

**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
FENBİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FİZİK ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ**

**3- BOYUTLU MİKROELEKTROTLAR İLE MİKROAKIŞKAN CİHAZLARDA İÇME  
SUYUNDAN ELEKTRİKSEL TEK BAKTERİ TESPİTİ**

**MUSTAFA TAHSİN GÜLER**

**EKİM 2015**

**Fizik Anabilim Dalında** Mustafa Tahsin Güler tarafından hazırlanan 3- BOYUTLU MİKROELEKTROTLAR İLE MİKROAKIŞKAN CİHAZLARDA İÇME SUYUNDAN ELEKTRİKSEL TEK BAKTERİ TESPİTİ adlı Doktora Tezinin Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Saffet Nezir  
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumu ve tezin **Doktora Tezi** olarak bütün gereklilikleri yerine getirdiğini onaylarım.

Yrd. Doç. Dr. Çağlar Elbüken  
Ortak Danışman

Prof. Dr. Sedat Ağan  
Danışman

Jüri Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. Erdem Kamil Yıldırım \_\_\_\_\_  
Üye (Danışman) : Prof. Dr. Sedat Ağan \_\_\_\_\_  
Üye : Doç. Dr. Turgay Tekinay \_\_\_\_\_  
Üye : Doç. Dr. Kutalmış Güven \_\_\_\_\_  
Üye : Yrd. Doç. Dr. Mustafa Yüksel \_\_\_\_\_

...../...../.....

Bu tez ile Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Doktora derecesini onaylamıştır.

Prof. Dr. Mustafa Yiğitoğlu  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

**AILEME**



## ÖZET

### 3- BOYUTLU MİKROELEKTROTLAR İLE MİKROAKIŞKAN CİHAZLARDA İÇME SUYUNDAN ELEKTRİKSEL TEK BAKTERİ TESPİTİ

GÜLER, Mustafa Tahsin

Kırıkkale Üniversitesi

Fenbilimleri Enstitüsü

Fizik Anabilim Dalı, Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Sedat Agan

Eş Danışman: Yrd. Doç. Dr. Çağlar Elbüken

Ekim 2015, 116 sayfa

Suda bulunan patojenler her gün binlerce kişinin ölümüne sebep olmaktadır. Dolayısıyla bakterilerin hızlı ve düşük maliyetli tespiti zaruridir. Bu çalışmada çeşme suyundan tek bir bakterinin elektriksel olarak tespiti gerçekleştirilmiştir. Bakteriler mikron boyutunda olduğundan dolayı empedimetrik tespiti çok zordur. Empedimetrik sitometreler optik sitometreler kadar gelişmiş değildir ancak maliyet ve basitlik açısından çok büyük bir potansiyele sahiptir. Empedimetrik tespitte hassasiyetin artırılması için mikro üretim teknikleri uygulanmıştır. Mikro elektrotlar liftoff yöntemiyle, mikro kanallar da soft litografi yöntemiyle temiz oda içerisinde üretilmiştir. Mikro kanallar mikro elektrotlarla plazma yardımıyla birleştirilerek mikro akışkan çip oluşturulmuştur. Parçacıklar mikro kanaldan geçirilerek ve LCR metre ile tespiti yapılmıştır. İşin fiziğini incelemek ve hassasiyetini arttırmak için Comsol simülasyonları yapılmıştır. Çok ince hücre zarına sahip olan bakterileri incelemeye izin veren yeni bir elektriksel eşdeğer devre yaklaşımı geliştirilmiş ve uygulanmıştır. Bunun dışında yeni bir mikro akışkan çip üretme yöntemi geliştirilmiştir. Bu çiplerin üretimi 3 cm uzunluğunda çapı 25 µm olan atın tel lama yapıştırılıp ve üzerine de mikro kanal takılarak gerçekleştirilmiştir. Ardından kral suyu karışımı kanaldan geçirilerek altın tel aşındırılma yöntemiyle ikiye bölünmüş ve

3D elektrotlar oluşturulmuştur. Bu yeni tip elektrotların alışıldık yöntemlerle üretilen elektrolardan daha hassas olduğu deneysel olarak da kanıtlanmıştır. Son olarak 3D elektrotlar ile çeşme suyundan tek bakterinin tespiti gerçekleştirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** mikro akışkanlar, elektriksel bakteri tespiti, 3D mikro elektrotlar, simülasyon



## **ABSTRACT**

### **ELECTRICAL DETECTION OF A SINGLE BACTERIUM IN TAP WATER USING A MICROFLUIDIC DEVICE WITH NOVEL 3-DIMENSIONAL MICROELECTRODES**

GULER, Mustafa Tahsin

Kirikkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Physics, Ph.D. Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Sedat Agan

Co Supervisor: Asist. Prof. Dr. Caglar Elbuken

October 2015, 116 pages

Water borne pathogens cause thousands of deaths every day. Therefore rapid and low cost detection of bacteria is a mandatory task. In this study, electrical detection of single bacterium from tap water was done. Detection of bacteria, as micron size organisms, is a big challenge for impedimetric detection. Impedimetric cytometers are not as advanced as optical cytometers despite their great potential in terms of simplicity and cost. Microfabrication techniques were applied to increase sensitivity of impedimetric detection. Microelectrodes were fabricated with lift-off method and microchannels were fabricated with soft lithography in cleanroom. Microelectrodes and microchannels were bonded with plasma treatment forming the microfluidics chip. Particles were sent through the microchannel and electrical detection was done with LCR meter. To investigate the physics and increase the sensitivity Comsol simulations were realized. A new electrical equivalent circuit approach was developed and applied which enabled the investigation of bacteria having very thin cell membrane. New fabrication method of microfluidic chip was also developed. For the fabrication, 25  $\mu\text{m}$  diameter, 3 cm long gold micro wire was attached on

glass substrate and micro channel was bonded on top. Then, etchant solution was sent through the channel and divided the micro wire forming the 3D electrodes. Those new electrodes were also proven to be superior in sensitivity. Finally, a single bacterium was detected using 3D electrodes from tap water directly without any labeling.

**Key Words:** microfluidics, electrical bacteria detection, 3D microelectrodes, simulation



## TEŞEKKÜR

Danışman hocam Sayın Prof. Dr. Sedat Ağan'a bana bu kadar heyecanlı ve yeni bir alanda çalışıp çalışan ve işe yarayan işler yapmamı sağladığı için teşekkür ederim.

Eş danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Çağlar Elbüken'e bana nasıl AR-GE yapılacağını öğrettiği ve beni her zaman için karşılıksız olarak desteklediği için teşekkür ederim.

Yrd. Doç. Dr. Mustafa Yüksel'e bana mikro üretim yapmayı öğrettiği için teşekkür ederim.

Başta bölüm başkanımız ve dekanımız Sayın Prof. Dr. Saffet Nezir olmak üzere bölümde ki herkese oluşturdukları huzur dolu ve çalışmaya elverişli ortam için teşekkür ederim

UNAM mühendisleri Sayın Semih Yaşar'a elektronikle ilgili her şeyi bildiği için, Fikret Piri'ye de temiz odanın düzenini sağladığı için, Yrd. Doç. Dr. Aykutlu Dana'ya ekipmanını paylaştığı için teşekkür ederim.

Beni çalışmalarım sırasında her zaman destekleyen sevgili arkadaşlarım, Tuğçe Ünver, Gonca Kızılaslan, Amir Ghobadi, Gamze Ulusoy, Şahin Beşirik, Murat Serhatlıoğlu, Salih Demirci, Özer Işıl, Deniz Doğan, Belgin Okyay, Mustafa Burak Türköz, Büşra Aktaş, Didem Arı, Gökçen Yıldız, Ümit Erdem, Fahriye Akdeniz, Merve Suna Özel, Berkan Aydoğdu, Gökhan Eren Kamer, Fırat Erbil ve Fatih Bayram Aksoy, Ahmet Emin Topal, Enes Battal, Pelin Kübra İşgör, Merve Marçalı, Hasan Güner, Sencer Ayas, İsmail Kupa, Sami Bolat, Hamit Eren, Alican Noyan, Fatih Bilge Atar, Türkan Bayrak, Gökhan Bakan, Gamze Turalı, Coşkun Kocabaş, Esra Günaydın, Ziya Işıksaçan ve İsmail Bilican'a yardımları için teşekkür ederim.

Bu çalışmayı 112M944 nolu projeye destekleyen TÜBİTAK'a teşekkür ederim.



# İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	<b>..ii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>iv</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>vi</b>
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	<b>x</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>xi</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. Mikro Akışkanlar .....	<b>6</b>
1.2. Bakteri Tespit Yöntemleri.....	<b>9</b>
1.2.1. ATP Biyoluminesans .....	<b>10</b>
1.2.2. Oto Flüoresans .....	<b>11</b>
1.2.3. CO <sub>2</sub> Tespiti.....	<b>11</b>
1.2.4. Basınç Değişimi Tespiti .....	<b>11</b>
1.2.5. Lazer Saçılımı .....	<b>11</b>
1.2.6. DNA Sekanslama .....	<b>12</b>
1.2.7. ELİZA Testi .....	<b>12</b>
1.2.8. Flovritometri .....	<b>12</b>
1.2.9. Empedans .....	<b>13</b>
1.2.10. Nükleik Asit Temelli Tespit.....	<b>13</b>
1.3. Dielektrik Parçacıkların Elektriksel Tespiti .....	<b>14</b>
1.4. Literatür Özeti .....	<b>17</b>
<b>2. MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	<b>23</b>
2.1. Mikro Kanalların Üretimi .....	<b>23</b>
2.2. Hidrodinamik Odaklama .....	<b>35</b>
2.3. Elektrot Üretimi .....	<b>40</b>
2.4. Elektriksel algılama.....	<b>43</b>
2.5. Tersinir Bağlama Yöntemi.....	<b>46</b>
2.6. 3D Elektrotlar İçin Özgün Üretim Yöntemi.....	<b>48</b>

2.7. Comsol .....	54
<b>3. SONUÇLAR VE TARTIŞMA .....</b>	<b>57</b>
3.1. Mikro Akışkan Çipin Simülasyonu.....	60
3.2. Büyüklüğe Göre Ayrıştırma Deneyleri .....	68
3.3. Lump Model.....	71
3.4. Tek Bakterinin Tespiti.....	85
3.5. Yeni Tip Elektrotların Performansı.....	87
3.6. 3D elektrotlar ile tek bakteri tespiti.....	98
<b>4. SONUÇ.....</b>	<b>102</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>104</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>114</b>



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge

Sayfa

3.1. 2 lump model ve Comsol ile bir parçacık için elde edilen empedans..... 76



## ŞEKİLLER DİZİNİ

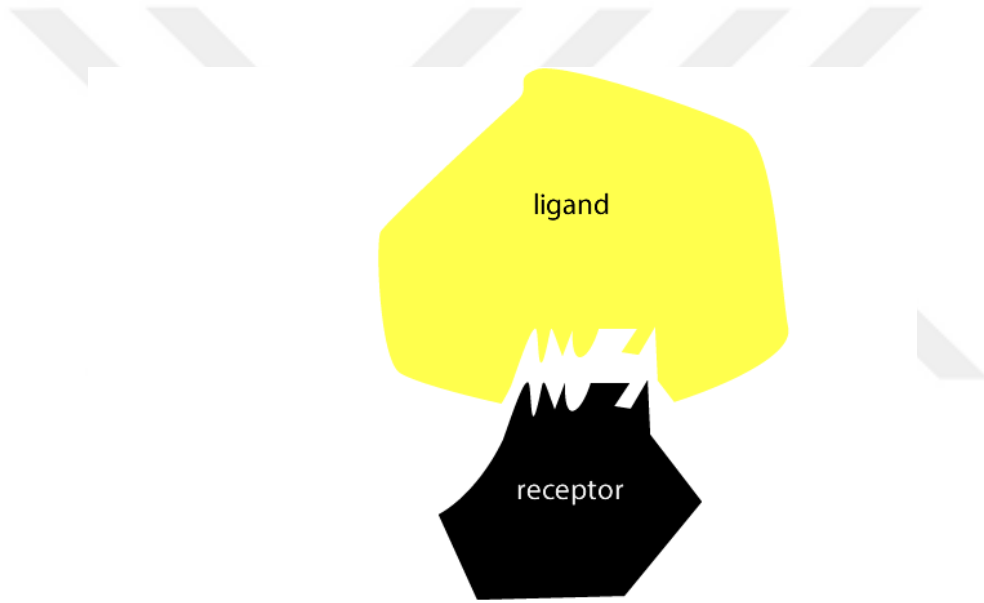
<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Reseptör ve ligand.....	1
1.2. Kanser göstergesi antijenlerin tespiti .....	2
1.3. Optik flovisitometri.....	3
1.4. Kantilever biyosensör .....	4
1.5. POC şeker testi.....	5
1.6. Laminar akış.....	7
1.7. Mikro damlacıkların mikro kanal içerisinde oluşumu .....	9
1.8. Arasındaki dielektrik ortamlarla birlikte paralel plakalı kondansatör.....	14
1.9. Dielektrikteki iletkenliğin etkisi.....	16
1.10. Paralel plakalar arasında iki farklı dielektrik malzeme.....	17
1.11. Yüzeyle takılmış E. Coli .....	20
2.1. Fotolitografi yönteminin temsili ifadesi.....	24
2.2. Yazdırılmış foto maske .....	24
2.3. Kalıp üretimi .....	25
2.4. Üretilen kalıbın fotoğrafı .....	27
2.5. Kalıbın SEM resmi.....	27
2.6. Ev yapımı vakum sistemi .....	28
2.7. Kalıp ve kanalın fotoğraflarla karşılaştırması .....	29
2.8. PDMS döküm işlemi .....	31
2.9. PDMS mikro kanalın profil SEM fotoğrafı .....	32
2.10. Ev yapımı plazma eşir .....	33
2.11. Dar mikro kanalların profil fotoğrafları .....	34
2.12. Hortumlar için metal konektörler.....	35
2.13. Farklı basınçlarda 2D odaklama.....	36
2.14. Kanala delinen 3. Deliğin temsili görüntüsü.....	37
2.15. 3. Girişin şeması.....	38
2.16. Başarısız bir 3D odaklama denemesi .....	38

2.17. Eğimli 3. Delik şeması .....	39
2.18. 3D odaklama .....	39
2.19. Develop olduktan sonra çipin optik mikroskop fotoğrafı .....	41
2.20. Liftoff yönteminin temsili açıklaması .....	42
2.21. Eş düzlemlı elektrotların mikroskop fotoğrafı .....	42
2.22. Prob ve prob merkezinin fotoğrafı .....	44
2.23. Yükseklik pompası.....	45
2.24. Kanal ve elektrottan oluşın mikroçipin fotoğrafı .....	46
2.25. PDMS ve camı sandviç bağlama yolu .....	47
2.26. 3D elektrotların üretim süreci .....	49
2.27. İç kesik olmuş elektrotlar .....	50
2.28. İç aşındırma için deney düzeneği .....	51
2.29. Asidi saf suyla ısıtıp odaklamak .....	52
2.30. Altın mikro teli kral suyuyla aşındırmak .....	52
2.31. 3D elektrotların SEM fotoğrafı .....	53
2.32. Comsol ile farklı boylarda meşleme .....	55
3.1. Parçacık geçişi sırasında kaydedilen empedans verileri .....	57
3.2. Yalıtkan bir parçacık geçişi sırasında elektrik akım çizgileri .....	59
3.3. Comsol'a girilen geometrik model.....	60
3.4. Comsol simülasyonları.....	61
3.5. Piklerin parçacığın konumuna bağlılığının Comsol simülasyonları .....	62
3.6. 10-40-100 µm boşluklu elektrotların Comsol simülasyonları .....	63
3.7. 2D yanal olarak odaklanan solüsyonun gerçek zamanlı empedans verisi .....	65
3.8. 2D dikey odaklanan solüsyonun empedans verisi .....	66
3.9. 6 µm'lik parçacıklar için simülasyon sonuçları .....	67
3.10. 2 µm parçacıklar için 5 ve 10 µm elektrotlar ile için Comsol .....	67
3.11. 2 µm PS küreler için gerçek zamanlı empedans sonuçları.....	69
3.12. 1-2 um küreler için Z-θ dağınım grafiği .....	70
3.13. EDL'yi göz önüne alan bir yaklaşım için eşdeğer devre modeli .....	71
3.14. Alt üst elektrotlar için elektrik alan.....	72
3.15. Eşdeğer devre modeliyle alt üst elektrotların temsil edilişi .....	73
3.16. Daha gerçekçi sınır şartlarıyla alt üst elektrot simülasyonu.....	74
3.17. Elektrot arasındaki bir parçacığı temsil eden iki farklı lump model.....	75

3.18. 2 $\mu\text{m}$ çaplı küre 1.612 $\mu\text{m}$ 'lik kübik eşdeğerinin karşılaştırılması .....	77
3.19. Alt üst ve eş düzlemler elektrotlarda elektrik alan dağılımı .....	78
3.20. Hücremsi bir parçacık için lump model .....	79
3.21. Elektrotlar arasında asılı duran bir parçacığın Multisim 13'de temsili.....	80
3.22. 1.279 ve 1.612 $\mu\text{m}$ 'lik kübik hücremsi ve opak parçacıklar .....	81
3.23. Lump modelde hücremsi ve opak parçacığın empedimetrik farkı.....	81
3.24. Hücremsi ve opak parçacığın yalıtkan çözeltide empedimetrik incelenmesi ...	83
3.25. Multisim 13'de dikdörtgenler prizması olarak temsil edilen parçacıklar .....	84
3.26. Gerçek bir E. Coli ve dikdörtgenler prizması .....	84
3.27. Silindirik ve dikdörtgenel bir parçacığın Comsol sonuçları .....	85
3.28. E. Coli tespiti.....	86
3.29. Yalıtkan bir çözeltide E. Coli tespiti denemesi .....	87
3.30. 3D elektrotlarda elektrik alan ve elektriksel potansiyel .....	88
3.31. Comsol'a göre empedansın dikey konuma bağlılığı .....	89
3.32. Comsol'a göre empedansın yatay konuma bağlılığı .....	90
3.33. Farklı boylarda aşındırılan elektrotlar .....	91
3.34. 4 farklı elektrot için voltaj-gürültü grafiği .....	92
3.35. Dört 3D elektrot ve bir eş düzlemler elektrot için empedans verileri .....	93
3.36. Kablonun üstünde oturan kanal.....	96
3.37. Elektrotların ortasına doğru odaklanan parçacıklar .....	97
3.38. 3D elektrotlarda 3D odaklama .....	97
3.39. 3D odaklama kullanılarak 3D elektrotlarla tespit edilen parçacıklar .....	98
3.40. Bakteri etrafındaki elektrik alan çizgileri.....	99
3.41. Çeşme suyundan 3D elektrotlar ile bakteri tespiti .....	100
3.42. Çeşme suyundan 3D elektrotlarla kapasitif bakteri tespiti.....	100

## 1. GİRİŞ

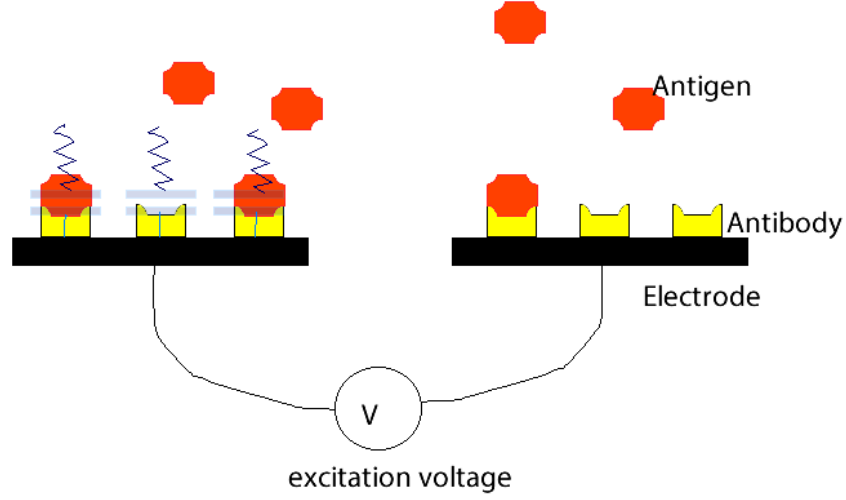
bir biyosensör biyolojik hedefi algılayıp ölçülebilir bir sinyale dönüştüren bir cihaz olarak tanımlanır. Çok çeşitli biyosensörler vardır öyle ki, tepkisini basitçe renk değiştirerek de verebilir değişim sonucu oluşan elektrik akımını bir sese de çevirebilir. . Biyosensörler iki ana kategoriden oluşur, reseptörleri olmayan ya da olanlar vardır. Şekil 1.1'de gösterildiği gibi bir reseptör liganda özellikle afin bir molekül olarak tanımlanabilir



**Şekil 1.1.** Reseptör ve ligand

Reseptörü olan bir biyosensör reseptörünün tepkisine göre işler. Eğer ortam ligand içeriyorsa reseptör buna tepki verir ve bu tepki elektriksek ya da optik bir sinyal olarak ölçülür. Kanser tespiti bu günlerde çok gündem de olan bir konu olarak bu yöntemi kullanır öyle ki; antikorlarla kaplanmış altın yüzeyi kanser marker antijenlerle karşılaşınca ölçülebilir bir sinyal verir. Antijenlerin antikorlara

bağlanmasından sonra yüzeyin elektrokimyasal özellikleri değişir ve bu sayede algılama gerçekleştirilir. Temsili bir açıklama şekil 1.2’de verilmektedir.



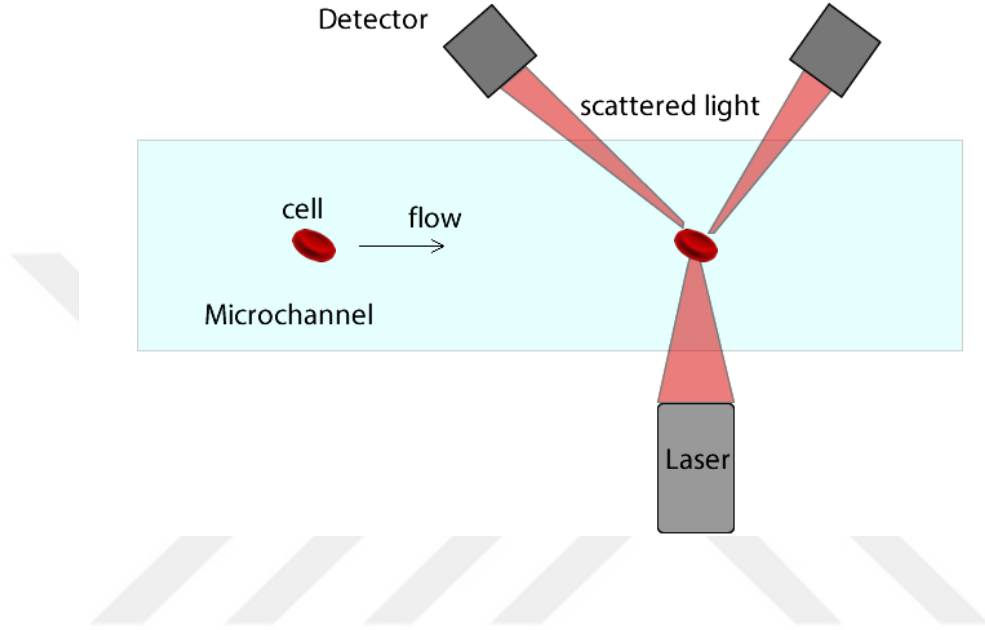
**Şekil 1.2.** Kanser göstergesi antijenlerin tespiti

Diğer durum ise bir reseptörün olmadığı kamera mikroskop ve bilgisayar sisteminin güzel bir örnek oluşturabileceği haldir. Kan örneği bir mikroskop lamına konduğunda mikroskop yardımıyla incelenebilir. Hücre tipleri göz ile değerlendirilip birbirinden ayırt edilebilir veya bunun yerine bir görüntü işleme programı da kullanılabilir. Burada herhangi bir reseptör olmamasına rağmen işlem gerçekleştirilebilmektedir. Günümüzde kan kanseri teşhisi bu şekilde yapılmaktadır. Kan hücreleri mikroskop altında bir bir incelenir ve ayrık hücrenin varlığı tespit edilmeye çalışılır [1]. Hemositometreler bu kategorideki biyosensörler için diğer bir güzel örnektir. Bu cihazlar birim hacimli bir bölgedeki alyuvar sayısını tespit etmeye yarar.. Hemositometreler çok dar ve alçak tavanı olan cam içine oyulmuş bir hücre ihtiva ederler. Bu hücrenin hacmi kesin bir şekilde bilinmektedir ve bu hacimdeki hücre sayısı bir bir sayılarak toplam kandaki hücre sayısı tane/ml cinsinden bulunur..

Bir diğer sınıflandırmaysa biyosensörün tespit yöntemine göre yapılabilir. Bunlar elektriksel optik ya da kütle temelli olabilir. Işık saçılımına ya da floresansa dayalı tespitler optik biyosensörlerdir [2]. Bu tip biyosensörler genel olarak şekil 1.3’de



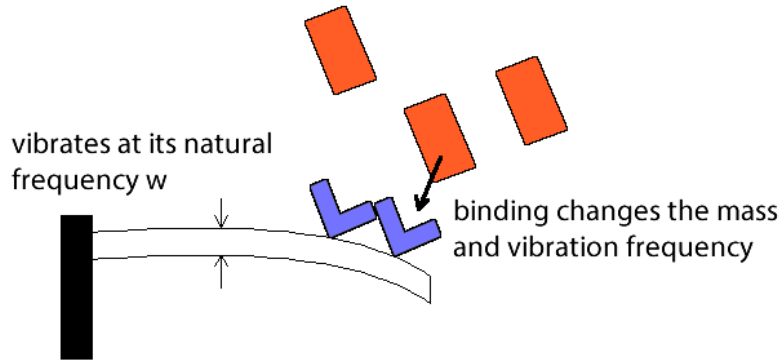
görüldüğü gibi flovsitometrilere kullanılır. Burada analit çok sıkı bir şekilde odaklanmış lazer bölgesine getirilir. Bu sırada etraftaki detektörler sürekli olarak saçılan ışığın şiddetini ölçerler. Analit algılama bölgesine geldiğinde detektörler ışık şiddetindeki değişimi tespit ederler ve bu sayede algılama gerçekleştirilir.



Şekil 1.3. Optik flovsitometri

Kütle temelli tespit kütle değişimine bakılarak yapılır. Kantilever dünyadaki en hassas terazidir öyle ki hassasiyeti birkaç molekül mertebesindedir [3]. Analit kantilever yüzeyine bağlandığında kantileverin salınım frekansını değiştir ve bu değişimden algılama sağlanır Kantilever temelli bir biyosensörün temsili şekil 1.4’de verilmiştir. QCM (kuartz kristal mikrobals) bir diğer kütle temelli tespit yöntemidir. Burada antijen molekülleri sensör yüzeyine gelip bağlandıktan sonra kristalin doğal titreşim frekansı değişir. Frekanstaki bu kayma cihazlar tarafından tespit edilir ve bu sayede algılama gerçekleştirilir [4].

Biyosensörün okuma mekanizmasında da farklılıklar mevcuttur. Bazı biyosensörler ortamda analitin varlığı yada yokluğunu belirten evet-hayır tipi okuma yaparken bazı

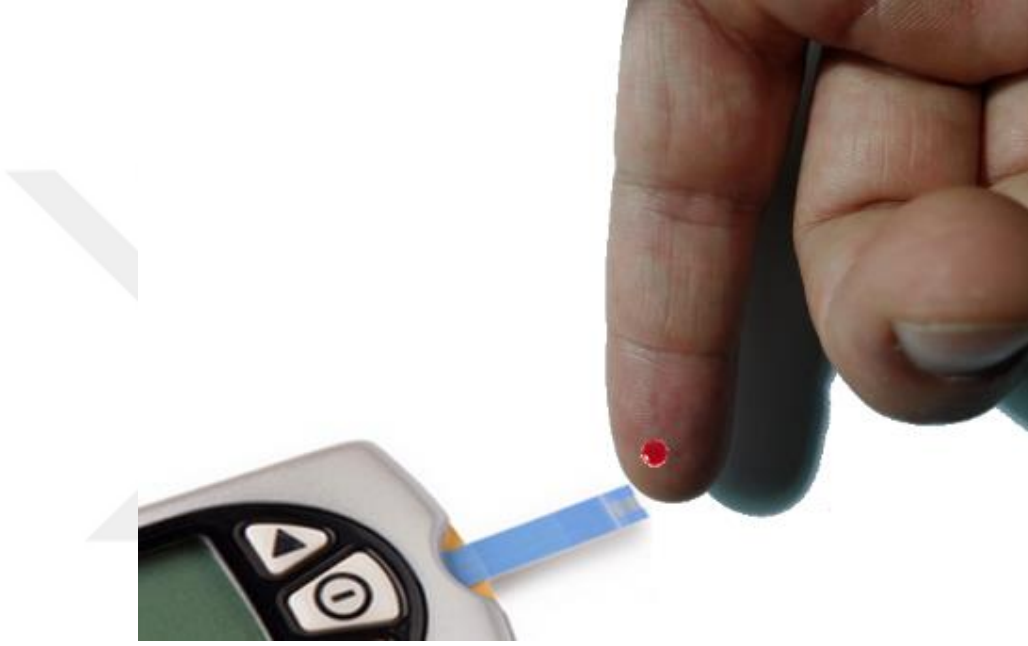


**Şekil 1.4.** Kantilever biyosensör

biyosensörler ortamdaki analitin miktarını ölçerler. Bu ölçüm ya flovsitometrideki gibi analiti bir bir sayarak yada belli bir bölgedeki miktarı ölçüp tüme varım yöntemiyle gerçekleşir. Bu yöntemde çeşitli yazılımlar yada istatistiki hesap yöntemleri kullanılabilir [5].

Biyosensörler çeşitli platformlarda kullanılabilir. Bunlar hastanelerden kırsal bölgelere kadar çeşitli bölgeleri kapsamaktadır. Kişilerin sağlık durumları bu sensörler ile gözetlenir ve bu biyosensörlere çok büyük bir sorumluluk yükler. Öyle ki sağlık personeli bu sensörlerin çıktıklarına göre hastaya müdahale de bulunur. Kardiyak troponin hormonunun tespiti buna en güzel örnektir. Bu sensör kişinin kalp krizi geçiriyor olma ihtimali ile ilişkili olan kardiyak troponin hormonun kandaki miktarını ölçer ve sağlık personeline hastanın durumu ile alakalı fikri verir [6]. Bu test sayesinde milyonlarca insan kalp krizinden dolayı hayatını kaybetmekten kurtulmuştur. Kalp krizi dünyadaki ölümlerin başlıca sebebidir. Bu test elektro kimyasal testler için çok güzel bir örnektir. Troponin molekülleri sensör yüzeyini kaplayarak elektrokimyasal bir sinyal elde edilmesine sebep olur. Yüzey sadece troponin molekülüne karşı çekici olduğundan dolayı gelen sinyalin sadece troponin molekülünün varlığından kaynaklandığını garantiler.

Bu örnek biyosensörlerde olması gereken bir diğer özelliğinde altını çizmiştir. Bu özellik taşınabilirliktir öyle ki cihaz küçük olup en azından ambulansta taşına bilmesi çok avantajlı bir durum teşkil etmektedir. Bu tarz algılamaya POC (point of care) yani yerinde teşhis denir. Şeker hastalarının sıkça kullandığı glikoz testleri buna en güzel örnektir bu test şekil 1.5’de gösterilmektedir.



**Şekil 1.5.** POC şeker testi

Glikoz testi basitçe kanda glikoz bulunması halinde oluşan elektrik akımını ölçer. [7]. Kan şekeri çeşitli enzimler tarafından indirgenir, bunun sonucunda oluşan elektronlar sıvıdan elektrotlara taşınır ve uygulanan voltaj sonucunda oluşan elektrik akımında bir değişime sebep olur. Elektrik akımında oluşan bu değişim cihaz içerisinde algılanıp tespit yapılmış olur. Gebelik testleri ölçüm strateji açısından biraz farklılık gösterir. Gebelik testinde numune kâğıt tabanlı mikro akışkan yöntem ile sensör bölgesine taşınır. Ardından sandviç yöntemiyle işaretlenen gebelik göstergesi moleküller belirli bir yüzeye tutunur ve tespit gerçekleştirilir [8]. Bu test idrardaki gebelik belirteci olan human chorionic gonadotropin (HCG) molekülünü tespit eder.

Glikoz testinde olduğu gibi analitin miktarı ölçülmez onun yerine HCG'nin varlığı ya da yokluğu saptanır.

Biyosensörlerin bir diğer bir önemli uygulama alanı da gıda güvenliğidir. Dünya sağlık örgütünün 2003 raporuna göre [9], sadece ABD'de bir yıl içinde 75 milyon gıda kökenli hastalanma olayı meydana gelmiş bunların 325000 tanesi hastanelik vaka olmuş ve 5000 tanesi de ölümlle sonuçlanmıştır. Bu durum üçüncü dünya ülkelerinde çok daha kötüdür.

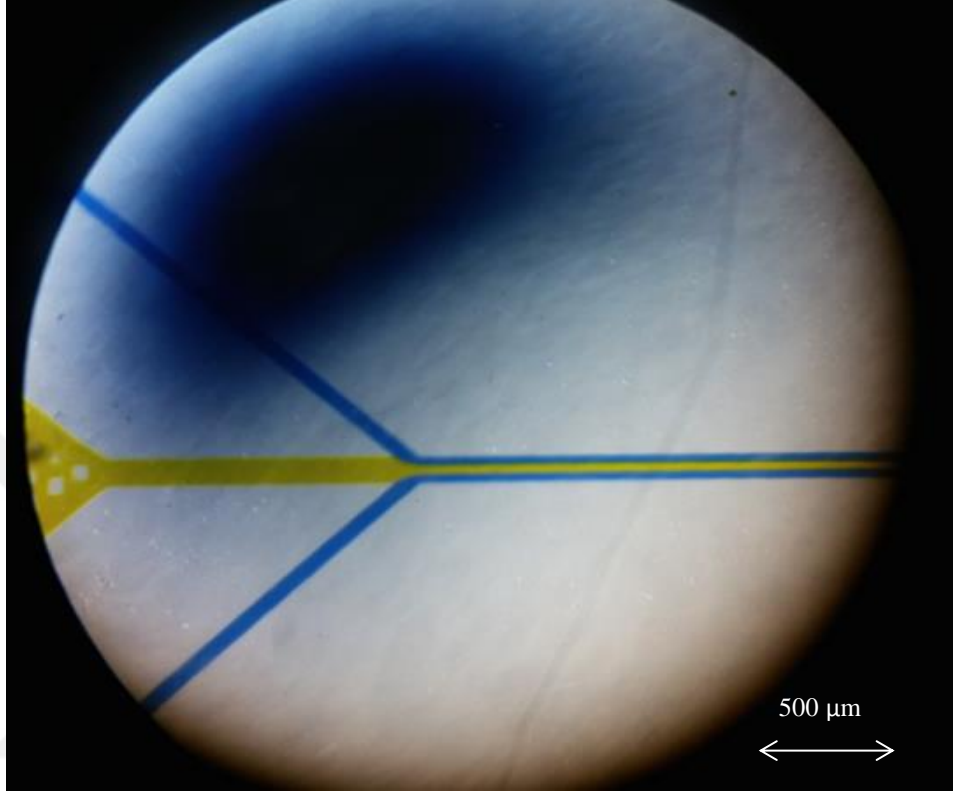
Su kirliliği besin güvenliği konusunun bir alt sınıfında yer alır. Bu suyun kimyasal fiziksel ya da biyolojik olarak pislenmesini ele alır. Dünyanın sadece %25'lik bir kısmının temiz su kaynaklarına doğrudan erişimi bulunmaktadır [10]. Her gün 14000 insan kirli su kaynaklı hastalıklardan dolayı hayatını kaybetmektedir. Bu ölümlerin 13000 tanesi 11 yaş altı çocuklardan oluşmaktadır. Ölümlerin %75'i suyun biyolojik olarak kirlenmesinden kaynaklanmaktadır. Suyun biyolojik kirliliği bakteriler ve virüslerden kaynaklanmaktadır.

Bu tezin amacı içme suyundan tek bir bakterinin hızlı tespittir. Bunun için diğer bir çok yöntem arasından elektriksel tespit yöntemi seçilmiştir. Nümerik ve eş değer devre yöntemi bu problemin ileri düzeyde ele alınması için kullanılmıştır. Bu yöntemler hem deneysel sonuçların gözden geçirilmesinde hem de daha hassas deney düzenekleri tasarlanmasında bir temel oluşturmuştur. G-Hassasiyetin artırılması için şu an çok gündemde olan mikro akışkan yöntemler kullanılmıştır. Ayrıca elektriksel tespit yönteminin en temel elemanı olan elektrotlar için yeni bir üretim tekniği geliştirilmiş ve bu yöntem ile üretilen elektrotların diğer yöntemlerle üretilen elektrotlara göre daha üstün olduğu kanıtlanmıştır.

### **1.1. Mikro Akışkanlar**

Mikro akışkanlık 1890'lardan beri incelenmektedir. [11]. Burada sıvıların mikro düzeydeki enteresan davranışları incelenir. Göz önüne alınan ölçek küçüldükçe sıvılar çok ilginç özellikler sergileyebilmektedir. Bunlardan en çok bilineni laminar

akıştır öyle ki iki farklı sıvı birbirine karışmadan yana yana akabilir, bu şekil 1.6'da gösterilmektedir.



**şekil 1.6.** Laminar akış

Burada görüldüğü gibi sarı ve mavi renkli sıvılar yan yana akmaktadır. Ancak bir süre sonra difüzyondan dolayı karışmaya başlarlar ve iki sıvının ara yüzü yeşil renkli olur. Karışmaya başlamaları için gereken uzunluk akış hızı, sıcaklık, viskozite gibi çeşitli fiziksel parametrelere bağlıdır [12].

Diğer akış şekli de günlük hayattan herkesin aşına olduğu türbülant akıştır. Laminar olsun türbülant olsun tüm akışlar kendine has özelliklere sahiptir. Hepsi farklı fizik yasaları tarafından kontrol edilir. Aslında fizik kuralları aynıdır ancak her durumda baskın olan kuvvet türleri farklıdır. Baskın olan kuvvetler viskoz ya da eylemsel

kuvvetlerdir. Viskoz kuvvetler moleküller arası ya da yüzeysel kuvvetlerden oluşmaktadır. Eylemsel kuvvetler ise sıvının akış momentumuyla alakalıdır. [12].

Akışkan tipleri basit bir hesap ile genelleştirilebilir. Bu sıvının Reynolds sayısı hesaplanarak yapılabilir. Reynolds sayısı basitçe eylemsel kuvvetlerin viskoz kuvvetlere oranıdır. Bu eşitlik 1.1 de görülebilir.

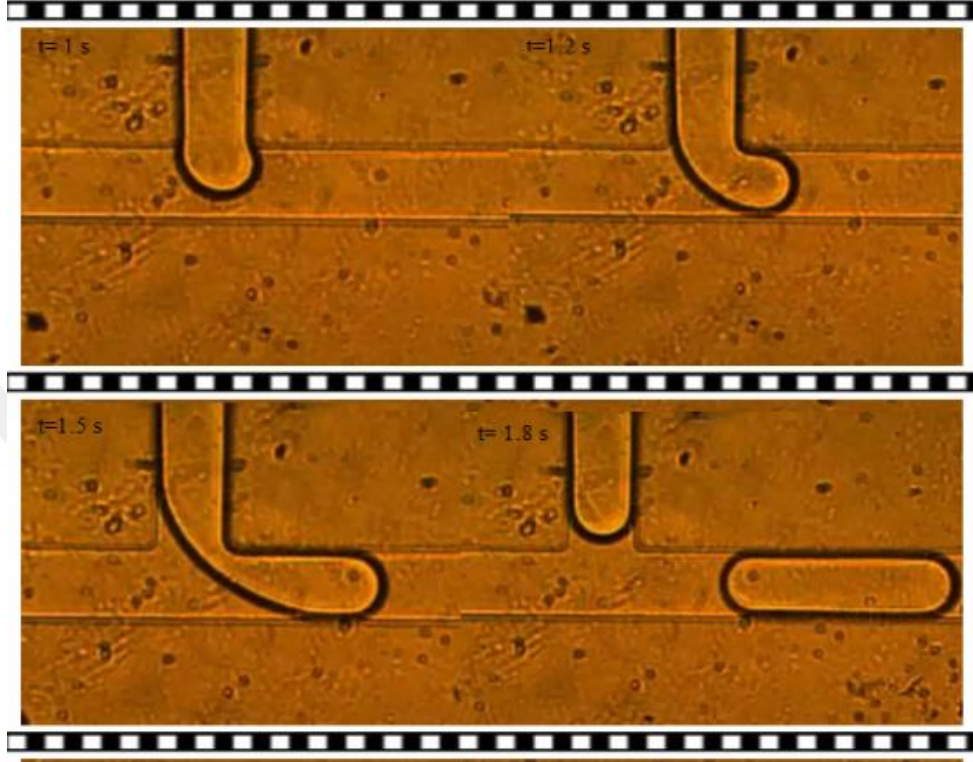
$$Re = \frac{\rho VL}{\mu} \quad (1.1)$$

Burada  $\rho$  akışkanın yoğunluğu,  $V$  ortalama hız,  $L$  akışkanın içinde aktığı nesnenin ölçütü  $\mu$  ise kinematik viskozitedir. 2000'den düşük Reynolds sayılarında sıvı laminar bir özellik gösterirken 2000'den yüksek sayılarda sıvı türbülant akış gösterir [11].

90'larda mikro üretim tekniklerinin gelişmesiyle birlikte mikro akışkanlığın uygulamaları da yaygınlaşmaya başlamıştır. Mikro kanal üretiminin birçok yolu olmasına rağmen soft litografi en temel kanal üretme tekniğidir. Burada çok viskoz bir fotorezist UV litografi ile şekillendirilerek kalıp üretilir. Bu kalıbın üzerine sıvı haldeki polimer dökülür ve sertleşinceye dek ısıtılır. Polimer sertleştikten sonra kalıptan çıkartılır ve kanal olarak kullanılır. [13]. Bu ar-ge amaçlı mikro akışkan uygulamalarında kullanılmak üzere kanal üretmenin çok pratik bir yoludur..

Mikro akışkanlık sıvının çok küçük ölçülerde manipüle edilebilmesini sağlar. Bu beraberinde yüksek hassasiyeti getirir. Bu sayede mikro akışkanlık, moleküler biyolojiden kimyaya kadar pek çok alanda uygulama alanı bulur. Piyasada ulaşımı mümkün olan PCR çipleri [14], DNA çipleri [15] mevcuttur, ayrıca bu teknolojiyle çeşitli bileşiklerin kimyasal olarak sentezlenebileceği de gösterilmiştir [16]. Dijital mikro akışkanlık mikro damlacıkların kontrolüne izin veren diğer bir uygulama alanıdır [17]. Tek hücre analizi hücrelerin mikro kanallar yardımıyla yönlendirilip incelendiği çok revaçta olan bir konudur [18]. Ayrıca damlacık temelli mikro akışkanlık 80'lerde çok büyük bir başarıya imza atmış ve inkjet yazıcılarda temel yazdırma yöntemi olarak kullanılmıştır [19]. Damlacık yöntemi [20, 21] tek parçacıkların içine hapsedilmesiyle kontrolü ve incelemeyi kolaylaştırma modern bir

yöntemdir mikro damlacıkların dripping bölgesinde oluşumu şekil 1.7’de gösterilmiştir.



**Şekil 1.7.** Mikro damlacıkların mikro kanal içerisinde oluşumu

Bu tez kapsamında mikro akışkan teknolojisi tek bir bakterinin sensör bölgesine ulaştırılmasında hassasiyeti arttırmak amaçlı kullanılmıştır. Mikro kanalların sistemle entegrasyonun hassasiyeti ciddi şekilde arttırdığı hem deneysel hem de teorik olarak gösterilmiştir.

