



## QCM TABANLI İMMÜNOSENSÖR UYGULAMALARI

Maria MOHAMED<sup>1\*</sup>, Mehmet Ali EBEOĞLU<sup>2</sup>

Kütahya Dumlupınar Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Elektrik Elektronik Bölümü, Kütahya,

[mariya.mohamed@ogr.dpu.edu.tr](mailto:mariya.mohamed@ogr.dpu.edu.tr)

Kütahya Dumlupınar Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Elektrik Elektronik Bölümü, Kütahya, [mali.ebeoglu@dpu.edu.tr](mailto:mali.ebeoglu@dpu.edu.tr)

*Geliş Tarihi (Received Date):*24.08.2022

*Kabul Tarihi (Accepted Date):*30.12.2022

### ÖZ

Günümüzde biyosensör teknolojisi ve uygulamaları, hastalıkların hızlı teşhisi ve tedavisinin izlenmesi için vazgeçilmez bir araç haline gelmiştir. Bu çalışmada, sensörlerin duyarlılığını ve seçiciliğini belirleyebilmek dört QCM (Kuvartz Kristal Mikroterazi) sensörü kullanıştır. [1]. Deneysel olarak algılanması gereken analitlerin konsantrasyon değişimine karşı frekans farkı değişimleri alınmış ve yorumlanmıştır. Sonuçta referans sensöre karşı kaplanmış olan sensörelere tepkilerin frekans değişimleri oaransal olarak algılanan kütle değişimleri tepkileri elde edilmiştir. Sonuçta algılanan kütle değişimlerinin konsantrasyona göre değişimlerinden, yaklaşık doğrusal tepkiler alınmıştır. Bu çalışmada deneysel olarak kullanılan analitler protein fibronektin (FBN), nükleik asit (DNA), proteinaz-K ve sığır serum albümini (BSA) dört farklı biyomolekül ajanlarının farklı konsantrasyonları kullanılarak 3 farklı kaplanmış QCM sensör kullanılarak kütle değişiminin frekansa karşı olan değişimleri alınmıştır. Her bir değişimin matematiksel eşitlikleri elde edilerek olası biyosensör kullanımlarında QCM sensörlerin duyarlı olduğu ve ilgili analitlerin tespitinde kullanılabilecekleri araştırılmıştır.

BSA: Bovin Serum Albumin, FBN: Fibronektin, DNA: Deoksiribonükleik Asit.

**Anahtar Kelimeler:** *QCM sensör, immünosensör, sensör sistemi, duyarlılık*

### APPLICATION OF QCM IMMUNOSENSOR

#### ABSTRACT

Today, biosensor technology and applications have become an indispensable tool for rapid diagnosis and monitoring of diseases. [1]. In this study, four QCM sensors are used to determine the sensitivity and selectivity of the sensors. The frequency difference changes against the concentration change of the analytes that should be detected experimentally were taken and interpreted. As a result, the perceived mass changes responses were obtained proportionally to the frequency changes of the responses of the coated sensors against the reference sensor. As a result, approximately linear responses were obtained from the changes in the perceived mass changes with respect to the concentration. The changes of mass change versus frequency were taken using three different coated QCM sensors using different concentrations of four different biomolecule agents experimentally used in this study, namely protein fibronectin (FBN), nucleic acid (DNA), proteinase-K and bovine serum albumin (BSA). By obtaining the mathematical equations of each change, it was investigated that

QCM sensors are sensitive in possible biosensor uses and that they can be used in the detection of related analytes.

BSA: Bovin Serum Albumin, FBN: Fibronectin, DNA: Deoxyribonucleic Acid.

