

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
BİYOTEKNOLOJİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**KAN PIHTILAŞMA SÜRESİNİN BELİRLENMESİ İÇİN QCM
TABANLI BİYONSENSÖR CİHAZ TASARIMI**

HAZIRLAYAN

İREM ÖZERSAY

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA – 2023

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
BİYOTEKNOLOJİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**KAN PIHTILAŞMA SÜRESİNİN BELİRLENMESİ İÇİN QCM
TABANLI BİYOSENSÖR CİHAZ TASARIMI**

HAZIRLAYAN

İREM ÖZERSAY

TEZ DANIŞMANI

DR. ÖĞR. ÜYESİ ORHAN ERDEM HABERAL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA – 2023

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı Biyoteknoloji Tezli Yüksek Lisans Programı çerçevesinde İrem ÖZERSAY tarafından hazırlanan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 10 / 08 / 2023

Tez Adı: Kan Pıhtılaşma Süresinin Belirlenmesi İçin QCM Tabanlı Biyosensör Cihaz Tasarımı

Tez Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı - Soyadı, Kurumu)

İmza

Prof. Dr. Emir Baki DENKBAŞ, Başkent Üniversitesi

.....

Doç. Dr. Pelin TELKOPARAN AKILLILAR, Yüksek İhtisas Üniversitesi

.....

Dr. Öğr. Üyesi Orhan Erdem HABERAL, Başkent Üniversitesi

.....

ONAY

Prof. Dr. Faruk ELALDI
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü
Tarih : ... / ... /

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

Tarih: ... / ... / 20...

Öğrencinin Adı, Soyadı : İrem ÖZERSAY

Öğrencinin Numarası : 22110218

Anabilim Dalı : Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı

Programı : Biyoteknoloji Programı

Danışmanın Unvanı/Adı, Soyadı : Dr. Öğr. Üyesi Orhan Erdem HABERAL

Tez Başlığı : Kan Pıhtılaşma Süresinin Belirlenmesi İçin QCM Tabanlı Biyosensör Cihaz Tasarımı

Yukarıda başlığı belirtilen Yüksek Lisans tez çalışmamın; Giriş, Ana Bölümler ve Sonuç Bölümünden oluşan, toplam 63 sayfalık kısmına ilişkin, 07 / 08 / 2023 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 5'dir. Uygulanan filtrelemeler:

1. Kaynakça hariç
2. Alıntılar hariç
3. Beş (5) kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

“Başkent Üniversitesi Enstitüleri Tez Çalışması Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Usul ve Esaslarını” inceledim ve bu uygulama esaslarında belirtilen azami benzerlik oranlarına tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Öğrenci İmzası:.....

ONAY

Tarih: ... / ... / 20...

Dr. Öğr. Üyesi Orhan Erdem HABERAL

.....

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitim hayatımda bana yardımını ve desteğini esirgemeyen, değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda bilgi ve desteğini almaktan çekinmediğim, tezimde kendimi geliştirmeme olanak sunan, her türlü sorumu cevaplayıp bütün stresli anlarımda yanımda duran yardımlarını esirgemeyen, teşvik eden, beni yönlendiren değerli danışmanım, Dr. Orhan Erdem HABERAL'a en içten teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım. Deneysel çalışmalarımı yürütmem için gerekli laboratuvar olanaklarını sunan Biyotek TEKMER Genel Müdürü sayın Ali İhsan ÜNLÜ'ye, her türlü sorunumda güler yüzü ve sevecen yaklaşımlarıyla yanımda olan Laboratuvar Sorumlusu Arzu GÖZAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitim hayatımın başında neşesi ve güler yüzü ile hayatıma giren, her saniye birlikte gülebildiğim, deney süreçlerinde her an yardımını hissettiğim ve benden desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen biricik arkadaşım Şeyma Nur YILMAZ'a

Bilgi birikimi ve ilgisiyle her soruma itina ile cevap verip gerek deneylerim süresince gerek tez yazımında benden desteklerini esirgemeyen her pes edişimde beni kaldıran canım dostum Gizem ÖRS BURDUROĞLU'na

Eğitim hayatımın yanı sıra attığım her adım süresince beni her daim destekleyen, çok sevdiğim ve her şeyi minnettar olduğum bu günlere gelmemde sonsuz emeği olan sevgili annem Hale ÖZERSAY'a, varlığı ile güç bulduğum babam Riza Güven ÖZERSAY'a sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Ve teşekkür etmeye hiçbir sayfanın yetmeyeceği, en zor ve stresli günlerimde daima yanımda olan, Alperen YILMAZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

İrem ÖZERSAY

KAN PIHTILAŞMA SÜRESİNİN BELİRLENMESİ İÇİN QCM TABANLI BİYOSENSÖR CİHAZ TASARIMI

Başkent Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı

2023

Kuvars kristal mikro terazi (QCM) biyosensörleri, son yirmi yılda biyomoleküllerin gerçek zamanlı ve hızlı tespiti için umut verici araçlardır. Biyosensörlere dayalı hızlı, kullanımı kolay ve ucuz bir biyobelirteç algılama teknolojisi geliştirilmiştir. Bu inceleme, hastalık izleme ve teşhis sonuçları için biyobelirteçlerin nicelleştirilmesi için moleküler baskıya dayalı kuvars kristal mikro terazi biyosensörlerindeki güncel uygulamaları sunar. QCM, erken ve doğru klinik tanıya iyileştirme sağlayan ve hastalık tedavi sürecini kolaylaştırabilen, kısa tespit süresine sahip, güvenilir, düşük maliyetli ve hassas bir biyoalgılama aracıdır. Bu nedenle kanda, idrarda, tükürükte vb. hastalıkla ilgili biyobelirteçlerin saptanması ve nicelenmesi çok önemli bir rol oynar. Daha önce gerçekleştirilen çalışmalarla fibrin oluşumu yerinde ve elektrot yüzeyinde gerçek zamanlı olarak tespit edilmiş ve QCM biyosensörünün yüzey kaynaklı kan pıhtılaşmasının belirlenmesi için çok faydalı bir alternatif olduğu ortaya çıkmıştır. QCM frekans kaymaları, başlangıç zamanı ve fibrin birikim hızı gibi genel pıhtılaşma kinetiği hakkında bilgi verir. Klasik QCM tekniği daha önce fibrinojen konsantrasyonunu, kan pıhtılaşma faktörlerinin aktivitesini ve pıhtılaşma süresini belirlemek için kullanılmıştır. Bu tez çalışmasında kan pıhtılaşmasında rol alan fibrinojenin yüksek hassasiyetle tespiti için bir QCM biyosensörü tasarımı amaçlanmıştır. Klinik plazma örneklerinde kan pıhtılaşma sürelerini saptamak için laboratuvarında tasarlanan ve üretilen QCM biyosensörünü kullanmak temel hedeftir. Kan pıhtılaşmasında görev alan fibrinojenin kütle artımıyla birlikte QCM biyosensörünün frekans aralığındaki değişimini saptamak ve belirli bir metot geliştirerek bunu mikroakışkan bir sistem haline getirmek amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda tez kapsamında kan pıhtılaşmasında rol alan fibrinojenin yüksek hassasiyetle tespiti için bir QCM biyosensörü tasarımı klinik plazma örneklerinde kan pıhtılaşma sürelerini saptamak için laboratuvarında tasarlanmıştır. Yansıra tasarlanan sistem için uygun kan hacimleri 1 uL olarak belirlenmiş

ve standartlar ortaya konulmuştur. QCM biyosensörü klinik kullanımda henüz yaygınlaştırılamasa da bir adım olarak görülebilir. Üzerinde çalışılması gerekir. Tez deneyleri sonuçları göz önünde bulunduğunda ilk aşama olarak kullanımı olumlu gözükse bile gerekli laboratuvar testlerinin gerçekleştirilmesi zorunlu olmalıdır. Kan pıhtılaşmasında görev alan fibrinojenin 1uL kan hacminde ortaya çıkmasıyla QCM biyosensörünün frekans değişimi ortalama 450Hz olarak ortaya konulmuştur.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Biyosensör, Kütle Hassas Sensör, Kuvars Mikro Terazî (QCM), Fibrinojen



ABSTRACT

İrem ÖZERSAY

QCM-BASED BIOSENSOR DEVICE DESIGN FOR DETERMINATION OF BLOOD COAGULATION TIME

Baskent University

Department Of Biotechnology

2023

Quartz crystal microbalance (QCM) biosensors have been promising tools for real-time and rapid detection of biomolecules over the past two decades. A fast, easy to use and inexpensive biomarker detection technology based on biosensors has been developed. This review presents current applications in molecular print-based quartz crystal microbalance biosensors for quantification of biomarkers for disease monitoring and diagnostic outcomes. QCM is a reliable, low-cost and sensitive biodetection tool with short detection time, which can improve early and accurate clinical diagnosis and facilitate the disease treatment process. Therefore, detection and quantification of disease-related biomarkers in blood, urine, saliva, etc. play a very important role. Previous studies have detected fibrin formation in situ and on the electrode surface in real time, and the QCM biosensor has proven to be a very useful alternative for the detection of surface-induced blood coagulation. QCM provides information on general coagulation kinetics, such as frequency shifts, onset time, and fibrin deposition rate. The classical QCM technique has previously been used to determine fibrinogen concentration, activity of blood coagulation factors, and coagulation time. In this thesis, it is aimed to design a QCM biosensor for high sensitivity detection of fibrinogen, which is involved in blood coagulation. The primary goal is to use the lab-designed and manufactured QCM biosensor to detect fibrinogen and coagulation FVIII concentrations in clinical plasma samples. It is aimed to determine the change in the frequency range of the QCM biosensor with the increase in mass of fibrinogen, which is involved in blood coagulation, and to make it a microfluidic system by developing a specific method. For this purpose, within the scope of the thesis, a QCM biosensor design for high sensitivity detection of fibrinogen involved in blood coagulation was designed in the laboratory to detect

fibrinogen and coagulation FVIII concentrations in clinical plasma samples. In addition, suitable blood volumes for the designed system were determined as 1 μ L and standards were set. Although the QCM biosensor has not yet been deployed in clinical use, it can be seen as a step forward. It needs to be worked on. Considering the results of the thesis experiments, it should be mandatory to perform the necessary laboratory tests, even if its use as a first step seems positive. The frequency change of the QCM biosensor was revealed as an average of 450Hz, with the emergence of fibrinogen, which is involved in blood coagulation, in 1uL blood volume.

KEYWORDS: Biosensor, Mass Sensitive Sensor, Quartz Micro Balance (QCM), Fibrinogen

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar LİSTESİ	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Kan ve Kan Pıhtılaşma Kaskadı.....	1
1.2. Kan Pıhtılaşma Kaskadında Gerçekleşen Reaksiyonlar	3
1.3. Koagülasyon Testleri	5
1.4. Kan Pıhtılaşma Süreleri	7
1.5. Sensörler ve Biyosensörler	7
1.6. Çevirici tipine Göre Biyosensör Sınıflandırmaları	8
1.6.1. Elektrokimyasal Biyosensörler	8
1.6.2. Optik Biyosensörler	9
1.6.3. Isı Değişim Biyosensörleri	9
1.6.4. Kütle Değişim Biyosensörleri.....	10
1.7. Kuvars Kristal Mikro Teraziler	11
1.8. Kuvars Kristal Mikro Terazilerin Kütle Değişimi.....	16
1.9. Klinik Tanıda Kuvars Kristal Mikro Teraziler	18
1.10. Prototip PCB Makinesi.....	20
1.11. Üç Boyutlu Yazıcı.....	21
2. DENEYSEL ÇALIŞMA.....	22
3. MATERYAL METOT	23
3.1. Deneyde Kullanılan Malzemeler	23
3.2. Osilatör ve Frekans Sayıcı.....	23
3.3. Sensör Tasarımları ve Frekans Stabilite Çalışmaları.....	26
3.3.1. Kristal Osilatör Devre Elemanı İle Tasarımlar	26
3.3.2. Tek ve Çift Taraflı Kuvars Kristalleri ile Denemeler.....	31
3.3.3. Stanford Research Systems (SRS) Kuvars Kristal Denemeleri.....	38

3.4. Standart için Konsantrasyon Denemeleri	41
3.5. Pıhtılaşma için Uygun Kan Hacimleri.....	45
3.6. Pıhtılaşma İçin Optimal Koşullar	45
4. BULGULAR	47
4.1. Hacme Göre Kan Denemeleri	47
4.1.1. Deney Hazırlığı.....	47
4.1.2. 1uL Kan Denemeleri.....	47
4.1.3. 2 uL Kan Denemeleri.....	49
4.1.4. 3 uL Kan Denemeleri.....	50
4.1.5. 5 uL Kan Denemeleri.....	51
5. TARTIŞMA.....	54
6. SONUÇLAR.....	56
6.1. Tasarlanan Sistem Belirlenmesi.....	56
6.2. QCM Frekans Değişiklikleri	57
6.3. Kan Pıhtılaşması Süresince Isı	59
6.4. Damlatılan Kan Miktarı ve Pıhtılaşma Süresi	59
KAYNAKLAR.....	62

TABLÖLAR LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 1.1. Kan Pıhtılaşma Faktörleri	2
Tablo 1.2. Kan Pıhtılaşma Kaskadında Yer Alan Ana Reaksiyonlar	4
Tablo 1.3. Biyosensör Çeşitleri	8
Tablo 3.1. Hacim Farklarına Göre Frekans Değişim Tablosu.....	44



ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Kan Pıhtılaşma Kaskadında Gerçekleşen Reaksiyonlar.....	5
Şekil 3.1. Frekans Sayıcının Devre Şeması [24]	25
Şekil 3.2. Frekans Sayıcı ve Osilatör Baskı Devresi[24]	25
Şekil 3.3. Kistal Osilatör Devre Elemanları	27
Şekil 3.4. Colpitts Osilatör Devre Şeması[57]	29
Şekil 3.5. Kristal Osilatör Elemanları.....	29
Şekil 3.6. Autodesk Fusion 360 Programı İle Tasarlanan Kristal Osilaörler Uygun Tasarım.....	30
Şekil 3.7. 14.1mm 5MHz Altın Tek Yüzey Elektrotlu Kristal.....	31
Şekil 3.8. 14.1mm 5MHz Altın Çift Yüzey Elektrotlu Kristal.....	31
Şekil 3.9. Autodesk Fusion 360 Programı İle Tasarlanan Çift Taraflı Elektrotlara Uygun Tasarım Modeli	33
Şekil 3.10. Üç Boyutlu Yazıcı İle Çift Taraf Elektrotlu Kristaller İçin Bastırılan Tasarım	33
Şekil 3.11. Bakır Levha ve O-ringler İle Gerçekleştirilen Tasarım.....	34
Şekil 3.12. Tek Taraflı Elektrotları Bulunan Kristaller İle Krem Lehim Denemesi	35
Şekil 3.13. Voltera Cihazı İle Gerçekleştirilen ve Frekans Değeri Elde Edilen Tasarım....	36
Şekil 3.14. Voltera Cihazında Pleksi İle Gerçekleştirilen Tasarım	37
Şekil 3.15. Voltera Cihazı İle Gerçekleştirilen Tasarımdan Elde Edilen Frekans Değerleri	37
Şekil 3.16. 25.4mm 5Mhz Altın Kristal	38
Şekil 3.17. Autodesk Programı ile hazırlanan SRS Kristal Tasarımı.....	39
Şekil 3.18. Tasarımda Kullanılan O-ringler	39
Şekil 3.19. İletken O-ring Kullanılan SRS Kristal Tasarımları.....	40

Şekil 3.20. SRS Kristal ile Elde Edilen Frekans Değeri.....	41
Şekil 3.21. Hacim Değişiminin Frekans Değişimine Yansıma Grafiği.....	44
Şekil 4.1. 1uL Kan Denemelerinin Zamana Göre Ortalama Frekans Sonuçları	49
Şekil 4.2. 2 uL Kan Denemelerinin Zamana Göre Ortalama Frekans Sonuçları	50
Şekil 4.3. 3 uL Kan Denemelerinin Zamana Göre Ortalama Frekans Sonuçları	51
Şekil 4.4. 5 uL Kan Denemelerinin Zamana Göre Ortalama Frekans Sonuçları	53



SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

A	: kristal üzerindeki elektrodun altında kalan alan (cm ²),
ABS	: Acrylonitrile Butadiene Styrene, mukavemeti yüksek ve petrol bazlı bir termoplastik
AT Kesim	: Z ekseninden 35 ° 15' açıyla kesilmesi
C	: kalibrasyon sabiti
Ca	: Kalsiyum
DNA	: Deoksiribonükleik asit
QCM	: Kuvars kristal mikroterazi
Δf	: Frekans değişimi, kayması
F	: Frekans
Hz	: Frekans birimi, Hertz
pH	: Asitlik derecesi, Hidrojen konsantrasyonunun 10 tabanında negatif logaritması
Q	: Yük indirgenmesi
Q faktörü	: Rezonans devresinde kalite faktörü
uL	: Hacim birimi, mikrolitre
SRS	: Stanford Research Systems
INR	: International Normal Rate, Uluslararası normalleştirilmiş oran
aPTT	: Aktive parsiyel tromboplastin zamanı
PT	: Protrombin zamanı
TT	: Trombin zamanı
QTF	: Kuvars Akort Çatalı
SPR	: Yüzey plazmon rezonansı
Δm	: kütle değişimini
m	: kristal kütlesi (g),
$\Delta \rho$	: kristal yoğunluğu (kuvars için: 2.65 g/cm ³)
PLA	: Polylactic Acid, mısır nişastası ve şeker kamışından üretilen organik bir biyopolimer
PIC	: Peripheral Interface Controller, çevresel ünite denetleme arabirimi
PCB	: Printed Circuit Board

1. GİRİŞ

1.1. Kan ve Kan Pıhtılaşma Kaskadı

Kan, organizmayı doku hasarı ve enfeksiyondan koruyan savunma mekanizmalarında önemli rol oynar. Kan pıhtılaşması, kanamaya karşı geliştirilmiş önemli bir savunma mekanizmasıdır. [1]

Pıhtılaşma sistemi vasküler lezyonu tıkayan trombosit tıkaçının oluşumu ile koordine edilir. Pıhtılaşma ve akışkanlık arasındaki hassas denge antikoagülan ve prokoagülan maddelerin dengesiyle sağlanır. Prokoagülanlar kanda pıhtılaşmayı sağlayan maddeler iken antikoagülanlar pıhtılaşmayı inhibe eden maddeler olarak tanımlanırlar. Trombin, temel prokoagülan madde oluşu ile koagülasyon sisteminin merkezinde yer alır. [2] Trombin, trombositlerin aktivasyonu, fibrinojenin bir fibrin ağına dönüştürülmesi ve pıhtılaşmanın geri besleme amplifikasyonu gibi biyolojik olarak önemli birçok işlevi olan pıhtılaşma sisteminin enzimidir. Trombositler, plazma pıhtılaşma faktörlerinin lokal aktivasyonunu uyarak trombosit agregasyonunu güçlendiren bir fibrin pıhtısı oluşumuna yol açar. [3]

Evrimsel olarak korunan kan pıhtılaşma yolunun çekirdeği, bir dizi proteaz ve yaralanma bölgelerinde fibrin oluşumunu kontrol etmek için bu proteazları modüle eden bir dizi kofaktör içerir. Hemostaz, transkripsiyonel veya translasyonel düzenlemeyi tolere edemeyecek kadar hızlıdır. Bu nedenle bazı proteinler bunun yerine plazmada inaktif zimojenler ve düzenlenmiş sınırlı proteoliz tarafından aktive edilen prokofaktörler (pıhtılaşma faktörleri) olarak dolaşırlar. Pıhtılaşma faktörleri kan pıhtısı oluşması için gerekli bir proteinler grubudur. Klinik açıdan rutin olarak ölçülen dokuz pıhtılaşma faktörü mevcuttur. Bu faktörler adlarıyla veya bir Romen rakamı veya bazen her ikisiyle belirtilmektedir. Bu faktörlerden biri veya fazlası eksikse, çok az miktarda üretilmişse veya doğru işlev görmüyorsa aşırı kanamaya neden olabilmektedir. Tablo 1’de pıhtılaşma faktörleri isimleriyle birlikte verilmiştir.

Tablo 1.1. Kan Pıhtılaşma Faktörleri

Faktör I	Fibrinojen	Kanın pıhtılaşma sürecinde temel bir rol oynar. Fibrinojen, pıhtıların yapısını oluşturan fibrin adı verilen bir proteinin öncülüdür.
Faktör II	Protrombin	Protrombin, trombin adı verilen bir enzim oluşturmak için diğer faktörlerle birleşerek pıhtılaşma sürecini başlatır.
Faktör III	Doku faktörü	Doku faktörü, yaralanmalarda serbest bırakılan bir doku proteindir. Kanın pıhtılaşma sürecini hızlandırır.
Faktör IV	Kalsiyum	Kalsiyum, pıhtılaşma sürecinde bir kofaktördür. Diğer pıhtılaşma faktörleriyle birleşerek trombin oluşumunu sağlar.
Faktör V	Proakselerin, değişken faktör	Faktör V, trombinin oluşumu sırasında etkin hale gelir ve pıhtılaşma sürecine katkıda bulunur.
Faktör VII	Prokonvertin, stabil faktör	Faktör VII, doku faktörüyle birleşerek trombin oluşumunu başlatır.
Faktör VIII	Antihemofilik faktör A (AHC)	Faktör VIII, kan pıhtılaşmasında önemli bir rol oynar ve von Willebrand faktörü ile birleşerek pıhtılaşma sürecini hızlandırır.
Faktör IX	Antihemofilik faktör B, PTC	Faktör IX, faktör VIII ile birlikte çalışarak pıhtılaşma sürecini düzenler.
Faktör X	Stuart-Prower faktörü	Faktör X, trombin oluşumunda önemli bir rol oynar ve pıhtılaşma sürecini başlatır.
Faktör XI	Plazma tromboplastin antesadanı, Faktör C	Faktör XI, pıhtılaşma sürecinde önemli bir rol oynar ve diğer faktörlerle etkileşime girerek pıhtılaşmayı hızlandırır.
Faktör XII	Hagemen Faktörü	Faktör XII, kanın pıhtılaşma sürecinin başlamasında rol oynar ve diğer faktörlerle birleşerek pıhtılaşmayı başlatır.
Faktör XIII	Fibrin stabilize edici faktör	Faktör XIII, pıhtının yapısını stabil hale getiren bir enzimdir.

Pıhtılaşma faktörleri, kanın normal şekilde pıhtılaşması sürecinde rol oynayan proteinlerdir. Bu faktörler, kanama durduktan sonra kanın pıhtılaşmasını başlatır ve düzenler. Pıhtılaşma kaskadının düzgün çalışmasını sağlar. Herhangi bir faktördeki eksiklik veya bozukluk, kanama bozukluklarına veya aşırı pıhtılaşmaya yol açabilir.

Kan pıhtılaşmasında ve kan pıhtılaşmasının düzenlenmesinde rol oynayan temel K vitaminine bağımlı proteazlar protrombin, faktör VII, faktör IX, faktör X ve protein C'dir.

İçsel enzimatik aktiviteye sahip olmayan bir dizi kofaktör, ya katalitik etkinliği ya da substrat özgülüğünü değiştirmek için kan pıhtılaşmasının proteazları ile etkileşime girer. [4]

Koagülasyon kaskadı temel olarak iki yoldan oluşur. Bunlardan ilki yarada açığa çıkan kollajen ile intrinsik yol olarak diğeri ise yaradan salgılanan doku faktörü ile ekstrinsek yol olarak adlandırılır. Faktör VIII Faktör XII, faktör XI ve faktör IX intrinsik yola dahildir. Faktör III ve faktör VII ise ekstrinsek yolda tanımlanır. Pıhtı oluşumunda ekstrinsek yolun fonksiyonu daha baskındır. Bu iki yol sonra birleşir; ortak yol oluşur. İntrinsik ve ekstrinsek yolla aktive olan Faktör X, Faktör V ile birleşir ve bir kompleks oluşturur ve trombin adı verilen bir enzim oluşmasına neden olur. Trombin, fibrinojen adı verilen bir proteinin fibrin adı verilen lifli bir forma dönüşmesine neden olur. Fibrin, bir pıhtıyı oluşturur ve kanın akmasını durdurur. Pıhtılaşma kaskadında birçok faktör, protein ve enzim yer alır ve bu faktörlerin etkileşimi çok karmaşıktır. Pıhtılaşma kaskadı, tam olarak kontrol edilmediğinde veya aşırı uyarıldığında, kan pıhtılarına yol açarak tromboz riskini artırabilir. Bu nedenle, kan pıhtılaşması ile ilgili araştırmalar ve tedaviler, pıhtılaşma kaskadının tam olarak anlaşılması ve kontrol edilmesi gerektiğini vurgular. [5]

Kan pıhtılaşma kaskadı, fibrinojenin fibrine dönüşmesiyle doruğa ulaşır ve esasen proteolitik hasar sinyalinin, tetikleyen doku defektini kapatabilen bir fibrin pıhtısına iletir. Fibrinojen, sinyal rolünden ziyade mekanik rolüyle tutarlı olarak plazmada en bol bulunan pıhtılaşma proteindir. [4] Fibrin oligomerleri başlangıçta yalnızca kovalent olmayan bir şekilde bağlıdır, ancak faktör XIII'ün etkisi ile kovalent olarak stabilize edilebilir. [6]

Fibrin de trombin ile etkileşime girebildiği ve trombin için rekabet edebildiği için kendi birikimini düzenlemeye yardımcı olur. Bu nedenle, fibrinogeninde kalıtsal kusurları olan bazı hastalar kanamaya ek olarak tromboembolik hastalığa da duyarlıdır. Bu fibrinojen bozuklukları; düşük fibrinojen seviyeleri ile tanımlanan hipofibrinojenemi, fibrinojenin tam eksikliği olarak tanımlanan afibrinojenemi, fibrinojenin düzgün şekilde çalışmaması olarak bilinen disfibrinojenemi ve hem düşük fibrinojen seviyelerini hem de fonksiyon bozukluğunu içeren kombine bozukluk olarak bilinen hipodisfibrinojenemidir. [7], [8]

1.2. Kan Pıhtılaşma Kaskadında Gerçekleşen Reaksiyonlar

Kan pıhtılaşma kaskadı, vücudun kanama durdurma mekanizmasını sağlayan karmaşık bir dizi biyokimyasal reaksiyonları ifade eder. Bu kaskad, çeşitli faktörlerin etkileşimiyle aktive olan bir dizi enzim ve protein içerir. İşte genel olarak kan pıhtılaşma kaskadında yer alan ana reaksiyonlar:

Tablo 1.2. Kan Pıhtılaşma Kaskadında Yer Alan Ana Reaksiyonlar

Damarsal Hasar ve Trombosit Aktivasyonu	Damarsal hasarın meydana gelmesiyle birlikte, endotel (damar iç yüzey) zarar görür ve trombositler bu alana doğru hedeflenir. Trombositler, hasarlı bölgeye yapışarak aktivasyon sürecine girer.
Protrombin Aktivasyonu	Trombosit aktivasyonu, koagülasyon faktörlerinin serbestleşmesini tetikler. Faktör XII, trombin, fosfolipidler ve kalsiyum gibi faktörlerin etkisiyle protrombin (Faktör II) trombine dönüşür.
Fibrinojenin Fibrine Dönüşümü	Aktive edilen trombin, fibrinojen moleküllerinin fibrin monomerlerine dönüşümünü sağlar. Bu reaksiyon sonucunda fibrin monomerleri arasında bağlar oluşur ve fibrin polimerleri (fibrin ağı) oluşur.
Faktör XIII Aktivasyonu ve Fibrin Stabilizasyonu	Fibrin polimerleri, Faktör XIII ile kovalent olarak çapraz bağlanır. Bu çapraz bağlar, fibrin ağının stabilizasyonunu sağlar ve pıhtının dayanıklılığını artırır.
Pıhtı Çekirdeği Oluşumu	Faktörlerin etkisiyle pıhtı çekirdeği (plateletler ve hücre enküzmeleri) oluşur ve pıhtı oluşumunu destekler. Bu, genel bir özet olup, kan pıhtılaşma kaskadı oldukça karmaşık ve daha fazla aşamayı içerir. Ayrıca, bu reaksiyonlardan bazıları birbirini tetikleyerek ve düzenleyerek ilerler.

