntısının bulunduğu bölgelerde yoğunlaşır. Kalıntıdaki su ve diğer nükleofilik bileşenler polimerleşmenin başlamasına katkıda bulunur. Ardından zincir büyümesiyle oluşan poli (siyanoakrilat), parmak izi sırt çizgilerini kaplayan beyaz renkli ve dayanıklı bir polimer tabakası oluşturur (Girod vd., 2012). Oluştan beyaz polimer tabakasının yüzeyle yeterli kontrast göstermediği durumlarda, floresan boyama veya alternatif ışık kaynaklarıyla gerçekleştirilen ikincil görüntüleme işlemleri uygulanabilir.

2.5.3. Vakum Metal Biriktirme Yöntemi (VMD)

Vakum metal biriktirme (VMD), gözeneksiz yüzeylerde gizli parmak izlerini ortaya çıkarmak için uzun süredir kullanılan bir tekniktir. Yöntemde, genellikle altın ve çinko gibi metaller yüksek vakum altında ardışık olarak buharlaştırılır ve incelenen yüzey üzerine biriktirilir. Parmak izi kalıntısı ile temiz yüzey arasındaki metal çekirdeklenmesi ve yoğunlaşmasındaki farklılıklar, sırt çizgileri ile arka plan arasında görünür bir kontrast oluşmasını sağlar. Vakum altında metal biriktirmenin parmak izi geliştirmede kullanıldığı ilk çalışmalar 1960'ların sonlarında rapor edilmiş; yöntemin polietilen yüzeylerdeki pratik uygulaması ise Kent ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir (Theys vd., 1968; Kent vd., 1976; Thomas, 1978). Yöntemin yüksek duyarlılığı, özellikle eski parmak izlerinin bulunduğu veya olumsuz çevresel koşullara maruz kalan durumlarda belirgin şekilde ortaya çıkmaktadır (Batey vd., 1998). Ayrıca, bu yöntem, diğer yöntemlerle parmak izi geliştirilmesinin zor olduğu plastik filmler ve polimer banknotlar gibi yarı gözenekli yüzeylerde de etkili olabilmektedir (Flynn vd., 1999).

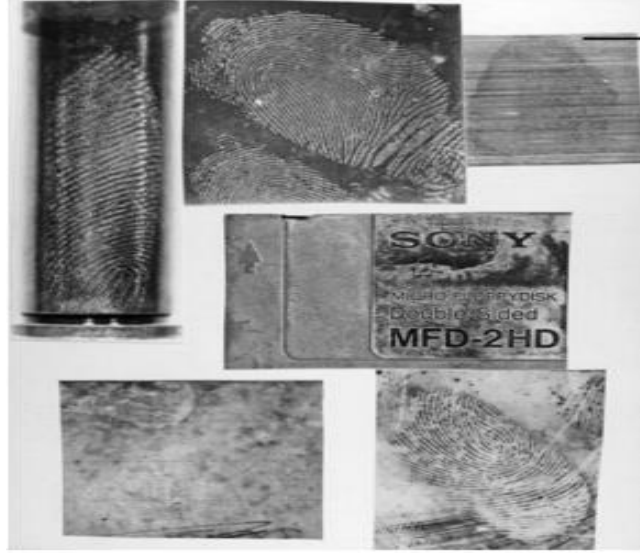


Şekil 2.4. Vakum metal kaplama cihazı (S.M.Bleay, 2012)

2.5.4. Çoklu Metal Biriktirme Yöntemi (MMD)

Çoklu metal biriktirme (MMD) yöntemi, 1980'lerin sonlarında geliştirilen ve metal nanoparçacıklarından yararlanarak gizli parmak izlerinin görünür hâle getirilmesini sağlayan çok aşamalı bir yöntemdir. MMD'nin ilk aşamasında koloidal altın nanoparçacıkları parmak izi sırtlarındaki kalıntılara seçici olarak tutunur. İkinci aşamada altın nanoparçacıkları çekirdeklenme bölgeleri olarak kullanılarak fiziksel geliştirici aracılığıyla gümüş biriktirilir ve sırt çizgileri koyu gri veya siyah renkte görünür hâle getirilir (Becue vd., 2012). MMD'nin önemli avantajlarından biri, gözenekli, yarı gözenekli ve gözeneksiz çeşitli yüzeylerde uygulanabilmesi ve bazı ıslanmış örneklerde de kullanılabilmesidir. Bununla birlikte yöntem; çok sayıda işlem basamağı içermesi, pH ve çözelti koşullarına duyarlı olması ve bazı yüzeylerde arka plan boyanmasına neden olabilmesi gibi sınırlılıklara sahiptir.

Geleneksel geliştirme yöntemleri farklı yüzey ve kalıntı bileşenleri için önemli avantajlar sağlamakla birlikte, düşük kontrast, arka plan girişimi, yüzeye bağlı performans değişimi ve bazı yöntemlerde özel cihaz veya kimyasal gereksinimi gibi sınırlılıklar gösterebilir. Bu sınırlılıklar, parmak izi kalıntılarıyla daha etkin etkileşim kurabilen ve optik sinyali güçlendirebilen nanomalzeme temelli görüntüleme yaklaşımlarına yönelik ilgiyi artırmıştır (Wang vd., 2017).



Şekil 2.5. MMD yöntemi ile çeşitli yüzeylerde görünür hâle getirilmiş gizli parmak izleri (S.M.Bleay, 2012)

2.6. Parmak İzi Görselleştirmede Nanomalzemeler

Floresan nanomalzemeler, uygun dalga boyundaki ışıkla uyarıldıklarında karakteristik floresans emisyonu gösterebilir. Bu optik özellikleri nedeniyle floresan nanomalzemeler, biyobelirleme ve biyogörüntüleme başta olmak üzere farklı alanlarda kullanılmaktadır. Floresan nanomalzemelerin parmak izi kalıntılarına tutunması ve uygun ışık altında yüksek kontrastlı sinyal oluşturması, bu malzemelerin gizli parmak izlerinin geliştirilmesinde kullanılmasına olanak sağlamıştır. Kuantum noktaları (QDs) ve yukarı dönüşümlü nanomalzemeler (UCNMs) gibi floresan nanomalzemelerin gizli parmak izlerini görünür hâle getirmek, bu malzemelerin benzersiz optik özellikleri nedeniyle son zamanlarda büyük ilgi görmüştür. Floresan nanomalzemeler, uygun malzeme ve yüzey kimyası kullanıldığında yüksek optik kontrast, düşük arka plan girişimi ve hassas görüntüleme sağlayabilir. Bununla birlikte seçicilik, toksisite ve görüntüleme performansı; nanoparçacığın bileşimine, boyutuna, yüzey fonksiyonelleştirmesine ve kullanılan formülasyona bağlıdır (Wang vd., 2017).

2.6.1. Gizli Parmak İzi Tespiti İçin Altın Nanopartiküller

Altın nanoparçacıklar, kimyasal kararlılıkları, ayarlanabilir yüzey özellikleri ve optik nitelikleri nedeniyle gizli parmak izlerinin belirlenmesinde etkili malzemeler arasında yer almaktadır. Uygulama yöntemi ve yüzey kaplamasına bağlı olarak altın nanoparçacıklar farklı yüzeylerde kullanılabilir. Birlikte, Choi ve arkadaşlarının çalışmasında oleilamin ile stabilize edilmiş altın nanoparçacıklar özellikle gözeneksiz yüzeylerde değerlendirilmiştir (Choi

vd., 2006). Choi ve arkadaşları, oleilamin ile stabilize edilmiş altın ve gümüş nanotozların parmak izi sırt bölgelerinde yoğunlaştığını ve altın nanotozların sınırlı arka plan boyanmasıyla belirgin sırt çizgileri oluşturabildiğini bildirmiştir (Choi vd., 2006). Nanoparçacıkların sırt çizgilerine tutunması, kullanılan yüzey kaplayıcının kimyasal yapısı ile parmak izi kalıntısındaki bileşenler arasındaki fiziksel ve kimyasal etkileşimlere bağlıdır.

2.6.2. Gizli Parmak İzi Tespiti İçin Gümüş Nanopartiküller

Gümüş nanoparçacıklar (AgNP'ler), görünür bölgedeki güçlü lokalize yüzey plazmon rezonansı özellikleri, yüksek optik soğurma kapasiteleri ve yüzeylerinin farklı kimyasal gruplarla işlevselleştirilebilmesi nedeniyle gizli parmak izi görüntüleme çalışmalarında değerlendirilen metalik nanomalzemelerden biridir. AgNP'lerin parmak izi sırtlarında birikmesi, sırt bölgeleri ile yüzey arka planı arasında renk veya optik kontrast oluşmasını sağlayabilir. Bununla birlikte nanoparçacıkların parmak izi kalıntısına tutunması; parçacık boyutu ve morfolojisinin yanı sıra kullanılan yüzey kaplayıcı molekülün yapısına, nanoparçacıkların kolloidal kararlılığına, parmak izi kalıntısının bileşimine ve incelenen yüzeyin özelliklerine bağlıdır.

Choi ve arkadaşları, oleilamin ile stabilize edilmiş altın ve gümüş nanotozları gözeneksiz yüzeylerdeki gizli parmak izlerinin geliştirilmesi amacıyla değerlendirmiştir. Çalışmada her iki metalik nanomalzeme hazırlanmış olmakla birlikte, özellikle altın nanotozların parmak izi sırtlarında yoğunlaştığı, sınırlı arka plan boyanması oluşturduğu ve belirgin sırt detayları sağladığı bildirilmiştir (Choi vd., 2006). Bu sonuç, metalik nanoparçacıkların yalnızca metal türüne göre değil, yüzey kaplayıcısı ve parçacık–kalıntı etkileşimine göre de farklı performans gösterebildiğini ortaya koymaktadır.

Saf AgNP'lerde görülebilen agregasyon ve görüntü kararlılığı sorunlarını azaltmak amacıyla gümüş–altın alaşım nanoparçacıkları da geliştirilmiştir. Cheng ve arkadaşları, Ag–Au nanoalaşımlarındaki gümüş oranının optik soğurmayı ve görüntü kontrastını artırdığını, altın bileşeninin ise nanoparçacıkların agregasyonunu sınırlandırarak geliştirilen parmak izi görüntüsünün kararlılığına katkı sağladığını göstermiştir. Çalışmada uygun Ag/Au bileşimine sahip nanoalaşımlar kullanılarak parmak izi sırtları ile oluk bölgeleri arasında belirgin renk kontrastı elde edilmiştir (Cheng vd., 2016).

Gümüş nanoyapılar yalnızca sırt desenlerinin optik olarak görünür hâle getirilmesinde değil, parmak izi kalıntısındaki düşük molekül ağırlıklı bileşenlerin kütle spektrometrik

görüntülenmesinde de kullanılabilir. Gümüş kümelerinin veya AgNP'lerin lazer enerjisini soğuran bir yüzey olarak kullanılması, parmak izi morfolojisi korunurken kalıntıdaki bazı kimyasal bileşenlerin uzamsal olarak incelenmesine olanak sağlamıştır (Walton ve Verbeck, 2014).

Bununla birlikte AgNP'lerin oksidasyona ve agregasyona eğilim göstermesi, arka plan üzerinde özgül olmayan birikim oluşturabilmesi ve performanslarının yüzey kimyasına güçlü biçimde bağlı olması, adli uygulamalardaki temel sınırlılıkları arasındadır. Bu nedenle AgNP temelli yöntemlerde parçacık boyutu, yüzey kaplayıcısı, zeta potansiyeli, kolloidal kararlılık ve hedef yüzeyle etkileşim gibi parametrelerin kontrollü biçimde optimize edilmesi gerekmektedir.

2.7. Silika Nanopartiküller

Görüntüleme, sensör ve biyotanıma uygulamalarında sıklıkla kullanılan silika nanoparçacıkları, kimyasal ve mekanik kararlılıkları, kontrollü boyut ve morfolojide sentezlenebilmeleri, optik olarak geçirgen bir matrise sahip olmaları ve yüzeylerinin farklı işlevsel gruplarla kolayca değiştirilebilmesi nedeniyle kullanılır. Silika matrisi, organik floresan boyaların taşınmasına veya yapı içine dahil edilmesine izin verirken, nanoparçacık yüzeyindeki silanol grupları, daha sonraki kimyasal işlevselleştirme basamakları için uygun reaksiyon bölgeleri oluşturur. (Rossi vd., 2005; Montalti vd., 2014).

Silika nanoparçacıkların önemli bir avantajı, optik sinyali sağlayan iç yapı ve hedef yüzeyle etkileşimi belirleyen dış yüzey kimyasının birbirinden belirli ölçüde bağımsız olarak düzenlenebilmesidir. Bu özellik sayesinde, floresan boya silika matrisi içinde korunurken nanoparçacık yüzeyine amin, karboksil, epoksi, alkil veya biyotanıma grupları kazandırılabilir. Sonuç olarak, aynı silika temelli başlangıç materyalden farklı hedefleme mekanizmaları kullanan floresan geliştiriciler üretilebilir. Önceki araştırmalar, boya katkılı silika nanoparçacıkların optik görüntüleme, değişken yüzey kimyası ve kontrollü floresans şiddeti için kullanılabileceğini göstermektedir.

Stöber yöntemi, silika nanoparçacıkların üretiminde kullanılan en yaygın tekniklerden biridir. Bu yöntemde tetraetil ortosilikat (TEOS) gibi alkoksisisilan öncülleri, su ve alkol içeren bir ortamda, çoğunlukla amonyak katalizörlüğünde hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonlarına uğrar. Hidroliz sonucunda oluşan silanol gruplarının kondenzasyonu, siloksan bağlarından oluşan üç boyutlu silika ağının ve yaklaşık küresel parçacıkların meydana gelmesini sağlar.

TEOS, su, amonyak ve alkol miktarları ile sıcaklık, karıştırma koşulları ve reaksiyon süresi; oluşan parçacıkların büyüklüğünü, dağılımını ve yüzey özelliklerini etkileyebilir (Stöber vd., 1968). Stöber yaklaşımı, ayarlanabilir büyüklük ve yüzey özelliklerine sahip, görece tekdüze silika parçacıkların elde edilmesine olanak sağlayan temel bir sol-jel yöntemi olarak kabul edilmektedir.

2.7.1. Floresan Boya Yüklü ve Yüzeyi İşlevselleştirilmiş Silika Nanoparçacıklar

Doğrudan çözelti içerisinde organik floresan boyaların kullanılması, fotobozunma, yüzeyden uzaklaşma ve ortama bağlı floresans değişimi gibi sorunlara neden olabilir. Bununla birlikte, floresan boyanın silika nanoparçacık yapısına dahil edilmesi, çok sayıda boya molekülünün tek bir optik taşıyıcı içinde bir araya getirilmesine olanak sağlayabilir. Bu, boyanın çevresel faktörlerden kısmen korunmasına ve parçacık temelli güçlü bir floresan sinyal üretmesine olanak sağlayabilir. Bununla birlikte, boyanın silika yapısına fiziksel olarak hapsedilmesine veya kovalent olarak bağlanmasına göre fotostabilite ve boya retansiyonu değişmektedir. (Rossi vd., 2005; Montalti vd., 2014).

Floresan boyaların silika yapısına kovalent olarak dahil edilmesi durumunda, amino-reaktif boya türevleri önceden amin içeren organosilanlarla reaksiyona girebilir. Örneğin, N-hidroksisüksinimid ester grubu içeren floresan boyalar, APTES olarak da bilinen 3-aminopropiltrietoksilanın amin grubuyla reaksiyona girebilir ve bu da boya-silan konjugatı oluşturabilir. Bu konjugatın TEOS ile birlikte hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonlarına katılması, floresan grubun kovalent olarak silika ağına girmesine olanak tanır. Benzer bir yöntem kullanılarak, floresan ester-APTES konjugatlarının Stöber sentezine eklenmesi sonucunda, silika nanoparçacıkların kararlı ve değiştirilebilir floresans özelliklerine sahip olduğu gösterilmiştir.

Farklı organosilanların silika yüzeyine bağlanması, silika yüzeyinde bulunan silanol grupları nedeniyle mümkündür. APTES, yüzeye amin grupları kazandırarak uygun bağlayıcı kimyası aracılığıyla aptamer, protein veya diğer biyotanıma bileşenlerini immobilize edebilir. Bu nedenle, silika çekirdeği, floresan sinyal üreterek hedef molekülü tanıyan işlevsel bir dış yüzeyle birleştirilebilir. Aptamerin nanoparçacık yüzeyine uygun bir aralayıcı üzerinden bağlanması, hedefe erişimi sağlamak ve parçacık yüzeyinin aptamerin üç boyutlu katlanmasına neden olabileceği sterik etkiyi azaltmak için önemlidir.

Silika yüzeyi, biyotanıma gruplarının yanı sıra hidrofobik organosilanlarla da modifiye edilebilir. Hegzadesil trimetoksisilan (HDTMS), hidrolize olabilen silan grubu aracılığıyla silika yüzeyine bağlanırken uzun C₁₆ alkil zincirlerini dış yüzeye yönlendirir. Bu işlem yüzeydeki polar silanol gruplarının etkisini azaltarak nanoparçacığın hidrofobik özelliğini güçlendirir. HDTMS ile modifiye edilmiş silika nanoparçacıklarda uzun alkil zincirlerinin yüzeye bağlanması FTIR, temas açısı ve yüzey karakterizasyonu yöntemleriyle doğrulanabilmektedir (Xu ve Zhang, 2021).

Hidrofobik modifikasyon derecesi arttıkça lipit benzeri apolar bileşenlerle etkileşim potansiyeli artabilmekle birlikte, parçacıklar arası hidrofobik çekimlerin güçlenmesi dispersiyon kararlılığının azalmasına ve agregasyona neden olabilir. Bu nedenle en uygun modifikasyon düzeyinin yalnızca en yüksek temas açısı üzerinden değil; floresans sinyalinin korunması, hidrodinamik büyüklük, polidispersite, yüzey yükü ve kolloidal kararlılık birlikte değerlendirilerek belirlenmesi gerekir.

Parmak izi kalıntısının ekrin ve sebum kökenli bileşenleri birlikte içermesi, silika nanoparçacık yüzeyinin farklı etkileşim mekanizmalarına göre düzenlenebilmesine olanak sağlamaktadır. Bu tezde ortak başlangıç materyali olarak FAM yüklü silika nanoparçacıklar kullanılmış; bir nanoparçacık grubu anti-lizozim aptameriyle işlevselleştirilerek ekrin kökenli lizozimin moleküler olarak tanınması amaçlanmış, diğer grup ise HDTMS ile hidrofobikleştirilerek sebum ve diğer lipit kökenli kalıntılarla etkileşim potansiyeli artırılmıştır. Aptamer konjugasyonu ile hidrofobik modifikasyonun aynı nanoparçacık üzerinde gerçekleştirilmesi yerine, iki işlevsel nanoparçacık ayrı ayrı hazırlanmış ve uygulama öncesinde uygun oranda birleştirilmiştir. Bu yaklaşım, hidrofobik modifikasyonun aptamerin katlanması, hedefe bağlanması ve parçacığın dispersiyon davranışı üzerindeki olası olumsuz etkilerini sınırlandırmayı amaçlamaktadır.

Silika nanoparçacıkların floresan boya taşıma yeteneği ve yüzey kimyasının hedef kalıntıya göre ayarlanabilirliği, bu malzemelerin gizli parmak izi görüntülemeye çeşitli etkileşim mekanizmalarına dayalı geliştiriciler olarak değerlendirilmesine yol açmıştır. Bu alandaki literatür, hem amin, karboksil, epoksi ve diğer işlevsel gruplarla değiştirilmiş silika sistemlerini hem de doğrudan floresan özellik gösteren veya floresan boya içeren silika nanoparçacıklarını incelemiştir.

2.7.2. Silika Nanoparçacıkların Gizli Parmak İzi Görüntülemeye Kullanımı

Gizli parmak izi görüntülemeye silika nanoparçacıkların kullanılması, parçacık boyutunun, optik özelliklerin ve yüzey kimyasının birlikte düzenlenebilmesine dayanmaktadır. Sırt çizgileri ile arka plan arasındaki optik kontrastı artırmak için silika yapısına floresan bileşikler dahil edilebilir. Öte yandan, küçük parçacık boyutu, parmak izi sırtlarında daha homojen birikim ve ayrıntıyı sağlayabilir. Silika yüzeyinin değişik fonksiyonel gruplarla değiştirilebilmesi, nanoparçacıkların parmak izi kalıntısındaki belirli bileşenlere odaklanmasına olanak tanır. Bununla birlikte, görüntüleme başarısı yalnızca floresans şiddetine değil, parçacıkların kolloidal kararlılığına, yüzey yüküne, hidrofobikliğine, uygulama biçimine, parmak izi kalıntısının yaşına ve incelenen yüzeyin özelliklerine de bağlıdır. Fonksiyonelleştirilmiş silika nanoparçacıkların küçük boyutu, ayarlanabilir optik sinyali ve değiştirilebilir yüzey kimyası, bu malzemeleri parmak izi oluşturmak için çok önemli hale getirir.

Silika temelli parmak izi geliştiricilere yönelik ilk çalışmalardan birinde Theaker ve diğerleri, farklı floresan boyalar içeren hidrofobik silika nano- ve mikropartiküllerini cam yüzeylerdeki gizli parmak izlerinin geliştirilmesinde değerlendirmiştir. Nanoboyuttaki silika parçacıklar süspansiyon hâlinde, mikroboyuttaki parçacıklar ise toz olarak uygulanmış ve özellikle floresan boya içeren sistemlerle belirgin sırt ayrıntıları elde edilmiştir. Bununla birlikte çalışmada yöntemlerin geleneksel parmak izi geliştirme teknikleriyle kapsamlı karşılaştırması yapılmamıştır (Theaker vd., 2008). Bu çalışma, silika yüzeyinin hidrofobikleştirilmesi ile floresan görüntülemenin aynı parçacık sistemi içinde birleştirilebileceğini gösteren erken örneklerden biridir.

Liu ve arkadaşları, yüksek floresans elde etmek amacıyla Eu^{3+} /duyarlılaştırıcı komplekslerini silika nanokompozit yapısına dâhil etmiş ve hazırlanan malzemeleri gözeneksiz yüzeylerdeki parmak izlerine toz olarak uygulamıştır. TEOS temelli silika yapısı ve 1,10-fenantrolin duyarlılaştırıcısı, incelenen sistemler arasında daha iyi floresan performans göstermiştir. Bununla birlikte çalışmada yeni bırakılmış ve deneysel olarak zenginleştirilmiş izlerin kullanılması ile geleneksel yöntemlerle ayrıntılı karşılaştırma yapılmadığı için, yöntemin operasyonel geçerliliğini sınırlamıştır (Liu vd., 2008). Benzer şekilde Kim ve arkadaşları, organik bir floresan boya içeren silika nanoparçacıklarını PVP ile işlevselleştirerek parmak izi kalıntısına olan ilgiyi artırmayı amaçlamış ve UV altında sırt ayrıntılarının görüntülenebildiğini göstermiştir (Kim vd., 2016). Bu çalışmalar, güçlü floresansın tek başına

yeterli olmadığını; parçacık–kalıntı etkileşimi ve deney tasarımının da görüntü kalitesini belirlediğini ortaya koymaktadır.

Moret ve ark., silika nanoparçacıkların floresan toz olarak değil, hedef etkileşimler için düzenlenmiş kolloidal reaktifler olarak kullanılmasını daha sistematik bir şekilde inceledi. Bu çalışmada RuBpy kompleksi içeren floresan silika çekirdeğinin yüzeyi karboksietilsilanetriol ile işlevselleştirilmiş ve hazırlanan nanoparçacıklar gözeneksiz yüzeylerdeki gizli parmak izlerinin geliştirilmesinde kullanılmıştır. Fonksiyonelleştirilmiş silika nanoparçacık sisteminin bazı koşullarda tek aşamalı floresan siyanoakrilat uygulamasıyla karşılaştırılabilir sonuç verdiği, ancak performansın yüzey türüne bağlı olarak değiştiği bildirilmiştir (Moret vd., 2016).

Lee ve arkadaşları, Moret ve arkadaşları tarafından geliştirilen RuBpy yüklü ve karboksil işlevli silika nanoparçacık sisteminin uygulama koşullarını ayrıntılı olarak optimize etmiştir. Nanoparçacık derişimi, iyonik güç, pH, uygulama sıcaklığı ve daldırma süresi gibi parametreler incelenmiş; daha düşük nanoparçacık derişimi, artırılmış banyo sıcaklığı ve daha kısa uygulama süresiyle görüntüleme performansının iyileştirilebildiği gösterilmiştir. Yöntem; alüminyum folyo, şeffaf polipropilen ve yeşil polietilen yüzeylerde, farklı parmak izi vericilerinden alınan 10 günlük ve üç aylık izler kullanılarak değerlendirilmiştir. Yüksek nanoparçacık derişimlerinde parçacıklar arası etkileşimin artmasının, parçacıkların parmak izi kalıntısıyla etkileşimini sınırlandırabileceği ileri sürülmüştür (Lee vd., 2019).

Lee ve arkadaşlarının daha sonraki çalışmasında, aynı nanoparçacık sisteminin püskürtme ve tekrarlı uygulama yoluyla kullanılabilirliği araştırılmıştır. Birden fazla işlem döngüsünün, aşırı geliştirme riskini önemli ölçüde artırmadan parmak izi kalitesini iyileştirdiği gösterilmiştir. Bu, nanoparçacık süspansiyonunun alüminyum folyo ve polimer yüzeylere püskürtülmesi yoluyla gerçekleştirilebilir (Lee vd., 2022). Bu bulgular, silika nanoparçacık temelli geliştiricilerin hem sentez özelliklerinin hem de uygulama biçiminin hem de çalışma koşullarının operasyonel başarı için kritik olduğunu göstermektedir.

Floresan boyanın silika yapısına dâhil edilme yöntemi de parmak izi görüntüleme performansını etkileyen önemli bir faktördür. Zhang ve arkadaşları konjuge bir floresan oligomeri silika yapısına kovalent olarak dahil ederek %97 floresans kuantum verimine sahip, ışık, sıcaklık, pH ve çeşitli çözücü koşullarına karşı dayanıklı nanoparçacıklar ürettirler. Hazırlanan mavi emisyonlu silika nanoparçacıklar, farklı yüzeylerde parmak izi tozu olarak

uygulanmış ve sırtlar ile oluklar arasında yüksek kontrastlı görüntüler elde edilmiştir (Zhang vd., 2017).

Alsolmy ve diğerleri, FITC içeren silika nanoparçacıkları yedi farklı sentez yaklaşımıyla hazırlayarak boya yükleme yöntemi, silika öncül bileşimi ve yüzey kaplamasının parmak izi geliştirme performansı üzerindeki etkilerini karşılaştırmıştır. Çalışmada Stöber ve ters mikroemülsiyon yöntemleri, TEOS'un APTES veya feniltrietoksisilan ile birlikte kullanımı, FITC'nin APTES'e kovalent bağlanması ve PVP yüzey kaplaması değerlendirilmiştir. TEOS ile feniltrietoksisilanın birlikte kullanıldığı daha hidrofobik silika yapısının, floresan boyanın silika ağına alınması ve gözeneksiz yüzeylerde parmak izi geliştirme açısından avantaj sağladığı bildirilmiştir. Buna karşılık PVP kaplamasının parmak izi görüntülemeye belirgin bir iyileşme oluşturmadığı görülmüştür (Alsolmy vd., 2018). Bu çalışma, floresan boya miktarından çok, boya retansiyonu ve parçacık yüzeyinin kalıntıyla uyumunun birlikte değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir.

Zhang ve diğerleri, yaklaşık 30 nm büyüklüğünde ve %70,6'ya kadar floresans kuantum verimi gösteren konjuge olmayan organosilikon floresan nanoparçacıklar hazırlamıştır. Floresan organosilikon bileşiğin silika matrisi içine kovalent olarak dâhil edilmesi, UV ışığı ve geniş pH aralığı altında optik kararlılığın korunmasına katkı sağlamıştır. Hazırlanan nanoparçacıklar çeşitli yüzeylerde parmak izi geliştirmede kullanılmış ve parçacık boyutunun sırt genişliğinden oldukça küçük olması sayesinde belirgin sırt–oluk ayrımı elde edilmiştir (Zhang vd., 2019).

Yang ve ark., kırmızı emisyonlu konjuge bir oligomeri silika matrisi içine kovalent olarak dahil edildi ve nanoparçacıkların yüzeylerini epoksi grupları ile işlevselleştirdiler. Kırmızı emisyonlar, özellikle kendiliğinden büyüyen plastik ve kâğıt yüzeylerde arka plan girişimini azalttı. Epoksi işlevli nanoparçacıkların, hidroksil veya amin yüzeyli nanoparçacıkların aksine parmak izi kalıntısına daha fazla ilgi gösterdiği ortaya çıkmıştır. Bu etki, amino asitlerle elektrostatik etkileşimler ve sebum kökenli bileşenlerle hidrofobik etkileşimlerle bağlantılı olabilir (Yang vd., 2019). Bu sonuç, silika yüzey kimyasının hem sebum hem de ekrin bileşenleri dikkate alınarak değiştirilebileceğini gösteriyor.

Silika nanoparçacıklar yalnızca doğal gizli parmak izleri için değil, kanlı parmak izleri gibi özel kalıntı türlerinde de değerlendirilmiştir. Meng ve arkadaşları, etanol ve Tween 80 ile süspansiyonlanmış siyah polipropilen yüzeylerdeki gizli kanlı parmak izlerine monodispers

silika nanoparçacıkları uyguladılar. Nanoparçacıkların sırt bölgelerinde düzenli biçimde birikmesiyle meydana gelen fotonik kristal etkisi sayesinde, floresan boya veya yüzey işlevselleştirmesi kullanılmadan renkli görüntüler elde edilmiştir. Yöntem, 30 güne kadar bekletilen kanlı izlerde de uygulanabilmektedir. Bu sistemin görüntüleme mekanizması, tezde kullanılan floresan ve yüzeyi işlevselleştirilmiş silika nanoparçacıklardan farklı olmakla birlikte, silika parçacık boyutu ve düzenli yüzey birikiminin optik görüntülemeye katkısını göstermektedir (Meng vd., 2020).

Literatürdeki araştırmalar birlikte değerlendirildiğinde, silika nanoparçacıkların gizli parmak izlerini görüntüleme yeteneği üç ana bileşen tarafından belirlenebilir: floresan sinyal üreten iç yapı, yüzey kimyası ve nanoparçacıkların uygulama ortamındaki kolloidal davranışı. Yüksek floresans şiddetine sahip bir parçacık üretmek yeterli değildir; ayrıca, nanoparçacıkların sırt bölgelerine seçilen veya tercih edilen bir şekilde tutulması ve arka plan üzerinde özgül olmayan birikimin sınırlandırılması gerekir. Sonuç olarak, parçacık derişimi, yüzey fonksiyonel grupları, yüzey yükü, hidrofobiklik, dağılım kararlılığı ve uygulama süresi birlikte optimize edilmelidir.

2.8. Aptamerler

2.8.1. Aptamerlerin Yapısı, Seçimi ve Moleküler Tanıma Özellikleri

Aptamerler, belirli bir hedef moleküle bağlanabilen üç boyutlu yapılara katlanan kısa, tek zincirli DNA veya RNA oligonükleotitleridir. “Aptamer” terimi, Ellington ve Szostak tarafından hedef ligandlara özgül bağlanma gösteren RNA dizilerini tanımlamak amacıyla kullanılmıştır. Bu araştırmacılar, geniş ve rastgele diziler içeren bir RNA havuzundan hedef ligandlara bağlanan dizilerin in vitro seçim ve çoğaltma döngüleriyle zenginleştirilebileceğini göstermiştir (Ellington ve Szostak, 1990).

Aptamerler genellikle üstel zenginleştirme yoluyla ligandların sistematik evrimi olarak adlandırılan SELEX yöntemiyle seçilmektedir. SELEX süreci, çok sayıda farklı oligonükleotit dizisini içeren başlangıç kütüphanesinin hedef moleküle inkübe edilmesi, hedefe bağlanmayan dizilerin uzaklaştırılması, bağlanan dizilerin ayrılması ve nükleik asit çoğaltma yöntemleriyle zenginleştirilmesi basamaklarından oluşur. Bu döngülerin tekrarlanması sonucunda hedefe daha yüksek bağlanma gösteren diziler elde edilir. Bu nedenle SELEX, aptamerleri doğrudan “sentezleyen” değil, başlangıç kütüphanesindeki bağlanma yeteneğine sahip dizileri seçen ve zenginleştiren bir yöntemdir (Ellington ve Szostak, 1990; Bayat vd., 2018). Ellington ve

Szostak'ın özgün çalışmasında bağlanan RNA dizilerinin tekrarlanan seçim ve çoğaltma döngüleriyle zenginleştirildiği gösterilmiştir. Aptamerler küçük moleküller, iyonlar, proteinler, hücre yüzeyi yapıları ve mikroorganizmalar gibi farklı hedeflere karşı seçilebilir. Hedef tanıma, aptamerin hedefin varlığında oluşturduğu özgün üç boyutlu yapı ile şekil uyumu, hidrojen bağları, elektrostatik etkileşimler, hidrofobik etkileşimler ve aromatik gruplar arasındaki etkileşimler dahil olmak üzere çeşitli etkileşimlerin bir sonucu olarak gerçekleşir. Aptamerin hedefe bağlanma davranışı, yalnızca nükleotit dizisine değil, aynı zamanda pH'ı, sıcaklığı, iyonik gücünü ve özellikle iki değerlikli iyonların varlığını da içerir.

Aptamerlerin kimyasal olarak sentezlenebilmesi; floresan boyalar, biyotin, tiyol, amin ve farklı bağlayıcı gruplarla uç modifikasyonlarının yapılmasına olanak sağlar. Aptamerler, küçük boyutları ve kimyasal modifikasyona dayanıklı yapıları nedeniyle nanoparçacık yüzeylerine veya optik işaretleyicilere bağlanarak hedef tanıma ve sinyal üretme görevlerini aynı sistem içinde birleştirmek için kullanılabilir. Ancak bir aptamerin yüksek afinite göstermesi yeterli değildir. Aptamer yüzeye bağlandıktan sonra uygun yapıya katlanabilmesi, hedef bölgesinin erişilebilir kalması ve kullanılan bağlayıcı kimyanın hedefi tanımayı engellememesi gerekir. Bu nedenle, aptamer tabanlı bir görüntüleme sisteminin performansı, immobilizasyon yönelimi, aralayıcı uzunluğu ve yüzey yoğunluğu tarafından etkilenebilir.

Bazı çalışmalar, aptamerleri "kimyasal antikorlar" olarak tanımlasa da antikorların doğrudan eşdeğeri değildir. Antikorlar protein yapısında biyolojik tanıma elemanları iken aptamerler nükleik asit yapısında ve bağlanma özellikleri ölçüm koşullarına ve seçim dizisine bağlıdır. Sonuç olarak, aptamerlerin antikora mutlak üstünlük sağladığı şeklindeki genellemelerden ziyade, kimyasal sentez, kontrollü modifikasyon ve nanomalzemelerle bütünleştirme yoluyla avantaj sağladıkları belirtilmelidir.

2.8.2. Aptamerlerin Nanoparçacıklarla Birleştirilmesi

Aptamerlerin nanoparçacıklarla birleştirilmesi, moleküler tanımanın yanı sıra optik veya spektroskopik sinyallerin üretilmesine olanak tanır. Altın nanoparçacıklar, yukarı dönüşümlü nanoparçacıklar, kuantum noktaları veya floresan silika nanoparçacıklar, bu tür sistemlerde aptamer hedef molekülünü tanıyan bir bileşen olarak çalışırken, aynı zamanda hedef-aptamer etkileşiminin görüntülenmesini sağlayan sinyal taşıyıcıları olarak kullanılabilir.

Aptamerin nanoparçacık yüzeyine nasıl bağlandığı, biyotanıma performansını belirler. Aptamer, doğrudan ve yoğun bir şekilde yüzeye yapıştığında, nükleik asit zincirinin hareketini

kısıtlayabilir veya hedefe bağlanmak için gerekli olan üç boyutlu yapının oluşmasını engelleyebilir. Sonuç olarak, aptamer ile nanoparçacık yüzeyi arasında hidrofilik bir aralayıcı kullanılması, aptamerin yüzeyden uzaklaştırılmasına yardımcı olabilir ve aynı zamanda hedefe erişilebilirliğini koruyabilir. Özellikle poli(etilen glikol) temelli aralayıcılar, aptamerin yüzeye çok yakın konumlanmasını sınırlarken özgül olmayan yüzey etkileşimlerini azaltmak amacıyla kullanılabilmektedir.

Silika nanoparçacıklar, aptamer tabanlı sistemler için uygun taşıyıcılardan biridir. Floresan boya silika yapısına dâhil edilerek optik sinyal oluşturulabilirken, dış yüzey amin veya başka reaktif gruplarla işlevselleştirilebilir. Böylece aptamer dış yüzeye bağlanırken floresan boya parçacığının iç yapısında tutulabilir. Bu mimari, hedef tanıma yüzeyi ile optik sinyal üreten bölümün birbirinden belirli ölçüde ayrılmasına olanak sağlar.

Ancak aptamerin nanoparçacık yüzeyine bağlanması, hedefe özgü bağlanmanın otomatik olarak doğrulandığı anlamına gelmez. Konjugasyondan sonra parçacık büyüklüğü, yüzey yükü ve fonksiyonel grup değişiklikleri fizikokimyasal karakterizasyonla incelenebilir; ancak aptamerin biyolojik işlevinin korunduğunu kanıtlamak için hedef bağlanma veya özgüllük deneyleri de gereklidir. Bu ayırım, aptamer konjugasyonunun kimyasal olarak gerçekleşmesi ve aptamerin hedef tanıma yeteneğini korumasının farklı doğrulama düzeyleri olduğunu göstermektedir.

2.8.3. Aptamer Tabanlı Gizli Parmak İzi Görüntüleme Yaklaşımları

Parmak izi kalıntısı, yalnızca sırt desenini oluşturan fiziksel bir kalıntı değil; aynı zamanda amino asitler, lipidler, tuzlar ve proteinler gibi endojen bileşenler ile yüzeye dışarıdan aktarılmış maddeleri içeren kimyasal bir yapıdır. Bu nedenle aptamerler, parmak izi kalıntısındaki belirli moleküler bileşenleri tanıyarak sırt çizgilerinin hedefe dayalı biçimde işaretlenmesi amacıyla kullanılabilir. Aptamer temelli yaklaşım, yalnızca kalıntıya fiziksel olarak tutunan geliştiricilerden farklı olarak belirli bir moleküler hedefin tanınmasına dayanır.

Aptamer kullanılarak gerçekleştirilen ilk parmak izi görüntüleme çalışmalarından biri Wood ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Çalışmada parmak izi kalıntısındaki ekrin kökenli proteinlerden biri olan lizozim hedef olarak seçilmiş ve lizozime bağlanan floresan işaretli aptamer kullanılmıştır. CAL Fluor® Orange 560 ile işaretlenmiş aptamer, poliviniliden florür (PVDF) membran üzerindeki parmak izlerine uygulanmış ve sırt çizgileri floresans görüntüleme yoluyla belirlenmiştir. Bu çalışma, parmak izi kalıntısındaki özgül bir protein

bileşeninin aptamer aracılığıyla tanınabileceğini ve moleküler tanımanın optik görüntülemeye dönüştürülebileceğini göstermiştir (Wood vd., 2012).