## **1.2. Bakteri Tespit Yöntemleri**

Patojenler çeşitli hastalıklara sebebiyet veren mikro organizmalardır. Patojenler insan sağlığı için çok büyük tehdit oluşturan içine virüs ve bakterileri alan çok geniş bir

ailedir. Patojenlerin en büyük kısmını oluşturan bakterilerin tespiti çok önemlidir. Bakteriler insan vücudunun çeşitli şekillerde enfekte edebilir. Bakteriler havadan, sudan ya da başka canlılardan insan vücuduna bulaşabilir [22]. Dolayısıyla bu canlıların tespitini mümkün kılan birçok farklı yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden bazıları burada bahsedilmektedir ancak konunun detaylı incelemesi için Zourob'un kitabı şiddetle önerilir [5].

En güvenilir tespit yöntemi mikro biyoloji temelli olanlardır ki bu yöntem Pasteur ve Koch gibi saygın bilim adamları tarafından yüz yıldan uzun bir süre önce keşfedilmiştir. Fakat bu yöntemler çok zamana ihtiyacı olan ayrıca da yetişmiş elemanlara ihtiyacı vardır. Buna karşın yeni çağın ihtiyaçlarına yönelik hızlı tespit yöntemleri geliştirilmiştir. Bu metotlardan bazıları eski yöntemlerin modifiyeli halleri olmakla birlikte bazıları tamamen yenidir. Bu yeni yöntemlerin bazıları da çip üstü lap teknolojisi gibi maliyet ve yetişmiş eleman gibi ihtiyaçları minimuma indiren fikirlere dayanmaktadır.

Patojenik bir test numuneyle ilgili 3 konu hakkında bilgi verir. Bunlardan birincisi numune de herhangi bir şeyin olup olmadığıdır ikincisi eğer numunenin içinde bir şey varsa ne olduğudur sonuncusu ise bundan ne kadar ihtiva ettiği. Bir testten beklentinin artması o testin maliyetinin de artması demektir. Dolayısıyla bu incelemelerin birer birer yapılmasında fayda vardır. Hızlı tespit yöntemleri ana hatlarıyla aşağıda anlatılmaktadır

### **1.2.1 ATP Biyoluminesans**

ATP canlılardaki en temel enerji kaynağıdır. Lusiferaz enzimi ATP ile etkileşince ışık salınımına neden olur bu yöntem ile de ortama lusiferaz enzimi konularak ışık salınımı olup olmadığı test edilir. Işık şiddeti ortamdaki ATP miktarı ile alakalıdır [23].



### **1.2.2. Oto Flüoresans**

Bu yöntem hücrenin içinde bulunan flavinin kendin flüoresansına dayanmaktadır [24]. Bu yöntem flavin molekülünün mavi ışığa kendinden flüoresansı tepkisi gösterdiğine dayanır. Burada mavi lazer hassas bir görüntüleme sistemiyle birleştirilir ve bu şekilde sistem çok hassas bir hale gelir. Bu sayede bakterilerin oluşturduğu mikro koloniler göz ile görülebilir olduğundan çok daha evvel tespit edilebilir. Bu yöntem ile hem tespit süresi hem de tespit eşiği aşağıya çekilir.

### **1.2.3. CO<sub>2</sub> Tespiti**

Mikro organizmalar kendi metabolik aktiviteleri sonucu CO<sub>2</sub> üretirler. Ortamdaki CO<sub>2</sub> miktarındaki değişimin tespiti metabolik bir aktivitenin belirtisidir. Bu büyüme ortamı temelli bir testtir. Ortamdaki Ph değişimini Ph'a duyarlı flüoresans bir malzeme yardımıyla tespit edilir bu sayede mikro organizma varlığı çok erken seviyelerde tespit edilmiş olur. Bunun için çeşitli elektronik cihazlardan ve bilgisayar yazılımlarından destek alınabilir [5].

### **1.2.4. Basınç Değişimi Tespiti**

Yukarıda da bahsedildiği gibi mikro biyolojik aktivite sonucu çeşitli gazlar salınır. Bu salınan gazlar ortamdaki basıncın değişmesine sebep olur. Numune sıkıca kapalı bir kabın içine konduğunda gazların dışarı çıkış durur, basınç değişir ve bu sayede tespit gerçekleştirilir [5].

### **1.2.5. Lazer Saçılımı**

Bu metotta numuneye lazer huzmesi yollanır ve saçılan ışık detektörler yardımıyla toplanır. Numune bir çözelti içinde bekletilir ve parçacık geçişi kaynaklı lazer

saçılımı numunenin içeriğiyle ilgili bilgi verir Bu test sadece birkaç mili saniye sürer ve hiçbir kimyasal kullanılmamasından ötürü çok maliyetsizdir [5].

#### **1.2.6. DNA Sekanslama**

Bir organizmaya dair tüm bilgiler onun DNA'sının içinde saklıdır. Dolayısıyla bir mikro organizmayı tespit edip tanımlamaktaki, en etkili yöntem DNA sekanslama yöntemidir. Sekanslama sırasında toplanan veriler kütüphanedeki diğer verilerle kıyaslanır ve tanımlama yapılır. Sekanslama ayrıca DNA'nın küçük bir bölümüyle sınırlandırılabilir. Bu yöntemin en büyük kısıtlaması yetişmiş insan gücüne ve büyük ekipmanlara ihtiyaç duymasındır. Bununla birlikte çip üstü lap (loc) teknolojisi küçük PCR çiplerine olanak vermiştir [5].

#### **1.2.7. ELİZA Testi**

Bu yaygın yöntem antikor antijen etkileşiminden faydalanır. Birçok yöntem ELİZA ve diğer temel yöntemlerin kombinasyonlarından oluşmaktadır. Şu an mümkün olan iki tip ELİZA yöntemi vardır, bunlardan biri direk diğeri de sandviç yöntemidir [25].

#### **1.2.8. Flovsiometri**

Çözeltideki yaşayan hücreler eklenen kimyasalları içlerine alırlar. İçeri alınan bu kimyasallar hücre içinde tepkimeye girerler ve flüoresans özellik kazanırlar. Suyun içinde kalan kimyasallar ise flüoresansı özellik kazanmazlar. Ardından çözelti kanala yollanır ve odaklanmış lazer huzmesinin içerisinden geçirilir. Geçen parçacıkların flüoresansı tepkisine göre sayma yapılır. Bu yöntemde tespit limiti 100 cfu/ml'ye kadar düşürülebilmektedir [26].

### **1.2.9. Empedans**

Üreme temelli bir yöntem olarak elektriksel yüklü olan metabolik yan ürünlerin çözeltinin iletkenliğini arttırması sonucu bu iletkenliğin ölçülmesiyle gerçekleştirilen yöntemdir. Yaşayan canlılar olarak bakteriler çevrelerinden protein yağ ve karbon hidratları alarak beslenir ve bu besinlerin yıkımı sonucu oluşan yan ürünleri de ortama geri salarlar. Bu metabolik atıklar suyun iletkenliğini değiştirir. Eğer ortamın iletkenliğindeki bu değişim ölçülebilirse tespit gerçekleştirilmiş olur. Bu ortamın AC direnci yani empedansı ölçülerek yapılır [27].

### **1.2.10. Nükleik Asit Temelli Tespit**

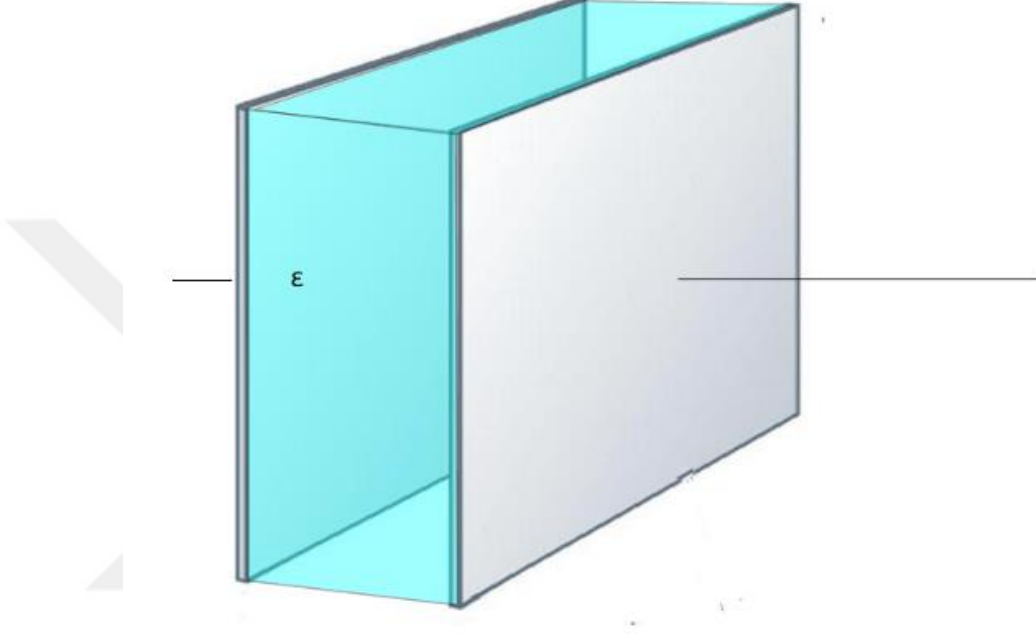
Antikorların antijenlere karşı olan yatkınlığı gibi DNA'nın da kendi eşleniğine karşı bir yatkınlığı vardır. Tek DNA'nın sensör yüzeyi üzerine sabitlenmesinin ardından eşlenik DNA'sını ihtiva eden bir ortam ile buluşursa yüzeyin elektriksel özellikleri değişir ve buna mütemadiyen tespit yapılır [28].

Bundan başka çok değişik yöntemler vardır. Bunlar yukarıda bahsedilen yöntemlerin modifiyeli olarak birbirleriyle çeşitli kombinasyonlarından oluşur. Bu yöntemlerden bazıları şöyle sıralanabilir: yüzey plasmon rezonansı, interferometrik sensör, FTIR, Raman.

Elektriksel tespit yönteminin teorisi J.C. Maxwell tarafından kendi adıyla alınan karışım teorisiyle açıklanmıştır [29]. Bu teoride bir dielektrik ortamda askıda kalmış parçacıkların elektriksel davranışı incelenir. Parçacıkların ve ortamın farklı dielektrik özelliklerinden dolayı empedans değişir ve buna bağlı olarak tespit gerçekleştirilir.

### 1.3. Dielektrik Parçacıkların Elektriksel Tespiti

Empedans basit olarak voltajın akıma oranıdır. Voltaj elektrotlar tarafından arasındaki çözeltiliye uygulanır. En basit olan paralel plakalı kondansatörler için temsili şekil aşağıda şekil 1.8’de görülmektedir.



**Şekil 1.8.** Arasındaki dielektrik ortamla birlikte paralel plakalı kondansatör

Burada plakaların arası su, hava yada başka bir şeyle doludur. Bu sistemin empedansı eşitlik 1.2’deki gibi verilir.

$$Z = -\frac{i}{\omega C} \quad (1.2)$$

Burada  $\omega$  açısal frekans, C sığa. Paralel plakalı kondansatörün sığası aşağıdaki formül ile hesaplanır.

$$C = \epsilon \frac{A}{d} \quad (1.3)$$

Burada A plakanın alanı, d plakalar arası mesafe,  $\epsilon$  ise plakalar arasındaki ortamın elektriksel geçirgenliğidir. Aradaki malzeme yalıtkan olduğunda elektriksel geçirgenliği basitçe  $\epsilon_0$  kere  $\epsilon_r$ 'dir, Fakat ortam iletken özellik kazandığında durum bundan farklılaşmaya başlar frekansa bağımlı bir özellik göstermeye başlar,

İletken olan bir ortamın ihtiyaçlarını karşılamak için bu formüle bazı terimler eklenmelidir. Öyle ki yeni eklemeler bu malzemenin elektriği iletmesine izin vermelidir. Bundan dolayı bu sistemi temsilen kondansatörün yanına paralel olarak bir de direnç eklenir. Bundan dolayı paralel direnç ve kondansatör ile temsil edilen bu ortamın empedansı şu şekilde verilir:

$$\frac{1}{Z} = -\frac{1}{\frac{i}{\omega C}} + \frac{1}{R} = \frac{R}{1+i\omega RC}$$

$$Z = \frac{R}{1+i\omega RC} \quad (1.4)$$

Eğer eşitlik 1.4'de kondansatör ve direnç ifadeleri yerine konulursa;

$$Z = \frac{\frac{d}{\sigma A}}{1+i\omega \frac{d}{\sigma A} \frac{\epsilon A}{d}} \quad (1.5)$$

Şimdi de orijinal empedans ifadesi denklemin soluna konulursa bu denklemin yeniden düzenlenmesiyle şöyle bir ifade elde edilir:

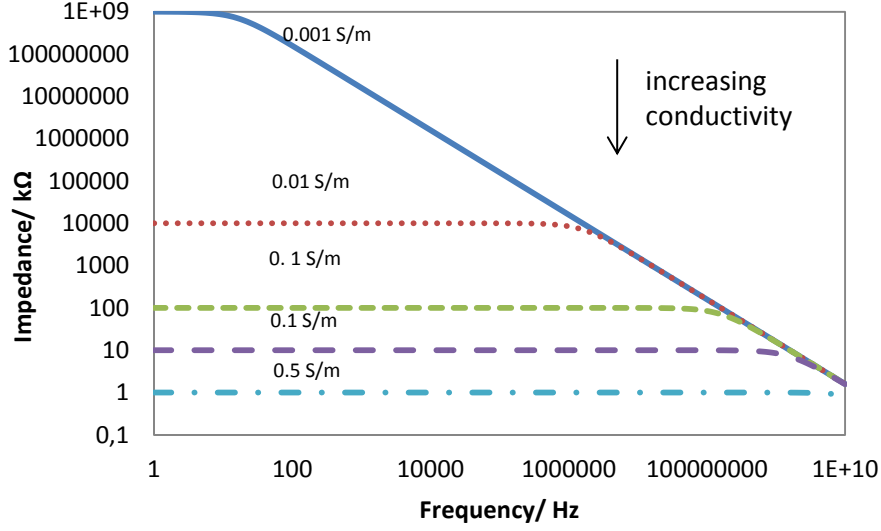
$$\frac{1}{i\omega C} = \frac{1}{i\omega(\epsilon - \frac{\sigma}{\omega})\frac{A}{d}}$$

$$\frac{1}{\frac{i\omega\epsilon A}{d}} = \frac{1}{i\omega(\epsilon - i\frac{\sigma}{\omega})\frac{A}{d}} \quad (1.6)$$

Böylece elektriksel geçirgenlik için frekansa bağımlı yeni ifade türetilmiş olur.

$$\epsilon^* = (\epsilon - i\frac{\sigma}{\omega}) \quad (1.7)$$

İletkenlik özelliği kazanan bir dielektrik malzeme gevşeme denilen ilginç bir özellik kazanır. Malzeme içindeki artan iletkenliğin empedans üzerine olan etkisi şekil 1.9'da gösterilmektedir. .

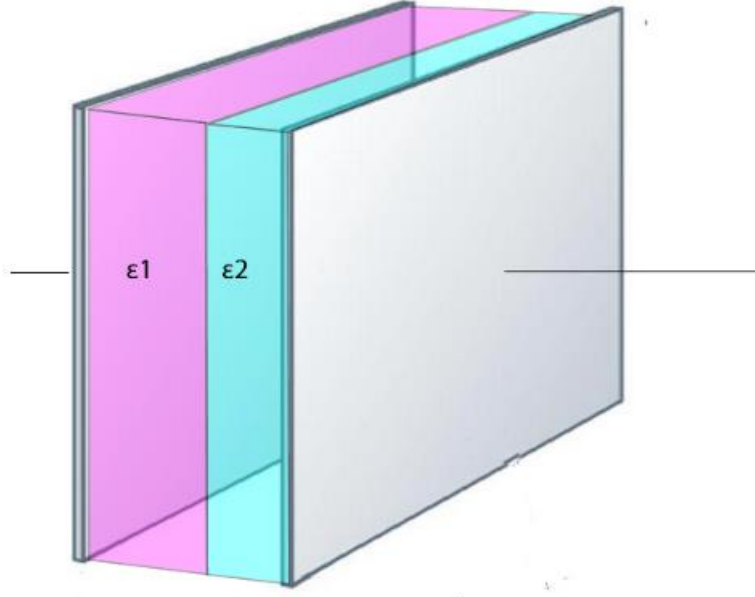


Şekil 1.9. Dielektrikteki iletkenliğin etkisi

Görüldüğü gibi iletkenlik arttıkça sonuçlar  $1/wC$  ifadesi ile ön görülenden farklılık göstermektedir. Bu tez kapsamında en az iki farklı dielektrik malzeme beraber incelenmektedir ve en basit hali şekil 1.10'da gösterilmektedir.

Bu durum yukarıda olduğu gibi paralel dirençler ve kondansatörler kullanılarak modellenir. Dolayısıyla empedans şöyle verilir:

$$Z = Z_1 + Z_2 = \frac{R_1}{1+iwR_1C_1} + \frac{R_2}{1+iwR_2C_2} \quad (1.8)$$



**Şekil 1.10.** Paralel plakalar arasında iki farklı dielektrik malzeme

Bu denklemde geçen tüm uzunluklar, alanlar ve fiziksel sabitler yerlerine konulursa ve düzenlenirse şu ifade elde edilir:

$$\varepsilon^* = \varepsilon' - i\varepsilon'' = \varepsilon_0 \left[ \varepsilon_{hf} + \frac{\varepsilon_{lf} - \varepsilon_{hf}}{1 + w^2 \tau^2} \right] - i\varepsilon_0 \left[ \frac{\varepsilon_{lf} - \varepsilon_{hf}}{1 + w^2 \tau^2} + \frac{\sigma}{\varepsilon_0 w} \right] \quad (1.9)$$

Burada  $\varepsilon_{lf}$  ve  $\varepsilon_{hf}$  dielektrik malzemenin alt ve üst frekans sınırlarına karşılık gelmektedir [29].

#### 1.4. Literatür Özeti

Empedimetrik algılama tek hücre tespiti için çok hızlı ve düşük maliyetli bir uygulamadır [30]. Bu yöntemin çip ile entegre olma durumu gelişen mikro üretim teknikleriyle birlikte hasıl olmuştur. Fakat bu yöntemin kökleri 1910'lu yıllara kadar dayanmaktadır öyle ki o yıllarda elektriksel yöntemler ile alyuvarların zar yapısına sahip oldukları ispatlanmıştır [31]. Bu Fricke'nin 1920'lerde hücre zarının sığasının

hesaplamasıyla devam etmiştir [32]. Ardından 1930’larda Curtis ve Cole tek hücreyi çalışan ilk bilim adamları olarak tarihe geçmişlerdir. Nihayetinde Coulter sayacı bilimsel bir araştırma aracı olmaktan ziyade biyoteknolojik bir araç olarak 1950’lerde piyasaya çıktı. Bu cihaz küçük bir ağızın DC direncini sürekli olarak ölçerek çözelti içindeki hücreleri bu ağızdan geçirerek direncin değişmesinin ardından sayım yapardı. Ardından Schwan’ın çalışmaları konun teorik ve deneysel yönünü daha da ilerletti [33]. Onun çalışmaları empedansın kHz-MHz aralığında çok iyi anlaşılmasını sağladı.

DC direnç parçacığın boyutuyla orantılıdır ve parçacığın içyapısı hakkında hiçbir bilgi taşımaz. Çift sinyalli sistem ilk kez Hoffman Tarafından geliştirildi [34]. Onun çalışmasında dar ağızın hem DC direnci hem de MHz mertebesinde ki empedansı eş zamanlı olarak ölçülürdü. DC sinyal ile parçacığın boyutuyla ilgili bilgi edinilirken AC sinyal ile parçacığın içyapısıyla ilgili bilgi edinilirdi.

Bir Coulter sayacında sinyal parçacığın boyutuyla doğru ağızın boyutuyla is ters orantılıdır. Bu durum mikro üretim tekniklerini çok küçük ağızlar yapmak için ideal bir hale getirmektedir. İlk mikro üretim Coulter sayacı kuartz altaş üzerine 2005 yılında yapılmıştır ardından aynı grup PDMS mikro kanallarda DNA tespiti gerçekleştirmiştir [35].

Sinyali arttırmak için boyutları küçültmek tıkanma gibi bir soruna neden olur. Bunun üzerinden gelmek için hidrodinamik odaklama yöntemi kullanılmıştır. Öyle ki iletken bir sıvı yalıtkan sıvı tarafından kısıtılır, yalıtkan sıvı sanal duvar gibi davranır ve kanala boyutunu azaltır [36]. Kanal boyutunun küçülmesiyle gelen bir diğer sorun da akış hızının çok azalmasıdır. Bunun için paralel kanallar sisteminde çoklu elektrotlar kullanılmıştır [37].

Elektriksel tespitin önündeki en büyük engel elektrik çift tabaka (electrical double layer (EDL))’dır. EDL uygulanan sinyalin çözeltinin içerisine ulaşmasına mani olur [38]. EDL özellikle düşük frekanslarda çok etkilidir. Frekans arttıkça EDL’nin empedansı azalır ve doğal olarak çözeltiye aktarılan voltajın oranı artar. Bu sorunun üstesinden gelmek için değişik metotla denenmiştir. Bunlardan biri elektrotun iz



düşüm alanını arttırmadan yüzey alanını arttırmaktır. Bu sayede elektro aktif bölgenin alanı arttırılmadan EDL'nin alanı arttırılır. Büyük A büyük sığa ve düşük empedans anlamına geldiğinden sinyal çözeltiyeye daha kolay arttırılmış olur [38].

Mikro üretim teknikleri mikro akışkanların lehine gelişmiştir. Bu teknik sayesinde tek hücre bazında sıvıları kontrol etmek mümkün olmuştur. İlk mikro üretim empedimetrik sitometri Ayliffe ve arkadaşları tarafından yapılmıştır [39]. Bu SU8 fotorezistin kanal üretmek için kullanıldığı ilk çalışmadır. Elektrotlar foto rezist tarafından oluşturulan oyuklara elektro kaplama yöntemiyle yerleştirilmiştir. Bu çalışmada Polymorphonuclear neutrophil (PMN) ve alyuvar hücreleri kHz ve MHz bölgesinde tespit edilmiştir..

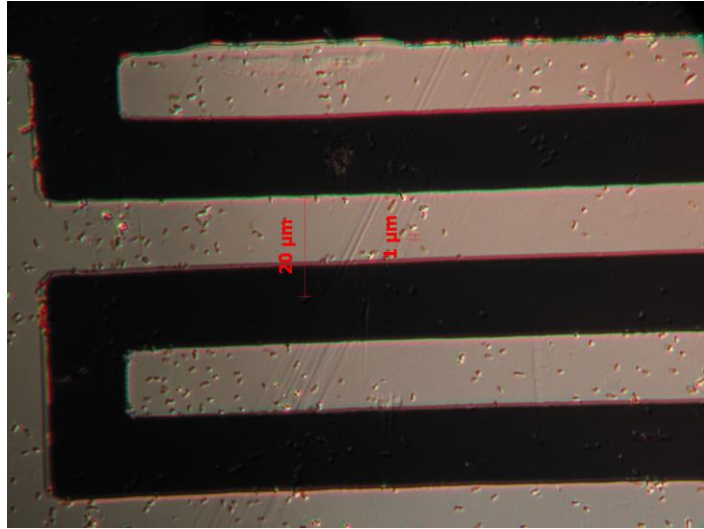
2001'de Gawad ve arkadaşları ilk çip üstü empedimetrik sitometriyi geliştirmişlerdir. [40] Burada ince film altın mikro elektrotlar ve poliamid mikro kanallar kullanılmıştır. Lock-in amplifier ile 2 farklı frekansta eş zamanlı çok hassas ölçümler gerçekleştirilmiş ve hücreler polisitren parçacıklardan ayırt edilebilmiştir. Burada hep ev yapımı elektronik sistemler sinyal uygulamak ve elde edilen sinyali çıkartmak için kullanılmıştır [41]. Bu çalışmadan sonra yapılan başka çalışmalarda elektriksel ve optik yöntemler birleştirilmeye çalışılmıştır [42]. Bazı çalışmalarda tespit bölgesinden önce parçacıklar DEP gibi yöntemlerle ayrıştırılmaya çalışılmıştır [43]. Bazı gruplar ise elektriksel yöntemlerle tek bir hücrenin hastalığını teşhis etmeye çalışmışlardır [44].

Bakteri tespiti bakterinin küçük yapısından dolayı nispeten daha zordur. Dolayısıyla bu alanda ilk gelişmeler tek hücre tespiti değil de bir ortamdaki milyonlarca bakteriden kaynaklanan elektriksel iletkenlik değişiminin ölçüm yapılarak gerçekleştirilmiştir[45]. Mikrobiyal bir üremenin varlığına yönelik ilk elektriksel teşhis 100 yıl önce yapılmıştır [46]. Bu metot bakteri tespiti için temel bir metot olmaya 70'lerde başlamıştır [47]. Mikro üretim teknikleri düşük numune ihtiyacından dolayı bu alanı da şekillendirmiştir. Genel olarak iç içe geçmiş mikro elektrotlar (interdigitated micro electrodes (IME)) yüksek performansları sebebiyle kullanılmışlardır. IME'lere dair detaylı bir araştırma Bilican ve arkadaşları tarafından yapılmıştır [48]. Yüzey modifikasyon teknikleri hassasiyet artırma amacıyla

IME'lere uygulanmıştır. Ortamda analitin varlığı elektrot yüzeyine seçici bir biçimde yapışması ve empedansın değişimiyle sonuçlanır. Buna göre de tespit yapılır [49]. Bazı metotlar redoks problemleri kullanarak faradaik yöntemleri tercih eder [50] bazı metotlarda doğrudan ölçüm yöntemi benimsenmiştir [51].

Öte yandan empedimetrik sitometriler sıvı akışının ve tespit bölgesinin gerçek zamanlı olarak ölçülmesinin avantajlarına sahiptir. Bölge sürekli olarak ölçüldüğünden oradaki hücre varlığı empedansı anlık olarak değiştirir ve tespit gerçekleştirilir. Burada hassasiyet tek hücre mertebesindedir [52]. Choi ve arkadaşları hidrodinamik odaklama yöntemiyle tek bakteri tespitini gerçekleştirmişlerdir [53]. Bu çalışmada kanal yalıtkan bir sıvı kullanılarak küçültülmüştür ayrıca Ag/AgCl elektrotlar kullanılmıştır. Haandbæk ve arkadaşları [54] bir rezonans devresi kullanarak yine tek hücre bazında bakteri tespitini gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada tespit 89 MHz gibi yüksek bir frekansta yapılmıştır.

Bu tez çalışmasının başlangıcında bakteriler IME yüzeyine antikorlar ile tutturularak balk olarak ölçülmeye çalışılmıştır. Anca yöntemin hassasiyeti yeterli bulunmadığından mikro akışkan sistemlere geçilmiştir. Yapılan ilk çalışmalara dair bir foto şekil 1.11'de gösterilmektedir.



**Şekil 1.11.** Yüzeğe takılmış E. Coli

Ardından flovsitometrik tekniklerin daha yeni ve üstün olduğunu fark edip çalışmalara o doğrultuda devam edildi.

Empedimetrik tespitin kuramsal tarafı karmaşık ve zor olan Maxwell karışım teorisine dayanır. Bu güçlü matematik altyapısına sahip olmayı gerektirir. Eş değer devre yaklaşımı da başlarda kolay olsa da geçen zaman içinde karmaşıklaşp uygulanabilir olmaktan uzaklaşmıştır. Bu tez kapsamında detaylı sonlu elemanlar yöntemini temel alan simülasyonlar yapılmış ve eş değer devre modeliyle kıyaslanmıştır. Bunun dışında yeni bir eşdeğer devre yaklaşımı geliştirilmiş ve uygulanmıştır. Bu yeni model uygulanabilirlik açısından büyük avantajlara sahiptir. Farklı boyutlardaki elektrotların performansları ölçülmüş ve kıyaslanmıştır. Bu elektrotlar için çeşitli simülasyonlar da yapılmış ve değerlendirilmiştir Tüm bu ölçüm ve simülasyon sonuçlarına göre yeni elektrot ve kanal sistemi tasarlanıp üretilmiştir ve yeni çip içinde tek bakteri tespiti başarıyla gerçekleştirilmiştir. Burada elektriksel metotlar uygulanmıştır. Bu güne kadar rapor edilen neredeyse tüm sistemler fazladan el yapımı devreler gerektirse de bu çalışmada sadece tek kullan tarzı bir ürün olan LCR metre kullanılmıştır Bu sayede tek bakteri tespiti bu kadar basit bir cihazla yapılmıştır.

Bu yöntemlerin hepsi doğası gereği elektrot kullanırlar. Faradaik olsun yada olmasın hepsi elektrotlara sabit voltaj yada akım uygulayıp karşılığında oluşan akım yada voltajı ölçme prensibine dayanır. Mikro elektrotlar küçük boyutlarından dolayı çok hassastırlar. Mikro elektrotların sayısız kullanım alanlarından bazıları DNA veya hücre tespitidir [40, 55, 56] tespitten başka manipülasyon uygulamalarında da kullanılabilir [57]. Bunlar çeşitli tıbbi, biyolojik ve elektrokimyasal uygulamalar için çok önemlidir. Gelişen mikro üretim teknikleri bu elektrotların kolay üretimini mümkün kılmıştır. Ancak mikro üretim için temiz oda tesisleri gereklidir ve buda her yerde bulunmamaktadır. Ayrıca mikro üretim eğitimli personele ve ileri teknoloji cihazları ihtiyaç duyar ve üretim son derece meşakkatli ve zaman alıcıdır. Litografi ve metal kaplama işlemleri sırasında birçok hizalama işlemleri mevcuttur ki bu hem maliyeti arttırır hem de zamanı. Alışıldık yöntemlerdeki bu tarz sıkıntılar bizi yeni bir elektrot üretme yöntemi bulmaya zorlamıştır.

Mikro elektrot üretimi için çeşitli alternatif yöntemler bulunmaktadır. [58-67] Bu yöntemlerden bazıları litografiye ihtiyaç duymazlar. [62, 68] Bunlardan biri Harvard'da Whitesides'ın grubu tarafından geliştirilmiştir [69]. Bu yöntemde temel olarak düşük erime noktalı bir metal mikro kanaldan içeri basılır. Metal içeri doldurulduktan sonra çeşitli şekillerde kullanılabilir. [70] Bu grubun geliştirdiği bir diğer yöntemde ise kaplanmış metalin üzerinden aşındırıcı bir sıvı geçirilir, bu sıvı metali ortadan yiyerek her iki tarafta elektrotun oluşmasını sağlar [62].

Baskı(screen printed) elektrotlar muhtemelen alternatif yöntemler içindeki en başarılı yöntemdir öyle ki günümüzde pek çok ticari uygulamaları vardır Bu basitçe bir gölge maske yardımıyla iletken bir mürekkebin istenilen alttaşa aktarılmasıdır. Bu ticari olarak kullanılan bir çok biyolojik yada kimyasal sensördeki elektrotların üretim tekniğidir. Bu yöntemin başarısı bunun gibi temiz oda gerektirmeyen alternatif üretim yöntemlere duyulan gereksinimin bir göstergesidir.

Bu tez kapsamında elektrot üretimi için yeni bir yöntem sunulmuştur. Bizim geliştirdiğimiz bu yöntemin detaylı açıklaması aşağıda yapılmaktadır. Bunun için ilk önce altın bir tel mikroskop lamına tutturulur ve üzerine kanal tam dik geçecek şekilde PDMS yapıştırılır. Son olarak kral suyu kanaldan akıtılır ve altın tel aşındırılarak elektrotlar üretilir. Bu yöntemle temiz oda aşaması atlanarak çip üretimi gerçekleştirilmiş olur. Ayrıca yüksek kalitedeki sağlam elektrotlar üretilmiş olunur. Bu yöntemle Bu yöntem ile hiç vakum alımı da yapılmadığı için özellikle biyolojik uygulamalar için çok uygundur. Bu yöntem düşük boyut ve yüksek frekans gerektiren uygulamalar içinde idealdir. Çok hassas uygulamalar için nano tel ile de bu tip elektrotları yapmak mümkündür

Bu yöntemle üretilen elektrotları bakteri tespiti için kullandık. 3D elektrotlar ile tek bakterinin tespiti başarıya ulaştı. Bu tespit doğrudan içme suyundan gerçekleştirildiği için ayrıca büyük önem arz etmektedir.

## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Mikro Kanalların Üretimi

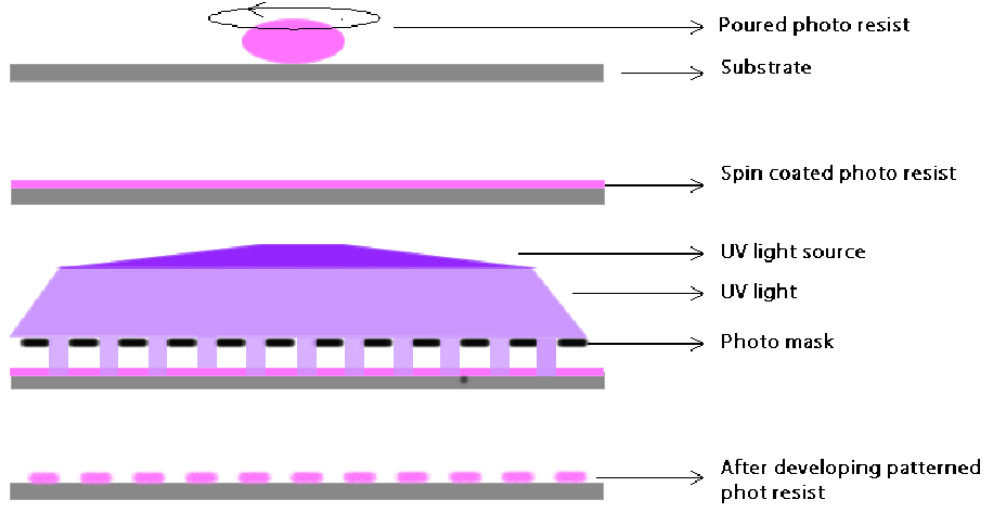
Kanalların üretimi için soft litografi yöntemi kullanıldı. Bu yöntemle 10 nm'ye kadar incelikte üretim yapmak mümkündür [13]. Çözünürlük işleme yöntemine bağlıdır. İşleme lazerle, optik litografiyle, torna-freze ile ve daha birçok farklı yöntemle yapılabilir [13]. Tüm bunlar bazı avantajlara ve dezavantajlara sahiptir. Burada 1 µm yatay çözünürlük veren UV foto litografi yöntemi kullanılmıştır.

Soft litografi yönteminde sıvı haldeki polimer kalıba dökülür ve kür edilir. Burada kalıp SU 8 adlı foto rezistin UV fotolitografi ile işlenmesiyle elde edilmiştir. Polimerin serleşmesinden sonra kalıptan çıkarılır. Bu şekilde yapıların negatif kopyası kalıptan polimere aktarılmış olur.

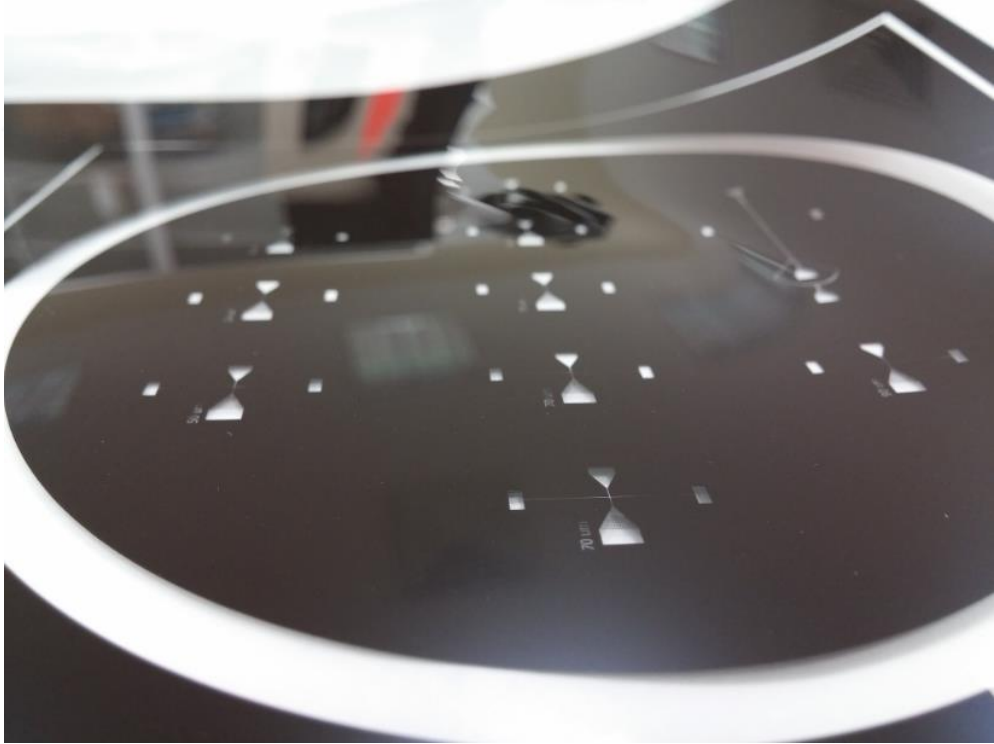
UV foto litografi mikro ve nano yapıların üretiminde kullanılan standart bir yöntemdir [48]. Bu ışıkla etkileşen fotorezist üzerine istenilen şeklin bulunduğu bir maskenin ardından ışık vurularak yapılır. Developing işleminden sonra istenilen şekiller oluşturulmuş olunur.

İşığa maruz kalan ve kalmayan taraflar developer ile etkileşip kaybolur yada sabitlenir. Pozitif foto rezistlerde ışığa maruz kalan yerler kaybolurken negatiflerde tam tersidir. Developer uygulanmasından sonra geri kalan fotorezist kısmı kalıp olarak kullanılır. UV litografinin temsili açıklaması şekil 2.1'de verilmiştir.

Kalıbı üretmeden önce şekil AutoCad 2007 adlı çizim programında tasarlanır ve pdf kopyası 3600 dpi yazıcıda bastırılır. Bu yazıcı her 7,5 µm'ye bir nokta atmaktadır. Burada kalite standart krom maskedeki kadar iyi olmamakla birlikte çoğu amaç için yeterlidir. Yazıcıdan alınan şeffaf film boş bir maske camına bantlanarak kullanılmıştır. Burada litografi sırasında yazıcının bastığı yüzeyin fotorezist kaplı yüzeyle doğrudan teması çok önemlidir aksi taktirdi düzgün sonuçlar elde edilmeyebilir. Bastırılan maskelerden biri şekil 2.2'de gösterilmektedir.

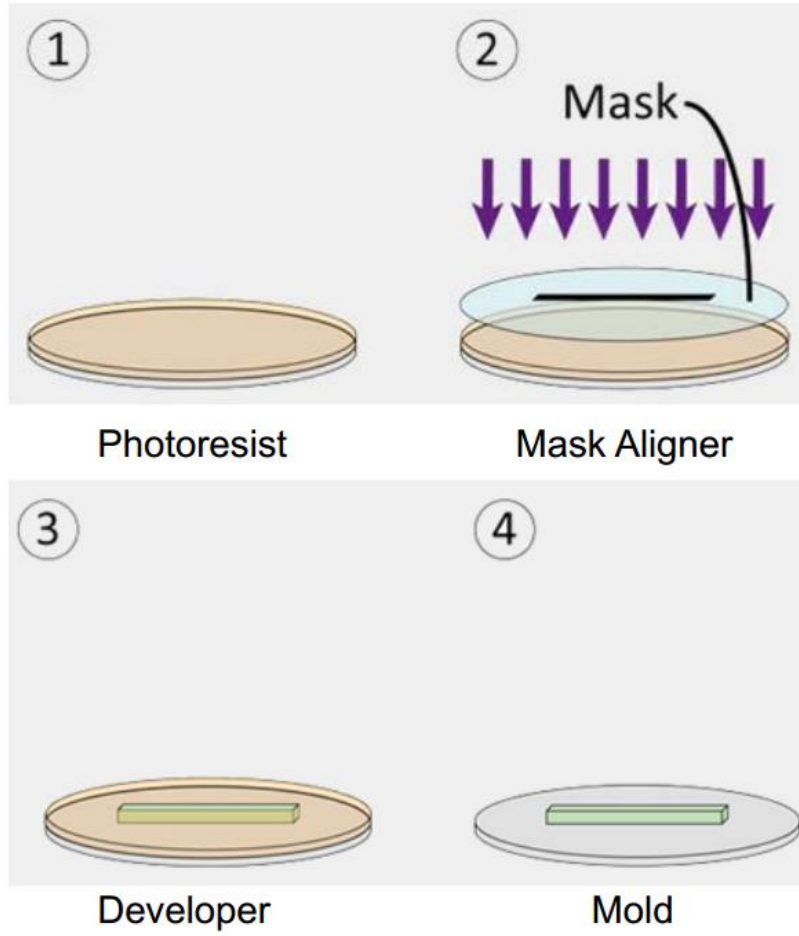


Şekil 2.1. Fotolitografi yönteminin temsili ifadesi



Şekil 2.2. Yazdırılmış foto maske

Fabrikasyon işleminin temsili açıklaması şekil 2.3’de verilmektedir. Silikon alttaş temiz oda içerisinde dışarı alınır ve aseton, IPA, su ile sırasıyla yıkandıktan sonra azot püskürtülerek kurutulur. Alttaş 110°C’deki ocak üzerinde 10 dakika bekletildikten sonra spin coating sırasına getirilir. Isıl işlem yüzeyde kalan tüm sıvıların buharlaştırılması içindir bu sayede fotorezist yüzeye daha iyi tutunur. Bunu daha da iyileştirmek için HMDS gibi kimyasallarda kullanılabilir. Burada SU8 (Micro Chem) 2005 ve 2050 fotorezistleri kullanılmıştır.



**Şekil 2.3.** Kalıp üretimi

Foto rezistin nümerik kodu spin coatingden sonra kalınlığının ne kadar olacağını belirtmektedir. Örneğin SU8 2005 2000 devirde kaplanması halinde 5 µm’lik bir

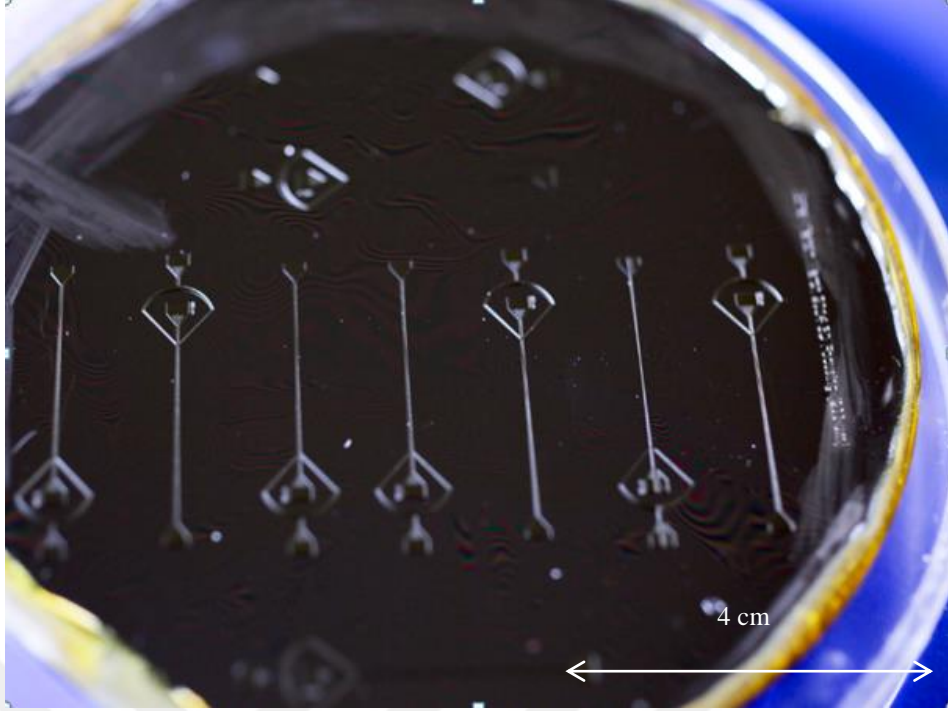
kalınlıkta olur. Kaplamadan önce SU8 2005 şişesinden alttaş üzerine doğrudan dökülür. Ardından alttaş döndürücünün üzerine tam ortası ortasına gelecek şekilde konulur. Aksi takdirde döndürme işlemi sırasında yalpalama olacaktır ve bu yüzeyin homojen şekilde kaplanmasına mani olacaktır.

