

**BİYOLOJİK ETKİLEŞİM KİNETİĞİNİ ALGILAMADA YENİ  
BİR YAKLAŞIM: PLAZMA POLİMERİZASYONU İLE  
MODİFİYE EDİLMİŞ KUVARS AYAR ÇATALI**

**A NOVEL APPROACH FOR UNDERSTANDING  
BIOLOGICAL INTERACTION KINETICS: PLASMA  
POLYMERIZATION MODIFIED QUARTZ TUNING FORK**

**ATEFEH EBADI**

**PROF. DR. SELMA MUTLU**

**Tez Danışmanı**

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmenliğinin

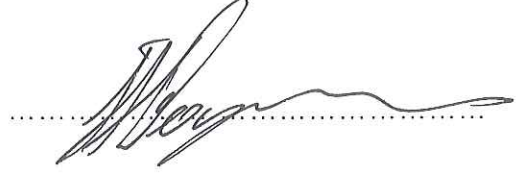
Nanoteknoloji ve Nanotıp Anabilim Dalı için Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2015

**ATEFEH EBADI'** in hazırladığı "**Biyolojik Etkileşim Kinetiğini Algılamada Yeni Bir Yaklaşım: Plazma Polimerizasyonu İle Modifiye Edilmiş Kuvars Ayar Çatalı**" adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **NANOTEKNOLOJİ VE NANOTIP ANABİLİM DALI'** nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. İsmail Hakkı BOYACI  
Başkan



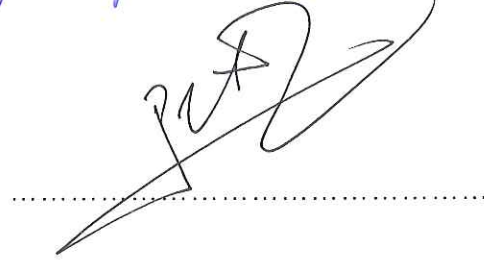
Prof. Dr. Selma MUTLU  
Danışman



Prof. Dr. Uğur BAYSAL  
Üye



Prof. Dr. Petek KORKUSUZ  
Üye



Doç. Dr. Ali BOZBEY  
Üye



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fatma SEVİN DÜZ  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversitede veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

Tarih

04.02.2015

ATEFEH EBADI

## ÖZET

### **BİYOLOJİK ETKİLEŞİM KİNETİĞİNİ ALGILAMADA YENİ BİR YAKLAŞIM: PLAZMA POLİMERİZASYONU İLE MODİFİYE EDİLMİŞ KUVARSA AYAR ÇATALI**

**Atefeh EBADI**

**Yüksek Lisans, Nanoteknoloji ve Nanotıp Bölümü**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Selma MUTLU**

**Şubat 2015, sayfa**

Yüksek kalite faktörüne sahip ( $\cong 60000$ ) olan kuvars ayar çatalı (quartz tuning fork, QTF), atomik kuvvet mikroskopunda angström düzeyinde bir çözünürlük sağlamaktan, hassas saat üretimine, gaz sensörlerinden, gaz fazındaki akışkanların dinamiğinin takibine kadar yüksek hassasiyetin önemli olduğu birçok alanda kullanılmaktadır.

Piezoelektrik kuvars kristal mikroterazilerde (piezoelectric quartz crystal microbalance, QCM) olduğu gibi, kuvars ayar çatalında da, yüzeyde biriken moleküller veya maddeler, frekans değerinde değişimler meydana getirmektedir. QTF'lerin yüksek kalite faktörü ( $\cong 60000$ ), QCM sistemlerine göre, daha yüksek hassasiyet, daha kalıcı yapısal özellikler ve düşük maliyetli olması nedeniyle, bu sistemlerin "Kütle hassas Biyosensör" araştırmaları için öne çıkmasını sağlamıştır.

QTF'lerin sensör uygulamalarındaki en büyük problem, kuvars kristal üzerine kaplanmış bakır elektrot yapısından dolayı, su başta olmak üzere, iletken tüm sıvı ortamlar içerisinde kısa devre yaparak kullanılamaz hale gelmeleridir.

Bu çalışmanın amacı; sıvı içerisinde kısa devre yapmadan tepki verme yeteneğine sahip kuvars ayar çatalı (QTF) temelli bir "kütle hassas biyosensör platformu'nun hazırlanmasıdır. Bu hedefin gerçekleştirilebilmesi için QTF'in yüzeyindeki elektrotların yalıtkan bir madde ile nanometre (nm) mertebesinde kaplanması amaçlanmıştır. Bu hedef doğrultusunda piyasadan temin edilen QTF'ler, öncelikle plazma polimerizasyon (PlzP) yöntemi ile monomer olarak hekzan kullanılarak yalıtkan hale getirilmiştir. Yalıtkan QTF yüzeyler, yine plazma polimerizasyon yöntemiyle etilendiamin (EDA) monomeri kullanılarak biyolojik ajanları bağlayabilecek bir fonksiyonel grup (-NH<sub>2</sub>) kazandırılmak üzere modifiye edilmiştir. Amin gruplarının aktivasyonu bifonksiyonel gluteraldehit çapraz bağlama ajanı ile gerçekleştirilmiştir.

Aktif aldehit grubu içeren QTF yüzeylere, model biyomolekül olarak biyotin immobilize edilmiş ve "biyosensör"e ait tanıyıcı tabaka oluşturulmuştur. Hazırlanan "biyosensör", farklı derişimlerdeki avidin çözeltisi ile etkileştirilerek "QTF temelli kütle hassas biyosensör" ün performans ölçümleri kaydedilmiştir.

Bu çalışma süresince, QTF yüzeylerine uygulanan bütün işlemlerden önce ve sonra frekans değerleri ölçülmüştür. Burada öncelikli amaç yüksek kalite faktörüne sahip olan QTF'lerin ölçüm hassasiyetini en az etkileyecek optimum sonuçları elde etmek olmuştur.

Oluşturulan tüm yüzeylerde meydana gelen değişimler atomik kuvvet mikroskobu (AFM), Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR-ATR) ile karakterize edilmiştir.

Çalışma, yüksek kalite faktörlü, yüksek hassasiyete sahip, performansı geliştirilmiş bir kütle hassas biyosensörün kuvars ayar çatalı kullanarak geliştirilebileceğini göstermesi açısından önem taşımaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Plazma Polimerizasyon, Kuvars Ayar Çatalı (Quartz Tuning Fork/QTF), Hekzan, Biyosensör, Avidin-Biyotin

## **ABSTRACT**

### **A NOVEL APPROACH FOR UNDERSTANDING BIOLOGICAL INTERACTION KINETICS: PLASMA POLYMERIZATION MODIFIED QUARTZ TUNING FORK**

**Atefeh EBADI**

**Master of Science, Department of Nanotechnology and Nanomedicine**

**Supervisor: Prof. Dr. Selma MUTLU**

**February 2015, pages**

Quartz Tuning Fork (quartz tuning fork, QTF), that has high quality factor ( $\cong 60000$ ), is used where high sensitivity is important such as providing a dissolvability at the level of angstrom of atomic power microscope, Production of sensitive clock and gas detecting element as well as monitoring the dynamics of fluid in gaseous phase.

As such in piezoelectric quartz crystal microbalance (piezoelectric quartz crystal microbalance, QCM), also in quartz tuning fork, molecules or substances which accumulate at the surface, cause changes on frequency value. In comparison with QCM systems, high quality factor ( $\cong 60000$ ) of QTF is preferred for researches of "Mass Sensitive Biosensor" due to its high precision, higher outlast idiosyncrasy and less expense.

The biggest problem of sensor applications of QTF – especially inside water – is the condition that it becomes unusable by short circuit into all conductive liquid medium, because of copper electrode which is covered with quartz crystal.

This study is purposed to prepare a "mass sensitive biosensor platform" hinges upon quartz tuning fork (QTF) which has ability of response without short circuit

within liquid. In order to fulfil this objective, it is aimed to cover electrons on the surface of QTF with a conductive substance in the scale of nanometer (nm). In accordance with this target, QTFs which are supplied from the market are turned into insulator by using hexane as monomer by plasma polymerization method (PlzP). Insulator QTF surfaces are modified to generate a functional group (-NH<sub>2</sub>) that can link biological agents by using ethylene diamine (EDA) to monomer again with plasma polymerization method. Activation of amine groups are performed with cross bonding agent of bio functional glutaraldehyde.

QTF surfaces which contain active aldehyde group, are immobilized with biotin as model biomolecule and revelation layer which belongs to "biosensor" is created. Performance measurements of "QTF-based mass sensitive biosensor" are recorded by activating avidin solution at different concentrations with prepared "biosensor".

During this study, the frequency values are measured before and after all operations which are applied to QTF surfaces. The primary purpose here is to obtain optimum results which would minimally affect the measurement sensitivity of QTFs that have high quality factor.

At all the generated surfaces changes are observed and characterized with atomic power microscope (AFM) and Fourier alternate infrared spectroscopy (FTIR-ATR).

Importance of this study comes to its findings that demonstrates a mass sensitive biosensor which has high quality factor, high sensitivity and advanced performance can be improved by use of quartz tuning fork.

**Key Words:** Plasma Polymerization, Quartz Tuning Fork (QTF), Hexane, Biosensors, Avidin-Biotin

## TEŞEKKÜR

Söz konusu tez çalışmasının yürütülmesinde tez danışmanım ve değerli hocam sayın Prof. Dr. Selma Mutlu" ya, başından sonuna kadar büyük emeği bulunan değerli eski tez danışman hocam, sayın Prof. Dr. Mehmet Mutlu" ya ve bilimsel desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Zakir Rzayev" e sonsuz şükranlarımı ve saygılarımı sunarım.

Frekans ölçümlerimde bana yardımcı olan Asensis Nanoteknoloji'den Fikret kuş" a, AFM karakterizasyonunda bana yardım eden sevgili arkadaşım, Sevde Altuntaş" a, FTIR-ATR karakterizasyonunda bana yardımcı olan, Levent Semiz" e, araştırma ve yazım süresince yardımlarını esirgemeyen arkadaşım Ozan Selvi" ye,

Beni hiç yalnız bırakmayan, her zaman destekleyen, attığım her adımda yanımda olan canım arkadaşım Özge Dincel" e,

Her daim ve özellikle de yüksek lisans süreci boyunca manevi desteklerini benden esirgemeyen ve her daim yanımda olan sevgili eşim Habib.Y.Azari" e, teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Son olarak bugüne ulaşmamı sağlayan, her zaman yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen sevgili aileme teşekkürü bir borç bilirim. İyi ki varsınız...



# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ETİK .....	ii
ÖZET .....	iii
ABSTRACT .....	v
TEŞEKKÜR .....	vii
İÇİNDEKİLER .....	viii
ÇİZELGELER .....	xi
ŞEKİLLER .....	xii
SIMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xiv
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	4
2.1. Biyosensörler .....	4
2.1.1. Biyosensör Tanımı .....	4
2.1.2. Biyosensörlerin Özellikleri .....	5
2.1.3. Biyosensörlerin Genel Tasarım Prensipleri .....	5
2.1.3.1. Çevirici .....	7
2.1.3.2. Elektronik Bölüm .....	8
2.1.4. Biyosensörlerin Performans Parametreleri .....	9
2.1.5. Biyosensörlerin Sınıflandırılması .....	10
2.1.5.1. Elektrokimyasal Biyosensörler .....	10
2.1.5.2. Optik Biyosensörler .....	11
2.1.5.3. Termal Biyosensörler .....	11
2.1.5.4. Manyetik Biyosensörler .....	12
2.1.5.5. Kütle Hassas Biyosensörler .....	12
2.2. Piezoelektrik .....	13
2.2.1. Piezoelektrik Tanımı .....	13

2.2.2. Piezoelektrik Özellik.....	14
2.2.3. Piezoelektrik Etki .....	15
2.2.4. Sensör Uygulamaları .....	16
2.3. Kuvars Kristaller.....	17
2.3.1. Kuvars Ayar Çatalı (QTF) .....	19
2.3.2. QTF'in Sensör Uygulamaları.....	20
2.4. Plazma Polimerizasyon Tekniği .....	21
2.4.1. Plazma Kaplama.....	21
2.4.2. Plazmanın Yapısı.....	21
2.4.3. Plazma Polimerizasyon Hızını Etkileyen Parametreler .....	24
2.4.4. Plazma Polimerizasyonun Mekanizması.....	25
2.5. Avidin biyotin etkileşimi .....	27
2.6. Tez Çalışmasında Kullanılan Yüzey Analiz Yöntemleri.....	28
2.6.1. Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR-ATR) .....	28
2.6.2. Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM) .....	29
3. MATERYAL VE METOD .....	31
3.1. Materyal .....	32
3.1.1. Kimyasal Malzemeler.....	32
3.2. METOD .....	33
3.2.1. Piezoelektrik Kuvars Kristal Malzemeler .....	33
3.2.2. Plazma Polimerizasyon Yöntemi .....	34
3.2.3. Plazma Sistemi Hazırlanması ve Parametrelerinin Belirlenmesi.....	35
3.2.4. QTF Bakır Elektrotların PlzP Yöntemi ile Yalıtkan Hale Getirilmesi ve Direnç Ölçümleri .....	36
3.2.5. Plazma Polimerizasyon Yöntemi ile Yüzeyde Amin Grubu Oluşturulması .	37
3.2.6. Yüzeyin Kimyasal Aktivasyonu .....	38
3.2.7. Tanıyıcı Tabakanın Oluşturulması .....	39
3.2.8. Biyosensör Performansının Belirlenmesi .....	40
3.2.9. Modifiye Edilmiş Kuvars Kristallerin Karakterizasyonu .....	41
3.2.9.1. FTIR-ATR Spektroskopisi .....	41
3.2.9.2. AFM Görüntülemesi.....	41

3.2.9.3. Frekans Ölçümleri.....	42
4. DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMA .....	43
4.1. Plazma Polimerizasyon Parametrelerinin Optimizasyonu ve QTF Yüzeyinin İzolasyonu.....	44
4.2. Yüzeylerde Amin Grubu Oluşturulması.....	52
4.3. Yüzeyin Kimyasal Aktivasyonu .....	54
4.4. Tanıyıcı Tabakanın Oluşturulması .....	55
4.5. Hazırlanan Biyosensörün Performansının Belirlenmesi .....	57
4.6. Kalibrasyon Doğrusunun Oluşturulması.....	60
5. SONUÇLAR .....	62
KAYNAKLAR.....	65
ÖZGEÇMİŞ .....	72

# ÇİZELGELER

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. Çevirici türleri ve çalışma prensipleri .....	8
Çizelge 3.1. Tez çalışmasında kullanılan kimyasalların açık ve kapalı molekül formülleri.....	33
Çizelge 3.2. Kuvars Ayar Çatalı (QTF) özellikleri .....	34
Çizelge 3.3. Plazma Polimerizasyon sisteminin teknik özellikleri .....	35
Çizelge 3.4. PnP AFM özellikleri .....	42
Çizelge 4.1. PlzP yöntemiyle hekzan kaplamada denenmiş parametreler .....	46
Çizelge 4.2. Yüksek boşalım gücü ( $\geq 30$ W) ve 20 dakikadan uzun sürede yapılan hekzan kaplamaları .....	51
Çizelge 4.3. PlzP yöntemiyle EDA kaplama parametreleri .....	52
Çizelge 4.4. Biotin-Avidin kütle hassas biyosensör platformunun Kalibrasyon Eğrisinin elde edilmesinde kullanılan aşamalar, amacı, optimum çalışma koşulları ve frekans sapma değerleri (Hz) .....	60
Çizelge 5.1. QTF kullanarak kütle hassas avidin biyosensör hazırlamada işlem basamaklarının frekansa etkisi .....	62

# ŞEKİLLER

## Sayfa

Şekil 2.1. Biyosensörlerin genel tasarım prensibi .....	6
Şekil 2.2. Tanıyıcı ve çevirici tabaka türleri.....	7
Şekil 2.3. Manyetik çevirici ve manyetik işaretleyici nano parçacıklarla antijen tayininin gösterimi.....	12
Şekil 2.4. Sıvı içinde çalışabilen kuvars kristal .....	16
Şekil 3.13.2. Kuvars Ayar Çatal 'in görüntüsü .....	34
Şekil 3.3. Plazma polimerizasyon sisteminin şematik görüntüsü.....	35
Şekil 3.4. UNI-TREND GROUP LIMITED marka UNI-T 70A model multimetrenin görüntüsü .....	37
Şekil 3.5. Plazma polimerizasyon sistemin görüntüsü .....	38
Şekil 3.6. Kimyasal aktivasyon tepkime aşamaları .....	39
Şekil 3.7. QTF kütle hassas biyosensörün yapılan çalışmaların basamakların şematik görüntüsü .....	40
Şekil 4.1. Standart QTF rezonans frekans görüntüsü.....	44
Şekil 4.2. İşlem görmemiş QTF'in frekans görüntüsü .....	45
Şekil 4.3. İşlem görmemiş kristal yüzeyin FTIR-ATR spektrumu .....	46
Şekil 4.4. UNI-T 70A model multimetre ile yüzey direncinin ölçümü.....	47
Şekil 4.5. QTF yüzeylerinin AFM görüntüsü a) boş yüzey b) Hekzan kaplı yüzey	47
Şekil 4.6. QTF yüzeylerin (30W-30dk) PlzP ile hekzan kaplanması .....	48
Şekil 4.7. Hekzan kaplanan kristal yüzeyin FTIR-ATR spektrumu.....	49
Şekil 4.8. PlzP ile (30W-5dk ) hekzan kaplama .....	50
Şekil 4.9. (a) 30W-40dk yapılan hekzan kaplama (b) 30W-50dk yapılan kaplama	50
Şekil 4.10. (a) 60W-30dk yapılan hekzan kaplama (b) 90W-30dk yapılan kaplama .....	51

Şekil 4.11. Yüzeyle PlzP ile etilendiamin kaplanması .....	53
Şekil 4.12. QTF yüzeyinin PlzP ile amin grubu oluşturulması sonrası FTIR-ATR spektrumu.....	53
Şekil 4.13. Yüzeylerin glutraldehit ile kimyasal aktivasyon sonrası .....	54
Şekil 4.14. Yüzeyin glutraldehit aktivasyonu sonrası FTIR-ATR spektrumu .....	55
Şekil 4.15. Biotin immobilize edilmiş yüzeyin AFM görüntüsü .....	56
Şekil 4.16. Biotin immobilizasyon sonrası frekans ölçümleri.....	56
Şekil 4.17. QTF yüzeyinin biyotin immobilizasyonu sonrası FTIR-ATR spektrumu .....	57
Şekil 4.18. a) Biotin immobilizasyonu b) Avidin çözeltisinin içinde alınan frekans ölçümlerinin görüntüsü .....	58
Şekil 4.19. Yüzeylerin avidin çözelti içerisinde frekans ölçümü .....	58
Şekil 4.20. Hekzan kaplanmayan QTF'lerin avidin çözeltisi içinde alınan frekans ölçümleri.....	59
Şekil 4.21. Biotin-avidin kütle hassas biyosensörlerin kalibrasyon eğrileri.....	61

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

W	: Güç, watt
A	: Akım, amper
Ma	: Akım, miliamper
V	: Hacim
Å	: Angström
$\Delta f$	: Ölçülen frekans kayması
$f_0$	: Kristalin rezonans frekansı
$\Delta m$	: Kütle değişimi
Hz	: Hertz

### Kısaltmalar

PlzP	: Plazma polimerizasyonu
QTF	: kuvars ayar çatalı (Quartz Tuning Fork)
EDA	: Etilendiamin
LF	: Düşük Frekans
AFM	: Atomik kuvvet mikroskopi
FTIR	: Fourier transform infrared spektroskopi
FTIR-ATR	: Fourier transform infrared- Attenuated Total Reflectance
PBS	: Fosfat tamponu (pH 7.4)
Pg	: Elektriksel boşalım sırasında basınç
Po	: Elektriksel boşalım öncesi basınç
RF	: Radyo frekansı

QCM	: Kuvars kristal mikroterazi
mbar	: Basınç, milibar
dk	: Süre, dakika
TLC	: ince tabaka kromatografi
LC	: sıvı kromatografi
HPLC	: yüksek performanslı sıvı kromatografi
FET	: Alan etkili transistör
MOSFET	: Metal oksit yarı iletken alan etki transistör
ISFET	: iyon duyar alan etki transistör
ENFET	: enzim alan etki transistör



# 1. GİRİŞ

Canlıların çevrelerindeki değişimi algılama ve yanıt verme mekanizmaları, biyosensörlerin geliştirilmesi için temel oluşturmuştur [1], [2]. Biyosensörler; sıklıkla biyolojik analizler için kullanılan bir çeşit özel sensördür ve "International Union of Pure and Applied Chemistry" IUPAC [3] tarafından, "kimyasal bir bileşiğe karşı verilen biyolojik yanıtı optik, termal ya da elektriksel sinyallere dönüştüren cihazlar" olarak tanımlanmaktadır [4]. Son yıllarda mikro elektronik alanındaki gelişmeler ve biyolojik moleküllerin olağanüstü duyarlılıktaki yanıt verme kapasitelerinin keşfedilmesi, biyosensör teknolojilerinin hızla gelişmesine neden olmuştur [4], [5]. Bunun sonucunda; tıp, eczacılık, gıda güvenliği, çevre kirliliği, askeri uygulamalar gibi bir çok alanda kullanılmak üzere farklı tipte biyosensörler geliştirilmiştir.

Biyosensörlerin çoğu basit olarak iki kısımdan oluşmaktadır. Bunlardan ilki; biyoreseptör olarak adlandırılan, hedef molekülün yakalandığı biyolojik bağlanma bölgesidir. Diğeri ise, gerçekteşen bağlanma sonucunda oluşan, biyokimyasal / fizikokimyasal etkileşimleri ölçülebilir elektronik sinyallere çeviren dönüştürücü (transducer) kısmıdır. Biyoreseptör ve dönüştürücünün tipi biyosensörün sınıfını belirlemektedir [6].

Nanobiyosensörler; biyolojik tepkimelerde hedef analitleri denetlemek için biyolojik sistemlerin seçicilik özellikleri ile modern elektronik tekniklerin işlem yeteneğinin birleştirilmesiyle geliştirilen, nano bileşenleri bulunan küçük algılayıcı cihazlardır. Biyoloji, fizik, kimya, mühendislik gibi birden çok akademik disiplini ilgilendiren bir konudur. Biyoteknoloji ve gıda endüstrisinde üretimin kontrolünde ve ürün analizinde, tıpta biyoaktif maddelerin tayin ve izlenmesinde, endüstriyel gaz ve sıvıların analizinde, çevre kirliliği analizi ve kontrolünde, biyoloji, kimya, veterinerlik, askeri amaçlar, güvenlik ve diğer birçok alanda çeşitli analizlerde yaygın olarak biyosensörler kullanılabilir [7], [8], [9]-[10].

İdeal bir biyosensörün; basit ve düşük maliyetli olma, küçültülebilme, kısa cevap süresi, tekrar kullanılabilirlik, seçicilik, yüksek duyarlılık, yüksek fiziksel dayanıklılık gibi özellikleri göstermesi istenir [7]. Bu özellikleri geliştirmeye yönelik disiplinler arası çalışmalar, günümüzde de büyük önem taşımaktadır.

Biyosensör uygulamalarında; piezoelektrik, potansiyometrik, optik, iyon seçici alan etkili transistör gibi çeşitli çevirici türleri kullanılmaktadır [11].

Bu çalışmada, kütle hassas bir biyosensör geliştirebilmek için yüksek kalite faktörü ve üstün teknik özelliklere sahip bir çevirici olan QTF'in kuvars kristal kullanılması planlanmıştır. Fakat QTF, üzerine kaplanmış bakır elektrot yapısından dolayı, su başta olmak üzere, iletken tüm sıvı ortamlar içerisinde kısa devre yaparak kullanılamaz hale gelmektedir. Bu sebeple biyosensör uygulamalarında yeni bir platform olarak kullanılabilmesi için QTF yüzeyindeki bakır elektrot kısımları yalıtkan hale getirilmesi gerekmektedir. Bu amaçla yüzeylere bir çeşit kaplama işlemi uygulanmalıdır. Literatürde bulunan kaplama işlemleriyle kıyaslandığında çok ince ve çok daha homojen kalınlıkta kaplama sağlayabilen plazma polimerizasyon yöntemi tercih edilmiştir. Bu süreç son derece temizdir, bir başka ifadeyle klasik süreçlerde kullanılan çözücüler, başlatıcılar, stabilizörler ve benzeri kimyasallara burada gerek olmadığından ürün çok saftır. Bu özellik tıp uygulamalarında önemli bir avantaja sahiptir.

Bu çalışma kapsamında maddenin dördüncü hali olarak belirtilen plazma, yüzey yalıtkanlaştırılması ve fonksiyonelleştirilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Tezde kullanılan plazma sistemi düşük basınç - düşük sıcaklık plazmasıdır. Düşük basınç plazma sistemleri özellikle elektronik ekipmanların yüksek hassasiyetlerde kaplanmasına olanak verecek aktif plazma fazını oluşturabilmektedirler. Düşük sıcaklık plazmaları elektronlar, pozitif ve negatif iyonlar, nötr atomlar, moleküller ve fotonlar içeren kısmi iyonize gazlardır [12].

Kullanılması planlanan düşük sıcaklık plazma polimerizasyon yönteminin en önemli avantajlarından biri de sadece en dışta bulunan tabakanın modifikasyondan etkileniyor olmasıdır. Böylece, modifiye edilen substratların yığın özellikleri değişmediğinden dolayı yüzey özellikleri kontrollü bir şekilde modifiye edilebilmektedir. Böylece QTF'lerde yüksek hız, güvenilirlik, hassasiyet gibi pek çok parametrenin gelişimi sağlanabilmektedir.

QTF yüzeyinin plazma polimerizasyon yöntemi ile hekzanın kaplama işlemi sonucu yalıtkan özellik kazanmasına dair herhangi bir akademik çalışmaya daha önce literatürde rastlanmamış olup ilk olarak bu araştırma ile gerçekleştirilmiştir.

Bu doğrultuda QTF'lerin yüzeyi hekzan plazması ile kaplanarak yalıtımı sağlanmış ve biyosensör hazırlamada kullanılacak biyolojik tanıma ajanının immobilizasyonu için uygun zemin hazırlanmıştır. Hekzan yüzeyler etilendiamin (EDA) plazması ile modifiye edilerek yüzeyde amin grupları oluşturulmuştur. Daha sonra glutraldehit ile yüzey aktivasyonu yapılarak aldehit grupları oluşturulmuştur. Modifiye yüzeylerin her bir basamakta kütle, fiziksel ve kimyasal değişimleri çeşitli teknikler ile gözlemlenmiş, yüzeyde meydana gelen kütle artışı ile QTF yapının rezonans frekansı değişimi takip edilmiştir.

Biyosensör araştırmalarında sıklıkla kullanılan biyotin-avidin etkileşimi, bu araştırmada da model olarak seçilmiştir. Biyotin, QTF yüzeyine aldehit grupları aracılığı ile bağlanmış ve biyosensörün tanıyıcı tabakası oluşturulmuştur. Farklı derişimlerdeki avidin çözeltileri ile etkileştirilen biyosensörün frekans değişimleri ile, avidin derişimine karşı frekans sapması grafiğı diğeri bir deyişle kalibrasyon doğrusu hazırlanarak çalışmalar sonlandırılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Biyosensörler

#### 2.1.1. Biyosensör Tanımı

Biyosensörler (biyoalgılayıcılar), bünyesinde biyolojik bir duyurucusu bulunan ve bir fizikokimyasal çevirici ile birleştirilmiş analitik cihazlar olarak tanımlanmaktadır.

Biyosensörlerin çalışma prensibi, biyolojik bir elementin analiz edilecek madde ile etkileşime girmesine dayanmaktadır. Bu etkileşim sonucu oluşan fiziksel, kimyasal vb değişiklikler biyolojik elementin uygun bir çevirici sistemiyle doğrudan veya dolaylı olarak birleştirilmesiyle ölçülebilir elektronik sinyale çevrilmektedir. Bu kapsamda biyosensörler tanıyıcı tabaka, çevirici ve elektronik kısım olmak üzere 3 bileşenden oluşur.

