T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

QCM TESPİT SİSTEMLERİNİN GENETİK TESPİT YÖNÜNDEN KIYASLANMASI

Hazırlayan
Zeynep GÜNAYDIN

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Çağrı SOYLU

Yüksek Lisans Tezi

Eylül 2018
KAYSERİ

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

QCM TESPİT SİSTEMLERİNİN GENETİK TESPİT YÖNÜNDEN KIYASLANMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Hazırlayan
Zeynep GÜNAYDIN

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Çağrı SOYLU

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 29.05.2018 tarih ve TTU-2018-8226 nolu kararı ile desteklenmiştir

Eylül 2018
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Zeynep GÜNAYDIN



YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI

"QCM Tespit Sistemlerinin Genetik Tespit Yönünden Kıyaslanması" adlı Yüksek Lisans tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi' ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan

Zeynep GÜNAYDIN

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Çağrı SOYLU

Biyomedikal Mühendisliği ABD Başkanı

Prof.Dr. Mehmet Emin YÜKSEL

Dr.Öğr.Üyesi Mehmet Çağrı SOYLU danışmanlığında **Zeynep GÜNAYDIN** tarafından hazırlanan **"QCM Tespit Sistemlerinin Genetik Tespit Yönünden Kıyaslanması"** adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyomedikal Mühendisliği** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

08/10/2018

JÜRİ:

Danışman : Doç. Dr. Mahmut TOKMAKÇI .....

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Murat PEKER .....

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Çağrı SOYLU .....

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 09/10/2018. tarih ve 2018/57-13 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

T.C.

09/10/2018

Prof. Dr. Mehmet AKKURT

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca farklı bakış açıları ve bilimsel katkılarıyla beni aydınlatan, yakın ilgi ve yardımlarını esirgemeyen ve bu günlere gelmemde en büyük katkı sahibi sayın danışmanım Dr.Öğr.Üyesi Mehmet Çağrı SOYLU ’ya teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca; çalışmalarım süresince maddi, manevi desteklerini eksik etmeyen ve beni daima destekleyen aileme ve diğer hocalarıma en içten teşekkürlerimi sunarım.

Zeynep GÜNAYDIN

Eylül 2018, Kayseri

QCM TESPİT SİSTEMLERİNİN GENETİK TESPİT YÖNÜNDEN KIYASLANMASI

Zeynep GÜNAYDIN

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi, Eylül 2018
Danışman: Dr.Öğr.Üyesi Mehmet Çağrı SOYLU

ÖZET

Hastalıkların erken teşhisi tedavide çok önemli rol oynamaktadır. Günümüzde Polimeraz Zincirleme Tepkimesi (Polymerase Chain Reaction) (PCR) genetik olarak hastalıkların teşhisi için kullanılan bir yöntemdir. PCR yerine kullanılabilecek yöntemler araştırılmaktadır. Çünkü PCR işlem süresi uzun, yatırım maliyetleri pahalı ve sadece gelişmiş ülkelerin erişebildiği ve sahip olduğu tam donanımlı laboratuvarlar gerektiren bir teşhis yöntemidir. Tükürük üzerinden genetik tespit yapabilen farklı bir yöntem, daha düşük bir enfeksiyon riskine sahip olur ve hastaya invitro işlem uygulanmadığından dolayı daha çok tercih edilebilir. İşlemi sağlayan sağlık personeline ve diğer hastalara enfeksiyonların bulaşma riski kan örneklerine kıyasla tükürükte çok daha az olmaktadır.

Bu çalışmada, iki farklı Kuvars Kristal Mikrodenge (Quartz Crystal Microbalance) (QCM) cihazı kullanılmıştır. Cihazların sensör yüzeyleri, sensörün kararlılığını artırmak ve yeterli immobilizasyon için uygun yüzey sağlamak için (3-Mercaptopropyl) trimethoxysilane (MPS) kaplama ajanına maruz bırakılmıştır. Sentetik Prob DNA (pDNA), Sentetik Target DNA'yı (tDNA) tespit edebilmek için sensör yüzeyine yerleştirilmiştir. Cihazlar aynı koşullarda aynı deneyler yapılarak kıyaslanmıştır. Sonuçları bir çok parameter göz önüne alınarak değerlendirilmiştir. Kıyaslamaya değer anlamlı veriler elde edilmiştir.İki cihazda da sonuçlar, model tükürükteki genetik materyalin, izolasyon, saflaştırma ve amplifikasyona ihtiyaç duyulmaksızın tespit edildiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Biyosensör; QCM-D; eQCM; DNA Tespiti

COMPARISON OF QCM DETECTION SYSTEMS FROM GENETIC INSPECTION

Zeynep GÜNAYDIN

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences
Master Science Thesis, September 2018
Supervisor: Dr. Mehmet Çağrı SOYLU

ABSTRACT

Early diagnosis of the disease plays a very important role in the treatment. Today, the Polymerase Chain Reaction (PCR) is a method used genetically to diagnose diseases. Methods that can be used in place of PCR are being investigated. Because the PCR process is long, the investment costs are expensive and only fully developed laboratories, which can only be accessed and developed by developed countries, are a diagnostic method. A different method of detecting genetic susceptibility through saliva has a lower risk of infection and may be preferred because the patient is not invited. The risk of infecting health personnel and other infectious diseases that provide treatment is much less in saliva than in blood samples.

In this study, two different Quartz Crystal Microbalance (QCM) devices were used. The sensor surfaces of the devices were exposed to the (3-Mercaptopropyl) trimethoxysilane (MPS) coating agent to increase the stability of the sensor and provide a suitable surface for adequate immobilization. Synthetic probe DNA (pDNA) is placed on the sensor surface to detect synthetic target DNA (tDNA). The devices were compared under the same conditions with the same experiments. The results have been evaluated by considering several parameters. Significantly comparable results have been obtained. The results also show that the genetic material in the model saliva is detected without the need for isolation, purification and amplification.

Keywords: Biosensor; QCM-D; eQCM; DNA Detection

İÇİNDEKİLER

MODEL TÜKÜRÜKTE QCM SENSÖR İLE SENTETİK GENETİK MATERYAL TESPİTİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK i
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI ii
KABUL ONAY iii
TEŞEKKÜR iv
ÖZET v
ABSTRACT vi
İÇİNDEKİLER vii
KISALTMALAR ve SİMGELER xi
TABLOLAR LİSTESİ xii
ŞEKİLLER LİSTESİ xiii

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. Tükürük 1
1.1.1. Tükürük Sıvısı 1
1.1.2. Tükürük Bezi Salgıları 2
1.1.3. Tükürük Salgılama Mekanizması Bileşenleri 3
1.1.4. Tükürüğün Görevleri 4
1.1.5. Tükürük İle Hastalık Teşhisi ve Önemi 6
1.1.6. Girişimsel Olmayan ve Erken Tespitin Önemi 6
1.1.7. Tükürük ile Yapılan Genetik Tespitler 6
1.2. DNA Tespit Yöntemleri 8
1.2.1. Ticari Yöntemler 8

1.2.2. Gelişmekte Olan Yöntemler 11

1.2.2.1. Elektrokimyasal Biyosensörler 11

1.2.2.1.1. Amperometrik/VoltmetrikBiyosensörler 11

1.2.2.1.2. Potensiyometrik Biyosensörler 12

1.2.2.1.3. Yarı İletkenleri Esas Alan Biyosensörler 13

1.2.2.2. Optik Biyosensörler 13

1.2.2.2.1. Absorpsiyon Esaslı Biyosensörler 14

1.2.2.2.2. Flouresans Esaslı Optik Biyosensörler 14

1.2.2.2.3. Biyolüminesans Esaslı Optik Enzim Sensörleri 14

1.2.2.3. Kantilever Biyosensör 14

1.2.3. Piezoelektrik Biyosensörler 16

1.2.3.1. Piezoelektrik Tarihçesi 16

1.2.3.2. Piezoelektrik Hakkında TeorikBilgi 17

1.2.3.2.1. Ferroelektrik Özellik ve Polarizasyon 17

1.2.3.2.2. Piezoelektrik Özellik 18

1.2.3.2.3. Piezo / Ferroelektrik Etki ve Polarizasyon 19

1.2.3.2.3.1. Polarizasyon(Kutuplanma) 19

1.2.3.2.3.2. Piezoelektrik Sabiti 20

1.2.3.2.3.3. Dielektrik Katsayıları 23

1.2.3.2.3.4. Elektromekanik Eşleme Faktörü 23

1.2.3.2.4. Piezoelektriklerde Sınırlamalar 25

1.2.3.2.4.1. Elektrodaralma (Elektrostriksiyon) 25

1.2.3.2.4.2. Depolarizasyon (Sınırlama) 25

1.2.3.2.4.3. Frekans Sınırlamaları 26

1.2.3.2.5. Piezoelektrik Seramik Malzemeler 27

1.2.3.2.6. Piezoelektrik Malzemelerin Uygulama Alanları ve Kullanıldığı Yerler 29

1.2.3.2.6.1. Sensör 29

1.2.3.2.6.2. Üreteçler 29

1.2.3.2.6.3. Aktuatörler 30

1.2.3.2.6.4. Transdüserler 31

1.3. Kuvars Kristal Mikrodenge 31

1.3.1. Kuartz 33

1.3.1.1. Kuartz'ın Kullanım Alanları 34

1.3.1.2. QCM'in Avantajları 34

1.3.1.3. Piezoelektrik Etki Ve QCM'in Çalışma Prensibi 35

1.3.2. Biyosensör Tasarımı 38

1.3.3. QCM Uygulamaları 40

2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Deney Malzemeleri ve Kimyasalları 44

2.1.1. Kullanılan Cihazlar 44

2.1.2. Kullanılan Kimyasallar 46

2.1.3. Kullanılan Sentetik DNA'lar 47

2.1.4. Kullanılan Deney Düzenekleri 48

2.2. QCM Temizlik İşlemi 48

2.2.1. QCM Sensör Yuvası ve Bileşenlerinin Temizliği 48

2.2.2. QCM Sensör Yuvasındaki Conta ve O-ring Parçalarının Temizliği 49

2.2.3. QCM Sensörün Temizlenmesi 49

2.3. MPS Kaplama 50

2.3.1. MPS Solüsyonunun (Çözeltisinin) Hazırlanması 52

2.3.2. MPS Kaplama İşleminin Yapılması 52

2.3.3. MPS Kaplama İşleminin QCM İle Takibi 53

2.4. SULFO-SMCC Kaplama İşlemi 56

2.4.1. SULFO-SMCC Solüsyonunun Hazırlanması 56

2.4.2. SULFO-SMCC Kaplama İşleminin Uygulanması 56

2.4.3. SULFO-SMCC Kaplama İşleminin QCM İle Takibi 57

2.5. pDNA İmmobilizasyonu 58

2.5.1. pDNA Solüsyonunun Hazırlanması 59

2.5.2. pDNA İmmobilizasyon İşleminin Uygulanması 59

2.5.3. pDNA İmmobilizasyonun İşleminin QCM İle Takibi 60

2.6. Model Tükürük 60

2.7. BSA Bloklama 61

2.7.1. BSA Solüsyonunun Hazırlanması 61

2.7.2. BSA Bloklama İşleminin Uygulanması 62

2.7.3. BSA Bloklama İşleminin QCM İle Takibi 62

2.8. tDNA Tayini 62

2.8.1. tDNA Solüsyonunun Hazırlanması 63

2.8.2. tDNA Solüsyonlarının Uygulanması 64

2.8.3. tDNA Hibridizasyon İşleminin QCM İle Takibi 65

3. BÖLÜM

BULGULAR VE SONUÇLAR

3.1. Deney Aşamalarının Frekans Analizi 67

3.2. Sistemin Hassasiyet Analizi 69

3.3. tDNA Hibridizasyonlarının Mukayesesi 70

3.4. Sistemin T-Test Bilgisi 73

4. BÖLÜM

TARTIŞMA 74

KAYNAKÇA 77

ÖZGEÇMİŞ 95

KISALTMALAR ve SİMGELER

Sembol	Anlamı	Birimi
QCM	Kuartz Kristal Mikrodenge	-
MPS	(3-Mercaptopropyl)trimethoxysilane	-
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu	-
BSA	Büyükbaş Serum Albümin	-
PBS	Fosfat Tamponlu Serum	-
DIW	Deiyonize Su	-
Sulfo-SMCC	4-(N-Maleimidomethyl)cyclohexane-1-carboxylic acid 3-sulfo-N-hydroxysuccinimide ester sodium salt	-
Hz	Hertz	s^{-1}
ω	Açısal Hız	w
I	Akım	A
Δm	Birim alandaki kütle değişimi	g/cm^2
R	Direnç	ohm
Z	Empedans	ohm
V	Gerilim	V
f_0	Kristalin temel rezonans frekansı	Hz
f	Frekans	Hz
dk	Dakika	s
s	Saniye	s
ml	Mililitre	L
ul	Mikrolitre	L
mg	Miligram	N
ng	Nanogram	N
nl	Nanolitre	L

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1.1. Bazı Ferroelektrik Malzemeler 18

Tablo 2.1. Sentetik DNA Özellikleri 48

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Tükürük Örneği 2
Şekil 1.2. Büyük Tükürük Bezleri 2
Şekil 1.3. Tükürüğün Görevleri 4
Şekil 1.4. PCR Tekniği 8
Şekil 1.5. PCR İşlemi Aşamaları 9
Şekil 1.6. Potansiyometri esaslı ve biyoaktif bileşen olarak enzimlerin kullanıldığı bazı biyosensörlere ilişkin örnekler 12
Şekil 1.7. Optik Biyosensörün Şematik Gösterimi 13
Şekil 1.8. Kantilever yüzeyinde gerçekleşen etkileşimler sonucu kantileverde oluşan değişimlerin şematik gösterimi 15
Şekil 1.9. Sıvı hücre sistemi şematik gösterimi 16
Şekil 1.10. Piezoelektrik Etki 16
Şekil 1.11. Piezoelektrik Kristalin Şematik Gösterimi 18
Şekil 1.12. $LiTaO_3$ (LT) Ve $LiSbO_3$ (LS) Modifiye Edilmiş KNN Sistemleri İçin Bir Sıcaklık Fonksiyonu Olarak Piezoelektrik Katsayıları ve Bağlanma Faktörleri 22
Şekil 1.13. %5 KNN-LS Malzemesi İçin Bir Sıcaklık Fonksiyonunun Dielektrik Geçirgenliği 22
Şekil 1.14. Piezoelektrik Malzemenin İnce Diskinin Düzlemsel Salınımları 24
Şekil 1.15. Frekansın Bir Fonksiyonu Olarak Bir PZT Diskin Özdirenci 26
Şekil 1.16. Provskit Kristalinin Şematik Görüntüsü 28
Şekil 1.17. Temel Piezoelektrik Sensör Çeşitleri, (a) Eksenel Sensör, (b) Fleksör Sensör 29
Şekil 1.18. Piezoelektrik Eleman Kullanılarak Oluşturulan Elektrik Enerjisi, (a) Ark Üretimi, (b) Şarj Üretimi 30
Şekil 1.19. Temel Aktuatör Çeşitleri (a-c) 31
Şekil 1.20. QCM Sensörleri 32
Şekil 1.21. Kuartz Kristali 33
Şekil 1.22. Kuartz Kristalinin AT Kesimi 34

Şekil 1.23. QCM biyosensörde kullanılan pizoelektrik kristal algılama başının yapısı,
(a) üstten görünüm ve (b) en-kesit görünümü 36
Şekil 1.24. QCM Sisteminin Şematik Diyagramı 38
Şekil 1.25. SH-Modifiye Probun Altın Yüzeye Bağlanması 39
Şekil 2.1. QCM Cihazı (Biolin Scientific Q Sense Explorer(QCM-D)) 44
Şekil 2.2. QCM Cihazı (Gamry eQCM) 45
Şekil 2.3. MPS Yapısı 46
Şekil 2.4. Sulfo-SMCC Yapısı 46
Şekil 2.5. Bovine Serum Albumin Yapısı 47
Şekil 2.6. a) Oda Sıcaklığı Kapalı Döngü Sistem Düzeni, b) Oda sıcaklığı Açık Döngü Sistem Düzeni 48
Şekil 2.7. MPS Kaplamanın Yüzey ile Etkileşimi a) hidroliz, b) yoğunlaşma, c) katmanlaşma 51
Şekil 2.8. MPS Kaplama Sonrası Kaplamanın a) Kesit Alanı ve b) Üstten Görünüşü c) Optimum Koşullardaki Kaplamanın Sinyal Gürültüsü Üzerindeki Etkisi ve d) Gürültü Değişimi 52
Şekil 2.9. MPS Kaplama İşleminin QCM-D İle Takibi 53
Şekil 2.10. MPS Eğri Uydurma Uygulanmadan Önceki Grafik 54
Şekil 2.11. MPS Kaplama İşleminin eQCM İle Takibi 55
Şekil 2.12. MPS Eğri Uydurma Uygulanmadan Önceki Grafik 55
Şekil 2.13. Sulfo-SMCC'nin MPS ile Etkileşimi 56
Şekil 2.14. Sulfo-SMCC Kaplama İşleminin QCM-D İle Takibi 57
Şekil 2.15. Sulfo-SMCC Kaplama İşleminin eQCM İle Takibi 58
Şekil 2.16. pDNA'nın Sulfo-SMCC İle Etkileşimi 59
Şekil 2.17. a) pDNA İmmobilizasyon İşleminin QCM-D ile Takibi b) pDNA İmmobilizasyon İşleminin eQCM ile Takibi 60
Şekil 2.18. BSA'nın Yüzey İle Etkileşimi 61
Şekil 2.19. a) BSA Bloklama İşleminin QCM-D ile Takibi b) BSA Bloklama İşleminin eQCM ile Takibi 62

Şekil 2.20. tDNA ile pDNA Arasındaki Etkileşim (Hibritleşme)..... 63

Şekil 2.21. a) tDNA Hibridizasyonunun QCM-D İle Takibi b) tDNA Hibridizasyonunun eQCM İle Takibi 65

Şekil 2.22. Cihazların Frekans Kayma Miktarlarının Kıyaslaması ve Standart Hata Çubukları 66

Şekil 3.1. a) QCM-D Deney Aşamalarının Frekans Değişimi b) eQCM Deney Aşamalarının Frekans Değişimi..... 69

Şekil 3.2. QCM-D Sisteminin Hassasiyet Analizi 70

Şekil 3.3. a) QCM-D Cihazında Farklı tDNA Konsantrasyonlarının Frekans Analizi b) eQCM Cihazında Farklı tDNA Konsantrasyonlarının Frekans Analizi 70

Şekil 3.4. a) QCM-D Cihazında Logaritmik Eksende Doz Kıyaslama b) eQCM Cihazında Logaritmik Eksende Doz Kıyaslama 72

Şekil 3.5. Cihazların Logaritmik Eksende Doz Kıyaslama..... 73

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER

1.1. Tükürük

1.1.1. Tükürük Sıvısı

Ağzı yaş tutmaya, lokmaları ıslatıp sindirimi kolaylaştırmaya yarayan salgıdır. Tükürük ağız boşluğunu örten dokuyu nemli tutarak kurumasına, çatlamasına engel olur, konuşmayı kolaylaştırır. Tükürük salgısının uyarılmasıyla zararlı ajanların, ağız artıklarının temizlenmesi ve yıkanması da sağlanmış olur, böylelikle dişler ve ağız mukozası korunur [1].

Yaklaşık günde 1500 ml tükürük ağız içine salgılanmaktadır. Tükürüğün pH'ı yaklaşık olarak 7′dir. Tükürük içinde su, klorür, sodyum, kalsiyum, bikarbonat, potasyum, immün globulin A (IgA), albumin, ptiyalin (tükürük amilazı) ve glikoprotein yapısında olan "Müsin" bulunmaktadır. Ptiyalin, nişastaların sindirilmesinde görev almaktadır. Müsin ise ağız içindeki besinlerin kayganlaşmasını sağlamaktadır [2,3].

Tükürük tükürük bezleri tarafından salgılanır ve tükürük bezleri major ve minor olmak üzere ikiye ayrılır [4].

Major tükürük bezleri parotis, glandula submandibularis ve glandula subligualistir. Minor tükürük bezleriyse bulundukları bölgeye gore isim alırlar; bunlar labial, bukkal, glossopalatinal, insisiv ve lingual tükürük bezleridir [2,4].



Şekil 1.1. Tükürük Örneği [7]

1.1.2. Tükürük Bezi Salgıları

Major tükürük bezleri 3 çifttir: Bunlar parotis bezi , submandibular bezler ve sublingual bezler. Ayrıca oral ve farengeal mukozada 700-1000 e yakın soliter minör tükrük bezi bulunur. Majör tükrük bezleri embriyo döneminin 4. ve 8. haftalarında ektodermal hücre artışı sonucunda oluşmaya başlar. Kalınlaşan mezenkimal yapı, gelişen bezin etrafını bir kapsül şeklinde sarar. Bu enkapsülasyon parotis bezinda daha geç meydana geldiği için çevresel lenf nodlarını da içine alır. Aberran tükrük bezleri, servikal lenf nodları, orta kulak ve mandibular da bulunabilir [6,7].



Şekil 1.2. Büyük Tükürük Bezleri [8]

Gl. Parotis; yaklaşık 25-30 gram ağırdığındadır. Parotis, ramus mandibulanın arkasında, kulağın ön ve altında "fossa retromandibularis" adı verilen çukurda bulunur. Bez yassı, ters dönmüş pramite benzer [6,8].

Parotis bezinin superior, superfisialis, anteromedialis, posteromedialis olmak üzere dört yüzü vardır.

Burada yer alan salgı seröz berrak ve az miktarda müsin içermesi sebebiyle akıcı kıvamdadır. Kuru gıda maddelerini ıslatıp yumuşatmaya yarar. Yalnız kuru gıdayla değil asidik ve alkalen maddelerle de bol parotis salgısı meydana gelebilir. Böylece parotis salgısı ile de alkali ve asidik ortam pH'ı nötr hale getirilmeye çalışılır. Esas olarak seröz salgı yapar.

Gl. Submandibularis, bu bez çifttir ve çene altı lojlarına yerleşir. Yaklaşık 7-12 gram ağırlığındadır. Hiyoit üstü bölgeyi işgal eder. Bez alt çene köprüsü orta kısmı iç yüzü ile bivanter kasın iki karnı arasındadır. Müköz ve seröz karışık salgı yapar.

Gl. Sublingualis, majör tükürük bezlerinin en küçüğü olup ağırlığı 3 4 gram kadardır. Ağız tabanında dil frenulumu ile çene simfizi iki tarafına otururlar. Bu bezin diğer bezlerdeki gibi özel bir loju yoktur. Bez çok sayıda tükürük bezinin birleşmesinden oluşmuştur. Müköz salgı yapar.

Tükürüğün beşte birini meydana getirir. Sublingual bez de mikst tür bir bezdir. Ancak müköz hücreleri daha fazla olduğu için salgısı müsinden zengindir. Sublingual bez bu özelliği ile ağızda parçalanmış ve ufalanmış besin maddelerinin birbirine yapışmasını sağlar. Onun için bu bezin salgısına "yutma salgısı" da denir.

Minör tükrük bezleri, orofarenks, burun, sinüs, larenks ve trakea mukozasında bulunurlar. Genel olarak müköz salgı yapar [6,7].

1.1.3. Tükürük Salgılama Mekanizması Bileşenleri

Kimyasal, fiziksel ve mental faktörler tükrük yapımını uyarır. Tükürüğün günlük üretimi 1000-1500 ml. arasındadır ve tükürüğün %99'u sudur. Geri kalanı organik, inorganik ve hücreseldir. Bunların içinde; immünglobulinler (IgA, M, G), albumin ve lizozim elektrolitler (Na, K, Ca), amilaz, , kallikrein ile tripsin gibi enzimler de vardır.

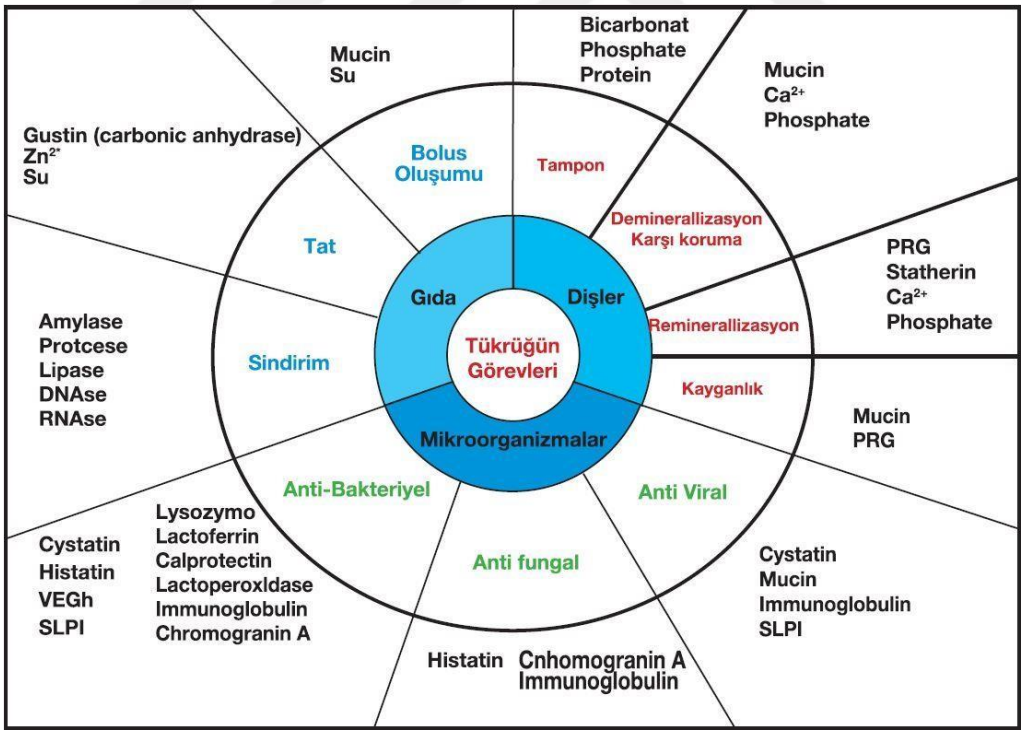
Lizozimler, IgA başta olmak üzere Ig'ler gibi taşınabilir koruyucu proteinler yoluyla immünolojik ve mekanik defans mekanizmaları aracılığı ile oral kavite mukozasını ve üst solunum yolunu korur. Gıdaları kayganlaştırır, amilaz ile yutma, çiğneme ve sindirim fonksiyonlarına yardımcı olur [9,10,11,12].

Vücut içinden kaynaklanan çeşitli maddelerin ve yabancı materyalin dışarı atılmasını sağlar. Tükrük ile birlikte iyot, koagüle edici faktörler, alkoloidler ve *Ebstein-Barr*, koksaki, sitomegali, polio kızamık ve hepatit virusleri vücuttan dışarı atılır. Dişleri korur. Tükrük kan grubu maddelerinin de ile dışarı atılmasında önemli rol oynar.

İnorganik Flor gibi ve organik tükrük içeriği dental enamelin yapımı ve korunması için önemlidir. Dişlerde bakterilerin birikimini önler.

Tat tomurcuklarını sürekli yıkar ve gıdaları sıvı içinde çözerek tat almaya yardımcı olur.

1.1.4. Tükürüğün Görevleri



Şekil 1.3. Tükürüğün Görevleri [21]

Şekil 1.3. de görüldüğü üzere tükürük insan organizmasında hayati önem taşıyan birçok görevleri üstlenmiştir.

Fizyolojik miktardaki tükürük salgısı ağız sağlığının korunmasında çok yüksek bir öneme sahiptir. Tükürüğün ağız sağlığını korumaya ve ağız ortamında uygun bir denge sağlamaya yönelik fonksiyonları 5 kategoride toplanabilir:

- Tükürükte remineralizasyon etki: Tükürük mine için kalsiyum ve fosfat iyonlarının alışveriş ortamıdır. Kalsiyum, fosfat, magnezyum, florür gibi tükürük iyonları mineye diffüze olup minenin olgunlaşmasını sağlarlar. Bu olgunlaşma yüzey sertliğini ve geçirgenliğini arttırır. Çürüklere karşı daha dirençli bir yapı oluşturur.

- Tükürükte antimikrobiyal etki: Tükürük içerisinde, mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyen ve mukozayı enfeksiyondan koruyan bazı komponentler yer alır. Bunlar; savunma elemanları olarak görev yapan lizozim, peroksidaz, IgA, laktoferrin, müsinler, prolinden zengin glikoproteinler ve aglutininlerdir. Tükürük antibakteriyel ve antifungal özellikler göstererek bakterilerin bağlanma yeteneklerini, büyümelerini ve kolonizasyonlarını engeller. Ayrıca, tükürükteki eser elementlerden çinko ve bakırın streptokokların asit yapma gücünü azaltıcı etkisi vardır.

- Tükürükte tamponlama özelliği: Tükürüğün pH'ı 6.7-7.4 arasında değişir. Tükürük pH'ını etkileyen iyonlar; bikarbonatlar, karbonik asitler, fosfatlar ve tükürük proteinleridir. Diş yüzeyindeki sıvının, hidroksiapatite göre doymamış olduğu ve mineden kalsiyum ve fosfatların ayrılmasına izin veren değere kritik pH değeri denir. Bu değer 5.5 ve bunun altındaki pH'lardır. Kritik pH'ın altında diş minesinden çözünme başlamaktadır. Tükürük 5 bileşiminde bulunan karbonit asit, bikarbonat ve fosfatlar tampon vazifesi görürler. Yani asitleri nötralize ederler. Böylece diş dokuları korunmuş olur [2,14,16,18,21,22].

- Mukozal bütünlüğe tükürüğün etkisi: Tükürük içerisinde bulunan suyun mukozal bütünlüğün korunmasında önemli bir yeri bulunmaktadır. Ağız mukozasını ıslatarak yutma ve çiğneme işlemlerini kolaylaştırır. Besinlerin, tükürük içerisinde eriyerek emilimlerini kolaylaştırır. Ayrıca farengeal ve bukkal mukozanın yeterince ıslak olması konuşma yönünden de gereklidir.

- Tat almaya etkisi: Besinlerin tadının alınması için suda erimiş olmaları gereklidir. Tükürükteki su bunu sağlar. Dildeki tat cisimcikler de tükürük ile temizlenerek yeni uyaranlara karşı hazır duruma getirilirler [10].

1.1.5. Tükürük İle Hastalık Teşhisi ve Önemi

Genetik moleküller ve protein içeren tükürük, noninvazif yaklaşım gerektiren, güvenilir, kolay, örnekleme yöntemiyle çalışma sağlayabilen bir sıvıdır.

Tükürük saklama, toplama, hacimli örnekleme ve gönderme açısından seruma ve üreye göre daha ekonomiktir. Tükürükte kan gibi pıhtılaşma durumu olmadığın için tükürüğün taşınması kolaydır; buna ek olarak, Tabak 1990 yılında "sağlık çalışanları için türükük testlerinde hastalığın bulaşma riski olmadığından seruma göre daha güvenilirdir; ayrıca noninvazif bir yöntem olmasıyla hastalarda rahatsızlık ve endişe oluşturmamaktadır." bilgisini vermiştir [19].

Çizmeci ve arkadaşları 2006 yılında "Tükürük tanı yöntemlerindeki gelişmeler ile gelecekte hastalığa özgü kullanılması kolay, hassas, portatif platform eksikliği gibi sorunların da ortadan kalkabileceği öne sürülmektedir. Son zamanlarda, tükürük tanı yöntemlerinin biyoteknoloji ile kombinasyonu, tükürükte saptanan birçok değerli tıbbi maddenin bakteriyel hastalıklar, viral hastalıklar, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, HIV ve otoimmun hastalıklar gibi çeşitli hastalıkların bejolojik belirteci olarak tanıda kullanılabildiği bildirilmektedir." şeklinde raporlamışlardır [23].

1.1.6. Girişimsel Olmayan ve Erken Tespitin Önemi

Başarılı tedavide erken tanı önemli bir rol oynar. Birçok olayda, hastalığın erken tanısı ile başarılı tedavi veya kontrol gerçekleştirilebilmektedir [25]. Tükürük tanı yöntemleri, hastalık tanısında kolay, invazif olmayan, güvenilir ve ucuz uygulamaları içermektedir.

Tükürük, enfeksiyon gelişme riskinin düşük olması, kolay elde edilebilmesi, idrar veya kana göre hastadan temininin rahat ve ucuz olması sebebiyle tanı materyali olarak çok fazla avantaja sahiptir. Tükürüğün vücuttaki fizyolojik ve patolojik değişikliklerin tespit edilmesini sağlayan biyoişaretleyicileri (DNA, RNA, proteinler, glikoproteinler, immünglobulinler, metabolitler, hücresel materyal, mikroorganizmalar) aracılığıyla uygun tanılar gerçekleştirilebilir [26,27,28].

1.1.7. Tükürük ile Yapılan Genetik Tespitler

Ağız kanserlerinin tükürük ile saptanması: Ağız kanserleri, çoğunlukla da oral skuamoz hücreli karsinoma, boyun ve baş bölgesinde dünyada yılda 300.000 insanı etkilediği söylenmektedir. Amerikan Kanser Vakfı'na göre, 2006'da ağız kanseri, tüm kanserler içerisinde erkeklerde % 3, kadınlarda % 2 olarak belirtilmiştir. Son 15 yılda elde edilen

moleküler ve epidemiyolojik veriler, servikal kansere neden olan Human Papillomavirus'un (HPV) boyun ve baş bölgesinde karsinogenezisi ilerlettiğini göstermektedir. Tükürüğün ağız kanserleriyle ilişkili bir sıvı olması, kolay toplanabilmesi ve minimal yayılım göstermesi, ilerleyişinin görüntülenmesi ve tükürüğü ağız kanserlerinin saptanması açısından önemli kılmaktadır [35].

Sistemik enfeksiyonların tükürükte saptanması: Primer patojenlerin etkin olduğu enfeksiyöz hastalıklar yüksek mortalite riski gösterebilmektedir. Bu nedenle, erken ve doğru tanı uygun tedavi seçeneğinin belirlenmesinde önemlidir. Tanı yöntemleri (direkt patojenin tanısı, patojen nükleik asidin tanısı (DNA/RNA) ya da yükselmiş konak antijeni tanısı) patojenlere göre değişiklik gösterebilmektedir. Örneğin, peptik ülserin majör risk faktörü Helicobacter Pylori, pahalı ve yüksek invazif bir yöntem olan gastrik mukozal biyopsi ile saptanabilmektedir. H. Pylori, rDNA dizisinin tükürükte PCR ile güvenilir olarak belirlenebilmesi, gelecekte tükürüğün ucuz ve rutin bir şekilde H. Pylori bakterisinin tanısında kullanılabileceğini göstermektedir. Mycobacterium Tuberculosis'in direkt tanısının tükürükte PCR ile gerçekleştirilen bakteriyal DNA tanısından daha az etkili olduğu bildirilmektedir. HIV, spesifik IgG antikorunun tükürük ile tanı- sının da serum ile tanısı kadar güvenilir sonuçlar verdiği düşünülmektedir. Ayrıca HPV, herpes virüs, herpes simplex virüs, Epstein-Barr virüs, kızamık ve kabakulak virüsleri PCR ile DNA üzerinde ya da artmış IgG antikor seviyeleri ile saptanabileceği bildirilmektedir [36].

