



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KATI DESTEK YÜZEYLERİ ÜZERİNE KOLLOİDAL YAPILARIN MİKRO VE NANO DESENLENMESİ VE ONLARIN FONKSİYONLANDIRILMASI

Mustafa ÖZMEN

DOKTORA TEZİ

Kasım – 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.

İmza

Mustafa ÖZMEN

18/11/2011

ÖZET

DOKTORA TEZİ

KATI DESTEK YÜZEYLERİ ÜZERİNE KOLLOİDAL YAPILARIN MİKRO ve NANO DESENLENMESİ ve ONLARIN FONKSİYONLANDIRILMASI

Mustafa ÖZMEN

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mustafa ERSÖZ

2011, 110 Sayfa

Jüri
Prof. Dr. Mustafa ERSÖZ
Prof. Dr. Salih YILDIZ
Prof. Dr. Tevfik ATALAY
Prof. Dr. Nihal AYDOĞAN
Yrd. Doç. Dr. İlkay Hilal GÜBBÜK

Yapılan bu çalışmada katı yüzeyler üzerine hazırlanacak olan kolloid desenleri mikrokontak printing metodu kullanılarak hazırlanmıştır. Ardından desenlenmiş kolloid üzerine biyomolekülün adsorpsiyonu incelenmiştir. Uygulama kısmında ise maya ve klorella hücrelerinin katı yüzey üzerinde biyofilm oluşturması araştırılmış ve tabakalı kaplama metodu kullanılarak biyofilmin yüzeyde desenlerinin oluşturulması ve oluşan desenin çözelti ortamına aktarılması gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmada yüzeylerin temizlenmesi ve aktifleştirilmesi için RCA prosedürü uygulanmıştır. Mikrokontakt baskılama metodu için master kalıplar, Hull Üniversitesi Fizik Bölümü Laser Laboratuvarında hazırlanmıştır. Kolloidal madde olarak PMMA-AAc sentezi yapılmış ve yaklaşık 250-350 nm boyutta küresel kolloid kürecikleri elde edilmiştir. Sentezlenen kolloidal maddenin katı yüzey üzerine mikrokontakt baskılama işleminden sonra FITC-Albumin biyomateryalinin kolloid deseninin üzerine adsorplanması amaçlanmıştır.

Ayrıca FITC-Albumin biyomateryalinin katı yüzey üzerine kolloid kullanmadan doğrudan mikrokontakt baskılama metodu ile desenlenmesi de gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla negatif yüklü yüzey pozitif yüklü bir polielektrolit kullanılarak FITC-Albuminin yüzeye desenlenmesi elektrostatik olarak kolaylaştırılmıştır.

Çalışmanın uygulama aşamasında katı yüzey üzerinde tabakalı kaplama metodu kullanılarak maya ve klorella hücrelerinin biyofilmi oluşturulmaya çalışılmıştır. Ayrıca maya hücrelerinin biyofilm deseni katı yüzey üzerinde oluşturulmaya çalışılmıştır. Bunun için ticari olarak temin edilmiş grid yapılar kullanılmıştır. Elde edilen biyofilm deseni çözelti ortamına aktarılmış ve biyofilmin yapısının bozulmadığı ve aktivitesini halen koruduğu gözlenmiştir. Yüzeylerin karakterizasyonu için atomik kuvvet mikroskobu, su temas açısı ölçüm cihazı, optik ve floresans mikroskobu, taramalı elektron mikroskobu kullanılmıştır. Kolloid yüzeyinin ve biyomateryallerin yük yoğunlukları için ise zeta potansiyel ölçüm cihazı kullanılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Biyofilm, Kolloid, Mikrokontakt baskılama, Tabakalı kaplama metodu.

ABSTRACT

Ph.D THESIS

MICRO and NANOPATTERNING of COLLOIDAL STRUCTURES ONTO SOLID SUBSTRATES and THEIR FUNCTIONALIZATION

Mustafa ÖZMEN

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

Advisor: Prof. Dr. Mustafa ERSÖZ

2011, 110 Pages

Jury
Prof. Dr. Mustafa ERSÖZ
Prof. Dr. Salih YILDIZ
Prof. Dr. Tevfik ATALAY
Prof. Dr. Nihal AYDOĞAN
Yrd. Doç. Dr. İlkay Hilal GÜBBÜK

In this study, colloid patterns were prepared by using microcontact printing technique. Then adsorption of biomolecule on patterned colloid was investigated. In application part, we examined formation of biofilm of yeast and chlorella cells onto solid substrate and patterning of biofilm by using layer-by-layer technique and cleaving of pattern into solution was achived.

In this work, RCA procedure was used for cleaning and activation of surfaces. Master stamps used for microcontact printing method was prepared from Hull University Department of Physics Laser Lab. PMMA-AAc was synthesized as colloidal subtance and we obtained spherical colloids whose diameter was approximately 250-350 nm. We aimed that adsorption of FITC-Albumin biomaterial onto patterned colloid after microcontact printing method.

Also FITC-Albumin biomaterial was patterned onto solid substrate by using microcontact printing technique without using colloid. Thus, negatively charged surface was introduced with pozitively charged polyelectrolyte and by this way FITC-Albumin was patterned easily via electrostatic interactions.

In the application section of work, formation of biofilm was achieved by using layer-by-layer technique. We monitored the biofilm of yeast and chlorella on surface. Then, we tried to get yeast biofilm pattern onto the solid substrate. For this, we used grid structures purchased commercially. We transferred the patterned biofilm to solution and noticed that the structure and activity of biofilm were stable. We used atomic force microscopy, contact angle measurement, optic and fluorescence microscop and scanning electron microscope for the characterization of surfaces. Zeta potential measurements were used for the surface charges of colloid and biomaterials.

Keywords: Biofilm, Colloid, Layer-by-Layer technique, Microcontact printing.

ÖNSÖZ

Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyelerinden Prof. Dr. Mustafa ERSÖZ danışmanlığında tamamlanarak, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne Doktora Tezi olarak sunulmuştur.

Tez projemin planlanması ile başlayan ve çalışmalarım boyunca devam eden dönemde destek ve yardımlarını gördüğüm danışmanım Sayın Prof. Dr. Mustafa ERSÖZ'e, tez projemin konusu hakkındaki tecrübesi ve sağladığı laboratuar imkanı ile yurt dışındaki çalışmalarım boyunca yanımda olan Sayın Senior Reader Dr. Vesselin N. PAUNOV'a, yine İngiltere'de bulunduğum süre zarfında çalışmalarımda yardımlarını fazlasıyla gördüğüm Dr. Rawil Fakhrullin'e, Tez İzleme Komitesinde yer alan Sayın Prof. Dr. Salih YILDIZ'a ve Sayın Prof. Dr. Tevfik ATALAY'a, teşekkürlerimi sunarım.

Doktora çalışmaları süresinde İngiltere bulunan Hull Üniversitesi Kimya Bölümü'ne gitmemde bana yurt dışı doktora bursu imkanı sunan Yükseköğretim Kurulu (YÖK)'na teşekkür ederim. Ayrıca bu çalışma için destek olan (proje no: 09101020) Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne de teşekkür ederim.

Mustafa ÖZMEN

Konya - 2011

İÇİNDEKİLER

ÖZET iv

ABSTRACT v

ÖNSÖZ vi

İÇİNDEKİLER vii

SİMGELER VE KISALTMALAR x

1. GİRİŞ 1

2. KOLLOİDAL SİSTEMLER 5

2.1. Kolloidal Çözeltilerin Hazırlanması 6

2.1.1. Dispersiyon yöntemleri 6
2.1.2. Kondenzasyon yöntemleri 7

2.2. Kolloidal çözeltilerin özellikleri 7

2.3. Kolloid Kimyasının Önemi 9

2.4. Polielektrolitler 10

2.5. Tabakalı Kaplama Metodu 12

3. FONKSİYONLANMIŞ YÜZEY YAPILARI 14

3.1. Kendiliğinden Toplanan Tekli Tabakalar (self assembled monolayers (SAMs)) 14

3.2. Fonksiyonlandırılmış Yüzeyler İçin Kullanılan Adsorban Yüzeyler 18

3.3. Kendiliğinden Toplanma Prensibi 21

4. YÜZEYLERİN MİKRO/NANO DESENLENMESİNDE KULLANILAN TEKNİKLER 23

4.1. Fotolitografi 23

4.2. Fotokimyasal Mikrofabrikasyon 24

4.3. Soft Litografi 24

4.3.1. Mikrokontakt Baskılama 25
4.3.2. Mikroakış Kanalları ile Desenleme 26

4.4. Lazer Işınları ile Desenleme 27

4.5. Plazma ile Desenleme 27

5. BİYOFİLM 28

5.1. Biyofilm oluşumu 29

5.1.1. Birincil bağlanma 29
5.1.2. Kümelenme 29

5.2. Biyofilm oluşumunu etkileyen faktörler 30

5.3. Biyofilmler çalışmaları 31

5.4. Mayalar 31

5.5. Algler 32

5.6. Simbiyotik Yaşam 33

5.7. Simbiyotik yaşamın evrimleşmesi 35

5.8. Mikrodizin Teknolojisi 36

6. KAYNAK ARAŞTIRMASI 38

7. MATERYAL VE METOT 50

7.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler 50

7.2. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Cihazlar 50

7.2.1. Optik ve Floresans Mikroskobu 50
7.2.2. Yüzey Temas Açısı Ölçme Cihazı (Contact Angle) 51
7.2.3. Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM) 52
7.2.4. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) 53
7.2.5. Zeta Potansiye Ölçüm Cihazı 54
7.2.6. Ultra saf su Cihazı 55

8. DENEYSEL KISIM 56

8.1. Substratların Temizliği 56

8.2. Poli(metilmetakrilat-ko-akrilikasit), PMMA-AAc, Kopolimerinin Sentezi 58

8.3. Mikrokontakt printing için PDMS Hazırlanması 59

8.4. Katı Yüzey Üzerine PMMA-AAc Kolloidinin Desenlenmesi 60

8.5. Desenlenmiş PMMA-AAc Kolloidi Üzerine Biyomolekül Adsorplanması 61

8.6. FITC-Albuminin Silikon Wafer Yüzeyine Polielektrolitler Kullanılarak Desenlenmesi 61

8.7. Biyofilm Uygulamaları 62

8.7.1. Maya Hücrelerinin PAH ile Kaplanması 63
8.7.2. Klorella Hücrelerinin PAH ile Kaplanması 64
8.7.3. Cam Yüzeyi Üzerinde İki Tabakalı Maya Hücrelerinin Oluşturduğu Biyofilm 65
8.7.4. Cam Yüzeyi Üzerinde Maya ve Klorella Hücreleri Tabakalarının Oluşturduğu Biyofilm 66
8.7.5. Cam Yüzeyi Üzerinde Biyofilmin Desenlenmesi 67

9. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA 70

9.1. PMMA-AAc Kolloidinin Katı Yüzey Üzerine Desenlenmesi ve Biyomolekül Adsorplanmasına Ait Araştırma Sonuçları 70

9.1.1. Sentezlenen PMMA-AAc Kolloidinin Karakterizasyonu 70
9.1.1.1. Kolloid Yüzeyinin PAH/PSS ile Kaplanmasına ait Zeta Potansiyel Ölçümü 71
9.1.2. Katı Yüzey Üzerine Desenlenmiş Kolloidin Optik Mikroskop ile İncelenmesi 72
9.1.3. Katı Yüzey Üzerinde Desenlenmiş Kolloid'in SEM ile İncelenmesi 73
9.1.4. Kolloid Üzerine Adsorplanmış Albumine ait Floresans Sonuçları 75

9.2. FITC-Albuminin Silikon Wafer Yüzeyinde Doğrudan Desenlenmesine ait Floresans Mikroskobu Sonucu 75

9.3. Biyofilm Uygulamalarına Ait Araştırma Sonuçları 76

9.3.1. Cam Yüzeyi Üzerinde Maya Hücreleri Tabakalarının Oluşturduğu Biyofilme ait Sonuçlar 76
9.3.2. Cam Yüzeyi Üzerinde Maya ve Klorella Hücreleri Tabakalarının Oluşturduğu Biyofilm 79
9.3.3. Desenlenmiş Biyofilmin Mikroskop ile İncelenmesi 82
9.3.4. Desenlenmiş Biyofilmin SEM ile İncelenmesi 84

10. SONUÇ VE ÖNERİLER 86

10.1. Sonuçlar 86

10.2. Öneriler 87

KAYNAKLAR 89

ÖZGEÇMİŞ 98

SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltmalar

μCP : Mikrokontakt Baskılama
12-PDA : 12-fosfordodekanoik asit
AFM : Atomik Kuvvet Mikroskobu
APDES : 3-Aminopropil dietoksisilan
APTES : 3-Aminopropil trietoksisilan
Bio MEMs : Biyomedikal Mikrosistemler
CA : Temas Açısı
ChOx : Kolesterol Oksidaz
CLEC : Çapraz Bağlı Enzim Kristalleri
CV : Dönüşümlü Voltametri
CVD : Kimyasal Buhar Depozisyonu
DDTS : Dodesiltriklorosilan
DNA : Deoksiribonükleik asit
EDTA : Etilendiamintetraasetik asit
EIS : Elektrokimyasal İmpedans Spektroskopisi
EPS : Hücredışı Polimerik Maddeler
FDA : Florosein diasetat
FITC : Florosein izotiyosiyanat
GNSs : Altın Nanokürecikleri
HB : Hemoglobin
HDA : Hekzadekanoik asit
ITO : İndiyum Kalay Oksit
LbL : Tabakalı Kaplama Metodu
MOCVD : Metal Organik Kimyasal Buhar Depozisyonu
NPB : N,N'-di(naftilen-1-yl)-N,N'-difenilbenzidin
OTMS : Oktadesiltrimetoksisilan
OTS : Oktadesiltriklorosilan
PAA : Poli(akrilik asit)
PAH : Poli(allilamin hidroklorid)
PDADMAC : Poli(diallildimetilamonyum klorid)

PDMS : Polidimetil siloksan

PEI : Poli(etilenimin)

PMMA-AAc: Poli(metilmetakrilat-ko-akrilik asit)

PSS : Poli(sodyum 4-stiren sülfonat)

PTES : Feniltrietoksisilan

QCM : Kuartz Kristal Mikrobalans

RMS : Karekök Ortalama Karesi

RNA : Ribonükleik asit

SAMs : Kendiliğinden Toplanan Tekli Tabakalar

SEM : Taramalı Elektron Mikroskobu

SPR : Yüzey Plazma Rezonansı

UMT : Evrensel Mikro Tribometre

UV : Ultraviyole

XPS : X Işını Fotoelektron Spektroskopisi

1. GİRİŞ

Son yıllarda nanoteknolojinin gelişmesi ile kendiliğinden toplanmış tabakalar, kolloidal yapılar ve fotonik kristaller üzerine yapılan çalışmalar, malzeme biliminde önemli araştırma konuları arasında yerini alıp, nanometre ve istenilen boyutlarda yüzeyler hazırlanmasına imkan sağlamaktadır. Kendiliğinden toplanma, iki veya üç boyutlu mikro ve nanoboyuttaki kolloidal yapılar kullanılarak sensör amaçlı yeni malzemeler üretilmesi için çalışmalar yapılmaktadır (Wijnhoven ve Vos, 1998, Xia ve ark., 2000, Velev ve ark., 2000). Kolloidal parçacıklar kullanılarak düzlemsel yüzeylere mikro dizinlerinin hazırlanması ile fotonik bant aralıklı kristaller (Gates ve Xia, 2000), kimyasal ve biyokimyasal sensörler (Holtz ve Asher, 1997), optoelektronik aygıtlar (Yamasaki ve Tsutsui, 1998) ve düzenli mikrogözenekli maddeler için (Braun ve Wiltzius, 1999, Johnson ve ark., 1999, Jiang ve ark., 1999) model olarak uygulanması çalışılmıştır. Kolloidal parçacıkların iki boyutlu ve üç boyutlu halde seçimli olarak dizaynı ile fonksiyonel polimerler ve yarı iletken nanoparçacıkların tabaka tabaka hazırlanması gerçekleştirilmiştir (Jiang ve ark, 2001). Bu tür uygulamaların başarılması için başlıca gereksinim büyük alanlar üzerine kolloidal nanoparçacıkların düzenli dizinlerinin sağlanması ve bu dizinlerin aktif ve fonksiyonel arayüzey ile etkileşiminin sağlanmasıdır. Kolloidal nanoyapıların yüzeylere kendiliğinden toplanması ve dizinlerinin oluşturulması ile ilgili gravite sedimentasyon, elektroforotik depozisyon, elektrostatik uygulamalı kristalizasyon, kolloidal epitaksi, fiziksel tutuklama ve hava-sıvı arayüzeylerde parçacıkların kendiliğinden toplanması gibi değişik metotlar denenmiştir (Wang ve Caruso, 2001).

Kolloidal dizinlerin oluşturulmasındaki en önemli etken, oluşturulacak matriks içerisinde iki veya daha fazla farklı elementlerin dizaynının gerçekleştirilmesidir. İki farklı parçacık ihtiva eden bir biyobileşenli dizin oluşturulması ve bu dizinlere karşılık gelen yüzeyler üzerinde fonksiyonelleştirilmesi oldukça önemlidir. Polielektrolit veya iyonomer yapıda polimer veya kolloidal yapıların desenlenmesi ve biyobileşenlerin dizinlerinin oluşturulması için kullanılan metotlardan birisi mikrokontakt metodudur. Mikrokontakt baskılama metodu (microcontact printing, μCP) kendiliğinden toplanmış tabakalar (self assembled monolayers, SAMs), polimerik filmler ve kolloidal parçacıkların farklı katı yüzeylere (altın, gümüş, bakır, SiO_2 vb.) transfer edilmesi için kullanılan bir metottur (Xia ve ark., 1996, Kumar ve Whitesides, 1994). Mikrokontakt baskılama metodu kullanılarak hazırlanmış tabakalar üzerine yüksek seçicilikte kuvvetli

veya zayıf poliiyonlar kullanılarak fonksiyonelleştirme gerçekleştirilebilmektedir (Zheng ve ark., 2002). Kolloidal parçacıkların mikrokontakt baskılama yöntemi ile desenlenmiş kendiliğinden toplanan tabakalar üzerine seçimli olarak bağlanması elektrostatik ve hidrojen bağı etkileşimleri ile mümkün olmaktadır (Decher ve ark., 1998). Tabakalar halinde polielektrolit ince filmler fonksiyonel yapıların oluşturulması için önemli avantajları bulunmasının yanında tabaka ve üzerine bağlanmış kolloid arasında adezyonun artmasına da imkan sağlamaktadır (Hammond, 1999). Altın yüzey üzerine bağlanmış alkantiyol bileşikleri ile oluşturulmuş ve desenlenmiş kendiliğinden toplanmış tabakalar üzerine kolloidal parçacıkların depozisyonu başarılı bir şekilde gösterilmiştir (Shiratori ve Rubner, 2000).

Kendiliğinden toplanmış tekli tabakalar ile çoklu tabakalı yüzeyler arasındaki önemli farklılık çoklu tabakaların yüzeyde bulunan yük ve yüzeydeki fonksiyonel grupların yoğunluğu, film kalınlığı ve ıslanabilme özelliklerinin farklı olması ve bu oluşum esnasında ayarlanabilir nitelikte olmalarıdır. Bu özellikten dolayı polimerik haldeki ince filmler konformal bir doğal yapı oluşturarak adezyonu artırmaktadır. Polimerik ince filmler elektrostatik etkileşim, hidrojen bağı ve kendi aralarındaki kimyasal etkileşimler temel alınarak kolloidal parçacıkların mikroküreciker (örn. polistiren lateks mikroküreciker) halinde seçimli olarak silan veya tiyol bileşikleri ile hazırlanmış kendiliğinden toplanmış tabaka yüzeyleri üzerine depozisyonu yapılarak fonksiyonel malzemeler üretilmektedir (Feng ve Bein, 1994). Mikrometre boyutta zeolit kristalleri kullanılarak üretilen zeolit membranlar, sanayide ince-film kataliz ve moleküllerin boyutlarına bağlı seçimli ayırma işleminde yaygın olarak kullanılmaktadır (Ozin, 2000). Zeolit kristallerinin kendiliğinden toplanmış tabakalar üzerine bağlanarak veya fonsiyonelleştirilerek lineer olmayan optiksel moleküller ve yarı iletken kuantum dotları için ideal bir ortam sağlamaları açısından potansiyel kullanım alanları mevcuttur (Weiner ve Addadi, 1997). Geniş bir perspektifte değerlendirilecek olursa, fonksiyonel makroskopik yapıların içine mikrometre boyutta inorganik kristallerin düzenlenmesi üzerine yoğun çalışma yapılmakta, özellikle seramik malzemelerin daha geniş alanda kullanılması sağlanmaktadır (Stupp ve Braun, 1997). Kendiliğinden toplanan tabakaların hazırlanması ve fonksiyonelleştirilmesi için yeni kovalent bağlayıcı bileşikler sentezlenmekte ve hetero gruplu fonksiyonel yapılar hazırlanmaktadır. Yeni heterofonksiyonel bağlayıcı yapılar ile inorganik yapıların (zeolit tabakalar) mikrokontakt baskılama yöntemi ile desenlenmiş yüzeylere bağlanması ile mikrogözenekli kristal yapılar elde edilmesi önemlidir (Kohli ve ark., 2005).

Bilindiği gibi son yıllarda nanometre boyutta çalışmalar hız kazanmış, seçimli olarak kolloidal yapıların dizayn edilmesi, düzlemsel yüzeylere kolloidal parçacıkların desenlenmeleri ve model nesne olarak kullanılması nanoteknolojide önemli hale gelmiştir. Kolloidal parçacıklar ile hazırlanmış yüzeyler süperhidrofobik, hidrofilik, antiyansıma, ıslanabilirlik, adezyon gibi bir çok özellikler göstermektedir. Bu özellikleri nedeniyle, elektromekaniksel aygıt, mikroakışkan, biyo ve kimyasal sensör amaçlı ayırma teknolojisi ve deteksiyon amaçlı kullanılabilmektedirler.

Mikrokontakt baskılama metodu katı yüzeylere biyolojik maddelerin desenlenmesi ve yeni kimyasal yapıların oluşturulması için güçlü ve çok yönlü bir tekniktir. Diğer metotlar ile yapılan baskılama işlemlerinde şekillerin boyutlarının kontrolü zor ve üniform yapı elde edilememektedir. Mikrokontakt metodunda ise, katının yüzeyi ve kendiliğinden toplanmış tabaka yapı arasında direkt olarak kimyasal etkileşme olmaktadır. Metodun basitliği ve uygulanabilirliği nedeniyle, düzlemsel ve düzlemsel olmayan yüzeylere kimyasal desenleme oluşturmak için adapte edilmiş olup, alkiltiyol ve alkil silan bileşiklerin yüzeylere filmlerinin hazırlanmasında etkin olarak kullanılmaktadır (Dyer ve ark., 2003). Kendiliğinden toplanmış tabakalar üzerine kolloidal parçacıkların dizinlerinin oluşturulması ve kolloidal yapılara biyolojik bileşenlerin bağlanması ve kolloidal yapılar ile biyolojik moleküller arasındaki etkileşimin anlaşılması yani malzemelerin üretilmesi ve yeni aygıtların dizayn edilmesi önemli araştırma konularından birisidir. Malzeme kimyasında tek tabaka, iki veya üç boyutlu mikro ve nano boyutlu moleküller ve kolloidal yapıların fabrikasyonu ile yeni materyallerin üretimi için kullanılacak en uygun yöntemlerden birisi olması yanında bazı metalik ve yarı iletken nano parçacıklarının özelliklerinin şekillenmesinin kontrolünü de sağlamaktadır. Bu işlemde, elektrostatik etkileşim dikkate alınarak negatif yüklü yüzey üzerine pozitif yüklü parçacıkların depozisyonu ve bu işlemden sonra, ikinci etkileşimler ile pozitif yüklü kolloid üzerine negatif yüklü biyomolekülün adsorplanması gerçekleştirilecektir.

Son zamanlarda ince filmler; kimyasal, elektrik ve optik özelliklerinden dolayı farklı uygulamalarda büyük önem kazanmıştır. TiO_2, cam, kuartz ve Si wafer gibi katı yüzeyler ve üzerlerine oluşturulan ince filmlerin bilimsel araştırmalarda ve sanayide çok sık rastlanır olmasının sebebi, dalga boyu spektrumunun çok geniş bir aralığında yüksek bir geçirgenlik değerine sahip olmasındandır. Bu materyaller optiksel elementler üstünde, yansıtmayan koruyucu kaplamalarda ve bunların yüksek kırılma

indekslerinden kaynaklanan mükemmel optiksel geçirgenlik uygulamalarında, iyi yalıtım özelliklerinden dolayı çok geniş aralıkta tamamlayıcı devreler için koruyucu tabaka olarak da kullanılabilirler. Farklı uygulamalar amacıyla birçok ince film üretim metodu vardır. En yaygın film üretimi reaktif saçılması, kimyasal buhar depozisyonu (CVD), metal organik kimyasal buhar depozisyonu (MOCVD), daldırarak kaplama, dönme ile kaplama, sprey ile kaplama, sol-jel yöntemi, Langmuir Blodgett metodu ve kendiliğinden toplanmadır (self-assembly).

Nanoteknoloji alanındaki gelişmeler ile kendiliğinden toplanmış tabakalar ve kolloidal yapıların önemi artmış ve malzeme biliminde önemli araştırma konularından birisi olmuştur. Kolloidal parçacıkların hazırlanması ve dizayn edilmesi özellikle kolloidal yapıların iki boyutlu ve üç boyutlu halde dizaynı ve dizinlerinin oluşturulması, fonksiyonel polimerler ve yarı iletken nanoparçacıkların tabakalar halinde hazırlanması konusunda çalışmalar yoğun şekilde devam etmektedir. Kolloidal dizinlerin oluşturulmasındaki en önemli etken matriks içerisinde iki veya daha fazla farklı elementlerin dizaynının gerçekleştirilmesidir. İki farklı parçacık ihtiva eden bir biyobileşenli dizin oluşturulması ve bu dizinlere karşılık gelen yüzeyler üzerinde fonksiyonelleştirilmesi oldukça önemlidir.

Mikrokontak baskılama yöntemi kullanılarak katı yüzeylere tekli veya çoklu tabakalar oluşturulabilmekle birlikte, son yıllarda kolloidal veya nanoparçacıkların desenlenmesinde, iki boyutlu dizinlerinin oluşturulmasında ve seçimli depozisyon işlemi gerçekleştirilmesinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Fotonik kristaller üretmek amacıyla, kolloidal yapılara yarı iletken polimerler, metalik veya yarı iletken nanoparçacıklar ilave edilerek yeni malzemeler üretilmektedir. Mikrodesenlenmiş kolloidal parçacıklar üzerine biyolojik moleküller ve hücre yapılar bağlanarak mikrobiyoanalitiksel aygıtlar, biyosensör, mikro akışkanlar ve biyo-mikro-elektromekaniksel sistemler geliştirilmektedir.

Bu çalışmada katı yüzeyler üzerine sentezlenen negatif yüklü kolloidal madde mikrokontakt baskılama yöntemi ile desenlenerek farklı boyutlarda kimyasal modellerin depozisyonu ve bu modeller üzerine ayrı setler halinde biyomateryal dizinlerinin oluşturulması araştırılacaktır. Kolloidal parçacıklar üzerine biyolojik yapıların (örn. protein) seçimli olarak bağlanabilmesi incelenecektir. Çalışmanın uygulaması olarak ise katı yüzey üzerinde maya ve klorella hücrelerinin biyofilmi oluşturulacak ve biyofilmin desenlenmesine çalışılacaktır.