Kan pıhtılaşma kademesinde bulunan iki ana yol için farklı reaksiyonlar mevcuttur.

İç Yol Reaksiyonları;

- Temas Aşaması:
 - Faktör XII (Hageman faktörü), hasarlı kan damarlarında açığa çıkan kollajen gibi negatif yüklü yüzeylerle temasla aktive olur.
 - Faktör XIIa, prekallikreini kallikreine dönüştürür.
- Aktivasyon Aşaması:
 - Faktör XIIa, faktör XI'i (plazma tromboplastin öncülü) faktör XIa'ya dönüştürür.
 - Faktör XIa, faktör IX'u (Noel faktörü) aktive eder.

Ortak Yol Reaksiyonları;

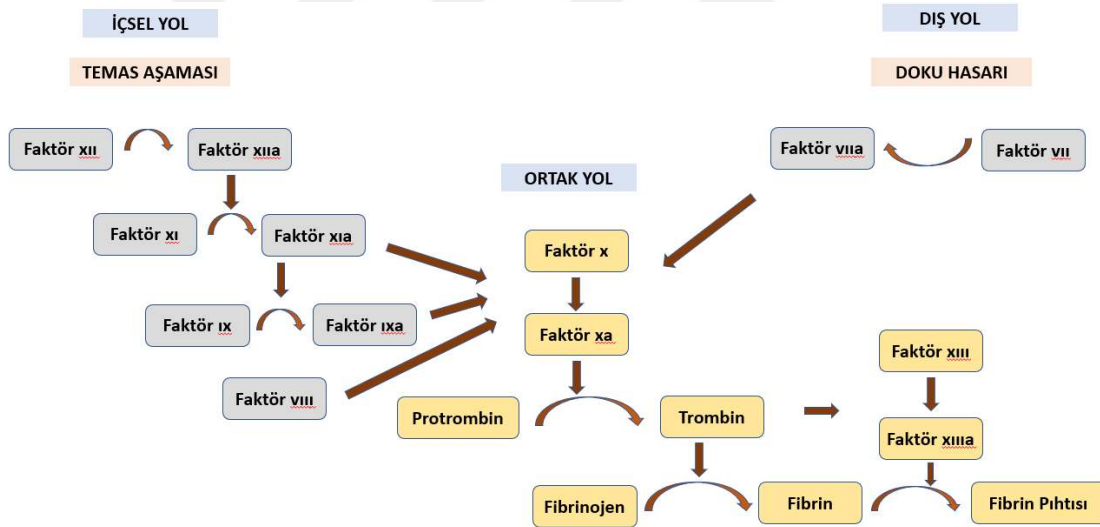
- Faktör IXa, faktör VIIIa (antihemofilik faktör) ve kalsiyum iyonları (Ca^{2+}) ile bir kompleks oluşturur.

- Faktör IXa-faktör VIIIa-Ca²⁺ kompleksi, faktör X'u (Stuart-Prower faktörü) aktive eder.
- Faktör Xa, faktör Va (proakselerin) ve kalsiyum iyonları ile bir kompleks oluşturur.
- Faktör Xa-faktör Va-Ca²⁺ kompleksi, protrombini (faktör II) trombine (faktör IIa) dönüştürür.
- Trombin Üretimi: Trombin, fibrinojeni (faktör I) fibrine (çözünmeyen fibrin polimeri) dönüştürür.
- Fibrin, bir fibrin ağı oluşturmak üzere polimerize olur.

Dış Yol Reaksiyonları;

- Doku Faktörü Aşaması

- Doku faktörü (faktör III) hasarlı dokulardan salınır. Doku faktörü, faktör VII (proconvertin) ve kalsiyum iyonları ile bir kompleks oluşturur.



Şekil 2.1. Kan Pıhtılaşma Kaskadında Gerçekleşen Reaksiyonlar

1.3. Koagülasyon Testleri

Koagülasyon testleri, kanın pıhtılaşma sürecini değerlendirmek için kullanılan laboratuvar testleridir. Bu testler, kanın pıhtılaşma kaskadındaki farklı aşamalarını ölçerek kanama veya pıhtılaşma bozukluklarının teşhisinde ve tedavisinde yardımcı olabilir. En yaygın kullanılan koagülasyon testleri şunlardır:

Protrombin zamanı (PT) testi: Bu test, kanın ekstrinsik yolunda pıhtılaşma faktörlerinin fonksiyonunu ölçer. PT testi, kanama bozukluğu veya kan inceltici ilaçlar kullanımı ile ilgili problemleri tespit etmede yardımcı olur.

Uluslararası normalleştirilmiş oran (INR) testi: PT testi sonuçları, INR olarak adlandırılan bir orana dönüştürülerek verilir. INR, kanama bozukluklarını veya kan inceltici ilaçlar kullanımını takip etmek için kullanılır.

Aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT) testi: Bu test, kanın intrinsik yolunda pıhtılaşma faktörlerinin fonksiyonunu ölçer. Ayrıca, kanın pıhtılaşma faktörlerini doğrudan etkileyen bazı ilaçlar gibi kanama veya pıhtılaşma bozukluklarını tespit etmek için de kullanılır.

Trombin zamanı (TT) testi: Bu test, trombin enziminin fibrinojeni fibrine çevirmesi için ne kadar süre gerektiğini ölçer. Bu test, kanın pıhtılaşma faktörleri ile ilgili bozuklukları tespit etmede kullanılır.

Koagülasyon testleri, bir kan örneği alınarak yapılır. Kan örneği, bir sodyum sitrat içeren tüplere içindeki antikoagülanlı bir çözeltiye yerleştirilerek alınır. Bu tüpler içerisinde kan genel olarak, dekalsifiye edilmiş (Kalsiyum tuzlarından uzaklaştırılmış) olarak bulunur. Laboratuvarda kanın pıhtılaşması için gerekli olan faktörler eklenir. Bunlar genel olarak ve pıhtılaşma süresi ölçülür. Test sonuçları, kanın pıhtılaşma yeteneğinin normal olup olmadığını belirleyebilir ve kanama veya pıhtılaşma bozuklukları hakkında bilgi verebilir. [9]

Hemostatik problemlerin değerlendirilmesi büyük ölçüde laboratuvar testlerine bağlıdır. Hemostatik problemin ilk fark edildiği yaş, problemlerin hangi koşullar altında geliştiği ve ilaç öyküsü gibi bilgiler tetkikin yönünü belirlemeye yardımcı olur.

Ekstrinsik yolun rutin testleri protrombin zamanı olarak adlandırılırken, intrinsek yolun rutin testleri, kısmi tromboplastin zamanı olarak adlandırılır. Protrombin zamanı için, plazma sitrat ile antikoagüle edilir. Kalsiyum ve bir doku faktörü kaynağı, plazmaya eklenir ve bir fibrin pıhtısı oluşturmak için gereken süre kaydedilir. Normal bir protrombin süresi 12 ila 16 saniye gerektirir.

Kısmi tromboplastin zamanı testleri için ise aynı şekilde kan plazması sitrat ile antikoagüle edilir. Numuneye kaolin, selit veya ellagik asit gibi faktör XII veya XI ile maksimum yüzey aktivasyonu için bir malzeme eklenir. Bir pıhtı oluşması için gereken süre, genellikle yaklaşık 30-60 saniyedir. Test, faktör XII, XI, X, IX, VIII ve V'in eksikliklerine duyarlıdır. Kısmi tromboplastin süresi, faktör VIII veya IX konsantrasyonları arttığında uzar. [9]

1.4. Kan Pıhtılaşma Süreleri

Kan, vücut dışında, steril ve uygun laboratuvar koşullarında, normal olarak birkaç dakika içinde pıhtılaşabilir. Pıhtılaşma hızı, kullanılan antikoagülanlar, sıcaklık, kan örneğinin alındığı bölge ve çevresel koşullara bağlı olarak değişebilir. Laboratuvarlarda pıhtılaşma süresini değerlendirmek, kanama bozuklukları ve pıhtılaşma sistemiyle ilgili sorunların teşhisini ve tedavisini sağlamak için önemlidir. Laboratuvar koşullarında yapılan pıhtılaşma testleri, gerçek vücut koşullarından farklı olabilir. Vücutta pıhtılaşma, bazı reaksiyon ve etkileşimle gerçekleşirken, laboratuvar testlerinde bu süreci tamamen gerçekleştirmek oldukça zordur. Dolayısıyla, laboratuvar test sonuçları vücut içindeki pıhtılaşma süreçlerine kıyasla farklılık gösterebilir. Klinik sonuçlar ve tedavi kararları için laboratuvar sonuçları, hastanın durumu ve klinik bulgular gibi diğer faktörlerle birlikte dikkate alınmalıdır.

Kanın vücut dışında pıhtılaşma süresi, kullanılan test yöntemi ve laboratuvarın protokolüne göre değişiklik göstermektedir. Örneğin, pıhtılaşma testi olan Prothrombin Time (PT) testi, genellikle 11 ila 15 saniye arasında bir sürede sonuçlanırken aktive parsiyel tromboplastin zamanı (APTT) testi ise, normalde 25 ila 40 saniye arasında sonuçlanır. Laboratuvar sonuçları, klinik tanı ve tedavi kararlarının belirlenmesinde sadece bir parça bilgi sağlar ve bir doktorun yorum ve değerlendirmesiyle birleştirilmelidir. [10]

1.5. Sensörler ve Biyosensörler

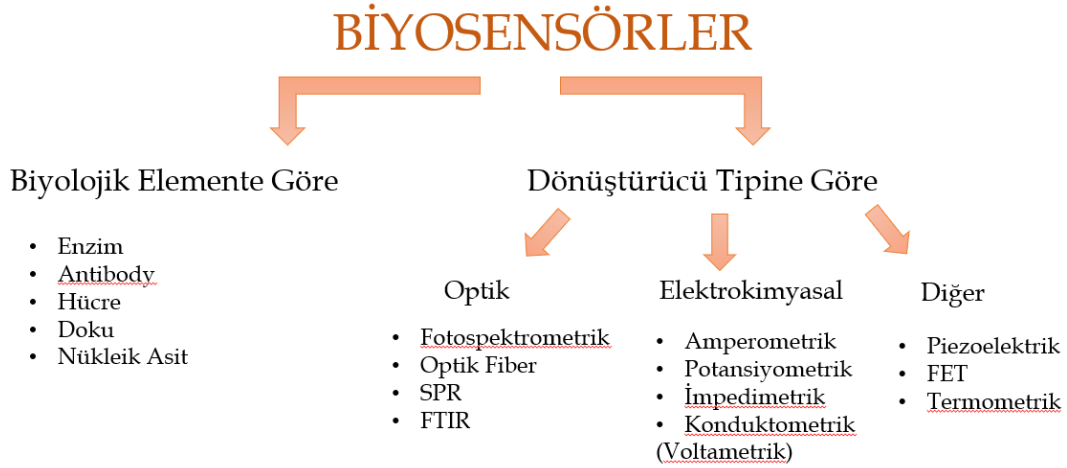
Biyosensör, Latince kökenli bir kelimeden gelmektedir. “Sensus” kelimesi “algılamak” anlamına gelmektedir. Sensör; bir sinyal karşılığında bunu algılayıp cevap üreten cihazlar olarak tanımlanabilir. [11]

Biyosensör, belirli bir DNA dizisi ya da protein gibi biyokimyasal molekülleri tanıması ve ölçmesi için tasarlanmış cihazlardır. Birçok biyosensör afnitedir. Yani analite seçici olarak bağlanan immobilize bir prob kullanılır. Böylece çözeltideki hedef molekölü tanıyarak yüzeydeki değişimi algılar. [12]

Biyosensörler, analitlerin derişimi ile orantılı ölçülebilir sinyal elde edebilmek amacıyla biyolojik algılayıcı ve fiziksel dönüştürücü ile birleştirilmiş cihazlardır. Biyolojik materyal tayin edilecek bileşen ile etkileşime girer. Biyosensörler temel olarak biyolojik elemente göre ve dönüştürücü tipine göre ikiye ayrılır. Biyolojik element olarak enzimler, nükleik asitler, antikorlar, doku ve organeller, nükleik asitler, mikroorganizmalar gibi çeşitli

biyobileşenler kullanılabilmektedir. [13] Biyosensörleri dönüştürücü tipine göre ise dört gruba ayırmak mümkündür. Tablo 2 'de biyolojik elementine göre ve dönüştürücü tipine göre biyosensörler özetlenmiştir.

Tablo 1.3. Biyosensör Çeşitleri



1.6. Çevirici tipine Göre Biyosensör Sınıflandırmaları

Çeviricilerin işlevi, maddeye özgü sinyali, ölçülebilir enerjiye çevirmektir. Genel olarak bu enerji elektrik sinyalidir. Biyosensörler, çeviricilerine göre dört ana sınıf olarak bölünebilirler. Bunlar elektrokimyasal biyosensörler, optik biyosensörler, ısı değişim sensörleri ve son olarak kütle değişim biyosensörleridir.

1.6.1. Elektrokimyasal Biyosensörler

Kimyasal değişikliğin derişimi ile orantılı olarak elektrik sinyallerine üretilir. Amperometrik, potansiyometrik, kondüktometrik biyosensörler elektrokimyasal biyosensörlere örnektir. [14] Bu biyosensörler genel olarak iki temel elemandan oluşmaktadırlar, bunlar; bir algılama sistemi ve bir çeviricidir. Çevirici kimyasal cevabı, elektriksel enstrümanlar tarafından algılanabilecek sinyale çeviren bir cihazdır. [15]

Elektrokimyasal biyosensörler genellikle üç ana bileşenden oluşur:

- Biyoreseptör: Biyoreseptör, analit ile spesifik etkileşimde bulunan biyolojik bir bileşendir. Bu bileşen, hedef analiti tanımak veya yakalamak için antikorlar, enzimler, DNA probu gibi biyolojik bileşenlerden oluşabilir.

- **Transdüser:** Transdüser, biyoreseptör tarafından algılanan biyokimyasal etkileşimlerin elektriksel sinyallere dönüştürüldüğü bir bileşendir. Genellikle bir elektrot veya elektrot dizisi şeklinde olup, biyokimyasal reaksiyon sonucunda oluşan elektriksel değişiklikleri algılar.
- **Veri işleme ve çıktı birimi:** Bu birim, transdüser tarafından oluşturulan elektriksel sinyalleri alır, işler ve çıktı olarak analit konsantrasyonunu veya varlığını gösteren bilgiyi sunar. Bunlar genellikle bir mikrodenetleyici veya uygun bir elektronik devre kullanılarak gerçekleştirilir.

1.6.2. Optik Biyosensörler

Optik çeviriciler, belirli bir analitin miktarının belirlenmesi ve optik bu belirlenen miktarın optik sinyallere çevrilmesinden sorumludurlar. Bu tip sensörler diğer sensörlere göre küçük boyutlarda üretilebilirler ve düşük maliyetlidirler. [16] Optik biyosensörler genellikle şu bileşenlerden oluşur:

- **Biyoreseptör:** Biyoreseptör, analiti tanıyan veya bağlayan biyolojik bileşenleri içerir. Bu bileşen, antikorlar, enzimler, DNA probu veya hücre yüzeyi reseptörleri gibi biyolojik moleküllerden oluşabilir. Biyoreseptör, analit ile spesifik bir etkileşim gerçekleştirerek bir optik sinyal üretir.
- **Transdüser:** Transdüser, biyokimyasal etkileşimin optik bir sinyale dönüştürüldüğü bir bileşendir. Bu transdüserler genellikle floresans, absorbans, yansıma veya yüzey plazmon rezonansı (SPR) gibi optik özelliklere dayanır. Örneğin, bir floresan molekül, analit ile etkileşime girerek floresans şiddetinde değişikliklere neden olabilir.
- **Algılama ve sinyal işleme birimi:** Bu birim, optik sinyali algılar, ölçer ve analit konsantrasyonunu veya varlığını belirlemek için uygun bir sinyal işleme yöntemi kullanır. Ölçülen sinyal genellikle optik bir dedektör tarafından yakalanır ve ardından analiz ve yorumlama yapılır.

1.6.3. Isı Değişim Biyosensörleri

Kalorimetrik biyosensör olarak da adlandırılmaktadırlar. Termal biyosensörler biyomateryal ile termometre gibi fiziksel bir dönüştürücünün birleştirilmesi ile geliştirilmişlerdir. Meydana gelen ısı değişiklikleri takip edilerek enzim aktivitesi ölçümleri,

klirik izleme, sürec kontrol, susuz ortam ölçümleri ve çevresel izlemelerde termal tabanlı kalorimetrik biyosensörlerin kullanımı mümkündür. [17]

Bu sensörler, bir organizmanın vücut sıcaklığını, metabolik aktiviteyi veya çevresel sıcaklığı izlemek için kullanılabilir. Biyolojik sistemlerdeki ısı değişiklikleri bir dizi fizyolojik süreçle ilişkilidir. Örneğin, vücut sıcaklığındaki yükselme, ateşlenme durumunda olduğu gibi bir enfeksiyonun veya inflamasyonun belirtisi olabilir. Diğer bir örnek ise spor sırasında artan kas aktivitesiyle ilişkili olarak vücut sıcaklığındaki artıştır. Isı değişim biyosensörleri, bu tür ısı değişikliklerini algılamak için çeşitli yöntemler kullanır. Bunlardan biri, bir termistör veya termokupl gibi ısıya duyarlı bir sensör kullanmaktır. Bu sensörler, ısı değişikliklerine tepki olarak elektriksel bir sinyal üretir. Bu sinyal daha sonra ölçüm cihazı veya veri toplama sistemleri tarafından işlenerek, istenen sonuç elde edilir.

Isı değişim biyosensörleri, tıbbi teşhis, spor performansı izleme, biyolojik araştırmalar ve çevresel izleme gibi birçok alanda kullanılabilir.[18] örneğin, bir tıp uygulamasında, bir hastanın vücut sıcaklığındaki anormal değişiklikleri izlemek için kullanılabilir. Spor performansı izleme uygulamalarında ise, bir sporcu veya atletin vücut sıcaklığındaki değişiklikler, performansı ve antrenman durumunu değerlendirmek için kullanılabilir.[19] Isı değişim biyosensörleri, non-invaziv veya invaziv olarak kullanılabilir. Non-invaziv sensörler, vücut yüzeyine veya çevreye temas ederek sıcaklık değişikliklerini algılar. Invaziv sensörler ise, vücut içine yerleştirilerek doğrudan vücut sıcaklığını ler. Her iki yöntem de belirli uygulama alanlarına sahiptir ve kullanım amaçlarına bağlı olarak tercih edilebilir.

1.6.4. Kütle Değişim Biyosensörleri

Kütle değişim biyosensörlere ağırlıksal biyosensörler de denmektedir. Temel olarak mekanik dalgaların oluşması ve algılanmasına dayanmaktadır. Günümüzde en yaygın olarak kullanılan kütle değişim sensörleri, kuvars kristal mikro terazi (QCM) sensörleridir. Bunların yanısıra son zamanlarda literatürde biyosensör çalışmaları içerisinde yselişe geçen Kuvars Akort atalı (QTF) da kütle hassas bir eviricidir.

Kuvars kristal mikrodenge (QCM) biyosensörleri ve yüzey plazmon rezonans (SPR) biyosensörleri dahil olmak üzere farklı türde kütle değişimi biyosensörleri de vardır. Kuvars Kristal mikrodenge biyosensörleri bir tanıma katmanıyla kaplanmış bir kuvars kristal rezonatrden oluşur. Hedef analit tanıma katmanına bağlandığında, kuvars kristalinin rezonans frekansında bir değişikliğe neden olur. [20], [21]Frekanstaki bu değişiklik, kristal

yüzeyindeki kütle değişikliği ile orantılıdır ve analitlerin kantitatif olarak saptanmasına ve izlenmesine olanak tanır.

Yüzey plazmon rezonans (SPR) biyosensörleri, sensör yüzeyinin yakınındaki kırılma indisindeki değişiklikleri algılama prensibini kullanır. Hedef analit, sensör yüzeyindeki tanıma katmanına bağlandığında, yüzey plazmonlarının uyarılması için gerekli gelen ışık açısında bir kaymaya neden olur.[22], [23] Açıdaki bu kayma, kütle değişikliği ile doğru orantılıdır ve analitlerin saptanmasını ve miktarının belirlenmesini sağlar. Kitlesel değişim biyosensörleri, tıbbi teşhis, çevresel izleme ve gıda güvenliği dahil olmak üzere çeşitli alanlarda geniş uygulamalara sahiptir.

Biyomoleküller, patojenler, toksinler ve kimyasal bileşikler gibi çok çeşitli analitleri tespit etmek için kullanılabilirler. Bu biyosensörler, yüksek hassasiyet, gerçek zamanlı izleme, etiketsiz algılama ve aynı anda birden fazla analiti ölçebilme gibi avantajlar sunar. Tıbbi teşhiste, hastalık belirteçlerinin tespiti, ilaç etkileşimlerinin izlenmesi ve moleküler etkileşimlerin incelenmesi için kütle değişim biyosensörleri kullanılabilir. Çevresel izlemede, kirleticileri tespit etmek, su kalitesini izlemek ve zararlı maddelerin varlığını değerlendirmek için kullanılabilirler. Ek olarak, gıda güvenliğinde, kütle değişim biyosensörleri, kirleticilerin belirlenmesine ve gıda ürünlerinin kalitesinin ve güvenliğinin sağlanmasına yardımcı olabilir. Genel olarak, kütle değişim biyosensörleri, çeşitli analitlerin tespiti ve ölçümü için çok yönlü ve hassas bir platform sağlayarak sağlık, çevre koruma ve gıda güvenliği alanlarındaki gelişmelere katkıda bulunur.

1.7. Kuvars Kristal Mikro Teraziler

Kuvars kristal mikro terazi sistemleri, biyolojiden elektroniğe kadar farklı alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Kuvars kristal mikroteraziler, küçük bir kristal çip üzerine yerleştirilmiş birkaç mikrogram ağırlığında bir kuvars kristalidir. Bu cihazlar, birçok farklı uygulamada kullanılabilirler. En yaygın kullanım alanları arasında kimyasal ve biyolojik sensörler, yüzey plazmon rezonansı sensörleri, elektronik filtreler, titreşimli sensörler ve mikroaktüatörler yer alır.

Kuvars kristal mikroteraziler, elektromekanik bir şekilde çalışır ve kristal üzerindeki elektrotlara uygulanan alternatif bir elektrik alanı ile titreşimler üretirler. Kristal titreşimleri, çevresindeki madde tarafından değiştirilebilir ve bu değişiklikler, kristal üzerindeki titreşim frekansındaki değişikliklerle ölçülebilir. Bu sayede, kuvars kristal mikroteraziler, kimyasal ve biyolojik sensörler olarak kullanılarak, madde tanıma ve ölçümü için kullanılabilirler.

Klinik uygulamalarda, kuvars kristal mikroteraziler, biyomoleküllerin tespiti ve tanımlanması, ilaç keşfi ve geliştirme, enfeksiyonların teşhisi, kanser taraması ve tıbbi cihazların geliştirilmesi gibi birçok farklı alanda kullanılır. Örneğin, kan pıhtılaşması veya enfeksiyonların tanısında kullanılabilirler. Ayrıca, bu cihazlar, biyolojik reaksiyonların hızlı bir şekilde ölçülmesi için de kullanılabilirler.

Bu cihazlar, piezoelektrik kristal yüzeyindeki nanogram ölçeğindeki kütle değişimlerine karşı çok hassastır ve bu nedenle herhangi bir maddenin yüzeyindeki tek bir virüsü bile tespit etmek için kullanılabilir. Çok pratik ve çok yönlü olmalarına rağmen çok yüksek fiyatlara satılmaktadır.