**Keywords:** *QCM sensor, immunosensor, sensor system, sensitivity.*

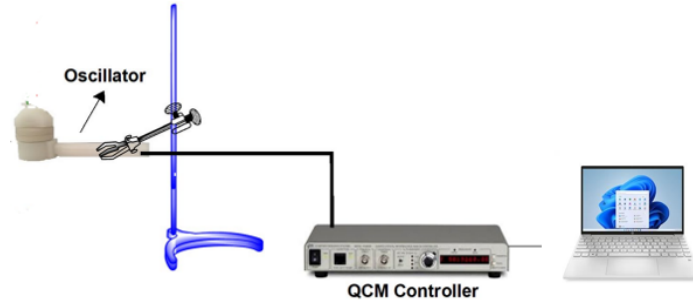
## 1. GİRİŞ

Günümüzde biyosensör kullanılan sistemlerin artarak kullanıldıkları gözlemlenmektedir. Özellikle ucuz ve kısa süreli tekrarlanabilir tepki vermeleri nedeniyle kullanım alanları özellikle sağlık alanında artmaktadır. Bu yeni analitik cihazlar, özellikle de sağlık alanında ve güvenli sensör sistemleri tasarımlarında yaygın olarak kullanım alanı bulmaktadır.

Çevremizdeki kirleticilerin belirlenmesinde biyolojik ajanların hızlı, güvenilir, ucuz ve doğru bir şekilde tespit edebilen sensör sistemlerine gereksinim duyulmaktadır. Fakat halen kullanılmakta olan geleneksel yöntemler, genellikle merkezi kurulumlarda, önemli miktarda sermaye ve yüksek nitelikli işgücü gerektiren karmaşık analitik laboratuvarların kullanılmasını gerektirmektedir. Biyolojik ajanların tespitinde düşük maliyetli ve yüksek verimli biyosensör tabanlı cihazlar geliştirilebilmektedir. Ayrıca biyomedikal izleme gibi çeşitli alanlarda da kullanılabilirler. Genellikle kütle değişimini ng mertebesinde seçici ve yüksek duyarlılığı olan SAW ve QCM sensörler bu tür sistemlerde algılayıcılar olarak kullanılmaktadır. [2]. Özellikle basit yapıları nedeniyle QCM sensörler uygulamalarda tercih edilmektedirler. Bu çalışmada deneysel olarak kullanılan analitler protein fibronectin (FBN), nükleik asit (DNA), proteinaz-K ve sığır serum albümini (BSA) gibi dört farklı biyomolekül ajanların farklı konsantrasyonları kullanılarak, üç farklı algılayıcı ile kaplanmış QCM sensörler kullanılarak kütle değişiminin frekansa karşı olan değişimleri elde edilmiştir. Bu sistemde kullanılan analitlerin değişimlerini incelemek için dört farklı QCM sensör, bunlardan bir tanesi algılayıcı kaplanmamış referans sensör olarak kullanılmıştır. QCM sensörlerin frekans farklarını algılamak için de ticari olarak geliştirilmiş QCM200 sistemi kullanılmıştır. QCM 200 kullanılarak analitlerin belirlenen konsantrasyonlarına karşı frekans değişimleri alınarak PC de kaydedilmiştir. Deneysel olarak alınan frekans değişimlerini kullanarak, sensörlerin algılanan kütleli duyarlılıkları ve seçicilikleri analiz edilmiştir.