2. KOLLOİDAL SİSTEMLER

1860'larda Graham yaptığı kantitatif denemelerde sulu çözeltilerde birçok solutun difüzyon hızlarını ölçmüş; zamk, nişasta ve jelatin gibi bazı maddelerin, tuzlar, alkaliler, asitler, şekerlerden daha yavaş difüzlendiğini bulmuştur. Graham hızlı difüzlenenler kristal, yavaş difüzlenenler ise kola görünümünde oldukları için, hızlı difüzlenenlere kristalloit ve yavaş difüzlenenlere kolloit demiştir. Kolloit özellikleri belirleyen faktör tanecik büyüklüğüdür. Kolloidal taneciklerin çapları 10^{-7}–10^{-5} cm arasındadır. Tanecikler, tanecik ve sıvı arasındaki yoğunluk farkına, sıvının vizkozitesine ve taneciğin büyüklüğüne bağlı olarak sıvı içinde asılı kalır, belli bir hızla yükselir ya da düşerler. Kolloidal tanecikler çok küçük olduğundan çökme hızı son derece yavaştır ve birkaçının bir araya gelip kümelenmesi, sıvı içindeki zayıf termik hareketle büyük ölçüde önlenmiştir. Sıvı moleküllerin karmaşık hareketlerine bu tanecikler de katılırlar. Kolloidal çözeltiler dispers faza ve dispersiyon ortamına göre sınıflandırılır. Kolloidal sistemlerin özellikleri, dağılmış taneciklerin şekilleri ve boyutlarına bağlıdır. Kolloidal sistemlerdeki tanecikler basit kimyasal moleküllere nazaran daha büyük olmalarına rağmen kolloitler;

- ✓ Adi mikroskopta görülemezler,
- ✓ Kabın dibine çökmezler,
- ✓ Adi süzgeç kağıtlarından geçerler,
- ✓ Birtakım optik özellikler gösterirler,
- ✓ Uygun işlemlerle çöktürülebilir veya pıhtılaştırılabilirler.

Dispers faz ayrı taneciklerden oluşurken, dispersiyon ortamı ise sistem içerisinde süreklidir. Tablo 2.1'de gaz, katı ve sıvı hallerin dispersiyon ortamı ya da dispers faz oluşumuna göre ortaya çıkan kolloidal sistemlere örnekler verilmiştir.

Tablo 2.1. Kolloidal sistemlere örnekler

Dispersiyon Ortamı	Dispers Faz	Kolloidal Sistem
Gaz	Sıvı	Sis
	Katı	Duman
Sıvı	Gaz	Köpük
	Sıvı	Emülsiyon
	Katı	Sol
Katı	Gaz	Jel
	Sıvı	Jelatin
	Katı	Alaşım

2.1. Kolloidal Çözeltilerin Hazırlanması

Kolloidal taneciklerin büyüklüğü, süspansiyonlar ile gerçek çözeltilerin tanecik büyüklüğü arasında bulunduğundan, hazırlama yöntemleri iki başlık altında toplanabilir.
a) Daha büyük taneciklerin kolloidal büyüklüğe kadar ufalanması (dispersiyon yöntemi)
b) Molekül iriliğinden kolloid iriliğine kadar büyüme (kondenzasyon veya agregasyon yöntemleri)

2.1.1. Dispersiyon yöntemleri

Dispersiyon metodu dört kısımda incelenebilir: mekanik öğütme ile kolloidlerin hazırlanması, kolloidlerin ultrason dalgalarından faydalanarak hazırlanması, sollerin kimyasal metotla hazırlanması (peptizasyon), elektriksel metotla kolloidlerin hazırlanması.

Kendiliğinden kolloidal çözelti veren maddeleri, sadece dağıtıcı ortamıyla bir araya getirmekle kolloidal çözelti elde edilebilir. Graham'ın kolloid adını verdiği maddeler liyofil kolloidler, dağıtıcı su ise hidrofil kolloidler adını alır. Kolloidal çözelti haline getirmek için özel çaba isteyen maddelerle yapılan kolloidler, liyofob kolloidler; dağıtıcısı su ise hidrofob kolloidler adını alırlar. Isıtma, liyofil maddelerin dispersiyonunu hızlandırır. Bir liyofil madde çözeltisinden, çözücü buharlaştırılacak olursa geride kalan madde çözücü ile yeniden temasa getirildiğinde yine kolloidal

çözelti verir. Oysa liyofoblarda madde bir defa kolloidal halin dışına çıkarsa, bir daha eski hale gelmez. Hem dispers faz, hem de dispersiyon ortamı sıvı ise, şiddetli bir karıştırma ile kolloidal dağılım elde edilebilir.

2.1.2. Kondenzasyon yöntemleri

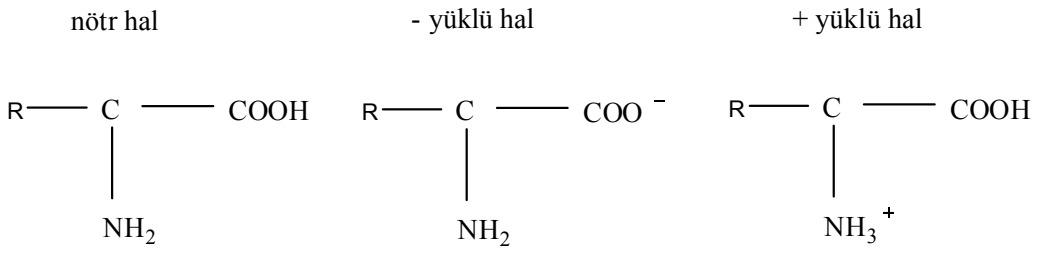
Kondenzasyon metodunun esası, küçük taneciklerin (atom, iyon veya moleküllerin) birleştirilerek kolloidal büyüklükteki tanecikler haline getirilmesidir. Kondenzasyon metodu, çözünürlüğün azaltılması ve kimyasal metot olarak iki grupta incelenir.

Yöntemlerin çoğunun hareket noktası gerçek çözeltilerdir. Gerçek bir çözeltide, dispers faz olması istenen madde çöktürülür ve süspansiyon iriliğine ulaşmadan taneciklerin büyümesi durdurulur. Peter Petrovich von Weymarn'ın 1906 yılında yaptığı denemeler sonucu oluşturduğu kanun; bir maddeyi kolloidal halde elde etmek için, en uygun şartların, dispersiyon ortamında dispers fazın çözünürlüğünün az, dispersiyon ortamının viskozitesinin yüksek olması ve kolloidal taneciklerin oluşmasından önce yüksek bir aşırı doygunluğa varılması ile sağlanabileceği şeklindedir. Sıcaklığın yükselmesi viskoziteyi düşürdüğü ve çözünürlüğü arttırdığı için, liyofobların kolloidal çözeltileri genellikle soğuk çözeltilerden hazırlanır. Çözücü karıştırma yöntemi denen bir yöntem daha vardır. Buna göre örneğin, kalsiyum asetatın sudaki doymuş bir çözeltisi, hacmin dokuz-on katı alkol içine dökülüp hızla karıştırılırsa, katı alkol denen bir jel oluşur. Bunun nedeni kalsiyum asetatın suda çözünüp alkolde çözünmemesidir.

2.2. Kolloidal çözeltilerin özellikleri

Graham, kolloidal çözeltilerde yavaş difüzyonu incelerken, diyaliz denen önemli bir olayın farkına varmıştır. Kolloidal tanecikleri parşomen kağıdından geçemezler. Geçirgenlikteki bu fark, bu iki cins çözeltiyi birbirinden ayırmak için kullanılabilir. Uygun zarlar kullanılarak bu yöntemle kolloid taneciklerini de farklı büyüklüklerde ayırma olanağı vardır. Bir kolloidal çözelti içerisinden bir ışık demeti geçirildiğinde tıpkı toz taneciklerinden yansıyan güneş ışığının yandan göründüğü gibi görünür. Bu olaya Tyndall olayı denir. Işık demetinin çözelti içinde bir noktada toplanması ve kolloidal çözeltinin mikroskopla gözlenmesini sağlayan düzenek, ultra mikroskoptur. Kolloidal çözeltilerde tanecikler, moleküllerin karmaşık hareketine katıldığından,

gerçek çözeltilerin kolligatif özelliklerini (çözücünün buhar basıncının azalması, kaynama noktasının yükselmesi, donma noktasının alçalması, osmotik basınç) göstermesi beklenir. Fakat bu tanecikler moleküllerden çok büyük olduklarından birim hacimdeki tanecik sayısı az ve dolayısıyla sayısal özellikler üzerine etkisi önemsiz kalmaktadır. Kolloidal tanecikler, aynı maddenin süspansiyon taneciklerinden daha küçük olduğundan yüzey alanları daha büyüktür. Bu alan genişlemesinin önemli bir sonucu, katalitik etkinin artmasıdır. Kolloidal taneciklerin kararlılığı, üzerlerindeki elektriksel yükle çok yakından ilgilidir. Herhangi bir kolloidin bütün tanecikleri aynı elektriksel yük ile yüklü olduğundan kolloidler ya +, ya da – yüklüdürler. Bundan dolayı aynı elektrik yüküne sahip tanecikler birbirini iterek bir arada toplanamazlar, elektrik yükü kolloidlerin dayanıklı olmasını sağlar. Çünkü tanecik üzerindeki bu elektriksel yük, moleküller arası çekim kuvvetlerinin etkisini azaltır ve taneciklerin birbirlerine fazla yaklaşarak çökmelerini önler. Yüzey alanı büyük bir sistemin potansiyel enerjisi, aynı maddenin aynı miktardaki fakat daha küçük yüzey alana sahip olanından daha büyüktür. Bir yüzeye ilişkin bu potansiyel enerjiye yüzey enerjisi denir. Potansiyel ya da depolanmış enerjiye sahip sistemlerin doğal eğilimi bu enerjiyi salıvermektir. Buna göre, ufak tanecikli bir sistemin büyük tanecikler halinde koagülasyonla salıverilecek önemli ölçüde bir yüzey enerjisi vardır. Ancak aynı işaretli yükler birbirlerini ittiği için yüklü bir kolloidal taneciği etkileyen moleküller arası çekim kuvvetleri, yüksüz taneciği etkileyenlerden yine de az olmakta ve kolloidal hal gerçekleşebilmektedir. Bir kolloid taneciği üzerindeki elektriksel yükün adsorbe iyonlardan geldiğine inanılmaktadır. Kolloidal sistem iyonlaşabilen fonksiyonel gruplara sahipse, bunların iyonlaşması sonucunda kolloidal sistem bir yük kazanır. Örneğin, proteinler aminoasitlerden oluşur. Aşağıda gösterildiği gibi (Şekil 2.1) aminoasitler, karboksil H^+ iyonunu vererek – yükle; amin gruplarına bir H^+ iyonu bağlayarak da + yükle yüklenmiş olurlar. Sonuç olarak aminoasit, dolayısıyla kolloid elektriksel yük kazanır.



Şekil 2.1. Aminoasitlerin nötr, negatif ve pozitif yüklenmiş halleri.

2.3. Kolloid Kimyasının Önemi

Kolloid kimyasının günümüzdeki uygulama alanlarından bazıları aşağıda sıralanmıştır (Atalay, 2004).

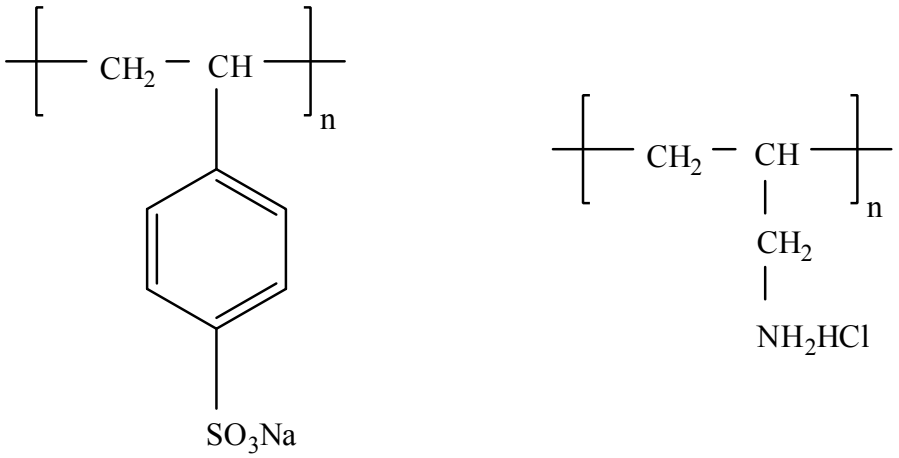
- Analitik Kimyada: Özellikle adsorpsiyon, diyaliz ve pıhtılaştırma gibi kolloid kimya metotları analitik kimyada kullanılmaktadır.
- Organik Kimyada: Teknikte çok önemli olan kauçuk, selüloz ve nişasta kolloidal maddelerdir. Sabunlar ve birçok sentetik deterjanlar suda kolloidal çözelti verirler. Polimerizasyon ve polikondenzasyon ile elde edilen yeni ürünler kolloidal maddelerdir. Bunların özellikleri kolloid kimya metotları ile incelenmektedir.
- Biyoloji ve Tıpta: Bütün biyolojik sistemler kolloidaldır. Deri, adale ve birçok dokular özel yapılara sahip jellerdir. Canlıların yapıtaşı olan proteinler, kan kolloidal maddelerdir ve bunların özelikleri tamamen kolloidlerin şekillerine bağlıdır (kan ve sütteki proteinler yuvarlaktır, kemik ve deridekiler ise lineerdir). Proteinler ve diğer kolloidler genç bir vücutta yaşlı vücuda göre daha hidratizedir. Şişme ve hidratasyon olayları yaşlanma gibi birçok biyolojik olaylarla ilgilidir. Günümüzde yüz hatlarındaki kırışıklıklar, ilgili uzmanlarca jeller kullanılarak giderilmektedir. Tıpta birçok hastalığın teşhis ve tedavisinde kullanılan enzimler birer kolloidtir. Emülsiyon, süspansiyon ve aerosol ilaç endüstrisinde üretilen önemli kolloidal ilaç şekilleridir. Emülsiyonlar, bazı etkin maddelerin gastrik kanalda kalış süresini uzatarak, intestinal hareketliliği (mobiliteyi) azaltarak etkin maddelerin emilimini artırmaktadırlar. Kolloidal ilaç taşıyıcı sistemler arasında lipozomlar, miseller, mikroküreler ve mikroemülsiyonları da sayabiliriz. Kolloidler hastalıkların tanısında tedaviye yardımcı olmak üzere nükleer tıpta rutin olarak kullanılmaktadırlar. En çok bilinenleri kolloidal ^{198}Au ve ^{99m}Tc'dir. Kanser tedavisinde, kolloidal bakır uygulanmaktadır. Kolloidal gümüş klorür, gümüş iyodür ve gümüş protein germisit etkilidir ve iyonik gümüş tuzlarının iritasyon özelliğini göstermezler. Polipeptit kemoterapötik maddeler de kolloidal ilaç taşıyıcı sistemlerle uygulanmaktadır. Kolloidal sistemlerin diğer önemli uygulamaları ise, farmasötik yardımcı madde olarak kullanılmalarıdır. Su bazlı polimer lateksler ve pseudolateks bazlı selülozik ve akrilik polimerler kaplama ve denetimli salım teknolojisinde kullanılmaktadır. Kolloidal elektrolitlerden ve yüzey etkin maddelerden, farmasötik ürünlerin çözünürlüğünü ve stabilitesini artırmak için yararlanılabilir.

- Ziraatta: Arıkil (kaolin) ve humus toprağın en önemli kolloidleridir. Toprakta bitkiler için gerekli olan maddeler ve su, bu kolloidlerle tutulur. Zirai ilaçların hazırlanmasında (emülsiyonlar, aerosoller), meyve ağaçlarının ve sebzelerin ilaçlarla ıslatılmasında kolloid kimyasından faydalanılır.
- Endüstride: Kolloid kimya konusu olan yüzey aktiflik ve ıslanma, tekstil endüstrisinde, boyacılıkta ve flotasyonda çok önemlidir. Kolloid kimya heterojen kataliz problemlerinin çözümünde de yardımcı olur. Gıda endüstrisinde üretilen ve sürekli kullanılan maddelerin pek çoğu kolloidaldır (süt, ketçaplar, mayonez, salçalar, jöleler, kremalar, vb). Kolloid kimya bazı gazların ve diğer çözünmüş maddelerin adsorpsiyonla temizlenmesinde, toz ve dumanların çöktürülmesinde, fotoğrafçılıkta ve seramik endüstrisi gibi alanlarda faydalanılan bir bilim dalıdır. Ayrıca çeşitli bıçak, çatal, kaşık gibi paslanmaz eşyaların kaplanmasında (nikelaj, kromaj gibi) kullanılan metallerin, kolloidal boyutta yüzeyi kapladığı; günlük hayatımızda önemli bir yer tutan çocuk bezleri ve pedlerde ıslanma olayının jelleşme ile önlendiği bilinmektedir.

2.4. Polielektrolitler

"Polielektrolit" terimi "makroiyon" (kovalent olarak bağlı anyonik veya katyonik grupları taşıyan makromolekül) ve elektronötraliteyi sağlayan düşük-moleküler "zıt yüklü iyon" lardan oluşan polimer sistemleri için kullanılmaktadır. Polielektrolitler hidrokarbon zincirlerine sahip ve yapılarında iyonlaşabilen gruplar ihtiva eden polimerlerdir. Elektrolit grupları suda çözünerek polimeri yüklü hale getirir. Pozitif ve negatif yüklenmiş polielektrolitler aynı zamanda polikatyon (polibaz) ve polianyon (poliasit) olarak da isimlendirilir. Dolayısıyla polieletrolitler hem elektrolitlere hem de polimerlere benzerler. İçerdikleri asit ve baz türlerine ve iyonlaşabilen gruplara göre polielektrolitlerin zayıflıkları ve kuvvetlilikleri değişmektedir. Çözelti içerisinde birçok pH aralığında tamamen çözünen polielektrolitler kuvvetli olarak nitelendirilir. Bunun aksine pH'sı 2-10 aralığında pK_a veya pK_b ayrışma sabitine sahip yani bu pH aralıklarında kısmen çözünen polielektrolitler zayıf olarak nitelendirilebilir. Anyonik ve katyonik polielektrolit örnekleri Şekil 2.2'de gösterilmiştir, poli(sodyum 4-stiren sülfonat) PSS (M_W=70,000) ve poli(allilamin hidroklorit) PAH (M_W=56,000). PSS suda çözündüğünde negatif yükle, PAH suda çözündüğünde ise pozitif yükle yüklenir ve her ikisi de güçlü

polielektrolitlerdir. Na-polistren sülfonat ve poli(allilamin hidroklorür), 0-14 pH aralığındaki sulu çözeltilerde makroiyon ve zıt yüklü iyona dönüşmektedir.



(a) **(b)**

Şekil 2.2. PSS **(a)** ve PAH **(b)** polielektrolitlerinin kimyasal yapıları.

Aynı zamanda poliakrilik asit veya polietilenimin gibi polimerler, kısıtlı bir pH aralığında poliiyon-zıt yüklü iyon sistemi oluşturmalarına karşın, genellikle polielektrolit olarak sınıflandırılırlar ve asidik ortamda ayrışmamış poliasit olarak veya bazik ortamda ayrışmamış polibaz olarak kalırlar; bu, zayıf polielektrolitler için tipik bir davranıştır ve zayıf moleküler elektrolitlerde de oldukça benzer davranışlar görülür. Diğer yandan, seyreltik sulu sistemlerde polimerlerin OH grupları, 0-14 pH aralığında iyonize olmadığı için son derece alkali koşullarda (pH>14) kısmen selülosat anyonlarına ve zıt yüklü katyonlarına ayrışma yeteneğinde olan selüloz gibi bir polimer, polielektrolit olarak sınıflandırılamaz.

Çözelti içerisinde, zıt yüklü polielektrolitler arasındaki Coulomb elektrostatik etkileşimleri polielektrolit komplekslerinin oluşmasına yol açar. Bu oluşum, polielektrolit kompleks oluşumundan önce polimer üzerinde yoğunlaşmış ve serbest halde bulunan karşıt iyonların entropisi ile gerçekleşmektedir. Elektrostatik etkileşimler kuvvetlidir, bu yüzden polielektrolitler çok önemlidir. Polielektrolitler birçok uygulama alanına sahiptir, çoğunlukla sulu çözeltilerin akış ve kararlılık özelliklerini modifiye etmek amacıyla kullanılırlar. Günümüzde polielektrolit ve protein kompleksleri pek çok alanda kullanılmaktadır. Özellikle bu bileşikler, biyolojik açıdan önemli mekanizmaların oluşturulmasında ve biyomedikal uygulamalarda, kullanım

potansiyeline sahiptirler. Proteinlerin işlevsel özellikleri, polimerler ile kompleksleştirme yoluyla arttırılabilmektedir. Son zamanlarda polielektrolitler, polielektrolit çoklu tabakaları olarak bilinen yeni tip materyallerin oluşturulmasında kullanılmaktadır. Bu ince filmler tabakalı kaplama metodu kullanılarak oluşturulmaktadır. Alttaki substrata tabakanın daha iyi yapışması veya filmin oluşması için belli sayıda iyonik bağ gerektiğinden dolayı küçük moleküllerden ziyade polielektrolitlerin kullanılması daha avantajlıdır. Polielektrolit ile yüzeyi kapladıktan sonra su ile yıkama yapılması yararlıdır. Çünkü bir önceki aşamadan kalan fazla polielektrolit uzaklaştırılmalıdır. Ayrıca bu yıkama aşaması zayıf adsorplanmış polimer tabakasının kararlı hale getirilmesine yardım eder.

2.5. Tabakalı Kaplama Metodu

Bu çalışmada, biyomolekülün ve katı yüzeyin kaplanması ve tabaka sayısının artırılması için tabakalı kaplama metodu (layer-by-layer technique, LbL) kullanılmıştır. LbL depozisyonu ince film üretme tekniğidir. Film, zıt yüklü polielektrolitlerin aralarda yıkama adımları olması şartıyla üstüste tabakalarının depozisyonuyla oluşur. Gero Decher 1990'ların başında zıt yüklü polielektrolitleri herhangi bir yüzeye veya substrata kaplayarak tabakalı kaplama metodunu geliştirmiş ve çok tabakalı ince filmlerin oluşturulmasına ve kontrol edilmesine öncülük etmiştir. Bu teknik çok yönlü ve güçlü bir metod olup, oldukça esnek ve kolay uygulanabilir olması, küçük organik moleküller, polimerler, doğal proteinler, anorganik kümeler, kil partikülleri ve kolloidler gibi ideal materyaller ile farklı tabakalı nanomimarilerin katı substrat üzerinde çok bileşenli film üretimi için kullanılıyor olması bakımından en çok gelecek vaad eden teknik olarak düşünülmektedir. Bu metod, hassas bir şekilde birleşmiş filmlerin nanometre mertebede üretilmesi ve virüssüz gen dağıtım teknolojisi gibi birçok uygulama arasında önemli bir role sahiptir. Çok tabakalı materyallerin ve substratların çeşitli uygulamaları ile elektriksel, kimyasal, manyetik, termal, optiksel ve mekaniksel, hatta boyar madde hassasiyetli güneş pilleri ve süper hidrofobik yüzeyler gibi yüksek özelliklere sahip materyaller elde edilebilir. Tabakalı kaplama metodunda temel yapı birimleri olarak adlandırılan özel bir yapı oluşur ve bu yapı bağlanmayla ve her ayrı bileşenle tespit edilir. Bu sistemler düşük serbest enerjiye sahip yapısal kararlılığa öncülük eder. Tabakalı kaplama metodu düz yüzeylerde kullanılabildiği gibi mikro ve nanopartiküllerin değiştirilmesinde ve hatta boşluklu kapsüllere öncülük eden kolloidal

yapılarda da kullanılabilir. Sonuç olarak bu özellikler birçok bilimsel alanda ilgi toplamaktadır. Tabakalı kaplama tekniği yaklaşımında farklı maddeler film bileşeni olarak kullanılabilir. Teknik aynı zamanda zıt yüklü polielektrolilerin adsorpsiyonunu içermektedir. Ek olarak çok tabakalı ultrainces filmlerin sulu ortamdaki istenilen kalınlıkta, istenilen yapıda ve istenilen bileşimdeki nano ölçekte üretilmeleri tabakalı kaplama metoduyla sağlanabilir. Bu metodun en önemli avantajları olarak zaman almaması, kolay olması, ucuz olması ve karmaşık reaksiyon mekanizmaları içermemesi sayılabilir. LbL ile poliiyonlar, metaller, seramikler, nanopartiküller ve biyolojik molekülleri de içeren çok geniş aralıktaki materyaller bu yolla depozisyon yapılabilir. Bu metodun bir diğer önemli avantajı da yüksek seviyede kontrol edilebilme özelliğidir. Polielektrolitlerin çoklu tabakalarının film kalınlıkları nano ölçekte kontrol edilebilir.

3. FONKSİYONLANMIŞ YÜZEY YAPILARI

Atomlar, moleküller ve molekül toplulukları gibi bazı yapıların herhangi bir dış müdahale olmaksızın kendilerini düzenli bir molekül geometrisine sahip olacak şekilde düzenlemeleri işlemi kendiliğinden toplanma olarak tanımlanmaktadır. Kendiliğinden toplanma, bir destek maddesi yüzeyine nanometre boyutta moleküllerin kovalent olarak bağlanarak yeni yapı oluşturulması işlemidir. Bu işlem ile bir reaksiyonun sonucunda tamamen yeni özellikler kazanmış ve fonksiyonlandırılmış yeni yüzeyler ve yapılar elde edilebilmektedir. Kimyasal sistemlerde kendiliğinden toplanmaya verilebilecek örneklerden bazıları aşağıda sıralanmıştır;

- Kristallerin büyümesi,
- Sıvı kristallerin oluşumu,
- Metal koordinasyon komplekslerinin sentezlenmesi,
- Yüzeylerde moleküllerin düzgün bir şekilde hizalanmaları,

örneklerden bazılarıdır (Gübbük, 2006).

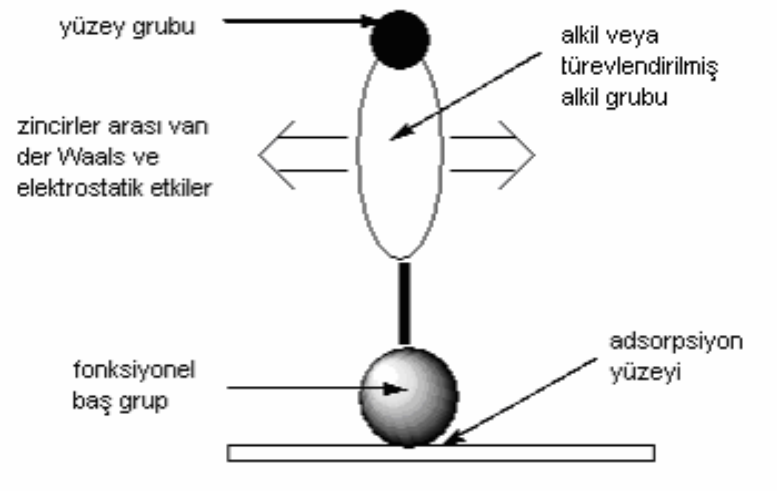
Bazı Fonksiyonel Yüzey Hazırlama Teknikleri;

- Kendiliğinden toplanma,
- Langmuir Blodgett metodu,
- Mikrokontakt baskılama,

olarak verilebilir. Bu çalışmada fonsiyonelleştirme tekniklerinden kendiliğinden toplanma ve mikrokontakt baskılama metodu kullanılmıştır.

3.1. Kendiliğinden Toplanan Tekli Tabakalar (self assembled monolayers (SAMs))

Kendiliğinden toplanan tekli tabakalar, organik çözücü içinde çözünmüş olan yüzey aktif maddelerin (surfaktanlar) çözeltisine katı adsorban maddenin daldırılması ile kendiliğinden meydana gelen moleküler yapılardır ve üç kısımda incelenebilir. Bu moleküler gruplar; fonksiyonel baş grup, alkil zincirleri, yüzey grubu olmak üzere isimlendirilmişlerdir.



Şekil 3.1. Kendiliğinden toplanan tekli tabaka içinde bulunan çekim kuvvetlerinin şematik gösterimi.

