

# TEKNOFEST

## HAVACILIK, UZAY VE TEKNOLOJİ FESTİVALİ BİYOTEKNOLOJİ İNOVASYON YARIŞMASI

### PROJE DETAY RAPORU

TAKIM ADI

TEKNOSENSÖR

PROJE ADI

Doku Temelli Amperometrik Troponin Biyosensör Üretimi

BAŞVURU ID

#59177

KATEGORİ

BİYOTEKNOLOJİ İNOVASYON

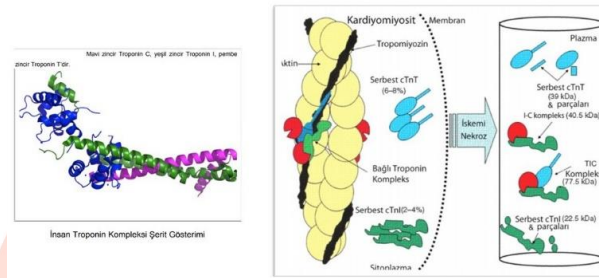
## İçindekiler

1. Proje Özeti (Proje Tanımı).....	3
2. Problem/Sorun .....	4
3. Çözüm .....	5
4. Yöntem .....	6
5. Yenilikçi (İnovatif) Yönü .....	7
6. Uygulanabilirlik .....	8
7. Tahmini Maliyet ve Proje Zaman Planlaması .....	8
8. Proje Fikrinin Hedef Kitle (Kullanıcılar) .....	9
9. Riskler .....	9
10. Proje Ekibi .....	10
11. Kaynaklar .....	10

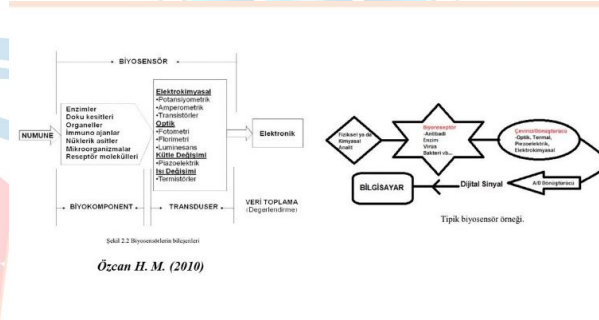


## 1. Proje Özeti

Günlük hayattaki pek çok kişinin sahip olduğu ve çok ciddi hasar bırakıcı etkilerine rağmen uzun süre vücut içerisinde varlığını belli etmeden ilerleyebilen kardiyovasküler hastalıklardan birisi olan Miyokard İnfarktüsü(Kalp Krizi)'nin erken teşhisinin yapılabilmesi durumunda hem tanı konulma adımının hızlanması hem de tedavi sürecinin daha basit hale dönüşmesi büyük yararlar sağlayacaktır. Kalp krizi, kalbi besleyen koroner damarlardaki tıkanıklığa bağlı olarak, kalp kasının hasar görmesi sonucu meydana gelir. Kalp kasının hasar görmesine bağlı olarak kalpten kana troponin proteini salgılanır. Bundan sonraki 2-4 saat içinde troponinin değeri yükselmeye başlar. Amerikan Kardiyoloji Derneği ve Avrupa Kardiyoloji Birliği kardiyak troponinleri miyokard enfarktüs tanısı için biyokimyasal belirteç olarak önermektedir.

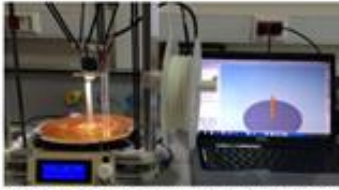


Bu nedenle, hastanın kandaki troponin seviyesinin ardışık olarak ölçülmesi gereklidir. Ancak troponin için farklı testler olsa da sürekli ölçüm yapabilen hassas bir sistem henüz bulunmamaktadır. Çalışmamda kalp krizi kardiyovasküler hastalığının erken teşhisine yönelik, düşük maliyetli, biyolojik atıkların değerlendirildiği biyosensör sistemleri tasarlamak amaçlanmıştır.