Li ve arkadaşları, aptamerle işlevselleştirilmiş altın nanoparçacıkların karanlık alan mikroskopundaki ışık saçılma özelliklerinden yararlanmıştır. Aptamer bağlı altın nanoparçacıklar kullanılarak parmak izlerinde ikinci ve üçüncü seviye ayrıntılar görüntülenmiştir. Ayrıca kokain bağlayan aptamer kullanıldığında, kokain kaynaklı nanoparçacık kümelenmesi saçılan ışığın yeşilden kırmızıya değişmesine neden olmuş ve parmak izi kalıntısındaki kokainin yaklaşık olarak değerlendirilmesine olanak sağlamıştır (Li vd., 2013). Bu çalışma, sırt deseninin görüntülenmesi ile parmak izindeki ekzojen bir maddenin belirlenmesinin aynı sistemde gerçekleştirilebileceğini göstermiştir.

Wang ve arkadaşları, arka plan otofloresansını azaltmak amacıyla yakın kızılötesi ışıkla uyarılan yukarı dönüşümlü nanoparçacıkları lizozim bağlayan aptamerlerle işlevselleştirmiştir. Aptamer, parmak izi sırtlarındaki lizozimi tanırken UCNP'ler görünür bölgede emisyon oluşturarak sırt deseninin görüntülenmesini sağlamıştır. Yakın kızılötesi uyarma, özellikle kendiliğinden floresans gösteren yüzeylerde arka plan girişiminin azaltılmasına katkıda bulunmuştur. Çalışmada ayrıca lizozim aptameri yerine kokain bağlayan aptamer kullanılarak kokainle temas etmiş parmak izlerinin görüntülenebildiği gösterilmiştir. Lizozim ve kokain aynı aptamerle veya aynı anda değil, farklı aptamerli sistemlerle hedeflenmiştir (Wang vd., 2014).

Aptamer tanınmasının silika içeren çekirdek-kabuk nanoparçacıklarla birleştirilmesine yönelik önemli bir yaklaşım Zhao ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir. Çalışmada altın çekirdek, Raman raporlayıcı ve silika kabuktan oluşan Au/pNTP/SiO₂ nanoparçacıklar lizozim bağlayan aptamerle işlevselleştirilmiştir. Aptamer parmak izi kalıntısındaki lizozimi hedeflerken, silika içinde korunan Raman raporlayıcı yüzeyle güçlendirilmiş Raman saçılması sinyali sağlamıştır. Sistem; ekrin ve sebasöz özellikteki, yeni bırakılmış ve yaşlandırılmış izlerde, farklı gözeneklilikteki yüzeylerde değerlendirilmiş ve üçüncü seviye ayrıntıların görüntülenebildiği bildirilmiştir (Zhao vd., 2016). Bu çalışma, silikanın yalnız floresan boya taşıyıcısı olarak değil, spektroskopik raporlayıcıyı dış ortamdan koruyan bir kabuk olarak da kullanılabileceğini göstermektedir.

Liu ve arkadaşları, doğrudan floresanla işaretlenmiş tek parçalı bir aptamer yerine bölünmüş aptamer ve bölünmüş G-kuadrupleks dizilerinden oluşan bir görüntüleme çözeltisi

geliştirmiştir. İki DNA zincirinin parmak izi kalıntısındaki lizozime bağlanması, zincirleri birbirine yaklaştırmış ve N-metilmesoporfirin IX ile floresan sinyal oluşturan G-kuadrupleks yapısının meydana gelmesini sağlamıştır. Yöntem farklı yüzeylerde ve farklı gönüllülerden alınan parmak izlerinde uygulanmıştır (Liu vd., 2018). Bu yaklaşım, sinyalin hedef bağlanması sonucunda oluştuğu “yakınlık temelli” aptamer sistemlerinin de parmak izi görüntülemeye kullanılabileceğini göstermektedir.

Bu çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde aptamer tabanlı parmak izi görüntülemenin farklı sinyal üretim mekanizmalarıyla gerçekleştirilebildiği görülmektedir. Doğrudan floresan işaretleme, altın nanoparçacıkların plazmonik ışık saçılması, yukarı dönüşümlü floresans, SERS ve hedefe bağlı G-kuadrupleks oluşumu bu yaklaşımlara örnektir. Bununla birlikte bazı sistemler floresans mikroskobu, karanlık alan mikroskobu veya Raman görüntüleme cihazı gibi özel donanımlar gerektirmektedir. Ayrıca tek bir moleküler hedefe dayanan görüntüleme performansının hedefin parmak izi kalıntısındaki miktarı, izin yaşı, parmak izinin ekrin veya sebace karakteri ve yüzey özelliklerinden etkilenmesi beklenebilir. Bu son değerlendirme, mevcut çalışmaların farklı hedef ve görüntüleme sistemleri kullanmasından yapılan bir çıkarımdır.

Literatürdeki çalışmalar, aptamerlerin parmak izi kalıntılarında bulunan belirli moleküler hedeflerin tanınmasında; floresan nanoparçacıkların ise bu etkileşimin optik olarak görüntülenmesinde kullanılabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte parmak izi kalıntısının hem ekrin hem de sebum kökenli bileşenlerden oluşması, tek bir hedefleme mekanizmasının farklı yüzey ve kalıntı koşullarında yeterli olmayabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle anti-lizozim aptameriyle sağlanan moleküler tanımanın, sebum bileşenlerine yönelik hidrofobik etkileşimle birleştirilmesi, daha kapsamlı bir floresan nanogeliştirici sisteminin oluşturulması açısından uygun bir yaklaşım olarak değerlendirilmiştir.

2.9. Tez Çalışmasının Kuramsal Tasarımı ve Özgün Yaklaşımı

Gizli parmak izi kalıntısı, ekrin salgıdan kaynaklanan suda çözünebilir bileşenler ile parmaklara diğer vücut bölgelerinden aktarılan sebum ve lipit kökenli bileşenleri birlikte içeren heterojen bir yapıdır. Bu bileşenlerin miktarı bireyler, yüzeyler, ardışık temaslar ve izin bırakılmasından sonra geçen süre arasında değişebilmektedir. Dolayısıyla yalnızca tek bir protein veya yalnızca lipit bileşenlerini hedefleyen bir geliştiricinin farklı parmak izi ve yüzey koşullarında aynı performansı göstermesi beklenmemelidir.

Bu tezde söz konusu kimyasal değişkenliğe karşı, iki ayrı etkileşim mekanizmasını bir araya getiren floresan silika temelli bir parmak izi geliştirici yaklaşımı tasarlanmıştır. Ortak başlangıç materyali olarak FAM içeren floresan silika nanoparçacıklar kullanılmıştır. Silika matrisi FAM kaynaklı optik sinyali taşıırken, amin işlevli dış yüzey farklı hedefleme gruplarının bağlanabileceği bir platform sağlamıştır. Tezde FAM giriş miktarı değiştirilmiş; temel Stöber sentez koşulları sabit tutularak floresans sinyali, boya retansiyonu ve DLS/PDI sonuçları birlikte değerlendirilmiş ve sonraki işlevselleştirme işlemleri için optimum FAM yüklü silika nanoparçacık formülasyonu seçilmiştir.

Optimum FAM yüklü silika platformundan iki ayrı işlevsel nanoparçacık sistemi hazırlanmıştır. Birinci sistemde anti-lizozim aptameri nanoparçacık yüzeyine bir aralayıcı yaklaşımı üzerinden bağlanmış ve parmak izi kalıntısındaki ekrin kökenli lizozimin moleküler olarak tanınması amaçlanmıştır. Bu sistem Apt-FAMSNp olarak adlandırılmıştır. Aptamerin kullanılmasının temel gerekçesi, önceki çalışmalarda lizozimin aptamer aracılı parmak izi görüntüleme için uygun bir moleküler hedef olduğunun gösterilmiş olmasıdır (Wood vd., 2012; Wang vd., 2014). Tezin yönteminde aptamerli sistemin hazırlanması ve fizikokimyasal karakterizasyonu ayrıca tanımlanmıştır.

İkinci sistemde FAM yüklü silika nanoparçacıkların yüzeyi hegzadesil trimetoksisilan ile modifiye edilmiştir. Uzun alkil zincirlerinin yüzeye kazandırılmasıyla nanoparçacıkların sebumdaki yağ asitleri, mum esterleri ve diğer hidrofobik bileşenlerle etkileşim potansiyelinin artırılması amaçlanmıştır. Bu sistem Hfb-FAMSNp olarak adlandırılmıştır. Hidrofobik modifikasyon düzeyi yalnızca en yüksek temas açısına göre seçilmemiş; floresans sinyalinin korunması, DLS/PDI, zeta potansiyeli ve FTIR sonuçları birlikte değerlendirilmiştir. Böylece yüksek hidrofobiklik ile yeterli kolloidal kararlılık arasında denge sağlayan Hfb-FAMSNp_OPT formülasyonu belirlenmiştir.

Aptamer konjugasyonu ve hidrofobik modifikasyon aynı nanoparçacık üzerinde gerçekleştirilmemiştir. Bunun yerine Apt-FAMSNp ve Hfb-FAMSNp_OPT ayrı ayrı hazırlanmış, son uygulama aşamasında farklı oranlarda karıştırılmıştır. Bu tasarımın temel gerekçesi, yoğun hidrofobik yüzey modifikasyonunun aptamerin üç boyutlu katlanmasını, hedefe erişilebilirliğini ve nanoparçacığın sulu ortamdaki dispersiyon davranışını olumsuz etkileyebilme riskidir. İki bileşenin ayrı tutulmasıyla aptamer aracılı lizozim tanınmasının ve sebum bileşenlerine yönelik hidrofobik etkileşimin birbirinden bağımsız olarak korunması

hedeflenmiştir. Tezde tek bileşenli sistemler ile 75:25, 50:50 ve 25:75 oranındaki karışımlar karşılaştırılmıştır.

Bu yaklaşımda Apt-FAMSNp'nin ekrin/lizozim yönünden zengin sırt bölgelerine, Hfb-FAMSNp_OPT'nin ise sebum ve lipit kökenli kalıntılara katkı sağlaması öngörülmüştür. Böylece nihai kompozit geliştiricinin, tek bir moleküler hedefe dayalı sisteme göre farklı kalıntı bileşimlerine karşı daha dengeli görüntüleme performansı göstermesi amaçlanmıştır. Ancak bu yaklaşım, her parçacığın yalnızca tek bir bileşene mutlak özgüllük gösterdiği anlamına gelmemektedir. Aptamerli bileşenin hedefe yönelik moleküler tanınması bulunurken, hidrofobik bileşenin etkileşimi daha geniş kapsamlı ve özgül olmayan hidrofobik çekimlere dayanmaktadır.

Nihai geliştirici oranı yalnızca en yüksek floresans şiddeti veya en yüksek hidrofobiklik temelinde seçilmemiştir. Kolloidal davranış, temas açısı, kısa süreli karışım kararlılığı, arka plan girişimi ve pilot parmak izi kalite sonuçları birlikte değerlendirilmiştir. Bu çok parametrelili seçim sonucunda Apt-FAMSNp ve Hfb-FAMSNp_OPT'nin 1:1 oranındaki karışımı CD_OPT olarak belirlenmiştir.

Geliştirilen sistemin performansı, yüzey ve parmak izi kalıntısındaki değişkenliği yansıtmak amacıyla lifli kâğıt, karton, kumaş ve cam yüzeylerde değerlendirilmiştir. Yeni bırakılmış tek bir parmak izi örneğiyle sınırlı kalınmamış; ardışık temasla parmak izi materyalinin azaldığı deplesyon serileri ile izin yaşanmasını temsil eden zaman serileri kullanılmıştır. Görüntülerde sırt–arka plan kontrastı, sırt keskinliği, görünür sırt alanı, sırt sürekliliği ve arka plan girişimi birlikte değerlendirilerek Parmak İzi Kalite Skoru hesaplanmıştır. Bu tasarım, aptamer aracılı moleküler tanımanın, hidrofobik kalıntı etkileşiminin ve floresan silika taşıyıcının farklı yüzey ve kalıntı koşullarındaki katkılarının karşılaştırılmasını amaçlamaktadır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. FAM Yüklü Silika Nanoparçacıkların Sentezi

FAM yüklü silika nanoparçacıklar (FAM-SNp), tetraetil ortosilikat (TEOS) temelli sol-jel/Stöber yöntemi esas alınarak hazırlanmıştır. Floresan grubun silika matrisi içerisine dâhil edilmesi amacıyla N-hidroksisüksinimid ester modifiye karboksifloresin (FAM-SE), 3-aminopropiltrietoksisilan (APTES) ile ön reaksiyona sokulmuş ve elde edilen FAM-APTES konjugatı daha sonra TEOS temelli silika sentezine dâhil edilmiştir (Wacker vd., 2012). FAM-SE stok çözeltisi 1.0 mg/mL derişimde susuz dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde hazırlanmıştır. FAM-APTES ön konjugatının hazırlanması için 1.0 mL FAM-SE stok çözeltisine 5 µL APTES eklenmiş ve karışım ışık almayan koşullarda, oda sıcaklığında 4 saat karıştırılmıştır. Hazırlanan bu stok konjugattan, sentez ortamına sırasıyla 2.5, 5.0 ve 10.0 µg FAM-SE'ye karşılık gelen hacimler ilave edilmiştir.

Silika nanoparçacık sentezi için 30.0 mL mutlak etanol, 1.50 mL deiyonize su ve 1.50 mL %28–30 (w/w) amonyum hidroksit çözeltisi 50 mL'lik reaksiyon kabına alınmış ve karışım 25 ± 2 °C'de 400 rpm'de 10 dakika ön karıştırmaya bırakılmıştır. Ardından 1.00 mL TEOS reaksiyon ortamına tek seferde eklenmiş ve karıştırmaya devam edilmiştir. Bu koşullarda yaklaşık TEOS, NH₃ ve toplam su derişimleri sırasıyla 0.13 M, 0.65 M ve 4.0 M düzeyindedir. Reaksiyon kabı amonyak ve etanol kaybını sınırlamak amacıyla kapalı tutulmuş ve silika çekirdek oluşumu 12 saat süreyle sürdürülmüştür (Polat vd., 2026).

FAM yükleme düzeyinin nanoparçacıkların optik ve kolloidal özellikleri üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla temel Stöber koşulları tüm gruplarda sabit tutulmuş ve yalnızca senteze dâhil edilen FAM-SE miktarı değiştirilmiştir. Düşük, orta ve yüksek yükleme koşullarında sırasıyla 2.5, 5.0 ve 10.0 µg FAM-SE kullanılmış; elde edilen nanoparçacıklar sırasıyla FAM-SNp-L, FAM-SNp-M ve FAM-SNp-H olarak adlandırılmıştır. Her sentezde TEOS miktarı, etanol/su oranı, amonyak derişimi, toplam reaksiyon hacmi, sıcaklık, karıştırma hızı ve reaksiyon süresi değiştirilmemiştir.

Silika çekirdek oluşumunun tamamlanmasının ardından, sonraki aptamer fonksiyonelleştirme aşamasında kullanılacak yüzey amin gruplarının oluşturulması amacıyla reaksiyon karışımına 25 µL APTES ilave edilmiştir. APTES ilavesinden sonra reaksiyon aynı sıcaklık ve karıştırma koşullarında 4 saat daha sürdürülmüştür. Kullanılan APTES miktarı,

TEOS'a göre düşük bir organosilan oranı sağlayacak şekilde seçilmiş ve silika yüzeyine birincil amin grupları kazandırılması amaçlanmıştır (Takeda vd., 2013).

Reaksiyon sonunda nanoparçacık dispersiyonları 10,000 ×g'de 15 dakika santrifüjlenmiş ve nanoparçacık fraksiyonu çökelti olarak ayrılmıştır. İlk santrifüj sonrası elde edilen süpernatant, silika yapısına dâhil olmayan veya nanoparçacıklarla birlikte tutulmayan FAM miktarının belirlenmesi amacıyla ayrı olarak saklanmıştır. Nanoparçacık çökeltileri 10 mL mutlak etanol içerisinde yeniden disperse edilmiş, kısa süreli ultrasonik banyoda dağıtılmış ve aynı santrifüj koşullarında yeniden çöktürülmüştür. Bu işlem iki kez tekrarlanmış ve her iki yıkama fraksiyonu FAM kaybının hesaplanması amacıyla ayrı olarak toplanmıştır. Son yıkama sonrasında nanoparçacıklar deiyonize su içerisinde yeniden disperse edilmiş ve sonraki karakterizasyon işlemlerine kadar 4 °C'de, ışıktan korunarak saklanmıştır (Wacker vd., 2012).

FAM-SNp-L, FAM-SNp-M ve FAM-SNp-H formülasyonları UV–Vis absorbans, floresans emisyon, FAM retansiyon/kayıp ve DLS/PDI sonuçları birlikte değerlendirilerek karşılaştırılmıştır. Orta yükleme koşulunda hazırlanan 5.0 µg FAM-SE içeren FAM-SNp-M formülasyonu, yeterli floresans sinyali ile boya tutulması ve kolloidal kalite arasında en dengeli profili gösterdiğinden sonraki yüzey işlevselleştirme çalışmaları için optimum başlangıç materyali olarak seçilmiş ve bundan sonraki bölümlerde FAMSNp_OPT olarak adlandırılmıştır.

3.1.1. UV-Vis Absorbans Analizi

Serbest FAM ile FAM-SNp-L, FAM-SNp-M ve FAM-SNp-H dispersiyonlarının UV–Vis absorbans spektrumları 350–650 nm dalga boyu aralığında kaydedilmiştir. Ölçümler, FAM kromoforuna ait görünür bölge absorbans bandının nanoparçacık yapısına dâhil edilmesi sonrasında korunup korunmadığını ve farklı FAM-SE giriş miktarlarının absorbans profili üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilmiştir (Nakamura vd., 2007). Ölçümler Hacettepe Üniversitesi HÜNİTEK Kimyasal Analiz Laboratuvarında bulunan Shimadzu UV-2600 UV–Vis spektrofotometre kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örnekler ölçüm öncesinde homojen dispersiyon elde etmek amacıyla kısa süreli olarak karıştırılmış ve uygun dispersiyon ortamı referans/blank olarak kullanılmıştır. Spektrumlar 1 cm optik yol uzunluğuna sahip kuvars küvetlerde kaydedilmiş, her örnek üç kez ölçülmüş ve sonuçlar ortalama spektrumlar üzerinden değerlendirilmiştir.

FAM içeren silika nanoparçacıklarda serbest boyaya ait karakteristik absorbans bölgesinin korunması, floresan kromoforun sentez ve yıkama basamakları sonrasında optik bütünlüğünü koruduğunu değerlendiren temel kriterlerden biri olarak kullanılmıştır. Floresan boya–NHS esterlerinin APTES ile konjuge edilerek Stöber sentezine dâhil edildiği benzer silika nanoparçacık sistemlerinde de boya kaynaklı optik özelliklerin nanoparçacık yapısında korunabildiği bildirilmiştir (Nakamura vd., 2007).

3.1.2. Floresans Emisyon Analizi

FAM-SE giriş miktarının nanoparçacıkların floresans şiddeti üzerindeki etkisini belirlemek ve FAM kromoforuna ait karakteristik yeşil emisyon bandının Stöber sentezi ve yıkama işlemleri sonrasında korunup korunmadığını değerlendirmek amacıyla, FAM yüklü silika nanoparçacıkların floresans özellikleri, Horiba FluoroMax-4 spektrofotometre kullanılarak değerlendirilmiştir. Serbest FAM ile FAM-SNp-L, FAM-SNp-M ve FAM-SNp-H örnekleri 488 nm dalga boyunda uyarılmış ve floresans emisyon spektrumları 500–650 nm aralığında kaydedilmiştir. Ölçümlerde 1 cm optik yol uzunluğuna sahip kuvars küvetler kullanılmış, nanoparçacık dispersiyonları ölçüm öncesinde homojen hâle getirilmiş ve tüm örnekler aynı ölçüm koşullarında analiz edilmiştir. Uyarma ve emisyon yarı genişlikleri ile tarama parametreleri tüm örneklerde sabit tutulmuştur. Her örnek için üç bağımsız ölçüm alınmış ve sonuçlar ortalama floresans spektrumları üzerinden değerlendirilmiştir.

FAM-SE gibi reaktif floresan boya türevlerinin APTES ile konjuge edilerek silika nanoparçacık yapısına dâhil edilmesi ve elde edilen nanoparçacıkların floresans özelliklerini koruması daha önce benzer sistemlerde bildirilmiştir (Nakamura vd., 2007; Montalti vd., 2014).

3.1.3. 96-Kuyucuklu Plaka ile FAM Kalibrasyonu ve Retansiyon Analizi

FAM yükleme veriminin ve sentez/yıkama basamaklarındaki boya kaybının nicel olarak değerlendirilmesi amacıyla, serbest FAM kullanılarak 96-kuyucuklu mikrolaka formatında bir floresans kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur (Spitzmüller vd., 2024). Kalibrasyon standartları 0–1000 ng/mL FAM derişim aralığını kapsayacak şekilde hazırlanmış ve her derişim üç tekrar hâlinde analiz edilmiştir. Standart ve örneklerin floresans şiddetleri BioTek Synergy H1 multimode mikrolaka okuyucu kullanılarak FAM için uygun uyarma/emisyon koşullarında ölçülmüştür. Tüm ölçümlerde aynı plaka tipi, örnek hacmi ve cihaz ayarları kullanılmıştır.

Ortalama floresans şiddeti FAM derişimine karşı grafiğe alınmış ve kalibrasyon ilişkisi doğrusal regresyon ile değerlendirilmiştir. Elde edilen regresyon denklemi, sentez sonrası

fraksiyonlarda ölçülen floresans sinyallerinin FAM eşdeğer miktarına dönüştürülmesinde kullanılmıştır. Retansiyon analizi için ilk santrifüj sonrasında elde edilen süpernatant ile birinci ve ikinci etanol yıkamalarından elde edilen fraksiyonlar ayrı ayrı toplanmıştır. Son yıkama sonrasında elde edilen nanoparçacık fraksiyonu da analiz edilmiştir. Her fraksiyonda ölçülen floresans şiddeti kalibrasyon eğrisi yardımıyla FAM eşdeğer miktarına dönüştürülmüş; nanoparçacık fraksiyonunda tutulan FAM, süpernatanta geçen FAM ve iki yıkama basamağında kaybedilen toplam FAM miktarları başlangıçta kullanılan boya miktarına göre yüzde olarak hesaplanmıştır.

FAM retansiyonu; nanoparçacık fraksiyonunda belirlenen FAM eşdeğer miktarının başlangıç FAM miktarına oranı, süpernatant ve yıkama kayıpları ise ilgili fraksiyonlarda belirlenen FAM eşdeğer miktarlarının başlangıç FAM miktarına oranı üzerinden hesaplanmıştır.

3.1.4. DLS ve PDI Analizi

FAM-SNp-L, FAM-SNp-M ve FAM-SNp-H formülasyonlarının hidrodinamik boyutları ve boyut dağılım özellikleri dinamik ışık saçılması (DLS) yöntemiyle değerlendirilmiştir. Ölçümler Malvern Zetasizer Nano ZSP cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Nanoparçacık dispersiyonları ölçüm öncesinde deiyonize su ile cihazın uygun saçılma yoğunluğu aralığını sağlayacak şekilde seyreltilmiş ve homojen dispersiyon elde etmek amacıyla nazıkçe karıştırılmıştır.

DLS ölçümleri 25 °C’de gerçekleştirilmiş ve örnekler ölçüm öncesinde cihaz içerisinde 2 dakika sıcaklık dengelenmesine bırakılmıştır. Saçılan ışık, Zetasizer Nano ZSP sisteminin geri saçılma geometrisi kullanılarak değerlendirilmiştir. Her örnek için en az üç ardışık ölçüm yapılmış; kümülatif analizden elde edilen Z-average hidrodinamik çap ile polidispersite indeksi (PDI) değerleri kaydedilmiş ve sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edilmiştir. DLS ile belirlenen hidrodinamik çap, partikül çekirdeğinin kuru geometrik çapına ek olarak yüzeydeki hidrasyon tabakası ve dispersiyondaki olası partikül–partikül etkileşimlerini de içerdiğinden, sonuçlar doğrudan kuru partikül çapı olarak değil, formülasyonların karşılaştırmalı kolloidal davranışını gösteren bir parametre olarak yorumlanmıştır (Tavernaro vd., 2017). PDI değerleri, farklı FAM yükleme koşullarının parçacık dağılım homojenliği üzerindeki görece etkisini karşılaştırmak amacıyla kullanılmıştır.

3.2. FAMSNp_OPT Tabanlı Aptamer Fonksiyonelleştirmesi ve Hidrofobik Modifikasyonun Karakterizasyonu

3.2.1. FAMSNp_OPT Başlangıç Materyali

Aptamer fonksiyonelleştirmesi ve hidrofobik yüzey modifikasyonu çalışmalarında ortak başlangıç materyali olarak, Bölüm 3.1’de sentezlenen ve optimize edilen FAMSNp_OPT kullanılmıştır. FAMSNp_OPT, 5.0 µg FAM-SE giriş miktarı ile hazırlanan FAM-SNp-M formülasyonunun UV–Vis absorbans, floresans emisyon, boya retansiyonu ve DLS/PDI sonuçlarının birlikte değerlendirilmesi sonucunda optimum başlangıç formülasyonu olarak seçilmesiyle tanımlanmıştır.

FAMSNp_OPT nanoparçacıkları, floresan sinyal sağlayan FAM içeren silika matrisi ile sonraki yüzey fonksiyonelleştirme basamaklarında kullanılabilecek amin gruplarını birlikte taşıyan ortak nanoparçacık platformu olarak kullanılmıştır. FAMSNp_OPT başlangıç materyalinden iki ayrı türevlendirme kolu oluşturulmuş; birinci kolda anti-lizozim aptameri ile fonksiyonelleştirilmiş Apt-FAMSNp, ikinci kolda ise HDTMS ile hidrofobikleştirilmiş Hfb-FAMSNp serileri hazırlanmıştır.

3.2.2. Aptamer Fonksiyonlu FAM Yüklü Silika Nanoparçacıkların Hazırlanması

Aptamer fonksiyonlu floresan silika nanoparçacıkların hazırlanmasında, Bölüm 3.1’de optimize edilen amin fonksiyonlu FAMSNp_OPT başlangıç materyali kullanılmıştır. Nanoparçacık yüzeyindeki primer amin grupları ile 5'-NH₂ modifiye anti-lizozim aptamer arasında PEG aralayıcılı kovalent bağlantı oluşturmak amacıyla homobifonksiyonel amin-reaktif çapraz bağlayıcı BS(PEG)5 [PEGylated bis(sulfosuccinimidyl)suberate] kullanılmıştır. BS(PEG)5’in her iki ucunda bulunan NHS ester grupları primer aminlerle reaksiyona girerek kararlı amid bağları oluşturduğundan, amin fonksiyonlu silika yüzeyi ile amino-modifiye aptamer arasında PEG aralayıcılı bağlanma için uygun bir reaksiyon sistemi sağlamaktadır.

Konjugasyon için 1.0 mg amin fonksiyonlu FAMSNp_OPT, 1.0 mL 50 mM sodyum fosfat tamponu (pH 7.5) içerisinde disperse edilmiştir. Nanoparçacık dispersiyonu kısa süreli sonikasyon ve nazik karıştırma ile homojen hâle getirildikten sonra, kullanım öncesinde taze hazırlanmış 10 mg/mL BS(PEG)5 çözeltisinden 10 µL eklenmiştir. Karışım oda sıcaklığında 30 dakika süreyle hafif karıştırma altında inkübe edilmiştir. Fosfat tamponlu salin (PBS; 1×, pH 7.4) hazırlanmış ve sonraki yıkama, bloklama ve dispersiyon basamaklarında kullanılmıştır.

İlk bağlama basamağı sonunda nanoparçacıklar 10,000 ×g'de, 4 °C'de 10 dakika santrifüjlenmiş ve reaksiyona girmemiş fazla BS(PEG)5 uzaklaştırılmıştır. Nanoparçacık fraksiyonu bir kez 1.0 mL 50 mM sodyum fosfat tamponu (pH 7.5) ile hızlı şekilde yıkanmış ve yeniden aynı tampon içerisinde disperse edilmiştir. Bu aşamada nanoparçacık yüzeyine bir ucundan bağlanan BS(PEG)5'in diğer ucundaki aktif NHS ester grubunun 5'-NH₂ modifiye aptamer ile reaksiyona girmesi amaçlanmıştır.

BS(PEG)5 ile aktive edilmiş FAMSNp_OPT dispersiyonuna 15 µg 5'-NH₂ modifiye anti-lizozim aptamer ilave edilmiş ve karışım oda sıcaklığında 2 saat süreyle hafif karıştırma altında inkübe edilmiştir. Amin-modifiye aptamerin terminal primer amin grubunun yüzeyde kalan aktif NHS esterleriyle reaksiyona girmesi sonucunda aptamerin PEG aralayıcı üzerinden nanoparçacık yüzeyine immobilizasyonu amaçlanmıştır (Tan vd., 2016).

Aptamer immobilizasyonu sonunda nanoparçacıklar 10,000 ×g'de, 4 °C'de 10 dakika santrifüjlenmiş ve bağlanmamış aptameri uzaklaştırmak amacıyla iki kez %0.05 Tween 20 içeren PBS ve ardından iki kez PBS ile yıkanmıştır. Fizikokimyasal karakterizasyon amacıyla kullanılacak Apt-FAMSNp fraksiyonu bu aşamada ayrılmış, fosfat ve yüzey aktif madde kalıntılarını azaltmak amacıyla bir kez deiyonize su ile yıkanmış ve FTIR, EDX, DLS/PDI, zeta potansiyel ve optik analizlerde kullanılmıştır. Parmak izi geliştirme deneylerinde kullanılacak ayrı Apt-FAMSNp fraksiyonu ise özgül olmayan yüzey etkileşimlerini azaltmak amacıyla %0.5 BSA içeren PBS ile muamele edilmiş ve son olarak %0.5 BSA/PBS içerisinde 1.0 mL hacimde yeniden disperse edilmiştir.

Apt-FAMSNp, parmak izi kalıntısında ekrin kökenli olarak bulunabilen lizozime yönelik aptamer içeren floresan nanodeveloper bileşeni olarak kullanılmıştır. Aptamer fonksiyonelleştirmesinin nanoparçacıkların fizikokimyasal özellikleri üzerindeki etkisi DLS/PDI, zeta potansiyel, SEM, EDX, ATR-FTIR, UV-Vis ve floresans analizleri ile değerlendirilmiştir. Aptamer immobilizasyonu sonrasında hidrodinamik çap ve yüzey yükündeki değişimler ile FTIR ve EDX'te gözlenen nükleik asit ilişkili göstergeler birlikte değerlendirilerek yüzey fonksiyonelleştirmesi doğrulanmıştır. Benzer şekilde, amine-modifiye aptamer taşıyan floresan silika nanoparçacıkların DLS, zeta potansiyel, FTIR ve optik yöntemlerin birlikte kullanılmasıyla karakterize edildiği bildirilmiştir (Tan vd., 2016).

3.2.3. HDTMS ile Hidrofobikleştirilmiş FAM Yüklü Silika Nanoparçacıkların Hazırlanması

Parmak izi kalıntısındaki sebum kökenli lipid bileşenleriyle hidrofobik etkileşim eğilimi artırılmış floresan silika nanoparçacıkların hazırlanmasında başlangıç materyali olarak FAMSnp_OPT kullanılmıştır. Hidrofobik yüzey modifikasyonu, uzun alkil zinciri taşıyan heksadesiltrimetoksisilan (HDTMS) kullanılarak Xu ve Zhang (2021) tarafından bildirilen yöntem uyarlanarak gerçekleştirilmiştir (Xu ve Zhang, 2021).

HDTMS miktarının yüzey hidrofobikliği ve nanoparçacıkların kolloidal özellikleri üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla iki modifikasyon düzeyi hazırlanmıştır. FAMSnp_OPT:HDTMS kütle oranları düşük ve yüksek modifikasyon koşulları için sırasıyla 1:0.5 ve 1:1 olarak belirlenmiş ve elde edilen örnekler Hfb-FAMSnp_H05 ve Hfb-FAMSnp_H10 olarak adlandırılmıştır. Her iki koşulda FAMSnp_OPT miktarı sabit tutulmuş ve yalnızca kullanılan HDTMS miktarı değiştirilmiştir. Bu oranlar, HDTMS ile nano-SiO₂ yüzey modifikasyonunda farklı silika, HDTMS oranlarının karşılaştırıldığı literatür yaklaşımı esas alınarak belirlenmiştir (Xu ve Zhang, 2021).

Her bir formülasyon ayrı olarak 300 mL susuz etanol içerisinde disperse edilmiş ve nanoparçacıkların homojen dağılımını sağlamak amacıyla karıştırılmıştır. HDTMS ilgili kütle oranına göre dispersiyona ilave edilmiş ve karışımlar 90 °C'ye ayarlanmış termostatik su banyosunda 1 saat süreyle karıştırılmıştır. Xu ve Zhang (2021) tarafından bildirilen HDTMS–nano-SiO₂ modifikasyon yönteminde de nanoparçacık/HDTMS karışımları 300 mL susuz etanol içerisinde 90 °C'de 1 saat süreyle işleme tabi tutulmuştur.

Reaksiyon sonunda nanoparçacıklar ortamdan ayrılmış ve reaksiyona girmemiş HDTMS ile diğer çözünebilir bileşenlerin uzaklaştırılması amacıyla deiyonize su ile yıkanmıştır. Yıkama sonrasında ürünler filtre edilerek katı fraksiyon elde edilmiş ve 60 °C'de vakumlu etüvde 24 saat kurutulmuştur. Kurutulan nanoparçacıklar sonraki karakterizasyon analizleri için uygun dispersiyon ortamında yeniden disperse edilmiştir (Xu ve Zhang, 2021).

Hfb-FAMSnp_H05 ve Hfb-FAMSnp_H10 formülasyonları; statik su temas açısı, DLS/PDI, zeta potansiyel, UV–Vis absorpsiyon, floresans emisyon ve ATR-FTIR sonuçları birlikte değerlendirilerek karşılaştırılmıştır. Optimum hidrofobik formülasyonun seçiminde yalnızca en yüksek temas açısı değil, FAM floresansının korunması ve nanoparçacıkların kolloidal dağılım özellikleri de dikkate alınmıştır. Bu değerlendirme sonucunda seçilen

modifikasyon koşulu aynı prosedür kullanılarak yeniden hazırlanmış ve sonraki deneylerde kullanılacak nihai hidrofobik nanoparçacık formülasyonu Hfb-FAMSNp_OPT olarak adlandırılmıştır.

3.2.4. UV-Vis Absorbans Analizi

FAMSNp_OPT ile aptamer ve HDTMS ile türevlendirilmiş nanoparçacıkların optik özelliklerinin karşılaştırılması amacıyla FAMSNp_OPT, Apt-FAMSNp, Hfb-FAMSNp_H05, Hfb-FAMSNp_H10 ve Hfb-FAMSNp_OPT örneklerinin UV-Vis absorbans spektrumları kaydedilmiştir. Analizler, Bölüm 3.1.1’de açıklanan UV-Vis ölçüm koşulları kullanılarak 350–650 nm dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir. Türevlendirme işlemleri sonrasında FAM kromoforuna ait karakteristik absorbans bandının korunumu ve örnekler arasındaki absorbans profili değişimleri karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

3.2.5. Floresans Emisyon Analizi

FAMSNp_OPT ile aptamer ve HDTMS ile türevlendirilmiş nanoparçacıkların floresans özelliklerinin karşılaştırılması amacıyla FAMSNp_OPT, Apt-FAMSNp, Hfb-FAMSNp_H05, Hfb-FAMSNp_H10 ve Hfb-FAMSNp_OPT örneklerinin emisyon spektrumları kaydedilmiştir. Analizler Bölüm 3.1.2’de açıklanan floresans ölçüm koşulları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yüzey fonksiyonelleştirme işlemleri sonrasında FAM’a ait karakteristik emisyon bandının korunumu ile örneklerin göreceli floresans şiddetleri karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

3.2.6. DLS ve PDI Analizi

FAMSNp_OPT ile türevlendirilmiş nanoparçacıkların hidrodinamik boyut ve dağılım özellikleri, Bölüm 3.1.4’te açıklanan DLS yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. FAMSNp_OPT, Apt-FAMSNp, Hfb-FAMSNp_H05, Hfb-FAMSNp_H10 ve Hfb-FAMSNp_OPT örnekleri için Z-average hidrodinamik çap ve PDI değerleri belirlenmiştir. Hidrodinamik çap ve PDI değerlerindeki değişimler birlikte ele alınmış; özellikle artan Z-average ve PDI değerleri yüzey modifikasyonu sonrasında oluşabilecek dağılım genişlemesi ve agregasyon eğilimi açısından değerlendirilmiştir (Tavernaro vd., 2017).

3.2.7. Zeta Potansiyel Analizi

FAMSNp_OPT ile yüzey fonksiyonelleştirmesi uygulanmış nanoparçacıkların elektrokinetik yüzey özelliklerindeki değişimler zeta potansiyel ölçümleri ile değerlendirilmiştir. FAMSNp_OPT, Apt-FAMSNp, Hfb-FAMSNp_H05, Hfb-FAMSNp_H10

ve Hfb-FAMSNp_OPT örnekleri ölçüm öncesinde deiyonize su içerisinde aynı nanoparçacık derişimine seyrtilmiş ve homojen dispersiyon elde edilmiştir. Ölçümler, Bölüm 3.1.4'te DLS analizleri için kullanılan Malvern Zetasizer Nano ZSP sistemi ile gerçekleştirilmiş ve her örnek için ortalama zeta potansiyel değeri belirlenmiştir.

Tüm örneklerde aynı dispersiyon ortamı ve ölçüm koşulları kullanılarak yüzey fonksiyonelleştirmesine bağlı görelî değışimler karşılaştırılmıştır. Aptamer fonksiyonelleştirmesi sonrasında DNA aptamerin negatif yüklü fosfat omurgasının yüzeye katkısı nedeniyle zeta potansiyelin daha negatif değerlere kayması beklenmiş ve bu değışim aptamer içeren yüzey oluşumunu destekleyen tamamlayıcı bir fizikokimyasal gösterge olarak değerlendirilmiştir. Benzer şekilde, DNA aptamer ile fonksiyonelleştirilmiş floresan silika nanoparçacıklarda yüzey yükü değışimlerinin zeta potansiyel ölçümleriyle izlenebildiğı bildirilmiştir (Tan vd., 2016).

HDTMS ile modifiye edilen örneklerde ise silika yüzeyindeki iyonlaşabilir silanol gruplarının organosilan tabakası tarafından kısmen maskelenmesi ve uzun alkil zincirlerinin yüzeye kazandırılması nedeniyle zeta potansiyelin daha az negatif değerlere kayması beklenmiştir. Bu nedenle zeta potansiyel sonuçları, temas açısı ve DLS/PDI verileriyle birlikte değerlendirilerek hidrofobik yüzey modifikasyonunun kolloidal özellikler üzerindeki etkisinin incelenmesinde kullanılmıştır (Xu ve Zhang, 2021).

3.2.8. SEM Görüntüleme ve Partikül Boyut Analizi

FAMSNp_OPT, Apt-FAMSNp ve Hfb-FAMSNp_OPT örneklerinin morfolojisi ve kuru haldeki partikül boyutları taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir. Nanoparçacık dispersiyonları uygun oranda seyrtilmiş, SEM örnek tutucuları üzerine damlatılmış ve oda koşullarında kurutulmuştur. Hazırlanan örnekler uygun görüntüleme koşullarında FEI Quanta 450 FEG taramalı elektron mikroskobu kullanılarak analiz edilmiştir.

SEM mikrograflarında nanoparçacıkların genel morfolojisi, şekil özellikleri ve kurutulmuş örneklerdeki partikül organizasyonu değerlendirilmiştir. Partikül boyut analizi için mikrograflarda birbirinden ayırt edilebilen nanoparçacıkların çapları görüntü ölçeğı esas alınarak ölçülmüş, elde edilen çap dağılımları yüzde sıklık olarak ifade edilmiş ve ortalama partikül çapları ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir.