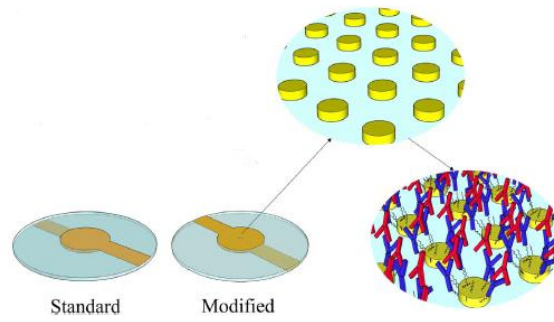
## 2. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Son yıllarda, son derece hassas bir sensör olarak QCM'ler, özellikle biyomedikal alanlar olmak üzere çeşitli alanlarda yoğun bir şekilde çalışılmaktadır. [3] [4] [5]. Deneysel çalışmada QCM sensörler rezonans frekansının kütle değişimine duyarlıdır. QCM sensörlerin elektrotlara kaplanan malzemenin seçiciliği ve duyarlılığı farklılaştırmaktadır. Deneyde kullanılan analitlerin konsantrasyonuna göre kütleli bağımlılığı sensörlerde farklı rezonans değişimlerinin oluşmasına neden olmaktadır. Hem analit farklılığı ve hem de farklı konsantrasyon nedeniyle elde edilen frekans değişimleri oluşmaktadır. Elde edilen değişimler yorumlanarak algılanan analitin kimliği ve konsantrasyon verisi elde edilmeye çalışılmıştır. QCM sensörlerin frekans farklarını algılamak için QCM200 kullanılmıştır. Analitlerin değişimlerini incelemek dört farklı QCM sensör kullanılmıştır. QCM sensörlerden bir tanesi algılayıcı kaplanmamış, referans sensör olarak kullanılmıştır. Deneylerde frekans değişimini algılamak için QCM 200 kullanılmıştır. Herbir Analitin belirlenen konsantrasyonlarına karşı frekans değişimleri tüm sensörler için alınarak PC de kaydedilmiştir.



**Şekil 1.** Deneyde Kullanılan QCM Algılama Sistemi.

Şekil.2 de QCM sensörlerdeki analitlerin adsorbsiyonu şematik olarak gösterilmiştir. Sistemde analit ve konsantrasyon değişimi QCM sensörlerin frekansında değişime neden olmaktadır.



**Şekil 2.** QCM Sensörlerdeki Analitlerin Adsorbsiyonu.

Sistemde analit ve konsantrasyon değişimi veya kütleli değişim QCM sensörlerin frekansında oluşturduğu değişim Sauerbrey eşitliği ile hesaplanabilmektedir. QCM yüzeyindeki kütle-frekans ilişkisini tanımlayan Sauerbrey denklemi kullanılarak QCM sensörlerdeki frekans değişiminin, kütleli değişimin bulunmasında da halen kullanılmaktadır [6].

$$\Delta m = -C_{QCM} \times \Delta f \quad (1)$$

Eşitlikte  $\Delta m$  kütle değişimi ve  $\Delta f$  frekansdeğişimidir.  $C_{QCM}$ , 5 MHz AT-cut QCM'ler için  $17.7 \text{ ng cm}^{-2} \text{ Hz}^{-1}$  değerine sahip kütle duyarlılık sabitidir. Bu temel alınarak QCM tabanlı electronic-Nose (e-nose) ve electronic-Tonque sistemleri geliştirilmiştir. Sistemlerde yaklaşık olarak duyarlılık  $S=1 \text{ ng/Hz}$  olarak verilmektedir. Günümüze kadar, Sauerbrey eşitliği e-nose sistemi ile gaz ortamındaki değişimlerde ve e-tonque sistemi de sıvı ortamındaki kütleli değişimleri izlemek amaçlı olarak kullanılmaktadır [7], [8]. Bu algılama sistemlerinde QCM sensörler, yüksek seçicilik ve duyarlılık ile gerçek zamanlı çıktı, basit ve ucuz sistemlerde kullanılabilmektedir [9].

Damıtılmış su ile takviye edilmiş (FBN, BSA ve DNA) konsantrasyonları ile yapılan deneylerde, frekanstaki zamanla azalma, analitlerin (FBN, BSA ve DNA) yüzey sensörleri üzerindeki kaplama tabakasına yapıştığını göstermiştir. Deneyler sırasında farklı konsantrasyon oranlarındaki FBN, BSA

ve DNA ve saf su çözeltileri 5'er dakikalık aralıklarla ölçülmüştür. İki farklı çözelti ölçümü arasında da sistemin referans frekans değerine geldiği QCM sensöre distile su verilerek test edilmiştir. Elde edilen ölçüm sonuçlarına göre analitin konsantrasyonu artırıldıkça frekans değişimi azalmış ve referans frekansa göre de  $\Delta f$  frekans farkı artmıştır.

