İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GÖRECE KISA SÜRELİ Wi-Fi IŞIMASI BİYOLOJİK DOKULARI ETKİLİYOR MU?

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yasemin MARAŞLIGİLLER

Elektronik Haberleşme Mühendisliği Anabilim Dalı

Biyomedikal Mühendisliği Programı

MAYIS 2014

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GÖRECE KISA SÜRELİ Wi-Fi IŞIMASI BİYOLOJİK DOKULARI ETKİLİYOR MU?

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yasemin MARAŞLIGİLLER
(504101417)

Elektronik Haberleşme Mühendisliği Anabilim Dalı

Biyomedikal Mühendisliği Programı

Tez Danışmanı : Prof. Dr. İnci ÇİLESİZ

MAYIS 2014

İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 504101417 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi **Yasemin MARAŞLIGİLLER**, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı **" Görece Kısa Süreli WiFi ışıması Biyolojik Dokuları Etkiliyor mu? "** başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı :	**Prof. Dr. İnci ÇİLESİZ** İstanbul Teknik Üniversitesi	.....
Jüri Üyeleri :	**Doç. Dr. Korkut YEĞİN** Yeditepe Üniversitesi	.....
	Öğr. Gör. Dr. Bülent YAĞCI İstanbul Teknik Üniversitesi	.....

Teslim Tarihi : **05 Mayıs 2014**
Savunma Tarihi : **29 Mayıs 2014**

Aileme,

ÖNSÖZ

Biyomedikal Mühendisliği programına kabul edildiğimden beri benden güvenini ve teşviklerini esirgemeyen, hem yüksek lisans boyunca hem de tez çalışmam boyunca üstün bilgi ve birikimi ile bana ışık tutan ve yardımcı olan danışman hocam, Sayın Prof. Dr. İnci ÇİLESİZ' e bana bu yolu açtığı ve her aşamada yol gösterdiği için en içten teşekkürlerimi sunarım.
Tez çalışmamda her konuda bana gerekli yardımı gösteren, destek olan ve Yeditepe Üniversitesi RF Laboratuvarı' nın imkanlarını kullanmamı sağlayan hocam Sayın Doç. Dr. Korkut YEĞİN' e, tez çalışması sırasında Yeditepe Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Laboratuvarlarının imkanlarını kullanmamı sağlayarak bana destek olan Sayın Prof. Dr. Mustafa ÇULHA' ya, deneyler sürecinde yardımlarını esirgemeyen ve fikirleriyle yol gösteren Sayın Araş. Gör. Pınar Akkuş ve Sayın Müh. Anıl Özdemirli' ye teşekkürü bir borç bilirm.
Benim her zaman yanımda olan, benden desteklerini, güvenlerini ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen ve bugünlere gelmemi sağlayan aileme, bana her zaman örnek olmuş dedem Prof. Dr. İsmail CEBESOY' a, bana her aşamada destek olan, yardımcı olan ve bana hep güvenen, inanan babaanneme ve teyzeme en içten teşekkürlerimi sunarım.
Son olarak, gerek gülüp eğlendiğimiz, gerek kütüphanede beraber sabahladığımız, gerek son metroya beraber koşarak yetişitğimiz, gerek sabahın en güzel mavisini beraber seyrettiğimiz çok sevgili arkadaşlarıma benim her zaman yanımda oldukları için teşekkür ederim.

Mayıs 2014 Yasemin MARAŞLIGİLLER

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ ..... **vii**
İÇİNDEKİLER ..... **ix**
KISALTMALAR ..... **xi**
ÇİZELGE LİSTESİ ..... **xiii**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **xv**
ÖZET ..... **xix**
SUMMARY ..... **xxi**
1. GİRİŞ **1**
1.1 Tezin Amacı 2
1.2 Literatür Araştırması 4
1.2.1 Giriş 4
1.2.2 EM dalga ışıması 4
2. TEORİ **9**
2.1 Amaç 9
2.2 Maruziyet ve Maruziyet Kaynakları 14
2.3 Elektromagnetik Alan Maruziyeti Sonucu Oluşan Biyolojik Etkiler 15
2.3.1 Isıl etkiler 15
2.3.2 Isıl olmayan etkiler 18
2.3.2.1 Dielektroforez 19
2.3.2.2 Elektroporasyon 20
2.3.2.3 İyon kanalları 21
2.4 Dozimetri Kavramı 21
2.4.1 Özgül soğurma (Spesific Absorption-SA) 21
2.4.2 Özgül soğurma oranı (SAR) 23
2.5 Wi-Fi 24
3. TEKNİK BİLGİ **27**
3.1 Fantom Ortam-Benzetim Ortamı 27
3.2 Proteinlerin Yapısı ve Özellikleri 27
3.2.1 Proteinlerin yapısı 27
3.2.2 Proteinler ve floresans 29
3.2.2.1 Floresansın prensibi 29
3.2.2.2 Floresans spektrumu 31
3.2.2.3 Floresans tespiti ve floresans enstrümantasyonu 32
3.2.2.4 Floresans sinyalleri 32
3.3 Spektroskopi (İzge Ölçümü) 36
3.3.1 Elektron spini 37
3.3.2 Floresans ve fosforesansı etkileyen etmenler 45
3.3.2.1 Floresans ve yapı 45
3.3.2.2 Yapısal esnemezlik (rijidite) etkisi 46
3.3.2.3 Çözücü ortamın etkisi 46
3.3.2.4 Sıcaklık etkisi 46

3.3.2.5 pH etkisi 46
3.3.2.6 Çözünmüş oksijen etkisi 47
3.3.2.7 Derişim etkisi 47
4. MALZEMELER ve YÖNTEMLER 51
4.1 Yumurtanın Yapısı ve İçeriği 51
4.1.1 Yumurta akının yapısı 51
4.1.2 Yumurtanın bileşimi 51
4.1.3 Yumurta akının bileşimi 52
4.1.4 Yumurta akı proteinleri 52
4.1.5 Yumurta akı karbohidratları 54
4.1.6 Yumurta akı mineral ve vitaminleri 55
4.1.7 Yumurta aklarının hazırlanması 55
4.2 Spektrofotometre Enstrümantasyonu 56
4.2.1 Florometrede ölçüm 58
4.3 Küvetler 59
4.3.1 Küvetlerin temizliği 61
4.4 RF Anten Düzeneği 61
5. SONUÇLAR 67
5.1 Ölçümler 70
5.1.1 Birinci düzenekten elde edilen sonuçlar 70
5.1.2 İkinci düzenekte elde edilen sonuçlar 76
6. TARTIŞMA 79
KAYNAKLAR 83
EKLER 89
ÖZGEÇMİŞ 137

KISALTMALAR

AP_S : Access Points - Erişim noktası
BSA : Bovine Serum Albumin - Sığır serum albumini
CM : Clausius Mossotti faktörü
CW : Continous Wave - Devamli dalga
dBm : Desibel miliwat
DEP : Dielectrophoresis - Dielektroforez
DNA : Deoxyribonucleic Acid - Deoksiribonükleik asit
DVD : Digital Versatile Disc - Çok amaçlı sayısal disk
EA : Elektrik Alan
EC : External Conversion - Dışsal dönüşüm
ELF : Extremely Low Frequency - Aşırı alçak frekans
EM : Elektromagnetik
EMA : Elektromagnetik Alan
eV : Elektron Volt
FAD : Flavin Adenine Dinucleotide - Flavin Adenin Dinukleotid
FCC : Federal Communications Comission
FL : Floresans
FRET : Fluorescence Resonance Energy Transfer - Floresans rezonans enerji transferi
GHz : Gigahertz
HEWL : Hen Egg White Lysozyme - Tavuk yumurta akı lizozimi
HPA : Health Protection Agency - Sağlık koruma ajansı
Hz : Hertz
IC : Internal Conversion - İçsel dönüşüm
ICNIPR : International Commission on Non-ioniznig Radiation Protection - Uluslararası iyonize olmayan radyasyondan korunma jurulu
IEEE : Instuton of Electrical and Electronic Engineering - Elektrik ve elektronik mühendisliği enstitüsü
ISC/IS : Intersystem Crossing - Sistemler arası geçiş
K^o : Kelvin
kHz : Kilohertz
NADH : Nicotinamide Adenine Dinuclotide-Nikotinamid adenin dinükleotid
Ph : Phosphorescence - Fosforesans
PCV : Packed Cell Volume-Hematokrit
PFD : Power Flux Density-Güç akı yoğunluğu
RF : Radio Frequency-Radyo Frekansı
RNA : Ribonucleic Acid-Ribonükleik asit
SA : Specific Absorption-Özgül Soğurma
SAR : Specific Absorption Rate-Elektromagnetik güç soğurulma oranı
SSID : Service Set Identifier-Servis seti tanımlayıcısı
Trp : Triptofan
UV : Ultraviyole
VR : Vibrational Relaxation - Titreşimsel Gevşeme

V_{RMS}	**:** Volt Root Mean Square- Zamanla değişen gerilimin karekök ortalamasının karesi
VIS	**:** Visible-Görünür bölge
W	**:** Watt
WiFi	**:** Wireless Fidelity-Kablosuz bağlanma
WLAN	**:** Wireless Local Area Networks-Kablosuz yerel alan ağları

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 3.1 : Aminoasit molekül sayısına göre protein yapı dereceleri 28
Çizelge 4.1 : Yumurta akında bulunan proteinler, bu proteinlerin miktarları, özellikleri ve karakteristikleri 55
Çizelge 4.2 : Deneyde kullanılan kuvars küvetlerin özellikleri..... 61

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Elektromagnetik ışıma 10
Şekil 2.2 : Elektromagnetik Spektrum 11
Şekil 2.3 : Fotonların kuantum enerjileri, soğurulabilmeleri için enerji seviyesi aralıklarıyla eşleşmelidir 11
Şekil 2.4 : Işıma ve insan vücüdu 12
Şekil 2.5 : EM ışımanın maddeyle etklileşimi 13
Şekil 2.6 : Pozitif ve Negatif dielektroforez 19
Şekil 2.7 : Birim hacim uzunluğu ve birim hacim alanının gösterimi 22
Şekil 2.8 : 2,4 GHz Wi-Fi kanal frekansları 25
Şekil 2.9 : Örtüşen 2,4 GHz band kanallarının grafiksel temsili 25
Şekil 2.10 : 2,4 GHz kanalları ve ülkelere göre kullanımı 25
Şekil 3.1 : Peptit bağı 28
Şekil 3.2 : Birincil ikincil, üçüncül ve dördüncül yapının şematik gösterimi 29
Şekil 3.3 : Jablonski diyagramı 30
Şekil 3.4 : Işıma şiddetinin uyarılma spekrumunun genliği ile olan orantısının gösterimi 31
Şekil 3.5 : Protein katlanması. 33
Şekil 3.6 : Triptofanın floresansının gözlemlenmesi yardımıyla proteinin açılmasının takibi 34
Şekil 3.7 : Proteinin katlı halinin çözülmesinin kararlı durum gösterimi 35
Şekil 3.8 : Çözünme reaksiyonu zamana bağlı olarak floresans şiddetinin 355 nm'de toplanması ile elde edilmiştir 36
Şekil 3.9 : Fotolüminesant bir molekülün enerji seviyesi diyagramı 39
Şekil 3.10 : Floresansa yol açan basamakların sıralaması.. 41
Şekil 3.11 : Soğurma spektrumu. 42
Şekil 3.12 : İdeal olan soğurma ve ışıma spektrumu 42
Şekil 3.13 : Soğurma, floresans ve fosforesans şiddetlerinin karşılaştırılması. 44
Şekil 3.14 : Soldan sırayla pridin, furan, pirol ve tiyofen halkaları 45
Şekil 3.15 : Fenil halkası ile birleşmiş olan piridin ve pirol moleküller 45
Şekil 4.1 : Kırılmış bir yumurtada katı ve ince olan yumurta akının gösterimi 52
Şekil 4.2 : Proteinde meydana gelen denatürasyon ve koagülasyon 53
Şekil 4.3 : Sıcaklıkla meydana gelen geri dönüşümlü ve dönüşümsüz olan denatürasyonun gösterimi 54
Şekil 4.4 : Deney düzeneğinde kullanılan içine yumurta akı konmuş plastik küvetler. 56
Şekil 4.5 : Cary Eclipe floresans spektrofotometresi 57
Şekil 4.6 : Ksenon lambası 57
Şekil 4.7 : Yumurta akının soğurma spektrumu 58
Şekil 4.8 : 4 saat ışımaya bırakılmış olan yumurta aklarının 311 nm soğurma dalga boyu için floresans ışıma öçlümü 59
Şekil 4.9 : Işıma düzeneği ve küvetler 62

Şekil 4.10 : Balunlu dipolün görüntüsü 62
Şekil 4.11 : Işıma uzaklığı birinci düzenekte 40 cm olarak ayarlanmıştır..... 63
Şekil 4.12 : RF sinyal jeneratörü (2,45 GHz ve 25 dBm) 63
Şekil 4.13 : RF sinyal jeneratörü (2,45 GHz ve 27 dBm) 64
Şekil 4.14 : 2. düzenekte küvetlerin balunlu dipolden olan uzaklığı 20 cm olarak ayarlanmıştır..... 65
Şekil 4.15 : RF anten düzeneğinin şematik çizimi..... 65
Şekil 4.16 : İkinci düzeneğin görüntüsü 66
Şekil 5.1 : Triptofanın yapısı 68
Şekil 5.2 : 4 çift disülfid bağı ve 6 triptofan rezidüsü ile tavuk yumurta akı lizozomunun yapısı..... 69
Şekil 5.3 : Sol taraf; Enzim kofaktörleri olan NADH ve FAD'ın soğurma ve ışıldama spektrumları. Sağ taraf; NADH'ın yapısı 70
Şekil 5.4 : Birinci düzenekte farklı sürelerde elde edilen ölçümlerin karşılaştırılması 72
Şekil 5.5 : Tunnus tynnus miyoglobinin 3D yapısının şematik gösterimi..... 74
Şekil 5.6 : Tavuk yumurta akı lizoziminin yapısı..... 74
Şekil 5.7 : Lizozimin değişik şartlar altındaki floresans spektrumu..... 76
Şekil 5.8 : İkinci düzenekte farklı sürelerde elde edilen ölçümlerin karşılaştırılması... 77
Şekil 6.1 : Sol taraf; AOx'in aktivitesini göstermektedir, sağ taraf AOx'in triptofan rezidüsün 295 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması 82
Şekil A.1 : Proteinin primer yapısı 90
Şekil A.2 : Bir α - heliks iskeletinin görünümü..... 91
Şekil A.3 : TAL efektör nükleaz adı verilen sarmal yapıda ki bir proteinin DNA sarmalı etrafındaki görüntüsü..... 91
Şekil A.4 : Sekonder proteinlerdeki plaka yapısının görünümü..... 92
Şekil A.5 : Sekonder proteinlerdeki plaka yapısının detaylı görünümü 92
Şekil A.6 :α heliks ve plaka yapısı, proteinlerin ikincil yapılarıdır. Bu yapılar peptit iskeletinde ki karbonil ve amino grupları arasında hidrojen bağı oluşması ile meydana gelirler. Bazı aminoasitler-heliks yapısını oluşturmaya eğilimliyken diğerleri plaka yapısını oluşturmaya eğilimlidir 93
Şekil A.7 : Miyoglobinin tersiyer yapısı, heliks yapısı üçüncül yapıyı oluşturmak için katlanmış 94
Şekil A.8 : Protein Kinaz C'nin kuarterner yapısı..... 95
Şekil C.1 : Şekil: Cary Eclipse florometresinin yapısı. 1: Örnek, 2 Uyarma yarığı, 3:Monokromatör, 4: Xe flaş lambası (kaynak), 5: Monokromatör, 6: Detektör, 7: Işıma (emisyon) yarığı 101
Şekil C.2 : Floresans spektrofotometresi enstrümantasyonunun genel şematik gösterimi..... 102
Şekil C.3 : "Schwarzchild" toplayıcı aynaları Xe flaş lambasından gelen ışığın büyük bir kısmını yakalayarak örneğe doğrultmaktadır..... 102
Şekil C.4 : Florometrenin tarama modu. 103
Şekil C.5 : Florometrenin ayar modu 103
Şekil D.1 : 1. tekrardaki kontrol-(a) ve 2 saat-(b), 4 saat-(c), 6 saat-(d) ışıma sonunda elde edilen soğurma ve floresans spektrumları 105
Şekil D.2 : 1. tekrarda farklı sürelerdeki ışımalar sonunda elde edilen soğurma (a) ve floresans spektrumlarında (b, c) yapılan karşılaştırmalar..... 107
Şekil D.3 : 2. tekrardaki kontrol-(a) ve 2 saat-(b1,b2), 4 saat-(c1,c2), 6 saat- . (d1,d2) ışıma sonunda elde edilen soğurma ve floresans spektrumları 110

Şekil D.4 : 2. tekrarda farklı sürelerdeki ışımalar sonunda elde edilen soğurma (a1-a2) ve floresans spektrumlarında (b1-b2, c1-c2) yapılan .. karşılaştırmalar 113
Şekil D.5 : 2. tekrardaki kontrol-(a) ve 2 saat-(b1,b2), 4 saat-(c1,c2), 6 saat-(d1,d2) ışıma sonunda elde edilen soğurma ve floresans spektrumları. 117
Şekil D.6 : 3. tekrarda farklı sürelerdeki ışımalar sonunda elde edilen soğurma (a1-a2) ve floresans spektrumlarında (b1-b2, c1-c2) yapılan .. karşılaştırmalar 120
Şekil D.7 : 3. tekrardaki kontrol-(a) ve 2 saat-(b1,b2), 4 saat-(c1,c2), 6 saat- . (d1,d2) ışıma sonunda elde edilen soğurma ve floresans spektrumları 123
Şekil D.8 : 4. tekrarda farklı sürelerdeki ışımalar sonunda elde edilen soğurma (a1-a2) ve floresans spektrumlarında (b1-b2, c1-c2) yapılan karşılaştırmalar 126
Şekil D.9 : 2. düzenekte kontrol-(a) ve 3 saat-(b1,b2, b3), 6 saat-(c1,c2, c3), 24 .saat-(d1,d2,d3, d4, d5, d6, d7) ışıma sonunda elde edilen soğurma ve floresans spektrumları. 133
Şekil D.10 : 2. düzenekte farklı sürelerdeki ışımalar sonunda elde edilen soğurma (a) ve floresans spektrumlarında (b, c) yapılan karşılaştırmalar 135

GÖRECE KISA SÜRELİ WiFi IŞIMASI BİYOLOJİK DOKULARI ETKİLİYOR MU?

ÖZET

Teknolojinin gelişmesi ile birçok alanda olduğu gibi iletişim ve haberleşme de çok daha kolay ve basit yöntemlerle gerçekleşmektedir. Günümüzde dünya genelinde kablosuz ağ iletişimini sağlayan Wi-Fi (Wireless Fidelity) bu sistemlerden bir tanesidir. Wi-Fi tıpkı cep telefonlarında ve telsiz cihazlarında olduğu gibi çevresine yüksek frekanslı radyo dalgaları ve elektriksel enerji yollar. Bu yüksek frekanslı radyo dalgaları ve elektriksel enerji uzaklıkla beraber azalır ve enerji küresel bir düzlemde yayıldığından daha geniş bir alan boyunca dağılım gösterir. Wi-Fi, yüksek frekanslı EM ışıma yaydığından dolayı (genellikle 2,4 GHz veya 5 GHz - 0,3 Watt (25 dBm)) Wi-Fi kullanımına bağlı olarak bazı endişeler ortaya çıkmıştır. Wi-Fi tarafından kullanılan enerji elektromagnetik spektrumda radyo tayfı içinde bulunan mikrodalga bölgesinde yer almaktadır. Radyo frekanslarının; mesafe, güç, ve maruziyet süresi gibi faktörlere bağlı olarak vücutta ısıl etkiye sebep olabileceği gibi ısıl olmayan bazı biyolojik etkilere de sebep olabileceği öne sürülmektedir. Mikrodalga ışınları 0,00001 ile 0,001 eV aralığında olan kuantum enerjisine sahiptir ve bu enerji aralığı moleküler rotasyon ve torsiyon kuantum seviyelerini ayıran enerji aralığına denk gelmektedir. Mikrodalgaların madde ile olan etkileşimi moleküllerin rotasyonunda artışa sebebiyet verir ve rotasyondaki bu artış sonucunda meydana gelen moleküler hareket ile ısı artışı meydana gelir. Aminoasitler, peptidler ve proteinler dipolar özelliğe sahip olan yüklü moleküller olduğundan sulu veya dielektrik bir ortam içinde mikrodalga ışımasına maruz kalmaları moleküler dipollerin rotasyonunda artışa sebep olur. Molekül içindeki dipolar parçalar ile atomları birleştiren bağlar üzerinde rotasyonel kuvettin bu artışı bağları zayıflatır. Bir proteinin 3D yapısı, proteinlere özgü içsel floresansın varlığı ile floresans spektroskopisi kullanılarak izlenebilir. Aminoasitler maksimum UV emilimi ve ışıldama (floresans) özelliğini farklı dalga boylarında gösterdiklerinden dolayı proteinlerdeki yapısal değişimler, bu aminoasitler üzerinden gözlenen emilim ve ışıldama değişimleri izlenerek belirlenir. Bu proje, WiFi'dan yayılan EM ışımalara insanların maruz kalması sonucunda ne gibi biyolojik etkilerin ortaya çıkabileceğini görebilmek/tahmin edebilmek için yapılmıştır. Deneysel çalışma, proteinlerin bütünlüğü ve dolayısıyla fonksiyonlarında meydana gelebilecek biyolojik etkileri gözlemlemek için gerçekleştirilmiştir. Yumurta akı karbohidrat, yağ, su, mineral, vitamin ve yüksek miktarda protein içeren biyolojik kompleks bir yapı olup başta bu biyolojik karakteristikleri açısından insan dokusuna olan benzerliği baz alınarak kullanılmıştır. Ayrıca yumurta akının deneyde benzetim ortamı olarak kullanılmasının diğer nedenleri; termal özelliklerinin insan biyolojik ortamına benzerlik göstermesi ve koagülasyon (haraplama) başlangıcının hemen görülebilmesine olanak tanıyan şeffaf (berrak) bir yapıya sahip olmasıdır. Deneyler, yumurta akı örneklerinin farklı sürelerde 2,45 GHz' de RF ışımasına maruz bırakılmasıyla gerçekleştirilmiştir. Kontrol ölçümleri hiçbir RF ışımasına maruz

bırakılmayan yumurta aklarının floresans spektrofotometresinde ölçümlerinin alınmasıyla oluşturulmuştur. Kontrol ölçümlerinden ve RF ışımasına farklı sürelerde maruz bırakılan tüm yumurta akı örneklerinden elde edilen sonuçlar analiz edilip biribirleri ile karşılaştırılmıştır. Çalışmada, RF ışıması için bir mikrodalga anten düzeneği kullanılmıştır. Yumurta akları ilk düzenekte 2, 4 ve 6 saat olmak üzere üç farklı sürede ışımaya tabi tutulmuştur. Işıma 2,45 GHz frekansında (Wi-Fi), CW (continuous wave), +25 dBm (316,2 mW), $V_{RMS;}$ 3,9764 V çıkış gücündedir. İlk düzenekte plastik küvetlere konmuş olan yumurta akları deney düzeneğinde balunlu dipolden 40 cm uzaklığa yerleştirilmiştir. Küvetler yollanan ışımanın yansımasını önlemek için elektromagnetik soğurucuların arasına yerleştirilmiştir. Dipolün arkasına yönlendirme için metal plaka yerleştirilmiştir. Yumurta aklarının bulunduğu küvetler her ışıma süresi tamamlandığında düzenekten alınıp spektrofotometrede floresans (ışıldama) ölçümleri yapılmıştır. Ölçüm sonuçları incelendiğinde ışımaya maruz bırakılan örneklerin ışıldama spektrumlarındaki tepeler hep aynı frekansta çıktığı ve bu tepelerde (pikler) herhangi bir kayma veya genişleme/daralma olmadığı gözlemlenmiştir. Spektrumda gözlemlenen tek değişiklik ışıldama şiddetinde tutarlı olmayan ve belirgin olmayan artış veya azalış şeklinde görülmüştür. Ancak yumurta akı heterojen bir yapı olup içinde parçacık ihtiva ettiğinden bu tutarsız değişimlere bağlı olarak yorum yapmak yanlıştır çünkü bu durumlar floresans şiddetini etkileyen durumlardır. Spektrumlarda EM alan etkisi olarak görülmesi beklenen asıl büyük değişiklik spektral tepelerin çıktığı frekanslarda kayma ve bu tepelerde genişleme/daralma şeklindedir. Böyle bir değişiklik görülmemesi üzerine ikinci bir düzenek kurulup ışıma uzaklığı 20 cm'ye çekilmiş +25 dBm (320 mW) olan çıkış gücü +27 dBm'e (500 mW), (V_{RMS} ; 5,009 V) çıkartılmıştır. Işıma süresi 3, 6 ve 24 saat olarak değiştirilmiştir. Ancak yapılan ölçümler incelendiğinde sonuçların yine aynı çıkmış ve anlamlı bir değişim gözlemlenmemiştir. Sonuç olarak bu çalışmadan elde edilen sonuçlar doğrultusunda, düşük güçte WiFi ışımasına görece sınırlı sürede (maksimum 24 saat) maruziyetin herhangi bir etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır.

DOES RELATIVELY SHORT TERM EXPOSURE TO WiFi AFFECT BİOLOGİCAL TİSSUES ?

SUMMARY

As in many fields, communication became much simpler and easier with the development of technology. Nowadays Wi-Fi systems providing wireless networking across the globe (worldwide) is the one of the most popular of these systems. Wi-Fi is an acronym for "wireless fidelity". As the mobile phones and two way radios does Wi-Fi use RF radiation for communication. Using a wireless hub unit Wi-Fi system sends out high frequency radio waves and electricomagnetic energy. Both high frequency radio waves and electricomagnetic energy density decrease with distance and as the energy spreads out in a spherical pattern, it is diffused across a larger area. Since Wi-Fi emits high frequency EM radiation generally at either 2.45 GHz or 5 GHz some concerns were raised regarding the safety of using Wi-Fi. Wi-Fi systems generally emit very low power from both the computer antenna and the router antenna and is typically about 0.3 W (25 dBm). The power falls off very rapidly beyond a few inches away from the antennas. In comparison to cell phones, they emit radiation between 0.6 Watts and 3 Watts (typically at about 1 Watt), generally at 1.9 GHz. Altough Wi-Fi systems emit low power and there are no identified health effects yet there is controversy about potential health hazards caused by Wi-Fi since it emits high frequency EM radiation. The electromagnetic spectrum is grouped into categories based on wavelength and or energy. The EM energy used by Wi-Fi is in microwave region of EM spectrum. There are two types of interactions of EM fields with matter which are called ionizing and non-ionizing. This classification is based on the energy of photons and field strength of waves and it is made according to frequency and energy efficiency, ie., degree of influence on living beings. In this classification radio frequencies are in the non-ionizing part. This part of EM spectrum is starting about 1Hz up to 1000 GHz may cause thermal effects in the body depending on the factors such as distance, power, and length of exposure time. Also it was claimed that there is some probability that this frequency region would give rise to some non-thermal biological effects. The different parts of EM spectrum have different effects upon interaction with matter. First, absorption of a photon by material occurs only when the quantum energies of the incident photons match available energy level gaps of electrons in the material, if not, then the material will be transparent to the incident photons. The quantum energy of microwave photons is in the range 0.00001 to 0.001 eV which is in the range of energies that separates the quantum states of molecular rotation and torsion. The interaction of microwaves with matter will be to rotate molecules and produce heat as result of that molecular motion. Since amino-acids, peptides and proteins are charged molecules with dipolar properties in aqueous or dielectric media, microwaves may induce polarization as well as promote the rotation of molecular dipoles. A protein is composed of a number of dipolar moieties that contribute to the net dipole moment of total protein. This increase in the rotational force on bonds which is caused by microwave radiation connecting dipolar moieties to adjacent atoms in the molecule, reduce the

energy required to break bonds. Therefore the bonds get weaker and the probability of hydrolysis increases. Proteins are essential components of living organisms and they are involved in each process occuring within the cells. Any changes in the protein's structure has great importance for human body and may alter or completely finish the activity of that protein, therby giving rise to health problems. Protein folding is the reaction by which a protein adopts its native 3D structure which is the functional state of the protein. Folding happens in several steps, in a simplistic manner, first is formation of the secondary structure (2D) followed by acquisition of the tertiary structure arrangement (3D), and sometime a further quaternary structure (4D) organization in the case of oligomeric complex proteins. The 2D of a protein can be monitored by Circular Dichroism whereas the 3D structure can be tracked down using fluorescence spectroscopy, in particular intrinsic protein fluorescence. Amino-acids which are the constituent of proteins, make their maximum UV absorption and fluorescence emission at different wavelengths thereby giving opportunity to determine the structural changes that take place within the protein by monitoring changes in the observed absorption and fluorescence. This project was conducted to observe / estimate effects if Wi-Fi is exposed to people since Wi-Fi devices are often placed near public areas in cocentrated fashion to increase coverage area. This experimental study was carried out to determine biological effects of Wi-Fi on proteins, protein integrity and thus, protein function after exposure. Hen egg white which is a complex biologic structure was used as phantom media because its characteristics are similar to with those of other biological media such as carbohydrates, lipids, water, minerals and proteins. Furthermore, hen egg white was chosen as a phantom medium also because of the similarity of its thermal properties with those of other biological media and because of its transparency in uncoagulated phase. This study was conducted by exposing the samples to RF radiation at 2.45 GHz for different periods of time. Control measurements were carried out by making fluorescence measurements on unexposed hen egg whites. All results were compared and analyzed in terms of biological effects on protein structure. The samples were exposed to RF radiation by a microwave antenna setup. In our first antenna setup, samples were irradiated at three different time periods that are 2, 4 and 6 hours, RF irradiation was at 2.45 GHz and continious wave (CW). The output of the irradiation was adjusted to +25 dBm (316.2 mW), $V_{RMS;}$ 3.9764 V. Egg white samples were placed in plastic cuvettes which were placed at a distance of 40 cm from balanced to unbalanced dipole. A metal plate was placed on the back of the dipole for orientation. To prevent reflection of incident radiation, cuvettes were placed between electromagnetic absorbers. After each irradiation period, cuvettes were taken from the antenna setup and measurement of their fluorescence spectra was carried out. In fluorescence measurements, first the absorption spectra of the samples was measured. In the absorption spectra of the samples there were two peaks detected coming from lysozme (HEWL) and NADH at 311nm and 386 nm respectively. Subsequently, fluorescence spectra of these two molecules was recorded with excitation at 311nm for lysozyme, and excitation at 386 nm for NADH. From the results and comparison of absorption and fluorescence emission spectra of the samples, no significant changes were observed. The only change was in the fluorescence intensity which was almost imperceptible and inconsitent. Since egg white is a heterogeneous media and it contains particles, it would be misleading interpret about the change in fluorescence intensity. This is because fluorescence intensity can be affected by the concentration of the sample and if the samples contain smaller particles, some of the incident radiation can be scattered rather than

absorbed (Tyndall scattering) and thus incorrectly detected as fluorescence. The main changes in the spectra that we expected was a shift in the peaks and/or broadening-narrowing, since the bonds connecting dipolar moieties to adjacent atoms in the molecule get weaker by an increase in the rotational force on them. A second microwave antenna set-up was then established upon failure of observing any using this first setup. The output of the radiation was +25 dBm (320 mW) and was increased to +27 dBm (500 mW), (V_{RMS} ; 5.009 V). Irradiation time was changed to 3, 6 and 24 hours and the distance to antenna was shortened to 20 cm. Suprisingly, there were no significant changes observed in the camparison of the fluorescence spectra of samples after this second set of measurements. There was no difference between the results of measurements from two setups. Consequently, exposure to the low power Wi-Fi irradiation for a limited time (24 h) has no significant biological effects on HEWL and NADH.

1. GİRİŞ

Gelişen teknoloji ile birlikte iletişim de daha kolay ve basit yöntemlerle gerçekleşmektedir. Günümüzde bu sistemlerin en popülerlerinden bir tanesi de WiFi'dir. WiFi, "kablosuz bağlanma" (Wireless Fidelity) için kullanılan bir kısaltmadır ve bu teknoloji dünya genelinde kablosuz ağ iletişimi sağlamaktadır. WiFi, 802.11 standartını kullanan herhangi bir sistemi ifade ediyor olup 1997 senesinden beri Elektrik ve Elektronik Mühendisleri Ensitütüsü (IEEE) tarafından geliştirilmektedir. WiFi teknolojisi iletişim için genellikle 2,4 GHz frekansında olan radyo frekansı (RF) dalgaları kullanılmaktadır. Günümüzde bir WiFi cihazı; çoğu kişisel bilgisayarlarda, dizüstü bilgisayarlarında, video oyun konsollarında, akıllı telefonlarda, yazıcılarda ve bunlara benzer diğer elektronik aletlerde kurulu olarak bulunmaktadır. Bütün bu elektronik aletler gün geçtikçe popülerlik kazanmakta ve kullanıcı sayısı giderek artmaktadır. Günümüzde hemen hemen tüm üniversiteler internet servisi için WiFi cihazları ile donanmıştır ve neredeyse çoğu öğrenci de kendi dizüstü bilgisayarına ile okul tarafından sağlanan bedava interneti kullanmaktadır. Bu durum çoğu alışveriş merkezlerinde ve bunlara benzer diğer çevrelerde de aynıdır. WiFi cihazları elektromagnetik ışıma yaydığından dolayı insan sağlığı konusundaki endişeler giderek artmaktadır. Sağlık üzerine olan bu endişeler WiFi cihazlarının kamu alanlarına çok yakın yerlere ve kapsam alanını arttırmak için pek çok bölgeye yerleştirilmesinden dolayı ciddiyetini korumaktadır. RF ve WiFi, elektromagnetik spektrumun iyonize edici olmayan ışınımlar bölümünde yer almaktadır. İyonize edici olmayan elektromagnetik ışınımlar biyolojik sistemleri ısıl veya ısıl olmayan yollarla etkileyebilirler. Araştırmalar göstermiştir ki yüksek seviyelerde RF ışıması yanıklara yol açabilmektedir ancak RF ışımasının kansere sebep olduğunu gösteren biyolojik mekanizması henüz bulunamamıştır [1].

Elektromagnetik alanların proteinler gibi makromoleküller üzerindeki ısıl etkileri, EM enerjinin emilimine bağlı olarak ısı oluşumu şeklinde ortaya çıkmaktadır. Ancak, her ne kadar EM alanların makromoleküllerin titreşimsel ve rotasyonel modlarını

uyararak konformasyonlarında değişiklik meydana getirdiği bilinse de, ısıl olmayan alan etkilerinin etki mekanizması kesin olarak bilinmemektedir. Bu ısıl olmayan etkiler, proteinlerin aktivitesindeki geri dönüşümlü değişiklikleri içermekle birlikte oldukça beklenmedik olabilmektedir. Uzak kızıl altı ve mikrodalga bölgelerinde EM alanların proteinlerin yapıları ve dolayısıyla fonksiyonları üzerindeki ısıl olmayan etkileri, özellikle telsiz iletişim sinyallerinin insan sağlığı üzerindeki etkileri ile bağlantılı olarak geniş bir tartışma konusu olmaktadır. EM alanlara olan maruziyetin sağlık sorunlarına yol açması nedeni ile protein denatürasyonu ve stabilitesi üzerine deneysel çalışmalar yapılmaktadır. Daha geniş bir anlamda EM alanların proteinler üzerine olan etkisi ile ilgili yapılan çalışmaşaların temel amacı, belli bir şiddete ve frekansa sahip EM alanların proteinlerin yapılarında değişim yapabilme olasılığına dayanmaktadır [2].

1.1 Tezin Amacı

Mikrodalgalar, elektromagnetik sepktrumda kızıl altı ve radyo dalgalarının bulunduğu bölgeler arasında yer almaktadır [4]. Proteinler esnek yapıda olan polielektrolit moleküllerdir dolayısıyla elektromagnetik alan etkisine karşı duyarlıdırlar [49]. Sulu veya dielektrik bir ortamda mikrodalgalar duyarlı moleküllerde (örn: proteinler) polarizasyon oluşturabildiği gibi moleküler dipollerin rotasyonunu arttırır. Mikrodalga ışıması sonucunda oluşan ısı iki etkiden dolayı meydana gelir: (I) moleküler dipollerin, geçen dalga cephesi ile kendilerini hizalaması sonucunda oluşan sürtünme kuvvetinden; ve (II) suda çözünmüş dipolar iyon veya moleküllerin birbirlerinin zıt yüklü kutuplarına doğru hareketinden.

Amino asitler, peptidler ve proteinler dipolar özelliğe sahip olan yüklü moleküllerdir. Bir protein, kendisinin net dipol momentine katkıda bulunan birkaç parçadan oluşmaktadır. Bu durum molekülün hidrasyon kabuğu ile daha fazla değişir. Elektromagnetik enerji, moleküller üzerindeki rotasyonel kuvveti arttırarak molekül içindeki bağların kırılması için gerekli olan enerjiyi azaltabileceği ve bu şekilde hidroliz gibi süreçlerin oluşma olasılığını arttıracağı düşünülebilir. Elektrolit çözeltilerde mikrodalga ışıması (2,45 GHz) ile ısı üretimi yanlızca mikrodalganın başlıca ana elektrolitler üzerindeki etkisinden sonuçlanır, organik materyal üzerindeki etkisinden sonuçlanmaz. Isı etkisi ile peptid bağları üzerindeki rotasyonel kuvvetlerdeki olası artışın kombinasyonu, peptid bağlarının hidrolizini daha etkili bir

şekilde katalize edebilir ve bu şekilde daha az kararlı olan aminoasitlerin bütünlüğü korunur [3].

Biyolojik bir test, insanlar üzerinde sistem, doku, moleküller vs. gibi yapılar açısından yapılan çalışmadır. Bu proje, WiFi'dan yayılan EM ışımalara insanların maruz kalması sonucunda ne gibi biyolojik etkilerin ortaya çıktığını görmek için yapılmıştır. Bu projedeki çalışma daha çok proteinlerde meydana gelen biyolojik etkilere yönelmiştir. Proteinler canlı organizmaların temel bileşenleridir ve hücrelerin içinde meydana gelen her süreçte yer alırlar. Canlıların büyümeleri, üremeleri kalıtsal özelliklerini bir kuşaktan diğerine aktarmaları protein içeren maddeler aracılığı ile gerçekleşmektedir. Bununla beraber hormonlar ve vücudu zararlı organizmalardan koruyan antikorlar protein yapısındadır. Proteinler hücre haberleşmesi, bağışıklık sistemi, hücre bölünmesi vs. gibi bir sürü hayatsal süreçte yer almaktadırlar. Dolayısı ile insan vücudu için hayatsal öneme sahip olan proteinlerin yapısında meydana gelebilecek herhangi bir değişme proteinlerin aktivitesini değiştirip veya tamamen bitirip beraberinde ciddi sağlık sorunlarıda getirebilir.

Proteinler ve dolayısıyla insanlar üzerinde meydana gelebilecek biyolojik etkileri çalışabilmek için yumurta akı benzetim ortamı (fantom ortam) olarak kullanılmıştır. Deneysel çalışma, proteinlerin bütünlüğü ve dolayısıyla fonksiyonlarında meydana gelebilecek biyolojik etkileriler gözlemlemek için gerçekleştirilmiştir. Yumurta akı karbohidrat, yağ, su, mineral, vitamin ve yüksek miktarda protein içeren biyolojik kompleks bir yapı olup başta bu biyolojik karakteristikleri açısından insan dokusuna olan benzerliği baz alınarak kullanılmıştır. Ayrıca yumurta akının deneyde benzetim ortamı olarak kullanılmasının diğer nedenleri; termal özelliklerinin insan biyolojik ortamına benzerlik göstermesi ve koagüle/denatüre olmadığı (haraplanmamış) fazdaki şeffaf (berrak) yapısıdır çünkü bu şeffaf yapısı koagülasyon (haraplama) başlangıcının hemen görülebilmesine olanak tanımaktadır. Deneyler, yumurta akı örneklerini farklı sürelerde RF ışımasına maruz bırakılmasıyla gerçekleştirilmiştir. Kontrol ölçümleri hiçbir RF ışımasına maruz bırakılmayan yumurta aklarının floresans spektrofotometresinde ölçümlerinin alınmasıyla oluşturulmuştur. Kontrol ölçümlerinden ve RF ışımasına farklı sürelerde maruz bırakılan tüm yumurta akı örneklerinden elde edilen sonuçlar proteinler üzerinde meydana gelebilecek biyolojik etkiler açısından analiz edilip biribirleri ile karşılaştırılmıştır.

1.2 Literatür Araştırması

1.2.1 Giriş

Zaman ilerledikçe haberleşme şekli, kabloludan kablosuz biçime doğru değişmiştir. Günümüzde en ünlü kablosuz teknolojilerden biri WiFi'dır. WiFi ya da diğer adıyla kablosuz bağlanma (Wireless Fidelity) WiFi topluluğu tarafından lisanslanmıştır ve IEEE 802.11 tanımlamasını baz alarak kablosuz yerel alan ağlarının (Wireless Local Area Networks- WLAN) altında yatan teknolojiyi tanımlamaktadır.

Tipik bir WiFi kurulumu bir veya daha fazla erişim noktasına (Access Points-APs) ve bir veya daha fazla alıcıya sahiptir. Bir AP kendi servis seti tanımlayıcısını (Service Set Identifier-SSID) uyarı ışığı (beacon) adı verilen paketlerle her 100 ms'de yayımlar. Ayarlara göre alıcı, bir AP'ye bağlanıp bağlanmayacağına karar verebilir, alıcı WİFi kartı üzerinde çalışan aygıt yazılımı burada etkilidir. Örneğin, aynı SSID'nin iki APs'si alıcının kapsamındadır, aygıt yazılımı sinyal gücüne bağlı olarak iki APs'den hangisine bağlanacağına karar verebilir. WiFi standartları bağlanma kriterlerini tamamen alıcıya açık bırakmaktadır, bu da WiFi sisteminin avantajlarından biridir.

WiFi aslında yerel alan ağlarındaki dizüstü bilgisayarlar gibi mobil bilgi işlem cihazları için tasarlanmıştı ama günümüzde giderek artan bir şekilde daha çok internet, oyunlar, televizyon ve DVD oynatıcıları gibi tüketici elektroniğinin temel bağlantılarına benzer uygulamalar için kullanılmaya başlamıştır. Bilgisayar, telefon gibi WiFi cihazı olan biri bir erişim noktasının yakınında internete bağlanabilir. Bir veya daha çok erişim noktası tarafından kaplanan bölgeye bağlantı noktası denir (hotspot). Bağlantı noktaları küçük bir odadan üst üste binmiş olan bağlantı noktalarıyla kilometre kareler büyüklüğünde bir alana kadar değişiklik gösterebilir. WiFi ayrıca eşleşme modunda bağlantıya izin vererek cihazların direkt olarak birbirleri ile bağlanmasına olanak tanımaktadır [1].

1.2.2 EM dalga ışıması

WiFi, kablosuz merkez ünitesini kullanarak, mesafe üzerinden gerilim şeklinde ölçülmekte olan, bir elektrik alan oluşturan yüksek frekanslı radyo dalgaları yollar ve çevresine belli bir alandaki elektriksel enerji yoğunluğu şeklinde ölçülen elektriksel enerjiyi yollar. Bu yüksek frekanslı radyo dalgaları ve elektriksel enerji uzaklıkla

beraber azalır ve enerji küresel bir düzlemde yayıldığından daha geniş bir alan boyunca dağılım gösterir.

Elektromagnetik alanlar, hareket halindeki elektrik yükleri ile bağlantılı olan güç alanları olup hem elektrik hem de magnetik bileşenlere sahiptir ve sonlu miktarda elektromagnetik enerjiye sahiptir. İyonize olmayan elektromagnetik ışıma, elektriksel güç hatlarından, güç istasyonlarından, transformatörlerden, elektrikli aletlerden, mikrodalga kulelerinden, radyo, televizyon, bilgisayar terminallerinden vs. yayılmaktadır.

Elektrik Alan (EA) maruziyeti, bir metre üzerinden voltajdaki değişimi anlatan V/m şeklinde ölçülürken, Elektriksel Güç Akı Yoğunluğu (Electrical Power Flux Density-PFD) maruziyeti metrekare başına düşen Watt şeklinde (W/m^2) ölçülür. Yüksek frekanslarda dalga boyu kısa olduğundan dolayı elektromagnetik enerji Elektrik Alandan daha çok Elektriksel Güç Akı Yoğunluğu şeklinde değerlendirilir. Bunun sebebi EA, dalgaboyu mesafesinde veya birkaç dalgaboyu mesafesinde ya da birkaç kaynak ile fizylojik etkilere daha elverişliyken güç yoğunluğu uzak alanlar ile daha ilişkilidir çünkü Güç Akı Yoğunluğu ısıl etkilerin ifade edilmesinde değerlendirilir [1].

F. Batellier, ve diğerleri (2008,) fertilize tavuk yumurtalarını, arama modunda olan bir cep telefonuna tüm inkübasyon süresi boyunca maruz bırakmışlardır ve bu yumurtalarındaki etkileri çalışmışlardır. Deneysel çalışmalarında her biri 60 yumurtadan oluşan 4 inkübasyon serisini kullanmışlardır. Bu serilerden bir tanesi arama modundaki bir cep telefonunun hemen yakınına bırakılırken ($\leq$25 cm) (maruz bırakılan grup) diğer bir seri bu maruz bırakılan gruptan 1,5 m uzağa yerleştirilmiş ve kapalı modda olan aynı bir cep telefonununa maruz bırakılmıştır (taklit grubu). Bu iki grup için "kontrol 1" ve "kontrol 2" adı verilen ve yine altmışar yumurtadan oluşan başka 2 grupta standart mini bir inkübatörde inkübe edilmiştir. Deney sonucunda, maruz bırakılan grupta taklit grubuna oranla çok daha yüksek bir embriyo mortalitesi oranı gözlemlemişlerdir. Kontrol grupları ile karşılaştırıldığında maruz bırakılan grupta fazladan görülen embriyo mortalitesi temel olarak inkübasyon süresinin 9. ve 12. günleri arasında gerçekleşmiştir. Ancak elektrik alanın şiddeti ile embriyo mortalisenin arasındaki ilişkiyi belirleyememişlerdir [4].

D. I. de Pomeraia, ve diğerleri (2003), hacimsel ısıtma olmadan mikrodalga ışımasının protein konformasyonunda değişikliğe yol açabileceğini çalışmışlardır. Mikrodalga ışımasına olan maruziyetin in-vitro olarak zaman ve sıcaklığa bağlı bir şekilde sığır serum albümininin (bovine serum albumin-BSA) agregasyonunu arttırdığını ve ayrıca mikrodalga ışımasının 60°C'de sığır insülininde amiloid fibril oluşumunu teşvik ettiğini gözlemlemişlerdir. Protein konformasyonundaki bu değişikliklerin özgül emilen ışımanın (15^20 mW kg^{31}) alan modellemesi ile bağıntılı olan ölçülebilir sıcaklık değişimleri eşliğinde meydana gelmediğini söylemişlerdir. Hücresel proteinlerde meydana gelen bu sınırlı denatürasyonun, daha önceki gözlemleri olan Caenorhabditis elegans'ta ki (ipliksi solucan) ısı-şok proteinlerinin düşük cevaplarının mikrodalga maruziyeti sonucunda oluştuğunu açıklayabileceğini anlatmışlardır. Ayrıca sıcaklığa ve mikrodalga maruziyetine bağlı olarak gelişen ısı-şok cevaplarının RNA'nın ısı-şok faktör fonksiyonunu kesme müdahelesinden sonra bastırlıdığını göstermişlerdir [5].

N.J. English, ve diğerleri (2009), tavuk yumurta akı lizozimi üzerinde elektrik alanlarının dengeli olmayan moleküler dinamik çalışmasını gerçekleştirmişlerdir. Tavuk yumurta akı lizoziminin birçok çeşit mutantı üzerinde dengeli olmayan moleküler dinamik simülasyonları, değişen şiddetlerde hem dış statik elektrik hem de mikrodalga (2,45 GHz) alanlarının varlığında 300 K sıcaklıkta ve 1 bar basınçta gerçekleştirilmiştir. Sıfır-alandaki duruma kıyasla (zero-field state) proteinin ikincil yapısında meydana gelen belirgin değişiklikler gibi kayda değer ısıl olmayan alan etkileri belirlenmiştir. Her ne kadar su moleküllerinin dış alana gösterdiği dipolar uyumun da etkili olduğu bulunsa da bu durumun temel olarak proteinin total dipol momentinin dış alana uyum göstermesi ile oluştuğunu göstermişlerdir [6].

N.H. Ishak, ve diğerleri (2011), tarafından yapılan WiFi elektromagnetik ışımasının biyolojik etkiler adlı çalışma daha çok kan sayımı ve kan biyokimyası üzerindeki biyolojik etkileri analiz etmeye odaklanmıştır. Radyo sinyal jeneratörü 2,4 GHz olan WiFi frekansına ayarlanmış ve bu frekans bir anten vasıtasıyla 30 adet beyaz albino fare üzerine iletilmiştir. İnsanların normal şartlar altında aldığı WiFi sinyal miktarını canlandırmak için anten farelerden 1m uzaklığa yerleştirilmiştir. Işıma günde 8 saat olmak üzere 6 aylık bir periyod boyunca devam etmiştir. Biyolojik testler için kontrol grubu ve maruz kalan grup kan testi için 6 ay boyunca her ayın ikinci haftası

veteriner laboratuvarına götürülmüştür. Kan testleri, hematokrit (PCV), hemoglobin, kırmızı kan hücreleri, beyaz kan hücreleri ve kan biyokimyasında herhangi bir değişim olup olmadığını gözlemlemek için gerçekleştirilmiştir. Spektrum analizörü örnekler tarafından alınan RF sinyal seviyesini görüntülemek için kullanılmıştır. Bu yapılan araştırmada 30 erkek fare ışımadan 1m uzaklığa yerleştirlirken başka bir 30 erkek farelik grup ışımasız bir ortamda tutulmuştur. Sonuçlar patoloji laboratuvarı, kan sayımı ve biyokimya laboratuvarı olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Test sonuçlarında bazı organların hücrelerinde histopatolojik yollarla dejenerasyonlar meydana geldiği görülmüştür [1].

E. Bismuto, ve diğerleri (2003), mikrodalga ışıması sonucunda miyoglobinin konformasyonel dinamiklerinin ve ligand bağlama özelliklerinin etkilenip etkilenmediğini araştırmışlardır. Çalışmalarında kablosuz mikrodalga iletişiminde kullanılan 1,95 GHz frekansında ki mikrodalga ışımasının *Tunnus tynnus* miyoglobinin yapısal ve fonksiyonel özellikleri üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Protein çözeltisini 2,5 saat boyunca 51 mW/g SAR düzeyinde ışımaya maruz bırakmışlardır. Absorpsiyon spektroskopisi, dairesel dikroizm ve frekans alanında floresans emisyon azalım ölçüm sonuçları ışımanın protein makromoleküllerinin doğal yapısı üzerinde bir etkisinin varlığını göstermemiştir [49].

ð

2. TEORİ

2.1 Amaç

Elektromagnetik ışıma, salınım yapan elektrik ve magnetik alanların karışımından oluşan veya elektriksel olarak yüklü partiküllerin bir boşluk veya madde üzerinden geçişi ile oluşan bir enerji türüdür.Elektrik ve magnetik alanlar birbirlerine dik açıda gelirler ve birleşimiş dalga hareketi hem magnetik alana hem de salınmlı elektrik alana dik şekilde hareket eder. Elektron ışıması fotonlar halinde salınır. Fotonlar ışık hızında giden, ışık enerjisi demetleridir. Elektromagnetik spektrumda, bu enerji dalga boyuna bağlı olarak kategorilere ayrılmıştır. Elektrik ve magnetik dalgalar birbirlerine dik şekilde ilerlerler ve dalga boyu, frekans ve genlik gibi karakteristiklere sahiplerdir.

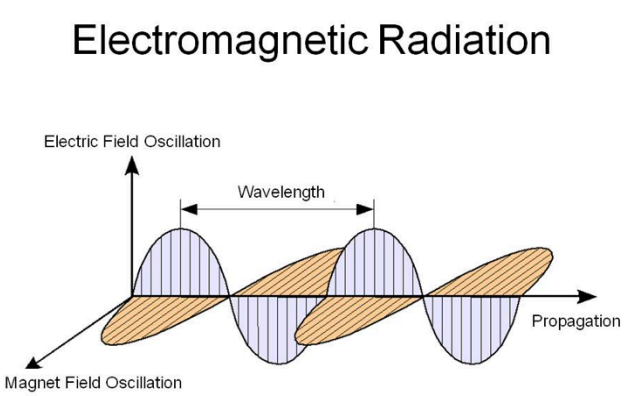
Elekromagnetik ışımanın genel özellikleri;

1. Elektromagnetik ışıma boşlukta hareket edebilir. Diğer çoğu dalga türü bir çeşit madde üzerinden hareket etmek zorundadır. Örneğin; ses dalgaları, çıktıkları kaynaktan katı, sıvı veya gaz bir ortam üzerinden hareket etmeleri ile duyulabilirler.

2. Işığın hızı herzaman sabittir. (Işık hızı: $2{,}99792458 \times 10^{8}$ m s^{-1})

3. Dalga boyu, dalgaların tepeleri ve dipleri arasındaki uzaklıktan ölçülür ve genellkikle λ şeklinde gösterilir [7].

EMA; belli bir frekansta salının gösteren belli bir dalga boyuna sahip olan bir dizi dalga şeklinde de tanımlanabilir. EMA'lar çok geniş bir frekans aralığına sahiptirler. Bu aralık birkaç yüz metre dalga boyuna sahip alçak frekanslı elektrikli ikmal hatlarından, radyo ve görünebilir ışık frekanslarına ve boyu bir metrenin trilyonda biri ile ifade edilebilecek kadar kısa dalga boyuna sahip olan yüksek frekanslı X ışınlarını kapsamaktadır [8].



Şekil 2.1 : Elektromagnetik ışıma [54].

Genlik; dalganın boyunu gösterir. Yüksek genlik yüksek enerjiyi, düşük genlik düşük enerjiyi gösterir.

Dalga boyu; salınımın bir tam devrinin üzaklığını gösterir. Radyo dalgaları gibi uzun dalga boyları düşük enerji taşırken X ışınları gibi kısa dalga boyları yüksek enerji taşır. Dalga boyu frekans ilişkisi;

$$c = \lambda f \tag{2.1}$$

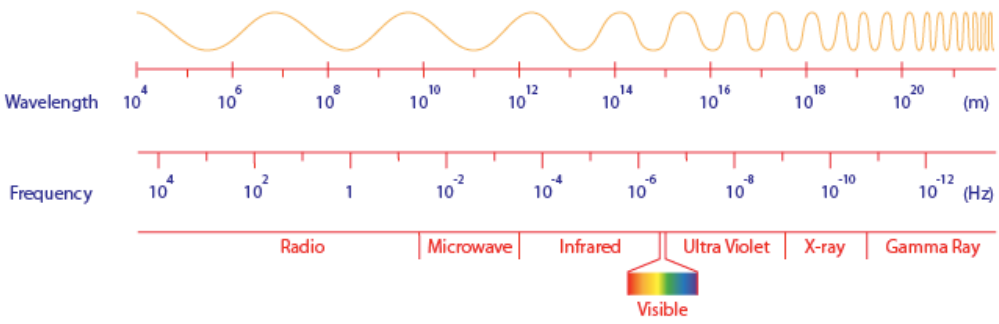
Bağıntıda c ışık hızı, λ dalga boyu, f frekans şeklinde karakterize edilir. Kısa dalga boyları yüksek frekans, yüksek frekans yüksek enerji anlamına gelir.

Frekans; bir saniyedeki döngünün sayısıdır ve s^{-1} veya Hertz (Hz) şeklinde gösterilir. Frekans direkt olarak enerji ile ilişkilidir.

$$E = hf \tag{2.2}$$

Bağıntıda E enerji, h Plank sabiti (4,14 x 10^{-15} eV.s), f frekans şeklinde karakterize edilir.

Periyod (T): bir dalganın bir dalga boyu kadar ilerlemesi için gerekli olan süredir, saniye (s) şeklinde ölçülür.



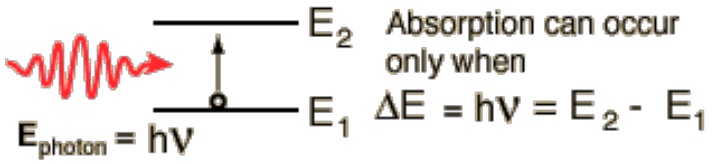
Şekil 2.2 : Elektromagnetik Spektrum [7].

Genelde dalga boyu yükseldikçe frekans düşer ve dalga boyu arttıkça frekans azalır. Elektromagnetik enerji yayımlandığında, enerji seviyesi arttıkça dalga boyu ve frekans düşer. Bu sebeple elektromagnetik enerji dalga boyu veya frekansa bağlı olarak elektromagnetik spektrumda kategorilere ayrılmıştır.

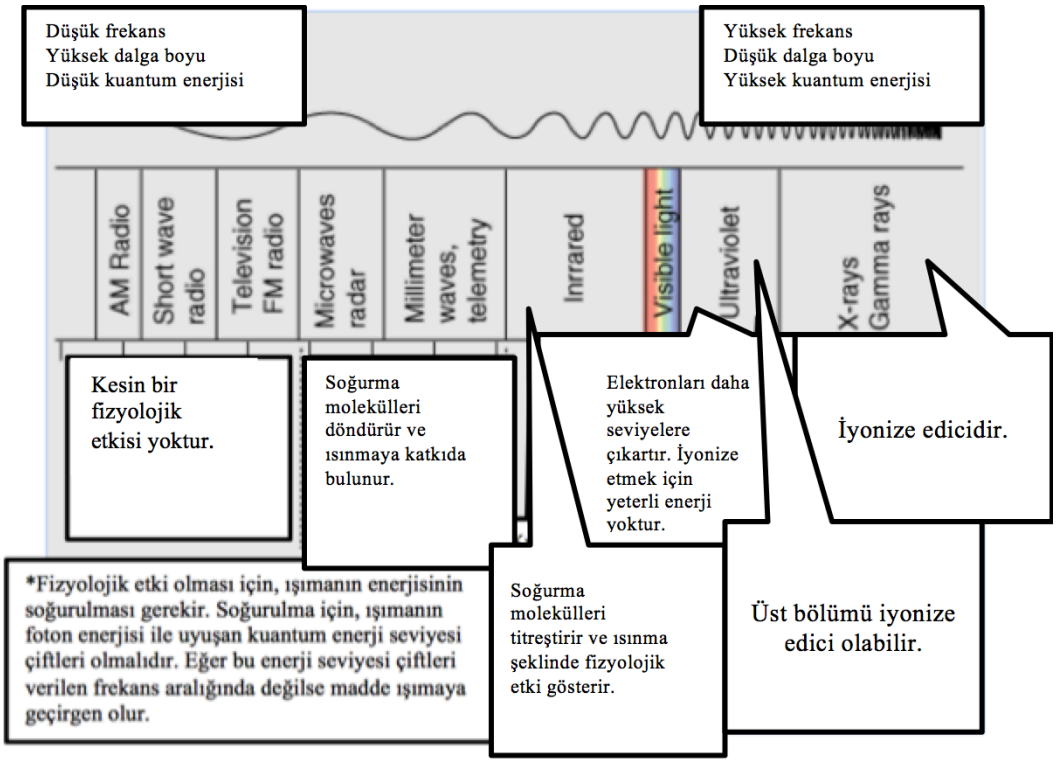
Elektromagnetik ışıma dalga veya bir partikül (foton) gibi davranabilir. Bir dalga olarak hız, dalga boyu ve frekans ile temsil edilir. EM dalgaların hızının ışık hızına eşit olmasından dolayı ışıkta bir EM dalgadır. Bir partikül olarak EM ışıma enerji taşıyan bir foton olarak temsil edilir. Bir foton soğurulduğu zaman elektron bulunduğu enerji seviyesinden yukarı çıkar, elektronun tekrar kendi seviyesine geri dönmesi için bu enerjinin bırakılması gerekir. Bu sebeple her atom kendisine ait farklı enerji seviyesi setlerine sahiptir ve dolayısıyla her element farklı frekanslarda soğurma ve yayım yapar [7].

- **Geçirgenlik**

Örneğin; bir parça cam görülebilir ışığa karşı geçirgendir çünkü camdaki soğurma yapacak elektronların fotonların kuantum enerjisi aralığına uygun enerji seviyeleri yoktur. Fotonların kuantum enerjileri, soğurulabilmeleri için enerji seviyesi aralıklarıyla eşleşmelidir [53].



Şekil 2.3 : Fotonların kuantum enerjileri, soğurulabilmeleri için enerji seviyesi aralıklarıyla eşleşmelidir [53].



Şekil 2.4 : Işıma ve insan vücüdu [53].

Modern hayatta insan ihtiyaçları ile teknolojideki gelişmeler birleştiğinde elektromagnetik dalga üreten cihaz kullanımının her geçen gün yaygınlaşmasından dolayı günlük yaşantıda elektromagnetik dalgalara olan maruziyeti arttırmaktadır. Bu cihazların haberleşmede kullanılan bölümü 10kHz - 3GHz frekans bandında yer almaktadır. Bu kaynaklardan yayılan enerjiye elektromagnetik ışınım (emisyon) adı verilir. Yaklaşık 1000 GHz ve üzerindeki ışınımlar ise tehlikeli ışınım sınıfına girmektedir.