Periodontal hastalığın tükürük ile saptanması: Yetişkinlerde diş kaybına sebep olabilen genel ağız enfeksiyon hastalığıdır. Hastalığın tanısında kullanılan geleneksel metodlar arasında dişeti cebinin derinliğinin ölçülmesi, klinik ataşman kaybı seviyesi, ölçüm sırasındaki kanama varlığı, dişeti indeksi, plak indeksi ve radyografik analizler bulunmaktadır. Bu parametreler, uygulanması kolay, noninvazif ve güvenilirlerdir. Ancak bu tanı yöntemleri inflamasyonun başlangıcını ve periodontal hastalık riski taşıyan bireylerin saptanmasında yetersiz kalabilmektedir. Son 20 yıl içerisinde ağız sıvıları, tükürük ve dişeti oluğu sıvısı, tanı amaçlı uygulamalarda alternatif yöntem olarak kullanılmaktadır. Tükürük analitlerinin seviyesinin bu yöntemler ile saptanabilmesi mevcut hastalığın aktivitesi ve şiddetinin belirlenebilmesi açısından da avantaj oluşturmaktadır. Periodontal teşhis için çalışılan tükürük markerları konak orijinli proteinler (enzimler, immünoglobulinler), fenotipik markerlar, konak hücreleri,

hormonlar, bakteriler ve bakteriyel ürünler, iyonlar ve gaz haline gelebilen bileşiklerdir [33].

1.2. DNA Tespit Yöntemleri

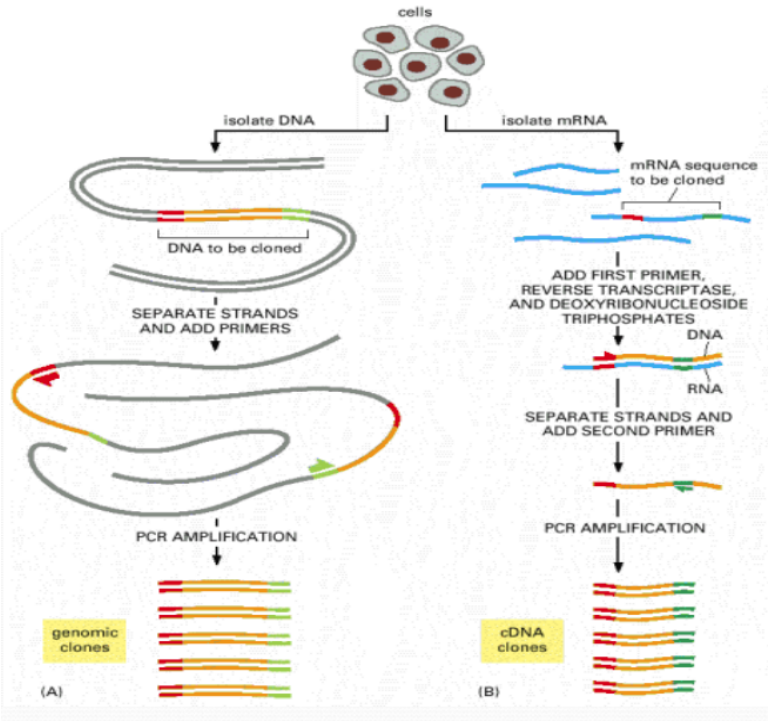
1.2.1. Ticari Yöntemler

1.2.1.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Polimeraz zincir reaksiyonu(PCR) 1985 yılında ilk kez bilim dünyasına sunulduktan sonra; tanıda hem araştırmada hem de klinik laboratuarlarda yeni bir yön vermiştir. ABD'de Cetus şirketinde çalışan Henry A. Erlich, Kary Mullis ve Randall K. Saiki tarafından geliştirilmiştir. Bu buluşundan dolayı K. Mullis, 1993 yılı Nobel Kimya Ödülünü kazanmıştır.

Metod kısaca, uygun koşullarda nükleik asitlerin tüpte çoğaltılması şeklindedir. Spesifik bir DNA parçasının kopyalarının primerler tarafından yönlendirilerek enzimatik olarak sentezlenmesi şeklinde tanımlanan in vitro(canlı dışında,tüpte) bir yöntemdir.

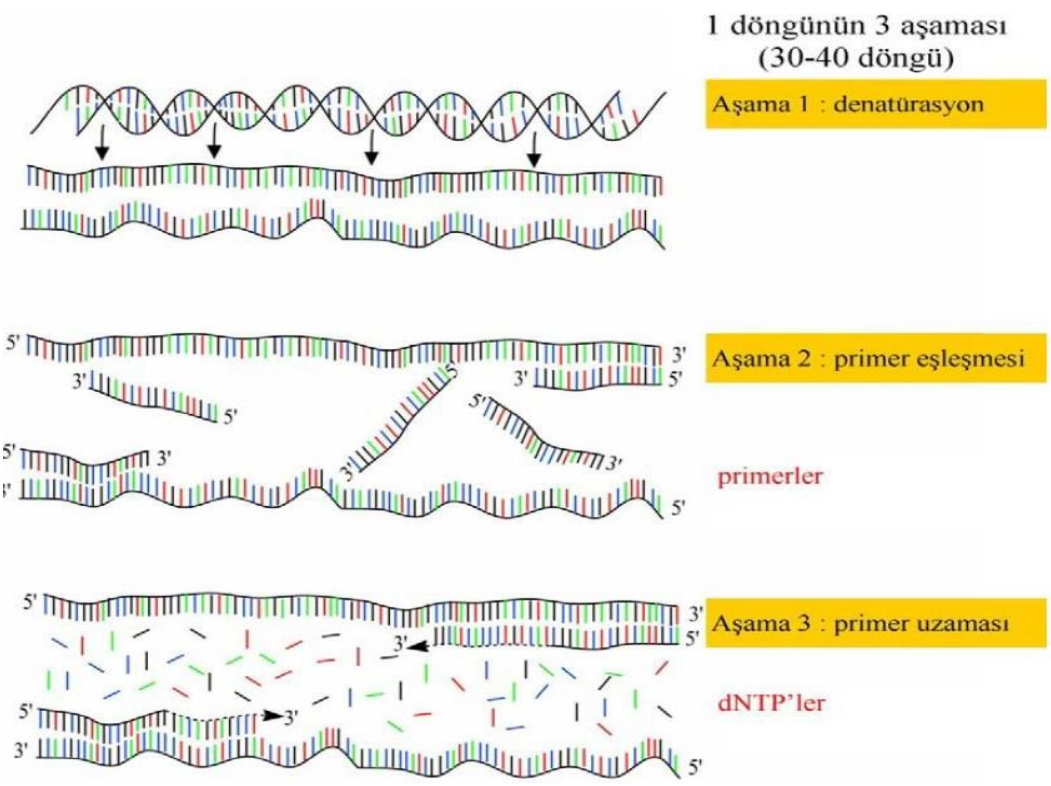
Yöntemin temeli, çoğaltılmak istenen bölgenin iki ucuna özgü, bu bölgedeki baz dizilerini tamamlayıcı bir çift sentetik oligonükleotid primer kullanılarak, bu iki primerle sınırlandırılan genin enzimatik olarak sentezlenmesine dayanır [61,69].



Şekil 1.4. PCR Tekniği [68]

Kalıtsal hastalıklarda taşıyıcının ve hastanın tanısı, prenatal tanıda, adli tıpta, klinik örneklerde patojen organizmaların saptanması, gen tanısı araştırmalarında, onkogenesisin araştırılmasında, klonlamada, nokta mutasyonlarının belirlenmesinde, DNA dizi analizinde,büyük miktarda DNA örneklerinin oluşturulmasında, bilinmeyen dizi tayininde, in vitro fertilization yapılan tek hücrede, implantasyon öncesi genetik testlerin yapılmasında, DNA-protein interaksiyonunun araştırılmasında, PCR tekniği, çok az miktarda DNA ile çalışmaya olanak sağlamaktadır. PCR tekniği ile laboratuvar tanısında çok büyük bir hız ve kesinlik kazanılmış; birçok durumda radyoaktivite kullanımını gereksiz hale getirmiştir.

Polimeraz zincir reaksiyonunda üç temel basamak vardır ve çoğaltılmış ürünün miktarı,-teorik olarak, bu üç adımın tekrarlanma sayısına bağlıdır; bunlardan ilki denatürasyon: DNA'nın iki zincirinin yüksek sıcaklıkta birbirinden ayrılmasıdır ve 94℃-98℃ arasında gerçekleşir; annealing (hibridizasyon): Sentetik olgonükleotidlerin hedef DNA'ya bağlanmasıdır (primer bağlanması) ve 37℃-65℃ arasında gerçekleşir; extension (polimerizasyon): Zincirin uzaması ya da DNA polimerazın primerleri uzatmasıdır ve 72℃'de gerçekleşir [62,63,64,67].



Şekil 1.5. PCR İşlemi Aşamaları [68]

Ardarda tekrarlanan denatürasyon, primerlerin bağlanması, primerlerin uzaması evreleriyle DNA parçaları üssel olarak artar. Bu üssel artışın nedeni, bir döngü sonucu sentezlenen ürünün, ardışık döngüde diğer primerler için kalıp görevi yapmasıdır. Böylece her PCR döngüsü DNA molekülü üzerinde istenilen bölgenin iki katına çıkmasıyla sonuçlanır.PCR boyunca biriken ürünlerin boyu, iki primerin boyu ve hedef DNA bölgeleri arasındaki mesafelerin toplamı kadardır. Her döngü %100 verimle çalışsa 20 döngü sonunda 220 kat ürün oluşur.

PCR'nin temel bileşenleri ; kalıp olarak kullanılan DNA molekülü ,DNA polimeraz enzimi, primerler, dNTP karışımı tampon ve MgCl2'dir.

Kalıp DNA; genomik DNA'lar, plazmid ve faj DNA'ları çeşitli genler ve hatta herhangi bir DNA parçası kalıp olarak kullanılabilir. PCR'de kalıp olarak DNA'nın yanı sıra RNA'da kullanılabilir.

Polimerazlar; DNA polimeraz enzimleri, kalıp ipliğe tamamlayıcı bir DNA ipliği meydana getirmek üzere, orijinal kalıp iplikteki baz bilgisini kullanarak dört çeşit deoksiribonükleozid trifosfattan uzun polinükleotid zincirin sentezini kataliz eder. Bu enzimler, sentezi başlatmak için kalıp moleküldeki tamamlayıcı diziye bağlanan kısa DNA parçalarına (primerlere) gerek duyarlar. Sentezin yönü, 5 ' uçtan 3 ' uca doğru olup, primerin serbest 3 ' hidroksil ucuna ortamdaki dNTP'lerin nükleofilik etki yapmalarıyla, fosfodiester bağlarının katalizi ve yeni DNA ipliğinin polimerizasyonu sağlanır [64,64,67,70].

Primerler; gen çoğaltılması dahil PCR'nin birçok uygulaması için kalıp DNA'ya tamamen tamamlayıcı olan primerlere ihtiyaç vardır. Genel olarak kullanılan kalıp ile yüksek oranda bağlanma sağlamak üzere primerler 20-30 nükleotid uzunluğundadır. dNTP Karışımı; deoksirübonükleozid trifosfatlar (dATP,dGTP,dTTP,dCTP) yüksek saflıkta ya tek tek ya da dörtlü karışım halinde ticari olarak sağlanır. Optimal dNTP konsantrasyonu; MgCl2 konsantrasyonuna, reaksiyon koşullarına, primer konsantrasyonuna, çoğaltılmış ürünün boyuna, PCR döngü sayısına bağlıdır. Yapılacak PCR için en uygun dNTP konsantrasyonu deneysel olarak belirlenmelidir.

Tamponlar ve MgCl2; PCR'de en çok kullanılan tampon Taq/Amplitaq enzimlerine özgü olan tampondur. Diğer enzimler için de benzeri tamponlar bulunur. MgCl2 'nin

reaksiyon karışımındaki final konsantrasyonu değişebilmekle birlikte genellikle 0,5-5,0 mM'lık değerler arasında çalışılır. Mg+2 iyonları; dNTP'ler ile çözünebilir kompleksler oluştururlar. Polimeraz aktivitesini stimüle(uyarmak) ederler. Çift iplikli DNA'nın Tm değerini arttırırlar. Primer/kalıp etkileşimini sağlarlar, bu yüzden MgCl2 'ün PCR'nin özgüllüğü ve ürün verimi üzerinde çok önemli bir etkisi vardır. Genellikle optimum MgCl2 konsantrasyonu olarak 1,0-1,5 mM'lık değerler tercih edilir. Düşük Mg+2 konsantrasyonu; ürün oluşumunda azalmaya, yüksek Mg+2 konsantrasyonu ise spesifik olmayan ürün birikimine yol açar. MgCl2 içeren tamponlar kullanılıyorsa, ayrıca MgCl2 kullanımına gerek yoktur.

1.2.2. Gelişmekte Olan Yöntemler

1.2.2.1. Elektrokimyasal Biyosensörler

Diğer biyosensörlerle kıyaslandığında en eski ve en gelişmiş biyosensörlerdir. İlk zamanlarda, biyosensörler genellikle klinik glikoz analizi için geliştirilen enzim elektrotları şeklindeydi. Daha sonra, enzim bağlantılı imünoelektrokimyasal (IEC, Immunoelectrochemical) deney Heinemann ve meslektaşları tarafından elektrokimyasal biyosensörlerin hassasiyetini artırmak için geliştirildi. Bir tamponun elektriksel özelliklerinin etkisi (enzimatik reaksiyon tarafından veya Ab-Ag etkileşimince sebep olunan) çeşitli elektrokimyasal metotlarla ölçülebilir [76].

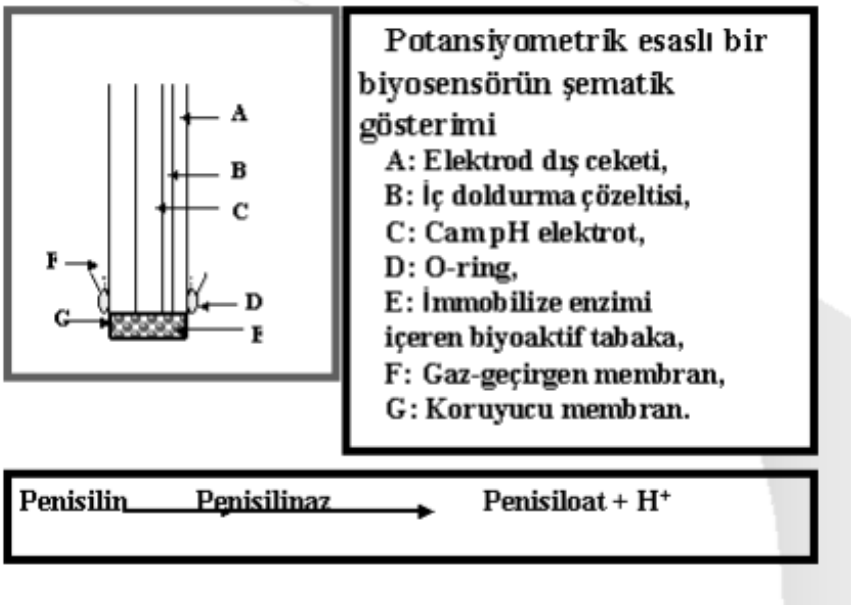
1.2.2.1.1. AmperometrikBiyosensörler

Bu biyosensörler elektrokimyasal sistem ile kendi akım potansiyel ilişkilerine göre sınıflandırılabilir. Amperometrik biyosensörler, voltmetrik biyosensörlerin bir alt grubu olarak görülebilir. Amperometrik biyosensörlerde, elektrokimyasal hücrelere sabit bir potansiyel uygulanmaktadır ve ilişkili akım bir indirgenme veya oksidasyon reaksiyonuna bağlı olarak elde edilir. Fakat voltmetrik biyosensör, örneğin doğrusal veya döngüsel voltmetrik diğer modlarda çalışabilir. Sonucunda, her mod için ilgili akım ve gerilim farklı olacaktır. Amperometrik biyosensörler genellikle konsantrasyon bağımlı akımı biyolojik olarak aktif materyalle kaplı elektrokimyasal elektrot aracılığıyla ölçerler. Ampermetrik dönüştürme, oksidasyon ve elektro aktif türlerin bir elektrot yüzeyinde indirgenmesi üzerine temellenmiştir.

Amperometrik bir transdüser, her hangi bir enzim, antikor, DNA probu, tam hücreler ve dokular da dâhil biyoalgılama materyali ile birlikte kullanılabilir. Örneğin, bir redoks hidrojel esaslı amperometrik bienzim biyosensörler balık tazeliğinin izlenmesi amacıyla yapılmışlardır, imünomanyetik ayrıştırma ile bir arada kullanılan bir bienzim elektrokimyasal biyosensör gıda örneklerinde Escherichia coli O157:H7'nin hızlı tespiti için geliştirilmiştir, ve karbon nanotüpleri üzerinde kendi kendini oluşturan asetil kolinesteraz temelli bir biyosensör organofosfat pestisitlerin akış enjeksiyon/ amperometrik tespiti için ortaya konmuştur [79].

1.2.2.1.2. Potensiyometrik Biyosensörler

Heinemann ve arkadaşları 1979 yılında "Potansiyometri bilindiği gibi en genel anlamda bir çalışma ve referans elektrot arasındaki potansiyel farkının ölçümünü esas alır. Elektrot potansiyelinin belirlenmesi doğrudan analit konsantrasyonunu tanımlar. Potansiyometrik biyosensörlerde kullanılan temel sensörler pH ya da tek değerlikli iyonlara duyar cam elektrotlar, anyon ya da katyonlara duyar iyon seçimli elektrotlar ve karbondioksit ya da amonyağa yönelik gaz duyar elektrotlardır." bilgisini vermişlerdir [75].



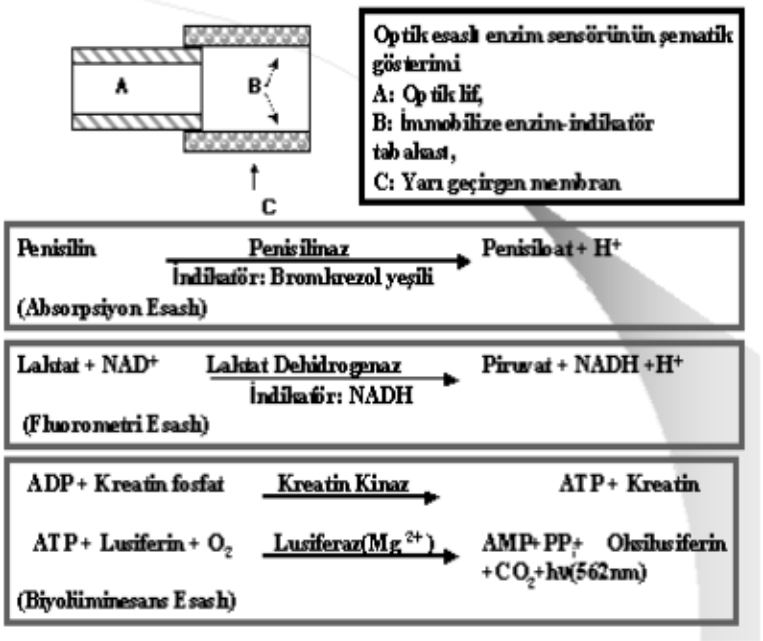
Şekil 1.6. Potansiyometri esaslı ve biyoaktif bileşen olarak enzimlerin kullanıldığı bazı biyosensörlere ilişkin örnekler [75].

1.2.2.1.3. Yarı İletkenleri Esas Alan Biyosensörler

Dill ve arkadaşları 1997 yılında "Temel sensör olarak metal oksit yarı iletken alan etki transistörlerini (MOSFET) yada iyon duyar alan etki transistörlerini (ISFET) esas alan bu tür enzim sensörleri, enzim ile alan etki transistörlerinin birleştirilmesini ifade edecek şekilde enzim alan etki transistörleri(ENFET) olarak adlandırılırlar. MOSFET'lerin, gazların ölçümüne uygun hale getirilmesiyle oluşan gaz duyar sensörlerde(GASFET) adsorblanan gaz moleküllerinin disosiyasyonu ve oluşan yükün oksit tabakasına transferi temel ilkeyi oluşturur. Bu durum tabanın dielektrik sabitini değiştirerek ve drain akımda bir modifikasyona yol açarak ölçüme imkan verir." bilgisini vermişlerdir [82].

1.2.2.2. Optik Biyosensörler

Optik biyosensörler iletici sistem olarak optik lifler üzerine uygun bir yöntemle uygun bır biyomolekülün immobilize edilerek hazırlanan ölçüm cihazlarıdır. Etkileşim sonucu meydana gelen kimyasal yada fizikokimyasal bir değişimin ölçümünü temel almaktadırlar. Sinyal, ışık yansıması, saçılımı yada yayımı sonucu oluşur. Örneğin optik lifin üzerine enzim immobilizasyonuyla hazırlanan optik esaslı enzim sensörleri temelde absorbsiyon, fluoresans, biyolüminesans gibi temel ilkeler çerçevesinde çalışırlar [99].



Şekil 1.7. Optik Biyosensörün Şematik Gösterimi [99]

1.2.2.2.1. Absorpsiyon Esaslı Biyosensörler

Bu tür enzim sensörlerinin temelini enzimatik reaksiyon uyarınca renkli madde konsantrasyonundaki değişimler sonucu meydana gelen absorbsiyon farklarının belirlenmesi oluşturur. Renkli madde konsantrasyonundaki değişimler genelde enzimatik reaksiyon uyarınca meydana gelen pH farklanmalarından kaynaklanır.

1.2.2.2.2. Flouresans Esaslı Optik Biyosensörler

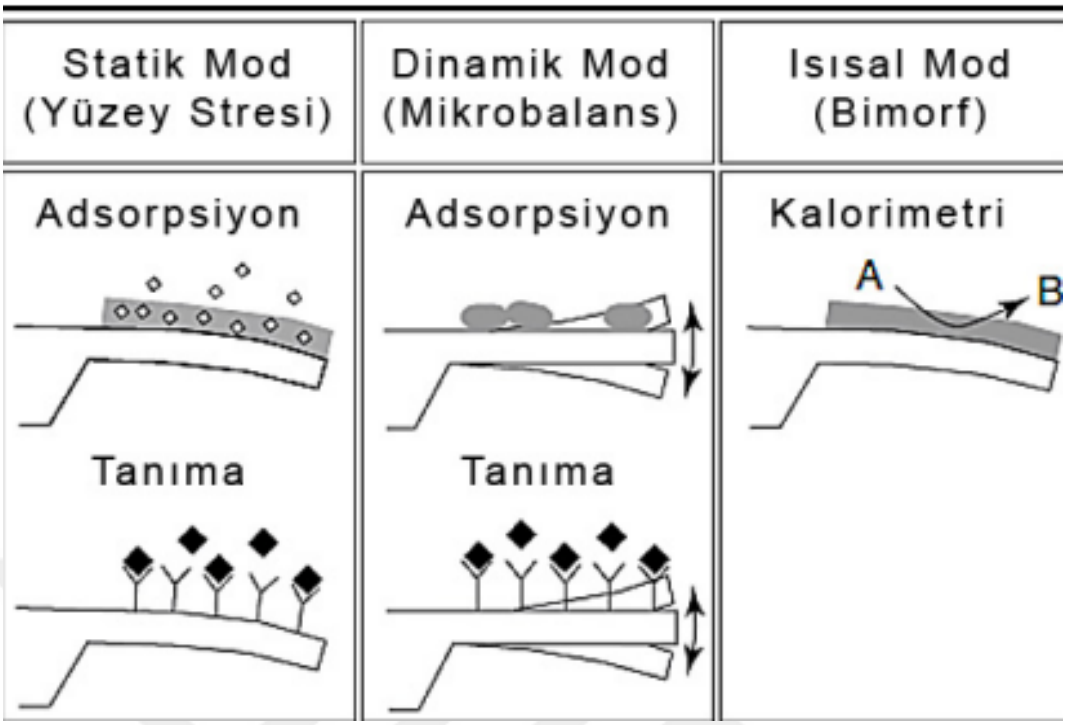
Flouresans esaslı optik enzim sensörlerinde absorbans esaslı optik enzim sensörlerinden farklı olarak flouresan özellik gösteren indikatör maddeler kullanılır.

1.2.2.2.3. Biyolüminesans Esaslı Optik Enzim Sensörleri

Biyolüminesans, ateş böceği, yıldız kurdu ve bazı değişik su canlıları gibi yaşayan organizmalardaki enzimatik temeline dayalı ışık yayınımı ile ilişkilendirilmiş bir ilkeye dayanır. Bu tür olaylara verilebilecek en açıklanmış örnek, lüsiferas tarafından eksite durumu getirilmiş bir bileşiğin tekrar zemin durumuna geri dönmesiyle ilişkili enzimatik reaksiyondur.

1.2.2.3. Kantilever Biyosensör

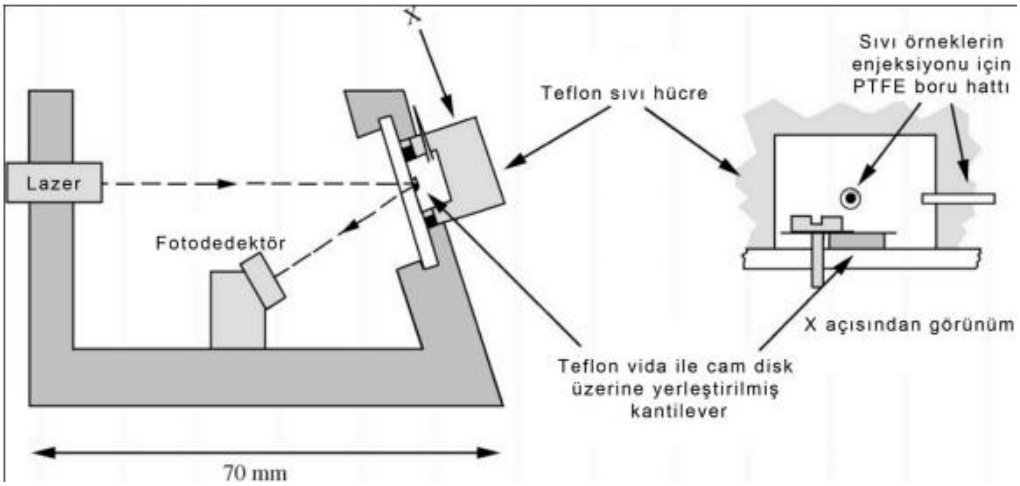
Mikroyapılar kullanılarak biyomoleküllerin algılanması ölçülebilir mekanik değişimlere yol açan moleküler adsorpsiyona dayanmaktadır. Minyatür boyutları,hızlı tepki vermeleri, yüksek hassasiyetleri ve etiket gerektirmemeleri sayesinde mikro kantileverlerin moleküler algılama yetenekleri gerektiren çip üzerinde laboratuvar (ing: lab on a chip) veya hasta başı test (ing: point of care) tasarımlarıyla entegrasyonu mümkün olmuştur. Yapılan çalışmalarda; sıcaklık ve pH değişimlerini, iyonları, nükleik asitleri, proteinleri, bakterileri ve virüsleri algılayabilen birçok farklı kantilever bazlı biyosensör sistemi geliştirilmiştir. Kantilever bazlı sensör sistemlerinde analit molekülü kantilever yüzeyinde tutuklanmış reseptörlere bağlandığında sistemin kütlesinde bir artışa sebep olmakta ve iki değişim oluşmaktadır. Bu değişimlerin her ikisi de ölçülebilmekte ve istenilen molekülün veya molekül grubunun varlığının saptanması için kullanılabilmektedir. Statik mod olarak adlandırılan yöntemde kantileverin yüzey stresine bağlı kantilever bükülmesi ölçülmekte ve dinamik mod olarak adlandırılan sistemde ise kütle değişimine bağlı olarak kantileverin rezonans frekansında oluşan değişim veya kayma ölçülmektedir.



Şekil 1.8. Kantilever yüzeyinde gerçekleşen etkileşimler sonucu kantileverde oluşan değişimlerin şematik gösterimi [99]

Kantileverler diziler halinde üretilebilirler ve böylece kendi iç referans sensörleri sayesinde spesifik olmayan sinyalleri engelleyerek aynı anda çoklu örnek tayininde kullanılabilirler. Konvansiyonel analitik tekniklerle karşılaştırıldığında, kantilever sensörlerin basit prosedür, hızlı tepki süresi, yüksek hassasiyet, düşük örnek tüketimi ve çoklu türlerin aynı anda izlenebilme potansiyeli gibi birçok avantajı bulunmaktadır.

Kantilever bazlı biyosensör sistemleri, biyolojik numunelerin analiz edilebilmeleri için uygun fizyolojik ortamda bulunması gereksinimi nedeni ile sıvı hücreye ihtiyaç duymaktadırlar. Sıvı hücrenin doğru çalışabilmesi kantilever yüzeyinden yansıyan lazer ışın demetinin fotodedektöre ulaşmasını engellemeyecek bir yapıda, sıvı sızdırmazlığı sağlanmış, biyolojik örneklerle etkileşime girmeyen bir malzemeden yapılmış olmasına bağlıdır. Literatürde çok çeşitli sıvı hücre tasarımları bulunmaktadır bununla birlikte en genel sıvı hücre konumlandırılması ve yapısı Şekil 1.9'de gösterilmiştir.



Şekil 1.9. Sıvı hücre sistemi şematik gösterimi [99]

1.2.3. Piezoelektrik Biyosensörler

1.2.3.1. Piezoelektrik Tarihçesi



Şekil 1.10. Piezoelektrik Etki [130]

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 [130].

Piezoelektrik malzemelerin özelliği,kristal yapılarına bağlı olarak bir kuvvet etkisi altında. Kaldıklarında elektrik akımı üretmeleri ; elektrik alan etkisi altında kaldıklarında da yaklaşıkhacimce % 4 mertebesinde bicim değiştirmeleridir. 1665‟ten beri varlığı bilinen piezoelktrik özelliği,ilk kez 1880‟de Pierre ve Jacgues Curie

kardeşler tarafından keşfedilmiştir. Pierre Curie önceleri Piroelektrik 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 [131].

Piezoelektrik özelliğin varlığı keşfedildikten sonraki 25 yıl boyunca laboratuvarlarda piezoelektrik özellik sergileyen kristal yapılarını keşfetmek için çalışıldı. Woldemar Voight'ın 1910 yılında tensor analizi kullanarak piezoelektrik sabitleri ve piezoelektrik özellik sergileyen 20 doğal kristal sınıfı tanımladığı Lehrbuch der Kristallphysik kitabının yayınlanmasıyla bu çalışmalar sonuçlandı [132].

Piezoelektrik malzemenin ilk önemli uygulaması I. Dünya Savaşı sırasında ortaya çıkmıştır. Bu çalışma Fransa'da Paul Langevin ve çalışanları tarafından üretilen ultrasonik denizaltı detektörüdür. Detektör, iki çelik plaka arasına ince kuvars kristallerinin yapıştırılmasıyla oluşturulmuştur. Bu kompozit sistem 50 kHz değerinde rezonans frekansına sahiptir. Bu cihaz suyun içine yüksek frekansta sinyal gönderiyor ve daha sonra yansıyan sesi algılıyordu. Bu şekilde çalışan sistem denizaltında bulunan nesnelerin uzaklığını ölçebiliyordu. Piezoelektrik kullanarak üretilen bu sonarın başarıya ulaşmasıyla birlikte bundan sonraki yıllarda yeni piezoelektrik malzemeler ve yeni uygulama alanları keşfedildi. Mikrofonlar,titreşim algılayıcıları, hızölçer, sigortalar, mikropompalar, kulaklıklar, ultrasonik temizleyiciler, osilatörler, transformatörler yeni uygulama alanlarına örnek verilebilir [131].

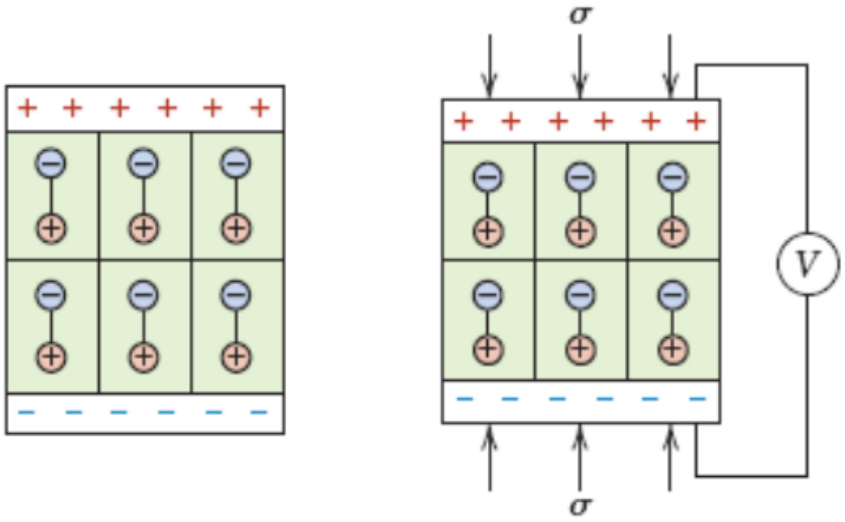
1.2.3.2. Piezoelektrik Hakkında TeorikBilgi

1.2.3.2.1. Ferroelektrik Özellik ve Polarizasyon

Kendiliğinden polarizasyon özelliğine sahip olan piroelektrik malzemeler içerisinde sahip oldukları polarizasyon elektrik alan etkisiyle yönlendirilebilen malzemeler ferroelektrik malzemeler olarak adlandırılırken bu özelliğe de ferroelektrik etki denilmektedir.

1.2.3.2.2. Piezoelektrik Özellik

Sürekli olarak kutuplaşmaya sahip asimetrik iyonsal bir kristale basınç uygulanırsa yüzeyinde yük birikimi değişir, kutuplar arası uzaklık azalır ve iki uç arasında bir gerilim farkı doğar, bununla birlikte bir iletkenle birleştirilirse akım akar. Böylece mekanik bir etki elektriksel büyüklüğe dönüşmüş olur.



Şekil 1.11. Piezoelektrik Kristalin Şematik Gösterimi [139]

Aynı kristalin iki ucu arasında bir gerilim uygulanırsa, uçlarda yük yoğunluğu değişir, dipol moment alan doğrultusunda artar ve sonucunda kristalin boyu büyür. Aynı alanın yönü değişirse aynı işaretli yükler birbirlerini iter ve bunun sonucunda kristalin boyu kısalır. Elektriksel bir etki mekanik büyüklüğe dönüşür. Buna piezoelektrik özellik denir. Kuvartz kristali ve baryum titanat çok kullanılan iki önemli piezoelektrik malzemeleridir.

