

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SIVILARDAKİ AĞIR METAL İYONLARININ VE BAKTERİLERİN ALGILANMASI
İÇİN BİYOSENSÖRLERİN GELİŞTİRİLMESİ**

MELTEM AĞAR

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
FİZİK ANABİLİM DALI
FİZİK PROGRAMI**

**DANIŞMAN
PROF. DR. AHMET ALTINDAL**

İSTANBUL, 2015

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIVILARDAKİ AĞIR METAL İYONLARININ VE BAKTERİLERİN ALGILANMASI
İÇİN BİYOSENSÖRLERİN GELİŞTİRİLMESİ**

Meltem AĞAR tarafından hazırlanan tez çalışması 19.08.2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fizik Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Ahmet ALTINDAL
Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Ahmet ALTINDAL
Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Mustafa OKUTAN
Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Lütfi ARDA
Bahçeşehir Üniversitesi

Bu alışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü' nün 2014-01-01-KAP01 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Öncelikle yüksek lisans tezimi planlayıp yöneten, bilgi ve tecrübesi ile çalışmalarına yön veren, tezimin her aşamasında yanımda olan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet ALTINDAL'a teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca tez çalışmam için gerekli olan bakteri ortamının hazırlanması ve antibody temini konularındaki yardımlarından dolayı Sayın Dr. Cenk SESAL'a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca her zaman ilgiyle ve sabırla beni destekleyen aileme çok teşekkür ederim.

Ağustos, 2015

Meltem AĞAR

İÇİNDEKİLER

Sayfa

SİMGE LİSTESİ	vi
KISALTMA LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
ÖZET	x
ABSTRACT	xiii
BÖLÜM 1	
GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.2 Tezin Amacı	4
1.3 Hipotez	5
BÖLÜM 2	
GENEL BİLGİLER	6
2.1 Kimyasal Sensörler	6
2.2 Algılama Birimi	7
2.2.1 Fitalosiyaninler	7
2.2.2 Fitalosiyaninlerin Fiziksel Özellikleri	9
2.2.3 Tris (8-hydroxyquinoline) aluminum (Alq ₃)	10
2.3 Transduser Birimi	10
2.3.1 Akustik Tabanlı Transduserler	11
2.4 Elektronik Birim	13
2.5 Pattern (Örgü) Tanıma Sistemi	13
2.6 Sensör Karakteristikleri	14
2.7 Bakteriler	15
2.7.1 Bakterilerin Sınıflandırılması ve Çeşitleri	17
2.7.2 Bakterilerin Üremesi ve Yaşam Koşulları	18

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM	20
3.1 Kuvartz kristallerin temizlenmesi.....	20
3.2 Algılayıcı filmlerin kaplanması	21
3.3 Alq ₃ mikrotellerin hazırlanması.....	23
3.4 Ağır metal iyonu çözeltilerinin hazırlanması.....	23
3.5 Ağır metal iyonu algılama özelliklerinin belirlenmesi	24
3.6 Bakteri ortamının hazırlanması.....	26
3.7 Bakteri algılamaya yönelik sensör yüzeyinin aktif hale getirilmesi	26
3.8 Sensörlerin bakteri algılama özelliklerinin belirlenmesi	27

BÖLÜM 4

BULGULAR.....	28
4.1 Algılayıcı olarak Alq ₃ 'ün kullanıldığı sensörlerden elde edilen sonuçlar...	28
4.2 Algılayıcı olarak Alq ₃ nanotellerin kullanıldığı yapılardan elde edilen sonuçlar	33
4.2.1 Alq ₃ nanotellerin yapısal analizinden elde edilen sonuçlar	33
4.2.2 Alq ₃ nanotellerin metal iyonu algılama özelliklerinden elde edilen sonuçlar	33
4.3 Algılayıcı olarak FePc ftalosiyanınin kullanıldığı sensörlerden elde edilen sonuçlar	36
4.4 Bakteri ölçümünden elde edilen sonuçlar	38

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER	41
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	50

SİMGE LİSTESİ

a	Çıkış sinyali
A	Kuvartzın titreşen kısmının alanı
Å	Angstrom
Ag	Gümüş
Alq ₃	Tris (8-hydroxyquinoline) aluminum
Au	Altın
B	Duyarlık
Cm	Santimetre
Ca	Kalsiyum
Cd	Kadmiyum
Cl ⁻	Klor
Co	Kobalt
Cr	Krom
Cu	Bakır
DI	Deiyonize
Fe	Demir
FePc	Demir fitalosiyanın
f ₀	Rezonans frekansı
gr	Gram
Hg	Cıva
Hz	Hertz
K	Potasyum
L	Litre
M	Molar
Mg	Magnezyum
Mm	Milimolar
Mg	Miligram
ml	Mililitre
Mn	Mangan
MHz	Megahertz
MΩ	Megaohm
Na	Sodyum
Ni	Nikel

Nm	Nanometre
NO ₃	Nitrat
Pb	Kurşun
S	Sinyal
S	Siemens
SiO ₂	Silikon Dioksit
SBA-15	Silika
SO ₄ ⁻²	Sülfat
Zn	Çinko
Δm	Kütle değişimi
Δf	Frekans değişimi
μ _q	Kuvartzın shear modülü
ρ _q	Kuvartzın yoğunluğu
π	Pi sayısı
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
δ	Delta
°C	Santigrat
°	Derece
%	Yüzde

KISALTMA LİSTESİ

DNA	Deoksiribo nükleik asit
EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide
ELISA	Enzim ilintili immün test
NHS	N-hydroxysuccinimide
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
SEM	Taramalı elektron mikroskobu

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2. 1	Sensör sisteminin şematik gösterimi 6
Şekil 2. 2	Fitalosiyanin molekülü ve numaralandırılması 8
Şekil 2. 3	Alq ₃ 'ün moleküler yapısı 10
Şekil 2. 4	Kuvartz kristalindeki kesim açıları..... 12
Şekil 2. 5	Kuvartz kristalin titreşim modları..... 12
Şekil 3. 1	Transdüser olarak kullanılan kuvartz kristalinin fotoğrafı 20
Şekil 3. 2	Algılayıcı olarak kullanılan ftalosiyanin bileşiğinin moleküler yapısı 22
Şekil 3. 3	Sıvı akış hücresi 25
Şekil 3. 4	Deneyisel çalışmalarda kullanılan frekansmetre ve peristaltik pompa 26
Şekil 4. 1	Alq ₃ 'ün kullanıldığı sensörün Co ⁺² , Cr ⁺³ ve Zn ⁺² iyonlarının gösterilen aralıktaki konsantrasyonlarına cevap karakteristiği 29
Şekil 4. 2	Algılayıcı olarak Alq ₃ 'ün kullanıldığı sensörlerde frekans değişiminin konsantrasyona bağlılığı 30
Şekil 4. 3	Alq ₃ tabanlı sensörün değişik metal iyonlarına duyarlılıkları..... 31
Şekil 4. 4	Alq ₃ tabanlı sensörlerin cevap (a) ve geri dönüşüm (b) sürelerinin Co ⁺² , Cr ⁺³ ve Zn ⁺² konsantrasyonuna bağlı olarak değişimi 32
Şekil 4. 5	Alq ₃ nanotellerin SEM görüntüsü 33
Şekil 4. 6	Alq ₃ nanotellerin Co ⁺² ve Zn ⁺² iyonlarının farklı konsantrasyonlarına cevap karakteristiği 34
Şekil 4. 7	Algılayıcı olarak Alq ₃ nanotellerin kullanıldığı sensörlerde frekans değişimlerinin konsantrasyona bağlılığı..... 35
Şekil 4. 8	Alq ₃ nanotel tabanlı sensörün değişik metal iyonlarına duyarlılığı 36
Şekil 4. 9	Algılayıcı olarak FePc'nin kullanıldığı sensörün Ag ⁺¹ ve Cd ⁺² iyonlarının farklı konsantrasyonlarına cevap karakteristiği 37
Şekil 4. 10	FePc tabanlı sensörün değişik metal iyonlarına duyarlılıkları..... 38
Şekil 4. 11	Sensörün bakterili suyun farklı konsantrasyonlarına cevap karakteristiği .. 39
Şekil 4. 12	Sensörün tekrarlanan bakterili su ölçümleri sonucunda elde edilen cevap karakteristiği 40

SIVILARDAKİ AĞIR METAL İYONLARININ VE BAKTERİLERİN ALGILANMASI İÇİN BİYOSENSÖRLERİN GELİŞTİRİLMESİ

Meltem AĞAR

Fizik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ahmet ALTINDAL

Kullanılan ve yeniden değerlendirilen suların hastalığa sebep olan bakteri ve ağır metal iyonları tarafından kirletilmesi birçok hastalığa neden olmaktadır. Son 10 yıl içerisinde bu hastalıkları kontrol altına almak toplumumuzu ilgilendiren en önemli sağlık sorunu olmuştur. Su kirliliği çevre ve halk sağlığı açısından büyük tehlike arz etmektedir. Su kirliliği esas olarak endüstriyel atıklar nedeniyle oluşmaktadır. Birçok ülke için ciddi problem oluşturan kadmiyum (Cd), krom (Cr), bakır (Cu), kobalt (Co) ve çinko (Zn) gibi ağır metal iyonları genel kirleticilerdir. Düşük konsantrasyonlarda bile insan sağlığı için muhtemel zehirlenmelere neden olabilecekleri için birçok ağır metal iyonu tehlikeli kirleticiler sınıfında yer alır. Ağır metal iyonları kirli sulardaki başlıca kirleticiler olarak kabul görürler. Doğal sulardaki ağır metal iyonlarının toplam konsantrasyonu atomik absorpsiyon spektroskopisi, yüksek performanslı sıvı kromatografisi ve anodik sıyırma voltametri gibi birçok analitik yöntemle ölçülebilir. Fakat bu yöntemler hem çok pahalıdır hem de sürekli ölçümler için kullanışsızdır. Kirli sulardaki diğer kirletici kaynakları Salmonella, Escherichiacoli (E. coli), Staphylococcusaureus ve Enterococcus faecalis (E. faecalis) gibi bakterileridir. Bulaşıcı ve zehirleyici özelliğe sahip bakteriler birçok insanın hastalanmasına ve ölümüne neden olmaktadır. Bilinen 250'den fazla hastalık sadece yiyecek ve içecekler vasıtasıyla yayılır. Özellikle E. Coli (O157:H7) zehirlilik ve hastalık yapıcı özelliklerine sahip olması nedeniyle en öldürücü gıda patojenidir. Zehirlilik ve patojenik özellikler, çeşitli medikal ve çevresel alanlar ile gıda endüstrisi ve anti-biyoterörizm uygulamalarında önemli ölçülebilir büyüklüklerdendir. Halk sağlığını bakteri kaynaklı hastalıklara karşı korumak patojenlerin algılanmasına

yönelik geliştirilen metotların güvenilirliğine ve yeterliliğine bağlıdır. Genel anlamda sağlıklı bireyleri hastalıktan korumak için ve hastaların tedavisi için tedaviye yönelik atılacak ilk ve en önemli adım hastalığa neden olan bakteriyi tespit etmektir. Son 10 yılda sağlık ve güvenlikle ilgili sorunların belirlenmesi ve bunların korunmasına yönelik artan farkındalık sonucunda zararlı bakterilerin hızlı ve seçici bir şekilde algılanması en önemli gerekliliklerden biri olmuştur. Günümüzde bu amaç için kullanılan metotlar genellikle polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), kültür ve koloni sayım metodu ve enzim ilintili immün test (ELISA)dir. Buna rağmen bu geleneksel kültür teknikleri sadece zaman alıcı ve kullanışsız olmayıp aynı zamanda örnek hazırlama ve taşıma gibi işlemler gerektirir. Gelişmiş teknoloji ile birlikte kimya, biyoloji ve malzeme bilimine dair temel bilgi gerektiren bu alandaki çoğu çalışma, bakterilerin algılanması için hızlı seçici ve duyarlı olup aynı zamanda düşük maliyete sahip, gıda güvenliği için kullanışlı uygulamaları olan yeni metotların geliştirilmesine odaklanmıştır.

Son yıllarda biyosensörler örnek hazırlama ve geleneksel kültür tekniklerinin zorluklarının üstesinden gelmesi açısından dikkat çekici bir alternatif olmuştur. Biyosensör diğer birçok bileşenin içinden sadece bir bileşeni seçici bir şekilde algılayan biyolojik moleküllerin kullanıldığı taşınabilir analitik bir cihazdır. Genelde bir biyosensör ölçülmesi istenen maddeyle seçici bir şekilde etkileşen tanıyıcı element ile bu etkileşim sonucu elde edilen bilgiyi dönüştüren transdüserden meydana gelir. Son zamanlarda sudaki bakteri ve ağır metal iyonlarının algılanmasına yönelik sensörlerin geliştirilmesi için çokça çaba harcanmıştır. Escherichiacoli (O157:H7) gibi bazı bakterilerin algılanmasına yönelik biyosensör geliştirmek için dikkate değer çabalar gösterilmesine rağmen Enterococcus faecalis'in algılanmasına yönelik biyosensör için hiçbir ilerleme gösterilememiştir. Enterococcus faecalis gram pozitif bir bakteri olup insanların ve hayvanların ağız boşluğunda, mide ve bağırsaklarında yaşar. Bu bakteri bağırsak hücrelerinde yaşadığı müddetçe zararsızdır. Buna rağmen antibiyotiğe karşı dirençlerinden dolayı, kullanılması gereken miktarda geniş spektrumlu antibiyotik kullanımından sonra bağırsakta çokça üreyebilir ve bağırsak problemlerine yol açabilir. Ayrıca bağırsağın delinmesi sonucu bakterilerin karın boşluğuna nüfuz etmesi durumunda ciddi sağlık problemlerine yol açabilir.

Bu tezde kadmiyum, çinko, bakır ve kobalt gibi ağır metal iyonlarının algılanmasına yönelik sensörlerin geliştirilmesi amaçlandı. En uygun sıcaklık katsayısı nedeniyle transdüser olarak altın elektrotlara ve 10 MHz'lik temel titreşim frekansına sahip thickness shear modunda titreşen AT-kesim kuvarz kristali kullanıldı. Kıyaslama yapılması açısından algılayıcı yüzey olarak ftalosiyanın ve tris (8-hydroxyquinoline) aluminum (Alq_3) kullanıldı. Bu tezin bir diğer amacı da sudaki E. faecalis bakterisini direkt algılamak amacıyla bir biyosensör geliştirmektir. Geliştirilen biyosensör antibody'nin işlevselleştirildiği kuvarz kristalinden oluşmaktadır. Sensörün cevap ve geri dönüş süresi ölçülen cevap karakteristiklerinden tahmin edilmiştir. Ayrıca sensör performansının önemli bir diğer kriteri olan tekrarlanabilirlik de araştırılmıştır. Sensörün performansının hücre parametreleri ile hücre performansı için önemli olan anot elektrot malzemesinin seçimine önemli bir şekilde bağlı olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyosensör, ftalosiyenin, bakteri, ağır metal iyonu, adsorbsiyon.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF BIOSENSORS FOR DETECTION OF HEAVY METAL IONS AND BACTERIA IN LIQUIDS

Meltem AĞAR

Department of Physic

MSc. Thesis

Adviser: Prof. Dr. Ahmet ALTINDAL

Contamination of supplied and recreational waters by bacterial pathogens and heavy metal ions results in numerous diseases. The control of diseases has been one of the most important public health concerns of our society for decades. Water pollution represents a real danger to the environment and consequently to public health. This pollution is primarily due to industrial wastes. Heavy metal ions such as cadmium, chromium, copper, cobalt, zinc etc. are common pollutant substances, which are a serious problem in many countries. Many heavy metal ions have been classified as hazardous pollutants due to their potential toxicity to human health even at low concentrations. They are considered as one of the main pollutants in waste water. Total concentrations of the heavy metal ions in the natural water can be measured using a number of analytical techniques such as e.g. atomic absorption spectroscopy, high performance liquid chromatography, anodic stripping voltammetry, which are quite expensive and cannot be used for continuous measurements in situ. Bacteria such as, *Salmonella*, *Escherichia coli* (*E. coli*), *Staphylococcus aureus*, and *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) are another source of pollutants in waste water. Infectious and toxigenic bacteria cause a great deal of human suffering and death. More than 250 known diseases are transmitted through food and drink alone. In particular, *E. coli* O157:H7 has emerged as one of the deadliest foodborne pathogens due to its

combination of virulence and pathogenicity. They are the key measurands in many medical, environmental, and food industries as well as in anti bioterrorism applications. Protecting the public against disease-causing bacteria depends on the efficiency and reliability of the methods designed to detect the pathogens. In general terms, identifying the disease-causing bacteria is the first and most critical step toward the cure of the patient and the protection of healthy individuals. In the last decade the specific demand for rapid and sensitive detection of these potentially harmful bacteria has emerged particularly as the awareness of the need to protect and identification of problems related to health and safety has grown. Today, the methods usually used for this purpose includes polymerase chain reaction (PCR), culture and colony counting methods, and enzyme-linked immuno sorbent assays (ELISA). However, these conventional culturing techniques are not only time-consuming and cumbersome, but also require sample preparation and transportation. Therefore, a great research challenge in this field is focused on the need to develop rapid, selective, specific and sensitive methods to detect these bacteria, which requires advanced technology coupled with fundamental knowledge in chemistry, biology, and material sciences, at low cost to implementing effective practice to ensure food safety and security.

In recent years, biosensors have emerged as an attractive alternative for overcoming these difficulties. A biosensor is a portable analytical device that uses biological molecules to detect selectively just one compound within a mix of many others. In general, a biosensor consists of two functional components: a recognition element to provide selective/specific binding with the measurands and a transducer component for signaling the binding event. A large amount of efforts has been made recently to develop a sensor for the detection of heavy metal ions and bacteria in water samples. Although there has been considerable effort in recent years to develop biosensor for the detection of some particular bacteria such as, *Escherichia coli* O157:H7, there has been no development of biosensor for the detection of *Enterococcus faecalis*. *Enterococcus faecalis* is a gram-positive commensal bacterium that inhabits the oral cavity and gastrointestinal flora of humans and animals. Although *Enterococcus faecalis* is typically harmless, this is only true when it is living in its intestinal niche. However, because of its resistance to antibiotics, it can sometimes overgrow the intestines after a course of broad-spectrum antibiotics, leading to intestinal problems. In addition, it can cause serious diseases in humans if the intestines become perforated and it is able to escape into the abdominal cavity.

In this thesis, we aimed to develop a sensor for the detection of heavy metal ions such as cadmium, zinc, copper and cobalt. Due to the best temperature coefficient, AT-cut quartz crystals vibrating in the thickness shear mode with a fundamental resonant frequency of 10 MHz with gold (Au) electrodes were used as transducer. For comparison, phthalocyanine and tris(8-hydroxyquinoline) aluminum (Alq_3) were used as sensing layer. Another main aim of this thesis is to develop a label-free biosensor for the direct detection of *E. faecalis* in water samples. The developed biosensor is composed of an antibody functionalized cut quartz crystals. The response and recovery time of the biosensor were estimated from the measured dynamic response characteristics. Another important aspect of sensor performance, which is repeatability, were also investigated. It was found that the sensor performance

strongly depend on cell parameters depend on the anodization time and the choice of anod electrode material is critical to cell performance.