Amperometrik biyosensör tasarımımda sensörde; ticari camısı karbon elektroda alternatif üretilmiş karbon pasta elektrodu hazırlanıp kullanılmıştır. Elektrot gövdesi "Solid Works" programı kullanılarak bilgisayar ortamında çizilmiş ticari camısı elektrot model alınarak 3D yazıcıda PLA hammaddesiyle hazırlanmıştır. Sensörde elektrokimyasal sinyallerin takibini sağlayacak bakır iletken bir tel karbon pasta elektrot gövdesinin içinden geçirilerek hazırlanan karbon pasta elektrotu ile potantiostat/galvanostat cihazı arasında iletişim sağlanmıştır. Elektrodun gövdesinde bulunan boşluklu kısmı grafit tozu parafin yağı karıştırılarak pasta kıvamına getirilip sıkı bir şekilde doldurularak, elektrot yüzeyinin kâğıt üzerinde döndürülerek parlatılması sağlanarak tasarlanan karbon pasta elektrot(KPE) kullanıma hazır hale getirilmiştir. Biyolojik atık olan hayvan kalp doku homojenatının jelatinle inkübasyonu ile elde edilen formül immobilizasyonu gerçekleştirilmiş karbon pasta elektrot ve ticari camısı karbon elektrot yüzeylerine glutaraldehit ile çapraz bağlanma sağlanarak biyosensör sistemler geliştirilmiştir. Çalışma elektrodu olarak hazırlanan karbon pasta elektrot ve ticari camısı karbon elektrot, karşıt elektrot olarak Pt ve referans elektrot olarak da Ag/AgCl elektrodu kullanılmıştır. Troponin derişimleri belirli örneklerin üretilen biyosensör sistemlerle miktarları tespit edilecek; örneklerdeki troponin ölçüm

sonuçları gerçek değerleri ile karşılaştırılacaktır.



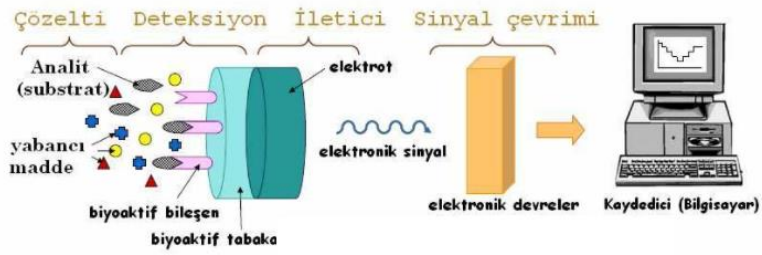
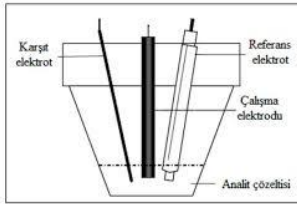
Şekil 1. "Solid Works" programı kullanılarak bilgisayar ortamında çizilmiş karbon pasta elektrot gövdesinin 3D yazında basılması



Şekil 2. Bakır iletken tel geçirilmiş karbon pasta elektrot gövdesi



Şekil 3. (a) Tasarlanan elektrot "KPE" (b) ticari elektrot "CKE"

