



# Biyosensör Uygulamaları için 3-Mercaptopropylmethoxysilane Tabanlı Kaplama Yöntemlerinin İncelenmesi

## Investigation of 3-Mercaptopropylmethoxysilane Based Coating Methods for Biosensor Applications

Mehmet Çağrı Soylu, Fatma Betül Köşker, Melis Keskin, Kübra Keser, Kübra Ceran  
Biyomedikal Mühendisliği Bölümü  
Erciyes Üniversitesi  
Kayseri, Türkiye

mcsoylu@erciyes.edu.tr, kosker.f.b@gmail.com, meliskeskin@erciyes.edu.tr, kubrakeser50@gmail.com, k.ceran18@gmail.com

**Özetçe**— Günümüzde hâlihazırda biyotespit amacıyla işlevsel kaplama ajanı olarak tercih edilen 3-Mercaptopropyltrimethoxysilane'in (MPS) kaplama kalitesini kontrol etmek oldukça zordur. Kaplama kalitesini artırmak için pH, hassas olarak ayarlanmalıdır. Aynı zamanda hassas bir ölçüm yapılabilmesi için gerçek zamanlı, hızlı ve bulunduğu ortamdan etkilenmeyen sistemlere gereksinim duyulmaktadır. Bu çalışmada, MPS tabanlı en iyi kaplama yönteminin tespiti ve analizi için yüksek duyarlılığa sahip Kuvars Kristal Mikrodenge (Quartz Crystal Microbalance (QCM)) sensörü kullanılmıştır. Kaplama için iki farklı yöntem izlenmiştir. Kaplama-I, sadece MPS tabanlı olup önce asidik sonra bazik çözeltilerinin uygulanması şeklinde gerçekleştirilmiştir. Kaplama-II'de ise ilk adımda MPS çözeltisi ile kaplama yapıp sonraki adımda 2-Mercaptoethanol (ME) ile yüzey modifikasyonu tamamlanmıştır. Son aşamada her iki deneyde de sensör yüzeyi modifikasyonunun kontrol edilmesi amacıyla sensör yüzeyine büyükbaş serum albümini (Bovine Serum Albumin (BSA)) uygulanmıştır. Kaplama-I'de ters frekans kayması gözlemlenip yüzey kaplaması gerçekleşmezken, Kaplama-II'de her bir aşamada ortalama 200 Hz frekans kayması gözlemlenip yüzey kaplanmıştır. Bu yüzey kaplaması, ilgi konusu olan sensörler için gerçek zamanlı, hızlı ve uygun bir yüzey kimyası sağlamaktadır.

**Anahtar Kelimeler** — 3-Mercaptopropyltrimethoxysilane; 2-Mercaptoethanol; Kuvars Kristal Mikrodenge; sensör; yüzey modifikasyonu.

**Abstract**— Currently, controlling the coating quality of 3-Mercaptopropyltrimethoxysilane (MPS) which is preferred as a functional coating agent for biodetection is not straightforward. The pH must be precisely adjusted to improve the coating quality. At the same time, in order to be able to make a precise measurement, systems which are real time, fast and not affected from the environment are needed. In this study, Quartz Crystal Microbalance (QCM) sensor was used to determine and analyze the best coating method based on MPS. The sensor surface was coated in two different ways: Coating-I and Coating-II. Coating-I is solely based on MPS and the surface was coated with acidic and basic solutions of MPS, respectively. In Coating-II, the surface was modified with MPS firstly and then 2-

Mercaptoethanol (ME) solutions. The surface modification was controlled with introducing Bovine Serum Albumin (BSA) suspension to the system. While inverse frequency shift was observed in Coating-I and surface coating did not occur, in Coating-II an average 200 Hz frequency shift was observed at each step and the surface was coated. This surface coating provides a real-time, fast and convenient surface chemistry for sensors of interest.

**Keywords** — 3-Mercaptopropyltrimethoxysilane; 2-Mercaptoethanol; Quartz Crystal Microbalance; sensor; surface modification..