Keywords: Biosensor, phthalocyanine, bacteria, heavy metal ion, adsorption.

GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Ağır metal iyonları gelişen teknoloji ile endüstride yaygın olarak kullanılmakta olup yarattıkları kirlilik tarım, çevre ve canlıların yaşamları üzerinde olumsuz etkiler yaratan ciddi bir çevre sorunudur [1]. Ağır metal iyonları özellikle kömür gibi fosil yakıtların yanması sonucu, kötü atık yönetimi ve kullanılan tarımsal ilaçlar gibi çeşitli yollarla su kaynaklarına karışmakta ve canlılar üzerinde toksik etki yapmaktadırlar. Cu, Fe ve Zn gibi bazı ağır metaller biyolojik olarak esas ve bazı organizmalar için gerekli olmalarına rağmen yüksek konsantrasyonlarda zehirleyici etkiye sahiptirler [2-4]. Diğer yandan Cd ve Hg gibi ağır metaller biyolojik esas değildirler ve çok küçük konsantrasyonları bile canlı organizma için zararlıdır [5]. Bu nedenle, ağır metal kirliliğinin minimize edilmesi ve zararlı etkilerinin önceden belirlenmesi atık yönetimi, çevre temizliği ve gelişen biyolojik uygulamalar için büyük önem arz etmektedir. Atomik absorpsiyon spektrometresi [6], x-Ray floresans spektrometresi [7] ve voltametri [8] yöntemleri ağır metal iyonu algılamada yaygın olarak kullanılan yöntemlerdir. Diğer yandan tek hücreli mikroorganizmalar olan bakteriler dünyadaki biyokütlenin çoğunu oluştururlar ve bir gram toprakta 40 milyon, 1 mililitre tatlı suda yaklaşık 1 milyon bakteri hücresi bulunur. Bakterilerin bazıları bağışıklık sistemimizi koruyucu probiyotik etkiye sahip olsalar da çoğu bakterilerin hastalık yapıcı etkiye sahip oldukları da iyi bilinmektedir. Bugün, patojenik virüsler, bakteriler ve parazitler gibi besin ve içme suyu yoluyla alınan mikroorganizmaların neden olduğu 250'den fazla hastalık olduğu bilinmektedir. Bu hastalık yapıcı mikroorganizmalar arasında bakteriler %91'lik bir oranla en büyük

paya sahiptir. Dolayısıyla, besin ve su kaynaklarının kullanılabilirliğini garanti altına alabilmek için, sıvı ortamlardaki *Escherichiacoli* (*E. coli*) *E. faecalis* ve *Salmonellaspp.* gibi bakterilerin yoğunluğunun yerinde ve hassas bir şekilde belirlenmesinin ne kadar önemli olduğu açıktır. Bugün sıvılardaki bakteri yoğunluğunu belirlemek için çoklu tüp fermentasyonu, membranfiltrasyon, plak sayım metodu gibi birçok mikrobiyolojik metotlar geliştirilmiştir [9-11]. Sulardaki gerek ağır metal iyonu gerekse bakteri miktarının belirlenmesinde kullanılan metotlar yüksek hassasiyet gibi bazı avantajlara sahip olmalarına rağmen zaman alıcı (inkübasyon zamanları 24-48 saat sürmektedir), örnek toplamayı ve laboratuvarlara taşınmayı gerektiren pahalı, yetişmiş personel gerektiren yerinde ve anında algılamaya uygun olmayan yöntemlerdir. Alışılmış yöntem ve analitik cihazların bu dezavantajlarından dolayı bakteri yoğunluğu ve ağır metal iyonlarının hassas ve çabuk olarak yerinde algılanabilmesi üzerine yoğun olarak çalışılmaktadır.

En basit haliyle bir biyosensör biyolojik olarak aktif bir algılayıcı molekül ile, algılayıcı molekülün hedef moleküllerle etkileşmesi sonucu bazı özelliklerindeki değişimi ölçülebilir bir sinyale dönüştüren bir transdüserden oluşur. Özellikle, ağır metal iyonlarının algılanması amacıyla optik [12], elektrokimyasal [13] ve kalorimetrik [14] gibi farklı çalışma prensiplerine dayalı değişik sensörler geliştirilmiştir. Lou ve diğerleri [15] algılayıcı olarak thiol ile fonksiyonel hale getirilmiş farklı gözenek boyutlarına sahip silikanın (SBA-15) transduser olarakta kuartz kristal mikrobalsın kullanıldığı sensörlerin Na^+ , K^+ , Mg^{+2} , Cu^{+2} , Fe^{+3} , Cd^{+2} , Zn^{+2} ve Hg^{+2} gibi iyonları algılama özelliklerini gözenek boyutlarına bağlı olarak incelemişlerdir. Çalışmada, üretilen sensörlerin en büyük duyarlılığı Hg^{+2} 'ye gösterdiği gözlemlenmiştir. Su örneklerindeki 1 ppm Hg^{+2} 'nin 175 Hz'lik bir frekans değişimi oluştururken sensörün cevap süresinin 1 dakikanın altında olduğu gözlemlenmiştir. Cu^{+2} , Fe^{+3} , Cd^{+2} ve Zn^{+2} iyonları için gözlemlenen düşük duyarlık bu iyonların koordinasyon kabiliyetinin Hg^{+2} den küçük olmasına yorumlanmıştır. Sensörlerin seçiciliğine yönelik yapılan çalışmalarda, SBA-15 inthiol ile fonksiyonel hale getirilmesinin sensör seçiciliğini arttırdığı rapor edilmiştir. Sensörlerin cevap karakteristiklerinin algılayıcı malzemenin gözenek boyutuna bağlılığının incelenmesinde ise farklı gözenek boyutlarındaki algılayıcıların frekans cevaplarının

da farklı olduğu rapor edilmiştir. Ratnarathorn ve diğerleri [16] içme sularındaki Pb^{+2} iyonlarını algılamak amacıyla maleik asit ile modifiye edilmiş altın nano parçacıkların kullanıldığı kalorimetrik bir yöntem geliştirmişlerdir. Araştırmacılar, sulardaki Pb^{+2} iyonlarının konsantrasyonuna bağlı olarak kırmızıdan maviye doğru görülebilir bir kayma olduğunu rapor etmişlerdir. Geliştirilen yöntem As^{+3} , Ca^{+2} , Cd^{+2} , Co^{+2} , Cu^{+2} , Fe^{+3} , Hg^{+2} , Mg^{+2} , Mn^{+2} , Ni^{+2} , Pb^{+2} ve Zn^{+2} gibi iyonlarla Cl^- , NO_3^- and SO_4^{+2} gibi anyonları algılama amacıyla da test edilmiş ve Pb^{+2} için oldukça seçici olduğu gözlemlenmiştir. Huang ve çalışma arkadaşları [17] su örneklerindeki Cd^{+2} , Pb^{+2} iyonlarını elektrokimyasal yolla algılamak için bir boyutlu karbon nano tüpler ve iki boyutlu grafen oksitten oluşan bir nano kompozit kullanmışlardır. Elektrokimyasal sonuçlar Cd^{+2} ve Pb^{+2} iyonlarının 0.5 mgL^{-1} ile 30 mgL^{-1} arasındaki değerleri için doğrusal bir kalibrasyon ilişkisi olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmada, Cd^{+2} iyonları için endüşük algılama limitinin 0.1 mgL^{-1} , Pb^{+2} için ise 0.5 mgL^{-1} olduğu rapor edilmiştir.

Ağır metal iyonlarının algılanmasına yönelik sensörlerde duyarlık, seçicilik, cevap ve geri dönüşüm süresi gibi temel sensör parametreleri birinci derecede algılayıcı olarak kullanılan malzemeye bağlıdır. Hedef moleküllerle geri dönüşebilir, hızlı ve seçici şekilde etkileşecek algılayıcı malzeme arayışları gözleri organik malzemelere çevirmiş durumdadır. Organik malzemeler maliyetlerinin düşük olması, esnek altlıklar üzerine uygulanabilmeleri, moleküler yapılarında yapılacak küçük değişikliklerle oldukça farklı fiziksel özelliklere sahip malzemelerin elde edilebilmesi, üretim işlemlerinin kolay olması gibi nedenlerden dolayı son yılların en ilgi çekici malzeme grubudur [18- 20]. Organik yarıiletken malzemeler arasında *ftalosiyanimler*, ısı ve kimyasal kararlılıkları, ince filmlerinin kolay hazırlanabilmesi, yakın infrared (IR) bölgede yüksek soğurma bandına sahip olmaları, konjuge π - elektron sistemine sahip olmaları, özelliklerinin moleküler yapıda yapılan modifikasyonlarla büyük oranda değiştirilmesi gibi nedenlerden dolayı üzerlerinde en çok çalışılan organik yarıiletken malzeme grubudur. Bugün ftalosiyanimler, ışık yayan diyotlar [21], magnetler [22], güneş pilleri [23], fotodinamik kanser terapisi [24] ve gaz sensörlerine [25] kadar oldukça geniş bir alanda uygulama bulabilmektedir.

Diğer yandan tek hücreli mikroorganizmalar olan bakteriler dünyadaki biyokütlenin çoğunu oluştururlar ve bir gram toprakta 40 milyon, 1 mililitre tatlı suda 1 milyon bakteri hücresi bulunur. Bakterilerin çoğunluğu bağışıklık sistemimizi koruyucu probiyotik etkiye sahip olsalar da bazı bakterilerin hastalık yapıcı etkiye sahip oldukları da iyi bilinmektedir. Salmonella, Escherichiacoli (E. coli), Staphylococcusaureus ve Enterococcusfaecalis (E. faecalis) gibi bakteriler sağlık, çevre ve gıda sanayiinde en temel göstergeler olarak kabul edilmektedir [26,27]. Enterococcus faecalis bir gram pozitif bakteri olup daha çok ağız boşluğu ve bağırsak bölgesinde yaşar. Normalde bu bakteri bağırsakta uygun yerde yaşadığı müddetçe zararsızdır. Ancak bu bakteri türünün antibiyotik direncinden dolayı bazı durumlarda olması gerektiğinden daha fazla çoğalır ve bağırsak problemlerine neden olur. Özellikle bağırsakların delinmesi durumunda karın bölgesine kaçabilirler ve bu durumda ciddi sağlık sorunlarına yol açabilir [28]. Dolayısıyla, besin ve su kaynaklarının kullanılabilirliğini garanti altına alabilmek için, sıvı ortamlardaki Enterococcus faecalis gibi bakterilerin yerinde ve hızlı bir şekilde algılanması büyük bir önem arz etmektedir [29]. Özellikle Escherichiacoli O157:H7 ve Salmonella gibi bakterilerin algılanmasına yönelik yüzey plazmon rezonans [29], elektrokimyasal empedans spektroskopisi [30] ve manyeto resistif [31] olmak üzere farklı sglama mekanizmalarına dayalı biyosensörler yoğun olarak çalışılmaktadır. Literatürde Enterococcus faecalis'in algılanmasına yönelik çalışmaların oldukça sınırlı olduğu görülmektedir.

1.2 Tezin Amacı

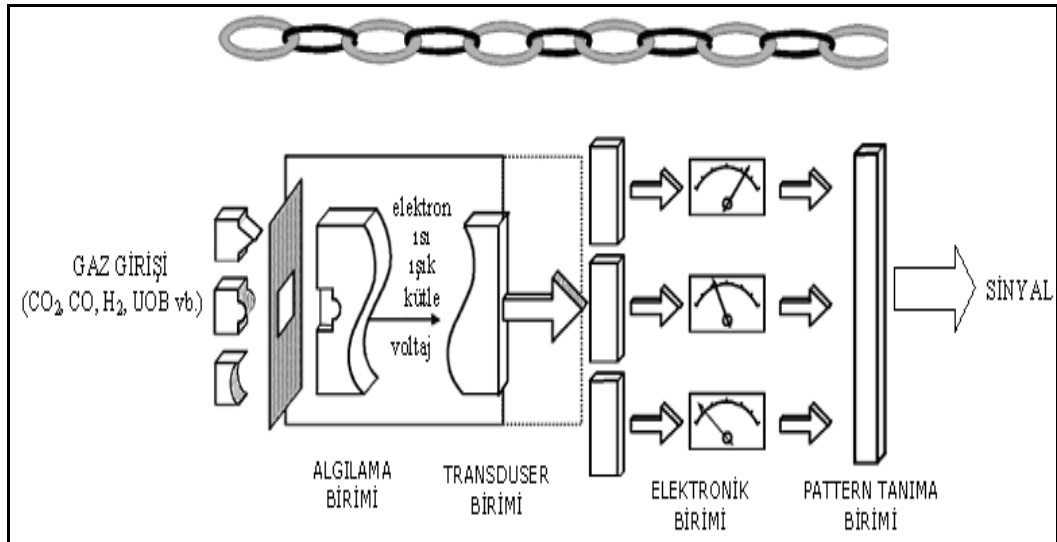
Bu Yüksek Lisans tez çalışmasında özellikle yüzme havuzları, plajlar ve içme suları gibi toplumun büyük çoğunluğunun ortaklaşa kullandığı su kaynaklarındaki ağır metal iyonları ile bakterilerin algılanmasına yönelik sensörlerin geliştirilmesi hedeflenmiştir. Ağır metal iyonlarının algılanması amacıyla geliştirilen sensörlerde algılayıcı malzeme olarak farklı moleküler yapılara sahip ftalosiyanın bileşikleri ile ticari olarak temin edilen Alq_3 kullanılmıştır. Sensörlerde transdüser olarakta temel rezonans frekansı 10 MHz olan AT kesim kuvarz kristalleri kullanılmıştır. Enterococcus faecalis algılanmasında ise algılayıcı olarak antibody kullanılmıştır.

1.3 Hipotez

Temel rezonans frekansında titreşen bir piezoelektrik malzemenin titreşim frekansı kütlesindeki değişimlere oldukça duyarlıdır. Piezoelektrik malzemelerin bu özelliği sulardaki ağır metal iyonları ile bakterilerin algılanmasına yönelik sensörlerin geliştirilmesinde kullanılabilir. Ağır metal iyonlarının piezoelektrik malzemenin yüzeyine ince film halinde kaplanan algılayıcı malzemeye bağlanması sonucu sensörün kütlesi dolayısıyla da, rezonans frekansı değişecektir. Bu çalışma kapsamında üretilen ve çalışma prensipleri rezonans frekansındaki değişimlerin ölçülmesi esasına dayanan sensörlerle Cd, Co, Cr, Ag, Zn gibi metal iyonları ile *Enterococcus faecalis*'in oldukça hassas bir şekilde algılanabileceği gösterilmiştir. Farklı algılayıcıların kullanıldığı sensörlerde en büyük duyarlık Cd iyonu için gözlemlenirken sensörlerin geri dönüşebilir olduğu ve cevap sürelerinin 1 dakikanın altında olduğu görülmüştür.

2.1 Kimyasal Sensörler

En basit haliyle bir kimyasal sensör, konsantrasyon, pH, basınç vb. kimyasal bir girişi elektriksel ya da optik bir sinyale dönüştüren aygıtlardır (Şekil 2.2.1). Diğer bir ifadeyle kimyasal sensörler, kimyasal bilgiyi elektronik bilgiye dönüştüren aygıtlardır. Şekil 2.1.1'den görüleceği gibi bir kimyasal sensör algılama birimi, transdüser birimi ve elektronik birim olmak üzere üç temel birimden oluşmaktadır.



Şekil 2.1 Sensör sisteminin şematik gösterimi

Elektronik duyu organları da diyebileceğimiz bu cihazlar, çalışma prensiplerine ve kullanılan transdüser tipine göre çeşitlere ayrılmaktadır. Termal, mekanik, kimyasal,

akustik, radyoaktif sensörler ve biyosensörler bunlardan bazılarıdır.

Algılama Birimi, ortamda bulunan ve algılanmak istenen hedef moleküllerle etkileşimi sonucu elektriksel iletkenlik, dielektrik sabiti, absorpsiyon katsayısı gibi fiziksel özelliklerinde bazı değişimler olan “algılayıcı” bir malzemeden oluşur. Bir kimyasal sensör sisteminde en önemli birim algılama birimidir. İdeal bir kimyasal sensörde algılama birimi; ısı ve kimyasal olarak kararlı olmalı, hedef moleküllerle etkileşmesi seçici, hızlı ve geri dönüşebilir olmalı ayrıca, etkileşme sonucuna fiziksel özelliklerindeki değişim kolayca ölçülebilir büyüklükte olmalıdır. Bunun dışında, düşük sıcaklıklarda, tercihen oda sıcaklığında, algılanmak istenen gaz molekülleri ile etkili bir şekilde etkileşebilmelidir. Algılama biriminden beklenen diğer önemli bir özellikte ucuz ve uzun ömürlü olmasıdır. Dolayısıyla, algılama birimi bir sensör sisteminin en kritik birimidir. Bu tez çalışmasındaki temel hedeflerimizden birisi de bu kriterleri sağlayan algılayıcı malzemelerin üretilmesi ve karakterizasyonlarının yapılmasıdır.

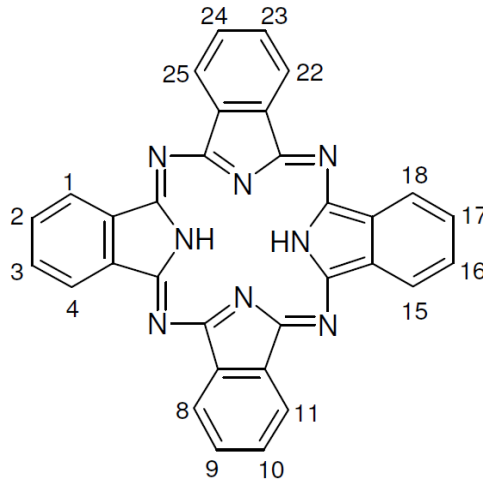
2.2 Algılama Birimi

Tez kapsamında yapılan çalışmalarda algılayıcı olarak iki farklı organik yarıiletken malzeme kullanılmıştır. Bunlardan birisi ticari olarak temin edilen tris(8-hydroxyquinoline) aluminum (Alq_3) diğeri de yine bir çeşit yarıiletken olan merkezinde demir (Fe) atomu bulunan ftalosiyanin ($FePc$) bileşiğidir. Aşağıda ftalosiyaninler ve bunların fiziksel özellikleri ayrıntılı olarak açıklanmıştır. Kullanılan Alq_3 ticari olarak temin edilmiştir.

