



T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIVI|SIVI ARA YÜZEYDE ADSORPSİYON VE KOMPLEKS OLUŞUMU

İbrahim UYANIK

DOKTORA TEZİ

Kimya Anabilim Dalı

Mart-2011
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İbrahim UYANIK

Tarih: 23.03.2011

ÖZET

DOKTORA TEZİ

SIVI|SIVI ARA YÜZEYDE ADSORPSİYON VE KOMPLEKS OLUŞUMU

İbrahim UYANIK

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman (lar): Prof. Dr. Yunus ÇENGELOĞLU
Prof. Hubert H. GIRAULT
2011, 145 Sayfa

Jüri
Prof. Dr. Yunus ÇENGELOĞLU
Prof. Dr. Nihat TINKILIÇ
Prof. Dr. Mustafa ERSÖZ
Doç. Dr. Emine Güler AKGEMCİ
Doç. Dr. Zafer YAZICIGİL

Bu çalışmada ilk olarak, makro su|DCE ara yüzeyinde adsorplanmış L-α-*dipalmitol fosfatidilkolin* (DPPC)'nin proton ile kompleks oluşumu değerlendirilmiş ve voltamogramlardan lipidin iyon transferini kolaylaştırdığı doğrulanmıştır. Ayrıca, dönüşümlü voltametri ölçümlerinden DPPC monolayerindeki iyon transferinin iyon konsantrasyonuna ve lipit konsantrasyonuna bağlı olduğu bulunmuştur. Akım değerinde gözlenen artışın organik fazda lipit olması durumunda proton transferinden kaynaklandığı gözlenmiştir.

İkinci kısımda, damla elektrot sistemi sadece iyon transfer prosesleri için değil aynı zamanda polarizlenebilen su|DCE ara yüzeyinde DPPC ve sulu faz katyonları (H^+, K^+) arasındaki kompleks oluşumu ile ilgili adsorpsiyon-desorpsiyon prosesleri için genişletilmiştir. Adsorpsiyonun gerçekleştiği potansiyellerde ara yüzey geriliminin azaldığı gözlenmiştir. Ancak potansiyel arttıkça, yüklü DPPC kompleksi desorplanmakta ve bu da potansiyele-bağlı damla şekli değişimine neden olmaktadır ki bu durum daha önce bu şekilde ortaya çıkarılamamıştır.

Son olarak QELS ve dönüşümlü voltametri kullanılarak bal arısı venomu olan antimikrobiyal peptit *melittin* (MLT) ve DPPC arasındaki etkileşimler elektrokimyasal olarak incelenmiştir. Elektrokimyasal verilerden iki basamaklı bir etkileşim olduğu anlaşılmaktadır. Voltametrik verilerden molekül başına düşen alan DPPC monolayeri içerisine bir geçiş olmadığını ortaya çıkarmaktadır. Bunun yerine ara yüzeyde paralel yönelim tercih ediliyor gibi görünmektedir. Ancak yüzey gerilim ölçümlerine göre mekanizmanın ikinci adımı MLT'nin lipidik monolayer içerisine girmesi ile sonuçlanabilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Fosfolipit Monolayerler; Sıvı|Sıvı Ara Yüzeyler; Elektrokimya; Yüzey Gerilimi; İyon Transfer Voltametrisi.

ABSTRACT

Ph.D THESIS

ADSORPTION AND COMPLEX FORMATION AT THE LIQUID|LIQUID INTERFACE

İbrahim UYANIK

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
DOCTOR OF PHILOSOPHY
IN CHEMISTRY

Advisor(s): Prof. Yunus ÇENGELOĞLU
Prof. Hubert H. GIRAULT

2011, 145 Pages

Jury
Prof. Yunus ÇENGELOĞLU
Prof. Nihat TINKILIÇ
Prof. Mustafa ERSÖZ
Assoc. Prof. Emine Güler AKGEMCİ
Assoc. Prof. Zafer YAZICIGİL

In this study, the first the complex formation of L-α-*dipalmitoylphosphatidylcholine* (DPPC) adsorbed at a large W|DCE interface with proton was evaluated based on the desorption behavior of the lipid at the interface accompanied by the ion transfer and was confirmed by measuring voltammograms for the ion transfer facilitated by the complex formation with the lipid. Moreover, from measurement of the cyclic voltammograms it was found that the cation transfer through DPPC monolayers was cation and phospholipid concentration found. An increase on current values was observed at more positive potentials due to the transfer of proton across the interface in presence of lipid in the organic phase.

In the second part of the study, the drop system has been extended not only to the ion transfer processes but also to the adsorption-desorption processes associated with the complex formation between aqueous cations (H^+, K^+) and DPPC at the polarizable W|DCE interface. It has been observed that the interfacial tension diminishes in the presence of the phospholipid at potentials where the adsorption occurs. Nevertheless as the potential increases, the desorption of charged complexes of DPPC takes place, resulting in a potential-dependent drop shape phenomenon not very well documented previously.

Finally, we have investigated electrochemically the interaction between DPPC and the antimicrobial peptide *melittin* (MLT), honey bee venom, at the polarizable W|DCE interface by Quasi-elastic laser scattering (QELS) and cyclic voltammetry. From the electrochemical data, the area per molecule calculated suggests that there is no penetration into the DPPC monolayer. Instead of it, parallel orientation to the interface seems to be preferred. However, from the Interfacial tension measurements it can be inferred that the second step of this mechanism implies the penetration of MLT into the lipidic monolayer.

Key Words: Phospholipid Monolayers; Liquid|Liquid Interfaces; Electrochemistry; Surface Tension; Ion Transfer Voltammetry.

ÖNSÖZ

Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Yunus ÇENGELOĞLU danışmanlığında ve 2212-TÜBİTAK Yurt İçi-Yurt Dışı Bütünleştirilmiş Doktora Burs Programı kapsamında hazırlanmıştır.

İlk olarak, bu çalışmanın yapılmasında desteklerini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Yunus ÇENGELOĞLU'na çok teşekkür ederim. Bu programa girmem konusunda beni destekleyen S.Ü. Fen Fakültesi Kimya Bölümü Başkanı Prof. Dr. İbrahim KARATAŞ'a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca program koordinatörü S.Ü. Fen Fakültesi Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mustafa ERSÖZ'e ve program üyesi S.Ü. Ahmet Keleşoğlu Eğitim Fakültesi Kimya Öğretmenliği Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Emine Güler AKGEMCİ'ye çok teşekkür ederim. Çalışmalarım esnasında önerilerini aldığım, S.Ü. Ahmet Keleşoğlu Eğitim Fakültesi Kimya Öğretmenliği Bölümü Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Haluk BİNGÖL'e ve S.Ü. Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ali TOR'a da teşekkür ederim. Bunların dışında, yorumları ile yaptıkları katkılardan dolayı S.Ü. Fen Fakültesi Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Zafer YAZICIGİL'e ve Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Nihat TINKILIÇ'a teşekkür ederim.

Çalışmalarımın yurt dışı aşamasında Laboratuvarında (*Laboratoire d'Electrochimie Physique et Analytique* (LEPA), *École Polytechnique Fédérale de Lausanne* (EPFL), *Switzerland*) çalışma imkanı veren ve yardımlarını esirgemeyen ikinci danışmanım Prof. Hubert H. GIRAULT'a; çalışmalarımın her aşamasında yanımda olan doktora öğrencisi Manuel Alejandro Mendéz AGUDELO'ya; doktora öğrencisi Fernando Cortes SALAZAR'a; LEPA takımının eski üyelerinden Jean-Marc BUSNEL'e; Laboratuvar sekreteri Maria SZUMAN'a ve Laboratuvar sorumlusu Valérie DEVAUD'a teşekkürü bir borç bilirim.

Son olarak, sevgili eşime sonsuz teşekkürler ederim…

İbrahim UYANIK

KONYA-2011

İÇİNDEKİLER

TEZ BİLDİRİMİ ..... **iii**

ÖZET ..... **iv**

ABSTRACT ..... **v**

ÖNSÖZ ..... **vi**

İÇİNDEKİLER ..... **vii**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **x**

1. GİRİŞ **1**

1.1. Ara Yüzey (Galvani) Potansiyeli 1
1.2. Ara Yüzeyin Yapısı 4
1.2.1. Elektriksel Çift Tabaka 5
1.3. Elektrokimyasal Denge 6
1.3.1. İyon dağılım dengesi 6
1.3.1.1. ITIES'de Nernst eşitliği 7
1.3.2. Elektron dağılım dengesi 9
1.4. Ara Yüzeyin Polarizasyonu 10
1.4.1. İdeal olarak polarizlenemeyen ara yüzey 11
1.4.2. İdeal olarak polarizlenebilen ara yüzey 12
1.4.2.1. Potansiyel (polarizasyon) penceresi 13
1.5. Yük Transfer Reaksiyonları 15
1.5.1. İyon transferi (IT) 15
1.5.2. Elektron transferi (ET) 19
1.5.3. Fotokimyasal elektron transfer reaksiyonları (FET) 20
1.6. Kompleks Oluşumu ve Yardımlı İyon Transferi (FIT) 21
1.7. Dönüşümlü Voltametri 23
1.8. Sıvı-Sıvı Ara Yüzey Termodinamiği 24
1.8.1. Yüzey fazlası konsantrasyon ve Gibbs adsorpsiyon eşitliği 25
1.8.2. Elektrokapilerite 26
1.9. Adsorpsiyon olayı 27
1.9.1. QELS (*Quasi-Elastic Laser Scattering*) 28
1.9.1.1. QELS metodunun çalışma prensibi 29
1.10. Hücre Membranı ve Fosfolipitler 30
1.10.1. Fosfolipitler 31
1.11. Anti-mikrobiyal peptitler 33
1.11.1. Melittin 34
1.12. ITIES-Elektrokimyasının Tarihsel Gelişimi 36
1.13. Çalışmanın Amacı ve Kapsamı 39

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **41**

2.1. Sıvı|Sıvı Ara Yüzeyde Fosfolipit Adsorpsiyonu 41

2.2. Fosfolipitle Fonksiyonlandırılan Ara Yüzeyde Kompleks Oluşumu ve İyon Transferi 43

3. MATERYAL VE METOT 48

3.1. Makro-ITIES'de DPPC Adsorpsiyonu ve Proton-DPPC Etkileşimi 48
3.1.1. Kimyasallar 48
3.1.2. Referans Elektrotların ve Organik Faz Elektrolitlerinin Hazırlanması 49
3.1.3. Elektrokimyasal ölçümler 50
3.1.3.1. Dört-elektrot bağlantılı potansiyostat ve elektrokimyasal hücre 50
3.1.3.2. Galvani potansiyel farklarının belirlenmesi 51
3.1.4. Adsorpsiyona Fosfolipit konsantrasyonunun ve sulu faz pH'ının etkisinin belirlenmesi 52
3.2. Damla Sistemi: Sıvı|Sıvı Ara Yüzeyde Fosfolipit Adsorpsiyonunun Voltametrik ve Görsel Kanıtları 53
3.2.1. Kimyasallar 53
3.2.2. Elektrokimyasal hücre ve ölçümler 53
3.2.3. Görüntü analizleri 55
3.3. Su|DCE Ara Yüzeyinde Antimikrobiyal Peptit Adsorpsiyonu ve Peptit-Fosfolipit Etkileşimi 57
3.3.1. Kimyasallar 57
3.3.2. Elektrokapiler eşitlik 58
3.3.3. Elektrokimyasal ölçümler 60
3.3.3.1. Voltametrik ölçümler 60
3.3.4. Yüzey gerilimi ölçümleri 62
3.3.4.1. QELS sisteminin kalibrasyonu 63
3.3.4.2. Elektrokapiler eğrilerin elde edilmesi 63
3.3.5. Spektroskopik ölçümler 63

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA 64

4.1. Makro-ITIES'de DPPC Adsorpsiyonu ve Proton-DPPC Etkileşimi 64
4.1.1. Potansiyel penceresi 64
4.1.2. Adsorpsiyona fosfolipit konsantrasyonunun etkisi 65
4.1.3. Adsorpsiyona pH'ın etkisi 71
4.1.4. DPPC-Proton kompleksi oluşumu 75
4.2. Damla Sistemi: Sıvı|Sıvı Ara Yüzeyde Fosfolipit Adsorpsiyonunun Voltametrik ve Görsel Kanıtları 76
4.2.1. Dönüşümlü voltamogramlar 76
4.2.1.1. K_2IrCl_6 / K_3IrCl_6 sistemi 76
4.2.1.2. $Fe_2(SO_4)_3$ /$FeSO_4$ sistemi 84
4.3. Su|DCE Ara Yüzeyinde Antimikrobiyal Peptit Adsorpsiyonu ve Peptit-Fosfolipit Etkileşimi 89
4.3.1. Spektroskopik sonuçlar 89
4.3.2. Voltametrik sonuçlar 90
4.3.3. QELS sonuçları 93
4.3.3.1. Destek elektrolitine ait güç spektrumları ve elektrokapiler eğri 94
4.3.3.2. Ara yüzeyde melittin-fosfolipit etkileşimi 97

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 104

KAYNAKLAR **110**

ÖZGEÇMİŞ **133**

SİMGELER VE KISALTMALAR

a) Simgeler Listesi

Sembol		Tanım
$\tilde{\mu}_i$	:	i iyonunun elektrokimyasal potansiyel
ϕ^{α}	:	α fazının iç potansiyeli (Galvani Potansiyeli)
μ_i	:	i iyonunun kimyasal potansiyeli
ψ	:	Dış potansiyel
χ	:	Sıvı fazın yüzey potansiyeli
$\mu_i^{0,\alpha}$	:	i iyonunun standart kimyasal potansiyeli
a_i^{α}	:	i iyonunun α çözücüsü içerisindeki aktiflik katsayısı
$\Delta_{\beta}^{\alpha}\phi$	:	α fazı ve β fazı arasında oluşan Galvani potansiyel farkı
$\Delta_{\beta}^{\alpha}\phi$ (iyon)	:	Galvani potansiyelinin iyonik bileşeni
D_i^{α}	:	i iyonunun α fazındaki difüzyon katsayısı
$\Delta_{\beta}^{\alpha}\phi_i^{ileri}$	:	İleri yöndeki pik potansiyeli
$\Delta_{\beta}^{\alpha}\phi_i^{geri}$	:	Geri yöndeki pik potansiyeli
$\Delta_{\beta}^{\alpha}\phi_i^{1/2}$	:	i iyonunun yarı dalga potansiyeli
$\Delta_{\beta}^{\alpha}\phi$ (dip)	:	Galvani potansiyelinin dipolar bileşeni
$\Delta_{\beta}^{\alpha}\phi^{\sigma}$	:	İç tabakadaki potansiyel düşüşü
$\Delta G_{tr,i}^{0,\alpha\rightarrow\beta}$	:	i iyonunun α fazından β fazına Gibbs transfer enerjisi
$\Delta_{\beta}^{\alpha}\phi_i^{0'}$	:	i iyonunun formal iyon transfer potansiyeli
$\Delta_{\beta}^{\alpha}\phi_{i,et}^{0}$	:	i iyonunun standart elektron transfer potansiyeli
$\Delta_{\beta}^{\alpha}\phi_i^{0}$	:	i iyonunun standart iyon transfer potansiyeli
$\Delta_{\beta}^{\alpha}\phi_{1/2}^{tr}$	:	Transfer yarı dalga potansiyeli
K_{bir}^{o}	:	Oksijen fazındaki birleşme sabiti
$\Delta_{\beta}^{\alpha}\phi_{des}$	:	Desorpsiyon potansiyeli
γ_i^{α}	:	i iyonunun α fazındaki aktiflik katsayısı
c_i^{α}	:	i iyonunun α fazındaki konsantrasyonu
z_i	:	i iyonunun yükü
υ	:	Tarama hızı
T	:	Zaman
T	:	Sıcaklık
R	:	Evrensel gaz sabiti
F	:	Faraday sabiti
A	:	Ara yüzey alanı
İ	:	Akım
$E_{O/R}^{0,o}$	:	Redoks potansiyeli

E	:	Hücre potansiyeli
V	:	Hacim
S	:	Entropi
U	:	İç enerji
η^{α}	:	α fazının viskozitesi
Q	:	Yük
A^{o}	:	Angstrom
a	:	Küre yatay yarı çapı
c	:	Küre düşey yarıçapı
z_0	:	Kürede merkezden dikey mesafe
θ	:	Temas açısı
Sec(θ)	:	Cos(θ)'nın tersi
$\vec{k}$	:	Dalga vektörü
ω	:	Kompleks frekans
k	:	Kapiler dalganın dalga sayısı
ρ^{r}	:	r sıvısının yoğunluğu
ω_0	:	Kapiler dalganın pik frekansı
N	:	Saçılan ışın sırası
f_0	:	Maksimum pik frekansı
Γ_i	:	Yüzey fazlası konsantrasyon
β		Adsorpsiyon katsayısı
γ	:	Ara yüzey gerilimi
θ		Kısmi yüzey kaplaması
σ^{α}	:	α fazı için yüzey fazlası yük yoğunluğu

b) Kısaltmalar Listesi

Kısaltma		**Açılım**
DCE	:	1,2-Dikloretan
NB	:	Nitrobenzen
TMA^{+}	:	Tetrametilamonyum katyonu
TEA^{+}	:	Tetraetilamonyum katyonu
THA^{+}	:	Tetraheptilamonyum katyonu
TPA^{+}	:	Tetrafenilamonyum katyonu
TPB^{-}	:	Tetrafenilborat anyonu
$TPAs^{+}$	:	Tetrafenilarsonyum katyonu
$BTPPA^{+}$	:	Bis(trifenilfosforanilidin) amonyum katyonu
$TPFB^{-}$	:	Tetrakis(pentaflorofenil) borat anyonu
$TPBCl^{-}$	:	Tetrakis(4-klorofenil) borat anyonu
LiTPFB	:	Lityum tetrakis(pentaflorfenil) borat dietil eterat
KBTPCl	:	Tetrakis(4-klorofenil)boranpotasyum
PC	:	Fosfatidilkolin
PE	:	Fosfatidiletanolamin
PG	:	Fosfatidilgliserol
PS	:	Fosfatidilserin

PI	:	Fosfoinositol
SH	:	Spingomiyelin
DPPC	:	Dipalmitolfosfatidilkolin
DPPE	:	Dipalmitolfosfatidiletanolamin
DPPS	:	Dipalmitolfosfatidilserin
DBPC	:	Dibehenilfosfatidilkolin
DSPA	:	Disteoril fosfatidik asit
DLPE	:	Dilauril fosfatidiletanolamin
AMP	:	Anti-mikrobiyal peptit
MLT	:	Melittin
PL	:	Fosfolipit
FIT	:	Yardımlı iyon transferi
IT	:	İyon transferi
ET	:	Elektron transferi
FET	:	Fotokimyasal elektron transferi
HET	:	Heterojen elektron transferi
KE	:	Karşıt elektrot
RE	:	Referans elektrot
ÇE	:	Çalışma elektrodu
SHE	:	Standart hidrojen elektrot
PBS	:	Fosfat tampon çözeltisi
su	:	Su fazı
O	:	Organik faz
pzc	:	Sıfır yük potansiyeli
$L^{\pm}$	:	Zwitteriyonik ligant
"TATB"	:	"Tetrafenil arsonyum tetrafenil borat" kabullenmesi
CV	:	Dönüşümlü voltamogram (*Cyclic voltammogram*)
IR	:	Ohmik potansiyel düşüşü
ACT	:	*"Aqueous complexation followed by Transfer"*
TOC	:	*"Transfer followed by organic complexation"*
TID	:	*"Transfer by interfacial decomplexation"*
ITIES	:	*"Interface between two immiscible electrolyte solutions"*
QELS	:	*"Quasi-elastic laser scattering"*
OCD	:	*"Oriented circular dichroism"*
SPR	:	*"Surface plasmon resonance"*
SHG	:	*"Second harmonic generation"*
QM	:	*"Quartz microbalance"*
CD	:	*"Circular dichroism"*
NMR	:	*"Nuclear magnetic resonance"*
ND	:	*"Neutron diffraction"*
HPLC	:	*"High performance liquid chromatography"*
UV-Vis	:	*"Ultraviolet-Visible"*
SECM	:	*"Scanning electrochemical microscopy"*
ESR	:	*"Electron spin resonance"*
ATR-IR	:	*"Attenenuated total reflection IR spectroscopy"*
FFTA		*"Fast Fourier Transform Analyzer"*

1. GİRİŞ

Elektrokimya sahasında, birbiri içerisinde çözünmeyen iki elektrolit çözelti arasındaki ara yüzey (ITIES) olarak adlandırılan sıvı|sıvı ara yüzeyler, birbiri içerisindeki çözünürlükleri ideal olarak sıfır olan ve her biri bir elektrolit içeren iki çözeltinin temas ettirilmesi ile meydana gelir (Girault ve Schiffrin, 1989). Bu çözücülerden biri genellikle su, diğeri ise 1,2-dikloretan (DCE) ve nitrobenzen (NB) gibi bir organik çözücüdür.

ITIES; dielektrik, yapısal, dinamik ve termodinamik özellikleri ana çözeltilerden farklı olan eşsiz bir moleküler ara yüzeydir. Bu ara yüzeylerde gerçekleşen olaylar doğal olarak gerçekleşen pek çok biyolojik ve kimyasal olayın temelini oluşturmaktadır. Örneğin sulu vücut sıvıları ile hücre membranları arasındaki ara yüzeylerde gerçekleşen kütle transferleri yaşam aktivitesi için kritik bir rol oynar. Dolayısıyla canlı organizmalardaki tüm enerji dönüşüm prosesleri sıvı ara yüzey yapısında gerçekleşir. Bu ara yüzeyler ekstraksiyon, faz transfer katalizi gibi ayırmalar, elektrokimyasal prosesler ve farmakolojik uygulamaların temelini oluşturur (Volkov ve ark., 1996; Volkov ve ark., 1998). Elektrokimyasal ve spektroskopik yeni tekniklerin ortaya çıkması ile birlikte ITIES'de meydana gelen elektrokimyasal olaylarla ilgili çalışmalar büyük bir gelişme kat etmiştir. Bu gelişmelerle katı|sıvı ara yüzeyinde cereyan eden pek çok elektrokimyasal olayın sıvı|sıvı ara yüzeylerde de uygulanabildiği görülmüştür. Son zamanlardaki deneysel ve teorik gelişmeler ITIES hakkındaki bilgilerimizi başlıca iki yönüyle önemli ölçüde arttırmıştır. 1) Ara yüzeyin yapısı; ITIES'de potansiyel dağılımı ve elektriksel çift tabaka, ara yüzeyin mikroskobik yapısı. 2) Ara yüzeydeki elektrokimyasal reaksiyonlar; ara yüzeyde adsorpsiyon, elektrokimyasal kataliz, elektrodepozisyon ve yük transferi.

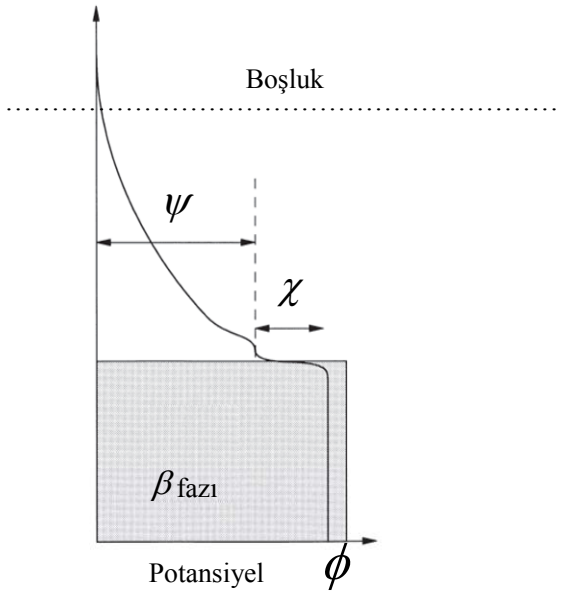
1.1. Ara Yüzey (Galvani) Potansiyeli

Sıvı-sıvı ara yüzey ile ilgili çalışmalarda ara yüzey potansiyel farkı (Galvani potansiyel farkı) çok önemli bir parametredir. Termodinamik açıdan boşluktaki bir mol *i* iyonunu bir sıvı faza getirmek için gerekli olan iş olarak tanımlanan elektrokimyasal potansiyel ($\tilde{\mu}_i$), kimyasal ve elektriksel olmak üzere iki temel bileşenden meydana gelir:

$$\tilde{\mu}_i = \mu_i + z_i F\phi \qquad \textbf{(1.1)}$$

Eşitlikte ϕ; iç potansiyel ya da Galvani potansiyeli, μ_i; iyon-dipol etkileşimleri, dispersiyon kuvvetleri gibi iyon ve çevresi arasındaki tüm kısa mesafeli etkileşimleri gösteren kimyasal potansiyeldir. Eşitlikteki $z_i F\phi$; bir yükü transfer etmek için gerekli olan elektriksel işle ilgilidir ve iki terim içermektedir. Birincisi ara yüzeydeki yönelimli dipollerden oluşan tabakanın geçilmesi ile ilgili elektrostatik terim $z_i F\chi$; diğeri ise fazın yükü ile ilgili elektrostatik terim $z_i F\psi$ 'dir. χ; sıvı fazın yüzey potansiyelidir ve moleküler dipollerin yüzeyde seçimli yönelimlerinden kaynaklanır. ψ; dış potansiyel olarak isimlendirilir ve yüklü nesnenin, yüzeyin dışı ve vakum arasındaki potansiyel farkıdır. Bu yüzden bir fazın iç potansiyeli veya Galvani potansiyeli yüzey ve dış potansiyelin toplamı olarak tanımlanır (Şekil 1.1.).

$$\phi = \chi + \psi \qquad \textbf{(1.2)}$$

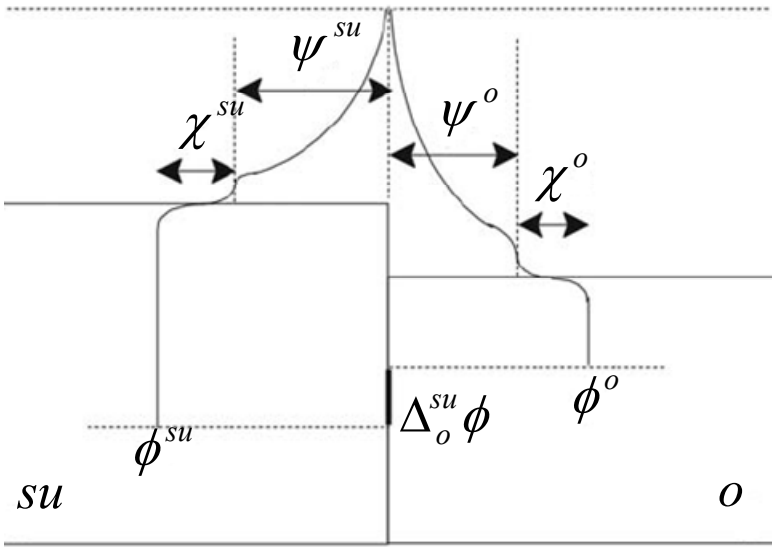


Şekil 1.1. Galvani potansiyelinin dış potansiyel ve yüzey potansiyelinin toplamı olarak gösterimi (Girault, 2005)

Birbiri içerisinde çözünmeyen bir sulu faz "su" ve bir organik faz "o" birbiri ile temas ettirildiği zaman ise ara yüzey bölgede bir Galvani potansiyel farkı ($\Delta_o^{su}\phi$) meydana gelir (Şekil 1.2).

$$\phi^{su} - \phi^{o} = (\chi^{su} - \chi^{o}) + (\psi^{su} - \psi^{o}) \quad \textbf{(1.3)}$$

$$\Delta_o^{su}\phi = \Delta_o^{su}\chi + \Delta_o^{su}\psi \quad \textbf{(1.4)}$$



Şekil 1.2. Temas halindeki iki faz arasında meydana gelen Galvani potansiyeli farkı (Bin, 2006)

ITIES'de iyonların ve dipollerin dağılımı genel olarak serbest yüzeylerdekinden farklıdır. ITIES'de spesifik adsorpsiyon olmadığı durumda Galvani potansiyel farkı $\Delta_o^{su}\phi$, ayrıca iyonik ($\Delta_o^{su}\phi(\text{iyon})$) ve dipolar ($\Delta_o^{su}\phi(\text{dip})$) terimlerin toplamı olarak da yazılabilir.

$$\Delta_o^{su}\phi = \Delta_o^{su}\phi(\text{iyon}) + \Delta_o^{su}\phi(\text{dip}) \quad \textbf{(1.5)}$$

$\Delta_o^{su}\phi(\text{dip})$ potansiyel farkı çözücü moleküllerinin seçimli yönelimlerinin bir sonucu olarak ara yüzey bölgede meydana gelir ve sadece ara yüzey sıfır yüklü olduğu zaman ölçülebilir. Bu şartlar altındaki Galvani potansiyel farkı sadece dipolar terime eşittir ve sıfır yük potansiyel (*pzc*) olarak isimlendirilir.

$$\Delta_o^{su}\phi = \Delta_o^{su}\phi(\text{dip}) \quad \textbf{(1.6)}$$

1.2. Ara Yüzeyin Yapısı

Sıvı-sıvı ara yüzey diğer yoğunlaşmış-faz ortamları ile kıyaslandığında hakkında çok az bilgiye sahip olduğumuz homojen olmayan bir çevredir. Bu bölgedeki moleküllerin maruz kaldığı moleküller arası kuvvetlerdeki asimetrinin ara yüzeyin emsalsiz yapısal ve dinamik özelliklerine neden olduğu sanılmaktadır. Ara yüzeyin gömülü yapısı ve kısmen küçük boyutu bu alanla ilgili deneysel gözlemleri karmaşık hale getirmektedir.

Ara yüzey bölgenin yapısı, iki sıvı arasındaki yoğunluk farkı ve sıvıların birbiri içerisine girme derecesi ile ilişkilendirilir. Spektroskopik çalışmalardan elde edilen deneysel sonuçlar, ara yüzeyin birkaç çözücü molekülü kadar genişlediğini göstermiştir (Strutwolf ve ark., 2000). Ara yüzey genişliğinin belirlenmesi ile ilgili temel deneysel problem elde edilen sonuçların yorumlanmasında yatmaktadır. Aslında, ara yüzeydeki termal olarak uyarılan dalgalanmalar (kapiler dalgalar) sıcaklığa bağlı olan gerçek bir genişliğe neden olmaktadır. Bu yüzden zaman ölçüsü ara yüzey genişliğinin ve pürüzlülüğünün belirlenmesinde önemli bir etkendir.

Herhangi bir madde içermeyen sıvılar arasında meydana gelen saf (sıvı|sıvı) ara yüzeylerin yapısı ve hareketliliği ile ilgili önemli bilgiler *Monte Carlo* ve moleküler dinamik simülasyonları kullanılarak bilgisayar hesaplamalarından elde edilebilmektedir (Schmickler, 2001; Benjamin, 1997). Ara yüzeyin yapısı ile ilgili teorik işlemler sıvı|sıvı ara yüzey sınırının piko-saniyelik bir zaman diliminde moleküler olarak keskin (net) olduğunu ortaya çıkarmıştır. Ancak sıvılardan birinin diğer sıvı içerisine girmesiyle meydana gelen çıkıntılar ara yüzey bölgede yaklaşık 1 nm'lik bir alanda bir pürüzlülük meydana getirmektedir. Bu yüzden ara yüzey; dielektrik, çözünme ve taşıma özellikleri ara yüzeye dik bir bölge boyunca değişen 1 nm kalınlığındaki bir bölgeden meydana gelir. Ancak, iki sıvı arasındaki ara yüzey yapısı organik sıvının özelliklerine (polarite gibi) de bağlıdır. Organik sıvı ne kadar polar olursa çözünme olayı daha çok zorlaşır ve daha keskin ara yüzey oluşur (Girault ve Schiffrin, 1983; Benjamin, 1997).

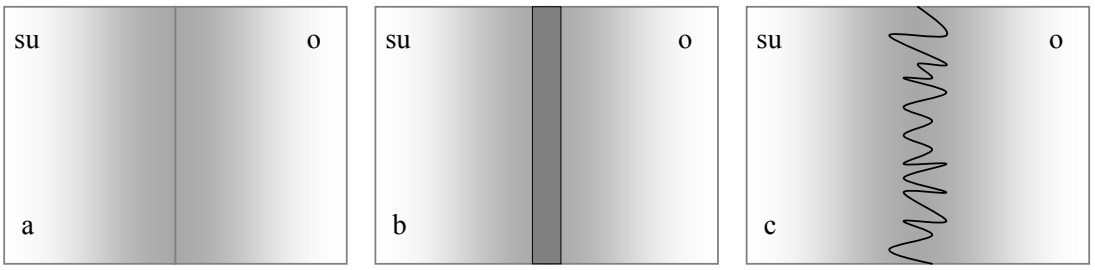
Ara yüzey yapısının aydınlatılmasında kapiler dalga teorisi de kullanılmaktadır. Kapiler dalga teorisi ise ara yüzeyin genişliği ile sistemin iyi tanımlanmış bir termodinamik özelliği olan yüzey gerilimi (γ) arasında direkt bir ilişki sunmaktadır (Girault ve ark., 1982; Girault ve ark., 1984; Roozeman ve ark., 2002; Tsuyumoto ve Sawada, 2001). Pürüzlü ara yüzey kapiler dalgaların üst üste çakışması olarak düşünülebilir ve bu durum tüm dalga boylarında vardır. QELS metodu ile kapiler dalga

ölçümlerinden su|DCE ara yüzeyinin yüzey geriliminin belirlenmesi bölüm 3.3 ve 4.3'de açıklanmıştır.

1.2.1. Elektriksel Çift Tabaka

Elektrolit içeren sıvılardan meydana eden sıvı|sıvı ara yüzey yapısının anlaşılması daha zordur. Bu konu ile ilgili ilk çalışmalar katı|elektrolit sistemleri için kullanılan modeller üzerine kurulmuştur. Verwey ve Niessen (1939) ara yüzeyi ardı ardına iki difüzyon tabakası olarak göstermiştir. Bu tabakalardan biri fazla pozitif yük, diğeri ise buna eşit negatif yük içermektedir. Difüze tabakalar Gouy-Chapman teorisi ile tanımlanmıştır ve iki sıvı arasındaki sınır ise iki yük bölgesini ayıran boyutsuz bir geometrik yüzey olarak canlandırılmıştır. Yüzey gerilimi (Gros, 1978) ve kapasitans (Samec, 1981a) ölçümlerinden elde edilen sonuçlar ara yüzeyin *pzc* potansiyelinde Verwey-Niessen modeli ile uyum içerisinde olduğunu göstermiştir.

Ara yüzeydeki iyon transferi hızının potansiyele bağlılığının analizi metal elektrotlardaki elektron transferi çalışmalarında kullanılan Butler-Volmer eşitliğine benzer bir ilişkiyi ortaya çıkarmıştır (Girault ve Schiffrin 1989; Girault, 1993). Bu sonuçlar temelinde Gavach ve ark. (1977) Gouy-Chapman teorisinin Stern modifikasyonuna dayanarak mevcut modelin gözden geçirilmesi ile yeni bir model önermiştir. Modifiye edilmiş Verwey-Niessen modeli olarak isimlendirilen bu model yüklü iki bölgeyi birbirinden ayıran yönelimli çözücü moleküllerinden meydana gelmiş iyon-serbest tabaka kavramını ortaya çıkarmıştır.



Şekil 1.3. ITIES yapısı: (a) Verwey-Niessen modeli; (b) modifiye Verwey-Niessen modeli; (c) Kapiler dalgalar

Bu model çerçevesinde iki faz arasındaki Galvani potansiyel farkı ($\Delta_o^{su}\phi$) üç bileşenden meydana gelmektedir:

$$\Delta_o^{su}\phi = \phi^{su} - \phi^{o} + \Delta_o^{su}\phi^{\sigma} \quad \textbf{(1.7)}$$

Eşitlikte ϕ, ilgili fazların Galvani potansiyelini göstermektedir. ϕ^{su} ve ϕ^{o} sırasıyla su ve organik faz içerisindeki potansiyel düşüşleridir, $\Delta_o^{su}\phi^{\sigma}$ ise Şekil 1.3.b'de gösterilen iç tabakadaki potansiyel düşüşüdür. Yüzey gerilimi ve kapasitans ölçümlerine dayanan çalışmalar iç tabakadaki potansiyel düşüşünün çok küçükken iç tabaka kapasitansının çok yüksek olduğunu ve iyonların iç tabakaya belirli bir mesafede girebileceğini öne sürmüştür (Samec ve ark., 1981b; 1984; 1985).

Alternatif olarak Girault ve Schiffrin (1983), ara yüzeyin çözücü bileşimi bir ortamdan diğerine sürekli değişiklik gösteren bir karışık çözücü tabakasından meydana geldiğini önermiştir. Yazarlar, asılı-damla metodu kullanarak gerçekleştirdikleri yüzey gerilimi ölçümlerinden, ara yüzey tabaka kalınlığının önemli derecede sulu çözelti elektrolitlerinin iyonik boyutunun ve aynı zamanda da organik çözücünün polaritesinin bir fonksiyonu olduğunu göstermişlerdir. Bu sonuçlar ITIES'de iyonların karışık çözünmesi ve ara yüzey karışımı olarak açıklanmıştır. Buna göre ara yüzeysel çözücü karışımının bir sonucu olarak iyonlar ara yüzeyde iyon-çifti oluşumuna neden olmaktadır. Sıvı|sıvı ara yüzey ile ilgili yapılan teorik hesaplamalarla iç tabaka kalınlığının iki çözücünün çözünürlük derecesine bağlı olduğu önerilmiştir.

Önceki bölümde bahsedildiği gibi, sıvı|sıvı ara yüzeylerin yapısı ve dinamikleri bilgisayar simülasyonları ile araştırılmaktadır. Benjamin ve ark. su|DCE ara yüzeyinin moleküler olarak keskin fakat Şekil 1.3.c'de gösterildiği gibi pürüzlü olduğunu göstermişlerdir (Benjamin, 1992b; Schweighofer ve Benjamin, 1995). Bir çözücüden diğerine geçiş birkaç çözücü molekülünden oluşan 1 nm'lik bir alan içerisinde olmaktadır. Diğer taraftan, nötron yansıma (Strutwolf ve ark., 2000) ve elipsometri (Webster ve Beaglehole, 2000) ölçümlerine dayanan deneysel bilgiler yaklaşık 1nm kalınlığında bir iç tabakanın varlığını önermektedir. Bu sonuç karışık çözücü tabakası düşünülerek Şekil 1.3.a ve Şekil 1.3.b ile ifade edilen modeller arasındaki farkın daha büyük zaman skalasındaki deneysel yaklaşımdan kaynaklandığı söylenebilir.

1.3. Elektrokimyasal Denge

1.3.1. İyon dağılım dengesi

Her biri *i* iyonik türünü içeren birbiri içerisinde çözünmeyen α ve β fazlarının temas ettirilmesi ile meydana gelen ara yüzey bölgede bir Galvani potansiyel farkı meydana gelir.

$$\Delta_{\beta}^{\alpha}\phi = \phi^{\alpha} - \phi^{\beta} \quad \textbf{(1.8)}$$

Eşitlikte: ϕ; Galvani potansiyelini (iç potansiyel) göstermektedir. *i* türlerinin molar Gibbs enerjileri eşit olduğu anda elektrokimyasal dengeye ulaşılmış olur. Bu şartlar altında *i* türlerinin her iki fazdaki elektrokimyasal potansiyeli eşittir.

$$\tilde{\mu}_i^{\alpha} = \tilde{\mu}_i^{\beta} \quad \textbf{(1.9)}$$

Eşitlikteki $\tilde{\mu}_i^{\alpha}$ ve $\tilde{\mu}_i^{\beta}$; *i* türünü boşluktan ilgili faz içerisine transfer etmek için gerekli enerjiyi ifade eden elektrokimyasal potansiyeli göstermektedir.
Elektrokimyasal potansiyel ise kimyasal ve elektriksel bileşenlere ayrılabilir:

$$\tilde{\mu}_i^{\alpha} = \mu_i^{\alpha} + z_i F\phi^{\alpha} \quad \textbf{(1.10)}$$

Eşitlikte: z_i; *i* iyonunun yükü, μ_i^{α}; *i* iyonunun α fazındaki kimyasal potansiyeli, ϕ^{α}; α fazının Galvani potansiyelidir. Kimyasal potansiyel μ_i^{α} aşağıdaki gibi ifade edilir:

$$\mu_i^{\alpha} = \mu_i^{0,\alpha} + RT\ln a_i^{\alpha} \quad \textbf{(1.11)}$$

Eşitlikte: $\mu_i^{0,\alpha}$; standart kimyasal potansiyel, a_i^{α}; *i* iyonunun α çözücüsü içerisindeki aktiflik katsayısı, *R* evrensel gaz sabiti ve *T* ise sıcaklıktır.

1.3.1.1. ITIES'de Nernst eşitliği

Aşağıda sırasıyla "o" ve "su" olarak gösterilen ve her biri *i* iyonik türünü içeren birbiri içerisinde çözünmeyen sulu faz ve organik faz arasında meydana gelen ara yüzey

düşünülmüştür. Dengede anında *i* türlerinin her iki fazdaki elektrokimyasal potansiyelleri eşit olacaktır. Buna göre;

$$\tilde{\mu}_i^{su} = \tilde{\mu}_i^{o} \tag{1.12}$$

Bu eşitlik, Eşitlik (1.11)'e göre yeniden düzenlenirse:

$$\mu_i^{0,su} + RT \ln a_i^{su} + z_i F \phi^{su} = \mu_i^{0,o} + RT \ln a_i^{o} + z_i F \phi^{o} \tag{1.13}$$

eşitliği elde edilir.

$$\Delta_o^{su}\phi = \phi^{su} - \phi^{o} = \frac{\mu_i^{0,o} - \mu_i^{0,su}}{z_i F} + \frac{RT}{z_i F} \ln\left(\frac{a_i^{o}}{a_i^{su}}\right) \tag{1.14}$$

Eşitlikte "$\Delta_o^{su}\phi = \phi^{su} - \phi^{o}$", *i* iyonunun dağılması sonucu ara yüzeyde meydana gelen Galvani potansiyel farkıdır. Kimyasal potansiyel sonsuz seyreltik çözelti durumundaki bir referans hal yönünden tanımlanabilir.

Eşitlikte $\frac{\mu_i^{0,o} - \mu_i^{0,su}}{z_i F} = \Delta_o^{su}\phi_i^{0}$'a eşittir ve standart iyon transfer potansiyelini ifade eder. Buna göre eşitlik yeniden düzenlendiğinde:

$$\Delta_o^{su}\phi = \phi^{su} - \phi^{o} = \Delta_o^{su}\phi_i^{0} + \frac{RT}{z_i F} \ln\left(\frac{a_i^{o}}{a_i^{su}}\right) \tag{1.15}$$

eşitliği elde edilir. İyonunun standart transfer potansiyeli $\Delta_o^{su}\phi_i^{0}$, aşağıdaki gibi standart Gibbs transfer enerjisi yönünden de ifade edilebilir:

$$\Delta_o^{su}\phi_i^{0} = \frac{\mu_i^{0,o} - \mu_i^{0,su}}{z_i F} = \frac{\Delta G_{tr,i}^{0,su\to o}}{z_i F} \tag{1.16}$$

Eşitlikte $\Delta G_{tr,i}^{0,su\to o}$, *i* iyonunun su fazından organik faza transfer olabilmesi için gerekli olan standart Gibbs transfer enerjisidir.

Eşitlik (1.15) metal|elektrolit çözelti ara yüzeyindeki elektron transfer reaksiyonları için geçerli olan klasik Nernst eşitliğinin bir benzeridir ve herhangi bir redoks reaksiyonu içermemesine rağmen bu eşitlik çoğunlukla ITIES'deki iyon transfer reaksiyonları için Nernst eşitliği olarak adlandırılır. Eşitlik (1.15)'deki standart iyon transfer potansiyeli aktiflik katsayıları oranını içeren formal iyon transfer potansiyeli ($\Delta_o^{su}\phi_i^{0'}$) ile yer değiştirdiğinde, Galvani potansiyel farkı konsantrasyonlar cinsinden de ifade edilebilir:

$$\Delta_o^{su}\phi = \Delta_o^{su}\phi_i^{0'} + \frac{RT}{z_i F}\ln\left(\frac{c_i^o}{c_i^{su}}\right) \qquad \textbf{(1.17)}$$

Formal iyon transfer potansiyeli ise aşağıdaki gibi aktiflik katsayısını içermektedir:

$$\Delta_o^{su}\phi_i^{0'} = \Delta_o^{su}\phi + \frac{RT}{z_i F}\ln\left(\frac{\gamma_i^o}{\gamma_i^{su}}\right) \qquad \textbf{(1.18)}$$

1.3.2. Elektron dağılım dengesi

Benzer bir yaklaşım sıvı|sıvı ara yüzeyle birbirinden ayrılmış redoks çiftleri arasındaki heterojen elektron transferi durumu için de düşünülebilir. Sıvı|sıvı ara yüzeydeki aşağıdaki reaksiyonu göz önüne alalım:

$$O_1^{su} + R_2^o \Leftrightarrow R_1^{su} + O_2^o \qquad \textbf{(1.19)}$$

O_1 ve R_1 sulu fazda bulunan redoks çifti; O_2 ve R_2 organik fazda bulunan redoks çiftidir. Denge anında reaktantların ve ürünlerin elektrokimyasal potansiyeli birbirine eşittir:

$$\Delta G = (\tilde{\mu}_{O_1}^{su} + \tilde{\mu}_{R_2}^{o}) - (\tilde{\mu}_{R_1}^{su} + \tilde{\mu}_{O_2}^{o}) = 0 \qquad \textbf{(1.20)}$$

Eşitlik (1.20) elektrokimyasal potansiyeli içerecek şekilde genişletilebilir:

$$\Delta_o^{su}\phi = \Delta_o^{su}\phi_{et}^0 - \frac{RT}{nF}\ln\left(\frac{a_{O_1}^{su}a_{R_2}^{o}}{a_{R_1}^{su}a_{O_2}^{o}}\right) \quad \textbf{(1.21)}$$

Eşitlikteki (1.21) standart elektron transfer potansiyeli $\Delta_o^{su}\phi_{et}^0$ şu şekilde ifade edilir:

$$\Delta_o^{su}\phi_{et}^0 = \frac{\mu_{O_1}^{0,su} + \mu_{R_2}^{0,o} - \mu_{R_1}^{0,su} - \mu_{O_2}^{0,o}}{nF} = E_{O_2/R_2}^{0,o} - E_{O_1/R_1}^{0,su} \quad \textbf{(1.22)}$$

Farklı çözücülerde bulunan iki redoks çiftinin standart redoks potansiyelinin aynı potansiyel sıkalasında, örneğin su içerisinde standart hidrojen elektrot (SHE), ifade edilmesi için $E_{O_2/R_2}^{0,o}$, su içerisindeki redoks potansiyeli $E_{O_1/R_1}^{0,su}$ ile R_2 ve O_2'nin Gibbs transfer enerjileri yönünden ifade edilebilir:

$$E_{O_2/R_2}^{0,o} = E_{O_2/R_2}^{0,su} + \frac{\Delta G_{tr,O_2}^{0,su\to o} - \Delta G_{tr,R_2}^{0,su\to o}}{nF} \quad \textbf{(1.23)}$$

$\Delta G_{tr,O_2}^{o,su\to O}$ ve $\Delta G_{tr,R_2}^{o,su\to O}$ sırasıyla O_2 ve R_2'nin organik fazdan su fazına transferi için gerekli olan standart Gibbs elektron transfer enerjileridir.

1.4. Ara Yüzeyin Polarizasyonu

Ara yüzeyin polarizasyonu genel olarak ara yüzeyde cereyan edebilecek yük transfer reaksiyonlarının (dolayısıyla Galvani potansiyelinin) dışarıdan yani bir dış potansiyel kaynağından yönlendirilip yönlendirilememesi ile alakalı bir konudur. Temel olarak Galvani potansiyel farkı deneysel olarak üç şekilde değiştirilebilir (Kakiuchi ve Tsujioka, 2007): İlki; iki faz içerisinde ortak bir tuz çözmek, ikincisi; iki faz içerisinde potansiyel belirleyici ortak bir iyon kullanmak, üçüncüsü; dış potansiyel kaynağı kullanmak. İlk iki durum ideal olarak polarizlenemeyen ara yüzeyi göstermektedir. Son durum ise ideal olarak polarizlenebilen ara yüzeyi ifade eder. Buna dayalı olarak ara yüzey ya ideal olarak polarizlenebilir, ya da ideal olarak polarizlenemez.

1.4.1. İdeal olarak polarizlenemeyen ara yüzey

İdeal olarak polarizlenemeyen ara yüzey kavramını Şekil 1.4.'de gösterilen ara yüzeyi dikkate alarak açıklamaya çalışalım.



Şekil 1.4. İdeal olarak polarizlenemeyen sıvı|sıvı ara yüzey

Şekil 1.4., her bir fazda 1:1 oranında RX elektrolitinin çözünmesi ile meydana gelen bir ara yüzeyi göstermektedir. Bu durumda RX elektroliti her bir fazda tamamen R^+ ve X^- iyonlarına ayrışmaktadır. Önceki bölümde iyon dağılım dengesi için geliştirilen Nernst eşitliği her iki iyon için de geçerlidir yani dengede hem katyonun hem de anyonun elektrokimyasal potansiyeli eşit olacaktır.

$$\mu_{R^+}^{0,su} + RT\ln a_{R^+}^{su} + F\phi^{su} = \mu_{R^+}^{0,o} + RT\ln a_{R^+}^{o} + F\phi^{o} \qquad \textbf{(1.24)}$$

$$\mu_{X^-}^{0,su} + RT\ln a_{X^-}^{su} - F\phi^{su} = \mu_{X^-}^{0,o} + RT\ln a_{X^-}^{o} - F\phi^{o} \qquad \textbf{(1.25)}$$

Buna göre denge anındaki potansiyel farkı şu şekilde ifade edilir:

$$\Delta_o^{su}\phi = \frac{\Delta_o^{su}\phi_{R^+}^0 + \Delta_o^{su}\phi_{X^-}^0}{2} + \frac{RT}{F}\ln\left(\frac{a_{R^+}^{o}a_{X^-}^{su}}{a_{R^+}^{su}a_{X^-}^{o}}\right) \qquad \textbf{(1.26)}$$

Her iki faz içerisinde elektronötralite koşulu düşünülerek (örneğin $c_{R^+}^{su} = c_{X^-}^{su}$), ara yüzey potansiyeli yeniden yazılabilir:

$$\Delta_o^{su}\phi = \frac{\Delta_o^{su}\phi_{R^+}^0 + \Delta_o^{su}\phi_{X^-}^0}{2} + \frac{RT}{F}\ln\left(\frac{\gamma_{R^+}^{o}\gamma_{X^-}^{su}}{\gamma_{R^+}^{su}\gamma_{X^-}^{o}}\right) \qquad \textbf{(1.27)}$$

Bu eşitliğe göre, iki faz arasındaki Galvani potansiyel farkı elektrolit konsantrasyonundan bağımsızdır ve tamamıyla her iki çözücü içerisinde ayrışan iyonların çözünme enerjilerindeki farka bağlıdır. Bu potansiyel farkı ise dağılım potansiyeli olarak adlandırılır. Eğer iki faz arasındaki farklı yüklerin ve redoks türlerinin dağılımı yukarıdaki gibi Galvani potansiyel farkını belirliyorsa, yani Galvani potansiyel farkı bir dış potansiyel kaynağından değiştirilemiyorsa bu ara yüzey sisteminin polarizlenmiş olduğu söylenir. Çoğu kaynakta bu tarz ara yüzeyler ideal olarak polarizlenemez ara yüzey olarak ifade edilmektedir. Diğer bir polarizlenmiş ara yüzey tipi Şekil 1.5.'de gösterilmiştir.



Şekil 1.5. Potansiyel düşüşünün bir ortak iyon (R^+) ile kontrol edildiği polarizlenemeyen sıvı|sıvı ara yüzey

Sadece bir tek ortak iyon içeren bu tarz ara yüzeylerde meydana gelen elektriksel potansiyel farkı ($\Delta_o^{su}\phi$), R^+ iyonunun konsantrasyonu değiştirilerek kontrol edilebilir. Bu ara yüzey tipinde de Galvani potansiyel farkı dış potansiyel kaynağından kontrol edilemez.

$$\Delta_o^{su}\phi = \Delta_o^{su}\phi_{R^+}^0 + \frac{RT}{F}\ln\left(\frac{a_{R^+}^o}{a_{R^+}^{su}}\right) \qquad \textbf{(1.28)}$$

Bu hücrede X^- ve Y^- karşıt iyonları karşılıklı fazlarda çözünemeyecek kadar sırasıyla yeterince hidrofobik ve hidrofiliktir. ITIES deneylerinde bu tip polarizlenmiş ara yüzeyler, organik faz için referans elektrotlar ve SECM metodu ile iyon ve elektron transferi çalışmak için kullanılmaktadırlar.

1.4.2. İdeal olarak polarizlenebilen ara yüzey

Potansiyel uygulamanın bir sonucu olarak ara yüzeyde iyon transferinin gözlenebilmesi için, ilk olarak ara yüzeye uygun bir potansiyel uygulamak gerekir. Bu

durumda ara yüzeyin polarizlenebilir olması gerekir. Belirli bir potansiyel penceresi içerisinde ara yüzeyi polarizleyebilmek için fazlara ilave edilen elektrolitler sadece çözündükleri fazda kalmalıdırlar. Yani polarizlenebilen ara yüzeyler genellikle lityum klorür (LiCl) gibi çok hidrofilik bir tuz içeren sulu faz ile, tetraheptilamonyum tetrakis-4-klorofenilborat (THA^+TPBCl^-) gibi bir lipofilik tuz içeren organik faz veya 1-oktil-3-metilimidazolyum bis(nonaflorobutilsulfonil)imit ($C_8mim^+C_4C_4N^-$) gibi çok hidrofobik iyonik sıvılar arasında meydana gelir (Kakiuchi ve Tsujioka, 2007).