### I. GİRİŞ

Yüzey modifikasyonu, bir malzemenin yüzeyine farklı fiziksel ve kimyasal özellik kazandırılarak malzemenin yüzeyini tespiti hazır hale getirme işlemidir [1]. Biyosensör sistemlerinde sensör yüzeyinin kimyasal ve morfolojik özellikleri, tespitin kalitesi ve hassasiyeti ile doğrudan ilişki arz etmektedir. Bu sistemlerde amaçlanan biyolojik hedefleri yüksek hassasiyette tespit etmek olduğu için sensör yüzeyinin tespit hedeflerini algılayacak biçimde modifiye edilmesi gerekmektedir. Altın yüzey, biyokimyasal özelliklerinden dolayı en çok kullanılan yüzeydir.

MPS, iki fonksiyonel gruba (-SH ve -OH) sahip iyi bir bağlantı ajanıdır [2]. Tiyol grubu içeren MPS, altına olan ilgisinden dolayı düşük pH'ta hidroliz, yüksek pH'ta yoğunlaşma işlemi gerçekleştirir. Ancak bu tepkime çok yavaş gerçekleşmektedir ve pH değerleri çok hassas olarak ayarlanmalıdır [3]. Uygun koşullar altında, bu işlemler iyonik biyo-akışkanlarda biyo-algılama için kullanılan sensörlerde yeterli elektrik yalıtımı, uygun yüzey morfolojisi ve kimyası sağlamak üzere kontrol edilebilir.

ME (HS-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH), oda sıcaklığında güçlü, hoş olmayan bir kokuya sahip sıvıdır. Biyosensör uygulamalarında indirgeme ve bloklama ajanı olarak kullanılmaktadır. Tiyoller, gümüş, altın ve bakır substratlara çok güçlü bir şekilde



bağlanır. HS- ucu metal substratlarla kimyasal olarak reaksiyona girer ve çok kararlı metal-kükürt bağları oluşturur [4-8]. Bu tiyollerin, ilgili tiyolatlar olarak metal yüzeyler üzerinde kemisorbe edildiği anlamına gelir.

Büyükbaş serum albümini (BSA), büyükbaş hayvanlardan izole edilen bir serum albümin proteindir. İmmünoloji, biyokimya ve biyoteknolojide kullanılmak üzere çeşitli formatlarda üretilmektedir. Birçok uygulamada genel engelleme reaktif olarak kabul edilir. Bunun nedeni, BSA'nın stabilizasyona ihtiyaç duymayan diğer proteinlerin (enzimler) işlevlerini etkilememesidir. Ayrıca analizlerde sinyalin stabilitesini artırması, diğer kimyasallara nazaran daha ağır olduğundan frekans ekseninde ciddi etkilere sebebiyet vermesi, birçok biyokimyasal reaksiyonda etkisinin olmaması ve düşük maliyeti nedeniyle kullanılmaktadır [9].

Sensörler, fiziksel ve/veya kimyasal değişimleri algılayarak elektriksel sinyale çeviren aygıtlardır [10]. Kütle algılayıcı sensör olan Kuvars Kristal Mikrodenge (Quartz Crystal Microbalance (QCM)), piezoelektrik özelliğindedir. Mekanik kuvvet uygulandığında elektrik, elektriksel kuvvet uygulandığında ise fiziksel boyutlarda değişim (burkulma) oluşmaktadır. Bu etki ile kuvars kristal, osilatör devresi vasıtasıyla doğal frekansında rezonans üretir. Kütle artışına bağlı değişimlere gerçek zamanlı etiketsiz ölçümler şeklinde gerçekleştirmeyi mümkün kılar. QCM salınım frekansı kütlesi ile orantılıdır ( $\Delta m \sim \Delta f$ ). Üzerine biriken kütle miktarına göre salınım frekansı azalır. Kütle miktarındaki değişim ile salınım frekansındaki değişim arasındaki ilişkiyi açıklayan Sauerbrey Eşitliği (1)'de verilmiştir [11].

$$\Delta f = -\frac{2\Delta m f_o^2}{A\sqrt{\rho_q \mu_q}} = -\frac{2 \times f_o^2}{A\sqrt{\rho_q \mu_q}} \Delta m \quad (1)$$