2.2.1 Ftalosiyaninler

Ftalosiyanin ilk defa 1907 yılında bir rastlantı sonucu keşfedilmiştir. Ftalosiyanin birçok metal iyonu alabilecek büyüklükte, kompleks oluşumuna doğrudan katılabilen pirol halkarındaki dört azot atomu ile iki imino hidrojen atomu içeren iminoizoindolin ünitesinden oluşmuş simetrik bir makrohalkadır. Bu yapı X-ışını kırınım analizi ile doğrulanmıştır. İlk zamanlarda ftalosiyaninler çeşitli malzemeler için renklendirici olarak kullanılmıştır. Ftalosiyaninler dört isoindol biriminin kondensasyon ürünü tetrabenzotetraazaporfirin olarak da adlandırılmaktadır.

Ftalosiyanın, yapı olarak yeşil yapraklı bitkilerin pigmenti olan klorofil ve kana renk veren hemoglobin ile yakın benzerliği vardır. Ftalosiyanın molekülünün merkezindeki atomunun periyodik tablonun hemen hemen bütün metal iyonları ile yer değiştirebilmesi sonucu birçok metalli ftalosiyanın sentezlenebilmektedir. Ftalosiyanın çekirdeği üzerine çeşitli substitüentlerin ve çeşitli metal iyonlarının bağlanmasıyla kimyasal ve fiziksel özellikleri büyük oranda kontrol edilebilmektedir. Bu özelliklerinden dolayı, fotodinamik terapi, katalizör, elektro-katalizör, gaz sensörü ve bilgi depolama sistemlerinde kullanılmak üzere özel amaçlı maddelerin elde edilmesi mümkündür. Şekil 2.2’de tipik bir ftalosiyanın’ın moleküler yapısı gösterilmiştir. Şekil 2.2’den görüleceği gibi, makrosiklik substitüsyon için benzen üniteleri üzerinde 16 tane uygun yer vardır. 2, 3, 9, 10, 16, 17, 23, 24 numaralı karbon atomları periferel (p) ve 1, 4, 8, 11, 15, 18, 22, 25 numaralı karbon atomları periferel olmayan (np) yerlerdir. Makrosikliğe bağlanmış olan substitüentler Pc kısaltma formundan sonra yer alırlar. Periferel ve periferel olmayan substitüentlerin her ikisini de taşıyan okta(o)- substitüe ftalosiyanınlerden oluşmuş önemli maddeler vardır ve bunlar sırasıyla Op ve Onp kısaltmaları ile gösterirler.



Şekil 2.2 Ftalosiyanın molekülü ve numaralandırılması

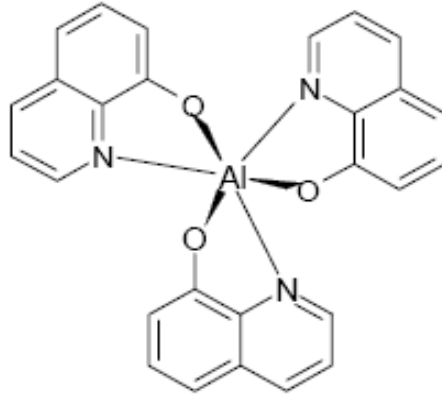
2.2.2 Ftalosiyeninlerin Fiziksel Özellikleri

Oldukça kararlı yapıdaki ftalosiyenin bileşikleri moleküler fiziğin önemli bir inceleme alanıdır. Ftalosiyeninler termal ve kimyasal olarak kararlı bir yapıya sahiptirler. Yapısına katılan azo nitrojenleri porfirinlere göre moleküle ısı ve oksidasyona karşı çok daha iyi dayanıklılık katmasına karşılık π -konjugasyonu nedeniyle ftalosiyenin halkaları arasındaki agregasyon artar, bu yüzden molekülün su ve çeşitli organik çözücülerdeki çözünürlüğü azalır. Havada 400–500°C'ye kadar bozunmaya uğramazlar. Vakum ortamında ise metal komplekslerin büyük bir kısmı 900 °C' den önce bozunmaz. Kuvvetli asitlere ve bazlara karşı dayanıklıdırlar. Bozunmadan süblimleşir ve kolay kristallenebilirler ve böylece çok saf ürünler elde edilebilir. Elektromanyetik spektrumda biri 400 nm diğeri de 700 nm'de olmak üzere iki şiddetli absorpsiyon maksimumlarına sahiptirler. Periyodik tablodaki 70'ten fazla metal ile metalo-ftalosiyenin sentezlenebilmektedir. Ftalosiyenin molekülünün ortasına yerleşen metal iyonunun metalo-ftalosiyeninlerin fizikokimyasal özellikleri üzerinde önemli bir etkisi vardır. Makrosiklik yapının okside-reduksiyon veya fotokimyasal uyarılmış haldeki özellikleri metalin özelliklerine oldukça bağlıdır.

Ftalosiyeninler genellikle isomorfik kristal yapıdadırlar. Substitüe olmamış ftalosiyeninlerin α -yapısı ve β -yapısı olmak üzere 2 tip kristal yapısı vardır. Bu iki tip yapı arasında çözünürlük, renk, termodinamik kararlılık açısından farklar vardır. β -formu, α -formuna göre daha karardır ve en çok rastlanan yapıdır. Bu yapılar X-ışını difraksiyonu yöntemiyle ayrılabilirler. α -Yapısı, sentez sırasında polar çözücüler kullanılarak elde edilebilir. Derişik sülfat asidi içinde çözünmüş ftalosiyenin hızla seyreltilmesi ile α -formunun çökmesi bu olaya örnek verilebilir. Daha kararlı olan β -formu ise, sentez sırasında organik çözücü kullanıldığında oluşur. α -Formu yüksek sıcaklıklara ısıtılır veya aromatik karakterli organik çözücülerle muamele edilirse β -formu elde edilir Ftalosiyenin bileşiklerinin çoğunda makrosiklik halka 0.3 Å sapma ile düzlemseldir. Ftalosiyenin molekülünün kalınlığı yaklaşık 3.4 Å'dır ve molekül simetrisi D_{4h} simetrisine uymaktadır. Ftalosiyeninler yarı iletken ve metalik iletken özellik göstermektedirler. İletkenlikleri 10^{-15} ile 10^{-4} Scm⁻¹ arasında değişmektedir.

2.2.3 Tris(8-hydroxyquinoline) aluminum (Alq₃)

Tris(8-hydroxyquinoline) aluminum (Alq₃) tipik bir organik yarıiletken olup [32] düşük voltajlardaki elektrolümünescans özelliğinden dolayı özellikle ışık yayan diyotlar gibi optoelektronik aygıtların üretiminde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Kloroform gibi temel çözücülerde çok iyi çözünmesinden dolayı döndürme (spin coating) ve sprej gibi ucuz ve basit yollarla oldukça homojen ince filmleri hazırlanabilmektedir. Farklı elektrolümünescans özellik gösteren maddelerle katkılanmaları [33] ve quinolinolate ligandına farklı substituentlerin eklenmesiyle [34] yayınlanan ışığın rengi kontrol edilebilmektedir. Alq₃'ün α , β , γ ve δ olmak üzere dört farklı fazda bulunabileceği ve bu fazların oluşumunun sıcaklığa çok bağlı olduğu bilinmektedir [35,36]. Başta lümünescans özelliği olmak üzere birçok fiziksel özelliği de kristal formuna bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir. Alq₃'ün moleküler yapısı şematik olarak Şekil 2.3'de gösterilmiştir.



Şekil 2.3 Alq₃'ün moleküler yapısı

2.3 Transdüser Birimi

Transdüser Birimi; algılama biriminin fiziksel özelliklerindeki değişimlerin ölçülebilir bir sinyale (elektriksel, optik vb.) dönüştürüldüğü birimdir. Sensörlerde, yaygın olarak kullanılan transdüser'ler genel olarak;

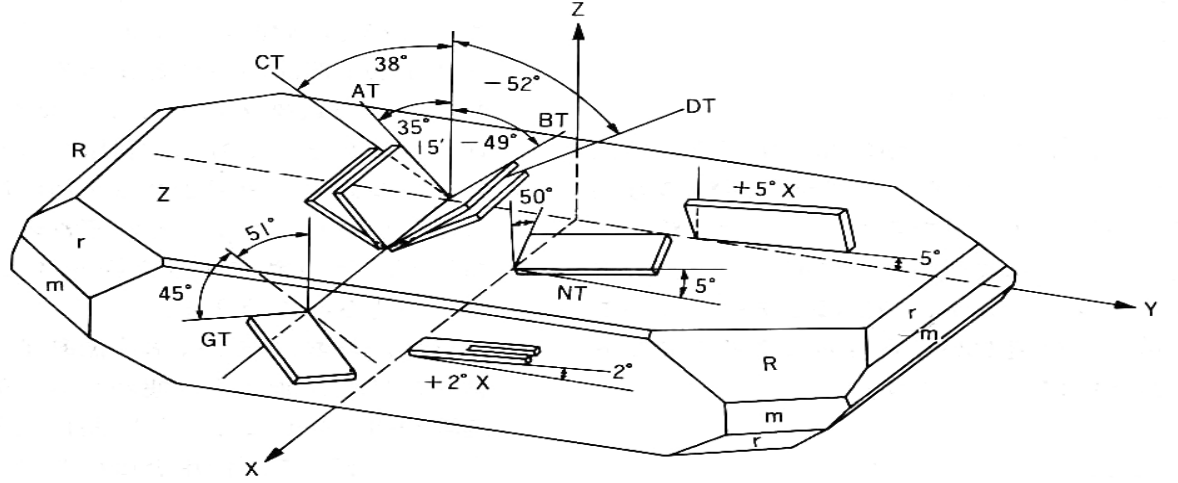
- Elektrokimyasal (Amperometrik , Potansiyometrik vb.)
- Optik
- Akustik

- Isıl

olmak üzere dört ana gruba ayrılabilir. Transdüser tipinin seçiminde en belirleyici etken algılama biriminde elde edilen çıktıdır. Seçilen transdüser tipi algılama biriminin fiziksel özelliklerindeki değişimlerle uyumlu olmalıdır. Örneğin, hedef moleküllerle etkileşim sonucu algılama biriminde değişen fiziksel büyüklük kütle ise bu durumda transdüser olarak rezonans frekansında titreştirilen kuvartz kristaller kullanılmalıdır. Etkileşmenin sonucunda değişen fiziksel büyüklük algılama biriminin elektriksel iletkenliği ise bu durumda da transdüser olarak interdiijital amperometrik veya potansiyometrik transdüserlar kullanılmalıdır. Sensör tasarımında transdüser biriminin seçimi en az algılama birimi kadar önemlidir. Mesela, gaz molekülleri ile algılama birimi arasındaki etkileşme yük alış-verişine dayalı değil de optik özelliklerindeki ya da kütle değişimlerine dayalı bir etkileşme ise bu durumda amperometrik veya potansiyometrik tipi transdüserin kullanılması sensörün, algılanmak istenen hedef molekülleri duymaması anlamına gelecektir. Bu Yüksek Lisans tez çalışmasında gerek sıvılardaki ağır metal iyonlarının algılanmasında gerekse bakterilerin algılanmasında Akustik tabanlı transdüser'ler kullanılmıştır.

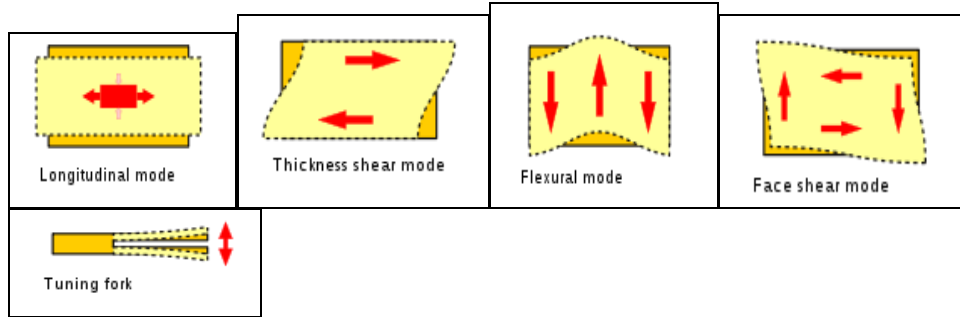
2.3.1 Akustik Tabanlı Transdüserler

Tipik bir akustik tabanlı transdüser belirli bir frekansta titreşen piezoelektrik bir malzemeden oluşur. Piezoelektrik etkinin gözlemlendiği kristallerden biri de kuvartzdır. Kuvartz SiO_2 monokristalidir. Heksagonal sistemde kristalleşen kuvartz, doğada kristal ya da amorf halde bulunabilir. Safsızlık atomlarının cins ve miktarına göre, saydam, renkli ya da yarı saydam durumdadır. Kimyasal çözücülerden etkilenmediği gibi kristal yapısını çok yüksek sıcaklıklara kadar koruyabilir. Kuvartzın α ve β kuartz olmak üzere iki tipi bulunur. Sensör uygulamalarında yüksek sıcaklıklardaki kararlılığından dolayı α tipi kuvartz kullanılır. Kuvartz kristalinin transdüser uygulamalarında doğada bulunduğu haliyle değil daha çok belirli açılarda kesilmiş hali kullanılır. Şekil 2.4'de farklı açılarda yapılan kesimler gösterilmiştir.



Şekil 2.4 Kuvartz kristalindeki kesim açıları

Kuvartz kristale zamanla değişen bir gerilim uygulandığında kuvartz, farklı modlarda ve frekanslarda titreşmeye başlar. Kuvartzın kesim açısına bağlı olarak değişen bu titreşim modları Şekil 2.5'de gösterilmiştir. Şekilde kuvartz kristalinin titreşim modları gösterilmiştir. Bu titreşimlerden thickness shear modu kütle değişimine en hassas moddur ve bu modda titreşen iki kesme tipinde kuartz kristal vardır. Bunlar AT ve BT kesim kuvartz kristalleridir.



Şekil 2.5 Kuvartz kristalin titreşim modları

AT kesim kuvartzda kristal, z ekseninden $+35^{\circ}15'$ açıyla, BT kesim ise z ekseninden $-49^{\circ}00'$ açıyla kesilmiştir. AT kesim kuvartz kristalinin yüksek sıcaklık kararlılığı (sıcaklık değişimlerinden en az etkilenmesi) ve kütle değişimine daha hassas olmasından dolayı sensör uygulamalarında en yaygın kullanılan kesimdir.

Tez çalışmaları boyunca transdüser olarak AT kesim kuvartz kristalleri kullanılmıştır. AT kesim bir kuvartz kristalinin rezonans frekansı kütledeki değişimlere oldukça duyarlıdır. Hedef moleküllerin kuvartz kristali yüzeyindeki algılayıcı malzeme

tarafından adsorplanması sonucu kütlesi dolayısıyla da, rezonans frekansı değişecektir. Kuvartz yüzeyine kaplanan algılayıcı malzemenin kuvartz ile birlikte titreşmesi (kaplanan algılayıcı malzemenin enerji kaybına neden olmaması) koşuluyla, kuvartzın rezonans frekansındaki değişim kütlesindeki artış ile orantılıdır. Sauerbrey [37], rezonans frekansı f_0 olan AT kesim bir kuvartz kristalin kütle değişimi (Δm) ile rezonans frekansındaki değişim (Δf) arasındaki ilişkinin,

$$\Delta f = - \frac{2f_0^2}{A \sqrt{\mu_q \rho_q}} \Delta m \quad (2.1)$$

ifadesi ile verilebileceğini göstermiştir. Burada, μ_q kuvartzın shear modülü, ρ_q kuvartzın yoğunluğu A da kuvartzın titreşen kısmının (elektrotların altında kalan kısım) alanıdır.

2.4 Elektronik Birimi

Transdüserler biriminin ürettiği sinyalin elektriksel bir sinyal olması için gerekli osilatör, fark devresi, yükselteç devresi, besleme devresi gibi devrelerden oluşur. Tez çalışmaları kapsamında geliştirilen sensörlerde elektronik birimi kuvartz kristali rezonans frekansında (10 MHz) titreştirecek bir osilatör devresi ile kuvartz kristalin rezonans frekansındaki değişimleri ölçmek için bir frekansmetreden oluşmaktadır. Sensör sisteminin bu biriminin sağlaması gereken en önemli şart devrenin, özellikle uzun süre kullanımlarında kararlı olmasıdır.

2.5 Pattern (Örüntü) Tanıma Birimi

Bu birim genelde bir mikrokontrolör ünitesi ve bilgisayardan oluşur. Bu birimin amacı, algılanmak istenen hedef moleküllerin oluşturduğu sinyalleri seviyelerine göre yapay sinir ağları (artificial neural network), baş bileşen analizi (principal component analysis) gibi değişik örüntü tanıma teknikleriyle işleyerek hangi seviyedeki sinyalin hangi hedefin neden olduğu sinyal olduğunu ayırt etmektir.

2.6 Sensör Karakteristikleri

Bir kimyasal sensörün performansını tanımlamak için bazı sensör karakteristiklerinin iyi tanımlanması ve anlaşılması gerekir. Kimyasal sensörlerin karakteristiklerini tanımlamada izlenen standart bir yol olmamasına rağmen yaygın olarak kullanılan ve kısaca 3S olarak adlandırılan duyarlık (Sensitivity), seçicilik (Selectivity) ve kararlılık (Stability) parametreleri kullanılır. Aşağıda bu karakteristik parametreler kısaca açıklanmıştır.

Duyarlık: Bir sensörün performansını belirleyen en önemli parametrelerden birisidir. Duyarlık; bir sensörün algılayabildiği minimum hedef miktarı olarak tanımlanabilir. Sensör duyarlığını belirlemek için bir giriş-çıkış ilişkisi tanımlanır. İdeal bir sensörde çıkış daima uyarımın doğru değerini verecektir. Bu giriş-çıkış ilişkisi *transfer fonksiyonu* denilen bir fonksiyonla tanımlanır. Bu fonksiyon, sensör tarafından üretilen sinyal (S) ile uyarım arasındaki ilişkiyi tanımlar ve $S = f(s)$ şeklinde ifade edilir. Giriş ve çıkış arasındaki bu ilişki basitçe doğrusal bir ilişki olabileceği gibi, logaritmik, üstel veya kuvvet şeklinde olabilir. Bu ilişkinin logaritmik, üstel, kuvvet ve doğrusal olmaları durumunda sırasıyla,

$$S = a + b \ln s \text{ (logaritmik ilişki)} \quad (2.2)$$

$$S = a e^{ks} \text{ (üstel ilişki)} \quad (2.3)$$

$$S = a_0 + a_1 s^k \text{ (kuvvet ilişki)} \quad (2.4)$$

$$S = a + bs \text{ (doğrusal ilişki)} \quad (2.5)$$

şeklinde olacaktır. Bir sensör yukarıdaki transfer fonksiyonlarından herhangi birisine sahip olabilir. Çoğu durumda gözlenen ilişki,

$$S = a + bs \quad (2.6)$$

şeklindedir. Burada a, herhangi bir uyarımın olmadığı durumdaki çıkış sinyali b ise giriş-çıkış grafiğinin eğimi olup buna **duyarlık** denir.