Şekil 3.1.'deki adsorpsiyon yüzeyi üzerinde gösterilen ilk grup, yüzey üzerindeki kimyasal sorpsiyon ile çoğu ekzotermik olan reaksiyonları gerçekleştiren fonksiyonel baş gruptur. Yüzey ile molekül arasındaki kuvvetli çekim sonucu, fonksiyonel baş grup ile yüzey arasında kimyasal bir bağ meydana gelir. Eğer hidroksilleşmiş yüzeyler üzerinde alkil-tri(kloro, amino vb.) silan bileşiklerinden biri bağlı ise kovalent Si-O bağı, altın yüzeyi üzerinde alkentiol bileşiği bağlı ise Au-S bağı, AgO/Ag yüzeyi üzerine karboksilik asit bileşiği bağlı ise iyonik $–COO^{-}Ag^{+}$ bağı, bir miktar polarlık içermekle beraber, kovalent olarak meydana gelmektedir (Ghoul ve ark., 2003). Adsorban yüzey ile fonksiyonel baş grup arasındaki ekzotermik etkileşim sonucu, moleküller yüzey üzerinde kendilerine bağlanmak için uygun bir yer bulmaya çalışır ve bu moleküller çözelti ortamında diğer molekülleri de iterek yüzeye adsorbe olmasını sağlar. Moleküler seviyede kendiliğinden toplanma olayının açıklanabilmesi için, son bağlanan grupların bazı yüzey hareketlerini gerçekleştirdiğini kabul etmek gerekir (Ulman, 1996). London kuvvetleri ve Van der Waals kuvvetleri gibi çekim güçleri, birbirine yeteri kadar yakın olan moleküllerin kendiliğinden bir araya gelerek köprü kurmaları neticesinde yüzeye uniform yapıda bağlanmasını sağlar. Tekli tabakalar üzerinde bulunan ikinci moleküler kısım alkil zincirleridir. Amfifilik hidrokarbon moleküllerinin kendiliğinden toplanması olayını sadece alkil zincirleri arasındaki etkileşim ile açıklamak mümkün olmayacağı için kimyasal sorpsiyon etkisi de düşünülmelidir. Bu gruba bağlı olan bir sonraki grup tekli tabakanın yüzeyini oluşturur. Basit alkil zincirlerinin (C_nH_{2n+1}) oluşumunda en etkili kuvvet Van der Waals etkileşimleridir (Ulman, 1991, Xia ve ark. 1995). Diğer taraftan, bazı durumlarda, alkil

zincirlerine polar bir grup bağlanırsa, Van der Waals çekimlerinden daha önemli bir etki olan elektrostatik çekimler oluşmaktadır. Tekli tabakaların üçüncü moleküler kısmı, uç kısımda yer alan ve fonksiyonelliği olan gruptur. Bu yüzey gruplarının oda sıcaklığında düzenli yapıda olmadığı, metil uçlu tekli tabaka yapılarda helyum kırınımı FTIR çalışmaları ile hidroksil uçlu yapılarda ise yüzey karakterizasyon çalışmaları ile açığa çıkarılmıştır. Katı destek maddelerden oluşmuş adsorban yüzeyler üzerine nanometre kalınlığında düzenli bir yapıya sahip organik filmlerin oluşturulması konusunda çalışmalar giderek yaygınlaşmıştır (Ji ve ark., 2000, Chaki ve ark., 2001). Fonksiyonlu yüzeylere sahip tekli tabakalar (kendiliğinden oluşan tekli tabakalar), silan, $-NH_2$, -COOH, -SH gibi fonksiyonel grup bulunduran bileşiklerin Au, Cu, Ag, Pt, Hg, Ga, As, cam, SiO_2 gibi destek yüzeyler üzerine immobilizasyonu ile oluşturulmaktadır (Chaki ve ark., 2001). Oluşturulan bu fonksiyonel yüzeyler, optik, manyetik, elektronik ve yüzey özelliklerinden faydalanılarak kataliz, yenilenebilir güç kaynakları, kimyasal sensörler, korozyon önleyici kaplamalar, nanoelektronik cihazların üretimi ve nanoteknoloji gibi çok geniş bir alanda kullanım sahasına sahiptir. Ayrıca tekli tabakalar, günümüzde yaygın olarak toksik metallerin seçimli adsorpsiyon ile uzaklaştırılması için de kullanılmaktadır. Bunun için destek madde yüzeyinin seçimlilik özellikleri çeşitli organik moleküller ile modifiye edilerek arttırılabilmektedir.

Küçük moleküllerin doğrudan düzenlenmesi sonucu büyük moleküllerin meydana gelmesi (örneğin; protein sentezi) ya da substrat molekülleri üzerine atomların veya moleküllerin adsorpsiyonu kendiliğinden düzenlenmeye dayanmaktadır. Bu işlemde, moleküller kendi aralarında etkileşimde bulunurlar. Zayıf ve tersinir olan bu etkileşimler belli bir denge kurulana kadar devam etmektedir (Poole ve Owens, 2003). Kendiliğinden düzenlenme işleminin avantajlarını ve prensiplerini en iyi tanımlayan model sistemler "kendiliğinden düzenlenen tek tabakalar"dır (Wilber ve Whitesides, 1999). Eski bir kendiliğinden düzenlenme yöntemi olan Langmuir-Blodgett tekniği, geçmişte optik kaplamalarda, biyosensörlerde, antikorlarda ve enzimlerde kullanılmıştır. Hava-su ara yüzeyinde oluşan bu tek tabakaya "Langmuir-Blodgett Film" denir. Bu filmlerin hazırlanışı oldukça zor olmasına rağmen farklı amaçlar için kullanılmakta ve tercih edilmektedir. Diğer yandan, metal yüzeyler üzerinde hazırlanan kendiliğinden düzenlenen tek tabakalar ise oldukça kararlı, kolay hazırlanabilen ve geniş kullanım alanlarına sahip malzemelerdir (Love ve ark., 2005; Wilber ve Whitesides, 1999).

Kendiliğinden düzenlenen tek tabakalar ve çoklu tabakalar farklı metalik ve inorganik substratlar (örneğin, Ag, Au, Cu, Ge, Pt, Si, GaAs, SiO_2 gibi malzemeler) kullanılarak hazırlanabilir. Bu kendiliğinden düzenlenen tek tabakalar, alkanetiyoller (R-SH), sülfitler (R-S-R'), disülfitler (R-S-S-R'), asitler (R-COOH), ve siloksanlar (R-$SiOR_3$) gibi ligandlar ya da moleküllerin yüzeyler üzerine bağlanmaları ile oluşurlar. Tiyollerin, sülfitlerin ve disülfitlerin yüzeyler üzerine bağlanması sülfür atomları yardımı ile olur. Bu gruplar altın yüzeyler üzerine RSAu şeklinde tutunurlar (Smith ve ark., 2004). Kendiliğinden düzenlenmenin anlaşılması ve buna bağlı olarak uygulamaları altın yüzeyler üzerine n-alkildisülfitlerin adsorpsiyonundan beri üzerinde önemle durulan bir konudur. Kendiliğinden düzenlenme ile oluşan tek tabakalar, birçok uygulama alanına sahiptirler. Bu uygulama alanlarına örnek olarak moleküler ve biyomoleküler tanıma, elektrot modifikasyonları, korozyondan koruma v.b. verilebilir. Yüksek derecede düzenlenmiş yapıların moleküler düzenlenme kavramı yeni değildir. Moleküler düzenlenmeye ait örnekler Biyoloji, Kimya ve Fizik gibi bilim dallarının içerisinde incelenmektedir (Love ve ark., 2005). Kendiliğinden düzenlenme işleminin nasıl gerçekleştiği sorusu bilim adamlarının üzerinde yoğunlukla çalıştıkları bir konudur. Çünkü doğanın ve yaşamın nasıl devam ettiği bu sorunun cevabı içinde saklıdır. Bilim adamları doğayı taklit ederek bu işlemi açıklamaya çalışmaktadırlar. Kendiliğinden düzenlenme işlemi, substrat (katı yüzey) ile yüzey üzerine adsorbe olan molekül arasındaki kimyasal etkileşimlerle oluşmaktadır. Adsorbe olan moleküller ile yüzey arasındaki etkileşimin kuvveti ve tipi düzenlenmeyi etkiler. Fiziksel etkileşim entalpisi ($\Delta H<41,8$ kJ, özellikle van der Waals kuvvetleri) kimyasal bağlanma entalpisinden düşüktür ($\Delta H>41,8$ kJ). Moleküllerin kendi aralarındaki ve moleküller ile yüzey arasındaki etkileşim kuvveti; hidrojen bağlarına, donör/akseptör veya iyon çiftlerine ve kovalent bağların düzenlenmesine bağlıdır. Kimyasal bağlanma bu nedenle fiziksel etkileşimden daha kararlı ve kuvvetlidir (Smith ve ark., 2004). Kimyasal bağlanma olan sistemlerde; SiO_2 yüzeylerde trialkil, triklor ya da trialkoksisilan; Al_2O_3 ve Ag yüzeylerde karboksilik asitler ve altın yüzeylerde ise n-alkentiyoller yoğun olarak kullanılmaktadır.

Özellikle kendiliğinden düzenlenmiş tek tabaka çalışmalarında iletken metal yüzeylere (Au, Ag v.b.) yüzey aktif maddeler ve elektronca zengin baş gruplara sahip (S, O, N v.b.) moleküller ile n-alkil zincirler kolaylıkla bağlanabilirler. Kimyasal bağlanmada; yüzeye bağlanacak moleküller ile metal yüzeyler arasındaki etkileşim oldukça kuvvetlidir. Bu sebeple etkileşim oldukça kararlıdır. Bir kendiliğinden

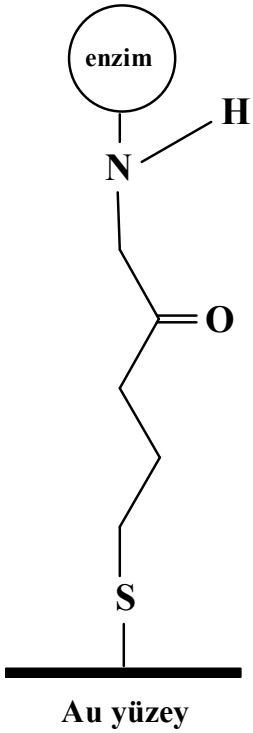
düzenlenen tek tabaka sistemi için son fonksiyonel grup, yüzeyin genel hidrofobik yapısını, tutma (adhesive) karakterini ve reaktiflik özelliğini etkilediğinden oldukça önemlidir.

3.2. Fonksiyonlandırılmış Yüzeyler İçin Kullanılan Adsorban Yüzeyler

Farklı yüzeyler üzerinde moleküler yapıda tekli tabaka oluşturma çalışmaları yoğun bir şekilde devam etmektedir. İnce film oluşturmak için destek madde olarak, cam, kuartz, altın, mika, silikon wafer, alüminyum, krom, kalay gibi metallerin oksit formları ve (Al_2O_3/Al gibi) hidrofilik yüzeyler kullanılmıştır. Bunların yanında, günümüzde oldukça yaygın bir şekilde kullanılan destek maddelerden biri de silikajeldir. Adsorban yüzeylerinin kullanımdan önce çok dikkatli bir şekilde temizlenmesi gerekmektedir. Bu işlem hem yüzeydeki kirlilikleri uzaklaştırmaya hem de yüzeyi hidrofilik hale getirmeye yardımcı olmaktadır. Cam veya silikajel gibi –Si içeren destek maddelerinin yüzeyleri genellikle 1 saat 120 ^oC'de 4:1 oranında derişik H_2SO_4 ve H_2O_2 karışımı ile (pirana çözeltisi) muamele edilerek temizlenmektedir (Flink ve ark., 2001). Bunun yanında 4 M NaOH ile veya derişik HCI ile bu yüzeylerin muamelesi sonucunda da temizlenmiş yüzeyler elde edilebilmektedir (Blount ve Janzen, 1980).

Temizlenmiş silikon destek maddesini saf su içinde bekletilerek saklanması halinde temizlendikten 48 saat sonra bile hala hidrofilikliğini büyük oranda koruduğu belirtilmiştir (Ulman, 1996). Silisyum dioksit (SiO_2) yüzeylerin pirana çözeltisi ile muamele edilmesi ile oluşan Si-OH gruplarının konsantrasyonunun, alkil zincirlerinin konsantrasyonuna eşit olduğu bulunmuştur. Altın yüzeyler spektroskopi çalışmaları için uygun bir destek maddesi oluşturmaktadır. Temizlenmiş altın yüzeyleri kolaylıkla kirlenebilir, bunun sonucunda oluşan filmler homojen olmayan değişken özellikli yüzeyler içerir. Kimyasal Buhar Depozisyonu yöntemi ile cam yüzeyler üzerine altın moleküllerinin tekli tabaka oluşturma çalışmaları için, buharlaştırılmış altın molekülleri cam gibi katı bir destek yüzey üzerine yoğunlaştırılır. Daha sonra temizleme prosedürü olarak, su veya etanol ile bu maddeler muamele edilebilir. Eğer daha fazla temiz bir yüzey gerekli ise altın yüzeylerinin çok kısa bir süre pirana veya diğer temizleyici çözeltiler ile muamele edilebileceği belirtilmiştir (Ulman, 1996). Ancak bu işlem yüzeylerin kalınlığını değiştirip uniform yapıyı bozabileceği için çok dikkatli uygulanması gerekmektedir. Au tekli tabaka yapıları bu şekilde temizlemenin yanında,

CCI_3CH_3 ile 30 dakika muamele ederek veya argon plazması ile kısa sürede (3-5 dakika) temizlenebilir. Fakat her iki temizleme yöntemi de organik kirlilikleri yüzeyden temizlemesine rağmen hidrofilik yüzeyler oluşmasını sağlamazlar. Altın yüzeyi üzerine tekli tabaka oluşturma çalışmaları yapılmış ve sonucunda kovalent bağlanma ile adsorban yüzeye glikoz oksidaz bileşiği bağlanarak enzim elektrodu oluşturulmuştur (Şekil 3.2) (Gooding ve Hibbert, 1999).



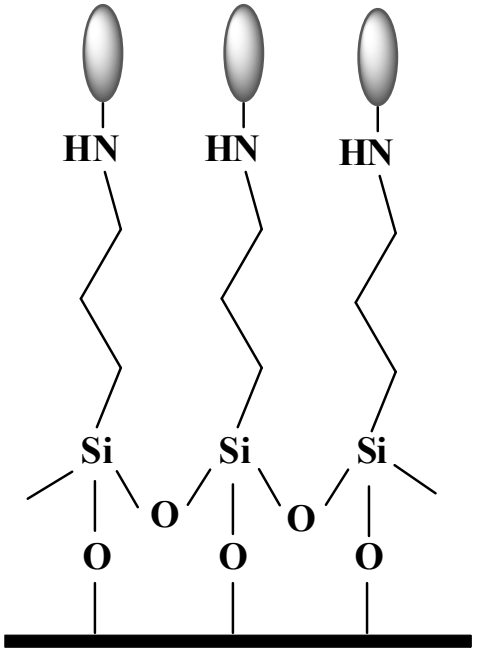
Şekil 3.2. Altın yüzeyine kovalent bağlanma ile enzim bağlanarak oluşan tekli tabaka yapının şematik gösterimi.

Gümüş ve silikon (Ag/Si) yüzeyleri adsorban madde olarak kullanılırken, buharlaştırıcıdan alınır alınmaz hemen kullanılmasının gerektiği, bekletildiği taktirde CCI_3CH_3 veya argon plazması ile yüzey temizlenmesine ihtiyaç olduğu ifade edilmiştir (Smith ve ark., 1984).

Galyum arsenit (GaAs), % 35-37 lik HCI çözeltisi ile 5 dakika ultrasonik banyoda bekletilerek ya da pirana çözeltisi veya brom-metanol ile muamele edilerek temizlenebileceği ve hidrofilik hale getirilebileceği vurgulanmıştır (Abdelghani ve Jacquin, 2000; Ye ve ark., 2003).

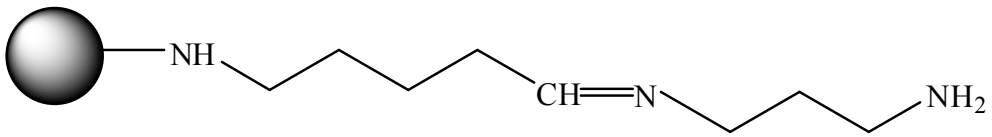
Cam yüzeyler ise, derişik H_2SO_4 ve %30 H_2O_2 (4:1) karışımında, 120 $^{\circ}$C'de muamele edilerek temizlendiği ve aktive edildiği belirtilmiştir. Yüzeyin daha sonra sırası ile su, etanol ve aseton ile yıkandığı ve azot atmosferi altında kurutulduğu ifade

edilmiştir. Flink ve ark., (2001), çalışmalarında pirana çözeltisi kullanarak aktive ettikleri cam yüzeyine silanlama vasıtası olarak 3-aminopropiltrimetoksi silan bileşiğini bağladıktan sonra boyar madde özelliği taşıyan çeşitli organik moleküller ile fonksiyonelleştirme özelliğini incelemişlerdir (Şekil 3.3). Daha sonra bu yapıyı floresans mikroskobu kullanarak karakterize etmişlerdir.



Şekil 3.3. Cam yüzeyi üzerine oluşan tekli tabaka yapının şematik gösterimi.

Ayrıca destek maddesi olarak cam yüzey yerine cam kürecikler de adsorban madde olarak kullanılmıştır. Şekil 3.4'de adsorban yüzey olarak cam kürecik kullanılarak hazırlanmış tekli tabaka yapıya bir örnek verilmiştir.

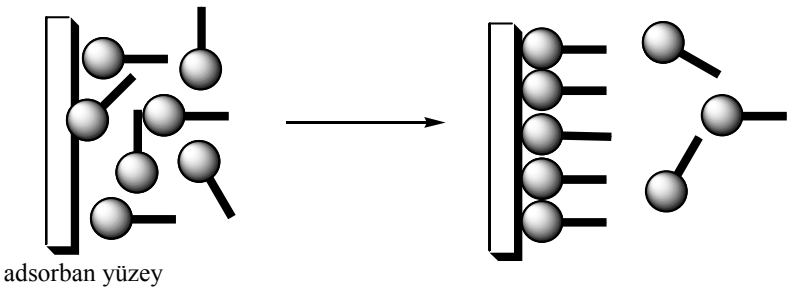


Şekil 3.4. Cam kürecik yüzeyi üzerine hazırlanmış tekli tabaka yapı.

Atomik olarak düzgün yüzeyli tekli tabakalar hazırlamak için, aktive edilmiş mika da oldukça geniş bir alanda kullanılmaktadır. Al_2O_3 yüzeylerinin de tekli tabaka hazırlama çalışmaları için kullanıldığı görülmüştür (Wang ve ark., 2002).

3.3. Kendiliğinden Toplanma Prensibi

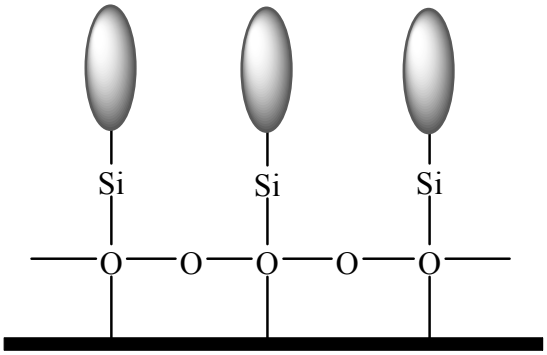
Bigelow ve ark., 1946 yılında laboratuar çalışmaları sırasında, hegzadekan içinde seyreltik eicosyl alkol çözeltisi ile yaptıkları deneylerde, bu çözeltinin erlenmayerin cam yüzeyine yapıştığını ve duvarının ıslanmadığını gözlemlemişlerdir. Islanma ve seyrelme aşamaları ile devam ettikleri çalışmalarında cam yüzeyinin alkol ile kaplandığını ve kaplanan bu yapının tek moleküllü bir filmden ibaret olduğunu bulmuşlardır. Bigelow bu filmler için yüzey üzerine dikey olarak bağlanmış olan n-alkil zincirlerini modellemeyi ve birbirine komşu zincirler üzerine bağlı metilen grupları arasında van der Waals etkileşimleri sonucu oluşmuş birbirine yakın istiflenen gruplar oluşturmayı önermiştir. Bütün metil gruplarını yüzey üzerinde toplayarak, çeşitli organik çözücüler ile pürüzsüz ve homojen yüzeyler hazırlamak için, polar fonksiyonel baş gruplar ile uzun zincirli hidrokarbon bileşiklerinin tekli tabaka filmlerini oluşturmuşlardır. Kendiliğinden toplanma ile ilgili çalışmalar bir süre devam etmiş ve yüzey karakterizasyon tekniklerinin geliştirilmesi ile 1980'lerden sonra tekrar güncelliğini koruyarak bu konuda çalışmalara ilgi tekrar artmıştır.



Şekil 3.5. Katı destek madde üzerine sıvı çözeltiden molekül transferi ile tekli tabaka oluşumunun şematik gösterimi.

Kendiliğinden toplanan tekli tabakaların oluşumu, uygun adsorplanan molekülleri içeren sıvı çözeltiye katı bir adsorban yüzey daldırılması ile herhangi bir dış müdahale olmadan belirli bir süre sonunda moleküllerin düzenli yapıda olmak üzere bir araya gelmeleri esasına dayanır. Kimyasal sorpsiyon olarak meydana gelen bu proseste, iyi düzenlenmiş tek molekül kalınlığında yüzey tabakası oluşmaktadır (Şekil 3.5). Genellikle adsorban olarak hidroksillenmiş yüzey üzerine alkil-silan içeren organik çözücü ortamında oluşturulan tekli tabaka yapı değişik çözücüler ile yıkanır ve inert ortamda kurutulur. Temiz adsorban yüzeyi tamamen hidrofilik özelliktedir ve yapı üzerinde bulunan moleküller hem birbiri ile hem de yüzey ile kuvvetli kimyasal bağlar

kurmuşlardır. Şekil 3.6'da hidroksillenmiş yüzeylerden meydana gelmiş olan katı destek madde üzerine oluşturulmuş alkil-silan tekli tabaka yapının şematik gösterimi görülmektedir (Ulman,1991).



Şekil 3.6. Hidroksillenmiş yüzey üzerinde alkil-silan bileşiği ile oluşturulan tekli tabakanın şematik gösterimi.

4. YÜZEYLERİN MİKRO/NANO DESENLENMESİNDE KULLANILAN TEKNİKLER

Mikrofabrikasyon, oldukça küçük boyutlarda (mm-µm) fiziksel nesneler oluşturmak için uygulanan bir yöntemdir. Mikrofabrike objeler veya cihazlar diyaframlar gibi hareketli parçaları içeren bir dizi minyatür yapıları, akış kanalları gibi statik yapıları, protein ve hücreler gibi kimyasal olarak duyarlı yüzeyleri ile rezistörler, transistörler gibi elektrik aletlerini kapsamaktadır.

Mikro ve nanoteknolojinin biyomedikal arenaya uygulanması yeni teşhis ve tedavi edici sistemlerin geliştirilmesinde oldukça büyük potansiyele sahiptir. Bu teknolojinin gelişmesiyle hastalık ve risk şartlarının erken tanımlanması, daha az zarar ve daha kısa sürede iyileşme zamanının sağlanması ve daha düşük fiyatla daha kabul edilebilir sağlık-bakım sağlanması mümkün olacaktır. Tıp ve biyolojide kullanılan örnekleri arasında basınç sensörleri, kalp pompaları, retinal implantlar, nöral implantlar sayılabilir. Biyomedikal sahada biyomedikal mikrosistemler (Bio MEMs) olarak bilinen bu cihazlar mikrometre boyutunda kontrol ile bir ameliyatın tam olarak yapılmasını, genel, genetik ve nörodejeneratif hastalıkların, allerjilerin, ağrının hızla taranarak bulunmasını mümkün kılacaktır (Karakeçili, 2006).

4.1. Fotolitografi

Fotolitografi, mikroelektronik endüstrisinde yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Temel olarak, ışığa duyarlı bir malzemenin (fotorezist) yüzey üzerine kaplanması ve daha sonra deseni önceden belirlenmiş bir fotomaske üzerinden ultraviyole ışın (UV) uygulanmasıyla, maske deseninin yüzey üzerinde elde edilmesi esasına dayanmaktadır. Oluşturulan desenli yüzey üzerine biyolojik moleküllerin kaplanmasıyla biyodesenli yüzeyler elde edilir. Hücreler, yüzeyler ile etkileştiklerinde biyodesenli bölgeleri tercih ederler ve böylelikle yüzeyler üzerinde desenlenmiş hücreler elde edilir. Yüzeylerin mikrodesenlenmesinde kullanılan oldukça gelişmiş bir teknik olmasına rağmen, "temiz oda" koşullarına ihtiyaç duyulması beraberinde bazı dezavantajları getirmektedir. Biyolojik çözeltiler, mikroelektronik teknolojisi için hazırlanan temiz oda koşullarını bozmaktadır. Ayrıca desenlerin elde edilmesinde kullanılan kimyasallar, hücreler için toksik özellik göstermekte ve pek çok malzemenin

yığın yapısına da zarar vermektedir. Kullanılan maskeler mikroelektronik teknolojisi için özel olarak geliştirilen kuartz-krom maskelerdir.

4.2. Fotokimyasal Mikrofabrikasyon

Bu teknikte, yüzeylere tutuklanacak biyolojik moleküller öncelikle fotoreaktif özellik taşıyan bir molekül ile reaksiyona sokulur. Yüzeylere tutuklama işlemi klasik fotolitografide kullanılan kuartz-krom fotomaske varlığında UV ışın kullanılarak gerçekleştirilir. Maskenin altında yüzeyin ışın gören bölgelerinde (kuartz bölgeler) reaksiyon oluşur ve biyosinyal moleküllerin aktif olarak yüzeye tutuklanması litografik olarak gerçekleşir.

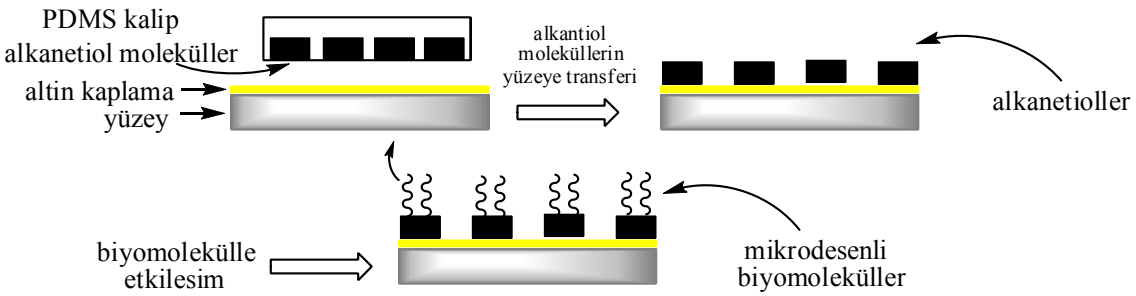
4.3. Soft Litografi

Fotolitografik tekniklerin dezavantajlarını ortadan kaldırmak amacıyla geliştirilmiş olan tekniklerdir. Yüzeylerde mikrodesenli bölgelerin oluşturulmasında yumuşak, biyouyumlu ve optik geçirgenlik özelliklerine sahip polidimetil siloksan (PDMS) kalıplar kullanılmaktadır. Klasik fotolitografi kullanılarak hazırlanan mikrodesenli bu kalıplar biyolojik moleküllerin yüzeye mikrodesenli olarak aktarılmasını sağlamaktadır. Soft litografik teknikler uygulamadaki farklılıklarına göre başlıca iki grupta toplanır: mikrokontakt baskılama ve mikroakış kanalları. Uygulamada en sık karşılaşılan mikrokontakt baskılama tekniği, PDMS kalıpların ve yüzey üzerinde kendiliğinden organize olabilen moleküllerin (self-assembling monolayers) kullanıldığı tekniklerdir. Moleküllerin yüzey ile etkileşebilmesi için, kullanılacak malzeme yüzeyi önce altın ile kaplanmaktadır. Yüzey üzerinde tek tabaka halinde organize olan ve aktif gruplar oluşturan moleküller ise alkantiol molekülleridir. Mikrodesenli PDMS kalıplara emdirilmiş olan bu moleküller altın kaplı yüzeyle temas ettirildiğinde tiol uçları sadece kalıbın mikrodesenlerinin bulunduğu kısımlarda yüzeydeki altın ile etkileşir. Bu yöntemle elde edilen mikrodesenli aktif gruplar üzerine biyolojik moleküller tutturularak biyodesenli yüzeyler hazırlanır. Mikroakış kanalları ile desenleme yönteminde ise; üç boyutlu mikrodesenli PDMS kalıp malzeme yüzeyi ile temas ettirilir ve yüzey ile kalıp arasında mikrokanalların oluşturulması sağlanır. Yüzey üzerine mikrodesenli olarak yerleştirilmek istenen biyolojik moleküllerden oluşan

çözelti, bu mikroakış kanallarından geçirilir ve yüzeye temas ettiği mikrokanal bölgelerinde yüzeye tutuklanma gerçekleşir. Doku mühendisliği uygulamaları için biyomalzemelerin mikrodesenli olarak hazırlanmasında en çok kullanılan yöntemler mikrokontakt baskılama ve mikroakış kanalları ile desenleme yöntemleridir.