Bir başka deyişle biyosensörler, genel olarak analizlenecek madde ile seçimli bir şekilde etkileşime giren biyoaktif bir bileşenin bu etkileşim sonucu ortaya çıkan sinyali ileten bir iletici sistemle birleştirilmesi ve bunların bir ölçüm sistemi ile kombinasyonu ile oluşturulurlar.

Kimyasal sensörler, kimyasal bileşik ve iyonlara tersinir ve seçici olarak cevap veren ve konsantrasyona bağlı olarak elektrik sinyali üreten minyatürize edilmiş çeviricilerdir [13]. Bu tanıma göre cihazın tam bir sensör olarak anılabilmesi için, konsantrasyonun her iki yöndeki değişiminin de izlenebiliyor olması gerekir. Kimyasal sensörlerin bir alt grubu olan biyosensörler, son yılların en önemli ve üzerinde durulan konuları arasındadır. Bu sistemde, enzim, antibadi, reseptör gibi özel ve spesifik tanıma mekanizmasına sahip bazı molekülerin sinyal üretecek şekilde elektrotlara adaptasyonu mümkündür.

Leland C, Clark Jnr, (1962) biyosensör çalışmalarına katkıları büyüktür. Çalışmalarında membran içine enzimi, tanıyıcı olarak ekleyerek elektrokimyasal sensörlerin daha akıllı hale geleceğini açıklamışlardır. Bu kavram, diyaliz membranı kullanılarak üzerine glikoz oksidaz tutuklanan Clark oksijen elektrotu ile takip edilen azalan oksijen derişimiyle orantılı olarak glikoz derişiminin ölçülmesine dayanmaktadır.

Özel tasarlanmış cam membran pH elektrotları, kimyasal sensör tanımının ilk uygulamalarıdır. Bir tür ince cam membranın H<sup>+</sup> iyonuna karşı seçici geçirgenliği

sensörlerin doğuşuna neden olmuştur. İlk ticari pH elektrot Beckman firması tarafından 1935'de piyasaya sürülmüştür. Kimyasal sensörlerdeki buluşlar, 1966'da kalsiyum, flor, gümüş ve sülfid iyonları için, iyon seçici elektrotların geliştirilmesi, buna 1967'de potasyum iyonunun katılması ile devam etmiştir. Birçok iyon seçici membranların geliştirilmesi ve polimer ile elektronik teknolojisinin bir araya gelmesi ile doğrudan potansiyometrik ölçümlerle sonuç veren elektrotlar piyasaya sürülmüştür [14]. Biyosensör tanımı, enzim ile modifiye edilmiş iyon seçici elektrotlar ile ilgili çalışmanın 1977' de yayınlanması ile literatüre girmiştir [15].

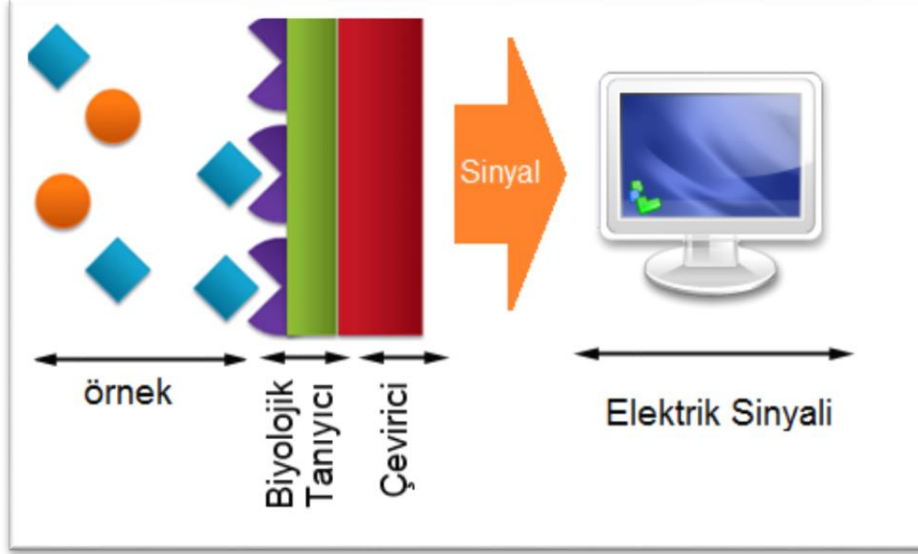
### **2.1.2. Biyosensörlerin Özellikleri**

Genel olarak tüm analitlerin ölçüm tekniklerinde, kimyasalı, bulunduğu kompleks yapıdan ekstrakte etmek ve girişim yapabilecek maddelerin uzaklaştırılması için saflaştırma ve daha sonrasında tayin söz konusudur. Günümüzde, ince tabaka kromatografisi (TLC), sıvı kromatografisi (LC), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) en çok kullanılan analit ayırma yöntemleri arasındadır [16]. Kromatografik yöntemlerle ayırma işlemi gerçekleştirildikten sonra UV adsorpsiyonu, floresans ölçümü, kütle spektrofotometresi ya da amperometrik tayin yöntemleri kullanılarak analiz yapılmaktadır. Saflaştırmak için kromatografik yöntemler yanında "Analit-Spesifik Antibadi" etkileşimlerinin kullanıldığı immünokimyasal teknikler de kullanılabilir (Örneğin; 'mikrotitre plate enzyme linked immunosorbant assay' (ELISA), 'radioimmunoassay', 'immunoaffinity column assay' (ICA) vb.

Biyosensörler, diğer analiz yöntemleri ile yarış halindedir. Bu yarışta, uygun hassasiyeti ve doğrusallığı göstermesi gerekirken, başlangıçta bazı avantajları da barındırır. En ön plana çıkan özelliği ise seçicilik ve taşınabilirliğidir.

### **2.1.3. Biyosensörlerin Genel Tasarım Prensipleri**

Bir kimyasal ya da biyosensörün temel çalışma prensibi üç ana bileşeni ile tanımlanmaktadır.

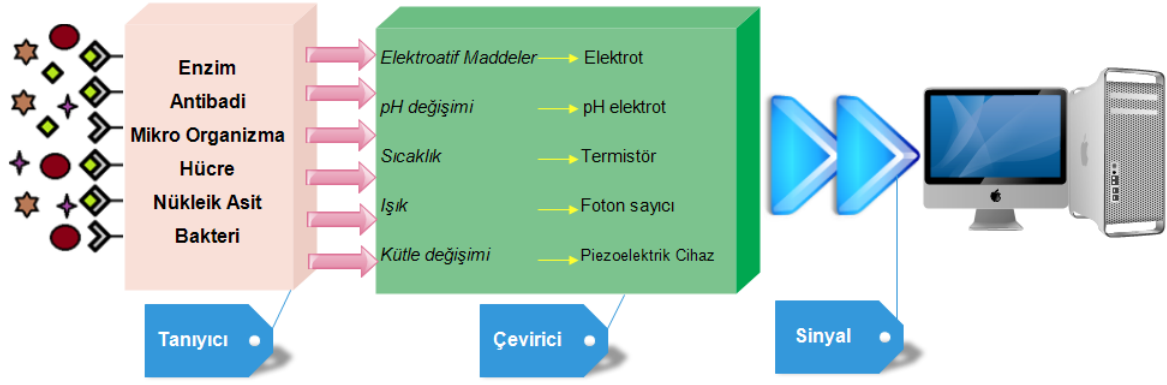


Şekil 2.1. Biyosensörlerin genel tasarım prensibi

En önemli bileşen, reseptör olup tanıyıcı tabaka olarak da adlandırılır. Bu tabaka genellikle yapısında bulunan ve tanımak istediği kimyasala özgü enerjik etkileşimi ile tanımayı gerçekleştirir. İkinci bileşenin fonksiyonu, tanıyıcıda oluşan maddeye özgü sinyali, bu sinyalle orantılı bir ölçülebilir bir enerjiye çevirmektir. Bu görev geniş bir seçenekler yelpazesi sunan fiziksel çeviricilere düşmektedir. Son olarak, analitik sistem, ön güçlendirici, empedans dönüştürücü, multi-plexer, analog-dijital dönüştürücü vb. gibi elektronik birimle desteklenmekte, bu çeviricinin hemen arkasına yerleştirilmektedir. Bu birimde dikkat edilmesi gereken, sisteme dışarıdan girişimde bulunabilmesi olası manyetik, elektrik alanlarından sakınmaktır.

Bir kimyasal sensörde en önemli bileşen tanıyıcı tabakadır. Diğer taraftan yaratılan sinyal seviyesi veya sinyal gürültü oranı can alıcı bir önem taşıyorsa, bu durumda kritik bileşen elektronik ya da fiziksel çevirici olmaktadır.

Biyolojik tanıyıcı ajan kendi spesifik olduğu ajanı tanır, onunla etkileşime girer ve çevirici sistemin algılayabileceği sinyali üretir. Bu substrat için enzim olabildiği gibi, antijen için antikor, şeker için lektin, tamamlayıcı sekans için nükleik asit olabilir. Biyosensörün yapılandırılmasında en önemli nokta, biyolojik tanıma işleminin hassaslığı, hedef kimyasala spesifik ligidir. Her reaksiyon için kullanılacak evrensel kavramda bir çevirici vardır.



Şekil 2.2. Taniyıcı ve çevirici tabaka türleri

Tayin edilecek analit ile seçici ve tersinir olarak reaksiyona giren ve analit konsantrasyonlarıyla orantılı sinyaller üreten biyolojik ajanlar tanıyıcı tabakayı oluşturmaktadır. Biyolojik tanıyıcı ajan kendi spesifik olduğu ajanı tanıyıp onunla etkileşime girmektedir. Bu etkileşim sonucunda çevirici sistemin algılayabileceği sinyali üretmektedir. Biyosensörün yapılandırılmasında en önemli nokta, biyolojik tanıma işleminin hassaslığı, hedef kimyasala spesifik olmasıdır.

Genellikle biyoajanlar, biyoaffinite ve biyokatalitik ajanlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Biyoaffinite ajanları (antikorlar, hormon reseptörleri, DNA, lektin gibi moleküller) antijenler, hormonlar, DNA parçaları ve glikoproteinlerin moleküler tanımlamasında kullanılmaktadır. Refraktif indeks, ışık absorpsiyonu ve elektriksel yük gibi sistemin fizikokimyasal parametrelerini değiştirmektedir ve bu değişimler uygun sensörlerle algılanmaktadır. Biyokatalitik ajan olarak ise saf enzim veya enzim sistemleri, organeller, mikroorganizmalar ve bitkisel ve hayvansal doku parçaları kullanılmaktadır. Biyokatalitik ajanlar, analit üzerinde moleküler değişime neden olmakta ve moleküler dönüşüm sonucu ortamda azalan veya artan madde miktarını takip ederek sonuca ulaşılmaktadır.

### 2.1.3.1. Çevirici

Çeviriciler, analit ile biyoajan etkileşmesi sonucu oluşan biyokimyasal sinyali fiziksel sinyale dönüştürmektedir. Bir sensörde en önemli bileşen tanıyıcı tabakadır. Diğer taraftan yaratılan sinyal seviyesi veya sinyal gürültü oranı can alıcı bir önem taşıyorsa, bu durumda kritik bileşen elektronik ya da fiziksel çevirici olmaktadır. Biyoajan ve çeviricinin birçok kombinasyonu mümkün olmasına karşın

minimum süre ve maliyette maksimum fiziksel sinyal oluşturabilecek kombinasyonu seçmek amaçlanmaktadır.

### 2.1.3.2. Elektronik Bölüm

Çevirici tarafından oluşturulan sinyallerin görüntülenmesi ve/veya depolanması amacıyla kullanılan bölümdür. Oluşan fiziksel sinyal herhangi bir işlem yapılmaksızın uygun bir ekranda görüntülenebildiği gibi sinyaller veri aktarım kartları ile bilgisayar ortamına aktarılarak istenilen çevrimler, hesaplamalar ve görüntülemeler yapılabilmektedir.

Örneğin, ısısal değişim, herhangi bir kimyasal ya da biyokimyasal reaksiyonu kısmen izlemeyi mümkün olan bir sinyal olarak düşünülebilir. Örneğin antibadi lerin kullanıldığı bir elektrotta, antijen miktarının tespiti, enzimatik tepkimeden tamamen farklı bir durum içerir. Burada oluşan antijen antikör bileşiği herhangi bir sinyal üretmediğinden ancak kütle hassas bir çevirici kullanımını ile takip edilebilir. Kütle, yoğunluk ya da viskozite değişimlerine hassas olabilecek piezoelektrik çeviriciler, ayrıca kuvars bazlı piezoelektrik osilatörler, yüzey akustik dalga izleyicileri, evrensel bir çevirici için potansiyel kavramlardır.

Çizelge 2.1. Çevirici türleri ve çalışma prensipleri

Çevirici Türü		Tanyıcı türleri	
Ölçüm	Prensibi	Biyolojik Molekül	Adlandırma
Elektrokimyasal	Potansiyometrik Amperometrik Voltametrik Alan etki (FET)	Enzim	Enzim Elektrot
Elektriksel	Yüzey iletkenlik Elektrolit iletkenlik	Antibadi	Immunosensör
Optik	Floresans Absorbsiyon Yansıma Lüminosans Kırınma indisli Işık saçılması	Mikroorganizma Hücre, doku	Mikrobial Sensör
Manyetik	Paramanyetiklik		
Kütle Hassas	Piezokristalin rezonans frekansı Yüzey akustik dalga		
Termal	Reaksiyon ısısı Adsorbsiyon ısısı		



#### **2.1.4. Biyosensörlerin Performans Parametreleri**

Biyosensörlerde en iyi ölçüm sistemini belirlemek için bazı genel fiziksel özellikler gereklidir. Bu özelliklerden en önemli olanları ve ideal biyosensörün karakteristik davranışları şunlardır [17].

Hassasiyet: Bu özellik, bir kimyasal türün değişimindeki değişime bağlı olarak, biyosensörün çıkış sinyalinin (S) son durağan halindeki değişimi ( $\Delta S/ \Delta C$ ) olarak tanımlanır. Sensörün büyüklüğü, ölçüm ortamına doğru kimyasal türün kütle aktarım hızı gibi faktörler duyarlılığa etki etmektedir.

Dinamik cevap: Bir biyosensörün dinamik cevabı, ölçtüğü hedef analitin derişimindeki bir değişikliğe ne kadar hızlı cevap verdiğini belirler. Temel mekanizma genellikle, kimyasal türlerin örnekten iletkenin aktif yüzeyine basit difüzyonudur. Hedef analit ve/veya reaktantın tayin edilen kütle aktarımı derişim farklarına, etkin difüzyon katsayılarına bağlıdır.

Doğrusallık: Ölçüm ortamında çözünmüş analitin maksimum derişimi ile minimum derişim aralığında, sinyal sabit bir duyarlılıkla ölçülmelidir. Sisteme eklenen her analit derişimi ile ölçülen sinyal arasındaki ilişki belirli bir analit derişimine kadar doğrusal olmalıdır.

Ölçüm sınırı: Bir elektrotta gerçekleştirilebilecek olan en düşük analit derişimi olarak tanımlanmaktadır. Ölçüm sınırı, kullanılan elektronik cihazın ayırma gücü ile sınırlıdır.

Seçicilik: Sensörün cevabı sadece analit derişimine duyarlı olmalı, diğer kimyasal türlerden etkilenmemelidir. Antibadi-antijen etkileşimi gibi spesifik mekanizmaların kullanıldığı durumda, doğal olarak, bu performansta herhangi bir sorun olmamaktadır.

Bu parametreler dışında, biyosensör ömrü, yapılan toplam ölçüm sayısına ya da ölçülen analit derişiminin büyüklüğüne göre tanımlanmaktadır. Bu nedenle, biyosensörü buzdolabında saklamak ya da biyolojik maddenin biyoaktivitesini koruyacak özel bir çevrede bulundurmak gerekebilir. Ayrıca, biyosensörün tekrar kullanılabilirlik sayısının tanımlanması ile bu özelliği ifade edilebilir.

### **2.1.5. Biyosensörlerin Sınıflandırılması**

Sensörler birçok farklı özelliklerine göre sınıflandırılmışlardır. Kullanılan biyoajana bağlı olarak; enzim sensörler, immünosensörler, DNA sensörler olarak sınıflandırılabilirdiği gibi çevirici türüne bağlı olarak elektrokimyasal, optik, termik sensörler gibi sınıflandırılabilirler. En geçerli olanı ise IUPAC (1991) [18] tarafından “sinyal çevirici” lerine göre yapılan sınıflandırmadır.

#### **2.1.5.1. Elektrokimyasal Biyosensörler**

Elektrokimyasal sensörler doğrudan doğruya elektrik sinyalleri üretmektedirler. Yaygın olarak elektrokimyasal sensörleri potansiyometrik, amperometrik, voltametrik ve alan etkili biyosensörler olarak dört başlıkta incelemek mümkündür.

Potansiyometrik Biyosensörler: Potansiyometri, bir çalışma elektrotu ve referans elektrot arasındaki potansiyel farkının ölçümünü esas almaktadır. Belirlenen elektrot potansiyeli doğrudan analit derişimini tanımlamaktadır. Potansiyometrik sensörlerin düşük hassasiyet, spesifik olmayan etkileşimlere ait ve aletsel sinyal alınması gibi büyük problemleri vardır. Özellikle sinyal/gürültü oranı analitik problemlere sebep olmaktadır [19].

Amperometrik Biyosensörler: Genel anlamda akım şiddetinin ölçümü esasına dayanır. Akım şiddeti, çalışma elektrotunda yükseltgenen veya indirgenen elektro aktif türlerin derişiminin bir fonksiyonudur. Referans elektrot olarak görev yapan ikinci bir elektrot vasıtasıyla akım şiddetinden analiz edilecek türlerin derişimlerinin belirlenmesinde yararlanır. Gözlenen akım elektro aktif türlerin yığındaki konsantrasyonlarıyla veya biyokatalitik tabakalar arasındaki üretim veya tüketim hızlarıyla direk ilişkilidir [20], [21].

Voltametrik Biyosensörler: Mikrobiyolojik reaksiyonlar, genellikle iletkenlik ve kapasitansın artma, empedansta azalmaya sebep olmaktadır. Buna dayanarak rezistans, kapasitans, iletkenlik ya da empedanstaki değişimin ölçümünü esas alan sensörler bu grupta yer almaktadır.

Alan Etkili Biyosensörler: Alan etkili transistörler (FET) gerilim kontrollü yarı iletken devre elemanıdır. FET iletim, yüzey voltajı, yüzey yükü ve performansından etkilenir. Bu özellikleriyle elektrokimyasal tabanlı sensörlerin oluşumunda FET kullanılır, ölçüm ortamından sürekli alınan sinyalin takibine izin verir. Metal oksit

yarı iletken alan etki transistörlerini (MOSFET) ya da iyon duyar alan etki transistörlerini (ISFET) esas alan enzim sensörleri, enzim ile alan etki transistörlerinin birleştirilmesini ifade edecek şekilde enzim alan etki transistörleri (ENFET) olarak adlandırılırlar. Oldukça düşük tespit limitlerine sahip olup küçük hacimde örneklerin kullanılmasına olanak tanımaktadır. Elektrokimyasal analiz için gereken malzeme, diğer analitik metotlarla karşılaştırıldığında çok daha ucuz ve basittir.

#### **2.1.5.2. Optik Biyosensörler**

Optik çeviricilerde ışığın iletimindeki değişimin ölçülmesi veya floresansın ölçülmesi söz konusudur. Işığın iletimindeki değişimin ölçülmesine dayalı, optik esaslı sensörlerde, ölçüm sistemi, madde derişimine bağılı olarak absorbans veya luminesansta değişim gösteren bir boya içerir veya CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, pH değişimi gibi bir fizikokimyasal özellikten faydalanılır. Bu sensörlerde en önemli etken, fiber boyunca ışık iletiminin etkinliğidir. Floresansın ölçüldüğü durumlarda ise fiberin kendi özelliklerindeki (intrensek) değişimleri kapsar ve arka alan (evanescent) immünosensörler ve yüzey plazmon rezonans immünosensörler olarak iki gruba ayrılırlar. Optik sensörlerde, absorpsiyon, yansıma veya floresans ölçüm sistemlerinden biri kullanılır. Floresans ölçümleri en çok kullanılanıdır. Sensörün konfigürasyonu optimal dizaynda en önemli faktördür ve hassaslığı, dinamik bölgeyi, cevap verme süresini, seçiciliği ve kullanım zamanını tayin eder [22].

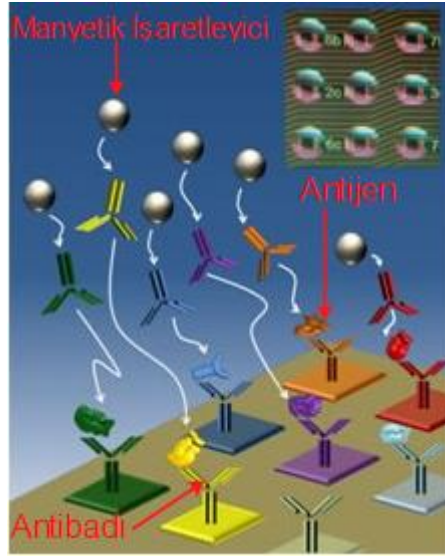
#### **2.1.5.3. Termal Biyosensörler**

Temel prensipleri; bir enzimatik reaksiyondaki entalpi değişiminden yararlanılarak substrat derişiminin belirlenmesine dayanır. Bütün biyolojik reaksiyonlar ekzotermiktir. Enzimatik reaksiyon sonucu oluşan sıcaklık değişimi ile substrat konsantrasyonu arasındaki doğrusal ilişkidenden sonuca ulaşılır. Sıcaklık değişimleri termal olarak yalıtılmış ortamdaki termistörler veya termofiller aracılığıyla izlenir. Kullanılan termistörler çok küçük sıcaklık değişimlerine bile duyarlıdır. Dolayısıyla çok düşük miktardaki substrat derişiminin ölçümüne olanak tanır.

Malzemenin sıcaklık değişimine karşı elektrik potansiyel oluşturması özelliği olarak bilinen pyroelektrik etkiyi kullanan pyroelektrik çeviriciler, termoelektrik malzemelere kıyasla daha avantajlıdır; 1200 °C' de bile kararlıdırlar [23].

#### 2.1.5.4. Manyetik Biyosensörler

Ortamdaki manyetik değişikliği algılayan ve buna bağlı olarak çıkışında gerilim üreten elemanlara manyetik çevirici denir. Manyetik nano parçacıkların işaretleyici olarak kullanılmasıyla manyetik çeviriciler de biyosensör uygulamalarında kullanılmaktadır (Şekil 2.3.). Spin vanası, hall sensörü, anizotropik manyetik direnç (AMR) ve dev manyeto-direnç (GMR) sensörleri biyosensör çeviricileri olarak kullanılmaktadır [24].



Şekil 2.3. Manyetik çevirici ve manyetik işaretleyici nano parçacıklarla antijen tayininin gösterimi

#### 2.1.5.5. Kütle Hassas Biyosensörler

Çevirici olarak piezoelektrik kristallerin kullanıldığı kütle hassas biyosensörler, rezonans frekansındaki değişime bağlı olarak nanogram/cm<sup>2</sup> seviyesinde kütle değişimini ölçebilen ve bu nedenle antikör-antijen etkileşimlerinde sıkça kullanılan biyosensörlerdir. Kütle hassas biyosensörlerin çalışma prensibi piezoelektrik etkiye dayanır. Piezoelektrik kuvars kristal, sıvı faz içinde Sauerbrey prensibine uygun olarak çalışabilen, elektrottaki kütle değişiminin, osilasyon frekansındaki değişimler 1959 yılında G. Sauerbrey tarafından geliştirilen denkleğine göre değiştiği sistemlerdir [23].

Sauerbrey denklemi aşağıdaki gibi tanımlanır:

$$\Delta f = - \frac{2f_0^2}{A\sqrt{\rho_q\mu_q}} \Delta m$$

$\Delta f$ : Ölçülen frekans kayması

$f_0$ : Kristalin rezonans frekansı (Hz)

$\Delta m$ : Kütle değişimi (g)

A: Piezoelektrik olarak aktif alan, kuvars kristal üzerindeki elektrot yüzey alanı (cm<sup>2</sup>)

$\rho_q$ : Kuvarsın yoğunluğu ( 2.648 g cm<sup>-3</sup>)

$\mu_q$  : Kuvarsın kayma katsayısı (2.947.10<sup>-11</sup> g cm<sup>-2</sup>)

Bu denkleme göre AT kesme kristal kullanıldığında elektrot yüzeyi üzerinde biriken kütle çok fazla değil ise birim alandaki kristalin kütle değişimi, kristalin rezonans frekansındaki değişimiyle orantılıdır. Bu şekilde elektrotların aktif alanına bağlanan moleküllerin miktarı rezonans frekanstaki azalmayla ölçülebilir [25].

Sıvı çözeltilerde ise Sauerbrey denklemini bu şekli ile geçerli değildir. Newtonsal sıvılar için aşağıdaki denklem geçerlidir [26]:

$$\Delta f = -f_0^{3/2} \sqrt{\frac{\eta_L \rho_L}{\pi \mu_q \rho_q}}$$

Bu denklemden  $\eta_L$  çözeltilerin viskozitesini,  $\rho_L$  çözeltilerin yoğunluğunu temsil eder.

## 2.2. Piezoelektrik

### 2.2.1. Piezoelektrik Tanımı

Piezoelektrik kelimesi Latince bastırmak-press anlamındaki “piezo” ön ekinden türetilen bir kavramdır. Piezoelektrik iletken olmayan billurdan yontulmuş bir levha belli bir doğrultuda uygulanan bir baskı (çekme ya da sıkıştırma) sonunda, billur levhanın iki yüzünde ters işaretli yüklerin (+q ve -q) çıkmasıyla nitelendirilen bir olaydır.

Piezoelektrik malzemelerin özelliği, kristal yapılarına bağlı olarak bir kuvvet etkisi altında kaldıklarında elektrik akımı üretmeleri. 1665’ten beri varlığı bilinen piezoelektrik özelliği, ilk kez 1880’de Pierre ve Jacques Curie kardeşler tarafından keşfedilmiştir. Pierre Curie önceleri Pyroelektrik ve kristal simetrisi arasındaki ilgi üzerine çalışmıştır. Bu çalışma, kardeşleri sadece basınçtan meydana gelen elektriklenmeyi aramak zorunda bırakmış, fakat tahmini olarak basıncın ne yönde

uygulanabileceği ve kristal sınıflarının etkisi açıklanmamıştır. Rochelle tuzu gibi birçok diğer kristalde de bulunmuştur. Hankel “piezoelektrik” ismini önermiştir. Piezoelektrik elektriksel ve mekanik sistemler arasındaki bir etkileşimdir. Doğrudan (direkt) piezoelektrik etki mekanik gerilme tarafından üretilen elektrik kutuplanmasıdır. Piezoelektrik özellik malzemenin kristal yapı yöneliminin bir sonucudur.

Piezoelektrik malzemelerin çoğunlukla kullanılan tipi kurşun-zirkonyum-titanyum (PZT) piezo seramiklerdir. Piezo seramik malzemeler elektriksel etkiyi mekanik büyüklüğe, mekanik etkiyi elektriksel büyüklüğe dönüştüren simetri merkezi olmayan kristallerdir. Yaygın olarak kullanılan piezo seramik malzemeler;

- Kuvars ( $\text{SiO}_2$ )
- Rochelle tuzu ( $\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_4\text{H}_2\text{O}$ )
- Baryum titanat ( $\text{BaTiO}_3$ )
- Turmalin
- Amonyum dihidrojen fosfat
- Etilendiamin tartarat

### **2.2.2. Piezoelektrik Özellik**

Sürekli kutuplaşmaya sahip bir asimetric iyonsal kristale basınç uygulanırsa kutuplar arası uzaklık azalır, yüzeyinde yük birikimi artar, dolayısıyla iki uç arasında bir gerilim farkı doğar ve bir iletkenle birleştirilirse akım iletilir. Böylece mekanik etki elektriksel büyüklüğe dönüşür. Diğer taraftan, aynı kristalin iki ucu arasına bir gerilim uygulanırsa (-) yükler (+) elektroda, (+) yükler (-) elektroda doğru çekilir, (-) ve (+) yük merkezleri arasında uzaklık artar ve bunun sonucu kristalin boyu büyür. Alanın yönü değişirse aynı işaretli yükler birbirlerini iter ve kristalin boyu kısalır. Böylece elektriksel etki mekanik büyüklüğe dönüşür. Bu davranışa piezoelektrik özellik denir.