Seçicilik: Seçicilik, bir gaz sensörünün çok sayıda farklı türdeki hedef molekülün bulunduğu bir ortamda sadece belirli bir tür hedef molekülü algılayıp, ayırt edebilme kabiliyeti olarak tanımlanabilir. Kullanılan sensörünün çalışma prensibi dolayısıyla ürettiği çıkış sinyali cinsinden tanımlamak gerekirse, sensörün değişik türdeki hedef molekülün bulunduğu bir ortamda her bir türdeki hedef molekül için farklı seviyelerde çıkış üretmesi ya da sadece tek tür hedef moleküllerinin varlığında bir çıkış sinyali üretmesi olarak tanımlanabilir.

Stabilitiy (kararlılık): Kararlılık temel olarak sensörün uzun süre kullanımı durumunda ürettiği çıkış siyalinin tekrarlanabilirliğinin bir göstergesidir. Dolayısıyla, sensörlerde kararlılık son derece önemlidir. Her kullanımda farklı çıkış sinyalleri üreten bir gaz sensörü hem yanlış bilgi verecek hem de çıkış sinyalinin örüntü tanıma birimi tarafından işlenmesini güçleştirecektir.

Temel olarak bu şekilde tanımlanan sensör karakteristik parametreleri dışında bir kimyasal sensörde aranan diğer nitelikler;

- Geri dönüşümlü bir tepkiye sahip olması
- Gaza karşı tepkinin hızlı ve kendini yenileme süresinin kısa olması
- Yüksek ayrıcılık gücüne sahip olması
- Uzun ömürlü olması
- Canlı sağlığına zarar vermemesi
- Basit alışma sistemine sahip olması
- Kolay taşınabilir olması
- Üretimi basit, maliyeti düşük olması
- Değişik sıcaklık ortamlarına uygun olması

şeklinde özetlenebilir.

2.7 Bakteriler

Bakteriler ilk defa 17.yy.da mikroskopun keşfiyle birlikte Antonie van Leeuwenhoek tarafından gözlemlenmiştir. Fakat ondan önce 10.yy.da İbn-i Sina ve 15.yy.da

Akşemseddin gibi düşünürler bakterilerin varlığını bilip onları hastalıkların sebebi olarak belirleyememişlerdir. Bakteri, Latince adıyla Bacteria sözcüğünün çoğulu Bacterium ise tekilidir. Bacterium adı 1838’de Christian Gottfried Ehrenberg tarafından kullanılmıştır. Louis Pasteur 1859’da fermantasyonun mikroorganizmaların büyümesi sonucu meydana geldiğini ve bu büyümenin yoktan varoluş yoluyla olmadığını gösterdi. Kendisiyle aynı dönemde yaşamış olan Robert Koch ile birlikte Pasteur, hastalık-mikrop teorisinin savunucusu olmuştur. Robert Koch ortaya koyduğu Koch postülatları’nda bir canlının bir hastalığın nedeni olduğunu belirlemek için gereken testleri belirlemiştir ve bu postülatlar günümüzde hala kullanılmaktadır. 19.yy.da bakterilerin çoğunun hastalıkların nedeni olduğu bilinmesine rağmen, antibakteriyel bir tedavi mevcut değildi. 1910’da Paul Ehrlich Treponema Pallidum’u seçici olarak boyamaya yarayan boyaları değiştirerek bu patojeni seçici olarak öldüren bileşikler elde etti ve böylece ilk antibiyotiği geliştirmiş oldu. 19.yy.ın ortalarına doğru Alman botanikçi F. J. Cohn bakterilerin genel olarak iki tabakadan meydana geldiğini, tam hücre çeperine sahip olduklarını belirtmiştir. Arkelerin bakterilerden farklı bir evrimsel soya ait olduklarının 1977’de Carl Woese tarafından anlaşılmasıyla bakterilerin araştırılması süreci ivme kazanmıştır.

Bakteriler çok basit yapılı, yaygın çekirdekli, genellikle klorofilsiz ve bölünerek çoğalan bir hücreli canlılar grubudur. Bakteriler hem bitkilerden, hem hayvanlardan farklıdır; hızlı çoğalmaları ve biyokimyasal etkileri bakımından canlılar aleminin dengesini sağlamada çok büyük önem taşıyan bir grup oluştururlar. Bakteriler prokaryot hücreye sahiptir. Bakterileri çeviren iki tip hücre örtüsü vardır. En içte hücre zarı, onun üstünde de hücre duvarı yer alır. Hücre duvarı protein, yağ ve karbonhidratlardan meydana gelen karmaşık bir yapıdır. Birçok bakteri türünde, hücre zarına ek olarak polisakkaritlerden meydana gelmiş, yapışkan ve koruyucu bir kapsül bulunur. Bakterilerin sitoplazmaları içinde glikojen, protein, yağ tanecikleri ve ribozomlar görülür. Bakterilerde çekirdek, mitokondri ve endoplâzmik retikulum gibi bir zarla çevrilmiş özel organeller yoktur. Fakat bazı bakteriler “mezozom” denilen ve mitokondrileri andıran zar kıvrımları meydana getirir. Bakterilerde solunum enzimleri sitoplazmada veya hücre zarında bulunur. Ribozomlar sitoplazmaya

serbest olarak dağılmışlardır. Bakterinin %90'ı sudur. Su ve suda çözünmüş maddelerin bakteriye giriş çıkışı zar tarafından düzenlenir.

Bakterilerde belirgin bir mitoz bölünme görülmez. Kalıtım maddesi “çekirdek sahası” denilen kısımda halka şeklinde çıplak bir DNA molekülünden ibarettir. DNA'nın uzunluğu bir bakterinin boyundan ortalama 500 defa büyüktür. Bakterilerin çoğu kamçı denilen uzantılara da sahiptir. Kamçılar, bakterilerin suda aktif hareketini sağlar. Yuvarlak bakterilerde kamçı olmadığı için hareketleri pasiftir. Kamçılar bakterinin her yerinden çıktığı gibi, sadece bir ucundan demet halinde de çıkabilir. Bazıları da bir tek kamçıya sahiptir.

2.7.1 Bakterilerin Sınıflandırılması Ve Çeşitleri

Bakterilerle ilgili ilk sınıflandırma girişimleri 1773'te Alman bilim adamı Müller tarafından Vibrio ve Monas adlı iki bakteri genosunun tanımlanmasıyla başlamıştır denilebilir. Yaklaşık 100 yıl sonra, Cohn, 10 bakteri genusu daha tanımlamıştır. 1890'da Koch, hastalıkların oluş teorileri ve saf kültür metodlarına girişle, fizyolojik özelliklerin karşılaştırılması için veriler ele etmiş ve sınıflandırma daha sağlam temellere oturtulmuştur. 1990'lerin ortalarında bakterilerin antijenik özellikleri analiz edilmiş ve metabolik yolları keşfedilmiştir. 1953'te, Watson ve Crick'in DNA'nın yapısını aydınlatmalarıyla genetik bilgi seviyesinde karşılaştırmalar yapılmıştır. Sınıflandırmada kullanılan kriterler ölçü, şekil, boyama karakteristikleri, hareket, fizyolojik gereksinimler, metabolik ürünler, ekolojik ve genetik özellikler ve antijenik kompozisyon olarak özetlenebilir. Fakat bakteriler genel olarak şekillerine, gram boyasına, oksijene duydukları ihtiyaca ve beslenme şekillerine göre sınıflandırılırlar.

Şekillerine Göre Bakteriler

- Çubuk şeklinde(bacillus)
- Yuvarlak şeklinde (koküs)
- Spiral şeklinde (spirillum)
- Virgül şeklinde (vibrium)

Oksijene duydukları ihtiyaca göre bakteriler

- Aerob bakteriler
- Fakültatif aneorob bakteriler
- Aneorob bakteriler

Beslenme Şekillerine göre bakteriler

- Hetotrof bakteriler
- Ototrof bakteriler
- Kemoototrof bakteriler
- Fotoototrof bakteriler

Gram boyasına göre bakteriler

- Gram pozitif bakteriler
- Gram negatif bakteriler

2.7.2 Bakterilerin Üremesi Ve Yaşam Koşulları

Bakteriler ikiye bölünerek (bir ana hücreden birbirinin aynısı iki yavru hücre oluşur.) çoğalır. Bölünme süresi türlere bağlı olarak 20 dakika kadar kısa veya birkaç gün kadar uzun olabilir. Örneğin E.coli'nin bir tek hücrelerinden, uygun ortamda sekiz saat sonra 10 milyon hücre üreyebilir. Daha sonra besin maddeleri azalıp toksik atık ürünler biriktikçe üreme yavaşlar ve tamamen durur. Bu haldeki hücreler uzun süre

bekletilirse tümü ölür. Bakterilerin bölünmesiyle oluşan yeni bakteriler ya bir arada kalır ya da ayrılırlar. Biçimce çok değişikler ve yaşadıkları ortama göre bir görünüm edinirler. Birçoğunun spor denen dirençli biçimleri vardır ve bu biçime girdiklerinde aşırı ısıya ve soğuğa ya da kuraklığa dayanabilirler ve varlıklarını devam ettirirler. Bazı bakterileri sterilizasyonla yok etmenin güçlüğü bundan doğmaktadır. Gereken uygun sıcaklık, yeterli nem, oksijen ve pH gibi faktörler yeterli ve uygun olduğu sürece bakteriler üreme ve yaşamsal faaliyetlerini gerçekleştirirler. Uyarlandıkları ortama ya da içinde yaşadığı konağa en elverişli sıcaklık sınırları içinde hızla çoğalırlar. Radyoaktif uranyum madenlerinde bile canlı bakteriler vardır. 34 yy. önce yapılmış olan Mısır'daki Luksor tapınağı'nın dış cephe tuğlalarında canlı bakteriler bulunmuştur. 200 milyon yıllık, 320 milyon yıllık hatta 720 milyon yıllık kaya tuzu bloklarında canlı bakteri bulunmuştur.

Bakteriler doğada önemli rol oynar. Bir kısmının çok yüksek enzim etkinliği vardır; mayalandırmaya dayalı sanayilerde bundan yararlanıldığı gibi, üstün yapılı hayvanların bağırsaklarında besinlerin sindirilmesinde de bakteriler önemli rol oynar. Genel olarak bakteriler mayalandırma ve çürütme etmenleridir, organik maddeleri gaza ve cansız maddelere dönüştürürler; bu maddeler yeniden yaşamsal çevrimde yer alır. Havadaki gazları kendine bağlayabilir, böylece toprağı azotça zenginleştirir ve bitkilere gelişmek için gereksindikleri inorganik besinlerin bir kısmını sağlamış olurlar. Yani bakteriler biyosferdeki çevrimlerde, parçalayıcı ya da mineralleştirici olarak çok önemli rol oynarlar. Organik çöpler ve atıklar bakteriler sayesinde bütanol ve metan gibi organik yakıtlara dönüştürülerek enerji üretiminde kullanılırlar.

Yararlı bakteriler gibi zararlı (patojenik) bakteriler de vardır ve bunlar bakteriler aleminin çok küçük bir bölümüdür. Canlıların vücudunda parazit olarak yaşayan bakteriler birçok hastalığa (besin zehirlenmesi, verem, zatürre vb.) neden olurlar. Bazı bakteri türleri bazı yiyeceklerin (konservelerin) bozulmasına ve besin zehirlenmesine neden olurlar.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

Tez çalışmaları kapsamında üretilen sensörlerde transdüser olarak AT-kesim kuvartz kristalleri kullanılmıştır. Algılayıcı malzeme olarak ise bir çeşit organik yarıiletken olarak merkezinde Fe atomu bulunan ftalosiyanın bileşikleri ile ticari olarak temin edilen tris(8-hydroxyquinoline) aluminum (Alq_3) kullanılmıştır. Bu bölüm, sensörlerin üretim aşamaları ile sensörlerin test edilmesinde kullanılan deneysel düzeneklerin tanıtılmasına ayrılmıştır.

3.1 Kuvartz Kristallerin Temizlenmesi

Çalışmalar boyunca transdüser olarak temel rezonans frekansı 10 MHz. olan AT-kesim kuvartz kristalleri kullanılmıştır. Şekil 3.1’de deneysel çalışmalar esnasında kullanılan kuvartz kristalin fotoğrafı gösterilmiştir. Her iki yüzeyinde de simetrik olarak kaplanmış altın elektrotlar bulunan kuvartz kristalleri International Crystal Manufacturing Company, Inc. firmasından temin edilmiştir.



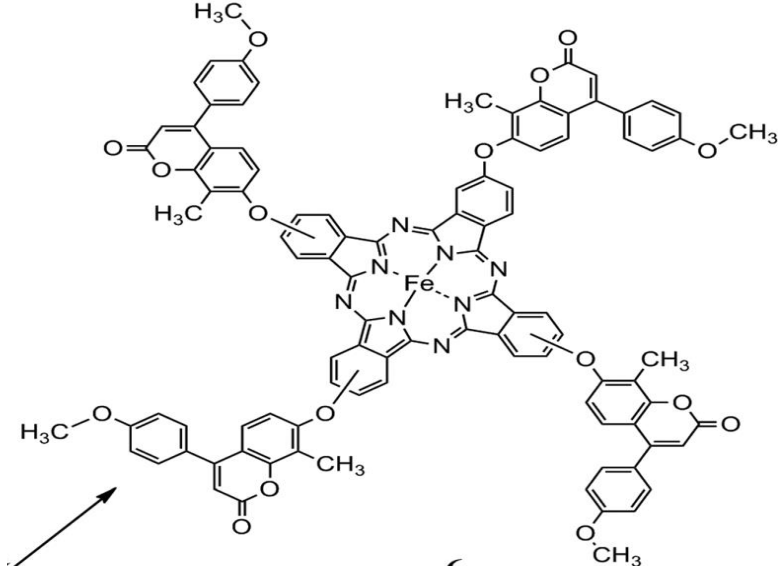
Şekil 3.1 Transdüser olarak kullanılan kuvartz kristalinin fotoğrafı

Kuvartz kristallerinin titreşim frekansı kütle değişimlerine oldukça duyarlıdır. Bu nedenle, kristallerin yüzeyindeki kirlilik ve kusurların ortadan kaldırılması hem sensörlerin güvenilirliği hem de algılayıcı malzemenin kristalin yüzeyine bağlanması için son derece önemlidir. Kuvartz kristallerinin yüzeyi algılayıcı olarak kullanılan malzemelerle kaplanmadan önce aşağıdaki temizlik aşamalarından geçirilmiştir.

- ✓ 30 dakika aseton içerisinde ultrasonik temizleme
- ✓ Deiyonize su ile durulama.
- ✓ 1 dakika süreyle hidroklorik asit içerisine daldırma
- ✓ Deiyonize su ile durulama.
- ✓ 30 dakika süreyle izopropil alkol içerisinde ultrasonik temizleme
- ✓ 30 dakika süreyle Deiyonize su ile ultrasonik temizleme
- ✓ Azot gazı ile kurutma

3.2 Algılayıcı Filmlerin Kaplanması

Temizleme işlemlerinden geçirilen kuvartz kristalleri sensör üretiminin ilk aşaması olan algılayıcı tabakaların kaplanması için hazır hale geldiler. Çalışmalarda algılayıcı olarak birisi Alq_3 diğeri de ftalosiyanın bileşiği olmak üzere iki farklı organik bileşiğin ince filmleri ile Alq_3 mikroteller kullanılmıştır. Kullanılan ftalosiyanın bileşiğinin moleküler yapısı Şekil 3.2’de gösterilmiştir.



Şekil 3.2 Algılayıcı olarak kullanılan ftalosiyanın bileşiğinin moleküler yapısı

Algılayıcı filmlerin hazırlanmasında kaplanan madde miktarının kolay denetlenebilir olması, homojen kalınlıkla kaplama elde edilebilmesi ve ekonomik olması gibi avantajlarından dolayı sprej yöntemi seçilmiştir. Sprej düzeneği biri dişey diğeri yatay olmak üzere birer uçları birbirlerine mümkün olduğunca yakın olacak şekilde yerleştirilmiş iki kapiler borudan oluşmaktadır. Yatay konumdaki kapiler borunun boşta olan ucundan belirli bir akış hızında azot gazı gönderilir. Bu esnada, dişey konumdaki kapiler borunun bir ucu kaplanacak malzemenin çözeltisinin içersine daldırılır. Yatay konumdaki kapiler borunun ucundan azot gazı gönderildiğinde çözelti içersine daldırılmış boruda oluşan vakum çözeltinin, kapiler boru içersinde yukarı doğru yükselmesine neden olur. Kapiler boruda yükselen çözelti azot gazı tarafından karşısına yerleştirilmiş olan yüzeyi temizlenmiş olan kuvarz kristal yüzeyine püskürtülür. Böylece, ilgili bileşiğin ince filmi hazırlanmış olur. Bu yöntemle hazırlanan filmin kalınlığı gerek çözeltinin konsantrasyonu gerekse püskürtme süresi ile kontrol edilebilmektedir. Algılayıcı malzemelerin ince filmleri hazırlanmadan önce temizlenen kuvarz kristallerinin frekansı ölçülerek kaydedilmiştir. Daha sonra, ftalosiyanın bileşiği kloroformda çözülmek suretiyle 3×10^{-3} M konsantrasyonunda çözeltisi hazırlanmıştır. Sprej düzeneği yardımıyla bu çözelti kuvarz kristalleri yüzeyine püskürtülmek suretiyle kaplanmıştır. Film kalınlığını belirlemek için, yüzeyi

algılayıcı ile kaplanmış olan kuvarz kristallerinin rezonans frekansındaki değişimler ölçülerek kaydedilmiştir.

Sensörlerde algılayıcı olarak kullanılan diğer bir organik yarıiletken olan Alq₃ ince filmler de benzer şekilde, sprey yöntemiyle hazırlanmıştır. Alq₃ ince filmlerin hazırlanması amacıyla çözücü olarak kloroformun kullanıldığı 1x10⁻² M Alq₃ çözeltisi hazırlanmıştır.

3.3 Alq₃ Mikrotellerin Hazırlanması

Alq₃ mikroteller kendiliğinden düzenlenme (self assembly) yöntemiyle hazırlanmıştır. Bu amaçla, ticari olarak temin edilen Alq₃ (Sigma Aldrich, purity > 95%) extra saf kloroformda çözmek suretiyle 5x10⁻³ M konsantrasyonunda çözeltisi hazırlanmıştır. Alq₃'ün çözünmediği (n-hekzan) ve çözündüğü (kloroform) çözücülerin bir karışımının bulunduğu bir petri kabı içerisine kuvarz kristalleri yerleştirildi. Daha sonra, hazırlanan Alq₃ çözeltisi içerisinde kuvarz kristallerinin bulunduğu bu petri kabına döküldü. Petri kabının üzeri parafilm ile kapatılarak üzerinde küçük birkaç delik açıldı. Petri kabı içerisindeki solventlerin buharlaşması tamamlandıktan sonra kuvarz kristalleri yüzeyinde Alq₃ mikrotellerin oluştuğu gözlemlendi. Bu işlem oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Oluşan Alq₃ mikrotellerin morfolojisi taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir.