Şekil 1.6. İdeal olarak polarizlenebilen sıvı|sıvı ara yüzey

İlk olarak Koryta (1979) sırasıyla RX ve SY gibi farklı elektrolitler içeren sulu ve organik fazlardan oluşan bir sıvı|sıvı ara yüzey sisteminin ideal polarizlenebilen ara yüzeyin özelliklerine sahip olabileceğini göstermiştir. Bu sistemde R^+ ve X^- iyonları çok hidrofilik iken S^+ ve Y^- iyonları ise çok hidrofobiktir (Şekil 1.6.).

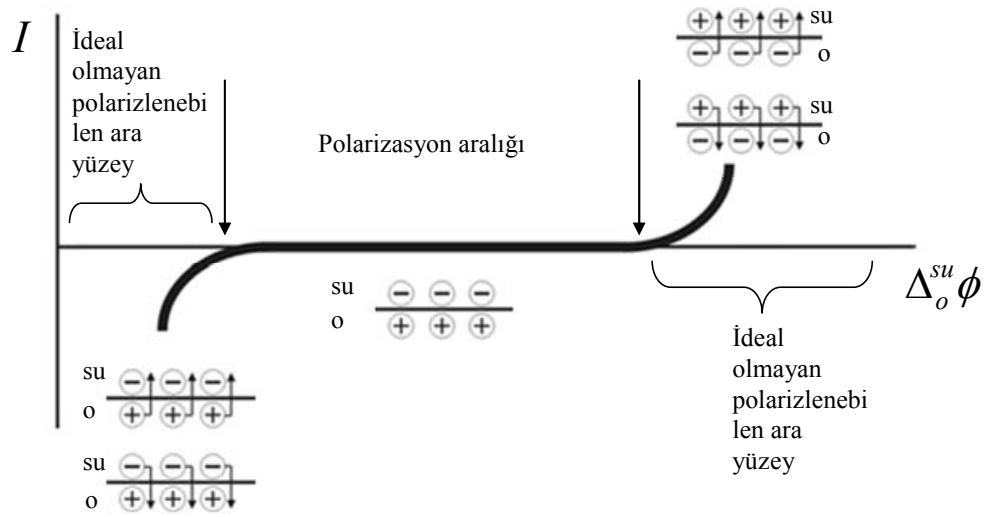
Elektrokimyasal potansiyellerdeki eşitsizliklere göre ideal olarak polarizlenebilen sıvı|sıvı ara yüzey sistemi şu şekilde ifade edilmektedir:

$$\Delta_o^{su}\phi_{R^+}^0, \Delta_o^{su}\phi_{X^-}^0 >> \Delta_o^{su}\phi_{S^+}^0, \Delta_o^{su}\phi_{Y^-}^0 \qquad \textbf{(1.29)}$$

Bu koşullar altında, Galvani potansiyel farkı $\Delta_o^{su}\phi$, sisteme dış kaynaktan verilen elektriksel yük ile kontrol edilir. Ara yüzeyde meydana gelen potansiyel dağılımı ise ardı ardına iki difüzyon tabakası modeli çerçevesinde tanımlanabilir.

1.4.2.1. Potansiyel (polarizasyon) penceresi

"İdeal polarizlenebilme" terimi, faz bileşenlerinin sonsuz değerde Gibbs transfer enerjisine sahip olduğu ve dolayısıyla da herhangi bir polarizasyon potansiyelinde hiçbir faradayik akımın olmadığı bir elektrostatik dengeyi ifade etmektedir.



Şekil 1.7. Polarizasyon penceresi içerisinde cereyan eden yük transferleri (Tomaszewski, 2000)

Ancak, gerçek iyonik türlerin herhangi bir çözücü içerisinde sınırlı bir Gibbs enerjisine sahip olduğu da bir gerçektir. Yani, ara yüzeye uygulanan potansiyel farkı kimyasal dengenin oluşması için bir elektriksel akım akışını gerektirir. Bu yüzden bu akımın ihmal edilebilir düzeyde düşük olduğu bölgenin merkezi polarizasyon aralığı (Şekil 1.7.) olarak adlandırılır ve bu bölgenin sınırları kullanılan destek elektrolitlerinin fazlar arasındaki transferi ile belirlenir. Polarizlenebilen sıvı|sıvı ara yüzeylerin potansiyostatik olarak kontrol edilmesi iki faz arasındaki Galvani potansiyel farkının değiştirilmesi ile heterojen yük transfer reaksiyonları ile ilgili yürütücü kuvvetlerin yönlendirilmesini sağlar.

Şekil 1.7., mevcut potansiyel aralığında ara yüzeyin davranışını gösterir ve potansiyel penceresi olarak adlandırılır. Potansiyel penceresi içerisinde sadece çok az bir akım akışı meydana gelir ki buna yükleme akımı denir. Ancak potansiyel penceresinin dışında ise destek elektrolitinin iyonları bulundukları fazdan karşı faza doğru transfer olmaya başlar ve bu durum zemin akımının artmasına neden olur. Ara yüzeyin polarizasyonunda işaretleme geleneksel olarak sulu faza göre yapıldığı için eğrinin sağ tarafı sulu fazın pozitif yapıldığı manasına gelir. Yani eğrinin sağ tarafına doğru gidildikçe sulu faz daha pozitif hale gelir. Polarizasyon devam ettikçe sulu fazdaki katyon organik faza geçerken organik fazdaki anyon ise sulu faza geçmeye başlar. Bu iyonların akım akışına kısmi katkıları ise bu iyonların Gibbs transfer enerji skalasındaki değerlerine bağlıdır. Yani hangi iyonun transferi daha düşük enerji gerektiriyorsa o iyonun akım artışına katkısı daha fazladır. Potansiyel tarama yönü ters çevrildiği zaman organik faza geçmiş olan katyon sulu faza, sulu faza geçmiş olan

anyon ise tekrar organik faza geçmeye başlar. Potansiyel taraması polarizasyon penceresinde sol tarafa doğru devam ettikçe (daha negatif yapıldıkça) sistemde mevcut olan akım çoğunlukla ara yüzeyin yüklenmesinden kaynaklanır ve sulu faz organik faza göre daha az pozitif olur ve böylece sulu fazdaki anyonlar organik faza geçerken organik fazdaki katyon ise sulu faza geçmeye başlar. Potansiyel taraması tekrar tersine çevrildiğinde organik faza geçmiş olan anyon sulu faza, sulu faza geçmiş olan katyon ise tekrar organik faza geçmeye başlar.

Görüldüğü gibi potansiyel penceresinin sınırları fazlar içerisindeki destek elektrolitlerine bağlıdır. Yapılan çalışmalarda genellikle daha geniş polarizasyon penceresinin olması istenir. Bunu sağlamak için farklı destek elektrolitleri kullanılmaktadır. Organik faz için; tetrafenilamonyum tetrafenilborat (TPATPB), tetrafenilarsonyum tetrafenil borat (TPAsTPB), Bis(trifenilfosforanilidin) amonyumtetrakis(pentaflorofenil) borat (BTPPATPFB) ve Bis(trifenilfosforanilidin) amonyumtetrakis(4-klorofenil) borat (BTPPATPBCl) gibi destek elektrolitleri kullanılırken, sulu faz için; LiCl, CsCl, Li_2SO_4 ve $MgCl_2$ gibi alkali ve toprak alkali metal tuzlarından meydana gelen destek elektrolitleri kullanılmaktadır.

1.5. Yük Transfer Reaksiyonları

ITIES'de cereyan eden yük transfer reaksiyonları temel olarak, iyon ve elektron transferi olarak iki ana sınıfa ayrılır ve iki nedenden dolayı çok önemlidir. Bunlardan ilki, bu olayların fotosentez ve mitokondriyal solunum gibi yaşamsal olaylarda temel adımlar olarak düşünülmesi, ikinci neden ise sıvı|sıvı ara yüzeylerin çözücü ekstraksiyonu (Freiser, 1988; Danesi ve Chiarizia, 1980), faz-transfer katalizi, ilaçların hücre membranlarından taşınması (Steyaert ve ark., 1997; Reymond ve ark., 1996; Reymond ve ark., 1999; Ohkouchi ve ark., 1991; Alemu, 2004), elektro-analiz (Senda ve Yamamoto, 1996), suni fotosentez ve atık yıkımı (Reymond ve ark., 2000; Fermin ve Lahtinen, 2001) gibi kimya ve endüstri alanındaki pek çok uygulama alanına sahip olmasıdır.

1.5.1. İyon transferi (IT)

ITIES'de iyon transferi (IT) 25 yılı aşkın bir süredir aktif bir çalışma alanı olmuştur (Fermin ve ark., 2003). Bu amaçla şimdiye kadar esas olarak dört çeşide

ayrılabilen çeşitli deneysel yaklaşımlar kullanılmıştır. İlk çeşit, elektrokimyasal galvanostatik ve potansiyostatik teknikleri içerir (Gavach ve ark., 1975; Gavach ve D'Epenoux, 1974; Gavach ve Henry; 1974; Kakiuchi ve ark., 1990a; Shao ve Girault, 1991; Samec ve ark., 1981a). Bu teknikler önceki çalışmalarda kullanılmıştır ve çoğunlukla makroskopik (tipik olarak 0.1 cm^2) alanlı ITIES'lere uygulanmıştır. İkinci çeşit, bir cam mikro-pipetin ucuna (Taylor ve Girault, 1986; Stewart ve ark., 1991) veya bir polimer mikro-oyuğuna (Osborne ve ark., 1994) desteklenmiş mikro-ITIES'lere dayanmaktadır. Mikro-ITIES'i kullanmak organik fazın direnç etkisini büyük oranda azaltır ve bu şekilde kütle transferini artırır. Üçüncü çeşit ise kronoflorometri (Kakiuchi ve Takasu, 1994), kronoabsorptimetri (Ding ve ark., 1997), potansiyel uyumlu reflektans (Fermin ve ark., 1998a; Ding ve ark., 1998b) ve potansiyel uyumlu floresans (Nagatani ve ark., 2000) ölçümleri gibi elektrokimyasal ve spektroskopik tekniklerin birleşimi üzerine dayalı bir seri deneysel tekniği içerir. Dördüncü çeşit ise üç-fazlı elektrot sistemine dayanır (Marken ve ark., 1997; Banks ve ark., 2003). Formal IT potansiyelini belirlemek için kullanılan önemli bir yöntemdir. Bir sulu (organik) elektrolit içerisine elektrokimyasal olarak aktif moleküller içeren bir organik (veya sulu) sıvı filmle veya damlayla modifiye edilmiş bir elektrotun daldırılması ile elde edilir.

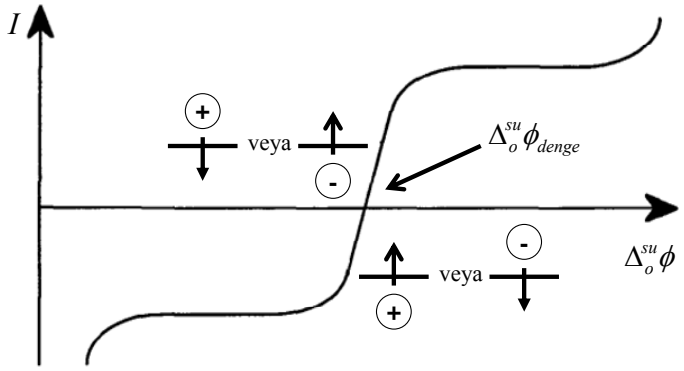
IT reaksiyonunun teorik olarak tanımlanması, ITIES deki potansiyel dağılımının ve ara yüzey yapısının tanımlanmasındaki belirsizliklerden dolayı hala tartışmalı bir konudur. Bu alandaki temel soru "IT reaksiyonunun kimyasal bir reaksiyon mu yoksa basit bir taşıma prosesi mi" olduğudur. Bu konuyu açıklamak için çok sayıda teorik yaklaşım (Koryta, 1988; Wandlowski ve ark., 1989; Samec ve ark., 1986; Gurevich ve Kharkats, 1986) ve bilgisayar simülasyonu (Benjamin, 1992a; Benjamin, 1993; Dang, 1999; Dang, 2001; Fernandes ve ark., 1999; Fernandes ve ark., 2000; Marcus, 2000) kullanılmaktadır.

IT konusundaki uygun teori eksikliğine rağmen genel anlamda bir iyonun bir fazdan diğerine transfer olabilmesi, o iyona, transfer olabilmesi için gerekli enerjinin verilmesini gerektirir. Bu ise ara yüzeyin dış kaynaktan polarizlenebilir olmasını gerektirir. Bu temel ışığında Şekil 1.6.'daki polarizlenebilir ara yüzey sisteminde uygun düzeyde hidrofilik karakter sergileyen bir A^+ katyonunun fazlardan biri içerisinde çözündüğünü düşünelim. Termodinamik dengeye ulaşılması için, iyon ara yüzeyden akan akım sıfır olana kadar iki faz arasında dağılacaktır. Buna karşılık gelen sıfır akım veya denge potansiyeli ITIES için türettiğimiz aşağıdaki eşitlikle ifade edilir. Voltametrik çalışmalarda bu potansiyel açık-devre potansiyeli (*open-circuit potential*)

olarak adlandırılır. Açık devre potansiyeli sistemin denge potansiyelini ifade eder. Sistemde herhangi bir akım akışı olmadığı zaman, A^+ katyonunun dengedeki dağılımı Nernst eşitliği gereği bir potansiyel farkı oluşturacaktır:

$$\Delta_o^{su}\phi_{denge} = \Delta_o^{su}\phi_{A^+}^{0'} + \frac{RT}{z_{A^+}F}\ln\left(\frac{c^{o}_{A^+,denge}}{c^{su}_{A^+,denge}}\right) \qquad \textbf{(1.30)}$$

İki referans elektrot yardımıyla sisteme dış kaynaktan belirli bir potansiyel farkının uygulanması ile sistemde kurulmuş olan termodinamik denge bozulur. Örneğimizdeki A^+ katyonunun formal transfer potansiyeli destek elektrolitlerinin belirlediği potansiyel pencere aralığında olduğu için, ara yüzeydeki potansiyelde meydana gelen pozitif artış destek elektrolitlerinin dağılımını etkilemez, fakat A^+ katyonunu organik faza doğru iter. Tersi durumda ise, yani ara yüzeye negatif bir Galvani potansiyeli uygulanırsa başlangıç dengesinin yeniden kurulması gerekliliğinden dolayı, A^+ katyonu organik fazdan sulu faza doğru transfer olur. Bu transfer ise sistemde bir negatif akım artışı meydana getirir. Şekil 1.8.'de bir mikro-ara yüzeyde tersinir katyon transferi için elde edilen bir voltametrik sinyal gösterilmiştir.



Şekil 1.8. Sıvı|sıvı ara yüzeyde katyon veya anyon transferi durumunda meydana gelen voltametrik sinyal

Bir iyonunun standart transfer potansiyeli akım-potansiyel eğrilerinden direkt olarak ölçülemez. Uygulamada, Galvani potansiyel farkı referans elektroda uygulanan potansiyel farkına karşılık gelmektedir. Bu durum, elektrokimyasal hücrede sıvı|sıvı ve katı|sıvı bağlantılarının birbiri ile seri olmasından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle, Galvani potansiyel farkının değerlendirilmesi konusunda farklı kabullenmeler önerilmiştir. Bunlar arasında en yaygın olanı ise "TATB" kabullenmesidir. Bu

kabullenme, tetrafenilarsonyum ($TPAs^+$) katyonu ile tetrafenil borat (TPB^-) anyonunun büyüklükleri ve şekillerinin benzer olduğu ve yapıdaki fenil halkalarının iyonların yüklerini maskeledikleri gerekçesiyle bu iyonların Gibbs transfer enerjileri $\Delta G^{0,su\to o}_{tr,TPAs^+}$ ve $\Delta G^{0,su\to o}_{tr,TPB^-}$'nin herhangi bir çözücü çifti içerisinde eşit olduğu ilkesine dayandırılmıştır (Parker, 1976; Grunwald ve ark., 1960). Herhangi bir çözücü çifti için $TPAs^+TPB^-$ (tetrafenilarsonyum tetrafenilborat) tuzunun Gibbs transfer enerjisi bilindiği zaman, Gibbs iyon transfer enerjisi ve standart potansiyel farkı skalası hesaplanabilir.
Sonuç olarak, iyonların çözünme enerjileri eşit olarak alınabilir:

$$\Delta G^{0,su\to o}_{tr,TPAs^+} = \Delta G^{0,su\to o}_{tr,TPB^-} = \frac{1}{2}\Delta G^{0,su\to o}_{tr,TPAsTPB} \qquad \textbf{(1.31)}$$

Bu kabullenme yapılırken sırasıyla 1.92 ve 1.63 A^o değerlerine sahip As-C ve B-C bağlarının eşit olmadığı gerçeği dikkate alınmamıştır (Shao ve ark., 1991a). Bağ uzunluklarının farklılığından dolayı katyon ve anyon farklı derecede çözüneceklerdir ve iki iyonun çapları arasındaki fark Gibbs transfer enerjilerinin farklı olmasına neden olabilecektir.

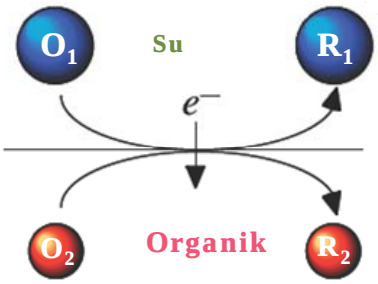
Bu özellik kullanılarak ve her iki iyonun da benzer difüzyon katsayılarına sahip olduğu varsayılarak Valent ve ark. (1987) TPAsTPB organik faz destek elektroliti kullanıldığı zaman, akım-potansiyel eğrisinin simetri merkezinin Galvani potansiyel farkı skalasının sıfır noktasını temsil ettiğini saptamıştır. Açıkçası sıfır noktasının değerlendirilmesi sadece potansiyel penceresininin $TPAs^+$ ve TPB^- iyonları ile sınırlandığı durumda geçerlidir. Diğer yazarlar TATB kabullenmesini, çözünürlük (Abraham ve ark., 1976) ve dağılma (Czapkiewicz ve Czapkiewicz-Tutaj, 1980) ölçümleri ile belirlenen Gibbs transfer enerjilerini karşılaştırırken kullanmışlardır. Belirtmek gerekir ki ayrışma diyagramlarından tahmin edilen standart Gibbs transfer enerjileri sadece birbiri içerisinde karşılıklı olarak doyurulan çözücüler arasındaki IT ile ilişkilidir oysa Gibbs transfer enerjileri saf çözücülerle ilgilidir. Ancak, bu değerler ilgilenilen iyonlar oldukça hidratlaşmış durumdayken eşittir (Girault ve Schiffrin, 1989).

Girault ve Schiffrin (1986) ise potansiyel skalası tanımlamak için sıfır noktası olarak sıfır yük potansiyelini (*pzc*) kullanarak başka bir metot önermişlerdir. *Pzc* potansiyeli akan elektrolit elektrot (Girault ve Schiffrin, 1984a; Koczorowski ve ark.,

1987) veya elektrokapilerite ölçümleri ile deneysel olarak bulunabilir (Samec ve Marecek, 1987).

1.5.2. Elektron transferi (ET)

ITIES'de elektron transferi (ET) yaklaşık yirmi yıl önce gözlenmiş ve bu alanla ilgili teorik işlemler ortaya çıkarılmıştır (Fermin ve Lahtinen, 2001). Ara yüzeyde cereyan eden ET reaksiyonlarının anlaşılması pek çok önemli fizikokimyasal olayın anlaşılabilmesi için çok önemlidir (Senda ve ark., 1991). Temel olarak ITIES'de ET karşılıklı fazlarda bulunan redoks türleri arasında meydana gelen bir redoks reaksiyonudur (Şekil 1.9.) (Hanzlik ve ark., 1987).



Şekil 1.9. ITIES'de cereyan eden ET'nin şematik gösterimi. R ve O türleri sırasıyla fazlarda bulunan indirgen ve yükseltgen türlerdir

Samec ve ark.'nın (1979d) bu konudaki çalışmalarından bu yana ITIES'de ET reaksiyonları yaygın olarak çalışılmaktadır. IT için geliştirilmiş olan çoğu deneysel teknik, ET reaksiyonlarına da uygulanmaktadır (Samec ve ark., 1981a; Geblewicz ve Schiffrin, 1988; Cunnane ve ark., 1988a; Cheng ve Schiffrin, 1991; Cheng ve Schiffrin, 1993; Cheng ve Schiffrin, 1994; Cunnane ve ark., 1995b; Kihara ve ark., 1989; Maeda ve ark., 1991). Ancak ITIES'deki potansiyel dağılımı ve ara yüzey yapısı ile ilgili bilgi eksikliğinden dolayı, bu tekniklerin kullanılması ile elde edilen kinetik veriler çok azdır. 1990'ların ortalarından bu yana, spektro-elektrokimyasal metotlar (Ding ve ark., 1998a; Fermin ve ark., 1998b; Fermin ve ark., 1998c), SECM metodu (Wei ve ark., 1995; Tsionsky ve ark., 1996; Liu ve Mirkin, 1999; Liu ve Mirkin, 2002), ince-tabaka çözücü metotları (Shi ve Anson, 1998; 1999; 2001) ve dinamik foto-elektrokimyasal metotlar (Dryfe ve ark., 1997; Duong ve ark., 1998; Fermin ve ark., 1999a) ara yüzeydeki etkinlik ve yapı arasındaki ilişkiyle ilgili bilgilerimizi bir hayli artırmıştır. Bu heterojen

tekniklerin biyolojik proseslerde gerçekleşen redoks reaksiyonları ve enerji dönüşümü konusunda önemli olduğu düşünülmektedir (Volkov, 2001; Fermin ve ark., 1999b).

Bu alanla ilgili ilk tartışmalı konu; ET reaksiyonunun nerede gerçekleştiğidir. Samec (1979b) elektron transfer reaksiyonunun yönelimli çözücü moleküllerinden oluşan iyonsuz tabakada gerçekleştiğini önermiştir. Aksine Girault ve Schiffrin (1985) bu transferin elektrokimyasal potansiyellerin ara yüzeydeki reaktantların pozisyonuna bağlı olmadığı bir karışık çözücü bölgede olduğunu düşünmüşlerdir.

Bir diğer tartışmalı nokta ise, ET ile ilgili hız sabitinin Galvani potansiyel farkına bağlı olup olmadığıdır. Çoğu deneysel sonuç ET'nin ara yüzeydeki Galvani potansiyel farkına bağımlı olduğu düşüncesini desteklemektedir (Geblewicz ve Schiffrin, 1988; Cunnane ve ark., 1988a; Cheng ve Schiffrin, 1991; Wei ve ark., 1995; Tsionsky ve ark., 1996; Fermin ve ark., 1998c; Tsionsky ve ark., 1997; Zhang ve Unwin, 2002; Eugster ve ark., 2002; Eugster ve ark. 2003). Buna göre hız sabitinin potansiyele bağımlılığı Butler-Volmer eşitliğine uyar. Ancak ET'nin potansiyel farkına bağlı olmadığını açıklayan çok az sayıda deneysel çalışma vardır (Liu ve Mirkin, 1999; Shi ve Anson, 1999). Bu sapmanın konsantrasyon polarizasyonundan kaynaklandığı önerilmiştir. Ayrıca bu durum bilgisayar simülasyonları ile desteklenmiştir.

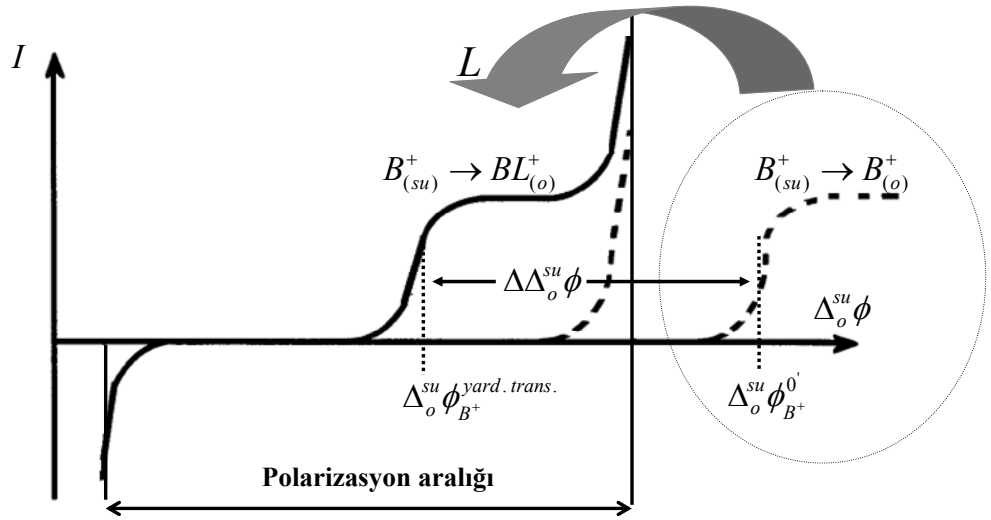
1.5.3. Fotokimyasal elektron transfer reaksiyonları (FET)

ITIES'de gerçekleşen fotokimyasal elektron transferi (FET) birçok kişi tarafından heterojen foto kataliz ve doğal fotosentez için bir model sistem olarak kabul edilmektedir (Volkov ve ark., 1996; Volkov ve ark., 1998; Volkov, 1998; Volkov ve ark., 1995; Volkov, 2003). 1960'larda Rabinowitch ve ark. (Mathai ve Rabinowitch, 1962; Frackowiak ve Rabinowitch, 1966) foto ürünlerin heterojen bir sistemle ayrılması ile daha yüksek enerji dönüşümlü yapay fotosentezin başarılabileceğini açıklamışlardır. 1970'lerde Volkov ve ark., iki çözünmeyen sıvı ara yüzeyinde adsorplanmış olan klorofilin, bir hidrofilik donör ve hidrofobik akseptör arasındaki elektron transfer reaksiyonunu foto katalizlediğini bulmuşlardır (Boguslavskii ve ark., 1977). Bu çalışma, ITIES'de güneş enerjisinin elektrokimyasal enerjiye dönüştürülebilme ihtimaliyetini ileri sürmüş ve sıvı|sıvı ara yüzeyde fotokimya alanındaki çalışmaların yoğunlaşmasına neden olmuştur.

1.6. Kompleks Oluşumu ve Yardımlı İyon Transferi (FIT)

Bir iyonunun transfer potansiyeli kullanılan potansiyel penceresinin dışında kalıyorsa bu iyon mevcut ara yüzeyde transfer olamaz. Özellikle metal iyonlarının sıvı|sıvı ara yüzeylerdeki transferi sadece analitik açıdan değil ayrıca elektro-saflaştırma açısından da çok önemlidir. Ancak metal iyonları çok fazla hidratlaştıkları için bunların organik faza transferi de çok zor olmaktadır. Dolayısı ile bu tarz iyonların organik faza transferi için farklı bir yaklaşım düşünülmelidir. Bu sorunun giderilebilmesi amacıyla farklı çalışmalar yapılmıştır.

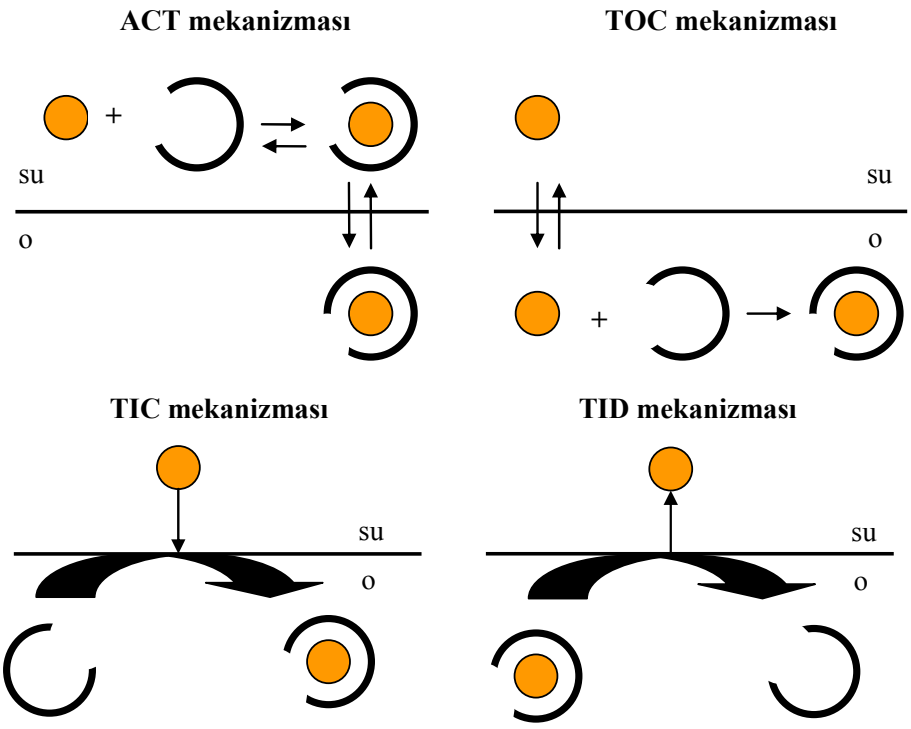
1979 yılında Koryta bu tür iyonların FIT reaksiyonları konusunda çok önemli bir çalışma gerçekleştirmiştir. Bu çalışmada potasyum iyonunun sentetik bir iyonofor olan di-benzo-18-crown-6 ile, sodyumun ise bir antibiyotik olan nonaktin ile yardımlı transferini çalışılmıştır. Bu sonuçlar ışığında Koryta organik fazda bulunan bir ligandın (genel anlamda iyonofor) iyon transferini kolaylaştırdığını göstermiştir (Koryta, 1979; Homolka ve ark., 1980).



Şekil 1.10. FIT reaksiyonunun şematik gösterimi

Elbette voltametrik açıdan FIT reaksiyonu, transfer olacak iyonun standart transfer potansiyelinin (dolayısıyla Gibbs transfer enerjisinin) daha düşük bir değere kayması ile açıklanır. Bu yüzden bir iyonoforun varlığı, iyonun transfer potansiyelini daha düşük pozitif değerlere kaydıracaktır. Bu ise, gözlenen akımın potansiyel penceresi içerisinde olmasını sağlayacaktır (Şekil 1.10.).

Mekanizma açısından FIT reaksiyonları Shao ve ark. (1991b) tarafından önerildiği gibi dört sınıfa ayrılmaktadır. Mekanizmalar aşağıdaki Şekil 1.11'de gösterilmiştir. Şekilde, ACT: Sulu fazda kompleksleşme ve ardından transfer (*Aqueous Complexation followed by Transfer*). TOC: Transfer ve ardından kompleksleşme (*Transfer followed by Organic Complexation*). TIC: Ara yüzeyde kompleksleşme ve ardından transfer (*Transfer by Interfacial Complexation*). TID: Ara yüzeyde dekompleksleşme ve transfer (*Transfer by Interfacial Decomplexation*)'dir.



Şekil 1.11. Muhtemel yardımlı iyon transferi mekanizmaları

Alkali-metal iyonlarından geçiş metal iyonlarına kadar çoğu katyonun yardımlı transferi N, O veya S ihtiva eden crown bileşiklerinden kaliksarenlere kadar birçok farklı iyonoforla çalışılmıştır.

FIT reaksiyonu asit veya baz varlığında (hidrofilik veya lipofilik) proton transfer için de uygulanabilir. Kontturi ve Murtomaki (1992) tarafından ilk olarak belirtildiği gibi ITIES'de protonlanmış veya proton kaybetmiş moleküllerin log*P* değerlerinin ölçülmesi için iyon transfer voltametrisinin harika bir metot olduğu ispatlanmıştır. Esasen terapik özellik gösteren moleküllerin Gibbs transfer enerjisi ile ilişkili olan log*P* değerleri, bir molekülün toksik özelliğinin değerlendirilmesi için çok önemlidir. Eğer

bir molekül lipofilik ise örneğin logP>2 ise o bileşik potansiyel olarak toksiktir. Terapik özellik gösteren moleküller ile ilgili ITIES-voltametrisi sıvı-sıvı ara yüzey elektrokimyasının başarılı uygulamalarından biridir (Reymond, 2001). Bu alanda ve son zamanlarda da Gulaboski ve ark. (2007) çalışmalar yapmaktadır.

1.7. Dönüşümlü Voltametri

Dönüşümlü voltametri elektrokimya alanında yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Özellikle bu sistem, redoks reaksiyonlarını araştırmak için kullanılan etkili bir metot olarak bilinmektedir. Ancak Samec ve ark.'nın (1979a) *IR* düşüşünü telafi edebilen dört-elektrotlu potansiyostatı ortaya çıkarması ile bu teknik sıvı-sıvı ara yüzeylerdeki yük transfer reaksiyonlarının araştırılmasında da çok etkili bir yöntem olmuştur. Tersinir iyon transferine ait dönüşümlü voltamogramlar (CV) metal-elektrolit çözelti ara yüzeyinde elde edilen CV'lere benzer özellikler gösterirler (Samec ve ark., 1979c). Ancak gözlenen akım elektron transferi neticesinde değil ara yüzeydeki iyon transferinden kaynaklanır.

Dönüşümlü voltametrinin temel uygulamalarından biri, iyonların formal transfer potansiyellerinin ($\Delta_o^{su}\phi_i^{0'}$) belirlenmesidir. Makro-ITIES'de gerçekleşen tersinir iyon transferi reaksiyonu için $\Delta_o^{su}\phi_i^{0'}$, metal elektrot-elektrolit çözelti ara yüzeyindeki tersinir elektron transferi durumunda olduğu gibi yarı dalga potansiyeli $\Delta_o^{su}\phi_i^{1/2}$ ile ifade edilebilir.

$$\Delta_o^{su}\phi_i^{1/2} = \Delta_o^{su}\phi_i^{0'} - \frac{RT}{zF}\ln\sqrt{\frac{D_i^o}{D_i^{su}}} \qquad \textbf{(1.32)}$$

Yarı dalga potansiyeli yarı-pik potansiyelini temsil ettiği için, deneysel olarak $\Delta_o^{su}\phi_i^{1/2}$ direkt olarak CV'lerden elde edilebilir. Yarı dalga potansiyeli sırasıyla $\Delta_o^{su}\phi_i^{ileri}$ ve $\Delta_o^{su}\phi_i^{geri}$ ileri ve geri yöndeki pik potansiyellerini ifade etmek üzere aşağıdaki eşitlikle ifade edilir.

$$\Delta_o^{su}\phi_i^{1/2} = \Delta_o^{su}\phi_i^{ileri} - \left(\frac{\Delta_o^{su}\phi_i^{ileri} - \Delta_o^{su}\phi_i^{geri}}{2}\right) = \Delta_o^{su}\phi_i^{ileri} - \frac{\Delta_o^{su}\phi_p}{2} \qquad \textbf{(1.33)}$$

Eşitlikte $\Delta_o^{su}\phi_p$, ileri ve geri yöndeki pikler arasındaki ayırımı (*peak-to-peak separation*) ifade etmektedir. Redoks reaksiyonları için geliştirilen kütle-transferi eşitlikleri, sınır koşulları ve Nernst eşitlikleri makro-ITIES'de gerçekleşen tersinir iyon transferi reaksiyonları için de yazılabilir. Olaya akım açısından bakıldığı zaman, ara yüzeyin polarizlenmesi ara yüzey boyunca yük akışına neden olur. Makro-ITIES'de lineer potansiyel taraması için, maksimum akım veya pik akımı *Randles-Sevcik* eşitliği ile ifade edilir:

$$I_p = 0.4463 z_i F A c_i^{\alpha} \left(\frac{z_i F}{RT} \right)^{1/2} (D_i^{\alpha})^{1/2} (\nu)^{1/2} \qquad \textbf{(1.34)}$$

A, ara yüzey alanı (cm^2); ν, tarama hızı (V/s); D_i^{α}, difüzyon katsayısı (cm^2/s) ve c_i^{α}, i iyonun ana faz konsantrasyonu (mol/cm^3). A fazı i iyonunun başlangıçta çözündüğü fazı ifade eder. Pik akımı I_p ise amper olarak ifade edilir. Eğer elde edilen sinyal iyon transferi reaksiyonundan dolayı meydana gelmişse, eğim lineerdir, tarama hızı ile değişir ve bu şekilde transfer olan iyonun difüzyon katsayısı hesaplanabilir. Şayet difüzyon katsayısı biliniyorsa, *Randles-Sevcik* ilişkisi iyonik ana faz konsantrasyonun belirlenmesinde kullanılabilir. Son olarak tersinir iyon yük transferi için, pik akımı (I_p) ve tarama hızının karekökü ($\sqrt{\nu}$) arasındaki grafik orijinden geçen düz bir doğru oluşturur. Özellikle ara yüzeyin çift tabaka kapasitansının artışı ile direkt ilgili olan adsorpsiyon prosesinin değerlendirilmesi konusunda da CV'lerden yararlanılmaktadır. Bu durumda farklı tarama hızlarının (ν) pik akımlarına (I_p) karşı grafiği adsorpsiyon proseslerinde lineer karakter taşımaktadır.

1.8. Sıvı-Sıvı Ara Yüzey Termodinamiği

ITIES termodinamiği Gibbs veya Guggenheim'in ara yüzey faz modeli esas alınarak çeşitli yazarlar (Gavach ve ark., 1977; Gross ve ark., 1978; Girault ve Schiffrin, 1983; Kakiuchi ve Senda, 1983a; Girault ve Schiffrin, 1984b) tarafından geliştirilmiştir. Bu alandaki genel işlemler ise Kakiuchi ve Senda (1983a) ile Girault ve Schiffrin (1984b) tarafından gerçekleştirilmiştir.

Kapalı bir termodinamik sistemin hali; sıcaklık, basınç ve iç enerji gibi hal fonksiyonları ile belirlenir. Buna göre tek-fazlı bir sistemin iç enerjisi aşağıdaki temel eşitlik ile tanımlanır:

$$dU = TdS - PdV + \sum \tilde{\mu}_i dn_i \qquad \textbf{(1.35)}$$

Ancak, iki-fazlı bir sistemde iki sıvı arasında bir ara yüzey bölge vardır ve bunun termodinamik özelliği ana çözeltiden farklıdır. Ara yüzey alanının (A) değişmesi mekanik iş (W) gerektirir.

$$\delta W = \gamma dA \qquad \textbf{(1.36)}$$

Eşitlikteki γ, yüzey gerilimi olarak adlandırılır. Bu yüzden bir sıvı|sıvı sistemin iç enerjisi aşağıdaki gibi ifade edilir:

$$dU = TdS - PdV + \sum \tilde{\mu}_i dn_i + \gamma dA \qquad \textbf{(1.37)}$$

1.8.1. Yüzey fazlası konsantrasyon ve Gibbs adsorpsiyon eşitliği

İç enerji ekstensif değişkenlerin bir fonksiyonudur ve homojen birinci mertebeden hal fonksiyonudur. Homojen fonksiyonlar için *Euler* teoremine göre eşitlik 1.37 integre edilirse:

$$U = TS - PV + \gamma A + \sum_i \tilde{\mu}_i n_i \qquad \textbf{(1.38)}$$

eşitliği elde edilir. Eşitlik 1.37 ile 1.38 birleştirilirse *Gibbs-Duhem* eşitliği elde edilir.

$$dU = TdS + SdT - PdV - VdP + \gamma dA + Ad\gamma + \sum_i \tilde{\mu}_i dn_i + \sum_i n_i d\tilde{\mu}_i \qquad \textbf{(1.39)}$$

Sabit sıcaklık, basınç ve bileşimde aşağıdaki toplam sıfıra eşit olmalıdır:

$$SdT - VdP - SdT + Ad\gamma + \sum_i n_i d\tilde{\mu}_i = 0 \qquad \textbf{(1.40)}$$

Buna göre, sabit sıcaklık ve sabit basınçta Eşitlik 1.41 elde edilir:

$$-d\gamma = \sum_i \frac{n_i}{A} d\tilde{\mu}_i = \sum_i \Gamma_i d\tilde{\mu}_i \qquad \textbf{(1.41)}$$

Eşitlikte Γ_i, yüzey fazlası konsantrasyon olarak tanımlanır ve bu eşitlik, sıvı|sıvı ara yüzeyler için Gibbs adsorpsiyon eşitliği olarak adlandırılır. Bu eşitlik ara yüzey termodinamiğinde önemli bir rol üstlenir.

1.8.2. Elektrokapilerite

Her ara yüzey şayet deneysel olarak özel bir durum incelenmiyorsa, elektriksel olarak az ya da çok belirli bir yüke sahiptir. Ara yüzey sisteminin enerjisi bu yüzden onun elektriksel durumuna bağlıdır. Elektrot-çözelti ara yüzeyindeki elektrokapilerite kavramı ile alakalı termodinamik işlemler sıvı|sıvı ara yüzeyler için ilk olarak Kakiuchi tarafından genelleştirilmiştir (Kakiuchi ve Senda, 1983b). Daha sonra Markin ve Volkov bu olayı daha detaylı olarak ele almışlardır (Volkov ve ark., 1996).

Deneysel olarak, verilen bir sistem için ara yüzey gerilimi Galvani potansiyel farkının bir fonksiyonu olarak ölçülebilir. İşte, ara yüzey geriliminin potansiyel farkına göre değişimini gösteren eğriler ITIES için elektrokapiler eğri olarak isimlendirilir. Elektrokapiler eğrilerin eğimi aşağıdaki eşitliğe göre yüzey fazlası yük yoğunluğunu verir:

$$\sigma^{su} = -\left(\frac{d\gamma}{d\Delta_O^{su}\phi}\right)_{T,P,\mu_i} \qquad \textbf{(1.42)}$$

Bu eşitlik metal|elektrolit ara yüzeyinden iyi bilinen *Lippmann* eşitliği ile aynı formdadır. Ara yüzey yük yoğunluğu aslında iyonik bileşenlerin yüzey fazlalığı ile ilgilidir. Deneysel olarak belirli bir Galvani potansiyel farkında, yüzey gerilimi bir iyonik bileşenin, örneğin A^+ konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak ölçülebilir.

Daha sonra bu Galvani potansiyel farkında A^+'nın yüzey fazlası konsantrasyonu belirlenebilir:

$$\Gamma_{A^+} = -\left(\frac{d\gamma}{d\mu_{AB}}\right)_{\Gamma_{su},\Gamma_O,\Gamma_{C^+},\Delta_O^{su}\phi} \qquad \textbf{(1.43)}$$

1.9. Adsorpsiyon olayı

Adsorpsiyon terimi kabaca, heterojen bir çevrede cereyan eden moleküller arası etkileşimlerle alakalıdır. Ara yüzey kavramı ise sayısal olarak anlamlı ve makroskopik olarak da ayırt edilebilir fazlar arasındaki bir sınırı belirtmektedir. Deneysel açıdan sıvı ara yüzeylerde adsorpsiyon olayının termodinamik analizi için yüzey gerilimi veya ara yüzey geriliminin kullanılabilmesinin çok avantajı vardır. Ara yüzey gerilimi Gibbs adsorpsiyon eşitliği gereği yüzey aktif maddenin adsorplanan miktarı ile ilgilidir. Eşitlik 1.41'e yeniden dönecek olursak:

$$\left(-d\gamma = \sum_i \Gamma_i d\mu_i \qquad (T\,ve\,P = sabit)\right)$$

Eşitlikte γ; ara yüzey gerilimi, Γ_i; i bileşeninin kısmi yüzey fazlalığı ve μ_i; bitişik fazdaki i'nin kimyasal potansiyelidir.

Sıvı|sıvı ara yüzeyde adsorpsiyon olayı çalışılırken esas olarak aşağıdaki yönler üzerinde durulmaktadır:

-Biyolojik öneme sahip bileşiklerin adsorpsiyonu

-Sürfaktantların (yüzey-aktif maddelerin) ve boya moleküllerinin adsorpsiyonu

-Adsorpsiyonun çift tabaka üzerine etkileri

ITIES'de biyolojik moleküllerin adsorpsiyonu ilk olarak Koryta ve ark. (1982) tarafından belirtildiği gibi öncelikli olarak biyolojik membran olayını anlama bakımından çok yararlıdır. Polarizlenmiş su|DCE ve su|nitrobenzen ara yüzeyinde, yüzey gerilimi ölçümü (Kakiuchi, 2001) ve Langmuir tekne modeli (Murtomaki ve ark., 2001) gibi farklı deneysel teknikler kullanılarak potansiyele bağımlı olarak bazı fosfolipit moleküllerinin (Girault ve Schiffrin, 1984c; Kakiuchi ve ark., 1988; Kakiuchi ve ark., 1989; Kakiuchi ve ark., 1990b; Grandell ve ark., 1999a) agregasyonu ve

monolayer oluşumu gözlenmiştir. Yüzey aktif bileşiklerin ve boya moleküllerinin ITIES'de adsorpsiyonu öncelikli olarak elektrokapilerite ve kapasitans ölçümleri kullanılarak daha sonra da yüzey hassas optik ve spektroskopik metotlar kullanılarak çalışılmıştır. ITIES'de iyonik yüzey aktif maddelerin ve boyaların adsorpsiyonunun potansiyel düşüşüne bağlı olduğu gösterilmiştir.

1.9.1. QELS (*Quasi-Elastic Laser Scattering*)

QELS, sıvı|sıvı ara yüzeydeki termal dalgalanmalardan eşzamanlı olarak meydana gelen kapiler dalgaların frekanslarının belirlenmesinde kullanılan bir metottur. Kapiler dalga frekansı ara yüzey geriliminin bir fonksiyonu olduğu için, ara yüzey geriliminde meydana gelen herhangi bir değişiklik doğrudan ara yüzeyde bulunan yüzey aktif moleküllerin yoğunluklarındaki değişiklikle orantılıdır.

Termal dalgalanmalar iki sıvı arasındaki ara yüzeyde meydana gelir. Optik (Beaglehole, 1987) ve nötron (Lee, 1991) yansıma deneyleri ile moleküler dinamik simülasyonları sıvı|sıvı ara yüzeyinin düz olmadığını aksine pürüzlü olduğunu gösterir. Pürüzlülük, kapiler dalga formunda görülür (Daikhin, 2000). Denge durumuna $(\xi = 0)$ göre ara yüzeyin yer değiştirmesi $\xi(\vec{r},t)$, aşağıdaki gibi tanımlanmıştır.

$$\xi(\vec{r},t) = \xi_0 \exp[i(\vec{k}\cdot\vec{r} + \omega t)] \qquad \textbf{(1.44)}$$

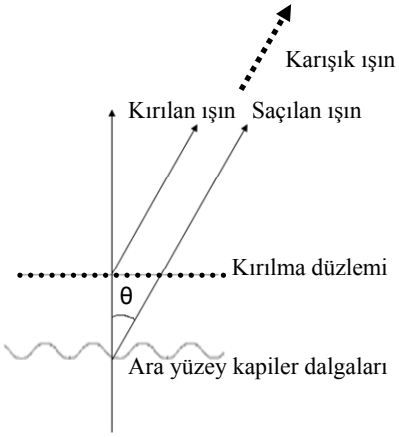
Burada $\vec{k}$, seçilen dalganın dalga vektörünü, ω ise onun kompleks frekansını $(\omega = \omega_0 + i(\Delta\omega))$ gösterir. Termal olarak uyarılmış kapiler dalgalar sıvıların viskozitelerinden kaynaklanan kuvvetler ile yüzey gerilimi ve yerçekimi gibi kuvvetlerin etkisi altında kaybolma eğilimlidir. Sıvı|sıvı ara yüzeydeki kapiler dalgaların hareketi *Lamb* eşitliği gibi hidrodinamik eşitliklerle tanımlanabilir (Lamb, 1945). Kısa uzunluklu kapiler dalgaların hareketine yerçekimine bağlı kuvvetlerin etkisi ihmal edilerek aşağıdaki eşitlik türetilebilir:

$$\omega_0 = \sqrt{\frac{\gamma k^3}{\rho^{su} + \rho^{o}}} \qquad \textbf{(1.45)}$$

Eşitlikte k; kapiler dalganın dalga sayısı, γ; yüzey gerilimi, ρ^r (r= su veya o); sıvıların yoğunluğu ve ω_0; kapiler dalganın pik frekansıdır. Deneysel olarak QELS tekniği seçilen belirli bir dalga sayısında kapiler dalganın güç spektrumunu ölçmemizi sağlar (Zhang ve ark., 1997; Trojanek ve ark., 2001a; Trojanek, 2001b). Güç spektrumu cihazda *Fourier* olarak dönüştürülür ve matematiksel olarak da *Lorentzian*'dır. Buna göre elde edilen spektrumdan karakteristik pik f_0 frekansı elde edilir. Eşitlik 1.45 yeniden düzenlenirse yüzey gerilimlerinin bulunmasında kullanılacak *Lamb* eşitliği (Eşitlik 1.46) türetilebilir.

$$f_0 = \frac{1}{2\pi}\sqrt{\frac{\gamma_i k^3}{\rho^{su} + \rho^o}} \qquad \textbf{(1.46)}$$

1.9.1.1. QELS metodunun çalışma prensibi



Şekil 1.12. Ara yüzeye gelen ışının dağılması ve kırılması

Şekil 1.12.'de gösterildiği gibi, lazer ışını ara yüzeye düşey olarak gelir ve ara yüzeyi aydınlatır. Bazı fotonlar ise burada belirli bir θ açısı ile ara yüzeydeki kapiler dalga tarafından saçılır.

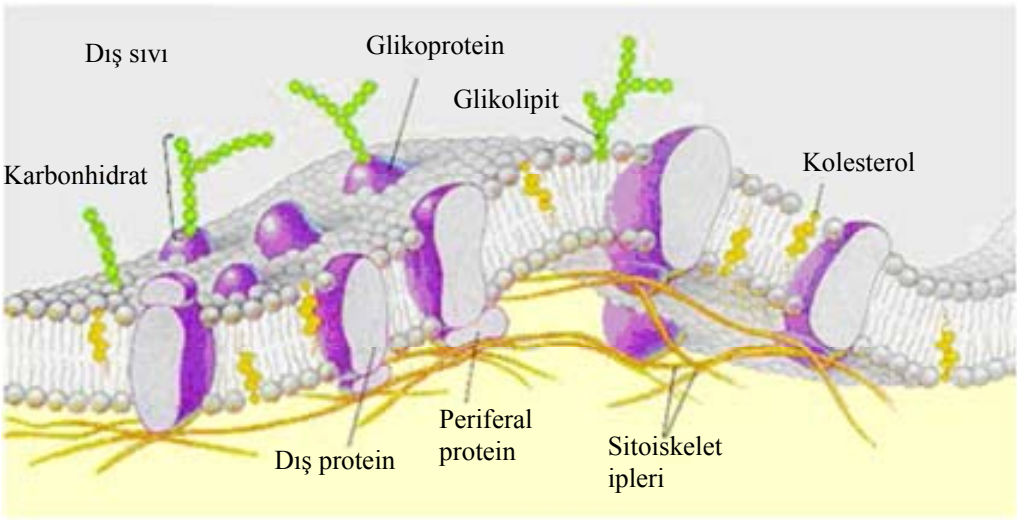
$$K \tan\theta = k \qquad \textbf{(1.47)}$$

Eşitlikte θ, saçılma açısıdır. K ve k sırasıyla gelen ışığın ve kapiler dalganın dalga sayılarıdır. Bu olayda gelen ışının frekansı ω, ω_0 frekansına sahip kapiler

dalgaya göre değişir. Saçılan ışın ise $\omega + \omega_0$ frekansına sahiptir. Saçılma işleminden sonra ışın bir yansıtma camını geçerek burada kırılır ve bu şekilde saçılan ve kırılan ışınlar karışmış hale gelir. Karışım halindeki ışın ise bir foto-diyotun önünde bulunan ışık geçiş yolu seçicisi ile belirli bir düzende seçilebilir. Bu yüzden foto-diyota $\omega + \omega_0$ frekansına sahip ışınlar gelir ve burada ω_0 frekansına sahip ışınlar seçilir.

1.10. Hücre Membranı ve Fosfolipitler

Canlı hücrelerdeki membranlar tüm prokaryotik, ökaryotik, bitki ve hayvan hücrelerinin hem yapısında hem de fonksiyonelliğinde önemli rol oynar. 1925 yılında Gorter ve Grendel'in (1925) eritrosit membranları ile ilgili gerçekleştirdikleri çalışmada fosfolipitlerin biyomoleküler yaprak formunda ve bir bilayer yapısında olduğu önerilmiştir. Ardından Singer ve Nicolson (1972) bu membranın sıvı mozaik modelinde olduğunu ve bu yapı içerisinde de proteinlerin serbestçe hareket edebildiğini göstermiştir. Daha sonraki çalışmalarda ise fosfolipit model yapılar içerisine proteinler



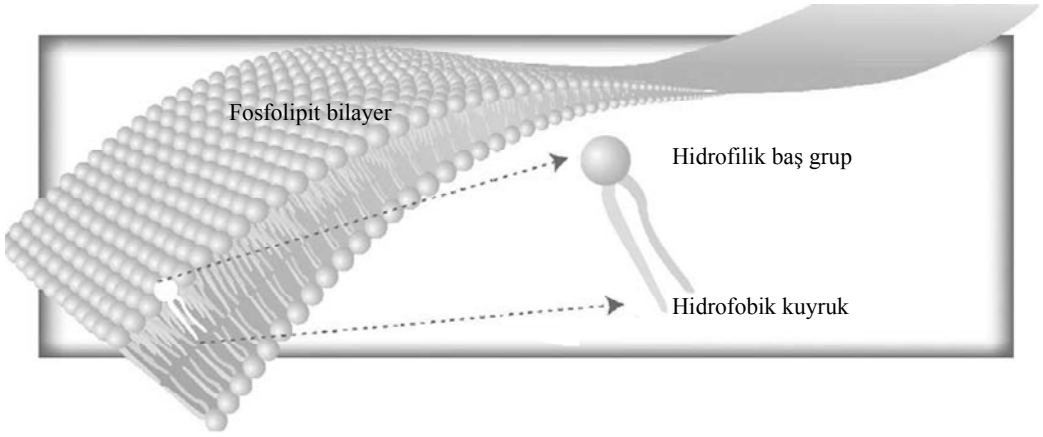
Şekil 1.13. Biyolojik membran yapısının şematik gösterimi (Santos, 2007)

ve karbonhidratlar ilave edilerek daha heterojen yapılar oluşturulmuştur (Sackmann, 1995). Model membranlarla yapılan çalışmalar lipit çevresinin, hücre membranlarında cereyan eden olaylar üzerinde çok büyük bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Crook ve ark., 1986; Stewart ve Boggs, 1993).

