

**T.C.**  
**BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**FİZİK ANABİLİM DALI**



**ENZİM TABANLI ORGANİK SENSÖR ÜRETİMİ VE DUYARLILIK**  
**ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

**DENİZ EGE DENİZ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Jüri Üyeleri :** Doç. Dr. Murat EVYAPAN (Tez Danışmanı)  
Prof. Dr. Tayfun UZUNOĞLU  
Dr. Öğrt. Üyesi Turgut ŞAHİN

**BALIKESİR, OCAK - 2023**

## ETİK BEYAN

Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak tarafımda hazırlanan “**Enzim Tabanlı Organik Sensör Üretimi Ve Duyarlılık Özelliklerinin İncelenmesi**” başlıklı tezde;

- Tüm bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Kullanılan veriler ve sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tüm bilgi ve sonuçları bilimsel araştırma ve etik ilkelere uygun şekilde sunduğumu,
- Yararlandığım eserlere atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,

beyan eder, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ederim.

**Deniz Ege DENİZ**

(imza)

## ÖZET

**ENZİM TABANLI ORGANİK SENSÖR ÜRETİMİ VE DUYARLILIK  
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
DENİZ EGE DENİZ  
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FİZİK ANABİLİM DALI  
(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. MURAT EVYAPAN  
BALIKESİR, OCAK - 2023**

Bu çalışmada, döner (spin) kaplama tekniği kullanılarak farklı kalınlıklara sahip ince filmler üretilecek ve çeşitli organik buharlara karşı duyarlılıkları incelenecektir. Bu tezde polifenol oksidaz (PPO) enzimi ile farklı organik malzemeler ince filmlerin üretimi için kullanılacaktır. Seçilen katı yüzey cam olmakla beraber, alttaş olarak ise kuartz kristal seçilmiştir ve ince filmler UV-görünür spektrofotometresi ve kuartz kristal mikrobals (QCM) teknikleri kullanılarak karakterize edilecektir. QCM sisteminin ayrıca büyütülen ince filmlerin çeşitli organik buharlara karşı tepkilerinin ölçülmesinde de kullanılması planlanmaktadır. Üretilecek ince filmlerin organik buharların tespitinde sensör maddesi olarak kullanımında enzimin etkisi incelenecektir.

**ANAHTAR KELİMELELER:** Spin kaplama (Spin coating), polifenol oksidaz, organik gaz sensörü, kuartz kristal mikrobals (QCM)

Bilim Kod / Kodları : 20204, 20210, 20222

Sayfa Sayısı : 57

## **ABSTRACT**

### **ENZYME-BASED BIOSENSOR PRODUCTION AND INVESTIGATION OF SENSITIVITY PROPERTIES**

**MSC THESIS**

**DENİZ EGE DENİZ**

**BALIKESİR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE**

**PHYSICS**

**SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. MURAT EVYAPAN**

**BALIKESİR, JANURARY- 2023**

In this study, spin coating technique will be using to produce thin films with different thicknesses and their sensitivity to various organic vapors will be investigated. In this thesis, polyphenol oxidase enzyme and different organic materials will be used in thin film production.

Glass and quartz crystal are chosen as substrates as solid surfaces and thin films will be characterized by using UV-visible spectrophotometer and quartz crystal microbalance (QCM) techniques. The QCM system is also planned to be used to measure the reaction of thin films against various organic vapors. The effect of the enzyme in the use of thin films to be produced as a sensor material in the detection of organic vapors will be examined.

**KEYWORDS:** Spin coating, polyphenol oxidase, organic vapor sensor, quartz crystal microbalance (QCM)

Science Code / Codes: 20204, 20210, 20222

Page Number: 57

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iii</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....	<b>v</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b> .....	<b>vi</b>
<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>vii</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. DÖNER (SPİN) KAPLAMA TEKNİĞİ</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1 Döner Kaplama Aşamaları</b> .....	<b>4</b>
<b>2.2 Döner Kaplama Tekniği İle İnce Film Oluşumunu Etkileyen Parametreler</b> .....	<b>5</b>
<b>2.3 Döner Kaplama Tekniğinin Kullanım Alanları</b> .....	<b>6</b>
<b>2.4 Döner Kaplama Tekniğinin Avantajları ve Dezavantajları</b> .....	<b>6</b>
<b>3. KUARTZ KRİSTAL MİKROBALANS TEKNİĞİ (QCM)</b> .....	<b>7</b>
<b>3.1 Giriş</b> .....	<b>7</b>
<b>3.2 Qcm Tekniğinin Yapısı</b> .....	<b>8</b>
<b>3.3 Kuark Kristalinin Titreşim Frekansı</b> .....	<b>9</b>
<b>3.4 QCM Tekniğinin Kullandığı Alanlar</b> .....	<b>12</b>
<b>4. UV – GÖRÜNÜR SPEKTOSKOPİ</b> .....	<b>14</b>
<b>4.1 Elektromanyetik (Tayf) Spektrum</b> .....	<b>14</b>
<b>4.2 Çalışma Prensibi</b> .....	<b>15</b>
<b>5. BİYOSENSÖRLER</b> .....	<b>17</b>
<b>5.1 Biyosensör Nedir?</b> .....	<b>17</b>
<b>5.2 Biyosensörler İçin Uygulama Olanakları</b> .....	<b>19</b>
<b>5.3 Biyosensörlerin Tasarımı</b> .....	<b>19</b>
<b>5.4 Biyosensörlerin yapısı ve Çalışma Prensibi</b> .....	<b>20</b>
<b>5.5 Biyosensörlerin Avantajları ve Tercih Sebebi</b> .....	<b>20</b>
<b>5.6 Biyosensör Çeşitleri</b> .....	<b>21</b>
<b>5.6.1 Elektrokimyasal Sensörler</b> .....	<b>21</b>
<b>5.6.2 Piezoelektrik Sensörleri</b> .....	<b>21</b>
<b>5.6.3 Tekniğin Yapısı</b> .....	<b>22</b>
<b>5.6.4 Enzim Sensörleri</b> .....	<b>22</b>
<b>5.7 İdeal Bir Biyosensörün Sahip Olması Gereken Özellikler</b> .....	<b>23</b>
<b>5.8 Biyosensör Dizaynında Dikkat Edilmesi Gerekenler</b> .....	<b>24</b>
<b>5.9 Biyosensör Yapımında Kullanılan Materyaller</b> .....	<b>26</b>
<b>5.10 Polifenol Oksidaz (PPO) Enzimi</b> .....	<b>26</b>
<b>5.10.1 Molekül Yapısı</b> .....	<b>27</b>
<b>5.10.2 Reaksiyonları ve Mekanizması</b> .....	<b>27</b>
<b>5.10.3 Aktivitesini Etkileyen Faktörler</b> .....	<b>28</b>
<b>6. SENSÖR MALZEMESİNİN HAZIRLANMASI</b> .....	<b>29</b>
<b>7. İNCE FİMLERİN HAZIRLANMASI</b> .....	<b>30</b>
<b>8. İNCE FİMLERİN KARAKTERİZASYONU</b> .....	<b>31</b>

8.1 UV – Görünür Spektroskopisi Sonuçları .....	31
8.2 Kuartz Kristal Mikrobalans (QCM) Sonuçları .....	34
9. GAZ ÖLÇÜM SİSTEMİ .....	36
10. GAZ ÖLÇÜM SONUÇLARI .....	38
11. SONUÇ .....	47
12. KAYNAKÇA.....	50
ÖZGEÇMİŞ .....	57

## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 2.1: Spin Kaplama Cihazı .....	4
Şekil 2.2: Spin Kaplama Tekniği Aşamaları.....	4
Şekil 3.1: Piezoelektrik olay; katı kristal yüzeye basınç uygulandığında voltmetrenin göstergesindeki değişimi.....	7
Şekil 3.2: Tipik bir kuartz kristalin yapısı.....	8
Şekil 3.3: Kalınlık makaslama modunda titreşen AT kesim kuartz kristal.....	9
Şekil 3.4: Kalınlık makaslama modunda titreşen kuartz kristal.....	10
Şekil 4.1: Elektromanyetik spektrum.....	14
Şekil 4.2: UV görünür bölge spektrofotometresi .....	15
Şekil 5.1: Biyosensörün çalışma mantığı .....	17
Şekil 5.2: Biyosensörün sınıflandırılması .....	18
Şekil 5.3: Bir biyolojik elementin elektrik sinyaline dönüşmesi .....	20
Şekil 5.4: Piezoelektrik esaslı enzim sensörünün şematik gösterimi.....	22
Şekil 5.5: Biyosensörlerin çalışma mekanizması.....	25
Şekil 5.6: PPO'nun katalizlediği reaksiyonlar .....	27
Şekil 8.1: PPO sıvı çözeltisinin UV – görünür spektrumu.....	31
Şekil 8.2: Aromatik yan gruba sahip amino asitler ve peptit bağı .....	32
Şekil 8.3: Cam yüzey üzerine kaplanmış biyokompozit ve PPO enzim filmleri UV – görünür spektrumları .....	33
Şekil 9.1: Kuartz kristal mikrobalsans (QCM) gaz ölçüm sistemi .....	36
Şekil 9.2: İdeal QCM gaz ölçüm sonucu .....	37
Şekil 10.1: Aseton buharı QCM kinetik grafiği.....	39
Şekil 10.2: İzopropil alkol buharı QCM kinetik grafiği.....	40
Şekil 10.3: Toluen buharı QCM kinetik grafiği .....	41
Şekil 10.4: Etil Asetat buharı QCM kinetik grafiği .....	42
Şekil 10.5: Kloroform buharı QCM kinetik grafiği .....	43
Şekil 10.6: PPO ince filminin buhar tepkilerinin karşılaştırılması .....	44
Şekil 10.7: PPO ince filminin buharlara verdiği maksimum tepkiler .....	45
Şekil 10.8: Denge durumunda PPO filminin buharlarda oluşturduğu tepkilerin karşılaştırılması.....	46

## TABLO LİSTESİ

### Sayfa

<b>Tablo 8.1:</b> Aromatik yan gruba sahip amino asitlerin nötral pH'da absorpsiyon özellikleri.....	32
<b>Tablo 8.2:</b> Kuartz Kristal Mikrobalans (QCM) Sonuçları.....	35



## ÖNSÖZ

Bu çalışmada, spin kaplama tekniği kullanılarak farklı kalınlıklara sahip olan ince filmlerin üretilmesi sağlanmış ve çeşitli organik buharlara karşı duyarlılıkları incelenmiştir.

Hayatımdaki en zor süreçlerden biri olan ve başarımın temellerini atacağıma inandığım akademik hayatımın bu ilk adımında, yeri geldi üzüldüğüm yeri geldi haz aldığım bu zorlu, yorucu süreçte;

çalışmalarım sırasında ve tez yazım aşamasında bana gerekli her konuda yardımcı olan samimi ve tavırlarıyla bana destek olan danışmanım Doç. Dr. Murat Evyapan'a, katkılarından dolayı Prof. Dr. Tayfun Uzunoğlu'a ayrıca Prof. Dr. Serap Beyaztaş Uzunoğlu'na teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sırasında desteğini esirgemeyen arkadaşım Zeynep'e katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Bu süreçte sürekli meraklı soruları ve ilgi alakaları ile bana moral ve motivasyon sağlayan bütün öğrencilerime çok teşekkür ediyorum.

Başarılarıma ve bu aşamada varlığını her zaman hissettiğim, bu zorlu süreçteki en iyi yol arkadaşlarım anne ve babama tüm kalbimle teşekkür ediyorum.

**Balıkesir, 2023**

**Deniz Ege DENİZ**

## 1.GİRİŞ

Enzimler canlı metabolizmasındaki reaksiyonların çoğunu katalize eden organik maddelerdir. Reaksiyon durumunda değişikliğe uğrayabilirler fakat reaksiyonun sonunda eski haline geri dönmektedir. Bu sayede sınırsız sayıda reaksiyona girebilir. Sensör çalışmalarında enzimlerin sahip olduğu bu iki özellik duyarlı tabakada aranılan iki özelliktir. Dolayısıyla enzimleri sensör çalışmalarında duyarlı tabaka olarak kullanımı için ve bu avantajlarından faydalanarak sensör sistemleri içine entegre edilmeye çalışılmaktadır.

Bu çalışmada polifenol oksidaz kullanılarak ince film üretilmiş ve farklı buharlar ile etkileşimleri incelenmiştir. İnce film üretim aşamasında enzimden önce film alt tabakası olarak biyo-kompozit kullanılmıştır. Biyo-kompozit olarak çitosan ve jelatin karışımı kullanılarak enziminin katı yüzeye daha iyi tutunması amaçlanmıştır. Katı yüzey olarak cam ve kuartz kristal kullanılmıştır. Bölüm 2’de ince film üretiminde tercih edilen döner (spin) kaplama tekniği ele alınmıştır. Bu bölümde tekniğin avantajlarının yanında uygulama aşamalarına da değinilmektedir.

İnce film üretim aşamaları farklı karakterizasyon teknikleri kullanılarak takip edilmiştir. Bölüm 3’te kuartz kristal mikrobals (QCM) tekniği hakkında bilgiler verilmiştir. Ölçüm sisteminin yapısı, teknik kapasitesi, kullanım alanları bu bölümde incelenmektedir.

İnce filmlerin üretim kalitesinin kontrolü için kullanılan bir diğer sistem olan UV-görünür spektroskopisi Bölüm 4’te verilmektedir. Görünür ve mor ötesi bölge ışınımının soğurulması sonucu ortaya çıkan spektrumların ince film üretiminde ne şekilde kullanıldığı açıklanmaya çalışılmıştır.

Bölüm 5’te biyolojik malzemelerin sensör sistemlerinde çalışma metodlarını ve kullanılma amaçlarının değinildiği biyosensörlerin yapısı incelenmektedir. Farklı sensör sistemlerinde biyolojik malzemelerin ve özellikle enzimlerin görevleri araştırılmıştır. Polifenol oksidaz enziminin yapısı hakkında bilgi ve kullanım alanları da bu bölümde verilmiştir.

Önceki bölümlerde verilen teorik bilgiler ardından Bölüm 6’da deneysel olarak sensör malzemesinin hazırlık aşamaları verilmektedir. Bu bölümde enzim çözeltisinin hazırlanması ve ince film üretimine uygun hale getirilme aşamaları teknik olarak incelenmektedir. Bölüm 7’de döner kaplama tekniği ile enzim ince filmi üretimi açıklanmaktadır. İnce film

karakterizasyon sonuçları Bölüm 8’de UV-görünür spektroskopisi ve QCM olmak üzere iki başlık altında özetlenmektedir. Bölüm 9, QCM sisteminin gaz ölçüm mekaniğine uygun hale getirilme aşamalarını ve ölçüm mekanizması hakkında bilgi vermektedir. Bölüm 10’da enzim sensörünün altı farklı organik buhar ile olan etkileşimleri detaylı olarak incelenmektedir. Bölüm 11, deneysel çalışmalar sürecinde elde edilen sonuçlar ve değerlendirilmelerini kapsayan sonuç bölümüdür.

## 2. DÖNER (SPİN) KAPLAMA TEKNİĞİ

Spin kaplama yöntemi, son yıllarda birçok alanda sıklıkla kullanılan ince film üretim tekniklerinden biridir. Öncelikle kaplanması istenilen malzemenin uygun bir çözücü ile çözeltisi hazırlanır. Kullanılacak çözeltinin belirli bir hızla dönen alt tabaka (alttaş) üzerine (merkezine) damlatılması sonucu, çözelti merkezci kuvvetin etkisi ile kenarlara doğru düzgün bir şekilde yayılır ve alttaş yüzeyine ince film biçiminde kaplanmış olur[1].

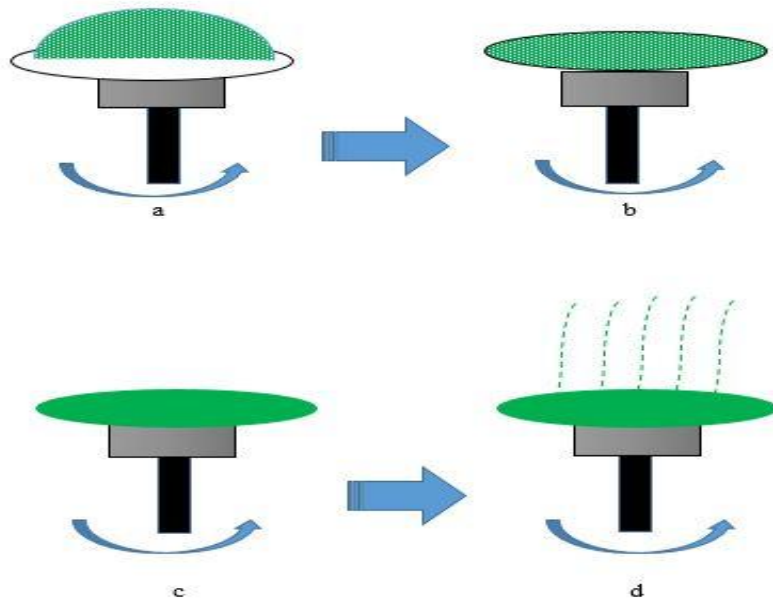
Bu merkezci kuvvetin etkisiyle yüzeydeki çözücü buharlaşır ve geriye alttaş üzerine düzgün dağılmış malzeme ince film halinde elde edilmiş olur. Elde edilen ince filmin yapısı, kullanılan çözeltinin özelliklerine (viskozite, kuruma hızı, yüzey gerilimi vb.) ve kaplama için seçilen döndürme hızına bağlıdır [1]. Karakteristik bir döndürme işlemi, birkaç aşamadan oluşur. Hazırlanan alt tabaka üzerine çözeltinin dökülmesi ile başlayan, belirli bir hızda döndürme ile çözeltinin yayılması ve kurutma sonucu buharlaşması sonucunda kaplama işlemi gerçekleşir. Bu işlemler gerçekleşirken kaplamanın yapılacağı alan bir kapak ile ortamdaki ayrılır. Çözeltinin yayılmasında dinamik ve statik olmak üzere iki yöntem vardır. Statik dağıtım çözeltinin alttaşın merkez veya merkeze yakın bölgelerine dökülmesidir. Çözeltinin viskozitesi yüksek veya kullanılan alttaş büyük ise alt tabakanın tamamının kaplanması için daha fazla çözelti dökülmesi gerekir. Dinamik dağıtım, alttaş düşük hızlarda dönerken çözeltinin dökülmesidir. (500 dev/dk. gibi) [1]. Bu hızlarda çözelti tüm alt tabaka yüzeyine yayılır ve daha az çözelti kullanılır. Bu dağıtım işleminden sonra istenilen ince film kalınlığını elde etmek için alt tabaka ivmelendirilerek istenilen hıza (1500-6000 dev/dk. ) ulaşılır. Seçilen bu zaman ve dönüş hızının kombinasyonu elde ettiğimiz filmin son kalınlığını belirler. Genel olarak dönüş hızının yüksek olması ve süresinin uzun olması daha ince filmler elde etmemizi sağlar [2].



**Şekil 2.1:** Spin kaplama cihazı.

Şekil 2.1’de görülen spin kaplama cihazı bir kapak vasıtası ile ortamdan yalıtılır, böylece ince filmler ortamda oluşabilecek toz ve kirden arındırılmış olur. Panelde bulunan tuşlar aracılığı ile sistemin dönüş hızı ayarlanabilir [3].

### 2.1 Döner Kaplama Aşamaları



**Şekil 2.2:** Spin kaplama tekniğinin aşamaları.

Şekil 2.2 (a)' da belirli bir hızla dönen alttaş üzerine çözelti damlatılmaktadır. Damlatma işlemi için ölçekli mikropipet kullanılarak çözelti miktarındaki hassasiyet kontrol edilir [4]. Şekil 2.2 (b)'de dönme hareketi sayesinde çözelti alttaş üzerine yayılmaya başlar. Dönüş hızı elde edilecek ince film homojenliği için belirlenen maximum hıza ulaşılır ve çözelti yüzey üzerine tamamen yayılır. Bu sayede elde edilecek film kalınlığı alttaşın her noktasında eşit olur. Ayrıca bu aşama sırasında merkezkaç kuvveti etkisi ile fazla olan çözelti dışarı savrulacaktır [4].