SEM ile belirlenen çap değeri kuru nanoparçacık boyutunu temsil ettiğinden, Bölüm 3.2.6'da DLS ile belirlenen hidrodinamik çaplardan ayrı olarak değerlendirilmiştir. DLS

ölçümleri dispersiyon ortamında nanoparçacığın hidrasyon tabakası ve yüzey modifikasyonlarının hidrodinamik boyuta katkısını da içerdiğinden, SEM ve DLS sonuçları birbirini tamamlayan ancak doğrudan eşdeğer olmayan boyut karakterizasyonları olarak yorumlanmıştır (Tavernaro vd., 2017).

3.2.9. EDX Elementel Analiz

FAMSNp_OPT, Apt-FAMSNp ve Hfb-FAMSNp_OPT örneklerinin elementel bileşimlerdeki değişimler, SEM sistemi ile entegre enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDX) kullanılarak değerlendirilmiştir. Analizlerde her örnek için farklı bölgelerden üç ölçüm alanı seçilmiş ve Si, O, C, N ve P elementlerine ait atomik yüzde değerleri belirlenmiştir. Sonuçlar üç analiz alanından elde edilen değerlerin ortalama $\pm$ standart sapması olarak ifade edilmiştir. FAMSNp_OPT örneğinde Si ve O sinyalleri silika matrisinin temel elementel göstergeleri olarak değerlendirilmiştir. Apt-FAMSNp örneğinde başlangıç materyaline kıyasla N ve özellikle P katkısındaki artış, aptamer fonksiyonelleştirmesi sonrasında nanoparçacık yüzeyine nükleik asit yapısının kazandırılmasını destekleyen elementel göstergeler olarak kullanılmıştır. N sinyalinin yüzeydeki amin grupları ve diğer azot içeren organik bileşenlerden de katkı alabileceği dikkate alınarak, aptamer fonksiyonelleştirmesi yalnızca N artışına dayandırılmamış, P sinyali, zeta potansiyel, DLS ve ATR-FTIR sonuçlarıyla birlikte değerlendirilmiştir.

3.2.10. ATR-FTIR Analizi

FAMSNp_OPT, Apt-FAMSNp ve Hfb-FAMSNp_OPT örneklerinin yüzey fonksiyonelleştirmesi sonrasında kimyasal yapı ve karakteristik fonksiyonel grup değişimleri attenuated total reflectance Fourier dönüşümlü kızılötesi (ATR-FTIR) spektroskopisi ile incelenmiştir. Ölçümler Thermo Scientific Nicolet iS50 ATR-FTIR-NIR spektrometre kullanılarak 4000–400 cm^{-1} dalga sayısı aralığında, 4 cm^{-1} spektral çözünürlükte ve her örnek için 32 tarama alınarak gerçekleştirilmiştir (Xu ve Zhang, 2021).

3.2.11. Su Temas Açısı Analizi

FAMSNp_OPT, Apt-FAMSNp, Hfb-FAMSNp_H05, Hfb-FAMSNp_H10 ve Hfb-FAMSNp_OPT örneklerinin ıslanabilirlik özellikleri statik su temas açısı ölçümleri ile belirlenmiştir. Nanoparçacık dispersiyonları temiz katı yüzeyler üzerine eşit miktarda uygulanarak homojen bir nanoparçacık tabakası oluşturulmuş ve oda koşullarında tamamen kurutulmuştur.

Temas açısı ölçümleri Krüss DSA100 temas açısı ölçüm sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kurutulmuş nanoparçacık kaplamalarının üzerine 2 µL deiyonize su damlası bırakılmış, damla profili cihaz kamerası ile kaydedilmiş ve statik temas açısı cihaz yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır. Her örnek için üç bağımsız ölçüm gerçekleştirilmiş ve sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edilmiştir.

3.3. Apt-FAMSNp/Hfb-FAMSNp_OPT Karışımlarının Hazırlanması

Nihai geliştirici formülasyonunun optimizasyonu amacıyla, Bölüm 3.2’de ayrı ayrı hazırlanan Apt-FAMSNp ve Hfb-FAMSNp_OPT dispersiyonları kullanılmıştır. İki nanoparçacık tipi aynı partikül üzerinde birleştirilmemiş; ayrı dispersiyonlar halinde hazırlanmış ve yalnızca uygulama öncesinde farklı hacim oranlarında karıştırılmıştır.

Karışım hazırlanmadan önce Apt-FAMSNp ve Hfb-FAMSNp_OPT dispersiyonları eşdeğer nanoparçacık derişimine ayarlanmıştır. Ardından iki dispersiyon aşağıdaki hacimsel oranlarda (v/v) karıştırılmıştır. Saf Apt-FAMSNp ve saf Hfb-FAMSNp_OPT dispersiyonları da karşılaştırma amacıyla aynı deney setine dahil edilmiştir.

Hazırlanan karışımlar kısa süre vortexlenmiş ve homojen dispersiyon elde edilmesi amacıyla kısa süreli ultrasonik dağıtmaya tabi tutulmuştur. Karışımlar hazırlandıktan sonra pilot parmak izi deneylerinde kullanılmıştır.

Tablo 3.1. Karışım optimizasyonunda kullanılan dispersiyon formülasyonları ve oranları

Formülasyon	Apt-FAMSNp oranı (%)	Hfb-FAMSNp OPT oranı (%)
Apt-FAMSNp	100	0
Hfb-FAMSNp_OPT	0	100
CD_75Apt_25Hfb	75	25
CD_50Apt_50Hfb	50	50
CD_25Apt_75Hfb	25	75

3.4 Pilot Parmak İzi Uygulaması ve Görüntüleme

Apt-FAMSNp/Hfb-FAMSNp_OPT karışım oranlarının parmak izi geliştirme performansının ön değerlendirmesi amacıyla pilot görüntüleme deneyi gerçekleştirilmiştir. Pilot deneylerde aynı donörden ardışık olarak elde edilen deplesyon serisinin dördüncü depozisyonuna karşılık gelen DP4 örnekleri kullanılmıştır. Deplesyon serileri, parmak izi kalıntısındaki azalmaya bağlı olarak geliştirici performansının farklı depozisyon düzeylerinde değerlendirilmesine olanak sağlayan deneysel yaklaşım esas alınarak hazırlanmıştır (Almog vd., 2014; Lee vd., 2019).

Uygulama öncesinde Apt-FAMSNp, Hfb-FAMSNp_OPT ve bunların farklı oranlardaki karışımları eşdeğer nanoparçacık derişimine ayarlanmış ve kısa süre vortexlenerek homojenleştirilmiştir. Her bir DP4 parmak izi bölgesine 200 µL geliştirici dispersiyonu, sırt yapısına mekanik temas oluşturmıyacak şekilde damla damla dağıtılarak uygulanmıştır. Örnekler yatay konumda oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilmiştir. Bu uygulama koşulu, sulu nanoparçacık dispersiyonlarının kısa süreli parmak izi geliştirme uygulamaları ile lizozim-hedefli aptamer–nanoparçacık sistemleri için bildirilen yüzey uygulama prosedürleri esas alınarak belirlenmiştir (Su vd., 2016; Lee vd., 2019).

İnkübasyon sonrasında yüzeye bağlanmamış nanoparçacıkları uzaklaştırmak amacıyla örnekler, parmak izi bölgesine doğrudan kuvvetli akış uygulanmadan, deiyonize su ile iki kez nazıkçe yıkanmıştır. Örnekler oda koşullarında tamamen kurumaya bırakılmış ve ardından floresans görüntüleme gerçekleştirilmiştir. Tüm formülasyonlarda uygulanan geliştirici hacmi, inkübasyon süresi, yıkama işlemi ve kurutma koşulları aynı tutulmuştur. Floresans görüntülerin karşılaştırılabilirliğini sağlamak amacıyla pozlama süresi, uyarma ışığı şiddeti, kamera–örnek mesafesi ve görüntü alanı tüm ölçümlerde sabit tutulmuştur. Her formülasyon üç bağımsız tekrar üzerinden değerlendirilmiştir.

3.5. Görüntü Analizi ve Parmak İzi Kalite Skoru (FQS) Yöntemi

3.5.1. ROI Seçimi ve Görüntü Ön İşleme

Parmak izi görüntülerinin nicel olarak değerlendirilmesi, görüntülerden seçilen ilgi bölgeleri (region of interest, ROI) üzerinden gerçekleştirilmiştir. ROI tabanlı yaklaşım, farklı örnek ve deney koşullarında aynı büyüklükte ve karşılaştırılabilir görüntü alanlarının analiz edilmesini sağlamak amacıyla kullanılmıştır. Parmak izi görüntü kalitesinin değerlendirilmesinde lokal görüntü bölgelerinin kullanılması ve kontrast, ridge yapısı ve arka plan gibi özelliklerin ayrı ayrı nicelleştirilmesi, adli parmak izi görüntü analizi için bildirilen çok bileşenli kalite değerlendirme yaklaşımlarıyla uyumludur (Guan vd., 2014; Tabassi vd., 2021).

Tam parmak izi görüntülerinin bireysel tanımlamaya olanak sağlayabilecek desen bilgisi içermesi nedeniyle, raporlama ve sayısal analizlerde yalnızca lokal ROI alanları kullanılmıştır. ROI seçiminde sırt çizgilerinin görüntü kalite analizine uygun olduğu lokal alanlar tercih edilmiştir. Aynı deneysel seri içerisinde karşılaştırılan görüntülerde mümkün olduğunca aynı göreceli parmak izi bölgesinden ve aynı boyutta ROI seçilmiştir.

Seçilen ROI görüntüleri Python ortamına aktarılmış ve analiz öncesinde standart boyut ve görüntü formatına dnştrlmştir. Floresans görüntülerde FAM kaynaklı optik sinyali temsil eden görüntü kanalı esas alınmış; visible/brightfield olarak kaydedilen kontrol görüntülerinde ise görünür sırt sinyali değerlendirilmiştir.

ROI görüntülerine sırasıyla lokal arka plan düzeltmesi, sınırlı yumuşatma, eşikleme tabanlı segmentasyon ve morfolojik temizleme işlemleri uygulanmıştır. Arka plan düzeltmesi, görüntü alanındaki homojen olmayan aydınlatma ve zemin sinyalinin etkisini azaltmak amacıyla uygulanmıştır. Düşük düzeyli kamera gürültüsü ve izole piksel değişimlerini azaltmak amacıyla hafif Gaussian veya median yumuşatma kullanılmıştır. Ardından sırt ve arka plan bölgelerinin ayrılması için eşikleme tabanlı maskeleme uygulanmış ve oluşan maskelerdeki küçük izole bölgeler morfolojik temizleme işlemleriyle uzaklaştırılmıştır.

Tüm görüntülerde aynı analiz akışı ve aynı işlem sırası kullanılmış; ön işleme basamakları görüntüde bulunmayan yeni sırt yapıları oluşturmadan yalnızca mevcut görüntü bilgisinin nicel değerlendirmeye hazırlanması amacıyla uygulanmıştır. Görüntü işleme ve analiz adımları OpenCV, NumPy, pandas ve scikit-image kütüphaneleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.5.2. Görüntü Kalite Metriklerinin Hesaplanması

n işleme ve segmentasyon işlemlerinin ardından her ROI için beş temel görüntü kalite metriği hesaplanmıştır: sırt-arka plan kontrastı, sırt keskinliği, görünür sırt kaplama oranı, sırt sürekli liği, arka plan paraziti. Metriklerin hesaplanmasında n işlenmiş ROI görüntüsü ile sırt ve arka plan bölgelerini tanımlayan segmentasyon maskeleri birlikte kullanılmıştır.

Sırt-arka plan kontrastı (Ridge-background contrast), sırt olarak sınıflandırılan bölgelerin ortalama görüntü yoğunluğu ile arka plan olarak sınıflandırılan bölgelerin ortalama görüntü yoğunluğu arasındaki fark esas alınarak hesaplanmıştır.

Sırt keskinliği (ridge sharpness), sırt sınırlarında meydana gelen lokal görüntü yoğunluğu değişimleri üzerinden belirlenmiştir. Bu amaçla ROI içerisindeki lokal gradyan büyüklükleri kullanılarak sırt kenarlarının belirginliği nicelleştirilmiştir.

Görünür sırt kaplama oranı (visible ridge coverage), segmentasyon sonucunda sırt bölgesi olarak sınıflandırılan piksel alanının toplam ROI alanına oranı üzerinden

hesaplanmıştır. Böylece her görüntü için sırt yapısının ROI içerisindeki görelî kaplama oranı elde edilmiştir.

Sırt sürekliliği (ridge continuity), segmentlenmiş sırt maskesindeki bağlantılı sırt yapıları esas alınarak hesaplanmıştır. Sırt bölgelerinin bağlantılılığı ve kesintisiz çizgi karakteri algoritmik olarak değerlendirilerek her ROI için bir süreklilik metriği elde edilmiştir.

Arka plan paraziti (background interference) ise sırt maskesi dışında kalan bölgelerdeki istenmeyen görüntü sinyalinin nicelleştirilmesiyle hesaplanmıştır. Bu metrik, sırt bölgesi dışında kalan zemin sinyalini bağımsız bir görüntü özelliği olarak temsil etmek üzere kullanılmıştır.

Hesaplanan beş metrik, farklı görüntüler arasında karşılaştırılabilirliği sağlamak amacıyla 0–1 aralığına normalize edilmiştir. Normalize edilmiş metrikler daha sonra FQS hesaplamasında kullanılmıştır.

3.5.3. Parmak İzi Kalite Skoru (FQS) Matematiksel Modeli

Parmak izi görüntülerinin genel kalite düzeyini tek bir sayısal değer ile ifade etmek amacıyla, Bölüm 3.5.2’de tanımlanan görüntü kalite metrikleri kullanılarak Parmak İzi Kalite Skoru (Fingerprint Quality Score, FQS) hesaplanmıştır. Parmak izi görüntü kalitesinin tek bir görüntü özelliğine değil, kontrast, sırt yapısının belirginliği, süreklilik ve arka plan özellikleri gibi birden fazla bileşenin birlikte değerlendirilmesine dayandırılması, literatürde kullanılan çok bileşenli parmak izi kalite değerlendirme yaklaşımlarıyla uyumludur (Guan vd., 2014; Tabassi vd., 2021). Bununla birlikte, bu çalışmada kullanılan FQS formülü çalışma kapsamında geliştirilmiş karşılaştırmalı bir kalite indeksi olup standart NFIQ veya NFIQ2 skorlarından farklıdır.

FQS hesabında sırt-arka plan kontrastı (C), sırt keskinliği (S), görünür sırt kaplama oranı (V) ve sırt sürekliliği (R) pozitif görüntü kalite bileşenleri olarak kullanılmıştır. Arka plan paraziti (B) ise istenmeyen zemin sinyalini temsil eden negatif bileşen olarak modele dahil edilmiştir (E.1). Tüm metrikler hesaplama öncesinde 0–1 aralığına normalize edilmiştir.

$$FQS = \left[\frac{C+S+V+R}{4} \right] - \alpha B \quad (E.1)$$

Burada C normalize sırt-arka plan kontrastı, S normalize sırt keskinliği, V normalize görünür sırt kaplama oranı, R normalize sırt sürekliliği ve B normalize arka plan paraziti değerini ifade etmektedir. Dört pozitif kalite bileşeni eşit ağırlıkla değerlendirilmiş, arka plan

girişimi ise 0.07 katsayısı ile ceza terimi olarak hesaba katılmıştır. 0.07 katsayısı literatürden alınmış standart bir katsayı olmayıp, bu çalışmada arka plan girişiminin kalite skoruna katkısını sınırlı ancak ölçülebilir düzeyde tutmak amacıyla çalışma kapsamında sabitlenmiştir.

Her görüntü için FQS ayrı ayrı hesaplanmış, aynı deneysel koşula ait üç bağımsız tekrarın FQS değerleri ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

3.5.4. Python Tabanlı Görüntü Analizi ve Veri Çıktıları

Görüntü analizleri, parmak izi ROI'lerinden nicel görüntü kalite parametrelerinin ve FQS değerlerinin elde edilmesi amacıyla Python ortamında hazırlanan bir analiz betiği kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analiz akışında görüntü işleme işlemleri için OpenCV ve scikit-image, sayısal işlemler için NumPy, sonuçların düzenlenmesi ve tablo formatında aktarılması için pandas kütüphanelerinden yararlanılmıştır. NumPy ve scikit-image, bilimsel sayısal hesaplama ve tekrarlanabilir görüntü işleme uygulamalarında yaygın olarak kullanılan açık kaynaklı Python kütüphaneleridir (van der Walt vd., 2014; Harris vd., 2020).

Analiz betiği; görüntünün içe aktarılması, ROI'nin işlenmesi, Bölüm 3.5.1'de tanımlanan ön işleme ve segmentasyon basamaklarının uygulanması, Bölüm 3.5.2'de tanımlanan beş görüntü kalite metriğinin hesaplanması, metriklerin normalize edilmesi ve Bölüm 3.5.3'te verilen eşitlik kullanılarak FQS değerinin hesaplanması işlemlerini ardışık olarak gerçekleştirmiştir.

Her görüntü için sırt-arka plan kontrastı, sırt keskinliği, görünür sırt kaplama oranı, sırt sürekliliği, arka plan paraziti ve FQS değerleri ayrı bir kayıt olarak oluşturulmuştur. Analiz sonucunda elde edilen sayısal veriler daha sonraki istatistiksel ve çok değişkenli analizlerde kullanılmak üzere .csv formatında dışa aktarılmıştır. Aynı analiz akışı, deney grupları arasında işlem kaynaklı farklılık oluşmasını önlemek amacıyla tüm görüntülere değişiklik yapılmadan uygulanmıştır.

3.6. Parmak İzi Performans Deneyleri

Pilot çalışma sonucunda belirlenen geliştirici sistemlerinin farklı yüzey ve parmak izi kalıntısı koşullarındaki performanslarını karşılaştırmak amacıyla ana parmak izi deneyleri gerçekleştirilmiştir. Deneylerde yüzey özelliklerindeki farklılığı temsil etmek üzere lifli kâğıt, karton, kumaş ve cam substratlar kullanılmıştır (Girod vd., 2012; Almog vd., 2014).

Her substrat için dört farklı geliştirme yaklaşımı karşılaştırılmıştır: ninhidrin referans yöntemi (N), fonksiyonelleştirilmemiş FAM yüklü silika nanoparçacık sistemi (NC), aptamer fonksiyonlu FAM yüklü silika nanoparçacık sistemi (C) ve Apt-FAMSNp ile Hfb-FAMSNp_OPT'nin 1:1 (v/v) oranındaki karışımından oluşan nihai geliştirici CD_OPT (CD).

NC, C ve CD örneklerinin parmak izi yüzeylerine uygulanmasında Bölüm 3.4'te tanımlanan nanoparçacık dispersiyonu uygulama, inkübasyon, yıkama, kurutma ve floresans görüntüleme prosedürü kullanılmıştır. Elde edilen görüntüler Bölüm 3.5'te tanımlanan standart ROI tabanlı görüntü analiz ve FQS yöntemiyle değerlendirilmiştir.

3.6.1. Deney Grupları ve Substratlar

Lifli kâğıt ve karton, gözenekli/selülozik yüzeyleri; kumaş, lifli ve heterojen tekstil yüzeyini; cam ise gözeneksiz ve düzgün yüzeyi temsil etmek üzere deney setine dahil edilmiştir (Girod vd., 2012; Almog vd., 2014). Her substrat-yöntem kombinasyonu üç bağımsız tekrar halinde hazırlanmıştır. Aynı deneysel koşullar içerisinde karşılaştırılan örneklerde parmak izinin oluşturulması, geliştirici uygulaması ve görüntüleme koşulları sabit tutulmuştur.

3.6.2. Ninhidrin Referans Kontrolünün Uygulanması

Geleneksel parmak izi geliştirme yaklaşımını temsil eden referans kontrol olarak ninhidrin yöntemi kullanılmıştır. Ninhidrin çalışma çözeltisi literatürde bildirilen standart amino asit reaktif formülasyonu esas alınarak hazırlanmıştır. Bir litre çalışma çözeltisi için 4.0 g ninhidrin, 20 mL metanol içerisinde çözündürülmüş; ardından 70 mL etil asetat ve 10 mL glasiyal asetik asit eklenmiş ve karışım 900 mL petrol eteri ile tamamlanmıştır (King vd., 2022).

Parmak izi örneklerini taşıyan substratlar ninhidrin çalışma çözeltisi ile tamamen temas edecek şekilde kısa süreli daldırma yöntemiyle işlenmiş, fazla çözeltinin uzaklaşmasına izin verildikten sonra oda koşullarında kurutulmuştur. Kuruyan örneklerde ninhidrin-amino asit reaksiyonunun geliştirilmesi amacıyla örnekler 85 °C ve %65 bağıl nem koşullarında 20 dakika bekletilmiştir. Bu işlem koşulları, gözenekli yüzeylerde ninhidrin ile latent parmak izi geliştirilmesinde kullanılan literatür prosedürü esas alınarak uygulanmıştır (King vd., 2022).

Geliştirme işleminin ardından örnekler oda sıcaklığına getirilmiş ve görünür ışık (visible/brightfield) koşullarında görüntülenmiştir. Görüntüleme sırasında kamera konumu, görüntü alanı ve aydınlatma koşulları deney grupları içerisinde sabit tutulmuştur. Ninhidrin ile

elde edilen görüntüler, Bölüm 3.5'te tanımlanan ROI tabanlı görüntü analiz prosedürü kullanılarak değerlendirilmiştir.

3.6.3. Deplesyon Serisinin Hazırlanması ve Değerlendirilmesi

Geliştirici sistemlerinin azalan parmak izi kalıntısı koşullarındaki performansını değerlendirmek amacıyla altı basamaklı deplesyon serisi hazırlanmıştır. Ardışık depozisyon serilerinin parmak izi kalıntı miktarı ve sırt görünürlüğündeki değişimin incelenmesinde kullanılması literatürde yerleşik bir deneysel yaklaşımdır (Almog vd., 2014; Salmeron ve De Alcaraz-Fossoul, 2022). Deplesyon yaklaşımında aynı donöre ait aynı parmak, arada yeniden parmak izi kalıntısı oluşturacak herhangi bir işlem uygulanmadan ardışık olarak altı kez ilgili substrat yüzeyine temas ettirilmiştir. Ardışık temaslar sırasıyla DP1, DP2, DP3, DP4, DP5 ve DP6 olarak kodlanmıştır.

Deplesyon serilerinin oluşturulmasında donör, kullanılan parmak ve ardışık temas sırası sabit tutulmuştur. DP1 ilk temas sonucu elde edilen izi, DP6 ise aynı serideki altıncı ardışık teması temsil etmiştir. Her substrat ve geliştirici sistemi için deplesyon serileri aynı deneysel düzen kullanılarak hazırlanmış ve her koşul üç bağımsız tekrar halinde gerçekleştirilmiştir.

Hazırlanan DP1–DP6 örneklerine NC, C ve CD geliştirici sistemleri Bölüm 3.4'te tanımlanan uygulama prosedürüne göre uygulanmıştır. Ninhidrin referans grubu ise Bölüm 3.6.2'de tanımlanan yöntemle geliştirilmiştir. Görüntüleme sonrasında her deplesyon basamağına ait görüntüler Bölüm 3.5'te tanımlanan ROI tabanlı görüntü analiz yöntemi ile işlenmiş ve her görüntü için ridge-background contrast, ridge sharpness, visible ridge coverage, ridge continuity, background interference ve FQS değerleri hesaplanmıştır. Her deplesyon basamağı için üç tekrardan elde edilen değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edilmiştir.

3.6.4. Zaman Serisinin Hazırlanması ve Değerlendirilmesi

Geliştirici uygulaması sonrasında elde edilen parmak izi görüntüsünün kısa süreli ve 24 saate kadar olan görüntü stabilitesini değerlendirmek amacıyla zaman serisi oluşturulmuştur. Bu amaçla N, NC, C ve CD grupları için T0, 5 dk, 15 dk, 30 dk, 1 saat ve 24 saat zaman noktalarında görüntüler kaydedilmiştir. T0, ilgili geliştirme ve görüntülemeye hazırlık işlemlerinin tamamlanmasının ardından alınan başlangıç görüntüsünü temsil etmiştir.

Aynı örneğe ait görüntüler belirlenen zaman noktalarında aynı görüntüleme düzeni kullanılarak kaydedilmiştir. NC, C ve CD grupları floresans görüntüleme koşullarında, ninhidrin referans grubu (N) ise görünür ışık/brightfield koşullarında değerlendirilmiştir. Her zaman noktası ve deneysel koşul üç bağımsız tekrar üzerinden incelenmiştir.

Zaman serisine ait görüntüler Bölüm 3.5'te tanımlanan ROI tabanlı analiz prosedürü kullanılarak değerlendirilmiş; sırt-arka plan kontrastı, sırt keskinliği, görünür sırt kaplama oranı, sırt sürekliliği, arka plan paraziti ve FQS değerleri hesaplanmıştır. Aynı deneysel koşula ait üç tekrardan elde edilen değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edilmiştir (Almog vd., 2014).

3.7. Temel Bileşenler Analizi (PCA)

Görüntü kalite parametrelerinin birlikte değişimini ve floresans tabanlı geliştirici sistemlerinin genel dağılımını değerlendirmek amacıyla temel bileşenler analizi (PCA) uygulanmıştır. Analize yalnızca aynı görüntüleme koşullarında değerlendirilen NC, C ve CD grupları dahil edilmiş; görünür ışık koşullarında görüntülenen ninhidrin kontrolü PCA dışında bırakılmıştır. PCA'da sırt-arka plan kontrastı, sırt keskinliği, görünür sırt alanı, sırt sürekliliği ve arka plan temizliği değişkenleri kullanılmıştır. Arka plan temizliği değeri, arka plan girişimi değerinin 1'den çıkarılmasıyla elde edilmiş ve böylece tüm kalite değişkenlerinin aynı yönde yorumlanması sağlanmıştır. FQS, bu değişkenlerden türetilmiş kompozit bir skor olduğundan PCA'ya ayrıca dahil edilmemiştir.

Her deneysel koşula ait üç tekrarın ortalaması alınmış ve her PCA noktası seri $\times$ substrat $\times$ yöntem $\times$ koşul kombinasyonunu temsil edecek şekilde veri seti hazırlanmıştır. Bu şekilde toplam 144 ortalama deneysel koşul analize dahil edilmiştir. PCA öncesinde değişkenler z-skör dönüşümü kullanılarak standardize edilmiş ve analiz standardize edilmiş veri matrisi üzerinden gerçekleştirilmiştir (Jolliffe, 2002). Ayrıca aynı PCA modelinden elde edilen skorlar kullanılarak her substrat-yöntem grubu için ortalama merkez noktaları hesaplanmış ve centroid grafiği oluşturulmuştur.

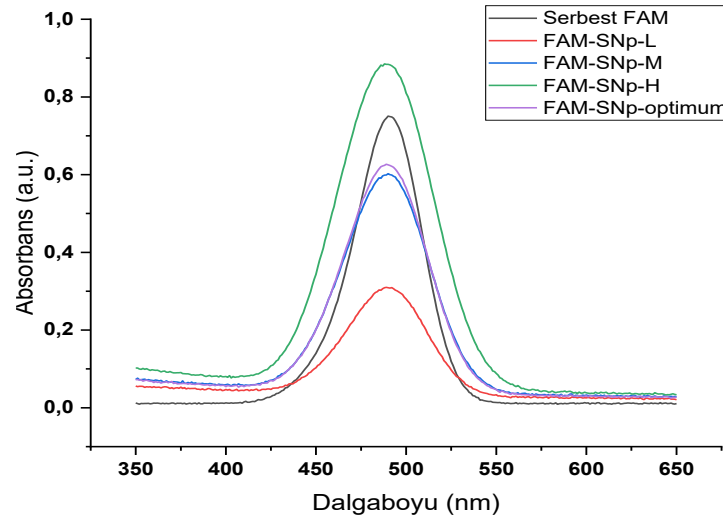
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. FAM Yüklü Silika Nanoparçacıkların (FAM-SNp) Karakterizasyonu ve Optimizasyon Sonuçları

FAM yükleme miktarının silika nanoparçacıkların optik özellikleri, boya tutma kapasitesi ve kolloidal kalitesi üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Bu amaçla serbest FAM ile düşük, orta ve yüksek FAM yükleme koşullarında hazırlanan FAM-SNp formülasyonları karşılaştırılmıştır. Optimizasyon aşamasında, UV-Vis absorbans davranışı, floresans emisyon şiddeti, FAM retansiyonu, süpernatant/yıkama kayıpları ve DLS/PDI sonuçları dikkate alınmıştır.

4.1.1. UV-Vis Absorbans Spektrumları

Serbest FAM ve farklı FAM yükleme miktarlarında hazırlanan silika nanoparçacıkların UV-Vis absorbans spektrumları Şekil 4.1’de verilmiştir. Serbest FAM ile FAM-SNp formülasyonlarının görünür bölgedeki ana absorbans bantları benzer dalga boyu aralığında gözlenmiş ve nanoparçacık sentezi sonrasında belirgin bir bant kaybı veya büyük bir spektral kayma meydana gelmemiştir.

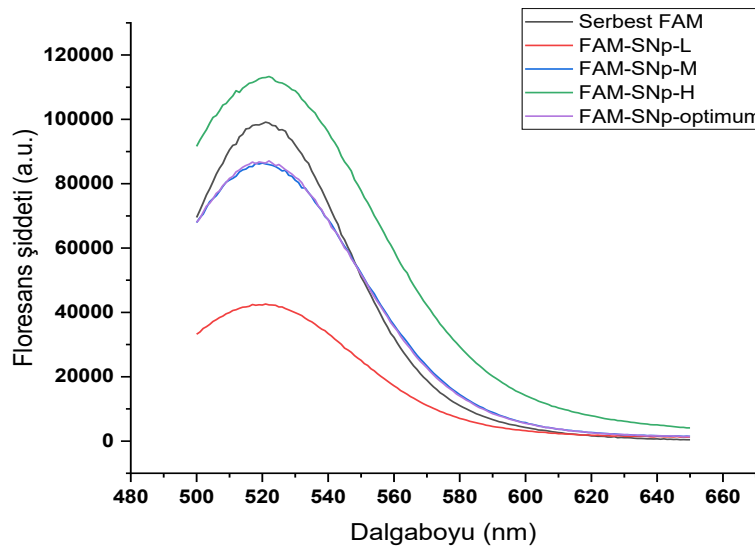


Şekil 4.1. Serbest FAM ve FAM yüklü silika nanoparçacıkların UV-Vis absorbans spektrumları

Bu sonuç, FAM’ın silika matrisi içerisine dahil edilmesinden sonra karakteristik elektronik absorbans davranışının büyük ölçüde korunduğunu göstermektedir. Floresan

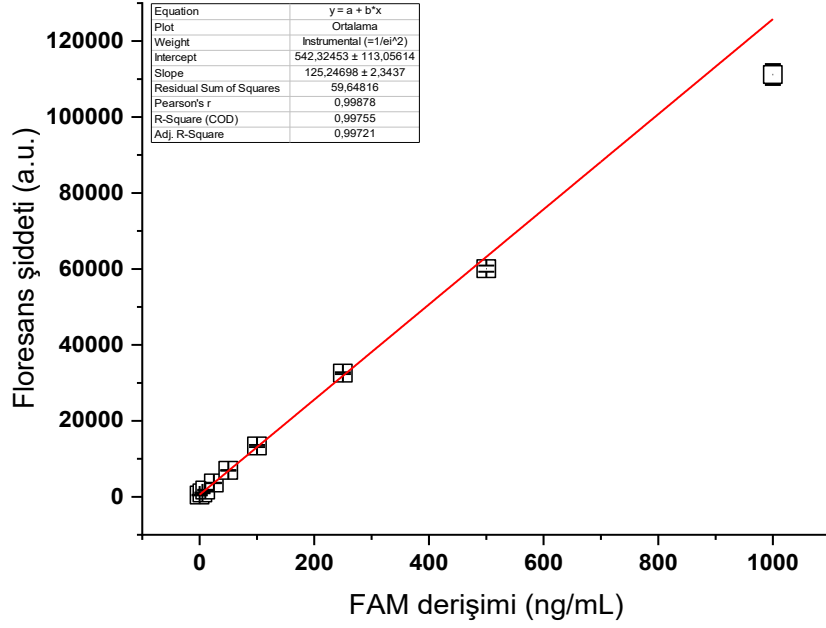
boyaların silika matrisi içerisinde optik özelliklerini koruyabildiği önceki boya katkı silika nanoparçacık çalışmalarında da bildirilmiştir (Nakamura vd., 2007; Montalti vd., 2014).

Serbest FAM ile FAM-SNp örneklerinin 488 nm uyarım altında 500–650 nm aralığında kaydedilen spektrumları görülmektedir. Boyanın karakteristik yeşil floresans emisyonunun silika yapısına yükleme sonrasında da başarıyla korunduğunu görülmektedir. Boya giriş miktarının artırılmasıyla emisyon şiddeti belirgin şekilde yükselmiş ve en yüksek şiddete FAM-SNp-H örneğinde gözlenmiştir. Bununla birlikte, en yüksek floresans şiddeti FAM-SNp-H örneğinde elde edilse de, FAM tutulumu, boya kaybı ve DLS/PDI sonuçlarıyla değerlendirildiğinde FAM-SNp-M, sonraki çalışmalarda FAMSNp_OPT olarak kullanılmıştır ve grafiklere dahil edilmiştir.

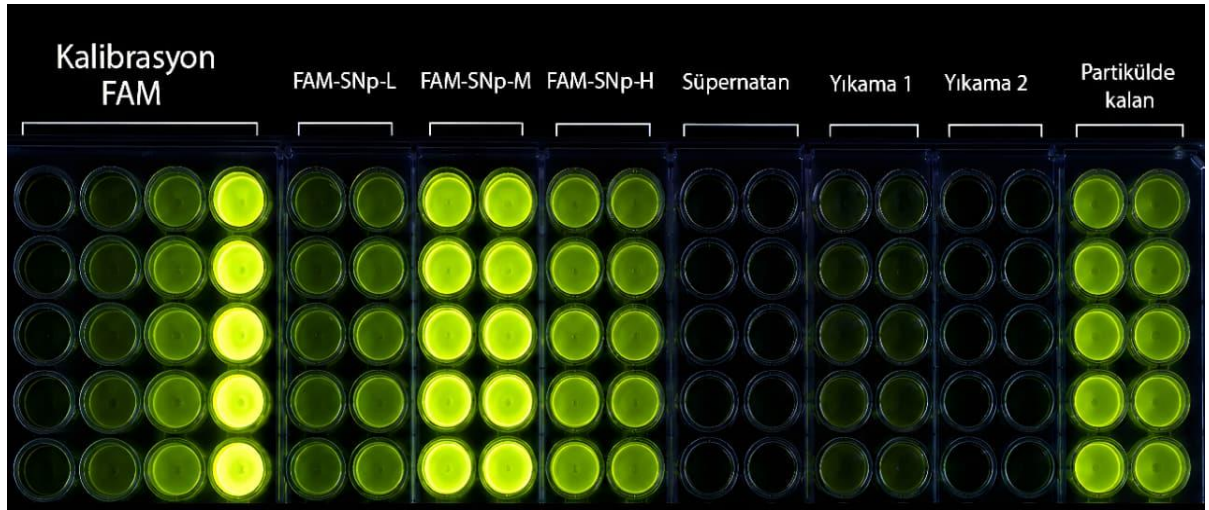


Şekil 4.2. Serbest FAM ve FAM yüklü silika nanoparçacıkların floresans emisyon spektrumları

Serbest FAM kullanılarak oluşturulan kalibrasyon eğrisinde (Şekil 4.3), 0–1000 ng/mL derişim aralığında floresans şiddetinin FAM derişimiyle doğrusal olarak arttığı görülmüştür. Doğrusal regresyon analizinde $R^2 = 0,99755$ olarak hesaplanmıştır. Elde edilen kalibrasyon ilişkisi, sentez sonrası nanoparçacık, süpernatant ve yıkama fraksiyonlarında ölçülen floresans sinyallerinin FAM eşdeğer miktarlarına dönüştürülmesinde ve boya tutulumu/kayıp oranlarının hesaplanmasında kullanılmıştır. FAM alıkonma (retensiyon) ölçümleri 96-kuyucuklu plaka formatında gerçekleştirilmiştir.



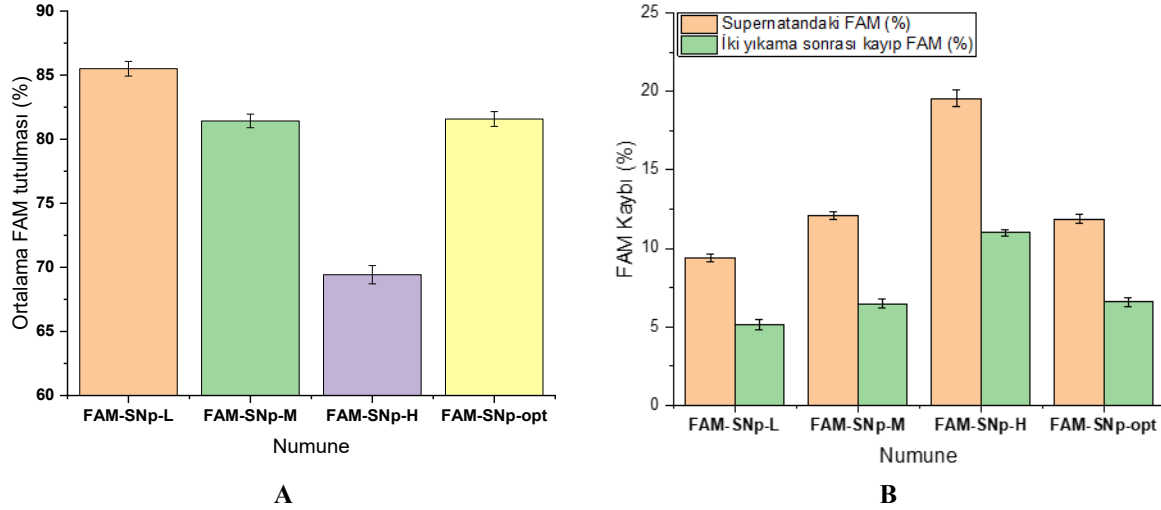
Şekil 4.3. 96-kuyucuklu plaka formatında serbest FAM kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.4. FAM kalibrasyonu ve FAM-SNp formülasyonlarında floresans retansiyonunun 96-kuyucuklu plaka görüntüsü

96-kuyucuklu plaka görüntüsünde serbest FAM standartlarında derişim artışına bağlı olarak floresans sinyalinin kademeli biçimde arttığı görülmektedir. FAM-SNp-L, FAM-SNp-M ve FAM-SNp-H örneklerinde ise nanoparçacık fraksiyonu, süpernatant ve yıkama fraksiyonları arasında belirgin floresans farklılıkları gözlenmiştir. Nanoparçacık fraksiyonlarında floresans sinyalinin korunması, FAM'ın sentez sonrasında nanoparçacıklarla birlikte tutulduğunu; süpernatant ve yıkama fraksiyonlarında gözlenen sinyal ise nanoparçacık

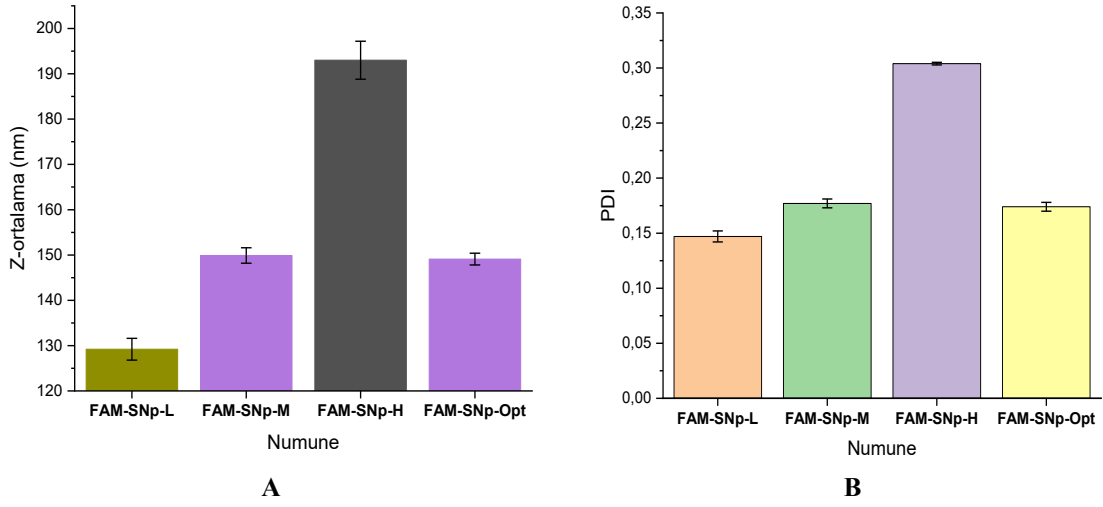
yapısına dahil olmayan veya yıkama sırasında uzaklaştırılan FAM fraksiyonlarını göstermektedir. Bu görsel değerlendirme, Şekil 4.5'te nicel olarak verilen FAM tutulumu ve kayıp sonuçlarıyla birlikte değerlendirilmiştir.