4.3.1. Mikrokontakt Baskılama

Mikrokontakt baskılama tekniği, PDMS kalıpların ve yüzey üzerinde kendiliğinden organize olabilen moleküllerin kullanıldığı tekniklerdir. Moleküllerin yüzey ile etkileşebilmesi için, kullanılan biyomalzeme önce altın ile kaplanmaktadır. PDMS kalıp, biyomalzeme yüzeyine, spesifik olarak hücre yapışmasını destekleyecek proteinleri adsorplayan aktif grupların mikrodesenli olarak kaplanmasında kullanılır. Yüzeyler üzerinde tek tabaka halinde organize olan ve aktif gruplar oluşturan moleküller alkantiol molekülleridir. Bu moleküllerin tiol ucu yüzeydeki altın ile reaksiyona girerek tek tabaka halinde organize olur. Mikrodesenli elastomerik kalıplara emdirilmiş olan bu moleküller altın kaplı yüzeyle temas ettirilir. Sonuçta tiol içeren moleküller sadece kalıbın mikrodesenlerinin bulunduğu kısımlarda yüzeydeki altın ile etkileşir. Bu yöntemle elde edilen mikrodesenli aktif gruplar üzerine protein molekülleri immobilize edilmektedir (Park ve Schuler, 2003) (Şekil 4.1).



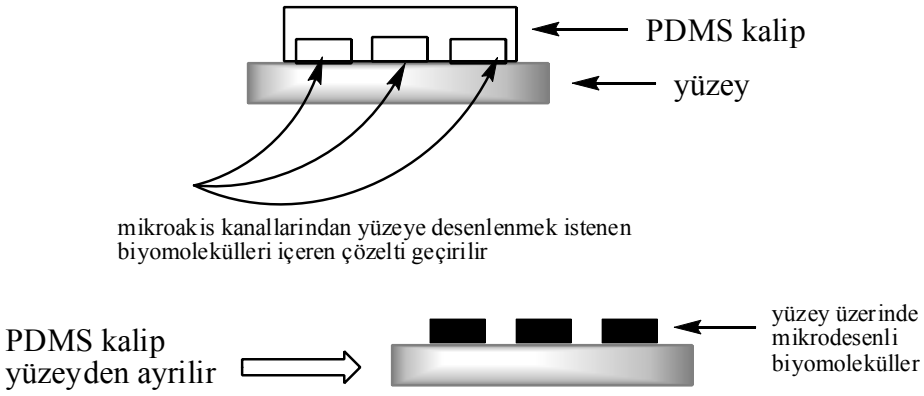
Şekil 4.1. Mikrokontakt baskılama tekniği ile biyosinyal moleküllerin mikrodesenli immobilizasyonu.

Shingvi ve Whitesides (Shingvi ve ark., 1994; Chen ve ark., 1997) tarafından yapılan çeşitli uygulamalarda, SAM moleküller kullanılarak gerçekleştirilen mikrokontakt baskılama tekniği ile hücre yapışması yüzeyler üzerinde oluşturulan 10-100 μm genişlikteki desenler içinde gerçekleşebilmiştir. Bu teknikle hücreler önceden

belirlenmiş bölgelerde ve aralarında belirli bir mesafe kalacak şekilde yerleştirilmiştir. Hücre yayılmasını kısıtlayan bu desenler ile hücre üremesi ve protein salımı üzerinde kontrol sağlanmıştır. Shingvi ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada (1994), mikrokontakt baskılama tekniği kullanılarak hazırlanan yüzeyler üzerinde hücre şeklinin hücresel fonksiyonları nasıl etkilediği araştırılmıştır. Primer fare hepatosit hücrelerinin kullanıldığı çalışmada kare ve dikdörtgen şeklinde laminin immobilize edilmiş yüzeylerde, hücrelerin aktif mikrodesenli bölgelere yapıştığı görülmüştür. Lamininin homojen olarak immobilize edildiği yüzeyde DNA sentezi en yüksek seviyeye ulaşırken, desen boyutunun 1600 μm^2'nin altına inmesiyle hücrelerin yalnızca %3'ünün DNA sentezlediği görülmüştür. Tüm bu sonuçlar, desen boyutunun hücre üremesi üzerinde etkili olduğunu göstermektedir.

4.3.2. Mikroakış Kanalları ile Desenleme

Bu teknikte, mikrodesenli PDMS kalıplar biyomalzeme yüzeyi ile temas ettirilerek malzeme yüzeyi ve kalıp arasında mikrokanalların oluşturulması sağlanır (Şekil 4.2). Yüzey üzerine mikrodesenli olarak yerleştirilmek istenen biyosinyal moleküllerinden oluşan çözelti, bu mikroakış kanallarından geçirilir ve yüzeye temas ettiği mikrokanal bölgelerinde yüzeye immobilizasyon gerçekleşir (Kane ve ark., 1999).



Şekil 4.2. Mikroakış kanalları ile desenleme.

Patel ve arkadaşları (Patel ve ark., 1998) tarafından yapılan çalışmada mikroakış kanalları yöntemi kullanılarak biyobozunur bir polimer yüzey üzerinde biyolojik moleküller mikron düzeyinde desenler oluşturacak şekilde yerleştirilmiştir. Poli(L-

Laktid)-poli(etilen glikol) blok kopolimeri üzerine biotin molekülü takılarak biyobozunur polimerik yapı sentezlenmiştir. Mikro kanallara sahip PDMS kalıp içerisinden avidin çözeltisi geçirilmiş ve avidin moleküllerinin biotin ile temas ettiği bölgelerde yüzeye mikrodesenli olarak bağlanmıştır. Yüzeyde bulunan mikrodesenli avidin molekülleri daha sonra Arg-Gly-Asp (RGD) ve Ile-Lys-Val-Ala-Val (IKVAV) sekanslarının mikrodesenli immobilizasyonu için kullanılmıştır. Bu yüzeyler üzerinde yapılan çalışmalarda sığır aortik endotel hücrelerin RGD ile mikrodesenlenmiş bölgelerde yapışma gösterdiği, yüzeyin aktifleştirilmemiş olan bölgelerinin ise hücreler tarafından tercih edilmediği görülmüştür. IKVAV sekansı ile mikrodesenlenmiş yüzeylerde PC12 sinir hücreleri ile yapılan hücre kültür çalışmalarında, sinir hücrelerinin yayılmasının mikrodesenli bölgelerle sınırlandığı tespit edilmiştir.

4.4. Lazer Işınları ile Desenleme

Bu teknikte biyomalzeme olarak kullanılacak yüzey üzerine bakırdan hazırlanan ve mikrodesenlere sahip bir maske yerleştirilir. UV-lazer ışınlarının maske üzerinden uygulandığı bölgelerde yüzeyden moleküler düzeyde kopmalar meydana gelmekte ve böylelikle yüzey üzerinde farklı topoğrafiye sahip mikrodesenli bölgeler elde edilmektedir.

4.5. Plazma ile Desenleme

Plazmanın (maddenin 4. hali, yani iyonlaşmış gaz hali) kullanıldığı mikrodesenleme çalışmalarında, yüzey üzerinde farklı topoğrafi ve kimyasal özelliklere sahip mikrodesenli bölgelerin elde edilmesi amacıyla plazma uygulaması nikel bir maske varlığında gerçekleştirilir.

5. BİYOFİLM

Biyofilm bir yüzeye yapışarak kendi ürettikleri jelsi bir tabaka içinde yaşayan mikroorganizmaların oluşturduğu topluluk olarak tanımlanabilir. Bu jelsi tabaka, bakteri hücreleri tarafından üretilen EPS (hücre dışı polimerik maddeler) adı verilen polisakkarit bazlı bir kafestir. EPS'ler mikrobial biyofilmlerin ilk yapılarıdır ve terminolojide "extracellular polymeric substances'' teriminin karşılığı olarak kullanılmaktadır. EPS'yi biyofilm tabakasında bakterilerin hücre dışına saldıkları ve onları bir arada tutan çimento gibi düşünebiliriz (Yönten, V., 2010). Bir biyofilm bakteri gibi koloni veya topluluk olarak bulunan canlı, tekrarlanabilen mikroorganizmalardan meydana gelmektedir. Bir başka deyişle, biyofilmler canlı ve kompleks bir yapıya sahiptir. Bilim adamları ve mühendisler halen bu yapıların nasıl hem korunup hem de gelişmeye devam edebildiklerini araştırmaktadırlar.

Bakteriler, arkealar, mayalar, küfler, algler, protozoalar gibi canlı grupları biyofilm oluşturabilirler. Biyofilm sistemler daha fazla organizma tutma kapasitesine sahip olduğu için bu sistemlerde daha yüksek verimle organik madde, biyoyakıt, enzim, antibiyotik üretimi ve önemli ölçülerde arıtım da sağlanabilir (Qureshi ve ark. 2005). Aynı zamanda mikroorganizmaların virüs ve bakteri gibi biyofilm oluşturma özellikleri sonucunda kazandıkları direnç tıpta da önemli sonuçlar doğurmaktadır. Örneğin her yıl üretilen binlerce antibiyotiğe karşı bu mikroorganizmalar biyofilm özelliklerinden dolayı direnç göstermekte ve dejenere olmaktadır. Bundan dolayı sağlık sektöründe de biyofilm önemlidir. Bununla beraber çoğu hastalıklar bakteri ve virüslerin bu özelliklerinden dolayı zor tedavi edilmektedir. Bu mikroorganizmalar bazı önemli ve pahalı cihazların bulunduğu klinik, ofis ve fabrikalardaki aletler içinde biyofilm oluşturarak korozyon etki gösterir ve çabuk çürümelerine sebep olur.

Biyofilm oluşumu, serbest haldeki mikroorganizmaların yüzeye bağlanmasıyla başlar. Bu ilk koloniler öncelikle zayıf ve dönüşümlü van der Waals kuvvetleriyle yüzeye bağlanırlar. Eğer koloniler yüzeyden hemen ayrılmazlarsa kendi aralarında hücre adezyon yapılarını kullanarak daimi olarak bağlanırlar. İlk koloniler çok çeşitli adezyon bölgeleri sağlayarak gelen diğer hücrelere yardımcı olurlar ve biyofilmin beraber tutulmasını yani matriks oluşumunu başlatırlar. Bazı türler kendi kendilerine yüzeye bağlanamazlar ama matrikse veya öncü kolonilere bağlanabilirler. Bu kolonileşmeyle hücreler artık birbirleriyle temas halindedir. Kolonileşmenin başlamasıyla hücre bölünmesi ve hücre katılması kombinasyonu gerçekleşecek ve

biyofilm oluşacaktır. Biyofilm oluşumundaki son adım gelişme olarak bilinir, bu aşamada biyofilmin yerleşmesi ve sadece biçim ve büyüklük bakımından değişikliğin olabileceği söylenebilir. Mikroorganizmalar neden biyofilm oluşturmaktadır sorusunun cevabını savunma, adezyon ve kolonizasyon, yaşanabilir çevre geliştirmek ve topluluk oluşturmak olarak verilebilir.

5.1. Biyofilm oluşumu

Biyofilmler bir veya daha fazla türe ait mikroorganizmaların bir araya gelmesiyle oluşan ve kendini oluşturan hücreleri dış faktörlerin etkisinden koruyan dinamik bir yapıdır. Bu nedenle zararlı olan biyofilmleri tamamıyla ortadan kaldırmak için harcayacağımız emek, mikroorganizmaların biyofilm oluşturmak için harcadıkları emekten çok daha fazla olmaktadır.

Biyofilmler temelde iki aşamada oluşur;

1. Birincil bağlanma, [Yüzey-Hücre bağlantısının oluşumu]
2. Kümelenme, [Hücre-Hücre bağlantısının oluşumu]

5.1.1. Birincil bağlanma

Biyofilmleri "mikroorganizmaların evleri" olarak düşünecek olursak, birincil bağlanma biyofilm oluşturulacak yüzeyde, inşa edilecek ev için sağlam bir temel atma aşamasıdır. Bu aşama, bağlanılacak yüzeyin canlı veya cansız olmasına, çıplak veya konak hücreye ait proteinlerle kaplı olmasına bağlı olarak değişiklik göstermektedir.

Primer bağlanma biyofilm oluşumu açısında eşik niteliği taşıdığı için biyofilme bağlı hastalıklarla veya farklı olumsuz durumlarla mücadelede hedeflenmesi gereken ilk basamaktır.

5.1.2. Kümelenme

Bir miktar bakteri, biyofilm oluşacak yüzeye kendilerini bağladıktan sonra diğer bakteriler direkt bunlara bağlanarak bir kümelenme oluştururlar. Bu esnada bir yandan da hücre dışına çeşitli karbonhidrat, protein vb. moleküller salgılayarak koruyucu bir

kılıf oluştururlar. Sonuçta yaklaşık ¼'i hücre ¾ 'ü hücre dışı salgı maddesi olan olgun bir biyofilm yapısı oluşur.

Bu iki basamak dinamik bir dengeye sahiptir. Olgun biyofilm oluştuktan sonra koruyucu zırhın çeşitli yollarla kısmen veya tamamen parçalanması sonucu biyofilm içindeki hücreler serbest hale geçer. Serbest hücrelerin her biri yeni bir biyofilm oluşturmak üzere farklı alanlara dağılır ve aynı süreç tekrar eder.

5.2. Biyofilm oluşumunu etkileyen faktörler

Biyofilm oluşumu hem bakteriye hem de bakterinin bağlandığı canlı veya cansız yüzeyin özelliklerine bağlı olarak gerçekleşir. Bakteri özellikleri açısından baktığımızda bakterinin sahip olduğu yüzey yapışma proteinleri, bakterinin gram pozitif veya gram negatif hücre duvarına sahip olması, anatomik özellikleri (kamçı, sil vs. bulundurup bulundurmaması), konak canlının plazma proteinlerine bağlanabilen proteinlere sahip olması, kümelenme aşamasında hücre-hücre bağlanmasını gerçekleştiren protein veya polimerler sentezlemesi vb.. birçok özellik biyofilm sürecini etkilemektedir.

Gram pozitif olan bakterilerde özellikle teikoik asitin birincil bağlanmada önemli bir etkisi vardır. Konak canlının plazma proteinleri, vücut içine takılan yabancı tıbbi malzemeye karşı tepki olarak oluşturulur ve bu materyalin yüzeyini kaplar. Bu, organizmanın savunma sisteminin bir özelliğidir. Ancak vücudun kendi menfaati için yapmış olduğu bu davranış bakterilerin söz konusu materyalin yüzeyine daha kolay bağlanmasını dolayısıyla biyofilm oluşturmalarını kolaylaştırdığı için aleyhine dönmektedir.

Biyofilm oluşumunda çevre faktörlerinin etkisine bakacak olursak, bağlanılacak olan yüzeyin elektriksel yükü, kimyasal içeriği, protein vb. moleküllerle kaplı olması veya olmaması, cansız ortamlar için besin içeriği gibi durumların biyofilm oluşumunu etkilediği görülmektedir. Burada bahsedilen (bundan çok daha fazla miktardaki) faktörlerin bilinmesi biyofilmlerle mücadelede veya biyofilmlerden yararlanmaya yönelik çalışmalarda mutlaka gereklidir.

5.3. Biyofilmler çalışmaları

Günümüzde, özellikle hastane ortamlarından bulaşan veya vücuda takılan kalp kapakçığı, sonda vb. materyallerden kaynaklanan hastalıkların temelinde biyofilmler yatmaktadır. Bu nedenle bu hastalıklara karşı etkili ilaçların veya biyomedikal materyallerin üretilmesi ciddi bir ihtiyaç ve araştırma konusu olarak karşımızda durmaktadır.

Biyofilmler canlı ve cansız birçok ortamda oluştuğu için çevre mühendisliğinden tıbba, biyokimyadan moleküler biyolojiye, farmakolojiden biyoteknolojiye ve malzeme bilimine kadar birçok bilim dalını ilgilendirmektedir.

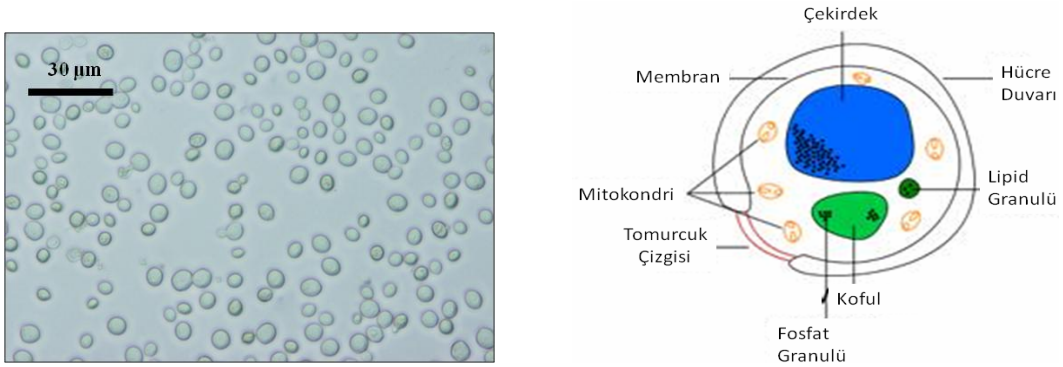
Atık su arıtımında zararlı kimyasallardan kurtulmak için kullanılan biyofilmlerin daha kapsamlı kullanım alanları oluşturulabilir.

Biyofilm oluşumunun anatomisi ve moleküler biyolojisiyle ilgili ciddi bir bilgi birikimi mevcuttur. Ancak istenilen düzeye henüz ulamış değildir. Bakterilerin biyofilm oluşumunda kullandıkları genler, bunların düzenlenme mekanizmaları, bu mekanizmaların ve söz konusu genlerin ürünleri, bu ürünlerin etkileri, biyofilm oluşumu sürecinin başlangıcından son aşamasına kadar oluşumu istediğimiz yönde etkileyebilecek ilaç veya vb. nitelikte moleküller, bakterilerin özellikle birincil bağlanmalarını zorlaştıracak nitelikte kimyasal yapıya sahip malzemeler vs.. bütün bunlar ve çok daha fazlası bu konuya yoğunlaşmayı düşünen araştırmacılar için heyecan verici bir soru işaretidir (Gün ve Ekinci, 2009).

5.4. Mayalar

Maya hücreleri mantar familyasında ökaryotik mikroorganizmalar olarak sınıflandırılmıştır. Mantarlar bitki, hayvan ve bakterilerden farklı bir familyadadır. En önemli farklılık olarak mantar hücreleri çitin içeren hücre duvarına sahipken bitki hücrelerinin hücre duvarı selüloz içerir. Maya hücreleri tek hücreli olup türüne göre yarıçapı 3-4 μm civarında olabilir (Şekil 5.1). Binden fazla maya türü tanımlıdır. En yaygın kullanılan maya olan Saccharomyces cerevisiae, binlerce yıl önce şarap, bira ve ekmek yapımı için kullanılmıştır. Mayanın faydalı fizyolojik özellikleri onun biyoteknoloji alanında kullanılmasına yol açmıştır. Şekerlerin maya tarafında fermantasyonu bu teknolojinin en eski uygulamasıdır. Ekmek mayası ekmek

imalatında, bira mayası bira fermantasyonunda kullanılır. Maya şarap yapımında da kullanılır. Modern biyoteknolojide maya başka canlılara ait proteinlerin ucuz yolla üretiminde kullanılmaktadır. Örneğin, insülin, interferon gibi insan proteinleri, hepatit B virüsünün kabuk proteinleri (aşı üretimi için) maya tarafından üretilebilmektedir.



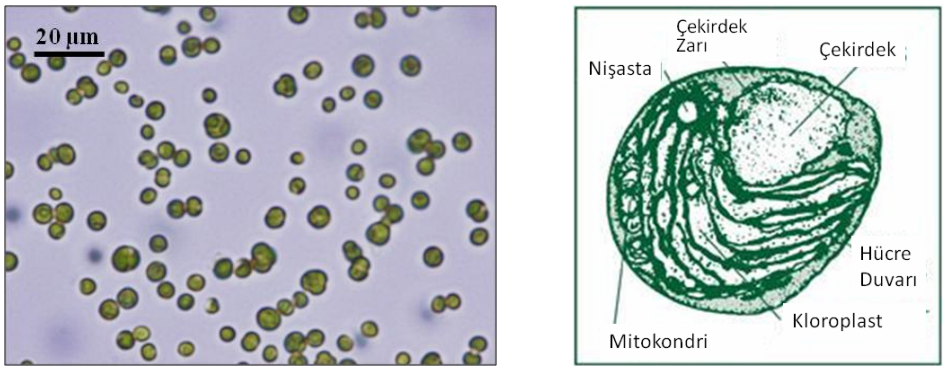
Şekil 5.1. (a) Su içerisinde maya hücreleri **(b)** Maya hücresinin yapısı

5.5. Algler

Klorella hücreleri ökaryotik mikroorganizmalardır ve tek hücreli yeşil alg türüdür. Algler fotosentetik, azot ve fosfor gibi inorganik gıdaları kullanan sulu bitkilerdir. 2-8 mikrometre boyutundadırlar. Küre ya da elips biçimindedirler. Klorella kloroplastının içinde klorofil içerir (Şekil 5.2). Klorella'nın tek hücreli yapısı; onun eşsiz türünün ve vitamin, protein, mineral, amino asitler, nükleik asitler (RNA, DNA), temel yağ asitleri, enzimler ve karotenoidlerin yoğun bir kaynağı olmasına büyük bir avantaj sağlamaktadır. Klorella bu besinleri saf, katkısız ve doğal olarak mükemmel bir denge içerisinde barındırır ve tek başına bile tam bir besindir. Klorella, 20'den fazla vitamin ve mineralin yanı sıra bol miktarda doğal beta-karoten'de içermektedir. Klorella, %50-60 oranında proteinden oluşmakta olup klorofilin doğada bilinen en yüksek oranlı kaynağıdır. Ayrıca demir, iyod, çinko, magnezyum, fosfor ve kalsiyum da içermektedir. Klorella, sığır karaciğerinin içermekte olduğu B_{12} vitamininden daha fazlasını içerir. Klorella, hücre seviyesindeki vücut fonksiyonlarının dengeli ve kararlı olmasına yardım eder. Sadece vücudun gereksinim duyduğu besinleri en üst seviyede sağlamakla kalmaz aynı zamanda vücudu zararlı maddelerden de temizler. Klorella bilinen en zengin klorofil kaynaklarındandır. Klorofil, özellikle sindirim sisteminde kötü koku yaratan

bakterileri yok ederek sindirim sistemine yardımcı olur. Ayrıca klorofil hemoglobine çok benzer bir yapıda olup, kan yapımını arttırdığı da düşünülmektedir.

Fotosentez sırasında klorella hücreleri karbon dioksit, su, güneş ışığı ve az miktarda mineral varlığında hızlıca çoğalarak tekrar üretilebilir. Hatta yüksek nitrat ve fosfat seviyelerinde veya direk güneş ışığında yetişebilir. Kullandığımız klorella hücreleri yapay gölden toplanmıştır. Laboratuar ortamında klorella hücreleri, uygun ortam içerisinde tutulur: 500 mL'lik klorella tampon çözeltisinde: KNO_3 (2,5 g), $MnSO_4$ (1,15 g), $FeSO_4$ (0,023 g), EDTA (0,018 g) ve KH_2PO_4 (0,75 g) vardır. Ayrıca klorella hücreleri laboratuarda güneş ışığı altında ve düşük karıştırma hızı altında muhafaza edilmiştir.



Şekil 5.2. (a) Su içerisinde klorella hücreleri **(b)** Klorella hücresinin yapısı

5.6. Simbiyotik Yaşam

Simbiyoz**,** genel olarak canlılar arası bir ilişki türü olmakla birlikte, bu ilişkiye katılan (ortak olan) tüm canlıların fayda görmesi sonucu oluşur. Kıyaslama yapabilmek açısından, parazitlik (parasitism) parazit olan canlının yarar, konak olan canlının zarar gördüğü ilişki tipidir. Kommensalizm (Commensalism), ilişkiye ortak olan türlerden birinin fayda sağladığı, diğerinin ise ilişkiden pek fazla etkilenmediği ilişkilere verilen isimdir. Amensalizm (Amensalism) ise ilişkiye ortak olan taraflardan birinin tamamen baskılandığı ve hatta öldüğü, diğerinin ise bundan etkilenmediği veya fayda gördüğü ilişkilere verilen isimdir. Örnek verecek olursak: Simbiyozda genel olarak ilişkiye ortak olan canlıların uzun süreler ve hatta ömür boyu birbirleriyle ilişki halinde kaldığı varsayılır. En tipik örneklerden biri, bitki kökleri ile mycorrhizal mantar arasında meydana gelen ve ömür boyu süren ilişkidir. Bu ilişki çerçevesinde, mantar bitki

köklerinin yüzey alanını arttırarak bitkinin aldığı mineral miktarını arttırır ve solunum sırasında ürettiği karbondioksit sayesinde bitkinin fotosentezine ürün sağlar. Bunun karşılığında da mantar ihtiyacı olan karbonhidratlara (özellikle de glukoz ve sukroza) çok daha hızlı ve etkili bir şekilde ulaşabilir. Ancak bu mutual ilişki, minerallerin az bulunduğu ortamlarda daha çok "karşılıklı fayda" çerçevesinde, mutual bir ilişki olarak sayılır. Çünkü mineraller açısından zengin olan toprakta bitkinin köklerine yine simbiyotik ilişki kurmak üzere bağlanan mantar, bitkinin büyümesini normale göre yavaşlatabilir. Belki ona zarar vermez; ancak yarı-patojen bir etki gösterir. Bu sebeple kimi zaman simbiyotik ilişkileri tanımlamak zor olabilir.

