

**IJEASED****INTERNATIONAL JOURNAL OF EASTERN ANATOLIA  
SCIENCE ENGINEERING AND DESIGN**

*Uluslararası Doğu Anadolu Fen Mühendislik ve Tasarım Dergisi*  
ISSN: 2667-8764 , 4(2), 104-117, 2022  
<https://dergipark.org.tr/tr/pub/ijeased>

**Derleme Makalesi / Review Article****Doi: [10.47898/ijeased.1132323](https://doi.org/10.47898/ijeased.1132323)**

## **Kâğıt Tabanlı Mikro Akışkan Kolorimetrik Sensör Sistemleri**

Bilal KIZILELMA<sup>1\*</sup>, Zülal BİLİCİ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ASELSAN Araştırma Merkezi, İstanbul, 34906, Türkiye.

<b>Yazar Kimliği / Author ID (ORCID Number)</b>	<b>Makale Süreci / Article Process</b>	
*Sorumlu Yazar / Corresponding author : <a href="mailto:bkizilelama@aselsan.com.tr">bkizilelama@aselsan.com.tr</a>	<b>Geliş Tarihi / Received Date</b> :	17.06.2022
 <a href="https://orcid.org/0000-0002-2220-0850">https://orcid.org/0000-0002-2220-0850</a> , B. Kızılelma	<b>Revizyon Tarihi / Revision Date</b> :	25.07.2022
 <a href="https://orcid.org/0000-0002-1957-5758">https://orcid.org/0000-0002-1957-5758</a> , Z. Bilici	<b>Kabul Tarihi / Accepted Date</b> :	01.08.2022
	<b>Yayın Tarihi / Published Date</b> :	15.12.2022
<b>Alıntı / Cite</b> : Kızılelma, B., Bilici, Z. (2022). Kâğıt Tabanlı Mikro Akışkan Kolorimetrik Sensör Sistemleri, Uluslararası Doğu Anadolu Fen Mühendislik ve Tasarım Dergisi, 4(2), 104-117.		

### **Özet**

Kimyasal sensör sistemleri, bilim ve teknolojideki ilerlemenin güzel bir örneği olarak karşımıza çıkan multidisipliner bir alandır. Kimyasal sensörler, algılayıcı tabaka, iletim sistemi ve sinyal okuma sistemlerinin entegre halde bulunduğu analitik cihazlardır. Hassasiyeti ve seçiciliği yüksek, düşük maliyetli, kullanımı kolay, taşınabilirlik gibi kriterlere sahip olmak zorundadır. Kriterleri sağlayabilmek için temel bilim ve mühendislikten faydalanılmaktadır. Multidisipliner çalışmaların ürünü ve sensör sistemlerinde büyük avantaj sağlayan önemli yapılardan biri de mikro akışkan sistemlerdir. Mikro akışkan sistemler, polidimetilsiloksan (PDMS), cam, kâğıt gibi farklı malzeme türleriyle 100 nm-100 µm arasında değişebilen kanal yapıların üretilme teknolojisidir. Her malzemenin kendine has avantaj ve dezavantajı bulunmakla beraber Whitesides Grubu'nun 2007 yılında Kâğıt Tabanlı Mikro akışkan (µPAD) Sensörlerle yapmış olduğu çığır açıcı çalışmalarla, µPAD kimyasal sensörlerin giyilebilir, klinik, gıda ve çevre gibi farklı alanlarda uygulamalarının her geçen gün arttığı görülmektedir. Bu derleme makalede, kâğıt tabanlı mikro akışkan sistemlerin tarihçesi, kâğıdın desenlendirmesi ve kimyasal sensör uygulamaları aktarılmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Kâğıt, Mikro akışkan, Kimyasal Sensör, Biyosensör, Kolorimetrik.

## ***Paper Based Microfluidic Colorimetric Sensor Systems***

### **Abstract**

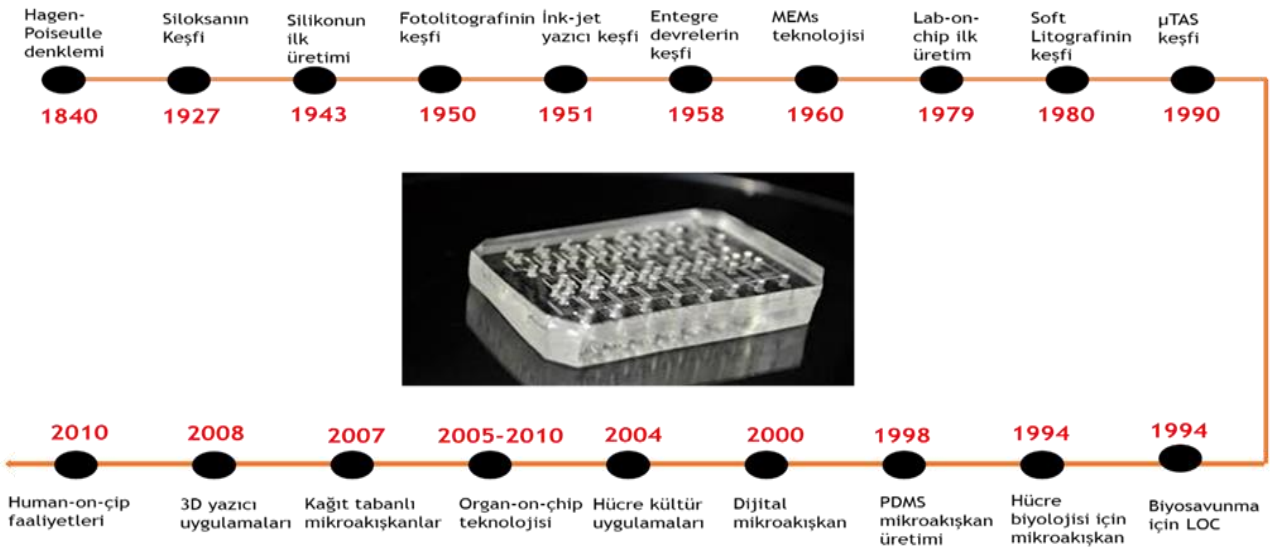
*Chemical sensor systems is a multidisciplinary field that stands out as a good example of progress in science and technology. Chemical sensors are analytical devices in which the sensing layer, transmission system and signal reading systems are integrated. It has to have criteria such as high sensitivity and selectivity, low cost, easy to use, portability. Basic science and engineering are used to meet the criteria. One of the important structures that provide great advantages*