3.4 Ağır Metal İyonu Çözeltilerinin Hazırlanması

Üretilen sensörlerin sulardaki kobalt (Co), gümüş (Ag), krom (Cr), çinko (Zn), bakır (Cu), demir (Fe) ve kadmiyum (Cd) olmak üzere yedi metal iyonunu algılama özellikleri test edilmiştir. Söz konusu metal iyonlarını içeren standart çözeltilerin hazırlanmasında ilgili metallerin uygun tuzları kullanılmıştır. Çözeltilerin hazırlanmasında çözücü olarak de-iyonize (18 MΩ cm) su kullanılmıştır. Tüm metal iyonu çözeltilerinin konsantrasyonu 0.2 M olarak sabit tutulmuştur. Aşağıda metal iyonu içeren çözeltilerin hazırlanışı kısaca açıklanmıştır.

Kobalt iyonlarını içeren standart çözeltilerin hazırlanmasında kobalt klorür (CoCl₂ hexahydrate) kullanılmıştır. Kobalt tuzunun 0.2 M çözeltisi hazırlanmıştır. Bu

amaçla, 0.95 gr kobalt klorür 20 ml DI-su içinde çözünmüş ve 2 saat süreyle manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır.

Gümüş iyonlarını içeren çözeltinin hazırlanmasında gümüş nitrat (AgNO_3) tuzu kullanılmıştır. 0.68 gr. AgNO_3 20 ml DI-suda çözmek suretiyle 0.2 M gümüş nitrat çözeltisi hazırlanmıştır.

Krom iyonları için referans oluşturacak çözelti 2.87 gr $(\text{Cr}(\text{SO}_4))_3$ 'ün 20 ml DI-su içerisinde çözülmesi suretiyle hazırlanmıştır. Hazırlanan çözelti 1 saat süreyle manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırılmıştır.

Sensörlerin çinko iyonlarını algılama özelliklerini test amacıyla; 0.87 gr. ZnC_6O_4 20 ml DI-su içinde çözülerek referans çözelti elde edilmiştir.

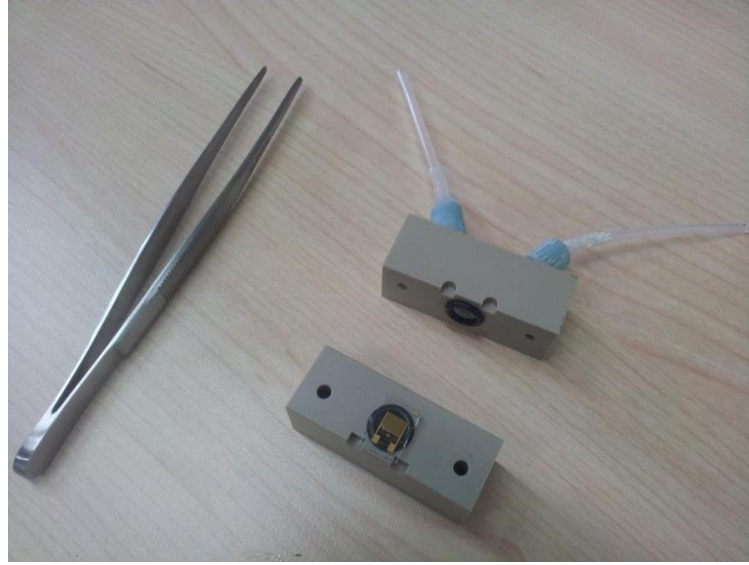
0.2 M bakır çözeltisi hazırlamak için 0.79 gr. $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cu} \cdot \text{H}_2\text{O}$ kullanılmıştır. Çözelti, $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cu} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 'nun 20 ml DI-su içerisinde çözmek suretiyle hazırlanmıştır.

1.616 gr. $(\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O})$ 20 ml DI-su içerisinde çözülerek demir iyonları içeren standart çözelti hazırlanmıştır.

Kadmiyum iyon standardı 0.73 gr CdCl_2 'nin 20 ml DI-su içerisinde çözülmesi suretiyle hazırlanmıştır.

3.5 Ağır Metal İyonu Algılama Özelliklerinin Belirlenmesi

Üç farklı algılayıcının kullanıldığı sensörlerin sulardaki ağır metal iyonlarını algılama özellikleri akış tipi bir hücre kullanılarak belirlenmiştir. Deneysel çalışmalar esnasında kullanılan sıvı akış hücresi Şekil 3.3'de gösterilmiştir. Ağır metal iyonu algılama ölçümlerinde üretilen sensörler sıvı akış hücresine yerleştirildi. Daha sonra, hücre sızdırmazlık sağlayacak şekilde kapatıldı. Şekil 3.3'den de görülebileceği gibi sıvı akış hücresi birisi sıvı girişi diğeri de çıkışı için olmak üzere iki ucu bulunmaktadır.



Şekil 3.3 Sıvı Akış Hücresi

Sensörler akış hücresine yerleştirildikten sonra bir osilatör devresi yardımıyla kuvartz kristallerin temel rezonans frekansında titreşmeleri sağlandı.

Sensörlerin ağır metal iyonlarını algılama özelliklerinin belirlenmesinde referans olarak DI-su kullanılmıştır. Sensörler akış hücresine yerleştirildikten sonra belirli bir süre sensör yüzeyinden DI-su akışı sağlanmıştır. Tüm ölçümlerde sıvı akış hızı 0.3 ml/dak. olarak sabit tutulmuştur. Sıvı akışı bir peristaltik pompa (Heidolph Model 5201) yardımıyla sağlanmıştır. Bu esnada sensörün rezonans frekansındaki değişimler bir frekans sayıcı (Keithley Model 776) yardımıyla sürekli olarak ölçülerek kaydedilmiştir. Sensörlerin rezonans frekansı kararlı hale geldikten sonra bu kez sensörlerin bulunduğu hücreden içerisinde belirli konsantrasyonda metal iyonu bulunan suyu akışı sağlanmıştır. Bu amaçla, daha önce hazırlanan metal iyonu standart çözeltilerinden belirli hacimlerde alınarak 40 ml DI-su içerisine eklenmiştir. Sensörlerin geri dönüşebilirliklerinin test edilmesi amacıyla, belirli bir süre içerisinde belirli miktarda metal iyonu bulunan suyun akışı sağlandıktan sonra sensörlerin yüzeyinden bu kez sadece DI-su geçirilmiştir. Belirli bir süre sadece DI-su akışı sağlandıktan sonra bu kez sensörler, içerisinde farklı konsantrasyonda metal iyonu bulunan DI-su'ya maruz bırakılmıştır. Bu işlem her bir metal iyonunun beş farklı konsantrasyonu için tekrarlanmıştır. Her metal iyonu içeren suya maruz

bırakmanın ardından sensörler, DI-su ile yıkanmıştır. Gerek sensörlerin metal iyonlarına maruz bırakılması gerekse yıkanmaları esnasında rezonans frekansındaki değişimler bilgisayar kontrollü bir frekansmetre yardımıyla ölçülerek kaydedilmiştir. Sensör testleri esnasında kullanılan frekans sayıcı ve peristaltik pompanın fotoğrafı Şekil 3.4’de gösterilmiştir.



Frekansmetre (Keithley Model 776) Peristaltik Pompa (Heidolph 5201)

Şekil 3.4 Deneysel çalışmalarda kullanılan frekansmetre ve Peristaltik Pompa

3.6 Bakteri Ortamının Hazırlanması

Bu Yüksek Lisans tez çalışmasının amaçlarından birisi de özellikle sıvı ortamlardaki bakterilerin algılanmasına yönelik akustik dalga tabanlı sensörlerin geliştirilmesidir. Çalışmalarda hedef bakteri olarak *Enterococcus faecalis* seçilmiştir. *Enterococcus faecalis* bakteri ekimleri, ölçümü yapılacak olan bakteri ortamlarının hazırlanması, anti-Enterokok (*Enterococcus faecalis*) antibadi’sinin temini ve saklanması, Marmara Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Dr. Cenk SESAL tarafından yapılmıştır.

3.7 Bakteri Algılamaya Yönelik Sensör Yüzeyinin Aktif Hale Getirilmesi

Bakteri ölçümü için kuvarz yüzeyinin hazırlanması işlemine ilk adımda 1,2 M 25 ml NaOH çözeltisi hazırlanarak başlandı. Kuvarz’ın elektrotları NaOH çözeltisinin içine 20 dk boyunca batırıldı. Ardından hazırlanan 1,2 M 25 ml HCl çözeltisinin içinde 5 dk bekletildi. HCl çözeltisinden çıkarıldıktan sonra alkol ve saf su ile yıkandı ve oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. 2.adımda ise 11- mercaptoundecanoic asit (11-

MUA) etanolde çözülerek 5 mM'lık 10 ml çözelti elde edildi. QCM'in elektrotları bu çözeltiye batırılarak 24 saat bekletildi. Ardından etanol ile yıkandı ve oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. NHS (N-hydroxysuccinimide) ve EDC (1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide) etanolde çözülerek 25 mM 60 ml'lik NHS çözeltisi ile 100 mM'lık EDC çözeltisi hazırlandı. Kuvartz kristalleri önce NHS sonra EDC çözeltisi olmak üzere bu iki çözeltiye ayrı ayrı 30 dk daldırılıp bekletildi. Daldırma işleminden sonra etanol ile yıkandı ve oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Daha sonra kuruyan kuvartz kristalin elektrotlarının üzerine antibody damlatıldı ve 1 saat bekletildi.

3.8 Sensörlerin Bakteri Algılama Özelliklerinin Belirlenmesi

Sensörlerin bakteri algılama özelliklerinin belirlenmesinde aynı akış hücresi kullanılmıştır. Yüzeyi antibody ile aktif hale getirilmiş olan kuvartz kristalleri sıvı akış hücresine yerleştirilerek hücreden DI-su akışı sağlandı. Bu esnada kuvartzın titreşim frekansı ölçülerek kaydedildi. 15 dakika süreyle sadece DI-su akışının ardından bu kez içerisinde belirli bir sayıda bakteri bulunan DI-su geçişi sağlandı. 15 dakika süreyle bakteri içeren su geçişinden sonra bu kez 15 dakika süreyle sadece DI-su geçişi sağlandı. Bu işlem ardışık olarak 3 farklı konsantrasyonda bakteri içeren DI-su ile tekrarlandı. Üretilen sensörlerin tekrarlanabilirliğini kontrol etmek amacıyla bu testler tekrarlanmıştır.

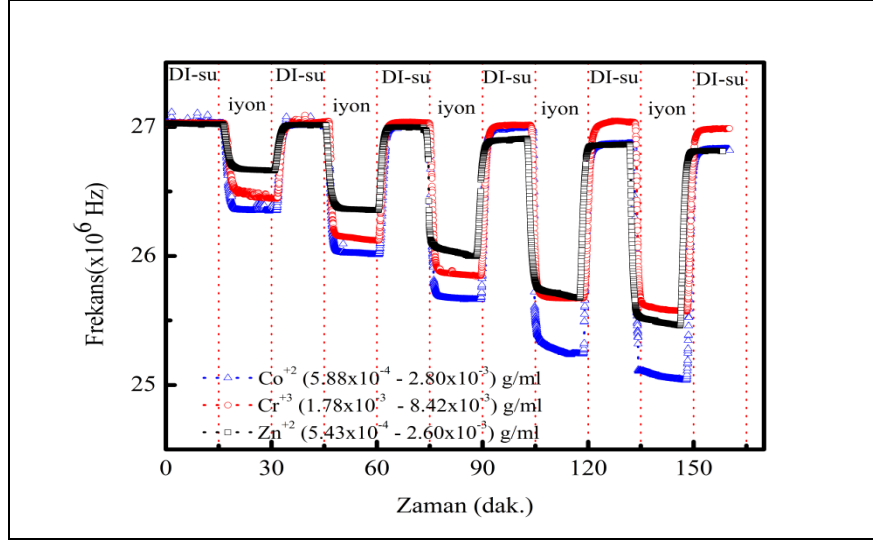
BÖLÜM 4

BULGULAR

Bu bölüm algılayıcı olarak Alq₃, Alq₃ mikrotel ve FePc'nin kullanıldığı QCM tabanlı sensörlerin yedi farklı metal iyonunu algılama özelliklerinden elde edilen sonuçlara ayrılmıştır.

4.1 Algılayıcı Olarak Alq₃'ün Kullanıldığı Sensörlerden Elde Edilen Sonuçlar

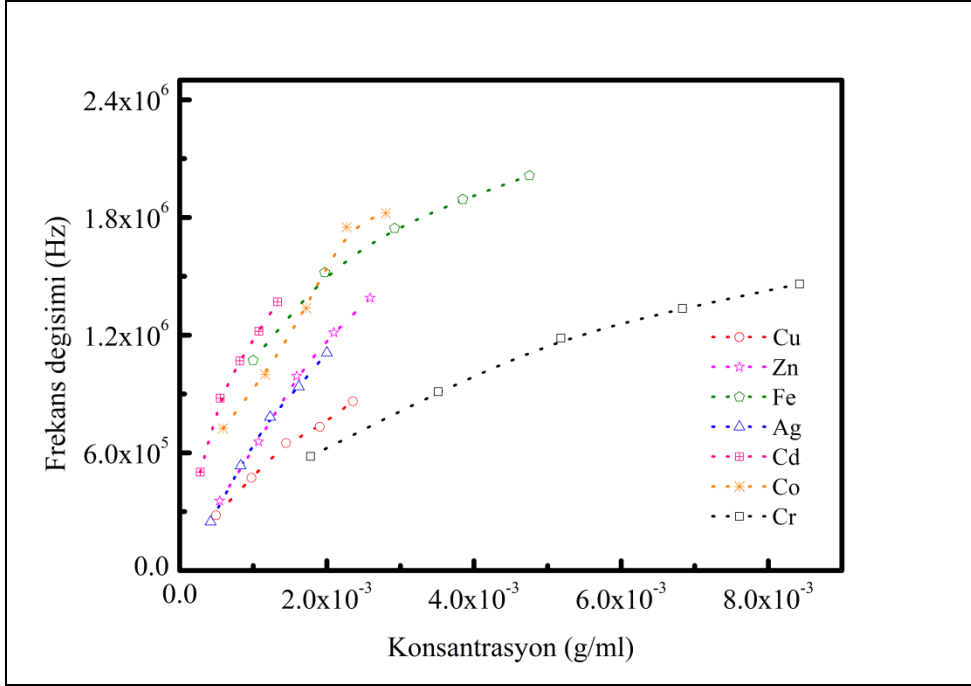
QCM yüzeyine jet sprej yöntemiyle kaplanan Alq₃'ün sudaki Co⁺², Cr⁺³, Zn⁺², Ag⁺¹, Cu⁺², Fe⁺³, Cd⁺² olmak üzere yedi farklı metal iyonunu algılama özelliği incelenmiştir. Tüm ölçümler oda koşullarında ve 15 dakika hedef iyonlara maruz bırakma ve 15 dakika DI-su ile yıkama şeklinde gerçekleştirilmiştir. Ölçümlerde film hazırlama koşullarının etkisini ortadan kaldırmak için tüm ölçümler aynı film üzerinde yapılmıştır. Şekil 4.1'de algılayıcı olarak Alq₃'ün kullanıldığı sensörün Co⁺², Cr⁺³ ve Zn⁺² iyonlarının farklı konsantrasyonları için cevap karakteristiği gösterilmiştir.



Şekil 4.1 Alq₃'ün kullanıldığı sensörün Co⁺², Cr⁺³ ve Zn⁺² iyonlarının gösterilen aralıktaki konsantrasyonlarına cevap karakteristiği

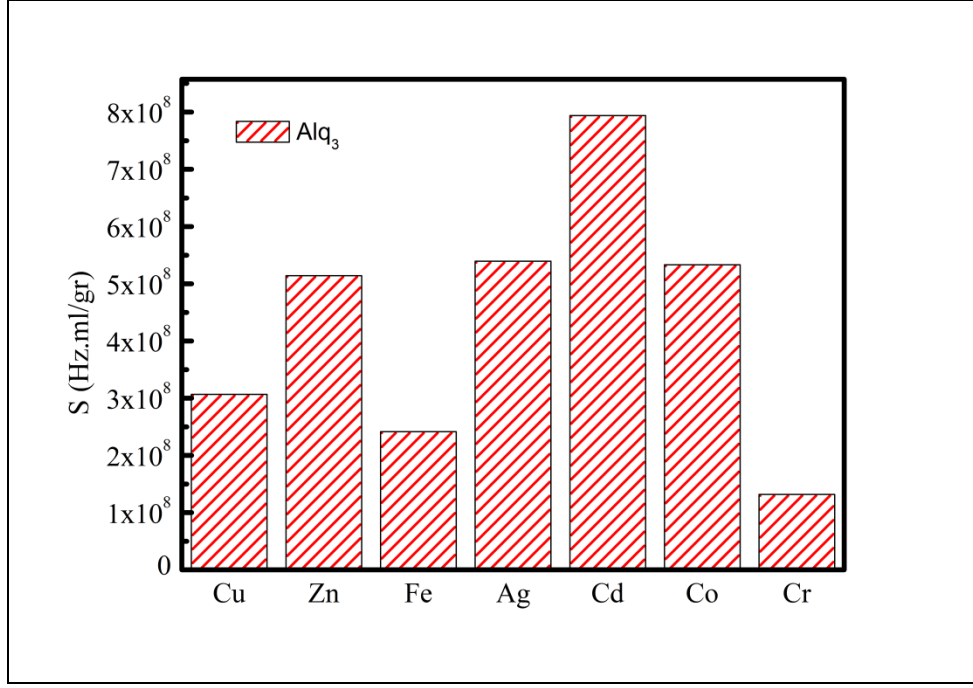
Şekil 4.1'de görüleceği gibi ilk 15 dakika DI-su ile yıkama sonunda sensör yüzeyi, içerisinde metal iyonlarının bulunduğu su ile temas haline geldiğinde rezonans frekansı hızlı bir şekilde azalmaktadır. İlk 1-2 dakikalık süre sonunda frekanstaki değişimler karalı hale gelmekte ve değişim hızı neredeyse sıfır olmaktadır. Sensörün 15 dakika süreyle 5.88×10^{-4} g/ml konsantrasyonunda Co⁺² iyonlarına maruz bırakılması durumunda 6.8×10^5 Hz'lik bir frekans değişimi gözlemlenirken 5.43×10^{-4} g/ml konsantrasyonunda Zn⁺² iyonlarına maruz bırakılması durumunda 3.7×10^5 Hz'lik bir frekans değişimi gözlemlenmiştir. Artan metal iyonu konsantrasyonu ile frekans değişimlerinin de arttığı görülmüştür. İkinci 15 dakikalık sürenin sonunda sensör yüzeyinin DI-su ile yıkanmaya başlanmasıyla rezonans frekansı hızlı bir şekilde artarak başlangıçtaki değerine ulaşmaktadır. Ölçülen tüm konsantrasyonlar için Cr⁺³ için sensör cevabı tam olarak geri dönüşebildiği halde Co⁺² ve Zn⁺²'nin yüksek konsantrasyonları için sensör cevabının tam olarak geri dönüşemediği görülmüştür. Algılayıcı olarak Alq₃'ün kullanıldığı sensörlerin diğer metal iyonları (Ag⁺¹, Cu⁺², Fe⁺³ ve Cd⁺²) için de cevap karakteristiklerinin benzer olduğu gözlemlenmiştir. Şekil 4.2'de algılayıcı olarak Alq₃'ün kullanıldığı sensörün test edilen metal iyonu konsantrasyonuna bağlı olarak gözlemlenen frekans değişimleri gösterilmiştir. Ölçümlerde en az frekans değişimi 2.42×10^5 Hz olarak Ag⁺¹ iyonları

için gözlemlenirken en yüksek frekans değişimi 2.02×10^6 Hz olarak Fe^{+3} iyonları için gözlemlenmiştir.



