



# **SİNİR AJANLARININ TESPİTİNE YÖNELİK KUVARS KRİSTAL MİKROTERAZİ (QCM) TEMELLİ SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ**

**Dr.Ozan YAĞMUROĞLU**

**Hv.Svn.Yzb.**

**MSB KBRN Savunma Dairesi Başkanlığı**

# İÇERİK

- Amaç
- Genel Bilgiler
- Deneysel Çalışmalar
- Bulgular
- Tartışma ve Sonuç

# Amaç

- Kimyasal silahların keşfiyle birlikte insanoğlu büyük bir tehdit ile karşı karşıya kalmıştır. Bu silahların kitlesel insan ölümlerine sebebiyet vermesi ve nispeten geliştirilmesinin kolay olması ülkeleri bu konuda önlem almak zorunda bırakmıştır. I. Dünya Savaşı esnasında kimyasal silahlar nedeniyle 2 milyona yakın insan hayatını kaybetmiştir.
- II. Dünya Savaşı başlamadan ise sinir ajanları kimyasal silah yapımında kullanılmaya başlanmıştır. Böylece kimyasal silahların insanlık üzerindeki tehdidi çok daha kritik bir noktaya ulaşmıştır.
- Uluslararası yapılan antlaşmalar ve düzenleyici kurallarla kimyasal savaş ajanlarının kullanımı yasaklanmıştır. Bu düzenlemeler sonucunda kimyasal savaş ajanlarının elde edilmesi zorlaşmıştır. Bu kimyasalların elde edilememesinden oluşan boşluk organofosforlu bileşiklerin kullanılmasıyla kapatılmıştır.
- Organofosforlu bileşikler toksik etkileri bakımından sinir ajanlarına benzemektedirler. Bölgemizde yaşadığımız gelişmeler ve terör örgütlerinin eline geçen silahlar, kimyasal silah ile saldırı riskini ülkemiz açısından gitgide arttırmaktadır. Bu nedenle kimyasal savaş ajanlarının tespiti/teşhisi çok kritik bir öneme sahiptir.

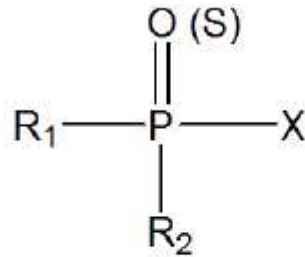
# Tanımlar

- Toksik etkileri sonucunda canlıları; öldürme, yaralama veya temel yaşam fonksiyonlarını bozarak etkisiz hale getirme gibi özelliklere sahip kimyasal maddelere genel olarak **kimyasal savaş ajanı** denilmektedir.
- Kimyasal savaş ajanlarını kullanmak için gerekli cihaz ve mühimmatlar ve bunların kullanımına yönelik özel olarak tasarlanmış her türlü teçhizatı **kimyasal silah** olarak tanımlamıştır.
- Kimyasal silahların savaş alanında düşman ülkelere karşı kullanılmasıyla ortaya çıkan duruma ise **kimyasal savaş** denilmektedir.



# Organofosforlu Bileşikler

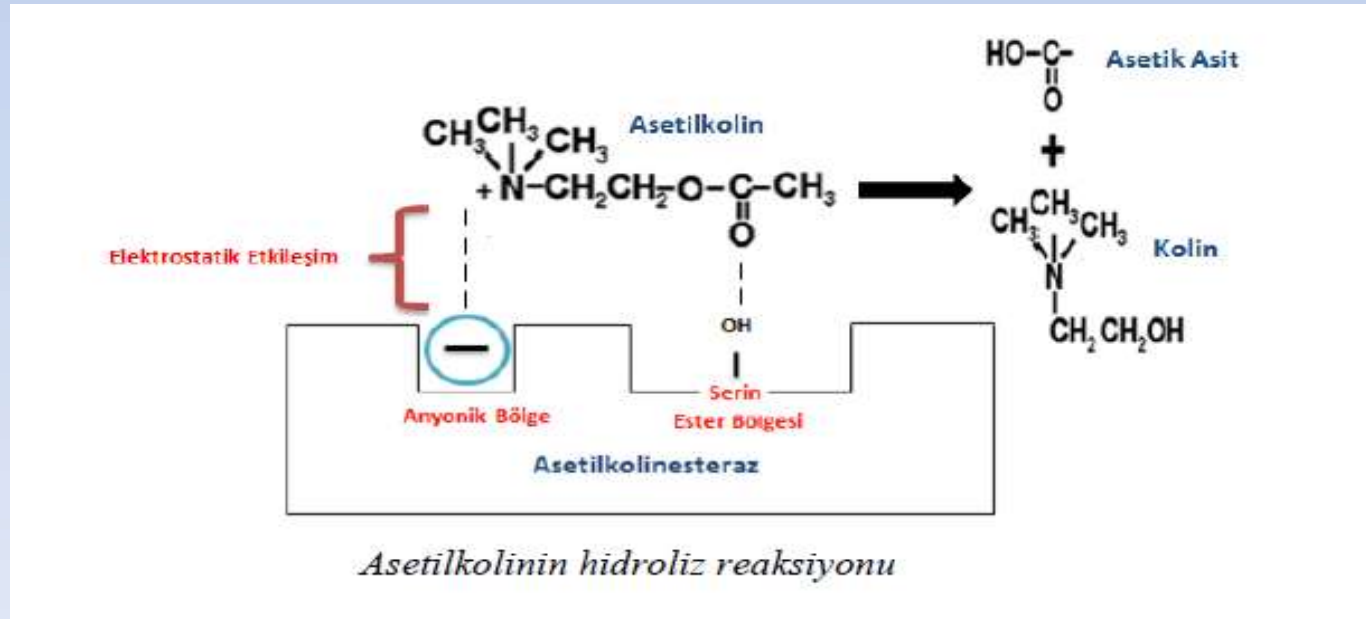
- Organofosforlu bileşikler etkilerini sinir iletisini engelleyerek gösterirler. Bu bileşikler yapıları bakımından genel olarak esterler, amidler ve fosforik asidin tüol türevleridir.
- Genel kimyasal yapıları şu şekildedir; molekülün merkezinde fosfor atomu bulunmakta ve fosfor atomu **oksijen** veya **sülfür** ile çift bağ yapabilmektedir. Genel kimyasal yapıda bulunan **R1-R2** hidrojen, alkil (siklik yapı dahil), aril, alkoksi, alkiltiyol ve amino gruplarını temsil eder. **X** ise halojenleri, siyano ve tiyol gruplarını ve inorganik-organik asitleri temsil eder.



*Organofosforlu bileşiklerin genel kimyasal yapısı*

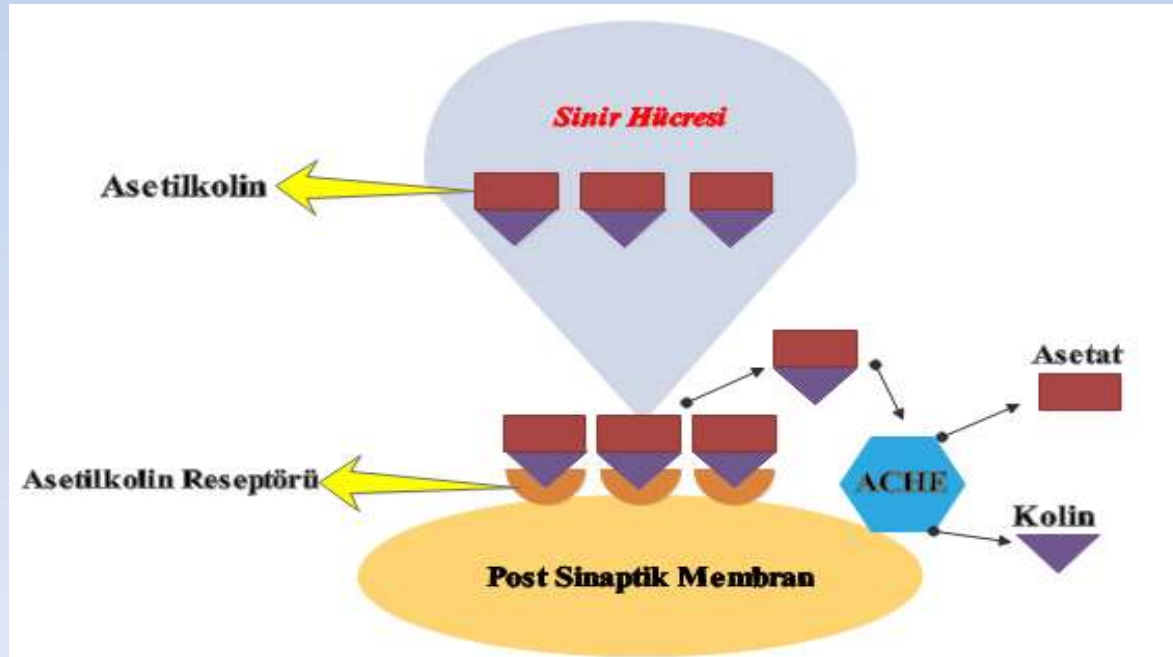
# Organofosforlu Bileşikler

- Organofosforlu bileşikler etkilerini asetilkolinin nörotransmitter olarak görev yaptığı bölgelerde, **asetilkolin esteraz (AChE)** enziminin inhibisyonu üzerinden gösterir.
- **AChE** enzimi esteraz ailesine üye bir serin hidrolazıdır. Asetilkolinesteraz enziminin vücuttaki rolü post-sinaptik membran üzerinde bulunan asetilkolini hidrolizleyerek sinyal iletimini sonlandırmaktır. Bu şekilde otonom sinir sisteminin düzgün çalışmasını sağlar.



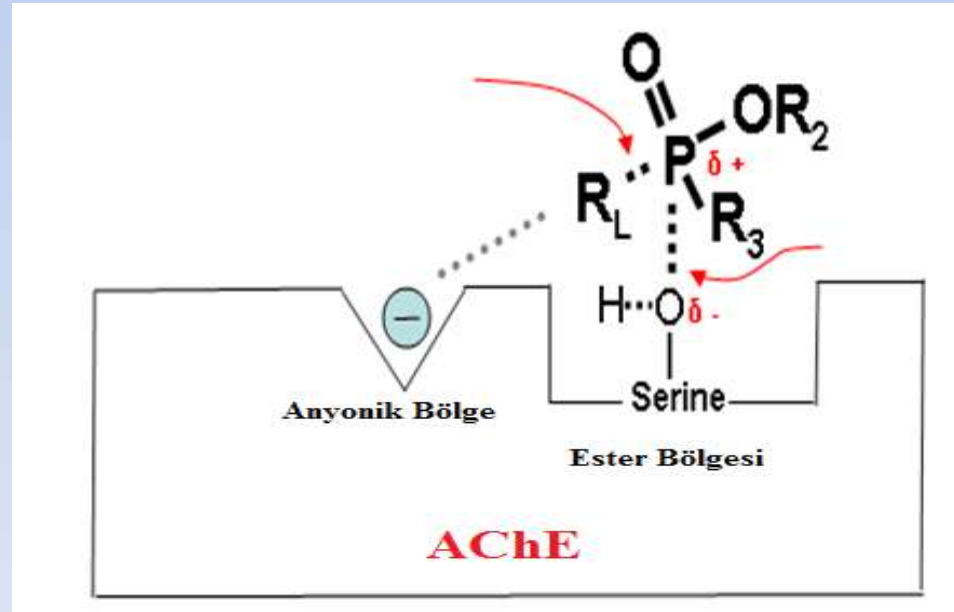
# Organofosforlu Bileşikler

- Sinirler beyin ve organlar arasındaki kordinasyonu sağlar. Beyinden gelen elektrik akımı sinirler boyunca iletilir. Sinirler belli bölgelerde birbirleriyle karşılaşırlar. Bu karşılaşma bölgesine **sinaps** adı verilir.
- Sinaps iki sinir hücrelerini birbirinden ayıran boşluktur. İletici sinirden alıcı sinire mesajın ulaşabilmesi için iletilen sinir sinaps denilen boşluğa kimyasal salgılar. Bu kimyasal salgı **asetilkolin**dir.



# Organofosforlu Bileşikler

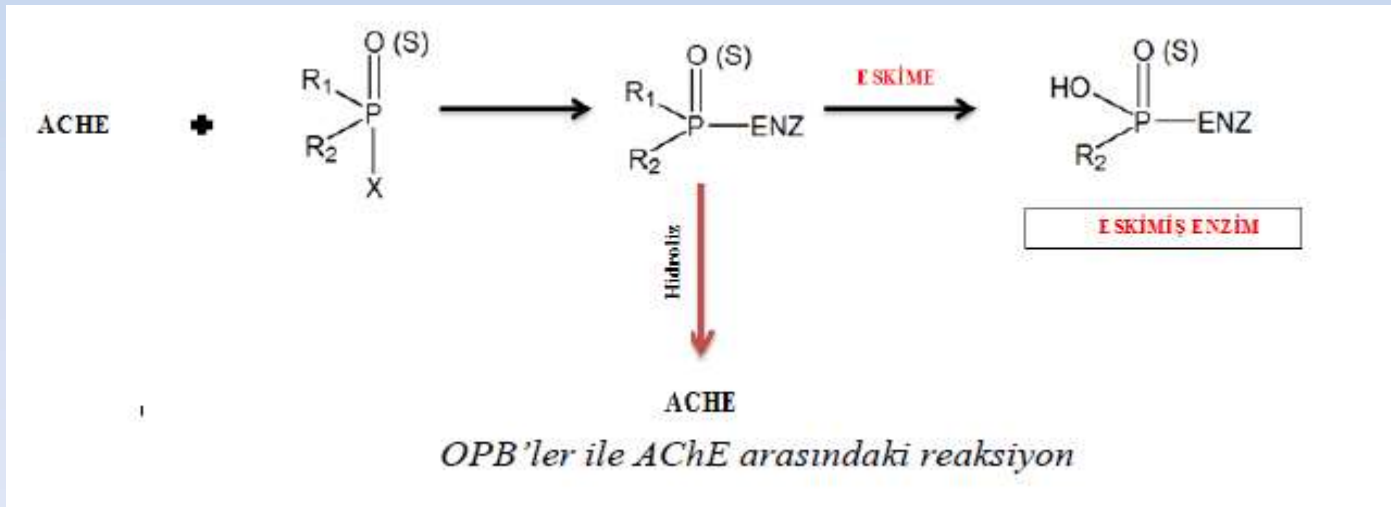
- OPB'ler AChE enziminin aktif bölgesinde bulunan **serin** amino asidine bağlanarak enzim tarafından hidrolize edirlirler. Böylece enzimin aktif bölgesi fosforillenmiş olur. AChE enzimi ile OPB'ler arasındaki reaksiyon iki basamakta gerçekleşir. Öncelikle **geri dönüşümlü** enzim-inhibitör kompleksi oluşur.





# Organofosforlu Bileşikler

- Geri dönüşümlü kompleks oluşumundan sonra yapıdaki alkil grubunun –OH ile yer değiştirmesi sonucu **geri dönüşümsüz kompleks** meydana gelir.
- Bu olay **eskime** olarak adlandırılır.
- Eskime olayının gerçekleşme zamanı maruz kalınan molekülün yapısına göre değişmektedir.
- **Soman** molekülüne maruz kalındıktan dakikalar sonra eskime olayı gerçekleşmesine rağmen, **sarin** ile bu süre 6 saat, **tabun** ve **Vx** ajanlarında ise bu süre yaklaşık olarak 50 saat civarında gerçekleşmektedir

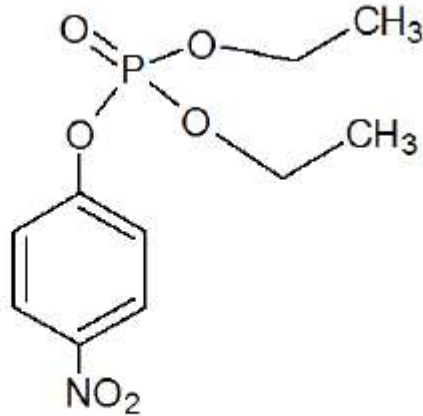


# Organofosforlu Bileşikler

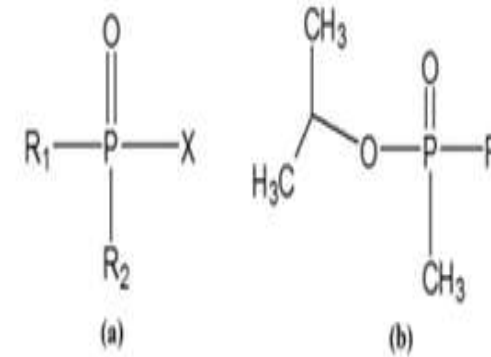
- Organofosforlu bileşiklere maruz kalındığında oluşan klinik tablolar şu şekildedir;
  - ❖ Göğüste sıkıntı hissi,
  - ❖ Solunum zorluğu
  - ❖ Kramplar,
  - ❖ Nöromusküler kavşakta **asetilkolin** birikimine bağlı olarak kas kasılmaları, seyirmeler,
  - ❖ Santral sinir sisteminde **AChE**'nin inhibisyonu sonucunda ise baş ağrısı, uykusuzluk, baş dönmesi, uyuşukluk,
  - ❖ Ölüm genellikle kolinerjik fazda **kalp problemleri** (bradikardi, aritmi), **solunum problemleri** (santral ya da periferik solunum yetmezliği) ve santral sinir sistemi problemleri nedeniyledir.

# Paraokson

- Molekül ağırlığı **275.2** g ve kapalı formülü  $C_{10}H_{14}NO_6P$  olan paraoksonun kimyasal adı o,o-dietil-o-p-nitrofenil fosfattır.
- Paraokson molekülü insan vücudunda **asetilkolinesteraz** (AChE) enzimi inhibitörü olarak davranır.
- **AChE** enzimini inhibe etme yeteneği çok güçlüdür. İnsektisitler arasında inhibisyon açısından en kuvvetli organofosforlu birleşiklerden birisidir. Sinir ajanı **sarinin** %70 kuvvetindedir ve canlılarda toksik etkilere yol açacağından dolayı kullanımı kısıtlıdır.



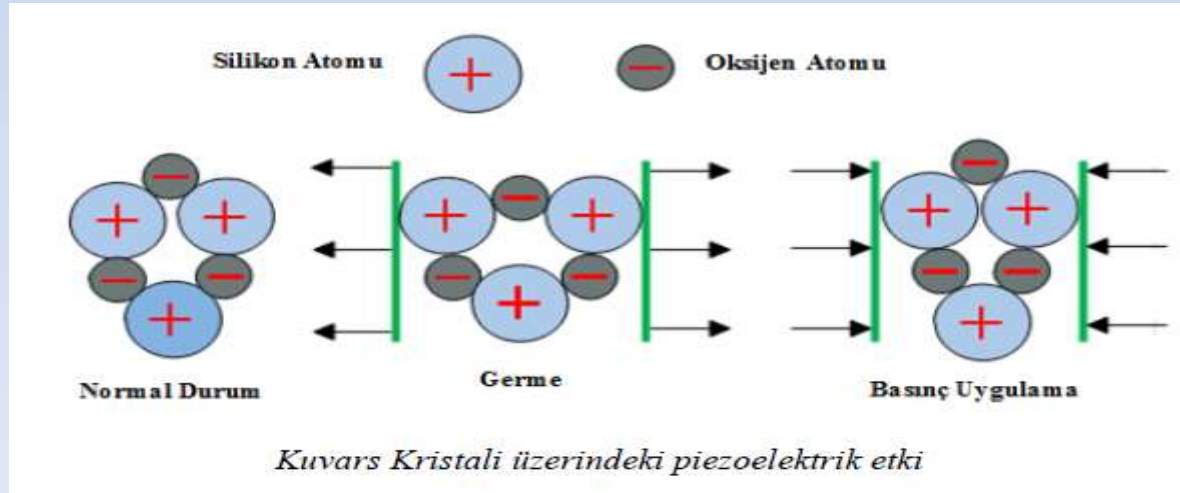
Paraoksonun (O,O-dietil-O-p-nitrofenil fosfat) kimyasal yapısı



(a) Organofosforlu bileşiklerin genel molekül yapısı, (b) Sarinin molekülü

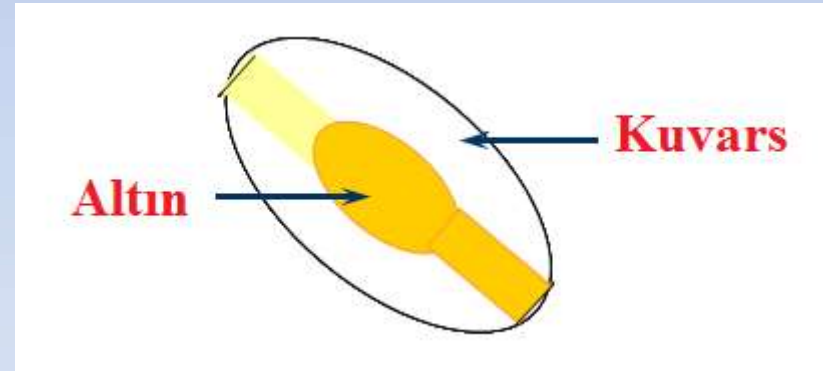
# Kuvars Kristal Mikroterazi (QCM)

- **Piezelektrik etki**; bir kristale basınç uygulandığında, uygulanan kuvvetle orantılı olarak elektriksel gerilim oluşmasına denilmektedir.
- Piezelektrik kristallere basınç uygulandığında, kristal içindeki atomlar o esnadaki konumlarından deforme olmuş konumlarına geçerler. Buradan da tekrar eski orijinal haline dönerler. Bu döngü **piezelektrik döngü** olarak ifade edilir. Bu döngünün birim zamanda tekrarlanma sayısına ise kristalin **rezonans frekansı** denilmektedir.
- Kütle hassas sensörlerde piezelektrik kristal olarak genellikle **kuvarsın** kullanılması nedeniyle bu tür kimyasal sensörler, **kuvars kristal mikroterazi (QCM)** sistemleri olarak adlandırılmaktadır.



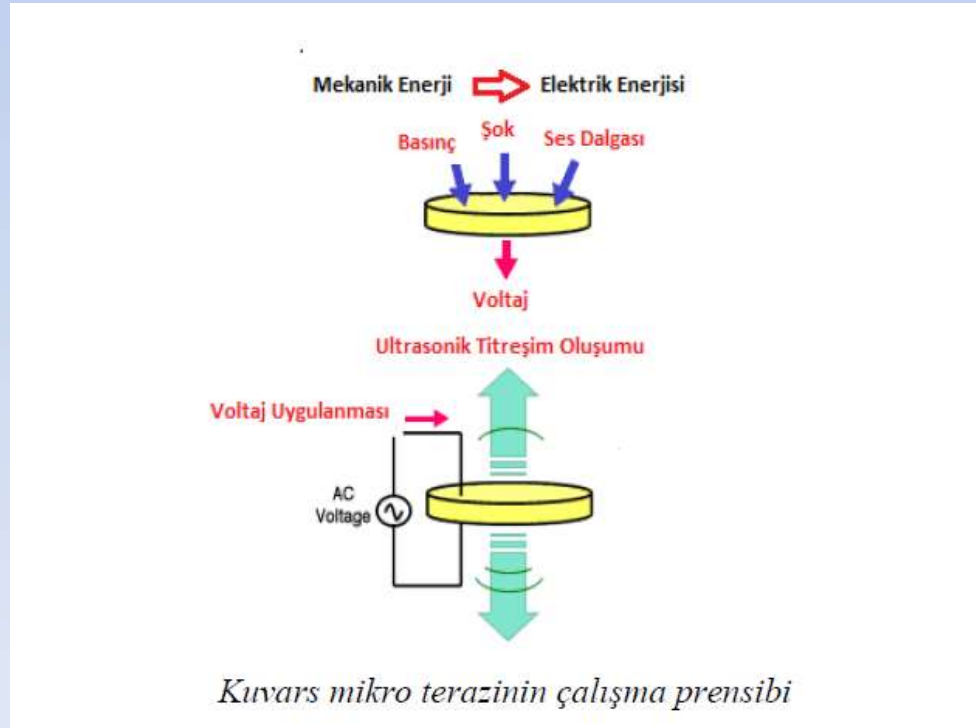
# Kuvars Kristal Mikroterazi (QCM)

- Kuvars çok ince kesilir ve iki yüzüne termal buharlaştırma yoluyla altın, gümüş, nikel, alüminyum, platin gibi metallerin kaplanmasıyla elektrotları hazırlanır. Yaygın olarak inert (aktif olmayan) olmaları nedeniyle **altın elektrotlar** tercih edilir.



# Kuvars Kristal Mikroterazi (QCM)

- QCM cihazının parçaları; kuvars elektrot, ossilatör ve frekans sayıcıdır.
- Sistemdeki kütle değişimine karşı hassasiyet kristalin toplam kütlesi üzerinde meydana gelen titreşim frekansına bağlı olarak ortaya çıkar. QCM cihazı üzerinde elektronik devreye bağlı olarak bulunan rezonatör numune çözeltisi ile temas ettiğinde kütle değişimine paralel olarak titreşim frekansında değişim meydana gelir.



# Kuvars Kristal Mikroterazi (QCM)

- Piezoelektrik etkiden faydalanarak kütle ölçümü için bağıl rezonans frekans ile kütle artışı arasında bir ilişkinin matematiksel olarak geliştirilmesi gerekmektedir.
- 1959 yılında **Sauerbrey** kuvars kristal bir rezonatörün frekans boşluğunun eklenen kütle ile orantılı olduğunu ortaya koyan bir eşitlik geliştirmiştir.

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

- $\Delta f$  : frekans değişimi (Hz)
- $f_0$  : değişiklikten önceki rezonatörün rezonans frekansı (Hz)
- $\Delta m$  : kütle değişimi (g)
- $A$  : osilasyon altındaki kuvars düzlemin alanı (cm<sup>2</sup>)
- : kuvarsın yoğunluğu, (2.648 g cm<sup>-3</sup>)
- $\mu_q$  : AT kesim kristal için kuvarsın kesim modu, (2,947x10<sup>11</sup> g cm<sup>-1</sup> s<sup>-2</sup>)

# Elektro-Çekme Yöntemi

- **Nanolif**; nano boyutta olup ipliksi görünüme sahip olan ve nanoteknoloji çalışmalarında kullanılan yapılardan biridir. Çapları 1,0 mikrondan daha küçük olan liflerdir.
- Nanolifler genel itibariyle 5 yöntemle elde edilmektedir. Bu yöntemler ;

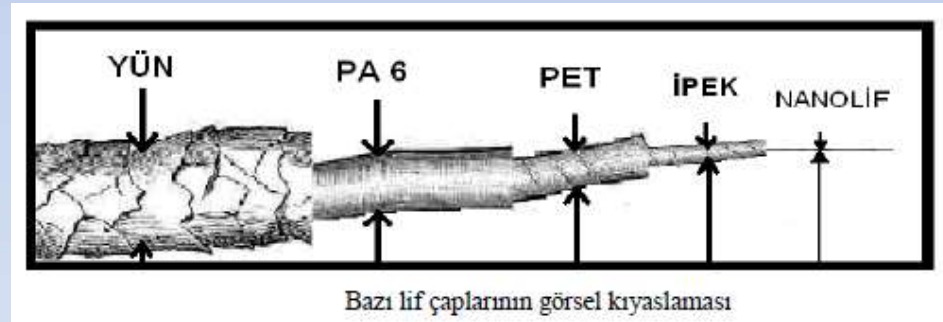
❖ Çekme

❖ Kalıp ile Sentezleme

❖ Faz Ayrışması

❖ Kendi Kendine Toplanma

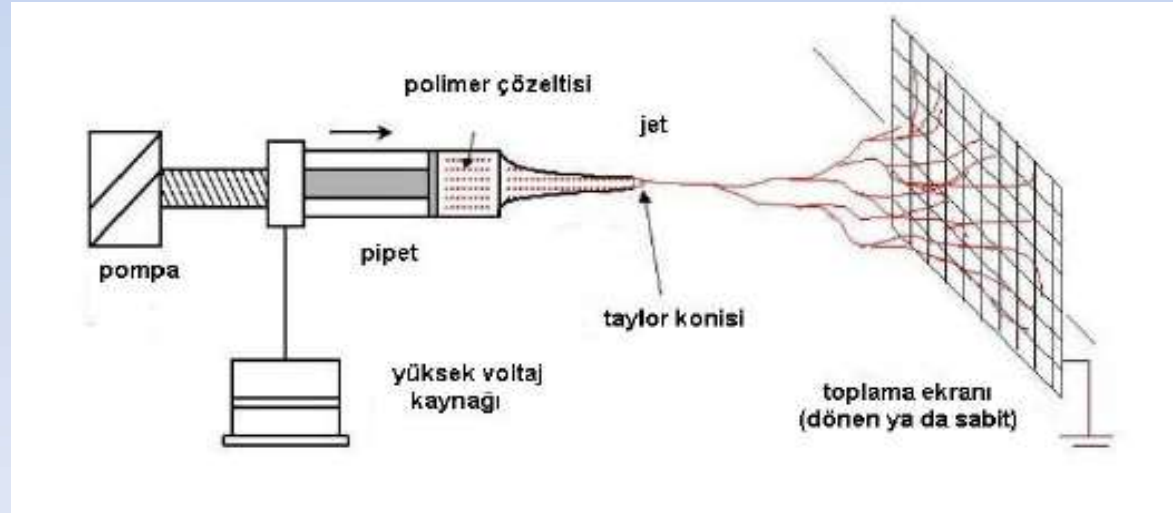
❖ **Elektro-çekme**





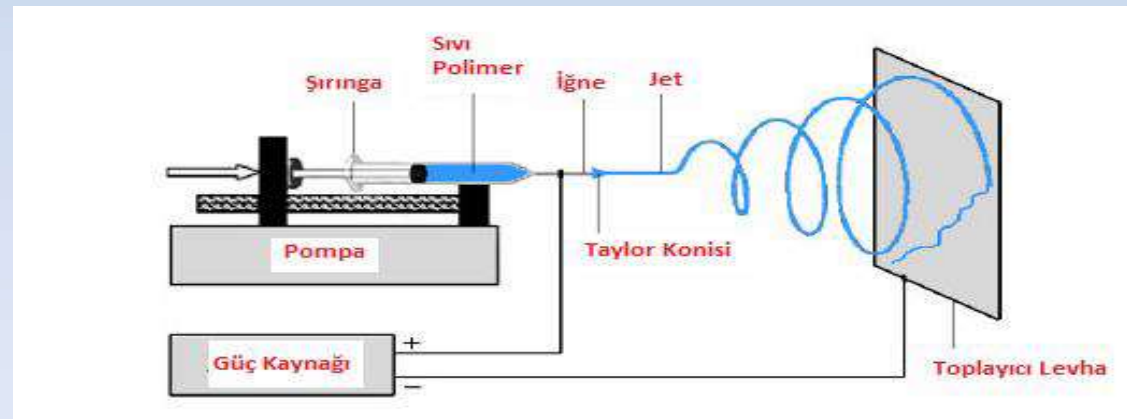
# Elektro-Çekme Yöntemi

- Elektro-çekme yöntemi dışındaki yöntemlerde mekanik kuvvetler esas alınmaktadır. **Elektro-çekme** yönteminde ise elektrik alan kullanılarak, sentezlenen polimerden lif oluşumu sağlanmaktadır.
- Nanolif üretiminde uygulanış kolaylığı ve elde edilen liflerin çaplarının küçük olmasından dolayı en etkin yöntem elektro-çekmedir.
- Bir elektro-çekme düzeneği kurmak için temel olarak **4 elemana** ihtiyaç vardır. Bunlar; güç kaynağı, numune ünitesi (şırınga, piper vs. ), topraklanmış iletken levha, sıvı halde viskoz polimerdir.



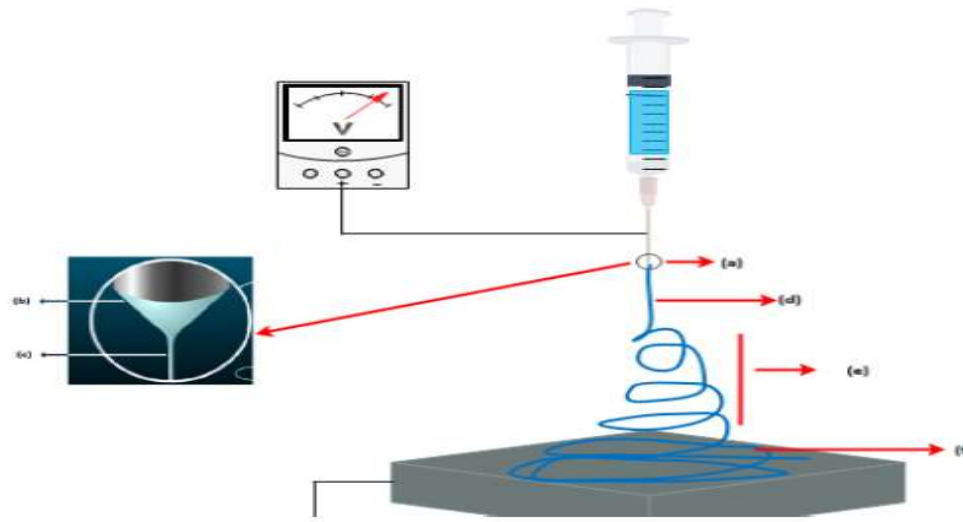
# Elektro-Çekme Yöntemi

- Şırınga içerisine konulan sıvı haldeki polimer toplayıcı levhaya belirli bir mesafeye yerleştirilir. Güç kaynağından gelen pozitif kutup şırınganın metal iğnesine bağlanır.
- Negatif kutup ise toplayıcı levhaya yerleştirilir. Daha sonra toplayıcı levha topraklanır. Bu işlem sayesinde şırınga ve toplayıcı levha arasında elektrik alan elde edilmiş olur.
- Düzenek bu şekilde kurulduktan sonra güç kaynağının gerilimi yavaş yavaş arttırılır.
- Gerilim yeterli değerine ulaştığı zaman çözelti üzerindeki viskoelastik ve yüzey gerilimleri aşılmış olur. Sonuç olarak polimer molekülleri jet halinde toplayıcı levhada birikmeye başlarlar.



# Elektro-Çekme Yöntemi

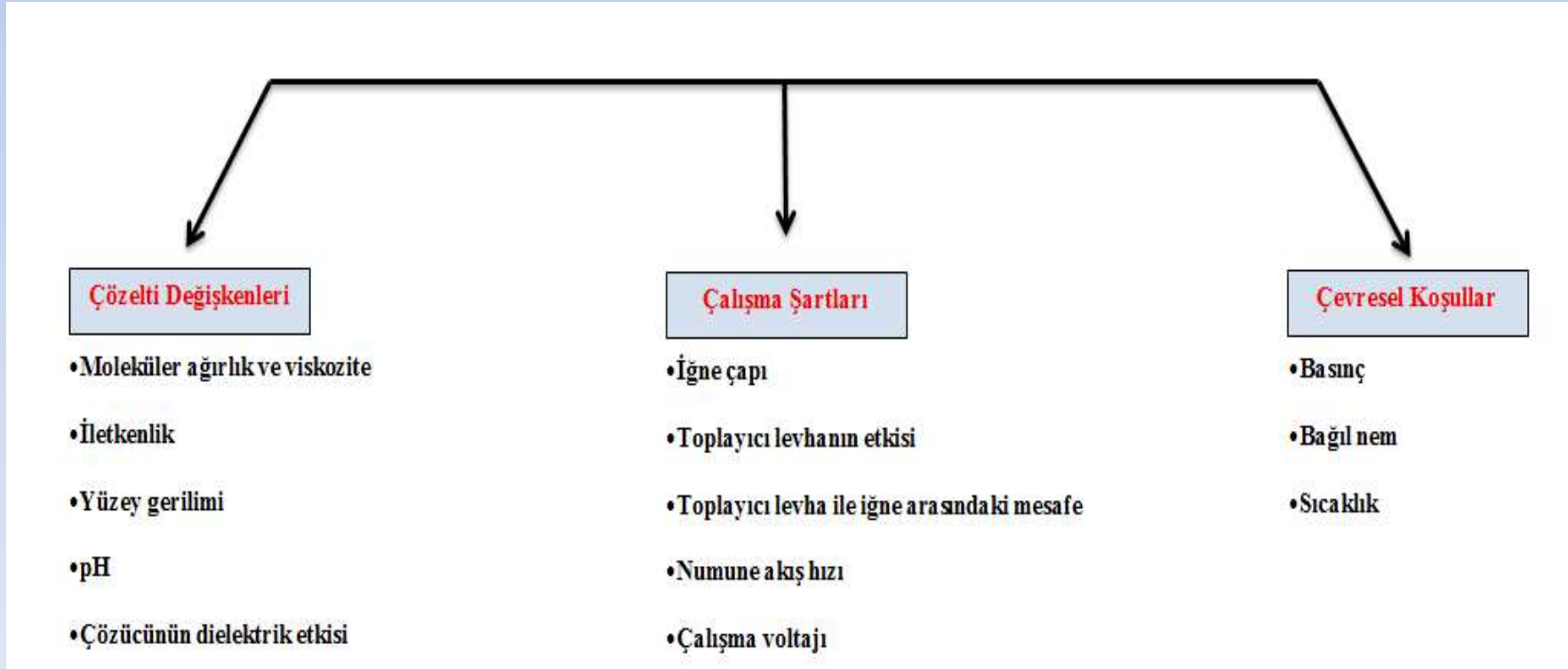
- Uygulanan potansiyel arttıkça sıvı damlaya etki eden elektrik alan, yüzey gerilimini yenmeye başlar.
- Yüzey geriliminin elektrik alan karşısında etkisini kaybetmeye devam etmesi sonucunda, sıvı damlacık dış bükey yan bölgeler ile yuvarlak bir uca sahip olan **koni** şeklini almaya başlar.
- Uygulanan gerilim eşik değerinin üstüne çıktığında koni kısmından jet oluşmaya başlar. Bu olaya **koni-jet** ismi verilir



Nanolif oluşümünün şematik gösterimi, (a) damlacık oluşumu, (b) Taylor konisi oluşumu, (c) elektro çekme jetinin oluşumu, (d) kararlı bölgede jetin uzaması, (e) kararsız bölgenin oluşması, (f) lif formunda katılma

# Elektro-Çekme Yöntemi

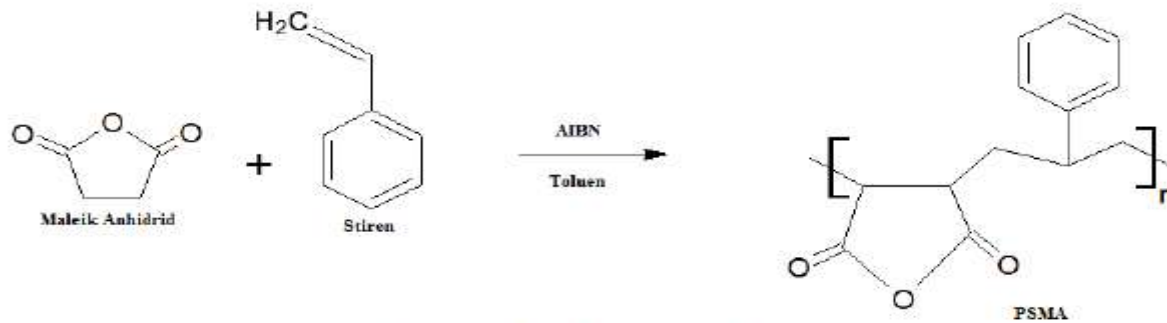
- Elektro-çekme yönteminde elde edilen liflerin özelliklerini belirleyen üç ana unsur şu şekilde sıralanabilir; **çözelti değişkenleri**, **çalışma şartları**, **çevresel koşullar**. Bu parametreler uygun koşullarda ayarlanarak istenilen çapta ve özellikte lifler elde edilebilir.



# QCM Sensör

## Poli(stiren-alt-maleik anhidrid) polimerinin sentezi

- Poli(stiren-alt-maleik anhidrid) (PSMA) sentezi için Cecile ve arkadaşlarının çalışmasındaki yöntem kullanılmıştır.
- Bu yöntemde öncelikle 60 mL toluen alınarak 3,5 mL stiren ile karıştırılmıştır. Daha sonra bu karışımın üzerine 2,99 g maleik anhidrid eklenmiş ve manyetik karıştırıcıda 10 dakika karıştırılmıştır. Karıştırma işleminden sonra son olarak azobisisobutironitril (AIBN)'den 0,01 g ilave edilerek polimerizasyon için karışım 90 °C'de 4 saat karıştırıcıya konulmuştur. 4 saatin sonunda elde edilen PSMA polimeri çözeltinin içerisinde süzülerek alınmıştır. Daha sonra elde edilen polimer toluen ile 5 kez yıkamaya tabii tutulmuştur. Yıkama işleminden sonra polimer kuruması için oda sıcaklığında 24 saat bekletilmiştir.



*PSMA'nın sentez tepkimesi*

# QCM Sensör

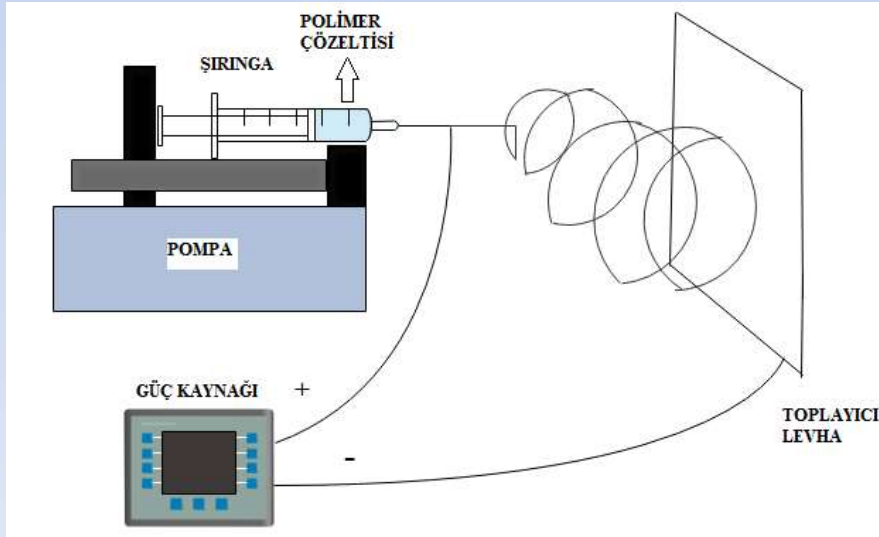
## Elektro-çekme yöntemiyle nanolif elde etmek için PSMA çözeltilerinin hazırlanması

- PSMA polimerinden nanolif eldesinde çözelti hazırlanırken iki farklı çözücü kullanılmıştır.
- Bunlar; **dimetil sülfoksit (DMSO)** ve **dimetilformamid (DMF)** olarak belirlenmiştir.
- Bu çözücüler kullanılarak PSMA'nın 3 farklı çözeltisi hazırlanmıştır. Bunlar; %30(wt/wt) PSMA/DMSO, %30(wt/wt) PSMA/DMF ve %15(wt/wt) PSMA/%2,5(wt/wt) PVA/DMSO'dur. Bu çözeltilerin her birinden 40 mL hazırlanmış ve her elektro-çekme işlemi için 2 mL'si kullanılmıştır.

# QCM Sensör

## Elektro-çekme düzeneğinin kurulması

- Elektro-çekme işleminde 30 kV kapasitesinde doğru akım üreten güç kaynağı kullanılmıştır. Oluşan liflerin toplanması için toplayıcı levha olarak  $10 \times 10 \text{ cm}^2$  boyutlarında kesilen alüminyum folyolar kullanılmıştır. Lif oluşturmak için hazırlanan çözelti şırıngaya çekildikten sonra, şırınga pompa düzeneğine yerleştirilmiştir. Güç kaynağının pozitif ucu metal şırınga iğnesine takılmıştır. Topraklı olan elektrot ise toplayıcı levhaya takılmıştır.



# QCM Sensör

## Elektro-çekme sisteminin çalışma şartlarının belirlenmesi

- Elde edilen nanolifin içerisinde boncuksu yapıların bulunması istenmemektedir. Bundan dolayı sistemin çalışma şartlarının çok iyi belirlenmesi gerekmektedir.
- Şırınga ve toplayıcı levha arasındaki mesafe 10 cm'de sabit tutularak, uygulanan potansiyel ve akış hızı değiştirilmiştir. 5-7 kV potansiyel aralığı ve 1-2 mL/h akış hızı aralığında çalışılarak en uygun nanolif elde edilmeye çalışılmıştır.
- Elektro-çekme süresi 10 dakika olarak uygulanmış ve elde edilen nanolifler taramalı elektron mikroskopisi (SEM)'de analiz edilerek optimum çalışma şartları belirlenmiştir.



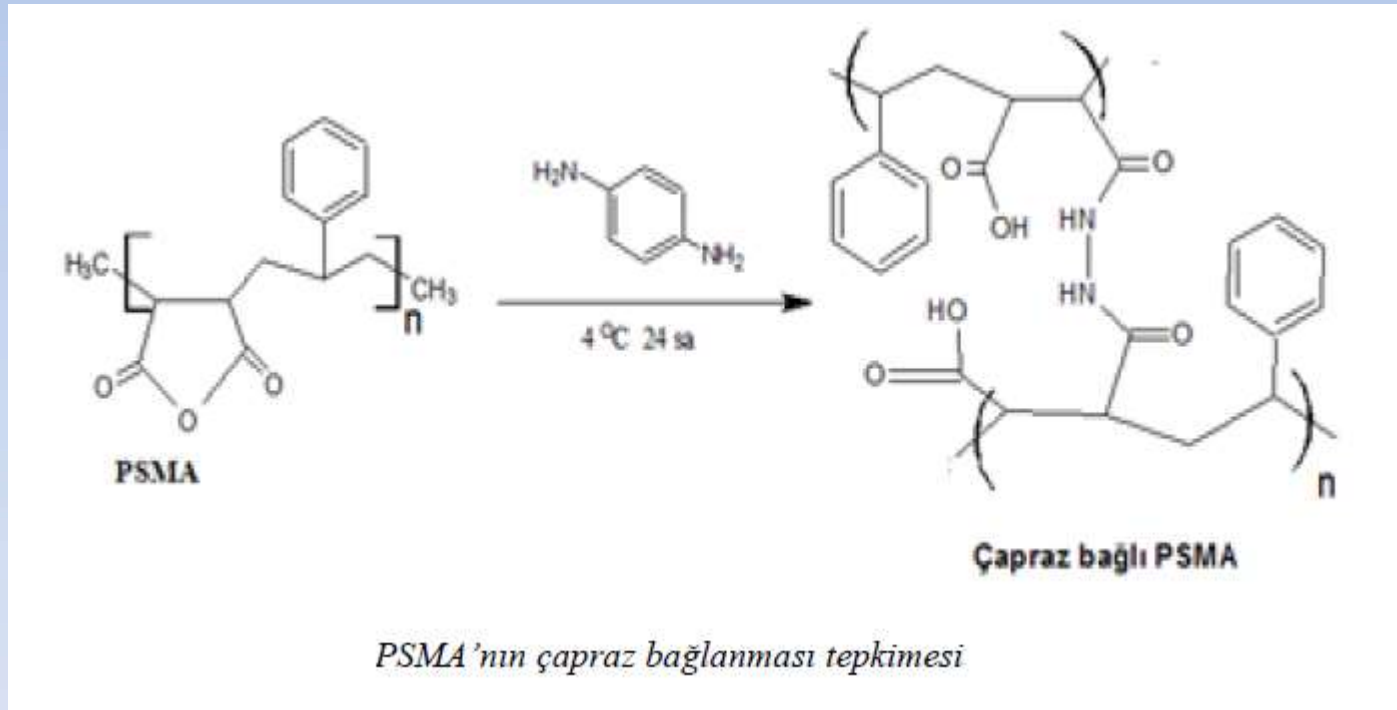
# QCM Sensör

## Elde edilen PSMA nanoliflerinin çapraz bağlanması

- Elektro-çekme işlemi sonrasında elde edilen nanolifler; birim hacme düşen lif yoğunluğunu arttırmak ve sudaki çözünürlüğü azaltmak için çapraz bağlanmıştır.
- Çapraz bağlayıcı olarak 1,4-fenildiamin kullanılmıştır. Bunun için öncelikle 0,1 M  $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{HCO}_3$  (pH=9) çözeltisinden 10 mL hazırlanmıştır.
- 1,4-fenildiamin çapraz bağlayıcısından 0,7420 g alınarak 10 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{HCO}_3$  içerisinde çözülmüştür.
- Çapraz bağlanacak nanoliften 0,25 g tartılarak çapraz bağlayıcı çözeltisine batırılmıştır.
- Bu şekilde hazırlanan nanolif çözeltisi çapraz bağlanmanın gerçekleşmesi için 4  $^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat süreyle bekletilmiştir.

# QCM Sensör

## Elde edilen PSMA nanoliflerinin çapraz bağlanması



# QCM Sensör

## Çapraz bağı PSMA nanoliflerine HRP(Horseradish Peroksidaz) enzim immobilizasyonu

- Hazırlanan çapraz bağı nanoliflere, enzim immobilizasyon performansını tespit edebilmek amacıyla, ilk olarak HRP enzimi immobilize edilmiştir. Enzim immobilizasyonu öncesinde çapraz bağı nanolifleri immobilizasyona aktif hale getirmek için gluteraldehit kullanılmıştır.
- Bunun için öncelikle gluteraldehitin %10(v/v)'luk sulu çözeltisi hazırlanmıştır. Bu çözeltiden 12,5 mL alınmış ve 0,25 g PSMA nanolifinden elde edilen çapraz bağı nanolifler bu çözeltiliye batırılmıştır.
- Nanolifler bu şekilde 4 °C sıcaklık altında 1 saat bekletilmiştir. 1 saatin sonunda reaksiyona girmeyen gluteraldehitin uzaklaştırılması amacıyla nanolifler çıkarılarak saf suya konulmuş ve 4 °C'de 2 gün beklemeye bırakılmıştır.

# QCM Sensör

## Çapraz bağı PSMA nanoliflerine HRP(Horseradish Peroksidaz) enzim immobilizasyonu

- HRP enzimi immobilizasyonunda kullanılmak için pH 7'de fosfat tamponu hazırlanmıştır. 65,7 mg HRP enzimi 1 ml tamponda çözülerek stok çözelti elde edilmiştir. Stok çözeltilerden 190,2 µL alınıp tampon çözeltiyle 25 mL'ye seyreltilmiştir.
- Çapraz bağı nanolifler HRP çözeltisinin 12,5 mL'sine batırılarak 4 °C'de 20 saat bekletilmiştir. Enzim immobilizasyonu sonrasında nanolifler HRP enziminin substratı olan TMB (Tetrametil benzidin) ile etkileştirilmiştir.

# QCM Sensör

## Kuvars elektrot yüzeyinin fonksiyonelize edilmesi

- Kuvars elektrotun yüzeyine enzim immobilize nanoliflerin bağlanabilmesi için öncelikle elektrot yüzeyinin fonksiyonelize edilmesi gerekmektedir.
- Bu amaçla 4-aminotiyofenol etanolde çözülerek 10 mM'lık çözeltisinden 10 mL hazırlanmıştır.
- Hazırlanan bu çözelti enjektör içerisine alınmıştır. Enjektördeki bu çözelti kuvars elektrotun altın yüzeyine perilstaltik pompa kullanılarak 30 dakikada bir, 1 mL olacak şekilde damlatılmıştır. Bu işlem 5 saat boyunca devam ettirilmiştir.



*QCM elektrotun 4-aminotiyofenol ile fonksiyonilize edilişi*

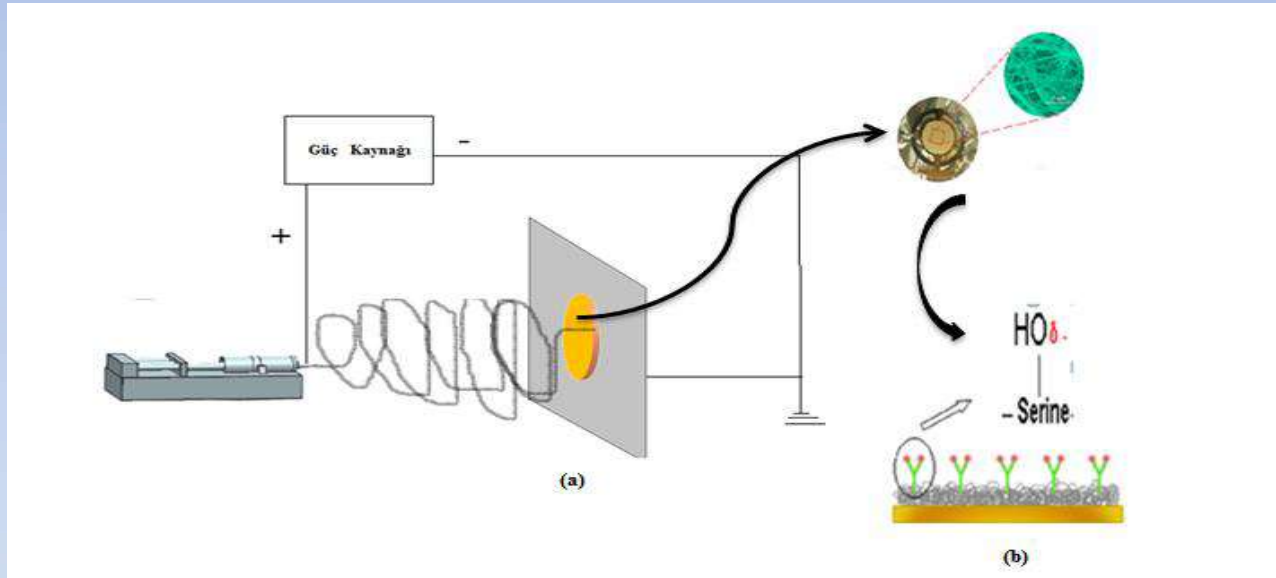
# QCM Sensör

## QCM elektrot yüzeyinde tanıyıcı tabakanın oluşturulması

- %30'luk(wt/wt) PSMA/DMSO çözeltiden 4 mL alınarak üzerine bis (2-2'-bipiridil) (MATyr)<sub>2</sub> rutenyum (MAT-Ru(bipyr)<sub>2</sub>-MAT)'dan 1 ml eklenerek 10 dakika oda sıcaklığında karıştırılmıştır.
- Daha sonra mevcut çözeltinin üzerine 100 ppm asetilkolinesteraz enziminden 0,38 µL ilave edilmiştir. Enzim ilavesinden sonra çözelti oda sıcaklığında 10 dakika boyunca karıştırılmıştır. Karıştırma işleminin bitmesinin ardından 0,5 gram amonyum persülfat ilave edilmiştir. Elde edilen son çözelti oda sıcaklığında 1 saat karıştırmaya bırakılmıştır.
- Karıştırma işleminden sonra çözelti şırınga içerisine çekilerek elektro-çekme düzeneğindeki pompaya takılmıştır. Toplama levhasına QCM elektrot yerleştirilerek elektro-çekme işlemi uygulanmıştır.
- Daha sonra nanolif ile kaplanmış elektrot QCM cihazına yerleştirilerek farklı derişimlerde paraokson çözeltisi ile etkileşimi incelenmiştir. Bunun için paraoksonun 0,1-10 ppm arasında değişen %50(v/v) metanol içeren sulu çözeltileri hazırlanmıştır. Analitin elektrot yüzeyiyle etkileştikten sonraki frekans değişimi ölçülmüştür.

# QCM Sensör

## QCM elektrot yüzeyinde tanıyıcı tabakanın oluşturulması



- Daha sonra nanolif ile kaplanmış elektrot QCM cihazına yerleştirilerek farklı derişimlerde paraokson çözeltisi ile etkileşimi incelenmiştir. Bunun için paraoksonun 0,1-10 ppm arasında değişen %50(v/v) metanol içeren sulu çözeltileri hazırlanmıştır. Analitin elektrot yüzeyiyle etkileştikten sonraki frekans değişimi ölçülmüştür.

# QCM Sensör (Deneysel Sonuçlar)

## Elektro-çekme sisteminin çalışma şartları

- Elektro-çekme işleminde optimum çalışma şartlarının belirlenmesi amacıyla farklı koşullarda nanolifler elde edilmiş ve bunların SEM görüntüleri incelenmiştir. Bunun için farklı çözücü ortamları, 1-2 mL/h aralığında değişen akış hızları, 5-7 kV aralığında değişen potansiyeller denenmiştir. Ön çalışmada kullanılan çözeltiler şunlardır; %30(wt/wt) PSMA/DMSO, %30(wt/wt) PSMA/DMF ve %15(wt/wt) PSMA/%2,5(wt/wt) PVA/DMSO.

(1) P: 5 kV  
F: 1 mL/h  
D: 10 cm

(2) P: 5 kV  
F: 1,5 mL/h  
D: 10 cm

(3) P: 5 kV  
F: 2 mL/h  
D: 10 cm

(4) P: 6 kV  
F: 1 mL/h  
D: 10 cm

(5) P: 6 kV  
F: 1,5 mL/h  
D: 10 cm

(6) P: 6 kV  
F: 2 mL/h  
D: 10 cm

(7) P: 7 kV  
F: 1 mL/h  
D: 10 cm

(8) P: 7 kV  
F: 1,5 mL/h  
D: 10 cm

(9) P: 7 kV  
F: 2 mL/h  
D: 10 cm

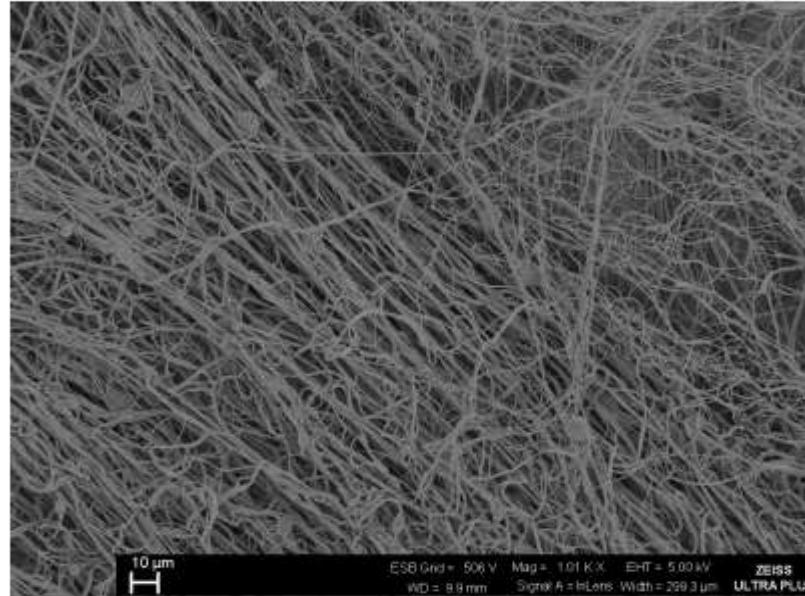
*Ön çalışma yapılan şartlar*



# QCM Sensör (Deneysel Sonuçlar)

## Elektro-çekme sisteminin çalışma şartları

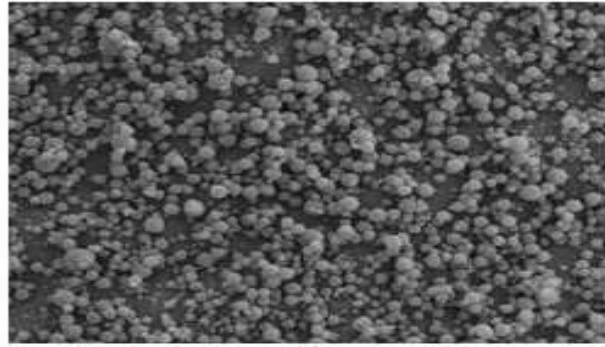
- %30(wt/wt) PSMA/DMSO çözeltisi için belirlenen şartlarda ön çalışma yapılmıştır. Elde edilen nanolifler SEM'de incelenmiştir. İnceleme sonucunda istenen nanoliflerin 5 kV potansiyelinde ve 1 mL/h akış hızında elde edildiği görülmüştür. Diğer şartlarda elde edilen nanoliflerin boncuklu yapıda olduğu gözlemlenmiştir.



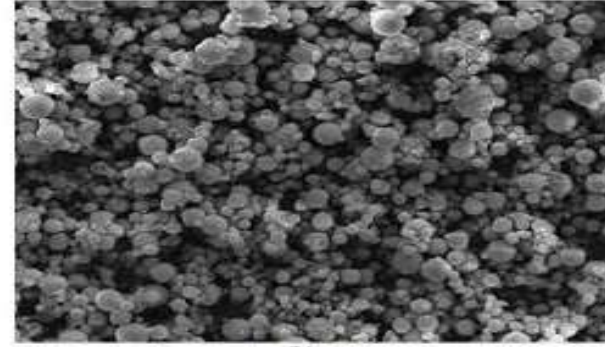
*%30(wt/wt) PSMA/DMSO çözeltisinden boncuksuz yapıda elde edilen nanolif  
(5 kV, 1 mL/h)*

# QCM Sensör (Deneysel Sonuçlar)

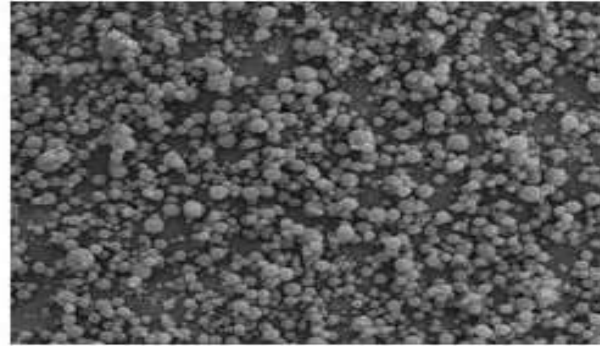
## Elektro-çekme sisteminin çalışma şartları



(a)



(b)



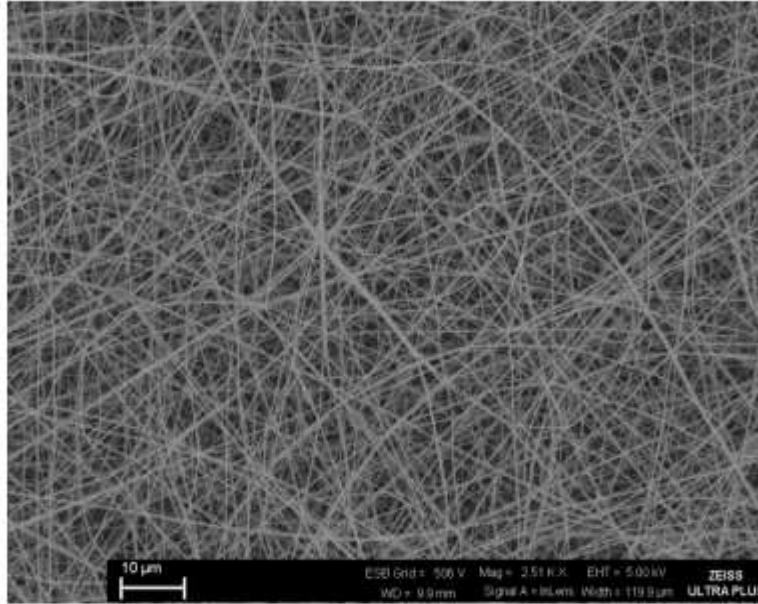
(c)

*%30(wt/wt) PSMA/DMSO çözeltisinden boncuklu yapıda elde edilen nanolifler (a) 5 kV, 2 mL/h (b) 6 kV, 1 mL/h (c) 7 kV, 1,5 mL/h*

# QCM Sensör (Deneysel Sonuçlar)

## Elektro-çekme sisteminin çalışma şartları

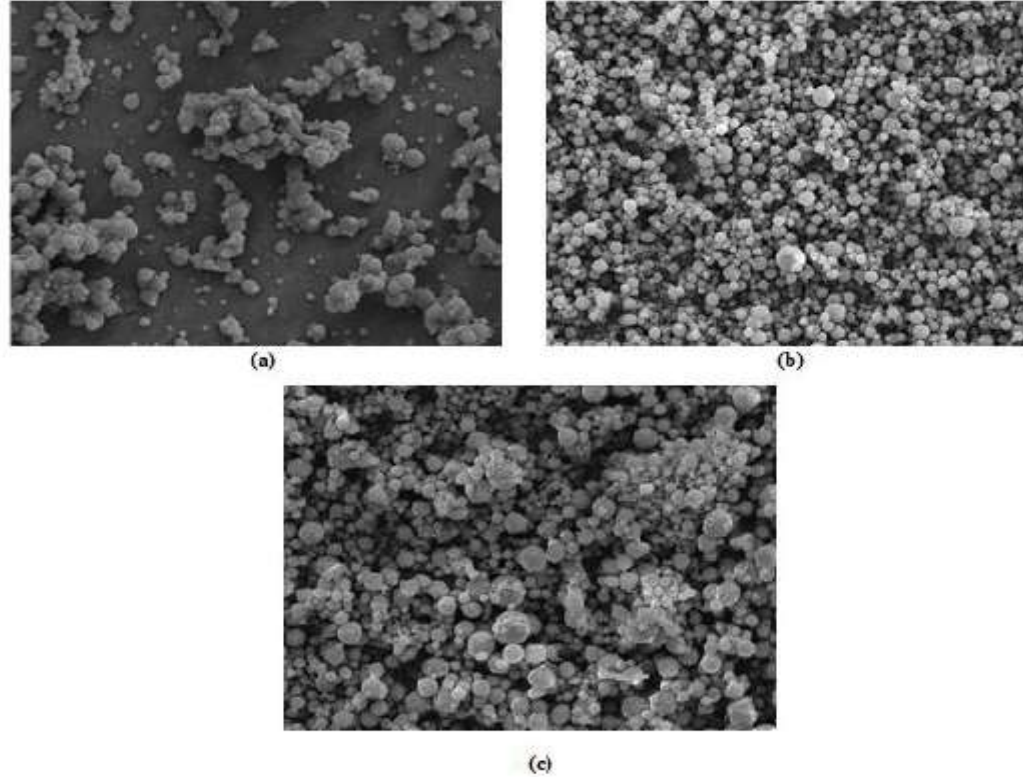
- %30(wt/wt) PSMA/DMF çözeltisi için belirlen şartlarda ön çalışma yapılmıştır. Elde edilen nanolifler SEM cihazı ile incelenmiştir. İnceleme sonucunda istenen nanoliflerin 5 kV potasyelinde ve 1,5 mL/h akış hızında elde edildiği görülmüştür. Diğer şartlarda elde edilen nanoliflerin boncuklu yapıda olduğu gözlemlenmiştir.



*%30(wt/wt) PSMA/DMF çözeltisinden boncuksuz yapıda elde edilen nanolif  
(5 kV, 1,5 mL/h)*

# QCM Sensör (Deneysel Sonuçlar)

## Elektro-çekme sisteminin çalışma şartları



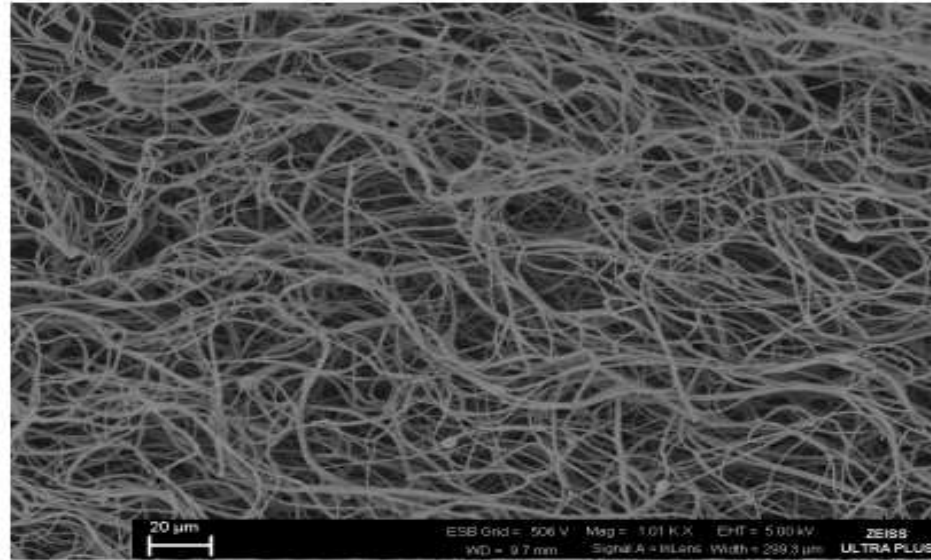
*%30(wt/wt) PSMA/DMF çözeltisinden boncuklu yapıda elde edilen nanolifler*

*(a) 5 kV, 1 mL/h (b) 6 kV, 1,5 mL/h (c) 7 kV, 2,0 mL/h*

# QCM Sensör (Deneysel Sonuçlar)

## Elektro-çekme sisteminin çalışma şartları

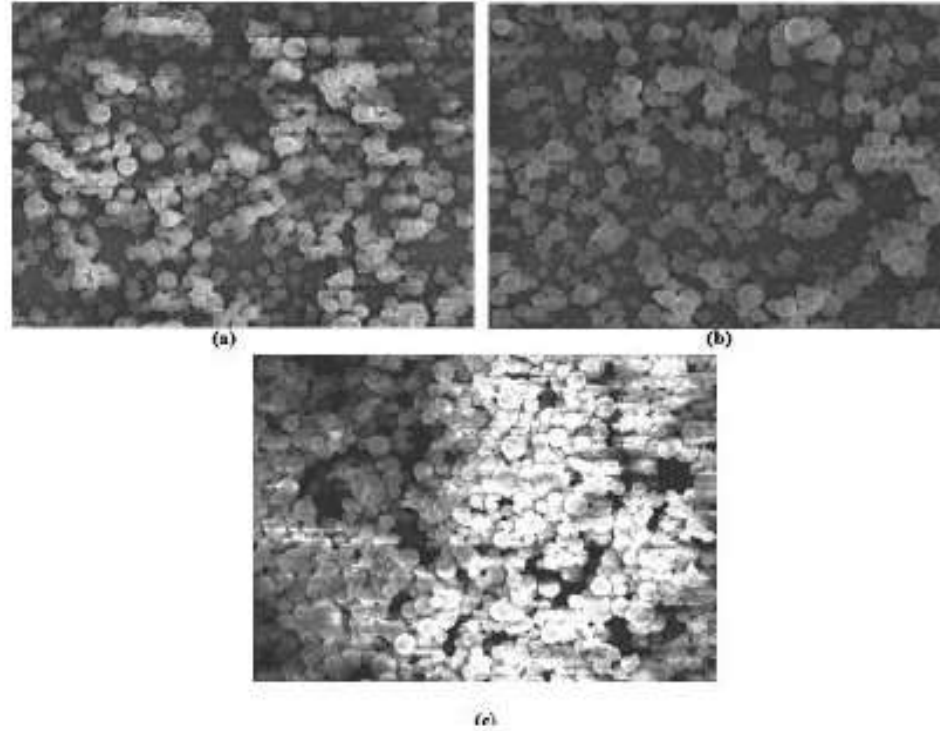
- %15(wt/wt) PSMA/%2,5(wt/wt) PVA/DMSO çözeltisi için belirlen şartlarda ön çalışma yapılmıştır. Elde edilen nanolifler SEM’de incelenmiştir. İnceleme sonucunda istenen nanoliflerin 6 kV potansiyelinde ve 1 mL/h akış hızında elde edildiği görülmüştür. Diğer şartlarda elde edilen nanoliflerin boncuklu yapıda olduğu gözlemlenmiştir.



*%15(wt/wt) PSMA/%2,5(wt/wt) çözeltisinden boncuksuz yapıda elde edilen nanolif (6 kV, 1 mL/h)*

# QCM Sensör (Deneysel Sonuçlar)

## Elektro-çekme sisteminin çalışma şartları



*%15(wt/wt) PSMA/%2,5(wt/wt) PVA/DMSO çözeltisinden boncuklu yapıda elde edilen nanolifler (a) 5 kV, 1,5 mL/h (b) 6 kV, 2,0 mL/h (c) 7 kV, 1,0 mL/h*

# QCM Sensör (Deneysel Sonuçlar)

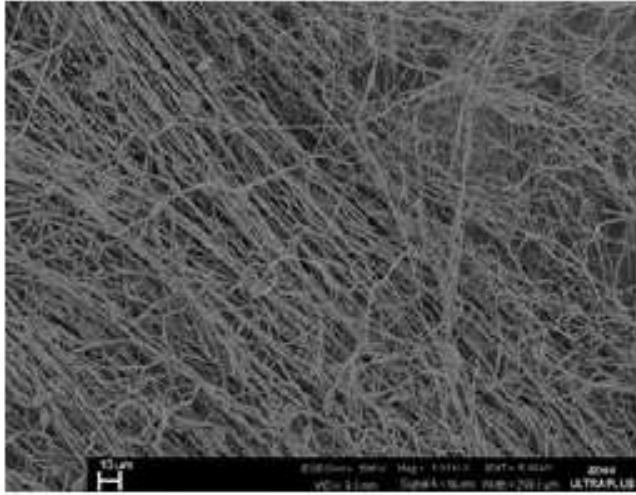
## Elektro-çekme sisteminin çalışma şartları

- Sonuçlar incelendiğinde 3 farklı çözeltilerden de uygun çalışma şartlarında nanolif elde edilebildiği gözlemlenmiştir. Çalışmanın geri kalanında kullanılmak amacıyla elde edilen nanolifler lif yoğunluğu ve homojenliği açısından karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırma neticesinde **%30(wt/wt) PSMA/DMSO** çözeltisinden 5 kV, 1 mL/h'de elde edilen nanoliflerin kullanılmasına karar verilmiştir.

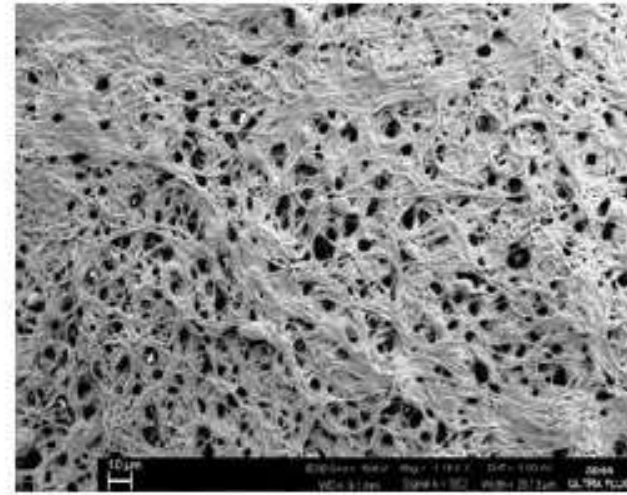
# QCM Sensör (Deneysel Sonuçlar)

## %30(wt/wt) PSMA/DMSO nanoliflerinin çapraz bağlanması

- Elde edilen nanolifler, birim hacme düşen lif yoğunluğunu artırarak enzim immobilizasyonun daha kararlı hale getirilmesi amacıyla çapraz bağlanmıştır.



(a)



(b)

*%30(wt/wt) PSMA/DMSO çözeltisinden elde edilen nanolifler. (a) çapraz bağlanmamış nanolif (b) çapraz bağlı nanolif*



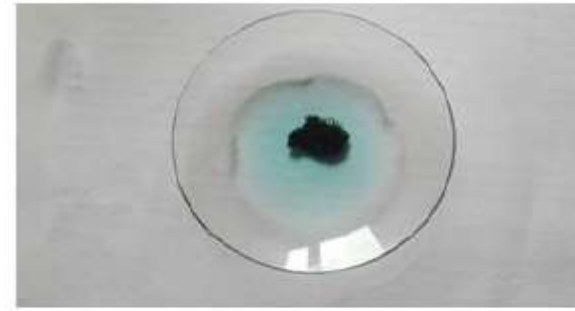
# QCM Sensör (Deneysel Sonuçlar)

## Çapraz bağlı nanoliflere HRP immobilizasyonu

- Çapraz bağıladığımız nanoliflere enzim immobilizasyonun kararlılığını incelemek amacıyla öncelikle HRP enzimi immobilize edilmiştir. Enzim immobilizasyonunun yapılış şekli metot kısmında anlatılmıştır. Enzim immobilizasyonu gerçekleştirildikten sonra nanolifler **HRP** enziminin substratı olan **TMB** ile etkileştirilmiştir. Substrat ilavesinden sonra enzim-substrat etkileşmesine özgü renk değişimi gözlenmiştir. Bu durum bize çapraz bağıladığımız nanoliflere enzim immobilizasyonunun kararlı bir biçimde gerçekleşebildiğini göstermektedir.



(a)



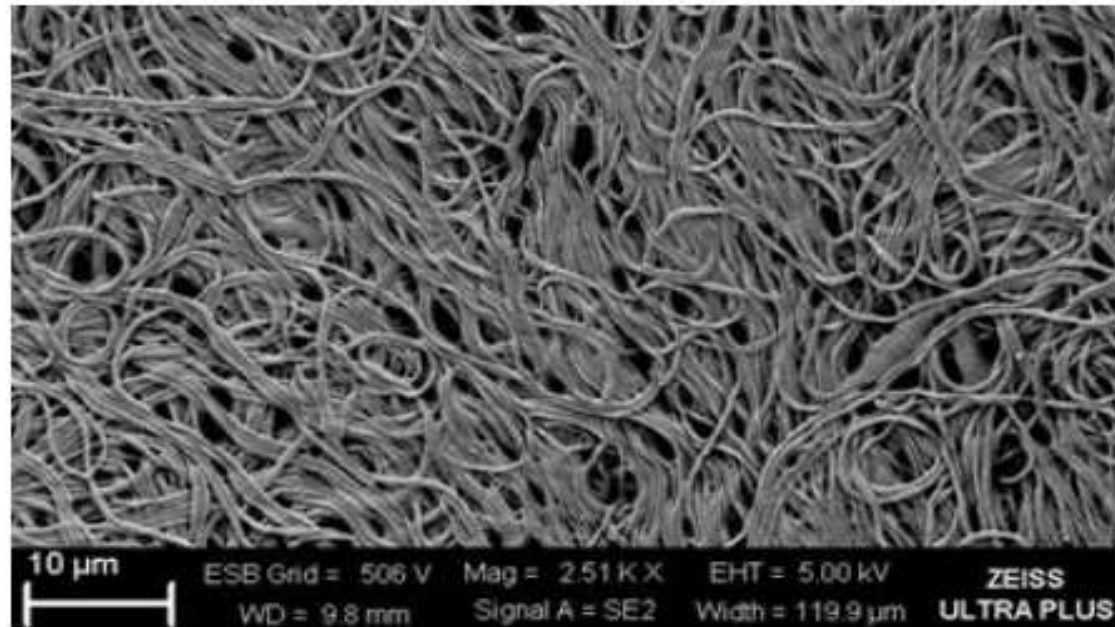
(b)

*Enzim immobilize edilmiş nanolifin substrat ile etkileşimi. (a) substrat ile etkileşmemiş nanolif (b) substrat ile etkileşen nanolif*

# QCM Sensör (Deneysel Sonuçlar)

## Kuvars kristal yüzeylerinin AChE immobilize nanolif ile kaplanması

- Elde edilen nanoliflerin enzim immobilizasyonuna uygunluğunun tespitinden sonra metot kısmında anlatıldığı şekilde kuvars kristal yüzey AChE immobilize nanolif ile kaplanmıştır. Böylelikle kuvars kristal yüzeyi analit olan paraoksona karşı tanıma tabakasına sahip hale gelmiştir.

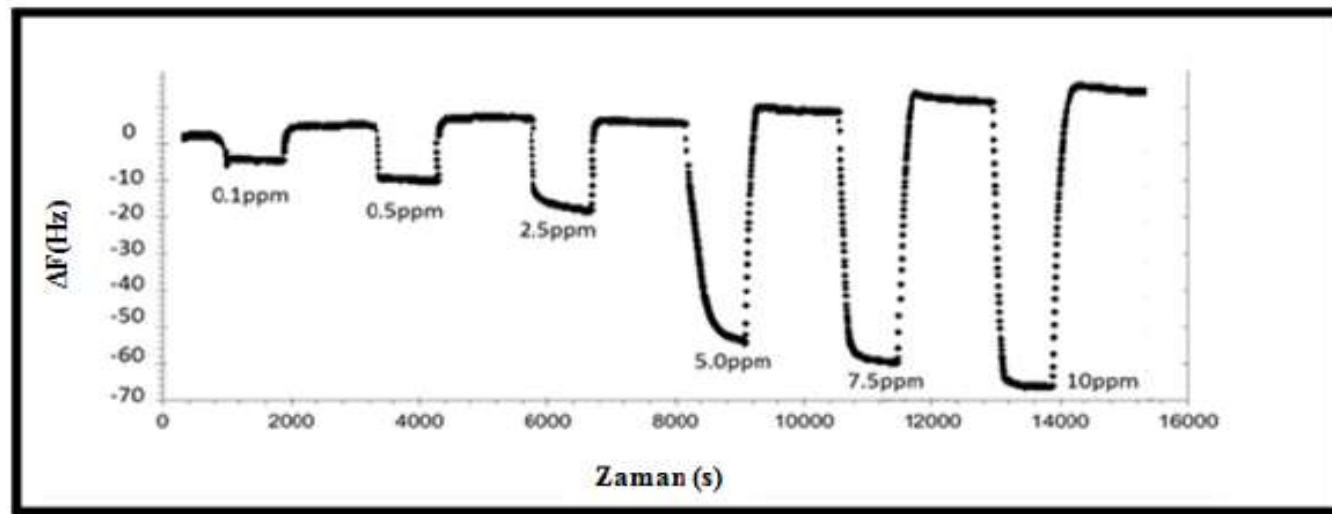


*Nanolif ile kaplı kuvars kristal yüzey*

# QCM Sensör (Deneysel Sonuçlar)

## Tanıyıcı tabaka ile kaplı kuvars kristal elektrotunun analit ile etkileşimi

- Nanolif ile kaplanmış elektrot QCM cihazına yerleştirilerek farklı derişimlerde paraokson çözeltisi ile etkileşimi incelenmiştir.
- Bunun için paraoksonun 0,1-10 ppm arasında değişen %50(v/v) metanol içeren sulu çözeltileri hazırlanmıştır. Analitin elektrot yüzeyiyle etkileştikten sonraki frekans değişimi ölçülmüştür.



*Kuvars kristal elektrotunun paraokson ile etkileşimi sonucundaki frekans değişimi*

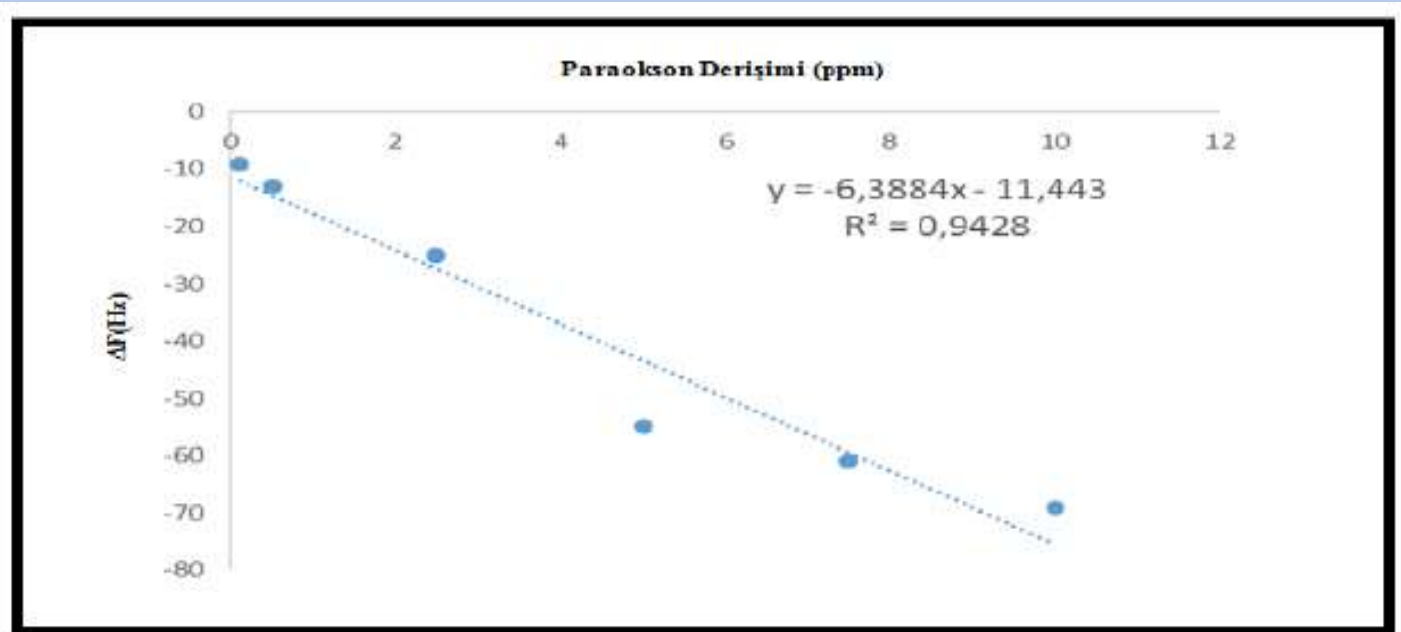
# QCM Sensör (Deneysel Sonuçlar)

## Tanıyıcı tabaka ile kaplı kuvars kristal elektrotunun analit ile etkileşimi

- Elektrot, paraokson ile etkileştiğinde frekans değerinde azalma gözlenmektedir. Analit derişimi arttırıldığında frekanstaki negatif yöndeki değişimde artmaktadır.
- Bu da göstermektedir ki paraokson ile AChE arasındaki bağlanma sonucunda elektrot yüzeyinde bir kütle artışı meydana gelmektedir. Bu kütle değişimi neticesinde de frekans değişmektedir.
- Ölçüm sonucu elde edilen veriler kullanılarak derişime karşı frekans değişimi grafiğe geçirilmiş ve kalibrasyon grafiği elde edilmiştir.

# QCM Sensör (Deneysel Sonuçlar)

Tanıyıcı tabaka ile kaplı kuvars kristal elektrotunun analit ile etkileşimi

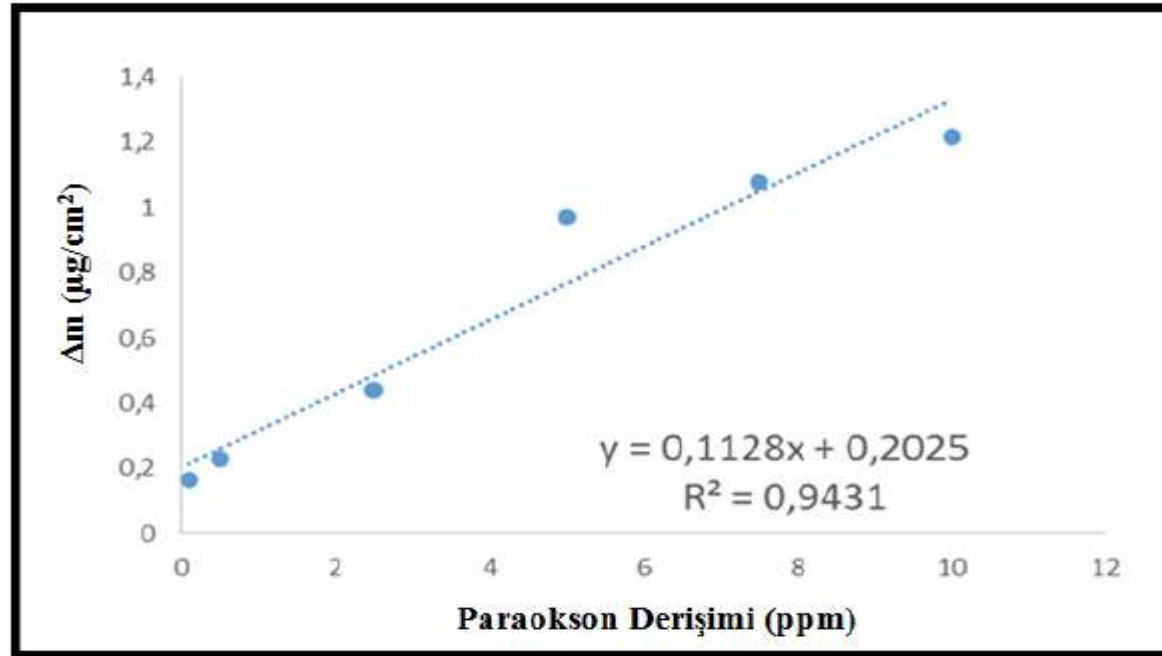


*QCM biyosensörde farklı derişimlerdeki paraokson numunelerine ait kalibrasyon grafiği*

# QCM Sensör (Deneysel Sonuçlar)

## Tanıyıcı tabaka ile kaplı kuvars kristal elektrotunun analit ile etkileşimi

- Daha sonra Sauerbrey denkleminde faydalanarak elektrot yüzeyine adsorbe olan paraokson miktarı  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  olarak hesaplanmıştır. Hesaplanan bu değer paraokson derişimine karşı grafiğe geçirilmiştir.

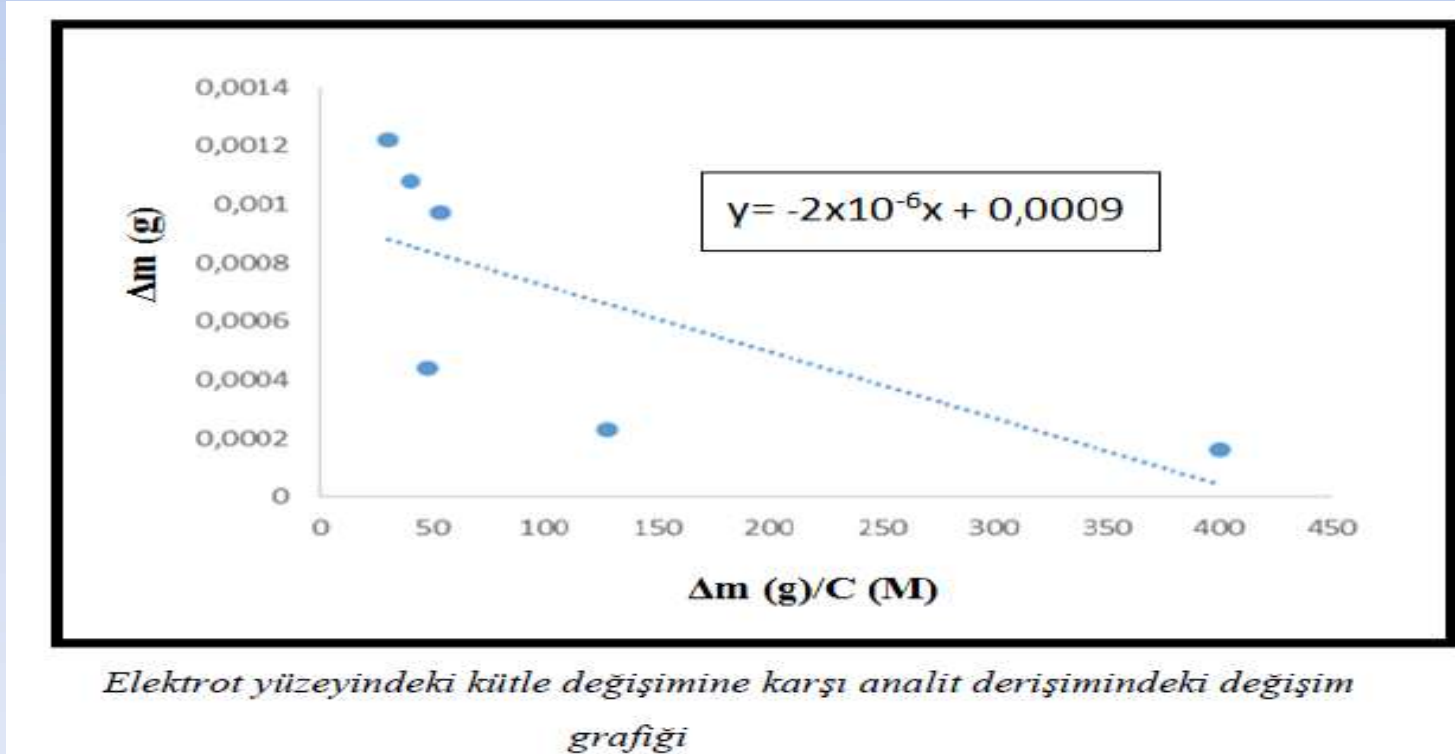


*Elektrot yüzeyindeki kütle değişimine karşı analit derişimindeki değişim grafiği*

# QCM Sensör (Deneysel Sonuçlar)

## Tanıyıcı tabaka ile kaplı kuvars kristal elektrotunun analit ile etkileşimi

- Elektrot yüzeyi ile paraokson arasındaki bağlanma etkileşimini incelemek için Langmuir adsorpsiyon izoterminden yararlanılmıştır. Ka değerini hesaplamak için  $\Delta m(g)$  değerine karşı  $\Delta m/C$  (g/M) grafiğe geçirilmiştir.



# QCM Sensör (Deneysel Sonuçlar)

## Tanıyıcı tabaka ile kaplı kuvars kristal elektrotunun analit ile etkileşimi

- Grafiğin çizilmesiyle elde edilen denklemden yararlanarak Langmuir bağlanma sabiti hesaplanmıştır. Buna göre langmuir bağlanma sabiti  $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$  olarak bulunmuştur.
- LOD (Gözlenebilme Sınırı) ve LOQ (Tayin Sınırı) hesaplanması maksadıyla blank (kör) çözeltileri hazırlanarak 5 farklı ölçüm alınmıştır. Alınan ölçüm sonuçlarının ortalaması 0,0664, standart sapma ise  $4,203 \times 10^{-3}$  olarak hesaplanmıştır. Bulunan standart sapma değerinden yararlanılarak LOD ve LOQ değerlerine geçilmiştir. Yapılan hesaplamalar sonucunda **LOD** değeri 0,0126 ppm ( $4,57 \times 10^{-8} \text{ molL}^{-1}$ ), **LOQ** değeri 0,0418 ppm ( $1,52 \times 10^{-7} \text{ molL}^{-1}$ ) M olarak bulunmuştur.



# Tartışma ve Sonuç

- Geliştirilen sensörlerin performanslarının kıyaslanması amacıyla LOD(Gözlenebilme Sınırı), LOQ(Tayin Sınırı) değerleri tabloya geçirilmiştir. Elde edilen tablo aşağıda verilmiştir.

Yöntem	LOD (molL <sup>-1</sup> )	LOQ (molL <sup>-1</sup> )
QCM	4,57x10 <sup>-8</sup>	1,52x10 <sup>-7</sup>
Nano AChE	1,002x10 <sup>-7</sup>	2,03x10 <sup>-7</sup>
RİFS	9,9x10 <sup>-8</sup>	1,97x10 <sup>-7</sup>
Potansiyometrik	2,19x10 <sup>-8</sup>	1,22x10 <sup>-7</sup>

- Tablo incelendiğinde, gözlenebilme sınırının en düşük olduğu sensörün potansiyometrik sensör olduğu görülmektedir. Ayrıca geliştirilen dört sensörün gözlenebilme sınırı değerlerinin 10<sup>-8</sup> - 10<sup>-7</sup> molL<sup>-1</sup> aralığında olduğu, böylece geliştirilen dört sensörlede çok düşük derişimlerde paraokson içeren numunelerin analizlerinin yapılabileceği anlaşılmaktadır.

# Tartışma ve Sonuç

- Geliştirilen sensörlerin performansının değerlendirilmesi maksadıyla literatür incelenmiştir. Bu inceleme esnasında yapılan çalışmaların büyük kısmında organofosfatların hidrolizinden yararlanıldığı ve bunun sonucundaki değişimlerin analizin temelini oluşturduğu görülmüştür. Bu şekilde hazırlanmış sensörler ile çalışmamızda geliştirilen sensörler karşılaştırma maksadıyla tabloda gösterilmiştir.

*Geliştirilen sensörler ile farklı yöntemlerin karşılaştırılması*

Yöntem	LOD (molL <sup>-1</sup> )
pH değişimi temelli sensör [103]	$2 \times 10^{-6}$
Amperometrik proton seçici sensör [104]	$5 \times 10^{-5}$
Organofosfor hidrolaz enzimi immobilize camı karbon elektrot temelli sensör [105]	$4 \times 10^{-7}$
Karbon pasta elektrotun, organofosfor hidrolaz enzimi baskılı MIP ile modifiyesi temelli amperometrik sensör [106]	$1 \times 10^{-4}$
QCM	$4,57 \times 10^{-8}$
Nano AChE	$1,002 \times 10^{-7}$
RIfS	$9,9 \times 10^{-8}$
Potansiyometrik	$2,19 \times 10^{-8}$



# SİNİR AJANLARININ TESPİTİNE YÖNELİK KUVARS KRİSTAL MİKROTERAZİ (QCM) TEMELLİ SENSÖR GELİŞTİRİLMESİ

**Dr.Ozan YAĞMUROĞLU**

**Hv.Svn.Yzb.**

**MSB KBRN Savunma Dairesi Başkanlığı**