



**BEYİN HASTALIKLARI TANISINDA
KULLANILAN MİKROELEKTROTUN
FOTOREZİST İLE YALITILMASI**

Oğuzhan OYAR

**Yüksek Lisans Tezi
Elektrik ve Elektronik Mühendisliği Anabilim Dalı
Devreler ve Sistemler Bilim Dalı
Prof. Dr. Tevhit KARACALI
2018
Her hakkı saklıdır**

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BEYİN HASTALIKLARI TANISINDA KULLANILAN
MİKROELEKTROTUN FOTOİZİST İLE YALITILMASI**

Oğuzhan OYAR

**ELEKTRİK ve ELEKTRONİK MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
Devreler ve Sistemler Bilim Dalı**

**ERZURUM
2018**

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEZ ONAY FORMU



**BEYİN HASTALIKLARI TANISINDA KULLANILAN MİKROELEKTROTUN
FOTOREZİST İLE YALITILMASI**

Prof. Dr. Tevhit KARACALI danışmanlığında, Oğuzhan OYAR tarafından hazırlanan bu çalışma 28/09/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından. Elektrik ve Elektronik Mühendisliği Anabilim Dalı – Devreler ve Sistemler Teorisi Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği/oy çokluğu (3/0)** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Tevhit KARACALI

İmza :

Üye : Doç. Dr. İ. Yücel ÖZBEK

İmza :

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Yunus BABACAN

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 01/11/2018 tarih ve 53 / 18 nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet KARAKAN
Enstitü Müdürü

Bu çalışma Tübitak projeleri kapsamında desteklenmiştir.
Proje No:113S504

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BEYİN HASTALIKLARI TANISINDA KULLANILAN MİKROELEKTROTUN FOTOREZİST İLE YALITILMASI

Oğuzhan OYAR

Atatürk Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi
Elektrik ve Elektronik Mühendisliği Anabilim Dalı
Devreler ve Sistemler Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Tevhit KARACALI

Nöron popülasyonlarının eş zamanlı saniye temelli kaydı, giderek artan beyin hücreleri ve diğer nöron ağları arasındaki fonksiyonel ilişkilerin daha iyi anlaşılmasına gerekli olarak kabul edilmiştir. Tekil nöronların elektriksel aktivitesini kaydetmek için mikroelektrot kullanımı, sinir sistemini anlayışımıza katkıda bulunmuştur. Bu amaç için, ince film çok bölümlü mikroelektrot dizileri kablo demetlerine kıyasla birçok avantaja sahiptirler. Memelilerin merkezi sinir sisteminde bulunan en önemli nörotransmitterlerden olan L-glutamate; şizofreni, parkinson, epilepsi ve hiperaktivite gibi birçok beyin hastalığı ile ilişkili olduğundan, bu enzimin varlığını ve davranışını kaydetmek, tanı ve tedavide büyük önem arz etmektedir.

Araştırmamızın amacı; beyin hastalıklarını belirlemede çok etkili bir yöntem olan voltametri tekniğiyle nörotransmitter ölçümünün en önemli parçası olan mikroelektrotların, yapılabilecek en uygun geometride üretilmesi ve kayıt sırasında meydana gelen gürültülerin azaltılması için kayıt alanları dışında kalan iletkenlerin yalıtılmasıdır.

2018, 44 sayfa

Anahtar Kelimeler: Mikroelektrot, Nörotransmitter, Amperometrik Algılama, Dönüşümlü Voltametri, Yalıtım

ABSTRACT

MS Thesis

ISOLATION OF MICROELECTRODE USED IN THE DIAGNOSIS OF BRAIN DISEASES WITH PHOTORESIST

Oğuzhan OYAR

Atatürk University
Faculty of Engineering
Department of Electrical and Electronics Engineering
Department of Circuits and Systems

Supervisor: Prof. Dr. Tevhit KARACALI

Neuron populations increasing concurrent second-based recording, brain cells and other neuron networks necessary to a better understanding of the functional relationship between. Using microelectrodes to record the electrical activity of single neuron have contributed much to our understanding of the nervous system. For this purpose, the thin-film multipart microelectrode array has several advantages compared to the cable bunch. Located in the mammalian central nervous system is the most important neurotransmitter L-glutamate; is associated with many brain disorders such as schizophrenia, Parkinson's disease, epilepsy and hyperactivity, is of great importance in the diagnosis and treatment to save the presence of this enzyme and its behavior.

The aim of our research; neurotransmitters by cyclic voltammetry, which is a very effective method in determining the measurement of brain disease, which is the most important part of the microelectrode is to produce the most favorable geometry that can be done and reducing noise occurring during recording is insulated conductors except for the recording area.

2018, 44 pages

Keywords: Microelectrode, neurotransmitters, amperometric detection, cyclic voltammetry, Insulation

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışma; Atatürk Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Elektrik-Elektronik Mühendisliği Bölümü Nanoteknoloji Laboratuvarı'nda ve Bilkent Üniversitesi İleri Araştırma Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Bu tez 113S504 numaralı TUBİTAK Projesi ile desteklenmektedir.

Tez danışmanlığımı yürüten Sayın Prof. Dr. Tevhit KARACALI'ya, proje ve tez çalışması süresince vermiş oldukları desteklerden dolayı, başta Sayın Doç. Dr. İ. Yücel ÖZBEK, Sayın Doç. Dr. Bülent ÇAVUŞOĞLU olmak üzere tüm bölüm hocalarıma ve arkadaşlarıma çok teşekkür ederim. Eğitimim boyunca her türlü yardımlarını esirgemeyen ve beni bu günlere getiren annem ve babama; kız kardeşime; bu mesleği seçmemde büyük katkısı olan meslektaşım, sevgili ağabeyim Yusuf OYAR'a teşekkür ederim. Lisans eğitimimin başından sonuna kadar bir an olsun yanımdan ayrılmayan ve bana destek olan meslektaşım, sınıf arkadaşım, sevgili eşim F. Çiğdem OYAR'a teşekkür ederim.

Bu tezimi gözlerindeki ışıqla enerji bulduğum kızım Zeynep Hilâl'e ithaf ediyorum.

Oğuzhan OYAR

Ağustos, 2018

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Motivasyon.....	1
1.2. Tezin Amacı	2
1.3. Literatürde Yapılan Çalışmalar	2
2. KURAMSAL TEMELLER.....	7
2.1. İn Vivo Elektrokimyanın Temel Prensipleri	7
2.2. Biyosensörler.....	8
2.2.1. Biyosensörlerin tanımı	8
2.2.2. Elektrokimyasal biyosensörler	9
2.2.3. Amperometrik ve voltmetrik biyosensörler	10
2.2.4. Biyosensörlerin tasarımı.....	11
2.3. Mikroelektrot Hazırlık Aşamaları	12
2.4. Kalibrasyon Kriterleri.....	12
2.5. Sinyal Analizi	17
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	19
3.1. Kayıt Bölgesi Seçimi.....	19
3.2. Alttaş Seçimi	21
3.3. Enzime Dayalı Çok Bölümlü (Multisite) Mikroelektrot Fabrikasyonu (Fotolitografi metodu ile)	22
3.3.1. Alttaş kesimi.....	22
3.3.2. Alttaş temizliği	23
3.3.3. HMDS (Hexamethyldisilazan) ve fotorezistkaplama.....	23
3.3.4. Yumuşak pişirme.....	24

3.3.5. Pozlandırma.....	25
3.3.6. Banyo.....	26
3.3.7. Metal kaplama (Ti + Pt)	27
3.3.8. Aseton içerisinde Lift-Off işlemi	29
3.3.9. Fotorezistin yalıtım tabakası olarak kaplanması	30
3.3.10. Sensör paketlenmesi	32
3.3.10.a. Kesme	32
3.3.10.b. Yapıştırma	33
3.3.10.c. Lehimleme (Wire Bonding).....	33
3.3.10.d. Epoxy.....	33
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	35
5. SONUÇ	41
KAYNAKLAR	43
ÖZGEÇMİŞ	45

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

5-HIAA	5-Hidroksiindol Asetik Asit
5-HT	5-Hidroksitriptamin
AgCl	Gümüş Klorür
Al ₂ O ₃	Alüminyum oksit
Ar	Argon
Au	Altın
Cr	Krom
DA	Dopamin
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
HCl	Hidroklorik Asit
NaCl	Sodyum Klorür
NO	Nitrik Oksit
Pa	Pascal
Pt	Platin
SiO ₂	Silisyum Oksit
Ti	Titanyum

Kısaltmalar

AA	Askorbik Asit
cfu/mL	Mililitre başına koloni oluşturan ünite
CNS	Central Nervous System
DC	Doğru Akım
DNA	Deoksirübo nükleik asit
DOPAC	Di Hidroksifenil Asetik Asit
HMDS	Hexamethyldisilazan

HVA	Homovanilik Asit
IEC	İmünoelektrokimyasal
LOD	Limit of Dedection
mm	Milimetre
MSS	Merkezi Sinir Sitemi
ms	Milisaniye
NE	Norepinefrin
PCB	Printed Circuit Board
ppb µg	çözünen / kg veya litre çözelti
RF	Radyo Frekans
UV	Ultraviyole
V	Volt
SS	Standart Sapma
LoB	Boşluk Limiti
LoD	Tespit Limiti
LoQ	Tayin Limiti

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Biyosensörün bileşenleri (Li, Yanbin. 2006.).....	9
Şekil 2.2. Biyosensör tasarımının önemli unsurları	12
Şekil 2.3. Kalibrasyona hazırlanan mikroeletrodun genel görüntüsü	13
Şekil 2.4. FAST-16 sisteminin ön ve arka panel görüntüleri.....	14
Şekil 2.5. Regresyon doğrusu	17
Şekil 2.6. L-Glutamat sinyalinin şematik diyagramı	18
Şekil 3.1. Çeşitli kayıt bölgelerinin l-edit programı görüntüleri.....	19
Şekil 3.2. Seçilen kayıt bölgelerinin l-edit programı görüntüleri	20
Şekil 3.3. Seçilen kayıt bölgelerinin ölçümlmeleri	20
Şekil 3.4. Seçilen kayıt bölgelerinin mikroskop görüntüsü	20
Şekil 3.5. Seramik alttaş örnekleri	21
Şekil 3.6. Enzime Dayalı Çok Bölümlü (Multisite) Mikroeletrot Fabrikasyonunun şematik gösterimi	22
Şekil 3.7. HMDS ve Fotorezist	24
Şekil 3.8. HOT-PLATE (solda) ve SPINNER cihazı (sağda)	24
Şekil 3.9. ‘Mask Aligner’ cihazı (Bilkent Üniversitesi İleri Araştırma Laboratuvarı)...	25
Şekil 3.10. AZ 400K developer	26
Şekil 3.11. Banyo edilmiş alttaş kayıt ve bağlantı bölgeleri.....	27
Şekil 3.12. Sputter tekniğinin organizasyonu	27
Şekil 3.13. Sputter cihazı (Bilkent-UNAM)	29
Şekil 3.14. Lift off yapılmış mikroeletrotlar	30
Şekil 3.15. Fotorezist yalıtımlı mikroeletrodun mikroskop görüntüsü	31
Şekil 3.16. Son ısıtma işlemine tabi tutulan elektrotlar	32
Şekil 3.17. Ucu konik olarak kesildikten sonra mikroeletrotlar	32
Şekil 3.18. Lehimleme cihazı (Atatürk Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Nanoelektronik Laboratuvarı)	33
Şekil 3.19. (a) PCB ve Elektrot (b) PCB ile yapıştırılıp lehimlenmiş elektrot (c) bağlantı yerini yalıtımlamak ve sağlamlaştırmak için epoxy damlatılmış elektrot.....	34
Şekil 3.20. Paketleme işlemi yapılmış fotorezist yalıtımlı sensörler	34

Şekil 4.1. Silikon tabanlı mikroelettrot üzerine yalıtım yapılmamış sensör cevabı.....	36
Şekil 4.2. Seramik tabanlı mikroelettrot üzerine AZ5214 ile yalıtım yapılmış sensör cevabı	37
Şekil 4.3. Seramik tabanlı mikroelettrot üzerine AZ5214 ile yalıtım yapılmış sensör cevabı	37
Şekil 4.4. Seramik tabanlı mikroelettrot üzerine AZ5214 ile yalıtım yapılmış sensör cevabı	39
Şekil 4.5. Seramik tabanlı mikroelettrot üzerine AZ5214 ile yalıtım yapılmış sensör cevabı	40



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. HMDS ve fotorezist kaplama parametreleri	23
Çizelge 3.2. Banyo işlemi parametreleri.....	26
Çizelge 3.3. Ti ve Pt kaplama parametreleri.....	28
Çizelge 3.4. Fotorezist yalıtım tabakası fabrikasyon adımları.....	30
Çizelge 3.5. Fotorezist yalıtım tabakasının pozlama ve develop süreleri.....	31
Çizelge 4.1. Silikon tabanlı ve yalıtımsız sensöre ait R^2 sonuçları.....	36
Çizelge 4.2. Sensör 1 LOD ve R^2 sonuçları.....	37
Çizelge 4.3. Sensör 2 LOD ve R^2 sonuçları.....	38
Çizelge 4.4. Sensör 3 LOD ve R^2 sonuçları.....	39
Çizelge 4.5. Sensör 4 LOD ve R^2 sonuçları.....	40

1. GİRİŞ

1.1. Motivasyon

Elektrotlara bir potansiyel uygulandığında mikroelettrot yüzeyindeki potansiyel eğer yeterliyse, çalışma elektrotu, kayıt bölgesi üzerindeki molekülleri direkt olarak okside veya redükte edebilir. Okside moleküller, kayıt bölgesine molekül verirken, redükte moleküller kayıt bölgesinden elektron alırlar. Bu faradaik reaksiyonlardan oluşan akımlar, mikroelettrot çevresindeki dokulardaki elektro aktif moleküllerin yoğunluklarıyla birebir orantılıdır.

Mikroelettrotların gerçek hayattaki adaptasyon sahasına gelecek olursak, mikroelettrotların seçicilik çemberine giren enzim-hastalık ilişkisini bünyesinde bulunduran hastaların daha hızlı tedavi ve iyileşme süreci için elverişli bir ortamda verilerin sürekli incelenmesi ve bunların gerçek zamanlı olarak kayıt altına alınması gerekmektedir. Bu kayıt ve gözlemler için giyilebilir ve minik boyutlu mobil cihazların geliştirilmesi çok önemlidir. Bu gelişim aşamasının en önemli parçalarından biri de mikroelettrotların daha küçük, daha verimli ve daha çeşitli ölçüm sahasına sahip olmasıdır. Bu elektrotlara sahip cihazlar sayesinde hastalar sürekli olarak gözetim altında tutulabilecek ve acil durumlarda hastaya daha erken müdahale edilebilmesine olanak sağlanacaktır.