### 2.2.3. Piezoelektrik Etki

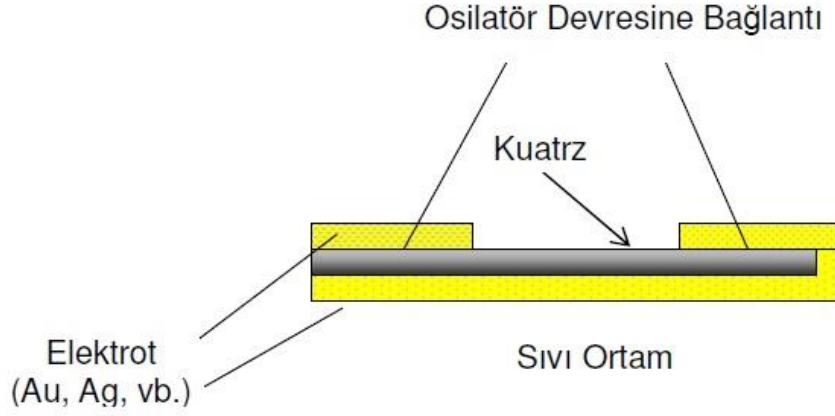
Biyosensörlerde kütle değişim esaslı sistemler son yıllarda en çok ilgi çekenlerdir. Bu amaçla piezoelektrik kristaller kullanılır.

Piezoelektrik kristallerin çevirici sistemlerde kimyasal analiz ve genel olarak algılama işlemlerindeki kullanım alanı iki kategoride incelenebilir. Birincisi yüzeyde kütle algılanması, ikincisi gerinim ölçümüdür. Piezoelektrik 'lerin yüzeyde kütle algılanmasında kullanıldığı alanlara örnekler arasında nem algılayıcıları, film kaplama monitörleri, gaz sensörleri ve kimyasal sensörler verilebilir.

Kristallerde vibrasyon söz konusudur. Vibrasyon kristal içindeki atomların belli bir zamanda orijinal konumlarından deforme olmuş konuma geçmeleri, buradan yine orijinal konuma dönmeleri ve bunu izleyen evrede tersi yönde deforme konuma geçmeleri şeklinde tekrarlanan bir davranışı ifade etmektedir. Bu döngülerin birim zamanda tekrarlanma sayısı kristalin rezonans frekansı olarak tanımlanır. Piezoelektrik kristallerde pozitif ve negatif yüklü iyonlar vardır. Vibrasyon sonucu yük dağılımı değişir, başka bir ifade ile polarizasyon oluşur. Dolayısıyla bu salınım frekansına karşı salınan elektrik alan oluşumu söz konusudur. Elektrik alan salınım frekansı rezonans frekansı ile aynıdır.

Mono kristal yapıda atomlar, bir kübik kafes sistemi oluşturmaktadır. Bu yapı içerisinde, artı ve eksi yüklü atomlar kayma gerilimleri etkisiyle sürekli yer değiştirmektedirler. Pratikte en yaygın olarak kullanılan piezoelektrik kristal kuvarstır. Doğal olarak bulunduğu gibi sentetik olarak da üretilebilen tamamen okside olmuş bir kristalin bileşiktir (silisyum dioksit).

Piezoelektrik uygulamalarında kullanılan kristaller 10-16 mm kalınlığında disk, kare veya dikdörtgen şekindedirler. Şekil 2.4'de görüldüğü gibi piezoelektrik uygulamalarında kristal iki metal elektrot arasına sandviç edilmektedir.



Şekil 2.4. Sıvı içinde çalışabilen kuvars kristal

Bu şekilde yerleşmesi salınan elektrik alanının kristal yüzeyine dik yönde olmasını sağlar. Oluşan elektrik alanı kristal yığın yapısında mekanik salınıma yol açar. Metal elektrotlar altın, gümüş, alüminyum veya nikel olabilir. Kristalin çalışma frekans seviyesi depozite edilen metal miktarı ile ayarlanmaktadır.

Piezoelektrik kütle sensörlerin geleceğe yönelik kullanımı için yapılan çalışmaların en çok yoğunlaştığı konu seçici kimyasal sensörlerdir. Piezoelektrik kristal olarak genellikle kuvarsın kullanılması nedeniyle bu tür kimyasal sensörler kuvars kristal mikrobals sistemleri olarak adlandırılmaktadır. 1957 yılında Saurbery, piezoelektrik kristali ince filmlerin kalınlığını ölçmek için kullanmıştır. Kristaldeki frekans kayması ile kütle değişimi bağlantısı üzerinde çalışan Saurbery ampirik bir eşitlik geliştirmiştir. Saurbery'nin çalışması kalınlık kayma modunda çalışan kuvars kristallerde yüzeye biriken filmin kütlesi ile buna karşılık gelen frekans değişimini açıklamaktadır [27].

Piezoelektrik sadece iletken olmayan materyaller üzerinde etkilidir. Bunlara örnek olarak seramikler ve kristallerdir. En verimli ve bilinen piezoelektrik materyal kuvarstır( $\text{SiO}_2$ ).

#### 2.2.4. Sensör Uygulamaları

Piezoelektrik özelliğin sensör teknolojisinde kullanımı gaz faz ölçümleriyle başlamıştır. Havada bulunan çeşitli gazların organofosfor bileşiklerinin, aromatik hidrokarbonların ölçülmesi için piezoelektrik kristalli sensörler geliştirilmiştir [28]. Piezoelektrik kristallerin sulu fazda da özellikle çok düşük konsantrasyonda



bulunan iyonların tayininde [29] ve suyun toplam tuz miktarında bulunmasında kullanımı ile ilgili birçok rapor vardır [30], [31].

Piezoelektrik kristallerin biyosensör uygulanmasına ilk örnek Shons ve arkadaşlarının çalışmasıdır. Burada kristaller, Nyabar C adi verilen ticari polimerlerle kaplanmış bu yüzeye albümin hidrofobik etkileşme ile fiziksel olarak immobilize edilmiştir. Immobilize albümin taşıyan kristallerin anti-albümin antikoru bulunan çözeltilerle etkileştirilerek immunkompleksin oluşması izlenmiştir. Böylece yapıştırma testine göre oldukça kısa sürede gerçekleştirilmesi en önemli avantajdır. İşte bu ilk uygulamalardan sonra antikor-antijen etkileşimi üzerine dayanan piezoelektrik kristaller uygulamaları hızla artmıştır.

Piezoelektrik esaslı sistemler hem sıvı hem de gaz fazda kullanılabilen sistemlerdir. Sensörün tanıyıcı bölümü küçük ve ucuz bir kristalden ibarettir. Birçok ligand immobilize edilip sayısız analit tayini yapılabilir. PQC, kimyasal sensörler için hızlı, hassas ve uygulanabilir çeviricilerdir. Herhangi bir kütleli değişime hassas oldukları için aktif sensör bileşeni olarak ucuz ve stabil bir seçenek bulmak, PQC çalışmalarında odaklanılan konudur. Bu çeviriciler, günümüze kadar birkaç biyomolekül ve mikroorganizma tayini için kullanılmıştır.

Günümüzde kuvars kristaller mikroorganizma tayini için kullanılabilen yöntemler haline gelmiştir [22].

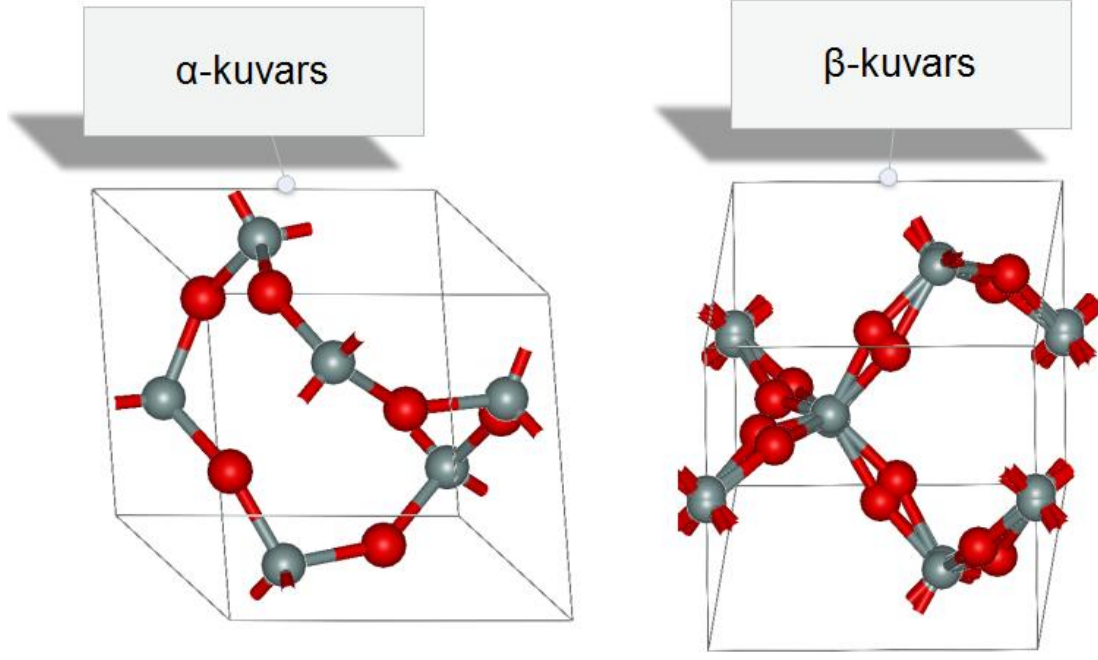
Kristaller, sensör olarak kütle ölçümü dışında basınç, gaz, akış, ağırlık, nem sensörleri ve kaplama kalınlığı ölçümlerinde de kullanılmaktadır. Kristallerin yüzeyine biyolojik ligand molekül immobilizasyonu ile hedef moleküllerin algılanması da sağlanmaktadır.

### **2.3. Kuvars Kristaller**

Kuvars dünya üzerinde feldspattan sonra ikinci olan en fazla bulunan mineraldir. Kuvarısı özel kılan piezoelektrik özelliğidir.

Piezoelektrik özelliğe sahip kuvars,  $\text{SiO}_2$  mono kristalidir. Her birim hücresi üç tane  $\text{SiO}_2$  molekülünden oluşan kuvars kristali, çoğu kimyasal çözücülerden etkilenmediği gibi, kristal yapısını çok yüksek sıcaklıklara kadar koruyabilmektedir.

Kuvars kristalin doğada  $\alpha$ -kuvars ve  $\beta$ -kuvars olmak üzere iki farklı formu bulunmaktadır (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. α-kuvars ve β-kuvars formu

573°C inversiyon sıcaklığında α-kuvars, β-kuvars'a tersinir olarak dönüşmektedir [32]. β-kuvars sadece inversiyon noktasının üzerindeki sıcaklıklarda olduğu için görebildiğimiz tüm kuvars kristaller α-kuvars formdadır. Kristalin bu formu, 573°C sıcaklığına kadar piezoelektrik özelliğini kaybetmeden kararlı olabilmektedir.

Piezoelektrik sensör uygulamalarda yüksek sıcaklıklara karşı dayanıklı olması ve suda çözünmemesinden dolayı, kristalin α-kuvars formu kullanılmaktadır.

Piezoelektrik dedektör özelliğinin sağlanması için kuvars kristaller belli bir açıyla kesilir. Kristal yapının karakteristik düzlemiyle kesme tabakasının arasındaki açı AT ve BT kesmelerde farklıdır. AT kesme kristaller diğerlerine göre çok daha kararlıdır ve sıcaklık katsayıları 1 ppm/°C 'dir [33].

Piezoelektrik sensör uygulamalarında, kuvars kristallerin mevcut kesim tipleri içinde, sıcaklık değişimlerinden en az etkilenen, oda sıcaklığında en kararlı kristal tipi olan AT-kesim kuvars kristalleri tercih edilmektedir.

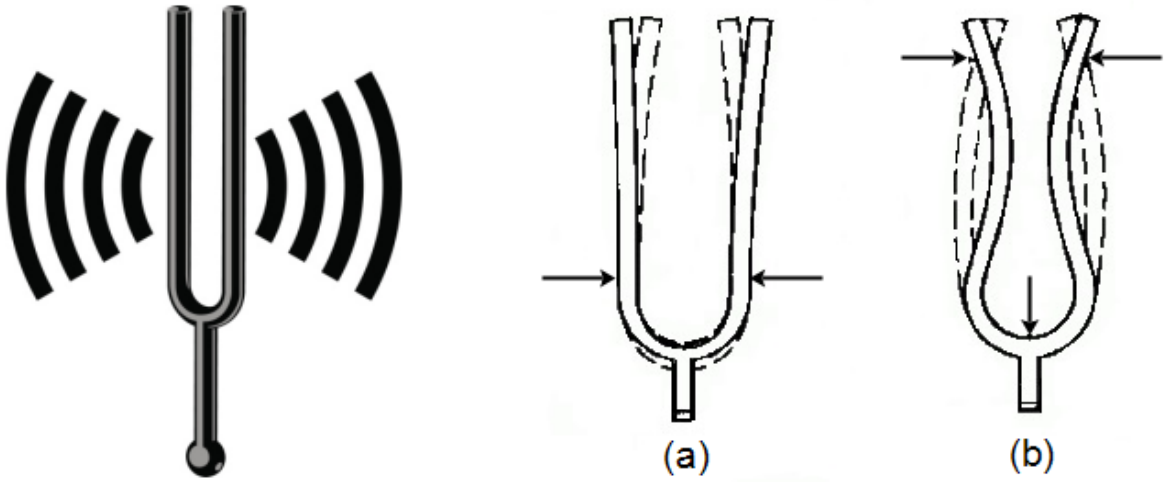
Bu kesim tüm standart kuvars kristallerde ve aynı şekilde ayar çatal kuvars kesimlerinde kullanılır.

### 2.3.1. Kuvars Ayar Çatalı (QTF)

#### Ayar çatal (Diyapozon)

İngilizce bir ifade olan tuning fork, türkçede "diyapozon, ayar çatalı" anlamına gelmektedir.

Ayar çatalı 1711 yılında kraliyet sarayında İngiliz müzisyen John Shore tarafından icat edilmiştir. Ayar çatalı iki uçlu bir çatal şeklindedir. Dişleri elastik metalden, genellikle çelik çubuğundan oluşturulmuştur. Bir yere vurulduğunda titreşerek tek frekansta ses yayan ve çalgının ayarlanmasına yardımcı olan bir nesnedir ve saf bir ses yayar.



Şekil 2.6. Ayar çatalının şematik gösterisi

Diyapozonlar müzik aletleri dışında, bilim ve tıp (işitme ve titreşim tedavisi) ve elektronik alanlarında kullanılmaktadır.

#### Kuvars ayar çatalı (QTF)

Piezoelektrik kütle sensörlerin kullanımı açısından en çok seçici kimyasal sensörler üzerinde araştırmalar yoğunlaşmıştır. Genelde kuvarsın kristal olarak kullanılmasından dolayı bu tür kimyasal sensörler kuvars kristal mikroterazi sistemleri olarak anılmaktadır.

Kuvars ayar çatalı (QTF) bu çalışmanın temelini oluşturmaktadır. QTF mikrofabrikasyon yöntemleriyle özel geometriyle kesilmiş bir kuvars kristalidir. QTF yüksek kalite faktörü ( $\cong 60000$ ) ile yüksek hassasiyette kütle birikimi ölçebilmektedir.

Kuvars ayar çatalı (QTF), QCM ile karşılaştırıldığında yüksek kalite faktörü, keskin frekans tepkisi, yüksek hassasiyet, uzun istikrarı ve kütle algılama için uygun olduğu kanıtlanmıştır [34], [35]-[36] ve Bunların yanı sıra düşük maliyetli olması başka bir avantajıdır.

### **2.3.2. QTF'in Sensör Uygulamaları**

QTF'lerin piyasada saat devrelerinde, ayrıca atomik kuvvet mikroskobu için kuvvet sensörleri olarak kullanılmaktadır [37].

Bu cihazlar yüzeyinde birikim olduğunda frekans değerinde değişimler meydana getirmektedir. Bu özelliklerinden dolayı hem kütle hassas sensörlerde hem de nem sensörlerinde kullanılabilirler [38], [39]-[40]. QTF'ler aynı zamanda sıvıların viskozitesini ve sıvı yoğunluğu ölçüm çalışmalarında da kullanılmıştır [41], [42], [43], [44]-[45].

Yukarıda belirtilen uygulamaların her biri QTF'in rezonans performansına ve kalite faktörü parametrelerinin ölçümüne dayanmaktadır. Ne yazık ki, QTF'in rezonans frekans ölçümü sıvı ortam için uygun değildir.

QTF, biyosensör uygulamalarında kullanılabilmesi için sıvı ortamda işlem yapma bilmesi gerekmektedir. Bu sorunu çözmek için J.Zhang ve S.O'shea QTF'leri kimyasal sensörlerde kullanmak amacıyla, 1-8 mg/ml konsantrasyonlarında hazırlanan polistiren çözeltilerine daldırıp kurutmuşlardır [46].

Başka bir çalışmada Pseudomonas aeruginosa bakterileri kullanarak farklı süre uygulamalarına (8h-120h) tabi tutulan QTF yüzeylerinde biyofilm oluşumunu sağlayarak dirençlerini arttırmaya çalışmışlardır [47]. Kristallerin yüzey modifikasyonu farklı yöntemlerle yapılmaktadır:

- Kimyasal modifikasyon
- Daldırmayla kaplama
- Yüzeyde jel oluşumu
- Plazma polimerizasyon
- Elektropolimerizasyon

## **2.4. Plazma Polimerizasyon Tekniği**

Plazma, maddenin dördüncü hali olarak tanımlanır. Plazma polimerizasyon tekniği, her türlü materyalin yüzey özelliklerinin değiştirilmesi amacıyla yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Radyo frekansı yük boşalımı, mikrodalga, atmosferik basınç, düşük basınç, düşük sıcaklık vb. farklı sistemler ile plazma modifikasyonu gerçekleştirilmektedir. Plazma modifikasyonu ile, bozulma ve aşınma, oksidasyon, çapraz bağlanma gibi yüzeyin çok ince bir tabakasında oluşan yapısal değişimler sonucunda, modifiye edilmemiş yüzeylerden tamamen farklı özelliklere sahip yeni yüzeyler elde edilmektedir [48], [49].

### **2.4.1. Plazma Kaplama**

Plazma kaplama teknolojisi alev sprej ve ark sprejden sonra geliştirilmiştir. Metallerin korozyona, yüksek sıcaklık oksidasyonuna ve aşınmaya karşı dirençlerinin artırılması seramik kaplamalarla mümkündür. Bu tür kaplamaların uygulanması plazma kaplama teknolojisi ile de yapılabilir [50]. Bu yöntemle gerçekleştirilen kaplama belirtilen özellikleri sağladığı gibi, ana malzemenin üstün özelliklerinden tokluk ve şekil değiştirilebilirlik özellikleri korunmaktadır ve böylece metal ve seramiklerin üstün özelliklerinden bir arada faydalanılmaktadır [51].

Plazma kaplama ergime derecesi çok yüksek kaplamalar için uygulanır. Elektrik arkı, elektrot ve ikincil elektrot olarak davranan nozula uygulanır. Basınçlı inert gaz (argon, helyum, azot, hidrojen) ve elektrotlar arasından geçirilir. Çok yüksek sıcaklığa ulaşan gaz, plazma formuna dönüşür. Plazma sprej sistemi, güç kaynağı, gaz kaynağı, tabanca ve toz besleme ünitelerini içerir [52].

Plazma kaplama yönteminde sıcaklık 20,000 °K'e kadar ulaşır. Plazma ile üretilen bu yüksek sıcaklık kaplama malzemesini çok yüksek sıcaklıklara ulaştırır. Bu yüksek sıcaklığa rağmen alttaki materyal çok ısıya maruz kalmaz ve mikro yapısında herhangi bir değişim olmaz. Plazma sprej kaplama yöntemiyle, çok yüksek plazma sıcaklığı sebebiyle bilinen tüm malzemeler kaplanabilir (seramik, metal, polimer) [53].

### **2.4.2. Plazmanın Yapısı**

Plazma maddenin katı, sıvı ve gaz hallerinden oldukça farklı özelliklere sahip olması nedeniyle maddenin dördüncü hali olarak tanımlanır [54], [55]. Atomik halde bulunan gaza biraz daha enerji alması ile mevcut gaz atomlarının son

yörüngesindeki elektronları bıraktıkları, elektronlarını kaybetme olayına da (+) iyon haline geçme olduğu, oluşan bu hale de “plazma” dendiği ifade edilir. Genel olarak plazma, yüksek sıcaklıkta kuvvetli elektrik veya manyetik alanların etkisi ile oluşur. Güçlü bir elektriksel boşalım da plazma oluşturabilir. Plazma ortamında Enerjisi artan moleküllerin ortaya çıkardığı serbest elektronlu türler ve radikaller enerjilerini diğer moleküllere ya da modifikasyona uğrıtılacak türün yüzeyine transfer ederek yeni türler, fonksiyonel gruplar oluştururlar ve/veya polimerleşirler [54], [55]-[56].

Plazmanın iletken olduğunu ve bu iletken sayesinde de katı malzeme yüzeylerine atomik seviyede kaplama yapmamızı sağlar. Yine plazmaya örnek olarak güneş, yıldırım ve ateş örnekleri verilebilir.

Plazma polimerizasyon tekniği hemen hemen bütün türdeki maddelerin yüzey özelliklerini değiştirmek amacıyla kullanılan bir yöntemdir. Maddenin yüksek enerjili plazma halinden faydalanılarak kullanılan bu teknikte güç kaynağı olarak, radyo frekansı, mikrodalga, ark kullanılabilir. Uygulama metodu olarak da düşük ya da yüksek sıcaklık plazmaları bulunmaktadır.

Plazma polimerizasyon ile bir ön koşul aranmaksızın tüm organik bileşikler kullanılarak materyal yüzeylerinin değiştirilmesi yöntemin en önemli avantajıdır. Diğer kaplama yöntemleriyle karşılaştırıldığında, çok ince ve çok daha homojen kalınlıkta kaplama sağlanabilmektedir. Bu nedenle plazma polimerizasyon uygulanmış yüzeyler bir çok pratik uygulamada kullanım alanı bulabilmektedir. Proses son derece temizdir, bir başka ifadeyle klasik proseslerde kullanılan çözücüler, başlatıcılar ve stabilizörler burada gerek olmadığından ürün çok saftır. Bu özellikle tıp uygulamalarında önemli bir avantaj olarak vurgulanmaktadır. Kaplama diğer yöntemlerde bir çok basamakta ve uzun sürede (24 saat gibi) başarılıken burada, tek basamaklı bir işlemle sonuca çok kısa zamanda (1 saatten az) ulaşılmaktadır [57]. Çünkü yük boşalım tekniği ile gerçekleştirilen modifikasyon işleminde prepolimer sentezi, kaplama solüsyonun hazırlanması, kaplama prosesi, kurutma gibi prosesler tek basamakta gerçekleştirilmektedir [58-59], düşük sıcaklık plazma polimerizasyon yönteminin en önemli avantajlarından birinin de substratların sadece en dışta bulunan tabakalarının modifikasyondan etkilenmesi olduğunu belirtmişlerdir. Böylece, modifiye edilen substratların yığın

özellikleri değişmediğinden dolayı yüzey özellikleri kontrollü bir şekilde modifiye edilebilmektedir.

Uygun parametreler ve işlenecek malzemeler birleştiğinde yüzeyde değiştirilebilecek özelliklerden bazıları, ıslana bilirlilik, yüzey serbest enerjisi, geçirgenlik, sertlik, korozyona direnç ya da istenilen uygulamaya göre biyo uyumluluk olarak sayılabilir [58], [56].

Plazma destekli yüzey modifikasyonunun geleneksel yöntemlere göre en büyük üstünlüğü yüzey özelliği değişirken maddenin yığın yapısına etki etmemesidir. Yüzeyde oluşan, polimer birikmesi, oksitlenme, çapraz bağlanma gibi değişimler yığın yapıda görülmez. Biyomedikal uygulamalarda elastikiyet ve sertlik önemli bir parametre iken, canlı ile temasta bulunan yüzeyin de biyo uyumluluk açısından önemi vardır. Ayrıca yığın yapısından farklı olarak modifikasyona uğraması gerekebilir [49].

Plazma, gaz sıcaklığına bağlı olarak iki başlık altında incelenebilir [55], [56] :

- a) Yüksek sıcaklık plazması; gaz sıcaklığı  $10^6\text{K}$ 'den fazladır. Güneş sisteminde meydana gelen nükleer patlamalar ve kontrollü füzyon reaksiyonları yüksek sıcaklık plazmasına örnek olarak verilebilir.
- b) Düşük sıcaklık plazması; gaz sıcaklığı  $10^6\text{K}$ 'den daha düşüktür. Düşük sıcaklık plazması da iki başlık altında incelenebilir: (i) Sıcak plazma; gaz sıcaklığı  $1000\text{K}$ 'den daha fazladır, normal şartlarda  $10^4\text{K}$  civarındadır. Lamba ışıması, elektrik arkı ve diğer yüksek-güç boşalımları sıcak plazmaya örnek olarak verilebilir; (ii) Soğuk plazma; gaz sıcaklığı  $1000\text{K}$ 'den daha düşüktür, normal şartlarda  $10^2\text{K}$  civarındadır. Düşük basınçta gerçekleşen yük boşalım plazmaları soğuk plazmaya örnektir ( $1\text{eV}=11600\text{K}$ ).

Plazma ortamına konan bir materyal yüzeyinde kopmalar (etching) veya birikme (deposition) oluşur. Plazma koşullarının ayarlanmasıyla bu iki prosesten birinin etkin olması söz konusudur. Bu uygulamalarda plazmada kaplamanın iki önemli avantajı vurgulanmaktadır. Bunlar; kaplamanın çok homojen kalınlıkta ve ince olmasıdır [48], [59].

Plazma polimerizasyonun 'da özellikleri değiştirilecek materyal yüzeyinde oluşan polimerin kimyasal yapısı, birikim miktarı (kalınlığı) ve bunların homojenitesini etkileyen bir çok parametre vardır. Ayrıca, plazma polimerizasyon tekniğinde kullanılan monomer 'lerin kolaylıkla polimerize olabilen çift bağlar gibi reaktif fonksiyonel gruplara sahip olmaları gerekir. Plazma etching ve plazma polimerizasyon arasındaki denge boşalım parametreleriyle kontrol edilebilmektedir [59].

### **2.4.3. Plazma Polimerizasyon Hızını Etkileyen Parametreler**

Plazma polimerizasyonun hızı kullanılan monomerin yapısına bağlıdır [12]. Buna ek olarak, plazma polimerizasyonun hızına etki eden kontrol edilebilen parametreler reaktör geometrisi, monomer akış hızı, basınç, boşalım gücü, plazma süresi, frekans, elektrot açıklığı vb makro parametrelerdir [49]. Bu parametrelerin etkileri aşağıda ayrı ayrı ele alınarak özetlenmiştir.

Monomerin yapısının doymamışlık derecesinin plazma polimerizasyon hızına etkisi çok önemlidir. Benzer reaksiyon koşullarında, üçlü bağ içeren asetilen ikili bağ içeren etilenden daha hızlı polimerize olmaktadır.

Reaktör geometrisi yüzeye biriken polimerin kimyasal yapısı ve kalınlığını, dolayısıyla kaplamanın her iki yönden de homojenitesini etkileyen önemli hususlardan biridir. Plazma polimerizasyonunda değişik şekillerde dizayn edilmiş reaktörler kullanılmaktadır. Reaktörün tübüler, dikdörtgen kesitli veya diğer şekillerde olması monomerin reaktör içinden akış dinamiğini etkiler. Monomerin plazma bölgesinden geçiş hızı (alıkonma süresi) ve şekline (türbülent, laminar, vb) bağlı olarak birikimin kimyasal yapısı ve homojenitesi değişir.