Bu çalışmanın temel amacı, QCM sensörün altın yüzeyi üzerine MPS tabanlı en uygun yüzey kaplamasının tespit edilmesidir. Çalışmada, hızlı, gerçek zamanlı, yerinde ve erken tespit gibi değerlendirme özelliklerine sahip QCM sensörün yüzeyine iki farklı kaplama yöntemi uygulanmıştır. Kaplama-I, sadece MPS tabanlı olup önce asidik sonra bazik çözeltilerinin uygulanması şeklinde gerçekleştirilmiştir. Kaplama-II'de ise ilk adımda MPS çözeltisi ile kaplama yapıp sonraki adımda ME ile yüzey modifikasyonu sağlanmıştır. Sonrasında her iki kaplamada da sensör yüzeyi modifikasyonunun kontrol edilmesi amacıyla sensör yüzeyi BSA süspansiyonuna maruz bırakılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre Kaplama-II yönteminde, Kaplama-I yöntemine göre QCM sensörün altın yüzeyi üzerinde daha iyi modifikasyon elde edilmiştir.

## II. MALZEME VE YÖNTEM

### A. Malzemeler ve Reaktifler

Deney aşamasında kullanılan kimyasallar ve bilgileri şu şekildedir:

Potasyum hidroksit (KOH, Merck, 105033), saf su, hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, %35, Merck, 108600), sülfirik asit (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Sigma-Aldrich, 30743), 3-Mercaptopropyltrimethoxysilane (MPS %95, Sigma-Aldrich, 175617), 2-Mercaptoethanol (ME, Merck, 8905740), fosfat

tamponlu tuz (PBS), büyükbaş serum albumin (BSA  $\geq$  %96, Sigma-Aldrich, A2153), Etanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, Merck, 111727).

Ölçümler Gamry eQCM 10M cihazı (Gamry Instruments, Warminster, Amerika Birleşik Devletleri) kullanılarak alınmıştır. 5 MHZ temel rezonans frekansına sahip AT-kesim, altın kaplamalı her iki yüzeyi de eşit çaplı (4mm), dairesel, simetrik quartz kristaller kullanılmıştır.

### B. Yöntem

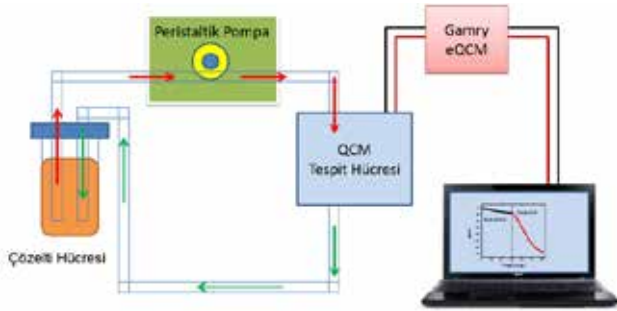
QCM sensörün altın yüzeyi üzerine MPS tabanlı en uygun yüzey kaplamasının tespit edilmesi amacıyla gerçekleştirilen çalışmada; Kaplama-I için sırasıyla asidik MPS (pH=4.5), bazik MPS (pH=9.0) çözeltileri ve BSA süspansiyonu; Kaplama-II için ise sırasıyla MPS (pH=5.5), ME (pH=9.0) çözeltileri ve BSA süspansiyonu uygulanmıştır. Çalışmada kullanılan deney düzeneği Şekil 1'de gösterilmiştir.

Deneyin ilk aşamasında hazırlanan 3 mL'lik pirana solüsyonu (%33 Saf Su + %33 Sülfirik asit + %33 Hidrojen Peroksit) içerisinde yaklaşık 10 dk bekletilen QCM sensörün altın yüzeyi organik kalıntılardan; daha sonra etil alkol ve saf su ile yıkanarak inorganik kalıntılardan temizlenmiştir.