Şekil 2.2 (c)'de dönen alttaşın hızına ve dönme süresine bağlı olarak ince filmin kalınlığı belirlenir [4].

Şekil 2.2 (d)'de çözücü buharlaşarak istenilen madde ile ince film kaplama işlemi tamamlanmış olur [5].

## 2.2 Döner Kaplama Tekniği ile İnce Film Oluşumunu Etkileyen Parametreler

Döner kaplama tekniği ile ince film elde edilirken birçok parametre bu filmin özelliklerini etkilemektedir. Bunlar şu şekilde özetlenebilir: [6].

► **Viskozite:** Viskozitenin tanımı akmaya karşı direnç şeklinde ifade edilir. Kullanılan çözeltinin viskozitesinin yüksek olması, çözeltinin yayılması için gerekli olan merkezkaç kuvvetinin daha fazla olmasına neden olacaktır. Dolayısıyla çözeltinin viskozitesine bağlı olarak dönüş hızının seçilmesi uygun olacaktır [6].

► **Buharlaşma:** Kullanılan çözeltinin buharlaşma süresinin kısa olması, elde edilen filmin daha kısa sürede oluşmasını sağlayacaktır. Böyle bir durumda gereğinden fazla yüksek hızla döndürülen alttaş üzerindeki ince film zarar görebilmektedir [7].

► **Dönme hızı:** Alttaşın dönüş hızı çözeltinin katı yüzey üzerine yayılmasını etkileyecek ve elde edilecek filmin kalınlığına etki edecek en önemli parametredir. Belirli bir dönüş hızından sonra buharlaşma sonucunda sıvının katılaşması ile dengeye gelen ince film son şeklini almaya başlar [7].

► **Hızlanma:** Kullanılan çözeltinin buharlaşmaya başlaması ile sıvı kurumaya başlayacaktır, bu da ince filmin özelliklerini etkileyecektir. Çözeltinin daha kısa sürede buharlaşması, daha ince veya kalın filmlerin elde edilmesi gibi [7].

► **Dönme süresi:** İstenilen filmin kalınlığına bağlı olarak bu süre azaltılabilir veya artırılabilir. Dönme süresinin artması daha ince filmler elde edilmesine olanak sağlayacaktır [8].

### **2.3 Döner Kaplama Tekniğinin Kullanım Alanları**

Uzun zamandır kullanılan bu tekniğin son yıllarda kullanımının artmasının nedenlerinden biri de yöntemin basit ve maliyetinin ucuz olmasıdır. Bu teknik fizik, kimya, mühendislik ve tıp gibi belli başlı alanlar olmak üzere birçok alanda kullanılmaktadır. Spin kaplama tekniği teknoloji de birçok alanda kullanılmaktadır. Elektronik aygıt üretimi, güneş panelleri, televizyon, nano teknolojik cihaz üretiminde vs. kullanıldığı gibi, optik kaplamalar, fotovoltaik ve yüzey mühendisliği gerektiren tüm alanlarda kullanılır [9].

Güneş enerjisinden daha fazla yararlanmak adına spin kaplama tekniğinden çok fazla yararlanılmaktadır. Güneş enerjisi dışında, elektrik elektronik teknolojisinde lazer aynaları, optik diskler de ince filmler çok fazla kullanılmaktadır [10].

### **2.4 Döner Kaplama Tekniğinin Avantajları ve Dezavantajları**

- ▶ Filmin üretimi çok kısa sürede gerçekleştiğinden dolayı kısa sürede hızlı üretim yapılabilmektedir.
- ▶ İnce film elde edilirken kullanılan bu teknik ve yöntem, elde edilen filmin kalınlığını veya inceliğini kontrol etmemize olanak sağlayan dönme hızı, dönme süresi gibi değişkenleri çok rahat bir şekilde değiştirmemize olanak sağlar.
- ▶ İsteddiğimiz kalınlıkta ve birden fazla katmandan oluşan kaplamalar elde edilebilir.
- ▶ Bu tekniğin dezavantajlarından biri yüzey alanının artması ile spin kaplama işlemi azalmaktadır.
- ▶ Yüzey alanının artması ile istenilen sürede ve hızda buharlaşma gerçekleşmez, çözelti kısa sürede kurumaz ise istenilen film kalınlığı homojenliği elde edilemez.
- ▶ Kullanılan çözelti büyük miktarlarda uçup buharlaşması veya etrafa saçılmasından dolayı malzeme verimliliği azdır. (örneğin kullanılan sıvının %90 u uçar %10 u ile ince film oluşur.) [11].

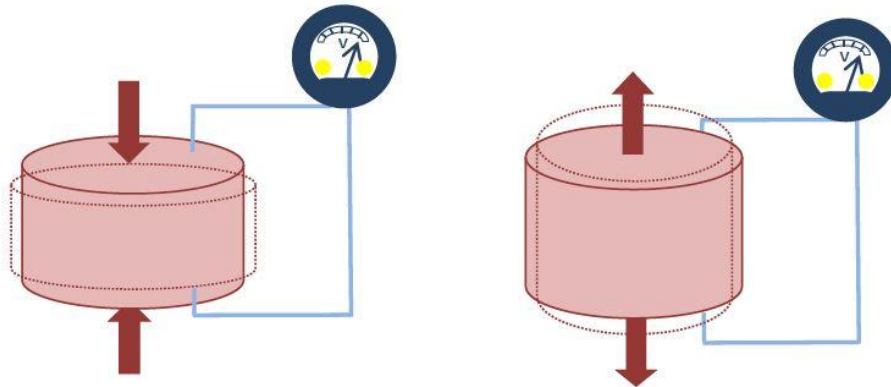
### 3. KUARTZ KRİSTAL MİKROBALANS TEKNİĞİ (QCM)

Kuartz kristal kütle hassiyetine bağlı olarak ölçüm alan, kristalin rezonans frekansının kristal yüzeyindeki kütle miktarı ile değiştiği piezoelektrik etkiye dayanan bir yöntemdir.

#### 3.1 Giriş

Piezo kelime anlamı Yunanca sıkıştırmak, kuvvet uygulamaktır [12]. Piezoelektrik olay, kristal yapıdaki seramik vb. cisimlerin üzerine dışarıdan basınç uygulandığında, uygulanan basınç ile doğru orantılı olarak akım oluşturduğu bir olaydır [13]. Bazı maddelere mekanik kuvvet uygulandığında yüzeylerinde oluşan kutuplanmadan dolayı bir potansiyel fark oluşumuyla da piezoelektrik olay gerçekleşir [14]. Bu durumun tersi de mümkündür. Piezoelektrik özelliğe sahip kristal ve seramik malzemeler üzerine gerilim uygulanır ise bu malzemeler üzerinde bir basınç oluşur [15].

Piezoelektrik kütle hassasiyeti olarak da tanımlanabilir. Piezoelektrik bir kristalin üzerine algılayacağı bir madde toplanması ile kristal rezonans frekansı değişir. Bu değişim örnek kütle ölçülmesi prensibi ile çalışır [13]. Bu sensörün hassasiyeti üzerine eklenen algılayıcı madde ve bu madde ile etkileşen örnek kütlelerin, piezoelektrik kristalin yüzeyinde ne kadar biriktiği ile ilgilidir [12].



**Şekil 3.1:** Piezoelektrik olay: katı kristal yüzeye basınç uygulandığında voltmetrorenin göstergesindeki değişimi.



Şekil 3.1 Katı bir kristalin yüzeyine bir basınç uygulanır. Daha sonra kristalin iki ucu voltmetreye bağlanır. Uygulanan basınç sonucunda voltmetre belli bir oranda sapar, uygulanan basınç kaldırıldığında potansiyel fark sıfırlanır [16].

Bu yöntem piezoelektrik etkiye dayanmaktadır. İlk defa 1959 yılında Sauerbrey tarafından kuartzın rezonans frekansı ile kuartzın yüzeyindeki kütle arasında bir bağ olduğunu keşfi ile ortaya çıkmıştır. Çok düşük maliyetli olması, kütle değişimlerine karşı çok hassas olması tercih sebebidir [17]. Kuartz kristalin dayanıklı olması, günümüzde endüstriyel alanda tercih ve kullanımını arttırmıştır [18].

### 3.2 Qcm Tekniğinin Yapısı

Sensörler kısaca bir biyolojik elementi analiz edilecek madde ile etkileşime girmesi sonucunda elektriksel sinyallere dönüştürülebilen cihazlar olarak tanımlanabilir [15]. Sensörler için kullanılan QCM kristalinin çok ince yapıda olması, üzerine pres uygulandığında piezoelektrik özelliği sayesinde bir potansiyel elde edilmesine olanak sağlar.[19].



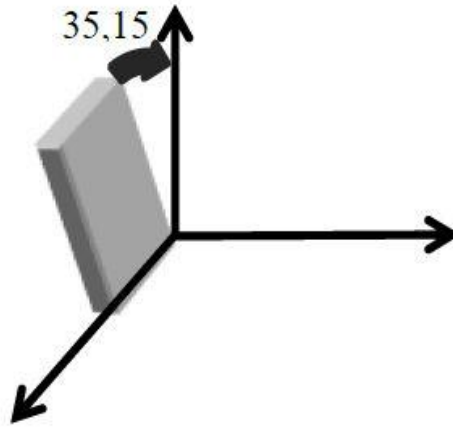
Şekil 3.2: Tipik bir kuartz kristalin yapısı [16].

### 3.3 Kuartz Kristalin Titreşim Frekansı

Özel bir elektronik devre ile kullanılan kuartz kristal sabit bir frekansta titreşiyor. Ancak üzerine basınç uygulandığında bu frekans değişiyor. Uygun bir devreye bağlanır ise kuartz maddesine uygulanan farklı elektriksel değişimler ile bağlandığı devre kaynağının farklı frekanslarda titreşmesine neden olmaktadır. Bu frekans değişimleri kuartz kristalinde farklı frekanslara neden olabilir [15].

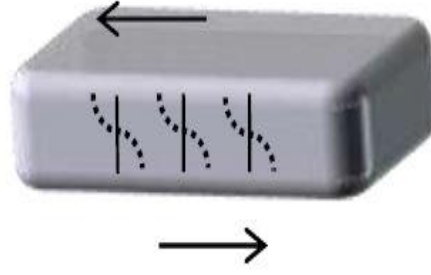
Kuartz kristal doğal piezoelektrik yapıya sahiptir. Kuartz kristali yeterince ince kesilerek bir tabaka elde edilir. Elde edilen bu tabaka belirli doğrultuda kesilerek kuartz özgül titreşim frekansı elde edilir. Bu doğrultu aşağıda gösterildiği gibi kuartz kristalin uzunlu x-ekseni doğrultusunda yer alırken kalınlığı ise y-ekseni doğrultusunda, z-doğrultusu saat yönünün tersine 35.15 derece döndürülerek kesilirse AT kesim kuartz elde edilir [20].

AT kesim kuartz tek bir modülde titreşebilen sıcaklık değişimlerine en az duyarlı olan ve kalınlık makaslama modülünde çalışabilen kuartz olarak bilinir ve QCM sisteminde kullanılabilir [15].



**Şekil 3.3:** Kalınlık makaslama modunda titreşen AT kesim kuartz kristal.

Kuartz kristalin frekansı verilen enerjiye bağlıdır. Yukarıda gösterilen AT kesim kuartz kristali kalınlık makaslama modunda titreşir [21].



**Şekil 3.4:** Kalınlık makaslama modunda titreşen kuartz kristal [21].

Kuartz kristal piezoelektrik özelliğe sahip bir maddenin, üzerine yapıştırılan maddenin katı fazda olması ve kuartz kristal yüzeyine eşit olarak yayılmasını sağlamamız durumunda kütlelerin frekans değişimi ile ilişkisini Sauerbrey aşağıda verilen eşitlik ile sağlanabileceğini göstermiştir [15].

$$Df = \frac{-2fo^2}{A\sqrt{Pq \cdot \mu q}} \cdot n \cdot Dm$$

$$Dm = -c \cdot n \cdot Dm \quad (3.1)$$

Df: frekans değişimi

fo: kristalin temel rezonans frekansı

A: piezoelektrik aktif alanı

Pq: kuartz kristalin yoğunluğu

$\mu q$  : AT kesim kuartz kristalin kesme indisi

Dm: kütle değişimi

n: harmonik numarası

C: kalibrasyon sabiti

Yukarıdaki eşitlikten de görülebildiği üzere kristalin temel frekansı yüzey alan yoğunluğu ve kristalin indisi sabittir. Burada frekansın değişmesine etken olarak kuartz kristalin yüzeyine yapıştırılan kütle miktarıdır [22].

Birim yüzeye karşılık gelen kütle miktarı ile frekans değişimleri hesaplanabilir. Sauerbrey eşitliğini kullanarak kristal kütlenin yüzde ikisine kadar yapılan kütle ölçümlerinde kesin sonuçlar çıkarılabilmektedir [23,24,25].

Kuartz kristal yüzeye yapıştırılan kütle miktarının kristalin kütlelerinin yüzde ikisinden fazla olması kütle değişimi ve frekans arasındaki bağıntıyı lineer olmaktan uzaklaştırır.

Bu durumda aşağıdaki z eşleme yöntemi kullanılır;

$$Z = \frac{\sqrt{Pq \cdot \mu q}}{\sqrt{Pf \cdot \mu f}}$$
$$\frac{Dm}{A} = \frac{Nq \cdot Pq}{\pi \cdot z \cdot fL} \tan^{-1} \left[ Z \cdot \tan \left( \pi \left( \frac{fo - fL}{fo} \right) \right) \right]$$
(3.2)

Z: film tabakasının Z faktörü

fL: yüklü kristalin frekansı

fo: kristalin temel rezonans frekansı

Nq: AT kesim kristalin frekans sabiti

Dm: kütle değişimi

A: piezoelektrik aktif alanı

Pq: kuartz kristalin yoğunluğu

Pf : film yoğunluğu

$\mu q$  : AT kesim kuartz kristalin kesme indisi

$\mu f$  : filmin kesme indisi

Belirttiğimiz bu eşitlikler metal kaplama metal oksit ve ince filmler gibi tekrar eden hareketler (salınım) boyunca enerji çıkarmayan esnek maddeler için geçerlidir. Bu nedenle salınım sırasında kristalin üzerine eklenen polimer gibi esnek olmayan kütleler için bu eşitlik uygulanmamaktadır [25]. Kuartz kristal mikrobals tekniği ile ilgili yapılan çalışmalarda kristal üzerine eklenen madde miktarı yalnızca gaz fazında ölçülmüştür bu deneyler sonucunda çevre kirliliğinin ölçümünde kullanılan sensörler üretilmiştir [26].

### 3.4 Qcm Tekniğinin Kullanıldığı Alanlar

Aşağıda QCM tekniğinin farklı kullanım alanları sıralanmaktadır:

DNA ve RNA' nın tamamlayıcı iplikleri arasındaki etkileşimler.

Protein ligandlarının immobilize reseptörler tarafından özgül tanınması, immunolojik reaksiyonlar [27].

Virüs kapsitlerinin bakterilerin, memeli hücrelerinin ortaya çıkartılması

Hücrelerin, liposomların ve proteinlerin adezyonu

Yüzeylerin biyo uyumluluğu.

Biyofilmlerin oluşturulması ya da oluşumunun engellenmesi [27].

Seçici yüzeylerin yaratılması

Lipid membranlar

Polimer kılıflar

Reaktif yüzeyler

Gaz sensörleri

İmmunosensörler [27].

Langmuir ve Langmuir-Blodgett filmleri

Polielektrolit adsorpsiyonu

Spin kaplama

İki tabaka oluşumu [28].

Yüzeylerdeki yüzey aktif madde etkileşimleri

Yüzey aktif maddelerin etkinlikleri [27].

Polimer kılıfların bozunumu

İlaçların moleküler etkileşimi

Farmakolojik maddelere karşı hücrel yanıt [28].

Nem analizörleri

Kontaminasyon monitörleri

Elektrovalans Ölçümleri

Metal filmler üzerindeki Hidrojen absorpsiyonu

Kabarcık oluşumu

Redoks ve iletken polimer araştırmaları

Korozyon çalışmaları

Yüzey oksidasyonu

DNA ve RNA hibridizasyon çalışmaları

Protein-Protein etkileşimleri  
Akıllı biyomateryaller [27].

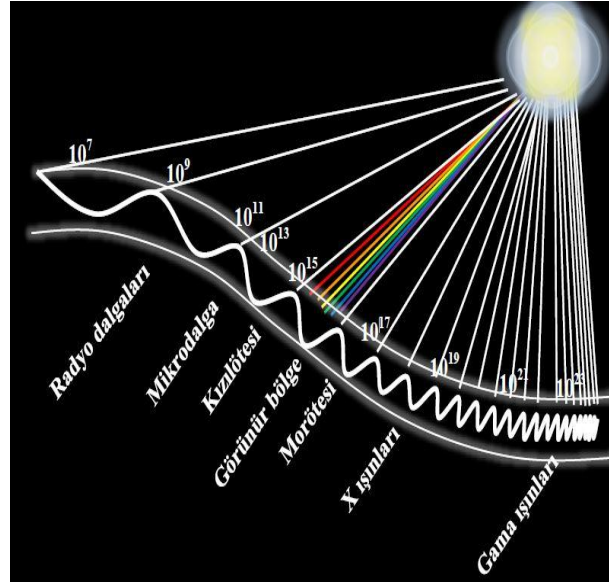
## 4. UV- GÖRÜNÜR SPEKTROSKOPİSİ

Uv-görünür bölge spektroskopisi genel olarak elektromanyetik ışımaların madde ile etkileşimi sonucunda ışığın soğrulması veya yayınlanmasıdır. Gelişen teknoloji ile birlikte farklı dalga boyları aralıklarında (örneğin 200-2000 nm) ölçüm yapabilen spektrofotometreler bulunmaktadır [29].

Spektrofotometre: maddenin yoğunluğunu ölçerek madde miktarının bulunmasını sağlayan cihazlardır. Atomlar elektromanyetik ışımalar sonucunda değişik enerji düzeylerinde bulunabilirler [10]. Elektronlar bu ışımalar sonucunda yüksek enerji düzeyinden düşük enerji düzeyine geçişine emisyon (yayımlama), düşük enerji düzeyinden yüksek enerji düzeyine geçişine ise absorpsiyon (soğurma) spektrumları denir. Uv görünür bölge 190-400 nm ve 400 – 700 nm dalga boyu aralıklarındaki elektromanyetik ışımaları incelemektedir [30,31].

### 4.1 Elektromanyetik (Tayf) Spektrum

Elektromanyetik dalgaların farklı frekans ve dalga boylarına göre sıralanması sonucu, elektromanyetik spektrum ortaya çıkmıştır. Bazı elektromanyetik dalgaları duyu organlarımız ile algılamamız mümkün değildir. Örneğin radyo dalgaları, kızıl ötesi, mor ötesi gibi.