Kuvars kristal mikro terazi (QCM) biyosensörleri, son yirmi yılda biyomoleküllerin gerçek zamanlı ve hızlı tespiti için umut verici araçlardır. Biyosensörlere dayalı hızlı, kullanımı kolay ve ucuz bir biyobelirteç algılama teknolojisi geliştirilmiştir. Bu kritik inceleme, hastalık izleme ve teşhis sonuçları için biyobelirteçlerin nicelleştirilmesi için moleküler baskıya dayalı kuvars kristal mikro terazi biyosensörlerindeki güncel uygulamaları sunar. [1]

QCM, erken ve doğru klinik tanıda iyileştirme sağlayan ve hastalık tedavi sürecini kolaylaştırabilen, kısa tespit süresine sahip, güvenilir, düşük maliyetli ve hassas bir biyoalgılama aracıdır. Bu nedenle kanda, idrarda, tükürükte vb. hastalıkla ilgili biyobelirteçlerin saptanması ve incelenmesi çok önemli bir rol oynar. [24]

QCM teknolojisi, kuvars kristallerinin piezoelektrik etkisine dayanan bir piezoelektrik malzeme içeren bir sensör sistemidir. QCM tabanlı bir cihaz, bir kuvars kristal rezonatörün yüzeyinde biriken kütle ile ilgili rezonans frekansındaki herhangi bir değişikliğe yanıt veren, yığın kalınlık kesme modlu kütle algılamalı bir akustik dalga sunar. QCM'in avantajları içerisinde sıvı içerisinde çalışması bulunmaktadır. Bunun yanı sıra istenilen özelliklere göre kaplamalar gerçekleştirilebilmesi, sensör yüzeyinde gerçek zamanlı incelenebilmesi, basit, doğru ve hassas ölçüm yapabilme yeteneğini çok düşük maliyetlerle gerçekleştirebilmesidir. QCM uygulamalarının hızla artması bu sebeplere bağlıdır. Tüm bu özellikleri yanı sıra kolay uygulanabilir yüzey modifikasyonları ile farklı biyosensörlerin tasarlanabilmesi, üretilmesi de mümkündür.[25] QCM, yüzeye yakın fiziksel özellik değişikliklerine karşı son derece hassastır.

QCM biyosensörleri, biyomoleküler etkileşimler, bağlanma olayları ve kimyasal reaksiyonlar dahil olmak üzere çeşitli reaksiyon türlerini incelemek için yaygın olarak kullanılmaktadır. QCM prensibi, yüzeyinde meydana gelen kütle değişimlerinden dolayı

kuvars kristalinin rezonans frekansındaki değişimlerin ölçülmesine dayanır. QCM biyosensörleri kullanılarak incelenen birkaç reaksiyon örneği:

Protein-Protein Etkileşimleri: QCM biyosensörleri, antijen-antikor bağlanması veya protein-ligand etkileşimleri gibi protein-protein etkileşimlerini araştırmak için kullanılabilir. QCM sensör yüzeyi, etkileşen ortaklardan biri ile işlevselleştirilir ve diğer ortak bağlandığında, kütlede bir değişikliğe yol açarak frekans kaymasına neden olur. Bu, bağlanma olaylarının gerçek zamanlı olarak izlenmesini ve bağlanma kinetiklerinin ve afinitelerinin belirlenmesini sağlar. [26], [27]

DNA Hibridizasyonu: QCM biyosensörleri, DNA hibridizasyon reaksiyonlarını incelemek için yaygın olarak kullanılır. Tek sarmallı DNA problemleri, sensör yüzeyinde hareketsiz hale getirilir ve tamamlayıcı hedef DNA problemlere bağlandığında, kütle artışına ve karşılık gelen bir frekans değişikliğine yol açar. Bu, genetik mutasyonlar veya patojen tanımlaması gibi DNA hibridizasyon olaylarının saptanmasına ve analizine izin verir. [28], [29]

Enzim Reaksiyonları: QCM biyosensörleri, enzimatik reaksiyonları gerçek zamanlı olarak izlemek için kullanılabilir. İlgili enzim, sensör yüzeyi üzerinde immobilize edilebilir ve substrat solüsyonu eklenir. Enzimatik reaksiyon ilerledikçe, substratın ürüne dönüşmesi nedeniyle kütlede bir değişiklik olur. Bu, enzim kinetiği, inhibisyon ve substrat özgülüğünün çalışılmasını sağlar. [30], [31]

Kimyasal Algılama: QCM biyosensörleri, kimyasal algılama uygulamaları için kullanılabilir. Sensör yüzeyi, hedef analit ile seçici olarak etkileşime giren spesifik bir reseptör veya fonksiyonel grup ile modifiye edilir. Analit yüzeye bağlandığında, bir kütle değişikliğine neden olarak frekans kaymasına neden olur. Bu, gazlar, uçucu organik bileşikler (VOC'ler) veya çevresel kirleticiler gibi çeşitli kimyasal bileşiklerin saptanmasına ve ölçülmesine olanak tanır.

Bunlar, QCM biyosensörleri kullanılarak incelenebilecek birçok reaksiyondan sadece birkaç örnektir. QCM'nin gerçek zamanlı, etiketsiz doğası, hassas ve hızlı algılamaya izin vererek onu biyoteknoloji, malzeme bilimi ve çevresel izleme dahil olmak üzere çeşitli araştırma alanlarında değerli bir araç haline getirir.

QCM reaksiyonlarının matematiksel modellenmesi, QCM sensörünün davranışını ve yüzeyinde meydana gelen reaksiyonu tanımlayan matematiksel denklemlerin geliştirilmesini içerir. Bu modeller, QCM sensörünün farklı reaksiyon türlerine verdiği tepkinin anlaşılmasına ve tahmin edilmesine yardımcı olur.

Kütle Hassasiyeti: Bir QCM sensörünün kütle hassasiyeti, sensör yüzeyindeki birim kütle değişimi başına frekans değişimini ifade eder. Tipik olarak deneysel olarak belirlenir ve belirli sensör tasarımına ve özelliklerine bağlı olarak değişebilir. Kütle hassasiyeti genellikle frekans değişimini (Δf) kütle değişimini (Δm) ve (C) ise bir kalibrasyon sabiti ile temsil edilir. Buna göre ;

$$\Delta f = C * \Delta m$$

Voigt Modeli: Voigt modeli, genellikle QCM sensörünün mekanik davranışını tanımlamak için kullanılır. Bir Hooke yayının ve bir Newton sönümleyicinin özelliklerini birleştirir. Voigt modeli, matematiksel olarak, sensör yanıtının rezonans frekansı ve sönümleme faktörü ile tanımlandığı ikinci dereceden bir doğrusal diferansiyel denklem olarak temsil edilebilir.

Yayılma Faktörü (D): Dağıtma faktörü, reaksiyon katmanının viskoelastik etkilerinden dolayı QCM sensörünün sönümlemesini veya enerji yayılımını temsil eder. Döngü başına kaybedilen enerjinin QCM kristalinde depolanan toplam enerjiye oranı olarak tanımlanan boyutsuz bir niceliktir. Yayılma faktörü, rezonans eğrisinin ölçülen genişliğinden hesaplanabilir.

Bağlanma Modelleri: Bağlanma kinetiğini ve hedef analit ile QCM sensör yüzeyinde sabitlenmiş tanıma elemanı arasındaki afiniteyi açıklamak için çeşitli bağlanma modelleri kullanılabilir. Bu modeller, Langmuir adsorpsiyonu, Hill denklemi ve konformasyonel değişim modeli veya Frumkin izotermi gibi daha karmaşık bağlanma modellerini içerir. [32]–[36]

QCM reaksiyonlarının matematiksel modellemesi, QCM sensörünün belirli reaksiyonlara tepkisini simüle etmek ve analiz etmek, deneysel koşulları optimize etmek ve reaksiyon kinetiği ve bağlanma parametreleri hakkında nicel bilgiler çıkarmak için bu denklemlerin ve modellerin entegre edilmesini içerir. QCM reaksiyonlarında kullanılan matematiksel modellerin karmaşıklığının, spesifik uygulamaya, reaksiyonun doğasına ve modelleme sürecinde yapılan varsayımlara bağlı olarak değişebileceğini belirtmek gerekir.

Kuvars Kristal Mikro terazisi (QCM), salınım frekansı, elektrot yüzeyine küçük miktarlarda kütle eklenmesi veya çıkarılmasından etkilenebilir. QCM'lerdeki frekans değişimi, MHz aralığında temel rezonans frekansına sahip kristallerde 1 Hz veya daha az çözünürlükle ölçülebilir. Kuvars kristallerinin hassas kütle dengeleri olarak uygulanması Sauerbrey denklemiyle hesaplanmaktadır. Bu denklem, kuvars kristalin titreşim frekansındaki değişim ile kristal yüzeyine tutunan kütle arasındaki ilişkiyi açıklar. Sauerbrey

denklemini, sensör yüzeyinde sert ve ince bir film olduğunu varsayarak frekans değişimini belirli bir rejimdeki kütle değişimiyle ilişkilendiren QCM analizinde temel bir denklemdir. Bu değişim, kristal üzerindeki bir elektrot üzerine uygulanan bir elektrik alanı ile gerçekleştirilir. Salınan kuvarsın frekans değişiminin (Δf), kütle değişimiyle (Δm) lineer olarak ilişkili olabileceğini gösterdi.

$$\Delta m = -C * 1/n * \Delta f$$

burada n, aşırı ton sayısıdır ve C, kullanılan kristalin özelliğine bağlı olan bir sabittir. Tipik olarak Sauerbrey denklemi olarak adlandırılan denklem, QCM teknolojisinin temel ilkesini oluşturur. Sauerbrey denklemi, kuvars kristal mikroterazilerin kullanıldığı birçok uygulamada, özellikle kimyasal ve biyolojik sensörlerin geliştirilmesinde önemli bir araçtır. Bu denklem, kütle ölçümlerinin yanı sıra yüzey alanı, Sauerbrey sabiti ve diğer parametrelerin ölçülmesi için de kullanılabilir.

Kuvars kristalde kalınlığı (Δx) ile rezonans frekansı (f) arasındaki ilişki aşağıda verilmiştir. Burada “N” frekans katsayısı olup kesimlere göre değişiklik göstermektedir. AT-kesme kuvars kristallerde değeri 1.67×10^5 cm Hz’dir.

$$\Delta x = N / f$$

Kalınlık aynı zamanda kütlesi ile de şu denklemi oluşturur:

$$\Delta x = m / A \cdot \Delta q$$

Burada;

m: kristalin kütlesi (g),

A: kristalin üzerindeki elektrodun altında kalan alan (cm²),

Δq : kristal yoğunluğu (kuvars için: 2.65 g/cm³) dur.

Yukarıdaki iki denklem yeniden düzenlenirse:

$$f = \Delta q \cdot N \cdot A / m$$

Eğer kristalin birinin yüzeyine Δm kadar kütle ilave edilirse bu bir frekans kaymasına (Δf) neden olur; ki bu da şöyle ifade edilebilir:

$$\Delta f = -(f^2 / \Delta q \cdot N \cdot A) (\Delta m / 1 + \Delta m / m)$$

Bu ifade, ilgili sabitler yerine konulursa şu şekli alır:

$$\Delta f = - 2.26 \times 10^{-6} f^2 \Delta m / A$$

Burada görüldüğü gibi “Kristal üzerine ilave edilen kütle (Δm), kristalin salınım frekansında kaymaya neden olur (Δf), ki bu kayma ölçülebilirse kütle artışı yukarıdaki basit ifadeyle

hesaplanabilir.” Bu denklik Sauerbery tarafından türetildiği için onun adıyla anılmaktadır. [37]

Bir QCM sistemi hem ön hem de arka taraflara yerleştirilmiş elektrotlara sahip bir kuvars kristali, kristali sabitlemek için bir yatak ve elektrik bağlantısı sağlamak için bir kristal tutucu, kristali rezonans frekansına yönlendiren bir osilatör ve frekansı okumaya yarayan bir monitörden oluşur. Bu elektrot tasarımı, QCM'nin elektrotların yerleştirildiği merkezi alanda salınmasına izin verir. Kristal salınımı ile üretilen hareket dalgası, kuvars kristalinin merkezine odaklanır ve bu da salınımı aşırı sönümlemeden kristalin kenara monte edilmesini kolaylaştırır. Salınım frekansı kararlılığı sıcaklık ve hava değişikliklerinden etkilendiğinden, kuvars kristal tutucu genellikle kapalı, sıcaklık kontrollü bir alana yerleştirilir.

Kristaller genellikle yuvarlak şekilli olarak bulunurlar. Boyutları 5-15mm aralığında değişiklik gösterir. Yaygın olarak ise 0.15mm kalınlığında kullanılır. Rezonans frekansları 5 ile 12 MHz arasındadır. Frekans ölçümlerinin elde edildiği metal elektrotlar uygulama alanına göre altın, gümüş, alüminyum ve alaşımlarından olabilir. Altın elektrotlar inert olması nedeniyle daha çok tercih edilmektedir. [7] Farklı kristallerle denemeler gerçekleştirilip, uygun olan kristal yüzeyi belirlenecek ve buna göre kuvars kristallerinin yüzeyleri, fibrinojen absorpsiyonuna uygun yüzeyler oluşturmak için polistiren ile kaplanarak farklılıklar ve etkinlik gözlemlenecektir. Böylelikle yüzey karakterizasyonu tamamlanacaktır.

1.8. Kuvars Kristal Mikro Terazilerin Kütle Değişimi

Kuvars kristal mikro terazileri, kütle değişimini yüksek hassasiyetle ölçebilen cihazlardır. Bu cihazlar, kuvars kristalindeki belirli bir frekansı tutarak, kristalin kütle değişimine bağlı olarak frekansın değişmesini ölçerler. Bu nedenle, kuvars kristal mikro terazileri genellikle hassas tartım uygulamalarında kullanılır. Kuvars kristal mikro terazileri, kütle değişimlerini çok hassas bir şekilde ölçebildikleri için, birçok endüstriyel ve laboratuvar uygulamasında yaygın olarak kullanılırlar. Örneğin, mikroelektronik cihazların üretiminde kullanılan yarı iletken malzemelerin kalitesini kontrol etmek için bu teraziler kullanılır. Ayrıca kimya, biyoloji ve fizik gibi birçok alanda da kullanılmaktadırlar. Kuvars kristal mikro terazileri, kütle değişimini hassasiyetle ölçebilmeleri nedeniyle, çeşitli faktörlere karşı hassasiyetlidirler. Örneğin, sıcaklık, basınç ve titreşim gibi çevresel faktörler, kristalin frekansını etkileyerek ölçümlerin doğruluğunu etkileyebilir. Bu nedenle,

kuvars kristal mikro terazilerinin doğru ölçüm yapabilmeleri için kalibrasyonları düzenli olarak yapılmalı ve doğru şekilde kullanılmalıdır.

Kuvars kristal mikro terazileri, sıvıların kütle değişimlerini de ölçebilirler. Ancak, sıvıların kütlelerini ölçmek için, sıvıların kristal üzerinde homojen bir şekilde dağılması gereklidir. Bu nedenle, sıvı örnekleri genellikle kuvars kristal mikro terazilerindeki bir kapta tutulur ve daha sonra ölçümler yapılır. Sıvıların kütle değişimleri, sıcaklık, basınç ve diğer faktörlere bağlı olarak değişebilir. [38] Bu nedenle, kuvars kristal mikro terazileri sıvı ölçümlerinde de hassasiyetlidirler. Ayrıca, sıvıların yüzey gerilimi ve viskozitesi de kristalin frekansını etkileyebilir, bu nedenle ölçümler yapılabilecek en doğru şekilde yapılmalıdır. Kuvars kristal mikro teraziler, sıvı örneklerin kütle değişimlerini çok hassas bir şekilde ölçebildikleri için, biyoloji, kimya ve tıp gibi birçok alanda kullanılırlar.[39] Örneğin, bu teraziler, ilaç geliştirme sürecinde ilaçların çözünürlüğünü, proteinlerin kararlılığını ve enzim aktivitelerini ölçmek için kullanılabilir. Ayrıca, sıvıların yoğunluklarındaki değişimlerin neden olduğu maddelerin ayrımı da bu teraziler ile yapılabilir.

Kuvars kristal mikro terazileri, sıvıların kütle değişimlerini ölçmek için kullanıldığında, genellikle bir grafik üzerinde gösterilir. Bu grafik, kristalin frekansındaki değişimin sıvı örneğinin kütle değişimine bağlı olduğunu gösterir. Genellikle, kuvars kristal mikro terazileri kullanılarak yapılan sıvı ölçümleri, bir zaman serisi şeklinde kaydedilir. Bu bize frekansın belirtilen zaman aralığında gerçekleştirdiği değişimi ifade eder. Sıvı örneklerinin kütle değişimlerinin ölçülmesi için, kuvars kristal mikro terazilere sıvı örneği yerleştirilir ve kristalin frekansı ölçülür. Bu ölçüm, sıvı örneğinin kütle değişimine bağlı olarak frekansdaki değişimi gösterir. Bu işlem, farklı zamanlarda tekrarlanarak, sıvının kütle değişimine bağlı olarak kristalin frekansındaki değişimlerin zaman serisi grafiği oluşturulabilir.

Örneğin, bir protein çözeltisinin kütle değişimini ölçmek için kuvars kristal mikro terazisi kullanıldığında, zaman serisi grafiği proteinin adsorpsiyonu ve desorpsiyonunu gösterir.[40] Bu grafiğin eğimleri, adsorbe olmuş protein miktarını gösterir ve yüzeydeki protein tabakasının kalınlığı ile ilişkilidir. Grafiğin şekli, proteinin kararlılığı, ayrıca sıvının pH ve tuz konsantrasyonuna bağlı olarak değişebilir.

Bir QCM'nin sıvı adsorpsiyonu ile kristal frekansındaki değişim genellikle bir zaman serisi grafiği olarak gösterilir. Bu grafikte, zaman (saniye, dakika vb.) X ekseninde gösterilirken, kristal frekansındaki değişim Y ekseninde gösterilir. Genellikle bu grafikler kristalin üzerine damlatılan sıvının kütlesi, viskozitesi ve hacmi ile orantılı olarak düşüş gösterir. Kristal frekansındaki artış, adsorpsiyon işleminin gerçekleştiğini ve yüzeydeki

katmanın kalınlaştığını gösterir. Bu grafikler ayrıca, sıvının özelliklerine (viskozite, yoğunluk, yüzey gerilimi vb.) ve kristal kaplama özelliklerine (yüzey özellikleri, kalınlığı, malzemesi vb.) bağlı olarak farklı şekillerde olabilir.

1.9. Klinik Tanıda Kuvars Kristal Mikro Teraziler

Kuvars kristal mikro terazileri, klinik tanıda yaygın olarak kullanılan bir araçtır. Bu cihazlar, bir dizi analitik yöntemle birleştirilerek, çeşitli hastalıkların tanısında kullanılır.

Örneğin, kan şekeri düzeylerini ölçmek için kuvars kristal mikro terazileri kullanılabilir. Bu cihazlar, glikoz oksidaz enzimi kullanarak, kan plazmasındaki glikoz konsantrasyonunu ölçebilir. Bu test, diyabet tanısı için kullanılan önemli bir araçtır. [41] [42] Ayrıca, kuvars kristal mikro terazileri, kanser tanısı için de kullanılabilir. Örneğin, bir tümörün varlığı, QCM teknolojisi kullanılarak bir sıvı örneğindeki kanser hücrelerinin sayısının tespitiyle belirlenebilir. [43] Ayrıca, QCM'nin kanser tedavisinin etkinliğini izlemek için de kullanılabileceği belirtilmektedir. Başka bir örnek de bakteri enfeksiyonlarının teşhisinde kuvars kristal mikro terazilerinin kullanılmasıdır. [44], [45] Bu cihazlar, bakteri enfeksiyonlarına neden olan bakterilerin salgıladığı enzimleri tespit etmek için kullanılabilir. Bu test, bakteri enfeksiyonunun hızlı ve doğru bir şekilde teşhis edilmesine yardımcı olabilir.

QCM teknolojisi, kan pıhtılaşması ile ilgili araştırmalarda ve teşhislerde yaygın olarak kullanılmaktadır. QCM, sıvılarla temas halindeki yüzeylerdeki kütle değişimini ölçmek için kullanılan hassas bir teknolojidir. Bu teknolojinin kullanımı, kan pıhtılaşması araştırmalarında, pıhtılaşma sürecindeki moleküler etkileşimlerin anlaşılmasında önemli bir rol oynamaktadır. Örneğin, bir çalışmada, QCM'nin pıhtı oluşumunun erken evrelerindeki faktörlerin incelenmesinde kullanılabileceği gösterilmiştir. [46] Bu çalışmada, QCM kullanılarak fibrinojenin pıhtılaşma sırasında yüzeydeki moleküler etkileşimleri incelenmiştir. Bu çalışma, kan pıhtılaşması sürecinin daha iyi anlaşılmasına ve bu sürecin durdurulması veya engellenmesi için potansiyel yeni tedavilerin geliştirilmesine yardımcı olabilir. QCM ayrıca, kan pıhtılaşması ile ilgili teşhislerde de kullanılabilir. Örneğin, bir çalışmada, QCM'nin trombosit adhezyonunu ölçmek için kullanılabileceği gösterilmiştir. Trombosit adhezyonu, kan damarlarındaki hasarın onarımı için gereklidir ancak aşırı adhezyon pıhtılaşmaya yol açabilir. QCM, trombosit adhezyonunu ölçerek, tromboz riskini belirlemek ve kan pıhtılaşmasını önlemek için alınabilecek önlemler hakkında fikir verebilir.

QCM hemostatik bozuklukların teşhisi için de yaygın olarak kullanılmaktadır. Hemostatik bozuklukların erken ve güvenilir teşhisi, hem hastanın hayati riskini azaltır hem de başarılı tıbbi tedavi olasılığını artırır. Kan pıhtılaşma faktörlerinin analizi, hekime önemli bilgiler sağlamada merkezi bir rol oynar bu nedenle klinik laboratuvarlarda yaygın olarak gerçekleştirilir. Bu testler arasında fibrinojen ve kan pıhtılaşma faktörü VIII klinik laboratuvarlarda sıklıkla analiz edilir. Kan pıhtılaşma kaskatında önemli bir rol oynayan fibrinojen, trombin ve polimerize çözünmeyen fibrin tarafından aktive edilir. FVIII pıhtılaşmasının eksikliği veya anormallığı, ciddi bir kanama bozukluğu ile sonuçlanabilir. Bu da potansiyel olarak yaşamı tehdit eden ve sakat bırakan hemofili A ile sonuçlanır. [47], [48]

Fibrin oluşum QCM elektrot yüzeyinde anlık olarak tespit edilebildiğinden, sensörün yüzey kaynaklı kan pıhtılaşmasının belirlenmesi için oldukça faydalı bir alternatif olduğu belirlenmiştir. [46] Frekans kaymaları, başlangıç zamanı ve fibrin birikim hızı gibi genel pıhtılaşma kinetiği hakkında bilgi verir. Klinik tanıda QCM tekniği daha önceki çalışmalarda fibrinojen konsantrasyonunu, trombin konsantrasyonunu, kan pıhtılaşma faktörlerinin aktivitesini, kan pıhtılaşma faktörlerinin miktarını ve pıhtılaşma süresini belirlemek için kullanılmıştır. [49]–[51]

Kuvars kristal mikro terazi (QCM) sensörleri, bir rezonans frekansı değişikliği olarak salınan bir kuvars kristal diskin yüzeyinde adsorbe edilen çok küçük kütle değişikliklerini ölçer. Tez süresince geliştirilmesi vadedilen mikroakışkan QCM cihazı, kütle geliştirme süreci ile birlikte tanıtılmaktadır. Parmak ucunun iç kısmının delinmesiyle gerçekleşen kanama ile birlikte fibrin oluşumu elektrot yüzeyinde gerçek zamanlı olarak tespit edilebilirse QCM biyosensörünün yüzey kaynaklı kan pıhtılaşmasının belirlenmesi için çok faydalı bir alternatif olacaktır. Tez çalışma amaçları kapsamında kan pıhtılaşmasında rol alan fibrinojenin yüksek hassasiyette ve gerçek zamanlı tespiti için bir QCM biyosensörü tasarımı amaçlanmıştır. Klinik plazma örneklerinde fibrinojen ve pıhtılaşma FVIII konsantrasyonlarını saptamak için laboratuvarlarda tasarlanan ve üretilen QCM biyosensörünü kullanmak temel hedeftir. Kan pıhtılaşmasında görev alan fibrinojenin yerinde ve gerçek zamanlı kan pıhtılaşmasındaki rolünün kütle artımıyla birlikte QCM biyosensörünün frekans aralığındaki değişimini saptamak ve belirli bir metot geliştirerek bunu mikroakışkan bir sistem haline getirmek amaçlanmaktadır.

Sistem için yeterli kan 10µm-60µm aralığındaki miktarlar denenerek en uygun miktar elde edilecektir. Çalışmalar 10 gönüllü üzerinde yapılacak olup ölçümlerin yaklaşık 10 dakika süreceği öngörülmektedir. Ölçümler Farklı kişilerden elde edilen kanlarda denemeler

gerçekleştirilip kullanılan kan miktarının frekans değişimi üzerindeki etkisi gözlemlenecektir.

Hastalardan gerçek zamanlı olarak anormal renk veya bulanıklığı olmayan örnek alınacak. Heparin tedavisi gören hastalar bu tez çalışması kapsamında örneklem dışı bırakılacaktır. Tüm plazma numuneleri hem QCM biyosensörü ile analiz edilirken hem de optik koagülometri yöntemi ile tespit edilecektir böylece QCM sensörünün doğruluğu ortaya konacaktır. Plazma örnekleri hasta parmak ucundan alınacak ve yaklaşık 5 dk sürecektir. Ölçüm sırasında gönüllü için herhangi bir risk bulunmamaktadır.