in sensor systems and the product of multidisciplinary studies is microfluidic systems. Microfluidic systems are the technology of producing channel structures ranging from 100 nm to 100  $\mu$ m with different material types such as polydimethylsiloxane (PDMS), glass, and paper. Although each material has its own advantages and disadvantages, it is seen that the applications of  $\mu$ PAD chemical sensors in different fields such as wearable, clinical, food and environment are increasing day by day with the breakthrough studies carried out by the Whitesides Group with Paper-Based Microfluidic ( $\mu$ PAD) Sensors in 2007. In this review article, the history of paper-based microfluidic systems, patterning of paper and chemical sensor applications are presented.

**Keywords:** Paper, Microfluidics, Chemical Sensors, Biosensors, Colorimetric.

## 1. Mikro akışkan Sistemlerin Tarihçesi

Mikro akışkan sistemler, polidimetilsiloksan (PDMS), cam, kâğıt gibi farklı malzeme türleriyle 100 nm-100  $\mu$ m arasında değişebilen kanal yapıların üretilebilme teknolojisidir. Mikro akışkan sistemler; siloksanın (PDMS'in ham maddesi) keşfi, yarı iletken alanındaki gelişmeler ve akışkanların mikrometre ve nanometre boyutlarındaki davranışlarının açığa çıkarılmasına bağlı olarak gelişen bir teknolojidir (Berlanda ve ark., 2020; Cate ve ark., 2015). Mikro akışkan sistemler bilimsel ve endüstriyel yaşamda oyun değiştirici olarak kabul edilmektedir. Son yıllarda yapılan yoğun çalışmalara rağmen bilim otoriteleri tarafından, mikro akışkan sistemlerin adeta “gençlik dönemini” yaşadığı kabul edilmektedir. Mikro akışkan teknolojilerinde yenilikçi çalışmaların artması gerekliliği bir kez daha karşımıza çıkmaktadır. 30 yıl öncesine kadar laboratuvar ortamında yapılan analiz işlemleri, günümüzde kullanımı kolay, taşınabilir, hassasiyeti yüksek ve az miktarda örneklerle minyatür sistemler kullanılarak yapılabilmektedir. Minyatürleşme süreci, yani metrenin milyonda/milyarda biri boyutlarında işlemler yapılabilmesi, mikro akışkan sistemlerde yapılan gelişmelere borçludur (Convery ve ark., 2019).



Şekil 1. Mikro akışkan sistemlerin tarihsel gelişimi (Convery ve ark., 2019).

Dünya genelinde, bilim insanlarının hammadde ve teknik alt yapıya ulaşılabilirliğinin artması ile mikro akışkan sistemlerin tasarlanması, üretilmesi ve farklı alanlarda kullanılması imkânı doğurmuştur. Bu durum mikro akışkan sistemlerin, kimyasal sensör alanında uygulama potansiyelini ortaya çıkarmıştır (Berlanda ve ark., 2020). Mikro akışkan sistemlerin oluşum ve farklı alanlardaki uygulama süreçleri Şekil 1’de gösterilmektedir (Convery ve ark., 2019). Mikro akışkan sistemler; PDMS, cam, silikon, kâğıt gibi birçok malzemenin litografi yöntemleri kullanılarak sub-mikron boyutlarında oluşturulabilmekte ve birçok uygulamada karşımıza çıkmaktadır (Dincer C ve ark., 2019).

Kâğıt her yerde bulunabilen, uygun maliyetli bir malzemedir. Kâğıdın ana yapısını selülozik fiberler oluşturmaktadır ki bu durum hidrofilik yapıdaki sıvıların dışarıdan pompa ya da herhangi bir kuvvet uygulanmadan fiberler yardımıyla akmasını sağlar. Kâğıdın depolanabilmesi ve transfer işlemleri, ince ve hafif olması sebebiyle oldukça kolaydır. Biyoyumlu olmasının yanı sıra DNA, antikör gibi biyolojik moleküllerin immobilizasyonu için selülozik fiber yapıların geçirgenlik, reaktivite, hidrofobik gibi özellikleri kimyasal modifikasyonla değiştirilebilmektedir. Kolorimetrik testlerde beyaz rengi sayesinde güçlü kontrast oluşturabilmektedir. Kâğıt hamurunun işleme süreçlerine bağlı olarak ince, hafif ve esnek kâğıt eldesi yapılabilmektedir. Bu nedenle kâğıt, geleneksel silikon, plastik ve cam gibi materyallere göre özellikle gelişmekte olan ülkelerde geliştirilen biyosensör sistemlerinde daha fazla tercih edilmektedir (Dixit C.K ve ark., 2016; Martinez A ve ark., 2010; Liana D ve ark., 2012).

Hazırlanan bu derleme makalede 2007 yılından itibaren çalışmaların sıklığı kâğıt tabanlı mikro akışkan sensör sistemlerinin tarihçesi, malzeme seçimi, fabrikasyon yöntemleri ve kimyasal sensör uygulamaları ( $\mu$ PADs) aktarılmaktadır.

## **2. Mikro akışkan Sistemlerde Kâğıdın Serüveni**

Kâğıt, yüzyıllardır analitik testler için materyal olarak kullanılmaktadır. 17. yüzyılda turnusol kağıdının analiz çalışmalarında kullanılması bunun ilk örneğidir. 1866’da Hugo Schiff tarafından yapılan ilk yayında, ürik asidin gümüş karbonat emdirilmiş turnusol kağıdıyla kolorimetrik olarak tespiti aktarılmaktadır. Bayley tarafından 1878 yılında kadmiyumun tespiti, 1883’te Oliver tarafından idrarda glikoz tespiti gibi uygulamaların ortaya konulduğu bilinmektedir. 1937 yılında Yagoda tarafından filtre kağıdında parafin kullanılarak yapılan hidrofobik yollarla hedef bölgenin sınırlandırıldığı bir kâğıt analiz sistemi ortaya konmuştur. Yagoda günümüz mikro akışkan kâğıt

sistemlerinin başlangıç hareketi olarak şu cümleleri kullanmıştır (Martinez A ve ark., 2010; Liana D ve ark., 2012).