Şekil 4.5. FAM-SNP formülasyonlarında FAM tutulması ve kayıp fraksiyonlarının değerlendirilmesi. (A) FAM-SNP-L, FAM-SNP-M, FAM-SNP-H ve FAM-SNP-opt örneklerinde partikül fraksiyonunda tutulan ortalama FAM yüzdesi. (B) Aynı formülasyonlarda süpernatantta kalan FAM ve iki yıkama basamağı sonrasında uzaklaştırılan FAM yüzdeleri. Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

Şekil 4.5A'da farklı FAM yükleme koşullarında nanoparçacık fraksiyonunda tutulan FAM eşdeğer yüzdeleri, Şekil 4.5B'de ise süpernatant ve iki yıkama basamağında belirlenen FAM kayıpları gösterilmiştir. Düşük yükleme koşulundaki FAM-SNP-L örneğinde FAM tutulma oranı en yüksek düzeyde olmakla birlikte, bu formülasyonun floresans şiddeti daha düşük kalmıştır. Buna karşılık yüksek yükleme koşulundaki FAM-SNP-H örneğinde nanoparçacık fraksiyonunda tutulan FAM oranı azalırken süpernatant ve yıkama fraksiyonlarındaki kayıp artmıştır. Bu sonuç, FAM giriş miktarının artırılmasının nanoparçacıkta tutulan boya oranında aynı ölçüde bir artış sağlamadığını göstermektedir.

Orta yükleme koşulundaki FAM-SNP-M ise belirgin floresans sinyalini, görece yüksek FAM tutulumu ve daha sınırlı boya kaybı ile birlikte sağlamıştır. Bu nedenle floresans şiddeti ve boya tutulumu birlikte değerlendirildiğinde orta FAM yükleme koşulu daha dengeli bir profil göstermiştir. Bu formülasyon sonraki çalışmalarda FAMSNP_OPT olarak kullanılmıştır.



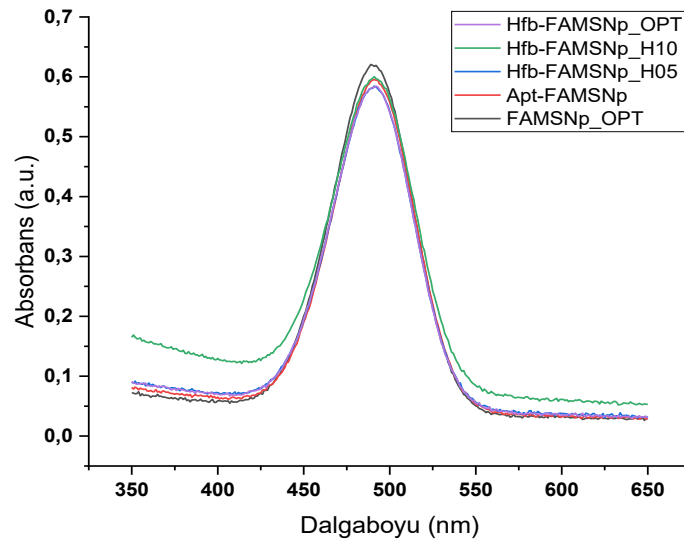
Şekil 4.6. FAM-SNP formülasyonlarının hidrodinamik çap (A) ve PDI değerleri (B). Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

DLS sonuçlarına göre FAM-SNP-L örneğinin Z-ortalama hidrodinamik çapı yaklaşık 129 nm iken, FAM-SNP-M örneğinde bu değer yaklaşık 150 nm'ye yükselmiştir. FAM miktarının 10,0 μg 'a çıkarıldığı FAM-SNP-H örneğinde ise hidrodinamik çap yaklaşık 193 nm'ye ulaşmıştır. Buna paralel olarak PDI değeri FAM-SNP-L için yaklaşık 0,147 ve FAM-SNP-M için 0,177 düzeyinde iken, FAM-SNP-H örneğinde yaklaşık 0,304'e yükselmiştir. Dolayısıyla yüksek FAM yükleme koşulu yalnızca ortalama hidrodinamik çapta yaklaşık 43 nm'lik bir artışa değil, aynı zamanda parçacık boyut dağılımının belirgin biçimde genişlemesine neden olmuştur. DLS ölçümlerinde daha büyük parçacık veya agregatların saçılan ışığa katkısı belirgin olduğundan, Z-ortalama çap ve PDI değerlerinin birlikte yükselmesi dispersiyonda daha geniş bir boyut dağılımı ve kısmi agregasyon eğilimi ile uyumludur (Stetefeld vd., 2016). Bu nedenle FAM-SNP-H örneğindeki yaklaşık 193 nm çap ve 0,304 PDI değeri, yüksek boya girişinin kolloidal homojenliği olumsuz etkilediğini düşündürmektedir (Stetefeld vd., 2016). FAM-SNP-M, yaklaşık 150 nm hidrodinamik çap ve 0,177 PDI değeri ile yüksek FAM yüklemesine göre daha homojen bir dispersiyon profili göstermiştir. Floresan boya içeren Stöber tipi silika nanoparçacıkların kontrollü sentez koşullarında dar boyut dağılımıyla hazırlanabildiği daha önce de bildirilmiştir (Rossi vd., 2005). Bu çalışmada FAM-SNP-M'nin yüksek floresans sinyalini, yaklaşık %81 düzeyindeki FAM tutulumu ve düşük boya kaybıyla birlikte görece düşük PDI değerinde koruması, orta yükleme koşulunun optik performans ile

kolloidal kalite arasında daha dengeli olduğunu göstermektedir. Bu nedenle FAM-SNp-M sonraki fonksiyonelleştirme çalışmalarında FAMSNp_OPT olarak kullanılmıştır.

4.2. FAMSNp Örneklerinin Karşılaştırmalı Karakterizasyon Sonuçları

Bölüm 4.1’de belirlenen FAMSNp_OPT başlangıç materyali kullanılarak iki farklı yüzey işlevselleştirme yaklaşımı uygulanmıştır. Apt-FAMSNp örneğinde yüzeye anti-lizozim aptameri bağlanırken, Hfb-FAMSNp örneklerinde HDTMS kullanılarak yüzeye uzun alkil zincirleri kazandırılmıştır. Aptamer ile fonksiyonelleştirilmiş floresan silika nanoparçacıkların optik ve yüzey özelliklerinin birlikte değerlendirilebildiği daha önce gösterilmiş (Tan vd., 2016); HDTMS ile silika yüzeyinin modifikasyonunda ise modifikasyon derecesinin yüzey hidrofobikliği kadar dispersiyon özelliklerini de etkileyebildiği bildirilmiştir (Xu ve Zhang, 2021). Bu nedenle FAMSNp_OPT, Apt-FAMSNp ve farklı HDTMS modifikasyon düzeylerindeki örnekler UV-Vis, floresans, DLS/PDI, zeta potansiyel, SEM/EDX, ATR-FTIR ve temas açısı sonuçları birlikte değerlendirilerek karşılaştırılmıştır.



Şekil 4.7. FAMSNp_OPT ve türevlendirilmiş nanoparçacıkların UV-Vis absorbans spektrumları

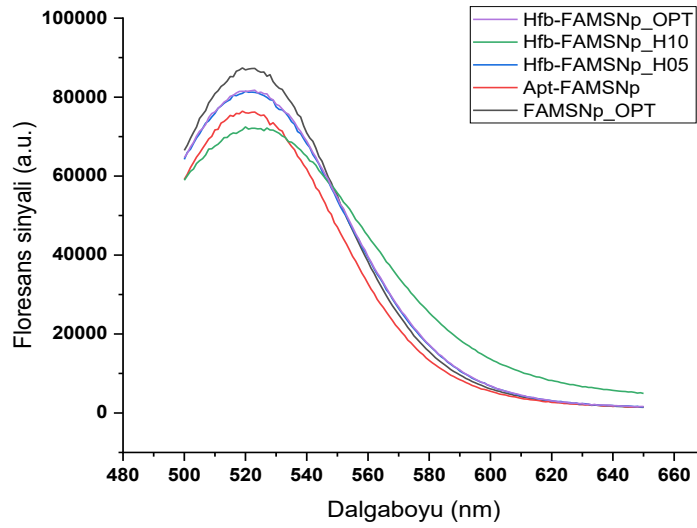
FAMSNp_OPT ve yüzeyi işlevselleştirilmiş örneklerin UV-Vis spektrumlarında FAM’a ait ana absorbans bandı yaklaşık aynı dalga boyu bölgesinde korunmuştur. FAMSNp_OPT örneğinde tepe absorbansı yaklaşık 0,62 a.u. iken, Apt-FAMSNp’de yaklaşık 0,60 a.u.; Hfb-FAMSNp_H05 ve Hfb-FAMSNp_OPT örneklerinde ise yaklaşık 0,59 a.u. düzeyinde ölçülmüştür. Buna göre aptamer konjugasyonu sonrasında tepe absorbansındaki azalma yaklaşık %3, HDTMS ile seçilen hidrofobik modifikasyon koşullarında ise yaklaşık %5

düzeyinde kalmıştır. Ana absorbans bandının konumunda belirgin bir kayma veya bandın kaybolması gözlenmemesi, yüzey işlevselleştirmesinin FAM kromoforunun temel absorbans davranışını önemli ölçüde değiştirmedigini göstermektedir. Floresan grupların silika matrisi içerisinde korunarak yüzeyin daha sonra farklı kimyasal gruplarla işlevselleştirilebilmesi benzer floresan silika sistemlerinde de bildirilmiştir (Nakamura vd., 2007; Tan vd., 2016).

Bununla birlikte spektrumların yalnızca maksimum absorbans değerleri değil, taban çizgisi davranışları da farklılık göstermiştir. Özellikle yüksek HDTMS düzeyindeki Hfb-FAMSNp_H10 örneğinde kısa dalga boyu bölgesinde ve ana absorbans bandı dışında diğer örneklerle göre daha yüksek bir taban absorbansı gözlenmektedir. Nanoparçacık dispersiyonlarında bu tür geniş taban yükselmeleri gerçek moleküler absorbansa ek olarak ışık saçılmasının artmasıyla ilişkili olabilir; daha büyük parçacıklar ve agregatlar optik saçılmaya daha güçlü katkı vermektedir (Stetefeld vd., 2016).

Genel olarak UV-Vis sonuçları, aptamer konjugasyonu ile orta düzeyde HDTMS modifikasyonunun FAM'ın ana absorbans profilini büyük ölçüde koruduğunu; buna karşılık daha yüksek HDTMS düzeyinin optik taban çizgisinde değişime yol açtığını göstermektedir. Bu taban çizgisi kayması olası kolloid oluşumu ile ilişkilendirilmek üzere floresans ve DLS/PDI sonuçları birlikte değerlendirilmiştir.

FAMSNp_OPT ve yüzeyi işlevselleştirilmiş nanoparçacıkların floresans emisyon spektrumlarında FAM'a özgü ana emisyon bandı yaklaşık 520 nm civarında korunmuştur. FAMSNp_OPT örneğinde maksimum floresans şiddeti yaklaşık 87.000 a.u. düzeyinde iken, Hfb-FAMSNp_H05 ve Hfb-FAMSNp_OPT örneklerinde yaklaşık 81.000 a.u., Apt-FAMSNp'de yaklaşık 76.000 a.u. ve Hfb-FAMSNp_H10 örneğinde yaklaşık 72.000 a.u. olarak gözlenmiştir. Buna göre başlangıç materyaline kıyasla floresans şiddetindeki azalma H05 ve Hfb-FAMSNp_OPT için yaklaşık %7, Apt-FAMSNp için %13 ve H10 için yaklaşık %17 düzeyindedir. Bununla birlikte tüm türevlendirilmiş örneklerde karakteristik FAM emisyon bandının belirgin olarak korunması, yüzey modifikasyonlarının floresan silika çekirdeğin optik işlevini ortadan kaldırmadığını göstermektedir. Aptamer ile fonksiyonelleştirilmiş floresan silika nanoparçacıkların biyotanıma işlevi kazandırıldıktan sonra floresan özelliklerini koruyabildiği benzer sistemlerde de bildirilmiştir (Tan vd., 2016).

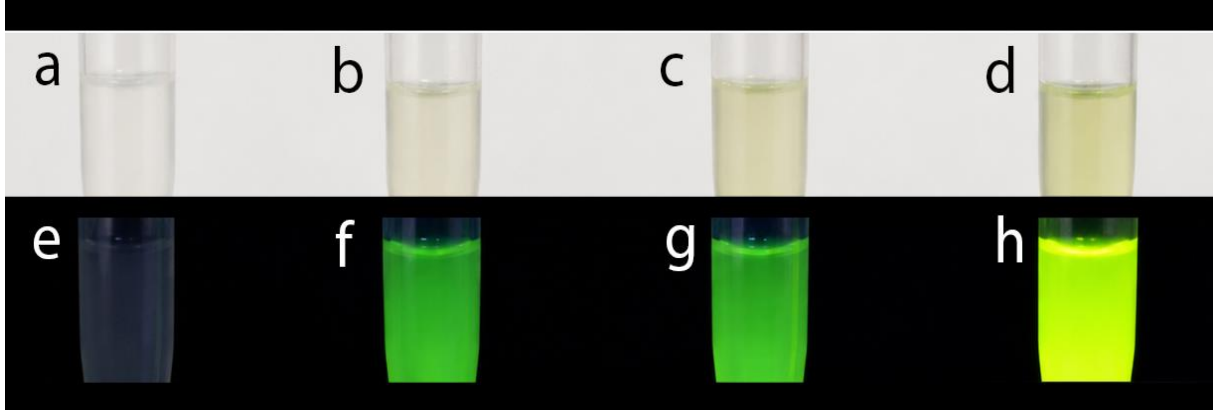


Şekil 4.8. FAMSnp_OPT ve türevlendirilmiş nanoparçacıkların floresans emisyon spektrumları

Apt-FAMSnp’de gözlenen yaklaşık %13’lük sinyal azalması, aptamer konjugasyonu sırasında uygulanan çoklu yıkama basamaklarının yanı sıra nanoparçacık yüzeyindeki kimyasal mikroçevrenin değişmesiyle ilişkili olabilir. Ancak emisyon maksimumunun belirgin biçimde yer değiştirmemesi ve güçlü floresansın devam etmesi, bu azalmanın FAM kromoforunun kaybı veya yapısal bozulması şeklinde yorumlanmasını desteklememektedir. Nitekim floresan silika nanoparçacıkların temel avantajlarından biri, floresan çekirdeğin korunmasına karşın dış yüzeyin biyomoleküllerle bağımsız olarak işlevselleştirilebilmesidir (Montalti vd., 2014; Tan vd., 2016).

HDTMS ile modifiye edilen örneklerde ise modifikasyon düzeyi ile floresans davranışı arasında daha belirgin bir farklılık ortaya çıkmıştır. H05 ve yeniden hazırlanan Hfb-FAMSnp_OPT örneklerinin yaklaşık 81.000 a.u. ile birbirine oldukça yakın sinyal vermesi, seçilen hidrofobik modifikasyon koşulunun tekrarlanabilir bir optik profil sağladığını göstermektedir. Buna karşılık H10 örneğinde tepe şiddetinin yaklaşık 72.000 a.u.’ya düşmesi ve emisyon eğrisinin uzun dalga boyu tarafında daha geniş bir kuyruk göstermesi, yüksek HDTMS düzeyinin dispersiyonun optik davranışını değiştirdiğini düşündürmektedir. Floresan boyalarda moleküler yaklaşma ve agregasyonun floresans kaybına yol açabildiği, floresan silika sistemlerinde de agregasyon kaynaklı söndürmenin önemli bir sınırlılık oluşturabileceği bildirilmiştir (Li vd., 2019). Sonuç olarak, yüzeyin hidrofobikleştirilmesi belirli bir düzeye kadar FAM floresansının büyük ölçüde korunmasına olanak verirken, HDTMS miktarının daha

fazla artırılması optik sinyal ve kolloidal özellikler açısından ek bir avantaj sağlamamıştır. Bu nedenle Hfb-FAMSNp_OPT seçiminde yalnızca yüksek hidrofobiklik değil, floresans sinyalinin korunması ve dispersiyon özellikleri birlikte dikkate alınmıştır (Li vd., 2019).



Şekil 4.9. FAMSNp_OPT ve türevlendirilmiş nanoparçacık dispersiyonlarının görünür ışık ve UV altındaki görüntüleri. (a,e) Floresan boya içermeyen silika nanoparçacık kontrolü, (b,f) FAM yüklü optimum silika nanoparçacık (FAMSNp_OPT), (c,g) aptamer konjuge FAM yüklü silika nanoparçacık (Apt-FAMSNp) ve (d,h) HDTMS ile hidrofobikleştirilmiş optimum FAM yüklü silika nanoparçacık (Hfb-FAMSNp_OPT) dispersiyonları.

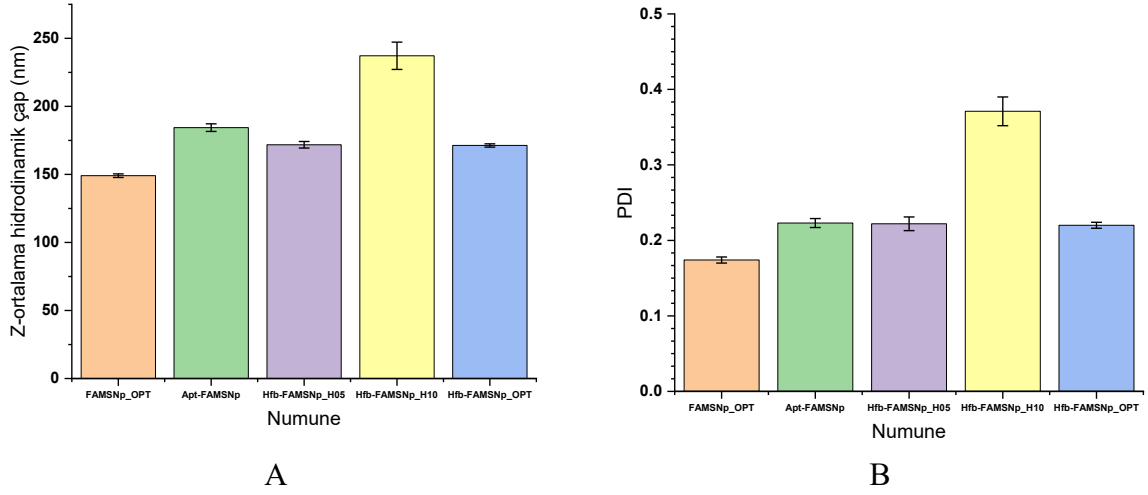
Şekil 4.9’da floresan boya içermeyen silika kontrolü ile FAMSNp_OPT, Apt-FAMSNp ve Hfb-FAMSNp_OPT dispersiyonlarının görünür ışık ve UV aydınlatma altındaki görünüşleri karşılaştırılmıştır. Görünür ışık altında boya içermeyen silika kontrolü opak-beyaz bir dispersiyon görünümü gösterirken, FAM içeren örneklerde FAM varlığıyla uyumlu sarı-yeşil renklenme gözlenmiştir. UV aydınlatma altında ise boya içermeyen kontrol örneğinde belirgin bir floresans gözlenmezken, FAMSNp_OPT, Apt-FAMSNp ve Hfb-FAMSNp_OPT örneklerinin tümünde güçlü yeşil floresansın devam ettiği görülmüştür. Floresan boyaların silika matrisi içerisinde tutulmasıyla parlak ve görüntülemeye uygun nanoparçacık sistemlerinin elde edilebildiği daha önce de bildirilmiştir (Montalti vd., 2014; Nakamura vd., 2007).

Aptamer konjugasyonu ve HDTMS ile yüzey modifikasyonu sonrasında floresansın görsel olarak korunması, FAM taşıyan silika çekirdeğinin yüzey işlevselleştirme basamaklarından sonra da optik sinyal üretmeye devam ettiğini desteklemektedir. Aptamer ile işlevselleştirilmiş floresan silika nanoparçacıkların yüzey modifikasyonu sonrasında görüntüleme için yeterli floresans özelliklerini koruyabildiği Tan vd. (2016) tarafından da

gösterilmiştir. Şekil 4.9'daki görelî parlaklık farkları, kamera pozlaması, ışıklandırma ve dispersiyon yoğunluğu gibi değişkenlerden etkilenebileceğinden nicel floresans karşılaştırması olarak değerlendirilmemiştir. Nicel değerlendirme Şekil 4.8'deki spektrofotometrik ölçümlere dayandırılmıştır.

Görünür ışık altında floresan boya içermeyen silika kontrolü opak-beyaz bir dispersiyon görünümü sergilerken, FAM içeren örneklerde açık sarı-yeşil renklenme gözlenmiştir. Bu renk değişimi, FAM'ın silika nanoparçacık yapısına yüklenmesi ve türevlendirme basamakları sonrasında dispersiyon içinde korunması ile uyumludur. UV aydınlatma altında blank silika kontrolünde belirgin floresans sinyali gözlenmemiştir. Buna karşılık FAMSNp_OPT örneğinde güçlü yeşil floresans elde edilmiştir. Apt-FAMSNp örneğinde floresans sinyalinin korunması, aptamer konjugasyonu sonrasında FAM kromoforunun optik olarak tamamen baskılanmadığını göstermektedir. Hfb-FAMSNp_OPT örneğinde de belirgin ve yoğun floresansın devam etmesi, HDTMS ile hidrofobik modifikasyonun FAM sinyalini ortadan kaldırmadığını desteklemektedir. Bu görsel sonuç, UV-Vis ve floresans emisyon spektrumlarıyla birlikte değerlendirildiğinde, aptamer konjugasyonu ve HDTMS-hidrofobikleştirme basamaklarının FAM'ın temel optik görünürlüğünü koruduğunu göstermektedir. Böylece Apt-FAMSNp ve Hfb-FAMSNp_OPT örneklerinin, nihai parmak izi geliştirici karışımında floresan sinyal sağlayabilecek uygun bileşenler olduğu desteklenmiştir.

FAMSNp_OPT başlangıç materyalinin yaklaşık 150 nm hidrodinamik çap ve 0,177 PDI değerine sahip olduğu dikkate alındığında, aptamer konjugasyonu sonrasında Apt-FAMSNp örneğinin hidrodinamik çapı yaklaşık 184 nm'ye, PDI değeri ise yaklaşık 0,22'ye yükselmiştir. Böylece aptamer fonksiyonelleştirmesi sonrasında hidrodinamik çapta yaklaşık 34 nm, yani %23 düzeyinde bir artış meydana gelmiştir. Bu artış PEG aralayıcı ve yüzeye bağlanan oligonükleotid tabakasının hidrodinamik katkısıyla uyumludur (Stetefeld vd., 2016). Benzer biçimde Tan vd. (2016), aptamer ile fonksiyonelleştirilmiş floresan silika nanoparçacıklarda yüzey modifikasyonu sonrasında parçacık boyutunda artış gözlemiştir.



Şekil 4.10. FAMSnp_OPT ve türevlendirilmiş nanoparçacıkların DLS/PDI karakterizasyonu. (A) FAMSnp_OPT, Apt-FAMSnp, Hfb-FAMSnp_H05, Hfb-FAMSnp_H10 ve Hfb-FAMSnp_OPT örneklerinin DLS ile belirlenen Z-average hidrodinamik çap değerleri. (B) Aynı örneklere ait PDI değerleri. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

HDTMS ile modifiye edilen örneklerde Hfb-FAMSnp_H05 ve aynı koşulda yeniden hazırlanan Hfb-FAMSnp_OPT örneklerinin hidrodinamik çapları yaklaşık 171–172 nm, PDI değerleri ise yaklaşık 0,22 düzeyinde bulunmuştur. Bu değerlerin birbirine oldukça yakın olması, seçilen hidrofobik modifikasyon koşulunun yeniden hazırlanmasında benzer kolloidal özelliklerin elde edildiğini göstermektedir. HDTMS'nin silika yüzeyine uzun alkil zincirleri kazandırarak yüzey özelliklerini değiştirdiği daha önce de gösterilmiştir (Xu ve Zhang, 2021). Buna karşılık Hfb-FAMSnp_H10 örneğinde hidrodinamik çap yaklaşık 237 nm'ye, PDI ise yaklaşık 0,37'ye yükselmiştir. Bu değerler, H10 koşulunda parçacık boyut dağılımının belirgin biçimde genişlediğini ve dispersiyonda parçacık–parçacık etkileşimleri ile kısmi agregasyon eğiliminin arttığını düşündürmektedir. Silika yüzeyinin hidrofobik olarak modifiye edilmesinin parçacıklar arası etkileşimleri ve agregat oluşumunu etkileyebildiği literatürde de bildirilmiştir (Moro vd., 2017).

Bu sonuçlar, HDTMS miktarının artırılmasının kolloidal özellikler açısından doğrusal bir iyileşme sağlamadığını göstermektedir. H10 koşulunda daha yüksek hidrofobiklik elde edilmesine karşın, 237 nm hidrodinamik çap ve 0,37 PDI değerleri kolloidal homojenliğin belirgin biçimde bozulduğunu göstermektedir. Buna karşılık H05 koşulu yaklaşık 171–172 nm hidrodinamik çap ve 0,22 PDI değerleriyle daha dengeli bir dağılım göstermiş ve bu profil Hfb-FAMSnp_OPT örneğinde de korunmuştur. Bu nedenle DLS/PDI sonuçları, floresans ve temas

açısı bulgularıyla birlikte değerlendirildiğinde, H05 koşulunun sonraki çalışmalar için daha uygun hidrofobik modifikasyon düzeyi olarak seçilmesini desteklemektedir.

Tablo 4.1. Aptamer konjugasyonu ve HDTMS ile hidrofobik modifikasyon kapsamında türevlendirilmiş FAMSNp örneklerinin zeta potansiyel değerleri

Numune	Zeta potansiyel (mV)	Yorum
FAMSNp_OPT	-22.4 ± 0.7	Başlangıç FAM yüklü silika nanoparçacık
Apt-FAMSNp	-37.4 ± 0.7	Aptamer konjugasyonu sonrası daha negatif yüzey yükü
Hfb-FAMSNp_H05	-17.1 ± 0.7	HDTMS sonrası silanol yükünün kısmen maskelenmesi
Hfb-FAMSNp_H10	-11.5 ± 0.7	Daha yüksek hidrofobik modifikasyon; en düşük negatiflik
Hfb-FAMSNp_OPT	-16.8 ± 0.5	Hidrofobiklik ve kolloidal kalite açısından seçilen formülasyon

Zeta potansiyel ölçümleri, FAMSNp_OPT yüzeyinin aptamer konjugasyonu ve HDTMS modifikasyonu sonrasında farklı elektrokinetik özellikler kazandığını göstermiştir. Başlangıç materyali FAMSNp_OPT'nin zeta potansiyeli $-22,4 \pm 0,7$ mV iken, aptamer konjugasyonu sonrasında Apt-FAMSNp için $-37,4 \pm 0,7$ mV olarak belirlenmiştir. Yaklaşık 15 mV'lık bu negatif yöndeki değişim, nanoparçacık yüzeyine negatif yüklü fosfat omurgasına sahip DNA aptamerin kazandırılmasıyla uyumludur. DNA aptamer ile fonksiyonelleştirilmiş floresan silika nanoparçacıklarda yüzey yükünün daha negatif değerlere kaymasının aptamer immobilizasyonunu destekleyen bir fizikokimyasal gösterge olarak kullanılabileceği Tan vd. (2016) tarafından da bildirilmiştir. Bununla birlikte zeta potansiyelindeki değişim tek başına kovalent aptamer immobilizasyonunun kesin kanıtı olarak değerlendirilmemiş; DLS, EDX ve ATR-FTIR bulgularıyla birlikte tamamlayıcı bir yüzey karakterizasyon göstergesi olarak ele alınmıştır.

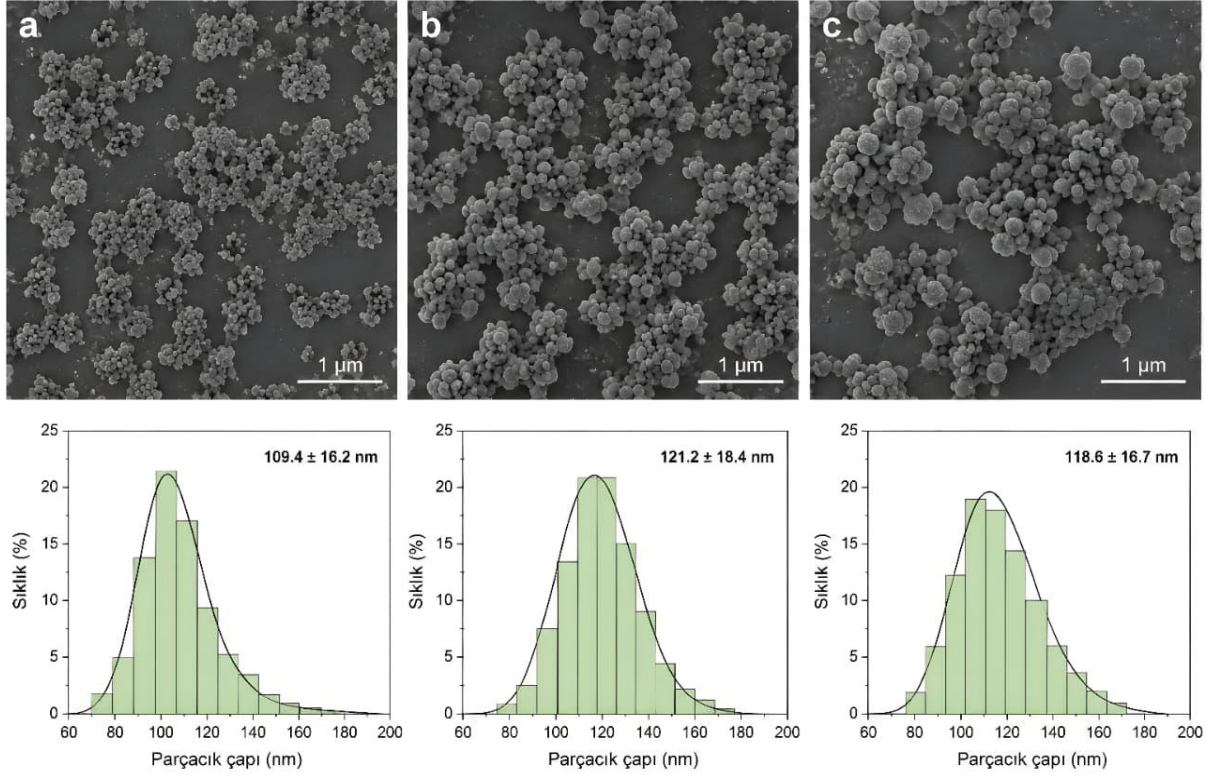
HDTMS modifikasyonu ise aptamer konjugasyonunun tersine zeta potansiyelini daha az negatif değerlere kaydırmıştır. FAMSNp_OPT'de $-22,4 \pm 0,7$ mV olan değer Hfb-FAMSNp_H05 örneğinde $-17,1 \pm 0,7$ mV'ye, Hfb-FAMSNp_H10 örneğinde ise $-11,5 \pm 0,7$ mV'ye yükselmiştir. Böylece başlangıç materyaline göre negatif yüzey potansiyelinin mutlak büyüklüğü H05 koşulunda yaklaşık 5,3 mV, H10 koşulunda ise 10,9 mV azalmıştır. Silika yüzeyindeki silanol gruplarının organosilan tabakasıyla kısmen örtülmesi ve yüzeye uzun C₁₆

alkil zincirlerinin kazandırılması sonucunda yüzeyin elektrokinetik özelliklerinin değişmesi, HDTMS ile modifiye silika sistemleri için bildirilen yüzey kimyasıyla uyumludur (Xu ve Zhang, 2021).

Hfb-FAMSNp_H05 ile aynı modifikasyon koşulunda yeniden hazırlanan Hfb-FAMSNp_OPT örneğinin zeta potansiyeli $-16,8 \pm 0,5$ mV olarak ölçülmüş ve H05 değerinden yalnızca 0,3 mV farklı bulunmuştur. Bu yakınlık, DLS/PDI sonuçlarında H05 ve Hfb-FAMSNp_OPT için gözlenen benzer hidrodinamik davranışla birlikte değerlendirildiğinde, seçilen HDTMS modifikasyon koşulunun yeniden hazırlanması sonrasında benzer yüzey özelliklerinin elde edildiğini desteklemektedir.

H10 örneğinin $-11,5 \pm 0,7$ mV ile sıfıra en yakın zeta potansiyeline sahip olması ise yüksek HDTMS düzeyinde yüzeydeki iyonlaşabilir silanol gruplarının etkisinin daha fazla azaldığını düşündürmektedir. Ancak zeta potansiyelinin mutlak büyüklüğünün azalması tek başına agregasyonu kanıtlamamaktadır. Bu çalışmada H10 örneğinin aynı zamanda yaklaşık 237 nm hidrodinamik çap ve 0,37 PDI göstermesi, daha düşük elektrostatik itmenin yüksek hidrofobik yüzey karakteriyle birlikte parçacık-parçacık etkileşimlerini kolaylaştırmış olabileceği yorumunu desteklemektedir. Dolayısıyla zeta potansiyel sonuçları, H05 koşulunun yüzey modifikasyonu sağlarken H10'a göre daha dengeli kolloidal davranışı koruduğunu gösteren tamamlayıcı bir bulgu olarak değerlendirilmiştir.

SEM görüntülerinde FAMSNp_OPT, Apt-FAMSNp ve Hfb-FAMSNp_OPT örneklerinin genel olarak küresel morfolojilerini korudukları ve yüzey işlevselleştirme işlemlerinin silika nanoparçacıkların temel morfolojik yapısında belirgin bir bozulmaya neden olmadığı görülmüştür. Stöber tipi silika sentezinin uygun reaksiyon koşullarında küresel ve görece dar boyut dağılımına sahip parçacıkların hazırlanmasına olanak verdiği bilinmektedir (Polat vd., 2026).

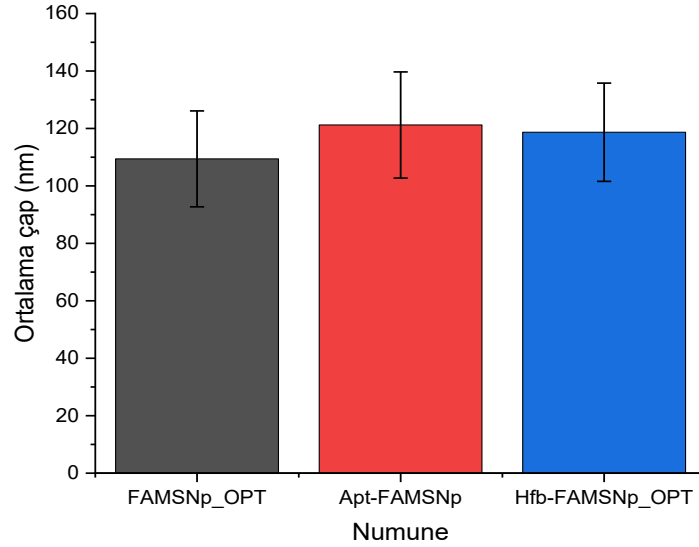


Şekil 4.11. FAMSnp_OPT, Apt-FAMSnp ve Hfb-FAMSnp_OPT örneklerinin SEM görüntüleri ve SEM tabanlı partikül çap dağılımları. Üst sırada temsili SEM görüntüleri, alt sırada ise aynı örnekler için SEM mikrograflarından hesaplanan partikül çap dağılımları verilmiştir. (a) FAMSnp_OPT, (b) Apt-FAMSnp ve (c) Hfb-FAMSnp_OPT örneklerini göstermektedir.

SEM mikrograflarından hesaplanan ortalama kuru partikül çapı FAMSnp_OPT için $109,4 \pm 16,2$ nm iken, Apt-FAMSnp’de $121,2 \pm 18,4$ nm ve Hfb-FAMSnp_OPT’de $118,6 \pm 16,7$ nm olarak belirlenmiştir. Buna göre başlangıç nanoparçacığına kıyasla ortalama çap Apt-FAMSnp’de 11,8 nm (%10,8), Hfb-FAMSnp_OPT’de ise 9,2 nm (%8,4) artmıştır. Dolayısıyla SEM sonuçları, yüzey fonksiyonelleştirmesinden sonra yeni ve belirgin biçimde daha büyük bir silika partikül popülasyonunun oluşmasından çok, başlangıç nanoparçacık morfolojisinin korunduğunu göstermektedir.

SEM sonuçları Şekil 4.10’daki DLS verileriyle karşılaştırıldığında, her üç örnekte de DLS ile belirlenen hidrodinamik çapların SEM tabanlı kuru çaplardan daha yüksek olduğu görülmektedir. FAMSnp_OPT için yaklaşık 150 nm DLS / 109,4 nm SEM, Apt-FAMSnp için 184 nm / 121,2 nm ve Hfb-FAMSnp_OPT için yaklaşık 171–172 nm / 118,6 nm değerleri elde edilmiştir. Özellikle Apt-FAMSnp’de SEM çapındaki yaklaşık %11’lik artışa karşılık hidrodinamik çapın yaklaşık %23 artması, aptamer konjugasyonunun yalnızca kuru geometrik boyutta meydana gelen değişimle açıklanamayacağını göstermektedir. DNA aptamer, PEG

aralayıcı ve bunların sulu ortamda taşıdığı hidrasyon tabakası DLS ile ölçülen etkin hidrodinamik boyutuna katkıda bulunmaktadır. Nanoparçacık boyutunun farklı yöntemlerle belirlenmesinde ölçüm tekniğine bağlı belirgin farklılıkların ortaya çıkabileceği literatürde de gösterilmiştir (Tuoriniemi vd., 2014), koloidal silika nanoparçacıkların SEM ve DLS dâhil farklı yöntemlerle ölçülen çaplarının önemli ölçüde farklılaşabildiğini ve her yöntemin parçacığın farklı fiziksel özelliğini yansıttığını göstermiştir (Tuoriniemi vd., 2014).