1.10. Prototip PCB Makinesi

Prototip PCB üretim makinesi, gerçekleştirilen tasarımın küçük ölçekli üretim aşamasında PCB'lerin oluşturulmasını ve montajını sağlar. Prototip PCB Makinası bir baskı devre gerçekleştirilirken yapılması gereken her basamağı içerir.

- Baskılı devre kartının (PCB) tasarım verilerini alarak çizim ve baskı işlemi ile bakır devreleri oluşturma
- PCB üzerindeki komponentleri yerleştirme ve lehimleme
- Bileşenlerin otomatik veya yarı otomatik olarak montajını sağlama
- PCB'lerin test ve doğrulama işlemlerini gerçekleştirebilecek test ekipmanları.
- Lazer kesim özellikleriyle PCB'leri kesme ve şekillendirme yeteneği.
- Prototip PCB makinesi, tasarım hatalarını tespit etmek,
- Ürünün işlevselliğini ve performansını doğrulamak
- Küçük ölçekli üretim yapmak için önemli bir araçtır.

Bu tür makineler, hızlı prototipleme süreçlerini destekler ve ürün geliştirme sürecini hızlandırır. Tez çalışması süresince baskı devrelerin gerçekleştirilmesi için denemelerde Voltera V-One PCB cihazı kullanılmıştır. Voltera V-One, bir prototip PCB üretim makinesidir, küçük çapta istenilen baskılı devre kartlarını (PCB) oluşturulmasına ve monte etmesine olanak tanır. Voltera V-One PCB cihazının bazı özellikleri ;

- İki Taranabilir Baskı Kafası: Voltera V-One, iki farklı materyali tarayabilen iki kafaya sahiptir. Bir kafa, lehimleme pastası ve yapışkanlar gibi iletken olmayan malzemeleri uygulamak için kullanılır, diğer kafa lehimleme için iletken malzemeleri uygulamak için kullanılır.
- Baskı ve Lehimleme: baskı ve lehimleme işlemlerini tek bir cihazda birleştirir.

- İz Takip ve Kapasitör Yerleştirme: Cihaz, izleri takip etme ve SMD kapasitörlerin montajı gibi işlemleri gerçekleştirebilir.
- Otomatik Kalibrasyon: Voltera V-One, otomatik kalibrasyon yeteneğine sahiptir, böylece kullanıcılar işlemleri hızlı ve hassas bir şekilde yapabilir.

1.11. Üç Boyutlu Yazıcı

Üç boyutlu yazıcılar, dijital model verilerini kullanarak üstüste katman katman nesneleri üreten cihazlardır. Bu yazıcılar, 3D modelleme yazılımıyla oluşturulan tasarımı bir nesneye dönüştürmek için farklı malzemeleri kullanır. 3D yazıcılar genellikle dört ana malzeme kullanılarak baskı gerçekleştirilir. Bunlardan en yaygın olanı plastik maddelerdir.

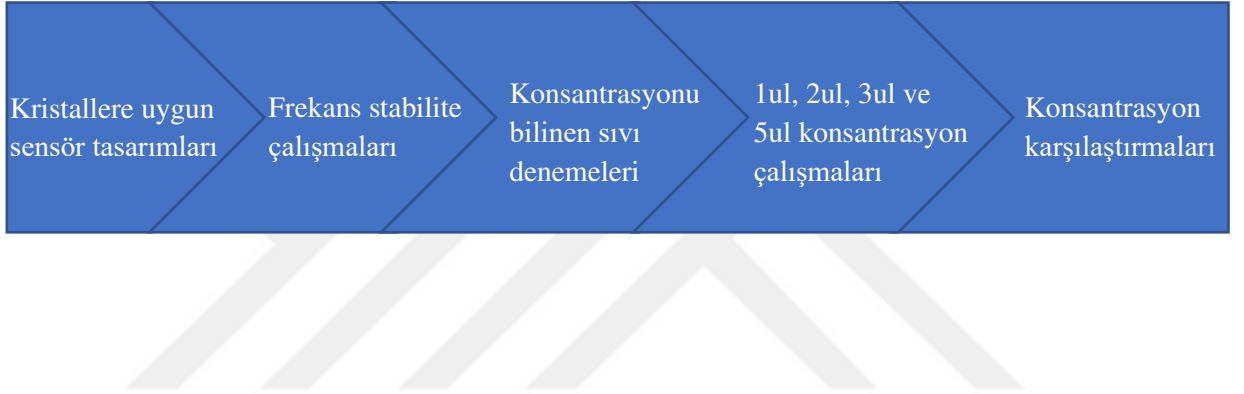
- Plastik: ABS (Akrilonitril Bütadiyen Stiren), PLA (Polilaktik Asit) ve PETG (Polietilen Tereftalat Glikol)
- Reçine (Resin): Stereolitografi (SLA) ve Dijital Işın İyileştirme (DLP)
- Metal
- Seramik

3D yazıcılar, iki temel teknolojiye dayalı olarak çalışır:

- FDM (Fused Deposition Modeling): Plastik filamentleri eriterek ve üstüste tabaka halinde nesneyi oluşturarak çalışan en yaygın 3D yazıcı türüdür.
 - SLA (Stereolitografi) ve DLP (Dijital Işın İyileştirme): Reçine malzemeleri sıvı formda kullanarak, katman katman UV ışınları ile katılaştırarak nesneleri oluşturur.
- [52]–[54]

2. DENEYSEL ÇALIŞMA

Deneyisel çalışmalar Şekil 1.'de verilen akış şemasındaki gibi planlanmıştır. Laboratuvarında 9mm, 14.1 mm ve 25.4 mm çaplarında kristaller mevcuttur. Aynı ayrı bu kristallere uygun, kolaylıkla frekans ölçümü gerçekleştirilebilecek sensör tasarımları elde edilmek ilk amaçtır. Elde edilen tasarımlarda frekansı sabitleyebilmek için stabilite çalışmaları gerçekleştirdikten sonra kristallerin hareketlerini gözlemleyebilmek amaçlı negatif kontrol olarak belirlenen su ile denemeler gerçekleştirilecektir. Bu süreç zarfında kristallere damlatılacak olan mikrolitreler belirlenecektir. Sonraki aşamalarda ise farklı kan konsantrasyonları ile frekans değişiminde farklılıklar gözlenecektir.



3. MATERYAL METOT

3.1. Deneyde Kullanılan Malzemeler

Deney aşamalarında kullanılan cihazlar; ultrasaf su cihazı (MERCK, Direct-Q) , ultrasonik banyo (Weightlab instruments), otomatik pipetler (Eppendorf , Almanya), daldırma tip termometre, etüv, baskı devre yazıcı (Voltera, Kanada), Lazer kesim cihazı (Quantumlaser), CNC kesim makinası (Quantum CNC), üç boyutlu yazıcı (Flash Forge, Creality).

Deneyde kullanılmak üzere; 25.4mm 5Mhz altın kristal (Stanford Research Systems (SRS), ABD) , 9mm 5MHZ gümüş (RENLUX, Çin) ve 14.1mm 5MHz'lik (RENLUX, Çin) özel yapım altın ve gümüş kristaller temin edilmiştir. Uygun tasarım çalışmaları öncelikli olarak 5MHz ve 12 MHz kristal osilatör adlı devre elemanları ile gerçekleştirilmiştir. Bu kristaller Dremel Lithium lon (Dremel, Almanya) ile çelik kısımları kesilerek elde edilmiştir.

Deneylerde aynı zamanda 10ml, 50ml ve 250ml beherler, otomatik ve manuel pipet uçları, üç boyutlu yazıcılar için ABS ve PLA filamentler, lazer kesim cihazında kullanılmak üzere pleksiler ve 3M çift taraflı bant kullanılmıştır.

3.2. Osilatör ve Frekans Sayıcı

Bir osilatör, tekrarlayan, periyodik sinyaller veya dalga biçimleri üreten bir cihaz veya sistemdir.[55] Bir osilatörün birincil işlevi, belirli bir frekans ve dalga biçimi şekli ile kararlı ve sürekli bir çıkış sinyali üretmektir. Osilatörler, çıkış sinyalini güçlendiren ve sürdüren bir geri besleme döngüsü olan pozitif geri beslemeye dayalı olarak çalışır. Bir osilatörün temel bileşenleri tipik olarak bir amplifikatör, bir frekans belirleme ağı ve bir geri besleme ağı içerir. Geri besleme ağı, çıkış sinyalinin bir kısmını girişe geri yönlendirerek sinyali güçlendirir ve sürekli salınım sağlar. Osilatörler, sinüzoidal, kare dalga, üçgen dalga ve diğerleri dahil olmak üzere çeşitli türlerde sinyaller üretebilir.

Osilatörlerin, uygulama yolları ve sonuç gereksinimlere bağlı olarak kullanılan farklı devre tasarımları ile kullanılabilir. Teknolojileri ile hem analog hem de dijital formlarda tipleri mevcuttur.

Frekans sayacı ise bir giriş sinyalinin frekansını ölçmek için kullanılan araçtır. Frekans sayacının temel prensibi, belirli bir zaman aralığında meydana gelen tekrarlayan sinyal döngülerinin sayısını saymak ve bu sayıya göre bir frekans değeri hesaplamaktır. Frekansı

ölçülecek olan giriş sinyali frekans sayıcıya bağlanır. Doğru ölçüm için uygun giriş sinyali istenilen şekilde ayarlanabilir. Frekans sayacı, sinyal döngü sayısını sayarak aynı zamanda sinyallerin aralığını ölçer. Döngülerin doğru bir şekilde sayılabilmesi için elektronik sayaçlar, frekans bölücüler veya faz kilitli döngüler gibi çeşitli teknikler kullanır. Sinyal döngü sayısı elde edildikten sonra, frekans sayacı, sayımı zaman aralığına bölerek frekansı hesaplar. Frekans değerleri bir dijital ekranda görüntülenebilir veya analiz için bir çıktı olarak sağlayabilir. Frekans sayaçları, hertz (saniyede devir) ile gigahertz (saniyede milyar devir) arasında değişen frekansları ölçebilir. Frekans sayaçları, frekans kalibrasyonu, sinyal analizi, sinyal takibi, devrelerde sorun giderme, osilatör kararlılığının izlenmesi ve hassas frekans ölçümlerine dayanan elektronik sistemlerin çalışmasının doğrulanması gibi uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır.

Kuvars kristal mikroterazi sisteminde kütle değişimi ile oluşan frekans değişiminin gözlemlenebilmesi amacıyla Dr. Orhan Erdem Haberal tarafından tasarlanan sistem kullanılmıştır. Kristalin bu frekans altında kararlı bir şekilde çalışmaya devam etmesi gerekmektedir. Bu amaçlar doğrultusunda osilatör ve frekans sayacı tek bir devre altında toplanmıştır. Sistemde alınan ölçümlerde colpitts osilatör devresi kullanılmıştır.

Frekans ölçüm işlemi için PIC mikro denetleyici kullanılmaktadır.

Kuvars kristal frekansının sayısal olarak görülebilmesi için frekans sayıcı devresi kullanılmış ve LCD sürücü devresi ile bağlanmıştır. Bu bağlantı PIC16F877A mikrodenetleyici ile gerçekleştirilmiştir. [25]

3.3. Sensör Tasarımları ve Frekans Stabilite Çalışmaları

3.3.1. Kristal Osilatör Devre Elemanı İle Tasarımlar

Kristal osilatör, elektronik devrelerde frekans stabilitesi sağlamak için kullanılan bir devre elemanıdır. Genellikle kuvars kristalleri kullanılarak oluşturulan bu osilatörler, belirli bir rezonans frekansında titreşim yaparak istikrarlı bir çıkış frekansı üretirler. Kristal osilatörlerin temel bileşenleri arasında kristal osilatörün kalbinde yer alan kuvars kristali, özel bir kristal yapısına sahip ve piezoelektrik özelliklere sahiptir. Piezoelektrik etki, kuvars kristalin, mekanik bir gerilme uygulandığında elektriksel bir yük biriktirebilmesini sağlar. Bu özellik, kuvars kristalin titreşim frekansını belirlemek için kullanılır. Bir devre elemanı olan kristal osilatörlerin geri besleme devreleri de mevcuttur. Kristal osilatörde, kuvars kristal üzerindeki titreşimi sürdürmek için geri besleme devresi kullanılır. Bu devre, osilasyonu başlatır ve geri besleme sağlayarak istikrarlı bir titreşim elde eder. Bu kristal osilatörlerde genellikle transistörler veya entegre devreler kullanılır. Bu devre elemanları, kuvars kristal üzerindeki titreşim frekansına bağlı olarak gerilim sinyallerini şekillendirir ve güçlendirir. Kristal osilatör devresindeki kapasitörler ve dirençler, osilasyon frekansını ayarlamak ve stabilize etmek için kullanılır. Bu bileşenlerin değerleri, belirli bir frekansın elde edilmesi için dikkatlice seçilir. Kristal osilatörler, hassas zamanlama gerektiren birçok uygulamada kullanılır. Örneğin, bilgisayar sistemleri, telekomünikasyon cihazları, tıbbi ekipmanlar, navigasyon sistemleri ve diğer elektronik cihazlar, kristal osilatörlerin frekans stabilitesi ve doğruluğu sayesinde düzgün çalışırlar. Bu devre elemanı, yüksek frekans stabilitesi, düşük faz gürültüsü ve düşük harmonik içeriği nedeniyle tercih edilir. Ayrıca, küçük boyutları ve düşük güç tüketimi gibi avantajları da vardır. Kristal osilatörler, genellikle özel bir paketleme şeklinde veya entegre devrelerin bir parçası olarak sunulurlar. Kristal osilatör devre elemanı, elektronik sistemlerin doğru ve güvenilir bir şekilde çalışmasını sağlamada kritik bir rol oynar ve birçok uygulama için temel bir bileşen olarak yer alır.[56], [57]



Şekil 3.3. Kistal Osilatör Devre Elemanları

3.3.1.1. Pleksi Denemeleri

Tasarımların ilk adımı olarak belirlenen 9mm çaplarında 5MHz ve 12 MHz frekans aralıklarına sahip kristaller denenmiştir. Bu kristaller devre elemanı olarak bilinen kristal osilatörlerdir.

Bir kristal osilatör, elektronik devrelerde kullanılan kararlı ve kesin bir frekans oluşturmak için mevcut olan bir kristalin mekanik rezonansını kullanan bir tür osilatördür. Bir kristal osilatördeki kullanılması gereken bazı devre elemanları mevcuttur. Bir kristal osilatörün temel bileşenidir. Genellikle kuvars veya diğer piezoelektrik malzemelerden yapılır. Kristalin bir rezonans frekansı bulunur ve piezoelektrik etki gösterir. Geri bildirim sistemi, salınımlar sürdürülürken geri bildirim alınmasını sağlamaktan sorumludur. Bir kristal osilatörde ise kristalin kendisi geri besleme ağı görevi görür. Sinyalin gerekli faz kaymasını ve takviyesini oluşturmak için amplifikatörle bir geri besleme döngüsüne bağlanır. Amplifikatör ise bir devrede kaybedilen enerjiyi telafi etmek için kristal tarafından üretilen sinyali yükseltir böylelikle salınımların devamlı olması sağlanır. Kristalin salınımları sürdürebilmesi için gerekli kazancı sağlar. Kondansatörler, kristal osilatör devresinde çeşitli amaçlar için kullanılmaktadır. İndüktörler temel olarak Colpitts veya Clapp osilatörleri gibi belirli kristal osilatör devrelerinde kullanılabilir. Gerekli faz kayması ve empedans eşleşmesini sağlamak için geri besleme ağında kullanılırlar. Dirençler, kristal osilatör devresinde polarizasyon ve empedans eşleştirme amaçları için kullanılır. Amplifikatörün çalışma koşullarının ayarlanmasına yardımcı olurlar ve devre içinde uygun sinyal seviyeleri ve empedans eşleşmesi sağlarlar. Kondansatörler ve indüktörler gibi bileşenler, kristal osilatörün çalışma frekansını ortaya koymak için kullanılırlar. Bu devre elemanları, kristalin rezonans özelliklerine dayalı olarak kararlı ve hassas bir salınım sinyali oluşturmak için birlikte çalışır.

Colpitts osilatör devresi, kararlı sinüzoidal dalga biçimleri oluşturmak için yaygın olarak kullanılan bir tür LC osilatör devresidir. Colpitts osilatör devresindeki aktif cihaz tipik

olarak bir iki kutuplu bağlantı transistörü (BJT) veya bir alan etkili transistördür (FET). Transistör bir amplifikatör görevi görür ve devrede kaybedilen enerjiyi telafi etmek için kullanılır.[58], [59] Tank devresi iki kondansatör ($C1$ ve $C2$) ve bir indüktörden (L) oluşur. Kondansatörler seri bağlanır ve aralarındaki bağlantı, transistörün toplayıcı veya boşaltma terminaline bağlanır. İndüktör, kapasitörlere paralel bağlanır. Tank devresi, osilatörün rezonans frekansını ayarlar aynı zamanda pozitif geri beslemeyi sağlar.[60] Yönlendirme ağı, cihaz için DC yönlendirme koşullarını sağlar. Tipik olarak, transistörün çalışma noktasını oluşturan dirençler ve kapasitörler içerir. Colpitts osilatöründe, tank devresindeki kapasitörler ($C1$ ve $C2$) geri besleme ağını oluşturur. Güç kaynağı, cihazı çalıştırmak için gerekli DC voltajını sağlar. Aktif cihazın ve yönlendirme ağının uygun terminallerine bağlanır.

Colpitts devresine güç uygulandığında, tank devresi rezonans frekansında salınır. Transistör sinyali yükseltir ve geri besleme ağı yoluyla tank devresine geri besler. Pozitif geri besleme ile salınımlar devam eder ve rezonans frekansında sinüzoidal bir dalga oluşturur.

Colpitts osilatörü, basitliği ve frekans kararlılığı nedeniyle RF uygulamalarında yaygın olarak kullanılır. Tank devresindeki kapasitörlerin ve indüktörün değerleri ayarlanarak salınım frekansı ayarlanabilir.

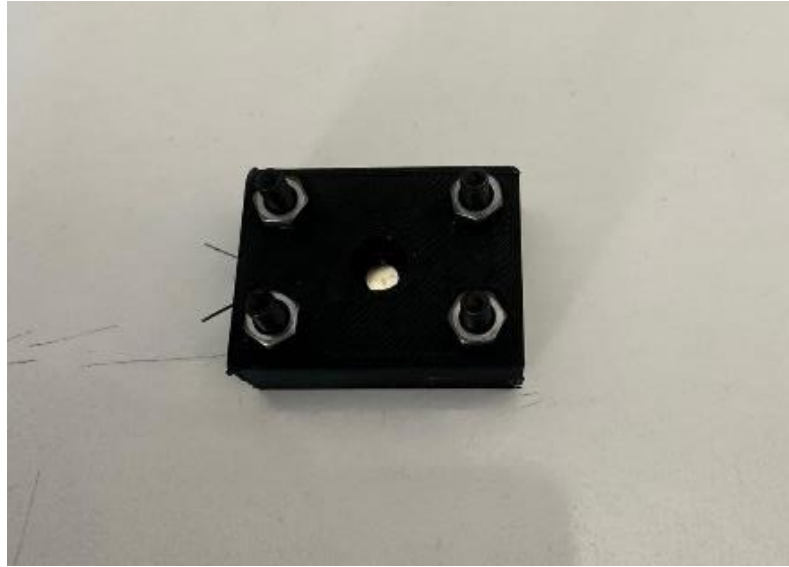


Bu elemanlar kullanılırken ortaya çıkan en büyük sorun çelik kısımlarının kesilerek kristalin elde edilme bölümüdür. Bu kristaller için öncelikli olarak lazer kesim cihazlarından uygun alt ve üst pleksi kesilerek çift taraflı bant ile uygun tasarım gerçekleştirilmiştir.

Bu tasarımlarda 35mmx25mm büyüklüğünde pleksiler kullanılmıştır. Üst kısmına kristalin tam olarak yerleşebileceği büyüklükte 10mm olarak ayarlanmış delik lazer kesim cihazı ile açılmıştır. Bu noktada üst pleksinin delik olması numune damlatılması açısından oldukça önemlidir. Aynı şekilde alt pleksi için belirlenen bu boşluğa denk gelen bölüm taranarak uygun kristal yatağı hazırlanmıştır. Alt ve üst pleksi boyutları 35mmx25mm olarak ayarlanmış çift taraflı bant ile ortasına kristal yerleştirilerek kapatılmıştır. Pleksinin dayanıklılığı göz önüne alındığında ise bu tasarıma üç boyutlu yazıcı ile devam etme kararı alınmıştır.

3.3.1.2. Üç Boyutlu Yazıcı Denemeleri

Üç boyutlu yazıcı için filament malzemesi olan ABS çizim programı olarak ise Autodesk Fusion 360 kullanılmıştır. Şekil 2’de gösterildiği üzere kristal osilatör elemanı için uygun tasarımlarda elemanın frekans ölçümü gerçekleştirilen bacakları tasarımın dışarısında bırakılmıştır.

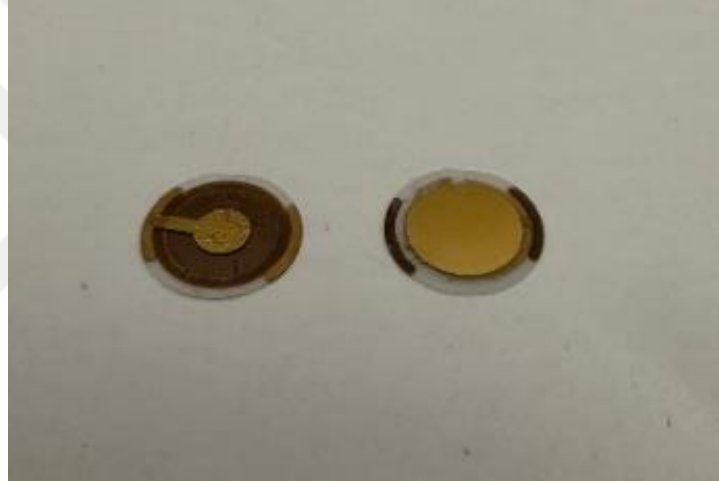


Şekil 3.6. Autodesk Fusion 360 Programı İle Tasarlanan Kristal Osilaörler Uygun Tasarım

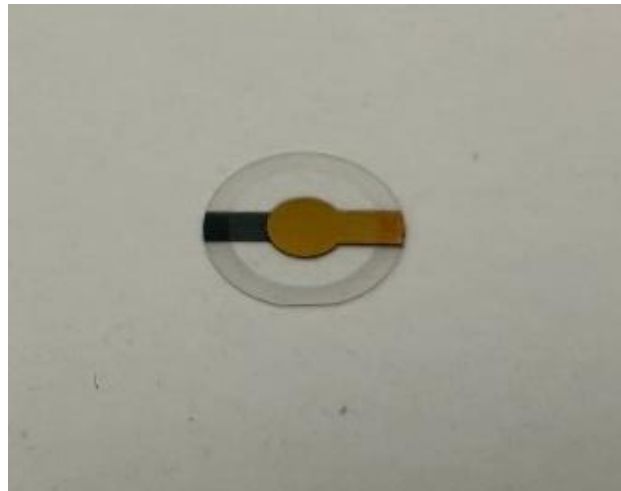
Bu tasarımdaki ana sorun Dremel ile kesilerek elde edilen kristallerin hepsinin aynı boyutlarda kesilememesi nedeniyle tasarıma uyum sağlayamamasından kaynaklı olarak aynı frekans elde edilememesidir. Aynı zamanda kristal osilatörün boyutları çok küçük olduğu için oldukça küçük mikrolitreler uygulandığında bile frekansın aniden kaybolduğu gözlemlenmiştir. Bu da kullanım zorluğunu beraberinde getirmektedir.

3.3.2. Tek ve Çift Taraflı Kuvars Kristalleri ile Denemeler

İkinci tasarım aşaması için elimizde mevcut iki tip 14.1mm 5MHz gümüş ve altın kristal kullanılmıştır. Kristallerin bir tipinde elektrotlar tek yüzeyde bulunurken diğer tipinde elektrotlar arkalı önlü bulunmaktadır.



Şekil 3.7. 14.1mm 5MHz Altın Tek Yüzey Elektrotlu Kristal



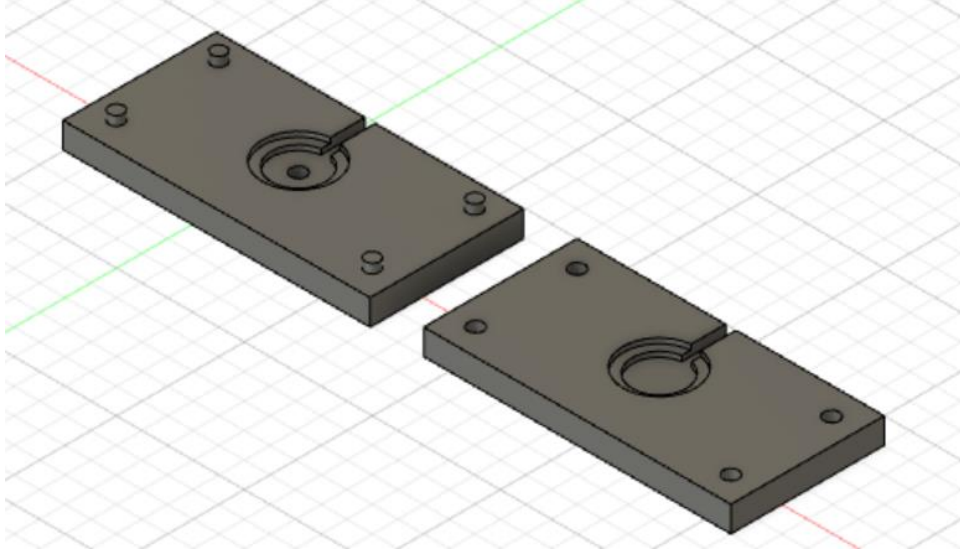
Şekil 3.8. 14.1mm 5MHz Altın Çift Yüzey Elektrotlu Kristal

3.3.2.1. Pleksi Denemeleri

İlk olarak arkalı önlü bulunan elektrot yüzeyleri için uygun tasarım üzerinde çalışılmıştır. Bu tasarımda önemli olan frekans ölçümü için bacakları bulunmayan kristallerin elektrotlarını iletken bir şekilde tasarımın dışarısına taşıyarak frekans değerleri elde edebilmek olmuştur. 35mmx25mm boyutlarında kesilen pleksilerin orta kısımlarına uygun boşluklar açıldıktan sonra iletken malzeme olarak bakır tel kullanılarak denemeler gerçekleştirilmiştir. Bakır tellerden biri üst plekside diğeri ise alt plekside sabitlidir bu sayede alt ve üst bölümde bulunan elektrotlardan elde edilen frekanslar tasarımın dışarısında taşınabilecek ve frekans ölçerden okunabilecektir. Tasarımın sorunu ise bakır tellerin yükseklik yaparak kristalin dengesini bozması sebebiyle frekansın okunamaması olmuştur. Bakır tel yerine kullanılabilecek iletken malzemeler araştırılmış ve yerine krem lehim denenmiştir. Bu tasarımın ardından düşünülen sistem üç boyutlu yazıcıda bastırılması için Autodesk 360 programında detaylandırılarak basılmıştır.