*“Kâğıdın liflerine gömülü bir su itici bariyer yardımı ile lekenin geniş bir yüzeye yayılmasından dolayı duyarlılık kaybı olmadan, olağan gözenekliliğe sahip filtre kâğıdında deney yapmak mümkün hale gelir. Aynı zamanda hem alandaki hem de lekenin tonundaki homojenlik sonucu, iyon konsantrasyonunu çözeltinin damlası tarafından üretilen renklenme yoğunluğundan yaklaşık olarak belirlemek mümkündür.”*

Yagoda'nın çizmiş olduğu geniş vizyona rağmen, kâğıt temelli sistemlerin ilk uygulamaları 1949 yılında kromatografi alanında yapılan gelişmelerle yaşanmıştır. Uzun süre kâğıt sistemlerin mikro akışkan yapılarda örneklerine rastlanmamıştır. Whitesides ve grubu tarafından 2007 yılında, kâğıda hidrofobik kanallar kazandırılarak sıvı akışının kolaylıkla sağlanması ve hassas, taşınabilir, düşük maliyetli bir kimyasal sensör geliştirmesi dönüm noktası olmuştur. Bu tarihten itibaren farklı analiz teknikleriyle birleştirilerek kâğıt temelli mikro akışkan tespit sistemleri üzerine çalışmaların arttığı gözlemlenmektedir (Liana D ve ark., 2012).

## **2.1. Kâğıt Temelli Mikro akışkan Sensörlerde Kâğıt Seçimi**

Mikro akışkan sistemlerde kullanılmak üzere kâğıt seçiminde performans, sıvı akış oranı, esneklik, fabrikasyon metodu gibi parametrelerin göz önünde bulundurulması gerekmektedir.

Son yıllarda mikro akışkan teknolojisi ve sensörlerin gelişimine bağlı olarak esneklik özelliğinden dolayı kâğıt temelli sensörlerin üretiminde filtre kâğıtları çok yaygın şekilde kullanılmaktadır. Whatman® No.1 filtre kâğıdının ortalama akış oranı ve sıvıyı tutma oranı yüksek olduğu için birçok çalışmada kullanılmaktadır. Bununla birlikte çalışmanın amacına bağlı olarak filtre kâğıdının çeşidi değiştirilebilmektedir (Koczula K ve ark., 2016).

Kâğıt türünün değiştirilmesinin yanı sıra kâğıt üzerinde modifikasyon da yapılabilmektedir. Bu sayede immobilizasyon yapılacak enzim, DNA ve proteinlerin daha stabil bir halde kâğıtta kalabilmesi adına birçok farklı kimyasal reaksiyon geliştirilmiştir (Ahmed S ve ark., 2016).

Filtre ve nitroselüloz membranların dışında parlak kuşe kâğıt temelli sistemler de günümüzde kullanılmaktadır. Parçalanabilirliğinin düşük olması ve görece olarak daha düzgün bir yüzeye sahip olmasından dolayı parlak kâğıdın, sensör sistemleri için özellikle yüzeyin modifiye edilmesine ihtiyaç duyulan çalışmalarda daha uygun bir materyal olduğu bilinmektedir (Koczula K ve ark., 2016; Ahmed S ve ark., 2016).

## **2.2. Kâğıt Temelli Mikro akışkan Sensörlerin Fabrikasyon ve Desenlendirme Yöntemleri**

Kâğıt temelli biyosensörlerin fabrikasyonunda sıvı taşıma sisteminin oluşturulması, bir dönüştürücü yöntemin seçilmesi ve spesifik reseptör-ligand etkileşimi için yüzey işlevselleştirmesi önemlidir. Sıvı Taşıma Sistemi için, kâğıtta hidrofobik kanalların oluşturulması gerekmektedir. Hidrofobik kanal sayesinde sıvının istenmeyen alanlara akması engellenebilmektedir. Aynı zamanda verilecek şekle bağlı olarak tek bir kâğıt üzerinde farklı test bölgeleriyle aynı anda farklı moleküllerin tespitini yapma imkânı oluşturulabilmektedir (Ahmed S ve ark., 2016).

Desenlendirme işlemi ile selüloz kâğıdın belirli alanların hidrofilikten hidrofobik hale dönüşümü sağlanmaktadır. İki paralel hidrofobik çizgi kanal görevi görür, çünkü hidrofilik numune çözeltisi hidrofobik çizgiye veya bariyere nüfuz edemez, sonuç olarak sıvı, kılcal hareket nedeniyle kanallardan akabilmektedir. Kâğıdın fabrikasyon ve desenlendirilmesinde, düşük maliyet, üretim kolaylığı ve verimli üretim imkânı kriterlerini karşılayan malzemelerin seçilmektedir (Ahmed S ve ark., 2016; Xia Y ve ark., 2016).

Kâğıdın özelliklerini ayarlamak için kullanılacak kimyasal modifikasyon ve/veya fiziksel biriktirmeyi içeren çeşitli teknikler ve işlemler vardır. Literatürde fotolitografi, analog çizim, mürekkep püskürtmeli yazıcı, fleksografi baskı türü, bal mumu serigrafı, plazma uygulaması, kâğıt kesme, bal mumu baskı, lazer uygulaması, serigrafı gibi uygulamalar mevcuttur (Ahmed S ve ark., 2016).