Şekil 4.12. FAMSnp_OPT, Apt-FAMSnp ve Hfb-FAMSnp_OPT örneklerinin SEM tabanlı ortalama partikül çapları

Tablo 4.2. FAMSnp_OPT, Apt-FAMSnp ve Hfb-FAMSnp_OPT örneklerinin EDX elementel bileşimi

Numune	Si (%)	O (%)	C (%)	N (%)	P (%)
FAMSnp_OPT	30.9 ± 0.6	58.7 ± 0.8	10.2 ± 0.5	0.2 ± 0.2	—
Apt-FAMSnp	27.5 ± 0.8	55.4 ± 0.5	12.6 ± 0.5	3.0 ± 0.3	1.4 ± 0.5
Hfb-FAMSnp OPT	26.0 ± 0.8	50.5 ± 0.4	22.6 ± 0.3	0.9 ± 0.6	—

EDX analizi, FAMSnp_OPT yüzeyinde gerçekleştirilen aptamer ve HDTMS modifikasyonlarına eşlik eden elementel bileşim değişimlerini ortaya koymuştur. Başlangıç FAMSnp_OPT örneğinde Si ve O atomik yüzdeleri sırasıyla $30,9 \pm 0,6$ ve $58,7 \pm 0,8$ olarak belirlenmiş, karbon oranı $10,2 \pm 0,5$ düzeyinde kalmıştır. Bu profil, Si ve O bakımından baskın silika matrisinin korunduğunu göstermektedir.

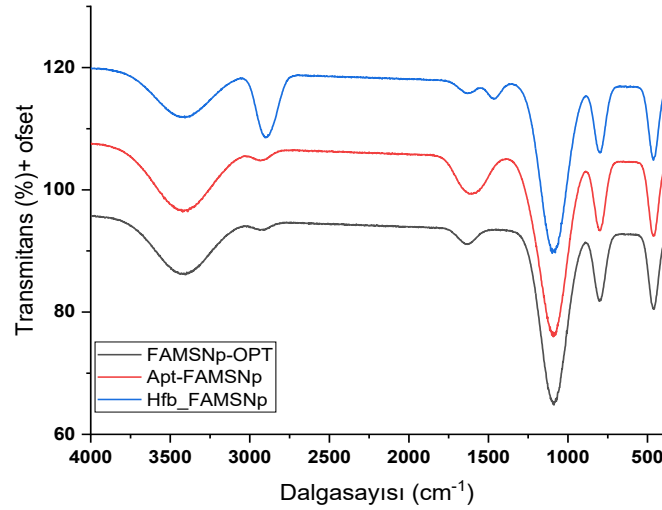
Apt-FAMSnp örneğinde en belirgin değişim N ve P elementlerinde gözlenmiştir. Başlangıç materyalinde N oranı $0,2 \pm 0,2$ iken aptamer konjugasyonu sonrasında $3,0 \pm 0,3$ 'e

yükselmiş; FAMSnp_OPT’de belirlenemeyen P sinyali ise Apt-FAMSnp’de $1,4 \pm 0,5$ olarak ölçülmüştür. DNA yapısındaki azot içeren nükleobazlar N sinyaline, fosfodiester omurgası ise P sinyaline katkıda bulunduğundan, özellikle yeni ortaya çıkan P sinyali aptamer içeren yüzey oluşumunu destekleyen ayırt edici bir elementel bulgudur. Aptamer ile fonksiyonelleştirilmiş nanomalzemelerde EDX analizinde N ve P sinyallerinin DNA varlığını destekleyen göstergeler olarak kullanılabildiği daha önce de bildirilmiştir (Shamsipur vd., 2017). Bununla birlikte bu çalışmada aptamer immobilizasyonu yalnızca EDX sonucuna dayandırılmamış; zeta potansiyelindeki $-22,4$ mV’den $-37,4$ mV’ye değişim, DLS’deki hidrodinamik çap artışı ve sonraki ATR-FTIR bulgularıyla birlikte değerlendirilmiştir (Shamsipur vd., 2017).

Apt-FAMSnp’de karbon oranının $10,2$ ’den $12,6 \pm 0,5$ ’e yükselmesi de organik yüzey katkısındaki artışla uyumludur. Buna karşılık Si ve O oranlarının sırasıyla $27,5 \pm 0,8$ ve $55,4 \pm 0,5$ ’e düşmesi, silika matrisinin ortadan kalktığı şeklinde yorumlanmamalıdır. EDX sonuçları toplam atomik bileşim yüzde olarak normalize edildiğinden, nanoparçacık yüzeyine N-, P- ve C-içeren organik bileşenlerin eklenmesi Si ve O’nun görelî yüzdellerinde azalmaya neden olabilir. Bu nedenle Apt-FAMSnp için en anlamlı bulgu, mutlak Si/O azalmasından çok, başlangıç materyalinde bulunmayan P sinyalinin ortaya çıkması ve N katkısının belirgin biçimde artmasıdır.

Hfb-FAMSnp_OPT örneğinde ise en belirgin değişim karbon içeriğinde gözlenmiştir. Karbon oranı FAMSnp_OPT’de $10,2 \pm 0,5$ iken HDTMS modifikasyonu sonrasında $22,6 \pm 0,3$ ’e yükselmiş; yani yaklaşık 12,4 yüzde puanlık ve başlangıç değerine göre yaklaşık %122’lik görelî bir artış meydana gelmiştir. HDTMS’nin uzun C_{16} alkil zinciri taşıması nedeniyle bu belirgin karbon artışı, silika yüzeyine organik alkil gruplarının kazandırılmasıyla uyumludur. HDTMS ile modifiye nano- SiO_2 sistemlerinde uzun zincirli alkil gruplarının silika yüzeyine bağlanabildiği ve bunun FTIR, temas açısı ve diğer yüzey karakterizasyon yöntemleriyle doğrulanabildiği (Xu ve Zhang, 2021) tarafından da gösterilmiştir.

Hfb-FAMSnp_OPT’de Si ve O yüzdellerinin sırasıyla $26,0 \pm 0,8$ ve $50,5 \pm 0,4$ ’e düşmesi de artan karbon katkısının atomik yüzde dağılımını değiştirmesiyle uyumludur. Bu nedenle EDX verileri, Hfb-FAMSnp_OPT’de silika yapısının kaybolduğunu değil, silika matrisi üzerinde karbon bakımından daha zengin bir organik yüzey bileşiminin oluştuğunu desteklemektedir. Karbon artışının sonraki ATR-FTIR analizinde alifatik C–H bantları ve temas açısındaki belirgin artışla birlikte gözlenmesi, HDTMS modifikasyonu için birbirini tamamlayan bağımsız karakterizasyon bulguları sağlamaktadır.



Şekil 4.13. FAMSNp_OPT, Apt-FAMSNp ve Hfb-FAMSNp_OPT örneklerinin ATR-FTIR spektrumları

Tablo 4.3. Aptamer konjugasyonu ve HDTMS ile hidrofobik modifikasyon örneklerine ait başlıca FTIR pik atamaları

Numune	Dalga sayısı (cm ⁻¹)	Atama	Yorum
FAMSNp_OPT	3420	O–H gerilme titreşimi	Yüzey silanol grupları ve adsorbe su/hidroksil katkısı
FAMSNp_OPT	1090	Si–O–Si asimetrik gerilme	Silika ağ yapısının ana karakteristik bandı
FAMSNp_OPT	800	Si–O–Si simetrik gerilme	Silika iskelet yapısını destekler
FAMSNp_OPT	462	Si–O–Si eğilme titreşimi	Silika ağ yapısına ait düşük dalga sayısı bandı
Apt-FAMSNp	1650/ 1545	Nükleobaz/N–H ve organik bağ yapılarıyla ilişkili karma bant bölgesi	Aptamer konjugasyonu sonrasında organik/nükleik asit katkısındaki değişimi destekler; tek başına aptamere özgü değildir
Apt-FAMSNp	1235	PO ₂ ⁻ asimetrik gerilme / fosfat omurgası katkısı	DNA aptamerin fosfodiester omurgasıyla uyumlu zayıf bant/omuz
Hfb-FAMSNp_OPT	2922/ 2852	Alifatik CH ₂ C–H asimetrik ve simetrik gerilme	HDTMS'nin uzun alkil zincirlerinin yüzeye kazandırılmasını destekler
Hfb-FAMSNp_OPT	1465	CH ₂ eğilme/deformasyon titreşimi	Uzun alkil zinciri içeren HDTMS modifikasyonunu destekler

Şekil 4.13 ve Tablo 4.3'te FAMSNp_OPT, Apt-FAMSNp ve Hfb-FAMSNp_OPT örneklerinin ATR-FTIR spektrumları ve başlıca karakteristik bantlar verilmiştir. FAMSNp_OPT örneğinde yaklaşık 1090 cm⁻¹'de gözlenen güçlü bant Si–O–Si asimetrik gerilme titreşimine, 800 cm⁻¹ civarındaki bant Si–O–Si simetrik gerilme titreşimine ve 462 cm⁻¹ civarındaki bant ise Si–O–Si eğilme titreşimine atanmıştır. Yaklaşık 3420 cm⁻¹'de gözlenen

geniş bandın yüzey silanol grupları ile adsorbe su ve hidroksil gruplarının O–H gerilme titreşimlerinden kaynaklandığı değerlendirilmiştir. Bu karakteristik bantların Apt-FAMSNp ve Hfb-FAMSNp_OPT örneklerinde de korunması, uygulanan yüzey işlevselleştirme işlemlerinden sonra silika ağ yapısına ait temel spektral özelliklerin devam ettiğini göstermektedir. HDTMS ile modifiye nano-SiO₂ sistemlerinde yaklaşık 1100 ve 800 cm⁻¹ bölgelerindeki bantların Si–O–Si titreşimleriyle ilişkili olduğu daha önce de bildirilmiştir (Xu ve Zhang, 2021).

Apt-FAMSNp örneğinde 1650 ve 1545 cm⁻¹ bölgelerinde gözlenen spektral değişimler, aptamer konjugasyonu sonrasında nanoparçacık yüzeyindeki organik ve nükleik asit kökenli yapıların katkısının arttığını düşündürmektedir. Bununla birlikte bu bölgedeki bantlar nükleobaz titreşimleri, N–H içeren yapılar ve bağlama kimyasında yer alan diğer organik grupların titreşimleriyle örtüşebildiğinden, tek başına aptamer immobilizasyonunun özgül kanıtı olarak değerlendirilmemiştir. Apt-FAMSNp için daha ayırt edici bulgu, yaklaşık 1235 cm⁻¹ civarında gözlenen zayıf bant/omuzdur. DNA'nın fosfodiester omurgasındaki PO₂⁻ gruplarının asimetric gerilme titreşimlerinin yaklaşık 1220–1244 cm⁻¹ bölgesinde gözlenebildiği bildirilmiştir (Mello ve Vidal, 2012). Bu nedenle 1235 cm⁻¹ civarındaki bant, nanoparçacık yüzeyine kazandırılan DNA aptamerin fosfat omurgasının spektral katkısıyla uyumludur (Mello ve Vidal, 2012).

DNA'nın simetrik fosfat titreşimlerinin yaklaşık 1085–1090 cm⁻¹ bölgesine de katkı verebildiği bilinmekle birlikte, bu bölgede silika matrisine ait güçlü Si–O–Si bandının bulunması nedeniyle 1090 cm⁻¹ civarındaki değişimler aptamer için bağımsız bir gösterge olarak kullanılmamıştır. EDX analizinde başlangıç FAMSNp_OPT örneğinde belirlenemeyen P sinyalinin Apt-FAMSNp'de %1,4 ± 0,5 olarak ortaya çıkması ve N içeriğinin %0,2 ± 0,2'den %3,0 ± 0,3'e yükselmesi, 1235 cm⁻¹'deki fosfat ilişkili FTIR bulgusunu desteklemektedir. Ayrıca zeta potansiyelinin -22,4 ± 0,7 mV'den -37,4 ± 0,7 mV'ye kayması ve hidrodinamik çapta gözlenen artış da yüzeye DNA içeren bir tabakanın kazandırılmasıyla uyumlu tamamlayıcı fizikokimyasal göstergeler olarak değerlendirilmiştir.

Hfb-FAMSNp_OPT örneğinde ise yaklaşık 2922 ve 2852 cm⁻¹'de belirginleşen bantlar uzun alkil zincirlerindeki CH₂ gruplarının sırasıyla asimetric ve simetrik C–H gerilme titreşimlerine, yaklaşık 1465 cm⁻¹'deki bant ise CH₂ eğilme/deformasyon titreşimine atanmıştır. Bu bantların FAMSNp_OPT'ye kıyasla Hfb-FAMSNp_OPT örneğinde belirginleşmesi, HDTMS'nin uzun C₁₆ alkil zincirlerinin silika yüzeyine kazandırıldığını desteklemektedir. Xu

ve Zhang (2021), HDTMS ile modifiye nano-SiO₂ örneklerinde yaklaşık 2925, 2854 ve 1467 cm⁻¹'de alkil zinciri kaynaklı karakteristik bantlar bildirmiştir. Literatürde verilen bu değerlerin bu çalışmada belirlenen 2922, 2852 ve 1465 cm⁻¹ bantlarıyla yakın olması, Hfb-FAMSNp_OPT için yapılan spektral atamaları desteklemektedir.

Tablo 4.4. Aptamer konjugasyonu ve HDTMS ile hidrofobik modifikasyon işlemlerinin örneklerinin statik su temas açısı değerleri

Numune	Su temas açısı (°)	Yüzey karakteri	Yorum
FAMSNp_OPT	40.7 ± 1.2	Hidrofilik	Başlangıç FAM yüklü silika nanoparçacık yüzeyi
Apt-FAMSNp	49.5 ± 1.4	Hidrofilik / orta hidrofobik	Aptamer konjugasyonu sonrası hafif temas açısı artışı
Hfb-FAMSNp_H05	93.2 ± 1.6	Hidrofobik	HDTMS modifikasyonu sonrası belirgin hidrofobikleşme
Hfb-FAMSNp_H10	115.1 ± 2.3	Kuvvetli hidrofobik	En yüksek hidrofobiklik; ancak DLS/PDI açısından agregasyon riski
Hfb-FAMSNp_OPT	93.5 ± 0.7	Hidrofobik	Hidrofobiklik ve kolloidal kalite açısından seçilen optimum formülasyon

HDTMS modifikasyonuna ilişkin FTIR bulguları EDX sonuçlarıyla da uyumludur. Hfb-FAMSNp_OPT örneğinde karbon içeriğinin FAMSNp_OPT'deki %10,2 ± 0,5 değerinden %22,6 ± 0,3'e yükselmesi, alifatik C-H bantlarının belirginleşmesiyle birlikte değerlendirildiğinde yüzeyde karbon bakımından zengin uzun alkil zincirlerinin arttığını desteklemektedir. Genel olarak ATR-FTIR sonuçları, yüzey işlevselleştirme işlemlerinden sonra silika iskeletine ait karakteristik bantların korunduğunu, Apt-FAMSNp'de nükleik asit/fosfat ilişkili spektral katkıların ve Hfb-FAMSNp_OPT'de HDTMS kaynaklı alifatik C-H titreşimlerinin ortaya çıktığını göstermiştir. Bulgular EDX, zeta potansiyeli ve DLS sonuçlarıyla birlikte değerlendirildiğinde, aptamer ve HDTMS ile gerçekleştirilen iki farklı yüzey işlevselleştirme işlemini birbirini tamamlayan fizikokimyasal verilerle desteklemektedir.

Statik su temas açısı sonuçları, yüzey işlevselleştirme işlemlerinin kurutulmuş nanoparçacık kaplamalarının ıslanabilirliği üzerindeki etkisini açık biçimde göstermiştir. Başlangıç materyali FAMSNp_OPT için temas açısı 40,7 ± 1,2° olarak belirlenmiş ve bu değer silika yüzeyinin belirgin hidrofilik karakteriyle uyumlu bulunmuştur. Aptamer konjugasyonu sonrasında Apt-FAMSNp örneğinin temas açısı 49,5 ± 1,4°'ye yükselmiştir. Yaklaşık 8,8°'lik bu artış yüzey kimyasının değiştiğini göstermesine karşın, Apt-FAMSNp kaplaması 90°'nin

altında kalarak hidrofilik karakterini büyük ölçüde korumuştur. Bu sonuç, aptamerli bileşenin sulu dispersiyon ortamında kullanılabilirliğinin korunması açısından da olumludur.

HDTMS ile modifiye edilen örneklerde ise temas açısındaki değişim çok daha belirgin olmuştur. Hfb-FAMSNp_H05 örneğinde temas açısı $93,2 \pm 1,6^\circ$ 'ye ulaşmış ve başlangıç FAMSNp_OPT'ye göre yaklaşık $52,5^\circ$ artmıştır. Hfb-FAMSNp_H10 örneğinde ise temas açısı $115,1 \pm 2,3^\circ$ olarak ölçülmüş ve en yüksek hidrofobik yüzey karakteri bu grupta elde edilmiştir. Uzun C_{16} alkil zincirleri taşıyan HDTMS'nin silika yüzeyine kazandırılmasının yüzey enerjisini azaltarak suyla ıslanabilirliği düşürdüğü daha önce de bildirilmiştir (Xu ve Zhang, 2021). Bu nedenle H05 ve özellikle H10 gruplarında gözlenen belirgin temas açısı artışı, FTIR'deki alifatik C-H bantları ve EDX'teki karbon artışıyla birlikte değerlendirildiğinde HDTMS ile yüzey modifikasyonunu destekleyen güçlü bir yüzey karakterizasyon bulgusudur.

Bununla birlikte en yüksek temas açısının elde edilmesi tek başına optimum formülasyonu belirlemek için yeterli olmamıştır. H10 koşulunda $115,1 \pm 2,3^\circ$ ile daha güçlü hidrofobik karakter elde edilmesine karşın, aynı örneğin DLS analizinde yaklaşık 237 nm hidrodinamik çap ve yaklaşık 0,37 PDI göstermesi, yüksek HDTMS düzeyinin kolloidal dağılım açısından dezavantaj oluşturduğunu ortaya koymuştur. Dolayısıyla H10 koşulunda yüzey hidrofobikliği artarken dispersiyon homojenliği azalmıştır.

Buna karşılık Hfb-FAMSNp_H05 için $93,2 \pm 1,6^\circ$, aynı koşulun yeniden hazırlanmasıyla elde edilen Hfb-FAMSNp_OPT için ise $93,5 \pm 0,7^\circ$ temas açısı belirlenmiştir. İki değer arasındaki yalnızca $0,3^\circ$ 'lik fark, H05 koşulunun yeniden hazırlanmasında benzer yüzey ıslanabilirliğinin elde edildiğini göstermektedir. Bu yakınlık, daha önce DLS/PDI ve zeta potansiyel sonuçlarında H05 ile Hfb-FAMSNp_OPT arasında gözlenen benzerlikle de uyumludur. Böylece seçilen HDTMS modifikasyon koşulunun yalnızca kolloidal davranış açısından değil, yüzey ıslanabilirliği açısından da tekrarlanabilir bir profil sağladığı görülmüştür.

4.3. Apt-FAMSNp/Hfb-FAMSNp_OPT Karışımının Hazırlanması

Karakterize edilen Apt-FAMSNp ve Hfb-FAMSNp_OPT nanoparçacıkları, nihai kompozit parmak izi geliştirici formülasyonunun oluşturulması amacıyla birlikte değerlendirilmiştir. Apt-FAMSNp bileşeni parmak izi kalıntısındaki ekrin kökenli lizozime yönelik aptamer tabanlı tanıma işlevini, Hfb-FAMSNp_OPT ise sebum ve diğer lipid kökenli bileşenlerle hidrofobik etkileşimi artırmaya yönelik yüzey özelliğini temsil etmektedir. İki

işlevsel nanoparçacık tipi aynı nanoparçacık üzerinde birleştirilmek yerine ayrı dispersiyonlar hâlinde hazırlanmış ve uygulama öncesinde farklı hacimsel oranlarda karıştırılmıştır.

Karışım öncesinde Apt-FAMSNp ve Hfb-FAMSNp_OPT dispersiyonları eşdeğer nanoparçacık derişimine ayarlanmış, ve saf Apt-FAMSNp ve saf Hfb-FAMSNp_OPT örnekleriyle birlikte 75:25, 50:50 ve 25:75 (v/v) Apt-FAMSNp:Hfb-FAMSNp_OPT oranları karşılaştırılmıştır. Hazırlanan dispersiyonlar kısa süreli vortex ve ultrasonik dağıtma ile homojenleştirilmiş ve daha sonra pilot parmak izi görüntüleme deneylerinde değerlendirilmiştir. Nihai kompozit geliştirici oranının seçimi yalnızca bileşen oranına göre değil; karışımların PDI, temas açısı, pilot DP4 görüntüleme performansı, arka plan girişimi ve Parmak İzi Kalite Skoru (FQS) sonuçlarının birlikte değerlendirilmesiyle gerçekleştirilmiştir.

4.3.1. Nihai Kompozit Developer Oranının Belirlenmesi

Apt-FAMSNp ve Hfb-FAMSNp_OPT bileşenlerinin nihai geliştirici içerisindeki uygun oranını belirlemek amacıyla saf bileşenler ile 75:25, 50:50 ve 25:75 (v/v) Apt-FAMSNp:Hfb-FAMSNp_OPT karışımları karşılaştırılmıştır. Seçimde yalnızca parmak izi görüntüleme performansı değil, karışımın kolloidal davranışını temsil eden PDI, kurutulmuş nanoparçacık kaplamasının ıslanabilirliğini gösteren temas açısı ve görüntü analizinden elde edilen FQS ile arka plan girişimi birlikte dikkate alınmıştır.

Saf Apt-FAMSNp örneği 0,223 PDI, 49,5° temas açısı, 0,628 FQS ve 0,228 arka plan girişimi göstermiştir. Düşük arka plan girişimi bu bileşenin avantajı olmakla birlikte, elde edilen FQS değeri karışım formülasyonlarının özellikle 50:50 oranının altında kalmıştır. Saf Hfb-FAMSNp_OPT örneğinde ise temas açısı 93,5°'ye yükselmiş ve beklenen hidrofobik yüzey karakteri sağlanmış, ancak, FQS 0,610 düzeyinde kalırken arka plan girişimi 0,345'e yükselmiştir. Bu sonuç, hidrofobik bileşenin tek başına kullanılmasının yüksek yüzey hidrofobikliği sağlamasına rağmen görüntü kalitesi açısından yeterli olmadığını ve özgül olmayan arka plan tutunmasını artırabileceğini göstermektedir. Apt-FAMSNp'nin baskın olduğu CD_75Apt_25Hfb formülasyonunda PDI 0,243, temas açısı 63,0°, FQS 0,697 ve arka plan girişimi 0,255 olarak belirlenmiştir. Saf Apt-FAMSNp'ye kıyasla FQS'nin 0,628'den 0,697'ye yükselmesi, sınırlı miktardaki hidrofobik bileşen katkısının görüntüleme performansına olumlu katkı sağladığını göstermektedir. Bununla birlikte temas açısının 63,0° düzeyinde kalması, bu formülasyonda yüzey karakterinin hâlen aptamerli/hidrofilik bileşen tarafından daha güçlü biçimde belirlendiğini göstermektedir.

CD_50Apt_50Hfb formülasyonu değerlendirilen tüm gruplar arasında en yüksek FQS değerini 0,740 ile sağlamıştır. Aynı formülasyonun PDI değeri 0,264, temas açısı 76,2° ve arka plan girişimi 0,291 olarak belirlenmiştir. Temas açısının saf Apt-FAMSNp ile saf Hfb-FAMSNp_OPT arasında yer alması, kurutulmuş kompozit kaplamada iki bileşenin yüzey özelliklerinin birlikte yansıdığını göstermektedir. PDI'nin 0,264 düzeyinde kalması da iki farklı nanoparçacık dispersiyonunun karıştırılması sonrasında belirgin bir dağılım bozulması oluşmadığını göstermiştir. Bu nedenle 50:50 oranı, aptamer içeren ve hidrofobik bileşenlerin katkılarını dengelerken genel görüntü kalitesini en yüksek düzeye çıkaran formülasyon olmuştur. Hidrofobik bileşenin baskın olduğu CD_25Apt_75Hfb formülasyonunda temas açısı 89,4°'ye yükselirken PDI 0,336 ve arka plan girişimi 0,422 değerine ulaşmıştır. Buna karşılık FQS 0,655 düzeyinde kalmıştır. Bu sonuç, Hfb-FAMSNp_OPT oranının artırılmasının yüzey hidrofobikliğini güçlendirmesine rağmen kolloidal dağılımı ve arka plan temizliğini olumsuz etkilediğini göstermektedir. Dolayısıyla hidrofobik bileşenin oranını artırmak, görüntüleme performansında doğrusal bir iyileşme sağlamamıştır.

Genel olarak değerlendirildiğinde, en düşük arka plan girişimi saf Apt-FAMSNp'de, en yüksek hidrofobiklik saf Hfb-FAMSNp_OPT veya hidrofobik bileşeni yüksek karışımlarda, buna karşılık en yüksek genel görüntü kalitesi 50:50 karışımında elde edilmiştir. Bu sonuç, optimum geliştirici formülasyonunun tek başına maksimum hidrofobiklik veya minimum arka plan sinyaline göre seçilemeyeceğini göstermektedir. PDI, temas açısı, FQS ve arka plan girişiminin birlikte değerlendirilmesi sonucunda CD_50Apt_50Hfb, sonraki ayrıntılı pilot değerlendirmeye taşınan en dengeli karışım olarak belirlenmiştir.

Tablo 4.5. Apt-FAMSNp/Hfb-FAMSNp_OPT karışım oranlarının genel seçim kriterlerine göre karşılaştırılması

Formülasyon	Apt-FAMSNp (%)	Hfb-FAMSNp_OPT (%)	PDI	Temas açısı (°)	DP4 FQS	DP4 arka plan girişimi
Apt-FAMSNp	100	0	0.223	49.5	0.628	0.228
Hfb-FAMSNp_OPT	0	100	0.220	93.5	0.610	0.345
CD_75Apt_25Hfb	75	25	0.243	63.0	0.697	0.255
CD_50Apt_50Hfb	50	50	0.264	76.2	0.740	0.291
CD_25Apt_75Hfb	25	75	0.336	89.4	0.655	0.422

Tablo 4.6. DP4 pilot parmak izi metriklerine göre karışım oranlarının karşılaştırılması

Formülasyon	Kontrast	Keskinlik	Görünür sırt kapsamı	Sırt sürekliliği	Arka plan girişimi	FQS
Apt-FAMSNp	0.750 ± 0.013	0.644 ± 0.023	0.581 ± 0.023	0.581 ± 0.049	0.228 ± 0.015	0.628 ± 0.015
Hfb-FAMSNp_OPT	0.751 ± 0.032	0.571 ± 0.010	0.682 ± 0.019	0.525 ± 0.023	0.345 ± 0.020	0.610 ± 0.002
CD_75Apt_25Hfb	0.787 ± 0.005	0.679 ± 0.015	0.703 ± 0.040	0.677 ± 0.014	0.255 ± 0.018	0.697 ± 0.006
CD_50Apt_50Hfb	0.808 ± 0.016	0.736 ± 0.026	0.751 ± 0.042	0.743 ± 0.036	0.291 ± 0.042	0.740 ± 0.012
CD_25Apt_75Hfb	0.825 ± 0.018	0.612 ± 0.037	0.714 ± 0.021	0.601 ± 0.017	0.422 ± 0.037	0.655 ± 0.006

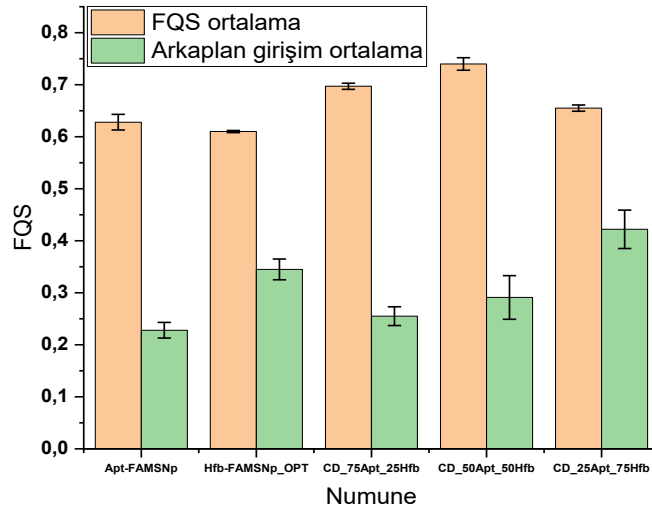
Tablo 4.6’da görüldüğü üzere, saf Apt-FAMSNp örneğinde kontrast $0,750 \pm 0,013$, keskinlik $0,644 \pm 0,023$, görünür sırt kapsamı $0,581 \pm 0,023$ ve sırt sürekliliği $0,581 \pm 0,049$ olarak belirlenmiş; arka plan girişiminin $0,228 \pm 0,015$ ile düşük kalmasına karşın FQS değeri $0,628 \pm 0,015$ düzeyinde bulunmuştur. Saf Hfb-FAMSNp_OPT örneği benzer kontrast ($0,751 \pm 0,032$) ve daha yüksek görünür sırt kapsamı ($0,682 \pm 0,019$) sağlamış; ancak keskinlik ($0,571 \pm 0,010$) ve sırt sürekliliğinin ($0,525 \pm 0,023$) daha düşük, arka plan girişiminin ise $0,345 \pm 0,020$ ile daha yüksek olması nedeniyle FQS değeri $0,610 \pm 0,002$ düzeyinde kalmıştır.

Apt-FAMSNp ve Hfb-FAMSNp_OPT’nin birlikte kullanılması, özellikle 75:25 ve 50:50 karışımlarında görüntü kalite bileşenlerinin daha dengeli bir profile ulaşmasını sağlamıştır. CD_75Apt_25Hfb formülasyonunda kontrast $0,787 \pm 0,005$, keskinlik $0,679 \pm 0,015$, görünür sırt kapsamı $0,703 \pm 0,040$ ve sırt sürekliliği $0,677 \pm 0,014$ olarak belirlenmiş ve FQS $0,697 \pm 0,006$ değerine yükselmiştir. Böylece düşük arka plan girişiminin ($0,255 \pm 0,018$) büyük ölçüde korunmasıyla birlikte saf Apt-FAMSNp’ye göre daha iyi genel görüntü performansı elde edilmiştir.

En dengeli metrik profili CD_50Apt_50Hfb formülasyonunda elde edilmiştir. Bu grupta kontrast $0,808 \pm 0,016$, keskinlik $0,736 \pm 0,026$, görünür sırt kapsamı $0,751 \pm 0,042$ ve sırt sürekliliği $0,743 \pm 0,036$ değerlerine ulaşmış ve FQS $0,740 \pm 0,012$ ile değerlendirilen tüm formülasyonlar arasındaki en yüksek değeri vermiştir. Saf Apt-FAMSNp ile karşılaştırıldığında FQS yaklaşık %18, saf Hfb-FAMSNp_OPT ile karşılaştırıldığında ise yaklaşık %21 artmıştır. Özellikle keskinlik ve sırt sürekliliğinin aynı anda yükselmesi, 50:50 karışımın yalnızca görünür sinyal alanını artırmadığını, sırt

detaylarının daha belirgin ve kesintisiz biçimde görüntülenmesini de desteklediğini göstermektedir.

Hidrofobik bileşenin daha yüksek olduğu CD_25Apt_75Hfb formülasyonunda kontrast $0,825 \pm 0,018$ ile tüm grupların en yüksek değerine ulaşmıştır. Bununla birlikte keskinlik $0,612 \pm 0,037$ ve sırt sürekliliği $0,601 \pm 0,017$ düzeyinde kalırken arka plan girişimi $0,422 \pm 0,037$ 'ye yükselmiştir. Sonuç olarak yüksek kontrasta rağmen FQS $0,655 \pm 0,006$ olarak belirlenmiştir. Bu bulgu, tek başına yüksek kontrastın daha kaliteli parmak izi görüntüsü anlamına gelmediğini; arka plan temizliği, sırt keskinliği, görünür sırt alanı ve sırt sürekliliğinin birlikte değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir.



Şekil 4.14. Apt-FAMSNp/Hfb-FAMSNp_OPT karışım oranlarının DP4 pilot parmak izi performansına etkisi

Şekil 4.14'te FQS ve arka plan girişiminin birlikte değerlendirilmesi de aynı sonucu desteklemektedir. CD_50Apt_50Hfb, en yüksek FQS değerini sağlarken arka plan girişimi $0,291 \pm 0,042$ düzeyinde kalmıştır. CD_75Apt_25Hfb daha düşük arka plan girişimine sahip olmakla birlikte genel görüntü kalitesi daha düşük; CD_25Apt_75Hfb ise yüksek kontrasta rağmen belirgin biçimde daha fazla arka plan girişimi göstermiştir. Bu nedenle 50:50 Apt-FAMSNp:Hfb-FAMSNp_OPT oranı, farklı görüntü kalite bileşenlerini en dengeli biçimde bir araya getiren formülasyon olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 4.7. CD karışım oranlarının kısa süreli karışım stabilitesi

Formülasyon	Süre (saat)	Floresans korunumu (%)	Türbidite A650	Sedimentasyon skoru (0–5)	Yorum
CD_75Apt_25Hfb	0	99.7 ± 0.5	0.048 ± 0.001	0.09 ± 0.13	Stabil
CD_75Apt_25Hfb	24	96.2 ± 0.6	0.058 ± 0.001	1.01 ± 0.14	Stabil
CD_50Apt_50Hfb	0	100.3 ± 0.6	0.060 ± 0.001	0.00 ± 0.00	Stabil
CD_50Apt_50Hfb	24	93.8 ± 0.3	0.073 ± 0.002	1.66 ± 0.12	Stabil
CD_25Apt_75Hfb	0	100.1 ± 0.6	0.098 ± 0.003	0.10 ± 0.10	Agregasyon riski
CD_25Apt_75Hfb	24	85.8 ± 0.7	0.117 ± 0.001	4.27 ± 0.04	Agregasyon riski

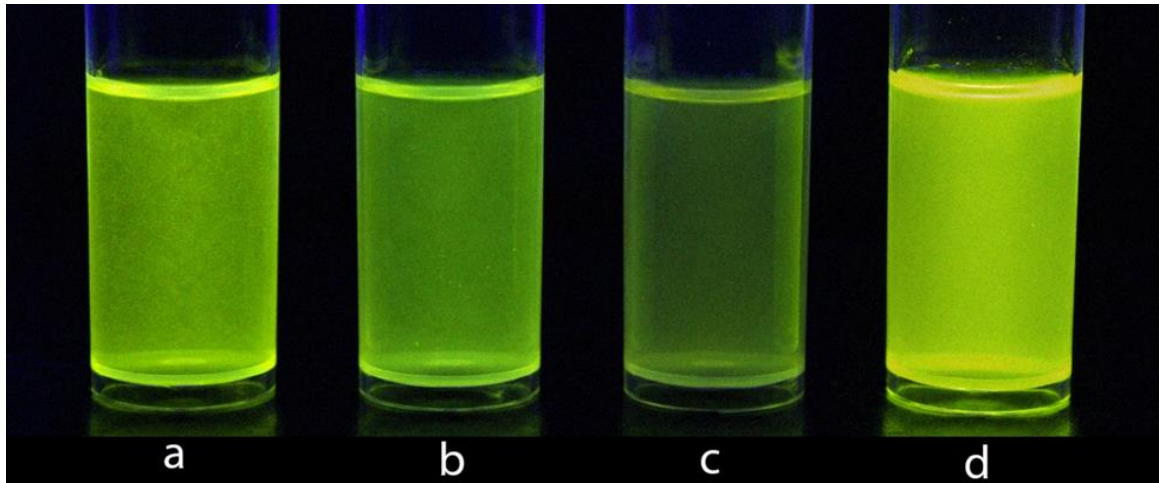
Karışım stabilitesi, Apt-FAMSNp ve Hfb-FAMSNp_OPT bileşenlerinin farklı oranlarda bir araya getirilmesinden sonra floresans korunumu, türbidite ve sedimentasyon davranışı üzerinden değerlendirilmiştir. CD_75Apt_25Hfb formülasyonunda başlangıçta floresans korunumu %99,7 ± 0,5, türbidite A650 değeri 0,048 ± 0,001 ve sedimentasyon skoru 0,09 ± 0,13 olarak belirlenmiştir. Yirmi dört saat sonunda floresansın %96,2 ± 0,6 düzeyinde korunması, türbiditenin yalnızca 0,058 ± 0,001'e ve sedimentasyon skorunun 1,01 ± 0,14'e yükselmesi, aptamer oranı yüksek bu karışımın kısa süreli dispersiyon stabilitesinin iyi düzeyde olduğunu göstermektedir.

CD_50Apt_50Hfb formülasyonu başlangıçta %100,3 ± 0,6 floresans korunumu, 0,060 ± 0,001 türbidite ve 0,00 ± 0,00 sedimentasyon skoru göstermiştir. Yirmi dört saat sonunda floresans korunumu %93,8 ± 0,3 düzeyinde kalmış, türbidite 0,073 ± 0,002 ve sedimentasyon skoru 1,66 ± 0,12 olarak belirlenmiştir. Bu değişimler 24 saat içinde belirli ölçüde parçacık birlikteliği ve çökelme eğiliminin geliştiğini göstermekle birlikte, floresans sinyalinin büyük ölçüde korunması ve sedimentasyonun sınırlı düzeyde kalması, 50:50 karışımın kısa süreli kullanım açısından yeterli stabiliteye sahip olduğunu göstermektedir.

Hidrofobik bileşenin baskın olduğu CD_25Apt_75Hfb formülasyonunda ise başlangıç türbiditesi 0,098 ± 0,003 ile diğer karışımlardan daha yüksek bulunmuştur. Yirmi dört saat sonunda floresans korunumu %85,8 ± 0,7'ye düşerken türbidite 0,117 ± 0,001 ve sedimentasyon skoru 4,27 ± 0,04 değerine yükselmiştir. Özellikle yüksek sedimentasyon skoru, bu formülasyonda parçacıkların zamanla belirgin biçimde çökelmeye ve birlikte hareket etmeye

başladığını göstermektedir. Bu sonuç, daha önce CD_25Apt_75Hfb için belirlenen yüksek PDI ve yüksek arka plan girişimiyle birlikte değerlendirildiğinde, hidrofobik nanoparçacık oranının aşırı artırılmasının karışım davranışı açısından dezavantaj oluşturduğunu desteklemektedir.

Stabilite sonuçları tek başına değerlendirildiğinde CD_75Apt_25Hfb formülasyonu 24 saat sonunda en yüksek floresans korunumu ve en düşük sedimentasyonu göstermiştir. Bununla birlikte pilot parmak izi analizlerinde en yüksek FQS değeri bu formülasyonda değil, CD_50Apt_50Hfb’de elde edilmiştir. Dolayısıyla nihai seçim yalnızca en kararlı dispersiyonun belirlenmesine dayandırılmamıştır. PDI, temas açısı, arka plan girişimi, DP4 görüntü kalite metrikleri ve kısa süreli karışım stabilitesi birlikte değerlendirildiğinde CD_50Apt_50Hfb, görüntüleme performansı ile fizikokimyasal kullanılabilirlik arasında en dengeli formülasyon olarak belirlenmiştir. Bu nedenle 50:50 (v/v) Apt-FAMSNp:Hfb-FAMSNp_OPT karışımı nihai kompozit geliştirici olarak seçilmiş ve sonraki deneylerde CD_OPT olarak kullanılmıştır.



Şekil 4.15. Apt-FAMSNp/Hfb-FAMSNp_OPT karışımlarının hazırlanması kapsamında değerlendirilen floresan nanoparçacık dispersiyonlarının UV ışık altındaki görsel karşılaştırması.