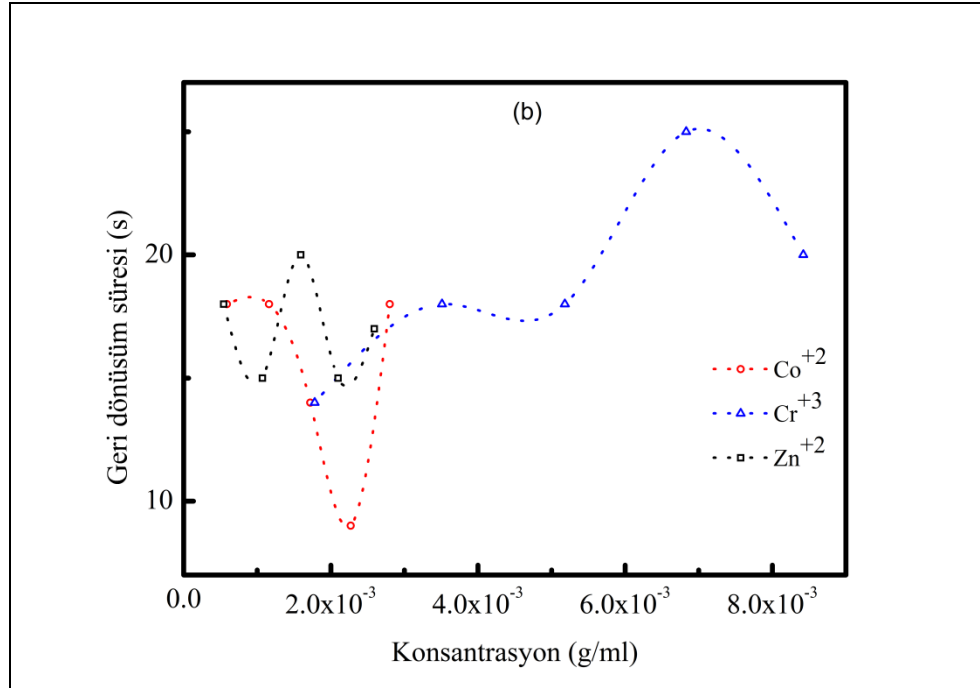
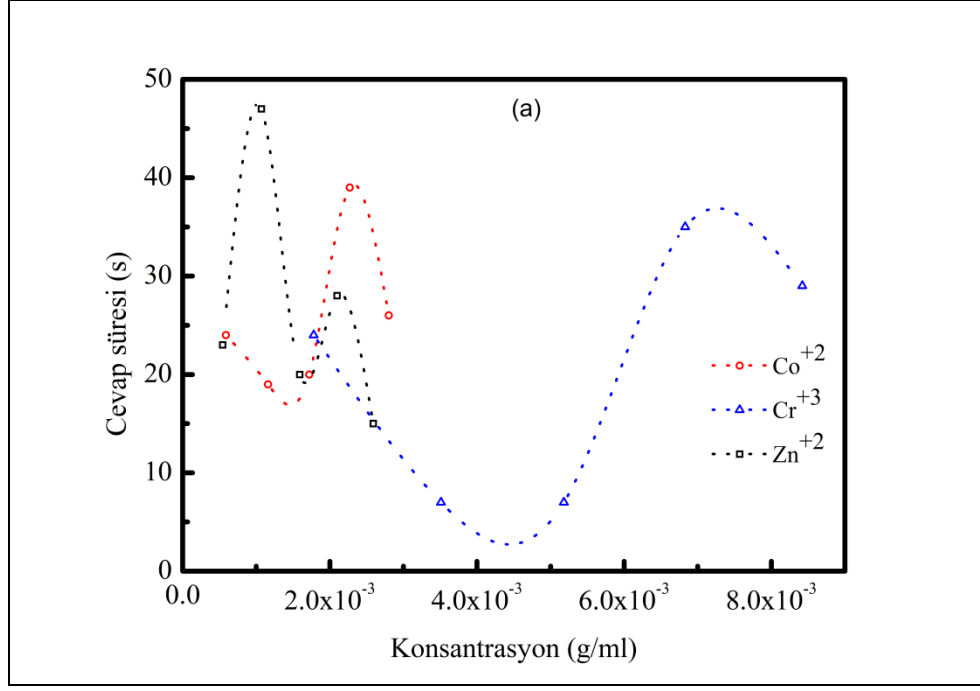
Şekil 4.2 Algılayıcı olarak Alq_3 'ün kullanıldığı sensörlerde frekans değişimlerinin konsantrasyona bağlılığı

Şekil 4.2'den de görülebileceği gibi düşük metal iyonu konsantrasyonları için; frekans değişiminin artan konsantrasyonla doğrusal olarak artarken yüksek konsantrasyonlarda doğrusallıktan sapmaların olduğu gözlemlenmiştir. Yüksek metal iyonu konsantrasyonları için frekanstaki değişimlerin bir doyum durumuna gitme eğiliminde oldukları gözlemlenmiştir. Üretilen sensörlerin duyarlılıkları (S) konsantrasyona bağlı frekans değişimi ölçümlerinden hesaplanmıştır. Algılayıcı olarak Alq_3 'ün kullanıldığı sensörün ölçülen metal iyonlarına duyarlılıkları Şekil 4.3'de gösterilmiştir. Oda sıcaklığında yapılan ölçümlerde en büyük duyarlılık Cd iyonları için gözlemlenirken en düşük duyarlılık Cr iyonlarında gözlemlenmiştir.



Şekil 4.3 Alq₃ tabanlı sensörün değişik metal iyonlarına duyarlılıkları

Üretilen ve karakterizasyonları yapılan sensörlerde incelenen bir diğer parametre de sensörlerin cevap ve geri dönüşüm süreleridir. Cevap karakteristikleri Şekil 4.1’de verilen sensörlerin cevap ve geri dönüşüm sürelerinin metal iyonu konsantrasyonuna bağlı olarak değişimi sırasıyla Şekil 4.4 (a) ve (b)’de gösterilmiştir. Maksimum cevap süresi Zn⁺²’nin 1.07x10⁻³ g/ml konsantrasyonu için 47 sn olarak gözlemlenirken minimum cevap süresi Cr⁺³’ün 3.51x10⁻³ g/ml konsantrasyonu için 7 sn olarak gözlemlenmiştir. Maksimum ve minimum geri dönüşüm süreleri ise sırasıyla Cr⁺³’ün 6.83x10⁻³ g/ml konsantrasyonu için 25 sn ve Co⁺²’nin 2.27x10⁻³ g/ml konsantrasyonu için 9 sn olarak bulunmuştur. Sensörün cevap süresinin Zn⁺² dışındaki iyonlar için artan konsantrasyonu ile önce azaldığı daha sonra ise artarak bir maksimum değere ulaştığı ve tekrar düşmeye başladığı gözlemlenmiştir. Sensörün geri dönüşüm süresinin metal iyonu konsantrasyonuna çok bağlı olmadığı görülmüştür. Algılanan tüm metal iyonları için sensörün geri dönüşüm süresinin 10 - 20 sn arasında değiştiği görülmüştür.

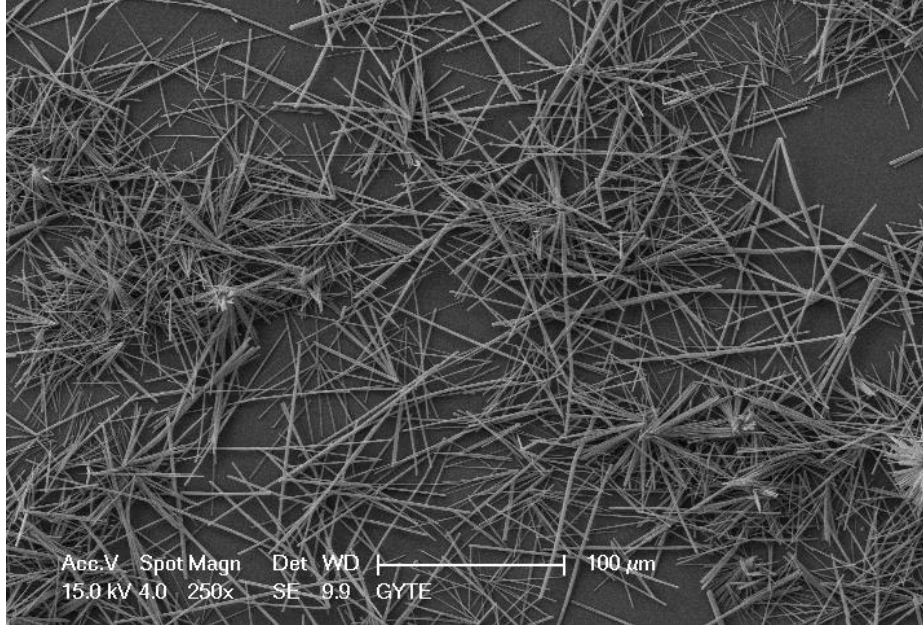


Şekil 4.4 Alq₃ tabanlı sensörlerin cevap (a) ve geri dönüşüm (b) sürelerinin Co⁺², Cr⁺³ ve Zn⁺² konsantrasyonuna bağlı olarak değişimi

4.2 Algılayıcı Olarak Alq₃ Mikrotellerin Kullanıldığı Yapılardan Elde Edilen Sonuçlar

4.2.1 Alq₃ Mikrotellerin Yapısal Analizinden Elde Edilen Sonuçlar

Alq₃ mikroteller birisi sensör uygulamaları için QCM diğeri de yapısal analizler için cam olmak üzere iki farklı altlık üzerine çözelti işlemli kendiliğinden oluşma yöntemiyle hazırlanmıştır. Şekil 4.5 cam altlık üzerine hazırlanmış Alq₃ mikrotellerin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntülerini göstermektedir. Bu yöntemle hazırlanan mikrometre uzunluklu nanometre yarıçaplı tellerin oldukça homojen olduğu görülmüştür. Mikrotellerin cam yüzeyine rastgele dağılmış olduğu açık bir şekilde görülebilmektedir.

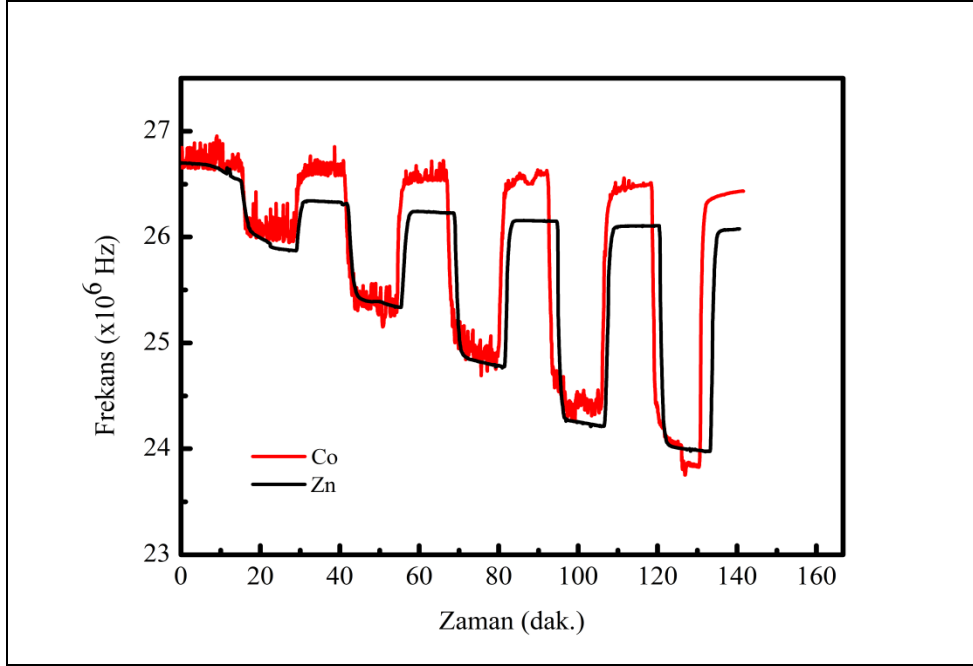


Şekil 4.5 Alq₃ mikrotellerin SEM görüntüsü

4.2.2 Alq₃ Mikrotellerin Metal İyonu Algılama Özelliklerinden Elde Edilen Sonuçlar

Algılayıcı olarak mikrometre uzunluklu nanometre yarıçaplı tellerin kullanıldığı sensörlerin cevap ve geri dönüşüm karakteristikleri oda sıcaklığında ölçülmüştür. Alq₃ mikrotellerin her birinin beş farklı konsantrasyonu ve beş farklı metal iyonunu algılama özelliği test edilmiştir. Şekil 4.6'da Alq₃ tabanlı sensörün sudaki Co ve Zn iyonlarının değişik konsantrasyonlarına cevap karakteristiği gösterilmiştir. İnce film tabanlı sensörlerde olduğu gibi mikrotel tabanlı sensörlerde de artan metal iyonu konsantrasyonu için frekans değişimlerinin de arttığı görülmüştür. Alq₃ tabanlı

sensörün özellikle Zn^{+2} iyonlarının yüksek konsantrasyonlarında sensörün tam olarak eski haline gelemediği daha açık bir şekilde görülmektedir (Şekil 4.6). Alq_3 ince film tabanlı sensörlerle Alq_3 mikrotel tabanlı sensörlerin karakteristiklerinin karşılaştırılmasından; mikrotel tabanlı sensörlerin duyarlılıkları artarken geri dönüşüm özelliğinin kötüleştiği görülmüştür. Şekil 4.6'daki karakteristiğin ilk 15 dakikalık kısmı sensör yüzeyinin sadece DI-su ile temasta olduğu duruma aittir.

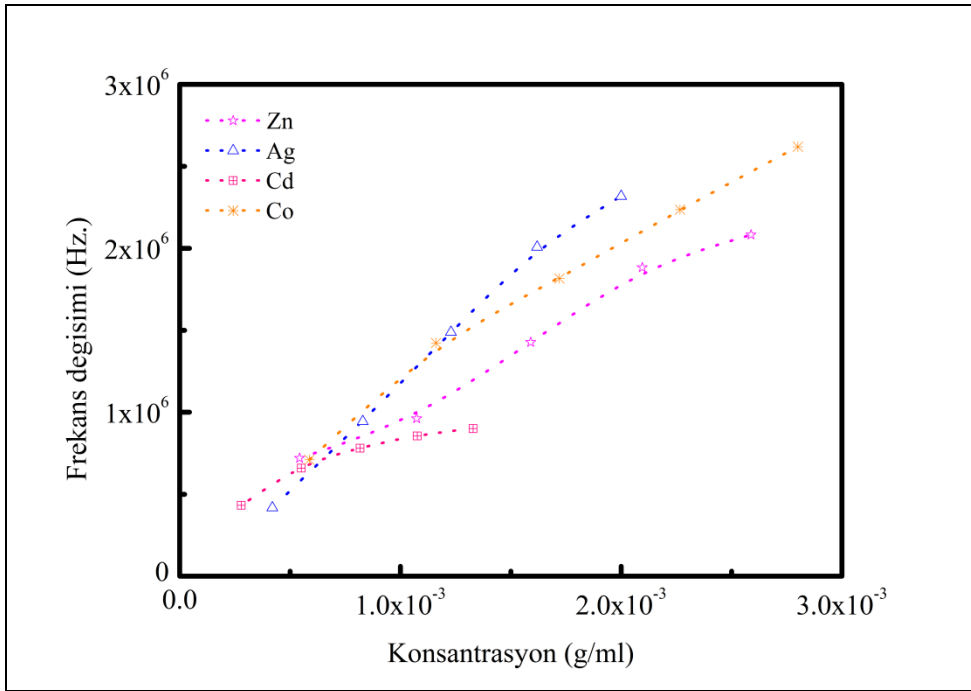


Şekil 4.6 Alq_3 mikrotellerin Co^{+2} ve Zn^{+2} iyonlarının farklı konsantrasyonlarına cevap karakteristiği

İlk 15 dakikalık yıkama işleminden sonraki ikinci 15 dakika boyunca sensör yüzeyine içinde metal iyonlarının bulunduğu su gönderilmiştir. Sensör yüzeyinin metal iyonları ile temas haline gelmesiyle rezonans frekansının hızlı bir şekilde azalmaya başladığı ve yaklaşık 1-2 dakika sonunda değişimin neredeyse durduğu, kararlı hale geldiği görülmüştür. Bu ölçümlerde, $5,87 \times 10^{-4}$ g/ml konsantrasyonunda Co^{+2} iyonları içeren suyun neden olduğu frekans değişimi $7,1 \times 10^5$ Hz iken $5,43 \times 10^{-4}$ g/ml konsantrasyonunda Zn^{+2} iyonları içeren su durumunda rezonans frekansındaki değişimin $7,2 \times 10^5$ Hz olduğu görülmüştür. Yine Şekil 4.6'dan görülebileceği gibi, rezonans frekansındaki değişimlerin artan metal iyonu konsantrasyonu ile arttığı görülmüştür. Gerek Co^{+2} gerekse Zn^{+2} durumunda sensör cevabının, bu iyonların en düşük konsantrasyonu hariç, hemen hemen geri dönüşebilir olduğu görülmüştür.

Alq₃ mikrotel tabanlı sensörlerin cevap ve geri dönüşüm sürelerinin konsantrasyona bağlılığının Alq₃ ince film sensörlerinkine benzediği görülmüştür. Bu sensörlerde cevap süresinin genel olarak artan konsantrasyonla artma eğiliminde olduğu ve 10 - 70 sn arasında değiştiği görülmüştür. Sensörün geri dönüşüm süresinin Ag⁺¹ dışındaki iyonlar için iyon konsantrasyonuna çok bağlı olmadığı metal iyonu türüne bağlı olarak 10-30 sn arasında değiştiği görülmüştür.