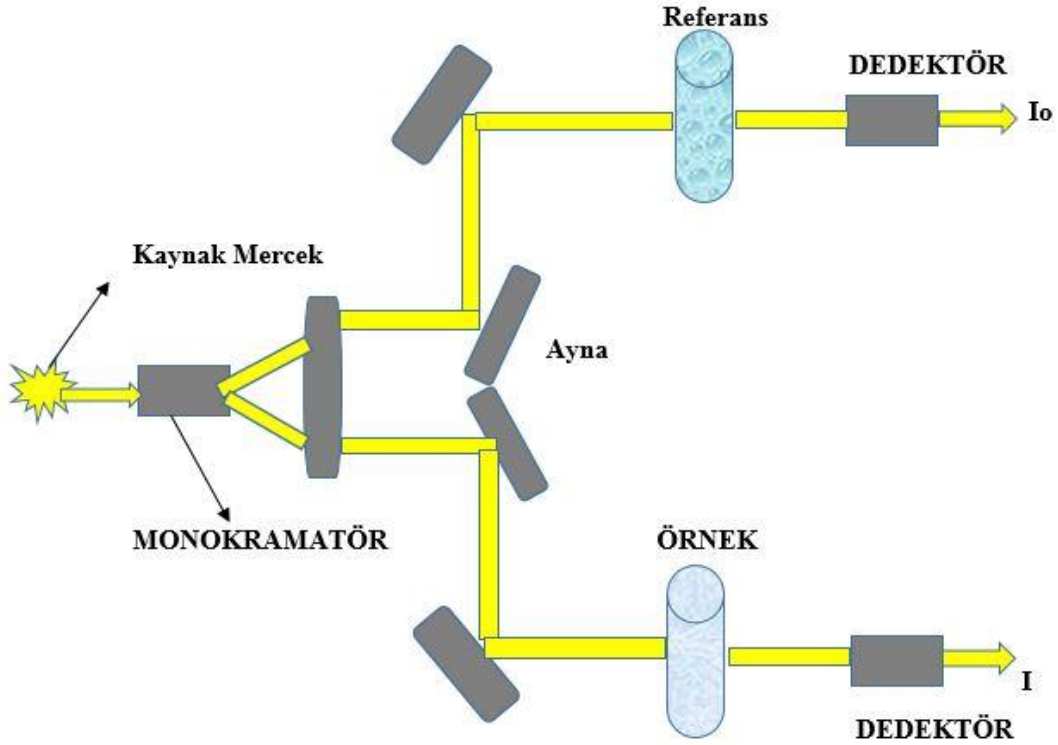


Şekil 4.1: Elektromanyetik spektrum.

Elektromanyetik dalgalar enine dalgalar olmakla birlikte elektrik alanda ışık tanecikleri olarak adlandırılan foton parçacıkları şeklinde hareket etmektedirler[1].

## 4.2 Çalışma Prensibi

Uv-görünür bölge spektroskopisinin çalışma prensibinin temelini oluşturan, foton demetinin bir örnek çözeltilerden geçtikten sonra ışığın bir kısmının soğurulması sonucunda ışık şiddetinin azalmasıdır. Uv-görünür bölge dalga boylarını birçok molekül soğurur [32].



Şekil 4.2: Uv görünür bölge spektrofotometresi [29].

Işık ışınları kaynaktan çıktıktan sonra farklı dalga boyuna ayrılarak iki kısımda hareket eder. Yukarıda gösterilen düzenek yardımı ile bir kısmı referans diğer kısmı ise örnek üzerinden geçerek detektöre ulaşır ve detektör yardımı ile soğurma şiddeti hesaplanır.

Sistemin çalışma prensibi elde ettiğimiz çözeltinin ışığı farklı dalga boylarında geçirmesi sonucunda çözeltinin içindeki madde miktarı ile doğru orantılı bir şekilde ışığı soğurur. Madde miktarı arttıkça soğurulan ışık miktarı o oranda artar. Çözeltideki tüm maddeler ışığın farklı dalga boylarını yakalarken diğer dalga boylarını geçirir veya yansıtır [10].

Uv görünür bölge spektroskopisi günümüzde yaygın olarak ince filmlerin sensör ölçümü için kullanılmaktadır [33].

Sensör için elde edilecek filmler hava ortamında soğurulduktan sonra ortama gaz molekülleri gönderilerek gaz molekülleri sensör tarafından dedekte edilerek tekrar ölçüm yapılır. Bu iki



ölçüm arasındaki fark karşılaştırılır. Böylece sensörün gaz moleküllerinin tespiti hakkındaki veri elde edilir [34].

UV görünür bölge spektrofotometresi LB filmlerinin üretiminde kullanılır. LB filmlerinde üretimin sağlanmasını doğrulamak için kullanılır [35,29].

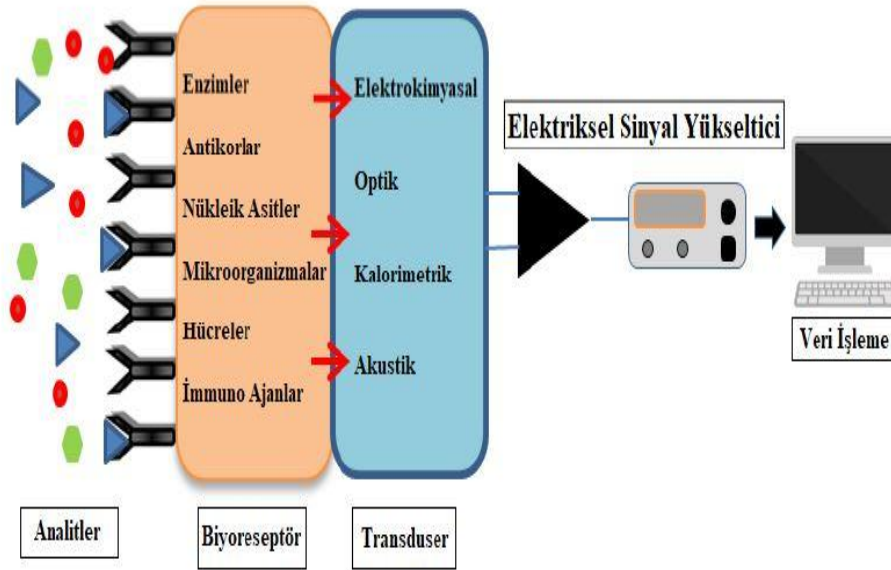
## 5. BİYOSENSÖRLER

### 5.1 Biyosensör Nedir

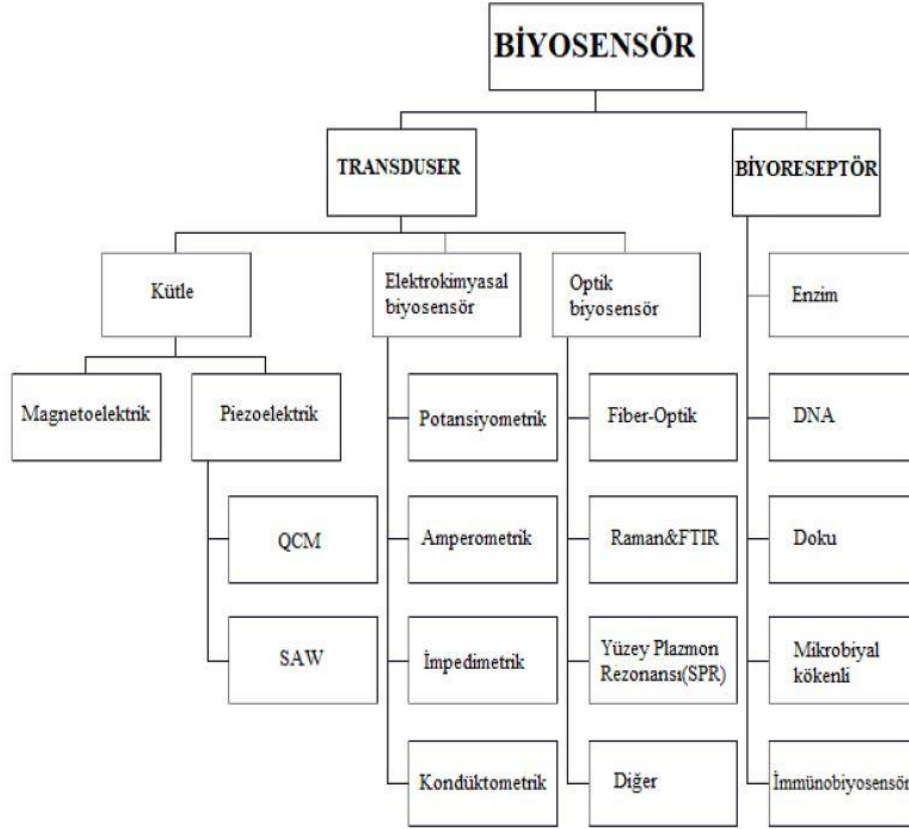
Biyosensörler, bünyesinde biyolojik bir duyargaç bulunduran fizikokimyasal bir çevirici ile birleştirilmiş analitik cihazlar olmakla birlikte biyokimyasal taneciklerin algılanmasında kullanılan cihazlardır [36].

Canlılar yaşadıkları dünyadaki gelişmeleri anlık algılayıp yaşamlarını buna göre şekillendirmek zorundadırlar. Canlıların bu algılama mekanizmasından esinlenilerek biyosensörlerin laboratuvar koşullarında uygulaması için temel oluşturulmuştur [37].

Çevresel etkilerden gelen fiziksel ve kimyasal değişiklikleri algılayıp elektriksel sinyallere çeviren elektronik aygıtlara sensör denir. Biyosensörler iki ana kısımdan oluşmaktadır: Birinci kısım, reseptör (alıcı) ikinci kısım ise transducer (çevirici) kısım olmak üzere iki ana bileşeni vardır[38]. Birinci kısım reseptör (alıcı), tayin edilecek maddenin seçiciliğinden sorumludur, ikinci kısım yani çevirici kısım ise dönüştürücü görevi yapan fiziksel veya kimyasal sinyali, analitin tanınması ile birlikte elektriksel sinyale çeviren biyosensörün tamamlayıcı diğer bir kısmıdır. Bunlara örnek olarak piezoelektrik kristalleri ve oksijen elektrotları örnek olarak verilebilir [39].



Şekil 5.1: Biyosensörün çalışma mantığı [40].



Şekil 5.2: Biyosensörlerin sınıflandırılması [40].

Biyosensörler ilk olarak L.C. Clark'ın kandaki oksijen oranını  $O_2$  duyar bir elektrot ile ameliyat esnasında izledikten sonra 1962 yılında  $O_2$  duyar amperometrik elektrot üzerine glukoz oksidaz enzimini immobilize ederek glukoz biyosensörü geliştirmiştir.

L.C. Clark'ın geliştirdiği bu glukoz biyosensörünün ardından yıllar içerisinde birçok biyosensör geliştirilmiştir [41]. Sensörlerin gelişimi ve seri üretimi konusunda yapılan araştırma ve çalışmaların bütünü günümüz teknolojisi ile birleştirilerek istenilen özelliklere sahip yeni sensörlerin üretimi, hem ihtiyaçların karşılanıp hem de ekonominin gelişmesi ve dışa bağımlılığın azaltılması konusunda önemli bir rol oynamaktadır [42].

## 5.2 Biyosensörler İçin Uygulama Olanakları

Tıbbi analizörlere enzim elektrotları takılması sonucunda biyosensörler tıp alanında yoğun bakım servislerinde kullanılması sağlanmıştır. Son yıllarda biyoteknoloji ve gıda sanayiinde glukoz başta olmak üzere; monosakkarit, organik asitler, üre ve alkol tayinlerinde enzim sensörleri kullanılmaya başlanmıştır. Gıdalardaki pestisitler, toksinler ve hormonlar gibi yabancı maddeler yanında; gıda aroması ve tazelik gibi değişkenlerin analizinde biyosensörler kullanılmaktadır [43]. Bunların dışında su toprak ve hava kirliliğinin kontrol altına alınmasında enzim sensörleri aynı zamanda mikrobiyal sensörler kullanılmaktadır [44].

Biyosensörler tarım, gıda üretimi ve analizi, ilaç sanayi, virüs teşhisi, atık su kontrolü, çevre kirliliğinin kontrolü ve askeri alanlarda uygulama olanağı sağlamaktadır [45].

Biyosensörlerin kullanım amaçlarına göre birçok çeşidi vardır:

Bunlar; manyetik alan, hız, sıcaklık, basınç, gaz, nem ve titreşim sensörüdür [46].

## 5.3 Biyosensörlerin Tasarımı

Biyosensörler; biyolojik etkileşimlerde hedef analitleri kontrol etmek için kullanılan algılayıcı parçalardır [37]. Birbirine geçmiş bir şekilde, biri elektrokimyasal diğeri biyokimyasal özellikte iki adet sinyal çeviriciden oluşmaktadır. Biyokimyasal olan kısmı çözümlenecek madde ile etkileşerek onu tanımaktadır[37,44]. Bu tanıma sonucunda biyokimyasal bir ürün oluşmaktadır [47]. Biyosensörün ikinci kısmı yani elektrokimyasal kısım ise biyokimyasal kısmın gerçekleştirdiği tanıma işleminden sonra bu tanıma işlemi ölçülebilir sayısal bir veri olarak çevirmektir [48].

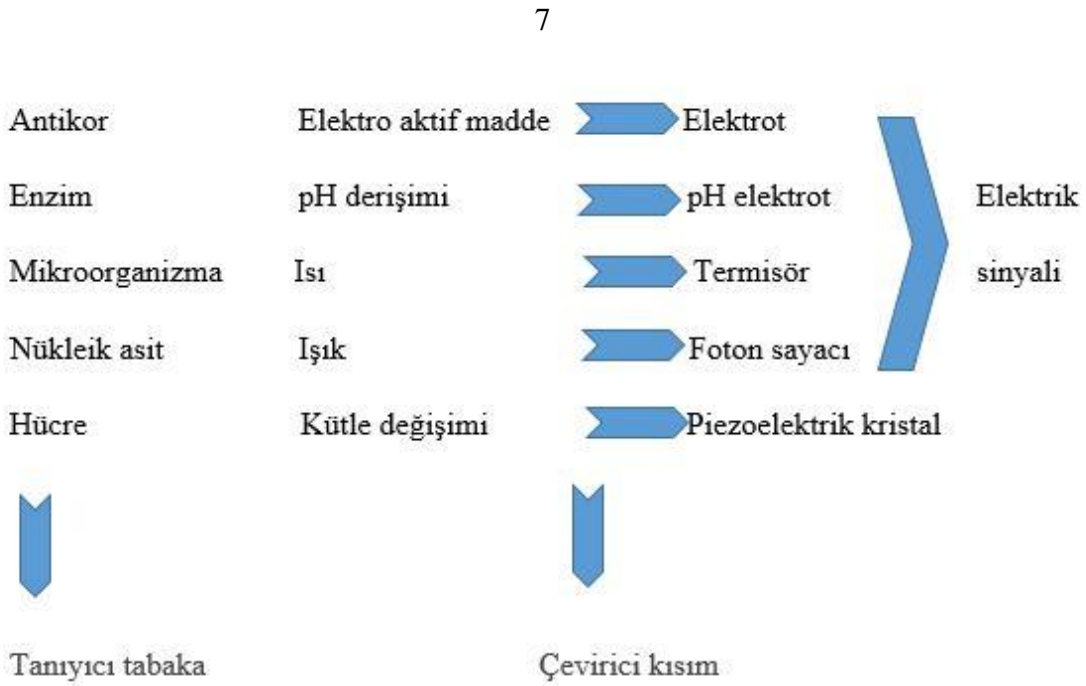
Biyosensörler metal iyonlarının, anorganik ve organik maddelerin, nükleik asitler ve mikroorganizmaların tayin edilmesine olanak sağlar [49]. Bütün bu analitleri tanıyabilecek olan biyoaktif tabaka ise enzimler başta olmak üzere antikolar, doku parçaları, lipidler ve reseptörler olarak sıralanabilir [50].

Biyosensörlerde bulunan biyoaktif tabaka (enzimler, doku parçaları, nükleik asitler vb.) analiti tanıyarak bir etkileşim gösterir [51]. Bu etkileşim sonucunda ortaya çıkan sinyalleri gözlemleyebilmek adına elektrokimyasal, optik, piezoelektrik (QCM), gibi sistemlerden yararlanır. Biyolojik sistem ve sinyal iletici sistemin uyumlu bir şekilde etkileşmesi, biyosensörün etkili bir biçimde hazırlanmasında önemli bir rol oynamaktadır [52].

#### 5.4 Biyosensörlerin Yapısı ve Çalışma Prensibi

Bir biyolojik elementin analiz edilecek madde ile etkileşime girmesi sonucunda fiziksel veya kimyasal değişiklikler, kullanılan biyolojik elementin uygun bir çevirici sistemiyle birleştirilmesi sonucunda ölçülebilir bir elektronik sinyale çevirmektir [53].

Aşağıdaki şekilde bir biyolojik elementin elektrik sinyaline dönüştüğü süreç üç aşamalı olarak şematize edilmiştir [54].



Şekil 5.3: Bir biyolojik elementin elektrik sinyaline dönüşmesi.

#### 5.5 Biyosensörlerin Avantajları ve Tercih Sebebi

Biyosensörler ile ilgili yapılan tüm çalışmalarda düşük konsantrasyonlarda madde analizi ve tayini önem kazanmıştır [36]. Bu amaçtan yola çıkarak geliştirilen tüm biyosensörlerde hedef daha düşük tayin sınırı elde etmektir [55].

Elektrokimyasal biyosensörler bu açıdan düşük tayin sınırı kolay seçicilik ve kolay uygulanabilirlik açısından oldukça avantajlıdır. Bu avantajlarından dolayı özgül kantitatif ölçüm duyarlı doğrusal ve basit parametreleri yanında çok geniş ölçüm alanı ve düşük tayin sınırının yanında; tek kullanımlık modellerinin olması, ucuz olmaları, düşük miktarda güç

gereksinimi, taşıma kolaylığı ve bulanık ortamlarda dahi kullanımına imkan vermesi gibi birçok özelliği biyosensörlerin tercih edilme sebebidir [56].

## **5.6 Biyosensör Çeşitleri**

Biyosensörler kullanılan analit (biyolojik element) türüne göre veya çevirici türüne göre sınıflandırmak mümkündür. Çevirici türüne göre sınıflandıracak olursak elektrokimyasal, optik, termal, piezoelektrik olmak üzere dört ayrı gruba ayırabiliriz [57].

### **5.6.1 Elektrokimyasal Sensörler**

Genel olarak DNA'ya bağlı ilaç, glukoz derişimi gibi saptamalar için kullanılmaktadır. Bu tür biyosensörlerin temel ilkesi birçok kimyasal tepkimenin iyon ya da elektronları üretme ve tüketmesidir. Bunun sonucu olarak çözeltinin elektriksel özelliklerinde birtakım değişimler meydana gelir. Bu değişimler ölçülerek çeşitli parametreler olarak kullanılır [58]. Elektrokimyasal biyosensörler, elektriksel parametrelerin ölçümü sonucuna göre kondüktometrik, amperometrik ve potansiyometrik olarak sınıflandırılabilir [59].

### **5.6.2 Piezoelektrik Sensörler**

Anizotropik malzemelere bir kuvvet uygulandığı zaman, bu malzemelerin yapısında meydana gelen sıkışma sonucunda elektrik potansiyeli ortaya çıkar. Bu olay piezoelektrik olarak tanımlanır. Bu etkinin görüldüğü malzemelere piezoelektrik malzemeler denir. Piezoelektrik malzemeler organik, inorganik ve biyomolekül olarak bulunmaktadır. İnorganik yapıda olanlara kuartz, alüminyum fosfat, çinko oksit vs; organik yapıda olanlara poliaktikasit, poliamid vs. biyomolekül yapıda olanlara ise selüloz, kolajen vs. örnek olarak verilebilir. En çok tercih edilenleri arasında kuartz kristaller bulunmaktadır. Çünkü ucuz ve yaygın olmaları ayrıca 5-300 MHz aralığında frekans değerine sahip olmalarından dolayı bu malzeme daha çok tercih edilir [60].

Bu olay sensör yüzeyinde madde emilimi sağlayarak biriktirilen maddeye piezoelektrik kristalindeki rezonans frekansının değişimi sonucu gerçekleşir. Bu değişim analiz edilerek sonuç elde edilir [61].

### 5.6.3 Tekniğin Yapısı

Sensörler kısaca elektriksel sinyallere dönüştürülebilen cihazlar olarak tanımlanabilir. Sensörler için kullanılan QCM kuartz kristalin çok ince yapıda olması özelliği, sayesinde üzerine pres uygulandığında piezoelektrik özelliği mekanik güç elde edilmesine olanak sağlar[62].



Şekil 5.4: Piezoelektrik esaslı enzim sensörünün şematik gösterimi [54].