Yapılan deneylerde gözlemlenen durumda Proteinaz-K kristal yüzeyindeki adsorbsiyon sonrası absorbe olmadan kristal yüzeyinde uzun süreli olarak yıkanana kadar kalabildiği gözlemlenmiştir.



**Şekil 3.** QCM<sub>0</sub> Kaplamasız Sensör, QCM<sub>1</sub>, QCM<sub>2</sub> Ve QCM<sub>3</sub>) Kaplamalı Sensörler.

**Tablo 1.** QCM<sub>1</sub> Frekansı Ve Frekans Farkları Tablosu.

KONSANTRASYON (µg/µl)	DİSTİLE SU TEPKİSİ (Hz)	KAPLAMA FREKANSI (Hz)	FREKANS FARKI ΔF(Hz)
0,02 (FBN)	5011025,0	5009462,2	1 562,8
0,04 (FBN)	5011035,0	5008308,4	2 726,6
0,06 (FBN)	5011075,9	5005867,8	5 208,1
0,08 (FBN)	5011083,6	5005312,4	5 771,2
0,2 (BSA)	5011092,6	5009828,9	1 263,7
0,4 (BSA)	5011125,8	5008273,0	2 852,8
0,6 (BSA)	5011160,4	5007123,7	4 036,7
0,8 (BSA)	5011175,0	5005972,9	5 202,1
0,089 (DNA)	5011092,6	5007353,9	1 381,0
0,179 (DNA)	5011310,5	5004780,1	6 530,4
0,268 (DNA)	5011340,4	5004543,9	6796,5
0,358 (DNA)	5011417,2	5003567,9	7 849,3

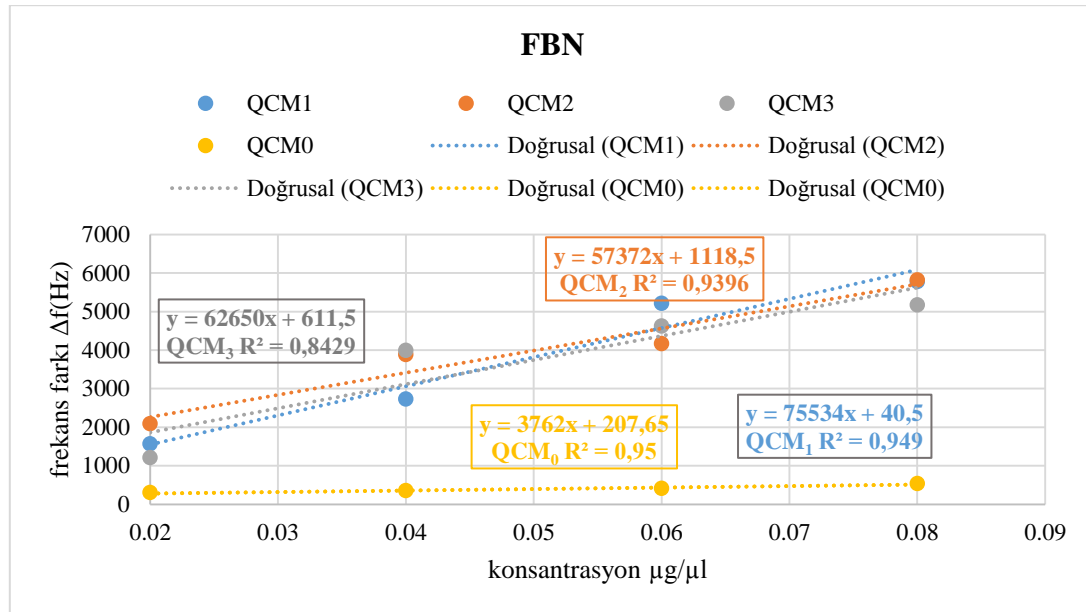
**Tablo 2.** QCM<sub>2</sub> Frekansı Ve Frekans Farkları Tablosu.