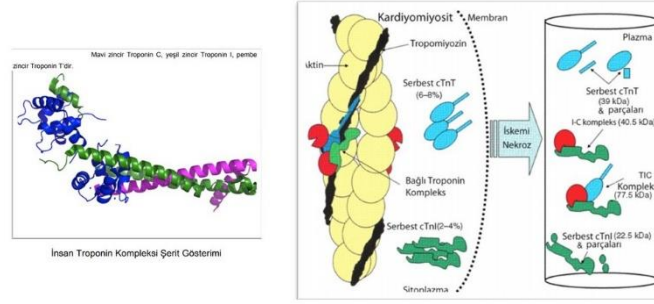


## 2. Problem/Sorun:

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 2008 yılı verilerine göre; kardiyovasküler hastalıkların küresel ölüm nedenleri içerisinde birinci sırada yer aldığı ve 7,6 milyon kişinin bu hastalıklar sebebiyle yaşamını yitirdiği bildirilmektedir. 2012 yılında bu sayı tüm ölümlerin %31'ine tekabül eden 17.5 milyona yükselmiştir. (Anonim 2016) Küresel ölçekte ölüm oranını bu denli etkileyen, günlük hayattaki pek çok kişinin sahip olduğu ve çok ciddi hasar bırakıcı etkilerine rağmen uzun süre vücut içerisinde varlığını belli etmeden ilerleyebilen kardiyovasküler hastalıkların erken teşhisi, hiç şüphesiz insan sağlığı için çok önemli bir ihtiyaç haline gelmiştir. (DEMİRBAKAN B.,2018) Günümüz yüksek ölüm oranlarına sahip kardiyovasküler hastalıklardan birisi "Miyokard İnfarktüsü(Kalp Krizi)"dür. Göğüs ağrısıyla acillere başvuran hastaların %30'a yakınına kalp krizi teşhisi konmaktadır. (Reed G.W., Rossi J.E., Cannon C.P., 2017) Kalp krizinin teşhisi 6-12 saat arası sürmektedir. Fiziksel bakının yanında tanı koyarken elektrokardiyogram (EKG) ve akciğer grafisi, yeterli bilgiyi sağlayamamaktadır. İnsan sağlığını ciddi oranda tehdit eden Miyokard İnfarktüsü(Kalp Krizi)'nin erken teşhisinin yapılabilmesi durumunda hem tanı konulma adımının hızlanmasına hem de tedavi sürecinin daha basit hale dönüşmesine büyük yararlar sağlayacağı açıktır.



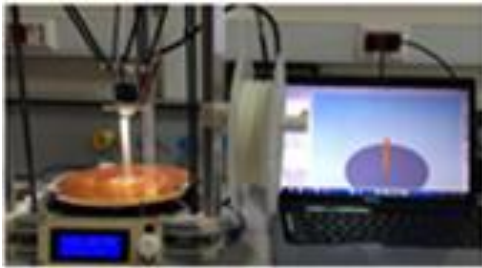
Kalp krizi, kalbi besleyen koroner damarlardaki tıkanıklığa bağlı olarak, kalp kasının hasar görmesi sonucu meydana gelir. Kalp kasının hasar görmesine bağlı olarak kalpten kana troponin proteini salgılanır. Bundan sonraki 2-4 saat içinde troponinin değeri yükselmeye başlar. Amerikan Kardiyoloji Derneği ve Avrupa Kardiyoloji Birliği kardiyak troponinleri miyokard enfarktüs tanısı için biyokimyasal belirteç olarak önermektedir.



Bu nedenle, hastanın kandaki troponin seviyesinin ardışık olarak ölçülmesi gereklidir. Ancak troponin için farklı testler olsa da sürekli ölçüm yapabilen hassas bir sistem henüz bulunmamaktadır. Çalışmamda kalp krizi kardiyovasküler hastalığının erken teşhisine yönelik, düşük maliyetli, biyolojik atıkların değerlendirildiği biyosensör sistemleri tasarlamak amaçlanmıştır.