### 5.6.4 Enzim Sensörleri

Enzim sensörlerinde hedeflenen molekül enzimdir. Ortamda bulunan analitin derişimi sonucunda değişen sinyaller oluşturulur. Oluşturulan sinyaller analitik cihazlar ile ölçülür. Bu analitik cihazlara enzim biyosensörleri denir [63].

Bu işlemler sırasında enzim substratı ile tepkimeye girdikten sonra oluşan sinyal, dönüştürücü aracılığı ile biyosensörler tarafından ölçülür. Bu sinyal enzimatik tepkime sonrası oluşan proton değişimi bazen oksijen gazı ve amonyak gazlarının ortamda bulunması veya absorpsiyon ve emisyon olayları esnasında ortaya çıkmaktadır [41].

Biyosensörler tarafından sinyal oluşturulduktan sonra bu sinyal; dönüştürücü vasıtası ile elektrokimyasal, termal ve optik gibi cevaplara dönüşmektedir. Günümüzde amperometrik

ve potansiyometrik enzim esaslı elektrot şeklinde uygulama alanı bulan biyosensörler vardır [64].

Enzimin kullanıldığı biyoaktif tabakanın uygun bir iletim ve ölçüm sistemi ile birleştirilmesi sonucu enzim elektrotları hazırlanabilir. Enzimatik tepkime sonucunda oluşan ürünün doğru bir şekilde artışının, doğru bir şekilde tespiti ile sisteminin doğru bir şekilde belirlenmesi ile mümkündür [41].

Enzim sensörleri genel olarak tepkime sonucunda oluşan sinyalin farklı şekillerde ölçülmesi esasına göre çalışmaktadır [64]. Bunlardan bazıları aşağıda listelenmiştir.

- ▶ Elektrokimyasal Esaslı Enzim Sensörleri;
- ▶ Amperometrik Enzim Sensörleri
- ▶ Potansiyometrik Enzim Sensörleri
- ▶ Yarı İletkenleri Esas Alan Enzim Sensörleri
- ▶ Optik Enzim Sensörleri
- ▶ Kalorimetrik Enzim Sensörleri

### **5.7 İdeal Bir Biyosensörün Sahip Olması Gereken Özellikler**

▶ **Seçicilik:** Bir biyosensörün seçiciliği yeterli değilse uzun ek işlemlerden sonra bu eksiklik tamamlanmalıdır. Biyosensörün, biyosensör olma nedeninin en başında seçicilik gelmektedir. Antikorlar ve nükleik asitler biyomateryal olarak kullanılmaktadır ve biyosensörlerde seçicilik sıralamasında ilk sırada yer almaktadırlar [41].

▶ **Kullanım ömrü:** Biyolojik çeviricinin aktivitesindeki azalma biyosensörün ömrünü kısıtlayan en önemli faktörlerden biridir. Bu durumda biyosensörün kalibrasyon, stabilite ve tekrarlanabilirlik gibi diğer parametreleri etkilenebilmektedir [41].

▶ **Kalibrasyon gereksinimi:** Kalibrasyona gerek duymaksızın veya en az düzeyde kalibrasyona gereksinim duyması istenir. Fakat bu durum reelde gerçekleştirilememiştir. Biyosensörler kullanıldıkları süre içerisinde sıklıkla kalibre edilmelidir [63].



► **Tekrarlanabilirlik:** Biyosensörlerde kullanılan elektrodun tekrar tekrar yapılan ölçümlerde birbirine yakın sonuçların okunması beklenir.

Pratik olarak pek mümkün olmayan bu durum değerlendirilerek yapılan çalışmalarda tekrarlanabilirlik parametresi incelenmelidir. Bu durum ne kadar iyi olursa biyosensörün uygulamaları içinde okadar iyi olduğu düşünülebilir [63].

► **Stabilite:** Elektrot kararlılığının yüksek oranda olması, biyosensörler için kaçınılmazdır. Bu özellik, biyosensörlerde kullanılan biyolojik materyalin fiziksel dayanıklılığına bağlıdır [63].

► **Yüksek duyarlılık:** Biyosensöre sabitlenmiş biyolojik bir materyalin belli başlı maddelere karşı duyarlı olması gerekir [41].

► **Yeterli düzeyde tayin sınırı:** Kullanılan biyosensörün tayin sınırı, belli bir derişim değerinin altında olmalıdır. Bu sınır değeri; elektrot yüzeyinin büyüklüğü, biyolojik materyalin tayin edilecek maddeye afinitesi, immobilize edilen madde miktarı gibi faktörlerden etkilenir [41].

► **Geniş ölçüm aralığı:** Bu ölçüm aralığı biyosensörlerden alınan akım – derişim eğrilerinin lineer derişim aralığıdır [64].

► **Hızlı cevap zamanı:** Biyosensörlerde elektrodun cevap zamanı akım- zaman eğrilerinden anlaşılabilir. Basamakların şekli yayvan ve geniş ise cevap süresi daha uzun (yavaş) tersi durum söz konusu ise daha kısa (hızlı) dır [64].

► **Hızlı geriye dönme zamanı:** İlk örnekten sonra ikinci örneğin; ne kadar zaman sonra ölçülebileceğinin belirlendiği zamandır [63].

► **Basit ve ucuzluk:** Biyosensörün tasarımı basit, kullanımı rahat olmalıdır. İlk biyosensörlerdeki yapılar, pahalı ve karmaşık yapılar daha basit hale getirilmiş ve maliyeti oldukça düşürülmüştür [63].

► **Küçültülebilirlik ve sterilize edilebilirlik:** Biyosensörlerde kullanılan elektrotların sterilize edilmesi ve boyut olarak küçültülmesi biyosensörlerin tasarımında oldukça önemlidir. Buna rağmen biyosensörlerin yapısına eklenen biyolojik materyallerin fiziksel olarak dayanıklılığı, sterilizasyonu kısıtlayan parametredir [14].

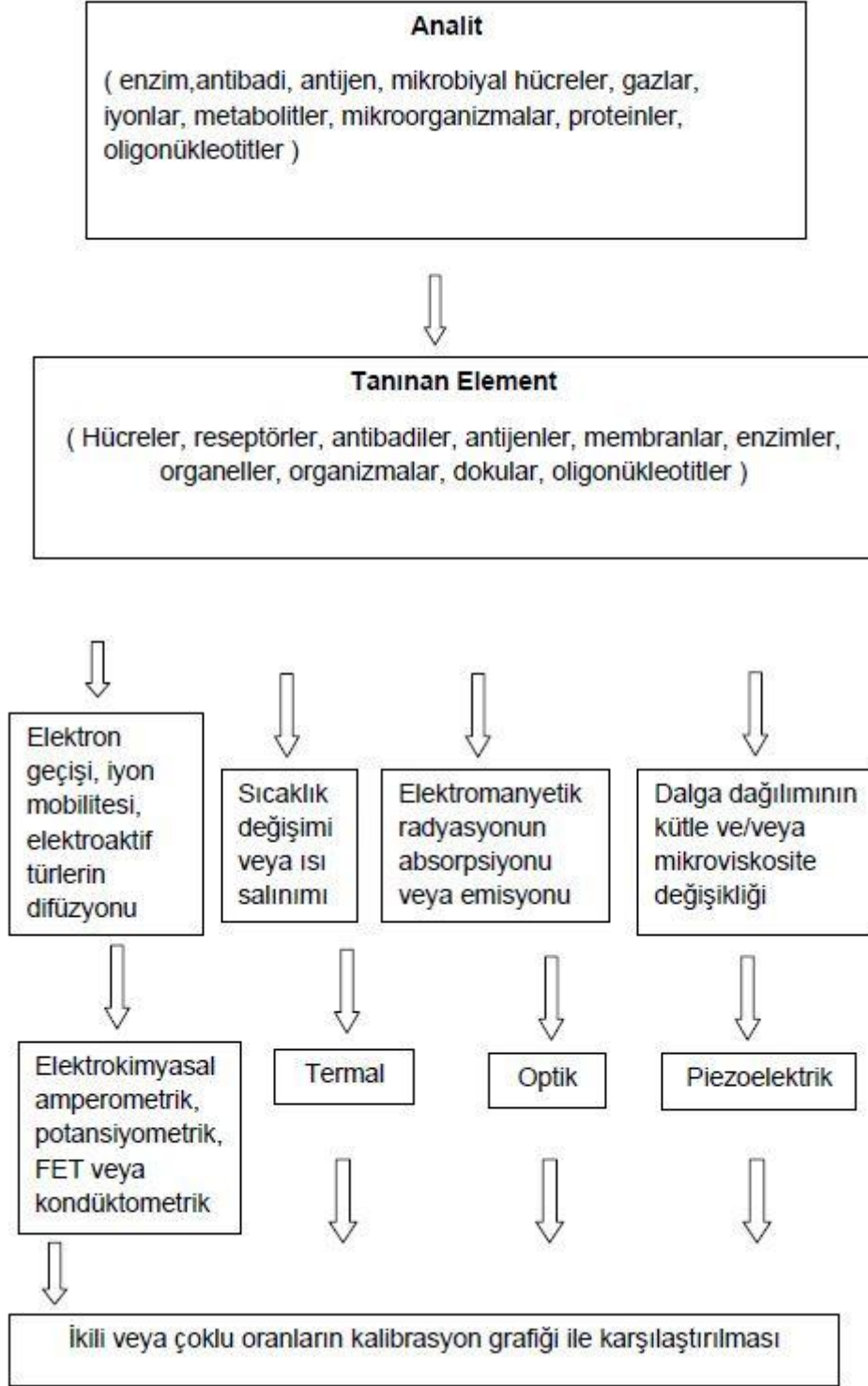
## 5.8 Biyosensör Dizaynında Dikkat Edilmesi Gerekenler

Bir biyosensör tasarlanırken dikkat edilmesi gereken hususlar sırası ile şöyledir;

► Biyosensör ile analitin uygun olması.

► Uygun ve verimli immobilizasyon yöntemi seçilerek biyosensör dönüştürücüye sabitlenmelidir.

► Biyosensörün analiti tanımasından sonra kimyasal ve fiziksel sinyali anlaşılabilir sinyale dönüştürecek olan, transducerin (dönüştürücü) seçilmesi ve dizayn edilmesi [65].



**Şekil 5.5:** Biyosensörlerin çalışma mekanizması [65].

### **5.9 Biyosensör Yapımında Kullanılan Materyaller**

Biyosensörün gelişmesi için reseptör seçimi önemlidir. Biyosensör immobilizasyonunun gelişmesi için bakır gümüş, altın sikon nanopartiküller, grafen ve karbon nanotüpler vb. karbon bazlı malzemeler geniş bir alanda kullanılmaktadır [65].

Biyosensörler için nanopartikül bazlı malzemeler birçok biyosensör türlerini geliştirmek için hassiyet sağlar.

Metalik olarak altın partikülleri oksidasyona karşı stabiliteyi nedeni ile daha çok kullanılma imkanına sahiptirler [66].

### **5.10 Polifenol Oksidaz (PPO) Enzimi**

Polifenol oksidaz; bitki, hayvan ve mikroorganizmalar başta olmak üzere sebzelerde ve meyvelerde yaygın olarak bulunmaktadır [67]. Melanin pigmentlerinin oluşması ve gelişmesinde etkin rol oynamaktadır. Polifenol oksidaz iki şekilde sınıflandırılır [68].

Meyve ve sebzelerin kesilmesi ve deforme olması gibi durumlarda fenol bileşiklerinin oksitlenerek ortaya kahverenginde kararmaya neden olan enzimlerin çıkması polifenoloksidaz olarak adlandırılır.

PPO meyve ve sebzelerin bir çeşit savunma mekanizmalarıdır, kesildiklerinde yapılarında bulunan fenolik bileşikler oksitlenerek polimer yapılara dönüşür.

PPO nün dağılımı meyve ve sebzelerin her kısmında farklı oranda bulunmakla birlikte yaşına cinsine yetiştirildiği bölgeye ve bitkilerin olgunluğuna bağlı olarak farklılık gösterir. Örneğin: elmanın çekirdek kısmında bulunan enzim kabuk ve diğer kısımların daki enzimlere göre daha çok aktiflik göstermektedir. Armutta ise PPO enziminin aktivitesinin en çok bulunduğu yer ise kabuk kısmıdır.

Yapılan araştırmalarda PPO enziminin yeşil bitkiler de en yüksek olduğu bölgenin kloroplastlarda bulunduğu ortaya çıkarılmıştır [69]. Bitkilerde enzimatik kararma, büyük bir problem olmakla birlikte ticari anlamda olumsuz etkilerinin yanı sıra ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Örneğin meyvelerde elma muz armut; sebzelerde ise mantar ve patates olmak üzere bunların dışında kabuklu deniz ürünleri bunlara örnek olarak verilebilir. Meyve, sebze ve bitkilerde PPO enziminin etkisi sonucu katalizör enzimatik kararmalar, ürünlerin saklanması, endüstriyel işlemler, kesilmesi, ezilmesi gibi durumlarda oksijenin etkisi ile oluşur. İstenmeyen bu kararma, enzimin reaksiyonları inaktive edilmesi ile önlenebilir.

Tüm bunların aksine siyah çay ve siyah üzüm gibi besinlerde tam tersine PPO enziminin enzimatik bir kararmaya neden olması bu ürünlerin üretiminde çok önemlidir [68].

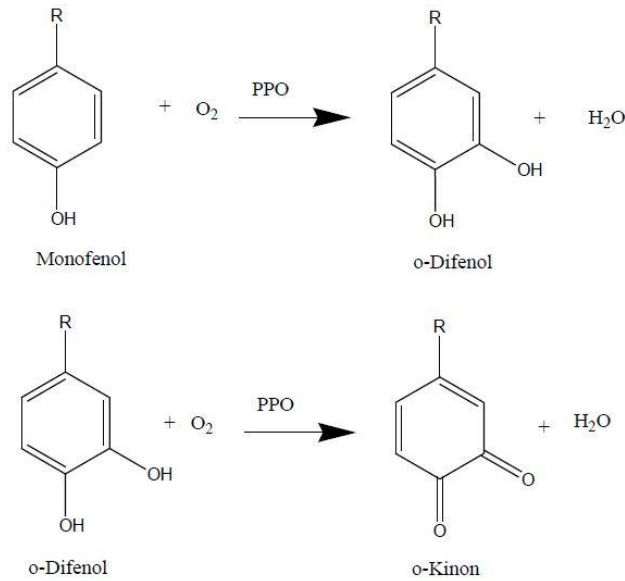
### 5.10.1 Molekül Yapısı

Ppo enzimi birden fazla alt birimden oluşan oligomerik yapıya sahiptir. Enzimin sahip olduğu alt birim sayısı substrata bağlı olarak değişmekle birlikte enzimin izole edildiği kaynağa da bağlıdır.

Yapılan araştırmalar çeşitli meyve ve sebzelerdeki alt birimleri şu şekilde ortaya çıkarmıştır. Örneğin; patlıcan 2 alt birim, kayısı iki alt birim, şeftali dört alt birim, kivi'nin sekiz alt birime sahip olduğu ortaya çıkmıştır. Bunların dışında elma meyvesinde PPO enzimi için katekol ve L-DOPA substratları kullanılmış ve 3 tane izozim olduğu ortaya çıkarılmıştır [70].

### 5.10.2 Reaksiyonları ve Mekanizması

Polifenoloksidaz enziminin etkileşim sürecinde monofenolleri hidroksilasyon ile birlikte o-difenollere dönüştürür sonrasında ise o-difenolleri dehidrojenerasyon ile oksijenin hazır bulunduğu ortamda o-kinonlara katalizlemektedir. O-kinonların non-enzimatik polimerizasyonu, oksidatif bileşen tarafından bir seri halinde oligamerizasyon ve polimerizasyon reaksiyonu ile melanin veya melanin benzeri bileşenleri oluşturur [70].



Şekil 5.6: PPO'nun katalizlediği reaksiyonlar.

### 5.10.3 Aktivitesini Etkileyen Faktörler

► **Ph etkisi:** pH etkisi her enzim ve substrat a göre değişmektedir

► **Sıcaklığın etkisi:** PPO enzimi her bitki türünde farklı sıcaklıklar da etki eder. Örneğin meyvelerde bu sıcaklık değeri 25-30 C aralığında etkilidir [71].

## 6. SENSÖR MALZEMESİNİN HAZIRLANMASI

Biyosensörlerin son yıllarda öneminin artması ile enzim temelli sensörlerin geliştirilmesinde kullanılan sarf ve metotlar büyük önem kazanmıştır. Özellikle biyosensörlerin temeli oluşturan enzimler farklı teknikler kullanılarak geliştirilebilir ve biyosensör kullanımına uygun hale getirilebilmektedir. Dolayısıyla hem farklı enzimlerin saflaştırılması hem de farklı biyosensör üretim tekniklerinin gelişimi sensör çalışmalarını ileri taşımaktadır. Bu çalışmada enzim olarak Polifenol oksidaz (PPO) enzimi seçilmiş ve muzdan saflaştırılmıştır.

Çalışmada biyosensör sistemi ince film halinde üretilmiştir. Üretilmesi planlanan biyosensörde aktif tabaka yani zararlı gaz ile etkileşime girecek bölümü PPO enzimi oluşturmaktadır. Bu enzimi ince film halinde bir katı yüzey üzerinde üretebilmek için bir alt tabaka daha kullanılmıştır. Bu tabakaya destek malzemesi adı verilir ve enzim sistemlerinin tasarımı için çok önemlidir. İdeal bir destek malzemesi, basınca fiziksel direnç, biyoyararlanım, mikrobiyal saldırılara direnç, hidrofilik olma, enzim seçiciliğini artırma, ürün inhibisyonunu azaltma gibi özelliklere sahip olmalıdır [72,73]. Enzim tasarımı için çok sayıda destek materyali ve yöntemi uygulanabilmektedir. Bu çalışmada destek malzemesi olarak çitosan ve jelatinden sentezlenen biyokompozit seçilmiştir. Çitosan, kitin enzimlerle kolayca bağlanan reaktif amino ve hidroksil grupları ile deaktilyasyonundan elde edilen doğal bir karbonhidrat biyopolimeridir. Bu destek materyali enzim transferi için ucuz, bol ve yüksek mekanik mukavemete sahiptir [74]. Jelatin; yapışma kalitesine sahip, toksik olmayan doğal bir biyopolimerdir. Gıda ve eczacılıkta geniş bir kullanım alanına sahiptir [75].

Polifenol oksidaz (PPO) (E.C.1.14.18.1) bakır içeren bifonksiyonel bir enzimdir [76]. PPO doğada bitkilerde ve birçok organik yapıda bulunabilmektedir [77,78,79].

Biyokimyacılar ve gıda teknolojileri arasında PPO'ya büyük ilgi vardır [80, 81-85]. Farklı kaynaklardan elde edilebilen PPO, farklı substrat özgüllükleri ve inhibisyon özelliği gösterir [85]. Bu nedenle enzimin karakterizasyonu, bitki ve ürünlerin esmerleşmesini kontrol etmek için daha etkili yöntemlerin geliştirilmesine yardımcı olabilir [86, 87]. Bu gibi avantajları bulunan PPO enziminin biyosensör sistemlerindeki çalışabilirliği bu çalışma test edilmiştir.

## 7. İNCE FİLMLERİN HAZIRLANMASI

Polifenol oksidaz enziminin (PPO) sensör özelliklerini gösterebilecek bir sistemde çalışabilmesi için katı bir yüzeye transfer edilmesi gerekmektedir. Bu sebeple enzimin sensör özellikleri katı yüzey üzerinde ince film formunda incelenmiştir. Üretilecek ince filmler için döner kaplama (spin kaplama) tekniği kullanılmıştır. Bu teknik biyolojik malzemelerin katı yüzeye transferleri için oldukça elverişli bir tekniktir.

İnce film sensör uygulamalarında sensör malzemesinin katı yüzeye çok iyi tutunması gerekmektedir. Bu nedenle PPO tabakasının transferinden önce aynı transfer parametreleri kullanılarak bir tabaka çitosan yerleştirilmiştir. Bu çitosan tabakası PPO filminin katı yüzeyde kararlı ince film oluşturmasında yardımcı olmaktadır.