Fotolitografi, kromatografik kâğıdı modellemek ve iyi kontrol edilen, yüksek hassasiyette yapılar oluşturmak için yaygın olarak kullanılan konvensiyonel bir fabrikasyon metodu olup istenen desen için fotorezist ve UV kullanılmaktadır (Ahmed S ve ark., 2016; Xia Y ve ark., 2016). Ticari fotorezist olarak SU-8 kullanılmaktadır. SU-8 diğer fotorezistlerden daha iyi performans göstermektedir ve 1 µm altında kanal genişliği oluşturma imkânı sağlamaktadır. Bu yöntemin iki büyük problemi vardır. Bunlardan birincisi, fotorezist bariyerlerin sertleşmesine, kolay çatlamasına, bükülme esnasında hasara sebep olmaktadır. Bu problemin üstesinden gelmek için bir işaretleyici kullanılarak kâğıt üzerine elastomerik PDMS baskılaması gösterilmiştir (Xia Y ve ark., 2016). Bu teknik kullanılarak geliştirilen kâğıt tabanlı sensörlerin kanal bozulmadan katlanabildiği gözlemlenmektedir. Ayrıca, bu teknik ucuz malzemeler kullanıldığı için en temel araştırma laboratuvarlarında ve yaklaşık 1 mm hassasiyet gereken kâğıt tabanlı cihazlarda uygulanmaktadır. İkinci olarak, fotolitografi işlemi pahalı ekipmanlara ve çok fazla işlem adımına ihtiyaç duymaktadır.

Litografi işlemi dışında bir diğer desenlendirme yöntemi olarak karşımıza balmumu baskı sistemi çıkmaktadır. Bu yöntem kolay, hızlı, düşük maliyetli ve büyük miktarlarda üretim için kolay

bir şekilde uygulanabilmektedir. Uygulama sonrası oluşan kanal genişlikleri 1-5 mm olarak görünmektedir. Ayrıca balmumunun kâğıda nüfuz ettirilmesi çoğu durumda zor olsa da tek bir kâğıt tabakası içinde 3D ve çok katmanlı yapılar elde edebilmek için hala kullanılabilir (Ahmed S ve ark., 2016; Xia Y ve ark., 2016).

Liao ve arkadaşlarının püskürtmeli mürekkep yöntemi, mürekkep yazıcının kâğıt temelli mikro akışkan sensör geliştirilmesi amacıyla kullanılması işlemini kapsamaktadır. Bu yöntem, viskoz çözelti içerisinde bulunan çeşitli hidrofobik materyallerin yaygın kullanılan alkil keten dimer, polistiren, poliakrilat içeren yazıcı mürekkebiyle yer değiştirmesini kapsamaktadır. Abe ve arkadaşları polistiren içeren tolüen kullanarak kâğıdı hidrofobik hale dönüştürmüştür. Diğer yandan Li ve arkadaşları, plazma işlemi kullanarak kâğıt yüzeyini modifiye etmiştir. (Hossain ve ark., 2009).

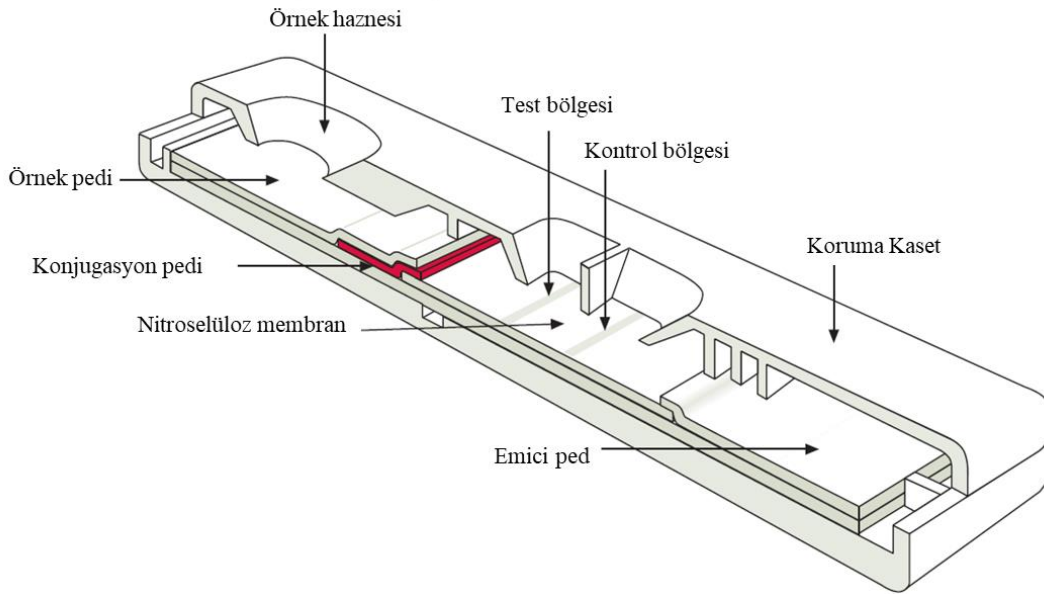
Sıvı materyalin otomatik veya manuel bir alet yardımıyla sabitlenen şablon üzerine eklenerek hidrofobik kanalların oluşturulduğu çok yönlü tekniğe serigrafi denilmektedir. Çok eski tarihlere dayanan serigrafi yöntemi diğer yöntemlere göre daha hızlı fabrikasyona uyum sağlar ve daha az maliyetlidir. Bu teknik ile konvensiyonel yöntemlerde olduğu gibi şablon üzerine maskeyi dökmek yerine püskürtmeli işlem uygulamaları da yapılabilir. Bu yöntem, ayrıca kâğıtta elektrotlar oluşturmak için yaygın şekilde uygulanmaktadır (Noviana E ve ark., 2021).

Fleksografik baskı, sıvı mürekkep ve desen içeren esnek bir plaka kullanılarak uygulanan ve endüstriyel ortamlarda yaygın olarak tercih edilen serigrafi tekniğinin bir başka çeşididir. Çeşitli mürekkepler ve yüzeyler için uygundur (Noviana E ve ark., 2021).