Bu çalışmada bazı beyin hastalıklarından sorumlu olduğu düşünülen nörotransmitterlerin davranışlarının algılanmasında kullanılan mikroelettrotların fabrikasyonu, üzerlerinin fiziksel ve kimyasal kaplaması, üretilen mikroelettrotların test edilmesi gerçekleştirilmiştir. Üretim süreçleri tamamlanan mikroelettrotlar kullanılarak dopamin ve Hidrojen Peroksit' in elektrokimyasal ölçümleri yapılmıştır. Seçicilik, hassaslık ve cevap süreleri kıyaslandığında seramik tabanlı mikroelettrotların karakteristiklerinin silikon tabanlı elektrotlara göre daha iyi olduğu gösterilmiştir. (Burmeister *et al.* 2000). Silikon tabanlı mikroelettrotların özellikle dopamin seçiciliğinin düşük olması, yüksek

gürültü akımlarına ve düşük tespit gücüne sahip olmasından dolayı seramik tabanlı mikroelettrotların tercih edilme sebebi daha da güçlenmektedir.

1.2. Tezin Amacı

Bu tez çalışmasında elektrokimyasal kayıt almak için alttaş olarak seramik ve silikon, yalıtım tabakası olarak ise fotorezist, SiO_2 ve Al_2O_3 kullanılarak çeşitli mikroelettrot üretimi gerçekleştirilmiştir. Bu mikroelettrotlardan da içerisinde en iyi sonuçların hangi yalıtım tabakasından elde edileceği belirlenerek in vivo deneylerle dopamin ve Hidrojen Peroksit' in elektrokimyasal ölçümleri yapılmıştır.

Mikroelettrotların üretimi esnasında da çeşitli litografi teknikleri kullanılmıştır. Bu teknikler ile Class-100 sınıfı temiz oda ortamında tüm üretim aşamaları hassas bir şekilde gerçekleştirilmiştir.

Bu tez kapsamında, Parkinson, Epilepsi, İlaç Bağımlılığı ve Şizofreni gibi hastalıklara sebep olan dopamin, glutamat, serotonin vb. nörotransmitter seviyelerin üretilen mikrosensörler aracılığıyla sürekli gerçek zamanlı ölçümleri alınarak, hastalığın tanı ve tedavisine katkı sağlanması amaçlanmaktadır.

1.3. Literatürde Yapılan Çalışmalar

Sinirbilimciler, beyin ve merkezi sinir sisteminin işleyişini incelemek için çok sayıda araç kullanmaktadır. Elektrokimyasal yöntemler, çok sayıda nörokimyasal çevre ve molekülün çalışılması için çok yönlü tekniklerdir. Mikroelettrotların kullanımını içeren bu elektrokimyasal yöntemler çeşitli voltametrik tekniklerle sinaptik veziküller, tek hücreler, dokular, anestezi uygulanmış beyin ve uyanmış, anestezi edilmemiş beyin de dahil olmak üzere çeşitli ortamlarda çeşitli nörokimyasalları izlemek ve ölçmek için kullanılır.

Elektrokimyasal araştırmanın temelleri ve sinirbilimde kullanılan yöntemler Nobel Ödülü kazanan Jaroslav Heyrovsky eserinden esinlenmiştir. Heyrovsky ve ekibi, elektroliz ile metal yüzeylerdeki analitleri incelemekle, bir potansiyel uygulayarak elektron ekleme-çıkarma ile ilgileniyordu. Heyrovsky, düşen cıva elektrodunda üretilen akımı ölçerek, ilk elektro-analitik ölçümün oluşturulmasıyla, sodyum iyonlarının çökmesini doğru bir şekilde öngördü ve ölçtü. Analitleri tanımlama ve ölçme için yaptığı yeni teknik "kutupsal grafi" olarak adlandırıldı. Bu akım-voltaj grafiğini kaydetmek için geliştirilen otomatik ayardan ("polarograph") sonra geldi. Günümüzde polarografi voltametri olarak bilinir. İki yöntem de farklı uygulanan potansiyellerde farklı analitler tarafından üretilen akımı izlemek ve ölçmek için kullanılır ancak ilkeler hala aynıdır.

Heyrovsky'nin keşfinden elli yıl sonra, elektrokimya uzmanı Ralph Adams, daha önce hiçbir elektrokimyacının bulunmadığı yere, yani beyne ulaşmıştır. O, küçük elektrotların beynin içine implante edilebileceğini öne sürmüştür. Adams, karbon pasta mikroeletrodlarıyla çalışırken, Francois Gonon ve Fransa'daki ortakları, nörotransmitterleri tespit etmek ve izlemek için kemirgen beyinlerine karbon elyaflarından oluşan mikro elektrotları yerleştiriyorlardı.

Elektrokimyasal yöntemler ve cihazlar, in vivo çok sayıda türün tespit edilmesinde üstün uzaysal ve zamansal çözünürlük sağlar ve bu da sinirbilimlerde yararlı bir araç haline gelmiştir. Elektrokimyasal yöntemler veziküllerden nörotransmitterlerin salınmasını araştırmış, tek hücrelerden salgılanan kimyasalı incelemiş, beyin dokusu dilimlerinde dopamin salınımı üzerindeki farmakolojik manipülasyonun etkisini incelemiş, anestezi altındaki beyindeki glutamat aktivitesini izlemiş ve uyanık beyindeki dopamin düzeylerindeki değişikliklerle lokomotor aktiviteyi ilişkilendirmiştir. Elektrokimyasal yöntemlerin çok yönlülüğü, patch clamp ve elektrofizyoloji gibi diğer tekniklerle kullanımını da kapsar.

Mikroeletrotların kayıt bölgesi olarak kullanımları 1964 yılına kadar dayanmaktadır. Frank ve Becker'in 1964 yılında yayımladığı 'Kayıt ve simülasyon için mikroeletrotlar'

isimli makale bunun en önemli kanıtıdır. (Frank and Becker, 'Microelectrodes for Recording and Stimulation', Physical Techniques in Biological Research).

Najafi'nin 1986 yılında yaptığı çalışma ise elektrotların nöroloji alanında kullanımının yaygınlaştırılmaya çalışıldığının ve bu elektrotların insan sağlığı için çok önemli bir tanı aracı olmaya başladığının göstergesi olmuştur. Bu çalışmada, on-chip işaretleme işlemi ile, implante edilebilir on kanallı çok elektrotlu kayıt dizisinin gelişimi anlatılmaktadır. Bu aktif prob, hücre dışı nöral biyopotansiyellerin uzun süreli kaydı için ve kapalı halkalı sinir protezleri için bir temel olarak kullanılabilirliğini göstermiştir. Prob, 100µm aralıklı olarak bulunan on kayıt elektrodundan kaydedilen sinirsel sinyalleri yükseltmek, çoğullamak ve tamponlamak için on-chip devresini içerir.

Bruno Frazier, David O'Brien ve Mark Allen'in 1993'te yaptığı çalışmada da, hücre dışı uyarı ve nöronların kaydı için iki boyutlu metalik mikroeletrod dizilerinin üretimine başlanacağını sinyalleri verilmiştir. Diziler, yapısal malzeme olarak nikel ve sinirsel kayıt alanlarında maruz kalan materyal olarak altın kullanılarak bir silikon alt tabakada imal edilmiştir.

Burmeister and Gerhardt'ın 2000 yılında yaptığı çalışmada, seramik alt tabakaların silikondan daha güçlü ve yalıtkan oluşunun in vivo elektrokimyasal ölçümler için onları daha iyi hale getirdiği savunulmuştur. Bu çalışmadaki tasarımlar, fotolitografi kullanarak seramik levhalar üzerinde dört alanlı (50x50µm, araları 200 µm boşluklu) elektrot oluşturmaya dayanmaktadır. Kayıt yerleri ve bağlantı hatları, bağlantı hatlarını izole etmek için bir poliimid kaplamalı Pt' den yapılmıştır. Elektrokimyasal dopamin ve hidrojen peroksit ölçümleri, elektrotların duyarlılık, seçicilik ve tepki özelliklerinin önceden yayınlanmış silikon alt tabaka tabanlı mikroeletrodlarinkini aştığını destekler (Burmeister *et al.* 2000).

Burmeister ve arkadaşlarının 2002 yılında yayımladığı bir diğer çalışmada ise memelilerin merkezi sinir sisteminde L-glutamat' ın hızlı ölçümleri için geliştirilmiş seramik tabanlı mikroeletrot anlatılmaktadır. Bu çok bölgeli seramik mikroeletrotlar

İnce Film Teknolojileri ile bağlantılı olarak üretilmiştir. Elde edilen mikro diziler, Pt bağlantı hatlarına ve kayıt yerlerinden yaklaşık 1 cm uzatılmış kablolama alanlarına sahip $50 \times 150 \mu\text{m}^2$ Pt kayıt yerlerinden oluşuyordu. Asıl önemli olan da iletim hatlarını izole etmek için, kayıt bölgeleri ve kablolama alanları hariç tutulduğunda, mikroelettrot yüzeyleri ilave bir maske ve yaklaşık 5000 dev/dk. 'da çalışan bir yarı iletken fotorezist kullanarak poliimid (1.5-2.0 μm kalınlık) ile kaplanmasıydı.

L-laktat' ın in vivo doğrudan ölçümleri çeşitli yaklaşımlarla sağlanmıştır. Mikro diyaliz hem kan hem de beyindeki l-laktat ölçümünde kullanılmıştır. Buna ek olarak, l-laktat' ın beyinde ve kanda deri altından ölçülmesi için biyosensörlerle birlikte kateterler kullanılmıştır. Entegre mikroelettrotlara sahip ultra düşük hacimli mikro-titre odaları tek kalp hücrelerinden l-laktat ölçmek için kullanılmıştır. Son olarak, l-laktat ve glikozu ölçmek için silikon yongalara dayanan bir algılama düzeni kullanılmıştır. Biyosensörler doğrudan dokulara implante edilebilir ve daha önce bahsedilen birçok yöntemden daha iyi zamansal çözünürlük sağlayabilir. Bu yazıda, seramik bazlı bir çok bölgeli mikroelettrod dizisi kullanan MSS dokularında in vivo ölçümler için yeni bir l-laktat mikroelettrot anlatılmaktadır. L-laktat oksidazın kayıt alanlarına immobilizasyonu için kaplama prosedürü değiştirildi ve poliüretan kullanarak kayıtların doğrusal aralığını değiştirildi. Buna ek olarak, poliimid izolasyon katmanı geliştirildi. Bu yeni mikroelettrot, MSS'de doğru l-laktat ölçümleri için seri üretilmiş seramik bazlı çok bölgeli mikro elektrod kayıt dizilerini kullanmıştır. Buna göre, ortaya çıkan mikroelettrod tasarımı, düşük algılama limitleri, hızlı tepki süresi ve mikroarray'in dört bölgesinden aynı anda kayıt yapma kabiliyetine sahiptir (Burmeister *et al.* 2005).

Jiangang Du *et al.* (2009) sinirsel kayıt uygulamalarına uygun kuru aşındırma yöntemi ile elektrot üretmişlerdir. Elektrot 10mm uzunluğunda, $50 \mu\text{m}$ kalınlığında ve ortalama $100 \mu\text{m}$ genişliktedir. Bu fabrikasyon süreci oldukça basit ve seri üretime uygundur.

Frey *et al.* (2010) 6,5mm uzunluğunda $50 \times 150 \mu\text{m}$ Pt kayıt bölgelerine sahip elektrotu silikon alttaş üzerine kuru aşındırma yöntemi ile üretilmiştir. Bu çalışmada aynı bölgedeki farklı analitlerin ölçümü aralarında parazit olmadan yapılmıştır.

2009 yılında yapılan diğer bir çalışmada silikon tabanlı sinir uçları için yeni bir fabrikasyon teknolojisi sunulmuştur. 2 boyutlu mikroprobların yanı sıra 3 boyutlu mikroproblar sinirsel kayıtlar için tasarlanmıştır. Sağlam çift taraflı derin reaktif iyon ekilmiş silikon alttaş üzerine fabrikasyon yapılmıştır. Bu da elektrot geometrisinde 3 boyutlu kontrole izin vermiştir. Bir 8 mm uzunluğunda elektrotta 4 tane ana kol vardır ve her ana kol üzerinde 9 kayıt noktası bulunmaktadır. Metalizasyon tabakası buharlaştırma yöntemi ile oluşturulmuş, yolların ve kayıt noktalarının oluşması için lift-off yapılmıştır (Herwik *et al.* 2009).

Marton *et al.* (2013) tarafından yapılan çalışmada oldukça uzun mikroeletrot dizisi sunulmuştur. Derin reaktif iyon aşındırma yöntemi ile 15-70 mm uzunluğunda farklı elektrotlar yapılmıştır ve çeşitli konfigürasyonlarda platin elektrotlarla donatılmıştır. Fare üzerindeki in vivo ölçümlerde iyi mekanik kararlılık, beyin bölgesine istenilen bölgeye tam olarak yerleşebilme imkânı sağlanmıştır. Kemirgen beyninin farklı bölgelerinde yüksek kalitede sinyal elde edilmiştir. Silikon tabanlı beyin elektrotlarının mekanik özelliklerini etkileyen faktörler üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmada esneklikten ziyade sağlam elektrot amaçlanmıştır. 206µm ve 400µm kalınlığında 4 farklı uzunlukta tasarlanmıştır (15µm, 30µm, 50µm, 70µm).

2013 yılında yapılan bir diğer çalışmada ise çalışmada ise düşük fiyatlı nikel elektro-kaplama yöntemi ile nikel tabanlı multielektrot kullanılmıştır. Mekanik olarak silikon tabanlıdan daha sert olduğu görülmüştür. Bağlantı içinde parylene kablo kullanılmıştır. Parylene kablonun biyo-uyumluluğu kanıtlanmıştır. 422 mm uzunluğundaki parylene kablo elektriksel bağlantıyı kolaylaştırmıştır ve paketleme problemlerini azaltmıştır (Yu *et al.* 2013).

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. İn Vivo Elektrokimyanın Temel Prensipleri

In vivo elektrokimya, nöronların kimyasal sinyalizasyonunu kaydetmek için bir araç sağlayan memelilerin MSS' ne adapte edilebilen mikroelettrotları kullanır. Mikroelettrotların kayıt yüzeyi veya çalışma elektrodu (normalde Pt veya karbon gibi pasif bir metal) ilgi konusu bileşikler oksitleyebilir veya azaltabilir. Çalışma elektrotuyla iyonik temasta olan bir referans elektrotuna, normalde bir Ag / AgCl referans elektroduna karşı bir potansiyel uygulanır. Mikroelettrot yüzeyindeki potansiyel yeterliyse, direkt olarak çalışma elektrodunun kayıt yüzeyindeki moleküller, asıl elektrokimyasal özelliklerine bağlı olarak oksitlenir veya indirgenir. Oksitlenmiş moleküller kayıt yüzeyine bir veya daha fazla elektron verirken, indirgenmiş moleküller kayıt yüzeyinden elektronlar alırlar. Faradik reaksiyonlardan üretilen akımlar, mikroelettrodu çevreleyen dokudaki elektro aktif molekül (ler) in konsantrasyonuna göre doğrusaldır. Bu temel ilke, in vivo çalışmalar için in vitro kalibrasyon yöntemleri sağlar.