### 3. Çözüm

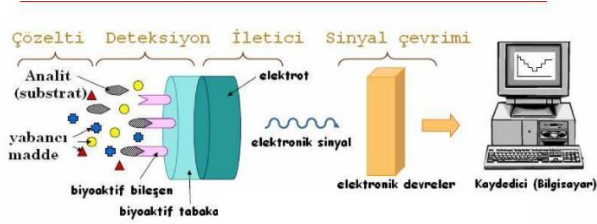
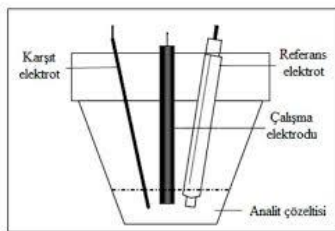
Günlük hayattaki pek çok kişinin sahip olduğu ve çok ciddi hasar bırakıcı etkilerine rağmen uzun süre vücut içerisinde varlığını belli etmeden ilerleyebilen kardiyovasküler hastalıklardan birisi olan Miyokard İnfarktüsü(Kalp Krizi)'nin erken teşhisinin yapılabilmesi durumunda hem tanı konulma adımının hızlanması hem de tedavi sürecinin daha basit hale dönüşmesi adına çevre dostu malzemelerle, düşük maliyetli, atıkların geri dönüşümüne imkan sağlayan, sürdürülebilir, kolay hazırlanabilir, yeni alternatif yollarla kalp dokusunun kullanıldığı öncü çalışma olup ileri tekniklerle geliştirilmeye açıktır.



**PLA filament ile  
3D yazıcıda elektrot  
gövdesinin "Solid Works"  
ile tasarlanması**



**Elektrot gövdesinin karbon pasta ile  
muamelesiyle çalışma elektrodunun  
hazırlanması**

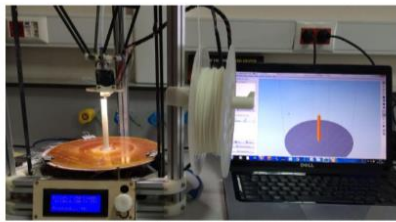


**Elektrotun immobilizasyonu ve  
biyosensör sisteminin tamamlanması**

#### 4. Yöntem

Biyosensör tasarımın amperometrik sensörde; sinyalin oluşumunu sağlayan algılayıcı kısım, elektrot yüzeyi üzerine kaplanmış bir biofilm tabakasıdır. Bir elektrotta olması gereken özelliklere sahip ticari elektrot camısı elektrodun pahalı olması nedeniyle elektrot olarak organik ve inorganik bileşiklerin tayini için kullanılan, daha kolay modifiye edilebilen ve bozularak tekrar yapılabilen karbon pasta elektrot kullanılmıştır. Ticari olarak satılan camısı karbon elektroda alternatif olarak üretilen karbon pasta elektrotların hazırlanmasındaki ilk aşama elektrot gövdesini hazırlamaktır. Bu amaç için elektrot gövdesinin teknik resmi “Solid Works” programı kullanılarak bilgisayar ortamında çizilmiş ve 3D yazıcıda ticari camısı elektrot model alınarak ve karşılaştırma imkânı sağlamak açısından tasarlanan karbon pasta elektrot gövdesinin mümkün olduğunca ticari camısı karbon elektroda eşdeğer olarak 3D yazıcıda PLA hammaddesi kullanılarak hazırlanmasına önem verilmiştir.

Sensörde elektrokimyasalsinyallerin takibini sağlayacak bakır iletken bir tel karbon pasta elektrot gövdesinin içinden geçirilerek hazırlanan karbon pasta elektrotu ile potantiostat/galvanostat cihazı arasında iletişim sağlanmıştır. Elektrodun gövdesinde bulunan boşluklu kısmı 7/3 ağırlık oranında grafit tozu parafin yağı karıştırılarak pasta kıvamına getirilip sıkı bir şekilde doldurularak, elektrot yüzeyinin kâğıt üzerinde döndürülerek parlatılması sağlanarak tasarlanan karbon pasta elektrot(KPE) kullanıma hazır hale getirilmiştir.