Kaplama işleminden sonra alttaş 60 95 ve 60 °C'deki ocaklara sırasıyla 3,5,3 dakika konulup bekletilir. Kaplanan SU8'in aşamalı olarak ısıtılıp soğutulmasının sebebi olası çatlakların önüne geçmektir. Isıl işlemin ardından (EVG 620) maske hizalayıcı ile 40 mJ/cm<sup>2</sup>'lik UV ışık basılır. İlk pozlama maskesiz olarak gerçekleştirilir bu PDMS'in yapışmasını önleyen ilk katmanı pozlamak içindir. İkinci katman SU8 istenilen derinlikte kanal elde etme için hassas olarak gerçekleştirilir ve 2005 ya da 2050'lik SU8 kullanarak isteğe bağlı olarak kaplanır. 40 µm'den kalın yapılar için 2050 10 µm'den ince yapılar için 2005 kaplaması yapılır.

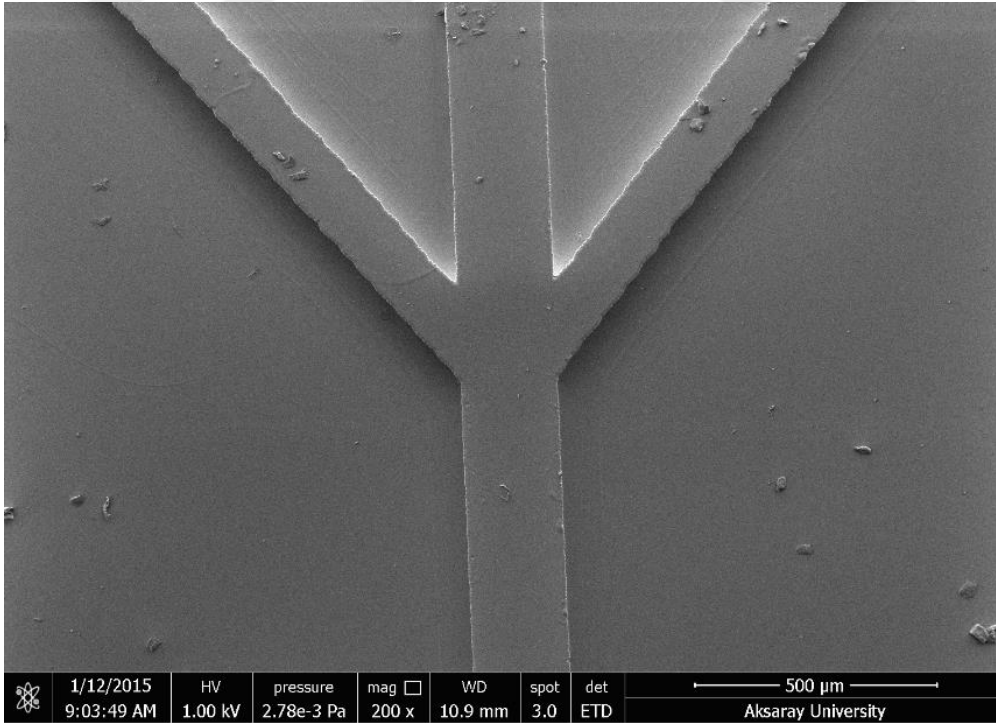
Burada PDMS'in yapışmasını önleyici ilk katmanın üzerine 2050'lik foto rezist kullanılarak 50 µm kalınlığındaki yapılar üretmek adına 2000 rpm'de kaplanmıştır. Fotorezist yine şişesinden alttaş üzerine dökülür v 2000 rpm'de kaplanır. Bu kaplamanın ardından yine aynı ısıl işlem uygulanır ve bu sefer maske kullanılarak pozlama yapılır. Maske hizalayıcıya yerleştirilir ve soft contact mode seçilerek 40 mJ/cm<sup>2</sup> ile pozlanır. Ardından developer kullanılarak istenmeyen fotorezistlerden kurtulunur. Developingden sonra alttaş dışarı alınır ve azot sıkılarak kurutulur. Alttaş mikroskopun altında kontrol edilir, eğer hala istenmeyen fotorezistler kalmışsa tekrardan developer solüsyonuna daldırılır ve beklenir. Çıkarıldıktan sonra tekrar kontrol edilir ve istenilen sonuç elde edilene kadar developinge devam edilir. Bu işlem bittikten sonra alttaşın köşelerine epoksi sürülür. Bu epoksi fotorezist le alttaş arasındaki en zayıf yer olan köşelerdeki bağı güçlendirir ve fotorezistin yolunmasına mani olur. Bu yapıştıracının sertleşmesiyle üretim işlemi sona erer.

Bu tez kapsamında farklı yüksekliklerde kanal ede edebilmek için hem 2005 hem de 2050'lik fotorezistler kullanılmıştır. 2050 yüksek viskoziteli bir malzeme olduğu için bununla çalışmak nispeten daha zordur. Ayrıca daha kalın kaplama yapıldığı için çatlak oluşumuna da daha yatkındır. Üretilen kalıp şekil 2.4'de gösterilmiştir.





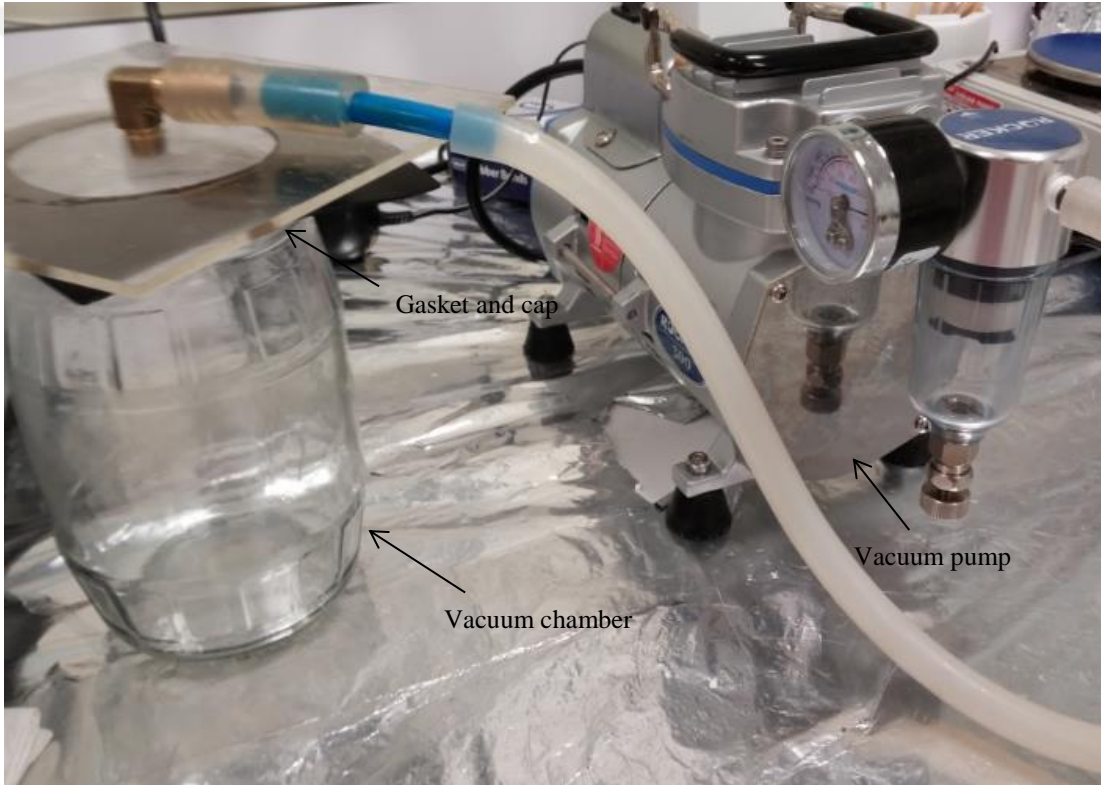
Şekil 2.4. Üretilen kalıbın fotoğrafı



Şekil 2.5. Kalıbın SEM resmi

Kalıbın SEM fotoğrafı şekil 2.5’de gösterilmiştir.

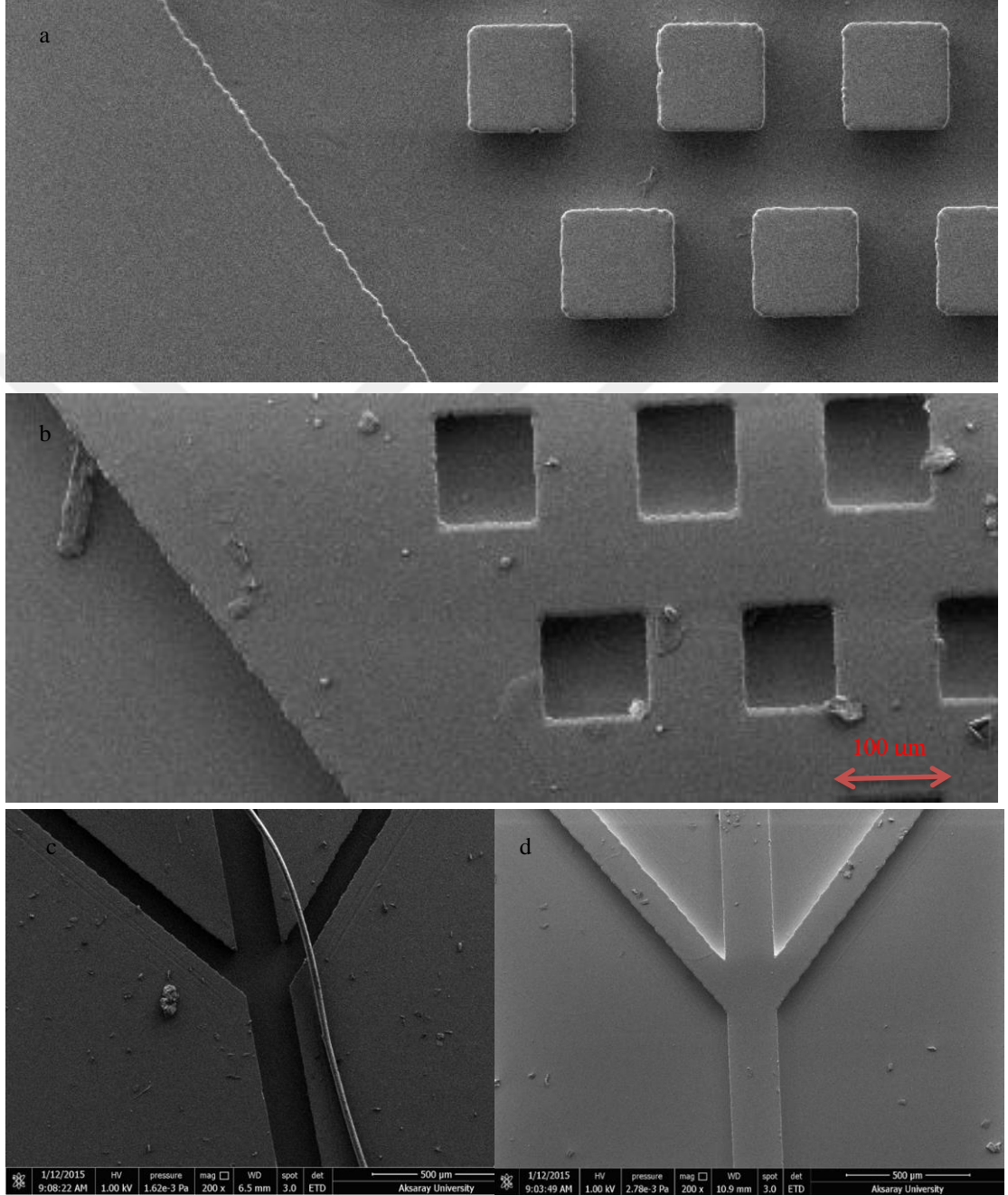
Kalıp alma işleminde kullanılan malzeme PDMS’dir. PDMS şeffaf ve biyo uyumlu olması sebebiyle bu iş için biçilmiş kaftandır [72]. Bu malzemenin cama yapışımı da ayrıca çok kolaydır. Tüm bu özelliklerden dolayı PDMS kanallar için başlıca üretim malzemesi olarak kullanılmıştır. PDMS 10/1 oranında karıştırılır ve karışımda baloncuklar oluşana kadar çırpılır. Ardından bu baloncuklardan kurtulmak adına vakum altında havası alınır. Bu iş için ev yapımı vakum sistemi şekil 2.6’da gösterilmektedir.



**Şekil 2.6.** Ev yapımı vakum sistemi

Hava baloncuklarının tahliyesinden sonra PDMS kalıba dökülür ve 100 °C’lık ocağın üzerinde 1 saat bırakılır. PDMS sertleştikten sonra kalıptan nazikçe sökülerek ayrılır. Burada kalıbın şeklini almış PDMS artık tam bir lastik gibidir ve bu onun en büyük

avantajlarında biridir. Kalıptaki her girinti PDMS'te çıkıntı kalıptaki her çıkıntı da PDMS'te bir girinti oluşturur. Bu durum şekil 2.7'de görülmektedir.



**Şekil 2.7.** Kalıp ve kanalın fotoğraflarla karşılaştırması **a.)** Kanal, **b.)** Kalıp, **c.)** Kanal, **d.)** Kalıp

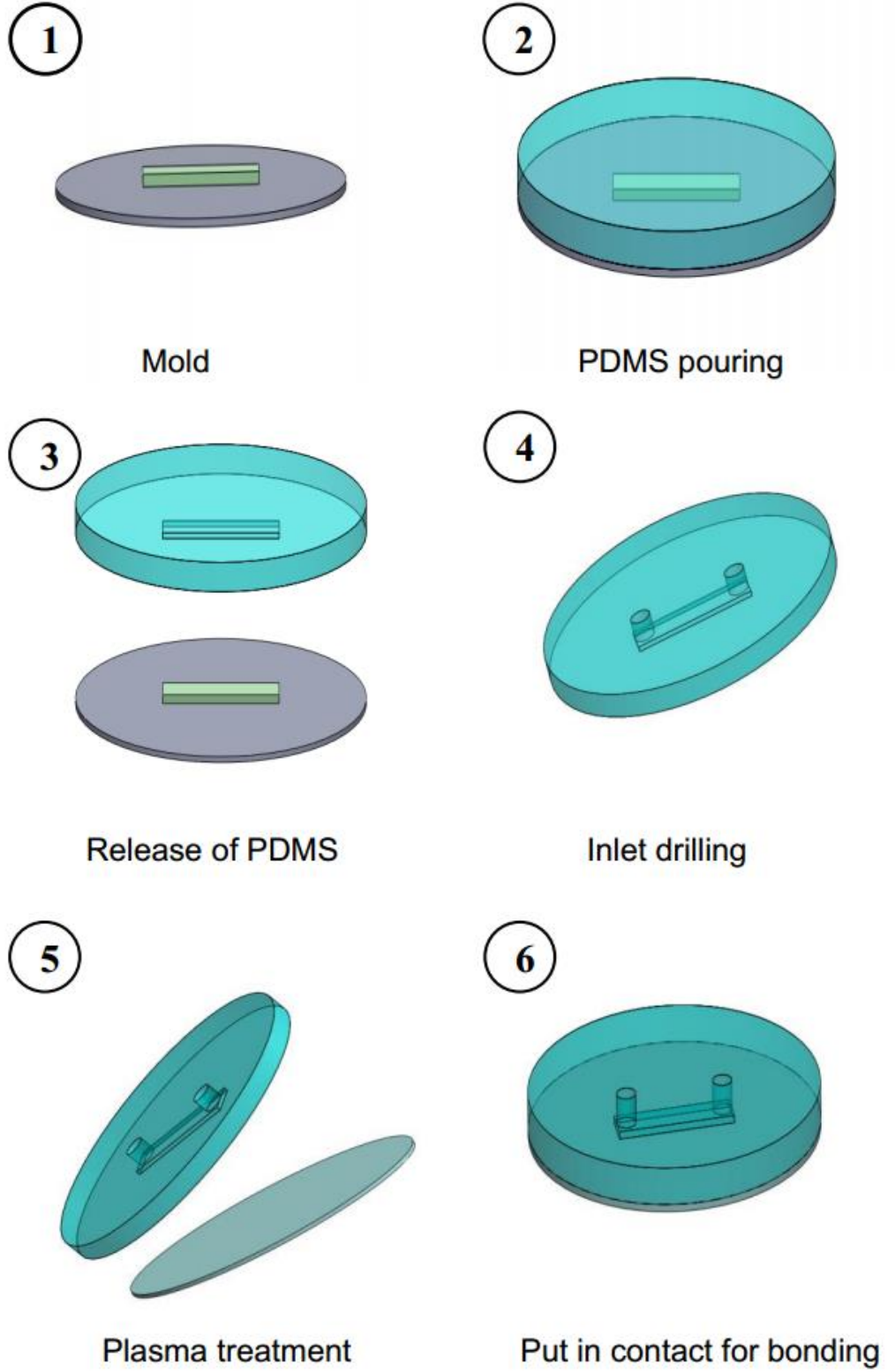
Ardından PDMS bloğu bisturi ile kesilir ve sıvı giriş çıkış delikleri biyopsi panç yardımıyla açılır. Biyopsi pançın çapı konektör çapından daha küçük olmalıdır yoksa giriş çıkış deliklerinden sızıntılar meydana gelir.

Çok küçük delikler açılması halinde de konektör PDMS'i yırtacağından dolayı yine sızıntılar meydana gelecektir. PDMS dökme işleminin temsili açıklaması şekil 2.8'de gösterilmektedir.

Ardından PDMS mikro kanal cam lama plazma ile yapıştırılır. Burada plazmanın rolü yüzeydeki C-H bağlarını kırmasıdır. Bu sayede cam yüzeyi ile temas eden PDMS yeni bağlar kurabilmektedir. Bu şekilde iki cisim ayrılmaz şekilde birbiriyle bağlanmış olur. Plazma ev yapımı bir cihaz tarafından oluşturulur. Şekil 2.10'da gösterilen bu sistem basitçe mikro dalga fırın, vakum pompası, vakum haznesi ve basınç ölçerden oluşmaktadır.

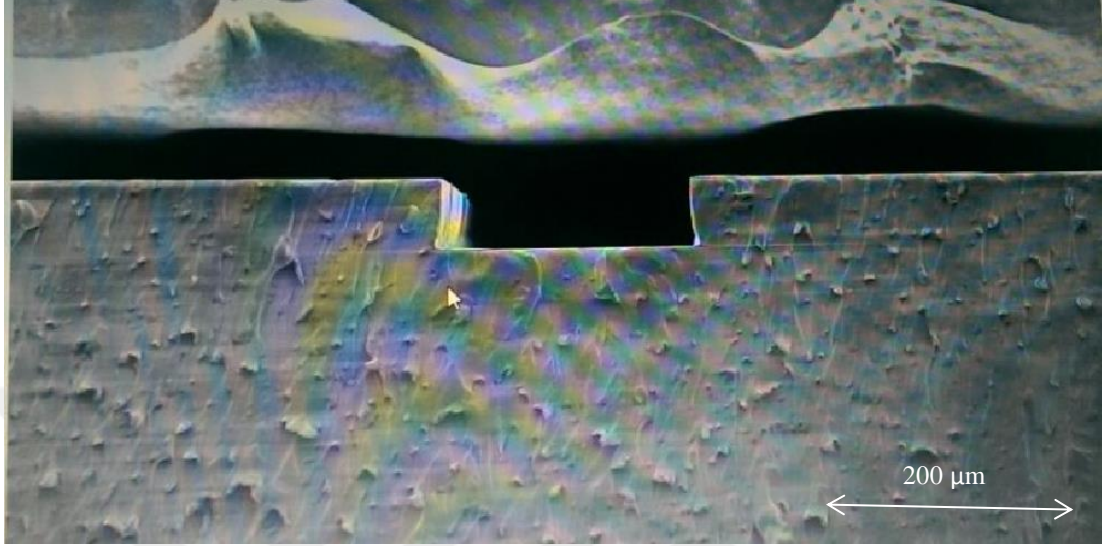
Burada plazmanın cam üzerine bir etkisi yok gibi görülse de cam da vakum haznesine konur ve plazma uygulanır. Plazma cam üzerindeki pisliklerin daha iyi temizlenmesine yardımcı olduğundan dolayı bağın daha sağlam olmasını sağlar. Buna rağmen camı evvelden aseton, IPA ve su ile klasik olarak temizlemekte fayda vardır. Hatta bir bezle güçlüce silip ardından bu işlemlerin uygulanması daha iyi sonuçlara bile götürür.

Plazma uygulanmasından sonra iki yüzeyde bir araya getirilir ve biraz bastırıldıktan sonra 100 °C'deki ocağa 10 dakika bırakılır. Isıl işlem bağın daha kuvvetli olması için gereken bir adımdır. Isıl işlemde başka iki nesneyi bastırıp sıkıştırmamak da bağın kuvvetini arttırmaktadır. Dolayısıyla sıcaklık ve basınç arasındaki bağın kuvvetini etkileyen iki diğer parametredir.



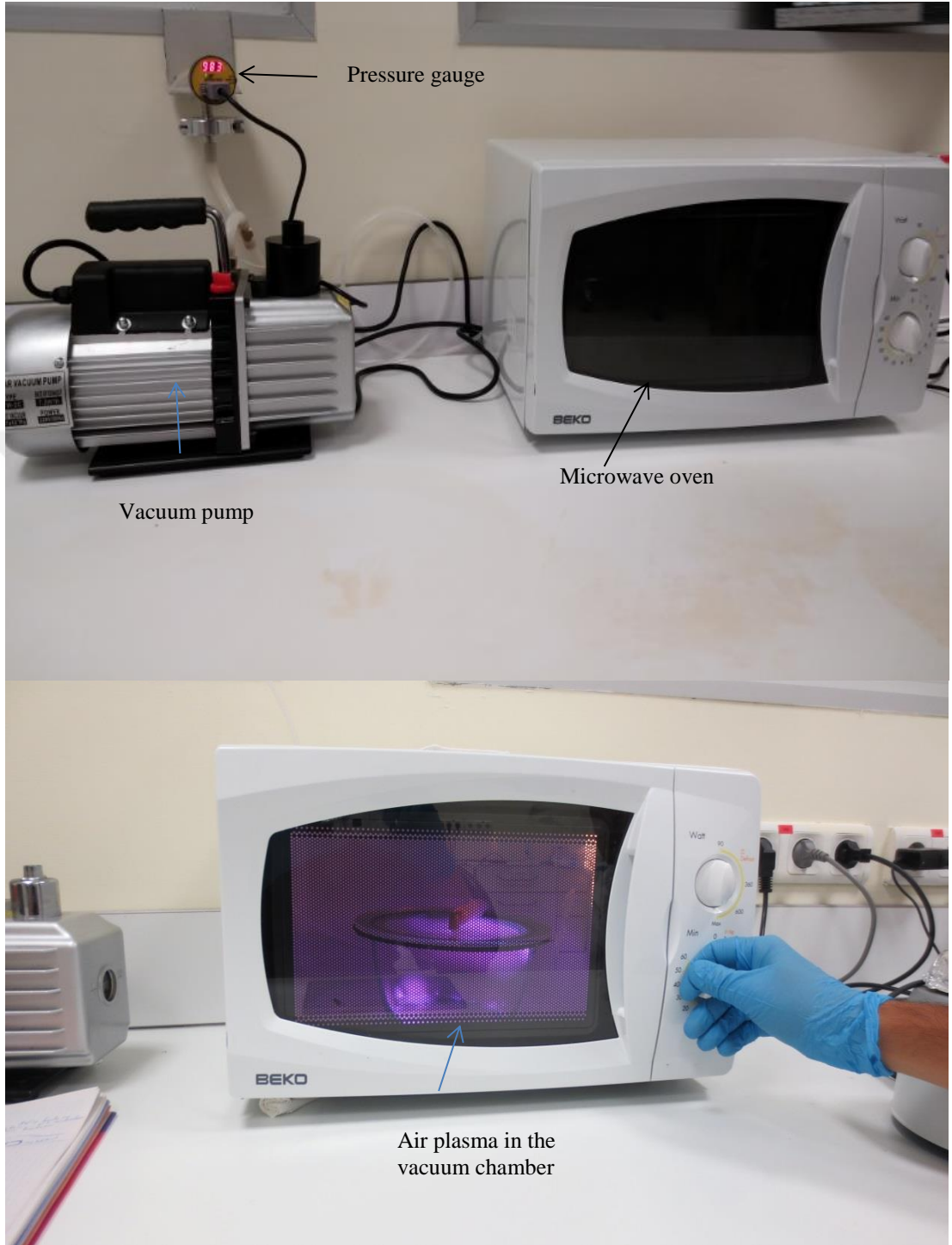
Şekil 2.8. PDMS döküm işlemi

Kalıptaki SU8 ile oluşturulan tüm çıkıntılar PDMS kanalda girinti olur. PDMS kanalın SEM fotoğrafı şekil 2.9'da gösterilmektedir.

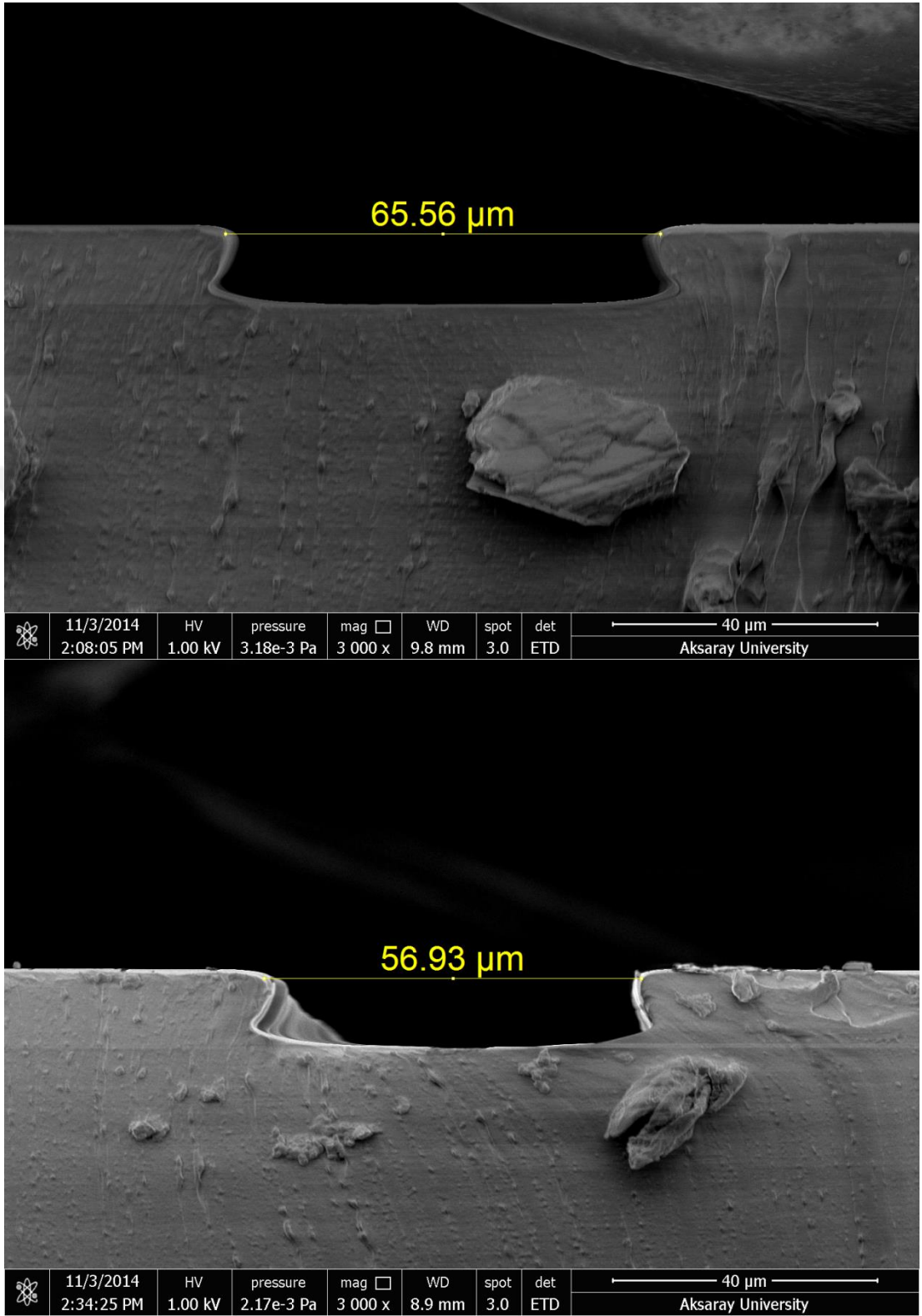


**Şekil 2.9.** PDMS mikro kanalın profil SEM fotoğrafı

Deneyle sırasında görüldü ki daha küçük kanallarda daha hassas ölçümler gerçekleştirilebilmektedir. Bundan dolayı hem elektrotlar hem de kanallar için yeni bir foto maske tasarlanmış ve yukarıda bahsedildiği gibi aynı üretim süreçlerinden geçerek yeni kalıp ve elektrotlar üretilmiştir. Burada sadece kalıp yapımında ikinci katmanda kullanılan 2050 yerine daha alçak kanallar için 2005 kullanılmıştır. 2005 1000 rpm'de 2050 yerine uygulanmıştır. Bu sayede 10 μm kalınlığında 2005 döndürülerek kaplanmıştır. PDMS yine 10/1 oranında karıştırılıp havası alındıktan sonra kalıba dökülerek kanallar yapılmıştır. Kalıptan çıkan PDMS bistorilerle kesilip giriş çıkış delikleri açıldıktan sonra plazma ile 5-10 μm'lik elektrotların üzerine takılmıştır. Yeni üretilen ufak kanalların SEM fotoğrafları şekil 2.11'de görülmektedir. Bu kanalla 60-70 μm genişliğinde olması için tasarlanmış olmasına rağmen üretimden doğal olarak oluşan draft açısı nedeniyle daralmıştır.



**Şekil 2.10.** Ev yapımı plazma eşır

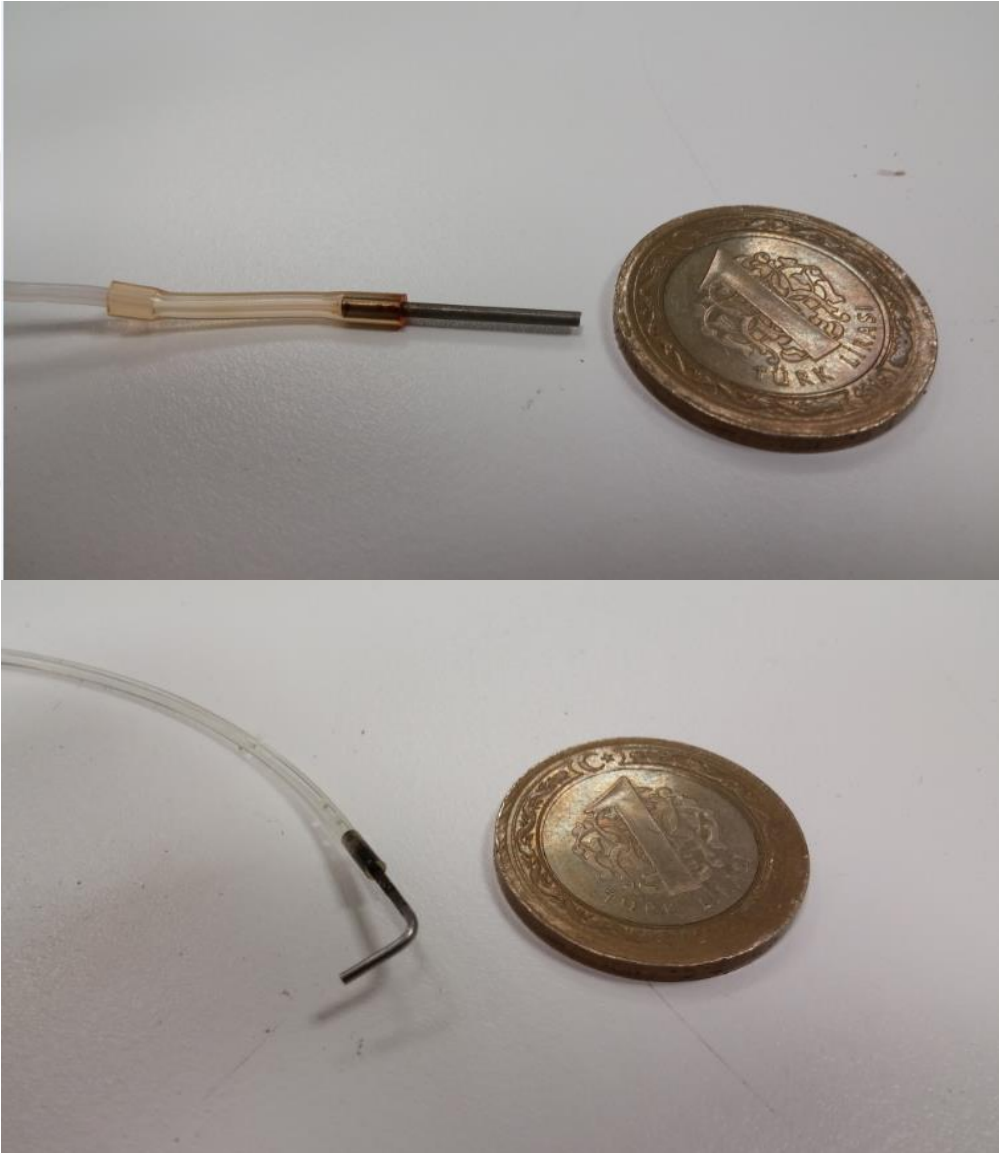


Şekil 2.11. Dar mikro kanalların profil fotoğrafları



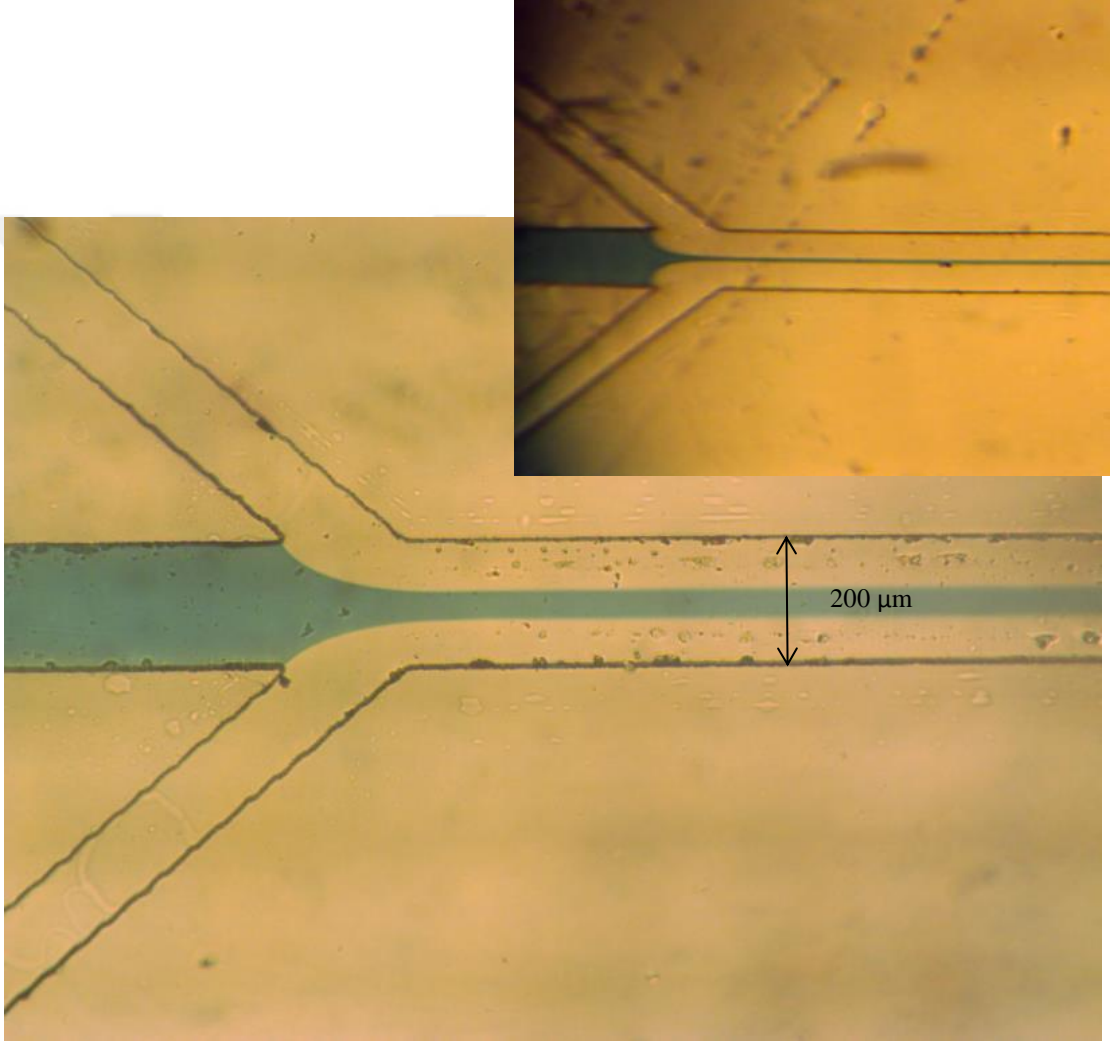
## 2.2. Hidrodinamik Odaklama

200  $\mu\text{m}$  kanal genişliğine, 50  $\mu\text{m}$  kanal yüksekliğine sahip olan mikro akışkan çip kanala 18 ölçülük metal bir şırınga uç ile bağlanır. Bu metalik bağlantı elemanları bu özel ucu sivri olmayan şırınga uçlarından ateş yardımıyla plastik kısmının sıyrarak elde edilir ve sonrada mini hortumlara (Cole Parmer) şekil 2.12’de gösterildiği gibi bağlanır.



**Şekil 2.12.** Hortumlar için metal konektörler

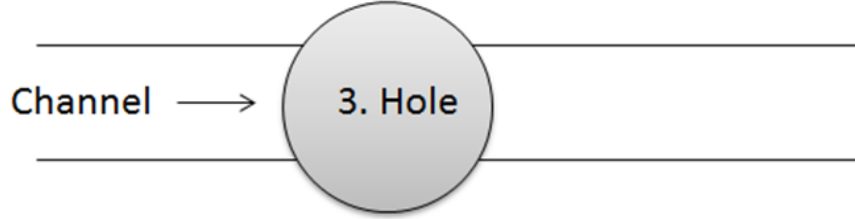
2D ve 3D hidrodinamik odaklama bu çipte yapılır. Saf su ve mavi gıda boyalı su yanal odaklamayı incelemek için kullanılır. Bu sıvılar kanala basınç pompası yardımıyla bağlanır ve giriş basınçları bilgisayardan ayarlanır. Giriş basınçları sıvıların kanal içinde kapladıkları bölgeyi tayin eder. Bu durum şekil 2.13'de gösterilmektedir.



**Şekil 2.13.** Farklı basınçlarda 2D odaklama

2D odaklamanın başarılı bir şekilde gerçekleştirilmesinin ardından 3D hidrodinamik odaklama yapıldı. Bunun için kanalın tam tepesinden fazladan bir delik daha açıldı.

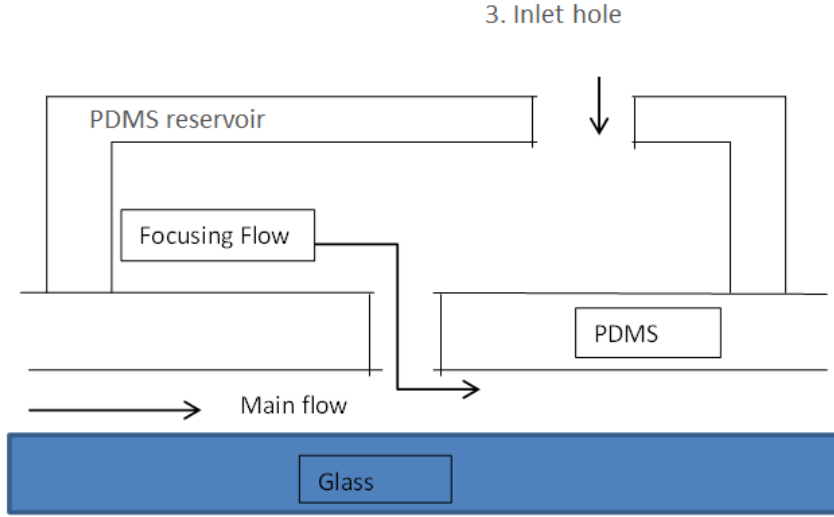
3D odaklama 2D odaklamadan çok daha zordur ve 3. Deliğin geometrik durumuna şiddetle bağlıdır. Kanalın tam ortasıyla merkezi aynı hizada olmayan bir delik ile 3D odaklama yapmak neredeyse imkânsızdır. Ayrıca kanala göre çok büyük deliklerle de ayarı tutturmak yine çok zordur. 3. Delik şekil 2.14’de gösterildiği gibi delinmelidir.



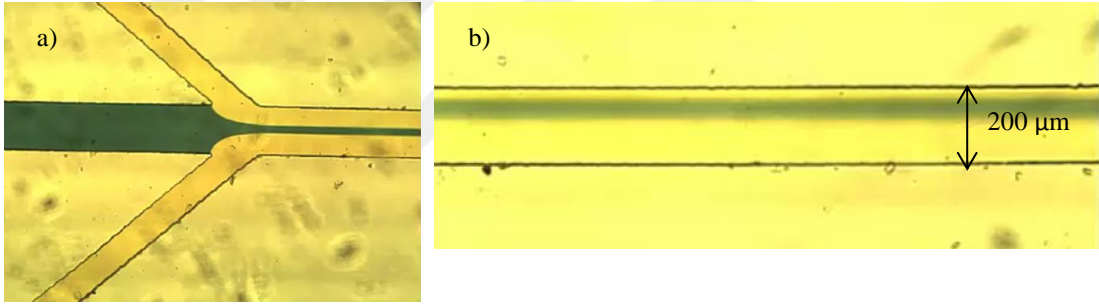
**Şekil 2.14.** Kanala delinen 3. Deliğin temsili görüntüsü

Ayrıca konektörü doğrudan kanalı ihtiva eden PDMS bloğa sokmak da odaklamayı bozabilen başka bir etkendir. Dolayısıyla bu deliğin tam tepesine konektörü bağlanabilen ve içinde küçük bir havuz barındıran PDMS blok plazma ile yapıştırılmıştır. Bağlantı bu yeni blok vasıtasıyla şekil 2.15’de gösteriliği gibi yapılmaktadır.

Sağdan ve soldan eşit mesafede delinmeyen tepe deliği kötü odaklamaya sebep olur. Bu durum şekil 2.16’da görülmektedir. Burada mavi boyalı su başarılı bir şekilde saf su tarafından odaklanırken 3. Delikten gönderilen sarı boyalı su 3D odaklama yapmak yerine 2D’yi de bozmaktadır.