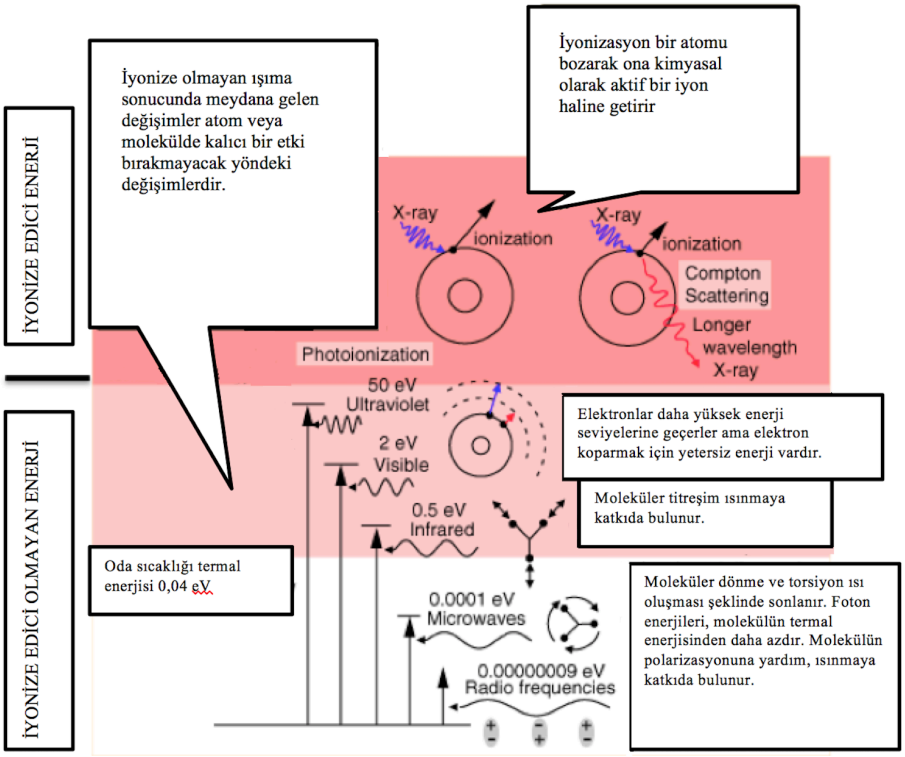
EM dalgalar, sahip oldukları güce bağlı olarak enerjilerini fotonlar yoluyla, dalgaların özelliklerine bağlı olarak değişik oranda canlıya aktarırlar. Elektromagnetik alan ışınımları iyonlaştıran ve iyonlaştırmayan ışınım olarak ikiye ayrılırlar. Bu sınıflandırma elektromagnetik dalgaların alan şiddetine (gücü), fotonun enerjisine bağlı olup frekansına ve enerjisine göre yani canlılara etki derecesine göre yapılmaktadır.

I. İyonlaştırıcı Işınım (Ionizing radiation): Bu elektromagnetik dalgalar hücrelerdeki molekülleri bir arada tutan atomik bağları iyonlaştırmaya yetecek yani atomlardaki proton ve elektron yüklerini bir arada tutan yüksüz nötrona etki ile atomun yapısını bozmaya yetecek foton enerjisine sahip yüksek frekanslı (10^{14} Hz'den büyük) elektromagnetik dalgalardır. Bu dalgalara örnek olarak, röntgen (X

ışını) ve Gamma ışınları verilebilir. Bazı kaynaklara göre ultraviyole (UV) ışınları da bu sınıfta değerlendirilmektedir. Bu ışınımlar minimum 12 eV'tan (elektron volt) başlayan enerji değerlerine sahiptir. Bu ışınımlara aşırı maruz kalmak, canlı hücrelerde bulunan organellerin hasara uğraması ve DNA zincirinin bozulması gibi tehlikeli durumlara sebep olabilmektedir.

II. İyonlaştırmayan Işınım (Nonionizing radiation): Bu ışınımlar atomik bağların kırılması için gerekli enerjiye sahip olmayan fotonların oluşturduğu elektromagnetik dalgalardır. Bu dalgalara; görünür ışık, kızıl altı, RF, mikrodalgalar gibi statik ve magnetik alanlar verilebilir. Bu ışınımlar frekans tayfının 1 Hz'den başlayarak yaklaşık 1000 GHz'e kadar olan bölümünü kapsarlar. Ölçülen enerji düzeyi de örneğin 300 GHz' de 0,00125 eV olup iyonlaştırma yapmak için gerekli olan değerlere göre çok düşük değerdedir.

Bu alanlar; mesafe, güç, ve maruziyet süresi gibi faktörlere bağlı olarak vücutta ısıl etkiye sebep olabileceği gibi bazi biyolojik etkilere de sebep olabileceği öne sürülmektedir. Kansorejen etkisi henüz ispatlanmamıştır.



Şekil 2.5 : EM ışımanın maddeyle etkileşimi [53].

2.2 Maruziyet ve Maruziyet Kaynakları

Elektromagnetik ortam; doğal ve yapay elektromagnetik olarak iki sınıfta incelenmektedir.

Doğal elektromagnetik ortam: Uzay ve güneşteki ışınım ile dünya atmosferindeki elektriksel boşalmalar gibi iç ve dış kaynaklardan ileri gelmektedir. Bu doğal elektromagnetik alanlar gelişigüzel ve geçici olan, çok yüksek alan değerlerine sahip veya aşırı gürültülü patlamalar oluşturan çok geniş bir frekans bandına sahiptir.

Yapay elektromagnetik ortam: İnsan yapımı Radyo frekanslı sistem ve cihazlardan oluşmaktadır.

Elektromagnetik alan maruziyeti;

- Güç yoğunluğu,
- Mesafe,
- Maruziyet süresi ve tipi (yakın veya uzak alan),
- Kaynağın frekansı,
- Elektrik ve magnetik alan büyüklüğü,
- Modülasyon (sürekli dalga veya darbe modülasyonu) gibi fiziksel özelliklere göre belirlenmektedir.

Biyolojik sistemlere gerçekleşen maksimum RF enerji iletimi;

- Biyolojik dokulara enerji girimi (nüfuz) ve bu enerjinin dağılımı,
- Enerji emilimi,
- Güç depolanması,
- Oluşan elektrik ve magnetik alan tarafından belirlenebilir.

Bu durumların oluşma miktarı vücudun büyüklüğü ve fiziksel şekliyle bağlantılı olarak değişiklik göstermektedir. Toplam etki, vücutta aynı yoğunlukta veya bölgesel veya vücudun farklı uzak bir bölümünde ya da tüm vücudun maruziyeti olarak değişebilir ve genel anlamda dokuların ısınması olarak kabul edilir. Isıl etki; bölgesel, kısmi ya da tüm vücudun maruziyetinden kaynaklanan biyolojik sistemlerde enerji emilimi veya RF enerji depolanması yoluyla gerçekleşir. Maruziyet yolu ile gerçekleşen vücuttaki bu emilim; vücudun elektriksel iletkenliğine, elektriksel geçirgenliğine ve kütle özelliklerine de bağlıdır [9].

2.3 Elektromagnetik Alan Maruziyeti Sonucu Oluşan Biyolojik Etkiler

Elektromagnetik ışıma, dalgaların özelliğine bağlı olarak da birkaç kategoriye ayrılabilir. Bu kategorilerden bir tanesi sürekli dalga (continuous wave) maruziyetidir. Devamlı dalga (CW) maruziyeti, çok düşük frekans bandlarında (ELF band) vücutta akım indüksiyonundan, RF ablasyonu için ısıl enerji indüklenmesine kadar değişen bir kategoridir. Diğer taraftan devamlı olmayan dalgalara (non-continuous waves) (darbeli veya darbe modülasyonlu olan) olan maruziyetin biyolojik sistemler üzerinde farklı bir etkisi vardır. Bu tür etkilerin ölçüleri; şiddet, darbe şekli ve genişliği ile darbe sekansı (dizilimi) tipine bağlı olarak değişmektedir. Isıtma etkisine bağlı olarak iyonize etmeyen ışınımlar, ısıl ve ısıl olmayan tipler halinde sınıflandırılabilirler. Isıl etki, vücutta veya dokularda enerji soğrulmasına bağlı olarak ısı indüklenmesi şeklinde meydana gelir. Isıl olmayan etkiler ise vücut hücrelerinin ya da dokuların elektrik alanlarla veya magnetik alanlarla direkt olarak etkileşimi sonucunda oluşur [10].

2.3.1 Isıl etkiler

Elektromagnetik alanlara maruziyet sonucunda meydana gelen ısıl etki başta elektromagnetik alanın büyüklüğüne bağlı olan yukarıda sayılan fiziksel özelliklere de bağlı olarak, atomların bir araya gelerek oluşturduğu moleküller ve moleküllerin bir araya gelerek oluşturduğu içinde enzim, protein, DNA-RNA, mitokondri ve ribozom gibi organelleri barındıran ve çoğunlukla sudan oluşmuş bir ortam olan hücrelere harici enerji yüklemesine sebep olur.

Canlılarda, hücrelerin bir araya gelmesi ile dokular, dokuların bir araya gelmesi ile organlar, organların bir araya gelmesi ile de organizmalar yani canlı sistemler meydana gelmektedir. Canlılarda bulunan her dokunun özellikleri birbirinden farklılık gösterir. Örneğin; yumuşak ve sert dokuların her birinin ayrı yoğunluk ve iletkenlik değerleri vardır. Bir foton enerjisini hücreye aktardıktan sonra geliş istikametinde doğru hücre içindeki suyu harekete geçirir. Suyun titreşimi dalganın frekansına göre değişklik gösterir. Örneğin; 1 saniyede, 10 Hz'de 10 defa, 500MHz'de 500 milyon defa suyu iter. Moleküllerin titreşiminden dolayı dolayı oluşan sürtünme, ısı enerjisine dönüşür ve bu durum hücrede ısı artışı ile sonuçlanır. Sonuç olarak, elektromagnetik alanların canlılara etkilerinden biri olan ısıl etki bu yolla meydana gelir.

RF enerjisine maruziyetten kaynaklanan ısıl etki tek başına yeteri kadar önemli değildir, burada asıl önemli nokta ısıl etki sonucunda meydana gelen ısı artışının zamana göre hızıdır. Bu da dokunun özgül emilim oranı (SAR) ile orantılıdır. Çok uzun maruziyet sonucunda meydana gelen ısı artışı; biyolojik yapıya, dokuya gelen dalga açısına, dokuların ısı düzenleme tepkisine ve aktif telafi sürecine bağlıdır. RF enerji emilimi, vücudun bir kısmının veya bir bölgesinin maruziyeti sonucunda çok fazla ise bu bölgede hızlı ısı artışı ve sonuç olarak yerel doku hasarı gerçekleşebilir [9]. Prensipte, ısı girişi ile ısının iletimi ve dağıtılması sonucu azaltılması arasındaki oran dengelenene kadar sıcaklık artışı devam eder. Sıcaklık dengesine ulaşılması birkaç dakika sürebilir. Bu yavaş tepki göz önüne alındığında, dışardaki bir alana maruziyet sonucunda oluşan bu sıcaklık dengesi, emilen gücün ortalaması olarak tanımlanır.

Belirli bir kütle tarafından soğurulan, artan bir elektromagnetik gücü değerlendirmek için, özgül emilim oranı "SAR"; artan bir enerjinin (dW), bu enerjiyi soğurmakta olan, belirli bir özkütleye sahip ve bir hacim ihtiva eden artan bir kütleye göre zamana bağlı türevidir (ρdV).

SAR yani elektromagnetik güç soğurulma oranı, biyolojik termal yanıtın ölçülmesi için kullanılan kriterlerden bir tanesi olarak kabul edilmektedir.

Elektromagnetik alana maruz kalan bir dokunun sıcaklığı, ısı soğurulma oranının bu ısının dağıtılma oranı ile dengelenmesine kadar artmaya devam edecektir. Sıcaklık azalması, diğer dokulara iletim, kan perfüzyonu ile dağılım ve çevre dokulara ışımaya bağlı olarak gerçekleşir. SAR ile maruziyet sonucu oluşan sıcaklık artışı arasındaki ilişki karmaşıktır ve birçok parametreye bağlıdır. Pennes tarafından geliştirilen genel sürekli ısı emilimi modelinin (The traditional continuum heat-sink model), birçok durum şartları altında dikkate değer sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir.

$$\rho c \frac{dT}{dt} = \nabla k.\nabla T + \rho_b c_b w_b (Ta - T) + \rho_m \qquad \textbf{(2.3)}$$

Bağıntıda ρ doku yoğunluğu (kg/m^3), c dokunun ısıl kapasitesi (J/kg.K), T dokunun sıcaklığı, k dokunun ısıl iletkenliği (W/m.K), ρ_b kan yoğunluğu (kg/m^3), c_b kanın ısıl kapasitesi (J/kg.K), ω_b kan perfüzyonu, ρ_m metabolik ısı hacmi şeklinde karakterize edilir.

Yeni yapılan bazı çalışmalar, Pennes'in perfüze dokularda ısı modellemesinin, akan kan ve onu çevreleyen doku arasındaki gerçek ısı dengelenme sürecinde

sayılamayacağı konusunda tartışmaktadırlar. Dolayısıyla, perfüze dokular için daha gerçekçi anatomiyi temel alan yeni modeller gerekmektedir. Damarların ayrı ayrı ısıl dengelenme uzunluğunun ölçülmesi, canlı bir dokuda ısı transfer mekanizmalarının açıklanabilmesine destek olur. Damarlar ile onları çevreleyen dokuların sahip olduğu enerji arasındaki ısı transferi miktarı, ve bunların sıcaklıkları, dokunun kendi ısıl alanından etkilenmezler bununla beraber küçük damarlar doku ile neredeyse ısıl dengeyi sağlamışlardır. Chen ve Holmes modeli, kan damarlarını iki ayrı grup halinde kategorize etmiştir; geniş damarlar ve küçük damarlar. Geniş damarlar ayrı ayrı değerlendirilirken, küçük damarlar boyutlarının küçük olduğu göz önüne alınarak doku da dahil olmak üzere sürekliliğin bir parçası olarak kabul edilirler. Weinbaum, çok sayıda spesifik damar konfigurasyonu için kan damarının ısıl denge uzunluğunu değerlendirmiştir ve bu değerlendirmenin sonuçları da kanın doku ile olan ısıl dengesinin kapiller damarlarda gerçekleşmediğini buna karşı bu dengenin 0.2-0.5 mm çapına sahip damarlarda gerçekleştiğini göstermiştir. Bu argümanlar, Penne'nin biyo-ısı modelinin altında yatan varsayımını (kan damarları ile çevre dokular arasındaki enerji değişiminin özellikle kapillerlerin duvarlarında gerçekleştiği) yanlış olduğunu göstermiştir. Ancak, deneyler için gereken temel bilgi eksikliğinden ve karmaşıklıktan dolayı, Penne'nin modeli hala canlı dokularda biyo-ısı transferi modellenmesi için en iyi pratik yaklaşım modelidir.

Isıl etkilerin düzenlenmesi amacıyla RF maruziyet kılavuzları, belli bir seviyenin altında olan ve vücut dokuları tarafından emilen enerji seviyelerini sınırlamak için tanımlanmıştır. Uluslararası İyonize Olmayan Radyasyondan Korunma Kurulu (The International Commission on Non-Ionising Radiation Protection (ICNIRP)), Sağlık Koruma Ajansı (Health Protection Agency (HPA)), Federal İletişim Komisyonu (Federal Communications Commission (FCC)) ve Elektrik ve Elektronik Mühendisliği Enstitüsü (Institution of Electrical and Electronic Engineering (IEEE)) kontrollü ve kontrolsüz ortamlar için kendi kılavuzlarını oluşturmuşlardır. IEEE kılavuzu daha sonra düzeltilmiş bir versiyonu olan IEEE standartları C95.1 – 2005 ile değiştirilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'nde FCC satılan telefonların 1.6W/kg (1 gram'a eşdeğer doku hacmine göre) ya da bu değerden daha düşük SAR seviyesine sahip olmasını talep etmektedir. Öbür taraftan Avrupa Birliğinde SAR limiti 10 gram dokuya göre ortalama 2W/kg olarak belirlenmiştir. Bu bölgesel SAR değerlerine ilave olarak tüm vücut hacmi üzerinden yapılan SAR ortalaması genel kriter olarak kabul edilmektedir. Bu sebeple, mesleki maruziyetler için yeterli

korunma sağlanması amacıyla bütün vücut ortalama SAR değeri 0,4W/kg sınırlanmıştır [10].

İnsanlarda ve laboratuvar hayvanlarında, normal şartlar altında 1°C'lik sıcaklık artışının, 4W/kg'lık SAR değerinden kaynaklandığı tespit edilmiştir. Ancak oluşan bu ısı artışı, insanın ısı düzenleme kapasitesi aralığı içinde dengelenebilir. Aynı SAR değeri, ortamda mevcut olan ısı ve nem gibi çevresel şartlar ile beraber izin verilen normal seviyenin çok üzerinde ısı artışlarına sebep olabilir. Bu durumun sonucu olarakta istenmeyen ısı baskısından dolayı vücuttaki tepkiler hızlanabilir. ICNIRP kılavuzunda insan için 1°C'likısı artışı referans alınmıştır ve bu eşik değerinin aşılması zararlı olarak kabul edilmektedir [9].

2.3.2 Isıl olmayan etkiler

IEEE' nin C95.3-2005 standartlarına göre ısıl olmayan etkiler; elektromagnetik enerjinin soğurulması sonucunda meydana gelen ve ısı üretimi ile ya da sıcaklıkta ölçülebilir bir artışla bağlantısı olmayan ve bu gibi etkilere dayanmayan etkiler olarak tanımlanmıştır.

Her ne kadar RF ışınımlarından kaynaklanan enerji, atom ve moleküllerin iyonizasyonu için yeterli büyüklükte olmasa da, ısıl olmayan biyolojik etkiler bu enerji seviyelerinde gerçekleşebilmektedir. RF alanına maruz kalan biyolojik sistemdeki elektrik alan etkisi, termal gürültü (Brown hareketi: bir sıvıda yüzen veya asılı halde duran parçacıkların rastlantısal hareketi) ile örtülmezse, bu etkiler tespit edilebilir.

Isıl olmayan etkiler arasında en rahat tespit edilebilen etki, iyon akışıdır. İyon akışı; kalsiyum iyonlarının dışarıda olan değişken bir elektrik alanın etkisi altında hareketini anlatır. Ancak, bu iyonların hareketi, çevrelerinde bulunan sıvıların viskozitesinden dolayı ciddi bir şekilde azalır. 100V/m' lik bir elektrik alanla karşılaşan iyonların hareketinin 10^{-14} m'den az olacağı konusunda fikir birliğine varılmıştır.

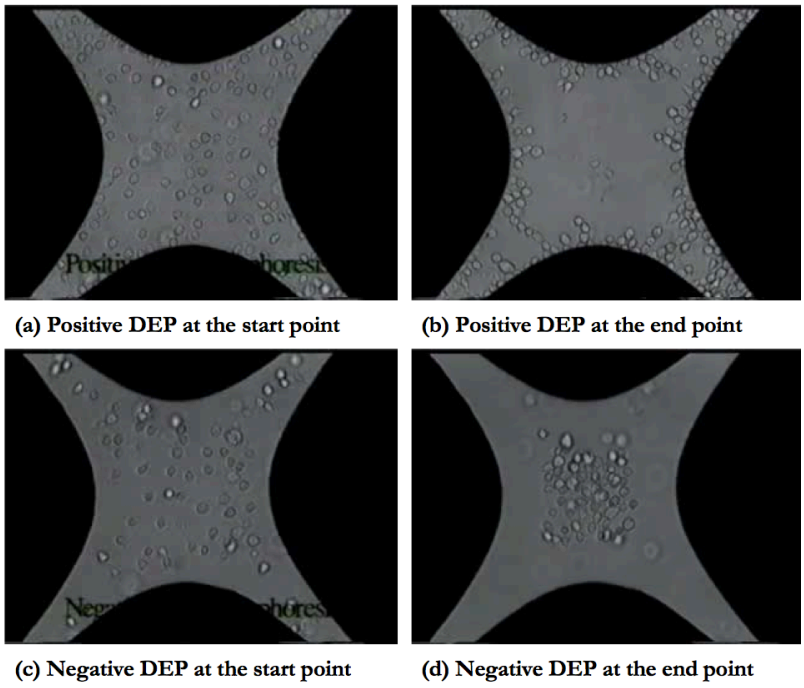
Başka bir mekanizma ise bir elektrik alan varlığında hücrelerin polarizasyonudur. Yüzey hücrelerinde indüklenen yük sebebiyle, hücre bir elektrik dipolu haline gelir ve polarize olmuş hücreler gibi davranmaya başlar. Hücrelerin translasyonel hareketi; dielektroforez, rotasyonel hareketi; elektrorotasyon olarak adlandırılır. Bu hareketler de, hücrenin dielektroforetik gücü ve elektrik torkuna bağlı olarak ölçülür.

Elektromagnetik alana maruz kalmanın sonucunda oluşabilecek ısıl olmayan üç olay vardır;

- Dielektroforez
- Elektroporasyon
- İyon kanallanması [10].

2.3.2.1 Dielektroforez

Dielektroforez, polarize olmuş parçacıkların düzgün olmayan bir elektrik alan uygulanmasına bağlı olarak hareketidir. Partiküller polarize olabilme özelliklerine göre, dışarıdan uygulanan değişen elektrik alanda polarize olurlar ve düzgün olmayan elektrik alanda hareket ederler. Dielektroforez, normal elektroforez tekniğinden dışarıdan uygulanan değişen elektrik alan ile ayrılır. Normal elektroforezde ise bu elektrik alan statiktir yani durağandır. Dielektroforez tekniği hücre etkilemede ve partikül ayırmada geniş olarak kullanılan bir tekniktir.
Düzgün olmayan bir elektrik alanda, pozitif dielektroforetik gücün etkisi altında kalan parçacıklar elektrod üreterek elektrik alana doğru çekilirlerken negatif dielektroforetik gücün etkisinde kalanlar ise itilirler [10].



Şekil 2.6 : Pozitif ve Negatif dielektroforez. (a) ve (b) pozitif edilektroforezin pariküller elektrodlara doğru çektiğini göstermektedir.(c) ve (d) negatif elektroforezin partikülleri elektrodlardan uzaklaştırdığını göstermektedir [10].

Dielektroforetik güç ; düzgün olmayan bir elektrik alan ile onun bir maddede oluşturduğu dipol momenti arasındaki etkileşimdir. En tipik durum kayıplı dielektrik küresel bir parçacıkta dipol indüklenmesidir. Bu durumdaki güç (parçacığın elektrik alanın düzgünsüzlüğünden daha küçük olduğu durumlarda) şu şekilde verilir;

$$F = 2\pi\varepsilon_m R^3 \,\mathrm{Re}[\underline{CM}(\omega).\nabla\underline{E}^2(r,\omega)] \qquad \textbf{(2.4)}$$

Bağıntıda F dielektroforetik güç için dipol yaklaşımı, ε_m küreyi çevreleyen ortamın elektriksel geçirgenliği, R partikülün yarıçapı, ω uygulanan alanın radyan (açısal) frekansı, r uzaysal koordinat, $\underline{E}$ uygulanan kompleks elektrik alan, $\underline{CM}$ Clausius-Mossotti faktörü (kayıplı dielektrik düzgün bir küre için).

$$\underline{CM} = \frac{\underline{\varepsilon_2} - \underline{\varepsilon_1}}{\underline{\varepsilon_2} + 2\underline{\varepsilon_1}} \qquad \textbf{(2.5)}$$

ε_1 ve ε_2; sırasıyla ortamın ve parçacığın kompleks elektriksel geçirgenliğidir ve her biri; $\underline{\varepsilon} = \varepsilon + \frac{\sigma}{(j\omega)}$ eşitliği ile elde edilir. Bu eşitlikte ε; ortamın veya parçacığın elektriksel geçirgenliği, σ; ortamın veya parçacığın iletkenliği ve $j;\sqrt{-1}$ 'dir. CM faktörünün işaretine bağlı (+ veya -) olarak dielektroforetik güç, ya parçacıkları elektrik alan maksimumuna doğru iter (pozitif DEP, pDEP) ya da minimuma doğru iter (negatif DEP, nDEP) [11].

Hücre membranları ile ilişkili olan biyolojik etkiler RF maruziyeti durumlarında da gerçekleşir. Membranların, kimyasal reaksiyonlarda aktif olan çok sayıda iyona karşı olan seçici geçirgenliği, hem elektriksel potansiyeller ile hem de kimyasal sinyaller ile kontrol edilir. Buna ilave olarak membran üzerinde geniş gözeneklerin oluşumu, belirli bir eşik değerine kadar uyarılan membran potansiyeli ile başlatılabilir [10].

2.3.2.2 Elektroporasyon

Elektroporasyon; bir hücrenin elektriksel darbeye maruz kalması sonucunda sıvı gözeneklerin hücre membranında odaklanması (focussed) ile hücrenin geçirgen hale gelmesine verilen isimdir. Şiddetli bir elektrik alan hücre membranını parçalayarak hücrenin çözülmesine (lizisine) sebep olabilir. Eğer elektrik alana maruziyet yeterince küçükse, membran muhtemelen gözenekli halinden itibaren düzelmeye başlar ve zarın iki tarafındaki moleküller için hemen bir kanal sağlar.

Elektroporasyonun asıl sebebinin, dışarıdan uygulanan elektrik alanından etkilenen transmembran potansiyeli olduğu düşünülmektedir [10].

2.3.2.3 İyon kanalları

İyon kanalları yani membrana gömülmüş olan proteinler, iyonların akışını iletir ve kontrolünü sağlar ve bu şekilde diğer hücrelerin dış yüzeylerinin potansiyellerine göre, membran boyunca küçük negatif bir gerilim elde eder (80 mV). İyon kanalları, sodyum ve potasyum gibi spesifik iyonları iletimini gerçekleştirir ve bu iyonları membrandan bir yönde transfer eder. Geçişin gerçekleştiği pora erişim, kimyasal veya elektriksel sinyaller ile açılıp kapanabilen "kapılar" tarafından yönetilir. Biyoelektromagnetik problemlerine de genellikle dahil olan kontrol kapısı (controlling gate) ise gerilim kapısıdır. Bu kanallar transmembran potansiyelini anlayarak depolarizasyona veya hiperpolarizasyona cevap olarak açılıp kapanırlar, tıpkı sinirlerde ve kaslardaki sodyum-potasyum voltaj kapılı kanallar gibi [10].

2.4 Dozimetri Kavramı

Elektromagnetik alanların biyolojik dokular üzerindeki etkilerini anlayabilmek için vücudün çeşitli kısımlarındaki maruz kalan alanların büyüklüğünü belirleyebilmek gereklidir. Bunun için de, farklı tipteki dokuların dielektrik özellikleri, sinyal tipi, alan kuvveti ve diğer parametrelerin bilinmesi gerekir.

Belirli bir kütleye sahip olan bir dokudaki elektromagnetik enerji emiliminin değerlendirilmesi, ortalama alan kuvveti ile birlikte belirli bir bölgedeki dokunun elektriksel özelliklerinin kullanılması ile gerçekleştirilir [10].

2.4.1 Özgül soğurma (Spesific Absorption-SA)

Elektromagnetik alanların biyolojik yapılar ile etkileşiminin karakterizasyonu, genellikle bir dozimetrik parametre olan SAR ile değerlendirilir. Ancak, biyolojik yapılar bir darbeli alana maruz bırakıldığında darbe süresi boyunca biyolojik yapı tarafından emilen toplam enerji ile de ilgilenilmektedir, bu da enerji emilimini tanımlayan başka bir parametre gerektirmektedir. Bu sebeple Özgül Soğurma, belli bir öz kütleye sahip ($\rho \cdot dV$) olan bir hacim ihtiva eden artan bir kütle tarafından emilen artan enerjinin (dW) bir bölümü olarak tanımlanmaktadır ve SAR'ın bir tamamlayıcısı olarak açıklanır. Birçok çalışma SA'yı biyolojik yapılardaki enerji

birkimini değerlendirmek için kullanmaktadır. Özgül Soğurma, darbe süresi boyunca enerjinin integralinden elde edilmektedir. Enerji;

$$W = \int P.dt \tag{2.6}$$

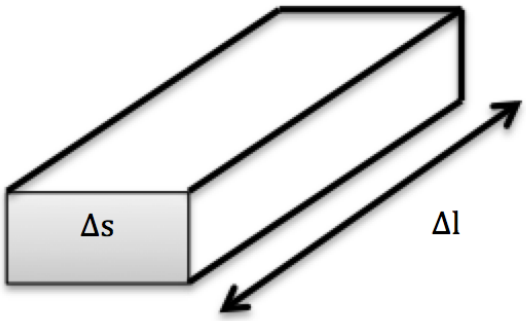
Bu bağıntıda W enerji, P güç şeklinde karakterize edilir.

$$P = U \cdot I \tag{2.7}$$

Bu bağıntıda U birim hacim üzerine düşen gerilim, I birim hacimden geçen akım şeklinde karakterize edilir.

$$U = \vec{E} \cdot \Delta l \tag{2.8}$$

Bu bağıntıda E hacimdeki akım, Δl birim hacim uzunluğu şeklinde karakterize edilmektedir.



Şekil 2.7 : Birim hacim uzunluğu ve birim hacim alanının gösterimi.

$$I = \vec{J} \cdot \Delta s \tag{2.9}$$

Bu bağıntıda J hacimdeki akım yoğunluğu, Δs birim hacim alanı şeklinde karakterize edilir. Bu sebeple bu birim hacim için;

$$\Delta s \times \Delta l = \Delta V = 1 \tag{2.10}$$

$$P = \vec{E} \cdot \vec{J} \cdot \Delta V = \vec{E} \cdot \vec{J} = \sigma |E|^2 \tag{2.11}$$

Bu eşitlik **(2.6)** no'lu denklemde yerine konup ayrıştırılırsa;

$$W = \int \sigma |E|^2 \, dt = \sum_{i=1}^{n} \sigma |E_i|^2 \cdot \Delta t \quad (J/m^3) \tag{2.12}$$

(2.12) no'lu denklem "i" artan zaman basamağını gösterirken şu şekilde yazılabilir;

$$Enerji = \sum_{i=1}^{n} \sigma |E_i|^2 \cdot \Delta t \quad (J/m^3) \tag{2.13}$$

2.4.2 Özgül soğurma oranı (SAR)

Özgül soğurma oranı (SAR) dozimetrede, elektromagnetik alanlardan biyolojik materyallere (dokunun birim kütlesindeki enerji depolanma oranı) ne kadar enerji transferi olduğunu göstermek amacıyla kullanılır. Bir noktada SAR, sonsuz bir hacimde bulunan yüklü parçacıklar tarafından soğurulan enerjinin değişim oranını ifade eder.

$$SAR = \frac{dW/dt}{\rho_m} \quad W/kg \tag{2.14}$$

Bağıntıda ρ_m kütle yoğunluğu şeklinde karakterize edilir. Ancak enerji değişim oranı dW/dt güç yoğunluğuna (P) eşittir. Dolayısıyla **(2.14)** no'lu denklem şu şekilde yazılabilir.

$$SAR = \frac{P}{\rho_m} \quad W/kg \tag{2.15}$$

SAR' ı içsel elektrik alanlarla ilişkilendirmek için **(2.15)** no'lu denklem tekrar formüle edilirse;

$$SAR = \frac{\sigma |E|^2}{\rho_m} \quad W/kg \tag{2.16}$$

Bu bağınıtıda σ materyalin iletkenliği, $|E|$ elektrik alanın r.m.s değeri, ρ kütle yoğunluğu şeklinde karakterize edilir.

IEEE' nin C95.3 standartında SAR; SAR; belirli bir özkütleye sahip (ρ_m), bir hacim içersinde bulunan (dV), artan bir kütlede (dm) dağılmış olan artan enerjinin zaman

bağlı türevi olarak tanımlanmıştır. Aşağıda da belirtildiği üzere 5 no'lu eşitlik 7 no'lu eşitliğe eşittir [10].

$$SAR = \frac{d}{dt}\left(\frac{dW}{dm}\right) = \frac{d}{dt}\left(\frac{dW}{\rho_{m}.dV}\right) \quad W/kg \tag{2.17}$$

2.5 Wi-Fi

Wi-Fi; kablosuz bağlanmanın ingilizce karşılığı olan "wireless fidelity için kullanılan bir kısaltma olup haberleşme için tıpkı cep telefonları ve telsiz cihazlarında olduğu gibi haberleşmede RF ışımasını kullanan biligisayarlar için kablosuz ağ anlamına gelmektedir. Bir Wi-Fi ağı üzerinden iletişim iki yönlü telsiz iletişimine çok benzerlik göstermektedir:

1. Bir bilgisayarın kablosuz adaptörü (çeviricisi) verileri RF sinyaline çevirerek bir anten vasıtasıyla yakındaki bir kablosuz yönlendiriciye iletir.

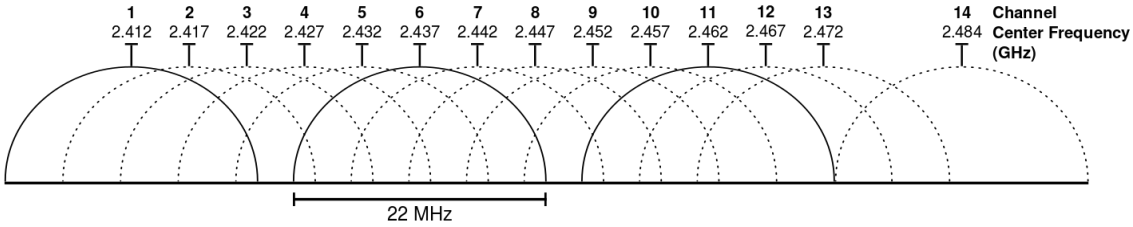
2. Kablosuz yönlendirici bu sinyali alır ve çözer. Bu bilgiyi kablolu bir ethernet bağlantısı kullanarak internete yollar. Ethernet yaygın olarak kullanılan bir yerel alan ağı (Local Area Network-LAN) teknolojisidir. Yerel alan ağı, ev, ofis veya okul gibi küçük bir coğrafik alanı kapsayan kablosuz bilgisayar ağı ile ilgilidir.

3. Bu sürç aynız zamanda ters şekilde de çalışmaktadır. Yönlendirici bilgiyi internetten alarak bu bilgiyi RF sinyaline çevirir ve anten üzerinden onu bilgisayarın kablosuz adaptörüne yollar.

Wi-Fi, yüksek frekanslı EM ışıma yaydığından dolayı (2,4 veya 5 GHz) Wi-Fi kullanımına bağlı olarak bazı endişler ortaya çıkmıştır. Ancak bu sistemler genellikle hem bilgisayar anteninden hem de yönlendirici anteninden 0,3 Watt civarında çok düşük güç yayarlar. Bu güç antenlerin bir kaç cm ötesinde de hızlı bir şekilde düşüş gösterir. Buna karşı cep telefonları genellikle 1,9 GHz'de 0,6 ile 3 Watt arasında olan güç yaymaktadırlar [12].

CHANNEL NUMBER	LOWER FREQUENCY MHZ	CENTER FREQUENCY MHZ	UPPER FREQUENCY MHZ
1	2401	2412	2423
2	2404	2417	2428
3	2411	2422	2433
4	2416	2427	2438
5	2421	2432	2443
6	2426	2437	2448
7	2431	2442	2453
8	2436	2447	2458
9	2441	2452	2463
10	2451	2457	2468
11	2451	2462	2473
12	2456	2467	2478
13	2461	2472	2483
14	2473	2484	2495

Şekil 2.8 : 2,4 GHz Wi-Fi kanal frekansları [44].



Şekil 2.9 : Örtüşen 2,4 GHz band kanallarının grafiksel temsili [60].

Kanal No.	Frekans (GHz)	İzin verilen Ülkeler
1	2,412 GHz	Avrupa, ABD, Japonya
2	2,417 GHz	Avrupa, ABD, Japonya
3	2,422 GHz	Avrupa, ABD, Japonya
4	2,427 GHz	Avrupa, ABD, Japonya
5	2,432 GHz	Avrupa, ABD, Japonya
6	2,437 GHz	Avrupa, ABD, Japonya
7	2,442 GHz	Avrupa, ABD, Japonya
8	2,447 GHz	Avrupa, ABD, Japonya
9	2,452 GHz	Avrupa, ABD, Japonya
10	2,457 GHz	Avrupa, ABD, Japonya
11	2,462 GHz	Avrupa, ABD, Japonya
12	2,467 GHz	Avrupa, Japonya
13	2,472 GHz	Avrupa, Japonya
14	2,484 GHz	Japonya

Şekil 2.10 : 2,4 GHz kanalları ve ülkelere göre kullanımı [61].

3. TEKNİK BİLGİ

3.1 Fantom Ortam-Benzetim Ortamı

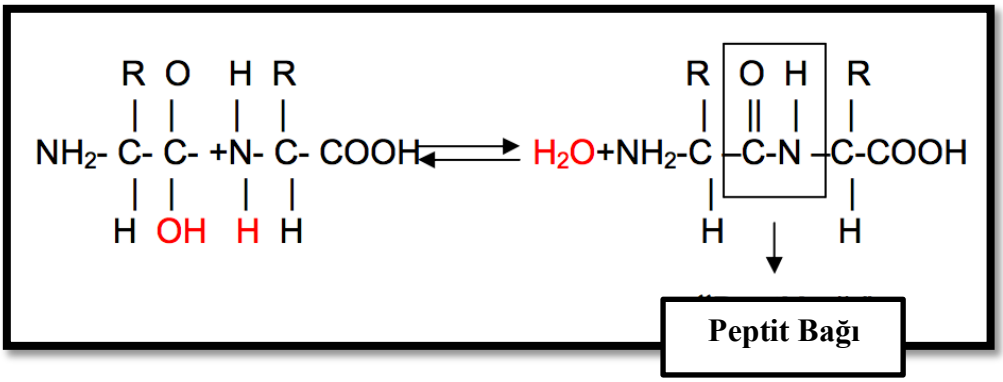
Proteinlerdeki yapısal değişimler, aminoasitler maksimum UV emilimi ve ışıldama (floresans) özelliğini farklı dalga boylarında gösterdiklerinden dolayı, bu emilim ve ışıldama değişimleri izlenerek belirlenebilir [13]. Deneylerdeki amaç düşük güçte 2,45 GHz'deki ışımanın proteinlerin yapısı üzerinde nasıl bir etkisi olduğunu, varsa yapılarında ne gibi değişikliğe neden olduğunu gözlemlemektir. Bu bilginin ışığı altında deneylerimiz için tavuk yumurtası akı fantom ortam olarak seçilmiştir. Bunun sebebi;

- Protein içeriğinin yüksek olması, (proteinlerin floresan ölçümleri üzerinden ışıma öncesi ve sonrası karşılaştırma yapmamıza olanak tanımaktadır)
- Isıl özelliklerinin diğer biyolojik ortamlara benzerlik göstermesi (yapılan deneyde gözlemlenen sonuçlar ile insanda oluşabilecek olası etkilerin yorumlanabilmesine olanak tanımaktadır)
- Koagüle/denatüre olmadığı (haraplanmamış) fazdaki şeffaf (berrak) yapısıdır. (Bu şeffaf yapı koagülasyon (haraplama) başlangıcının hemen görülebilmesine olanak tanımaktadır) [14].

3.2 Proteinlerin Yapısı ve Özellikleri

3.2.1 Proteinlerin yapısı

Bir aminoasidin karboksil grubu (-COOH) başka bir aminoasidin amino grubu ile (-NH2) bir mol su açığa çıkararak birleştiği zaman peptid zinciri oluşmaktadır. Peptidler; peptid zincirinde var olan aminoasit sayısına göre mono, di, tri şeklinde ön isimlerle adlandırılmaktadırlar. Genelde yapısında 10 kadar aminoasit içeren peptid zincirleri oligopeptid, daha çok aminoasit içeren peptidler ise polipeptid olarak isimlendirilmektedirler [13].

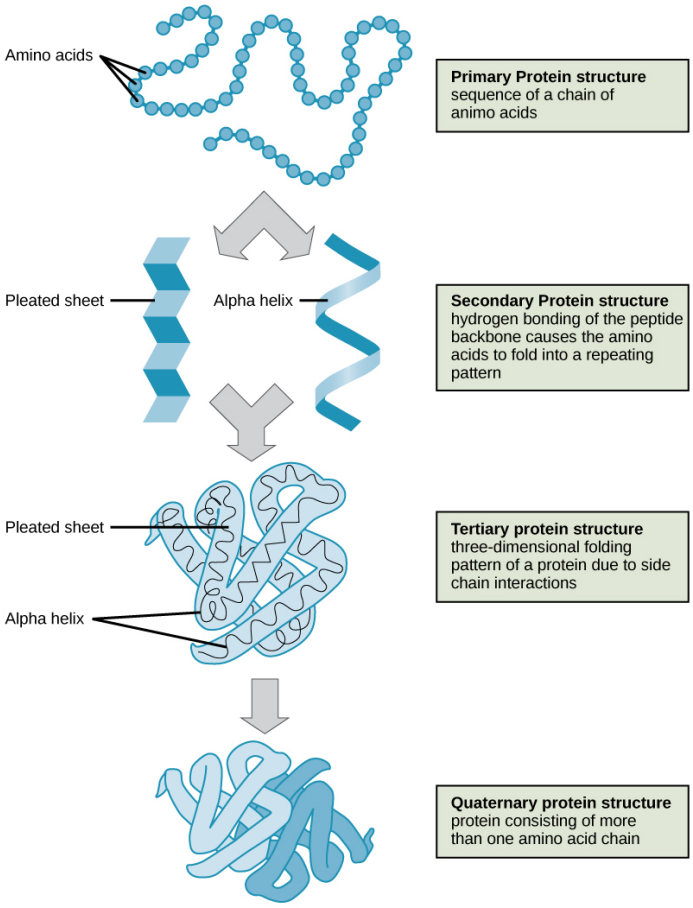


Şekil 3.1 : Peptit bağı [13].

Proteinlerin çoğu, genelde tek bir polipeptid zincirinden oluşmaktadır, örneğin miyoglobin. Bazıları da aynı polipeptitden ya da farklı olan iki veya daha fazla polipeptidlerden meydana gelebilmektedir. Her proteinin karakteristik üç boyutlu doğal bir yapısı vardır. Üç boyutlu yapısı bozulan yani denatüre olan bir protein biyolojik olarak aktifliğini kaybeder. Proteinlerin bu karakteristik üç boyutlu yapılarının oluşumundan, primer, sekonder, tersiyer ve kuarterner olarakta adlandırılan birincil, ikincil, üçüncül ve dördüncül yapıları sorumludur. Primer yapı her proteinde yer almaktadır, ancak bazı proteinler kuarterner, tersiyer veya sekonder yapıda kendi karakteristik üç boyutlu yapılarına ulaşırlar [13].

Çizelge 3.1 : Aminoasit molekül sayısına göre protein yapı dereceleri[13].

Proteinlerin Yapı Dereceleri	Aminoasit Molekül Sayısı
Dipeptitler	2
Tripeptidler	3
Tetrapeptidler	4
Oligopeptidler	5-10
Polipeptidler	11-100
Makropeptidler (pentonlar)	100' ün üzerinde

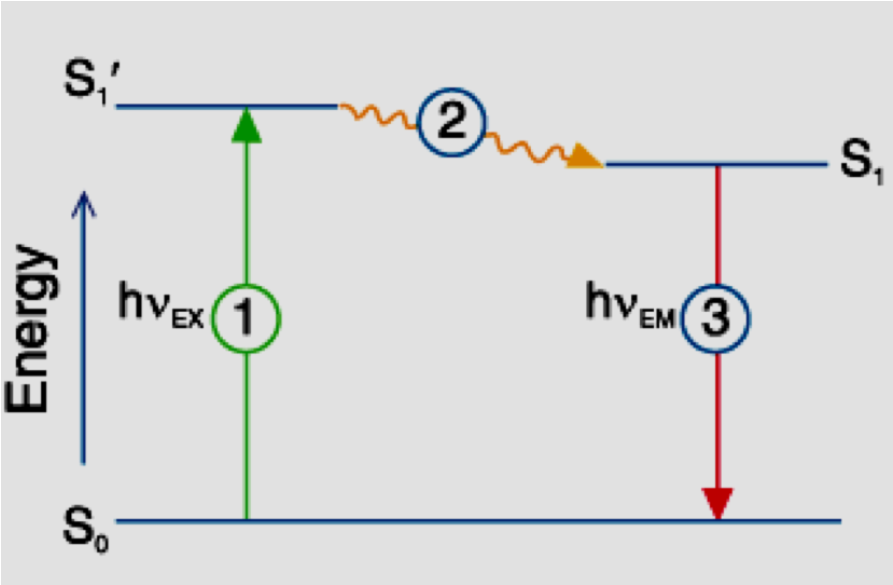


Şekil 3.2 : Birincil ikincil, üçüncül ve dördüncül yapının şematik gösterimi [15].

3.2.2 Proteinler ve floresans

3.2.2.1 Floresansın prensibi

Floresans (ışıldama), florofor (fluorofor) ya da floresan boyalar adı verilen belli moleküllerde ortaya çıkan, 3 basamaklı bir sürecin sonucudur. Bir floresan probu (belirleyici molekül), biyolojik bir örneğin spesifik bir bölgesine lokalize olmak için veya spesifik bir uyarana cevap oluşturmak için tasarlanmış bir florofordur. Floresan problarının ve diğer floroforların floresan oluşturmasından sorumlu olan süreç Şekil 3.3' te sade bir elektronik-durum diyagramında gösterilmiştir [16].



Şekil 3.3 : : Jablonski diyagramı [16].

1. Basamak: Uyarılma

Parlak bir lamba (incandescent) veya laser gibi bir dış kaynaktan sağlanmış olan $h\nu_{EX}$ enerjili bir foton, florofor tarafından emilerek (absorbe edilerek) bir singlet uyarılmış elektronik düzeye (hal) (S_1') çıkar [16].

2. Basamak: Uyarılmış durum ömrü

Uyarılmış durum genelde 1-10 nanosaniye kadar sürer. Bu süre boyunca, florofor konformasyonel değişikliklere girer ve kendi moleküler çevresi ile de çok sayıda olası etkileşimlere maruz kalır. Bu süreçlerin iki önemli sonucu vardır. İlk olarak, S_1' in enerjisi kısmen harcanır, bu durumda floresan ışımasının (emisyon) kaynaklanacağı gevşemiş bir singlet uyarılmış durum oluşmasına sebep olur. İkinci olarak; başlangıçta uyarılmış tüm moleküller floresan ışıması ile temel enerji düzeyine geri dönmezler. Diğer süreçler örneğin; çarpışmalı sönümlenme (collisional quenching), floresan rezonans enerji transferi (FRET) ve sistemler arası geçiş S_1 deki yoğunluğu azaltır. Floresanın kuantum verimi yani yayılan floresan fotonlarının sayısının, absorbe edilen (emilen) fotonların sayısına oranı, meydana gelen bu süreçlerin göreceli bir büyüklük ölçüsüdür [16].

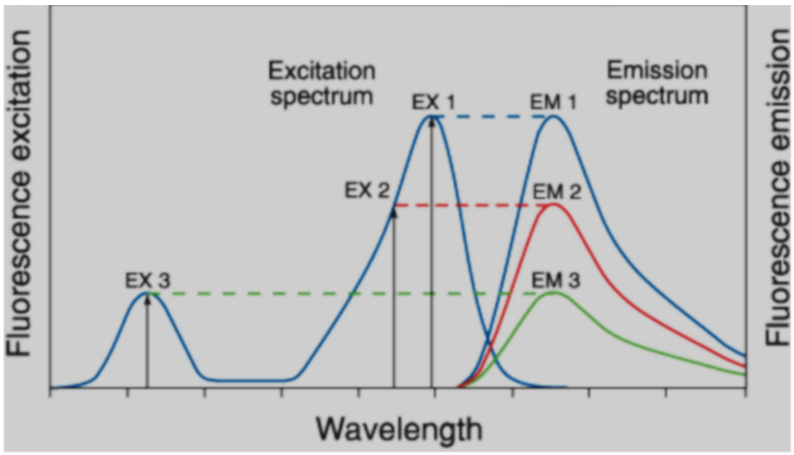
3. Basamak: Floresans ışıması (fluorescence emission)

Floroforu temel enerji durumu olan S_0 a döndürmek için $h\nu_{EM}$ enerjili bir foton

yayılır. Uyarılmış durum süresince meydana gelen enerji kaybından dolayı, yayılan bu fotonun enerjisi, uyarılmayı gerçekleştiren foton hv_{EX}' e göre daha düşük ve bu sebeple daha uzun dalga boyuna sahiptir. hv_{EX} - hv_{EM} şeklinde gösterilen enerji veya dalga boyundaki bu fark Stokes kayması olarak adlandırılır. Stokes kayması floresan tekniklerinin hassaslığının temelini oluşturur, çünkü uyaran fotonlardan izole edilmiş düşük bir arka planda, florasans fotonlarının saptanmasına olanak tanır [16].

3.2.2.2 Floresans spektrumu

Florofor uyarılmış durumda geri dönüşsüz olarak haraplanmadığı sürece tekrar tekrar uyarılabilir. Aslında, tek bir floroforun binlerce saptanabilir foton üretebilmesi, floresan saptama tekniklerinin yüksek hassaslığının da temelini oluşturur. Çözelti içindeki çok atomlu moleküller için, Şekil 3.3' de de gösterilen hv_{EX} ve hv_{EM} ile temsil edilen ayrık elektronik geçişler, floresan uyarım spektrumu ve floresan ışıma spektrumunu simgelerler. Bu spektrumların band genişlikleri, iki veya daha fazla florofurun eş-zamanlı tespit edildiği uygulamalar için önemli parametrelerdir. Genelde seyreltilmiş çözeltilerde, emilim ve ışıldama spektrumları birbirine çok benzer. Işıldama (emisyon) şiddeti, uyarılma dalga boyundaki genlik ile orantılıdır. **(Şekil 3.4)** [16].



Şekil 3.4 : Işıma şiddetinin uyarılma spekrumunun genliği ile olan orantısının gösterimi [16].

3.2.2.3 Floresans tespiti ve floresans enstrümantasyonu

Floresans tespit sisteminin dört ana elemanı ;

1. Uyarma kaynağı,

2. Florofor,

3. Dalga boyu filtreleri; ışıldama fotonlarının uyarılmayı yapan fotonlarından izole edilmesi için,

4. Işıldama fotonlarını kaydeden, genellikle bir elektrik sinyali ya da fotografik bir görüntü şeklinde kaydedilebilir bir çıkış oluşturan detektör.

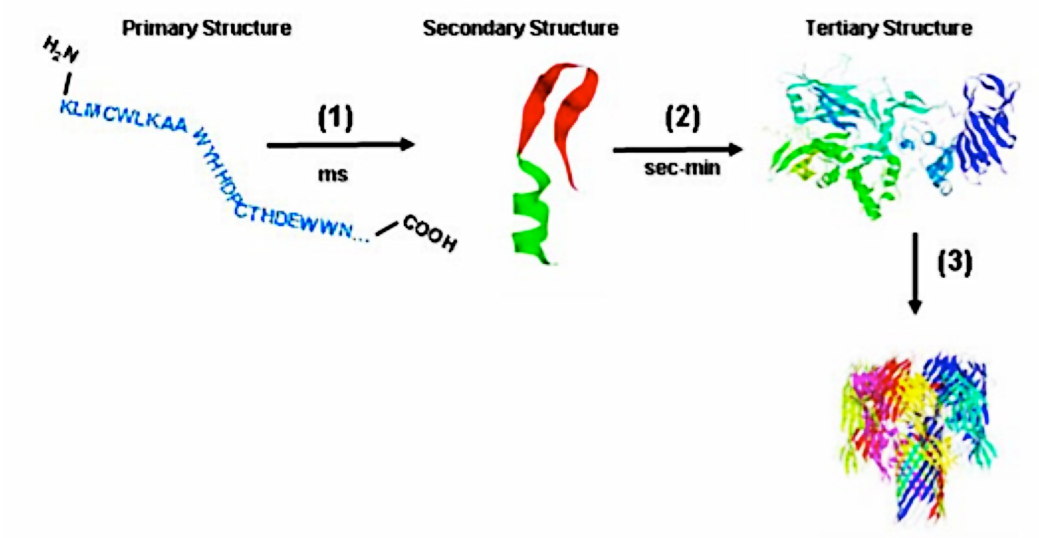
Uygulama ne olursa olsun, floresansın tespitini optimize etmek için bu dört elemanın uyumlu olması gerekir [16].

3.2.2.4 Floresans sinyalleri

Floresan şiddeti niceliksel olarak emilim ile aynı parametrelere bağımlıdır. (Beer-Lambert yasasında açıklandığı gibi molar sönüm katsayısı, optik yol uzunluğu ve madde konsantrasyonunun bir sonucu olarak) Aynı zamanda boyanın kuantum verimi, uyarı kaynağının şiddeti ve aygıtın floresan toplama verimliliği gibi parametrelere de bağlıdır. Seyreltik çözeltilerde veya süspansiyonlarda floresan şiddeti lineer olarak bu parametreler ile orantılıdır [16].

- **Proteinlerin Katlanması ve Floresans**

Protein katlanması, proteininin kendi doğal 3 boyutlu yapısına sahip çıktığı bir reaksiyondur. Doğal yapı, proteinin işlevsel olduğu yapısıdır. Katlanma birkaç adımda gerçekleşir. Basit bir şekilde, ilk olarak ikincil yapı oluşur bunu üç boyutlu yapının düzenlenmesi ve kazanılması takip eder ve bazen oligomerik kompleks proteinler durumunda başka bir dördüncül yapı organizasyonu gerçekleşir.



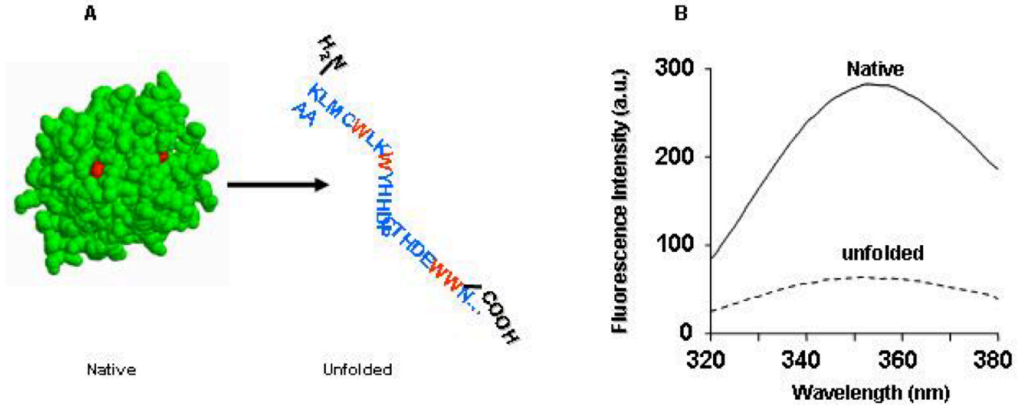
Şekil 3.5 : Protein katlanması. Sentezlendikten sonra protein fonksiyonel olduğu üç boyutlu şeklini kazanmak için katlanır. Bu reaksiyon ikincil yapı oluşumu ile başlar (1), ve proteinin boşlukta organize olduğu şekli olan üçüncül yapı oluşumu ile sona erer (2). Bazı durumlarda, kompleks bir yapı oluşturmak için proteinin ya başka protein zincirleri ile (hetero-oligomer) ya da kendi ile aynı olanlarla (homo-oligomer) birleşmesi gerekir (3). Bu da dördüncül yapı olarak adlandırılır [16].

Bir proteinin 2D yapısı dairesel dikroizm (Circular Dichroism) ile görüntülenebilirken, 3D yapısı, proteinlere özgü içsel floresansın varlığı ile floresans spektroskopisi kullanılarak izlenebilir ki bu da deneylerde esas aldığımız yöntemdir. Hücreler içerisinde (in vivo) protein katlanması oldukça karmaşıktır ve organizmaya göre değişiklik göstermektedir. Katlanma ökaryotik hücrelerde (örneğin; insan hücresi), prokaryotlara (bakteri) göre çok daha çapraşıktır. Katlanmaların bu kompleks yapısı yüzünden, in vivo şartlarda çalışmak oldukça zordur. Araştırmacılar bu sebeple bazı biyofiziksel teknikler kullanarak saf proteinlerin katlanmasını in vitro ortamda çalışmaktadırlar. Bu da proteinin kendi doğal ortamının dışında çalışıldığı anlamına gelmektedir [16].

- **Triptofan ve Tirozin aminoasitlerinin floresansı**

Yapısal (intrinsic) floresans özelliğine sahip olan üç tane aminoasit bulunmaktadır. Bu aminoasitler; fenilalanin (Phe), triptofan (Trp) ve tirozindir (Tyr). Ancak deneysel çalışmalarda sadece triptofan ile tirozin kullanılmaktadır çünkü kuantum verimleri (yayılan-ışınan fotonlar/uyarıcı fotonlar) iyi bir floresans sinyali verebilmek için yeterince yüksektir.

280 nm'lik bir uyarım dalgaboyu ile hem triptofan hem de tirozin uyarılabilir. Seçici olarak sadece triptofan uyarılmak istenirse 295 nm uyarım dalgaboyu kullanılmalıdır. Bu rezidüler/kök yapılar protein katlanmasını takip edebilmek için kullanılabilir çünkü proteinin katlanıp açılmasına göre değişen floresan özellikleri (kuantum verimlilikleri) çevresel koşullara oldukça hassastır. Doğal katlanmış durumda triptofan ve tirozin genellikle proteinin çekirdeğinde yer alırken kısmen katlanmış ya açılmış durumda bu aminoasitler çevrelerindeki çözücüye maruz kalırlar. **(Şekil 3.6)** [16].

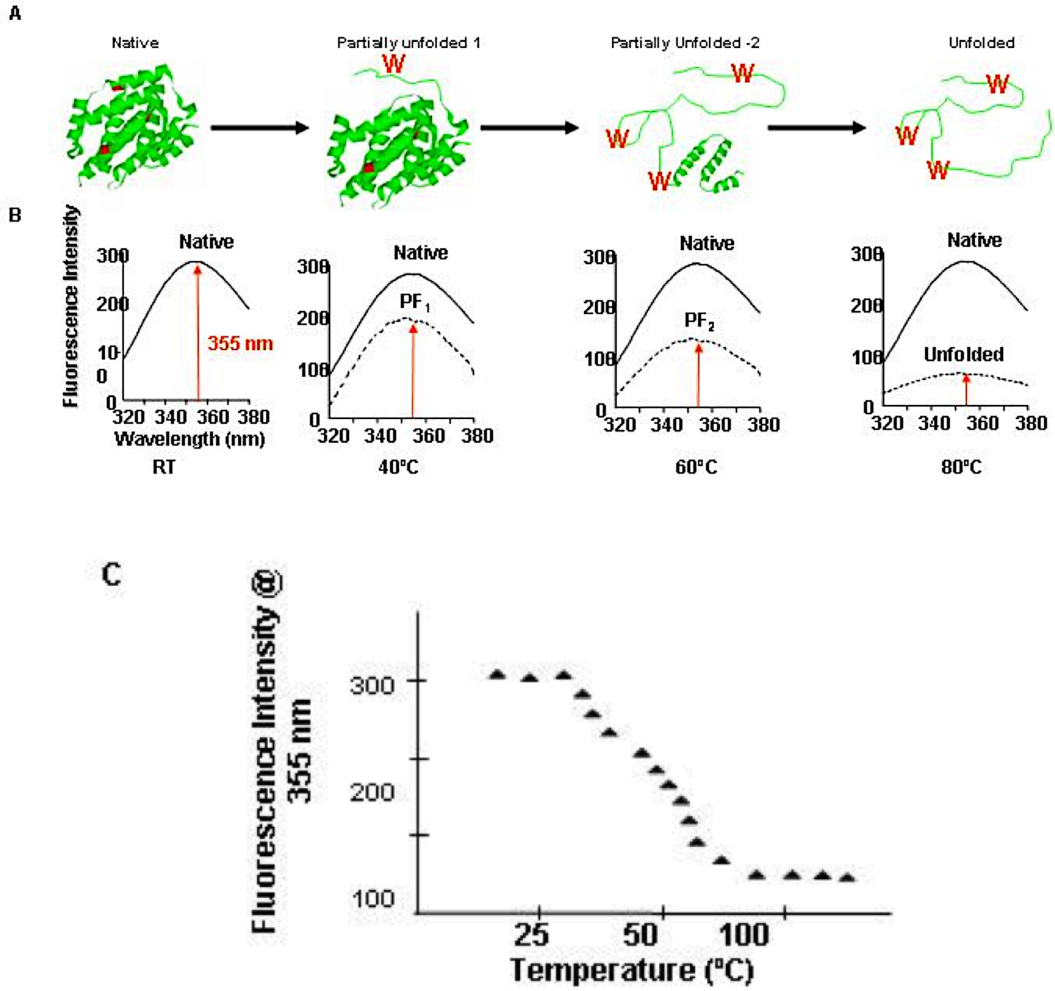


Şekil 3.6 : Triptofanın floresansının gözlemlenmesi yardımıyla proteinin açılmasının takibi. Triptofan kırmızı olarak gösterilmiştir. (W: Trp) A. Doğal durumda triptofanlar gömülü haldeyken, açılmış durumda korunmasız haldedirler. B. Doğal durumda triptofanlar gömülü olduklarından ve hidrofobik bir çevrede bulunduklarından dolayı yüksek floresan sinyaline sahiplerdir. Buna karşı açılmış durumda floresan sinyalleri azalmaktadır [16].