Simbiyotik yaşamın en klişe ikinci örneği olan likenler de aslında çok net simbiyotik yaşam örnekleri değillerdir. Bilindiği üzere liken alg ile mantarın ikili ilişkisinden oluşur ve bu ilişkiye katılan alg türü liken hayatına o kadar adapte olmuştur ki, bu ilişki haricinde neredeyse hiç görülmemektedir, yani bağımsız olarak yaşamamaktadır. Ancak ilginç olan bir nokta, günümüzde alglerin liken ilişkisinden tam olarak nasıl bir fayda sağladığı bilinememesidir. Çünkü mantardan alge doğrudan bir madde geçişini gözlemek çok zordur ve bununla ilgili net bulgular yoktur. Bu durumda likeni bir simbiyotik ilişki mi, yoksa mantarların algleri bir hedef olarak seçtikleri parazitik veya komensal bir ilişki mi olduğunu tanımlamak güçtür. Bu sebeple, "simbiyotik yaşam", fayda ve zarar üzerine değil, yaşam biçimi üzerine tanımlanmalıdır. Yani iki canlı arasındaki fayda/zarar ilişkisi yerine, o canlıların birbirine bağımlı olarak yaşayıp yaşamadıkları ve ne biçimlerde yaşadıkları göz önüne alınmalıdır. Fayda/zarar ilişkisi düşünülmediğinde ve en nihayetinde mantar ile bitki köklerinin ya da mantar ile algin birlikte var olan türler olduğu düşünülürse, bunların simbiyotik canlılar olduğunu söylemek kolaylaşır. 4 çeşit konak tipi görülebilir:

Konak: Bitki
- Mycorrhizal mantar (mineral alımını arttırır, fotosentez girdisi sağlar)
- Nitrojen bağlayıcı bakteriler (bağlanmış nitrojen sağlar, fotosentetik karbon alır)
- Endofitik mantarlar (bitkiyi gövde yiyici otçullardan korur, fotosentetik karbon alır)
- Karıncalar (bitkiyi otçullardan korur, bitki sayesinde yuvaya ve besine sahip olur)

Konak: Hayvan
- Fotosentetik alg (fotosentetik karbon sağlar ve nitrojen kaynaklarını arttırır)
- Kemosentetik bakteri (bağlanmış karbon sağlar)

- Böceklere bağlı bakteri ve mayalar (temel aminoasitleri, vitaminleri ve sterolleri sağlar)
- Selüloz-parçalayıcı mikroorganizmalar (bağırsakta yaşayarak selüloz sindirimini sağlar ve ürünleri hayvana kazandırır)
- Işık saçan (Luminescent, Luminesan) bakteriler (kamuflaj ve uyarı sinyali sağlarlar)
- Karıncalar (konaklarından bazı besin maddeleri alırlar ve konaklarını diğer hayvanlara karşı korurlar)

Konak: Mantar
- Likenler (mantar, fotosentetik karbon alır)

Konak: Protista
- Metajonik bakteriler (oksijensiz solunumu arttırırlar, metanogenez gerçekleştirirler)
- Nitrojen-bağlayıcı bakteriler (Diatomlar, siyanobakterilerden bağlanmış nitrojeni alırlar)

5.7. Simbiyotik yaşamın evrimleşmesi

Yapılan bir deneyde Amoeba proteus isimli bir protista ile Escherichia coli bakterisi arasında simbiyotik yaşam kurulmuştur. İlk etapta bakteri konağına zarar vermiştir ve bağımsız olarak yaşayan amiplere göre daha yavaş büyümesine sebep olmuştur. Ancak 18 aylık deney ve 200 nesil sonunda, bakterinin amip üzerindeki zararlı etkisi azalarak yok olmuş ve amip, bakterilerin varlığından etkilenmeden yaşamını sürdürmeye devam etmeye başlamıştır.

Bu araştırma sonucunda elde edilen bulgular, simbiyotik ilişkilerin zıt karakterlerin bir arada bulunmasından evrimleştiğini ortaya koymuştur. Yani birbiriyle alakası olmayan ve hatta birbirlerine zararlı olan türler, bir arada bulunmaları sonucu önce birbirlerine zarar vermişler, daha sonradan ise birbirlerine "alışarak" (ya da alışacak şekilde adapte olarak) birlikte yaşamaya başlamışlardır. Evrimsel olarak, bu ilişkilerin canlılara doğal ortamda avantaj sağlamasından ötürü evrimleştiği düşünülmektedir. Çünkü simbiyotik ilişki sonucunda, taraflar, karşı tarafın bazı koşulları sağlamasından ötürü, kendilerinin yaptığı bazı işleri yapmayı bırakırlar. Bu da onlara enerji açısından fayda sağlar. Örneğin bazı bitkiler, karıncaları üzerlerine çekerler ve otçullara karşı kendilerini karıncaların varlığıyla korurlar. Bu sayede, bazı diğer bitkilerin salgıladığı koruyucu salgıları üretmek zorunda kalmazlar. Güney

Amerika'daki Akasya ağaçları, alelokimyasal denen ve otçulları kovan kimyasalları salgılar. Ancak bu türün bazı popülasyonları, bir tür karıncanın bol bulunduğu bölgelerde yaşarlar ve bu karıncalar onları otçullardan korur. Bu popülasyonlarda, bu kimyasalların artık salgılanmadığı gözlenmektedir.

5.8. Mikrodizin Teknolojisi

Günümüzde nanoteknoloji ile ilgili çalışmalarda öncelikli konular arasında yer alan array teknolojileri sürekli gelişmektedir. Mikroarray teknolojisi moleküler biyoloji yöntemleriyle fizikokimya yöntemlerinin ilerlemesinin doğal bir sonucu olarak ortaya çıkan ve günümüzde halen gelişimi devam eden bir yöntemdir. Tıp, araştırma, gıda, çevre, tarım ve hayvancılık gibi birçok alanda uygulama alanı bulunan array teknolojilerinde en önemli ve kritik kısım "tanı"nın yapılmasıdır. Örneğin gıda ürünlerinin ve çevredeki kirliliğin (örneğin mikrobiyal kökenli) tanısı zorunlu/kaçınılmazdır; tıp alanında da birçok hastalığın önce tanısı yapılır, daha sonra tedavi uygulanır. Bugüne kadar birçok alanda kullanılan klasik laboratuar yöntemleriyle yapılan tanılar zahmetli ve uzun sürelidir. Günümüz teknolojisinde ise tanı moleküler düzeyde yapılmaktadır. Moleküler düzeyde tanı klasik laboratuar yöntemleriyle karşılaştırıldığında çok daha zor ve pahalıdır. Array teknolojileri "çok sayıda örneğin aynı anda", çok hızlı değerlendirildiği ve dolayısıyla çoklu tanıya olanak sağlayan, çok hızla gelişen ve yaygın uygulama alanına sahip moleküler düzeyde tanı yapan önemli bir teknoloji dalıdır. Genel olarak bir tanı sisteminde hedef molekülü seçici olarak tanıyan bir molekül ("prob") kullanılır ve bu bir taşıyıcı yüzeye (platforma) yerleştirilir (immobilize edilir). Tanıyıcı molekül ile hedef etkileştirilir, bu etkileşim sonucu ortaya çıkan sinyal bir çevirici ile ölçülebilir, sinyale dönüştürülür ve bir cihaz ile bu sinyal ölçülerek tanı gerçekleştirilir. Array teknolojisinde çok sayıda tanıyıcı molekül array platformlarına yerleştirilerek aynı anda çok sayıda hedef molekül saptanabilmektedir. Biyolojik sistemlerde tanı için genellikle biyolojik moleküller (tek sarmal oligonükleotidler, oligopeptidler, proteinler) prob olarak kullanılır. Bunların seçiminde, yüksek saflıkta üretilmiş olmaları ve array platformlarına istenilen şekilde yerleştirilmiş olmaları kritik öneme sahiptir. Array teknolojilerinde tanının yapılması için kullanılan array platformları katı (silikon waferlar, cam slaytlar, bunların metal (özellikle altın) veya polimer kaplı formları, polimerik membranlar/filmler) yüzeylerdir. Bu array platformları kullanım alanına ve

tanısı yapılacak moleküle göre istenilen desende ve istenilen molekülle modifiye edilmektedir. Array platformu üzerine tanıyıcı molekülün yerleştirilmesinden sonra tanıyıcı molekül ile hedef molekülün etkileşmesi, hedef molekülün genellikle optikçe aktif floresan boya ile etiketlenmesi ve bu etkileşimin çeşitli optik cihazlar kullanılarak ölçümü ile gerçekleştirilir. Tanı sistemlerinde etiket kullanımı pahalı ve zahmetli bir yöntemdir. Bu nedenlerden dolayı son zamanlarda etiket kullanmadan ölçüm yapılabilecek, örneğin kütle değişim esaslı (QCM) ve yine optik (SPR, elipsometre, vb.) cihazların array teknolojilerine uygulanması üzerine yoğun çalışmalar yapılmaktadır. En basit mikroarray mikroskop lamının yüzeyine binlerce DNA molekülünün noktalar halinde değişik yöntemlerle sabitlenmesiyle oluşturulur. Bir mikroskop lamına 50000 DNA noktacığı yerleştirilebilir. Bu insan genomunda bulunan gen sayısından fazladır. Mikroskop lamının üzerine bırakılan DNA'nın kaynağı hücreden alınan herhangi bir gen parçacığı olabileceği gibi cDNA, mRNA, tRNA veya yapay olarak sentezlenen oligonükleotidlerde olabilir. Günümüzde protein çip veya antibadi arrayleri olarak bilinen teknolojide ise DNA yerine aminoasit sekansları yerleştirilerek özel proteinlerin varlık ve ifade oranları da incelenebilmektedir.

6. KAYNAK ARAŞTIRMASI

İmmobilizasyon ve Fonksiyonelleştirme Çalışmaları ile İlgili Kaynak Araştırması;

Delamarche ve ark., (1997) yaptıkları çalışmada, PDMS mührünü (stamp) polar Pd^{+2} kompleksleri ile bulanması için hidrofilik polimer zincirler ile türevlendirmişlerdir. Mührü ilk olarak oksijen plazmaya maruz bırakmışlar ardından 3-aminopropiltrietoksisilan (APTES) çözeltisi ile muamele etmişlerdir. Sonraki aşamada biyokimyasal yaklaşım için oluşan amino grubu bis(sülfosuccinimidil) suberat ile reaksiyon vererek yüksek verimde fonksiyonel makromoleküller immobilize edilmiştir.

Rakhmatullina ve ark., (2007) tarafından yapılan bir çalışmada kullanılan yüzeylerin farklı olmasının film kalınlığı üzerine etkisi incelenmiştir. Bu çalışmada hazırlanan yüzeylerin morfolojilerinin incelenmesinde AFM tekniği kullanılmıştır. Hidroksillenmiş ve bimoleküler azo başlatıcı bağlı silisyum yüzeylerin yüzey pürüzlülüğü (Root Mean Square [RMS]) değerleri 0,51 ve 3,23 nm olarak ölçülmüştür. Bütil metakrilat monomeri ATRP yöntemi ile silisyum ve altın yüzeyler üzerinde polimerleştirilmiş ve film kalınlıkları belirlenmiştir.

Bain ve ark., (1989) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise, Si(111) yüzeyler 50 Å kalınlığında krom ve 100–200 nm kalınlığında altın kaplanmış ve hazırlanılan yüzeyler üzerine 11-merkaptoundekanol ve bis(11-hidroksiundesil)disülfit molekülleri kullanılarak kendiliğinden düzenlenmeler gerçekleştirilmiştir. Elde edilen yüzeyler temas açısı ölçüm cihazı, XPS ve Elipsometre ile karakterize edilmiştir.

Müler ve ark., (1993) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada ise altın yüzeyler üzerine tiyol molekülleri kullanılarak düzenlenme yapılmıştır. Elde edilen asit sonlanmış yüzeylere biyotin molekülleri bağlanarak yüzeylerin streptavidin proteinini tanıması sağlanmıştır. Streptavidin özel bir moleküldür ve yapısında biyotin molekülünün bağlanması için 4 adet aktif bölge içerir. Bu özelliği kullanılarak yüzeyler üzerinde biyolojik aktiviteye sahip yüzeyler hazırlanabilir. Yine aynı çalışmada streptavidin bağlanmış yüzeylerin protein bağlama kapasiteleri incelenmiştir. Yüzeyler SPR ve Flüoresans Mikroskobu kullanılarak karakterize edilmiştir.

Yuan ve Ooij (1997) çinko yüzeyler üzerinde organosilan molekülleri ile hazırlanılan kendiliğinden düzenlenen filmleri incelemişlerdir. Çinko yüzeylerde düzenlenmeler, 3-aminopropiltrietoksisilan ve 3-üridopropiltrietoksisilan moleküllerini kullanarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarında bu moleküllerin düzenlenmeleri üzerine

çözelti derişimi, ortam pH'sı, sıcaklık ve bekletilme süresinin etkilerini incelemişlerdir. Bütün incelemeler Elipsometre kullanılarak araştırılmıştır. Yüzeyler üzerinde düzenlenme formasyonu kalınlık ölçümlerine göre yorumlanmıştır.

Brushan ve Liu (2005) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise, Au(111) ve Si(111) yüzeyler üzerine hekzadekantiyol, 1,1'-Bifenil-4-tiyol, 16-merkaptohekzadekanoik asit ve 4,4'-dihidroksibifenil molekülleri kullanılarak hazırlanılan yüzeylerin sürtünme özellikleri incelenmiştir. Yüzeyler Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) ve temas açısı ölçüm cihazı ile karakterize edilmiştir.

Sugimura ve ark., (2002) silikon yüzeyler üzerine n-oktadesiltrimetoksisilan, n-(6-aminoheksil)aminopropiltrimetoksisilan ve fluoroalkilsilanlar kullanılarak çeşitli düzenlenmeler gerçekleştirmişlerdir. Çalışmalarında hazırlanılan filmlerin formasyonu AFM ve Elipsometre kullanılarak karakterize edilmiştir.

Hooper ve ark., (2001) altın ve silikon yüzeyler üzerinde oluşturulan amino sonlanmış kendiliğinden düzenlenen tek tabakaların Escherichia coli'yi tutma kapasiteleri araştırılmıştır. Düzenlenmeler 3-aminopropiltrietoksisilan ve 3-aminotiyofenol kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hazırlanılan yüzeyler XPS ve FT-IR ile karakterize edilmiştir. Bakteri bağlama kapasitesi ise flüoresans mikroskobu ile incelenmiştir.

Satyanarayana ve Sinha (2005) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada ise Si(100) yüzeyler üzerine oktadesiltriklorosilan ve perfloropolieter kullanılarak hazırlanan kendiliğinden düzenlenen tek tabakaların sürtünme özellikleri incelenmiştir. Hazırlanılan yüzeyler temas açısı ölçüm cihazı, AFM, XPS ve Evrensel Mikro Tribometre (UMT) cihazı ile karakterize edilmiştir.

Moses ve ark., (2007), ITO yüzeyi üzerine 12-fosforidodekanoik asidinin (12-PDA) tekli tabakasına oligonükleotitleri bağlayarak ssDNA molekülünü modifiye etmişlerdir. Her bir aşamayı FT-IR ve X-ışını fotoelektron spektroskopisi (XPS) ile karakterize etmişlerdir. Yaptıkları çalışmada substrat olarak ITO ince filmlerini kullanan çeşitli elektrokimyasal ve termografik duyarlı metotlar için yüzeye bağlılığının temelini oluşturdular. Böylece ITO ince filmlerin yüzeyi DNA modifikasyonunu geliştirmek için araştırılmıştır.

Wang ve ark., (2005) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, 11 karbonlu (11-aminoundesil) trimetoksisilan ve 18 karbonlu oktadesiltriklorosilan (OTS) molekülleri ile silikon yüzeyler üzerinde hazırlanılan filmlerin RMS değerleri sırası ile 0,230 ve 0,298 nm olarak belirlenmiştir.

Chong ve ark., (2007) dodesiltriklorosilan (DDTS), feniltrietoksisilan (PTES) ve 3-aminopropildietoksi silan (APDES) gibi silan türevleri ITO yüzeylerini modifiye etmek için kullanılmıştır. SAM modifiye edilmiş ITO üzerine N,N′-di(naftilen-1-yl)-N,N′-difenilbenzidin (NPB) filminin depozisyon etkileri çalışılmıştır. Bu filmin organik ışık yayan diyot olarak performansı değerlendirilmiştir.

Arya ve ark., (2007), ITO yüzeyi üzerine N-(2-aminoetil)-3-aminopropil-trimetoksisilan molekülünü kullanarak kendiliğinden toplanma prosesine göre tek tabaka oluşturmuşlardır. Oluşan tek tabaka üzerine $–NH_2$ uçlarına –COOH gruplarından birleşecek şekilde kolesterol oksidaz (ChOx) enzimini kovalent bir şekilde immobilize etmişlerdir. Yüzey özelliklerini su temas açısı (CA), UV-vis Spektrofotometre, Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM), FT-IR ve elektrokimyasal impedans spektroskopisinde (EIS) karakterize etmişlerdir.

Wang ve ark., (2007) 3-aminopropiltrimetoksisilan (APTES) modifiye edilen ITO elektrot yüzeyine altın nanokürecikleri (GNSs) oluşturmuşlardır. Oluşan yeni (GNSs/APTES/ITO) elektrotu hemoglobinin adsorpsiyonu için biyoyarışabilen bir yüzey sağlar. UV–vis spektrumları GNSs arayüzeyine adsorplanan hemoglobinin doğal yapıda kaldığını göstermiştir. EIS ve CV teknikleri hemoglobinin elektrokimyasal davranışlarını değerlendirmek için kullanılmıştır. Sonuçlar GNSs nin HB ve elektrot arasındaki elektron transferini kolaylaştırmak için elektron tünelleri olarak rol oynadığını göstermiştir.

Marks ve ark., (2003) iki basamakta gerçekleştirilen reaksiyonda ilk basamakta temizlenmiş cam veya Si(100) katı substrat yüzeylerini silanlama vasıtasıyla 3-aminopropiltrimetoksisilan ile silanlanmış ve ikinci basamakta iki yönlü amonyakla kapatılmış siyanür klorür ile klor ucundan bu gruba bağlanarak tek tabaka yapının büyümesi sağlanmıştır.

You (2007) ITO substratlar üzerine yüzey modifikasyonları gerçekleştirmiştir ve muamele edilen ITO yüzey özelliklerini farklı karakterizasyon teknikleri ile araştırmışlardır. AFM ve XPS metotları yüzey kabalığını ve kimyasal bileşimi ölçmek için uygulanmıştır. Standart goniometre yüzey enerjisini hesaplamak ve temas açısını ölçmek için kullanılmıştır. Alet elektrotları olarak farklı şekilde muamele edilen ITO substratlar ile polimer ışık yayan elektrokimyasal hücreler oluşturulmuş ve karakterize edilmiştir. Polimer ışık yayan elektrokimyasal hücrelerin optik ve elektriksel performansı ITO yüzeyi üzerindeki muamele metotları tarafından etkilenmiştir.

Xu ve Ko, (2000), tekli tabaka hazırlama ile ilgili çalışmalarında cam yüzeyi üzerine oktadesiltriklorosilan (OTS) bileşiğini kullanarak immobilizasyon işlemini gerçekleştirmişlerdir. Elde ettikleri modifiye yapıyı Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) ile aydınlatmışlardır. Tekli tabaka yüzeyine su damlası damlatmak yolu ile oda sıcaklığında ve hava ortamında yüzey temas açısı ölçümünü incelemişlerdir. Oluşturdukları tekli tabaka yapı olan OTS/cam molekülünün adsorpsiyon özelliğini araştırmışlardır. Sonuçta adsorban yüzeyine moleküllerin adsorpsiyonunun genellikle fiziksel olduğunu ancak bazen de moleküllerin bir kısmının yüzeye oldukça kuvvetli bağlanarak adsorban yüzeyi ile fiziksel etkileşimlerden daha kuvvetli olan kimyasal bağlarla bağlandığını belirtmişlerdir.

Kim ve ark., (2004), protein chipleri ve biyosensörlerin üretilmesi için, cam yüzeylerini bazı hidrofilik polimerleri kullanarak modifiye etmişlerdir. Yüzeyin aktivasyonu ve cam yüzeyi ile polimer filmin bir araya getirilmesi işlemi iki farklı yolla gerçekleştirilmiştir. Bunlardan birincisi, amino gruplar içeren ve yüzey ile reaksiyona girebilen polimerin cam yüzeyini kaplaması ile gerçekleştirilmiştir. İkincisi ise, polimerin serbest radikal zincir polimerizasyonu ile cam yüzeyine immobilize olmasıdır. Her iki yol ile de sentezlenen ince film yapıları, Yüzey Temas Açısı, Atomik Kuvvet Mikroskobu, Elipsometri, X-ışınımlı Fotoelektron Spektroskopisi yöntemlerini kullanarak karakterize etmişlerdir.

Gooding ve Hibbert (1999), kendiliğinden toplanan tekli tabakaların uygulamaları ile ilgili çalışmalarında proteinlerin immobilizasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Çalışmalarında altın yüzeyi üzerine önce alkentiol tekli tabakaları oluşturmuşlar ve bu tabakalar üzerine enzimlerin bağlanması sureti ile enzim elektrotların yapılmasına temel oluşturmuşlardır. Bu çalışmada enzim immobilizasyonu yanında yine enzim elektrotu yapımında kullanılan farklı immobilizasyon metotları göze çarpmaktadır. İlaveten, sensör yapımı ve modellemesi ile tekli tabaka alanındaki gelişmeleri tartışmışlardır.

Hillebrandt ve Tanaka, (2001), yarı iletken elektrot olarak kullandıkları ITO yüzeyi üzerine oktiltrimetoksisilan bileşiğinin kendiliğinden toplanan tekli tabakasını oluşturmuşlardır. Bu oluşturdukları filmin dielektrik kalınlığını, direncini elektrokimyasal olarak incelemişlerdir.

Bush ve ark., (2006) yaptıkları çalışmada, oksitlenmiş silikon substratı üzerine multitabaka veya tabaka-tabaka iletken ince film biriktirerek karakterize etmişlerdir.

Filmlerin elektriksel ve morfolojik özellikleri üzerine oksidant konsantrasyonunun ve bağlanma seviyesinin etkisi, yüksek iletkenlik ve kararlı ince film birikmesi için optimum proses koşullarını belirlemek amacıyla çalışılmıştır. Tabaka-tabaka kendiliğinden toplanma prosesini araştırmak amacıyla okside silikon substratı üzerine polianyon polimer materyali olarak sülfonlanmış polistiren ve polikatyon polimer materyali olarak da polipirol kullanmışlardır. Atomik ve elektrik kuvvet mikroskopları karakterizasyon için kullanılmıştır.

Markovich ve Mandler, (2001), ITO yüzeyi üzerine 18 karbonlu oktadesiltrimetoksisilan (OTMS) immobilize etmişlerdir ve karakterizasyonunu su Temas Açısı (CA), Dönüşümlü Voltametri (CV), FT-IR ve Atomik Kuvvet Mikroskobunda (AFM) gözlemlemişlerdir. Tekli tabakaların uygulamalarını elektroanalitik olarak tartışmışlardır.

Yang ve Li (2005), ITO yüzeyi üzerine epoksisilan monolayeri oluşturmuşlar ve bunun da üzerine Escherichia coli bakterisini immobilize etmişlerdir. Her bir aşamadaki reaksiyonları hem Atomik Kuvvet Mikroskobunda (AFM) hem de potasyum ferri ve potasyum ferro siyanat karışımında hazırlanan çözeltide elektrokimyasal impedans spektroskopisinde (EIS) yoğun, tam ve homojen bir tabaka hazırladıklarını kanıtlamışlardır.

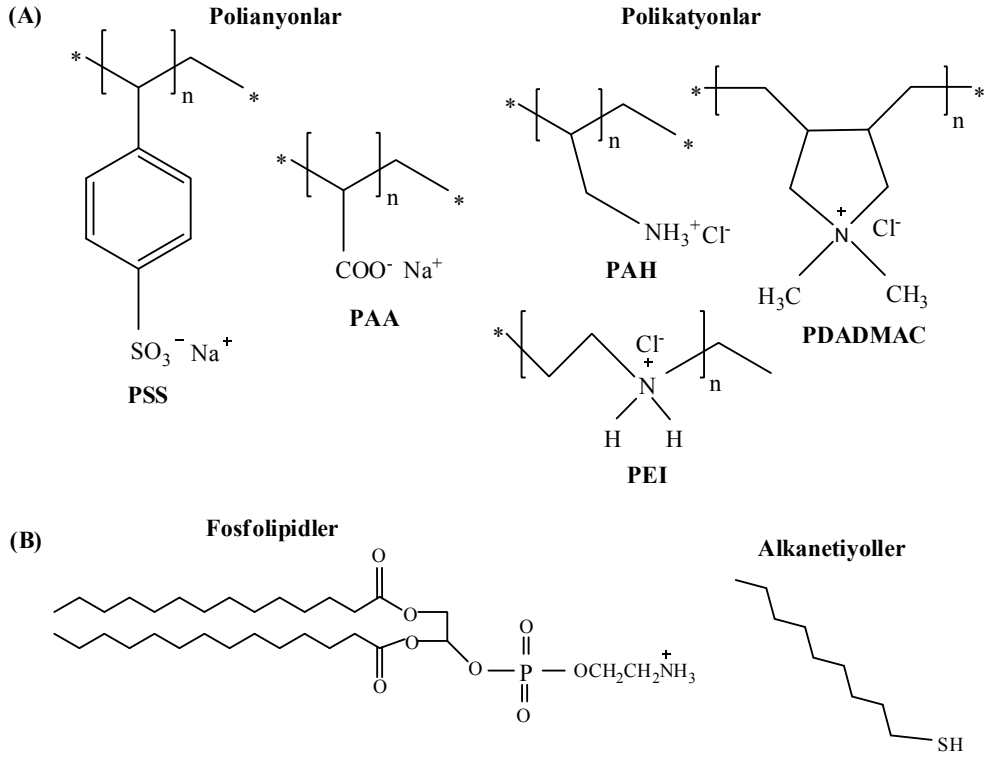
Sigal ve ark. (1996), bu çalışmada, öncelikle silikon yüzeyler üzerine 1 nm titanyum ve bu işlemi takiben 40 nm kalınlığında altın filmler oluşturmuştur. Elde edilen altın yüzeyler üzerine farklı zincir uzunluklarına sahip tiyol molekülleri kullanılarak düzenlenme sağlamışlardır. Elde edilen yüzeyler X-ışınları Fotoelektron Spektroskopisi (XPS), Yüzey Plazma Rezonans (SPR) ve Elipsometre ile karakterize edilmiştir. Yine aynı çalışmada elde edilen tek tabakalar üzerine lizozim adsorpsiyonunu incelenmiştir.

Demirel ve ark. (2007), APTS, HDA ve EDA moleküllerini kullanarak Si(001) yüzeyleri üzerinde amino uç gruplu kendiliğinden düzenlenen tabakalar dizayn etmişlerdir. Dizayn edilen yüzeylerin biyokimyasal malzemelere karşı spesifiklik göstermesi için hazırlanan yüzeylere biyotin ve streptavidin molekülleri sırası ile bağlanmıştır. Teoriksel hesaplamalar sonucu APTS ve HDA ile hazırlanılan yüzeylerin temiz Si(001)-(2x2) yüzeyinin elektronik band yapısını değiştirdiği belirlenmiştir. Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde APTS ve HDA-EDA ile hazırlanılacak akıllı biyolojik aktiviteye sahip yüzeylerin hastalıkların erken teşhisinde kullanılabilecek protein ya da DNA çip çalışmalarında verimli bir biçimde kullanılabileceği sonucuna varmıştır. Tüm

bu sonuçlar için AFM, Elipsometri, Temas Açısı ve Fluoresans Mikroskobunu kullanmıştır.

Desenleme ile İlgili Kaynak Araştırması;

Nanoteknoloji biyomoleküllerin farklı tiplerdeki yüzeylere özgül olarak adsorplanmasını ve kontrollü bir şekilde depolanmasını sağlayarak, mikro ve nanometre düzeyinde daha küçük ve daha etkili biyosensörlerin geliştirilmesine katkıda bulunmaktadır (Tuncer, 2010). Hammond ve Whitesides (1995), altın yüzeyine, mikron ölçeğinde ultra incelikteki iyonik çoklu tabaka filmlerini, iyonik fonksiyonlu alkanetiyol tekli tabakası üzerine desenlemek için bir metot geliştirmişlerdir. Bu işlemde kullanılan tipik moleküller ise Şekil 6.1'de gösterilmektedir. Chen ve ark. (1998) ise bu tipteki mikro-desenli yüzeylerin biyoteknolojik bir uygulamasını göstermişlerdir: ekstrasellüler matriksin mikrometre büyüklüğündeki adacıkları oluşturması, burada ise adacıkların oluşturduğu desen bovine ve endotelyal hücrelerin dağılımını ve pozisyonunu belirlemektedir. Tekli tabakaların birleşmesi ile meydana gelmiş bir yüzey yapısındaki grupların (örneğin, alkiller, amidler, alkoller) yoğunluğunun ve doğasının kontrolü ise proteinlerin özgül olmayan adsorpsiyonlarının araştırılması amacıyla başarılı bir şekilde kullanılmıştır (Sigal ve ark., 1998).