KONSANTRASYON (µg/µl)	DİSTİLE SU TEPKİSİ (Hz)	KAPLAMA FREKANSI (Hz)	FREKANS FARKI ΔF(Hz)
0,02 (FBN)	5012490,3	5010403,9	2086,4
0,04 (FBN)	5012540,3	5008658,1	3882,2
0,06 (FBN)	5012687,5	5008526,0	4161,5
0,08 (FBN)	5012735,1	5006917,0	5818,1
0,2 (BSA)	5012792,4	5010711,2	2081,2
0,4 (BSA)	5012802,4	5009774,2	3028,2
0,6 (BSA)	5012815,0	5007802,9	5012,1
0,8 (BSA)	5012853,5	5004620,7	8232,8
0,089 (DNA)	5013203,5	5009905,9	3297,6

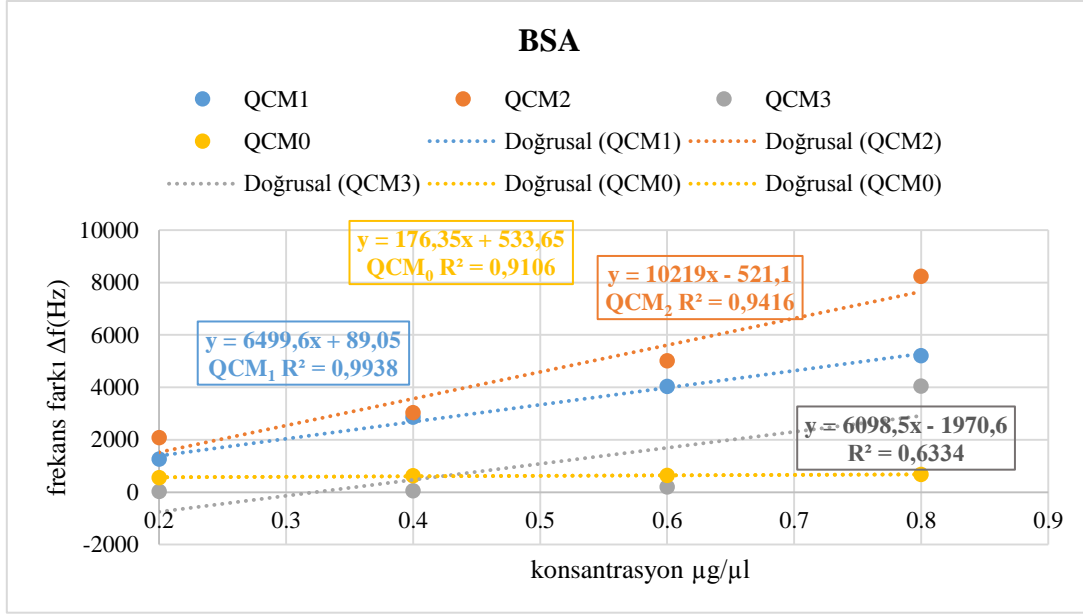
0,179 (DNA)	5013281,6	5007527,0	5754,6
0,268 (DNA)	5013321,0	5005555,1	7765,9
0,358 (DNA)	5013459,9	5005327,0	8129,9