Temizleme aşamasını takiben Kaplama-I için, kimyasal kaplama ajanı olarak yalnızca MPS tercih edilerek ilk katmanda asidik MPS çözeltisi (pH=4.5), ikinci katmanda ise bazik MPS çözeltisi (pH=9.0) ile kaplama yapılmıştır. Asidik MPS çözeltisi 5 mL'lik etil alkolde %0.1 MPS + %0.1 asetik asit; bazik MPS çözeltisi ise 5 mL'lik etil alkolde %0.01 MPS + %0.5 saf su + %0.5 KOH kullanılarak hazırlanmıştır. Solüsyonlar peristaltik pompa kullanılarak sisteme kapalı döngü ile verilmiştir. Deneylerin her bir aşaması 30 dakika boyunca GAMRY ESA 410 programı ile eş zamanlı kayıt altına alınmıştır. Sonrasında sensör yüzeyine 3 mL'lik PBS içerisindeki %5 oranında BSA uygulanmıştır. BSA, yüzey modifikasyonunun teyit edilmesi amacıyla kullanılmıştır. Çünkü, BSA diğer kimyasallara nazaran daha ağır olduğundan frekans ekseninde ciddi kaymalar oluşturmaktadır. Kaplama aşamalarının blok diyagramı Şekil 2'de verilmiştir.

Kaplama-II'de pirana solüsyonu, etil alkol ve saf su ile temizlik aşamasının ardından QCM sensörün altın yüzeyine ilk katmanda 5 mL etil alkol içerisinde %0.1'lik MPS solüsyonu pH=5.5 olacak şekilde hazırlanarak; ikinci katmanda ise ME solüsyonu 3 mL etil alkol içerisinde %0.5 saf su + %1 ME + %0.7 KOH ile pH=9 olacak şekilde hazırlanarak uygulanmıştır. Burada KOH, ME solüsyonunun pH'ının ayarlanması için kullanılmıştır. Ardından Kaplama-I'de olduğu gibi QCM sensör yüzeyi 3 mL'lik PBS içerisindeki %5 oranında BSA süspansiyonuna maruz bırakılmıştır.

Deneylerin her bir aşaması 30 dakika boyunca GAMRY ESA 410 programı ile eş zamanlı kayıt altına alınmıştır. Deneylerin her biri üçer tekrarlı olarak yapılmış ve herbir frekans taraması için ölçümlerin ortalaması alınmıştır.



Şekil 1. Denei düzeni

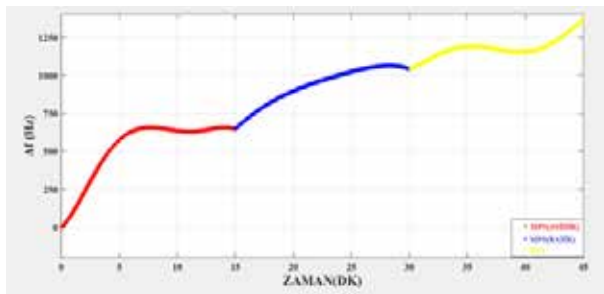


Şekil 2. Kaplama aşamalarının blok diyagramı

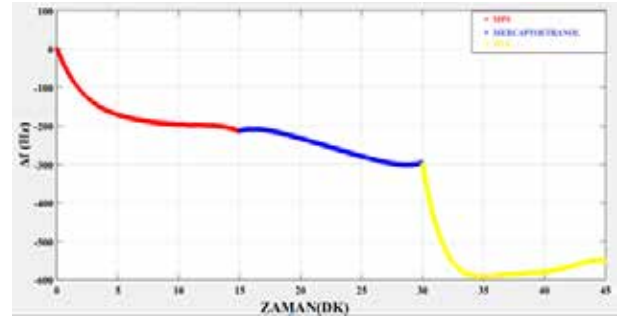
### III. SONUÇLAR

Yapılan çalışmada, QCM sensörün altın yüzeyi üzerine MPS tabanlı en uygun yüzey modifikasyonunun tespiti amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda yapılan çalışmalar iki kısma ayrılmaktadır. Birinci kısım, deneylerin gerçekleştirilmesi ve sonuçların kaydedilmesi; ikinci kısım ise verilerin işlenmesi aşamasıdır. Kaplama-I ve Kaplama-II için verilerin işlenmesi ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir.