Şekil 1. “Solid Works” programı kullanılarak bilgisayar ortamında çizilmiş Karbon pasta elektrot gövdesinin 3D yazıcıda ABS hammaddesi kullanılarak basılması



Şekil 2. Bakır iletken tel geçirilmiş karbon pasta elektrot gövdesi

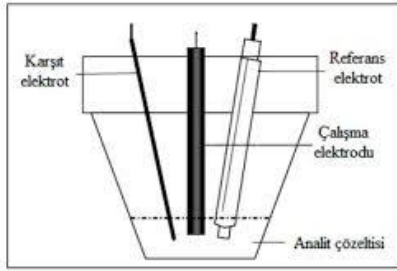


Şekil 3. (a) Tasarlanan elektrot “KPE” (b) ticari elektrot “CKE”

Biyoreseptör kısmın hazırlanması için, 200mg kalp dokusu tartıldı. 750  $\mu$ L, 0.2 M sitrat-difosfat tamponu (pH 5.0) ile cam doku homojenizatöründe homojenize edildi. Kalp doku homojenizatından 300  $\mu$ L alınarak, 10 mg toz jelatin ile karıştırıldı. Homojenat ve jelatin karışımı, jelatinin çözülmesi için sıcaklığı 38  $^{\circ}$ C’ye ayarlanan su banyosunda arada çalkalanarak 15 dakika inkübe edildi. Elde edilen jelatin-kalp dokusundan otomatik pipet yardımı ile 30  $\mu$ L alındı ve camısı karbon elektrot ve karbon pasta elektrot yüzeyine yayıldı. Elektrotlar, +4  $^{\circ}$ C’de 30 dakika bekletildi. Süre sonunda elektrot, saf suda hazırlanan, hacimce % 1.25’lik glutaraldehit çözeltisine daldırıldı ve +4  $^{\circ}$ C’de 15 dakika daha bekletildi. Böylece, glutaraldehit çözeltisi ile biyoreseptör tabakanın çapraz bağlanma işlemi gerçekleştirilerek membran kararlılığı sağlandı. İşlem sonunda, hazırlanan biyosensörden aşırı glutaraldehytin uzaklaştırılması için sensör, destile su ile birkaç kez yıkanarak kullanıma hazır hale getirildi. Ticari camısı karbon elektrot ve karbon pasta elektrot biyosensörleri geliştirilmiştir.

Çalışma elektrodu olarak kalp doku homojenatının immobilize edildiği camısı-karbon elektrot, karşıt elektrot olarak Pt ve referans elektrot olarak da Ag/AgCl elektrodu kullanılacak. (Özoğlu Ö.,2019) Daha

sonra; troponin derişimleri belirli örneklerin üretilen biyosensörle miktarları tespit edilecektir. Üretilen biyosensörle örneklerdeki troponin ölçüm sonuçları gerçek değerleri ile karşılaştırılacaktır.



## 5. Yenilikçi (İnovatif) Yönü

### Benzer Çalışmalar

Grafit tozu ve parafin yağının karıştırılması ile elde edilen karbon pastanın, 3D yazıcıda bastırılan özel boyutlardaki ABS elektrot gövdesine yerleştirilmesi ve bu yapının iletken bir tel ile temas ettirilmesi sonucunda ucuz maliyetli karbon pasta çalışma elektrodunun (KPE) tasarlanmasıdır. Kitosan-altın nanotaneçik-tirozinaz enziminden (K-Gnp-T) oluşan biyokompozit film ile kaplanan elektrot yüzeyi elektrokimyasal yöntemlerle karakterize edilmiş ve geliştirilen biyosensörün (KPE\*) analitik performansı fenolik bir bileşik olan kateşolün amperometrik tayini ile test edilmiştir. (**POLATOĞLU İ., 2018**)

Yenilebilir bir mantar olan *Boletus edulis*'in doku homojenatı kullanılarak, etanol tayini için doku temelli amperometrik bir biyosensör geliştirildi. Bu amaçla; mantar doku homojenatı, jelatin ve çapraz bağlayıcı ajan glutaraldehit yardımıyla camı karbon çalışma elektrotu üzerine immobilize edildi. Biyosensör cevabı üzerine pH ve sıcaklığın etkisi araştırıldı. (**TUNCAYD., ÖZCAN H. M., YAĞAR H., 2017**)