Mikro akışkan kâğıt temelli sistemler tek tabakadan oluşmaktadır ve 2B (iki boyutlu) olarak üretilmektedir. Geleneksel mikro akışkan sistemlerde gösterildiği gibi 3B mikro akışkan yapılar uygulamalarda daha kullanışlı olabilmektedir. 2B  $\mu$ PADs yapılarıyla yapılamayan uygulamaların 3B kâğıt mikro akışkan cihazlar kullanılarak yapılabileceği öngörülmektedir. Tek tabakalı desenli bir kâğıdın, origami tekniği kullanılarak 3B yapılar elde edilmektedir. Bu sistem sayesinde farklı kâğıtların aynı anda kullanılması fırsatı ortaya çıkmaktadır. Bu sistemlerin yapışkan bant ve lazer kesme ihtiyacını başarıyla ortadan kaldırdığı bilinmektedir (Martinez A ve ark., 2010; Martinez ve ark., 2008). Kâğıt tabanlı mikro akışkan kimyasal sensör üretiminde en önemli basamak; kanalların düşük maliyetle, hassas ve istenilen boyutlarda oluşturulabilmesidir.

### 2.3. Kâğıt Tabanlı Kolorimetrik Sensör Sistemlerinin Çalışma Prensibi

Kâğıt tabanlı kolorimetrik sensör sistemleri; örnek pedi (selüloz), konjugasyon pedi (cam fiberi), membran (nitroselüloz), absorban ped (selüloz) ve kaset olmak üzere Şekil 2’de gösterildiği gibi 5 parçadan oluşmaktadır. Analiz edilecek örnek, örnek pedi aracılığı ile test sistemine ait bölgelere doğru kapiller akış sayesinde ilerlemektedir. Konjugat pedinde nanoparçacıklar ile işaretlenmiş yakalayıcı biyolojik moleküller (genellikle antikorlar) bulunmaktadır. Test ve kontrol çizgilerine tespit için kullanılacak biyolojik moleküller hapsedilmiştir. Örnek pedinin ardından konjugat pedine ulaşan örnek içindeki analit, nanoparçacıklar ile işaretlenmiş antikorlar ile bağlanarak test ve kontrol çizgilerine doğru ilerlemektedir. Test çizgisinde ilgili analite spesifik antikorlar, kontrol çizgisinde ise sistemin çalıştığını göstermek üzere antikorlar immobilize halde bulunmaktadır. Nanoparçacık işaretli antikor ile bağlanmış analit; test çizgisindeki ikincil antikorlar ile bağlanarak bu bölgede renk değişimi oluşturarak tespiti mümkün kılmaktadır. Kontrol çizgisindeki antikorlar herhangi bir analite bağlanmamış nanoparçacık işaretli antikorları bağlayarak sistemin doğru çalıştığını göstermektedir.



Şekil 2. Kâğıt Tabanlı sensör sistemlerinin şematik gösterimi (Rapid Lateral Flow Test Strips, 2013).

### 2.4. Mikro akışkan Kâğıt Temelli Sensör Sistemleri ve Uygulama Örnekleri

Gelişen teknolojiyle birlikte biyolojik moleküllerin nitel/nicel analizleri için gaz kromatografisi, sıvı kromatografisi, UV-Vis Spektrofotometre, Sodyum Sodesil Sülfat Poliakrilamid

Jel Elektroforezi (SDS-PAGE), Western Blot, Southern Blot, Enzim Tabanlı İmmün Analizi (ELİZA), Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) gibi laboratuvar yöntemleri kullanılmaktadır.

Analizler için gerekli laboratuvar aletlerinin büyük ve pahalı olması, eğitimli personele ihtiyaç duyulması ve özellikle kan numunelerinin kişi tarafından alınamaması gibi nedenler bu yöntemlerin evde bakım hizmetlerinde, acil durumlarda veya az gelişmiş ülkelerde kullanım şansını azaltmaktadır (Koczula K ve ark., 2016; Noviana E ve ark., 2021). Bu nedenle özellikle az gelişmiş ülkelerde kullanılmak üzere  $\mu$ PAD tabanlı sensör alanında yapılan çalışmalar sıklaşmış durumdadır.  $\mu$ PAD tabanlı sensör sistemlerinin avantaj-dezavantajları şu şekildedir:

#### ***Avantaj;***

- Düşük maliyet,
- Düşük miktarlarda örnek kullanımı,
- Cihazın yapım ve üretim kolaylığı,
- Çoklu tespit yapabilme yeteneği,
- Sıvı transferi için ekstra bir kuvvete gerek olmaması,
- Kullanım kolaylığı,
- Hafif, esnek ve ince olması,
- Yüksek sinyal/gürültü oranına sahip olması,

#### ***Dezavantaj;***

- Çoklu testler için hassasiyetin düşük olması,
- Mevcut analiz formatında kantitatif analiz yapılamaması,
- Kantitatif sonuçlar elde edilmek için harici okuma sistemlerine ihtiyaç duyması,

Yukarıda ifade edildiği gibi kâğıdın düşük maliyeti, pasif olarak sıvı akışına izin vermesi, biyolojik/kimyasal moleküllerle uyumluluğu olması nedeniyle  $\mu$ PAD tabanlı sensör sistemleriyle yapılan çalışmalar artmaktadır (Koczula K ve ark., 2016). Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre teşhis cihazları; düşük maliyet, hassas, özgül, kullanıcı dostu, hızlı ve dayanıklı, herhangi bir ek ekipmana ihtiyaç duymadan son kullanıcıya ulaştırılabilme özelliğine sahip olmalıdır (Noviana E ve ark., 2021).

Kâğıt temelli mikro akışkan sensörlerin; patojen tespiti, çevre analizi, gıda kalite kontrolü, biyomedikal uygulamalar, biyolojik ve kimyasal harp maddelerinin tespiti gibi farklı konu başlıklarında uygulamaları görülmektedir.