Kaplama-I'e ait deney sonuçları sırasıyla Şekil 3 ve Şekil 4'te verilmiştir. Kaplama-I'e ait sonuçlara göre, asidik MPS, bazik MPS çözeltileri ve BSA süspansiyonu için ters kayma miktarları sırasıyla 650 Hz, 400 Hz ve 300 Hz olmuştur. Kaplama-II'ye ait sonuçlara göre, MPS, ME çözeltileri ve BSA süspansiyonu için kayma miktarları sırasıyla, 200 Hz, 100 Hz ve 300 Hz olmuştur. Her iki kaplama için rezonans frekansları Saurbrey eşitliği kullanılarak hesaplandığında gözlemlenen bu sayısal değerlerin oldukça uyumlu sonuçlar verdiği teyit edilmiştir.



Şekil 3. Kaplama-I'e ait deney sonuçları



Şekil 4. Kaplama-II'e ait deney sonuçları

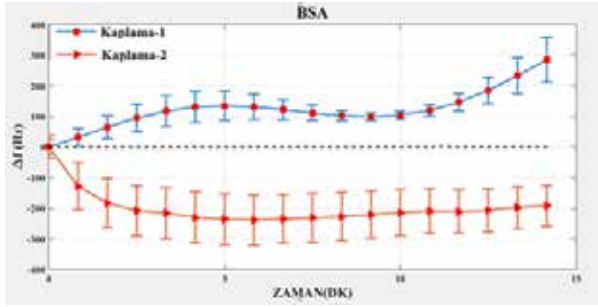
Kaplama-I ve Kaplama-II yöntemlerine ait BSA deney sonuçları Şekil 5'te verilmiştir. Kayıt altına alınan veriler yaklaşık olarak dakikada bir veri olacak şekilde azaltılmıştır. Her iki yöntem içinde elde edilen verilere standart sapmaları eklenmiştir.

### IV. TARTIŞMA

Sensör yüzeyinin kimyasal ve morfolojik özellikleri tespitinin kalitesi ve hassasiyeti ile doğrudan ilişkili olduğu için doksanlı yılların sonundan itibaren yüzey kimyası çalışmaları ve bunların analitik uygulamaları oldukça fazla araştırılmaya ve çalışılmaya başlanmıştır. Altın, platin gibi sensör yüzeyleri kaplanarak farklı özelliklerde, kararlı, seçici ve duyarlı sensör yüzeylerinin elde edilebilmesi için çalışmalar yapılmaktadır. Sensör yüzeylerine yapılan nitelikli kaplamalar çeşitli hastalıkların daha kolay ve anlamlı olarak tespitini kolaylaştıracağı gibi uygun sensör seçimi ile hızlı tespit imkanı sunmaktadır. Bu durum yapılan çalışmanın önemini göstermekte ve yürütülecek çalışmalara referans sağlamaktadır.

Kaplama-I'e ait deney sonuçlarında ters (yukarı yönlü) kaymalar gözlemlenmiştir. İlk aşamadaki ters kayma, pirana solüsyonu ile yapılan temizlik sonrasında yüzeyde oluşan negatif iyonların, asidik MPS çözeltisindeki asetik asit iyonları ile arasındaki elektrostatik itme kuvvetiyle oluşmuştur. Bu durum yüzey kaplamasının tam olarak gerçekleşmemesine neden olmuştur. İkinci aşamada uygulanan bazik MPS çözeltisindeki -OH iyonlarının, tam olarak gerçekleşmeyen kaplamadan dolayı yüzey üzerinde kalan boşluklarda var olan negatif iyonlar ile aralarında oluşan elektrostatik itme kuvveti ters kayma oluşturmuştur. Kaplamaların tam olarak gerçekleşmemesinden dolayı yüzeyde tiyol grupları oluşturulamamıştır. Bu nedenle BSA süspansiyonu yüzeye bağlanamayarak ters kayma gerçekleşmiştir.