**Tablo 3.** QCM<sub>3</sub> Frekansı Ve Frekans Farkları Tablosu.

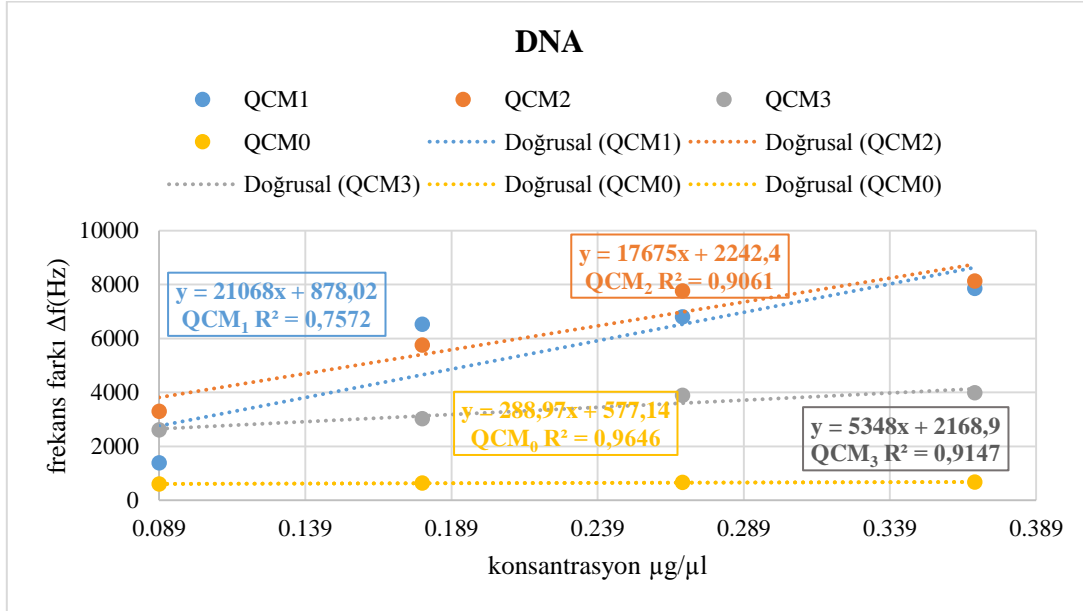
KONSANTRASYON (µg/µl)	DİSTİLE SU TEPKİSİ (Hz)	KAPLAMA FREKANSI (Hz)	FREKANS FARKI ΔF(Hz)
0,02 (FBN)	5006763,3	5005561,1	1202,2
0,04 (FBN)	5006773,1	5002787,5	3985,6
0,06 (FBN)	5007042,0	5002420,9	4621,1
0,08 (FBN)	5007045,0	5001878,0	5167,0
0,2 (BSA)	5007044,0	5007019,1	24,9
0,4 (BSA)	5007024,6	5006971,2	53,4
0,6 (BSA)	5007032,7	5006840,9	191,8
0,8 (BSA)	5007046,3	5003001,9	4044,4
0,089 (DNA)	5007047,2	5004438,9	2608,3
0,179 (DNA)	5007054,2	5004024,6	3029,6
0,268 (DNA)	5007055,4	5007034,8	1202,2
0,358 (DNA)	5007068,9	5003168,9	3985,6



**Şekil 4.** QCM<sub>0</sub>, QCM<sub>1</sub>, QCM<sub>2</sub> Ve QCM<sub>3</sub> İçin FBN Konsantrasyonlarına Göre Frekans Değişimleri.



Şekil 5. QCM<sub>0</sub>, QCM<sub>1</sub>, QCM<sub>2</sub> Ve QCM<sub>3</sub> İçin BSA Konsantrasyonlarına Göre Frekans Değişimleri.