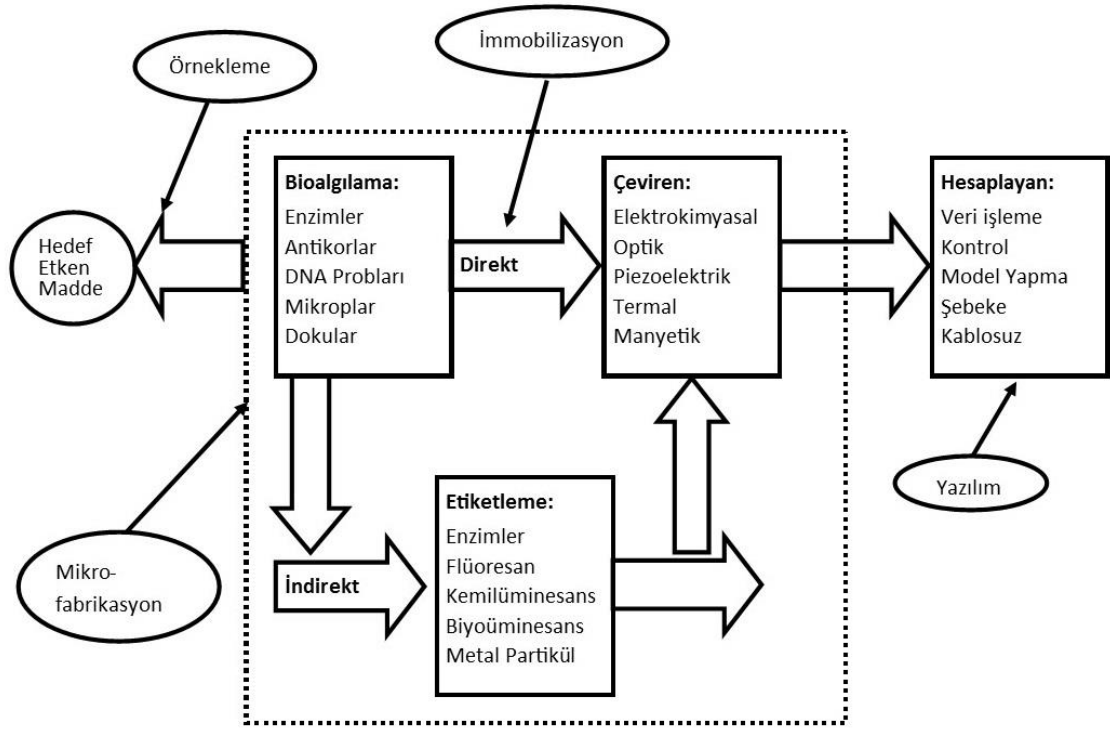
En basit elektrokimyasal tekniklerden biri amperometredir. Sabit bir potansiyelde akım ölçümü içerir. Akım sürekli olarak izlenebilir, bu nedenle olaylar 1 ms' den daha düşük sürede ölçülebilir. Voltaj, çalışma elektroduna sürekli olarak uygulandığından; mikroelettrottan kaydedilen Faradik olmayan arka plan akımı düşüktür ve elektrokimyasal olarak aktif moleküllerin hassas ölçümleri yapılabilir. Ayrıca, doğal olarak elektrokimyasal yönden aktif olmayan moleküllerin ölçümlerine izin vermek için, elektrokimyasal olarak aktif muhabir molekül (genellikle hidrojen peroksit) üreterek, kayıt yüzeyine enzimler uygulanır. Pt kayıt yüzeyinde Ag / AgCl referansına karşı +0.7 V bir potansiyel uygulandığında, yeni oluşan peroksit oksitlenir ve elektronların Pt kayıt yüzeyine iletilmesiyle oluşan akım değişimi saptanır. O₂ oksidaz enzimleri için bir kofaktör olarak gerek duyulmasına rağmen, muhabir molekülünün oksidasyonu, devam eden reaksiyonlar için O₂'nin bir bölümünü üretir.

2.2. Biyosensörler

Biyosensör, bir dönüştürücüye yakından bağlı veya bütünleşmiş biyolojik algılama elemanını içeren bir cihazdır. Genel amaç, belirli bir kimyasal veya kimyasal madde konsantrasyonuna orantılı olan bir dijital sinyal üretmektir.

2.2.1. Biyosensörlerin tanımı

Bir biyosensörün en yaygın olarak kabul edilen tanımı: “herhangi bir örnekte kimyasal türlerin konsantrasyonuna orantılı ölçülebilir bir sinyal üretmek için uygun bir fiziksel dönüştürücüye sahip biyolojik olarak aktif bir elementi içeren bir analitik cihazdır”. Biyosensör; kimyasal veya biyokimyasal, biyolojik bir sinyali ölçülebilen ve işlenebilen elektriksel sinyale dönüştürebilir, kimyasal veya fiziksel dönüştürücü ile birleştirilmiş biyolojik algılama materyali içeren bir cihazdır. Şekil 2.2’de gösterildiği gibi, nükleik asitler, enzimler, antikorlar, tam hücreler, reseptörler, dokular, organeller ve daha fazlası biyosensörlerde kullanılan biyolojik materyalleri arasında sayılabilir.



Şekil 2.1. Biyosensörün bileşenleri (Li, Yanbin. 2006.)

Biyosensörde kullanılan dönüştürücü; elektrokimyasal, optik, piezoelektrik, kalorimetrik, manyetik vb. olabilir. Biyosensör materyali, dönüştürücüye tespit edilebilir sinyal gönderir.

Bir biyosensörün modern konsepti, Leland C. Clark Jr. ve meslektaşlarının fikirlerine çok şey borçludur. Enzimlerin, ana sensörün analit aralığını genişletecek olan 'enzim elektrotları' oluşturmak için elektrokimyasal detektörlerde sabitleneceğini öne sürmüşlerdir.

2.2.2. Elektrokimyasal biyosensörler

Elektrokimya, tipik olarak katı bir elektrot ve çözelti içindeki türler arasındaki ara yüz şarj transfer işlemleriyle ilgilidir. Bu yük transfer işlemleri, bir elektrotun bir elektrot yüzeyi üzerinde elektro-çökeltildiği veya sıyrıldığı durumlarda olduğu gibi, hem oksitlenmiş hem de indirgenmiş türün çözelti içinde kaldığı durumda olduğu gibi metal

iyonları içerebilir. Elektrokimyasal biyosensörler, ötekilerle kıyaslanırsa en eski ve en gelişmiş biyosensörlerdir. Elektrokimyasal biyosensörler üzerine son araştırmalar elektrot tasarımlarının geliştirilmesine odaklanmıştır (örneğin boyut, etkin elektron alış-verişi, nanomateryaller ve daha iyi sabitleme prosedürleri). Elektrokimyasal biyosensörler amperometrik/voltmetrik, potansiyometrik ve iletkenlik-kapasitans-impedans biyosensörler olarak ayrılabilir.

2.2.3. Amperometrik ve voltmetrik biyosensörler

Amperometrik ve voltmetrik biyosensörler elektrokimyasal sistem ile kendi akım potansiyel ilişkilerine göre sınıflandırılabilir. Amperometrik sensörler, voltmetrik sensörlerin bir alt grubu olarak tanımlanabilir. Tipik olarak, akım sabit bir potansiyelde ölçülür ve buna amperometri denir. Amperometride, bir elektrot yüzeyinde bir elektro aktif analit türünün oksidasyonu veya indirgenmesi ile üretilen akım kontrollü potansiyel koşullar altında izlenir. Akımın büyüklüğü o zaman mevcut analit miktarı ile ilgilidir. Amperometrik biyosensörler, iki elektrot arasında bir potansiyel uygulandığında bir akımın üretilmesi ile işlev görür.

Voltametri, bir analit hakkındaki bilginin, bir potansiyelin değiştirilmesi ve daha sonra ortaya çıkan akımın ölçülmesi yoluyla elde edildiği bir elektro-analitik yöntem kategorisine aittir. Bu nedenle, bir amperometrik tekniktir. Potansiyelin kontrollü varyasyonları sırasında bir akım ölçülürse, buna voltametri denir. Bir elektrokimyasal hücrenin potansiyel farkı bir ön ayar değerinden diğerine tarandığında voltametrik bir ölçüm yapılır ve hücre akımı uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak kaydedilir. İlk bakışta voltametrik ve amperometrik prensiplere dayanan dönüştürücüler, bir sensörün seçici kimyasının araştırılması için ideal olan cihazlardır. Dönüştürücünün çıkış sinyalini oluşturan bu elektronların akışıdır. Ek olarak, voltametrik ve amperometrik cihazlar, genel algılama işlemine bir dereceye kadar seçicilik verme yeteneğine sahiptir. Voltametrik ve amperometrik dönüştürücüler de nispeten basittir: en basit durumda, dönüştürücü (elektrokimyasal hücre) uygun bir elektrolit içine daldırılmış iki elektrottan

oluşur. Daha karmaşık bir düzenleme, bir referans potansiyeli sağlayan elektrotlardan biri olan üç elektrot hücresinin kullanımını içerir.

Ekseriyetle, amperometrik biyosensörler konsantrasyon bağımlı akımı biyolojik olarak aktif materyalle kaplı elektrokimyasal elektrot vasıtasıyla ölçerler. Elektriksel akım ve analit konsantrasyonu arasındaki ilişki Cottrell denklemi ile ifade edilebilir:

$$i = nFAC_0[D/(\pi t)]^{1/2}$$

i = ölçülecek akım

n = transfer olan elektron sayısı

F = Faraday sabiti, eşitlik başına 96 487 C

A = elektron alanı

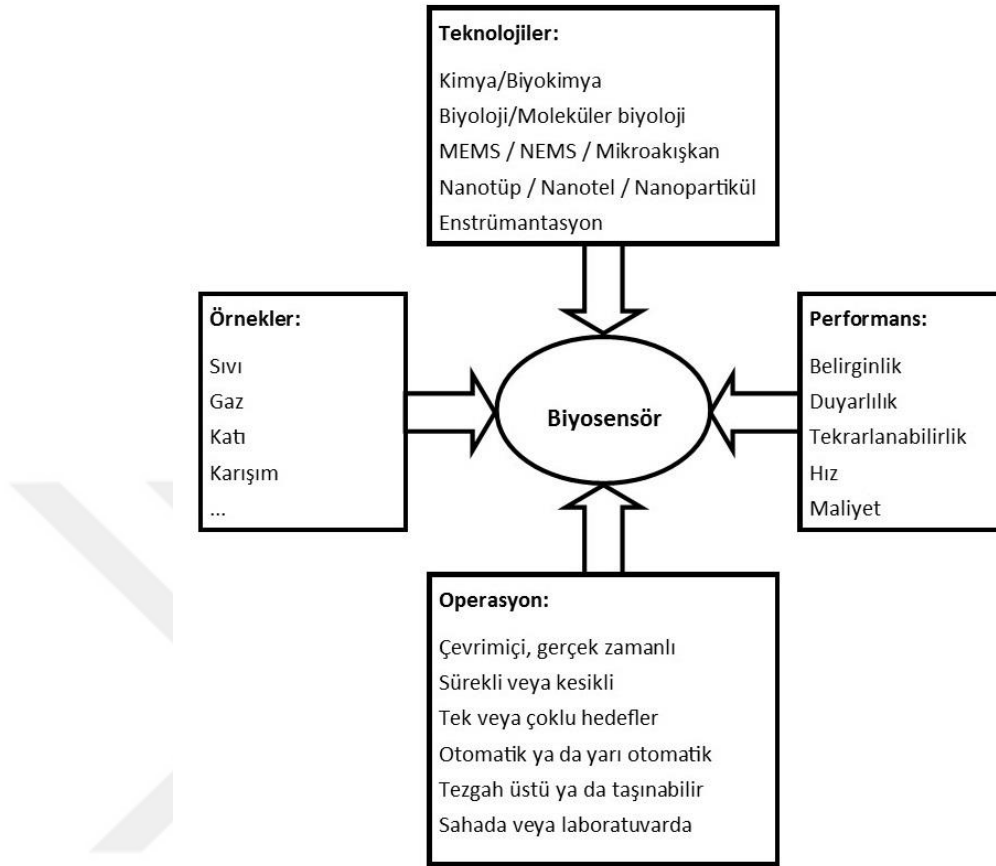
C_0 = analit konsantrasyonu

D = difüzyon sabiti

t = potansiyel uygulandıktan sonra geçen süre

2.2.4. Biyosensörlerin tasarımı

Biyosensörlerin tasarımının en önemli yapıtaşları; örnekler, performans kriteri, çalışma koşulları ve yeni teknolojilerdir (Şekil 2.3).



Şekil 2.2. Biyosensör tasarımının önemli unsurları

2.3. Mikroelektrot Hazırlık Aşamaları

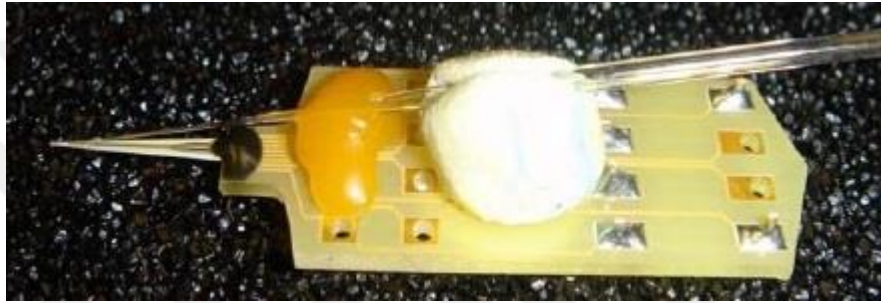
Mikroelektrodun üretim aşamasından sonra in vivo ve in vitro testlerde kullanılması için; temizleme, bariyer kaplama, enzim kaplama ve kalibrasyon prosedürlerinden geçmesi gerekmektedir.

Elektrotun temizliği yapılırken elektrotların uç kısımları, citrisolv solüsyonunda 5 dk. bekletilir ve ardından 5 dk iyonize H₂O (ddH₂O) ile yıkanır. Sonra 15 dk. 105–115°C’de fırında kurutulur.