Hidrofobik bir çevrede (proteinin çekirdeğine gömülmüş halde) tirozin ve triptofan yüksek kuantum verimliliğine bu sebeple yüksek floresan şiddetine sahiptir. Buna karşın hidrofilik bir çevrede (çözücüye maruz kalınmış) bu aminoasitlerin kuantum verimlilikleri azalarak düşük floresan şiddetine sebebiyet verirler **(Şekil 3.6)**. Triptofan rezidüsü için çözücüye bağlı olarak güçlü bir Stokes kayması oluşur, bunun anlamı triptofanın maksimum ışıma dalgaboyunun triptofanın ortamına göre değişiklik göstereceğidir.

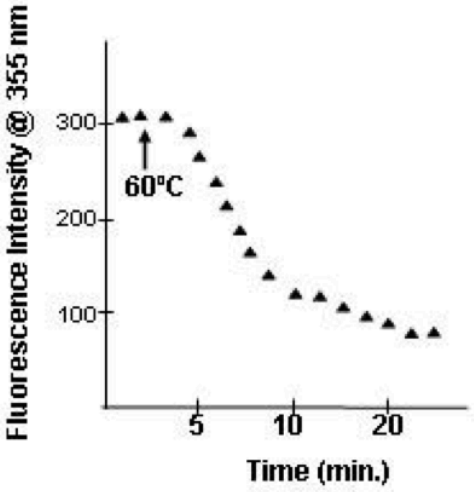
Proteinlerin katlanmış hallerini çözmek için kullanılan en yaygın yollar; pH değişimi, hücresel makro molekülleri bozan çözeltiler (kaotropik çözeltiler; üre, guanidyum hidroklorid), veya sıcaklık artışıdır. Örneğin; protein sıcaklık artışı ile çözülmeye başlar yani her arttırılan derecede protein çözülmeye devam eder ve ortam koşullarına bağlı olarak kısmi olarak katlanmış ya da tamamen çözülmüş bir denge

durumuna ulaşır**.** Şekil 3.7' de her derece için triptofanın floresans ışıması ölçülmüş ve doğal haldeki proteinin ışıması ile karşılaştırılmıştır [16].



Şekil 3.7 : Proteinin katlı halinin çözülmesinin kararlı durum gösterimi. **A:** Protein çözülmesi. **B:** Dengeye ulaşıldıktan sonra ölçülen triptofan ışıması taramaları. **C:** Protein çözülmesinin sıcaklığa bağlı grafiği [16].

Triptofan prob olarak kullanıldığında protein çözülmesine bağlı olarak, floresans şiddeti ve maksimum ışıma dalga boyu (λ_{max}) değişiklik gösterir. Bu parametrelerden (floresan şiddeti veya λ_{max}) birinin değişimi gözlemlenerek çözülme grafiği elde edilir. **(Şekil 3.7 - C)**. Bu şekilde yapılan çalışmalar, denge durumu gözlemlenerek gerçekleştirilir. Kinetik çalışmalarda protein belirli bir sıcaklığa bırakılır ve çözülme reaksiyonu zamana bağlı olarak gözlemlenir. Şekil 3.8' de floresans şiddetindeki değişim zamana bağlı olarak ölçülmüştür [16].



Şekil 3.8 : Çözünme reaksiyonu zamana bağlı olarak floresans şiddetinin 355 nm'de toplanması ile elde edilmiştir [16].

3.3 Spektroskopi (İzge Ölçümü)

Spektroskopi, bir örnekteki molekül, atom veya iyonların bir enerji düzeyinden başkasına geçişleri sırasında soğurulan veya ışınan elektromagnetik ışımanın ölçülmesi ve buna bağlı olarak yorumlanmasıdır. Elektromagnetik ışımanın gözle algıladığımız görünür ışık türü ve ısı olarak algıladığımız kırmızı ötesi (infrared) türü en çok karşılaşılan türleridir. Hem dalga hem tanecik özelliğine sahip olan elektromagnetik ışımanın interferans (girişim) ve difraksiyon (kırınım) davranışları dalga özelliğine dayanarak açıklanır. Işımanın tanecik (foton) özelliğine sahip olması da, bir metal yüzeyinden ışıma ile elektronların koparılması yani fotoelektrik olay ile ve ışıma enerjisinin bir madde tarafından soğurulması ve yayılması (emisyonu) ile açıklanır.

Spektroskopi, maddelerin elektromagnetik dalgalar aracılığı ile tanımlanmalarında kullanılmaktadır. Spektroskopik analiz yöntemlerinde uyarıcı bir dalga ya da tanecik, ölçümü alınmak istenen örnek üzerine yollanır ve örneğin bu uyarıcıya karşı tepki ölçülür.

Bir yarıktan geçirilen beyaz ışık daha sonra bir prizmadan geçirildiğinde prizmanın karşısındaki ekranda tayf (spektrum) adı verilen renkler dizilir. Bu tayfta sırasıyla mor, lacivert, mavi, yeşil, sarı, turuncu ve kırmızı renkler bulunur. Tayfta bulunan her renk farklı dalga boyuna sahiptir ve bu renklerin dalga boyları Ångstrom adı verilen uzunluk birimi ile ifade edilir. Bir milimetrenin on milyonda biri bir

Ångstrom'a eşittir. 4000 ile 8000 Ångstrom (400-800 nm) arasında dalga boyuna sahip olan ışınlar ışık halinde görünebilirler.

Floresans, floresans yayma özelliğine sahip olan maddeler üzerine düşen belli dalga boyundaki ışınların soğurulup bu maddeler tarafından farklı dalga boyunda ışınlar halinde yayılması olayıdır. Floresans ve fosforesans olayları lüminesans başlığı altında toplanırlar. Uyarıcı ışın ile etkileşme sonucu oluşan ışın yayınımı genelde uzun süreli (10^{-4} sn <) ise olaya fosforesans, kısa süreli ise (10^{-9}-10^{-8} sn) floresans denir. Fosforlu saatler fosforesans özelliğine sahip olan maddelerin kullanıldığı alanlara verilebilecek güzel bir örnektir.

Uyarılmalar ;

Temel Singlet Hal→Uyarılmış Singlet Hal→Floresans

Temel Singlet Hal→Uyarılmış Singlet Hal→Uyarılmış Triplet Hal→Fosforesans şeklinde gerçekleşir.

Fosforesansta soğurulmadan sonra madde tarafından yayılan ışmanın uzun sürmesinin sebebi spin farklılıklarından kaynaklanan diamagnetik ve paramagnetik özelliklerdir.

3.3.1 Elektron spini

Pauli dışarlama ilkesi; bir atomda iki elektronun aynı anda aynı enerji seviyesinde bulunamayacağını ifade eder. Bu prensibe göre bir atomdaki iki elektronun dört kuantum numarasının hepsi aynı olamaz, ilk üç kuantum numarası aynı olsa bile dördüncü numaraları olan spin numaraları aynı olamaz. Bundan dolayı, bir orbitalde iki elektrondan daha fazla elektron bulunamaz ve bu iki elektronunda zıt spinlere sahip olması gerekir. Bu sınırlamalar altında spinler eşleşmiştir, bu sebeple de moleküllerin çoğu net magnetik alan gösteremez ve diamagnetik olarak adlandırılırlar. Bu moleküller, durgun bir magnetik alan tarafından ne çekilirler ne de itilirler. Buna karşı eşleşmemiş elektron içeren moleküller yani serbest radikaller bir magnetik momente sahiptir ve bir magnetik alan tarafınadan çekilebilir veya itilebilirler. Bu sebeple paramagnetik olarak adlandırılırlar.

Singlet hal bütün elektron spinlerinin eşleşmiş olduğu moleküler elektronik duruma verilen isimdir ve molekül magnetik alana maruz kaldığında elektronik enerji seviyelerinde hiçbir yarılma meydana gelmez. Buna karşı bir manyetik alan içindeki tek elektronun sisteme çok az farklı enerjilerde katkı yapan iki yönlenmeye sahip olduğu kabul edildiğinden bir serbest radikal için temel hal bir dublet halidir. Bir

molekülün bir çift elektronundan biri uyarılarak daha yüksek bir enerji seviyesine geçtiğinde ya bir singlet ya da bir triplet hal meydana gelebilir. Uyarılmış elektronun spini hala temel haldeki elektron ile eşleşmiş durumdaysa buna singlet hal denir. Buna karşı iki elektronun spinleri eşleşmemiş durumdaysa bu durum triplet haldir [17].

Singlet ve triplet terimler çokluluğun (multiplisite) açıklanmasından ileri gelirler.

- Çokluk (Multipicity) = 2S+1 (S; toplam dönüş-spin)

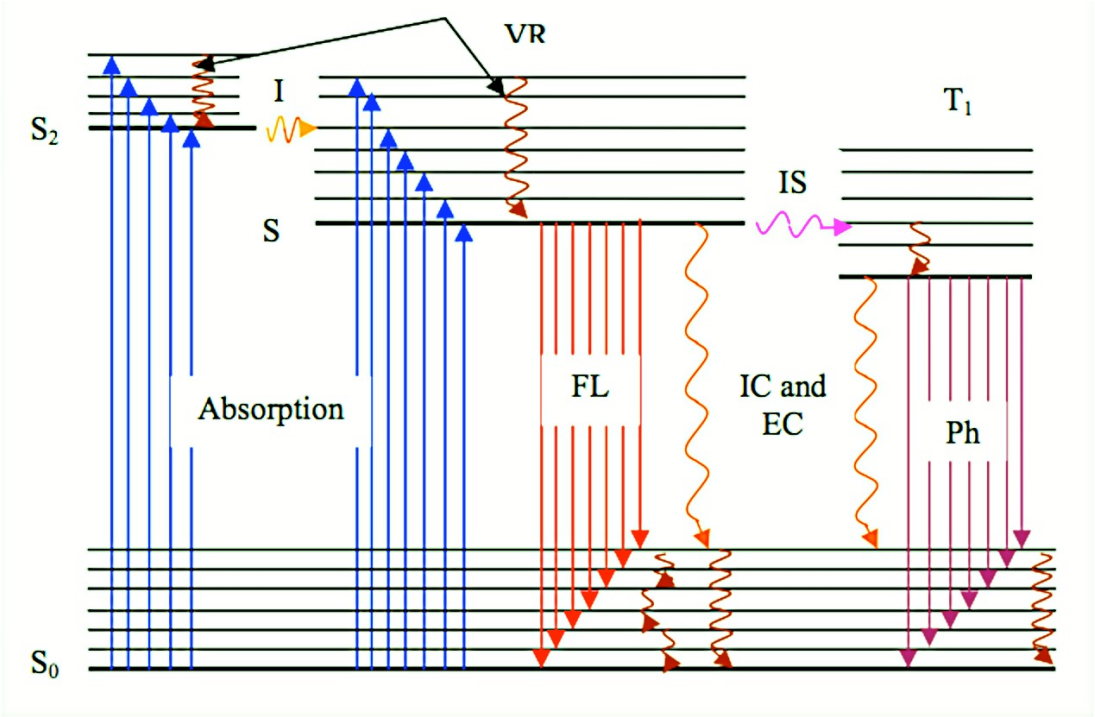
Bir singlet seviye için toplam dönüş sıfırdır çünkü elektronlar eşleşmiştir. Buradan da çokluk bir olarak elde edilir ve singlet terimi de buradan gelir, yani;

- Çokluk = (2*0)+1 = 1

Triplet bir seviyede toplam dönüş birdir (iki eşleşmemiş elektron vardır) ve çoklukta üçe eşittir.

- Çokluk = (2*1)+1 = 3 [18].

Uyarılmış triplet haldeki bir molekülün özellikleri, uyarılmış singlet haline göre önemli derecede farklılık gösterir. Örnek olarak; bir molekül singlet halde diamanyetik iken triplet halde paramagnetiktir. Buna ilaveten, daha da önemli olarak, elektronun halindeki bir değişmeyi de kapsayan singlet-triplet geçişinin, singlet-singlet geçişe göre olma olasılığı çok daha düşük bir durumdur. Sonuç olarak uyarılmış triplet halin ömrü 10^{-4}s den birkaç saniyeye kadar uzayabilirken, uyarılmış singlet halin ortalama ömrü 10^{-5} 10^{-8} saniye kadardır. Temel haldeki bir molekülün ayrıca, uyarıcı bir ışın vasıtası ile uyarılmış bir triplet hale uyarılması düşük olasılıklı bir durumdur. Bunun sonucunda oluşacak olan soğurma piklerinin (tepelerinin) şiddeti, singlet-singlet geçişi sonucunda oluşacak olan soğurma tepelerininkinden daha düşük olur. Fosforesans, bazı moleküllerin uyarılmış bir singlet halinden uyarılmış bir triplet hale geçebilmesi ile oluşur. **Şekil 3.9'** da bir fotolüminesans molekülünün enerji seviye diyagramı gösterilmiştir.



Şekil 3.9 : Fotolüminesant bir molekülün enerji seviyesi diyagramı [18].

En altta bulunan S_0 ile gösterilen koyu yatay çizgi, normal olarak singlet haldeki molekülün temel hal enerjisini göstermektedir. Bu hal, oda sıcaklığında bulunan bir çözeltideki moleküllerin neredeyse tamamının enerjisini gösterir. Üç uyarılmış elektronik halin temel titreşim halleri de en üstteki koyu çizgiler ile gösterilmektedir. Solda bulunan S_1 ve S_2 sırasıyla molekülün birinci ve ikinci elektronik singlet hallerini göstermekteyken sağdaki T_1 birinci elektronik triplet halinin enerjisini gösterir. Normalde birinci uyarılmış triplet halin enerjisi karşı gelen singlet halin enerjisine göre daha düşüktür. Şekilde yatay ince çizgilerle gösterilen titreşimsel enerji seviyeleri dört elektronik halin her biri ile ilişkilidir. Şekildeki fotolüminesant molekülün uyarılması, biri uzun dalga boyuna sahip ($S_o \rightarrow S_1$) diğeri daha kısa dalga boyuna sahip ($S_o \rightarrow S_2$) iki uyarıcı ışının soğurulması ile gerçekleştirilebilir. Uyarılma işlemi molekülün çok sayıda uyarılmış titreşimsel halinden herhangi birine dönüş ile sonuçlanır. Şekilde triplet hale doğrudan uyarılma gösterilmemiştir çünkü bu durum çoklukta (multiplisitede) bir değişmeyi gerektirir ve önceden de anlatıldığı gibi olma olasılığı düşük bir durumdur. Bu tip düşük olasılığa sahip olan geçişlere yasaklanmış denir [17].

Bir fotolüminesant molekülün enerji soğurduğunda ve yaydığında meydana gelen işlemler aşağıda açıklanmaktadır.

1. Soğurma:

UV-Görünür (UV-Vis) ışıma, molekülleri, temel seviyeden uyarılmış seviyelere doğru uyarmak için gereklidir. Işımanın soğurulması kimyasal bağlarda bulunan elektronları uyarır. Bir molekül UV-Görünür ışımayı soğurduğunda oluşabilecek geçişler n−π* veya π−π* geçişidir. Soğurma gösterebilecek en iyi moleküller π bağı(ları)na sahip olanlar veya aromatik yapıya sahip olanlardır. Soğurma ile daha yüksek uyarılmış singlet seviyelere geçiş çok kısa bir zamanda gerçekleşir (10^{-14} saniye) [18].

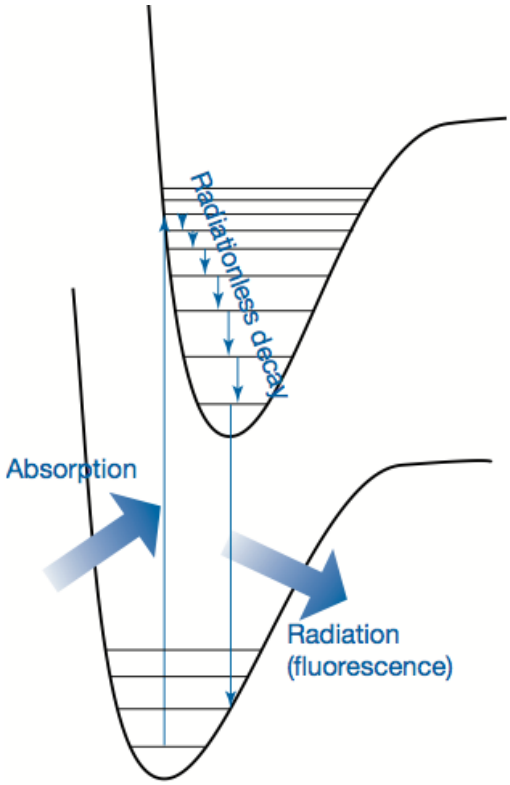
2. Titreşimsel Gevşeme

Işımanın soğrulması molekülleri uyarılmış seviyenin farklı titreşimsel seviyelerine doğru uyarır. Bu süreci de genellikle hem titreşimsel gevşeme/sönümlenme hem de daha düşük uyarılmış seviyelere doğru iç/içsel dönüşüm takip eder. Birinci uyarılmış seviyeye geçişlerin oluştuğu durumlarda temel uyarılmış elektronik seviyeye doğru titreşimsel gevşeme ve/veya triplet seviyeye doğru sistemler arası geçiş meydana gelir [18].

3. Floresans

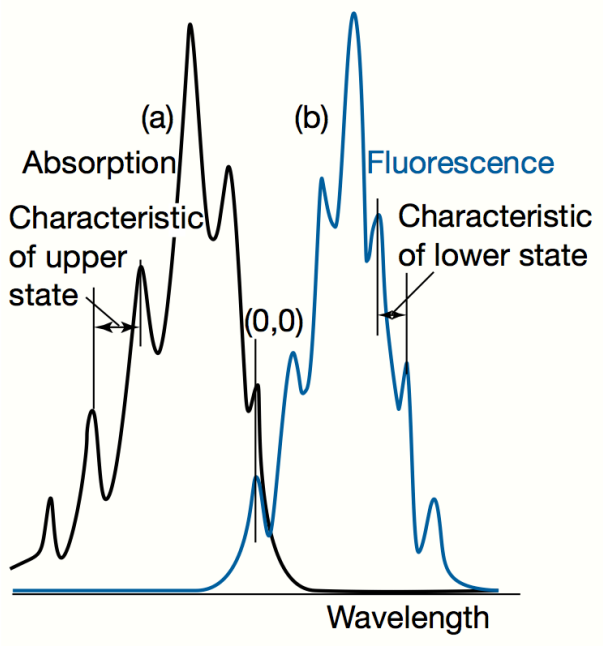
Birinci uyarılmış seviyeye doğru titreşimsel gevşeme gerçekleştikten sonra bir molekül floresans adı verilen bir foton ışıması yaparak temel seviyeye geri dönebilir. Floresansın ömrü soğurma süresinden çok daha fazla olup ve 10^{-7} ile 10^{-9} saniye gibi bir sürede gerçekleşir. Çözeltide bulunan moleküllerden hepsi temel enerji seviyesinin (durumunun) aynı titreşimsel seviyesine dönmezler. Sonuç olarak elde edilen floresans ışıması tek bir band olmayıp, bir spektrumdur [30].

Uyarılmış seviyedeki geçen süre arttıkça floresans oluşması olasılığı gittikçe azalır çünkü ışımasız etkisizleşme süreci gerçekleşebilir. Ancak uyarılmış moleküllerin hepsi temel seviyeye dönerken floresans göstermeyebilir. Bu moleküllerin çoğu temel seviyeye dönerken fazla enerjilerini ısı yayarak veya diğer moleküllerle ya da çözücü ile çarpışmalar yaparak kaybeder [18].

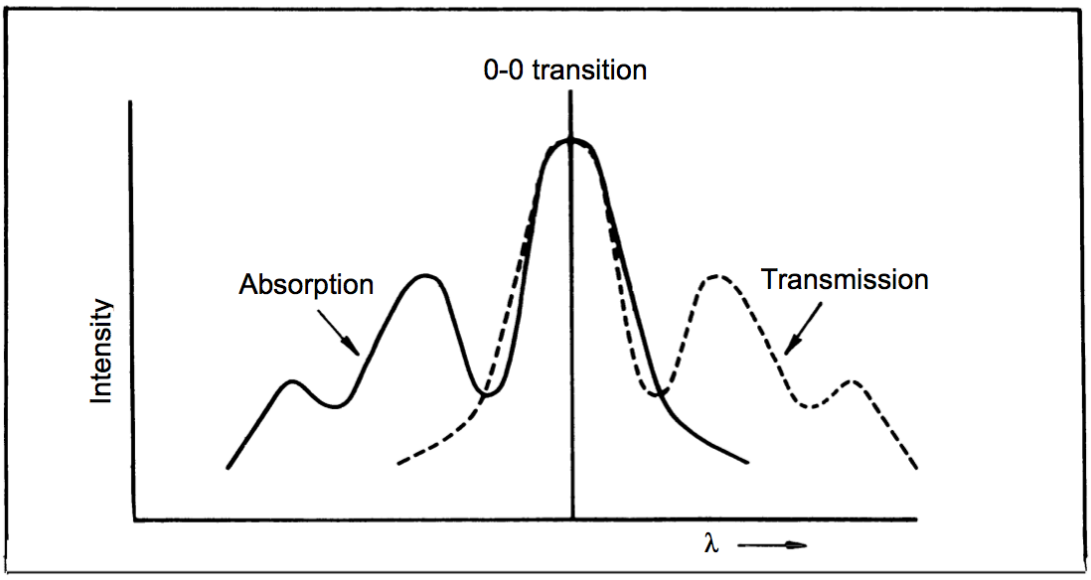


Şekil 3.10 : Floresansa yol açan basamakların sıralaması. Başlangıç soğurulmasından sonra üst titreşimsel seviyeler, çevrelerine enerji bırakarak ışımasız olarak düşüşe geçer. Üst elektronik seviyenin temel titreşimsel seviyesinden daha sonra ışımalı (floresans) bir geçiş gerçekleşir [38].

Bir molekülün, soğurma ve floresans spekturumu arasında bir miktar çakışma meydana gelir. İlk uyarılmış seviyenin (durumdan) en düşük titreşimsel seviyesinden, temel enerji seviyesinin (durumunun) en düşük titreşimsel seviyesine olan geçiş, yani 0-0 geçişi aynı zamanda ışığın soğurulması sürecinde de gerçekleşir (ters yönde). Sonuç olarak, soğurma ve ışıma spektrumu bu noktada çakışır. Diğer tüm floresans süreçleri 0-0 geçişine göre daha düşük enerjili, uzun dalga boyuna sahip ve diğer tüm soğurma süreçleri 0-0 geçişine göre daha yüksek enerjili ve kısa dalga boyuna sahip olur [30].



Şekil 3.11 : Soğurma spektrumu. (a) Üst seviyenin titreşimsel yapı karakteristikleri göstermektedir. (b) Düşük seviyenin yapısal karakteristiğini göstermektedir (0-0 geçişi çakışıktır) ve soğurmanın bir ayna görüntüsüne benzer [38].



Şekil 3.12 : İdeal olan soğurma ve ışıma spektrumu [39].

4. İçsel ve Dışsal Dönüşüm

İçsel dönüşüm (Internal conversion- IC) bir ışımasız etkisizleşme işlemi olup uyarılmış moleküller temel seviyeye bir foton ışıması yapmadan dönerler. Bu işlem anlaşılması zor olan bir süreçtir ancak lüminesans spektroskopisinde çoğu molekül floresans göstermediğinden en verimli etkisizleşme işlemidir. Genel olarak yakın enerji seviyelerine sahip olan moleküllerin temel ve uyarılmış elektronik enerji

düzeylerinin titreşimsel seviyelerinin çakışma ölçüsü ne kadar yüksekse bu durumun içsel dönüşüme neden olma olasılığı o kadar yüksektir. İçsel dönüşüm, ön ayrışma (predissociation-PD) adı verilen bir olgu ile sonuçlanabilir ki bu durumda bir elektron yüksek bir elektronik seviyeden daha düşük bir elektronik seviyenin üst titreşimsel enerji seviyesine doğru gevşeme gösterir. Titreşimsel enerji yeterli miktarda olduğunda ve bağ enerjisinden daha büyük olduğunda, bağ kopması ön ayrışma adı verilen bir işlem ile meydana gelir. Bölünme, ön ayrışmadan ayrı tutulmalıdır çünkü bölünme yüksek miktarda enerjinin soğrulmasını ve buna bağlı olarak molekülün direkt olarak daha yüksek bir titreşimsel seviyeye çıkmasını içerir, bu durumda da direkt olarak bağ kopması ile sonuçlanır.

Dışsal dönüşüm, uyarılmış moleküllerin enerjilerini başka moleküller ile çarpışma veya çözücüye ya da uyarılmamış moleküllere aktararak kaybettikleri bir işlemdir. Bu sebeple dışsal dönüşüm; sıcaklık, çözücü viskozitesi ve çözücü bileşiminden etkilenen bir işlemdir [18].

5. Sistemler Arası Geçiş

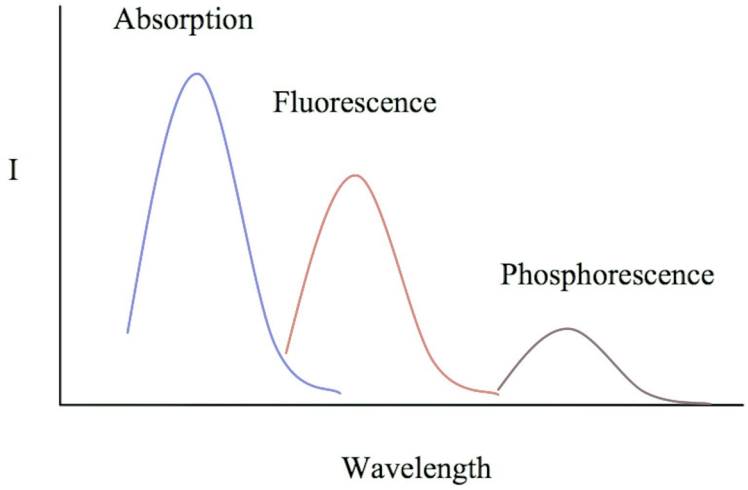
Birinci uyarılmış seviyede bulunan elektronların takip edebilecekleri üç seçenek vardır; floresans oluşturarak bir foton ışıması yapmak, temel seviyeye doğru ışımasız etkisizleşme veya sistemler arası geçiş (Intersystem crossing-ISC) yapmak. Sistemler arası geçiş işlemi elektronun uyarılmış bir seviyeden triplet bir seviyeye geçişini içerir. Titreşimsel seviyelerdeki singlet ve triplet seviyeler çakıştığında bu işlemin gerçekleşme olasılığı yüksektir. Ancak singlet seviyeden triplet seviyeye geçiş triplet seviyeyi sağlamak amacı ile elektronun spininde bir çevrilme içerir. Sistemler arası geçiş hem bağ yapmayan elektronların hem de ağır atomların varlığında kolaylaşır. Paramagnetik atomların varlığı da sistemler arası geçiş olasılığını yükseltir.

Triplet seviyede bulunan bir elektron yine singlet bir seviyeye geri dönüp bir foton yayarak floresans oluşturabilir ancak burada oluşan floresans normalden çok daha uzun sürede gerçekleşir. Bu işlem de gecikmiş floresans olarak adlandırılır ve süresi dışında normal floresans ile aynın karakteristiklere sahiptir [18].

6. Fosforesans

Çevrilmiş bir dönüş ile singlet seviyeden triplet seviyeye geçen elektronların takip edebilecekleri üç seçenek vardır; singlet seviyeye geri dönüş (dönüşte yine bir

çevrilme ile), temel seviyeye içsel veya dışsal dönüşüm ile gevşemek veya temel singlet seviyeyi sağlamak için dönüşte ikinci bir çevrilme ile temel seviyeye doğru gevşeyerek enerjilerini bir foton ışıyarak kaybetmek (fosforesans-Ph). Bu süreç floresanstan çok daha uzun bir süreye ihtiyaç duyar (10^{-4} saniyeden birkaç saniyeye kadar). Bu sebeple ve ışımasız etkisizleşmenin yüksek oranda meydana gelebilme olasılığından dolayı, fosforesansın oluşma olasılığı ve bununla beraber fosforesans spektrumunun şiddeti düşüktür [18].



Şekil 3.13 : Soğurma, floresans ve fosforesans şiddetlerinin karşılaştırlması [18].

7. Kuantum Verimi

Floresansın kuantum verimi ışıma yapan moleküllerin tüm uyarılan moleküllere olan oranı ile ölçülür. Şiddetli floresans ışıması yapan moleküller için bir kuantum verimi yaklaşımı elde edilebilir. Kuantum verimi;

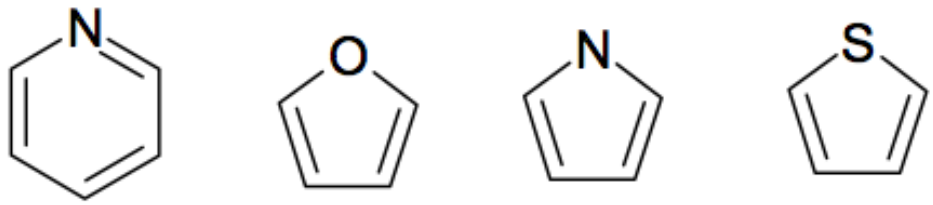
$\Phi = k_{FL}/(k_{FL} + k_{ISC} + k_{IC} + k_{EC} + k_{PD} + k_{diss})$ şeklinde ifade edilebilir.

Fosforesansın kuantum verimi de aynı şekilde açıklanabilir. Lüminesans spektroskopisinde ki en önemli geçişler n–π* ve π–π* geçişleridir. Ancak floresans π–π* geçişleri olan moleküllerde daha çok karşılaşılan bir durumdur çünkü bu geçiş n–π* geçişine göre daha yüksek molar soğuruculuk ve daha kısa bir oluşum süresine (10^{-7} – 10^{-9} saniye) sahiptir yani daha yüksek bir kuantum verimliliğine sahiptir. n–π* geçişi daha uzun bir oluşum süresine sahiptir (10^{-5} – 10^{-7} saniye). Daha uzun oluşum süresi, daha düşük lüminesans olasılığı anlamına gelir çünkü bu durumda ışımasız etkisizleşme olasılığı artar [18].

3.3.2 Floresans ve fosforesansı etkileyen etmenler

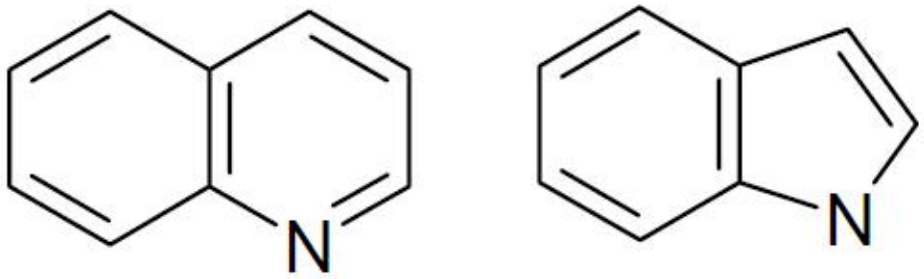
3.3.2.1 Floresans ve yapı

Daha önce de belirtildiği gibi en iyi lüminesans π bağına sahip olan moleküllerde ve düşük enerjili π–π* geçişine sahip aromatik halkalara sahip olan moleküllerde görülür.. Ancak bazı heterosiklik aromatik halkalar (bünyesinde karbon atomundan başka atom bulunan halkalar) floresans göstermezler. Bunlar piridin, furan, pirol ve tiyofen halkalarıdır.



Şekil 3.14 : Soldan sırayla Pridin, Furan, Pirol ve Tiyofen halkaları [19].

Bu moleküllerdeki floresans özelliğinin görülmeyişinin sebebinin düşük enerjili (low lying) n–π* geçişlerinin olmasından dolayı olduğuna inanılmaktadır. n–π* geçişleri uyarılmış molekülü hızlıca triplet hale geçirerek floresans ışıması yapmasını engellemektedir. Ancak böyle moleküllerin bir fenil halkası ile birleşmesi π–π* geçişi olasılığını arttıracağından dolayı molekülün kuantum verimi artar [19].



Şekil 3.15 : Fenil halkası ile birleşmiş olan Piridin ve Pirol molekülleri [19].

Aromatik halkalara halojenlerin bağlanması, floresans ışıması üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Bağlanmış olan halojenin molekül ağırlığı arttıkça floresans şiddetinde bir azalma ve buna karşın fosforesans şiddetinde bir artma oluşur. Görülen bu etki ağır atom etkisi olarak adlandırılmaktadır. Bununla beraber karbonil veya karboksilik asit grupları ile bağlanma da floresans özelliğini azaltır. Burada da

görülen etki ağır atom etkisine benzerdir. Bu durumlarda sistemler arası geçişte artış olur. Yani floresans sisteminden fosforesans sitemine doğru bir artış gözlenir [19].

3.3.2.2 Yapısal esnemezlik (rijidite) etkisi

Esneklik ve esnemezlik açısından bir molekülün kimyasal yapısının doğası floresans ve fosforesans sinyalleri üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Yüksek esnekliğe sahip olan moleküllerin çarpışma olasılığı yüksek olduğundan floresans gösterme olasılıkları dolayısıyla floresans özellikleri düşüktür. Ancak daha sert ve esnemeyen yapıların floresans potansiyelleri daha yüksektir çünkü daha düşük çarpışma olasılığına sahiptirler [19].

3.3.2.3 Çözücü ortamın etkisi

Moleküllerin lüminesans davranışları üzerinde çözücü ortam karakteristiklerinin çok önemi vardır. Bu durum üzerinde üç temel etken vardır;

a. Çözücü polaritesi

Polar çözücüler, $\pi \rightarrow \pi^*$ geçişi için gerekli enerjiyi düşürdüğünden dolayı tercih edilirler.

b. Çözücü Viskozitesi

Yüksek viskozitelerde, çarpışma deaktivasyonu artacağından dolayı genellikle yüksek viskoziteye sahip çözeltiler tercih edilir.

c. Ağır Atom Etkisi

Çözücü ağır atom içeriyorsa yani yapısında moleküler ağırlığı yüksek olan atomlar mevcutsa, kuantum verimi azalır ve fosforesansta artış gözlenir [19].

3.3.2.4 Sıcaklık etkisi

Sıcaklık yükseldikçe moleküllerin birbiri ile çarpışma olasılığı artacağından dolayı floresans ışımasında azalma görülür [19].

3.3.2.5 pH etkisi

Çoğu bileşik hafif bazik ve bazik çözeltilerde floresans özellik gösterirken kimileri de asidik ortamda floresans özelliği gösterirler. Örneğin; fenol asidik ortamda ayrışmadığından dolayı floresans göstermez ancak bazik ortamda ayrıştığı için bu ortamda iyi floresans gösterir [20]. Bu sebeple ortam pH'sını ayarlamak maksimum lüminesans şiddetini elde edebilmek için çok önemlidir. pH aynı zamanda ışıma

dalga boyunuda etkiler, genelde yüksek pH'larda daha uzun ışıma dalga boyu elde edilir [19].

3.3.2.6 Çözünmüş oksijen etkisi

Oksijen ve ona benzer paramagnetik moleküller uyarılmış molekülün singlet halden triplet hale geçişini kolaylaştırdığından dolayı, yani sistemler arası geçişi teşvik ettirdiği için, çözünmüş oksijen genelde floresans şiddetini azaltıcı yönde etki gösterir [19, 20]. Çözünmüş oksijenin asıl etkisi fosforesans üzerinde gözlemlenir. Her ne kadar çözünmüş oksijenin sistemler arası geçişi arttıracağından dolayı fosforesansı da arttıracağı düşünülse de, fosforesans çözünmüş oksijen varlığında tamamen bastırılır. Bu durum şu şekilde açıklanabilir; oksijenin temel hali triplet halidir ve triplet haldeki bir elektron singlet hale geçip gevşemek için enerjisini triplet oksijene aktarır çünkü bu durum spinde bir dönüş yapmaktan daha kolaydır. Bu şekilde oksijen uyarılmış olur ve aslında gözlemlenen şey fosforesanstan çok oksijenin emisyonu olur. Bu sebeple fosforesans ölçümlerinde oksijenin ortamdan tamamen uzaklaştırılması gerekir [19].

3.3.2.7 Derişim etkisi

İlk olarak Beer-Lambert yasasına bakıldığında:
Bir örneğin üzerinden geçtikten sonra ışığını şiddetinde meydana gelen değişim yani "dI"; konsantrasyon, yol uzunluğu ve ilk gelen ışığın şiddeti ile orantılı olmalıdır.

- "b" yol uzunluğu ne kadar uzun olursa daha çok foton soğurulur.
- "c" örneğin konsantrasyonu ne kadar yüksek olursa daha çok molekül daha çok foton soğurur.
- "I" ilk gelen ışığın şiddeti ne kadar yüksek olursa, foton sayısı artmış olacağından molekülün üzerine daha çok foton düşme olasılığı artar.
  Dolayısıyla ;

  "$dI;bcI$" ile orantılıdır ve buradanda eşitliği elde edilir.

$$dI/I = -kbc \qquad \textbf{(3.1)}$$

(k; orantı sabiti olup eksi işareti ışığın şiddetinde bir azalma meydana geldiğini gösterir bu durumda b,c ve I her zaman pozitiftir), Yukarıdaki **(3.1)** numaralı eşitliğin integrasyonu ile Beer-Lambert yasası elde edilir [21].

$$-\ln\frac{I}{I_0} = kbc \qquad \textbf{(3.2)}$$

$$-\log\frac{I}{I_0} = 2{,}303kbc \qquad \textbf{(3.3)}$$

$$\varepsilon = 2{,}303k \qquad \textbf{(3.4)}$$

$$A = -\log\frac{I}{I_0} \qquad \textbf{(3.5)}$$

$$A = \varepsilon bc \qquad \textbf{(3.6)}$$

$$I = I_0 10^{-\varepsilon bc} \qquad \textbf{(3.7)}$$

Floresans ise direkt olarak soğurulan ışıma ile orantılıdır.

$$F = k(I_0 - I) \qquad \textbf{(3.8)}$$

Bu bağıntıda, I_0 uyarıcı ışın, I geçen ışın, k kuantum verimi, ve F yayımlanan ışın şiddeti şeklinde karakterize edilir.

Beer-Lambert yasasındaki "I" değeri yani $I = I_0 10^{-\varepsilon bc}$ değeri **(3.8)** no'lu denklemde yerine konduğu zaman;

$$F = kI_0(1 - 10^{-\varepsilon bc}) \qquad \textbf{(3.9)}$$

eşitliği elde edilir. Bu denklem de Mac Lauren serisi ile açıldığı zaman;

$$F = kI_0\left(2{,}303A - \frac{(2{,}303A)^2}{2!} + \frac{(2{,}303A)^3}{2!} - \frac{(2{,}303A)^4}{2!} + ...\right) \qquad \textbf{(3.10)}$$

eşitliği elde edilir. Düşük konsantrasyonlar kullanıldığında sadece ilk terim önemlidir. Bu sebeple **(3.10)** no' lu denklem;

$$F = kI_0(2{,}303A) \qquad \textbf{(3.11)}$$

olarak basitleşir. Bu denklemde ki sabit değerlere " K "($K = 2{,}303k$, $C = I_0\varepsilon bc$) denirse eşitlik;

$$F = KC \qquad \textbf{(3.12)}$$

halini alır. " $F = K.I_0.\varepsilon.b.c$ " denklemi şunları gösterir:

- **i.** Floresans ışıması, ışık saçma (radyant) gücü arttırılırsa artar.
- **ii.** Molar soğurma ile floresans ışıması arasında doğrusal bir ilişki vardır. Bu yüzden molar soğuruculuğu yüksek olan moleküller iyi floresans özellik gösterirler.
- **iii.** Uyarma ışının örnek içinde aldığı yol "b" ile floresans sinyali doğru orantılıdır.
- **iv.** Floresans sinyali ile konsantrasyon doğru orantılıdır ancak bu durum logaritmik olan absorbans konsantrasyon ilişkisinden farklıdır.
- **v.** Floresans ve konsantrasyon arasındaki lineer ilişki soğuruculuğun (absorbans) sadece 0,05'ten küçük olduğu durumlarda doğrudur.

Özsoğurma ve özsönümlenme olayları floresans şiddeti-derişim eğrisinin doğrusallıktan sapma nedenlerindendir.

Özsoğurma: Molekülden yayılmış olan floresans ışını dedektöre doğru yol alırken başka moleküller ile karşılaşır ve floresans ışının sahip olduğu enerjinin bir kısmı bu moleküller tarafından soğrulur. Yüksek derişimlerde daha çok bu şekilde karşılaşılacak molekül bulunduğundan dolayı floresans şiddetinde azalma olur. Bu olay özsoğurma olarak isimlendirilir.

Özsönümlenme: Uyarılmış olan moleküller hem kendileri ile hem de çözücü ortam molekülleri ile etkileşerek enerjilerini ışımasız bir şekilde bu moleküllere aktarırlar. Uyarılmış moleküller birbiriyle ve çözücü molekülleri ile etkileşerek enerjilerini ışımasız olarak diğer moleküllere aktarırlar. Derişim arttıkça etkileşim artacağından dolayı yüksek derişmlerde floresans şiddeti azalır [19].

4. MALZEMELER ve YÖNTEMLER

4.1 Yumurtanın Yapısı ve İçeriği

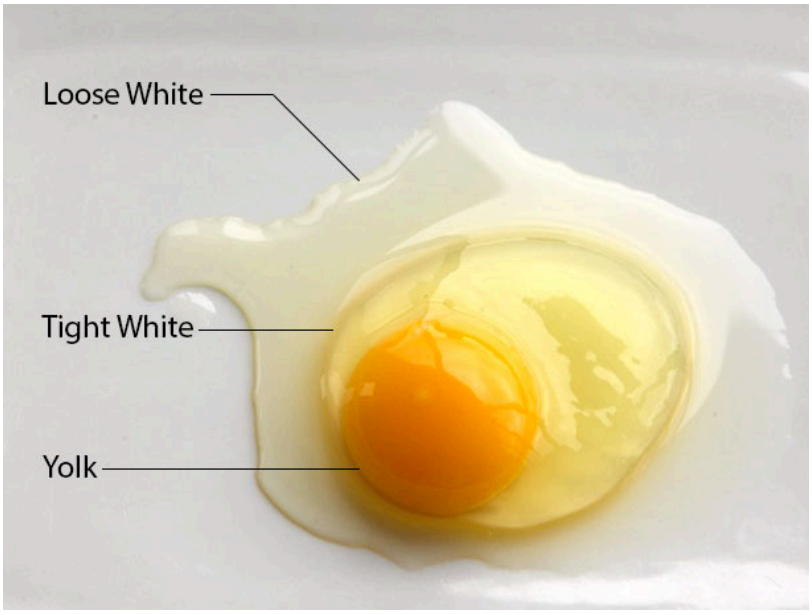
Yumurta hayvanlar alemindeki en büyük hücredir. Basit bir hücre bölünmesi ile oluşur ve çok çeşitli besinleri içerir. Embriyogenez için içerdiği temel besinler dışında yumurta embriyonun fiziksel (kabuk membranı ve kabuk) ve kimyasal (antibakteriyel, antiviral, antioksidan moleküller) olarak korunması için çok sayıda molekül içermektedir. Yumurta sırayla iki farklı anatomik yapı tarafından üretilmektedir. Yumurta sarısı bileşenleri karaciğer tarafından üretilip kan dolaşımı ile yumurtalığa ulaştırılır ve orada depolanır. Ovülasyon sırasında en büyük yumurtalık folikülü, yumurta kanalına olgunlaşmış yumurta sarısını bırakır. Daha sonra yumurta kanalının özelleşmiş segmentleri, dış vitellin membranın bileşenlerini, yumurta akını (albumen), kabuk membranını ve yumurta kabuğunu (sırayla yumurta sarısının etrafında depolanırlar) oluşturur [22] .

4.1.1 Yumurta akının yapısı

Yumurta akı viskozitelerine göre ayrılabilen 3 kısımdan oluşan heterojen bir ortamdır. En içteki likit katman (total yumurta akı ağırlığının %17'si) daha katı olan bir yumurta akı ile çevrelenmiştir (%57). Bu ikinci tip yumurta akı, yumurtanın küçük ve büyük olan iki ucu ile direk olarak ilişkilidir ve kabuktan en dış likit katman (%23) ile ayrılmaktadır. Likit ve viskoz katmanların oranları ise yumurtanın saklanma süresine ve yumurtanın ağırlığına göre değişiklik göstermektedir [22].

4.1.2 Yumurtanın bileşimi

Tavuk yumurtası yaklaşık olarak % 59 yumurta akından, % 31 yumurta sarısından oluşur. Bu iki yapı da yumurtanın toplam ağırlığının yaklaşık olarak %10'unu oluşturan bir yumurta kabuğunun içinde yer alır. Yumurtanın yenilebilir kısmına bakıldığında ise bütün bir tavuk yumurtası %74,4 su ve iki ana set besin maddesi içerir.



Şekil 4.1 : Kırılmış bir yumurtada katı ve ince olan yumurta akının gösterimi [23].

Bunlar proteinler (%12,3) ve eşdeğer miktarda lipidlerdir (%11,6). Ayrıca C vitamini hariç tüm vitaminler, çok sayıda mineral ve iz elementler de yumurtada mevcuttur. Temel olarak yumurta yüksek lizin ve sülfür amino asit içeriği sebebiyle insanların besin ihtiyacına uyan düşük enerjili bir protein kaynağı olarak düşünülebilir. Yumurta aynı zamanda kolayca sindirilebilen yağlar, kolin ve sefalin bakımından zengin olan fosfolipidler, doymamış yağ asitleri ve kolesterol kaynağıdır. Ayrıca fosfor, sülfür, çok sayıda vitamin açısından da önemli bir kaynaktır [22].

4.1.3 Yumurta akının bileşimi

Yumurta akı su, proteinler bazı mineral ve vitaminlerden oluşmaktadır. Ayrıca kan plazmasında bulunan serbest glukoz konsantrasyonunun yaklaşık iki katı oranda serbest glukoz (%0,4-0,9) içermektedir. Su, yumurta akının temel bileşenidir. Yumurtanın bu bölümünün yaklaşık %84-89'unu oluşturmakla birlikte ilgili yumurta akı alanına bağlı olarak değişiklik göstermektedir [22].

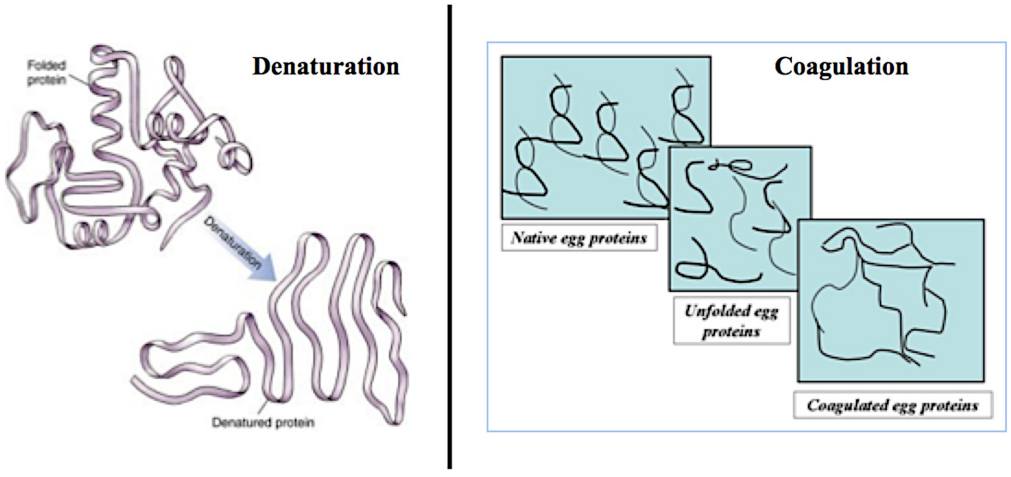
4.1.4 Yumurta akı proteinleri

Proteinler, çoğunlukla globüler glikoproteinlerden oluşan yumurta akının kuru maddesinin yaklaşık %90'ını oluşturmaktadırlar. Bu proteinlerden 6 tanesi yumurta akının (albumin) total protein içeriğinin %86'sını oluşturmaktadır. Yakın zamanda yapılan proteomik analizler yumurta akında 148 protein bulunduğunu ortaya

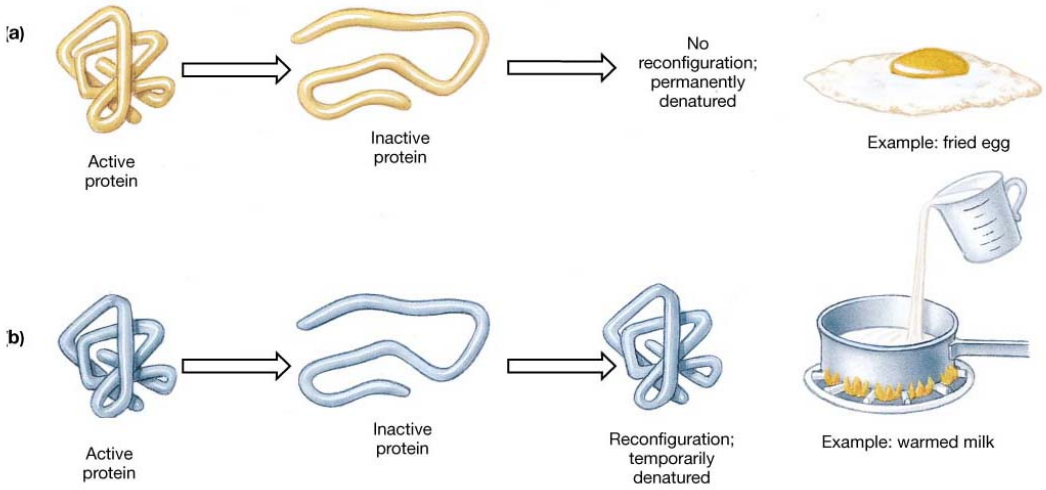
çıkarmıştır. Bu proteinler, geniş spektrumlu faaliyetleri kapsayan antimikrobiyal özellikleri ile dikkat çekmektedir. Bunlar yumurta immün hücrelerden yoksun olduğu için, yumurtanın doğal savunmasında önemli rol oynarlar. Bu moleküller antimikrobiyal aktivitelerini dört ana mekanizma ile uygularlar;

1. Mikrobiyal üreme için vitamin ve esansiyel minerallerin şelasyonu. (Şelasyon; iki veya çok dişli bir kimyasal ligandın iyonik bir substrata bağlanması veya komplekslenmesidir.)
2. Patojenlerin direkt bozunması
3. Patojen invazyonu ile ilişkili olan bakteriyal proteazların inhibisyonu
4. Patojenlerin konuk yüzeye adezyonunun sınırlanması [22].

Çiğ bir yumurta akında proteinleri oluşturan amino asit zincirleri suda asılı olan ve bu sebeple jele benzer likit bir yapı meydana getiren kompakt molekülleri oluşturan özel bir yapıda bağlantı kurarlar. Yumurta akı ısıtıldığı zaman protein molekülleri denatürasyon adı verilen bir proses ile çözülmeye başlarlar. Bu durum birbirleri ile kolaylıkla karışıp dolaşabilen uzun amino asit ipliklerinin ortaya çıkmasına sebep olur. Bu amino asit iplikleri birbirleri ile karışıp yeni ama daha zayıf olan bağlar oluştururlar. Bu sebeple pişmiş bir yumurta akı yumuşak katı bir hal alır [24].



Şekil 4.2 : Sol taraf: Proteinde meydana gelen denatürasyon [25]. Sağ taraf: Proteinlerin denatürasyonu sonucu meydana gelen koagülasyon [26].



Şekil 4.3 : Sıcaklıkla meydana gelen geri dönüşümlü veya dönüşümsüz olan denatürasyonun şematik gösterimi [27].

Proteinlerde ikincil, üçüncül ve dördüncül yapının bütünlüğü ile konformasyon oluşur. Aslında denatürasyon prosesi de proteinlerin ikincil veya üçüncül yapılarını kaybetmesidir. Bu durum da doğal çevrenin bozulması ile ortaya çıkabilir. Örneğin sıcaklık artışı, yüksek pH veya ortama üre ya da etanol gibi organik maddelerin eklenmesi. Çoğu protein çözeltisi de ısıtıldığı zaman protein molekülleri erimez hale gelerek pıhtılaşma gösterirler; bu durum da koagülasyon olarak tanımlanır [28].

4.1.5 Yumurta akı karbohidratları

Yumurta akı %0,8 oranında karbohidrat içermektedir. Bu karbohidratların yarısı, çoğunlukla glukoz (%98) olmak üzere serbest formda bulunmaktadırlar. Diğer yarısı ise; monosakkaritlerden, N-asetillenmiş (N-asetylated) amino şekerlerden, uronik asit ve sialik asitten oluşmaktadır. Glikanlar proteinlere asparajine ait (ovalbumin, ovotransferrin, ovomukoid ve avidin) glikan ve amid grupları arasındaki bir N-glikosidik bağı ile bağlanırlar. Ya da glikanlar proteinlere serin ve treoninin (β ovomukin) alkol fonksiyonunun hidroksili ile glikan arasında oluşturulan bir *O*-glikosidik bağı ile bağlanırlar. Yumurta akının jel benzeri yapısı, α ve β ovomukinlerin bağıl orantılarına bağdaştırılmaktadır. α ve β ovomukinler ise karbohidrat içeriklerine bağlı olarak birbirlerinden ayrılmaktadır [22].

Çizelge 4.1 : Yumurta akında bulunan proteinler, bu broteinlerin miktarları, özellikleri ve karakteristikleri [29].

Protein	Amount (%)	M Wt (KDa)	pI	Characteristics
Ovalbumin	54	45	4.5	
Ovotransferrin	12-13	77.7	6.0	Binds iron and other metal ions
Ovomucoid	11	28	4.1	Inhibits serine proteinases
Lysozyme	3.4-3.5	14.3	10.7	Lysis of bacterial cell walls
Ovomucin	1.5-3.5	220-270000	4.5-5.0	Interacts with lysozyme
G2 ovoglobulin	1.0	47	4.9-5.3	
G2 ovoglobulin	1.0	50	4.8	
Ovoflavoprotein	0.8	32	4.0	Binds riboflavin
Ovostatin	0.5	760-900	4.5-4.7	
Cystatin	0.05	12	5.1	Inhibits cysteine proteinases
Avidin	0.05	68.3	10.0	Binds biotin
Thiamine-binding protein	-	38	-	Binds thiamine
Glutamyl aminopeptidase	-	320	4.2	
Minor glycoprotein 1	-	52	5.7	
Minor glycoprotein 2	-	52	5.7	

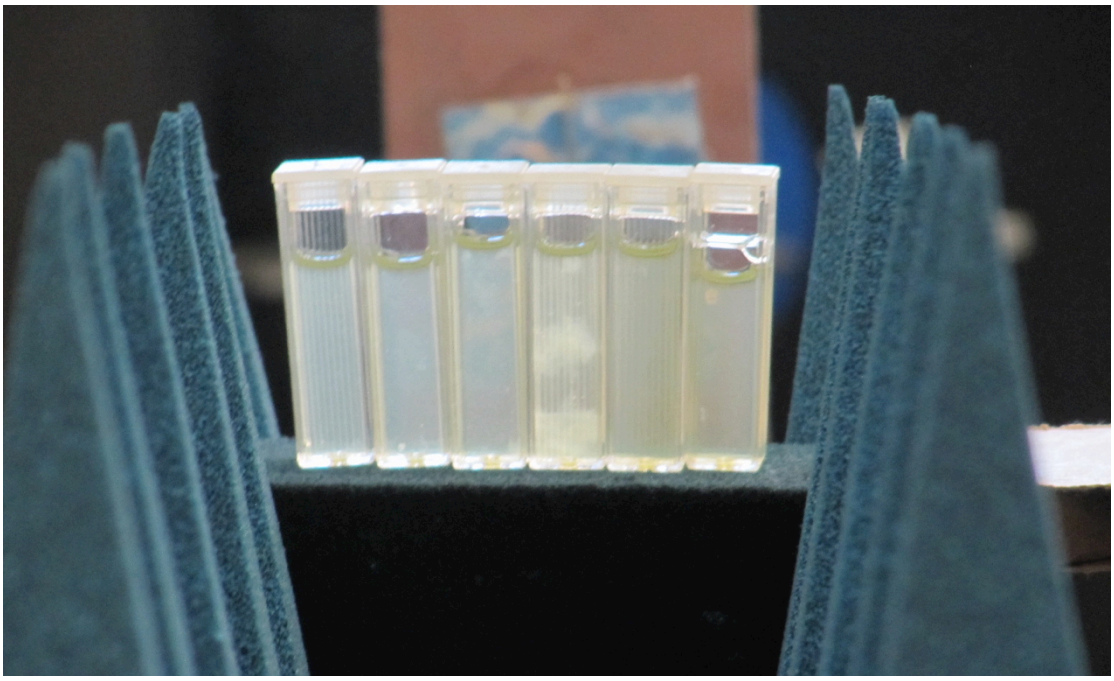
4.1.6 Yumurta akı mineral ve vitaminleri

Yumurta akı embriyonun gelişebilmesi için tüm temel mineralleri içermektedir. Özellikle fosfor, potasyum ve içerdiği iz elementler ile (iyod, selenyum) insanın günlük besin ihtiyacı bakımından önemli bir yer tutsa da sodyum ve potasyum açısından fakirdir. Kendi mineral içeriği göz önüne alındığı zaman yumurta akı hücre dışı sıvıdan daha çok hücre içi sıvıya benzerlik gösterir. Özellikle β ovomukin olmak üzere proteinlerin belli kısımları ile bağ kuran bivalent katyonlara (Ca^{++} ve Mg^{++}) bakıldığında bu katyonlar daha katı olan yumurta akında, likit (sıvı) olana göre iki katı fazla bulunmaktadırlar. Ayrıca yumurta akının viskozitesinde bu katyonların da rol oynadığı düşünülmektedir. Vitamin açısından bakıldığında yumurta akı düşük vitamin içeriğine sahiptir; bununla beraber yağda çözülen vitamin içermemekte, sadece suda çözülen B grubuna ait vitaminleri içermektedir [22].

4.1.7 Yumurta aklarının hazırlanması

Bu deneyde yumurtalar her tekrar (her gün) için taze olarak temin edilmiştir. Her tekrarda yumurta akı sarısından ayrılarak bir beher yardımı ile (olduğu gibi) plastik

küvetlere paylaştırılmıştır. Spektrofotometrede ölçüm alınırken kuvars küvetlerin kullanılması gerekmektedir. Dolayısı ile yumurta akı, kontrol ölçümü için plastik küvetlerin yanında bir de kuvars küvete konularak (UV-görünür bölgede) spektrofotometrede ölçüm alınmıştır. Spektrofotometrede ölçüm alınırken kullanılan küvetler kuvars olmasına karşın, mikrodalga anten düzeneğinde yumurta akları plastik küvetlerde ışımaya maruz bırakılmıştır. Bunun sebebi kuvars küvetlerin hem kırılmaya karşı çok hassas hem de çok pahalı olması ve elimizde az sayıda bulunmasıydı. Plastik küvetlerin avantajı ise çok sayıda temin edilebilmesi, ucuz ve sağlam olmasıdır. Bu da aynı ortam şartlarında farklı sürelerde yapılan ışımalar için birden fazla deneme yapılabilmesine olanak sağlamıştır. Deney düzeneğinde, ışıma esnasında plastik küvetlerin kullanılması yumurta akına aktarılan enerjide herhangi bir değişime sebep olmamaktadır.



Şekil 4.4 : Deney düzeneğinde kullanılan, içine yumurta akı konulmuş plastik küvetler.

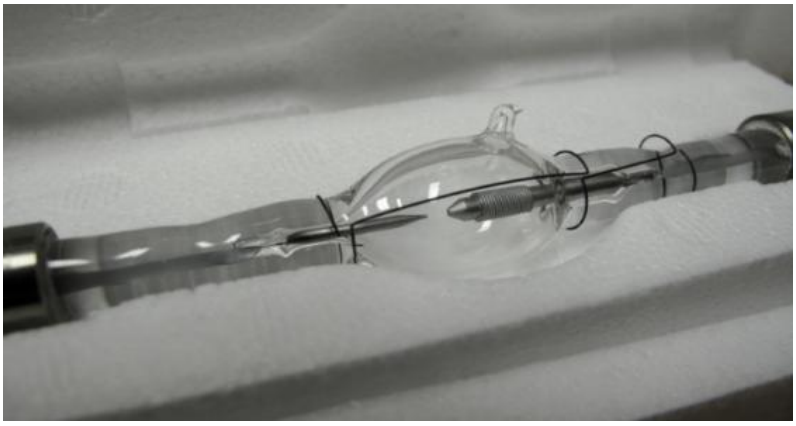
4.2 Spektrofotometre Enstrümantasyonu

Floresan, emisyon dedektörüne 90 derece ile yerleştirilen bir uyarım (eksitasyon) kaynağı ile ölçülmektedir. Uyarım ışıması ise bir (xenon flash lamp) ksenon flaş lambası ile sağlanmaktadır. Ksenon flaş lambası saniyede 80 kere yanıp sönmektedir ve yaklaşık 2 ile 3 mikrosaniyelik bir (pulse width) darbe genişliğine sahiptir.