Tüm biyomembranlar aynı temel fosfolipit yapısına sahiptir ve hepsi belirli ortak özellikler taşırlar. Ancak her bir hücre membranı kendisi ile etkileşimde bulunan proteinlerle belirlenen farklı biyolojik aktiviteye sahiptir (Şekil 1.13.) (Chiras, 2005).

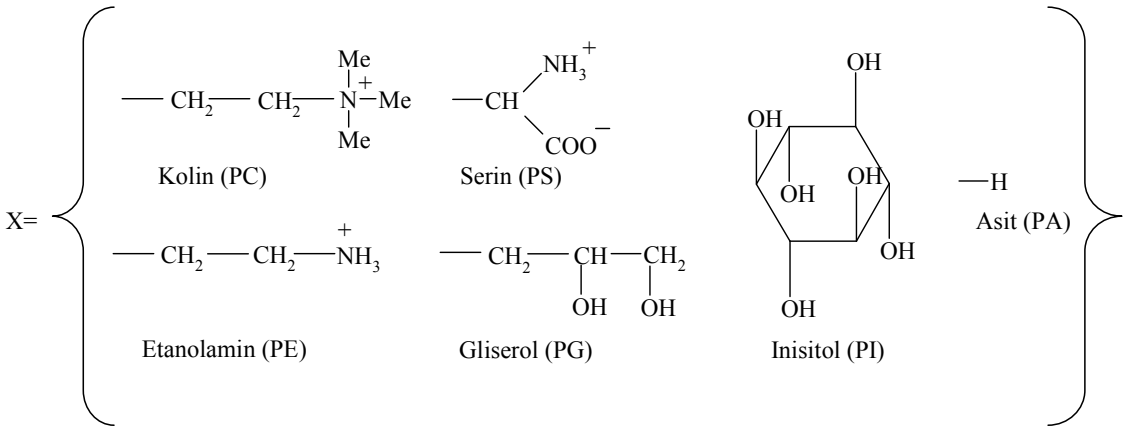
1.10.1. Fosfolipitler

Lipitler tüm canlı organizmalarda farklı görevlerde bulunabilirler. Hücre membranlarında en fazla bulunan lipit bileşenleri ise fosfolipitlerdir (Şekil 1.14).



Şekil 1.14. Biyolojik membrandaki fosfolipit bilayer yapısının şematik gösterimi

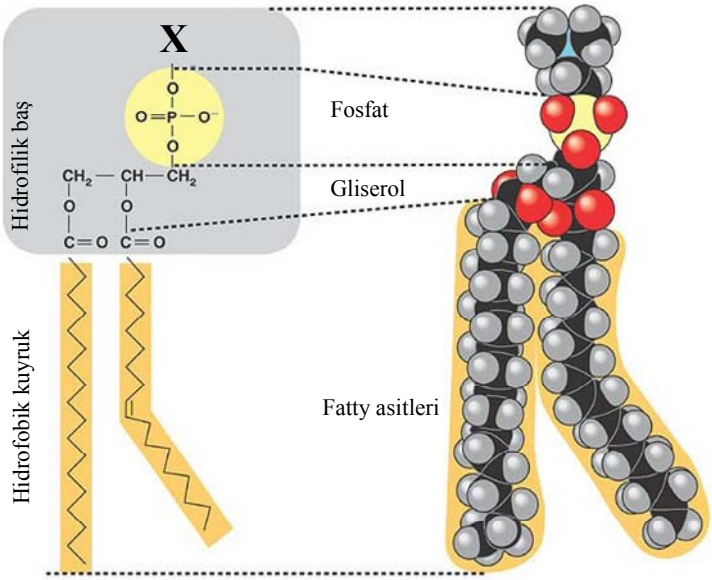
Fosfolipitler amfifilik moleküllerdir yani molekülün yapısında polar ve apolar bölgeler vardır. Bu şekildeki bir amfifilik yapı Şekil 1.16'daki gibi gösterilebilir.



Şekil 1.15. Fosfolipit yapısında bulunabilen farklı X grupları

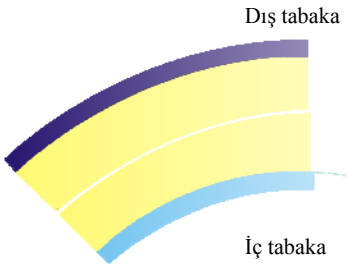
Yapılarındaki X grubuna göre farklı tipte lipitler vardır (Şekil 1.15.). Buna göre fosfolipitler; fosfotidilkolin (PC), fosfotidiletanolamin (PE), fosfotidilserin (PS),

fosfoinositol (PI), fosfotidilgliserol (PG), spingomiyelin (SH) ve negatif yüklü kardiyolipin gibi küçük lipit fraksiyonlarını içerir (Gennis, 1989).



Şekil 1.16. Amfifilik fosfolipit molekülünün şematik gösterimi

Fosfolipitler plazma membranın iç ve dış tabakasında asimetrik olarak dağılmıştır (Şekil 1.17). Nötral PC ve SH başlıca dış monolayerde bulunurken PE, negatif yüklü PS ve PI ise iç sitosolik monolayer tabakada bulunur (Nelson ve Cox, 2000).



Kırmızı kan hücrelerinde fosfolipitlerin dağılımı (% mol)

SH	PC	PE	PS
20	22	6	0
5	9	9	9

Şekil 1.17. Normal bir memeli hücresindeki fosfolipit dağılım yüzdesi (Rothman ve Lenard, 1977)

Lipitler birbirlerine Van der Waals, hidrofobik etkileşimler ve hidrojen bağı gibi etkileşimlerle bağlıdırlar ve bu bağlanma yapıyı yumuşak ve esnek hale getirir. Bu durum ise lipit fonksiyonu için şarttır. Yıllardır biyolojik membranlar için pek çok model sistem araştırılmakta ve kullanılmaktadır. Hava|sıvı ve sıvı|sıvı ara yüzeylerde

bulunan fosfolipit monolayerler ise biyolojik membranlar için model olarak kullanılabilmektedirler.

1.11. Anti-mikrobiyal peptitler

Antimikrobiyal peptitler (AMPs) neredeyse her organizmada bulunabilen kısa, katyonik, gen kodlu peptit antibiyotikleri temsil etmektedir (Zasloff, 2002). Farklı AMPs farklı özellikler sergilerler ve bu sınıftaki pek çok peptit antibiyotikler, antivirallar (Robinson ve ark., 1998; Albiol Matanic ve Castilla, 2004), peptit-hücre membranı etkileşimi için model peptitler (Henriques ve ark., 2006), savunma mekanizması düzenleyiciler (Bowdish ve ark., 2005) ve antitümör ilaçlar (Hoskin ve Ramamoorthy, 2008) olarak araştırılmaktadırlar.

AMP'ler; bakteri, mantar, bitki, böcek, kuş, kabuklu hayvan, amfibi ve memelilerde yaygın olarak bulunmaktadır (Ganz ve Lehrer, 1998; Boman, 2003). Doğal olarak meydana gelen peptitler 12 ile 50 aminoasit kalıntısından meydana gelmektedir ve α-helezon, β-şeridi, halka yapılı ve uzun zincirli şekillerde bulunabilirler (Hancock, 1997). Bu yapısal farklılık ve geniş dizilimlerine rağmen çoğu katyonik AMP'nin iki önemli özelliği bulunmaktadır. Birincisi katyonik AMP'ler poli katyoniktir (en azından +2 yük). İkincisi ise AMP'ler yapılarında hem hidrofilik hem de hidrofobik bölgelere sahiptir. Bu karakteristik özellik ise AMP'lerin membran sistemleri ile etkileşimini sağlar. AMP'lerin hedef hücreleri çok çabuk öldürebilme özellikleri vardır. Bu özellik klinik çalışmalarda AMP'lerin Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere, mantarlara, parazitlere ve tümör hücrelerine karşı göstermiş oldukları etki ile ortaya çıkarılmıştır (Maloy ve Kari, 1995; Hancock ve Lehrer, 1998). Geleneksel olarak kullanılan antibiyotiklerin pek çok bakteriye karşı göstermiş oldukları dirençten dolayı, özellikleri geliştirilen antimikrobiyal peptitler dünya genelinde gelecek antibiyotikler olarak düşünülmektedir (Hancock, 1999; Hancock, 2000; Toke, 2005; Hancock ve Sahl, 2006).

Bu konu hakkında pek çok çalışma yapılıyor olmasına rağmen, AMP'lerin hücre ölümüne sebep olan etkileşim mekanizması tam bir tartışma konusudur. Elde edilen pek çok veri çoğu AMP'nin spesifik bir protein reseptörden ziyade sitoplazmik membran ile etkileştiğini göstermektedir (Epand ve Vogel, 1999). Örneğin kekropin, magainin ve melittin gibi bazı membran aktif peptitlerin model membran sistemlerini geçtiği ve lipozomlardan floresans boya geçişine ve lipit bilayerde iyon transferine neden olduğu gösterilmiştir (Dathe ve Wieprecht, 1999; Cafiso, 1994). Peptit-membran

etkileşimlerinin açıklanabilmesi için pek çok teknik kullanılmaktadır. Örneğin mikroskopik teknikler (Park ve ark., 2000; Kalfa ve ark., 2001), X-ray kristalografi (Lee ve ark., 2004; Ladokhin ve ark., 1997a), NMR (Bechinger, 1999; Yamaguchi ve ark., 2002), floresan (Ladokhin ve ark., 1997b, Matsuzaki ve ark., 1997; Kang ve ark., 1998; Hristova ve ark., 1997; Zhao ve ark., 2001) veya CD optik spektroskopisi (Lee ve ark., 2004; Wu ve ark., 1990) ve ND (He ve ark., 1995; Ludtke ve ark., 1996) teknikleri bu amaç için kullanılmıştır.

1.11.1. Melittin

Kuşkusuz melittin (MLT) en fazla çalışılan ve en bol bulunan membran-aktif poli-peptitlerden biridir. MLT bal arısı venomunun (*Apis mellifera*) başlıca bileşenidir. Bu peptitin hemolitik ve antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Habermann, 1972; Tosteson ve ark., 1985; Weston ve Raison, 1998; Wachinger ve ark., 1998; Asthana ve ark., 2004). Son 30 yıl içerisinde MLT'nin farklı hücre membranlarıyla etkileşiminin moleküler mekanizmasını ve konformasyonel özelliklerini anlamak amacıyla pek çok çalışma gerçekleştirilmiştir. Dahası peptitin küçük yapısı ve kolay elde edilebilir olması bu peptiti protein kimyasının farklı yönlerinin çalışılması için iyi bir model bileşik haline getirmiştir (Khajehpour ve ark., 2004).

Daha spesifik olarak MLT'ne bakıldığında, peptitin GIGAVLKVLTTGL PALISWIKRKRQQ-$CONH_2$ sırasında 26 tane aminoasit kalıntısından meydana geldiği görülmektedir. 1-20 arası amino asit kalıntısı (amino uç bölgesi) hidrofilik özellik gösterirken, 21-26 arası bölge (C-uç bölgesi) pozitif yüklü aminoasitlerden dolayı hidrofobik özellik göstermektedir. Bu amfifilik özellik MLT'ni suda çözünür hale getirir ayrıca suni ve doğal membranlara karşı ise güçlü bir etkileşim kazandırır (Dempsey, 1990; Bechinger, 1997; Raghuraman ve Chattopadhyay, 2007a).

Nötral pH'larda düşük iyonik şiddetteki sulu çözeltilerde mikromolar konsantrasyonlarda bulunan MLT katlanmamış monomerik halde (*random coil*) bulunur (Wachinger ve ark., 1998; Dawson ve ark., 1978; Bello ve ark., 1982; Brown ve ark., 1980). Bu durum C-uç bölgesindeki yükler arası etkileşimlerden kaynaklanır. Yüksek iyonik şiddet ve yüksek peptit konsantrasyonlarında MLT, sulu çözeltide hidrofobik çekirdek oluşumu ile desteklenen α-helezonoik yapıda tetramer haline dönüşür (Shai,

2002; Wachinger ve ark., 1998; Bernheimer ve Bernardo, 1986; Quay ve Condie, 1983; Goto ve Hagihara, 1992).

MLT'in çökmesine sıcaklığın ve iyonik şiddetin etkisi, hassas floresans teknikler kullanılarak araştırılmış ayrıca bu olayın termodinamik yönleri ise CD (*circular dichroism*) yöntemi ile belirlenmiştir (Iwadate ve ark., 1998; Wilcox ve Eisenberg, 1992; Raghuraman ve Chattopadhyay, 2006). İyonik şiddeti yüksek olan çözeltiden kristallendirilen tetramerik haldeki MLT'nin X-ray yapısı (Terwilleger ve Eisenberg, 1982; Terwilleger ve ark., 1982) ve metanol içerisindeki NMR yapısı (Bazzo ve ark., 1988) MLT'nin 2 tane amfifilik α-helezonoik yapıdan meydana geldiğini göstermektedir. Bu yapıda hidrofobik ve hidrofilik yapılar karşı yönlerde bulunmaktadır.

Farklı lipit bileşimine sahip membranlarla etkileştiği zaman MLT α-helezonoik yapı meydana getirmektedir (Dempsey, 1990; Quay ve Condie, 1983; Frey ve Tamm, 1991; Dempsey ve Butler, 1992; Constantinescu ve Lafleur, 2004; Naito ve ark., 2000; Lam ve ark., 2001; Lad ve ark., 2007; Klocek ve Seeling, 2008). Düşük konsantrasyonlarda bulunan peptitin lipit bilayerlerde potansiyel-bağımlı iyon kanalları meydana getirmektedir. Bununla ilgili kanıtlar MLT ilavesinin iyonik geçirgenliği artırmasına ve bunların potansiyele bağımlı olmasına dayandırılmaktadır. Ayrıca iyonik geçirgenliğin MLT konsantrasyonuna 4. dereceden bağımlı olması MLT'nin membran içerisinde tetramer halinde iyon kanalları oluşturduğuna işaret etmektedir. Bu bağlamda membranlar-arası potansiyelin MLT'nin membran içerisindeki yönelimini etkilediği önerilmiştir (Dempsey ve Butler, 1992; Tosteson ve Tosteson, 1981; Tosteson ve Tosteson, 1984; Tosteson ve ark., 1990; Niu ve ark., 2000). Ancak membrana-bağlı MLT'nin yönelimi ile ilgili çoğu çalışmada membran-arası potansiyelin olmadığı model sistemlerde gerçekleştirilmiştir. Bu yüzden membran ortamında MLT'nin etkileşim mekanizmasının moleküler düzeyde anlaşılabilmesi çok önemlidir.

Bu amaçla son zamanlarda ATR-IR, floresans spektroskopisi (Haldar ve ark., 2008; Raghuraman ve Chattopadhyay, 2007b), OCD (Lee ve ark., 2004), elektrokimyasal impedans spektroskopisi (Steinem ve Gala, 2000; Becucci ve ark., 2006), SPR (Papo ve Shai, 2003), X-ray yansıma ve moleküler dinamik simülasyonları (Hristova ve ark., 2001; Bernèche ve ark., 1998; Bachar ve Becker, 2000; Glättli ve ark., 2006) ile MLT'nin membran sistemleri ile etkileşim mekanizması araştırılmaya çalışılmaktadır. Yapılan çeşitli çalışmalara göre MLT'nin membranlarla etkileşimine; membran lipit bileşiminin, peptit konsantrasyonun, su yöneliminin, hidrasyon

seviyesinin, iyonik şiddetin ve membran potansiyelinin etkili olduğu gösterilmiştir. Düşük peptit konsantrasyonlarında MLT'nin heliks ekseninin membran yüzeyine paralel yönelimde olduğu bilinmektedir. Ancak belirli bir peptit/lipit oranında membran içerisinde MLT dikey olarak yönlenir ve oyuklar oluşturur. Bu mekanizma ile ilgili kanıtlar büyük oranda CD ve X-ray tekniklerinin kullanılması ile edinilmiştir (Hristova ve ark., 2001).

MLT'nin hemolitik aktivitesi için oyuk oluşumu modeline bağlı olarak bazı çalışmalar "*barrel-stave"* (Rex ve Schwarz, 1998) mekanizmasını bazıları "*toroidal"* (Yang ve ark., 2001; Allende ve ark., 2005; Park ve ark., 2006; Huang, 2006; Sengupta ve ark., 2008) mekanizmasını önermişlerdir. Alternatif bir model olan "*carpet"* modelinde membran yüzeyine paralel yönelimde olduğu önerilmiştir (Bello ve ark., 1982; Brown ve ark., 1980; Bernheimer ve Bernardo, 1986; Iwadate ve ark., 1998; Quay ve Condie, 1983; Goto ve Hagihara, 1992) ancak tüm bu mekanizmalar dikkate alındığında sonuçta membran fonksiyonelliğinin yıkımı olmaktadır.

Farklı yaklaşımlar kullanılarak AMP-hücre membranı etkileşimi konusunda gerçekleştirilen pek çok çalışmaya rağmen, AMP'ler ve hücre membranları arasındaki etkileşimin kesin mekanizması konusundaki belirsizlik hala devam etmektedir. Bu yüzden AMP'ler ve lipitler arasındaki mekanizmanın nasıl gerçekleşeceği konusunda sadece kimyasal yatkınlıklar değil aynı zamanda membran potansiyeli ile ilişkili yollar da dikkate alınarak yapısal bilgilerin toplanması gerekmektedir. MLT-membran etkileşimindeki ilk kanıt monomerik peptitin fosfolipitle birleşimidir. Bu ise fosfolipit monolayerlerle kolayca modellenebilecek bir durumdur. Negatif yüklü fosfatidilgliseroller (PG) ve zwitter iyonik fosfolipitler (PC) bakteri ve memeli hücre mebranlarının modellenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

1.12. ITIES-Elektrokimyasının Tarihsel Gelişimi

ITIES elektrokimyasının ortaya çıkışı on dokuzuncu yüzyılın sonlarına dayanmaktadır. Buna göre sıvı|sıvı ara yüzeylerle ilgili ilk çalışmalar 1902 yılında, renkli inorganik elektrolitlerin su|fenol ara yüzeyindeki taşıma sayılarının belirlenebilmesi amacıyla Nernst ve Riesenfeld tarafından yapılmıştır (Melroy ve ark., 1981). Bu çalışmada su|fenol|su ara yüzeyinde iyon transferinden kaynaklanan bir akım gözlemlenmiştir. 1906 yılında Cremer'in su|fenol|su ara yüzeyi ile biyolojik membran ve çevresinin benzer özellikler taşıdığını vurgulamasının ardından, fizyolojistler de

biyolojik hücrelerde gözlenen akım ve potansiyel farkının araştırılması amacıyla model sistem olarak ITIES'de çalışmalar yapmaya başlamışlardır. Sıvı|sıvı ara yüzey ve biyolojik membran arasındaki benzerliğe rağmen, elektrokimyanın bu alanı uzun bir süre duraklama dönemine girmiştir. Bu durum temel olarak ITIES'deki potansiyel dağılımı ve ara yüzey yapısı ile ilgili bilgi eksikliğinden kaynaklanmıştır. Organik fazdaki *IR* düşüşü (ohmik potansiyel düşüşü) nedeniyle güvenilir verilerin elde edilemeyişi de bu alandaki gelişmeyi önemli ölçüde engellemiştir.

Verwey ve Niessen 1939 yılında ITIES'deki elektriksel çift tabakayı ve potansiyel dağılımını açıklayan ilk teorik çalışmayı gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmaya göre ITIES, ardı ardına iki tane "Gouy-Chapman" difüzyon tabakası olarak modellenmiştir. 1950'li yılların ortalarında Gustalla ve ark. (1957) su|nitrobenzen ara yüzeyinden geçen elektrik akımının etkisini ve daha sonra Blank (1966) tarafından tam olarak izah edilen elektro-adsorpsiyon olayını araştırmaya başlamışlardır.

ITIES'nin anlaşılmaya başlamasında temel taşı denebilecek iki önemli gelişmenin etkisi olmuştur. Bunlardan ilki Gavach ve ark. (1968) tarafından ITIES'nin metal elekrot|elektrolit çözelti ara yüzeyi gibi polarizlenebildiğinin deneysel olarak ispatlanması ve buna paralel olarak Koryta ve ark. (1977) tarafından polarizlenebilen ITIES'de iyon transferi kavramının ortaya çıkarılmasıdır. Bu gelişmenin ardından ITIES'de yük transferi ve ITIES'nin yapısı ile ilgili elektrokimyasal çalışmalar artmıştır. Ancak ITIES ile ilgili bu büyük gelişmelerin ardından yapılan çoğu deneysel çalışma kronopotansiyometri gibi kontrollü akım teknikleri ile analiz edilmiş ve elde edilen sonuçların yorumlanmasında metal|elektrolit çözelti ara yüzey sistemleri için geliştirilen teoriler kullanılmıştır. Ancak ara yüzey yapısı ve ara yüzeydeki potansiyel dağılımı ile ilgili bilgilerin eksikliğinden dolayı bu alandaki gelişmeler yine yavaşlamıştır. Bu alandaki ikinci önemli gelişme 1970'li yılların sonlarında, Samec ve ark. tarafından pozitif geri-besleme devresi kullanarak *IR* düşüşünü telafi eden 4-elektrotlu potansiyostatın ortaya çıkarılması ile yaşanmıştır (Samec ve ark., 1977; 1979a; 1979d). Bu deneysel yaklaşım ITIES'de hem yük transfer reaksiyonları hem de ara yüzey yapısı ile ilgili çalışmalarda, dönüşümlü voltametri (Samec ve ark., 1979b; 1979d), kronoamperometri (Kakutani ve ark., 1983), akım taramalı polarografi (Homolka ve Marecek, 1980), diferansiyel puls sıyırma voltametrisi (Samec ve ark., 1982), *ac* voltametri (Hundhammer ve ark., 1983) ve *ac* impedans (Samec ve ark., 1981b) gibi modern elektrokimyasal tekniklerin kullanılmasına olanak sağlamıştır.

Teknolojik bakış açısından, 1986 yılında Taylor ve Girault'un uzatılmış cam mikro-pipetin ucunda mikrometre boyutlu sıvı-sıvı ara yüzey oluşturmasıyla mikro-ITIES kavramı ortaya çıkmıştır (Taylor ve Girault, 1986). Daha sonra Girault'un grubu UV lazer tekniği ile ince inert bir membran içerisine bir mikro-oyuk yaparak mikro-ITIES oluşumunda diğer bir yaklaşım geliştirmişlerdir (Campbell ve Girault, 1989). Klasik makro-ITIES ile kıyaslandığında, mikro-ITIES klasik ultra-mikro-elektrotların tipik avantajlarına sahiptir; *IR* düşmesi ve yükleme akımı nedeniyle ortaya çıkan problemleri büyük oranda azaltırken, kinetik ölçümlerde kütle transfer hızını oldukça artırır. Çok daha düşük ohmik düşüş olduğu için mikro-ITIES'de elektrokimyasal ölçümler düşük konsantrasyonlardaki destek elektrolitleri varlığında gerçekleştirilebilir (Schmickler, 1997). Bu durum yük transfer reaksiyonları ile ilgili iyon çifti oluşumu etkisini azaltmaya yardım eder. Mikro-ITIES amperometrik ve potansiyometrik sensör uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Silva ve ark., 1997; Osborne ve Girault, 1995a; Osborne ve Girault, 1995b). Ayrıca 1990'larda membran-destekli ITIES (Wilke, 1994; Hundmammer, 1994; Wilke ve Muller, 1992) ve seçici iyonoforla birleştirilen organik polimer membranlar (Sawada ve ark., 1998) analitik kimya alanında elektrokimyasal sensörler olarak kullanılmıştır.

Son yıllarda gerçekleştirilen teorik ve deneysel çalışmalar, ITIES'de yük transferi ve ara yüzey yapısı konusunda yeni modeller ortaya çıkarmıştır. Örneğin Marcus, metal|elektrolit ara yüzeyinde kullanılan klasik elektron transferi ile ilgili teorileri ITIES alanına genişleterek elektron transferi konusunda önemli açıklamalar yapmıştır (Marcus, 1990a; Marcus, 1990b; Marcus, 1991). Benjamin ara yüzeydeki yük transfer prosesleri ve ara yüzey yapısı ile ilgili yeni bilgiler elde edebilmek maksadıyla moleküler dinamik simülasyonları geliştirmiştir (Benjamin, 1993; Benjamin, 1995; Benjamin, 1996; Benjamin, 1997; Schweighofer ve Benjamin, 1995). ITIES'de moleküler yönelimler konusunda detaylı bilgiler elde edebilmek için SHG (Conboy ve ark., 1997; Naujok ve ark., 1996), spektro-elektrokimyasal yaklaşımlar (Ding ve ark., 1998a) ve SECM (Wei ve ark., 1995; Tsionsky ve ark., 1996; Amemiya ve ark. 2000; Shao ve Zerda, 1998; Barker ve ark., 1999) ile ara yüzeydeki yük transfer reaksiyonları ile ilgili kinetik çalışmalar yapılmıştır. Son zamanlarda ise sıvı|sıvı ara yüzeylerin fonksiyonlandırılması ile ilgili önemli çalışmalar yapılmaktadır (Su, 2006).

1.13. Çalışmanın Amacı ve Kapsamı

ITIES'de cereyan eden yük transfer reaksiyonları, elektro-analiz, ilaç taşınımı ve membran biyofiziği gibi kimya ve biyoloji alanındaki uygulama alanlarından dolayı bir hayli ilgi görmektedir.

Biyolojik membranlar hücrelerin hem yapısal hem de fonksiyonel işlevinde rol oynayan önemli yapılardır. Bu yüzden membran fonksiyonelliğine sahip basit model membranların ortaya çıkarılması çok önemlidir. Yapısal özellikleri iyi anlaşılmış fosfolipit monolayerler gibi biyomoleküllerin model sistemlere ilavesi ile daha gerçekçi bir yaklaşım ortaya çıkarılmaya çalışılmaktadır. Bir bilayer membran biyolojik sistemler için daha iyi bir modeldir ancak, iki tane sulu çözelti|organik çözelti ara yüzeyinin bulunması deneysel verilerin analiz edilmesini çok zorlaştırmaktadır. Fosfolipit monolayerlerin biyolojik membranların yapısal olarak yarısını temsil ettiği düşünüldüğünden, fosfolipit monolayerler ile ilgili çalışmalar özellikle çok önemlidir. Bu şekildeki model yapılarda fosfolipit-fosfolipit, fosfolipit-protein (veya karbonhidrat) etkileşimleri araştırılabilmektedir.

Bir tek ara yüzeyi içeren ITIES sistemini kullanmanın temel avantajı ise fosfolipit monolayeri ile fonksiyonlandırılan ITIES'de meydana gelen potansiyel düşüşünün dışarıdan kesin olarak kontrol edilebilmesidir. Bu durum ara yüzeyde meydana gelebilecek bir iyon veya elektron transferinin yönlendirilebilmesini sağlamaktadır. Bu yüzden dönüşümlü voltametri gibi elektrokimyasal teknikler ara yüzeyde meydana gelen proseslerin değerlendirilebilmesi için kullanılabilmektedir. Bu bağlamda çalışmamızın temel amacı sıvı|sıvı ara yüzeyin fosfolipit adsorpsiyonu ile modifiye edilmesi ve biyolojik membran modeli çerçevesinde elde edilen ara yüzeyde özellikle kompleks oluşumu ve yük taşınımı gibi temel elektrokimyasal proseslerin değerlendirilmesidir.

Çalışmamızda ilk olarak ara yüzey yapısı, potansiyel dağılımı, adsorpsiyon ve yük transferi gibi sıvı|sıvı ara yüzey elektrokimyası alanındaki temel konular izah edilmeye çalışılmıştır. Ayrıca fosfolipitler ve antimikrobiyal peptitler konusunda da özet bilgiler verilmiştir. Tezin ikinci kısmında ise çalışma alanı ile ilgili literatür çalışmalarına yer verilmiştir. Üçüncü bölümde çalışmalarda kullanılan deneysel teknikler ve cihazlar açıklanmıştır.

Deneysel çalışmaların ilk kısmında sıvı|sıvı ara yüzey çalışmalarında geleneksel olarak kullanılan makro-ara yüzeyde, hücre membranlarının önemli bir lipit bileşeni

olan DPPC'nin potansiyostatik koşullar altında adsorpsiyonu incelenmiştir. Fosfolipitle fonksiyonlandırılmış ara yüzeyde ise sulu çözelti katyonu proton ile kompleks oluşum reaksiyonu voltametrik olarak protonun yardımlı transferi reaksiyonundan belirlenmiştir.

İkinci kısımda, ITIES çalışmalarının önemli sistemlerinden biri olan damla-elektrot sistemi ile ilgili çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Buna göre, DPPC'nin ara yüzeydeki adsorpsiyonu ve başta proton olmak üzere bazı sulu faz katyonları ile kompleks oluşumu voltametrik olarak incelenmiştir. Adsorpsiyon-desorpsiyon esnasında sulu damlanın şeklinde meydana gelen değişiklikler ise görsel olarak izlenmiştir. Damla elektrot sistemi için farkı redoks çiftleri kullanılmış ve birbirleri ile karşılaştırılmıştır. Yüzey gerilimi ölçümleri için ise farklı bir yöntem sunulmuştur.

Üçüncü kısımda, sıvı-sıvı ara yüzeyde bir antimikrobiyal peptit olan melittin ve fosfolipit DPPC arasındaki kompleks oluşumu hem QELS sistemi ile ara yüzeyin ara yüzey gerilimleri ölçülerek hem de voltametrik olarak incelenmiştir. Bu şekilde peptit-fosfolipit etkileşim mekanizmasında potansiyel farkının etkisi vurgulanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Fosfolipitler hücre membranlarının ana bileşenleridir ve bir polar uç ile uzun bir hidrokarbon yapısına sahip çift tabakalı bir yapı ile karakterize edilirler. Başlangıçta fosfolipit etkinliğinin düşük olduğu ve dolayısıyla membranların lipit bileşeninin inert bir matriks olduğu düşünülmüştür. Ancak yıllar geçtikçe membran yapısındaki fosfolipit fonksiyonelliğinin membranlarda cereyan eden pek çok reaksiyonu katalize eden aktif bir rol üstlendiği ortaya çıkmıştır (Sargent ve Schwyzer 1986).

Bu yüzden, peptit-fosfolipit etkileşimi daha genel bir yaklaşımla ilaç-fosfolipit etkileşimini belirlemek için kullanılan teknikler, ilaçların hücre membranlarındaki taşınması, dağılımı, etkileşim mekanizması ve birikmesini anlamak için çok önemlidir. Son zamanlarda, bu tarz etkileşimleri çalışmak için HPLC, NMR, IR, X-ray difraksiyon, floresans spektroskopisi, diferansiyel taramalı kalorimetri, ESR, CD, SPR, konfokal mikroskobisi, QM ve moleküler dinamik gibi metotlar kullanılmaktadır (Seydel ve Wiese, 2002).

Yaygın olarak kullanılan model membranlardan bazıları; vezikül süspansiyonlar, destekli bilayer veya monomerlerdir. Bu model membran şartlarında çoğu zaman tabakalar arasındaki potansiyel farkı kontrol edilememekte veya ihmal edilmektedir. Model membran konusunda bir diğer ilginç yaklaşım ise sıvı|sıvı ara yüzeylerde fosfolipit adsorpsiyonu neticesinde monolayer oluşumu üzerine kuruludur. Hücre membranlarında var olan trans-bilayer potansiyeli göz önüne alındığında bu ara yüzeylerde ara yüzey potansiyelinin kontrol edilebilmesi etkileşim mekanizmalarının araştırılmasında önemli bir rol üstlenmektedir. Dolayısıyla lipit monolayerlerdeki yük transfer reaksiyonlarının incelenmesi noktasında elektrokimyasal metodoloji daha uygun hale gelmektedir.

Bu bölümde sıvı|sıvı ara yüzeyde fosfolipit adsorpsiyonu ile ilgili çalışmalar ve buna bağlı olarak da fosfolipitlerle fonksiyonlandırılan ara yüzeylerde sulu çözelti iyonlarının kompleks oluşumu ve ara yüzeyden transferi ile ilgili çalışmalara yer verilecektir.

2.1. Sıvı|Sıvı Ara Yüzeyde Fosfolipit Adsorpsiyonu

Daha önceki bölümlerde de belirtildiği gibi fosfolipit monolayerler biyomembranların lipit iskeletinde meydana gelen moleküler etkileşimleri çalışmak için

uygun bir ortam sunmaktadır. Bu amaçla ITIES'de fosfolipit adsorpsiyonu ile bu ortamlar oluşturulmaya çalışılmaktadır. Polarizlenmiş sıvı|sıvı ara yüzeylerde fosfolipit adsorpsiyonu ile ilgili ilk çalışmalar Watanabe ve ark. (1968; 1971) tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalarda su|metilizobutilketon ara yüzeyinde ara yüzey gerilimi ile ilgili önemli bilgiler veren elektrokapiler eğrilerden fosfolipitin ara yüzeydeki adsorpsiyonu tanımlanmış ve karakterize edilebilmiştir. Ancak bu çalışmada organik faza ilave edilen destek elektrolitinin sonuçları biraz karmaşık hale getirdiği ortaya çıkarılmıştır. Bu çalışmaların ardından ITIES'de fosfolipit adsorpsiyonu, ilgi duyulan önemli bir konu olmaya başlamıştır.

Bu alandaki önemli bir çalışmada polarizlenebilen su|DCE ara yüzeyinde yumurta sarısından elde edilen PC (*fosfotidilkolin*) ve PE (*fosfotidiletonolamin*)'lerin adsorpsiyonu çalışılmıştır. İki faz arasındaki potansiyel farkının fonksiyonu olarak elde edilen elektrokapiler verilerden fosfolipit adsorpsiyonunun hem potansiyel hem de pH'a bağlı olduğu gösterilmiştir. Esasen nötral fosfolipitlerin ara yüzeyde adsorplandığı ve güçlü bir monolayer oluşturduğu ve bu monolayerlerde iyon transferi reaksiyonlarının çalışılabileceği vurgulanmıştır (Girault ve Schiffrin, 1984c).

1988 yılında Wandlowski ve ark. su|NB ara yüzeyinde l,2-*dilarolfosfatidilkolin* (DLPC), 1,2-*dimitritolfosfatidilkolin* (DMPC) ve DPPC fosfolipitlerinin adsorpsiyonunu çalışmışlardır. İmpedans tekniği kullanılarak elde edilen veriler Frumkin adsorpsiyon izotermi ile değerlendirilmiş ve fosfolipitlerin ara yüzeyde DLPC>DMPC>DPPC sırasına göre güçlü bir etkileşim gösterdikleri belirtilmiştir.

1996 yılında Li ve ark. ise asimetrik damla şekli analizi ile su|kloroform ara yüzeyinde DPPC ve *L-α-dimitritol fosfatidiletanolamin* (DMPE) fosfolipit tabakaları ile ilgili yüzey gerilimi ve yüzey fazlası lipit miktarlarını ölçmüşlerdir. Ayrıca aynı grup su|kloroform ara yüzeyinde fosfolipitlerin adsorpsiyon kinetikleri konusunda damla hacmi ve asılı damla tekniklerini kullanmışlardır. Buna göre DPPC ve DMPE fosfolipitlerinin ara yüzeyde difüzyon kontrollü adsorpsiyon mekanizmasına sahip oldukları belirtilmiştir (Li ve ark., 1996a; 1996b; 1996c).

1997 yılında Walker ve ark. D_2O ve karbon tetraklorür arasında meydana gelen sıvı|sıvı ara yüzeyde DLPC, DMPC, DPPC ve DSPC (*distearilfosfatidilkolin*) gibi dialkilfosfokolinlerin dizilimi ve moleküler yapısı konusunda ara yüzey gerilimi ölçümleri ile birlikte spektroskopik ölçümler yapmışlardır. Fosfolipitin alkil zinciri uzunluğunun fazla olmasının daha düzensiz bir monolayer meydana getirdiği belirlenmiştir. Bu çalışmanın devamı olarak Walker ve ark. (1998) tarafından DPPC'nin

su|karbon tetraklorür ara yüzeyindeki dizilimine alkil zincirinin etkisi incelenmiştir. Kısa alkil zincirine sahip fosfatidil kolinlerin ara yüzeyde daha düzenli bir dizilim gösterdikleri ortaya çıkarılmıştır.

2005 yılında Samec ve ark. polarizlenebilen sıvı|sıvı ara yüzeyde DPPC monolayerinin yapısını QELS tekniği ile incelemişlerdir. Çalışmalarda yaklaşık 0.3 V'luk bir potansiyel aralığı kullanılmış ve fosfolipit konsantrasyonu ise 0 ile 20 μM arasında değiştirilmiştir. Elde edilen elektrokapiler eğrilerden ara yüzeyin keskin yapılı olduğu ile ilgili teorik tahminlerin uyum içerisinde olduğu bulunmuştur. Aynı yıl Roozeman ve ark. (2005) polarizlenebilen su|DCE ara yüzeyinde farklı zincir uzunluğundaki doymuş ve doymamış hidrokarbon zinciri içeren bir seri fosfolipit moleküllerinin adsorpsiyonu ile ilgili yüzey gerilimi ölçümleri yapmışlar ve zincir uzunluğu artışının ara yüzeydeki adsorpsiyonu arttırdığı bulunmuştur. Benzer bir çalışma 2007 yılında Martins ve ark. tarafından farklı uzunlukta doymuş karbon zinciri bulunduran fosfatidilkolinlerin (DLPC, DPPC, DSPC, DAPC (*diarokidolfosfatidilkolin*) ve DBPC (*dibehenolfosfatidilkolin*)) su|DCE ara yüzeyindeki adsorpsiyonu kapasitans ölçümleri ile çalışılmış ve adsorpsiyonun; lipit konsantrasyonuna, uygulanan potansiyele ve fosfolipitin zincir uzunluğuna bağlı olduğu bulunmuştur.

2.2. Fosfolipitle Fonksiyonlandırılan Ara Yüzeyde Kompleks Oluşumu ve İyon Transferi

1982 yılında Koryta ve ark. ITIES'de monolayerler olarak adsorplanan fosfolipit tabakalarda iyon transferi kavramını ortaya çıkarmıştır. Cunnane ve ark. ise (1988b) sıvı|sıvı ara yüzeydeki bir fosfolipit monolayerde iyon transferi reaksiyonlarını çalışmıştır. Bu çalışmaya göre kompakt monolayer içerisinde bir boşluk oluşturmak için gerekli enerji hesaplanarak boşluk oluşum mekanizması ile tetraetilamonyum iyonunun transfer reaksiyonu ilişkilendirilmiştir.

1992'de Kakiuchi ve ark. bir fosfolipit monolayerde iyon transfer kinetiği ile ilgili birkaç çalışma gerçekleştirmiştir. İlk çalışmada DLPC, DMPC, DPPC, DSPC, DAPC ve DBPC gibi altı tane *L*-α-PC birbiri ile karşılaştırılmıştır. Yoğunlaşmış-sıvı halde bulunan monolayerlerin tetrametilamonyum (TMA^+) ve tatraetilamonyum (TEA^+) iyonlarının iyon transfer hızını azalttığı gözlenmiştir. Aksine genişlemiş-sıvı haldeki bu monolayerlerin her iki iyonun da iyon transferini hızlandırdığı gözlenmiştir (Kakiuchi ve ark., 1992a). Bu yazarlar, yoğunlaşmış-sıvı haldeki PC tabakaların transfer olan iyon

üzerinde bir hidrodinamik güç oluşturduğu oysa genişlemiş-sıvı haldeki bu monolayerlerin iyon transferi için geçirgen olduğu sonucunu çıkarmışlardır. İkinci çalışmada ise *dilauril fosfatidiletanolamin* (DLPE) tabakasının TEA^+ iyonunun transferini engellerken ClO_4^- iyonunu transferini engellemediği gösterilmiştir (Kakiuchi ve ark., 1992b). Son zamanlarda Monzon ve Yudi bu çalışmayı *distearil fosfatidik asit* (DSPA) kullanarak doğrulamış, fosfolipit tabakanın sıkı olduğunu ve TEA^+ iyonunun transferinin gerçekleşmediğini göstermişlerdir. Bunun yerine TEA^+ iyonları DSPA'nın polar baş grupları üzerinde adsorplanmakta ve bu adsorplanan katyonlar DSPA miktarı düşük olduğu zaman DSPA moleküllerinin nükleasyon merkezleri olarak davranmaktadır.

1994 yılında Yudi ve ark. fosfolipit monolayerle modifiye edilen su|1,2-dikloretan ara yüzeyinde bir antibiyotik olan *eritromisin*'in transferini çalışmışlardır. Çalışmalarda dönüşümlü voltametri ve elektrokimyasal impedans teknikleri kullanılmış ve fosfolipit monolayerin iyon transferini etkilediği gösterilmiştir.

Yapılan çalışmaların çoğunda makro-ITIES sistemi kullanılmıştır. Ancak kullanılan organik çözücüden kaynaklanan *IR* düşüşü yük transferi reaksiyonlarında kısıtlayıcı bir problemdir. İşte bu amaçla farklı deneysel sistemler kullanılmaya başlanmıştır. Kontturi ve ark. (1997) bir mikro-pipet ucunda oluşturulan mikro-ITIES'de adsorplanan fosfolipit monolayerlerde TMA^+ iyonunun transferi konusunda çalışmalar yapmışlardır. Bu çalışmada fosfolipitin ara yüzeyde iyonun transferini artırdığı gözlenmiştir. Aynı yıl Chesniuk ve ark. (1997) dönüşümlü voltametri ile, su|DCE ara yüzeyinde DBPC monolayerinin alkali ve toprak alkali metal iyonlarının transferine etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmaya göre de metal iyonunun konsantrasyonuna, yapısına ve uygulanan potansiyele göre ara yüzeydeki iyon transferinin engellendiği veya kolaylaştırıldığı bulunmuştur. Ayrıca metal iyonunun ara yüzeydeki fosfolipit molekülünün baş kısmında adsorplandığı da kanıtlanmıştır.

1997 yılındaki önemli bir yayında Tsionsky ve ark. ilk olarak SECM kullanarak sıvı|sıvı ara yüzeyde lipit adsorpisyonun ara yüzeydeki elektron transferini engelleyici yönde davrandığını belirtmişlerdir.

1999(b) yılında Grandell ve ark. su|DCE ara yüzeyinde DCSP'nin adsorpsiyonunu ve bu modifiye ara yüzeyde katyonik ilaç propranololün ve anyonik pikrat iyonlarının transferini çalışmışlardır. Lipit monolayerlerle ilgili izoterm çalışmalarından ve iyon transferine ait dönüşümlü voltamogramlardan pikrat iyonlarının

lipit monolayeri kararlı hale getirdiği ancak propranolol iyonlarının lipidin ara yüzeyden desorpsiyonunu hızlandırdığı belirlenmiştir.

Zwitter-iyonik (çift-yüklü) fosfolipitlerin ITIES'de adsorpsiyonunun katyon transferini kolaylaştırdığı ile ilgili bir çalışma da Manzaranes ve ark. tarafından geçekleştirilmiştir. Deney sonuçları ayrıca teorik hesaplamalar ile de desteklenmiştir (Manzaranes, 2000). 2003 yılında Samec ve ark. ITIES'deki bir PC monolayerindeki iyon adsorpsiyonunu araştırmak için basit bir model önermişlerdir. Bu modele göre: Çift-yüklü formdaki $L^{\pm}$ nin adsorpsiyonu; sulu faz katyonu R^{+} ile katyonik RL^{+} kompleksinin oluşumu ve organik fazdaki kompleksin desorpsiyonu ve organik fazda ayrışması basamakları bulunmaktadır.

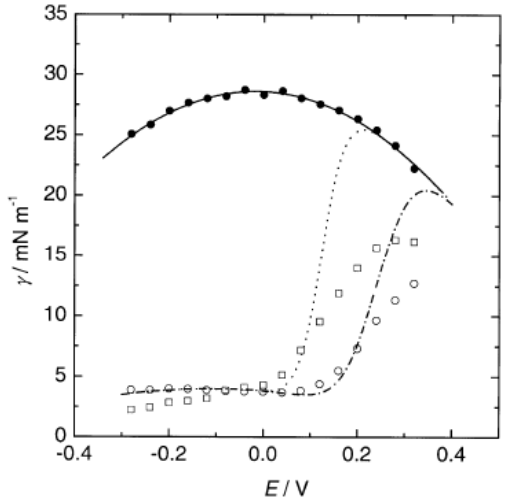
$$L^{\pm o} \Leftrightarrow L^{\pm ad}$$

$$R^{+su} + L^{\pm ad} \Leftrightarrow RL^{+ad}$$

$$RL^{+ad} \Leftrightarrow RL^{+o}$$

$$RL^{+o} \Leftrightarrow R^{+o} + L^{\pm o} \qquad \textbf{(2.1)}$$

Bu model çerçevesinde DPPC'nin polarizlenebilen ITIES'nin yüzey gerilimi üzerine olan etkisi elektrokapiler eğrilerle gösterilmiştir.



Şekil 2.1. ITIES'de DPPC adsorpsiyonuna dair elektrokapiler eğriler (Samec ve ark. 2003)

Bu modele göre DPPC ara yüzeyde hem zwitteriyonik hem de sulu çözelti iyonu ile kompleks oluşumu neticesinde katyonik olarak adsorplanmaktadır. Deneysel

çalışmalardan ve teorik hesaplamalardan elde edilen elektrokapiler eğriler Şekil 2.1.'deki gibi gösterilmiştir.

2004 yılında Maeda ve ark. su|DCE ara yüzeyinde DSPC adsorpsiyonunun ara yüzeyde katyon transferini engelleyici etki gösterdiği voltametrik olarak incelenmiştir. 2005 yılında Yoshida ve ark. tarafından su|DCE ara yüzeyinde adsorplanan fosfatidilkolin gibi fosfolipidlerin alkali metal iyonları, amonyum iyonu, alkilamonyum iyonları, katyonik aminoasitlerle ve Arg^+ ile bile kompleks oluşturabildiği açıkça belirtilmiştir. Ayrıca, çalışma şartları altında yaklaşık her katyonun transferinin kolaylaştırıldığı gösterilmiştir.

Son zamanlarda, fosfolipitlerin polar baş grubu ile sulu çözeltideki metalik katyonlar arasındaki güçlü etkileşimler Janchenova ve ark. (2007a; 2007b; 2008) tarafından araştırılmıştır. Bu çalışmalarda su|DCE ara yüzeyinde DPPC monolayerlerinin iyon çifti ve adsorpsiyon proseslerini içeren beş basamaklı bir mekanizma önerilmiştir. Önerilen mekanizma Samec ve ark. (2003) tarafından önerilen mekanizma ile uyum içerisindedir.

$$L^{\pm}_{(o)} \overset{1}{\Leftrightarrow} L^{\pm}_{(ads)} + H^{+}_{(su)} \overset{2}{\Leftrightarrow} HL^{+}_{(ads)} \overset{3}{\Leftrightarrow} HL^{+}_{(o)} + A^{-}_{(o)}$$
$$\overset{4}{\rightarrow} HLA_{(o)} \overset{5}{\rightarrow} HA_{(o)} + L^{\pm}_{(o)} \qquad \textbf{(2.2)}$$

Yukarıdaki reaksiyonda $L^{\pm}$; fosfolipitin zwitteriyonik halini, HL^{+}; fosfolipitin protonlanmış halini göstermektedir. Bu mekanizmanın ara yüzey potansiyeline, belirli bir aralıkta pH'a bağlı olduğu vurgulanmıştır. Mekanizmanın dördüncü ve beşinci basamaklarında ise organik fazın temel elektrolit anyonu ile kompleks arasındaki iyon çifti oluşumu gösterilmektedir ki bu durum Samec ve ark. (2003) tarafından belirtilmemiştir. Sovago ve ark. (2007) tarafından pozitif veya negatif yüklü fosfolipit ve kalsiyum iyonlarının bulunduğu monolayerlerde ilave sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca hücre membranların diğer bileşimlerinin de bu etkileşimlerdeki etkileri örneğin kolesterol etkisi incelenmiştir (Zhang ve Berkowitz, 2008).

Ancak literatüre bakıldığı zaman peptit-fosfolipit etkileşimini elektrokimyasal açıdan inceleyen sadece çok az bir çalışma bulunmaktadır. Bir başka ifadeyle, yapılan çalışmalarda ara yüzeydeki potansiyel ve yüzey basıncı ihmal edilmiştir. Örneğin Protopapa ve ark. (2006) fosfolipit monolayerlerde bazı peptitlerin dizilimlerini

elektrokimyasal açıdan incelemiş, Santos ve ark. (2007a; 2007b) ise fosfolipitle modifiye edilen sıvı|sıvı ara yüzeye, kanal oluşturan bir protein olan *Gramicidin* (gA) etkisi ve bu ara yüzeyde bu proteinin iyon transferini çalışmıştır. Son zamanlarda Mendez ve ark. (2008) ise polarizlenebilen su|DCE ara yüzeyinde DPPC ve hücre membranları ile etkileşimde bulundukları bilinen iki peptit arasındaki etkileşimleri incelemişler ve peptit-fosfolipit etkileşimi ile ilgili olarak bir mekanizma önermişlerdir. Bu mekanizmaya göre peptit ya ara yüzeyde adsorplanan fosfolipit üzerinde adsorplanmakta ya da adsorpsiyon olmaksızın bu peptitlerin fosfolipitle yardımlı transferi gerçekleşmektedir.

Biyolojik membran yapısını ve fonksiyonunu yıkıcı etki gösterebilen anti-mikrobiyal peptit çalışmaları çok ilginç bir çalışma konusudur. Aynı zamanda anti-mikrobiyal peptitlerin yerli hücreleri öldürmeyip sadece bakteri öldürme yeteneği büyük bir ilgi görmektedir. Özellikle bu, geleneksel olarak kullanılan antibiyotiklerin bakterilerin mutasyonundan dolayı üretimlerinin güç olmaya başlamasından kaynaklanmaktadır. Anti-mikrobiyal peptitlerin etkileşim mekanizmaları tam olarak bilinmemekle birlikte literatürde model membranlar kullanılarak antimikrobiyal peptitlerin etkileşim mekanizmalarının ortaya çıkarılabilmesi amacıyla pek çok çalışma yapılmaktadır. Ancak sıvı|sıvı ara yüzeylerde anti-mikrobiyal peptit konusu ile alakalı neredeyse hiçbir çalışma bulunmamaktadır. 2007 yılında Saint Martin ve ark. bir anti-mikrobiyal peptit varlığında ITIES'de fosfolipit monolayer oluşumu ile ilgili bir spektroskopik çalışma gerçekleştirmiştir. Deney sonuçlarına göre peptit ve lipit etkileşimleri sonucu ara yüzeydeki monolayer sıkılığı gevşemiştir. Aslında bu sonuç daha önce yüzey gerilimi ölçümleri ile elde edilen sonuçlarla uyum içerisinde görünmektedir. Belitmek gerekir ki yapılan çalışmada ara yüzeye dışarıdan herhangi bir potansiyel farkı uygulanmamıştır.

Özet olarak yapılan çalışmalardan ITIES'nin, fosfolipit adsorpsiyonu ve sulu çözelti katyonu ile fosfolipit yapısı arasındaki etkileşimlerin çalışılabilmesi için uygun bir ortam olduğu açıktır. Pek çok kez kompakt monolayerlerin bazı katyonların transferini engellediği ve anyon transferi için ise etkin bir bariyer olduğu gözlenmiştir. Son olarak, elektrokapiler verilerle birleştirilen yük transfer reaksiyonları açıkça fosfatidilkolin'lerin alkali metal katyonları ve peptitler için güçlü bir iyonofor olduğunu göstermiştir.

3. MATERYAL VE METOT

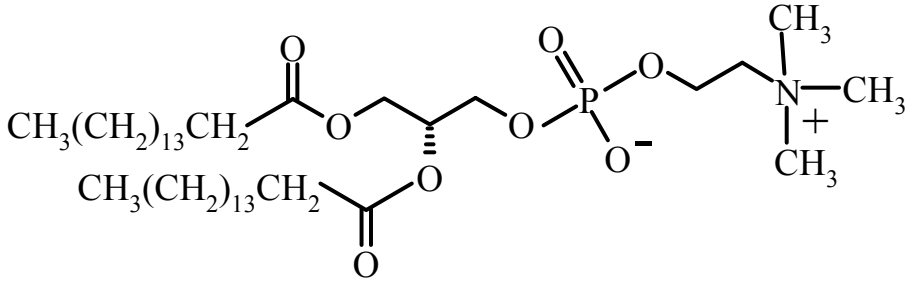
Bu bölümde, gerçekleştirilen üç çalışma için kullanılan materyal ve metotlar farklı alt başlıklar altında verilmiştir. Buna göre 3.1'de makro-ITIES çalışmaları, 3.2'de drop sistem çalışmaları ve 3.3'de ise QELS sistemi ile ilgili materyal ve metotlar açıklanmıştır.

3.1. Makro-ITIES'de DPPC Adsorpsiyonu ve Proton-DPPC Etkileşimi

3.1.1. Kimyasallar

— Fosfolipit; L-α-*dipalmitol fosfatidilkolin* (DPPC) (Şekil 3.1.), M = 734.1 g/mol-Sigma
— 1,2-dikloretan (DCE, %99)-Sigma-Aldrich
— Sezyum klorür (CsCl)-Fluka
— Lityum klorür (LiCl)-Fluka
— Bis(trifenilfosforanilidin)amonyum klorür (BTPPACl)-Fluka
— Liyum tetrakis(pentaflorfenil) borat dietil eterat (LiTPFB)-Boulder Scientific Company
— Tetrametilamonyum klorür (TMACl)-Fluka
— Ultra saf su (Milli-Q reagent water system, Millipore Milli-Q185)

Kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıktadır (≥ %98) ve daha fazla bir saflaştırma işlemi uygulanmadan temin edildiği gibi kullanılmıştır.