Başarılı bir temizleme prosedüründen sonra elektroda glutamat seçiciliği için iki farklı kaplama yapılır. İlk olarak merkezi sinir sisteminde bulunan Askorbik asit (AA) ve

DOPAC gibi ölçümü istenmeyen maddeleri süzmek için Nafyon kaplanır (Gerhardt et al. 1984). Böylece elektrot analit için daha seçici olur.

Daha sonra ölçülmek istenen enzim glutamat ise glutamat oksidaz enzimi ile kaplanır. Eğer farklı bir elektrokimyasal olarak aktif olmayan enzimin ölçümü yapılmak isteniyorsa o enzimin oksidaz enzimi ile kaplama yapıp elektrota istenilen analite karşı seçicilik kazandırılır.



Şekil 2.3. Kalibrasyona hazırlanan mikroelettrodun genel görüntüsü

2.4. Kalibrasyon Kriterleri

Mikroelettrodun kayıt bölgeleri L-glutamata ve peroksida ayrı cevaplar verebilir. Elektrodun standart eğimlerinin belirlenebilmesi için deney öncesi in vitro olarak kalibre edilmesi gerekmektedir. Bundan dolayı kalibrasyonlar, L-glutamatın oluşturduğu peroksitten oluşan analit konsantrasyonundaki değişimi, peroksidin oksidasyonu ile oluşan akım değişimine eşitlemek için kullanılır. Yoğunluğu bilinen analit, 37°'de 40 mililitrelik 0.05 M PBS solüsyonuna eklenerek, FAST-16 sisteminde ölçülebilen piko amper mertebelerinde bir akım oluşturur.

FAST-16 sistem yazılımı, analit ilave edildikçe anlık olarak akımları kayıt altına alır. Her bir kayıt bölgesi için ayrı ayrı kalibrasyon eğimi oluşturur ve bu kalibrasyon eğimlerini kaydeder. Aynı zamanda kalibrasyon esnasında AA gibi bilinen bozucular teste ilave edilir ve böylelikle istenen analitin bozuculara göre seçiciliği test edilir. İn vivo deney

sırasında kalibrasyon verileri çağrılarak analitin konsantrasyonunun tespit edilebilmesi için kullanılır.



Şekil 2.4. FAST-16 sisteminin ön ve arka panel görüntüleri

Kalibrasyon sırasında FAST-16 kayıt sistemi, L-glutamatın AA'ya göre seçiciliğini, eğrinin eğimini, tespit limitini (LOD) ve çizgiselliğini (R^2) otomatik olarak hesaplar.

L-glutamata karşın yanıtın $R^2 \geq 0.99$ olması gerekmektedir. Mikroelektrodun duyarlılığı, L-glutamattaki değişimin ne derece iyilikte ölçülebileceğini gösterir. Eğim, aynı zamanda mikroelektrodun kullanılması için en güvenilir ölçüt olan LOD'un hesaplanmasında da kullanılır.

Mikroelektrot seçiminde LOD kullanılır. Analit yoğunluğu, kayıt sisteminin arka plan gürültüsünün üç katına eşit elektrot cevabıdır. Kullanıcı, görmek istediği cevaptan daha düşük LOD'lu mikroelektrotları seçmek zorundadır. (Hacımüftüoğlu 2008).

2.4.1. LOD (Limit of Detection)

Uygun bir istatistiksel belirsizlikle analitin varlığını ortaya çıkarmanın mümkün olduğu en küçük ölçüm içeriğidir.

Boşluk Limiti (LOB), Tespit Limiti (LOD) ve Tayin Limiti (LOQ), bir analitik prosedürle güvenilir bir şekilde ölçülebilen bir ölçütün en küçük konsantrasyonunu tanımlamak için kullanılan terimlerdir. Genel olarak; boşluk limiti (LOB), analit içermeyen bir boş numunenin kopyalarının test edildiğinde bulunması beklenen en yüksek görünür analit konsantrasyonu; tespit limiti (LOD), metodun laboratuvar koşullarında örnekteki varlığını tespit edebildiği ancak kesin miktarını ölçemediği en düşük analit konsantrasyonu; tayin limiti (LOQ) ise miktarsal olarak tespit edilebilen en düşük analit konsantrasyonu olarak tanımlanabilir.

LOD için tipik olarak kabul edilebilen değer, gürültü seviyesinin 3 katıdır. S/G oranı, analit ile ilgili bilgiyi taşıyan sinyal S ve cihazdan gelen elektronik gürültü G'yi mukayese eder. LOD, S/G oranı 3'e yaklaşıncaya kadar seri olarak seyreltilmiş numuneler test edilerek de belirlenebilir.

LOD' u hesaplamak için geleneksel ve tipik bir yaklaşım, sıfır kalibratör veya kör bir numunenin, genellikle $n = 20$, ortalama değerinin ve SS' nin (standart sapmanın) belirlenmesi ve LOD' un ortalama $+2$ SS olarak hesaplanmasıdır. Bu yaklaşımın çeşitlemeleri daha tutucu bir LOD sağlamak için ortalama artı 3, 4 veya hatta 10 SS kullanır. Varsayım, eğer analit varsa, analitin yokluğunda analitik gürültünün üzerinde bir sinyal üretecektir. Bu basit ve hızlı bir yöntemdir. Zayıflık, düşük bir analit konsantrasyonunun gerçekten bir kör (sıfır konsantrasyon) numuneden ayırt edilebilen

bir sinyal üreteceğini kanıtlamak için nesnel bir kanıt olmamasıdır. Needleman ve Romberg'in belirttiği gibi, “Sadece hiçbir şeyi ölçememe yeteneğini tanımlar”.(Needleman SB, Romberg RW 1990)

Analit yoğunluğu, kayıt sisteminin arka plan gürültüsünün üç katına eşit elektrot cevabıdır. Bu gürültüye atfedilemeyen, analit yoğunluğundaki en düşük tespit edilebilir değişimdir. Kullandığımız mikroeletrotlarda LOD 0,2–1 mikromolardır. Bu da kayıt enzim içeriğine ve bölgelerin kayıt kararlılığına göre değişebilir. Kullanıcı, görmek istediği cevaptan daha düşük LOD’ lu mikroeletrotları seçmek zorundadır. (Hacımüftüoğlu, 2008).

2.4.2. Doğrusallık (R^2)

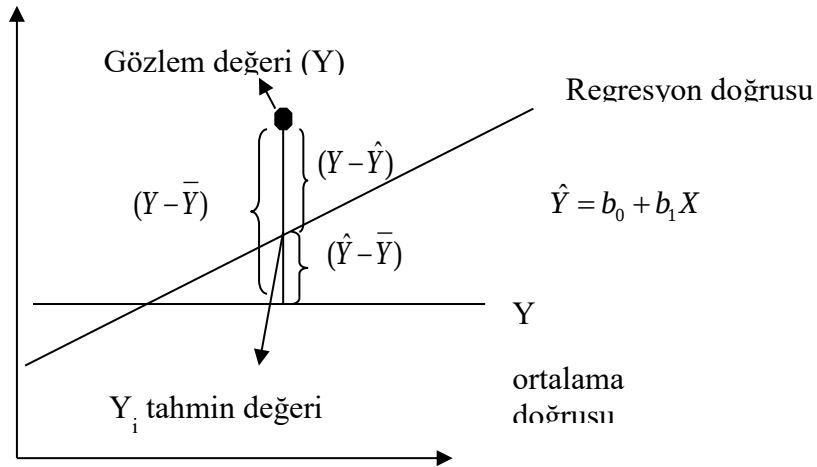
Açıklanan değişimin toplam değişime oranıdır. Diğer bir deyişle, bağımsız değişkenin, bağımlı değişkende ki değişimin yüzde kaçını açıkladığını gösterir. R^2 notasyonu ile verilen belirleme katsayısı (determinasyon katsayısı) şu şekilde tanımlanır

$\hat{Y} = b_0 + b_1X$ modeli için belirleme katsayısı,

$R^2 = (\text{Açıklanan değişim}) / (\text{Toplam değişim})$

$$R^2 = \frac{RKT \text{ (regresyon kareler toplamı)}}{YOAKT \text{ (genel kareler toplamı)}} = \frac{\sum(\hat{Y} - \bar{Y})^2}{\sum(Y_i - \bar{Y})^2}$$

olarak tanımlanır.



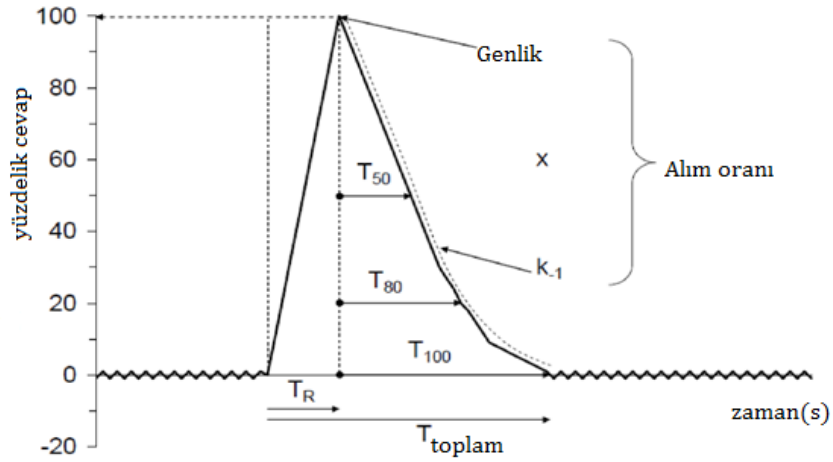
Şekil 2.5. Regresyon doğrusu

Şekil 2.5’den de görüldüğü gibi, regresyon kareler toplamının büyümesi, gözlem değerinin tahminlenmiş regresyon doğrusuna yaklaşması anlamına gelmektedir ve bu da belirleme katsayısını artırır.

R^2 değerinin bire yakın olması her araştırmacının arzuladığı bir durumdur. Bu durumda bağımlı değişkendeki varyansın büyük bir kısmının modeldeki bağımsız değişkenin açıkladığı sonucuna varılır.

2.5. Sinyal Analizi

Üretilen çoklu mikroelettrot dizisini kullanarak beyin içinde bulunan L –Glutamat’ ın ölçümünü yapıp L-glutamat sinyalini ölçmek ve analiz edilmek önem arz etmektedir. Şekil 2.2’de analiz parametreleri ile birlikte tipik bir L-glutamat sinyali gözükmemektedir. Bu grafik, L-glutamat ve diğer nörotransmitterlerin zamana karşı konsantrasyon eğrisi olarak çizilmiştir.



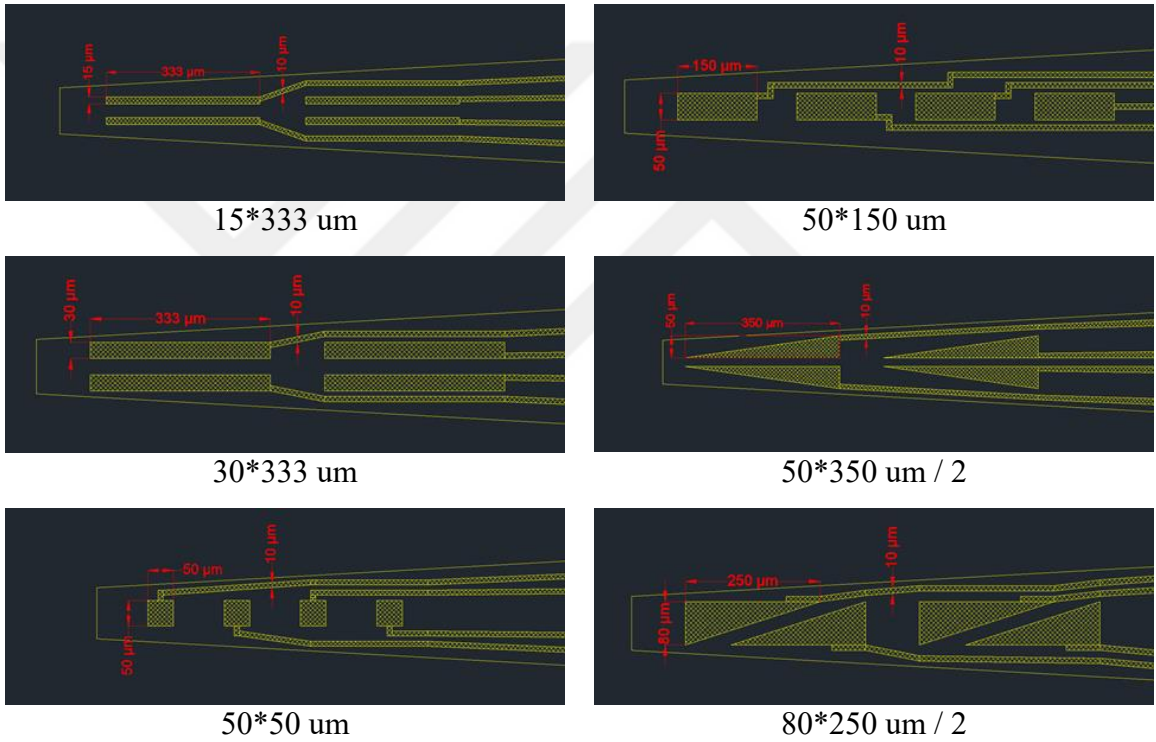
Şekil 2.6. L-Glutamat sinyalinin şematik diyagramı

Temel çizgi ile karşılaştırıldığında konsantrasyondaki maksimum değişim, maksimum genlik ya da L-glutamat sinyalinin genliği olarak belirtilir. Bu değer genel olarak μM olarak ölçülür. Sinyalin temel çizgiden maksimum genliğe ulaşması için geçen zaman kaydedilir ve yükselme zamanı olarak (T_R) olarak ifade edilir. Maksimum genlikten sonra temel çizgiye doğru sinyal azalması gerçekleşir. L-glutamat sinyalinin azalması verinin doğal logaritmik dönüştürülmesinin çizgisel azalmasının eğimidir. Bu da k_1 adını alır ve sinyalin maksimum genlikle çarpıldığında alım-gerialım oranı veya saniyede hücre dışı boşluktan uzaklaştırılan L-glutamat' ın mikromoları elde edilir. Sinyal düşüşü maksimum genlikten temel çizgiye düşüş süresidir. Son olarak sinyalin düşüşü, düşüşün farklı yüzdelerinde incelenebilir. Genel olarak T_{50} , T_{80} ve T_{100} zaman yüzdeleri kullanılır (Hascupet *al.* 2007).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

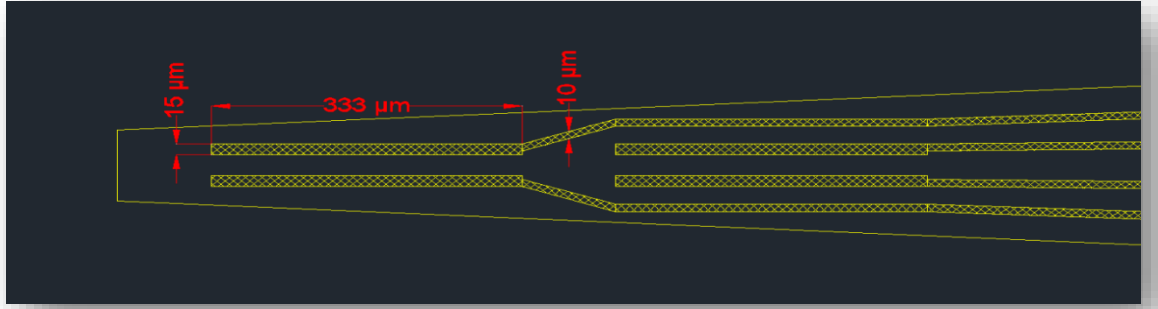
3.1. Kayıt Bölgesi Seçimi

Mikroelektrotların algılamasını belirleyen en önemli kısım kayıt bölgeleridir. Kayıt bölgelerinin tasarımda dikkat edilecek faktör bölgenin geometrik şekli ve yüzey alanıdır.