UV ışık altında Apt-FAMSNp ve Hfb-FAMSNp_OPT dispersiyonlarının her ikisinde de FAM kaynaklı yeşil floresansın korunduğu görülmüştür. İki nanoparçacık tipinin karıştırılması sonrasında CD_75Apt_25Hfb ve CD_50Apt_50Hfb örneklerinde de belirgin floresan görünüm devam etmiştir. Bu gözlem, aptamer fonksiyonelleştirilmiş ve hidrofobik olarak modifiye edilmiş FAM taşıyan nanoparçacıkların farklı oranlarda bir araya getirilmesinin floresan özelliğin kaybolmasına yol açmadığını görsel olarak desteklemektedir. Bununla birlikte görüntüler ışık geometrisi, örnek yoğunluğu ve kamera koşullarından etkilenebileceğinden, örnekler arasındaki görsel floresans şiddetinin nicel karşılaştırılması için

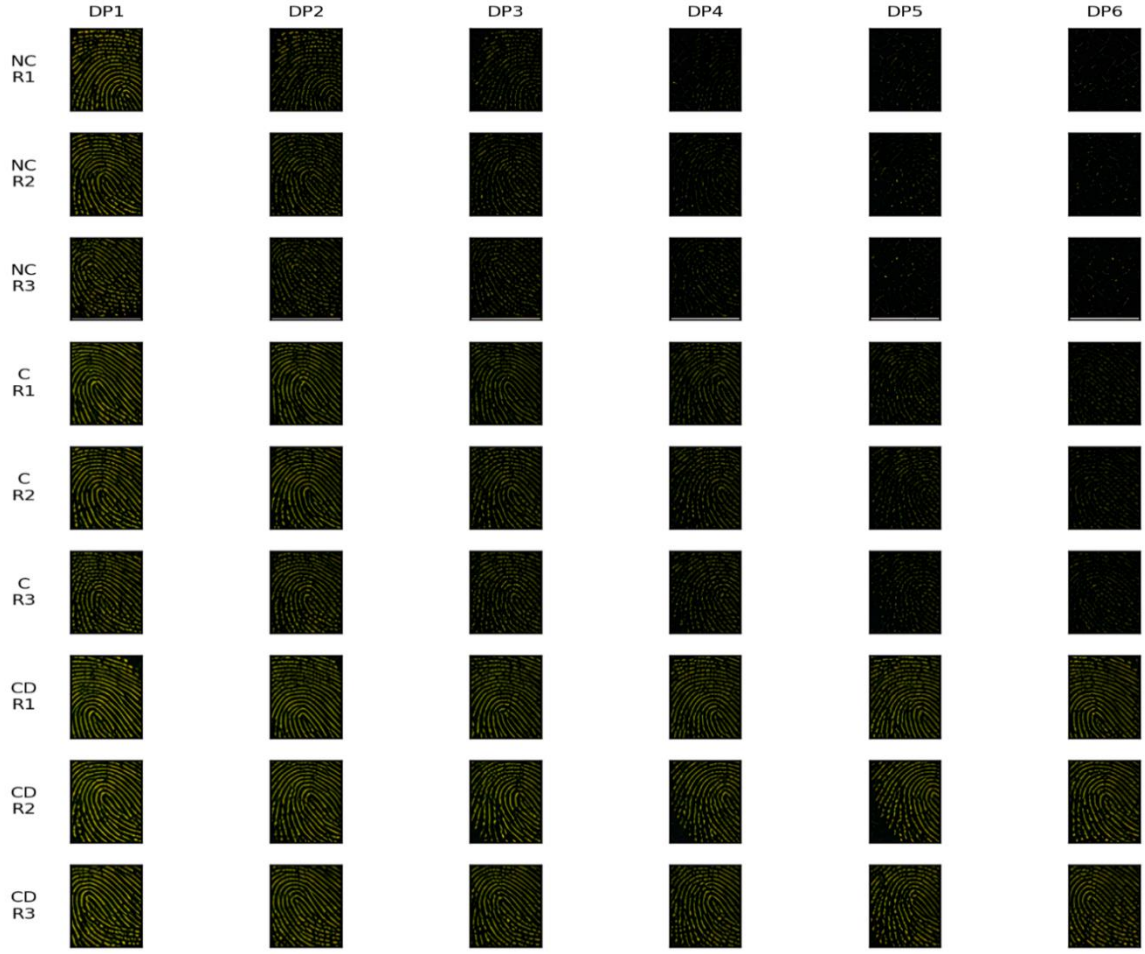
kullanılmamıştır. Bu görsel değerlendirme, Tablo 4.7’de verilen floresans korunumu ve stabilite sonuçlarını destekleyen nitel bir gözlem olarak değerlendirilmiştir.

4.4. Parmak İzi Görüntüleme Performansı ve FQS Analizi

4.4.1. Anonim ROI Tabanlı Görüntü Panelleri

Parmak izi geliştirme performansının görsel olarak karşılaştırılması amacıyla, tam parmak izi görüntüleri yerine standartlaştırılmış lokal ilgi bölgeleri (region of interest, ROI) kullanılmıştır. ROI seçiminde tam desen organizasyonunu temsil eden merkez (core) ve delta gibi ayırt edici bölgelerden kaçınılmış; sırt çizgilerinin görünürlüğü, sürekliliği ve arka planla ayırımının değerlendirilebildiği temsili lokal alanlar tercih edilmiştir. Böylece farklı geliştirici sistemleri ve deney koşulları arasındaki görsel karşılaştırmalar aynı yaklaşım üzerinden gerçekleştirilmiştir.

Bu bölümde N ninhidrin kontrolünü, NC fonksiyonelleştirilmemiş FAMSNp_OPT sistemini, C aptamer ile fonksiyonelleştirilmiş Apt-FAMSNp sistemini ve CD ise 50:50 Apt-FAMSNp:Hfb-FAMSNp_OPT oranında hazırlanan nihai kompozit geliştirici CD_OPT’yi ifade etmektedir. Ninhidrin kontrolü görünür ışık/brightfield görüntüleme ile, NC, C ve CD sistemleri ise floresans/UV görüntüleme koşullarında değerlendirilmiştir. Görsel paneller yöntemlerin mutlak optik şiddetlerini doğrudan karşılaştırmak yerine, her yöntemde elde edilen sırt yapısının kendi görüntüleme koşulları içerisindeki korunumu ve okunabilirliğini göstermek amacıyla kullanılmıştır.



Şekil 4.16. Lifli kağıt substratta NC, C ve CD yöntemlerinin deplesyon serisine bağlı floresans ROI görüntüleri

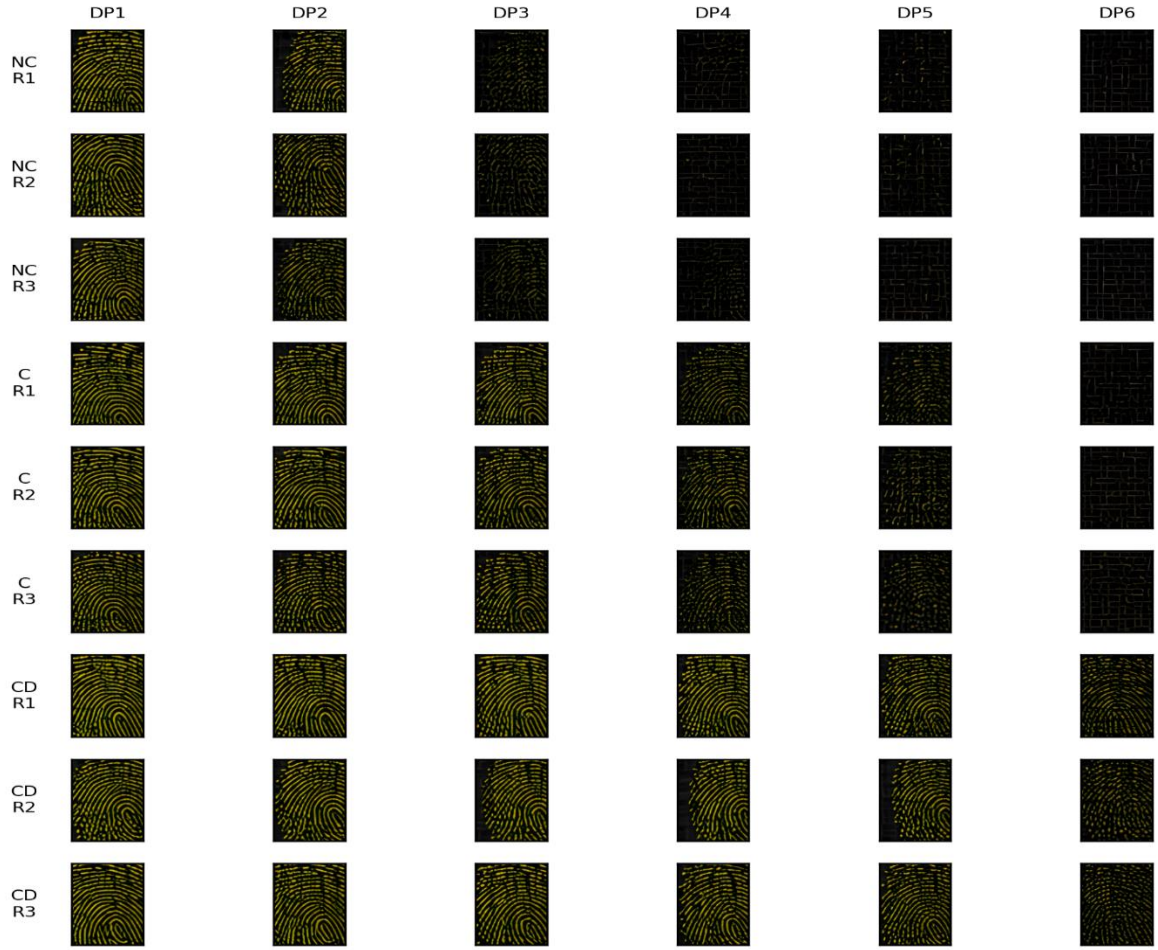
Lifli kağıt substratta NC, C ve CD yöntemleri için DP1–DP6 deplesyon basamaklarında elde edilen temsili ROI görüntüleri Şekil 4.16’da verilmiştir. Ardışık depozisyonlarla parmak izi kalıntı miktarının azalmasına paralel olarak, tüm sistemlerde ileri deplesyon basamaklarında sırt sinyalinin zayıflaması beklenen bir eğilimdir. Bununla birlikte üç floresans sistemi arasında bu azalmanın görsel etkisi farklılık göstermiştir.

NC grubunda deplesyon ilerledikçe sırt-arka plan ayrımının ve seçilebilir sırt çizgilerinin belirgin biçimde azaldığı görülmüştür. Bu sonuç, FAM içeren silika nanoparçacıkların floresan görüntüleme sağlamakla birlikte, yüzey fonksiyonelleştirmesi bulunmadığında azalan parmak izi kalıntısında tutunmanın sınırlı kalabileceğini düşündürmektedir. Apt-FAMSNp kullanılan C grubunda ise özellikle orta deplesyon basamaklarında NC’ye göre daha belirgin ve daha sürekli sırt yapıları gözlenmiş, ancak ileri deplesyon basamaklarında bu sistemde de sinyal kaybı ortaya çıkmıştır.

CD_OPT kullanılan CD grubunda ise özellikle DP4–DP6 aralığında lokal sırt çizgilerinin diğer floresans sistemlerine göre daha seçilebilir ve daha sürekli görünmesi dikkat çekmiştir. Bu görsel eğilim, aptamerli ve hidrofobik nanoparçacık bileşenlerinin birlikte kullanılmasının düşük kalıntı koşullarında lifli kağıt üzerindeki görüntüleme performansını destekleyebileceğini düşündürmektedir.

Kumaş substratta NC, C ve CD yöntemleri için DP1–DP6 deplesyon basamaklarında elde edilen temsilî floresans ROI görüntüleri Şekil 4.17’de verilmiştir. Kumaşın lifli ve dokulu yapısı, parmak izi sırt sinyalinin yüzey dokusundan ayrılmasını güçleştiren belirgin bir arka plan oluşturmaktadır. Bu nedenle deplesyon ilerledikçe kalıntı miktarının azalması, özellikle zayıf tutunma gösteren geliştirici sistemlerinde sırt çizgilerinin tekstil dokusu içerisinde seçilebilirliğini azaltmıştır.

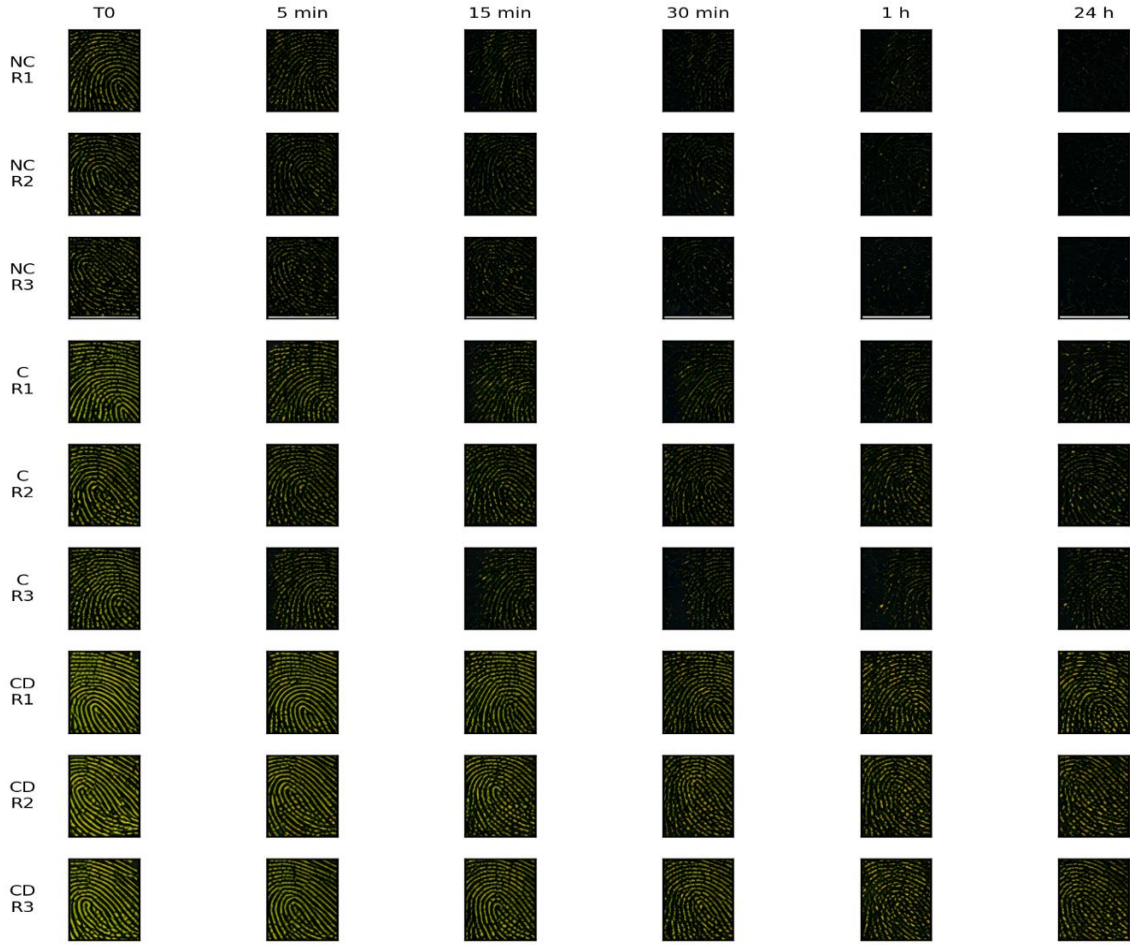
NC grubunda ilk deplesyon basamaklarında sırt yapısı seçilebilir olmakla birlikte, DP basamakları ilerledikçe floresan sırt sinyalinin azaldığı ve kumaş dokusunun görsel olarak daha baskın hâle geldiği görülmüştür. Bu eğilim, yalnızca FAM yüklü silika nanoparçacıkların düşük kalıntı miktarında dokulu yüzey üzerinde yeterli sırt-arka plan ayrımını sürdürmekte sınırlı kaldığını göstermektedir.



Şekil 4.17. Kumaş substratta NC, C ve CD yöntemlerinin deplesyon serisine bağlı floresans ROI görüntüleri

Apt-FAMSNp kullanılan C grubunda NC'ye göre daha belirgin ve daha sürekli sırt yapıları gözlenmiş, özellikle orta deplesyon basamaklarında lokal sırt okunabilirliği daha iyi korunmuştur. Bununla birlikte ileri deplesyon basamaklarında C grubunda da sırt sinyalinde zayıflama meydana gelmiştir. Bu durum, aptamer fonksiyonelleştirmesinin NC sistemine göre olumlu katkı sağladığını düşündürmekle birlikte, azalan parmak izi kalıntısı ve kumaşın güçlü dokusal arka planının tek bileşenli aptamer sisteminin performansını sınırlamaya devam ettiğini göstermektedir.

CD_OPT kullanılan CD grubunda ise özellikle ileri deplesyon basamaklarında daha sürekli ve seçilebilir sırt çizgileri gözlenmiştir. Kumaş gibi heterojen bir yüzeyde CD grubunun DP4–DP6 aralığında sırt yapısını daha belirgin biçimde koruması, aptamerli ve hidrofobik nanoparçacık bileşenlerinin birlikte kullanılmasının düşük kalıntı koşullarında görüntüleme açısından avantaj sağlayabileceğini düşündürmektedir.

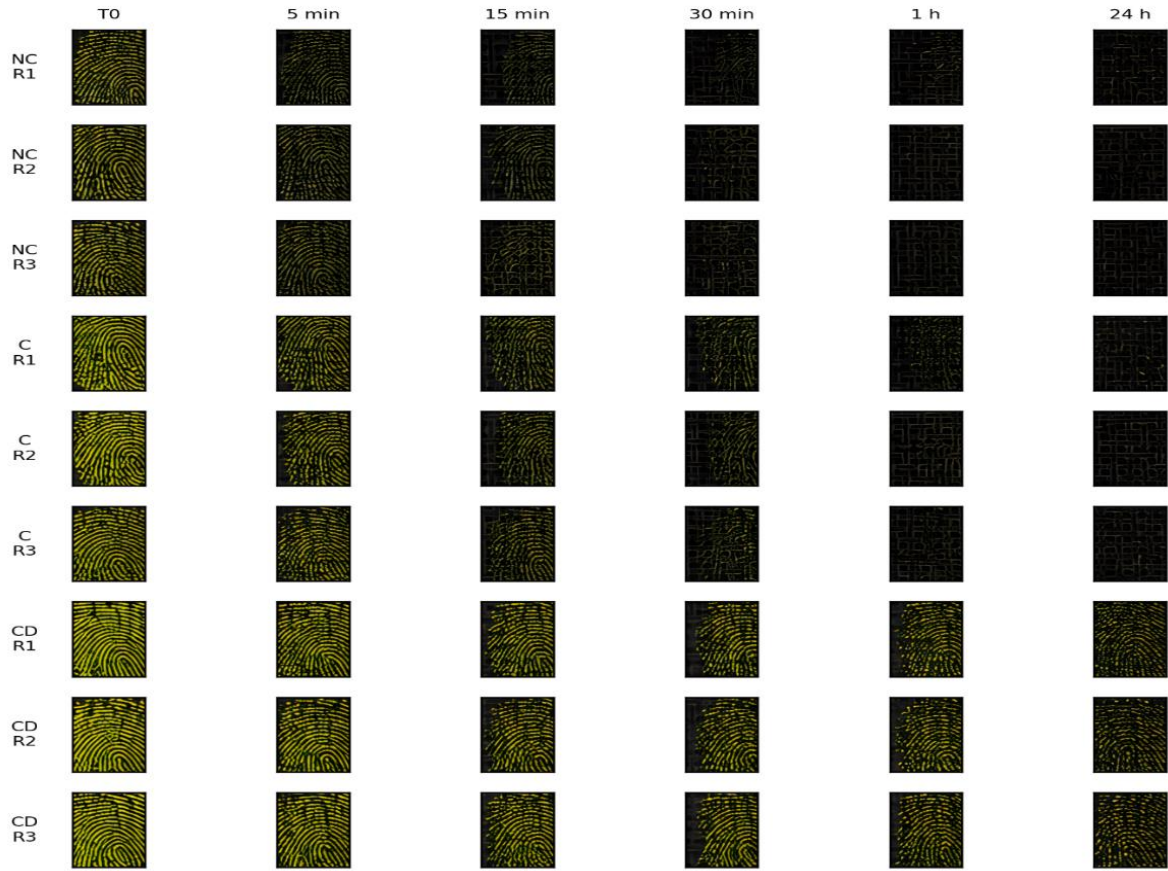


Şekil 4.18. Lifli kağıt substratta NC, C ve CD yöntemlerinin zamana bağlı floresans ROI görüntüleri

Lifli kağıt substratta NC, C ve CD yöntemleri için T0, 5 dk, 15 dk, 30 dk, 1 saat ve 24 saat zaman noktalarında elde edilen temsili floresans ROI görüntüleri Şekil 4.18’de verilmiştir. Bu zaman serisi, geliştirme işlemi sonrasında elde edilen sırt sinyalinin ve görüntü okunabilirliğinin zaman içerisindeki korunmasını değerlendirmektedir.

NC grubunda başlangıçta seçilebilir floresan sırt yapıları görülmesine rağmen, zaman ilerledikçe sırt-arka plan ayrımının azaldığı ve özellikle geç zaman noktalarında lokal sırt sürekliliğinin zayıfladığı gözlenmiştir. Bu eğilim, yalnızca FAM yüklü silika nanoparçacıklardan oluşan sistemin lifli kağıt üzerinde oluşturduğu görüntünün zaman içerisinde aynı düzeyde korunamadığını göstermektedir. Apt-FAMSNp kullanılan C grubunda sırt çizgileri NC grubuna göre daha uzun süre seçilebilir kalmış ve erken-orta zaman noktalarında daha düzenli bir görüntü profili gözlenmiştir. Bununla birlikte 1 saat ve 24 saat gibi ileri zaman noktalarında C grubunda da sırt sinyalinin ve lokal sürekliliğin azaldığı

görülmüştür. Bu durum, aptamer fonksiyonelleştirmesinin görüntü korunmasına katkı sağlayabileceğini düşündürmekle birlikte, tek başına aptamerli sistemin zamanla ortaya çıkan görüntü kalitesi kaybını tamamen önlemediğini göstermektedir. CD_OPT kullanılan CD grubunda ise sırt çizgilerinin zaman serisi boyunca daha seçilebilir ve daha sürekli kaldığı, özellikle geç zaman noktalarında NC ve C gruplarına göre daha iyi lokal okunabilirliğin korunduğu gözlenmiştir. 24 saat sonunda dahi belirgin sırt yapılarının seçilebilmesi, CD_OPT formülasyonunun lifli kağıt üzerinde geliştirme sonrası görüntü sinyalinin korunması açısından daha avantajlı bir eğilim gösterdiğini desteklemektedir.



Şekil 4.19. Kumaş substratta NC, C ve CD yöntemlerinin zamana bağlı floresans ROI görüntüleri

Kumaş substratta NC, C ve CD yöntemleri için T0–24 saat aralığında elde edilen temsili floresans ROI görüntüleri Şekil 4.19’da verilmiştir. Kumaş yüzeyin lifli ve heterojen yapısı, zaman ilerledikçe sırt sinyalinin yüzey dokusundan ayrılmasını güçleştiren önemli bir arka plan oluşturmaktadır. NC grubunda erken zaman noktalarında seçilebilir sırt çizgileri gözlenmekle birlikte, zaman ilerledikçe floresan sırt sinyalinin zayıfladığı ve kumaş dokusunun arka plan

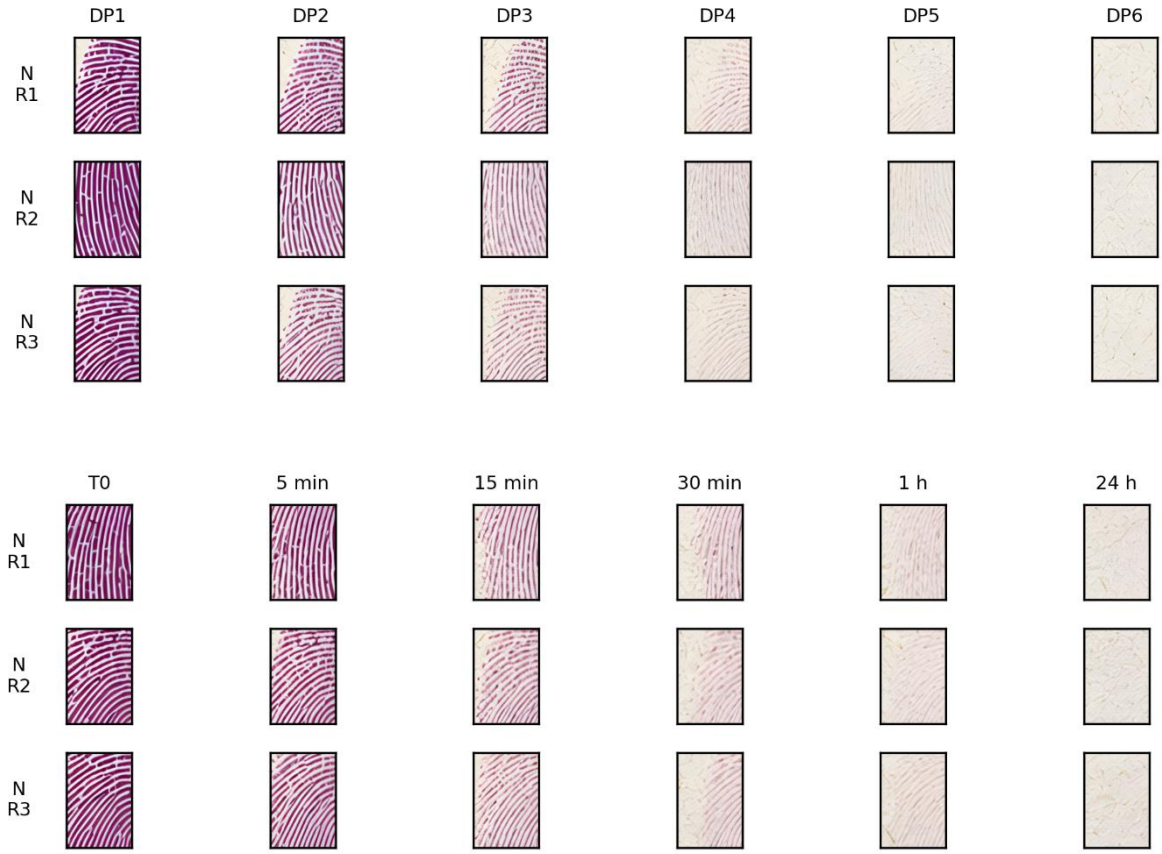
etkisinin daha belirgin hâle geldiği görülmüştür. Bu durum, yalnızca FAM yüklü silika nanoparçacıklardan oluşan sistemin tekstil yüzeyinde geliştirme sonrası sırt-arka plan ayrımını uzun süre korumakta sınırlı kaldığını göstermektedir.

Apt-FAMSNp kullanılan C grubunda NC'ye kıyasla daha belirgin ve daha uzun süre korunabilen sırt yapıları gözlenmiştir. Bununla birlikte orta ve geç zaman noktalarında C grubunda da lokal sırt sürekliliğinin azaldığı ve tekstil dokusunun görüntü üzerindeki etkisinin arttığı görülmüştür. Bu bulgu, aptamer fonksiyonelleştirmesinin yalnızca FAMSNp_OPT sistemine göre görüntü korunmasına katkı sağlayabileceğini düşündürmekle birlikte, dokulu kumaş yüzeyinde zamanla oluşan kalite kaybını tamamen engellemediğini göstermektedir.

CD_OPT kullanılan CD grubunda ise özellikle orta ve geç zaman noktalarında sırt çizgilerinin daha seçilebilir ve daha sürekli kaldığı görülmüştür. 24 saate kadar devam eden zaman serisinde CD grubunun lokal okunabilirliği NC ve C gruplarına göre daha iyi koruması, kompozit formülasyonun kumaş yüzeyde geliştirme sonrası görüntü kalitesinin sürdürülmesi açısından avantajlı bir eğilim gösterdiğini desteklemektedir.

Lifli kağıt substratta ninhidrin kontrolü için deplesyon serisine ait DP1–DP6 görüntüleri ile geliştirme sonrası T0–24 saat zaman serisine ait temsili ROI görüntüleri Şekil 4.20'de verilmiştir. Ninhidrin kontrolü görünür ışık/brightfield koşullarında değerlendirildiğinden, bu panelin amacı geliştirilen sırt yapısının azalan kalıntı miktarı ve geliştirme sonrası zaman içerisindeki görsel davranışını ortaya koymaktır.

Deplesyon serisinde erken basamaklarda ninhidrin ile belirgin ve seçilebilir sırt yapıları elde edilmiş, ancak ardışık temas sayısı arttıkça sırt kontrastı ve lokal okunabilirlik azalmıştır. Bu eğilim, DP basamakları ilerledikçe parmak izi kalıntısındaki amino asit ve diğer ekrin bileşenlerinin miktarının azalmasıyla uyumludur. Ninhidrinin özellikle kağıt gibi poröz ve selülozik yüzeylerde parmak izi kalıntısındaki amino asitlerle reaksiyona girerek etkili bir klasik geliştirici olarak kullanılması literatürde iyi tanımlanmıştır. Bu nedenle erken deplesyon basamaklarında gözlenen güçlü görünür sırt gelişimi beklenen bir sonuçtur. Zaman serisinde de erken zaman noktalarında belirgin sırt görünürlüğü korunurken, ilerleyen zaman noktalarında lokal sırt-arka plan ayrımında azalma gözlenmiştir.



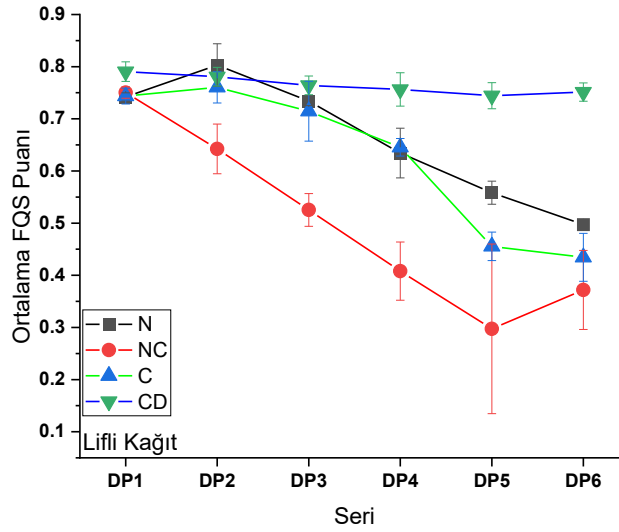
Şekil 4.20. Lifli kağıt substratta ninhidrin kontrolünün deplesyon ve zaman serilerine ait visible/brightfield ROI görüntüleri

Genel olarak Şekil 4.20, ninhidrinin lifli kağıt üzerinde özellikle güçlü kalıntı içeren erken deplesyon basamaklarında etkili bir referans yöntem olduğunu, ancak kalıntı miktarının azalmasıyla sırt okunabilirliğinin kademeli olarak sınırlanabildiğini göstermektedir. Ninhidrin kontrolünün NC, C ve CD sistemleriyle nicel karşılaştırması ise farklı görüntüleme modları nedeniyle yalnızca bu görsel panel üzerinden yapılmamış; sonraki bölümde her yöntemin kendi görüntüleri üzerinden hesaplanan standartlaştırılmış FQS değerleri kullanılarak değerlendirilmiştir.

4.4.2. Deplesyon Serisi FQS Sonuçları

Deplesyon serisi, aynı donörden ardışık olarak alınan parmak izi depozisyonlarında yüzeye aktarılan kalıntı miktarının giderek azalması durumunda geliştirici sistemlerin görüntü kalitesini ne ölçüde koruyabildiğini değerlendirmek amacıyla kullanılmıştır. DP1 ilk, DP6 ise aynı serideki altıncı ardışık teması temsil etmektedir. Ardışık depozisyon yaklaşımının parmak

izi kalıntısı ve sırt görünürlüğündeki değişimin incelenmesinde kullanılması literatürde de yerleşik bir yaklaşımdır (Salmeron ve De Alcaraz-Fossoul, 2022).



Şekil 4.21. Lifli kağıt substratta N, NC, C ve CD yöntemlerinin deplesyon serisine bağlı FQS değişimi

Lifli kağıt substratta yöntemlerin deplesyon serisine verdiği yanıt özellikle orta ve ileri depozisyon basamaklarında ayrılmıştır. DP1’de tüm yöntemlerin FQS değerleri birbirine yakın ve yaklaşık 0,73–0,76 aralığında bulunurken, ardışık temasların ilerlemesiyle NC, C ve N gruplarında farklı düzeylerde azalma gözlenmiştir. Buna karşılık CD grubunun FQS değeri DP1–DP6 boyunca yaklaşık 0,74–0,77 aralığında korunmuş ve en kararlı profil bu formülasyonda elde edilmiştir. Şekil 4.21’de verilen değerler üç tekrarın ortalama $\pm$ standart sapmasını temsil etmektedir.

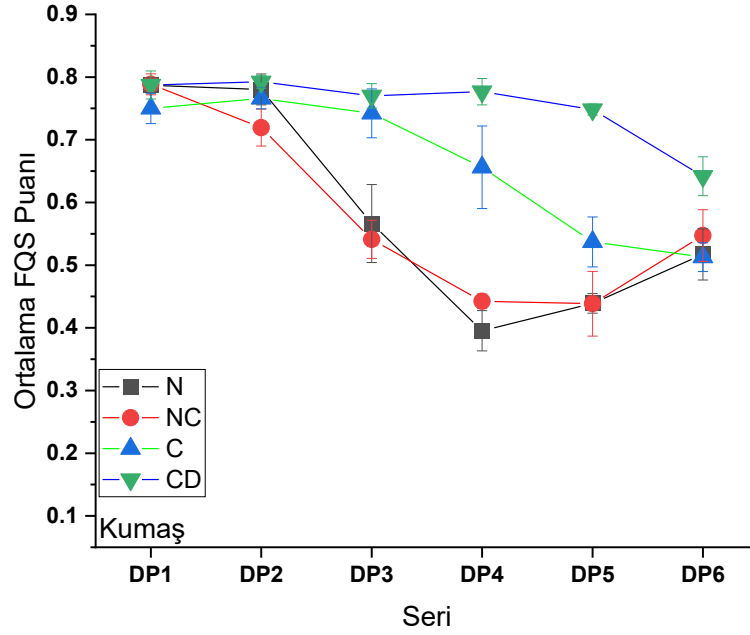
Ninhidrin kontrolü DP1–DP3 aralığında yüksek FQS değerlerini korumuş ve DP2’de yaklaşık 0,79 ile en yüksek değerine ulaşmıştır. Ancak DP4’ten sonra FQS kademeli olarak azalarak DP6’da yaklaşık 0,50 düzeyine gerilemiştir. Ninhidrinin kâğıt gibi gözenekli ve selülozik yüzeylerde parmak izi kalıntısındaki amino asitleri hedeflemesi nedeniyle erken deplesyon basamaklarındaki yüksek performansı beklenen bir bulgudur. Gözenekli yüzeylerde amino asitlere duyarlı reaktiflerin, özellikle ninhidrinin, latent parmak izi geliştirmede etkili olduğu iyi bilinmektedir (Jelly vd., 2009). Bununla birlikte ardışık temaslarla yüzeye aktarılan ekrin kalıntının azalması, ileri deplesyon basamaklarında ninhidrin ile elde edilen sırt okunabilirliğinin azalmasıyla uyumludur.

NC yöntemi deplesyondan en fazla etkilenen floresans sistem olmuştur. DP1’de yaklaşık 0,73 olan FQS, DP2’den itibaren düzenli biçimde azalmış, DP4’te yaklaşık 0,41 ve DP5’te yaklaşık 0,30 düzeyine gerilemiştir. DP6’da gözlenen sınırlı artış genel azalma eğilimini değiştirmemektedir. Bu sonuç, yalnızca FAM yüklü silika nanoparçacıkların lifli kağıt üzerinde yüksek kalıntı miktarında görüntü oluşturabildiğini, ancak kalıntı azaldıkça sırt yapısının korunmasında yetersiz kaldığını göstermektedir.

Aptamer ile fonksiyonelleştirilmiş C sistemi NC’ye göre daha dayanıklı bir profil sergilemiştir. C grubunda FQS DP1–DP3 boyunca yaklaşık 0,74–0,76 düzeyinde korunmuş, ancak DP4 sonrasında azalarak DP5–DP6’da yaklaşık 0,44–0,45 düzeyine ulaşmıştır. Böylece aptamer fonksiyonelleştirmesi özellikle erken ve orta deplesyon basamaklarında FAMSnp_OPT’ye göre daha iyi görüntü korunumu ile ilişkili bulunmuştur. Bununla birlikte ileri deplesyonlarda C grubundaki düşüş, tek başına aptamerli bileşenin çok düşük kalıntı koşullarında görüntü kalitesini tamamen koruyamadığını göstermektedir.

CD_OPT grubunun davranışı diğer üç yöntemden farklı olmuştur. FQS değerleri DP1’den DP6’ya kadar yaklaşık 0,75 civarında korunmuş ve ileri deplesyon basamaklarında belirgin bir aşağı yönlü eğilim oluşmamıştır. Özellikle DP4–DP6 aralığında CD grubunun N, NC ve C gruplarına göre daha yüksek FQS profilini sürdürmesi, 50:50 Apt-FAMSnp:Hfb-FAMSnp_OPT kompozit sisteminin azalan parmak izi kalıntısı koşullarında lifli kağıt üzerindeki sırt okunabilirliğini daha iyi koruduğunu göstermektedir. Bu sonuç, Şekil 4.16’daki ROI görüntülerinde ileri deplesyon basamaklarında gözlenen daha sürekli ve seçilebilir sırt yapılarıyla da uyumludur.

Genel olarak lifli kağıt substratta ninhidrin erken deplesyon basamaklarında güçlü bir referans performans sergilerken, kalıntı miktarının azalmasıyla FQS değerinde düşüş meydana gelmiştir. NC ve C sistemleri de ileri deplesyondan etkilenmiş, buna karşılık CD_OPT DP1–DP6 boyunca en kararlı FQS profilini göstermiştir. Bu nedenle kompozit sistemin avantajı yalnızca başlangıç görüntü kalitesinin yüksek olması değil, ardışık depozisyonlarla azalan kalıntı miktarına karşı görüntü kalitesini daha iyi koruması olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 4.22. Kumaş substratta N, NC, C ve CD yöntemlerinin deplesyon serisine bağlı FQS değişimi

Kumaş substratta deplesyon serisi, yöntemler arasındaki farkın özellikle DP3 sonrasında belirginleştiğini göstermiştir. İlk iki depozisyon basamağında tüm yöntemler görece yüksek FQS değerleri üretirken, ardışık temaslarla parmak izi kalıntısının azalması sonucunda N ve NC gruplarında daha hızlı, C grubunda ise daha sınırlı bir kalite kaybı meydana gelmiştir. Buna karşılık CD_OPT, ileri deplesyon basamaklarında FQS değerini daha iyi koruyan sistem olmuştur. Ardışık depozisyonların parmak izi kalıntısı ve sırt görünürlüğünü değiştirmesi, deplesyon serilerinin temel özelliğidir (Salmeron ve De Alcaraz-Fossoul, 2022).

Ninhidrin kontrolü DP1 ve DP2’de yaklaşık 0,75 düzeyinde FQS değerleri göstermiş, ancak DP3’te yaklaşık 0,55 ve DP4’te yaklaşık 0,40 düzeyine kadar gerilemiştir. DP5–DP6’da görülen sınırlı toparlanmaya rağmen başlangıç düzeyine ulaşamamıştır. Bu profil, kumaş yüzeyde kalıntı miktarının azalmasıyla ninhidrin tarafından geliştirilen sırt yapısının görüntü kalitesinin hızlı biçimde düşebildiğini göstermektedir. Kumaşın lifli ve heterojen yüzey yapısı da lokal sırt sinyali ile zemin dokusunun ayrılmasını zorlaştıran ek bir unsur olarak değerlendirilmiştir.