Şekil 3.1. L-α-*dipalmitol fosfatidilkolin* (DPPC)

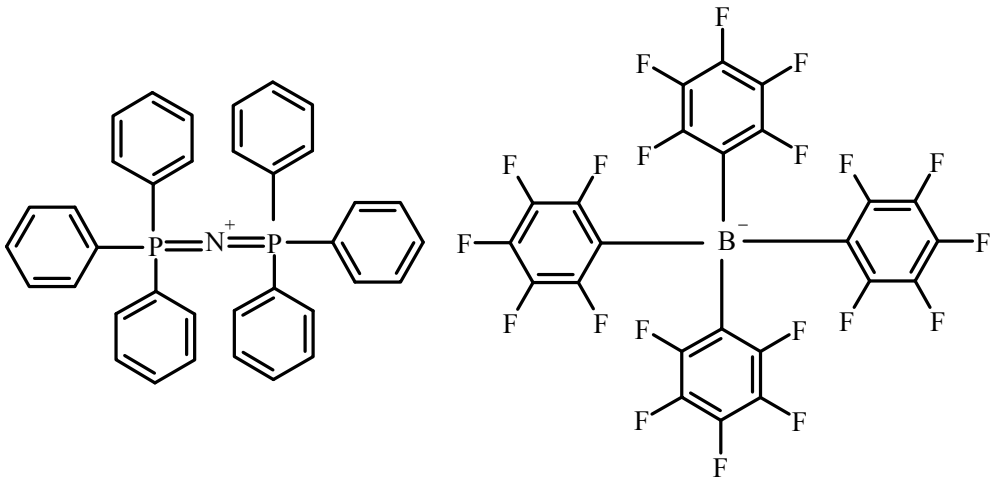
3.1.2. Referans Elektrotların ve Organik Faz Elektrolitlerinin Hazırlanması

Referans elektrot

Çalışmada kullanılan Ag|AgCl referans elektrodu, bir bataryanın pozitif ve negatif uçlarına sırasıyla gümüş (Ag) ve platin (Pt) tel bağlanarak 1.5 V'luk bir voltaj çıkışı ile hazırlanmıştır. Bataryaya bağlanan Ag ve Pt tel LiCl'nin 10 mM'lık sulu çözeltisine HCl eklenerek hazırlanan elektrolit çözeltiye daldırılmıştır. Devreden akım geçişi ile gümüş tel üzerinde çözünmeyen gümüş tuzunun (AgCl) bir tabakası oluşur. Pt telde ise protonun elektrolitik indirgenmesi gerçekleşir. Gaz çıkışı bitene kadar yaklaşık bir saat beklenir ve referans elektrot kullanıma hazır hale gelir.

Organik faz tuzu

Bu çalışmada Bis(trifenilfosforanilidin)amonyum tetrakis(pentaflorofenil) borat (BTPPATPFB) sıvı|sıvı ara yüzeylerdeki elektrokimyasal ölçümler için organik faz destek elektroliti olarak kullanıldı. Bu tuz sırasıyla, 2:1 metanol:su karışımında, 1:1 mol oranında bis(trifenilfosforanilidin)amonyum klorürün (BTPPACl) lityum tetrakis(pentaflorfenil) borat dietil eterat (LiTPFB) ile karıştırılmasıyla hazırlanmıştır. Elde edilen çökelti su ile yıkanmıştır ve asetonda yeniden kristallendirilmiştir. Elde edilen beyaz kristaller kullanılmadan önce vakum altında kurutulmuştur. Bu tuzun moleküler yapısı Şekil 3.2.'de gösterilmiştir.

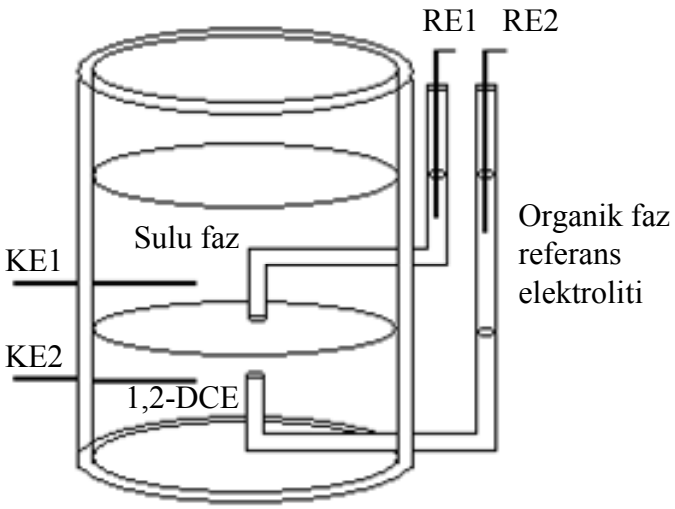


Şekil 3.2. Organik faz destek elektroliti BTPPATPFB'nin yapısı

3.1.3. Elektrokimyasal ölçümler

3.1.3.1. Dört-elektrot bağlantılı potansiyostat ve elektrokimyasal hücre

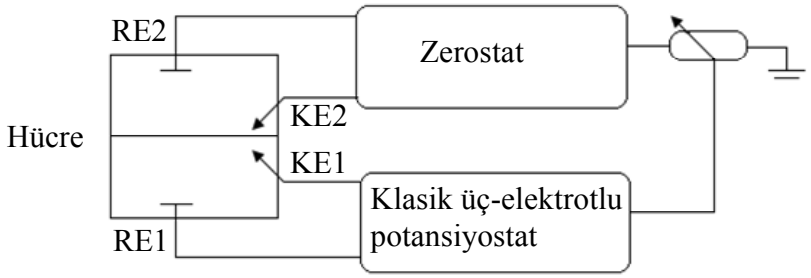
Makro-sıvı|sıvı ara yüzeylerdeki pratik elektrokimyasal ölçümler (dönüşümlü voltamogramlar) için 1.53 cm^2 geometrik alana sahip el yapımı silindirik cam hücre kullanılmıştır. Üstteki sulu faz ve alttaki organik faz arasındaki ara yüzey referans elektrotlar arasındaki ohmik direncin telafi edilmesi için iki *luggin* kapileri arasında oluşturulmuştur. Kullanılan elektrokimyasal cam hücre şematik olarak Şekil 3.3.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.3. Deneylerde kullanılan dört-elektrotlu cam hücrenin şematik gösterimi

Kullanılan elektrokimyasal hücre her bir deneyden önce sırasıyla kromik asit, kloroform, aseton ve ultra saf su ile temizlenmiştir. Ayrıca ara yüzeylerin oluşturulmasında kullanılan sulu ve organik fazlar birbiri içerisinde karşılıklı olarak doyurulmuştur. Her bir faz içerisine akım akışını destekleyen Pt karşıt elektrot yerleştirilmiştir. Ara yüzey Ag/AgCl'den meydana gelen ve şekilde RE1 ve RE2 olarak gösterilen iki referans elektrot vasıtasıyla polarizlenmiştir. Esasen RE_2, kapilerde oluşturulan polarizlenemeyen su|DCE ara yüzeyi ile birlikte organik faz referans elektrodu olarak rol oynar. Ara yüzeydeki yük transferi nedeniyle meydana gelen akım akışı ise iki karşı elektrot (KE1 ve KE2) yardımı ile ölçülmüştür. Kullanılan bu dört elektrot ise Şekil 3.4.'de şematik olarak gösterilen dört elektrotlu potansiyostata (AUTOLAB-PGSTAT 30, Metrohm, Switzerland) bağlanmıştır. Bu sistem ohmik

potansiyel düşüşünü telafi etmek için kullanılan geri besleme akımı içermektedir (Samec ve ark., 1979a; 1979c). Buna göre çözelti direncinden kaynaklanan *IR* potansiyel düşüşü pozitif-geri besleme metodu ile telafi edilmiştir.



Şekil 3.4. Elektrokimyasal hücreye bağlanmış dört-elektrotlu potansiyostatın şematik gösterimi

Polarizlenebilen sıvı|sıvı ara yüzeylerin oluşturulmasında kullanılan sulu faz içerisinde hidrofilik tuzlar organik faz içerisinde ise hidrofobik tuzlar bulunmaktadır. Şekil 3.5.'de makro-ara yüzey çalışmalarında kullanılan elektrokimyasal hücreler verilmiştir. Hücrelerde sulu faz ve organik faz için sırasıyla CsCl ve BTPPATPFB tuzları destek elektrolitleri olarak kullanılmıştır. Şekildeki çift-çizgiler polarizlenebilen sıvı-sıvı ara yüzeyi göstermektedir.

Ag | AgCl	10 mM CsCl 100 mM HCl (Su)	5 mM BTPPATPFB X μM DPPC (1,2-DCE)	1 mM BTPPACl 10 mM LiCl (Su)	AgCl | Ag	Hücre 1
Ag | AgCl	10 mM CsCl Y mM HCl (Su)	5 mM BTPPATPFB 25 μM DPPC (1,2-DCE)	1 mM BTPPACl 10 mM LiCl (Su)	AgCl | Ag	Hücre 2

Şekil 3.5. Makro-ITIES deneylerinde kullanılan elektrokimyasal hücreler

3.1.3.2. Galvani potansiyel farklarının belirlenmesi

İki referans elektrot yardımıyla ara yüzeye uyulanan potansiyel farkının (ΔE) Galvani potansiyel skalasına çevrilmesinde TATB kabullenmesi kullanılmıştır. Bu işlemler, formal transfer potansiyeli daha önceden bilinen TMA^+ (TMA^+Cl^- tuzu şeklinde) iyonunun her ölçüm sonunda sisteme ilave edilmesi ile gerçekleştirilmiştir. TATB kabullenmesine göre su|DCE ara yüzeyinde tetrametilamonyum katyonunun

(TMA^+) formal iyon transfer potansiyeli 0.160 V olarak alınmıştır (Abraham, 1976). Yapılan tüm ölçümler 22 ± 1 °C oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Dönüşüm hesaplamalarında aşağıdaki eşitlik kullanılmıştır:

$$\Delta E = \Delta_o^{su}\phi + E_{ref} \quad \textbf{(3.1)}$$

3.1.4. Adsorpsiyona Fosfolipit konsantrasyonunun ve sulu faz pH'ının etkisinin belirlenmesi

İlk olarak Şekil 3.5'de verilen Hücre 1 kullanılarak su|DCE ara yüzeyinde DPPC adsorpsiyonuna fosfolipitin konsantrasyonunun etkisi incelenmiştir. Bu amaçla 100 mM asit içeren su fazı ve uygun miktarda fosfolipit içeren DCE fazı temas ettirilerek ara yüzey oluşturuldu. CV'ler, fosfolipitin ara yüzeyde maksimum düzeyde adsorplandığından emin olmak için başlangıç potansiyelinde 60 saniye bekledikten sonra tarama işlemi gerçekleştirilerek elde edilmiştir.

Adsorpsiyona sulu çözelti pH'ının etkisinin belirlenebilmesi amacıyla ise 25 µM DPPC içeren DCE fazının farklı konsantrasyonlarda hidrojen iyonu içeren sulu faz ile teması ile oluşturulan ITIES'de deneyler gerçekleştirilmiştir.

Fosfolipit varlığında elde edilen CV'lerden zemin akımları çıkarılarak ileri yöndeki potansiyel taraması esnasında sistemden geçen yükler de hesaplanmış ve voltamogramların yanında verilmiştir. Elde edilen tüm voltamogramların ön taraması esnasında ($E1$ ve $E2$ potansiyelleri arasında) sistemde meydana gelen yük akışı aşağıdaki formül (3.2) kullanılarak hesaplanmıştır. Bu çalışmada sunulan tüm yük-potansiyel ilişkileri aynı yol takip edilerek belirlenmiştir. Tüm işlemlerde *Igor Pro* (*version 5*) programı kullanılmıştır.

$$Q = \frac{1}{\nu A}\int_{E1}^{E2} I.\,\mathrm{d}E \quad \textbf{(3.2)}$$

Eşitlikte Q; yük, ν; tarama hızı, A; ara yüzey alanı, E; potansiyel, I; akımdır. Bunun için ilk olarak fosfolipitli ortamda elde edilen CV'deki akım değerinden, organik fazda fosfolipit olmadığı durumda elde dilen zemin akımı çıkarıldı ve net akım değeri

elde edildi ve yukarıdaki formül gereği integrasyon işlemi ile de ara yüzeydeki yük akışı hesaplandı.

3.2. Damla Sistemi: Sıvı|Sıvı Ara Yüzeyde Fosfolipit Adsorpsiyonunun Voltametrik ve Görsel Kanıtları

3.2.1. Kimyasallar

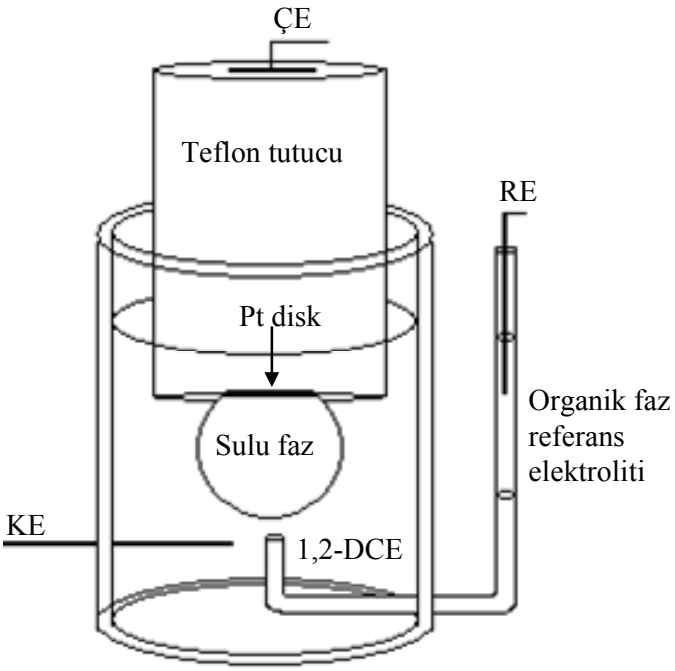
— Fosfolipit; L-α-*dipalmitol fosfatidilkolin* (DPPC), *M* = 734.1 g/mol-Sigma
— 1,2-dikloretan (DCE, %99)-Sigma-Aldrich
— Demir (II) sülfat ($FeSO_4$)-Merck
— Demir (III) sülfat ($Fe_2(SO_4)_3$)-Fluka
— Potasyum hekzaklorirridat (IV) (K_2IrCl_6, %99.99)-Aldrich
— Potasyum hekzaklorirridat (III) (K_3IrCl_6), %99,99-Sigma
— Tetraetil amonyum klorür (TEACl)-Fluka
— Bis(trifenilfosforanilidin)amonyum klorür (BTPPACl)-Fluka
— Liyum tetrakis(pentaflorfenil) borat dietil eterat (LiTPFB)-Boulder Scientific Company
— Aseton ve Etanol (EtOH)-Fluka
— Ultra saf su (Milli-Q *reagent water system,* Millipore Milli-Q185)

Organik faz tuzları: Organik faz tuzları olarak $BTPPA^+TPFB^-$, TEA^+TPFB^- kullanılmıştır. Destek elektroliti olarak kullanılan BTPPATPFB'nin hazırlanması 3.1'de açıklanmıştır. Referans olarak kullanılan TEATPFB tuzu ise, 2:1 metanol:su karışımında 1:1 mol oranında tetraetil amonyum klorür (TEACl) ve lityum tetrakis(pentaflorfenil) borat dietil eterat (LiTPFB)'ın karıştırılmasıyla hazırlanmıştır. Elde edilen çökelti su ile yıkanmıştır ve asetonda yeniden kristallendirilmiştir. Elde edilen beyaz kristaller kullanılmadan önce vakum altında kurutulmuştur.

3.2.2. Elektrokimyasal hücre ve ölçümler

Üç elektrotlu bu sistemde bir teflon tutucuya tutturulmuş 0.06 ± 0.01 cm^2 yüzey alanına sahip Pt disk elektrot (Metrohm CH) kullanılmıştır. Bu elektrot her bir deneyden önce temizleme cihazı (Grinder-Polisher, Buehler-Metaserv, England) ile sırası ile 1.0;

0.3 ve 0.05 mikronluk alümina (Deagglomerated alumina, Alpha micropolish II, Buehler, England) ile temizlenmiştir. Temizleme işleminden sonra elektrot belirli bir zaman aralığında sırası ile ultra saf su, etanol ve aseton ile ultrasonagrafik olarak yıkanmıştır. Sıvı|sıvı ara yüzey oluşturmak için kullanılan su ve organik çözücü birbiri ile karşılıklı olarak doyurulduktan sonra kullanılmıştır.



Şekil 3.6. Deneylerde kullanılan üç-elektrot bağlantılı cam hücrenin şematik gösterimi (KE: Karşıt elektrot; RE: Referans elektrot, ÇE: Çalışma elektrodu)

Daha sonra eşdeğer mol oranlarında K_2IrCl_6 /K_3IrCl_6 veya $FeSO_4/Fe_2(SO)_3$ redoks çiftini içeren 10 µL'lik sulu çözelti bir enjektör yardımıyla Pt disk elektrot üzerine enjekte edilmiş ve bu şekilde sulu çözelti elektrot üzerinde damla halinde asılı kalmıştır. Damla ile kaplanan elektrot ters çevrilerek Şekil 3.6.'da gösterilen ve bir önceki bölümde anlatıldığı gibi temizlenen 3-elektrot bağlantılı silindirik cam hücre içerisinde bulunan ve BTPPATPFB destek elektrolitini içeren DCE çözeltisine (2.5 mL) daldırılmıştır. Bu şekilde su damlası ve DCE arasında polarizlenebilen sıvı|sıvı ara yüzey meydana gelmiştir. Şekil 3.7.'de, bu çalışmada kullanılan elektrokimyasal hücreler gösterilmiştir.

Bir platin kablo karşıt elektrot (KE) olarak, AgCl ile kaplanmış Ag kablo ise referans elektrot (RE) olarak kullanılmıştır. Voltametrik ölçümler programlanabilir bir potansiyostat (AUTOLAB-PGSTAT 30, Metrohm, Switzerland) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elektrokimyasal hücre her zaman ilk olarak kromik asit ile daha

sonra da ultra saf su ile temizlenerek kullanılmıştır. *IR* potansiyel düşüşü ise pozitif-geri besleme metodu ile telafi edilmiştir.

Ag	AgCl	10 mM LiCl 1 mM BTPPACl (Su)	10 mM BTPPATPFB (1,2-DCE)	10 mM K_2IrCl_6 10 mM K_3IrCl_6 X mM HCl (Su damlası)	Pt	Hücre 1
Ag	AgCl	10 mM LiCl 1 mM BTPPACl (Su)	10 mM BTPPATPFB (1,2-DCE)	10 mM K_2IrCl_6 10 mM K_3IrCl_6 Z mM $CaCl_2$ (Su damlası)	Pt	Hücre 2
Ag	AgCl	10 mM LiCl 1 mM BTPPACl (Su)	10 mM BTPPATPFB (1,2-DCE)	10 mM $FeSO_4$ 5 mM $Fe_2(SO_4)_3$ X mM HCl (Su damlası)	Pt	Hücre 3

Şekil 3.7. Damla sisteminde kullanılan elektrokimyasal hücreler

İyon transferi için tüm potansiyeller TEA^+ iyonunun yarı-dalga potansiyeli ile ilgilidir. TEA^+ iyonlarına ait yarı dalga potansiyelleri her deneyin sonunda organik faza belirli miktarda TEA^+TPFB^- ilave edilerek belirlenmiştir. TATB kabullenmesine dayanılarak TEA^+'nın yarı dalga potansiyeli 0.048 V olarak alınmıştır. Yapılan tüm ölçümler 22±1 °C oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Voltametrik ölçümler esnasında sulu damlanın video görüntüleri ise taşınabilir bir mikroskop (Proscope HR, Bodelyn Technologies, USA) yardımıyla kaydedilmiştir.

3.2.3. Görüntü analizleri

Görüntü analizleri için, damlanın geometrik şekli kesilmiş yassı küre olarak düşünülmüştür. Buna göre bir küre için genel Kartezyen eşitliği şu şekildedir:

$$\frac{x^2 + y^2}{a^2} + \frac{z^2}{c^2} = 1 \qquad \textbf{(3.3)}$$

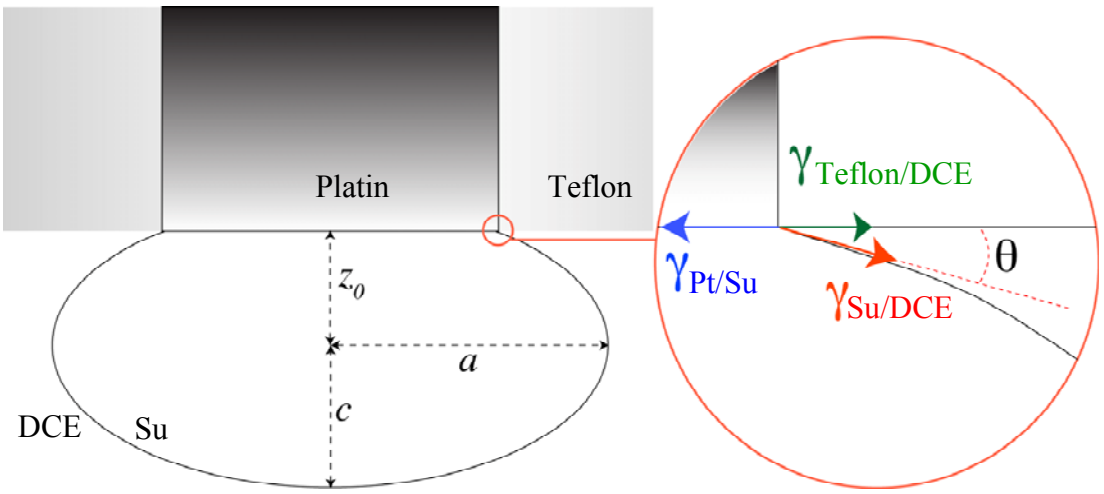
Eşitlikte a kürenin yatay yarıçapı, c ise düşey yarıçapıdır. y=0 olduğu zaman küre eşitliği basit elips için geçerli olan eşitliğe dönüşebilir ve dolayısıyla kürenin alanı (A) ve hacmi (V) aşağıdaki gibi ifade edilebilir:

$$A = 2\pi \int_{-c}^{z_0} g(z)\sqrt{1+\frac{\partial^2 g(z)}{\partial z^2}}\,dz \qquad \textbf{(3.4)}$$

$$V = \pi \int_{-c}^{z_0} g(z)^2\,dz \qquad \textbf{(3.5)}$$

Kesilmiş kürede z_0 merkezden dikey mesafe olduğunda (Şekil 3.8.) ayrıca kesik fonksiyonu $g(z)$ şu şekilde ifade edilir:

$$g(z) = a\sqrt{1-\left(\frac{z}{c}\right)^2} \qquad \textbf{(3.6)}$$



Şekil 3.8. Su damlası ile kaplanmış bir Pt disk elektrodun DCE çözeltisine daldırılmasının şematik gösterimi

Eğer platin ve teflon yüzeylerinin polarizasyon esnasında büyük oranda değişmeden kaldığı düşünülürse, Pt-Teflon-Su-DCE ara yüzey sınırındaki kuvvet dengesi aşağıda verilen temas açısı θ ile ilişkilidir.

$$\gamma_{Pt/Su} = \gamma_{Teflon/DCE} + \gamma_{Su/DCE} \cdot \cos\theta \qquad \textbf{(3.7)}$$

Bu eşitlik şu şekilde de ifade edilebilir:

$$Sec(\theta) = \frac{\gamma_{Su/DCE}}{\gamma_{Pt/DCE} - \gamma_{Teflon/DCE}} \approx \frac{\gamma_{Su/DCE}}{cte} \qquad \textbf{(3.8)}$$

Bu eşitlik bize su ve DCE arasındaki ara yüzey geriliminin, temas açısının kosinüsü ile ters orantılı olduğunu göstermektedir. Buna göre, voltametrik ölçümler esnasında kaydedilen video görüntülerinden a, c ve z_0 belirlenerek $\cos(\theta)$'nın tersi şu şekilde hesaplanmıştır:

$$\sec(\theta) = -\sec\left(\arctan\left(\left.\frac{dg(z)}{dz}\right|_{z=z_0}\right)\right) = \sqrt{1+\left(\left.\frac{dg(z)}{dz}\right|_{z=z_0}\right)^2} = \sqrt{1+\frac{a^2 z_0^2}{c^2\left(c^2 - z_0^2\right)}} \qquad \textbf{(3.9)}$$

Damla şekilleri *Mathematica* 7.0 programı kullanılarak belirlenmiştir. Damla şekillerinin belirlenmesinde aşağıdaki kabullenmeler yapılmıştır:

1) Damlanın hacmi sabittir, yani varsayılan geometrik şekle bağlı değildir.

2) Damlanın elektrot ile temasta bulunan çapraz alanı sabittir ve platin elektrodun alanını temsil etmektedir ve sulu fazın hacmi metalik yüzeyi tamamen kaplayacak çokluktadır.

3.3. Su|DCE Ara Yüzeyinde Antimikrobiyal Peptit Adsorpsiyonu ve Peptit-Fosfolipit Etkileşimi

3.3.1. Kimyasallar

— Fosfolipit; L-α-dipalmitol fosfatidilkolin (DPPC), *M*=734.1 g/mol-Sigma

— Antimikrobiyal peptit; Melittin (MLT), *M*=2846.46 g/mol-Sigma (Şekil 3.9)

— 1,2-dikloretan (DCE, %99)-Sigma-Aldrich

— Bis(trifenilfosforanilidin)amonyum klorür (BTPPACl)-Fluka

— Liyum tetrakis(pentaflorfenil) borat dietil eterat (LiTPFB)-Boulder Scientific Company

— Lityum klorür (LiCl)-Fluka

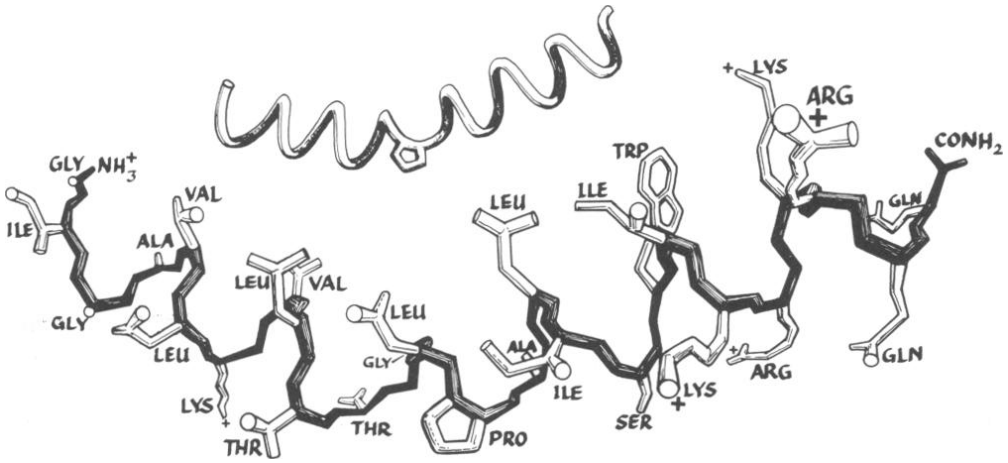
— Tetrametilamonyum klorür (TMACl)-Fluka

— Sodyum klorür (NaCl)-Fluka

— Di-sodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4)-Fluka

— Sodyum fosfat (NaH_2PO_4)-Sigma-Aldrich

— Ultra saf su (Milli-Q reagent water system, Millipore Milli-Q185)



Şekil 3.9. Antimikrobiyal peptit MLT'nin X-ray yapısı (Terwilleger ve Eisenberg, 1982)

Organik faz destek elektroliti olarak $BTPPA^{+}TPFB^{-}$ kullanılmıştır. Bu tuzun hazırlaması ile ilgili bilgi önceki bölümde (3.1.) verilmiştir.

3.3.2. Elektrokapiler eşitlik

Çalışmalarımızda kullandığımız sistem bileşenleri P^{+z} (peptit), H^{+}, Cl^{-}, $BTPPA^{+}$, $TPFB^{-}$, H_2O, DCE göz önüne alınarak, sabit sıcaklık ve basınç altında Gibbs adsorpsiyon eşitliği şu şekilde yazılabilir.

$$-d\gamma_{T,P} = \Gamma_{H_2O} d\mu_{H_2O} + \Gamma_{P^{z+}} d\tilde{\mu}_{P^{z+}} + \Gamma_{Na^+} d\tilde{\mu}_{Na^+} + \Gamma_{Cl^-} d\tilde{\mu}_{Cl^-} + \Gamma_{DCE} d\mu_{DCE} + \Gamma_{BTPPA^+} d\tilde{\mu}_{BTPPA^+} + \Gamma_{TPFB^-} d\tilde{\mu}_{TPFB^-} \quad \textbf{(3.10)}$$

Eşitlikte γ ve Γ sırasıyla ara yüzey gerilimi ve yüzey fazlası konsantrasyondur. NaCl ve BTPPATPFB elektrolitlerinin kimyasal potansiyellerindeki değişiklikler ise;

$$d\mu_{NaCl} = d\tilde{\mu}_{Na^+} + d\tilde{\mu}_{Cl^-} \quad \textbf{(3.11)}$$

$$d\mu_{BTPPATPFB} = d\tilde{\mu}_{BTPPA^+} + d\tilde{\mu}_{TPFB^-} \quad \textbf{(3.12)}$$

şeklinde yazılarak aşağıdaki eşitlik elde dilir:

$$\Gamma_{P^{z+}} d\tilde{\mu}_{P^{z+}} + \Gamma_{Na^+} d\tilde{\mu}_{Na^+} + \Gamma_{Cl^-} d\tilde{\mu}_{Cl^-} = \Gamma_{P^{z+}} d\mu_{P^{z+}} + \Gamma_{Cl^-} d\mu_{NaCl} + (\Gamma_{Na^+} - \Gamma_{Cl^-}) d\tilde{\mu}_{Na^+} \quad \textbf{(3.13)}$$

$$\Gamma_{BTPPA^+} d\tilde{\mu}_{BTPPA^+} + \Gamma_{TPFB^-} d\tilde{\mu}_{TPFB^-} = \Gamma_{TPFB^-} d\mu_{BTPPATPFB} + (\Gamma_{BTPPA^+} - \Gamma_{TPFB^-}) d\tilde{\mu}_{BTPPA^+} \quad \textbf{(3.14)}$$

Her bir fazdaki fazla yük yoğunlukları şu şekildedir:

$$\sigma^{su} = (\Gamma_{Na^+} + z\Gamma_{P^{z+}} - \Gamma_{Cl^-}) F \quad \textbf{(3.15)}$$

$$\sigma^{DCE} = (\Gamma_{BTPPA^+} - \Gamma_{TPFB^-}) F \quad \textbf{(3.16)}$$

Elektronötralite koşulu ise;

$$\sigma^{su} + \sigma^{DCE} = 0 \quad \textbf{(3.17)}$$

şeklinde ifade edilir. Bütün bunlar düşünülerek aşağıdaki eşitlik yazılabilir:

$$-d\gamma_{T,P} = \Gamma_{H_2O} d\mu_{H_2O} + \Gamma_{P^{z+}} d\mu_{P^{z+}} + \Gamma_{Cl^-} d\mu_{NaCl} + \Gamma_{DCE} d\mu_{DCE} + \Gamma_{TPFB^-} d\mu_{BTPPATPFB} + \frac{\sigma^{su}}{F} (d\tilde{\mu}_{Na^+} - d\tilde{\mu}_{BTPPA^+}) \quad \textbf{(3.18)}$$

Parantez içerisindeki terim ise ara yüzey Galvani potansiyeli ile ilişkilendirilebilir:

$$(d\tilde{\mu}_{Na^+} - d\tilde{\mu}_{BTPPA^+}) = F d\Delta_o^{su}\phi \quad \textbf{(3.19)}$$

Bu eşitlik Eşitlik 3.18'de yerine konursa,

$$-d\gamma_{T,P} = \Gamma_{Na^+} d\mu_{NaCl} + \Gamma_{P^{z+}} d\mu_{p^{z+}} + \Gamma_{TPFB^-} d\mu_{BTPPATPFB} + \sigma^{su} d\Delta_o^{su}\phi \quad \textbf{(3.20)}$$

3.20 eşitliği elde edilir. Bu eşitlik kullanılarak σ^{su} ve $\Gamma_{P^{z+}}$ olmak üzere iki önemli terim ortaya çıkarılır:

$$\sigma^{su} = -\left(\frac{\partial\gamma}{\partial\Delta_o^{su}\phi}\right)_{T,P,\mu_i} \quad \textbf{(3.21)}$$

$$\Gamma_{P^{z+}} = -\left(\frac{\partial\gamma}{\partial\mu_{P^{z+}}}\right)_{T,P,\Delta_o^{su}\phi,\mu_i\neq\mu_{P^{z+}}} \quad \textbf{(3.22)}$$

$$\Gamma_{P^{z+}} = -\frac{1}{RT}\left(\frac{\partial\gamma}{\partial\ln c_{P^{z+}}}\right)_{T,P,\Delta_o^{su}\phi,\mu_i\neq\mu_{P^{z+}}} \quad \textbf{(3.23)}$$

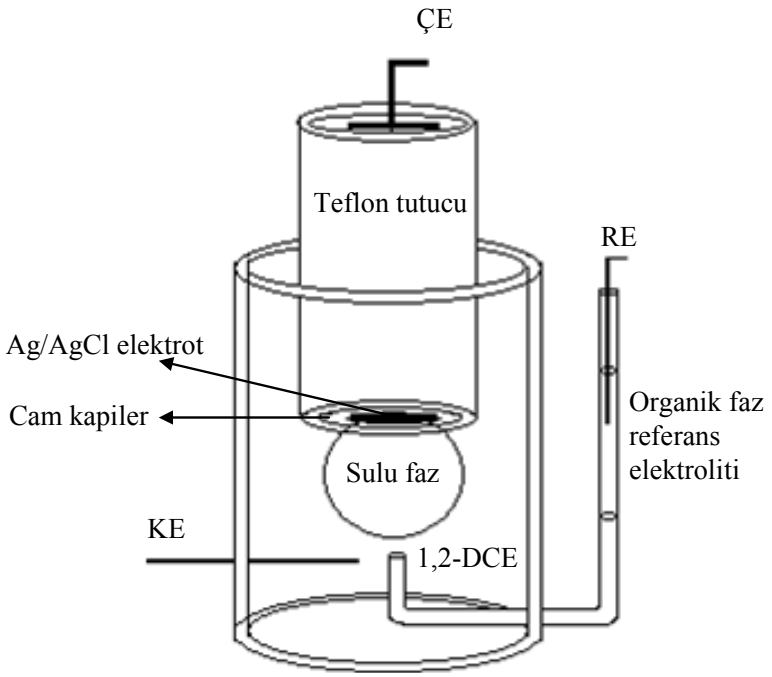
Eşitlik 3.23 peptitin konsantrasyonu ile yüzey fazlası konsantrasyon arasındaki ilişkiyi göstermektedir.

3.3.3. Elektrokimyasal ölçümler

3.3.3.1. Voltametrik ölçümler

Dönüşümlü voltamogramların elde edilmesinde 3-elektrot bağlantılı bir sistem kullanılmıştır (Şekil 3.10.). Bu amaçla ilk olarak 2 µL hacminde bir su damlası Ag/AgCl elektrodun ucuna enjekte edilmiştir. Daha sonra damla sistemi deneyinde anlatıldığı gibi su damlası ile modifiye edilmiş Ag/AgCl elektrot şekilde gösterilen DCE çözeltisine ters çevrilerek daldırılmıştır. Fosfolipitin ve antimikrobiyal peptitin ilgili fazlara ilavesi bir mikro şırınga (Hamilton) yardımıyla gerçekleştirilmiştir.

Bir platin kablo karşıt elektrot (KE) olarak, AgCl ile kaplanmış Ag kablo ise referans elektrot (RE) olarak kullanılmıştır. Voltametrik ölçümler programlanabilir bir potansiyostat (AUTOLAB-PGSTAT 30, Metrohm, Switzerland) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elektrokimyasal hücre her zaman ilk olarak kromik asit ile daha sonra da ultra saf su ile temizlenerek kullanılmıştır. Çözelti direncinden kaynaklanan *IR* potansiyel düşüşü ise pozitif-geri besleme metodu ile telafi edilmiştir. Kullanılan elektrokimyasal hücreler Şekil 3.11'de verilmiştir.



Şekil 3.10. CV'lerin elde edilmesinde kullanılan elektrokimyasal düzeneğin şematik gösterimi. KE: Karşı elektrot; RE: Referans elektrot, ÇE: Çalışma elektrodu

Ag | AgCl	10 mM PBS (pH=7.2) 10 mM NaCl X µM MLT (Su)	5 mM BTPPATPFB Y µM DPPC (1,2-DCE)	1 mM BTPPACl 10 mM LiCl (Su)	AgCl | Ag	Hücre 1
Ag | AgCl	10 mM PBS (pH=7.2) 10 mM NaCl X µM MLT (Su damlası)	5 mM BTPPATPFB Y µM DPPC (1,2-DCE)	1 mM BTPPACl 10 mM LiCl (Su)	AgCl | Ag	Hücre 2
Ag | AgCl	10 mM CsCl X mM HCl (Su)	5 mM BTPPATPFB 10 µM DPPC (1,2-DCE)	1 mM BTPPACl 10 mM LiCl (Su)	AgCl | Ag	Hücre 3

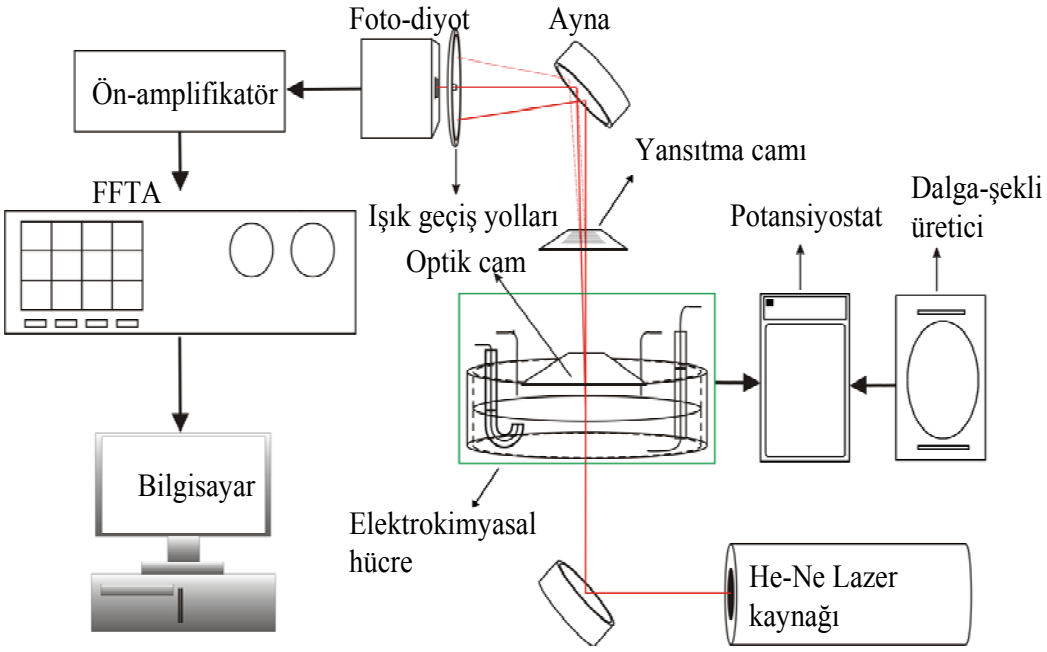
Şekil 3.11. Elektrokimyasal çalışmalarda kullanılan elektrokimyasal hücreler (PBS: NaH_2PO_4 ve Na_2HPO_4 karışımından hazırlanan fosfat tampon çözeltisini göstermektedir)

İyon transferi için tüm potansiyeller TEA^+ iyonunun yarı-dalga potansiyeli ile ilgilidir. TEA^+ iyonlarına ait yarı dalga potansiyelleri her deneyin sonunda organik faza

belirli miktarda $TEA^{+}TPFB^{-}$ ilave edilerek belirlenmiştir. TATB kabullenmesine dayanılarak TEA^{+}'nın yarı dalga potansiyeli 0.048 V olarak alınmıştır. Tüm ölçümler 22 ± 1 °C oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

3.3.4. Yüzey gerilimi ölçümleri

Sıvı|sıvı ara yüzey gerilimi ölçümleri Şekil 3.12.'de şematik olarak gösterilen düzenek kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Böylece Galvani potansiyeline bağlı olarak elektrokapiler eğriler elde edilmiştir.



Şekil 3.12. QELS sisteminin şematik gösterimi

Sıvı|sıvı ara yüzey, 15.9 cm^2 kesit alanına sahip kuvars bir silindirik cam hücre içerisinde oluşturulmuştur. Sulu ve organik fazlar her bir deneyden önce bir biri içerisinde karşılıklı olarak doyurulduktan sonra kullanılmıştır. Sulu fazın yüzeyi hava|su yüzeyinden kaynaklanabilecek saçılmaları minimum düzeye indirmek için bir optik cam ile kapatılmıştır.

Galvani potansiyeli bir dalga-şekli üreticisi bulunduran dört-elektrotlu bir potansiyostat ile sağlanmıştır. Platin kablolar karşı elektrotlar, Ag/AgCl elektrotlar ise referans olarak kullanılmıştır

632.8 nm dalga boyunda çalışan 4 mW gücündeki He-Ne lazer kaynağından (Uniphase Model 1101) gelen bir ışın demeti optik aynalar vasıtasıyla ara yüzeye dikey

olarak gönderilmiştir. Optik hücrenden sonra, üzerinde 0.285 mm'lik aralıklarda siyah çizgiler bulunan bir fotoğrafik yansıtma camı yerleştirilmiştir. Deneylerde ışık geçiş yolunda üçüncü-sırada bulunan (n=3) nokta seçilmiş ve FFTA (FFTA Stanford Research Systems SR 770) ile analiz edilmiştir. Kullanılan QELS metodu 6.6 x 10^{-3} cm dalga boyunda ve 10 kHz frekansındaki dalgalar hakkında bilgi vermektedir.

3.3.4.1. QELS sisteminin kalibrasyonu

Cihazın kalibrasyonu için sadece su ve sadece DCE'nin temas ettirilmesi ile oluşturulan ara yüzeyde, farklı düzeydeki ışın yolları için (farklı n değerleri için) güç spektrumları (cihazadan direkt olarak alınan sinyaller) elde edilmiştir.

3.3.4.2. Elektrokapiler eğrilerin elde edilmesi

Elektrokapiler eğrilerin elde edilmesinde ilk olarak; yukarıda belirtilen QELS sistemi ile elde edilen güç spektrumlarından maksimum pik frekans değerleri bulunmuştur. Bunun için ara yüzeye belirli potansiyel aralıklarda ve zamanlarda adım adım potansiyel uygulanır. Deneylerimizde 30'ar mV'luk potansiyel adımları kullanılmıştır ve her bir potansiyel adımında 3 dakika beklenmiştir. Böylece oluşturulan her bir ara yüzey için güç spektrumları elde edilmiştir. Spektrumlardan maksimum pik frekans değerleri *Lorentzian* fonksiyonuna göre belirlenmiştir. Bu maksimum pik değerleri kullanılarak *Lamb* eşitliği gereği yüzey gerilimi değerleri hesaplanmıştır. Böylece, potansiyele bağlı olarak yüzey gerilimindeki değişiklikleri gösteren elektrokapiler eğriler elde edilmiştir.

3.3.5. Spektroskopik ölçümler

Deneylerde kullandığımız antimikrobiyal peptitin stok çözelti konsantrasyonları her aşamada UV-Vis spektrometresi (Ocean Optical CHEM 2000 spektrofotometre, 10 mm ışık yoluna sahip kuvars küvet) ile belirlenmiştir. Ayrıca kullandığımız peptitin monomerik (tekli zincir; tetramer oluşturmamış) halde olduğu ise floresans spektrometresi (Perkin Elmer LS50B Lüminesans spektrometresi, dört duvarı şeffaf kuvars hücreli) ile tespit edilmiştir.

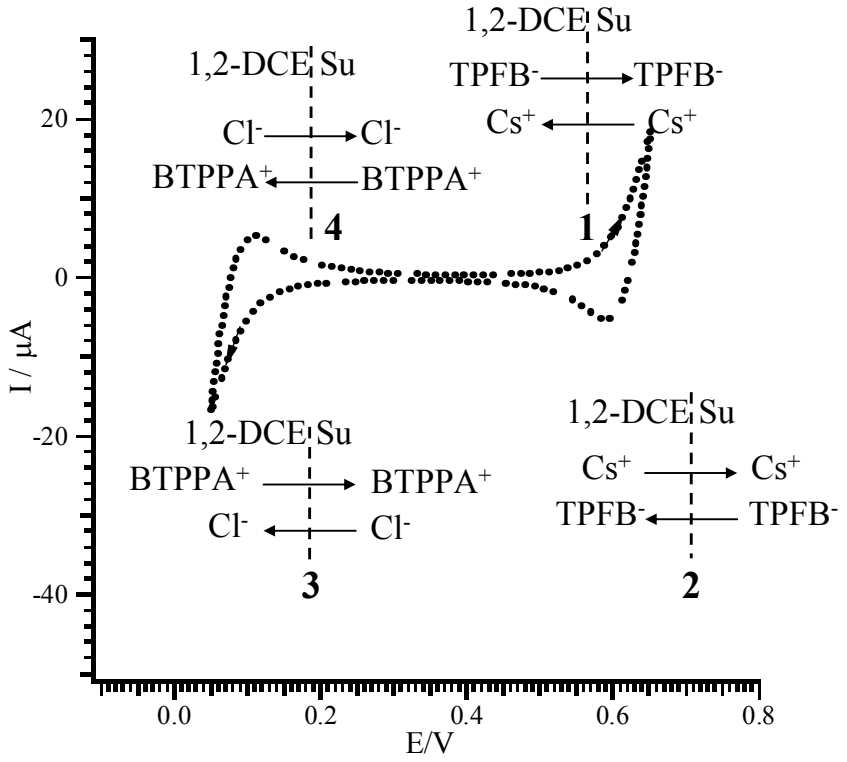
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Bu bölümde, materyal ve metot kısmında verilen her bir çalışma için (3.1, 3.2 ve 3.3) elde edilen sonuçlar da sırasıyla 4.1, 4.2 ve 4.3 alt başlıkları altında verilmiştir.

4.1. Makro-ITIES'de DPPC Adsorpsiyonu ve Proton-DPPC Etkileşimi

4.1.1. Potansiyel penceresi

Şekil 4.1'deki kesikli çizgi, Şekil 3.5.'deki Hücre 1 ile elde edilen CV'yi göstermektedir. Potansiyel penceresi içerisinde sadece çok az bir akım akışı meydana gelmiştir, bu ise yükleme akımı neticesinde meydana gelmiştir. Potansiyel penceresinin dışında ise destek elektrolitinin iyonları (Cs^+, Cl^-, $BTPPA^+$ ve $TPFB^-$) bulundukları fazdan karşı faza doğru transfer olmaya başlar ve bu durum zemin akımının artmasına neden olur. Ara yüzeyin polarizasyonunda işaretleme geleneksel olarak sulu faza göre yapıldığı için eğrinin sağ tarafı sulu fazın pozitif yapıldığı manasına gelir.



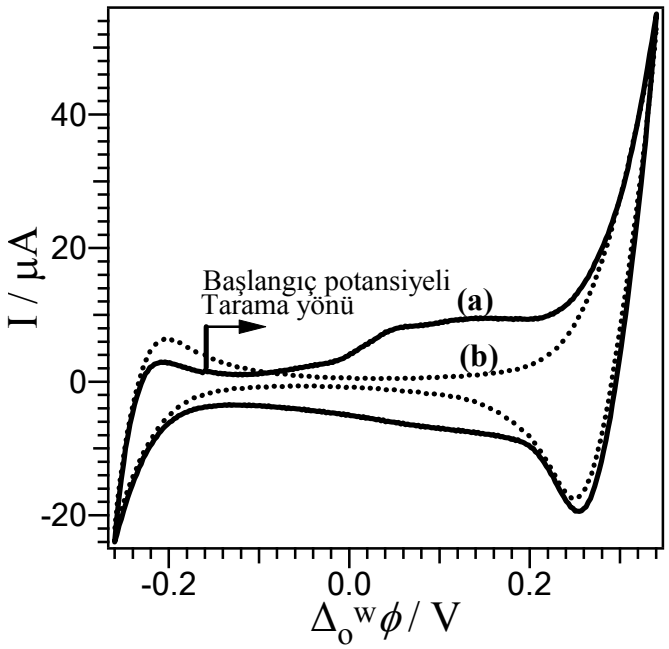
Şekil 4.1. Şekil 3.5'deki Hücre 1 kullanılarak elde edilen potansiyel penceresi (Hücre 1'de X=0. Tarama hızı=50 mV/saniye)

Yani eğrinin sağ tarafına doğru gidildikçe sulu faz daha pozitif hale gelir. Polarizasyon devam ettikçe (Şekil 4.1.'deki eğride 1) sulu fazdaki Cs^+ iyonları organik faza geçerken organik fazdaki $TPFB^-$ iyonları ise sulu faza geçmeye başlar. Bu iyonların, akım akışına kısmi katkıları ise bu iyonların Gibbs transfer enerji skalasındaki değerlerine bağlıdır. Yani hangi iyonun transferi daha düşük bir enerji gerektiriyorsa o iyonun akım artışına katkısı daha fazladır (Behr ve ark., 1978).

Çalışmamızda kullanılan destek elektroliti iyonları yaklaşık aynı enerji değerlerine sahip olduğu için, her ikisi de gözlenen zemin akım artışına eşit katkıda bulunmaktadır. Potansiyel tarama yönü ters çevrildiği zaman (Şekil 4.1.'deki eğride 2) organik faza geçmiş olan Cs^+ iyonları sulu faza, sulu faza geçmiş olan $TPFB^-$ iyonları ise tekrar organik faza geçmeye başlar. Potansiyel taraması polarizasyon penceresinde sol tarafa doğru devam ettikçe sistemde mevcut olan akım çoğunlukla ara yüzeyin yüklenmesinden kaynaklanmaktadır. Buna göre sulu faz organik faza göre daha az pozitif olur (Şekil 4.1.'deki eğride 3) ve dolayısıyla sulu fazdaki Cl^- iyonları organik faza geçerken organik fazdaki $BTPPA^+$ iyonları ise sulu faza geçmeye başlar. Potansiyel taraması tekrar tersine döndürüldüğünde (Şekil 4.1.'deki eğride 4) ise, organik faza geçmiş olan Cl^- iyonları sulu faza, sulu faza geçmiş olan $BTPPA^+$ iyonları ise tekrar organik faza geçmeye başlar. Bu sonuca göre, kullanmış olduğumuz destek elektrolitleri ile elektrokimyasal reaksiyonların çalışılabileceği yaklaşık 0.7 V'luk bir potansiyel aralığı elde edilmiştir.

4.1.2. Adsorpsiyona fosfolipit konsantrasyonunun etkisi

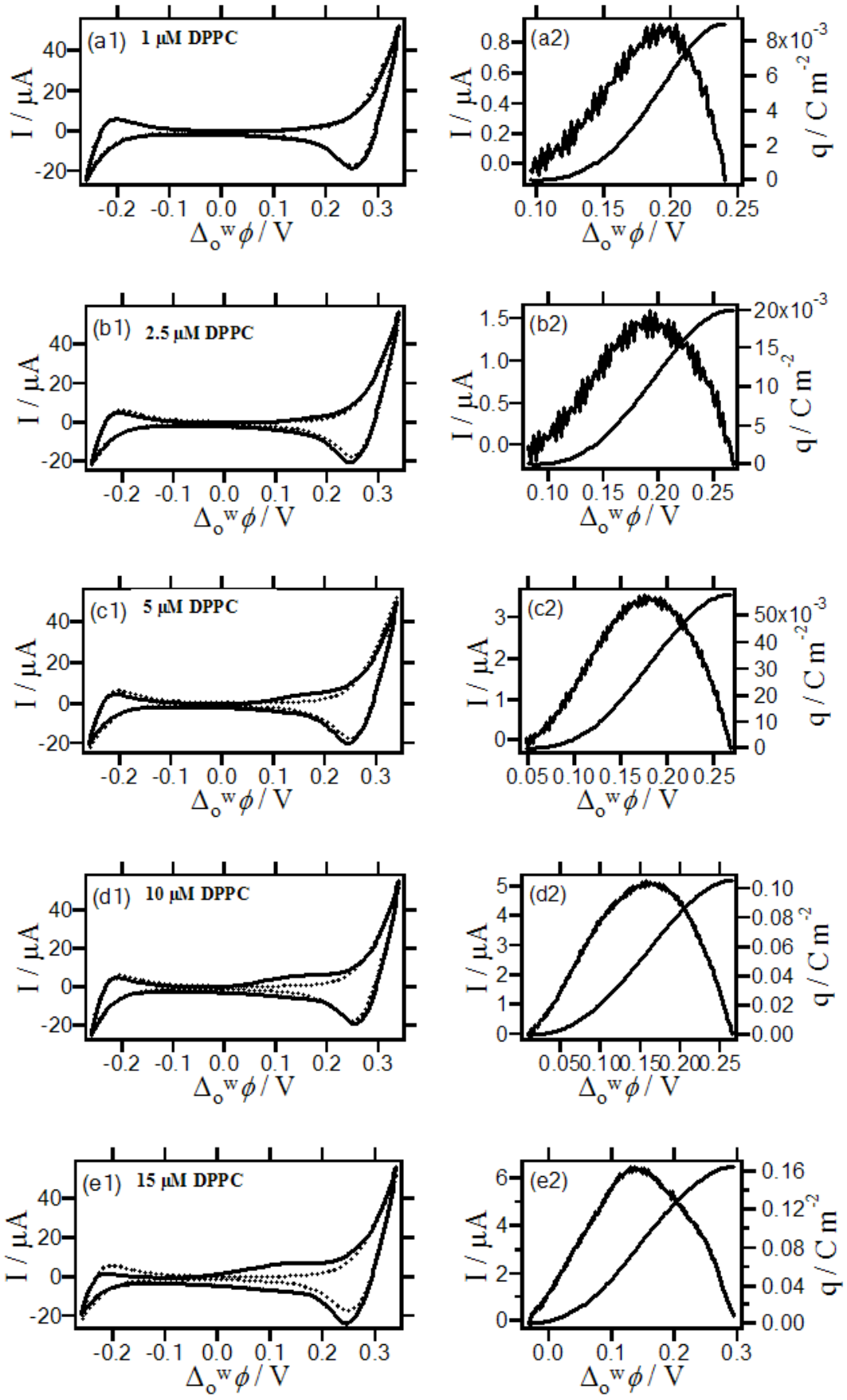
Aşağıdaki voltamogramlar, Şekil 3.5'deki Hücre 1 kullanılarak 25 μM DPPC içeren (a) ve DPPC içermeyen (b) su|DCE ara yüzeyinde elde edilmiştir. Hücre 1'de gösterilen su fazı daha önce de belirtildiği gibi 100 mM HCl içermekteydi. Çünkü asit içermeyen sulu faz ve DCE'den teşekkül eden ara yüzeyde fosfolipit adsorpsiyonuna dair belirgin bir elektrokimyasal sinyal elde edilememiştir. Ancak yine de fosofolipitin ara yüzeyde adsorpsiyonu görsel olarak ara yüzey yapısının değişimi ile farkedilebilmiştir.