"Schwarzchild" toplayıcı aynaları ksenon flaş lambası modülünden gelen ışık enerjisini toplamaktadır. Daha sonra bu ışık bir lens vasıtası ile uyarım giriş yarığı (excitation entry slit) üzerine odaklanmaktadır. Odaklanan ışık son olarak bir uyarılma monokromatörüden geçerek örneğe ulaşmaktadır. Elde edilen floresan emisyon monokromatöründen geçerek (ışıl çoğaltıcı) bir fotoçoklayıcı (PMT) ile saptanır. Her iki monokromatör; 30 mm x 35 mm, 1200 çizgi/mm'lik saçılma ızgarası (dispersion grating), ±1.0 nm'lik doğruluk ve ±0.2 nm'lik dalga boyu tekrarlanabilirliğine sahip "Czerny-Turner" tipidirler. Her iki monokromatörde de ızgaranın dönmesi dalga boyu seçimini sağlamaktadır [30].



Şekil 4.5 : Cary Eclipse floresans spektrofotometresi [31].



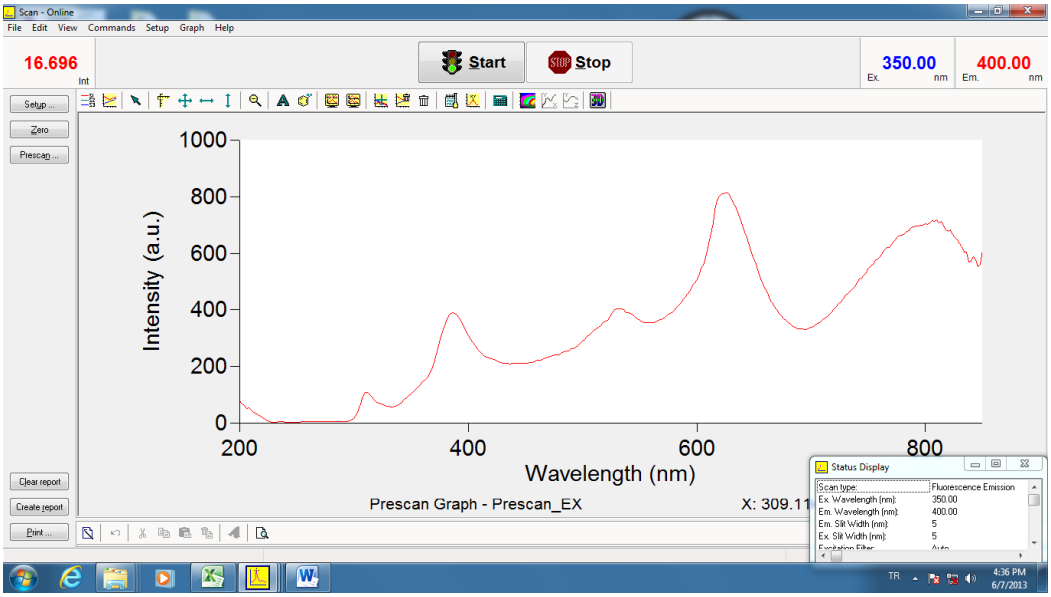
Şekil 4.6 : Ksenon lambası [32].

Deneylerde floresans ölçümü için yukarıda açıklaması yapılan Cary Eclipse florometresi kullanılmıştır. Her tekrarda taze alınan yumurta, sarısından ayrıldıktan sonra elde edilen yumurta akı plastik küvetlere paylaştırılmıştır. Plastik küvetlere

ilave olarak kontrol ölçümü alınması için yumurta akının bir kısmı da kuvars küvete konulmuştur. Kontrol ölçümü alındıktan sonra kuvars küvette bulunan yumurta akı tekrar plastik küvete alınıp, diğer küvetlerle beraber RF anten düzeneğine yerleştirilmiştir.

4.2.1 Florometrede ölçüm

Cihaz açık moda getirildikten sonra örneğin bulunduğu küvet, florometrenin küvet tutucu bölümüne yerleştirilip, cihazın üst kapağı kapatılmaktadır. Daha sonra florometrenin bağlı olduğu bilgisayarda Cary Eclipse'in kullanım programı açılıp, tarama modu seçilmektedir. Açılan kullanıcı ara yüzü Şekil 4.7' de gösterilmiştir. İlk olarak sol kısımda bulunan prescan (ön tarama) modu kullanılmaktadır. Prescan modu; örneğin soğurma spektrumunu ölçmektedir. Cihaz, örneğin soğurma spektrumunu verdikten sonra bu spektrumun bulunan en yüksek tepesini seçerek floresans emisyon ölçümünü kendi otomatik olarak gerçekleştirmektedir. Ancak yumurta akında en yüksek soğurma tepesi daha yüksek dalga boylarında yani floresans emisyonu veren proteinlerin bulunduğu dalga boyu bölgesinden daha yüksek dalga boylarında ortaya çıkmaktadır. Dolayısıyla prescan modu çalıştırılıp örneğin soğurma spektrumu elde edildikten sonra cihaz floresans emisyonu bulamamaktadır.



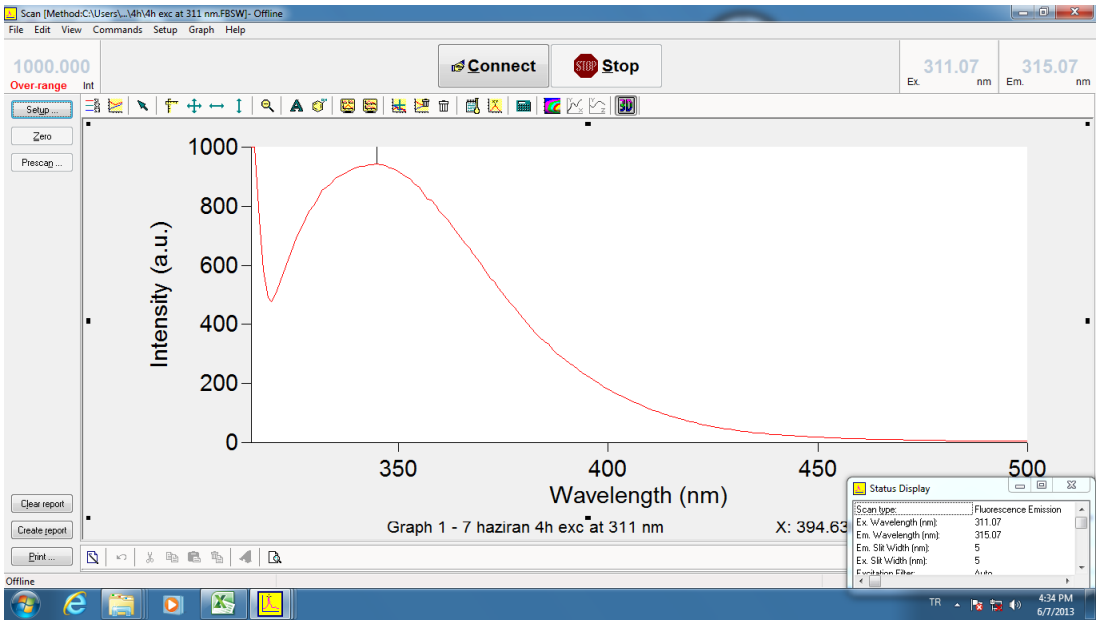
Şekil 4.7 : Yumurta akının soğurma spektrumu.

Şeklide de görüldüğü gibi soğurma spektrumunda ortaya çıkan en yüksek tepe 620-630 nm dalga boyu civarında ortaya çıkmaktadır. Bu frekanslar suyun soğurma

gösterdiği bölgelerdir. Ölçümlerde elde edilen soğurma spektrumunda 300-400 nm arasında çıkan iki tepe ele alınmıştır. Bu tepelerden bir tanesi 311 nm'de diğeri 386 nm'de yer almaktadır. Şekil 4.7' nin yine sol tarafında bulunan setup (ayar) modu açılıp bu iki soğurma tepesi için sırasıyla 311 nm ve 386 nm uyarma dalga boyu aralığı girilerek floresans ışıldama ölçümü alınmıştır. Burada;

311 nm uyarma dalga boyu için ışıldama aralığı; 315 nm - 600 nm,

386 nm uyarma dalga boyu için ışıldama aralığı; 390 nm - 600 nm olarak seçilmiştir.



Şekil 4.8 : 4 saat ışımaya bırakılmış olan yumurta akının 311 nm soğurma dalga boyu için floresans ışıma ölçümü.

Bu parametreler her iki tepe için sırasıyla girildikten sonra örneğin bu iki dalga boyundaki floresans emisyon spektrumları ölçülmüştür. Bu işlemler, her deneyde her küvetin ölçümü için tekrarlanmıştır. Her ölçüm bittikten sonra, elde edilen soğurma ve emisyon verileri Excel formatında kaydedilmiştir. Daha sonra bu veriler ile, kontrol ve farklı sürelerde ışımaya maruz bırakılan örneklerin floresans emisyon spektrumları karşılaştırılmıştır.

4.3 Küvetler

Spektroskopik ölçümlerde ölçüm yapılacak örneğin içine konulduğu kaplara küvet denir. Küvetler dört köşeli veya tüp şeklinde bulunmasına karşın ölçümlerde daha çok dört köşeli ve iki yanı buzlu, iki yanı cilalı şekilde olan küvetler tercih

edilmektedir. Küvetlerin yapıldığı madde soft veya borosilikat cam, kuvars ya da plastik olabilir ve küvetler amaca bağlı olarak yapıldıkları maddeye göre ölçümlerde tercih edilirler. Görünür bölgedeki ölçümler için cam küvetler tercih edilir (320-700 nm). Asidik yapılı örneklerde soft camdan, bazik yapılı örneklerde borosilikat camdan yapılmış olan küvetler tercih edilir. Ancak UV dalgalarda cam küvetler bu bölgede emilim yaptıklarından dolayı uygun değillerdir. Bu deneyde plastik ve kuvars olmak üzere iki farklı küvet kullanılmıştır. Işıma sırasında kullanılan yumurta aklarının konulduğu plastik küvetler hem kullanım sırasında kolayca çizilebilmeleri sebebiyle uzun ömürlü değillerdir, hem de spektrofotometre ölçümlerinde kullanılan UV-Vis dalgalar için uygun değillerdir, çünkü plastik küvetler de cam küvetler gibi UV bölgede emilim yaparak ölçüm hatasına yol açabilmektedirler. Kuvars küvetler ise hem UV hem de görünür bölge için kullanışlıdır ve uzun ömürlü olduklarından dolayı gelecek çalışmalarda da rahatlıkla kullanılabilmektedirler.

Çizelge 4.2 : Deneyde kullanılan kuvars küvetlerin özellikleri.

Işık yolu:	10 mm
Hacim:	3500 µl
Dış Boyutlar	
Yükseklik:	45 mm
Genişlik:	12,5 mm
Derinlik:	12,5 mm
İç Boyutlar	
Genişlik :	9,5 mm
Taban Kalınlığı:	1,5 mm
Pencere Sayısı: 2	

Spektrofotometrede çalışırken doğru bir şekilde ölçüm alınabilmesi için dikkat edilmesi gereken bazı durumlar vardır;

- Olabildiğince iyi kaliteli, dalga boyuna uygun olan ve birbiri ile uyumlu olan küvetler kullanılmalıdır,
- Küvetlerin üzerinde herhangi bir kırık veya çizik olmamasına ve küvetlerin temiz olmasına dikkat edilmelidir,

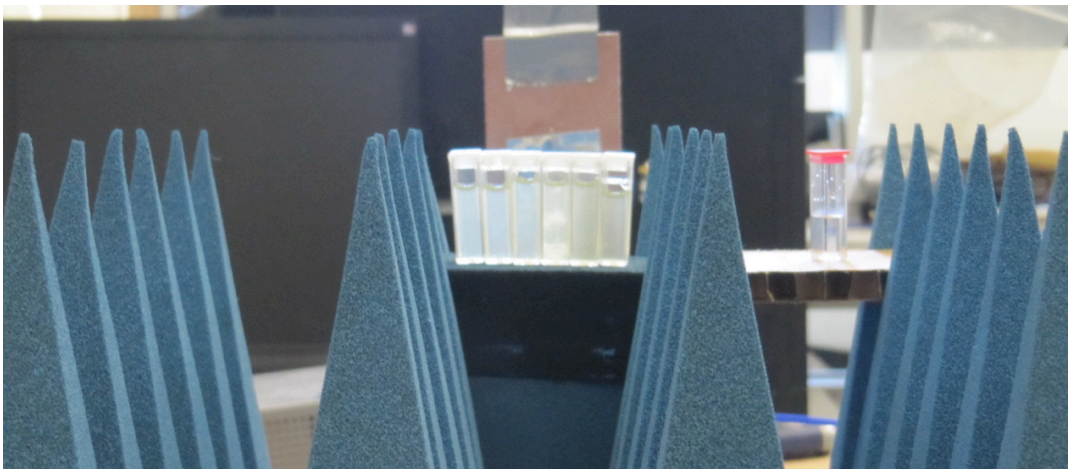
- Eskime, çizilme, aşınma gibi durumları tespit edebilmek için küvetler düzenli birşekilde birbirine karşı kalibre edilmelidir,
- Küvetler cihaza yerleştirildiğinde, küvetlerin cilalı kısımları ışık giriş ve çıkış yönlerine gelmelidir,
- Küvetlerin cilalı kısımları kullanım esnasında tutulmamalıdır ve herhangi bir amaçla (kurutma) ısıtılmamalıdır [33].

4.3.1 Küvetlerin temizliği

Küvetlerde bulunan örneklerin ölçümleri tamamlandığında ilk olarak çeşme suyundan geçirilerek çalkalanmışlardır. Daha sonra %40'lık etanol ile yıkanıp içleri bir eküvyon çubuğu yardımıyla temizlenmiştir. Tekrar çeşme suyundan geçirilip bir kağıt peçete üzerinde kurumaya bırakılmışlardır.
Ölçüm alınırken de küvetlerin üzerinde parmak izi olmamasına dikkat edilmelidir. Bu sebeple küvetlerin dışı her ölçümden önce bir kağıt peçete yardımı ile %40'lık etanol ile silinmiştir.

4.4 RF Anten Düzeneği

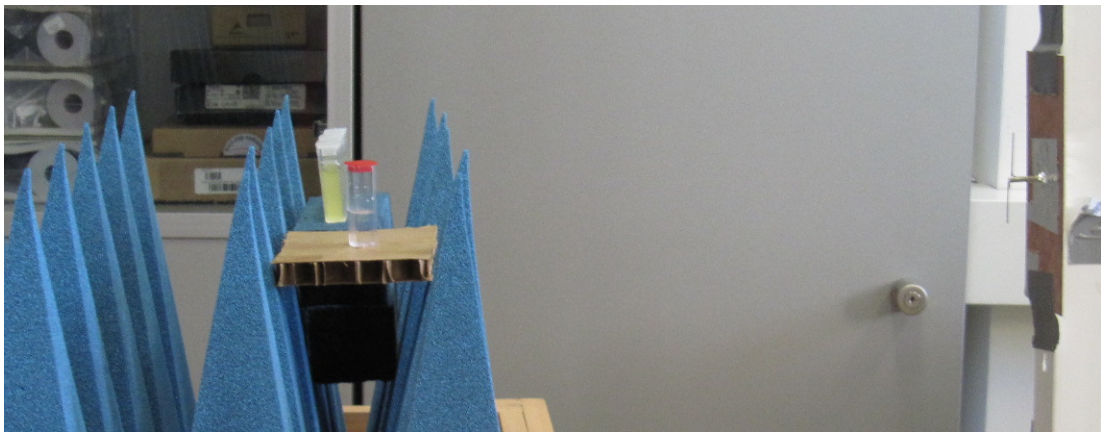
Çalışmada, Yeditepe Üniversitesi Elektrik Elektronik Mühendisliği bölümünce tasarlanan ve gerçekleştirilen bir mikrodalga anten düzeneği kullanılmıştır. Yumurta akları bu düzenekte ilk aşamada 2, 4 ve 6 saat olmak üzere üç farklı sürede ışımaya tabi tutulmuştur. Işıma 2,45 GHz frekansında (Wi-Fi), CW (continuous wave), +25 dBm (316,2 mW) çıkış gücündedir. RF ve mikrodalga sistemlerinde genellikle empedans 50 Ω'dur. Bu durumda 25 dBm güç seviyesinde elde edilen $V_{RMS;}$ 3,9764 V olarak elde edilmektedir.
İlk aşamada plastik küvetlere konmuş olan yumurta akları deney düzeneğinde balunlu dipolden 40 cm uzaklığa yerleştirilmiştir. Küvetler yollanan ışımanın yansımasını önlemek için elektromagnetik soğurucuların arasına yerleştirilmiştir. Dipolün arkasına yönlendirme için metal plaka yerleştirilmiştir. Yumurta aklarının bulunduğu küvetler her ışıma süresi tamamlandığında düzenekten alınıp spektrofotometrede floresans (ışıldama) ölçümleri yapılmıştır. Bu deney düzeneğinde 7 ölçüm gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.9 : Işıma düzeneği ve küvetler.



Şekil 4.10 : Balunlu dipolün görüntüsü.



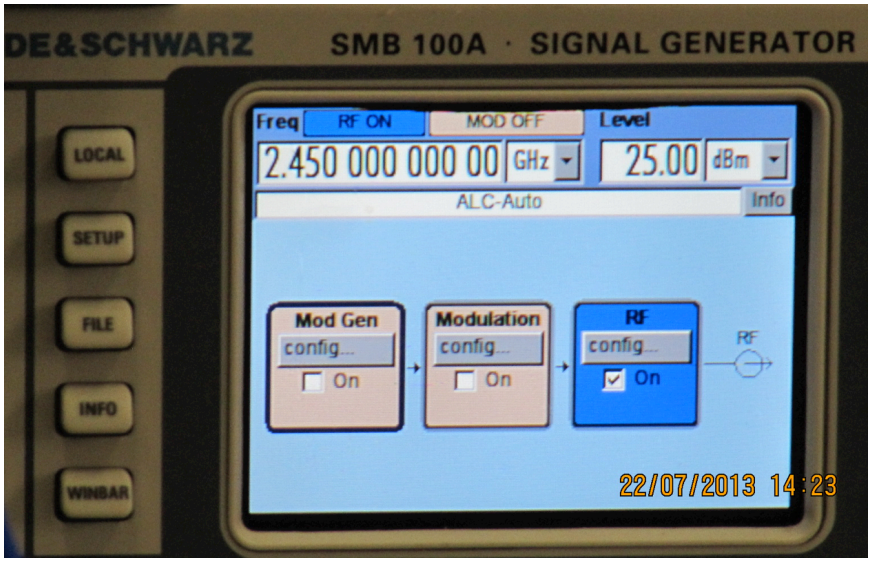
Şekil 4.11 : Işıma uzaklığı birinci düzenekte 40 cm olarak ayarlanmıştır.

$$dB_m = \log(mW) * 10 = L_p \tag{4.1}$$

Bu bağıntıda L_p elektriksel güç seviyesi şeklinde karakterize edilir.

$$mW = 10^{(dB_m/10)} \tag{4.2}$$

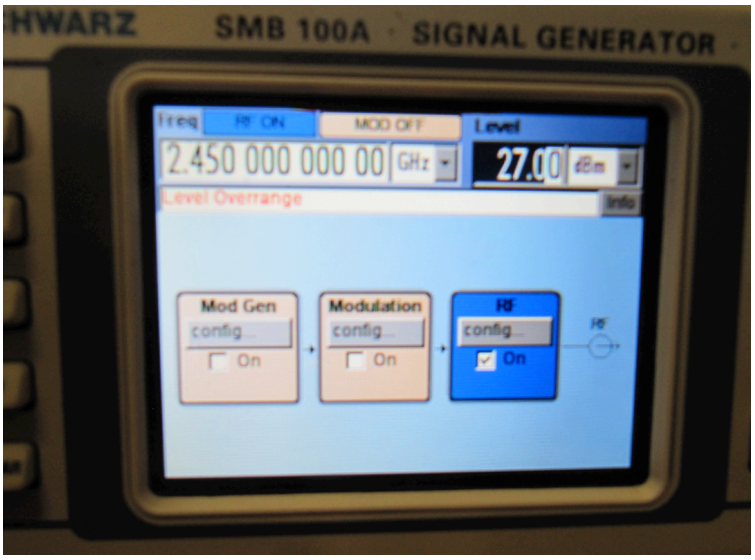
$$V_{RMS} = \sqrt{P.R} \tag{4.3}$$



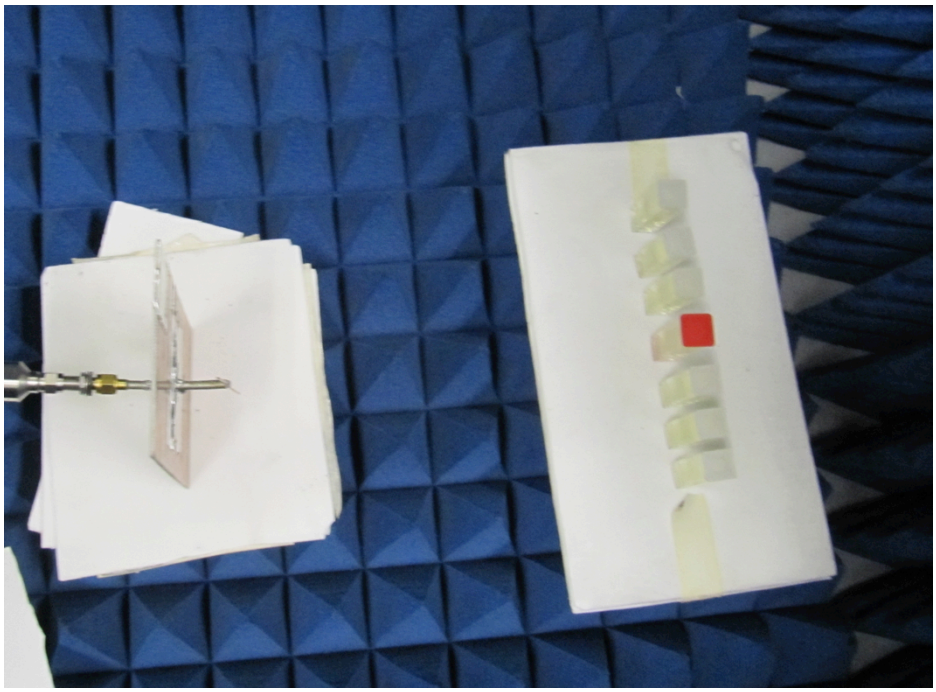
Şekil 4.12 : RF sinyal jeneratörü (2,45 GHz ve 25 dBm).

Bu tekrarlardan sonra ölçümler incelendiğinde, anlamlı bir sonuç elde edilememiştir. Yani ışımaya maruz bırakılan örneklerin ışıldama spektrumlarındaki tepeler hep aynı

frekansta çıkmakta ve bu tepelerde (pikler) herhangi bir kayma veya genişleme/daralma görülmemektedir. Spektrumda gözlemlenen tek değişiklik ışıldama şiddetinde görülmüştür. Ancak ışıldama şiddetinde oluşan bu değişim tutarlı olmayıp her tekrarda kontrol ölçümüne göre artma veya azalma göstermektedir. Bu tutarsızlık durumu da yumurta akının homojen bir yapı olmamasına bağlanmaktadır. Yani her küvette bulunan yumurta akı aynı konsantrasyonda olmayıp içlerindeki partikül miktarları da değişiklik göstermektedir. Floresans şiddetinin örneğin konsantrasyonuna bağlı olduğu ve içinde parçacık ihtiva eden örneklerde içsel saçılmadan dolayı (Tyndall saçılması) floresans şiddetinin etkileneceği göz önüne alındığı zaman ölçümlerde floresans şiddetine bağlı olarak yorum yapmak zordur. Ayrıca elektromagnetik alanların ısıl ve ısıl olmayan etkilerine bakıldığı zaman da oluşacak herhangi bir ısıl etki durumunda meydana gelecek ısı artışı sonucunda proteindeki bağların zayıflayıp kopması ile proteinin konformasyonunda değişiklik meydana gelemesi gerekir bu durumu da floresans şiddetlerinde tutarsızlık olmasına rağmen kayda değer bir düşüş veya yükseliş gözlemlenmesi gerekirdi çünkü floresans ölçümlerinde konformasyonel değişimler floresans şiddetinde değişim olarak gözlemlenir [50]. Bununla beraber herhangi bir ısıl olmayan etki durumunda da örneklerin titreşimsel ve rotasyonel modlarında meydana gelen bir değişim sonucunda spektral tepelerde daralma veya genişleme gözlemlenmesi gerekirdi. Bu şekilde bir değişim görülmemesi üzerine ışıma düzeneğinde birtakım parametreler değiştirilerek yeni bir düzenek oluşturulmuştur.

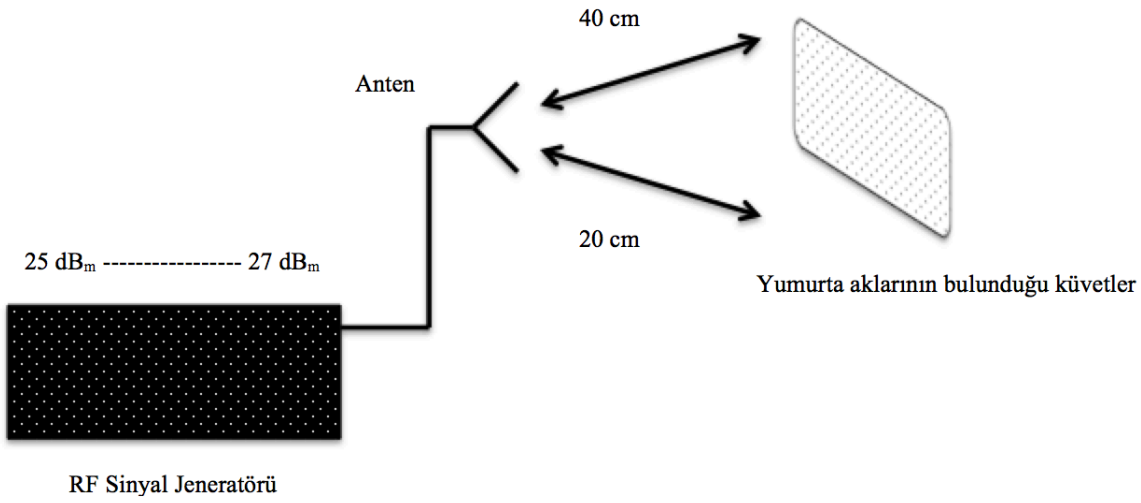


Şekil 4.13 : RF sinyal jeneratörü (2,45 GHz ve 27 dBm).

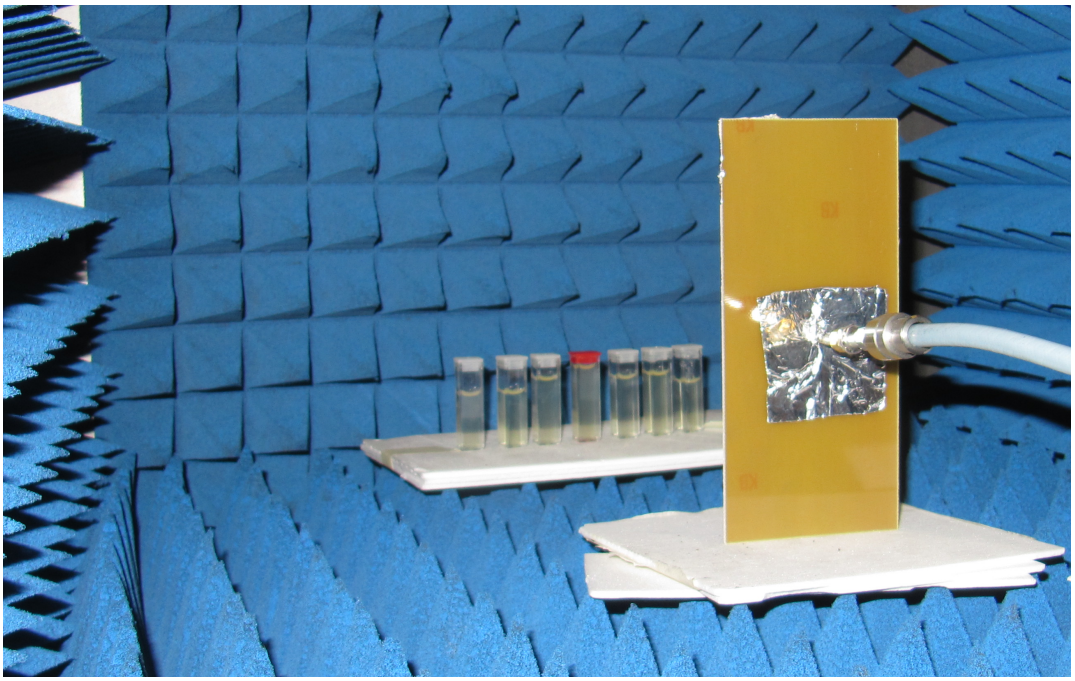


Şekil 4.14 : 2. düzenekte küvetlerin balunlu dipolden olan uzaklığı 20 cm olarak ayarlanmıştır.

Bu ikinci düzenekte ışıma uzaklığı 40 cm'den 20 cm'ye çekilmiştir. +25 dBm (316,2 mW) olan çıkış gücü +27 dBm'e (500 mW), (V_{RMS} ; 5,009 V) çıkartılmıştır. Işıma süresi 3, 6 ve 24 saat olarak değiştirilmiştir. Bu düzenekte 3 ve 6 saatlık ışıma süreleri için 3'er örnekten ölçüm alınmış, 24 saatlik ışıma için 7 örnekten ölçüm alınmıştır.



Şekil 4.15 : RF anten düzeneğinin şematik çizimi.



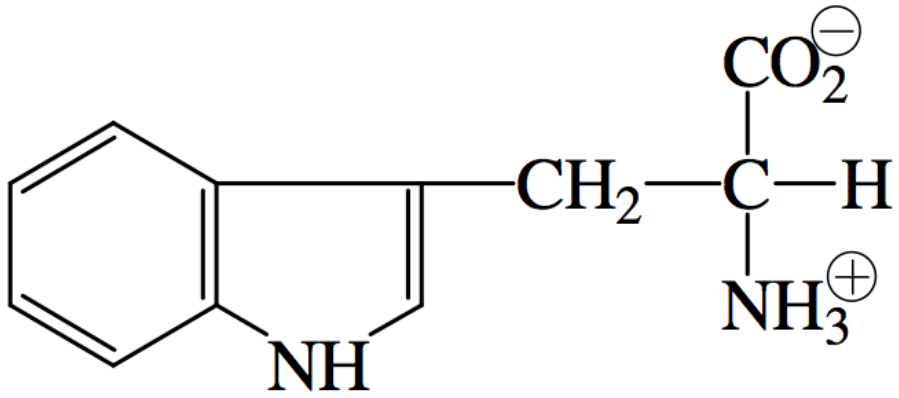
Şekil 4.16 : İkinci düzeneğin görüntüsü.

5. SONUÇLAR

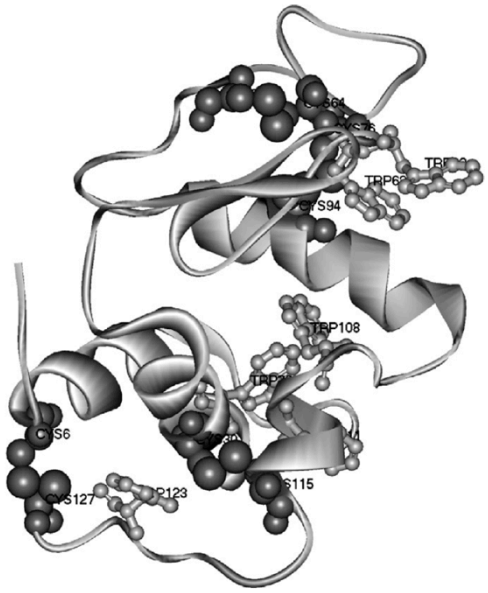
Bu çalışmadaki deneylerde daha önce de bahsedildiği gibi iki düzenek kullanılmıştır. Birinci düzenekteki ışıma; 2,45 GHz frekansında (Wi-Fi), CW (continuous wave) ve +25 dBm (316,2 mW), ($V_{RMS;}$ 3,9764 V) çıkış gücüne sahiptir. Bu düzenekte gerçekleştirilen ölçüm sayısı 7'dir. İlk tekrarda düzeneğe sadece içlerinde yumurta akı olan 3 kuvars küvet yerleştirilmiştir. Küvetler balunlu dipolden 40 cm uzaklığa yerleştirilmiştir. Işıma başladıktan 2 saat sonra birincisi, 4 saat sonra ikincisi ve 6 saat sonra üçüncüsü alınıp soğurma ve floresans ölçümleri gerçekleştirilmiş. Ancak kuvars küvetlerin kapakları vakumlu olmadığından içlerinde bulunan yumurta akları üst kısımdan kuruyup küvetlerin temizlenmesinde oldukça zorluk çıkarmıştır. Bunun üzerine diğer yapılan tekrarlarda düzeneğe yerleştirilmek üzere plastik küvetler kullanılmıştır. Plastik küvetler; kapaklarının vakumlu olması, kuvars küvetlere göre daha sağlam olmaları ve ucuz olduklarından dolayı istenilen sayıda temin edilebilmeleri gibi avantajlara sahiptir. Elimizde yeterli sayıda plastik küvet olduğundan dolayı ışımayı aynı ortam şartlarında gerçekleştirmek adına (ortam sıcaklığı) bu tekrarlarda toplam 6 küvet ışımaya bırakılmıştır ve bu küvetler 2 saat-1, 2 saat-2, 4 saat-1, 4 saat-2, 6 saat-1, 6 saat-2 şeklinde gruplandırılmıştır. Işıma başladıktan sonra bu küvetler gerekli süreler dolduğunda ikişer ikişer alınarak ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Bunun sonucunda 2, 4 ve 6 saatlik ışımaların her biri için elimizde iki örnek ve dolayısı ile iki ölçüm mevcut olmuştur. Bu durumun başka bir avantajı ise aynı ortam şartları altında ölçüm yapmanın yanı sıra aynı yumurtadan çıkan yumurta akının kullanılabilmesidir, çünkü yumurtalar her tekrar için taze olarak temin edilmiştir yani her tekrarda aynı markanın başka bir yumurtası kullanılmıştır. Her ne kadar aynı markanın yumurtaları olsalarda yumurtaların ortalama içeriklerinin (protein miktarı, su miktarı gibi) tamamen aynı olabilmesi çok düşük bir olasılıktır. 2, 4, 6 saatlik ölçümlerin hem kontrolle hem de kendi aralarında karşılaştırma yapılırken aynı yumurta akının kullanılması da daha doğru gözlemler yapılabilmesine olanak tanımıştır. Ölçümler alınırken her küvetin soğurma ve ışıldama spektrumları ölçülmüştür. Elde edilen bu spektrumların, aynı yumurta akından ilk olarak alınan kontrol ölçümü ile ve kendi aralarında karşılaştırılması

yapılmıştır. Karşılaştırmalar; kontrolün ve örneklerin soğurma spektrumlarında, 311 nm ve 386 nm' uyarma dalga boylarında verdikleri floresans spektrumlarında yapılmıştır. Hem 311 nm hem de 386 nm uyarma dalga boyunda yapılan tüm floresans ışıldama ölçümlerinde uyarma ve ışıldama yarık aralıkları 5nm'ye ayarlanmış ve bu ölçümler orta tarama hızında gerçekleştirlimiştir. Kontrol ölçümü her yumurta akından bir tane alınmıştır çünkü düzeneğe konulan küvetlerin her süre dolumunda düzenekten çıkarılıp ölçülmesi ve tekrar düzeneğe geri yerleştirilmesi, ışıma süresinde aksaklığa yol açması ve proteinlerde yeni başlamış olan veya ileriki sürelerde başlayacak herhangi bir denatürasyonun durması veya geri dönüşümü yani renatürasyonu gibi durumlara sebep olabilir ve bu bozulmanın görülmesine engel olabilirdi.

Çoğu proteinde en baskın florofor triptofan aminoasitidir. Triptofan; indol parçasına sahip olan düzlemsel bir konjuge (bağlantılı) bisiklik (iki halkalı) sistem olarak karakterize edilir. Triptofanın maksimum soğurması polar çevreye çok hassas olmakla birlikte 280 nm ye yakın dalga boylarında gerçekleşir. Polar olmayan bir çevrede bulunan triptofan (proteinin içerisine gömülmüş halde) maksimum ışıldamasını 320 nm' ye yakın dalga boylarında gösterirken, polar bir çevrede maksimum ışıldaması 350 nm' ye yakın dalga boylarında gerçekleşir. Tavuk yumurtasının akında yüksek oranda bulunan bir protein olan lizozim ise birincil diziliminde 129 amino aside sahip olup amino asit rezidülerini barındıran sülfidril grupları arasında dört tane disülfid bağına sahiptir [34].



Şekil 5.1 : Triptofanın yapısı [34].



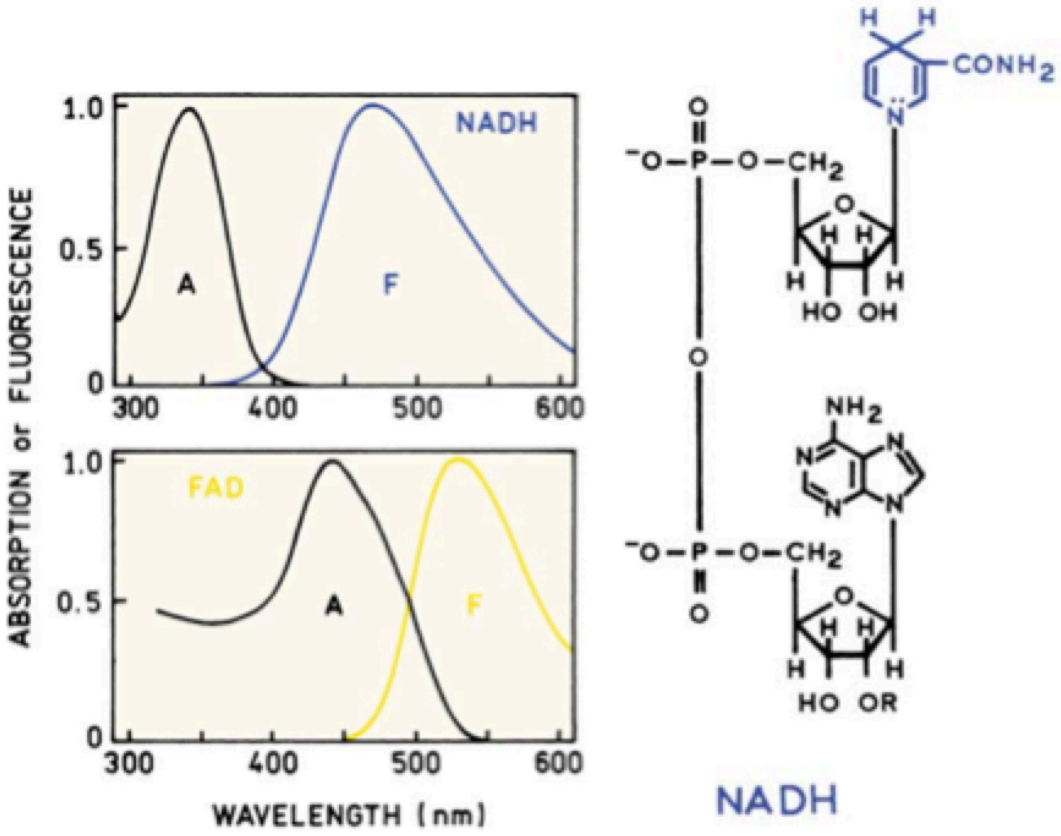
Şekil 5.2 : 4 çift disülfid bağı ve 6 triptofan rezidüsü ile tavuk yumurta akı lizozomunun yapısı [35].

Yumurta akı lizozomu (HEWL) alfa sarmal ve beta yaprak yapılarından oluşan iki bölgeli globüler bir proteindir. Ayrıca lizozim 4 çift disülfid bağına sahiptir. Bu disülfid bağlarından ikisi alfa bölgesinde, bir tanesi beta bölgesinde ve sonuncusu da iki bölge arasında bir bağ oluşturacak şekilde yer alır. Bu globüler proteinde altı tane triptofan rezidüsü bulunmaktadır. Bu rezidülerden Trp62, Trp63 ve Trp123 olmak üzere üç tanesi çevresel değişikliklerle en kolay etkilenen rezidülerdir. Bu rezidülerin konformasyonel değişikliklere karşı olan yüksek hassasiyetleri sebebi ile de lizozim floresans çalışmaları için iyi bir örnek teşkil eder [35].

Bu bilgiler ışığında yumurta akının 311 nm'de uyarılması sonucunda 318 nm ile 400 nm arasında ortaya çıkan ve maksimum ışıldamasını 335 nm gösteren molekülün (yumurta akında da yüksek oranda bulunduğu da düşünülerek) lizozim olduğu tahmin edilmektedir. (Deneylerde ölçtüğümüz soğurma ve emisyon dalga boyları yukarıda bahsedilen değerlere yakın olan dalga boylarıdır, aradaki fark ortam pH' sından ve sıcaklık gibi diğer çevresel faktörlerden kaynaklanmaktadır).

Enzim kofaktörleri çoğunlukla floresans ışıldaması gösterme özelliğine sahiptir. Bir enzim kofaktörü olan Nikotinamid Adenin Dinükleotid (NADH) yüksek floresan özelliğine sahip olup soğurma ve ışıldama maksimumları sırasıyla 340 ve 460 nm civarındadır. Oksitlenmiş formu olan NAD^+ ise floresans göstermez. NADH'taki floresans gösteren grup indirgenmiş nikotinamid halkasıdır. Çözeltiler içinde

NADH'ın gösterdiği floresans çarpışmalara veya Adenin kısmı ile kümelenmeye bağlı olarak kısmen sönümlenir. Proteinlere bağlanmasına bağlı olarak NADH'ın kuantum verimliliği genellikle 4 kat artış gösterir ancak proteine bağlı olarak floresansında artış veya azalma gözlemlenebilir [52]. Ölçüm sonuçlarında maksimum soğurmasını 386 nm'de gerçekleştiren ve 386 nm'de uyarılma sonucunda maksimum ışıldamasını 410 nm civarında gerçekleştiren molekülünde yine bu bilgiler ışığında NADH olduğu tahmin edilmektedir.

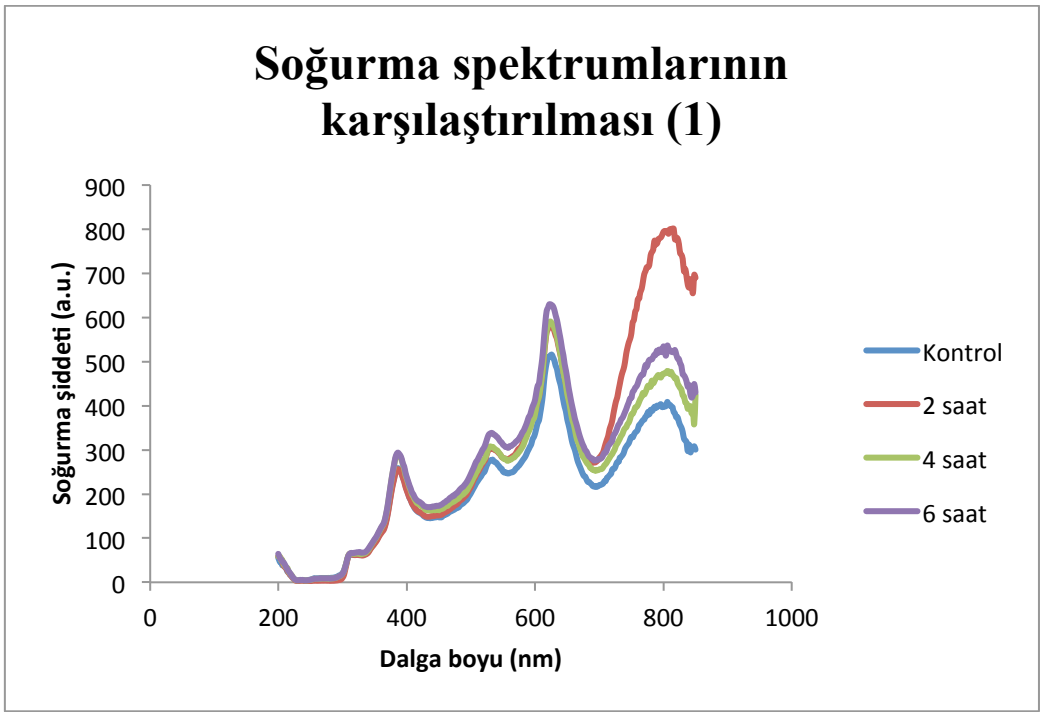


Şekil 5.3 : Sol taraf; Enzim kofaktörleri olan NADH ve FAD' ın soğurma ve ışıldama spektrumları. Sağ taraf; NADH' ın yapısı [52].

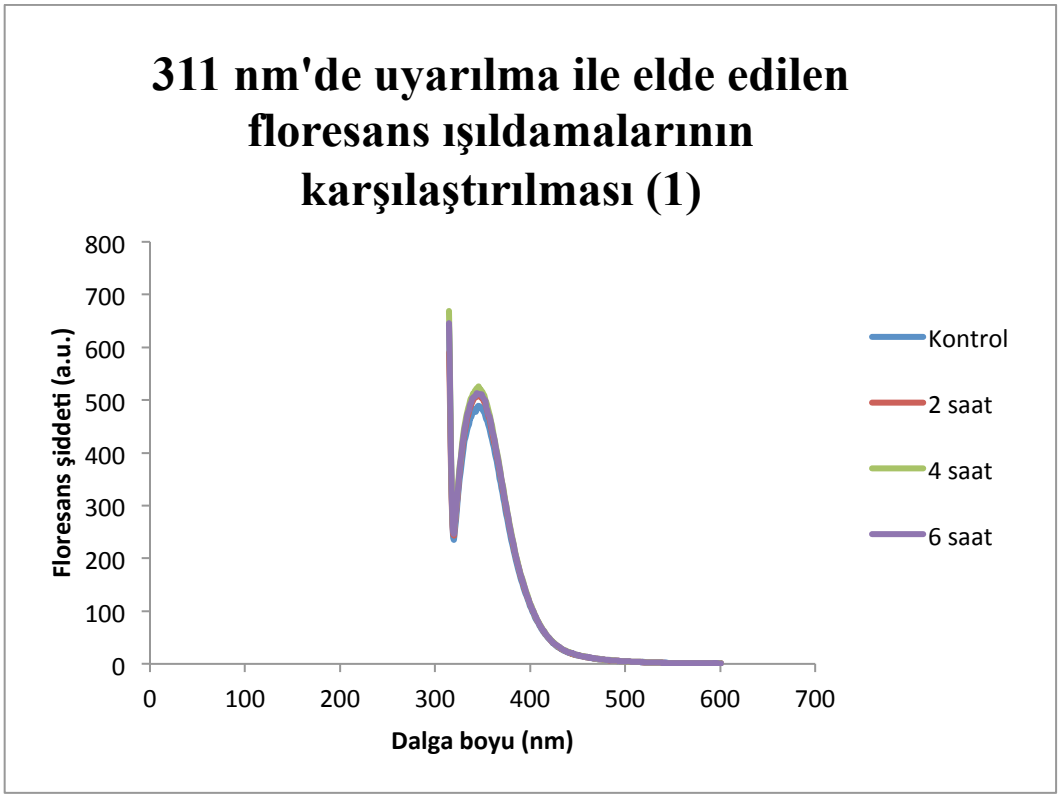
5.1 Ölçümler

5.1.1 Birinci düzenekten elde edilen sonuçlar

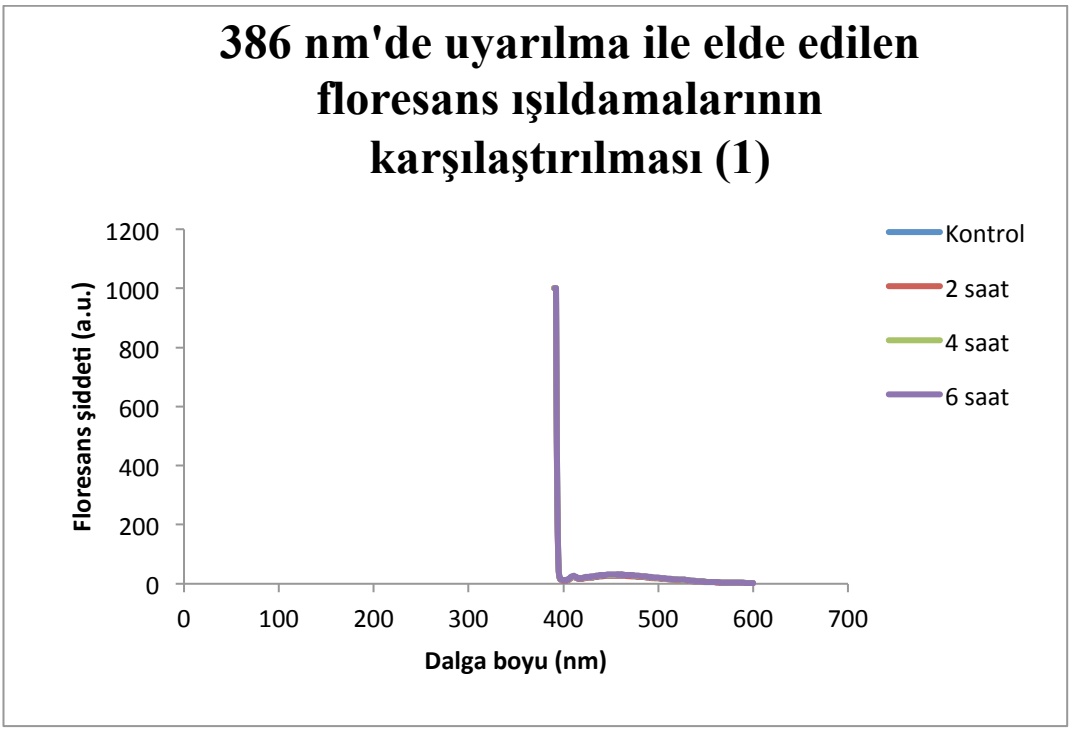
Ölçüm sonuçlarında yapılan karşılaştırmalar incelendiğinde spektrumlarda büyük ve anlamlı bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Farklı sürelerdeki ışımalar sonucunda oluşan tek değişikliğin spektrumlardaki floresans şiddetinde meydana geldiği görülmüştür.


Soğurma spektrumlarının karşılaştırılması (1)
Soğurma şiddeti (a.u.)
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Kontrol
2 saat
4 saat
6 saat

(a)


311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıldamalarının karşılaştırılması (1)
Floresans şiddeti (a.u.)
800
700
600
500
400
300
200
100
0
0
100
200
300
400
500
600
700
Dalga boyu (nm)
Kontrol
2 saat
4 saat
6 saat

(b)



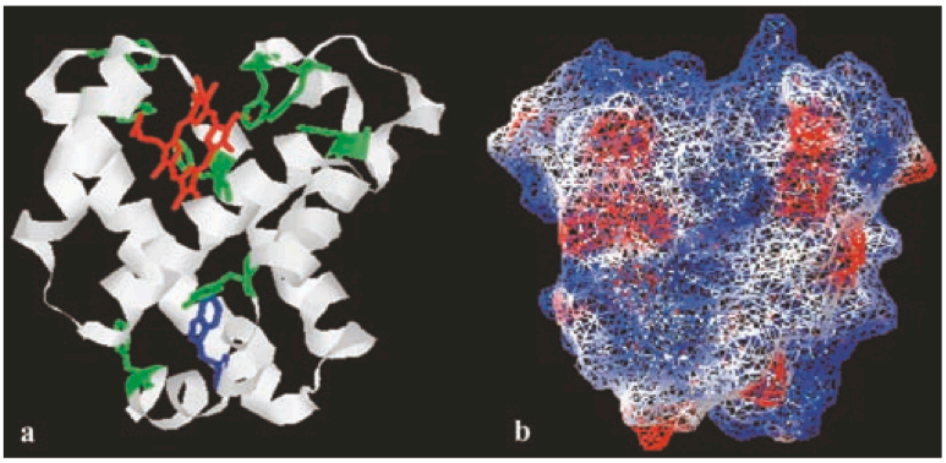
(c)

Şekil 5.4 : Birinci düzenekte farklı sürelerde elde edilen ölçümlerin karşılaştırılması. (a) soğurma spektrumlarının karşılaştırılması (b) floresans spektrumlarının karşılaştırılması.

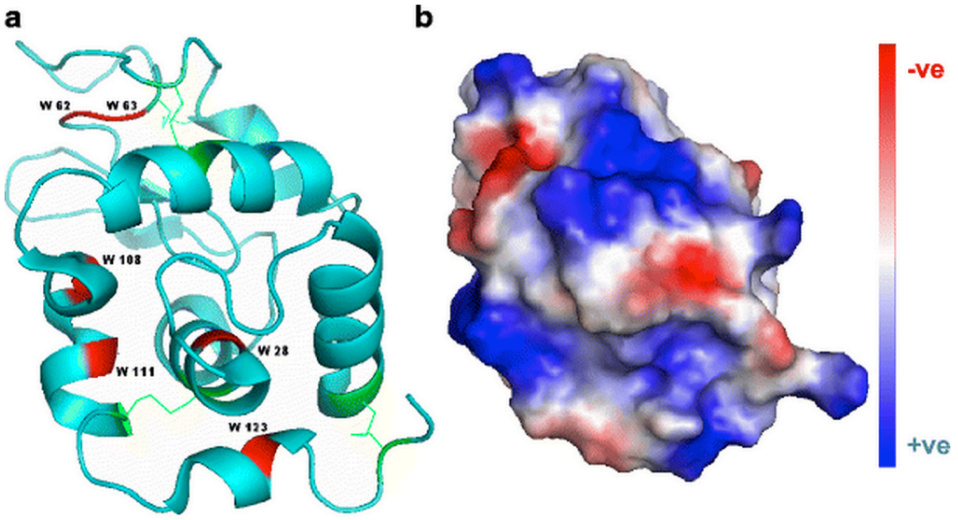
Ancak floresans şiddetlerinde meydana gelen bu değişiklik tutarlı değildir. Örneğin; ölçümlerde 311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışımalarının karşılaştırılmasında 6 saat ışımaya maruz bırakılan yumurta akının gösterdiği floresans şiddeti, kontrole ve diğer saatlerde ışımaya maruz bırakılan yumurta aklarının gösterdiği floresans şiddetine göre tutarlı bir şekilde artma veya azalma göstermemiştir. Bu durum aynı şekilde 2 ve 4 saatlik ışıma süreleri içinde benzerdir. Bu tutarsızlık durumu da yumurta akının homojen bir yapı olmamasına bağlanmaktadır çünkü yumurta akı katı ve ince olmak üzere iki halde yumurtanın içinde bulunmaktadır ve bu yapılar viskoz olduğundan dolayı birbirlerinden ayrılmaları çok zordur. Her tekrarda küvetteki yumurta akları aynı yumurtadan elde edilmiş olsa da bu sebepten ötürü küvetlerdeki yumurta akı konsantrasyonları farklılık göstermiştir ve ayrıca yine küvetlerdeki yumurta aklarında mevcut olan partikül miktarları da değişiklik göstermektedir. Floresans ölçümlerinde, floresans şiddetinin örneğin konsantrasyonuna bağlı olduğu ve içinde parçacık ihtiva eden örneklerde (yumurta akı gibi) içsel saçılmadan dolayı (Tyndall saçılması) bu şiddetin etkileneceği göz önüne alındığında karşılaştırmalarda floresans şiddetindeki değişime

bağlı olarak herhangi bir EMA etkisi için yorum yapmak hem zordur hem de yanıltıcı olabilir.

Bir molekülün her elektronik seviyesine sayısız vibrasyon ve her vibrasyon seviyesine de sayısız rotasyon seviyesi eşlik eder. Oda sıcaklığındaki bir molekülün temel elektronik durumunda vibrasyonel seviyeleri değil ama rotasyonel seviyeleri uyarılmış durumdadır. Dışarıdan gelen bir enerji elektronik temel durumda ve farklı rotasyon seviyelerinde bulunan elektronları üst seviyeye geçirerek molekülün rotasyonunda artış sağlar [41]. Mikrodalga ışınları 0,00001 ile 0,001 eV aralığında olan kuantum enerjisine sahiptir ve bu enerji aralığı moleküler rotasyon ve torsiyon kuantum seviyelerini ayıran enerji aralığına denk gelmektedir. Mikrodalgaların madde ile olan etkileşimi moleküllerin rotasyonunda artışa sebep olur ve bu rotasyonda yeterli artış sağlanırsa moleküler hareket sonucunda ısı artışı meydana gelir [40]. Aminoasitler, peptidler ve proteinler dipolar özelliğe sahip olan yüklü moleküller olduğundan sulu veya dielektrik bir ortam içinde mikrodalga ışımasına maruz kalmaları moleküler dipollerin rotasyonunda yükselmeye sebep olur. Dipolar parçalar ile komşu atomları birleştiren bağlar üzerinde rotasyonel kuvettin bu artışı bağları zayıflatarak kırılmaları için gerekli olan enerji seviyesini düşür ve bu bağları zayıflatır[3]. Şekil 5.5 b miyoglobini oluşturan aminoasit rezidülerinin polaritesine ve yükteki heterojenliğe bağlı olarak miyoglobinin elektrostatik yüzey potansiyelini göstermektedir. Bu şekilden yola çıkarak salınımlı bir EMA'nın proteinin yapısında onun konformasyonunu etkileyecek zorlanmış rotasyonlara sebep olabileceği varsayımında bulununabilir çünkü miyoglobinin doğal yapısı etrafındaki yapısal değişimleri, dengeleyici/stabilize edici etkileşimler tarafından sağlanır ve bu etkileşimlerde elektrostatik güçler oldukça önemli bir rol oynar. [49]. **Ş**ekil 5.6 aynı şekilde tavuk yumurta akı lizozimindeki yük heterojenliğine bağlı elektrostatik yük yüzey potansiyelini göstermektedir.



Şekil 5.5 : a. *Tunnus tynnus* miyoglobinin 3D yapısının şematik gösterimi. Hem grubu kırmızı, tek olan triptofan (Trp) rezidüsü mavi ve diğer aromatik rezidüler olan fenilalanin ve tirozin (Phe ve Tyr) yeşil olarak gösterilmiştir. b. Yüklü rezidülerin elektriksel potansiyeli (coulombic potential) ile oluşan moleküler elektrostatik yüzey potansiyeli. Elektrik potansiyeli kırmızıdan maviye bölgeye geçerken artmaktadır [49].

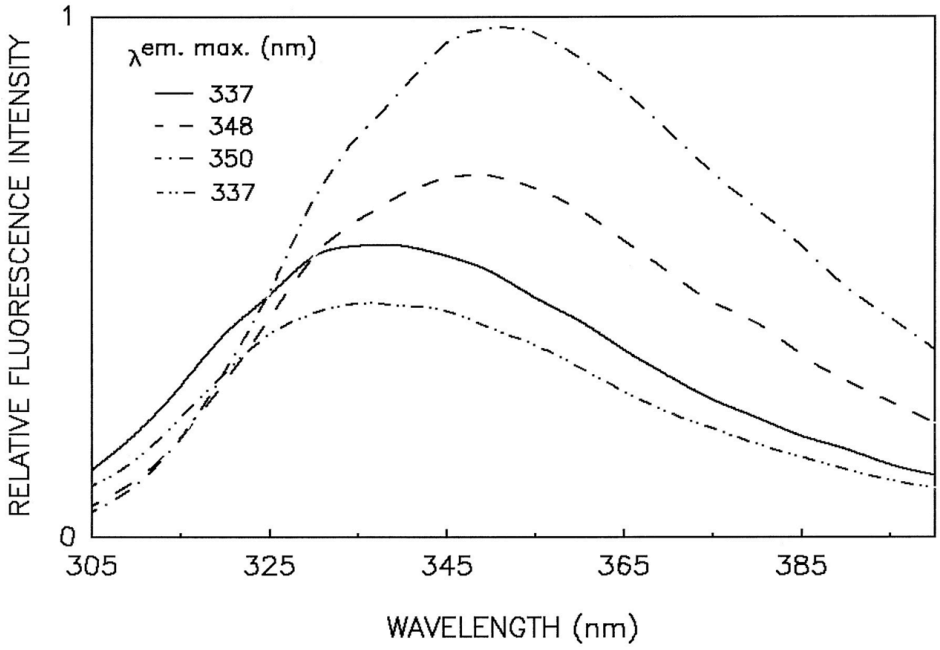


Şekil 5.6 : a. Tavuk yumurta akı lizoziminin yapısı. Triptofanlar kırmızı, disülfit bağları yeşil olarak gösterilmiştir. b. Tavuk yumurta lizozimi üzerindeki yüzek yüklerinin dağılımı (pozitif: mavi ve negatif: kırmızı) [50].

Mikrodalga ışıması sonucunda bağlar üzerinde rotasyonel kuvvetin artması ile moleküler bağların zayıflaması (ya da kısaca moleküllerin rotasyonel modlarının etkilenmesi) bu moleküllerin floresans spektrumundaki tepelerinde daralma/genişleme ve/veya kayma şeklinde gözlemlenebilir.