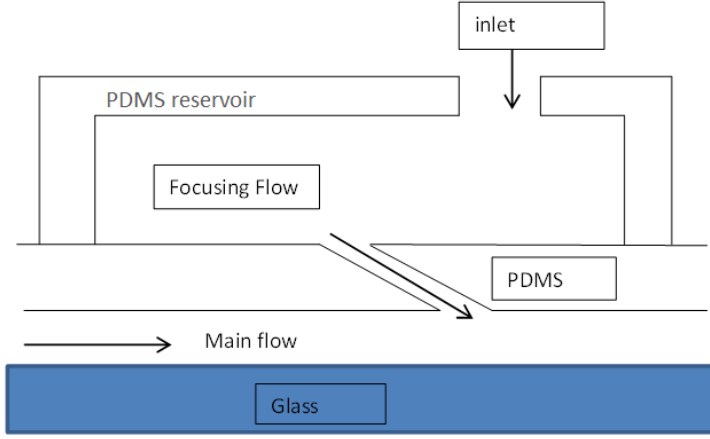


**Şekil 2.15.** 3. Girişin şeması



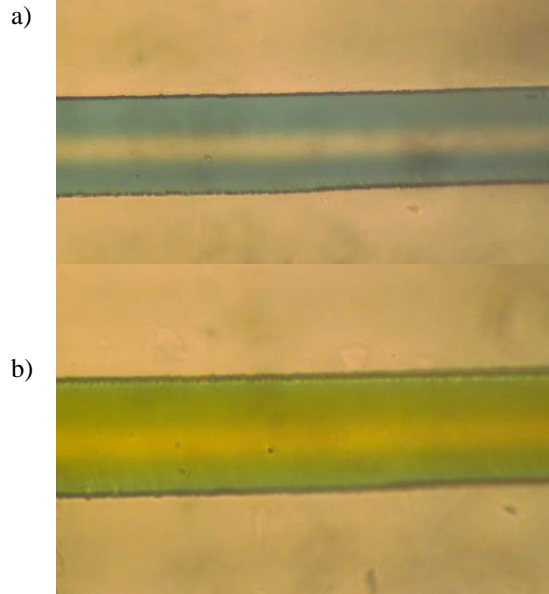
**Şekil 2.16.** Başarısız bir 3D odaklama denemesi **a.)** 2D odaklamadan sonra 3. Girişten önce **b.)** 3. Girişten sonra

Bunun dışında çalışmalarımız sırasında saptadığımız diğer bir husus debinin 2D odaklama üzerine bir etkisi olmayıp 3D üzerinde çok etkili olmasıdır. 3D odaklama giriş basıncının 1-10 mbar civarında olduğu düşük debilerde gerçekleşmemektedir. Ancak eğimli bir 3. Delik odaklamanın başarılı bir şekilde gerçekleşmesi konusunda oldukça faydalıdır. Eğimli 3. Delik için temsili şema şekil 2.17’de gösterilmektedir.



**Şekil 2.17.** Eğimli 3. Delik şeması

Akış ile aynı doğrultuda eğimli bu tip bir delik açmak için panç eğik olarak tutularak sokulur ve delik açılır. Bu sayede 20 mbar civarında düşük basınçlarda başarılı 3D odaklamalar yapmak mümkündür. Debi aynı zamanda kanalın boyutlarıyla da ilgilidir öyle ki aynı basınç değerinde dar kanalda debi düşük olurken geniş bir kanalda debi de aynı oranda yüksek olabilmektedir. Dolayısıyla hidrodinamik odaklama aynı zamanda kanal boyutlarına da bağlıdır.



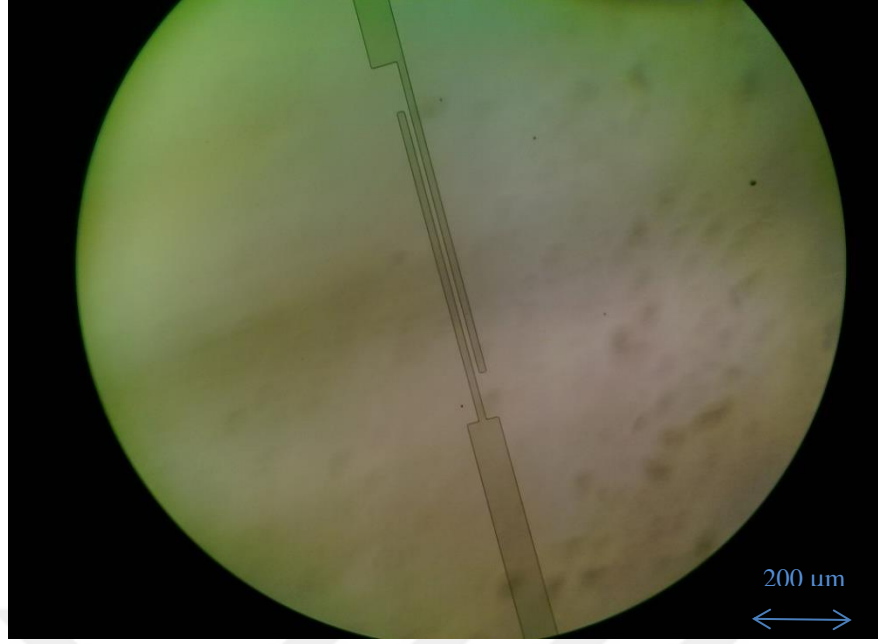
**Şekil 2.18.** 3D odaklama **a.)** mavi boyalı su tarafından 2D odaklanan saf su **b.)** Sarı boyalı su tarafından aşağı bastırılan 2D odaklanmamış su.

### 2.3. Elektrot Üretimi

Elektrotların üretimi için biline mikro üretim teknikleri kullanılmıştır. Bunun için bir çizim programında (Layout Editor) foto maske tasarlanır ve bu çizim maske yazıcıda (Heidelberg) krom maskeye (Telic) aktarılır. Alttaş olarak kullanılacak olan cam lam sonikatörde (Branson) sırasıyla aseton, IPA ve saf suyla yıkanarak temizlenir. Ardından 120 °C'lık fırında 10 dakika kurutulur. Bundan sonra HMDS bir pipet yardımıyla üzerine dökülür ve döndürücüde 4000 rpm'de 50 s boyunca çevrilir. Bu sayede alttaşın yüzeyi HMDS ile kaplanmış olur. Ardından AZ5214 adlı foto rezist dökülür ve yine döndürücüde 5000 rpm'de 40 s boyunca çevirir ve böylece yüzey fotorezist ile kaplanmış olur. Burada HMDS uygulanmasının sebebi fotorezist ile camın daha güçlü bir şekilde bağlanmasını sağlamaktır. Bundan sonra lam 110 °C'da ocakta 50 s bekletilir.

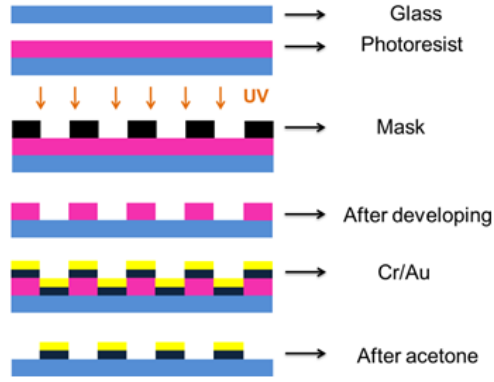
Yüzeyin şekillendirilmesi yine UV fotolitografi ile yapılır. Bunun için çizdirilen fotomaske maske hizalayıcıya konur ve soft contact modunda 40 mJ/cm<sup>2</sup>'lik değerde pozlama gerçekleştirilir. Ardından tazece hazırlanmış developere daldırılır ve şekil oluşumu gözlemlenerek 30-40 s sonra çıkartılır. Mikroskop altında kontrol edilir eğer şekil oluşumu tamam ise kurutulur değilse tekrar developere daldırılır. Elektrot üretiminde kullanılacak develop edilmiş bir lamın görüntüsü şekil 2.19'da gösterilmektedir.

Metal ile kaplama işlemi termal buharlaştırıcıda gerçekleştirilir(Vaksis). Bunun için pataların içine yeterince krom ve altın taneleri konulur. Ardından hazırlanan lam tepeye yerleştirilir ve cihaz vakuma alınır. Vakum 10<sup>-6</sup> tor civarındayken sırasıyla krom ve altın buharlaştırılarak lam yüzeyi kaplanır. Burada ilk önce krom ile kaplama yapılmasının sebebi kromun altın ile cam arasında yapıştırıcı olarak kullanılmasıdır çünkü altın kimyasal özellikleri nedeniyle cam yüzeyine tutunamamaktadır.



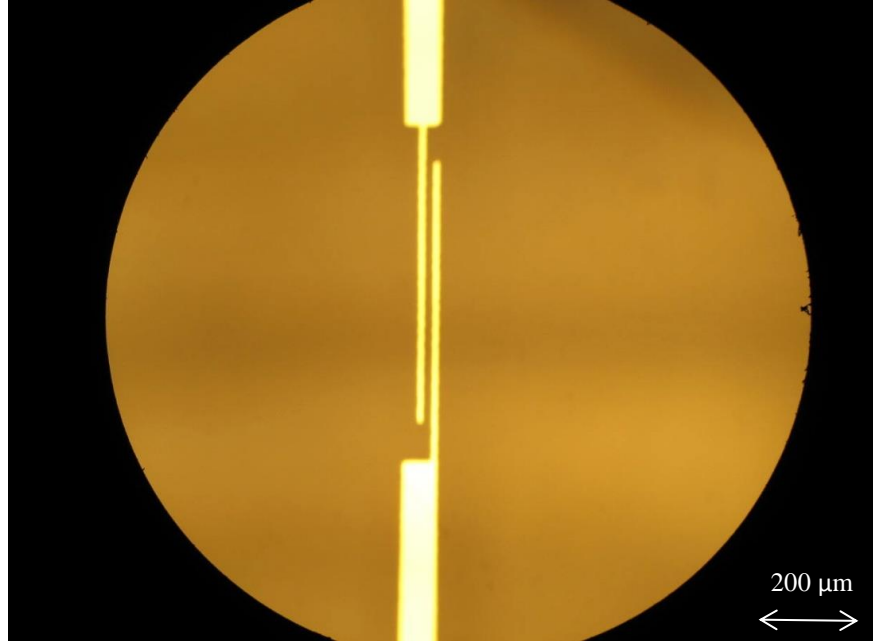
**Şekil 2.19.** Develop olduktan sonra çipin optik mikroskop fotoğrafı

Kaplama sırasında elektrik akımı yavaş yavaş artırılır yoksa potanın aniden ısınmasına ve çatlmasına sebep olur. Termal kaplama yönteminde pota üzerinden elektrik geçirilerek ısıtılır ve beraberinde ısınan metalde buharlaşma noktasına gelince buharlaşarak uçar. Kaplama  $0.5\text{\AA}/\text{s}$  hızda yapılır. Böyle düşük hızda kaplama yapılmasının sebebi yüzeyin homojen olarak kaplanmasının arzu edilmesinden dolayıdır. Kaplanan lam asetona daldırılır ve 1 gece içinde bekletilir. Aseton kalan fotorezisti çözümler yüzeyden söker ve üzerindeki metali de uzaklaştırmış olur. Develop sırasında kalkan fotorezist bölgesinde is metal doğrudan cama yapıştığından dolayı asetona o bölgeler etki etmez ve böylece yüzey istenilen şekilde metal ile kaplanmış ve elektrotlar üretilmiş olur. Bu yöntemle liftoff denir ve temsili açıklaması şekil 2.20’de verilmektedir.



**Şekil 2.20.** Liftoff yönteminin temsili açıklaması

Üretilen elektrotların son hali şekil 2.21’de gösterilmektedir. 40  $\mu\text{m}$  boşluk ve genişlikli elektrotlardan başka 5 VE 10  $\mu\text{m}$ ’lik elektrotlar da aynı yöntemle üretilmiştir. Daha dar elektrotların daha hassas ölçüm aldığı deneyler sırasında gözlenmiştir. Dar elektrotlar için maske, maske yazıcıda yazdırılırken geniş elektrotlar 3600 dpi yazıcıda yazdırılmıştır.



**Şekil 2.21.** Eş düzlemlı elektrotların mikroskop fotoğrafı



## 2.4. Elektriksel algılama

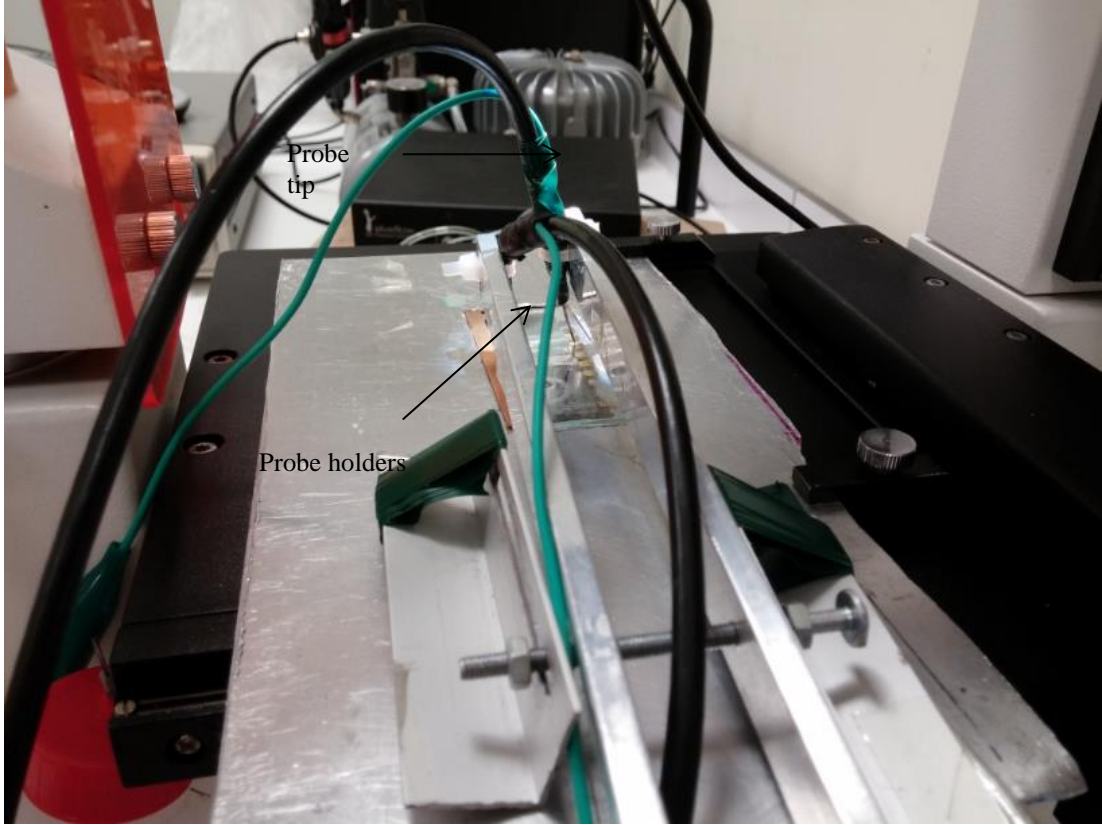
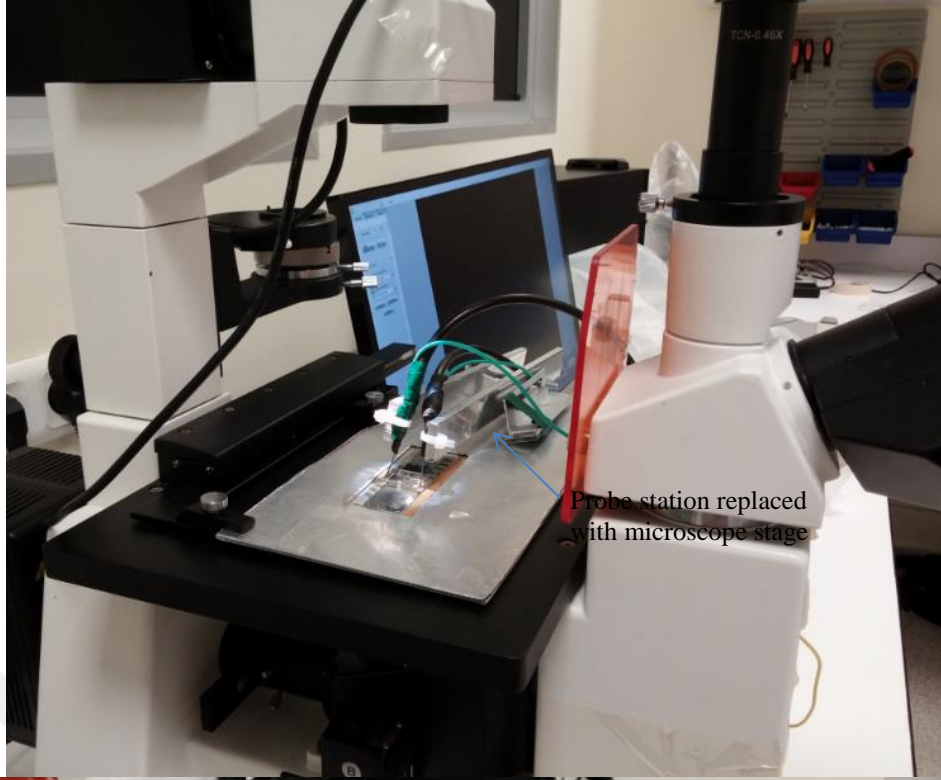
Elektriksel algılama bir LCR metre ile gerçekleştirilir (Agilent E4980A). LCR metre basitçe indüktans, sığa ve de direnç gibi 3 parametreyi ölçer. Cihaz bir AC gerilim uygular ve buna karışı alınan akımı ölçer. Bu ikisinin birbirine oranından empedans elde edilir. Bir sistemin empedansı elde edildikten sonra geri kalan elektriksel değerleri empedans verilerinden kolayca bulunabilir.

LCR metreyi kendi ev yapımı prob istasyonumuzda kullandık. Prob istasyonumuz RG 59 koaksiyel kablolardan ve BNC bağlantı elemanlarında oluşmaktadır. Basit bir toplu iğne kablonun BNC bağlanmayan ucuna lehimlenir ve sağlamlık için bir makaron ile sarılır ve ısıtılarak uygulanarak sıkıştırılır.

Mikroskop tablasıyla yer değiştiren ve hem problemleri tutan hem de mikroskopla bütünleşik hareket imkânı sağlayan yeni bir tabla alüminyum tabakalardan kesilerek yapıldı ve somun civatayla tutturuldu. İnşa edilen prob istasyonu şekil 2.22'de gösterilmektedir.

LCR metreyi kontrol etmek ve veri toplamak için bir labview kodu yazıldı. Cihaz manuel empedans aralığında kısa ölçüm modunda kullanılmıştır. Bu şekilde masa üstü bilgisayar kullanarak 184 Hz'de veri toplaması gerçekleştirilmiştir.

Bu hız çok süratli veri toplayan lock-in sistemlerinden daha düşük olmasına rağmen bunun gibi set üstü tak kullan cihazlar için gayet tatminkârdır [40]. Diğer hızlı sistemlerde fazladan elektronik devre ihtiyacı da bulunmaktadır bu da onlar için kullanılabilirlik adına ayrı bir dezavantajdır.



Şekil 2.22. Prob ve prob merkezinin fotoğrafı

Sıvı debisinin daha iyi ve hassas kontrolü için bir yüksekli pompası inşa edilmiştir. Bu pompa Pascal prensibine dayanır. H yüksekliğindeki bir sıvının basıncı eşitlik 2.2’de verilmektedir. Buna göre çipten h kadar yükseklikte tutulan bir şişenin de kanalın içinde oluşturacağı basınç bellidir. Basınç el ile şişe yukarı aşağı kaydırılarak kontrol edilir. Yükseklik pompası alüminyum profilden inşa edilmiştir ve şekil 2.23’de gösterilmektedir.

$$P = \rho gh \quad (2.1)$$

Bizim senaryomuzda şişenin 1 cm’lik yüksekli değişimi basınçta 1 mbar’lık bir değişime karşılık gelmektedir. Yani istenilen ölçüde ve hassasiyette şişe yukarı aşağı kaydırılarak daha içgüdüsel bir basınç kontrolü sağlanmış olur.

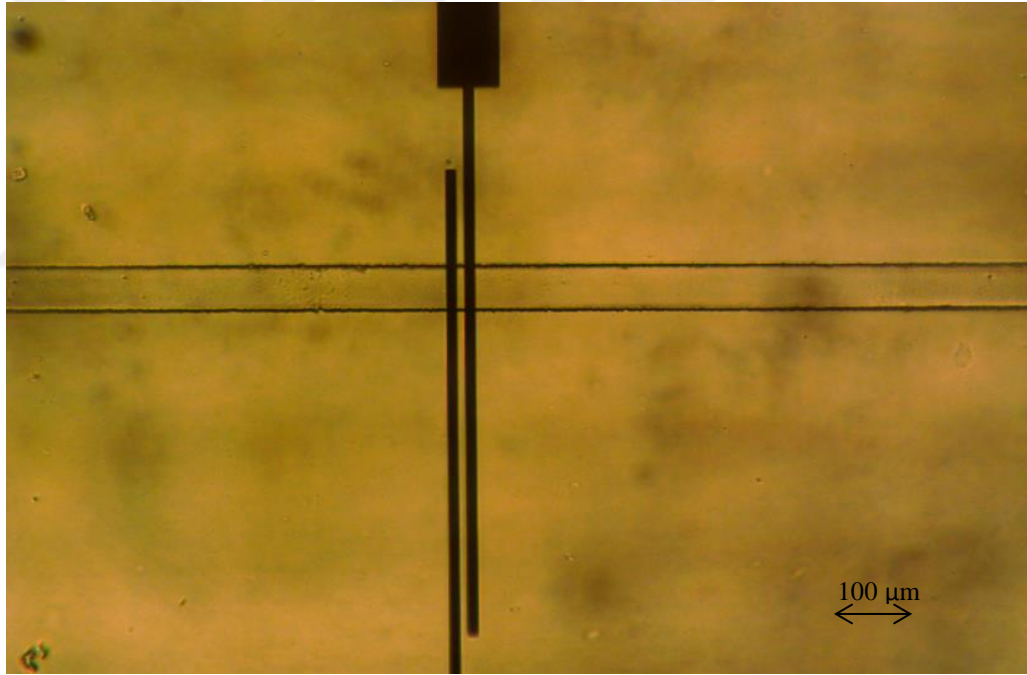


**Şekil 2.23.** Yükseklik pompası

Hücrelerin tespitinden evvel polistiren(PS) kürelerin tespiti yapılmıştır. Bunun için 6 µm çapındaki PS küreler 2,5 S/m iletkenliğindeki suda dağıtılmıştır. Suyun iletkenliği içerisine yeteri miktarda NaCl eklenerek sağlanmıştır. Yüksek iletkenlikte

daha düşük Sinyal gürültü oranlarına (SNR) erişilebildiği gözlemlenmiştir. Ancak aşırı tuzlu çözeltiler canlılar için hayati tehlike oluşturduğu için ileri için de uygun olması adına 2,5 S/m'lik iletkenliğin optimum düzeyde olduğu düşünülmüş ve çalışmalar bu değerde sürdürülmüştür.

Mikro akışkan çip yukarıda anlatıldığı gibi üretilmiştir PDMS mikro kanal altın elektrotların üzerinden dik geçecek şekilde cama yapıştırılmıştır. Mikro akışkan çipin optik mikroskop fotoğrafı şekil 2.24'de verilmektedir. İçinde PS küreleri barındıran çözelti pompaya asılmış ve kanala bağlanmıştır. Mikroskop, prob merkezi, BNC'lerin uçları ve kanal giriş LCR metre üzerinden topraklanmıştır. Bu topraklama yapılmadan çok yüksek SNR seviyeleri olduğu görülmüştür.

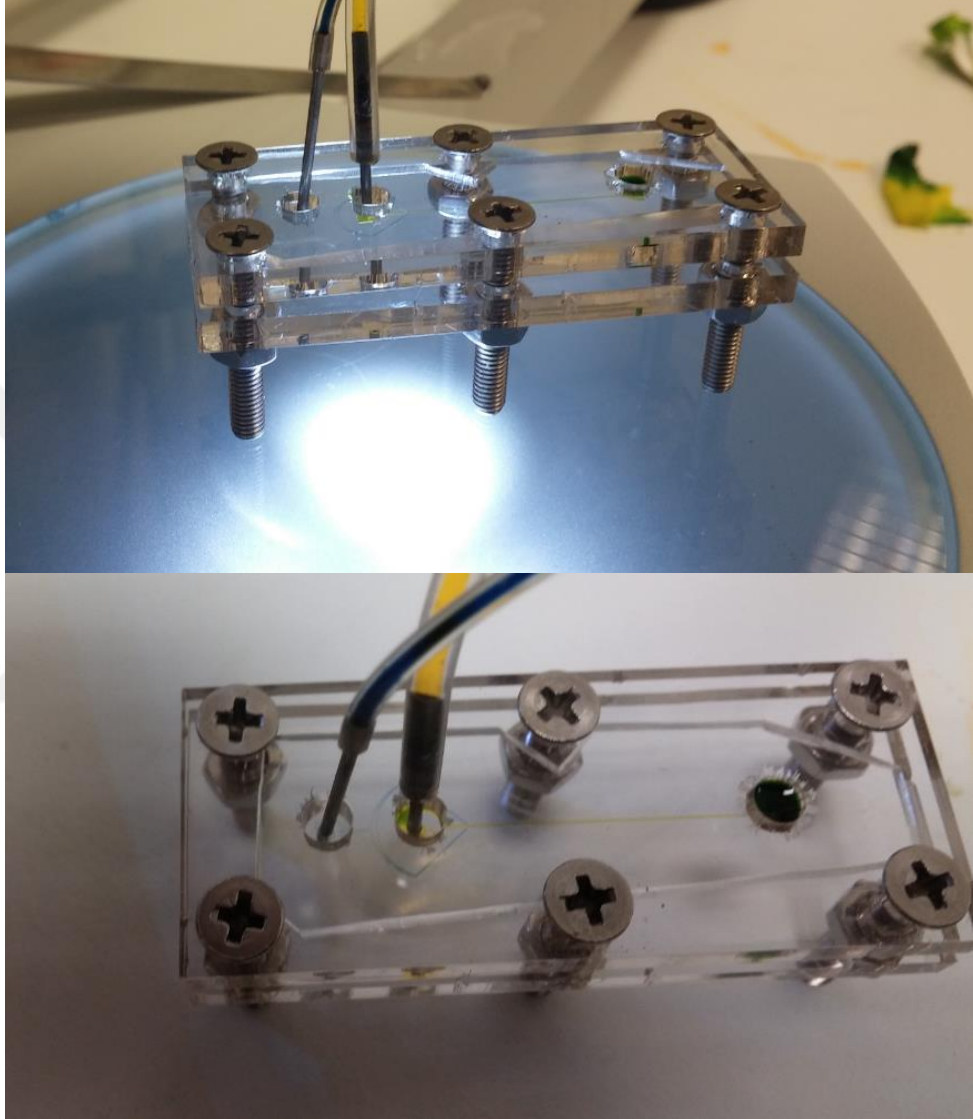


**Şekil 2.24.** Kanal ve elektrottan oluşan mikroçipin fotoğrafı

## **2.5. Tersinir Bağlama Yöntemi**

PDMS kanal ve camı tersinir olarak bağlama için yeni bir yöntem uygulanmıştır [73]. Bunun için iki parça pleksiglas CO<sub>2</sub> lazeriyle kesilmiştir. Kesim sırasında hem

hortumların geçeceği hem de cıvataların geçeceği delikler de açılmıştır. Ardından cam ve PDMS birleştirilip pleksi parçaları arasına sıkıştırılmıştır. Bu yöntemle oluşturulan çip şekil 2.25’de görülmektedir.



**Şekil 2.25.** PDMS ve camı sandviç bağlama yolu

Bu sayede mikro kanallar tıkanrsa dahi bağlantı basitçe çözülüp tıkanıklık yıkanarak açılıp geri bağlanarak bütün bir çipin çöpe gitmesinden kurtulmuş olur.

## 2.6. 3D Elektrotlar İçin Özgün Üretim Yöntemi

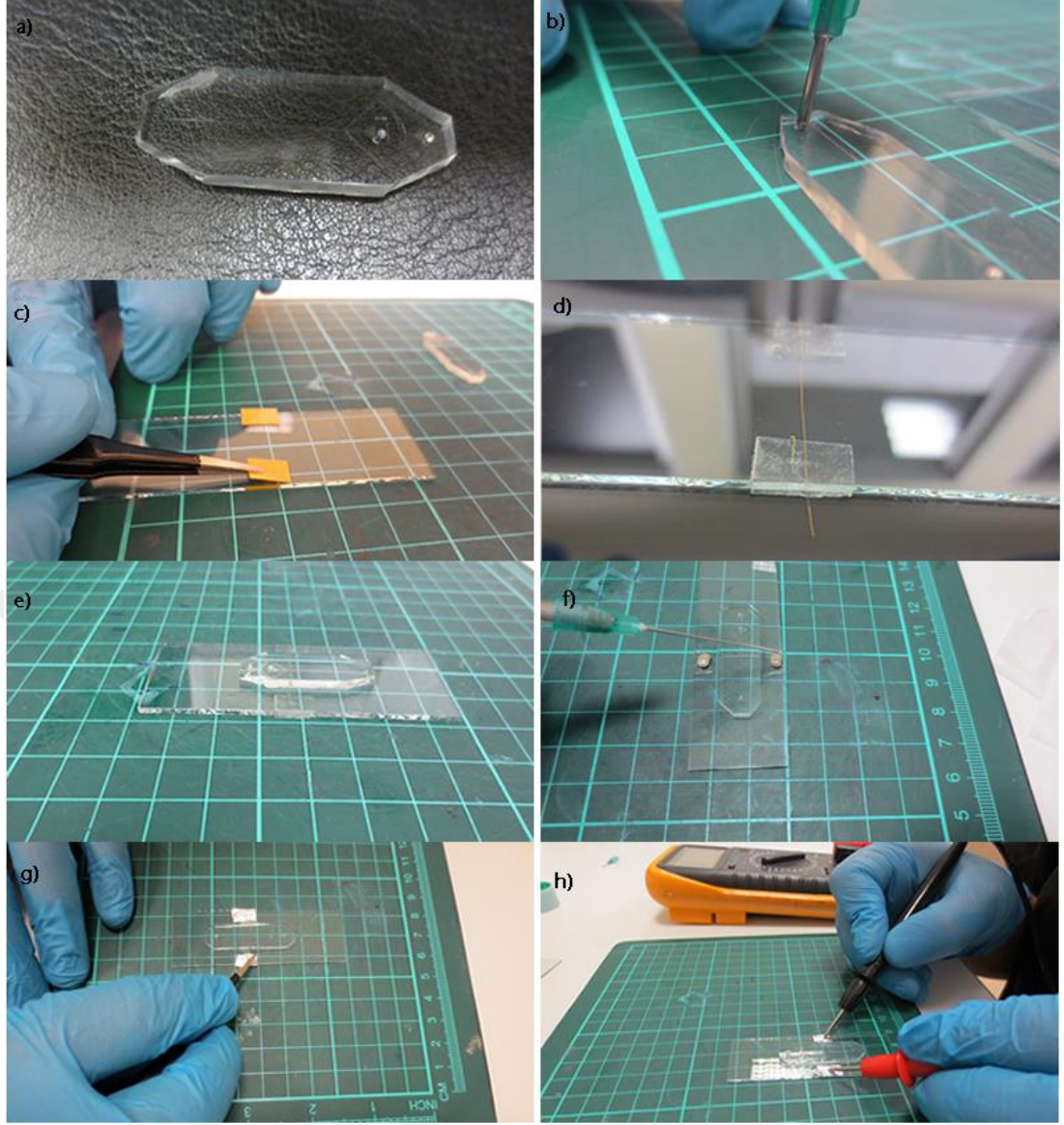
Standart bir mikroskop lamı alttaş olarak kullanılır. Cam aseton, IPA ve saf suyla yıkanır ve azot sıkılarak kurtulur. Ardından 110°C'deki ocağın üzerinde 5 dakika bekletilir.

25 µm çapında standart wirebonder makinelerinde kullanılan altın tel temin edilir. Mikro kanallar da yukarda anlatıldığı gibi üretilir. Burada 200 µm genişliğinde ve 50 µm yüksekliğinde kanallar kullanılmıştır. İki adet çift taraflı bant kesilir ve lamın iki tarafına yapıştırılır.

Daha sonra bu iki parçanın arasına altın tel gerilir ve PDMS mikro kanal teli tam dik kesecek şekilde plazma ile takılır. Daha sonra bağıın güçlenmesi için ip 100°C'daki ocağın üzerinde 5 dakika bekletilir. Sıvı kanala ulaşmadan ip ocağı konur ve PDMS'in kür olması için 45 dk. beklenir. Burada PDMS kanala çok yaklaşımadan müdahale edip ısıl işlem uygulanmalı yoksa kanala sızıp tıkanmaya sebep olur.

Ardından bantların üzerine bir miktar gümüş pasta sürülür ve üzerlerine aynı boyda kesilen alüminyum folyo serilir. Pasta kuruyunca bant, folyo ve teli birbirine bağlar ve bu sayede kontak pedler oluşturulur.

Son olarak bağlantının iletkenliği pedlere multimeter ile dokunularak ölçülür. Multi metreden kısa devre sinyali alınıyorsa güvenilir bağlantı temin edilmiştir. Üretim aşaması şekil 2.26'da gösterilmiştir.

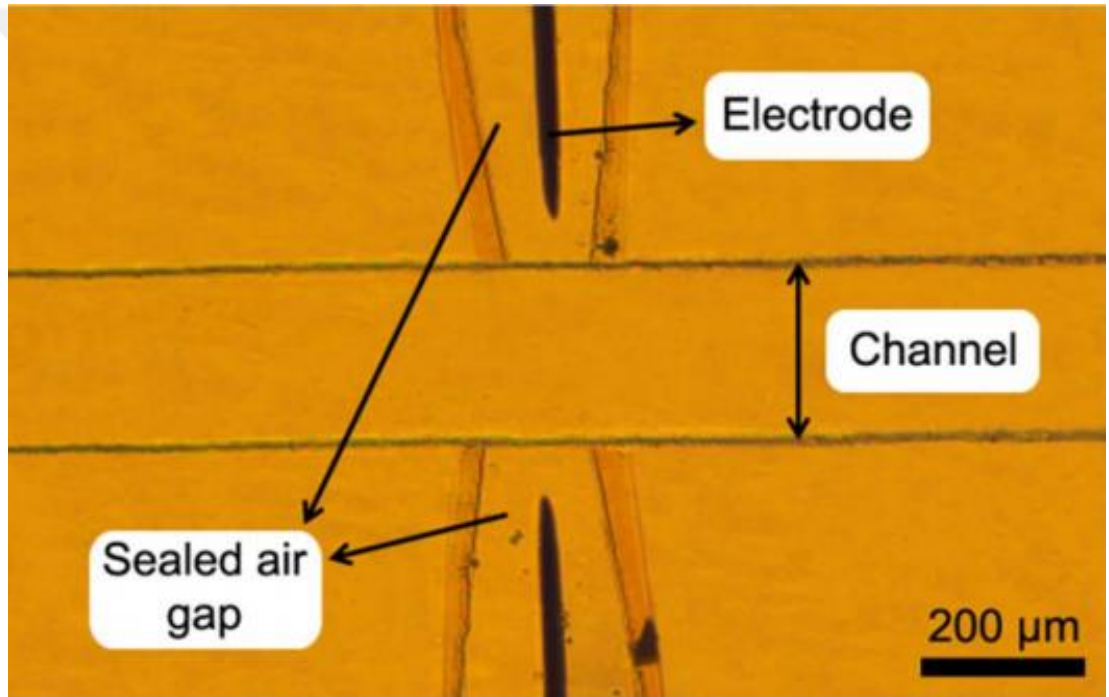


**Şekil 2.26.** 3D elektrotların üretim süreci: **a)** PDMS bisturi ile kesilir, **b)** Delikler delinir, **c)** Çift taraflı bantlar yapıştırılır **d)** Altın tel bantların arasına gerilir, **e)** Kanal telin üzerine takılır **f)** Gümüş pasta damlatılır, **g)** gümüş pastanın üzerine alüminyum folyo yapıştırılır, **h)** Bağlantılar multimeter ile kontrol edilir

Altın telden elektrot üretilmesi için bunun iki parçaya ayrılması gerekmektedir. Bunun için kırıl suyu solüsyonu kullanılır. Kırıl suyu 3 birim HCl ile 1 birim HNO<sub>3</sub> karıştırılarak elde edilir ve en bilinen altın çözücüdür. Taze hazırlanan solüsyon

50°C'deki ocakta ısıtılır yoksa kral suyu yeterince hızlı aşındırma yapamamaktadır. Isıtılan solüsyon kanaldan içeri tamamen plastik konektörler ile tygon hortumdan yollar. Asidin metali yeme işlemi mikroskop altında gözlemlenir ve aşınma işlemi bitip tel eridiğinde asit kesilir ve içerden saf su akıtılır.

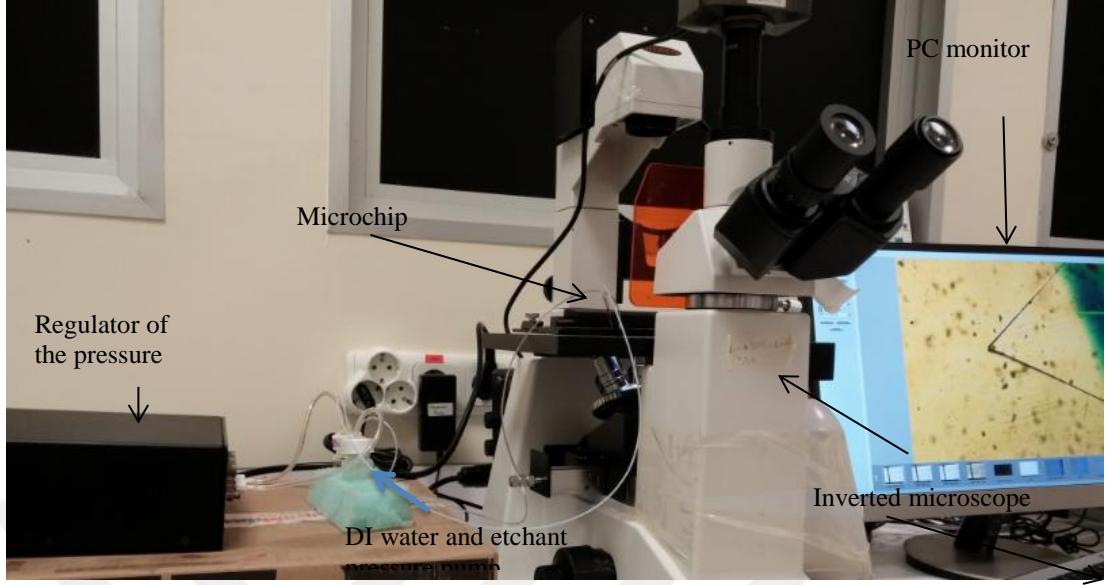
Ne yazık ki bu şekilde yedirilen telde fazlaca iç kesik oluşmaktadır yani sadece kanalın içindeki değil aynı zamanda PDMS'in altında kalan kısımda yenilmiştir. Oluşan elektrotun fotoğrafı şekil 2.27'de gösterilmektedir. Bu şekilde bazı amaçlar için yine de uygun olabilen iç elektrotlar üretilmiştir



**Şekil 2.27.** İç kesik olmuş elektrotlar

Nu deneyden öğrenilmiştir ki kral suyu solüsyonu bir şekilde kanal kenarlarından uzakta tutulmalıdır. Bunun içinde yine hidrodinamik odaklama yöntemi uygulamaya alınmıştır. Bunun için otomatik bilgisayar kontrollü basınç pompası kullanılmıştır (Elve Flow OB1) Bütün konektörler ve hortumlar yukarıda anlatıldığı gibi plastikten ve tygondan seçilmiştir(Cole Parmer). Deney düzeneği şekil 2.28de gösterilmektedir.

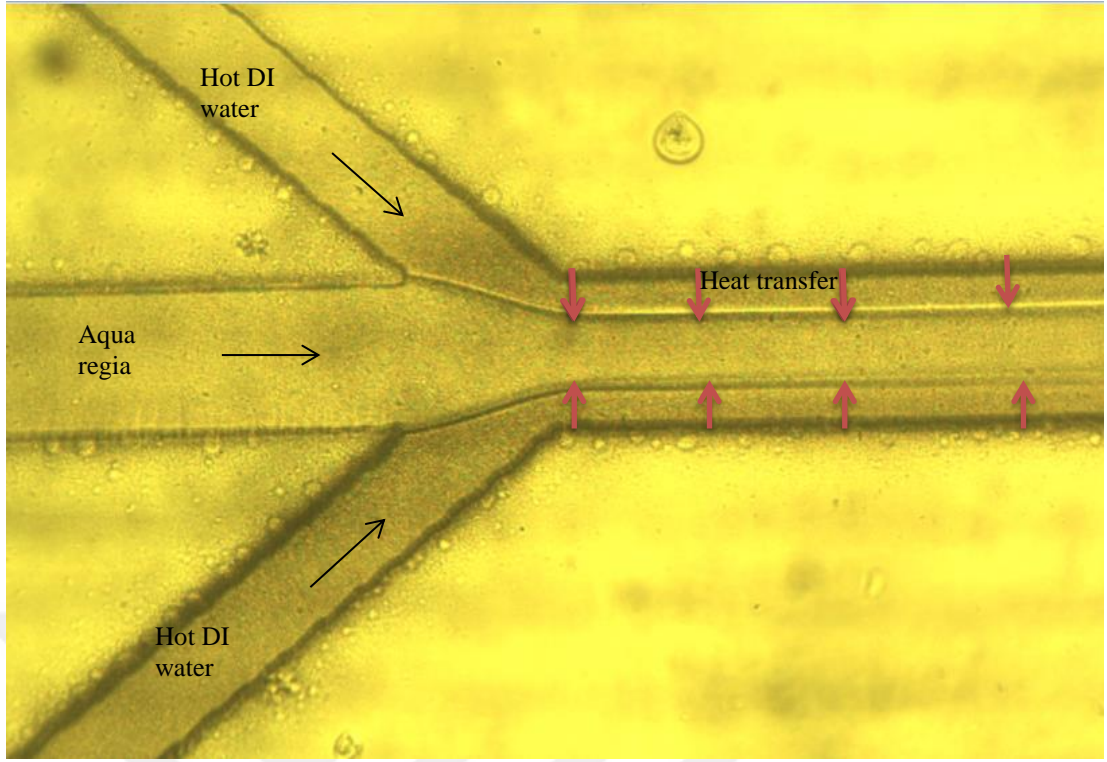




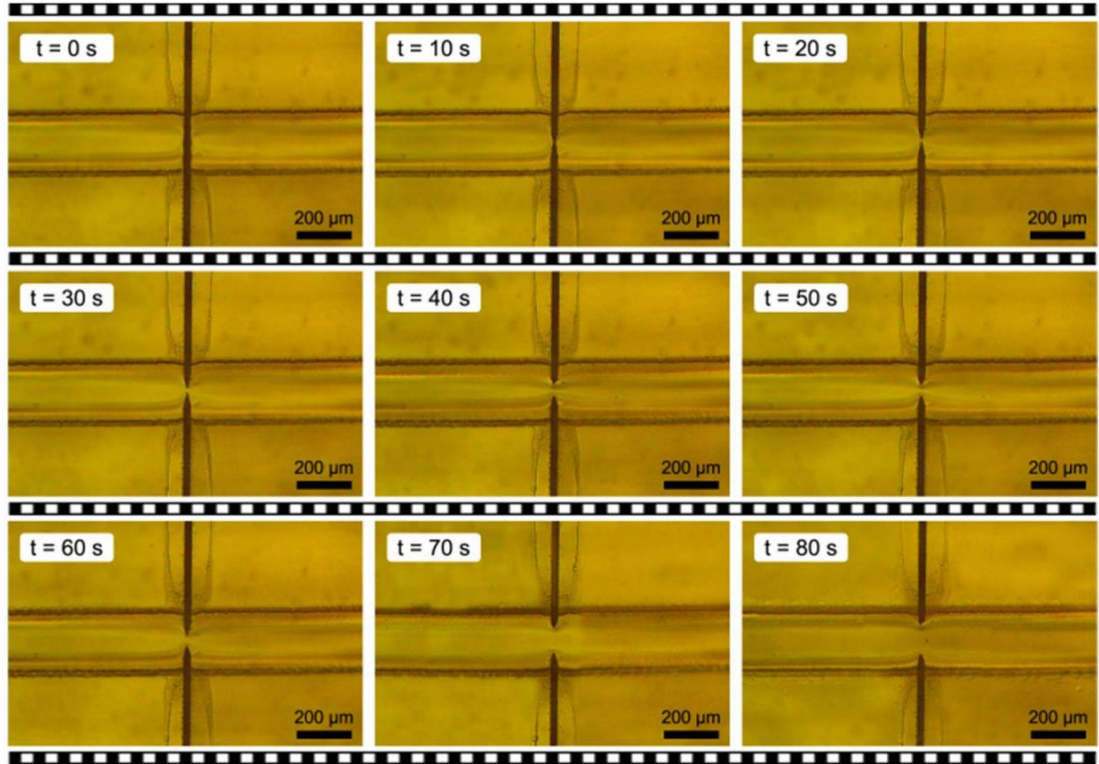
**Şekil 2.28.** İç aşındırma için deney düzeneği

Asit altını yiyebilmesi için yine ısıtılmıştır. Ancak bu kanal içerisinde hava baloncuklarının oluşumuna sebep olmuştur ve bu da odaklamanın dengesinin bozmuştur. Bundan kurtulmak için dolaylı ısıtma yöntemi geliştirilmiştir. Bu yöntemde asidi odaklayacak olan saf su ısıtılır ve odaklama bölgesinde saf suyun ısısı aside aktarılır. Kanal içinde oluşan hava kabarcıkları hassas odaklama dengesini bozduğu için bu yöntem kullanılmaktadır. Yoksa bu yöntem diğerine göre daha zordur. Bunun için saf su 100°C'lik ocakta 10 dk. bekletilir ve kanala yollanır. Su ve asit buluşma noktasından itibaren ısıl dengeye ermeye çalışırlar dolayısıyla daha soğuk olan asit ısınır. Bu durum şekil 2.29'da gösterilmektedir.