Monomer akış hızının hem birikim miktarını hem de dolaylı olarak biriken polimer kimyasını değiştirdiği rapor edilmektedir. Monomerin akış hızının artmasıyla genellikle birikim doğrusal olarak azalır. Düşük monomer besleme hızlarında, konvektif akım terimlerinin etkisinin azalmasıyla difüzyonun baskın olacağı durumda reaktöre beslenen hemen hemen tüm monomerin polimerize olarak yüzeyde birikmesi mümkün olabilmektedir.

Basınç plazma ortamının yapısını dolayısıyla polimerizasyon hızı ve yüzeyde biriken polimer yapısını etkileyen önemli bir parametredir. Elektriksel boşalım



öncesi basınç ( $P_o$ ) ile elektriksel boşalım sırasında basınç ( $P_g$ ) birbirinden farklıdır.  $P_o$  belirli bir akış miktarında pompalama miktarıyla orantılıdır. Pompalama miktarı arttıkça  $P_o$  miktarı düşer. Gaz moleküllerinin iyonizasyonu ve hızı basınca bağlı olduğundan  $P_g$ 'nin değeri polimer birikim hızını ve polimerik kaplamanın kimyasal yapısını etkiler.

Genellikle boşalım gücü arttıkça polimer birikim miktarı artar. Elektriksel boşalım reaktör içinde tamamen gerçekleştikten sonra ilave edilen voltajın serbest radikallerin üretimini artırmadığı, böyle durumlarda monomerin akış miktarının, polimer birikimini belirleyen parametre olarak önem kazandığı not edilmelidir.

Plazma polimerizasyonunda yatışkın duruma ulaşıldıktan sonra, sürenin artmasıyla yalnızca kaplama kalınlığının arttığı, polimerizasyon hızı ve yüzeyde biriken polimerin yığın yapısında önemli bir değişiklik olmadığı söylenebilir. İç elektrot açıklığı da plazma polimerizasyonun hızını etkileyen önemli bir faktördür. İç elektrot açıklığı daraltıldığında (yüksek elektron yoğunluğu) hız artmaktadır.

Gerek organik ve gerekse organo-metalik bileşiklerin plazma ile polimerleşme mekanizmaları ve polimerleşme kinetikleri oldukça karışıktır. Plazma polimerizasyonunda polimer bir seri kompleks reaksiyonlar sonunda oluşmaktadır. Bu nedenle gerek polimer oluşturma (ve depolanma) hızı gerekse oluşan polimerlerin çeşitli özellikleri elektriksel boşalma ile ilgili çeşitli koşullara bağlıdır. Böylece deney değişkenleri arasında yukarıda detayları açıklandığı üzere;

- 1) Uygulanan elektriksel boşalma ile ilgili diğer değişkenler (boşalmanın gücü, frekansı, monomer basıncı, monomer akış hızı)
- 2) Elektriksel boşalmanın uygulandığı reaksiyon kabı (reaktör) ile ilgili değişkenler (reaktör yatay boru ya da an şeklinde ayrıca monomerin giriş ve elektrotlara göre dağılım geometrisindeki farklılıklar)
- 3) Polimerin üzerine kaplandığı ortamın yeri şekli yapısı vb. gibi bazı unsurlar rol oynamaktadır.

#### **2.4.4. Plazma Polimerizasyonun Mekanizması**

Genel olarak, materyal yüzeyleri ile düşük basınçta meydana gelen yük boşalımı plazmasının reaksiyonları üç başlık altında özetlenmiştir [56];

- 1) Yüzey reaksiyonları: Gaz fazında bulunan türler ile yüzeydeki türler arasındaki reaksiyonlar ve sadece yüzeydeki türler arasındaki reaksiyonlar yüzeyde sırasıyla fonksiyonel gruplar ve çapraz bağlar oluşturmaktadırlar. Bu tür reaksiyonların örnekleri, argon, amonyak, karbonmonoksit, karbondioksit, flor, hidrojen, azot, azot dioksit, oksijen ve suyla gerçekleştirilen plazma işlemlerini içermektedir.
- 2) Plazma polimerizasyonu:  $CH_4$ ,  $C_2H_6$ ,  $C_2F_4$  ve  $C_3F_6$  gibi organik bir monomerin polimerizasyon yoluyla materyal yüzeyinde ince bir film oluşumu plazma polimerizasyon prosesini oluşturur. Plazma polimerizasyonu, gaz fazındaki türler arasındaki reaksiyonları, gaz fazındaki türler ile yüzeydeki türler arasındaki reaksiyonları ve sadece yüzeydeki türler arasındaki reaksiyonları içermektedir. Plazma polimerizasyonun mekanizması, gaz faz ve yüzeyde meydana gelen reaksiyonların her ikisini de içeren polimerizasyon prosesinin karmaşıklığı nedeniyle henüz yeterince anlayamamıştır. Ortamda mevcut olan çeşitli reaktif gruplar (örneğin, iyonlar, serbest radikaller vs.) RF plazma polimerizasyon reaktöründe monomerin polimerizasyonuna katkıda bulunur.
- 3) Temizleme ve yüzeyden kopmalar (etching): Bir materyal yüzeyinde bulunan maddeler yüzeyden uçucu ürünler oluşturulmak koşuluyla kimyasal reaksiyonlar ile fiziksel kopmalar şeklinde uzaklaştırılırlar. Yüzeylerden organik bulaşılmanın uzaklaştırılması için oksijen içeren plazmalar kullanılmaktadır.

Genel olarak plazma, yüksek sıcaklıklar kuvvetli elektriksel veya manyetik alanların etkisinde oluşur. Herhangi bir elektriksel boşalmanın plazma olarak adlandırılabilmesi için öncelikle ortamdaki pozitif ve negatif yük taşıyıcılarının sayıca birbirine eşit olmaları koşulu gereklidir. Plazmada iyonlaşma derecesinin  $10^{-5}$  ile  $10^{-6}$  arasında olduğu öne sürülmektedir. Bu ise plazma ortamında büyük ölçüde elektronların bulunması demektir. Aynı çalışmada, plazmada serbest radikal konsantrasyonunun iyonlara kıyasla,  $10^3$  -  $10^4$  defa daha fazla olduğu belirtilmektedir. Plazmada pozitif ve negatif yük taşıyıcılarının birbirine eşit olmaları koşulu az sayıdaki elektron ve pozitif iyonların sayıca eşit olmaları demektir.

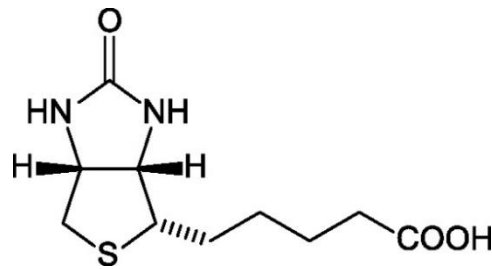
Plazma polimerizasyon, 'plazma-uyarılmış' ve 'plazma-hal' polimerizasyonun toplamını içerir. Monomerlerin, doğrudan polimere eklenmesi ile gerçekleşen polimerizasyona 'plazma-uyarılmış' polimerizasyon adı verilmektedir. Önce atomların birleşmesi ile ara ürünlerin, daha sonra da son ürünün oluşması ile gerçekleşen polimerizasyon mekanizmasına 'plazma hal' polimerizasyon adı verilmektedir. Plazma polimerizasyon her iki polimerizasyonun toplamı şeklinde oluşur.

## 2.5. Avidin biyotin etkileşimi

Avidin-biyotin etkileşimi, birçok protein ve nükleik asit tanımlaması ve saflaştırma yöntemlerinde kullanılmaktadır. İşaretlenmiş biyotinün küçük ve stabil olması, avidin-biyotin etkileşimine imkan veren işaretli moleküllerin diğer moleküllerle çok nadir girişimde bulunmasından dolayı yüksek duyarlılıklı deneylerin geliştirilmesi amacıyla kullanılır.

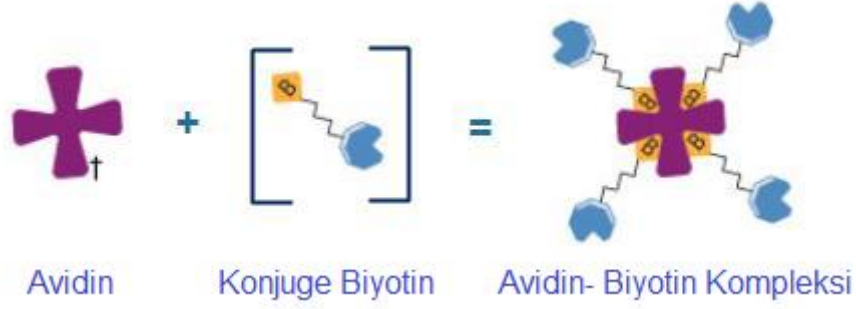
Avidin, kuş ve sürüngen yumurtalarında bulunan antibiyotik etkisi olduğuna inanılan biyotin-bağlayan proteindir. 67000-68000 Dalton ağırlığına sahip tavuk avidini geniş bir pH ve sıcaklık aralığında fonksiyonelliğini ve stabilitesini koruyarak her biri biyotin molekülüne bağlanabilen dört birimden oluşmaktadır.

Biyotin canlı bütün hücrelerde az miktarda bulunan ve sitrik asit çevrimi ve hücre büyümesini de içeren bazı biyolojik prosesler için kritik önemi olan vitamindir. 244,3 Dalton molekül ağırlığına sahip göreceli olarak küçük bir molekül olan biyotin, biyolojik aktivitesinde belirgin bir değişiklik olmadan birçok molekül ve proteinle birleşebilmektedir. Bu özelliğinden dolayı biyolojik analitlerin tayininde ve saflaştırılmasında kullanılan bir araç haline gelmiştir. Bu işlem için öncelikle molekül biyotinle etiketlenir, ardından biyotin-bağlayan immobilize proteinle etkileşime sokularak molekülün saflaştırılması sağlanır.



Şekil 2.7. Biyotinün kimyasal yapısı

Avidin-biyotin kompleksi protein ve ligand arasında bilinen en güçlü ( $K_d=10^{-15}$  M) kovalent olmayan etkileşimdir. Avidin ve biyotin arasındaki bağ çok hızlı gerçekleşir ve bağ oluştuktan sonra pH, sıcaklık, organik çözücüler ve diğer yapısal bozulmaya neden olan ajanlardan etkilenmemektedir. Avidin ve biyotin bu özelliklerinden dolayı bu moleküllerden bir tanesiyle konjuge olan proteinlerin tayininde veya saflaştırmasında oldukça kullanışlıdır.



Şekil 2.8. Avidin-biyotin kompleksi

Biyotine karşı yüksek afinite gösteren avidin molekülü, dört biyotin molekülü bağlama kapasitesine sahiptir (Şekil 2.8). Avidin ve biyotin arasındaki etkileşimin gücü bu bağın kullanıldığı uygulamaları etkileyebilir çünkü avidin-biyotin bağını kırmak için gereken zorlu koşullar hedef proteini denatüre edebilir.

## 2.6. Tez Çalışmasında Kullanılan Yüze Analiz Yöntemleri

### 2.6.1. Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR-ATR)

Fransız matematikçisi Sean Fourier 'in (1786-1830) geliştirdiği ve Fourier transformasyonu (dönüşüm) olarak adlandırılan bir matematiksel işleme göre, bir dalga hareketi basit sinüs veya kosinüs ifadelerin toplamına tanımlanabilir.

İnfrared Absorpsiyon Spektroskopisi, düşük enerjili infrared (IR) bölgedeki ışınların kullanıldığı absorpsiyon spektroskopisidir. Belirli şartlara sahip moleküller IR ışınını absorplayarak molekül içi titreşim enerji düzeyleri arasında geçişler olur.

Moleküllerdeki titreşim frekanslarına uyan infrared fotolarının dalga sayıları 4000 – 650  $\text{cm}^{-1}$  arasında değişir. Bu değerle 15  $\mu\text{m}$  ile 2.5  $\mu\text{m}$  dalga boyu aralığına karşılık gelirler.

Monokromotörler yardımıyla dalga boylarını seçerek ölçümün yapıldığı spektrofotometrelerde herhangi bir anda sadece seçilen dalga boyundaki spektroskopik bilgi toplanır. Ancak bazı spektrofotometrelerde özel yöntemler

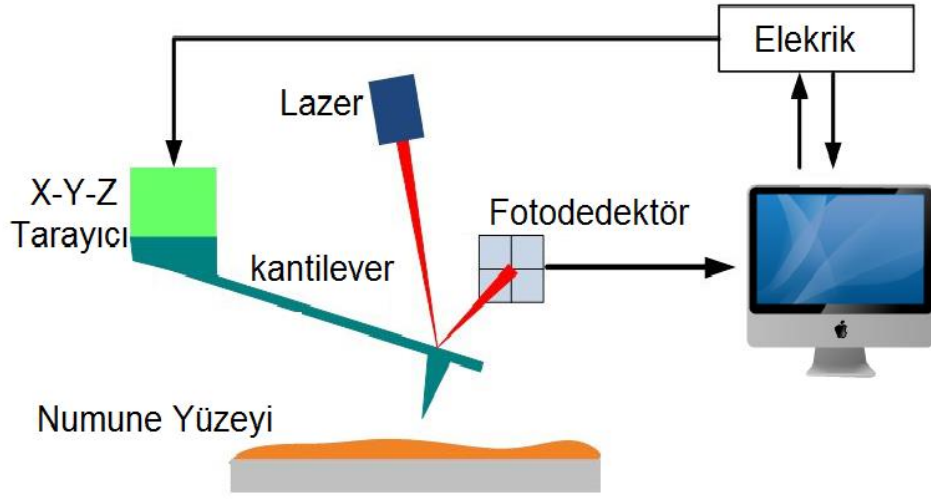
kullanılarak tüm frekanstaki bilgiler aynı anda elde etmek mümkündür. Bu tür spektrofotometrelerde monokromotör bulunmaz. Bu şekilde gerçekleştirilen uygulamalarda spektrum frekans ölçeğinde değil zaman ölçeğinde elde edilir ve bu spektruma interferogram denir. Interferogram, adsorpsiyon spektrumunun Fourier dönüşümüdür. Elde edilen veri bir bilgisayar aracılığı ile ters Fourier dönüşümü alınarak frekans ölçeğindeki bilgilere dönüştürülür. Bu şekilde gerçekleştirilen IR uygulaması Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FTIR) adını alır [60], [61].

### **2.6.2. Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM)**

Atomik kuvvet mikroskobu (AFM) çok yüksek çözünürlüklü bir taramalı kuvvet mikroskobudur. Ulaşılmış çözünürlük birkaç nanometre ölçeğinde olup optik tekniklerden en az 1000 kat fazladır. AFM'nin öncülü olan taramalı tünelleme mikroskobu 1980lerin başında Gerd Binnig ve Heinrich Rohrer IBM Research - Zürih'te geliştirilmiş, araştırmacılara 1986 Nobel Ödülü'nü kazandırmıştır. Sonrasında Binnig, Quate ve Gerber 1986'da ilk atomik kuvvet mikroskobunu geliştirdiler.

Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM), Taramalı Prob Mikroskopisi grubu altında yer alan en tanınmış yüzey inceleme tekniklerinden biridir. AFM, kantilever yayın ucuna yerleştirilmiş örnek yüzeyini taramaya yarayan sivri bir tipten oluşur. Kantilever genellikle eğrilik yarıçapı nanometre mertebesinde olup silikon veya silikon nitrattan yapılmıştır. Tip örneğe yaklaştırıldığında, tip ve örnek arasındaki kuvvetler Hook Yasasına göre kantileverin bükülmesine sebep olur [62], [63].

Sistem temel olarak, birkaç atomdan oluşan bir iğnenin piezoelektrik kontrol elemanları aracılığı ile yüzeye çok yakın olarak, incelenen yüzey üzerinde üç boyutta hareket ettirilmesine dayanır. İğnenin konumundaki bozulmalar bir lazer ışığı tarafından algılatılarak büyütülür. Böylece ince tipin yüzeydeki itme ve çekme kuvvetleri ile şeklinin bozulması ile yüzey topografyası çıkarılmış olur. AFM yardımıyla yüzey topografyası nanometre seviyesinde belirlenir [64].



Şekil 2.9. Atomik Kuvvet Mikroskopunun Şematik gösterimi

### 3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışmanın temel amacı, QTF'in sıvı içinde kısa devre yapmasını engelleyerek, bu sistemin kütle hassas biyosensörlerde kullanılmasının önünü açacak yeni bir platformun oluşturulmasıdır. QTF'in kısa devre yapmasını engellemek üzere kuvars ayar çatalın yüzeyi plazma polimerizasyon (PlzP) yöntemiyle uygun bir monomer kullanılarak yalıtkan hale getirilecek ve bu yapı biyosensör araştırmalarında kullanılabilir.

Buradaki öncelikli amaç yüksek kalite faktörüne sahip olan QTF' in ölçüm hassasiyetini en az etkileyecek şekilde ve frekansını fazla düşürmeden suya karşı izolasyonunu sağlayacak kaplamayı gerçekleştirmektir. Bunu takiben biyomolekül immobilize edebilecek bir yapıya kavuşturulacaktır.

Sunulan çalışmayı 5 ana başlık altında özetlemek mümkündür. Bu aşamalar sırasıyla;

1. Plazma polimerizasyon yöntemiyle QTF bakır yüzeylerinin yalıtkan hale getirilmesi
2. Plazma polimerizasyon yöntemiyle yüzeyde biyolojik ajan immobilize etmek amacıyla fonksiyonel grup oluşturulması
3. Yüzeydeki fonksiyonel grupların biyomolekül bağlamasına uygun olacak şekilde kimyasal aktivasyonunun gerçekleştirilmesi
4. Tanıyıcı tabakanın oluşturulması
5. Biyosensörün sıvı içerisinde hedef analit ile etkileştirilmesi ve frekansındaki değişimin ölçümü yapılarak performansının belirlenmesi

Yukarıda vurgulanan "kütle hassas biyosensörlerde kullanmak amacıyla hazırlanan QTF platformun" performansının test edilmesi doğrultusunda, sıvı avidin çözeltisi içinde biyotin ile etkileşimi model olarak seçilmiştir.

Plazma polimerizasyon yöntemi ile izolasyon için kullanılabilir uygun bir monomer ve bu monomeri işlem sonunda QTF yüzeyinde yalıtkan polimere dönüştürecek plazma parametreleri (boşalım gücü ve süresi) seçilmiştir.

Plazma polimerizasyon yöntemi ile kaplanan yüzeylere biyoajan immobilize etmek amacıyla yüzeyde amin grubu içeren fonksiyonel gruplar plazma polimerizasyon

yöntemiyle oluşturulmuş ve bu işlemi takiben %2,5 (v/v) gluteraldehit çözeltisi kullanılarak kimyasal aktivasyon gerçekleştirilmiştir. Biyosensörün tanıyıcı tabakasının oluşturulması model tanıma ajanı olarak seçilen ve avidin ile bağ yapma özelliği dolayısı ile birçok biyosensör çalışmasında model olarak kullanılan biyotin yüzeyde immobilizasyonu ile tamamlanmıştır. Oluşturulan tanıyıcı tabaka ile sıvı içerisinde biyotin-avidin bağlanmasının yarattığı kütle değişimi frekans değerlerindeki sapmanın ölçülmesiyle gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen biyosensör, aynı yöntemlerin hekzan kaplama içermeyen QTF'lerin yüzeyine uygulanarak hazırlanan biyosensörün performansı ile karşılaştırılmıştır.

Bütün bu işlemler sırasında her basamakta Quartz Tuning Fork (QTF) frekans ölçüm sisteminden yararlanarak kuvars kristal yüzeylerine biriken kütle miktarı frekans değişimleriyle ölçülmüştür. Kristal yüzeylerinde yapılan modifikasyon işlemlerinden sonra yüzey görsel ve kimyasal olarak AFM ve FTIR-ATR ile karakterize edilmiştir.

### **3.1. Materyal**

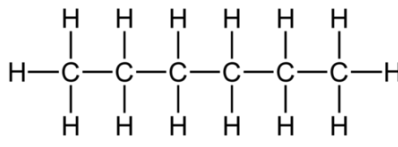
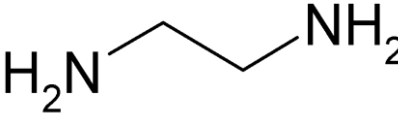
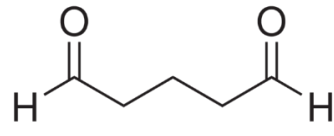
#### **3.1.1. Kimyasal Malzemeler**

Sunulan tez çalışmasında, kuvars kristal yüzeylerine uygulanan hekzan, Merck (Almanya) firmasından temin edilmiştir. Yüzeyde fonksiyonel grup oluşturmak için uygulanan plazma polimerizasyon işleminde Fluka firmasından satın alınan Ethylenediamine (Ethylenediamine,  $M_w = 57.09 \text{ g mol}^{-1}$ ) kullanılmıştır. Yüzeylerin kimyasal aktivasyonu gluteraldehit çözeltisi (25%,  $M_w = 100,12 \text{ g mol}^{-1}$ , AppliChem, Almanya) ile yapılmıştır. Sigma (Almanya) firmasından satın alınan biyotin ve avidinin birbirleriyle olan etkileşiminden yararlanarak sensör denemeleri gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarda tampon çözeltisi olarak NaCl içeren fosfat tamponu tablet halde temin edilmiş ve saf su içinde eriterek kullanılmıştır (Sigma, Almanya). Tez çalışmasında kullanılan bütün kimyasallar analitik standartlardadır.

Bu tez çalışmasında kullanılan kimyasalların açık ve kapalı molekül formülleri Çizelge 3.1 de verilmiştir.



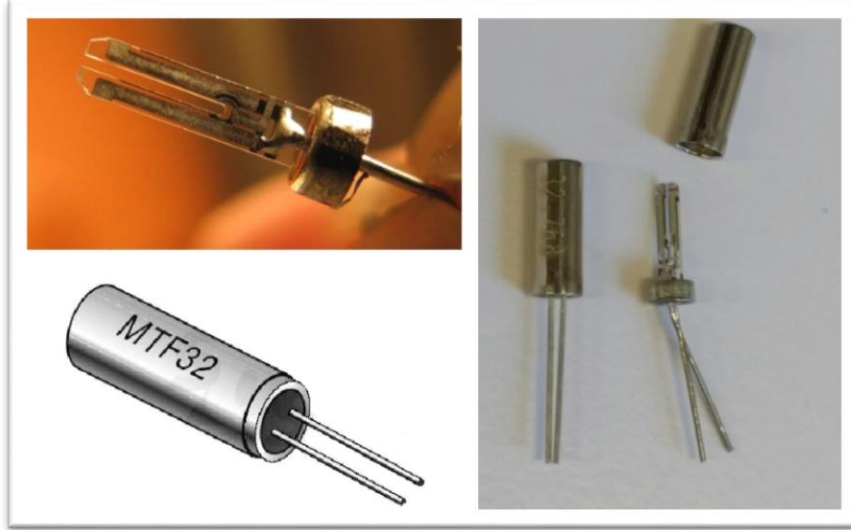
Çizelge 3.1. Tez çalışmasında kullanılan kimyasalların açık ve kapalı molekül formülleri

Kimyasal	Kapalı Molekül Formülü	Açık Molekül Formülü
Hekzan	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$	
Ethylenediamine (EDA)	$\text{C}_2\text{H}_4(\text{NH}_2)_2$	
Gluteraldehit	$\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$	

## 3.2. METOD

### 3.2.1. Piezoelektrik Kuvars Kristal Malzemeler

Tez çalışmasında hazırlanan kütle hassas sensör platformu için çevirici olarak, yüksek kalite faktörü olan, kararlı yapısı, düşük maliyeti, yüksek hassasiyeti ve yüksek sıcaklıklarda piezoelektrik özelliklerini kaybetmemeleri nedeniyle öne çıkan, kuvars ayar çatalları kullanılmıştır. Piyasadan temin edilen Saronix-ecera marka QTF'ler bakır elektrotlu, rezonans frekansı 32768 Hz ve AT kesme tipindeki kristaller tercih edilmiştir.



Şekil 3.13.2. Kuvars Ayar Çatal 'in görüntüsü

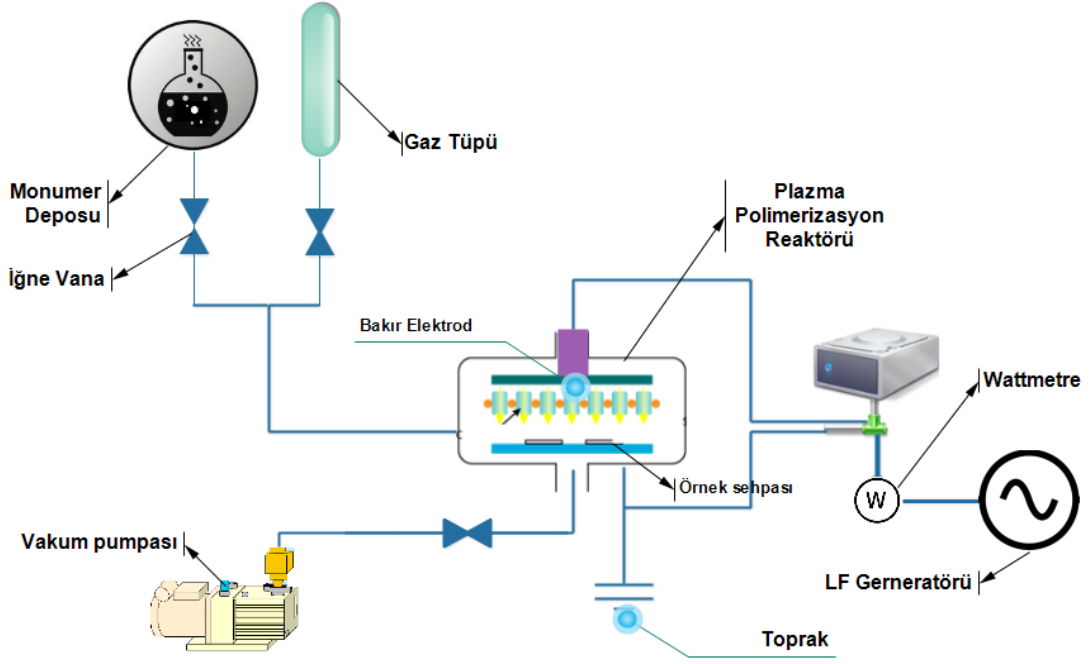
Çizelge 3.2. Kuvars Ayar Çatalı (QTF) özellikleri

Frekans	$F_0$	32.768 kHz
Frekans toleransı 25°C		±20ppm
Direnç	R	27.1 K $\Omega$
Kalite Faktörü (Vakum içinde)	Q	61730
Kalite Faktörü (Vakum Dışında)		10000

### 3.2.2. Plazma Polimerizasyon Yöntemi

Kuvars ayar çatalı (QTF) temelli bir “kütle hassas biyosensör platformu’nun hazırlanma için plazma polimerizasyon yöntemi ile QTF’in yüzeyindeki elektrotların nanometre (nm) mertebesinde izolasyon tabakası ile kaplanması amaçlanmıştır.

Bu işlemi takiben biyomolekül bağlayabilmesi için yüzeylerde yine plazma polimerizasyon yöntemiyle amin grupları oluşturulmuştur. Bu amaçla, örnek yüzeyler düşük frekanslı (40 kHz) plazma polimerizasyon sistemi (Pico, Diener Electronics, Almanya) kullanılarak amin grubu içeren uygun bir monomer varlığında yük boşalımına tabi tutulmuştur. PlzP sisteminin teknik özellikleri Çizelge 3.3.’de, şematik görünümü Şekil 3.2.’de verilmiştir.