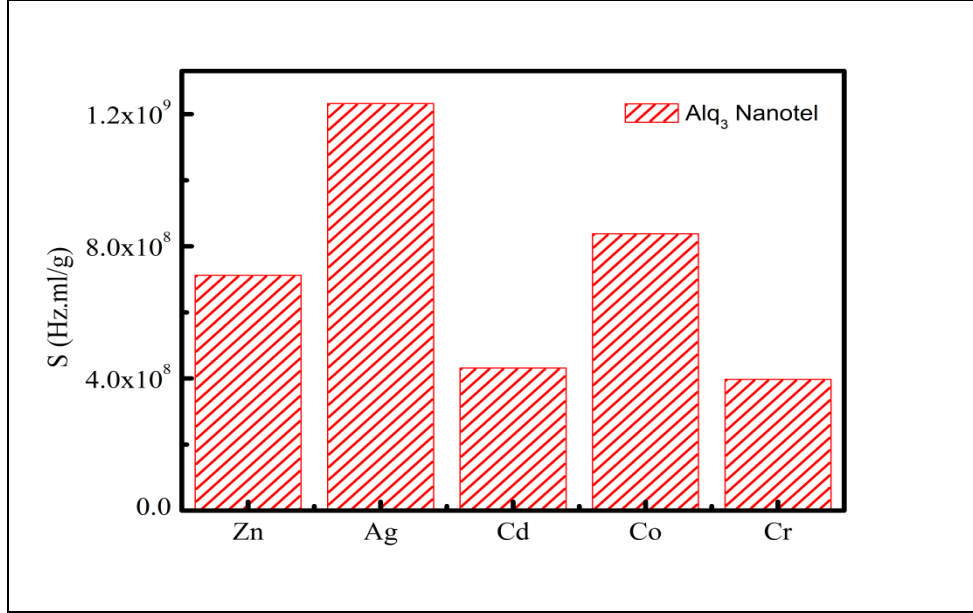
Şekil 4.7’de algılayıcı olarak Alq₃ mikrotellerin kullanıldığı sensörün dört farklı metal iyonu frekans değişimi-konsantrasyon karakteristiği gösterilmiştir. Şekil 4.7’den açıkça görülebileceği gibi artan metal iyonu konsantrasyonuna bağlı olarak frekans değişiminin de doğrusal olarak arttığı gözlemlenmiştir. Elde edilen doğruların eğimlerinin 4.31×10^8 (Cd⁺² için) ile 1.23×10^9 (Ag⁺¹ için) arasında değişirken korelasyon katsayısının 0.920 ile 0.994 arasında değiştiği gözlemlenmiştir.



Şekil 4.7 Algılayıcı olarak Alq₃ mikrotelin kullanıldığı sensörlerde frekans değişimlerinin konsantrasyona bağlılığı

Şekil 4.7’de gösterilen frekans değişimi-konsantrasyon grafiklerinin eğimlerinden hesaplanan sensör duyarlıkları Şekil 4.8’de gösterilmiştir. Alq₃ ince filmlerin kullanıldığı sensörlerde maksimum duyarlık Cd⁺² iyonları için gözlemlenirken algılayıcı olarak Alq₃ mikrotellerin kullanıldığı sensörlerde maksimum duyarlık Ag⁺¹

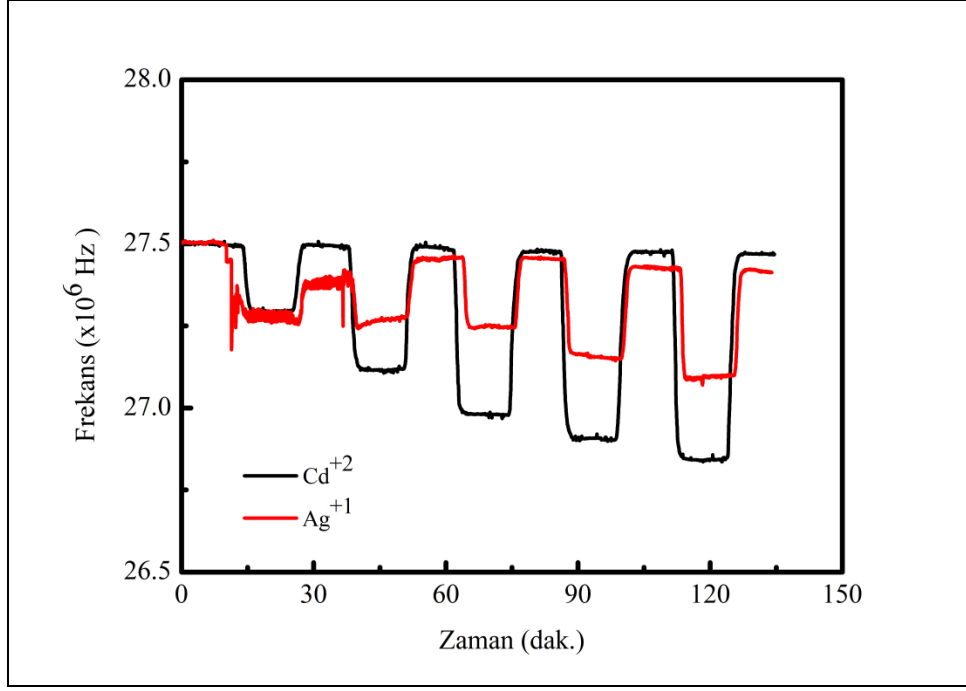
iyonları için gözlemlenmiştir. Her iki grup sensör için minimum duyarlık Cr^{+3} iyonları için gözlemlenmiştir. Fe^{+3} ve Cu^{+2} iyonlarını algılamaya yönelik çalışmalardan tatmin edici sonuçlar alınamadığı için bu ölçümlerin sonuçları değerlendirme dışı tutulmuştur.



Şekil 4.8 Alq₃ Mikrotel tabanlı sensörün değişik metal iyonlarına duyarlılığı

4.3 Algılayıcı Olarak FePc Ftalosiyanınin Kullanıldığı Sensörlerden Elde Edilen Sonuçlar

Kuvartz kristalinin yüzeyine FePc ftalosiyanın jet sprej yöntemiyle kaplandıktan sonra QCM sisteminin sudaki Fe^{+3} , Ag^{+1} , Cd^{+2} ve Co^{+2} olmak üzere dört farklı metal iyonunu algılama özelliği incelenmiştir. Önceki sensör ölçümlerinde olduğu gibi FePc tabanlı sensör için yapılan ölçümler de oda koşullarında, aynı film üzerinde ve 15 dakika DI-su ile yıkama hemen ardından 15 dakika metal iyonuna maruz bırakma şeklinde gerçekleşmiştir. Şekil 4.9’da algılayıcı olarak FePc’nin kullanıldığı sensörün Ag^{+1} ve Cd^{+2} metal iyonlarının farklı konsantrasyonları için cevap karakteristiği gösterilmiştir.

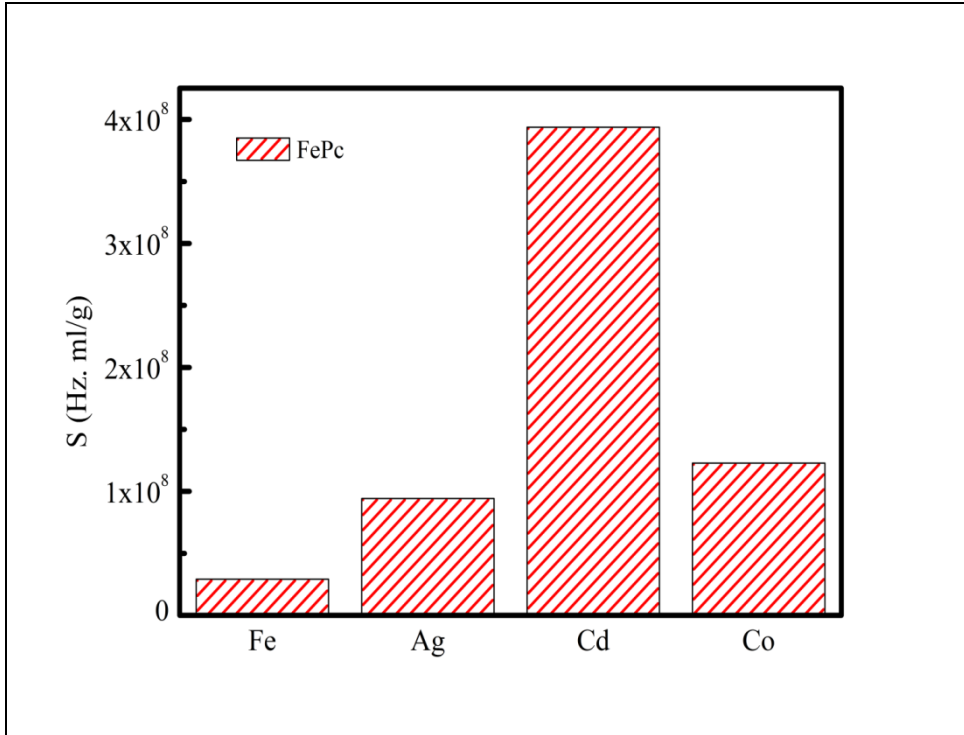


Şekil 4.9 Algılayıcı olarak FePc'nın kullanıldığı sensörün Ag^{+1} ve Cd^{+2} iyonlarının farklı konsantrasyonlarına cevap karakteristiği

Sensör yüzeyi 15 dakika boyunca metal iyonlarıyla temas halinde tutulmuş sonraki 15 dakika boyunca da iyonize su ile yıkanmıştır. $4,2 \times 10^{-4}$ g/ml'lik konsantrasyona sahip Ag^{+1} iyonları ile temas halindeyken rezonans frekansında 2×10^6 Hz'lik frekans değişimi, $2,79 \times 10^{-4}$ g/ml'lik konsantrasyona sahip Cd^{+2} iyonları ile temas halindeyken ise $2,1 \times 10^5$ Hz'lik frekans değişimi meydana gelmiştir. Ardından DI-su ile yıkama işlemi ile sensör yüzeyinin metal iyonlarına maruz kalmasına bağlı olarak düşen rezonans frekansı değeri tekrar artarak ilk değerine ulaşmıştır. Ag^{+1} iyonları için sensör, ikinci kez iyonize su ile yıkama işlemi sonucu başlangıçtaki frekans değerine ulaşamamış daha düşük bir değerde sabitlenmiştir. Diğer aşamalardaki yıkama işleminde ise başlangıçtaki frekans değerine ulaşmıştır. Ayrıca sensör yüzeyine $4,2 \times 10^{-4}$ g/ml'lik konsantrasyona sahip Ag^{+1} iyonları gönderildiğinde sensörün frekansında 2×10^6 Hz'lik bir değişim olurken $8,4 \times 10^{-4}$ g/ml'lik konsantrasyona sahip Ag^{+1} iyonlarına maruz kaldığında $1,3 \times 10^5$ Hz'lik frekans değişimi görülmüştür. Bundan sonraki işlemlerde artan metal iyonu konsantrasyonuna bağlı olarak sensörün frekans değişimi artmıştır. Sensör yüzeyine Cd^{+2} iyonu gönderildiğinde ise artan metal iyonu konsantrasyonu ile birlikte frekans değişimi düzenli olarak artmış

ve frekans değeri gittikçe azalmıştır. Cd^{+2} iyonu için sensör cevabının tam olarak dönüşebildiği görülmüştür.

FePc tabanlı sensörlerin test edilen metal iyonlarına duyarlılıkları şekil 4.10'da gösterilmiştir.

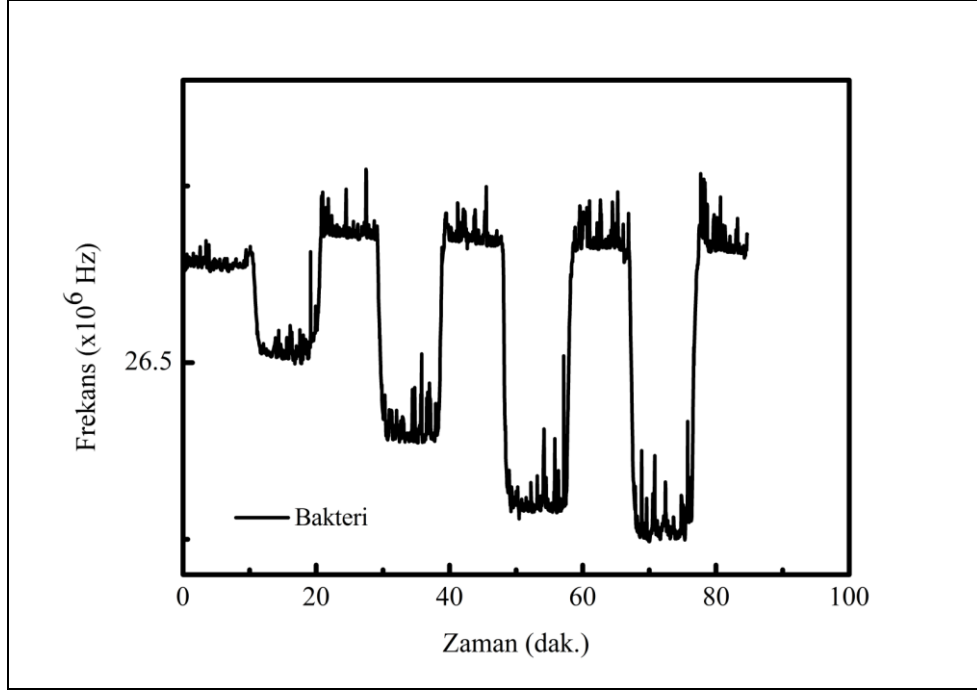


Şekil 4.10 FePc tabanlı sensörün değişik metal iyonlarına duyarlılıkları

Oda sıcaklığında yapılan ölçümlerde en yüksek duyarlık Cd^{+2} iyonları için görülürken en düşük duyarlık Fe^{+3} iyonları için görülmüştür.

4.4 Bakteri Ölçümünden Elde Edilen Sonuçlar

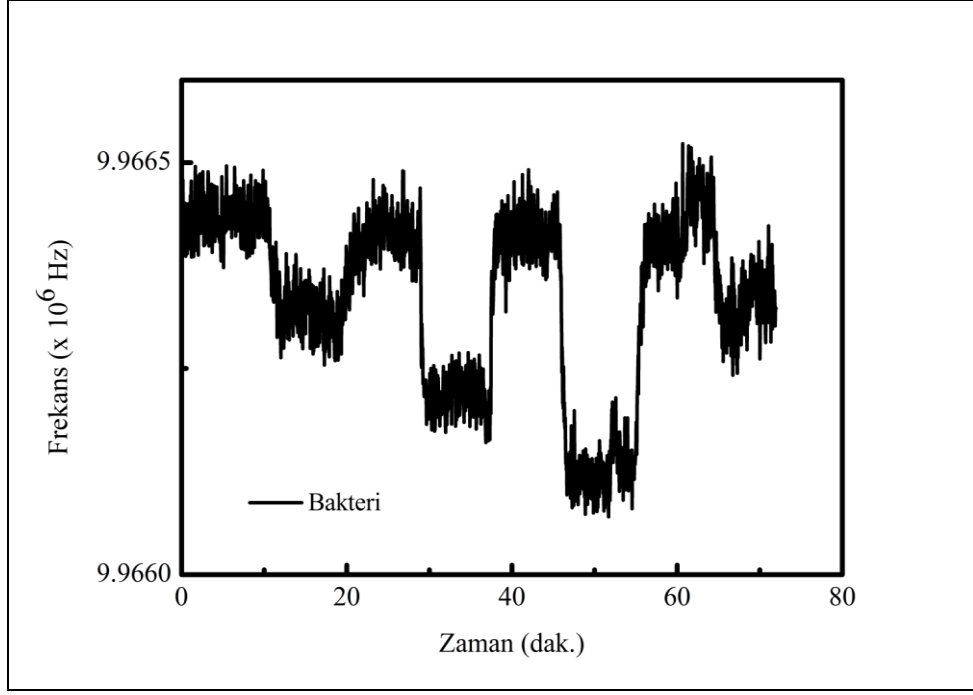
QCM'in algılayıcı yüzeyi bakteri algılanması için çeşitli işlemlerden geçirilip hazırlandıktan sonra ölçüm 15 dakika DI-su ile yıkama ardından 15 dakika seyreltilmiş bakterili suya maruz bırakma şeklinde gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.11'de sensörün bakterili suyun farklı konsantrasyonları için cevap karakteristiği gösterilmiştir.



Şekil 4.11 Sensörün bakterili suyun farklı konsantrasyonlarına cevap karakteristiği

Sensör yüzeyi ilk olarak 15 dakika boyunca DI-su ile yıkanmıştır. Sonraki 15 dakika boyunca sensör yüzeyi bakterili su ile temas halinde tutulmuştur. Buna bağlı olarak sensör yüzeyinde artan kütle nedeniyle rezonans frekansı düşmüştür. Tekrar DI-su ile yıkama işleminde artarak ilk değerinden daha yüksek bir değerde sabitlenmiştir. Diğer aşamalarda bakterili su ile temas halinde bakterili suyun artan konsantrasyonlarına bağlı olarak rezonans frekansındaki değişim gittikçe artmıştır ve DI-su ile yıkama aşamalarında frekans değeri hızlıca artarak belirli bir değerde sabitlenmiştir.

Sensör performans parametrelerinden sensörün tekrarlanabilirliğini test etmek için aynı koşullarda arka arkaya alınan ölçümler sonucunda elde edilen cevap karakteristiği şekil 4.12’de gösterilmiştir.