Tablo 1.1. Bazı Ferroelektrik Malzemeler [139]

Bazı Ferroelektrik Malzemeler	Tc (°C)
Barium Titanate, $BaTiO_3$	120
Potassium niobate, $KNbO_3$	434
Potassium dihydrogen phosphate, KDP, KH_2PO_4	-150
Lead Titanate, $PbTiO_3$	490
Lithium Niobate, $LiNbO_3$	1210
Bismuth Titanate, $Bi_4Ti_3O_{12}$	675

1.2.3.2.3. Piezo / Ferroelektrik Etki ve Polarizasyon

1.2.3.2.3.1. Polarizasyon(Kutuplanma)

Bir kütle içinde artı elektriksel yük merkezi ile eksi elektriksel yük merkezi çakışmazsa elektriksel kutuplaşma (polarizasyon) oluşur. Asimetrik veya polar moleküllerde asimetrik dağılan elektronların ortak eksi yük merkezi, kütlenin ağırlık merkezindeki protonların sahip olduğu ortak artı yük merkezi ile çakışmaz. Bu şekilde oluşan kutuplaşma süreklidir. Diğer taraftan bireysel atomlarla simetrik moleküllerde zıt işaretli yük merkezleri çakışıktır ve net kutuplaşma yoktur. Ancak bunlara elektrik alanı uygulanırsa elektronların ortalama konumu artı elektroda, artı iyon da eksi elektroda doğru bir miktar yer değiştirir. Böylece dış etki ile geçici kutuplaşma oluşur, alan kalkınca kutuplaşma kaybolur. Alternatif elektriksel alan uygulanırsa iç elektriksel yük merkezleri ve kutuplar tekrarlı yer değiştirir.

Kutuplaşma Türleri: Yer değiştiren bireylere bağlı olarak; Elektronik kutuplaşma, İyonsal kutuplaşma, Moleküler (Yönsel) kutuplaşma, Yerel kutuplaşma olmak üzere dört tür kutuplaşma oluşur.

Elektronik Kutuplaşma: Alan etkisi yokken elektronlar çekirdek çevresinde homojen dağılmıştır ve yük merkezleri çakışıktır. Bir elektriksel alan uygulanınca eksi yüklü elektronlar alanın artı elektroda, artı yüklü çekirdek eksi elektroda doğru çok az yer değiştirir. Elektronların duran dalga hareketlerinin frekansı 1016 Hz düzeyindedir. Frekansları 1014 Hz civarında olan ışık dalgaları elektronları kolaylıkla etkileyerek elektronik kutuplaşma oluşturur. Bütün malzemelerde oluşmasına rağmen elektronik kutuplaşmanın dielektrik sabite katkısı çok azdır.

İyonsal Kutuplaşma: iyonsal malzemelerde net elektriksel yük sıfırdır ve kutuplaşma yoktur. Ancak bir elektriksel alan uygulanırsa, artı iyonlar eksi elektroda, eksi iyonlar artı elektroda doğru yer değiştirir. Bu tür kutuplaşma, elektronik kutuplaşmada olduğu gibi, dış etki ile oluşan′ geçici kutuplaşma türüdür, iyonların kütlesi elektronlara göre çok büyük olduğundan yer değiştirmeleri daha güçtür; bu nedenle ancak frekansları 1013 Hz altındaki radyasyon dalgalarında oluşurlar. Bu frekansın üstünde olan ışık dalgaları iyonsal kutuplaşma oluşturamaz.

Moleküler (Yönsel) Kutuplaşma: Asimetrik moleküllerde kütlenin ağırlık merkezinde olan artı yük merkezi ile elektronların ortak eksi yük merkezi çakışmaz ve dolayısıyla sürekli kutuplaşma görülür. Buna moleküler kutuplaşma veya yönsel kutuplaşma denir. Elektriksel alan uygulanınca mevcut kutuplar alan yönünde paralel olmaya zorlanırlar. Bu hareket oldukça büyük bir kütle ile ilgili olduğundan ancak 108 Hz'in altındaki frekanslara tepki gösterirler. Alanın etkisi kaybolunca kutuplar geri dönmeye çalışır, malzemenin türüne ve sıcaklığa bağlı olarak dönmeler tam olmayabilir, bazıları dönük durumda kalabilir. Sürekli kutuplar molekül bireylerinde veya birim hücrelerde oluşabilir. Genelde bireysel kutup yönleri rastgeledir. Bazı malzemelerde bireysel kutuplar, gruplar halinde yönlenmiş durumda olup bir ortak yerel kutba sahiptirler. Üretim sürecinde bu yerel kutuplar yönlendirilerek malzemenin net bir kutuplaşmaya sahip olması sağlanabilir.

Yerel Kutuplaşma: Bazı çok fazlı yapılarda fazlar arasına çökelen iletken fazların varlığı kuvvetli kutuplaşma sağlayabilir. Özellikle yalıtkan bir ana faz (seramik) içinde dağılmış çok küçük iletken parçacıklarda (metal), alan etkisinde büyük ölçüde elektron hareketi kuvvetli kutuplaşma oluşturur . Örneğin Al2O3′ içinde dağılmış küçük Al parçacıklarında böyle bir davranış görülür. Bu tür malzemelerde yüksek frekanslarda dielektrik kaybı büyük olur. Yerel kutuplaşmalar ancak enerji bölgesindeki frekanslar etkisinde oluşabilir, 104 Hz'in üstündeki frekanslar etkili olamaz. TiO2 gibi metal oksit parçacıkları içeren seramiklerde de yerel kutuplaşma görülür.

1.2.3.2.3.2. Piezoelektrik Sabiti

Elektriksel alan etkisinde oluşan elektriksel kutuplaşma malzeme yüzeyine konan elektrodlar da elektriksel yük birikimine neden olur. Dielektrik malzemede kalıcı kutuplaşma varsa yük birikimi kendiliğinden oluşur. Kalıcı kutuplaşması olmayan bir malzemeye elektriksel alan uygulanınca kutuplaşma meydana gelir, dolayısıyla dış etki ile elektrodlar da yük birikimi olur. Kapasitörün üzerine bir voltaj uygulandığında pozitif kutupdan negatif kutupa oluşan elektrik alanın etkisiyle levhanın (plakanın) birisi pozitif, diğeri negatif olarak şarj olur. Bu kapasitans (C), her bir levha üzerinde depolanan Q yükü ile ilişkilidir.

$$C = \mathbf{Q/V}$$

C= Kapasitans (C/V) veya Farat (F)

Q= Yük (C)

V= Voltaj (V)

Levhalar arasında vakum bulunan paralel bir kapasitörde

$C_o=\varepsilon_o \boldsymbol{A/l}$

A= levha alanı (m2)

l= levhalar arası mesafe (m)

ε_o = Vakuma ait geçirgenlik sabiti (8,85 10-12 F/m)

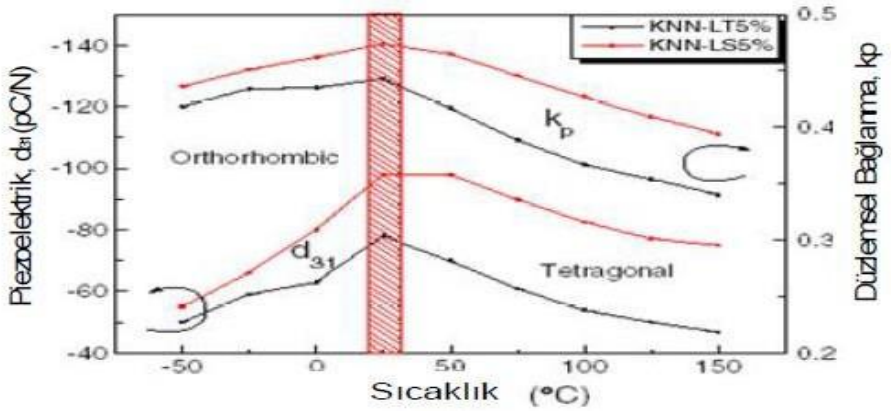
Levhalar arasına bir dielektrik malzeme konulması durumunda

$C=\varepsilon \boldsymbol{A/l}$

ε= Dielektrik ortamın geçirgenliği olup ε_o değerinden büyüktür.

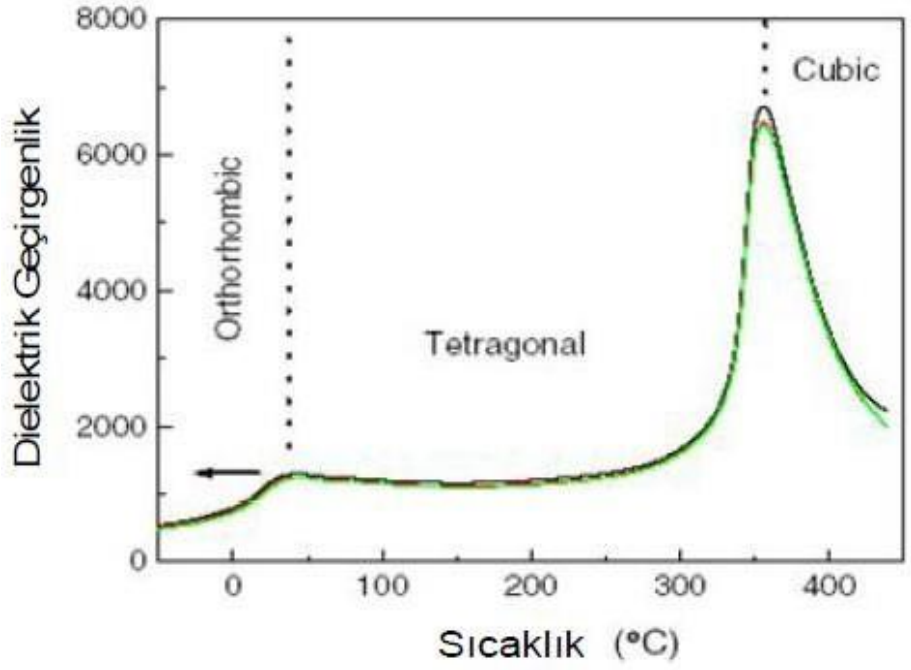
Bağıl geçirgenlik ε1 , genellikle dielektrik sabit olarak adlandırılmaktadır.

Piezoelektrik malzemeler anizotropik olabildiğinden beri, bu malzemelerin fiziksel sabitleri elastiklik, dielektrik sabiti ve piezoelektrik sabiti gibi vektörel büyüklüklerdir ve hepsi uygulanan gerilim, elektrik alan gibi büyüklüklere bağlıdır ve dikey yönlerle ifade edilir. Bu sebepten dolayı sabitler elastiklik için gerilme ve gerinim, dielektriklik için yer değiştirme ve elektrik alan gibi ilgili iki niceliğin yönlerine bağlı olarak sabitin altına konulan alt indislerle belirtilirler. Bir üst indis ise sürekli korunan bir niceliği göstermek için kullanılır.



Şekil 1.12. $LiTaO_3$ (LT) Ve $LiSbO_3$ (LS) Modifiye Edilmiş KNN Sistemleri İçin Bir Sıcaklık Fonksiyonu Olarak Piezoelektrik Katsayıları Ve Bağlanma Faktörleri [131]

Şekil 1.12 ve Şekil 1.13 de örnek olarak $KNaNbO_3$ (KNN) kompozisyonuna sahip malzemenin piezoelektrik, elektromekanik eşleşme (bağlanma) ve dielektrik sabiti gibi bazı özelliklerinin sıcaklıkla değişimleri verilmiştir. Elektriksel ve mekanik büyüklük olarak gösterilen piezoelektrik sabitlerinde, ilk alt indis yer değiştirme ve elektrik alan gibi elektriksel niceliklerin yönü olarak dikkate alınır. İkinci alt indis ise gerilme ve gerinim gibi mekaniksel niceliklerin yönü olarak dikkate alınır.



Şekil 1.13. %5 KNN-LS Malzemesi İçin Bir Sıcaklık Fonksiyonunun Dielektrik Geçirgenliği [131]

1.2.3.2.3.3. Dielektrik Katsayıları

Mutlak dielektrik katsayısı elektrik alandaki dielektrik yer değişimine göre tanımlanır. Katsayı iki alt indis ile ifade edilir: ilk alt indis dielektrik yer değişimin yönünü ifade eder; ikincisi ise elektrik alanının yönünü göstermektedir [131].

1.2.3.2.3.4. Elektromekanik Eşleme Faktörü

Piezoelektrik malzemeler elektrik ve mekanik alanları eşleştirirler. Böylece, elektrik enerjisiyle mekanik enerji ya da tam tersi elde edilmesinde bu tip malzemeler kullanmak mümkündür. Elektrik enerjisini mekanik enerjiye ya da tam tersine çevrilmesindeki verimi ölçmede bir katsayıya gerek vardır. Bu katsayı k_{eff} eşleşme faktörüdür ve piezoelektrik malzemenin rezonans frekansının altındaki frekanslarda tanımlanır:

k^2_{eff} = çevrilen enerji/malzeme uygulanan enerji girdisi

Direk piezoelektrik etkide, *k* katsayısı şu şekilde tanımlanır:

k^2_{eff} = elektriksel enerji/malzeme verilen mekanik enerji

Ters piezoelektrik etkinin, *k* katsayısı şu şekilde tanımlanır:

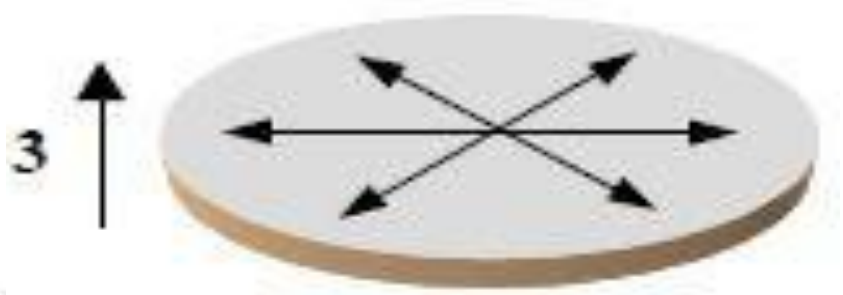
k^2_{eff} = üretilen mekanik enerji/malzeme verilen elektrik enerji

k^2_{eff} değerleri bir çalışmada modern piezoelektrik seramikler için depolanan enerjinin

% 50 si kadarı düşük frekanslarda dönüştürülebilmektedir. k^2_{eff} nin değerleri tablolar şeklinde verilmiştir, ancak genelde teorik değerlerdir, malzemenin ideal numunelerinde gerçekçi olmayan titreşim halleri de tanımlanmıştır. Kullanılan dönüştürücülerde, eşleşme faktörü genelde dahadüşüktür.

k^2_{eff} eşleşme katsayısı tüm yönlerdeki dönüşümü tanımlamaktadır. Belirli yönlerde dönüşümler hesaba katıldığında sonuç eşleşme faktöründe alt indislerle gösterilir. Örneğin k_{33}boylamsal bir elektrik alan etkisi altında çok uzun ve ince (teoride sonsuz uzun, pratikte uzunluk/çap oranı >10 olan) çubuğun boylamsal titreşimleri için eşleşme faktörüdür. k_{31}enine elektrik alanın etkisi altındaki uzun çubuğun titreşimlerinin boylamsal titreşimlerinin eşleşme faktörüdür ve k_{15}de piezoelektrik gövdenin kayma hali titreşimlerini tanımlar.

Eşleşme faktörü için özel durumlar $k_p$düzlemsel eşleşme faktörü ve $k_t$kalınlık eşleşme faktörüdür. İnce bir diskin (Şekil 1.13.) k_p düzlemsel eşleşme faktörü 3 yönünde elektrik alan ile radyal titreşimle sonuçlanan 1 ve 2 yönlerindeki eşzamanlı mekanik etkiler arasındaki eşleşmeyi göstermektedir. Bu radyal eşleşme olarak bilinmektedir.



Şekil 1.14. Piezoelektrik Malzemenin İnce Diskinin Düzlemsel Salınımları [131]

k_t kalınlık eşleşme faktörü, 3 yönündeki elektrik alanla keyfi şekilli (örn. kalınlığına kıyasla yüzey boyutları geniş olan nesne) ince düzlemsel objenin 3 yönündeki mekanik titreşimleri arasındaki eşleşmeyi göstermektedir.

İnce düzlemsel bir nesnenin kalınlık modunun rezonans frekansı enine modundakinden çok daha yüksektir.

k_{eff} eşleşme faktörü enerji yoğunluklarının bölümü olarak tanımlanabilir

$$k^2_{eff} = (\tfrac{1}{2} * ^T E^2 - \tfrac{1}{2} * ^S E^2) / \tfrac{1}{2} * ^T E^2$$

Eşitlikte $\tfrac{1}{2} * ^T E^2$ terimi piezoelektrik gövdeyi serbest deforme edilmesi için saklanan toplam enerji yoğunluğunu gösterir (T=0). $\tfrac{1}{2} * ^S E^2$ terimi gövde zorlandığındaki elektrik enerji yoğunluğunu gösterir (S=0). Bu iki terim arası fark; saklanan, dönüşen, mekanik enerjiye eşittir.

Bu enerji sıklıkla çıkarılmış olabilir ve dönüştürülmemiş enerji tekrar elde edilebilir. Verimli dönüşüm için yüksek k gerekli olsa da k^2, dönüşmemiş enerji mutlaka kaybolmadığından (sıcaklığa dönüşür) ve çoğu durumda geri kazanılır olduğundan verimliğin bir ölçüsü değildir (bu işe yarar dönüşmüş gücün verilen güce oranı olarak tanımlanır).

Gerçek verimlilik işe yarar dönüşmüş enerjinin dönüştürücüden alınan enerjiye oranıdır ve gereği gibi düzenli ve iyi ayarlanmış kendi rezonans bölgesinde çalışan dönüştürücü %90 üzerinde verim elde eder. Kendi rezonans bölgesi dışında verimliliği çok düşük olabilir [131].

1.2.3.2.4. Piezoelektriklerde Sınırlamalar

Daha önce piezoelektriğin lineer teorisinin uygulamasını sınırlayan farklı yönler olduğu belirtilmiştir.

1.2.3.2.4.1. Elektrodaralma (Elektrostriksiyon)

Piezoelektrik malzemelerin karşılığı lineer davranışta bulunan dikdörtgen bir komponente sahiptirler. Bu komponent elektrostriktif katsayı denilen bir katsayıya bağlıdır. Piezoelektrik malzemeler için bu katsayı genelde doğrusal piezoelektrik katsayıdan daha düşüktür ama elektrik alan yükseldiğinde oldukça belirgin olabilirler.

1.2.3.2.4.2. Depolarizasyon (Sınırlama)

PZT seramik kutuplama işlemi uygulanınca sürekli polarize kalır, sonraki kullanımlarda, piezoelektrik özelliklerde kısmi hatta tamamen kayıplar oluşturabilecek olan seramiğin depolarize olmadığından emin olmak gerekir.

a) Yaşlanma: Piezoelektrik malzemenin özelliklerinde zaman içerisinde yaşanılan azalma veya kayıp olarak tanımlanabilir. Normal şartlarda kullanılan bir piezoelektrik malzemede de yaşanılan bir durumdur. Yaşlanmanın gerçek hızı, elemanı hazırlamak için seçilen imalat yöntemine ve seramik elemanın bileşimine bağlıdır. Seramik elemanı elektrik, mekanik ve termal limitlerin üstünde kullanmak yaşlanmasına daha da katkıda bulunacaktır.

b) Elektriksel Depolarizasyon: Kutuplama alanına zıt polaritenin güçlü elektrik alana malzemeyi maruz bırakmak onu depolarize eder. Başlangıç depolarizasyonu için gerekli alan gücü malzeme türüne, malzemenin depolarizasyona maruz kalma süresine ve kutuplama sıcaklığına bağlıdır.

c) Mekanik Depolarizasyon: Mekanik depolarizasyon bir piezoelektrik malzemedeki mekanik gerilim domainlerin oryantasyonunu değiştirecek ve dipollerin dizilmelerini

bozacak kadar yüksek olduğunda gerçekleşir. Mekanik gerilim için güvenlik kısıtlamaları malzeme türüne göredeğişir.

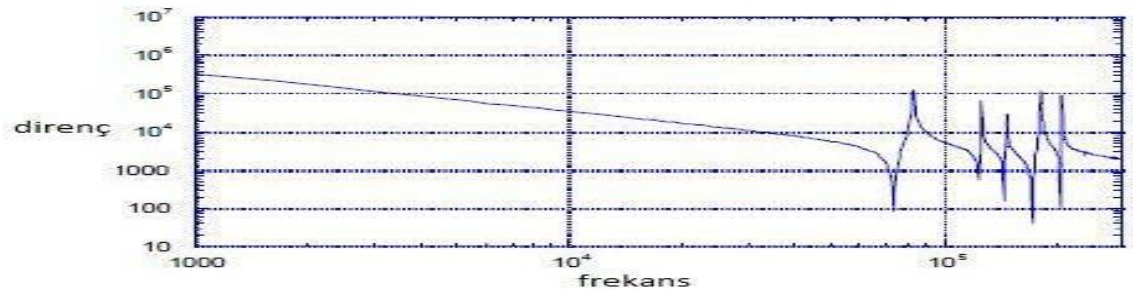
d) Termal Depolarizasyon: Eğer bir piezo elektrik malzeme Curie sıcaklığı noktasına ısıtılırsa, domainler düzensizleşir ve element tamamen depolarize olur. Bir piezoelektrik element ayrıca sadece Curie noktası altındaki sıcaklıklarda belirgin depolarizasyon olmadan uzun süre için çalışabilir. Güvenli bir çalışma sıcaklığı normal olarak 0°C ve Curie sıcaklığı noktası arasında bir yerdedir.

1.2.3.2.4.3. Frekans Sınırlamaları

Fiziksel sistemlerin tümü titreşimin doğasına benzer frekansa sahiptir. Sistem doğal frekans civarında frekanslı impulsların (örn. elektrik, mekanik, akustik) periyodik serisine maruz kaldığında, yüksek genlikle salınım yapar. Mekanik olarak uyarılmış bir gövde mekanik rezonansla karşılık verir. Fakat malzeme piezoelektrik ise elektriksel rezonans, malzeme mekanik etkiye zorlandığında elde edilebilir. Aynı zamanda yüksek mekanik deformasyon malzeme elektriksel alana maruz kaldığında oluşabilir. Bu sebepten ötürü, sistemin doğal mekanik frekansına çok yakın frekansta bir elektrik sinyali rezonans üretir.

Şekil 1.14. piezoelektrik diskin tipik frekans davranışını gösterir. Farklı rezonans piklerini göstermektedir. Genelde lineer davranış sistemin ilk rezonansının yarısına kadar hesaba katılır.

Rezonans frekansı piezoelektrik malzemenin karakteristiklerine ve ortamın elektriksel şartlarına bağlıdır [131].



Şekil 1.15. Frekansın Bir Fonksiyonu Olarak Bir PZT Diskin Özdirenci [131]

1.2.3.2.5. Piezoelektrik Seramik Malzemeler

Piezoelektrik malzemeler dört grupta sınıflandırılır; piezoelektrik seramik malzemeler (kurşun-zirkonat-titanat, baryum titanat, kurşun titanat, vb.), doğal piezoelektrik malzemeler (kuvars, rochelle tuzu vb.), kompozit piezoelektrik malzemeler ve polimer piezoelektrik malzemeler (naylon, vinilidin florür, trifloretilen, tetrafloretilen vb.). Bu çalışmada sadece seramik piezoelektrik malzemelerden bahsedilecektir.

Endüstriyel olarak uygulama alanı bulmuş en önemli ve en eski piezoelektrik seramik malzemeler; baryum titanat ($BaTiO_3$; BT) ve kurşun zirkonat titanat ($PbZrTiO_3$;PZT) olarak ifade edilebilir.

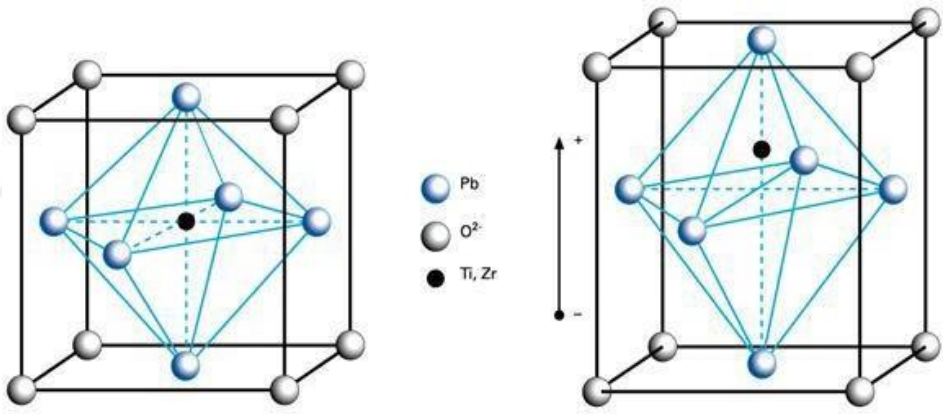
Baryum titanatın (BaTio3) Küri sıcaklığı yaklaşık 120oC dir. Tetragonal yapı küri sıcaklığının altında kararlıdır ve dielektrik ve piezo özellikler gösterir. Kübik yapı ise küri sıcaklığının üzerinde kararlıdır ve çok düşük dielektrik sabitine sahiptir. Baryum titanat, yüksek toksit etkiye sahip olan kurşunu içermediği için tıbbi uygulamalar dahil olmak üzere çevreye daha uyumludur. (Tressler ve diğ., 1995; Ergun ve diğ., 2006).

Kurşun titanat (PbTiO3), PT piezo seramikler düşük dielektrik sabitine (~200), yüksek Küri sıcaklığına (490oC) ve büyük bir anizotropiye sahiptir. Bu sebeple kalınlık yönünde titreşim modunda çalışan yüksek frekans ve yüksek sıcaklık piezoelektrik dönüştürücü kullanımlarına uygundur. Fakat geniş yapısal anizotropisi sebebiyle sinterlenmesi zordur. Bu nedenle kafes içi Pb2+ pozisyonlarına Ca2+, Ba2+ , Cd2+, Sm3+, Gd3+, Y3+ gibi katışkılar yapılarak kafes anizotropisi ayarlanabilir. Bu şekilde sinterlenebilirlik, elektromekanik çift gibi piezo özellikleri geliştirilebilir. Saf PT (kurşun titanat), kalsiyum ve/veya stronsuyum ile karıştırıldığında üstün 20 piezoelektrik anizotropisinden dolayı hidrofon malzemesi olarak yaygın bir şekilde kullanılır. PZT ile karşılaştırıldığında tepki süresi daha kısadır (Tressler ve diğ., 1995; Ergun ve diğ., 2006).

Her ikisi de perovskit tipi kristal yapıya sahip bu seramikler, günümüzde halen yaygın kullanıma sahiptir. Baryum titanata kıyasla daha üstün piezoelektrik özelliklere sahip olmasıyla PZT hem büyük boyutta (bulk) seramik hem de ince film seramik formunda elektronik endüstrisi için çok önemlidir.

Piezoelektrik malzemeler, doğal piezoelektrik malzemelere göre fiziksel, kimyasal, mekanik ve piezoelektrik özellikleri açısından daha kullanışlı oldukları gibi, kimyasal olarak da daha kararlıdırlar. Ayrıca neme ve atmosferik koşullara karşı da daha dayanıklıdırlar. Özel uygulamalara kolaylıkla adapte edilebilirler, karmaşık geometri veya büyük hacim gerektiren uygulamalar için kolay ve ucuz üretim olanağı sağlarlar [145].

Çoğu piezoelektrik seramik, genelde perovskit kristal yapısına sahiptir. Şekil 1.15. de olduğu gibi provskit kristalleri, genellikle geniş bir kafese dizilmiş kurşun veya baryum ve oksijen iyonları gibi divalent metal iyonları arasında, küçük titanyum veya zirkonyum gibi tetravalent metal iyonları içerirler. Kristallerde, tetragonal veya rombohedral simetriyi oluşturan şartlar altında her bir kristal dipol momente sahiptir [143].



Şekil 1.16. Provskit Kristalinin Şematik Görüntüsü [146]

Seramik bir piezoelektrik malzeme yapabilmek için, ince toz halde başlangıç metal oksit tozları, belirlenen oranlarda karıştırdıktan sonra homojen toz bir karışım elde etmek için ısıtılır. Elde edilen toz içine herhangi bir organik bağlayıcı eklenerek tel, bar, disk, levha ve benzeri şekillerde yapısal elemanlara dönüştürülebileceği gibi toz olarak da saklanabilir. Farklı şekiller verilmiş seramik malzemeler belirli bir süre dahilinde pişirme programları uygulanarak fırınlanır. Bu fırınlama işlemine “sinterleme” denir ve amacı başlıca toz parçacıklarını birbirine bağlayan yoğun kristal bir yapıya dönüştürmektir. Bu işlemlerin ardından numuneler soğumaya bırakılır daha sonrasında gerekirse çapakları alınır veya istenilen ölçülerde kesilir [143].

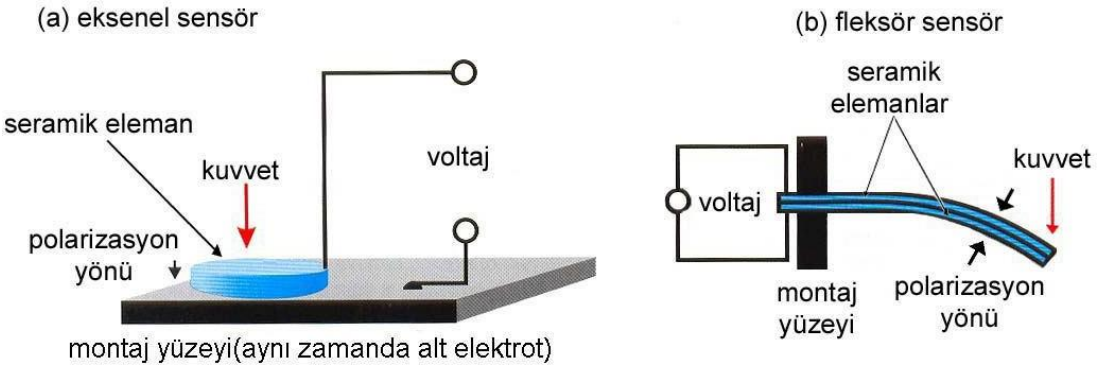
1.2.3.2.6. Piezoelektrik Malzemelerin Uygulama Alanları ve Kullanıldığı Yerler

Piezoelektrik malzemelerin kullanıldığı cihazlar dört başlık altında toplanabilir. Bunlar: sensörler, üreteçler, aktuatörler ve transdüserlerdir.

1.2.3.2.6.1. Sensör

Sensör, basınç veya ivmelenme gibi fiziksel bir parametreyi elektrik sinyaline çevirir. Bazı sensörlerde fiziksel parametre direk piezoelektrik elemanın üzerine etkir ve elektrik sinyalini oluşturur. Bazen de sensörde mevcut olan piezoelektrik elemana akustik sinyallerin etkimesi sonucu oluşan titreşimlerle elektrik sinyali oluşturulur. Genellikle kurulan sistemler, sensörden gelen sinyalleri işleyerek duyulabilir, görülebilir veya hissedilebilir cevaplara dönüştürürler [141].

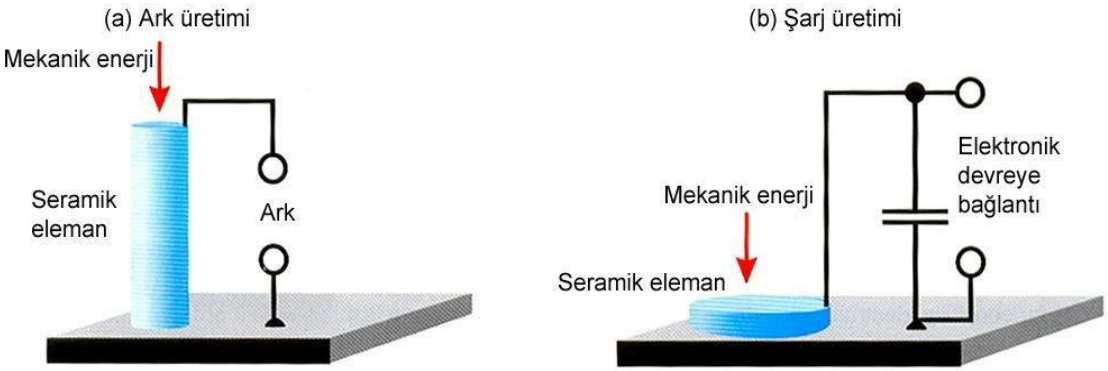
Piezoelektrik eleman kullanılarak yapılan sensörlerin eksenel ve fleksör olmak üzere iki temel çeşiti mevcuttur. Bu sensörlerin basitçe yapıları Şekil 1.16. da verilmiştir [141].



Şekil 1.17. Temel Piezoelektrik Sensör Çeşitleri, (a) Eksenel Sensör, (b) Fleksör Sensör [141]

1.2.3.2.6.2. Üreteçler

Üreteç piezoelektrik malzemeler, gerilim (voltaj) üretirler. Bu özelliklerinden ötürü herhangi bir elektrot aralığında ark oluşturabildiklerinden (Şekil 1.18a) yakıt ateşleyicilerinde, gaz sobaları, kombi gibi cihazlarda, kaynak ekipmanlarında ve daha birçok cihazda piezo-çakmak (ateşleme aparatı) olarak kullanılırlar.



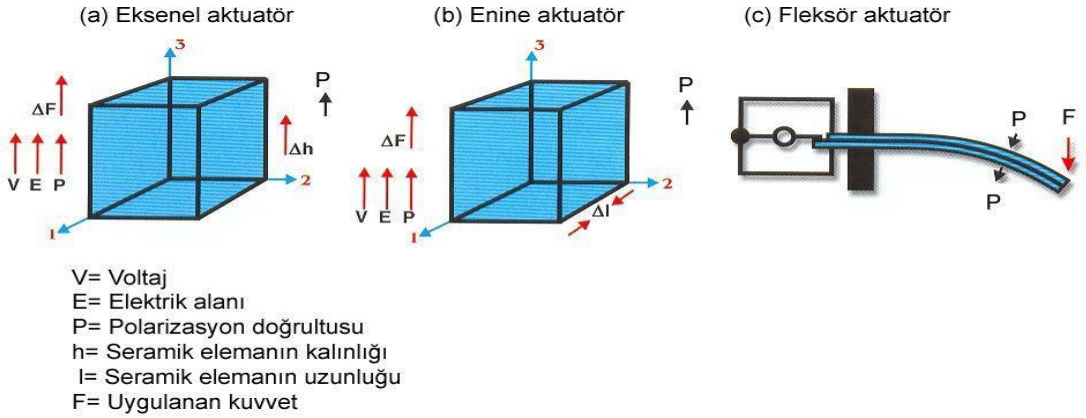
Şekil 1.18. Piezoelektrik Eleman Kullanılarak Oluşturulan Elektrik Enerjisi, (a) Ark Üretimi, (b) Şarj Üretimi [141]

Ateşleme sistemleri, küçük ve basittirler. Bu özellikleri bazı durumlarda, kalıcı mıknatıslar veya yüksek voltaj dönüştürücüleri ve kapasitörler gibi, alternatif sistemlere göre avantaj sağlar. Ayrıca piezoelektrik bir elmandan elde edilen elektrik enerjisini depolama imkânı da mevcuttur. Çok katlı kapasitörleri oluşturmada kullanılan teknikler çok katlı piezoelektrik üreteçlerinin yapımında da kullanılmıştır. Bu şekilde üretilen üreteçler (Şekil 1.18.) elektronik devreleri beslemede kullanılan kuru pilleri oluşturmak için kullanılmaya çok elverişlidirler [141].