Buna rağmen asidin sıcaklığı yetmezse aşınma başlamaz dolayısıyla ek ısı kaynakları gerekir. Bunun için birkaç adet lam ocakta 100°C'de ısıtılır ve ardından bir tanesi mikroskop tezgahında çipin altına gönderilir eğer yeterli olmazsa diğer lamlar aşınma olana kadar birer birer eklenir. Lamlar şeffaf olduğu için izlemeye izin verir. Şekil 2.30'da telin zaman içinde nasıl aşındığı fotoğraflarla gösterilmektedir.

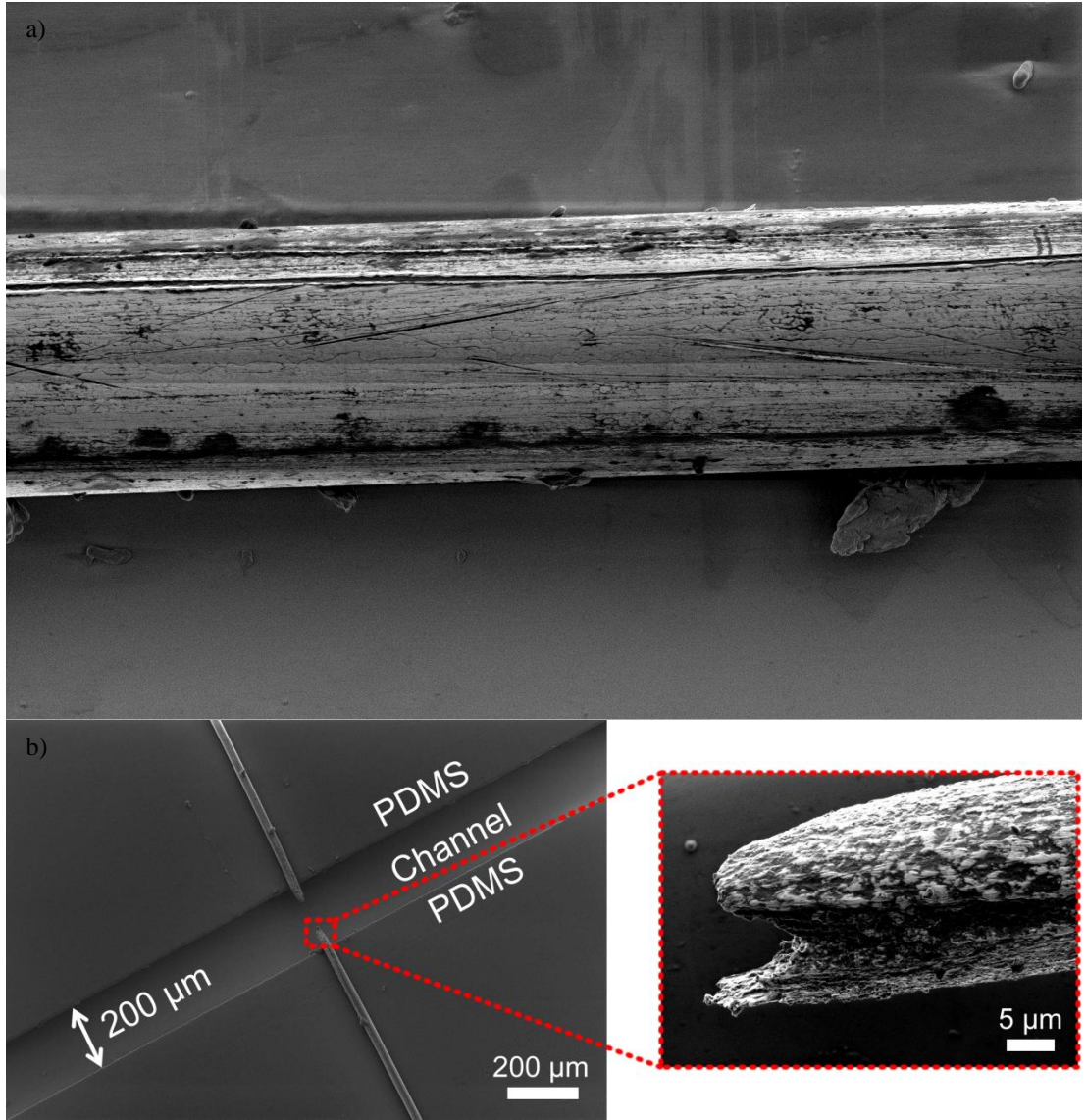


Şekil 2.29. Asidi saf suyla ısıtıp odaklamak



Şekil 2.30. Altın mikro teli kral suyuyla aşındırmak

Aşındırma işleminden sonra kanal içinde bazı izler lekeler kalmaktadır. Asit ve ardından su geçirdikten sonra birde aseton akıtılırsa kanaldan bu lekeler büyük ölçüde gitmektedir. Bu yapılmadan da kanal kendi başına 12 saat kadar bırakıldıktan sonra da tüm lekeler tamamen ortadan kaybolmakta ve kanal eski haline dönmektedir. Dolayısıyla çip her türlü optik uygulama için hazır hale gelir. Aşındırıldıktan sonra çekilen bir SEM fotoğrafı şekil 2.31’de görülmektedir.



**Şekil 2.31.** 3D elektrotların SEM fotoğrafı: **a)** aşındırmadan önce mikro tel, **b)** Alındırılmış elektrotların üstten görüntüsü

## 2.7. Comsol

Comsol fiziksel bir diferansiyel denklemi sonlu elemanlar yöntemi (FEM) ile çözen kullanıcı dostu bir ara yüze sahip programdır. Bunun için ilk önce sistemin geometrisi çizilir ve uygun bir fizik modu seçilir. Örneğin elektrik ve manyetizma modunda Maxwell'in denklemlerini uygun sınır şartlarında çözer. Analitik metotlar yerine nümerik yöntemleri kullanarak problemi çözer.

Örneğin türev işlemi matematikte çok iyi bilinen bir işlemdir ve bir fonksiyonun türevini almak için belli başlı bazı kurallar uygulanır. Şimdi bir fonksiyonun analitik ve nümerik olarak türevinin nasıl alındığını gösterelim.  $f(x) = x^3$  şeklinde tanımlanan bir fonksiyonun birinci türevi  $f'(x) = 3x^2$ 'dir. Türevin  $x=2$ 'deki değeri 12'dir. Bu bir fonksiyonun türevini bulmanın analitik yöntemidir. Şimdi de bunun nümerik olarak nasıl yapacağını görelim.

Bilindiği gibi bir fonksiyonun türevi eşitlik 2.2'de gösterildiği gibi bulunur.

$$\frac{df}{dx} = \lim_{\Delta x \rightarrow 0} \frac{f(x+\Delta x) - f(x)}{\Delta x} \quad (2.2)$$

Bu eşitliğe  $x = 2$  olduğu durum için aşağıdaki gibi yaklaşılabilir.

$$\frac{f(3) - f(2)}{3 - 2} = \frac{27 - 8}{1} = 19 \quad (2.3)$$

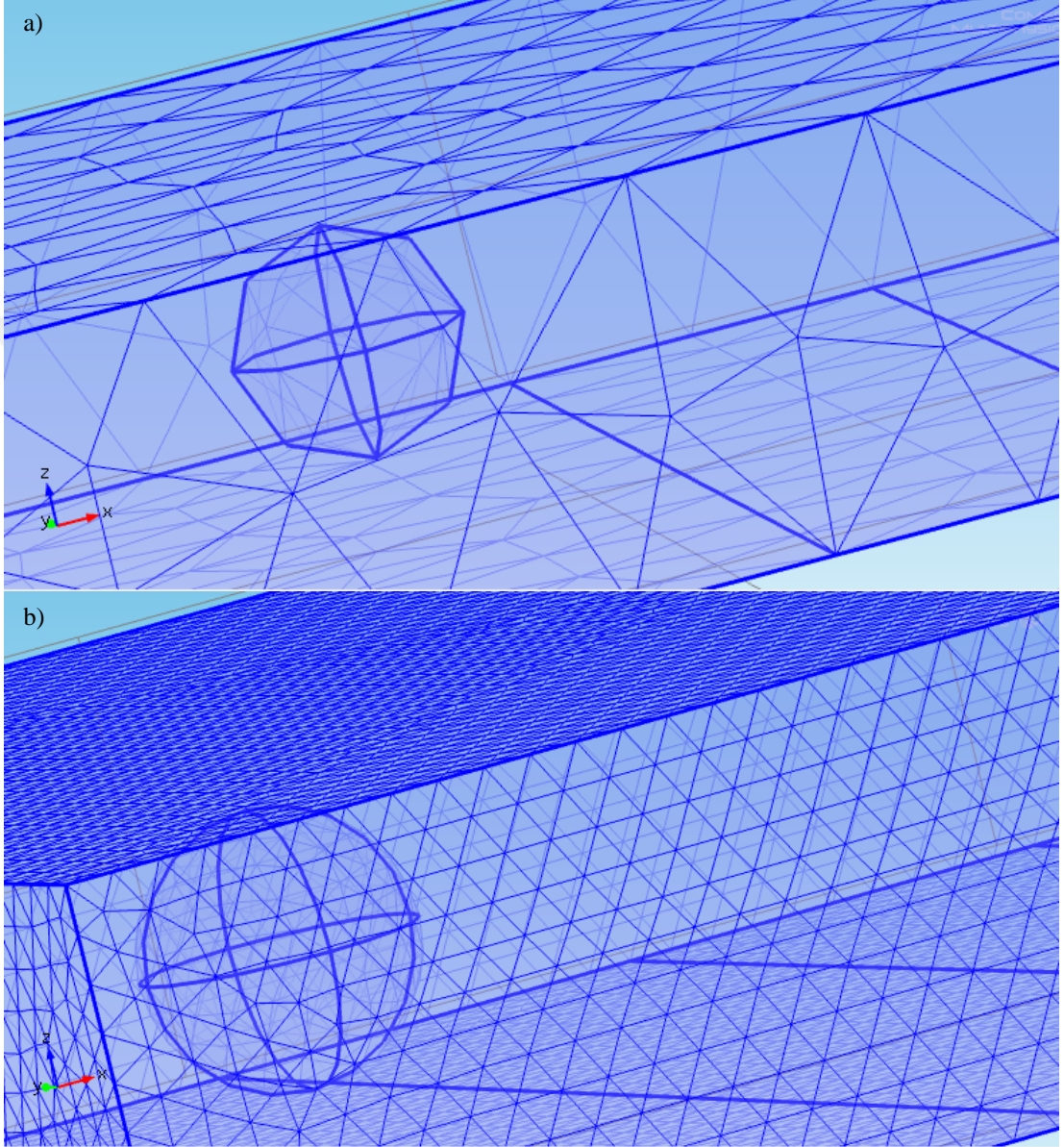
Eğer  $\Delta x$  daha da küçültülürse,

$$\frac{f(2.5) - f(2)}{2.5 - 2} = \frac{15.625 - 8}{1} = 15.25 \quad (2.4)$$

$$\frac{f(2.1) - f(2)}{2.1 - 2} = \frac{9.261 - 8}{0.1} = 12.61 \quad (2.5)$$

Buradan görüldüğü gibi fark küçüldükçe sonucun doğruluk payı da artmaktadır. Diferansiyel denklemler söz konusu olduğunda bu fark noktalarına meş noktaları denir. Bu meşler birbirine yaklaştıkça sonuçta analitik sonuca o kadar yaklaşır. Bu

sonuç eşitlik 2.4 ve 2.5’de kanıtlanmaktadır. Fark azaldıkça sonuçta analitik sonuca yaklaşmaktadır. Comsol’da bir geometrinin nasıl meşlendiği şekil 2.32’de gösterilmektedir. Bu şekilde mikro kanal içerisindeki 6  $\mu\text{m}$  çapındaki bir küre gösterilmektedir.



**Şekil 2.32.** Comsol ile farklı boylarda meşleme: **a)** 6  $\mu\text{m}$  meşleme, **b)** 1  $\mu\text{m}$  meşleme

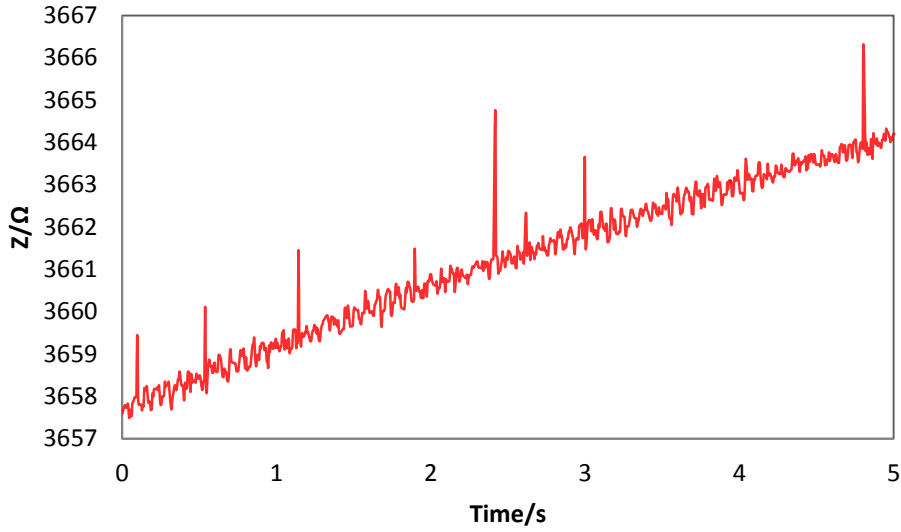
Görüldüğü gibi meş boyutu sistem geometrisini ciddi şekilde etkilemektedir. Meş noktaları yakın olduğunda çizimin kendisi bile daha gerçekçi bir görüntü arz etmektedir. Bu dolayısıyla çıkan sonucu da etkileyecektir. Çünkü Laplace denklemi bu meş noktaları boyunca çözülür.



### 3. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Deney düzeneği SNR ve veri toplama hızı gibi bazı parametrelerin incelenmesi için çalıştırılmıştır. 6  $\mu\text{m}$  çapındaki PS küreler 2,5 S/m'lik NaCl çözeltisinde dağıtılırlar ve şişeye beraber yükseklik pompasına asılır. Empedans verisi şişe cipe göre bir miktar yukarı kaldırıldıktan sonra başlamıştır.

Debi şişenin yüksekliğinden ayarlanmıştır. Elektrotların üstünden geçen küreler mikroskop ile gözlenmiş ve bir yandan da empedans verisi gerçek zamanlı olarak kaydedilmiştir. Bu sayede elektrotun üstünden geçen bir kürenin empedimetrik etkisi de eş zamanlı olarak bilgisayarda çizdirilen empedans grafiğinde gözlenmiştir. Elektrotlardan geçen kürelerin oluşturduğu empedans verisi şekil 3.1'de görülmektedir. Burada görülen pikler bir küreyi temsil etmektedir.



**Şekil 3.1.** Parçacık geçişi sırasında kaydedilen empedans verileri

Burada SNR yaklaşık olarak 4-5 civarındadır. Elektrotlara daha yakın geçen küreler daha yüksek sinyal vermişlerdi. Bu durum elektrik alanın elektrotlar civarında daha yoğun oluşuyla açıklanabilir.

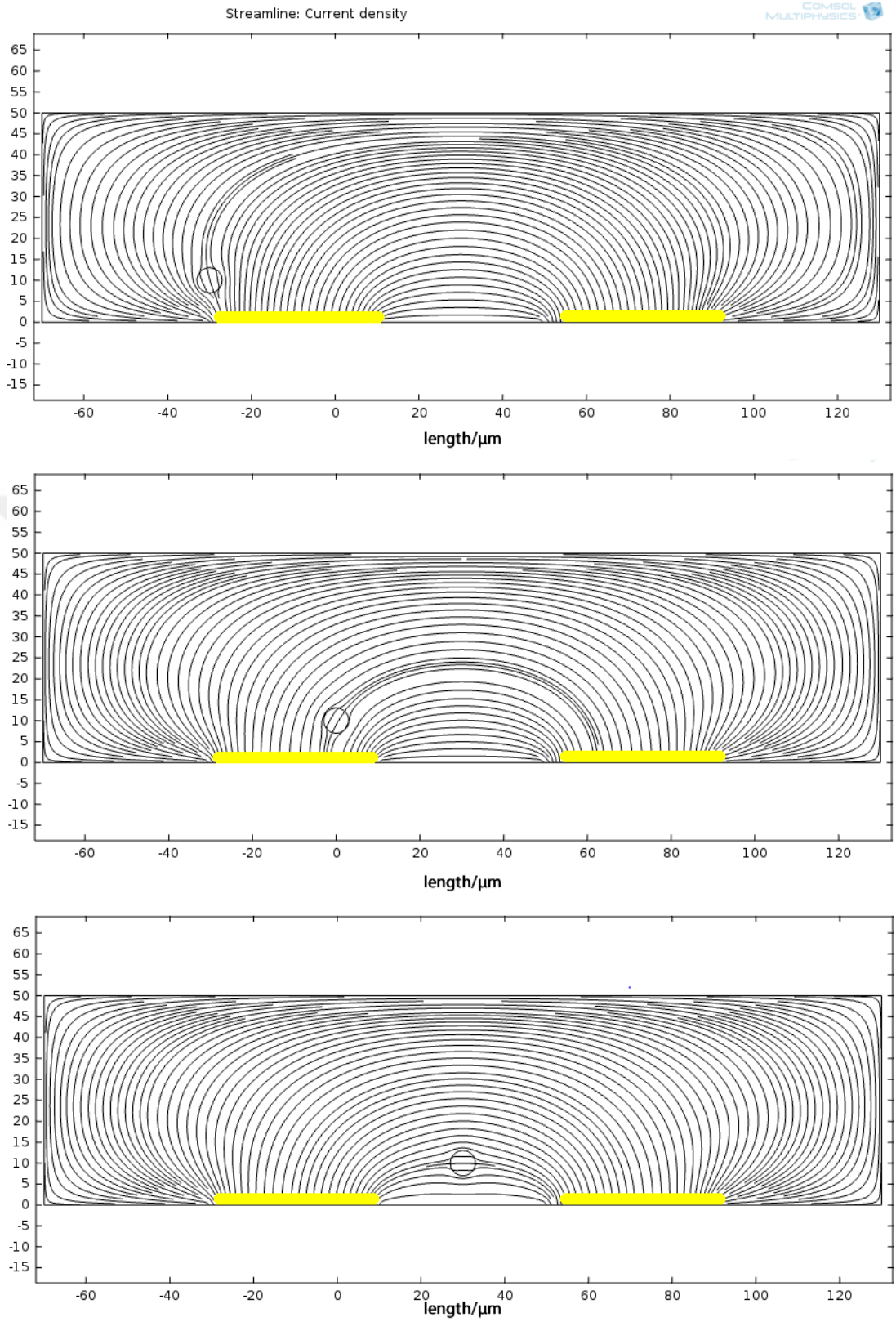
Elektriksel ölçümdeki en büyük zorluk elektrotlara en yakın olan bölge olan elektrik çift tabakada (EDL) saklıdır. Elektrotlara verilen sinyalden dolayı elektrotlar kutuplanır ve karşıt yükteki iyonları kendilerine doğru çekerler. Yüklü iyonlar elektrotun dibine kadar gelir ancak elektrotlara geçemezler ve o civarda birikirler.

Bu birikim elektrotun etrafında doğal bir engel oluşturur ve aynı bir kondansatör gibi davranır. Aynı bir kondansatörde olduğu gibi akım akarken sinyal elektrotların arasındaki sıvıya ulaşabilir ancak kondansatör dolduğunda akım kesilir ve dolayısıyla uygulanan sinyal içeriye ulaşamaz.

Bu deneyler esnasında 2 MHz'lik uyarıcı sinyal uygulanmıştır. Bu yüksek frekansta EDL'nin boyutunun da etkisiyle asla tam anlamıyla bir doyum olmaz ve akım sürekli olarak akar. Saf su içindeki  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Cl}^-$  iyonları sürekli olarak bir etki altında kalır ve bir o yana bir bu yana çekilerek birikme önlenir.

Burada iletken çözelti yalıtkan bir küre ile yer değiştirdiğinde sistem elektriği eskisi kadar iletmez ve sistemin empedansı artar. Bir başka deyişle PS küreler elektrik akımını engeller. Sıvıya göre daha yalıtkan seçilmiş bir parçacığın elektrotlardan geçişi şekil 3.2'de Comsol simülasyonları vasıtasıyla gösterilmiştir.

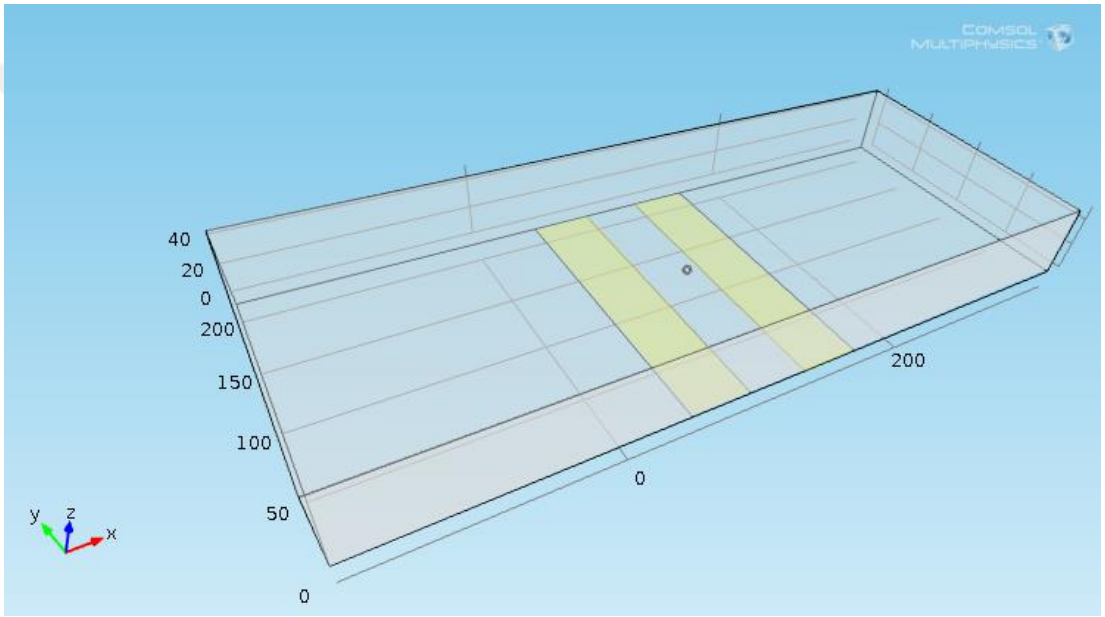




**Şekil 3.2.** Sıvıya göre daha yalıtkan bir parçacık geçişi sırasında elektrik akım çizgilerini gösteren Comsol simülasyonu

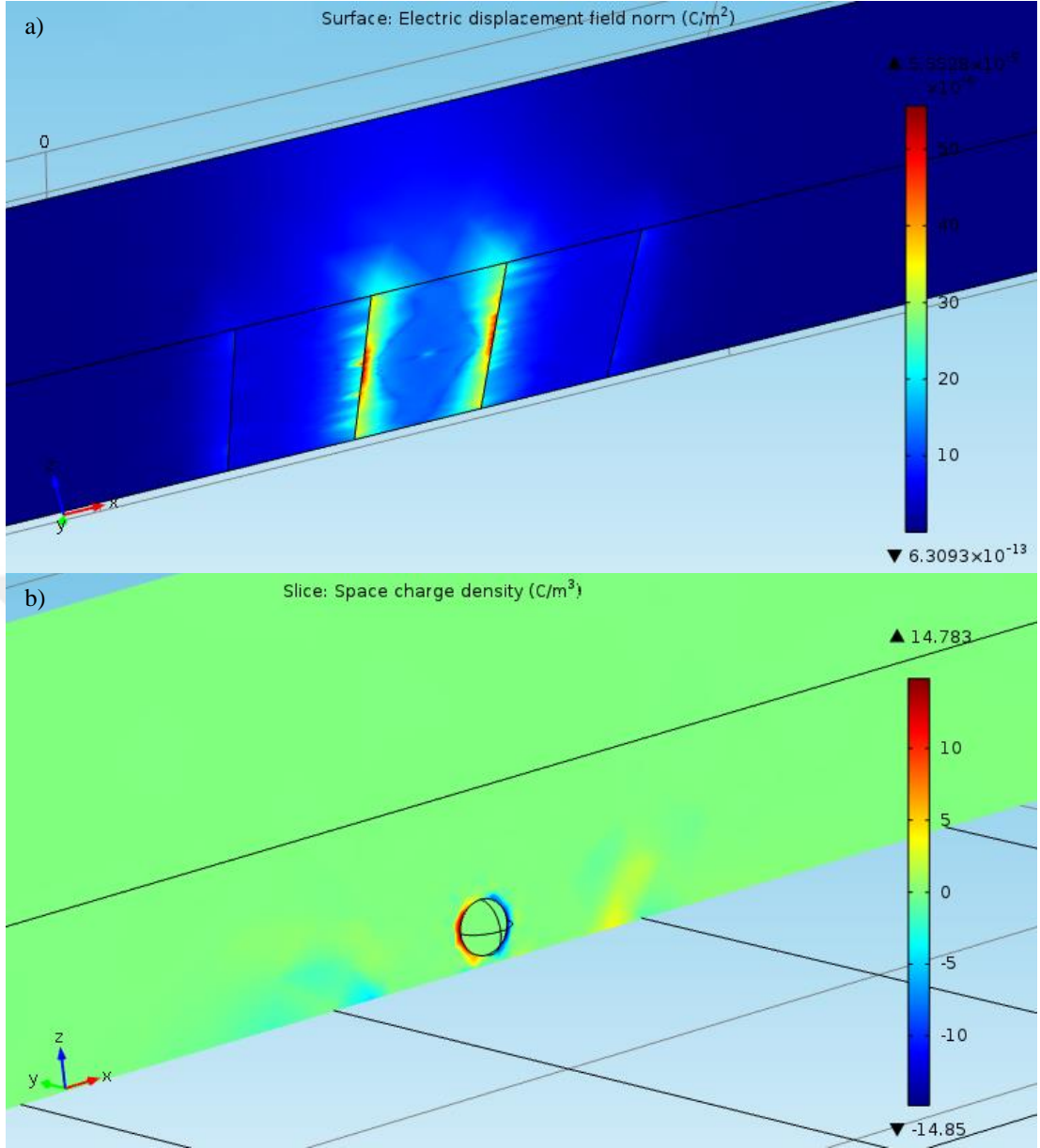
### 3.1.Mikro Akışkan Çipin Simülasyonu

Comsol simülasyonları deneysel sonuçlarla karşılaştırmak üzere gerçekleştirilmiştir. Yukarıda bahsedildiği gibi 200  $\mu\text{m}$  genişlik 50  $\mu\text{m}$  yükseklikteki kanal 40  $\mu\text{m}$  boşluklu ve kalınlıktaki elektrotların üzerine takılmıştır. Bu sebepten ötürü kanal 500x200x50  $\mu\text{m}$ 'lik bir dikdörtgen prizma olarak çizilmiştir. Elektrotlar ise 200x40  $\mu\text{m}$ 'lik dikdörtgenler olarak şekil 3.3'de gösterildiği gibi kanalın içine çizilmişlerdir.



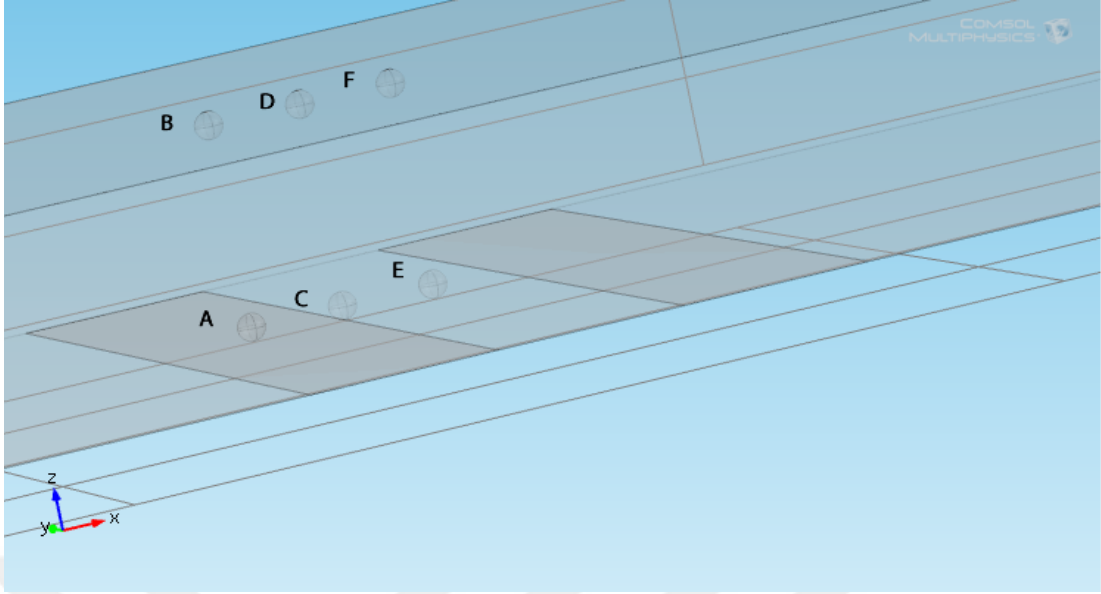
**Şekil 3.3.** Comsol'a girilen geometrik model

Geometri çizildikten sonra gerekli malzemeler fiziksel özellikleriyle birlikte belirli bölgelere tanımlanır. Bu durumda gerekli fiziksel özellikler sadece elektriksel iletkenlik ve geçirgenliktir. Ardından meşleme yapılır ve hesaplama başlatılır. çözüm çeşitli formatlarda yazılabilir ve bir çok bilinmeyen elde edilen çözümden elde edilebilir. Comsol'a çizdirilen bazı grafikler şekil 3.4'de gösterilmektedir.



**Şekil 3.4.** Comsol simülasyonları: **a)** Elektrik yer değiştirme alanı **b)** yük

İlk önce parçacıkların konumlarına göre verdikleri empedans pikleri incelenmiştir. Bunun için 6  $\mu\text{m}$ 'lik bir küreye polistirenin özellikleri atanarak çeşitli yerlerde verdiği empedans sinyali incelenmiştir. Buna göre kürelerin konumlarına karşı verdikleri empedans sinyalleri şekil 3.5'de verilmiştir.



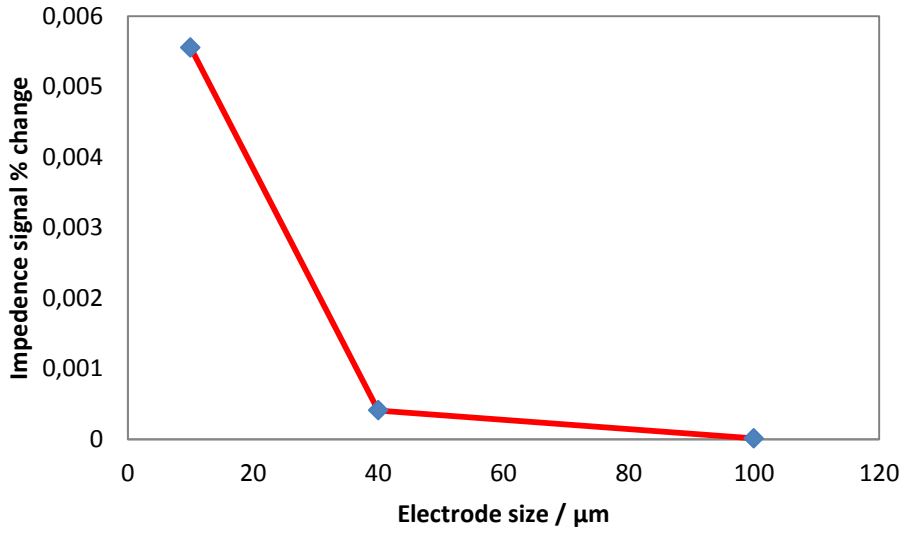
Position	Impedance Change/ $\Omega$
A	0.3
B	0.12
C	3.3
D	0.3
E	1.4
F	0.4

**Şekil 3.5.** Piklerin parçacığın konumuna bağlılığının Comsol simülasyonları

Sonuçlar gösterilmiştir ki elektrotlar yakınında bulunan parçacıklara göre daha hassastır ve en büyük empedans değişimi parçacık elektrotun tam kenarından geçerken meydana gelmektedir. Bu sonuçlar deneysel sonuçlarla tam bir uyum içindedir. Bu sayede simülasyon sonuçlarına bağlı kalarak yeni ve daha hassas çip tasarımları gerçekleştirilmiştir. Simülasyon sayesinde dene yanıl ile kaybedilecek zaman minimuma indirilmiştir.

Maxwell karışım teorisine göre empedans değişimi parçacığın elektro aktif bölgede kapladığı hacmin toplam elektro aktif bölgenin hacmine oranıyla orantılıdır [29]. Bundan dolayı Comsol simülasyonları 10 ve 100  $\mu\text{m}$  boşluk ve genişliğe sahip

elektrotlar için yapıldı. Bunun için 6  $\mu\text{m}$  çaplı küreler tam elektrotların arasına merkezi tabandan 3,1  $\mu\text{m}$  yükseklikte olacak şekilde konuldu ve hesaplama başlatıldı. Sonuçlar şekil 3.6'da gösterildiği gibi Maxwell karışım teorisiyle paralel çıkmıştır.



**Şekil 3.6.** 10-40-100  $\mu\text{m}$  boşluklu elektrotların Comsol simülasyonları

Elektrot boyutu arttıkça pik yüksekliği düşmüştür. Bu yukarıda belirtildiği gibi hacimsel oranlarla alakalıdır. Empedans değişimi parçacıkların elektrik akımını engellemesinden kaynaklandığı için elektrik alanı daha küçük bir bölgeye toplayıp parçacıkları oradan geçirmek empedansı arttırabilir [52]. Bu optikte lensler vasıtasıyla ışığı bir yere toplayıp tam odak noktasından parçacıklar tarafından saçılan ışığı ölçme ile aynıdır. Elektriksel durumda bu daha kolaydır çünkü lensler yerine yalıtkan bir malzeme elektrik alanı belli bir bölgeye sıkıştırmaya yeter. Yani iletken bir sıvıyla beraber yalıtkan bir sıvı gittiğinde elektrik akımı iletken olan sıvıdan gitmek isteyecektir yalıtkan sıvıdan gitmek istemeyecektir. Dolayısıyla hidrodinamik odaklama tekniği burada da kullanılır.

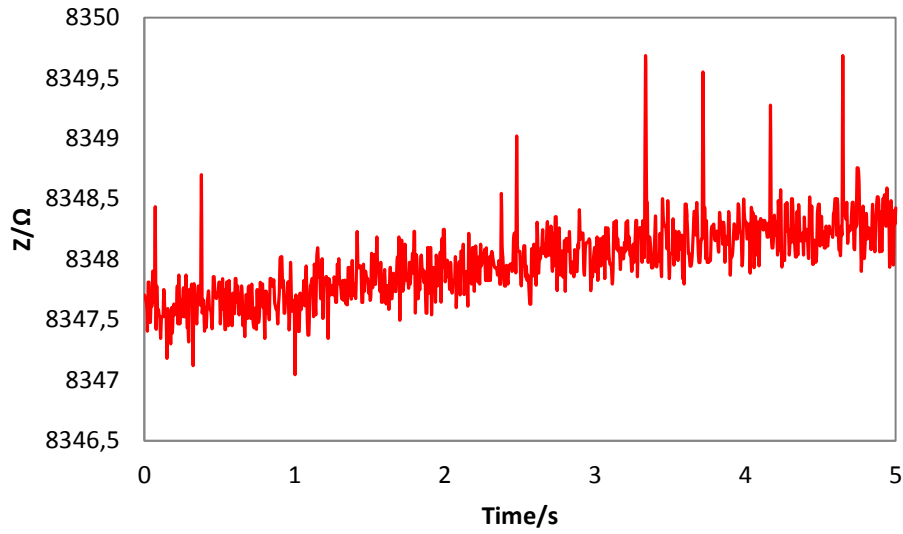
Bu durumu Comsol simülasyonları da doğrulamaktadır. Bunun için odaklama sıvısı parçacıkların bulunduğu sıvıdan en az  $10^5$  kat daha yalıtkan olan saf su olarak seçilir. Giriş basınçlarının değiştirilmesiyle sıvıların kanal içinde kapladıkları yer ayarlanabilir. Bu kanal içinde odaklanacak olan elektrik akımı üzerinde dinamik bir kontrol verir. Bu şekilde elektrik akımı istenildiği gibi istenilen yere odaklanabilir

Bunun deneyleri saf su ve tuzlu su, basınç pompası vasıtasıyla kanala bağlanarak yapılmıştır. Basınç pompası doğrudan PC ile kontrol edilebilmektedir. Hidrodinamik odaklama SNR'yi arttırsa da iki ayrı sıvıyı birden kullanmak sıvının hızını arttırmaktadır ve buda veri toplama hızının buna yetişememesine sebep olmaktadır. LCR metre her 5,6 saniyede bir kez ölçüm yapmaktadır. Eğer parçacığın hızı elektrot bölgesini 5,6 saniyeden daha kısa sürede geçecek kadar hızlıysa LCR metre tarafından ölçülemez olasılığı bulunmaktadır.  $40 \mu\text{m}$ 'lik bir elektrot içim elektro aktif bölgenin uzunluğu  $120 \mu\text{m}$ 'dir. Eğer parçacık  $\frac{120 \mu\text{m}}{5.6 \text{ ms}}$  'dan daha hızlı gidiyorsa LCR metreye hiç görünmeden geçip gidebilir. Bu sistemin hassasiyetin düşük olduğu anlamına gelmez sadece sistemin yeterince hızlı olmadığı anlamına gelir.

Yani hızlı parçacıklara karşı sistem kördür. Bu da parçacıkların hızının kritik olduğunu belirtir. Bu sadece bir parçacığı kaçırmak anlamına gelmez aynı zamanda aynı boyutta ve aynı yükseklikten geçen parçacıktan da örnekleme yapılma zamanına bağlı olarak farklı boyda pikler elde etmek demektir. Bu şu şekilde açıklanabilir: eğer parçacık ancak tek bir örnekleme yapılabilecek kadar hızlıysa ve eğer hemen elektro aktif bölgenin girişinde bir örnekleme yapılırsa nispeten düşük bir pik elde edilecektir. Bundan ziyade eğer aynı parçacık tam elektrotların ortasında örneklenirse diğerine göre daha yüksek pik verecektir. Bunun için en sağlıklı geçen bir parçacıktan olabildiğince çok defa empedans ölçümü yapmaktır. Daha iyi anlaşılabilmesi için yatay doğrultuda sinyalin nasıl farklılık gösterdiği şekil 3.5'de görülmektedir.

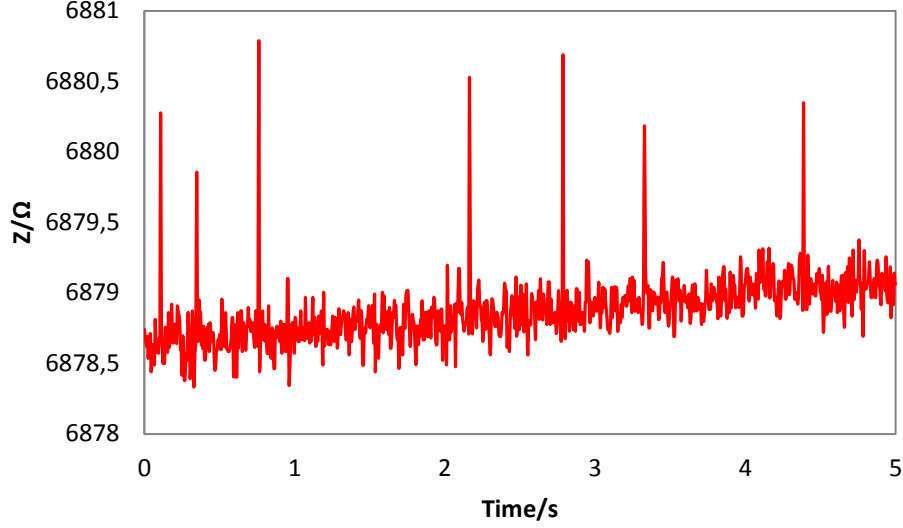
Ancak düşük sıvı hızlarına 3D odaklama esnasında ulaşmak mümkün görünmemektedir. Bu şartlar altında sıvının debisi düşük olabilse de sıvının hızı darlıktan dolayı yüksektir. Ancak 2D odaklama da düşük hızlara inmek nispeten daha kolaydır ve 2D odaklamanın hem dikey hem de yatay olmak üzere 2 farklı

seçeneği vardır [36]. Yatay odaklama sıvıyı yanlardan sıkıştırmak için yapılırken dikey odaklama tepeden aşağı bastırmak için kullanılır. Simülasyon sonuçlarına göre parçacıklardan gelen sinyal yatay konuma bağlı değildir. Dolayısıyla yatay odaklama sinyal anlamında hiç bir şey değiştirmemektedir. Bu durum şekil 3.7'de görölmektedir. Burada odaklama yalıtkan bir sıvıyla değil iletken bir sıvıyla gerçekteştirilmiştir.