31-350  $\mu\text{M}$  tayin aralığına sahip; yani oldukça düşük miktarlardaki laktat miktarlarını belirleyebilen gıda ve sağlık alanında kullanıma uygun enzim temelli ve amperometrik transduserli laktat biyosensörü tez kapsamında üretilmiştir. Biyosensör; camı karbon elektrot, Ag/AgCl referans elektrot ve platin karşıt elektrot olmak üzere üçlü elektrot sisteminden oluşmaktadır. (**Özüm ÖZOĞLU, 2019**)

İmmobilizasyon sonrası yüzey morfolojisinde meydana gelen değışiklikleri inceleyebilmek için taramalı elektron mikroskobu kullanılarak değlendirmeler yapılmıştır. Standart ekleme yöntemiyle gerçek serum örneklerinde analiz yapılarak tasarlanan biyosensörlerin klinikteki potansiyeli araştırılmıştır. (**DEMİRBAKAN B., 2018**)

Doku temelli amperometrik biyosensör tasarımında; biyolojik atık geri dönüşümüne imkan sağlaması/doku içeriğinin kullanılmasıyla bileşen elde etme, saflaştırma gibi pek çok işleme ihtiyaç duyulmaması/Tasarımın gerçekleştirilmesinde kullanılacak özel kimyasal ihtiyacının azaltılmış olması/Benzer biyosensör sistemlerindeki elektrotlarının hayvan kalp doku temelli kullanımına öncülük etmesi/çevre dostu maddelerin kullanımı/tekrar hazırlanabilir ve kullanılabilir olması yenilikçi yönlerini oluşturmaktadır.

## 6. Uygulanabilirlik

Düşük maliyetli ve çevre dostu malzemeler kullanılarak planlanan tasarımların uygulamalarla çizilmesi ve 3D yazıcısı kullanılarak basılması uygulamaları her alanda yaygınlaşmıştır. Bu teknolojiye yararlanarak başlatılan atık geri dönüşümünün sağlandığı ve sürdürülebilir bu çalışmanın sonuçlarının ileri tekniklerle geliştirilebilir olduğu düşünülmektedir.

## 7. Tahmini Maliyet ve Proje Zaman Planlaması

Biyosensör sistemimizde elektrot gövdesi için kullanılacak hammadde 3B yazıcı PLA filamenti 200-250 TL; karbon pasta yapımında kullanılacak grafit tozu 100-200 TL ile parafin yağı(400mililitre) 120-160 TL olup toplam biyosensör tasarımımızın tahmini bütçesi yaklaşık 500TL'dir.

<b>Biyosensör Sisteminin Tasarım Aşamaları</b>	<b>MAYIS</b>	<b>HAZİRAN</b>	<b>TEMMUZ</b>	<b>AĞUSTOS</b>
<b>PLA Filamentinin Temini</b>	X			
<b>Elektrot Gövdesinin 3D Yazıcıda Tasarlanıp Basılması</b>		X		
<b>Karbon pastanın hazırlanıp</b>			X	



<b>elektrot gövdesine yerleştirilmesi</b>				
<b>Elektrota doku immobilizasyonu, sensörle ölçümlerin yapılması ve sonuçların değerlendirilmesi</b>				<b>X</b>

## 8. Proje Fikrinin Hedef Kitle (Kullanıcılar):

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 2008 yılı verilerine göre; kardiyovasküler hastalıkların küresel ölüm nedenleri içerisinde birinci sırada yer aldığı ve 7,6 milyon kişinin bu hastalıklar sebebiyle yaşamını yitirdiği bildirilmektedir. 2012 yılında bu sayı tüm ölümlerin %31'ine tekabül eden 17.5 milyona yükselmiştir. (Anonim 2016) Küresel ölçekte ölüm oranını bu denli etkileyen, günlük hayattaki pek çok kişinin sahip olduğu ve çok ciddi hasar bırakıcı etkilerine rağmen uzun süre vücut içerisinde varlığını belli etmeden ilerleyebilen kardiyovasküler hastalıkların Miyokard İnfarktüsü(Kalp Krizi)'nin erken teşhisinin yapılmasında, tanı konulma adımının hızlanmasında ve tedavi sürecinin daha basit hale dönüşmesinde uzmanlar tarafından kullanılacaktır.