Whitesides ve arkadaşları 2007 yılında çoklu analit tespiti için, kâğıt tabanlı mikro akışkan analitik cihazların ( $\mu$ PADs) fabrikasyonu fikrini ortaya atmıştır. Yapılan ilk çalışmada algılama yöntemi olarak, analitin konsantrasyonuyla değişen renk yoğunluğunu ölçen kolorimetri metodu esas



alınmıştır. Kolorimetri yöntemi artan teknolojik görüntüleme sistemleri (dijital kamera, cep telefonu kamerası ve dijital tarayıcı) sayesinde yaygın şekilde uygulanmaktadır. Bunun yanı sıra, yeni araştırmalar sonucunda elektrokimyasal, kemilüminesans, elektrokemilüminesans ve elektriksel yöntemler kullanan sensör sistemleri geliştirilmiştir (Martinez A ve ark., 2010).

Xiao ve arkadaşları 2019 yılında terden ölçüm yapabilen giyilebilir kolorimetrik glikoz sensörü geliştirme çalışmalarını paylaşmıştır. Epidermisten salgılanan terden düşük miktarda örnek 5 farklı mikro kanal aracılığı ile alınarak tespit bölgesindeki 5 farklı mikro hazneye taşınır. Bu haznelerdeki tek yönlü valf sistemleri ölçüm için gerekli olan bileşenlerin geri akmasını önlemektedir. Giyilebilir glikoz sensörünün yapımında polimetisiloksan (PDMS) malzeme kullanılmıştır. Renk değişimi ile kolorimetrik ölçüm sağlayacak glikoz oksidaz (GOD)-peroksidaz-o-dianisidine molekülü kullanılmıştır. Örnekteki glikoz varlığı durumunda glikoz oksidaz enzimi glikozu parçalayarak glukonik asite çevirir ve ortama hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) açığa çıkarır. Renksiz bir molekül olan o-dianisidine  $H_2O_2$  ile reaksiyona girerek kırmızı renk oluşturarak ölçüm mümkün hale gelir. Sonuçlar mikro akışkan temelli giyilebilir sensör sisteminin düşük miktarda örnek alma ve terden glikoz ölçümü için kullanılabilir olduğunu göstermiştir (Xiao ve ark., 2019).

İnsanoğlu var olduğu günden bu yana hemcinsleri üzerine sürekli olan üstünlük kurabilmek adına Kimyasal, Biyolojik, Radyolojik ve Nükleer silahları kullanmaktan geri durmamıştır (Kılıç S., 2006). Örnek vermek gerekirse; I. Dünya savaşında, II. Dünya savaşında ve son olarak 2013 yılında Suriye’de kimyasal ve biyolojik saldırıların uygulandığı bilinmektedir. KBRN silahları içerisinde özellikle Kimyasal ve Biyolojik harp silahlarının uygulandığı anda tespit edilmesi, silahların uygulandığı bölgenin tecriti ve bölgede bulunan insanların sağlığının denetiminin sağlanması açısından oldukça önem arz etmektedir (Hugh Fan Z., 2013). Bu kapsamda kâğıt tabanlı mikro akışkan kâğıt temelli sensör sistemlerini kolorimetrik ölçüm metoduyla birleştirerek sırasıyla 20–100 mM, 10–75 mM hassasiyete sahip sarin ve hardal gazlarının tespiti gerçekleştirilmiştir (Pardasani ve ark., 2012).

Afrika, Hindistan ve Uzakdoğu’da özellikle bu bölgelerin kaynak kısıtı olan kesimlerinde dang humması (DENV) ve chikungunya (CHIKV) hastalıklarının tespit edilmesi maksadıyla kâğıt tabanlı kolorimetrik hızlı biyosensör platformu geliştirilmiştir. Kâğıt yüzeyinde meydana gelebilecek renk değişiminin ölçülmesi amacıyla hızlı, kalem pille çalışabilen okuyucu cihaz tasarlanmıştır. Geliştirilen sistemle 30 dakika içerisinde kandan aynı anda ilgili hastalıkların IgG/IgM tespiti kalitatif olarak yapılmaktadır. 100 ng/mL DENV ve 10 µg/mL CHIKV düşük konsantrasyonlarda tespiti gerçekleştirilmiştir (Wang R ve ark., 2019).

$\mu$ PAD'ler, gıda sektöründe bir çok kullanım alanına sahiptir. Hossain ve arkadaşları elma yüzeyinde pestisit olarak bilinen paraksonu kolorimetrik iletim sistemine sahip  $\mu$ PAD ile 10 nM düzeyinde tespit etmiştir (Hossain ve ark., 2009). Ayrıca Zhang grubu gıda yüzeyinde bulunan antibiyotik kalıntılarını tespit etmek maksadıyla floresan özelliğe sahip moleküllerle  $\mu$ PAD sistemleri birleştirilerek Hg(II) ve Ag(I) tespit çalışması yapmıştır (Zhang ve ark., 2015).

Çevre analizi sürecinde, ağır metallerin ve diğer kirlilik oluşturan etmenlerin gerçek zamanlı tespiti önemlidir. Ancak halihazırda yapılan çalışmalara bakıldığında örnekler araziden toplandıktan sonra laboratuvara taşınıp analiz edilmektedir. Bu durum hem zaman kaybı hem de ölçümlerin düşük nitelikte oluşmasına sebebiyet vermektedir. Bu doğrultuda sahada tespit imkânı sunan kimyasal sensör sistemleri geliştirilmesi elzemdir (Hossain ve ark., 2011; Zhang ve ark., 2013). Hossain ve Brennan, kolorimetrik ölçüm yöntemi kullanılarak aynı anda birden fazla ağır metalin Ag(I) = 0.002 ppm, Cu(II) = 0.020 ppm, Cd(II) = 0.020 ppm, Hg(II) = 0.001 ppm, Pb(II) = 0.140 ppm, Ni(II) = 0.230 ppm, Cr(VI) = 0.150 ppm düzeyinde ölçülebilen bir kâğıt tabanlı mikro akışkan kimyasal sensör geliştirmiştir (Hossain ve ark., 2011). Bir başka çalışmada Zhang ve arkadaşları göl suyunda sırasıyla 10 pM and 0.2 nM konsantrasyon düzeyinde Hg(II) ve Pb(II) iyonlarını tespit eden elektrokemilüminesans iletim sistemine sahip  $\mu$ PAD tabanlı kimyasal sensör geliştirmiştir (Zhang ve ark., 2013).