QCM sensör yüzeyinde bir madde adsorblandığı veya biriktiği zaman daha önce de belirtildiği gibi piezoelektrik kristalin rezonans frekansı azalacaktır. Bu durum göz önüne alındığında Kaplama-II'ye ait deney sonuçlarında her iki kaplamanın ve yüzey modifikasyonunu teyit etmek amacıyla kullanılan BSA süspansiyonun, QCM sensörün altın yüzeyine tutunmasının daha iyi olduğu net olarak ortaya konmuştur.



Şekil 5. Kaplama-I ve Kaplama-II 'ye ait BSA deney sonuçları.

Şekil 5'te verilen sonuçlara göre Kaplama-I yönteminde BSA molekülünün tutunumu ile QCM sensörün rezonans frekansında artış gözlemlendiği gibi doyum noktasına ulaşması ve kararlı bir eğri oluşturması Kaplama-II yöntemine göre daha uzun sürmektedir. Bu sonuçlara göre Kaplama-II yönteminde, Kaplama-I yöntemine göre QCM sensörün altın yüzeyi üzerinde daha iyi modifikasyon elde edilmiştir.

Bütün bunlara ek olarak daha önceki çalışmalarda yer alan MPS kaplamanın pH'a çok hassas olduğu ve yavaş tepkime verdiği yönündeki bilgilere dayanarak önerdiğimiz yöntemler ile daha hızlı ve pH'a daha az duyarlı kaplama gerçekleştirilmiştir [3]. Bu çalışma ile QCM sensörü için gelecek çalışmalarda kullanılacak MPS tabanlı en uygun kaplama yöntemi belirlenmeye çalışılmıştır.

#### KAYNAKLAR

- [1] [https://en.wikipedia.org/wiki/Surface\\_modification](https://en.wikipedia.org/wiki/Surface_modification) (Erişim Tarihi: Ağustos 2018)
- [2] Zeng, B. and Huang, F., "Electrochemical behavior and determination of fluphenazine at multi-walled carbon nanotubes/ (3-mercaptopropyl)trimethoxysilane bilayer modified gold electrodes", *Talanta*, 64(2004), 380-6, 2004.
- [3] Soylu, M. C., Shih, W. H. and Shih, W. Y., "Insulation by solution 3-mercaptopropyltrimethoxysilane (mps) coating: Effect of ph, water, and mps content." *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 52(7), 2590-7, 2013.
- [4] Tarabara, V. V., Nabiev, I. R. and Feofanov, A. V., "Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) Study of Mercaptoethanol Monolayer Assemblies on Silver Citrate Hydrosol. Preparation and Characterization of Modified Hydrosol as a SERS-Active Substrate", *Langmuir*, 14(5):1092-8, 1998.
- [5] Whitesides, G. M. and Laibinis, P. E., "Wet chemical approaches to the characterization of organic surfaces: self-assembled monolayers, wetting, and the physical-organic chemistry of the solid-liquid interface", *Langmuir*, 6(1): 87-96, 1990.
- [6] Evans, S. D., and Ulman, A., "Surface potential studies of alkyl-thiol monolayers adsorbed on gold", *Chem. Phys. Lett.*, 170(5-6):462-6, 1990.
- [7] Bryant, M. A. and Pemberton, J. E., "Surface Raman scattering of self-assembled monolayers formed from 1-alkanethiols at silver [electrodes]", *J. Am. Chem. Soc.*, 113(10): 3629-37, 1991.
- [8] Nuzzo, R. G., Dubois, L. H. and Allara, D. L., "Fundamental studies of microscopic wetting on organic surfaces. 1. Formation and structural characterization of a self-consistent series of polyfunctional organic monolayers", *J. Am. Chem. Soc.*, 112(2):558-69, 1990.

- [9] <https://rockland-inc.com/bovine-serum-albumin.aspx> (Erişim Tarihi: Ağustos 2018).
- [10] Arshak, K., Moore, E., Lyons, G. M., Harris, J. and Clifford, S., 2004, "A review of gas sensors employed in electronic nose applications", *Sensor Review*, 24(2):181-198, 2004.
- [11] Kankare, J., "Sauerbrey Equation of Quartz Crystal Microbalance in Liquid Medium", *Langmuir*, 18:7092-4, 2002.