1.2.3.2.6.3. Aktuatörler

APC International, 2006'da "Tetikleyici veya tahrikçi olarak da adlandırılabilen aktuatörler, elektrik sinyalini yüksek çözünürlükte (hassas) ötelenmeye (yer değişimine) çevirirler. Aktuatörler, temel olarak eksenel, enine ve fleksör aktuatörler olarak gruplandırılırlar (Şekil 1.18.). Aktuatörlerin gösterdiği yüksek hassasiyetteki hareketten makinalarda kullanılan takımların hassas şekilde kalibrasyonundan, çeşitli sistemlerde kullanılan optik lens veya aynaların kalibrasyonuna kadar birçok yüksek duyarlılık gerektiren uygulamada yararlanılır.

Ayrıca piezoelektrik aktuatörler, uygulamasına göre hidrolik valfleri, küçük hacimdeki motorları veya özel amaçlı motorları kontrol etmede de kullanılabilirler. Aktuatörler, bir çeşit piezoelektrik motorlardır ve en büyük avantajları elektromanyetik gürültü oluşturmamalarıdır. Ayrıca eğer aktuatörün gerçekleştirdiği ötelenme engellenirse, aktuatör kullanılabilir bir kuvvet üretmiş olur." şeklinde bahsedilmiştir [141].



Şekil 1.19. Temel Aktuatör Çeşitleri (a-c) [141]

1.2.3.2.6.4. Transdüserler

APC Uluslaraası 2006 yılında transdüserler hakkında "Piezoelektrik trandüserler, elektrik enerjisini ses veya sesüstü titreşen mekanik enerjiye çevirebilirler. İşitilebilen ses meydana getiren transdüserlerin, aynı şekilde ses üreten elektromanyetik cihazlara göre; kompaklık, basitlik, güvenilirlik ve yüksek ses için gerekenden daha az enerji ihtiyacı gibi artıları vardır. Bu özelliklerinden dolayı pil ile çalışan ve ses üreten cihaz uygulamalarında idealdirler. Piezoelektrik etki iki yönlü olduğundan transdüserler, elektrik enerjisinden ultrasonik sinyaller üretebildiği gibi ses dalgasını da elektrik sinyaline dönüştürebilirler. Bu özelliğinden dolayı transdüserler kullanılarak mesafe, akış, sıvı seviyesi ölçen cihazlar geliştirilmiştir. Bu cihazlarda sinyal gönderme ve alma işlemleri tek bir piezoelektrik transdüserle yapılabildiği gibi her iki işlem için ayrı ayrı piezoelektrik transdüser kullanan cihazlar da mevcuttur." bilgilerini vermiştir.

Ayrıca, yine aynı raporda "piezoelektrik transdüserlerden temizlemede, sıvıların atomizasyonunda, seramik veya diğer gevrek malzemelerin işlenmesinde, plastik malzemelerin kaynak işlemlerinde, medikal uygulamalarda vb. ultrasonik titreşimler oluşturduğu için yararlanılır." bilgisini de vermişlerdir [141].

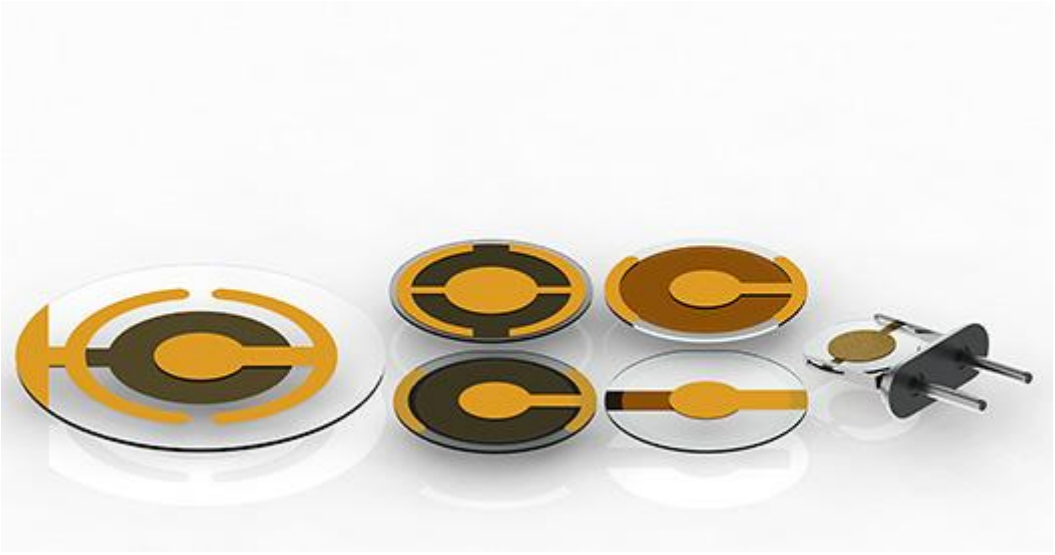
1.3. Kuvars Kristal Mikrodenge

Kuvars Kristal Mikrobalans (Quartz Crystal Microbalance, QCM) farklı sensör uygulamalarında kullanılan, yüksek frekanslı, yüzeyindeki kütle değişimlerine hassas bir yöntemdir. Sensör yüzeylerine adsorbe edilmiş olan tabakaların neden olduğu

rezonans frekansındaki değişimlerin (Δf) belirlenmesi temeline dayanır. 1950'ye kadar frekans kayması Δf sadece nitel olarak tanımlanmış bir olguydu. Küçük kütle değişimlerinin izlenmesine olan gereksinim, sonradan araştırmacılara daha dikkatli araştırma yapmaları için yol göstermiştir. 1960'da bir kuvars kristalin rezonans frekansının kuvars tabakasının geometrik boyutlarına ve elektrotların kalınlığına bağlı olduğu anlaşıldı. Bu nedenle imalatçılar istenen değerden daha yüksek rezonans frekansına sahip kuvars kristalleri hazırlayıp daha sonra mevcut kuvars elektrotlarının kalınlıklarını kontrol ederek frekansı denetlemişlerdir [147].

QCM'lerin, çözelti faz mikrodengeleyici olarak kullanımına olanak vererek, sıvıyla temas halinde çalışabileceği gösterildi. QCM, tipik olarak osilasyon frekansının aygıt yüzeyindeki kütle birikimiyle azaldığı bir osilatör devresiyle birleştirilir. Bu mikroterazi yeteneği, birikimi izleme, tür belirleme(tespiti), immunoserolojik yöntem, sıvı kromatografik tespiti, korozyon görüntüleme ve elektrokimyasal analizler gibi birtakım çözelti ölçümlerini kolaylaştırdı.

Literatürdeki QCM sensörlerle ilgili raporların çoğu, gaz fazındaki analitlerin ölçümleriyle ilgilidir. Ancak, QCM'e dayalı sensörler sıvı ortamda iyi performans göstermelerine rağmen sıvıyla kaplı QCM algılama ile ilgili olan QCM biyosensörlerle ilgili sadece birkaç çalışma vardır.



Şekil 1.20. QCM Sensörleri [147]

1.3.1. Kuartz

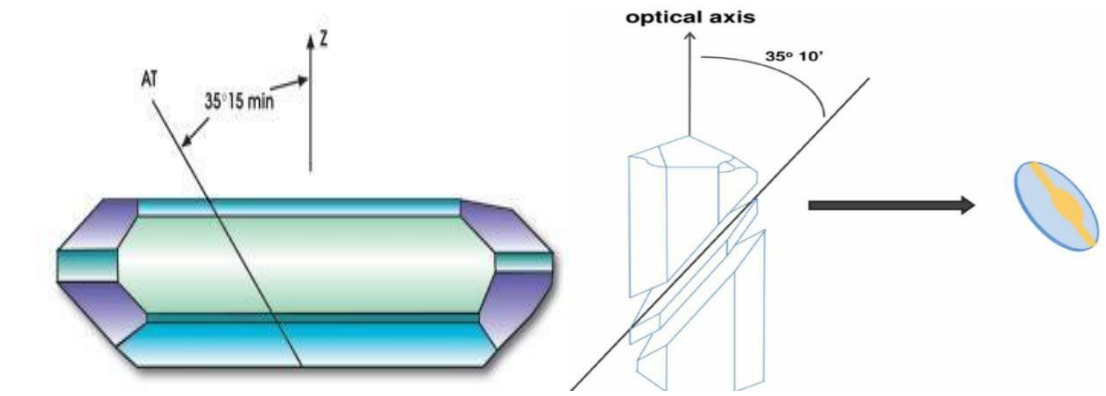
Kuvars; oldukça saf ve silisyumdioksit (SiO_2) mineralidir. Özgülağırlığı 2.65 g/cm3, sertliği 7 olup, doğada çokça rastlanan bir mineraldir. Silikanın ya da silikon dioksidin en kararlı formudur. Saydam ve renksizdir ancak renk verici maddelerin bileşimine girmesi sonucunda çeşitli renklerde olabilirler. Mor renkli olanlarına ametist, siyah renkli olanlarına da dumanlı kuvars adı verilmektedir. Çoğu kimyasal çözücüden etkilenmediği gibi, kristal yapısını yüzlerce santigrad dereceye kadar koruyabilmektedir. Aynı zamanda piezoelektrik özelliğe sahiptir. Yani üzerine basınç uygulandığında, örneğin bir fiskeyle tıklatıldığında veya büküldüğünde, yüzeyinde elektik gerilimleri veya akımları oluşur. Bunun tersi de doğrudur: Yüzeyine gerilim uygulandığında, yani üzerine bir miktar elektrik yükü atıldığında, şeklini hafifçe değiştirir. Fakat bu şekil değişikliği, öyle donup kalmaz ve kristal yapı, orijinal şekli etrafında titreşmeyebaşlar.

Kuartz kristal kimyasal doğasına, şekline, boyutuna ve kütlesine bağlı olan doğal bir titreşim frekansına sahiptir. Kristalin kırılmasının rezonans frekansı üzerinde bir etkisi vardır . Yüksek kaliteli mekaniksel ve piezoelektrik özelliğinden dolayı QCM uygulamalarında alfa-kuartz kristalleri kullanılmaktadır.



Şekil 1.21. Kuartz Kristali[149]

Kristal yönelimi kesik açı (the cut-angle) salınımın şeklini belirlemektedir. QCM uygulamalarında en yaygın kullanılan AT kesim kristali, kuartz çubuğunun 35°10’ açısı ile uzunluk yönünde olacak şekilde kesilerek yapılmaktadır [149].



Şekil 1.22. Kuartz Kristalinin AT Kesimi [149]

1.3.1.1. Kuartz'ın Kullanım Alanları

Çoğunluğu kumlarda bulunan kuvarsın, saf olmayanları içinde demir vardır. Yüzük, küpe, kolye yapımında kullanılır. Beyaz kum olarak bilinen oldukça saf kuvarslar camcılıkta kullanılır. Cam dışında mor-ötesi ve kızılaltı ışınımları geçirdiği için; morötesi lambaların hazırlanmasında kullanılır. Piezoelektrik olay göstermesi J. ve P. Curie tarafından ortaya kondu. Elektronik sanayiinde osilatör olarak kullanılır. Ergitilen kuvarstan, ısınınca genleşme oranı çok düşük olan bir cam elde edilir ve ani sıcaklık değişikliklerinden etkilenmesi istenmeyen malzemelerin yapımında kuvarstan yararlanılır [150].

1.3.1.2. QCM'in Avantajları

Moleküler etkileşimlere dayalı algılayıcı sistemlerin (QCM, FET, SPR gibi) önemi ve uygulama alanları gün geçtikçe artmaktadır. Klasik analitik tayin yöntemlerine göre biyosensölerin daha avantajlı olması bu uygulamalara ilgiyi arttırmaktadır. Cevap verme süresi, hassasiyet, düşük maliyeti, tasarım kolaylığı gibi beklentileri karşılayabilmek amacıyla tanıyıcı yüzey ve çevirici bütünlüğünün sağlandığı biyosensörler tasarlanmaktadır. Bu amaçlara yönelik kullanılan yöntemlerden birisi de QCM'dir [151]. QCM'de de bir çevirici (transducer) sistem ile bir biyolojik molekül beraberce kullanılmaktadır [152]. Bununla birlikte sensörlerde çevirici sistem olarak piezoelektrik kristallerin kullanılması önem kazanmaktadır.

1.3.1.3. Piezoelektrik Etki Ve QCM'in Çalışma Prensibi

Piezoelektrik Etki, belirli malzemelerin uygulanan mekanik strese tepki olarak bir elektrik yükü üretme yeteneğidir. Piezoelektrik kelimesi, sıkıştırmak ya da basmak anlamına gelen Yunan piezeininden ve "piezo" kelimesi de Yunanca "basmak" kelimesinden türemiştir.

Piezoelektrik etkini özelliklerinden biri, bunun tersine çevrilebilir olmasıdır; yani direkt piezoelektrik etki sergileyen malzemeler (stres uygulandığında elektrik üretimi) aynı zamanda piezoelektrik etki sergilemektedir (elektrik alanı uygulandığında stres oluşumu).

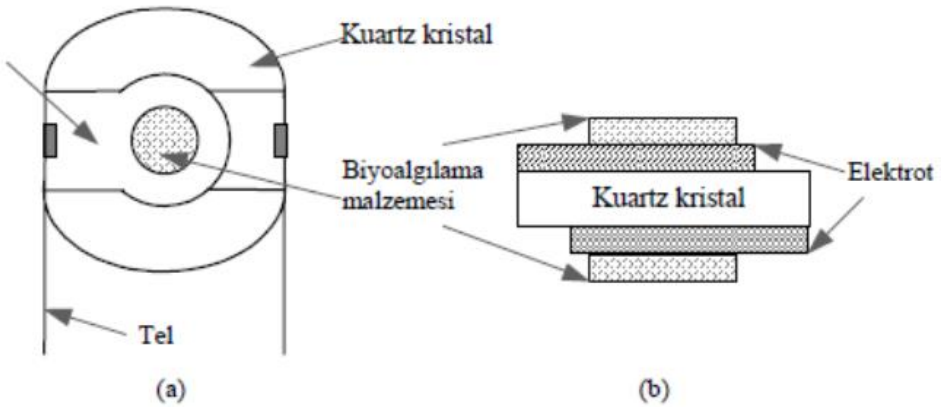
Piezoelektrik malzeme mekanik stres altına alındığında, malzeme içindeki pozitif ve negatif yük merkezlerinin kayması cereyan ederek harici bir elektrik alanına neden olur. Tersine döndüğünde, dış bir elektrik alanı ya piezoelektrik malzemeyi uzatır ya da sıkıştırır.

Piezoelektrik etki, sesin üretilmesi ve algılanması, yüksek voltajların üretilmesi, elektronik frekans üretimi, mikro dengesellikler ve optik montajların ultra hassas odaklamasını içeren birçok uygulamada çok yararlıdır. Tarama prob mikroskopları (STM, AFM, vb.) Gibi atomik çözünürlüklü birçok bilimsel enstrümantal tekniğin temelini oluşturmaktadır. Piezoelektrik etki, çakmaklar için ateşleme kaynağı gibi davranmak gibi daha sıradan uygulamalarda da kullanılmaktadır. Piezoelektrik kristal olarak genellikle kuvarsın kullanılması nedeniyle bu tür kimyasal sensörler "Kuvars Kristal Mikrodenge Sistemleri" (QCM) olarak anılmaktadır [154].

Piezoelektrik özellik taşıyan malzemeler hem aktüatör olarak hem de sensör olarak kullanılabilmektedirler. En yaygın olarak kullanılanlar kuvars kristalleri, Rochelle tuzu ve kurşun-zirconattitanattır (Lead-zirconate-titanate; PZT) [155].

Bu sistemde kullanılan kristal iki tane elektrot arasında bulunmaktadır. Bu elektrotlar bir osilatöre bağlıdır. Ve sisteme verilen bir AC akımı kristalin titreşim yapmasına izin verir. Ve bu sistem geniş sıcaklık aralıklarında dayanıklı olduğu için stabil çalışmalara olanak sağlar.

QCM sisteminde kullanılan elektrotlar genellikle 1,000 Å miktarında 99.99% saf altından (Au) yapılmaktadır.



Şekil 1.23. QCM biyosensörde kullanılan pizoelektrik kristal algılama başının yapısı, (a) üstten görünüm ve (b) en-kesit görünümü [157]

QCM, partiküllerin ölçümünün uygulanması için üzerinde iki tane kristal barındırır. Bunlardan bir tanesi havaya (yukarı) doğru bulunur, diğeri ise partiküllerin bulunduğu ortamdan uzak bir yerde bulunur. Havaya doğru yer alan kristal ince bir yapışkan tabaka ile kaplıdır ve bu tabaka partiküllerin kristal üzerine yapışmasını sağlar. Bu iki kristal karakteristik rezonans frekanslarına göre karşılaştırılır. Quartz kristal microbalance, bu iki kristalin aralarındaki frekans değişimini ortaya çıkarmaktadır. Üzerinde partikül biriken kristalin zamanla rezonans frekansı düşecek, buna bağlı olarak ise iki kristal arasındaki frekans farkı artacaktır. Bu ölçüm sistemin bilgisayara aktarılmasıyla gerçekleşir. QCM kristalleri sıvı ve gaz fazda, vakumlu ve viskoelastik ortamlarda ölçüm yapabilme imkânı verirler. Quartz crystal microbalance (QCM) yüksek duyarlılıkla kütle ölçümlerini yapabilen akustik dalga mikrosensörlerinin bir çeşididir. Uygun koşullar altında, tipik bir QCM 0.1-1 ng/cm^2 'lik bir kütle değişimini ölçebilir. QCM yüksek frekanstaki AC elektrik alanının etkisi altında salınmaktadır.

İilk kez 1959 yılında Sauerbrey tarafından piezoelektrik kristaller kimyasal sensörlerde kullanılmıştır. Quartz kristalleri karşıt piezoelekrik etkiyi ortaya koymaktadır. Uygulanan gerilim mekaniksel bir bozulma yaratır. Kuartzın bu özelliği QCM deki az miktardaki kütle değişimlerini ortaya çıkarmaktadır. Kuartzın yüzeyi üzerindeki küçük bir kütle yükü kuartzın salınım frekansını küçültecektir. Bu frekanstaki değişim ve

frekanstaki değişim ile kütle yükü arasındaki ilişki Sauerbrey denklemi ile açıklanmış ve tanımlanmıştır.

QCM'de quartz sensörün yüzeyine materyalin tutunması ile meydana gelen kütle artışı, "*f*" ile gösterilen rezonant frekansının azalmasına yol açar.

Bu ilişki aşağıdaki "Sauerbrey eşitliği" ile gösterilebilir: Sauerbrey Denklemi:

$$\Delta f = \frac{-2\Delta m f 02}{A\sqrt{\rho q \mu q}} = \frac{-2 f 02}{A\sqrt{\rho q \mu q}} \Delta m$$

Burada,

f_0= kristalin resonant frekansı,

A = kristalin elektrotlar arasındaki hareketli alanı,

ρ_q= kuartzın yoğunluğu,

μ_q= kayma genliği(katsayısı), ve $v_q$kuartzdaki kayma dalga hızıdır.

Sauerbrey denklemi, havadaki salınım için geliştirilmiştir ve yalnızca kristale bağlanmış katı materyallere uygulanmaktadır. Aşağıdaki denklemde ise QCM ölçümlerinin sıvılarda da yapılabileceği gösterilmektedir.

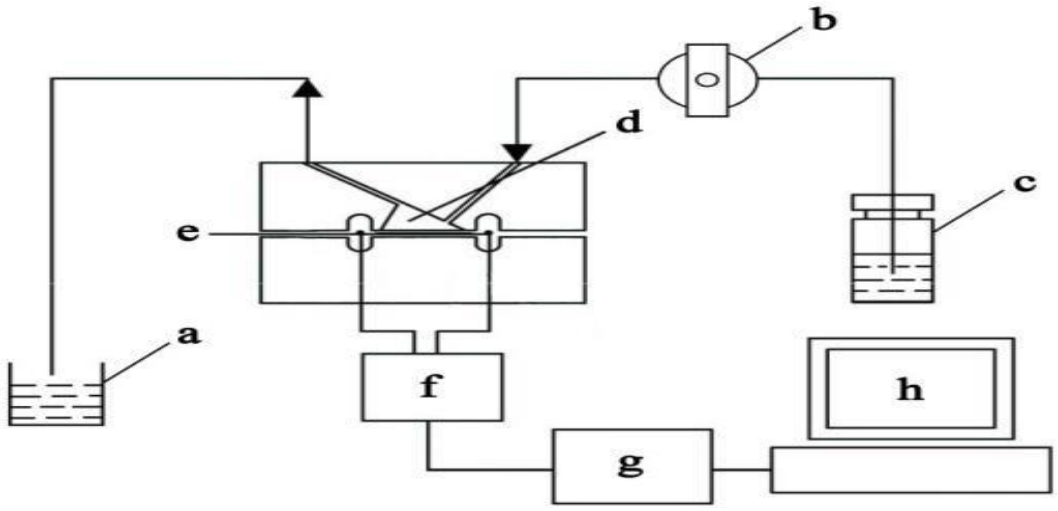
$$\Delta f = -f_0^{3/2}\sqrt{(\eta 1 \rho 1/\pi \rho q \mu q)}$$

Burada da ρ_l sıvının yoğunluğu ve η_l sıvının viskozitesidir.

Frekans değişimini ölçerek kristal üzerinde bulunan materyalin kütlesini hesaplamak mümkün hale gelmiştir ve bu da Quartz Crystal Microbalance (QCM) ın bir ilkesidir[157].

QCM temel olarak üç ana kısımdan oluşmaktadır;

- quartzresonatörü,
- bir akış sistemive
- değişen frekansı kontrol edenosilatör.



Şekil 1.24. QCM Sisteminin Şematik Diyagramı [157]

Burada a, Çıkış Kısmındaki Kabı; b, Peristaltik Pompa; c, Numune Kabı; d, Hücre; e, QCM Cihazının Altın Yüzeyi; f, Osilasyon Devresi; g, Frekans Sayıcı; h, PC ve Arayüz Yazılımı.

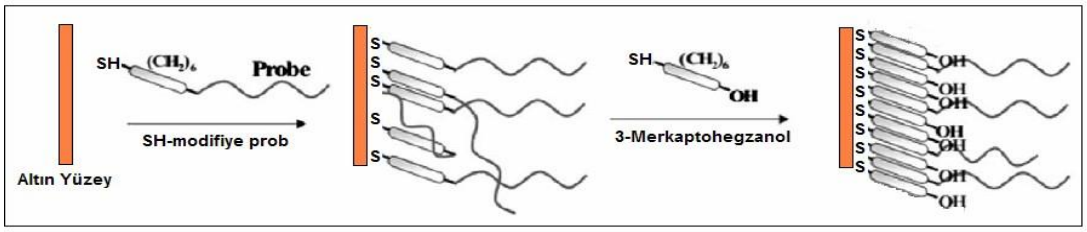
1.3.2. Biyosensör Tasarımı

Biyosensör tasarımında iki farklı deney dizaynı kullanılabilir. Her iki yöntemin de ilk basamağında biyolojik ligand yüzeye tutturulur. İlk yöntemde ligandın yüzeye tutturulma işlemi akışkan bir sistemde gerçekleştirilir. Bağlanma olayı eş zamanlı olarak QCM ile izlenir ve analizin tamamı solüsyon fazında gerçekleşir. Pompa veya şırınga yardımıyla gönderilen solüsyon sensörün(kristalin) yüzeyi ile temas eder ve ilk basamak gerçekleştirilir. Yani tanıyıcı sistem yerleştirilmiş olur. Analit, sensör yüzeye bağlandığı zaman sensörün titreşim frekansındaki düşüş ekrana yansır. Analit ile tepkimeye girecek olan hedef solüsyon yine akışkan sistemde gönderilir ve arayüzey viskoelastik özelliklerinde değişikliğe sebep olur ve bu da rezonans frekansta azalma olarak fark edilir (solution phase sensing method) [155].

İkinci yöntem ise dış ortamda yapılan bağlama yöntemidir. İlk olarak analiz edilecek madde ile tepkimeye girecek olan ligand dış ortamda kristal yüzeye verilir. Kristal kurutulduktan sonra sisteme yerleştirilir ve frekans ölçülür. Analiz edilecek maddeyi içeren solüsyon ister akışkan sistemde ister dış ortamda daldırılarak yüzeye gönderilir. Fiziksel ve kimyasal olarak bağlanmanın gerçekleşmesiyle kütle artışına bağlı olarak

kristal frekansında tekrar bir düşüş olacaktır. Bu daldırma yönteminin bekleme ve kurutma işleminin uzun sürmesi ve zahmetli olması tercih edilmeme sebebidir. Ayrıca eş zamanlı bilgi alınamaması da başka bir dezavantaj sağlar (dip and dry method) [155,157].

QCM'e dayalı DNA hibridizasyon çalışmalarında bu deney dizaynında birlikte kullanabileceğimiz 2 farklı yol mevcuttur. Bunlardan biri altın yüzeye doğrudan tiyol grupları içeren probun tutturulmasıdır. Tiyol gruplarının altına duyarlılığı vardır. Bu şekilde altın yüzeye prob tutturularak biyosensör oluşturabiliriz. Bir sonraki basamakta altın yüzey üzerinde kalan boşluklar tiyol gruplarını engelleyen bir solüsyon kullanılarak doldurulur (örneğin 6–merkapto 1–hekzanol). Böylece hem tiyol grubu içeren probun yüzeyinde dik kalması sağlanır, hem de eğer altın yüzey probla tam kaplanmamışsa, hedef solüsyon ile yüzey arasında oluşabilecek beklenmedik reaksiyonların gerçekleşmesi engellenir [158,159,160,161].



Şekil 1.25. SH-Modifiye Probun Altın Yüzeye Bağlanması [162]

Diğer yol yüzeyi bir kaplama ajanıyla kaplayarak DNA tutturulmasının sağlanmasıdır. Bu yöntemin diğer adı; kendi kendine toplanan düzenli elektrot yüzeyi tabakaları (self-assemblymultilayers, SAM)'dır. Bu tez çalışmasında, altın yüzey modifikasyonlarında sıkça kullanılan MPS ((3-Mercaptopropyl)trimethoxysilane) ile çalışılmıştır. MPS altına olan ilgisinden dolayı, kendiliğinden altına bağlanma özelliğinden yararlanmak üzere seçilen bir tiyol bileşiğidir. Tiyol ile kristal yüzey modifikasyonu sağlandıktan sonra kovalent bağlama ajanı olarak kullanılan Sulfo-SMCC (4-(N-Maleimidomethyl) cyclohexane-1-carboxylic acid 3-sulfo-N-hydroxysuccinimide ester sodium salt) bileşiminin yüzeye tutturulması sağlanır ve böylece yüzey DNA'yı tutturmaya hazır hale getirilmiş olur.

1.3.3. QCM Uygulamaları

QCM sistemler genel olarak yüksek hassasiyete sahip oluşu, kolay kullanımı, spesifikliği, ucuz oluşu ve doğrudan cevap vermesi gibi avantajlara sahip olduğu için hastalık teşhisinde, antijen/antikor etkileşiminde, ilaç analizlerinde, gaz sensörü olarak ve spesifik molekül tayinlerinde kullanılarak son zamanlarda gelişim göstermiştir. Sensör kristalin yüzeyinin analizlenecek analite göre özel olarak tasarımı hassasiyeti arttıran bir etkendir. Uygulamalar, biyomolekülleri (proteinler, DNA, antijen/antikor), nanopartikülleri, lipidleri, polimerleri, polimer filmleri ve hücreler/bakterileri içermektedir. Bu teknik ile çok ince yüzey sınır tabakalarının kütlesi belirlenir ve viskoelastik özellikler hakkında bilgi verir. QCM tekniği yüzeyde bulunan makromoleküllerle çalışmak için uygundur ve günüzümde var olan teknikleri tamamlayıcı özelliğe sahip bir tekniktir. Eş zamanlı algılaması ve yüksek hassasiyete sahip olma özelliği ile QCM birçok uygulamada kullanılabilirlik açısından cazip duruma gelmiştir.

Aşağıda QCM'in uygulama alanlarının yalnızca bir kısmı gösterilmiştir.

1. Biyoteknolojideki Uygulamalar
    - Protein ligandlarının immobilize reseptörler tarafından özgül tanınması, immunolojik reaksiyonlar
    - DNA ve RNA nın tamamlayıcı iplikleri arasındaki etkileşimler [163]
    - Hücrelerin, liposomların ve proteinlerinadezyonu
    - Virüs kapsitlerinin, bakterilerin, memeli hücrelerinin ortayaçıkartılması
    - Yüzeylerin biyouyumluluğu
    - Biyofilmlerin oluşturulması ya da oluşumununengellenmesi
2. Fonksiyonelyüzeyler
    - Lipidmembranlar
    - Seçici yüzeylerin oluşturulması
    - Reaktif yüzeyler
    - Polimerkılıflar

- İmmunosensörler
- Gaz sensörleri

3. İnce Film Oluşumu
   - Polielektrolit adsorpsiyonu
   - Langmuir and Langmuir-Blodgettfilmleri
   - Spincoating
   - İki tabaka oluşumu
4. Yüzey Aktif Madde Araştırması
   - Yüzey aktif maddelerin etkinlikleri
   - Yüzeylerdeki yüzey aktif madde etkileşimleri
5. İlaç Araştırmaları
   - İlaçların moleküleretkileşimi
   - Polimer kılıfların bozunumu
   - Farmakolojik maddelere karşı hücresel yanıt
6. Diğer Uygulama Alanları
   - Kontaminasyonmonitörleri
   - Nemanalizörleri
   - Metal filmler üzerindeki Hidrojenadsorbsiyonu
   - Redoks ve iletken polimeraraştırmaları
   - Elektrovalans Ölçümleri
   - Kabarcık oluşumu
   - Korozyon çalışmaları
   - Yüzey oksidasyonu
   - Protein-Proteinetkileşimleri
   - DNA ve RNA hibridizasyonçalışmaları
   - MEMsnanomateryalleri

- Akıllı biyomateryaller

  * Histamine duyarlı spesifik QCM tasarımı; S. Mutlu ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmalarda plazma polimerizasyon tekniğini kullanarak QCM yüzeyini amin veya tiyol grupları içeren monomerler kullanarak modifiye etmişlerdir. Bu çalışmada QCM sensör yüzeyine, hedef analit olarak seçilen histamini tanımlayabilmek için anti- histamin tutturulması gerçekleştirilmiş bir biyosensör tasarlanmıştır [165].

  * Escherichia coli yanında Salmonella daha birçok hastalığa sebep olan bakteri ve virüslerin tayini için QCM kullanılmıştır. Başlıcaları; Salmonella, Listeria monocytogenes, Streptococcus mutans, Bacillus cereus, Bacillus anthracis, Campylobacter'dır. Bunlar gıdalarda kontaminantlara sebep olan bakterilerdir [168].

  * İlk piezoelektrik imminosensörü 1972 yılında Shon ve arkadaşları tasarlamıştır. Bir polimer yardımıyla kaplanan kristal yüzeye albümin fiziksel yollarla tutturulmuş, ardından anti-albümin içeren solüsyonla etkileştirilip kompleks oluşumu izlenmiştir [164].

  * Chih-Sheng Lin ve arkadaşları dönüşümlü akışkan sistemi kullanarak Escherichia coli'nin gerçek zamanlı tespiti için bir DNA piezoelektrik biyosensör geliştirmişlerdir [167].

  * Streptococcus mutans biofilmlerinin QCM ile nicel analizi yapılmıştır. Biyofilm araştırma alanlarının çok hızlı bir şekilde gelişmesi ile total biyomas gibi başlıca parametreleri ölçmek için acil olarak aydınlatıcı tekniklere ihtiyaç duyulmuştur. Yapılan çalışmada farklı sükroz konsantrasyonları altında oluşan S.mutans biyofilmlerinin total biyomasını ölçmek için QCM tekniğinden yararlanılmıştır ve QCM'in biyofilm oluşum kinetiği çalışmalarında yararlı bir araç olduğu kanıtlanmıştır [166].

  * Bir başka çalışmada; çevresel zararlı atıklar ya da denize dökülen kimyasallar açısından hava kirliliğinin uzaktan ve otomatik izlenmesi için uygun taşınabilir mikroişlemsel kontrollü piezoelektrik kuvars mikrobalans sisteminin kurulması anlatılmaktadır. Bu çalışma kullanılan spesifik kaplama materyaline sensitif

adsorbe edilen maddelerin nanogram seviyesinde kütle değişimlerinin izlendiği bir sistem dizaynıdır [170].

* Kunwadee Noonong ve arkadaşları 2011 yılında yaptıkları araştırmada İnsan Serum Albümini QCM sensör ile tespit etmişlerdir ve farklı insan serum albümininin farklı konsantrasyonlarında QCM sensörün frekans bilgisinde, insan serum albümini ile lineer ilişkide frekans kayması gözlemlemişlerdir. Ve insan serum albüminini tespit etmek için QCM sensörlerinin üzerinde araştırmalar yapılmasının doğru bir iş olduğunu ifade etmişlerdir [171].

* Protein A ile Immünoglobulin (Ig) reaksiyonlarının piezoelektrik kristal ile izlendiği çalışmada 10 MHz kristaller protein A ile kaplanmış ve insan ya da tavşan IgG'i içeren solüsyonlar içine pleksiglas tutucuya yerleştirilen modifiye kristaller daldırılmıştır. Yüzeye bağlanan IgG ile anti-insan IgG ortamındaki etkileşim kristal frekansında 3 kat düşmeye neden olmuştur [169].