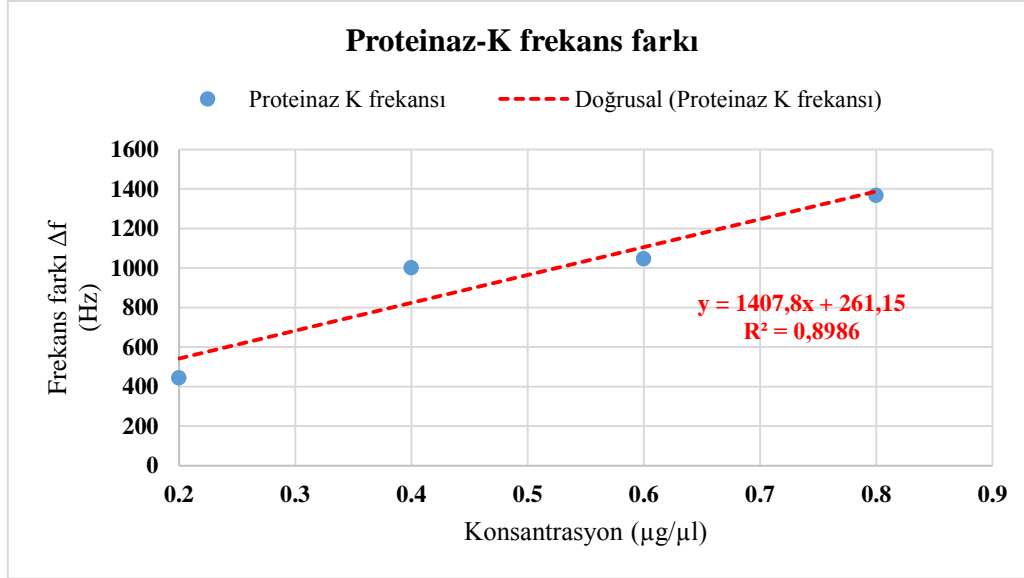


Şekil 6. QCM<sub>0</sub>, QCM<sub>1</sub>, QCM<sub>2</sub> Ve QCM<sub>3</sub> İçin DNA Konsantrasyonlarına Göre Frekans Değişimleri.

Yapılan deneysel ölçümlerde FBN, BSA ve DNA analitlerinin farklı konsantrasyonlarının bir sonucu olarak frekans değişimleri ( $\Delta f$ ), Şekil 4, 5 ve 6 de verilen ölçüm sonuçlarında verilmiştir. Verilen Şekillerdeki sonuçlar için eğri uydurma yöntemi kullanıldığında QCM<sub>0</sub>, QCM<sub>1</sub>, QCM<sub>2</sub> ve QCM<sub>3</sub> sensörlerinin yaklaşık doğrusal tepkiler verdiği görülmektedir. Tüm sensörler için elde edilen tepkiler, FBN, BSA ve DNA ölçümlerine de duyarlıdır. QCM<sub>0</sub>, QCM<sub>1</sub>, QCM<sub>2</sub> ve QCM<sub>3</sub> sensörlerinin transfer fonksiyonları da eşitliklerde verilmiştir. Eşitliklerde verilen QCM<sub>0</sub>, QCM<sub>1</sub>, QCM<sub>2</sub> ve QCM<sub>3</sub> sensörlerinin duyarlılıkları Tablo1.5’de verilmiştir.

**Tablo 4.** QCM<sub>0</sub>, QCM<sub>1</sub>, QCM<sub>2</sub> Ve QCM<sub>3</sub> Sensörlerine Göre Ölçümlerin Sonucu.

	<b>DUYARLILIK (Hz.µl/µg)</b>	<b>KORELASYON KATSAYISI</b>	<b>BELİRLEME KATSAYISI (coefficient of determination)</b>
QCM <sub>0(FBN)</sub>	3762	0,9746	0,95
QCM <sub>0(BSA)</sub>	176,35	0,9542	0,9106
QCM <sub>0(DNA)</sub>	288,97	0,9479	0,9646
QCM <sub>1(FBN)</sub>	6499,6	0,97414153	0,949
QCM <sub>1(BSA)</sub>	6499,6	0,99691583	0,9938
QCM <sub>1(DNA)</sub>	21068	0,87016652	0,8591
QCM <sub>2(FBN)</sub>	10219	0,96930412	0,9396
QCM <sub>2(BSA)</sub>	10219	0,97038331	0,9416
QCM <sub>2(DNA)</sub>	17675	0,95190117	0,9079
QCM <sub>3(FBN)</sub>	6098,5	0,91807808	0,8429
QCM <sub>3(BSA)</sub>	6098,5	0,79585132	0,6334
QCM <sub>3(DNA)</sub>	5348,0	0,95640353	0,9354



Şekil 7. QCM<sub>0</sub> Sensörü İçin Proteinaz-K Konsantrasyonlarının Göre Ölçümlerin Sonucu.