3.3.2.2. Üç Boyutlu Yazıcı Denemeleri

Üç boyutlu yazıcıda yenilenen sistem tasarımı elektrotların sistem dışarısına ilerleyen bölgeleri krem lehim kullanılarak doldurulmuştur. İletkenlik kazandırılması amaçlanmıştır. Kristallerin ortasında bulunan ve salınımı gerçekleştiren bölümü salınımın düzgün bir şekilde olması ve engellenmemesi amaçlı olarak normalden daha çukur olarak tasarlanmıştır. Kenarlardan uygun basıncın sağlanabilmesi amacıyla kuvveti belirleyebileceğimiz vidalar için gerekli boşluklarda tasarıma eklenmiştir.



Şekil 3.9. Autodesk Fusion 360 Programı İle Tasarlanan Çift Taraflı Elektrotlara Uygun Tasarım Modeli

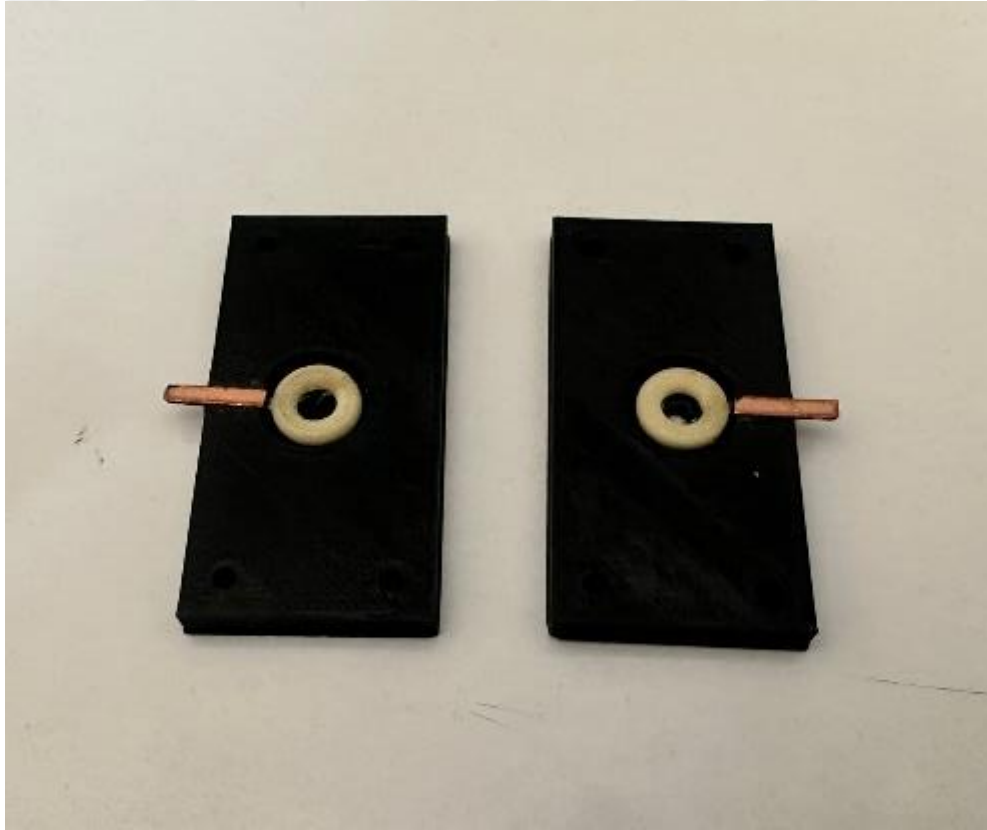


Şekil 3.10. Üç Boyutlu Yazıcı İle Çift Taraf Elektrotlu Kristaller İçin Bastırılan Tasarım

Tasarımın sonunda karşılaştığımız sorun ise krem lehimin katılaşması için uygulanan sıcaklığın hem pleksiye hem de yazıcıda kullanılan ABS maddelerini eritmesi oldu. Krem lehimin kuruması için etüvde uygun sıcaklıklar ayarlandı ve belirlenen sıcaklıklarda hava

verildi. Her denemede sıcaklık sistemin tamamını erittiği için başarılı olunamadı. Krem lehim kurutulamadığı için uygun iletkenlik elde edilemedi ve frekans değerleri gözlenemedi.

Krem lehim yerine son olarak bu tasarımda bakır levha kullanıldı. Tasarlanan sistemde kristali iki o-ring arasında tutarak elektrotlarına bakır levha temas ettirip frekansı sistemin dışarısından gözlememek amaçlandı. Tasarımın her bir köşesinde önceki sisteme dahil olan vidalar kullanıldı. Kristalin sistemin ortasında dengede ve sabit kalabilmesi için o-ringler tasarlandı. O-ringlerin boyutları iç kalınlığı 11mm dış kalınlığı 12 mm ve yüksekliği ise 1 mm'dir. O-ringler üç boyutlu yazıcıdan bastırılmış ve kullanılan malzeme ise esnekliği olması için ABS seçilmiştir. Tasarımın belirlenen boşlukları o-ringlerin kalınlıkları göz önüne alınarak tekrar gözden geçirilmiştir. Bakır levhalar CNC ile uygun kalınlıklarda kesilerek sisteme yapıştırılarak dahil edilmiştir.



Şekil 3.11. Bakır Levha ve O-ringler İle Gerçekleştirilen Tasarım

Bakır plakalar kesilirken CNC kullanılsa da levhalarda şekil bozukluğu meydana gelmiş ve plakaların kenar kısımları içe göre daha yukarda kaldığı için frekans sistemin

dışarısından gözlemlenememiştir. Aynı zamanda o-ringler hava ile temas ettikçe sertleşti ve kristalin salınmasına uygun zemini hazırlayamadı.

Çift taraflı elektrotlara sahip kristallerin ardından tek tarafında elektrotları bulunan kristal denemelerine geçiş yapıldı. Bu kristallerde de öncelikli olarak daha yüksek sıcaklıklara dayanabilen PLA maddesi ile sistemler hazırlanarak denendi. Krem lehim yerleştirildikten sonra kuruması için iki gün bekletildi. Herhangi bir kuruma ve iletkenlik gözlemlenemedi.



Şekil 3.12. Tek Taraflı Elektrotları Bulunan Kristaller İle Krem Lehim Denemesi

3.3.2.3. Prototip PCB Üretim Cihazı Denemeleri

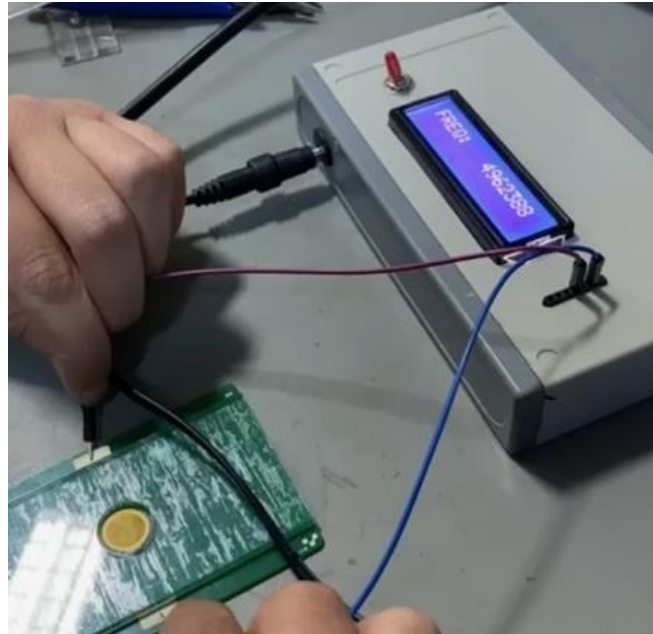
Bu aşamada kendi krem lehimini kullanan ve kendi PCB baskı devresini yapabilen Voltera V-One cihazı ile denemelere başlandı.

Voltera V-One, bir masaüstü PCB prototipleme makinesidir. PCB (Printed Circuit Board), elektronik devrelerin bileşenlerini bir araya getiren, üzerinde izler ve bağlantı noktaları bulunan bir karttır. Voltera V-One, geliştirme ve prototipleme sürecini hızlandırmak ve daha kolay hale getirmek için kullanılmaktadır. Voltera V-One, kullanıcılara tek bir platformda PCB baskısı, lehimleme ve bileşen yerleştirme işlemlerini gerçekleştirme imkânı sunar. Bu makine, tipik olarak 2 veya 4 katmanlı PCB'ler üzerinde çalışabilir. Voltera V-One, bir baskı kafası aracılığıyla lehim pastası veya iletken mürekkep kullanarak PCB üzerinde izler ve bileşen pedleri oluşturabilir. Bu, hızlı ve doğru bir şekilde PCB baskısı yapmanızı sağlar. Voltera V-One, üzerinde baskı yapılan PCB üzerinde lehimleme işlemi gerçekleştirebilir. Otomatik lehimleme işlemi, bileşenleri doğru pozisyonlara yerleştirir ve lehim tabancası kullanarak lehimlemeyi yapar. Aynı zamanda bileşenlerin doğru konumlara yerleştirilmesi için özel bir pick-and-place kafasına sahiptir.

Bu kafa, bileşenleri doğru pedlere yerleştirir ve lehimleme işlemi için hazır hale getirir. Bunların yanı sıra Voltera V-One, kendine özgü bir yazılım arayüzüne sahiptir. Bu arayüz, PCB tasarımını yüklemenizi, baskı ve lehimleme işlemlerini ayarlamanızı ve makineyi kontrol etmenizi sağlar. Voltera V-One, hızlı prototipleme sürecini desteklemek için tasarlanmıştır. Geleneksel yöntemlere kıyasla daha kısa bir sürede PCB prototipleri üretebilir ve daha fazla esneklik sağlar. Bu, elektronik tasarımcıların fikirlerini hızla test etmelerini ve tasarımlarını geliştirmelerini sağlar.

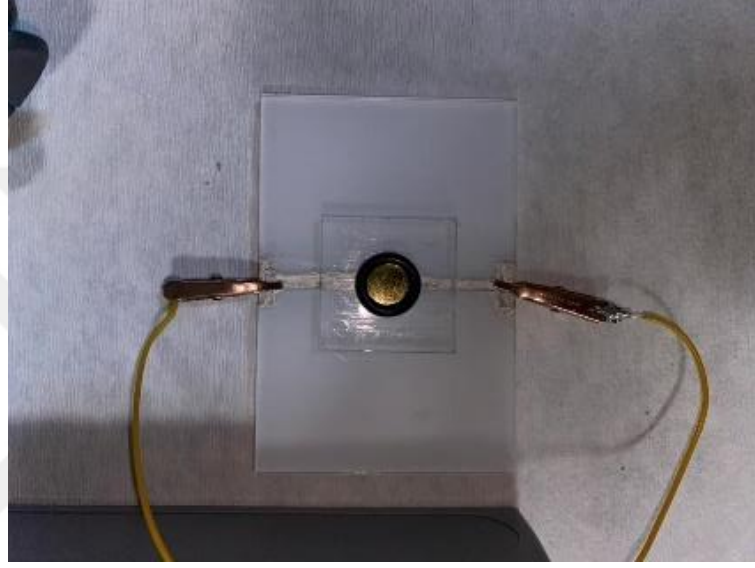
Bu cihaz iletken mürekkep kullanarak Eagle programı ile çizilen devreleri baskı devreye çevirir. Mürekkep ile çizim tamamlandıktan sonra plakanın bulunduğu tablayı belirli bir sıcaklığa arttırarak mürekkebi kurutarak iletken hale getirir. Tek taraflı elektrotlardan frekans alabilmek için uygun bir sistem oluşturulabilirdi. Sistemin kendisine ait mürekkebi ve tablası mevcuttur. 3"x4" inç boyutlu substrat PCB kartları, boş halde basıma hazır olarak satın alınır ve mürekkeple çizildikten sonra 121°C'ye ısıtılarak kurutulur.

Tasarım için elektrotları arka tarafa bulunan kristalin iletkenliğinin sağlanması için mürekkep ile yollar hazırlandı. Kristalin bu yollara temas edebilmesi için aynı boyutlarda o-ring üzerine uygun basınçla yerleştirildi. Sistemin üst kısmında o-ringin sabit kalabilmesi için o-ring boyutlarında pleksi kesilerek çift taraflı bant ile sisteme entegre edildi. Mürekkebin kurumasının ardından sistemden frekans değerleri elde edildi.



Şekil 3.13. Voltera Cihazı İle Gerçekleştirilen ve Frekans Değeri Elde Edilen Tasarım

Voltera ile gerçekleştirilen bu tasarımdan ilk kez frekans değeri başarıyla elde edildi. Cihazda kullanılan sarf malzemeler ve substratlar oldukça pahalı olduğundan dolayı sürdürülebilir bir tasarım olmadığına kanaat getirildi. Substrat PCB kartları yerine pleksilerin kullanılması maaliyeti düşürebileceğinden aynı tasarım lazer kesim cihazından boyutları değiştirilmeden pleksiler kesilerek denendi. Aynı tasarımda pleksiler kullanılarak da frekans değerleri başarıyla elde edildi.



şekil 3.14. Voltera Cihazında Pleksi İle Gerçekleştirilen Tasarım



şekil 3.15. Voltera Cihazı İle Gerçekleştirilen Tasarımdan Elde Edilen Frekans Değerleri

3.3.3. Stanford Research Systems (SRS) Kuvars Kristal Denemeleri

Optik olarak parlatılmış yüzeylere sahip AT kesim kuvars kristalleridir. Tek taraflı temas için iki elektrotta aynı tarafta bulunmaktadır. Bu sensörler, aşırı ton frekanslarında oldukça kararlıdır. 25.4mm 5Mhz altın kristaller kullanılmıştır.



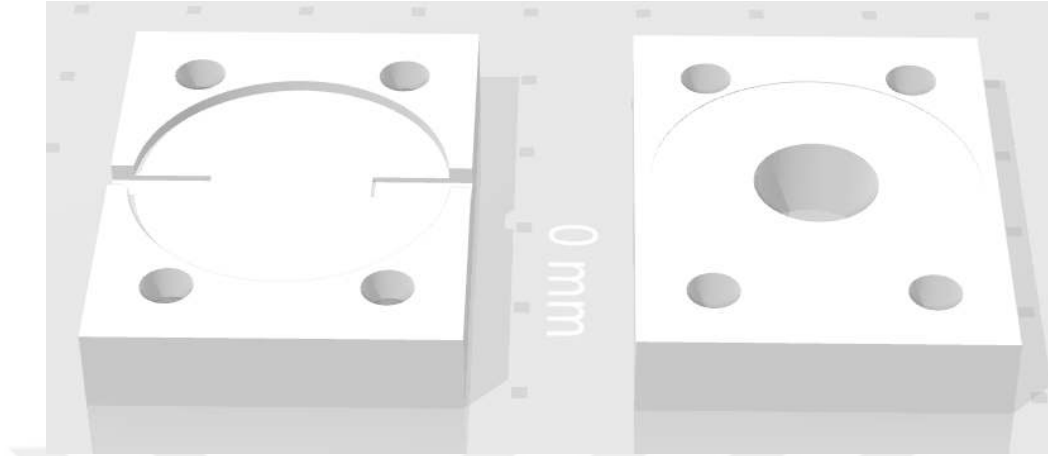
Şekil 3.16. 25.4mm 5Mhz Altın Kristal

Bu kristaller diğer kristal türlerine göre daha dayanıklı daha hassas kristal türlerdir. Bunun yanı sıra oldukça maliyeti yüksek ve temin etmesi güçtür. Çok iyi şekilde temizlenmiş çelik malzemenin yüzeylerine korozyona karşı çinko, alüminyum veya bunların alaşımlarının eritilerek, pülverize edilmesiyle kaplanması Metalizasyon gerçekleştirilebilir. Metalizasyon malzemeleri titanyum, altın, krom veya indiyum kalay oksit seçilebilmektedir. Kristalin yüzey kaplamaları içinse silisyum dioksit (SiO_2) veya polidimetilsiloksan (PDMS) seçilebilmektedir. Kuvars kristaller 5Mhz frekansında bulunmaktadır.

3.3.1.1. Üç Boyutlu Yazıcı Tasarımları

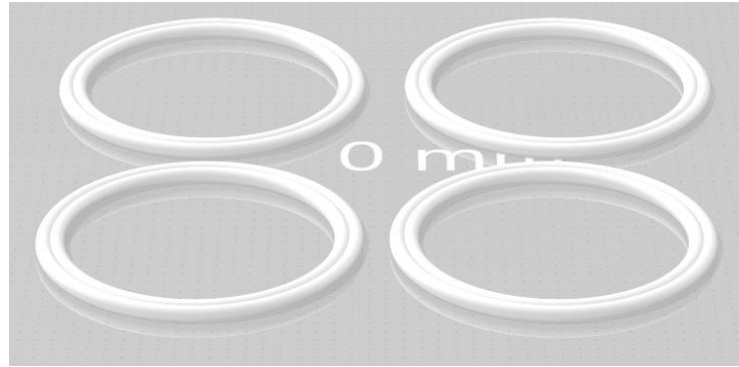
Voltera cihazı ile gerçekleştirilen tasarımın daha stabil ve uygun maliyetli olabilmesi için üç boyutlu yazıcı ile tasarımlar gerçekleştirildi. Öncelikli olarak gerçekleştirilen tasarım 40mmx50mm boyutlarında dikdörtgen bir sistem olarak tasarlandı. Sistemin ortasına kuvars kristal gelecek ve kristalin elektrotlarının olduğu bölüm bakır teller ile uzatılarak dışarı

frekans iletimi sağlanacaktır. Aynı şekilde üst kapak kısmı uygun basıncın sağlanabilmesi amacıyla vidalar frekans alınmaya uygun kuvvetle yerleştirilecektir.



Şekil 3.17. Autodesk Programı ile hazırlanan SRS Kristal Tasarımı

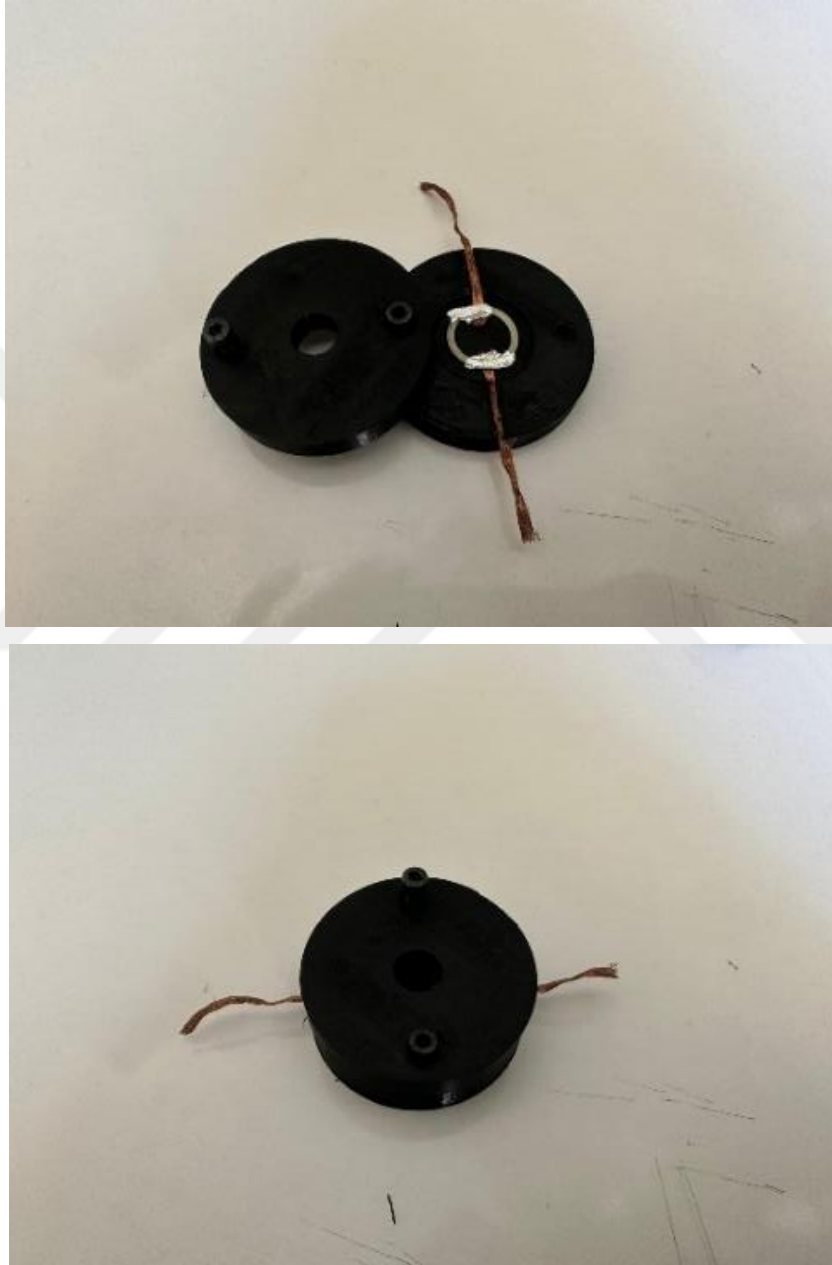
Üç boyutlu yazıcıda daha esnek bir malzeme olduğundan PLA kullanıldı. Esnekliği sayesinde kristalin frekansını kaybetmeden daha stabil bir şekilde kavranabilmesi sağlanmıştır. Tasarımda kullanılan bakır tellerin kristale temassızlığı sebebiyle frekans elde edilememiştir. Bu noktada yazıcıda basılan o-ringlerin kristalin elektrot kısmına gelen yerlerini iletken yaparak bakır telle temasın gerçekleştirilmesi planlanmıştır.



Şekil 3.18. Tasarımda Kullanılan O-ringler

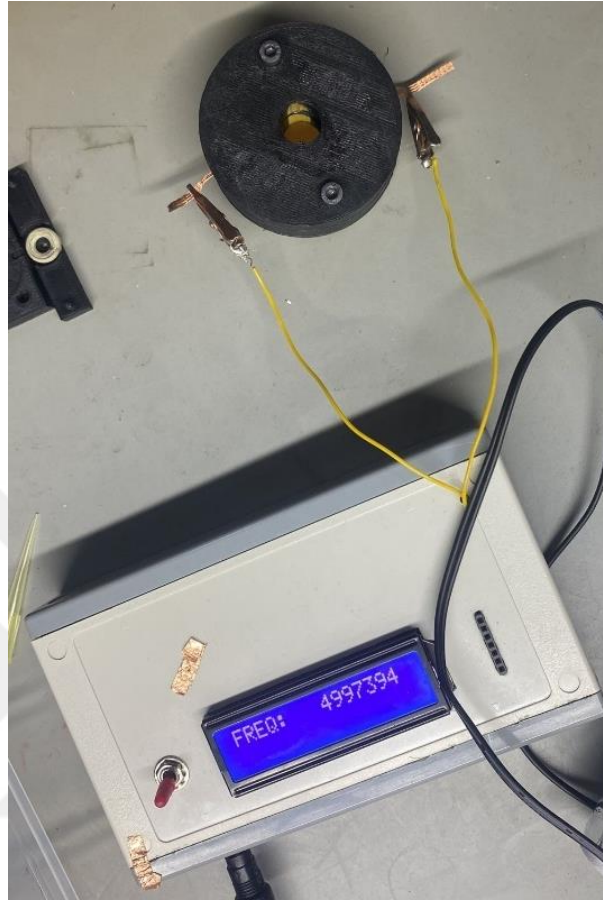
O-ringler üç boyutlu yazıcıda basıldıktan sonra kristalin elektrot kısımlarına denk gelen bölümlerine iletkenlik katılabilmesi için alüminyum ile kaplanmıştır. İletken malzeme olarak alüminyum düşük maliyetli olduğu için ilk akla gelen seçenek olmuştur. Alüminyum ile kaplanan o-ringlerin hareketsiz kalabilmesi için sisteme sabitlenmiştir. Sistemde alt

tabanda ve üst tabanda olmak üzere iki adet o-ring kullanılmıştır. Sabitlenen o-ringler ile tabanlar arasına bakır levha da dahil edilerek kristalden alınan frekans sistemin dışarısına taşınabilmiştir. Tasarımın ilerleyen aşamalarında dizayn kolaylığı açısından değişikliğe gidilmiş ve tasarım yuvarlak bir sistem haline getirilmiştir böylece her noktaya eşik kuvvetle basınç uygulanması amaçlanmıştır.



Şekil 3.19. İletken O-ring Kullanılan SRS Kristal Tasarımları

Tasarım sonucunda frekans değerleri başarıyla elde edilmiştir. Karşılaştırılan sistemler arasında en kararlı ve en stabil frekans aralığına bu tasarımla birlikte ulaşılmıştır.