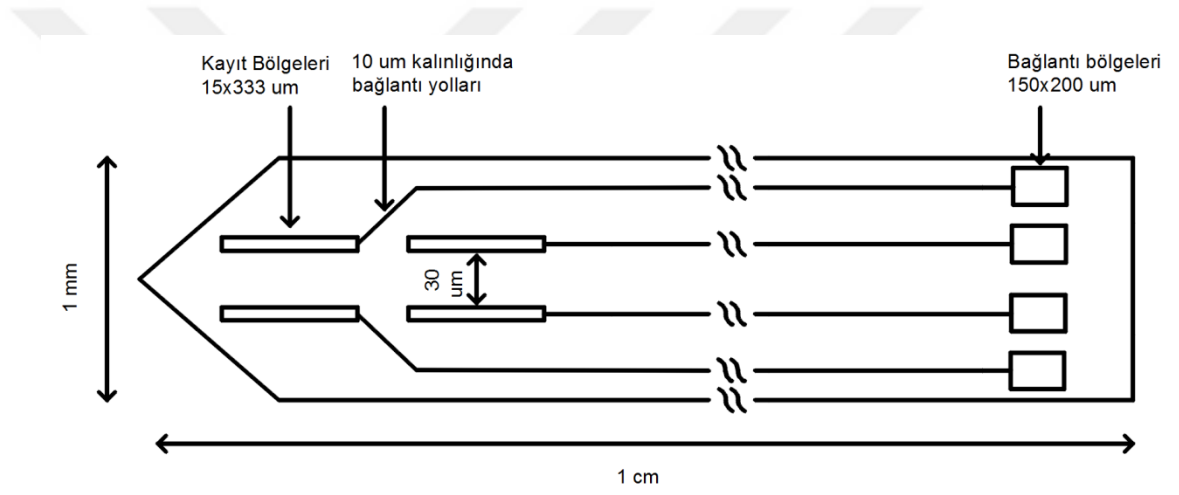


Şekil 3.1. Çeşitli kayıt bölgelerinin l-edit programı görüntüleri

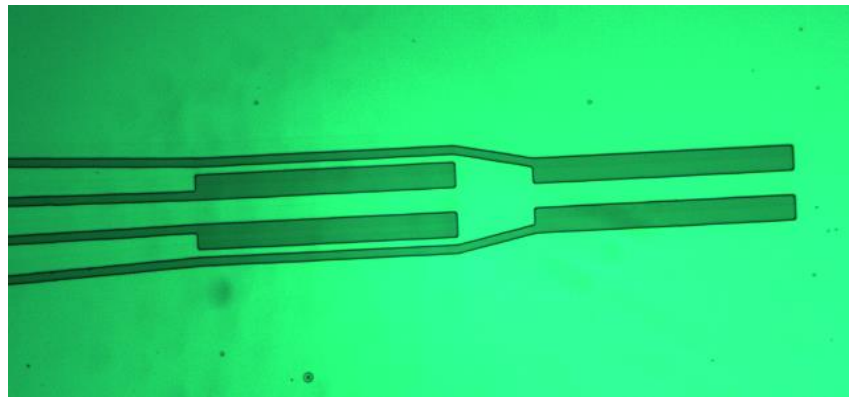
Bu çalışmada 4 kayıt bölgesine sahip mikroelektrodun L-Edit programındaki ekran görüntüsünden de görüldüğü üzere kayıt bölgelerinin boyutları 15x333 μm' dir.



Şekil 3.2. Seçilen kayıt bölgelerinin l-edit programı görüntüleri



Şekil 3.3. Seçilen kayıt bölgelerinin ölçümlemeleri



Şekil 3.4. Seçilen kayıt bölgelerinin mikroskop görüntüsü

3.2. Alttaş Seçimi

Geğmiş yıllarda mikroelektrotlarla ilgili yapılan ęalıřmalarda alttaş değiştirilerek sinyal kalitesi incelenmiş, mikroelektrodun mukavemeti için farklı fabrikasyon teknikleri kullanılmıştır. Bu ęalıřmalarda alttaş olarak silikon, seramik cam malzemeler kullanılmıştır.

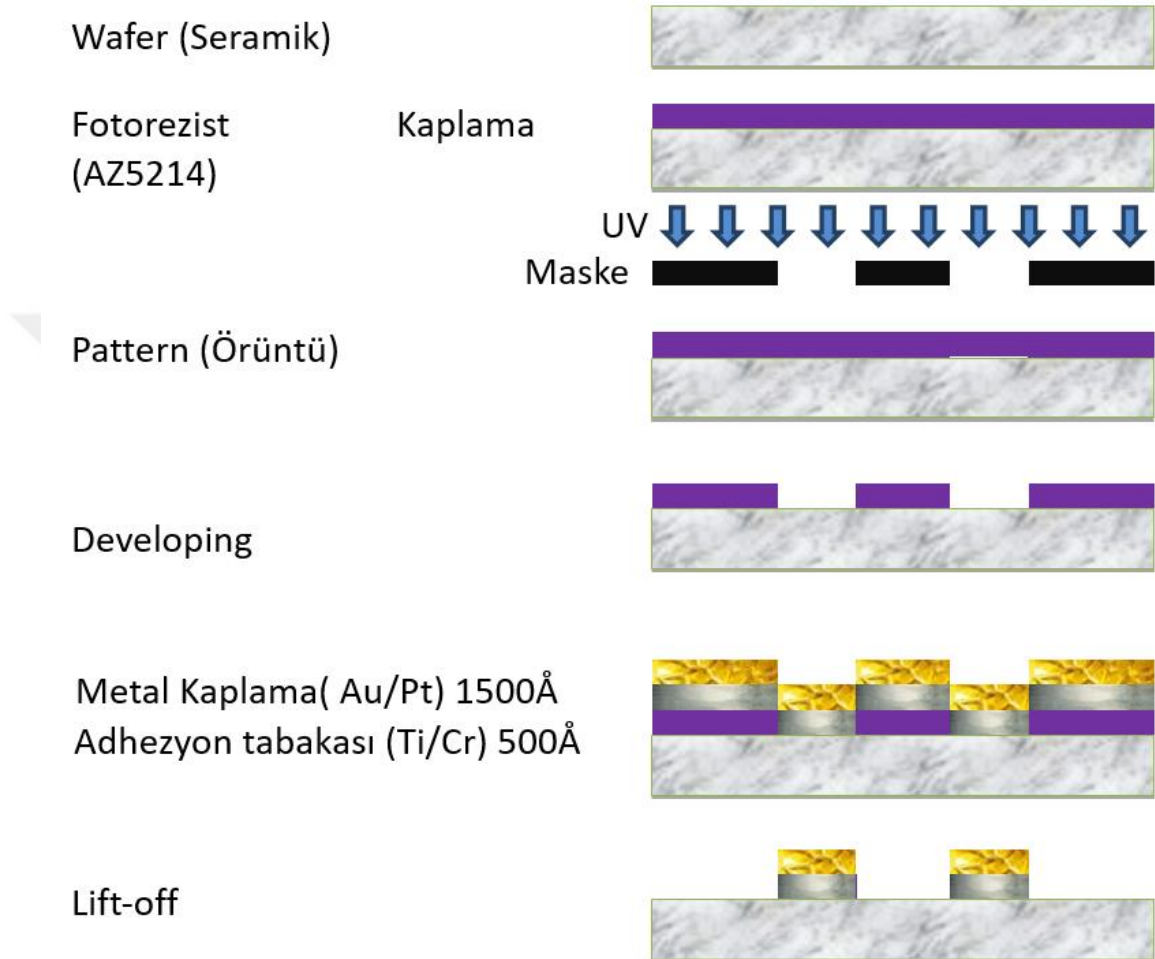
Bu inert (kimyasal olarak aktif olmayan) malzemelerden seramik tabanlı elektrotların dayanıklı olması, parazitleri azaltması ve lazer kesimde kolaylık sağlamasından dolayı silikon tabanlı elektrotlara gre in vivo deneyler için daha uygun olduğu belirtilmiştir.

Ayrıca seramik tabanlı mikroelektrotların hassaslık, seçicilik ve cevap sreleri karakteristiklerinin silikon tabanlı elektrotlara gre daha iyi olduğu gsterilmiştir.



şekil 3.5. Seramik alttaş rnekleri

3.3. Enzime Dayalı Çok Bölümlü (Multisite) Mikroelektrot Fabrikasyonu (Fotolitografi metodu ile)



Şekil 3.6. Enzime Dayalı Çok Bölümlü (Multisite) Mikroelektrot Fabrikasyonunun şematik gösterimi

3.3.1. Alttaş kesimi

Fotolitografiye başlamak için seramik alttaşlar 1,6 x 1,9 cm boyutlarında kesilerek hazırlanmıştır.

3.3.2. Alttaş temizliği

Alttaş temizleme prosedürü için en etkili çözelti PIRANHA adı verilen çözeltidir. PIRANHA çözeltisi (3 H₂O/1 H₂O₂) kullanılarak alttaş temizlenir. Bu temizlikten sonra alttaş, su ile durulanıp azot tabancası yardımıyla kurutulur.

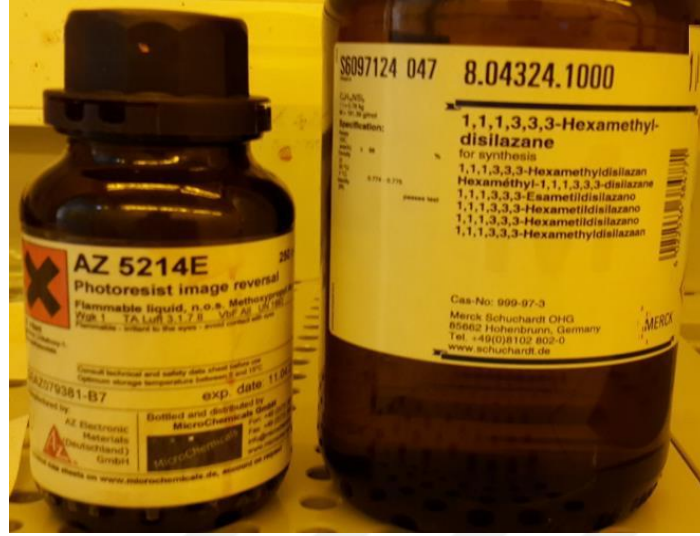
Alttaş üzerindeki su damlacıklarının tamamen kaybolması ve kaplanacak maddenin yüzeye sağlıklı tutunabilmesi içinde hidrasyon işlemine tabi tutulur. Bu işlem alttaşın 120°C sıcaklıkta ve 5dk süreyle kurutulmasıdır.

3.3.3. HMDS (Hexamethyldisilazan) ve fotorezistkaplama

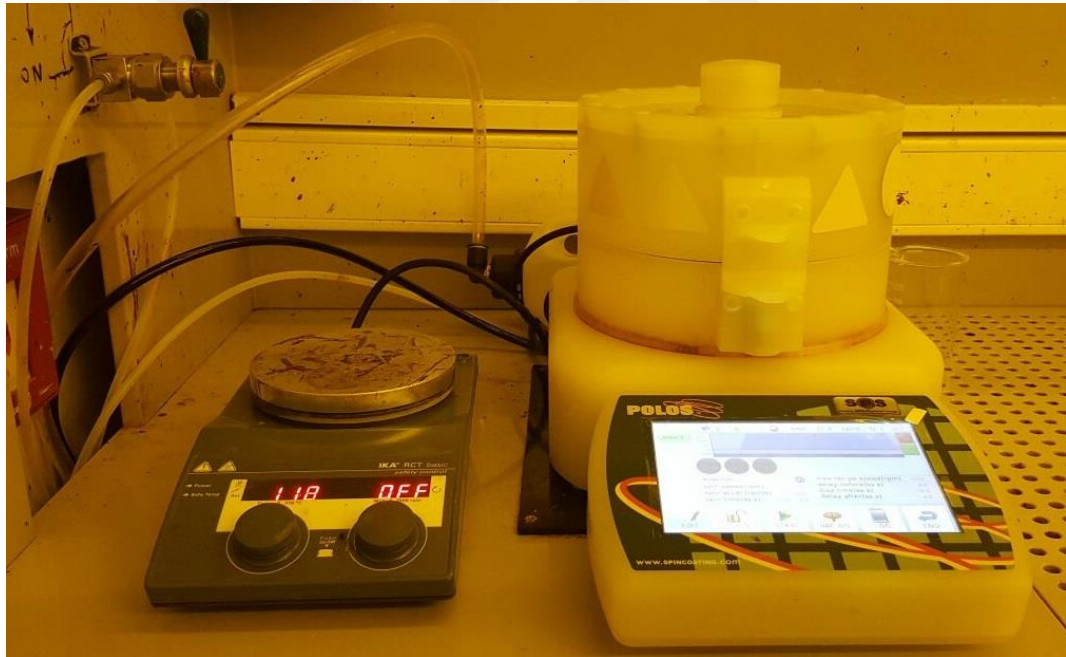
Alttaş yüzeyi, fotorezist kaplama işleminden önce HMDS primeri ile kaplanır. HMDS, primer yüzeydeki oksit grupları ile bağ yaptığından, örnek ile fotorezist arasındaki adezyonu artırır. Kaplama Şekil 2.5’de gösterilen spinner cihazı yardımıyla yapılır. HMDS kaplanırken kaplama miktarı ışığa duyarlılığı etkilediği için kalınlığa dikkat edilir. Aynı işlem aynı parametrelerle AZ5214E fotorezist için yapılır. Bu aşamada önemli olan HMDS’in fotorezistten önce kaplanması gerektiğidir.