* Özlem Ertekin ve arkadaşlarının 2016 yılında yaptıkları TUBİTAK destekli bir projede pulbiberde nem kalmasısonucu mantar üremesi ve bu mantardan türeyen aflatoksinin QCM sensör kullanılarak tesbit edilmesi işlemleri anlatılmaktadır. Aflatoksine uzun dönem maruz kalınması durumunda karaciğer kanserine sebebiyet verdiği bilinmektedir. Aflatoksin tayini için AFB1 tespit edilmek istenmiştir. Bunun içinde Monoklonal IgA Antikoru tanıma elemanı olarak kullanılmıştır [172].

* Hiroyuki Furosawa ve arkadaşları QCM yüzeyindeki DNA ipliği ile etkileşen küçük DNA bağlayıcı moleküllerin kinetik karakterizasyonunu araştırmışlardır. Bu çalışma ilaç dizaynı için vizyon göstermekle beraber hem antibiyotiklerin hem de anti-tümör ilaçların etkilerini göstermiştir. Endotoksin üzerinden yürüttükleri bu araştırmada LAL ajanı kullanılarak endotoksin tespit etmişlerdir [174].

* Thomas Clausen ve arkadaşları Primer kanser doku örneklerine ligand bağlanma- kinetiğinin gerçek zamanlı ve etiketsiz olarak belirlemişlerdir. Biyolojik belirteç hedeflemesinin değerlendirilmesi için yeni bir araç geliştirme araştırmaları içerisinde bulunmuşlardır. Bu bağlamda meme ve prostat kanseri dokularını QCM sensör kullanarak incelemişlerdir [173].

2. BÖLÜM

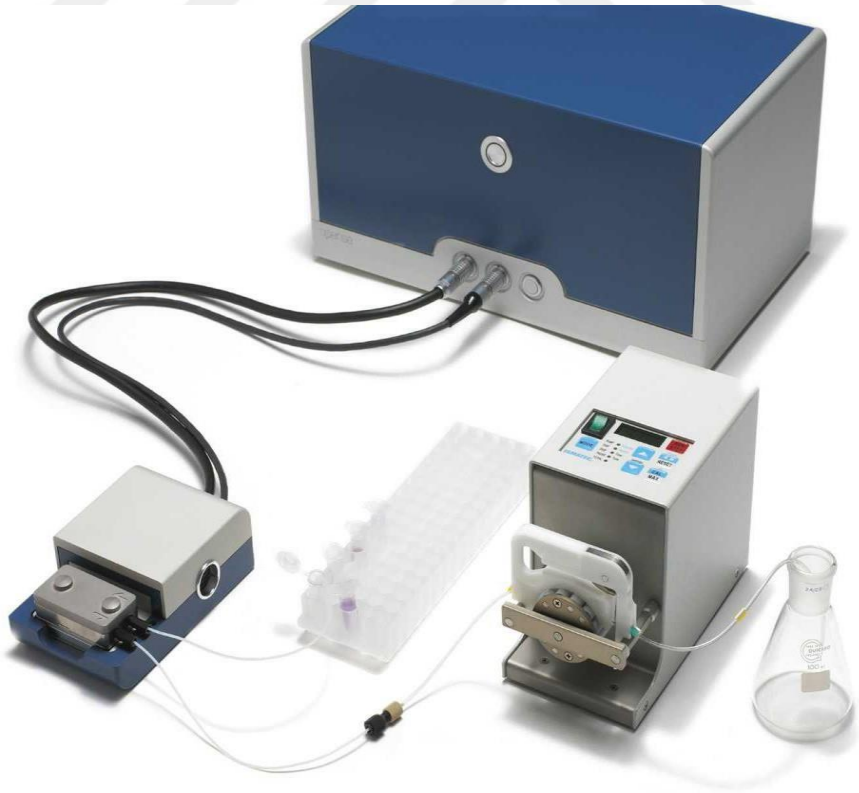
MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Deney Malzemeleri ve Kimyasalları

2.1.1. Kullanılan Cihazlar

Yapılan deneyler ve ölçümler esnasında kullanılan cihazlar aşağıdadır.

1) Kuartz Kristal Mikrodenge (QCM) cihazı – Biolin Scientific - Qsense Explorer



Şekil 2.1. QCM Cihazı (Biolin Scientific Q Sense Explorer(QCM-D)) [182]

QCM-D Cihazı 3 bileşenden oluşmaktadır. Bunlar elektronik ünite, hücre (oda) platform ve akış sistemidir. Cihazda sensör olarak 5 MHz, 14 mm çaplı, parlatılmış, AT-kesimli, altın elektrotlar kullanılmaktadır.

Cihazın sıvıdaki maksimum kütle hassasiyeti 0.5 ng/cm^2 (5 pg/mm^2) olarak kataloğunda yer almaktadır.

2) Kuartz Kristal Mikrodenge (QCM) cihazı – Gamry Instruments - Gamry's eQCM 10M



Şekil 2.2. QCM Cihazı (Gamry eQCM) [183]

eQCM Cihazı 3 bileşenden oluşmaktadır. Bunlar elektronik ünite, hücre (oda) platform ve akış sistemidir. Cihazda sensör olarak 5 MHz altın-kaplı quartz kristal elektrotlar kullanılmaktadır.

3) Karıştırıcı (Vorteks) - Heidolph

4) Ultrasonik Yıkayıcı – Wisd Wiseclean

5) Peristaltik Pompa – Ismatec

6) Hassas Tartı – Swissmade ES 225SM-DR

7) pH-metre – WTW – Inolab – pH7110

8) Isıtıcı – Heidolph

9) IR Termometre – Fluke 62Max+

10) Altın Sensör – Qsense, Gamry

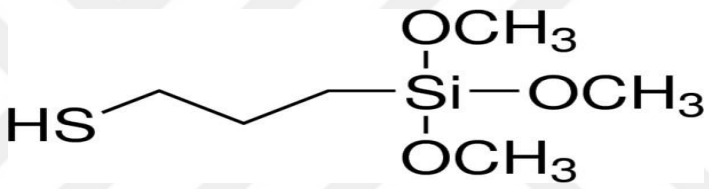
11) UV Cihazı – Bioforce nanosciences – UV/Ozone ProCleaner

12) Qsoft 401 Yazılımı – Biolin Scientific

13) Gamry-Software-7.04

2.1.2. Kullanılan Kimyasallar

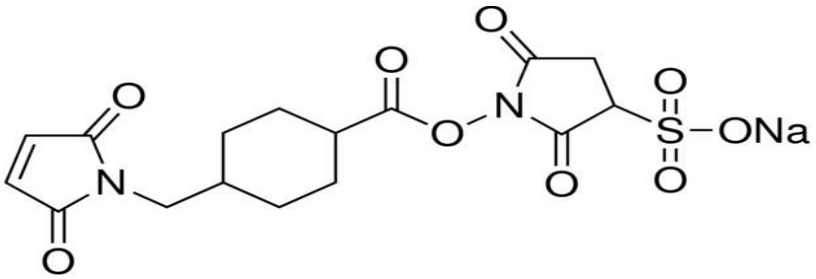
1) (3-Mercaptopropyl)trimethoxysilane (MPS) (Sigma = 175617)



Şekil 2.3. MPS Yapısı[175]

Kapalı Yapısı = $HS(CH_2)_3Si(OCH_3)_3$

2) 4-(N-Maleimidomethyl)cyclohexane-1-carboxylicacid3-sulfo-N-hydroxy succinimide ester sodium salt (Sulfo-SMCC) (Sigma= M6035)



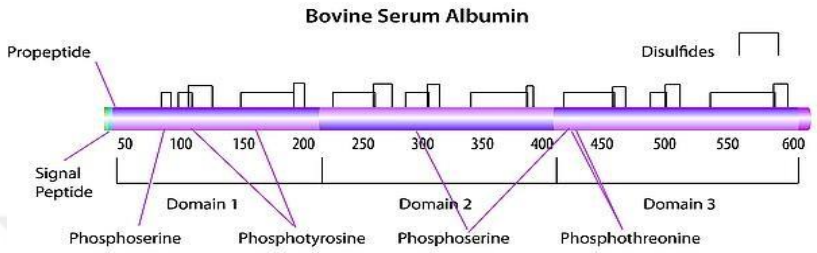
Şekil 2.4. Sulfo-SMCC Yapısı [175]

Kapalı Yapısı = $C_{16}H_{17}N_2NaO_9S$

3) Fosfat Tamponlu Serum (Phosphate Buffered Saline) (PBS)

İnsan tükürüğüne model ortam oluşturabilmek için fosfat tamponlu serum içerine ilave olarak kalsiyum ve magnezyum takviyesi ile pH özelliği 7.2 olacak şekilde temin edilmiştir.

4) Bovine Serum Albumin (Büyükbaş Serum Albümini) (BSA) (Sigma = A2153) Adı = lyophilized powder, ≥96% (agarose gel electrophoresis)



Şekil 2.5. Bovine Serum Albumin Yapısı [175]

5) Saf Su

6) Etil Alkol

7) Sülfirik Asit

8) Amonyak

9) Hidrojen Peroksit

10) KOH

2.1.3. Kullanılan Sentetik DNA'lar

Sentetik DNA'lar sigmaaldrich firmasından temin edilmiştir.

1) Prob DNA (pDNA)

AmC12-5'-ATGTCGTAATCGCATAGAAT-3' | 0.2 µmol | DST

2) Target DNA (tDNA)

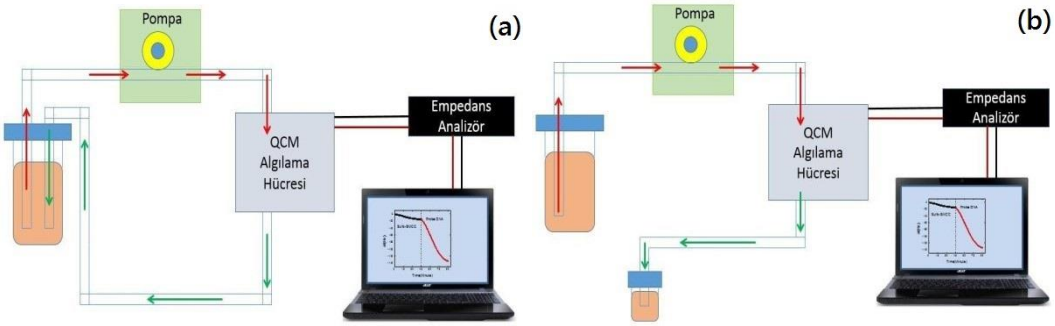
5'-ATTCTATGCGATTACGACAT-3' | 0.2 µmol | DST

Tablo 2.1. Sentetik DNA Özellikleri

	pDNA	**tDNA**
Baz Sayısı	20	20
Baz Dizilimi	ATGTCGTAATCGCATAGAAT	ATTCTATGCGATTACGACAT
İkincil Yapı Oluşturması	Çok Düşük	Çok Düşük
Erime Sıcaklığı	56.2°C	56.2°C
Molekül Ağırlığı	6403.3	6090.9
Modifikasyon	5' - Amin C12	Yok

2.1.4. Kullanılan Deney Düzenekleri

Deneylerin bazılarında peristaltik pompa ile hücreye aktarılan solüsyonlar, hücre sonrasında tekrar değerlendirilmek üzere solüsyonun verildiği kaba aktarılmıştır yani kapalı bir döngü oluşturulmuştur. Bazı deneylerde ise peristaltik pompa ile hücreye aktarılan solüsyonlar hücre ile veya hücre üzerindeki maddeler ile etkileşimi gireceğinden ötürü hücre sonrasında boş kaba aktarılarak bir daha kullanılmamıştır (açık döngü). Bu durumlar aşağıdaki görsellerde gösterilmiştir.



Şekil 2.6. a) Oda Sıcaklığı Kapalı Döngü Sistem Düzeni, b) Oda sıcaklığı Açık Döngü Sistem Düzeni [175]

2.2. QCM Temizlik İşlemi

2.2.1. QCM Sensör Yuvası ve Bileşenlerinin Temizliği

QCM-D için;

QCM Sensör Yuvası parçalarına mekaniksel olarak ayırıldı. Ayırılan mekanik aksam

(conta ve o-ring hariç) behere koyuldu. Malzemelerin çok kirli olmadığı durumlarda, DIW ile yıkandı, aksi durumlarda behere yeterince SDS (deterjan) karışımı hazırlandı ardından ultrasonik yıkama cihazında 60°C sıcaklıkta 10 dk bekletildi. Parçalar tek tek beherden alındıktan sonra itinalı bir şekilde alkol ile yıkandı. Her parçanın delik kısımlarına özen göstererek saf su ile durulandı. Son olarak her parça basınçlı hava ile delik kısımlarına itina göstererek kurulandı [175].

e-QCM için; Sensör yuvasının sıvı ile temas etmeyen bileşenleri için bu işlem yapılmadı.

2.2.2. QCM Sensör Yuvasındaki Conta ve O-ring Parçalarının Temizliği

QCM-D için;

Conta ve o-ringler beherin içerisine alındı. Behere etanol eklendi. Ultrasonik yıkayıcıda 10 dk bekletildi daha sonra azot gazı ile kurutuldu.

e-QCM için;

Sensor yuvasında bulunan O-ring uzun süre kullanılmadığı durumlarda bu işlem yapılmadı. Uzun süre kullanımın ardından yukarıdaki işlemler yapıldı.

2.2.3. QCM Sensörün Temizlenmesi

QCM-D için;

Sensör, hücre içerisinde uzun süredir bulunmuyor ise UV ışınının ardından pirhana solüsyonuna maruz bırakıldı. Aksi durumlarda QCM sensörü önce Etanol ile yıkandıktan sonra saf su ile yıkandı. Ardından QCM sensörü 20 dk UV ışınına maruz bırakıldı. Son olarak QCM sensör Pirhana Solüsyonuna maruz bırakıldı. Pirhana Solüsyonu için (30 ml Saf Su + 20 ml Amonyak + 20 ml Hidrojen Peroksit) hazırlandı. İşlem sonunda QCM sensör düşük basınçtaki azot gazı ile kurutuldu.

e-QCM için;

QCM Sensör yuvasından mekaniksel olarak ayırıldı. Saf su içerisinde %1 lik hazırlanan pirhana solisyonu(1ml-1ml-1ml Sülirik asit-H2O2-Saf Su) içerisinde sensör 5 dk bekletildi. Daha sonar beherden alındıktan sonra itinalı bir şekilde alkol ile yıkandı saf

su ile durulandı. Son olarak tekrar etil alkol ile durulandıktan sonra sensör hava ile kurutularak yuvasına mekaniksel olarak montelendi.

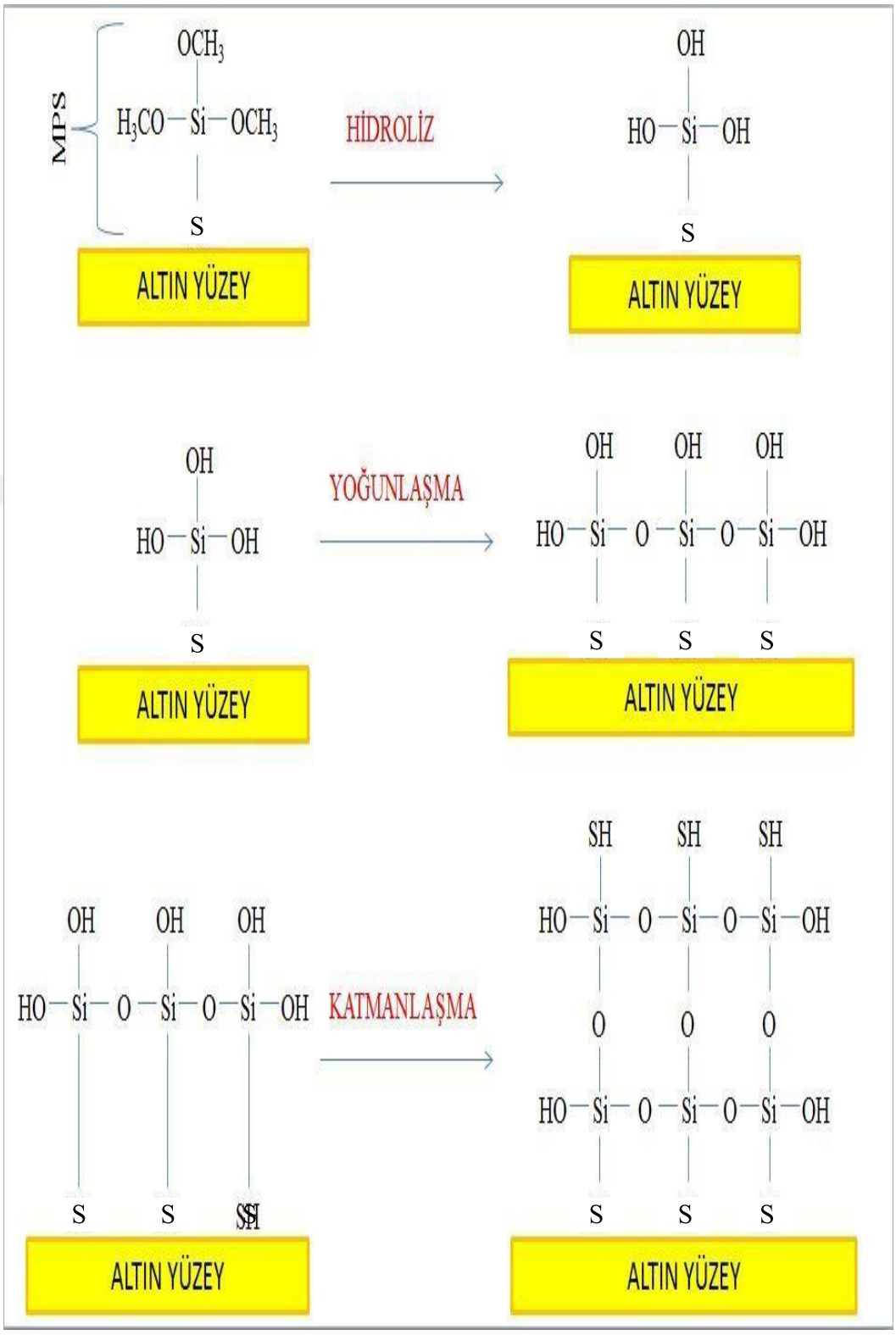
2.3. MPS Kaplama

Sensör yüzeyinin kimyasal ve morfolojik özellikleri tespitin kalitesi ve hassasiyeti ile doğrudan ilişki arz etmektedir. Sulfo-SMCC, Prob DNA (pDNA) ve Target DNA (tDNA) 'nın sağlam bir şekilde immobilize olmasında önemli bir görev üstlenir. Yapısında bulunan tiyol grupları, kaplama işlemi sonrası altın sensör yüzeyinin üst katmanında bulunarak, bu bağlantıların yapılmasına olanak sağlar. Kimyasal kaplama ajanı olarak 3-Mercaptopropyl-trimethoxysilane (MPS) kullanılmıştır.

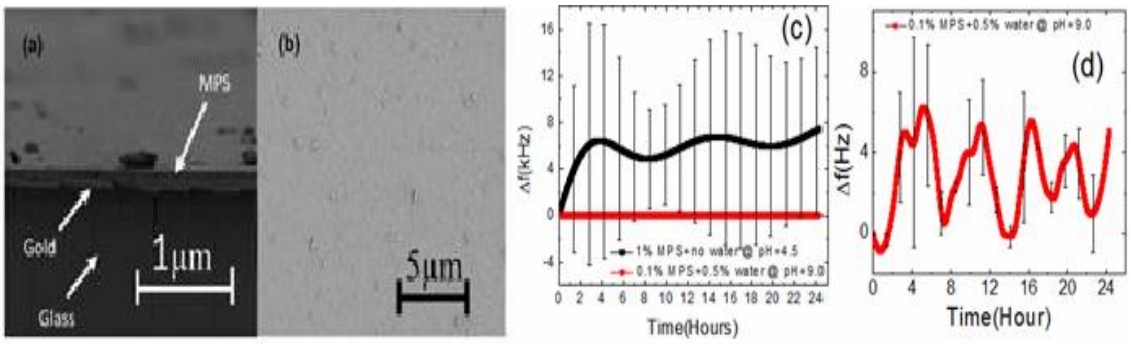
% 0.1 MPS + % 0.5 deiyonize su içeren etanol solüsyonunun pH değeri 9 olduğunda altın sensör yüzeylerindeki en uygun MPS kaplama solüsyonu olduğu bilinmektedir [175 , 184].

MPS yalıtım tabakasının kaplanması hidroliz (bir silan grubunun bir silanol ile değiştirildiği bir işlem) ve yoğunlaşma (iki silidin reaksiyon ile bir Si-O-Si bağı oluşturduğu bir işlem) gibi reaksiyonlara dayanmaktadır. Temel koşullar altında silikon atomuna doğrudan anyonik hidroksiller saldırır. Hidrolizin meydana gelebileceği de bilinmektedir.

Hidroliz ve yoğunlaşma tepkimeleri, MPS konsantrasyonu, MPS solüsyonunun su içeriği ve MPS solüsyonunun pH'ı büyük ölçüde etkilenebilir. Öte yandan, su eklenmesinin ve daha yüksek bir pH değerinin hem hidrolizi hem de yoğunlaşma reaksiyonlarını hızlandırabileceği bilinmektedir [175].



Şekil 2.7. MPS Kaplamanın Yüzey ile Etkileşimi a) hidroliz, b) yoğunlaşma, c) katmanlaşma [175]



Şekil 2.8. MPS Kaplama Sonrası Kaplamanın a) Kesit Alanı ve b) Üstten Görünüşü c) Optimum Koşullardaki Kaplamanın Sinyal Gürültüsü Üzerindeki Etkisi ve d) Gürültü Değişimi [175]

Şekil 2.8. da görüldüğü üzere, PMN-PT piezoelektrik sensörün insülasyonu üzerine yaptıkları çalışmada, % 0.1 MPS + % 0.5 deiyonize su içeren pH değeri 9 olan etanol solüsyonunun, sensör immobilizasyonu ve tespit için uygun bir yüzey kimyası ve morfolojisi ortaya koyduğunu ve sinyal gürültüsünü 1000 kat oranında azalttığını ortaya koymuşlardır [175].

2.3.1. MPS Solüsyonunun (Çözeltisinin) Hazırlanması

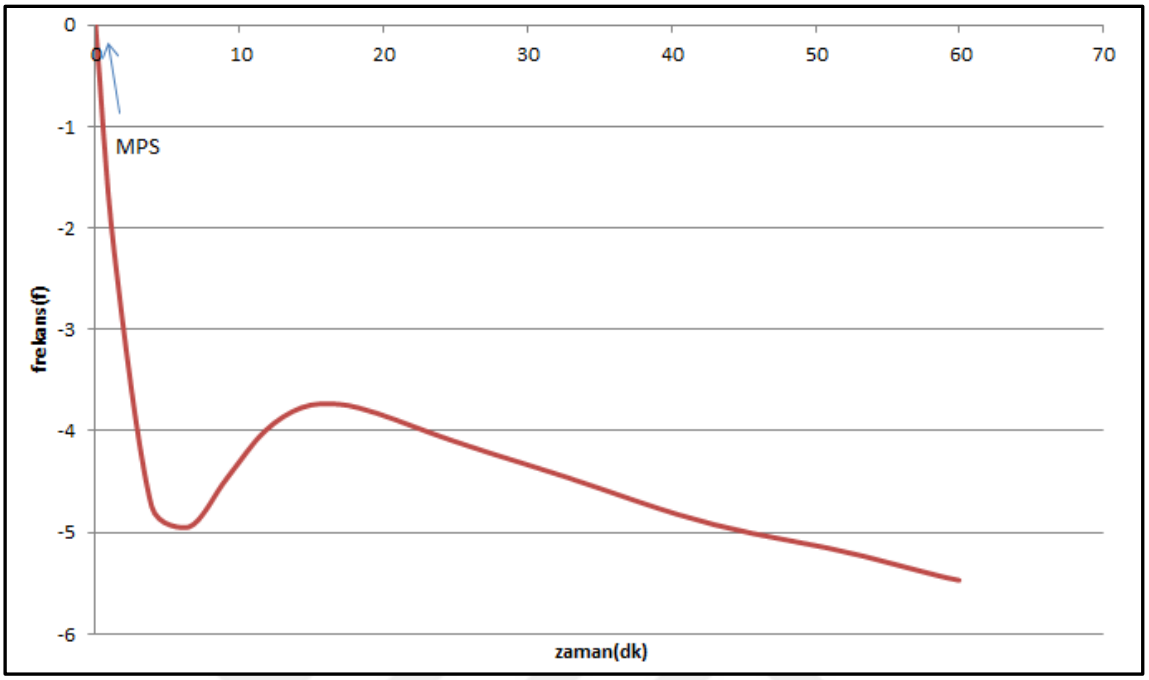
Büyük bir beherde 50 µl Saf Su + 2.34 mg KOH çözüldü. Üzerine 10 ml Etanol eklenerek ve pH bilgisi ölçüldü. Solüsyonun pH bilgisi 9 olduğunda solüsyon kullanım için hazır duruma getirilmiş oldu Sonra üzerine 10 µl MPS eklendi.. MPS muhafaza koşulları 2-8°C olduğu için solüsyon hazırlama işlemi sırasında oyalanmamaya dikkat edildi [175].

2.3.2. MPS Kaplama İşleminin Yapılması

Temizliği ve montajı yapılan sisteme, solüsyonun hortum bağlantıları yapıldı. Bilgisayarı ve gerekli yazılımı hazır hale getirdikten sonra sistemdeki pompa yardımıyla hortumlardaki hava alındı. Solüsyonun, sensör girişine vardığından emin olunca, pompanın hız ayarı 100 µl/sn olacak şekilde ayarlandı. QCM cihazı ile ölçüm işlemine başlanıldı. Sensör yüzeyinin modifikasyonu kapalı döngü ile sağlandı [175].

MPS Kaplama işleminin ardından sensör yüzeyine 10 dk Etanol yıkama yapıldıktan sonra yine sensör yüzeyine 10 dk deiyonize su (DIW) ile yıkama işlemi uygulandı [175].

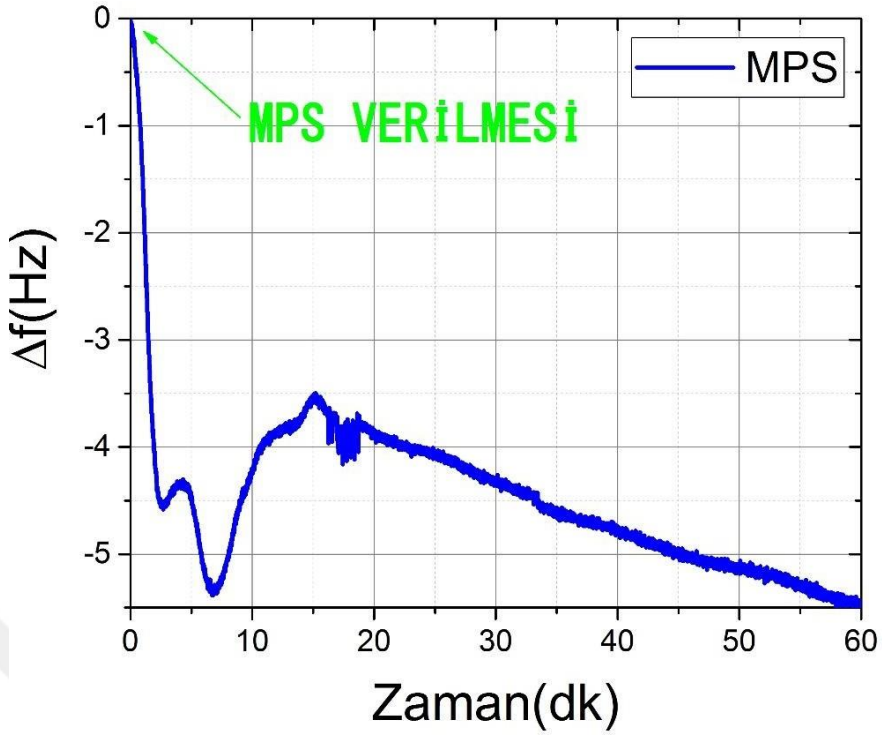
2.3.3. MPS Kaplama İşleminin QCM İle Takibi



Şekil 2.9. MPS Kaplama İşleminin QCM-D İle Takibi

Yukarıdaki grafikte görüldüğü üzere (0.0) noktasında sensör yüzeyi ilk modifikasyon işlemi olan MPS kimyasalına maruz bırakılmıştır. Sensör yüzeyi MPS ile tamamen kaplandıktan sonra 5.50 Hz'lik bir frekans kayması gözlenmiştir. Bu bilgiler ışığında sensör yüzeyinin MPS ile kaplama işleminin başarı ile gerçekleştiğini söyleyebilmek mümkün olmaktadır. Bu veriler, literatürde yapılan çalışmalar ile uyumluluk göstermektedir [175].

Bu grafiğin bu şekilde gösterilebilmesi için ham verilerden oluşan veri setine data fitting (eğri uydurma) işlemi uygulanmıştır. Eğri uydurma işlemi uygulanmadan önceki grafik aşağıdadır.



Şekil 2.10. MPS Eğri Uydurma Uygulanmadan Önceki Grafik

Eğri uydurma işlemi için 9. dereceden polinom kullanılmıştır. Data fitting, eğri uydurma olarak türkçeleştirilmiştir. Ve verilen noktalardan en az hata ile geçebilecek eğrinin uydurulması işlemidir. Bu işlemler MATLAB programında yapılmıştır.

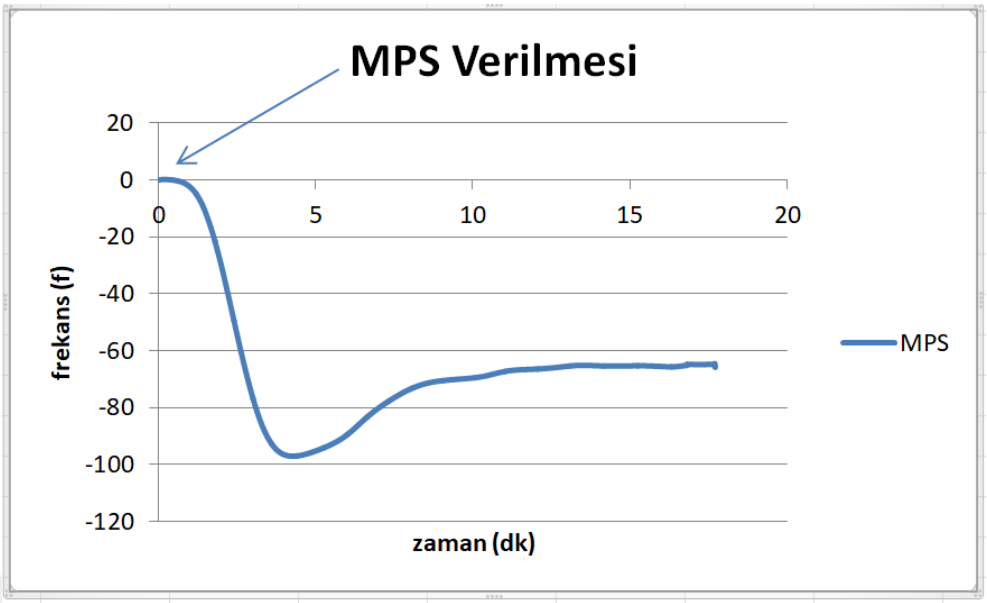
z = (x-mu)/sigma, mu=28.896, sigma = 16.686,

p_1 = -0.067083 p_2 = 0.25551 p_3 = -0.011774 p_4 = -0.87848 p_5 = 0.67186

p_6 = 0.56698 p_7 = -0.41708 p_8 = -0.080284 p_9 = -0.76373 p_{10} = -463.19

$y = p_1z^9 + p_2z^8 + p_3z^7 + p_4z^6 + p_5z^5 + p_6z^4 + p_7z^3 + p_8z^2 + p_9z + p^{10}$, formülü uygulanmıştır.

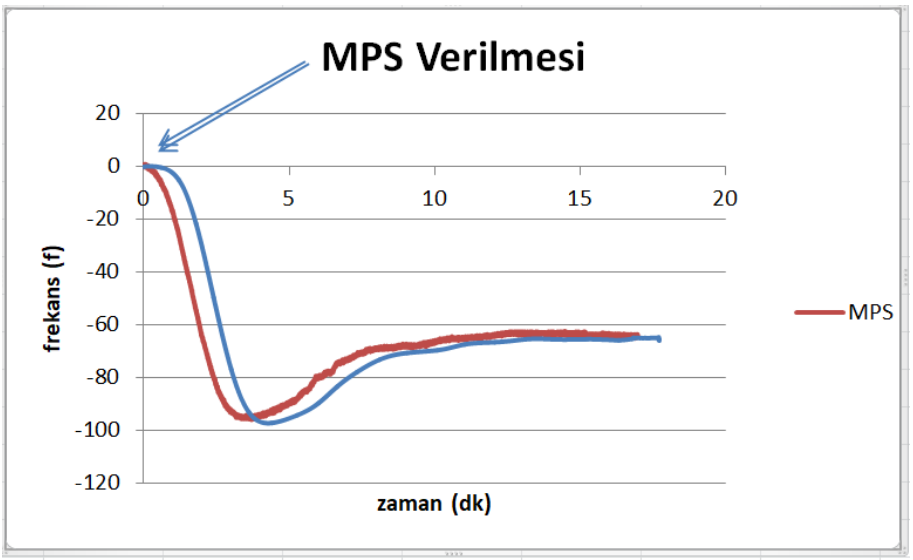
Bu işlemler sonucunda grafikteki yani verilerdeki outlierlar (aykırı veri) ve istenmeyen verilerin (gürültü) bastırılması sonucu, gürültüsüz, aykırı veriler barındırmayan ve verileri en az hata ile kapsayan bir eğri uydurulmuştur.



Şekil 2.11. MPS Kaplama İşleminin eQCM İle Takibi

Yukarıdaki grafikte görüldüğü üzere (0.0) noktasında sensör yüzeyi ilk modifikasyon işlemi olan MPS kimyasalına maruz bırakılmıştır. 60 Hz'lik bir frekans kayması gözlenmiştir. Bu bilgiler ışığında sensör yüzeyinin MPS ile kaplama işleminin başarı ile gerçekleştiğini söyleyebilmek mümkün olmaktadır.