NC grubunda da benzer biçimde deplesyona bağlı belirgin bir azalma görülmüştür. DP1’de yaklaşık 0,78 olan FQS, DP2’den itibaren düşmüş ve DP4–DP5 aralığında yaklaşık 0,44 düzeyine gerilemiştir. Bu sonuç, yalnızca FAM yüklü silika nanoparçacıklardan oluşan

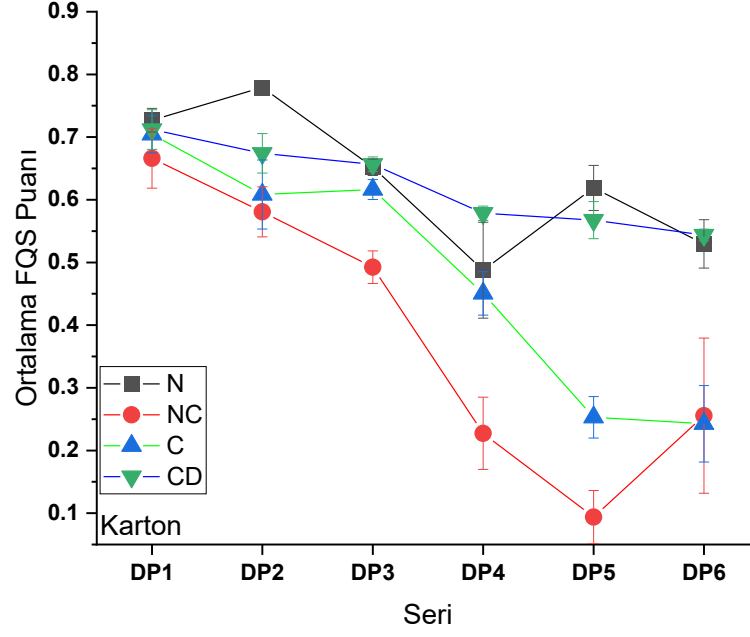
sistemin kumaş üzerinde yüksek kalıntı miktarında yeterli görüntü oluşturabilmesine karşın, ileri deplesyon basamaklarında sırt okunabilirliğini korumakta sınırlı kaldığını göstermektedir.

Aptamer ile fonksiyonelleştirilmiş C sistemi NC ve N gruplarına göre daha kararlı bir profil göstermiştir. C grubunda FQS yaklaşık 0,74–0,77 aralığında DP1–DP3 boyunca korunmuş, DP4'te yaklaşık 0,66 ve DP5'te yaklaşık 0,55 düzeyine gerilemiştir. Bu sonuç, aptamer fonksiyonelleştirmesinin özellikle orta deplesyon basamaklarında FAMS_{Np}_OPT sistemine göre daha iyi sırt okunabilirliği ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte DP6'da görülen daha belirgin azalma, aptamerli bileşenin tek başına çok düşük kalıntı koşullarında görüntü kalitesini tamamen koruyamadığını ortaya koymaktadır.

CD_OPT grubunda ise en kararlı deplesyon profili elde edilmiştir. FQS değeri DP1–DP4 boyunca yaklaşık 0,75–0,77 düzeyinde korunmuş, DP5'te yalnızca sınırlı bir azalma göstermiş ve DP6'da yaklaşık 0,63–0,65 düzeyinde kalmıştır. Özellikle DP3–DP6 aralığında CD grubunun NC ve N gruplarından, ileri basamaklarda ise C grubundan daha yüksek FQS değerlerini koruması, kompozit formülasyonun azalan kalıntı miktarına karşı kumaş üzerindeki sırt okunabilirliğini daha iyi sürdürdüğünü göstermektedir. Bu nicel eğilim, Şekil 4.17'de CD grubunda ileri deplesyon basamaklarında gözlenen daha sürekli ve seçilebilir lokal sırt görüntüleriyle de uyumludur.

Genel olarak kumaş substratta yöntemler arasındaki temel fark başlangıç performansından çok deplesyona karşı performansın korunması olmuştur. N, NC ve C gruplarında farklı derecelerde FQS kaybı görülürken, CD_OPT özellikle DP3–DP5 aralığında yüksek ve daha yatay bir profil sergilemiştir. Bu nedenle kompozit sistemin kumaş üzerindeki başlıca avantajı, güçlü ilk depozisyonlarda daha yüksek başlangıç sinyali üretmesinden ziyade, parmak izi kalıntısı azaldıkça sırt görüntü kalitesini daha iyi koruması olarak değerlendirilmiştir.

Karton substratta deplesyon serisi boyunca yöntemlerin FQS profilleri belirgin biçimde farklılaşmıştır. Ninhidrin kontrolü özellikle DP1–DP3 aralığında yüksek görüntü kalitesi sağlamış, ancak DP4 sonrasında FQS değerinde belirgin bir azalma meydana gelmiştir. Kartondaki selülozik ve gözenekli yapısı nedeniyle ninhidrinin erken deplesyon basamaklarındaki güçlü performansı beklenen bir sonuçtur; ninhidrin parmak izi kalıntısındaki amino asitleri hedefleyen ve kağıt ile karton gibi gözenekli yüzeylerde yaygın olarak kullanılan bir geliştiricidir (Jelly vd., 2009).



Şekil 4.23. Karton substratta N, NC, C ve CD yöntemlerinin deplesyon serisine bağlı FQS değişimi

N grubunda DP5 noktasında gözlenen kısmi artış, deplesyon ilerlemesine bağlı genel azalma eğilimini değiştirmemektedir. Ardışık temaslarda yüzeye aktarılan kalıntının monoton biçimde aynı oranda azalması beklenmekle birlikte, gerçek parmak izi örneklerinde lokal kalıntı dağılımı, karton yüzeyin heterojenliği ve ROI içerisindeki sırt-arka plan özellikleri nedeniyle ardışık noktalar arasında sınırlı dalgalanmalar oluşabilmektedir. Bu nedenle DP5'teki artış bir performans geri kazanımı olarak değil, deneysel ve yüzey kaynaklı değişkenlik kapsamında değerlendirilmiştir.

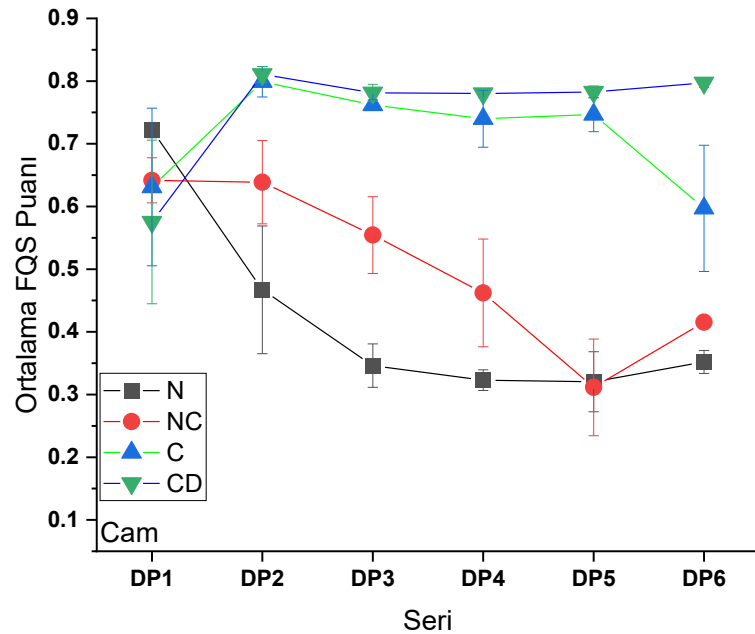
NC yöntemi karton substratta deplesyondan en fazla etkilenen sistemlerden biri olmuştur. Başlangıçta kabul edilebilir FQS elde edilmesine rağmen, DP basamakları ilerledikçe görüntü kalitesi hızla azalmış ve özellikle DP4–DP5 aralığında düşük düzeylere ulaşmıştır. Bu sonuç, yalnızca FAM yüklü silika nanoparçacıklardan oluşan sistemin karton gibi emici ve heterojen bir yüzeyde düşük miktardaki parmak izi kalıntısının sırt organizasyonunu korumakta sınırlı kaldığını göstermektedir.

Apt-FAMSNp kullanılan C sistemi NC'ye göre daha iyi bir deplesyon profili göstermiştir. Özellikle DP1–DP3 aralığında FQS değerlerinin daha iyi korunması, aptamer ile yüzey fonksiyonelleştirilmiş nanoparçacıkların FAMSNp_OPT sistemine kıyasla karton üzerindeki parmak izi kalıntısıyla daha elverişli bir etkileşim profili oluşturduğunu düşündürmektedir. Bununla birlikte DP4 sonrasında C grubunda da belirgin FQS kaybı

meydana gelmiş, dolayısıyla aptamerli sistem tek başına ileri deplesyon basamaklarında görüntü kalitesini tamamen koruyamamıştır. Bu sonuç aptamer-lizozim bağlanmasının doğrudan deneysel kanıtı olarak değil, Apt-FAMSNp formülasyonunun NC'ye göre gözlenen göreceli görüntüleme avantajı olarak değerlendirilmelidir.

CD_OPT ise karton substratta en dengeli ve deplesyona karşı en dayanıklı FQS profilini göstermiştir. İlk deposizyonlardan ileri basamaklara doğru kademeli bir azalma görülmekle birlikte, özellikle DP4–DP6 aralığında CD grubunun NC ve C gruplarından daha yüksek FQS değerlerini koruduğu görülmüştür. Bu durum, kompozit formülasyonun avantajının başlangıçta maksimum FQS oluşturmaktan çok, yüzeye aktarılan parmak izi kalıntısı azaldıkça görüntü kalitesindeki kaybı sınırlandırması olduğunu göstermektedir.

Genel olarak karton yüzeyde ninhidrin erken deplesyon basamaklarında güçlü bir referans yöntem olarak öne çıkarken, ileri basamaklarda performansı azalmıştır. NC en hızlı kalite kaybını gösteren sistemlerden biri olmuş, Apt-FAMSNp bu kaybı belirli ölçüde sınırlandırmış, CD_OPT ise özellikle DP4–DP6 aralığında en sürdürülebilir FQS profilini sağlamıştır. Bu nedenle karton substratta da kompozit formülasyonun temel üstünlüğü, düşük kalıntı koşullarında sırt okunabilirliğini daha uzun süre koruması olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 4.24. Cam substratta N, NC, C ve CD yöntemlerinin deplesyon serisine bağlı FQS değişimi

Cam substratta deplesyon serisi, geliştirici sistemler arasındaki farkın en belirgin olarak ortaya çıktığı yüzeylerden biri olmuştur. DP1’de yöntemler arasındaki FQS değerleri görece yakın olmakla birlikte, DP2’den itibaren özellikle C ve CD grupları ile N ve NC grupları arasında belirgin bir ayrışma görülmüştür. Şekil 4.24’te N, NC, C ve CD sistemleri için DP1–DP6 boyunca hesaplanan ortalama FQS değerleri ve standart sapmalar verilmiştir.

Ninhidrin kontrolü DP1’de yaklaşık 0,70 düzeyinde FQS değeri göstermesine rağmen DP2’de yaklaşık 0,47’ye düşmüş ve DP3–DP6 boyunca yaklaşık 0,33–0,36 aralığında düşük bir profil sergilemiştir. Ninhidrin, amino asitleri hedefleyen ve esas olarak kağıt ve karton gibi gözenekli yüzeylerde kullanılan bir parmak izi geliştirme reaktifi (Jelly vd., 2009) olduğundan cam gibi gözeneksiz bir substratta elde edilen düşük FQS değerleri, büyük ölçüde yöntemin hedef yüzey sınıfıyla uyumlu olmamasından kaynaklanmaktadır.

NC yöntemi DP1’de yaklaşık 0,64 düzeyinde FQS göstermiş, ardından deplesyon ilerledikçe kademeli olarak azalmıştır. DP4’te yaklaşık 0,47, DP5’te ise yaklaşık 0,33 düzeyine gerileyen FQS, DP6’da yaklaşık 0,42’ye yükselmiştir. DP6’daki bu sınırlı artış genel azalma eğilimini değiştirmedikten, yöntemsel bir performans iyileşmesinden çok lokal kalıntı dağılımı ve tekrarlar arasındaki değişkenlik kapsamında değerlendirilmiştir. Böylece yalnızca FAM yüklü silika nanoparçacık sisteminin cam yüzeyde ileri deplesyon basamaklarında sırt görüntü kalitesini korumakta sınırlı kaldığı görülmüştür.

Apt-FAMSNp kullanılan C grubu ise NC’ye göre belirgin biçimde daha iyi bir profil göstermiştir. DP2’de FQS yaklaşık 0,80 düzeyine ulaşmış ve DP3–DP5 boyunca yaklaşık 0,73–0,75 aralığında korunmuştur. DP6’da yaklaşık 0,60 düzeyine bir düşüş görülmesine rağmen C sistemi, ileri deplesyon basamaklarının büyük bölümünde NC grubunun üzerinde kalmıştır. Bu sonuç, aptamer ile fonksiyonelleştirilmiş nanoparçacık formülasyonunun cam yüzeyde FAMSNp_OPT’ye göre daha iyi sırt görüntüleme performansı sağladığını göstermektedir.

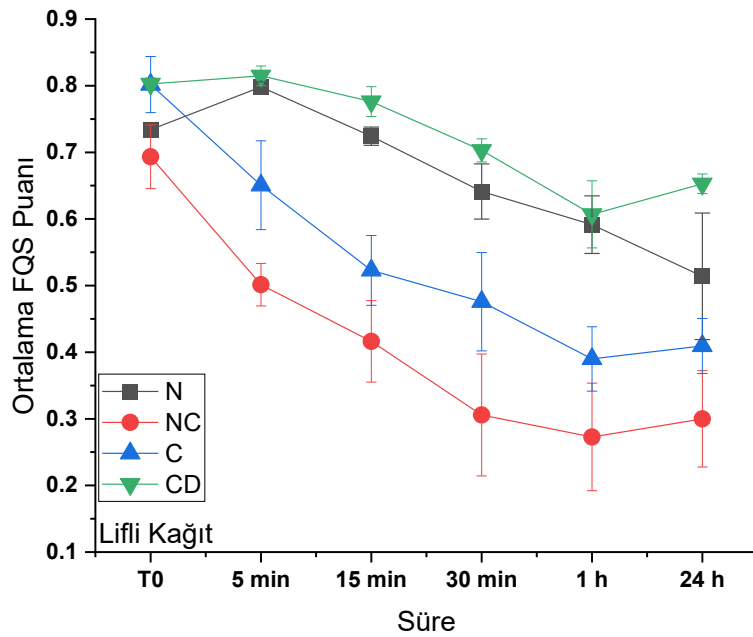
En dikkat çekici profil CD_OPT grubunda elde edilmiştir. CD grubunun FQS değeri DP1’de yaklaşık 0,63 iken DP2’de yaklaşık 0,79 düzeyine yükselmiş ve DP3–DP6 boyunca yaklaşık 0,76–0,78 aralığında büyük ölçüde korunmuştur. Böylece CD_OPT, ilk depozisyonda en yüksek FQS değerini vermemesine rağmen, ardışık temaslarla kalıntı miktarı azaldıkça görüntü kalitesini en iyi koruyan sistem olmuştur. Özellikle DP5 ve DP6’da C grubunda düşüş görülürken CD grubunun yaklaşık 0,77–0,78 düzeyinde kalması, kompozit formülasyonun ileri deplesyon koşullarındaki avantajını belirginleştirmektedir.

Cam yüzeyde CD_OPT'nin bu davranışı, aptamerli ve hidrofobik nanoparçacık bileşenlerinin birlikte kullanılmasının farklı parmak izi kalıntısı bileşenleriyle etkileşim olasılığını artırmasıyla uyumlu bir sonuç olarak değerlendirilebilir.

Genel olarak cam substratta ninhidrin, hedef yüzey sınıfıyla uyumsuzluğu nedeniyle ileri deplesyonlarda düşük FQS sergilemiş; NC sisteminde de belirgin kalite kaybı görülmüştür. C sistemi NC'ye göre daha yüksek ve daha kararlı bir profil oluştururken, CD_OPT DP2–DP6 boyunca yaklaşık 0,76–0,79 aralığında korunarak en kararlı FQS profilini sağlamıştır. Bu nedenle cam yüzey, kompozit geliştiricinin düşük kalıntı koşullarındaki avantajının en belirgin görüldüğü substratlardan biri olmuştur.

4.4.3. Zaman Serisi FQS Sonuçları

Zaman serisi, geliştirilen parmak izi görüntüsünün kısa ve uzun süreli korunabilirliğini değerlendirmek amacıyla kullanılmıştır. Bu değerlendirmede T0, 5 dk, 15 dk, 30 dk, 1 saat ve 24 saat noktalarında ROI tabanlı FQS değerleri hesaplanmıştır.



Şekil 4.25. Lifli kağıt substratta N, NC, C ve CD yöntemlerinin zamana bağlı FQS değişimi

Lifli kağıt substratta yöntemlerin zaman içerisindeki FQS profilleri belirgin biçimde farklılık göstermiştir. NC yöntemi T0'da yaklaşık 0,70 düzeyinde FQS değeri verirken 5 dk'da yaklaşık 0,50'ye düşmüş ve azalma 1 saate kadar devam ederek yaklaşık 0,28 düzeyine ulaşmıştır. Yirmi dört saatte gözlenen sınırlı artışa rağmen FQS yaklaşık 0,31 düzeyinde

kalmıştır. Bu sonuç, yalnızca FAM yüklü silika nanoparçacıklardan oluşan NC sisteminin lifli kağıt üzerinde geliştirme sonrasında oluşturduğu sırt görüntüsünü zaman içerisinde yeterince koruyamadığını göstermektedir. Nanomalzeme tabanlı parmak izi görüntüleme yaklaşımlarında da görüntü kalitesinin sinyal şiddeti yanında çözünürlük, kararlılık ve arka plan ayrımıyla birlikte değerlendirilmesi gerektiği belirtilmektedir (Prabakaran ve Pillay, 2021).

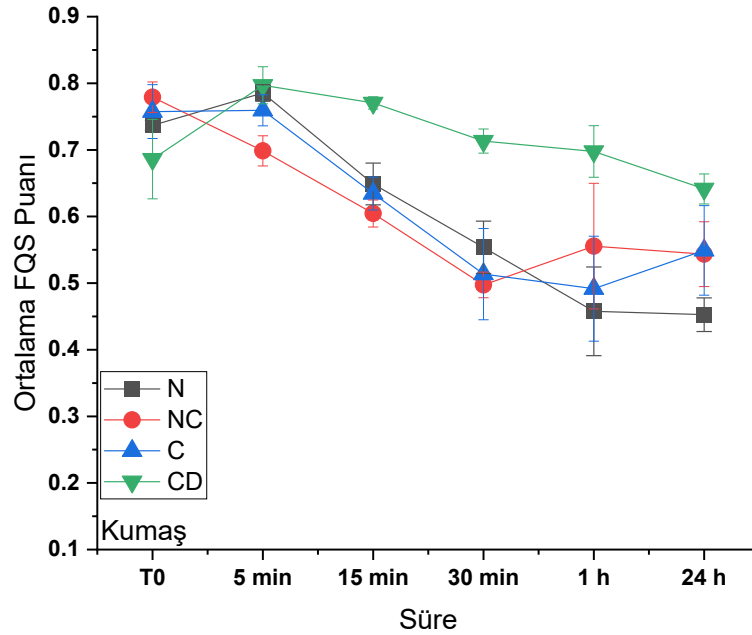
Ninhidrin kontrolü T0'da yaklaşık 0,74 düzeyinde başlamış ve 5 dk'da yaklaşık 0,79 ile serideki en yüksek değerine ulaşmıştır. Daha sonra FQS değeri kademeli olarak azalarak 15 dk'da yaklaşık 0,72, 30 dk'da 0,64, 1 saatte 0,59 ve 24 saatte yaklaşık 0,51 düzeyine gerilemiştir. Ninhidrinin lifli kağıt gibi gözenekli ve selülozik yüzeylerde parmak izi kalıntısındaki amino asitlere duyarlı bir geliştirici olması, başlangıçtaki yüksek görüntü kalitesiyle uyumludur (Jelly vd., 2009).

Apt-FAMSNp kullanılan C sistemi T0'da yaklaşık 0,79 ile yüksek bir FQS değeri göstermiş, daha sonra zamanla kademeli olarak azalarak 5 dk'da yaklaşık 0,64, 15 dk'da 0,53, 30 dk'da 0,48 ve 1 saatte yaklaşık 0,39 düzeyine gerilemiştir. Yirmi dört saatte yaklaşık 0,41 düzeyinde sınırlı bir artış görülmekle birlikte bu değişim genel azalma eğilimini değiştirmemektedir. C grubunun zaman serisinin büyük bölümünde NC'nin üzerinde kalması, aptamer ile fonksiyonelleştirilmiş sistemin FAMSNp_OPT'ye göre geliştirilmiş sırt görüntüsünü daha iyi koruduğunu göstermektedir. Parmak izi kalıntısının amino asit ve lipid bileşiminin bireyler ve örnekleme koşulları arasında değişebildiği bilindiğinden (Croxtton vd., 2010), bu fark, aptamer–lizozim bağlanmasının bir göstergesi olabilir.

CD_OPT grubu ise lifli kağıt üzerinde en yüksek ve genel olarak en kararlı zaman profillerinden birini göstermiştir. FQS T0 ve 5 dk'da yaklaşık 0,79–0,80 düzeyinde korunmuş, 15 dk'da yaklaşık 0,76, 30 dk'da 0,70 ve 1 saatte yaklaşık 0,60 değerine gerilemiştir. Yirmi dört saatte yaklaşık 0,65 düzeyinde bir değer elde edilmiş ve CD grubu tüm zaman noktalarında NC'nin, çoğu zaman noktasında ise C'nin üzerinde kalmıştır. Böylece CD_OPT'nin avantajı yalnızca başlangıçta yüksek bir FQS sağlaması değil, geliştirilmiş sırt görüntüsünün zamanla kaybolmasını tek bileşenli floresans sistemlere göre daha sınırlı tutması olarak değerlendirilmiştir.

Genel olarak lifli kağıtta NC en hızlı FQS kaybını, C daha sınırlı ancak belirgin bir azalmayı, N başlangıçta güçlü olmakla birlikte zamanla kademeli kalite kaybını göstermiştir. CD_OPT ise 24 saatlik izleme boyunca en yüksek ve daha iyi korunmuş FQS profillerinden

birini sağlayarak, geliştirme sonrası sırt okunabilirliğinin korunması açısından en dengeli sistem olarak öne çıkmıştır.



Şekil 4.26. Kumaş substratta N, NC, C ve CD yöntemlerinin zamana bağlı FQS değişimi

Kumaş substratta zaman serisi boyunca yöntemler arasındaki performans farkı özellikle 15 dakikadan sonra belirginleşmiştir. T0 ve 5 dk noktalarında tüm yöntemler görece yüksek FQS değerleri göstermekle birlikte, ilerleyen zaman noktalarında N, NC ve C gruplarında daha belirgin kalite kaybı meydana gelmiş, CD_OPT ise daha dengeli bir profil sergilemiştir.

Ninhidrin kontrolü T0 ve 5 dk noktalarında yüksek FQS değerleri göstermiş, daha sonra 15 dk'dan itibaren düzenli bir azalma eğilimine girmiştir. Bir saat ve 24 saat noktalarında FQS'nin daha düşük düzeylerde kalması, kumaşın lifli ve heterojen yapısında ninhidrin ile oluşturulan görünür sırt-arka plan ayrımının zaman içerisinde daha sınırlı korunabildiğini göstermektedir.

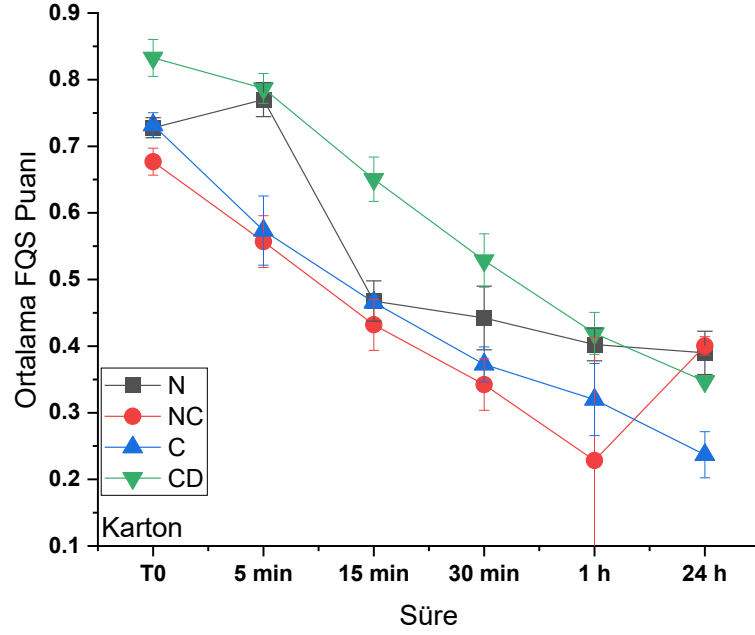
NC yöntemi başlangıçta yüksek bir FQS değeri vermesine rağmen, 5 ve 15 dk noktalarından itibaren belirgin bir azalma göstermiştir. Otuzuncu dakikada görüntü kalitesi daha da düşmüş, 1 saat ve 24 saat noktalarında sınırlı bir toparlanma görülse de başlangıç düzeyine ulaşamamıştır. Bu profil, yalnızca FAM yüklü silika nanoparçacıklardan oluşan sistemin kumaş yüzeyde başlangıç floresans görüntüsü oluşturabildiğini, ancak tekstil dokusu

ve zamanla değişen sırt-arka plan ayrımı nedeniyle görüntü kalitesini uzun süre aynı düzeyde koruyamadığını göstermektedir.

Apt-FAMSNp kullanılan C grubu T0 ve 5 dk noktalarında yüksek FQS değerlerini korumuş ve başlangıç performansı bakımından NC grubundan daha avantajlı bir profil göstermiştir. Bununla birlikte 15 dk'dan itibaren FQS'de belirgin bir azalma meydana gelmiş, 30 dk ve 1 saat noktalarında görüntü kalitesi daha düşük düzeylere gerilemiştir. Yirmi dört saatte görülen sınırlı artış genel azalma eğilimini değiştirmemektedir.

CD_OPT ise kumaş substratta zaman serisi boyunca en dengeli profili göstermiştir. T0'da diğer bazı gruplardan bir miktar daha düşük başlamasına rağmen 5 dk'da yüksek FQS düzeyine ulaşmış, 15 ve 30 dk noktalarında görüntü kalitesini büyük ölçüde korumuştur. Bir saat ve 24 saat sonunda CD grubunda da kademeli bir azalma görölmesine rağmen, özellikle orta ve geç zaman noktalarında FQS değerleri N, NC ve C gruplarının üzerinde kalmıştır. Bu sonuç, kompozit formölasyonun kumaş gibi lifli, heterojen ve arka plan girişiminin yüksek olabildiği bir yüzeyde geliştirilmiş sırt görüntüsünün zamanla korunması açısından avantaj sağladığını göstermektedir.

Genel olarak kumaş substratta başlangıç performansları arasındaki farklar sınırlı olmakla birlikte, yöntemler arasındaki esas ayrım zaman ilerledikçe görüntü kalitesinin korunmasında ortaya çıkmıştır. NC en belirgin kalite kaybını gösteren sistemlerden biri olmuş, C başlangıçta daha iyi bir profil sunmasına rağmen ileri zaman noktalarında azalmış, nihidrin ise erken dönemde güçlü olmakla birlikte zamanla görüntü kalitesini kaybetmiştir. CD_OPT, özellikle 15 dk–24 saat aralığında daha yüksek ve daha dengeli FQS profiliyle kumaş yüzeyde geliştirme sonrası görüntü okunabilirliğini en iyi koruyan formölasyon olarak öne çıkmıştır.



Şekil 4.27. Karton substratta N, NC, C ve CD yöntemlerinin zamana bağlı FQS değişimi

Karton substratta zaman serisi boyunca tüm yöntemlerde genel olarak azalan bir FQS eğilimi gözlenmiştir, ancak azalmanın hızı ve büyüklüğü yöntemler arasında farklılık göstermiştir. Ninhidrin kontrolü T0'da yaklaşık 0,74 FQS değeriyle başlamış ve 5 dk'da yaklaşık 0,82 düzeyine ulaşmıştır. Daha sonra FQS 15 dk'da yaklaşık 0,54, 30 dk'da 0,48 ve 1 saatte yaklaşık 0,40 düzeyine gerilemiştir; 24 saatte ise yaklaşık aynı seviyede kalmıştır.

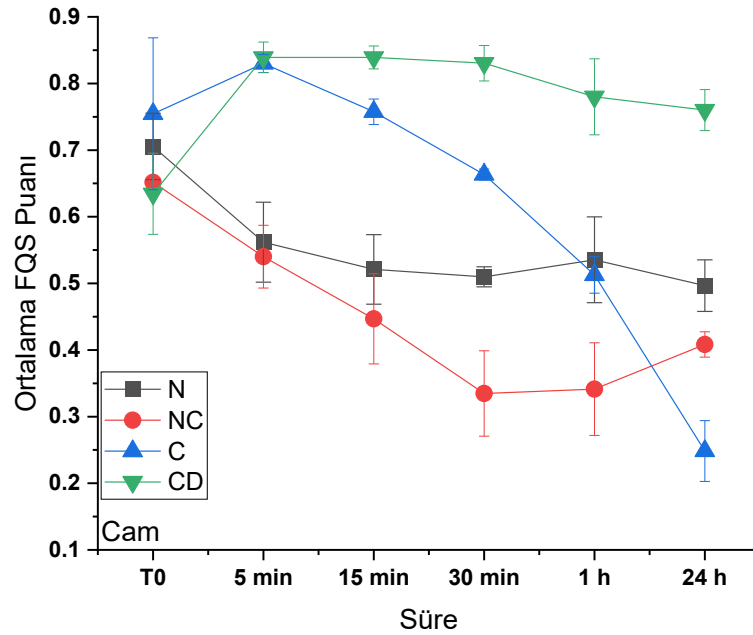
NC yönteminde T0'da yaklaşık 0,67 olan FQS değeri 5 dk'da yaklaşık 0,54, 15 dk'da 0,46 ve 30 dk'da yaklaşık 0,31 düzeyine düşmüştür. En belirgin azalma 1 saat noktasında görülmüş ve FQS yaklaşık 0,15 düzeyine gerilemiştir. Yirmi dört saatte yaklaşık 0,40 düzeyinde bir artış görülmesine rağmen bu değişim, görüntü kalitesinin sistematik olarak yeniden kazanıldığı şeklinde değerlendirilmemelidir. Genel profil, yalnızca FAM yüklü silika nanoparçacık sisteminin karton yüzeyde geliştirme sonrası sırt görüntüsünü zaman içerisinde korumakta sınırlı kaldığını göstermektedir.

Apt-FAMSNp kullanılan C sistemi T0'da yaklaşık 0,75 FQS değeri ile başlamış, ardından 5 dk'da yaklaşık 0,56, 15 dk'da 0,50, 30 dk'da 0,37 ve 1 saatte yaklaşık 0,28 düzeyine gerilemiştir. Yirmi dört saatte yaklaşık 0,17 ile serideki en düşük değerlerden biri elde edilmiştir. C grubunun özellikle T0 ve erken zaman noktalarında NC'ye göre daha yüksek performans göstermesi, aptamer ile fonksiyonelleştirilmiş formülasyonun başlangıç görüntü kalitesine olumlu katkısıyla uyumludur. Bununla birlikte sürekli azalan profil, karton yüzeyde

Apt-FAMSNp sisteminin tek başına uzun süreli görüntü korunumu açısından yeterli olmadığını göstermektedir.

CD_OPT karton yüzeyde T0–1 saat aralığında en yüksek ve en yavaş azalan profili göstermiştir. FQS değeri T0’da yaklaşık 0,87, 5 dk’da 0,82, 15 dk’da 0,68, 30 dk’da 0,56 ve 1 saatte yaklaşık 0,43 olarak belirlenmiştir. Böylece özellikle 15–60 dk aralığında CD grubunun N, NC ve C gruplarından daha yüksek görüntü kalitesini koruduğu görülmüştür. Bu sonuç, kompozit formülasyonun karton yüzeyde geliştirme sonrası sırt okunabilirliğinin korunmasına tek bileşenli floresans sistemlerden daha fazla katkı sağladığını göstermektedir.

Bununla birlikte CD_OPT’nin FQS değeri 24 saatte yaklaşık 0,31 düzeyine düşmüş ve bu noktada N ile NC gruplarının altında kalmıştır. Genel olarak karton substratta CD_OPT erken ve orta zaman aralığında en avantajlı görüntü korunumu profilini sağlamış, ancak 24 saatte bu üstünlüğünü koruyamamıştır. Ninhidrin başlangıçta ve 5 dk noktasında güçlü bir referans performans göstermiş; NC ve özellikle C sistemlerinde ise zaman ilerledikçe daha belirgin kalite kaybı meydana gelmiştir.



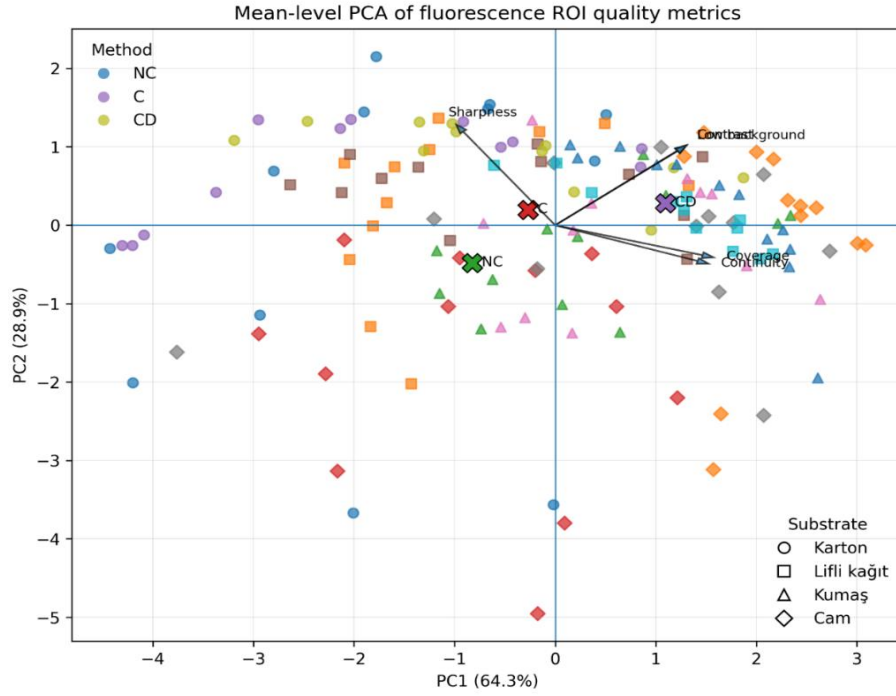
Şekil 4.28. Cam substratta N, NC, C ve CD yöntemlerinin zamana bağlı FQS değişimi

Cam substratta zaman serisi boyunca yöntemler arasında belirgin bir ayrışma gözlenmiştir. T0’da yöntemlerin FQS değerleri yaklaşık 0,63–0,76 aralığında bulunurken, ilerleyen zaman noktalarında özellikle NC ve C gruplarında belirgin kalite kaybı meydana

gelmiş; CD_OPT ise 24 saate kadar yüksek FQS düzeyini büyük ölçüde korumuştur. Ninhidrin kontrolünde T0'da yaklaşık 0,70 olan FQS değeri 5 dk'da yaklaşık 0,61'e, 15–30 dk aralığında ise yaklaşık 0,53–0,55 düzeyine gerilemiştir. Bir saat ve 24 saat noktalarında da FQS yaklaşık 0,51–0,56 aralığında kalmıştır.

NC yöntemi T0'da yaklaşık 0,67 FQS değeriyle başlamış, ardından 5 dk'da yaklaşık 0,59, 15 dk'da 0,50 ve 30 dk'da yaklaşık 0,29 düzeyine kadar azalmıştır. Bir saat noktasında benzer düşük değer korunmuş, 24 saatte yaklaşık 0,42 düzeyinde sınırlı bir artış görülmüştür. Apt-FAMSNp kullanılan C grubunda farklı bir zaman profili ortaya çıkmıştır. FQS T0'da yaklaşık 0,76 iken 5 dk'da yaklaşık 0,86 düzeyine ulaşmış, 15 dk'da yaklaşık 0,76 ve 30 dk'da 0,66 düzeyinde kalmıştır. Bunun ardından daha belirgin bir kalite kaybı başlamış; FQS 1 saatte yaklaşık 0,52, 24 saatte ise yaklaşık 0,19 düzeyine gerilemiştir. Dolayısıyla Apt-FAMSNp cam üzerinde özellikle erken ve orta zaman aralığında NC'ye göre belirgin bir avantaj sağlamış, ancak bu avantaj 24 saate kadar korunamamıştır. CD_OPT ise cam substratta en kararlı zaman profilini göstermiştir. T0'da yaklaşık 0,63 olan FQS değeri 5 dk'da yaklaşık 0,86–0,87 düzeyine ulaşmış ve 15–30 dk boyunca yaklaşık 0,85–0,87 aralığında korunmuştur. Bir saatte yaklaşık 0,76 ve 24 saatte yaklaşık 0,72 düzeyine gerilemesine rağmen, CD grubu özellikle 15 dk–24 saat aralığında diğer yöntemlerin üzerinde kalmıştır. Böylece CD_OPT'de zamanla belirli bir kalite kaybı meydana gelmiş olsa da, bu kayıp NC ve özellikle geç dönemde C grubunda gözlenenenden belirgin biçimde daha sınırlı olmuştur. CD_OPT'nin cam üzerindeki bu davranışı, aptamerli ve hidrofobik nanoparçacıkların birlikte kullanıldığı kompozit formülasyonun geliştirilmiş sırt görüntüsünün korunmasına katkı sağladığını göstermektedir.

Genel olarak cam substratta NC zamanla hızlı kalite kaybı göstermiş, C erken ve orta zaman noktalarında güçlü performans sergilemesine rağmen 1 saatten sonra belirgin biçimde zayıflamış, ninhidrin ise kullanım alanı açısından uygun olmayan bu gözeneksiz yüzeyde orta-düşük bir referans profili oluşturmuştur. Buna karşılık CD_OPT, 15 dk–24 saat aralığında en yüksek ve en iyi korunmuş FQS değerlerini sağlayarak cam yüzeyde geliştirme sonrası görüntü stabilitesi açısından en avantajlı sistem olmuştur.



Şekil 4.29. Floresans görüntülerden elde edilen ortalama ROI kalite metriklerine dayalı PCA skor ve yük grafiği (NC, C ve CD yöntemleri)

PCA analizine, aynı görüntüleme koşullarında değerlendirilen NC, C ve CD grupları dahil edilmiş; görünür ışık/brightfield koşullarında görüntülenen ninhidrin kontrolü farklı görüntüleme modalitesi nedeniyle analizin dışında bırakılmıştır. Analizde sırt–arka plan kontrastı, sırt keskinliği, görünür sırt kapsamı, sırt sürekliliği ve arka plan temizliği değişkenleri kullanılmıştır. Arka plan temizliği, arka plan girişiminin 1’den çıkarılmasıyla hesaplanmış; bu değişkenlerden türetilmiş kompozit bir skor olan FQS ise aynı bilginin PCA’ya tekrar dahil edilmesini önlemek amacıyla analize alınmamıştır. Üç tekrarın ortalamaları üzerinden oluşturulan toplam 144 deneysel koşul, PCA öncesinde z-skor dönüşümü ile standardize edilmiştir (Jolliffe, 2002).

İlk ana bileşen (PC1) toplam varyansın %64,28’ini, ikinci ana bileşen (PC2) ise %28,93’ünü açıklamış; böylece ilk iki bileşen birlikte toplam varyansın %93,21’ini temsil etmiştir. Bu yüksek açıklanan varyans oranı, beş görüntü kalite değişkenindeki temel değişimin iki boyutlu PCA düzleminde büyük ölçüde temsil edilebildiğini göstermektedir.

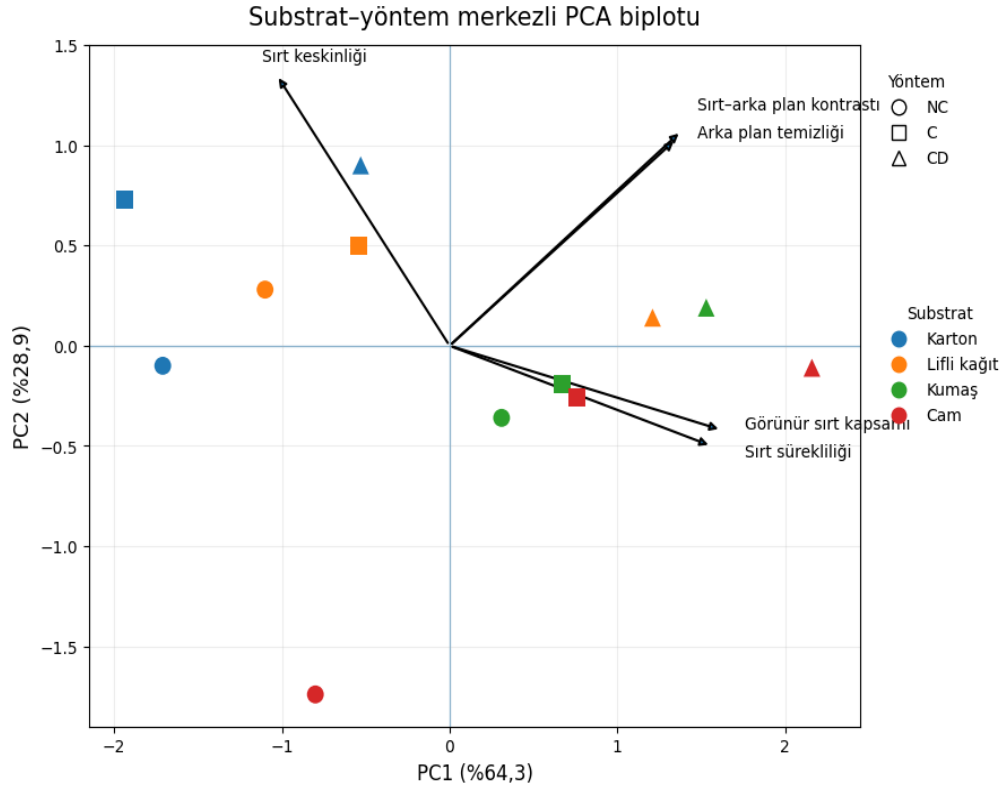
Yük vektörleri incelendiğinde, sırt–arka plan kontrastı ve arka plan temizliğinin birbirine yakın yönlerde konumlandığı, görünür sırt kapsamı ile sırt sürekliliğinin de benzer

yönelim gösterdiği görülmektedir. Bu durum, deneysel veri setinde kontrastın arka planın temizliğiyle; sırt kapsamının ise sırt sürekliliğiyle birlikte değişme eğiliminde olduğunu göstermektedir. Buna karşılık sırt keskinliği vektörü PC1 üzerinde diğer kalite değişkenlerinin çoğuna göre karşı yönde yer almıştır. Pozitif PC1 yönü daha çok yüksek kontrast, arka plan temizliği, görünür sırt kapsamı ve sürekliliği ile ilişkilirken, sırt keskinliğindeki değişim veri setinde farklı bir yönelim göstermiştir.

PC2 ise kalite bileşenlerinin farklı boyutlarını birbirinden ayırmaktadır. Kontrast, arka plan temizliği ve keskinlik vektörleri PC2'nin pozitif yönüne katkı sağlarken, görünür sırt kapsamı ve sırt sürekliliği daha çok negatif PC2 yönünde konumlanmıştır. Bu dağılım, görüntü kalitesinin tek bir özellik tarafından belirlenmediğini; lokal sırt keskinliği ve kontrastı ile sırtların daha geniş alanda görünürlüğü ve sürekliliğinin deneysel koşullara bağlı olarak farklı oranlarda değişebildiğini göstermektedir.

Yöntemlerin ortalama PCA konumları değerlendirildiğinde, NC merkezinin negatif PC1 bölgesinde, C merkezinin daha merkezi bir konumda, CD merkezinin ise belirgin biçimde pozitif PC1 yönünde bulunduğu görülmektedir. Böylece yöntem merkezleri genel olarak NC → C → CD yönünde pozitif PC1'e doğru bir kayma göstermiştir. CD_OPT merkezinin kontrast, arka plan temizliği, sırt kapsamı ve sırt sürekliliği yüklerinin bulunduğu bölgeye daha yakın konumlanması, önceki FQS analizlerinde CD lehine gözlenen eğilimin tek bir kompozit skorla sınırlı olmadığını; FQS'yi oluşturan birden fazla görüntü kalite parametresinin birlikte değişimiyle de desteklendiğini göstermektedir.

Substrat işaretleyicileri incelendiğinde karton, lifli kağıt, kumaş ve cam örneklerinin PCA uzayında tamamen ayrı kümeler oluşturmadığı, önemli ölçüde örtüşen fakat farklı yayılım gösteren dağılımlar sergilediği görülmektedir. Özellikle bazı cam örneklerinde PC2 yönünde geniş bir saçılım bulunması, yüzey türünün tek başına PCA konumunu belirlemediğini; depleksiyon ve zaman koşullarının da görüntü kalite profilinde önemli değişkenlik oluşturduğunu göstermektedir. Bu nedenle PCA sonuçları, yöntem ve substrat etkilerinin yanı sıra deneysel koşullara bağlı değişimin birlikte yansıtıldığı tanımlayıcı birçok değişkenli özet olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 4.30. Floresans görüntülerden elde edilen ortalama ROI kalite metriklerine dayalı substrat-merkezli PCA centroid grafiği

Şekil 4.30’da, Şekil 4.29’da kullanılan aynı PCA modelinden elde edilen skorlar üzerinden her substrat-yöntem kombinasyonu için ortalama merkez (centroid) noktaları gösterilmiştir. Karton, lifli kağıt, kumaş ve cam olmak üzere dört substrat ile NC, C ve CD olmak üzere üç floresans geliştirici sisteminin kombinasyonu sonucunda toplam 12 centroid elde edilmiştir.

Centroid dağılımında en belirgin genel eğilim, her substratta CD grubunun NC’ye göre daha pozitif PC1 konumunda bulunmasıdır. Şekil 4.29’da olduğu gibi pozitif PC1 yönü sırt-arka plan kontrastı, arka plan temizliği, görünür sırt kapsamı ve sırt sürekliliği değişkenleriyle daha fazla ilişkiliyken, sırt keskinliği negatif PC1 ve pozitif PC2 yönünde konumlanmıştır. Bu nedenle centroidler arasındaki farklılıklar, görüntü kalitesini oluşturan parametrelerin birlikte değişimi üzerinden yorumlanmıştır.

Karton substratta NC ve C centroidleri PC1’in negatif bölgesinde yer alırken, CD centroidi daha yüksek PC1 ve pozitif PC2 yönüne kaymıştır. Bununla birlikte kartonda C’nin NC ile CD arasında doğrusal bir ara konum oluşturmadığı görülmektedir. C centroidinin daha yüksek PC2 ancak daha negatif PC1 konumu, aptamerli sistemin özellikle PC2 ile ilişkili kalite

bileşenlerini etkilediğini; CD_OPT'nin ise kontrast, arka plan temizliği, sırt kapsamı ve sürekliliği ile ilişkili pozitif PC1 yönüne daha fazla yaklaştığını göstermektedir. Bu dağılım, karton yüzeyde yöntem etkisinin tek bir görüntü özelliğine indirgenemeyeceğini ortaya koymaktadır.

Lifli kağıtta yöntemler arasında daha düzenli bir PC1 geçişi görülmüştür. NC centroidi negatif PC1 bölgesinde, C buna göre daha merkezi bir konumda, CD ise belirgin biçimde pozitif PC1 bölgesinde yer almıştır. Böylece $NC \rightarrow C \rightarrow CD$ yönündeki değişim; kontrast, arka plan temizliği, görünür sırt kapsamı ve sürekliliğiyle ilişkili değişkenlerin birlikte daha olumlu yönde değişmesiyle uyumlu bulunmuştur. Bu sonuç, lifli kağıt için deplesyon ve zaman serisi FQS sonuçlarında CD_OPT lehine gözlenen daha kararlı görüntüleme profilini çok değişkenli düzeyde desteklemektedir.

Kumaş substratta üç geliştirici sistem de PC1'in görece daha pozitif bölgesinde yer almakla birlikte, NC'den C'ye ve C'den CD'ye doğru kademeli bir sağa kayma gözlenmiştir. CD centroidinin kontrast/arka plan temizliği ile sırt kapsamı/sürekliliği vektörlerinin arasında konumlanması, kompozit sistemin kumaş gibi dokulu bir yüzeyde tek bir kalite bileşeni yerine birden fazla görüntü özelliği bakımından daha dengeli bir profil oluşturduğunu düşündürmektedir. Bu durum, kumaş deplesyon ve zaman serilerinde CD_OPT'nin özellikle orta ve ileri koşullarda FQS değerlerini daha iyi korumasıyla da uyumludur.

En belirgin yöntem ayrışmalarından biri cam substratta görülmüştür. NC centroidi hem negatif PC1 hem de belirgin negatif PC2 yönünde konumlanırken, C centroidi pozitif PC1 bölgesine geçmiş, CD centroidi ise tüm centroidler içerisinde en yüksek pozitif PC1 konumlarından birine ulaşmıştır. Özellikle CD noktasının görünür sırt kapsamı ve sırt sürekliliği yüklerinin yönüne yaklaşması, cam yüzeyde kompozit sistemin bu görüntü kalite bileşenleriyle güçlü biçimde ilişkili bir profil oluşturduğunu göstermektedir. Bu dağılım, cam substratta hem ileri deplesyon basamaklarında hem de geç zaman noktalarında CD_OPT lehine gözlenen yüksek FQS değerleriyle tutarlıdır.

Genel olarak centroid PCA sonuçları, geliştirici sistemin etkisinin substrata bağlı olarak değiştiğini, ancak CD_OPT'nin dört substratın tamamında NC'ye göre pozitif PC1 yönüne kaydığını göstermiştir. C sistemi çoğu substratta NC ile CD arasında bir geçiş profili oluşturmakla birlikte, özellikle kartonda bu sıralama doğrusal değildir. Bu nedenle PCA bulguları, CD_OPT'nin her kalite parametresini mutlak olarak artırdığı şeklinde değil; kontrast,

arka plan temizliği, sırt kapsamı ve sırt sürekliliği başta olmak üzere birden fazla görüntü özelliğinin birlikte oluşturduğu daha avantajlı birçok değişkenli profil ile ilişkili olduğu şeklinde değerlendirilmiştir. PCA'nın denetimsiz ve tanımlayıcı niteliği nedeniyle centroidler arasındaki uzaklıklar ayrıca istatistiksel anlamlılık kanıtı olarak yorumlanmamıştır.

Şekil 4.29 ve Şekil 4.30 birlikte değerlendirildiğinde, NC, C ve CD sistemleri arasındaki farklılıkların yalnızca tek bir görüntü kalite parametresine bağlı olmadığı, sırt–arka plan kontrastı, sırt keskinliği, görünür sırt kapsamı, sırt sürekliliği ve arka plan temizliği değişkenlerinin birlikte değişmesiyle oluşturduğu görölmüştür. İlk iki ana bileşenin toplam varyansın %93,21'ini açıklaması, bu çok değişkenli yapının iki boyutlu PCA düzleminde büyük ölçüde temsil edilebildiğini göstermektedir. CD örneklerinin ve substrat merkezlerinin genel olarak pozitif PC1 yönüne kayması, önceki FQS değerlendirmelerinde CD_OPT lehine gözlenen eğilimin temel görüntü kalite bileşenleri tarafından da desteklendiğini göstermektedir.

Genel olarak deplesyon, zaman serisi, FQS ve PCA sonuçları birlikte ele alındığında, CD_OPT formölasyonunun özellikle düşük kalıntı ve zorlayıcı yüzey koşullarında daha dengeli bir parmak izi görüntüleme performansı sağladığı görölmüştür.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, gizli parmak izlerinin farklı yüzeylerde görünür hâle getirilmesine yönelik aptamer ile fonksiyonelleştirilmiş ve hidrofobik olarak modifiye edilmiş floresans silika nanoparçacıkların birlikte kullanıldığı çok bileşenli bir nanogeliştirici sistem geliştirilmiş ve performansı değerlendirilmiştir. Çalışma; floresan nanoparçacık platformunun optimizasyonu, yüzey fonksiyonelleştirmesi, kompozit geliştirici oranının belirlenmesi ve parmak izi görüntülerinin nicel olarak değerlendirilmesini kapsayan bütünlük bir yaklaşım doğrultusunda yürütülmüştür.

İlk aşamada farklı FAM yükleme miktarlarında hazırlanan silika nanoparçacıklar karşılaştırılmıştır. FAM miktarındaki artış floresans şiddetini yükseltmekle birlikte, yüksek yükleme düzeyinde partikül boyutu ve PDI değerlerinde artış meydana gelmiştir. Floresans şiddeti, boya retansiyonu, yıkama kayıpları ve kolloidal özellikler birlikte değerlendirildiğinde orta FAM yükleme düzeyindeki FAM-SNp-M formülasyonu optimum başlangıç sistemi olarak seçilmiş ve FAMSNp_OPT olarak adlandırılmıştır. Böylece sonraki fonksiyonelleştirme aşamalarında yalnızca maksimum floresans sinyaline değil, optik ve kolloidal özelliklerin birlikte dengelendiği bir nanoparçacık platformuna geçilmiştir.

FAMSNp_OPT'nin aptamer ile fonksiyonelleştirilmesi sonrasında DLS, zeta potansiyeli, EDX ve ATR-FTIR sonuçlarında yüzey modifikasyonu ile uyumlu değişiklikler elde edilmiştir. Bununla birlikte bu karakterizasyon sonuçları aptamerin nanoparçacık yüzeyinde bulunduğunu desteklemekte olup, aptamer-lizozim bağlanma etkinliğinin doğrudan ölçümü olarak değerlendirilmemiştir. Hidrofobik modifikasyon kolunda ise HDTMS miktarının artırılması temas açısını yükseltirken, yüksek modifikasyon düzeyinde partikül boyutu ve PDI artmıştır. Bu nedenle en yüksek hidrofobiklik yerine, yüzey özelliği ile kolloidal davranış arasındaki denge dikkate alınmış ve H05 koşulu Hfb-FAMSNp_OPT olarak seçilmiştir.

Apt-FAMSNp ve Hfb-FAMSNp_OPT sistemlerinin farklı oranlarda birlikte kullanımı incelendiğinde, 50:50 Apt-FAMSNp:Hfb-FAMSNp_OPT karışımı görüntü kalitesi, PDI, temas açısı, arka plan girişimi ve kısa süreli dispersiyon davranışı açısından en dengeli formülasyonu oluşturmuştur. Bu karışım CD_OPT olarak tanımlanmıştır. Böylece nihai sistem, aptamer ile fonksiyonelleştirilmiş ve hidrofobik yüzey özelliği kazandırılmış nanoparçacıkların aynı

partikül üzerinde birleştirilmesi yerine, ayrı olarak hazırlanıp uygulama öncesinde birlikte kullanıldığı bir kompozit geliştirici yaklaşımı şeklinde oluşturulmuştur.

Geliştirilen sistemlerin parmak izi görüntüleme performansı lifli kağıt, kumaş, karton ve cam substratlarda deplesyon ve zaman serileri kullanılarak incelenmiştir. Görüntüler anonim ROI alanları üzerinden değerlendirilmiş; sırt–arka plan kontrastı, sırt keskinliği, görünür sırt kapsamı, sırt sürekliliği ve arka plan girişimi birlikte kullanılarak FQS hesaplanmıştır. Böylece geliştirici sistemler yalnızca görsel olarak değil, görüntü kalitesini oluşturan farklı bileşenleri içeren nicel bir yaklaşımla karşılaştırılmıştır.

Deplesyon serileri, CD_OPT'nin özellikle düşük parmak izi kalıntısı bulunan ileri depozisyon basamaklarında avantaj sağladığını göstermiştir. İlk depozisyonlarda substrata bağlı olarak ninhidrin veya Apt-FAMSNp yüksek performans gösterebilmesine karşın, DP basamakları ilerledikçe NC ve C sistemlerinde daha belirgin FQS kaybı meydana gelmiştir. CD_OPT ise özellikle lifli kağıt, kumaş ve cam üzerinde ileri deplesyon basamaklarında daha dengeli bir profil sergilemiştir. Cam substratta bu fark daha belirgin olmuş ve CD_OPT düşük kalıntı koşullarında görüntü kalitesini diğer sistemlere göre daha iyi korumuştur. Karton yüzeyde ise ninhidrin özellikle erken deplesyon basamaklarında güçlü bir referans yöntem olarak kalmıştır. Bu sonuçlar, geliştirilen sistemin avantajının her koşulda en yüksek başlangıç sinyalini oluşturmamasından çok, kalıntı miktarı azaldığında sırt okunabilirliğini daha iyi koruması olduğunu ortaya koymuştur.

Zaman serisi deneylerinde de benzer biçimde yöntem ve substrata bağlı farklılıklar belirlenmiştir. NC sistemi birçok yüzeyde zaman ilerledikçe hızlı görüntü kalitesi kaybı gösterirken, C sistemi özellikle erken zaman noktalarında NC'ye göre daha iyi performans sağlamıştır. CD_OPT ise lifli kağıt, kumaş ve özellikle cam yüzeyde geliştirme sonrası görüntü kalitesini daha dengeli biçimde korumuştur. Bununla birlikte karton substratta CD_OPT'nin üstünlüğü daha çok erken ve orta zaman aralığında ortaya çıkmış ve 24 saat sonunda mutlak bir üstünlük korunmamıştır. Bu nedenle sonuçlar, CD_OPT'nin tüm substrat ve zaman noktalarında koşulsuz olarak üstün olduğu şeklinde değil, genel olarak daha dayanıklı ve substrata daha az bağımlı bir görüntüleme profili sunduğu şeklinde değerlendirilmiştir.

FQS sonuçlarının çok değişkenli olarak değerlendirilmesi amacıyla gerçekleştirilen PCA'da, aynı görüntüleme koşullarındaki NC, C ve CD sistemleri karşılaştırılmış ve FQS'nin

kendisi analize dahil edilmemiştir. İlk iki ana bileşenin toplam varyansın %93,21'ini açıklaması, görüntü kalite değişkenlerindeki temel farklılıkların iki boyutlu PCA düzleminde büyük ölçüde temsil edilebildiğini göstermiştir. CD örneklerinin ve substrat merkezlerinin genel olarak pozitif PC1 yönüne kayması, FQS analizlerinde gözlenen eğilimin sırt–arka plan kontrastı, arka plan temizliği, görünür sırt kapsamı ve sırt sürekliliği gibi temel kalite bileşenlerinin ortak değişimiyle de desteklendiğini göstermiştir. Bununla birlikte PCA tanımlayıcı ve denetimsiz bir analiz olduğundan, gruplar arasındaki konum farklılıkları istatistiksel sınıflandırma kanıtı olarak değerlendirilmemiştir.

Sonuç olarak bu tez kapsamında geliştirilen CD_OPT kompozit floresans nanogeliştirici, kontrollü deney koşullarında farklı yüzey ve kalıntı düzeylerinde uygulanabilir bir parmak izi görüntüleme yaklaşımı ortaya koymuştur. Çalışmanın temel katkısı, aptamer ile fonksiyonelleştirilmiş ve hidrofobik özellik kazandırılmış iki farklı floresans nanoparçacık sisteminin birlikte kullanımının, özellikle düşük kalıntı ve zorlayıcı yüzey koşullarında tek bileşenli sistemlere göre daha dengeli bir görüntü kalite profili sağlayabileceğinin gösterilmesidir. Bununla birlikte mevcut çalışma görüntüleme performansını değerlendirmekte olup, aptamer-lizozim bağlanmasının veya hidrofobik bileşenin parmak izi lipitleriyle etkileşiminin katkısı ayrı bağlanma deneyleriyle nicel olarak belirlenmemiştir. Bu nedenle gözlenen performans artışı, belirli bir moleküler etkileşimin doğrudan kanıtından ziyade kompozit formülasyonun işlevsel görüntüleme avantajı olarak değerlendirilmelidir.

Çalışmanın kontrollü laboratuvar koşullarında gerçekleştirilmiş olması temel sınırlılıklardan biridir. Gelecek çalışmalarda geliştirilen sistemin daha fazla donör, farklı yaş ve biyolojik özellikteki bireylerden elde edilen örnekler, daha geniş substrat çeşitliliği, yaşlandırılmış parmak izleri ve nem, sıcaklık, ışık, yüzey kontaminasyonu gibi gerçek olay yeri koşullarını temsil eden değişkenler altında doğrulanması gerekmektedir. Ayrıca anti-lizozim aptamerin katkısının doğrudan ortaya konabilmesi için lizozim içeren ve içermeyen model parmak izi sistemleri, serbest lizozim bağlanma deneyleri ve uygun negatif kontrol aptamerleri kullanılarak özgüllük çalışmalarının yapılması; hidrofobik bileşenin katkısının ise farklı lipit bileşenleriyle kontrollü deneylerle ayrıca incelenmesi önerilmektedir.

Son olarak, bu tez kapsamında geliştirilen ROI tabanlı FQS yaklaşımı yöntemler arasındaki görüntü kalitesi farklılıklarını nesnel olarak karşılaştırmak için yararlı bir araç sağlamış olmakla birlikte, adli uygulamaya aktarılmadan önce daha geniş bir görüntü veri setinde doğrulanmalıdır. Gelecek çalışmalarda FQS sonuçlarının uzman değerlendiriciler

tarafından yapılan kör görsel puanlama, sırt detay seviyeleri ve mümkün olduğunda standart parmak izi kalite değerlendirme yaklaşımlarıyla karşılaştırılması uygun olacaktır. Bu doğrulamalarla birlikte CD_OPT sisteminin gerçek adli örneklerdeki uygulanabilirliği, seçiciliği ve tekrarlanabilirliği daha güçlü biçimde ortaya konabilecektir.

KAYNAKÇA

- Al-Ani, M. S. (2013). "A novel thinning algorithm for fingerprint recognition." *International Journal of Engineering Sciences* 2(2): 43-48.
- Almog, J., Cantu, A. A., Champod, C., Kent, T., & Lennard, C. (2014). Guidelines for the assessment of fingermark detection techniques International Fingerprint Research Group (IFRG). *Journal of Forensic Identification*, 64(2), 174-197.
- Alsolmy, E., Abdelwahab, W. M., & Patonay, G. (2018). A comparative study of fluorescein isothiocyanate-encapsulated silica nanoparticles prepared in seven different routes for developing fingerprints on non-porous surfaces. *Journal of fluorescence*, 28(5), 1049-1058.
- Batey, G., J. Copeland, D. Donnelly, C. Hill, P. Latus, C. McDiarmid, K. Miller, A. Misner and A. Tario (1998). "Metal deposition for latent print development." *Journal of Forensic Identification* 48: 165-175.
- Bayat, P., R. Nosrati, M. Alibolandi, H. Rafatpanah, K. Abnous, M. Khedri and M. Ramezani (2018). "SELEX methods on the road to protein targeting with nucleic acid aptamers." *Biochimie* 154: 132-155.
- Becue, A., A. Scoundrianos and S. Moret (2012). "Detection of fingermarks by colloidal gold (MMD/SMD)–beyond the pH 3 limit." *Forensic science international* 219(1-3): 39-49.
- Cadd, S., M. Islam, P. Manson and S. Bleay (2015). "Fingerprint composition and aging: A literature review." *Science & Justice* 55(4): 219-238.
- Caplan, R. M. (1990). "How fingerprints came into use for personal identification." *Journal of the American Academy of Dermatology* 23(1): 109-114.
- Champod, C., C. J. Lennard, P. Margot and M. Stoilovic (2004). *Fingerprints and other ridge skin impressions*, CRC press.
- Cappelli, R., A. Lumini, D. Maio and D. Maltoni (1999). "Fingerprint classification by directional image partitioning." *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 21(5): 402-421.
- Choi, M. J., A. M. McDonagh, P. J. Maynard and R. Wuhler (2006). "Preparation and evaluation of metal nanopowders for the detection of fingermarks on nonporous surfaces." *Journal of Forensic Identification* 56(5): 756.
- Cheng, Y. H., Zhang, Y., Chau, S. L., Lai, S. K. M., Tang, H. W., & Ng, K. M. (2016). Enhancement of image contrast, stability, and SALDI-MS detection sensitivity for latent fingerprint analysis by tuning the composition of silver–gold nanoalloys. *ACS applied materials & interfaces*, 8(43), 29668-29675.
- Cole, S. A. (2004). History of fingerprint pattern recognition. *Automatic fingerprint recognition systems*, Springer: 1-25.
- Croxton, R. S., M. G. Baron, D. Butler, T. Kent and V. G. Sears (2006). "Development of a GC-MS method for the simultaneous analysis of latent fingerprint components." *Journal of forensic sciences* 51(6): 1329-1333.
- Croxton, R. S., M. G. Baron, D. Butler, T. Kent and V. G. Sears (2010). "Variation in amino acid and lipid composition of latent fingerprints." *Forensic Science International* 199(1-3): 93-102.
- Datta, A. K., H. C. Lee, R. Ramotowski and R. Gaensslen (2001). *Advances in fingerprint technology*, CRC press.
- Deniz, T. (2016). *Olay yeri incelemesinde delilden sanığa gitmenin insan haklarının korunmasındaki önemi*, Maltepe University (Turkey).

- Ellington, A. D. and J. W. Szostak (1990). "In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands." *Nature* 346(6287): 818-822.
- Fieldhouse, S. and K. Stow (2016). The identification of missing persons using fingerprints. *Handbook of missing persons*, Springer: 389-413.
- Faulds, H. (1917). "The permanence of finger-print patterns." *Nature* 98(2464): 388-389.
- Flynn, J., M. Stoilovic and C. Lennard (1999). "Detection and enhancement of latent fingerprints on polymer banknotes: a preliminary study." *Journal of Forensic Identification* 49(6): 594.
- Gino, S. and M. Omedei (2011). "Effects of the most common methods for the enhancement of latent fingerprints on DNA extraction from forensic samples." *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 3(1): e273-e274.
- Girod, A., R. Ramotowski and C. Weyermann (2012). "Composition of fingermark residue: a qualitative and quantitative review." *Forensic science international* 223(1-3): 10-24.
- Hacımurtazaoğlu, M. Z. (2016). Ninhidrin'in gözenekli yüzeylerde vücut izi tayininde kullanılması ve gözeneksiz yüzeylerde uygulanan süper glu yöntemi ile oluşan vücut izlerinin ant ile boyanarak görünür hale getirilmesi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü/Kimya Anabilim Dalı.
- Harris, C. R., Millman, K. J., Van Der Walt, S. J., Gommers, R., Virtanen, P., Cournapeau, D., ... & Oliphant, T. E. (2020). Array programming with NumPy. *nature*, 585(7825), 357-362.
- Haylock, S. (1988). "Historical Overview of Latent Print Detection (From International Forensic Symposium on Latent Prints-Proceedings, 1987, Quantico, Virginia, P 3-8,-- See NCJ-113506)."
- Jelly, R., E. L. Patton, C. Lennard, S. W. Lewis and K. F. Lim (2009). "The detection of latent fingerprints on porous surfaces using amino acid sensitive reagents: A review." *Analytica chimica acta* 652(1-2): 128-142.
- Jolliffe, I. T. (2002). Principal Component Analysis 2nd edn Springer. *New York, USA*.
- Karu, K. and A. K. Jain (1996). "Fingerprint classification." *Pattern recognition* 29(3): 389-404.
- Kaushal, N. and P. Kaushal (2011). "Human identification and fingerprints: a review." *J biomet biostat* 2(123): 2.
- Kent, T., G. Thomas, T. Reynoldson and H. East (1976). "A vacuum coating technique for the development of latent fingerprints on polythene." *Journal of the Forensic Science Society* 16(2): 93-101.
- King, R. S., McMurchie, B., Wilson, R., & Kelly, P. F. (2022). A preliminary investigation of a two-step, non-invasive process to determine chronological deposition order of fingerprints and printed ink on paper. *Scientific Reports*, 12(1), 12469.
- Kim, Y. J., Jung, H. S., Lim, J., Ryu, S. J., & Lee, J. K. (2016). Rapid imaging of latent fingerprints using biocompatible fluorescent silica nanoparticles. *Langmuir*, 32(32), 8077-8083.
- Lambourne, G. (1977). "A brief history of fingerprints." *Journal of the Forensic Science Society* 17(2-3): 95-98.
- Lennard, C. (2007). "Fingerprint detection: current capabilities." *Australian Journal of Forensic Sciences* 39(2): 55-71.
- Luo, Y.-P., Y.-B. Zhao and S. Liu (2013). "Evaluation of DFO/PVP and its application to latent fingerprints development on thermal paper." *Forensic science international* 229(1-3): 75-79.

- Li, L., Wang, W., Tang, J., Wang, Y., Liu, J., Huang, L., ... & Belfiore, L. A. (2019). Classification, synthesis, and application of luminescent silica nanoparticles: a review. *Nanoscale research letters*, 14(1), 190.
- Li, K., Qin, W., Li, F., Zhao, X., Jiang, B., Wang, K., ... & Li, D. (2013). Nanoplasmonic imaging of latent fingerprints and identification of cocaine. *Angewandte Chemie International Edition*, 52(44), 11542.
- Liu, L., Gill, S. K., Gao, Y., Hope-Weeks, L. J., & Cheng, K. H. (2008). Exploration of the use of novel SiO₂ nanocomposites doped with fluorescent Eu³⁺/sensitizer complex for latent fingerprint detection. *Forensic science international*, 176(2-3), 163-172.
- Liu, X., Li, X., Lu, Y., Cao, J., & Li, F. (2018). A split aptamer-based imaging solution for the visualization of latent fingerprints. *Analytical Methods*, 10(19), 2281-2286.
- Lee, H. C., & Pagliaro, E. M. (2013). Forensic evidence and crime scene investigation. *Journal of Forensic Investigation*, 1(2), 1-5.
- Lee, P. L. T., Kanodarwala, F. K., Lennard, C., Spindler, X., Spikmans, V., Roux, C., & Moret, S. (2019). Latent fingermark detection using functionalised silicon oxide nanoparticles: Method optimisation and evaluation. *Forensic science international*, 298, 372-383.
- Lee, P. L. T., Kanodarwala, F. K., Lennard, C., Spindler, X., Spikmans, V., Roux, C., & Moret, S. (2022). Latent fingermark detection using functionalised silicon oxide nanoparticles: Investigation into novel application procedures. *Forensic science international*, 335, 111275.
- Maltoni, D., D. Maio, A. K. Jain and S. Prabhakar (2009). *Handbook of fingerprint recognition*, Springer.
- Montalti, M., Prodi, L., Rampazzo, E., & Zaccheroni, N. (2014). Dye-doped silica nanoparticles as luminescent organized systems for nanomedicine. *Chemical Society Reviews*, 43(12), 4243-4268.
- Michalski, S., R. Shaler and F. L. Dorman (2013). "The evaluation of fatty acid ratios in latent fingermarks by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) analysis." *Journal of Forensic Sciences* 58: S215-S220.
- Mukhaiyar, R. (2017). "Analysis of Galton-Henry classification method for fingerprint database FVC 2002 and 2004." *GEOMATE Journal* 13(40): 118-123.
- Moret, S., Bécue, A., & Champod, C. (2016). Functionalised silicon oxide nanoparticles for fingermark detection. *Forensic science international*, 259, 10-18.
- Mello, M. L. S., & Vidal, B. C. (2012). Changes in the infrared microspectroscopic characteristics of DNA caused by cationic elements, different base richness and single-stranded form.
- Meng, L., Y. Ren, Z. Zhou, C. Li, C. Wang and S. Fu (2018). "Monodisperse Silica Nanoparticle Suspension for Developing Latent Blood Fingermarks." *Forensic Sciences Research* 5(1): 38-46.
- Nakamura, M., Shono, M., & Ishimura, K. (2007). Synthesis, characterization, and biological applications of multifluorescent silica nanoparticles. *Analytical Chemistry*, 79(17), 6507-6514.
- Oden, S. and B. V. HOFSTEN (1954). "Detection of fingerprints by the ninhydrin reaction." *Nature* 173(4401): 449-450.
- Oro, J. and H. Skewes (1965). "Free amino-acids on human fingers: the question of contamination in microanalysis." *Nature* 207(5001): 1042-1045.
- Prabakaran, E., & Pillay, K. (2021). Nanomaterials for latent fingerprint detection: a review. *Journal of materials research and technology*, 12, 1856-1885.

- Polat, H., Sop Koçyiğit, E. S., & Polat, M. (2026). Finite nucleation and surface-controlled growth in the Stöber synthesis of silica particles. *Journal of Materials Science*, 1-24.
- Ramotowski, R. (2013). Lee and Gaensslen's advances in fingerprint, CRC Press, Boca Raton. <http://www.worldcat.org/title/lee-and-gaensslen>
- Ramotowski, R. S. (2001). "Composition of latent print residue." *Advances in fingerprint technology* 2: 63-104.
- Rossi, L. M., L. Shi, F. H. Quina and Z. Rosenzweig (2005). "Stöber synthesis of monodispersed luminescent silica nanoparticles for bioanalytical assays." *Langmuir* 21(10): 4277-4280.
- Saferstein, R. and P. Hall (2001). "An introduction to forensic science." *Criminalistics. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey*: 108-112.
- Salmeron, L. C., & De Alcaraz-Fossoul, J. (2022). Evaluation of the loss of fingermark ridge clarity as a function of biological sex. *Journal of Forensic Sciences*, 67(6), 2444-2452.
- Sodhi, G. S. and J. Kaur (2001). "Powder method for detecting latent fingerprints: a review." *Forensic science international* 120(3): 172-176.
- Sharma, V., Choudhary, S., Mankotia, P., Kumari, A., Sharma, K., Sehgal, R., & Kumar, V. (2021). Nanoparticles as fingermark sensors. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 143, 116378.
- Spitzmüller, L., Berson, J., Nitschke, F., Kohl, T., & Schimmel, T. (2024). Titania-mediated stabilization of fluorescent dye encapsulation in mesoporous silica nanoparticles. *Nanoscale Advances*, 6(13), 3450-3461.
- Stigler, S. M. (1995). "Galton and identification by fingerprints." *Genetics* 140(3): 857.
- Su, C. H., Yu, C. C., & Cheng, F. Y. (2016). Rapid visualization of latent fingermarks using gold seed-mediated enhancement. *Journal of nanobiotechnology*, 14(1), 75.
- Stetefeld, J., McKenna, S. A., & Patel, T. R. (2016). Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences. *Biophysical reviews*, 8(4), 409-427.
- Shamsipur, M., Farzin, L., Tabrizi, M. A., & Sheibani, S. (2017). Functionalized Fe₃O₄/graphene oxide nanocomposites with hairpin aptamers for the separation and preconcentration of trace Pb²⁺ from biological samples prior to determination by ICP MS. *Materials Science and Engineering: C*, 77, 459-469.
- Takeda, Y., Komori, Y., & Yoshitake, H. (2013). Direct Stöber synthesis of monodisperse silica particles functionalized with mercapto-, vinyl-and aminopropylsilanes in alcohol–water mixed solvents. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 422, 68-74.
- Tan, J., Yang, N., Hu, Z., Su, J., Zhong, J., Yang, Y., ... & Zhao, Y. (2016). Aptamer-functionalized fluorescent silica nanoparticles for highly sensitive detection of leukemia cells. *Nanoscale Research Letters*, 11(1), 298.
- Tewari, R. K. and K. V. Ravikumar (2000). "History and development of forensic science in India." *Journal of postgraduate medicine* 46(4): 303-308.
- Theaker, B. J., Hudson, K. E., & Rowell, F. J. (2008). Doped hydrophobic silica nano-and micro-particles as novel agents for developing latent fingerprints. *Forensic Science International*, 174(1), 26-34.
- Theys, P., Y. Turgis, A. Lepareux, G. Chevet and P. Ceccaldi (1968). "New technique for bringing out latent fingerprints on paper: vacuum metallisation." *Int Crim Police Rev* 217: 106.
- Thomas, G. (1978). "The physics of fingerprints and their detection." *Journal of Physics E: Scientific Instruments* 11(8): 722.

- Tuoriniemi, J., Johnsson, A. C. J., Holmberg, J. P., Gustafsson, S., Gallego-Urrea, J. A., Olsson, E., ... & Hassellöv, M. (2014). Intermethod comparison of the particle size distributions of colloidal silica nanoparticles. *Science and technology of advanced materials*, 15(3), 035009.
- Van der Walt, S., Schönberger, J. L., Nunez-Iglesias, J., Boulogne, F., Warner, J. D., Yager, N., ... & Yu, T. (2014). scikit-image: image processing in Python. *PeerJ*, 2, e453.
- Wacker, J. B., Lignos, I., Parashar, V. K., & Gijs, M. A. (2012). Controlled synthesis of fluorescent silica nanoparticles inside microfluidic droplets. *Lab on a Chip*, 12(17), 3111-3116.
- Wang, J., T. Wei, X. Li, B. Zhang, J. Wang, C. Huang and Q. Yuan (2014). "Near-infrared-light-mediated imaging of latent fingerprints based on molecular recognition." *Angewandte Chemie* 126(6): 1642-1646.
- Wood, M., P. Maynard, X. Spindler, C. Lennard and C. Roux (2012). "Visualization of latent fingermarks using an aptamer-based reagent." *Angewandte Chemie* 51(49): 12272-12274.
- Wang, M., M. Li, A. Yu, Y. Zhu, M. Yang and C. Mao (2017). "Fluorescent nanomaterials for the development of latent fingerprints in forensic sciences." *Advanced functional materials* 27(14): 1606243.
- Walton, B. L., & Verbeck, G. F. (2014). Soft-landing ion mobility of silver clusters for small-molecule matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry and imaging of latent fingerprints. *Analytical chemistry*, 86(16), 8114-8120.
- Xu, B., & Zhang, Q. (2021). Preparation and properties of hydrophobically modified nano-SiO₂ with hexadecyltrimethoxysilane. *ACS omega*, 6(14), 9764.
- Yadav, P. K. (2019). "Development of fingerprints on thermal papers—a review." *Egyptian Journal of Forensic Sciences* 9(1): 47.
- Yang, Y., R. Liu, Q. Cui, W. Xu, R. Peng, J. Wang and L. Li (2019). "Red-emissive conjugated oligomer/silica hybrid nanoparticles with high affinity and application for latent fingerprint detection." *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 565: 118-130.
- Zhang, H., You, J., Nie, C., Wang, J., Dong, X., Guan, R., ... & Chen, Q. (2019). Non-conjugated organosilicone fluorescent nanoparticles for latent fingerprint detection. *Journal of Luminescence*, 215, 116582.
- Zhang, S., Liu, R., Cui, Q., Yang, Y., Cao, Q., Xu, W., & Li, L. (2017). Ultrabright fluorescent silica nanoparticles embedded with conjugated oligomers and their application in latent fingerprint detection. *ACS applied materials & interfaces*, 9(50), 44134-44145.
- Zhao, J., Zhang, K., Li, Y., Ji, J., & Liu, B. (2016). High-resolution and universal visualization of latent fingerprints based on aptamer-functionalized core-shell nanoparticles with embedded SERS reporters. *ACS applied materials & interfaces*, 8(23), 14389-14395.