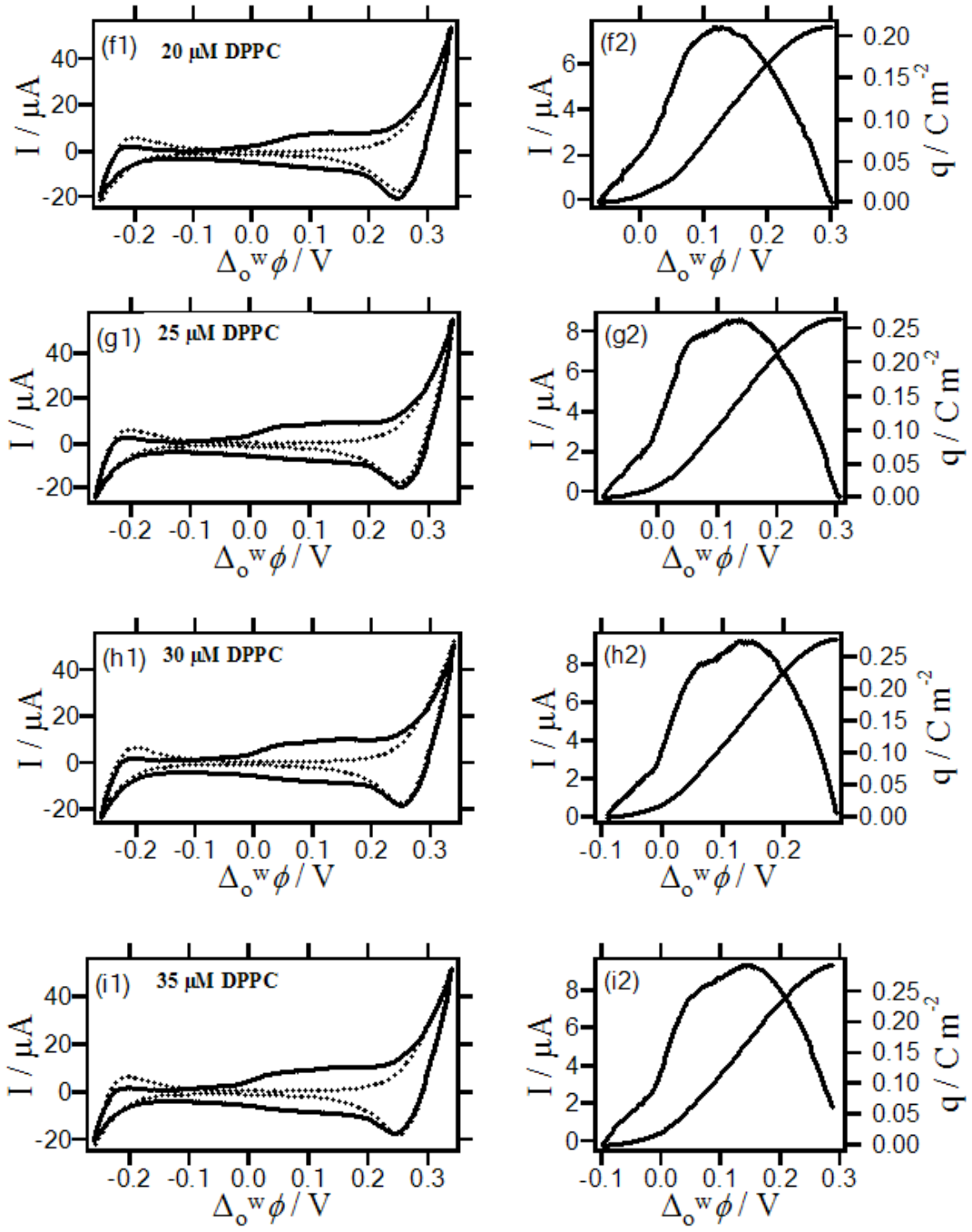


Şekil 4.2. Şekil 3.5'deki Hücre 1 kullanılarak 25 μM DPPC yokluğunda (Şekilde (b)) ve varlığında (Şekilde (a)) elde edilen CV'ler (Tarama hızı=50 mV/saniye)

Voltamograma bakıldığı zaman organik fazda fosfolipit (DPPC) olmaması durumunda herhangi bir akım artışı görülmemektedir. Aksine organik fazda fosfolipit olması halinde ise potansiyel penceresinin pozitif ucunda yaklaşık 0.15 V'da bir akım artışı görülmektedir. Bu durum, organik fazda bulunan fosfolipitin ilk olarak düşük potansiyel değerlerinde (daha negatif potansiyellerde) ara yüzeyde adsorplanmasıyla izah edilebilir. Şekil 4.2.'de gösterildiği gibi potansiyel taraması başlatıldığı zaman ara yüzeyde adsorplanmış halde bulunan fosfolipit organik faza doğru desorplanmaya başlamaktadır. Ancak sulu fazda bulunan H^+ iyonları adsorplanmış halde bulunan fosfolipit molekülleri ile kompleks oluşturabilmektedir. Bu durum daha önceki çalışmalarla da uyum içerisinde görünmektedir (Yoshida ve ark. 2001; Marecek ve ark., 2003). Dolayısıyla voltamogramda görülen akım artışı muhtemelen fosfolipitin desorpsiyonundan ve protonun organik faza yardımlı iyon transferinden kaynaklanmaktadır.

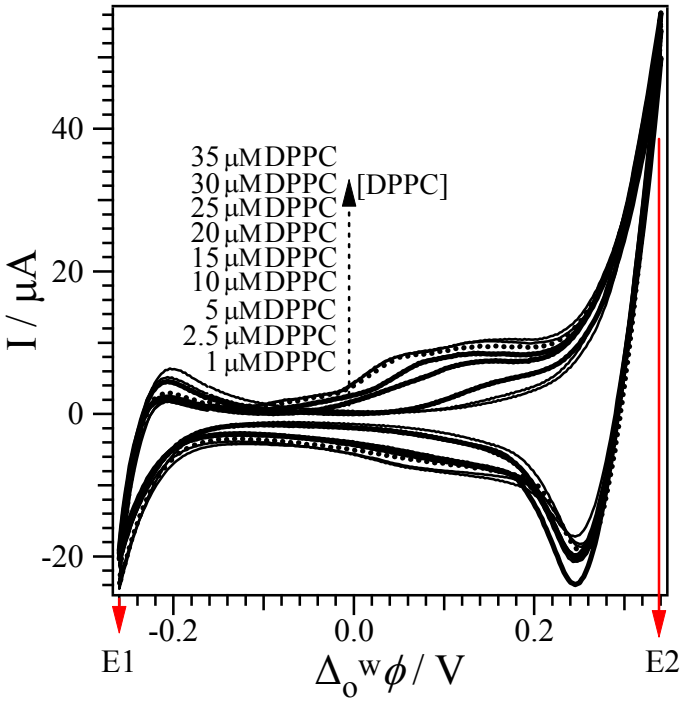
Şekil 4.3., Hücre 1 kullanılarak farklı konsantrasyonlarda fosfolipit içeren su|DCE ara yüzeyinde elde edilen voltamogramları ve buna karşılık ileri yöndeki potansiyel taraması esnasında ara yüzeyde akan yükleri göstermektedir.


(a1) 1 μM DPPC
(a2)
(b1) 2.5 μM DPPC
(b2)
(c1) 5 μM DPPC
(c2)
(d1) 10 μM DPPC
(d2)
(e1) 15 μM DPPC
(e2)
I / μA
q / C m-2
Δo^w φ / V



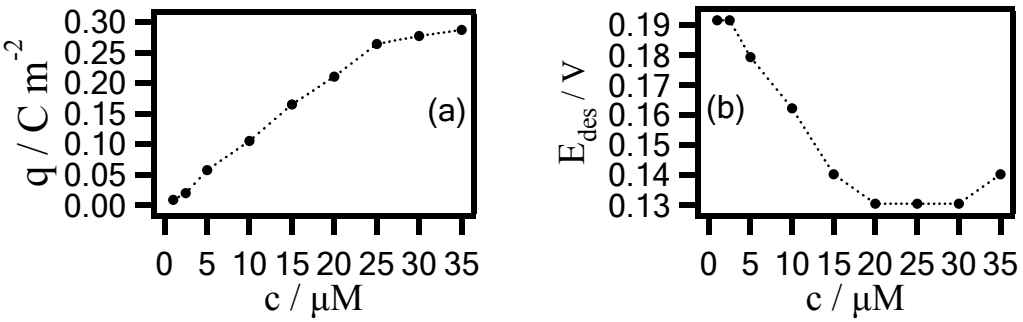
Şekil 4.3. Şekil 3.5'deki Hücre 1 kullanılarak farklı konsantrasyonlarda DPPC varlığında (kesiksiz çizgi) ve yokluğunda (kesikli çizgi) elde edilen CV'ler. Her bir CV'nin ön taraması esnasında sistemden geçen yükler de ilgili CV'lerin yanında verilmiştir. Tarama hızı=50 mV/saniye'dir

Fosfolipit konsantrasyonuna bağlı olarak, ortaya çıkan pik yükselmelerindeki farkları açık bir şekilde ortaya koymak için aşağıdaki şekilde (Şekil 4.4), Şekil 4.3'deki CV'ler aynı akım ekseni üzerinde sunulmuştur.



Şekil 4.4. Şekil 4.3.'de verilen ve farklı DPPC konsantrasyonlarında elde edilen CV'ler. İntegrasyon işlemleri E1 ve E2 potansiyelleri arasında gerçekleştirlmiştir.

Şekil 4.5.a'da ise organik fazdaki fosfolipit konsantrasyonuna bağlı olarak ara yüzey bölgedeki yük değerleri gösterilmiştir. Voltamogramlardaki ön pik akımının ara yüzeyde adsorplanmış ve proton ile kompleks oluşturarak yüklü hale gelmiş olan H-DPPC^{+}'nin desorpsiyonundan kaynaklandığı varsayıldığında sistemden geçen elektriksel yük, adsorplanan fosfolipitin başlangıç yüzey konsantrasyonu ile orantılıdır.

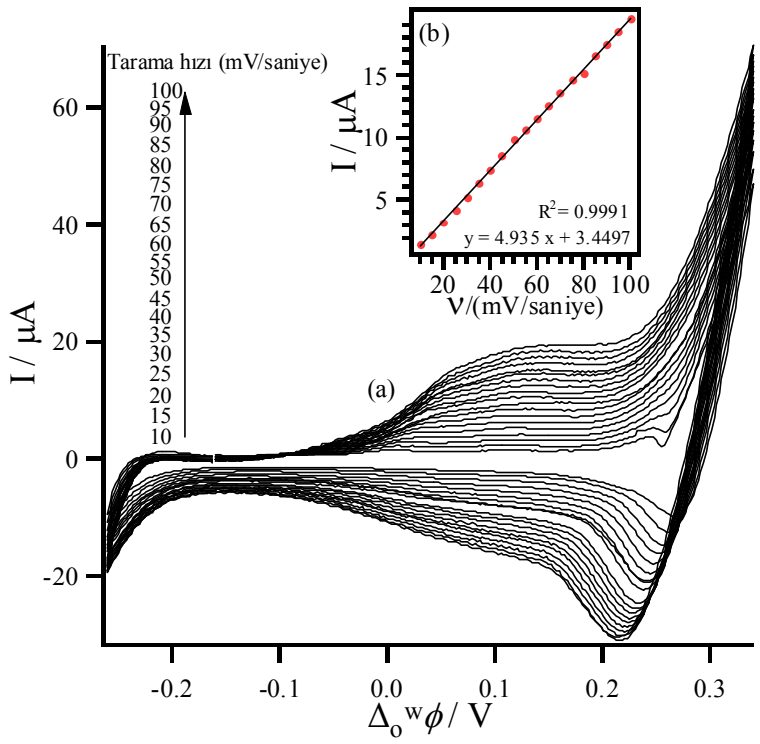


Şekil 4.5. Farklı fosfolipit konsantrasyonlarında ara yüzeydeki yük birikimi (a) ve desorpsiyon potansiyelleri (b)

DPPC konsantrasyonu yaklaşık 20 µM'dan sonra yük üzerine büyük etkilerde bulunmamaktadır. Bu durum bu limit değerde ara yüzeyde doygun monolayer oluşumunu işaret etmektedir. Bu ise grafiklerdeki plato bölgesine denk gelmektedir.

Yine şekil 4.5.b'ye bakıldığında organik fazdaki dolayısıyla ara yüzeydeki fosfolipit konsantrasyonu arttıkça oluşan kompleksin desorpsiyonunun gerçekleştiği potansiyel (E_{des}) azalmaktadır. Desorpsiyon potansiyeli voltametrik dalgaların ön taraması esnasında ortaya çıkan piklerin maksimumuna denk gelen potansiyel değeridir. Bu potansiyelin fosfolipit konsantrasyonuna bağlı olarak azalması için şu şekilde bir açıklama yapılabilir: Organik fazdaki fosfolipit konsantrasyonun artması ara yüzeyde adsorplanacak fosfolipit moleküllerin sayısının artması demektir. Bu şekilde ara yüzeyde daha fazla kompleks oluşacak ve desorpsiyon daha erken başlayacaktır. Böylece Şekil 4.5.b'de görülen eğri elde edilecektir.

Yük akışının dolayısıyla da voltamogramlarda görülen akım yükselmesinin fosfolipit adsorpsiyonundan kaynaklandığı ile ilgili bir diğer kanıt ise tarama hızları ile akım değerleri arasındaki lineer ilişkidir. Şekil 4.6.'da, farklı tarama hızları ile elde edilen akım değerleri verilmiştir.

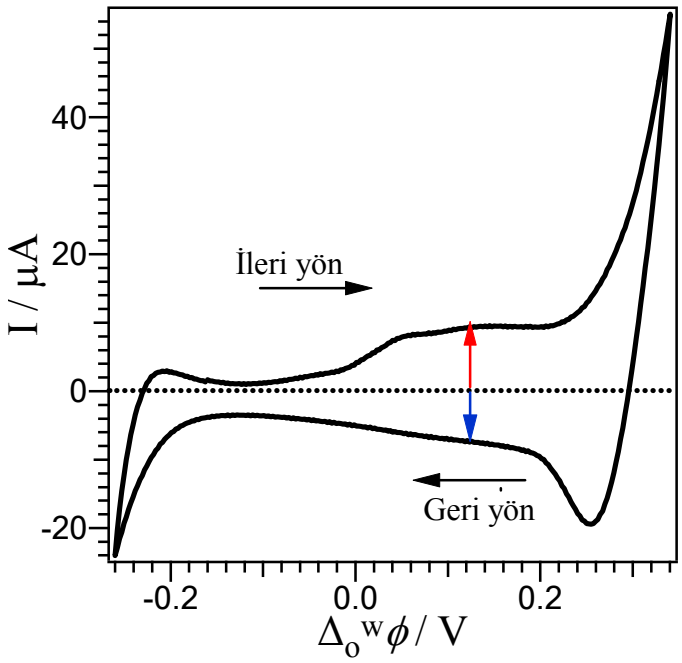


Şekil 4.6. Şekil 3.5'deki Hücre 1 kullanılarak farklı tarama hızlarında elde edilen CV'ler (a). Tarama hızları ile pik akımları arasındaki ilişki (b) (Hücre 1'de; X=25)

Şekil 4.6.b'den de görülebileceği gibi ileri yöndeki pik yükseklikleri tarama hızları ile doğru orantılıdır ki bu durum giriş bölümünde de belirtildiği gibi DPPC'nin

ara yüzeyde adsorplanması ve dolayısıyla da elektriksel çift tabakanın yüklenmesi ile ilgilidir.

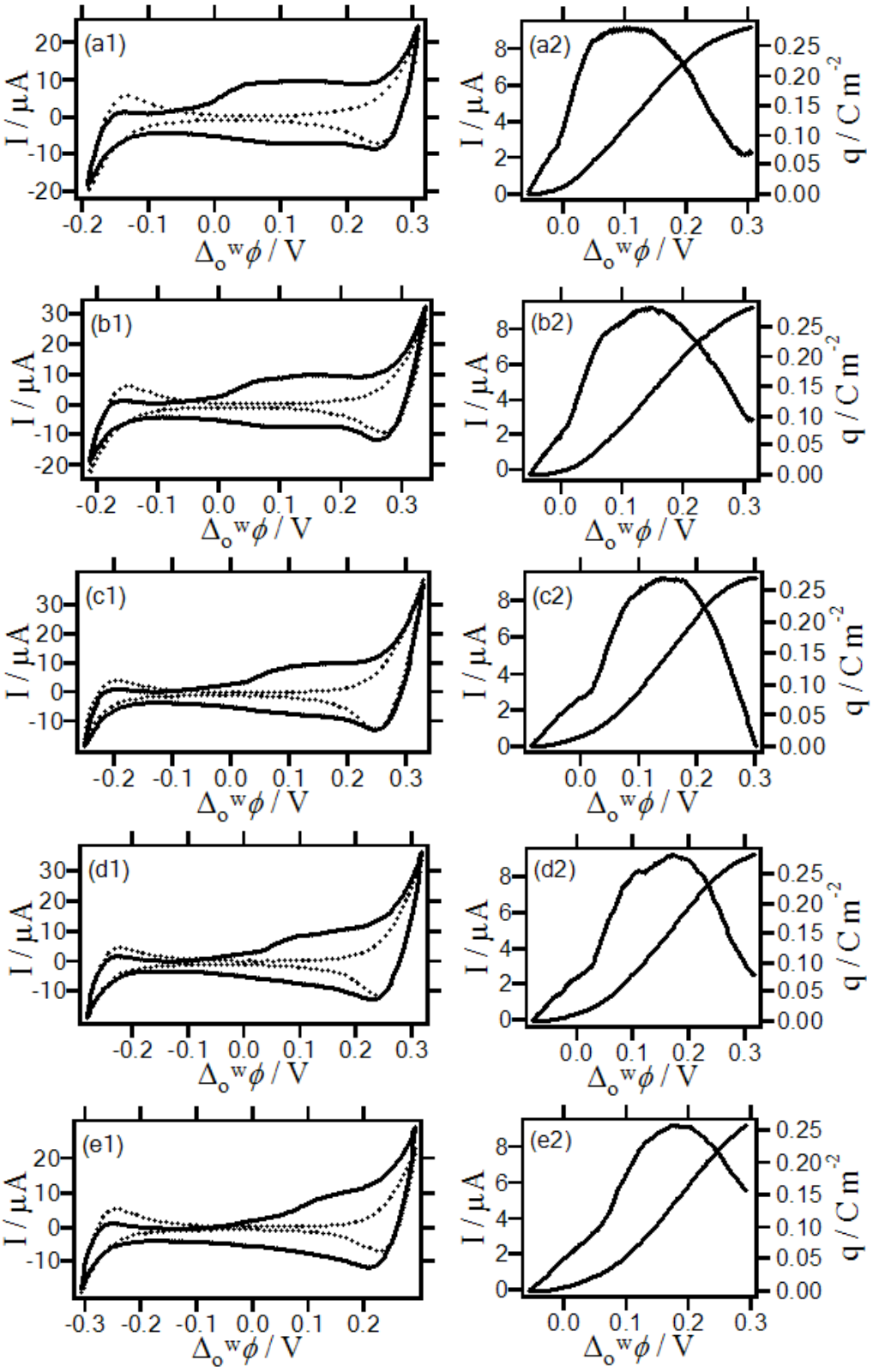
Voltamogramlara bakıldığı zaman (örneğin Şekil 4.7.) ileri ve geri yöndeki pik akımlarının birbirine tam olarak eşit olmadığı da görülmektedir. Elbette fosfolipit konsantrasyonuna bağlı olarak bu fark değişmektedir. Pik akımları arasında meydana gelen bu fark adsorplanan ve desorplanan fosfolipit konsantrasyonları arasındaki farktan kaynaklanabilir. Şöyle ki; adsorplanmış fosfolipit moleküllerinin bir kısmı organik faz anyonu ile etkileşmekte ve burada kalmaktadır. Dolayısıyla akım artışına etki yapacak fosfolipit molekülü sayısı da azalmaktadır.

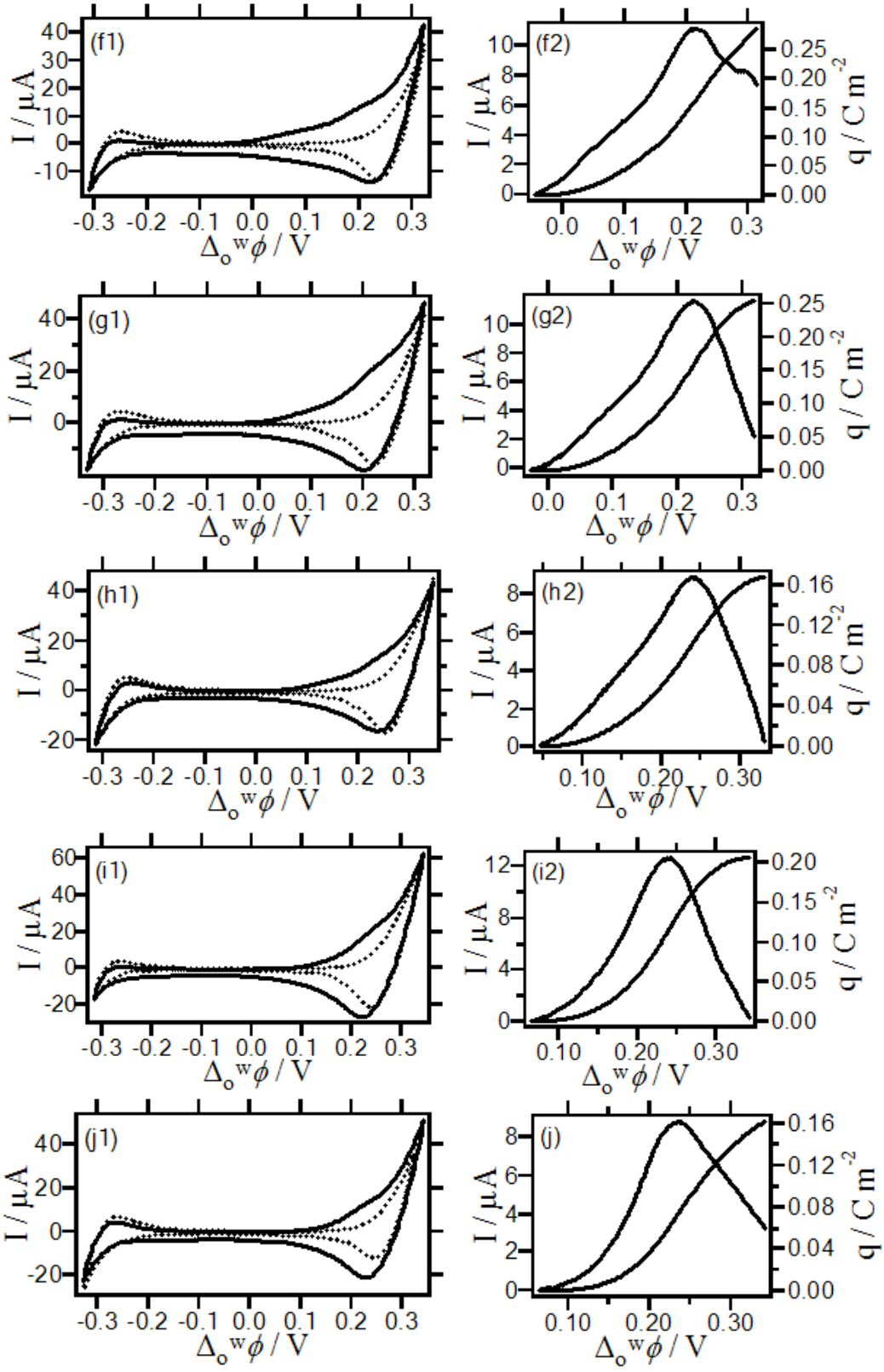


Şekil 4.7. Şekil 3.5'deki Hücre 1 kullanılarak 25 µM DPPC varlığında elde edilen CV (Tarama hızı=50 mV/saniye)

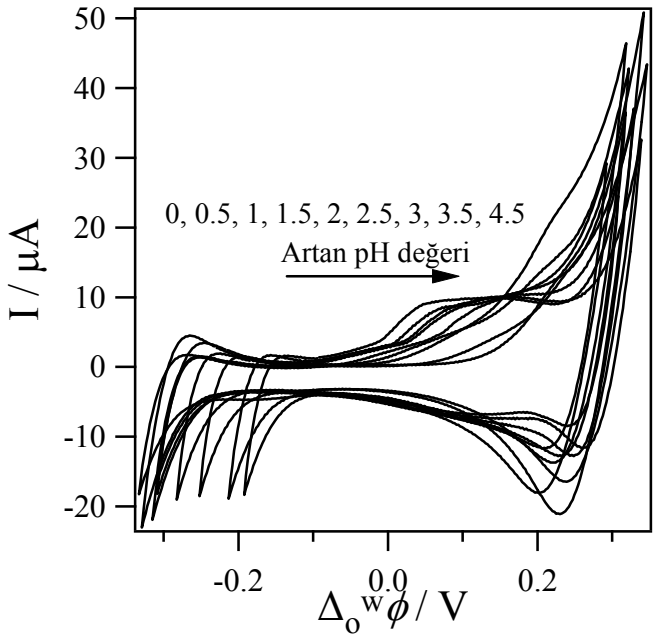
4.1.3. Adsorpsiyona pH'ın etkisi

Voltamogramlarda, ileri yöndeki tarama esnasında ortaya çıkan piklerin protonun fosfolipit ile ara yüzeyden yardımlı transferinden kaynaklandığı düşünüldüğü zaman, aynı zamanda sulu çözeltideki proton konsantrasyonun artması ile transfer potansiyeli daha düşük değerlere kayacaktır. Aşağıdaki şekillerde (4.8 ve 4.9), Şekil 3.5'de gösterilen Hücre 2 kullanılarak 25 µM DPPC içeren su|DCE ara yüzeyinde farklı sulu çözelti pH değerlerinde elde edilen CV'ler görülmektedir.


(a1)
(a2)
(b1)
(b2)
(c1)
(c2)
(d1)
(d2)
(e1)
(e2)
I / μA
q / C m^{-2}
$\Delta_o^w\phi$ / V



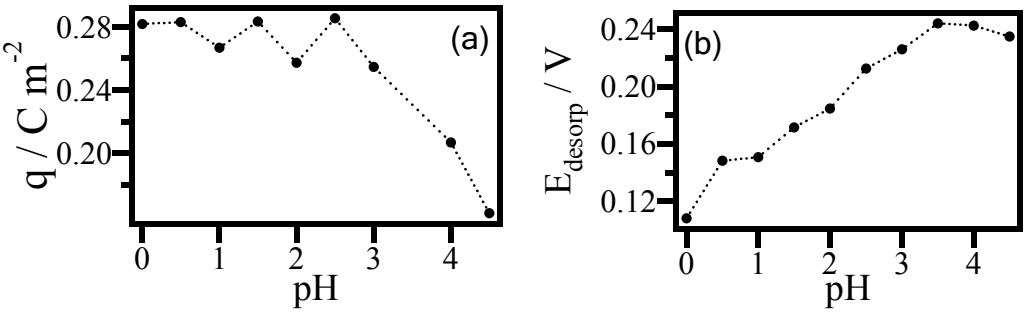
Şekil 4.8. Şekil 3.5'deki Hücre 2 kullanılarak 25 µM DPPC varlığında (kesiksiz çizgi) ve yokluğunda (kesikli çizgi) elde edilen CV'ler. Her bir CV'nin ön taraması esnasında sistemden geçen yükler de ilgili CV'lerin yanında verilmiştir. Hücrede Y=1(a); 0.32 (b); 0.1 (c); 0.032 (d); 0.01 (e); 0.0032 (f); 0.001 (g); 0.00032 (h); 0.0001 (i); 0.000032 (j), tarama hızı= 50 mV/saniye'dir



Şekil 4.9. Şekil 3.5.'deki Hücre 2 kullanılarak farklı sulu çözelti pH değerlerinde elde edilen CV'ler

Fosfolipit konsantrasyonun artması konusunda yapılan açıklama burada H^+ konsantrasyonu için de geçerlidir. Dolayısıyla pH'ının artması ile DPPC desorpsiyonunun daha yüksek potansiyel değerlerinde gerçekleştiği görülmektedir (Şekil 4.10.b).

Ayrıca şekillerdeki yük değerlerinin ara yüzeyden desorplanan protonun ara yüzey konsantrasyonları ile ilgili olduğunu düşündüğümüzde sitemden geçen yük de pH'ın artması ile azalmaktadır (Şekil 4.10.a).



Şekil 4.10. Farklı sulu faz pH değerlerinde ara yüzeydeki yük akışı (a), desorpsiyon potansiyeli (b)

$$\Gamma = \frac{Q_{\max}}{zF} \qquad \textbf{(4.1)}$$

Eşitlik 4.1'de verilen Γ; fosfolipitin yüzey fazlası konsantrasyonu, $Q_{\max}$; ara yüzey bölgedeki maksimum yük birikimi, *z*; yük, *F* ise Faraday sabitidir. Daha önce de belirtildiği gibi yük birikimi DPPC konsantrasyonu ile orantılıdır. Buna göre sistemden geçen yük bilindiği zaman, Eşitlik 4.1.'e göre gerekli hesaplamalar yapıldığında molekül başına düşen alan hesaplanabilir. Buna göre bu değer 58 $\left(A^o\right)^2$ olarak bulunmuştur. Bu sonuç bize DPPC'nin ara yüzeydeki adsorpsiyonunun çok fazla olduğunu önermektedir.

4.1.4. DPPC-Proton kompleksi oluşumu

Elde edilen tüm sonuçlardan DPPC ve H^+ arasındaki etkileşimler için daha önce Janchenova ve ark. (2008) tarafından öne sürülen mekanizma ile modellenebilir.
Buna göre ilk olarak organik fazda bulunan zwitteriyonik fosfolipit ara yüzeyde adsorplanmaktadır.

$$DPPC^{\pm}_{(o)} \rightleftharpoons DPPC^{\pm}_{ads} \qquad \textbf{(4.2)}$$

Daha sonra ara yüzeyde adsorplanmış olan fosfolipit molekülü sulu fazda bulunan proton ile ara yüzey kompleksi oluşturmaktadır (4.2).

$$DPPC^{\pm}_{ads} + H^{+}_{(su)} \rightleftharpoons DPPCH^{+}_{(ads)} \qquad \textbf{(4.3)}$$

Protonlanmış form, mekanizma 4.3 ile bir adsorpsiyon/desorpsiyon dengesine ulaşmaktadır. Aslında bu mekanizmanın geçerliliği sulu çözelti pH'ının artması ile voltametrik sinyallerin daha düşük potansiyellere kayması ve dolayısıyla da protonun yardımlı iyon transferi ile açıklanabilir (Şekil 4.9.).

$$DPPCH^{+}_{(ads)} \rightleftharpoons DPPCH^{+}_{(o)} \qquad \textbf{(4.4)}$$

Bu şekilde kompleksleşmiş olan tür, 4.5'de gösterildiği gibi organik faz içerisinde organik fazın destek elektroliti anyonu ile reaksiyona girmektedir.

$$DPPCH^{+}_{(o)} \; + \; TPFB^{-}_{(o)} \longrightarrow DPPCH\,TPFB_{(o)} \qquad \textbf{(4.5)}$$

4.5'deki mekanizmanın geçerliliği konusunda tekrar Şekil 4.2.'ye dönerek şu şekilde bir yorum yapılabilir: Voltamogramın ön taraması esnasında ara yüzeydeki adsorplanmış tür organik faza geçmektedir ki bu, meydana gelen akım akışı ile ilişkilendirilmektedir. Şayet organik faza geçmiş olan fosfolipit molekülün tümü potansiyel taraması tersine çevrildiğinde yani potansiyel daha negatif yapıldığında organik faza geçseydi, aynı şiddette bir akım akışının gözlemlenmesi gerekirdi. Ancak voltamograma bakıldığı zaman geri yöndeki pik akımının, ileri yöndeki pik akımından daha düşük olduğu görülmektedir. Bu ise bazı fosfolipit moleküllerinin organik faz içerisinde kaldığına işaret etmektedir ki bu da organik faz içerisinde homojen reaksiyonların (mekanizma 4.5 ve 4.6) meydana geldiğine işaret etmektedir.

$$DPPCH\,TPFB_{(o)} \longrightarrow DPPC^{\pm}_{(o)} \; + \; HTPFB_{(o)} \qquad \textbf{(4.6)}$$

Tüm bu sonuçlara bakılarak DPPC'nin su|DCE ara yüzeyi ile büyük bir etkileşim içerisinde olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca fosfolipitin ara yüzeydeki adsorpsiyonu sulu faz pH'ına, fosfolipit konsantrasyonuna ve ara yüzeye uygulanan potansiyel farkına bağlıdır. Bu sonuç son bölümde, yüzey gerilimi ölçümlerinden elde edilen sonuçlarla da uyum içerisinde görünmektedir.

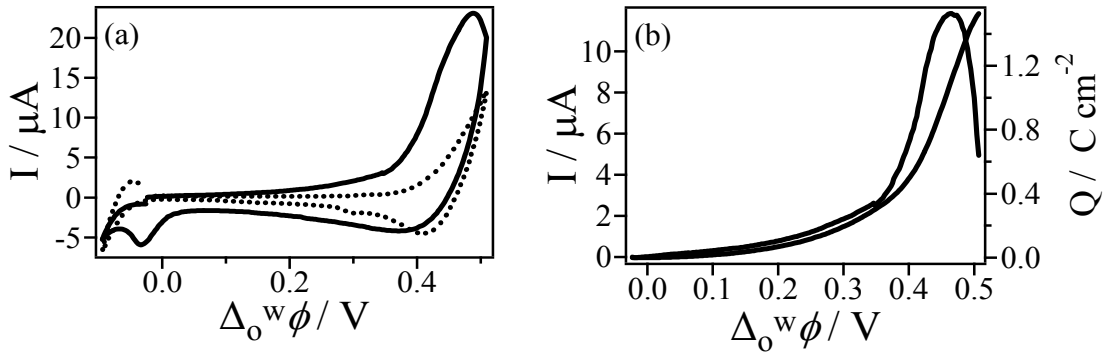
4.2. Damla Sistemi: Sıvı|Sıvı Ara Yüzeyde Fosfolipit Adsorpsiyonunun Voltametrik ve Görsel Kanıtları

4.2.1. Dönüşümlü voltamogramlar

4.2.1.1. K_2IrCl_6 / K_3IrCl_6 sistemi

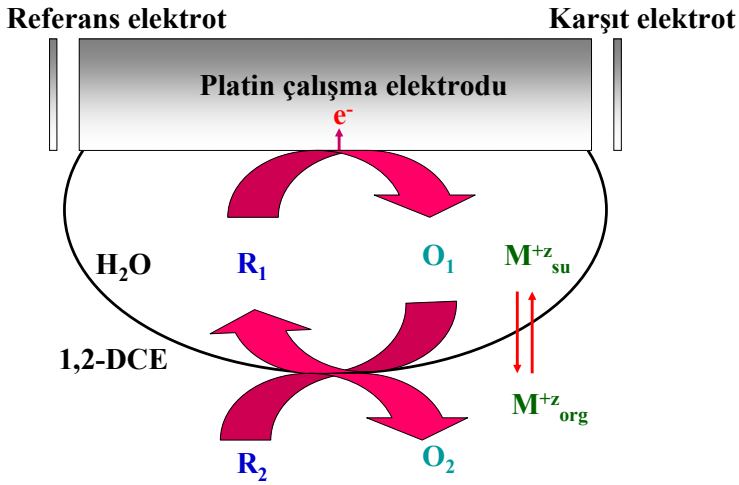
Şekil 4.11.'de DPPC varlığında ve yokluğunda elde edilen iyon transfer voltamogramları ve fosfolipit varlığında ön tarama esnasındaki yük geçişi gösterilmiştir. Bu voltamogramlardan, fosfolipit yokluğunda potansiyel penceresinin negatif

potansiyellerde sulu faz anyonları $IrCl_6^{2-}$ veya $IrCl_6^{3-}$ tarafından kısıtlandığı açıkça görülebilir ki bu da dönüşümlü olarak $IrCl_6^{-3}$'nın indirgenmesi ile ilgilidir.



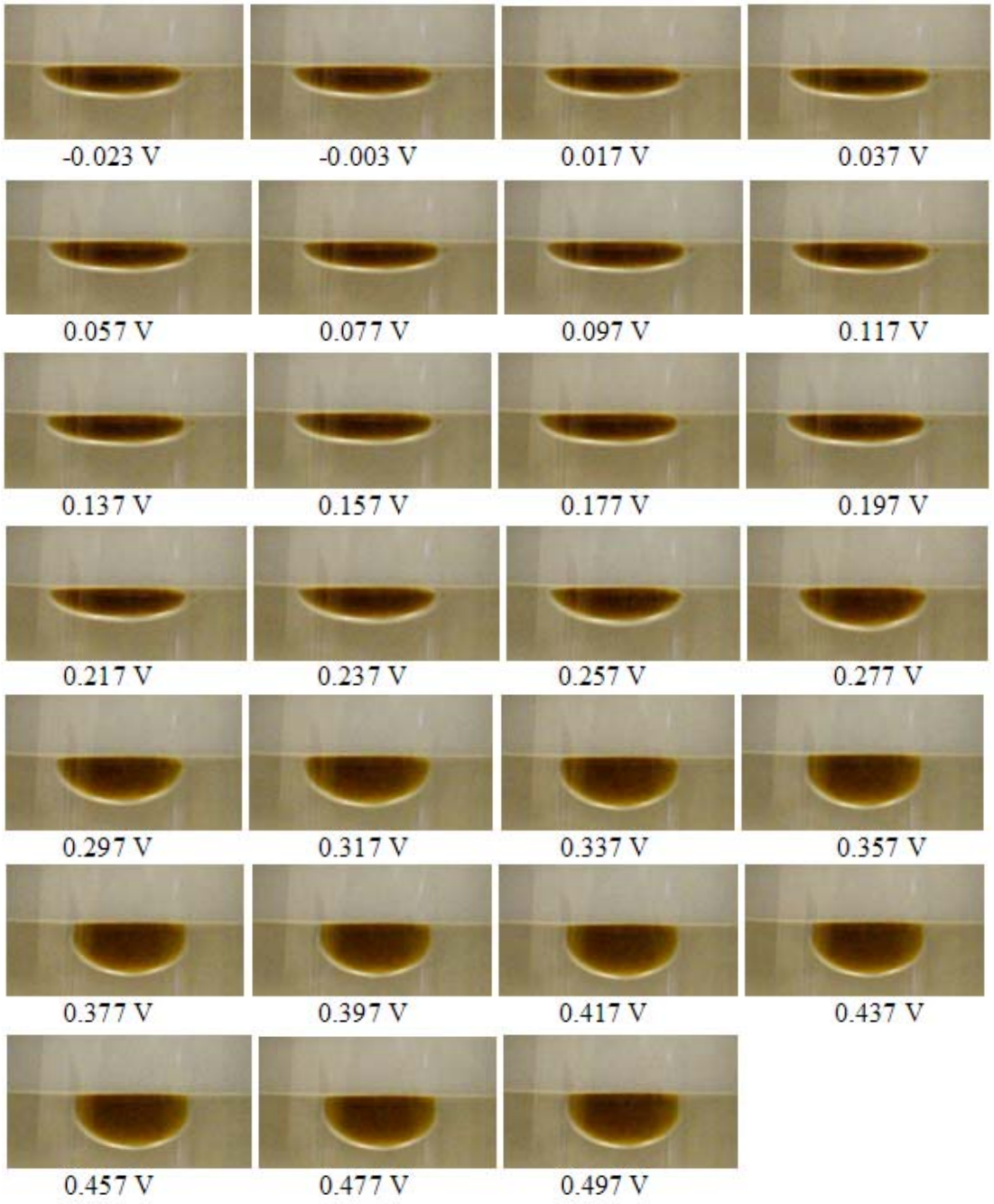
Şekil 4.11. Şekil 3.7'deki Hücre 1 kullanılarak elde edilen CV; kesiksiz çizgi DPPC'li (20 μM), kesikli çizgi DPPC'siz sistemi göstermektedir (a). Hücre 1 kullanılarak elde edilen CV'nin ön taraması esnasında sistemdeki yük akışı (b) (Hücre 1'de X=0, tarama hızı=50 mV/s'dir ve CV'ler organik faza DPPC ilavesinden 30 dak. sonra kaydedilmiştir)

Benzer olarak $IrCl_6^{-3}$'nın yükseltgenmesi esnasında aynı zamanda potansiyel penceresinin pozitif ucunda K^+ iyonlarının transferi gerçekleşir. Bu durum aşağıdaki gibi resmedilebilir (Şekil 4.12). Şekilden de görülebileceği gibi, bu sistemde elde edilen voltametrik sinyal katı elektrot üzerindeki redoks reaksiyonlarına ve ITIES'de meydana gelen yük transfer reaksiyonlarına (elektron veya iyon transferi şeklinde) bağlı olacaktır (Scholz ve ark., 2000; Ulmeanu ve ark., 2001; Yuan ve ark., 2002; Zhang ve Unwin, 2002; Zhang ve ark., 2003; Ulmeanu, 2004; Liu ve ark., 2008).

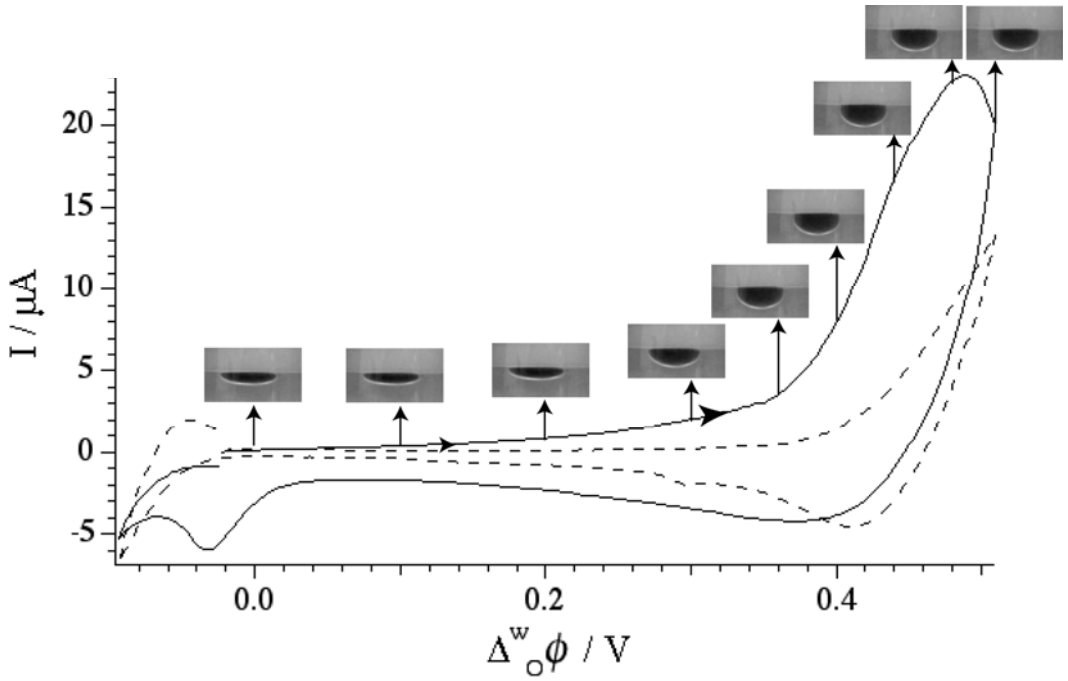


Şekil 4.12. Sıvı|sıvı ara yüzeyde basit iyon transferi (M^{+z}) ve heterojen elektron transferi reaksiyonları

Organik faza DPPC ilave edildiği zaman yaklaşık 0.4 V'de belirginleşen bir pozitif akım sinyali görülmektedir ki bu sinyal sulu fazda bulunan tek katyon K^+ ve daha önce su-DCE ara yüzeyinde adsorplanan DPPC molekülleri arasında oluşan kompleksin desorpsiyonuna karşılık gelir. Bu durum daha önce klasik su-DCE ara yüzeyinde Yoshida ve ark. (2005) tarafından da belirtilmiştir.



Şekil 4.13. Şekil 4.11.(a)'daki CV'nin (kesiksiz çizgi) ön potansiyel taraması başladıktan sonra potansiyel taramasına bağlı olarak su damlasının şeklinde meydana gelen değişiklikler



Şekil 4.14. Şekil 3.7'deki Hücre 1 kullanılarak elde edilen CV; kesiksiz çizgi DPPC'li (20 μM), kesikli çizgi DPPC'siz sistemi göstermektedir. İçteki resimler ön tarama esnasında damla şeklinde meydana gelen değişiklikleri göstermektedir.

Fosfolipit varlığında ileri yöndeki potansiyel taraması esnasında damla şeklinde meydana gelen değişiklikler Şekil 4.13'de verilmiştir. Buna bağlı olarak uygun potansiyel noktalarındaki damla şekilleri de Şekil 4.14'de gösterilmiştir.

Teorik açıdan olaya bakıldığı zaman, her zaman liganda oranla aşırı miktarda bulunan bir iyonun yardımlı iyon transferi reaksiyonu için yarı dalga potansiyeli ($\Delta^{su}_{o}\phi^{tr}_{1/2}$), kompleks oluşum reaksiyonunun denge sabitine (K^{o}_{bir}) ve sulu faz katyonunun konsantrasyonuna ($c^{su}_{M^{+z}}$) aşağıdaki gibi bağlı olacaktır:

$$\Delta^{su}_{o}\phi^{tr}_{1/2} = \Delta^{su}_{o}\phi^{0'}_{M^{+z}} + \frac{RT}{zF}\ln\left[\frac{D^{o}_{PL}}{D^{o}_{MPL^{+z}}}\right]^{1/2} + \frac{RT}{zF}\ln\left[\frac{K^{o}_{bir}}{c^{su}_{M^{+z}}}\right] \qquad \textbf{(4.7)}$$

Eşitlikte $\Delta^{su}_{o}\phi^{0'}_{M^{+z}}$, M^{+z} katyonun formal standart iyon transfer potansiyelidir. D^{o}_{PL} ve $D^{o}_{MPL^{+z}}$ ise serbest ve bağlı ligantın difüzyon katsayısıdır. *R*, *T*, *z* ve *F* sabitleri sırasıyla gaz sabiti, mutlak sıcaklık, transfer olan iyonun yükü ve Faraday sabitidir.

Daha önceki bilgilere göre farklı katyonlar varlığında DPPC için elde edilen elektrokapiler eğrilerin analizine göre $\Delta_o^{su}\phi_{1/2}^{tr}$, desorpsiyon potansiyeline $\Delta_o^{su}\phi_{des}$ eşit kabul edilebilir.

$$\Delta_o^{su}\phi_{des} \approx \Delta_o^{su}\phi_{1/2}^{tr} \qquad \textbf{(4.8)}$$

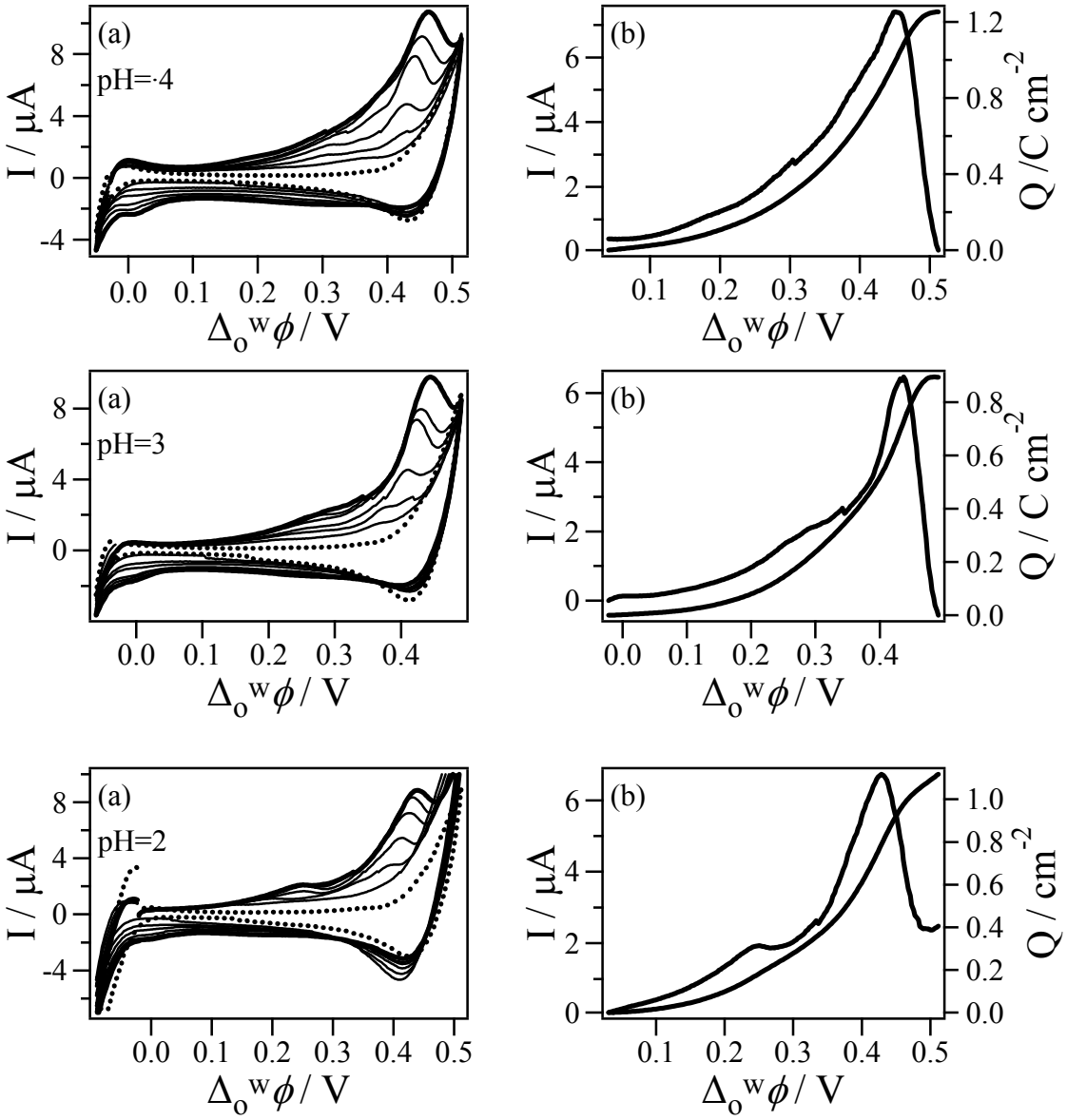
Sonuç olarak hem lipit hem de kompleksleşmiş katyon varlığında elde edilen elektrokapiler eğrilerdeki ara yüzey geriliminin artmaya başlamasından kompleks oluşumu desteklenir. Ancak bizim çalışmamızda lipit desorpsiyonundan kaynaklanan bu önemli değişiklikler sadece klasik voltametrik açıdan değil ayrıca görsel olarak da gözlenebilir. Benzer olarak sulu damla, yüzey aktif madde (bizim çalışmamızda DPPC) içeren çözeltiye daldırıldığı zaman damla şeklinde değişiklikler meydan gelir. Dahası, damlanın hacmi sabit olduğu zaman, ara yüzey alanı bu proseslerde değişecektir ve bu görsel değişiklikler ise potansiyel farkının bir fonksiyonu olarak kayıt edilebilir (Şekil 4.14.'deki resimler).