**şekil 3.7.** 2D yanal olarak odaklanan solüsyonun gerçek zamanlı empedans verisi

Diğer taraftan dikey odaklama her zaman daha iyi sonuçlar vermektedir çünkü parçacıklardan alınan sinyal dikey bağımlıdır. Tepeden aşağıya doğru itilen parçacık elektrotlara daha yakın geçtiği için daha şiddetli pikler vermektedir.

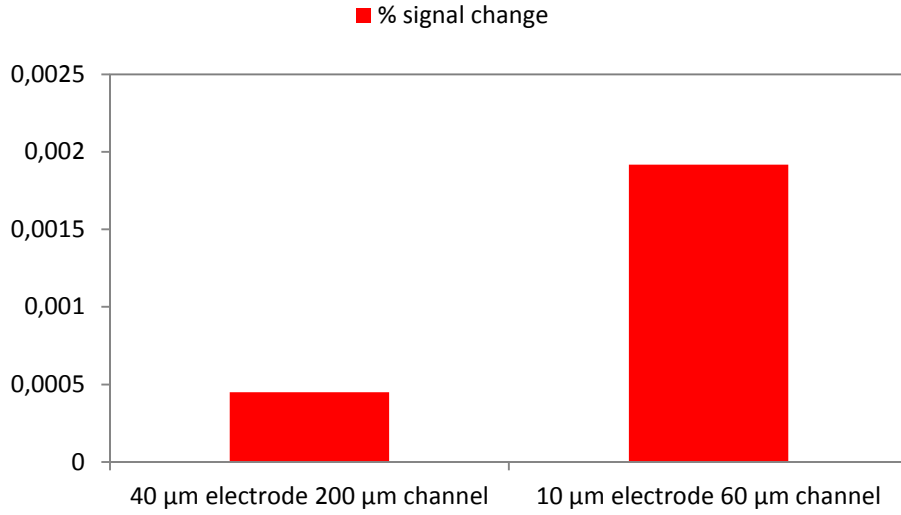


**Şekil 3.8.** 2D dikey odaklanan solüsyonun empedans verisi

Görüldüğü gibi odaklama sistemin performansını ciddi şekilde arttırmaktadır. Bu kanal geometrisinin performans üzerine etkisidir. Yalıtkan bir sıvıyla odaklama yapmak ise kanal boyutlarını ayarlamaya yarar. Fakat bunun bazı dezavantajları vardır. Kanal içindeki sıvılardan birinin alanı çok düşürüldüğünde sıvının debisi azalsa da hızı çok artar. Bu durum ucu sıkıştırılan bir hortumdan geçen sıvının hızının artmasına benzer. Hızlı sıvıların getirdikleri olumsuz durumlar yukarıda tartışılmıştır. Bundan başka ise SNR da bazı sıkıntılar oluşturabilmektedir. Burada geçen iki sıvının iletkenlikleri birbirinden çok farklı olduğundan giriş basınçlarındaki en ufak bir dalgalanma kanaldaki empedansta çok büyük dalgalanmaya neden olmaktadır ve buda gürültüyü çok arttırır.

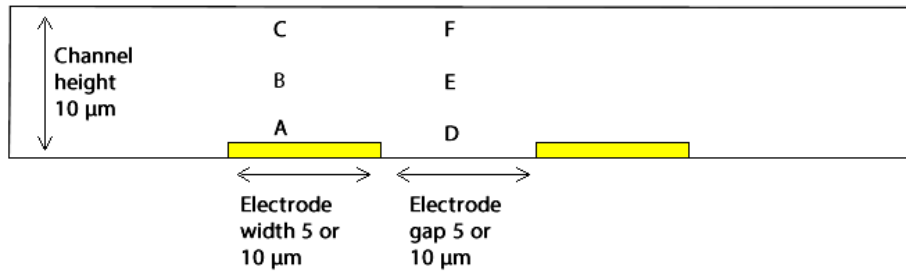
Bununla birlikte bu deneyler ve simülasyonlar hep daha düşük boyutlu kanal ve elektrot sisteminin daha hassas olabileceğini göstermektedir. Bundan ötürü daha küçük boyutlu kanal ve elektrotlara sahip mikro çipler tasarlanmıştır. Bu çipler için Comsol simülasyonları gerçekleştirilmiştir. Şekil 3.9'da farklı boyutlardaki çipler için 6 µm çaplı kürelerden gelen sinyaller karşılaştırılmaktadır.





**Şekil 3.9.** 6 µm'lik parçacıklar için simülasyon sonuçları

Yeni çipin elektriksel özelliklerini anlayabilmek adına yeni Comsol simülasyonları gerçekleştirilmiştir. Yani simülasyonlar tezin amacına daha uygun olan daha küçük kürelerle gerçekleştirilmiştir. Küreleri daha küçük seçmenin sebebi bakteri boyutuyla daha iyi örtüşmesidir. Şekil 3.10'da kanal içerisindeki parçacıkların konuma bağlı oluşturdukları empedans değişimi verilmektedir.



Impedance change at different positions	A	B	C	D	E	F
<b>10-10 µm width-gap electrode</b>	5.9 Ω	4.5 Ω	2.4 Ω	41.6 Ω	24.7 Ω	16.8 Ω
<b>5-5 µm width-gap electrode</b>	30.0 Ω	8.6 Ω	4.5 Ω	78.1 Ω	20.0 Ω	10.7 Ω

**Şekil 3.10.** 2 µm parçacıklar için 5 ve 10 µm elektrotlar ile için Comsol simülasyonları

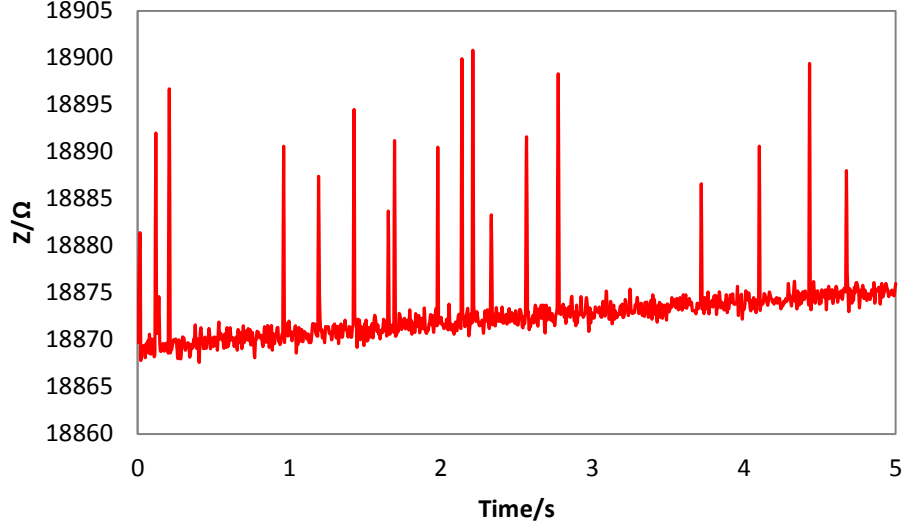
Her iki elektrotta bazı avantaj ve dezavantajlara sahiptirler. Bunlardan biri empedansın dikey bağılılığının  $10\ \mu\text{m}$ 'lik elektrotlarda  $5\ \mu\text{m}$ 'lik elektrotlara göre daha az olmasıdır. Buna karşın  $5\ \mu\text{m}$ 'lik elektrotlarda ise empedans pikleri daha keskindir. Kanal boyutları önemini burada da kanıtlamıştır. Kanal tavanının düşük olması parçacıkları elektrotlara daha yakın geçmeye zorlar bu da sinyali güçlendirir.

Dar kanallar hassasiyeti arttırmış olmasına rağmen beraberinde tıkanma gibi bir problem getirmiştir. Bu bir çipi üretmek için harcanan onca zaman, para ve emeğin acı bir kaybıdır. Bunun önüne geçmek için kanal ve elektrotlar tersinir biçimde bağlanmıştır. Bunun nasıl yapıldığı önceki bölümde detaylıca anlatılmıştır.

### **3.2. Büyüklüğe Göre Ayrıştırma Deneyleri**

Tıkanmaya karşı da dayanıklı olan daha hassa bir mikroçip ürettikten sonra elektriksel deney düzeneği yine yukarıda anlatıldığı gibi kurulur.  $1\ \mu\text{m}$ 'lik PS küreler  $2.5\ \text{S/m}$ 'lik tuzlu suyun içinde dağıtılırlar ve şişe yükseklik pompasına asılır. Burada otomatik basınç pompası yerine elle kontrol edilen yükseklik pompasının kullanılması akış hızı üzerinde daha insiyaki bir kontrol sahibi olma arzusu vardır. Kanala bağlantılar yine önceden bahsedildiği gibi metalik konektörler ile gerçekleştirilir ve topraklamalar yapılır.

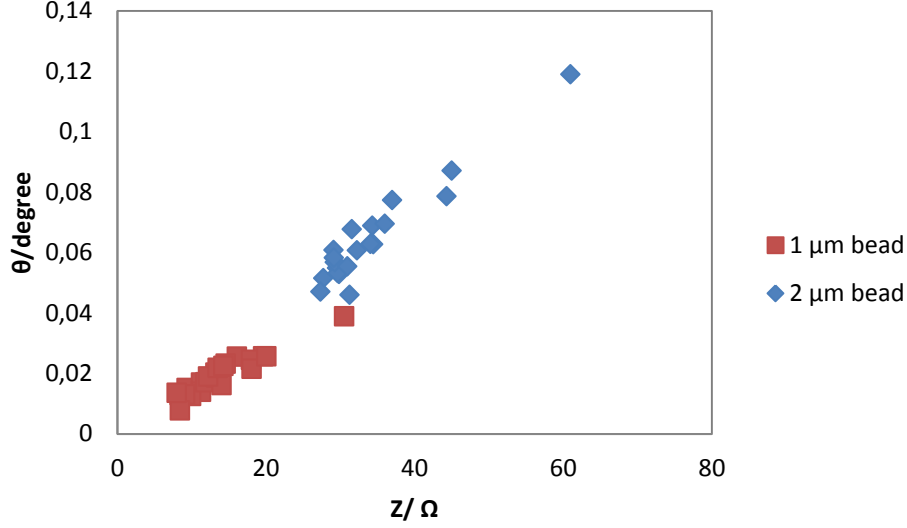
Tüm düzenek yukarıda bahsedildiği gibi topraklandıktan sonra sıvı kanala yollanır ve gerçek zamanlı empedans verisi toplanmaya başlanır. Aynı deneyler  $2\ \mu\text{m}$ 'lik kürelerle de tekrarlanır. Şekil 3.11'de  $2\ \mu\text{m}$ 'lik küreler  $5\ \mu\text{m}$ 'lik elektrotlardan geçerken toplanan empedans verisi gösterilmektedir.



**Şekil 3.11.** 2 µm PS küreler için gerçek zamanlı empedans sonuçları

Görüldüğü gibi deney düzeneğimiz 2 µm'lik küreleri saptamada harika bir başarı göstermiştir. Bundan sonra deneyler her iki tip kürenin ayırt edebilmek adına genişletildi. Bunun için 1 ve 2 µm'lik küreler ayrı ayrı kanala gönderildi ve elde edilen empedans verisi aynı grafikte çizdirildi. Şekil 3.12'de 1 ve 2 µm'lik kürelerden gelen empedans dağılımı grafiği görülmektedir.

Bu grafik açıkça göstermektedir ki 1 ve 2 µm'lik küreler boyutlarına göre birbirinden ayırt edilebilmektedir. Bu deney düzeneğindeki hassasiyetin gücünü göstermektedir. Daha dar kanal ve elektrot sistemiyle bu sonuca ulaşılması şaşırtıcı değildir çünkü teorik olarak bunun olabileceği görülmüştü.



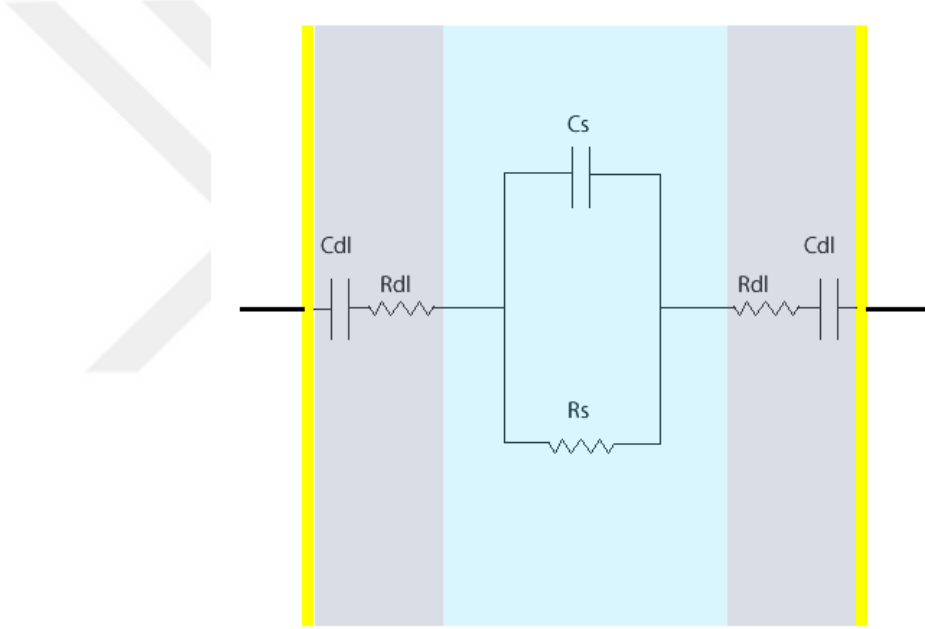
**Şekil 3.12.** 1-2 um küreler için Z-θ dağılım grafiği

Şu ana kadar deney düzeneği kurulmuş ve ilk önce 6 μm'lik kürelerle performansı ölçülmüştür. Ardından daha düşük boyutlu sistemlerin hassasiyeti arttırabileceği görülüp daha küçük mikroçip üretilmiştir. Bu çipte 1-2 μm'lik PS küreler boyutlarına bağlı olarak ayırt edilebilmişlerdir. Bu parçacıkları ayırt edebilmek boyutsal olarak 1 μm yüksekliğe, 0,6 μm genişliğe, 2 μm uzunluğa sahip olan E Coli bakterisine denk olmalarından dolayı önemlidir [74].

Şu ana kadar tüm deney sonuçlarının simülasyonlar ile uyum içinde olduğu gözlenmiştir. Dolayısıyla bakteri deneylerini yapmadan önce bakteri simülasyonu yapılması sağlıklıdır. Fakat Comsol hücre zarı gibi çok ince yapıların simülasyonuna izin vermemektedir. Bu ölçekte yapıları simüle etmek için bu ölçüde meşlemeye ihtiyaç duyulmaktadır. Bu ölçüde meşleme yapılması hesaplama süresine aşırı derecede artırmaktadır ve genellikle hesaplama sırasında program hata vermektedir. Dolayısıyla bu tür hesaplamalara izin verebilecek yeni bir lump model üzerine çalışılmıştır.

### 3.3. Lump Model

Elektriksel tespit temel olarak elektrotlar bir voltaj uygulayıp karşılık gelen akımı ölçmekten ibarettir. Bu şekilde ölçülen empedans aslında çeşitli pasif devre elemanlarının seri ve paralel şekilde birbirine bağlanmasıyla oluşturulabilmektedir. Bundan dolayı bir devrenin empedansına şekil 3.13’de gösterildiği gibi seri ve paralel indüktör, direnç ve kondansatör ile yaklaşılabilmektedir. Buradaki durumda iki levha arasındaki bir sıvı temsil edebileceğinden ve bu sıvı da manyetik özelliklerden yoksun olduğundan dolayı indüktör kullanımı gereksizdir.



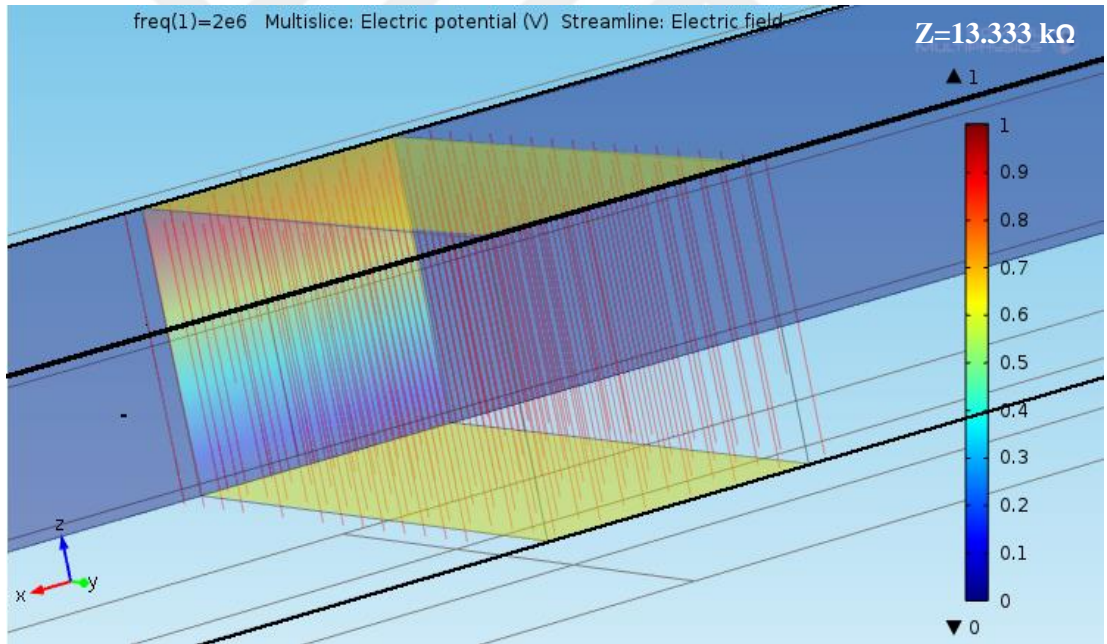
**Şekil 3.13.** EDL’yi göz önüne alan bir yaklaşım için eşdeğer devre modeli

Her malzeme bir iletkenliğe sahiptir dolayısıyla temsilde bir direnç bulunması şarttır. Diğer taraftan malzemenin sahip olduğu geçirgenlik kondansatör kullanımını da zorunlu kılar. Bundan dolayı solüsyon paralel ve seri direnç ve kondansatörlerle temsil edilmiştir. Burada EDL için bir temsil gereği duyulmamıştır çünkü bu çalışma frekansında ve bu solüsyon iletkenliğinde EDL çok düşük bir etki getirmektedir ve ihmal edilebilir. İletkenlik arttıkça Debye uzunluğu azalır ve sığa artar bu yüksek

frekansla birleşince etkisi yok denecek kadar az olur. Eşitlik 3.1'e göre frekans arttıkça empedans da azalmaktadır. Yani EDL etkisi yok olur. Bu sayede uygulanan voltaj olduğu gibi sıvıya ulaşır.

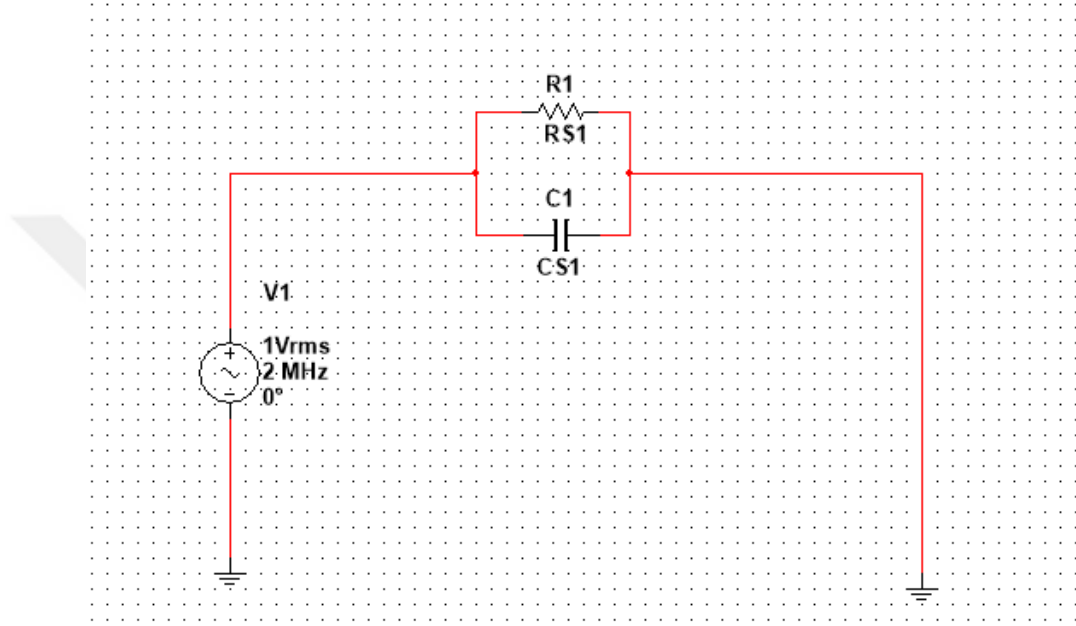
$$Z = -\frac{i}{\omega C} \quad (3.1)$$

Eş düzlemsel elektrotların temsili çok zordur ve conformal mapping gibi çok ileri düzey matematiksel gereçlerle yapılabilir [75]. Bundan dolayı ilk önce alt-üst elektrotlar modellenir ve sonuçlar Comsol ile kıyaslanır. Comsol simülasyonu elektrik alan sadece elektrotların arasına sıkıştırılarak yapıldığında lump modelle çok iyi uyduğu görülmektedir. Kısırılmış elektrik alanın Comsol sonuçları şekil 3.14'de görülmektedir.



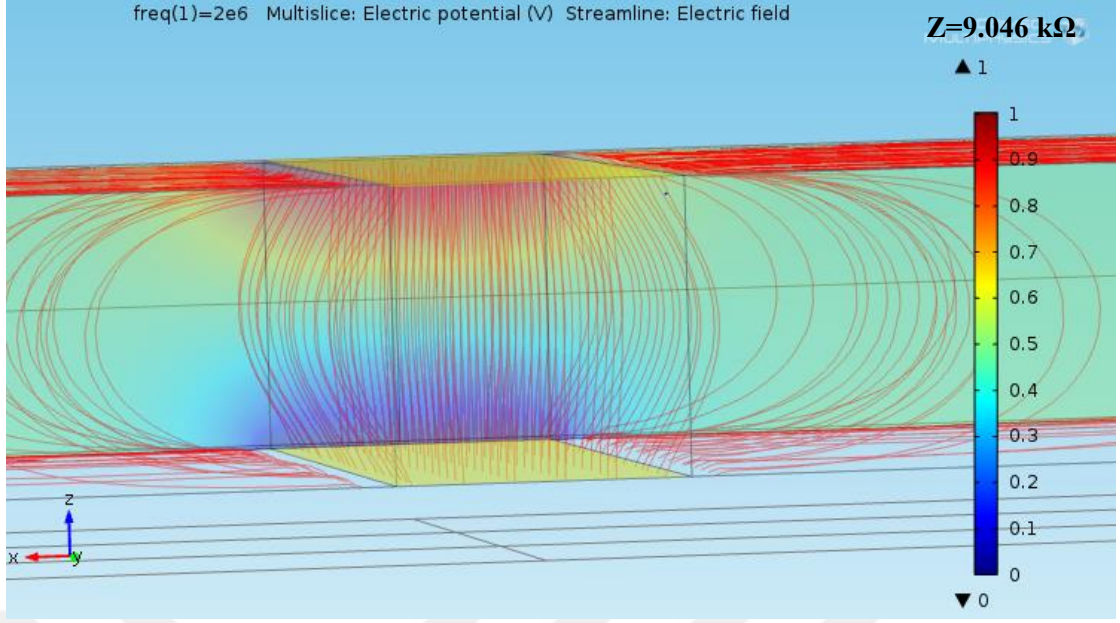
**Şekil 3.14.** Alt üst elektrotlar için elektrik alanı sadece elektrotların arasına kısırarak gerçekleştirilen Comsol simülasyonu

Bu kısıtlama elektrot bölgesinin dört bir tarafına yalıtkan sınır şartları uygulanarak yapılmıştır. Aynı geometri lump modelde de temsil edilmiştir ve bu hesaplamada NI Multisim 13 (National Instruments) kullanılarak yapılmıştır. Multisim 13’de çizilen devre şekil 3.15’de gösterilmektedir. Buradaki RS1 ve CS1 gibi direnç ve kondansatörler o bölgenin geometrik ve fiziksel özelliklerine göre hesaplanmıştır.



**Şekil 3.15.** Eşdeğer devre modeliyle alt üst elektrotların temsil edilişi

Sonuçlar bu şartlar altında çok uyumlu olsa da daha gerçekçi sınır şartları uygulandığında durum değişir. Elektrik alan kısıtlaması kaldırıldıktan sonra simülasyon tekrarlanmıştır. Yeni şartlar altında oluşan saçaklı elektrik alan çizgileri şekil 3.16’da gösterilmektedir.

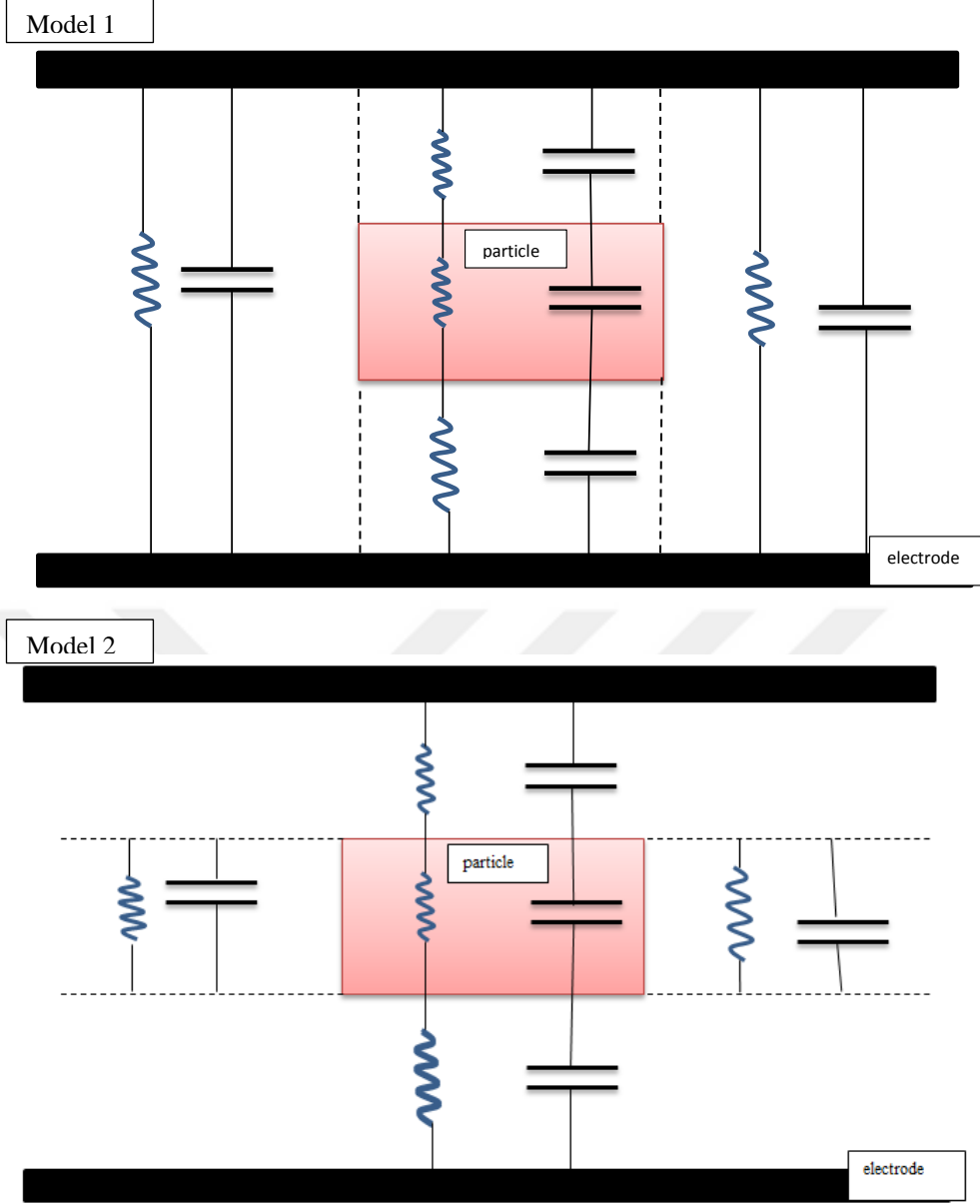


**Şekil 3.16.** Daha gerçekçi sınır şartlarıyla alt üst elektrot simülasyonu

Bu iki hesap göstermiştir ki elektrotlar arasındaki bir sıvı fiziksel bir kayıp olmadan direnç ve kondansatörlerle temsil edilebilir. Burada Comsol'un tüm fiziksel durumu ihtiva ettiği düşünülmektedir çünkü Maxwell denklemleriyle analizi gerçekleştirmektedir. Buna rağmen her iki farklı durumda sadece empedans değeri değişmektedir bu da saçaklanan elektrik alandan kaynaklanmaktadır. Bu lump model ile gerçek durumun nüans farkıyla denk olduğunu kanıtlar.

Dolayısıyla eş değer devre yöntemi daha da geliştirilerek bir parçacık olduğu durumu da temsil etmesi sağlanmıştır. Bunun için aynı durumu inceleyen iki farklı yaklaşım sınanmıştır. Şekil 3.17'de gösterildiği gibi sıvı içindeki parçacık kübik olarak seçilmiştir.





**Şekil 3.17.** Elektrot arasındaki bir parçacığı temsil eden iki farklı lump model

Burada sığa ve direnç değerleri eşitlik 3.2 ve 3.3’de gösterilen temel formüller kullanılarak hesaplanmıştır.

$$C = \epsilon \frac{A}{l} \quad (3.2)$$

$$R = \rho \frac{l}{A} \quad (3.3)$$

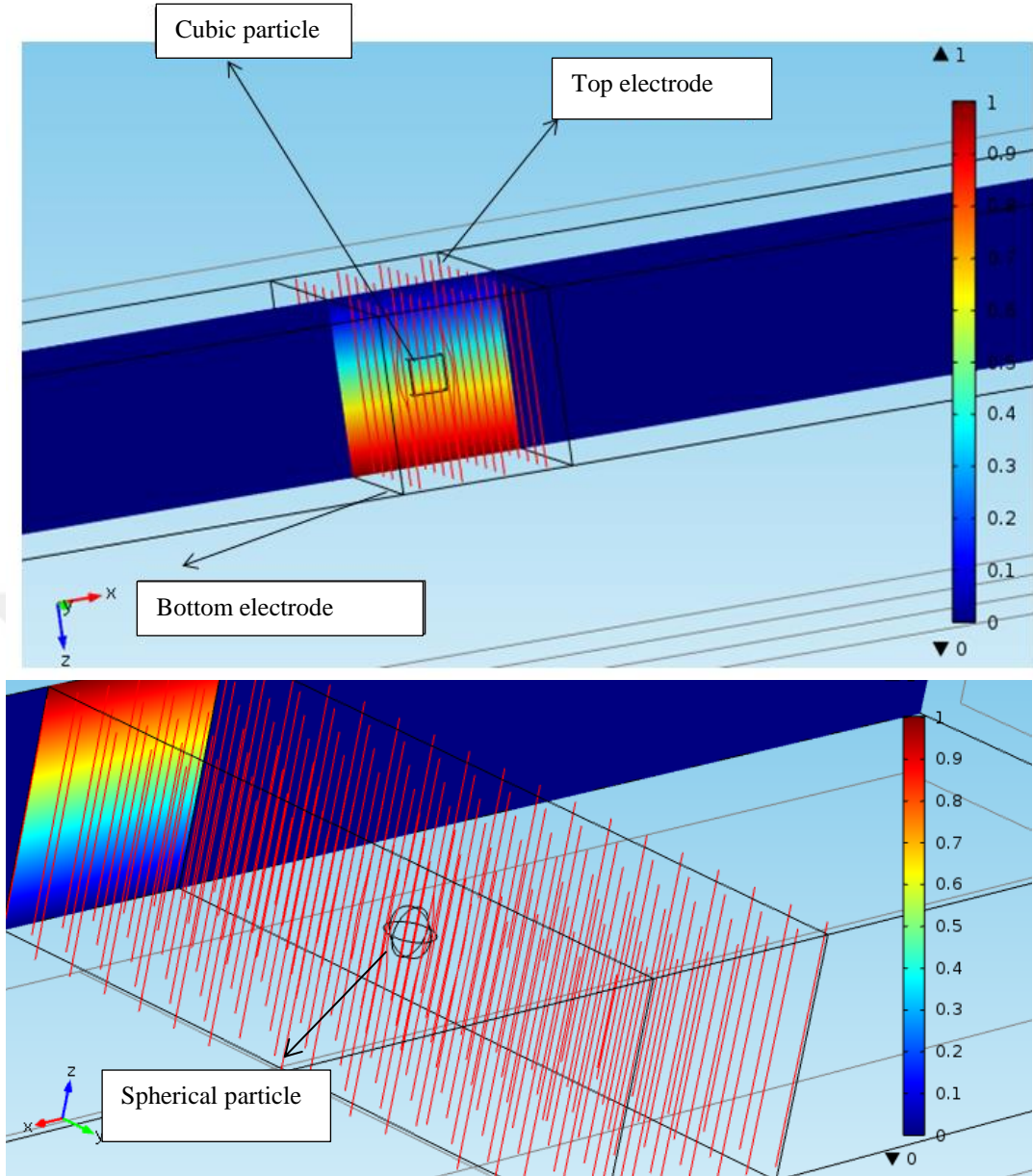
Yüksekli, uzunluk ve genişlik gibi parametreler sistemin geometrisinden elde edilir. İletkenli ve geçirgenlik gibi fiziksel parametreler ise Asami'nin [76] çalışmalarından uyarlanmıştır. Tüm parametreler Multisim 13'e girilir ve hesaplama gerçekleştirilir. Aynı değerler Comsol'a da girilerek hesaplanır. Her iki lump model ve Comsol ile elde edilen sonuçlar tablo 3.1'de gösterilmektedir. Empedans değişimleri parçacık varken ve yokken elde edilen toplam empedansın farkları alınarak bulunur.

**Çizelge 3.1.** 2 lump model ve Comsol ile bir parçacık için elde edilen empedans değişimleri

	$\Delta Z/\Omega$
Lumped Model 1	180
Lumped Model 2	36
COMSOL	56

2. modelin sonuçları Comsol'a daha yakın olduğu için bu yaklaşım benimsenip daha ileri çalışmalar bu model ile gerçekleştirilmiştir. Bu modelin daha doğru sonuç vermesi bu modelde elektrik alanın daha çok serbestliğe sahip olmasıyla açıklanabilir. 1. Modelde elektrik alanın bir kısmı parçacığın üzerinden geçmeye zorlandığı için o model beklenenden çok daha büyük empedans vermiştir.

Burada yapılan diğer bir varsayım da küresel bir parçacık ile kübik bir parçacığın fiziksel bir kayıp olmadan birbirine denk olduğudur. Maxwell karışım teorisine göre empedansı etkileyen en büyük faktör hacim olduğu için her iki parçacığın hacimleri eşit olduğu sürece bu varsayım büyük bir sorun teşkil etmez. Bundan dolayı hacimleri eşit fakat geometrileri farklı olan 2 parçacık Comsol da simüle edildi. 2  $\mu\text{m}$  çaplı bir küre ile 1.612  $\mu\text{m}$  aygıtlı bir küpün sonuçları şekil 3.18'de gösterilmektedir. Buna göre iki sonuç birbirinden sadece %7'lik bir fark gösterir.



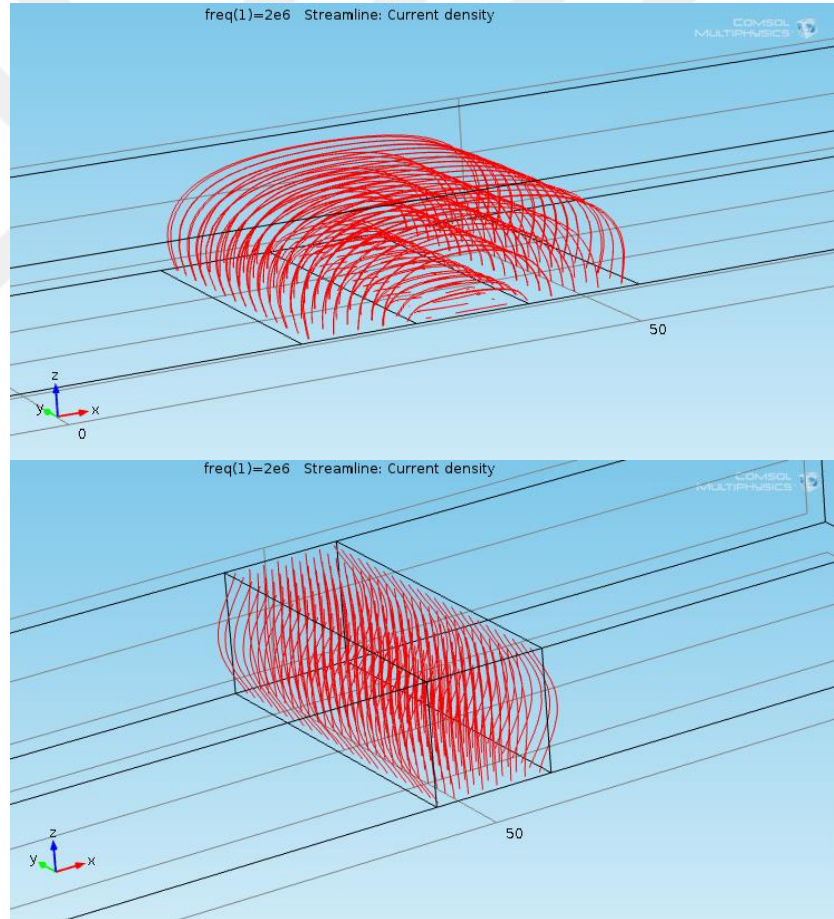
	$\Delta Z/\Omega$
Spherical particle	12.21
Cubic particle	13.11

**Şekil 3.18** 2  $\mu\text{m}$  çaplı küre 1.612  $\mu\text{m}$ 'lik kübik eşdeğerinin karşılaştırılması

Burada görüldüğü gibi hacimleri eşit olması halinde iki farklı geometri arasında ciddi bir fark yoktur. Bu da kolaylık açısından küresel parçacıklar yerine kübik

parçacıkları alan yaklaşımımızı destekleyen bir bulgudur. Eğrilikleri olmayan düz cisimlerle çalışmak direnç ve sığanın hesaplanmasında çok avantajlıdır.

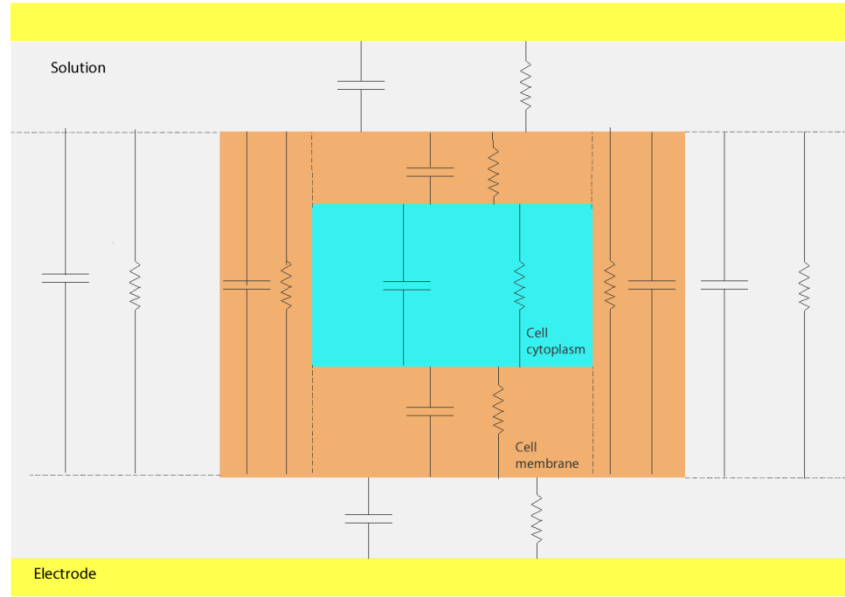
Yapılan bir diğer varsayım da alt üst ve eş düzlemlı elektrotların denklığıdır. Bu iki tip elektrotun Comsol simülasyonu ile elde edilmiş elektrik alan çizgileri şekil 3.19'da görölmektedir. Tek fark eş düzlemlı elektrotlardaki eğri elektrik alanıdır. Burada elektrik alan bir elektrottan diğerine daha uzun mesafe gittiği için empedans da artar. Alt üst elektrotlardaki empedans yaklaşık 9 k $\Omega$  iken eş düzlemlı elektrotlarda 24 k $\Omega$ 'dur. Bu fark her iki elektrottaki elektrik alanının rotalarının farkından kaynaklanır.



**Şekil 3.19.** Alt üst ve eş düzlemlı elektrotlarda elektrik alan dağılımı

Bu denklik sayesinde parçacıkların şeklinden bağımsız olarak eşdeğer devre modeliyle hesaplamalar yapılabilir. Tüm geometrinin boyutuna göre çok küçük olan nesnelere simüle etmekte büyük zorluklar çıkaran FEM yönteminin aksine eşdeğer devre modelinde böyle bir sorun yoktur. İstenilen nesne için fazladan elemanlar eklemek o nesnenin temsili için yeterli olmaktadır. Canlı bir hücre bunun için en güzel bir örnektir. Hücrenin kendisi mikro boyutta iken zarı nano boyuttadır ve bu FEM ile zarı temsil etmeyi neredeyse imkânsız hale getirir. Güvenilir sonuçlar elde etmek için zarın en az 2 meşe ihtiyacı vardır, öte yandan dinamik meş boyutları da çok tuhaf sonuçlar verebilmektedir. Bundan dolayı geliştirilen lump model sayesinde bu tip bir durum dahi makul bir şekilde simüle edilebilecektir.

Hücremsi bir parçacık için uygulanan lump model şekil 3.20’de verilmektedir. Burada netlik adına hücre zarı abartılarak çizilmiştir.