Şekil 3.3. Plazma polimerizasyon sisteminin şematik görüntüsü

Çizelge 3.3. Plazma Polimerizasyon sisteminin teknik özellikleri

Kumanda dolabı	G 550 mm, Y 330 mm, D 500 mm
Hücre	Ø 100 mm, L 270 mm
Hücre hacmi	4-8 litre
Gaz girişi	İğneli valf üzerinden tek gaz kanalı
Alternatör	40 kHz, kademesiz
Vakum pompası	Leybold, Trivac D2,5B tipi (2,5 m <sup>3</sup> /h)
Kumanda	Yarı otomatik, zamanlayıcı üzerinden işlem süresi

### 3.2.3. Plazma Sistemi Hazırlanması ve Parametrelerinin Belirlenmesi

Kütle hassas biyosensör platformunun tanıyıcı tabakasını oluşturmak amacıyla öncelikle satın alınan QTF'lerin yüzeyi hazırlanmıştır. Bunun için içinde bulunduğu vakumdan çıkarılarak önce saf su ardından etanol içinde yıkanarak temiz bir ortamda kuruması beklenmiştir.

Plazma sisteminin hazır duruma getirmek amacıyla daha önceden temizlik amacı ile 100 Watt boşalım gücünde ve 30 dakika işlem süresinde etanol plazması uygulanmış, ardından 100 Watt boşalım gücünde ve 30 dakika işlem süresinde

oksijen plazması uygulanmıştır. Plazma polimerizasyon yönteminde her kimyasal veya monomer kullanıldıktan sonra başka bir kimyasal veya monomere geçildiğinde plazma sistemini arındırmak için bu işlem uygulanmıştır.

#### Plazma Polimerizasyon Prosedürü

- Örnekler plazma sisteminde bakır elektrotların ortasında olacak şekilde örnek sehpası üzerine yerleştirilir ve reaktörün kapağı sızdırmazlık sağlanacak şekilde kapatılır.
- Vakum pompası çalıştırılır ve reaktör içerisindeki basınç düşürülür.
- Reaktör içerisinde kalan oksijen ve azot atomları gibi reaktiflerin süpürülmesi için sistemden 10 dakika inert argon gazı geçirilir.
- Homojen plazmanın sağlanabilmesi için gerekli olan basınç tekrar sağlanır.
- Reaktör içerisine 10 dakika boyunca monomer ile beslenir.
- İstenilen güç ve süre ayarlanarak jeneratör çalıştırılır ve boşalım sağlanır.
- İşlem sonrasında jeneratör kapatılır ve reaktör içerisindeki polimer yüzeyine tutunabilecek monomer ve radikal kalıntılarını uzaklaştırmak için sistemden 5 dakika argon gazı geçirilir.
- Son olarak örnekler 10 dakika vakum altında tutulur ve cihazdan alınarak analizler için kapalı kaplarda saklanır [65].

#### **3.2.4. QTF Bakır Elektrotların PlzP Yöntemi ile Yalıtkan Hale Getirilmesi ve Direnç Ölçümleri**

Kuars ayar çatallarının (QTF) bakır elektrotlarının yalıtkan hale getirilmesi için, yüzeyleri plazma polimerizasyon tekniği kullanılarak monomer ile kaplanmıştır.

Bu çalışmada kaplamada kullanmak istediğimiz monomerin, yalıtkan özelliğinin yanı sıra, suda çözünmeyen ve kararlı bir yapıda olması diğer aranan özellikler arasında yer almaktadır. Bu konuda yaptığımız ön çalışmalar sonucunda hekzan'a karar verilerek hazırlanan yüzeylerde istenen sonuç elde edilmiştir.

Hekzan formülü ( $C_6H_{14}$ ), düz zincirli bir alkandır. Laboratuvarlarda yağ çözücü olarak, ayrıca sanayide organik çözücü olarak kullanılmaktadır.

Alkanlar yapısında bulunan hidrojen ve karbon atomları birbirilerine kovalent bağlarıyla bağlıdırlar. Bundan dolayı alkanlar polarlıkları neredeyse yok denilecek kadar az olan moleküllerdir. Su polarlaşmış bir molekül olduğundan alkanlar suda çözünmezler.

Düşük basınç-düşük sıcaklık, LF (40 kHz) plazma sistemi ile yaptığımız ön denemelerde farklı PlzP parametreleri kullanarak 30, 65, 95 W boşalım gücü ve 5-10-30 dakika, uygulama süresinde QTF bakır yüzeyleri kaplanmıştır. Oluşturulan hekzan kaplamasından sonra QTF'lerin dirençleri, (UNI-TREND GROUP LIMITED) marka UNI-T 70A model bir multimetre ile 1% NaCl çözeltisi içinde ölçülmüş ve uygun parametreler belirlenmiştir.



Şekil 3.4. UNI-TREND GROUP LIMITED marka UNI-T 70A model multimetrenin görüntüsü

### 3.2.5. Plazma Polimerizasyon Yöntemi ile Yüzeyde Amin Grubu Oluşturulması

Bu aşama ve bundan sonraki aşamalarda sadece QTF'in ucundaki kuvars yüzeyinin kaplanması gerekmektedir, çünkü her tarafı kaplandığı zaman kristalin titreşimlerini engelleyerek piezoelektrik özelliğini kaybetmesine neden olmaktadır. Ayrıca, fazla yük birikimi nedeniyle frekansı ve bunu takiben kalite faktörünü olumsuz yönde etkileyerek istediğimiz sonuca ulaşmamızı engellemektedir.

Polimer kaplı kuvars ayar çatal yüzeylerinde amin grubu oluşturmak amacıyla etilendiamin (EDA) monomeri ile 50, 30, 22 Watt boşalım güçlerinde ve 1, 5, 10 dakika işlem sürelerinde plazma polimerizasyon uygulanmıştır. Bunun için örnekler hazneye yerleştirildikten sonra reaktör kapağı kapatılıp 10 dk  $1.2^{10^{-3}}$  mbar vakum uygulanmıştır. Reaktör içerisindeki basınç düşene kadar beklendikten sonra sisteme bağlanan monomer, 10 dakika boyunca reaktör beslenerek reaktör içerisindeki tamamen monomer buharı ile dolması sağlanmıştır. Süre sonunda jeneratör devreye sokularak belirlenen parametrelerde yüzey modifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Sistemden inert gaz olarak 5 dakika boyunca argon gazı geçirilip örnekler vakum ortamında 10 dakika daha bekletildikten sonra reaktörden çıkartılmıştır. Kütle hassas biyosensör platformu hazırlamak amacıyla performansındaki değişimi karşılaştırmak için, standart işlem görmemiş bir grup QTF bu kademedan itibaren paralel olarak, tüm çalışmalarda modifiye edilmiştir.



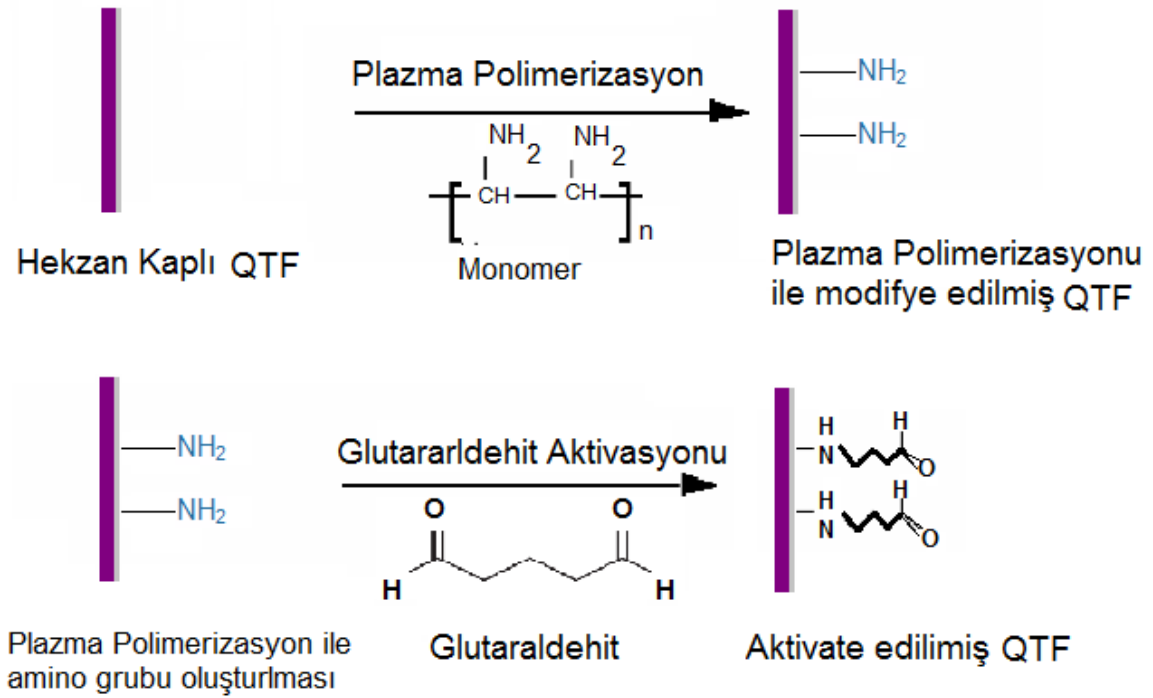
Şekil 3.5. Plazma polimerizasyon sistemin görüntüsü

### 3.2.6. Yüzeyin Kimyasal Aktivasyonu

Kuvars ayar çatallarının, kristal yüzeyinde oluşturulan amin gruplarını, biyolojik ajanın (antibadi, DNA segmenti, aptamer vs.) bağlanabileceği bir fonksiyonellik kazandırmak amacı ile kimyasal aktivasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla önceki çalışmalarımız göz önünde bulundurularak pH 7.4 fosfat tamponu

(Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O/KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) içerisinde hazırlanmış % 2.5 (v/v)' lik gluteraldehit çözeltisi kullanılmıştır [22], [66]-[67]. Serbest amin uçları ile gluteraldehit 'in aldehit uçları reaksiyona girerek çift baz reaksiyonu ile bağlanmaktadır [68].

Kimyasal aktivasyon sürekli ve kesikli olmak üzere iki yöntemle yapılabilmektedir. Kesikli yöntemde; %2.5 (v/v) gluteraldehit çözeltisi QTF'in kuvars yüzeyine damlatılır, 2 saat beletildikten sonra deiyonize su ve tampon çözeltiyle 1 dakika boyunca yıkanır. Sürekli yöntemde ise; akış ortamında dengeye gelen sisteme %2.5 (v/v) gluteraldehit çözeltisi aynı akış hızında ortama enjekte edilir ve ardından 2 saat süreyle akış hücresinden tampon çözelti geçirilir. Bu tez kapsamında kimyasal aktivasyon için kesikli yöntem seçilmiştir.



Şekil 3.6. Kimyasal aktivasyon tepkime aşamaları

### 3.2.7. Tanıyıcı Tabakanın Oluşturulması

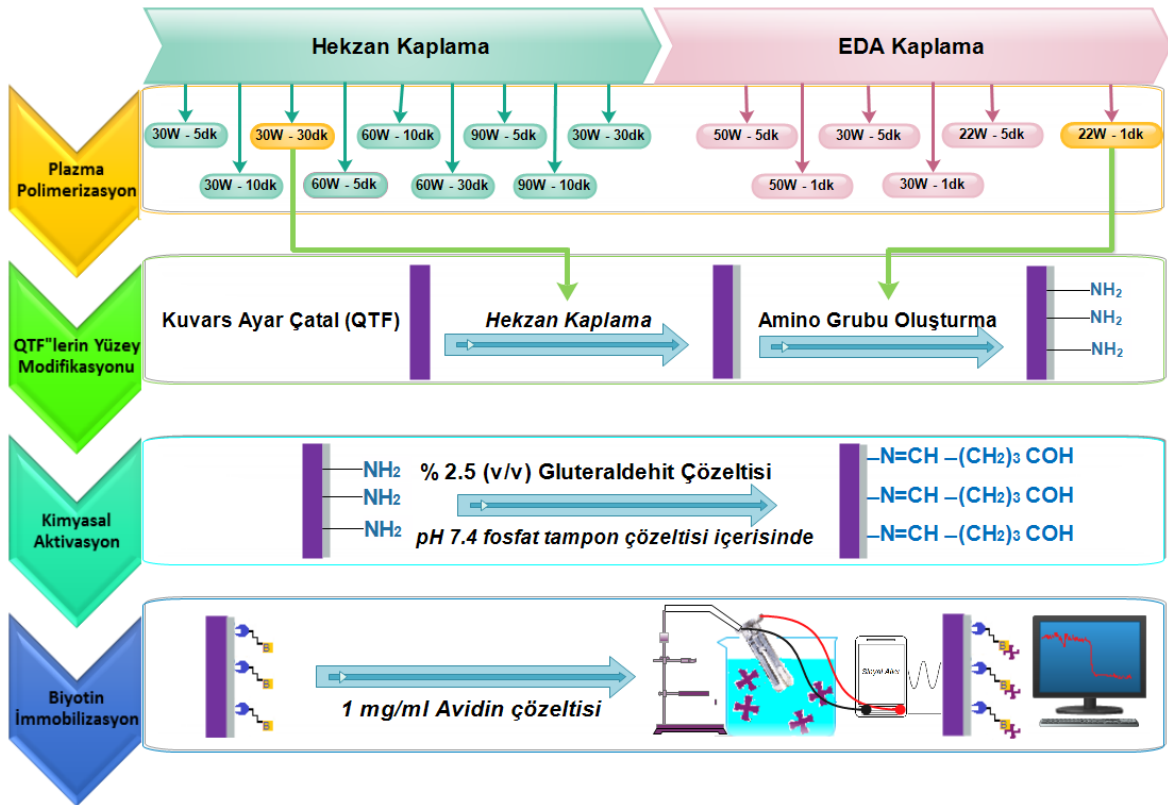
Yüzeyi kimyasal aktivasyonla biyolojik ajan tutuklamaya hazır hale getirilen kuvars kristallerin üzerine model olarak seçilen biyotin immobilize edilmiştir. Bu nedenle, pH 7.4 tampon çözelti ile 0.1-1 mg/ml' lik hazırlanan biyotin çözeltisinden iki ayrı grup QTF (hekzan kaplı ve kaplı olmayan) 40 µl damlatılmış ve 37 °C'de bir gece su banyosunda bekletilmiştir. Tampon ve saf suyla yıkanan yüzeyler kuruduktan sonra frekans ölçümleri alınıp sensör denemeleri için hazır hale getirilmiştir.

### 3.2.8. Biyosensör Performansının Belirlenmesi

Kütle hassas biyosensörün platformunu oluşturan QTF'ler 1mg/ml avidin çözeltisi içerisinde 1 saat bekletilmiş ve çözelti içerisinde frekans değerleri ölçülmüştür.

Hekzan kaplama ile QTF platformun kütle hassas biyosensörlerde kullanılabilmesine yönelik olan bu çalışmada, hekzan kaplamanın etkisini karşılaştırmak amacı ile hekzan kaplama içermeyen QTF yüzeyler, aynı parametrelerde plazma polimerizasyon, kimyasal aktivasyon, tanıyıcı tabakanın oluşturulması ve avidin etkileşimi aşamalarından geçirilerek biyosensör hazırlanmış ve frekans değerleri ölçülmüştür.

Sunulan tezin temel amacına yönelik olarak, QTF'in sıvı içinde kısa devre yapmadan kütle hassas biyosensörlerde kullanılabilmesi amacıyla yapılan çalışmaların basamakları şematik olarak Şekil 3.6.'de verilmiştir.



Şekil 3.7. QTF kütle hassas biyosensörün yapılan çalışmaların basamaklarının şematik görüntüsü



### 3.2.9. Modifiye Edilmiş Kuvars Kristallerin Karakterizasyonu

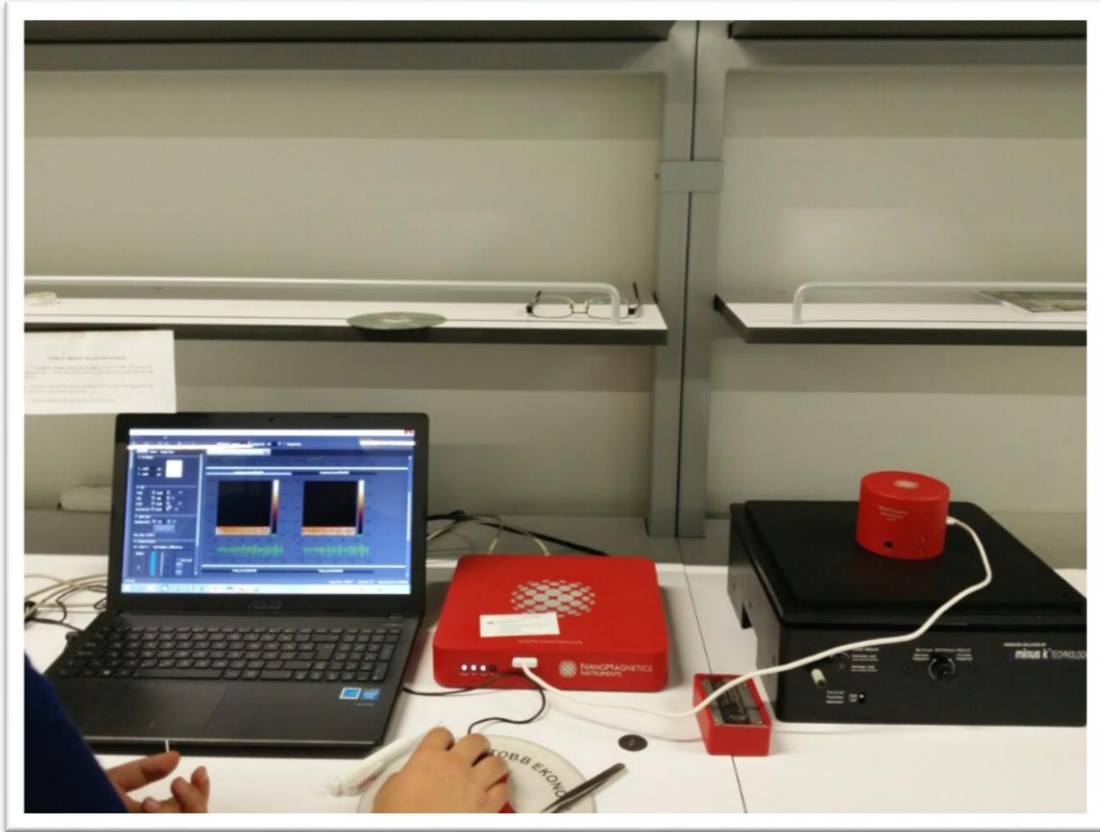
#### 3.2.9.1. FTIR-ATR Spektroskopisi

Yüzeylerin kimyasal yapıları Fourier transform infrared spektroskopisi (Perkin Elmer Spektrum 100 FTIR, ABD) kullanılmıştır.

Kuvars spektrumunun modifiye yüzeylerde oluşan kimyasal gruplara ait bantları maskeleyesi nedeniyle spektrumlar; boş kuvars kristal yüzeyinin, PlzP modifiye edilmiş, biyotin tutuklanmış kuvars kristal yüzeylerinden çıkartılması ile elde edilmiştir. Bu işlem cihaza ait yazılım kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

#### 3.2.9.2. AFM Görüntülemesi

QTF 1erin, hekzan kaplama sonrası, yüzeylere biyotin tutuklandıktan sonra yüzeyin fiziksel karakterizasyonu Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) ezAFM CONTROLLER cihazı kullanılarak elde edilmiştir.



Şekil 3.7. Kullanılan AFM sistemin görüntüsü

### 3.2.9.3. Frekans Ölçümleri

QTF'lerin hekzan kaplama, fonksiyonel grup oluşturma, kimyasal aktivasyon, tanıyıcı tabaka oluşturma aşamalarından sonra frekans ölçümleri alınarak kaydedilmiştir. Frekans ölçümleri Asensis PnP AFM ile ölçülmüştür. Çalışmada cihazın rezonans ekranı kullanılmıştır.

Çizelge 3.4. PnP AFM özellikleri

<b>PnP AFM</b>	
Tarama alanı	16umX16um
Z-range	5 um
Z çözünürlüğü	1 nm
XY çözünürlüğü	3.9 nm

<b>Ekranın çalışma parametreleri</b>	
Tarama aralığı	0-3 MHz
Arttırma çözünürlüğü	0.01 Hz
Genlik aralığı	0-4095 mV

#### 4. DENEYSEL SONUÇLAR VE TARTIŞMA

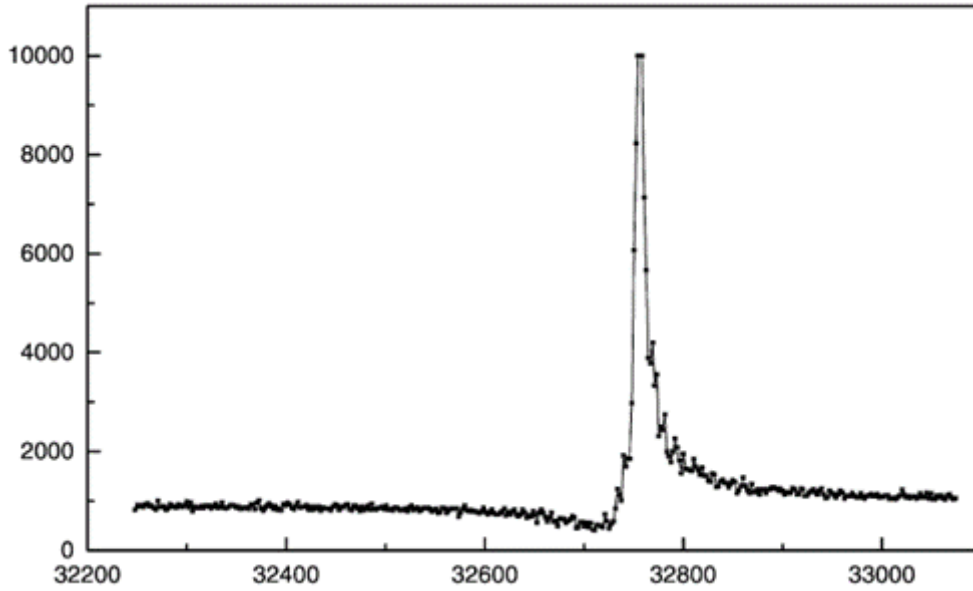
Bu çalışmanın amacı; kuvars ayar çatalı (QTF) temelli bir kütle hassas biyosensör platformu'nun hazırlanmasıdır. Daha önceki bölümlerde de detaylı olarak vurgulandığı gibi, kristalinin yüzeyinde bakır elektrotlar içeren ve sıvı içerisinde kısa devre yapma olasılığı olan QTF yapıların iletken sıvı veya çözelti bulunan ortamlarda yalıtkanlaştırılmasının gerekliliği, QTF'in biyosensör için çevirici olarak kullanılmasında en önemli problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu hedefin gerçekleştirilebilmesi için piyasadan temin edilen QTF'lerin yüzeyindeki elektrotlar plazma polimerizasyon (PlzP) yöntemi ile monomer olarak hekzan kullanılarak nanometre (nm) mertebesinde bir film oluşturulması sonucu yalıtkan hale getirilmiştir. Bu yüzeylere, tanıyıcı tabakanın oluşturulabilmesi için yine plazma polimerizasyon yöntemi kullanarak fonksiyonel gruplar bağlanmış, ardından bu grupların kimyasal aktivasyonu yapılmıştır. Bu aktivasyon işlemi sonrasında yüzeye tanıyıcı biyoajan olarak biyotin bağlanması gerçekleştirilerek "avidin için biyosensör" hazır hale getirilmiştir. Bu biyosensör, farklı avidin derişimlerdeki çözeltilerle etkileştirilerek biyosensörün sıvı içinde frekans performansı ölçülmüş ve kalibrasyon eğrisi hazırlanmıştır. Plazma polimerizasyonu ve sonrasındaki aşamalar hekzan kaplama içermeyen yüzeyler için tekrarlanarak, performansları karşılaştırılmıştır. Kristal yüzey üzerinde yapılan modifikasyon işlemleri sonucu elde edilen değişimlerin izlenmesi amacıyla kuvars ayar çatal sistemlerinde frekans ölçümleri ile yüzeydeki kütle değişimleri saptanmıştır. Frekans ölçümlerine paralel olarak yüzeyin fiziksel ve kimyasal yapısını tanımlamak üzere çeşitli karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır.

Materyal ve metot bölümünde beş basamak ile özetlenen bu tez çalışmasında, yüzey modifikasyon basamaklarında alınan sonuçlar ile hazırlanan kütle hassas biyosensör platformun performansı bu bölümde sunulmuştur.

#### 4.1. Plazma Polimerizasyon Parametrelerinin Optimizasyonu ve QTF Yüzeyinin İzolasyonu

Kütle hassas biyosensör uygulamalarında, genellikle çevirici olarak piezoelektrik kuvars kristaller kullanılmaktadır. Çalışmamızda 32768 Hz' lik, 8.0×3.0 mm çapında bakır elektrotlu AT-kesim QTF kullanılmıştır.

Frekans ölçümleri Asensis PnP AFM ile ölçülmüştür. Çalışmada cihazın rezonans ekranı kullanılmıştır. Herhangi bir işlem görmemiş, standart bir QTF'in normalde göstermesi gereken rezonans frekansı Şekil 4.1'de verilmiştir [39]. Geliştirme aşamasında olan bir yazılım sistemine sahip bu cihazın en yüksek genlik değeri 5 mV olması nedeniyle QTF'in genlik göstergesi ölçüm aralığının dışında kalmaktadır.



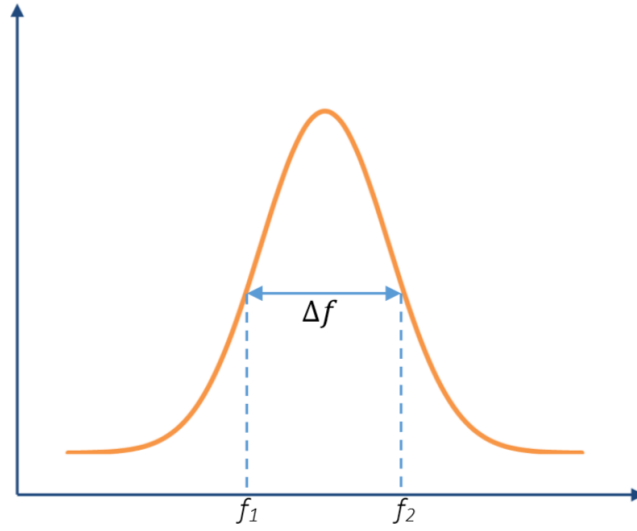
Şekil 4.1. Standart QTF rezonans frekans görüntüsü

Geliştirilmekte olan yazılımın verdiği değerler üzerinden kalite faktörü hesaplanamamaktadır ancak gerektiğinde bu değer Q faktörü denklemi yorumlanarak değerlendirilebilir.

Kalite faktörü, aşağıdaki eşitlik ile açıklanabilir. Bu eşitlikte:

$f_0$ : Kristalin rezonans frekansı (Hz)

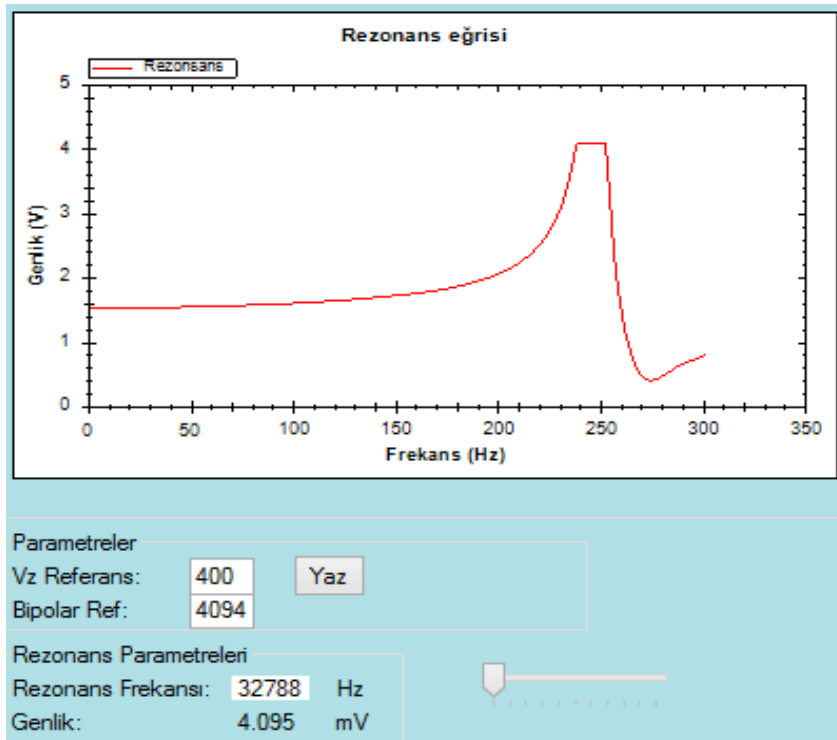
$\Delta f$ : Ölçülen frekans kayması (iki yarı güç noktası arasındaki frekans farkı)



$Q = \frac{f_0}{\Delta f}$  ; Eşitlikte anlaşıldığı gibi  $\Delta f$  arttıkça kalite faktörü düşmektedir.