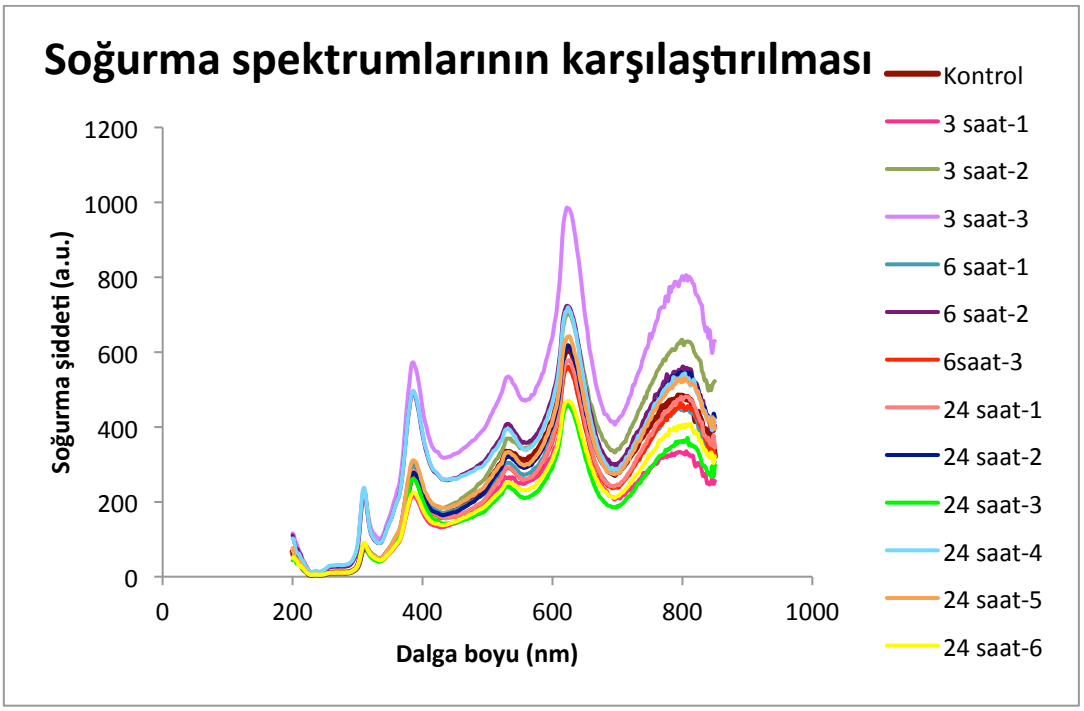
Deneylerde de ölçüm sonuçlarında farklı sürelerde elde edilen spektral tepelerde EMA etkisi olarak beklenen asıl büyük değişiklik bu spektral tepelerde oluşacak herhangi bir kayma ya da genişleme/daralma idi çünkü EMA'ların ısıl olmayan

etkileri, tavuk yumurta akı lizoziminde ve NADH' de ölçülebilir bir ısı artışı meydana getirmeksizin bu moleküllerin rotasyonel seviyelerine yeterli derecede etki etmesi ile spektral tepelerinde kayma ve/veya genişleme/daralma meydana gelmesi gerekirdi. Ayrıca herhangi bir ısıl etki durumunda, yani bağlar üzerindeki rotasyon kuvvetinde yeterli artış sağlanması sonucu gelişen moleküler hareket ile oluşan ısı artışının kombinasyonu, bu bağları zayıflatarak koparırdı ve bu şekilde Triptofan amino asidi, içinde yer aldığı proteinin (lizozim) katlanmasının bozulması sonucunda dış ortama maruz kalırdı. Triptofan aminoasitinin floresans özellikleri içinde bulunduğu ortama bağlılık gösterir ve bu rezidüler proteinin hidrofobik kısımlarında gömülü bulunur ve hidrofobik bir ortamda (apolar) yüksek floresans şiddeti gösterir. Buna karşı proteinin katlanmasının bozulması sonucunda triptofan rezidüleri polar bir ortama maruz kalırsa gösterdiği floresans şiddetinde düşüş olur. Yumurta akı hem polar hem apolar özellik gösteren amfifilik bir madde olduğundan triptofan rezidüsünün bu ortama maruz kalması sonucunda floresans şiddetinde ne gibi bir değişiklik olacağı tam olarak bilinmemektedir, ancak verdiği şiddette ciddi bir düşüş veya yükseliş protein katlanmasındaki bir bozulamanın habercisi olmalıdır. Sonuç olarak triptofan rezidüsünün çevresinin polaritesinin değişimine bağlı olarak hem floresans şiddetinde bir değişim, hem de 311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışımasındaki tepenin 330 nm'den yaklaşık 35 nm kadar kayarak 365 nm civarında gerçekleşmesi gerekirdi **(Şekil 5.6)** [36]. Ancak ölçümler incelendiğinde farklı sürelerde ışımaya maruz bırakılan örneklerin spektrumlarındaki tepelerin (piklerin) hep aynı frekansta çıktığı gözlemlenmiş ve bu tepelerde herhangi bir kayma ya da genişleme/daralma görülmemiştir. Beklenen değişimlerin görülmemesi üzerine ilk düzenekte bazı parametreler değiştirilerek ikinci bir düzenek oluşturulmuştur. Bu ikinci düzenekte ışıma uzaklığı 40 cm'den 20 cm'ye çekilmiştir. +25 dBm (320 mW) olan çıkış gücü +27 dBm'e (500 mW), (V_{RMS} ; 5,009 V) çıkartılmıştır. Işıma süresi 3, 6 ve 24 saat olarak değiştirilmiştir. Bu düzenekte 3 ve 6 saatlık ışıma süreleri için 3'er küvet kullanılmış, 24 saatlik ışıma için 7 küvet kullanılmıştır.

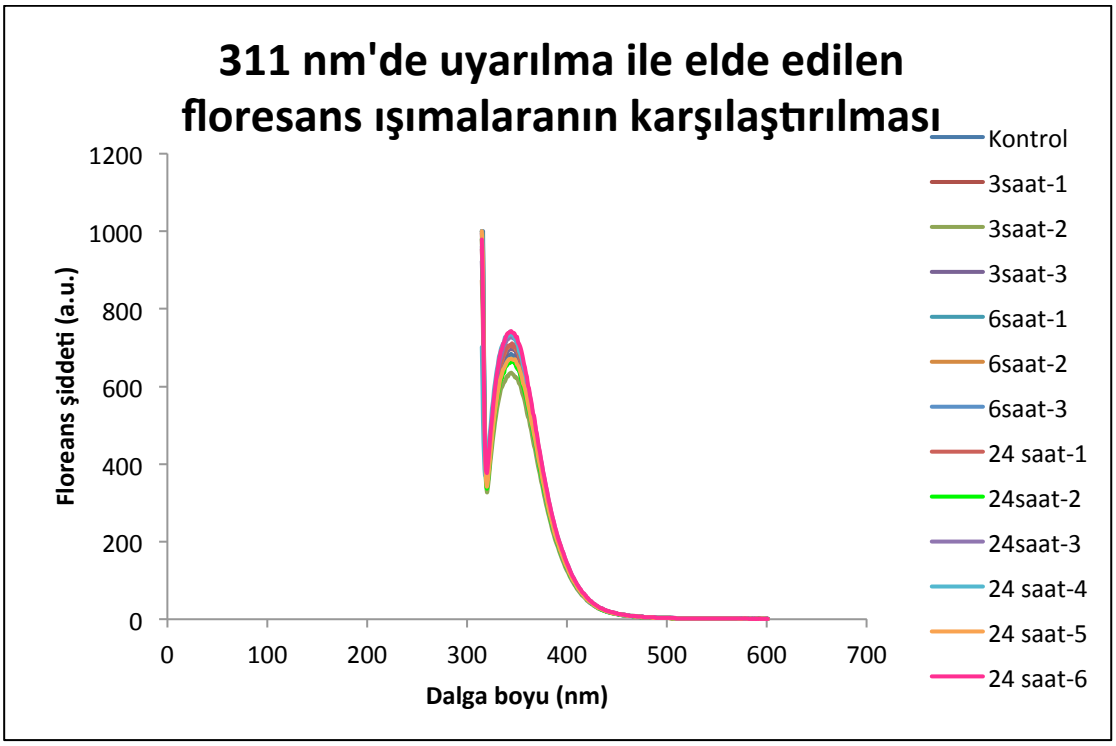


Şekil 5.7 : Lizozimin değişik şartlar altındaki floresans spektrumu. Normal spektrum (_____), denatüre edilmiş haldeki spektrum (_._._._._), tekrar bağlanmış haldeki spektrum (_.._.._.._) ve bu spektrumların ortalaması (_ _ _ _) şeklinde gösterilmştir. Spektrumlar kaydedilirken uyarma dalga boyu 295 nm olarak seçilmiştir [37].

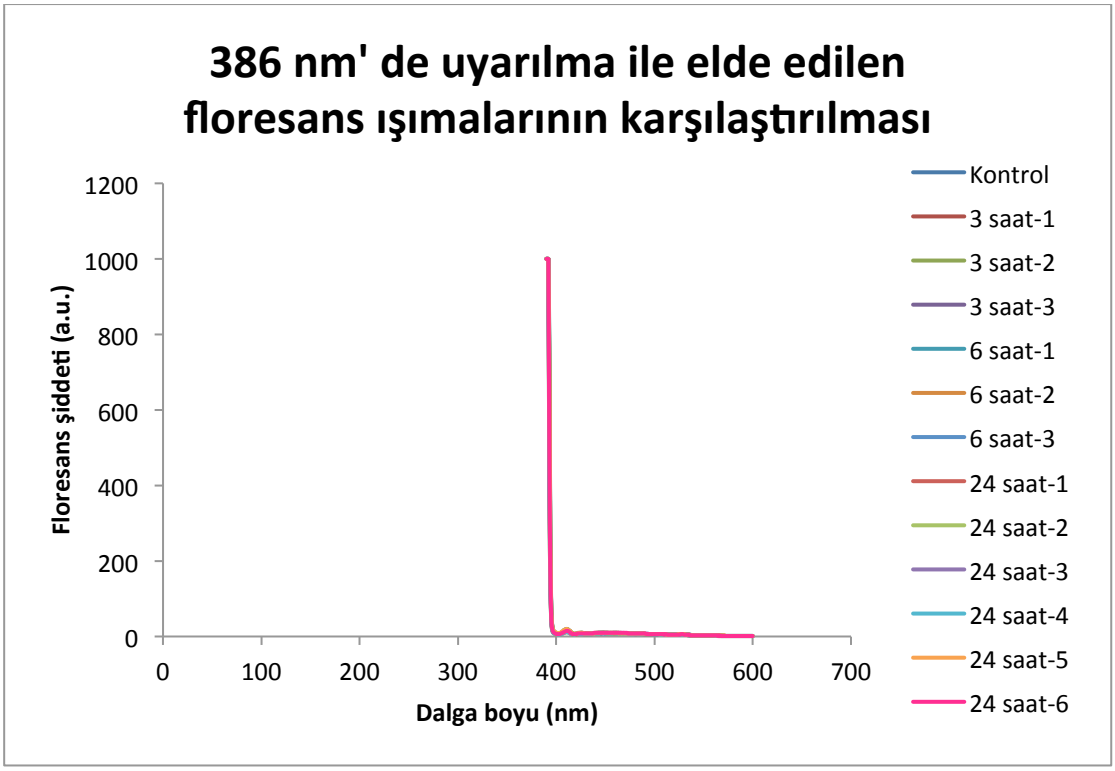
5.1.2 İkinci düzenekte elde edilen sonuçlar



(a)



(b)



(c)

Şekil 5.8 : İkinci düzenekte farklı sürelerde elde edilen ölçümlerin karşılaştırılması. (a) soğurma spektrumlarının karşılaştırılması (b) floresans spektrumlarının karşılaştırılması.

İkinci düzenkte de soğurma ve floresans ölçümleri aynı birinci düzenekte yapıldığı gibi gerçekleştirilmiştir. Ölçümler incelendiğinde ve kontrol, 3 saat, 6 saat ve 24 saat ışımaya maruz kalan yumurta aklarının soğurma ve floresans spektrumları arasında karşılaştırma yapıldığında birinci düzenekte olduğu gibi büyük (anlamlı) bir değişim görülmemiştir. Spektral tepeler yine aynı frekanslarda çıkmış herhangi bir genişleme/daralma görülmemiştir.

Sonuç olarak düşük güçte ışıma etkisi (low-power irradiation) her iki düzenekte de floresans ölçümleri sonucunda gözlemlenmemiştir.

6. TARTIŞMA

Her ne kadar yapılan bazı başka çalışmalarda birtakım EMA etkileri gözlemlense de bu çalışmada her iki düzenekte ışımaya maruz bırakılan yumurta aklarından alınan ölçümler sonucunda herhangi bir ısıl veya ısıl olmayan EMA etkisi tespit edilememiştir. F. Batellier ve diğerleri (2008) [4] gerçekleştirdikleri çalışmada döllenmiş tavuk yumurtalarını, arama modunda olan bir cep telefonuna tüm kuluçka süresi boyunca maruz bırakmışlardır ve ölüm oranının normale göre arttığını gözlemlemişlerdir. N.H. Ishak ve diğeleri (2011) [1] tarafından fareler üzerinde gerçekleştirilen WiFi elektromagnetik ışımasının biyolojik etkileri isimli çalışmada ise histopatolojik olarak WiFi ışıması sonucunda farelerin bazı organlarında hücre dejenerasyonu meydana geldiğini gözlemlemişlerdir. Yapılan her iki çalışma, hem canlı organizmalar üzerinde hem de uzun ışıma sürelerinde gerçekleştirilmiştir. Bu yapılan çalışmaların dışında E. Bismuto ve diğerleri (2003) [49] tarafından miyoglobin üzerinde yapılan araştırmada 2,5 saat boyunca 1,95 GHz'de 51 mW/g SAR seviyesinde gerçekleştirilen ışıma sonucunda yaptıkları spektroskopik ölçümlerde miyoglobinin doğal yapısı üzerinde herhangi bir ışıma etkisi saptamamışlardır.

Bu çalışmada kullanılan yumurta akları döllenmemiş yumurtalardan elde edilmiş olup yumurtalar her gün taze olarak temin edilmiştir. Deney sonuçlarında düşük güçte EM ışımasının biyolojik etkilerini gözlemleyememiş olmamızın birkaç nedeni olabilir;

- RF laboratuvarında kurulan anten düzeneğinde ışıma süresi dolan yumurta aklarının ölçümlerinin alınması için biyoteknoloji laboratuvarında bulunan spektrofotometre götürülene kadar geçen sürede (10-15 dk) proteinlerin tamir mekanizmalarının devreye girmiş olma olasılığı bulunabilir. Ancak bu durum düşük bir olasılık olarak nitelendirilmektedir çünkü olduysa tavuk yumurta akı lizoziminde ne derecede bir bozulma olduğu ve renatürasyon süresinin ne kadar sürede gerçekleştiği kesin olarak bilinmemektedir.

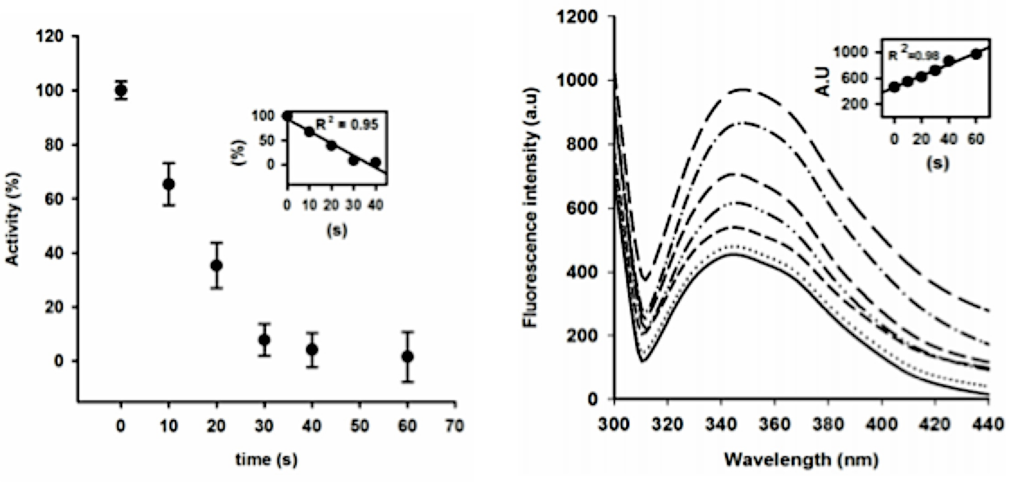
- EMA'lar ile yapılan birçok çalışmada ve yukarıda örnek olarak verilen çalışmalarda ışımaya olan maruziyet süresi oldukça uzun tutulmuştur ancak deneylerimizde birçok avantajı sebebi ile fantom ortam (benzetim ortamı) olarak yumurta akı kullanıldığından dolayı maksimum ışımaya maruz bırakılabilme süresi 24 saat ile sınırlı kalmıştır ve belki görmeyi beklediğimiz etki için yeterli bir süre olamamıştır. Bu durumun sebebi yumurta akının bozulmaya karşı çok hassas bir yapı olmasıdır çünkü yumurta akının tazeliğini kaybetmesiyle yapısında meydana gelecek bir bozulma veya bayatlama ölçüm sonuçlarını yanlış etkileyebilir ve yanlış yorumlanmasına yol açabilirdi.
- EMA'lar ile yine yapılan çoğu çalışmada insana olabilecek olası etkilerin gözlemlenebilmesi için fare [1,55], leylek [56], sirke sineği [57], bayağı serçe [58], sıçan [59], döllenmiş tavuk yumurtaları [4] gibi canlı organizmalar kullanılmıştır. Bilindiği gibi canlı organizmalar kompleks yapılardır ve yaşamlarını devam ettirebilmeleri için bünyelerinde süregelen hayatsal döngüler zincirleme reaksiyonlar halinde gerçekleşmektedir. Bu zincirin halkalarında meydana gelebilecek ufak bir aksaklık bile önce zincirin geri kalanında, daha sonra tüm zincirde, son olarak tüm organizmada etkisini gösterir. Dolayısıyla canlı organizmalarla yapılan çoğu EMA çalışmasında gerek ısıl gerek ısıl olmayan etkiler sonucunda görülen biyolojik tepkilerin temelinde bu durum yatmaktadır. Örneğin,
    - N.H. Ishak ve diğerleri (2011) tarafından fareler üzerinde gerçekleştirilen çalışmada 3 ay boyunca günde 8 saat ışımaya maruz bırakılan fareler üzerinde birtakım hücre dejenerasyonlarının görülmesi [1],
    - F. Batellier ve diğerleri (2008) tarafından gerçekleştirilen çalışmada tüm inkübasyon süresi boyunca arama modunda bir cep telefonuna maruz bırakılan fertilize tavuk yumurtalarının mortalitesinde görülen artış [4],

  EMA maruziyeti sonucunda oluşan birtakım bozulmaların devamında meydana gelen ve bu canlılarda tespit edilen biyolojik etkilerdir.

  Ancak yumurta akı canlı bir yapı olmadığından dolayı EMA maruziyeti sonucunda görmeyi beklediğimiz etkiler sadece protein yapısı üzerindeki etkilerdir ve meydana gelebilecek en ufak ve floresans spektrumunda

görülemeyecek bir etkinın devamında oluşacak biyolojik sonuçları total yapı üzerinde gözlemleme imkanı yoktur. Deneylerde canlı organizma yerine yumurta akı kullanılmasının sebebi etik kurul gibi uzun süreçli prosedürler gerektirdiğindendir, bu nedenle canlı bir yapıya en benzer kompleksliğe sahip olan yumurta akı fantom ortam olarak seçilmiştir.

- 2,45 GHz'de +25 dBm (316,2 mW) 40 cm uzaklıkta ve +27dBm (500 mW) 20 cm olmak üzere iki düzenekte gerçekleştirilen ışımalarda yumurta akının yapısında ısıl veya ısıl olmayan EMA etkilerinin gözlemlenebilmesi için yeterli (birikimsel) enerji aktarılamamış olabilir. Böyle bir etki durumunda ölçümlerde olası iki durum meydana gelmesi gerekirdi, bunlar; spektral tepelerde genişleme-daralma ve kayma ile tepelerin şiddetindeki azalış veya artış. Ancak bu etkiler hiçbir ölçüm sonucunda gözükmemiştir. Buna karşı Soma Sekhar R. ve diğerleri (2012) [51] tarafından gerçekleştirilen çalışmada alkol oxidaz (AOx) 2,45 GHz'de ve 900 W'ta olan mikrodalga ışımasına 10 saniye ile 60 saniye arasında onar saniye artan sürelerde maruz bırakılmıştır. Işıma sonucunda AOx'in yapısının direkt olarak EMA'dan etkilendiğini gözlemlemişler ve yaptıkları floresans ölçümlerinde hem süre ile hem de proteinin bozulması ile orantılı olarak triptofanın floresans ışıldamasında bir artış görmüşlerdir. Bu artışı da artan mikrodalga ışıması ile çözülmeye başlayan AOx proteininde gömülü olan triptofan rezidüsünün daha çok ışımaya maruz kalması ile bağdaştırmışlardır.



Şekil 6.1 : Sol taraf; zamanın bir fonksiyonu olarak 2,45 GHz'de mikrodalga ışımasından sonra AOx'in aktivitesini göstermektedir. Sağ taraf; kontrol (———) ile karşılaştırılmış 10 saniye (− − −), 20 saniye (−·−·−), 30 saniye (——), 40 saniye (−·−·−) ve 60 saniye (— — —) mikrodalga ışımasına maruz bırakılan AOx'in triptofan rezidüsünün 295 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıldaması. Noktalı çizgi (·····) denatüre olduktan sonra tekrar bağlanmış olan AOx'in ışıldamasını göstermektedir [51].

Yukarıda belirtilen başta ışıma süresinde sınırlı kalınması ve cansız yapı kullanılması gibi maddeler, tek başlarına veya bir arada deney sonuçlarında bir EMA etkisi görülememesinin olası sebepleri olabilirler. Ancak bu çalışmadan elde edilen sonuçlar doğrultusunda, düşük güçte WiFi ışımasına sınırlı sürede (maksimum 24 saat) maruziyetin herhangi bir etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

[1] **Ishak. N. H, Arrifin, R., Ali, A., Sagiruddin, M. A. ve Tawi, F. M. T.** (2011). Biological Effects of WiFi Electromagnetic Radiation. IEEE International Conference on Control Systems, Computing and Engineering.

[2] **English, N.J. ve Mooney, D.A.** (2007). Denaturation of hen egg white lysozyme in electromagnetic fields: A molecular dynamic study. The Journal of Chemical Physics, Mar 7;126(9):091105.

[3] **Margolis, S. A., Jassie, L., Kingston, H. M.** (1991). The hydrolysis of proteins by microwave energy. Journal of Automatic Chemistry, Vol. 13, No.3 pp. 93-95.

[4] **Batellier, F., Couty, I., Picard D., Brillard, J.P.** (2008). Effects of exposing chicken eggs to a cell phone in ‘‘call’’ position over the entire incubation period. Theriogenology 69 (2008) 737–745.

[5] **de Pomeraia, D. I., Smitha, B., Dawea, A., Northa, K., Smitha, T., Archera D. B., Ducea, I. R., Jonesb, D., Peter, E., Candidob, M.** (2003). Microwave radiation can alter protein conformation without bulk heating. FEBS Letters 543 (2003), 93-97.

[6] **English, N.J., Solomentsev, G.Y. ve O'Brien P.** (2009). Nonequilibrium molecular dynamicss study of electric and low-frequency microwave fields on hen egg white lysozyme. Journal of Chemical Physics, Jul 21;131(3):035106. doi: 10.1063/1.3184794.

[7] **Electromagnetic Radiation.** Alındığı tarih: 23.04.2014, adres: <http://chemwiki.ucdavis.edu/Physical_Chemistry/Spectroscopy/Fundamentals/Electromagnetic_Radiation>.

[8] **Sağlık ve Elektromagnetik Alanlar**. Avrupa komisyonu topluluk araştırması. Alındığı tarih: 20.11.2013, adres: <http://ec.europa.eu/health/ph_determinants/environment/EMF/brochure_en.pdf>.

[9] **Prof. Dr. İnan Güler, Tamer Çetin, A.Rıza Özdemir, Nedim Uçar.** (Aralık 2010), Türkiye Elektromanyetik Alan Maruziyet Raporu, Bilgi Teknolojileri ve İletişim Kurumu, Sektörel Araştırma ve Stratejiler Dairesi Başkanlığı.

[10] **Wang, Z.** (2009) *Electromagnetic Field Interaction with Biological Tissues and Cells*, (doktora tezi). Adres: http://www-student.elec.qmul.ac.uk/antennas/documents/ZhaoWang_Thesis_correction_final.pdf

[11] **Dielektroforetik Güç (DEP Force).** Alındığı tarih: 12.12.2013, adres: <http://www.rle.mit.edu/biomicro/reprints/supp_info.pdf >.

[12] **WiFi Safety.** (2008). University of California, Irvine EH&S; Radiation Safety Division. Alındığı tarih: 22.11.2013, adres: <http://www.ehs.uci.edu/programs/radiation/Wi-Fi%20Safety.pdf>.

[13] **Proteinlerin Özellikleri.** (2006). T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, MEGEP, Gıda Teknolojisi. Adres: <http://hbogm.meb.gov.tr/modulerprogramlar/kursprogramlari/gida/moduller/proteinlerin_ozellikleri.pdf>.

[14] **Halldorsson, T., Langerholc, J., Senatori, L., Funk, H.** (1981). Thermal action of laser irradiation in biological material monitored by egg-white coagulation. APPLIED OPTICS/ Vol.20, No.5

[15] **Proteins.** Alındığı tarih: 7.11.2013, adres: <http://cnx.org/content/m44402/latest/#fig-ch03_04_09 >.

[16] **Fluorescence Spectroscopy: A tool for protein folding/unfolding study**. (2007). Alındığı tarih: 12.11.2013, adres: <http://www.physics.nus.edu.sg/~Biophysics/pc3267/Fluorescence%20Spectroscopy2007.pdf >.

[17] **Moleküler Floresans Spektroskopisi-Kavramlar**. Alındığı tarih: 28.11.2013, adres: <http://biyokure.org/molekuler-floresans-spektroskopisi-2/5318/>.

[18] **Molecular Luminescence Spectroscopy.** Alındığı tarih: 28.11.2013, adres: <http://www.monzir-pal.net/Instrumental%20Analysis/Lectures/Lectures%2021-/L28.pdf>.

[19] **Variables That Affect Fluorescence and Phosphorescence.** Alındığı tarih: 29.11.2013, adres: <http://www.monzir-pal.net/Instrumental%20Analysis/Lectures/Lectures%2021-/L29.pdf>.

[20] **Floresans ve Fosforesansı Etkileyen Etmenler.** Alındığı tarih: 29.11.2013, adres: <http://biyokure.org/floresansi-ve-fosferasansi-etkileyen-etmenler/5728/>.

[21] **Introduction to the U-2001 UV/Visible Spectrophotometer.** Alındığı tarih: 30.11.2013, <adres: http://bouman.chem.georgetown.edu/S98/spectrometer.htm>.

[22] **Yves Nys, Maureen Bain, Filip Van Immerseel.** (2011). Improving the safety and quality of eggs, and egg products, Volume 1: Egg chemistry, production and consumption, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition: Number 213, (sf: 84-99).

[23] **Url.** Alındığı tarih: 17.04.2014, adres: <http://www.seriouseats.com/2013/10/sous-vide-101-all-about-eggs.html>.

[24] **Belal E. Baaquie, Frederick H. Willeboordse.** (2010). Exploring Integrated Scince (Sf: 323). ISBN:978-1-4200-8793-2.

[25] **Proteins and Enzymes**. Alındığı tarih: 17.04.2014, adres: <http://apbrwww5.apsu.edu/thompsonj/Anatomy%20&%20Physiology/2010/2010%20Exam%20Reviews/Exam%201%20Review/Ch02%20Protiens%20and%20Enzymes.htm >.

[26] **Coagulation**. Alındığı tarih: 6.11.2013, adres: <http://cdavies.files.wordpress.com/2008/03/egg-protein-coagulation-5-in-width.jpg>.

[27] **Denaturation.** Alındığı tarih: 6.11.2013, adres: http://kimwootae.com.ne.kr/apbiology/Protein%20Denaturation.jpg

[28] **Proteinler.** Alındığı tarih: 6.11.2013, adres: http://www.deu.edu.tr/UploadedFiles/Birimler/16928/Proteinler.pdf

[29] **Dong Ahn.** Egg Components, Animal Science Department, Iowa State University. Alındığı tarih: 20.10.2013, adres: http://www.public.iastate.edu/~duahn/teaching/Neobiomaterials%20and%20Bioregulation/Egg%20Components.pdf

[30] **User Guidelines & Standard Operating Procedure for the Cary Eclipse Fluorescence Spectrophotometer.** LAURIER Research Instrumentation. Alındığı tarih: 27.10.2013, adres: <http://www.wlu.ca/documents/25789/Cary_Eclipse.pdf>.

[31] **Wright State University, Department of Chemistry, Raman Spectroscopy Laboratory**. Alındığı tarih: 3.12.2013, adres: <http://www.chm.wright.edu/pavel/research/instrumentation.html>.

[32] **Moleküler Floresans Spektroskopisi Cihazı**. Alındığı tarih:17.04.2014, adres: <http://biyokure.org/molekuler-floresans-spektroskopisi-cihazi/5730/>.

[33] **Spektroskopi için Küvetler.** Alındığı tarih: 17.04.2014, adres: <http://biyokure.org/spektroskopiler-icin-kuvetler/5364/>.

[34] **The Fluorescence Quenching Of Lysozyme By Iodide And Acrylamide.** Alındığı tarih: 9.12.2013, adres: **<**http://ww2.chemistry.gatech.edu/class/pchem/expt10.pdf>.

[35] **L.-Z. Wu et al**. (2007), Photo excitation of tryptophan groups induced reduction of disulfide bonds in hen egg white lysozyme. J. Mol. Struct. (2007), doi:10.1016/j.molstruc.2007.09.016

[36] **Fluorescence Microscopy, Basic Concepts in Fluorescence.** Alındığı tarih: 7.12.2013, adres, <http://micro.magnet.fsu.edu/primer/techniques/fluorescence/fluorescenceintro.html>.

[37] **Raman, B., Ramakrishna, T., ve Rao, Ch. M.** (1996). Refolding of Denatured and Denatured/Reduced Lysozyme at High Concentrations. The Journal of Biological Chemistry, Vol. 271, No. 29, Issue of July 19, pp. 17067–17072.

[38] **Peter Atkins, Julıo de PaulaAtkin's.** (2010). Atkin's Pysical Chemistry 9th Edition, Oxford University Press. ISBN 978-0-19-954337-3 (sf:550-551)

[39] **Perkin Elmer.** (2000). An Introduction to Fluorescence Spectroscopy. (sf: 8-9).

[40] **The Interaction of Radiation with Matter**. Alındığı tarih: 18.04.2014, adres: <http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/mod3.html>.

[41] **Dr. Phil. Nat, Fuat Altunsu.** Spektroskopiye Giriş. Alındığı tarih: 18.04.2014, adres: <http://www.fuat-altunsu.eu/page8.html >.

[42] **Concepts in Protein Structure.** Alındığı tarih: 7.11.2013, adres: <http://web.chem.ucsb.edu/~molvisual/prot_struc.html>.

[43] **Editing the genome with high precision**. Alındığı tarih: 7.11.2013, adres: <https://mcgovern.mit.edu/news/news/editing-the-genome-with-high-precision/>.

[44] **Wi-Fi / WLAN Channels, Frequencies, Bands & Bandwidths.** Alındığı tarih: 25.06.2014, adres: <http://www.radio-electronics.com/info/wireless/wi-fi/80211-channels-number-frequencies-bandwidth.php>.

[45] **Tertiary Structure.** Alındığı tarih: 7.11.2013, adres: <http://dl.clackamas.edu/ch106-08/tertiary.htm>.

[46] **Protein Structure.** Alındığı tarih: 7.11.2013, adres: <http://lectures.molgen.mpg.de/ProteinStructure/Levels/>.

[47] **Varian Cary Eclipse Fluorescence Spectrophotometer**. Alındığı tarih: 26.09.2013, adres: <http://www.chem.agilent.com/Library/brochures/Cary-Eclipse_FLR-brochure.pdf>.

[48] **Molecular Luminescence Spectrometry**. Alındığı tarih: 17.04.2014, adres: <http://faculty.atu.edu/abhuiyan/Course/Chem%204414/Chapter%2015.ppt>.

[49] **Bismuto, E., Mancinelli, F., d'Ambrosio, G., Massa, R.** (2003). Are the conformational dynamics and the ligand binding properties of myoglobin affected by exposure to microwave radiation? Eur Biophys J (2003) 32: 628–634 DOI 10.1007/s00249-003-0310-2.

[50] **Jain, N., Bhattacharya, M. , Mukhopadhyay, S. (2010).** Kinetics of Surfactant-induced Aggregation of Lysozyme Studied by Fluorescence Spectroscopy. Journal of Fluorescence, Issue 2, pp. 515-625, oi: 10.1007/s10895-010-0749-3

[51] **Soma Sekhar R. Chinnadayyala, Santhosh M., Pranab Goswami.** (2012). Microwave based reversible unfolding and refolding of alcohol oxidase protein probed by fluorescence and circular dichroism spectroscopy, Journal of Biophysical Chemistry, Vol.3, No.4, 317-323. http://dx.doi.org/10.4236/jbpc.2012.34039

[52] **Joseph R. Lakowicz**. Principles of Fluorescence Spectroscopy Third Edition. (2006) Center for Fluorescence Spectroscopy University of Maryland School of Medicine Baltimore, MD 21201. ISBN: 0-387-31278-1 (Sf: 63-64)

[53] **Radiation and the Human Body.** Alındığı tarih: 23.04.2013, adres: <http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/mod4.html#c1>.

[54] **Electromagnetic Radiation**. Alındığı tarih: 23.04.2013, adres: <http://depts.washington.edu/cmditr/modules/lum/electromagnetic_radiation.html>.

[55] **Tamir S. A., Geliang G., Xiao-Bing G. ve Hugh S. T.** (2012). Fetal Radiofrequency Radiation Exposure From 800-1900 Mhz-Rated Cellular Telephones Affects Neurodevelopment and Behavior in Mice. SCIENTIFIC REPORTS | 2 : 312 | DOI: 10.1038/srep00312.

[56] **Balmori. A.** (2005). Possible Effects of Electromagnetic Fields from Phone Masts on a Population of White Stork (*Ciconia ciconia*). Electromagnetic Biology and Medicine, 24: 109–119, DOI: 10.1080/15368370500205472.

[57] **Panagopoulos, D. J., Chavdoula, E. D., Nezis, I. P., Margaritis, L. H.** (2006). Cell death induced by GSM 900-MHz and DCS 1800-MHz mobile telephony radiation. Elsevier B.V., doi:10.1016/j.mrgentox.2006.08.008.

[58] **Balmori, A., Hallber,. Ö.** (2007) The Urban Decline of the House Sparrow (*Passer domesticus*): A Possible Link with Electromagnetic Radiation. Electromagnetic Biology and Medicine, 26: 141–151, DOI: 10.1080/15368370701410558.

[59] **Şekeroğlu, V., Akar, A., Atlı, Şekeroğlu, Z.** (2012). Cytotoxic and genotoxic effects of high-frequency electromagnetic fields (GSM 1800 MHz) on immature and mature rats. Ecotoxicology and Environmental Safety 80 (2012) 140–144, doi:10.1016/j.ecoenv.2012.02.028.

[60] **List of WLAN channels.** Alındığı tarih: 25.06.2014, adres: < http://en.wikipedia.org/wiki/List_of_WLAN_channels>.

[61] **WiFi.** Alındığı tarih: 25.06.2014, adres: < http://tr.wikipedia.org/wiki/Wi-Fi>.

EKLER

EK A: Proteinlerin Yapısı ve Özellikleri

EK B: Biyolojik Materyallerin Dielektrik Özellikleri

EK C: Cary Eclipse Sepektrofotometresi

EK D: Ölçüm Grafikleri

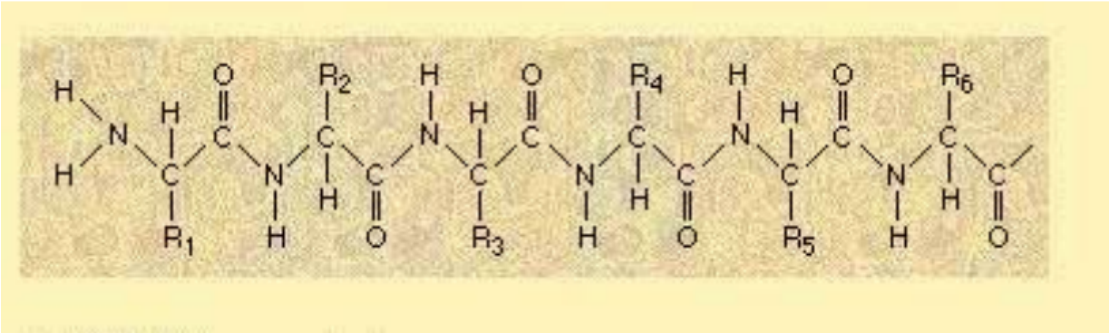
EK A

Proteinlerin Yapısı ve Özellikleri

A.1 Proteinlerin Yapısı

1.Primer Yapı (Birincil Yapı)

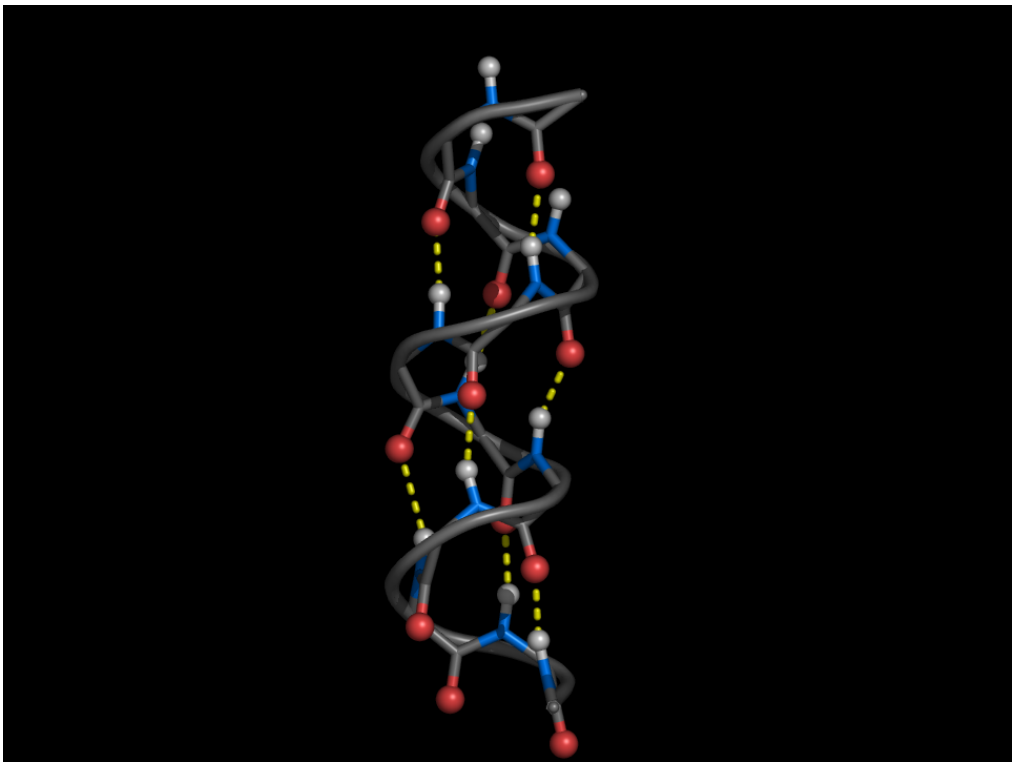
Proteinlerin primer yapısını, bir protein molekülünü oluşturan polipeptid zinciri veya zincirlerindeki aminoasit sıralanışı oluşturur. Primer yapı fonksiyonel olmamakla birlikte proteinlerin üç boyutlu yapısına geçiş teşkil etmektedir [13].



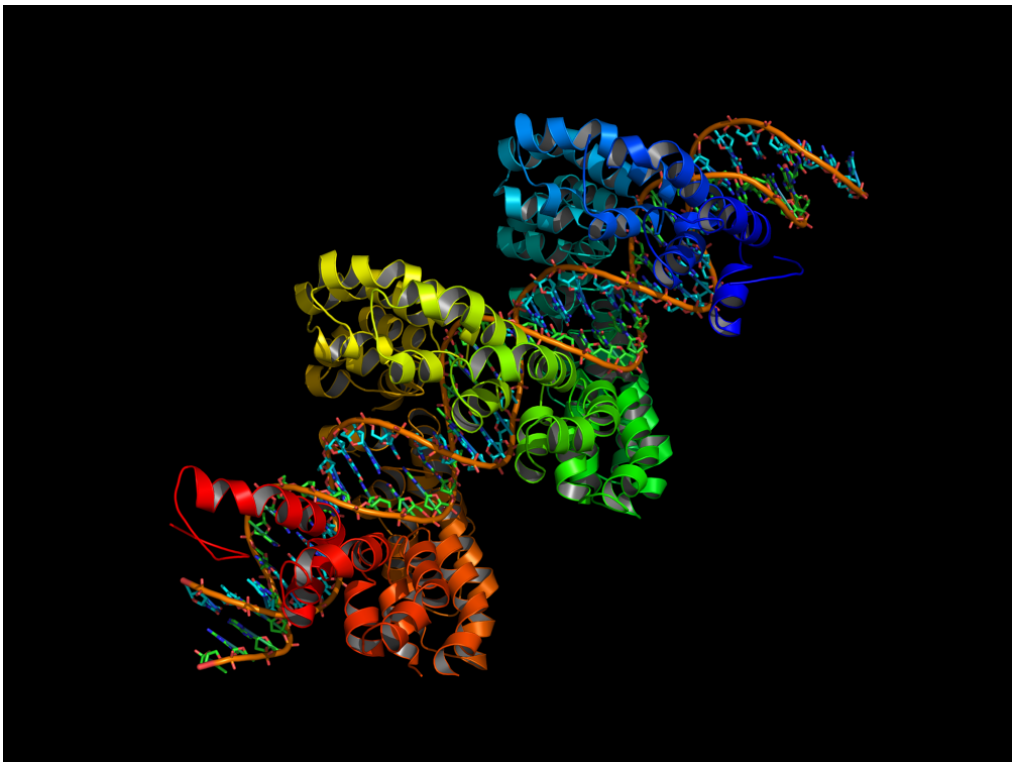
Şekil A.1 : Proteinin primer yapısı [13].

2. Sekonder Yapı (İkincil Yapı)

Peptid zinciri üzerinde bulunan belirli bölgeler yan zincirler vasıtasıyla veya kendi üzerlerine katlanarak bağlar oluştururlar. Bu katlanmalar periyodik olarak tüm polipeptit zincir boyunca tekrarlanır. Polipeptit zincirindeki sarmal yapı iki elektronegatif atom arasında oluşan hidrojen bağı ile oluşur. Sekonder yapıdaki proteinler sarmal yapısında veya plaka yapısında olabilir. Bu iki yapıya yani sarmal ve plaka yapısına karalılık kazandıran ise bu polipeptit zinciri üzerinde kurulan hidrojen köprüleridir. Bu yapılar arasında en kararlı yapı göstereni ∝-heliks proteinleridir. Genelde ∝-heliks proteinlerinin çoğunda sarmalın bir yüzü su sevmeyen özellikteyken yani hidrofobikken, diğer yüzü ve yan zincirleri su seven yani hidrofilik özelliktedir [13].



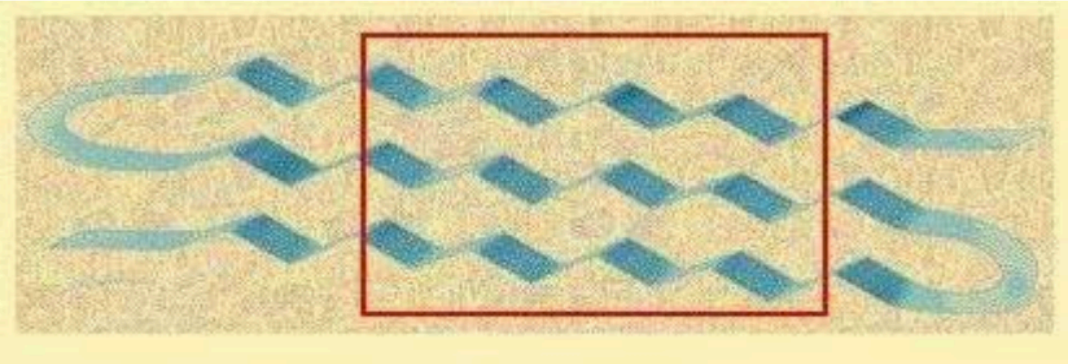
Şekil A.2 : Bir α - heliks iskeletinin görünümü [42].



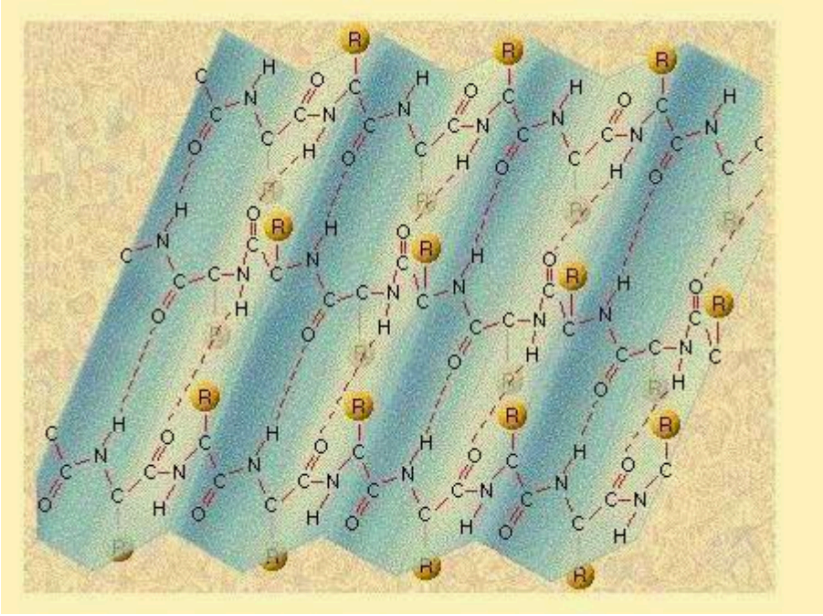
Şekil A.3 : TAL efektör nükleaz adı verilen sarmal yapıda ki bir proteinin DNA sarmalı etrafındaki görüntüsü [43].

Sarmal yapıdan farklı olarak plakalı protein yapısı, pili benzeri katlanmalar gösterir. Plakalı protein yapılarında farklı polipeptid zincirleri arasında hidrojen köprüleri kurulur.

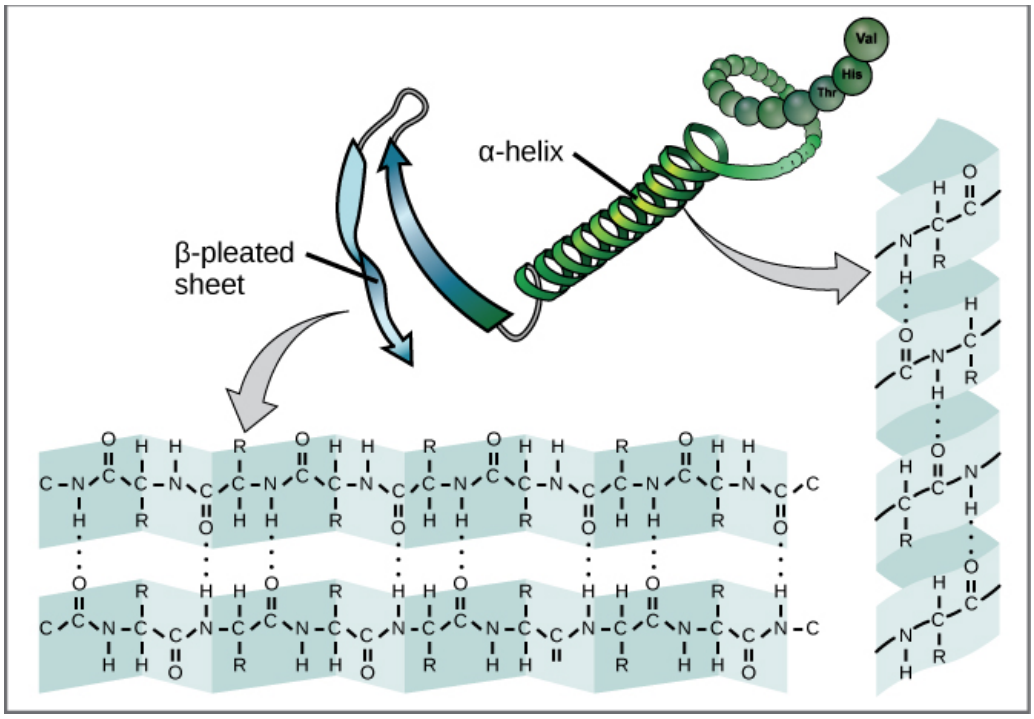
Sekonder yapı oldukça kararlıdır ve denatürasyon koşullarında parçalanmaz. Bunun nedeni şudur: iki paralel polipeptid zinciri sekonder yapı oluşturduğu zaman, zincirlerin birbirine yaklaştığı yerlerde kükürtlü aminoasitlerin vasıtasıyla disülfit bağları meydana gelir. Bu bağlar çok kararlı bağlardır çünkü kovalent bağlardır [13].



Şekil A.4 : Sekonder proteinlerdeki plaka yapısının görünümü [13].



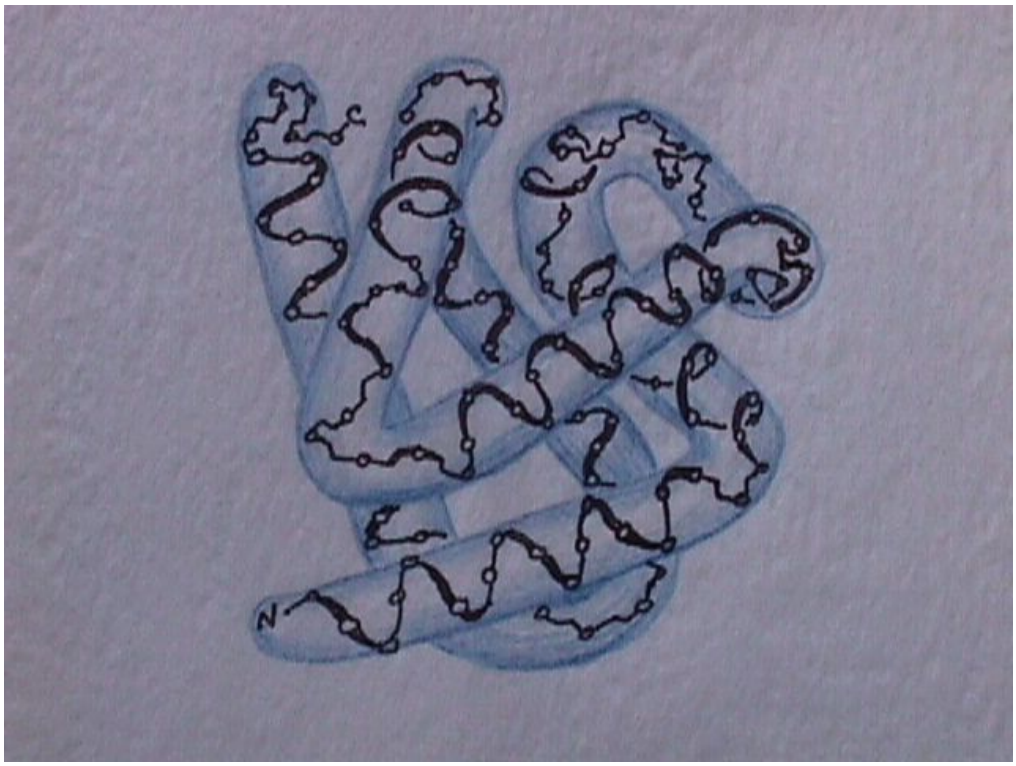
Şekil A.5 : Sekonder proteinlerdeki plaka yapısının detaylı görünümü [13].



Şekil A.6 : α-heliks ve plaka yapısı, proteinlerin ikincil yapılarıdır. Bu yapılar peptit iskeletinde ki karbonil ve amino grupları arasında hidrojen bağı oluşması ile meydana gelirler. Bazı aminoasitler α-heliks yapısını oluşturmaya eğilimliyken diğerleri plaka yapısını oluşturmaya eğilimlidir [15].

3. Tersiyer Yapı (Üçüncül Yapı)

İkincil yapıyı meydana getiren dizilişler, yan zincirlerin reaksiyona girmesi ile üst üste katlanarak ve bir yumak şeklinde sarılarak protein molekülünün yuvarlak veya elipsoid yapısını meydana getirirler. Tersiyer yapı, sarmal yapı veya düz tabaka yapısı dışında kalan zincirlere ait grupların veya atomların meydana getirdikleri çeşitli bağlar ile oluşur. Bu bağlar sayesinde protein molekülünün içinde çok az boşluk kalır, sıkı ve belirli bir şekil sahip olur. Genellikle tersiyer yapı globüler proteinlerde görülür.



Şekil A.7 : Miyoglobinin tersiyer yapısı, heliks yapısı üçüncül yapıyı oluşturmak için katlanmış [45].

4. Kuarterner Yapı (Dördüncül Yapı)

Tersiyer yapıyı oluşturan bağ tipleri, birden fazla polipeptit zinciri içeren proteinlerde, polipeptit zincirlerinin birbirleri ile salkımlar ve topluluklar yapmasını sağlayarak birleşmesine olanak tanır ve bu şekilde kuarterner yapı oluşur. Örneğin; hemoglobinde miyoglobine benzer dört protein monomeri birbirine sıkı şekilde bağlanarak kuarterner yapıyı oluştururlar.



Şekil A.8 : Protein Kinaz C'nin kuarterner yapısı [46].

A.2 Denatürasyon

Denatürasyon proteinlere farklı derecelerde etki eder. Proteinlerde denatürasyon sonucunda;

- Protein yapısı üzerinde proteaz etkisi azalır,
- Vizkozitede artış olur,
- Çözünürlük azalır,
- Enzim ve toksin gibi proteinlerde aktivite kaybı olur,
- Proteinin su bağlama kapasitesi azalır,
- Rotasyon ve difüzyon stabilitesinde değişim olur,
- Kristalizasyon önlenir.

Geri dönüşümü olmayan yani tersinmez olan denatürasyonlar, disülfit bağlarının kırıldığı ve konformasyon değişikliği meydana geldiği durumlarda ortaya çıkar. Kuru ortamlarda proteinler ısıl denatürasyona daha dirençlidirler. Ortamda suyun varlığı denatürasyonu kolaylaştıran bir durumdur, bununla beraber ortam sıcaklığında gözlemlenen her 10 °C'lik artış denatürasyon hızının iki katına çıkmasına sebep olur.

Koagülasyon ise proteinlerin çözünemez duruma gelmesine sebep olacak değişiklikler ile ortaya çıkar. Denatürasyon sonucunda parçalanmış peptit zincirleri arasında bulunan -H bağları ve -S-S- bağlarının; -SH gruplarına dönüşmesi ileri bir aşamaya gelmiş ise, proteinin değişen yapı ve özellikleri geri çevrilemez duruma gelmiştir. Proteinin çökmesi, protein yapılarının iyice açılması ve yan zincirlerin bir araya toplanması ile gerçekleşir. Örneğin, pişirilen bir yumurtada koagülasyon olayı gerçekleşir ve bu durum geri dönüşümsüzdür [13].

EK B

Biyolojik Materyallerin Dielektrik Özellikleri

Elektromagnetik alana maruz kalan moleküllerin iç moleküler yapılarında değişiklikler meydana gelebilir. Uygulanan elektrik alan; indüklenmiş polarizasyona, zaten var olan elektrik dipollerinin düzenlenmesine ve serbest yüklerin hareketine sebebiyet verir. Bu etkiler sebebiyle de materyalin içindeki ve dışındaki elektrik alanlar başlangıçtaki durumlarına göre değişirler.

Maddeler ile elektromagnetik alanların etkileşimini hesaplamak için üç tane makroskopik terim tanımlanmıştır;

- **Dielektrik sabiti; ε** (birim: F/m; farad/metre)
- **İletkenlik; σ** (birim: S/m; Siemens/metre)
- **Geçirgenlik; μ** (birim: H/m; Henry/metre)

Karmaşık geçirgenlik

Mükemmel dielektrik bir madde, sadece sürüklenme akımları gösteren ve bu sebeple elektrik enerjisini ideal bir batarya gibi depolayıp gönderen bir maddedir. Ancak kayıplı (lossy) bir ortamda iletken/iletim akımı önemini kaybeder, bu sebeple toplam akım;

$$J_{tot} = J_c + J_d \tag{B.1}$$

Bu bağıntıda J_c iletkenlik akım yoğunluğu, J_d deplasman akım yoğunluğu şeklinde karakterize edilir. Zamana bağlı harmonik bir elektromagnetik alanda yukarıdaki denklem şu şekilde ifade edilebilir;

$$J\omega\tilde{\varepsilon}\vec{E} = \sigma_r\vec{E} + J\omega\varepsilon_r\varepsilon_0\vec{E} = j\omega\varepsilon_0\left(\varepsilon_r + \frac{\sigma_r}{j\omega\varepsilon_0}\right)\vec{E} \tag{B.2}$$

Bu bağıntıda σ_r ortamın iletkenliği, ε_r ortamın göreceli dielektrik sabiti, ε_0 boşluğun dielelktrik sabiti şeklinde karakterize edilir. Sonuç olarak, kayıplı bir

ortamda kompleks geçirgenlik $\tilde{\varepsilon}$ şu şekilde tanımlanır;

$$\tilde{\varepsilon} = \varepsilon_0 \left(\varepsilon_r + \frac{\sigma_r}{j\omega\varepsilon_0} \right) = \varepsilon_0 (\varepsilon' - \varepsilon'') \qquad \textbf{(B.3)}$$

Burada ε' kompleks geçirgenliğin gerçek kısmıdır ve direkt olarak ortamın göreceli geçirgenliği ile bağlantılıdır Yani, $\tilde{\varepsilon}$ boşluğun geçirgenliği ile ε_r'nin çarpımına eşittir. Kompleks geçirgenliğin sanal kısmı yani $\varepsilon'' = \frac{\sigma_r}{\omega\varepsilon_0}$ ortamın iletkenliğine ve frekansına bağlıdır. Sanal kısmın, gerçek kısma oranlanması ile de kayıp faktörü bulunmaktadır [10].

$$\tan\delta = \frac{\varepsilon''}{\varepsilon'} \equiv \text{kayıp faktörü} \qquad \textbf{(B.4)}$$

Gevşeme ve Dağılım

Elektrik alana maruz kalan bir maddede oluşan polarizasyon bir gevşeme süreci sonunda oluşur ve gevşeme süresi "τ"adı verilen zaman sabiti ile belirtilir.

Genellikle çoğu materyalin gevşeme cevabı, rahatlama zaman sabiti τ ile bağlantılı olan birinci dereceden bir diferansiyel denklem ile ifade edilebilir. Ancak bazı materyallerin dielektrik süreçleri birden fazla rahatlama sabitine sahiptir. Bununla beraber, biyolojik materyallerin kompleks fiziksel doğaları birçok rahatlama sürecinin aynı anda gerçekleşmesine olanak tanır. Dolayısıyla materyalin toplam elektriksel cevabı birçok zaman sabiti ile karakterize edilir.

Debye rahatlama teorisi, materyallerin dielektrik özelliklerini deneysel olarak rahatlama süre τ ilişkilendirilmesi için kullanılır. Frekans bağımlı kompleks geçirgenlik ε̃(ω) açısal fekansın (ω) bir fonksiyonu olarak ifade edilir.

$$\tilde{\varepsilon}(\omega) = \varepsilon_\infty + \frac{\varepsilon_s - \varepsilon_\infty}{1 + j\omega\tau} - \frac{\sigma_s}{\omega\tau} = \varepsilon' - j\varepsilon'' \qquad \textbf{(B.5)}$$

Bu bağıntıda $\tilde{\varepsilon}(\omega)$ frekans bağımlı kompleks geçirgenlik, ε_s düşük frekanslardaki

göreceli geçirgenlik (statik bölge), ε_∞ yüksek frekanslardaki geçirgenlik (optik geçirgenlik), σ_s statik iletkenlik şeklinde karakterize edilir. Eğer $\tilde{\varepsilon}(\omega)$ gerçek ve sanal kısımlarına ayrılırsa;

$$\varepsilon' = \varepsilon_\infty + \frac{\varepsilon_s - \varepsilon_\infty}{1+(\omega\tau)^2} \qquad \textbf{(B.5)}$$

$$\varepsilon'' = \frac{\sigma_s}{\omega\varepsilon_0} + \frac{(\varepsilon_s - \varepsilon_\infty)(\omega\tau)^2}{1+(\omega\tau)^2} \qquad \textbf{(B.6)}$$

ε'; iki kısımdan oluşmaktadır: Frekanstan bağımsız kısım; elektronik polarizeşebilme özelliğinden dolayı sonsuz frekanslardaki geçirgenliktir. Frekans bağımlı kısım ise dielektrik ortamın rahatlama etkileri sonucunda oluşur.

ε''; iki kısımdan oluşmaktadır: Frekanstan bağımsız kısım yük iletimine bağlıyken, frekans bağımlı kısım ise dielektriksel rahatlama ile alakalıdır.