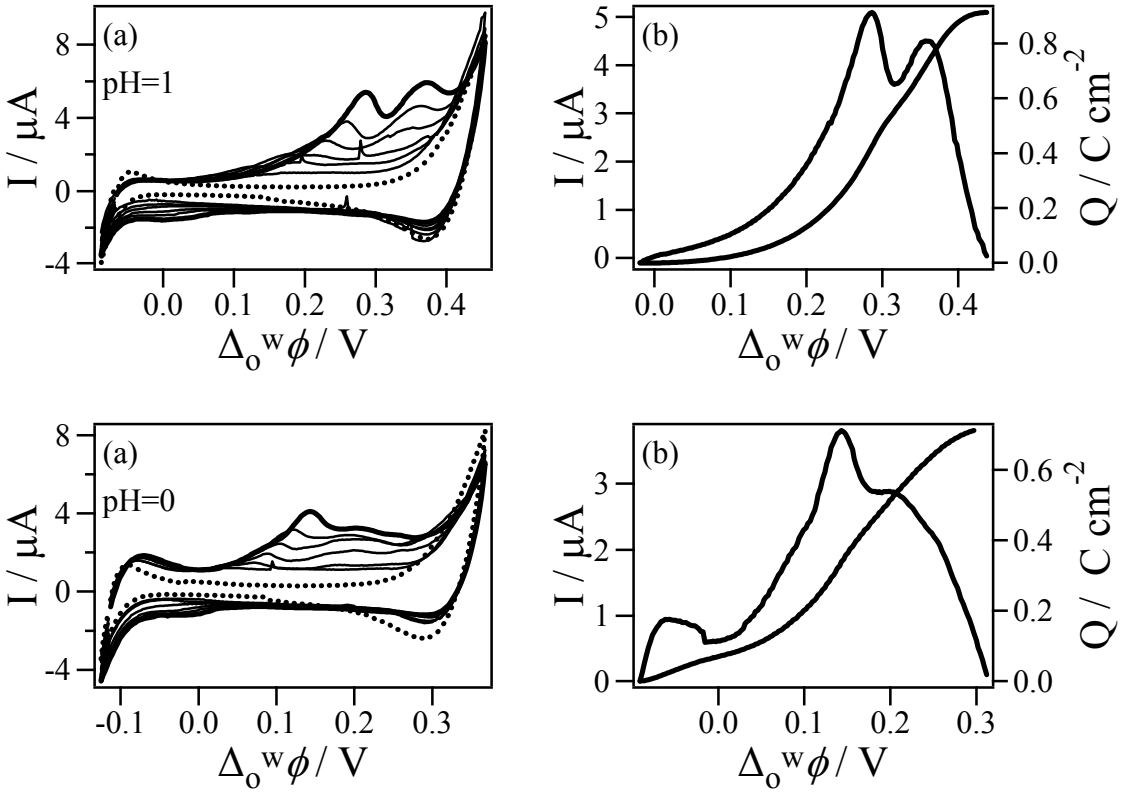
Ayrıca voltamogramların zamana bağlı olduğu bulunmuştur; yani ön tarama esnasında toplam yük miktarı şiddeti üzerine dengeleme zamanının büyük bir etkisi vardır. Ancak, 30 dakika sonra her zaman tekrarlanabilirliği yüksek voltamogramlar elde edilebilmektedir ki bu da bu zaman aralığında kararlı hale ulaşıldığını garanti etmektedir. Aslında, adsorpsiyon difüzyon kontrollü bir prosestir ve mutlak yüzey kaplaması zamanın kara kökü ile orantılı olacaktır. Bundan dolayı, buradaki tüm voltamogramlar 30 dakikalık bir dengeleme zamanından sonra kaydedilmiştir ki bunlar tekrarlanabilir voltametrik sinyallerdir.

Daha önce bahsedildiği gibi eğer sulu damla için uygun bir geometri düşünülürse, voltamogramlar ile birlikte elde edilen video görüntülerinden anlamlı bilgiler elde edilebilir. Bu yüzden, $\sec(\theta)$ değerleri potansiyel farkının bir fonksiyonu olarak grafiğe geçirilebilir ve elde edilen eğrilerin şekilleri DPPC durumunda elde edilen genel eğrileri (elektrokapiler eğriler) (Girault ve ark., 1984; Samec ve ark., 2005; Roozeman ve ark., 2005) temsil edecektir. Bu durum burada yapılan kabullenmelerin mantıklı olduğunu ispatlar ve temas açısındaki büyük değişiklikler desorpsiyon prosesesi sayesinde elde edilebilir. Ancak eğrilerin analiz edilmesinde çok dikkatli olmak gerekir çünkü kompleks oluşum prosesi ve farklı türlerin bulunması sistemde

önemli değişikliklere neden olur ve olay daha karmaşık bir hale gelebilir (Mendez ve ark., 2008).

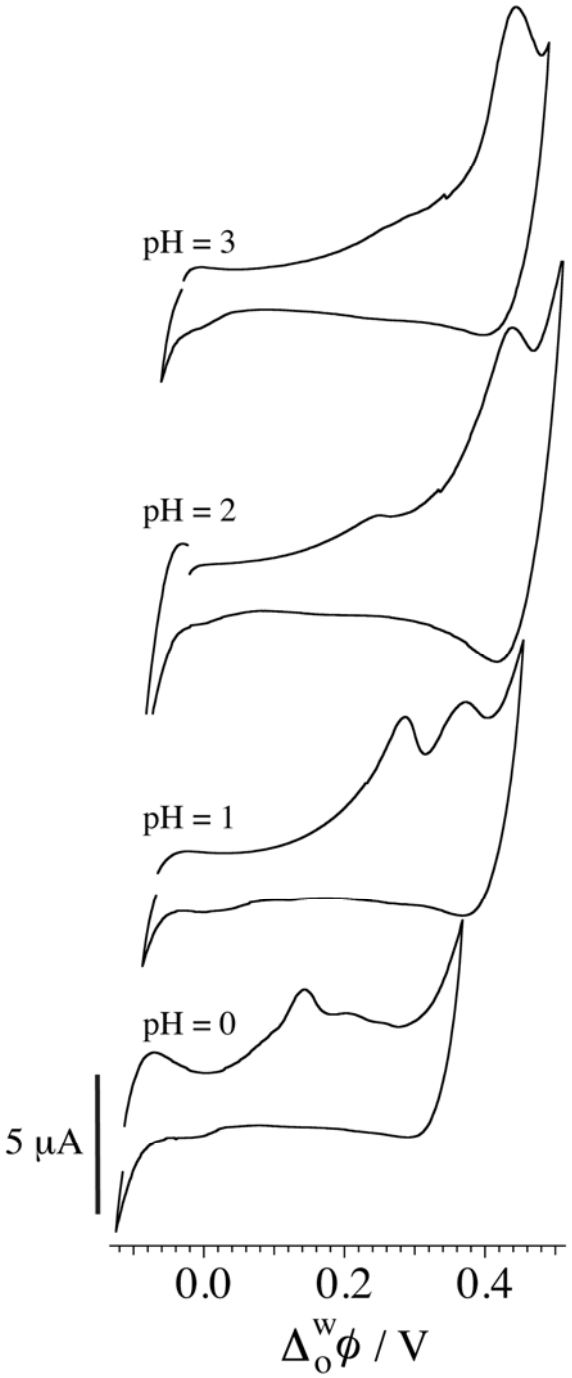
Adsorpsiyon üzerine proton konsantrasyonunun etkisinin incelenmesinde elde edilen sonuçlar Şekil 4.15.'de verilmiştir.





Şekil 4.15. Şekil 3.7'deki Hücre 1 kullanılarak farklı pH değerlerindeki DPPC varlığında (kesiksiz çizgi) ve yokluğunda (kesikli çizgi) elde edilmiş CV'ler. Her bir pH değerindeki (a)'lar organik faza 20 μM DPPC ilavesinden, sırasıyla aşağıdan yukarıya doğru; 1, 3, 6, 12, 18 ve 30 dakika sonra elde edilmiştir. Şekillerdeki (b)'ler ise 30 dakikalık bekleme sonunda elde edilen CV'lerin ön taraması esnasında sistemden akan yükü göstermektedir

Şekilden de görülebileceği gibi, pH=3'deki voltamogram, ortamda hidrojen iyonu olmadığı durumda elde edilen voltamogramdan çok farklı değildir. Ancak daha düşük pH değerlerinde yaklaşık 0.15 V'de yeni bir voltametrik sinyal ortaya çıkmaktadır. Bu durum aynı potansiyel skalasında verilen CV'lerden daha açık görülebilir (Şekil 4.16.).



Şekil 4.16. Şekil 3.7'deki Hücre 1 kullanılarak farklı pH değerlerinde sulu destek elektroliti ve 20 μM DPPC içeren DCE arasında meydana gelen ara yüzeyde elde edilmiş CV'ler

Daha sonraki pik yani orijinal olarak 0.4 V deki pik monoton bir şekilde azalmaktadır. Bu durum DPPC ile K^+ ve H^+ iyonları arasındaki reaksiyonun yarışmasından kaynaklanabilir (4.9'daki reaksiyon). Bu yüzden proton konsantrasyonu belirli bir sınır

değeri geçtikçe DPPC ve H^+ iyonları arasındaki kompleks oluşumu DPPC ve K^+ iyonları arasındaki kompleks oluşumuna oranla daha baskın olacaktır.

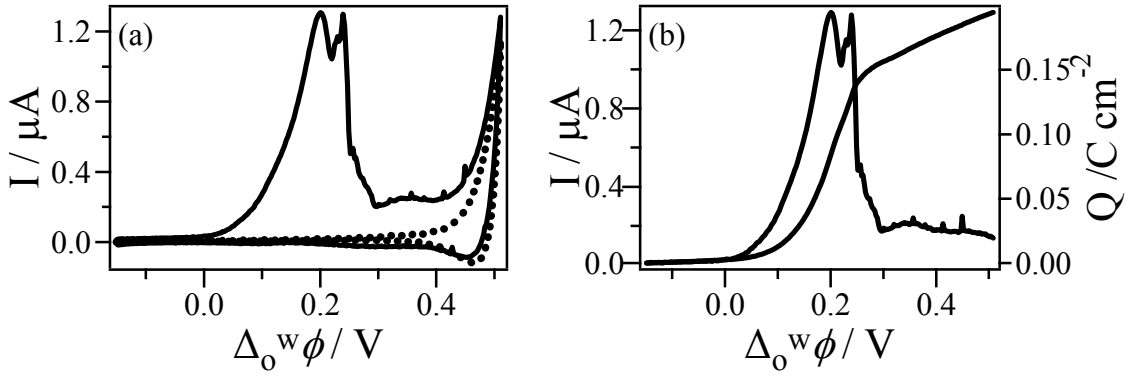
$$K^+_{(su)} + DPPC_{(ads)} \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} \left[K - DPPC\right]^+_{ads}$$

$$H^+_{(su)} + DPPC_{(ads)} \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftharpoons}} \left[H - DPPC\right]^+_{ads} \qquad \textbf{(4.9)}$$

Yardımlı iyon transferi voltametrisi ile ilgili teorik bilgilerden, voltametrik tarama esnasında düşük potansiyellerde yüksek denge sabitlerindeki komplekslerin ortaya çıkması beklenir. Bir başka deyişle DPPC daha önce Yoshida ve ark. (2005) tarafından belirtildiği gibi K^+ ve H^+ gibi katyonların transferini kolaylaştıran bir iyonofor rolü üstlenir. Aynı zamanda Ca^{+2} iyonlarının yardımlı iyon transferini de gerçekleştirebilmektedir. Bununla ilgili sonuçlar bu tez kapsamının dışında tutulmuştur. Ancak adsorpsiyon ve kompleksleşme proseslerinin analizi için kullanılan üç-elektrotlu sistem, iki tane ara yüzey kompleksi arasındaki ayrım kadar ara yüzey gerilimindeki önemli değişimlerin görsel olarak ispatlanmasını sağlar. Eş zamanlı olarak, DPPC'nin protona potasyumdan daha fazla yatkın olduğu doğrulanmıştır.

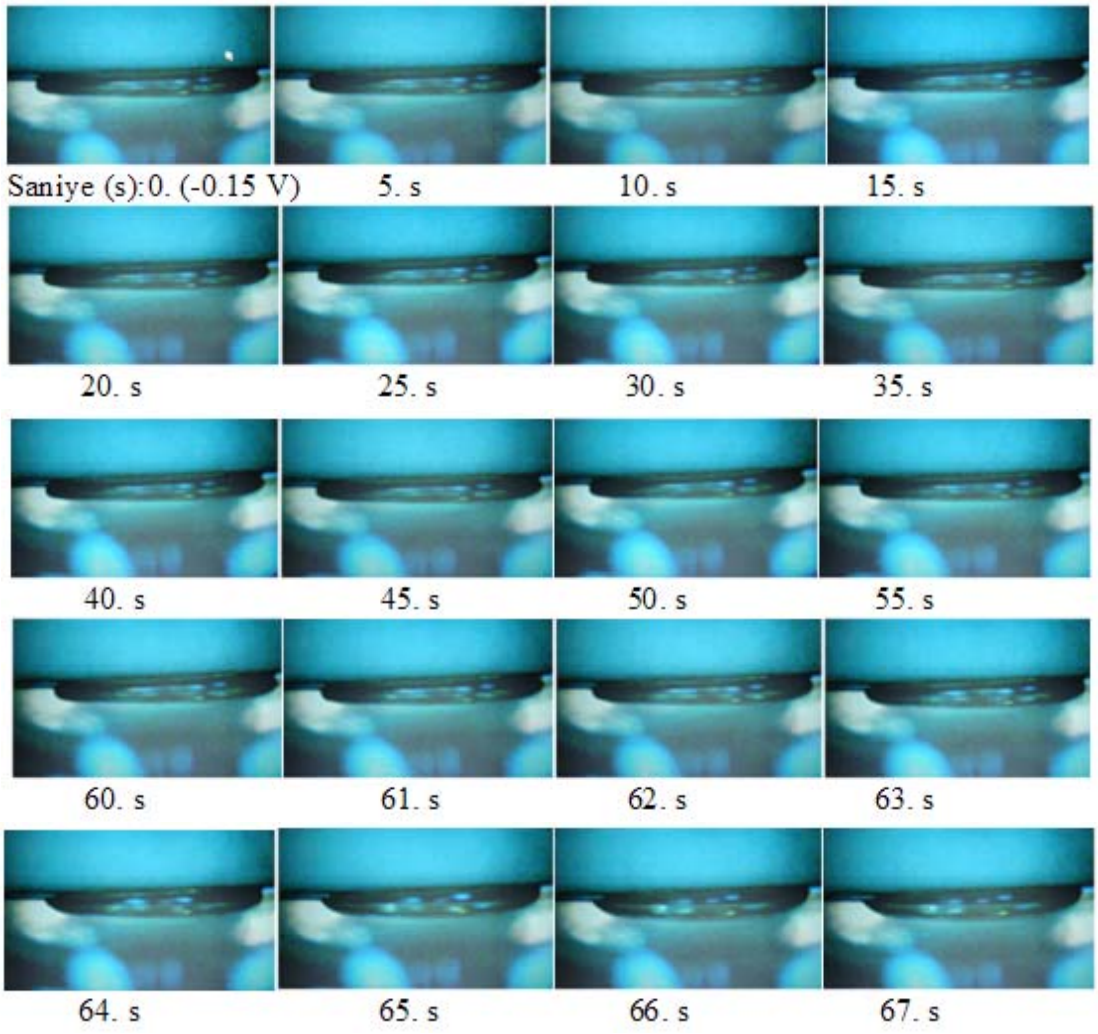
4.2.1.2. $Fe_2(SO_4)_3$ /$FeSO_4$ sistemi

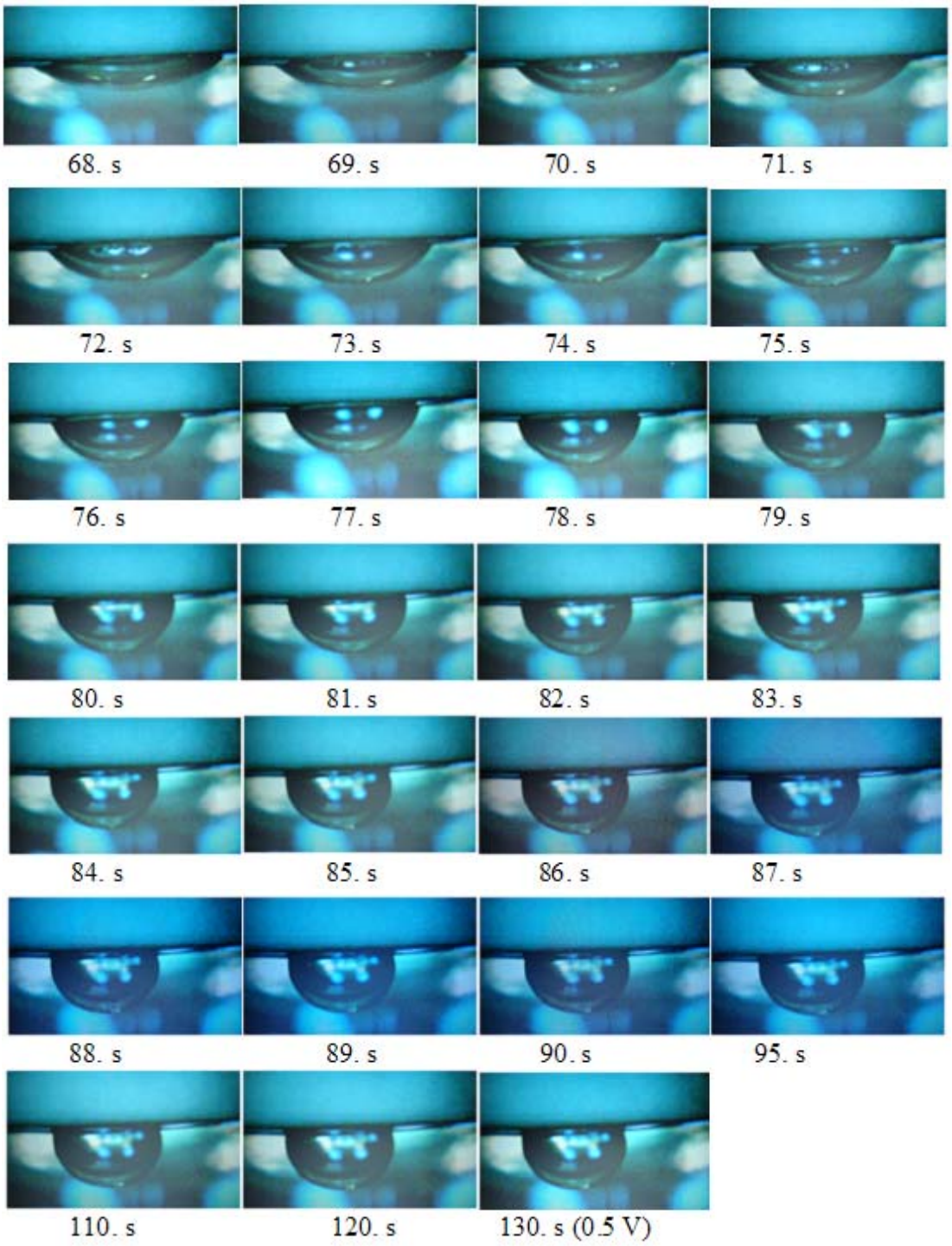
Yukarıda da bahsedildiği gibi kullanılan redoks çifti, başta kompleks oluşum prosesi olmak üzere elde edilen sonuçlar üzerine önemli bir etki yapmaktadır. Sulu damla içerisinde bulunan katyonun bu proses üzerindeki güçlü etkisinin doğrulanması amacıyla, daha önce kullanmış olduğumuz $IrCl_6^{-2}$/$IrCl_6^{-3}$ redoks çifti, Fe^{+2}/Fe^{+3} (sülfat tuzu olarak) redoks çifti ile değiştirilmiştir. Elde edilen voltametrik sonuç Şekil 4.17'de görülmektedir.



Şekil 4.17. Şekil 3.7'deki Hücre 3 kullanılarak 20 µM DPPC varlığında (kesiksiz çizgi) ve yokluğunda (kesikli çizgi) elde edilen CV (a). DPPC ilavesi ile ön tarama esnasında sistemden geçen yük (b) (Hücre 3'de X=0. Tarama hızı: 5mV/s)

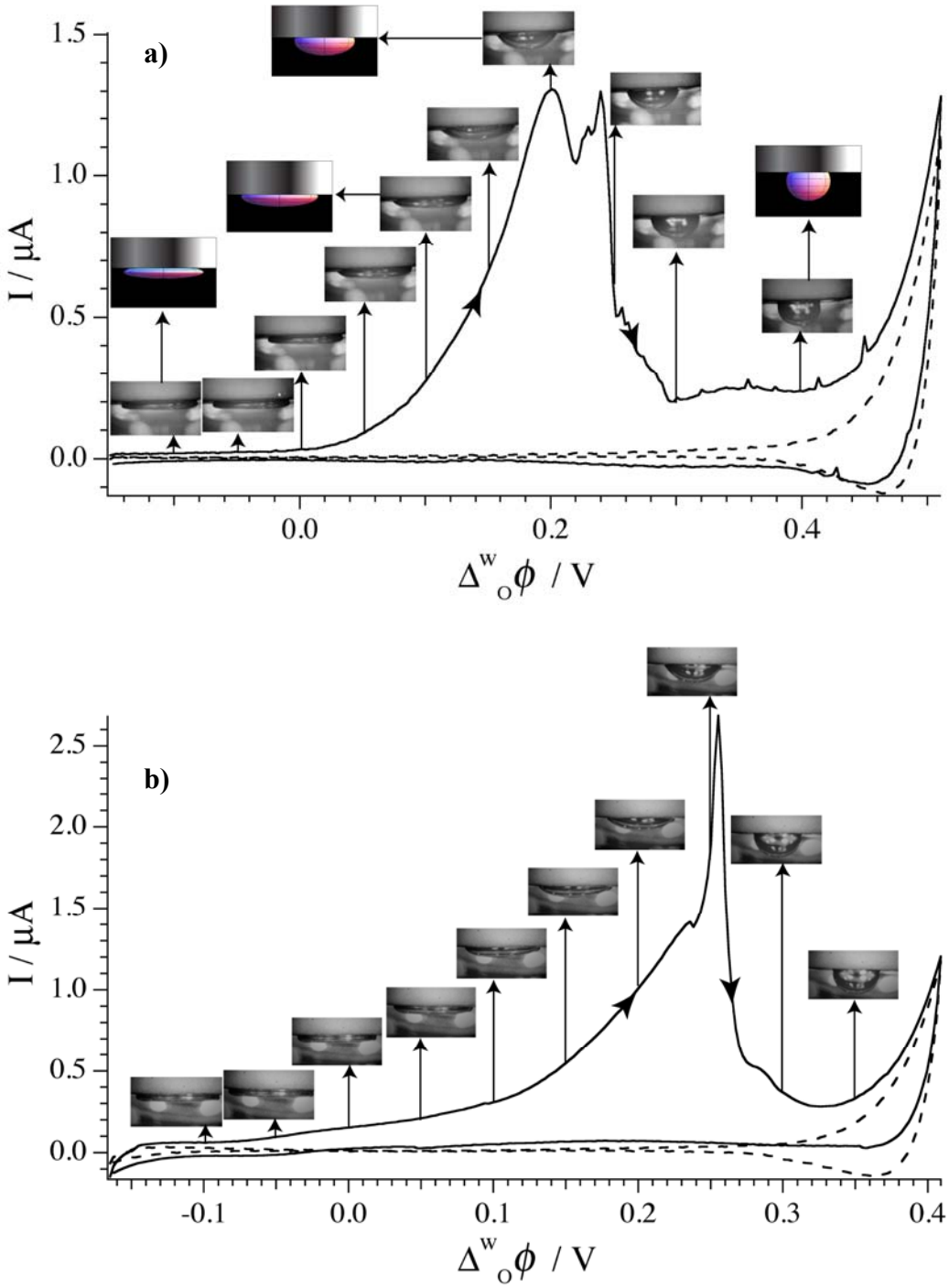
Ayrıca ileri potansiyel taraması esnasında damla şeklinde meydan gelen değişiklikler de Şekil 4.18.'de verilmiştir.





Şekil 4.18. Şekil 4.26.'da verilen CV'nin ön taraması esnasında damla şeklinde meydana gelen değişikliklerin video kayıtları

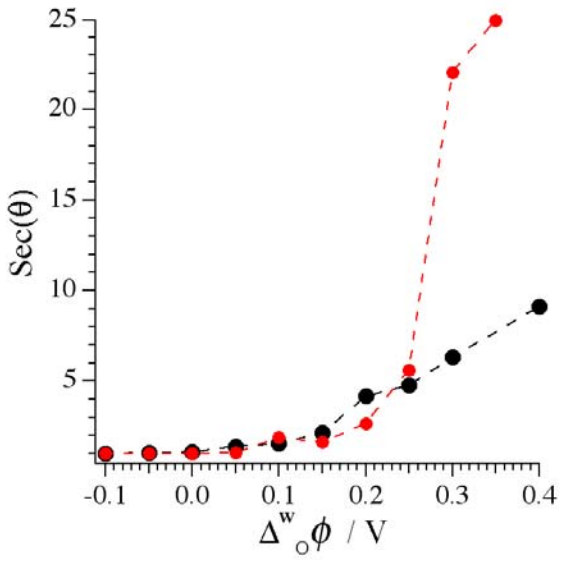
Aşağıdaki şekilde (Şekil 4.19) ise ileri yöndeki potansiyel taraması esnasında damla şeklinde meydana gelen değişiklikler voltametrik pikin üzerinde gösterilmiştir.



Şekil 4.19. Şekil 3.7'deki Hücre 3 kullanılarak 20 µM DPPC varlığında (kesiksiksiz çizgi) ve yokluğunda (kesikli çizgi) elde edilen CV'ler. Hücre 3'de X=0 (a); 100 (b). CV'ler üzerindeki resimler potansiyel taraması esnasında damla şeklinde meydana gelen değişiklikleri göstermektedir

Şekil 4.19.a'dan görülebileceği gibi yaklaşık 0.18 V'da keskin pik ortaya çıkmıştır. Bu sinyal DPPC ile Fe^{+2} veya Fe^{+3} iyonları arasındaki daha güçlü kompleksleşme ve desorpsiyondan kaynaklanmaktadır. Ayrıca belirtilmelidir ki iki durum arasında açık bir ayırım yoktur. Desorpsiyon prosesi voltametrik sinyalin sonunda gözlenen akım

sivrilmesine neden olarak ayrıca ITIES'nin karalılığındaki büyük değişikliklere neden olur. Voltametrik ölçümler boyunca elde edilen video görüntüleri açıkça sulu damlanın deformasyonunu göstermektedir (Şekil 4.19.a'daki resimler) ve potansiyel farkının fonksiyonu olarak geometrik parametrelerin belirlenmesinden sonra temas açısı üzerine potansiyelin büyük etkisini açığa çıkarmaktadır (Şekil 4.20.'de siyah çizgi).



Şekil 4.20. DCE içerisinde 20 μM DPPC'nin 0.1 M HCl varlığında (kırmızı) ve yokluğunda (siyah) potansiyel farkının fonksiyonu olarak hesaplanan sec(θ) değerleri

DPPC için beklendiği gibi, adsorpsiyon prosesinde potansiyel-bağımlı bölge ve potansiyel-bağımsız bölge arasında kesin bir ayırım yapılabilir. Daha önce de tartışıldığı gibi bu iki bölgenin varlığı pozitif potansiyellerde lipit–katyon kompleks oluşumunu gerektirmektedir.

Ayrıca belirtilmelidir ki üç-elektrotlu sistemin kullanılması adsorpsiyon veya desorpsiyon proseslerinin karakteristik işaretlerini elde etmeyi sağlamaktadır.
Bu yüzden, daha önce yapılan analizleri doğrulayarak daha önce de tahmin edildiği gibi (Mendez ve ark., 2009) bu üçgensel pikler elde edilir.

Aynı düşünce takip edilerek, daha önce $IrCl_6^{2-}/IrCl_6^{3-}$ redoks çifti durumunda yapıldığı gibi su damlası içerisine HCl ilave edildi ve Şekil 4.19.b'de verilen voltametrik pikin artması kadar akım sivrilmesi de arttı. Önceki bölümde tartışıldığı gibi DPPC'nin protona eğilimi düşük potansiyellerde voltametrik sinyallerin ortaya çıkmasından değerlendirilebilir. Ancak DPPC'nin H^+, Fe^{+2} ve Fe^{+3} ile yaptığı

kompleksler arasında kesin bir ayrım yapmak güçtür. Bu yüzden, sulu çözelti pH'ındaki değişikliklerin etkisi burada düşünülmeyecektir.

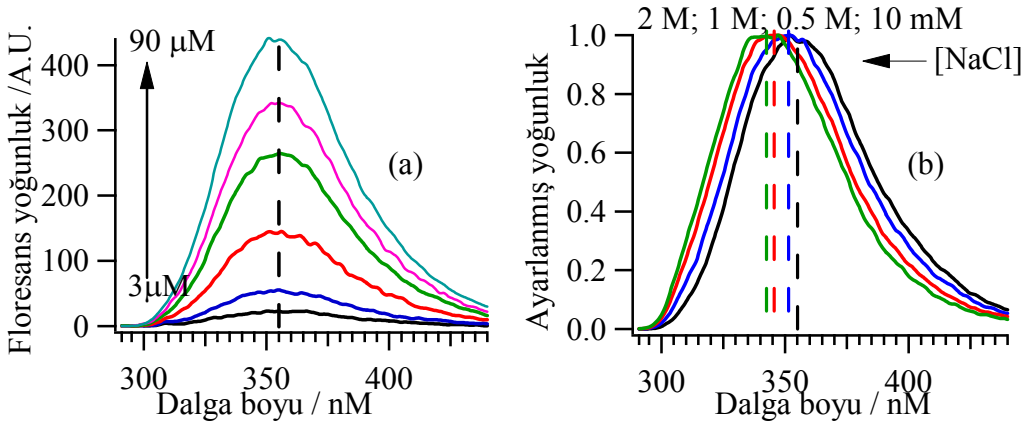
Ancak, eğer sulu damla geometrisinin $IrCl_6^{-2}/IrCl_6^{-3}$ redoks çifti durumundaki gibi olduğu varsayılırsa; sulu damlanın hacmi, alanı ve temas açısı hesaplanabilir (Şekil 4.20.). Görülebileceği gibi, hesaplanan sec(θ) değerlerinden sulu çözeltinin iyonik bileşimi değişse bile her iki durumda da tipik elektrokapiler eğrilerin şekilleri elde edilir. Ancak proton varlığında meydana gelen desorpsiyon prosesi ara yüzey gerilimindeki durumundan daha fazla değişir. Bu şekilde dönüşümlü voltamogramlardaki akım sivrilmesinin şiddeti ara yüzey gerilimindeki değişimlerin şiddetiyle yakından ilişkilidir.

Ancak, analizler esnasında çok dikkatli olunmalıdır çünkü kompleks oluşum prosesi daha önceki bölümde de belirtildiği gibi karmaşık bir hale gelebilir (Mendez ve ark., 2008; Krossing ve Raabe, 2004).

4.3. Su|DCE Ara Yüzeyinde Antimikrobiyal Peptit Adsorpsiyonu ve Peptit-Fosfolipit Etkileşimi

4.3.1. Spektroskopik sonuçlar

MLT yapısında bulunan triptofan aminoasit birimi, peptite floresans özellik kazandırmaktadır. Daha önce belirtildiği gibi MLT belirli koşullarda tetramerik formda bulunmaktadır. Bu amaçla yapmış olduğumuz floresans deneylerinden, kullandığımız peptitin stok çözeltisinde monomerik halde bulunduğu tesbit edilmiştir.

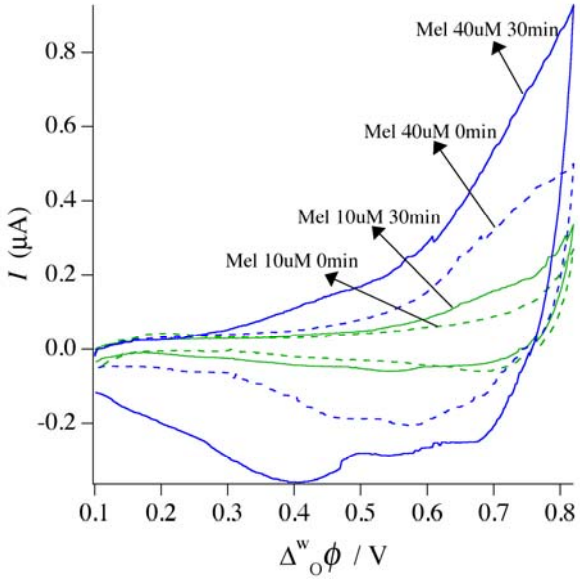


Şekil 4.21. MLT'nin farklı konsantrasyonlarda (a) ve farklı iyonik şiddetlerdeki (b) floresans spektrumları. Uyarma işlemine 285 nM'den başlanmıştır

Şekil 4.21.'den görüleceği gibi konsantrasyon arttığı zaman floresans şiddetinde herhangi bir değişiklik gözlenmemektedir. Ancak çözeltinin iyonik şiddeti NaCl tuzu kullanılarak artırıldığında MLT tetramerik hale gelmekte ve yapıdaki triptofan fonksiyonelliği önlenmektedir bu ise uyarılmanın daha düşük dalga boyunda olmasına neden olmaktadır.

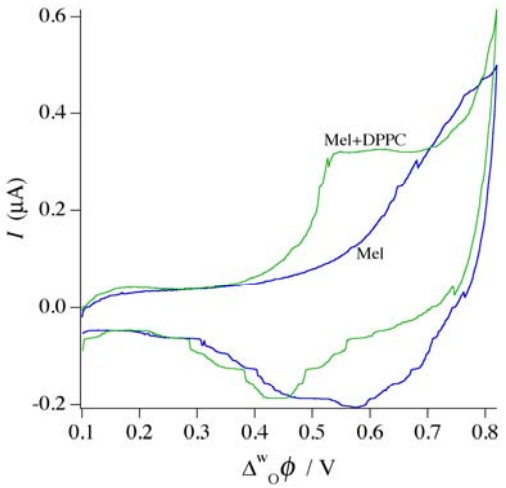
4.3.2. Voltametrik sonuçlar

İlk olarak Şekil 3.11'deki Hücre 1'e göre sulu çözeltide 10 µM ve 40 µM MLT olduğu durumlarda elde edilen CV'lere bakıldığı zaman potansiyel penceresinin pozitif ucunda bir akım artışı gözlenmiştir (Şekil 4.22).

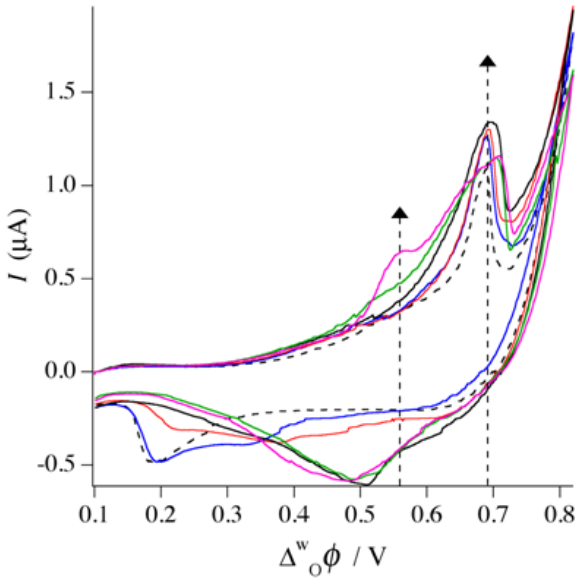


Şekil 4.22. Şekil 3.11'deki Hücre 2 kullanılarak DPPC'siz ortamda, sulu fazda10 µM ve 40 µM MLT olması durumda 0 ve 30 dakikalık dengeleme zamanından sonra elde edilmiş CV'ler. Tarama hızı= 30 mV/s. Damla hacmi=2 µL

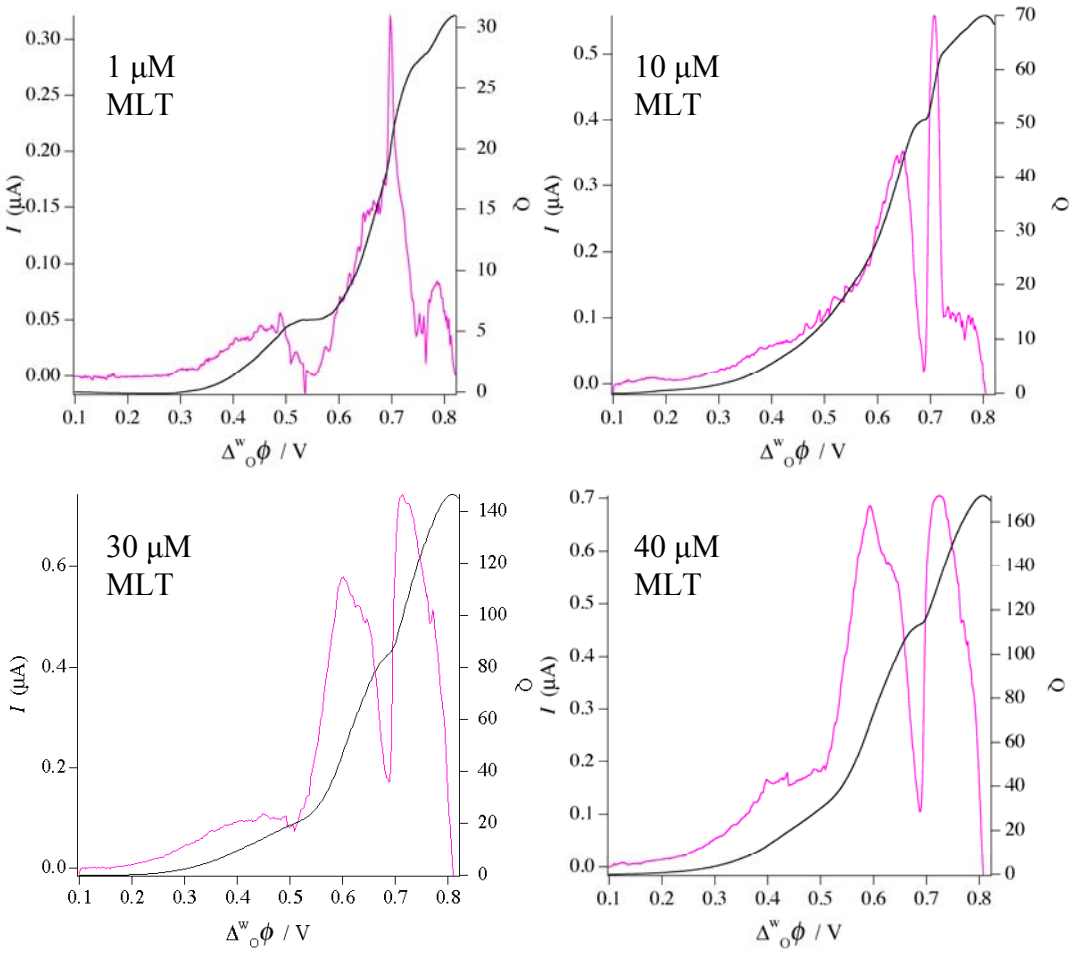
Ara yüzeyde DPPC adsorplandığı durumda ise yaklaşık olarak 0.56 V civarında (Şekil 4.23.'de yeşil çizgi) bir akım sinyalinin ortaya çıktığı açıkça görülebilir ki bu durum MLT'nin ara yüzeyde adsorplanan DPPC ile güçlü bir etkileşime girdiğini göstermektedir. Dolayısıyla, adsorpsiyon veya peptitin lipidik monolayer içerisine girişi bile olabilir. Bu durum farklı fosfolipit konsantrasyonlarında elde edilen voltametrik sinyallerde meydan gelen akım değişimlerinden daha açık görülebilir (Şekil 4.24 ve Şekil 4.25).



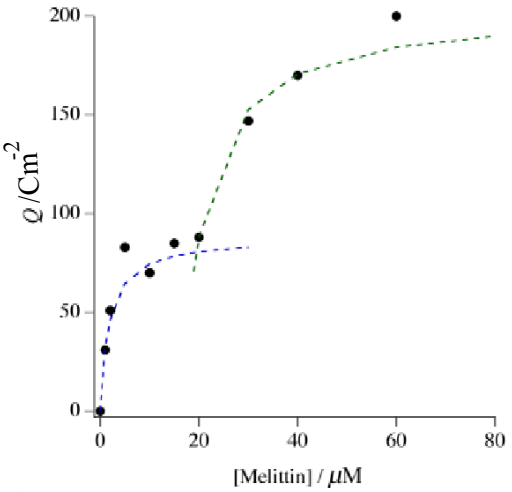
Şekil 4.23. Şekil 3.11'deki Hücre 2 kullanılarak 20 µM DPPC varlığında ve yokluğunda 40 µM melittin için CV'ler (Tarama hızı=30 mV/s. Dengeleme zamanı = 0 dakika. Damla hacmi = 2 µL)



Şekil 4.24. 0 µM ile 20 µM arasında değişen MLT konsantrasyonlarında Şekil 3.11'deki Hücre 2 kullanılarak elde edilen CV'ler (Dengeleme zamanı= 30 dakika. Tarama hızı=30 mV/s. Damla hacmi=2 µL. Y=20)



Şekil 4.25. Farklı konsantrasyonlarda MLT içeren sulu faz ile 20 µM DPPC içeren organik faz arasında meydana gelen ara yüzeyde Şekil 3.11'deki Hücre 2 kullanılarak elde edilen CV'ler ve zemin akımlarının çıkarılıp integre edilmesi ile elde edilen yük değerleri



Şekil 4.26. Sulu fazda bulunan farklı melittin konsantrasyonuna göre ara yüzeyden akan yük

İyon transfer voltamogramlarının integrasyonu ile MLT'nin desorpsiyonundan kaynaklanan ara yüzeyden geçen yük açıkça daha düşük potansiyellerde bir yeni sinyal ortaya çıkarmaktadır. Aynı zamanda MLT konsantrasyonu belirli bir limit değerin üzerine çıktığı zaman, ara yüzeyden geçen yük oldukça artmakta ve maksimum kararlı değere ulaşmaktadır ki bu değer limit değerin altında gözlenen akım değerinden üç kat daha fazladır. Burada bizim hipotezimize göre yükteki bu ani artış, tetramerizasyon ve monolayer yıkımının eş zamanlı olarak meydana gelmesidir. Bu ise hidrofobik bir katyonik peptit transferi ve lipidik monolayerin dağılması ile sonuçlanır.
Daha önceki bölümlerde belirtildiği gibi ara yüzeyden akan yük aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\left(Q = \frac{1}{\nu A} \int_{E1}^{E2} I \cdot dE \right)$$

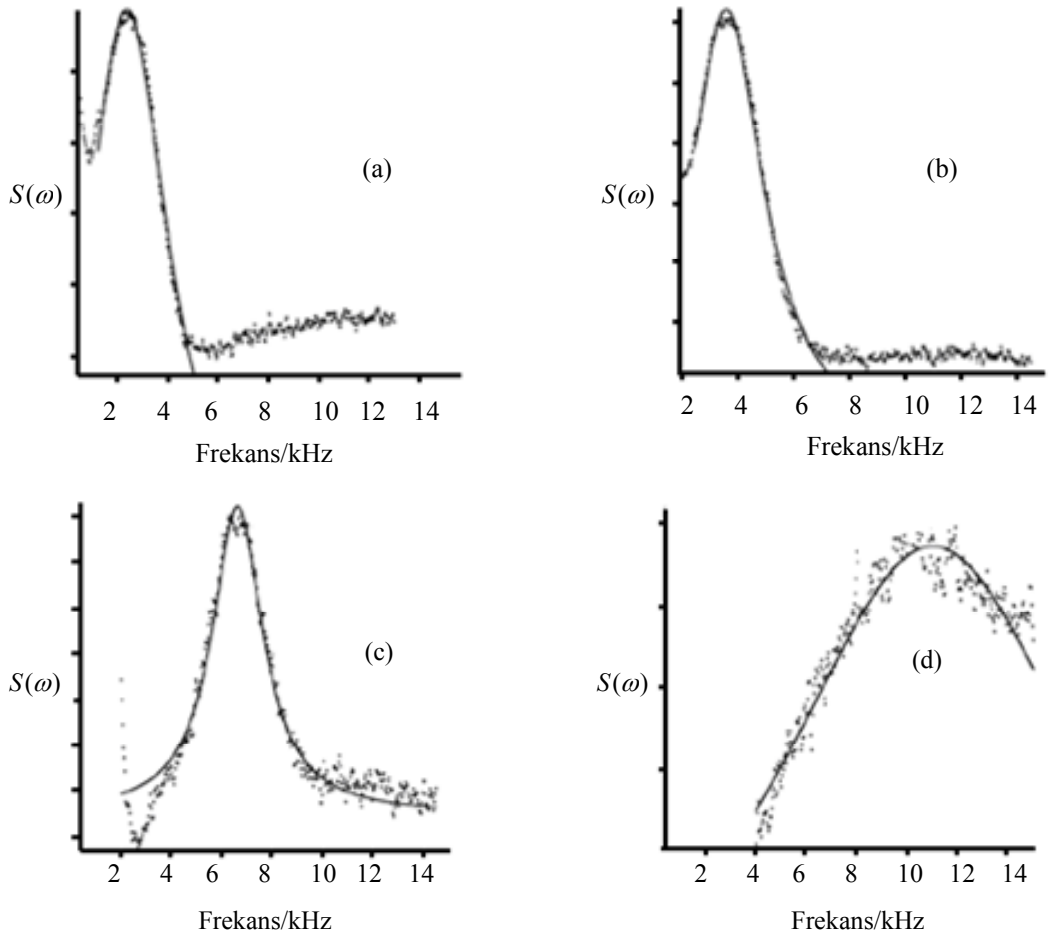
Ara yüzeyden geçen yük bilindiği zaman, aşağıdaki eşitliğe göre yüzey kaplaması (molekül başına kaplanan alan) hesaplanabilir.

$$\left(\Gamma = \frac{Q_{\max}}{zF} \right)$$

1 μM ile 20 μM aralığındaki melittin konsantrasyonlarında (Şekil 4.26'da mavi çizgi) bu hesaplamalar yapıldığında, molekül başına düşen alan 353 $(A^o)^2$ olarak bulunmuştur.

4.3.3. QELS sonuçları

Sadece su ve DCE'den meydana gelen (destek elektrolitleri içermeyen) saf (Su|DCE) ara yüzeyi kullanarak elde edilen güç spektrumları aşağıda görülmektedir (Şekil 4.27.).

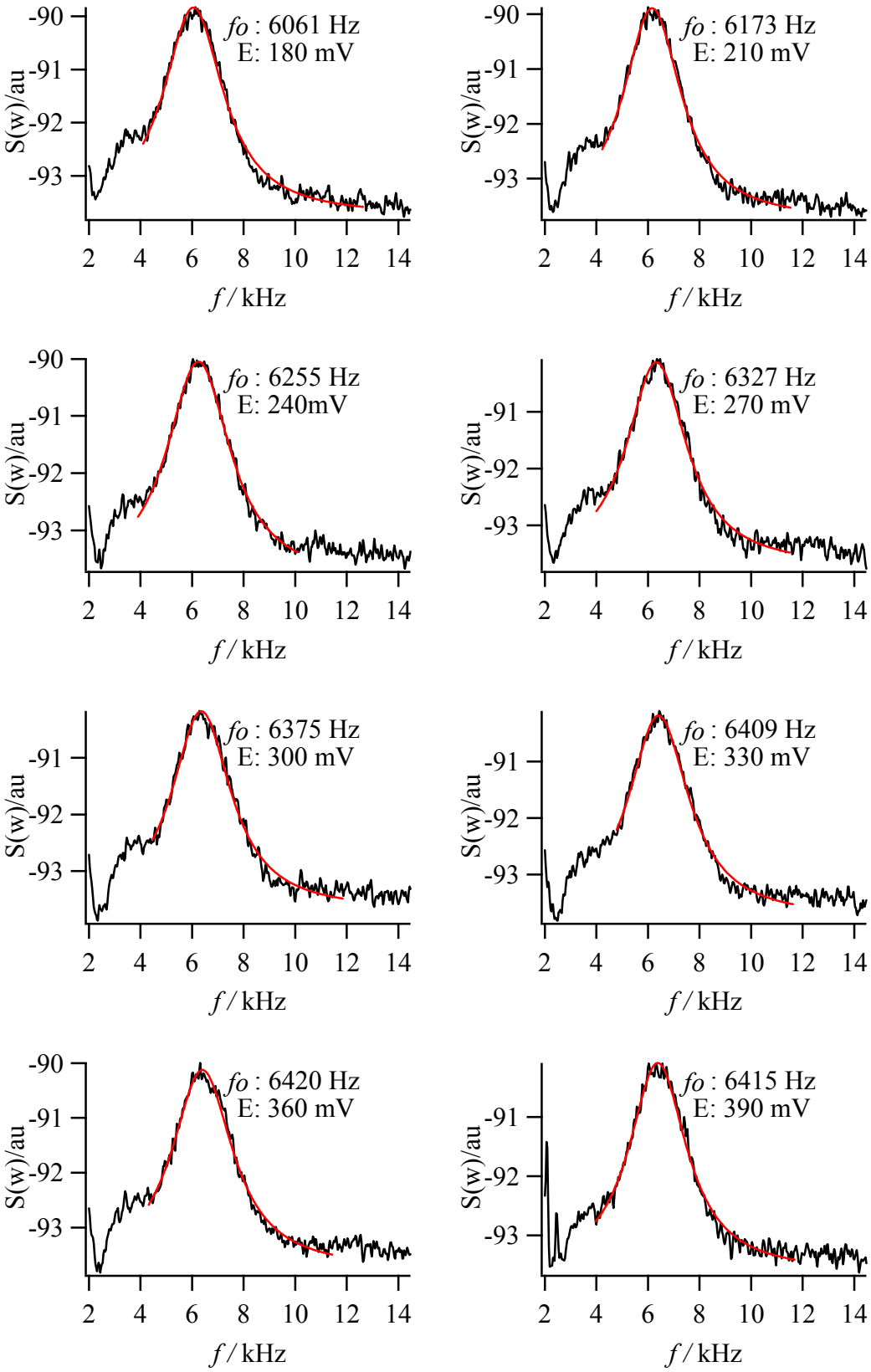


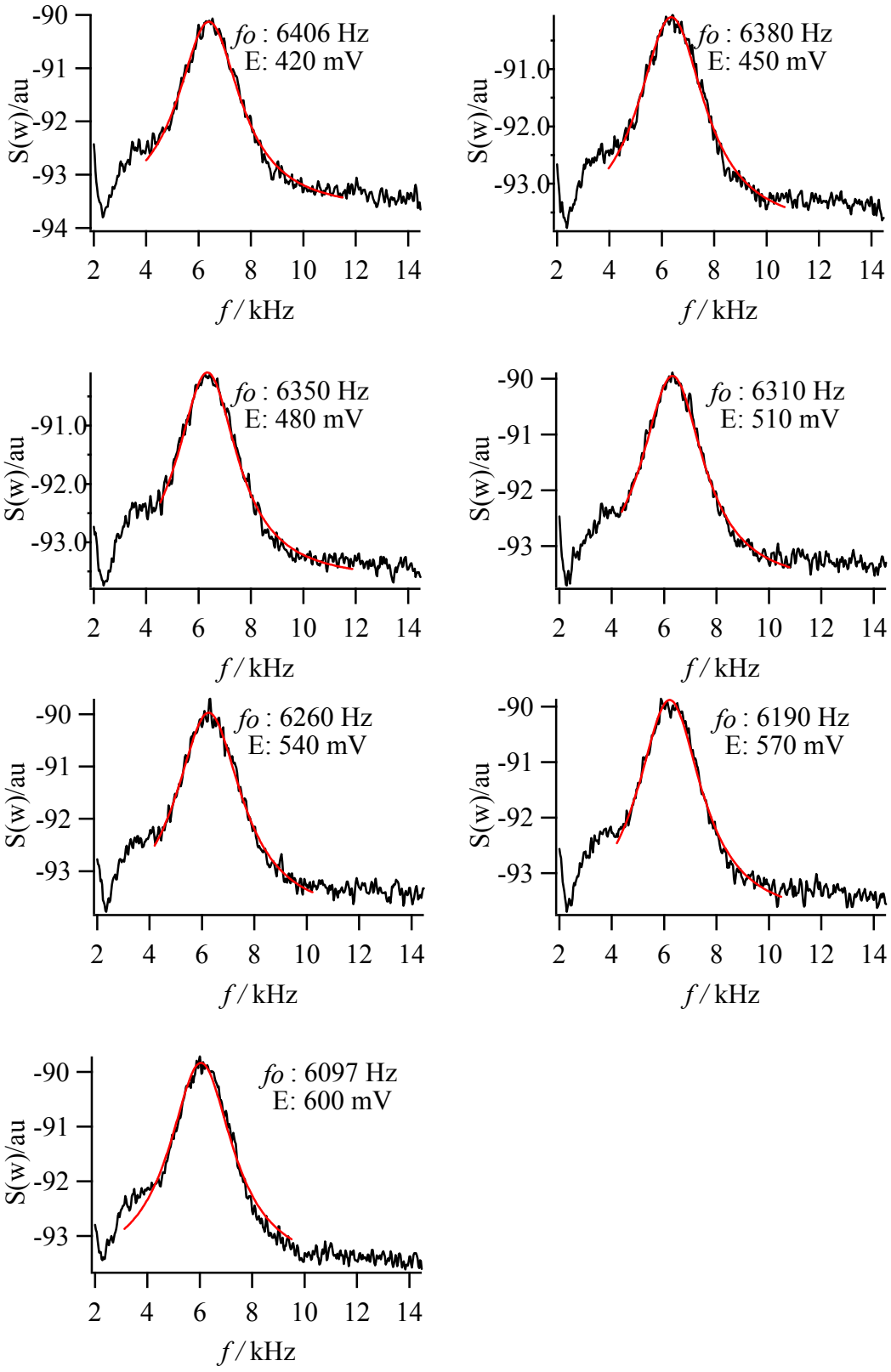
Şekil 4.27. Cihazın kalibrasyonu için, herhangi bir elektrolit madde içermeyen, su|DCE ara yüzeyinde n = 1 (a), 2 (b), 3 (c) ve 4 (d) için elde edilen güç spektrumları (Kesiksiz çizgiler deneysel verilerin *Lorentzian* fonksiyonuna uydurulduğunu göstermektedir)

Eektrolit çözeltiler içermeyen su|DCE ara yüzeyinin yüzey gerilimi 28.5 mN m^{-1} (Nagatani ve ark. 2003) alınarak 3. düzeydeki (n=3) ışınlar için dalga sayısı *Lamb* eşitliği kullanılarak k=505.15 cm^{-1} olarak hesaplanmıştır. Bu değer yüzey gerilimlerinin hesaplanması için diğer tüm ölçümlerde kullanılmıştır.

4.3.3.1. Destek elektrolitine ait güç spektrumları ve elektrokapiler eğri

Diğer ara yüzeylere ait elektrokapiler eğrilerin elde edilmesinde kullanılacak güç spektrumları çok yer kaplayacağı için burada sadece destek elektrolitine ait güç spektrumlarına yer verilmiştir (Şekil 4.28.).