Şekil.7 verilen transfer fonksiyonu, eğri uydurma yöntemi ile elde edilmiştir. QCM<sub>0</sub> sensörünün Proteinaz-K konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak duyarlılığı 1407,8Hz.µg/µl'dir. Proteinaz-K konsantrasyonlarının değerleri ile değişim frekansların değerleri arasındaki korelasyon katsayısı  $r=0,9479$  olarak hesaplanmıştır. Korelasyon katsayısı +1'e yakın olduğundan, konsantrasyon değerleri ile  $\Delta f$  frekans değerleri arasında pozitif doğrusal bir ilişki olduğu görülmektedir. Bu doğrusal ilişki, doğrusal regresyon analizi  $R^2=0,8986$  ile de kanıtlanabilmektedir.

### 3. SONUÇLAR

Bu çalışma, QCM sensörleri kullanan sağlık alanında tasarlanabilecek imüno-sensörlerin kullanılacağı algılayıcı sistem tasarımında sensör tepkilerinin belirlenmesinde yapılan bir çalışma niteliğindedir. Özellikle belirli kanserli hastalıkları veya belirli virüsleri teşhis etmek için kullanılan mevcut yöntemlere alternatif bir yöntem olarak değerlendirilebilir. Bu nedenle kanserli hastalıkların en önemli tedavilerinden birisi de FBN proteindir. Bu amaçla FBN proteinin analit olarak seçilmiştir. Elde edilen sensör tepkilerinden elde edilen  $\Delta f$  değişimleri yorumlanarak algılanan analitin kimliği ve konsantrasyon verisi elde edilmeye çalışılmıştır.

Bu bölümde sırasıyla; analitlerimizin (FBN, BSA, DNA ve Proteina-K) parametrelerinin belirlenmesinde sensörlerin kullanımını ve bu elementlerin (FBN, BSA, DNA ve Proteinaz K) farklı konsantrasyonlarda damıtılmış su karışımları ile seçicilik çalışmalarını incelemek.

### 4. TARTIŞMA

Bu çalışmada analitlerimizin parametreleri (FBN, BSA, DNA ve Proteinaz K) QCM sensörleri kullanılarak incelenmiş ve sonuçlar yorumlanmıştır.



## TEŞEKKÜR

Yazarların teşekkür edeceği herhangi bir kişi ve ya kurum bulunmamaktadır.

## KAYNAKÇA

- [1] Giang, T. P. L., (2013), Support immunologique pour biocapteur: caracterisations physico-chimiques et biologiques, Paris: HAL
- [2] D. F. H. S. Holford T.R.J., (2012), «Biosensors and Bioelectronics,» %1 içinde *Biosensors and Bioelectronics*, pp. 34, 12.
- [3] Procek, M., Stolarczyk, A., Pustelny T. and Maciak, E. A., (2015) «Study of a QCM Sensor Based on TiO<sub>2</sub> Nanostructures for the Detection of NO<sub>2</sub> and Explosives Vapours in Air.,» %1 içinde *Sensors*, pp. 15, 9563–9581.
- [4] Bai, Q. and Huang, X., (2016), Using Quartz Crystal Microbalance for Field Measurement of Liquid Viscosities., *J. Sens*,
- [5] Yang, L., Huang, x., Sun, L. ve Xu, L.A., (2016) piezoelectric immunosensor for the rapid detection of expression in liquid-based cervical cytology specimens., p. 863–867.
- [6] Sauerbrey, G., (1959), «Use of quartz vibration for weighing thin films on a microbalance.,» %1 içinde *Use of quartz vibration for weighing thin films on a microbalance.* , *J. Phys.* pp. 155, 206–212.
- [7] Kanazawa, K.,(1997) « Mechanical behaviour of films on the quartz microbalance.,» %1 içinde *Faraday Discuss.* pp. 107, 77–90.
- [8] Bai, Q. ve Huang,X., (2017), Effective mass layer of a single drop of liquid located on a quartz crystal microbalance., *Sens. Mater.*, pp. 9, 539–544.
- [9] Marx, K., (2003), «Quartz crystal microbalance: A useful tool for studying thin polymer films and complex biomolecular systems at the solution-surface interface.,» %1 içinde *Biomacromolecules*, pp. 4, 1099–1120.