İletkenliğin de frekans bağımlı olduğu göz önüne alınırsa, frekans bağımlı iletkenliği **(B.6)** nolu denklemi, $\varepsilon'' = \frac{\sigma_r}{\omega\varepsilon_0}$ denkleminin içine yerleştirerek elde edebiliriz. Bu sebeple sonsuz frekanstaki iletkenlik;

$$\sigma_\infty = \lim_{\omega\to\infty}(\omega\varepsilon''\varepsilon_0) = \lim_{\omega\to\infty}\left(\sigma_s + \frac{(\varepsilon_s - \varepsilon_\infty)\tau}{\frac{1}{\omega^2}+\tau^2}\right) = \sigma_s + \frac{\varepsilon_0(\varepsilon_s - \varepsilon_\infty)}{\tau} \qquad \textbf{(B.5)}$$

Basit matematiksel manipülasyonla, limit değerleri ilişkilendirilmesi sonucunda **(B.6)** no 'ludenklem elde edilir;

$$\varepsilon_0(\varepsilon_s - \varepsilon_\infty) = \tau(\sigma_\infty - \sigma_s) \qquad \textbf{(B.5)}$$

(B.5) no' lu denklem;

$$\sigma(\omega) = \omega\varepsilon_0\varepsilon'' = \sigma_s + \frac{(\varepsilon_s - \varepsilon_\infty)\omega\tau}{1+(\omega\tau)^2}\cdot\omega\varepsilon_0 \qquad \textbf{(B.6)}$$

şeklinde düzenlenirse frekans bağımlı iletkenlik, **(B.5)** no'lu denklem yerine konulduğunda,

$$\sigma(\omega) = \sigma_s + \frac{(\sigma_\infty - \sigma_s)(\omega\tau)^2}{1+(\omega\tau)^2} \qquad \textbf{(B.7)}$$

şeklinde elde edilir.

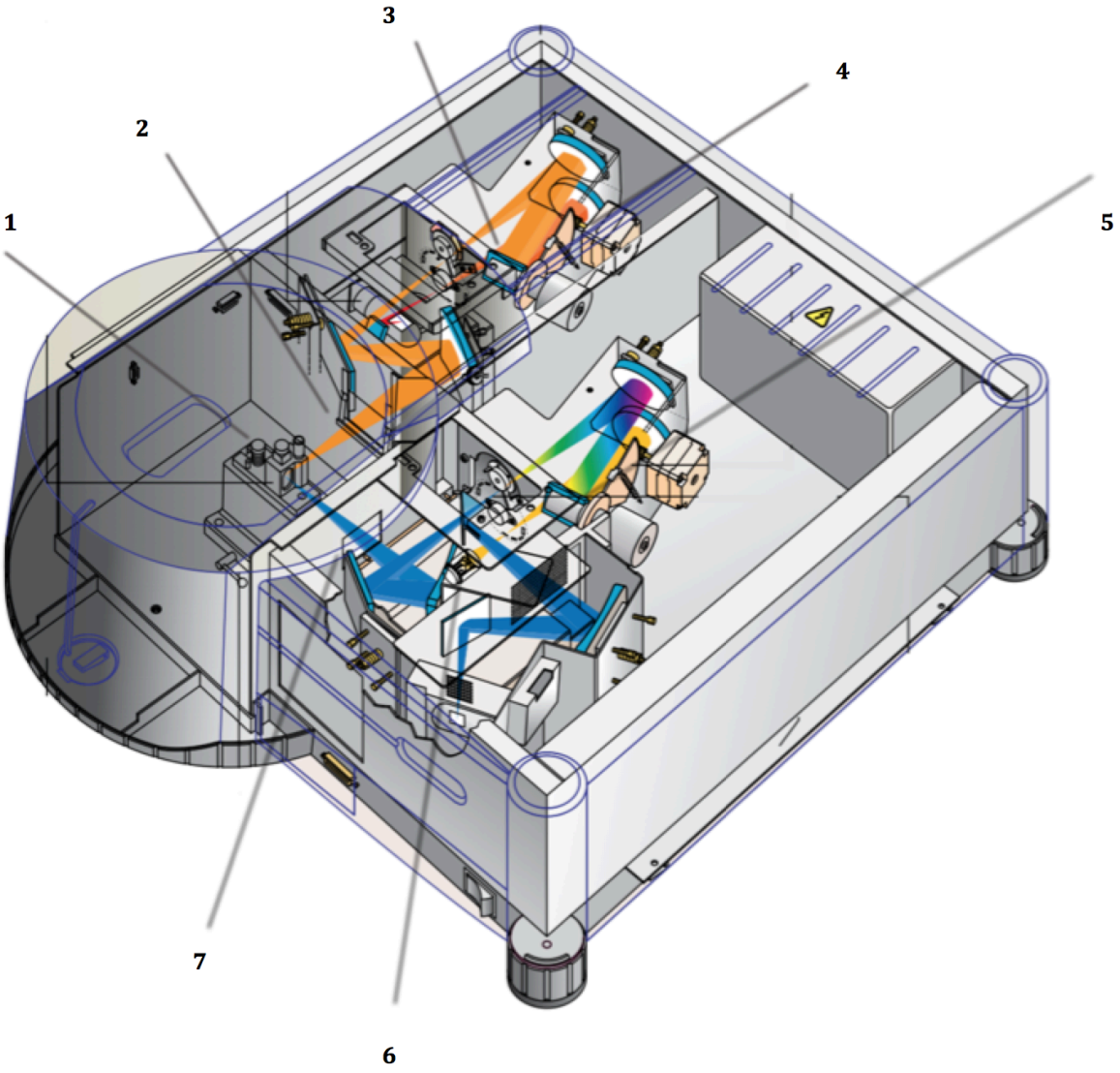
Ayrıca birinci dereceden Debye modelinin genişletilmiş hali olan ikinci dereceden Debye modeli daha çok kompleks yapıda olan dağılımlı dielektrik özellikleri karakterize etmekte kullanılmaktadır.

$$\varepsilon^* = \varepsilon_\infty + \frac{\varepsilon_{s1} - \varepsilon_\infty}{1+j\omega\tau_1} + \frac{\varepsilon_{s2} - \varepsilon_\infty}{1+j\omega\tau_2} \qquad \textbf{(B.6)}$$

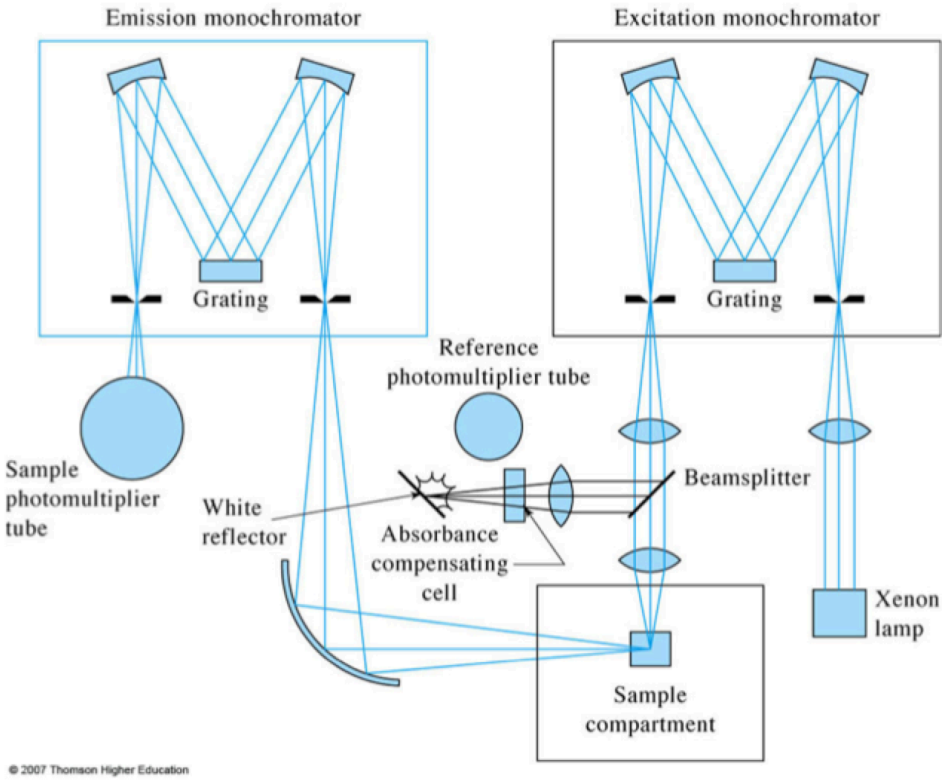
ε_{s1} ve ε_{s2} ; sırasıyla birincil ve ikincil statik geçirgenlikleri temsil ederken τ_1 ve τ_2 ; sırasıyla birinci ve ikinci rahatlama zamanlarını göstermektedir [10].

EK C

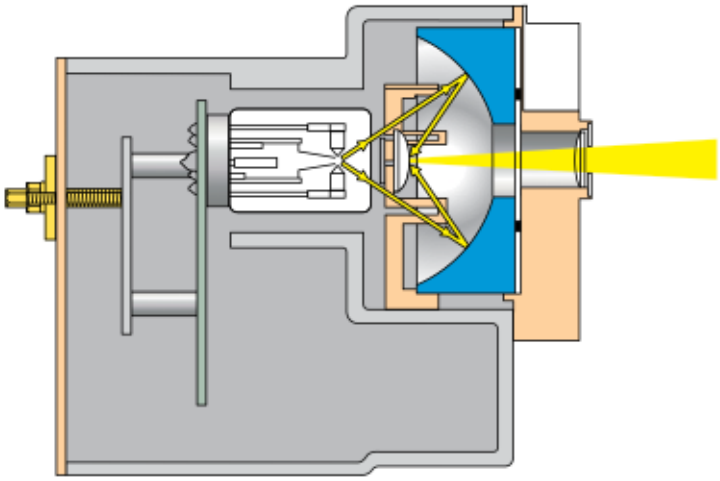
Cary Eclipse Spektrofotometresi



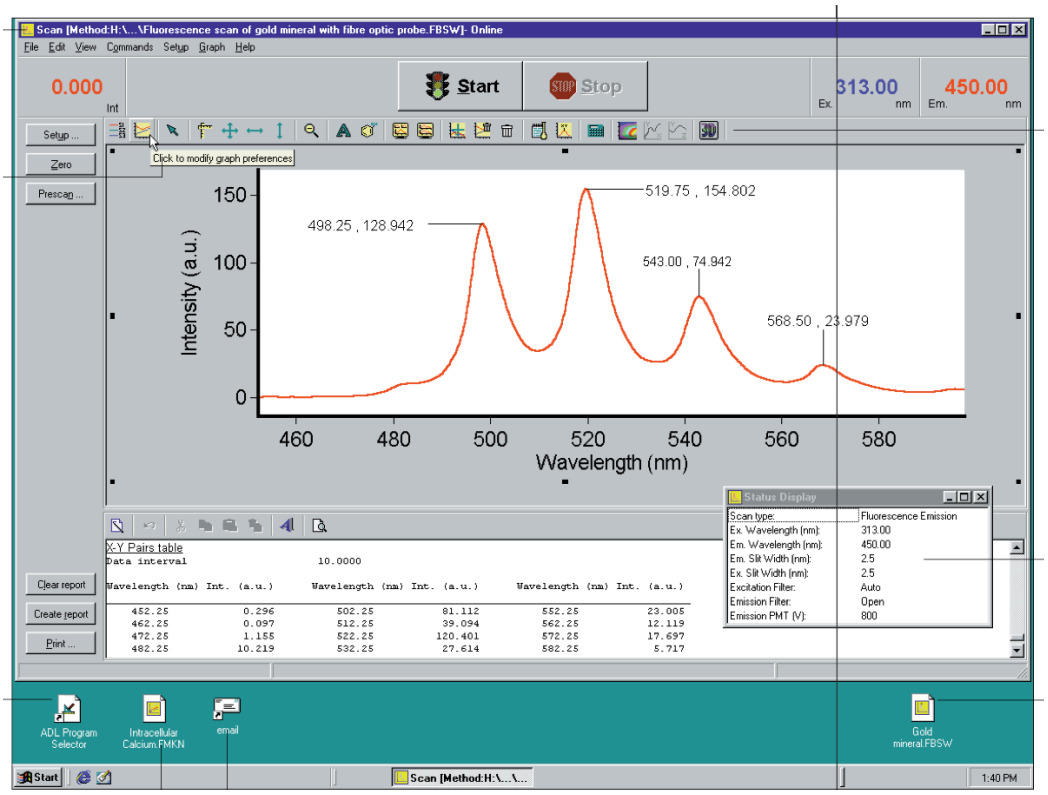
Şekil C.1 : Cary Eclipse florometresinin yapısı. 1: Örnek, 2 Uyarma yarığı, 3:Monokromatör, 4: Xe flaş lambası (kaynak), 5: Monokromatör, 6: Detektör, 7: Işıma (emisyon) yarığı [47].



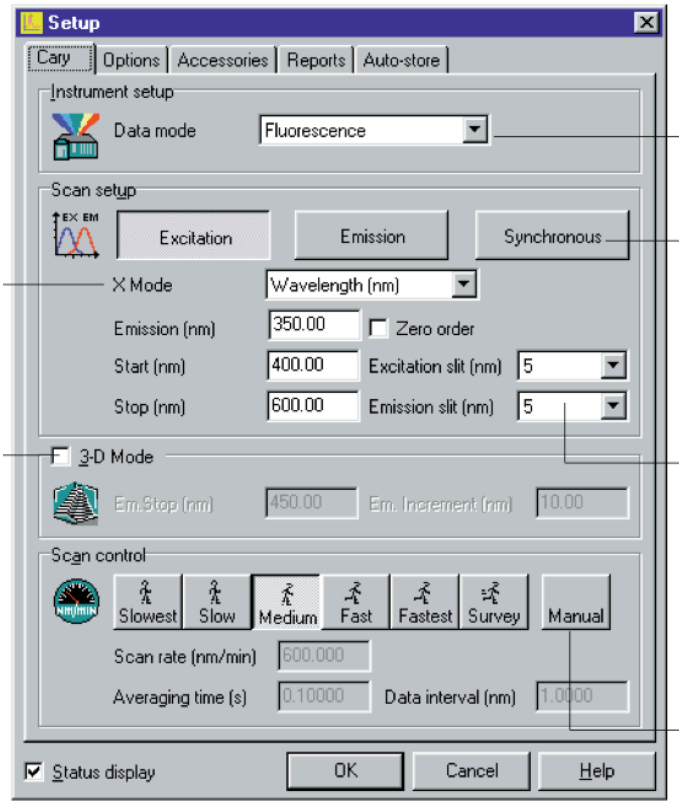
Şekil C.2 : Floresans spektrofotometresi enstrümantasyonunun genel şematik gösterimi [48].



Şekil C.3 : "Schwarzchild" toplayıcı aynaları Xe flaş lambasından gelen ışığın büyük bir kısmını yakalayarak örneğe doğrultmaktadır [47].



Şekil C.4 : Florometrenin tarama modu [47].

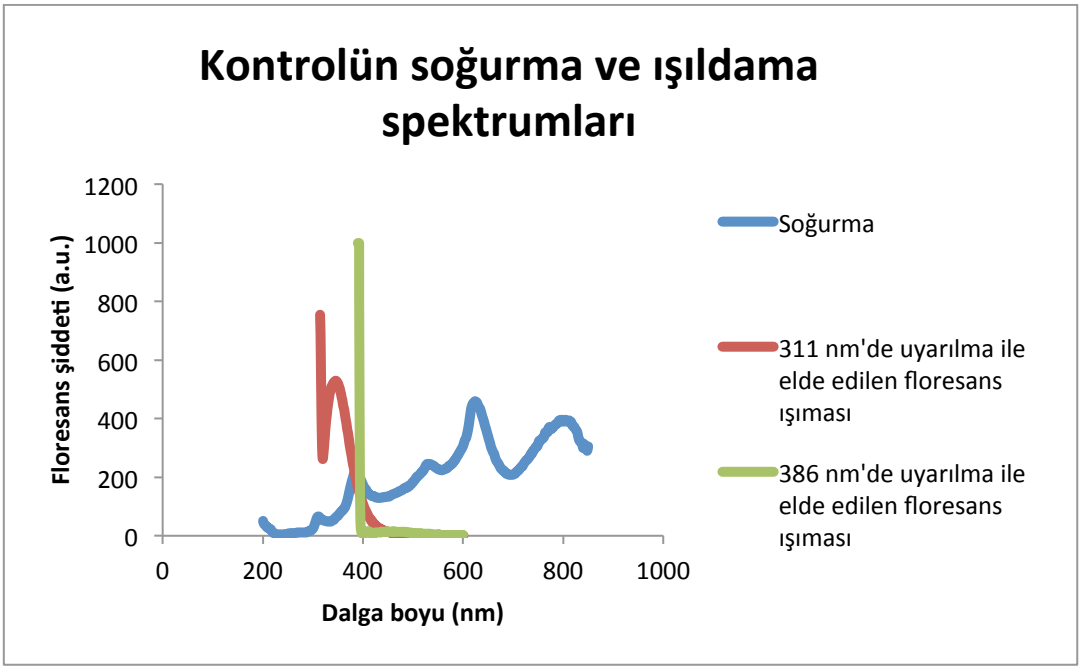


Şekil C.5 : Florometrenin ayar modu [47].

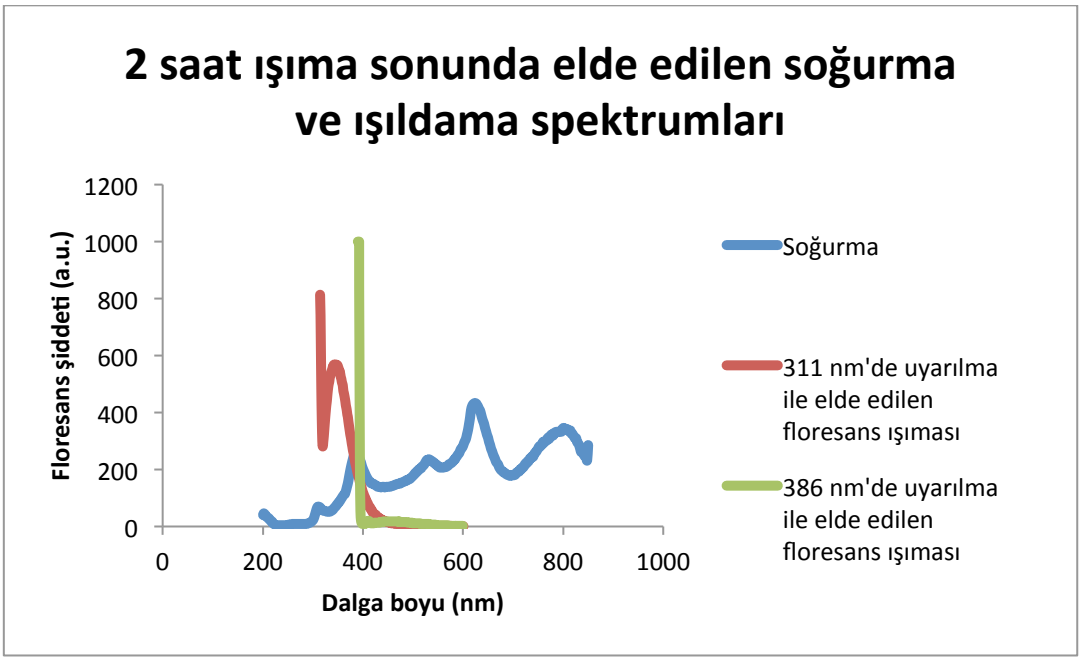
EK D

Ölçüm Grafikleri

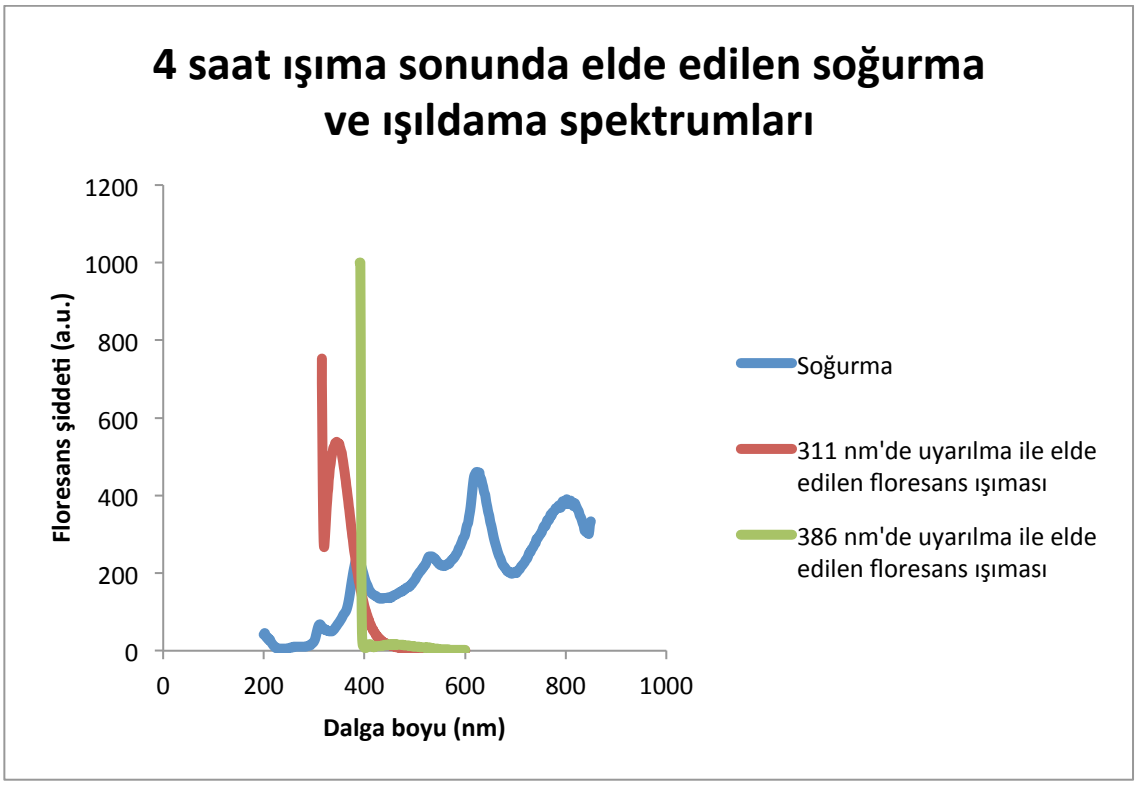
1. Tekrar



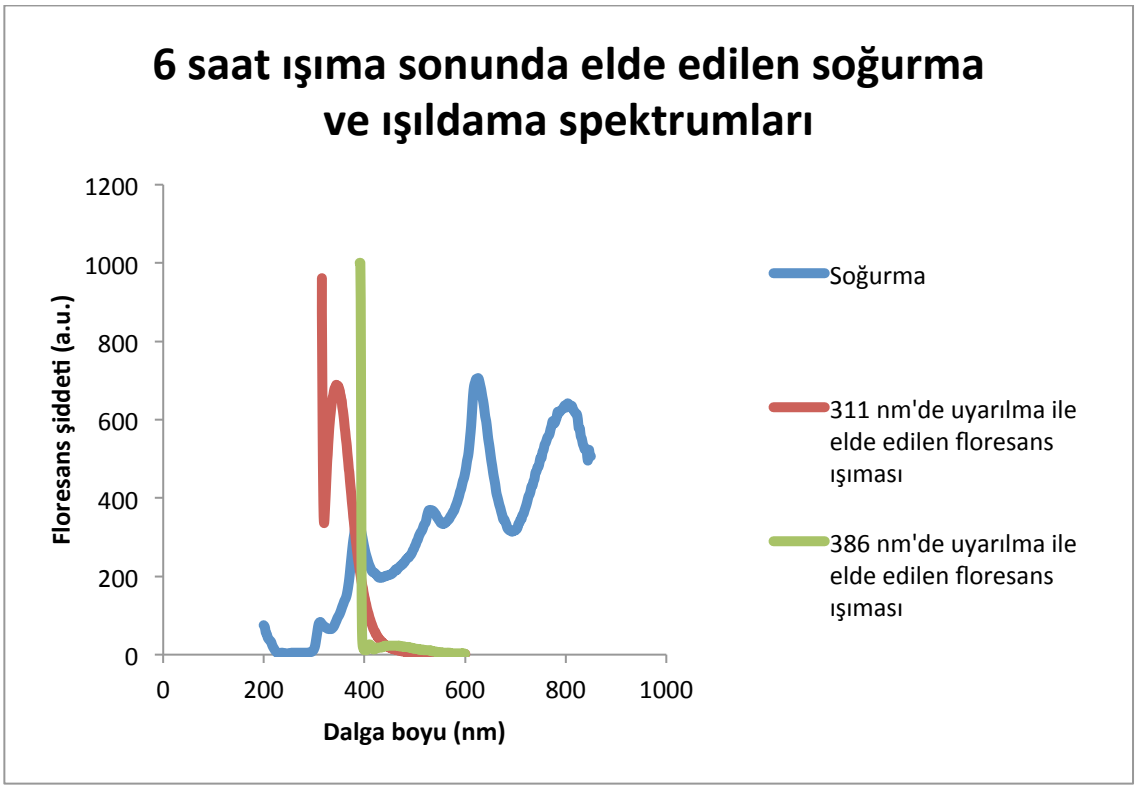
(a)



(b)

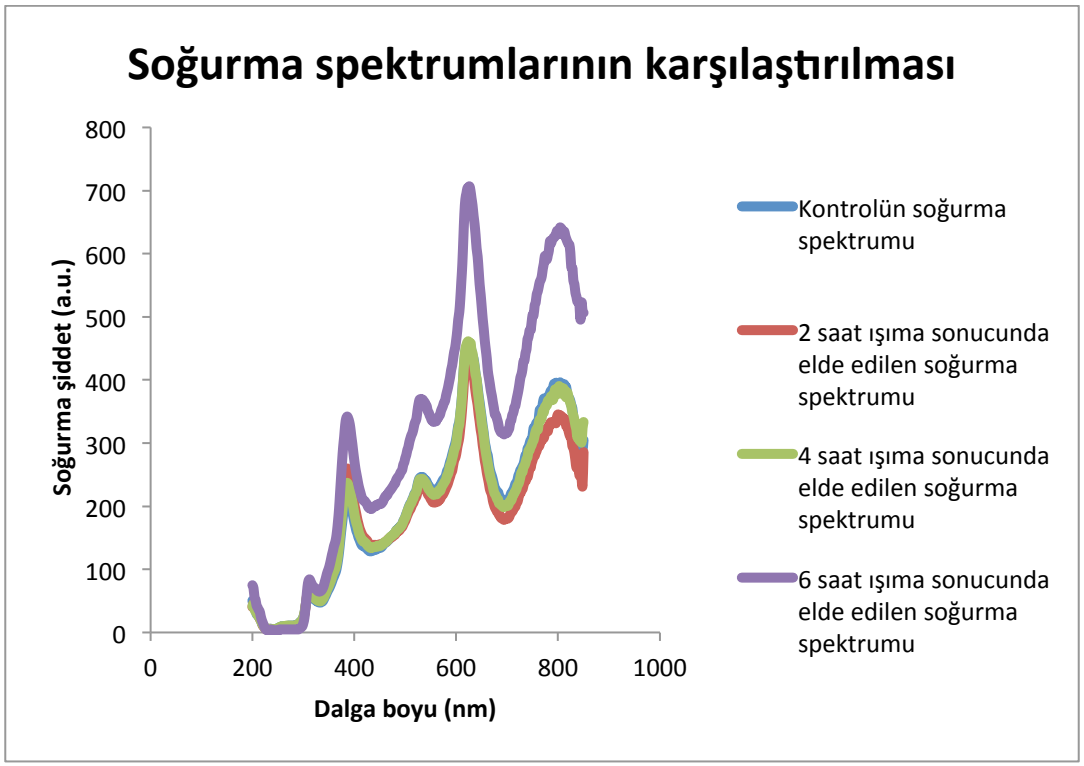


(c)

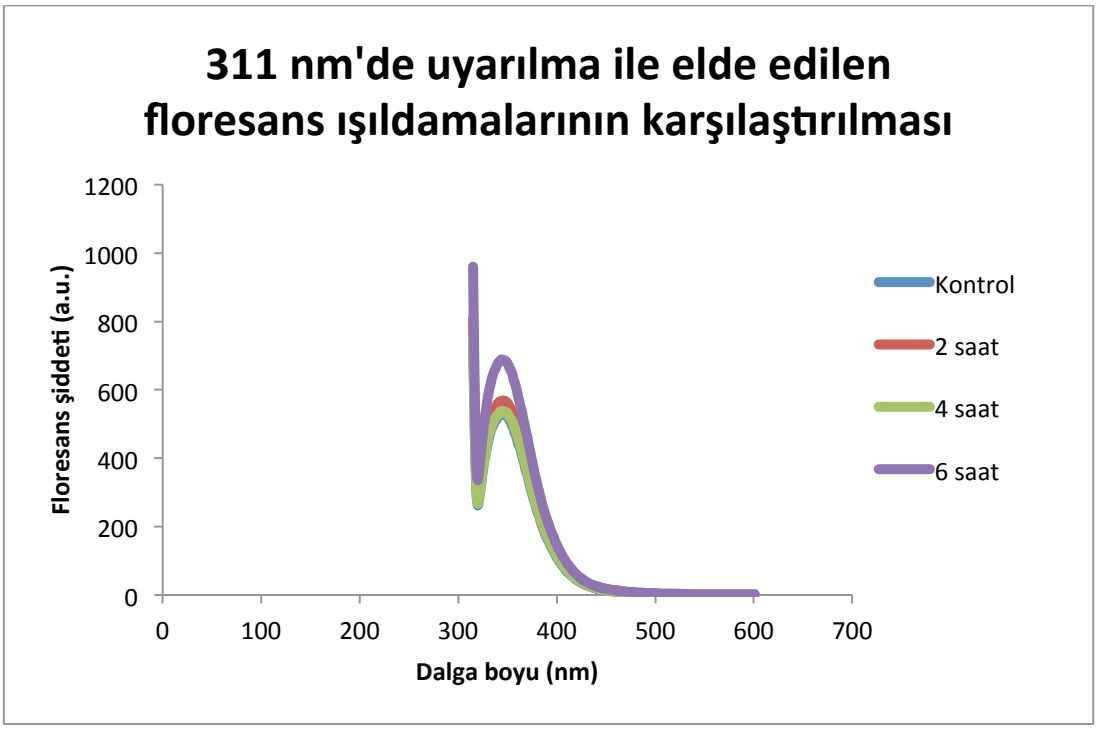


(d)

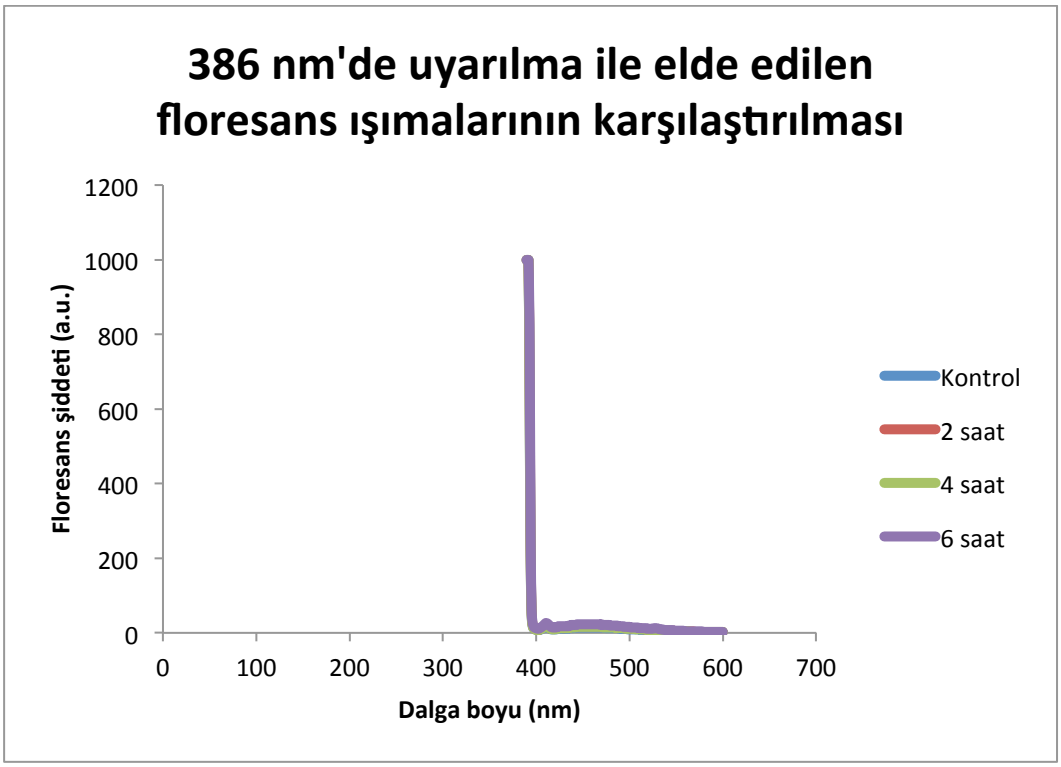
Şekil D.1 : 1. tekrardaki kontrol-(a) ve 2 saat-(b), 4 saat-(c), 6 saat-(d) ışıma sonunda elde edilen soğurma ve floresans spektrumları.


Soğurma spektrumlarının karşılaştırılması
Soğurma şiddet (a.u.)
800
700
600
500
400
300
200
100
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Kontrolün soğurma spektrumu
2 saat ışıma sonucunda elde edilen soğurma spektrumu
4 saat ışıma sonucunda elde edilen soğurma spektrumu
6 saat ışıma sonucunda elde edilen soğurma spektrumu

(a)


311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıldamalarının karşılaştırılması
Floresans şiddeti (a.u.)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
100
200
300
400
500
600
700
Dalga boyu (nm)
Kontrol
2 saat
4 saat
6 saat

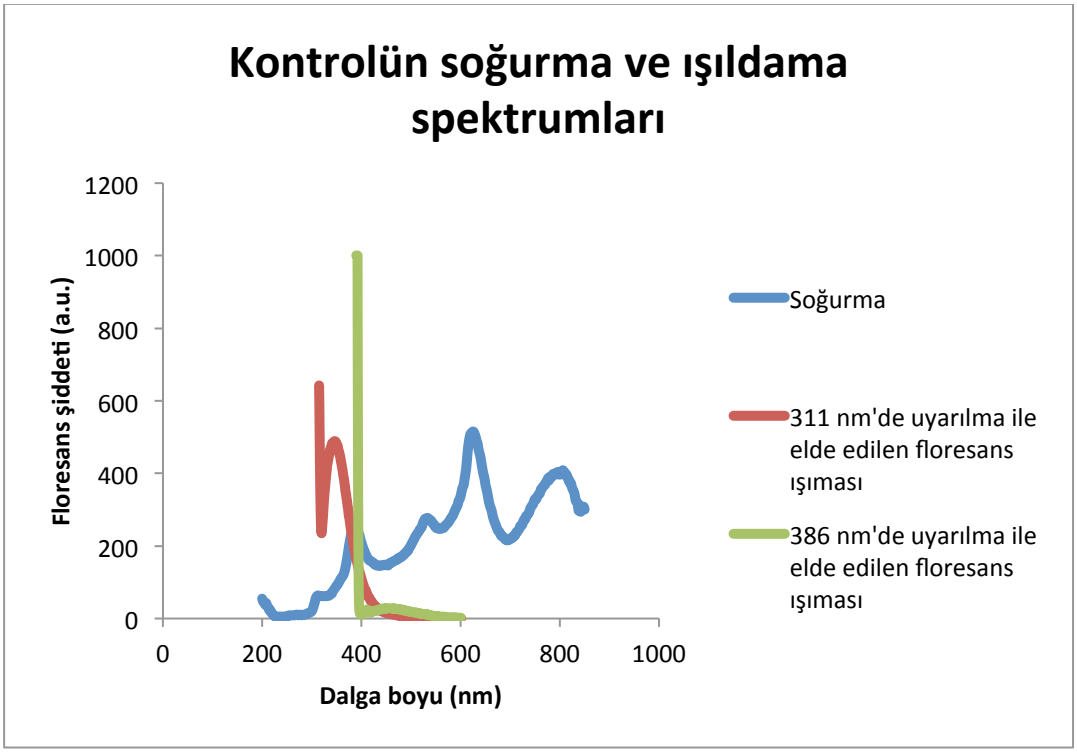
(b)



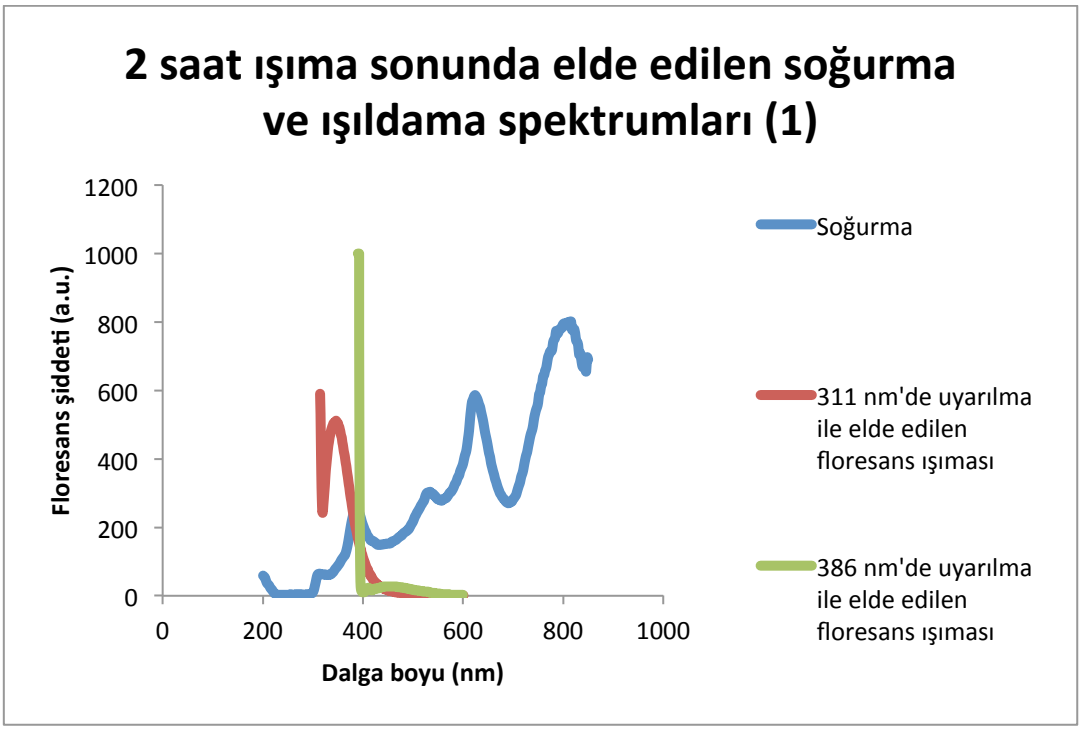
(c)

Şekil D.2 : 1. tekrarda farklı sürelerdeki ışımalar sonunda elde edilen soğurma (a) ve floresans spektrumlarında (b, c) yapılan karşılaştırmalar.

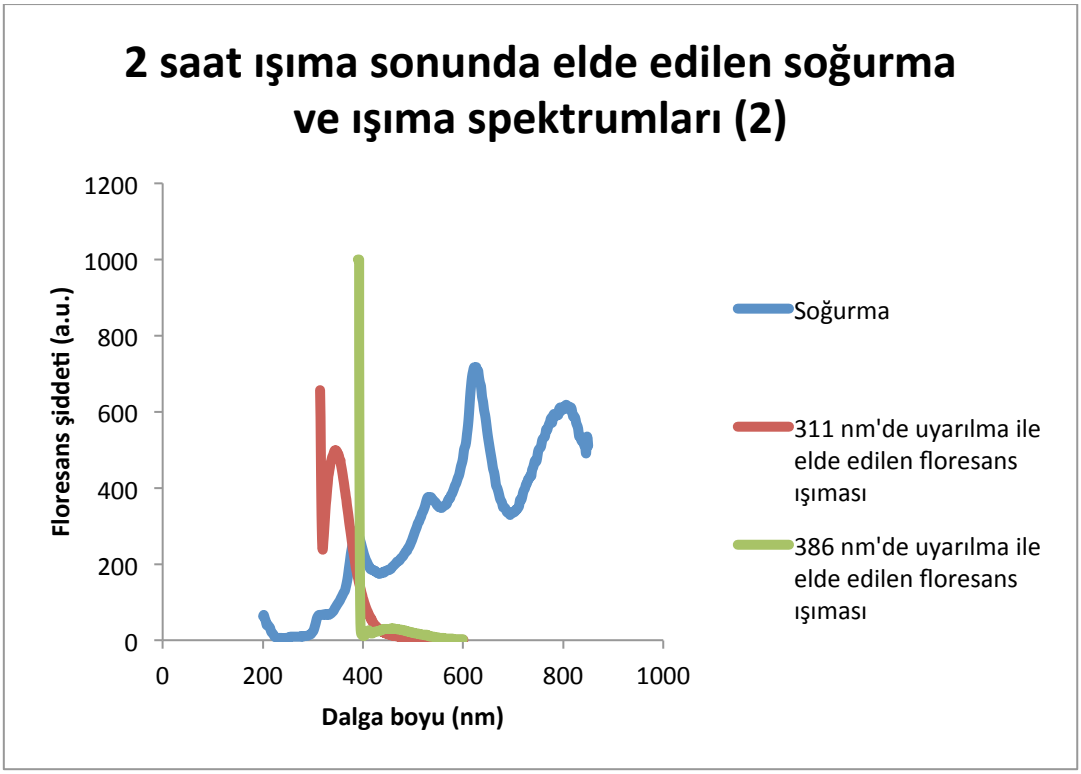
2. Tekrar



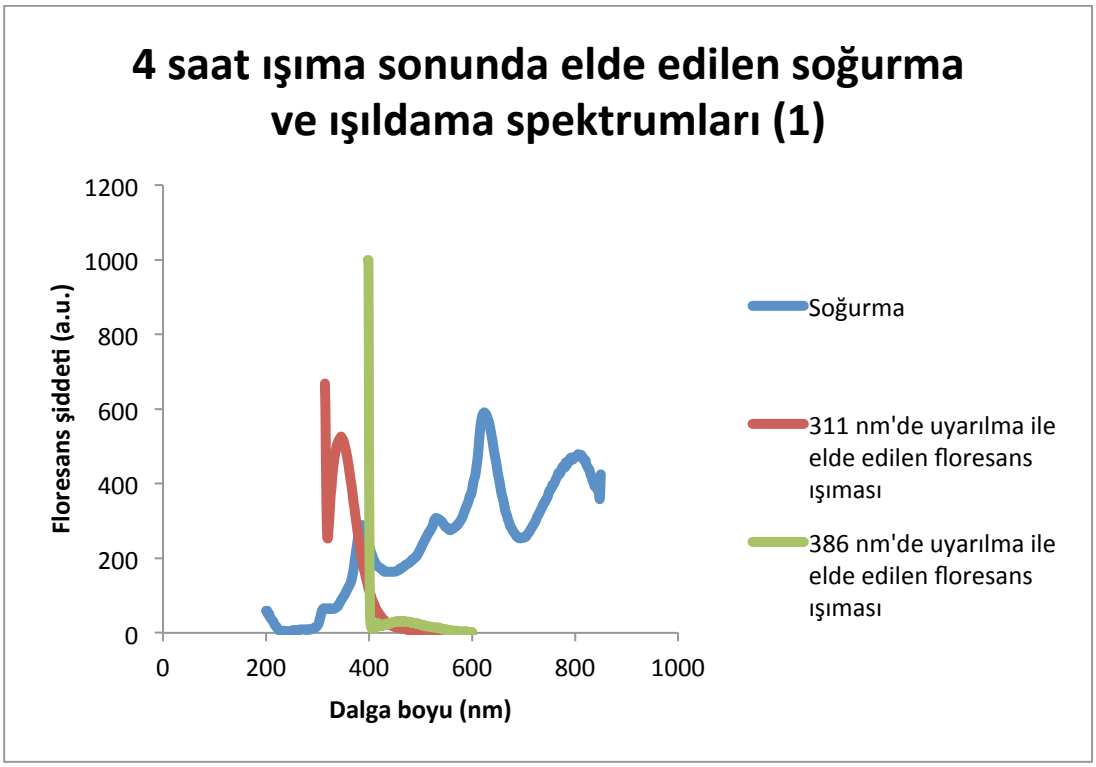
(a)


2 saat ışıma sonunda elde edilen soğurma ve ışıldama spektrumları (1)
Floresans şiddeti (a.u.)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Soğurma
311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması
386 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması

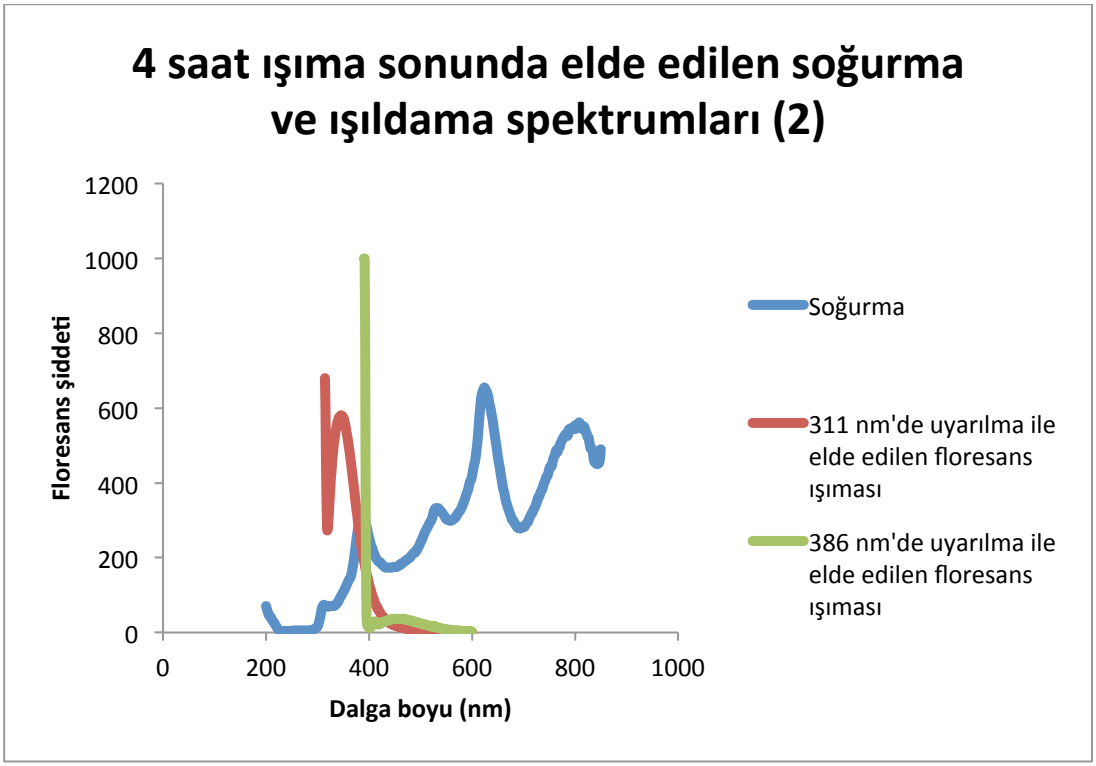
(b1)


2 saat ışıma sonunda elde edilen soğurma ve ışıma spektrumları (2)
Floresans şiddeti (a.u.)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Soğurma
311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması
386 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması

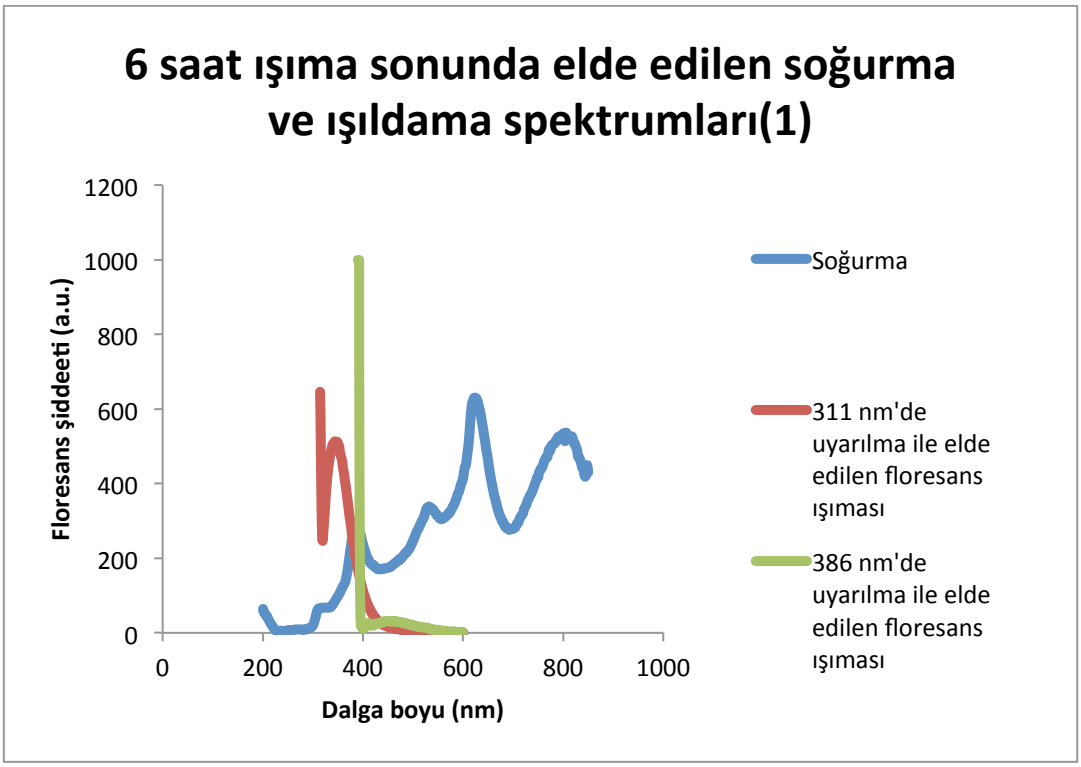
(b2)


4 saat ışıma sonunda elde edilen soğurma ve ışıldama spektrumları (1)
Floresans şiddeti (a.u.)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Soğurma
311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması
386 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması

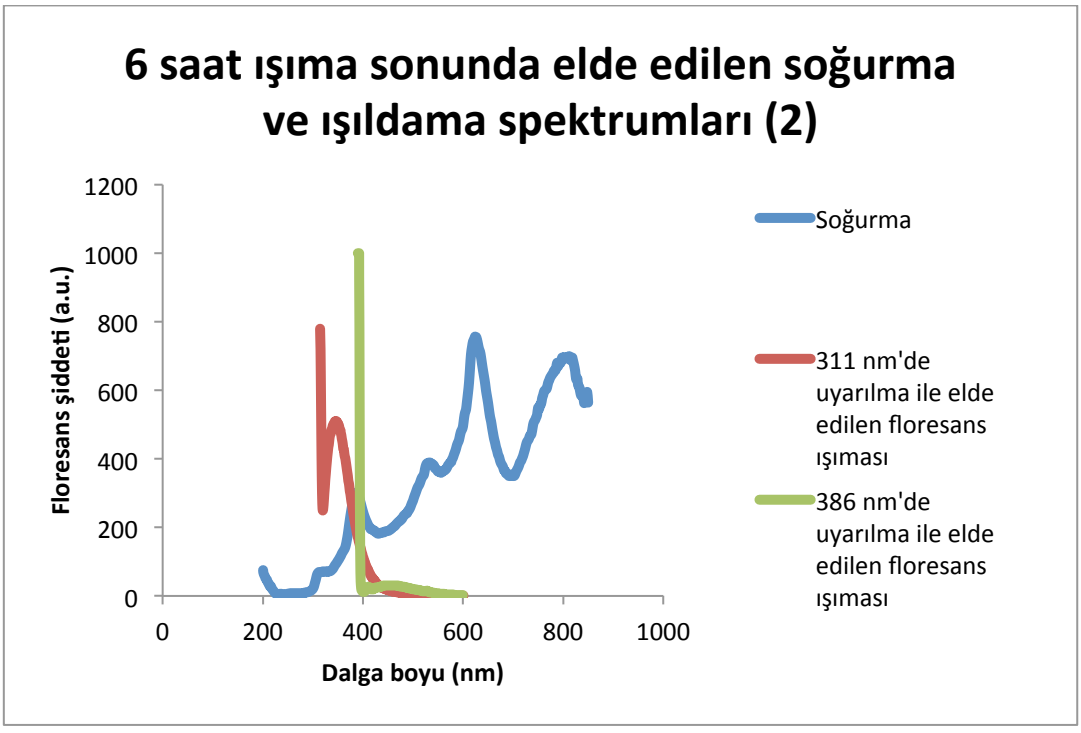
(c1)


4 saat ışıma sonunda elde edilen soğurma ve ışıldama spektrumları (2)
Floresans şiddeti
1200
1000
800
600
400
200
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Soğurma
311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması
386 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması

(c2)

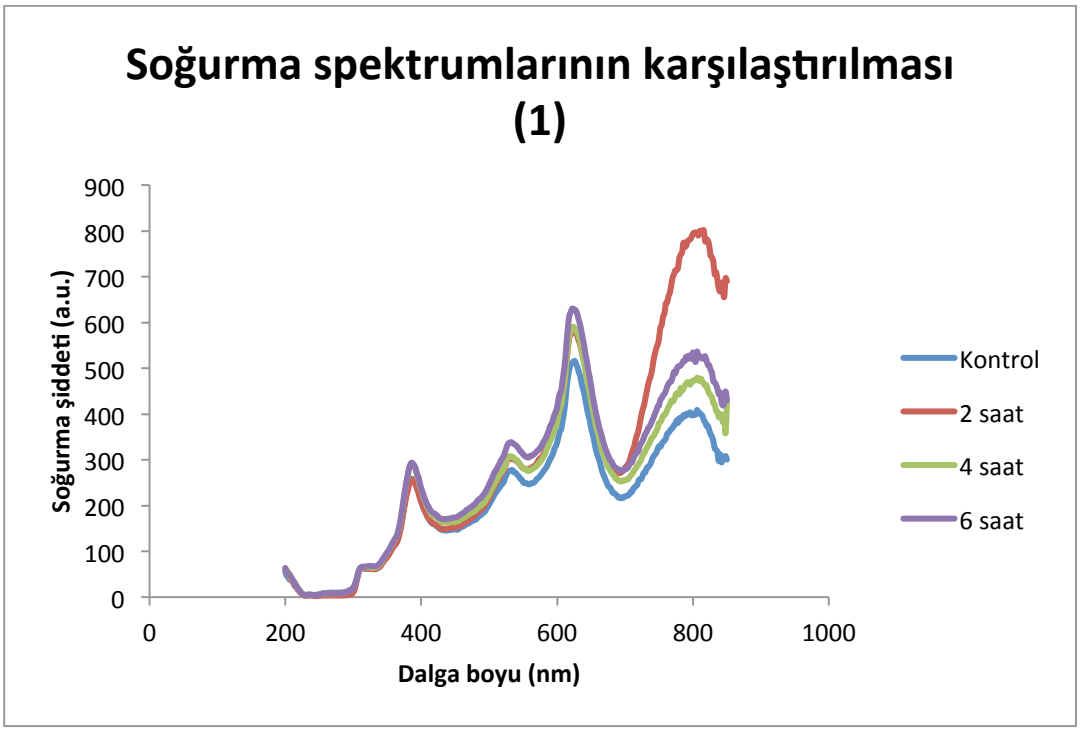


(d1)

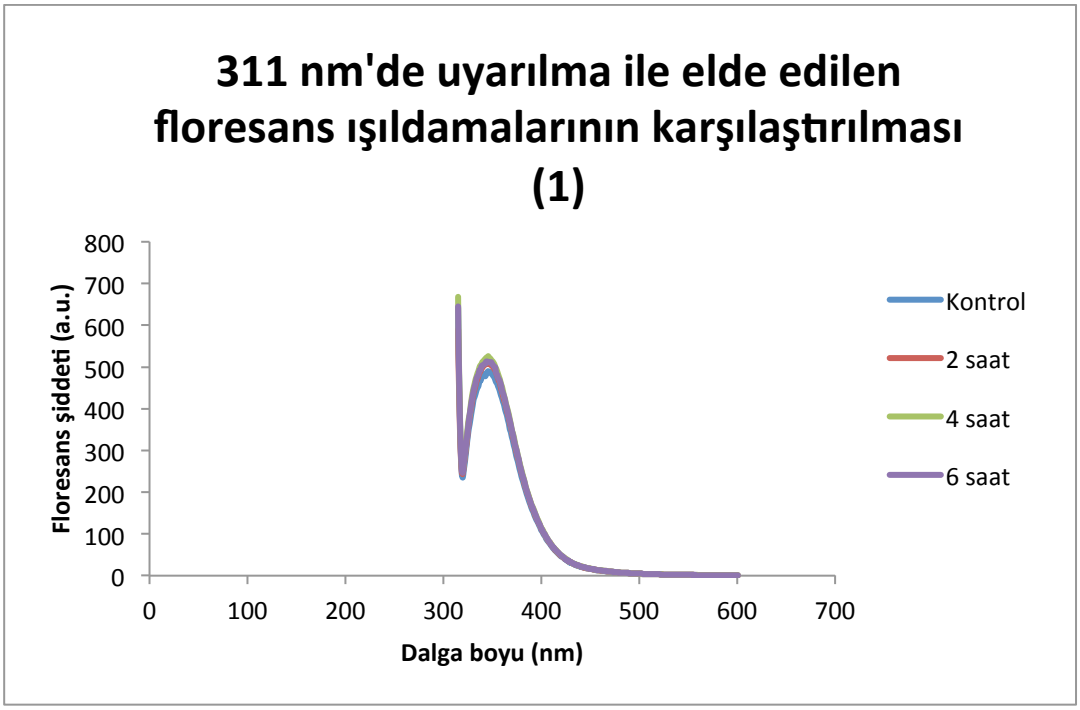


(d2)

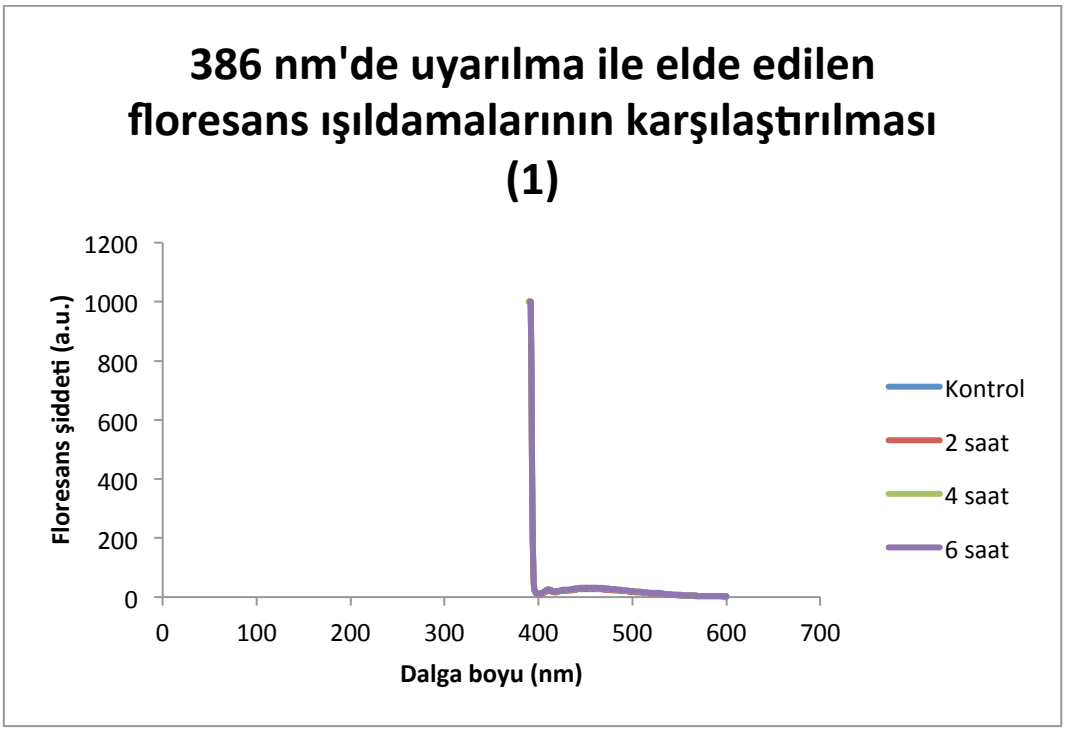
Şekil D.3 : 2. tekrardaki kontrol-(a) ve 2 saat-(b1,b2), 4 saat-(c1,c2), 6 saat-(d1,d2) ışıma sonunda elde edilen soğurma ve floresans spektrumları.