şekil 3.20. SRS Kristal ile Elde Edilen Frekans Değeri

Üç farklı tip kristal ile de farklı tasarımlar geręekleřtirilip elektrotlardan frekans değerleri elde edilmiştir. Bu frekans değerleriyle daha sonra standartlar belirlenmiş ve standart eğri oluşturulmuştur. Ardından ise kan denemeleri geręekleřtirilmiřtir.

3.4. Standart için Konsantrasyon Denemeleri

Birçok alışma, elektrot yüzeyi üzerinde antikor veya antijen ile kaplı bir immünosensör için transdüser olarak kuvars kristali mikro terazi (QCM) kullanmıştır. Bu alışma süresince herhangi bir kaplama geręekleřtirmeden uygun konsantrasyon miktarları ile pıhtılaşma süresi belirlenecektir.

Üç farklı kristal boyutunda denemeler gerçekleştirilmiştir. Kristal osilatör devre elemanları için 0.5uL, 1uL ve 2uL konsantrasyon denemeleri uygulanmıştır. Uygulanan 2 uL denemelerde frekansın anında yok olduğu gözlemlenmiştir. Bundan yola çıkarak konsantrasyon azaltmaları uygulanmıştır. Aynı sonuçlar 1uL konsantrasyonunda da görülmüştür. 0.5uL konsantrasyon denemelerinde ise kristal kararsız olarak salınmaya devam etmiştir. 0.5uL kan konsantrasyonu olarak oldukça düşük bir miktardır ve herhangi bir şekilde sistem için kullanım kolaylığı sağlamamaktadır. Bir kullanım sırasında 0.5uL ayarlanarak kristale damlatılamaz ve frekans gözlemlenemez. Bu nedenlerden ötürü kristal osilatör devre elemanlarının böyle bir sistem için uygun frekans değişimlerini gözlemlemek için uygun olmadığı ortaya konulmuştur.

Elektrodları arkalı önlü olan kristallerde yapılan denemeler sonucunda frekans gözlemlenemediği için konsantrasyon denemeleri gerçekleştirilemedi. Elektrodları aynı tarafta yer alan 14.1mm 5MHz gümüş ve altın kristallerle denemeler gerçekleştirildi. Bu kristallerde 1uL,2uL,3uL ve 5uL konsantrasyon denemeleri gerçekleştirildi. İlk denemelerin ardından frekanslarda kayıp gözlemlendiği için yüzey temizliği gerçekleştirildi. Yüzey temizliği süresince iki yöntem kullanıldı. Bunlardan ilki pirana çözeltisinde (3:1 oranında sülfürik asit ve %30 hidrojen peroksit karışımı) 15 dk bekletilen kristallerin deiyonize su ile durulanalarak tekrar frekans ölçümü alınmaya çalışılmasıdır. Bu yöntem sonucunda pirana çözeltisinin altın ve gümüş kaplı kristallerin yüzeyinde deformasyona sebep vermesi sonucunda frekansta kayıp gözlenmiştir. Detaylı aşamalar aşağıdaki gibidir;

- Altın elektrotlu QCM sensörleri için 5 MHz kristaller kullanıldı.
- QCM sensörü yüzeyi, önce 2 dakika boyunca bir Pirana çözeltisine (H_2SO_4 : H_2O_2 3: 1 V/V oranında H_2O_4 : H_2O_2) daldırılarak temizlendi ve daha sonra DI su ile iyice durulandı.
- Kristaller, kullanılabilecek kadar bir kutuda saklandı.
- Plazma ile yapılan deneylerden sonra, QCM sensörleri temizlendi ve yeniden kullanıldı.
- Çözünmeyen fibrin pıhtıdan kalıntılar, bol miktarda DI su ile yıkandı ve pıhtı çoğunun yüzeyden yıkanmasına izin verdi.
- Yüzeyin rejenerasyonunu sonucunda her sensör için rezonans frekansı kaydedildi ve frekansta kayıp gözlemlendi için uygun temizleme yöntemi olmadığına karar verildi

Yüzey temizlemede kullanılan ikinci yöntem ise kristallerin su banyosunda 37°C'de 30 dk bekletilmesi olmuştur. Su banyosunda gerçekleştirilen yüzey temizliğinin hem

kristallerin üzerine damlatılacak kan ısisına (vücut sıcaklığı) gelmesi için hem de yüzeydeki kalıntıların temizlenmesi için uygun yöntem olduğu kesinleştirilmiştir.

Yüzey temizliğinin ardından yapılan konsantrasyon denemelerinde 5ul,3ul,2ul ve 1ul hacimlerinin kristalin yüzeyine damlatıldıklarında aniden kristalin frekansının kaybolduğu görünmüştür. Beklenildiği şekilde orantılı olarak bir düşüş gözlenememiştir. Damlatılan damlaların kristalin salınabilmesi için fazla geldiği ve kristalin salınmasına engel olduğu kanıtlanmıştır. 1ul'den daha küçük hacimlerin klinik de kullanılan sistem için kullanışlı olmayacağı ve kullanıcı için zorluk ortaya çıkaracağı düşünüldüğü için aralığı daha geniş olan ve daha yüksek hacimlerde sonuç alınabileceği düşünülen SRS kuvars kristaller içi denemelere devam edilmiştir.

Son olarak SRS kuvars kristaller için standart denemeleri gerçekleştirilmiştir. Bu denemelerde 1ul,2ul,3ul ve 5ul hacimler denemiştir. 1uL,2uL, 3uL ve 5uL hacimlerin hepsinde başarılı bir düşüş elde edilmiştir. Sonuçları karşılaştırdığımızda ise 1ul hacimler ile birlikte daha anlamlı bir grafik ortaya çıktığına karar verilmiştir.

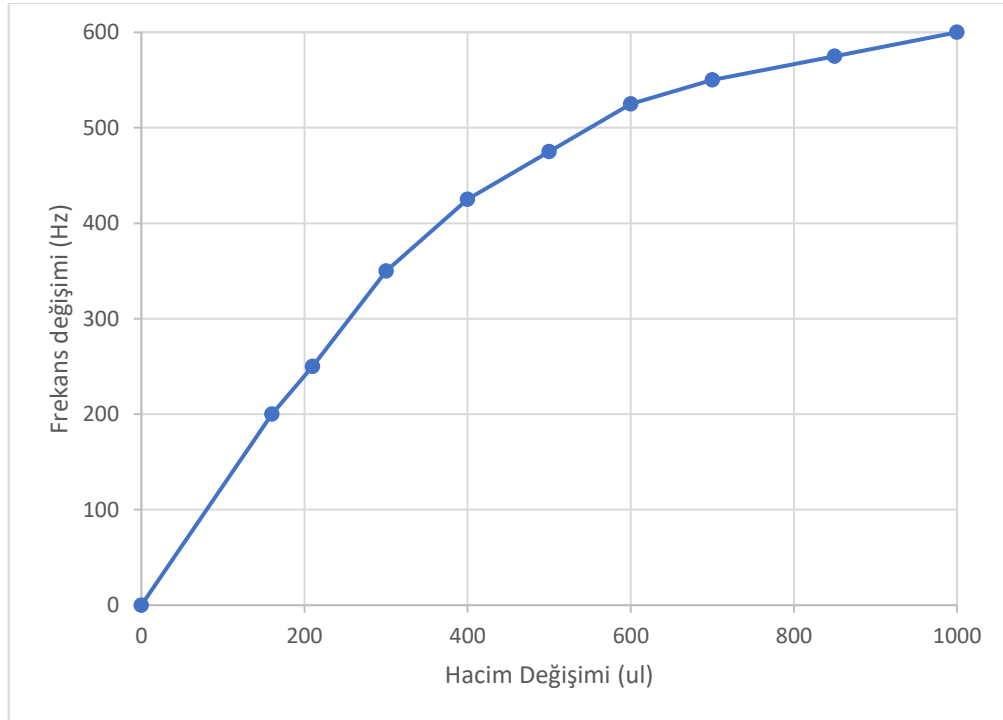
Hacim denemeleri sonucunda ölçüm için, AT kesim SRS altın elektrot ile bir piezoelektrik 5 MHz kuvars sensörden oluşan dönüştürücü olarak QCM kullanmaya karar verildi. Kuvars yüzey temizliği, 1 dakika süreyle etil alkol ile ardından ise deiyonize suyla durulamayla (laboratuvar kaynağı) gerçekleştirildi. Ölçümler öncesinde ise su banyosunda vücut ısisına gelene kadar 30 dk 37°C'de bekletildi ardından ölçümler kan ile gerçekleştirildi.

QCM üzerine su damlatıldığında ortaya çıkan standart eğri, genellikle "sıvı kalibrasyon eğrisi" olarak adlandırılır. Bu eğri, QCM'nin frekans değişimine su damlalarının kütsel değişimi tarafından nasıl yanıt verdiğini gösterir. Standart bir sıvı kalibrasyon eğrisi genellikle frekans değişimi (Δf) ve eklenen sıvının bilinen kütle miktarı (m) arasındaki ilişkiyi gösterir. Genellikle, su gibi bir sıvı damlatıldığında QCM'nin frekansında bir düşüş görülür. Bu düşüş, eklenen suyun kütle artışına bağlı olarak ortaya çıkar. Sıvı kalibrasyon eğrisi, belirli bir frekans değişimi için eklenen sıvının kütsesini tahmin etmek için kullanılır. Bunun için, önceden bilinen farklı kütselere sahip bir dizi sıvı damlatılır, denemeler için belirlenen sıvı sudur. QCM frekansındaki değişimler kaydedilir. Bu noktaların birleştirilmesiyle elde edilen eğri, daha sonra bilinmeyen kütle değerlerinin tahmin edilmesinde kullanılabilir. Sıvı kalibrasyon eğrisi, QCM'nin sıvıya karşı hassasiyetini ve doğrusallığını değerlendirmek için de kullanılabilir. Literatür sonuçlarına göre gerçekleştirilen su hacim değişim denemeleri sonuçlarının frekans değişimine (Δf) yansımaları aşağıdaki gibi gösterilmektedir.

Tablo 3.1. Hacim Farklarına Göre Frekans Değişim Tablosu

Freakans Değişimi (Hz)	Konsantrasyon Değişimi (uL)
0	0
200	160
250	210
350	300
425	400
475	500
525	600
550	700
575	850
600	1000

Bu değerleri dağılım grafiğine koyarsak logaritmik bir artış gözlemlenebilir. Bu grafik sonuçlarına göre hacim değerlerindeki değişimin ilk ve son frekans değerleri arasındaki farkın artışına doğrudan etki ettiği sonucu kesinleşmiştir. Bu hacimde artış ile birlikte frekans değişiminde gözle görülür bir şekilde artış meydana gelmiştir. Damlatılan suyun yoğunluğu kana göre daha az olduğu için damlatılacak olan hacimler ortaya çıkan eğrideki hacimlerden daha düşük olmalıdır.



Şekil 3.21. Hacim Değişiminin Frekans Değişimine Yansıma Grafiği

3.5. Pıhtılaşma için Uygun Kan Hacimleri

Kuvars kristal mikro terazi kullanılarak pıhtılaşmanın gözlemlenebilmesi için uygun kan hacmi, pıhtılaşma zamanını belirleyebilecek kadar yüksek olmalı fakat kristalin salınma frekansında herhangi bir kayba sebebiyet vermemelidir. Bu hacim, test koşullarına bağlı olarak değişebilir. Genellikle, pıhtılaşma gözlemlenmesi için kullanılan kan hacmi, normal kan pıhtılaşma zamanının yaklaşık iki katıdır. Ancak, kullanılan pıhtılaşma testi türüne ve koşullarına bağlı olarak, uygun kan hacmi değişebilir. Ayrıca, dikkate alınması gereken başka faktörler de vardır. Örneğin, kan örneklerinin hazırlanması, pıhtılaşma testinin tamamlanması ve sonuçların analizi için uygun yöntemlerin kullanılması önemlidir. Ayrıca, kullanılan QCM cihazının özellikleri ve hassasiyeti de test sonuçlarına etki edebilir. Bu nedenle, pıhtılaşma gözlemlenmesi için uygun kan hacmi belirlenirken, tüm bu faktörlerin dikkate alınması önemlidir.

5 MHz AT-kesim SRS altın QCM cihazlarının tipik olarak kullanıldığı pıhtılaşma deneylerinde uygun kan hacmi, 1-20 μ L arasındadır. Ancak, uygun kan hacmi, kullanılan reaktiflerin tipine, deney koşullarına ve QCM cihazının özelliklerine göre değişebilir. Deney boyunca herhangi bir reaktif kullanımı söz konusu olmadığı için en küçük hacmin uygun olduğuna karar verilmiştir.

Test koşullarında denenen kristallere göre en uygun kan hacimleri su damlatılarak gerçekleştirilen denemeler sonucu ortaya çıkan standart eğriye göre 1 μ L olarak belirlenmiştir.

3.6. Pıhtılaşma İçin Optimal Koşullar

QCM, bir yüzeyin üzerindeki kütleli değişiklikleri hassas bir şekilde ölçebilen bir analitik tekniktir. QCM, bir kuvars kristal tabakanın mekanik titreşim frekansındaki değişiklikleri izleyerek yüzeydeki kütleli değişiklikleri tespit eder. QCM'nin kan pıhtılaşması gözlemlemek için kullanılması, pıhtılaşmanın kristal yüzeyine yapışan trombositler ve pıhtı faktörleri gibi bileşenlerin neden olduğu kütle artışının izlenmesini içerir ancak QCM tek başına bir yöntem olarak kullanılmamalıdır. Elde edilen veriler, diğer analitik teknikler ve klinik değerlendirmelerle desteklenmelidir. QCM deneyleri için pıhtılaşma gözlemlenmesi amacıyla, optimal koşullar aşağıdaki gibi olmalıdır:

QCM kristali: Pıhtılaşmanın gözlemlenmesi için uygun bir QCM kristali seçilmelidir. Örneğin, altın kaplı bir QCM kristali genellikle pıhtılaşma deneyleri için kullanılır. Kuvars

kristal yüzeyi temizlenir ve uygun bir ortama yerleştirilir. Kristal üzerindeki elektrotlar, titreşim sinyallerini oluşturmak ve algılamak için kullanılır.

Kan konsantrasyonu: Optimal kan konsantrasyonu, pıhtılaşmanın gözlemlenmesi için uygun bir şekilde ayarlanmalıdır. Kan konsantrasyonu, deneyin amaçlarına ve kullanılan materyallere bağlı olarak değişebilir. Tipik olarak, pıhtılaşma gözlemlenmesi için kanın %2-5 konsantrasyonu kullanılır.

Sıcaklık: Sıcaklık, QCM deneylerinde önemli bir faktördür. Pıhtılaşma deneyleri için, sıcaklık vücut sıcaklığıyla eşleşmelidir ve genellikle 37°C olarak ayarlanır.

pH: Pıhtılaşma süreci, optimal pH ve sıcaklık koşullarında gerçekleşir. Kan pH'sı genellikle 7.35 ila 7.45 arasında stabil tutulmalıdır.

Kan dolaşımı: Optimal pıhtılaşma için sağlıklı bir kan dolaşımı önemlidir. Kanın normal akışı, pıhtıların etkili bir şekilde oluşmasını ve gerektiğinde dağılmasını sağlar. Bu nedenle tercih edilen deneklerin hasta kategorisinde olmaması önemlidir.

Frekans: Frekans, QCM deneylerinde önemli bir faktördür. Pıhtılaşma deneyleri için, frekans genellikle 5-20 MHz arasında ayarlanır.

Nem: Nem seviyesi, QCM deneyleri için önemli bir faktördür. Pıhtılaşma deneyleri için, nem seviyesi genellikle %40-60 arasında ayarlanır.

Kan hacmi: Optimal kan hacmi, pıhtılaşmanın gözlemlenmesi için uygun bir şekilde ayarlanmalıdır. Kan hacmi, deneyin amaçlarına ve kullanılan materyallere bağlı olarak değişebilir. Tipik olarak, 1-20 µl kan hacmi kullanılır.

4. BULGULAR

4.1. Hacme Göre Kan Denemeleri

4.1.1. Deney Hazırlığı

QCM, çok küçük hacimlerde çalışabilen hassas bir tekniktir. Bu nedenden ötürü deneyler gerçekleştirilmeden önce belirli yüzey temizliği için hazırlıklar gerçekleştirilmelidir. Kan damlatma deneyleri için belirlenen tasarımın ardından izlenen adımlar şu şekildedir:

- QCM hazırlığı: Bu adım da kristal yüzeyinin temizlenmesi, elektrotların bağlantısı ve uygun bir ortamın hazırlanmasını mevcuttur. Kristallerin temizliği ve hazırlanması için öncelikli olarak, kristaller su banyosunda 15 dakika boyunca bekletildi sonra DI su ile iyice durulandı. Kristallerin uygun sıcaklığa gelebilmesi için etüv içerisinde 15dk 37°C’de bekletildi.
- Kan hazırlığı: kan örneği bir mikro pipet kullanarak alındı. Hazırlanan kan örneği, QCM'nin ölçüm hücresine dikkatlice eklendi. Kan örneği kristal yüzeyine temas ettiğinde, pıhtılaşma süreci başladı.
- Titreşim izleme: QCM, titreşim frekansındaki değişiklikleri ölçerek pıhtılaşma sürecini izler. Kütle artışıyla birlikte titreşim frekansında bir artışın meydana geldiği gözlenmiştir.
- Titreşimin kaydedilmesi: titreşimin saniye bazında takibinin yapılabilmesi için bir kayıt cihazı ile süreç kaydedilmiştir.

Bu adımlar izlenirken dikkat edilmesi gereken birkaç nokta vardır: Mikro hacimli çalışma yapıldığı için, dikkatli ve hassas bir şekilde çalışmak oldukça önemlidir. Aynı zamanda herhangi bir antikoagülan kullanılmadığından, kan daha hızlı pıhtılaşacaktır.

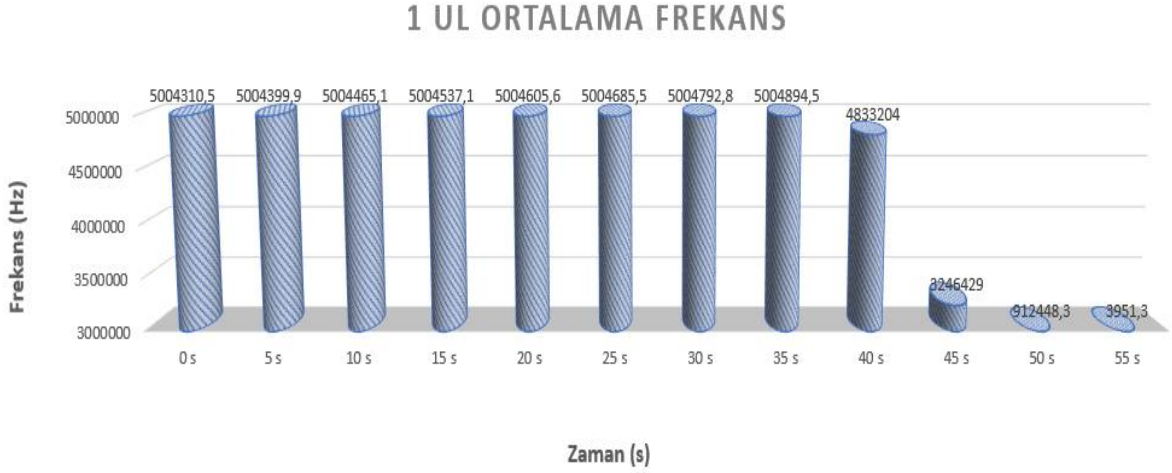
4.1.2. 1uL Kan Denemeleri

Deneylerin tekrarlanabilirliğini sağlamak amaçlı gerekli kontroller gerçekleştirilmiş ve 1uL’lik kan hacimleri için 10 deneme gerçekleştirilmiştir. QCM kullanarak 1 μ L kan örneğiyle pıhtılaşma denemeleri yapmanın, pıhtılaşma sürecini mikro hacimlerde incelemek için uygun bir yaklaşım olduğu ortaya koymuştur. Denemeler ard arda 10 kez gerçekleştirilmiş ve 55. Saniyeye kadar izleme yapılmıştır. Son frekans değerleri 55.

Saniyeye kadar gözlemlense de 45. Saniyeye kadar olan değerlerin grafiğe dönüştürülmesi tekrarlanabilirlik ve doğrulanabilirlik açısından daha tutarlı olduğundan izlemeler 30. Saniyeye kadar kabul edilmiştir. Şekil 23’den anlaşıldığı üzere kristalin yüzeyine damlatılan kan ile birlikte 5. Saniyede kristalin frekansında 50 Hz düzeyinde bir artış gözlenmiştir. İlerleyen saniyelerde ise ortalama artış 250-500Hz aralığında olmuştur. Bu da sonuç olarak Δf değerini vermektedir. 1 uL kan hacim denemelerinde $\Delta f \cong 480$ Hz’dir. Sıvı damlatıldığında kristalin frekansında bir düşüş gözlenmesi gerekirken denemelerde frekansın arttığına şahit olunmuştur. Bu artış genellikle iki olası durumdan kaynaklanabilir:

- **Kütle Artışı:** Sıvı damlatıldığında, sıvının kristal yüzeyine yerleşmesi kristal üzerinde bir kütle artışına neden olur. Bu kütle artışı, genellikle kristalin titreşim frekansında bir düşüşe neden olur. Ancak, bazı durumlarda sıvı örneği kristal üzerinde yüksek bir yüzey gerilimi oluşturarak, kristalin titreşim frekansının artmasına neden olabilir. Bu, kristal yüzeyindeki sıvının belirli bir şekilde dağılmasından veya kaplanmasından kaynaklanabilir. [20]
- **Viskozite Etkisi:** Sıvı örneğinin viskozitesi, titreşim frekansı üzerinde bir etki yapabilir. Yüksek viskoziteli bir sıvı, kristalin titreşim frekansını artırabilir. Stabilitate denemelerini su ile gerçekleştirdikten sonra kan denemelerinde frekans artışı gözlemlenmesinin sebebi viskozitesinin yüksek olmasından kaynaklanabilir. [61]–[63]

Değerler göz önüne alındığında 1uL hacmin damlatılan kan hacminde ideal pıhtılaşma hacmi olduğu ortaya konulmuştur. Şekil 4.1.’de 10 adet 1uL kan denemesinin ortalama değerleri ile zaman ilişkisi ortaya konulmuştur. Zamana bağlı olarak frekans değerlerinde gözlenen artış 10 denemede de benzer sonuçları göstermektedir. Denemelere göre bazı değişimler 35. Saniyede bazıları ise 45. Saniyede ani düşüş sergilemektedir. Bu nedenle frekans değişimlerinin ortalaması alınırken 40. Saniye aralığı denemelerin veri bütünlüğünün bozulmaması açısından geçerli veri zamanı olarak kabul edilmiştir. Gözlemlenen frekans artışı ve pıhtılaşma süresi arasındaki korelasyon aşağıda ispatlanmıştır.



Şekil 4.1. 1µL Kan Denemelerinin Zamana Göre Ortalama Frekans Sonuçları

4.1.3. 2 µL Kan Denemeleri

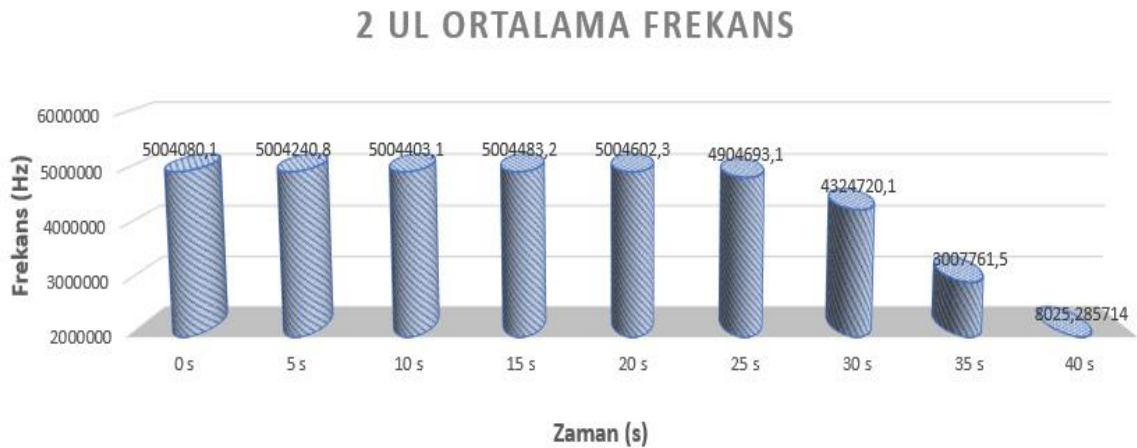
Kuvars kristal mikro terazi sisteminde, kristal yüzeye düşürülen farklı hacimlerdeki sıvı damlaları arasındaki frekans farkı, öncelikle sıvı damlalarının kütle değişimi ve viskozitesinden etkilenir. İki hacim arasındaki temel frekansın daha kısa sürede farkını ortaya koyması olmuştur. Kristal yüzeyine bir sıvı damlası damlatıldığında, kristale kütle ekleyerek rezonans frekansında bir azalmaya neden olmalıdır. Genel olarak, daha büyük bir sıvı damlası damlatıldığında yani bu hacim oranı 1 µL'den 2 µL'ye arttırıldığında daha büyük bir kütle artışı gerçekleşir ve bu da daha büyük bir frekans kaymasına neden olur.

Sıvı damlasının viskozitesi de frekans farkını etkileyen en önemli faktörlerden birisidir. Genel olarak, aynı sıvının 1 µL ve 2 µL hacimleri arasında viskozite farkı bulunmaz. Viskozite, bir sıvının akış direncini ifade eder ve miktarı ile doğrudan ilişkilidir. Dolayısıyla, aynı sıvının 1 µL veya 2 µL olarak hacimlerine bağlı olarak viskozite değişmez.

Sıvı damlalarının yayılma dinamikleri de frekans farkını etkileyebilir. QCM yüzeyinde bir damla biriktiğinde, ince bir sıvı film oluşturmak için yayılır. Yayılma davranışı, yüzey gerilimi ve ıslanabilirlik gibi faktörlere bağlıdır. 2 µL'lik kan damlasının yayılması 1 µL'lik düşüşten daha kapsamlıdır. Böylelikle daha geniş bir yüzey alanı kaplamasına ve sonuç olarak daha büyük bir frekans kaymasına neden olur. [64] Farklı damla hacimleri arasında gözlemlenen frekans farkı aynı zamanda damla birikiminin tutarlılığı, sıcaklık değişimleri ve sıvının tam bileşimi gibi deneysel faktörlerden etkilenebilmektedir.

Şekil 4.2.'de gösterildiği üzere denemeler 10 farklı denek üzerinde gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.2.'da sunulan grafik değerleri 10 adet denemenin ortalamasının zamana göre

ilişisini ortaya koymaktadır. Deneyin 10 deneme ile gerçekleştirilmesi ve ortalama değerler elde edilmesi ile deneyin tekrarlanabilirliği kanıtlanmıştır. Kristalin ortasına damlatılan kan ile birlikte 5. Saniyede kristalin frekansında 100 Hz-200 Hz düzeyinde bir artış gözlenmiştir. İlerleyen saniyelerde ise ortalama artış 350-750 Hz aralığında olmuştur. Burada elde edilen Δf değeri ise 2 uL kan hacim denemelerinde $\Delta f \cong 600$ Hz'dir. 1uL hacimde gözlem süresi 40 saniye iken 2uL kan denemelerinde bu gözlem süresi 35 saniyeye düşmüştür. 35. Saniyeden sonra frekans değerleri herhangi bir korelasyon içermeden ani bir düşüş sergilemektedir. Bu nedenle elde edilen grafikler 0 saniye ve 35 saniye aralığındadır. Kan hacminin damlatılmasıyla 2uL'lik frekans değişimlerinde de kristalin frekansında bir artış gözlenmiştir. Hacim iki katına çıktığında gözlemlenen en belirgin fark gözlem süresinin 10 saniye daha kısa olmasıdır. Bunun yanı sıra kan pıhtılaşmasının gözlenen Δf değeri tam olarak 480 Hz değerinden 600 Hz değerine çıkmıştır. Bu fark 2uL kan frekans değerlerinin 1 uL kan damlatıldığında oluşan frekans değerlerinin 1,25 katıdır.



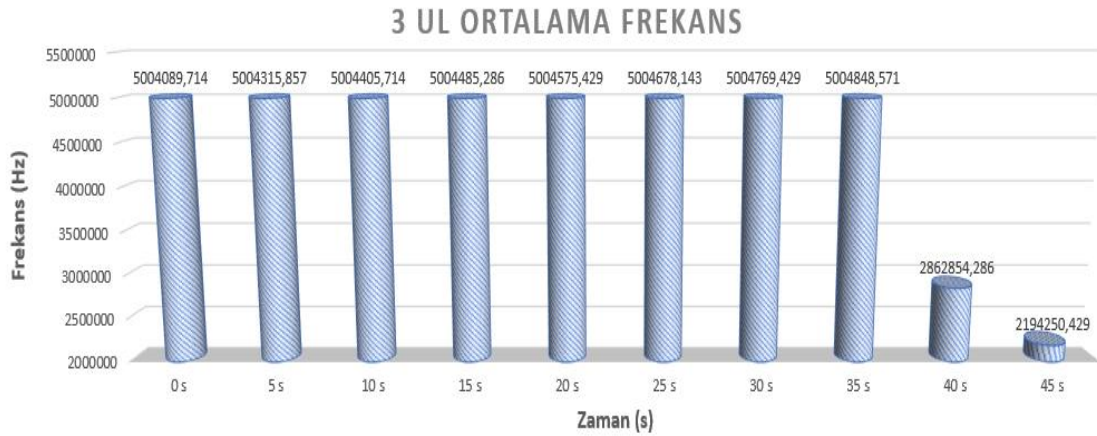
Şekil 4.2. 2 uL Kan Denemelerinin Zamana Göre Ortalama Frekans Sonuçları

4.1.4. 3 uL Kan Denemeleri

3uL kan denemeleri 2uL kan denemeleri ile kıyaslandığında daha farklı bir artış sergilemiştir. QCM kristal yüzeyi üzerine sıvı bir numune yerleştirirken, bunun düzgün bir şekilde yayılması ve ince bir film oluşturması gerekir. 3 μ L gibi daha büyük bir hacimle numunenin yayılması ve kuruması daha fazla zaman gerekebilir. Bu da potansiyel olarak ölçüm dinamiklerini etkiler. Doğru ölçümler için numunenin eşit şekilde yayılmasını ve kristal yüzeyini kaplamasını sağlamak önemlidir.

QCM sistemleri, kristal yüzeyinde bulunan kan kütleindeki çok küçük değişiklikleri tespit etmek için tasarlanmıştır. Daha büyük numune hacimleriyle çalışırken, ortaya çıkan kütle değişimi nispeten daha büyük olabilir. Bir kan örneğiyle ölçüm yapmadan önce QCM sisteminiz için uygun bir temel ve kalibrasyon oluşturmanız önemlidir. Kan numuneleri, karmaşık bileşimleri ve QCM ölçümüyle olası etkileşimleri nedeniyle zorluklar ortaya çıkarmaktadır.

Şekil 4.3.'de gösterildiği üzere denemeler 7 farklı denek üzerinde gerçekleştirilmiştir. Böylelikle deneyin tekrarlanabilirliği kanıtlanmıştır. Şekil 4.3.'de 7 farklı denemenin ortalaması alınarak zaman ilişkili olarak verilmiştir. Deneme süreleri 45 saniye boyunca gerçekleşmiş 35 saniye olarak tamamlanmıştır. Bu süreden sonra değerlerde ani düşüş gözlenmiştir. 2uL kan denemelerine kıyasla süre olarak bir fark gözlenmemiştir. 2uL'de bazı örneklerde gözlenen ani frekans kayıpları 35. Saniyeye kadar gözlenmemiştir. Her örnek 35. Saniyeye kadar aynı oranı izleyerek artış göstermiştir. Kristale damlatılan kan ile birlikte 5. Saniyede kristalin frekansında 200 Hz-300 Hz düzeyinde bir artış gözlenmiştir. İlerleyen saniyelerde ise ortalama artış 500 Hz-1200 Hz aralığında olmuştur. Burada elde edilen Δf değeri ise 3 uL kan hacimleri için $\Delta f \cong 800 \text{ Hz}$ 'dir.



Şekil 4.3. 3 uL Kan Denemelerinin Zamana Göre Ortalama Frekans Sonuçları

4.1.5. 5 uL Kan Denemeleri

5uL'lik daha büyük bir numune hacmiyle, QCM kristali üzerindeki kütle yükü, 3 μL numuneye kıyasla 5 μL kan numunesi için daha yüksektir. Bu artan kütle yüklemesinin, QCM sinyalinde daha büyük bir frekans kaymasına yol açması beklenmektedir. 5 μL gibi daha büyük bir kan hacminin yayılması ve düzgün bir film oluşturması daha fazla zaman alır,

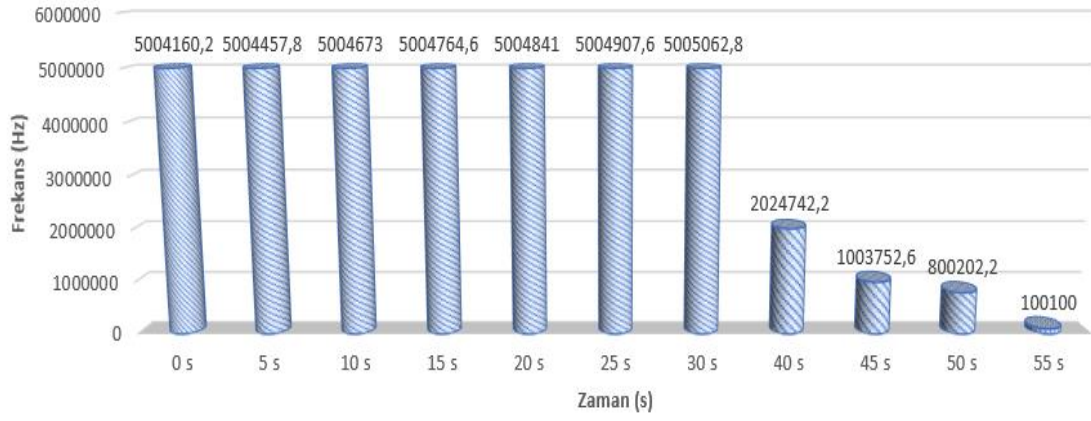
bu da potansiyel olarak yayılma dinamiklerini ve sonuçta ortaya çıkan ölçümü etkilemektedir. QCM cihazına damlatılan kan miktarı ile pıhtılaşma arasında bir ilişki vardır, ancak bu ilişki çok faktörlüdür. Deneyde gözlenildiği üzere QCM kristal yüzeyine damlatılan kan miktarı, pıhtılaşmanın hızını etkilemektedir. Daha fazla kan damlatıldığında, daha büyük bir pıhtı oluşma olasılığı artmaktadır.

Bunun yanısıra 5 μL ile ilişkili büyük kütle değişikliği, 3 μL örneklerle karşılaştırıldığında daha yüksek bir sinyal-gürültü oranına neden olabilir.[65] Daha büyük kütle yüklemesi, 3 μL örneğine kıyasla potansiyel olarak daha güçlü bir sinyal ve daha yüksek hassasiyet sağlayabilir. Bu da ölçümde hata yapılması olasılığını artırır.

Bir QCM'ye damlatılan 5 μL ile 1 μL kan arasındaki zaman farkı çeşitli faktörlere bağlı olarak değişebilir. Tipik olarak, daha büyük bir kan hacmi (5 μL), daha küçük bir hacme (1 μL) kıyasla daha büyük bir frekans değişikliğine neden olmalıdır çünkü kristal yüzeyine daha fazla kütle eklenir. Kan damlacıkları biriktikten sonra frekansın sabitlenmesi için geçen süre, kanın viskozitesi ve pıhtılaşma özellikleri gibi faktörlere bağlı olarak değişebilir. Kan, QCM yüzeyiyle temas ettiğinde pıhtılaşabilir ve bu da zaman içinde değişikliklere yol açar. Daha büyük kan damlacıklarının (5 μL) yayılması ve yüzeyle etkileşime girmesi daha uzun sürebilir, bu da daha küçük damlacıklara (1 μL) kıyasla daha uzun bir stabilizasyon süresiyle sonuçlanabilir. [65], [66]

Şekil 4.4.'de gösterildiği gibi denemeler 5 farklı denek üzerinde gerçekleştirilmiştir. Böylelikle deneyin tekrarlanabilirliği kanıtlanmıştır. Şekil 4.4.'de 5 farklı denek üzerinde gerçekleştirilen deneyleri ortalaması alınarak zaman ilişkili grafiklere dönüştürülmüştür. 5 denekte de benzer frekans artışları gözlenmiştir. Deneme süreleri 40 saniyeye kadar elde edilebilse de frekansın düzgün izlenebildiği ilk 30 saniye olarak ele alınmıştır. Bu süreden sonra değerlerde ani düşüş gözlenmiştir. Bu sonuçlar hacim artışıyla birlikte pıhtılaşma süresinin kısalması hipotezini doğrulamaktadır. Kristalin yüzeyine damlatılan kan ile birlikte 5. Saniyede kristalin frekansında 200 Hz-300 Hz düzeyinde bir artış gözlenmiştir. İlerleyen saniyelerde ise ortalama artış 800 Hz-1000 Hz aralığında olmuştur. Burada elde edilen Δf değeri ise 5 uL kan hacimleri için $\Delta f \cong 900 \text{ Hz}$ 'dir.

5 UL ORTALAMA FREKANS



Şekil 4.4. 5 uL Kan Denemelerinin Zamana Göre Ortalama Frekans Sonuçları

5. TARTIŞMA

Kan, insan vücudunda oksijen, besin maddeleri, hormonlar sağlayan ve atık ürünleri uzaklaştıran hayati bir kaynaktır. Kırmızı kan hücreleri, beyaz kan hücreleri, trombositler ve plazma gibi çeşitli bileşenlerden oluşur. Kanın önemli bir işlevi ise kanamayı önlemek için kan pıhtıları oluşturma süreci olan pıhtılaşmayı gerçekleştirmektir. Pıhtılaşma kaskadı, bir kan pıhtısı oluşumuna yol açan proteinleri ve diğer faktörleri içeren karmaşık bir dizi reaksiyondur. Daha önce de belirtildiği üzere proteinler, enzimler ve kalsiyum iyonları dahil olmak üzere bu kaskad bir grup pıhtılaşma faktörünü içerir. Trombin tarafından oluşturulan fibrin şeritleri iç içe geçerek ağ benzeri bir yapı oluşturur. Bu ağ, kırmızı kan hücrelerini ve trombositleri yakalayarak bir kan pıhtısı oluşturur. Bu reaksiyonlar sonucu ortaya çıkan pıhtının süresinin ve miktarının belirlenmesi için bazı proteinler mevcuttur.

Fibrinojen proteini pıhtılaşma sürecinde önemli bir rol oynar. Karaciğer tarafından sentezlenen bu protein pıhtılaşma sırasında fibrinojen, fibrine dönüştürülür.

Fibrinojen seviyelerinin belirlenmesi, protrombin zamanı ve aktive parsiyel tromboplastin zamanı gibi laboratuvar testleri bağlamında kan pıhtılaşma süresi ile ilişkilidir. Bu testler, fibrinojen seviyeleri ile pıhtılaşma sürecinin bağlantılı şekilde bir değerlendirmesini sağlamak için kullanılır. Fibrinojen seviyeleri düşükse, fibrinojenin fibrine dönüşüm süresi uzar ve protrombin zamanının uzamasına neden olur. Bu da bağlantılı olarak pıhtılaşma süresinin uzadığını ortaya koyar.

Protrombin zamanı ve aktive parsiyel tromboplastin zamanı gibi laboratuvar testleri pıhtılaşma süreci hakkında bilgi sağlamakla birlikte doğrudan fibrinojen düzeylerini ölçmezler. Fibrinojen seviyelerinin doğrudan değerlendirilmesi için tipik olarak Clauss yöntemi veya immünolojik testler gibi spesifik bir fibrinojen testi gerçekleştirilir. Bu testler yüksek maliyetli ve sonuç alması uzun süren testlerdir. Herhangi bir acil müdahale gerektiğinde sonuçların beklenmesi hayati sonuçlarla sonuçlanabilir. Bu nedenle fibrin oluşumunun yerinde, kolay yollarla ve gerçek zamanlı olarak tespit edilebilmesi klinik açıdan büyük rahatlık sağlamaktadır.

Kan pıhtılaşma süresinin belirlenmesi için QCM tabanlı bir biyosensör tasarlarken birkaç önemli husus vardır. Genel olarak, kan pıhtılaşma süresi tayini için algılama ilkelerinin, deney düzeneğinin, kalibrasyonun, duyarlılığın ve doğrulamanın değerlendirilmesini gerektirir. Bu yönleri ele alarak, kan pıhtılaşma süresinin doğru ve zamanında belirlenmesi için etkili bir biyosensör cihazı geliştirilebilir.

Kan pıhtılaşması meydana geldikçe, pıhtılaşma faktörlerinin oluşumu nedeniyle kütlede değişiklikler olacaktır. Bu değişikliklerin meydana gelmesi için geçen süre, kanın pıhtılaşma süresi ile ilişkilendirilebilir.

Biyosensör, iyi tasarlanmış bir deney düzeninde kullanılmalıdır. Kan örneğinin sensör yüzeyine iletilmesi için bir akışkan sıvı sistemi, sıcaklığı korumak için bir kontrol sistemi ve frekans değişikliklerini gerçek zamanlı olarak izlemek için bir veri toplama sistemi içermelidir.

Kan pıhtılaşma süresini doğru bir şekilde belirlemek için standart grafikler gereklidir. Bir kalibrasyon eğrisi oluşturarak, bilinmeyen bir numunenin kan pıhtılaşma süresi frekans değişikliğine göre belirlenebilir.

Kan pıhtılaşma süresinin güvenilir ve doğru ölçümlerini sağlamak için biyosensörün tespit limitinin optimize edilmesi gerekir. Tespit limitinden daha yukarda bir miktar QCM'in standart ölçümlerini etkileyebilir.

Sunulan tez kapsamında amaçlanan kan pıhtılaşmasında rol alan fibrinojenin yüksek hassasiyette tespiti için bir QCM biyosensörü tasarımı klinik plazma örneklerinde kan pıhtılaşma sürelerini saptamak için laboratuvarda tasarlanmıştır. Frekans kaymaları, başlangıç zamanı ve fibrin birikim hızı gibi genel pıhtılaşma kinetiği hakkında bilgi verdiği ortaya konmuştur.

Bunun yansira tasarlanan sistem için uygun kan hacimleri belirlenmiş ve standartlar ortaya konulmuştur. QCM biyosensörü klinik kullanımda henüz yaygınlaştırılamasa da bir adım olarak görülebilir. Üzerinde çalışılarak frekans ayarlamalarının gerçekleştirilmesi ve optimize edilmesi gereklidir. İlk aşama olarak kullanımı olumlu gözükse bile arkasından gerekli laboratuvar testlerinin gerçekleştirilmesi zorunlu olmalıdır. Kan pıhtılaşmasında görev alan fibrinojenin kütle artımıyla birlikte QCM biyosensörünün frekans aralığındaki değişimini saptayabilecek sistem ortaya konulmuştur.

6. SONUÇLAR

6.1. Tasarlanan Sistem Belirlenmesi

Denenen her kristal tipi için sistem belirlenmesi gerçekleştirilmiştir. Ardından deneylerin gerçekleştirileceği biyosensör için kristal ve sistem düzenlenmiştir.

Kristal osilatör devre elemanları ile yapılan tasarımlarda pleksinin dayanıklılığı göz önüne alındığında tasarıma üç boyutlu yazıcı ile devam etme kararı alınmıştır. Üç boyutlu yazıcı ile uygun tasarımlar elde edilse bile Dremel ile kesilerek elde edilen kristallerin farklı boyutlarda kesilememesi nedeniyle tasarıma uyum sağlanamamıştır. Bu nedenle her elemanda aynı frekans elde edilememiştir. Aynı zamanda kristal osilatörün kütle algılama aralığı çok küçük olduğu için oldukça az mikrolitreler uygulandığında bile frekansın aniden kaybolduğu gözlemlenmiştir. Bu da kullanım zorluğunu beraberinde getirmektedir.

Çift yüzey elektrotları bulunan kristaller ile gerçekleştirilen tasarımlarda mekanik olarak frekans gözlenmesi sağlanamamıştır. Tasarımsal olarak gerçekleştirilen sistemlerde elektrotların bağlantılarının gerçekleştirilip frekans elde edilememiştir. Hem pleksi hem üç boyutlu yazıcı ile gerçekleştirilen denemelerden stabil ve tekrarlanabilir bir frekans değeri gözlenememiştir. Elektrotları tek taraflı olan kristaller için ise Voltera V-one cihazı ile tasarımı gerçekleştiren Eagle program çizimlerinde ise ulaşılmak istenilen tekrarlanabilirlik ve stabilite değerlerine ulaşılmıştır. İlk denemelerin ardından bu kristallerin frekanslarında kayıp gözlemlendiği için yüzey temizliği pirana çözeltisinde 15 dk bekletilip kristallerin deiyonize su ile durulanması prosedürü kullanıldı. Bu yöntem sonucunda pirana çözeltisinin altın ve gümüş kaplı kristallerin yüzeyinde deformasyona sebep vermesi sonucunda frekansta kayıp gözlemlendi ve kristallerden yeniden ölçüm alınamadı. Kalan kristallerin yüzey temizliği kristallerin su banyosunda 37°C’de 30 dk bekletilmesi olmuştur. Su banyosunda gerçekleştirilen yüzey temizliğinin hem kristallerin üzerine damlatılacak kan ısisına (vücut sıcaklığı) gelmesi için hem de yüzeydeki kalıntıların temizlenmesi için uygun yöntem olduğu kesinleştirilmiştir. Damlatılan damlaların tek yönlü elektrotları olan kristallerin salınabilmesi için fazla geldiği ve kristalin salınmasına engel olduğu elde edilmiştir. 1uL’den daha küçük hacimlerin klinik alanda kullanılacak sistem için kolay olmayacağı ve kullanıcı için zorluk ortaya çıkaracağı düşünüldüğü için bu kristaller tercih edilmemiştir.

SRS firmasının üretimi olan kuvars kristaller için de standart denemeleri gerçekleştirilmiştir. Bu denemelerde 1uL,2uL,3uL ve 5uL hacimler denemiştir. 1uL,2uL,3uL ve 5uL hacimlerin hepsinde başarılı bir düşüş elde edilmiştir.

Üç farklı tip kristal ile de farklı tasarımlar gerçekleştirilmiştir. Bu tasarımlarda önemli olan nokta stabil bir frekans değeri elde edebilmek olmuştur. Gerçekleştirilen tasarımın frekans da herhangi bir kayıp sağlamaması önemlidir. Bu öncelikler göz önüne alındığında küçük frekans değişikliklerini bile büyük hassasiyetle algılayabilecek olan 5 MHz altın kaplı SRS firmasının üretimi olan kuvars kristal mikro teraziler denemeler için en uygun kristal olarak seçilmiştir. Bu kristallere en uygun 3.2.3.1. başlığı altında anlatılan tasarım olarak belirlenmiştir. Bu kapsamda kristalin elektrotları dışarı taşınarak frekans değerleri elde edilmiştir. Bu frekans değerleriyle daha sonra standartlar belirlenmiş ve standart eğri oluşturulmuştur. Ardından ise kan denemeleri gerçekleştirilmiştir.

6.2. QCM Frekans Değişiklikleri

Genellikle bir QCM'de kan birikmesi durumunda frekansta sıklıkla bir düşüş gözlenmesi beklenir. Deneyler sonucunda kan yerleştirilen QCM kristallerinde önce zamana bağlı olarak bir artış ardından ani bir frekans düşüşü gözlenmiştir. QCM'ye kan yerleştirildiğinde frekansta bir artış gözlemleniyorsa, bunun birkaç nedeni olabilir. Bunlar; deneysel hatalar, yanlış kurulum veya alete özgü sorunlar gibi çeşitli faktörler olabilir. Frekansta belirgin bir artışa yol açabilecek birkaç olasılık şunlardır:

- Deneysel Artefaktlar: Deneye başlamadan önce parazite neden olabilecek veya QCM ölçümünü etkileyebilecek herhangi bir dış etken olup olmadığını kontrol etmek gereklidir. Bunlar, deney düzeneğindeki titreşimleri, elektriksel gürültüyü veya sıcaklık dalgalanmalarını içerebilir. [61]
- Damlatılan Sıvının Viskozitesi: QCM'e koyulan sıvının viskozitesi, frekans değişimini etkileyebilir. Viskozitedeki bir artış, kristalin frekans tepkisinde bir azalmaya neden olurken, viskozitedeki bir azalma, frekansta bir artışa neden olabilir.[67]
- Sıcaklık Etkileri: Sıcaklık değişiklikleri QCM'nin rezonans frekansını etkileyebilir. Genel olarak, sıcaklıktaki bir artış, termal genleşme etkilerinden dolayı rezonans frekansında bir artışa neden olur.[68], [69]
- Biriken Malzeme Sertliği: QCM yüzeyinde biriken malzemenin sertliği veya sertliği de frekans değişimini etkileyebilir. Biriken malzeme kuvars kristalinden daha sertse, daha yüksek bir rezonans frekansına neden olabilir. Tersine, biriken malzeme daha az sertse, daha düşük bir rezonans frekansına yol açabilir.[70], [71]

- Cihaz Kalibrasyonu: QCM cihazının uygun şekilde kalibre edildiğinden emin olmak oldukça önemlidir. Yanlış kalibrasyon, yanlış frekans okumalarına yol açarak beklenmeyen sonuçlara neden olabilir. [72], [73]
- Sensör Tasarımı veya Özellikleri: Kullanılan QCM sensörünün özel tasarımını ve özelliklerini dikkate almak gereklidir. Bazı özel sensörler veya modifikasyonlar, yüzey etkileşimleri nedeniyle frekansta bir artış dahil olmak üzere alışılmadık davranışlar sergileyebilir. Laboratuvar ortamında tasarlanan sistem kapsamında QCM özelliklerinin gereklilikleri tam sağlanamamış ve tasarimsal olarak kristal sabit tutulamamış olabilir. [74]

Bunlarla birlikte kan pıhtılaşma sürecinden geçtiğinde hem sertliği hem de viskozitesi önemli değişikliklere uğrayabilir. Kan sertliği tipik olarak pıhtılaşma sırasında artar. [75] Pıhtılaşma, kanın sıvı halden jel benzeri bir duruma dönüştüğü ve bir kan pıhtısı oluşturduğu süreçtir. Pıhtılaşma sırasında, fibrinojen adı verilen bir protein, kan pıhtısını güçlendiren ağ benzeri bir yapı oluşturan fibrine dönüştürülür. Bu fibrin ağ, pıhtının genel sertliğini veya sertliğini artırarak, kanın sıvı durumuna kıyasla daha katı ve daha az deforme olabilir hale getirir. Kan viskozitesi de pıhtılaşma sırasında artar. Viskozite, bir sıvının akmaya karşı gösterdiği direnci ifade eder. Kan, doğal durumunda nispeten düşük bir viskozite sergiler ve kan damarlarından düzgün bir şekilde akmasına izin verir. Ancak pıhtılaşma sırasında kan jel benzeri bir pıhtıya dönüştüğü için kanın viskozitesi önemli ölçüde artar. Fibrin şeritlerinin oluşumu ve kan hücrelerinin pıhtı içinde hapsolması viskozitenin artmasına katkıda bulunur. Bu artan viskozite, kan pıhtısının yayılmasını sınırlamaya yardımcı olur ve ayrıca hemostazı destekler.

Bu sebeplerin yanı sıra, rezonans frekansındaki değişikliklere ek olarak, arayüzey reaksiyonları üzerinde enerji dağılımındaki (D) değişikliklerin eş zamanlı ölçümlerinin sağlanması frekans değişimini analiz etmek için daha kararlı sonuçlar elde edilmesine katkı sağlar. Bu analizlerin odak noktası, rezonans frekansına yakın hızlı bir uyarılmadan sonra kristalin salınımındaki bozulmayı araştırmak ve f ve D'deki geçici değişimleri elde etmektir. Literatür taramasında bu sisteme QCM-D adı verilir. Yüzey etkileşimlerinin bir sonucu olarak kristalin rezonans frekansındaki ve enerji dağılımındaki değişiklikleri ölçer. "D" olarak da bilinen dağılım faktörü, adsorbe edilen katmanların viskoelastik özellikleriyle ilgili olan salınım sırasındaki enerji kaybı hakkında bilgi sağlar.[29] Moleküller veya parçacıklar, kuvars kristalinin yüzeyi ile etkileşime geçtiğinde, kristal yüzeyindeki kütlede bir değişikliğe neden olur. Bu kütle değişikliği, kristalin titreşiminin rezonans frekansını ve genliğini etkiler.

6.3. Kan Pıhtılaşması Süresince Isı

QCM üzerinde kan pıhtılaşması sırasında, pıhtılaşma sürecinde yer alan biyokimyasal reaksiyonların bir sonucu olarak ısı üretilir. QCM sensörü yüzeyinde kan pıhtılaşması meydana geldiğinde, bir kan pıhtısı oluşumuna yol açan birkaç enzimatik reaksiyon gerçekleşir. Bu reaksiyonlar, fibrinojenin fibrine dönüşümünü içerir, bu daha sonra ağ benzeri bir yapı oluşturmak için polimerize olur ve sonuçta pıhtı oluşumuna neden olur. Bir QCM'de kanın pıhtılaşması sırasında açığa çıkan ısının tam olarak ölçülmesi zor olabilir. QCM'nin hassasiyeti, ısıyı doğrudan ölçmekten ziyade öncelikle kütle değişikliklerini tespit etmeye odaklanır. Pıhtılaşma reaksiyonları ilerledikçe, reaksiyonların ekzotermik doğasından dolayı bir termal enerji açığa çıkar. Bu ısı üretimi kalorimetri veya termografi gibi tamamlayıcı teknikler kullanılarak potansiyel olarak tespit edilebilir ve incelenebilir. Bu, entalpi değişiklikleri ve işlem sırasında salınan genel ısı dahil olmak üzere pıhtılaşma reaksiyonlarının termodinamiği hakkında fikir verebilir. Alternatif olarak, kan pıhtılaşması sırasında QCM sensör yüzeyindeki sıcaklık değişikliklerini görselleştirmek ve ölçmek için termografi teknikleri kullanılabilir. Bir kızılötesi kamera kullanılarak pıhtılaşma reaksiyonlarından kaynaklanan herhangi bir sıcaklık değişimi gözlemlenebilir ve analiz edilebilir. Bu, pıhtılaşma işlemi sırasında meydana gelen ısı dağılımını ve değişiklikleri anlamada yardımcı olabilir. Bir QCM sensöründe kan pıhtılaşması sırasında üretilen ısının nispeten küçük olabileceğini ve ısı değişikliklerini doğru bir şekilde algılamak ve ölçmek için hassas tekniklerin gerekli olabileceğini unutmamak önemlidir. Ek olarak, numune hacmi, pıhtılaşma süresi ve spesifik deney koşulları gibi faktörler ısı oluşumunun büyüklüğünü etkileyebilir.

6.4. Damlatılan Kan Miktarı ve Pıhtılaşma Süresi

QCM cihazına damlatılan kan miktarı ile pıhtılaşma arasında bir ilişki vardır, ancak bu ilişki karmaşık ve çok faktörlüdür. Bu ilişkiyi etkileyen bazı faktörler:

Kan Miktarı: QCM kristal yüzeyine damlatılan kan miktarı, pıhtılaşmanın hızı ve yoğunluğunu etkileyebilir. Daha fazla kan damlatıldığında, daha büyük bir pıhtı oluşma olasılığı artar. Ancak, aşırı büyük bir kan miktarı, pıhtılaşma sürecini olumsuz etkileyebilir ve damla yayılmasını engelleyebilir.

Pıhtılaşma Hızı: Pıhtılaşma hızı, kanın pıhtılaşma faktörleri, platelet fonksiyonu ve koagülasyon sürecinde yer alan diğer faktörlerle ilişkilidir. Bu faktörler, pıhtılaşmanın

başlamasından pıhtının tam olarak oluşmasına kadar geçen süreyi etkileyebilir. Daha büyük bir kan damlası genellikle daha hızlı bir pıhtılaşma sürecine yol açabilir, ancak bireysel farklılıklar ve diğer faktörler bu ilişkiyi etkileyebilir.

Bir yüzeye daha küçük bir hacimde (1 μ L gibi) kan damlatıldığında, bu hacimde bulunan sınırlı sayıdaki trombositlerin birikip pıhtı oluşturmaları için daha fazla zaman gerekebilir. Bu, daha yüksek trombosit konsantrasyonu içeren daha büyük hacimlere kıyasla daha uzun bir pıhtılaşma süresine neden olabilir. Belirli bir kan hacmi için spesifik pıhtılaşma süresinin, bireyin trombosit sayısı, pıhtılaşma faktörü seviyeleri ve herhangi bir antikoagülan veya katkı maddesinin varlığı gibi faktörlere bağlı olarak değişebileceğini belirtmek önemlidir. Ek olarak, QCM gibi ölçüm tekniğinin hassasiyeti de pıhtı oluşumunun tespitini ve ölçümünü etkileyebilir.

Kan miktarı arttıkça trombosit sayısı artar ve pıhtılaşma süresi kısalır. QCM ile damlatılan kan miktarı arttıkça pıhtılaşma sıklığı da artmalıdır. Bunun nedeni, ne kadar çok kan varsa, trombositlerin birbirleriyle temas geçmesi ve bir pıhtı oluşturmaları için o kadar fazla fırsat olmasıdır.

Bunun yanında kan örneğinde antikoagülan veya katkı maddelerinin bulunması pıhtılaşma sürecini etkileyebilir. Bu maddeler, kanın pıhtılaşması için gereken süreyi uzatarak pıhtılaşma kademesini geciktirebilir veya engelleyebilir. Kırmızı kan hücresi konsantrasyonu, trombosit sayısı ve pıhtılaşma faktörü seviyeleri gibi faktörler de dahil olmak üzere kan bileşimi pıhtılaşma süresini etkileyebilir. Farklı kişiler veya numuneler arasında bu faktörlerdeki farklılıklar, farklı pıhtılaşma sürelerine neden olabilir. Belirlenen özel deney düzeneğiniz için ideal kan hacmini belirlemek üzere kalibrasyon deneyleri yapıldı ve uygun kontrol ölçümleri oluşturulmuştur. Bu aşama, ölçüm koşullarını optimize etmeye, doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar elde etmeye yardımcı olmuştur. Spesifik gereksinimlerin ve optimum kan hacimlerinin farklı araştırma grupları, çalışmalar ve QCM cihazları arasında değişiklik gösterebileceğini de belirtmek gerekir.

Altın kaplama yüzeye ve 5 MHz rezonans frekansına sahip SRS firmasının üretimi olan bir kuvars kristali mikro terazi için ideal kan hacmi, özel deney düzeneğine, QCM cihazının hassasiyetine ve istenen ölçüm parametrelerine bağlı olarak değişebilir. QCM cihazlarının, kristal yüzeyindeki kütle değişikliklerini tespit etme yeteneklerini belirleyen farklı hassasiyetleri vardır. Daha yüksek hassasiyetli cihazlar, daha küçük kan hacimleriyle ölçüm yapılmasına izin vererek daha küçük kütle değişikliklerini algılayabilir. Kullanılan kristallerin oldukça hassas kristaller olduğu bilinmektedir. Deney sonuçlarını göz önünde bulundurduğumuzda ise kullanılan kristalin 1 μ L'lik hacim denemelerinde daha başarılı

olduğu sonucu elde edilmiştir. Kan hacmi arttıķa pıhtılaşma için gözlem süresi kısalmaktadır bu da korelasyou ortaya koymada ve herhangi bir klinik tanı sırasında karar vermede yeterli gelmemektedir. Bu sebeple gözlemlenebilen en kk hacimde deneyi gerçekleştirmek idealdir. Kan hacmi arttıķa damlacık boyutu ve yüzeye yayılma gibi faktörler ölçüm sonuçlarını etkileyebilmektedir. Numune işlemede tekrarlanabilirliği ve tutarlılığı sağlamak önemlidir.



KAYNAKLAR

- [1] L. Patthy, "Evolution of blood coagulation and fibrinolysis," *Blood Coagul Fibrinolysis*, vol. 1, pp. 153–166, 1990.
- [2] R. V. Lucas and M. L. Miller, "The fibrinolytic system. Recent advances.," *Cleve. Clin. J. Med.*, vol. 55, no. 6, pp. 531–541, 1988.
- [3] B. Dahlbäck, "Blood coagulation," *The Lancet*, vol. 355, no. 9215, pp. 1627–1632, 2000.
- [4] B. Furie and B. C. Furie, "The molecular basis of blood coagulation," *Cell*, vol. 53, no. 4, pp. 505–518, 1988.
- [5] M. Hoffman, "Remodeling the blood coagulation cascade," *J. Thromb. Thrombolysis*, vol. 16, pp. 17–20, 2003.
- [6] R. A. Ariëns, T.-S. Lai, J. W. Weisel, C. S. Greenberg, and P. J. Grant, "Role of factor XIII in fibrin clot formation and effects of genetic polymorphisms," *Blood J. Am. Soc. Hematol.*, vol. 100, no. 3, pp. 743–754, 2002.
- [7] P. De Moerloose, A. Casini, and M. Neerman-Arbez, "Congenital fibrinogen disorders: an update," in *Seminars in thrombosis and hemostasis*, Thieme Medical Publishers, 2013, pp. 585–595.
- [8] C. Y. Liu, N. HL, and K. KL, "The binding of thrombin by fibrin," 1979.
- [9] J. S. Bennett, "Blood coagulation and coagulation tests," *Med. Clin. North Am.*, vol. 68, no. 3, pp. 557–576, 1984.
- [10] R. I. Lee and P. D. White, "A clinical study of the coagulation time of blood.," *Am. J. Med. Sci. 1827-1924*, vol. 145, no. 4, p. 495, 1913.
- [11] D. Buenger, F. Topuz, and J. Groll, "Hydrogels in sensing applications," *Prog. Polym. Sci.*, vol. 37, no. 12, pp. 1678–1719, 2012.

- [12] G. Zheng, F. Patolsky, Y. Cui, W. U. Wang, and C. M. Lieber, "Multiplexed electrical detection of cancer markers with nanowire sensor arrays," *Nat. Biotechnol.*, vol. 23, no. 10, pp. 1294–1301, 2005.
- [13] S. K. Shukla, P. P. Govender, and A. Tiwari, "Polymeric micellar structures for biosensor technology," in *Advances in biomembranes and lipid self-assembly*, Elsevier, 2016, pp. 143–161.
- [14] F. C. Strong, "Faraday's laws in one equation," *J. Chem. Educ.*, vol. 38, no. 2, p. 98, 1961.
- [15] H. A. Zamani, "Electrochemical Sensors and Biosensors".
- [16] O. S. Wolfbeis and H. Li, "Fluorescence optical urea biosensor with an ammonium optrode as transducer," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 8, no. 3–4, pp. 161–166, 1993.
- [17] M. Yakovleva, S. Bhand, and B. Danielsson, "The enzyme thermistor—A realistic biosensor concept. A critical review," *Anal. Chim. Acta*, vol. 766, pp. 1–12, 2013.
- [18] A. Haleem, M. Javaid, R. P. Singh, R. Suman, and S. Rab, "Biosensors applications in medical field: A brief review," *Sens. Int.*, vol. 2, p. 100100, 2021.
- [19] H. Chung, J. Li, Y. Kim, J. M. Van Os, S. H. Brounts, and C. Y. Choi, "Using implantable biosensors and wearable scanners to monitor dairy cattle's core body temperature in real-time," *Comput. Electron. Agric.*, vol. 174, p. 105453, 2020.
- [20] U. Latif, S. Can, O. Hayden, P. Grillberger, and F. L. Dickert, "Sauerbrey and anti-Sauerbrey behavioral studies in QCM sensors—Detection of bioanalytes," *Sens. Actuators B Chem.*, vol. 176, pp. 825–830, 2013.
- [21] C. I. Cheng, Y.-P. Chang, and Y.-H. Chu, "Biomolecular interactions and tools for their recognition: focus on the quartz crystal microbalance and its diverse surface chemistries and applications," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 41, no. 5, pp. 1947–1971, 2012.
- [22] P. Pattnaik, "Surface plasmon resonance: applications in understanding receptor-ligand interaction," *Appl. Biochem. Biotechnol.*, vol. 126, pp. 79–92, 2005.

- [23] M. Piliarik, H. Vaisocherová, and J. Homola, "Surface plasmon resonance biosensing," *Biosens. Biodetection*, pp. 65–88, 2009.
- [24] H. J. Lim, T. Saha, B. T. Tey, W. S. Tan, and C. W. Ooi, "Quartz crystal microbalance-based biosensors as rapid diagnostic devices for infectious diseases," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 168, p. 112513, 2020.
- [25] O. E. Haberal, "Akut miyokard hasarının troponin biyosensör ile ölçülmesi," Master's Thesis, Başkent Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2012.
- [26] X. Li, S. Song, Y. Pei, H. Dong, T. Aastrup, and Z. Pei, "Oriented and reversible immobilization of His-tagged proteins on two-and three-dimensional surfaces for study of protein–protein interactions by a QCM biosensor," *Sens. Actuators B Chem.*, vol. 224, pp. 814–822, 2016.
- [27] C. Wu, X. Li, S. Song, Y. Pei, L. Guo, and Z. Pei, "QCM biosensor based on polydopamine surface for real-time analysis of the binding kinetics of protein–protein interactions," *Polymers*, vol. 9, no. 10, p. 482, 2017.
- [28] M. Passamano and M. Pighini, "QCM DNA-sensor for GMOs detection," *Sens. Actuators B Chem.*, vol. 118, no. 1–2, pp. 177–181, 2006.
- [29] F. Höök and B. Kasemo, "The QCM-D technique for probing biomacromolecular recognition reactions," *Piezoelectric Sens.*, pp. 425–447, 2007.
- [30] M. V. Gormally, R. K. McKibben, M. S. Johal, and C. R. Selassie, "Controlling tyrosinase activity on charged polyelectrolyte surfaces: a QCM-D analysis," *Langmuir*, vol. 25, no. 17, pp. 10014–10019, 2009.
- [31] N. Nordgren, J. Eklöf, Q. Zhou, H. Brumer Iii, and M. W. Rutland, "Top-down grafting of xyloglucan to gold monitored by QCM-D and AFM: enzymatic activity and interactions with cellulose," *Biomacromolecules*, vol. 9, no. 3, pp. 942–948, 2008.
- [32] Z. Shen, M. Huang, C. Xiao, Y. Zhang, X. Zeng, and P. G. Wang, "Nonlabeled quartz crystal microbalance biosensor for bacterial detection using carbohydrate and lectin recognitions," *Anal. Chem.*, vol. 79, no. 6, pp. 2312–2319, 2007.

- [33] N. Alanazi, M. Almutairi, and A. N. Alodhayb, “A Review of Quartz Crystal Microbalance for Chemical and Biological Sensing Applications,” *Sens. Imaging*, vol. 24, no. 1, p. 10, 2023.
- [34] M. D. Levi and D. Aurbach, “Frumkin intercalation isotherm—a tool for the description of lithium insertion into host materials: a review,” *Electrochimica Acta*, vol. 45, no. 1–2, pp. 167–185, 1999.
- [35] L. Czepirski, M. R. Balys, and E. Komorowska-Czepirska, “Some generalization of Langmuir adsorption isotherm,” *Internet J. Chem.*, vol. 3, no. 14, pp. 1099–8292, 2000.
- [36] H. A. Huellemeier, N. M. Eren, J. Ortega-Anaya, R. Jimenez-Flores, and D. R. Heldman, “Application of quartz crystal microbalance with dissipation (QCM-D) to study low-temperature adsorption and fouling of milk fractions on stainless steel,” *Chem. Eng. Sci.*, vol. 247, p. 117004, 2022.
- [37] E. Ermek, “QCM heparin biyosensör tasarımı,” Master’s Thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [38] M. Rodahl, F. Höök, A. Krozer, P. Brzezinski, and B. Kasemo, “Quartz crystal microbalance setup for frequency and Q-factor measurements in gaseous and liquid environments,” *Rev. Sci. Instrum.*, vol. 66, no. 7, pp. 3924–3930, 1995.
- [39] D. Migoń, T. Wasilewski, and D. Suchy, “Application of QCM in peptide and protein-based drug product development,” *Molecules*, vol. 25, no. 17, p. 3950, 2020.
- [40] M. Muratsugu *et al.*, “Quartz crystal microbalance for the detection of microgram quantities of human serum albumin: relationship between the frequency change and the mass of protein adsorbed,” *Anal. Chem.*, vol. 65, no. 20, pp. 2933–2937, 1993.
- [41] H. M. Saraoglu and M. Kocan, “Determination of blood glucose level-based breath analysis by a quartz crystal microbalance sensor array,” *IEEE Sens. J.*, vol. 10, no. 1, pp. 104–109, 2009.

- [42] D. Chen *et al.*, “A wireless-electrodeless quartz crystal microbalance method for non-enzymatic glucose monitoring,” *Sens. Actuators B Chem.*, vol. 287, pp. 35–41, 2019.
- [43] C. Lino, S. Barrias, R. Chaves, F. Adegas, J. R. Fernandes, and P. Martins-Lopes, “Development of a QCM-based biosensor for the detection of non-small cell lung cancer biomarkers in liquid biopsies,” *Talanta*, p. 124624, 2023.
- [44] H. J. Lim, T. Saha, B. T. Tey, W. S. Tan, and C. W. Ooi, “Quartz crystal microbalance-based biosensors as rapid diagnostic devices for infectious diseases,” *Biosens. Bioelectron.*, vol. 168, p. 112513, 2020.
- [45] N. L. Bragazzi, D. Amicizia, D. Panatto, D. Tramalloni, I. Valle, and R. Gasparini, “Quartz-crystal microbalance (QCM) for public health: An overview of its applications,” *Adv. Protein Chem. Struct. Biol.*, vol. 101, pp. 149–211, 2015.
- [46] M. Andersson, J. Andersson, A. Sellborn, M. Berglin, B. Nilsson, and H. Elwing, “Quartz crystal microbalance-with dissipation monitoring (QCM-D) for real time measurements of blood coagulation density and immune complement activation on artificial surfaces,” *Biosens. Bioelectron.*, vol. 21, no. 1, pp. 79–86, 2005.
- [47] S. Akgönüllü, E. Özgür, and A. Denizli, “Recent Advances in Quartz Crystal Microbalance Biosensors Based on the Molecular Imprinting Technique for Disease-Related Biomarkers,” *Chemosensors*, vol. 10, no. 3, p. 106, 2022.
- [48] C. Chen *et al.*, “The gene expression of coagulation factor VIII in mammalian cell lines,” *Thromb. Res.*, vol. 95, no. 2, pp. 105–115, 1999.
- [49] H. Aizawa, S. Kurosawa, M. Tozuka, J.-W. Park, K. Kobayashi, and H. Tanaka, “Conventional detection method of fibrinogen and fibrin degradation products using latex piezoelectric immunoassay,” *Biosens. Bioelectron.*, vol. 18, no. 5–6, pp. 765–771, 2003.
- [50] H. Aizawa, S. Kurosawa, M. Tozuka, J.-W. Park, and K. Kobayashi, “Rapid detection of fibrinogen and fibrin degradation products using a smart QCM-sensor,” *Sens. Actuators B Chem.*, vol. 101, no. 1–2, pp. 150–154, 2004.

- [51] H. Muramatsu, K. Kimura, T. Ataka, R. Homma, Y. Miura, and I. Karube, “A quartz crystal viscosity sensor for monitoring coagulation reaction and its application to a multichannel coagulation detector,” *Biosens. Bioelectron.*, vol. 6, no. 4, pp. 353–358, 1991.
- [52] R. M. Cardoso *et al.*, “Additive-manufactured (3D-printed) electrochemical sensors: A critical review,” *Anal. Chim. Acta*, vol. 1118, pp. 73–91, 2020.
- [53] F. M. de Oliveira, E. I. de Melo, and R. A. da Silva, “3D Pen: A low-cost and portable tool for manufacture of 3D-printed sensors,” *Sens. Actuators B Chem.*, vol. 321, p. 128528, 2020.
- [54] B. Evans, *Practical 3D printers: The science and art of 3D printing*. Apress, 2012.
- [55] N. Pamuk, “Dinamik sistemlerde kaotik zaman dizilerinin tespiti,” *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilim. Enstitüsü Derg.*, vol. 15, no. 1, pp. 78–92, 2013.
- [56] F. R. Lack, G. W. Willard, and I. E. Fair, “Some improvements in quartz crystal circuit elements,” *Bell Syst. Tech. J.*, vol. 13, no. 3, pp. 453–463, 1934.
- [57] G. Knapp, “Frequency stability analysis of transistorized crystal oscillator,” *IEEE Trans. Instrum. Meas.*, vol. 12, no. 1, pp. 2–6, 1963.
- [58] M. P. Kennedy, “Chaos in the Colpitts oscillator,” *IEEE Trans. Circuits Syst. Fundam. Theory Appl.*, vol. 41, no. 11, pp. 771–774, 1994.
- [59] G. M. Maggio, O. De Feo, and M. P. Kennedy, “Nonlinear analysis of the Colpitts oscillator and applications to design,” *IEEE Trans. Circuits Syst. Fundam. Theory Appl.*, vol. 46, no. 9, pp. 1118–1130, 1999.
- [60] P. H. Osborn, “A study of class b and c amplifier tank circuits,” *Proc. Inst. Radio Eng.*, vol. 20, no. 5, pp. 813–834, 1932.
- [61] J. Rickert, A. Brecht, and W. Göpel, “QCM operation in liquids: constant sensitivity during formation of extended protein multilayers by affinity,” *Anal. Chem.*, vol. 69, no. 7, pp. 1441–1448, 1997.

- [62] S. Liao, P. Ye, C. Chen, J. Zhang, L. Xu, and F. Tan, "Comparing of Frequency Shift and Impedance Analysis Method Based on QCM Sensor for Measuring the Blood Viscosity," *Sensors*, vol. 22, no. 10, p. 3804, 2022.
- [63] R. Lucklum and P. Hauptmann, "The Δf - ΔR QCM technique: an approach to an advanced sensor signal interpretation," *Electrochimica Acta*, vol. 45, no. 22–23, pp. 3907–3916, 2000.
- [64] J. Su, M. Charmchi, and H. Sun, "A study of drop-microstructured surface interactions during dropwise condensation with quartz crystal microbalance," *Sci. Rep.*, vol. 6, no. 1, pp. 1–11, 2016.
- [65] D. Chen *et al.*, "Micro-electromechanical film bulk acoustic sensor for plasma and whole blood coagulation monitoring," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 91, pp. 465–471, 2017.
- [66] T.-J. Cheng, T.-M. Lin, T.-H. Wu, and H.-C. Chang, "Determination of heparin levels in blood with activated partial thromboplastin time by a piezoelectric quartz crystal sensor," *Anal. Chim. Acta*, vol. 432, no. 1, pp. 101–111, 2001.
- [67] K. K. Kanazawa and J. G. Gordon, "Frequency of a quartz microbalance in contact with liquid," *Anal. Chem.*, vol. 57, no. 8, pp. 1770–1771, 1985.
- [68] A. Itoh and M. Ichihashi, "A frequency of the quartz crystal microbalance (QCM) that is not affected by the viscosity of a liquid," *Meas. Sci. Technol.*, vol. 19, no. 7, p. 075205, 2008.
- [69] S.-W. Lee *et al.*, "Reduction and compensation of humidity measurement errors at cold temperatures using dual QCM humidity sensors based on graphene oxides," *Sens. Actuators B Chem.*, vol. 284, pp. 386–394, 2019.
- [70] G. V. Martins, E. G. Merino, J. F. Mano, and N. M. Alves, "Crosslink effect and albumin adsorption onto chitosan/alginate multilayered systems: An in situ QCM-D study," *Macromol. Biosci.*, vol. 10, no. 12, pp. 1444–1455, 2010.
- [71] I. Gall, M. Herzberg, and Y. Oren, "The effect of electric fields on bacterial attachment to conductive surfaces," *Soft Matter*, vol. 9, no. 8, pp. 2443–2452, 2013.

- [72] T. Yang, D. Xie, Z. Li, and H. Zhu, “Recent advances in wearable tactile sensors: Materials, sensing mechanisms, and device performance,” *Mater. Sci. Eng. R Rep.*, vol. 115, pp. 1–37, 2017.
- [73] A. Alassi, M. Benammar, and D. Brett, “Quartz crystal microbalance electronic interfacing systems: A review,” *Sensors*, vol. 17, no. 12, p. 2799, 2017.
- [74] R. J. Mosley, M. V. Talarico, and M. E. Byrne, “Recent applications of QCM-D for the design, synthesis, and characterization of bioactive materials,” *J. Bioact. Compat. Polym.*, vol. 36, no. 4, pp. 261–275, 2021.
- [75] C. C. Helms, R. A. Ariëns, S. U. De Willige, K. F. Standeven, and M. Guthold, “ α - α Cross-links increase fibrin fiber elasticity and stiffness,” *Biophys. J.*, vol. 102, no. 1, pp. 168–175, 2012.