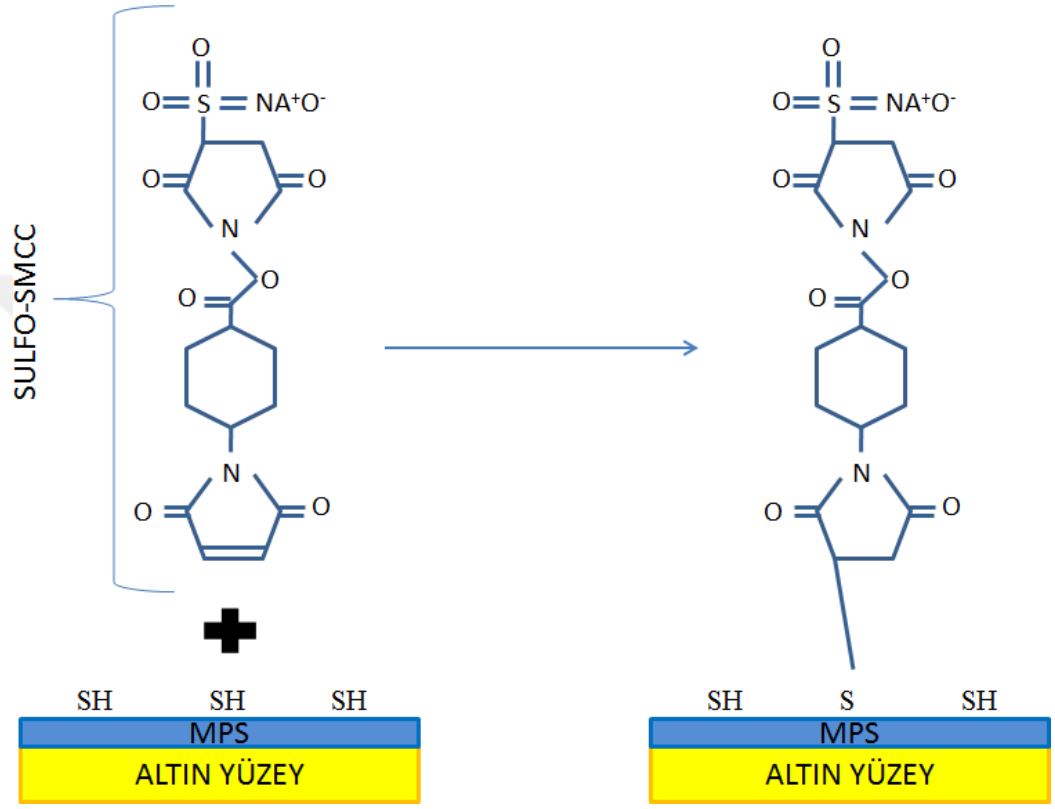
Bu grafiğin bu şekilde gösterilebilmesi için ham verilerden oluşan veri setine data fitting (eğri uydurma) işlemi uygulanmıştır. Eğri uydurma işlemi uygulanmadan önceki grafik aşağıdadır.



Şekil 2.12. .MPS Eğri Uydurma Uygulanmadan Önceki Grafik

2.4. SULFO-SMCC Kaplama İşlemi

Sulfo-SMCC'nin $H_2C_2(CO)_2NH$ grubunun sensör yüzeyindeki MPS kaynaklı tiyol grubu ile stabil bir C-S-CO-C kovalent bağı oluşturup sensör yüzeyine bağlanması amaçlanmıştır [175].



Şekil 2.13. Sulfo-SMCC'nin MPS ile Etkileşimi [176]

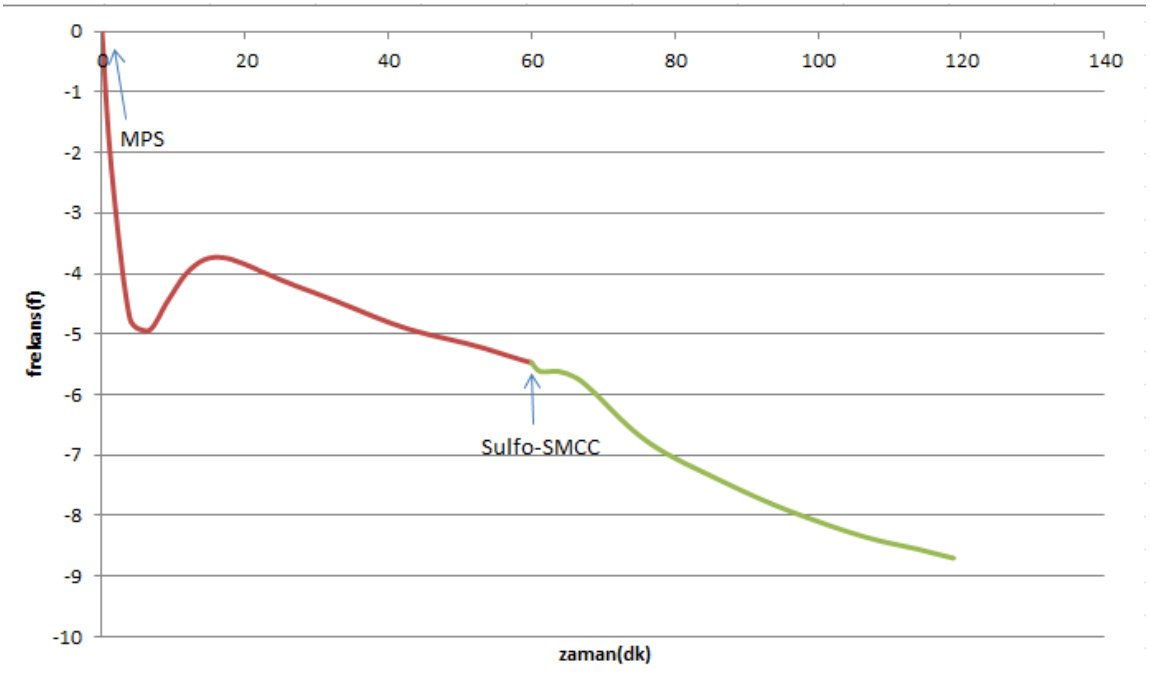
2.4.1. SULFO-SMCC Solüsyonunun Hazırlanması

İlk olarak 1 ml DIW + 1 mg Sulfo-SMCC karışımı elde edildi. Bu karışım 30 sn boyunca vorteks edildikten sonra 5 dk ultrasonik yıkayıcıda çözüldü [175].

2.4.2. SULFO-SMCC Kaplama İşleminin Uygulanması

Sensör yüzeyi doyuma ulaşana kadar kapalı döngü ile hız ayarı 100 µl/sn olacak biçimde Sulfo- SMCC verildi [175].

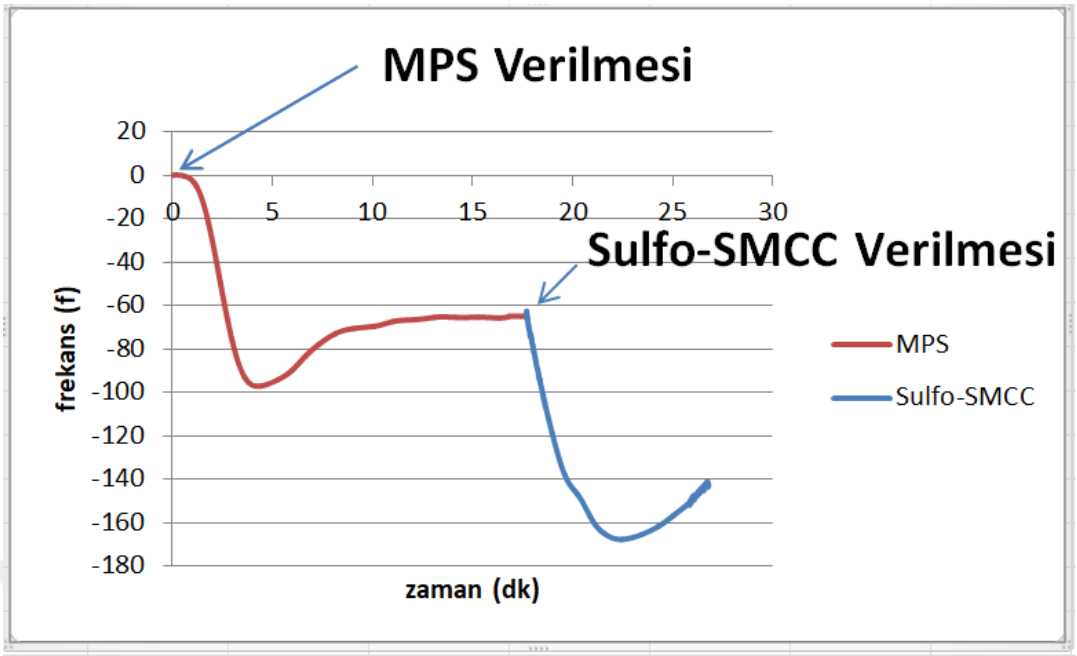
2.4.3. SULFO-SMCC Kaplama İşleminin QCM İle Takibi



Şekil 2.14. Sulfo-SMCC Kaplama İşleminin QCM-D İle Takibi

Yukarıdaki grafikte işaretli kısımda sensör yüzeyine Sulfo-SMCC kimyasali verilmeye başlanmıştır. Yüzey solüsyona doyduktan sonra 3.20 Hz'lik bir frekans kayması görülmüştür. Sulfo-SMCC'nin kullanılma amacı Sulfo-SMCC'nin $H_2C_2(CO)_2NH$ grubunun sensör yüzeyindeki MPS kaynaklı tiyol grubu ile stabil bir C-S-CO-C kovalent bağı oluşturup sensör yüzeyine bağlanması olarak ifade edilmişti [175]. Bu grafiği yorumlayacak olursak ilk olarak istenilen bağlantıların gerçekleştiğini söyleyebiliriz. Ayrıca MPS kaplama işleminin doğrulamasını da sağlamış oluyoruz. Çünkü MPS kaplama işinde sıkıntı olursa Sulfo-SMCC'nin yüzeyde tutunacağı bağlantı olmayacağından bu şekilde bir frekans kayması gözlenememesi yüksek olasılıkta beklenen bir durum olacaktır.

MPS kaplama işleminde bahsedildiği üzere Sulfo-SMCC kaplama işleminde de bu grafiğin elde edilebilmesi için 9. dereceden eğri uydurma işlemleri yapılmış olup, uygun değerler ile MPS kısmında izah edilen işlemler yapılınca veriler gürültüden ve aykırı noktalardan arındırılınca arzu edilen grafikler ortaya çıkarılmıştır.



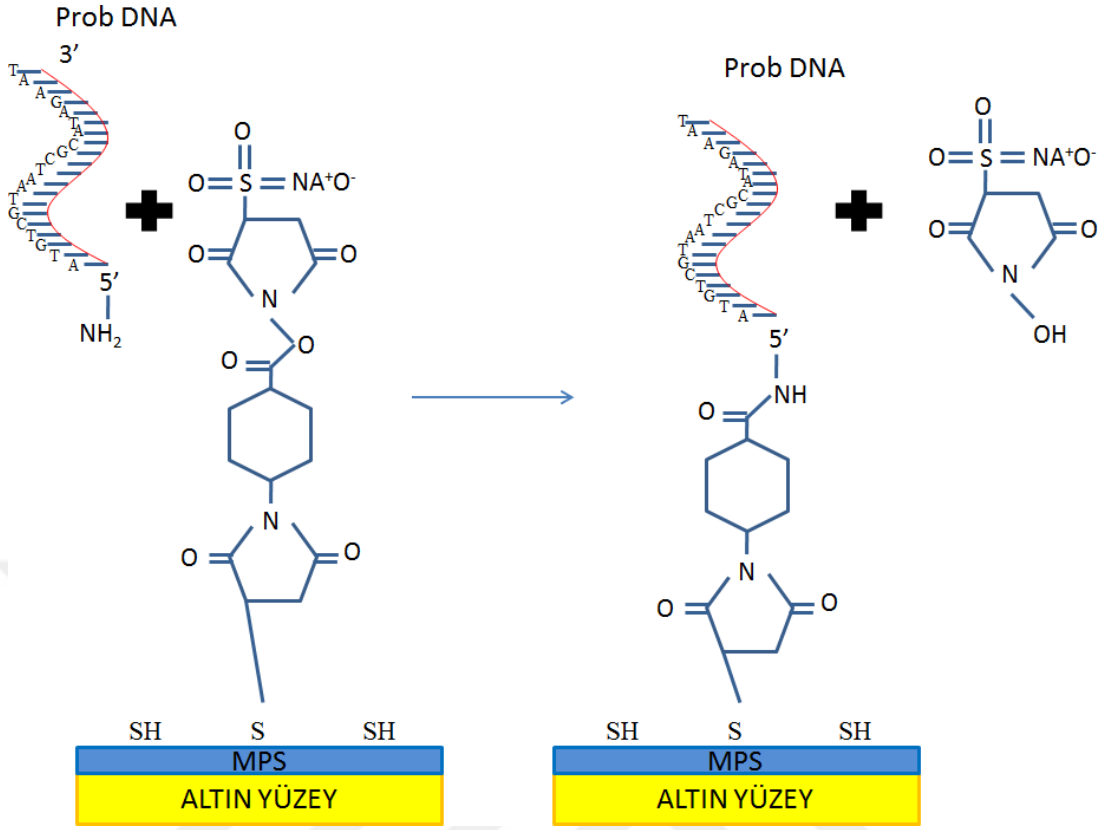
Şekil 2.15. Sulfo-SMCC Kaplama İşleminin eQCM İle Takibi

Grafikte işaretli kısımda sensör yüzeyine Sulfo-SMCC kimyasali verilmeye başlanmıştır. İşlem sonunda 70 Hz'lik bir frekans kayması görülmüştür.

MPS kaplama işleminde bahsedildiği üzere Sulfo-SMCC kaplama işleminde de bu grafiğin elde edilebilmesi için ham verilerden oluşan veri setine data fitting (eğri uydurma) işlemi uygulanmıştır. Bu işlemler yapılınca veriler gürültüden ve aykırı noktalardan arındırılınca arzu edilen grafikler ortaya çıkarılmıştır. Frekanstaki yüksek fark sonucunda iki cihazın çalışmasındaki ayrışmalar gözlemlenmiştir.

2.5. pDNA İmmobilizasyonu

Amin (NH_2) ile 5' dan aktive edilmiş 20 nükleotid uzunluğundaki sentetik pDNA'nın, Sulfo-SMCC'nin NHS esteri ile tepkimeye girmesi ve ardından stabil amit bağı ile kovalent olarak bağlanması amaçlanmıştır [175].



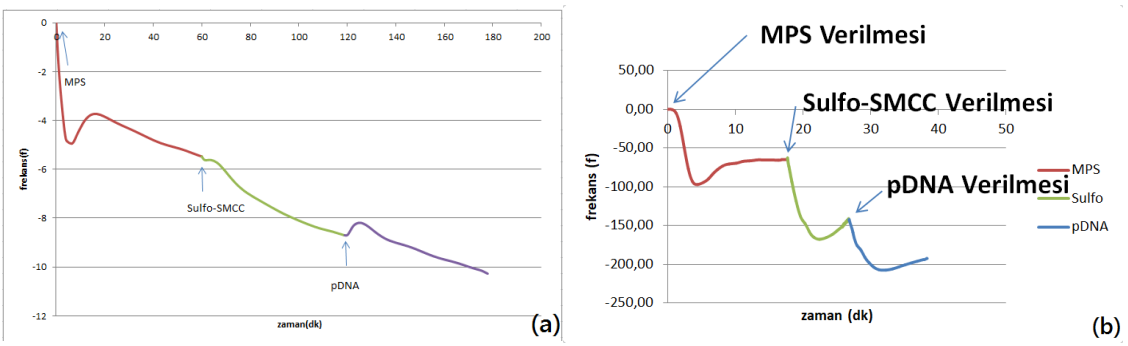
Şekil 2.16. pDNA'nın Sulfo-SMCC İle Etkileşimi [176]

2.5.1. pDNA Solüsyonunun Hazırlanması

Stok olarak çalışılan yani 1.5 ml ile açılan pDNA tüpü vorteks edildi. pDNA tüpünden 37.5 µl çekildi ardından 1 ml PBS içerisine, çekilen pDNA ilave edildikten sonra karışım tekrar vorteks edildi. Bu şekilde planlanan pDNA yani 10^{12} kopya/ml miktarı elde edildi.

2.5.2. pDNA İmmobilizasyon İşleminin Uygulanması

Elde edilen solüsyonda homojenitenin bozulmaması için zaman kaybı yapmadan hızlı bir biçimde işleme başlandı. Sensör yüzeyi solüsyona doyana kadar 100 µl/sn hız ayarında kapalı döngü ile uygulandı.



Şekil 2.17. a) pDNA İmmobilizasyon İşleminin QCM-D ile Takibi b) pDNA İmmobilizasyon İşleminin eQCM ile Takibi

2.5.3. pDNA İmmobilizasyonun İşleminin QCM İle Takibi

Yukarıdaki QCM-D grafiği analiz edildiğinde MPS kaplama ve Sulfo-SMCC kaplama işlemleri yüzeye uygulandıktan sonra pDNA verilmektedir. Bu süre sonunda 1.60 Hz'lik bir frekans kayması olduğu görülmektedir. eQCM grafiğinde ise pDNA frekans kayma miktarı 40 Hz civarı olduğu görülmektedir.

Amin (NH_2) ile 5' dan aktive edilmiş 20 nükleotid uzunluğundaki sentetik pDNA'nın, Sulfo-SMCC'nin NHS esteri ile tepkimeye girdiği ve ardından stabil amit bağı ile kovalent olarak bağlandığı, veriler ışığında doğrulanmaktadır.

2.6. Model Tükürük

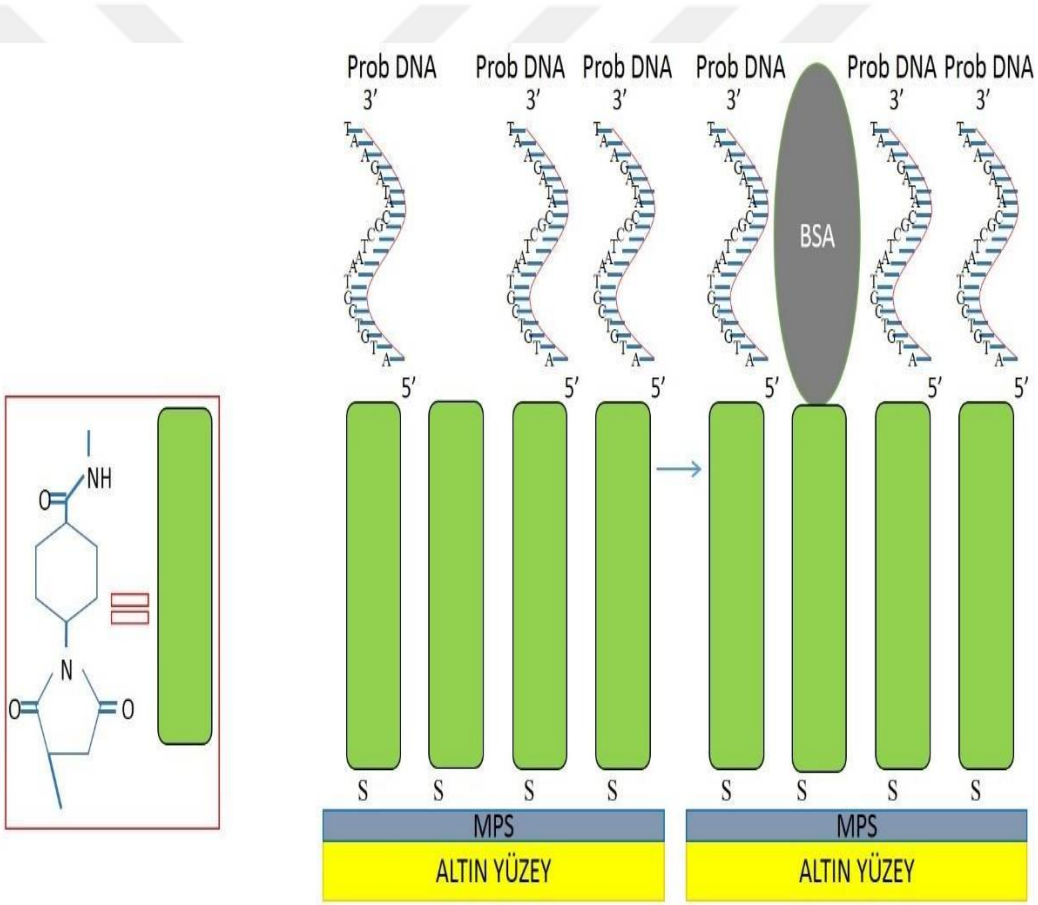
Model tükürük kullanılmasında birkaç amaç vardır. Bunlardan birincisi model tükürük ortamında hedeflenen amaçlara ulaşıp ulaşılamayacağının tespit edilmesidir. İkincisi ise simüle olmayan ortamlarda çalışırken etik kurul izinlerinin alınması gibi bir işlem yükünün çalışmanın seyrini yavaşlatmasının istenmemesidir. Çalışmamızda model tükürüğünün, insan tükürüğüne benzerliğini artırabilmek adına ciddi işlemler yapılmıştır.

Bu adımlarından bazıları PBS olarak kullandığımız ve temelde insan tükürüğünü model alan bu iyonik kimyasalın temini esnasında insan tükürüğünde bulunan minerallerden magnezyum ve kalsiyum ilave olarak ekletilmiştir. Yine benzer amaca uygun olarak insan tükürüğünde bulunan proteinler göz ardı edilmeyip, protein olarak %5 oranında

büyükbaş serum albümini (BSA) kullanılmıştır. Böylece insan tükürüğüne benzer olan bir model tükürük elde edilmiştir [175]. Bütün bu yapılan işlemlerin etkileri incelenmiştir.

2.7. BSA Bloklama

İnsan tükürüğünde %0.02 ila %0.03 aralığında protein bulunmaktadır. Bu proteinlerin herhangi bir spesifik olmayan bağlantıya sebebiyet vermemesi amacıyla pDNA immobilizasyonu sonrasında sensör yüzeyi PBS içerisindeki %5 oranında büyükbaş serum albüminine (Bovine Serum Albümin (BSA)) maruz bırakılmıştır. Böylece yüzey %5 oranında proteine doyurulmuştur [175].



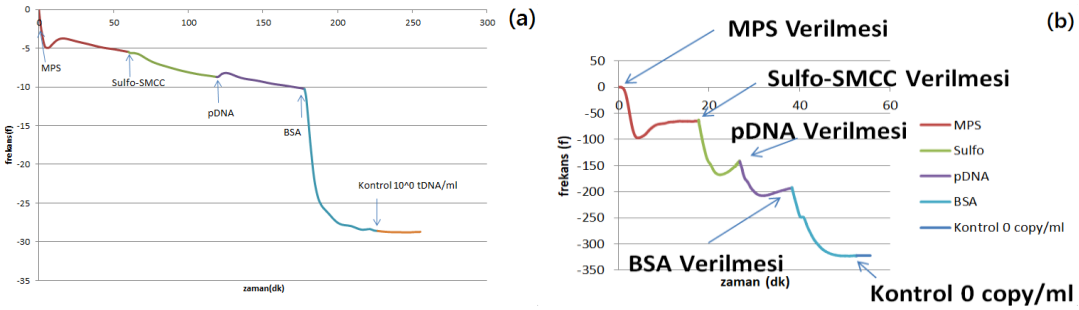
Şekil 2.18. BSA'nın Yüzey İle Etkileşimi [176]

2.7.1. BSA Solüsyonunun Hazırlanması

PBS içerisinde %5'lik BSA olması için 10 ml PBS + 0.5 mg BSA solüsyonu hassas terazi kullanılarak hazırlandı.

2.7.2. BSA Bloklama İşleminin Uygulanması

10 ml PBS + 0.5 mg BSA solüsyonu 30 sn süreyle vorteks edildi. Homojenitesi sağlanan solüsyon sensör yüzeyine 100 µl/sn hız ayarında açık döngü ile uygulandı.



Şekil 2.19. a) BSA Bloklama İşleminin QCM-D ile Takibi b) BSA Bloklama İşleminin eQCM ile Takibi

2.7.3. BSA Bloklama İşleminin QCM İle Takibi

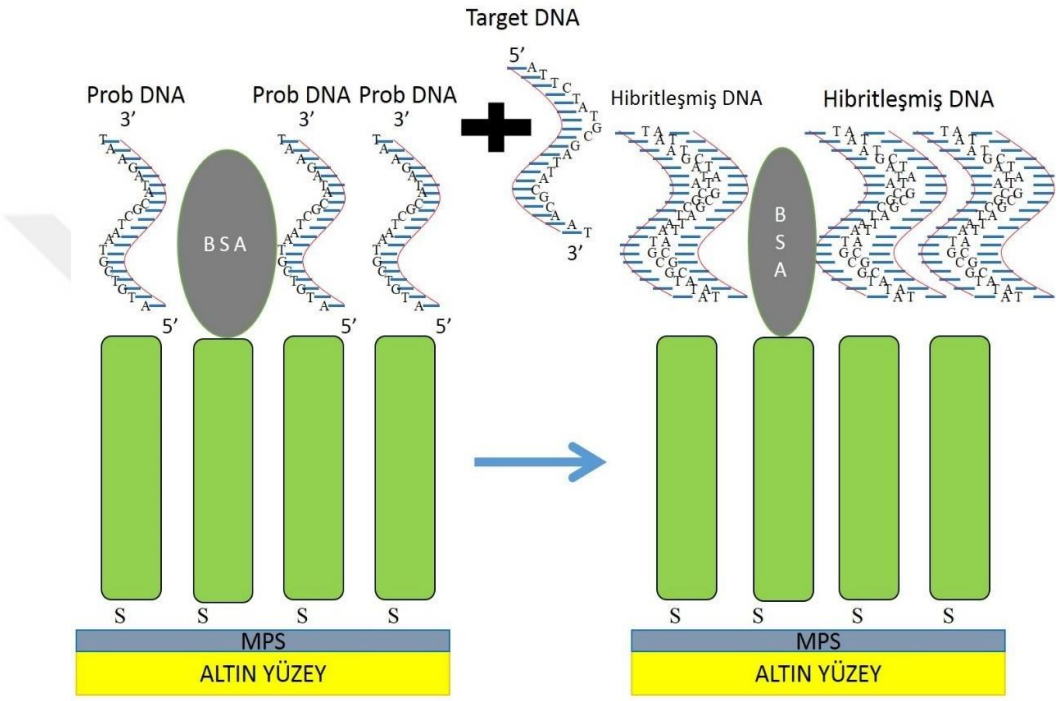
Yukarıdaki QCM-D grafiğinde; insan tükürüğünde bulunan proteinlerin herhangi bir spesifik olmayan bağlantıya sebebiyet vermemesi amacıyla pDNA immobilizasyonu sonrasında sensör yüzeyi PBS içerisindeki %5 oranında büyükbaş serum albüminine (Bovine Serum Albümin (BSA)) maruz bırakılacak böylece yüzey %5 oranında proteine doyurulduğu durum gözlenmektedir. Büyükbaş serum albümini diğer kimyasallara nazaran daha ağır olduğundan ötürü frekans ekseninde ciddi etkilere sebebiyet vermektedir. 50 dakikalık işlem süresi sonucunda 18.5 Hz'lik bir frekans kayması izlenmiştir. eQCM grafiğinde bu frekans kayması 120 Hz civarındadır.

2.8. tDNA Tayini

tDNA'nın özellikleri 20 nükleotidlik olması ve pDNA ile tamamlayıcı niteliğe sahip olmasıdır. Bu özelliklerden dolayı sensör yüzeyine yukarıdaki bahsedilen işlemler ile immobolize edilen pDNA ile hibridizasyon yaptığını biz bilim insanlarına tayin edebilmek için 2 yöntem sunulabilmektedir. Bunlardan birincisi sensörümüzün sürekli ölçüm yaptığı ağırlığın artması neticesinde frekans bilgisinde düşüş eğiliminin takip edilmesi, ikincisi ise MPS kaplama ile başladığımız bu mimarideki bu yerçekimine karşı yapılan düzensizliğin, kurulan hidrojen bağları gibi benzeri bağlar ile düzenlilik

yönünde ölçümlerinin alınması. Bunu gökdelenlerin zirve noktasının rüzgar etkisi ile birkaç metre yatay eksende esnemesi durumuna benzetebiliriz. Ölçüm sistemimiz bu işleme dissipation (enerji kaybı) adını vermektedir.

Bu tezde ve yapılan deney çalışmasında ağırlık üzerinde frekans bilgisi ile hareket edilmiştir ve enerji kaybı faktörü doğrulama amaçlı kontrol edilmiştir.



Şekil 2.20. tDNA ile pDNA Arasındaki Etkileşim (Hibritleşme) [176]

2.8.1. tDNA Solüsyonunun Hazırlanması

Deneyler için kontrol amaçlı olarak sıfır "0" (kopya/ml) ve 3 farklı konsantrasyonda sırası ile 10^8 (kopya/ml), 10^{10} (kopya/ml) ve 10^{13} (kopya/ml) olacak biçimde ve her konsantrasyon için en az 3 deney yaparak, aldığımız ölçümlerin güvenilirliğinden emin olmak kurgulanmıştır. Kurguya uygun hareket edebilmek adına sentetik olarak temin edilen tDNA'nın özellikleri ile yapacağımız deney sayısı ve tDNA gereksinimleri matematiksel işlemler ile hesaplanmıştır. Bu hesaplamalar ile optimum miktarda tDNA'lar ile çalışabilmek hedeflenmiştir.

Öncelikle tDNA'nın kopya sayısı $(1017.38x10)^{14}$ adet. Bunu 1.5 ml DIW ile açtığımız zaman stok solüsyonu elde edildi. Stok solüsyonunda $(678.25x10)^{14}$ kopya/ml var ve bu solüsyon 684337.3 ng ağırlığa sahip.

Bu stok solüsyonundan 10^8 kopya/ml konsantrasyonunu elde etmek için;

Sensöre, plana göre solüsyonlar 10 ml'lik tüpte verileceği için 10^9 kopya olacak şekilde hazırlandı. 10^9 kopya 0.01 ng ağırlığında olmalı. 684337.3 ng 1 ml'de var ise 0.01 ng 0.014 nl'de olacaktır. 10 ml PBS + 0.5 mg BSA + 0.014 nl tDNA solüsyonu hazırlandı.

Stok solüsyonundan 10^{10} kopya/ml konsantrasyonunu elde etmek için;

Sensöre, plana göre solüsyonlar 10 ml'lik tüpte verileceği için 10^{11} kopya olacak şekilde hazırlandı. 10^{11} kopya 1.009 ng ağırlığında olmalı. 684337.3 ng 1 ml'de var ise 1.008975 ng 1.474 nl'de olacaktır. 10 ml PBS + 0.5 mg BSA + 1.474 nl tDNA solüsyonu hazırlandı.

Stok solüsyonundan 10^{13} kopya/ml konsantrasyonunu elde etmek için;

Sensöre, yapılan plana göre 10 ml'lik tüpte verileceği için 10^{14} kopya olacak şekilde hazırlandı. 10^{14} kopya 1008.975 ng ağırlığında olmalı. 684337.3 ng 1 ml'de var ise

1008.975 ng 1.474 µl'de olacaktır. 10 ml PBS + 0.5 mg BSA + 1.474 µl tDNA solüsyonu hazırlandı.

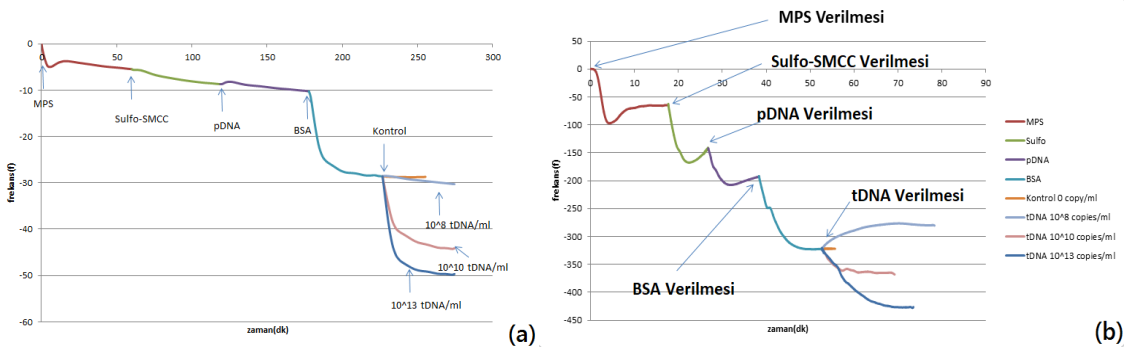
2.8.2. tDNA Solüsyonlarının Uygulanması

Yukarıda nasıl elde edileceği anlatılan konsantrasyonlardan 10^8 kopya/ml özellikteki tDNA, sensör yüzeyine kapalı döngü ile hız ayarı 100 µl/sn olacak biçimde uygulandı.

Yukarıda nasıl elde edileceği anlatılan konsantrasyonlardan 10^{10} kopya/ml özellikteki tDNA, sensör yüzeyine kapalı döngü ile hız ayarı 100 µl/sn olacak biçimde uygulandı.

Yukarıda nasıl elde edileceği anlatılan konsantrasyonlardan 10^{13} kopya/ml özellikteki tDNA, sensör yüzeyine kapalı döngü ile hız ayarı 100 µl/sn olacak biçimde uygulandı.

2.8.3. tDNA Hibridizasyon İşleminin QCM İle Takibi

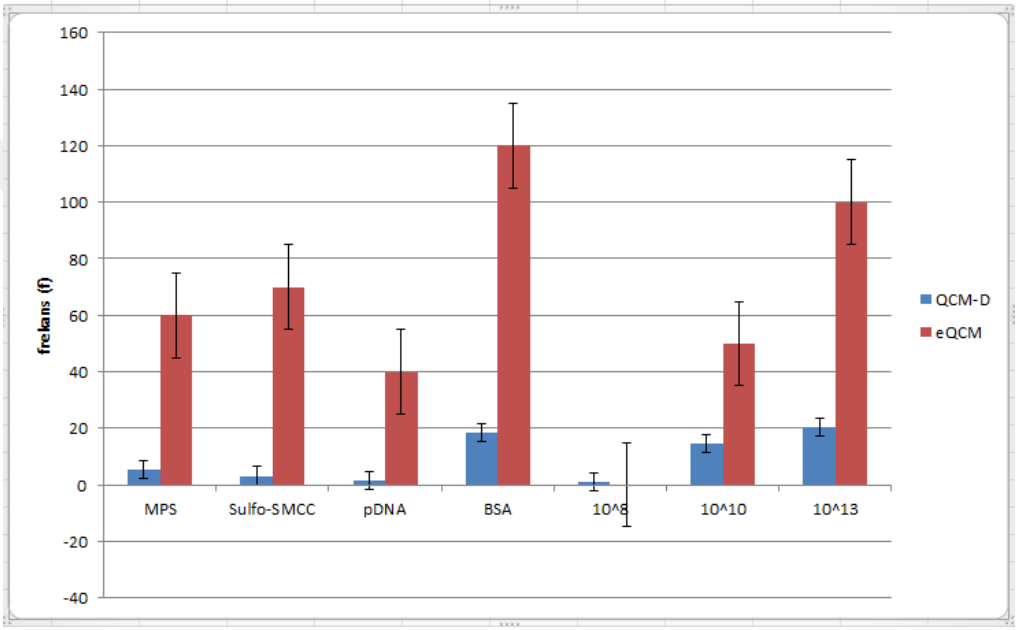


Şekil 2.21. a) tDNA Hibridizasyonunun QCM-D İle Takibi b) tDNA Hibridizasyonunun eQCM İle Takibi

Şekil 2.21.a'da görüldüğü üzere prosesin 225. dakikasında tDNA verilmeye başlanmıştır. tDNA verilmeden önce sensörün yüzeyi BSA'ya doyurulmuştur. Kontrol amacıyla mililitrede 0 adet tDNA kopyası bulunan yani hiç tDNA bulunmayan solüsyonda frekans kaymasının seyrinde önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Matematiksel verileri analiz edecek olursak 29 dakika işlem süresince 0.10 Hz'lik bir kayma görülmüştür. Sırasıyla yapılan bir takım işlemlerin ardından mililitrede 10^8 kopya bulunan tDNA verildiğinde kontrol grubuna nazaran önemli ölçüde bir frekans kayması tespit edilmiştir. Kontrol grubuyla benzer sürede 1.05 Hz rezonans frekans kayması gözlenmiştir. Devam eden işlemlerde mililitrede 10^{10} adet tDNA kopyası uygulandığında 29 dakikada 14.70 Hz rezonans frekansta kayma izlenmiştir. Sonrasında mililitrede 10^{13} adet tDNA kopyası verildiğinde ise benzer sürede sensörün rezonans frekansında 20.50 Hz'lik frekans kayması görülmüştür. Buradaki uygulanan kopya sayısındaki artış ile frekans bilgisindeki değişim oranındaki artışın mantıklı olduğu bilinmektedir.