Li ve arkadaşları 2019 yılında yayınladıkları çalışmada prostat kanseri belirteçlerinden birisi olan Prostate Specific Antigen (PSA) yatay akış testi cetveli (LFA Ruler) adını verdikleri hızlı ve kantitatif ölçüm yapabilen bir hasta başı test sisteminin geliştirilmesi bilgisini paylaşmıştır. Yatay akış sisteminde yapılan ölçümün miktar tayini yapılabilir bir sisteme dönüştürülebilmesi için reaksiyon sonucu oluşan ürünlerin ilerlemeleri miktar ile ilişkilendirilerek sisteme özgünlük katmıştır. Prostat spesifik antijen tespiti için yatay akış test ve kontrol bölgelerinde kullanılan antikorlar platin nanoparçacıklar ile işaretlenmiştir. LFA Ruler sisteminin deteksiyon limiti 0,54 ng/mL olarak hesaplanmıştır (Li ve ark., 2019).

## **2.5. Yatay Akış Testlerinde Hassasiyetin Artırılmasına Yönelik Örnek Çalışmalar**

Yatay akış testlerinde sinyal ve hassasiyetin artırılması üzerine çeşitli yaklaşımlar uygulanmaktadır. Farklı malzemelerden üretilmiş karbon türevi nanoparçacıkların, enzim, protein, biyotin gibi biyolojik moleküller ile konjuge edilmesi, kuantum noktalar veya ikili altın kullanılması gibi yaklaşımlar bulunmaktadır. İkili altın kullanarak sinyal artırılması için yapılan çalışmalarda birinci set altın nanoparçacıklar analiti yakalarken, ikinci set farklı büyüklükteki altın nanoparçacığın

birinci set altın nanoparçacık ile bağlanması sonrası sinyal artımı sağlanmaktadır. İki farklı altın nanoparçacığın birbirine bağlanması antijen-antikor ilişkisi, biyotin-streptavidin gibi birbirine afinitesi olan farklı moleküllerin kullanılması ile sağlanmaktadır.

Choi ve arkadaşları, 2010 yılında yayınladıkları çalışmada kalp krizi belirteçlerinden olan troponin 1 tespiti için ikili altın sistemini kullanan bir yatay akış testi geliştirilmesi üzerine sonuçları paylaşmıştır. Bu çalışmada birinci set için 10 nm ve ikinci set için 40 nm büyüklüğe sahip altın nanoparçacıklar kullanılmıştır. Bu sistem ile klasik yöntemle göre hassasiyette 100 kat daha artışla 0,01ng/mL troponin 1'in tespit edilebildiği gösterilmiştir (Dong ve ark., 2010).

Shen ve arkadaşları, 2019 yılı yayınlarında Hepatit B yüzey antijen (HBsAg) molekülünün tespiti için gerçekleştirdikleri çalışmaları paylaşmıştır. İkili altın nanoparçacık kullandıkları sistemde birinci set altın nanoparçacık HBsAg anitkoru ve biyotin ile işaretlenmiştir. İkinci set altın nanoparçacık ise biyotine yüksek afinitesi olan streptavidin ile işaretlenmiştir. Hepatit B yüzey antijeni ile yapılan deney sonucunda 0,1–30 ng/mL aralığında yaklaşık 10 dakika test süresi içerisinde tespit yapılabildiği gösterilmiştir (Youming ve ark., 2019).

### **3. Sonuçlar**

Analitik analiz işlemi; örneğin toplanması, hazırlanması, ayırım, ölçüm ve elde edilen bilginin yorumlanmasını kapsamaktadır. Bu işlem adımları uzun, zor, uzmanlık gerektiren ve pahalı sistemler olmakla beraber hassasiyeti ve seçiciliği oldukça yüksektir. Hassasiyeti ve seçiciliği yüksek, düşük maliyetli, kullanımı kolay, örnek hazırlığı içermeyen, taşınabilir kimyasal sensör geliştirme fikri 1990'lı yıllarda gelişen teknolojiyle birlikte ortaya atılan bir fikirdir. Bu fikrin desteklenmesi ve hayata geçirilmesi noktasında nanoteknoloji, mühendislik bilimleri, biyoteknoloji gibi birçok bilim dalından faydalanılmıştır. Sağlık, gıda, çevre ve KBRN konularında az numune ve operasyon sahasında istenilen hassasiyet ve seçicilikte kimyasal sensör oluşturulmasında mikro akışkan teknolojisi faydalanılan teknolojilerin başını çekmektedir.

Bu derleme makalede kâğıt tabanlı mikro akışkan sistemlerin büyüyen ve gelişen dünyadaki önemini gösterebilmek için kâğıt tabanlı kimyasal sensör üretim ve uygulamaları aktarılmıştır. Bu kapsamda fabrikasyon, malzeme süreci, sensör iletim sistemleri ve uygulamaya dair bilgiler verilmiştir. Bu çerçevede bakıldığında kolay ulaşılabilen, maliyeti uygun olan kâğıt tabanlı geliştirilecek kimyasal sensörlerin popülerliğini hiçbir zaman kaybetmeyeceği düşünülmektedir.

Kâğıt tabanlı kolorimetrik biosensör sistemlerinde renk değişimine dayalı nitel bir ölçüm yapılabilmektedir. Bu nedenle özellikle düşük konsantrasyonların tespitinde problemler

yaşanmaktadır. Akıllı telefonların kamerası ve özel olarak tasarlanmış mobil uygulamalar birleştirilerek taşınabilir, hassasiyeti yüksek sistemler geliştirebilmek mümkün görünmektedir. Renk değişimi için genelde koloidal altın nanoparçacıklar, lateks boncuk, floresan moleküller, kuantum noktalar kullanılabilir. Farklı konjugasyon moleküllerinin aynı anda kullanılabilmesi tasarımlar geliştirilerek yüksek hassasiyette farklı moleküllerin tespitinin mümkün hale gelebileceği öngörülmektedir. Sağlık sistemlerinde takip sistemleri yaygınlaşmış durumdadır. Bu konuda en önemli pay sahibi kişiselleştirilmiş sensör sistemleridir. Akış kontrollü kâğıt temelli sistemleri kullanarak ortaya çıkan ürünler bu alana olan ilgiyi gün geçtikçe artırmaktadır.