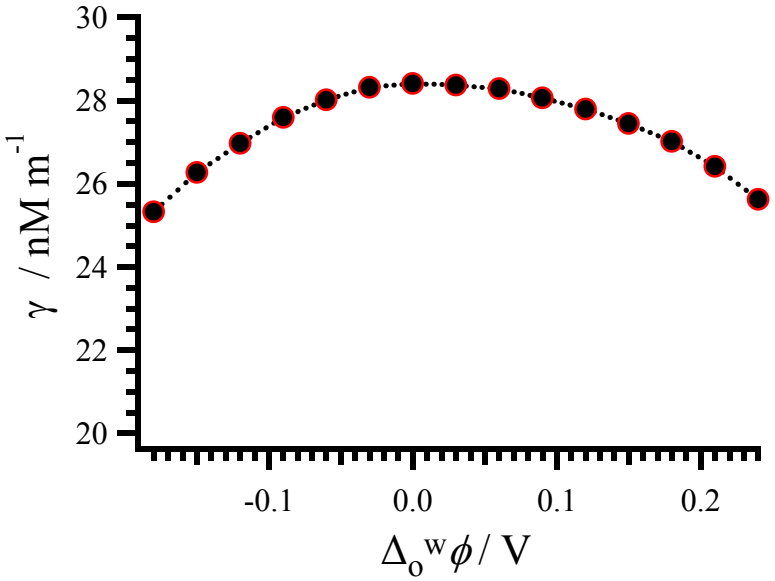

fo : 6061 Hz
E: 180 mV
fo : 6173 Hz
E: 210 mV
fo : 6255 Hz
E: 240mV
fo : 6327 Hz
E: 270 mV
fo : 6375 Hz
E: 300 mV
fo : 6409 Hz
E: 330 mV
fo : 6420 Hz
E: 360 mV
fo : 6415 Hz
E: 390 mV
S(w)/au
f / kHz



Şekil 4.28. Sadece destek elektrolitleri içeren su|DCE ara yüzeyine ait güç spektrumları (Spektrumların elde edildiği potansiyeller ve *Lorentzian* fonksiyonu ile elde edilen pik frekansları için grafiğe bakınız)

Güç spektrumlarından *Lorentzian* fonksiyonu ile elde edilen frekans değerlerinden *Lamb* eşitliği kullanılarak ara yüzey gerilimi değerleri elde edilmiş ve

uygulanan potansiyel değerlerine karşı grafiğe geçirilmiştir ki bu da daha önce belirtildiği gibi elektrokapiler eğri olarak adlandırılmaktadır. Bu grafiğe (Şekil 4.29.) bakıldığında ara yüzey gerilimi uygulanan potansiyel farkına göre belirli bir maksimum değere ulaşmakta ve tekrar simetrik olarak azalmaktadır. Bu durum ara yüzey civarındaki yük dağılımın potansiyel farkına göre değişiklik göstermesinden kaynaklanmaktadır. Elektrokapiler eğrilerden, önemli parametrelerden biri olan sıfır yüklü nokta (*pzc*) hesaplanabilmekredir. Grafiksel olarak bu nokta kapiler eğrinin maksimum olduğu yere tekabül etmektedir.



Şekil 4.29. Saf-(Su|DCE) ara yüzeyine ait elektrokapiler eğri

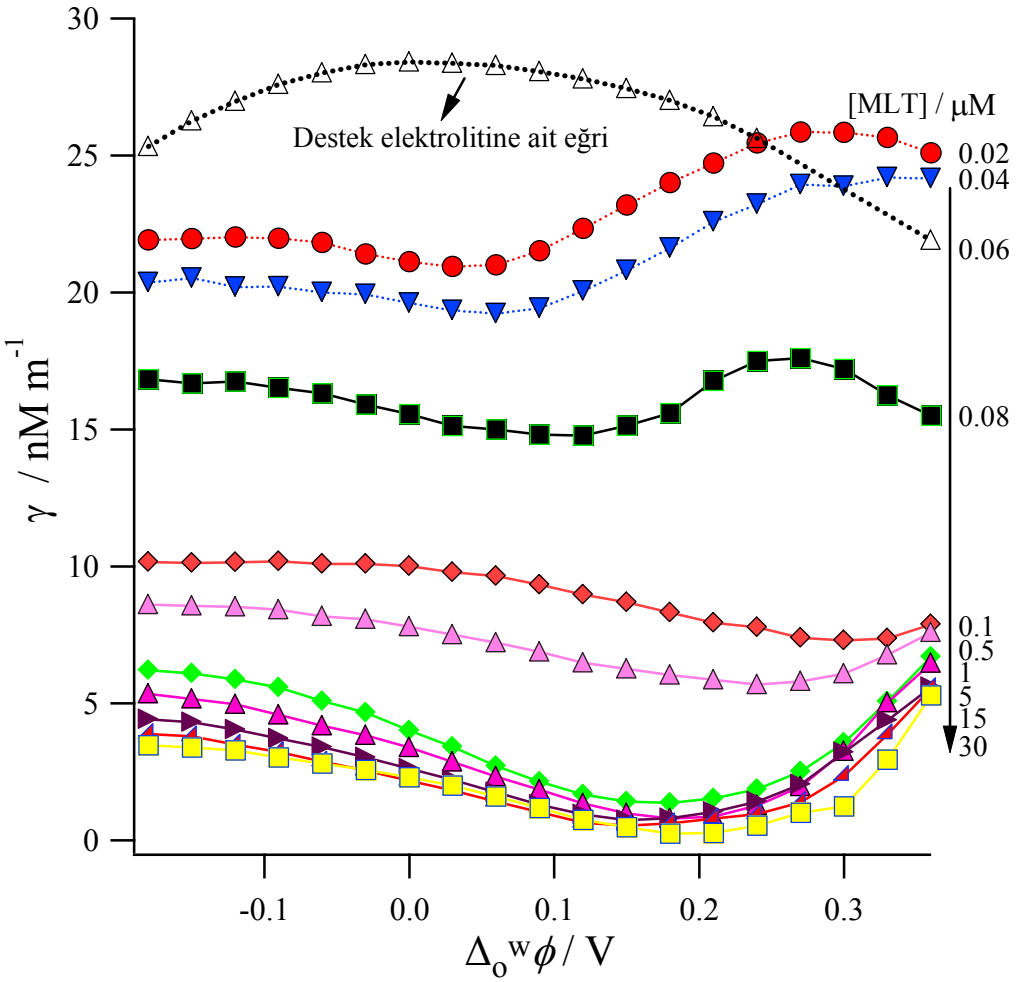
4.3.3.2. Ara yüzeyde melittin-fosfolipit etkileşimi

DPPC ve MLT'nin ara yüzeydeki adsorpsiyonunun ara yüzey geriliminde büyük değişiklikler yapacağı umulmuştur. Bu durumda destek elktrolitleri için tipik olarak elde edilen elektrokapiler eğriler ara yüzeydeki adsorpsiyon ve desopsiyon derecesine göre farklılıklar gösterecektir.

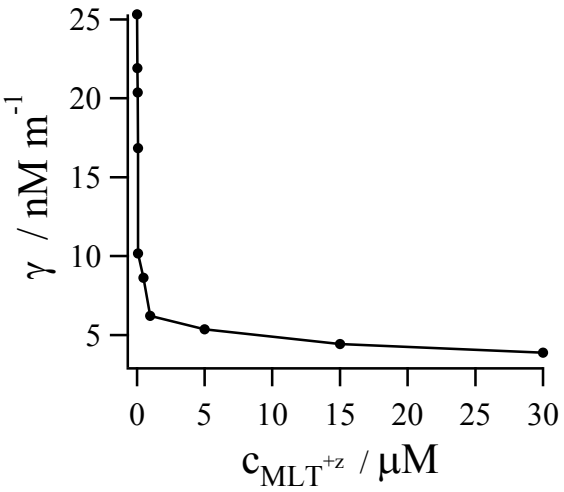
İlk olarak Şekil 3.11'deki Hücre 1 kullanılarak farklı peptit konsantrasyonlarında elektrokapiler eğriler elde edilmiştir. Elde edilen tüm eğriler Şekil 4.30.'da verilmiştir. MLT fizyolojik pH değerlerinde +5 yük içeren amfifilik bir moleküldür. Dolayısıyla bu özellik MLT'nin su tarafından ara yüzey bölgede adsorplanmasına neden olmaktadır. Fizyolojik pH değerinde MLT için elde edilen elektrokapiler eğriler, bu peptitin su-DCE ara yüzeyine güçlü bir çekim içerisinde olduğunu kanıtlamaktadır. Elektrokapiler

eğrilere bakıldığı zaman negatif potansiyellerde voltametrik sonuçlardan da görüldüğü gibi MLT ara yüzeyde adsorplanmaktadır. Potansiyel pozitif yapıldıkça MLT ara yüzeyden desorplanıp tekrar ana su fazına geçmektedir. Bu noktadan sonra elektrokapiler eğri yükselmeye başlar ve dolayısıyla yüzey gerilimi artar.

Şekil 4.31.'deki eğri -0.18 V'luk başlangıç potansiyelinde MLT konsatrasyonun fonksiyonu olarak ara yüzey gerilimindeki değişimleri göstermektedir. Şekilden ara yüzey yaklaşık 1 µM MLT konsantrasyon değerinde peptit ile kaplanmış gibi görünmektedir. Aslında bu durum çalışma şartlarımız altında +5 yük içeren MLT'nin su|DCE ara yüzeyine çok şiddetli bir çekim içerisinde olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.30. Şekil 3.11'deki Hücre 1'kullanılarak elde edilen elektrokapiler eğriler (Hücrede X= 0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 15 ve 30 µM; her bir X için Y=0)



Şekil 4.31. Başlangıç potansiyelinde MLT konsantrasyonuna göre ara yüzey gerilimindeki değişim

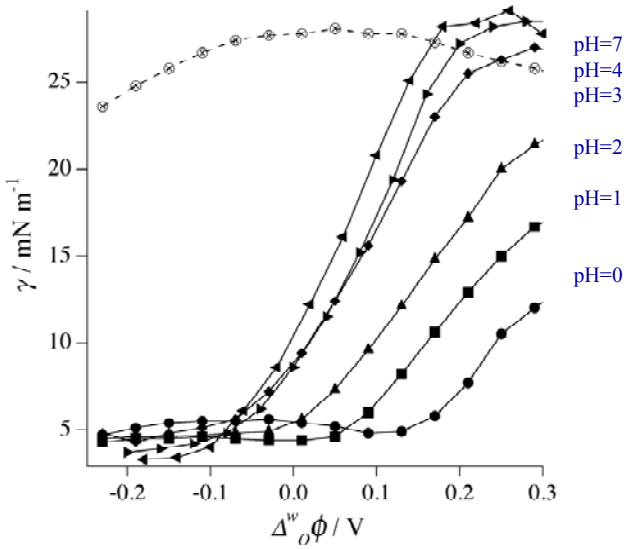
Eşitlik 4.10 (*Langmuir* izotermi) ve Eşitlik 4.11 kullanılarak yapılan hesaplamalardan MLT için $\Delta G_{ads} \approx$-39 kJ/mol, Alan/molekül=104 $(A^o)^2$ / molekül olarak bulunmuştur. Bu değer voltametrik sonuçlardan elde edilen değerle (353 $(A^o)^2$ / molekül) kıyaslandığında MLT'nin ara yüzeyde düşey yönelimde olduğu söylenebilir.

$$\theta = \frac{\beta c_{MLT}^{su}}{1 + \beta c_{MLT}^{su}} \qquad \textbf{(4.10)}$$

$$\Delta G_{ads} = -RT \ln(\beta) \qquad \textbf{(4.11)}$$

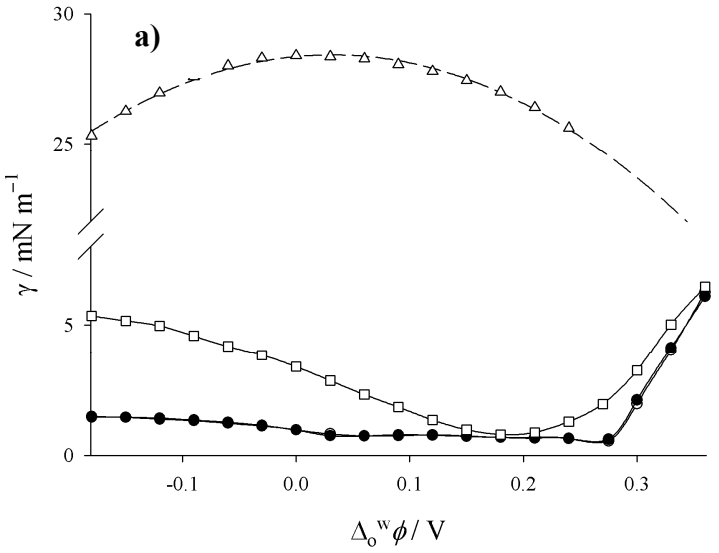
Eşitlikte θ; kısmi yüzey kaplaması, β; adsorpsiyon katsayısı ve c_{MLT}^{su}; MLT'nin ana faz konsantrasyonu ve ΔG_{ads}; Gibbs adsorpsiyon enerjisidir.

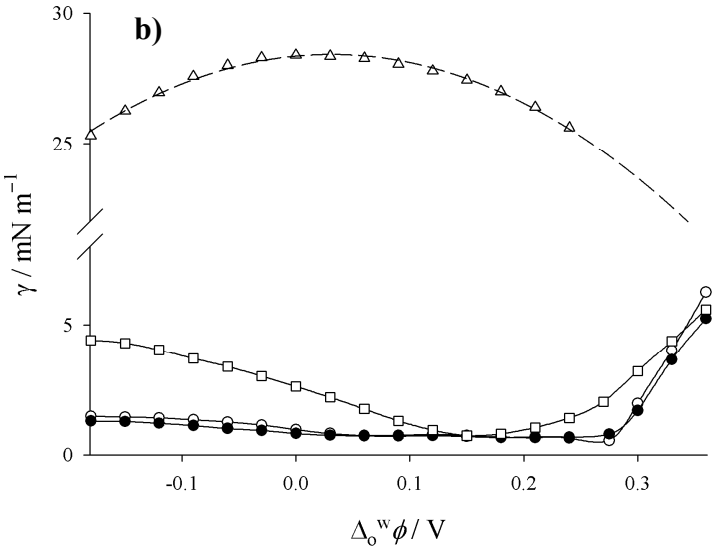
DPPC'nin su|DCE ara yüzeyindeki adsopsiyonu ile ilgili elektrokapiler eğriler de bu çalışmanın bir devamı olarak elde edilmiştir (Şekil 4.32.). Şekil 3.11'deki Hücre 3 kullanılarak farklı pH değerlerinde (şekle bakınız) elde edilen eğrilerin daha önce elde edilen voltametrik sinyallerle uyum içerisinde olduğu gözlenmiştir.

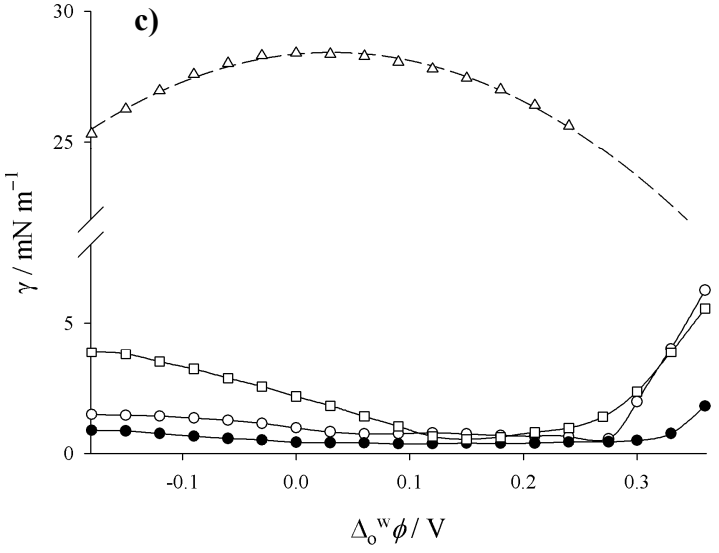


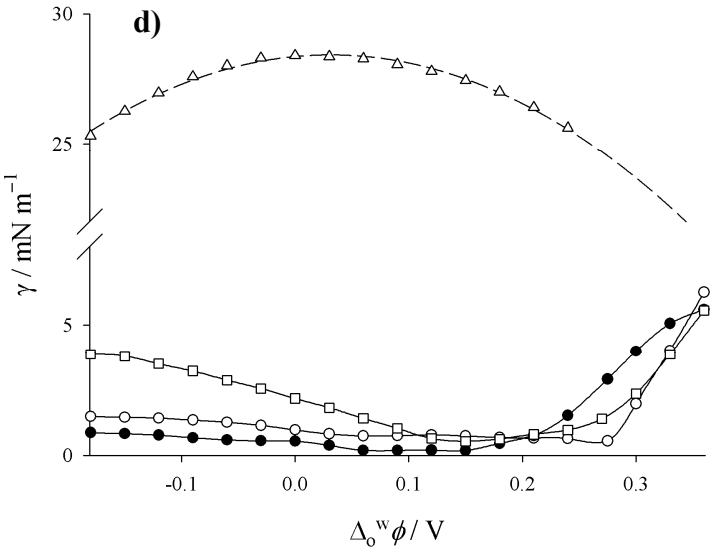
Şekil 4.32. Şekil 3.11'deki Hücre 3 kullanılarak farklı sulu çözelti pH değerlerinde ve 10 μM DPPC'den elde edilen ara yüzeye ait elektrokapiler eğriler

Ancak ara yüzeyde daha önceden DPPC adsorplanmış olarak bulunduğu zaman elbette MLT ve DPPC arasında çok şiddetli bir etkileşim olacaktır. Bu tarz bir etkileşimin analiz edilmesi çok güçtür ve etkileşimin proton-DPPC durumunda olduğu gibi basit bir yardımlı iyon transferi olmadığı kesindir. Çünkü ortamda +5 yüklü büyük bir molekül bulunmaktadır. Elde edilen kapiler eğrilere bakıldığında düşük peptit konsantrasyonlarında ara yüzey geriliminde önemli bir değişiklik gözlenmemektedir (Şekil 4.33.a ve b). Bu durum, düşük konsantrasyonlardaki peptitin, DPPC ile kuvvetli bir etkileşim göstermediği şeklinde yorumlanabilir. Aslında etkileşim vardır ama DPPC monolayer bariyerini geçecek düzeyde değildir.


a)
30
25
5
0
γ / mN m^{-1}
-0.1
0.0
0.1
0.2
0.3
$\Delta_o^w\phi$ / V

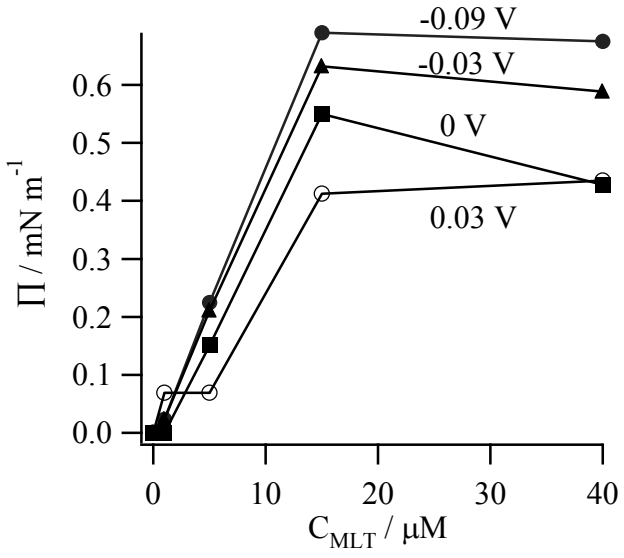

b)
30
25
5
0
γ / mN m^{-1}
-0.1
0.0
0.1
0.2
0.3
$\Delta_o^w\phi$ / V


c)
30
25
5
0
γ / mN m^{-1}
-0.1
0.0
0.1
0.2
0.3
$\Delta_o^w\phi$ / V



Şekil 4.33. Şekil 3.11'deki Hücre 1 kullanılarak elde edilen elektrokapiler eğriler (X= 1 (a), 5 (b), 15 (c) ve 40 (d). Eğrilerde içi boş daireler sadece 20 µM DPPC varlığını içi dolu daireler ise 20 µM DPPC ile birlikte belirtilen miktarlardaki MLT varlığını göstermektedir)

Ancak melittin konsantrasyonu daha önce de dönüşümlü voltamogramlarda ara yüzeyde akan akım değerinin köklü bir artış gösterdiği belirli bir limit değeri aştığı zaman, daha düşük ara yüzey gerilimi değerlerine inilmektedir (Şekil 4.33.c ve d).



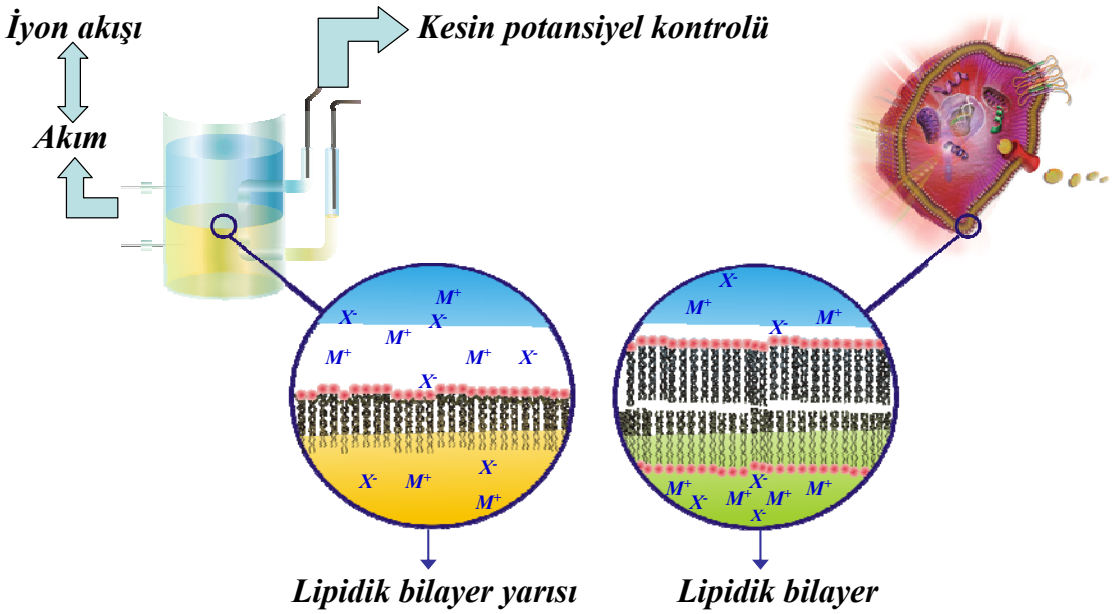
Şekil 4.34. Farklı potansiyelerde 20 µM DPPC içeren ara yüzeyde MLT konsatrasyonuna göre yüzey basıncında meydana gelen değişiklikler

Bu noktada MLT, su|DCE ara yüzeyinde adsoplanmış olarak bulunan DPPC monolayer engelini aşmaktadır. MLT konsantrasyonuna göre yüzey basıncının

değişimini gösteren eğriden (Şekil 4.34.) de bu durum görülebilir. Yüzey basıncı değerleri Şekil 4.33.'e göre 20 μM DPPC varlığında elde edilen ara yüzey gerilim değerlerinden MLT ilavesi ile elde edilen ara yüzey gerilimi değrinini çıkarılması ile elde edilmiştir. Şekil 4.34.'e bakıldığı zaman 15 μM MLT konsatrasyonlarında yüzey basıncı sabit hale gelmektedir. Tüm bu sonuçlar MLT'nin membran yüzeyini tetramerik formda geçtiği fikrini desteklemektedir.

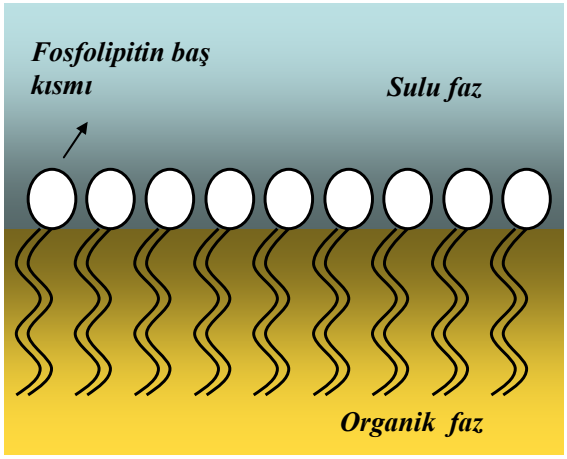
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması temel olarak, fosfolipitle modifiye edilen ITIES'nin, model membran sistemi (Şekil 5.1.) olarak kullanılabileceği düşüncesi ışığında gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla ilk olarak su|DCE ara yüzeyinde hücre membranlarının önemli bir lipit bileşeni olan DPPC'nin adsorpsiyonu üzerinde durulmuştur. Organik faz ve sulu faz elektrolitlerinden oluşan bir sisteme bir de fosfolipit moleküllerinin eklenmesi elbette mevcut sistemi analiz edilmesi oldukça güç bir hale getirmektedir. Dolayısıyla ara yüzey potansiyel farkı, çözelti pH'ı bu noktada dikkate alınması gereken önemli parametreler olmaktadır.



Şekil 5.1. Fosfolipitle modifiye edilen ITIES'nin membran modeli olarak gösterilmesi

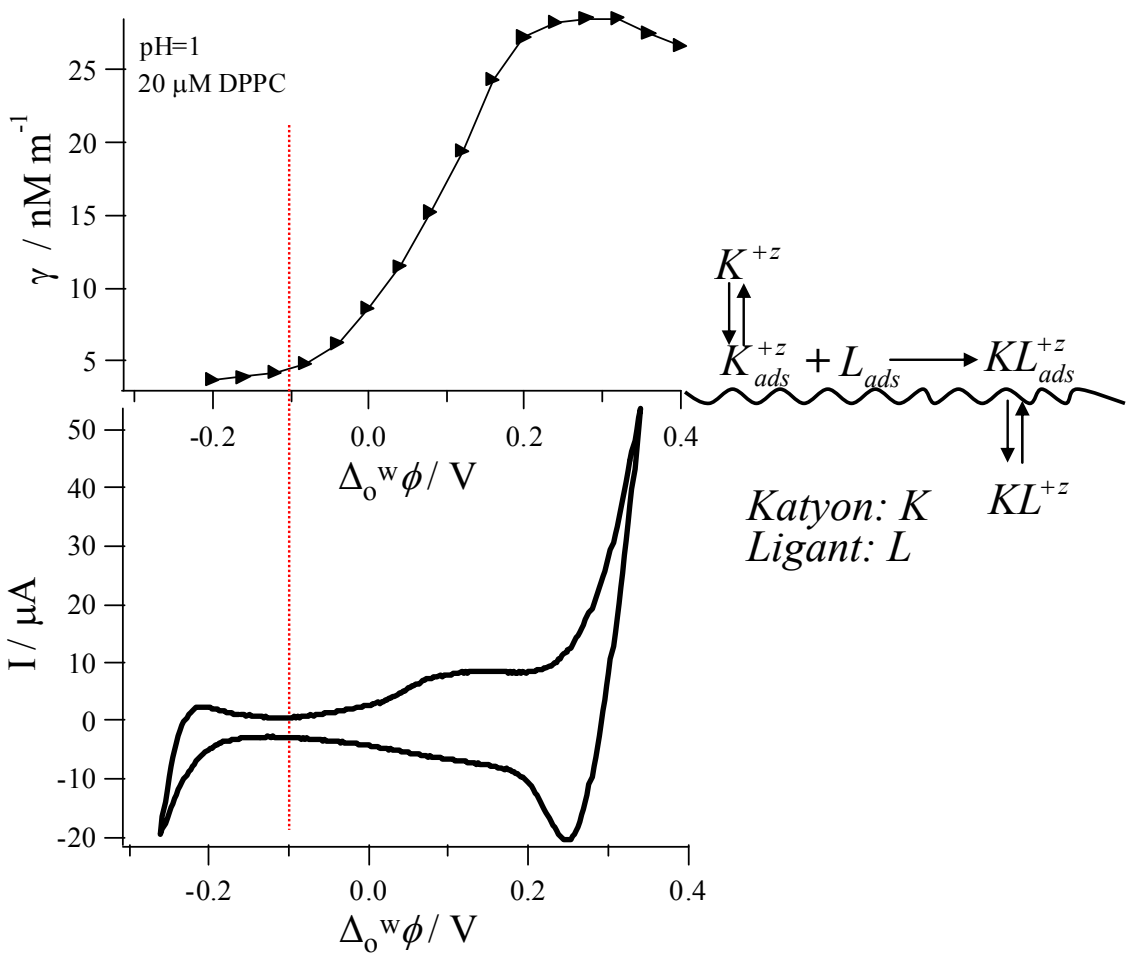
Çalışmalardan çıkarılabilecek temel sonuçlar şu şekilldedir: İlk olarak yüzey aktif madde zwitteriyonik DPPC ara yüzeyin organik faz tarafından ara yüzeye doğru gelip adsorplanmaktadır. Aşağıdaki şekilden de (Şekil 5.2.) görülebileceği gibi adsorpsiyon esnasında fosfolipitin hidrofilik kısmı sulu faz tarafına doğru yaklaşmaktadır. Dolayısıyla fosfolipitin polar baş kısmı sulu çözeltide bulunabilecek muhtemel katyonlarla etkileşebilmektedir.



Şekil 5.2. Fosfolipitin ara yüzeyin organik faz tarafından adsorpsiyonu ve kısmen sulu faza geçişi

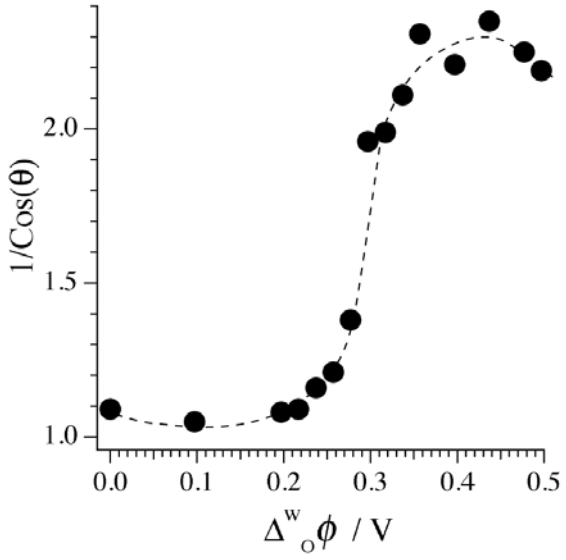
Yapılan ilk çalışmada DPPC'nin ara yüzeydeki adsorpsiyonu üzerine fosfolipit konsantrasyonun ve sulu çözelti pH'ının önemli etkilerde bulunduğu gözlenmiştir. Bu durum ara yüzeyde adsorplanmış olarak bulunan fosfolipit molekülleri ve sulu çözeltideki H^+ iyonları arasındaki kompleksleşme reaksiyonu ve devamında protonun yardımlı iyon transferi ile izah edilmiştir. Fosfolipitin belirli bir konsantrasyondan (20 µM) sonra ara yüzeyde kararlı bir monolayer oluşturduğu belirlenmiştir. Akım-yük eğrilerinden elde edilen molekül başına işgal edilen alan ise 59 $(A^o)^2$ olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlardan DPPC'nin ara yüzeye çok büyük bir çekim içerisinde olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca elde edilen elektrokapiler eğrilerin voltametrik ölçümlerle uyum içerisinde olduğu görülmüştür (Şekil 5.3.).

Fosfolipit molekülü ara yüzeye uygulanan potansiyel farkına bağlı olarak adsorplanmakta ve desorplanmaktadır. Bununla ilgili sonuçlar ilgili bölümlerde sunulmuştur. Buna göre ara yüzeyin sulu çözelti tarafı negatif yapıldıkça fosfolipit ara yüzeye bağlanmakta ya da adsorplanmakta, aksine ara yüzey potansiyel farkı pozitif değerlere çıktıkça adsorplanmış olarak bulunan fosfolipit ara yüzeyden desorplanmaktadır.



Şekil 5.3. Yüzey gerilimi ölçümü ve voltametrik sinyal arasındaki uyum

İkinci çalışmamızda, bir sulu damlanın bir yüzey aktif ligant içeren bir organik çözeltiye daldırılmasını içeren üç-elektrotlu sistem uygulamasından kompleksleşme ve desorpsiyon prosesleri ile bağlantılı görsel ve voltametrik kanıtlar elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar su-DCE ara yüzeyinde dört-elektrotlu hücre kullanılarak elde edilen ara yüzey gerilim ölçümleri ile uyum içerisindedir. Ayrıca üçgensel-şekilli voltametrik sinyallerin DPPC varlığında olduğu açıktır. Bu ise ITIES'deki adsorpsiyon olayı ile ilgili teorik yaklaşımların geçerliliğini doğrulamaktadır. Son olarak bu sistem "*elektro-wetting"* uygulamaları için çok önemli olabilir çünkü bir yüzey aktif molekül varlığında (burada DPPC) birkaç yüz milivoltluk potansiyel değişiminde temas açısında önemli bir değişim elde edilebilmektedir (Şekil 5.4.).



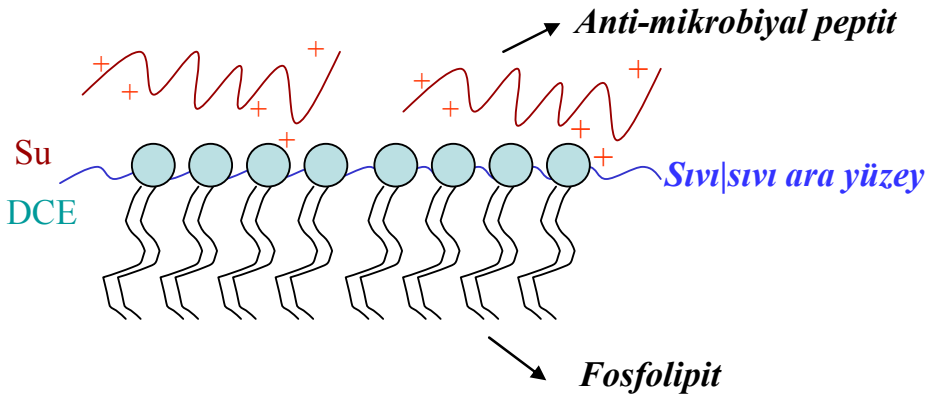
Şekil 5.4. 20 μM DPPC içeren DCE ve 0.1 M HCl varlığındaki sulu çözelti arasında meydana gelen ara yüzeyde potaniyel farkının fonksiyonu olarak hesaplanan Sec(θ) değerleri

Peptit-fosfolipit etkileşimlerine membran potansiyelinin etkisinin büyük etkiler yapacağı düşünülerek daha gerçekçi bir yaklaşımla son çalışmamızda ara yüzeyde adsorplanmış fosfolipit tabaka ile bir model peptit olan MLT arasındaki etkileşimler incelenmiştir.

Floresans deneylerinden elde edilen sonuçlara göre analiz edilen tüm konsantrasyon değerlerinde ana çözeltide sadece MLT'nin monomer şekli bulunmaktadır. Melittin su-DCE ara yüzeyinde son derece büyük oranlarda adsorplanmaktadır. Elektrokimyasal veriler DPPC varlığında MLT'nin adsorpsiyon ve transferine ait akım sinyallerinde bir akım artışı olduğunu göstermektedir.

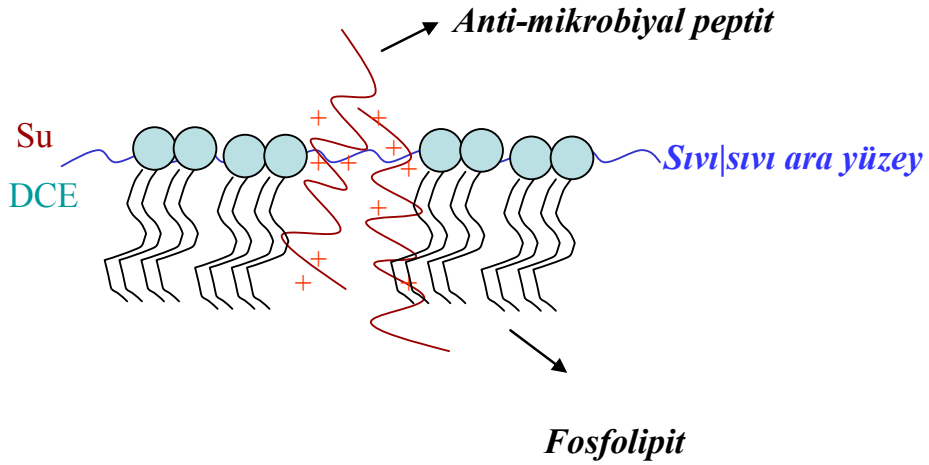
Ara yüzey gerilimi ölçümlerinden, DPC varlığında ve yokluğunda elde edilen eğriler arasındaki fark belirli bir değerden sonra ortaya çıkmaktadır (örneğin 15 μM).

Elektrokimyasal verilerden iki adımlı bir etkileşim mekanizmasının olduğu anlaşılmaktadır. Hesaplanan molekül başına işgal edilen alana (353 $(A^o)^2$) göre membran içerisine bir geçişin olmadığı membran üzerinde paralel bir yönelim tercih edildiği anlaşılmaktadır (Şekil 5.5.).



Şekil 5.5. MLT'nin fosfolipit monolayer üzerindeki paralel yönelimi

Ancak ara yüzey gerilimi ölçümlerinden ise mekanizmanın ikinci adımı, melittinin lipit membran içerisine girdiği sunucunu ortaya çıkarmaktadır (Şekil 5.6.). Bu basamak elektrokimyasal verilerde geçen yükün artışı şeklinde görülmektedir.



Şekil 5.6. MLT'nin fosfolipit monolayerin içerisine girmesi ve düşey yönelim

Melittin düşük konsantrasyonlarda fosfolipit monolayerinin polar baş kısımları ile etkileşmez. Ancak, yüksek konsantrasyonlarda, hem iyonik şiddet hem de peptitin yığılmasından dolayı ara yüzey tetramerizasyonu gözlenmektedir ve dolayısıyla melittinin membran yıkıcı özelliği ortaya çıkmaktadır. Membran potansiyeli düşünülerek bu sonuçların peptit-fosfolipit etkileşimlerine tamamlayıcı ve destekleyici düşünceler verdiği söylenebilir.

MLT ve 1:1 oranında kolesterol:DPPC içeren fosfolipit monolayer arasındaki etkileşimlerin araştırılması bu konunun bir basamak öteye gitmesini sağlayacaktır. Bu bağlamda:

-Ara yüzeydeki floresans deneylerinin melittinin ara yüzeydeki potansiyele bağlı olarak çöküşüne ve sonucunda da membran özelliğini bozma konusunda bazı ışıklar tutabileceği düşünülmektedir.

-Ara yüzeyde adsorplanan fosfolipit molekülünün polar baş kısmına göre melittinin seçicilik gösterip göstermediği de incelenmeye değer konular arasında sayılabilir.

Son olarak deneysel açıdan belirtilmesi gereken en önemli noktalardan biri, fosfolipitin organik faza ilavesinden sonra dengenin oluşması için beklenmesi gereken süredir. Çünkü deneylerden elde edilen sonuçların tekrarlanabilirliği büyük oranda buna bağlı olmaktadır. Bir diğer önemli nokta ise kullanılan her türlü araç ve gerecin temizliğidir. Bu amaç için çalışmalarımız esnasında kullandığımız özellikle cam malzemelerin temizliği kromik asit, kloroform, aseton ve ultra-saf su ile yapılmıştır. Aksi takdirde sistemde bulunabilecek en küçük bir safsızlık deneysel sonuçların açıklanmasında özellikle voltametrik dalgaların yorumlanmasında ciddi derecede karışıklıklara neden olabilmektedir.

KAYNAKLAR

Abraham, M. H., De Namor, A. F. D., 1976, Solubility of electrolytes in 1,2-dichloroethane and 1,1-dichloroethane, and derived free energies of transfer, *J. Chem. Soc*. *Faraday Trans. 1*, 72, 955-962.

Albiol Matanic, V. C. & Castilla, V., 2004, Antiviral activity of antimicrobial cationic peptides against Junin virus and herpes simplex virus, *Int. J. Antimicrob. Agents*, 23 (4), 382-389.

Alemu, H., 2004, Voltammetry of drugs at the interface between two immiscible electrolyte solutions, *Pure and Applied Chemistry*, 76 (4), 697-705.

Allende, D., Simon, S. A., Mclntosh T. J., 2005, Melittin-induced bilayer leakage depends on lipid material properties: Evidence for toroidal pores, *Biophys. J.*, 88 (3), 1828-1837.

Amemiya, S., Bard, A. J., 2000, Scanning electrochemical microscopy. 40. Voltammetric ion-selective micropipet electrodes for probing ion transfer at bilayer lipid membranes*, Anal. Chem.*, 72 (20), 4940-4948.

Asthana, N., Yadav, S. P., Ghosh, J. K., 2004, Dissection of antibacterial and toxic activity of melittin, *J. Biol. Chem*., 279 (53), 55042-55050.

Bachar, M., Becker, O. M., 2000, Protein-induced membrane disorder: a molecular dynamics study of melittin in a dipalmitoylphosphatidylcholine bilayer, *Biophys. J.*, 78 (3), 1359-1375.

Beaglehole, D., 1987, Capillary-wave and intrinsic thicknesses of the surface of a simple Liquid, *Phys. Rev. Lett*., 58 (14),1434-1436.

Banks, C. E., Davies, T. J., Evans, R. G., Hignett, G., Wain, A. J., Lawrence, N. S., Wadhawan, J. D., Marken, F., Compton, R. G., 2003, Electrochemistry of immobilised redox droplets: Concepts and applications, Phys. Chem. Chem. Phys., 5 (19), 4053-4069.

Barker, A. L., Unwin, P. R., Amemiya, S., Zhou, J., Bard, A. J., 1999, Scanning electrochemistry microscopy (SECM) in the study of electron transfer kinetics at liquid/liquid interfaces: Beyond the constant composition approximation, *J. Phys. Chem. B*, 103 (34), 7260-7269.

Bazzo, R., Tappin, M. J., Pastore, A., Harvey, T. S., Carver, J. A., Campbell, I. D., 1988, The structure of melittin. A ^{1}H-NMR study in methanol, *Eur. J. Biochem.* 173 (1), 139-146.

Bechinger, B., 1999, The structure, dynamics and orientation of antimicrobial peptides in membranes by multidimensional solid-state NMR spectroscopy, *Biochim. Biophys. Acta*, 1462 (1-2), 157-183.

Becucci, L., León, R. R., Moncelli, M. R., Rovero, P., Guidelli, R., 2006, Electrochemical investigation of melittin reconstituted into a mercury-supported lipid bilayer, *Langmuir*, 22 (15), 6644-6650.

Behr, B., Gutknecht, J., Schneider, H., Stroka, J., 1978, Estimation of the Gibbs energy of transfer of zinc(II) in mixtures of water and acetone by means of different reference redox systems, *J. Electroanal. Chem.*, 86 (2), 289-299.

Bello, J., Bello, H., Granados, E., 1982, Conformation and aggregation of melittin: dependence on pH and concentration, *Biochem.*, 21 (3), 461-465.

Benjamin, I., 1992a, Dynamics of ion transfer across a liquid–liquid interface: A comparison between molecular dynamics and a diffusion model, *J. Chem. Phys*., 96 (1), 577-585.

Benjamin, I., 1992b, Theoretical study of the water/1,2-dichloroethane interface: Structure, dynamics, and conformational equilibria at the liquid–liquid interface, *J. Chem. Phys*., 97 (2), 1432-1446.

Benjamin, I., 1993, Mechanism and dynamics of ion transfer across a liquid-liquid interface, *Science*, 261 (5128), 1558-1560.

Benjamin, I., 1995, Theory and computer simulations of solvation and chemical reactions at liquid interfaces, *Acc. Chem. Res*., 28 (5), 233-239.

Benjamin, I., 1996, Chemical reactions and solvation at liquid ınterfaces: a microscopic perspective, *Chem. Rev*., 96 (4), 1449-1476.

Benjamin, I., 1997, Molecular structure and dynamics at liquid-liquid interfaces, *Ann. Rev. Phys. Chem*., 48, 407-451.

Bernèche, S., Nina, M., Roux, B., 1998, Molecular dynamics simulation of melittin in a dimyristoylphosphatidylcholine bilayer membrane, *Biophys. J.*, 75 (4), 1603-1618.

Bernheimer, A. W., Bernardo, R., 1986, Interactions between membranes and cytolytic peptides, *Biochim. Biophys. Acta*, 864 (1), 123-141.

Blank, M., 1966, Some effects due to the flow of current across a water-nitrobenzene interface, *J. Colloidal Interface Sci*., 22 (1), 51-57.

Boguslavskii, L. I., Volkov, A. G., Kandelaki, M. D., 1977, Electron transfer by chlorophyll through the interface between two immiscible liquids, *Bioelectrochem. Bioenerg*., 4 (1), 68-72.

Boman, H. G., 2003, Antibacterial peptides: basic facts and emerging concepts, *J. Int. Med*., 254 (3), 197-215.

Bowdish, D. M., Davidson, D. J., Hancock, R. E., 2005, A re-evaluation of the role of host defence peptides in mammalian immunity, *Curr. Protein Pept. Sci*., 6 (1), 35-51.

Brown, L. R., Lauterwein, J., Wüthrich, K., 1980, High-resolution ^{1}H-NMR studies of self-aggregation of melittin in aqueous solution, *Biochim. Biophys. Acta*, 622 (2), 231-244.

Cafiso, D. S., 1994, Alamethicin: A peptide model for voltage gating and protein-membrane interactions, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct*., 23, 141-165.

Campbell, J. A., Girault, H. H., 1989, Steady state current for ion transfer reactions at a micro liquid/liquid interface, *J. Electroanal. Chem.*, 266 (2), 465-469.

Cheng, Y., Corn, R. M., 1999, Ultrathin polypeptide multilayer films for the fabrication of model liquid/liquid electrochemical interfaces, *J. Phys. Chem. B*, 103 (41), 8726-8731.

Cheng, Y., Schiffrin, D. J., 1991, Electron transfer between bis-pyridine (meso-tetraphenylporphyrinato) iron(II) and ruthenium(III) and the hexacyanoferrate couple at the 1,2-dichloroethane/water Interface, *J. Electroanal. Chem.*, 314 (1-2), 153-163.

Cheng, Y., Schiffrin, D. J., 1993, Ac impedance study of rate constants for two phase electron transfer reactions, *J. Chem. Soc*. *Faraday Trans*., 89 (2), 199-205.

Cheng, Y., Schiffrin, D. J., 1994, Redox electrocatalysis by tetracyanoquinodimethane in phospholipid monolayers adsorbed at a liquid/liquid interface, *J. Chem. Soc*. Faraday Trans., 90 (17), 2517-2523.

Chesniuk, S. G., Dassie, S. A., Yudi L. M., Baruzzi A. M., 1997, Electrochemical study of the interactionof alkali and alkaline-earth cations with a dibehenoyl phosphatidylcholine monolayer at the water/1,2-dichloroethane interface, *Electrochim. Acta*, 43 (14-15), 2175-2181.

Chiras, D. D., 2005, Human biology, 5th ed., *Jones & Bartlett Publishers*, New York, 32-60.

Conboy, J. C., Richmond, G. L., 1997, Examination of the electrochemical interface between two immiscible electrolyte solutions by second harmonic generation, *J. Phys. Chem. B*, 101 (6), 983-990.

Constantinescu, I., Lafleur, M., 2004, Influence of the lipid composition on the kinetics of concerted insertion and folding of melittin in bilayers, *Biochim. Biophys. Acta*, 1667 (1), 26-37.

Cremer, M.Z., 1906, Über die Ursache der elektromotorischen Eigenschaften der gewebe, zugleich ein beitrag zur lehre von polyphasischen elektrolytketten, *Z. Biol*. 47, 468-472.

Crook, S. J., Boggs, J. M., Vistnes, A. I., Koshy, K. M., 1986, Factors affecting surface expression of glycolipids: influence of lipid environment and ceramide composition on antibody recognition of cerebroside sulfate in liposomes, *Biochem.*, 25 (23), 7488-7494.

Cunnane, V. J., Geblewicz, G., Schifferin, D. J., 1995a, Micro-cavity electrode-a new-type of liquid-liquid microelectrode, *Electrochim. Acta*, 40 (18), 2943-2946.

Cunnane, V. J., Geblewicz, G., Schifferin, D. J., 1995b, Electron and ion transfer potentials of ferrocene and derivatives at a liquid-liquid interface, *Electrochim. Acta*, 40 (18), 3005-3014.

Cunnane, V. J., Schiffrin, D. J., Beltran, C., Geblewicz, G., Solomon, T., 1988a, The role of phase transfer catalysts in two phase redox reactions, *J. Electroanal. Chem.*, 247 (1-2), 203-214.

Cunnane, V. J., Schiffrin, D. J., Fleischmann, M., Geblewicz, G., Williams, D., 1988b, The kinetics of ionic transfer across adsorbed phospholipid layers, *J. Electroanal. Chem.*, 243 (2), 455-464.

Czapkiewicz, J., Czapkiewicz-Tutaj, B., 1980, Relative scale of free energy of transfer of anions from water to 1,2-dichloroethane, *J. Chem. Soc*., 76, 1663-1668.

Daikhin, L. I., Kornyshev, A. A., Urbakh, M., 2000, Capillary waves at soft electrified interfaces, *J. Electroanal. Chem.*, 483 (1-2), 68-80.

Danesi, P. R., Chiarizia, D., 1980, The kinetics of metal solvent extraction, *CRC Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 10 (1), 1-126.

Dang, L. X., 1999, Computer simulation studies of ion transport across a liquid/liquid interface, *J. Phys. Chem. B*, 103 (39), 8195-8200.

Dang, L. X., 2001, A mechanism for ion transport across the water/dichloromethane interface: A molecular dynamics study using polarizable potential models, *J. Phys. Chem. B*, 105 (4), 804-809.

Dathe, M., and Wieprecht, T., 1999, Structural features of helical antimicrobial peptides: their potential to modulate activity on model membranes and biological cells, *Biochim. Biophys. Acta* (*BBA*)-*Biomembranes*, 1462 (1-2), 71-87.

Dawson, C. R., Drake, A. F., Helliwell, J., Hider, R. C., 1978, The interaction of bee melittin with lipid bilayer membranes, *Biochim. Biophys. Acta*, 510 (1), 75-86.

Dempsey, C. E., 1990, The actions of melittin on membranes, *Biochim. Biophys. Acta*, (BBA), *Reviews on Biomembranes* 1031 (2), 143-161.

Dempsey, C. E., Butler, G.S., 1992, Helical structure and orientation of melittin in dispersed phospholipid membranes from amide exchange analysis in situ, *Biochem.*, 31 (48), 11973-11977.

Ding, Z., Fermin, D. J., Brevet, P. F., Girault, H. H., 1998a, Spectroelectrochemical approaches to heterogeneous electron transfer reactions at the polarised water|1,2-dichloroethane interfaces, *J. Electroanal. Chem.*, 458 (1-2), 139-148.

Ding, Z., Reymond, F., Baumgartner, P., Fermin, D. J., Brevet, P.-F., Carrupt, P.- A., Girault, H. H., 1998b, Mechanism and dynamics of methyl and ethyl orange

transfer across the water/1,2-dichloroethane interface, *Electrochim. Acta*, 44 (1), 3-13.

Ding, Z., Wellington, R. G., Brevet, P.-F., Girault, H. H., 1997, Differential cyclic voltabsorptometry and chronoabsorptometry studies of ion transfer reactions at the water/1,2-dichloroethane interface, *J. Electroanal. Chem.*, 420 (1-2), 35-41.

Dryfe, R. A. W., Ding, Z., Wellington, R. G., Brevet, P. F., Kuznetzov, A. M., Girault, H. H., 1997, Time-resolved laser-induced fluorescence study of photoinduced electron transfer at the water/1,2-dichloroethane interface, *J. Phys. Chem*. A, 101 (14), 2519-2524.

Duong, H. D., Brevet, P. F., Girault, H. H., 1998, Heterogeneous electron transfer reactions at liquid/liquid interfaces studied by time-resolved absorption spectroscopy, *J. Photochem. Photobio. A*, 117 (1), 27-33.

Epand, R. M., and Vogel, H. J., 1999, Diversity of antimicrobial peptides and their mechanisms of action, *Biochim. Biophys. Acta* (BBA), *Biomembranes*, 1462 (1-2), 11-28.

Eugster, N., Fermin, D. J., Girault, H. H., 2002, Photoinduced electron transfer at liquid/liquid ınterfaces. part VI. On the thermodynamic driving force dependence of the phenomenological electron-transfer rate constant, *J. Phys. Chem. B*, 106 (13), 3428-3433.

Eugster, N., Fermin, D. J., Girault, H. H., 2003, Photoinduced electron transfer at liquid|liquid interfaces: Dynamics of the heterogeneous photoreduction of quinones by self-assembled porphyrin ion pairs, *J. Am. Chem. Soc*., 125 (16), 4862-4869.

Fermin, D. J., Ding, Z., Brevet, P. F., Girault, H. H., 1998a, Potential-modulated reflectance spectroscopy of the methyl orange transfer across the water/1,2-dichloroethane interface, *J. Electroanal. Chem.*, 447 (1-2), 125-133.

Fermin, D. J., Ding, Z., Duong, H. D., Brevet, P. F., Girault H. H., 1998c, Photoinduced electron transfer at liquid/liquid ınterfaces. 1. Photocurrent measurements associated with heterogeneous quenching of zinc porphyrins, *J. Phys. Chem. B*, 102 (50), 10334-10341.

Fermin, D. J., Ding, Z., Duong, H. D., Brevet, P. F., Girault, H. H., 1998b, Photocurrent responses associated with heterogeneous electron transfer at liquid/liquid interfaces, *Chem. Commun*., 10, 1125-1126.