Soğurma spektrumlarının karşılaştırılması
(1)
Soğurma şiddeti (a.u.)
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Kontrol
2 saat
4 saat
6 saat

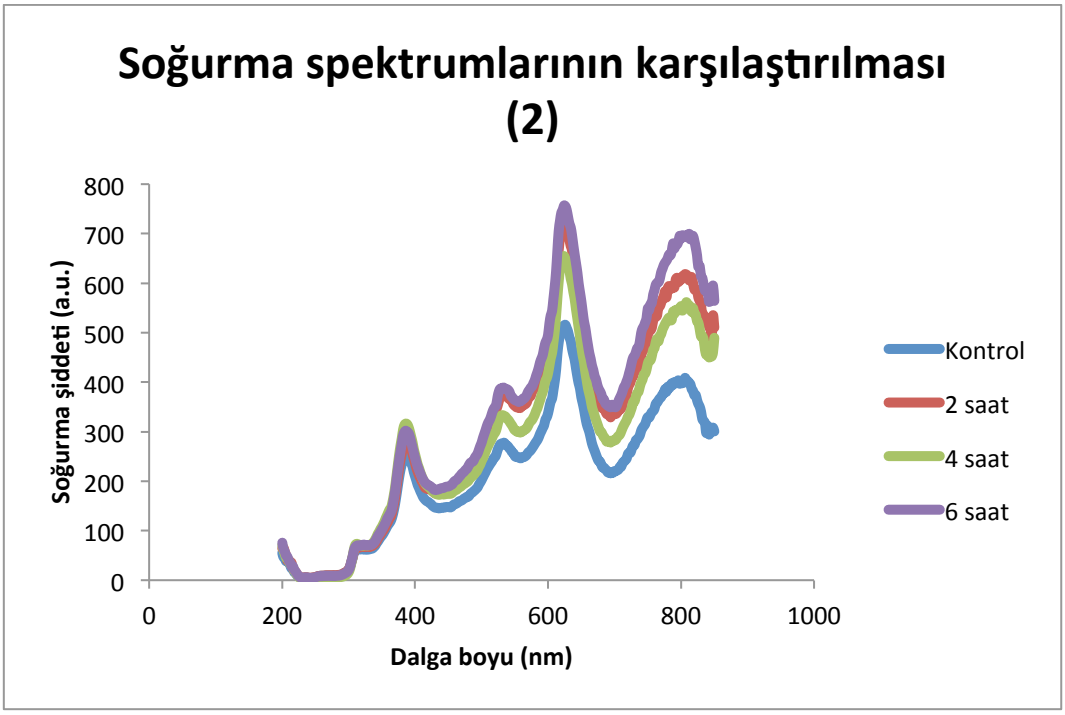
(a1)


311 nm'de uyarılma ile elde edilen
floresans ışıldamalarının karşılaştırılması
(1)
Floresans şiddeti (a.u.)
800
700
600
500
400
300
200
100
0
0
100
200
300
400
500
600
700
Dalga boyu (nm)
Kontrol
2 saat
4 saat
6 saat

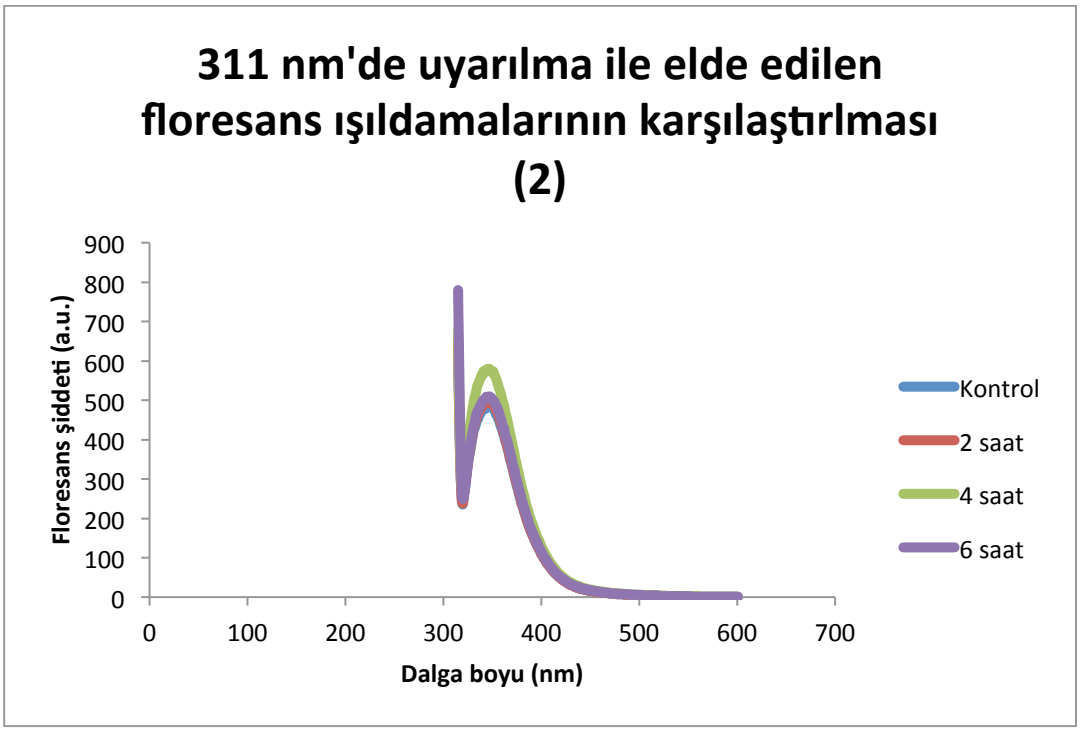
(b1)


386 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıldamalarının karşılaştırılması (1)
Floresans şiddeti (a.u.)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
100
200
300
400
500
600
700
Dalga boyu (nm)
Kontrol
2 saat
4 saat
6 saat

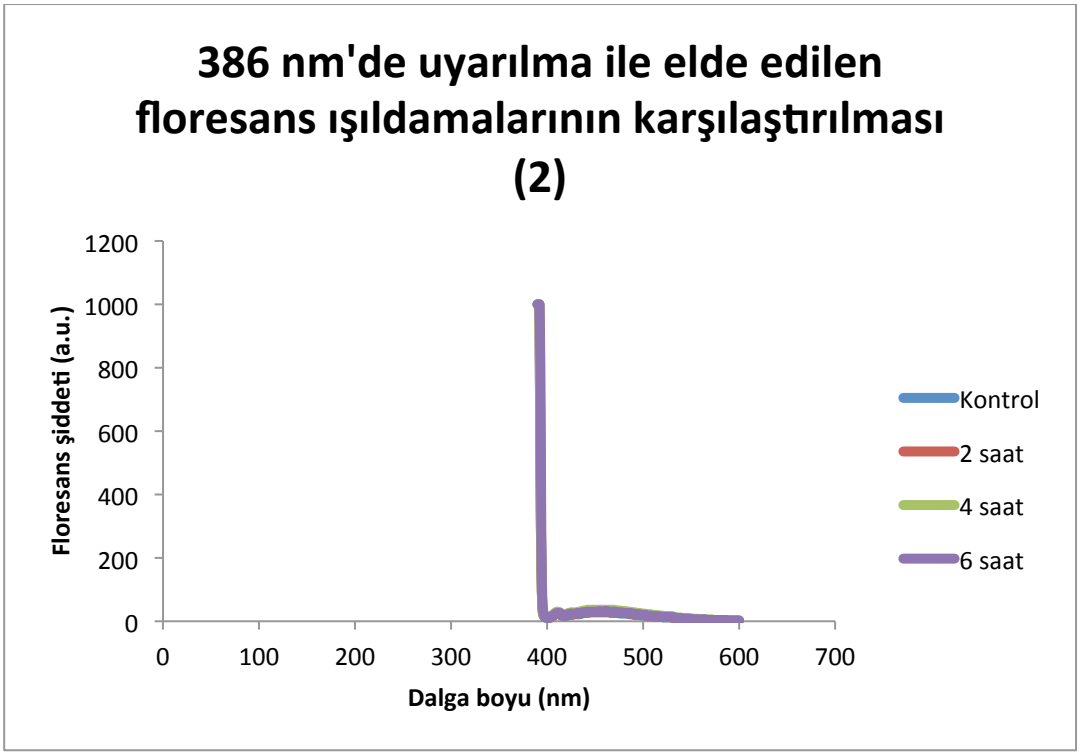
(c1)


Soğurma spektrumlarının karşılaştırılması (2)
Soğurma şiddeti (a.u.)
800
700
600
500
400
300
200
100
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Kontrol
2 saat
4 saat
6 saat

(a2)



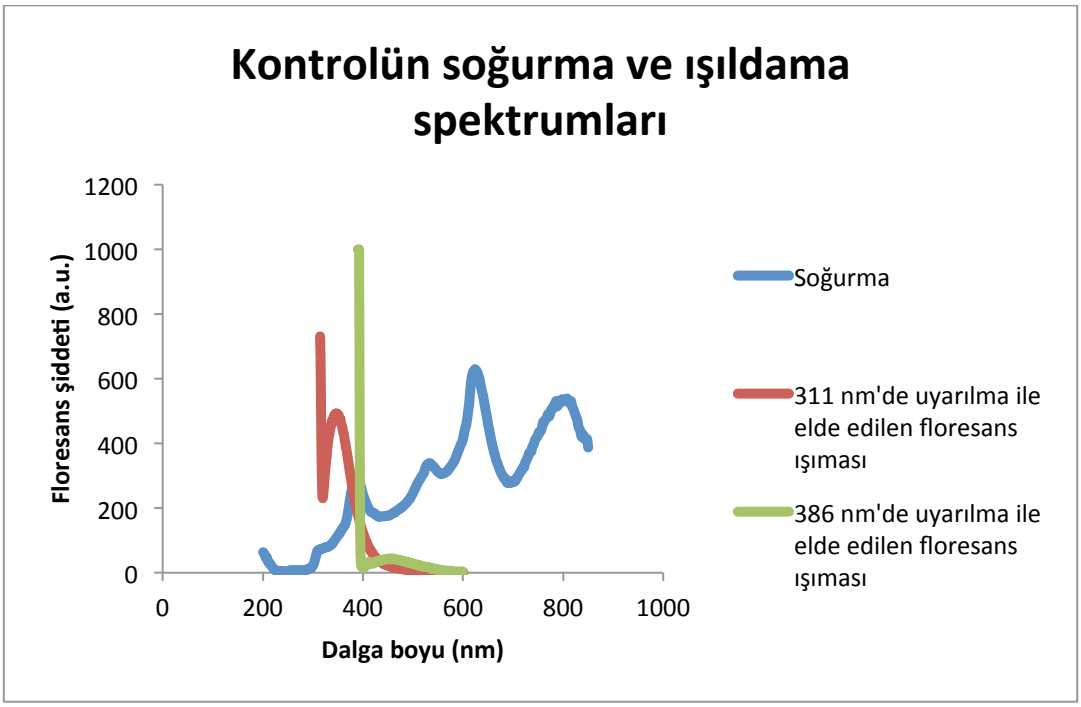
(b2)



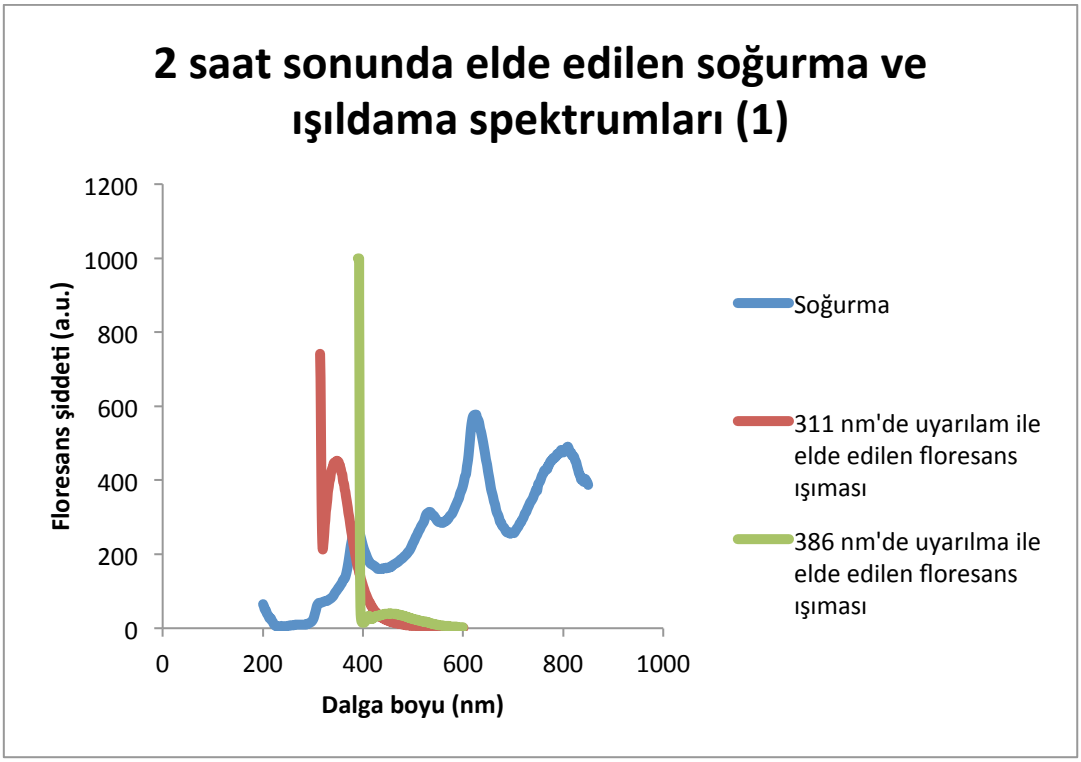
(c2)

Şekil D.4 : 2. tekrarda farklı sürelerdeki ışımalar sonunda elde edilen soğurma (a1-a2) ve floresans spektrumlarında (b1-b2, c1-c2) yapılan karşılaştırmalar.

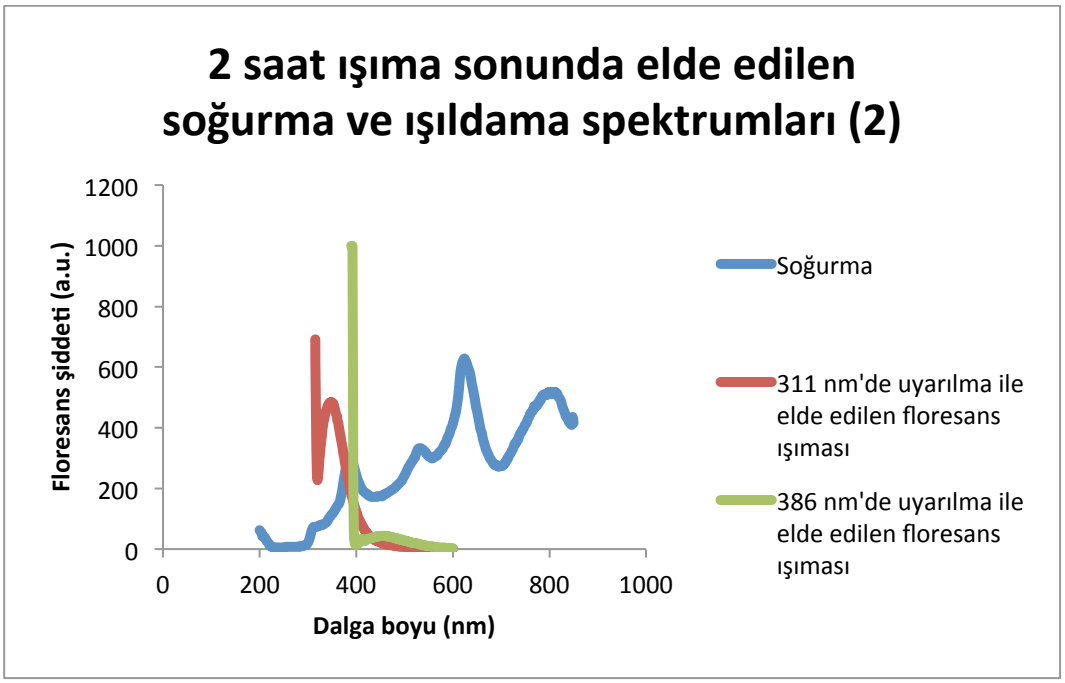
3. Tekrar


Kontrolün soğurma ve ışıldama spektrumları
Floresans şiddeti (a.u.)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Soğurma
311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması
386 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması

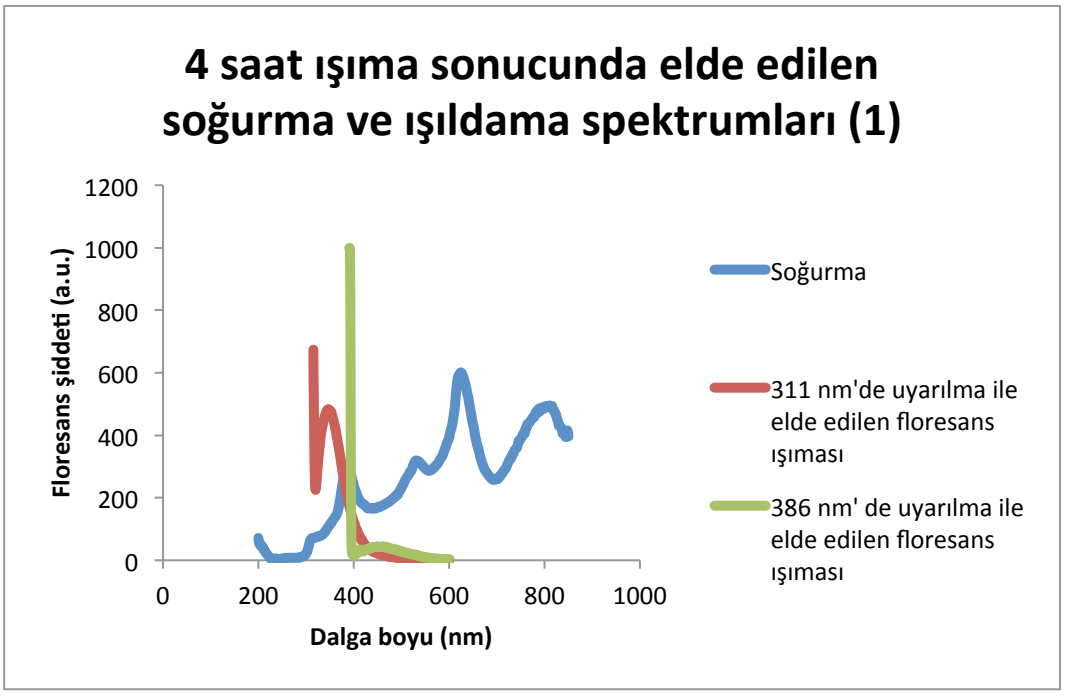
(a)


2 saat sonunda elde edilen soğurma ve ışıldama spektrumları (1)
Floresans şiddeti (a.u.)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Soğurma
311 nm'de uyarılam ile elde edilen floresans ışıması
386 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması

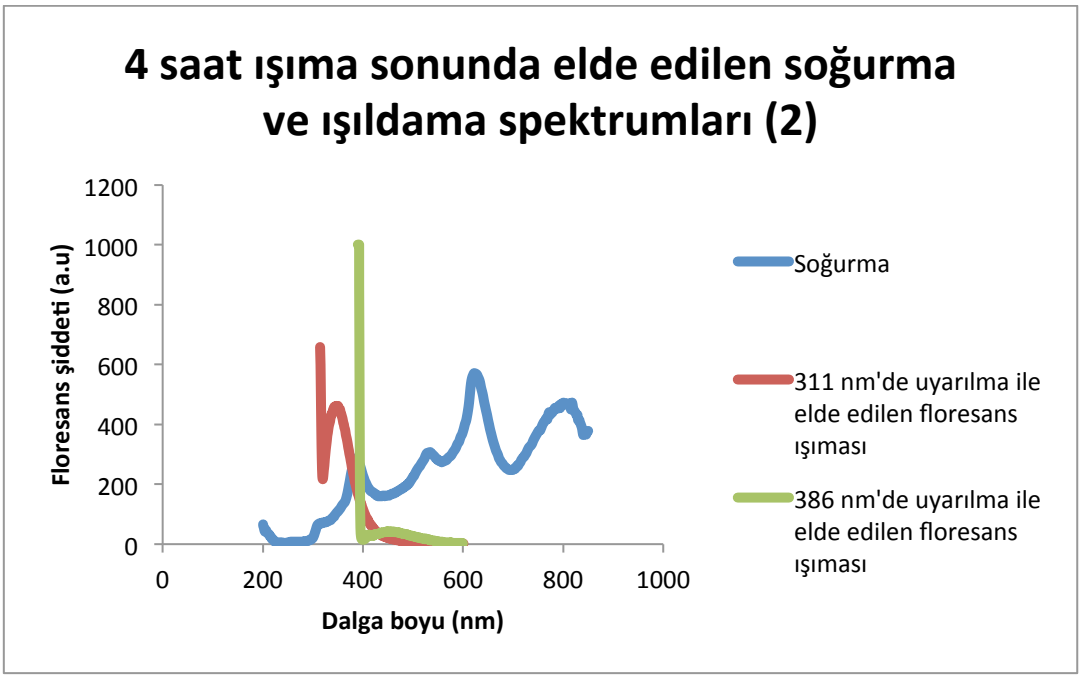
(b1)


2 saat ışıma sonunda elde edilen soğurma ve ışıldama spektrumları (2)
Floresans şiddeti (a.u.)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Soğurma
311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması
386 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması

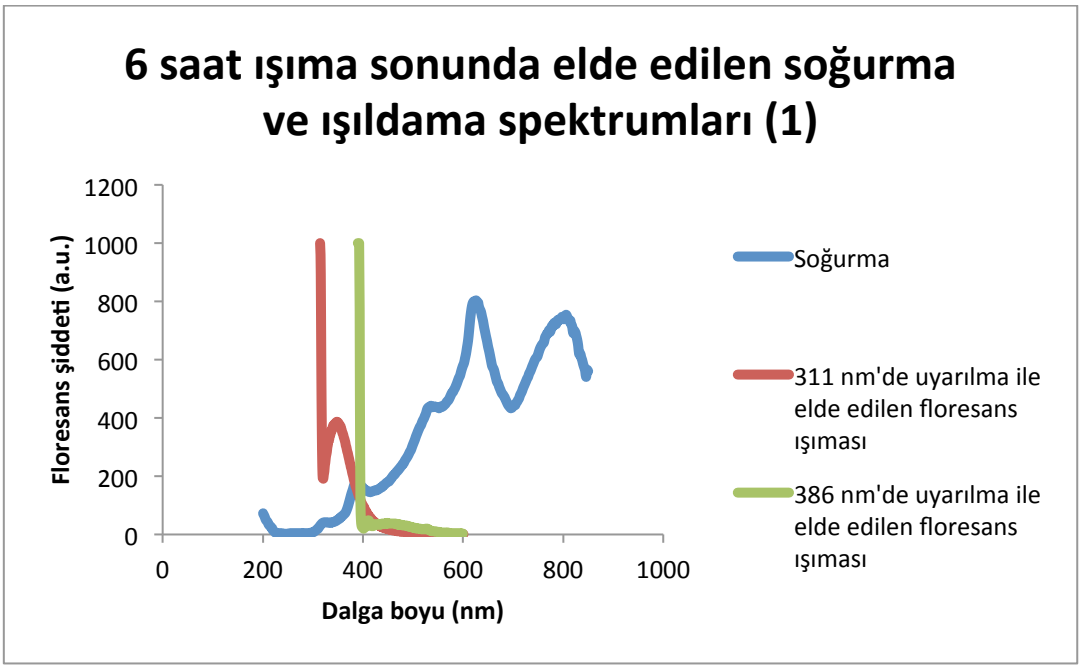
(b2)


4 saat ışıma sonucunda elde edilen soğurma ve ışıldama spektrumları (1)
Floresans şiddeti (a.u.)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Soğurma
311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması
386 nm' de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması

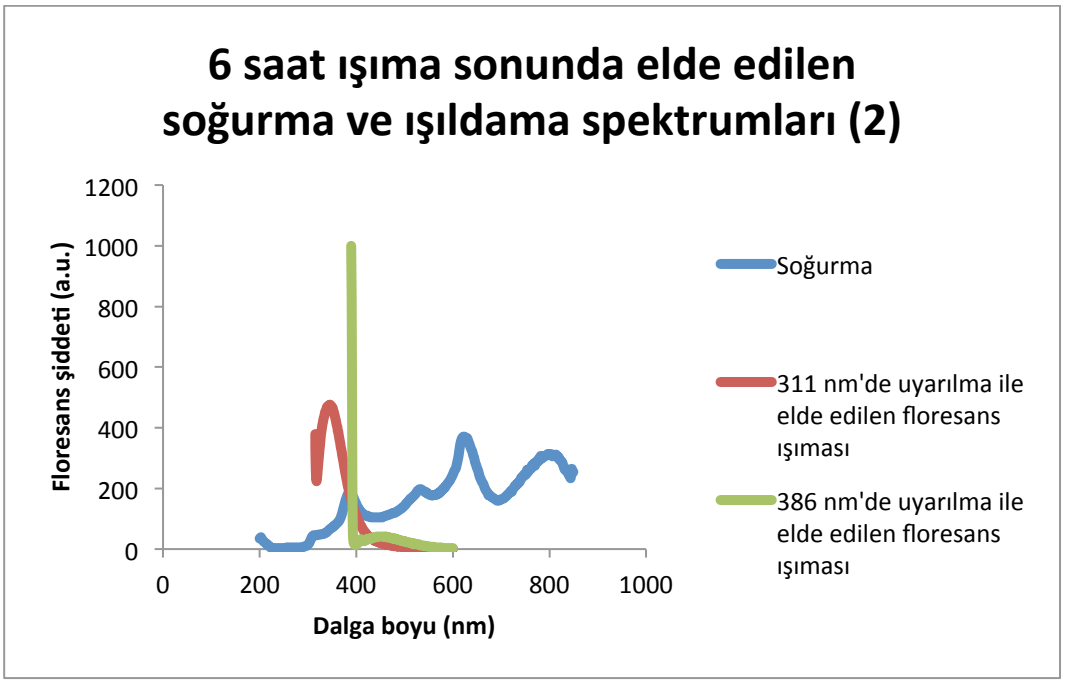
(c1)


4 saat ışıma sonunda elde edilen soğurma ve ışıldama spektrumları (2)
Floresans şiddeti (a.u)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Soğurma
311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması
386 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması

(c2)

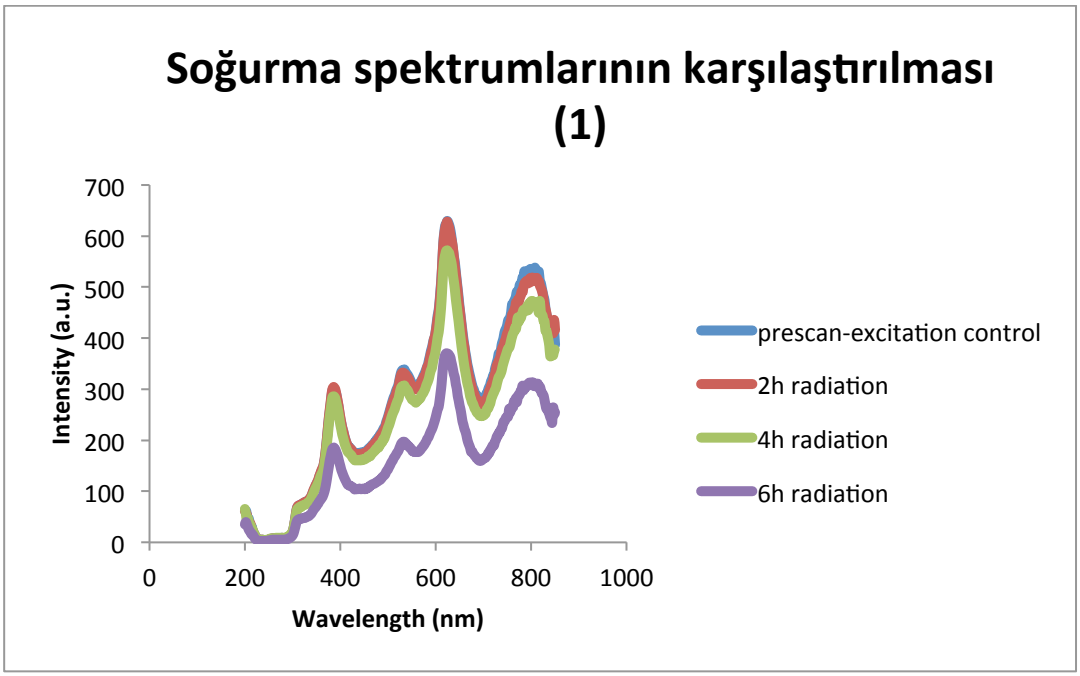

6 saat ışıma sonunda elde edilen soğurma ve ışıldama spektrumları (1)
Floresans şiddeti (a.u.)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Soğurma
311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması
386 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması

(d1)

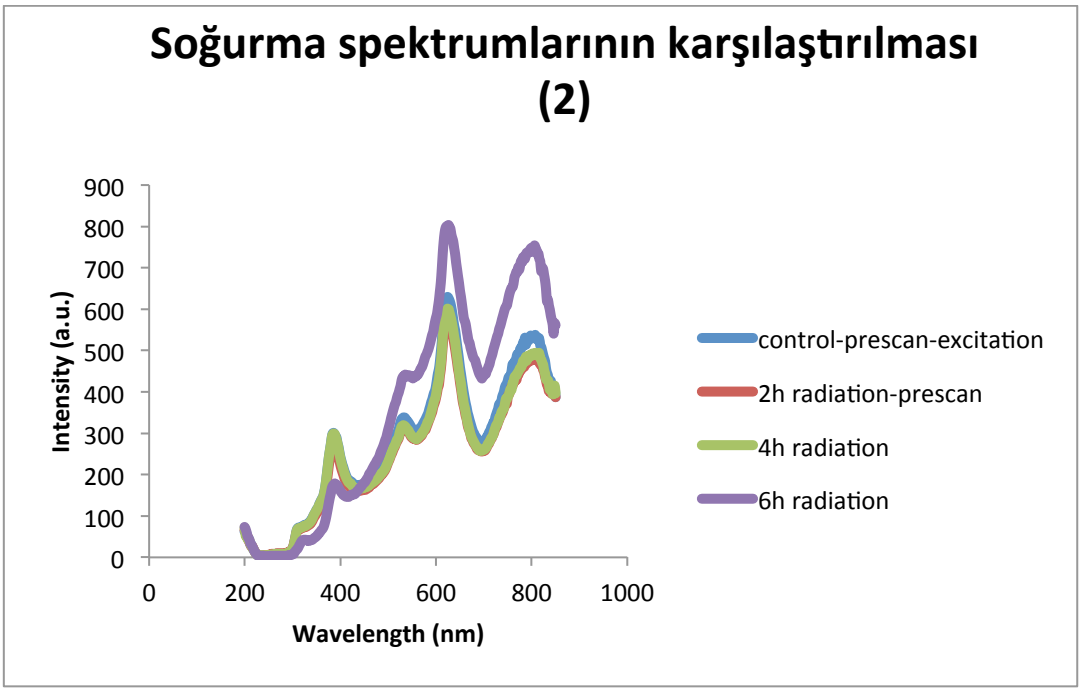


(d2)

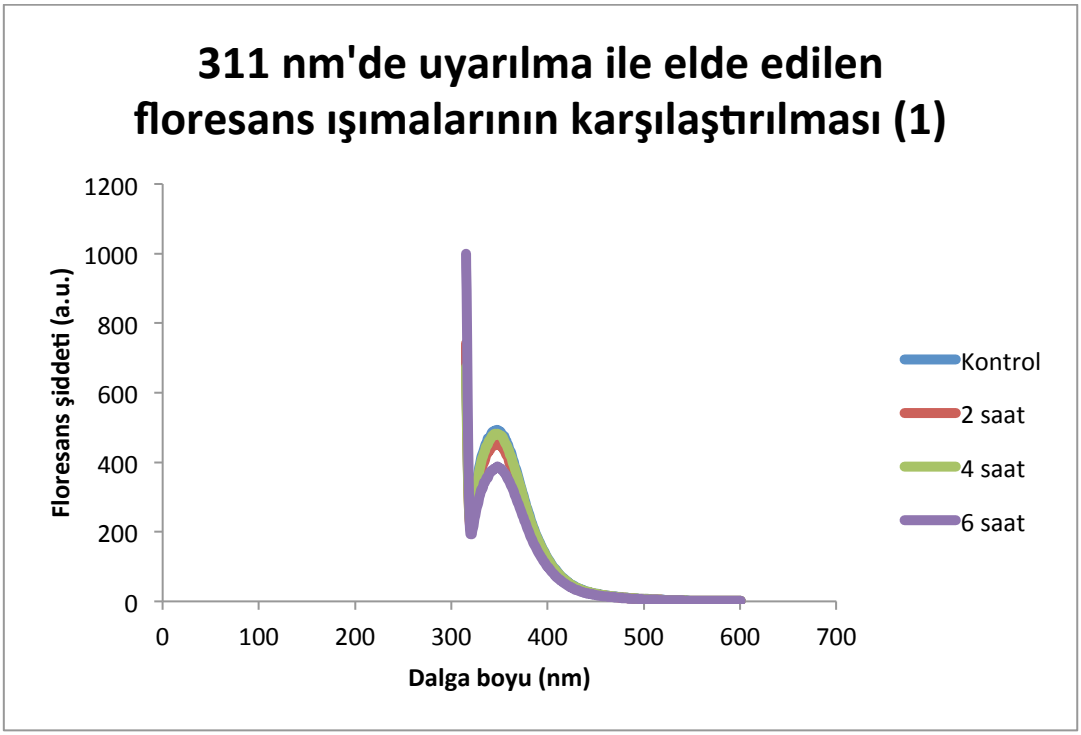
Şekil D.5 : 2. tekrardaki kontrol-(a) ve 2 saat-(b1,b2), 4 saat-(c1,c2), 6 saat-(d1,d2) ışıma sonunda elde edilen soğurma ve floresans spektrumları.



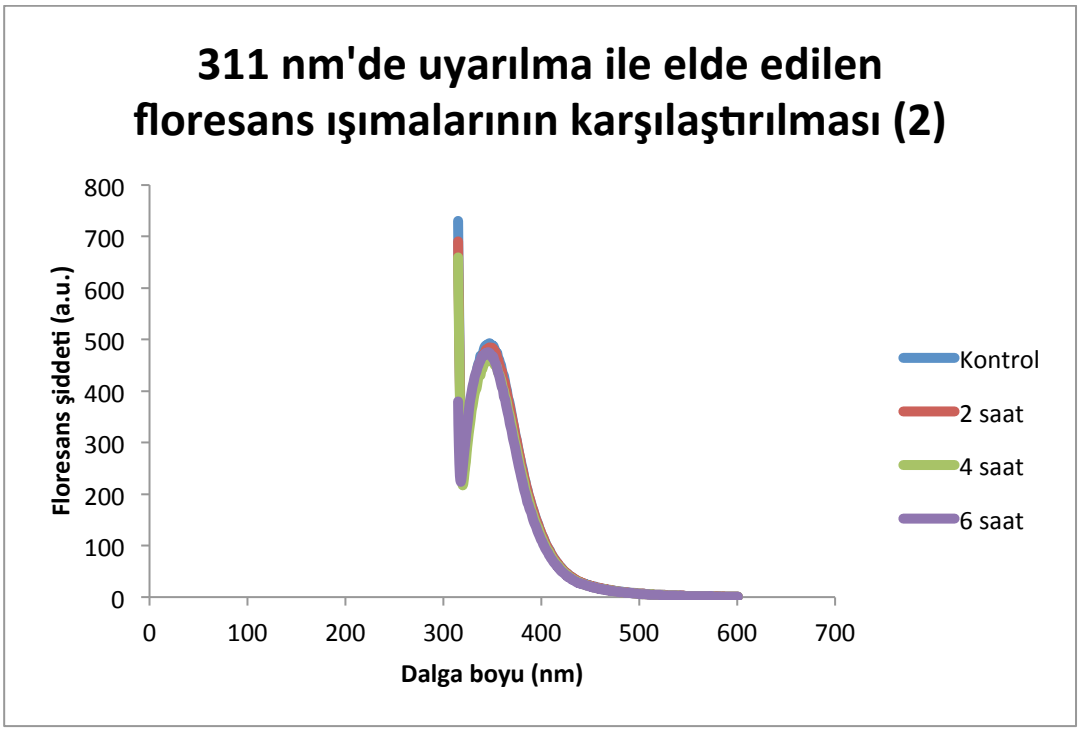
(a1)


Soğurma spektrumlarının karşılaştırılması (2)
Intensity (a.u.)
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
0
200
400
600
800
1000
Wavelength (nm)
control-prescan-excitation
2h radiation-prescan
4h radiation
6h radiation

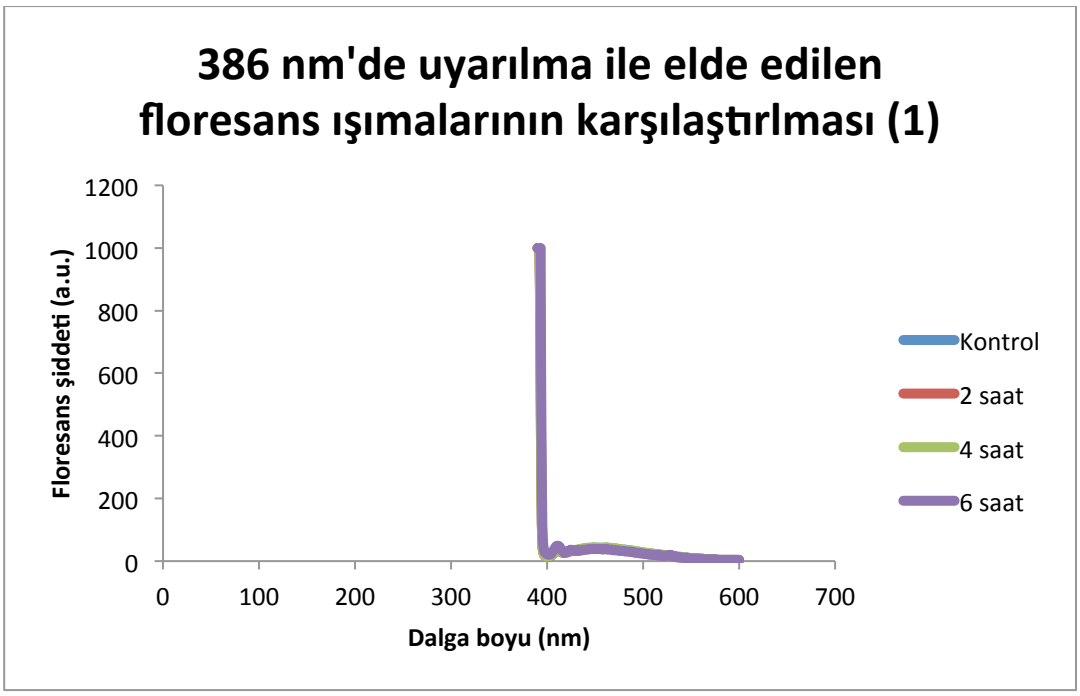
(a2)


311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışımalarının karşılaştırılması (1)
Floresans şiddeti (a.u.)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
100
200
300
400
500
600
700
Dalga boyu (nm)
Kontrol
2 saat
4 saat
6 saat

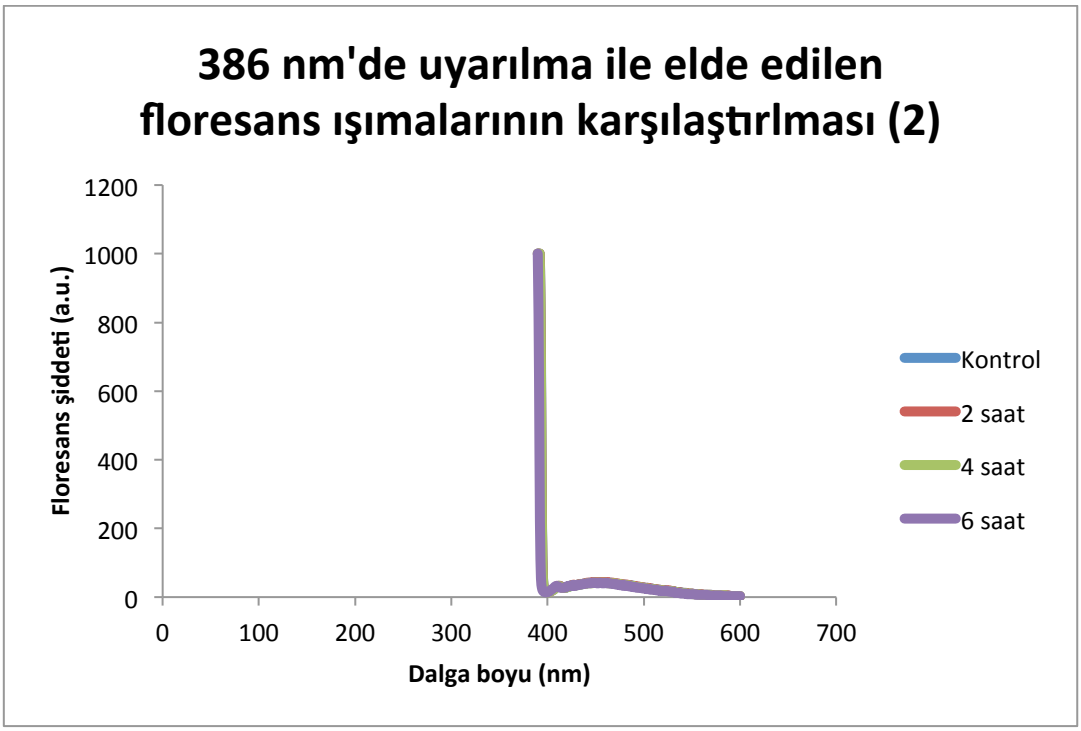
(b1)


311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışımalarının karşılaştırılması (2)
Floresans şiddeti (a.u.)
800
700
600
500
400
300
200
100
0
0
100
200
300
400
500
600
700
Dalga boyu (nm)
Kontrol
2 saat
4 saat
6 saat

(b2)


386 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışımalarının karşılaştırılması (1)
Floresans şiddeti (a.u.)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
100
200
300
400
500
600
700
Dalga boyu (nm)
Kontrol
2 saat
4 saat
6 saat

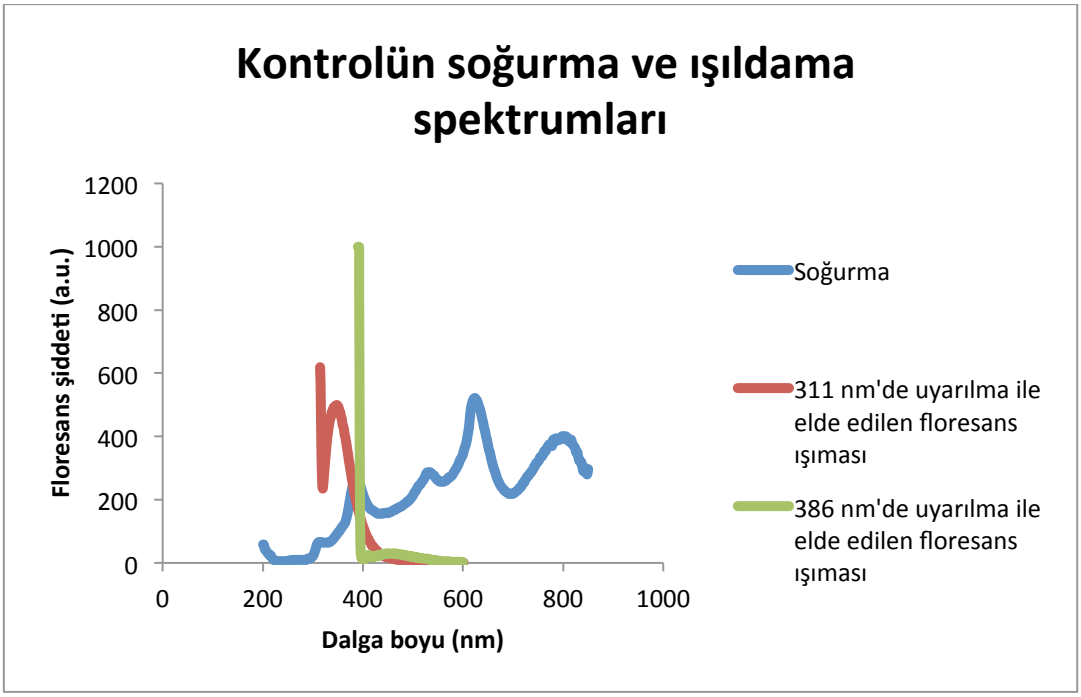
(c1)



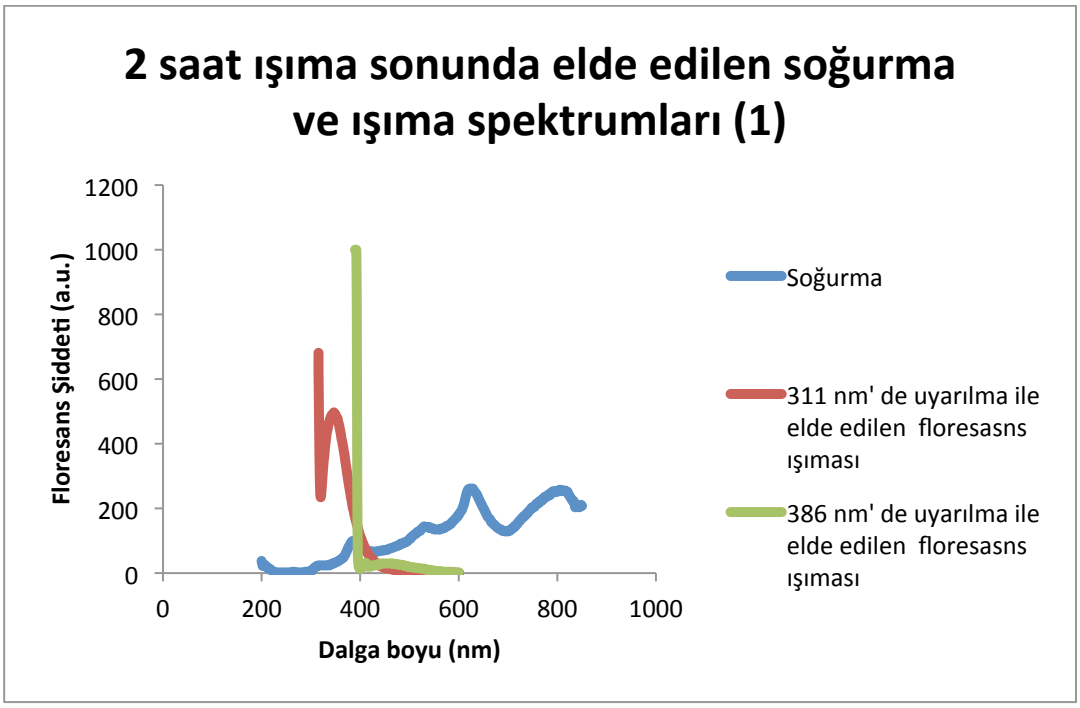
(c2)

Şekil D.6 : 3. tekrarda farklı sürelerdeki ışımalar sonunda elde edilen soğurma (a1-a2) ve floresans spektrumlarında (b1-b2, c1-c2) yapılan karşılaştırmalar.

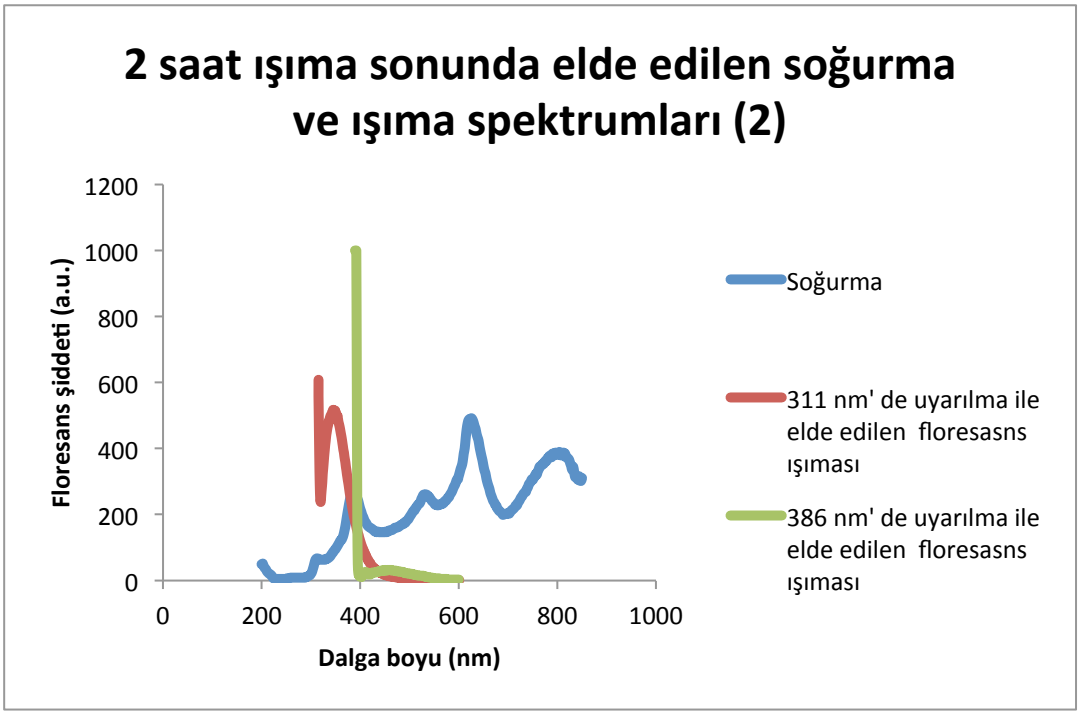
4. Tekrar



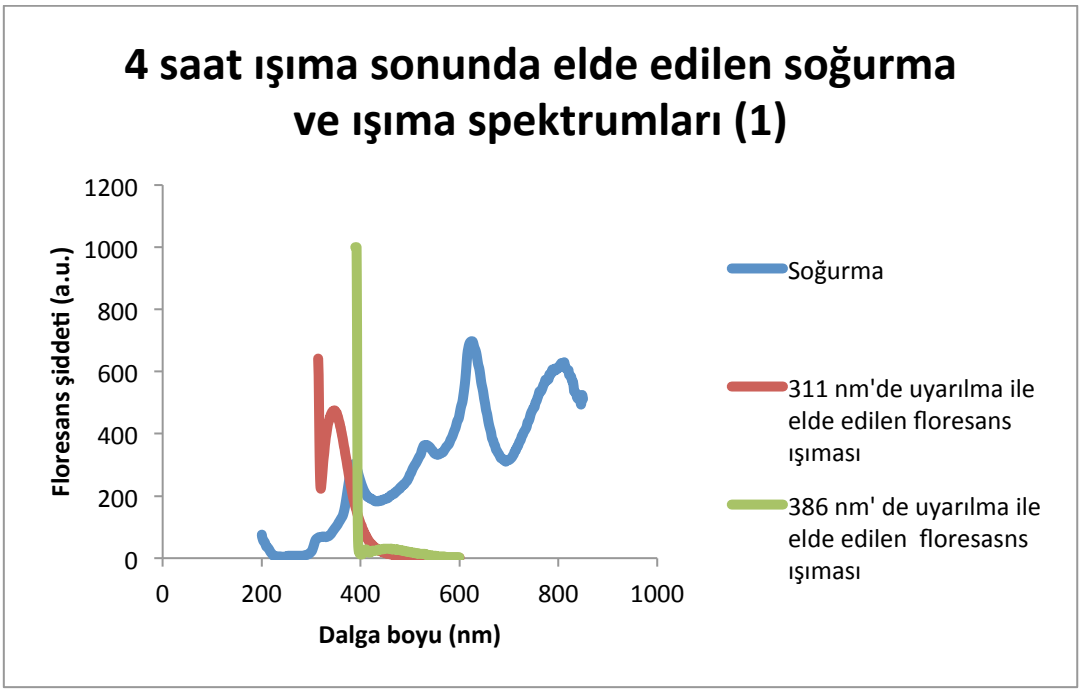
(a)


2 saat ışıma sonunda elde edilen soğurma ve ışıma spektrumları (1)
Floresans Şiddeti (a.u.)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Soğurma
311 nm' de uyarılma ile elde edilen floresasns ışıması
386 nm' de uyarılma ile elde edilen floresasns ışıması

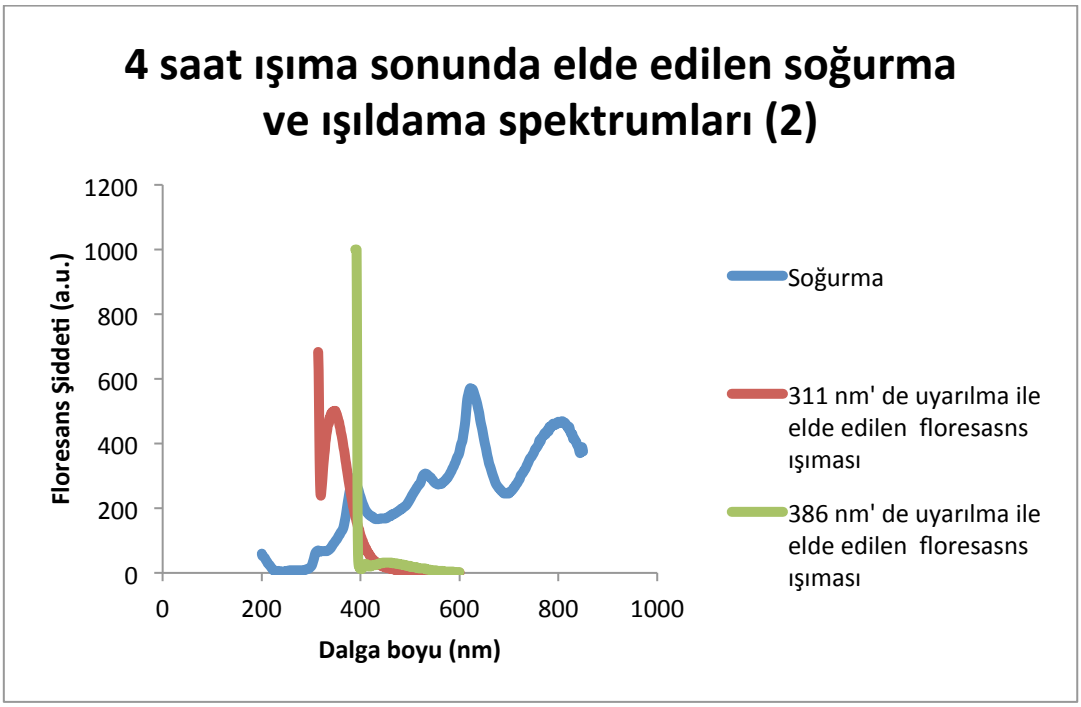
(b1)


2 saat ışıma sonunda elde edilen soğurma ve ışıma spektrumları (2)
Floresans şiddeti (a.u.)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Soğurma
311 nm' de uyarılma ile elde edilen floresasns ışıması
386 nm' de uyarılma ile elde edilen floresasns ışıması

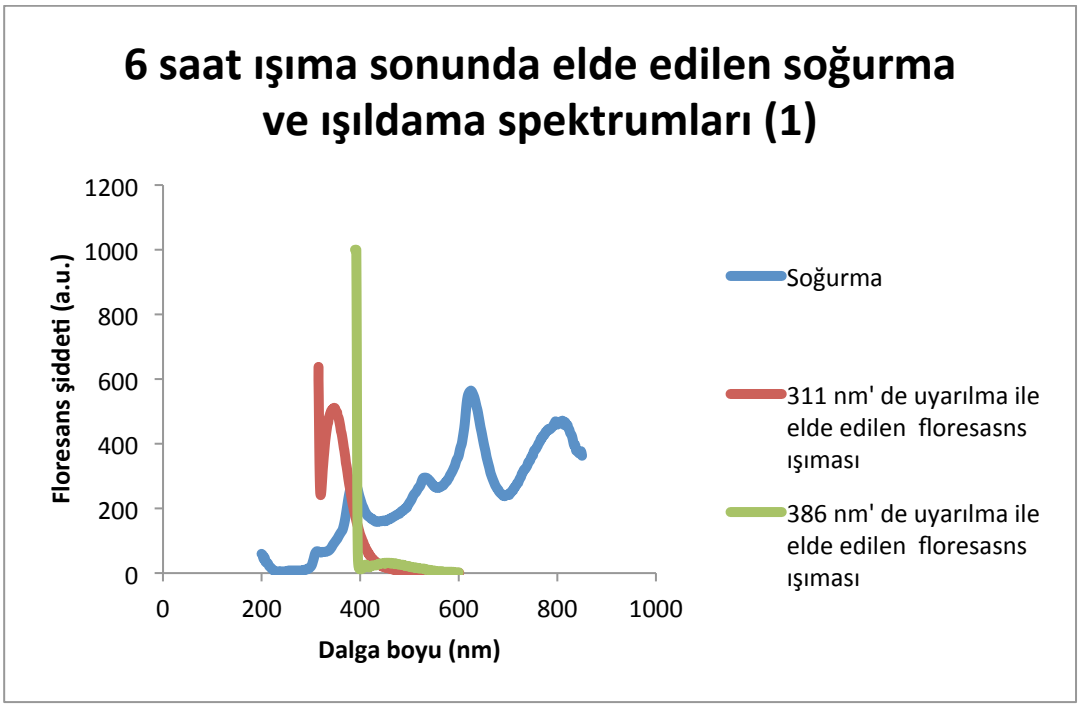
(b2)


4 saat ışıma sonunda elde edilen soğurma ve ışıma spektrumları (1)
Floresans şiddeti (a.u.)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Soğurma
311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması
386 nm' de uyarılma ile elde edilen floresasns ışıması

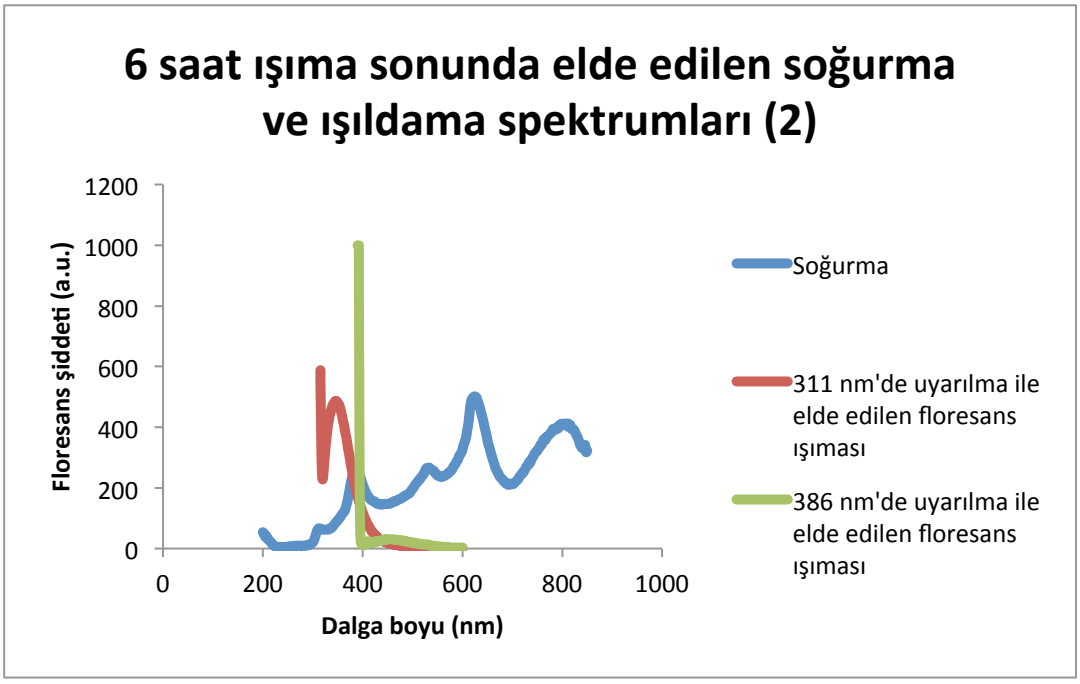
(c1)


4 saat ışıma sonunda elde edilen soğurma ve ışıldama spektrumları (2)
Floresans Şiddeti (a.u.)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Soğurma
311 nm' de uyarılma ile elde edilen floresasns ışıması
386 nm' de uyarılma ile elde edilen floresasns ışıması

(c2)

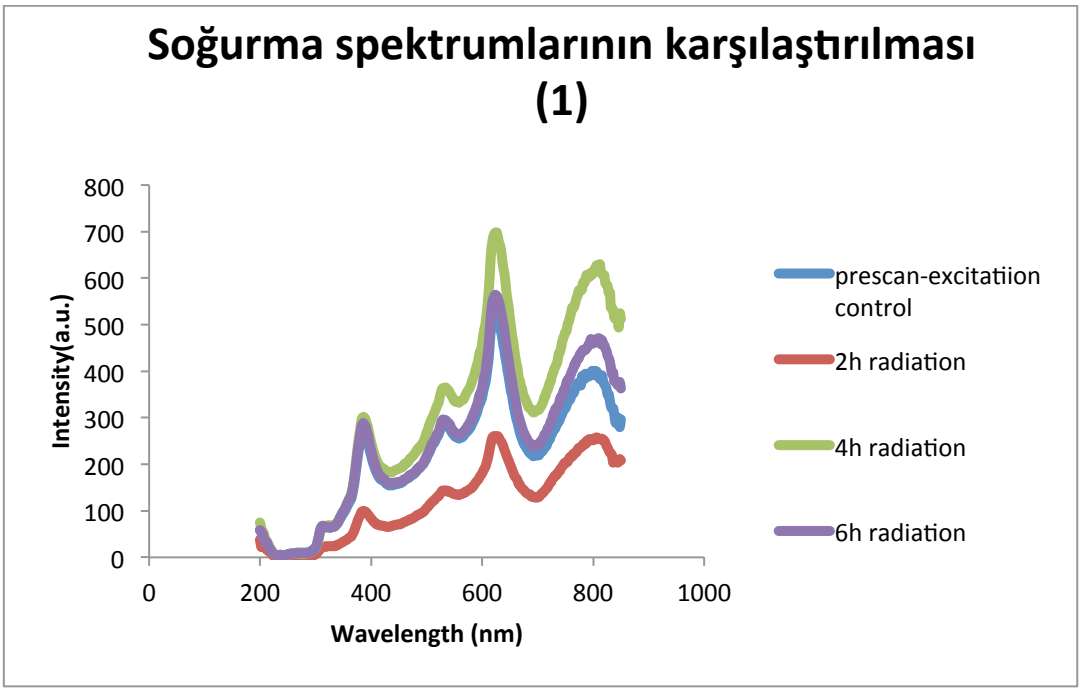


(d1)

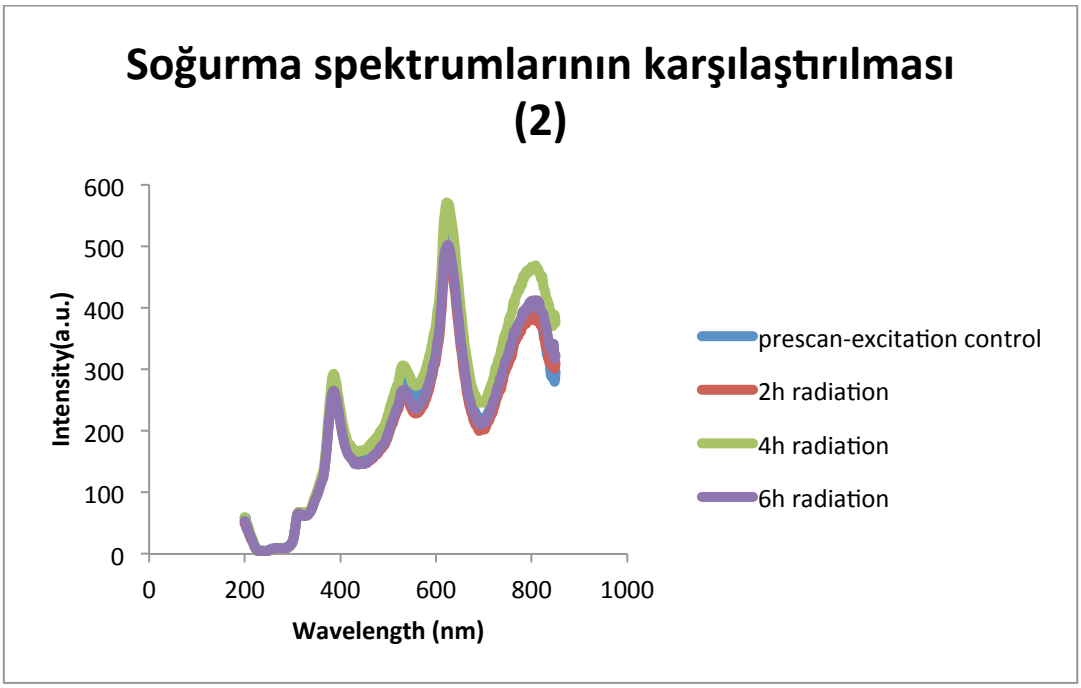


(d2)

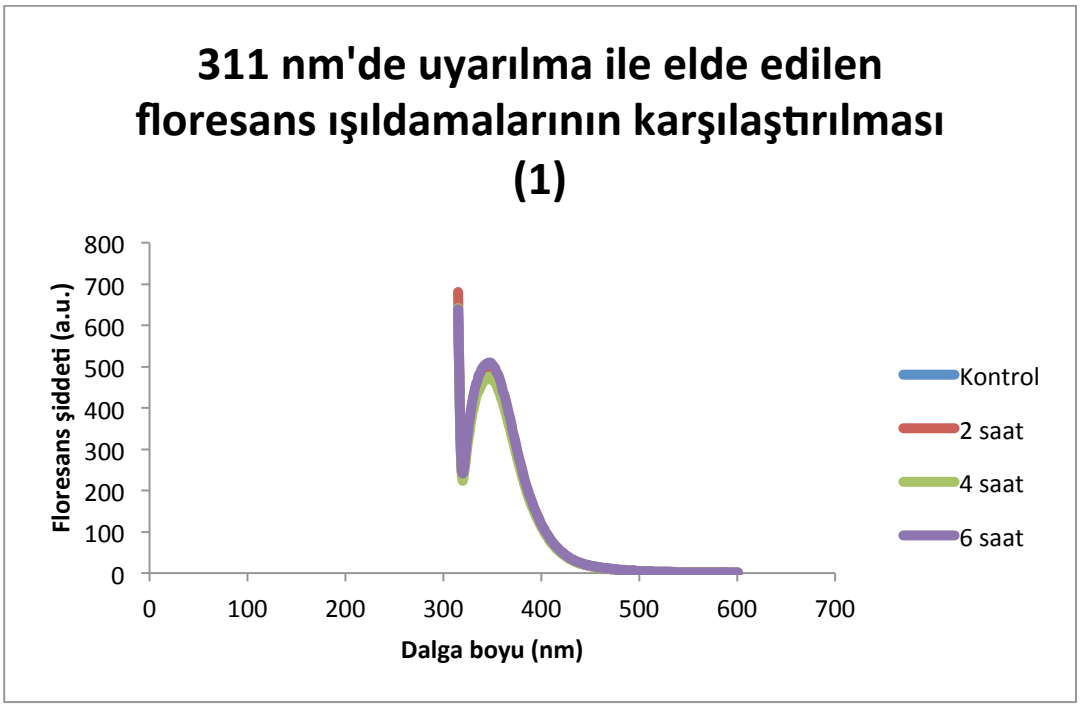
Şekil D.7 : 3. tekrardaki kontrol-(a) ve 2 saat-(b1,b2), 4 saat-(c1,c2), 6 saat-(d1,d2) ışıma sonunda elde edilen soğurma ve floresans spektrumları.