Şekil 4.12 Sensörün tekrarlanan bakterili su ölçümleri sonucunda elde edilen cevap karakteristiği

Ölçüm işlemi yine ilk 15 dakika DI-su ile yıkama ve 20 ml'lik suya 2 ml, 4 ml ve 6 ml'lik bakterili su ilave edilmesi ve değişik bakterili su konsantrasyonları arasında yine sensör yüzeyinin DI-su ile yıkanması şeklinde yapılmıştır. En son 6 ml'lik bakterili suya maruz bırakma işleminden sonra yine 2 ml'lik bakterili su peristaltik pompa yardımıyla sensör yüzeyine gönderilmiştir ve aynı ölçüm basamakları sırasıyla tekrarlanmıştır. DI-su ile yıkama işleminden sonra 2 ml'lik bakterili suya maruz bırakma işleminde sensörün titreşim frekansı azalmıştır. Tekrar DI-su ile yıkama işleminde frekans yine ilk değerine ulaşmıştır. Artan konsantrasyonla titreşim frekansındaki değişim de artmıştır. İlk ölçüm setinden sonra sensör yüzeyine 2 ml'lik bakterili su gönderilmesiyle frekans değeri yaklaşık olarak ilk ölçümdeki frekans değerine kadar düşmüştür.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu Yüksek Lisans tez çalışmasında, sulardaki ağır metal iyonları ile bakterilerin algılanmasına yönelik akustik dalga tabanlı sensörlerin üretimi ve karakterizasyonları gerçekleştirilmiştir. Ağır metal iyonlarının algılanmasına yönelik üretilen sensörlerde transdüser olarak AT-kesim temel rezonans frekansı 10 MHz olan ve her iki yüzeyinde de simetrik Au elektrotlar bulunan kuvartz kristalleri kullanılmıştır. Algılayıcı malzeme olarak ise birisi, merkezinde Fe atomu bulunan ftalosiyanın bileşiği diğeri de ticari olarak temin edilen Alq_3 olmak üzere iki farklı organik yarıiletken kullanılmıştır. Algılayıcı malzemelerin ince filmleri spreyc yöntemiyle hazırlanmıştır. Algılayıcı malzeme boyutlarının algılama özelliklerine etkisini incelemek amacıyla, Alq_3 ince filmlerin yanı sıra Alq_3 mikroteller üretilerek ağır metal iyonlarını algılama özellikleri incelenmiştir. Alq_3 mikroteller kendiliğinden düzenlenme (self assembly) yöntemiyle hazırlanmıştır. Gerek ince filmlerin kullanıldığı gerekse mikrotellerin kullanıldığı sensörlerin sulardaki Co^{+2} , Cr^{+3} , Zn^{+2} , Ag^{+1} , Cu^{+2} , Fe^{+3} , Cd^{+2} olmak üzere yedi farklı metal iyonunu algılama özelliği incelenmiştir. Sulardaki bakterilerin algılanmasına yönelik üretilen sensörlerde algılayıcı olarak, türe özgü antibody kullanılmıştır. Hedef bakteri olarak ise *Enterococcus faecalis* bakterisi seçilmiştir. Sensörlerin algılama özellikleri oda sıcaklığında ve sıvı ortamda rezonans frekansındaki değişimlerin metal iyonu konsantrasyonuna bağlı olarak ölçülmesi suretiyle belirlenmiştir.

Deneysel verilerin analizinden, algılayıcı olarak gerek ince filmlerin gerekse mikrotellerin kullanıldığı sensörlerde, sensör yüzeyinin ağır metal iyonu içeren suya maruz bırakılması durumunda rezonans frekansının iki aşamalı olarak düştüğü görülmüştür. Başlangıçta rezonans frekansı hızlı bir şekilde düşerken zamanla, frekanstaki düşme hızının yavaşladığı ve durma eğiliminde olduğu görülmüştür. Rezonans frekansındaki bu iki aşamalı düşüş; metal iyonu adsorpsiyonunun iki aşamada gerçekleştiği şeklinde yorumlanmıştır. Sensör metal iyonu içeren suya maruz bırakıldığında, sudaki metal iyonları algılayıcı yüzeyindeki aktif adsorpsiyon sitelerinde adsorplanmakta (sistemin kütlesi hızlı bir şekilde artmakta) ve rezonans frekansı hızlı bir şekilde azalmaktadır. Zamanla, yüzeyde adsorplanan metal iyonlarının küçük bir kısmı algılayıcı malzemenin içine doğru difüze etmektedir. Difüzyon hızı adsorpsiyon hızından küçük olduğu için yüzeydeki metal iyonları tarafından işgal edilmemiş adsorpsiyon merkezlerinin sayısı azalmakta dolayısıyla, birim zamanda adsorplanan metal iyonu sayısı azalmaktadır. Bu da rezonans frekansında daha yavaş bir düşme anlamına gelmektedir. Difüzyon durduğunda, yüzeyde metal iyonu adsorplayacak merkez kalmadığında sistemin kütlesindeki artış duracak dolayısıyla da, rezonans frekansı değişmeyecektir. Sensörlerin geri dönüşüm karakteristiklerinin de benzer şekilde iki aşamada gerçekleştiği görülmüştür. Sensör yüzeyinin DI-su ile yıkanması aşamasında başlangıçta rezonans frekansı hızlı bir şekilde artmakta zamanla, daha yavaş bir hızla artarak başlangıç değerine ulaştığı görülmüştür. Başlangıçtaki hızlı frekans artışının yüzeyde adsorplanmış metal iyonlarının desorpsiyonuna daha sonraki yavaş artış ise difüze olmuş metal iyonlarının desorpsiyonuna yorumlanmıştır.

Algılayıcı olarak kullanılan organik yarıiletkenlerin (Alq_3) ince filmlerinin ve mikrotellerinin metal iyonu algılama performanslarının karşılaştırılmasında; sensörlerinin duyarlıklarının ve maksimum duyarlık gösterdiği metal iyonu türünün algılayıcı malzemenin boyutlarına oldukça bağlı olduğu görülmüştür. Hedef olarak seçilen hemen tüm metal iyonları için mikrotellerin kullanıldığı sensörlerin duyarlıklarının daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu durum mikrotellerden oluşan algılayıcının yüzey alanının daha büyük olmasına dolayısıyla da, daha çok sayıda aktif adsorpsiyon merkezi bulunmasına yorumlanmıştır. Sensörlerin maksimum duyarlık

gösterdiği metal iyon türünün algılayıcı malzemenin morfolojik yapısına bağlılığı ise (Örneğin, algılayıcı olarak Alq₃ ince filmlerin kullanıldığı sensörlerde maksimum duyarlık Cd⁺² iyonları için gözlemlenirken algılayıcı olarak Alq₃ mikrotellerin kullanıldığı sensörlerde maksimum duyarlık Ag⁺¹ iyonları için gözlemlenmiştir.) aktif adsorpsiyon merkezlerinin bağlama enerjilerinin algılayıcı malzemenin boyutları ile değişimine yorumlanmıştır. Tez kapsamında üretilen sensörlerin hedef metal iyonları için cevap ve geri dönüşüm sürelerinin algılayıcı malzemenin morfolojik yapısına bağlılığının incelenmesinde benzer sonuçlar gözlemlenmiştir. Yani, algılayıcı olarak Alq₃ mikrotellerin kullanıldığı sensörlerin hem cevap sürelerinin hem de geri dönüşüm sürelerinin algılayıcı olarak Alq₃ ince filmlerin kullanıldığı sensörlerden daima daha düşük olduğu gözlemlenmiştir.

Alq₃ ince filmlerle FePc ince filmlerin sulardaki metal iyonu algılama performanslarının karşılaştırılmasında her iki tür ince film için maksimum duyarlık Cd⁺² iyonları için gözlemlenirken minimum duyarlık Alq₃ için Cr⁺² iyonlarında FePc ince filmlerde Fe⁺³ iyonları için gözlemlenmiştir. Literatürde azot (N) atomu içeren organik bileşiklerin metal iyonu algılama mekanizmasında birinci derecede yapıdaki N (azot) atomlarının rol oynadığı rapor edilmektedir. Ftalosiyenin bileşikleri, azot atomu yönünden oldukça zengin moleküler yapıya sahiptirler. Dolayısıyla, algılayıcı olarak ftalosiyenin bileşiklerinin kullanıldığı sensörlerde algılama mekanizması azot atomları ile kontrol edilmektedir. Her iki tür ince filmlerde maksimum duyarlığın Cd⁺² iyonları için gözlemlenmesi Cd⁺² iyonlarının yüksek koordinasyon yeteneklerine bağlanmıştır. Algılayıcı olarak FePc'nin kullanıldığı sensörlerde minimum duyarlığın Fe⁺³ iyonları için gözlemlenmiş olması ftalosiyenin bileşiğinin merkezinde bulunan metal atomlarının algılama mekanizmasında etkin rol oynadığını göstermektedir. Özellikle, Fe⁺³ iyonlarının küçük iyonik yarıçaplarından dolayı algılayıcı olarak FePc filmlerin kullanılması durumunda sensörlerin aktif yüzey alanları artmakta bu da yüzeyde daha fazla adsorpsiyon merkezi olduğuna yorumlanmıştır.

Üretilen sensörlerin cevap sürelerinin ve geri dönüşüm sürelerinin metal iyonu konsantrasyonuna bağlılığının incelenmesinde genelde, cevap ve geri dönüşüm sürelerinin metal iyonunun düşük konsantrasyonlarında artan metal iyonu konsantrasyonu için azalırken daha sonra artan metal iyonu konsantrasyonu ile

arttığı gözlemlenmiştir. Cevap ve geri dönüşüm sürelerinin metal iyonu konsantrasyonunun düşük değerleri için azalırken artan metal iyonu konsantrasyonu için artması adsorpsiyon sitelerinin doldurulmuş olma ihtimaliyle açıklanabileceği sonucuna varılmıştır.

Akustik tabanlı sensörlerin sulardaki bakterilerin algılanmasına yönelik çalışmalarda, kuvarz kristallerin yüzeyinde *Enterococcus faecalis* bakterisini bağlama özelliği olan antibody'nin yüzeyde uygun yönelimde immobilize edilebildiği görülmüştür. Bu sonuç, kuvarz kristallerin yüzeyinin değişik bakterileri algılamak üzere aktif hale getirilebileceği ve dolayısıyla oldukça hassas bakteri sensörlerinin üretilebileceği şeklinde yorumlanmıştır.

Sonuç olarak, sulardaki ağır metal iyonlarını algılamak amacıyla algılayıcı olarak organik yarıiletken malzemelerin kullanıldığı akustik dalga tabanlı bir sensörün geliştirilebileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca, bu şekilde üretilen sensörlerin gerek duyarlılıkları gerekse cevap ve geri dönüşüm süreleri gibi temel sensör parametrelerinin algılayıcı malzemenin moleküler yapısında yapılacak modifikasyonlarla ve algılayıcı malzemenin değişik morfolojilerde (ince film, nanotel, nanoparçacık vb.) hazırlanmasıyla optimize edilebileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- [1] Forzani E., Zhang H., Chen W. ve Tao N., (2005). "Detection of Heavy Metal Ions in Drinking Water Using a High-Resolution Differential Surface Plasmon Resonance Sensor", *Environ. Sci. Technology*, 39: 1257-1262.
- [2] Brewer G. J., (2010). "Risks of Copper and Iron Toxicity during Aging in Humans", *Chem. Res. Toxicol*, 23: 319–326.
- [3] Bruins M. R., Kapil S. ve Oehme F. W., (2000). "Microbial Resistance to Metals in the Environment", *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 45: 198-207.
- [4] Todd M. D., Lee M. J., Williams J. L., Nalezny J. M., Gee P., Benjamin M. B. ve Farr S. B., (1995). "The CAT-Tox (L) Assay: A Sensitive and Specific Measure of Stress-Induced Transcription in Transformed Human Liver Cells", *Fundam. Appl. Toxicol.*, 28: 118–128.
- [5] Hussein H., Farag S., Kandil K. ve Moawad H., (2005). "Tolerance and Uptake of Heavy Metals by Pseudomonads", *Process Biochem.*, 40: 955–961.
- [6] Bannon D. I. ve Chisolm J. J., (2001). "Anodic stripping voltammetry compared with graphite furnace atomic absorption spectrophotometry for blood lead analysis", *Clin. Chem.*, 47 (9): 1703-1704.
- [7] Eksperiandova L. P., Blank A. B. ve Makarovskaya Y. N., (2002). "Analysis of waste water by X-ray fluorescence spectrometry", *X-ray Spectrom.*, 31 (3): 259-263.
- [8] Baldo M. A., Daniele S., Ciani I., Bragato C. ve Wang J., (2004). "Remote stripping analysis of lead and copper by a mercury-coated platinum microelectrode", *Electroanalysis*, 16 (5): 360- 366.
- [9] Torres-Chavolla E. ve Alocilja E. C., (2009). "Aptasensors for detection of microbial and viral pathogens", *Biosensors and Bioelectronics*, 24: 3175–3182.
- [10] Jasson V., Jaccsens L., Luning P., Rajkovic A. ve Uyttendaele M., (2010). "Alternative microbial methods: An overview and selection criteria", *Food Microbiology*, 27: 710-730.

- [11] Zelada-Guillen G. A., Riu J., Düzgün A. Ve Rius F. X.,(2009). "Immediate Detection of Living Bacteria at Ultra low Concentrations Using a Carbon Nanotube Based Potentiometric Aptasensor", *Angew. Chem. Int. Ed.*, 48: 7334-7337.
- [12] Syshchyk O., Skryshevsky V. A., Soldatkin O. O. ve Soldatkin A. P., (2015). "Enzyme biosensor systems based on porous silicon photoluminescence for detection of glucose, urea and heavy metals", *Biosensors and Bioelectronics*, 66: 89–94.
- [13] Pan D., Wang Y., Chen Z., Lou T. Ve Qin W., (2009). "Nanomaterial/ionophore-based Electrode for Anodic Stripping Voltammetric Determination of Lead: An Electrochemical Sensing Platform Toward Heavy Metals", *Analytical Chemistry*, 81 (12): 5088–5094.
- [14] Berlina A. N., Sharma A. K., Zherdev A. V., Gaur M. S. ve Dzantiev B. B., (2015). "Colorimetric determination of lead using gold nanoparticles", *Analytical Letters*, 48: 766–782.
- [15] Lou H., Zhang Y., Xiang Q., Xu J., Li H., Xu P. ve Li X., (2012). "The real-time detection of trace-level Hg^{2+} in water by QCM loaded with thiol-functionalized SBA-15", *Sensors and Actuators B*, 166–167: 246–252.
- [16] Ratnarathorn N., Chailapakul O. ve Dungchai W., (2015). "Highly sensitive colorimetric detection of lead using maleic acid functionalized gold nanoparticles", *Talanta*, 132: 613–618.
- [17] Huang H., Chen T., Liu X. ve Ma H., (2014). "Ultra sensitive and simultaneous detection of heavy metal ions based on three-dimensional graphene-carbon nanotubes hybrid electrode materials", *Analytica Chimica Acta*, 852: 45–54.
- [18] Shi Y., Wei H. ve Liu Y., (2015). "Different electronic and charge transport properties of four organic semiconductors Tetraazaperopyrenes derivatives", *Journal of Molecular Structure*, 1083: 65–71.
- [19] Houa C. ve Chena X., (2015). "Anisotropic charge transport in flavonoids as organic semiconductors", *Molecular Physics*, 113(5): 521–528.
- [20] Han J., Thirupathaiah B., Kwon G., Kim C. ve Seo S. Y., (2015). "Synthesis and characterization of carbazole- and α -carboline-based thiophene derivatives as organic semiconductors for organic thin-film transistors", *Dyes and Pigments*, 114: 78-84.
- [21] Lee H., Lee J., Yi Y., Cho S. W. Ve Kim J. W., (2014). "Anomalous hole injection deterioration of organic light-emitting diodes with manganese phthalocyanine layer", *Journal of Applied Physics*, 117 (3): 035503.
- [22] Fukuda T., Shigeyoshi N., Yamamura T. Ve Shikawa N., (2014). "Magnetic Relaxations Arising from Spin–Phonon Interactions in the Nonthermally Activated Temperature Range for a Double-Decker Terbium Phthalocyanine Single Molecule Magnet", *Inorg. Chem.*, 53: 9080–9086.

- [23] Salan Ü., Altındal A., Özkaya A. R., Salih B. ve Bekaroğlu Ö., (2012). "Photovoltaic and electrocatalytic properties of novel ball-type phthalocyanines bridged with four dicumarol", Dalton Trans., 41: 5177–5187.
- [24] De Paula L. B., Primo F. L., Pinto M. R., Morais P. C. ve Tedesco A. C., (2015). "Combination of hyperthermia and photo dynamic therapy on mesenchymal stem cell line treated with chloroaluminum phthalocyanine magnetic-nanoemulsion", Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 380: 372–376.
- [25] Şahin S., Altun S., Altındal A. ve Odabaş Z., (2015). "Synthesis of novel azo-bridged phthalocyanines and their toluene vapour sensing properties", Sensors and Actuators B, 206: 601–608.
- [26] Arora P., Sindhu A., Dilbaghi N. ve Chaudhury A., (2011). "Biosensors as innovative tools for the detection of foodborne pathogens", Biosens. Bioelectron., 28: 1–12.
- [27] Eum N. S., Yeom S. H., Kwon D. H., Kim H. R. ve Kang S. W., (2010). "Enhancement of Sensitivity using gold nanorods—Antibody conjugator for detection of E. coli O157:H7", Sens. Actuat. B, 68 (143): 784–788.
- [28] Rasmussen M., Johansson D. , Söbirk S. K., Mörgelin M. ve Shannon O., (2010). "Microbes and Infection" 12: 295–301.
- [29] Bedford E. E., Spadavecchia J., Pradier C. M. ve Gu F. X., (2012). "Surface Plasmon Resonance Biosensors Incorporating Gold Nanoparticles", Macromol. Biosci., 12: 724–739.
- [30] Escamilla-Gómez V., Campuzano S., Pedrero M. ve Pingarr J. M., (2009). "Gold screenprinted- based impedimetric immunobiosensors for direct and sensitive *Escherichia coli* quantisation", Biosens. And Bioelectron, 24: 3365–3371.
- [31] Oh S., Jadhav M., Lim J., Reddy V. ve Kim C. G., (2013). "An organic substrate based magneto resistive sensor for rapid bacteria detection", Biosensors and Bioelectronics, 41: 758–763.
- [32] Liu Y. D., Wang F. X. ve Pan G. B., (2012). "Surface –bound tris (hydroxyquinoline) aluminum nanowires with high electron transportation and strong fluorescence emission", Materials Letters, 68: 178–182.
- [33] Kang H. Y., Kang G. W., Park K. M., Yoo I. S. Ve Lee C., (2004). Material Science and Engineering C, 24: 229
- [34] Pohl R. ve Anzenbacher P., (2003). Organic Letters, 5: 2769.
- [35] Brinkmann M., gadret G., Muccini M., Taliani C., Masciocchi N., Sironi A. ve Am. J., (2000). Chemical Society Reviews, 112: 5147.
- [36] Cölle M., Gmeiner J., Hillebrecht H. ve Brütting W., (2003). Advanced Functional Materials, 13: 108.

- [37] Sauerbrey, G., (1959). "The Use of Quartz Oscillators for Weighing Thin Layers and for Microweighing", Zeitschrift für Physik, 155 (2): 206-222.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı :Meltem AĞAR
Doğum Tarihi ve Yeri :31.07.1990 , İstanbul
Yabancı Dili :İngilizce
E-posta :meltem_agar@hotmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul\Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Fizik	Yıldız Teknik Üniversitesi	2015
Lisans	Fizik	Marmara Üniversitesi	2012
Lise	Fen	Samiha Ayverdi Anadolu Lisesi	2008

YAYINLARI

Bildiri

1. **Ağar, M.** ve Altındal, A., (2014).“ Quartz Crystal Microbalance sensor for heavy metal ion detection in water samples“, Türk Fizik Derneği 31. Uluslararası Fizik Kongresi, 21-24 Temmuz 2014, Bodrum/Türkiye, 366.