Döner kaplama tekniğinde öncelikle ince film haline getirilecek malzemenin uygun çözücü içindeki sıvı çözeltisine ihtiyaç vardır. Çitosan malzemesinin asetik asit çözeltisi ile PPO sıvı çözeltisi mikrolitrelik enjektör ile 50µl hacimlerde katı yüzey üzerine serpilmiştir. Bu serpilme işlemi katı yüzeyin döndürülmeye başlamasında sonra istenilen dönüş hızına ulaştığında gerçekleştirilmiştir. Döner kaplama tekniğinde üretilen ince filmlerin tamamı 5000 rpm hızında transfer edilmiştir.

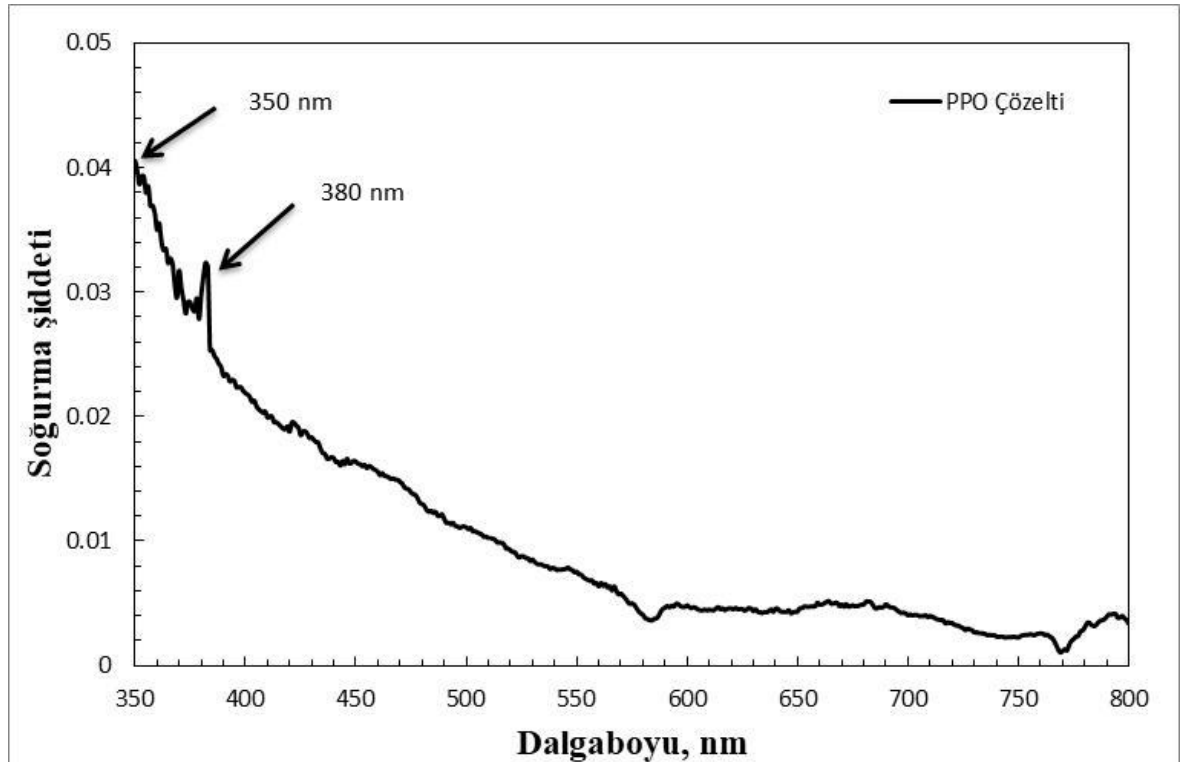
Katı yüzey olarak iki kuartz kristal ve cam olmak üzere iki farklı alttaş kullanılmıştır. Bu iki yüzeyin seçilmesinin sebebi farklı iki spektroskopik yöntem ile ince filmlerin karakterizasyonun gerçekleştirilmesidir. Cam yüzey üzerine transfer edilen ince filmler Uv-görünür spektroskopisiyle, kuartz kristal üzerinde olanlar ise kuartz kristal mikrobalsans sistemiyle incelenmiştir. Ayrıca kuartz kristal mikrobalsans sistemi sensör ölçümlerinde de kullanılarak filmlerin kinetik tepkileri kaydedilmiştir.

## 8. İNCE FİLMLERİN KARAKTERİZASYONU

### 8.1 UV-Görünür Spektroskopisi Sonuçları

İnce filmlerin katı bir yüzey üzerinde üretilibilmelerinin kontrol aşamalarından bir tanesi de UV-görünür spektroskopisidir. İnce film üretiminde kullanılan malzeme kendine özgü bir spektrum vermektedir. Bu spektrum malzemenin sıvı çözeltisinde ve katı fazında, bu farklılıklar dışında birbirleriyle örtüşmektedir. Bu farklılıkların en belirginini sıvı fazında madde miktarının katı yüzey üzerindeki ince filmde çok fazla olmasından dolayı şiddet farkı olarak gözlemlenir. Malzemenin çözelti spektrumu ince film spektrumunda şiddet olarak yüksek gözlenmektedir. Diğer bir farklılaşma ise kırmızıya ya da maviye kayma olarak ortaya çıkar. Bunun sebebi ise katı fazda moleküler etkileşimlerin sıvı fazdakinden daha yüksek şiddette gerçekleşmesidir.

Şekil 8.1’de PPO sıvı çözeltisinin UV-görünür spektrumu verilmiştir. Şekilden görüldüğü gibi 350 nm’de maksimum pik oluşmuş ve bunun devamında 380 nm’de ince bir pik şeklinde bir soğurma daha gerçekleşmiştir.



Şekil 8.1: PPO sıvı çözeltisinin UV-görünür spektrumu.

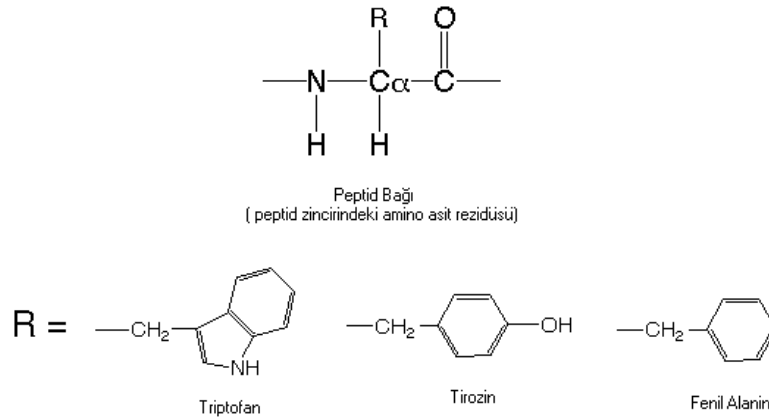


Proteinler, UV bölgesinde maksimum absorpsiyon spektrumuna sahiptirler. Proteinler ihtiva ettikleri tirozin ve triptofandan dolayı 275-280 nm de spesifik bir absorpsiyon gösterirler. Bu amino asitlerin yapıları ve peptid bağı şekil 8.2 de UV absorpsiyon özellikleri Tablo 8.1 de verilmiştir.

**Tablo 8.1:** Aromatik yan gruba sahip amino asitlerin nötral pH da absorpsiyon özellikleri.

Amino asit	$\lambda_{\max}$ (nm)	Molar Absorbans ( $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )
Fenilalanin	257.4	197
Tirozin	274.6	1420
Triptofan	279.8	5600

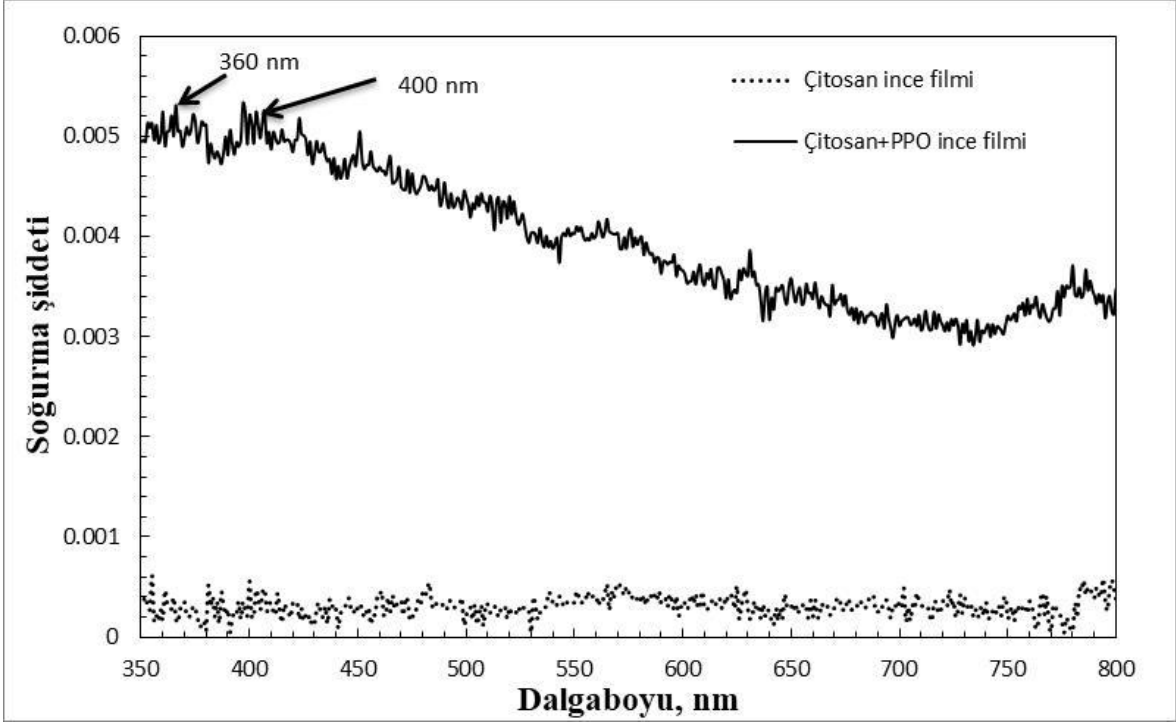
Tabloda görüldüğü gibi özellikle tirozin ve triptofanın maksimum absorpsiyon gösterdiği dalga boyu 280 nm ye oldukça yakındır.



**Şekil 8.2:** Aromatik yan gruba sahip amino asitler ve peptid bağı.

Her bir proteinin (tirozin ve triptofan içerikleri farklı olduğu için) spesifik absorpsiyon katsayıları vardır. Bu değerler kullanılarak numunedeki proteinin konsantrasyonu bulunabilir [88].

Kullandığımız cam slaytlardan dolayı UV bölgesinde gerçekleşen soğurmaların bir kısmı kaydedilememektedir. Ancak bu soğurma sonucu oluşan geniş spektrumun devamı 350nm'den sonra kaydedilebilmektedir.



**Şekil 8.3:** Cam yüzey üzerine kaplanmış biyokompozit ve PPO enzim filmleri UV-görünür spektrumları.

Şekil 8.3’de cam yüzey üzerinde önce alt tabaka olarak kullanılan biyokompozit filminin ve sonrasında bunun üzerine kaplanan PPO filminin UV-görünür spektrumları verilmiştir. Grafikten görüldüğü gibi çitosan tabakasının spektrum üzerinde herhangi bir etkisi bulunmamaktadır. Son transfer edilen PPO tabakasının spektrum üzerindeki değişikliği incelendiğinde Şekil 8.1’e göre düşük şiddette ancak benzer karakteristik sergilediği görülebilir. İnce film oluşumunda tabaka kalınlığı nanometre mertebelerinde olmaktadır. Bu sebepten madde ışık yolu üzerindeki madde miktarı sıvı çözeltisinininkinden çok daha azdır. Dolayısıyla şiddetteki bu düşüş ince film UV spektrumlarına rastlanan bir özelliktir [15]. Şekil 8.1’de 350 ve 380 nm’de gözlenen karakteristik pikler PPO ince filmde de görülebilmez. Spektrum şiddetinin düşük olması bu piklerin belirginliklerini azaltsa da ince film spektrumundaki değişim benzer piklerin bulunduğunu kanıtlamaktadır. Sıvı çözelti içinde PPO molekülleri arasındaki mesafe ince filmdekinden çok fazladır. Katı bir yüzey üzerinde ince film oluşumu PPO moleküllerinin katı faz gibi daha yakın sıralanmaları anlamına gelir. Bu, moleküller arasındaki etkileşimlerin çözülden farklı olmasına neden olur. Buda karakteristik piklerin ince filmde çözüte göre kaymasına neden olur [61]. Çözeltide 350 ve 380 nm’deki pikler Şekil 8.3’de ince film spektrumunda yaklaşık 360 ve 400 nm civarında gözlenmiştir. Şekil 8.1 ve Şekil 8.3 spektrumları karşılaştırıldığında PPO ince filminin cam yüzey üzerine transferinin başarıyla gerçekleştirildiği görülmüştür.

## 8.2 Kuartz Kristal Mikrobals (QCM) Sonuçları

QCM tekniğinde kuartz kristalin frekansının çok küçük kütle değişimlerine duyarlı olması, bu tekniği ince film transfer kontrolü için ideal bir karakterizasyon yöntemi olmasına olanak sağlar. Kuartz kristalin üzerine her bir ince film transferi sonucu değişen kütle sonucunda, rezonans frekansında da değişiklik meydana gelir. Frekans değişiminin miktarı transfer olan kütle ile doğru orantılıdır ve bu miktar Sauerbrey denklemi ile hesaplanabilmektedir [17]. QCM tekniğinde yapılan tüm deneyler Open QCM sistemi kullanılarak 10MHz altın kaplı kuartz kristal ile gerçekleştirilmiştir.

QCM sistemi ile karakterizasyon işlemleri gerçekleştirilen filmler gaz ölçümlerinde kullanılacak filmler ile tamamen aynı yapıya sahiptir. Kuartz kristal öncelikle enzim tabakasının daha iyi tutunabilmesi için bir biyokompozit olan çitosan tabakası ile kaplanmıştır. Bu transfer sonucu kuartzın rezonans frekansında 58.4 Hz'lik bir değişim meydana gelmiştir. Şekil 8.2'de frekansta meydana gelen değişim kullanıldığında kuartz üzerine  $0.39 \times 10^{-6}$ g biyokompozit transfer olduğu görülmüştür. Buna karşılık gelen biyokompozit tabaka kalınlığı ise yaklaşık 2.55nm olarak hesaplanmaktadır. Tablo 8.2'de bu tabakanın transfer detayları ile ilgili bilgi verilmiştir. Biyokompozit için yapılan ölçümler sonunda PPO tabakasının transfer işlemi gerçekleştirilmiştir. Tablo 8.2'de de görüldüğü üzere enzim tabakası 239 Hz'lik bir frekans değişimine sebep olmuştur. PPO tabakası için kütle miktarı  $1.6 \times 10^{-6}$ g ve bu tabakanın kalınlığı ise 8.89  $\mu$ m olarak hesaplanmıştır.

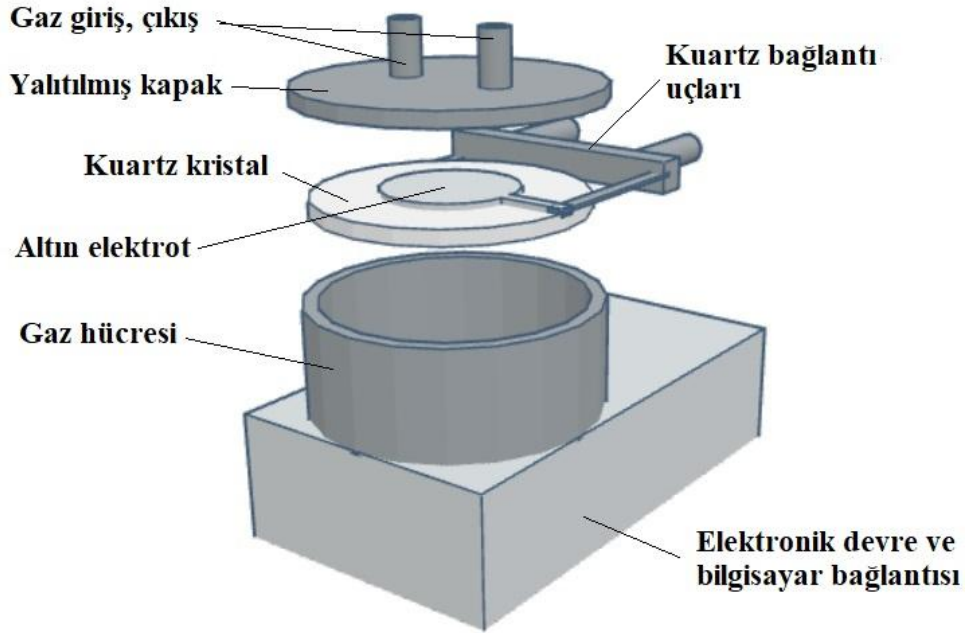
QCM ile yapılan karakterizasyon işlemleri, biyokompozit ve PPO tabakalarının başarıyla kuartz kristal üzerinde ince film oluşturabildiklerini göstermiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda PPO ince filmi gaz ölçümleri için kullanılabilecek özelliklere sahiptir denilebilmektedir.

**Tablo 8.2:** Kuartz Kristal Mikrobals (QCM) Sonuçları.

	<b>Biyokompozit tabakası</b>	<b>PPO tabakası</b>
<b>Frekans değişimi, <math>\Delta f</math></b>	58.4	239
<b>(Hz)</b>		
<b>Transfer olan kütle (g)</b>	$0.39 \cdot 10^{-6}$	$1.60 \cdot 10^{-6}$
<b>Tabaka kalınlığı</b>	2.55 nm	8.89 $\mu\text{m}$

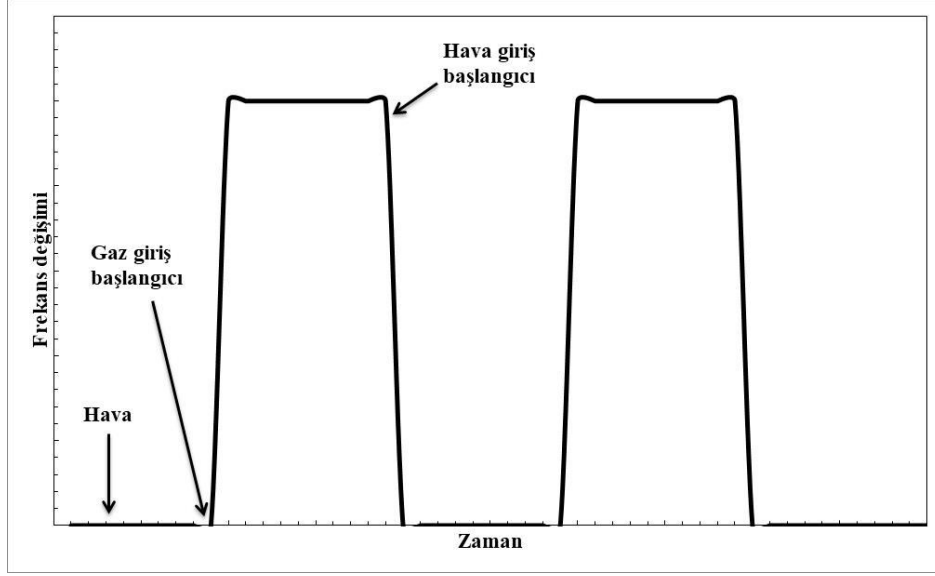
## 9. GAZ ÖLÇÜM SİSTEMİ

Bu çalışma kapsamında üretilen PPO ince filmlerin zararlı gazlarla olan etkileşimlerini incelemek amacıyla QCM sisteminin diğer bir çalışma ayağı olan kinetik ölçümden yararlanılmıştır. Bilindiği üzere QCM sistemi kuartz kristalin üzerindeki kütle değişimine bağlı olarak kristalin frekansının ölçülmesi prensibine dayanmaktadır. Kinetik çalışma sisteminde ise bu frekans değişimi zamana bağlı olarak kaydedilmekte ve anlık olarak sistemde meydana gelen değişimler izlenebilmektedir. Bu avantajı QCM sisteminin zamana bağlı gaz ölçümlerinde kullanılabilmesine olanak sağlar.