Soğurma spektrumlarının karşılaştırılması
(1)
Intensity(a.u.)
800
700
600
500
400
300
200
100
0
0
200
400
600
800
1000
Wavelength (nm)
prescan-excitatiion control
2h radiation
4h radiation
6h radiation

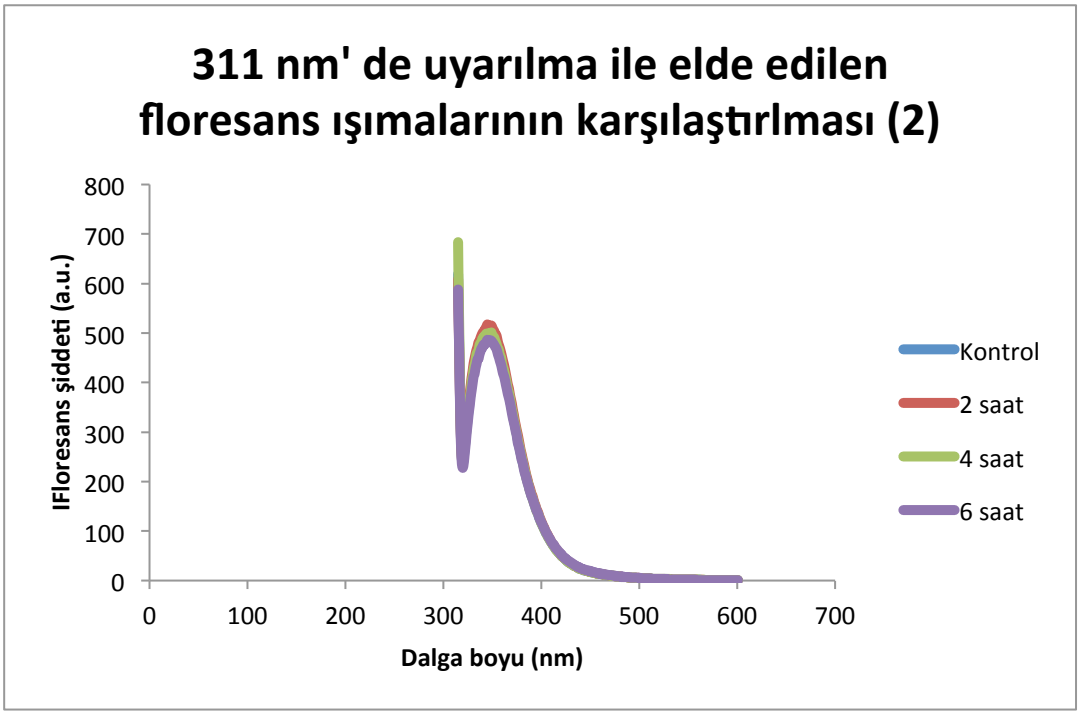
(a1)


Soğurma spektrumlarının karşılaştırılması
(2)
Intensity(a.u.)
600
500
400
300
200
100
0
0
200
400
600
800
1000
Wavelength (nm)
prescan-excitation control
2h radiation
4h radiation
6h radiation

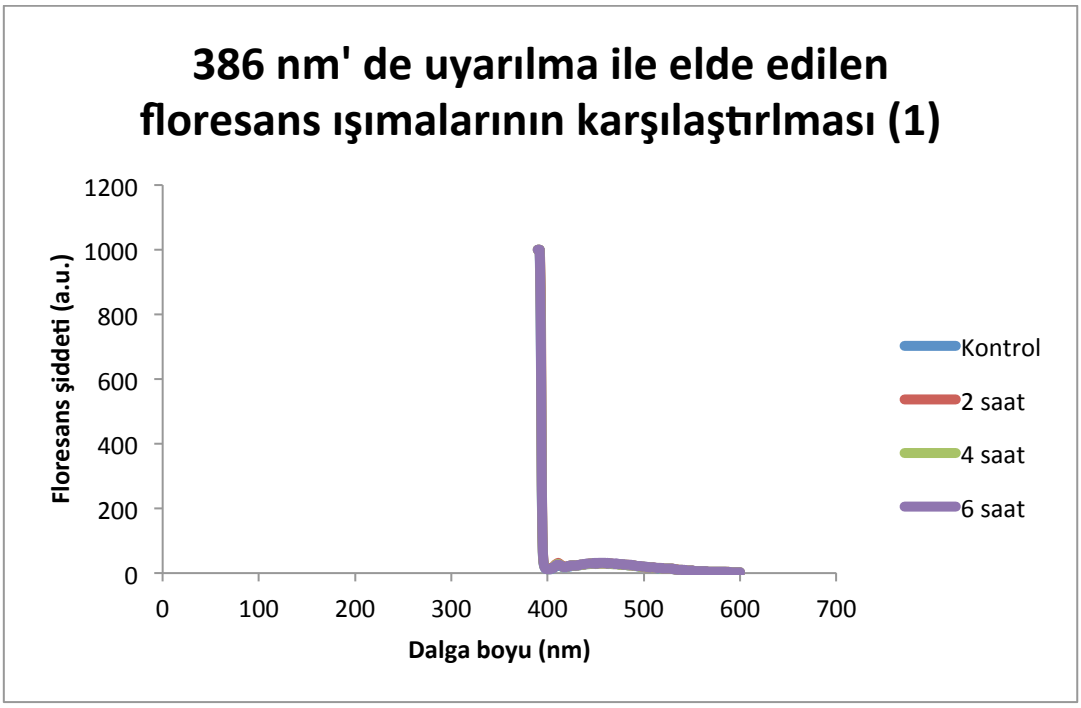
(a2)


311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıldamalarının karşılaştırılması (1)
Floresans şiddeti (a.u.)
800
700
600
500
400
300
200
100
0
0
100
200
300
400
500
600
700
Dalga boyu (nm)
Kontrol
2 saat
4 saat
6 saat

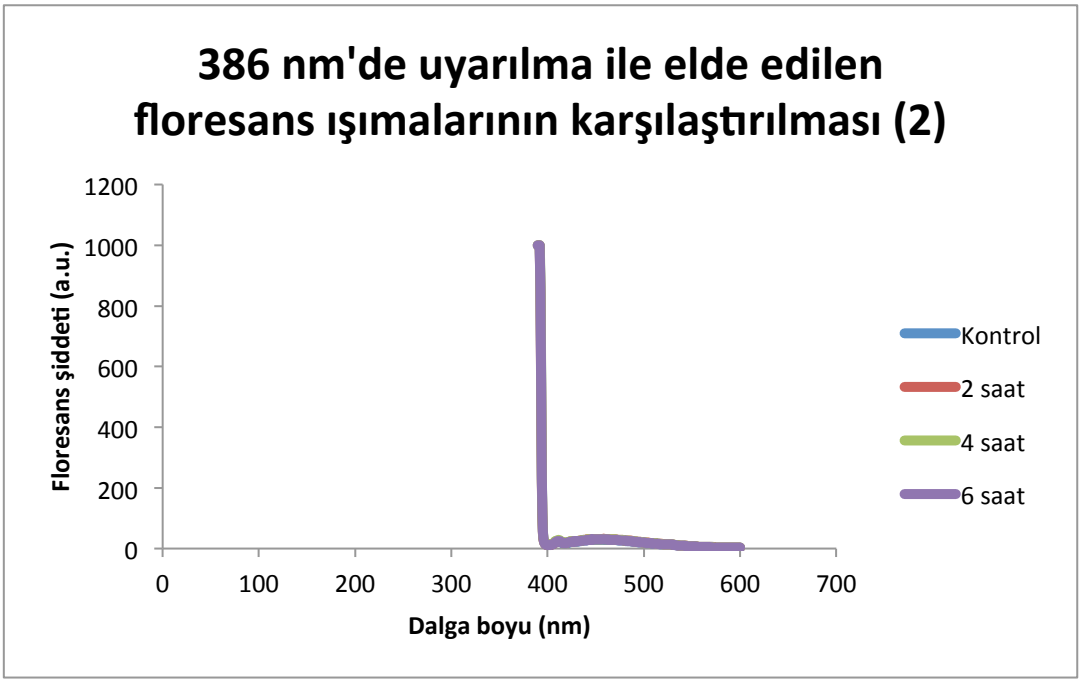
(b1)


311 nm' de uyarılma ile elde edilen floresans ışımalarının karşılaştırlması (2)
IFloresans şiddeti (a.u.)
800
700
600
500
400
300
200
100
0
0
100
200
300
400
500
600
700
Dalga boyu (nm)
Kontrol
2 saat
4 saat
6 saat

(b2)



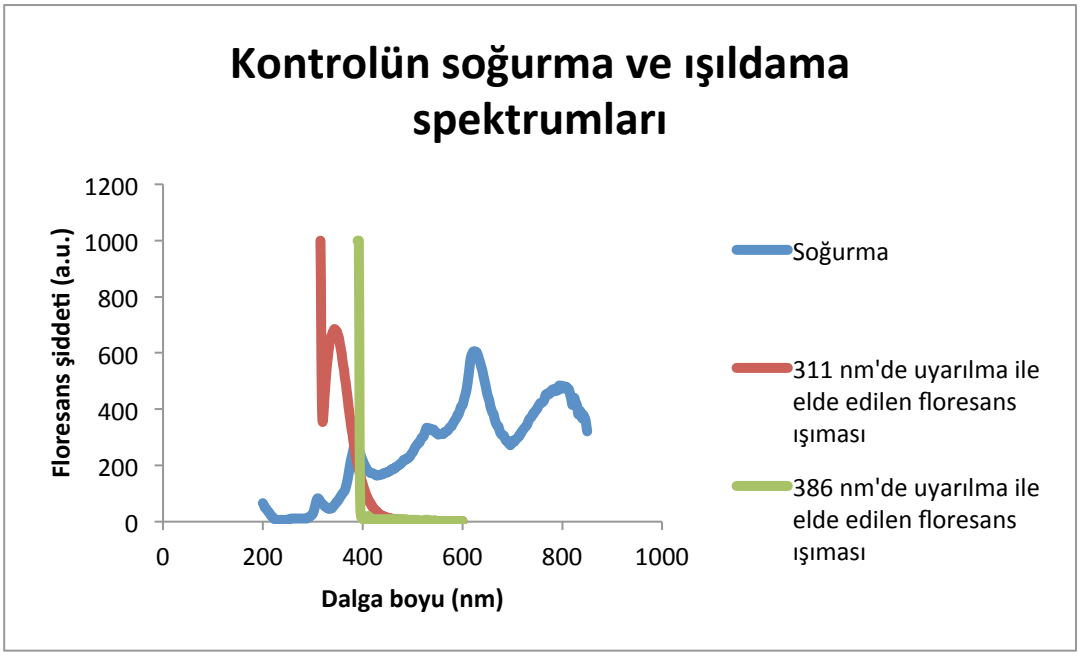
(c1)



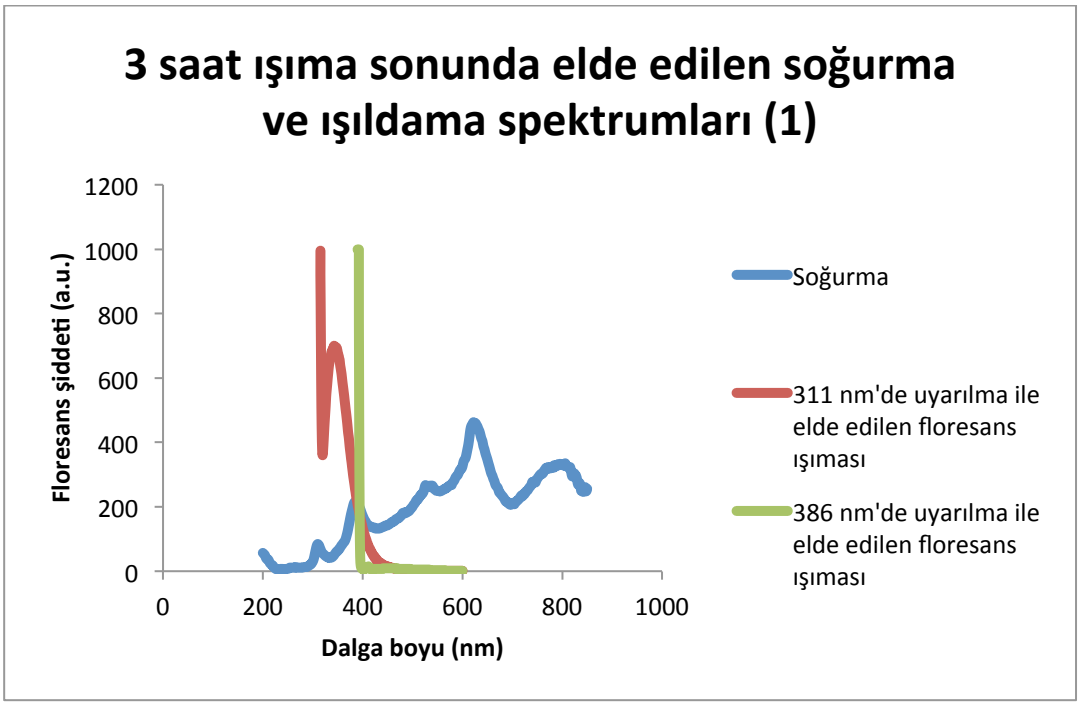
(c2)

Şekil D.8 : 4. tekrarda farklı sürelerdeki ışımalar sonunda elde edilen soğurma (a1-a2) ve floresans spektrumlarında (b1-b2, c1-c2) yapılan karşılaştırmalar.

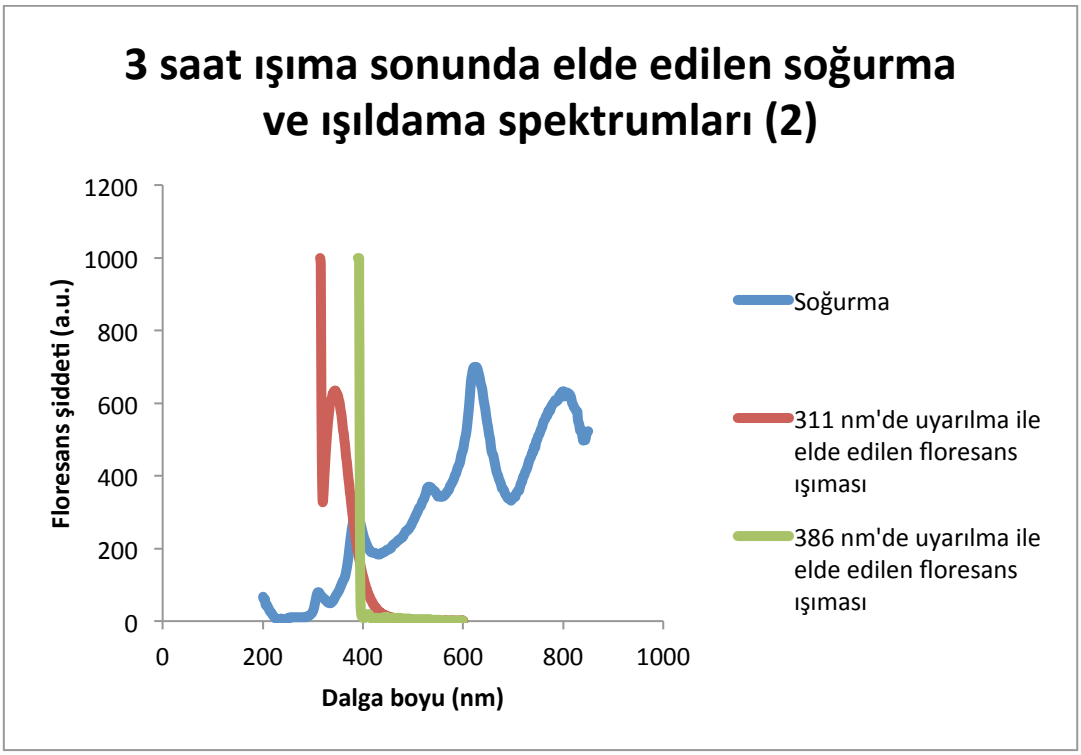
İkinci Düzenekte Elde Edilen Sonuçlar



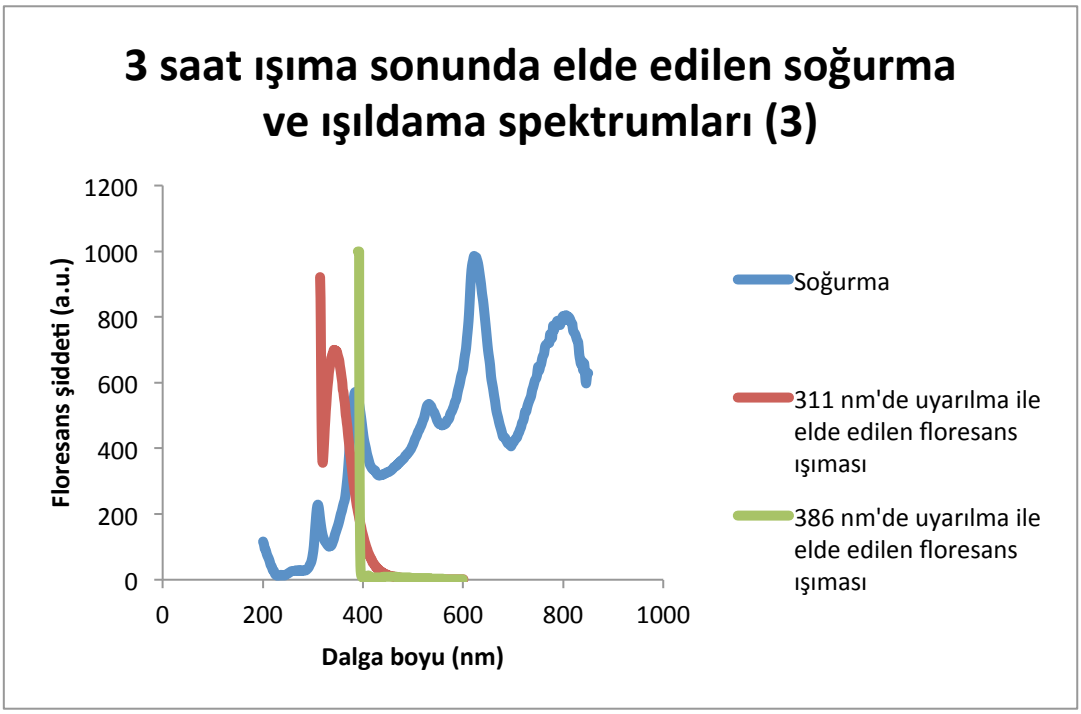
(a)



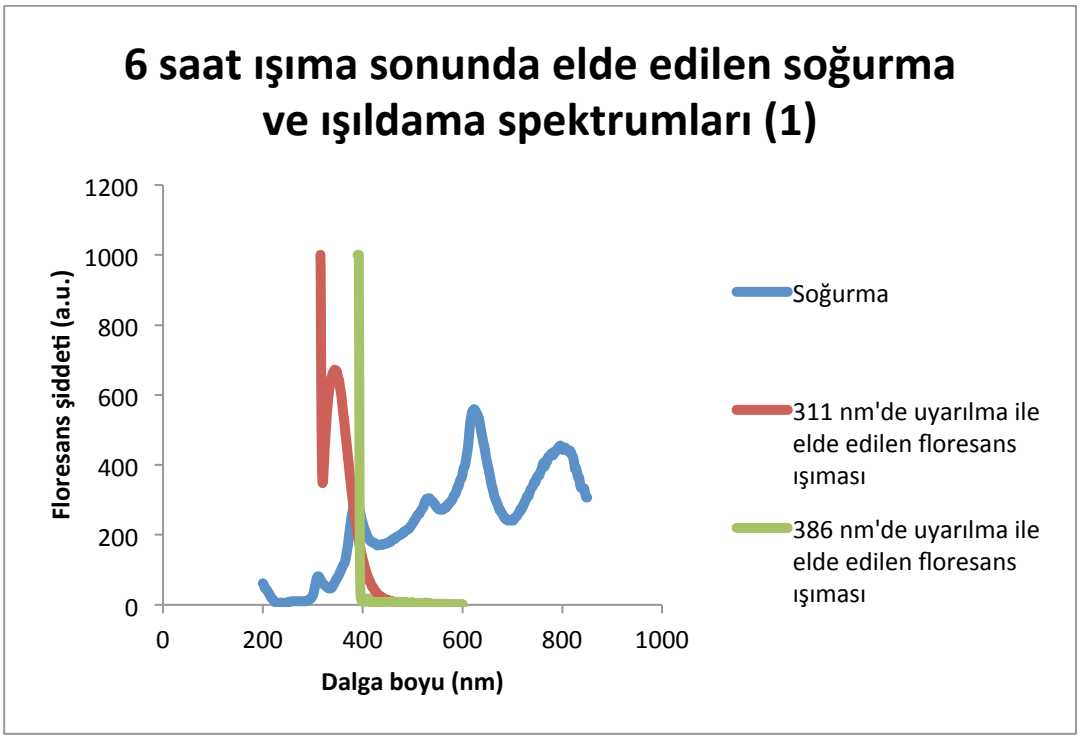
(b1)


3 saat ışıma sonunda elde edilen soğurma ve ışıldama spektrumları (2)
Floresans şiddeti (a.u.)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Soğurma
311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması
386 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması

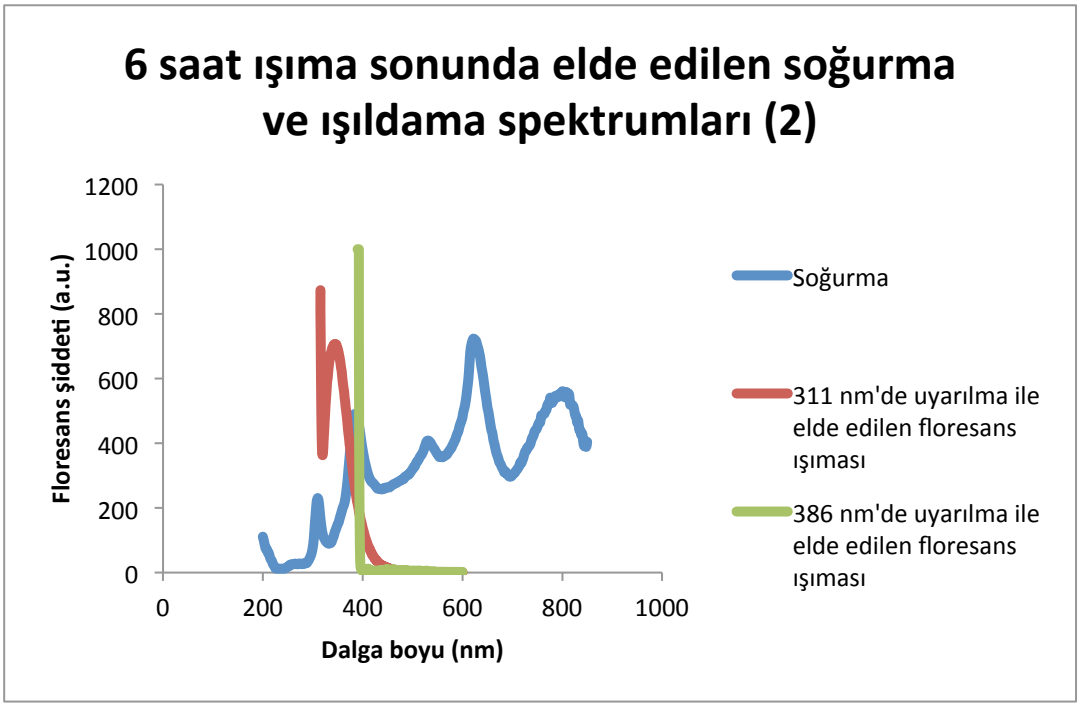
(b2)


3 saat ışıma sonunda elde edilen soğurma ve ışıldama spektrumları (3)
Floresans şiddeti (a.u.)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Soğurma
311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması
386 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması

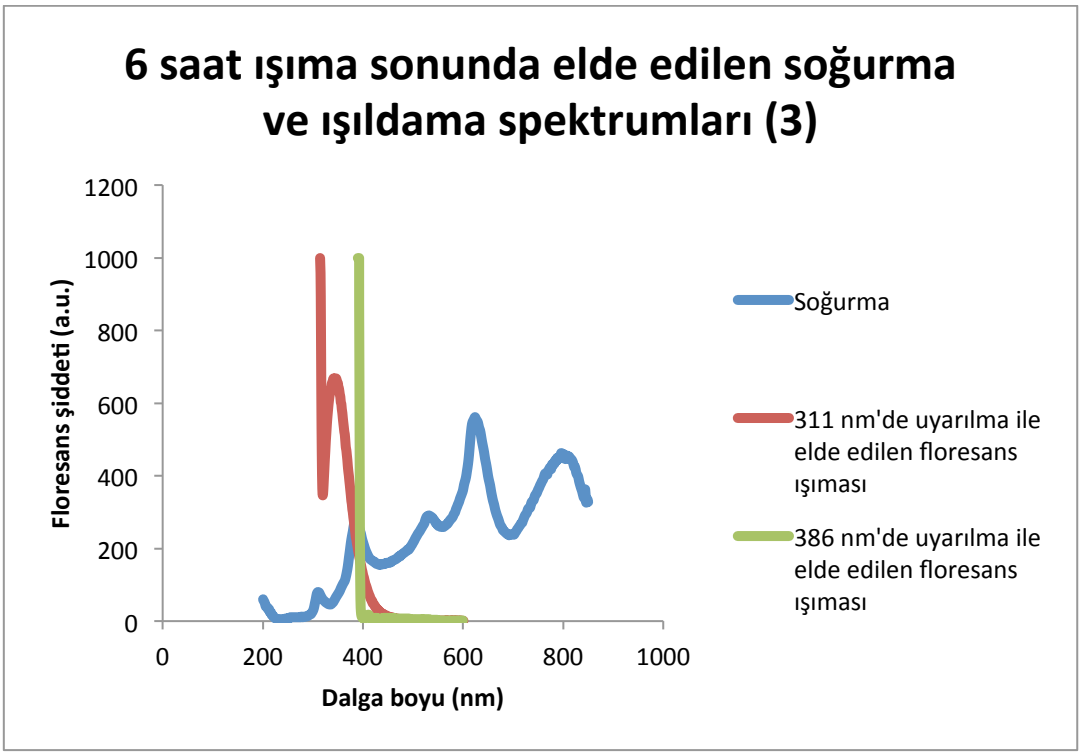
(b3)


6 saat ışıma sonunda elde edilen soğurma ve ışıldama spektrumları (1)
Floresans şiddeti (a.u.)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Soğurma
311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması
386 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması

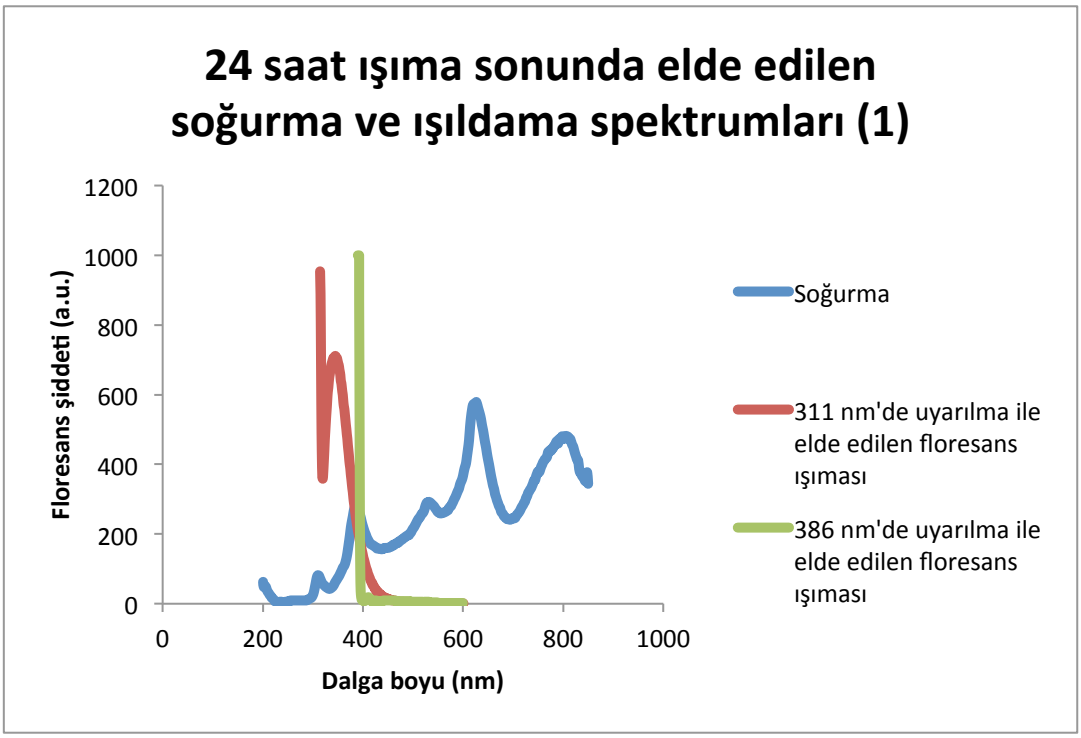
(c1)


6 saat ışıma sonunda elde edilen soğurma ve ışıldama spektrumları (2)
Floresans şiddeti (a.u.)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Soğurma
311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması
386 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması

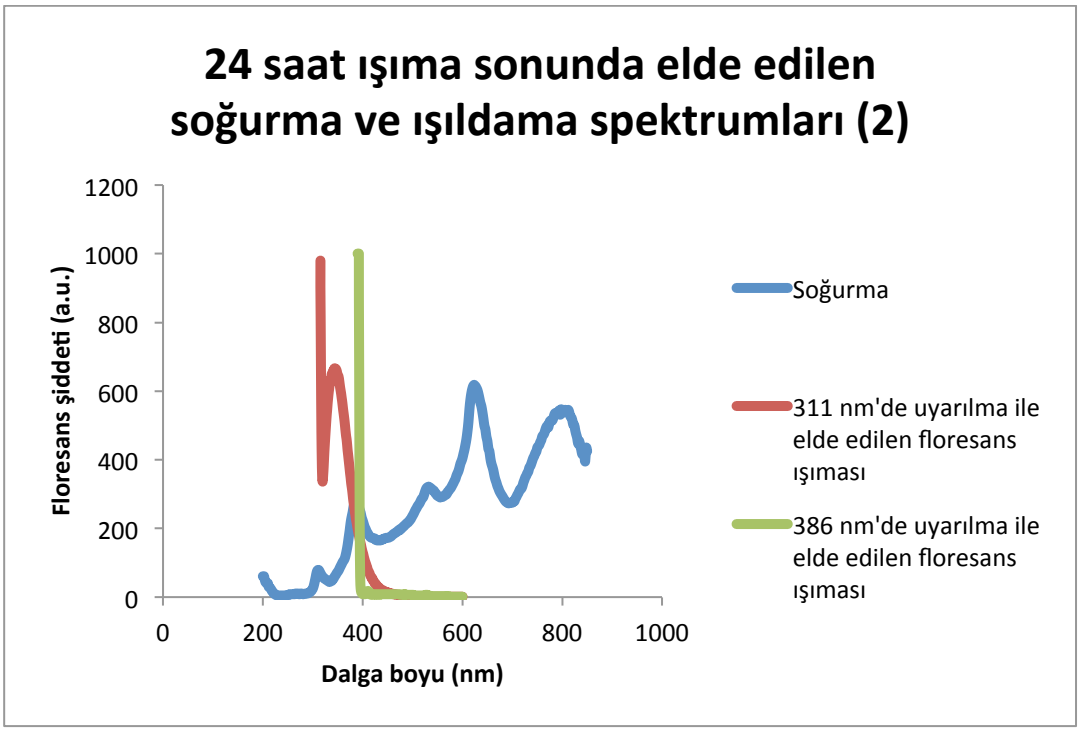
(c2)


6 saat ışıma sonunda elde edilen soğurma ve ışıldama spektrumları (3)
Floresans şiddeti (a.u.)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Soğurma
311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması
386 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması

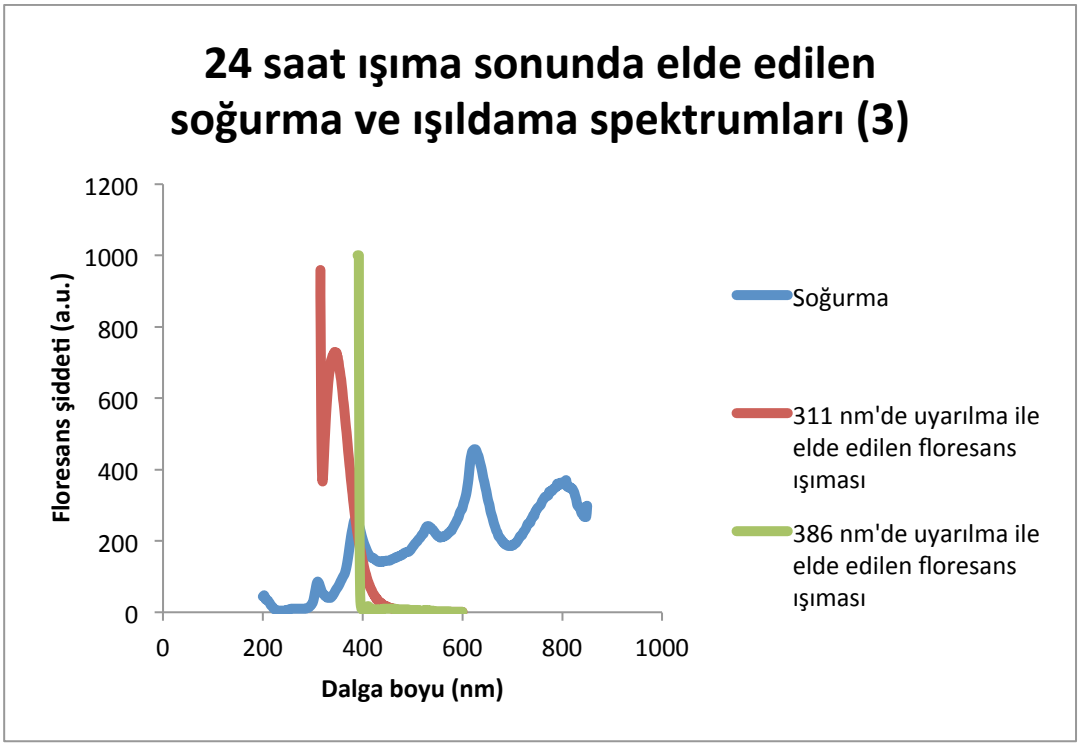
(c3)


24 saat ışıma sonunda elde edilen soğurma ve ışıldama spektrumları (1)
Floresans şiddeti (a.u.)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Soğurma
311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması
386 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması

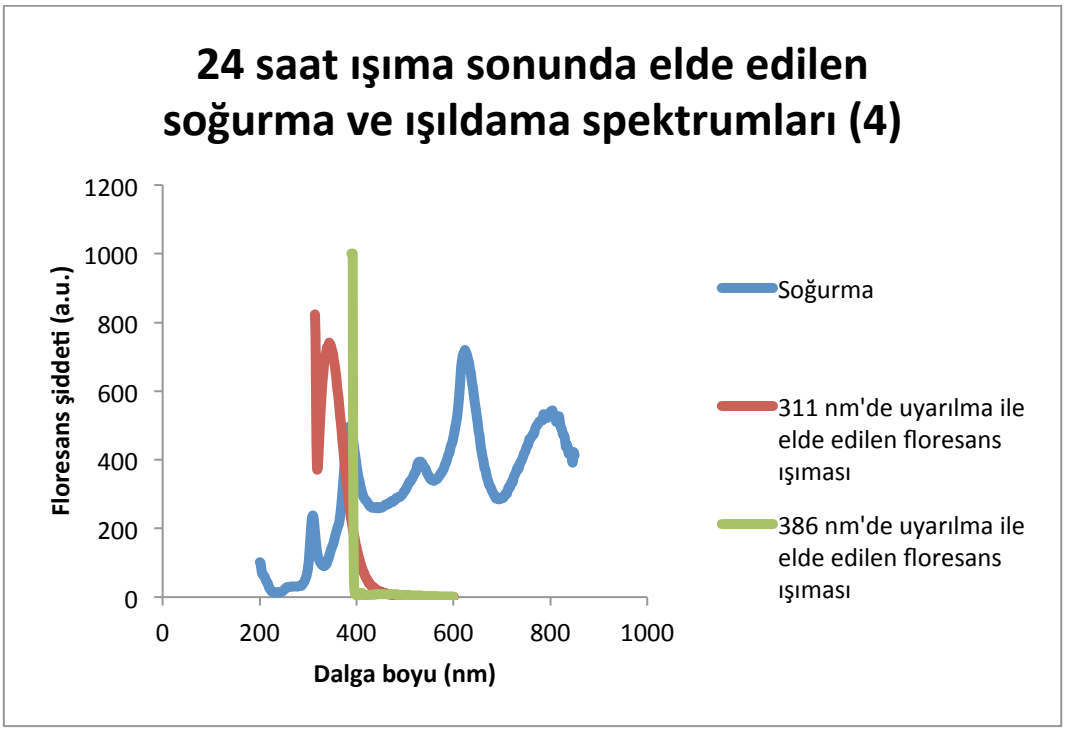
(d1)


24 saat ışıma sonunda elde edilen soğurma ve ışıldama spektrumları (2)
Floresans şiddeti (a.u.)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Soğurma
311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması
386 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması

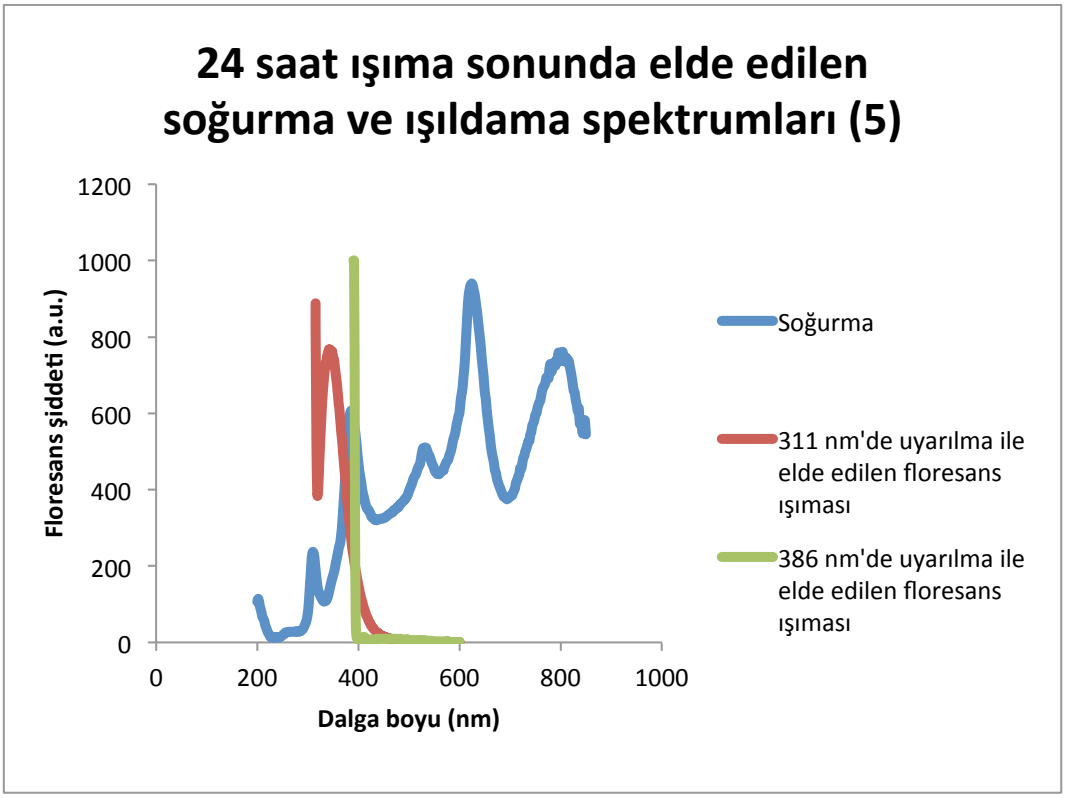
(d2)


24 saat ışıma sonunda elde edilen soğurma ve ışıldama spektrumları (3)
Floresans şiddeti (a.u.)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Soğurma
311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması
386 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması

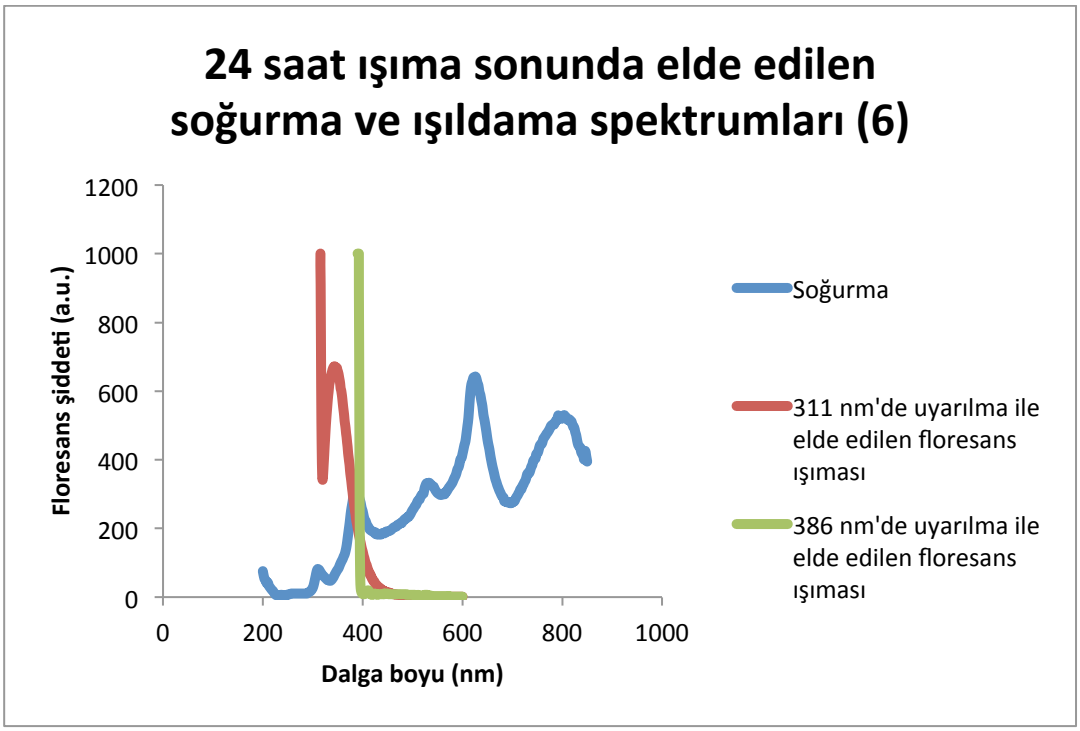
(d3)


24 saat ışıma sonunda elde edilen soğurma ve ışıldama spektrumları (4)
Floresans şiddeti (a.u.)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Soğurma
311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması
386 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması

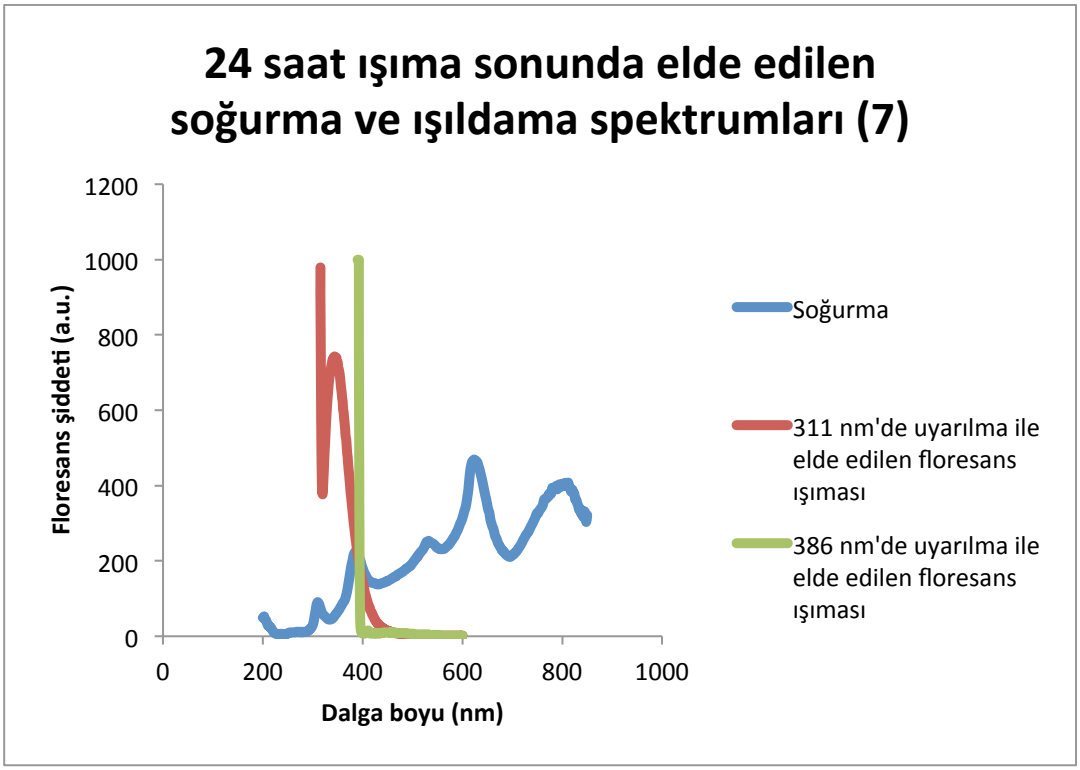
(d4)


24 saat ışıma sonunda elde edilen soğurma ve ışıldama spektrumları (5)
Floresans şiddeti (a.u.)
1200
1000
800
600
400
200
0
0
200
400
600
800
1000
Dalga boyu (nm)
Soğurma
311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması
386 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışıması

(d5)

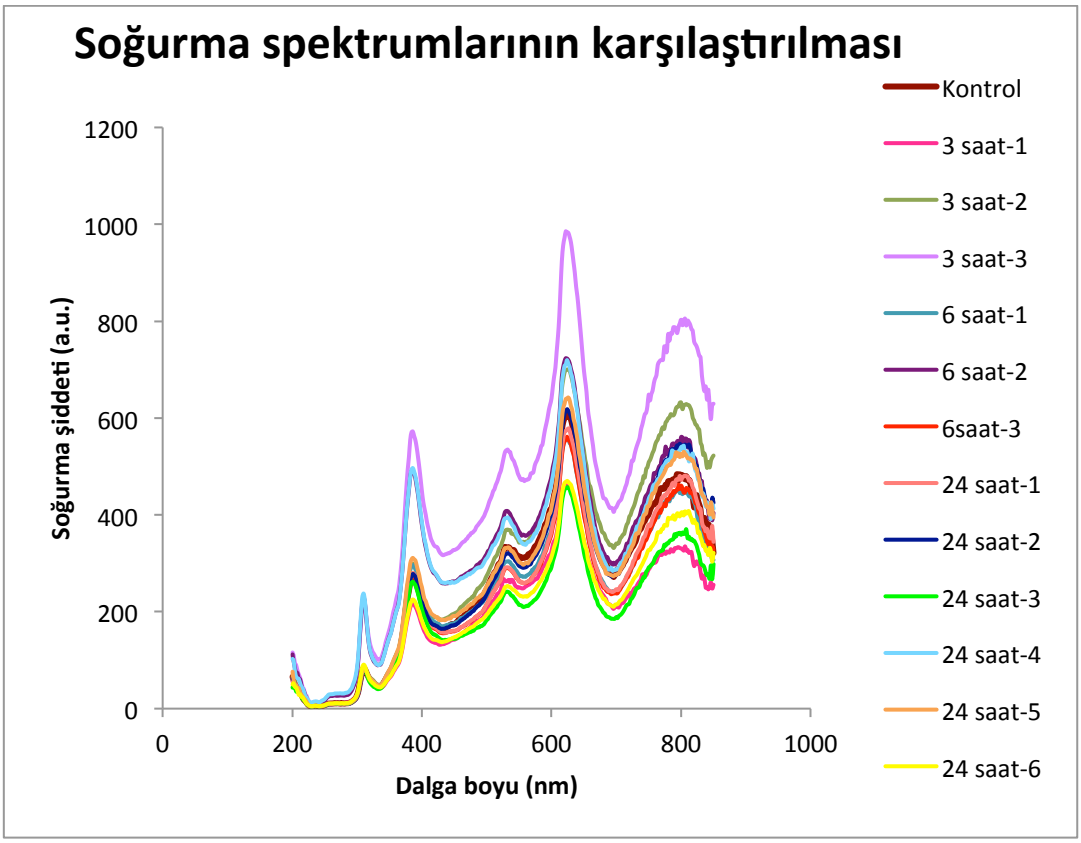


(d6)

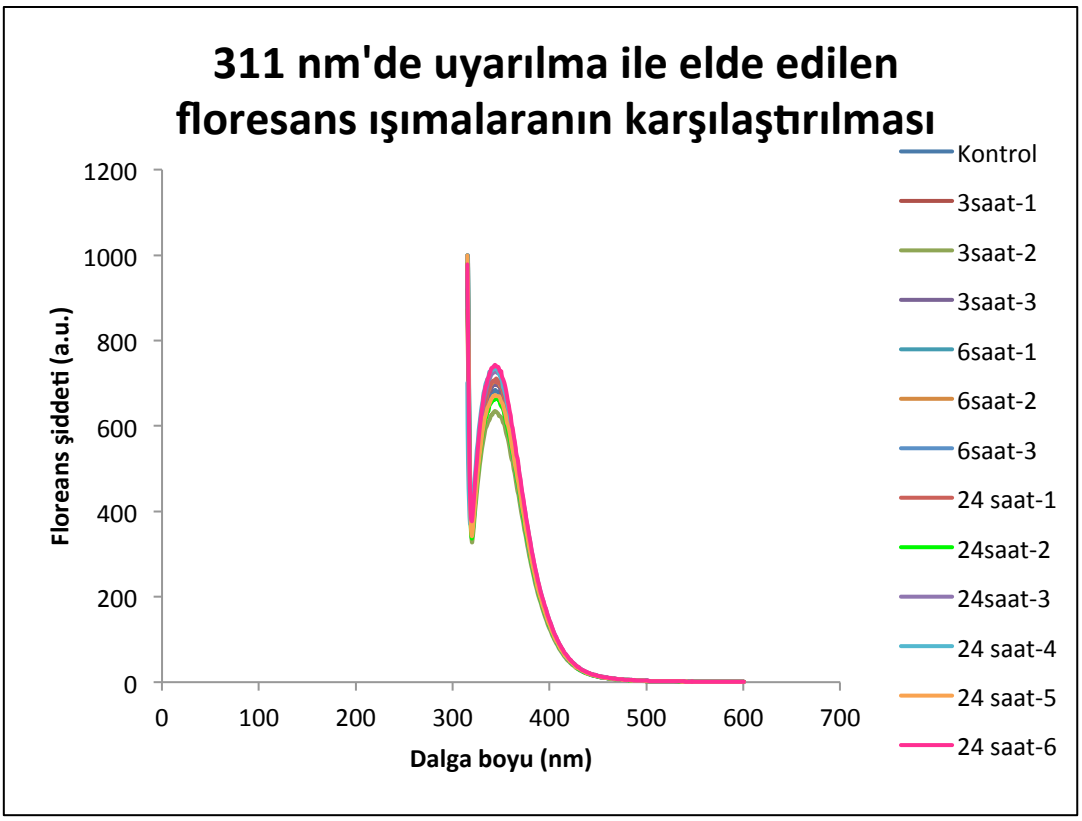


(d7)

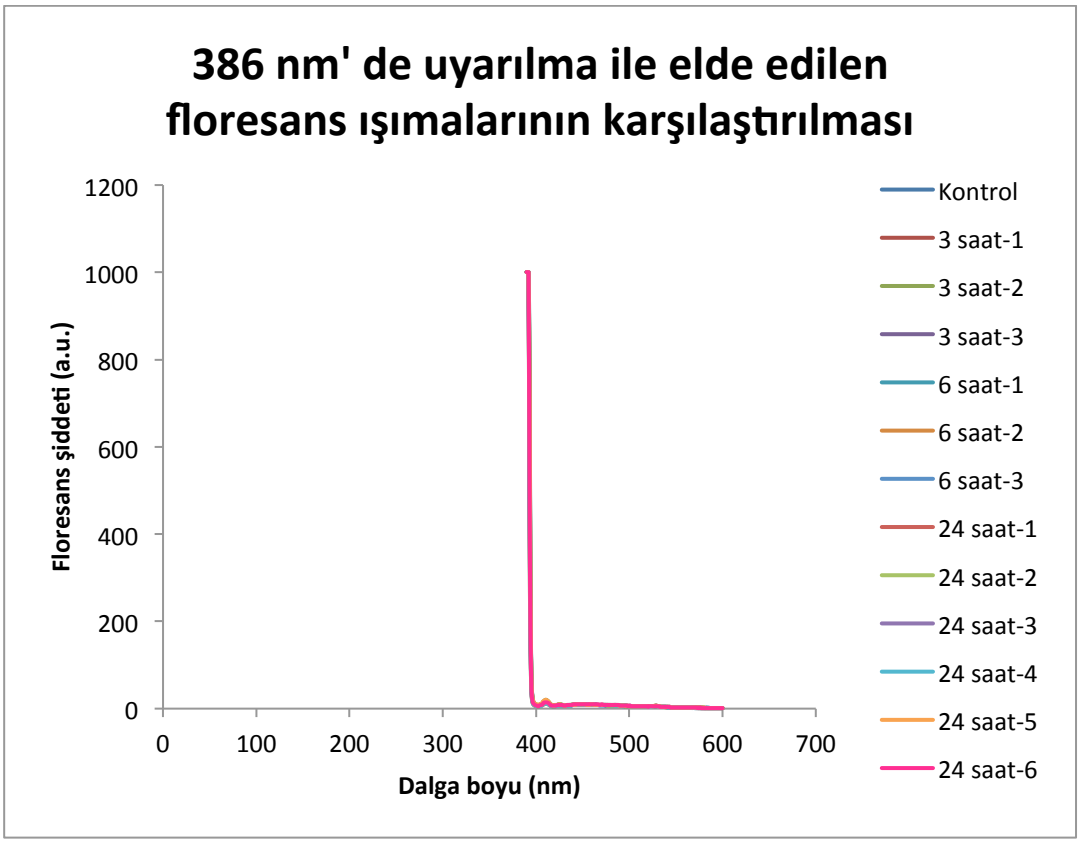
Şekil D.9 : 2. düzenekte kontrol-(a) ve 3 saat-(b1,b2, b3), 6 saat-(c1,c2, c3), 24 saat-(d1,d2,d3, d4, d5, d6, d7) ışıma sonunda elde edilen soğurma ve floresans spektrumları.


Soğurma spektrumlarının karşılaştırılması
Soğurma şiddeti (a.u.)
Dalga boyu (nm)
0
200
400
600
800
1000
1200
Kontrol
3 saat-1
3 saat-2
3 saat-3
6 saat-1
6 saat-2
6saat-3
24 saat-1
24 saat-2
24 saat-3
24 saat-4
24 saat-5
24 saat-6

(a)


311 nm'de uyarılma ile elde edilen floresans ışımalaranın karşılaştırılması
Floreans şiddeti (a.u.)
Dalga boyu (nm)
0
100
200
300
400
500
600
700
800
1000
1200
Kontrol
3saat-1
3saat-2
3saat-3
6saat-1
6saat-2
6saat-3
24 saat-1
24saat-2
24saat-3
24 saat-4
24 saat-5
24 saat-6

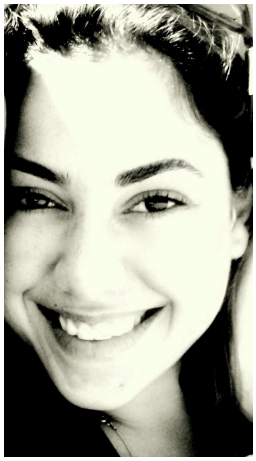
(b)



(c)

Şekil D.10 : 2. düzenekte farklı sürelerdeki ışımalar sonunda elde edilen soğurma (a) ve floresans spektrumlarında (b, c) yapılan karşılaştırmalar.

ÖZGEÇMİŞ



Ad Soyad: Yasemin Maraşlıgiller

Doğum Yeri ve Tarihi: İstabul, 10.11.1987

E-Posta: yasemin.m1987@gmail.com

Lisans: İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji A.B.D.