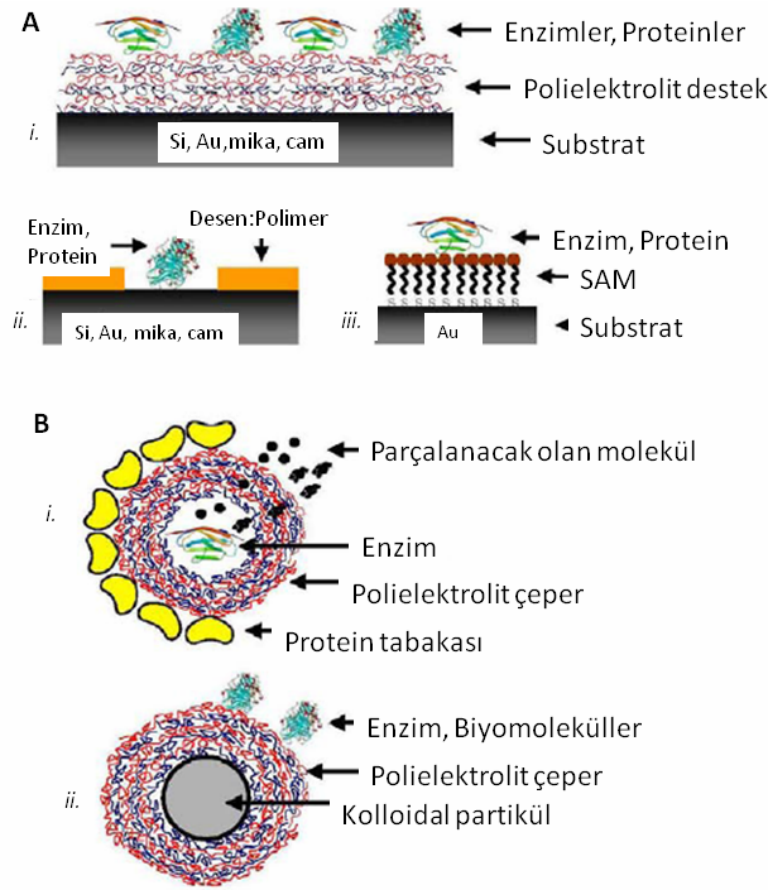


Şekil 6.1. (A) Farklı kullanılabilirlikleri nedeniyle çoklu tabaka oluşturmak amacıyla hali hazırda polielektrolitler kullanılmaktadır. PSS: poli(stiren sülfonat); PAA: poli(akrilik asit); PAH: poli(allilamin hidroklorid); PDADMAC: poli(diallildimetilamonyum klorid); PEI: Poli(etilenamin). **(B)** Fosfolipidler ve alkanetiyoller ikili-tabaka (bilayer) ve kendiliğinden toplanan tekli tabakalar (monolayer) oluşturma özelliğindedirler (Couto ve Harrera, 2006).

Lakkaz enzimlerine ilişkin olarak biyosensör duyarlılığı üzerine ise enzim tutuklanmasının önemli bir etkisi bulunmaktadır (Freire ve ark., 2001). Martele ve ark. (2003) ise katı bir yüzey üzerine lakkaz enziminin tutuklanarak çok fonksiyonlu bir biyosensör geliştirilebilmesi için, mikro-desenlemenin etkili bir metot olduğunu göstermişlerdir. Roy ve ark. (2005), Trametes versicolor kaynaklı lakkazın, çapraz-bağlı enzim kristalleri (CLEC) halinde iken çözünmüş durumdaki enzimlere göre çok daha avantajlı bir şeklide biyosensör uygulamalarında kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Cabrita ve ark. (2005), Coriolus versicolor'dan elde ettikleri lakkazı, altın üzerine kendiliğinden toplanan ve N-hidroksisuksinimid ile sonlanan tekli tabakaya tutuklamışlardır. Bu işlem biyosensörlerin daha da geliştirilmesi için kullanışlı olabileceği düşünülmektedir. Buna ilaveten, bir osmiyum redoks polimeri ve T. versicolor kaynaklı lakkaz enziminin camsı karbon elektrodu üzerine ko-tutuklanmasına dayalı bir enzim elektrodu, kateşolamin nörotransmitterleri dopamin, epinefrin ve norepnefrinin nanomolar düzeyinde belirleme limitine sahip olan ultraduyarlı amperometrik belirlenmesinde kullanılmıştır (Ferry ve Leech, 2005). Lakkaz enzimleri biyo-yakıt hücrelerinin katotlarına tutuklanarak, örneğin küçük transmitter sistemleri

için gerekli olan güç gibi, güç üretmek amacıyla kullanılabileceği önerilmektedir. (Chen ve ark., 2001; Calabrese ve ark., 2002). Biyo-yakıt hücreleri ise yakıt kullanmadan elektrik enerjisi ürettikleri için ve temiz bir enerji kaynağı sağladığı için, çevresel açıdan oldukça caziptirler. Şekil 6.2 (A)'da proteinlerin ve diğer biyomoleküllerin adsorplanmasında ve tutuklanmasında kullanılabilecek olan farklı düz yüzeyler görülmektedir. Bu düz yüzeyler ise polimerlerle ve kendiliğinden toplanan tekli tabakalar (SAM) ile oluşturulmuş ve fonksiyonelleştirilmişlerdir.

Çok iyi tanımlanmış kalınlıklardaki yüzeylerin oluşturulmasına yol açan nanometre düzeyindeki makromoleküler yapıları oluşturmak amacıyla tabaka-üstüne-tabaka (layer-by-layer; LbL) tekniği kullanılabilmektedir (Decher, 1997). Son zamanlarda, zıt yüklü polielektrolitlerin adsorpsiyonlarının değiştirilmesiyle elde edilen düz polielektrolit çoklu-tabakaları ise muhtemel bir yapay hücre çeperi oluşturmak için bakteriyal proteinlerin yeniden kristallendirilmesi amacıyla kullanılmıştır (Toca-Herrera ve ark., 2005). LbL tekniği aynı zamanda içi oyuk olan polielektrolit kapsüllerin oluşturulması için de kullanılmıştır (Donath ve ark., 1998). Enzim kristal kalıplarının yüzeyine, zıt yüklü polielektrolitlerin birbiri ardına adsorplanmasının sağlanması durumunda ise bu enzimlerin kapsül içine alınmaları sağlanmaktadır. Caruso ve ark. (2000) ise kapsül içerisine alınan enzimlerin proteaz ile 100 dk inkübe edildikten sonra dahi aktivitelerini %100 koruduklarını göstermişlerdir. Kapsül içerisine alınan enzimin fonksiyonlarını uygun bir şekilde yerine getirebilmesi için ise kapsül çeperinin geçirgenlik özellikleri oldukça önemlidir. Antipov ve ark. (2002), içi oyuk olan polielektrolit çoklu tabakasından oluşan kapsüllerin pH ve tuz derişimine bağlı olarak geçirgenlik özelliklerini araştırmışlardır. Bu araştırma ile pH≥8 olduğu koşullarda kapsül çeperinin kapandığı, fakat pH≤6 olduğu koşullarda ise makromoleküllerin kapsül içerisine girebildiği belirlenmiştir. Bu yolla, bu araştırmacılar kapsül çeperinin geri dönüşümlü olarak nasıl açılıp kapatılacağını göstermişlerdir. LbL tekniği sayesinde kapsül içerisine alma yöntemi ile birlikte bu mekanizma, mikroreaktörlerin geliştirilmesine izin vermiştir. Aynı zamanda, polielektrolitler ve fosfolipidler ile kaplanmış olan kolloidal partiküller kızamıkçık (rubella) virüsünün barındırılmasında ve aktive edilmesinde de kullanılmıştır (Fischlechner ve ark., 2005). Bu tip bir sistem ise Şekil 6.2 (B)'de gösterilmektedir.



Şekil 6.2. (A) Biyomoleküllerin tutuklanmasında kullanılabilecek iki-boyutlu supramoleküler yapılar. Bunlardan birkaç yapı uygundur: (i) polielektrolit çoklu-tabaka, (ii) mikro-desenli ve (iii) kendiliğinden-toplanan tekli-tabakalar (SAM). **(B)** Biyomoleküllerin tutuklanmasında ve mikroreaktörlerin oluşturulmasında kullanılabilecek üç-boyutlu supramoleküler yapılar. (i) İçi oyuk olan polielektrolit çeper, içerisinde proteinleri barındırabilir, moleküllerin ise polielektrolit çeperden her iki yöne de geçişine izin verir. (ii) Polielektrolitler (ve fosfolipidler) tarafından kaplanan kolloidal partikül, proteinleri ve/veya diğer tipteki fonksiyenel molekülleri barındırabilir (Couto ve Harrera, 2006).

Guan ve ark. (2004), ITO yüzeyi üzerine mikrokontakt baskılama (μCP) yöntemi ile oktadesiltriklorosilan molekülünü immobilize etmişlerdir. Ardından da anilin monomerinin çözeltisinde sulu ortamda elektrokimyasal polimerleşmesini gerçekleştirmişlerdir. Sonuçlarını Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) ve optik mikroskopta incelemişlerdir. Polimer kaplı ITO yüzeyinin elektrokimyasal oranının yani gösterdiği direncin çıplak ITO yüzeyinin gösterdiği dirençten daha yüksek olduğunu bulmuşlardır.

O'Brien ve ark. (2000), protein görüntüleme için dsDNA mikrodizinlerinin uygun şekilde oluşturulmalarını dsDNA etkileşimleriyle incelemişlerdir. Stratejilerinde kendiliğinden toplanan tekli tabaka teknolojisinin kolaylığı ile nanometre skalada yüzey

topografyasındaki değişiklikleri tespit edebilen Atomik Kuvvet Mikroskobunu birleştirmişlerdir. Altın yüzey üzerine dsDNA'nın kendiliğinden toplanması için 5 basamaklı mikrodizin oluşturma prosesi uyarlanmıştır. Deney sonuçları dsDNA mikrodizinlerinin oluşturulduğu ve protein görüntülemede kullanılabileceğini göstermiştir.

Yi ve ark. (2006), petek şeklindeki mikroyapılar üzerine Serratia marcescens'in desenlenmesini uygulayarak mikrobiyoanalitik cihazlar, mikroakışkanlar ve mikroelektromekanik sistemler için potansiyel bir uygulama olarak göstermişlerdir.

Bernotski ve ark., iki boyutlu mikron ve mikron altı polistiren dizinlerinin seçimli depozisyonu için hidrofilik karelerle hidrofobik substratın desenlenmesini model olarak kullanmışlardır. Deneyde, desenlenmiş substrata monodispers kolloidal çözelti uygulanmıştır. Kolloid substrata geldiğinde, kolloidal kürelerin iki boyutlu dizinleri hidrofilik karelerin ortasında seçimli oluşturulmuştur. Yüksek hızda fotoğraf çekebilen optik mikroskop 1 μm ve 290 nm polistiren kürelerin gözlenebilmesi için kullanılmıştır. Gözlemler sonucu kolloidin substrattan uzaklaştığı, desenin köşesinde üç fazlı temas çizgisinin oluştuğu belirlenmiştir.

Renault ve ark. (2003), katı yüzey üzerinde mikrokontakt baskılama metodunu kullanarak 100 nm ve daha düşük skalada çözünürlüğe sahip protein desenleri oluşturmayı başarmışlardır. Kullanılan elastomerik mühür 100 ve 40 nm genişlikteki çizgilerden ve 100 nm genişlikteki sütun dizinlerinden oluşmaktadır. Protein çözeltisinin konsantrasyonunun değiştirilmesiyle flüoresans etiketli antibadi gibi tek veya birkaç protein molekülünün adsorplanması mümkündür.

Hidber ve ark. (1996), yüzey üzerine bakırın mikron ve mikron altı skalada desenlerinin oluşumu için yeni bir metot geliştirilmişlerdir. Metotta bakırın seçimli depozisyonu için kataliz olarak kullanılan kolloidler mikrokontakt baskılama ile yüzeye desenlenmiştir. Substrat olarak cam, Si/SiO_2 ve polimer yüzeyleri kullanılmıştır. Bu metodun esnekliği cam (Si/SiO_2) ve polimerler gibi farklı substratlar üzerine desenleme yapılabilmesidir. Polidimetilsiloksan (PDMS)'den oluşturulmuş desenli elastomerik yapı, tetraalkilamonyum bromür ile sabitleştirilmiş palladyum kolloidleri üzerinde meydana getirilmiş ve 100 nm genişliğe sahip çizgilere sahiptir. Kolloidlerin mikrokontakt baskılanması ile kendi başına durabilen metal yapıların ve farklı kalınlıklardaki metal filmlerinin üretilmesinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Lange ve ark. (2004), DNA dizinlerinin fabrikasyonunda ilk adımın katı yüzey üzerinde DNA moleküllerinin kontrollü yerleşimi olduğunu belirtmişlerdir. Kimyasal

olarak aktive edilmiş yüzey ve elastomerik mühür kullanılarak mikron altı aralıkta yüksek çözünürlüklü DNA desenlenmesini ilk defa göstermişlerdir.

Chrisey ve ark. (1996), SiO_2 substratı üzerine desenlenmiş tekli veya çoklu DNA türlerinin oluşumu için iki tane fotolitografik metot önermişlerdir: Lazer ile desenlenme ve fotorezist ile desenleme. Diğer DNA dizin fabrikasyon tekniklerine göre burada önerilen silan desenleme metotları; saf oligomer depozisyonu, mikron seviyede çözünürlük, ticari materyallerin kullanılabilirliği ve lazer esaslı kontakt litografi tekniği gibi bazı avantajlar sunmaktadır.

Chandekar ve ark. (2007), sentetik veya biyolojik polimerler ile yüzey desenlemesi için yeni bir metot göstermişlerdir. Mikrokontakt baskılama kullanılarak altın yüzeyine desenleme yapılarak hidrofilik alanlar oluşturulmuş, kalan kısımlar ise hidrofobik bir madde ile kaplanmıştır. Hidrofilik adsorban olarak 16-Merkaptohekzadekanoik asit ve hidrofobik adsorban olarak da 1H,1H,2H,2H-perflorodekanetiyol kullanmışlardır. Fonksiyonlanmış bu altın yüzeyi, hidrofilik polimer veya biyomateryalin desenlenmesi için model olmaktadır.

Donzel ve ark. (2001), mikrodesenlenmiş PDMS mührü ve hidrofilik yüzey hazırlayarak polar bis(stearonitril) palladyum (II) diklorid maddesini baskılamışlardır. Polietilen glikol türevlendirilmiş PDMS mührünün O_2 plazma kullanılarak hidrofil hale getirilmiş PDMS'den daha kullanışlı olduğunu bildirmişlerdir.

Miao ve Helseth (2008), polielektrolit kaplanmış cam yüzeyler üzerine florosein izotiyosiyanat (FITC) etiketli bovin serum albumin adsorpsiyonun gerçekleştirmiş ve floresans mikroskobu kullanarak incelemişlerdir. Bu metot kolloidal litografi teknolojisi ile birleştiğinde iki boyutlu heterojen yüklenmiş protein desenleri oluşturulabilmiştir.

Kim ve ark., kendiliğinden toplanan teki tabakaların nanodesenlenmesi için yeni bir mikrokontakt baskılama tekniğini tanıtmışlardır. Yapmış oldukları deneyde altın substratı üzerine hekzadekanetiyol maddesinin nano deseni transfer edilmiş ve AFM ile analiz yapılmıştır.

Kohli ve ark. (2005), yaptıkları çalışmada kendiliğinden toplanma metodu ile yüzey özellikleri uyumsuz olan substratlar üzerine üç boyutlu desenlenmiş biyonanobileşimli tabakalı filmleri yüksek kalitede inşa edebilmişlerdir. İyi tanımlanmış, üç boyutlu, polielektrolit, dendrimer ve amfifilik protein içeren tabakalı biyonanobileşimli desenler kendiliğinden toplanma ile oluşturulmuştur.

Grego ve ark. (2004), modellenmiş substrat üzerine tabakalı kaplama yoluyla üç boyutlu kolloid kristal toplanmalarının fabrikasyonunu incelenmişlerdir. 4,4 μm çaplı polistiren mikroküreleri tabakası, desenlenmiş substrat üzerine toplanmıştır.

7. MATERYAL VE METOT

7.1. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler

Katı substrat yüzey olarak cam yüzey (Fisher Scientific) ve silikon wafer (100, p-typed doped) (Aldrich) kullanılmıştır. Yüzeyler çalışmaya uygun şekilde elmas kalem kullanılarak kesilmiştir. Hidroklorik asit (%37), amonyak (%25), hidrojen peroksit (%30), sodyum klorür, metilmetakrilat, sodyum akrilat, potasyum persülfat ve etilendiamintetraasetik asit (EDTA) maddeleri Merck firmasından temin edilmiştir. Poli(allilaminhidro klorid) (Mw=56,000), poli(sodyum 4-stirensülfonat) (Mw=70,000), floresein diasetat (FDA) ve floresein izotiyosiyanat-Albumin (FITC-Albumin) maddeleri Aldrich firmasından temin edilmiştir. Maya hücreleri katı formunda marketten alınmıştır. Klorella hücreleri ise yapay gölden toplanarak elde edilmiş ve uygun ortamında saklanmıştır. Polidimetilsiloksan elastomeri için kullanılan kit ise Dow Corning firmasından temin edilmiştir.

7.2. Deneysel Çalışmalarda Kullanılan Cihazlar

7.2.1. Optik ve Floresans Mikroskobu

Aktif substrat yüzeyi ve üzerlerine oluşturduğumuz biyofilmlerinin optik ve flüoresan görüntüleri Olympus BX51/BX2-FLB3-000 model ve buna bağlı CCD kamerası (DP70 Mikroskop Dijital Kamera, 12,5 milyon piksel) kullanılarak analiz edilmiştir.

Optik mikroskop, temelde iki mercek sisteminden oluşur. Bir tek sistemin (objektif) verdiği görüntü, ikinci bir sistemle (oküler) daha da büyütülür. Böylece, bir büyüteçle elde edilebilenden çok daha yüksek bir büyütme gücü sağlanır. Mikroskop, bilim ve teknolojide geniş kullanım alanı bulur. Söz konusu büyütme sınırı, ışığın bir elektromagnetik ışınım biçimi olmasının getirdiği özelliklerden ötürü, aşılamaz. Işık, bir dalga hareketi olduğundan, çok küçük cisimler çevresinde hiç etkilenmeden bükülebilir. Bu durum, çok küçük cisimlerin görülmesini engeller. Bu yüzden, 2000'den daha fazla büyütme sağlayan mikroskopların yapılabilmesine karşılık, ışığın yapısından ötürü, ayrıntılı bir görüntü elde etmek olanaksızdır. Elektron dalgalarının dalga boyları, ışığınkine oranla çok daha kısa olduğundan, 2500 angströmden (ya da 0,000025 cm)

küçük cisimleri büyütmede, elektron mikroskobu kullanılır. Objektif büyütmesi 3, 6, 10, 20, 40 ve 100 düzeyindedir. En yüksek büyütmeli objektifler yağ daldırmalı türdendir. Bunlarda, lam ile objektif ön merceği arasında bir yağ damlacığı bulunur. Mikroskop gövde silindirinin üst kesiminde oküler yer alır. Okülerin büyütme gücü çeşitli değerlerde olabilir (genellikle 6, 10 ve 15 kez). Mikroskobun toplam büyütmesi, objektif büyütmesi ile oküler büyütmesinin çarpımıyla elde edilir.

Floresans mikroskobu, aydınlanmasında güçlü kaynaklar kullanan (ultraviyole ışınları yayan, civa veya xenon yakan ark lambaları) bir mikroskop çeşididir. Bazı modellerinde lazer kullanımı da gözlenen mikroskopta obje, ışığı absorbe eden moleküller içeriyorsa onu farklı renklerde yayar. İnceleme yapılacak materyalde özel boyalar ve özel inceleme işlemleri kullanılır. Bazı maddeler (uranyum cevheri, uranyum camı, yağ damlacıkları, aesculin solusyonu, kinin sülfat, çeşitli boyalar, v.s.) ultraviyole ışınlarına maruz bırakılırsa ışıklı hale gelirler. Eğer, doku, hücre ve bakteriler flüoresans boyalarla boyanırlarsa ve UV-ışınları altında mikroskopta incelenirse, ışık saçan parlak cisimcikler halinde görülürler. Bu amaçla kullanılan boyalar; auramin O, acridine orange R, berberine sulfate, primulin, thioflavin S, trypaflavin, thiazo-sarısı G, corifosfin O, fluorescein, rheonine A, rhodamine B, morin, v.s.dir.

7.2.2. Yüzey Temas Açısı Ölçme Cihazı (Contact Angle)

Aktif substrat yüzeyi ve üzerlerine oluşturduğumuz biyofilmlerinin KSV CAM 200 model su temas açısı kullanılarak yüzeylerin hidrofobik ve hidrofilik açıları ölçülmüştür.

"Temas açısı" kısaca, bir sıvının katı bir yüzey ile yaptığı açı olarak tanımlanmakta ve yüzey özelliklerine bağlı olarak değişik değerler almaktadır. 1960'ların başında biyomalzeme yüzeylerinin hidrofilik ya da hidrofobik niteliğinin belirlenmesi gereksiniminin ortaya çıkmasıyla, temas açısı değerlerinin kullanımı düşüncesi önem kazanmıştır. Thomas Young, bir sıvının bir katı yüzeyini ıslatmasının ve bu yüzey üzerine yayılmasının, temas açısı ile ilişkisini tanımlamada, ilk doğru yaklaşımı ileri sürmüştür. Temas açısı ölçümü, katı yüzeylerin yüzey özelliklerini belirlemek amacıyla kullanılan oldukça pratik ve kullanışlı bir tekniktir. Temas açısı ölçüm yönteminin en çok kullanıldığı uygulama türü, yüzeye damlatılan sıvıya göre yüzeyin nasıl bir tepki verdiğidir. Örneğin; yüzeye su damlatılmasıyla ölçülen yüzey temas açısı ne kadar yüksekse, bu yüzeyin hidrofobik özelliğinin; temas açısı ne kadar

düşükse, bu yüzeyin hidrofilik özelliğinin o kadar baskın olduğu söylenir. Ayrıca yüzeye, farklı pH'larda (pH=2; 4; 6; 8; 10; 12'de) tampon çözeltiler damlatılarak, temas açıları ölçülür. Elde edilen temas açılarına karşılık pH değerleri grafiğe geçirilerek yüzeyin pH'a duyarlılığı incelenebilir. Bu özelliklerinden faydalanılarak yalın bir yüzey ile modifiye bir yüzey karşılaştırılabilir.

7.2.3. Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM)

Silikon wafer yüzeyinin topoğrafisini angstrom (Å) mertebesinden 100 mikrona (μ) kadar moleküler düzeyde yüzey görüntüleme amacıyla kullanılan ve hassas bir iğnenin yüzeyi taramasıyla, yüzeyin yüksek çözünürlüklü 3-boyutlu görüntüleri, Veeco diCaliber modelinde tapping modda alınmıştır.

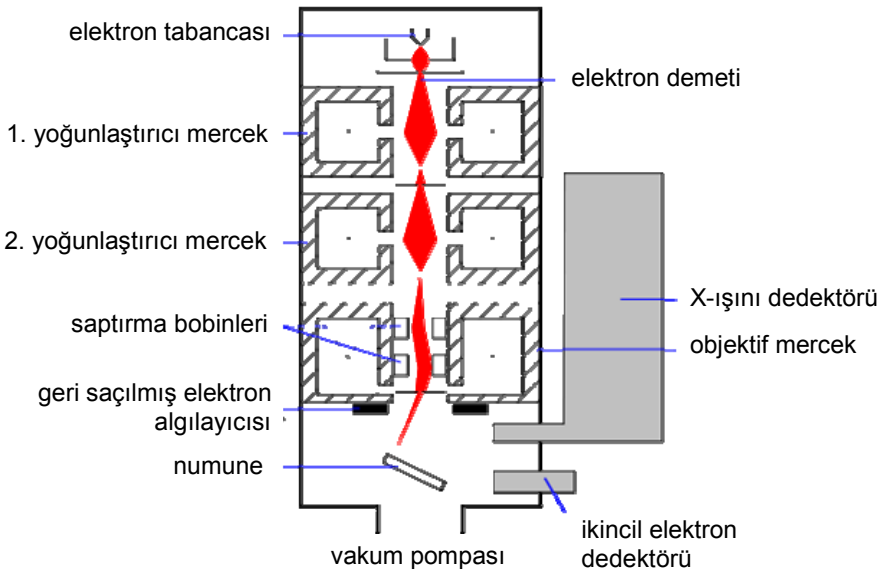
Atomik kuvvet mikroskobu bir yüzeyin özelliklerini inceleme olanağı sağlar. Burada kullanılacak numuneler iletken olmak zorunda değildir. Dolayısıyla AFM iletken olmayan numuneler için uygulanabilir. AFM sayesinde hemen hemen her türlü numune yüzeyi hakkında morfolojik bilgi almak mümkündür.

AFM tipi ile örnek arasında elektrostatik, van der Walls, sürtünme ve magnetik kuvvet gibi güçler söz konusudur. Bundan dolayı AFM sayesinde her türlü örnek incelenebilir. Bu sistemde kuvvete karşı duyarlı bir ucu iğneli (tip) denge çubuğu numune üzerinde raster düzeninde tarama yapar. AFM'de silisyum, silisyumoksit veya silisyumnitrürden yapılmış keskin bir tip (iğne), genellikle silisyum oksitten yapılan cantilever adı verilen ve belli bir kuvvet sabitine sahip denge çubuğuna bağlanmıştır. Denge çubuğu yüzeye yaklaştırıldığında, tip ile yüzey arasında yukarıda bahsedilen güçlerin oluşumu nedeniyle denge çubuğunda küçük oynamalar olur ve bu oynamaların optik araçlarla ölçülmesi ile yüzey morfolojisi tespit edilir. Söz konusu denge çubuğunun yüzeyi taraması tipin sürekli olarak yüzeyle teması ile mümkündür. Ancak bu durumda yüzeyin hasar görmesi ve görüntünün bozulması kaçınılmaz olur. Bunu önlemek için tip yüzeye sadece çok kısa sürelerle periyodik olarak temas edip sonra tekrar yüzeyden uzaklaşır. Cantilever'da oluşan hareket uç üzerine yansıtılan lazer yardımı ile dedektöre gönderilir ve böylece yüzey morfolojisi oluşturulmuş olur.

7.2.4. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

Taramalı elektron mikroskobu (Scanning Electron Microscope, SEM), elektron demetinin incelenen örneğin yüzeyi ile yaptığı fiziksel etkileşmelerin (elastik, elastik olmayan çarpışmalar ve diğerleri) sonucunda ortaya çıkan sinyallerin toplanması ve incelenmesi prensibine dayanarak görüntü elde eden elektrooptik prensipler çerçevesinde tasarlanmış bir cihazdır. Taramalı Elektron Mikroskobu, birçok dalda araştırma-geliştirme çalışmalarında kullanımının yanında, mikro elektronikte yonga üretiminde, sanayinin değişik kollarında hata analizlerinde, biyolojik bilimlerde, tıp ve kriminal uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır.

Taramalı elektron mikroskobunda görüntü, yüksek voltaj ile hızlandırılmış elektronların numune üzerine odaklanması, bu elektron demetinin numune yüzeyinde taratılması sırasında elektron ve numune atomları arasında oluşan çeşitli girişimler sonucunda meydana gelen etkilerin uygun algılayıcılarda toplanması ve sinyal güçlendiricilerinden geçirildikten sonra bir katot ışınları tüpünün ekranına aktarılmasıyla elde edilir. Modern sistemlerde bu algılayıcılardan gelen sinyaller dijital sinyallere çevrilip bilgisayar monitörüne verilmektedir. Gerek ayırım gücü, gerek odak derinliği gerekse görüntü ve analizi birleştirebilme özelliği, taramalı elektron mikroskobunun kullanım alanını genişletmektedir.



Şekil 7.1. Taramalı elektron mikroskobunun şematik görünüşü.

Taramalı elektron mikroskobu, optik kolon, numune hücresi ve görüntüleme sistemi olmak üzere üç temel kısımdan oluşmaktadır (Şekil 7.1). Optik kolon kısmında; elektron demetinin kaynağı olan elektron tabancası, elektronları numuneye doğru hızlandırmak için yüksek gerilimin uygulandığı anot plakası, ince elektron demeti elde etmek için yoğunlaştırıcı mercekler, demeti numune üzerinde odaklamak için objektif merceği, bu merceğe bağlı çeşitli çapta apatürler ve elektron demetinin numune yüzeyini taraması için tarama bobinleri yer almaktadır. Mercek sistemleri elektromanyetik alan ile elektron demetini inceltmekte veya numune üzerine odaklamaktadır. Tüm optik kolon ve numune 10^{-4} Pa gibi bir vakumda tutulmaktadır. Görüntü sisteminde, elektron demeti ile numune girişimi sonucunda oluşan çeşitli elektron ve ışımaları toplayan dedektörler, bunların sinyal çoğaltıcıları ve numune yüzeyinde elektron demetini görüntü ekranıyla senkronize tarayan manyetik bobinler bulunmaktadır.