**Şekil 9.1:** Kuartz kristal mikrobals (QCM) gaz ölçüm sistemi.

Şekil 9.1’de verilen şematik çizim gaz sensör ölçümleri için hazırlanmış QCM parçalarını göstermektedir. Burada kullanılan kuartz kristal bir önceki bölümde üretilmiş olan biyokompozit+PPO tabakalarını içeren kristaldir ve transfer özellikleri bir önceki bölümde tartışılmıştır. Gaz ölçüm sistemini diğer QCM ölçümünden ayıran en önemli farkı gaz giriş çıkışı bulunan yalıtılmış bir kristal hücreye sahip olmasıdır. Şekilde görülen böyle bir hücre yardımıyla sensör özellikleri incelenmek istenilen ince filmler kolay bir şekilde örnek gazla maruz bırakılarak zamana bağlı tepkileri kaydedilebilmektedir.



**Şekil 9.2:** İdeal Qcm gaz ölçüm sonucu.

Şekil 9.2’de ideal bir gaz sensörünün QCM kinetik çalışma grafiği verilmiştir. Zamana bağlı kaydedilen grafikte görüldüğü gibi hücre içerisine zararlı gaz gönderilmeye başlandığı anda kuartzın frekansındaki değişim anlık olarak sistemde gözlenebilmektedir. İdeal bir gaz sensörü malzemesinde bu değişim belirgin ve sistem tarafından tespit edilebilir düzeyde olmaktadır. Benzer şekilde zararlı gazın ortamdan uzaklaştırılması amacıyla sisteme hava girişi yapıldığında kuartzın ilk frekansına geri dönebiliyor olması tamamen geri dönüşümlü sensör malzemesinin bir göstergesidir. Gaz sensörünün tekrar kullanılabilirliğini kontrol etmek için sistem tekrar aynı zararlı gaza maruz bırakılır. İlk gaz girişinde kaydedilen frekans değişimine benzer tepkinin bu gaz durumunda da gerçekleşiyor olması tekrar kullanılabilirliğin bir ölçüsüdür.

## 10. GAZ ÖLÇÜM SONUÇLARI

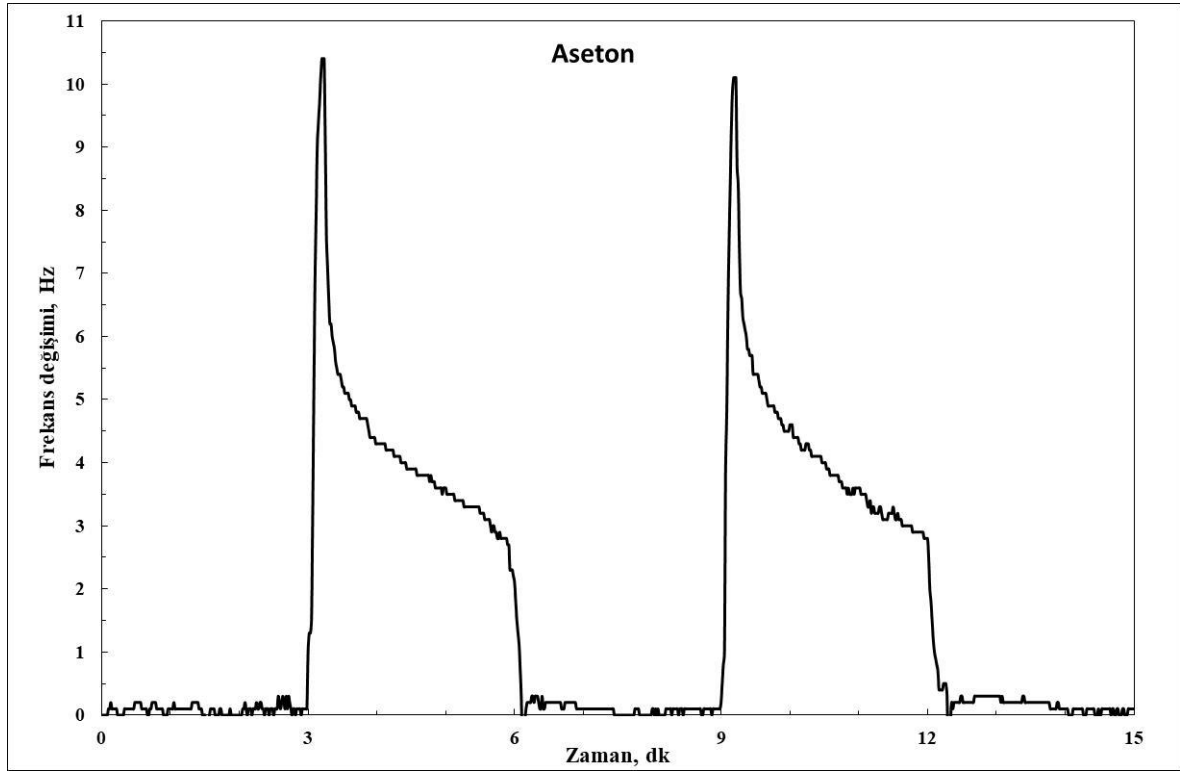
Üretilen PPO ince filmlerinin zararlı gazlara karşı duyarlı olup olmadığını incelemek amacıyla kloroform, etil asetat, toluen, izopropil alkol ve aseton olmak üzere beş farklı uçucu organik buhar seçilmiştir. Kimyasallar oda sıcaklığında sıvı halde bulunmaktadır ancak uçuculukları yüksek malzemelerdir. Deney sisteminde uygun olarak işleme alınabilmesi için kimyasalları 100ml balon joje içine 300µl kimyasal konularak ısıtıcı ile tamamen buhar haline gelmesi sağlanmıştır. Bu aşamadan sonra 5ml'lik enjektör kullanarak gaz hücresine enjekte edilmiştir. PPO ince filminin tüm buharlara karşı verdiği tepkiler zamana bağlı olarak kaydedilmiştir.

Kinetik grafik olarak adlandırılan zamana bağlı gaz tepkisi grafiğine örnek Şekil 9.2'de verilmişti. Zamana bağlı sensör ölçümleri, hava ve gaz olmak üzere iki temel aşamanın tekrarından oluşmaktadır. Bu çalışma kapsamında yapılan tüm gaz ölçüm deneyleri üçer dakikalık hava ve gaz aşamalarından oluşmaktadır. Sensör ölçümünün tekrar edilebilirlik özelliğinin kontrolü amacıyla aynı miktarda gaz iki kez ölçülerek tepkiler karşılaştırılmıştır.

Şekil 10.1'de PPO ince filminin aseton buharına karşı verdiği tepki görülmektedir. İlk üç dakika hava ile başlayan ölçüm 3.dakika sonunda aseton buharının sisteme enjekte edilmesiyle devam etmektedir. Aseton buharına maruz kalan PPO filminin verdiği ani tepki şekilde görülebilmektedir. Grafik incelendiğinde gaza maruz kalan ince film ani bir tepkiyi yüksek frekans değişimi ile sergilemektedir. Zamanın ilerlemesi ile frekans değişiminin azaldığı ve belirli bir seviyede dengeye ulaştığı görülmüştür. Gaz ince film etkileşimlerindeki temel iki mekanizma burada da işlemektedir. Bu mekanizmalar absorpsiyon ve desorpsiyondur [89]. İnce filmlerin yapısı incelendiğinde belirli bir düzen içinde katı yüzey üzerinde dizilmiş moleküller olarak ele alınabilir. Bu tip bir yapı ile gaz molekülleri arasındaki etkileşimler göz önüne alındığında gaz molekülleri öncelikle ince filmin yüzeyi ile karşılaşır ve tutunmalar başlar. Daha sonra üç boyutlu moleküler film yapısının içine girmeye başlarlar ve tutunmalar devam eder. Bu bölüm gaz moleküllerinin absorpsiyonu olarak adlandırılır. Bu aşamadan sonra tutunan bazı gaz moleküllerinde kopmalar oluşmaya başlar ki bu da desorpsiyondur. Bu iki aşama belirli bir süre içinde aynı zamanda gerçekleşmektedir. Gaz moleküllerinin ince film ile ilk karşılaştığı esnada absorpsiyon desorpsiyondan fazla olduğu için yüksek bir tutunma oranına karşılık yüksek bir tepki kaydedilir. Bu iki aşamanın oranları eşitlendiğinde ise sensör tepkisi denge durumuna

ulaşmış olur ve grafikte de dengeye ulaşma olarak görülmektedir. Şekil 10.1'e tekrar baktığımızda 3-6 dakika aralığı sonlarında bu dengeye ulaşılmıştır. Altıncı dakika sonunda sisteme tekrar hava verildiğinde ise eski frekans değerine dönen ince film geri dönüşümünü de tamamlamış olmaktadır.

Kinetik gaz ölçüm grafiklerinde dikkat edilmesi gereken birkaç önemli nokta bulunmaktadır. İlki hızlı tepki değeri geri dönüşümlülük ve son olarak da tekrar edilebilir ölçüm özelliğidir. PPO ince filminin aseton buharına karşı olan tekrar ölçülebilirlik özelliği için grafiğin 9. dakikasında ince film tekrar zararlı gaza maruz bırakılmıştır. PPO ince filmi gaz döngüsünün her iki aşamasında da birbirine benzer karakteristik sergilemesi ince filmin maruz kaldığı buhara karşı her seferinde özdeş tepkiler vereceğinin bir göstergesidir.

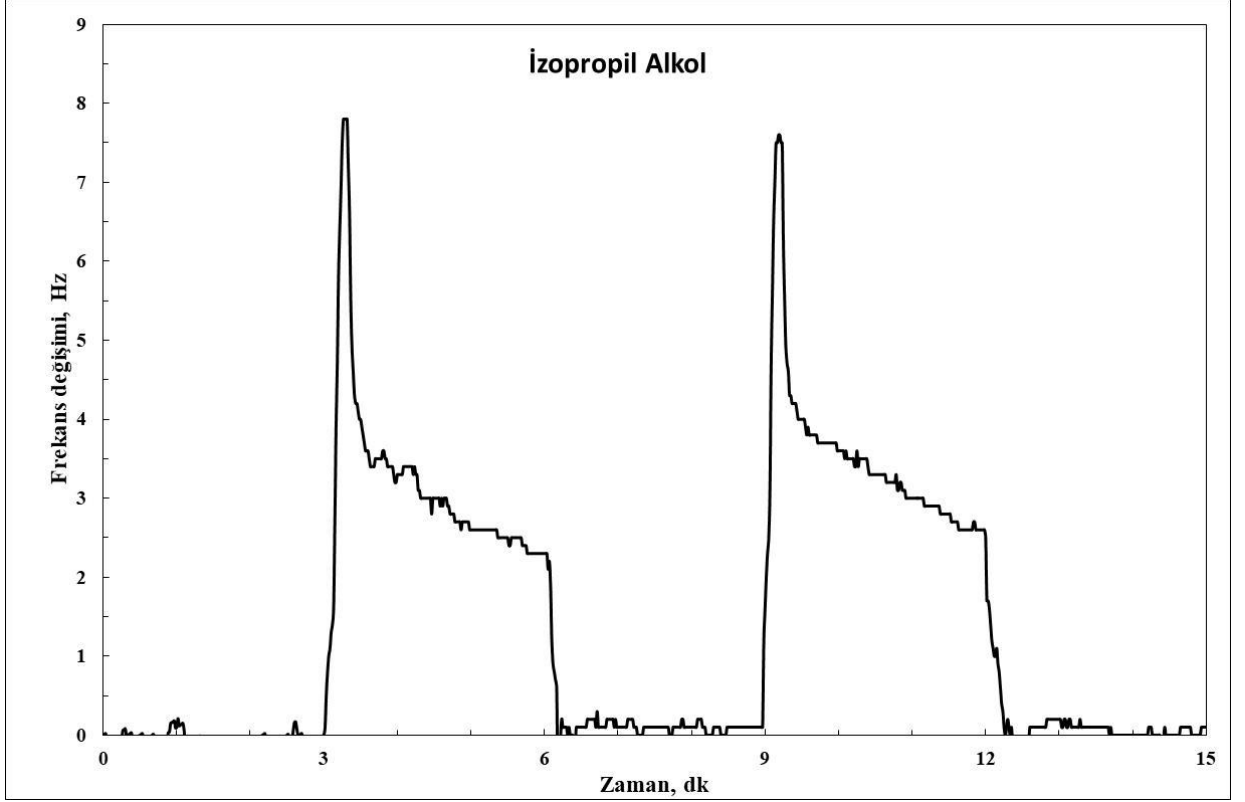


Şekil 10.1: Aseton buharı QCM kinetik grafiği.

PPO ince filminin sensör etkileşimlerinin incelendiği bir diğer kimyasal izopropil alkoldür. Şekil 10.2'de bu etkileşimin kinetik grafiği verilmiştir. Bundan önceki kimyasallara benzer

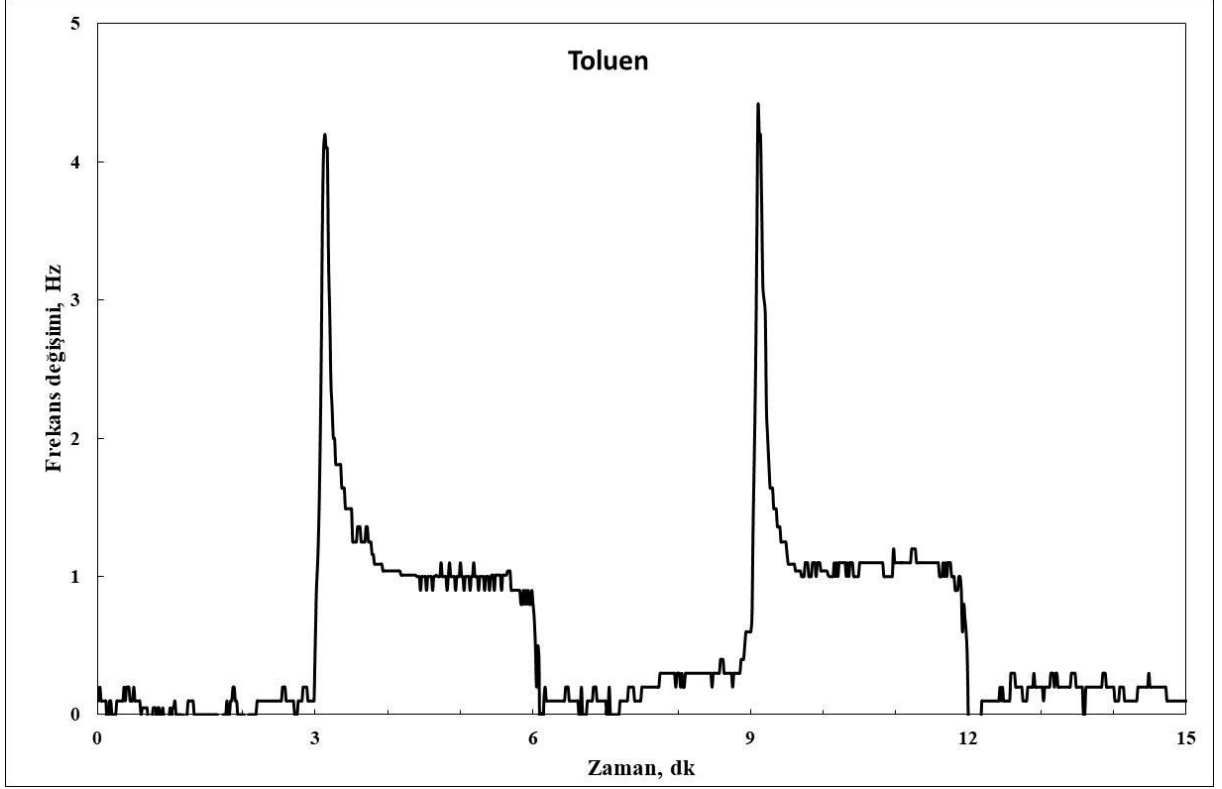


olarak hızlı ve geri dönüşümlü tepkinin izopropil alkol etkileşiminde de kaydedildiği görülmektedir.



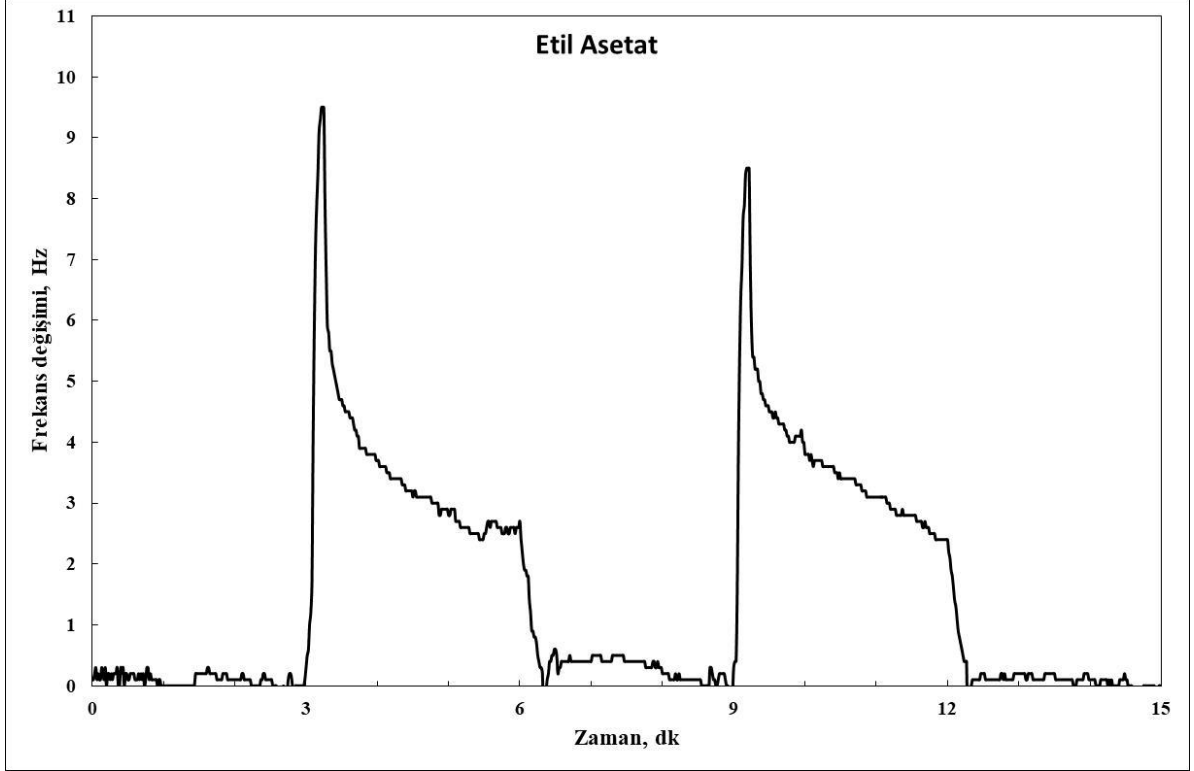
Şekil 10.2: İzopropil alkol buharı QCM kinetik grafiği.

PPO ince filminin toluen buharına maruz kalması sonucu kaydedilen gaz kinetik grafiği Şekil 10.3’de verilmiştir. Bu kimyasal da diğer buharlar da olduğu gibi iki gaz etkileşiminde de hızlı ver geri dönüşümlü tepkiler vermiştir.



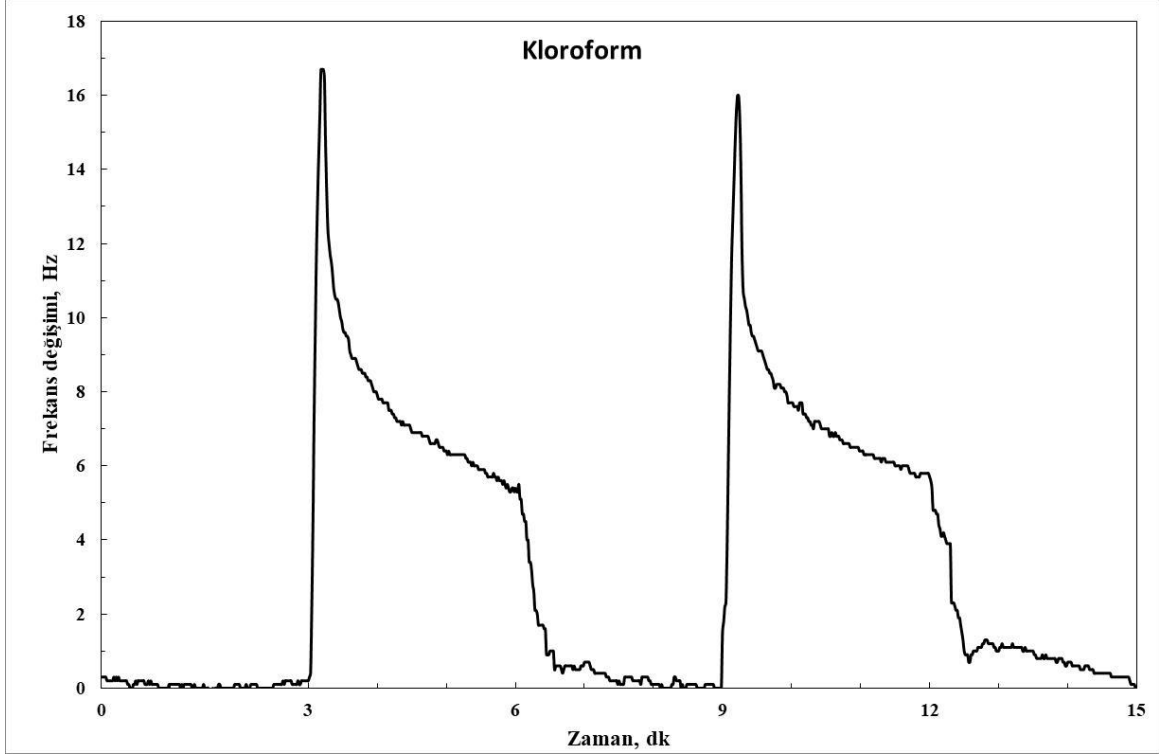
Şekil 10.3: Toluen buharı QCM kinetik grafiği.

PPO ince filminin tepkisin araştırılması amacıyla seçilen bir diğer buhar etil asetat buharıdır. Şekil 10.4’de etil asetata ait kinetik tepki grafiği verilmiştir. PPO enziminin bu gaza verdiği tepkilerin de hızlı ve geri dönüşümlü olduğu görülmüştür.



Şekil 10.4: Etil Asetat buharı QCM kinetik grafiği.

Son olarak test edilen organik buhar ise kloroformdur. Şekil 10.5’de görüldüğü gibi yapısal olarak diğer buharlarda kaydedilen kinetik grafiklere benzer bir tepki oluşmaktadır. Ancak dikkat edilmesi gereken iki farklılık kaydedilmiştir. Organik buharlar arasındaki farklılıkların daha rahat görülebilmesi için Şekil 10.6’da bütün grafikler beraber gösterilmektedir.

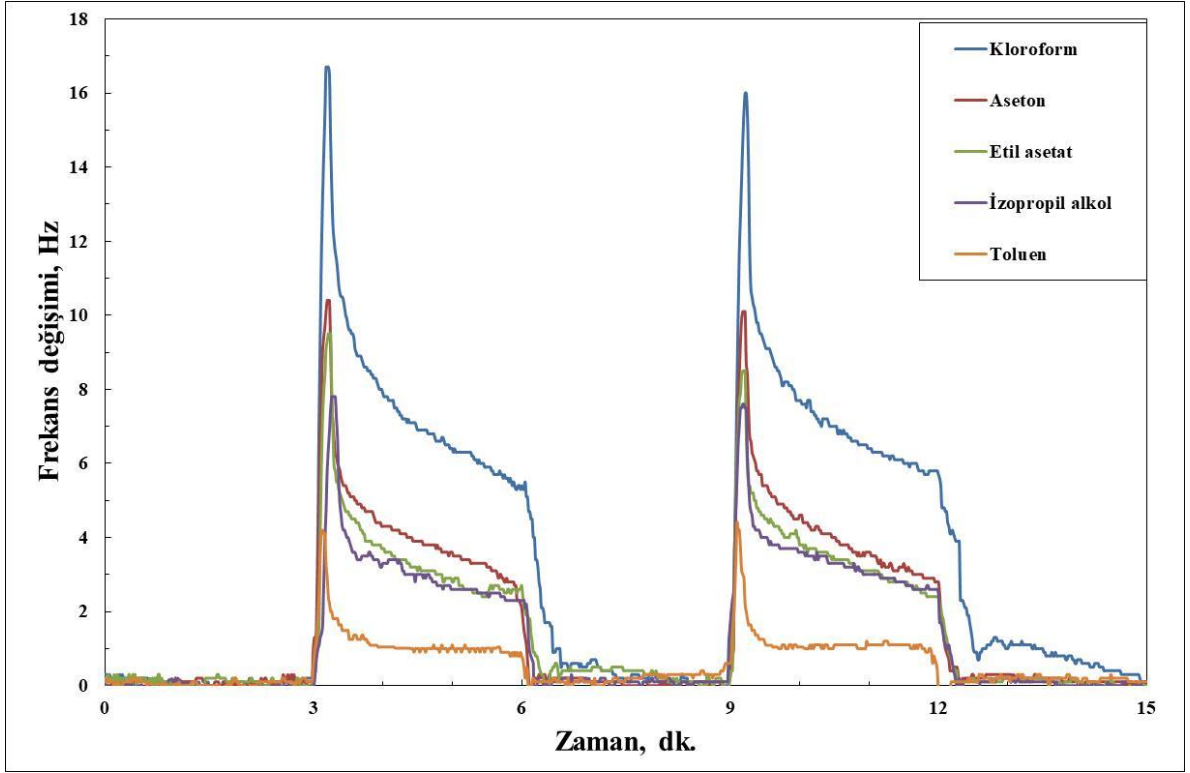


**Şekil 10.5:** Kloroform buharı QCM kinetik grafiği.

Kinetik grafiklerinin üst üste çizdirilmesi aradaki farkların ayrıntılı görülmesine olanak sağlamaktadır. Görüldüğü gibi kloroform buharına karşı PPO tarafından kaydedilen değişim diğer buharlardan fazladır. Buda PPO ince filminin kloroform buharına karşı daha hassas ve seçici olduğunu göstermektedir. Seçicilik özelliği gaz sensörlerinde aranılan ve ideal bir sensörde olması gereken bir özelliktir. Kloroform dışındaki buharlara bakıldığında PPO ince filmi birbirlerine yakın tepkiler vermiştir. Dolayısıyla bu grup buharlarla karşılaştığında ayırt edebilme özelliği gösterememektedir. Bu da ölçüm sırasında hangi gazla karşılaştığı hakkında bilgi verememesi anlamına gelir. Ancak tüm grup buharlar içinde kloroformu rahatlıkla ayırt edebiliyor olması üretilecek gaz sensörü için önemli bir avantajdır.

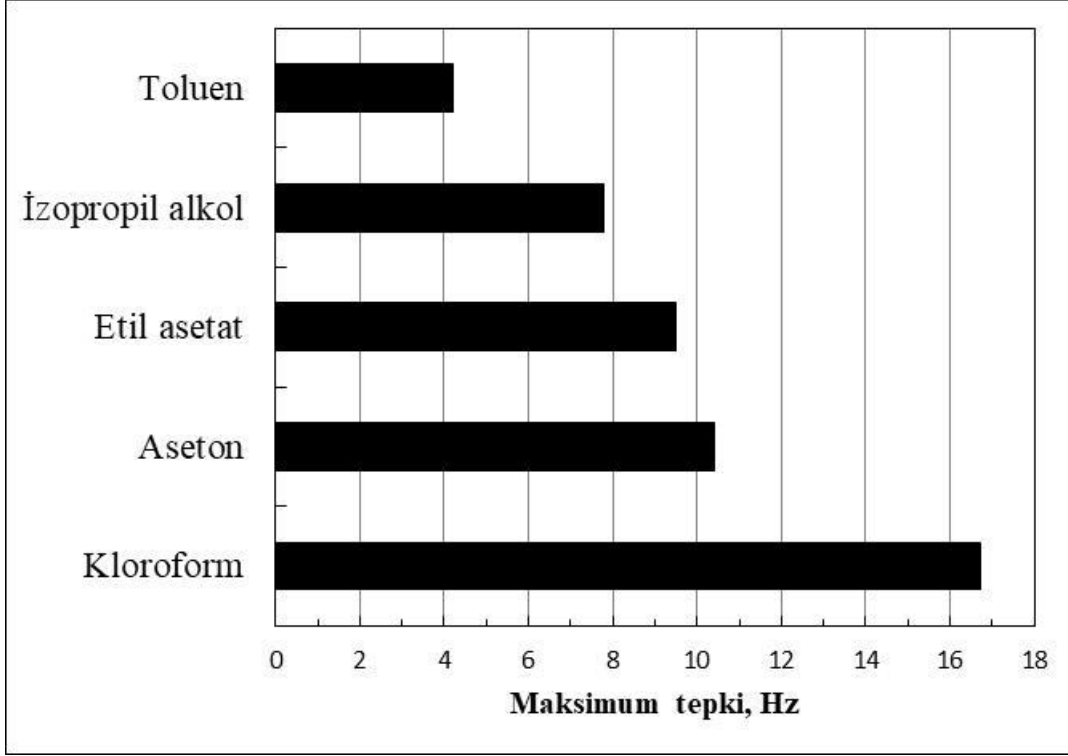
Kloroform buharında rastlanılan bir diğer farklılık ise yüksek verilen tepkiye karşılık diğer buharlara oranla geri dönüşümünün yani hava verildiği durumda ilk frekansa gelmesinin biraz daha yavaş gerçekleşmesidir. Kloroformda geri dönüş süresi yaklaşık 30 saniye olarak

kaydedilmektedir. Bu değer diğer grup buharlarda ortalama 15 saniye civarındadır. Ancak bu süre sonunda kloroform buharının tamamen film üzerinden uzaklaştırıldığı ve yeni ölçüme hazır olduğu ilk frekans değerine dönmesinden anlaşılabilir.



Şekil 10.6: PPO ince filminin buhar tepkilerinin karşılaştırılması.

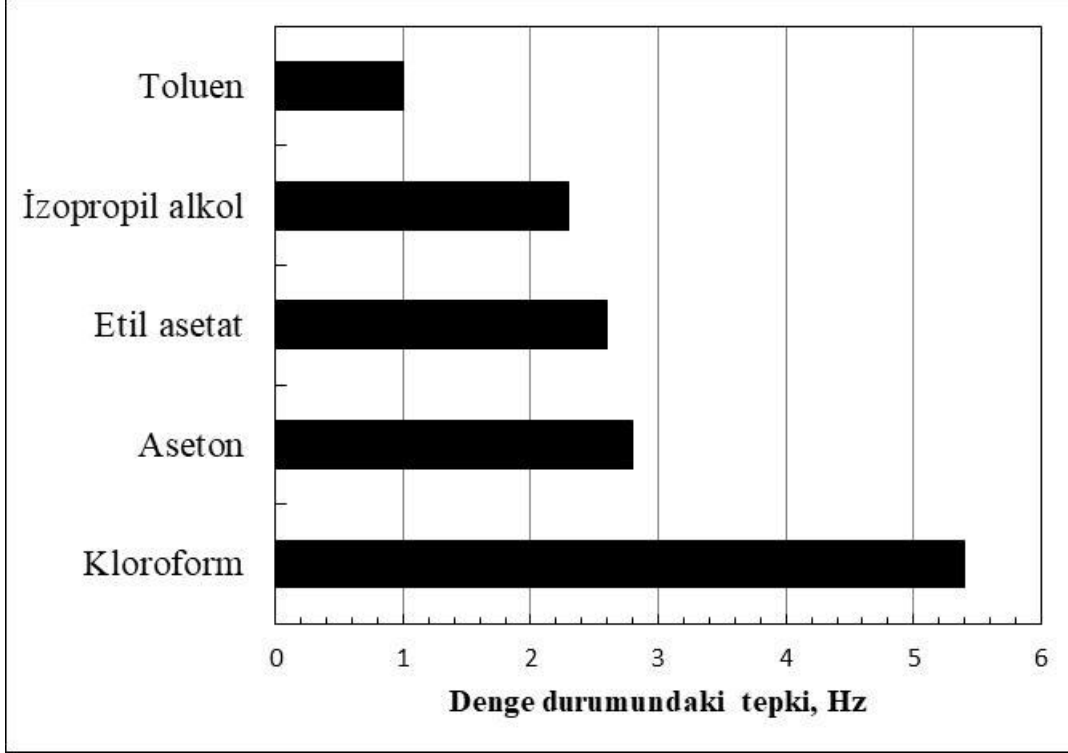
Şekil 10.7’de kullanılan organik buharların kuartz kristalin frekansını ne kadar değiştirdiği verilmiştir. Bu aynı zamanda tamamen PPO ince filminin o buharla olan etkileşim miktarına karşılık gelmektedir. Kloroforma karşı olan yksek seğiciliği bu grafikte de verdiği tepkiden anlaşılmaktadır.



Şekil 10.7: PPO ince filminin buharlara verdiği maksimum tepkiler.

Kinetik grafiklere bakıldığında PPO ince filminin buhara ilk maruz kaldığı anda ykseklen sensr tepkisi daha sonra azalarak belirli bir denge konumuna ulaşmaktadır. Bu denge konumu daha nceki blmlerde bahsedilen ince film ile gaz molekülleri arasındaki absorpsiyon ve desorpsiyon srlelerine bağlıdır. Denge konumunda ulaşılan frekans değeri sistem içine hava verilene kadar devam etmektedir. Dolayısıyla gaz etkileşim srrecinin bkyk bir kısmı bu denge durumunda geçilmektedir.

Şekil 10.8’de tüm buharların denge konumunda ulaştıkları frekans değişimleri verilmiştir. Burada da görülmektedir ki kloroform buharı denge durumunda da en yüksek etkileşimi oluşturmaktadır. Bu sonuç PPO ince filminin tamamen kloroforma karşı duyarlı olduğunu göstermektedir.



**Şekil 10.8:** Denge durumunda PPO filminin buharlarda oluşturduğu tepkilerin karşılaştırılması.

## 11. SONUÇ

Bu tez kapsamında döner kaplama tekniği kullanılarak biyokompozit ve polifenol oksidaz enzimi kullanılarak ince filmler üretilmiştir. Üretilen bu ince filmlerin farklı organik buharlara karşı sensör tepkileri kuartz kristal mikrobals yöntemle incelenmiştir.

İnce film oluşturmak için katı yüzey olarak kuartz kristal kullanılmıştır. Biyo-kompozit film iki katmandan oluşur, ilk katman jelatin ve çitosan karışımıdır, ikinci katman polifenol oksidaz. Analit buharları ile etkileşime giren ve etkileşim miktarına bağlı olarak tepki veren sensörün aktif tabakası için polifenol oksidaz seçilmiştir. Enzim tabakalı biyo-kompozit ince filmler başarıyla üretildi ve UV- görünür spektroskopisi ile kontrol edildi. Biyo-kompozit filmler kloroform, toluen, etil asetat, aseton ve izopropil buharlarına maruz bırakıldı. Karşılaştırmalı bir çalışma yapabilmek için QCM ölçüm sistemleri kullanılarak dinamik ölçümler yapılmıştır. Dinamik ölçüm tekniği, sensör sisteminin hassasiyetini her bir organik buharına karşı kontrol etme fırsatı verir. Elde edilen sonuçlar, biyo-kompozit sensörün tüm buharlara önemli tepkiler verdiğini gösterdi ve tepkilerin hızlı, tekrarlanabilir ve karbon tetraklorür hariç tüm buharlara karşı tersine çevrilebilir olduğunu göstermektedir. Kloroforma diğer organik buharlardan daha büyük bir tepki oluşmuştur. Son olarak, polifenol oksidaz enzimli biyo-kompozit film, bir sensör malzemesi olarak kullanılabilir ve oda sıcaklığında organik buhar sensör cihazlarının geliştirilmesinde kullanılabilir. Ayrıca nefesten aseton buharı belirleme yöntemi kullanılarak hastalara kolay ve ağrısız bir yöntemle teşhis konulabilir ve hastanın hastalık süreci izlenebilir.

Polifenol oksidaz enziminin sensör özelliklerinin incelenmesi amacıyla enzim öncelikle katı bir yüzey üzerinde ince film olarak kaplanmıştır. Katı yüzey olarak cam slayt ve kuartz kristal seçilmiştir. Cam slayt UV-görünür spektroskopisi ile karakterizasyon işlemi gerçekleştirmek amacıyla, kuartz kristal QCM sistemindeki işlemlerde kullanılmıştır.

Bu çalışmada üretilen ince filmler döner kaplama tekniği ile 5000 rpm dönme hızında gerçekleştirilmiştir. Enzimin katı yüzey üzerinde kararlı bir ince film oluşturabilmesi için katı yüzey öncelikle bir çeşit biyokompozit olan çitosan ile kaplanmıştır. Biyokompozit kaplama aşamaları UV-görünür spektroskopisi ve kuartz kristal mikrobals ile takip edilmiştir. Biyokompozitin UV-görünür spektrumuna bakıldığında enzimin spektrumu ile karışmadığı ve onu etkilemeyecek düzeyde olduğu görülmüştür. Kuartz kristal mikrobals



sonuçlarına göre biyokompozit tabakası kuartz üzerine kaplandığında kuartzın frekansını 58.4Hz değiştirmiştir. Buna karşılık kristal üzerine transfer olan biyokompozit kütlesi  $0.39 \cdot 10^{-6}$  g olarak hesaplanmıştır. Kütle miktarına bağlı olarak bu tabakanın kalınlığı da hesaplanmış ve 2.55nm olarak Tablo 8.2'de verilmiştir. Bu karakterizasyon sonuçları doğrultusunda biyokompozitin başarılı bir şekilde katı yüzeye transferi sonucu ince film tabakası oluşturabildiği görülmüştür.

Katı yüzey üzerinde başarılı bir şekilde ince tabaka oluşturan biyokompozit üzerine yine 5000rpm dönme hızıyla döner kaplama tekniği kullanılarak polifenol oksidaz enzimi kaplanmıştır. Enzim transfer işlemi de biyokompozitte olduğu gibi UV-görünür spektroskopisi ve kuartz kristal mikrobalsan teknikleriyle takip edilmiştir. UV-görünür spektroskopisi ile enzim filminin kontrol edilebilmesi için öncelikle enzimin sıvı çözeltisinin UV-görünür spektrumu kaydedilmiştir. Çözelti spektrumu ile ince film spektrumunun karşılaştırılması enzim ince filminin transfer kontrolü için temel oluşturmaktadır. Çözelti spektrumunda kaydedilen piklerin enzim ince filmlerinde de gözlenebiliyor olması filmin transfer edildiğini göstermektedir.

PPO sıvı çözeltisi UV-görünür spektrumunda 350 nm'de maksimum pik gözlenmiş, devamında ise 380 nm'de ince bir pik şeklinde bir soğurma daha gerçekleşmiştir. Çözeltideki bu pikler ince film spektrumunda 360 ve 400 nm civarına kaymaktadır. UV-görünür spektroskopisi sonuçları PPO ince filminin katı yüzey üzerine transferinin başarıyla gerçekleştirildiğini göstermektedir.

Kuartz kristal ile ince film karakterizasyonu aşamasında öncelikle biyokompozit kaplanarak frekans değişimi kaydedilmiştir. Biyokompozit 58.4Hz frekans değişimine neden olmuştur. Bunun paralelinde biyokompozit kütlesi  $0.39 \cdot 10^{-6}$  g ve bu tabakanın kalınlığı 2.55 nm olarak hesaplanmıştır.

Kuartz kristale kaplanan biyokompozit üzerine PPO enzimi transfer edilerek frekans değerleri kaydedilmiştir. 5000rpm hızla transfer edilen PPO enzimi kuartzın frekansında 239Hz değişime neden olmuştur. PPO tabakası kütle olarak hesaplandığında  $1.60 \cdot 10^{-6}$ g ve bu tabakanın kalınlığı 8.89  $\mu$ m olarak hesaplanmıştır.

UV-görünür ve QCM karakterizasyon sonuçları doğrultusunda PPO enziminin ince film olarak katı yüzey üzerine başarıyla kaplanabildiği görülmüştür.

Üretilen PPO ince film gaz sensörü beş farklı organik buhara karşı tepkileri QCM sistemi ile kaydedilmiştir. Aseton, izopropil alkol, tolüen, etil asetat ve kloroformdan oluşan organik buhar grubundaki tüm buharlar PPO ince filminde önemli sensör tepkilerine neden olmuştur. Bu tepkilerin tamamı hızlı, geri dönüşümlü ve tekrar kullanılabilir özelliklerine sahiptir. Ancak kloroform buharı diğer gazlarla karşılaştırıldığında daha yüksek bir tepkiye neden olmuştur. Diğer buharlarla aynı grafikte incelendiğinde kloroforma verilen tepkinin dikkate değer bir ayırt edicilikte olduğu görülmüştür. Bu sonuç PPO enzimi ile üretilen ince film gaz sensörünün kloroforma karşı duyarlı ve seçici olduğu anlamına gelmektedir.

## 12. KAYNAKLAR

- [1]K. Neeru,Rav\_nder, K., Mehra, R.M., Photoluminescence studies in sol-gel derived ZnO films. Journal of Luminescence, vol. 126, no. 2, p. 784, 2007.
- [2]İnternet: “Spin coating theory” <http://www.Spin Coating.com>. (2010)
- [3]G. Carcano, M. Ceriani, and F. Soglio, Spin Coating with High Viscosity Photoresist on Square Substrates, Hybrid Circuits, 1 March 1993
- [4]S. Bagen, G. Gibson, C. Newquist, and H. Sago, Next Generation Coating Technologies for Low-Cost Electronics Manufacturing, 1996 IEEE/CPMT International Electronics Manufacturing Technology Symposium, p. 468, 1996.
- [5]M. Evyapan, B. Kadem, T. V. Basova, I. V. Yushina, A. K. Hassan, Study of the sensor response of spun metal phthalocyanine films to volatile organic vapors using surface plasmon resonance, Sensors and Actuators pp. 605-613, 2016.
- [6]S. Sönmezoğlu, M.Koç, ve S. Akın, İnce Film Üretim Teknikleri, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 28, 389-401, 2012.
- [7]Ossila, Spin Coating: A Guide to Theory and Techniques, <https://www.ossila.com/pages/spin-coating>. (Erişim: 26.11.2018).
- [8]D. Öğrence, “Paraamino benzoik asit ve parahidrazino benzoik asit türevlerinin ince film özelliklerinin incelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniv., Balıkesir, 2016.
- [9]Ghamsari, M. Sasani, and M. Vafae. "Sol-gel derived zinc oxide buffer layer for use in random laser media." Materials Letters vol. 12-13, pp. 1754-1756, 2008.
- [10]Y. Matsuzawa, S. Noguchi, H.Sakai, M. Abe, M. Matsumoto, "Hybrid Langmuir and Langmuir-Blodgett films composed of amphiphilic cyclodextrins and hydrophobic azobenzene derivative", Thin Solid Films, accepted 12 December 2005.
- [11]G. A. Luurtsema, “Spin Coating for Rectangular Substrates” The Department Of Electrical Engineering and Computer Sciences University of California, Berkeley 1997.
- [12]K. K. Kanazawa, und J. G. Gordon, The oscillation frequency of a quartz resonator in contact with a liquid; Anal. Chim. Acta, vol. 175, pp. 99-105, 1985.
- [13] Ö. E. Söğüt, A. Kayalı, Analitik yöntem geçerliliğine genel bir bakış, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, s. 34 pp. 41-57, 2005.
- [14]E.A.H. Hall, Biosensors, Ch.1: Biosensors in context, Open

- University Press, İngiltere; pp. 3-30, 1990.
- [15]M. Evyapan, "Organik gaz sensör maddelerinin Langmuir-Blodgett ince film tekniği ile incelenmesi", Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniv., Balıkesir, 2005.
- [16]K.H. Kang, J.M. Kim, D.K. Kim, S.B. Jung, J.S. Chang, Y.S. Kwon, *Sensors and Actuators B77*, 293-296, 2001.
- [17]G. Sauerbrey, "The use of quartz crystal oscillators for weighing thin layers and for microweighing applications", *Z. Phys.*, vol. 155, pp. 206-222, 1959.
- [18]A.N. Zdravkova, J.P.J.M. Van Der Eerden, M.M.E. Snel, "Phase behaviour in supported mixed monolayers of alkanols, investigated by AFM", *Journal of Crystal Growth*, vol. 275, pp. 1029-1033, 2005.
- [19]C. Taşaltın, "Quartz kristal mikrobals (QCM) ve İnterdigital transduser(IDT)'lerde ara yüzey film preparasyon parametrelerinin gaz algılama özelliklerine etkisinin incelenmesi", Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik Anabilim Dalı, İstanbul, 2000.
- [20]D. Shen, Q. Kang, Y. Wang, Q. Hu, J. Du, *New Cut Angle Quartz Crystal Microbalance With Low Frequency-Temperature Coefficients in an Aqueous Phase*, *Talanta* vol. 76, pp. 803-808, 2008.
- [21]A. Altındal, *Organik Yarıiletken Filmlerin Karakterizasyonu ve Gaz Sensörü Olarak Kullanılması*, Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik Bölümü, İstanbul, 1999.
- [22]G. Hayderer, M. Schmid, P. Varga, H.P. Winter and F. Aumayr, *American Institute of PHYSics*, vol. 70, p. 9, 1999.
- [23]T. Gast, T. Brokate, E. Robens, Z. Ali and K. Pavey, "Survey on mass determination systems: Part I. Fundamentals and history", *Journal of thermal analysis and calorimetry*, vol. 71, pp. 19-23, 2003.
- [24]K.A. Marx, "Quartz crystal microbalance: a useful tool for studying thin polymer films and complex biomolecular systems at the solution – surface interface", *Biomacromolecules*, vol. 4, pp. 1099-1120, 2003.
- [25]V.M. Mecea, "Loaded vibrating quartz sensors", *Sensörs and Actuators A: Physical*, vol. 40, pp. 1-27, 1994.
- [26]T. Nakamoto, K. Nakamura and T. Moriizumi, "Study of oscillator-circuit behavior for QCM gas sensor", *Ultrasonics Symposium, 1996. Proceedings.*, 1996 IEEE, 351-354, 1996.
- [27]Y. Maraba, *Kuartz Kristal Mikrobals ile DNA Hibridizasyon Tayini ve*

- Bazı Maddelerin DNA ile Etkileşiminin Biyosensörlerle Algılanması,  
Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 2008.
- [28] Skladal P., Piezoelectric quartz crystal sensors applied for bioanalytical assays and characterization of affinity interactions, *J. Braz. Chem. Soc.*, vol.14, pp. 491-502, 2003.
- [29] S.Y. Heriot, H.L. Zhang, S.D. Evans, "Multilayers of 4-methylbenzenethiol functionalized gold nanoparticles fabricated by Langmuir-Blodgett and Langmuir-Schaefer deposition", *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, accepted 4 December 2005.
- [30] F. Apaydın, *Magnetik Rezonans*, Hacettepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Ankara, Ders Kitapları No: 3, 1996.
- [31] M.C. Petty *Monolayer Materials*, Langmuir-Blodgett films, Cambridge University Press, Cambridge, 1996.
- [32] <https://iste.edu.tr/iste-btm/spektroskopi-lab>
- [33] [www.fizik.itu.edu.tr/mfl/mfl\\_foy/06absrb\\_spektroskopisi.doc](http://www.fizik.itu.edu.tr/mfl/mfl_foy/06absrb_spektroskopisi.doc), (19.05.2010)
- [34] D.A. VParry, M.M. Sallah, L.S. Miller, I.R. Peterson and R. Hollyoak, *Supramolecular Science*, vol. 4, pp. 427-435, 1997.
- [35] Y.F. Miura, Y. Kurashige, Y. Hirano, J. Kawata, M. Sugi, *Thin Solid Films*, pp. 327-329, 443-445, 1998.
- [36] J. Wang, *Electroanalysis and Biosensors. Analytical Chemistry*, 67(12), 1995.
- [37] P.R. Coulet, *Biosensor principles and applications*. Marcel Dekker Inc., New York, pp. 1- 6, 1991.
- [38] O. Gürdal, *Algılayıcılar ve Dönüştürücüler*, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 2000.
- [39] Ashok Kumar et al., "Design and Implementation of a Piezoelectric Biosensors for Multifunctional Applications". *Integrated Design and Process Technology, IDPT* vol. 1, pp. 35-41, 1998.
- [40] T. Coşkun, "Enzim Temelli Yeni Amperometrik Biyosensörlerin Hazırlanması ve Karakterizasyonu" Yüksek Lisans Tezi, *Biyomühendislik ve Malzeme bilimi Mühendisliği Anabilim Dalı*, Çanakkale 18 Mart üniversitesi, Çanakkale, 2021.
- [41] E. Dinçkaya, *Biyosensörler*, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Baskı Atölyesi, İzmir, pp.81-142, 1999.
- [42] M. Mascini and, G. G. Guilbault, *Clinical Uses of Enzyme Electrode Probes, Biosensors* vol. 2, pp. 147-172, 1986.
- [43] İ. Becerikli, *Biyosensörler*, ss. 1-44, İstanbul, 1997.

- [44]A. Telefoncu, “Biyosensörlere genel bakış”, *Biyosensörler, Biyokimya Lisans Üstü Yazokulu, Kuşadası*, ss. 1-9, 1999.
- [45]Z.A. Ansari, S.G. Ansari, T. Ko, And J.H. Oh, Effect of MoO<sub>3</sub> doping and grain size on SnO<sub>2</sub>-enhancement of sensitivity and selectivity for CO and H<sub>2</sub> gas sensing, *Sensors and Actuators B*, 87, 105-114, 2002.
- [46]S.L Ma, Z.W. Lu, Y.T. Wu, Z.B. Zhang, Partitioning of drug model compounds between poly(lacticacid)s and supercritical CO<sub>2</sub> using quartz crystal microbalance as an in situ deceptor, *J. of Supercritical Fluids*, vol. 54, pp. 129-136, 2010.
- [47]E. Bakker, Y. Qin, *Electrochemical Sensors. Analytical Chemistry*. vol. 78, p.3965, 2006.
- [48]M. Castro, N. A`lvarez, M. Castanon, et al. Structured Nucleic Acid Probes for Electrochemical Devices. *Electroanalysis*. Vol. 21, pp. 2077-2090, 2009.
- [49]A. Duzgun, A. Maroto, T. Mairal, et al Solid-contact potentiometric aptasensor based on aptamer functionalized carbon nanotubes for the direct determination of proteins. *Analyst*, vol. 135, pp. 1037-1041, 2010.
- [50]D. Kalogianni, T. Koraki, T. Christopoulos, et al. Nanoparticle-based DNA biosensor for visual detection of genetically modified organisms. *Biosensors and Bioelectronics* vol. 21, pp. 1069–1076, 2006.
- [51]P. Kissinger, *Biosensors a perspective. Biosensors and Bioelectronics*, vol. 20, pp. 2512–2516, 2005.
- [52]A. Sassolas, J. Blum, B. Leca-Bouvier, *Electrochemical Aptasensors. Electroanalysis*. vol. 21, pp. 1237-1250, 2009.
- [53]A.G. Yavuz, “Polivinil ferrosen modifiye elektrodunu temel alan glukoz biyosensörünün geliştirilmesi”, *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta*, ss. 12-15, 2005.
- [54]B. Ozansoy, *Biyosensör Olarak Kullanılacak Kuartz Kristal Yüzeylerin Plazma Polimerizasyonu İle Hazırlanması Ve Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara*, 2007.
- [55]H. Xu, X. Mao, Q. Zeng, et al. Aptamer-Functionalized Gold Nanoparticles as Probes in a Dry-Reagent Strip Biosensor for Protein Analysis. *Analytical Chemistry*. vol. 81, pp. 669-675, 2009.
- [56]M. Zhou, S. Dong, *Bioelectrochemical Interface Engineering: Toward the Fabrication of Electrochemical Biosensors, Biofuel Cells, and Self-Powered Logic Biosensors. Accounts of Chemical Research*. vol. 44, pp. 1232-43, 2011.

- [57]P. Mohanty Saraju, Kougianos Elias, Biosensors: A Tutorial Review, Potentials, IEEE, 25, 35-40.
- [58]M. Mascini, I. Palchetti, G. Marrazza, DNA electrochemical biosensors. Fresenius J Anal Chem, vol. 369, pp. 15-22, 2001.
- [59]D. Malhotra Bansi, P.F. Turner Anthony, Advances in Biosensors vol. 5, s. 67, 2003.
- [60]Ş.Ş. Pirinçci, "Küçük Molekül Yapılı Analitlerin Piezoelektrik İmmunobiyosensörler İle Tespitinde Duyarlık Geliştirilmesi", Doktora Tezi, Kocaeli Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli, 2018.
- [61]M. Evyapan, "Bor içerikli Langmuir-Blodgett ince filmlerin elektrik özelliklerinin ve organik buharlara karşı duyarlılıklarının incelenmesi", Doktora Tezi, Balıkesir Üniv., Balıkesir, 2012.
- [62]H. Yıldırım, "Karbonik Anhidraz 9 Geninin Transkripsiyonel Kontrolünün Fonksiyonel Analizi", Doktora Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir, 2009.
- [63]M. Trojanowicz, T.K. Krawczyk, "Electrochemical biosensors based on enzymes immobilized in electropolymerized films", Mikrochim. Acta, vol. 121, pp. 167-181, 1995.
- [64]Y. Egi, "Çapraz bağlı baskılanmış glukoz oksidazın hazırlanması ve karakterizasyonu", Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 1-5 2009.
- [65]M.F. Abasıyanık, E. Şakalar, M. Şenel, "Biyosensörlere genel bir bakış ve biyosavunmada kullanılan biyosensörler", Fatih Üniversitesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Biyoloji Bölümü, Kimya Bölümü, pp.1-6, 2010.
- [66]S. Sang, et al., The development of new unlabeled techniques for biosensor: a review. Critical. Rev. Biotechnol, vol. 15, pp. 1-7, 2015.
- [67]Z. ÖNEZ, " Üzümden (vitis vinifera l.) izole edilen polifenol oksidaz enziminin özelliklerinin belirlenmesi", Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara 2006.
- [68]H. BAO, "Biocatalysis of tyrosinase in organic solvent media using phenolic substrate models" A Thesis submitted to the Faculty of Graduate Studies and Research in partial fulfillment of the requirements of the degree of Master of Science, Department of Food Science and Agricultural Chemistry, McGill University Montreal, Quebec, Canada, Mayıs, 1999.
- [69]A.G. MARANGONI, "Enzyme kinetics a modern approach", Department of Food Science University of Guelph, 2003.

- [70]S. KIRALP, "Synthesis of conducting block copolymers and their use in the immobilization of invertase and polyphenol oxidase enzyme", A thesis submitted to the graduate school of natural and applied sciences of the middle east technical university, in partial fulfillment of the requirements for the degree of doctor of philosophy in the department of chemistry, Mayıs, 2004.
- [71][www.food-info.net/](http://www.food-info.net/), (12.5.2010)
- [72]Fessner WD, Anthonsen T. Modern Biocatalysis: stereoselective and environmentally friendly reactions. Berlin: Wiley-VCH, 2008.
- [73]Rozzell JD. Biocatalysis at commercial scale: myths and realities. *Chimica Oggi*, vol. 6, p. 7, 1999
- [74]Dinçer A, Becerik S, Aydemir T. Immobilization of tyrosinase on chitosan-clay composite beads. *Int J Biol. Macromol*, vol. 50, p. 815, 2012.
- [75]Agarwal P, Dubey S, Singh M, Singh RP. *Aspergillus niger* PA2 tyrosinase covalently immobilized on a novel eco-friendly bio-composite of chitosan-gelatin and its evaluation for l-dopa production. *Front Microbiol* 2016 doi.org/10.3389/fmicb.2016.02088 .
- [76]Laurila, E., Kervinen R., and Ahvenainen, R., "The inhibition of enzymatic browning in minimally processed vegetables and fruits", *Postharvest News and Information*, vol. 9, pp. 53-66, 1998.
- [77]Sarkar, J. M., Leonowicz, A., Bollog. J. M., "Immobilization of enzymes on clays and soils", *Soil Biol. Biochem*, vol. 21, pp. 223-230, 1989.
- [78]Gul'ko, A. Y. and Khaziyev, F. K., "Soil polyphenol oxidases; their production, immobilization and activity", *Eurasian Soil Science*, vol. 25, pp. 101-113, 1993.
- [79]Mos'ko, A. A., Shcherbakova, T. A., Glushko, and N. A., Klenitskaya, I. A., "Immobilization of polyphenol oxidase by soil humus", *Eurasian Science*, 5, (1992), 60-65.
- [80]Arslan O, Doğan S. Inhibition of polyphenol oxidase obtained from various sources by 2,3-diaminopropionic acid. *J Sci Food Agric* vol. 85, p. 1499, 2005.
- [81]Rocha AMCN, Morais MMB. Influence of controlled atmosphere storage on polyphenoloxidase activity in relation to colour changes of minimally processed 'Jonagored' apple. *Int J Food Sci Tec* vol. 36, p. 425, 2001.
- [82]Zhou XR, Xiao YJ, Meng XH, Liu BJ. Full inhibition of *Whangkeumbae* pear polyphenol oxidase enzymatic browning reaction by L-cysteine. *Food Chem* vol. 266, pp. 1-8, 2018.



- [83]Hithamani G, Medappa H, Chakkaravarti A, Ramalakshmi K, Raghavarao KSMS. Effect of adsorbent and acidulants on enzymatic browning of sugarcane juice. *J Food Sci Tech Mys* vol. 10, p. 4356, 2018.
- [84]Marques L, Fleuriet A, Macheix J. Characterization of multiple forms of polyphenol oxidase from apple fruit. *Plant physiol Bioch* vol. 33, pp. 193-200, 1995.
- [85]Paul B, Gowda LR. Purification and characterization of polyphenol oxidase from the seeds of field bean (*Dolichos lablab*). *J Agr Food Chem* vol. 48, p. 3839, 2000.
- [86]Yoruk R, Marshall MR. Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: a review. *J. Food Biochem* vol. 27, pp. 361-422, 2003
- [87]Yue-Ming J, Zauberman G, Fuchs Y. Partial purification and some properties of polyphenol oxidase extracted from litchi fruit pericarp. *Postharvest Biol Tec* vol. 10, p. 221, 1997.
- [88]Cuatrecasas, P., "Protein purification by affinity chromatography. Derivatizations of agarose and polyacrylamide beads", *J. Biol. Chem.*, vol. 245, p. 3059, 1970.
- [89]M. Evyapan, A.K. Hassan, A.D.F. Dunbar, Understanding the gas adsorption kinetics of Langmuir-Schaefer porphyrin films using two comparative sensing systems, *Sensors and Actuators B* 254 (2018) 669–680

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Deniz Ege DENİZ

Doğum tarihi ve yeri : 19/02/1989 Seyhan

e-posta : denizegedenizz0135@hotmail.com

### Öğrenim Bilgileri

Derece	Okul/Program	Yıl
Y. Lisans	Balıkesir Üniversitesi/Fizik Anabilimdalı	2023
Lisans	Balıkesir Üniversitesi	2013
Lise	Abdulkadir Paksoy Lisesi	2008