## 9. Riskler

Biyosensör sisteminin biyoreseptör bölümünde immobilizasyon işlemi için kullanılacak hayvan kalp dokusunun çalışmada canlılığını kaybetmeden, doku içeriğinin içerik kaybına(enzim kaybı gibi) uğramadan laboratuvara getirilmesi gerekmektedir. Bunun için soğuk zincire uygun kalp dokusunun taşınması ve muhafazası için şartlar sağlanacaktır.

Biyosensörler tasarlanırken gerçekleştirilen immobilizasyon sonrası elektrot yüzey morfolojisinde meydana gelen değişiklikleri örneğin(analitin) ölçümünde sorunlar oluşturabilir. Bu sebeple taramalı elektron mikroskobu kullanılarak değerlendirmeler yapılacaktır.

## 10. Proje Ekibi

### Takım Lideri: Aylin SİNAN BİLGİN

Adı Soyadı	Projedeki Görevi	Okul	Projeyle veya problemle ilgili tecrübesi
İrmak DOĞAN	Takım Üyesi/9. Sınıf Öğrencisi/Literatür taraması/Biyosensör üretim aşamalarının uygulanması	Yenişehir Mersin Anadolu Lisesi	Problemlerle ilgili hikayesi üzerine araştırmalara başlamış
Aylin SİNAN BİLGİN	Takım Üyesi/Danışman Öğretmen/Kimya Öğretmeni/Literatür taraması/Biyosensör üretim aşamalarının belirlenmesi ve uygulanmasına rehberlik/Proje raporunun hazırlanması	Yenişehir Mersin Anadolu Lisesi	Problemlerle ilgili araştırmalarla uygulama sürecine ilişkin bir tecrübe

## 11. Kaynaklar

Anonim (2016). “**World Health Organization. Cardiovascular diseases fact sheet.**” <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/> (Erişim tarihi, 17.08.2016)

DEMİRBAKAN B., (2018). “**Bazı Kardiyovasküler Hastalıkların Biyosensör Sistemleri İle Belirlenmesi Ve Gerçek Örneklerde Kullanım Potansiyellerinin Araştırılması**” Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi

Haberal O. E. (2012).” **Akut Miyokard Hasarının Troponin Biyosensör İle Ölçülmesi**”, Yüksek Lisans Tezi, Başkent Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü , Ankara,

Kökbaş U., Kayrın L., Tuli A., (2013). “**Biyosensörler ve Tıpta Kullanım Alanları**”, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya ABD, Adana,

Kömürcü P. (2017).” **Plazma Polimerizasyonu Yöntemi Kullanılarak Kuvartz Ayar Çatalı Tabanlı Troponin-T Biyosensör Platformunun Hazırlanması**” TOBB Ekonomi Ve Teknoloji Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara

Özcan H. M. (2010). “**Fenolik Bileşiklerin Tayinine Yönelik Amperometrik Esaslı Biyosensör Hazırlanması**” Doktora Tezi Trakya Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü, Tekirdağ

Özoğlu Ö. (2019). “**Enzim Temelli Amperometrik Laktat Biyosensörü Üretimi Ve Tayin Sinirinin Belirlenmesi**”, Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Bursa

POLATOĞLU İ. (2018). “**Elektrokimyasal Biyosensörler için Karbon Pasta Elektrot Tasarımı ve Karakterizasyonu**” Celal Bayar Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, 45140,

Reed G.W., Rossi J.E., Cannon C.P. (2017). “Acute Myocardial Infarction Lancet”, Vol.389, pp-197-210

TUNCAY D., ÖZCAN H.M., YAĞAR H., (2017) “Etanol tayini İçin Boletus edulis doku homojenatı temelli yeni bir amperometrik biyosensör”. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 21 (6), 1266~1277