Kâğıt temelli sistemler kullanılarak geliştirilen ticari ürün sayısı şu an için az sayıdadır. Yakın gelecekte endüstriyel üretiminde yaşanacak gelişmelerle ticari ürünlerin sayısının artması beklenmektedir. Bu çerçevede, kâğıt temelli sistemlerin birçok analizde kullanılabilmesi öngörülmektedir.

#### **Yazarların Katkısı**

Çalışmada her iki yazar da eşit oranda katkı sunmuştur.

#### **Çıkar Çatışması Beyanı**

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

#### **Araştırma ve Yayın Etiği Beyanı**

Yapılan çalışmada, araştırma ve yayın etiğine uyulmuştur.

#### **Teşekkür**

ASELSAN Araştırma Merkezi ailesine teşekkürü bir borç biliriz.

#### **Kaynaklar**

- Ahmed S ve ark. (2016). Biosensors and Bioelectronics Paper-based chemical and biological sensors: Engineering aspects. *Biosensors and Bioelectronics*, 77, 249-263.
- Berlanda ve ark. (2020). Recent Advances in Microfluidic Technology for Bioanalysis and Diagnostics. *Analytical Chemistry*, 66.
- Cate ve ark. (2015). Recent Developments in paper-based microfluidic devices. *Analytical Chemistry*, 87-1, 19-41.
- Convery ve ark. (2019). 30 Years of Microfluidics. *Micro and Nano Engineering*, 2, 76-91.

- Dincer C ve ark. (2019). Disposable Sensors in Diagnostics, Food and Environmental Monitoring. *Advanced Materials*, 1806739(31,1806739), 1-28.
- Dixit C.K ve ark. (2016). *Fundamentals of Fluidics*. Springer.
- Dong ve ark. (2010). A dual gold nanoparticle conjugate-based lateral flow assay (LFA) method for the analysis of troponin I. *Biosensors and Bioelectronics*, 25, 1999-2002. doi:10.1016/j.bios.2010.01.019
- Hossain ve ark. (2009). Reagentless bidirectional lateral flow bioactive paper sensors for detection of pesticides in beverage and food samples. *International Pest Control*, 296-304.
- Hossain ve ark. (2011). B-Galactosidase-based colorimetric paper sensors for determination of heavy metals. *Analytical Chemistry*, 8772-8778.
- Hugh Fan Z. (2013). Chemical Sensors and Microfluidics. *Journal of Bioensors & Bioelectronics*, 1-2.
- Jingyu ve ark. (2019). Microfluidic Chip-Based Wearable Colorimetric Sensor for Simple and Facile Detection of Sweat Glucose. *Analytical Chemistry*, 91, 14803-14807. doi:10.1021/acs.analchem.9b03110
- KILIÇ, S. (2006). Biyolojik Silahlar ve Biyoerörizm. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 1-20.
- Koczula K ve ark. (2016). Lateral Flow Assays. *Essay in Biochemistry*, 60, 111-120.
- Kosack ve ark. (2017). A guide to aid the selection of diagnostic tests. *World Health Organisation*, 95, 639-645.
- Li ve ark. (2019). Lateral Flow Assay Ruler for Quantitative and Rapid Point-of-care Testing. *Analyst*, 140, 3314-3322. doi:10.1039/c9an00374f
- Liana D ve ark. (2012). Recent Advances in Paper-Based Sensors. *SENSORS*, 11505-11526.
- Martinez A ve ark. (2010). Diagnostics for the Developing World: Microfluidic Paper-Based Analytical Devices. *Analytical Chemistry*, 3-10.
- Martinez ve ark. (2008). Simple Telemedicine for Developing Regions: Camera Phones and Paper-Based Microfluidic Devices for Real-time, Off-Site Diagnosis. *Analytical Chemistry*, 3699-3707.
- Martinez ve ark. (2008). Three-dimensional microfluidic devices fabricated in layered paper and tape. *PNAS*, 105(50), 19606-19611.
- Moerner ve ark. (1999). Illuminating Single Molecules in Condensed Matter. *Science*, 283, 1670.
- Noviana E ve ark. (2021). Microfluidic Paper-Based Analytical Devices: From Design to Applications. *Chemical Reviews*.
- Pardasani ve ark. (2012). u-PADs for detection of chemical warfare agents. *Analyst*, 137(23), 5648-5653.
- Rapid Lateral Flow Test Strips. (2013). Germany: Merck Millipore.
- Sharma ve ark. (2021). Wearable Biosensors: An Alternative and Practical Approach in Healthcare and Disease Monitoring. *MDPI*, 26(478).
- Wang R ve ark. (2019). Rapid Diagnostic Platform for Colorimetric Differential Detection of Dengue and Chikungunya Viral Infections. *Analytical Chemistry*, 91, 5415-5423.
- Xia Y ve ark. (2016). Fabrication techniques for microfluidic paper-based analytical devices and their applications for biological testing. *Biosensors and Bioelectronics*, 77, 774-789.
- Xu ve ark. (2021). Wearable Biosensors for Non-Invasive Sweat Diagnostics. *MDPI*, 11(245).
- Youming ve ark. (2019). Signal-Enhanced Lateral Flow Immunoassay with Dual Gold Nanoparticle Conjugates for the Detection of Hepatitis B Surface Antigen. *ACS Omega*, 4, 5083-5087. doi:10.1021/ascomega.8b03593

- Zhang ve ark. (2013). Three-dimensional paper-based electrochemiluminescence device for simultaneous detection of Pb<sup>2+</sup> and Hg<sup>2+</sup> based on potential control technique. *Biosensors and Bioelectronics*, 41(1), 544-550.
- Zhang ve ark. (2015). A low-cost and simple paper-based microfluidic device for simultaneous multiplex determination of different types of chemical contaminants in food. *Biosensors and Bioelectronics*, 14-19.