Deneysel çalışmalarda tasarlanan kolloidlerin desenlenmesi ve biyofilm uygulamalarına ait SEM görüntüleri Zeiss marka LS-10 ve Zeiss marka EVO 60 modellerinde alınmıştır. İnceleme sırasında örnek üzerine gönderilen elektronlar örneğe yük kazandırır. Bu da görüntünün kalitesini ve çözünürlüğünü bozar. Bu nedenle SEM de incelenecek numune iletken olmalı, böylece yükü üzerinde tutmamalıdır. Ayrıca yüzeyin kusursuz görüntülenebilmesi için elektronları yansıtacak bir madde ile kaplanması gerekir. Bu yüzden SEM görüntüleri alınırken altın kaplama yapılarak daha iyi bir görüntü elde edilmiştir.

7.2.5. Zeta Potansiyel Ölçüm Cihazı

Kolloidin yüzey yük yoğunluğunu ölçmek için Malvern Zeta Potansiyel cihazı (Malvern Zetasizer 3000HS) kullanılmıştır. Zeta potansiyel, taneler arasındaki itme veya çekme değeri ölçümüdür. Zeta potansiyel ölçümü dağılma mekanizmaları ile ilgili ayrıntılı bilgi verir ve elektrostatik dağılma kontrolünün anahtarıdır. Belli bir yükteki tane, süspansiyon içerisindeki karşı yükteki iyonları çeker, sonuç olarak, yüklü tanenin yüzeyinde güçlü bir bağ yüzeyi oluşur ve daha sonra da yüklü tanenin yüzeyinden dışa doğru yayılmış bir yüzey oluşur. Yayılmış bu yüzey içerisinde "kayma yüzeyi" diye adlandırılan bir sınır bulunur. Yüklü tane ve onun etrafında bulunan iyonların kayma yüzey sınırına kadar olan kısım tek bir parça olarak hareket eder. Bu kayma

yüzeyindeki potansiyel zeta potansiyeli olarak isimlendirilir ve hem tanenin yüzey yapısından hem de içinde bulunduğu sıvının içeriğinden etkilenir. Tanelerin polar sıvılar içerisindeki davranışlarını yüzeylerindeki elektrik yükü değil, zeta potansiyel değerleri belirler.

7.2.6. Ultra saf su Cihazı

Silikon wafer yüzeylerimizi temizlemek ve aktifleştirmek, ayrıca çözeltilerin hazırlanmasında ve deney aşamalarının tümünde Millipore Milli-Q Plus (18.2 MΩ.cm) cihazı kullanılarak elde edilen ultra saf su ve deiyonize su kullanılmıştır.

8. DENEYSEL KISIM

Deneysel kısım aşağıdaki aşamalardan oluşmuştur;

- ✓ Yüzey temizliği ve aktivasyonu,
- ✓ Kolloidal maddenin sentezi ve karakterizasyonu,
- ✓ Yüzeyin mikrokontakt baskılama metodu ile desenlenmesi,
- ✓ Yüzeyin karakterizasyonu,
  - Optik ve Floresans Mikroskopisi
  - Yüzey Temas Açısı Ölçme cihazı (Contact Angle)
  - Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM)
  - Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM)
- ✓ Biyofilm uygulaması (biyomateryallerin yüzeyde desenlenmesi ve süspansiyon ortamına alınması)

8.1. Substratların Temizliği

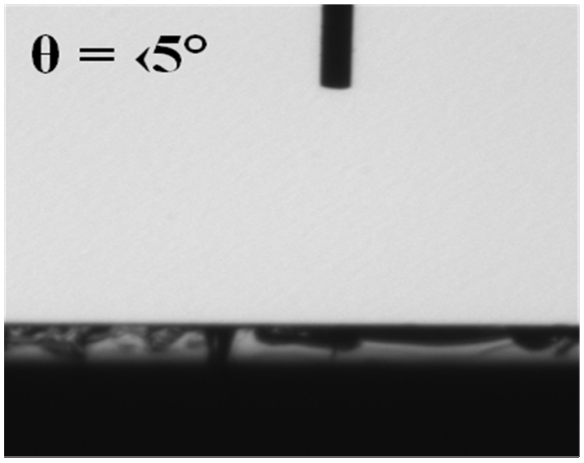
Çalışmalarımızda katı substrat olarak cam yüzeyi ve silikon wafer'lar kullanılmıştır. Kullanılan silikon wafer'lar (100) yapısında, çapları 75 mm ve kalınlıkları 500–550 μm olan yüzeylerdir. Bu yüzeylerin üst kısmı parlatılmış arka yüzü ise aşındırılmış durumdadır. Gerçekleştirilecek biyofilm aşamaları için öncelikle kullanılacak silikon wafer ve cam yüzeyler 25 mm×25 mm boyutlarında kesilerek temizlenmesi ve hidroksillenmiş yüzeylerin hazırlanması gerekmektedir. Ultrasonik banyo, çok yüksek genlikli ses dalgaları oluşturur. Bu ses dalgaları sıvı içerisinde duran dalgalara sebep olurlar. Girişim neticesinde oluşan tepeler ve düğümler, solü sıkıştırır ve bırakır. Bırakma sırasında sıvıda birçok küçük baloncuk oluşur. Sıkıştırma sırasında bu balonlar sönerler ve bu sırada meydana gelen kuvvet, kirlilikleri yüzeyden söker. Ultrasonik banyo, taşıyıcı üzerindeki yarıklara veya köşelere sıkışmış olan kirlerin temizlenebilmesi açısından, taşıyıcı temizliğinde önemli bir safhadır. Temizleme işleminde, yüzeyler ultrasonik banyoda 60 °C'de sabunlu su ile 30 dakika muamele edildikten sonra saf su ile durulama işlemi yapılmıştır. Daha sonra ultrasonik banyoda etil alkol ile 15 dakika organik kirliliğin uzaklaştırılması için yıkanmıştır. Temizlenmiş olan yüzeyler, nemden etkilenmeyecekleri kapalı bir ortamda muhafaza edilirler. Yıkanan yüzeyler bu işlemden sonra 1:1:5 (v/v) (NH_3:H_2O_2:H_2O) (RCA1) çözeltisi

içerisinde 65 °C'de 30 dakika bekletilmiştir. Daha sonra, yüzeyler ultrasonik banyoda saf su ile tekrar yıkanmıştır. Bu işlemden sonra, yüzeyler 1:1:5 (v/v) ($HCl:H_2O_2:H_2O$) (RCA2) çözeltisi içerisinde 65 °C'de 30 dakika bekletilmiştir. Son olarak yüzeyler saf su ile yıkanmış ve azot gazı ile kurutulmuştur. Yüzeyler bekledikçe hidroksil özelliğini yitirdiğinden dolayı hazırlanan yüzeyler her zaman kaplama işleminden önce hazırlanmalıdır.

Yüzeyler aktifleştirildikten sonra yüzeyi aşağıdaki mekanizmaya göre negatif yüklenmiştir.

$$SiOH \rightleftharpoons SiO^- + H^+$$

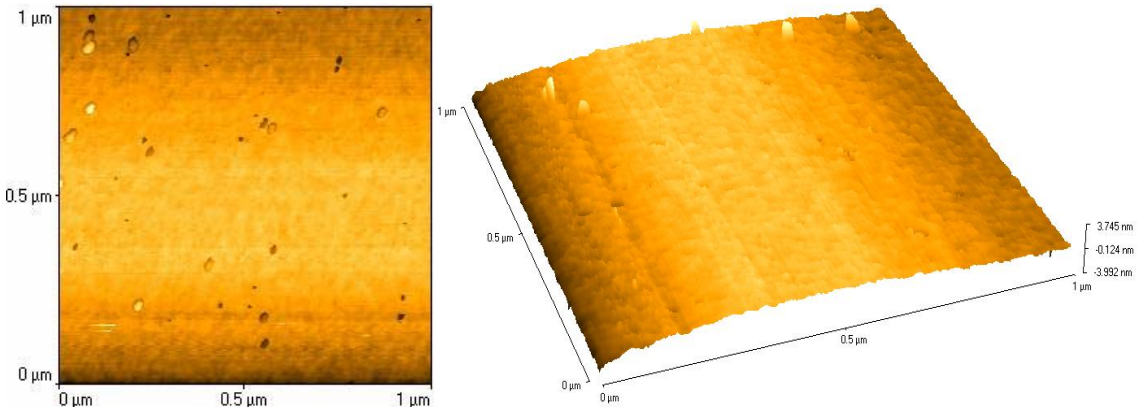
Temizleme ve aktifleştirme işleminin kontrolü için yüzeyin su temas açısı ölçümü alınmıştır. Yüzey temas açısı cihazında yüzeyin hidrofilik veya hidrofobik karakterde olduğu, yüzeye su damlatılarak belirlenir. Bu durumda yüzey hidrofilik ise damlatılan suyun yüzeye tamamen dağılması ve temas açısının "0" a yakın değerler alması beklenir. Ancak yüzey hidrofobik ise damlatılan su yüzeyde dağılmaz ve temas açısı daha yüksek değerler alır. Yüzeyin 5 farklı bölgesinden temas açısı ölçülmüş ve temiz ve aktif yüzeyimizin temas açısının <5° olduğu görülmüştür (Şekil 8.1). Bu değer yüzeyin oldukça hidrofilik olduğunu göstermektedir. RCA ile aktifleştirme sonucu yüzeydeki hidroksil gruplarının artması yüzeyi oldukça polar özellikte yani hidrofilik yapmıştır.



Şekil 8.1. Temizlenmiş ve aktifleştirilmiş yüzeyin su temas açısı ölçümü.

Aktive edilen katı yüzeylerin morfolojik özellikleri için Atomik Kuvvet Mikroskobu kullanılmıştır. Tapping Mode ile alınmış yüzey görüntüsü Şekil 8.2'de verilmiştir. 1 μm alanda tarama yapılmış ve hem iki boyutta hem de üç boyutta

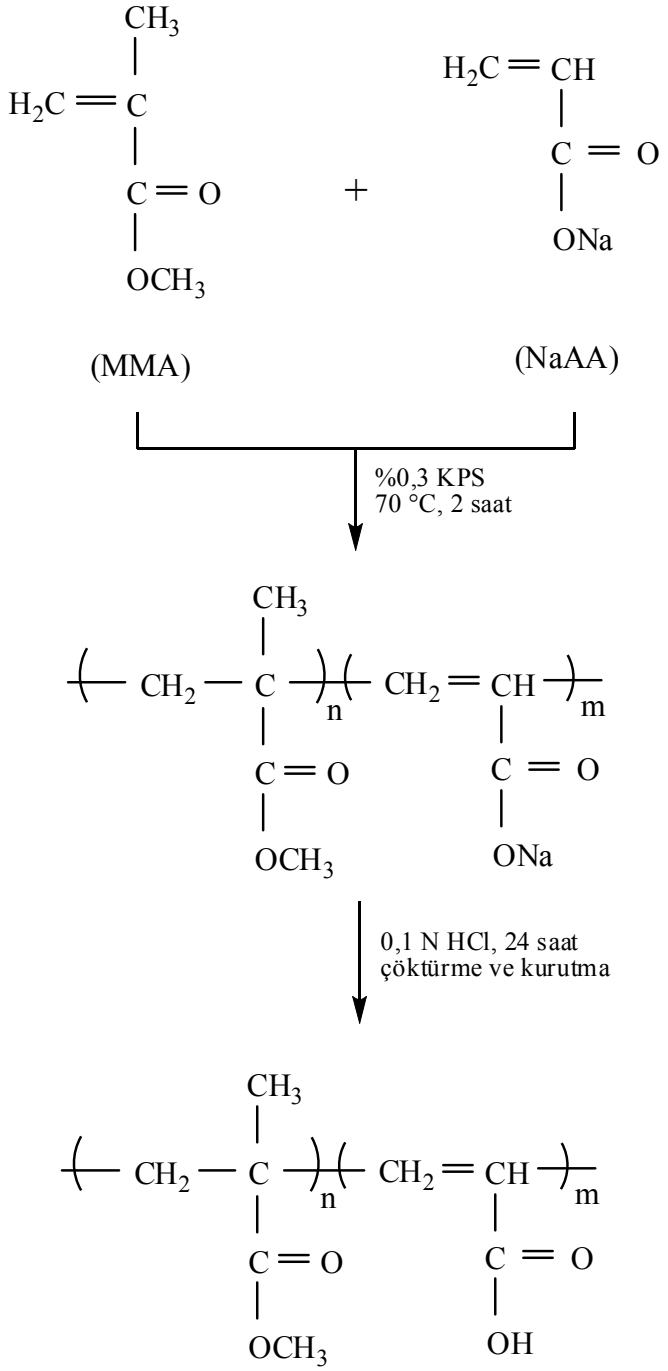
görüntüleri alınmıştır. Hidroksillenmiş yüzeyin yüzey pürüzlülüğü değerleri R_a (Area Roughness) ve RMS (Root Mean Square) değerleri sırasıyla 0,8750 nm ve 0,9205 nm olarak ölçülmüştür.



Şekil 8.2. Temizlenmiş ve aktifleştirilmiş cam yüzeyinin AFM görüntüsü.

8.2. Poli(metilmetakrilat-ko-akrilikasit), PMMA-AAc, Kopolimerinin Sentezi

Polimerleşme su ortamında, suda dağılmayan monomerler kullanılarak emülgatörsüz emülsiyon polimerizasyonu yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. 0,1 mol (10,014 g, 10,70 mL) metil metakrilat ve 0,02 mol (1,88 g) sodyum akrilat monomerleri üç boyunlu cam balona konulmuştur. Üzerine 100 mL saf su ilave edilmiş ve karışım üzerinden 20 dakika N_2 geçişi sağlanmıştır. Sıcaklık 70 °C'ye getirilerek üzerine 0,0357 g (monomere oranla 0,3 w%) potasyum peroksi disülfat başlatıcısı ilave edildi. Karışım 2 saat süreyle 70 °C'deki yağ banyosunda karıştırılarak N_2 gazı altında polimerleşmeye bırakıldı. Elde edilen kopolimer 0,1 M HCl ile 24 saat süreyle karıştırılarak doplandı. Elde edilen toz halindeki polimer kürecikleri süzülerek deiyonize su ile defalarca yıkandı. 40 °C'deki vakumlu etüvde (P=15 mmHg) 48 saat süreyle kurumaya bırakıldı (Şekil 8.3).

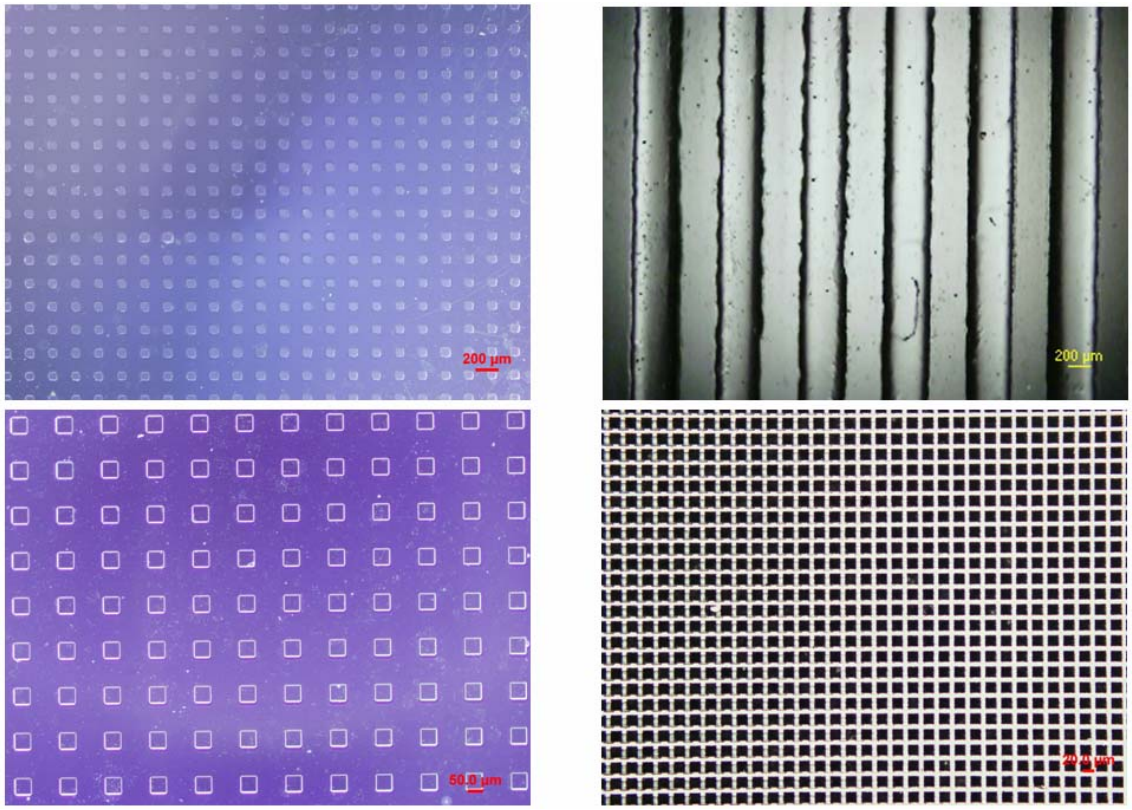


Şekil 8.3. PMMA-AAc kopolimerinin sentez aşamaları

8.3. Mikrokontakt printing için PDMS Hazırlanması

PDMS prepolimeri, ticari olarak satılan Sylgard 184 silikon elastomer (Dow Corning) kullanılarak hazırlanmıştır. Buna göre PDMS elastomeri kendi özel çözücüsü (curing agent) ile 10:1 (w/w) oranında alınarak iyice karıştırılır. Karıştırma esnasında

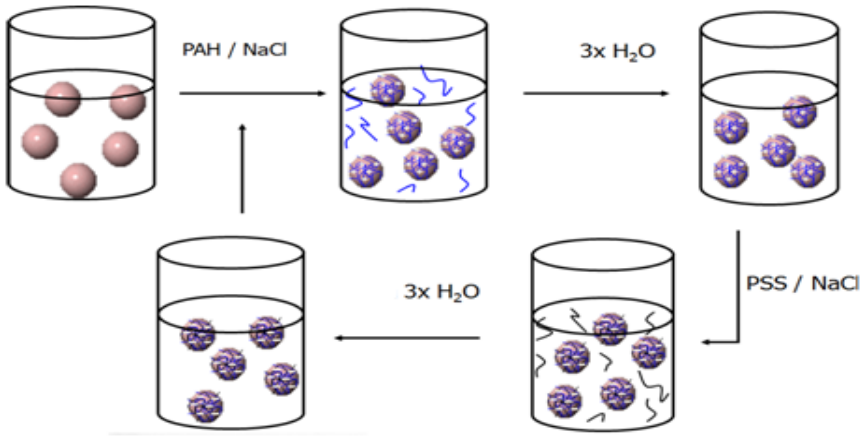
meydana gelen hava kabarcıklarını uzaklaştırmak için vakum altında çözelti bekletilir. Hava kabarcıkları bittikten sonra çözelti daha önce Hull Üniversitesi (İngiltere) Fizik Bölümü Laser Laboratuarında hazırlanan farklı kalınlıklardaki master stamp'ler (Şekil 8.4) üzerine dökülür ve 60 °C'de 12 saat bekletilir. Ardından PDMS elastomer dikkatli bir şekilde master'dan ayrılarak PDMS stampı hazırlanmış olur.



Şekil 8.4. Farklı kalınlıklardaki master'ların ışık mikroskobu ile alınmış görüntüleri.

8.4. Katı Yüzey Üzerine PMMA-AAc Kolloidinin Desenlenmesi

Sentezlenen PMMA-AAc kolloidinin yüzeyi negatif yüklenmiştir. Polielektrolitler kullanılarak hem yüzey alanı hem de yük yoğunluğu artırılabilir. Bu yüzden (–) yüklenmiş kolloid yüzeyi önce PAH ile ardından PSS ile muamele edilerek ve aralarda saf su ile yıkamak suretiyle tabakalı kaplama yöntemi uygulanmıştır. Bu şekilde PAH/PSS tabakaları istenilen sayıda arttırılabilir (Şekil 8.5). Kolloid yüzeyine uygulanan bu işlemler zeta potansiyel analizleri yapılarak kontrol edilmiştir.



Şekil 8.5. Kolloid yüzeyinin tabaka tabaka kaplanmasına ait şematik gösterim.

Son olarak yüzeyi pozitif yüklenmiş PMMA-AAc kolloidi ultrasaf su içerisinde dağıtıldıktan sonra ultrasonik banyoda bir müddet sonikasyon işlemi yapılır. Ardından daha önce hazırlanan PDMS ile kolloid çözeltisi muamele edilir ve azot gazı altında hafifçe kurutulur. Yüzeyi aktifleştirilmiş cam yüzeyimizin üzerine kolloid ile muamele edilmiş PDMS hafifçe bastırılarak yüklü kolloidlerin cam yüzeyine transferi gerçekleştirilir.

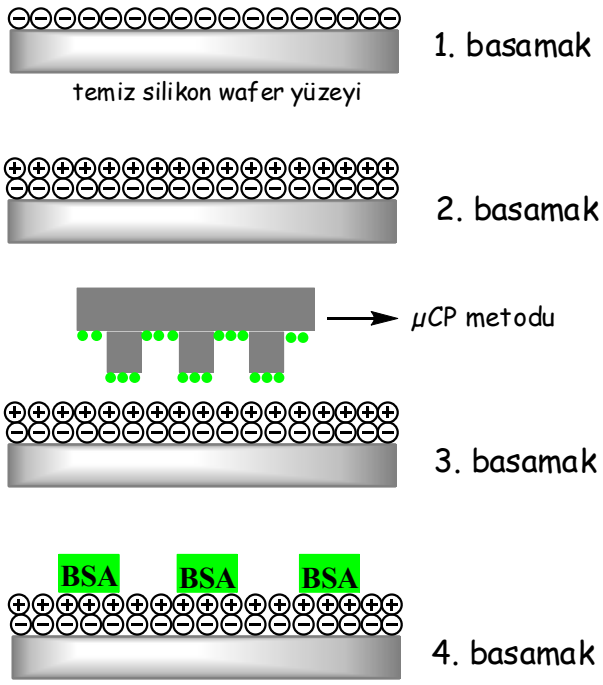
8.5. Desenlenmiş PMMA-AAc Kolloidi Üzerine Biyomolekül Adsorplanması

Elde ettiğimiz PMMA-AAc desenlenmiş cam yüzeyimizi bir petri kabı içerisinde tutarak üzerine 5 mg/mL konsantrasyonda ultrasaf su içerisinde çözünmüş FITC-Albumin çözeltisinden ilave edilir. Cam yüzeyimizi çözelti içerisinde 30 dakika kadar oda sıcaklığında beklettikten sonra cam yüzeyi saf su ile yıkanır ve azot gazı ile kurutulur. Ardından floresans mikroskobu altında cam yüzeyi incelenir.

8.6. FITC-Albuminin Silikon Wafer Yüzeyine Polielektrolitler Kullanılarak Desenlenmesi

FITC-Albuminin ve temizlenip aktifleştirilmiş silikon wafer yüzeyimizin negatif yükle yüklü olması proteinin yüzeye adsorplanmasına veya desenlenmesine izin vermeyecektir. Bu yüzden elektrostatik etkileşimin gerçekleşmesi için silikon wafer

yüzeyinin ya da FITC-Albuminin yükünün pozitif olması gerekecektir. Silikon wafer yüzeyinin yükünün pozitif yapılması daha kolay olduğu için negatif yüklenmiş silikon wafer yüzeyimizi pozitif yüklü PAH (10 mg/mL) çözeltisi içerisinde oda sıcaklığında 20 dk kadar beklettikten sonra saf su ile yüzey yıkanır ve azot atmosferi altında kurutulur. Sonrasında mikrokontakt baskılama için hazırlanan PDMS 5 mg/mL konsantrasyondaki FITC–Albumin çözeltisi ile muamele edilir ve azot atmosferi altında hafifçe kurutulur. Ardından FITC-Albumin ile muamele edilmiş PDMS artık pozitif yüklenmiş yüzeyimizin üzerine konularak baskılama işlemi yaklaşık 30 saniye süreyle uygulanır. Baskılama işleminden sonra yüzey saf ile yıkanıp yine N_2 gazı ile kurutulur. Tüm bu işlemler Şekil 8.6'da şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 8.6. FITC-Albuminin silikon wafer yüzeyine doğrudan desenlenmesine ait izlenen yol.

8.7. Biyofilm Uygulamaları

Mevcut teknolojiler virüs, DNA, protein gibi biyomateryallerin depolanması için pahalı, kapsamlı ve yorucu kimyasal modifikasyon teknikleri gerektirmektedir. Biyolojik materyaller genelde çevreye karşı oldukça hassasdır ve kararlılıklarını, aktivitelerini, uzun ömürlülüklerini sağlamak için pahalı ve çok spesifik materyallere ihtiyaç duymaktadırlar. Oda sıcaklığında çok uzun süre kararlı kalabilen birkaç biyolojik materyal mevcuttur. Sonuçta, biyolojik materyaller oda sıcaklığında kararsız

olarak düşünülmektedir. Örneğin virüsler ve bakteriler, sıcaklık ve metabolite hassasiyetlidirler, aktivitelerini korumaları için sürekli besleme ve uygun hava şartları gerekmektedir.

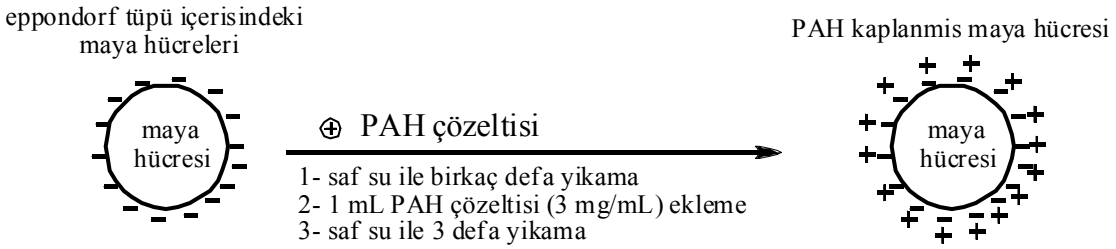
Biyolojik materyallerin depolanması ve muhafaza edilmesi için birkaç metot vardır. Genellikle düşük sıcaklıkta saklama metodları veya dondurarak kurutma (oda sıcaklığında %10'luk gliserol içerisindeki materyalin -20 °C'den -80 °C'ye kadar sıcaklıklara getirilmesi gibi) veya polietilen glikol modifikasyon teknikleri kullanılmıştır. Çok aşırı soğutma metodu hem avantaj hem de dezavantaj sunmakla birlikte diğer bir seçenektir. Çok aşırı soğutma pahalı olmamasına rağmen büyük çapta kullanım için uygun değildir. Dondurarak kurutma ise büyük çapta kullanılabilir ama hassas biyolojik materyallere oldukça zarar verir. Dondurarak kurutma metodu ayrıca çok zahmetli, steril olmayan, pahalı maddeler (kuru buz veya diğer soğutma maddeleri gibi) gerektiren bir metotdur.

Son zamanlarda mikrometre skaladan nanometre skalaya proteinlerin mikrodesenleri ve mikrodizinleri; daha hassas floresans veya elektriksel belirlemede ve böylece biyosensörlerde, doku mühendisliğinde ve hücre biyolojisinin önemli çalışmalarında önemli bir rol oynamasından dolayı çok dikkat çekmişlerdir. Mikrodesenlerin ve mikrodizinlerin önemli özellikleri uygun substratlara proteinlerin adsorpsiyonuyla belirlenebilir. Bu yüzden cam yüzeyi üzerine adsorpsiyonlar floresans ölçümlerin daha kolay olması için biyolojik belirlemelerde çok önemlidir. Bu kısımda katı yüzey üzerinde maya ve klorella hücrelerinin biyofilminin oluşturulması ve biyofilmin tabakalı kaplama metodu kullanılarak desenlenmesi ve ardından süspansiyon ortamına transferi araştırılmıştır.