Fermin, D. J., Duong, H. D., Ding, Z., Brevet, P. F., Girault, H. H., 1999a, Photoinduced electron transfer at liquid/liquid interfaces Part II. A study of the electron transfer and recombination dynamics by intensity modulated photocurrent spectroscopy (IMPS), *Physical Chem. Chemical Phys*., 1 (7), 1461-1467.

Fermin, D. J., Duong, H. D., Ding, Z., Brevet, P. F., Girault, H. H., 1999b, Solar energy conversion using dye-sensitised liquid|liquid interfaces, *Electrochem. Commun.*, 1 (1), 29-32.

Fermin, D. J., Jensen, H., Girault, H. H., 2003, Charge transfer kinetics at liquid|liquid interfaces. encyclopedia of electrochemistry, vol. 2, Interfacial kinetics and mass transport, Calvo E.J. (ed), chapter 4.2., *Wiley-VCH*, New York, 360-390.

Fermin, D. J., Lahtinen, R., 2001, Dynamic aspects of heterogeneous electron-transfer reactions at liquid–liquid interfaces, Liquid interfaces in chemical, biological and pharmaceutical applications, Volkov A. G. (ed), vol. 95, *Marcel Deccer*, New York, 179-228.

Fernandes, P. A., Cordeiro, M. N. D. S., Gomes, J. A. N. F., 1999, Molecular dynamics study of the transfer of iodide across two liquid/liquid interfaces, *J. Phys. Chem. B*, 103 (42), 8930-8939.

Fernandes, P. A., Cordeiro, M. N. D. S., Gomes, J. A. N. F., 2000, Influence of ion size and charge in ion transfer processes across a liquid|liquid interface, *J. Phys. Chem. B*, 104 (10), 2278-2286.

Frackowiak, D., Rabinowitch, E., 1966, The methylene blue-ferrous iron reaction in a two-phase system[1], *J. Phys. Chem*., 70 (9), 3012-3014.

Freiser, H., 1988, Metal complexation at the liquid-liquid interface, *Chem. Rev*., 88 (4), 611-616.

Frey, S., Tamm, L. K., 1991, Orientation of melittin in phospholipid bilayers. A polarized attenuated total reflection infrared study, *Biophys. J.*, 60 (4), 922-930.

Ganz, T., Lehrer, R. I., 1998, Antimicrobial peptides of vertebrates, *Curr. Opin. Immunol*., 10 (1), 41-44.

Gavach, C., D'Epenoux, B., 1974, Chronopotentiometric investigation of the diffusion overvoltage at the interface between two non-miscible solutions: II. Potassium halide aqueous solution-hexadecyltrimethylammonium picrate nitrobenzene solution, *J. Electroanal. Chem.*, 55 (1), 59-67.

Gavach, C., D'Epenoux, B., Henry, F., 1975, Transfer of tetra-n-alkylammonium ions from water to nitrobenzene: Chronopotentiometric determination of kinetic parameters, *J. Electroanal. Chem.*, 64 (1), 107-115.

Gavach, C., Henry, F., 1974, Chronopotentiometric investigation of the diffusion overvoltage at the interface between two non-miscible solutions: I. Aqueous solution-tetrabutylammonium ion specific liquid membrane, *J. Electroanal. Chem.*, 54 (2), 361-370.

Gavach, C., Mlodnicka, T., Gustalla, J., 1968, Les Comptes rendus de l'Académie des sciences, *C. R. Acad. Sci. C*, 266, 1196-1199.

Gavach, C., Seta, P., d'Epenoux, B., 1977, The double layer and ion adsorption at the interface between two non miscible solutions: Part I. Interfacial tension measurements for the water-nitrobenzene tetraalkylammonium bromide systems, *J. Electroanal. Chem.*, 83 (2), 225-235.

Geblewicz, G., Schiffrin, D. J., 1988, Electron transfer between immiscible solutions: the hexacyanoferrate-lutetium diphthalocyanine system, *J. Electroanal. Chem.*, 244 (1-2), 27-37.

Gennis, R. B., 1989, *Biomembranes*: Molecular structure and function, C. R. Cantor (ed), *Springer-Verlag*, New York.

Girault H. H. J., Schiffrin D. J., 1984b, Thermodynamics of a polarised interface between two immiscible electrolyte solutions, *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem*., 170 (1-2), 127-141.

Girault, H. H. 1993. Modern aspects of electrochemistry. Bockris, J. O. M., Conway, B., White, R. (ed), vol 25, *Plenum Press*, New York, 1-62.

Girault, H. H. J., Schiffrin, D. J., 1984a, The measurement of the potential of zero charge at the interface between immiscible electrolyte solutions, *J. Electroanal. Chem.*, 161 (2), 415-417.

Girault, H. H. J., Schiffrin, D. J., 1984c, Adsorption of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine at the polarised water/1,2 dichloroethane interface, *J. Electroanal. Chem.*, 179, 277-284.

Girault, H. H. J., Schiffrin, D. J., 1985, Theory of the kinetics of ion transfer across liquid/liquid interfaces, *J. Electroanal. Chem.*, 195 (2), 213-227.

Girault, H. H. J., Schiffrin, D. J., 1986, A new approach for the definition of galvani potential scales and ionic gibbs energies of transfer across liquid/liquid interfaces, *Electrochimica Acta*, 31 (10), 1341-1342.

Girault, H. H., Schiffrin, D. J., 1983, Thermodynamic surface excess of water and ionic solvations at the interface between immiscible liquids, *J. Electroanal. Chem.*, 150 (1-2), 43-49.

Girault, H. H., Schiffrin, D. J., 1989, Electrochemistry of liquid/liquid interfaces, Electroanal. Chem., Bard, A. J. (ed), vol 15, *Marcel Dekker*, New York, 1-141.

Girault, H. H., 2005, Analytical and physical electrochemistry, *EPFL Press*, Lausanne, 1-30.

Girault, H. H., Schiffrin, D. J. Smith, B.D.V. J., 1982, Drop image processing for surface and interfacial tension measurements, *J. Electroanal. Chem.*, 137 (2), 207-217.

Girault, H. H., Schiffrin, D. J., Smith, B.D.V., 1984, The measurement of the interfacial tension of pendant drops using a video image profile digitiser, *J. Colloid Interface Sci.*, 101 (1), 257-266.

Glättli, A., Chandrasekhar, I., van. Gunsteren, W. F., 2006, A molecular dynamics study of the bee venom melittin in aqueous solution, in methanol, and inserted in a phospholipid bilayer, *Eur. Biophys. J.*, 35 (3), 255-267.

Gorter, E., Grendel, F., 1925, On bimolecular layers of lipoids on the chromocytes of the blood, *J. Exp. Med*., 41 (4), 439-443.

Goto, Y., Hagihara, Y., 1992, Mechanism of the conformational transition of melittin, *Biochem.*, 31 (3), 732-738.

Grandell, D., Murtomaki L., Sundholm, G., 1999b, Ion transfer across a phospholipid monolayer adsorbed at the water|1,2-dichloroethane interface under surface pressure control, *J. Electroanal. Chem.*, 469 (1), 72-78.

Grandell, D., Murtomaki, L., Kontturi, K., Sundholm, G., 1999a, Phospholipid monolayers studied by a combination of cyclic voltammetry and Langmuir techniques at the water|1,2-dichloroethane interface, *J. Electroanal. Chem.*, 463 (2), 24-247.

Gros, M., Gromb, S., Gavach, C., 1978, The double layer and ion adsorption at the interface between two non-miscible solutions: Part II. Electrocapillary behaviour of some water-nitrobenzene systems, *J. Electroanal. Chem.*, 89 (1), 29-36.

Grunwald, E., Baughman, G., Kohnstam, G., 1960, Antimicrobial peptides of vertebrates research article the solvation of electrolytes in dioxane-water mixtures, as deduced from the effect of solvent change on the standard partial molar free energy, *J. Am. Chem. Soc*., 82 (22), 5801-5811.

Gulaboski, R., Borges, F., Pereira, C. M., Cordeiro, M. N. D. S., Garrido, J., A. Silva, F., 2007, Voltammetric insights in the transfer of ionizable drugs across biomimetic membranes-recent achievements, *Comb. Chem. High T. Scr*., 10 (7), 514-526.

Gurevich, Y. Y., Kharkats, Y. I., 1986, Ion transfer through a phase boundary: a stochastic approach, *J. Electroanal. Chem.*, 200 (1-2), 3-16.

Gustalla, J., 1957, Proc. 2nd Int. Cong. Sur. Act., 3, 112.

Habermann E., 1972, Bee and wasp venoms, *Science*, 177 (46), 314-322.

Haldar, S., Raghuraman, H., Chattopadhyay, A., 2008, Monitoring orientation and dynamics of membrane-bound melittin utilizing dansyl fluorescence, *J. Phys. Chem. B*, 112 (44), 14075-14082.

Hancock, R. E. W., Sahl, H. -G., 2006, Antimicrobial and host-defense peptides as new anti-infective therapeutic strategies, *Nature Biotec*., 24, 1551-1557.

Hancock, R. E. W., 1997, Peptide antibiotics, *Lancet*, 349 (9049), 418-422.

Hancock, R. E. W., 1999, Host defence (cationic) peptides: What is their future clinical potential?, *Drugs*, 57 (4), 469-473.

Hancock, R. E. W., 2000, Cationic antimicrobial peptides: Towards clinical applications, *Expert Opin. Investig. Drugs*, 9 (8), 1723-1729.

Hancock, R. E. W., and Lehrer, R., 1998, Cationic peptides: a new source of antibiotics, *Trends Biotechnol*., 16 (2), 82-88.

Hanzlik, J., Samec, Z., Hovorka, J., 1987, Transfer of ferricenium cation across the water/organic solvent interfaces, *J. Electroanal. Chem.*, 216 (1-2), 303-308.

He, K., Ludtke, S. J., Huang, H. W. & Worcester, D. L., 1995, Antimicrobial peptide pores in membranes detected by neutron in-plane scattering., *Biochem.* 34(48), 15614-15618.

Henriques, S. T., Melo, M. N., Castanho, M. A., 2006, Cell-penetrating peptides and antimicrobial peptides: how different are they?, *Biochem.* J., 399 (1), 1-7.

Homolka, D., Hung, L. Q., Hofmanova, A., Khalil, M. W., Koryta, J., Marecek, V., Samec, Z., Sen, S. K., Vanysek, P., Weber, J., Brezina, M., Janda, M., Stibor, I., 1980, Faradaic ion transfer across the interface of two immiscible electrolyte solutions: chronopotentiometry and cyclic voltammetry*, Anal. Chem.*, 52 (11), 1606-1610.

Homolka, D., Marecek, V., 1980, Charge transfer between two immiscible electrolyte solutions. part vi. polarographic and voltammetric study of picrate ion transfer across the water-nitrobenzene interface, *J. Electroanal. Chem.*, 112 (1), 91-96.

Hoskin, D. W., Ramamoorthy, A., 2008, Studies on anticancer activities of antimicrobial peptides. *Biochim. Biophys. Acta*, 1778 (2), 357-375.

Hristova, K., Dempsey, C. E., White, S. H., 2001, Structure, location, and lipid perturbations of melittin at the membrane interface, *Biophys. J.*, 80 (2), 801-811.

Hristova, K., Selsted, M. E., White, S. H., 1997, Critical role of lipid composition in membrane permeabilization by rabbit neutrophil defensins, *J. Biol. Chem*., 272, 24224-24233.

Huang, H. W., 2006, Molecular mechanism of antimicrobial peptides: The origin of cooperativity, *Biochim. Biophys. Acta*., 1758 (9), 1292-1302.

Hundhammer, B., Solomon, T., Alemu, H., 1983, Investigation of the ion transfer across the water-nitrobenzene interface by ac cyclic voltammetry, *J. Electroanal. Chem.*, 149 (1-2), 179-183.

Iwadate, M., Asakura, T., Williamson, M. P., 1998, The structure of the melittin tetramer at different temperatures an NOE-based calculation with chemical shift refinement, *Eur. J. Biochem.*, 257 (2), 479-487.

Janchenova, H., Lhotsky, A., Stulik, K., Marecek, V., 2007a, Adsorption and ion-pairing interactions of phospholipids in the system of two immiscible electrolyte solutions Part I. The behaviour of lecithin at the water/1,2-dichloroethane interface, compared with that of trimethyloctadecylammonium cation, *J. Electroanal. Chem.*, 601 (1-2), 101-106.

Janchenova, H., Stulik, K., Marecek, V., 2008, Adsorption and ion-pairing interactions of phospholipids in the system of two immiscible electrolyte solutions Part III:

The behaviour of a lecithin layer at the water/1,2-dichloroethane interface at interfacial potential differences lower than the zero-charge potential difference, *J. Electroanal. Chem.*, 612 (2), 186-190.

Janchenova, H., Stulik, K., Marecek, V. J., 2007b, Adsorption and ion-pairing interactions of phospholipids in the system of two immiscible electrolyte solutions. Part II: The formation and behaviour of a lecithin layer at the water/1,2-dichloroethane interface in the presence of multivalent anions in the aqueous phase, *J. Electroanal. Chem.*, 604 (2), 109-114.

Kakiuchi, T., Tsujioka, N., 2007, Electrochemical polarizability of the interface between an aqueous electrolyte solution and a room-temperature molten salt, *J. Electroanal. Chem.*, 599 (2), 209-212.

Kakiuchi, T., 2001, Adsorption at polarized liquid|liquid interfaces. Liquid interfaces in chemical, biological and pharmaceutical applications. Volkov A. G. (ed), vol. 95, *Marcel Deccer*, New York, 105-122.

Kakiuchi, T., Kobayashi, M., Senda, M., 1988, Effect of counterionic species on the adsorption of tetradecyltrimethylammonium ion at the polarized nitrobenzene-water interface. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 61 (5), 1545-1550.

Kakiuchi, T., Kondo, T., Kotani, M., Senda, M., 1992b, Ion permeability of dilauroylphosphatidylethanolamine monolayer at the polarized nitrobenzene/water interface, *Langmuir*, 8 (1), 169-175.

Kakiuchi, T., Kondo, T., Senda, M., 1990b, Divalent cation-induced phase transition of phosphatidylserine monolayer at the polarized oil–water interface and its influence on the ion-transfer processes, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 63 (11), 3270-3276.

Kakiuchi, T., Kotani, M., Noguchi, J., Nakanishi, M., Senda, M., 1992a, Phase transition and ion permeability of phosphatidylcholine monolayers at the polarized oil/water interface, *J. Colloid. Interf. Sci.*, 149 (1), 279-289.

Kakiuchi, T., Nakanishi, M., Senda, M., 1989, The electrocapillary curves of the phosphatidylcholine monolayer at the polarized oil-water interface. II. Double layer structure of dilauroylphosphatidylcholine monolayer at the nitrobenzene-water interface, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 62 (2), 403-409.

Kakiuchi, T., Noguchi, J., Kotani, M., Senda, M., 1990a, Ac polarographic determination of the rate of ion transfer for a series of alkylammonium ions at the nitrobenzene/water interface, *J. Electroanal. Chem.*, 296 (2), 517-535.

Kakiuchi, T., Senda, M., 1983a, Thermodynamics of the electrocapillarity of oil-water interfaces, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 56 (10), 2912-2918.

Kakiuchi, T., Senda, M., 1983b, Structure of the electrical double layer at the interface between nitrobenzene solution of tetrabutylammonium tetraphenylborate and aqueous solution of lithium chloride, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 56 (6), 1753-1760.

Kakiuchi, T., Takasu, Y., 1994, Differential cyclic voltfluorometry and chronofluorometry of the transfer of fluorescent ions across the 1,2-dichloroethane-water interface*, Anal. Chem.*, 66 (11), 1853-1859.

Kakutani, T., Osakai, T., Senda, M., 1983, A potential-step chronoamperometric study of ion transfer at the water/nitrobenzene interface, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 56 (4), 991-996.

Kalfa, V. C., Jia, H. P., Kunkle, R. A., McCray Jr., P. B., Tack, B. F., Brogden, K. A., 2001, Congeners of SMAP29 kill ovine pathogens and induce ultrastructural damage in bacterial cells, *Antimicrob. Agents Chemother*, 45 (11), 3256-3261.

Kang, J. H., Shin, S. Y., Jang, S. Y., Lee, M. K., Hahm, K. S., 1998, Release of aqueous contents from phospholipid vesicles induced by cecropin magainin hybrid and its analogues, *J. Peptide Res*., 52 (1), 45-50.

Khajehpour, M., Troxler, T., Nanda, V., Vanderkooi, J. M., 2004, Melittin as model system for probing interactions between proteins and cyclodextrins, *Proteins, Structure, Function, and Bioinformatics*, 55 (2), 275-287.

Kihara, S., Suzuki, M., Maeda, K., Ogura, K., Matsui, M., Yoshida, Z., 1989, The electron transfer at a liquid/liquid interface studied by current-scan polarography at the electrolyte dropping electrode, *J. Electroanal. Chem.*, 271 (1-2), 107-125.

Klocek, G., Seeling, J., 2008, Melittin interaction with sulfated cell surface sugars, *Biochem.*, 47 (9), 2841-2849.

Koczorowski, Z., Paleska, I., Kotowski, J., 1987, Streaming method study of interfaces between immiscible electrolyte solutions, *J. Electroanal. Chem.*, 235 (1-2), 287-298.

Kontturi, A.-K., Kontturi, K., Murtomaki, L., Quinn, B., Cunnane, V. J., 1997, Study of ion transfer across phospholipid monolayers adsorbed at micropipette ITIES, *J. Electroanal. Chem.*, 424 (1-2), 69-74.

Kontturi, K., Murtomaki L., 1992, Electrochemical determination of partition coefficients of drugs, *J. Pharm. Sci*., 81 (10), 970-975.

Koryta, J., 1979, Electrochemical polarization phenomena at the interface of two immiscible electrolyte solutions, *Electrochim. Acta*, 24 (3), 293-300.

Koryta, J., 1988, Electrochemical polarization phenomena at the interface of two immiscible electrolyte solutions-III. Progress since 1983, *Electrochim. Acta*, 33 (2), 189-197.

Koryta, J., Hung, L. Q., Hofmanova, A., 1982, Biomembrane transport processes at the ITIES with an adsorbed phospholipid monolayer, *Studia Biophys*., 90, 25-29.

Koryta, J., Vanysek, P., Brezina, M., 1977, Electrolysis with electrolyte dropping electrode: II. Basic properties of the system, *J. Electroanal. Chem.*, 75 (1), 211-228.

Krossing, I., Raabe, I., 2004, Noncoordinating anions-Fact or fiction? A survey of likely candidates, *Angew. Chem. Int. Ed*., 43 (16), 2066-2090.

Lad, M. D., Birembaut, F., Clifton, L. A., Frazier, R. A., Webster, J. R. P., 2007, Antimicrobial peptide-lipid binding interactions and binding selectivity, *Biophys. J.*, 92 (10), 3575-3586.

Ladokhin, A. S., Selsted, M. E., White, S. H., 1997a, Bilayer interactions of indolicidin, a small antimicrobial peptide rich in tryptophan, proline, and basic amino acids, *Biophys. J.*, 72 (2 Pt 1), 794-805.

Ladokhin, A. S., Selsted, M. E., White, S. H., 1997b, Sizing membrane pores in lipid vesicles by leakage of coencapsulated markers: pore formation by melittin, *Biophys. J.*, 72 (4), 1762-1766.

Lam, Y. H., Wassall, S. R., Morton, C. J., Smith, R., Separovic, F., 2001, Solid-state NMR structure determination of melittin in a lipid environment, *Biophys. J.*, 81 (5), 2752-2761.

Lamb, H., 1945, Hydrodynamics, 6th ed, *Dover*, New York.

Lee, M. T., Chen, F. Y., Huang, H. W., 2004, Energetics of pore formation induced by membrane active peptides, *Biochem.*, 43 (12), 3590-3599.

Li, J., B. Fainerman, V., Miller, R., 1996c, Adsorption kinetics of phospholipids at the chloroform/water interface studied by drop volume and pendant drop techniques, *Langmuir*, 12 (21), 5138-5142.

Li, J., Miller R., Mohwald, H., 1996a, Characterisation of phospholipid layers at liquid interfaces. 1. Dynamics of adsorption of phospholipids at the chloroform/water interface, *Coll. Surf. A: Phys. Eng. Aspc*., 114, 113-121.

Li, J., Miller R., Mohwald, H., 1996b, Characterisation of phospholipid layers at liquid interfaces 2. Comparison of isotherms of insoluble and soluble films of phospholipids at different fluid/water interfaces, *Coll. Surf. A: Phys. Eng. Aspc*., 114, 123-130.

Liu, B., Mirkin, M. V., 1999, Potential-independent electron transfer rate at the liquid/liquid interface, *J. Am. Chem. Soc*., 121 (36), 8352-8355.

Liu, B., Mirkin, M. V., 2002, Electron transfer at liquid/liquid interfaces. The effects of ionic adsorption, electrolyte concentration, and spacer length on the reaction rate, *J. Phys. Chem. B*, 106 (15), 3933-3940.

Liu, X. H., Yang, J., Zuo, G. F., Zhang, K., Dong, C. W., Lu, X. Q., 2008, Study of ion transfer across the liquid-liquid interface coupled to electrochemical redox reaction at the pt electrode with a three-electrode potentiostat, *J. Phys. Chem. C*, 112 (1), 148-152.

Ludtke, S. J., He, K., Heller, W. T., Harroun, T. A.,Yang, L., Huang, H. W., 1996, Membrane pores induced by magainin, *Biochem.*, 35 (43), 13723-13728.

Maeda, K., Kihara, S., Suzuki, M., Matsui, M., 1991, Voltammetric interpretation of ion transfer coupled with electron transfer at a liquid/liquid interface, *J. Electroanal. Chem.*, 303 (1-2), 171-184.

Maeda, K., Yoshida Y., Goto, T., Marecek, V., 2004, Blocking effect of a phospholipid monolayer on ion transfer at a liquid/liquid interface and its electrochemical control, *J. Electroanal. Chem.*, 567 (2), 317-323.

Maloy, W. L., Kari, U. P., 1995, Structure-activity studies on magainins and other host defense peptides, *Biopolymers*., 37 (2), 105-122.

Marcus, R. A., 2000, On the theory of ion transfer rates across the interface of two immiscible liquids, *J. Chem. Phys*., 113 (4), 1618-1629.

Marcus, R.A., 1990a, Reorganization free energy for electron transfers at liquid-liquid and dielectric semiconductor-liquid interfaces, *J. Phys. Chem*., 94 (3), 1050-1055.

Marcus, R.A., 1990b, Theory of electron-transfer rates across liquid-liquid interfaces, *J. Phys. Chem*., 94 (10), 4152-4155.

Marcus, R.A., 1991, Theory of electron-transfer rates across liquid-liquid interfaces. 2. Relationships and application, *J. Phys. Chem*., 95 (5), 2010-2013.

Marecek, V. Lhotsky A. and Janchenova H., 2003, Mechanism of lecithin adsorption at a liquid|liquid interface, *J. Phys. Chem. B*, 107 (19), 4573-4578.

Marken, F., Webster, R. D., Bull, S. D., Davies, S. G., 1997, Redox processes in microdroplets studied by voltammetry, microscopy and ESR spectroscopy: oxidation ofN,N,N′,N′-tetrahexylphenylene diamine deposited on solid electrode surfaces and immersed in aqueous electrolyte solution, *J. Electroanal. Chem.*, 437 (1-2), 209-218.

Martins, M.C., Pereira, C.M., Santos, H.A., Dabirian R., Silva F., Garcia-Morales V., Manzanares J.A., 2007, Analysis of adsorption of phospholipids at the 1,2-dichloroethane/water interface by electrochemical impedance spectroscopy: A study of the effect of the saturated alkyl chain, *J. Electroanal. Chem.*, 599 (2), 367-375.

Mathai, K. G., Rabinowitch, E., 1962, Studies of the thionine-ferrous iron reaction in a heterogeneous system, *J. Phys. Chem*., 66 (4), 663-664.

Matsuzaki, K., Yoneyama, S., Miyajima, K., 1997, Pore formation and translocation of melittin, *Biophys. J.*, 73 (2), 831-838.

Melroy, O. R., Buck, R. P., Stover, F. S., Hughes, H.C., 1981, Chronopotentiometry of one- and two-ion transport at immiscible liquid interfaces, *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem*., 121, 93-114.

Mendez, M. A., Prudent, M., Su, B., Girault, H. H., 2008, Peptide-phospholipid complex formation at liquid-liquid interfaces, *Anal. Chem.*, 80 (24), 9499-9507.

Mendez, M. A., Su, B., Girault, H. H., 2009, Voltammetry for surface-active ions at polarisable liquid|liquid intefaces, *J. Electroanal. Chem.*, 634 (2), 82-89.

Murtomaki, L., Manzanares, J. A., Mafe, S., Kontturi, K., 2001, Phospholipids at liquid-liquid interfaces and their effect on charge transfer. Liquid interfaces in chemical, biological, and pharmaceutical applications, Volkov A. G. (ed), vol. 95, pp 533-551, Marcel Dekker, New York.

Nagatani, H., Iglesias, R. A., Fermin, D. J., Brevet, P.-F., Girault, H. H., 2000, Adsorption behavior of charged zinc porphyrins at the water/1,2-dichloroethane interface studied by potential modulated fluorescence spectroscopy, *J. Phys. Chem. B*, 104 (29), 6869-6876.

Nagatani, H., Samec, Z., Brevet, P.-F., Fermin, D. J., Girault, H. H., 2003, Adsorption and aggregation of meso-tetrakis(4-carboxyphenyl)porphyrinato zinc(II) at the polarized water|1,2-dichloroethane interface, *J. Phys. Chem. B*, 107 (3), 786-790.

Naito, A., Nagao, T., Norisada, K., Mizuno, T., Tuzi, S., Saitô, H., 2000, Conformation and dynamics of melittin bound to magnetically oriented lipid bilayers by solid-state ^{31}P and ^{13}C NMR spectroscopy, *Biophys. J.*, 78 (5), 2405-2417.

Naujok, R. R., Paul, H. J., Corn, R. M., 1996, Optical second harmonic generation studies of azobenzene surfactant adsorption and photochemistry at the water/1,2-dichloroethane interface, *J. Phys. Chem*., 100 (25), 10497-10507.

Nelson, D. L., Cox, M. M., 2000, Lehninger principles of biochemistry, E. Geller (ed.), vol. 3, *Worth Publishers*, NY, USA.

Niu, W., Wu, Y., Sui, S.-F., 2000, Orientation of membrane-bound melittin studied by combination of HPLC and lipid secondary ion mass spectrometry (LSIMS), *IUBMB Life*, 50 (3), 215-219.

Ohkouchi, T., Kakutani, T., Senda, M., 1991, Electrochemical study of the transfer of uncouplers across the organic/aqueous interface, *Bioelectrochem. Bioenerg*., 25 (1), 71-80.

Osborne, M. C., Shao, Y., Pereira, C. M., Girault, H. H., 1994, Micro-hole interface for the amperometric determination of ionic species in aqueous solutions, *J. Electroanal. Chem.*, 364 (1-2), 155-161.

Osborne, M. D., Girault, H. H., 1995a, Amperometric detection of the ammonium ion by facilitated ion transfer across the interface between two immiscible electrolyte solutions, *Electroanalysis*, 7 (5), 425-434.

Osborne, M. D., Girault, H. H., 1995b, The micro water/1,2-dichloroethane interface as a transducer for creatinine assay, *Mikrochimica Acta*, 117 (3-4), 175-185.

Papo, N., Shai, Y., 2003, Exploring peptide membrane interaction using surface Plasmon resonance: differentiation between pore formation versus membrane disruption by lytic peptides, *Biochem.*, 42 (2), 458-466.

Park, C. B., Yi, K. S., Matsuzaki, K., Kim, M. S., Kim, S. C., 2000, Structure-activity analysis of buforin II, a histone H2Aderived antimicrobial peptide: the proline hinge is responsible for the cell-penetrating ability of buforin II, *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 97 (15), 8245-8250.

Park, S.-C., Kim, J.-Y., Shin, S.-O., Jeong, C.-Y., Kim, M.-H., Shin, S. Y., Cheong, G.-W., Park, Y., Hahm, K.-S., 2006, Investigation of toroidal pore and oligomerization by melittin using transmission electron microscopy, *Biochem.* Biophys. Res. Com., 343 (1), 222-228.

Parker, A. J., 1976, Solvation of ions-enthalpies, entropies and free energies of transfer, *Electrochimica Acta*, 21 (9), 671-679.

Protopapa, E., Aggeli, A., Boden, N., Knowles, P. F., 2006, Electrochemical screening of self-assembling β-sheet peptides using supported phospholipid monolayers, *Med. Eng. Phys*., 28 (10), 944-955.

Quay, S. C., Condie, C., 1983, Conformational studies of aqueous melittin: thermodynamic parameters of the monomer-tetramer self-association reaction, *Biochem.*, 22 (3), 695-700.

Raghuraman, H., Chattopadhyay, A., 2006, Effect of ionic strength on folding and aggregation of the hemolytic peptide melittin in solution, *Biopolymers*, 83 (2), 111-121.

Raghuraman, H., Chattopadhyay, A., 2007a, Melittin: a membrane-active peptide with diverse functions, *Biosci. Rep*., 27 (4-5), 189-223.

Raghuraman, H., Chattopadhyay, A., 2007b, Orientation and dynamics of melittin in membranes of varying composition utilizing NBD fluorescence, *Biophys. J.*, 92 (4), 1271-1283.

Rex, S., Schwarz, G., 1998, Quantitative studies on the melittin-induced leakage mechanism of lipid vesicles, *Biochem.*, 37 (8), 2336-2345.

Reymond, F., 2001, Transfer mechanisms and lipophilicity of ionizable drugs. Liquid interfaces in chemical, biological and pharmaceutical applications, Volkov A. G. (ed), vol. 95, *Marcel Dekker*, New York, 729-773.

Reymond, F., Carrupt, P. A., Testa, B., Girault, H. H., 1999, Charge and delocalisation effects on the lipophilicity of protonable drugs, Chemistry-A European Journal, 5 (1), 39-47.

Reymond, F., Fermin, D., Lee, H. J., Girault, H. H., 2000, Electrochemistry at liquid/liquid interfaces: methodology and potential applications, *Electrochimica Acta*, 45 (15-16), 2647-2662.

Reymond, F., Steyaert, G., Carrupt, P.- A., Testa, B., Girault, H., 1996, Ionic partition diagrams: A potential-pH representation, *J. Am. Chem. Soc*., 118 (47), 11951-11957.

Robinson, W. E. Jr, McDougall, B., Tran, D., Selsted, M. E., 1998, Anti-HIV-1 activity of indolicidin, an antimicrobial peptide from neutrophils, *J. Leukoc. Biol*., 63 (1), 94-100.

Rothman, J.E., Lenard, J., 1977, Membrane asymmetry, *Science*, 195 (4280), 743-753

Roozeman, R.J., Liljeroth, P., Johans, C., Williams, D.E., Kontturi, K., 2002, Dynamic interfacial tension at electrified liquid/liquid interfaces, *Langmuir*, 18 (22), 8318-8323.

Roozeman, R-J., Murtomaki, L., Kontturi, K., 2005, Dynamics of lipid adsorption at the electrified water|1,2-dichloroethane interface, *J. Electroanal. Chem.*, 575 (1), 9-17.

Sackmann, E., 1995, Phospholipid monolayers, in Structure and dynamics of membranes, from cells to vesicles, Lipowsky, R., Sackmann, E. (ed.), vol. 1, ch. 4, *Elsevier*, Amsterdam, 1-63.

Saint Martin, E., Konovalov, O., Daillant, J., 2007, Studies of phospholipid monolayer at liquid/liquid interface in presence of an antimicrobial peptide, *Thin Solid Films*, 515 (14), 5687-5690.

Samec, Z., 1979b, Charge transfer between two immiscible electrolyte solutions. Part I. Basic equation for the rate of the charge transfer across the interface, *J. Electroanal. Chem.*, 99 (2), 197-205.

Samec, Z., Homolka, D., Marecek, V., 1982, Charge transfer between two immiscible electrolyte solutions. Part. VIII. Transfer of alkali and alkaline earth metal cations across the water/nitrobenzene interface facilitated by synthetic neutral carriers, *J. Electroanal. Chem.*, 135 (2), 265-283.

Samec, Z., Kharkats, Y. I., Gurevich, Y. Y., 1986, Stochastic approach o the ion transfer kinetics across the interface between two immiscible electrolyte solutions. Comparison with the experimental data, *J. Electroanal. Chem.*, 204 (1-2), 257-266.

Samec, Z., Maracek, V., Weber, J., Homolka, D., 1981a, Charge transfer between two immiscible electrolyte solutions. Part. VII. Convolution potential sweep voltammetry of Cs^+ ion transfer and of electron transfer across the water/nitrobenzene interface, *J. Electroanal. Chem.*, 126 (1-3), 105-119.

Samec, Z., Marecek, V., Homolka, D., 1981b, The double layer at the interface between two immiscible electrolyte solutions. Part.I. Capacity of the water/nitrobenzene interface, *J. Electroanal. Chem.*, 126 (1-3), 121-129.

Samec, Z., Marecek, V., Homolka, D., 1984, Double layers at liquid/liquid interfaces. *Faraday Discuss. Chem. Soc*. 77, 197-208.

Samec, Z., Marecek, V., Homolka, D., 1985, The double layer at the interface between two immiscible electrolyte solutions. Part. II. Structure of the water/nitrobenzene interface in the presence of 1:1 and 2:2 electrolytes, *J. Electroanal. Chem.*, 187 (1), 31-51.

Samec, Z., Marecek, V., Koryta, J., Khalil, M. W., 1977, Investigation of ion transfer across the interface between two immiscible electrolyte solutions by cyclic voltammetry, *J. Electroanal. Chem.*, 83, 393-397.

Samec, Z., Marecek, V., Weber, J., 1979c, Charge transfer between two immiscible electrolyte solutions. Part. II. The investigation of the Cs^+ ion transfer across the nitrobenzene/water interface by cyclic voltammetry with IR drop compensation, *J. Electroanal. Chem.*, 100 (1-2), 841-852.

Samec, Z., Marecek, V., Weber, J., 1979d, Charge transfer between two immiscible electrolyte solutions. Part. IV. Electron transfer between hexacyanoferrate (III) in water and ferrocene in nitrobenzene investigated by cyclic voltammetry with four-electrode system, *J. Electroanal. Chem.*, 103 (1), 11-18.

Samec, Z., Marecek, V., Weber, J., 1979a, Detection of an electron transfer across the interface between two immiscible electrolyte solutions by cyclic voltammetry with four-electrode system, *J. Electroanal. Chem.*, 96 (2), 245-247.

Samec, Z., Trojanek, A., Girault, H. H., 2003, Thermodynamic analysis of the cation binding to a phosphatidylcholine monolayer at a polarised interface between two immiscible electrolyte solutions, *Electrochem. Commun.*, 5 (1), 98-103.

Samec, Z., Trojanek, A., Krtil, P., 2005, Dynamics of phospholipid monolayers on polarised liquid-liquid interfaces, *Faraday Discuss*., 129, 301-313.

Samec, Z., Marecek, V., 1987, The interface structure and electrochemical processes at the boundary between two immiscible liquids, Kazarinov, V. E. (ed), *Springer-verlag*, Berlin.

Santos, H. A., 2007, Improving the biomimetic properties of liquid/liquid interfaces: electrochemical and physicochemical characterisation, PhD Thesis, Helsinki university of technology, department of chemical technology laboratory of physical chemistry and electrochemistry, Helsinki.

Santos, H. A., Carlsson, S., Murtomäki, L., Kontturi, K., 2007a, Effect of gramicidin on phospholipid-modified monolayers and on ion transfer at a liquid-liquid interface, *ChemPhysChem*, 8 (6), 913-920.

Santos, H. A., Ferreira, E. S., Pereira, E. J., Pereira, C. M., Kontturi, K., Silva, F., 2007b, Adsorption-Penetration studies of Glocose oxidase into phospholipid monolayers at the 1,2-DCE/water interface, *ChemPhysChem*, 8 (10), 1540-1547.

Sargent, D. F., Schwyzer, R., 1986, Membrane lipid phase as catalyst for peptide-receptor interactions, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83 (16), 5774-5778.

Sawada, S., Torii, H., Osakai, T., Kimoto, T., 1998, Pulse amperometric detection of lithium in artificial serum using a flow ijection system with a liquid/liquid-type ion-selective electrode*, Anal. Chem.*, 70 (20), 4286-4290.

Schmickler, W., 1997, Electron-transfer reactions across liquid-liquid interfaces, *J. Electroanal. Chem.*, 428 (1-2), 123-127.

Schmickler, W., 2001, The lattice-gas and other simple models for liquid-liquid interfaces. Liquid interfaces in chemical, biological and pharmaceutical applications, Volkov, A. G. (ed), vol. 95, *Marcel Dekker*, New York, 179-204.

Scholz, F., Komorsky-Lovric, S., Lovric, M., 2000, A new access to Gibbs energies of transfer of ions across liquidliquid interfaces and a new method to study electrochemical processes at well-defined three-phase junctions, *Electrochem. Commun.*, 2 (2), 112-118.

Schweighofer, K. J., Benjamin, I., 1995, Electric field effects on the structure and dynamics at a liquid liquid interface, *J. Electroanal. Chem.*, 391 (1-2), 1-10.

Senda, M., Kakiuchi, T., Osaka, T., 1991, Electrochemistry at the interface between two immiscible electrolyte solutions, *Electrochimica Acta*, 36 (2), 253-262.

Senda, M., Yamamoto, Y., 1996, Amperometric ion-selective electrode sensors. Liquid-liquid interfaces: Theory and methods, Volkov A. V., Deamer, D. W. (ed), pp 277-292, CRC Press, Boca Raton, Florida.

Sengupta, D., Leontiadou, H., Mark, A. E., Marrink, S.-J., 2008, Toroidal pores formed by antimicrobial peptides show significant disorder, *Biochim. Biophys. Acta*, 1778 (10), 2308-2317.

Seydel, J. K., Wiese, M., 2002, Drug-Membrane Interactions: Analysis, Drug Distribution, Modeling, vol. 15, chp. 3, *Wiley*, 51-139.

Shai, Y., 2002, Mode of action of membrane active antimicrobial peptides. *Biopolymers* (*Peptide Science*), 66 (4), 236-248.

Shao, Y., Girault, H. H., 1991, Kinetics of the transfer of acetylcholine across the water+sucrose/1,2-dichloroethane interface: A comparison between ion transport and ion transfer, *J. Electroanal. Chem.*, 282 (1-2), 59-72.

Shao, Y., Osborne, M. D., Girault, H. H., 1991b, Assisted ion transfer at micro-ITIES supported at the tip of micropipettes, *J. Electroanal. Chem.*, 318 (1-2), 101-109.

Shao, Y., Zerda, T. W., 1998, Phase transitions of liquid crystal paa in confined geometries, *J. Phys. Chem. B*., 102 (18), 3387-3394.

Shao, Y., Stewart, A. A., Girault, H. H., 1991a, Determination of the half-wave potential of the species limiting the potential window. Measurement of gibbs transfer energies at the water/1,2-dichloroethane interface, *J. Chem. Soc*. *Faraday Trans*., 87 (16), 2593-2597.

Shi, C., Anson, F. C., 1998a, Simple electrochemical procedure for measuring the rates of electron transfer across liquid/liquid interfaces formed by coating graphite electrodes with thin layers of nitrobenzene, *J. Phys. Chem. B*, 102 (49), 9850-9854.

Shi, C., Anson, F. C., 1999, Electron transfer between reactants located on opposite sides of liquid/liquid interfaces, *J. Phys. Chem. B*, 103 (30), 6283-6289.

Shi, C., Anson, F. C., 2001, Selecting experimental conditions for measurement of rates of electron-transfer at liquid/liquid interfaces by thin-layer electrochemistry, *J. Phys. Chem. B*, 105 (5), 1047-1049.

Silva, F., Sousa, M. J., Pereira, C. M., 1997, Electrochemical study of aqueous-organic gel micro-interfaces, *Electrochimica Acta*, 42 (2-22), 3095-3103.

Singer, J., Nicolson, G. L., 1972, The fluid mosaic model of the structure of cell membranes, *Science*, 175 (23), 720-731.

Sovago, M., Wurpel, G. W. H., Smits, M., Müller, M., Bonn M., 2007, Calcium-induced phospholipid ordering depends on surface pressure, *J. Am. Chem. Soc*., 129 (36), 11079-11084.

Steinem, C., Galla, H.-J., Janshoff, A., 2000, Interaction of melittin with solid supported membranes, *Phys. Chem. Chem. Phys*., 2 (20), 4580-4585.

Stewart, A. A., Shao, Y., Pereira, C. M., Girault, H. H., 1991, Micropipette as a tool for the determination of the ionic species limiting the potential window at liquid/liquid interfaces, *J. Electroanal. Chem.*, 305 (1), 135-139.

Stewart, R. J., Boggs, J. M., 1993, A carbohydrate-carbohydrate interaction between galactosylceramide-containing liposomes and cerebroside sulfate-containing liposomes: Dependence on the glycolipid ceramide composition, *Biochem.*, 32 (40), 10666-10674.

Steyaert, G., Lisa, G., Gaillard, P., Boss, G., Reymond, F., Girault, H. H., Carrupt, P. A., Testa, B., 1997, Intermolecular forces expressed in 1,2-dichloroethane-water partition coefficients, *J. Chem. Soc. Faraday Trans*., 93 (3), 401-406.

Strutwolf, J., Barker, A.L., Gonsalves, M., Caruana, D.J., Unwin, P.R., Williams, D.E., Webster J.R.P. J., 2000, Probing Liquid|liquid interfaces using neutron reflection measurements and scanning electrochemical microscopy, *J. Electroanal. Chem.*, 483 (1-2), 163-173.

Su, B., 2006, Assembly and reactivity of nanoparticles at liquid/liquid interfaces, PhD Thesis, *LEPA EPFL*, Lausanne.

Taylor, G., Girault, H. H. J., 1986, Ion transfer reactions across a Liquid-liquid interface supported on a micropipette tip, *J. Electroanal. Chem.*, 208 (1), 179-183.

Terwilleger, T. C., Eisenberg, D., 1982, The structure of melittin. II. Interpretation of the structure, *J. Biol. Chem*., 257 (11), 6016-6022.

Terwilleger, T. C., Wiessman, L., Eisenberg, D., 1982, The structure of melittin in the form I crystals and its implication for melittin's lytic and surface activities, *Biophys. J.*, 37 (1), 353-361.

Toke, O., 2005, Antimicrobial peptides: new candidates in the fight against bacterial infections, *Biopolymers* (*Peptide Science*), 80 (6), 717-735.

Tomaszewski, L., 2000, Assisted transfer of heavy metal ions at liquid/liquid interfaces: Elucidation of transfer mechanism, PhD Thesis, *LEPA EPFL*, Lausanne.

Tosteson, M. T., Alvarez, O., Hubbell, W., Bieganski, R. M., Attenbach, C., Caporales, L. H., 1990, Primary structure of peptides and ion channels. Role of amino acid side chains in voltage gating of melittin channels, *Biophys. J.*, 58 (6), 1367-1375.

Tosteson, M. T., Holmes, S. J., Razin, M., Tosteson, D. C., 1985, Melittin lysis of red cells, *J. Membr. Biol.*, 87 (1), 35-44.

Tosteson, M. T., Tosteson, D. C., 1981, The sting. Melittin forms channels in lipid bilayers, *Biophys. J.*, 36 (1), 109-116.

Tosteson, M. T., Tosteson, D. C., 1984, Activation and inactivation of melittin channels., *Biophys. J.*, 45 (1), 112-114.

Trojanek, A., Krtil, P., Samec, Z., 2001a, Quasi-elastic laser light scattering from thermally excited capillary waves on the polarised liquid/liguid interfaces. part 1: effects of adsorption of hexadecyltrimethylammonium chloride at the water|1,2-dichloroethane interface, *J. Electroanal. Chem.*, 517 (1-2), 77-84.

Trojanek, A., Krtil, P., Samec, Z., 2001b, Quasi-elastic Laser Light Scattering from Thermally Excited Capillary Waves on the Polarised Water/1,2- dichloroethane Interface, *Electrochem. Commun.*, 3 (11), 613-618.

Tsionsky, M., Bard, A. J., Mirkin, M. V., 1996, Scanning Electrochemical Microscopy. 34. Potential Dependence of the Electron-Transfer Rate and Film Formation at the Liquid/Liquid Interface, *J. Phys. Chem*., 100 (45), 17881-17888.

Tsionsky, M., Bard, A. J., Mirkin, M. V., 1997, Long-range electron transfer through a lipid monolayer at the liquid/liquid interface, *J. Am. Chem. Soc*., 119 (44), 10785-10792.

Tsuyumoto, I., Sawada, T., 2001, Dynamic behaviors of molecules at liquid|liquid interfaces using the time- resolved quasi-elastic laser scattering method, Liquid interfaces in chemical, biological and pharmaceutical applications, Volkov, A. G. (ed), *Marcel Dekker*, New York, 95, 179-190

Ulmeanu, S., Lee, H. J., Fermin, D. J., Girault, H. H., Shao, Y., 2001, Voltammetry at a liquid|liquid interface supported on a metallic electrode, *Electrochem. Commun.*, 3 (5), 219-223.

Ulmeanu, S., 2004, Two-phase partition profiling of drugs and ionisable compounds, PhD Thesis, *LEPA EPFL*, Lausanne.

Valent, O., Koryta, J., Panoch, M., 1987, Voltammetric study of ion transfer across the water/*o*-nitrophenyloctyl ether interface: Part I. Reversible process, *J. Electroanal. Chem.*, 226 (1-2), 21-25.

Verwey, E. J. W., Niessen, K. F., 1939, XL. The electrical double layer at the interface of two liquids, *Philos. Mag*., 28 (189), 435-446.

Volkov, A. G., 1998, Redox reactions at liquid hydrocarbon/water interfaces: biophysical aspects, *Electrochim. Acta*, 44 (1), 139-153.

Volkov, A. G. (ed), 2001, Liquid interfaces in chemical, biological, and pharmaceutical applications. *Marcel Dekker*, New York.

Volkov, A. G., 2003, Interfacial catalysis, 1st ed. *Marcel Deccer*, Basel, Switzerland.

Volkov, A. G., Deamer, D. W. (ed), 1996, Liquid-liquid interfaces: theory and methods, *CRC Press*, Boca Raton, Florida.

Volkov, A. G., Deamer, D. W., Tanelian, D. L., Markin, V. S., 1996, Electrical double layers at the oil/water interface, *Prog. Surf. Sci*., 53 (1), 1-134.

Volkov, A. G., Deamer, D. W., Tanelian, D. L., Markin, V. S. (ed), 1998, Liquid interfaces in chemistry and biology, *Wiley*, New York.

Volkov, A. G., Gugeshashvili, M. I., Deamer, D. W., 1995, Energy conversion at liquid/liquid interfaces: Artificial photosynthetic systems, *Electrochim. Acta*, 40 (18), 2849-2868.

Wachinger, M., Kleinschmidt, A., Winder, D., von Pechmann, N., Ludvigsen, A., Neumann, M., Holle, R., Salmons, B., Erfle, V., Brack-Werner, R., 1998, Antimicrobial peptides melittin and cecropin inhibit replication of human immunodeficency virus 1 by suppressing viral gene expression, *J. General Viro*., 79, 731-740.

Walker, R. A., Conboy, J. C., Richmond, G. L., 1997, Molecular structure and ordering of phospholipids at a liquid-liquid interface, *Langmuir*, 13 (12), 3070-3073.

Walker, R. A., Gruetzmacher, J. A., Richmond, G. L., 1998, Phosphatidylcholine monolayer structure at a liquid-liquid interface, *J. Am. Chem. Soc*., 120 (28), 6991-7003.

Wandlowski, T., Marecek, V. Samec, Z., 1988, Adsorption of phospholipids at the interface between two immiscible electrolyte solutions. Part I. Equilibrium adsorption of phosphatidylcholines at the water/nitrobenzene interface, *J. Electroanal. Chem.*, 242 (1-2), 277-290.

Wandlowski, T., Marecek, V., Holub, K., Samec, Z., 1989, Ion transfer across liquid-liquid phase boundaries: Electrochemical kinetics by faradaic impedans, *J. Phys. Chem*., 93 (25), 8204-8212.

Watanabe, A., Fujii, A., Sakamori, Y., Higashitsuji, K., Tamai, H., 1971, Studies on the behaviour of phospholipids at oil-water interfaces. Part I. The isoelectric points of phospholipids, *Coll. Poly. Sci*., 243 (1), 42-47.

Watanabe, A., Matsumoto, M., Tamai, H., Gotoh, R., 1968, Electrocapillary phenomena at oil-water interfaces. Part III: The behaviour of lecithin at oil-water interfaces, *Coll. Poly. Sci*., 228 (1-2), 58-63.

Webster, D. R., Beaglehole, D., 2000, In situ electrochemical-ellipsometry studies of charge-transfer processes at the liquid/liquid interface, *Phys. Chem. Chem. Phys*., 2 (24), 5660-5666.

Wei, C., Bard, A. J., Mirkin, M. V., 1995, Scanning electrochemical microscopy. 31. application of secm to the study of charge transfer processes at the liquid/liquid interface, *J. Phys. Chem*., 99 (43), 16033-16042.

Weston, K. M., Raison, R. L., 1998, Interaction of melittin with a human lymphoblastoid cell line, HMy2, *J. Cell. Biochem.*, 68 (2), 164-173.

Wilcox, W., Eisenberg, D., 1992, Thermodynamics of melittin tetramerization determined by circular dichroism and implications for protein folding, *Protein Sci*., 1 (5), 641-653.

Wilke, S., 1994, Impulse-response functions of low-through detectors based on the membrane-stabilised liquid-liquid interface Part II. Experimental verification, *Analytica Chimica Acta*, 295 (1-2), 165-172.

Wilke, S., Franzke, H., Muller, H., 1992, Simultaneous determination of nitrate and chloride by means of flow-injection amperometry at the membrane-stabilized water/nitrobenzene interface, *Analytica Chimica Acta*, 268 (2), 285-292.

Wu, Y., Huang, H. W., Olah, G. A., 1990, Method of oriented circular dichroism, *Biophys. J.*, 57 (4), 797-806.

Yamaguchi, S., Hong, T., Waring, A., Lehrer, R. I., Hong, M., 2002, Solid-state NMR investigations of peptide-lipid interaction and orientation of a β-sheet antimicrobial peptide, protegrin, *Biochem.*, 41 (31), 9852-9862.

Yang, L., Harroun, T. A., Weiss, T. M., Ding, L., Huang, H. W., 2001, Barrel-stave model or toroidal model? A case study on melittin pores, *Biophys. J.*, 81 (3), 1475-1485.

Yoshida, Y., Yoshinaga, H., Ichieda, N., Uehara, A., Kasuno, M., Banu, K., Maeda K. and Kihara, S. 2001 Ion transfer reactions across the aqueous/organic solution interface in the presence of phospholipid layer adsorbed on the interface. *Anal. Sci*. 17(Suppl.):i1037-i1039.

Yoshida, Y., Maeda, K., Shirai, O., 2005, The complex formation of ions with a phospholipid monolayer adsorbed at an aqueous|1,2-dichloroethane interface, *J. Electroanal. Chem.*, 578 (1), 17-24.

Yuan, Y., Gao, Z., Guo, J. D., Shao, Y. H., 2002, Study of facilitated potassium ion transfer across a water|1,2-dichloroethane interface using different phase volume ratio systems, *J. Electroanal. Chem.*, 526 (1-2), 85-91.

Yudi, L. M., Santos, E., Baruzzi, A. M., Solis, V. M., 1994, Erythromycin transfer across the water/1,2-dichloroethane interface modified by a phospholipid monolayer, *J. Electroanal. Chem.*, 379 (1-2), 151-158.

Zasloff, M., 2002, Antimicrobial peptides of multicellular organisms, *Nature*, 415 (6870), 389-395.

Zhang, Z., Tsuyumoto, I., Takahashi, S., Kitamori, T., Sawada, T., 1997, Monitoring of molecular collective behavior at a liquid/liquid interface by a time-resolved quasi-elastic laser scattering method, *J. Phys. Chem*. *A*., 101 (23), 4163-4166.

Zhang, J., Unwin, P. R., 2002, Kinetics of $IrCl_6^{2-}$ ion transfer across the water/1,2-dichloroethane interface and the effect of a phospholipid monolayer, *Langmuir*, 18 (6), 2313-2318.

Zhang, M., Sun, P., Chen, Y., Li, F., Gao, Z., Shao, Y., 2003, Studies of effect of phase volume ratio on transfer of ionizable species across the water/1,2-dichloroethane interface by a three-electrode setup*, Anal. Chem.*, 75 (16), 4341-4345.

Zhang, Z. Lu, L., Berkowitz, M. L., 2008, Energetics of Cholesterol Transfer between Lipid Bilayers, *J. Phys. Chem. B*, 112 (12), 3807-3811.

Zhang, Z., Yuan, Y., Sun, P., Su, B., Guo, J., Shao, Y., Girault, H. H., 2002, Study of electron-transfer reactions across an externally polarized water/1,2-dichloroethane interface by scanning electrochemical microscopy, *J. Phys. Chem. B*, 106 (26), 6713-6717.

Zhao, H., Mattila, J. P., Holopainen, J. M., Kinnunen, P. K., 2001, Comparison of the membrane association of two antimicrobial peptides, magainin 2 and indolicidin, *Biophys. J.*, 81 (5), 2979-2991.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : İbrahim UYANIK
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Beyşehir (Konya), 03/03/1979
Telefon : -
Faks : -
e-mail : ibrhm.uyanik@gmail.com

EĞİTİM

Derece		**Adı, İlçe, İl**	**Bitirme Yılı**
Lise	:	Gazi, Meram, Konya	1996
Üniversite	:	Selçuk Ü. Kimya Böl., Selçuklu, Konya	2002
Yüksek Lisans	:	Selçuk Ü. Kimya Müh., Selçuklu, Konya	2005
Doktora	:	Selçuk Ü, Kimya, Selçuklu, Konya	2011

YABANCI DİLLER

İngilizce