Şekil 2.21.b'de tDNA verilmeden önce sensörün yüzeyi BSA'ya doyurulmuştur. Kontrol amacıyla mililitrede 0 adet tDNA kopyası bulunan yani hiç tDNA bulunmayan solüsyonda frekans kaymasının seyrinde önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Matematiksel verileri analiz edecek olursak işlem süresince 0,18 Hz'lik bir kayma görülmüştür. Sırasıyla yapılan bir takım işlemlerin ardından mililitrede 10^8 kopya bulunan tDNA verildiğinde frekans kaymasının negatif yönlü olduğu gözlemlenmiştir,

bunun sebebi düşük miktarlarda cihazın hassasiyeti düşük olduğu için doğru cevap verememesi olabilir. Devam eden işlemlerde mililitrede 10^{10} adet tDNA kopyası uygulandığında ortalama 50 Hz rezonans frekansta kayma izlenmiştir. Sonrasında mililitrede 10^{13} adet tDNA kopyası verildiğinde ise benzer sürede sensörün rezonans frekansında 100 Hz kadar frekans kayması görülmüştür. Buradaki uygulanan kopya sayısındaki artış ile frekans bilgisindeki değişim oranındaki artışın mantıklı olduğu bilinmektedir [175].



Şekil 2.22. Cihazların Frekans Kayma Miktarlarının Kıyaslaması ve Standart Hata Çubukları

3. BÖLÜM

BULGULAR VE SONUÇLAR

3.1. Deney Aşamalarının Frekans Analizi

Deneyde ilk olarak, MPS ile yüzey kaplanır. Bu işlemde iki cihazda da literatürde daha önceki yapılan çalışmalara benzer sonuçlar görülmüştür. Bunlar sensör immobilizasyonu ve tespit için uygun bir yüzey kimyası ve morfolojisi ortaya koyduğunu ve sinyal gürültüsünü 1000 kat oranında azalttığını ortaya koymuşlardır [175].

Deneylerde MPS kaplama işlemi sonucunda QCM-D cihazında sensörün rezonans frekansında 5.50 Hz'lik bir kayma izlenirken, e-QCM cihazında sensörün rezonans frekansında 60 Hz'lik bir kayma izlenmiştir. Bu analiz verileri göz önüne alındığında sensör yüzeyinin MPS solüsyonu ile sıkıntısız bir biçimde tepkimeye girerek yüzeyin MPS solüsyonu ile kaplandığı ifade edilebilir. Frekanstaki farklılıklar cihazları kıyaslamada etken olarak göz önüne alınmıştır.

İkinci işlem olarak, Sulfo-SMCC kaplama yapıldı. MPS kaplama işleminin süresi kadar süren Sulfo-SMCC kaplama işlemi sonucunda iki cihazda da bağlanma meydana gelmiştir. Bunu Sulfo-SMCC'nin $H_2C_2(CO)_2NH$ grubunun sensör yüzeyindeki MPS kaynaklı tiyol grubu ile stabil bir C-S-CO-C kovalent bağı oluşturup sensör yüzeyine bağlanması olarak ifade edebiliriz. Dolayısıyla ikinci işlemin başarılı olup olmadığını sayısal değerlerden analiz edebiliyoruz. Ayrıca her yapılan işlem bir önceki işlem ile direk olarak ilişkili olduğundan dolayı yapılan her işlem bir önceki işlemin doğrulaması niteliğinde olmaktadır. QCM-D cihazında sistemin rezonans frekansında 3.20 Hz frekans kayması gözlemlenirken, e-QCM cihazında sistemin rezonans frekansında 70

Hz frekans kayması gözlenlendi. Bu aşamada da iki cihazın frekans farkındaki değerlerin birbirinden çok farklı olduğu söylenebilir.

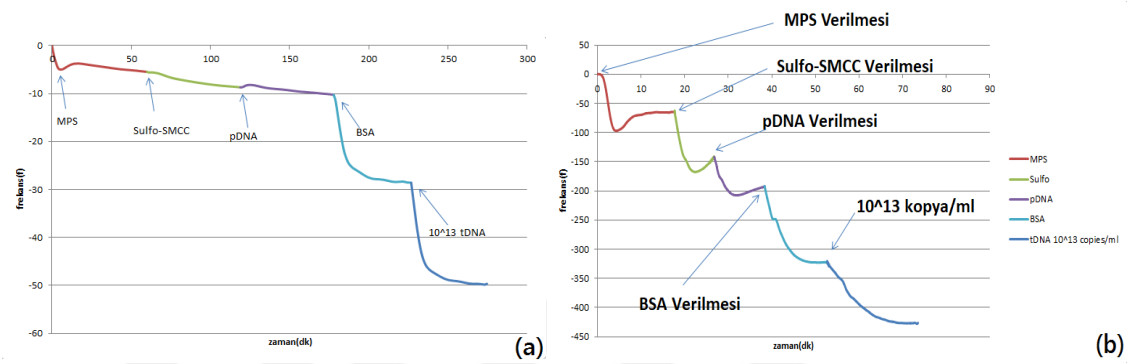
Üçüncü işlem olarak, pDNA immobilizasyonu yapıldı. pDNA immobilizasyonu önceki işlemler gibi iki cihazda da frekans kayması gözlemlendi. Bu demek oluyor ki, özel olarak tedarik edilen Amin (NH_2) ile 5' dan aktive edilmiş 20 nükleotid uzunluğundaki sentetik pDNA'nın, Sulfo-SMCC'nin NHS esteri ile tepkimeye girdiği ve ardından stabil amit bağı ile kovalent bağ kuruldu. Yine benzer şekilde pDNA işlemi sonucunda olumlu veriler alınması Sulfo-SMCC kaplama işleminin başarı ile yapıldığını dolayısıyla yüzeyde NHS esterinin bulunduğunu doğruluyor. Bu süre sonucunda QCM-D cihazında sistemin rezonans frekansında 1.60 Hz'lik frekans kayması görülürken, e-QCM cihazında sistremin rezonans frekansında 50 Hz'lik frekans kayması görüldü.

Dördüncü işlem olarak, BSA bloklama işlemi yapıldı. Sistem işlem sonucunda QCM-D cihazında 18.5 Hz kadar sistemin rezonans frekansında frekans kayması görülürken e-QCM cihazında 120 Hz kadar sistemin rezonans frekansında frekans kayması görüldü. Bu işlemde sistemin rezonans frekansındaki değişimin önceki işlemlerden ve sonraki yapılacak işlemlerden daha fazla olması bir şeylerin hatalı yapıldığını akla getirebilir. Fakat işin aslı, BSA moleküllerinin deneylerde kullanılan diğer bütün moleküllerden çok daha fazla molekül ağırlığına sahip olmasıdır. BSA'nın kullanım amacı insan tükürüğünde bulunan proteinlerin herhangi bir spesifik olmayan bağlantıya sebebiyet vermemesidir. Yani simüle deney ortamı gerçek insan tükürüğü gibi gerçekçi yapılmaya çalışılmıştır. BSA bloklama işleminin başarılı olması bundan önceki adımların tamamının düzgün bir biçimde uygulandığını kanıtlar niteliktedir. Yine cihazlar arasındaki frekans farkının fazla olması kıyaslamada önemli bir etkendir.

Beşinci işlem olarak, negatif kontrol amacıyla içerisinde tDNA bulunmayan solüsyon sisteme uygulandı. 29 dakikalık işlem süresi sonucunda sistemin rezonans frekansında 0 Hz'e yakın bir frekans kayması görüldü. Burada elde edilen frekans kaymasının kaynağı gürültü olmayıp PBS içerisindeki kalsiyum ve magnezyum gibi minerallerin sensör yüzeyi ile etkileşime girmesi sonucunda oluşmuştur.

Altıncı işlem olarak, içerisinde 10^{13} adet tDNA kopyası bulunan solüsyon sisteme uygulandı. Negatif kontrol ile benzer sürede QCM-D cihazında sistemin rezonans

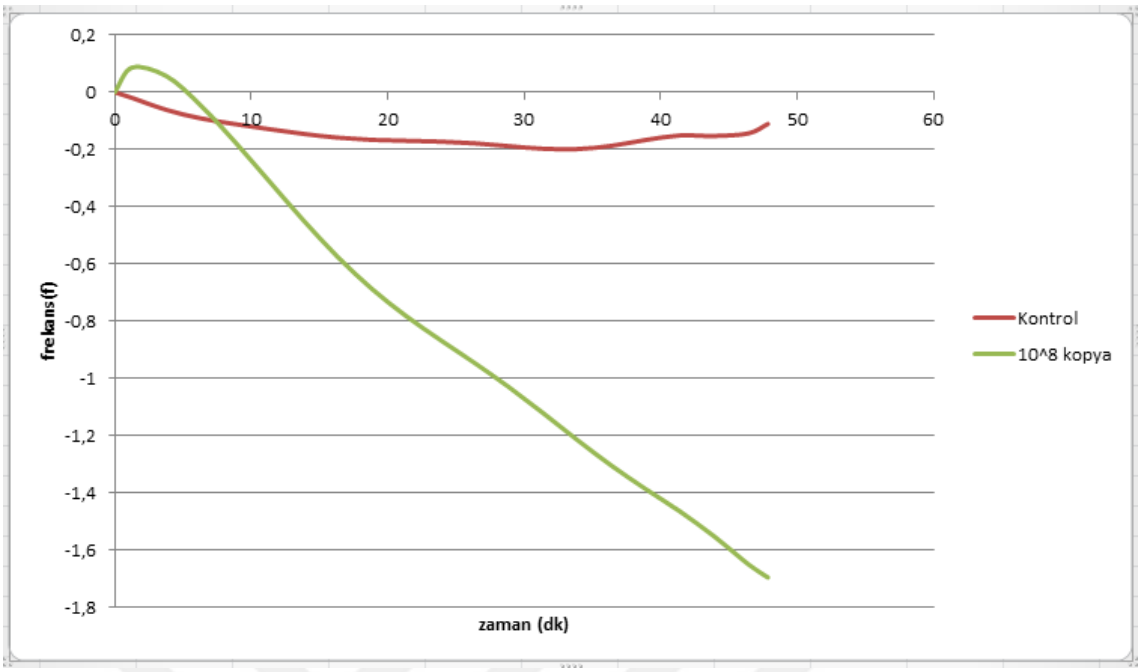
frekansında 20.50 Hz'lik bir frekans kayması izlenirken e-QCM cihazında sistemin rezonans frekansında 100 Hz'lik bir frekans kayması izlendi. Bu planlanan deneydeki en yüksek konsantrasyon olup deneyin amacına ulaştığını gösterir nitelikteki bir sonuç olmuştur. Yine iki cihaz arasındaki frekans farkı çok belirgindir ve kıyaslama açısından göz önünde bulundurulmuştur.



Şekil 3.1. a) QCM-D Deney Aşamalarının Frekans Değişimi b) eQCM Deney Aşamalarının Frekans Değişimi

3.2. Sistemin Hassasiyet Analizi

Bu tez çalışmasında sisteme uygulanan en düşük tDNA konsantrasyonu sonucu QCM-D'de elde edilen frekans değişimi 1.05 Hz olmuştur. eQCM'de ise frekans değişimi hatalı gözlemlenmiştir. Her iki sisteme tDNA bulunmayan solüsyon uygulanması sonucunda ise 0 Hz'e yakın bir frekans değişimi görüldü.

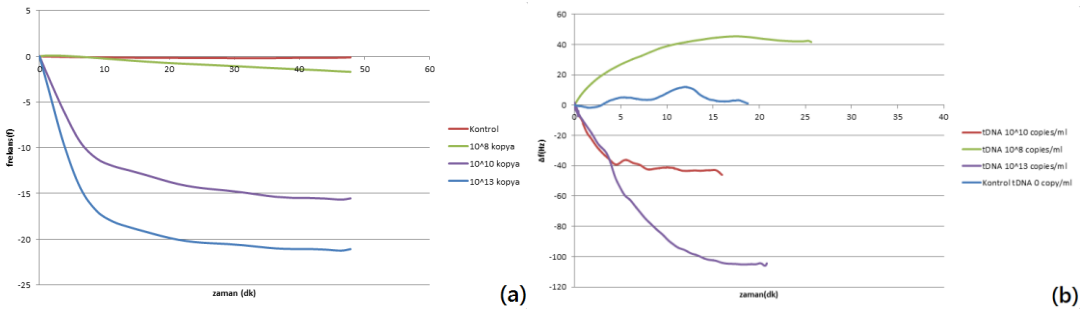


Şekil 3.2. QCM-D Sisteminin Hassasiyet Analizi

QCM-D sisteminin SNR değeri 10.5 olarak hesaplanmaktadır [176,178]. Literatürde bu değerin en az 3 olduğu çalışmalar başarılı olarak kabul görmektedir. Bütün yapılan deneyler en az 3 tekrar ve standart sapmalar göz önünde tutularak yapılmıştır. Dolayısıyla QCM-D cihazı için başarı kriterinin 3 katından daha fazla bir başarı ile deneyler gerçekleştirilmiştir.

eQCM sisteminde hassasiyet analizi verilerin doğru olmama durumundan dolayı yapılamamıştır.

3.3. tDNA Hibridizasyonlarının Mukayesesi



Şekil 3.3. a) QCM-D Cihazında Farklı tDNA Konsantrasyonlarının Frekans Analizi b) eQCM Cihazında Farklı tDNA Konsantrasyonlarının Frekans Analizi

Şekil 3.3.a'da sensöre farklı konsantrasyonlarda tDNA solüsyonlarının uygulanması sonucunda ortaya çıkan QCM-D cihazında sistemin rezonans frekansındaki değişimler gösterilmektedir. Şekil 3.3.b'de de sensöre farklı konsantrasyonlarda tDNA solüsyonlarının uygulanması sonucunda ortaya çıkan e-QCM cihazında sistemin rezonans frekansındaki değişimler gösterilmektedir.

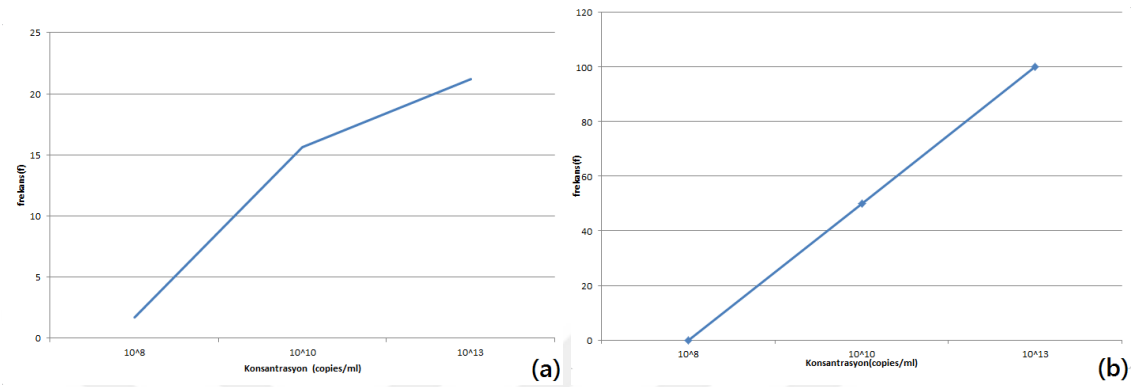
İçerisinde tDNA kopyası bulunmayan solüsyon ile yapılan negatif kontrol deneyinde iki cihazda da 0 Hz'e yakın frekans değişimi görülmektedir. Buradaki değişim verilen solüsyonda bulunan kalsiyum (Ca) ve magnezyum (Mg) minerallerinin yüzeyde tutunmasından kaynaklanmaktadır.

Şekil 3.3.a'da kırmızı renk ile gösterilen kısımda, içerisinde mililitrede 10^8 adet tDNA kopyası bulunan solüsyon uygulandığında 1.05 Hz'lik frekans kayması tespit edildi. Bu deneyde yapılan işlemlerin sonucu olarak ortaya çıkan değişimin, negatif kontrol deneyindeki değişimden daha büyük olması yapılan işin mantık çerçevesinde olduğunun kanıtı niteliğindedir. Şekil 3.3.b'de ise yeşil renk ile gösterilen kısımda, içerisinde milimetrede 10^8 adet tDNA kopyası bulunan solüyson uygulandığında frekans kaymasının doğru olmayan sonuçlar gösterdiği görülmektedir. Bu demek oluyor ki e-QCM cihazının hassasiyeti 10^8 copy/ml tDNA konsantrasyonunun üzerinde olduğu anlamına gelmektedir.

Şekil 3.3.a'da mavi renk ile ifade edilen kısımda, mililitrede 10^{10} adet tDNA kopyası ihtiva eden solüsyon uygulandığında sistemin rezonans frekansında 14.70 Hz 'lik bir frekans değişimi gözlenmiştir. Şekil 3.3.b'de kırmızı renk ile ifade edilen kısımda, mililitrede 10^{10} adet tDNA kopyası ihtiva eden solüsyon uygulandığında sistemin rezonans frekansında 50 Hz 'lik bir frekans değişimi gözlenmiştir. Bu değişimin muhteviyatında 10^8 kopya/ml tDNA bulunan solüsyon uygulandığındaki frekans değişimine nazaran sayısal olarak daha büyük olması yapılan deneyleri doğrulamaktadır.

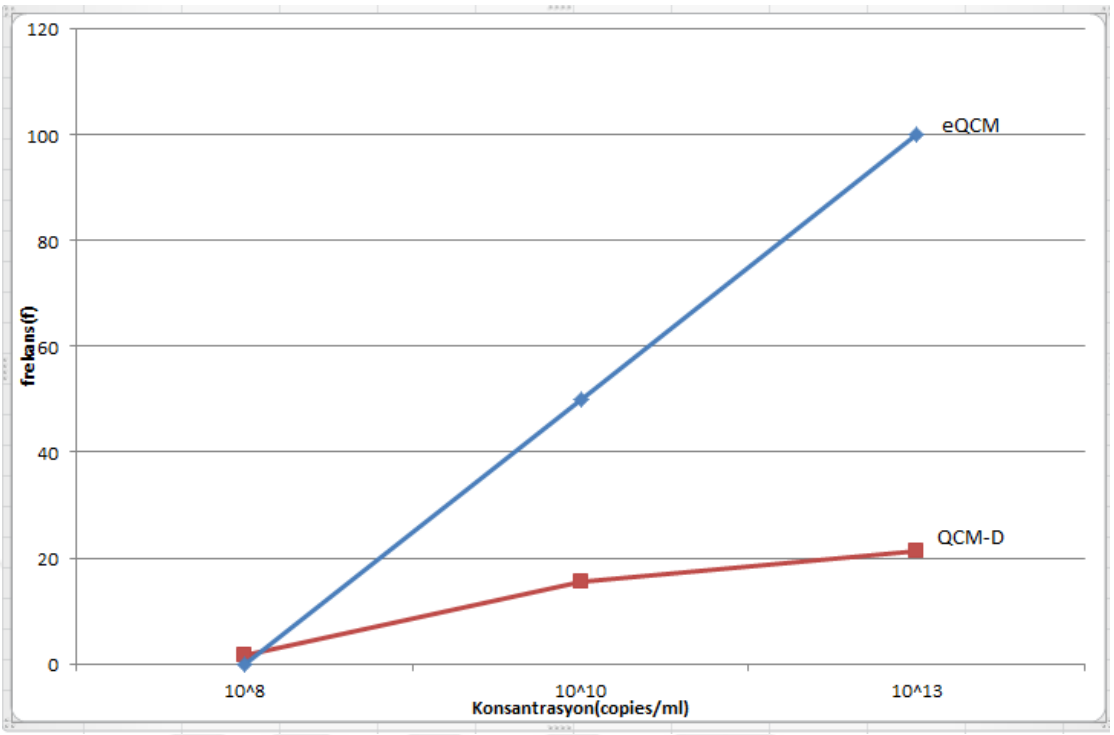
Şekil 3.3.a'da pembe renk ile gösterilen kısımda ise, deneyin en yüksek konsantrasyonu olan mililitrede 10^{13} tDNA kopyası barındıran solüsyon uygulandığında sistemin rezonans frekansında 20.50 Hz'lik frekans kayması izlendi. Şekil 3.3.b'de mor renk ile gösterilen kısımda ise, deneyin en yüksek konsantrasyonu olan mililitrede 10^{13} tDNA

kopyası barındıran solüsyon uygulandığında sistemin rezonans frekansında 100 Hz'lik frekans kayması izlendi. Buradan mantıksal çıkarım yapılacak olursa, uygulanan en yüksek konsantrasyon olduğu için diğer deneylerden daha fazla bir frekans kaymasının olması hesap edilmişti ve planlanana uygun bir grafik gözlemlendi.



Şekil 3.4. a) QCM-D Cihazında Logaritmik Eksende Doz Kıyaslama b) eQCM Cihazında Logaritmik Eksende Doz Kıyaslama

Şekil 3.4.a'da QCM-D cihazında 3 farklı konsantrasyonda yapılan deneylerde sistemin rezonans frekansının değişimi logaritmik eksenlerde kıyaslanmıştır. Burada uygulanan tDNA dozajına bağlı olarak bir artış izlenmekte. Bu artış miktarı uygulanan konsantrasyon ile ilişkilidir. Uygulanan solüsyon mililitresinde 10^8 adet tDNA ihtiva ettiğinde 1.05 Hz 'lik bir frekans kayması görülmüştür. tDNA miktarı 10^{10} kopya/ml olduğunda ise 14.70 Hz'lik bir frekans değişimi izlendi. tDNA miktarı, deneylerin en yüksek dozajı olan 10^{13} kopya/ml uygulandığında ise sistemin rezonans frekansında 20.50 Hz'lik frekans kayması tespit edildi. Şekil 3.4.b'de e-QCM cihazında 3 farklı konsantrasyonda yapılan deneylerde sistemin rezonans frekansının değişimi logaritmik eksenlerde kıyaslanmıştır. Burada uygulanan tDNA dozajına bağlı olarak bir artış izlenmekte. Bu artış miktarı uygulanan konsantrasyon ile ilişkilidir. Uygulanan solüsyon mililitresinde 10^8 adet tDNA ihtiva ettiğinde görülen frekans kaymasının cihaz hassasiyeti düşük olduğu için hatalı olduğu öngörüldü. tDNA miktarı 10^{10} kopya/ml olduğunda ise 50 Hz'lik bir frekans değişimi izlendi. tDNA miktarı, deneylerin en yüksek dozajı olan 10^{13} kopya/ml uygulandığında ise sistemin rezonans frekansında 100 Hz'lik frekans kayması tespit edildi.



Şekil 3.5. Cihazların Logaritmik Eksende Doz Kıyaslama

3.4. Sistemin T-Test Bilgisi

Yapılan tez çalışmasındat-test bilgisi Microsoft Excel programında hesaplandığında QCM-D sisteminde 0.00004, eQCM sisteminde 0,00029 gibi oldukça küçük sonuçlar elde edilmiştir. QCM_D sistemine içerisinde tDNA bulunmayan solüsyon ile deneylerin en düşük tDNA konsantrasyonunu ihtiva eden solüsyonlar uygulandığı zaman elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak kıyaslanmıştır. eQCM sistemine içerinsinde 10^10 ve 10^13 tDNA kopyası bulunan solüsyonlar uygulandığı zaman elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak kıyaslanmıştır. Veriler arasında çift taraflı ve 2 değişken bağımsız t testi ayarları yapılmıştır. İstatistik sonucu 0.05 değerinden oldukça küçük olduğu için iki deney arasında ciddi manada anlamlılık arz eden bir farklılık gözlenmiştir.

4. BÖLÜM

TARTIŞMA

Tez çalışmasında model tükürük sıvısında sentetik DNA tayininin farklı cihazlarda yapılarak sonuçları kıyaslanmaya çalışılmıştır. Birçok hastalığın insan vücut sıvılarından tespit edilebilmesi nedeniyle, oluşturulan simüle ortamlarda tespit edilen sentetik DNA'nın hangi cihazda daha doğru sonuçlar verdiğini göstermek amaçlanmıştır.

İlk olarak, QCM sistemlerinden birisi olan QCM-D cihazından alınan verilerden kullanmayı planladığımız verilerin seçim işlemi yapıldı. Ardından seçilen verilerden frekans bilgisi zaman ekseninde çizdirildi (Şekil 2.11). Bu grafik üzerinde aykırı veriler ve gürültü barındıran bir özelliğe sahipti. Bu grafik üzerinde eğri uydurma işlemi yapılarak sinyal üzerindeki gürültü ve aykırı veriler temizlendi (Şekil 2.10). Eğri uydurma işlemi için 9. dereceden polinom kullanılmıştır. Bu sayede sinyal daha anlaşılabilir bir hale getirildi. e-QCM sisteminde ise veriler alınırken öncelikle kullanılan arayüzde kullanmayı planladığımız verilerin seçimleri için birkaç ayar yapılmıştır. Düzgün bir S-shape elde ettikten sonra verilerin frekans bilgisi zaman ekseninde çizdirilmeye başlanmıştır. Cihazdan alınan veriler üzerinde smooth data işlemi yapılarak gürültülü ve aykırı veriler temizlenmiştir. Bu sayede daha temiz veriler elde edilmiştir.

İkinci olarak, sistemin hassasiyetinin tespiti üzerine MPS solüsyonunun etkisinin araştırılmasıdır. MPS solüsyonunun, sensör immobilizasyonu ve tespit için uygun bir yüzey kimyası ve morfolojisi ortaya koyduğunu ve sinyal gürültüsünü 1000 kat oranında azalttığını ortaya koyan araştırmalar literatürde mevcuttur [175]. Deneyin minimum konsantrasyonu olan mililitrede 10^8 adet tDNA uygulandığında QCM-D

sistemin rezonans frekansındaki değişim başarılı bir şekilde fark edilmiştir. Bu minimum hassasiyet ilerleyen araştırmalarda daha da aşağı seviyelere indirilerek tahmini olarak mililitrede 10^7 adet tDNA kopyasını tespit edebilmek mümkün olacaktır. Fakat e-QCM düşük konsantrasyonlarda hassasiyet gösterememiş ve frekans bilgisini bize doğru iletememiştir.

Üçüncü olarak, yapılan deneylerde elde edilen DNA algılama hassasiyeti ile literatürdeki DNA algılama hassasiyetleri kıyaslanmıştır. 2013 yılında yapılan bir araştırmada benzer şartlarda altında 0.8 nM [179], farklı bir yöntem kullanarak 3 pM [180] ve 0.4 fM [181] hassasiyet ile DNA tayini yapılmıştır. Bu tez çalışmasında ise 0.2 pM (1.2 ng) hassasiyet ve yüksek güvenilirlik oranı ile tespitler yapılmıştır. Tez çalışması kapsamında yapılan ölçümde yukarıdaki literatürden örnekler verilen çalışmalardaki gibi ek izolasyon, pürifikasyon veya amplifikasyon yapılmadan, sensörün neredeyse minimum hassasiyetine (0.5 ng) kadar inilerek başarılı ölçümler alınmıştır.

Dördüncü olarak, cihazların DNA algılama hassasiyeti, tasarımı, kullanıcı ara yüzü, fiyatı ve sarf malzemeleri kıyaslanacak olursa;

QCM-D target DNA sayısı 10^8 copy/ml konsantrasyonda dahi doğru sonuçları bize sunarken, e-QCM düşük konsantrasyonlarda hassasiyet gösterememiştir. Frekans değerlerindeki farklılıklar QCM-D cihazında sauerbrey denklemiyle eşleşirken eQCM cihazından alınan veriler sauerbrey denklemiyle eşleşmede daha zayıf kalmıştır.

Tasarım olarak e-QCM daha basit ve kullanıcıyı yormadan kolay temizlenebilir ve montelenebilir olduğu için QCM-D'ye göre daha başarılıdır.

QCM-D'nin kullanıcı ara yüzü daha komleks olmasına karşın kullanıcı, online veri alınırken bile istediği işlemi yapabilmektedir, örneğin zoom özelliğini kullanarak yüzey morfolojisinin hangi aşamada olduğunu kolayca anlayabilmektedir, yeni solüsyona geçildiği aşamada frekans akışında problem olmamaktadır. eQCM kullanıcı ara yüzü daha basit ama ekran üzerinde oynama yapılamamaktadır ve yeni bir solüsyona geçildiğinde kaldığı yerden devam edememekte, Resonatör programının durdurulup tekrar başlatılması gerekmektedir.

Günümüz fiyatlarıyla değerlendirilecek olursa QCM-D 110.000 € + KDV iken, e-QCM 37.000 ₺ + KDV civarındadır. Fiyat-performans olarak çok hassas ve çok düşük konsantrasyonlarda çalışılmayacaksa e-QCM daha avantajlıdır.

QCM-D'nin sarf malzemeleri yurt dışından temin edilirken e-QCM'in sarf malzemeleri yurt içinde bulunabildiği için ulaşım ve temini daha kolaydır.

Bu tezde girişimsel hiçbir işlem yapılmaksızın model tükürükte sentetik DNA tespiti işini hassas bir biçimde yapılmıştır. Gelecekte bir kişinin tükürük sıvısını kullanarak QCM sensör aracılığı ile genetik bir hastalığın olup olmadığının tespitine yardımcı olacak ve literatüre katkı sağlayacak sonuçlar elde edilmiştir. Bu sonuçlar elde edilirken çalışılan her iki cihazın da avantaj ve dezavantajları kıyaslanmış ve anlamlı sonuçlara ulaşılmış. Gelecekte de QCM kullanıcıları için bir seçim kriteri oluşturmuştur.

KAYNAKÇA

1. Marieb EN, Hoehn K. (2009). Human anatomy and physiology. 8th ed., San Francisco: Benjamin Cummings.
2. Aktaş, A., Giray, B., & Aktaş, G. (2009). Tükürük (Salya); Özellikleri ve Görevleri Tanı Açısından Değeri. **ADO Klinik Bilimler Dergisi, 3**(2), 361-367.
3. Kaya S.,Tükürük bezi hastalıkları, Güneş Tıp Kitabevi, Ankara, 1997.
4. Diaz-Arnold AM., Marek CA., (2002). The impact of saliva on patient care: A literature review, **J. Prosthet. Dent., 88**, 337-343.
5. **http://www.tukuruk.gen.tr/tukuruk-bezlerinin-fazla-calismasi.html.** (Erişim Tarihi: Kasım 2017)
6. Bökesoy T.A, Çakıcı İ, melli M. Farmakoloji Ders Kitabı 2000 S:3-7
7. Borçbakan C., Ağız Çene Hastalıkları, Ankara, 1971,1, S:15-21
8. **http://www.taringa.net/posts/info/18237677/La-Saliva-caracteristicas-funcion-composicion.html.** (Kasım 2017)
9. Schenkels, L. C., Veerman, E. C., & Nieuw Amerongen, A. V. (1995). Biochemical composition of human saliva in relation to other mucosal fluids. **Critical reviews in oral biology & medicine, 6**(2), 161-175.
10. Prof. Dr. Nurcan Buduneli Ege Üniv. Diş Hek. Fak. Tükürük Ders Notları 2003
11. Kılınç G. Çocuklarda tükürük akım oranı, pH'ı, inorganik elementleri (sodyum, potasyum, magnezyum, inorganik fosfat) ile çürük arasındaki ilişkinin karşılaştırılması.
12. Toygar N. (1982). Stenon kanalından alınan steril tükürüğün tersiyer dentin oluşumuna etkisi Ege Üniversitesi Doktora Tezi.
13. Gürlen V. (2005). Tükürüğün biyokimyası, işlevleri ve ağız sağlığı açısından önemi Ege Üniversitesi Bitirme Tezi, İzmir.

14. Mussabekova, S. (2017). Forensic Medical Capacities of Research of Saliva Stains on Physical Evidence after Washing. **World Academy of Science, Engineering and Technology, International Journal of Social, Behavioral, Educational, Economic, Business and Industrial Engineering, 11**(5), 909-913.

15. Dawett, B. (2017). DCPs and research in general dental practice. **British Dental Journal, 222**(4), 307-309.

16. Humphrey S.P., Williamson R.T., (2001). A review of saliva: Normal composition, flow, and function, **J. Prosthet. Dent., 85**, 162-169.

17. Pedersen AM., Bardow A., Jensen BS.,Nauntofte B., Saliva and gastrointestinal functions of taste, mastication, swallowing and digestion, **Oral Dis., 8**, 117-129, 2002.

18. Amerongen NAV, (2002). Veerman FC., Saliva the defender of the oral cavity, **Oral Dis., 8**, 12-22.

19. Tabak LA., (1990). Structure and function of human salivary mucins, **Crit. Rev. Oral Biol. Med., 1**, 229-234.

20. Mandel ID., (1987). The function of saliva, **J. Dent. Res., 66**, 623-627.

21. Cowman RA, Schaefer SJ, Fitzgerald RJ., Specificity of utilization of human salivary proteins for growth by oral streptococci, **Caries. Res., 13**, 181-189, 1979.

22. Pollock JJ., Lotardo S., Gavai R., Groosbard BL., (1987). Lysozyme-protease-inorganic monovalent anion lysis of oral bacterial strains in buffers and stimulated whole saliva, **J. Dent. Res., 66**, 467-474.

23. Çizmeci Şenel F., Çizmeci Basmacı F., Özden N. (2006). Diyabet hastalarında tükürükte meydana gelen değişiklikler. **Türk Oral Maksillofas Cer Derg, 10**, 1-2.

24. Miller CS, Foley JD, Bailey AL, Campell CL et al. (2010). **McDevitt JT. Current developments in salivary diagnostics. Biomark Med, 4**(1): 171-89.