Çizelge 3.1. HMDS ve fotorezist kaplama parametreleri

Dönüş hızı (rpm)	Süre (sn)
100	10
1000	4
4000	55



Şekil 3.7. HMDS ve Fotorezist



Şekil 3.8. HOT-PLATE (solda) ve SPINNER cihazı (sağda)

3.3.4. Yumuşak pişirme

Yumuşak pişirme fotorezistin yapışmasını ve homojenliğin artırır ve aynı zamanda fotorezist çözeltisini buharlaştırarak fotorezistin UV ışığına daha hassas hale gelmesini

sağlar. Ön ısıtmanın sıcaklığı ve ne kadar süre uygulanacağı önemlidir. Kısa ön ısıtma UV ışığının foto aktif bileşene ulaşmasına engel olacak, geliştirme sonrası istenmeyen bölgelerde fotorezist kalmasına neden olacaktır. Uzun ön ısıtma ise foto aktif bileşene zarar vereceğinden developer içerisinde çözünürlüğünü azaltacaktır. Kullanılan fotoreziste uygun olacak şekilde 110°'de 55 s ön ısıtma yapılır.

Kaplama işlemi tamamlanan alttaş, 'HOT-PLATE' de 100°C sıcaklıkta 50 sn. süreyle ön ısıtma işlemine tabi tutulur.

3.3.5. Pozlandırma

'L-edit' programında çizilen görüntünün özel bir cam üzerine özel yazıcı ile basılmasıyla bir maske oluşturulur. Pozlandırma aşamasında, cam üzerindeki maske örüntüsü fotorezist kaplı alttaşa aktarılır. Maske, 'MASK ALIGNER' cihazında bulunan yuvasına yerleştirilir. Gücü 300Watt, dalga boyu 365 nm olarak ayarlanan cihaz ile 90 sn boyunca alttaş üzerinde ayrılması istenen bölümlere UV ışık yansıtılır.



Şekil 3.9. 'Mask Aligner' cihazı (Bilkent Üniversitesi İleri Araştırma Laboratuvarı)

3.3.6. Banyo

Alttaş üzerinde UV ışığına maruz kalan bölge asidik özellik gösterir, bazik yapıda olan developer ile bu bölgedeki fotorezist kaldırılır. Banyo işlemi için 10 ml developer ve 40 ml su ile hazırlanan çözelti kullanılır (Şekil 3.9)

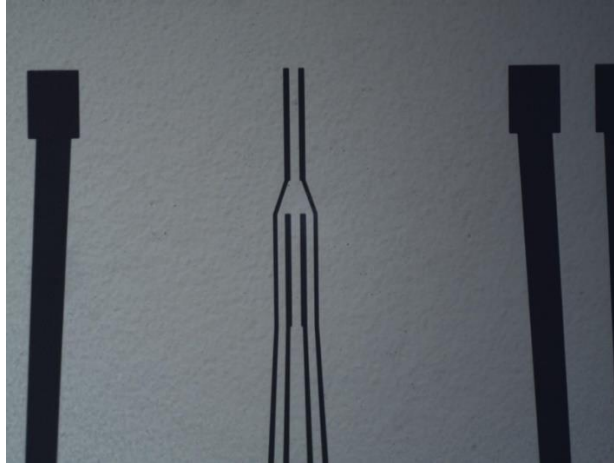


Şekil 3.10. AZ 400K developer

Bu işlem sonunda metal kaplama işlemi için hazırlanmış alttaş üzerinde **1400nm** fotorezist kaplanmış olur.

Çizelge 3.2. Banyo işlemi parametreleri

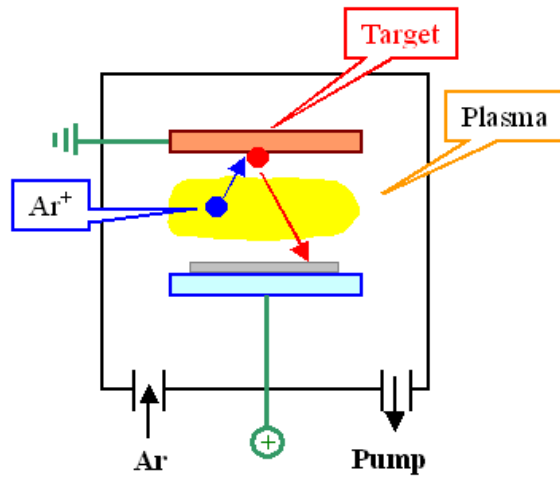
DEVELOPER / SU ORANI	10 / 40 ml
DEVELOP SÜRESİ	80 sn.
SON KALINLIK	1400 nm



Şekil 3.11. Banyo edilmiş alttaş kayıt ve bağlantı bölgeleri

3.3.7. Metal kaplama (Ti + Pt)

Bu işlem ‘SPUTTER’ cihazı ile yapılır. Sputter tekniği (ing.sputtering), SEM için numune hazırlama işlemlerinden kaplama kısmı için önemli bir yöntemdir. Genellikle altın ve platin, daha seyrek olarak da nikel, krom ve bakır kaplamalar yapılabilir.



Şekil 3.12. Sputter tekniğinin organizasyonu

Uygulanışı şu şekildedir;

Plakalar arasında 6-7 pa basınçta argon bulunur. Yüksek gerilimin etkisiyle katottan (hedef plakasından) çıkan elektronlar, argon atomlarına çarparak bunları iyonlaştırır. Pozitif yüklü argon iyonları, hedef plakasına doğru hızlanır ve plakaya çarparlar. Argon iyonlarının hedefe çarpmalarıyla katottan yeni elektronlar yayılır ve anoda doğru hızlanırlar, bu atomlar numune üzerinde kaplama tabakasını oluştururlar. Basınç ve yüksek gerilim kritik limitlerin arasında tutuldukça bu olay devam eder ve kaplama kalınlaşır.

İşlem sırasında kontrol edilen değişkenler; yüksek gerilim ve argon basıncıdır. Kaplama kalınlığı; numune akımı, numune-katot mesafesi ve sputter zamanı gibi değişkenlere bağlıdır.

Bağlantı yollarının, kayıt ve bağlantı bölgelerinin oluşması için adezyon tabakasının üzeri metal ile kaplanır. Yapılan çalışmada iletkenliğinin iyi olması ve inert metal olması nedeniyle platin kullanılmıştır.

Yaklaşık 140 μm kalınlığında kaplanacak olan Platin tabakasının altına iyi tutunması için ilk olarak 80 μm kalınlığında titanyum ile kaplanır.

Kullanılan parametreler aşağıdaki gibidir:

Çizelge 3.3. Ti ve Pt kaplama parametreleri

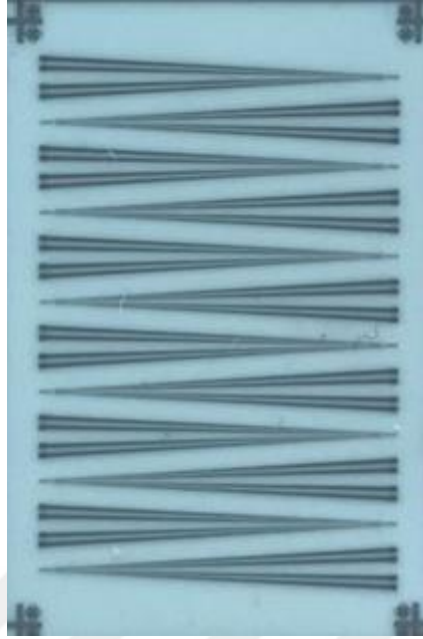
Güç	100 W	150 W
Ar Basıncı	70 mtorr	10 mtorr
Ar Akışı	70 cssm	70 cssm
Süre	45 min.	15 min.
Temel Basınç	5×10^{-6}	5×10^{-6}
Kaplama Kalınlığı	$\sim 80 \mu\text{m}$	$\sim 140 \mu\text{m}$
	Ti KAPLAMA PARAMETRELERİ	Pt KAPLAMA PARAMETRELERİ



Şekil 3.13. Sputter cihazı (Bilkent-UNAM)

3.3.8. Aseton içerisinde Lift-Off işlemi

Bu işlem; maskeleme işlemi sırasında UV ışığa maruz kalmayıp, maske altında kalan bölgelerdeki fotorezist üzerine kaplanan metallerin alttaş üzerinden kaldırılması işlemidir. Alttaş; aseton içerisinde, metal iletkenliğin istenmeyen bölgelerden kaldırılması tam olarak sağlanana kadar bekletilir.



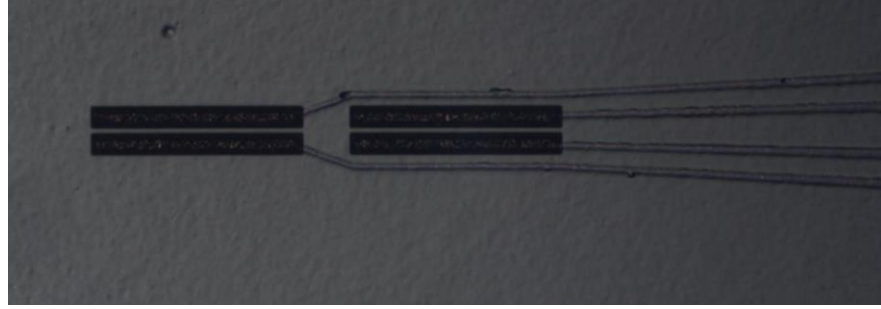
Şekil 3.14. Lift off yapılmış mikroelektrotlar

3.3.9. Fotorezistin yalıtım tabakası olarak kaplanması

Seramik alttaş Çizelge 3.1’de ve Şekil 3.12’de fabrikasyon adımları kullanılarak AZ5214E ile yalıtılmıştır. Şekil 3.13’de fotorezist yalıtımlı mikroelektrodun kayıt,yol ve bağlantı bölgelerinin mikroskop görüntüsü gösterilmiştir.

Çizelge 3.4. Fotorezist yalıtım tabakası fabrikasyon adımları

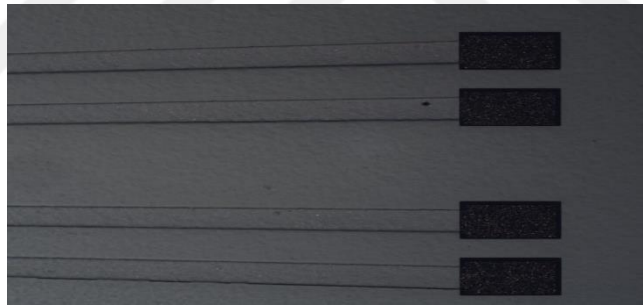
1. 1400nm kalınlığında fotorezist (AZ5214) kaplanılmıştır.
2. 110°’de 55 s yumuşak pişirme yapılmıştır.
3. Alttaş 90 sn UV ışığa maruz bırakılmıştır.
4. Banyo işlemi ile UV ışığa maruz kalan kayıt ve bağlantı bölgelerindeki fotorezistin kalkması sağlanmıştır.



(a)



(b)



(c)

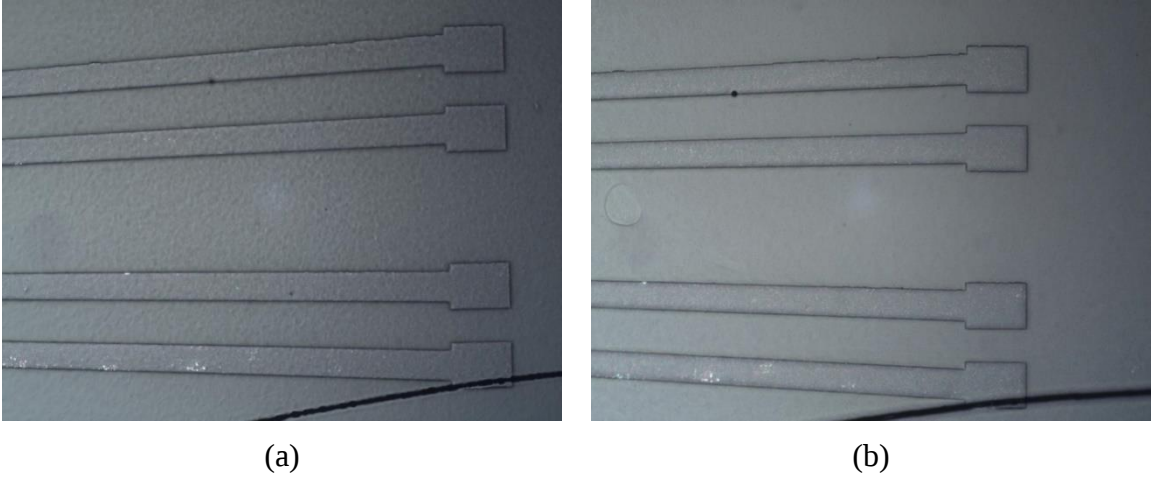
Şekil 3.15. Fotorezist yalıtımlı mikroelektrodun mikroskop görüntüsü

a) Mikroelektrotların kayıt bölgeleri b) Yollar c) Bağlantı bölgeleri

Çizelge 3.5. Fotorezist yalıtım tabakasının pozlama ve develop süreleri

POZLAMA SÜRESİ	2 dk.
DEVELOPER	AZ 726 MIF
DEVELOP SÜRESİ	70 sn.
SON KALINLIK	1500 nm

Kaplama işlemi tamamlanan alttaş, ‘HOT-PLATE’ de 100°C sıcaklıkta 50 sn. süreyle son ısıtma işlemine tabi tutulur.



Şekil 3.16. Son ısıtma işlemine tabi tutulan elektrotlar

a) pişirme öncesi b) pişirme sonrası

3.3.10. Sensör paketlenmesi

Mikroelektrodun fabrikasyonu bittikten sonra kesme ve PCB ile birleştirme aşamalarını içeren paketleme işlemine geçilir. Paketleme işlemi aşağıdaki adımlardan oluşmaktadır.

3.1.10.a. Kesme

Paralel üretimle üretilen 20-30 adet mikroelektrot dilimleme cihazı (dicer) ile ucu konik olacak şekilde kesilir (Şekil 3.15). Konik kesimin avantajı; oldukça düzgün elektrot kenarları oluşturulabilir ve in vitro deneylerde beyin bölgesine daha az zarar verir.



Şekil 3.17. Ucu konik olarak kesildikten sonra mikroelektrotlar

3.3.10.b. Yapıştırma

Lehimleme (wire bonding) işlemine kolaylık sağlaması amacı ile PCB ve mikroeletrot endüstriyel yapıştırıcı kullanılarak yapıştırılır.

3.3.10.c. Lehimleme (Wire Bonding)

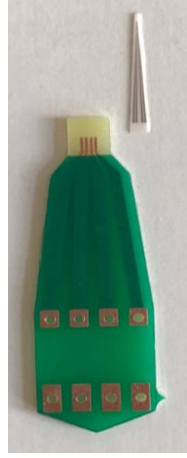
PCB ve mikroeletrot yapıştırma işleminden sonra lehimleme (Şekil 3.21) cihazı kullanılarak birleştirilir. Bu işlemde altın tel kullanılır (Şekil 3.17(b)).