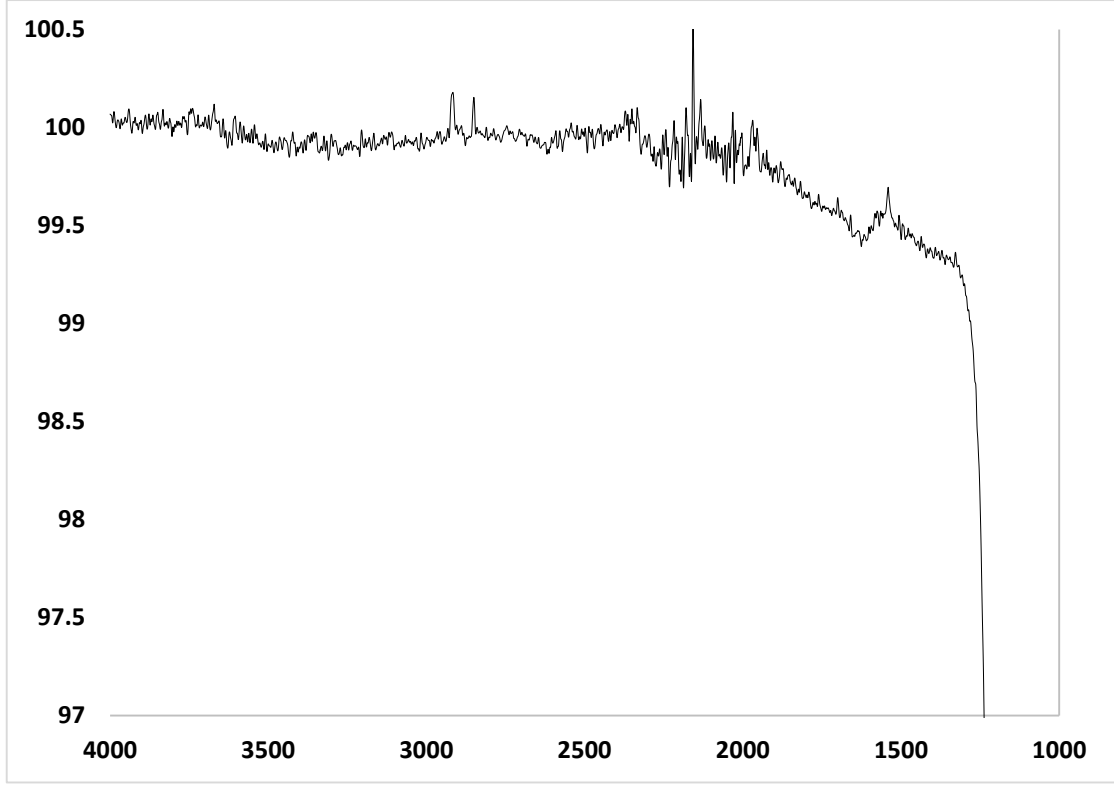
Bu çalışmada QTF üzerindeki kütle birikimi, bu birikim sonucu oluşan frekans değişimleri üzerinden değerlendirilecektir.

QTF'lerin izolasyon amaçlı yüzey işlemlerinden yani PlzP-(hekzan) filmi ile kaplamadan önceki frekansı  $F_0=32788$  Hz (Şekil 4.2) olarak kaydedilmiş ve direnci  $R=27.1$  K $\Omega$  olarak ölçülmüştür.



Şekil 4.2. İşlem görmemiş QTF'in frekans görüntüsü

QTF yüzeyleri plazma işlemi öncesi etanol ve saf su ile temizlenmiştir. Bu yüzeylerin FTIR-ATR spektrumu Şekil 4.3’de verilmiştir. Kuvars kristalde var olan silisyum oksite ( $\text{SiO}_2$ ) ait gerilim pikleri  $900\text{-}750\text{ cm}^{-1}$  aralıklarında olduklarından dolayı eksen dışı kalarak gözlenmemiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. İşlem görmemiş kristal yüzeyin FTIR-ATR spektrumu

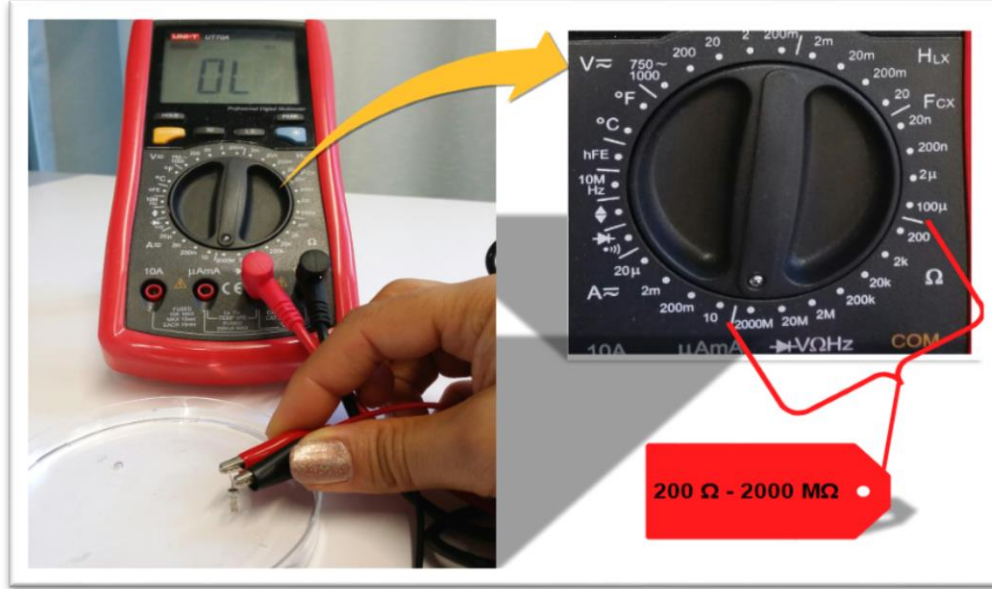
QTF’in plazma polimerizasyon yöntemi ile farklı parametrelerde yapılan kaplamalar sonrasında elde edilen direnç sonuçları değerlendirilmiştir.

Bu değerlendirme sonucunda, en yüksek direnç, 30W ve 30 dk hekzan monomerinin kullanılarak işlem gören yüzeyde gözlenmiş ve bu parametreler bundan sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere seçilmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. PlzP yöntemiyle hekzan kaplamada denenmiş parametreler

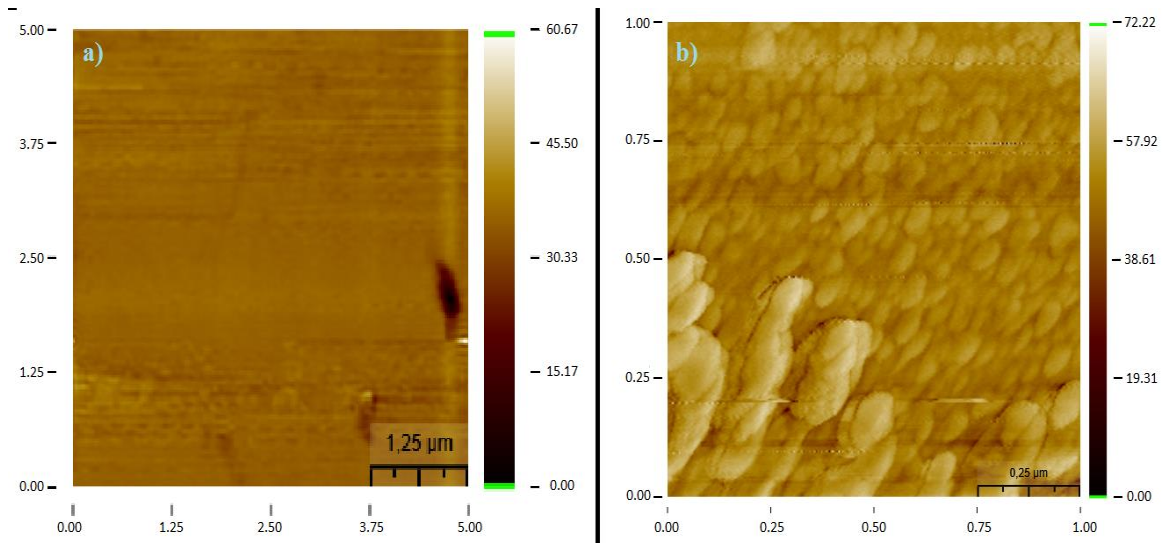
Güç	Zaman	5	10	30
	30		30K $\Omega$ - 1M $\Omega$	30K $\Omega$ - 10M $\Omega$
60		1K $\Omega$ - 20K $\Omega$	1K $\Omega$ - 50K $\Omega$	1K $\Omega$ - 30M $\Omega$
90		1K $\Omega$ - 10K $\Omega$	1K $\Omega$ - 20K $\Omega$	1K $\Omega$ - 25K $\Omega$

Kaplama sonucunda QTF'in başlangıçtaki direnci  $R=27.1 \text{ K}\Omega$  olarak ölçülürken, işlem sonrası direnç  $2000 \text{ M}\Omega$  olacak şekilde değişmiştir ve yüzeyin yalıtkan hale geldiği görülmüştür (Şekil 4.4.).



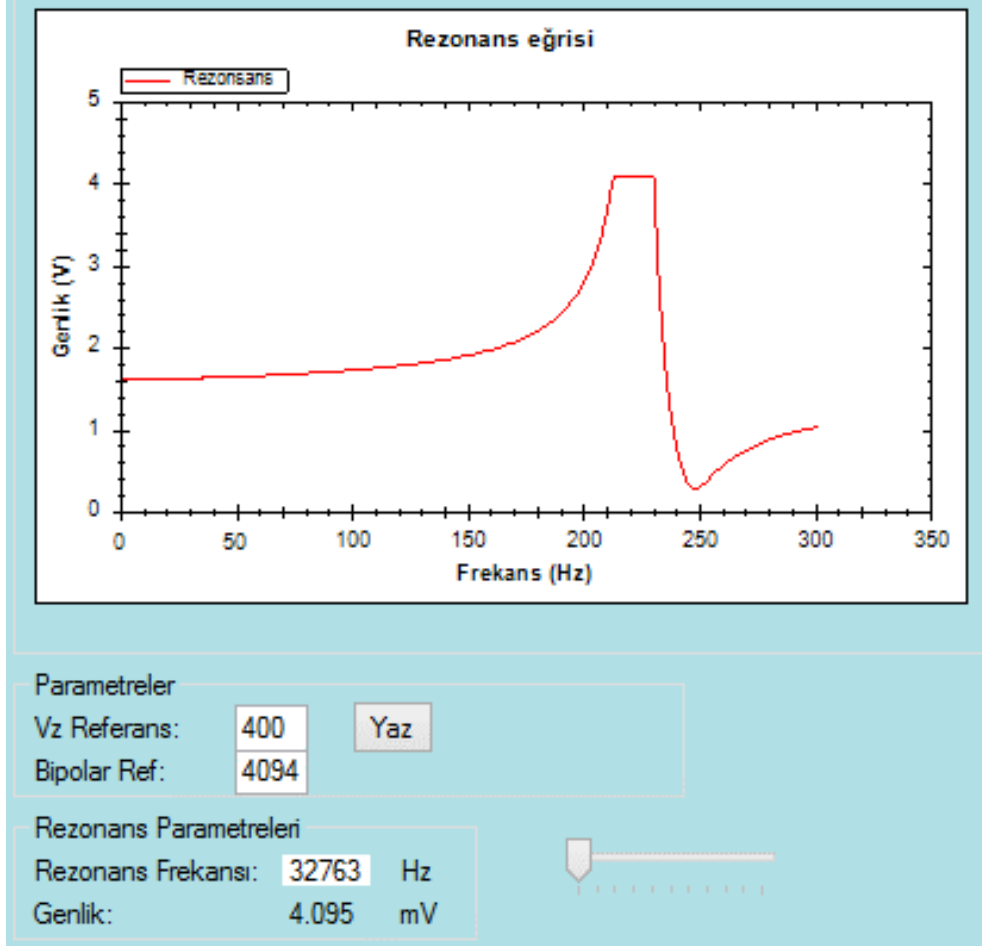
Şekil 4.4. UNI-T 70A model multimetre ile yüzey direncinin ölçümü

Plazma polimerizasyon ile hekzan kaplama sonrasında yüzeyler AFM görüntüleri ile karakterize edilmiştir. AFM görüntüsünde de görüldüğü üzere homojen ve ince bir kaplama elde edilmiştir. (Şekil 4.5.). Ayrıca hekzan kaplama öncesi yüzey AFM ile taranmış ve ilgili görselde hekzan kaplı olan ve olmayan yüzeylerin karşılaştırması yapılmıştır.



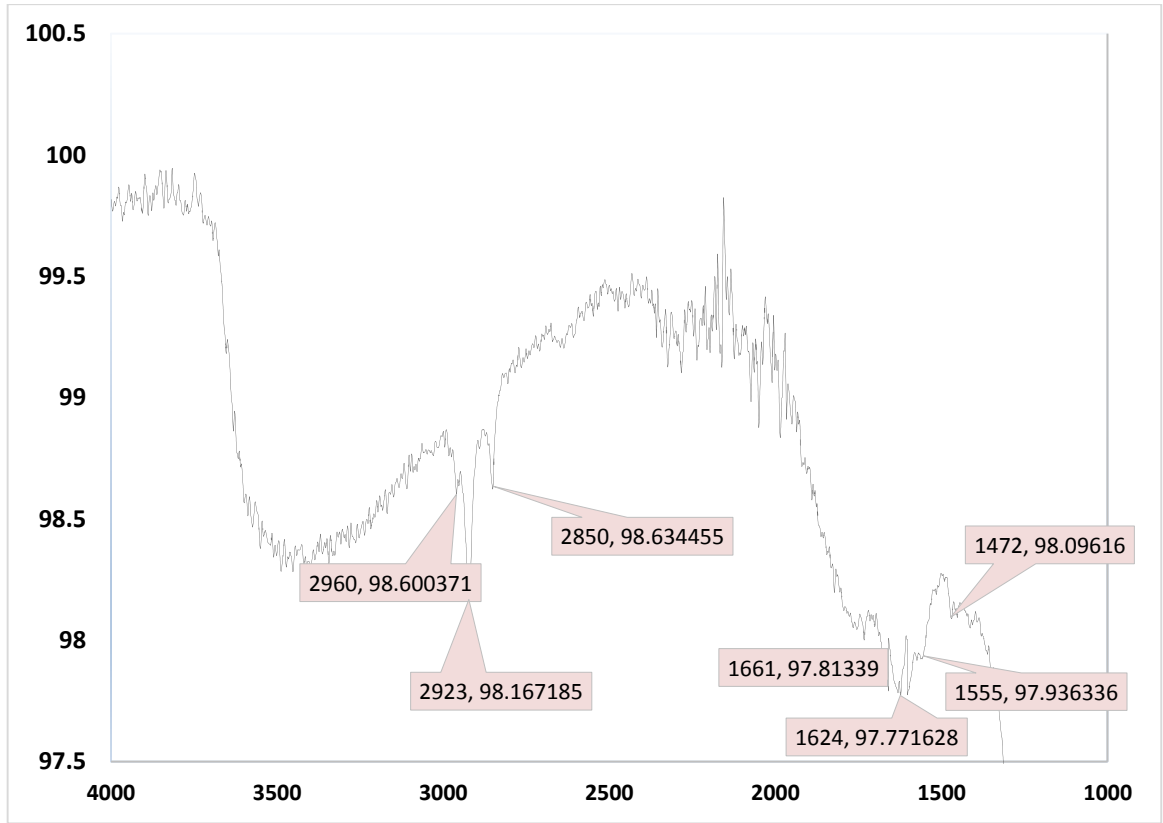
Şekil 4.5. QTF yüzeylerinin AFM görüntüsü a) boş yüzey b) Hekzan kaplı yüzey

QTF'in başlangıçtaki 32788 Hz olarak ölçülen rezonans frekansı, kaplama sonrasında 32763 Hz olarak ölçülmüştür (Şekil 4.6.). Plazma polimerizasyon yöntemi ile yaptığımız kaplama sonucunda genlikte bir düşme olmadığı gibi rezonans frekansında sadece 25 Hz kadar bir düşüş gözlenmiştir. Bu veriler yüzeyde ince bir tabakanın oluşturulduğunu göstermektedir.



Şekil 4.6. QTF yüzeylerin (30W-30dk) PlzP ile hekzan kaplanması



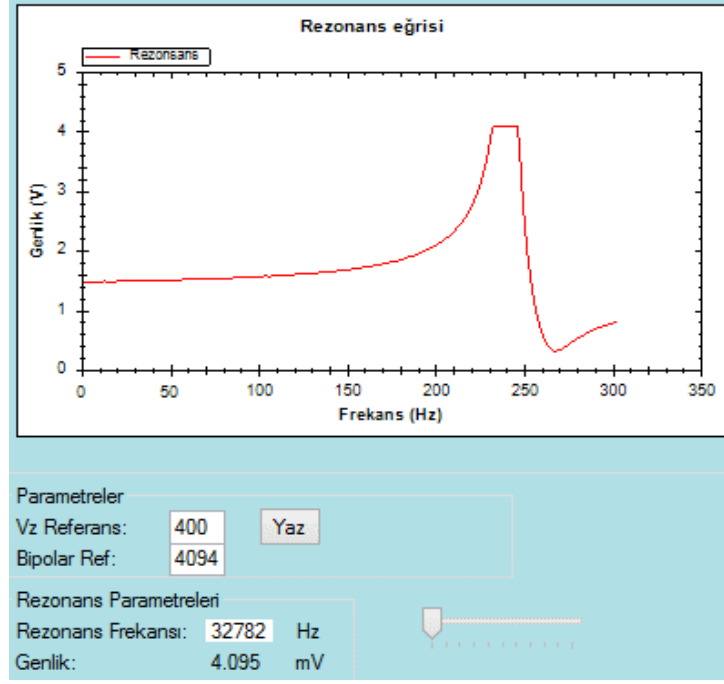


Şekil 4.7. Hekzan kaplanan kristal yüzeyin FTIR-ATR spektrumu

Şekil 4.7.'de plazma polimerizasyon (PlzP) yöntemiyle hekzan kapladığımız yüzeylerde oluşan kimyasal grupların FTIR-ATR spektrumları görülmektedir. 2960-2850  $\text{cm}^{-1}$  arasında gözlenen titreşim bandı C-H gruplarındaki gerilmesini tanımlamaktadır. 1661-1555  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyları  $\text{CH}_3$  ve 1472  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyları  $\text{CH}_2$  titreşimlerin göstergesidir. PlzP işleminde elde edilen kaplamanın homojen olduğu, elde edilen FTIR-ATR spektrumunda, hekzan yapısından kaynaklanan ve beklenen piklerin dışında başka bir pik gözlenmemesinden anlaşılmaktadır.

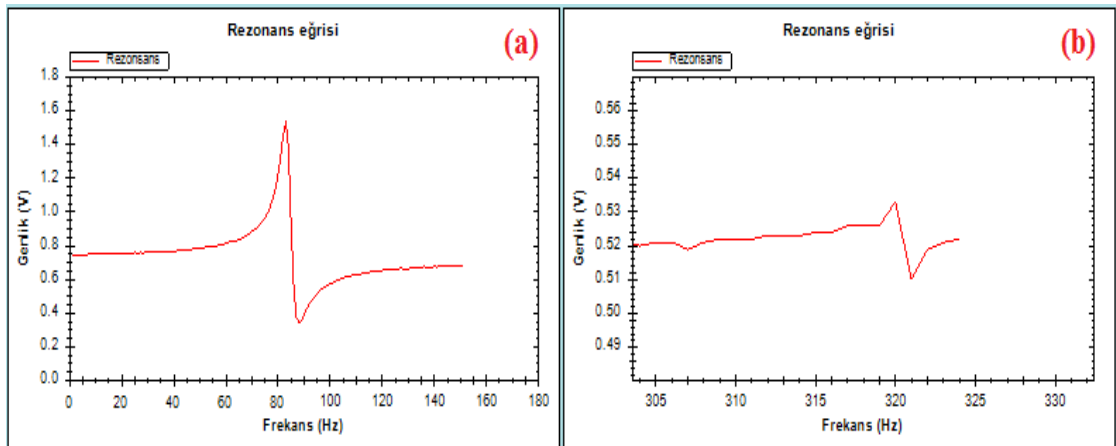
Farklı sürelerde yapılan kaplamalar sonucunda, 20 dakikadan düşük sürelerde kaplama uygulandığında istediğimiz direnç değerini elde edemediğimiz gibi rezonans frekanslarında herhangi bir değişiklik görülmemiştir.

Plazma polimerizasyon ile 30W-5dk yaptığımız kaplamada  $R=90\text{K}\Omega$  aralığında bir direnç ölçülmüştür ve başlangıç frekansı 32788 Hz' den 6 Hz' lik düşüş görülerek 32782 Hz olarak ölçülmüştür (Şekil 4.8.).



Şekil 4.8. PlzP ile (30W-5dk ) hekzan kaplama

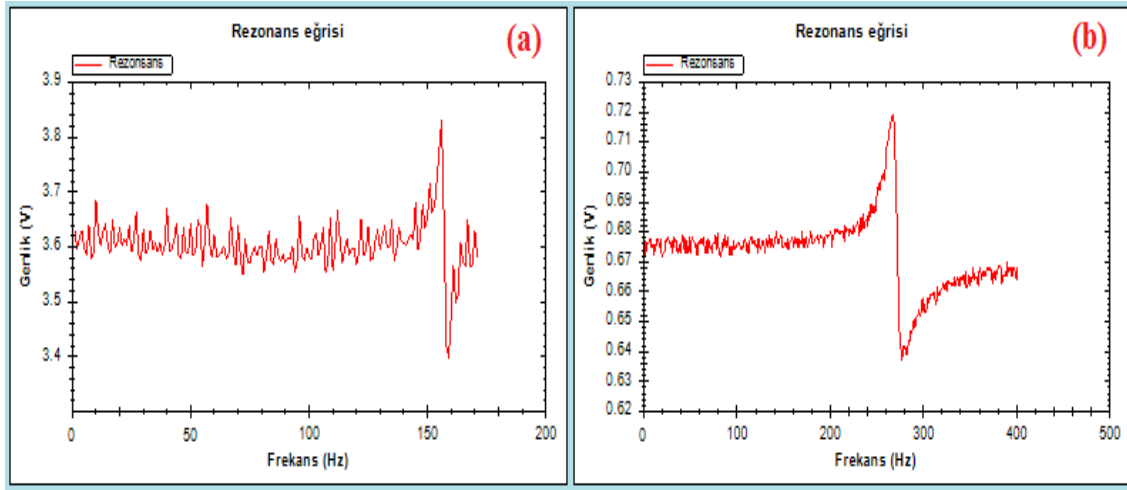
PlzP ile 20 dakikadan uzun sürede kaplama yapıldığında yüzeydeki polimer birikiminin daha da artması beklendiğinden, bu durum rezonans frekans ve genlik değerindeki düşüş ile gösterilmiştir. PlzP ile (30W-40dk) yüzeylere kaplama yapılması sonucunda yüzeyde fazla kütle birikimi ölçülmüştür ve başlangıçtaki 5.0 mV olarak alınan genlik 1.5 mV olarak görülmüştür. Aynı zamanda başlangıç frekansı 32784 Hz' den 32517 Hz değerine düşmüştür (Şekil 4.9.a). PlzP ile (30W-50dk) yapılan hekzan kaplamada daha fazla kütle birikimi sonucunda genlik 0.53 mV olarak ölçülmüştür ve frekans değeri 32174 Hz olarak görülmüştür (Şekil 4.9.b.).



Şekil 4.9. (a) 30W-40dk yapılan hekzan kaplama (b) 30W-50dk yapılan kaplama

QTF'ler yüzeyine PlzP ile yüksek boşalım gücünde kaplama yapıldığında yüzeydeki polimer birikimi fazla olduğundan, rezonans frekans ve genlik değerinde düşüş görülmüştür. Aynı zamanda yüksek boşalım gücü nedeniyle QTF yapısına zarar vererek titreşimlerinde problem olduğu gözlenmiştir.

PlzP ile (60W-30dk) yüzeylere kaplama yapılmıştır. Yüzeyde fazla kütle birikimi oluşumu sonucunda başlangıçtaki 5.0 mV olarak alınan genlik 1.8 mV olarak görülmüştür. Aynı zamanda başlangıç rezonans frekansı 32787 Hz' den 31917 Hz olarak ölçülmüştür (Şekil 4.10.a). PlzP ile (90W-30dk) yapılan hekzan kaplamada daha fazla kütle birikimi sonucunda genlik 0.72 mV olarak ölçülmüştür ve frekans değeri 29600 Hz olarak görülmüştür (Şekil 4.10.b).



Şekil 4.10. (a) 60W-30dk yapılan hekzan kaplama (b) 90W-30dk yapılan kaplama

Yüksek boşalım gücü ve uzun sürede yapılan hekzan kaplamaların sonuçları Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Yüksek boşalım gücü ( $\geq 30$  W) ve 20 dakikadan uzun sürede yapılan hekzan kaplamaları

PlzP-(hekzan)	$f_1$ (Hz)	$f_2$ (Hz)	$\Delta f$ (Hz)	$\Delta Mag$ (mV)
(30W – 40dk)	32784	32517	267	1.5
(30W – 50dk)	32780	32174	614	0.53
(60W – 30dk)	32787	31917	870	1.8
(90W – 30dk)	32782	29600	3182	0.72

#### 4.2. Yüzeylerde Amin Grubu Oluşturulması

PlzP-(hekzan) ile kaplanarak izole hale getirilen kuvars ayar çatal yüzeylerinde biyosensörün tanıyıcı tabakasını oluşturmak amacı ile kullanılacak biyolojik moleküllerin immobilize edileceği amin grubunu oluşturmak üzere etilendiamin (EDA) monomeri kullanılarak 50, 30, 22 Watt boşalım güçlerinde ve 1, 5, 10 dakika işlem sürelerinde plazma polimerizasyonu uygulanmıştır.