25. Lee YH, Wong DT. (2009). Saliva: an emerging biofluid for early detection of diseases. **Am J Dent, 22**(4): 241-48.

26. Nagler R, Bahar G, Shpitzer T, Feinmesser R. (2006). Concomitant analysis of salivary tumor markers: a new diagnostic tool for oral cancer. **Clin Cancer Res, 12**(13): 3979–84.

27. Sidransky D. (1997). Nucleic acid-based methods for the detection of cancer. **Sciences, 278**(5340): 1054–59.

28. Tavassoli M, Brunel N, Maher R, Johnson NW, Soussi, T. (1998). p53 antibodies in the saliva of patients with squamous cell carcinoma of the oral cavity. **Int J Cancer, 78**(3): 390–91.

29. Wagner P, Verma M, Srivastava S. (2004). Challenges for biomarkers in cancer detection. **Ann NY Acad Sci, 1022**: 9-16.

30. Wong LJ, Lueth M, Li XN, Lau CC, (2003). Vogel H. Detection of mitochondrial DNA mutations in the tumor and cerebrospinal fluid of medulloblastoma patients. **Cancer Res, 63**(14): 3866–71.

31. Kocík M, Vymetalová Y, Málek I. (2007). Cell-free human DNA in body fluids-potential for clinical applications. **Cas Lek Cesk, 146**(2): 96–101.

32. Schrohl AS, Würtz S, Kohn E, Banks RE, Nielsen HJ, Sweep FC, Brünner N. (2008). Banking of biological fluids for studies of disease-associated protein biomarkers. **Mol Cell Proteomics, 7**(10): 2061–66.

33. Shannon, I. L., Feller, R. P., Eknoyan, G., & Suddick, R. P. (1977). Human parotid saliva urea in renal failure and during dialysis. **Archives of oral biology, 22**(2), 83-86..

34. Streckfus CF, Bigler LR, (2002). Saliva as a diagnostic fluid, Oral Dis., 8, 69-76.

35. Kaufman E, Lamster IB. (2002). The diagnostic applications of saliva--a review. **Crit Rev Oral Biol Med.13**(2):197-212

36. Blicharz TM, Rissin DM, Bowden M, Hayman RB, DiCesare C, Bhatia JS, et al. (2008). Use of colorimetric test strips for monitoring the effect of hemodialysis on salivary nitrite and uric acid in patients with end-stage renal disease: a prof of principle. **Clin Chem, 54**:1473– 80.

37. Meucci E, Littaru C, Deli G, Luciani G, Tazza L, Littarru GP. (1998). Antioxidant status and dialysis: plasma and saliva antioxidant activity in patients with fluctuating urate le-vels. **Free Radic Res, 29**:367–76.

38. Lütfioğlu M., Sakallıoğlu EE., Özkaya O., Açıkgöz G. (2008). Kronik böbrek yetmezliği olan çocuklarda ağız sağlığı profilinin değerlendirimesi. **Gazi Ünv Dişhek Fak Derg 25**, 13-18.

39. Hu S, Wang J, Meijer J, Ieong S, Xie Y, et al. (2007). Salivary proteomic and genomic biomarkers for primary Sjögren's syndrome. **Arthritis Rheum. 56**(11):3588-600.

40. Sreebny LM, Zhu WX., (1996). The use of whole saliva in differential diagnosis of **Sjögren's syndrome, 10**, 17-24.

41. Chatterton RT, Vogelsong KM, Lu YC, Ellman AB, Hudgens GA., (1996). Salivary alpha-amylase as a measure of endogenous adrenergic activity, **Clin. Physiol., 16**, 433-448.

42. Qvarnstrom M, Janket S, Jones JA, Nuutinen P, et al. (2008). Salivary lysozyme and prevalent hypertension. **J Dent Res. 87**(5):480-4.

43. Whitehead DL, Strike P, Perkins-Porras L, Steptoe A. (2005). Frequency of distress and fear of dying during acute coronary syndromes and consequences for adaptation. **Am J Cardiol. 96**(11):1512-6.

44. Martinez PM, Torres AR, Ortis de Lejarazu R, Montoya A, et al. (1999). Human immunodeficiency virus antibody testing by enzyme-linked fluorescent and western blot assays using serum, gingival-crevicular transudate and urine samples, **J. Clin. Microbiol., 37**, 1100-1106.

45. Li C, Ha T, Ferguson DA Jr, Chi DS, Zhao R, Patel NR, et al. (1996). A newly developed PCR assay of H. pylori in gastric biopsy, saliva, and feces. Evidence of high prevalence of H. pylori in saliva supports oral transmission. **Dig Dis Sci, 41**:2142-2149.

46. Hicks MJ, Carter AB, Rossmann SN, Demmler GJ, et al. (1998). Detection of fungal organisms in saliva from HIV-infec¬ted children: a preliminary cytologic analysis. **Pediatr Dent. 20**(3):162-8.

47. Parry JV, Perry KR, Panday S, Mortimer PP. (1989). Diagnosis of hepatitis A and B by testing saliva. **J Med Virol. 28**(4):255-60.

48. Chaita TM, Graham SM, Maxwell SM, Sirivasin W, et al. (1995). Salivary sampling for hepatitis B surface antigen carriage: a sensitive technique suitable for epidemiological studies. **Ann Trop Paediatr. 15**(2):135-9.

49. Thieme T, Piacentini S, Davidson S, Steingart K (1994). Determination of measles, mumps, and rubella immuni¬zation status using oral fluid samples. **J Am Med Assoc, 272**:219-221.

50. Drobitch RK, Svensson CK. (1992). Therapeutic drug monitoring in saliva. An update. **Clin Pharmacokinet. 23**(5):365-79.

51. Siegel IA. (1993). The role of saliva in drug monitoring. **Ann N Y Acad Sci. 20**;694:86-90.

52. Vining RF, McGinley RA. (1986). Hormones in saliva. **Crit Rev Clin Lab Sci., 23**(2):95-146.

53. McVie R, Levine LS, New MI. (1979). The biologic significance of the aldosterone concentration in saliva. **Pediatr Res. 13**(6):755-9.

54. Fekete Z, Korec R, Feketeova E, Murty VL, et al. (1993). Salivary and plasma insulin levels in man**. Biochem Mol Biol Int. 30**(4):623-9.

55. Katakura A, Kamiyama I, Takano N, Shibahara T, et al. (2007). Comparison of salivary cytokine levels in oral cancer pati¬ents and healthy subjects. **Bull Tokyo Dent Coll. 48**(4):199-203.

56. Warnakulasuriya S, Soussi T, Maher R, Johnson N, Tavassoli M. (2000). Expression of p53 in oral squamous cell carcinoma is associated with the presence of IgG and IgA p53 autoantibodies in sera and saliva of the patients. **J Pathol. 192**(1):52-7.

57. Tavassoli M, Brunel N, Maher R, Johnson NW, Soussi T. (1998). p53 antibodies in the saliva of patients with squamous cell carcinoma of the oral cavity. **Int J Cancer.** 29;78(3):390-1

58. Mittal T, Saralaya KM, Kuruvilla A, Achary C. (2008). Sex determination from buccal mucosa scrapes. **Int J Legal Med. 24**.

59. Virkler K, Lednev IK. (2009) .Analysis of body fluids for forensic purposes: From laboratory testing to non-destructive rapid confirmatory identification at a crime scene. **Forensic Sci Int.**

60. Bond JW, Hammond C. (2008). The value of DNA material recovered from crime scenes. **J Forensic Sci. 53**(4):797-801

61. Arda M: Biyoteknoloji (Bazı Temel İlkeler). Kükem Derneği Bilimsel Yayınları. Ankara. 1995.

62. Çevik AM: PCR ve İnfeksiyöz hastalıklarda kullanımı. Seminer. S.B. Ankara Hastanesi Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon hastalıkları bölümü. 1994.

63. Diallo IO, Mackenzie AM, Spradbrow PB, Robinson WF. (1998). Field isolates of fowl pox virüs comtamined with reticuloendetheliosis virüs. **Avian Dis. 27**:60-66.

64. Erlich, H. A., Gelfand, D., & Sninsky, J. J. (1991). Recent advances in the polymerase chain reaction. **Science, 252**(5013), 1643-1651.

65. Jestin V, Jestin A. (1991). Detection of Newcastle disease virüs RNA in infected allantoic fluids by in vitro enzymatic amplification (PCR). **Arch Virol,** 118: 151-161.

66. Miva N, Nishina T, Kubo S, Honda H. (1997). Most probalbe number method combined with nested CPR for detection and enumerailon of enterotoxigenic Clostridium perfiringens intestinal contents of cattle, pig and chicken. **J Vet Med Sci. 59**: 557-560.

67. Persing HD. (1991). Polymerase chain Reaction: Trenches to benches. **J Clin Microbial. 29**: 1281-1285.

68. Vierstraete, A. (1999). Principle of the PCR. Εκδόσεις University of Ghent. **http://users. ugent. be/~ avierstr/principles/pcr.html.**

69. Schochetman G, Jones KW. (1998). Polymerase Chain Reaction. **J Inf DIs, 158**: 1154-1157.

70. Tindall RK, Kunkel At. (1998). Fidelity of DNA synthesis by the Thermus aquaticus DNA Polymerase. **Biochemistry, 27**: 6008-6013.

71. Tunchili LM, kodama H, Sharma RN, Takatori I, Pandey GS. (1996). Detection of Salmonella DNA in chicken embriyos and environmental samples by Polymerase Chain Reaction. **J Vet Med Sci, 58**: 881-884.

72. Walker J. Douan G. (1989). DNA probes: A new role in diagnostic microbiology, **j Appl microbiol, 67**: 229-230.

73. Wolcott JM: advances in nücleic asid – based detection methods. Clin Microbil Rev. 5 : 370-386, 1992.

74. Saiki, KR., Gelfand, HD., Stoffi, S., Scharf, JS., Higuchi, R., Horn, T. G. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polimerase. **Science, 239**: 487-491.

75. Heinemann, W. R., C. W. Anderson, and H. B. Halsall. 1979. Immunoassay by differential pulse polarography. **Sci. Wash. 204**: 865-866.

76. Niculescu, M., C. Nistor, I. Frebort, P. Pec, B. Mattiasson, and E. Csoregi. 2000. Redox hidrogel-based amperometric bienzyme electrode for fish freshness monitoring. **Anal. Chem. 72:** 1591-1597.

77. Kitikul, J., Satienperakul, S., Preechaworapun, A., Pookmanee, P., & Tangkuaram, T. (2017). A Simple Flow Amperometric Electrochemical Biosensor Based on Chitosan Scaffolds and Gold Nanowires Modified on a Glassy Carbon Electrode for Detection of Glutamate in Food Products. **Electroanalysis, 29**(1), 264-271.

78. Rezvani, M., Najafpour, G., Mohammadi, M., & Zare, H. (2017). Amperometric biosensor for detection of triglyceride tributyrin based on zero point charge of activated carbon. **Turkish Journal of Biology, 41**(2), 268- 277.

79. Braik, M., Barsan, M. M., Dridi, C., Ali, M. B., & Brett, C. M. (2016). Highly sensitive amperometric enzyme biosensor for detection of superoxide based on conducting polymer/CNT modified electrodes and superoxide dismutase. **Sensors and Actuators B: Chemical, 236**, 574-582.

80. Hall, E. A. H. 1991. Biosensors. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall.

81. Panfili, P. R., K. Dill, and J. D. Olson. 1994. Immunochemical detection using the light-addressable potentiometric sensor. **Curr. Opin. Biotechnol. 5:** 60-64.

82. Dill, K., J. H. Song, J. A. Blomdahl, and J. D. Olson. 1997. Rapid, sensitive and specific detection of whole cells and spores using the light-addressable potentiometric sensor. J. Biochem. Biophys. **Methods 34:** 161-166.

83. Tu, S., J. Uknalis, and P. L. Irwin. 2002. The capture of Escherichia coli O157:H7 for light addressable potentiometric sensor (LAPS) using two different types of magnetic beads. **J. Rapid Meths. Automat. Microbiol. 10**: 185-195.

84. Mourzina, G., E. Ermolenko, T. Yoshinobu, Y. Vlasov, H. Iwasaki, and M. J. Schöning. 2003. Anion-selective light-addressable potentiometric sensors (LAPS) for the determination of nitrate and suphate ions. **Sensors Actuators** B91:32.

85. Keusgen, M., J. P. Kloock, D. T. Knobbe, M. Jünger, I. Krest, M. Goldbach, W. Klein, and M. J. Schöning. 2004. Direct determination of cyanides by potentiometric biosensors. **Sensors Actuators** B103: 380-385.

86. Draghi, P. F., & Fernandes, J. C. B. (2017). Label-free potentiometric biosensor based on solid-contact for determination of total phenols in honey and propolis. **Talanta, 164**, 413-417.

87. Shaibani, P. M., Jiang, K., Haghighat, G., Hassanpourfard, M., (2016). The detection of Escherichia coli (E. coli) with the pH sensitive hydrogel nanofiber-light addressable potentiometric sensor (NF-LAPS). **Sensors and Actuators B: Chemical, 226**, 176-183.

88. Vieira, N. C., Avansi, W., Figueiredo, A., Mastelaro, V. R., & Zucolotto, V. (2016). Potentiometric detection of chemical species by spin-assisted assembly of vanadium pentoxide nanorods. **Sensors and Actuators B: Chemical, 229**, 461-465.

89. Watson, L. D., P. Maynard, D. C. Cullen, R. S. Sethi, J. Brettle, and C. R. Lowe. 1988. A microelectronic conductimetric biosensor. **Biosens. Bioelectron. 3:** 101-115.

90. Gómez, R., R. Bashir, A. Sarikaya, M. R. Ladisch, J. Sturgis, J. P. Robinson, T. Geng, A. K. Bhunia, H. L. Apple, and S. Wereley. 2001. Microfluidic biochip for impedance spectroscopy of biological species. **Biomed. Microdevices 3:** 201-209.

91. Radke, S., and E. C. Alocilja. 2005. A high density microelectrode array biosensor for detection of E. coli O157:H7. **Biosens. Bioelectron. 20**: 1662-1667.

92. Yang, L., Y. Li, and G. Erf. 2004. Interdigitated array microelectrode-based electrochemical impedance immunosensor for detection of Escherichia coli O157:H7. **Anal. Chem. 76**(4): 1107-1113.

93. Yang, L., and Y. Li. 2005a. AFM and impedance spectroscopy characterization of the immobilization of antibodies on indium-tin oxide electrodes and their capture of E. coli O157:H7. **Biosens. Bioelectron. 20**(7): 1407-1416.

94. Louie, A. S., I. G. Marenchic, and R. H. Whelan. 1998. A fieldable modular biosensor for use in detection of foodborne pathogens. **Field Anal. Chem. Tech. 2**: 371-377.

95. Ertürk, G., & Mattiasson, B. (2017). Capacitive Biosensors and Molecularly Imprinted Electrodes. **Sensors, 17**(2), 390.

96. Idil, N., Hedström, M., Denizli, A., & Mattiasson, B. (2017). Whole cell based microcontact imprinted capacitive biosensor for the detection of Escherichia coli. **Biosensors and Bioelectronics, 87**, 807-815.

97. Ertürk, G., Hedström, M., Tümer, M. A., Denizli, A., & Mattiasson, B. (2015). Real-time prostate-specific antigen detection with prostate-specific antigen imprinted capacitive biosensors. **Analytica chimica acta, 891**, 120-129.

98. Wang, L., Veselinovic, M., Yang, L., Geiss, B. J., Dandy, D. S., & Chen, T. (2017). A sensitive DNA capacitive biosensor using interdigitated electrodes. Biosensors and Bioelectronics, 87, 646-653.

99. Li, Y. Li, Yanbin. 2006. Section 2.3 Biosensors, pp. 52-93, of Chapter 2 Hardware, in CIGR Handbook of Agricultural Engineering Volume VI Information Technology. Edited by CIGR-The International Commission of Agricultural Engineering; Volume Editor, Axel Munack. St. Joseph, Michigan, USA: ASABE. Copyright American Society of Agricultural Engineers.

100. Malekghasemi, S. (2015). Kağıt-Tabanlı Biyosensör Tasarımı ve Geliştirilmesi.

101. Delwiche, M., E. Cox, B. Goddeeris, C. Van Dorpe, J. De Baerdemaeker, E. Decuypere, and W. Sansen. 2000. A biosensor to detect penicillin residues in food. **Trans. ASAE 43**: 153-159.

102. Liu, Y., and Y. Li. 2002. Detection of Escherichia coli O157:H7 using immunomagnetic separation and absorbance measurement. **J. Microbiol. Methods 51**(3):369-377.

103. Capitan-Vallvey, L. F., E. Arroyo-Guerrero, M. D. Ferandez-Ramos, and F. Santoyo-Gonzalez. (2005). Disposable receptor-based optical sensor for nitrate. **Anal. Chem. 77**: 4459-4466.

104. Blum, L. J., S. M. Gautier, and P. R. Coulet. 1994. Chapter 5: Fiber-optic biosensors based on luminometric detection. Food Biosensor Analysis, 101-121.

105. Kozma, P., Kehl, F., Ehrentreich-Förster, E., Stamm, C., & Bier, F. F. (2014). Integrated planar optical waveguide interferometer biosensors: A comparative review. **Biosensors and Bioelectronics, 58**, 287-307.

106. Kim, B. C., and M. B. Gu. 2003. A bioluminescent sensor for high throughout toxicity classification. **Biosens. Bioelectron. 18**: 1015-1021.

107. Liu, Y., J. Ye, and Y. Li. 2003. Rapid detection of E. coli O157:H7 in ground beef, chicken carcass and lettuce samples with an immunomagnetic chemiluminescence fiber-optic biosensor. **J. Food Prot. 66**(3): 512-517.

108. Tu, S., A. G. Gehring, and P. L. Irwin. 2005. Bioenergetic confirmation of viable pathogens in foods by atp-bioluminescence. **Luminescence 15**: 445-448.

109. Taitt, C. R., G. P. Anderson, and F. S. Ligler. 2005. Evanescent wave fluorescence biosensors. **Biosens. Bioelectron. 20**(12): 2470-2487.

110. Liang, S. S., Qi, L., Zhang, R. L., Jin, M., & Zhang, Z. Q. (2017). Ratiometric fluorescence biosensor based on CdTe quantum and carbon dots for double strand DNA detection. **Sensors and Actuators B: Chemical, 244**, 585-590.

111. Liang, J., Wang, X., Li, L., Xu, S., Jiang, J., Wu, L., ... & Chen, S. (2017). Development of dual-fluorescence cell-based biosensors for detecting the influence of environmental factors on nanoparticle toxicity. **Chemosphere, 171,** 177-184.

112. Zhao, M., Guo, Y., Wang, L., Luo, F., Lin, C., Lin, Z., & Chen, G. (2016). A sensitive fluorescence biosensor for alkaline phosphatase activity based on the Cu (II)-dependent DNAzyme. **Analytica chimica acta, 948**, 98-103.

113. Zhang, Y., Guo, Y., Zhao, M., Lin, C., Lin, Z., Luo, F., & Chen, G. (2017). Fluorescence biosensor for inorganic pyrophosphatase activity. **Analytical and bioanalytical chemistry, 409**(4), 999-1005.

114. Wang, L., Wang, M., Shi, F., Liu, Z., & Su, X. (2017). Aptamer based fluorescence biosensor for protein kinase activity detection and inhibitor screening. Sensors and Actuators B: Chemical.

115. Glaser, R. W. 2000. Surface plasmon resonance biosensors. Biosensors and Their Applications, 195-212. V. C. Yang, and T. T. Ngo, eds. New York, N.Y.: Kluwer Academic.

116. Ertürk, G., Özen, H., Tümer, M. A., Mattiasson, B., & Denizli, A. (2016). Microcontact imprinting based surface plasmon resonance (SPR) biosensor for real-time and ultrasensitive detection of prostate specific antigen (PSA) from clinical samples. Sensors and Actuators B: Chemical, 224, 823-832.

117. Daems, D., Lu, J., Delport, F., Mariën, N., Orbie, L., Aernouts, B., ... & Lammertyn, J. (2017). Competitive inhibition assay for the detection of progesterone in dairy milk using a fiber optic SPR biosensor. Analytica chimica acta, 950, 1-6.

118. Wang, H., Wang, X., Wang, J., Fu, W., & Yao, C. (2016). A SPR biosensor based on signal amplification using antibody-QD conjugates for quantitative determination of multiple tumor markers. **Scientific reports, 6**, 33140.

119. Zubiate, P., Zamarreño, C. R., Sánchez, P., Matias, I. R., & Arregui, F. J. (2017). High sensitive and selective C-reactive protein detection by means of lossy mode resonance based optical fiber devices. **Biosensors and Bioelectronics, 93,** 176-181.

120. Heng, S., McDevitt, C. A., Kostecki, R., Morey, J. R., Eijkelkamp, B. A., Ebendorff-Heidepriem, H., ... & Abell, A. D. (2016). Microstructured optical fiber-based biosensors: reversible and nanoliter-scale measurement of zinc ions. **ACS applied materials & interfaces, 8**(20), 12727-12732.

121. Li, Y., Sun, Q., Luo, Y., Li, Y., Gong, A., Zhang, H., & Liu, D. (2017, April). High sensitive and selective Escherichia coli detection using immobilized optical fiber microprobe. *In Optical Fiber Sensors Conference (OFS)*, 2017 25th (pp. 1-4). IEEE.

122. Gowri, A., & Sai, V. V. R. (2017, May). U-bent plastic optical fiber-based plasmonic biosensor for nucleic acid detection. In SPIE Optics+ Optoelectronics (pp. 1023113-1023113). International Society for Optics and Photonics.

123. Ziegler, C. (2004). Cantilever-based biosensors. **Analytical and bioanalytical chemistry, 379**(7-8), 946-959.

124. Arlett, J. L., Myers, E. B., & Roukes, M. L. (2011). Comparative advantages of mechanical biosensors. **Nature nanotechnology, 6**(4), 203-215.

125. Sacu, I. E., & Alci, M. Piezorezistif Tabanlı Mikrokiriş Kullanılarak Biyosensör Tasarımı.

126. Fritz, J. (2008). Cantilever biosensors. **Analyst, 133**(7), 855-863.

127. Chan, B. D., Icoz, K., Huang, W., Chang, C. L., & Savran, C. A. (2014). On-demand weighing of single dry biological particles over a 5-order-of-magnitude dynamic range. Lab on a Chip, 14(21), 4188-4196.

128. Icoz, K., Iverson, B. D., & Savran, C. (2008). Noise analysis and sensitivity enhancement in immunomagnetic nanomechanical biosensors. **Applied Physics Letters, 93**(10), 103902.

129. Icoz, K., & Savran, C. (2010). Nanomechanical biosensing with immunomagnetic separation. **Applied Physics Letters, 97**(12), 123701.

130. Jaffe, B.; Cook, W.R.; Jaffe, H. 1971, "Piezoelectric Ceramics".; R.A.N. Publishers: Marietta, OH, USA, 317.

131. Carazo A.V. 2000, " Novel Piezoelectric Transducers for High Voltage Measurements" Universitat Politecnica de Catalunya, Barcelona 29-48.

132. Curie, J., and Curie, P., 1880, "Development Par Compression De L"Electricite Polaire Dans Les Cristaux Hemiedres A Faces İnclinees", **Bulletin de la Societe Mineralogique de France, 3**, 90-93,.

133. Ozgul M., 1998, "Electrochemical Phenomena in Piezoelectric Ceramics Leading to Polarization Fatigue", M.Sc. thesis at Pennsylvania State University.

134. Ozgul M., 2003, "Polarization Switching and Fatigue Anisotropy in Relaxor-Lead Titanate Ferroelectric Single Crystals", Ph.D. thesis at Pennsylvania State University.

135. Valasek J. 1921, Phys. Rev.17,475.

136. Lines M.E. and Glass A.M. 1977, Principles and Applications of Ferroelectrics and Related Materials, Clarendon Press, Oxford .

137. Megaw H.D. 1957, "Ferroelectricity in Crystals", Methuen and Co., London.

138. Jona F. And Shirane G. 1962, "Ferroelectric Crystals", Pergamon Press, Oxford.

139. Nye J.F. 1957, "Physical Properties of Crystals", Oxford University Press, Oxford.

140. Xu Y., 1991,"Ferreoelctric Materials and Their Applications", North-Holland Elsevier Sci.Publ.,Amsterdam.

141. İnternet Kaynağı 4: **http://www.americanpiezo.com/piezo_theory/index.html** (Erişim Tarihi: Kasım 2017)

142. İnternet Kaynağı 7: http:// www. morganelectroceramics.com (Morgan Electro Ceramics, Ocak 2007, Piezo Ceramics Tutorial, USA)

143. İnternet Kaynağı 3: **www.bdtic.com/Ramtron/FRAM/index.html** (Erişim Tarihi: Aralık 2017)

144. Shrout T.R. ;Zhang S.J. 2007, "Lead-free piezoelectric ceramics: Alternatives for PZT?" , **Journal of Electroceramics 19,**113-126.

145. Tressler, J. F., Alkoy, S., Newham, R. E., 1995,"Piezoelectric Sensors and Sensor Materials", **Journal of Electroceramics 2**:4, 277-272.

146. İnternet Kaynağı 5- **www.physikinstrumente.com** (Erişim Tarihi: Aralık 2017)

147. GmbH & Co.Germany, Aralık 2006, Piezo- Tutorial,Germany) Biyosensörler; **http://sci.ege.edu.tr/~eubio/yaz_okulu/biyosensor.htm** (Erişim Tarihi: Aralık 2017)

148. Heising, R.A. (1946). Quartz Cyristals for Electrical Cicuits Their Dizayn and Manufacture, Van Nostrand, New York

149. Vaughan,R.D., O'Sullivan,C.K., Guilbault,G.G. (1999). Sulfur based self assembled monolayers (SAM's) on piezoelectric cyristals for immunosensor development, **Fresenius J. Anal. Chem., 364**: 54-57

150. **http://tr.wikipedia.org/wiki/Kuvars** (Erişim Tarihi: Şubat 2018)

151. Updike,S.J. and Hicks,G.P. (1967). The enzyme electrode, **Nature, 214:** 986–988

152. Guilbault,G.G., Luong,JH. (1988). Gas phase biosensors, **Journal of Biotechnology, 9**:1-29

153. He, H., Xie, Q., Zhang, Y., Yao, S. (2005). A simultaneous electrochemical impedance and quartz crystal microbalance study on antihuman immunoglobulin G adsorption and human immunoglobulin G reaction, **Journal of Biochemical and Biophysical Methods, 62**: 191–205

154. O'Sullivan, C.K. and Guilbault, G.G. (1999). Commercial Quartz Crystal Microbalances-Theory and Applications, **Biosensors and Bioelectronics, 14**: 663-670

155. Bunde, R.L., Jarvi, E.J., Rosentreter, J.J. (1998). Piezoelectric Quartz cyrstal biyosensors, **Talanta, 46**: 1223-1236.

156. Sui, T., Ge, Y., Liu, W., Zhao, Z. K., Zhang, N., & Cao, X. (2013). An acetylcholinesterase antibody-based quartz crystal microbalance for the rapid identification of spinal ventral and dorsal roots. PloS one, 8(7), e69049.

157. Skadal, P. (2003). Piezoelectric quartz cyristal sensors applied for bioanalitical assays and characterization of affinity interactions, **J. Braz. Chem. Soc., 14**, 4: 491-502

158. Herne, T.M., Tarlov, M.J. (1997). characterization of DNA probes immobilized on gold surface. **Journal of American Chemical Society, 119**, 8916-8920.

159. Huang E., Satjapipat M., Han S., Zhou F. (2001) "Surface structure and coverage of an oligonucleotide probe tethered onto a gold substrate and its hybridization efficiency for a polynucleotide target" **Langmuir, 17**: 1215-1224.

160. Mannelli, I., Minunni, M., Tombelli, S., Macsini, M. (2003b). Quartz crystal microbalance (QCM) affinity biosensor for genetically modified organisms (GMOs) detection, **Biosensors and Bioelectronics 18**: 129-140.

161. Marie R., Jensenius H., Thaysen J., Christensen C.B., Boisen A. (2002) "Adsorption kinetics and mechanical properties of thiol-modified DNA-oligos on gold investigated by microcantilever sensors" **Ultramicroscopy, 91**: 29-36

162. Chow, E., Hibbert, D.B. and Gooding, J.J. (2005). Electrochemical detection of lead ions via the covalent attachment of human angiotensin I to mercaptopropionic acid and thioctic acid self-assembled monolayers, **Analytica Chimica Acta, 543**: 167-176

163. Storri, S., Santorini, T., Minunni, M., Mascini, M. (1998). Surface modification for development of piezoimmunosensors. **Biosensors Bioelectron. 13** (3-4): 347–357.

164. Shons, A., Dorman, F., Najarian, J. (1972). The piezoelectric Quartz immunosensor, **J.Biomed. Manter Res.,** 576-570

165. Mutlu, S., Çökeliler, D., Shard, A., Goktas, H., Ozansoy, B., Mutlu, M. (2008). Preparation and characterization of ethylenediamine and cysteamine plasma polymerized films on piezoelectric quartz crystal surfaces for a biosensor, Thin Solid Films, 516: 1249-1255

166. Gua., F., Luxa, R., Du-Thummb, L., Stokesb, I., Kretha, J., Andersonc, M.H., Wonga, D.T., Wolinskya, L., Sullivanb, R., Shi, W. (2005). In situ and non-invasive detection of specific bacterial species in oral biofilms using fluorescently labeled monoclonal antibodies, **Journal of Microbiological Method, 62**: 145-160.

167. Vivian C.H. Wu, Sz-Hau Chenb, Chih-Sheng Lin. (2007). Real-time detection of Escherichia coli O157:H7 sequences using a circulating-flow system of quartz crystal microbalance, **Biosensors and Bioelectronics, 22**: 2967-2975

168. Pastorino, L., Soumetz, C.F., Giacomini, M., Ruggiero, C. (2006). Development of a piezoelectric immunosensor for the measurement of paclitaxel, **Journal of immunological methods, 313**: 191-198

169. Pietrzyk, D.J.; Frank, C.W. (1979). Analytical Chemistry, 2.Baskı, Academic press: 226- 239.

170. Wakamatsu, K. et. al. (1995) "Direct in-situ measurement of Phospholipid hydration in an aqueous environment using a quartz crystal microbalance", **Anal. Chem. 67**:3336.

171. Noonong, A., Poomcokrak, J., Promptmas, C., Neatpisanvanit, C.(2011). "Human Serum Albumin Detection Using QCM Immunosensor with Differential Frequency measurement". 978-1-4244-9658-7/11

172. Ertekin, Ö., Öztürk, S., Öztürk,Z.Z. (2016) " Label Free QCM Immunebiosensor for AFB1 Detection Using Monoclonal IgA Antibody as Recognition Element". **Sensors,16**, 1274

173. Clausen,M.T., Pereira,A.M., vd.(2016). "Real-time and label free determination of ligand binding-kinetics to primary cancer tissue specimens; a novel tool for the assessment of biomarker targeting". **Sensing and bio-sensing Research 9,** 23-30

174. Furusawa, H., Nakayama, H., Funasaki, M., & Okahata, Y. (2016). Kinetic characterization of small DNA-binding molecules interacting with a DNA strand on a quartz crystal microbalance. **Analytical biochemistry, 492**, 34-42.

175. Soylu, M. C., Shih, W. H., & Shih, W. Y. (2013). Insulation by solution 3-mercaptopropyltrimethoxysilane (mps) coating: Effect of ph, water, and mps content. **Industrial & Engineering Chemistry Research, 52**(7), 2590-2597.

176. Soysaldı F., Soylu M. C, (2017). Model Tükürükte QCM Sensör ile Sentetik Genetik Materyal Tespiti.

177. Ghodsevali, E., Landari, H., Boukadoum, M., Gosselin, B., & Miled, A. (2016, August). A wide range and high sensitivity four-channel compact electrochemical biosensor for neurotransmitter detection on a microfluidic platform. In *Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), 2016 IEEE 38th Annual International Conference of the* (pp. 5753-5756). IEEE.

178. Kasper, M., Traxler, L., Salopek, J., Grabmayr, H., Ebner, A., & Kienberger, F. (2016). Broadband 120 MHz Impedance Quartz Crystal Microbalance (QCM) with Calibrated Resistance and Quantitative Dissipation for Biosensing Measurements at Higher Harmonic Frequencies. **Biosensors, 6**(2), 23.

179. Wang, D., Chen, G., Wang, H., Tang, W., Pan, W., Li, N., & Liu, F. (2013). A reusable quartz crystal microbalance biosensor for highly specific detection of single-base DNA mutation. **Biosensors and Bioelectronics, 48**, 276-280.

180. Ngo, H. T., Gandra, N., Fales, A. M., Taylor, S. M., & Vo-Dinh, T. (2016). Sensitive DNA detection and SNP discrimination using ultrabright SERS nanorattles and magnetic beads for malaria diagnostics. **Biosensors and Bioelectronics, 81**, 8-14.

181. Jia, L., Shi, S., Ma, R., Jia, W., & Wang, H. (2016). Highly sensitive electrochemical biosensor based on nonlinear hybridization chain reaction for DNA detection. **Biosensors and Bioelectronics, 80**, 392-397.

182. **https://www.biolinscientific.com/qsense** (Kasım,2017)

183. **https://www.gamry.com/eqcm-quartz-crystal-microbalance-2** (Kasım, 2017)

184. Icoz K., M. C. Soylu, Z. Canikara, E. Unal, Quartz-crystal Microbalance Measurements of CD19 Antibody Immobilization on Gold Surface and Capturing B Lymphoblast Cells: Effect of Surface Functionalization, **Electroanalysis 2018, 30,** 834.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı ve Soyadı **:** Zeynep GÜNAYDIN

Uyruğu **:** Türkiye Cumhuriyeti (T.C.)

Doğum Tarihi ve Yeri **:** 31.07.1991 Kayseri

İletişim Bilgileri **:** Akkent Mah. 23152. Sok. Dora Plus 3 No: 14

Yenişehir/Mersin

E-posta: **:** zeynepcanikara@gmail.com

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Derece	**Kurum**	**Yıl**
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomedikal Mühendisliği Ana Bilim Dalı	2016-2018
Lisans	Erciyes Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü	2010-2015
Lise	Niğde Yavuz Sultan Selim Anadolu Lisesi	2005-2009

YABANCI DİL

İngilizce

YAYINLAR

1. K. Icoz, M. C. Soylu, Z. Canikara, E. Unal, Quartz-crystal Microbalance Measurements of CD19 Antibody Immobilization on Gold Surface and Capturing B Lymphoblast Cells: Effect of Surface Functionalization, Electroanalysis 2018, 30, 834.
2. M. C. Soylu, Z. Gunaydin, F. Soysaldi, Comparison of Two Different Quartz-crystal Microbalance Biosensing Devices in terms of Genetic Detection, preprint 2018.