Şekil 3.18. Lehimleme cihazı (Atatürk Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Nanoelektronik Laboratuvarı)

3.3.10.d. Epoxy

PCB ile mikroeletrot birleştirildikten sonra bağlantı yerinin sağlamlaştırılması ve altın tellerin izole edilmesi için epoxy damlatılır (Şekil 3.17(c)).



(a)

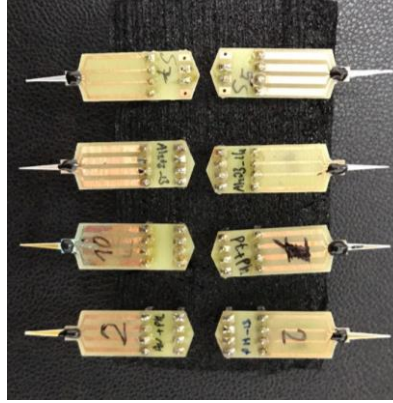


(b)



(c)

Şekil 3.19. (a) PCB ve Elektrot (b) PCB ile yapıştırılıp lehimlenmiş elektrot (c) bağlantı yerini yalıtımlamak ve sağlamlaştırmak için epoxy damlatılmış elektrot.



Şekil 3.20. Paketleme işlemi yapılmış fotorezist yalıtımlı sensörler

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

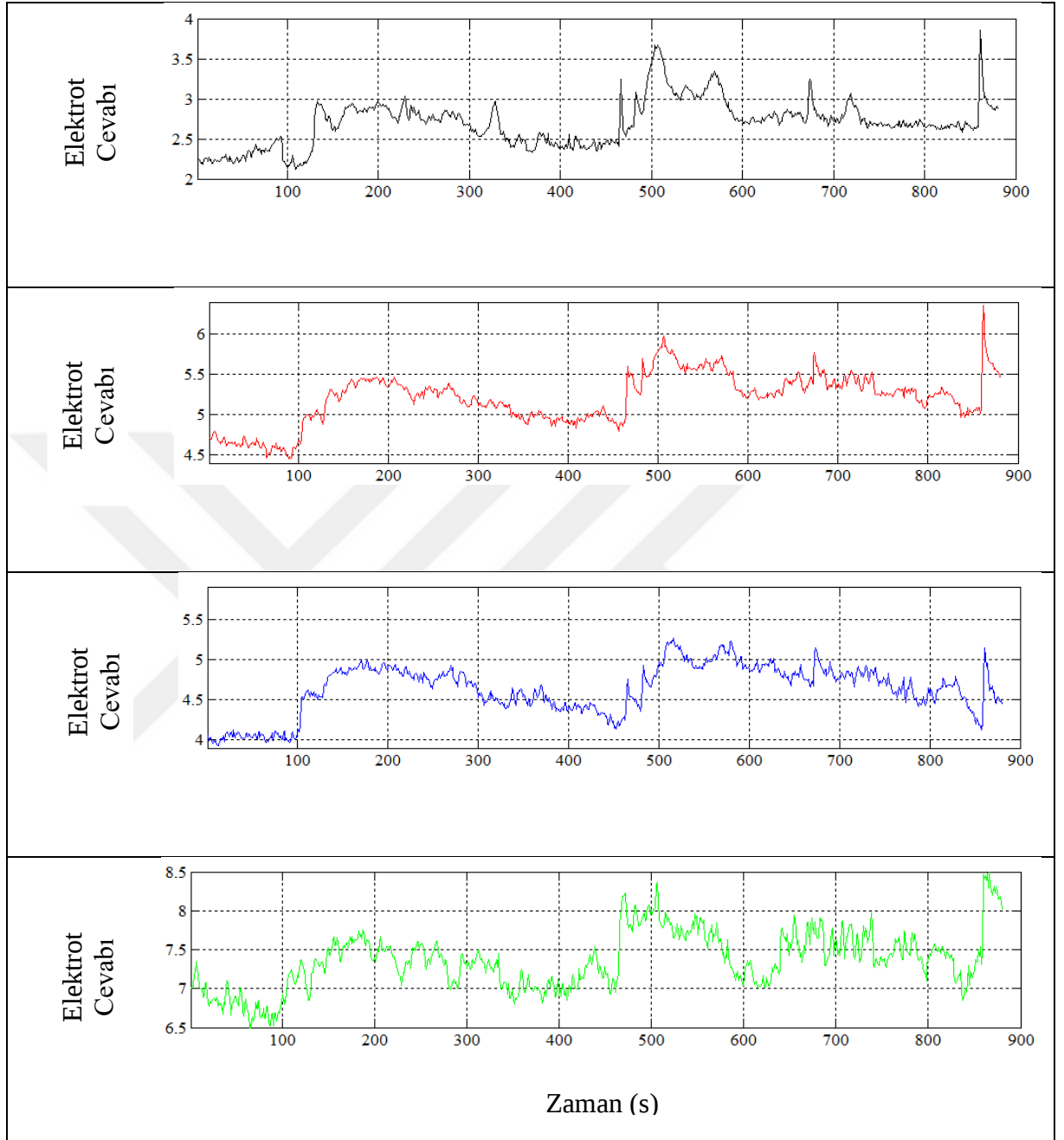
Fabrikasyon adımları Şekil 2.4 ve Şekil 2.10'de gösterilen fotorezist (AZ5214E) yalıtım tabakalı mikroeletrotların akım zaman grafikleri (Hidrojen Peroksit' e karşı elektrotun cevabı) aşağıdaki şekillerde gösterilmektedir.

Fabrikasyonu tamamlanan 15 mikroeletrottan rastgele seçilmiş 4 tanesine ait sonuçlar Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4 ve Çizelge 4.1, Çizelge 4.2, Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Grafiklerde belli süre aralıklarında solüsyona Hidrojen Peroksit damlatıldığı görülmektedir. Bu mikroeletrotların her kayıt bölgesine ait doğrusallık (R^2) ve LOD değerleri her bir şeklin altındaki tablolarda verilmektedir.

Bu çalışma sonucu üretilen mikroeletrotların doğrusallığı; silikon tabanlı, adezyon tabakası olarak Ti ve kayıt bölgesi olarak Au ile kaplanan mikroeletrotlar ile kıyaslanmıştır (Acar 2014).

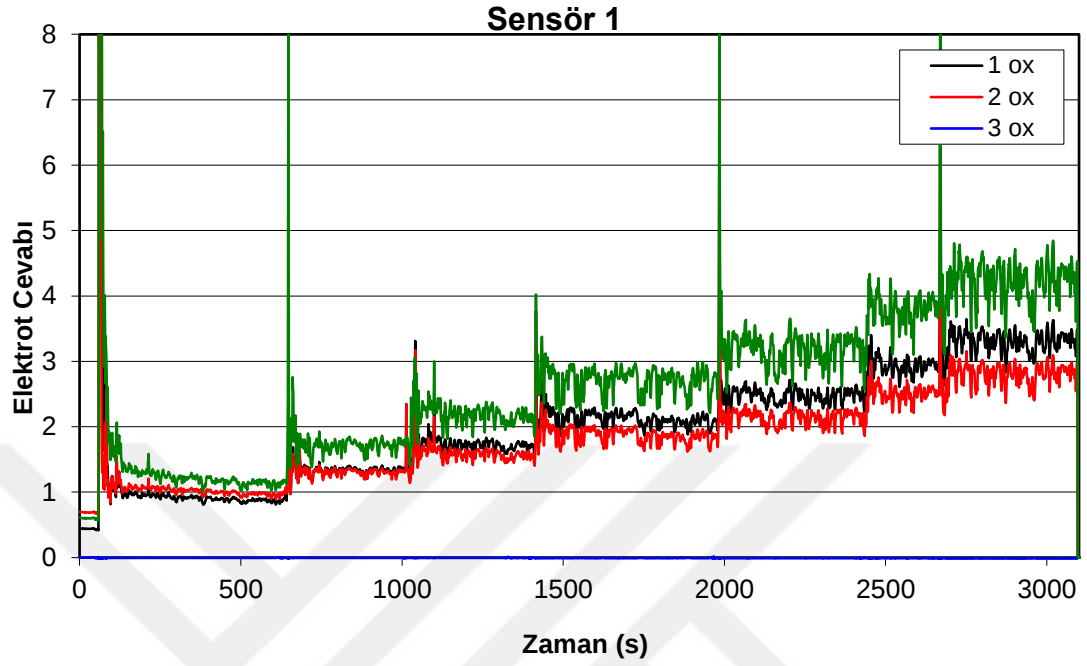
Grafikler incelendiğinde; bu çalışmada üretilen mikroeletrotların 4 kayıt bölgesinin de solüsyona peroksit eklendiğinde istenilen basamak şeklinde tepki verdiği gözlenmiştir. R^2 değerlerinin de silikon tabanlı ve Ti + Au kaplı mikroeletrotlara göre istenilen değer olan 1'e daha çok yaklaştığı görülmüştür.



Şekil 4.1. Silikon tabanlı mikroelektrot üzerine yalıtım yapılmamış sensör cevabı

Çizelge 4.1. Silikon tabanlı ve yalıtımsız sensöre ait R^2 sonuçları

	Kayıt alanı-1	Kayıt alanı-2	Kayıt alanı-3	Kayıt alanı-4
R^2	0.93 ± 0.05	0.94 ± 0.04	0.85 ± 0.1	0.95 ± 0.01



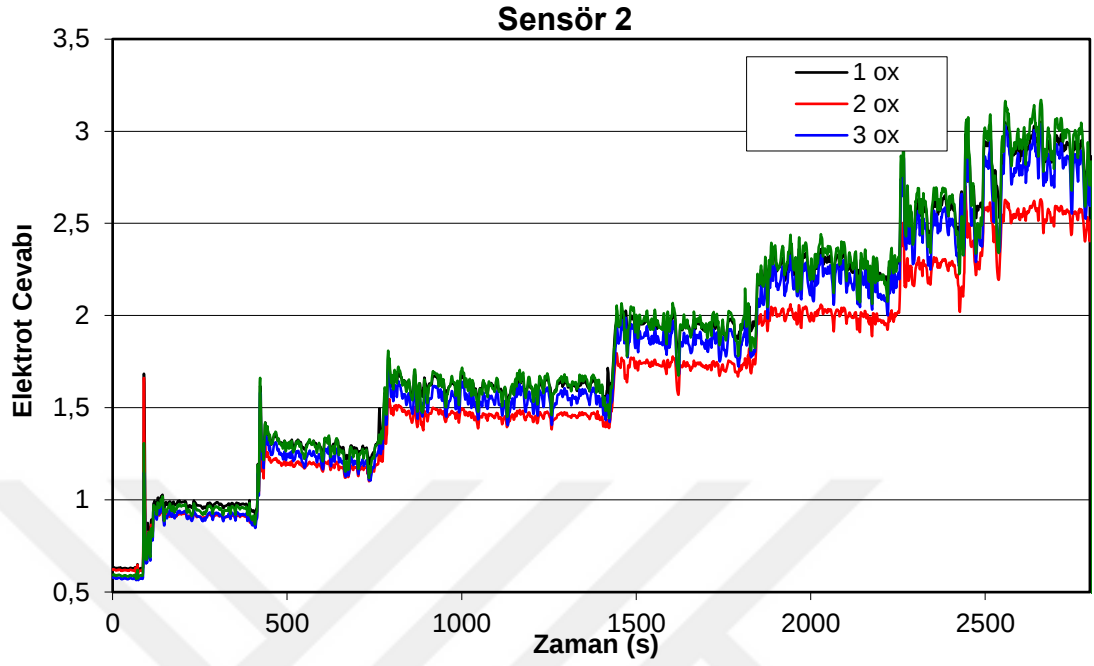
Şekil 4.2. Seramik tabanlı mikroelettrot üzerine AZ5214 ile yalıtım yapılmış sensör cevabı

Çizelge 4.2. Sensör 1 LOD ve R^2 sonuçları

	Kanal 1	Kanal 2	Kanal 3	Kanal 4
LOD	0.2541	0.3287	-	0.2145
R^2	0.9996	0.9993	-	0.9993

1.Sensörümüzde elde edilen sonuçlar incelendiğinde; LOD değeri 0,2-0,33 değerleri arasında olduğundan, mikroelettrodumuzun seçilebilir olduğu gözlemlenmiştir.

R^2 değerleri 0,99'un üzerinde hesaplandığından, istenilen değere çok yaklaşıldığı görülmüştür. Bu sensörde 3.kanaldan bilgi alınamamış olup, bu sorunun nedeninin epoxy kaplama esnasında lehimlenen tellerin hasar gördüğü düşünülmektedir.



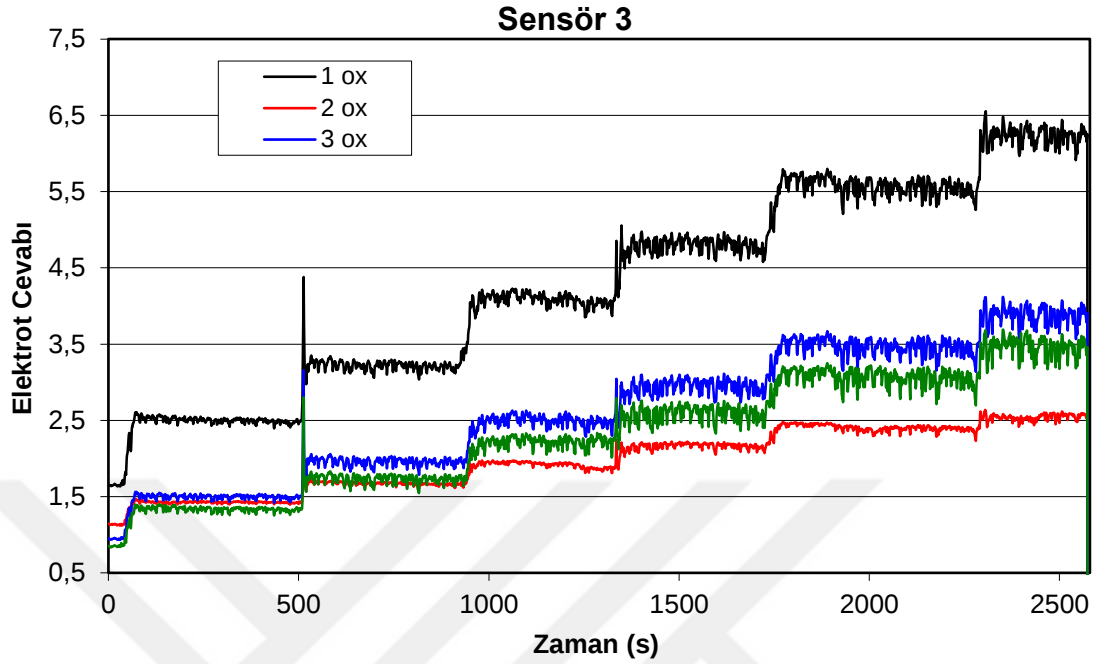
Şekil 4.3. Seramik tabanlı mikroelettrot üzerine AZ5214 ile yalıtım yapılmış sensör cevabı

Çizelge 4.3. Sensör 2 LOD ve R^2 sonuçları

	Kanal 1	Kanal 2	Kanal 3	Kanal 4
LOD	0.3904	0.4847	0.5735	0.5611
R^2	0.9988	0.9991	0.9969	0.9964

2.Sensörümüzde elde edilen sonuçlar incelendiğinde; LOD değeri 0,39-0,57 değerleri arasında olduğundan, mikroelettrodumuzun seçilebilir olduğu gözlemlenmiştir.