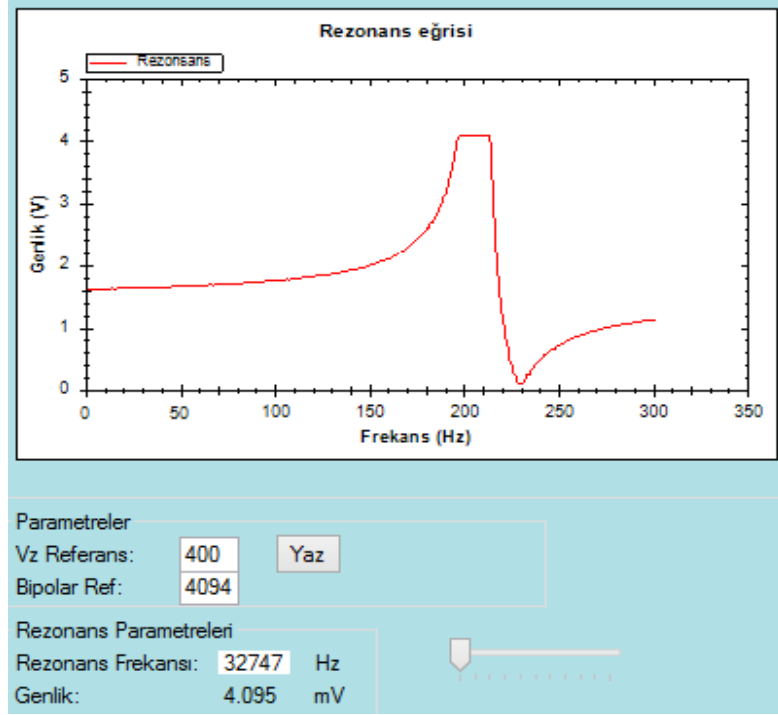
Çizelge 4.3. PlzP yöntemiyle EDA kaplama parametreleri

PlzP	$f_1$ (Hz)	$f_2$ (Hz)	$\Delta f$ (Hz)
(22W - 1dk)	32763	32747	16
(22W - 5dk)	32761	32269	492
(22W - 10dk)	32757	31053	1704
(30W - 1dk)	32764	32358	406
(30W - 5dk)	32759	30956	1803
(30W - 10dk)	32760	29481	3279
(50W - 1dk)	32756	29315	3441
(50W - 5dk)	32765	28263	4502
(50W - 10dk)	32753	26385	6368

Çizelge 4.3.' te farklı parametrelerde modifiye edilen yüzeylerdeki frekans değişimlerini vermektedir. Bu sonuçlar değerlendirilerek QTF'lerin frekansını en az etkileyen parametreler seçilerek uygulama yapılmıştır. Bu değerlendirme sonucunda, yüzeyde amin grubu oluşturmak amacıyla 22 W boşalım gücünde ve 1 dk süredeki plazma uygulaması en optimum koşul olarak seçilmiştir.

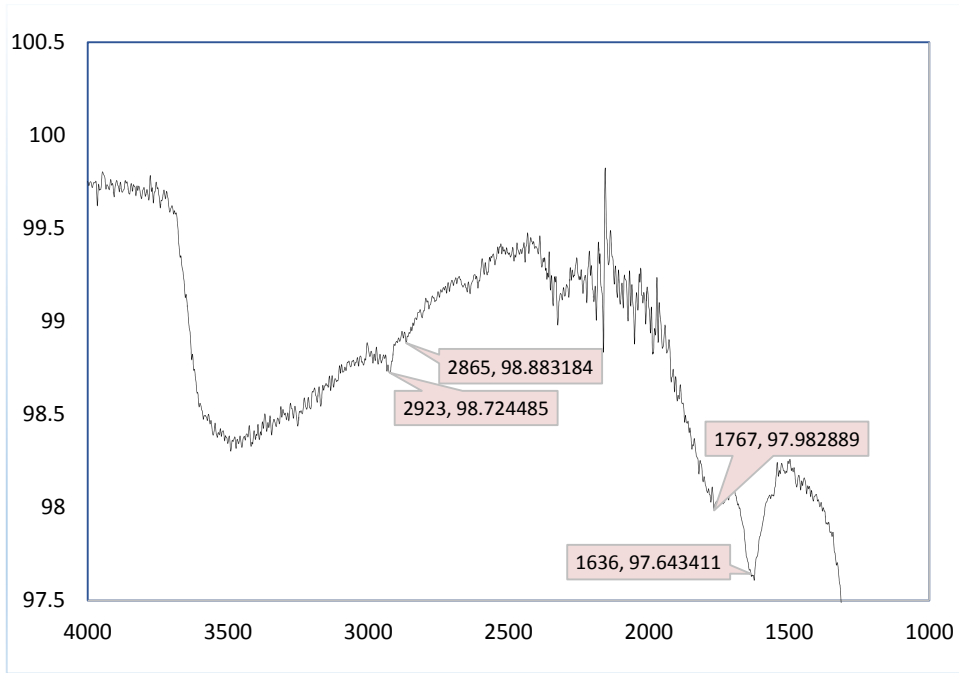
Yüzeydeki kütle birikimi rezonans frekans ölçümleriyle desteklenmiştir. Başlangıçtaki QTF frekansı 32788 Hz ve hekzan kaplandıktan sonra 32763 Hz olarak ölçülen rezonans frekansı EDA kapladıktan sonraki frekansı 32747 Hz değerine düşmüştür (Şekil 4.11.).

EDA birikimi ile ilgili bu basamak çalışmada, genlik değerinde ki değişimin en düşük olduğu 22W/1dk parametrelerindeki kaplama 16 Hz değişime sebep olmuş ve optimum olarak seçilmiştir. Bu parametrelerdeki kaplama kalınlığının ve amin grubu yoğunluğunun QTF'in performansını etkilemeyeceği düşünülmüştür.



Şekil 4.11. Yüzeyle PlzP ile etilendiamin kaplanması

Ayrıca, FTIR-ATR ile elde edilen kimyasal karakterizasyon sonuçlarıyla yüzeyde amin grubu oluştuğunu desteklemiştir (Şekil 4.12).



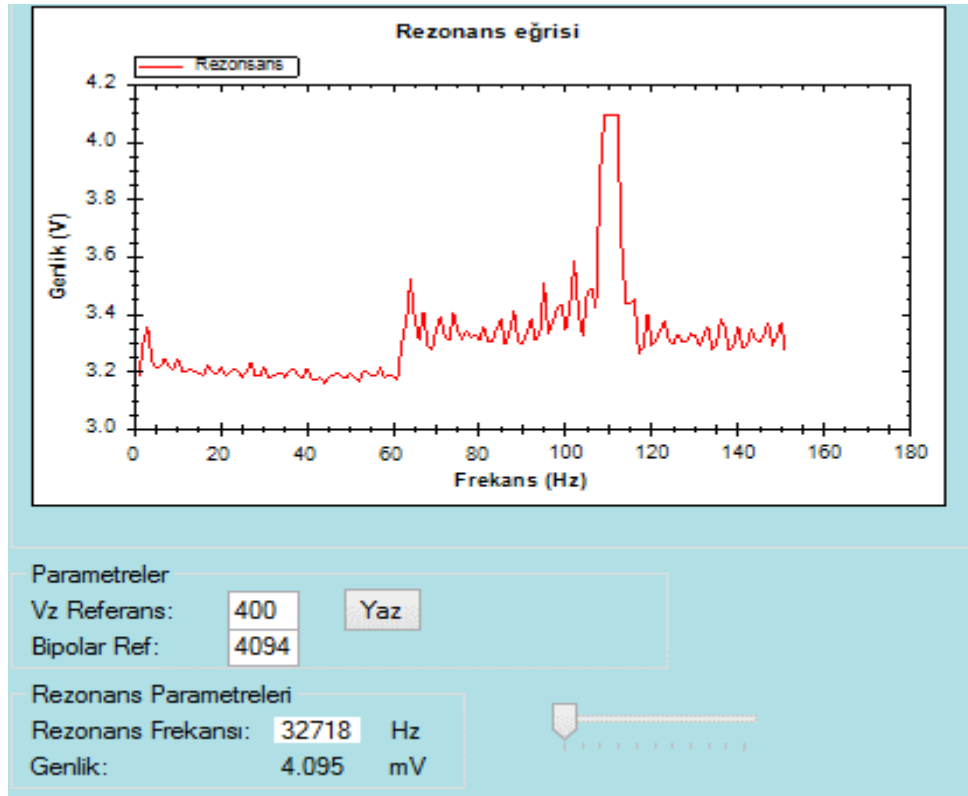
Şekil 4.12. QTF yüzeyinin PlzP ile amin grubu oluşturulması sonrası FTIR-ATR spektrumu

FTIR-ATR spektrumunda  $1636\text{ cm}^{-1}$  de gözlenen belirgin ve geniş pik, amin grubuna ait gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır.  $2923$  ve  $2865\text{ cm}^{-1}$  civarında gözlenen pikler alt yapıdaki PlzP-(hekzan) yapıya ait kaplamadaki CH gruplarının titreşimleri olarak işaretlenmişlerdir.

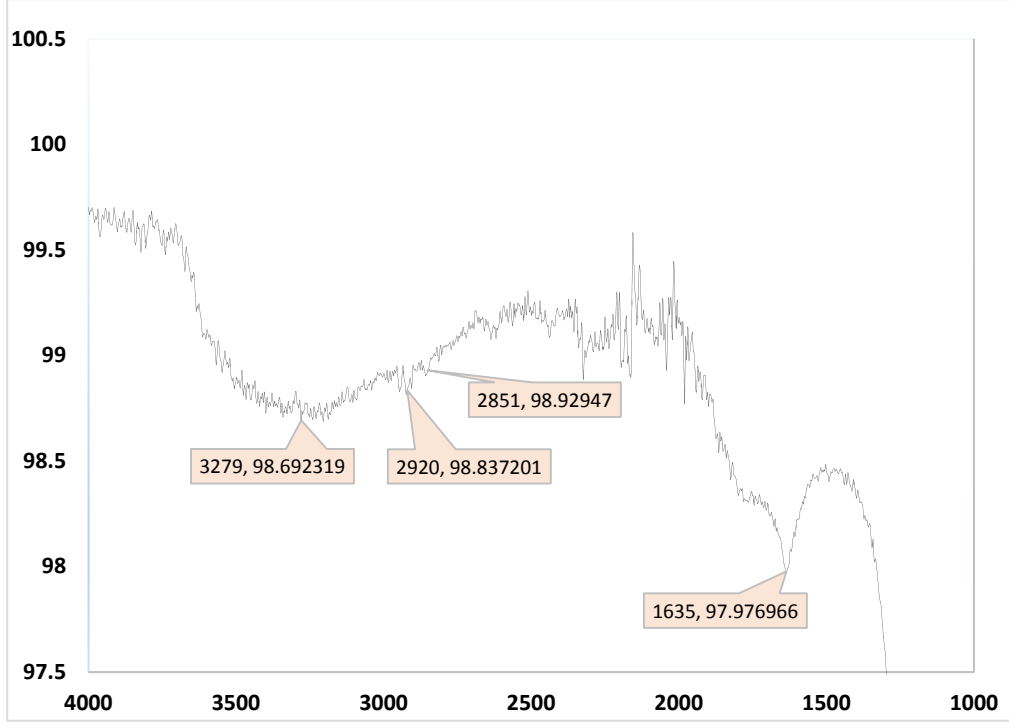
### 4.3. Yüzeyin Kimyasal Aktivasyonu

QTF yüzeyinde plazma polimerizasyon tekniği ile oluşturulan amin grupların aktivasyonu gluteraldehit çözeltisi ile yapılmıştır, bu şekilde biyolojik ajanın bağlanabileceği fonksiyonel gruplara dönüştürülmüştür. Yüzeyde artan kütle miktarı frekans sapmalarında gözlenmiş ayrıca FTIR-ATR spektrumu sonuçlarında da tespit edilmiştir.

EDA kapladıktan sonra  $32747\text{ Hz}$  olarak ölçülen QTF'in frekansı kimyasal aktivasyon sonrası  $32718\text{ Hz}$  olarak ölçülmüştür (Şekil 4.13.). QTF frekansındaki  $29\text{ Hz}$ 'lik düşüş ve aynı zamanda genlik  $5.0\text{ mV}$ ' dan  $4.3\text{ mV}$ ' a düşmesi biriken kütlelerin göstergesidir.



Şekil 4.13. Yüzeylerin gluteraldehit ile kimyasal aktivasyon sonrası

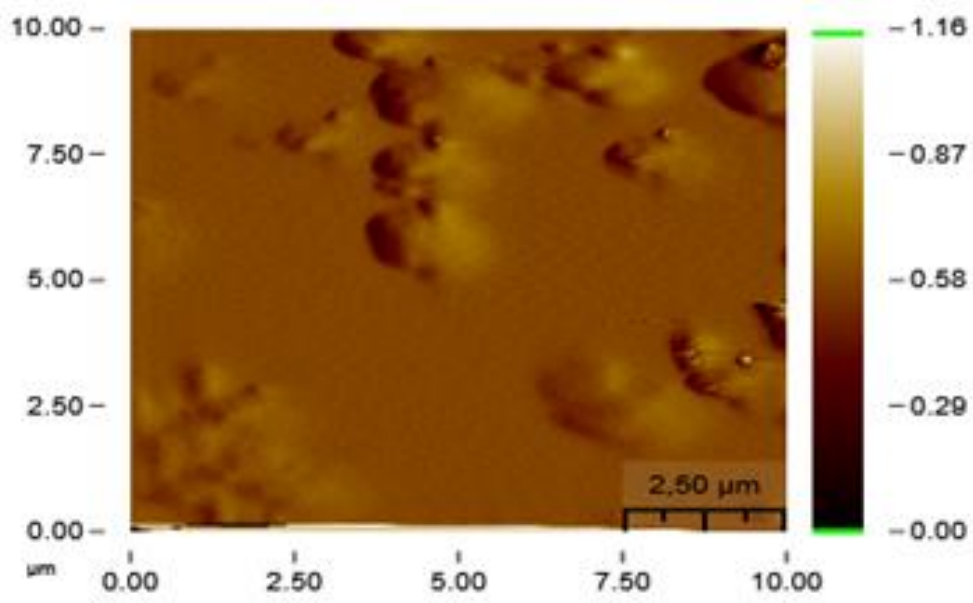


Şekil 4.14. Yüzeyin glutraldehit aktivasyonu sonrası FTIR-ATR spektrumu

Yüzeylerin glutraldehit ile aktivasyonu sonrası, 3500-2900  $\text{cm}^{-1}$  absorpsiyon bölgesindeki spektrumun genişlediği gözlenmiştir. Kimyasal aktivasyon sonrası, glutraldehit 'in kimyasal yapısı nedeniyle hidroksil gruplarının artması beklenmektedir. Bu yüzden bu bölgedeki pik genişlemesi, kimyasal aktivasyonla birlikte, hidroksil gruplarının artmasıyla açıklanmaktadır. 1635  $\text{cm}^{-1}$  amin gruplarına ait pikler, 2800-3000  $\text{cm}^{-1}$  bölgesinde oluşan CH piklerinin gelişmesi, hem hekzanın oluşturduğu CH piklerini hem de glutraldehit ile yüzeye kazandırılan CH bağlarını kanıtlamaktadır (Şekil 4.14.).

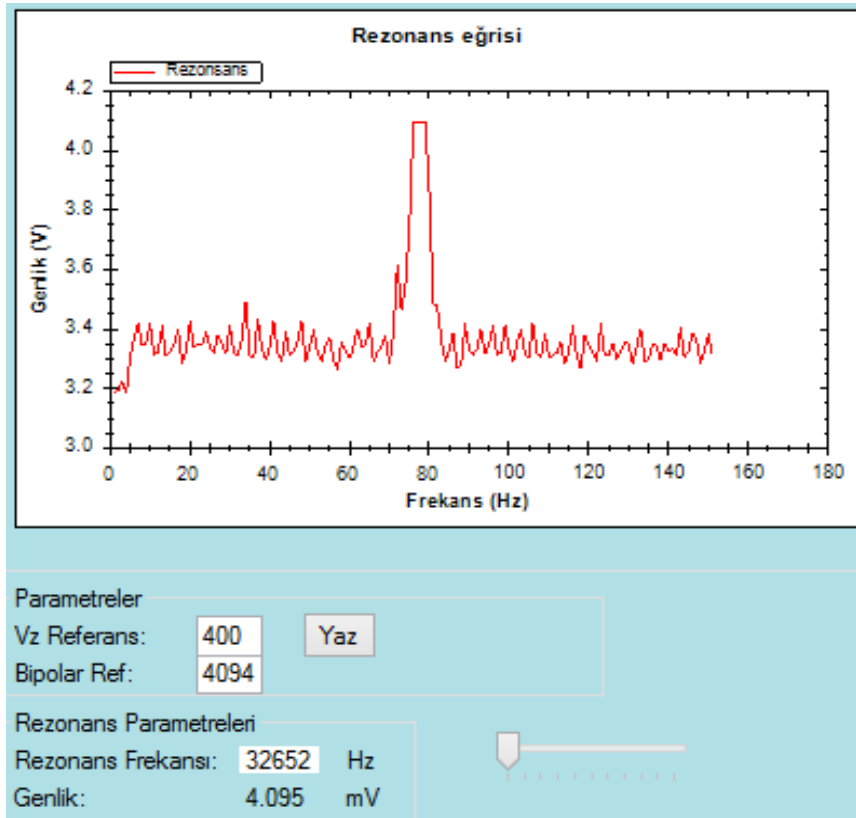
#### 4.4. Tanıyıcı Tabakanın Oluşturulması

Aktif aldehit grubu içeren QTF yüzeylere, model biyomolekül olarak seçilen biyotin immobilize edilmiş ve "avidin" için hazırlanan biyosensöre ait tanıyıcı tabaka oluşturulmuştur. İşlem sonucu AFM görüntüsü ile takip edilmiştir (Şekil 4.15.).



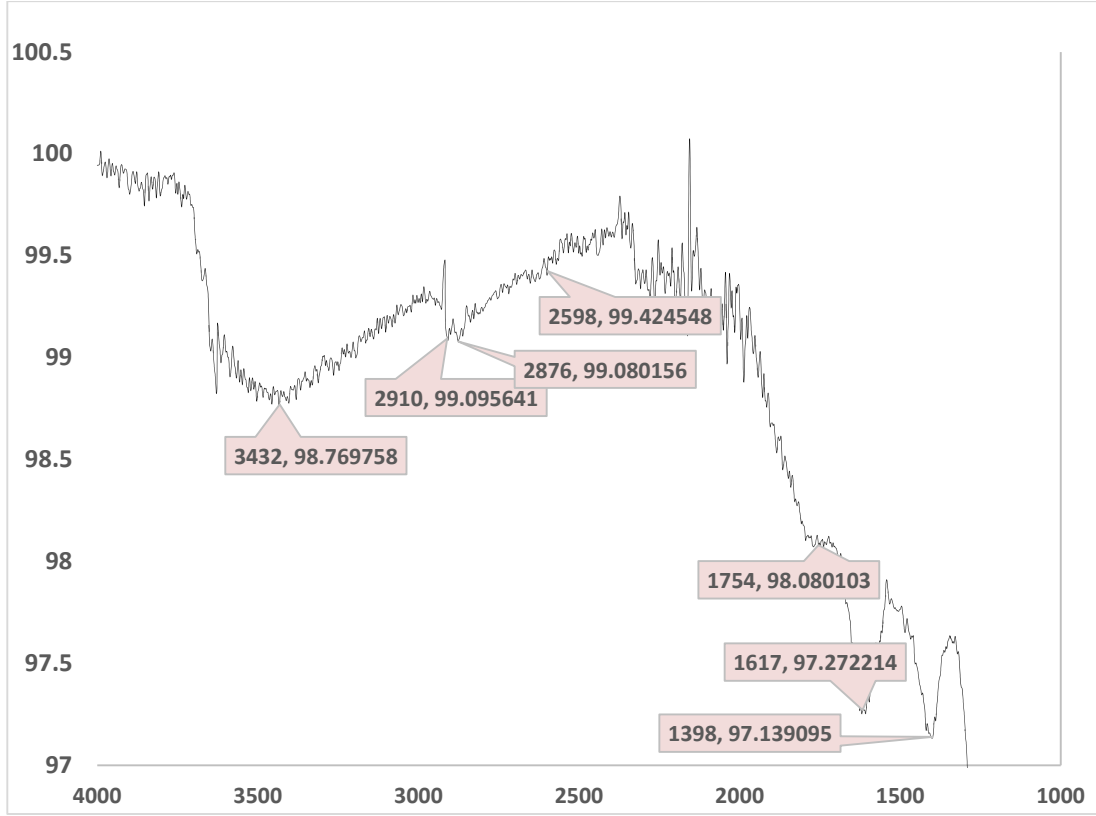
Şekil 4.15. Biyotin immobilize edilmiş yüzeyin AFM görüntüsü

İşlem sonrasında frekans ölçümleri alınmış ve kimyasal aktivasyon sonrası ölçülen rezonans frekans değeri 32718 Hz den kütle birikimi sonucunda 32652 Hz'e inerek değişim gözlemlenmiştir. Aynı zamanda genlik 4.3 mV' dan 4.2 mV' a inmesi yüzeyde kütle birikimini göstermiştir (Şekil 4.16.).



Şekil 4.16. Biyotin immobilizasyon sonrası frekans ölçümleri



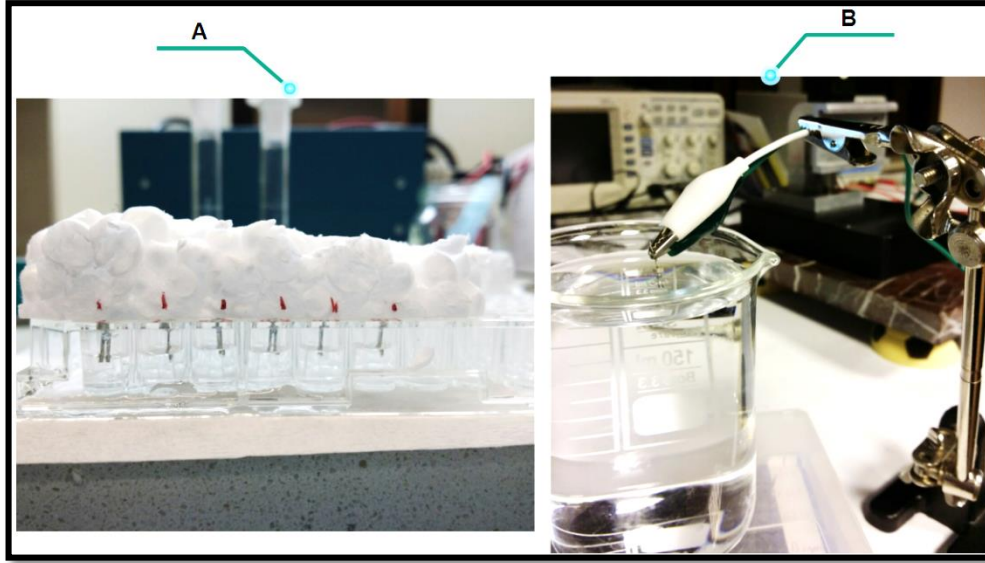


Şekil 4.17. QTF yüzeyinin biyotin immobilizasyonu sonrası FTIR-ATR spektrumu

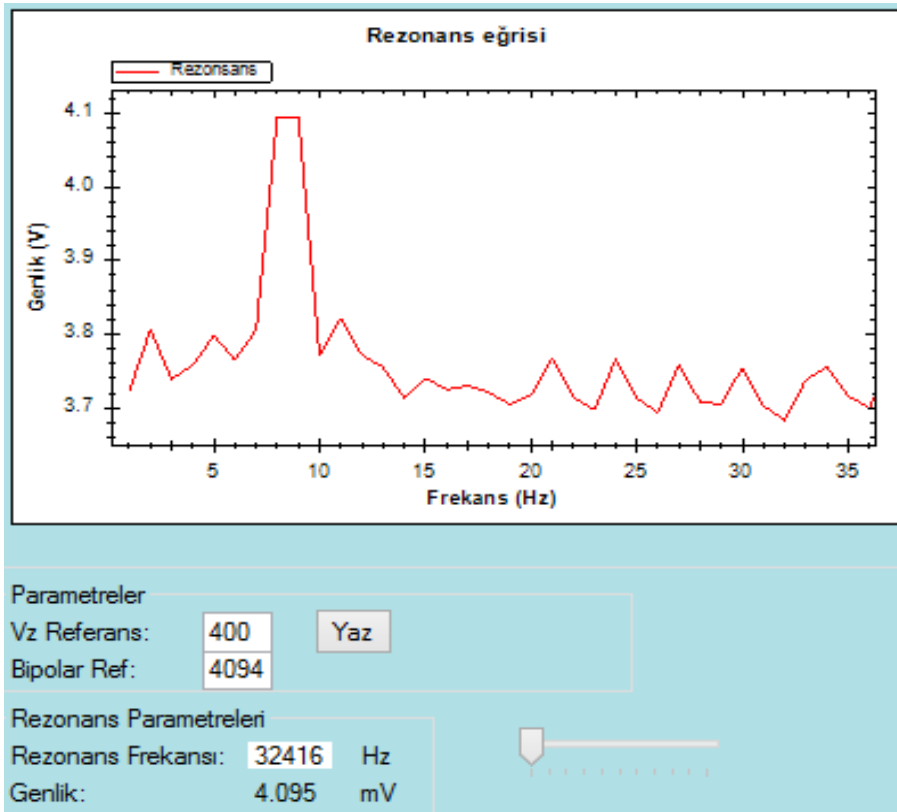
Yüzey üzerinde biyotin immobilizasyonu sonrası FTIR-ATR spektrumu Şekil 4.17.'de görülmektedir. 2800-2900  $\text{cm}^{-1}$  bölgesinde oluşan CH piklerinin gelişmesi, hem hekzanın oluşturduğu CH piklerini hem de gluteraldehit ile yüzeye kazandırılan CH bağlarını kanıtlamaktadır. Ayrıca, 1617  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyundaki amin gruplarına ait pikler, 3432  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyundaki NH gerilme titreşimine, 2910  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyundaki pikler OH grubunun gerilme titreşimine ve 1754  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyundaki pikler C=O gerilme titreşimine aittir ve biyotin varlığına işarettir [69].

#### 4.5. Hazırlanan Biyosensörün Performansının Belirlenmesi

QTF yüzeyinin biyotin immobilizasyonu sonrası oluşturulan tanıyıcı tabakasının frekans ölçümü alındıktan sonra, QTF'ler avidin çözeltisi içerisinde 1 saat bekletilmiş (Şekil 4.18.) ve avidin çözelti içerisinde frekans değerleri ölçülmüştür (Şekil 4.19.).



Şekil 4.18. a) Biyotin immobilizasyonu b) Avidin çözeltisinin içinde alınan frekans ölçümlerinin görüntüsü

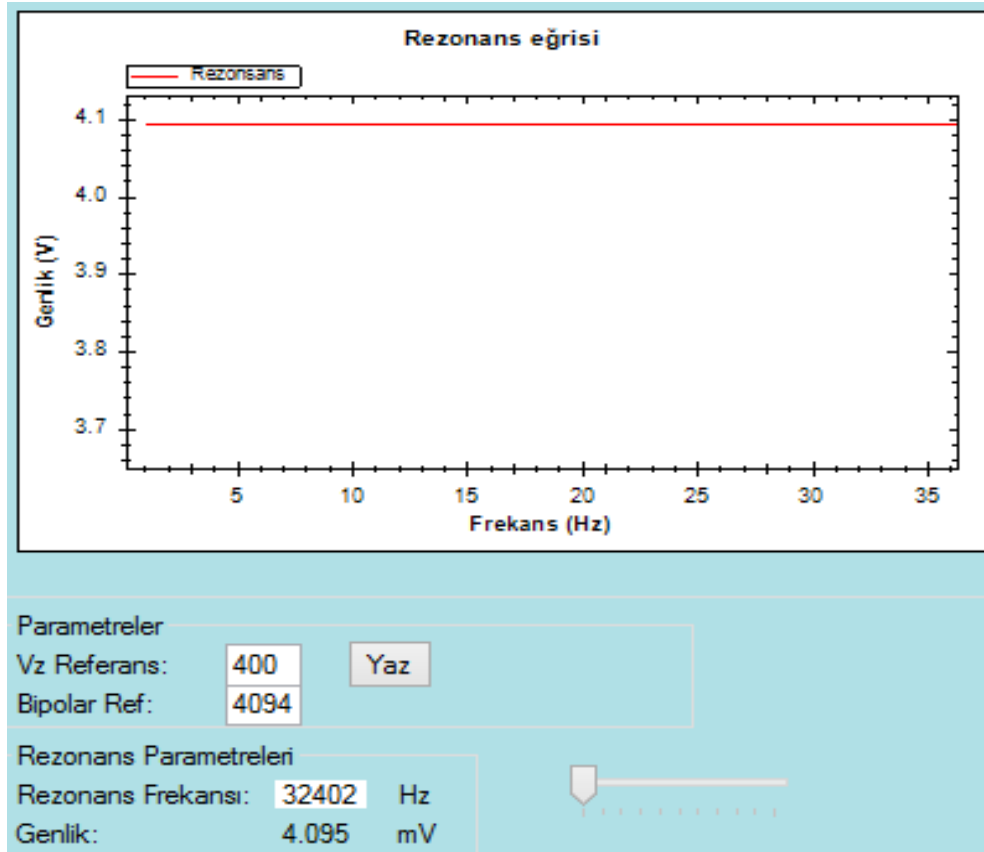


Şekil 4.19. Yüzeylerin avidin çözelti içerisinde frekans ölçümü

Biyotin immobilize edildikten sonra ölçülen QTF frekansları 32652 Hz'den 32416 Hz'e kadar düşmüştür. 1 mg/mL derişimindeki avidin çözeltisi içinde alınan rezonans frekansı 236 Hz'lik bir değişime, ve genlik değerinde 4.2 mV' dan 4.1 mV' a düşme QTF üzerindeki kütle birikiminin göstergesidir.