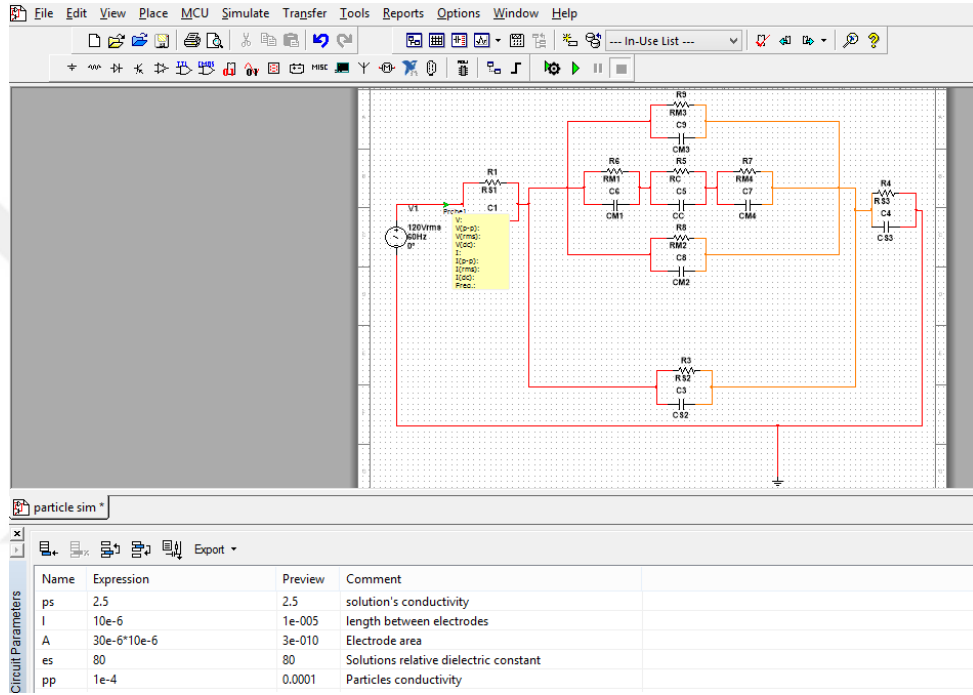


**Şekil 3.20.** Hücremsi bir parçacık için lump model

Buradaki en önemli husus sistemin toplam hacminin sabit kalmasıdır. Yani her ne eklense eklensin mutlaka eklendiği yerdeki eleman ile yer değiştirmelidir. Diğer

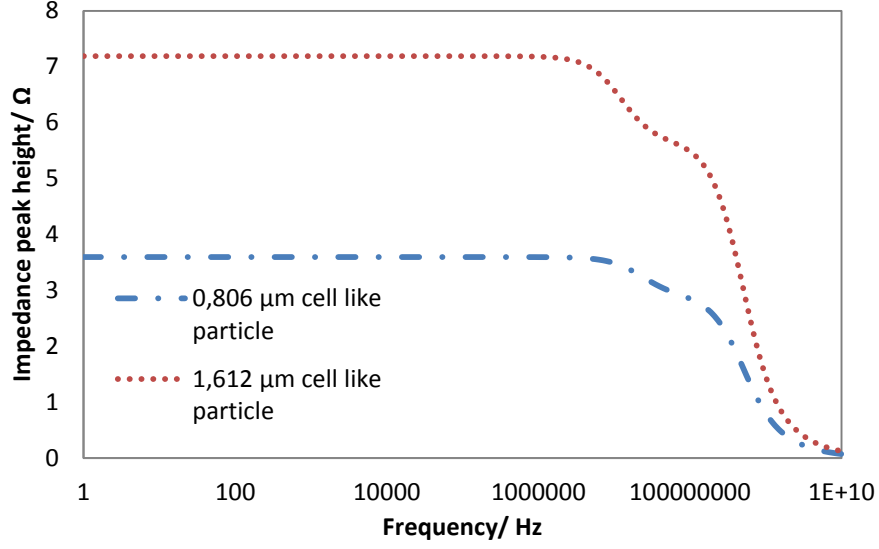
malzemelerden çıkarmadan eklenen hücre zarı kadar küçük bir yapı dahi toplam empedansı ciddi şekilde değiştirebilmektedir ve bu da sonuçları aldatici kılmaktadır.

Sistemin eşdeğer devre modeli Multisim 13 ile kurulmuştur. Gerekli olan tüm fiziksel ve geometrik parametreler programdaki circuit parameters kısmına girilir ve tüm değerler program tarafından hesaplanarak sonuç bulunur.



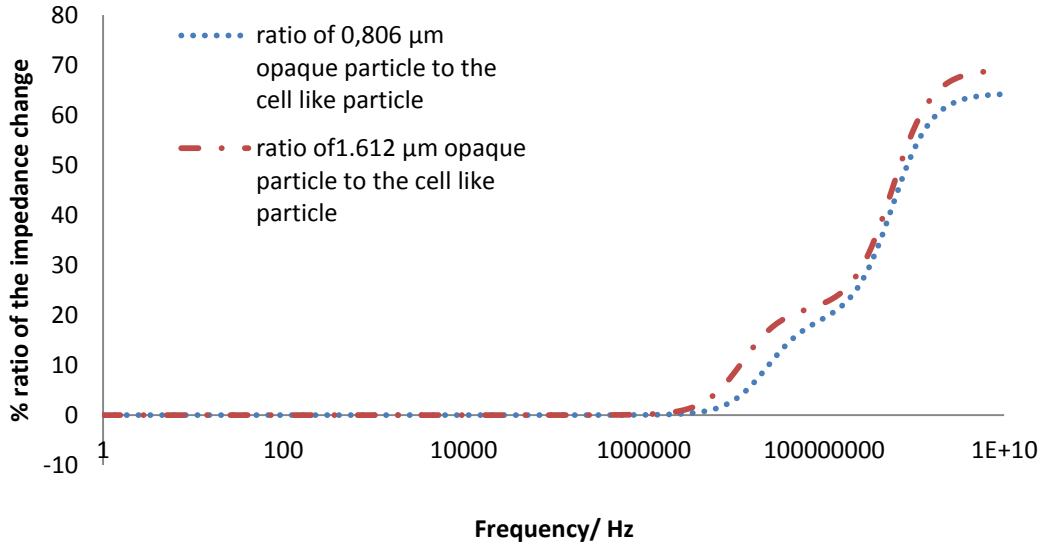
**Şekil 3.21.** Elektrotlar arasında asılı duran bir parçacığın Multisim 13’de temsili

0.806 ve 1.612  $\mu\text{m}$ 'lik hücremsi parçacıklar için elde edilen empedans sonuçları şekil 3.22’de verilmektedir.



Şekil 3.22. 1.279 ve 1.612  $\mu\text{m}$ 'lik kübik hücremsi ve opak parçacıklar

Ardından aynı boyuttaki hücremsi ve opak parçacığın farkını bulmak için başka bir simülasyon daha yapılmıştır sonuçlar şekil 3.23'de gösterilmektedir.



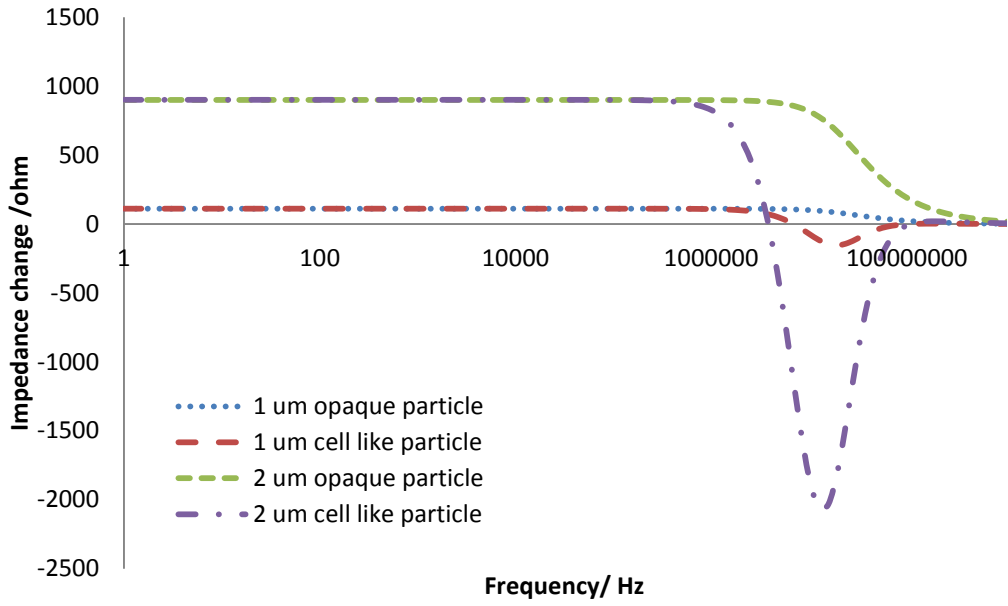
Şekil 3.23. Lump modelde hücremsi ve opak parçacığın empedimetrik farkı

Fark yaklaşık olarak - %0.003 'dan başlar ve frekans ile birlikte artar. Negatiften pozitifte geçme yaklaşık olarak 200 kHz civarında gerçekleşir. Bizim deneysel olarak çalışma frekansımız olan 2 MHz'de bu fark yaklaşık olarak %1'dir. Buna göre 2 MHz'de iki farklı parçacığı ayırt edebilmek için 100'den daha iyi bir SNR değerine ulaşmak gerekmektedir ancak 1-2 m'lik kürelerle yapılan çalışmalara göre SNR 10'dan yükseklerle çıkmamaktadır. Bu durum 2 MHz'de bu iki tip parçacığı ayırt etmeyi imkansız hale getirmektedir. Şekil 3.23'de görüldüğü gibi bu ancak yüksek frekanslarda mümkündür.

Sonuçlara göre bu iki tip parçacık arasında aslında ciddi farklar olmasına rağmen empedimetrik olarak bir fark bulunamamıştır. Bu iki parçacık arasındaki en büyük fark iletkenliktir öyle ki bir hücremsi parçacığın içi yaklaşık  $10^5$  kat daha iletkendir ve bu hacmen %99,99'lük kısmını oluşturur. Sadece bu kısmı çevreleyen zar yalıtkan olmasına rağmen neredeyse tüm hacmin yalıtkan gibi davranmasına sebep olur. Bu durum akımın o bölgede engellenip içeriye geçememesiyle açıklanır. Hücrenin içerisi iletken olsa da çok yalıtkan olan zar akımın içeri girmesine mani olur. Ortam hücrenin içerisinden de daha iletken olmasından dolayı elektrik akımı hem zardan hem de hücrenin içinden gitmek yerine etrafını dolaşır. Bu da tüm hücrenin aynı opak bir parçacık gibi tamamen yalıtkan bir cisimmiş gibi davranmasına sebep olur.

Frekans deneysel sınırlamalardan ötürü daha fazla arttırılamaz ancak solüsyonun iletkenliği ile istenildiği gibi oynanır. Böylece hücreden daha yalıtkan bir sıvı test edilmiştir. İletkenlik 0,1 S/m olacak şekilde Multisim'e girilmiş ve program çalıştırılmıştır. Sonuçlar şekil 3.24'de gösterilmektedir.



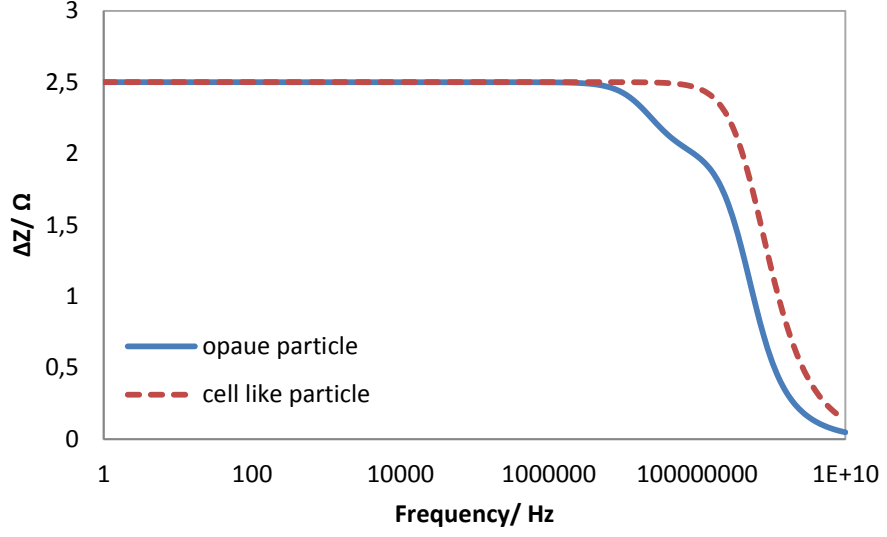


**Şekil 3.24.** Hücremsi ve opak parçacığın yalıtkan çözeltide empedimetrik incelenmesi

Sonuçlardan görüldüğü üzere düşük iletkenli bir sıvı hücremsi ve opak parçacığın ayırt edilebilmesine olanak vermektedir. Bu durum hücre zarının kapasitif davranışıyla açıklanabilir. Frekans arttıkça kondansatör kısa devre olur ve elektrik akımının üzerinden geçip hücre içine ulaşmasına imkan verir. Hücre zarı yüksek iletkenlikteki sıvıda da kısa devre olabilmesine rağmen burada ortam çok iletken olduğundan dolayı akım yine de hücrenin içerisinden geçmeyi istememektedir.

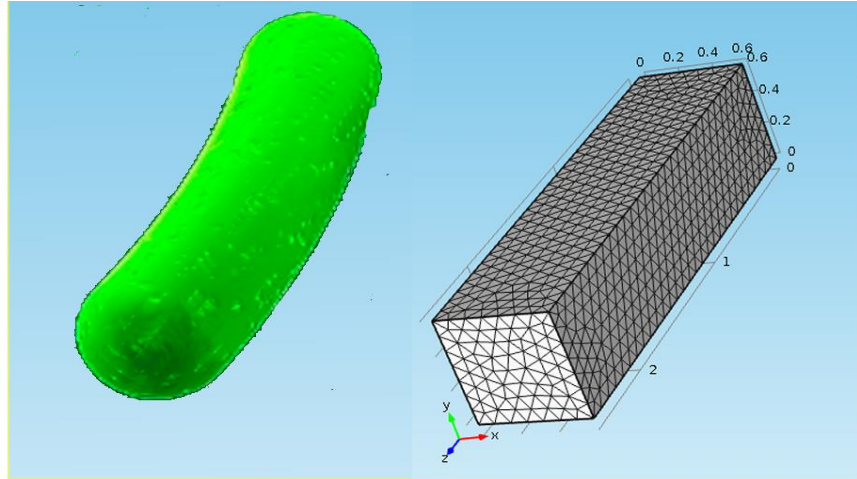
Böylelikle her iki tür parçacığın ayırt edilebilmesi teorik olarak gösterilmiş olur. Bu hem solüsyonun iletkenliğine hem de frekansa bağlı bir durumdur. Ancak bizim deney düzeneğimiz bu kadar yüksek frekanslara izin vermemektedir.

Bu çalışmada çubuk şeklinde bir geometrik yapıya sahip olan E. Coli bakterileri tespit edilmeye çalışılmıştır [76]. Bundan dolayı bu bakterinin şekline en çok benzeyen ve düz hatlara sahip olan dikdörtgenler prizması Multisim ile çözülmüştür. Sonuçlar şekil 3.25’de gösterilmektedir.



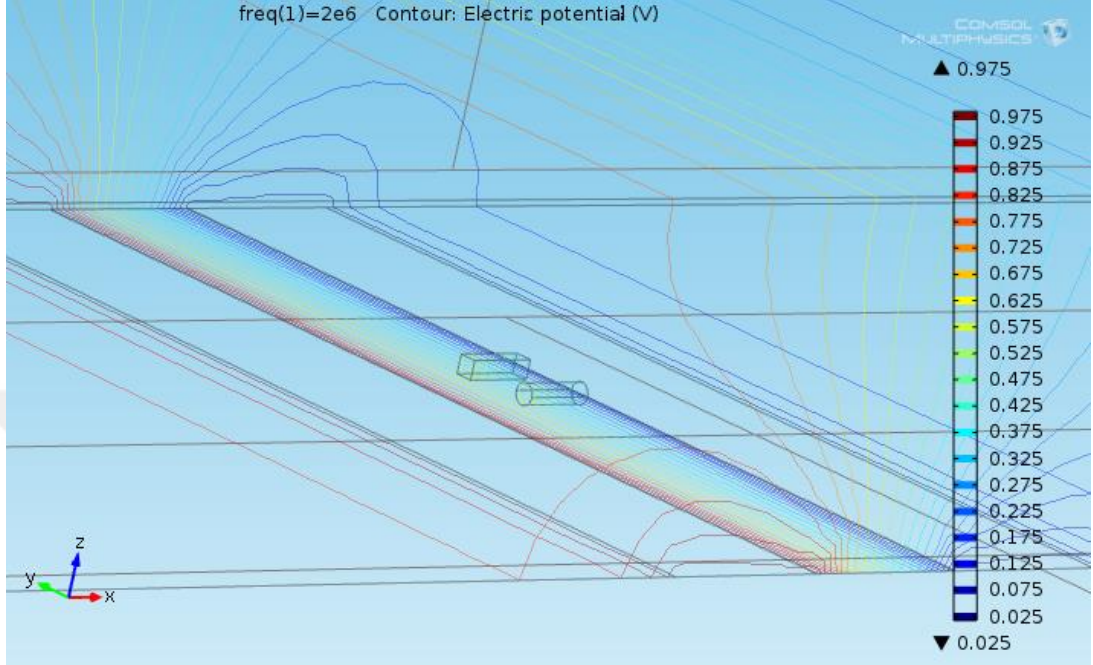
**Şekil 3.25.** Multisim 13’de dikdörtgenler prizması olarak temsil edilen parçacıklar

Görüldüğü gibi her iki tip parçacık arasında bizim çalışma frekansımızda neredeyse hiçbir fark oluşmamaktadır. Şekil 3.26’da gerçek ir bakterinin şekli ile burada yapıla benzetme gösterilmektedir.



**Şekil 3.26.** Gerçek bir E. Coli ve dikdörtgenler prizması

Hem dikdörtgenler prizması şeklinde olan hem de çubuk şeklinde olan iki parçacık Comsol'da simüle edilmiş ve şekil 3.27'de gösterilmektedir.



	$\Delta Z/\Omega$
Rectangular prism	17
Cylinder	16.3

**Şekil 3.27.** Silindirik ve dikdörtgenel bir parçacığın Comsol sonuçları

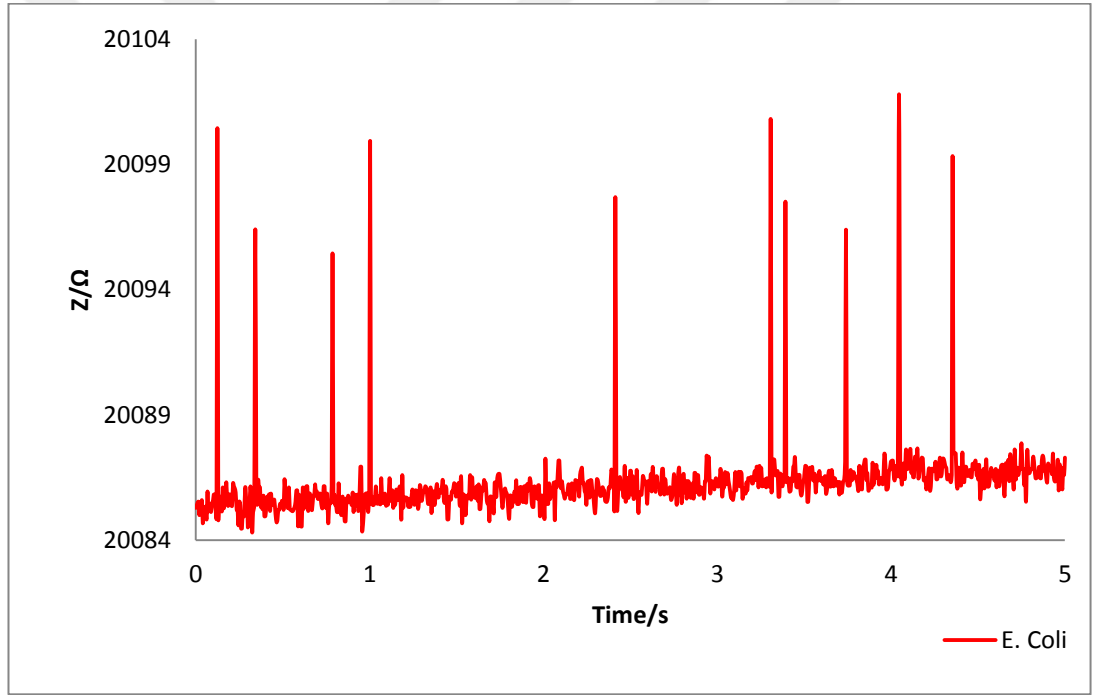
Burada her iki parçacıkta aynı hacme sahip olacak şekilde ayarlanmıştır. Buna göre silindir 0,3  $\mu\text{m}$  yarı çapında ve 2  $\mu\text{m}$  boyundadır. Dikdörtgenler prizması ise 0,531x 0,531  $\mu\text{m}$  tabana ve 2  $\mu\text{m}$  boya sahiptir.

### 3.4. Tek Bakterinin Tespiti

E. Coli numuneleri KÜBTAL'da temin edilmiş ve LB ortamında çoğaltılmıştır. 2,5 S/m'lik 1 ml PBS çözeltisi hazırlanır ve 50  $\mu\text{l}$  E. Coli solüsyonu buna mikro pipet ile

eklenir. Ardından hazırlanan bu çözelti 5,6  $\mu\text{m}$ 'lik filtreden geçirilir. Olası çökeltilerden kurtulup tıkanmanın önüne geçebilmek için bu adım uygulanır. Solüsyon yükseklik pompasına asılır ve bağlantılar yapıldıktan sonra kanala gönderilir.

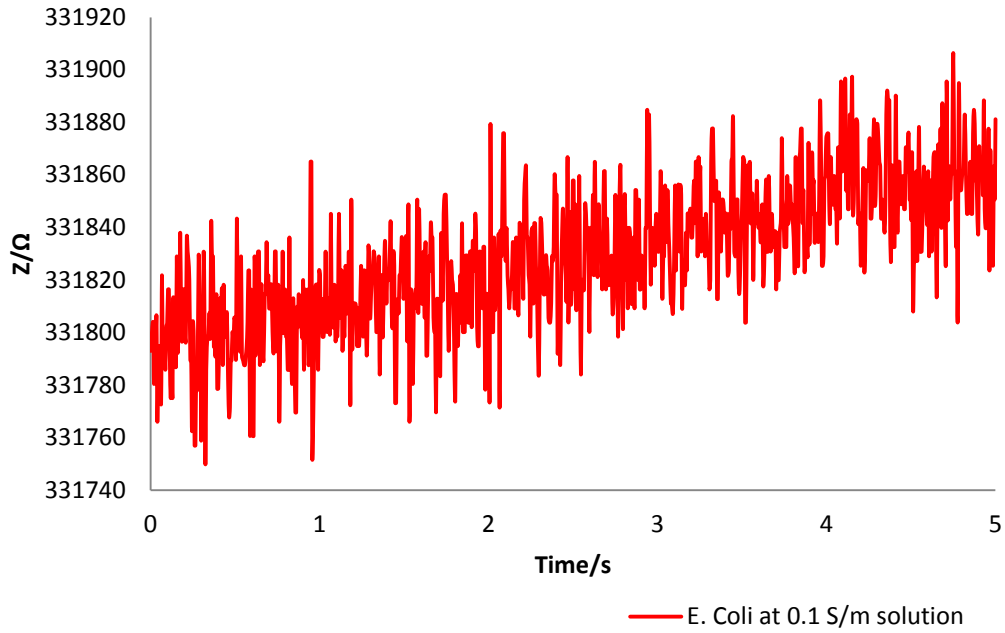
Bu deneyde en hassas çip olan 5  $\mu\text{m}$  elektrotlu ve 30  $\mu\text{m}$  genişlik 10  $\mu\text{m}$  yükseklikle kanallı çip kullanılmıştır. Tüm topraklamalar önceden bahsedildiği gibi yapılır ve çip problemleri. 2 MHz, 1  $V_{p-p}$ 'lik AC sinyal ile gerçek zamanlı empedans ölçümü gerçekleştirilir. Bir E. Coli tam elektrotların üzerinden geçerken elde edilen empedans pikleri şekil 3.28'de gösterilmektedir.



**Şekil 3.28.** E. Coli tespiti

Bu tek bir bakterinin empedimetrik olarak tespit edilmesini göstermektedir. Pik boylarındaki değişiklik ya bakterilerin boyutlarındaki farklılıktan ya da kanal içerisindeki dikey pozisyonlarından kaynaklanmaktadır.

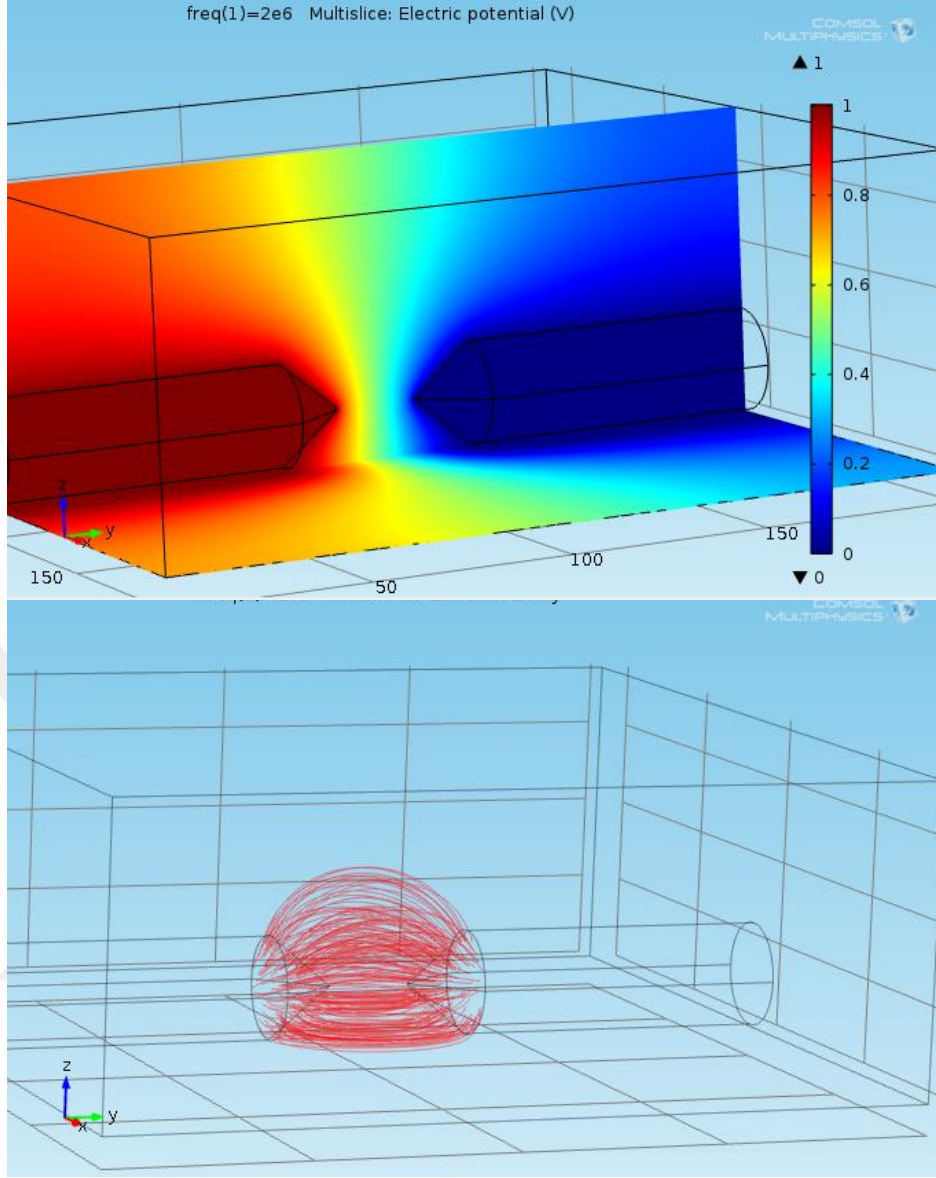
Teorik kısımda anlatıldığı üzere çok iletken çözeltilerde hücremsi bir parçacık ile opak bir parçacığı 2 MHz'in altında ayırt edebilmek mümkün değildir. Fakat düşük iletkenlikteki sıvılarda bu ayırım teorik olarak mümkün görünmektedir. Dolayısıyla 0,1 S/m'lik PBS çözeltisi hazırlanmış ve de 5 µl E. Coli içerisine eklenmiştir. Yapılan ölçüm şekil 3.29'da gösterilmektedir. Ne yazık ki sistem aşırı gürültülü ölçüm yapmıştır ve bu sebepten ötürü bakteri tespiti gerçekleştirilememiştir.



**Şekil 3.29.** Yalıtkan bir çözeltide E. Coli tespiti denemesi

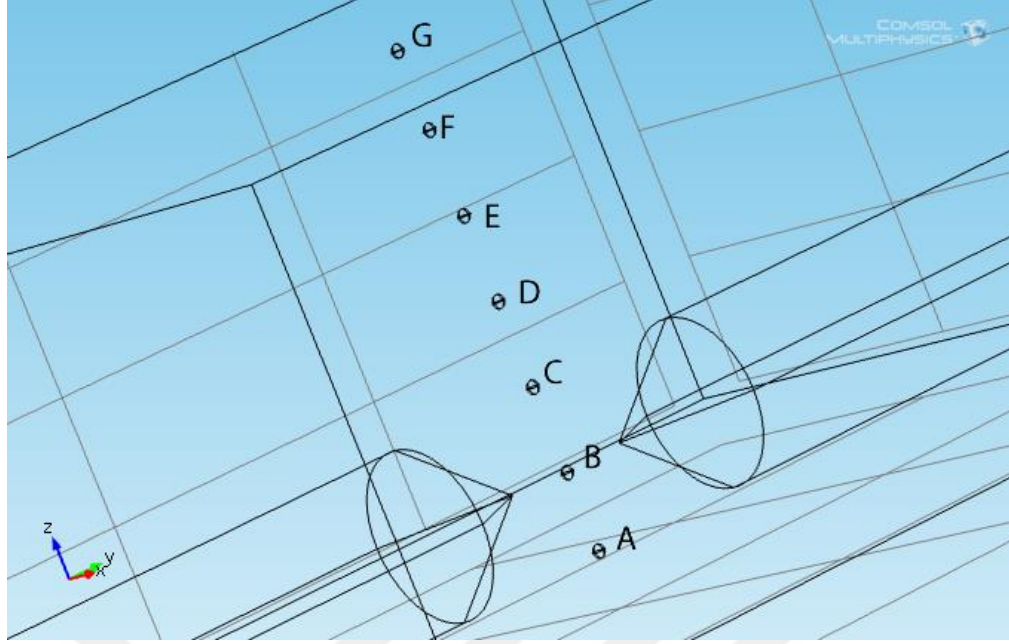
### 3.5. Yeni Tip Elektrotların Performansı

Altın mikro elektrotlar üretebilmek için geliştirilen yeni yöntem materyal ve yöntemler kısmında anlatılmıştır. Bu elektrotların performans testleri yapılmış ve eş düzlemsel elektrotlar ile karşılaştırılmıştır. Deneysel yöntemlere başvurmadan evvel 3D elektrotlar ile Comsol simülasyonları gerçekleştirilmiştir. Bu elektrotlar için çeşitli grafikler şekil 3.30'da gösterilmektedir.



**Şekil 3.30.** 3D elektrotlarda elektrik alan ve elektriksel potansiyel

Görüldüğü gibi elektrik alan elektrotların arasında daha yoğundur. Ayrıca elektrik alan elektrotların uçlarında çok daha yoğundur. Bu beklenmedik bir durum değildir ve bazı sonuçları vardır. Bunlardan bir tanesi sinyalin şiddetli bir şekilde konuma bağlı olmasıdır. Sinyalin dikey konuma bağlılığı Comsol simülasyonlarıyla incelenmiştir ve sonuçlar şekil 3.31’de görülmektedir.

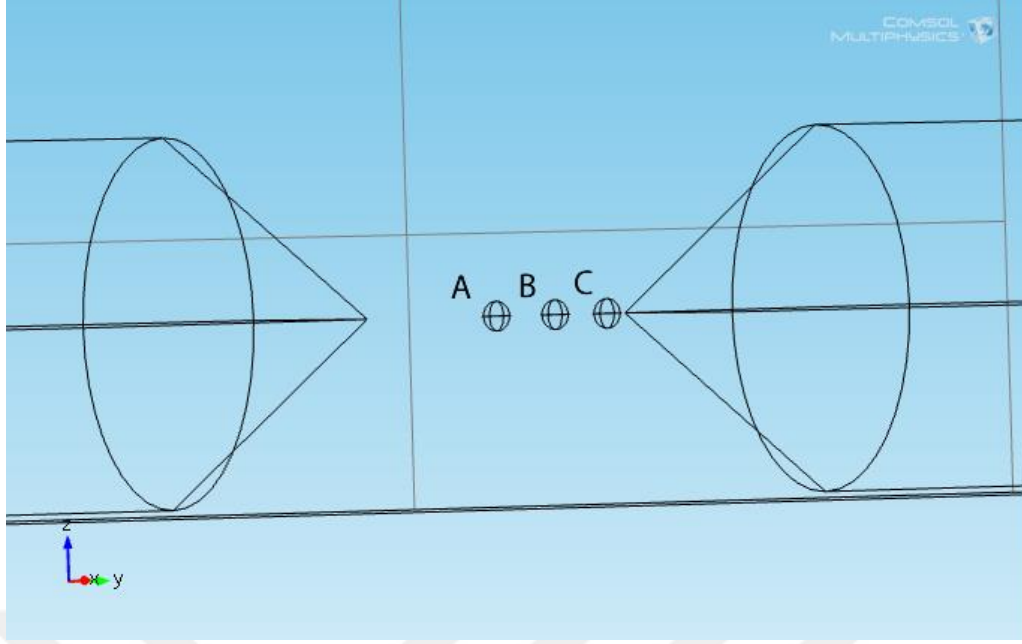


Positions	A	B	C	D	E	F	G
% Impedance change	0.05	0.11	0.06	0.01	0.0044	0.00023	0.00007

**Şekil 3.31.** Comsol'a göre empedansın dikey konuma bağıllığı

Elektrotlar ile aynı hizadan geçmeyen parçacıkların elektrotlarla aynı hizadan geçen parçacıklara göre daha az sinyal vereceği aşikârdır. Sinyalin yatay konuma bağıllığı da incelenmiştir ve sonuçlar şekil 3.32.'de gösterilmiştir.

Sonuçlar elektrot etrafındaki elektrik alan çizgilerinin dağılımıyla gelişen beklentilerle gayet uyumludur. Buna göre elektroda daha yakın geçen parçacıklar uzak geçenlere göre daha şiddetli sinyal verirler.



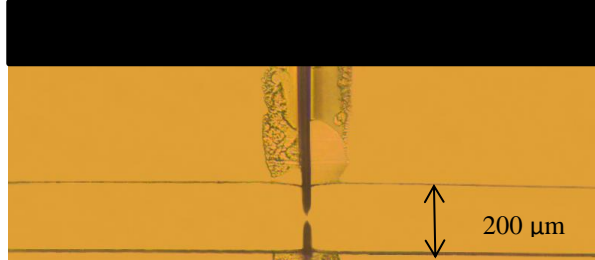
Positions	A	B	C
% Impedance change	0.11	0.25	0.47

**Şekil 3.32.** Comsol'a göre empedansın yatay konuma bağlılığı

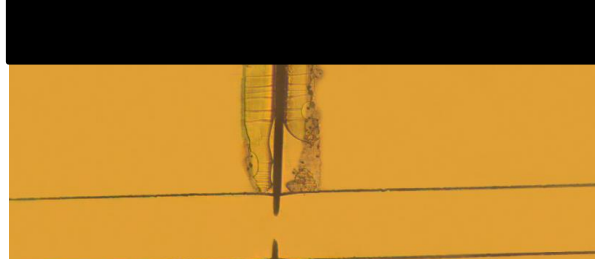
Önceden de anlatıldığı gibi elektrotlar arasındaki boşluk üretim sırasında asit ve suyun giriş basınçlarıyla oynanarak ayarlanabilir. Bundan dolayı farklı aralıklı elektrotlar üretmek bu yöntem ile çok kolaydır. Maxwell karışım teorisine göre empedans değişimi parçacığın hacminin elektro aktif bölgenin hacmine oranıyla orantılıdır. Dolayısıyla daha dar aralıklı elektrotlarda daha hassas ölçüm yapmaları beklenir. Üretilen elektrotlar şekil 3.33'de gösterilmektedir.



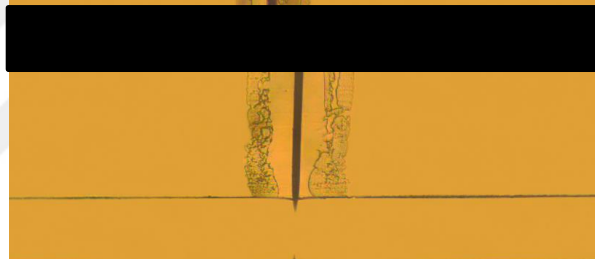
Electrode 1



Electrode 2



Electrode 3



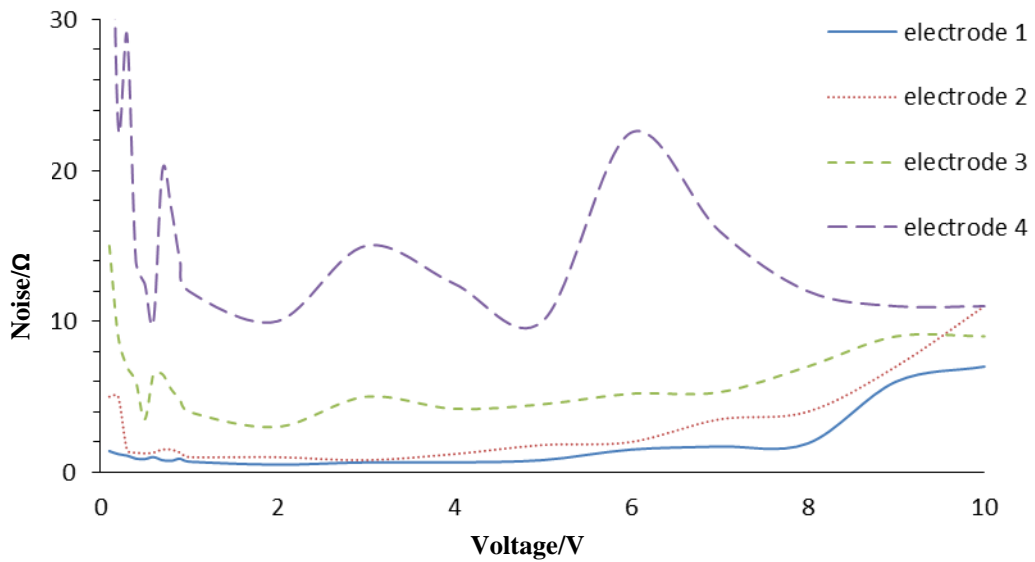
Electrode 4



Şekil 3.33 Farklı boylarda aşındırılan elektrotlar

Comsol ile elde edilen tüm bu sonuçlar deneysel yollarla da araştırılmıştır. Deneyler çip bağlantıları ve topraklamalar daha önce belirtildiği gibi yapılmış ve veri toplama yine kendimiz tarafından yazılmış Labview koduyla gerçekleştirilmiştir. Buna göre elektrot aralığı ne kadar küçük olursa hassasiyetinde o kadar artacağı hem deneysel hem de teorik olarak söylenebilir.

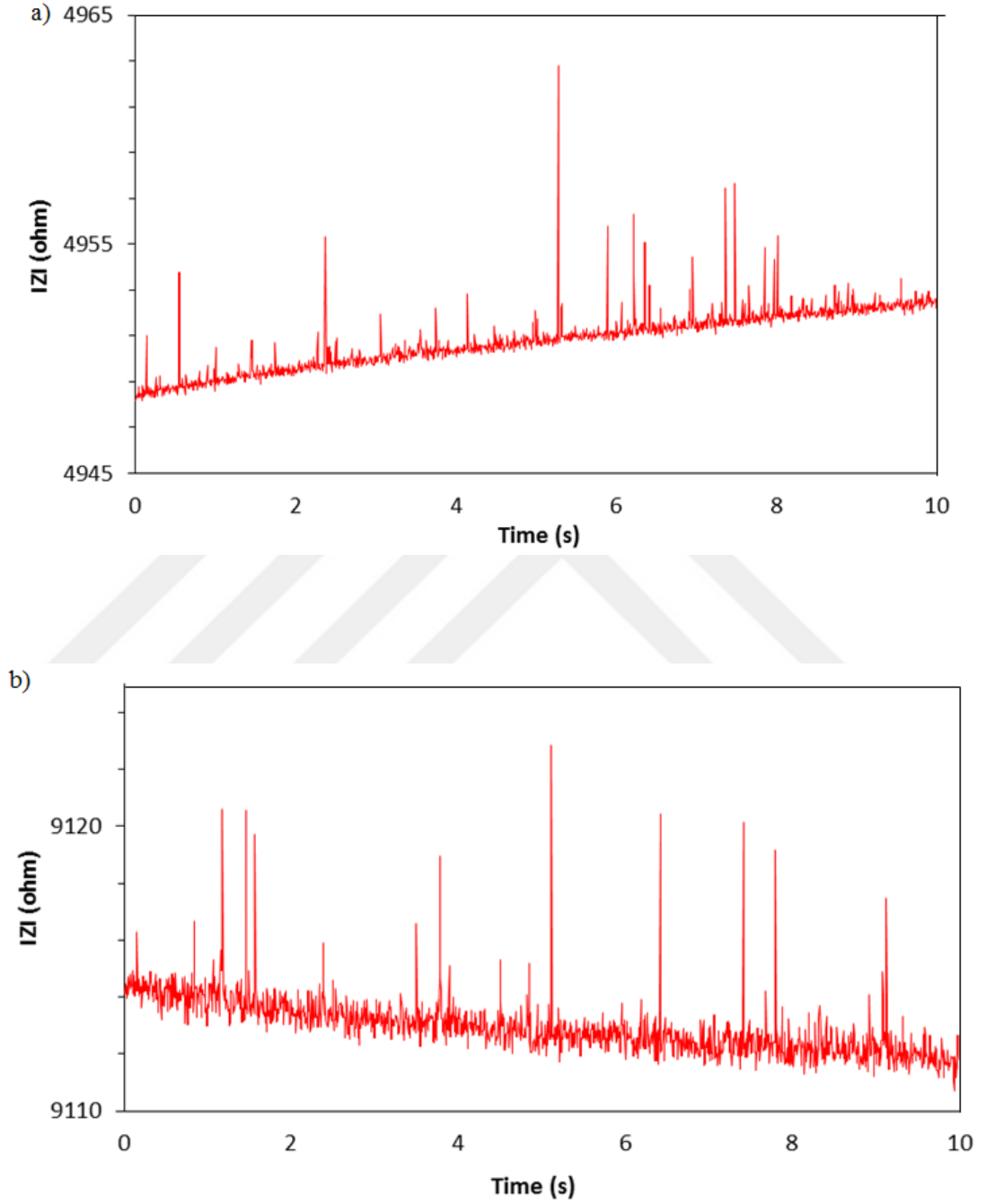
Elektrotların voltaj bağımlılığı da ayrıca incelemiştir. Buna gere çok geniş bir voltaj aralığında elektrotlardan alınan gürültü seviyelerinin grafiği şekil 3.34'de gösterilmektedir.



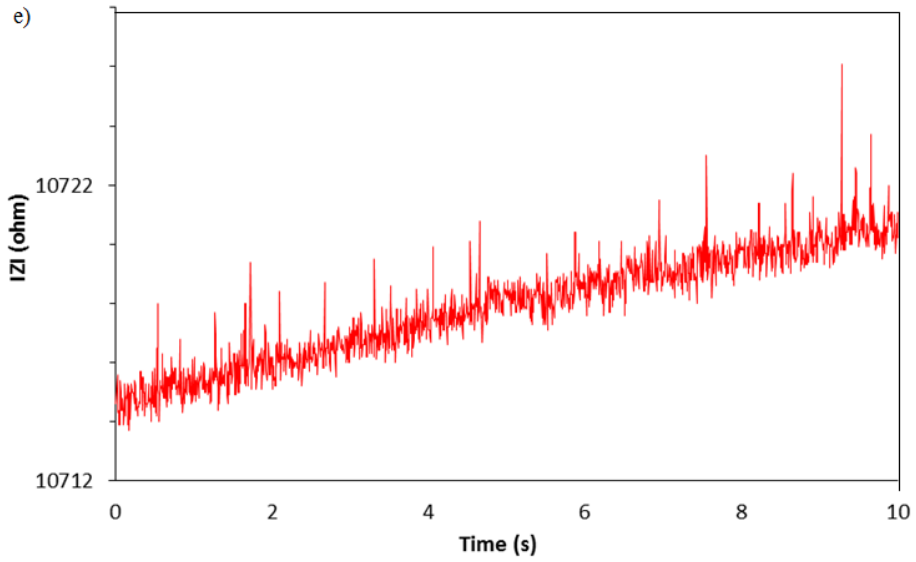
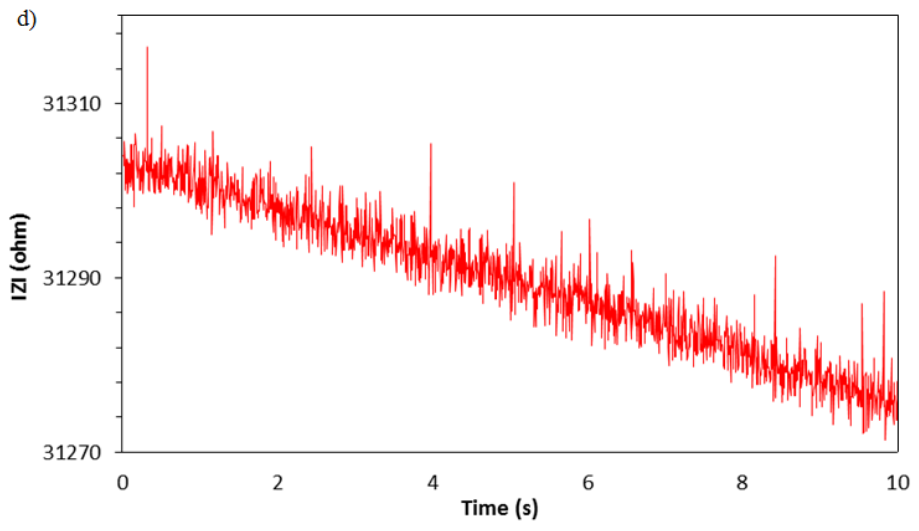
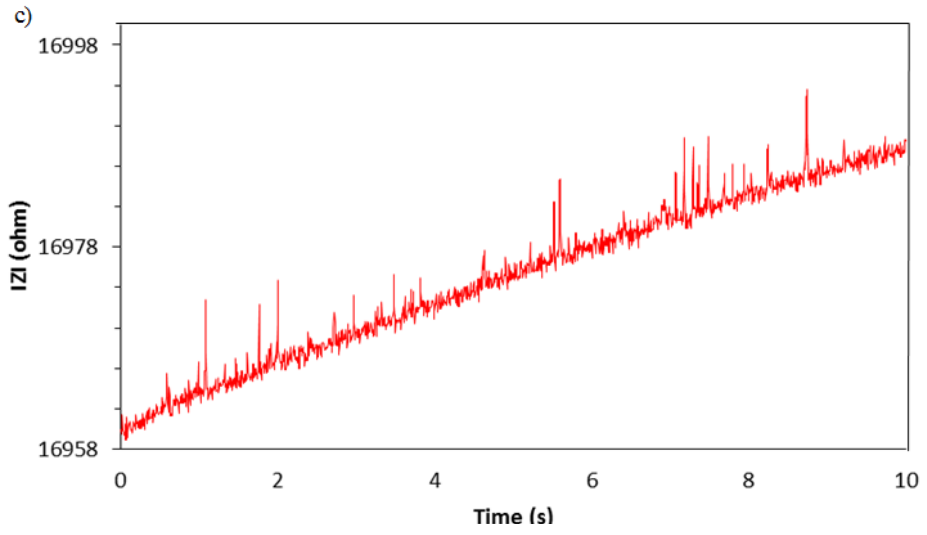
**Şekil 3.34.** 4 farklı elektrot için voltaj-gürültü grafiği

Bu yeni tip elektrotların en büyük avantajı sağlamlığıdır. Bu elektrotların aksine eş düzlemlerli elektrotlar  $1 V_{p-p}$ 'den sonra hızlıca bozunurlar. Buna rağmen  $15 V_{p-p}$ 'de dahi bu elektrotlarda her hangi bir bozunmaya rastlanmamıştır. Sadece  $10 V_{p-p}$ 'den sonra çözelti içinde elektrokimyasal tepkimelerden kaynaklı bazı hava kabarcıklarının oluşturduğu görülmüştür.

Gürültünün voltaja bağılılığının incelenmesinin ardından  $6 \mu\text{m}$ 'lik kürelerle empedans ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Elektrolar için en uygun voltaj şekil 3.35'e göre seçilmiştir.



**Şekil 3.35.** Dört 3D elektrot ve bir eş düzlemlı elektrot için empedans verileri.  
**a)** elektrot 1, **b)** elektrot 2, **c)** elektrot 3, **d)** elektrot 4, **e)** eş düzlemlı elektrot



Şekil 3.35 (devam)

Sonuçlardan görüldüğü üzere SNR artan elektrot boşluğuyla azalmıştır. Böylelikle elektrot boşluğunun önemi deneysel olarak da ispatlanmıştır. Burada farklı ölçeklerdeki elektrotlar kolayca üretilmişlerdir. Diğer elektrot üretim tekniklerinde yeni litografi yapılması gerektirirken burada sadece giriş çıkış basınçları ile oynanarak elektrot boşluğu ayarlanmıştır.

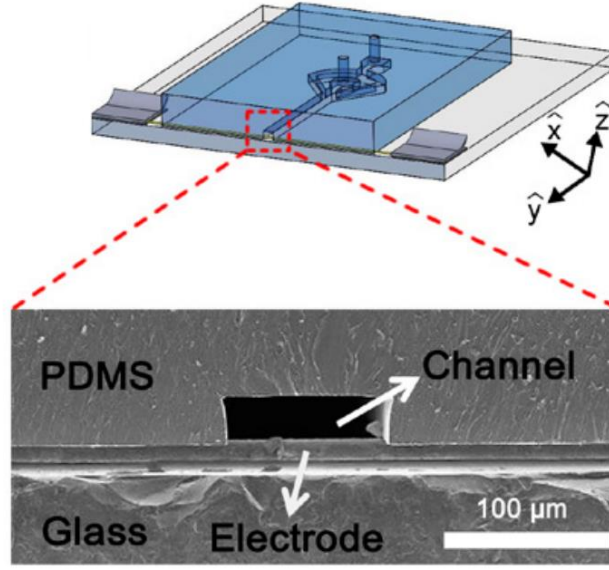
Bizim ölçüm düzeneğimizde gürültü toplam empedansın yaklaşık olarak 1/10000'dir. Örneğin gürültü 5 k $\Omega$ 'luk empedans veren 1 numaralı elektrotta 0.5  $\Omega$  civarındayken 15 k $\Omega$  toplam empedans veren 3 numaralı elektrotta yaklaşık olarak 1,5  $\Omega$ 'dur.

Bu elektrotların diğer bir avantajı da çok iletken olmalıdır çünkü ince film elektrotla fazladan 200  $\Omega$  civarında bir direnç eklemektedirler. Bu direnç elektrot kalınlığının nano ölçekte olmasından kaynaklanmaktadır.

Buna göre ilk üç elektrotun diğerlerinden daha yüksek performans sergilediği aşikârdır. Böylece bu yöntemle üretilen elektrotların ince film elektrotlardan daha üstün oldukları da kanıtlanmıştır.

Bununla beraber deneyler esnasında bazı ciddi sorunlarla da karşılaşmıştır. Bunlardan biri aynı boyda parçacıklardan gelen farklı boydaki empedans sinylidir. Buna göre elektrotun yanı başından geçen parçacıklar 60  $\Omega$ 'a kadar pikler verebilirken uzaklardan geçen parçacıklar 3-5  $\Omega$  civarında sinyal vermektedir. Dolayısıyla asimetric odaklamaya imkan tanıyan bir sistem tasarlamak ölçüm hassasiyetini arttırabilecektir.

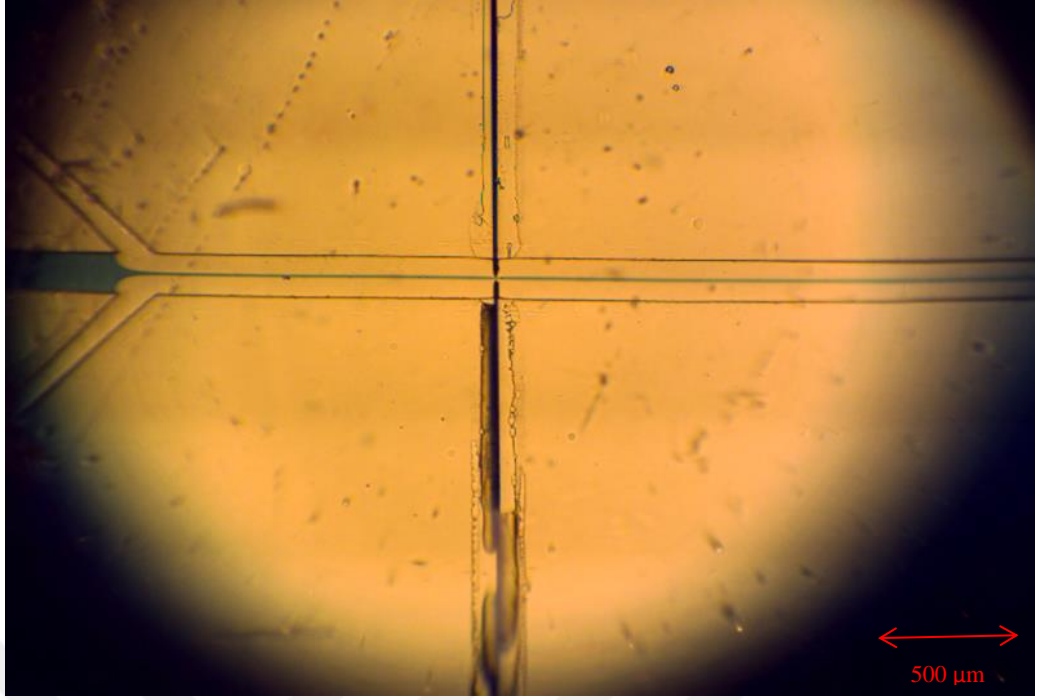
Bir diğer sorun ise kanalın doğrudan tel üzerine oturmasından dolayı parçacıkların elektrotla aynı hizadan geçmemesidir. Bu göre kanalı yukarı doğru kaldıran tel şekil 3.36'da gösterilmektedir. Bu sebepten ötürü Bazı parçacıklar elektrotlara göre çok yüksekte geçmekte ve hiç sinyal vermemektedir. Bu sorunun üstesinden gelmenin bir yolu tepeden aşağı odaklamadır.



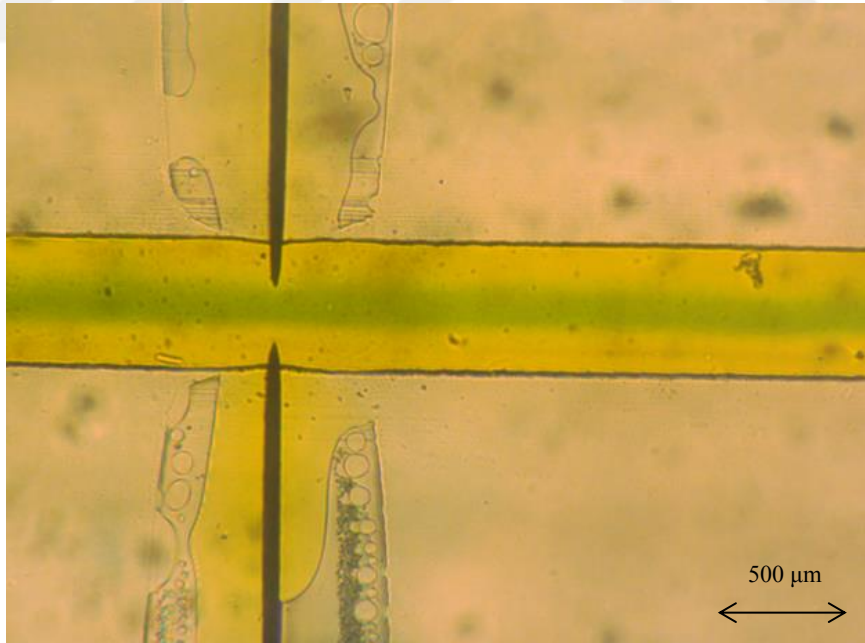
**Şekil 3.36.** Kablonun üstünde oturan kanal

Bu yöntemle parçacıklar şekil 3.37’de gösterildiği gibi yanal ve dikey olarak odaklanır. Yanal odaklama parçacıkları elektrotların ortasına doğru sürdüğü için daha az dalgalı sinyallerin oluşmasını sağlamıştır. Fakat bu yöntem üstten geçip giden parçacıklara mani olamaz bunun için fazladan bir odaklama daha yapmak gerekir.

Tepeden odaklamada yukardan gelen akış geriden gelen akışı aşağı tam elektrotlara aynı hizaya gelecek şekilde bastırır. 3. Akışın kanala doğrudan bağlatışı odaklamayı bozduğundan dolayı 3. Delik için bir PDMS havuz kanalın tepesine yapıştırılır. Parçacık testlerine geçmeden önce uygun basınç değerlerini saptamak için boyalı sularla denemeler yapılır. Ancak sadece tepeden odaklama yapmak düzgün bir sinyal elde etmek için yeterli değildir bunun için hem yanal hem de dikey odaklama yapmak gerekir [77] Bunun için şekil 3.38’de görüldüğü gibi 3D odaklama yapmak üzere denemeler gerçekleştirilmiştir.

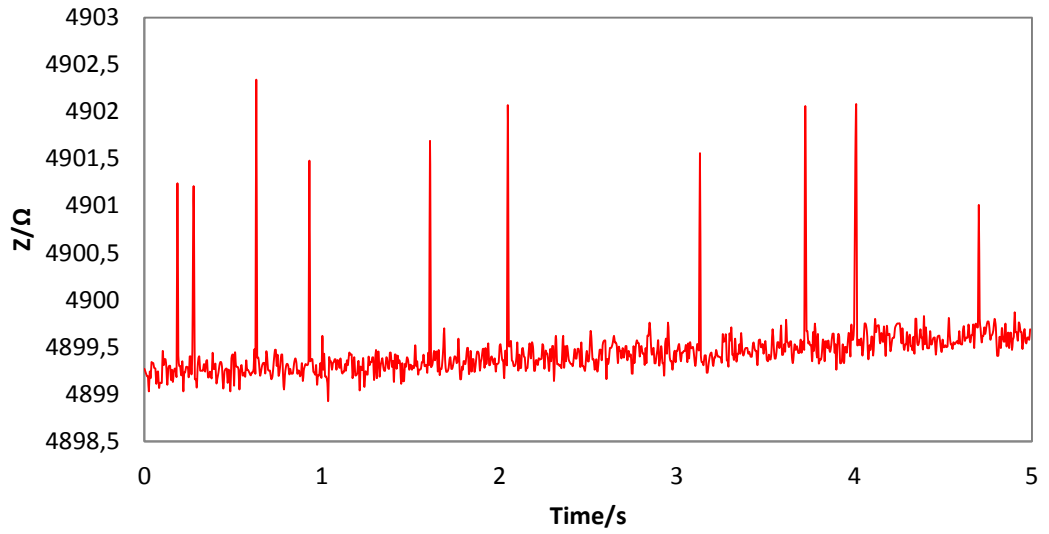


Şekil 3.37. Elektrotların ortasına doğru odaklanan parçacıklar



Şekil 3.38. 3D elektrotlarda 3D odaklama

3D odaklama ile tüm parçacıklar elektrotlarla hizalanır ve empedans ölçümü başlatılır. Burada basınç değerlerinin yüksek olmasından dolayı parçacıklar çok hızlı hareket ederler ve bunun neticesinde bazı parçacıklar ölçüm sistemimiz tarafından tespit edilemez. 3D odaklama ne yazık ki ancak yüksek basınçlarda gerçekleşebilmektedir ve elimizde buna ayak uydurabilecek bir ölçüm düzeneği yoktur. Bu yol ile elde edilen empedans ölçümleri şekil 3.39'da görülmektedir.



**Şekil 3.39.** 3D odaklama kullanılarak 3D elektrotlarla tespit edilen parçacıklar

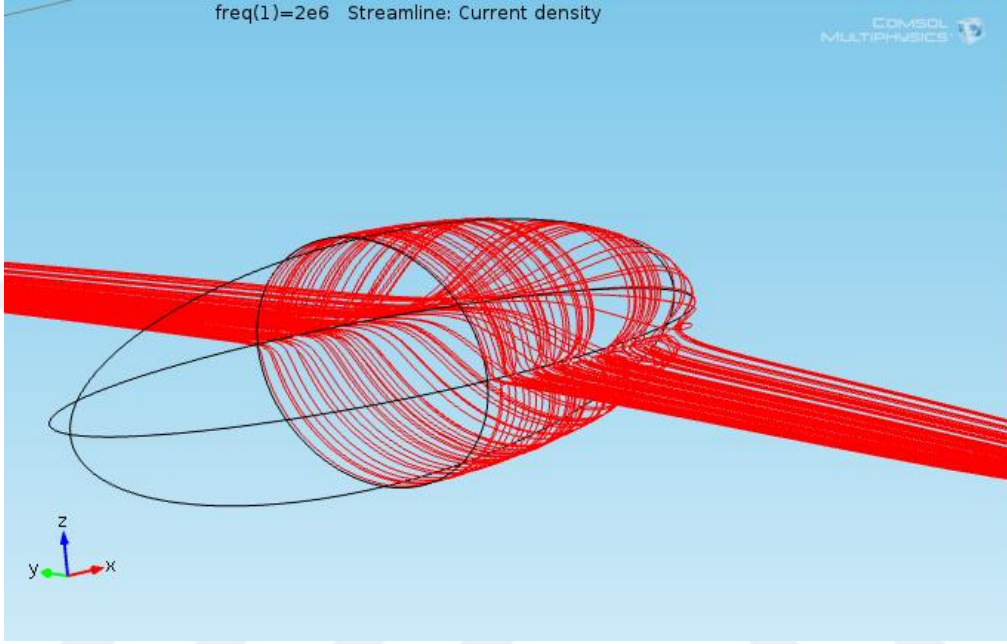
Burada geçen yaklaşık 40 parçacıktan 20 tanesi başarıyla tespit edilmiştir. Kalan parçacıklar sistemin düşük ölçüm hızı nedeniyle tespit edilememiştir.

### 3.7. 3D elektrotlar ile tek bakteri tespiti

Yeni elektrot üretim tekniğini gerçekleştirip üstünlüğünü de kanıtladıktan sonra bu elektrotlar ile biyolojik bir uygulama yapıldı. İlk önce tek bakteri tespitinin yapılabileceği gösterildi. Önceden gösterildiği gibi küçük kürelerin büyük kanalda tespiti çok zor hatta mümkün değildir. Bu durum 3D elektrotlar ile aşılmıştır.



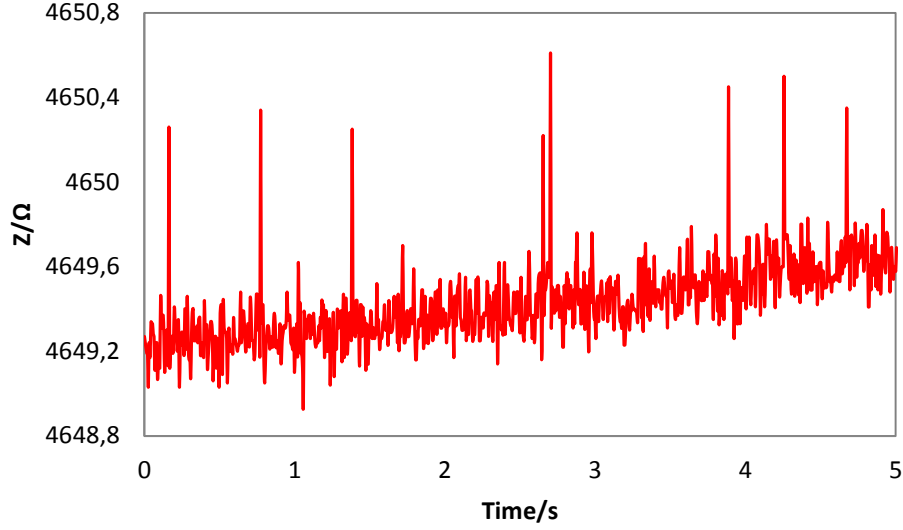
Bunun için ilk önce tek bakterinin elektrotlar arasındaki Comsol simülasyonları yapılmıştır. Bir bakterinin etrafındaki elektrik akım çizgilerinin dağılımı şekil 3.40’da görülmektedir. Görüldüğü gibi elektrik akımı içeri girmek yerine etrafını dolaşmaktadır.



**Şekil 3.40.** Bakteri etrafındaki elektrik alan çizgileri

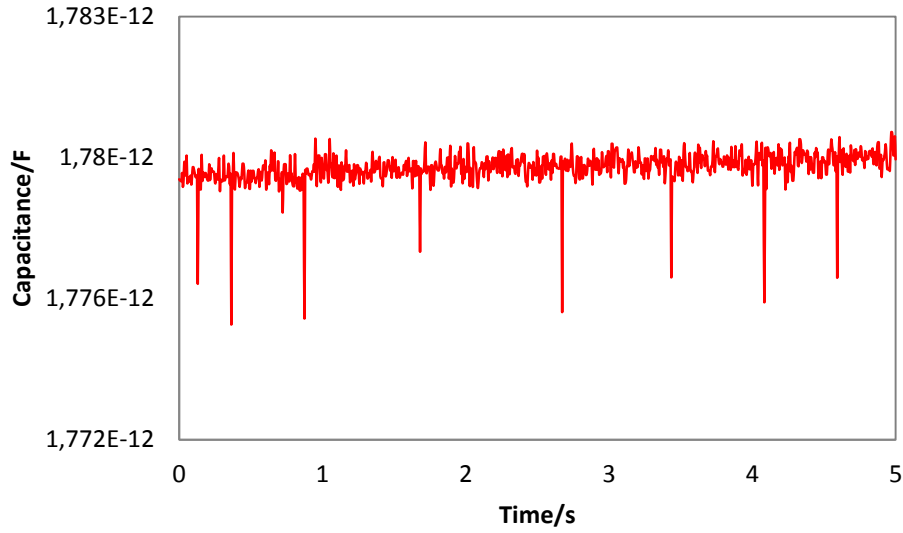
Simülasyonların ardından sonra 1 ml kadar çeşme suyu alınır ve içine yoğun PBS çözeltisi eklenerek çözelti iletkenliğinin 2,5 S/m olması sağlanır. Eklenen PBS miktarı sonraki deneylerde de kullanılmak üzere not edilmiştir. Burada PBS elektriksel iletkenliği arttırmak için eklenir.

Deneyin kalan kısmı daha önce anlatıldığı gibi gerçekleştirilir. Her bir pikin bir bakteriye karılık geldiği empedimetrik sonuçlar şekil 3.41’de sunulmuştur.



**Şekil 3.41** Çeşme suyundan 3D elektrotlar ile bakteri tespiti

Bakteri kapasitif olarak da tespit edilmiştir. Bunun için LCR metre CpRp modunda çalıştırılarak veri toplanır. Sonuçlar şekil 3.42’de gösterilmektedir.



**Şekil 3.42.** Çeşme suyundan 3D elektrotlarla kapasitif bakteri tespiti

Beklenildiği üzere bakteriler elektrotlardan geçerken sığa anlık olarak düşmektedir. Hücre zarı elektrik akımını perdeler ve içeri girmesine mani olur dolayısıyla yüksek

geçirgenlikli hücre içi sıvısı nispi geçirgenliği 1 olan boş uzayla yer değiştirir bundan ötürü de toplam sığa düşer.



#### 4. SONUÇ

Bu doktora tezi kapsamında tek bakterinin elektriksel tespiti detaylıca araştırılmıştır. Çalışmalar büyük elektrot ve kanal sistemiyle başlamış ve buna beraber simülasyon çalışmaları yapılmıştır. Deneysel veriler ile FEM sonuçlarının örtüştüğü görülmüştür. Bunun ardından çipin hassasiyetini arttırmak için yeni simülasyonlar yapılmıştır. Bu sayede daha hassas tasarımlara deney yanıl ile zaman kaybetmeden erişilebilmektedir. Yeni nispeten küçük elektrot ve kanal sistemiyle beklenildiği üzere daha hassas sonuçlara ulaşılmıştır. 1-2  $\mu\text{m}$ 'lik parçacıkların başarılı şekilde ayırt edilebilmesinin ardından bakteri deneyleri yapılmıştır.

Comsol simülasyonlarına paralel olarak lump model de geliştirilmiştir. Diğer yöntemlerin aksine bu çok kullanışlı ve anlaşılması kolay bir modeldir. Bu modelin çıktıları Comsol ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada çok karmaşık lump modeller yerine böyle basit olanı kullanılmış ve güzel sonuçlar elde edilmiştir. Bu modelin en büyük artısı Comsol tarafından simüle edilmesi zor olan ince sistemleri kolayca simüle edebilmesidir. Bu model sayesinde daha gerçekçi hesaplamalar çok basit bir yoldan yapılmıştır. Bu yeni model ile hücremsi bir parçacık ile opak bir parçacığın tek frekansta ayırt etme imkanı teorik olarak gösterilmiştir.

Bunun dışında 3D elektrot üretmek için alternatif bir yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntem litografi ve temiz odaya ihtiyaç duymamaktadır. Bu elektrotlar performans açısından eş düzlemlı elektrotlara göre daha iyidir. SNR değerleri eş düzlemlı elektrotlardan çok daha iyidir. Ayrıca bu elektrotlar üretim için daha az altına ihtiyaç duymaktadır. 1 m'si 30 avrodan 3 cm'lik tel ile bir elektrot üretilebilirken buharlaştırma yöntemiyle 1 g'ı 30 avrodan sadece 4 çip üretilebilmektedir. Eş düzlemlı elektrotlar kaplama sırasında altın için ayrıca krom kaplamasına ihtiyaç duymaktadır. Bu elektrotlar ayrıca çok dayanıklıdır çok yüksek voltajlarda uzun süreler çalışabilmektedir. Ayrıca farklı boylarda elektrot üretmek için farklı maskelere de ihtiyaç yoktur. Tüm bu avantajlar bu elektrotları maliyet açısından da avantajlı kılmaktadır.

Buna rağmen bu yöntem kendi en uç noktasında değildir ve bazı eksikleri mevcuttur. Bunlardan biri kanalın tellere basarak havaya kalkmasıdır. Bu sorunu çözmek için 3D odaklama kullanıldı. Telleri barındıracak yeni kanalları olan bir sistem bu sorunu da çözecektir.

Bunun dışında Quake vanalarını kullanarak kanalı tepeden daraltan başka yöntemlerde mevcuttur [78, 79]. Bu sayede kanalın tepesi elektrotlara doğru yaklaştırılır ve parçacıkların kaçıışı engellenir.

Teli farklı şekillerde aşındırmak ve tel yerine kullanılacak alternatif malzemelerin araştırılması gibi konular daha da araştırılabilir. Bu tip bir araştırma daha da ucuz ve daha da hassas elektrotların yapımını olanaklı kılabilir.

Bundan dolayı bu elektrotlar biyolojik olsun olmasın biyomolekül tespiti yada elektrokimyasal çeşitli uygulama alanları bulabilirler. Sensör olarak kullanımının dışında bu elektrotlar DEP gibi parçacık manipülasyonunda da kullanılabilir. Bu elektrotlar için etrafındaki elektrik alan durumunun daha iyi anlaşılmasını sağlayan Comsol simülasyonları da yapılmıştır.

Son olarak tek bakteri tespiti de bu 3D elektrotlar ile gerçekleştirilmiştir. Bunun la çeşme suyundan tek bir bakterinin tespiti gerçekleştirilmiştir. Bu kadar küçük aynı zamanda da bir o kadar tehlikeli bir canlının hiçbir litografik adım gerektirmeyen temiz odalardan bağımsız olarak üretilebilen bu elektrotlar ile tespiti düşük maliyetli sensörlerin yapılabilirliği adına çok önemlidir. Maliyetlerin düşmesi bu tip cihazların kullanılabilirliğini arttıracak ve bu sayede birçok insan hayatının kurtulmasını sağlayabilecektir.

## KAYNAKLAR

- [1] Hallek, M., et al., Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute–Working Group 1996 guidelines. *Blood*. 111(12): p. 5446-5456, 2008.
- [2] Myszka, D.G., Survey of the 1998 optical biosensor literature. *Journal of Molecular Recognition*. 12(6): p. 390-408, 1999.
- [3] Lavrik, N.V., M.J. Sepaniak, and P.G. Datskos, Cantilever transducers as a platform for chemical and biological sensors. *Review of scientific instruments*. 75(7): p. 2229-2253, 2004.
- [4] Lee, S.-H., et al., Rapid detection of bacterial spores using a quartz crystal microbalance (QCM) immunoassay. *Sensors Journal, IEEE*. 5(4): p. 737-743, 2005.
- [5] Zourob, M., S. Elwary, and A.P. Turner, *Principles of Bacterial Detection: Biosensors, Recognition Receptors and Microsystems: Biosensors, Recognition Receptors, and Microsystem.*: Springer Science & Business Media, 2008.
- [6] Adams, J.r., et al., Cardiac troponin I. A marker with high specificity for cardiac injury. *Circulation*. 88(1): p. 101-106, 1993.
- [7] Wang, J., Electrochemical glucose biosensors. *Chemical reviews*. 108(2): p. 814-825, 2008.
- [8] Zhao, W., et al., Paper-based bioassays using gold nanoparticle colorimetric probes. *Analytical chemistry*. 80(22): p. 8431-8437, 2008.

- [9] Organization, W.H., The world health report 2003: shaping the future.: World Health Organization 2003.
- [10] Hunter, P.R., A.M. MacDonald, and R.C. Carter, Water supply and health. *PLoS Medicine*. 7(11): p. 1350, 2010.
- [11] Tabeling, P., Introduction to microfluidics: Oxford University Press, 2010.
- [12] Kirby, B.J., Micro-and nanoscale fluid mechanics: transport in microfluidic devices: Cambridge University Press, 2010.
- [13] Xia, Y. and G.M. Whitesides, Soft lithography. *Annual review of materials science*. 28(1): p. 153-184, 1998.
- [14] Kim, J.A., et al., Fabrication and characterization of a PDMS–glass hybrid continuous-flow PCR chip. *Biochemical Engineering Journal*. 29(1): p. 91-97, 2006.
- [15] Park, T., et al., Highly sensitive signal detection of duplex dye-labelled DNA oligonucleotides in a PDMS microfluidic chip: confocal surface-enhanced Raman spectroscopic study. *Lab on a Chip*. 5(4): p. 437-442, 2005.
- [16] Ohno, K.i., K. Tachikawa, and A. Manz, Microfluidics: applications for analytical purposes in chemistry and biochemistry. *Electrophoresis*. 29(22): p. 4443-4453, 2008.
- [17] Zeng, J., Modeling and simulation of electrified droplets and its application to computer-aided design of digital microfluidics. *Computer-Aided Design of Integrated Circuits and Systems, IEEE Transactions on*. 25(2): p. 224-233, 2006.
- [18] Yin, H. and D. Marshall, Microfluidics for single cell analysis. *Current opinion in biotechnology*. 23(1): p. 110-119, 2012.

- [19] Guo, M.T., et al., Droplet microfluidics for high-throughput biological assays. *Lab on a Chip*. 12(12): p. 2146-2155, 2012.
- [20] Glawdel, T., C. Elbuken, and C. Ren, Passive droplet trafficking at microfluidic junctions under geometric and flow asymmetries. *Lab on a Chip*. 11(22): p. 3774-3784, 2011.
- [21] Glawdel, T., C. Elbuken, and C.L. Ren, Droplet formation in microfluidic T-junction generators operating in the transitional regime. I. Experimental observations. *Physical Review E*. 85(1): p. 016322, 2012.
- [22] Wassenaar, T.M., *Bacteria: the benign, the bad, and the beautiful.*: John Wiley & Sons, 2011.
- [23] Crouch, S., et al., The use of ATP bioluminescence as a measure of cell proliferation and cytotoxicity. *Journal of immunological methods*. 160(1): p. 81-88, 1993.
- [24] van den Berg, P.A., et al., Fluorescence correlation spectroscopy of flavins and flavoenzymes: photochemical and photophysical aspects. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 57(11): p. 2135-2144, 2001.
- [25] Magliulo, M., et al., A rapid multiplexed chemiluminescent immunoassay for the detection of *Escherichia coli* O157: H7, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* pathogen bacteria. *Journal of agricultural and food chemistry*. 55(13): p. 4933-4939, 2007.
- [26] Gunasekera, T.S., P.V. Attfield, and D.A. Veal, A flow cytometry method for rapid detection and enumeration of total bacteria in milk. *Applied and environmental microbiology*. 66(3): p. 1228-1232, 2000.



- [27] Yang, L., et al., Interdigitated microelectrode (IME) impedance sensor for the detection of viable *Salmonella typhimurium*. *Biosensors and Bioelectronics*. 19(10): p. 1139-1147, 2004.
- [28] Meier, H., et al., Specific oligonucleotide probes for in situ detection of a major group of gram-positive bacteria with low DNA G+ C content. *Systematic and Applied Microbiology*. 22(2): p. 186-196, 1999.
- [29] Morgan, H. and N.G. Green, *AC Electrokinetics: Colloids and Nanoparticles*: Research Studies Press, 2003.
- [30] Sun, T. and H. Morgan, Single-cell microfluidic impedance cytometry: a review. *Microfluidics and Nanofluidics*. 8(4): p. 423-443, 2010.
- [31] Höber, R., Eine Methode, die elektrische Leitfähigkeit im Innern von Zellen zu messen. *Pflüger's Archiv für die gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere*. 133(4-6): p. 237-253, 1910.
- [32] Fricke, H., A mathematical treatment of the electrical conductivity of colloids and cell suspensions. *The Journal of general physiology*. 6(4): p. 375-384, 1924.
- [33] Schwan, H.P., Electrical properties of tissue and cell suspensions. *Advances in biological and medical physics*. 5: p. 147-209, 1956.
- [34] Hoffman, R., T. Johnson, and W. Britt, Flow cytometric electronic direct current volume and radiofrequency impedance measurements of single cells and particles. *Cytometry*. 1(6): p. 377-384, 1981.
- [35] Saleh, O. and L. Sohn, Quantitative sensing of nanoscale colloids using a microchip Coulter counter. *Review of Scientific Instruments*. 72(12): p. 4449-4451, 2001.

- [36] Nieuwenhuis, J.H., et al., Integrated Coulter counter based on 2-dimensional liquid aperture control. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 102(1): p. 44-50, 2004.
- [37] Cole, M.C. and P.J. Kenis, Multiplexed electrical sensor arrays in microfluidic networks. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 136(2): p. 350-358, 2009.
- [38] Bard, A.J. and L.R. Faulkner, *Electrochemical methods: fundamentals and applications*. Vol. 2: Wiley New York, 1980.
- [39] Ayliffe, H.E. and R. Rabbitt, Electric impedance spectroscopy using microchannels with integrated metal electrodes. *Microelectromechanical Systems, Journal of*. 8(1): p. 50-57, 1999.
- [40] Gawad, S., L. Schild, and P. Renaud, Micromachined impedance spectroscopy flow cytometer for cell analysis and particle sizing. *Lab on a Chip*. 1(1): p. 76-82, 2001.
- [41] Malleo, D., et al., Continuous differential impedance spectroscopy of single cells. *Microfluidics and nanofluidics*. 9(2-3): p. 191-198, 2010.
- [42] Holmes, D., et al., Leukocyte analysis and differentiation using high speed microfluidic single cell impedance cytometry. *Lab on a Chip*. 9(20): p. 2881-2889, 2009.
- [43] Demierre, N., et al., Characterization and optimization of liquid electrodes for lateral dielectrophoresis. *Lab on a Chip*. 7(3): p. 355-365, 2007.
- [44] Du, E., et al., Electric impedance microflow cytometry for characterization of cell disease states. *Lab on a chip*. 13(19): p. 3903-3909, 2013.

- [45] Gómez-Sjöberg, R., D.T. Morissette, and R. Bashir, Impedance microbiology-on-a-chip: Microfluidic bioprocessor for rapid detection of bacterial metabolism. *Microelectromechanical Systems, Journal of*. 14(4): p. 829-838, 2005.
- [46] Stewart, G.N., The charges produced by the growth of bacteria in the molecular concentration and electrical conductivity of culture MEDIA. *The Journal of experimental medicine*. 4(2): p. 235-243, 1899.
- [47] Colvin, H. and J. Sherris, Electrical impedance measurements in the reading and monitoring of broth dilution susceptibility tests. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 12(1): p. 61-66, 1977.
- [48] Bilican, I., et al., Capacitive solvent sensing with interdigitated microelectrodes. *Microsystem Technologies*: p. 1-10, 2015.
- [49] Kim, G., et al. Interdigitated microelectrode based impedance biosensor for detection of salmonella enteritidis in food samples. in *Journal of Physics: Conference Series*. IOP Publishing. 2008.
- [50] Chen, H., et al., An electrochemical impedance immunosensor with signal amplification based on Au-colloid labeled antibody complex. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 117(1): p. 211-218, 2006.
- [51] Laczka, O., et al., Detection of Escherichia coli and Salmonella typhimurium using interdigitated microelectrode capacitive immunosensors: the importance of transducer geometry. *Analytical chemistry*. 80(19): p. 7239-7247, 2008
- [52] Bernabini, C., D. Holmes, and H. Morgan, Micro-impedance cytometry for detection and analysis of micron-sized particles and bacteria. *Lab on a Chip*. 11(3): p. 407-412, 2011.

- [53] Choi, H., et al., A flow cytometry-based submicron-sized bacterial detection system using a movable virtual wall. *Lab on a Chip*. 14(13): p. 2327-2333, 2014.
- [54] Haandbæk, N., et al., Resonance-enhanced microfluidic impedance cytometer for detection of single bacteria. *Lab on a Chip*. 14(17): p. 3313-3324, 2014.
- [55] Boon, E.M., J.E. Salas, and J.K. Barton, An electrical probe of protein–DNA interactions on DNA-modified surfaces. *Nature biotechnology*. 20(3): p. 282-286, 2002.
- [56] Zheng, G., et al., Multiplexed electrical detection of cancer markers with nanowire sensor arrays. *Nature biotechnology*. 23(10): p. 1294-1301, 2005.
- [57] Çetin, B. and D. Li, Dielectrophoresis in microfluidics technology. *Electrophoresis*. 32(18): p. 2410-2427, 2011.
- [58] Penner, R.M., M.J. Heben, and N.S. Lewis, Preparation and electrochemical characterization of conical and hemispherical ultramicroelectrodes. *Analytical Chemistry*. 61(15): p. 1630-1636, 1989.
- [59] Triroj, N., et al., Microfluidic chip-based nanoelectrode array as miniaturized biochemical sensing platform for prostate-specific antigen detection. *Biosensors and Bioelectronics*. 26(6): p. 2927-2933, 2011.
- [60] Hsieh, B.-C., et al., Pencil lead microelectrode and the application on cell dielectrophoresis. *Electrochimica Acta*. 56(27): p. 9916-9920, 2011.
- [61] Kawagoe, K.T., J.A. Jankowski, and R.M. Wightman, Etched carbon-fiber electrodes as amperometric detectors of catecholamine secretion from isolated biological cells. *Analytical Chemistry*. 63(15): p. 1589-1594, 1991.

- [62] Kenis, P.J., R.F. Ismagilov, and G.M. Whitesides, Microfabrication inside capillaries using multiphase laminar flow patterning. *Science*. 285(5424): p. 83-85, 1999.
- [63] Park, S.-J., T.A. Taton, and C.A. Mirkin, Array-based electrical detection of DNA with nanoparticle probes. *Science*. 295(5559): p. 1503-1506, 2002.
- [64] Park, H., et al., Fabrication of metallic electrodes with nanometer separation by electromigration. *Applied Physics Letters*. 75(2): p. 301-303, 1999.
- [65] Penner, R., et al., Fabrication and use of nanometer-sized electrodes in electrochemistry. *Science*. 250(4984): p. 1118-1121, 1990.
- [66] Sukas, S., et al., A novel side electrode configuration integrated in fused silica microsystems for synchronous optical and electrical spectroscopy. *Lab on a chip*. 14(11): p. 1821-1825, 2014.
- [67] Gao, N., et al., A simple approach for fabrication of dual-disk electrodes with a nanometer-radius electrode and a micrometer-radius electrode. *Talanta*. 73(3): p. 589-593, 2007.
- [68] Paek, S.-H., et al. Microfabrication of dual opposite silver electrodes inside a micro-channel by means of multiphase laminar flow with density difference. in *Proceedings of the Twelfth International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (uTAS)*. 2008.
- [69] Siegel, A.C., et al., Microsolidics: Fabrication of Three-Dimensional Metallic Microstructures in Poly (dimethylsiloxane). *Advanced Materials*. 19(5): p. 727-733, 2007.
- [70] Rogers, J.A., T. Someya, and Y. Huang, Materials and mechanics for stretchable electronics. *Science*. 327(5973): p. 1603-1607, 2010.

- [71] Darain, F., S.-U. Park, and Y.-B. Shim, Disposable amperometric immunosensor system for rabbit IgG using a conducting polymer modified screen-printed electrode. *Biosensors and Bioelectronics*. 18(5): p. 773-780, 2003.
- [72] Patolsky, F., G. Zheng, and C.M. Lieber, Nanowire-based biosensors. *Analytical Chemistry*. 78(13): p. 4260-4269, 2006.
- [73] Peterson, S.L., et al., Poly (dimethylsiloxane) thin films as biocompatible coatings for microfluidic devices: cell culture and flow studies with glial cells. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 72(1): p. 10-18, 2005.
- [74] Chen, Q., et al., Investigation and improvement of reversible microfluidic devices based on glass–PDMS–glass sandwich configuration. *Microfluidics and nanofluidics*. 16(1-2): p. 83-90, 2014.
- [75] Kim, B.H. and G.M. Gadd, *Bacterial physiology and metabolism*.: Cambridge university press, 2008.
- [76] Morgan, H., et al., Single cell dielectric spectroscopy. *Journal of Physics D: Applied Physics*. 40(1): p. 61, 2007.
- [77] Asami, K., T. Hanai, and N. KoIZUMI, Dielectric analysis of Escherichia coli suspensions in the light of the theory of interfacial polarization. *Biophysical journal*. 31(2): p. 215, 1980.
- [78] Rodriguez-Trujillo, R., et al., High-speed particle detection in a micro-Coulter counter with two-dimensional adjustable aperture. *Biosensors and Bioelectronics*. 24(2): p. 290-296, 2008.
- [79] Riordon, J., M. Mirzaei, and M. Godin, Microfluidic cell volume sensor with tunable sensitivity. *Lab on a Chip*. 12(17): p. 3016-3019, 2012.

- [80] Unger, M.A., et al., Monolithic microfabricated valves and pumps by multilayer soft lithography. *Science*. 288(5463): p. 113-116, 2000.



## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Mustafa Tahsin Güler

Doğum Tarihi : 27.05.1984

Yabancı Dil : İngilizce

Lisans : Gazi Üniversitesi Fizik Bölümü/ 2008

Yüksek Lisans : Kırıkkale Üniversitesi Fizik Bölümü/ 2011

Çalıştığı Kurum: Kırıkkale Üniversitesi'nde 2009'dan beri Araştırma Görevlisi

Yayımları (SCI) :

Bilican, I., Guler, M. T., Gulener, N., Yuksel, M., & Agan, S. (2015). Capacitive solvent sensing with interdigitated microelectrodes. *Microsystem Technologies*, 1-10.

Guler, M. T., Bilican, I., Agan, S., & Elbuken, C. (2015). A simple approach for the fabrication of 3D microelectrodes for impedimetric sensing. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 25(9), 095019.

Araştırma Alanları : Mikro akışkanlar, biyosensörler, POC, mikro üretim