R^2 değerleri 0,996'nın üzerinde hesaplandığından, istenilen değere çok yaklaşıldığı görülmüştür.



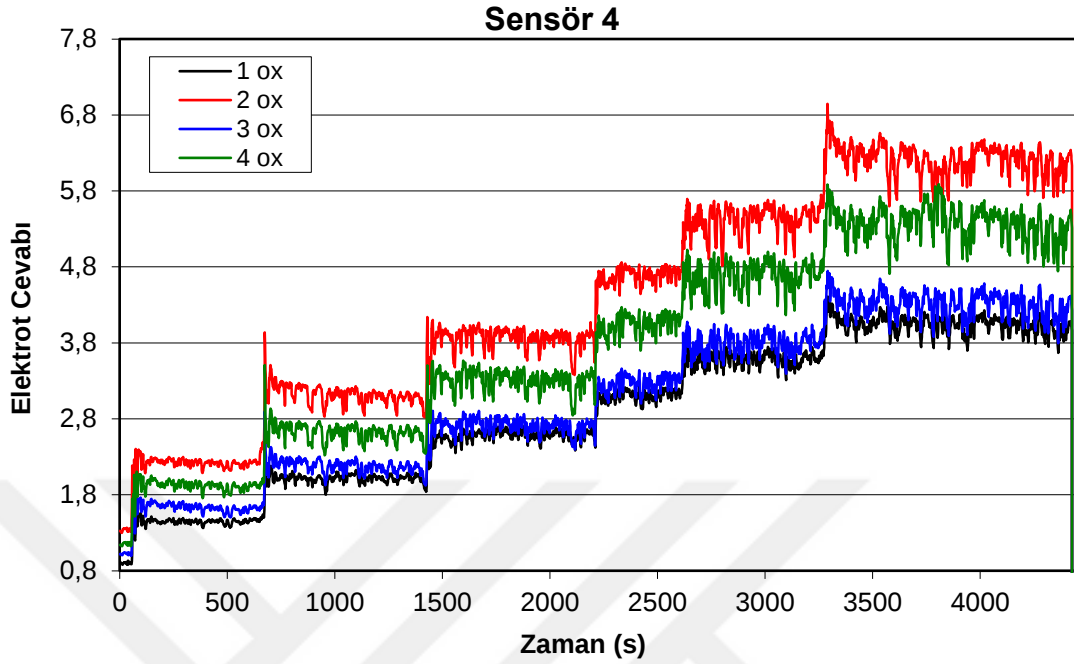
Şekil 4.4. Seramik tabanlı mikroelettrot üzerine AZ5214 ile yalıtım yapılmış sensör cevabı

Çizelge 4.4. Sensör 3 LOD ve R^2 sonuçları

	Kanal 1	Kanal 2	Kanal 3	Kanal 4
LOD	0.3838	0.5782	0.3961	0.4092
R^2	0.9985	0.9957	0.9981	0.9972

3. Sensörümüzde elde edilen sonuçlar incelendiğinde; LOD değeri 0,39-0,57 değerleri arasında olduğundan, mikroelettrodumuzun seçilebilir olduğu gözlemlenmiştir.

R^2 değerleri 0,995'nin üzerinde hesaplandığından, istenilen değere çok yaklaşıldığı görülmüştür. 3. Sensörümüzün, 2. Sensörümüzle yakın karakteristik özelliğe sahip olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.5. Seramik tabanlı mikroelettrot üzerine AZ5214 ile yalıtım yapılmış sensör cevabı

Çizelge 4.5. Sensör 4 LOD ve R^2 sonuçları

	Kanal 1	Kanal 2	Kanal 3	Kanal 4
LOD	0.6149	0.6983	0.8521	0.9161
R^2	0.9974	0.9995	0.9990	0.9991

4.Sensörümüzde elde edilen sonuçlar incelendiğinde; LOD değeri 0,6-0,91 değerleri arasında olduğundan, mikroelettrodumuzun seçilebilir olduğu gözlemlenmiştir.

R^2 değerleri 0,997'nin üzerinde hesaplandığından, istenilen değere çok yaklaşıldığı görülmüştür. Bu sensör; 4 kanaldan da sağlıklı ölçüm alınması neticesinde, R^2 değerleri diğerleriyle kıyaslandığında en iyi sensörümüzdür diyebiliriz.

5. SONUÇ

İnsan sağılığı, insanlığın var olduğı sürece, tıbbi araştırmaların en önemli sebebi olmuştur. İnsanlığın yeryüzünde varlığını devam ettirebilmesi için en önemli etken insan sağılığı olmuştur. Bu yüzden günümüze kadar insan sağılığı alanında çok çeşitli bilimsel çalışmalar yapılmıştır ve yapılmaya da devam edilecektir.

İnsan sağılığında en önemli yönetici beyindir. Beyin, tüm organların işleyişini kontrol eder, yönetir ve yönlendirir. Bu yüzden beyin fonksiyonlarını anlamak için çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Bu alanda yapılan çalışmalar, sadece tıbbi alanda kalmayıp, teknolojinin de kullanılarak tanı-teşhis-tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi gerektiğini birçok kez göstermiştir. Beyin ile ilgili araştırmalarda kullanılan en önemli araçlardan birisi olan biyosensörler, bir nevi detektör olarak kullanılır. Bu anlamda, insan sağılığında en önemli teşhis merkezi olan beyinde, mikroelektrotlar yardımıyla tedavi uygulanması gereken bölgeye ve tedavi yöntemlerine varılmaya çalışılır.

Bu tezde, %100 yerli mikroelektrot fabrikasyonu yapılarak üretilen biyosensörlerin tıbbi uygulamalar için kullanılabilmesi durumunun incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla 4-kanallı mikroelektrot fabrikasyonu yapılmış ve işlevselliğı test edilmiştir. Beyinde, hastalıkların etken maddesi olarak bulunan çeşitli enzimlerin algılanmasında kullanılan bu biyosensörlerin fabrikasyonu için ince film teknolojisi kullanılmıştır. Yalıtkan alttaş olarak seramik kullanılmıştır. Bu alttaş üzerine tez metninde anlatılan litografi yöntemleri sırasıyla uygulanmış, iletken ince film tabakası kaplanmıştır. Hazırlanan elektrotlar, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakóltesi bünyesindeki Farmakoloji Araştırma Laboratuvarı'nda test edilmiştir. Testler sonucunda elde edilen kullanıma hazır mikroelektrotların birçoğunun üretilmek istenen elektrot modeline yakın olduğı gözlenmiştir.

Grafikler incelendiğinde mikroelektrotların 4 kayıt bölgesinin de solüsyona peroksit eklendiğinde istenilen değer aralığında basamak şeklinde tepki verdiğı gözlenmiştir. Tablolar incelendiğinde her bir kayıt bölgesinde R^2 değerinin istenilen seviye olan 1

değerine yakın ve LOD değerlerinin mikroelettrot için seçilebilir seviyede (0,2–1 mikromolar) olduğu görülmektedir. R^2 verilerinin 1'e yakın olması mikroelettrodun eklenen Peroksit' e karşı basamak cevabın iyi olduğunu göstermektedir. LOD değerinin istenilen aralıkta olması iyileştirilmiş mikroelettrotlarda akım üzerinde gürültünün etkisinin azaltıldığı ve daha kararlı sonuçlar alındığını göstermektedir.

Silikon tabanlı ve Ti + Au kaplı mikroelettrot ile bu çalışmada elde edilen sonuçlar kıyaslandığında; alttaş seçiminin ve yalıtımın, mikroelettrot kalitesini önemli derece etkilediğini göstermektedir. Yukarıda anlatıldığı gibi seramik alttaş, silikon alttaş göre hassaslık, seçicilik ve cevap süreleri karakteristiklerinde üstünlük sağlamaktadır. Fotorezist ile yalıtılması sonucu parazit vb. diğer olumsuz etkenler de mümkün oldukça minimize edilerek elde edilen sonuçlar daha da tatmin edici hale gelmiştir.

Bu çalışmalar; üretilen mikroelettrotların günümüzdeki tıbbi uygulamalar ve araştırma çalışmalarında kullanılabileceğini göstermektedir. Ülkemizde bu alanda yapılan çalışmalara yenisini eklediğimiz tezimizin yeni tez, proje ve araştırmalara katkı sunacağı beklenmektedir.

KAYNAKLAR

- Burmeister, J. J., Moxon, K., Gerhardt, G. A., 2000. Ceramic-based multisite microelectrodes for electrochemical recordings. *Analytical Chemistry*, 72, 187-192. doi:10.1021/ac9907991
- Frank K., Becker M.C., 1964. Microelectrodes for recording and stimulation. *Physical Techniques in Biological Research. Vol. V. Electro-physiological Methods*. Part A, pp. 22-87. Academic Press, New York.
- A.B. Frazier, D. O'Brien, and M.G. Allen, 1993. *Two dimensional metallic microelectrode arrays for recording and stimulation of neurons*. IEEE Microelectromechanical Systems Workshop (MEMS), p 195-200.
- Burmeister, J. J., Pomerleau, F., Palmer, M., Day, B. K., Huettl, P., Gerhardt, G. A., 2002. Improved ceramic-based multisite microelectrode for rapid measurements of l-glutamate in the CNS. *Journal of Neuroscience Methods*, 119(2), 163-171. doi:10.1016/S0165-0270(02)00172-3
- Burmeister, J. J., Palmer, M., Gerhardt, G. A., 2005. L-lactate measures in brain tissue with ceramic-based multisite microelectrodes. *Biosens Bioelectron*, 20:1772-1779
- Jiangang Du, Ingmar H. Riedel-Kruse, Janna C. Nawroth, Michael L. Roukes, Gilles Laurent and Sotiris C. Masmanidis. *J Neurophysiol* 101:1671-1678, 2009. First published Dec 17, 2008; doi:10.1152/jn.90992.2008
- Frey, O., Holtzman, T., Mcnamara, R. M., Theobald, D. E. H., van der Wal, P. D., de Rooij, N. F., Koudelka-Hep, M., 2010. Enzyme-based choline and l-glutamate biosensor electrodes on silicon microprobe arrays. *Biosensors and Bioelectronics*, 26, 477-484. doi:10.1016/j.bios.2010.07.073
- Herwik, S., Kisban, S., Aarts, A. A. A., Seidl, K., Girardeau, G., Benchenane, K., Ruther, P. 2009. Fabrication technology for silicon-based microprobe arrays used in acute and sub-chronic neural recording. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 19(7), 074008. doi:10.1088/0960-1317/19/7/074008
- Marton, G., Fekete, Z., Fiath, R., Baracska, P., Ulbert, I., Juhasz, G., Pongracz, A., 2013. In Vivo Measurements With Robust Silicon-Based Multielectrode Arrays With Extreme Shaft Lengths. *IEEE Sensors Journal*, 13(9), 3263–3269. doi:10.1109/JSEN.2013.2260325
- Yu, H., Zheng, N., Wang, W., Wang, S., Zheng, X., Li, Z., 2013. Electroplated Nickel Multielectrode Microprobes With Flexible Parylene Cable for Neural Recording and Stimulation. *Journal of Microelectromechanical Systems*, 22(5), 1199–1206. doi:10.1109/JMEMS.2013.2262591
- Li, Yanbin. 2006. Section 2.3 Biosensors, pp. 52-93, of Chapter 2 Hardware, in CIGR Handbook of Agricultural Engineering Volume VI Information Technology. Edited by CIGR-The International Commission of Agricultural Engineering; Volume Editor, Axel Munack. St. Joseph, Michigan, USA: ASABE. Copyright American Society of Agricultural Engineers.
- Gerhardt, G. A., Oke, A. F., Nagy, G., Moghaddam, B., Adams, R. N., 1984. Nafion-coated electrodes with high selectivity for CNS electrochemistry. *Brain Research*, 290(2), 390-395. doi:10.1016/0006-8993(84)90963-6

- Hacımüftüoğlu, A., 2008. Nörofarmakolojide in Vivo Voltametri ile L-glutamat ve Diğer Nörotransmitterlerin Ölçüm Teknikleri. 15. Farmakoloji Eğitim Semineri, Erzurum.
- Needleman SB, Romberg RW. Limits of linearity and detection of some drugs of abuse. J Anal Toxicol. 1990;14:34–8
- B. Magnusson and U. Örnemark (eds.) Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, (2nd ed. 2014). ISBN 978-91-87461-59-0. Available from www.eurachem.org.
- Hascup, K.N., Rutherford, E.C., Quintero, J.E., Day, B.K., Nickell, J.R., Pomerleau, F., Huettl, P., Burmeister, J.J., Gerhardt, G.A., 2007. Second-by-Second Measures of L-Glutamate and Other Neurotransmitters Using Enzyme-Based Microelectrode Arrays. CRC Press. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2567/>
- Acar, M., Beyin Hastalıklarının Tani Ve Tedavisi İçin Mikroelektrot Fabrikasyonu, Atatürk Üniveristesi, Erzurum, 2014

ÖZGEÇMİŞ

Oğuzhan OYAR 1990 yılında Erzurum’da doğdu. İlk ve Orta öğretimini Nazilli İlköğretim Okulu’nda okudu. 2009 yılında Nazilli Anadolu Lisesi’nde lise eğitimini tamamladı. 2009-2013 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Elektrik-Elektronik Mühendisliği bölümünde lisans derecesini aldı.

Mezuniyetinin ardından 2013 yılında Atatürk Üniversitesi’nde yüksek lisans eğitimine başladı.

Mesleki hayatına 2014 yılı Ekim Ayı’nda Aydın İl’inde endüstriyel kabin ve elektrik panoları imal eden Biçer Pano A.Ş.’de başlayan Oyar, kısa sürede fabrika müdürlüğü pozisyonuna getirildi.

2018 yılı Haziran Ayı itibariyle ADM EDAŞ Nazilli İlçe İşl.’de İşletme ve Bakım Takım Lideri olarak çalışma hayatına devam eden Oğuzhan OYAR, evli ve 1 kız çocuk babasıdır.