Bu sonuçtan sonra, biyosensör yüzeyinde avidin birikiminin olduğu ve biyotin ile bağ oluşturduğu anlaşılmıştır.

Hekzan kaplama ile yalıtkan hale getirilerek QTF temelli bir kütle hassas biyosensör platformu'nun hazırlanmasının frekans performansının geliştirilmesine yönelik olan bu çalışmada, hekzan kaplamanın etkisini göstermek amacı ile hekzan kaplama yapılmayan QTF yüzeyler, plazma polimerizasyon ile EDA kaplanmıştır. Gluteraldehit ile amin gruplarının aktivasyonunun ardından biyotin immobilize ederek tanıyıcı tabaka oluşturulmuş ve ölçülen frekans değerleri hekzan kaplanan QTF'lerin frekans değerleri ile hemen hemen aynı olduğu izlenmiştir. Son olarak avidin çözeltisi ile etkileştirildiğinde QTF'lerde kısa devre oluşumu gözlenmiştir (Şekil 4.20.). Bu çalışmanın sonucunda plazma polimerizasyon ile gerçekleştirilen hekzan kaplamanın QTF'lerde kısa devreyi engellediği, böylece QTF'lerin biyosensör çalışmalarında kullanıla bilirliliğinin uygun olduğu gösterilmiştir.



Şekil 4.20. Hekzan kaplanmayan QTF'lerin avidin çözeltisi içinde alınan frekans ölçümleri

#### 4.6. Kalibrasyon Doğrusunun Oluşturulması

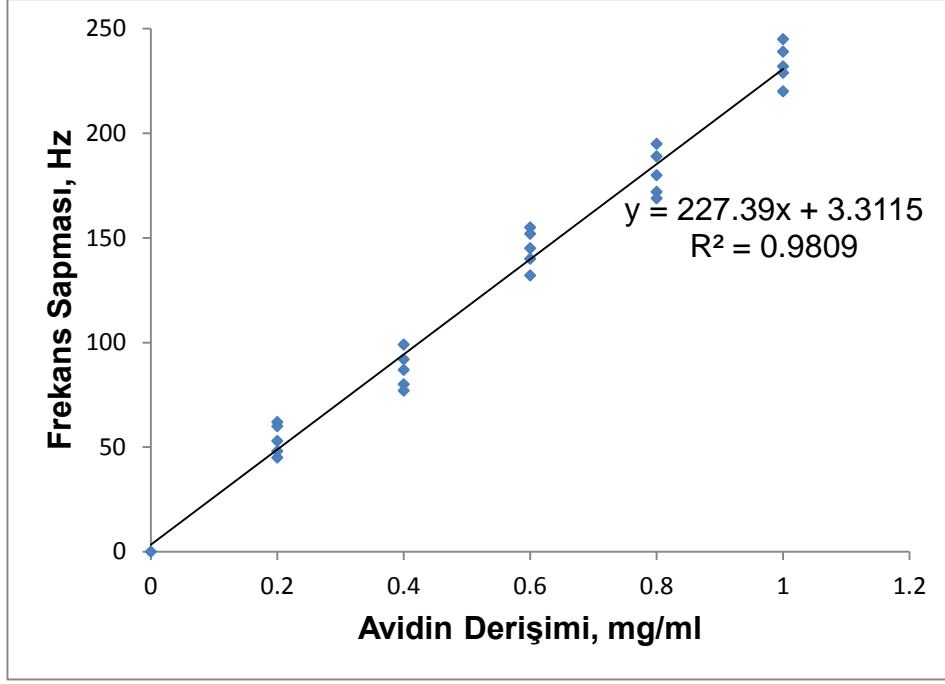
QTF temelli kütle hassas biyosensör platformu'nun hazırlanması amacıyla kuvars ayar çatalı yüzeylerin her bir kademede modifikasyonunu içeren çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda, tüm aşamalar için optimum kabul edilebilecek parametreler kullanılarak, çalışmanın son aşaması olan kalibrasyon eğrisi çizilmiştir.

Bu aşamaya kadar gerçekleşen çalışmalarda "optimum koşullar" ve kuvars üzerinde yarattığı kütle birikimi, frekans sapma değerleri, Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. Biotin-Avidin kütle hassas biyosensör platformunun Kalibrasyon Eğrisinin elde edilmesinde kullanılan aşamalar, amacı, optimum çalışma koşulları ve frekans sapma değerleri (Hz)

Plazma polimerizasyon	Plazma polimerizasyon	Gluteraldehit aktivasyonu	Biotin immobilizasyonu
Hekzan kaplayarak çözelti içerisinde kısa devre yapmasını engellemek	Yüzeyde biyomolekül immobilizasyonu amacı ile amin grubu oluşturmak	Yüzey-biyomolekül arasındaki kovalent bağın oluşturulması	"Avidin" takibine yönelik kütle hassas biyosensörün tanıyıcı tabakasını oluşturmak
Monomer: Hekzan Frekans: 40 MHz (LF) Uygulanan güç: 30 W Uygulama süresi: 30 dk	Monomer: Etilendiamin (EDA) Frekans: 40 MHz (LF) Uygulanan güç: 22 W Uygulama süresi: 1 dk	Gluteraldehit %2.5 (v/v) pH 7.4 PBS tampon çözeltide	Biotin Derişimi: 1.0 mg/ml pH 7.4 PBS tampon çözeltide Etkileşim koşulları: 37°C Su banyosu içinde 20 saat
17±5	43±3	26±2	50±7

Çizelgede belirtildiği üzere her aşama sonrasında kuvars malzeme üzerindeki kütle birikimi artmıştır. Bu gelişmelerin sonucunda hazırlanan "tanıyıcı tabaka", farklı avidin çözelti derişimleri ile etkileştirilerek, kütle hassas biyosensörün performansı elde edilmiş ve avidin derişimine karşı biyosensörün performansı frekans sapmaları ölçülerek "kalibrasyon eğrisi" hazırlanmıştır ve Şekil 4.21'de sunulmuştur.



Şekil 4.21. Biotin-avidin kütle hassas biyosensörlerin kalibrasyon eğrileri

Çeşitli avidin derişimlerine karşı farklı frekans kayma değerleri içeren, çizilen kalibrasyon eğrisi en yüksek derişimi 1 mg/ml olan değeri ve elde edilen regresyon katsayıları 0.9809 olarak bulunmuştur. Bu biyosensörün hassasiyeti  $227 \frac{\text{Hz}}{1 \text{mg avidin/ml}}$  bulunmuştur.

QTF temelli kütle hassas biyosensör platformunun yüzeyleri hekzan kaplama ile yalıtkan hale getirilerek sıvı ortam içerisinde kısa devre engellenmiş, böylece avidin çözeltisi içinde frekans ölçümü alınmıştır. Elde edilen frekans değeri 32416 Hz olarak belirlenmiştir ve sonuç olarak QTF'lerin avidin çözeltisi içerisinde kısa devre olmadan kullanılabilirliği kanıtlanmıştır. Hekzan kaplı olmayan yüzeyler ise avidin çözeltisi içinde kısa devre yaparak kullanılamaz hale gelmiştir.

## 5. SONUÇLAR

Bu çalışma kapsamında; yüksek kalite faktörlü, yüksek hassasiyete sahip QTF'in, sıvı ortam içerisinde kısa devre yapmadan, kütle hassas biyosensör uygulamalarında kullanılmak üzere yeni bir platform olarak hazırlanması araştırılmıştır. Bu hedef doğrultusunda, QTF bakır elektrot yüzeyleri plazma polimerizasyon yöntemi uygulanarak nanometre mertebesinde kaplanarak yalıtkan hale getirilmiş ve bu yöntemle sıvı içerisinde kısa devre yapmaları engellenmiştir. Hazırlanan yüzeyler modifiye edilerek, üzerinde model biyolojik molekül olarak seçilen biyotin immobilize edilmiş, QTF'lerin avidin çözeltisi içerisindeki frekans değerleri ölçülerek biyosensörün performansı test edilmiştir. Plazma polimerizasyon yöntemiyle hekzan kullanılarak kaplanan QTF yüzeyler üzerinde homojen ve kararlı bir kaplama elde edilmiştir. Bu şekilde elektrot yüzey dirençlerinin istenilen seviyede  $20M\Omega$ 'dan daha yüksek artış görülmüştür. Bu sayede hekzan kaplı yüzeylerin sıvı içerisinde kısa devre yapmaları engellenmiş olup düşük frekans kaybıyla ölçümü yapılmıştır.

QTF tabanlı kütle hassas bir biyosensör hazırlama amacı ile gerçekleştirilen bu çalışmada her bir işlem sonrası QTF'e ait frekans değişimleri aşağıdaki tabloda özetlenebilir.

Çizelge 5.1. QTF kullanarak kütle hassas avidin biyosensör hazırlamada işlem basamaklarının frekansa etkisi

	$f_0$ (Hz)	$\Delta f$ (Hz)
<b>Boş yüzey</b>	32788	-
<b>Hekzan</b>	32763	25
<b>Etilendiamin</b>	32747	16
<b>Gluteraldehit</b>	32718	29
<b>Biyotin</b>	32652	66
<b>Avidin (1mg/ml)</b>	32416	236

Bu sonuçlar bize aşağıdaki yorumları yapmaya ve gelecekteki çalışmalarımızda uygulayacağımız yönü belirlemede yardımcı olacaktır.

- 1) Yapılan plazma polimerizasyon ile hekzan kaplamada elde edilen sonuçların tekrarlanabilirliğinin düşük olduğu gözlemlenmiş olup ilerleyen çalışmalarda tekrarlanabilirliği yüksek olan farklı monomerler ile bu çalışma genişletilecektir. Çalışmaların sonucuna göre biyosensör uygulamaları için en uygun monomer kullanılması amaçlanmaktadır.
- 2) Plazma polimerizasyon ile kaplanan yüzeylerin, kullanılan monomer özellikleri, plazma boşalım gücü ve süreye bağlı olarak QTF'lerin hassas yapıları nedeniyle olumsuz yönde etkilendikleri gözlemlenmiştir.
- 3) Plazma polimerizasyon ile fonksiyonel grup oluşturulmasında kullanılan monomer özelliği ve QTF'lerin hassas yapıları nedeniyle yanma ve aşırı oksitlenme meydana gelmiştir. Gelecekteki çalışmalarda bu konuyu göz önünde bulundurarak başka yöntemler denenmesi amaçlanmıştır.
- 4) QTF'lerin hekzan kaplamadan sonraki diğer aşamalarda sadece ucundaki kuvars yüzeyinin kaplanması gerekmektedir, çünkü her tarafı kaplandığı zaman kristalin titreşimlerini engelleyerek piezoelektrik özelliğini kaybetmesine neden olmaktadır. Ayrıca, fazla yük birikimi nedeniyle frekansı ve bunu takiben kalite faktörünü olumsuz yönde etkileyerek istediğimiz sonuca ulaşmamızı engellemektedir. Gelecekteki çalışmalar kapsamında bu sorunun tamamen ortadan kaldırılması amaçlanmıştır.
- 5) Hekzan kaplı QTF yüzeyler ile boş QTF yüzeylerinin sıvı içindeki frekans performansları karşılaştırıldığında, hekzan kaplı yüzeylerin sıvı içinde kısa devre yapmadan biyosensörün frekans performansında artışı gözlemlenmiş olup bu durum ilerleyen çalışmalar için umut vaat etmektedir.
- 6) Çeşitli avidin derişimlerine karşı frekans kayma değerleri içeren bir kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. İleride yapılacak çalışmalarda bu biyosensör geliştirilerek daha düşük derişimlerde, örneğin antikor-antijen etkileşiminden yararlanarak çalışmalar yapılabilir.

- 7) Elde edilen sonuçlar, sensör hassasiyetini arttırmaya yönelik çalışmalara ışık tutmaktadır. Gelecek çalışmalarda plazma polimerizasyon yöntemleri kullanılarak daha kontrollü ve tekrar edilebilir özellikte kaplamalar yapılarak biyosensörlerde kullanım çalışmalarının sürdürülmesi düşünülmektedir.



## KAYNAKLAR

- [1] Arshak, K., Mohamed, Z., Souna, E., Anthony, T., Principles of Bacterial Detection: Biosensors, Recognition Receptors and Microsystems. New York: Springer Science and Business Media, **2008**.
- [2] Özlem, H., Biyosensör hazırlamada enzim kaynağı olarak değerlendirilmek üzere bazı bitkisel dokuların incelenmesi, Yüksek lisans tezi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne, **2008**.
- [3] IUPAC, Gold Book, Compendium of Chemical Terminology 2nd Edition, 64, 148, **1997**.
- [4] Rasooly, A., Biosensor technologies, Methods; 37(1):1-3, **2005**.
- [5] Lazcka, O., Del Campo, F. J., Munoz, F. X., Pathogen detection: a perspective of traditional methods and biosensors. Biosens Bioelectron; 22(7):1205-1217, **2007**.
- [6] Chambers, J. P., Arulanandam, B. P., Matta, L. L., Weis, A., Valdes, J. J., Biosensors recognition elements, Curr Issues Mol Biol; 10(1-2):1-12, **2008**.
- [7] Buck, R. P., Hatfield, W. E., Umana, M., Bowden, E. F., Biosensor Technology: Fundamentals and Applications, Marcel Dekker Inc, **1990**.
- [8] Kumar, A., Biosensors Based on Piezoelectric Crystal Detectors: Theory and Application, The Minerals, Metals & Materials Society, **2000**.
- [9] Beyhan, B., HIV-1 Tanısına Yönelik Aptamer Bazlı Kütle Hassas Biyosensör Geliştirilmesi: Tanıyıcı Tabakanın Oluşturulması, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 111s, **2008**.
- [10] Hao, R., Wang, D., Zhang, X., Zuo, G., Wei, H., Yang, R., Zhang, Z., Cheng, Z., Guo, Y., Cui, Z., Zhou, Y., Rapid Detection of Bacillus anthracis Using Monoclonal Antibody Functionalized QCM Sensor, Biosensors and Bioelectronics 24, 1330-35, **2009**.
- [11] Mutlu, M., ve Boyacı, I. H., Amperometric Biosensor in Food Processing, Safety, and Quality Control, in Biosensor in Food Processing, Safety, and Quality Control, (ed; Mehmet Mutlu), CRC Press, Boca Raton, FL, ABD, **2011**.

- [12] Yasuda, H., Plasma Polymerization, Institute for Film Processing Material, University of Missouri Rulla Academic Press Inc., 344-355, **1985**.
- [13] Huanicki, A., Glab, S., Ingman, F., IUPAC Discussion Paper, Commission V.1, **1989**.
- [14] Camann, K., Lemke, U., Rohen, A., Winter, B., Chemical sensors and biosensors-principles and applications, Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 30, 516519, **1991**.
- [15] Camann, K., Fresenius Z., Analytical Chemistry, 1, 287, **1977**.
- [16] Garden S. R. and Strachan N. J., Novel colorimetric immunoassay for the detection of aflatoxin B1, Analytica Chimica Acta, 444, 2, 187-191., **2001**.
- [17] Buerk, G. D., A novel trend: biosensors, Biosensors and Bioelectronics, 4, 2327, **1996**.
- [18] IUPAC, Pure Appl Chem 63:1247–1250, **1991**.
- [19] Ozansoy, B., Biyosensör Olarak Kullanılacak Kuartz Kristal Yüzeylerin Plazma Polimerizasyonu ile Hazırlanması ve Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2007**.
- [20] IUPAC, Pure Appl Chem 71, 2333–2348, **1999**.
- [21] Günaydın, B., Fenolik Madde Tayini için Plazma Polimerizasyon Yöntemi ile Elektrokimyasal Sensör Hazırlanması, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2009**.
- [22] Çökeliler, D., Aflatoksin Tayini için Plazma Polimerizasyon Yöntemi ile Kütle Hassas Immunosensör Hazırlanması, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2006**.
- [23] Rodoplu, D., Immunosensör Uygulamaları için Elektro eğirme Yöntemi Kullanılarak Polimer Kaplamalı Kuvars Kristal Mikrobalsans (QCM) Hazırlanması, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2011**.
- [24] Guanxiong, L., Shouheng, S., Wilson, R. J., White, R. L., Pourmand, N., Wang, S. X., Spin Valve Sensors for Ultrasensitive Detection of Superparamagnetic Nanoparticles for Biological Applications, Sensors and Actuators A 126, 98-106, **2006**.

- [25] Skadal P., Piezoelectric Quartz Crystal Sensors Applied for Bioanalytical Assays and Characterization of Affinity Interactions, *J. Braz. Chem. Soc.*, 14, 4, 491-502, **2003**.
- [26] Kanazawa, K. K., and Gordon, J. G., The Oscillation Frequency of a Quartz Resonator in Contact with Liquid, *Analytica Chimica Acta*, 57, 1771-72, **1985**.
- [27] Guilbault, G. G., and Hgeh-Ngwaindi, Use of ptotein coating on piezoelectric crystals for assay of gaseous pollutants. In: Guilbault, G. G., Mascini, M. (Eds), *Analytical uses of immobilized biological compounds for detection, Medical and Industrial uses*, NATO reference series, **1988**.
- [28] Sugimoto, I., Nakamura, M., Kassai, N., Kato, T., Gas sorption effects on plasma polymer films characterized by XPS and quartz crystal resonator, *Polymer*, 41, 511-522, **2000**.
- [29] Chio, C. S., Shih, J. S., Piezoelectric crysptand –coated quartz crystal liquid chromatographic detector for cations anions and polar organic molecules in solutions, *Analytica Chimica Acta*, 392, (2-3), 125-133, **1999**.
- [30] Baute, N., Martinot, L., Jerome R., Investigation of cathodic electropolymerization of acrylonitrile, ethylarrylate and methylmethacrylate by coupled quartz crystal microbalance analysis and cyclic voltammetry, *J. Of Electroanalytical Chemistry*, 472, 83-90, **1999**.
- [31] Lu, H. C., Chen, H. M., Lin, J. W., A reusable and spesific protein A-coated piezoelectric biosensor for flow injection immunoassay, *Biotechnology progress*, 16, 116-124, **2000**.
- [32] Faccio, M., Feri G., Mancini, F. and Di Rosa, P. Resonating quartz sensors. *Sensors for Domestic Applications*. Eds. D'Amico A. And Sberveglieri G., wsp, Italy, pp.71-86, **1995**.
- [33] Sullivan, C. K., Guilbaut G. G., Commercial quartz crystals microbalances theory and applications, *Biosensors&Bioelectronics*, 11, 913-922, **1999**.
- [34] Zhang, J., Dai, C. C., Su, X. D., Shea, S. O., Determination of liquid density with a low frequency mechanical sensor based on quartz tuning fork, *Sensors and Actuators B* 84, 123-128, **2002**.

- [35] Zeisel, D., Menzi, H., Ullrich, L., A precise and robust quartz sensor based on tuning fork technology for (SF<sub>6</sub>)-gas density control, *Sensors and Actuators A: physical* 80, 233-236, **2000**.
- [36] Matsiev, L. F., Benett, J. W., McFarland, E. W., Application of low frequency mechanical resonators to liquid property measurement, *IEEE Ultra. Symp.* 459–462, **1998**.
- [37] Grober, R. D., Acimovic, J., Schuck, J., Hessman, D., Kindlemann, P. J., Hespanha, J., Stephen Morse, A., Karrai, K. I., Tiemann, S., Fundamental limits to force detection using quartz tuning forks, *Review of Scientific Instruments* 71 (7) 2776–2780, **2000**.
- [38] Xiaodi, S., Changchun, D., Jian, Z., Sean, O., Quartz tuning fork biosensor, *Biosensors and Bioelectronics* 17 (2002) 111–117, **2002**.
- [39] Zhang, J., O’Shea, S., Tuning forks as micromechanical mass sensitive sensors for bio- or liquid detection, *Sensors and Actuators: B* 94, 65–72, **2003**.
- [40] Zhou, X., Jiang, T., Zhang, J., Wang, X., Zhu, Z., Humidity sensor based on quartz tuning fork coated with sol–gel-derived nanocrystalline zinc oxide thin film, *Sensors and Actuators: B* 123, 299–305, **2007**.
- [41] Clubb, D. O., Buu, O. V. L., Bowley, R. M., Nyman, R., Owers-Bradley, J. R., Quartz tuning fork viscometers for helium liquids, *Journal of Low Temperature Physics* 136 , 1–13, **2004**.
- [42] Matsiev, L. F., Bennett, J. W., McFarland, E. W., Application of flexural mechanical resonators to simultaneous measurements of liquid density and viscosity, *IEEE Ultrasonics Symposium* 1, 457–460, **1999**.
- [43] Matsiev, L. F., Application of flexural mechanical resonators to high throughput liquid characterization, *IEEE International Ultrasonics symposium* 1, 427–434, **2000**.
- [44] Liu, Y., Difoggio, R., Sanderlin, K., Perez, L., Zhao, J., Measurement of density and viscosity of dodecane and decane with a piezoelectric tuning fork over 298–448 K and 0.1–137.9 MPa, *Sensors and Actuators: A* 167, 347–353, **2011**.

- [45] Zhang, J., Dai, C., Su, X., O'Shea, S. J., Determination of liquid density with a low frequency mechanical sensor based on quartz tuning fork, *Sensors and Actuators: B* 84, 123–128, **2002**.
- [46] Zhang, J., O'Shea, S., Tuning forks as micromechanical mass sensitive sensors for bio- or liquid detection, *Sensors and Actuators: B* 94, 65–72, **2003**.
- [47] Piasecki, T., Guła, G., Nitsch, K., Waszczuk, K., Drulis Kawa, Z., Gotszalk, T., Evaluation of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation using Quartz Tuning Forks as impedance sensors, *Sciverse ScienceDirect*, 47, 631-634, **2012**.
- [48] Yasuda, H., Plasma polymerization for protective coatings and composite membranes, *Journal of Membrane Science*, 18, 273-284, **1984**.
- [49] Kaminska, A., Kaczmarek, H., Kowalonek, J., The influence of side groups and polarity of polymers on the kind and effectiveness of their surface modification by air plasma action, *European Polymer Journal* **38**(9): 1915-1919, **2002**.
- [50] Yeşildal R., Günay Y. Z., Plazma Sprey Yöntemi ile Kaplama ve Sprey Karakteristiklerinin İncelenmesi, *DEÜ Müh. Fak. Fen ve Mühendislik Dergisi*, **2007**.
- [51] Evcin A., Kepekçi D. B., Barut İ., Hidroksiapatit Tozlarının Plazma Sprey Yöntemiyle Paslanmaz Çelik Üzerine Kaplanması, 5. Uluslararası İleri Teknolojiler Sempozyumu, Karabük, **2009**.
- [52] Bhatia, A., *Thermal Spraying Technology and Applications*. Washington: U.S. Army Corps. of Engineers., **1999**.
- [53] Dorfman, M. R., "19 - Thermal Spray Coatings," in *Handbook of Environmental Degradation of Materials (Second Edition)*, Oxford: William Andrew Publishing, pp. 569–596, **2012**.
- [54] Akman, M. A., (Mechanical Properties of Plasma Surface Modified Calcium Carbonate/PP Composites). The Graduate School of Natural and Applied Science. Ankara, Middle East Technical University. M Sc, **1993**.
- [55] Rongzhai, L., Lin, Y., Yiu, W., *Application of Plasma Technologies in FibreReinforced Polymer Composites: A Review of Recent Developments*,

- [56] Tusek, L., Nitschke, M., ve ark., Surface Characterisation of NH<sub>3</sub> Plasma Treated Polyamide 6 Foils, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 195: 81-95, **2001**.
- [57] Mutlu, M., Mutlu, S., ve ark., Preparation of a Single Layer Enzyme Electrode by Plasma Polymerization Technique, *NATO ASI Series E Applied Sciences-Advanced Study Institute* 346: 477-486, **1997**.
- [58] Jĭnagaki, N., Kishi, A., Katsuura, K., Surface properties of polymers prepared from trimethylsilyldimethyl-amine and hexamethyldisilazane by glow discharge polymerization, *Int. J. Adhesion and Adhesives*, 233-238, 1982.
- [59] Flosch, D., Clarotti, G., Geckeler, K. E., Schue, F., Gopel, W., Characterization of Plasma-Treated poly (hydroxybutyrate) Membrane Surfaces by ESCA and Contact Angle Measurements, *Journal of Membrane Science*, 73, 163-72, **1992**.
- [60] Yıldız, A., Genç, Ö., *Enstrümental Analiz Teknikleri*, H. Ü. yayınları A-46, Ankara, 480s, **1993**.
- [61] Ratner, B. D., Surface diagnostics of plasma-treated materials. *Plasma Processing of Polymers*. d' Agostino, R., Favia, P., Fracassi, F. (eds.), Kluwer Academic Publishers, Netherlands, pp. 211-220, **1996**.
- [62] Butt, H. J., Capella, B., Kappl, M., *Force Measurements with the Atomic Force Microscope: Technique, Interpretation and Applications*. *Surface Science Reports*. 59, 1-152, **2005**.
- [63] Çatalkaya, H., *Grafit Elektrot Üzerinde Elektro polimerizasyon ile Polianilin Kopolimerlerinin Sentezi, Karakterizasyonu ve Amperometrik Biyosensör Olarak Uygulaması*, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2011**.
- [64] Meyer, G., Amer, N. M., Novel Optical Approach to Atomic Force Microscopy, *Applied Physics Letters*., 53, 12, 1045-47, **1998**.

- [65] Akdoğan, E. C. D., Aydın, E., Tan, E., Mutlu, M., "Glow-Discharge Treated Polyethersulphone, Polycarbonate and Cellulose Acetate Ultrafiltration Membrans for Sugar Separation: Effect of Ethylenediamine and 2-Hydroxyethylmethacrylate as Precursors." Plasma Polymers and Related Materials, Hacettepe University Press, Ankara, **2005**.
- [66] Karamollaoğlu, İ., Öktem, H. A., Mutlu, M., QCM-based DNA Biosensor for Detection of Genetically Modified Organisms (GMOs), Biochemical Engineering Journal 44, 142–50., **2009**.
- [67] Şir, N., Plazma Polimerizasyon Tekniği ile Desenlenmiş Polimerik Membran Yüzeylerde iletkenlik ve Biyomolekül Tutuklama Özelliklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2009**.
- [68] Tabrizi, A. P. F., Altın Nanopartikül Üretimi ve Kuvars Kristal Mikrobals Sisteminde Kullanımı, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü,72s, **2005**.
- [69] Huang, P., Li, Z., Hu, H., Cui, D., Synthesis and Characterization of Bovine Serum Albumin-Conjugated Copper Sulfide Nanocomposites, Journal of Nanomaterials Volume 2010, Article ID 641545, 6 pg., **2010**.

# ÖZGEÇMİŞ

## Kimlik Bilgileri

Adı ve Soyadı : Atefeh EBADI  
Doğum Yeri : İRAN- Khoy  
Medeni Hali : Evli  
E-posta : [atefeh.ebadi@hacettepe.edu.tr](mailto:atefeh.ebadi@hacettepe.edu.tr)  
Adresi : Aşık Veysel Mah – Ekenler SK NO:9/1 – Mamak – Ankara

## Eğitim

Lise :Mohaddeseh – İran  
Yüksekokul : Islamic Azad University – İran- Deneysel Bilimler  
Lisans : Islamic Azad University – İran - Deneysel Bilimler  
Yüksek Lisans : Hacettepe üniversitesi- Nanoteknoloji ve Nanotıp

## Yabancı Dil ve Düzeyi

Türkçe- Diploma

## İş Deneyimi

## Deneyim Alanları

## Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

## Tezden Üretilmiş Yayınlar

## Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar