

**TAHSİN ERTAŞ**

**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.**

**DOKTORA TEZİ**

**İSTANBUL-2022**



T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

ÇOK DUVARLI KARBON NANOTÜP ARACILI  
BAKTERİYEL BİYOSENSÖR GELİŞTİRİLMESİ

TAHSİN ERTAŞ

DANIŞMAN  
PROF. DR. MUHAMMET BEKTAŞ  
2. DANIŞMAN  
DR. ÖĞR. ÜYESİ BİRCAN DİNÇ

BIYOFİZİK ANABİLİM DALI  
DOKTORA PROGRAMI

İSTANBUL-2022

## İTHAF

Dedem Bayram KABAK ve Annem Hanife ERTAŞ' a  
ithaf ediyorum

## TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmam boyunca her zaman destekleriyle yanımda olan değerli danışmanlarım Prof. Dr. Muhammet Bektaş ve Dr. Öğr. Üyesi Bircan Dinç'e en içten dileklerle teşekkür ederim.

Hem eğitimim hem de hayatım konusunda yardımlarını eksik etmeyen Prof. Dr. Özgür Alver, Doç. Dr. İlknur Bingül ve Kuddüs Demir' e çok teşekkür ederim.

Sensör ölçümlerinde verdiği destekten dolayı Doç. Dr. Ali Fuat Ergenç' e çok teşekkür ederim.

Biyofizik Anabilim Dalında bana çok yardımcı olan ve bir arkadaş gibi yol gösteren Ali Öztürk' e ve bölümümüzün kıymetli üyelerine ayrı ayrı teşekkür ederim.

Çalışmalara her alanda destek veren, yardımcı olan MSc. Recep Üstünsoy' a bu büyük emek ve yardımından dolayı çok teşekkür ederim.

Tez çalışmam için laboratuvar desteği sağlayan Bahçeşehir Üniversitesi Tıp Fakültesi ve Biyofizik AD' ye çok teşekkür ederim.

Bu zorlu süreçte her zaman destekleriyle yanımda olan kıymetli aileme en içten dileklerle teşekkür ederim ☺.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 37475

## İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI .....	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
BEYAN.....	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
İTHAF.....	İİ
TEŞEKKÜR.....	İİİ
İÇİNDEKİLER .....	İV
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VI
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ .....	Vİİİ
ÖZET .....	Xİİİİ
ABSTRACT.....	XİİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Karbon Nanotüpler.....	3
2.1.1. Tek Duvarlı Karbon Nanotüpler.....	3
2.1.2. Çok Duvarlı Karbon Nanotüpler.....	4
2.2. Karbon Nanotüplerin Sentezlenmesi ve Karakterizasyonu.....	4
2.3. Biyosensörler.....	6
2.3.1. Biyosensör Nedir ?.....	7
2.3.2. Biyosensör Çeşitleri.....	8
2.3.2.1. Elektrokimyasal Biyosensörler.....	9
2.3.2.2. Fiziksel Biyosensörler.....	10
2.3.2.3. Optik Biyosensörler.....	11
2.3.2.4. Giyilebilir Biyosensörler.....	11
2.3.1.3. Biyosensörlerin Tıpta Kullanım Alanları.....	12
2.4. Tungsten Tel.....	14
2.5. Streptavidin.....	15
2.6. Polietilenimin ( PEI ).....	16
2.7. N,N-Dimetilformamid ( DMF ).....	17
2.8. <i>Escherichia coli</i> .....	18
2.9. Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi .....	19

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. Gereçler.....	21
3.2. Kimyasal Maddeler.....	21
3.3. Çalışmalarda Kullanılan Eriyikler.....	21
3.3.1. Bakteri Üretimi için LB Agar ve hazırlama.....	21
3.3.2. Antikorlar.....	22
3.4. Yöntemler.....	23
3.4.1. Kullanılan KNT'ler.....	23
3.4.2. KNT'lerin Dispersiyonu.....	23
3.4.3. Tungsten Tellerin Kaplanması.....	23
3.4.4. KNT Kaplı Tellerin TEM ve SEM Analizi.....	25
3.4.5. Tellerin Streptavidin ile Muamele Edilmesi.....	26
3.4.6. Tellerin Anti- <i>E. coli</i> Antikor ile Kaplanması.....	26
3.4.7. FTIR Analizi.....	27
3.4.8. Sensör Tellerinin Akım-Direnç Ölçümleri.....	27
4. BULGULAR.....	28
4.1. KNT'lerin Dispersiyonu.....	28
4.2. TEM Analizi Sonuçları.....	28
4.3. KNT Kaplı Tellerin SEM Analizi .....	29
4.4. FTIR Analizi Sonuçları.....	30
4.5. Sensör Tellerinin Akım-Direnç Ölçümlerinin Alınması.....	32
5. TARTIŞMA.....	41
KAYNAKLAR .....	47
HAM VERİLER.....	53
FORMLAR.....	54
ETİK KURUL KARARI.....	55
PATENT İZİN HAKKI.....	56
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	57
ÖZGEÇMİŞ.....	58

## ŞEKİLLER LİSTESİ

<b>Şekil 1 :</b> Tek duvarlı karbon nanotüp yapısı.....	3
<b>Şekil 2 :</b> Çok duvarlı karbon nanotüp yapısı.....	4
<b>Şekil 3:</b> Farklı KNT sentez metodları.....	5
<b>Şekil 4:</b> Biyosensör bileşenleri.....	8
<b>Şekil 5:</b> Giyilebilir YZ biyosensör uygulamaları.....	12
<b>Şekil 6 :</b> Altın kaplanmış tungsten tel.....	15
<b>Şekil 7:</b> Streptavidinin yapısı.....	16
<b>Şekil 8:</b> PEI'nin dallanmış-bağlı polimer yapısı .....	17
<b>Şekil 9:</b> DMF'nin kimyasal yapısı .....	18
<b>Şekil 10:</b> <i>E. coli</i> örneği .....	19
<b>Şekil 11:</b> KNT'lerin DMF ile disperse edilmesi.....	23
<b>Şekil 12:</b> Tungsten tellerin hazırlanması.....	24
<b>Şekil 13:</b> Tungsten tellerin PEI ile kaplanması.....	24
<b>Şekil 14:</b> KNT'lerin fırınlanması ve soğutulması.....	25
<b>Şekil 15:</b> Tellerin SEM analizi için hazırlanması ve KNT kaplanması .....	26
<b>Şekil 16:</b> Tellerin kaplanması için uygulanan metod.....	26
<b>Şekil 17:</b> Sensör ölçüm sistemi.....	27
<b>Şekil 18:</b> KNT'lerin disperse edilmesi.....	28
<b>Şekil 19:</b> ÇDNT'lerin TEM görüntüleri.....	29
<b>Şekil 20:</b> Tungsten telin ve PEI/KNT kaplı tungsten telinin SEM görüntüleri.....	30
<b>Şekil 21:</b> Tungsten tel, KNT, PEI - KNT kaplı tungsten telin FTIR spektrumları.....	31
<b>Şekil 22:</b> Biyosensörün FTIR spektrumları.....	31
<b>Şekil 23:</b> Sade tungsten tel ölçüm grafiği.....	33
<b>Şekil 24:</b> PEI kaplı tungsten tel ölçüm grafiği.....	34

<b>Şekil 25:</b> Anti-body kaplı tungsten tel ölçüm grafiği.....	35
<b>Şekil 26:</b> Artan konsantrasyonlarda <i>E. coli</i> K-12 etkileşim grafiği 1.adım.....	36
<b>Şekil 27:</b> Artan konsantrasyonlarda <i>E. coli</i> K-12 etkileşim grafiği 2.adım.....	36
<b>Şekil 28:</b> Artan konsantrasyonlarda <i>E. coli</i> K-12 etkileşim grafiği 3.adım.....	37
<b>Şekil 29:</b> Artan konsantrasyonlarda <i>E. coli</i> K-12 etkileşim grafiği 4.adım.....	38
<b>Şekil 30:</b> Artan konsantrasyonlarda <i>E. coli</i> K-12 etkileşim grafiği 5.adım.....	38
<b>Şekil 31:</b> Artan konsantrasyonlarda <i>E. coli</i> K-12 etkileşim grafiği 6.adım.....	39
<b>Şekil 32:</b> Artan konsantrasyonlarda <i>E. coli</i> K-12 etkileşim grafiği 7.adım.....	40



## SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

Abs	: Poliklonal Antikorlar
AC	: Alternatif Akım
YZ	: Yapay Zeka
BOS	: Beyin Omurilik Sıvısı
CV	: Döngüsel Voltametri
CVD	: Kimyasal Buhar Biriktirme
ÇDNT	: Çok Duvarlı Karbon Nanotüp
dk.	: Dakika
DEP	: Dielektroforez
DES	: Kuru Göz Sendromu
DMF	: N, N-Dimetilformamid
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DPV	: Differansiyel Darbe Voltametrisi
DSC	: Differansiyel Taramalı Kalorimetre
DOS	: Durumun Elektronik Yoğunluğu
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
EIS	: Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi
ELISA	: Enzim Bağlantılı İmmünolojik Test
FIM	: Alan İyon Mikroskobu
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
g	: Gram
Hb	: Hemoglobin
HIF-1 $\alpha$	: Hipoksi ile İndüklenen Faktör-1 $\alpha$
HÜS	: Hemolitik Üremik Sendrom
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IL-1 $\beta$	: İnterlökin-1 $\beta$
IL-6	: İnterlökin-6

ISF	: İnterstisyel Sıvı
İYE	: İdrar Yolu Enfeksiyonu
KNT	: Karbon Nanotüp
LB	: Luria-Bertani
LC/MS	: Sıvı Kromatografisi-Kütle Kromatografisi
LOD	: Beklenen Tespit Limiti
LSV	: Lineer Süpürme Voltametri
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
$\mu$ L	: Mikrolitre
$\mu$ m	: Mikrometre
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mV	: Milivolt
NG	: Nanojel
NMP	: Nmetilpirolidon
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PEI	: Polietilenimin
POC	: Bakım Noktası
$^{\circ}$ C	: Santigrat Derece
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
TDNT	: Tek Duvarlı Karbon Nanotüp
TEM	: Geçirimli Elektron Mikroskobu
TELISA	: Termometrik ELISA
TNF- $\alpha$	: Tümör Nekroz Faktörü- $\alpha$
TTM	: Taramalı Tünelleme Mikroskobu
ODTÜ	: Orta Doğu Teknik Üniversitesi
UA	: Ürik Asit
uspA	: Evrensel Stres Proteini
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

yy : Yüzyıl  
XPS : X-Işını Fotoelektron Spektroskopisi



## ÖZET

Ertaş, T. Çok Duvarlı Karbon Nanotüp Aracılı Bakteriyel Biyosensör Geliştirilmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyofizik AD. Doktora Tezi. İstanbul. 2022.

Artan kirlilikle birlikte daha fazla bakteri ve patojene maruz kaldığımız için, bunların hızlı ve kolay tespiti için araştırmalar artmaktadır. Özellikle farklı molekülleri geniş yüzey alanlarına bağlayabilen, yüksek elektron iletkenliğine sahip nanotüpler, elektrokimyasal biyosensörlerin geliştirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada, iki aşamalı bir kaplama işleminde % 5 altın içeren tungsten teller ve asitle işlevselleştirilmiş çok duvarlı karbon nanotüplerin entegre edilmesiyle bir elektrokimyasal biyosensör tasarımı sunulmaktadır. Altın kaplamalı tungsten teller (0,05 mm), asitle işlevselleştirilmiş kısa çok duvarlı karbon nanotüplerle kaplandı. Alınan TEM ve SEM görüntüleri tungsten telin düzgün ve homojen bir şekilde kaplandığını doğruladı. FTIR sonuçları, elektrotlara immobilizasyonun verimli bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir. Antikor-antijen etkileşimlerinden sonra elektrik akımlarındaki değişikliklerle *Escherichia coli* K-12 saptama performansı değerlendirildi. Ölçüm sistemi olarak biyosensör sistemlerinde oldukça hassas sonuçların alınmasına olanak sağlayan Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi kullanıldı. Sinyal ölçümleri omik olduğu için en verimli olan 50 Hertz' de alındı. Etkileşim sinyalleri yaklaşık 1.0 V' ta değerlendirildi. Akım değeri,  $V_{pp} = 168,40$  mV' dan  $V_{pp} = 198,57$  mV' a değişti, bu da % 0,5(V/V)' lik bir *E. coli* K-12 suşu konsantrasyonu için yüksek algılama yeteneği gösterdi. Verilerimiz, çok duvarlı karbon nanotüp tabanlı biyosensörün *Escherichia coli* K-12 tespiti için bir biyosensör olarak geliştirilebileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Biyosensör, *E. coli* K12, elektrokimyasal empedans spektroskopisi, karbon nanotüp, karakterizasyon

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 37475

## ABSTRACT

Ertas, T. Bacteria-Specific Biosensor Development Mediated via Multi-Walled Carbon Nanotube. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Biophysics. PhD Thesis. İstanbul. 2022.

As we are exposed to more bacteria and pathogens with the increasing pollution, research is increasing for their quick and easy detection. Nanotubes with high electron conductivity, which can bind different molecules to large surface areas, are widely used in the development of electrochemical biosensors. In this study, an electrochemical biosensor design is presented by integrating 5 % gold plated tungsten wires and acid-functionalized multi-walled carbon nanotubes in a two-step coating process. Gold-plated tungsten wires (0.05 mm) were coated with acid-functionalized short multi-walled carbon nanotubes. The TEM and SEM images taken confirmed that the tungsten wire was coated uniformly and homogeneously. The FTIR results show that the immobilization of the electrodes takes place efficiently. *Escherichia coli* K-12 detection performance was evaluated by changes in electrical currents after antikor-antigen interactions. Electrochemical Impedance Spectroscopy was used as the measurement system, which allows very sensitive results in biosensor systems. Signal measurements were taken at 50 Hertz, which is the most efficient since it is ohmic. Interaction signals were evaluated at approximately 1.0 V. The current value changed from  $V_{pp} = 168.40$  mV to  $V_{pp} = 198.57$  mV, indicating high detection ability for a 0.5 % (V/V) concentration of *E. coli* K-12 strain. Our data shows that the multi-walled carbon nanotube-based biosensor can be developed as a biosensor for *Escherichia coli* K-12 detection.

Key Words: Biosensor, *E. coli* K12, Electrochemical Impedance Spectroscopy, carbon nanotube, characterization

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 37475

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tarih boyunca insanlar refah düzeylerini artırmak, sağlıklı yaşamak ve sosyokültürel olarak kendilerini geliştirmek istemişlerdir. Bunun için her çağ kendisiyle bir yenilik getirmiş ve şüphesiz bunların en önemlileri sağlık ve teknoloji alanlarında olmuştur. Teknolojinin 20. yy da hızlı gelişmesi, sağlık alanında muhteşem ilerlemeleri beraberinde getirmiştir. Takvimler 1959 yılını gösterdiğinde nobel ödüllü ünlü fizikçi Richard Feynman Amerika Fizik Topluluğu'nda yaptığı "There's Plenty of Room at the Bottom" adlı konuşmasıyla nanoteknolojinin temellerini atmış ve topluluk tarafından kabul görmüştür. Bu gelişmeyle birlikte sağlık alanında ciddi ilerlemelerin başlayacağı cerrahide nano makinelerin kullanımından bahseden Isaac Asimov'un yazdığı " Fantastic Voyage " romanıyla gün yüzüne çıkmıştır.

Oldukça hızlı gelişen teknoloji ve yenilikçi düşünceler ışığında kısa sürede nano parçacıklar ve nano tüpler hayatımıza girmiştir. Karbon nanotüpler (KNT) kimyasal dayanıklılıkları, doku ve kemikler için iskelet oluşturma potansiyelleri, geniş yüzey alanları, hücreye kolay girebilen yapıları ve üstün biyoelektriksel özellikleri sayesinde ilaç taşıma uygulamalarında ve biyosensör geliştirme araştırmalarında çok tercih edilen nano parçacıklar haline gelmişlerdir [1]. İlaç veya molekül taşıma için kullanılabilen KNT'lerin, tümör tedavisi, doku mühendisliğinde nano boyutta iskeleler oluşturma gibi kullanım alanları ortaya çıkmış ve biyosensör çalışmalarında önemli ilerlemeler sağlamışlardır [2]. Patojenik bakterilerin tespiti, klinik teşhis, gıda endüstrisi, su kalitesi ve sağlık sorunları açısından oldukça önemlidir. Bakterilerin tanı ve tespiti için kullanılan yöntemler, kültür koloni sayımı, polimeraz zincir reaksiyonu ve immünoloji testlerine dayanmaktadır. Gıda ve çevresel bağlamda, bakterilerin sebep olduğu sorunlarla yüzleşmek için, hızlı ve hassas cihazların geliştirilmesi oldukça önemlidir [3, 4]. Üstün fizikokimyasal özelliklere sahip karbon nanotüplerin, hızlı ve hassas biyosensörlerin geliştirilmesinde oldukça etkili olduğu bilinmektedir. Son zamanlarda artan ihtiyaçlara göre, farklı özellikler kazandırılmış nanotüpler, bakteri ve virüs gibi patojenlerin tespitinde kullanılmaya başlamışlardır. Çelikten daha dayanıklı, yüzey alanı geniş bağlanma alanları barındıran, iletkenliği yüksek çok duvarlı karbon nanotüp'ler (ÇDNT), bakteriyel biyosensör geliştirme çalışmalarında öne çıkmaktadır. ÇDNT'lerin elektron iletkenlikleri yüksektir ve yüzey alanları tek duvarlı karbon nanotüp'lerden

(TDNT) daha geniştir [5-7]. Kullandığımız ÇDNT'ler, 0,5-2 µm uzunluğunda, dış yarıçapı en fazla 8 nm'yi bulan boyutlara sahip nano tüplerdir. Bu nanotüpler güçlü asit karışımları ile karıştırılarak yüzeylerinde karboksil grupları oluşturulmuş ve sonrasında ilaç ve protein bağlanmıştır. Hücrelerde ve kıl kurdunda toksisite araştırmaları yapıldıktan sonra, ilaç taşıma etkinliği farklı hücre hatlarında değerlendirilmiştir [8, 9].

KNT'lerin TEM ve SEM görüntüleri alınmış, FTIR ve Raman spektroskopisi, Termogravimetrik analiz, Diferansiyel taramalı kalorimetre ile ayrıntılı karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir [2]. Bu KNT'ler elektrokimyasal biyosensör tasarımında kullanılmıştır. Yarıçapı 50 µm tungsten tel ve ÇDNT'ler N-dimethylformamide ortamında sonikasyona tabi tutularak hem tellerin sterilizasyonu sağlandı hem de KNT'lerin dispersiyonu sağlanmıştır. Yüzeyine fonksiyonel ÇDNT'ler tutturularak ve tellerde KNT'ler ile yüzey modifikasyonu gerçekleştirilerek 150°C'de kurumaya bırakılmıştır. Yüzeyine KNT tutunmuş teller streptavidin ile muamele edilerek, yüzeydeki nanotüplere streptavidin bağlanması sağlanmıştır. Ayrıca, benzer şekilde yüzey modifikasyonu yapılmış, tellere biyotinlenmiş anti *E. coli* antikoru ile muamele edilerek ve fonksiyon jeneratörü ve pikoampermetre kullanılarak ölçümler alınmış; *E. coli*'nin K-12 suşu ile deneyler gerçekleştirilmiştir.

Mikro tellerden TEM görüntüleri alındıktan sonra hassaslıkları değerlendirilmiştir. Hassasiyetleri, bakteri ekleme öncesi ve sonrasında, akım ölçümleri yapılarak gerçekleştirilmiştir. Ayrıca *E. coli* konsantrasyonu artırılarak deneyler tekrar edilmiştir. Böylece patojen tespiti için, yüksek iletkenliğe sahip ve yüzeyine protein ve moleküllerin tutunabildiği KNT'lerin tungsten tellere entegre edilmesi ile, patojen tespitinde, öncesinde numunelerden bakteri amplifikasyonuna gerektirmeyen, verimli bir biyosensör sistemi ortaya çıkarılmıştır.

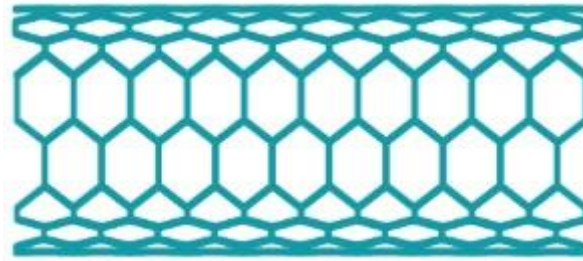
## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Karbon Nanotüpler

Atomların kapalı kabuklar halinde düzenlendiği fullerenler olarak adlandırılan karbon elementinin yeni formları 1985 yılında Robert F. Curl, Harold W. Kroto ve Richard E. Smalley tarafından keşfedildi. Bu üç bilim insanı 1996'da buckminsterfullerene – C<sub>60</sub> ("buckyball") ve diğer fullerenleri keşfettikleri için Nobel Kimya Ödülü' nü paylaştılar. Araştırmalarının en önemli yan ürünü, karbon veya karbon bazlı nanotüpler olmuştur. Araştırmacıların keşfetmeye başladıkları futbol toplarını andıran bu "karbon kafesler" malzeme bilimi, elektronik ve nanoteknolojideki pratik uygulamalarla yepyeni bir kimyasal çalışma alanı açmıştır. Ortaya çıkan yeni nano yapılar, karbon nanotüpler tek katmanlı (tek duvarlı) ve çok katmanlı (çoklu duvarlı) karbon nanotüpler olarak 2 temel gruba ayrılmıştır.

#### 2.1.1. Tek Duvarlı Karbon Nanotüpler

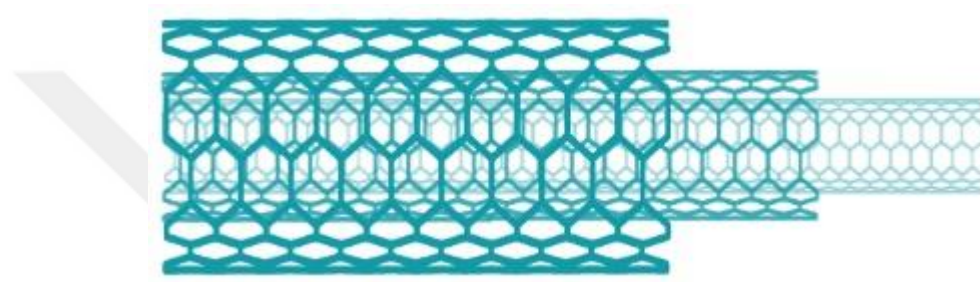
Tek duvarlı karbon nanotüpler, geniş yüzey alanına ve en boy oranına (uzunluk-çap oranı) sahip, silindirik şekilli, güçlü kovalent bağ, benzersiz tek boyutlu yapı ve nanometre boyutları ile karakterize karbon allotroplarıdır. Küçük çapları ve büyük en boy oranları nedeniyle, tek duvarlı KNT'ler tek atom kalınlığında nano boyutta karbon levhalardan yapılmışlardır. Tek duvarlı KNT'lerin yapısı Şekil 1'de görülmektedir.



Şekil 1 : Tek duvarlı karbon nanotüp yapısı

### 2.1.2. Çok Duvarlı Karbon Nanotüpler

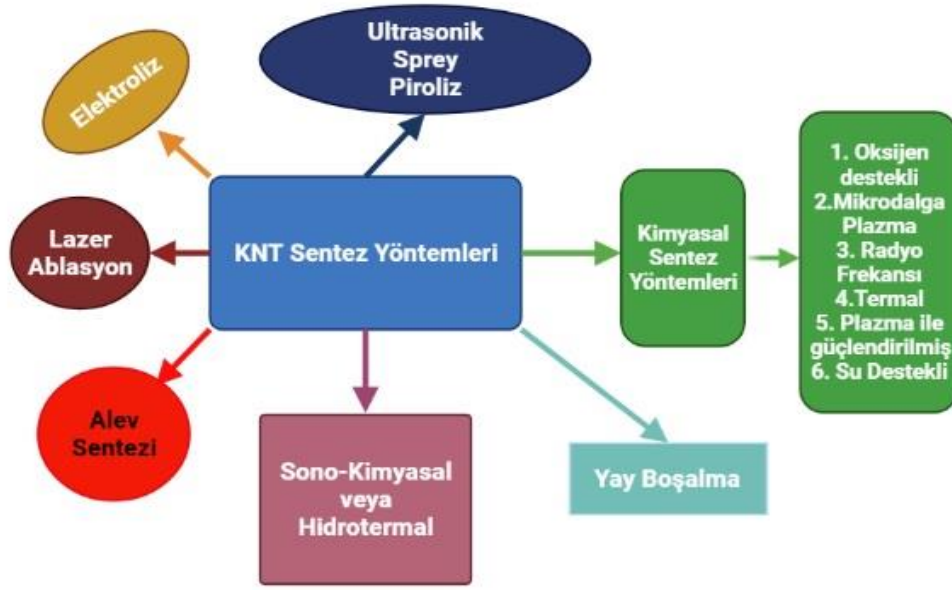
ÇDNT'ler, yüksek en-boy oranına (uzunluk-çap oranı) sahip içi boş, silindirik şekilli, duvarları birden fazla tek atom kalınlığında karbon tabakasından oluşan karbon allotroplarındır (Şekil 2). ÇDNT'ler, diğer nanotüplerin içinde çok sayıda yuvarlanmış eşmerkezli grafen nanotüp katmanından oluşur. ÇDNT'ler tek duvarlı karbon nanotüplere göre termal, iletkenlik, sertlik, çekme kuvveti, konformasyon gibi birçok yönden üstün özellikler gösterir. ÇDNT'ler çevresindeki küçük değişikliklere karşı duyarlı olduğundan biyomoleküllerin elektrokimyasal reaktivitesini artırabilir [10].



Şekil 2 : Çok duvarlı karbon nanotüp yapısı

### 2.2. Karbon Nanotüplerin Sentezi ve Karakterizasyonu

İlk KNT sentezi Iijima tarafından çok duvarlı nanotüpler ile gerçekleştirilmiştir. Tek duvarlı nanotüpler sonraki on yıl içinde sentez çalışmalarına dahil edilmiştir. Zamanla KNT sentezi için çok çeşitli yöntemler bulunmuştur. Yöntemlerin sınıflandırılmasından KNT'nin özellikleri, sıcaklık, zaman, ısı kaynağı, mekanizma, reaksiyon atmosferi vb. şekilde bahsedilebilir. KNT'lerin sentezlenmesinde yaygın olarak 3 yöntem kullanılmaktadır. Bunlar; yay boşalma yöntemi, kimyasal sentez yöntemleri ve laser ablasyon yöntemleridir. KNT sentezinin yapılabileceği farklı yöntemler Şekil 3 'te gösterilmiştir.



**Şekil 3:** Farklı KNT sentez metodları

KNT'ler benzersiz elektriksel ve mekanik özelliklere sahiptir. Bununla birlikte, bu özellikleri elde etmek için KNT'lerin kimyasal olarak işlenmesi gerekir. İşlevselleştirmeleri ve saflaştırılmaları için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Nanotüplerin morfolojik ve yapısal karakterizasyonlarını araştırmak için temel olarak; Taramalı Tünelleme Mikroskopu (TTM) ve Geçirimli Elektron Mikroskopisi (TEM) gibi teknikler kullanılır. X-ışını fotoelektron spektroskopisi, nanotüplerin kimyasal yapısını belirlemek için yardımcı olurken, nötron ve X-ışını kırınımı, kızılötesi ve Raman spektroskopisi çoğunlukla küresel karakterizasyon teknikleridir [11].

X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) tekniği ile karbon nanotüplerin kimyasal yapısı hakkında bilgi edinilebilir. KNT'lerin organik bileşikler veya gaz adsorpsiyonu ile kimyasal etkileşimlerine bağlı olarak KNT duvarlarının yapı değişikliğinin belirlenmesini sağlar.

Taramalı tünelleme mikroskopu (TTM) tekniğinin kullanılabilmesi için karbon nanotüpler, HOPG veya Au gibi düz bir iletken substrat üzerinde biriktirilmelidir. TTM görüntüleri, nanotüplerin üç boyutlu morfolojisini doğrudan verir ve taramalı elektron mikroskopundan çıkarılan yapı ile tutarlıdır. Ayrıca, TTM hem atomik yapıyı hem de durumun elektronik yoğunluğunu (DOS) aynı anda çözebilir [11]. Dolayısıyla bu teknik nanotüp karakterizasyonu için oldukça uygundur. DOS, yoğun madde fiziğinde,

kuantum sistemlerinde yaygın olarak kullanılan bir özelliktir; katı bir kristaldeki elektronların, fotonların veya fononların enerji seviyesini ifade eder. Elektronik DOS, bir kuantum mekanik sistemdeki elektronların enerji seviyelerinde ne kadar "paketlendiğini" ölçer. DOS, maddenin dalga özelliğinden dolayı enerjik bir konfigürasyondur. Bazı sistemlerde, atomlar arası boşluk, kristal yapı ve malzemenin atomik yükü, sistemde yalnızca belirli dalga boylarındaki elektronların yayılmasına izin verir, bu da dalga yayılmalarının olası yönlerini de sınırlar. Elektronik durumlar söz konusu olduğunda, DOS, her bir enerji seviyesi için elektron sayısının hesaplanmasına izin verir ve bu durumların diyagramı, bir malzemenin elektriksel iletim özelliklerini tanımlar [12].

Raman spektroskopisi ile KNT'lerin boyut ve çapları hakkında bilgi elde edilebilir. Bununla birlikte büyük ölçekte KNT'leri araştırmak için X-ışını kırınımı veya nötron kırınımı gereklidir. Nötron kırınımı, bağ uzunluğu ve altıgen ağın olası bozulması gibi yapısal özelliklerin belirlenmesi için yaygın olarak kullanılmaktadır. X-ışını difraksiyon yöntemi hem numune yıkıcı olmadığından hem de KNT'lerin istatistiksel bir karakterizasyonuna yol açtığından kullanımı avantajlıdır. Bu yöntemle katmanlar arası mesafe, yapısal gerinim ve safsızlıklar hakkında bilgiler elde edilir. ÇDNT'ler için çeşitli katman sayılarının yanı sıra çaplar ve kiralite dağılımları da belirlenebilir [13].

TEM ile çok duvarlı nanotüpleri karakterize etmek için Gommel ve arkadaşları tarafından bir görüntü analiz metodolojisi geliştirilmiştir. Sayısal işlemlerden sonra, nanotüp kesitindeki yoğunluk, Lambert yasasına dayalı bir model kullanılarak yerleştirilir. Böylece dış ve iç yarıçapın ve lineer elektron absorpsiyon katsayısının ölçülmesine izin verilir [14].

### **2.3. Biyosensörler**

İnsanlık tarihi günümüz de dahil olmak üzere hep sağlıklı ve refah düzeyi yüksek olan bir hayat sürme çabasıyla doludur. Bunun için her dönemde sağlıklı yaşam için yapılması gerekenler ön planda tutulmuştur. Bir problemin ya da rahatsızlığın hızlı çözülebilmesi erken tespitine bağlıdır. Ne kadar hızlı ve erken teşhis konulursa çözüm o denli hızlı olur. İnsanlığı en çok etkileyen sağlık, gıda ve tarım gibi temel alanlarda bu daha da büyük önem arz etmektedir.

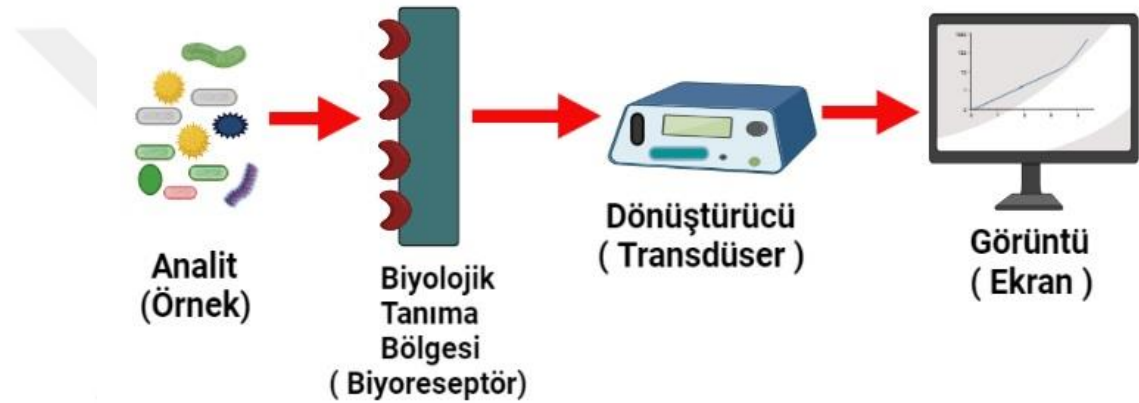
Bu alanlarda toksisite gibi büyük problemlere yol açan bir konuda çok hızlı tespit yapılabilmesi insan hayatı için çok önemlidir. Günümüz teknolojisi ile bile bir bakteri tespiti için yapılan çalışmalar günlerce sürebilmektedir. Bu sürenin kısaltılması için saatler hatta dakikalar içinde ölçüm yapabilen biyolojik dedektörlere, yani biyosensörlere ihtiyaç duyulmaktadır. Patojenik bakterilerin tespiti, klinik teşhis, gıda endüstrisi, su kalitesi ve sağlık sorunları açısından oldukça önemlidir. Bakterilerin tanı ve tespiti için kullanılan yöntemler, kültür koloni sayımı, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve immünoloji testlerine dayanmaktadır. Gıda ve çevresel bağlamda, bakterilerin sebep olduğu sorunlarla yüzleşmek için, hızlı ve hassas cihazların geliştirilmesi oldukça önemlidir [3, 4]. Üstün fizikokimyasal özelliklere sahip karbon nanotüplerin, hızlı ve hassas biyosensörlerin geliştirilmesinde oldukça etkili olduğu bilinmektedir. Son zamanlarda artan ihtiyaçlara göre, farklı özellikler kazandırılmış nanotüpler, bakteri ve virüs gibi patojenlerin tespitinde kullanılmaya başlamışlardır. Çelikten daha dayanıklı, yüzey alanı geniş bağlanma alanları barındıran, iletkenliği yüksek çok duvarlı KNT'ler, bakteriyel biyosensör geliştirme çalışmalarında öne çıkmaktadır. Çok duvarlı KNT'lerin elektron iletkenlikleri yüksektir ve yüzey alanları tek duvarlı KNT'lerden daha geniştir [5-7]. Son zamanlarda biyosensörler üzerine yapılan araştırmalar oldukça artmış ve umut verici bir hal almıştır.

### **2.3.1. Biyosensör Nedir?**

Biyosensörler temel olarak sıcaklık, basınç, biyolojik analitlerde bağlanma ile oluşan direnç, ışık yoğunluğu, nem gibi fiziksel değişiklikleri algılayıp ölçebilen ve analiz edebilen biyolojik dedektörlerdir. Genel anlamda biyosensörler, bir sensör sistemi ve bir dönüştürücü kombinasyonundan meydana gelmektedirler. Biyosensörler, antijen-antikor etkileşimi, mikroorganizmalar, hücreler ve dokulardaki biyolojik değişiklikleri algılayan ve bunları amplifiye ederek kullanılabilir elektrik sinyallerine dönüştürerek dedeksiyon sağlayan analitik cihazlardır. Biyosensörler, özellikle ortamın biyokimyasal ve biyofiziksel özelliklerini aydınlatmak için uygulanabilen reseptör-dönüştürücü tabanlı araçlardır. Ayrıca, biyosensörler, numune hazırlamayı ortadan kaldırdığı için avantaj sağlarlar. Kandaki oksijen miktarını ölçmek için 1950'ler de L.L. Clark tarafından ilk biyosensör geliştirilmiştir [15]. Daha sonra teknolojinin gelişmesine ve ihtiyaca paralel olarak farklı türlerde biyosensörler üretilmiştir. Günümüzde en yaygın sensör uygulaması Glikometre'dir. Kandaki glikoz seviyeleri ile karakterize olan

diyabet hastalarının kandaki glikoz konsantrasyonunu küçük bir kan örneği ile ölçen basit bir biyosensörlerdir [16].

Biyosensörlerin tıpta çok önemli bir yeri vardır; tümörler, patojenler ve toksinlerin belirlenmesi gibi birçok konuda kesin ve titiz bir şekilde tespit yapabildiklerinden oldukça tercih edilmektedirler. Aşağıda temel olarak bir biyosensörün bileşimi verilmiştir (Şekil 4).



Şekil 4: Biyosensör bileşenleri

### 2.3.1.2. Biyosensör Çeşitleri

Çok az miktarda analitik gerektirmesi, kısa sürede sonuç vermesi, ucuz-tekrarlanabilir ve taşınabilir olmaları gibi avantajlarından nedeniyle, özellikle gıda kaynaklı patojenlerin tespitine yönelik biyosensörler hızla geliştirilmektedir. Mikroelektronik alanındaki gelişmeler ve biyolojik moleküllerin olağanüstü duyarlılıktaki yanıt verme kapasitelerinin keşfedilmesi, biyosensör teknolojisinin gelişmesine büyük katkı sağlamıştır. Bu sayede farklı türlerde biyosensör çeşitleri geliştirilmiştir. Çok düşük miktarlardaki numuneleri ölçmeye yarayan, son derece hassas ve spesifik olan düşük maliyetli ve yüksek verimli nano-biyosensörler biyokimyasal sinyalleri ölçmekte, fizikokimyasal sinyallere dönüştürerek mevcut araştırma alanı ve geliştirme tekniklerinde kritik bir rol oynamaktadır.

Biyosensörlerin sınıflandırılması temel olarak biyolojik tanıma bölgesi (biyoreseptör) ve dönüştürücüye (transdüser) dayalı olarak ikiye ayrılır.

### 2.3.1.2.1. Elektrokimyasal Biyosensörler

Elektrokimyasal biyosensörler, biyo elektrotlar tarafından gerçekleştirilen elektrik akımı, iyonik veya iletkenlik değişikliklerinin ölçümlerine dayanır ve substratı genellikle bir sayaç, referans ve çalışma tipi gibi üç elektrot içerir. Elektrokimyasal biyosensörler 4 farklı sınıfa ayrılmaktadır:

- *Amperometrik Biyosensörler:* Oksidasyondan kaynaklanan akımın miktarına dayanan kesin nicel analitik bilgi sunarlar. Konsantrasyona bağlı akım değişimini, biyolojik olarak aktif materyalle kaplı elektrokimyasal elektrot aracılığıyla ölçerler. Geniş bir kullanım yelpazesi için analit merkezlerinin seçilmesi, yüksek verimli ilaç taraması, kalite kontrol, problem bulma-işleme ve biyolojik kontrolden oluşması esastır [17, 18].
- *Potansiyometrik Biyosensörler:* İyon seçici elektrotlar kullanılarak, potansiyometrik elektrot ve referans elektrot arasında substratın konsantrasyonu ile orantılı potansiyel fark değeri ölçülür [19]. Bu tür sensörlerin en önemli kısıtlaması, enzimlerin  $H^+$  ve  $NH_4^+$  gibi iyonik konsantrasyonlara olan duyarlılığıdır. Analitlerin yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), sıvı kromatografisi-kütle kromatografisi (LC/MS) ile ve kesin model hazırlığı olmadan önceki aşamalarda tanınmasına izin verirler [20].
- *İmpedimetrik Biyosensörler:* Elektrokimyasal empedans spektroskopisi, çok çeşitli fiziksel ve kimyasal özellikler için duyarlı bir göstergedir. Empedans teknikler, enzimler, nükleik asitler, reseptörler ve antikorların tepkilerini incelemek için kullanılmaktadır [21].
- *Voltametrik Biyosensörler:* Voltametrik biyosensörler, bir analit hakkındaki bilgilerin bir potansiyel varyasyonun bir fonksiyonu olarak bir akımı ölçerek elde edildiği elektroanalitik cihazlardır. Doğrusal potansiyel aralığı üzerinden elde edilen tepe akım değeri, analit yığın konsantrasyonu ile doğru orantılıdır [22]. Voltametrik dönüştürücüler, biyoalgılama analizinde araştırma grupları tarafından en kapsamlı ve en çok kullanılanlardır. Sensör, akım-potansiyel ilişkisini ölçer. Potansiyel, "akım uygulanmayan" koşullarda ölçülür [23]. Redoks tepelerinin ortaya çıktığı potansiyel, incelenen türe özgüdür ve mevcut tepe boyutu türle orantılıdır. Farklı karakteristik potansiyellere sahip birçok bileşiği tek bir ölçümde tespit etmek mümkündür. Voltametrik yöntemler:

döngüsel voltametri (CV), diferansiyel darbe voltametri (DPV), sıyırma voltametri, AC voltametri, polarografi, lineer süpürme voltametri (LSV) vb. olarak ayrılırlar. Ancak en yaygın kullanılanları CV, DPV ve LSV'dir [24].

### 2.3.1.2.2. Fiziksel Biyosensörler

En temel ve yaygın olarak kullanılan sensörlerdir. Bu tür sensörlerin tasarlanmasında yararlanılan metod, insan zihninin duyular aracılığıyla dış etkenlere karşı verdiği tepkiler örnek alınarak bir ortamdaki fiziksel etmenlere tepki veren sensörlerin tasarlanmasıdır. Fiziksel biyosensörler; piezoelektrik biyosensör ve termal biyosensör olarak ikiye ayrılır.

- *Piezoelektrik Biyosensörler:* Bu biyosensörlerin temelini piezoelektrik kristaller oluşturur ve algılama parçaları nanopartiküller kullanılarak birleştirilir. Çalışma prensipleri, akustik (ses titreşimleri) ilkesine dayanır, dolayısıyla akustik biyosensörler olarak da adlandırılırlar. Pozitif ve negatif yüklü kristaller karakteristik frekanslarla titreşir. Bazı moleküllerin kristal yüzeyinde adsorpsiyonu, elektronik cihazlar tarafından ölçülebilen rezonans frekanslarını değiştirir. Piezoelektrik kristalin yüzeyinde bir madde emildiği veya biriktiğinde rezonans frekansındaki bu değişimin ölçülmesi temel alınarak çalışır [25].
- *Termometrik Biyosensörler:* Kalorimetrik biyosensörler olarak adlandırılırlar. Bu sensörler, biyoalgılama materyalinin (enzim, organel, mikroorganizma, bitki veya hayvan hücresi veya doku) termometre, termopil veya termistör gibi bir fiziksel dönüştürücü ile bütünleşmesiyle oluşmuştur. Termometrik biyosensörlerin temelini ısı ile bağlantılı biyolojik reaksiyonlar oluşturur. Bunun için genellikle termal biyosensörler olarak adlandırılırlar. Bu biyosensör tipinde reaksiyon, enzim dolgulu, yataklı reaktörde gerçekleşir. Alt tabaka yatağa girerken, bir ürüne dönüştürülür ve substrat-ürün arasındaki sıcaklık farkı, termistörler tarafından ölçülür. Sıcaklıktaki küçük bir değişiklik bile algılanabilir. Bu biyosensörler ile glikoz (enzim-glikoz oksidaz), üre (enzim-üreaz), ürik asit (enzim-ürikaz) ve penisilin G (enzim-P laktamaz) ölçümleri yapılabilmesine rağmen genel olarak kullanımları sınırlıdır. Termometrik biyosensörler, enzim bağlantılı immünolojik testin (ELISA) bir parçası olarak

kullanılabilir ve yeni teknik termometrik ELISA (TELISA) olarak adlandırılır [26, 27].

### **2.3.1.2.3. Optik Biyosensörler**

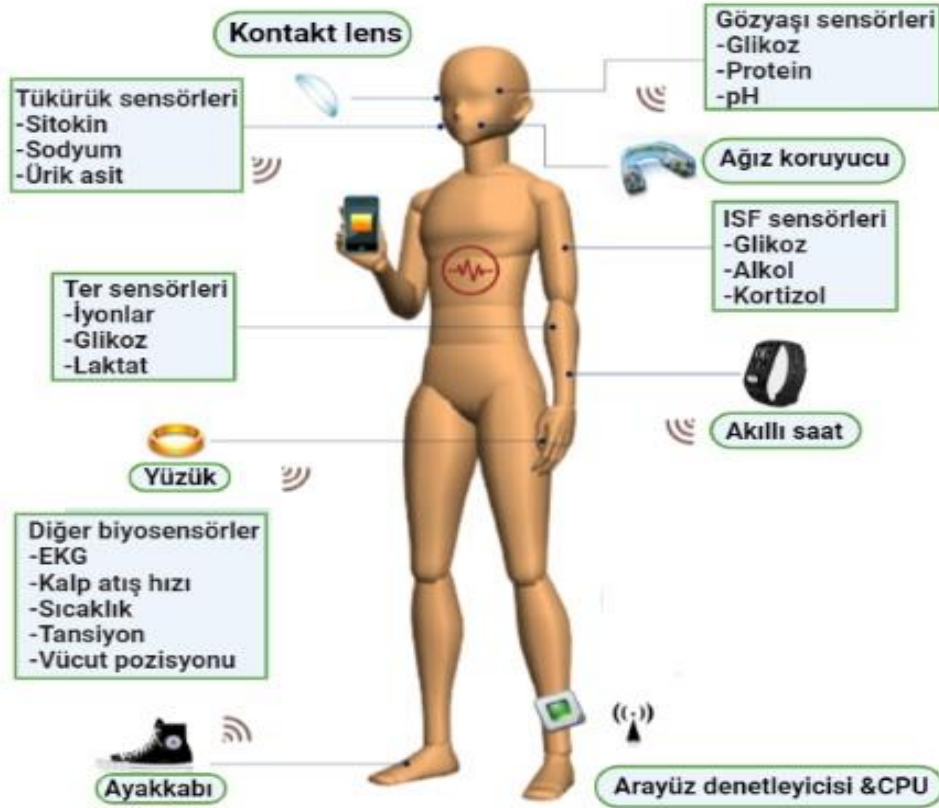
Optik biyosensörler; biyokimyasal reaksiyonların sonucunda yayılan veya emilen ışığın ölçümünü temel alan, optik teknikleri kullanılarak üretilirler. Elektrikle erişilemeyen ekipmanların, cihazların uzaktan algılanmalarını sağlarlar. Fiber optiklerin yanı sıra optoelektronik dönüştürücüler ve optik ölçüm prensibi kullanılır. Optik biyosensörler, virüsler, toksinler, ilaçlar, antikorlar, tümör biyobelirteçleri ve tümör hücreleri dahil olmak üzere çok çeşitli analitlerin hassas ve seçici olarak saptanmasına izin verir. Optik biyosensörler, doğrudan optik algılama biyosensörleri ve etiketli optik algılama biyosensörleri olmak üzere iki tipte sınıflandırılır [28, 29].

Kısaca, etiketsiz bir modda, algılanan sinyal, doğrudan analiz edilen materyalin dönüştürücü ile etkileşimi ile üretilir. Buna karşılık, etiket tabanlı algılama, bir etiket kullanımını içerir ve optik sinyal daha sonra kolorimetrik, floresan veya ışıldayan bir yöntemle üretilir [29]. Optik biyosensörlerde DNA gibi tek molekül tespiti yapılabilmektedir [30]. Bu teknoloji daha sonra biyolojik materyallerin kombinasyonu gibi yenilikler sayesinde geliştirilmiştir. Ayrıca farklı optik bileşenlerin tek bir sensör üzerinde karıştırılması, çoklu algılama, cihazının tek bir çip üzerinde oluşturulmasını ve hızlı analiz yapılmasını sağlar. Floresan ve nanomalzemelerin veya biyomoleküllerin hibritleri, uygulama olanaklarını ve hassasiyetleri artırır. Ancak, ana dezavantajlar maliyetler ve katı enstrüman gereksinimleridir [31]. Optik SPR tespiti, gerçek zamanlı ve etiketsiz testler için en çok değerlendirilen ve kalibre edilen tekniktir [32].

### **2.3.1.2.4. Giyilebilir Biyosensörler**

Giyilebilir biyosensörler, ter, gözyaşı, tükürük ve interstisyel sıvı gibi biyoakışkanlardaki biyokimyasal belirteçlerin dinamik, invazif olmayan ölçümleri yoluyla sürekli, gerçek zamanlı fizyolojik bilgi sağlama potansiyelleri nedeniyle büyük ilgi görmektedir. Son gelişmeler, metabolitler, bakteriler ve hormonlar dahil olmak üzere biyobelirteçlerin invazif olmayan izlenmesindeki ilerlemelerle birlikte elektrokimyasal ve optik biyosensörlere odaklanmıştır. Çok katlı biyoalgılama, mikroakışkan örnekleme ve taşıma sistemlerinin bir kombinasyonu, gelişmiş

giyilebilirlik ve kullanım kolaylığı için entegre edilmiş, minyatürleştirilmiş ve esnek malzemelerle birleştirilmiştir [33]. Giyilebilir biyosensör teknolojilerini kullanarak fizyolojik bilgilerin doğru ve güvenilir gerçek zamanlı algılanması, günlük yaşamlarımız üzerinde geniş bir etkiye sahip olacaktır [34]. Yapay zeka (YZ) ve giyilebilir sensörler, bireysel hastalar için en iyi hassas ilaç tedavisini uyarlama hedefini gerçekleştirmek için iki temel alandır.



**Şekil 5:** Giyilebilir YZ biyosensör uygulamaları

Bu iki alanın entegrasyonu, hasta verilerinin daha iyi alınmasını ve kullanıcıların sağlığını, zindeliğini ve çevresini izlemek için giyilebilir sensörlerin geliştirilmiş tasarımını sağlar. Şekil 5'te giyilebilir YZ biyosensörlerin bazı uygulamaları görülmektedir [35].

### 2.3.1.3. Biyosensörlerin Tıpta Kullanım Alanları

Son yıllarda nanoteknolojideki büyük ilerlemelerle çok farklı biyosensör çalışmaları yapılmaya başlanmıştır. Nano malzemelerin üstün fiziko-kimyasal özellikleri, işlevselleştirilebilmeleri, geniş yüzey alanına sahip olmaları, minyatürize edilebilmeleri gibi önemli avantajlar sunmaları, tıpta büyük bir uygulama alanı

bulmalarına yol açmıştır. Bu sayede bakteri-patojen tespiti, hastalık tanı-teşhisi, ilaç tasarımı ve dağıtımı alanlarında büyük başarılar elde edilmiştir [36].

Klinik alandaki analizler, hızlı ve güvenilir analitik yöntemlere ve cihazlara ihtiyaç duyar. Bu amaç için biyosensörler çok uygun birer seçenektirler. Çünkü, kullanımları basit, hedef analite özel, sürekli izleme ve hızlı sonuç verebilen, potansiyel olarak düşük maliyetli ve taşınabilir olacak şekilde tasarlanırlar. Glikoz, laktat, kolesterol, üre, kreatinin, DNA, antijenler, antikorlar ve kanser belirteçleri tahlilleri ve klinik teşhis için geliştirilmiş elektrokimyasal biyosensörler geliştirilmiştir [37].

Tek başlarına hayatlarına devam etmekte sorun yaşayan özellikle yatalak ve kronik hastalar, yaşlılar ve bakımlarını üstlenenler için yaşam kalitesini en üst seviyeye çıkarmak, hastanın destek ihtiyacını en aza indirmek için vücuda implante edilebilen ve giyilebilir kablosuz sensör sistemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Kablosuz sensör ağı (WSN) teknolojileri, yaşam kalitesini iyileştirmek için bilgisayar bilimi ve sağlık uygulama endüstrilerinde anahtar araştırma alanlarından biri olarak kabul edilir. Bu teknolojilerle, hastaların sürekli izlenmesi için giyilebilir ve implante edilebilir sensörler geliştirilmektedir [38].

Aynı zamanda YZ ve giyilebilir sensörler, bireysel ve hastalar için en iyi hassas ilaç tedavisini uyarılama hedefini gerçekleştirmek için iki temel alandır. Bu iki alanın entegrasyonu, hasta verilerinin daha iyi alınmasını ve kullanıcıların sağlığını, zindeliğini ve çevresini izlemek için giyilebilir sensörlerin geliştirilmesini sağlar [35]. Bu yeni giyilebilir ve implante edilebilir biyosensörler, gıda güvenliği, sağlık, hastalık teşhisi, çevresel izleme ve biyogüvenlik alanlarında yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır [39].

Giyilebilir biyosensörler, kalp atışlarının ve biyofiziksel aktivitenin göstergeleri olarak tüketicilere sunulmuştur. Ancak bunlar, bireyin biyofiziksel belirteçlerinin ve biyokimyasal belirteçlerinin tespitini gerçekleştirememektedir. Bu teknolojik boşluktan esinlenerek, ter, tükürük, gözyaşı, interstisyel sıvı (ISF) ve yara sıvıları gibi erişilebilir biyo akışkanlardaki biyobelirteçlerin minimal/invaziv olmayan şekilde tespiti için giyilebilir biyosensörlerin geliştirilmesine yönelik çabalar sarf edilmiştir [40-42].

İnsan teri, sağlık hizmetleri ve hastalık teşhisleriyle ilgili karmaşık fizyolojik bilgileri taşır ve ana bileşenler arasında su (%99), iyonlar ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ , vb.),

küçük moleküller (etanol, kortizol, üre, laktat vb.), peptitler ve küçük proteinler (nöropeptidler ve sitokinler gibi) bulunur [41, 43-45]. Giyilebilir ter biyosensörleri klorür, glikoz, laktat, üre, kreatinin, alkol, pH ve hatta ağır metalleri belirleyebilir [34, 46-49].

Tükürükteki glikoz, laktat, fosfat ve ürik asit (UA) gibi biyobelirteçlerin konsantrasyonları kandakiyle ilişkilidir ve bakım noktası (POC) için çekici ve değerli bir aday sağlar [50-53]. Ek olarak, tükürükteki hipoksi ile indüklenen Faktör-1 alfa (HIF-1 $\alpha$ ), Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF), İnterlökin-1 beta (IL-1 $\beta$ ), Tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- $\alpha$ ), İnterlökin-6 (IL-6), sitokinler ve matriks metalloproteinaz' ler (MMP' ler) düzeylerinin diş eti iltihabı, periodontal hastalık ve tümörler ile ilişkili olduğu bilinmektedir [54-56].

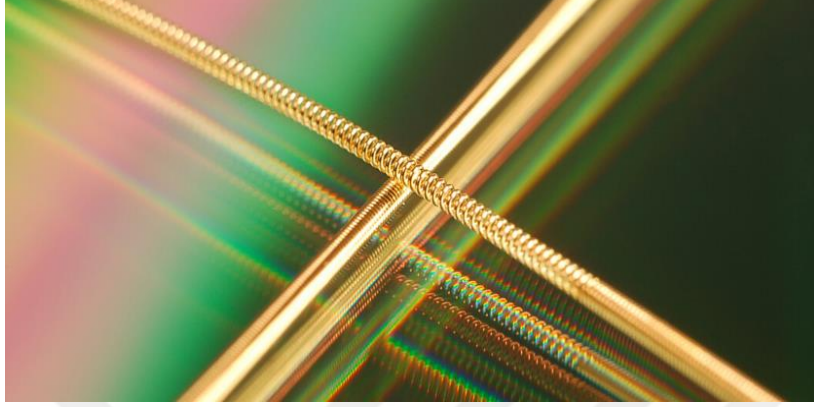
Terden farklı olarak gözyaşı, kuru göz sendromu (DES), diyabet, sistemik skleroz, kistik fibroz, kanser ve Parkinson gibi oküler hastalıkların tespiti için uygun çok çeşitli protein biyobelirteçleri (antikorlar, nöropeptidler ve koruyucu proteinler) içerir [57, 58].

Gözyaşlarındaki biyobelirteçlerin seviyelerini tespit etmek için giyilebilir biyosensörler olarak ideal bir platform olan kontakt lensler kullanılmaktadır. Şimdiye kadar, glikoz ve laktat vb.nin sürekli izlenmesi için giyilebilir biyosensörler kontakt lenslere başarıyla entegre edilmiştir [59-61].

## 2.4. Tungsten Tel

Elektrik alanı tarafından üretilen Dielektroforez (DEP) kuvveti, bakteri hücrelerini süspansiyon çözeltisinden mikrotelin çevresine yoğunlaştırır. Ardından, hedeflenen *E. coli* hücreleri, tel üzerinde önceden hareketsiz hale getirilmiş antikorlar tarafından tanınır ve yakalanır [62]. Literatürde patojen tespiti için antikor immobilizasyonu ve DEP kuvvetini aynı anda birleştiren az sayıda çalışma bulunmaktadır. Özgüllük sorununu çözmek ve antikorları bir tel yüzeyinde verimli bir şekilde sabitlemek için düz tel yerine işlevselleştirilmiş altın-tungsten tel tercih edilmektedir (Şekil 6). Tungsten teller yüksek çekme modülüne sahiptir ve sertliği korurken genel olarak küçük boyutlara sahip elektrotların üretilmesini sağlarlar [63]. Tungsten tel, sağlamlığı ve son derece yüksek erime noktası (3422°C) nedeniyle elektrot üretmek için kullanılmaktadır. İlk atomik olarak çözülen görüntüler, 1960'larda

Alan İyon Mikroskobu (FIM) aracılığıyla bir tungsten ucu apeksi kullanılarak gözlemlenmiştir [64].



**Şekil 6:** Altın kaplanmış tungsten tel [65]

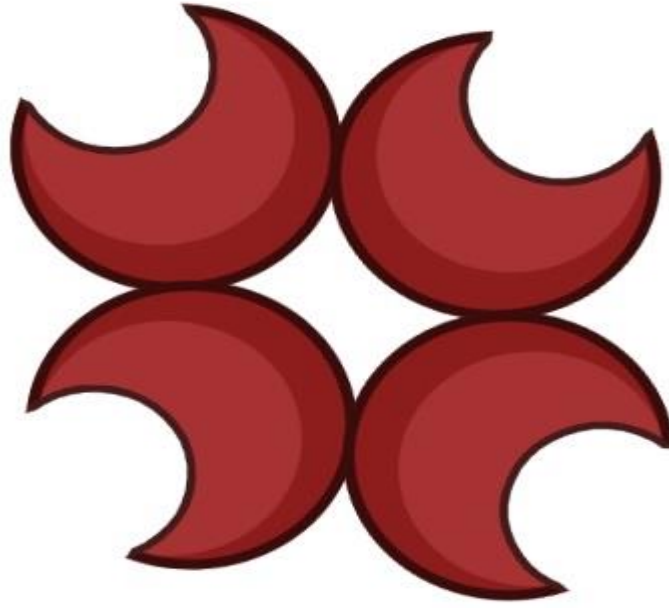
## 2.5. Streptavidin

Streptavidin, *Streptomyces avidinii* bakterisinden izole edilen bir tetramerik 60-kD ağırlığında avidin analogu olan, biyotini çok yüksek bir afinite ile bağlama yeteneğine sahip bir proteindir. Teorik olarak, bu afinite, antijenleri için çoğu antiköründen yaklaşık 10 kat daha yüksektir ve antijen-antikor bağlama olayının çok spesifik saptanmasını ve amplifikasyonunu sağlar [66]. Doğada hemen hemen benzeri olmayan yüksek bir afinite ile protein molü başına 4 mol biotine bağlanır ( $K_d \sim 10^{-15}$  mol/L) [67]. Şekil 7 'de streptavidinin yapısı görülmektedir.

Streptavidin, avidin üzerinde bulunan karbonhidrat yan zincirlerinden yoksundur ve biyolojik açıdan en yararlı olan nötraliteye daha yakın bir izoelektrik noktasına sahiptir [68]. Streptavidin, aynı zamanda moleküler biyoloji ve biyonanoteknolojide aşırı pH, sıcaklık, organik çözücüler, denatürantlar, deterjanlar ve proteolitik enzimlere karşı dirençli bir ajan olarak yaygın kullanılmaktadır.

Streptavidin-biotin sistemi hemen hemen her immünolojik teste dahil edilebilir, bu sayede bir antikor biyotine konjuge edilir ve daha sonra avidin veya streptavidin ile saptanır.

Biyotinlenmiş antikörleri sinyal amplifikasyonu ve artan hassasiyet için yüksek kaliteli hücrenin spesifik bileşenlerini boyamak için kullanılan floresan antikörler ve enzim çeşitlerine konjuge edilerek daha avantajlı hale getirilebilir [69].

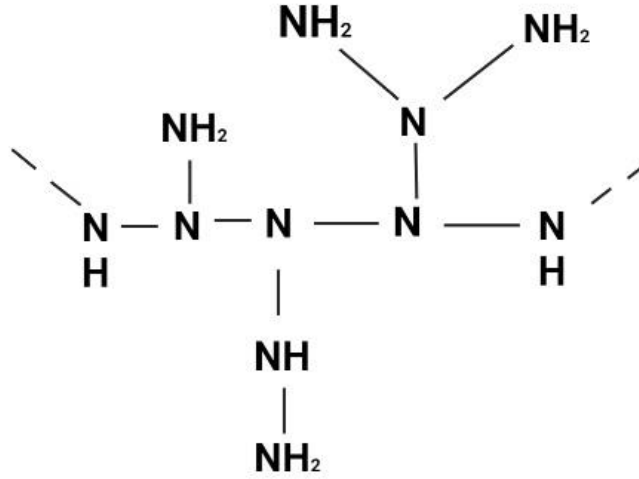


Şekil 7: Streptavidinin yapısı

## 2.6. Polietilenimin

Biyosensör performansını iyileştirmek için çeşitli stratejiler uygulanmıştır. Bunlardan biri, polietilenimin (PEI) durumunda olduğu gibi, enzimatik güçlendiriciler olarak işlev gören moleküllerin kullanımı ile ilgilidir.

PEI'nin, biyosensör performansında önemli bir gelişme sağlayan bir elektrostatik stabilizasyon ile enzim aktivitesini etkileyebildiği yaygın olarak gösterilmiştir [70]. PEI, hem KNT'lerin bağlanmasını sağlamakta hem de iletkenliğin artmasını sağlamaktadır. Bu şekilde daha hassas bir ölçüm almaya elverişli bir sensör oluşumuna imkan vermektedir. PEI'nin genel yapı formülü  $-(CH_2-CH_2-NH)_n-$  dir. Şekil 8'de PEI'nin dallanmış bağlı polimer yapısını gösterilmiştir. Bu çalışmalarda kullanılan PEI'nin ortalama molar kütlesi 2000 ve 60,000 g/mol civarındadır. PEI; su, metanol, etanol, n-propanol, izopropanol ve etil asetat içinde çözünürken, toluen ve ksilen içinde kısmen çözünür. PEI'nin önemli bir özelliği olarak, PEI moleküllerindeki nitrojen atomları güçlü elektron donörleridir ve bu nedenle organik adsorpsiyon için aktif merkezleri temsil ederler [71]. Sabitlenmiş PEI molekülleri KNT'ler üzerindeki koordinasyon yeteneğinden dolayı bir arayüz pasivasyon katmanı olarak da çalışır. Sistematik araştırmalar, arayüz yük transfer direncinin azaldığını ve perovskite filmdeki yüzey tuzak durumlarının pasifleştirildiğini ortaya koymaktadır [72].



**Şekil 8:** PEI'nin dallanmış-bağlı polimer yapısı

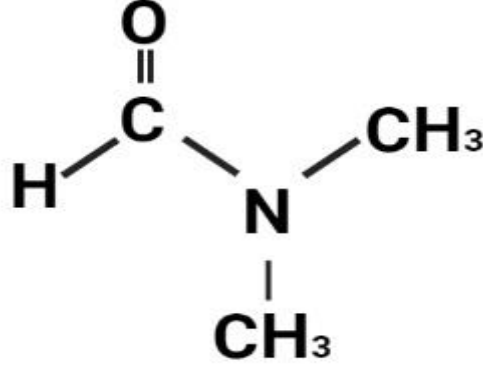
### 2.7. N,N-Dimetilformamid

N, N-Dimetilformamid (DMF),  $C_3H_7NO$  veya  $HCON(CH_3)_2$  formülüne sahip, formamid türevi bir organik bileşiktir (Şekil 9). Suda ve yaygın olarak kullanılan birçok organik çözücünde karışabilen, yüksek kaynama noktasına sahip renksiz, kokusuz bir sıvıdır.

Çoğu organik bileşiği çözen polar aprotik, ancak hidrofilik bir çözücüdür. Bu nedenle, mekanizmaları  $SN_2$  reaksiyonları gibi polar türler içerdiğinde organik reaksiyonlarda özellikle yararlıdır. Bu nedenle, DMF çoğunlukla, çok çeşitli organik dönüşümler için yararlı olan, nispeten düşük buharlaşma hızına sahip mükemmel bir polar çözücü olarak kullanılır [73]. Üstün çözücülük özelliğinden dolayı özellikle yüzey kaplamalarında tercih edilen mükemmel bir solventtir.

KNT'lerin işlenmesinde kritik adım, sentezlenmiş nanotüplerin homojen ve agrega içermeyen bir süspansiyonunun hazırlanmasıdır. Bunun için yaygın olarak ultrasonikasyon işlemine tabii tutulmaktadır. Kullanılan dağıtıcının, KNT'ler arasındaki güçlü *van der Waals* kuvvetinin üstesinden gelmesi ve daha sonra yeniden toplanmalarına direnmesi gerekir [74]. KNT dispersiyonlarının üretilmesi için kullanılan temel çözücüler; amidler, özellikle DMF ve Nmetilpirolidon (NMP)'dur. Yapılan çalışmalarda KNT'lerin homojen ve topak içermeyen dağılımlarını yapmak için en iyi yolun DMF kullanımı olduğu ortaya çıkmıştır. Bunun için DMF, KNT bazlı çalışmalarda iyi bir dağıtıcı olarak tercih edilmektedir. Stabil dispersiyonlar yapmak için, KNT'lerin yüzey enerjisini değiştiren, yapışma/ıslatma özelliklerini geliştiren ve

solventlerde topaklanma eğilimlerini azaltan yüzey aktif cisimleri, asit işlemleri ve kimyasal işlevselleştirme gibi yöntemlerde kullanılmaktadır.

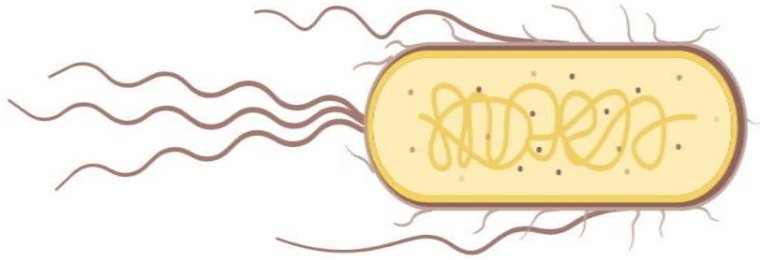


**Şekil 9:** DMF'nin kimyasal yapısı

### 2.8. *Escherichia coli*

Enterobacteriaceae bakteri ailesinin bir üyesi olan *Escherichia coli* (*E. coli*), insanların ve sıcakkanlı hayvanların gastrointestinal yollarının en yaygın komensalidir [75]. *E. coli*, paradoksal olarak, omurgalıların bağırsağında en sık görülen komensal aero-anaerobik gram-negatif basil ve hem intratestinal hem de ekstraintestinal enfeksiyonlardan sorumlu olan ana patojenlerden biridir. *E. coli* örneği Şekil 10'da gösterilmektedir. *E. coli*'nin birincil yaşam alanı, ev sahibi ile simbiyoz içinde yaşayan baskın aerobik organizma olduğu omurgalı bağırsağıdır [76]. Bununla birlikte bu bakterinin farklı suşları, birçok hastalığa sebep olduğu için en yaygın insan ve hayvan patojenlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Genellikle insan ve hayvanlardan dışkı veya atık su yoluyla çevreye boşaltılır. Çevresel sulara *E. coli*'nin varlığı su kirliliğinin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. *E. coli*, normalde insanlarda zararlı etki göstermezken hayvanlardan insanlara özellikle sularla geçen suşlar patojenik etki göstermektedirler. *E. coli* kaynaklı ishal hastalıkları sonucu yılda 1 milyondan fazla insanın öldüğü tahmin edilmektedir [77]. *E. coli*'nin iyi çalışılmış altı bağırsak patotipi vardır; Shiga toksini üreten *E. coli* (STEC), enteropatojenik *E. coli* (EPEC), enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), enteroagregatif *E. coli* (EAEC), yaygın olarak yapışık *E. coli* ve enteroinvaziv *E. coli* dahil Shigella suşları bunlardır. Bu suşlar, virülans özellikleri ve ishal gibi gastrointestinal hastalıklara neden olan patojenite mekanizmalarına göre sınıflandırılır [78]. Patojenik etki gösteren *E. coli* insanlarda; akut böbrek yetmezliği, sıklıkla ölüme yol açan hemolitik üremik sendrom (HÜS), hemorajik kolit, bağırsak dışı

hastalıklar, ishal, idrar yolu enfeksiyonları, solunum yolu enfeksiyonları gibi çeşitli hastalıklara ve birçok ülkede su ve gıda kaynaklı hastalıkların salgınlarına neden olmaktadır. İnsan sağlığı için bu kadar tehlikeli olabilen bu patojenin hassas ve hızlı bir şekilde tespit edilmesi gerekmektedir. Biyosensörler, gıda kaynaklı patojenlerin tespiti için hızlı yöntemlerin geliştirilmesinde büyük umut vaat etmektedirler ve son yıllarda oldukça yoğun bir şekilde araştırılmaktadırlar.



**Şekil 10:** *E. coli* örneği

## 2.9. Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi

Elektrokimyasal Empedans Spektroskopisi (EIS), bir sistemin karmaşık elektrik direncini analiz etmek için güçlü bir yöntemdir ve yüzey fenomenlerine ve kütle özelliklerindeki değişikliklere oldukça hassastır. Bu nedenle elektrokimyasal araştırmalarda tercih edilen ve sıklıkla kullanılan değerli bir yöntemdir. Kullanımının ilk örnekleri 1980'lerin sonuna dayanmaktadır. Fakat, enstrümantasyonda kaydedilen ilerlemeler sebebiyle gittikçe artan bir uygulama alanı bulmuştur. Örneğin, korozyon mekanizmalarının aydınlatılması, membranlar ve membran/çözelti arayüzleri boyunca yük taşınmasının karakterizasyonu ve pillerin optimizasyonu için yoğun olarak kullanılmıştır. Biyosensörler alanında ve biyo-tanıma süreçlerinin tespitinin yanı sıra, transdüser üzerinde biyomoleküllerin immobilizasyonu sırasında meydana gelen olaylar gibi yüzey modifikasyonlarını karakterize etmek için tercih edilen değerli bir yöntemdir. Biyosensörlerin geliştirilmesi, biyomoleküllerin özel bağlanma ve etkileşimlerinin belirlenmesi ve analizlerinde giderek artan bir uygulama alanı bulmuştur. Ve bununla birlikte, biyosensör karakterizasyon ve fabrikasyonu EIS ile gerçekleştirilebilmektedir. Bu teknik, biyomolekülleri floresan boyalar, enzimler, redoks veya radyoaktif etiketlerle değiştirme ihtiyacını ortadan kaldırdığı için biyoanalizde özel bir ilgi uyandıran etiketsiz tespit için doğal bir potansiyele sahiptir. DNA, antijenler veya antikörlerin saptanması için birçok uygulama örneği literatürde gösterilmiştir. Bununla

birlikte, çok düşük analit konsantrasyonları ile tanımlanmış bir yanıt elde etmek için genellikle bir amplifikasyon adımı (sinyal güçlendirmeyi elde etmek için) gereklidir. Bir sistemin empedansı genellikle küçük bir genlikli potansiyel uygulanması ve akım cevabının belirlenmesiyle tayin edilir. Biyolojik bir materyali, örneğin antikorları veya hücreleri karakterize etmek için, elektrotlar sisteme dahil edilmeli, böylece bir elektrokimyasal hücre oluşturulmalıdır. Bir ac voltaj pertürbasyonu uygulandıktan sonra, akım sistemin tüm bileşenlerinden (çalışma elektrotu, biyolojik malzeme, çözelti ve karşı elektrot) akmaya zorlanır. Ölçülen empedans, tüm bireysel katkıların toplamıdır. Ölçüm prosesleri, reseptör biyomolekül ile analit arasında oluşan algılama yüzeyinin, elektronik transduserin elektriksel özelliklerini direkt veya indirekt şekilde değiştirmesine dayanır. Antijen-antikor veya DNA-DNA etkileşimleri gibi sınırlı katalitik aktiviteye sahip bileşiklerin analizi için geliştirilen EIS temelli biyosensörlerin sayısı literatürde her geçen gün daha da artmaktadır. Son yıllarda EIS, birçok kimyasal ve fiziksel proseslerin çalışılmasında da kullanılan, analitik çözümler sunan çok etkili bir yöntem haline gelmiştir. Enzim-substrat etkileşimlerinin tersine, bağlanmadan sonra herhangi bir reaksiyonun meydana gelmediği antijen-antikor veya DNA-DNA, protein-protein gibi afinite etkileşimlerinden sonra yük transfer değişimleri meydana gelir ve bu değişimler EIS ile çok etkili bir şekilde izlenebilir [79-81].

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereçler

Distile Su Cihazı (GFL)

Empedans Spektroskopu (HF2IS)

Fırın (Nüve ev 018)

FTIR (Shimadzu IRAffinity-1S)

Hassas Terazı (Metler)

Manyetik Çalkalayıcı (Biosan)

pH Metre (Hanna)

Sonikatör (Transsonic T460/H)

Ters Mikroskop (Olympus)

TEM Jeol 2100 F ( RTEM) ve Hitachi HT-7700

#### 3.2. Kimyasal Maddeler

Agar tozu (Himedia)

Bradford Reaktifi

Branched polyethylenimine solution (Sigma)

CaCl<sub>2</sub> (Merck)

*E. coli* OP 50 İzolatı (Fisher Scientific, Catalog No: S29021)

Kolesterol (Sigma)

NaCl (Carlo Erba, 368257)

N,N-Dimethylformamide anhydrous, 99.8% (Sigma)

Streptavidin (Thermo)

#### 3.3. Çalışmalarda Kullanılan Eriyikler

##### 3.3.1. Bakteri üretimi için LB Agar ve hazırlama

Luria-Bertani (LB) Broth

Bacto tyrtone 10 g

Bacto yeast 10 g

NaCl 5 g

1 M NaOH, pH 7,5

dH<sub>2</sub>O ile 1 L'ye tamamlanır

Luria-Bertani (LB) Agar

Bacto tryotone 10 g

Bacto yeast 5 g

NaCl 5 g

Agar 15 g

1M NaOH, pH 7,5

1 lt'ye dH<sub>2</sub>O ile tamamlanır

### **3.3.2. Antikorlar**

Biotin Anti-*E. coli* antikor (Abcam)

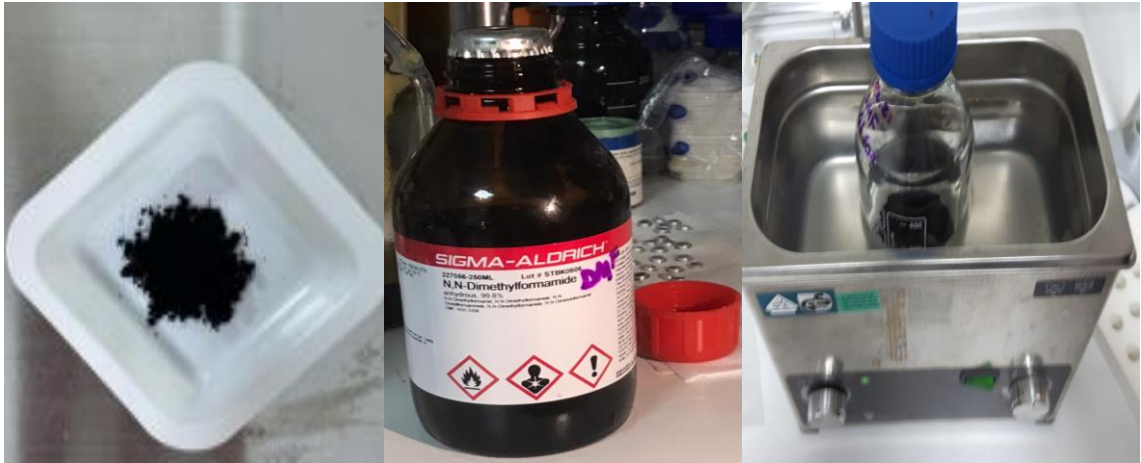
### 3.4. YÖNTEMLER

#### 3.4.1. Kullanılan KNT'ler

Çalışma da kullanılan KNT'ler Orta Doğu Teknik Üniversitesi (ODTÜ) Teknokent'te faaliyet gösteren Nanografi firmasından temin edilmiştir. Temin edilen kısı, saf KNT'ler asitle muamele edilerek işlevsel hale getirilmiştir. İşlevselleştirme için % 98 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ve % 68 HNO<sub>3</sub> alınıp distile su ile 1/1 oranında dilüe edilmiştir. Ardından 80°C'de geri akış işlemi 10 saat uygulanmıştır. Daha sonra KNT'ler distile su ile yıkayıp 24 saat 80°C'de kurumaya bırakılmıştır. KNT'ler TEM, Raman ve FTIR analizleri sonrası karakterize edilmiştir [2].

#### 3.4.2. KNT'lerin Dispersiyonu

KNT'lerin disperse olmasını sağlamak amacıyla 20 ml DMF içine 2 mg KNT eklenerek 0,1 mg/ml konsantrasyonda DMF-KNT karışımı hazırlandı ve 4 saat boyunca Transsonic T460/H marka sonikatörde 35 kHz HF-Frekansta çözünmesi sağlandı. Disperse aşamaları Şekil 11'de görüldüğü gibi yapılmıştır.



Şekil 11: KNT'lerin DMF ile disperse edilmesi

### 3.4.3. Tungsten Tellerin Kaplanması

Tungsten teller 50 mikrometre  $\phi$ ında ve 0.02 g/m ağırlığında ve % 3-5 kütle oranında altın içermektedir. Teller 5'er cm uzunluğunda kesildikten sonra % 70 alkol ile steril edilmiştir (Şekil 12). Tungsten tellere karbon nanotüplerin bağlanabilmesi için bir ara yüzey oluşturulması gerekmektedir. Bunun için tellerin yüzeyi PEI ile kaplandı. Eşit hacimde PEI (7,5 g) ve dH<sub>2</sub>O içeren solüsyon hazırlandı. Tungsten tellerin yüzeylerinin PEI ile etkileşimi 15 dk. oda sıcaklığında 15 rpm'de çalkalayıcı da sağlandı (Şekil 13).



Şekil 12: Tungsten tellerin hazırlanması



Şekil 13: Tungsten tellerin PEI ile kaplanması

Yüzeyleri PEI kaplanmış olan tungsten teller 150°C’de fırında 10 dk. kurutuldu. Fırınlama işlemi sonrasında teller laboratuvar ortamında, oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı (Şekil 14).

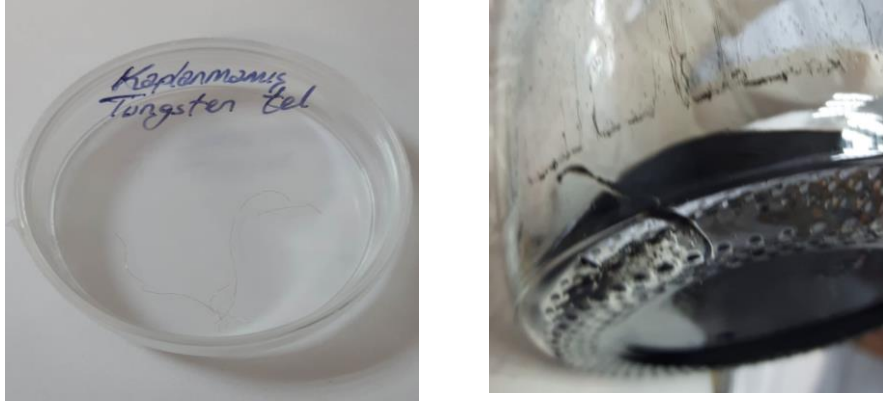


**Şekil 14:** KNT’lerin fırınlanması ve soğutulması

Yüzeyleri PEI ile kaplanmış olan teller soğutma işlemi tamamlandıktan sonra, sonikasyon işlemi ile çözündürülen KNT’ler ile kaplanmaya çalışılmıştır. Tellerin kaplanması 15 dk. süre ile KNT-DMF karışımında çalkalayıcıda tutularak yapılmış, daha sonra 12 saat boyunca 150°C’de fırında kurutma ile tamamlanmıştır. Bu sayede tellerin karbon nanotüpler ile bağlanıp, kaplanması sağlandı. Teller kaplanarak çalışmada kullanılabilir hale getirildi.

#### **3.4.4. KNT Kaplı Tellerin TEM ve SEM Analizi**

Tellerin yüzeyinin KNT’lerle kaplanmasını belirlemek için hem kaplanmamış tungsten tel hem de kaplanmış teller analiz için hazırlandı (Şekil 15). ODTÜ MERLAB’ tan hizmet alımı yapılarak tellerin SEM görüntüleri alındı. TEM görüntüleri Jeol 2100 F (200 kV RTEM) ve Hitachi HT-7700 (120 kV) cihazları kullanılarak elde edildi. Görüntüler kontrol olarak nanotüpler ve tungsten tel, PEI kaplı tungsten tel ve nanotüp kaplı tungsten telden alınmıştır.



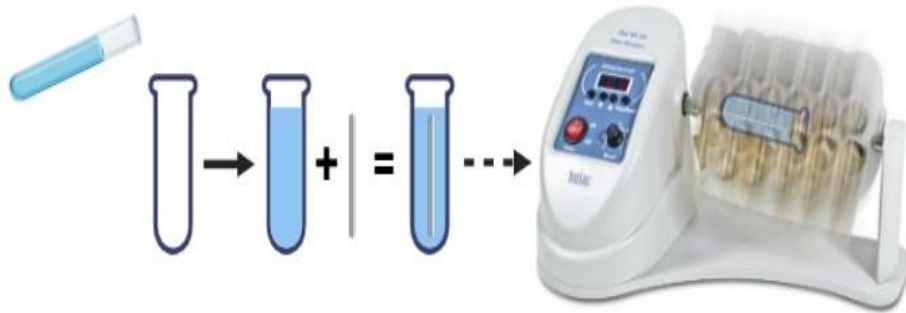
**Şekil 15:** Tellerin SEM analizi için hazırlanması ve KNT kaplanması

#### 3.4.5. Tellerin Streptavidin ile Muamele Edilmesi

PEI kaplı tellerin streptavidin ile kaplanması için 40  $\mu\text{L}$  streptavidin / 160  $\mu\text{L}$  distile su oranında solüsyon hazırlandı. Teller solüsyonun içine daldırılıp  $+4^\circ\text{C}$ 'de çalkalayıcıda 12 saat boyunca bırakıldı ve streptavidinin bağlanması sağlandı.

#### 3.4.6. Tellerin Anti-*E. coli* Antikor ile Kaplanması

Streptavidin ile muamele edilen teller; Anti-*E. coli* Antikor ile kaplanması için 20  $\mu\text{L}$  Anti-*E. coli* Antikor / 480  $\mu\text{L}$  distile su oranında hazırlanan solüsyona bırakılıp  $+4^\circ\text{C}$ 'de 12 saat çalkalayıcıda (Şekil 16) tutuldu.



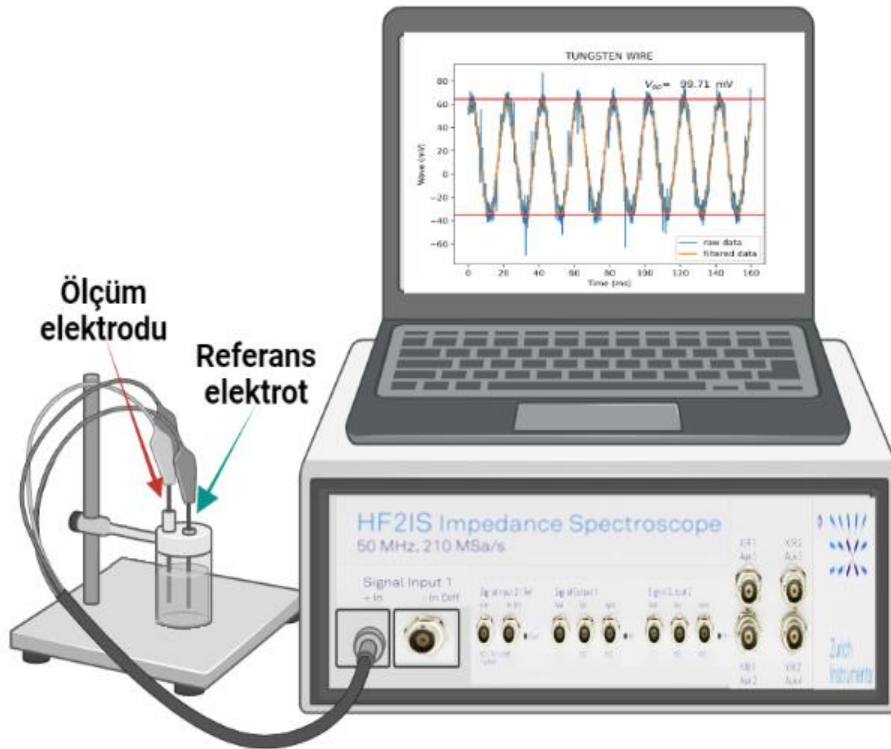
**Şekil 16:** Tellerin kaplanması için uygulanan metod

### 3.4.7. FTIR Analizi

FTIR spektrumları Shimadzu IRAffinity-1S sistemi ile elde edildi. Ölçümler tungsten tel, PEI kaplı tungsten tel, nanotüp kaplı tungsten ve son olarak antikor kaplı elektrot telinden yapılmıştır. FTIR ölçümleri Altınbaş Üniversitesi'nde alındı.

### 3.4.8. Sensör Tellerinin Akım-Direnç Ölçümlerinin Alınması

Tellerin akım-direnç ölçümleri İstanbul Teknik Üniversitesi Elektrik-Elektronik, Kontrol ve Otomasyon Mühendisliği Bölümü laboratuvarlarında Zurich Instruments-HF2IS Empedans Spektroskopi kullanılarak 1 V - 50 Hertz frekans değerleri altında gerçekleştirildi. Tungsten tel referans elektrot olarak alındı ve bu şekilde ölçüm elektrodu olarak kullanılacak sensör (nanotüp ve antikor kaplı) telinin ölçümü alındı. Ardından ölçüm elektrodunun *E. coli* K-12 suşu ile muamele edilmesiyle sensör sisteminin ölçümleri alındı. İlk ölçüm *E. coli* K-12 suşundan 175 CFU/mL alınıp ölçüm elektroduna damlatılmasıyla yapıldı. Daha sonra doyuma ulaşana kadar *E. coli* K-12 miktarı artırılarak ölçümlerin alınmasına devam edildi. Bakteri doyumuna 1225 CFU/mL *E. coli* K-12 suşu eklendiğinde ulaşıldı ve ölçümler tamamlandı. Ölçümler Şekil 17'de görülen sistemle gerçekleştirildi.

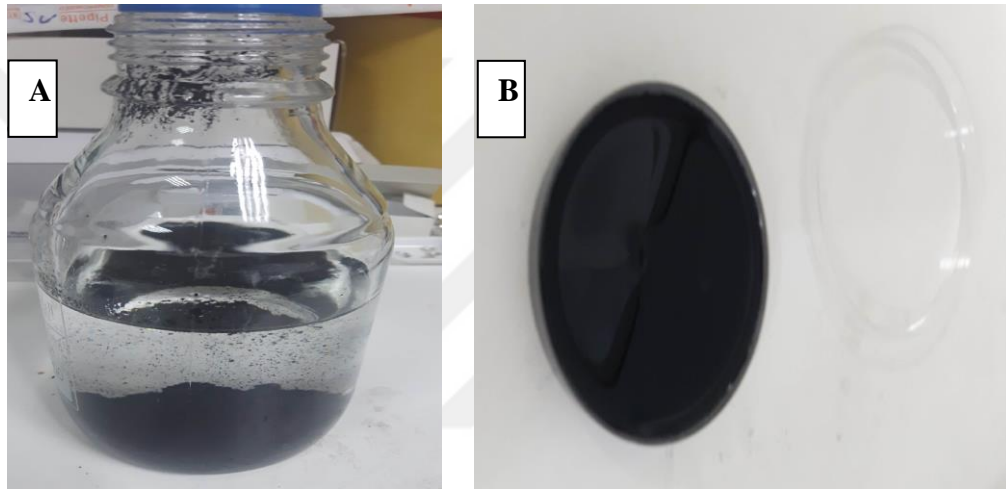


Şekil 17: Sensör ölçüm sistemi

## 4. BULGULAR

### 4.1. KNT'lerin Dispersiyonu

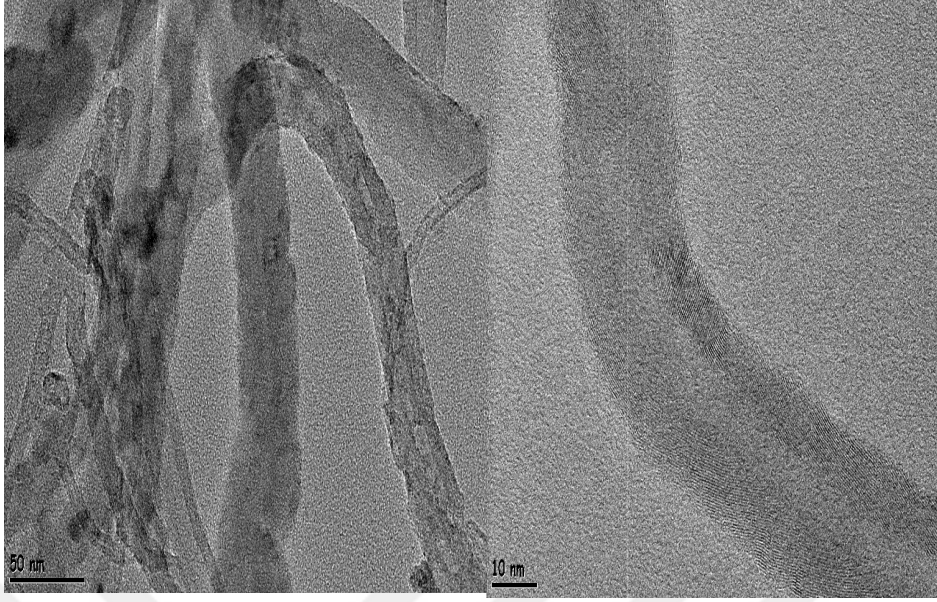
Fonksiyonel hale getirilmiş ve karakterizasyonu yapılmış KNT'ler DMF ile karıştırılmıştır (Şekil 18: A). KNT'ler metaryal metot bölümünde anlatıldığı gibi sonikasyon işlemi sonucunda tamamen disperse oldukları görülmüştür. Disperse edilen KNT'ler çalışma da kullanılmak üzere petri kabına dökülmüştür (Şekil 18 B). Kalan disperse KNT'ler sonraki çalışmalar için uygun koşullarda saklanmıştır.



**Şekil 18:** KNT'lerin disperse edilmesi: A) Dispersiyon öncesi DMF-KNT karışımı, B) Disperse edilen KNT'ler

### 4.2. TEM Analizi Sonuçları

Elektrot immobilizasyonundan önce, ÇDNT'lerin TEM görüntüleri alınmış ve çok duvarlı yapıları, asit muamelesinden kaynaklanan yüzey kusurları, çap ve uzunluk aralığı doğrulanmıştır (Şekil 19).

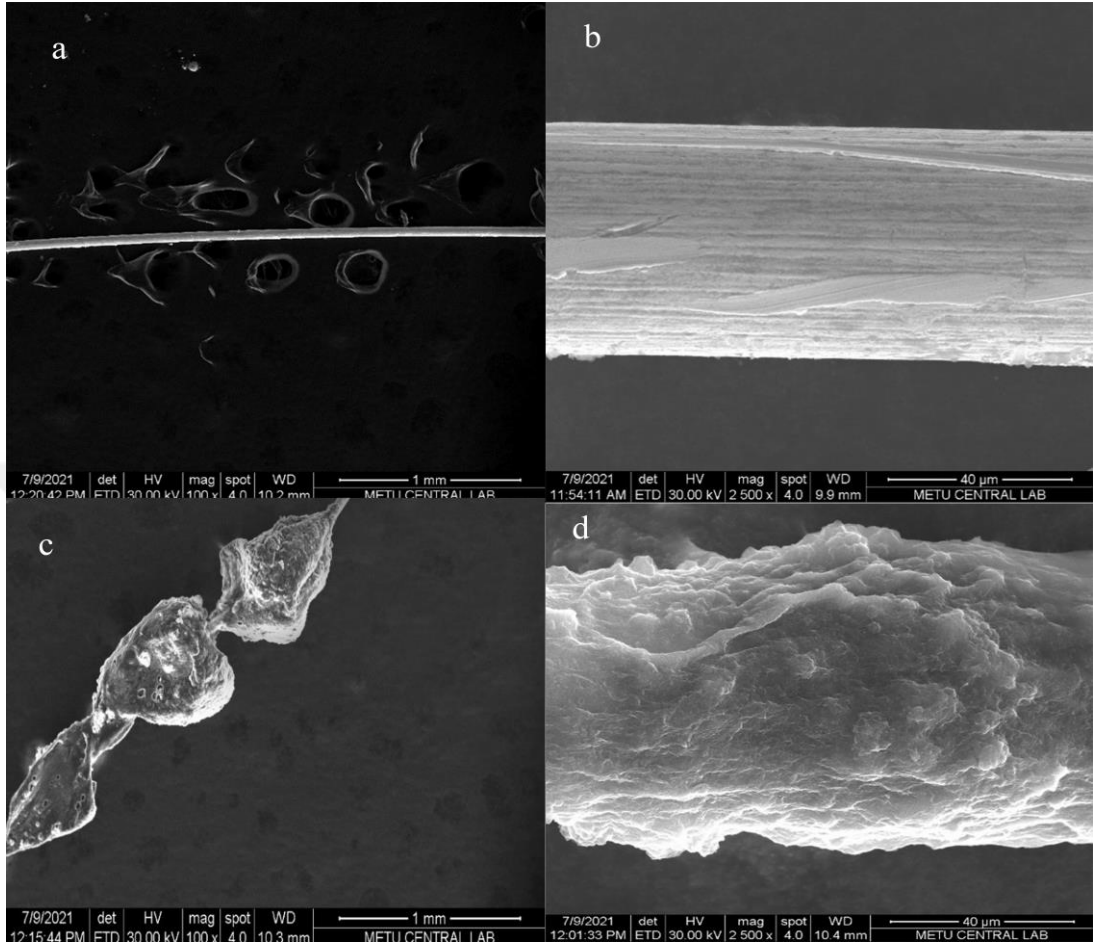


**Şekil 19:** Çok duvarlı karbon nanotüplerin TEM görüntüleri: Çok duvarlı yapı ve yüzey kusurları, 10 nm'de çap

#### 4.3. KNT Kaplı Tellerin SEM Analizi

Tellerin yüzeyinin KNT'lerle kaplanmasını belirlemek için hem kaplanmamış tungsten tel hem de kaplanmış teller analiz için hazırlandı. ODTÜ MERLAB'tan hizmet alımı yapılarak tellerin SEM görüntüleri alındı ve kaplamanın homojen şekilde gerçekleştiği görüldü.

Şekil 20'de farklı büyütme altında yüzey modifikasyonundan önce ve sonra elektrotun SEM görüntülerini göstermektedir. Yüzey gözlemleri yoluyla, 50  $\mu\text{m}$  çapındaki bozulmamış tel (Şekil 20 A-B), yüzeyde toplanan KNT kümeleri ve yaklaşık 10  $\mu\text{m}$  PEI-ÇDNT kaplı elektrotun kalınlaşması gösterildi (Şekil 20 C-D).



**Şekil 20:** Tungsten telin ve PEI/KNT kaplı tungsten telinin SEM görüntüleri

A) Tungsten tel B) Yarıçapı doğrulayan 40 μm'deki SEM görüntüsü

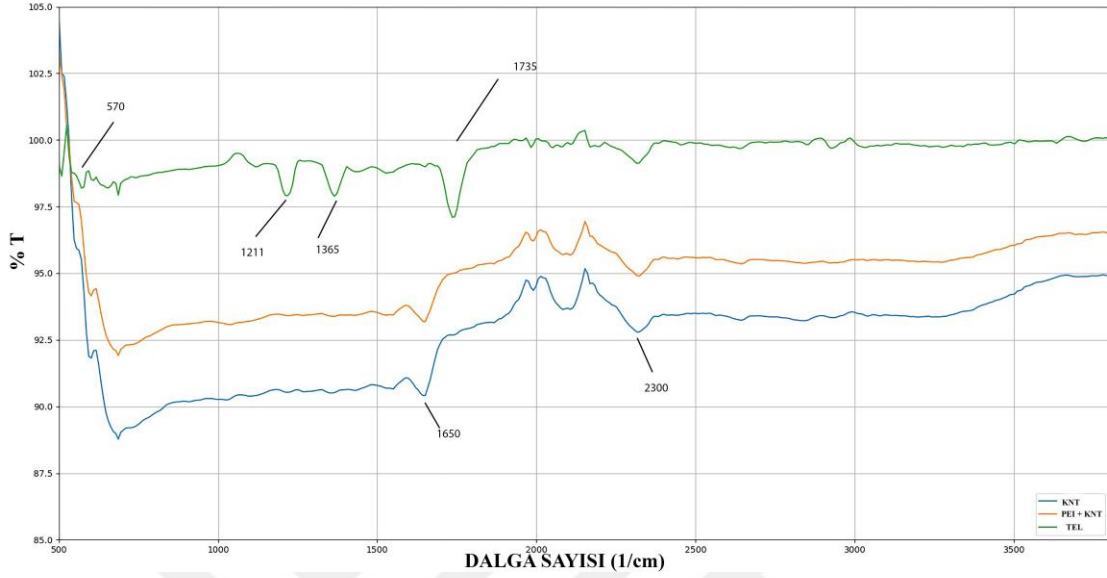
C) PEI uygulandıktan sonra elektrot yüzeyindeki nanotüplerin görüntüsü

D) Elektrot nanotüp ile kaplandıktan sonraki görüntü

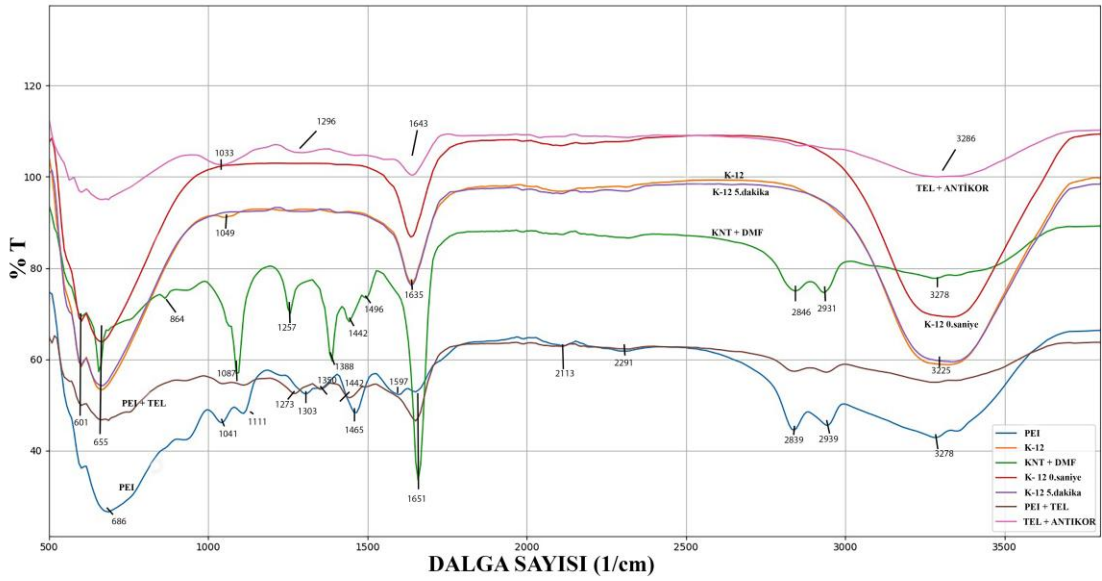
#### 4.4. FTIR Analizi Sonuçları

Tungsten tel, ÇDNT ve PEI-ÇDNT'nin FT-IR spektrumu Şekil 21'de gösterilmektedir. PEI'ye ait parmak izi bölgesi 1800 ile 680  $\text{cm}^{-1}$  arasında yer almaktadır. KNT, PEI, PEI-tel, PEI-KNT'ye ait parmak izi bölgeleri Şekil 21 ve 22 'de görülmektedir. PEI'ye ait karakteristik tepeler için, C-N germe bölgesine ait pik 1303  $\text{cm}^{-1}$ 'de, 1111  $\text{cm}^{-1}$ 'de C-O-C aromatik ether bölgesine ait pik ve C-N bükme bölgesine ait pik 686  $\text{cm}^{-1}$ 'de ortaya çıkmaktadır [82]. Ayrıca KNT'ye özgü CC germe modları 2300-2100  $\text{cm}^{-1}$  aralığında ortaya çıkan tepelere, C-O-C titreşimsel esneme ise

1650  $\text{cm}^{-1}$ 'de ortaya çıkan tepelere atf edilebilir [2]. 1700-1200  $\text{cm}^{-1}$  arasında, altın içeren tungsten tel için ortaya çıkan parmak izi bölgesi görülmektedir [83].



Şekil 21: Tungsten tel, KNT, PEI - KNT kaplı tungsten telin FTIR spektrumları



Şekil 22: Biyosensörün FTIR spektrumları

PEI -, *E. coli* K-12 suşu (K12), KNT + DMF karışımı (KNT+DMF), PEI kaplı tel (PEI+Tel), PEI+KNT+Antikor Kaplı tel (TEL+Antikor), PEI+KNT+ Antikor kaplı telin üzerine *E. coli* damlatıldığında (K12- 0 sn), PEI+KNT+ Antikor kaplı telin üzerine *E. coli* damlatıldıktan 5 dk. sonra (K12-5 dk.) FTIR spektrumları.

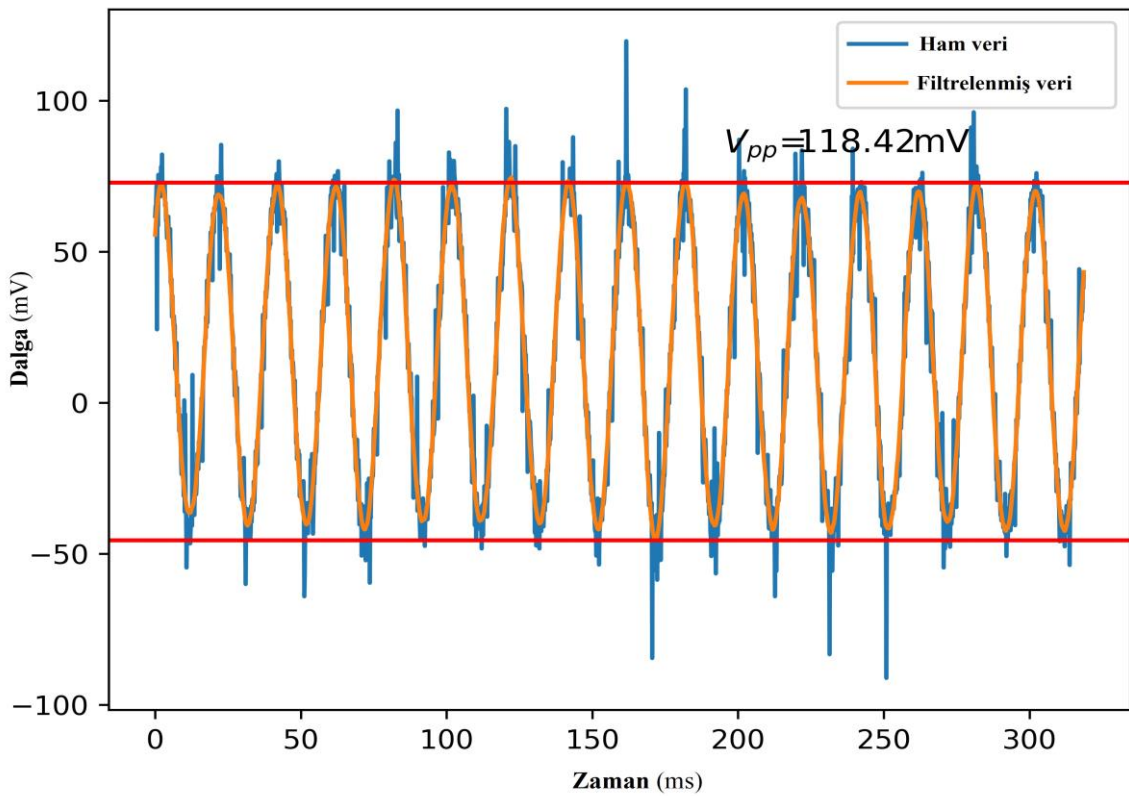
*E. coli* 'nin FTIR spektrumundaki 1635'teki tepe noktası, amid I bölgesidir ve etkileşen proteinlerin C=O titreşim modundan kaynaklanır [84]. 1049'daki pik, bakteriyel proteinlerin pikidir. 3325' teki pik, *E. coli* nükleik asitleri tarafından ortaya çıkarılan piklerdir ve N-H gerilmesine atfedilmiştir [85, 86]. 1651, 1465  $\text{cm}^{-1}$ 'deki pikler, tipik imid karbonil asimetrik ve simetrik gerilmenin sonuçlarıdır, 1303 ve 686  $\text{cm}^{-1}$ , PEI spektrumu için C-N gerilmesini ve bükülmesini gösterir [82].

#### 4.5. Sensör Tellerinin Akım-Direnç Ölçümleri

Vücudumuzda hastalığa sebep olabilecek bir patojenin, virüsün veya bakterinin varlığının hızlı tespiti tedavinin çabuk başlamasına ve hızlı iyileşmeye sebep olacaktır. Kan, idrar veya bir başka metabolitle yapılan analizlerin sonuçlarının çıkması kullanılan yöntemlere bağlı olarak saatler hatta günler alabilmektedir. Teşhis konulamadığından gerekli tedaviye tam başlanamamaktadır. Bu nedenle, hastanın sağlık durumu kötüye gidebilmektedir. Tayin duyarlılığı yüksek, ucuz, kullanımı rahat, az bir miktar metabolitle analiz yapabilen biyosensör sistemleri bu problemi ortadan kaldıracaktır. Günümüzde, başta sağlık olmak üzere; tarım, gıda, eczacılık, çevre kirliliği ve savunma sanayii gibi birçok alanda biyosensör kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Bu çalışmada, ölçüm elektroduna immobilize edilmiş biyolojik materyalle sadece *E. coli* bakterisine karşı hassas ve üst düzey duyarlı ideal bir biyosensör geliştirilmiştir. En küçük konsantrasyonlarda bile hassas ölçümlerin alınmasına ve tayin duyarlılığının yüksek olması için ölçümler EIS sistemi ile alınmıştır. EIS; biyosensörler, elektrokimya, tıp, malzeme bilimi gibi birçok uygulama alanında kullanılan oldukça hassas ve güçlü bir ölçüm yöntemidir. Uygulanan ideal bir alternatif akıma karşı olan direncin ölçüsüyle empedans belirlenir. Farklı voltaj değerlerinde ölçümler alınmış, gürültüsüz ve net ölçümler Empedans Spektroskopu kullanılarak 1 V - 50 Hertz frekans değerleri altında gerçekleştirilmiştir. Ölçümler sonucunda; Dalga (mV) ve Zaman (ms) olarak alınarak grafikler elde edildi. Ham veriler python programıyla gürültüden arındırılarak filtrelenmiş veriler elde edildi. Aynı şekilde filtrelenmiş verilerden  $V_{pp}$  değeri de python programı yardımıyla hesaplandı. İlk başta referans elektrodu olarak alınan tungsten telin ölçümü yapıldı. Daha sonra PEI kaplı tungsten telin ölçümü alındı. Ardından Anti-*E. coli* antikor ile immobilize edilmiş sensör telinin ölçümü alındı. Sensör telinin *E. coli* ile muamele edilmesine ortama 175 CFU/mL *E. coli* K-12 bakterisinden eklenmesiyle

birinci ölçüm alındı. Daha sonra her defasında 175 CFU/mL eklenerek sırasıyla; 350 CFU/mL, 525 CFU/mL, 700 CFU/mL, 875 CFU/mL, 1050 CFU/mL ve 1225 CFU/mL *E. coli* K-12 için ölçümler alındı. Ölçüm ortamında sırasıyla toplam 1400 CFU/mL, 1575 CFU/mL ve 1750 CFU/mL *E. coli* K-12 bakterisi varken doyuma ulaşıldığı ve herhangi bir değişiklik olmadığı görüldü. Daha sonra tekrarlanan ölçümlerde ortama 175 CFU/mL *E. coli* K-12 bakterisi eklenerek ölçümlere başlandı ve 1225 CFU/mL *E. coli* K-12 eklenmesiyle ölçümler sonlandırıldı. Her defasında tutarlı ve benzer sonuçlar elde edildi.

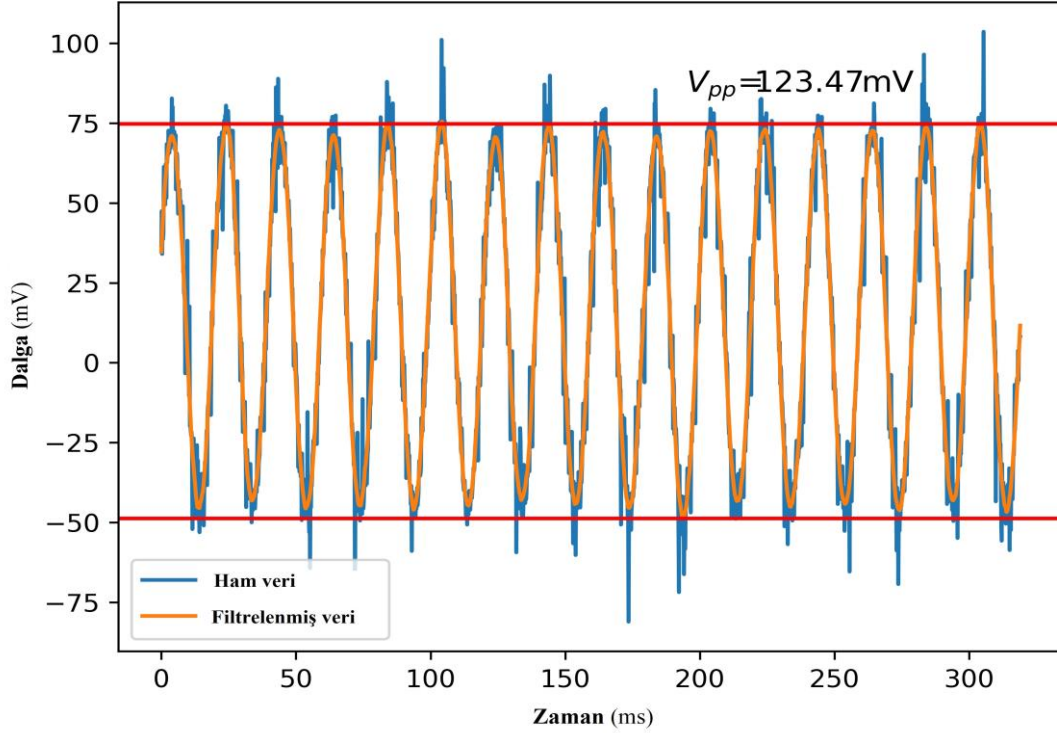
Referans elektrodu olarak alınan tungsten telin ölçüm sonucunda  $V_{pp}=118,42$  mV olarak elde edilmiştir. Şekil 23'te ölçüm grafiği görülmektedir.



**Şekil 23:** Tungsten tel ölçüm grafiği

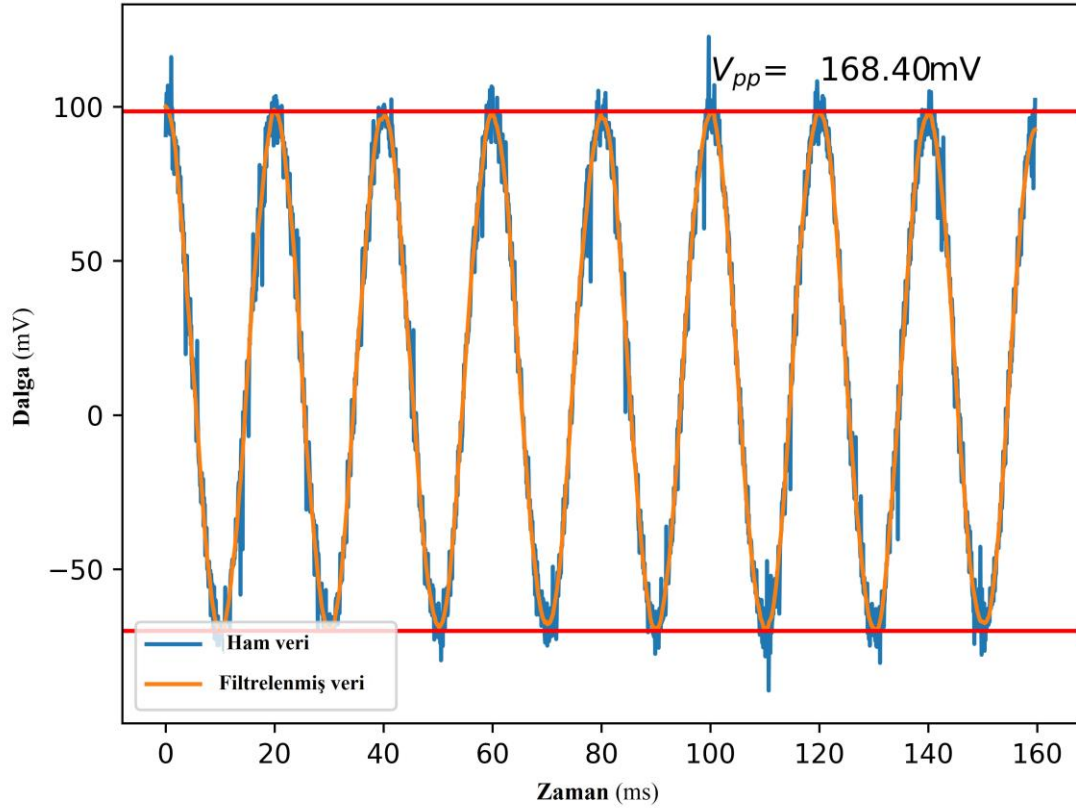
Elektrot iletkenliğinin artırılması ve tungsten telin ÇDNT kaplanması için PEI kullanılmıştır. Şekil 24'te görüldüğü gibi referans elektroduna göre alınan  $V_{pp}$  değeri artmıştır. PEI' siz referans elektrodu ölçümünde  $V_{pp}=118,42$  mV olarak alınmış ve PEI kaplı tungsten telde ise  $V_{pp}=123,47$  mV olarak ölçülmüştür. PEI kaplanmasıyla

iletkenlik 5,05 mV artmıştır. Böylece aynı anda hem iletkenlik artırılmış hem de kaplama işlemi başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.



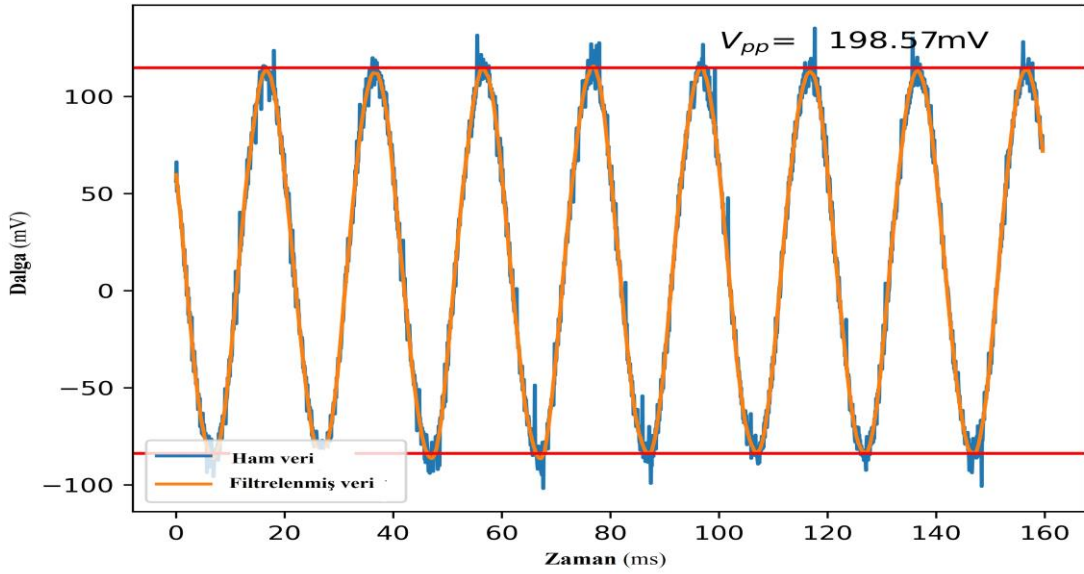
**Şekil 24:** PEI kaplı tungsten tel ölçüm grafiği

Ölçüme Anti-*E. coli* antikor ile immobilize edilmiş sensör teli ile devam edildi. PEI kaplı tungsten telin verdiği değerden daha yüksek bir değer alınması beklenmekteydi. Ölçüm sonucunda  $V_{pp}=168,40$  mV olarak ölçüldü (Şekil 25). Bir önceki ölçüme göre  $V_{pp}$  değeri 44,93 mV artış gösterdi. Bu artış sensör telinin tamamen Anti-*E. coli* antikor ile immobilize edildiğini de göstermiş oldu. Sensör teli başarılı bir şekilde antikor ile kaplandı ve *E. coli* K-12 bakterisi ile muamele edilmeye hazır hale geldiği görüldü.



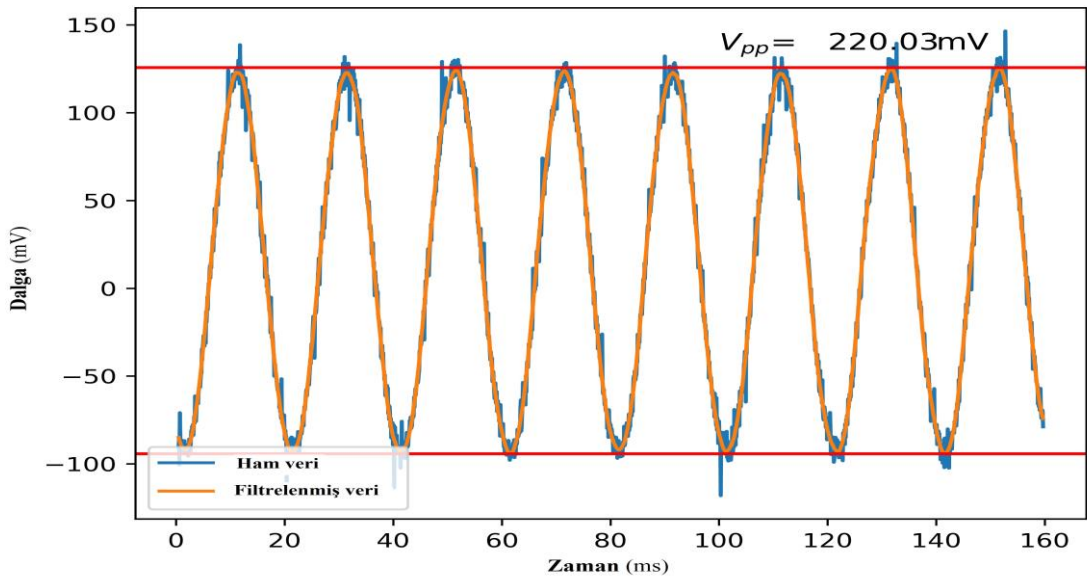
**Şekil 25:** Antikor kaplı tungsten tel ölçüm grafiği

Sensör telininin çalışmasının test edilmesine ortama 175 CFU/mL *E. coli* K-12 bakterisi eklenmesiyle başlandı. Burada sensörün çalışması, etkileşim sonucunun bilgisayara aktarım hızıyla hassasiyetinin belirlenmesi ve az bir miktara duyarlılığının tespiti yapıldı. Ortama bakteri eklendikten sonra kısa sürede (5 sn) bilgisayar ekranında etkileşimin olduğu alınan grafikte görüldü. Tayin duyarlılığının oldukça hassas olduğu tespit edildi. Çok az bir miktardaki analite karşı anında cevap oluşturması sensör sisteminin ideal çalıştığını göstermiş oldu. Şekil 26'da görüldüğü gibi  $V_{pp}=198,57$  mV olarak alındı.  $V_{pp}$  değeri 30,17 mV gibi yüksek bir artış gösterdi. Bu da geliştirdiğimiz sensör sisteminin hassasiyeti ve duyarlılığını ispat etmiş oldu. Biyosensör cevabının elde edilebileceği optimum immobilizasyon koşulları da tespit edildi.



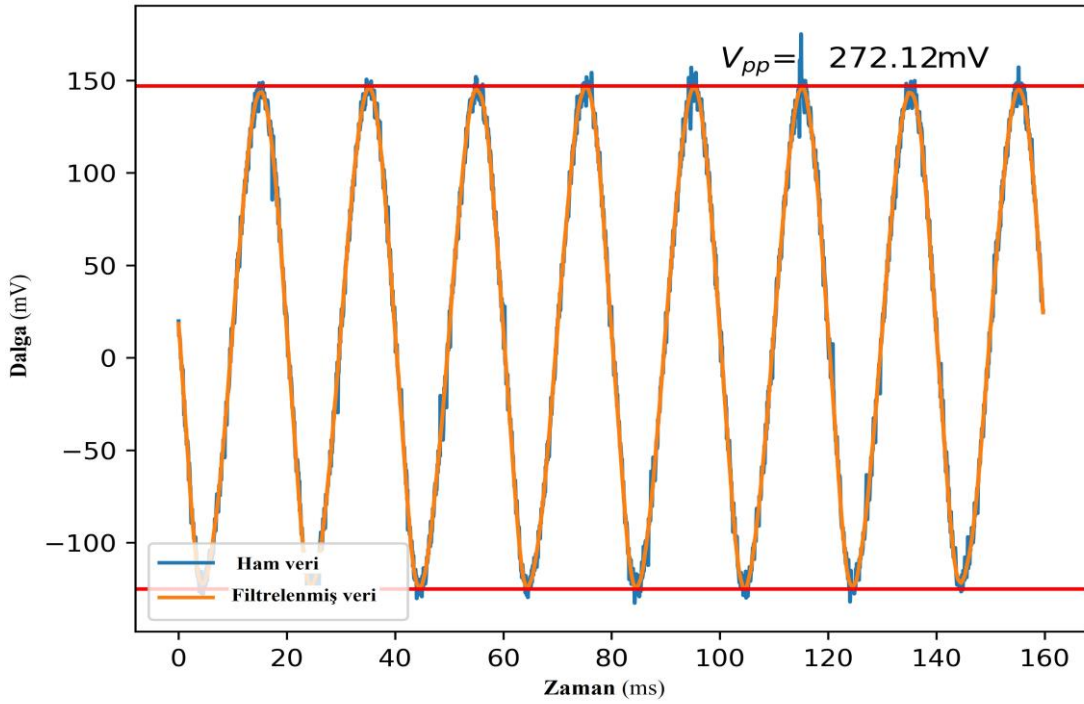
**Şekil 26:** Artan konsantrasyonlarda *E. coli* K-12 etkileşim grafiği 1.adım: 175 CFU/mL

Ölçüm ortamına 175 CFU/mL daha *E. coli* K-12 bakterisi eklenerek devam edildi. Ölçüm sonucunda artan konsantrasyona bağlı olarak  $V_{pp}$  değerinin artması bekleniyordu. Şekil 27'de görüldüğü gibi  $V_{pp}=220,03$  mV olarak ölçüldü. Artan konsantrasyonla  $V_{pp}$  değeri 21,46 mV artış gösterdi.



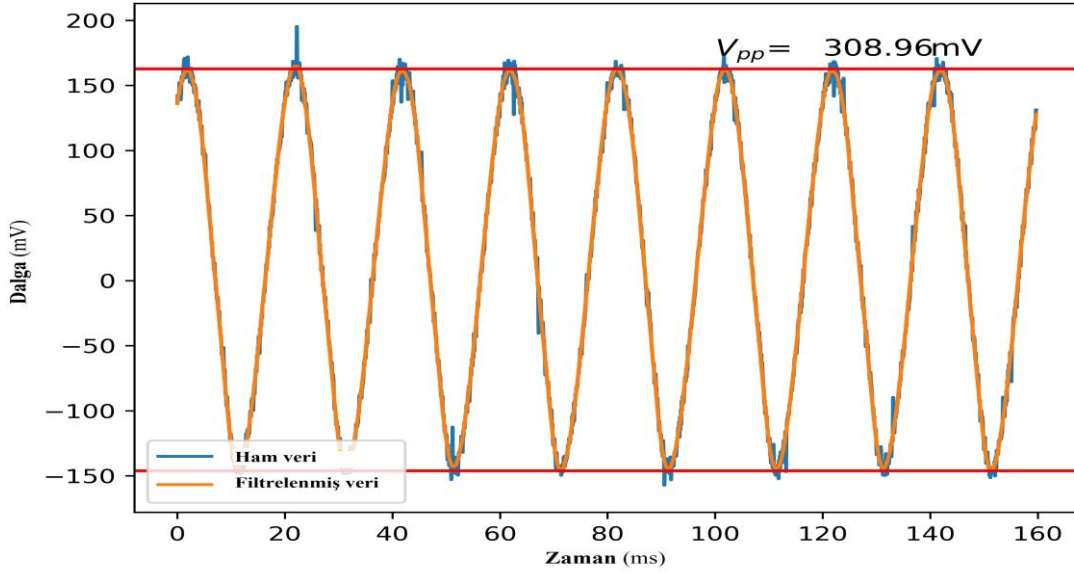
**Şekil 27:** Artan konsantrasyonlarda *E. coli* K-12 etkileşim grafiği 2.adım: 350 CFU/mL

Ortama 525 CFU/mL *E. coli* K-12 bakterisi eklenmişken ölçüm alınmaya devam edildi. Ölçüm sonucunda beklenildiği gibi konsantrasyona bağlı olarak  $V_{pp}$  değerinin giderek arttığı görüldü. Konsantrasyon artışıyla daha belirgin artış ve değerler alındı.  $V_{pp}=272,12$  mV olarak ölçüldü (Şekil 28). Bir önceki konsantrasyona göre (350 CFU/mL *E. coli* K-12)  $V_{pp}$  değeri 52,09 mV'luk büyük bir artış gösterdi.



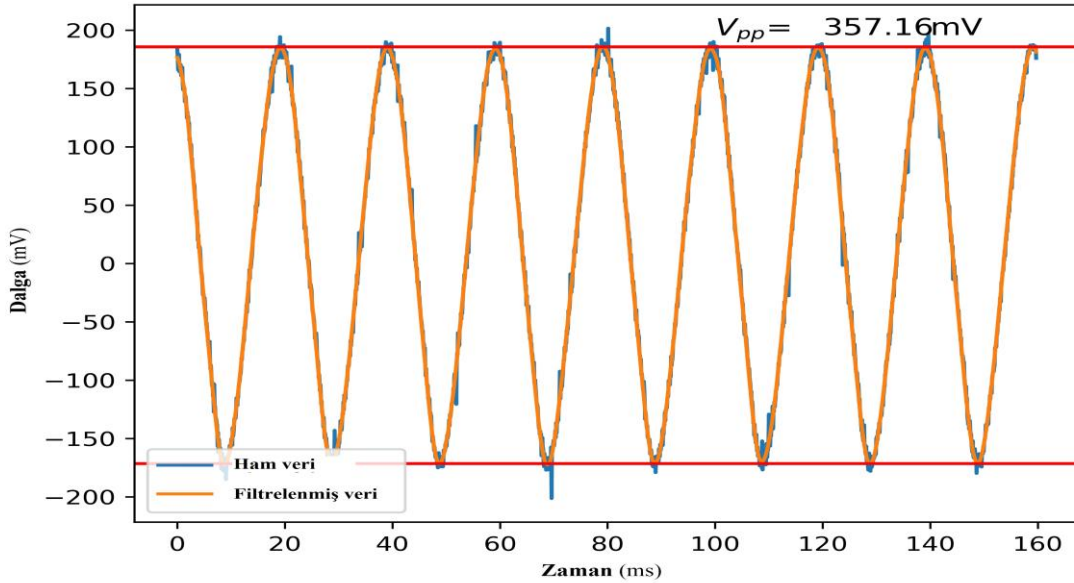
**Şekil 28:** Artan konsantrasyonlarda *E. coli* K-12 etkileşim grafiği 3.adım: 525 CFU/mL

Ortama 175 CFU/mL *E. coli* K-12 bakterisi daha eklenerek ortamda toplam 700 CFU/mL *E. coli* K-12 bakterisi varken ölçüm alındı. Şekil 29'da görüldüğü gibi ölçüm sonucunda  $V_{pp}=308,96$  mV olarak ölçüldü.  $V_{pp}$  değeri 36,84 mV'luk bir artış gösterdi. Artan konsantrasyona bağlı olarak doğru orantılı bir artış görülmeye devam etti. Bu yüzden konsantrasyon arttırılarak ölçümlere devam edildi.



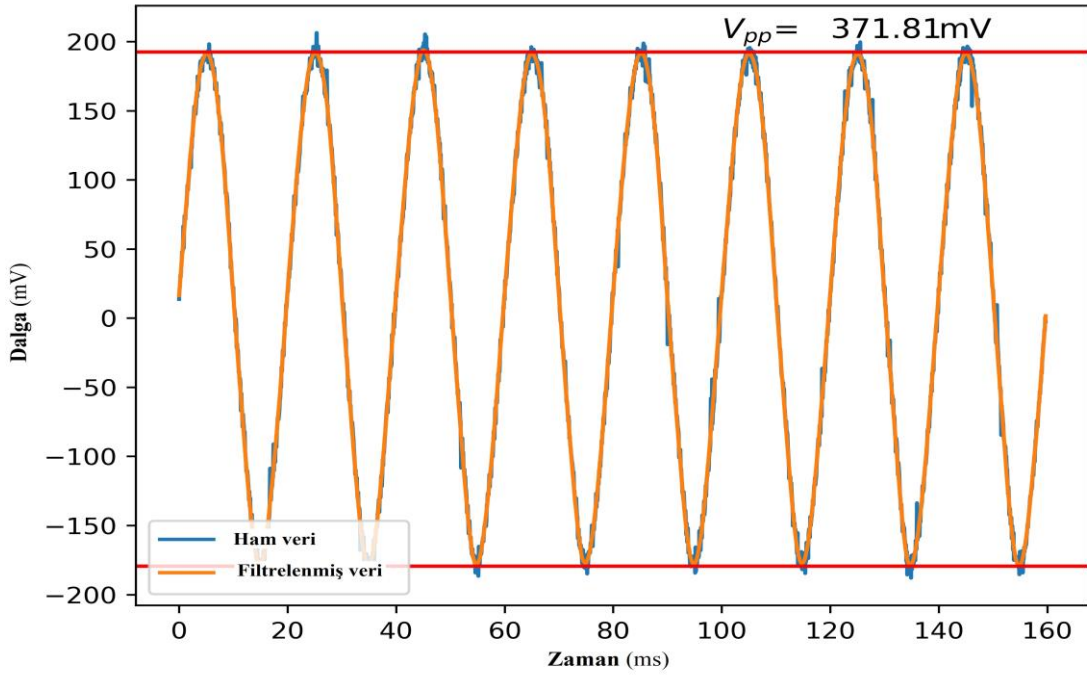
**Şekil 29:** Artan konsantrasyonlarda *E. coli* K-12 etkileşim grafiği 4.adım: 700 CFU/mL

Ortama 875 CFU/mL *E. coli* K-12 bakterisi eklenmişken ölçüm alınmaya devam edildi. Ölçüm sonucunda yine konsantrasyona bağlı olarak  $V_{pp}$  değeri giderek arttı.  $V_{pp}=357,16$  mV olarak ölçüldü (Şekil 30). Bir önceki konsantrasyona göre (700 CFU/mL *E. coli* K-12)  $V_{pp}$  değeri 48,20 mV'lık bir artış gösterdi.



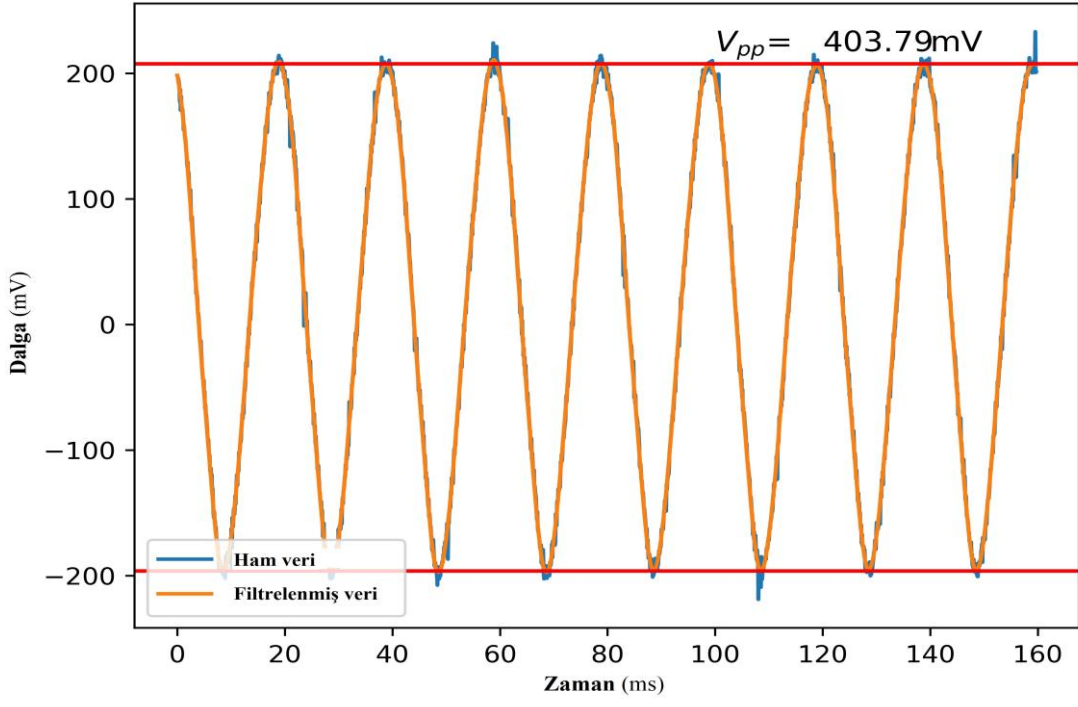
**Şekil 30:** Artan konsantrasyonlarda *E. coli* K-12 etkileşim grafiği 5.adım: 875 CFU/mL

Ortama 175 CFU/mL *E. coli* K-12 bakterisi daha eklenerek ortamda toplam 1050 CFU/mL *E. coli* K-12 bakterisi varken ölçüm alındı. Şekil 31’de görüldüğü gibi ölçüm sonucunda  $V_{pp}=371,81$  mV olarak ölçüldü.  $V_{pp}$  değeri 14,65 mV’lık bir artış gösterdi. Artan konsantrasyona bağlı olarak görülen artış miktarının azaldığı görüldü. Yavaş yavaş doyuma ulaşılacağı anlaşıldı. Konsantrasyon artırılarak ölçümlere devam edildi.



**Şekil 31:** Artan konsantrasyonlarda *E. coli* K-12 etkileşim grafiği 6.adım: 1050 CFU/mL

Ortama 1225 CFU/mL *E. coli* K-12 bakterisi eklenmişken son ölçüm alındı. Ölçüm sonucunda  $V_{pp}=403,79$  mV olarak ölçüldü (Şekil 32). Bir önceki konsantrasyona göre  $V_{pp}$  değeri 31,98 mV’luk bir artış gösterdi. Ortama 1225 CFU/mL *E. coli* K-12 bakterisi eklendikten sonraki konsantrasyon arttırmalarında sensörün doyuma ulaştığı tekrarlı deneylerle tespit edildiğinden bu değerden sonra ölçüm alınmadı. Sensör sistemi ortama 1225 CFU/mL *E. coli* K-12 bakterisi eklenmesiyle doyuma ulaştı. Çok az bir konsantrasyon olan 175 CFU/mL *E. coli* K-12 bakterisi ile başlanılan ölçümler başarılı bir şekilde tamamlandı. Farklı zamanlarda alınan ölçümlerin korele olduğu görüldü. Sonuçların uyumlu ve tekrarlanabilir oluşu geliştirdiğimiz sensör sisteminin ideal olduğunu gösterdi.



Şekil 32: Artan konsantrasyonlarda *E. coli* K-12 etkileşim grafiği 7.adım: 1225 CFU/mL

## 5. TARTIŞMA

Günümüzde patojenik bakterilerden kaynaklı sorunlar hâlen dünya çapında problemlere sebep olmaktadır. Başta gıda, su ve tıbbi aletlerin kontaminasyonu yoluyla ortaya çıkan problemler gıda zehirlenmeleri, salgınlar, ciddi hastalıklara yol açmakta hatta ölümcül olabilmektedir. Bu nedenle patojenik bakterilerin hassas ve hızlı tespiti, klinik teşhis, gıda, su ve çevre konusunda kritik öneme sahiptir. Bakteriyel patojenlerin sebep olduğu salgınlar nedeniyle her yıl milyonlarca insanda panik, hastaneye yatış ve ölümler görülmektedir. Mevcut konvansiyonel patojen tespit yöntemlerinin çoğu kültür ve koloni sayımı, polimeraz zincir reaksiyonu, biyokimyasal ve genetik teknolojiye dayalıdır. Hastanelerde çoğunlukla kullanılan koloni sayımı ve PCR teknikleriyle patojenlerin tespiti saatler hatta günler alabilmektedir. Buna rağmen, patojenik bakterilerin neden olduğu hastalıklar halen büyük sorunlara neden olmaktadır. Çünkü bu tekniklerin öncelikle zaman ve maliyet, laborant tecrübesi, özgüllük, duyarlılık, saptama oranı açısından dezavantajları vardır. Nanoteknolojideki gelişmelerle beraber patojen tespit teknikleri günümüzde hızla gelişmektedir. Bakteriyel enfeksiyon sorunlarının çözümü için, nanoteknoloji ve biyosensör çalışmalarının entegrasyonu ile güvenilir, hassas ve hızlı bakteri tespiti ve ölçümü için spesifik biyosensörlere ihtiyaç duyulmaktadır.

*Escherichia coli*, günümüzde en iyi bilinen organizmalardan biridir. *E. coli* K-12 suşu ve türevleri, genetik, moleküler biyoloji, fizyoloji ve biyokimyanın ilerlemesinde anahtar olmuştur. *E. coli* hem omurgalıların yaygın bir bağırsak komensali hem de çok yönlü patojen bir özelliğe sahiptir. Hem bağırsak içi hem de bağırsak dışı hastalıklar yoluyla yılda 2 milyondan fazla insanın ölümüne sebep olmaktadır [87, 88]. Aynı zamanda, su ve tortu içinde geçebildiğinden, genellikle suyun fekal kirliliğinin bir göstergesi olarak da kullanılır [76]. Sonuç olarak, başlıca içeceğimiz olan suyun analiziyle kontaminasyonların önlenmesi ve hastalıklardan korunmak için patojen tespitini ultra hassas, hızlı ve güvenilir şekilde yapabilen biyosensörler talep edilmektedir. Bunun için geliştirdiğimiz ÇDNT tabanlı elektrokimyasal *E. coli* tespit ve tayinine yönelik biyosensörümüz her alanda ihtiyacı tam karşılayabilecek yapıdadır.

Tungsten telin erime noktası tüm saf metaller arasında en yüksektir ve oldukça serttir (akma dayanımı 1 GPa'dan fazladır) [89]. Yüksek çekme gerilimine sahip olduğundan, sertliğini koruyarak küçük elektrotların oluşturulmasına imkân sağlar. Hem

tungsten telin hem de altının yüzey oksidasyon eğilimi olmadığından, iletkenliklerinin çok iyi olması nedeniyle büyük tercih sebebidir. Tungsten teller kullanılarak yapılan sensör çalışmalarında birçok açıdan avantajlı olduğu bildirilmiştir. Uzun yıllar önce Hyson tarafından 1968’de ısı sensörleri üzerine yapılan bir çalışmada tungsten telin avantajlı olduğu vurgulanmıştır [90]. Bu yüzden çalışmamızda kütlece % 5 altın içeren tungsten tel kullandık. Yüzeyi çok rahat işlevselleştirilebildiği kaplama için kolaylık da sağlamaktadır. Sensör teline biyomolekülün sağlam bağlarla bağlanması ve hareketsizleştirilmesi büyük önem arz etmektedir. Tungsten tel üzerine herhangi bir manipülasyona engel olmak için kovalent bağlarla biyomolekülün immobilizasyonu kolay bir prosedürle gerçekleştirildi. Biyokomponentlerin kovalent bağlama ile immobilizasyonu pH, sıcaklık, iyon şiddeti gibi değişkenlere karşı direnç sağlar ve biyosensörün ömrünü uzatır [91]. Böylelikle elektrot oluşturmak için altın içeren tungsten tel tercihi ile, ideal bir immobilizasyon gerçekleştirildi ve suyla temasında herhangi manipülasyon olma olasılığı engellenmiş oldu. Aynı zamanda, çok küçük bir elektrot yapılmasına imkan sağlandığı için taşınabilir bir biyosensörün geliştirilmesi mümkün hale geldi.

Sıvı kristal bir polimer olan PEI, nanomalzemeleri işlevselleştirerek dağılılırlığını ve stabilitesini arttırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır [92]. PEI tabanlı nanojellerle (NG) yapılan bir çalışmada gen ve ilaç dağıtımı, kanser teşhisi ve tedavisine yönelik çeşitli sensör tasarımları denenmiş ve incelenmiştir. Sonuçta PEI kullanımıyla ancak hazırlanabileceği görülmüştür. Bol miktarda pozitif yüklü amin gruplarına sahip olan PEI’nin, NG’lerin gelişimi için ideal bir platform olduğu bildirilmiştir [93]. ÇDNT-polietilenimin nanokompozitlerine dayalı bir elektrokimyasal biyosensör çalışmasında PEI’nin karbon esaslı malzemelerin yüzeyinde stabilize edici özelliği ve avantajları sunulmuştur. PEI, ince film oluşumu, biyouyumluluk, ucuz fiyat, ayrıştırma ve geri dönüşüm kolaylığı ve kokusuz olması gibi avantajlar sunarken, yapısında çok sayıda amin grubunun bulunması biyolojik bileşiklerin elektrokimyasal sensörler üzerinde daha iyi immobilizasyonuna yardımcı olmaktadır [94]. Sonuçlarımızla benzer şekilde aynı çalışmada PEI varlığından dolayı sinyalde nispi bir artış elde edilmiştir. Bu artış amin gruplarının varlığının yanı sıra nanomalzeme süspansiyonunun homojenliğini kolaylaştırması ve nanokompozitlerin elektrot yüzeyinde daha iyi kovalent immobilizasyonunu kolaylaştırmasına bağlanmıştır. Aynı

zamanda, sonuçların daha iyi değerlendirilmesi için çalışmamız da kullandığımız gibi EIS kullanılmıştır [94].

Yapılan başka bir çalışmada amino grubuna dayalı olarak altın elektrot yüzeyine grafit benzeri karbon nitrür (g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub>) nanomalzemelerinin bağlanabildiği gösterilmiştir. Altın, iyi iletkenliğe sahiptir, elektron transferini destekler ve analitik duyarlılığı artırır. PEI ile modifiye edilmiş altın elektrotun iletkenliği ve spesifik yüzey alanını iyileştirdiği bildirilmiştir [95]. PEI kullanılarak gerçekleştirilen bir diğer ÇDNT bazlı elektrokemilüminesans immünosensör çalışmasında, PEI'nin amino gruplarının doğrudan ÇDNT'lerin karboksil gruplarıyla kimyasal bağlanmasıyla hem sinyal amplifikasyonu sağladığı hem de biyomolekülün immobilizasyonunu gerçekleştirdiği sunulmuştur. Bu sayede reaksiyon arayüzünde elektron transferi hızlandırılarak hassas bir sensör sistemi elde edilmiştir [96].

Her streptavidin molekülü dört biyotin bağlama bölgesi içerdiğinden doğal güçlü bağlanma-etkileşim sağlamaktadır [97]. Avidin veya streptavidin, dört biyotinlenmiş moleküle verimli ve hızlı bir şekilde bağlanabildiğinden biyotinlenmiş moleküller doğal özelliklerini değiştirmezler [98]. Bu nedenle, biyotin-avidin etkileşimi, çeşitli uygulamalar için biyomoleküllerin, nanoparçacıkların konjugasyonu için bir bağlama aracı olarak kullanılır [99]. Biotin-streptavidin bağlanması, bilim, tıp ve nanoteknolojide birçok farklı uygulama ile nano ölçekli üretim ve yakalama için güçlü bir platformdur [100]. Streptavidin-biyotin etkileşiminin gücü, onu belirli hedefleme uygulamalarında, biyomedikal algılama çalışmalarında ve tahlil tasarımında yararlı bir araç haline getirmiştir. Sensörlerin imalatında, elektrot yüzeyinde biyomolekülün immobilizasyonu, sensörün performans özelliklerini belirleyen çok önemli bir işlemdir [101]. Aynı zamanda streptavidin biyosensör sistemlerinde sinyal gücünü arttırmak için tercih edilmektedir [97]. Bu nedenlerle, yapılan çeşitli sensör geliştirme ve uygulamalarında streptavidin kullanımı önemle tercih edilmiştir. Hem biyomolekülün güçlü bağlanmasını sağlanması hem de biyosensörün algılama sınırını arttırmaya yardımcı olmasından dolayı çalışmamızda streptavidin kullanılmıştır. Bu sayede nanotüplerin üzerine daha fazla Anti-*E. coli* antikör bağlanması sağlanmıştır. Sonuçta çok düşük bir konsantrasyonda bile yüksek hassasiyet ve seçicilikte *E. coli* tespiti yapılabilmektedir.

KNT'ler geniş yüzey alanı, üstün fiziksel ve kimyasal özellikleri, yüksek elektrik iletkenliği ve kimyasal dayanıklılığı ile biyosensör sistemlerinde vazgeçilmez bir parça

haline gelmiştir. Bu sebeple elektrot materyali olarak kullanılabilirler ayrıca yapıları nedeniyle birçok biyomolekülün immobilizasyonuna da olanak tanır [102]. KNT'ler tıbbi uygulamalarda, yeni görüntüleme modalitelerinde, biyosensörler ve ilaç taşınım araştırmalarında geniş kullanım alanı bulmuştur.

ÇDNT'ler, immün reaksiyonlar meydana geldiğinde büyük direnç değişiklikleri nedeniyle dirençli biyosensörler için iyi bir seçimdir, ayrıca düşük maliyetlidirler, tek duvarlı karbon nanotüplerden daha biyouyumludurlar ve dirençli ölçüm ekipmanı genellikle pahalı değildir ve kolayca kullanılabilir [103]. Genel olarak, elektrokimyasal analiz için ÇDNT kullanımı, düşük yük transfer direnci, doğrudan algılama, yüksek hassasiyet, hızlı tepki, mükemmel tekrarlanabilirlik gibi gelişmiş özellikler sunmaktadır [104]. Bu nedenle sensör çalışmalarında sıklıkla ÇDNT'ler tercih edilmektedir. ÇDNT'ler sensör çalışmalarında kullanılmak için çeşitli aşamalardan geçirilip işlevselleştirilir ve sensör bileşeni olarak kullanılır. KNT tabanlı biyosensörler ile beyin omurilik sıvısı (BOS) sızıntısı tespiti üzerine yapılan bir çalışma, hayati konularda biyoalgılama cihazlarında KNT'lerin önemini bir kez daha göstermiştir [105].

Yapılan bir ÇDNT bazlı elektrokemilüminesans immünosensör geliştirilmesi çalışmasında, ÇDNT'lerin birçok biyomolekülün bağlanmasına imkan sağlayan geniş spesifik yüzey alanına sahip olmasının yanında sinyalleri daha da güçlendirdiğinden mükemmel bir iletkenlik sergilediği ve sensörün duyarlılığını arttırdığı bildirilmiştir [96].

Başka bir çalışmada ÇDNT'ler üzerine elektro-çökeltmiş Prusya mavisi ile modifiye edilmiş, ekran baskılı bir karbon elektroduna dayanan bir enzimatik histamin biyosensörü geliştirilmeye çalışılmıştır. Histamin tayini için kullanılan bazı yöntemlerin dezavantajları aktarılmış ve geliştirilen sensör ölçüm sonuçları ELISA verileriyle karşılaştırılmıştır. Histamin seviyeleri, spektrofotometri, gaz kromatografisi ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi gibi tekniklerle belirlenebilir. Ancak, bu analitik yaklaşımların bazılarının sınırlamaları vardır. Spesifik olarak, spektrofotometrinin duyarlılığı düşüktür ve kromatografi uygulanması pahalı bir tekniktir ve numune ön işleme ve uzun analiz süreleri gerektirir. Bu nedenle histamin tayini için, hızlı, hassas, düşük maliyetli bir elektrokimyasal enzimatik biyosensörü geliştirilmiştir. ÇDNT'lerin varlığının elektrotun iletkenliğini arttırdığı, düşük bir algılama limiti ve geniş bir lineer aralığın yanı sıra mükemmel uzun vadeli stabilite, tekrarlanabilirlik ve seçicilik sergilediği tespit edilmiştir. Geliştirilen biyosensörle elde edilen sonuçlar, ELISA

uygulanarak elde edilen sonuçlarla tutarlıydı. Bu nedenle, önerilen yaklaşımın uygunluğu ve güvenilirliği belirlenmiş, EIS analiziyle de elektrotun elektron transfer sürecinin çok hızlı olduğu doğrulanmış [106].

İdrar yolu enfeksiyonu (İYE), hastane ortamında görülen en yaygın enfeksiyon ve genel popülasyonda en sık görülen ikinci enfeksiyondur [107]. Geleneksel laboratuvar tanı yöntemleri en az 24 saat gerektirir ve çoğu durumda daha uzun sürebilir. Ayrıca, örneğin laboratuvara taşınmasında gecikme olmuşsa, canlı enfekte eden organizmaların sayısı düşükse veya kültür örneği alındığında hasta antibiyotik alıyorsa, kültürler hiçbir bakteri üremesine neden olmayabilir [108]. Hinata ve ark. tarafından bakteriüri şüphesi olan İYE'li 200 hastanın idrarındaki *E. coli* tespitine yönelik bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada, gerçek zamanlı PCR ile bakteriüri olan hastaların idrarından *E. coli* 'nin kantitatif tespitine yönelik kullanılan klasik idrar kültürü, PCR ve gerçek zamanlı PCR karşılaştırılmıştır. *E. coli* K-12 suşunda tanımlanmış ve karakterize edilmiş evrensel stres proteini (*uspA*) kodlayan gen kullanılmıştır [109]. Klasik idrar kültürü yöntemiyle karşılaştırıldığında, PCR daha hızlıdır ve daha az sayıda bakteri saptayabilir, ancak miktar tayini için yetersizdir. Rutin PCR'da miktar belirleme eksikliği nedeniyle, pozitif bir PCR test sonucunun anlamı tüm enfeksiyonlar için doğrulanmamıştır. Bu nedenle gerçek zamanlı PCR önerilmiş ve örneklerde başarılı tespit gerçekleştirilmiştir [108]. Her ne kadar gerçek zamanlı PCR doğru sonuçlar verse de testin zaman alması, uzmanlık istemesi ve ucuz olmaması gibi dezavantajları mevcuttur.

Son yıllarda giderek artan oranda konvansiyonel yöntemlerin yerine farklı biyosensör çalışmaları yapılmaya başlanmıştır. Guinlet ve ark tarafından 2019 yılında *E. coli* 'nin tespiti için silika nanoparçacık destekli elektrokimyasal biyosensör geliştirilmeye çalışılmıştır [110]. Bu çalışmada, *E. coli* 'yi hedeflemek ve bağlamak için spesifik poliklonal antikorlar (Abs) ile işlevselleştirilmiş silika-NP'lerin varlığının kullanıldığı bir elektrokimyasal biyosensörün tasarımına ilişkin ilk sonuçlar sunulmuştur. Beklenen tespit limitine (LOD) ancak 30 dakikada ulaşılmıştır. Geleneksel yöntemlere göre hızlı olsa da geliştirdiğimiz sensör sistemine göre oldukça yavaş kalmaktadır. Bu çalışmada en iyi LOD değerine 30 dakika da ulaşılırken, sensör sistemimiz 0,005 µL/ml konsantrasyonda bile saniyeler içinde tespit yapabilmektedir.

Son çalışmalar, hızlı tespit sistemlerinin hasta ölüm oranlarını ve hastaneye yatışla ilişkili maliyetleri önemli ölçüde azaltabileceğini göstermektedir [108].

Patojenlerin tespiti için kullanılan konvansiyonel tekniklerin zahmetli olması, testlerin bazen günlerce sürerek zaman alması, pahalı olması, karmaşık ön işlem gerektirmeleri, uzman laborant ihtiyacı olması ve duyarlılıklarının az olması gibi dezavantajları vardır. Biyosensörlerin basit kullanım özellikleri, yüksek duyarlılık, kısa analiz süresi, düşük analiz maliyeti ve gerçek zamanlı ölçümlere uygulanma potansiyelleri gibi özellikleri nedeniyle birçok alanda geniş uygulama alanları bulunmaktadır. ÇDNT'lerin benzersiz yapısal ve elektronik özelliklerinden dolayı elektrokimyasal immüno-algılama sistemleri için tercih edildiği kanıtlanmıştır [111].

Birçok çalışma, basit sentez süreçleri, ayarlanabilirlikleri, basitleştirmeleri, malzeme bileşimlerinin ve özelliklerinin manipülasyonu ve farklı türde biyomedikal analitlerin geniş algılama aralığı nedeniyle elektrokimyasal biyosensörleri ele almıştır. Daha hızlı elektron transferi, daha geniş yüzey alanları, çok iyi elektrokatalitik aktiviteler ve biyokonjugasyon için çok sayıda alan sağlayan materyaller seçilerek performanslı elektrokimyasal biyosensörler elde edilebilir [112]. Tüm biyosensör türlerinden (mikrobiyal, elektromanyetik, optik ve elektrokimyasal), gerçek zamanlı analiz ve tatmin edici hassasiyetle hem tekli hem de çoklu analitleri yalnızca elektrokimyasal biyosensörler tespit edebilmektedir [31]. Uygulamaları laboratuvar koşulları gerektirmez; basit enstrümantasyon sayesinde, doktor muayenahanelerinde veya hasta bakım evlerinde analiz yapılmasını sağlar. Tüm sensörler arasında en küçüğüdürler ve en güçlü gelecek perspektiflerine sahiptirler [31, 113].

Geliştirdiğimiz ÇDNT tabanlı *E. coli* tespitine yönelik elektrokimyasal biyosensör, basit fabrikasyon, ucuz-ekonomik olma, ultra duyarlılık, çok düşük konsantrasyonlarda hassas tespit yapabilme, hızlı cevap süresi ve güvenilir aralıkta ölçüm stabilitesi, minyatürleştirmeye uygun olması gibi birçok avantajlı yönleriyle öne çıkmaktadır. Aynı zamanda numunelerde ön işlem gerektirmediğinden, laborant tecrübesine bağlılığı da ortadan kaldırmaktadır.

Elektrokimyasal biyosensörümüz *E. coli*'nin çok hızlı ve erken tespiti için vazgeçilmez bir yöntem olacaktır. Bu sayede sulardaki kirlilik hızlıca tespit edilip halk sağlığını tehdit edecek bir soruna dönüşmeden önlenilecektir. Su kontaminasyonlarından dolayı görülen salgınların önüne geçilebilecektir. Aynı zamanda hastanelerde erken tanı ile hem hastanın hızlı ve konforlu iyileşmesi sağlanacak hem de hastane maliyetleri oldukça düşecektir. Özellikle çocuklar da ve yaşlılarda görülen birçok *E. coli* kaynaklı enfeksiyon hastalığının önüne geçilecektir.

## KAYNAKLAR

1. Dinc, B., *Fonksiyonel hale getirilmiş ve protein bağlanmış karbon nano tüplerin biyolojik ortamda araştırılması*, in *İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyofizik AD*. 2019, İstanbul.
2. Dinç, B., A. Ünlü, and M. Bektaş, *Characterization of short-length multi-walled carbon nanotubes and cytotoxicity on MDA-MB-231 and HUVEC cell lines*. Carbon Letters, 2020. **30**(2): p. 143-153.
3. Gizeli, E. and C.R. Lowe, *Biomolecular sensors*. 2002: CRC Press.
4. Grieshaber, D., et al., *Electrochemical biosensors-sensor principles and architectures*. Sensors, 2008. **8**(3): p. 1400-1458.
5. Wang, J., *Carbon-nanotube based electrochemical biosensors: A review*. Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis, 2005. **17**(1): p. 7-14.
6. Wang, S., et al., *A novel multi-walled carbon nanotube-based biosensor for glucose detection*. Biochemical and biophysical research communications, 2003. **311**(3): p. 572-576.
7. Zhao, G., X. Zhan, and W. Dou, *A disposable immunosensor for Shigella flexneri based on multiwalled carbon nanotube/sodium alginate composite electrode*. Analytical biochemistry, 2011. **408**(1): p. 53-58.
8. Dinc, B. and E. Sen, *Toxicity of short multi-walled carbon nanotubes in Caenorhabditis elegans*. Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures, 2022. **30**(6): p. 646-656.
9. Üstünsoy, R., B. Dinç, and M. Bektaş, *Purification use and toxicity of paramagnetic short multi-walled carbon nanotubes*. Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures, 2022. **30**(2): p. 232-241.
10. Carrara, S., et al., *Do carbon nanotubes contribute to electrochemical biosensing?* Electrochimica Acta, 2014. **128**: p. 102-112.
11. Belin, T. and F. Epron, *Characterization methods of carbon nanotubes: a review*. Materials Science and Engineering: B, 2005. **119**(2): p. 105-118.
12. Marchiori, R., *Mathematical Fundamentals of Nanotechnology*, in *Nanostructures*. 2017, Elsevier. p. 209-232.
13. Singh, D.K., P. Iyer, and P. Giri, *Diameter dependence of interwall separation and strain in multiwalled carbon nanotubes probed by X-ray diffraction and Raman scattering studies*. Diamond and Related Materials, 2010. **19**(10): p. 1281-1288.
14. Gommes, C., et al., *Image analysis characterization of multi-walled carbon nanotubes*. Carbon, 2003. **41**(13): p. 2561-2572.
15. Keskin, M. and F. Arslan, *Biyosensörler*. Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi. **1**(1-2): p. 51-60.
16. Solnica, B., J.W. Naskalski, and J. Sieradzki, *Analytical performance of glucometers used for routine glucose self-monitoring of diabetic patients*. Clinica Chimica Acta, 2003. **331**(1-2): p. 29-35.
17. Schachinger, F., et al., *Amperometric biosensors based on direct electron transfer enzymes*. Molecules, 2021. **26**(15): p. 4525.
18. Li, H., Y. Lu, and P.K. Wong, *Diffusion-reaction kinetics of microfluidic amperometric biosensors*. Lab on a Chip, 2018. **18**(20): p. 3086-3089.

19. Walker, N.L., et al., *Recent advances in potentiometric biosensing*. Current Opinion in Electrochemistry, 2021. **28**: p. 100735.
20. Cass, A.E. and J.M. Cooper, *Biosensors: a practical approach*. 1990: IRL press Oxford.
21. Cao, L., et al., *Nanoparticle-based 3D membrane for impedimetric biosensor applications*. Bioelectrochemistry, 2020. **136**: p. 107593.
22. Antiochia, R., *Electrochemical biosensors for SARS-CoV-2 detection: voltametric or impedimetric transduction?* Bioelectrochemistry, 2022: p. 108190.
23. Caygill, R.L., G.E. Blair, and P.A. Millner, *A review on viral biosensors to detect human pathogens*. Analytica chimica acta, 2010. **681**(1-2): p. 8-15.
24. Dziąbowska, K., E. Czaczyk, and D. Nidzworski, *Application of electrochemical methods in biosensing technologies*. Biosensing Technologies for the Detection of Pathogens-A Prospective Way for Rapid Analysis, 2017: p. 151-171.
25. Pohanka, M., *Overview of piezoelectric biosensors, immunosensors and DNA sensors and their applications*. Materials, 2018. **11**(3): p. 448.
26. Ramanathan, K. and B. Danielsson, *Principles and applications of thermal biosensors*. Biosensors and Bioelectronics, 2001. **16**(6): p. 417-423.
27. Efremenko, V., S. Stolbin, and L. Grekov, *Biosensors and their applications (review of the literature)*. Prikladnaia Biokhimiia i Mikrobiologiya, 1990. **26**(1): p. 11-18.
28. Lechuga, L.M., *Optical biosensors*. Comprehensive analytical chemistry, 2005. **44**: p. 209-250.
29. Damborský, P., J. Švitel, and J. Katrlík, *Optical biosensors*. Essays in biochemistry, 2016. **60**(1): p. 91-100.
30. Kwon, S.J. and A.J. Bard, *DNA analysis by application of Pt nanoparticle electrochemical amplification with single label response*. Journal of the American Chemical Society, 2012. **134**(26): p. 10777-10779.
31. Bhadoria, R. and H.S. Chaudhary, *Recent advances of biosensors in biomedical sciences*. International Journal of Drug Delivery, 2011. **3**(4): p. 571.
32. Bettazzi, F., et al., *Biosensors and related bioanalytical tools*. Comprehensive Analytical Chemistry, 2017. **77**: p. 1-33.
33. Lin, Y., M. Bariya, and A. Javey, *Wearable biosensors for body computing*. Advanced Functional Materials, 2021. **31**(39): p. 2008087.
34. Kim, J., et al., *Wearable biosensors for healthcare monitoring*. Nature biotechnology, 2019. **37**(4): p. 389-406.
35. Jin, X., et al., *Artificial intelligence biosensors: Challenges and prospects*. Biosensors and Bioelectronics, 2020. **165**: p. 112412.
36. Patil-Sen, Y., *Advances in nano-biomaterials and their applications in biomedicine*. Emerging Topics in Life Sciences, 2021. **5**(1): p. 169-176.
37. Monošík, R., M. Stred'anský, and E. Šturdík, *Application of electrochemical biosensors in clinical diagnosis*. Journal of clinical laboratory analysis, 2012. **26**(1): p. 22-34.
38. Darwish, A. and A.E. Hassanien, *Wearable and implantable wireless sensor network solutions for healthcare monitoring*. Sensors, 2011. **11**(6): p. 5561-5595.
39. Chen, X., et al., *An ultrathin stretchable triboelectric nanogenerator with coplanar electrode for energy harvesting and gesture sensing*. Journal of materials chemistry A, 2017. **5**(24): p. 12361-12368.

40. Bandodkar, A.J., et al., *Wearable sensors for biochemical sweat analysis*. *Annu. Rev. Anal. Chem.*, 2019. **12**(1): p. 1-22.
41. Bariya, M., H.Y.Y. Nyein, and A. Javey, *Wearable sweat sensors*. *Nature Electronics*, 2018. **1**(3): p. 160-171.
42. Chung, M., G. Fortunato, and N. Radacsi, *Wearable flexible sweat sensors for healthcare monitoring: a review*. *Journal of the Royal Society Interface*, 2019. **16**(159): p. 20190217.
43. Hooton, K., W. Han, and L. Li, *Comprehensive and quantitative profiling of the human sweat submetabolome using high-performance chemical isotope labeling LC-MS*. *Analytical chemistry*, 2016. **88**(14): p. 7378-7386.
44. Robinson, S. and A.H. Robinson, *Chemical composition of sweat*. *Physiological reviews*, 1954. **34**(2): p. 202-220.
45. Sonner, Z., et al., *The microfluidics of the eccrine sweat gland, including biomarker partitioning, transport, and biosensing implications*. *Biomicrofluidics*, 2015. **9**(3): p. 031301.
46. Dalirirad, S. and A.J. Steckl, *Aptamer-based lateral flow assay for point of care cortisol detection in sweat*. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2019. **283**: p. 79-86.
47. He, X., et al., *Flexible and superwetable bands as a platform toward sweat sampling and sensing*. *Analytical chemistry*, 2019. **91**(7): p. 4296-4300.
48. Song, C., et al., *Kang, 3292 T.; Shin, K.; Choi, SH; Hyeon, T.; Kim, D.-H. Wearable/Disposable 3293 Sweat-Based Glucose Monitoring Device with Multistage Trans-3294 dermal Drug Delivery Module*. *Sci. Adv*, 2017. **3**.
49. Yang, Y., et al., *A laser-engraved wearable sensor for sensitive detection of uric acid and tyrosine in sweat*. *Nature biotechnology*, 2020. **38**(2): p. 217-224.
50. Goel, R.K., et al., *Saliva as a potential diagnostic and monitoring tool in diabetes mellitus*. *Journal of Current Medical Research and Opinion*, 2021. **4**(12): p. 1088– 1095-1088– 1095.
51. Seshadri, D.R., et al., *Wearable sensors for monitoring the physiological and biochemical profile of the athlete*. *NPJ digital medicine*, 2019. **2**(1): p. 1-16.
52. Soares Nunes, L.A., S. Mussavira, and O. Sukumaran Bindhu, *Clinical and diagnostic utility of saliva as a non-invasive diagnostic fluid: a systematic review*. *Biochemia medica*, 2015. **25**(2): p. 177-192.
53. Yang, Y. and W. Gao, *Wearable and flexible electronics for continuous molecular monitoring*. *Chemical Society Reviews*, 2019. **48**(6): p. 1465-1491.
54. Afacan, B., et al., *Gingival crevicular fluid and salivary HIF-1 $\alpha$ , VEGF, and TNF- $\alpha$  levels in periodontal health and disease*. *Journal of periodontology*, 2019. **90**(7): p. 788-797.
55. Humphrey, S.P. and R.T. Williamson, *A review of saliva: normal composition, flow, and function*. *The Journal of prosthetic dentistry*, 2001. **85**(2): p. 162-169.
56. Jaedicke, K.M., P.M. Preshaw, and J.J. Taylor, *Salivary cytokines as biomarkers of periodontal diseases*. *Periodontology 2000*, 2016. **70**(1): p. 164-183.
57. Tseng, R.C., et al., *Contact-lens biosensors*. *Sensors*, 2018. **18**(8): p. 2651.
58. Yu, L., Z. Yang, and M. An, *Lab on the eye: A review of tear-based wearable devices for medical use and health management*. *Bioscience trends*, 2019. **13**(4): p. 308-313.
59. Donora, M., et al., *Spatiotemporal electrochemistry on flexible microelectrode arrays: Progress towards smart contact lens integration*. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2019. **296**: p. 126671.

60. Kim, J., et al., *Wearable smart sensor systems integrated on soft contact lenses for wireless ocular diagnostics*. Nature communications, 2017. **8**(1): p. 1-8.
61. Zou, R., et al., *High-performance intraocular biosensors from chitosan-functionalized nitrogen-containing graphene for the detection of glucose*. ACS Biomaterials Science & Engineering, 2019. **6**(1): p. 673-679.
62. Lu, L. and S. Jun, *Evaluation of a microwire sensor functionalized to detect Escherichia coli bacterial cells*. Biosensors and Bioelectronics, 2012. **36**(1): p. 257-261.
63. Hermans, A. and R.M. Wightman, *Conical tungsten tips as substrates for the preparation of ultramicroelectrodes*. Langmuir, 2006. **22**(25): p. 10348-10353.
64. Yamaguchi, T., et al., *Fabrication of tungsten tip probes within 3 s by using flame etching*. Review of Scientific Instruments, 2019. **90**(6): p. 063701.
65. Jablons, J. *Top Applications for Gold-Plated Tungsten Wire*. . 2021 [cited 2021 10.24.2021]; Available from: <https://metalcutting.com/knowledge-center/top-applications-for-gold-plated-tungsten-wire/>.
66. Taylor, C.R., et al., *Techniques of immunohistochemistry: principles, pitfalls, and standardization*. Diagnostic immunohistochemistry, 2013. **2**: p. 1-42.
67. Avvakumova, S., et al., *Bioengineered approaches for site orientation of peptide-based ligands of nanomaterials*, in *Biomedical applications of functionalized nanomaterials*. 2018, Elsevier. p. 139-169.
68. Chaiet, L. and F.J. Wolf, *The properties of streptavidin, a biotin-binding protein produced by Streptomyces*. Archives of biochemistry and biophysics, 1964. **106**: p. 1-5.
69. Lu, X.-Y., et al., *Polymer nanoparticles*. Progress in molecular biology and translational science, 2011. **104**: p. 299-323.
70. Fois, M., et al., *The presence of polysaccharides, glycerol, and polyethyleneimine in hydrogel enhances the performance of the glucose biosensor*. Biosensors, 2019. **9**(3): p. 95.
71. Kazazi, M., A. Afshar, and M. Sajjadnejad, *The Inhibition Effect of Polyethylenimine (PEI) on Pitting Corrosion of 304 Austenitic Stainless Steel in 3.5% NaCl Solution*. International Journal of Iron & Steel Society of Iran, 2013. **10**(1): p. 14-22.
72. Yang, Y., et al., *Polyethyleneimine-functionalized carbon nanotubes as an interlayer to bridge perovskite/carbon for all inorganic carbon-based perovskite solar cells*. Journal of Materials Chemistry A, 2019. **7**(38): p. 22005-22011.
73. Heravi, M.M., M. Ghavidel, and L. Mohammadkhani, *Beyond a solvent: triple roles of dimethylformamide in organic chemistry*. RSC advances, 2018. **8**(49): p. 27832-27862.
74. Inam, F., et al., *Dimethylformamide: an effective dispersant for making ceramic-carbon nanotube composites*. Nanotechnology, 2008. **19**(19): p. 195710.
75. Sonowal, T. and M. Shariff, *A typical Escherichia coli: A Dilemma of a Clinical Diagnostic Laboratory*. Indian journal of medical microbiology, 2019. **37**(2): p. 287-288.
76. Tenailon, O., et al., *The population genetics of commensal Escherichia coli*. Nature reviews microbiology, 2010. **8**(3): p. 207-217.
77. Ingle, D.J., et al., *Dynamics of antimicrobial resistance in intestinal Escherichia coli from children in community settings in South Asia and sub-Saharan Africa*. Nature microbiology, 2018. **3**(9): p. 1063-1073.

78. Jang, J., et al., *Environmental Escherichia coli: ecology and public health implications—a review*. Journal of applied microbiology, 2017. **123**(3): p. 570-581.
79. Lisdat, F. and D. Schäfer, *The use of electrochemical impedance spectroscopy for biosensing*. Analytical and bioanalytical chemistry, 2008. **391**(5): p. 1555-1567.
80. Macdonald, J.R., *Impedance spectroscopy and its use in analyzing the steady-state AC response of solid and liquid electrolytes*. Journal of electroanalytical chemistry and interfacial electrochemistry, 1987. **223**(1-2): p. 25-50.
81. Pänke, O., et al., *Impedance spectroscopy and biosensing*. Biosensing for the 21st Century, 2007: p. 195-237.
82. Chen, B.-K., et al., *Preparation of polyetherimide nanocomposites with improved thermal, mechanical and dielectric properties*. Polymer Bulletin, 2006. **57**(5): p. 671-681.
83. Rezaee, O., H. Mahmoudi Chenari, and F. Ghodsi, *Precipitation synthesis of tungsten oxide nanoparticles: X-ray line broadening analysis and photocatalytic efficiency study*. Journal of Sol-Gel Science and Technology, 2016. **80**(1): p. 109-118.
84. Natalello, A., D. Ami, and S.M. Doglia, *Protein aggregation studied in intact cells by Fourier transform infrared spectroscopy*. Methods in Protein Structure and Stability Analysis: Vibrational Spectroscopy, Nova Science, Hauppauge, 2007: p. 249-265.
85. Burgula, Y., B. Reuhs, and L. Mauer, *Rapid FT-IR methods for detection of Escherichia coli O157: H7 in fruit juices*. World Food Sci, 2008. **3**: p. 1-16.
86. Mura, S., et al., *FTIR nanobiosensors for Escherichia coli detection*. Beilstein journal of nanotechnology, 2012. **3**(1): p. 485-492.
87. Kosek, M., C. Bern, and R.L. Guerrant, *The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000*. Bulletin of the world health organization, 2003. **81**: p. 197-204.
88. Russo, T.A. and J.R. Johnson, *Medical and economic impact of extraintestinal infections due to Escherichia coli: focus on an increasingly important endemic problem*. Microbes and infection, 2003. **5**(5): p. 449-456.
89. Zhang, Y., et al., *Study on fracture of tungsten wire induced by acoustic cavitation at different hydrostatic pressures and driving electric powers*. Ultrasonics Sonochemistry, 2020. **68**: p. 105232.
90. Hyson, P., *The tungsten wire temperature sensor*. Journal of Applied Meteorology and Climatology, 1968. **7**(4): p. 684-690.
91. Yeşiller, Ş.G., *Enzim Aktivitesinin Tayinine Yönelik Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi Temelli Biyosensör Geliştirilmesi*, in *Kimya Anabilim Dalı*. 2014, Namık Kemal Üniversitesi.
92. Chen, Y., et al., *A sandwich-type electrochemical aptasensor for Mycobacterium tuberculosis MPT64 antigen detection using C60NPs decorated N-CNTs/GO nanocomposite coupled with conductive PEI-functionalized metal-organic framework*. Biomaterials, 2019. **216**: p. 119253.
93. Zou, Y., et al., *Polyethylenimine-Based Nanogels for Biomedical Applications*. Macromolecular bioscience, 2019. **19**(11): p. 1900272.
94. Jamei, H.R., B. Rezaei, and A.A. Ensafi, *Ultra-sensitive and selective electrochemical biosensor with aptamer recognition surface based on polymer*

- quantum dots and C60/MWCNTs-polyethylenimine nanocomposites for analysis of thrombin protein*. *Bioelectrochemistry*, 2021. **138**: p. 107701.
95. He, B. and S. Wang, *An electrochemical aptasensor based on PEI-C3N4/AuNWs for determination of chloramphenicol via exonuclease-assisted signal amplification*. *Microchimica Acta*, 2021. **188**(1): p. 1-9.
  96. Zhang, X., et al., *An ultrasensitive multi-walled carbon nanotube-platinum-luminol nanocomposite-based electrochemiluminescence immunosensor*. *Analyst*, 2017. **142**(12): p. 2253-2260.
  97. Hermanson, G.T., *Bioconjugate techniques*. 2013: Academic press.
  98. Wang, S., et al., *Graphene FET Biosensor Based on the Avidin-Biotin Technology*, in *Graphene Field-Effect Transistor Biosensors*. 2021, Springer. p. 69-85.
  99. Lyu, Y., et al., *The biotin-avidin interaction in biotinylated gold nanoparticles and the modulation of their aggregation*. *Nanomaterials*, 2021. **11**(6): p. 1559.
  100. Liu, W., et al., *Synthetic mimics of biotin/(strept) avidin*. *Chemical Society Reviews*, 2017. **46**(9): p. 2391-2403.
  101. Anzai, J.-i., T. Hoshi, and T. Osa, *Avidin-Biotin Mediated Biosensors*, in *Biosensors and Their Applications*. 2000, Springer. p. 35-46.
  102. Agüí, L., P. Yáñez-Sedeño, and J.M. Pingarrón, *Role of carbon nanotubes in electroanalytical chemistry: a review*. *Analytica chimica acta*, 2008. **622**(1-2): p. 11-47.
  103. Kolosovas-Machuca, E., et al., *Resistance-based biosensor of multi-walled carbon nanotubes*. *Journal of Immunoassay and Immunochemistry*, 2015. **36**(2): p. 142-148.
  104. Sreekanth, S., et al., *Multi-walled carbon nanotube-based nanobiosensor for the detection of cadmium in water*. *Environmental Research*, 2021. **197**: p. 111148.
  105. Dinç, B., R. Üstünsoy, and T. Ertaş, *Synthesis, Functionalization, and Use of Carbon Nanotubes in Filters and Biosensors*, in *HEALTH & SCIENCE 2022-II*, Y.S. Cem, Editor. 2022, Efe Academy. p. 93-116.
  106. Nontipichet, N., et al., *An enzymatic histamine biosensor based on a screen-printed carbon electrode modified with a chitosan-gold nanoparticles composite cryogel on Prussian blue-coated multi-walled carbon nanotubes*. *Food Chemistry*, 2021. **364**: p. 130396.
  107. Valiquette, L., *Urinary tract infections in women*. *The Canadian journal of urology*, 2001. **8**: p. 6-12.
  108. Hinata, N., et al., *Quantitative detection of Escherichia coli from urine of patients with bacteriuria by real-time PCR*. *Molecular Diagnosis*, 2004. **8**(3): p. 179-184.
  109. Chen, J. and M. Griffiths, *PCR differentiation of Escherichia coli from other Gram-negative bacteria using primers derived from the nucleotide sequences flanking the gene encoding the universal stress protein*. *Letters in applied microbiology*, 1998. **27**(6): p. 369-371.
  110. Mathelié-Guinlet, M., et al., *Silica nanoparticles-assisted electrochemical biosensor for the rapid, sensitive and specific detection of Escherichia coli*. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2019. **292**: p. 314-320.
  111. Zhao, H., et al., *Bioelectrochemistry of hemoglobin immobilized on a sodium alginate-multiwall carbon nanotubes composite film*. *Biosensors and Bioelectronics*, 2009. **24**(8): p. 2352-2357.

112. Dourandish, Z., et al., *A Comprehensive Review of Metal–Organic Framework: Synthesis, Characterization, and Investigation of Their Application in Electrochemical Biosensors for Biomedical Analysis*. *Sensors*, 2022. **22**(6): p. 2238.
113. Karunakaran, C., K. Bhargava, and R. Benjamin, *Biosensors and bioelectronics*. 2015: Elsevier.



## HAM VERİLER



**FORMLAR**

**PATENT HAKKI İZİNİ**



## İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

### ÇOK DUVARLI KARBON NANOTÜP ARACILI BAKTERİYEL BİYOSENSÖR GELİŞTİRİLMESİ

#### ORJİNALLIK RAPORU

% <b>11</b> BENZERLİK ENDEKSİ	% <b>10</b> İNTERNET KAYNAKLARI	% <b>2</b> YAYINLAR	% <b>6</b> ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
----------------------------------	------------------------------------	------------------------	--------------------------------

#### BİRİNCİL KAYNAKLAR

<b>1</b>	<b>acikbilim.yok.gov.tr</b> İnternet Kaynağı	% <b>4</b>
<b>2</b>	<b>acikerisim.nku.edu.tr:8080</b> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>3</b>	<b>Submitted to The Scientific &amp; Technological Research Council of Turkey (TUBİTAK)</b> Öğrenci Ödevi	% <b>1</b>
<b>4</b>	<b>genetikce.com</b> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>5</b>	<b>www.elektrikport.com</b> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>6</b>	<b>docplayer.biz.tr</b> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>7</b>	<b>cdn.t3kys.com</b> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>8</b>	<b>9lib.net</b> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>

Submitted to Anadolu University