8.7.1. Maya Hücrelerinin PAH ile Kaplanması

Kuru maya hücreleri eppendorf tüpü içerisine (0,08 g civarında) alınır ve çalkalayıcı/karıştırıcı kullanılarak 3000 rpm hızda 3 kere saf su ile yıkanır, her aşamada ultrasantrifüj kullanılarak 3000 rpm hızda 3 dakika süreyle maya hücreleri eppendorf tüpünün dibine çöktürülür. Yıkama işlemi bittikten sonra maya hücreleri bulunan tüp içerine 0,15 M NaCl çözeltisi içinde çözünmüş ve konsantrasyonu 3 mg/mL olan 1 mL PAH çözeltisi eklenir. 20 dakika süreyle eppendorf tüpü karıştırılır. Ardından saf su ile yıkama işlemi yukarıda anlatıldığı gibi tekrarlanır. Buradaki amaç zayıf bağlanmış ve

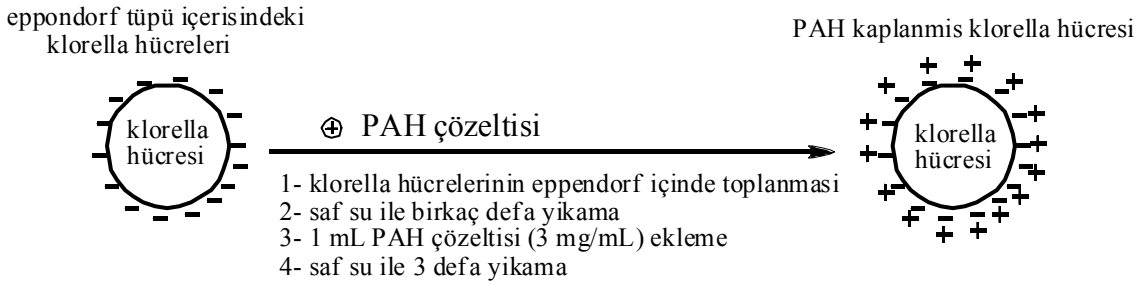
ortamda kalan fazla PAH'in uzaklaştırılmasıdır. Sonuçta PAH kaplanmış maya hücreleri elde edilir (Şekil 8.7).



Şekil 8.7. Maya hücresinin yüzeyinin pozitif yüklü hale getirilmesine ait izlenen yol.

8.7.2. Klorella Hücrelerinin PAH ile Kaplanması

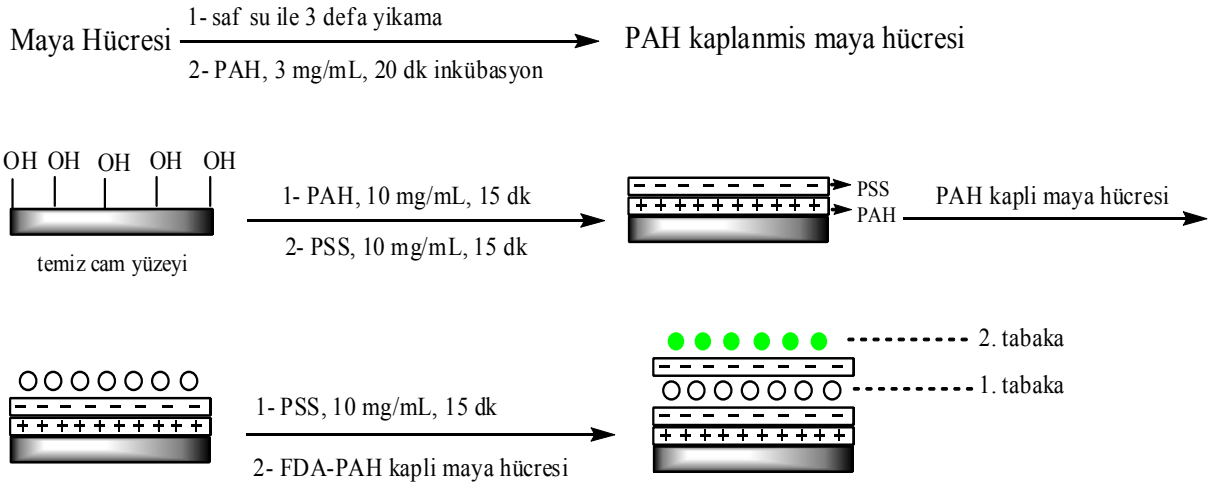
Klorella hücrelerinin bulunduğu çözeltiden bir pipet yardımıyla eppendorf tübünün içine bir miktar alınır ve ultrasantrifüj kullanılarak 3000 rm hızda 3 dakika süreyle hücrelerin dibe çökmesi sağlanır. Tüpün üst tarafı uzaklaştırılır ve tekrar hücrelerin bulunduğu kaptan eppendorf tüpüne eklenir. Aynı şekilde ultrasantrifüjle hücreler dibe çöktürülür. Birkaç tekrardan sonra eppendorf tüpünde yeteri kadar hücre elde edilmiş olur. Ardından bu hücrelerin üzerine saf su ilave edilerek 37 °C'deki su banyosunda 20 dakika tutulur. Daha sonra 11 μm'lik süzgeç kağıdı kullanılarak süzme işlemi gerçekleştirilir. Buraya kadar anlatılan işlemlerin amacı klorella hücrelerinin kümelenmesini veya toplanmalarını engellemek ve PAH kaplama aşaması için birbirinden ayrılmış hücreler elde etmektir. Süzme işleminden sonra saf su ile yıkama işlemi yapılmıştır. Süzülmüş hücreler santrifüjlenerek eppondorf tüpüne alınır. Santrifüj 3000 rpm hızda ve 2 dakika olarak uygulanmıştır. Eppendorf tüpünde toplanmış klorella hücreleri üzerine 0,15 M NaCl çözeltisi içinde çözünmüş ve konsantrasyonu 3 mg/mL olan 1 mL PAH çözeltisi eklenir. 20 dakika süreyle eppendorf tüpü karıştırılır. Ardından saf su ile 3 defa yıkama işlemi yukarıda anlatıldığı gibi tekrarlanır. Buradaki amaç zayıf bağlanmış ve ortamda kalan fazla PAH'in uzaklaştırılmasıdır. Sonuçta PAH kaplanmış klorella hücreleri elde edilir (Şekil 8.8).



Şekil 8.8. Klorella hücresinin yüzeyinin pozitif yüklü hale getirilmesine ait izlenen yol.

8.7.3. Cam Yüzeyi Üzerinde İki Tabakalı Maya Hücrelerinin Oluşturduğu Biyofilm

Cam yüzeyi üzerine maya hücrelerinin iki tabakası oluşturulmuştur. Cam yüzeyi yıkama ve aktifleştirme işlemlerinden sonra negatif yükle, PAH kaplı maya hücreleri ise pozitif yükle yüklenmiştir. Aradaki elektrostatik etkileşimin daha kuvvetli olması için PAH ve PSS çözeltileri kullanılarak yük yoğunluğu artırılabilir. İkinci bir maya hücresi tabakası için PSS çözeltisinin ilk maya hücresi oluşumundan sonra mecburen kullanılması gerekmektedir. Ayrıca maya hücrelerinin hücresel aktivitelerini koruyup koruyamadıkları floresein diasetat kullanılarak test edilmiştir. FDA stok çözeltisi konsantrasyon 10 mg/mL ve çözücüsü aseton olacak şekilde hazırlanmış ve +4 °C muhafaza edilmiştir. Bu stok çözeltiden 10 μL alınarak 0,49 mL ultrasaf su ile karıştırılmış ve toplam 0,5 mL FDA çözeltisi bir başka tüpte hazırlanmıştır. Bu karışım içerisinde PAH ile daha önceden kaplanmış maya hücreleri dağıtılarak 10 dakika kadar karıştırılarak inkübasyon işlemi yapılır. Ardından hücreler santrifüj ile ayrılarak saf su ile birçok defa yıkanır. Maya hücrelerinin iki tabakalı biyofilmi için izlenen yol aşağıdaki gibidir (Şekil 8.9):

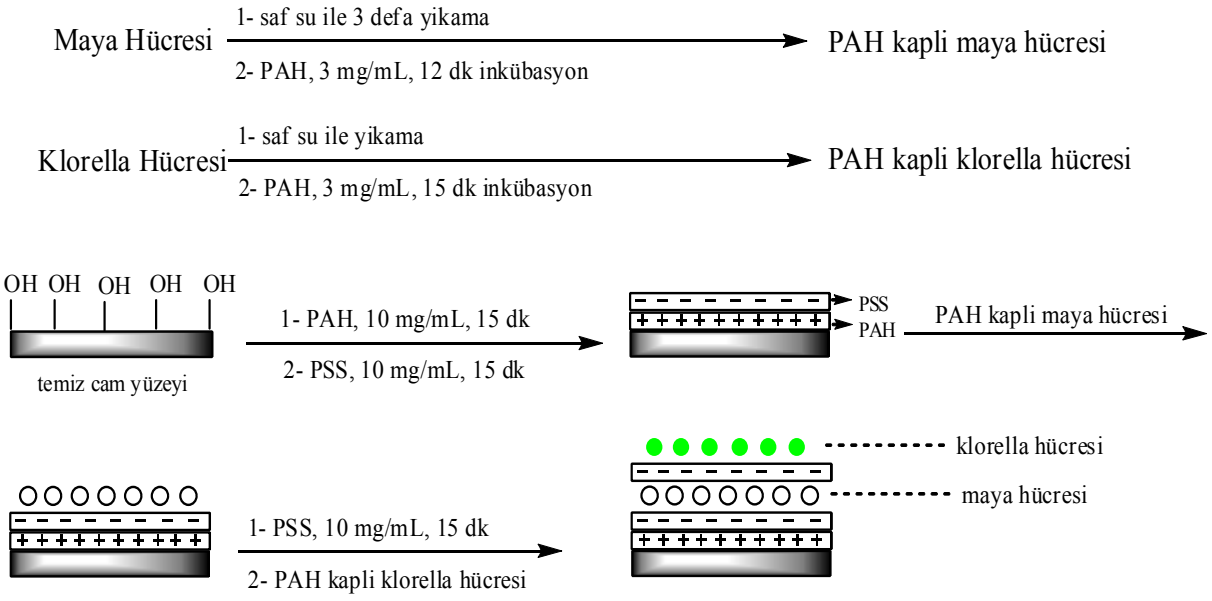


Şekil 8.9. Katı yüzey üzerinde iki tabakalı maya hücrelerinin biyofilm oluşum aşamaları..

Temizlenmiş bir cam yüzeyi 10 mg/mL konsantrasyonundaki PAH çözeltisi içerisinde 15 dakika bekletilir, saf su ile yıkama işleminden sonra 10 mg/mL konsantrasyondaki PSS çözeltisi içerisinde bekletilir, saf su ile yıkama işlemi yapılır. Ardından bir mikropipet kullanılarak daha önce hazırlanan PAH kaplanmış maya hücreleri son olarak negatif yüklenmiş cam yüzeyi üzerine sıkı istiflenmiş tabaka elde edinceye kadar aktarılır. Böylece cam yüzeyi üzerinde maya hücrelerinin ilk tabakası oluşturulmuş olur. Daha sonra yüzey 10 mg/mL konsantrasyondaki PSS çözeltisi içerisinde 15 dakika bekletilir ve saf su ile yıkanır. Ardından yine mikropipet yardımıyla bu sefer FDA-PAH kaplanmış maya hücreleri petri kabındaki yüzey üzerine iyi istiflenmiş bir tabaka elde edinceye kadar sürekli olarak ilave edilir.

8.7.4. Cam Yüzeyi Üzerinde Maya ve Klorella Hücreleri Tabakalarının Oluşturduğu Biyofilm

Maya hücrelerinin iki tabasının üst üste hazırlanmasından sonra bu defa iki farklı tür hücrenin üst üste kaplanması amaçlanmıştır. Bu amaçla yukarıda anlatıldığı gibi birinci tabaka olarak maya hücreleri, ikinci tabaka olarak ise klorella hücreleri kaplanmıştır. Tüm deneysel şartlar aynı olmakla birlikte, sadece ikinci tabaka için FDA ile kaplama gerekmemektedir. Optik mikroskopta aktivitelerini koruyan klorella hücreleri zaten yeşil renkte göründüğü için FDA kullanılmamıştır. Maya ve klorella hücrelerinin iki tabakalı biyofilmi için izlenen yol aşağıdaki gibidir (Şekil 8.10):



Şekil 8.10. Katı yüzey üzerinde iki tabakalı maya hücrelerinin biyofilm oluşum aşamaları..

Temizlenmiş bir cam yüzeyi 10 mg/mL konsantrasyonundaki PAH çözeltisi içerisinde 15 dakika bekletilir, saf su ile yıkama işleminden sonra 10 mg/mL konsantrasyondaki PSS çözeltisi içerisinde bekletilir, saf su ile yıkama işlemi yapılır. Ardından bir mikropipet kullanılarak daha önce hazırlanan PAH kaplanmış maya hücreleri son olarak negatif yüklenmiş cam yüzeyi üzerine sıkı istiflenmiş tabaka elde edinceye kadar aktarılır. Böylece cam yüzeyi üzerinde maya hücrelerinin ilk tabakası oluşturulmuş olur. Daha sonra yüzey 10 mg/mL konsantrasyondaki PSS çözeltisi içerisinde 15 dakika bekletilir ve saf su ile yıkanır. Ardından yine mikropipet yardımıyla bu sefer PAH kaplanmış klorella hücreleri petri kabındaki yüzey üzerine iyi istiflenmiş bir tabaka elde edinceye kadar sürekli olarak ilave edilir.

8.7.5. Cam Yüzeyi Üzerinde Biyofilmin Desenlenmesi

Bu kısımda desenlenmiş biyofilm elde edilmeye çalışılmıştır. Desen kelimesini yapı, şablon ya da model olarak tanımlayabiliriz. Substrat yüzeyi üzerinde biyofilmin desenini oluşturduktan sonra amaç oluşan desenin çözelti içerisine yüzeyden yapısı bozulmadan alınmasıdır. Bu amaçla Agar firmasından ticari olarak alınmış farklı boyutlarda bakır grid'ler kullanılmıştır (Şekil 8.11, Tablo 8.1).

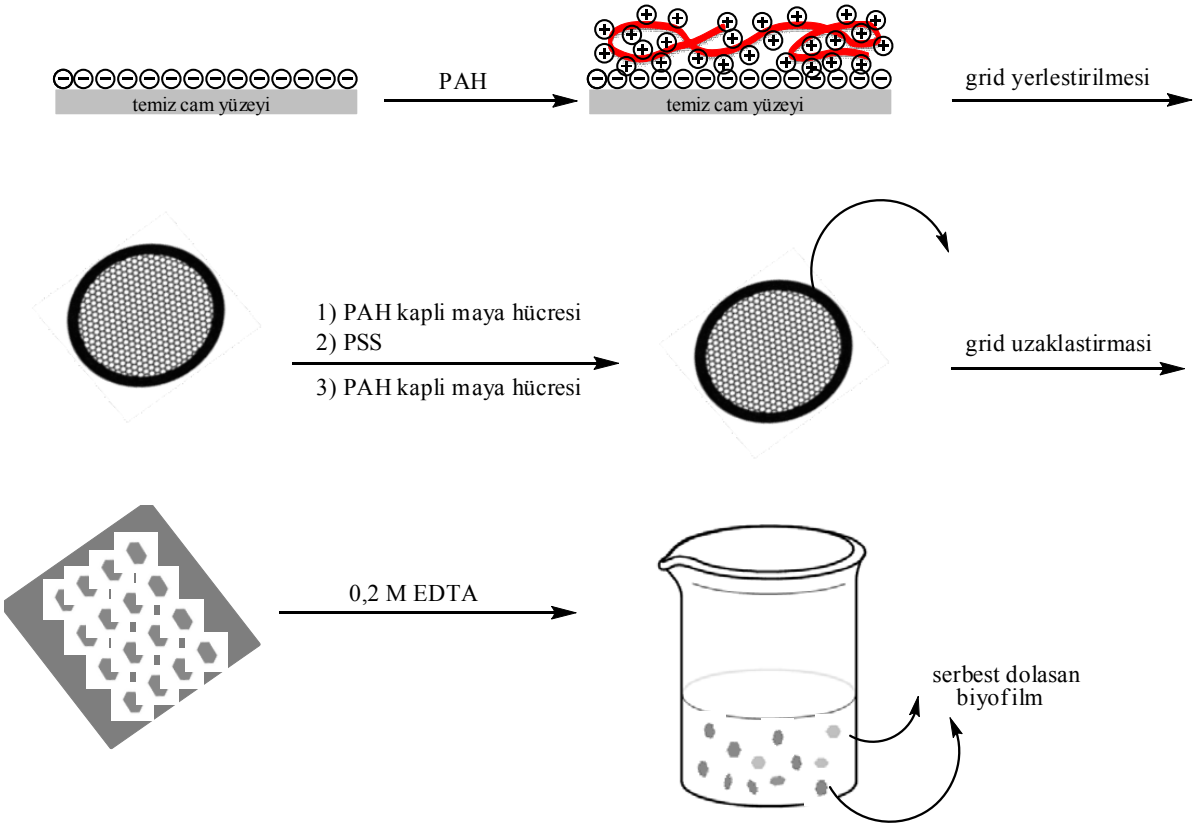


Şekil 8.11. (a) Kare grid, (b) Hegzagonal grid, (c) Paralel grid

Tablo 8.1. Grid'lerin Boyutları

Grid Tipi	Ürün Kodu	Özelliği	Aralık(µm)	Çizgi(µm)	Boşluk(µm)	Kalınlık(µm)
Kare	S160-3	300 mesh	83	25	58	10± 2
Hegzagonal	G2750C	400 mesh ince bar	57	8	49	7± 2
Paralel	G2015C	300 çizgi	83	35	48	14±2

Birinci tabakanın kaplanması işleminden hemen önce cam yüzeyi üzerine grid konulmuş, birinci ve ikinci tabakanın kaplanmasından sonra grid yüzeyden çıkarılmış ve desen oluşturma işlemi gerçekleşmiştir. Desenlenmiş biyofilmin substrat yüzeyinden süspansiyon ortamına aktarmak için 0,2 M EDTA çözeltisi kullanılmıştır (Şekil 8.12).



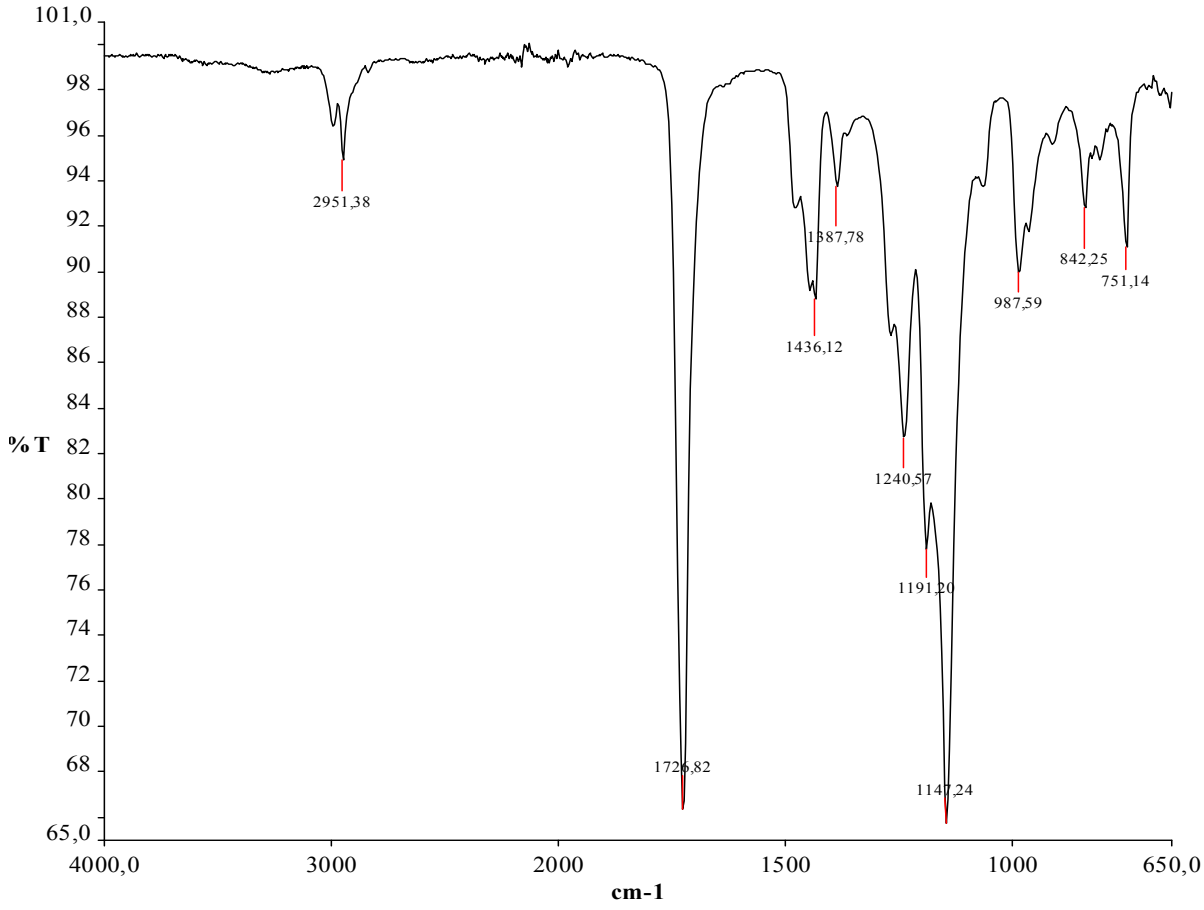
Şekil 8.12. Desenlenmiş biyofilmin yüzeyden sıyrılması için prosedür.

9. ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA

9.1. PMMA-AAc Kolloidinin Katı Yüzey Üzerine Desenlenmesi ve Biyomolekül Adsorplanmasına Ait Araştırma Sonuçları

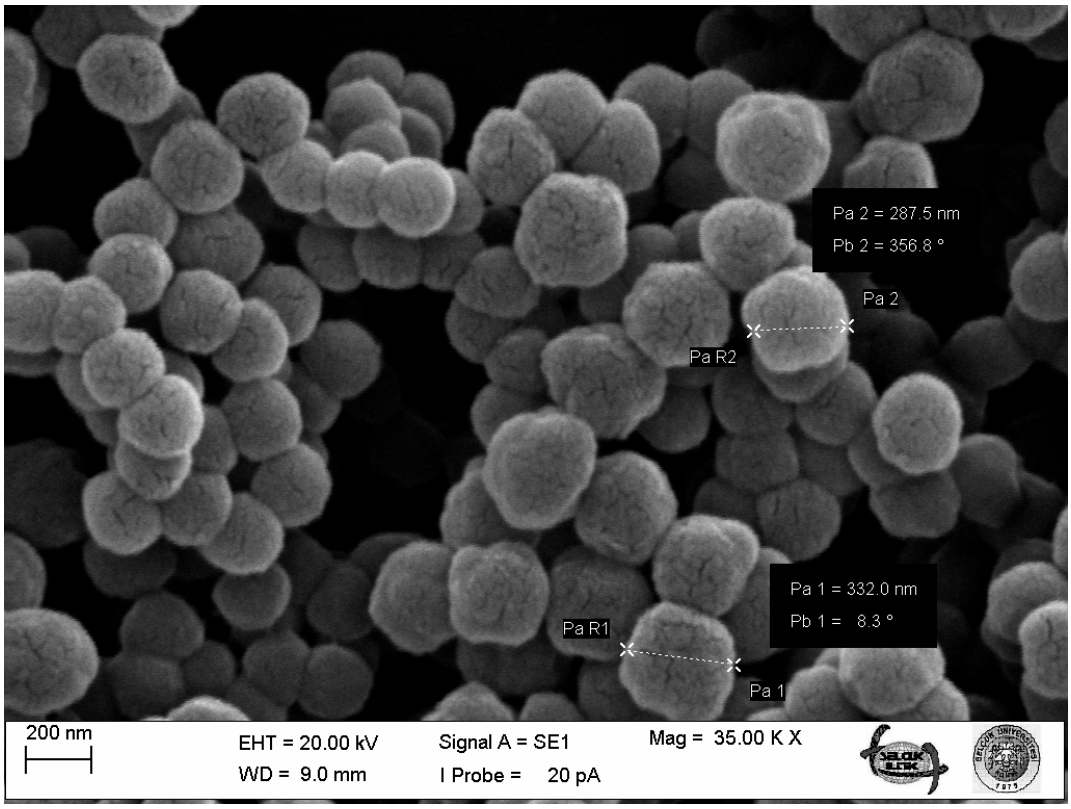
9.1.1. Sentezlenen PMMA-AAc Kolloidinin Karakterizasyonu

PMMA yapısında C-H bağı, C-O bağı, C=O karboksil grubu gibi yapılar bulunmaktadır. Bu yapıların varlığı ve pik şiddeteleri FTIR spektrumunda gözlenmiştir. Monomere ait 1638 cm^{-1}'deki C=C bandının PMMA spektrumunda kaybolduğu görülmektedir. Bu da polimerleşmenin gerçekleştiği anlamına gelmektedir. Ayrıca 1726 cm^{-1}'deki C=O çift bağ bandı da PMMA yapısı için karakteristik bantlardır. FTIR spektrumunda PMMA-AAc yapısında bulunan $-CH_2$ ve C-O grupları sırasıyla 2951 cm^{-1} ve 1240 cm^{-1}'de pik vermektedirler (Şekil 9.1).



Şekil 9.1. Elde edilen PMMA-AAc kolloidinin FTIR spektrumu.

Sentezlenen PMMA-AAc kolloidinin taramalı elektron mikroskobu ile alınan görüntüsüne bakıldığında taneciklerin küresel şekilde elde edildiği ve ortalama çapın 250-350 nm olduğu görülmektedir (Şekil 9.2).



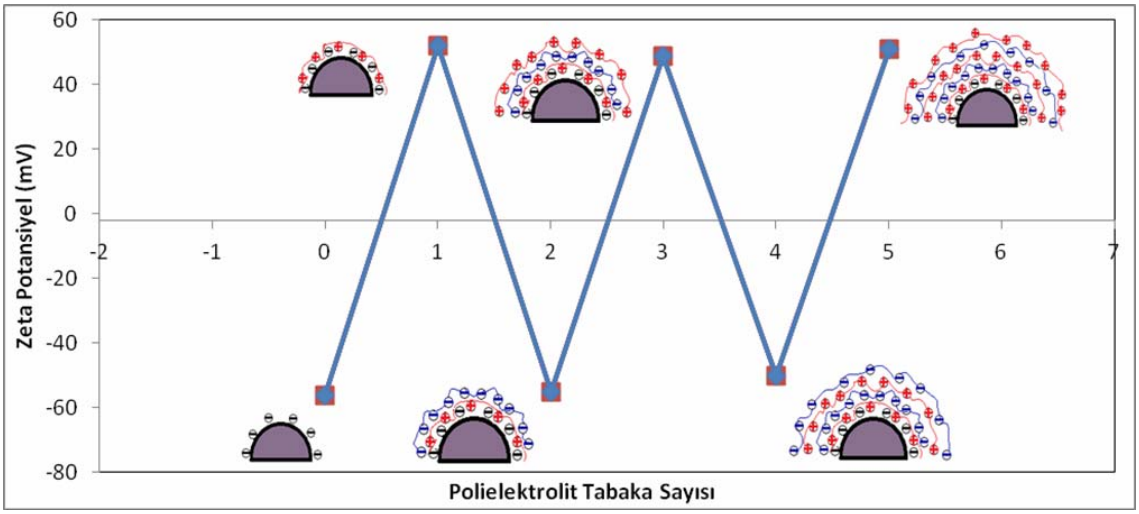
Şekil 9.2. Elde edilen PMMA-AAc kolloidinin SEM görüntüsü.

9.1.1.1. Kolloid Yüzeyinin PAH/PSS ile Kaplanmasına ait Zeta Potansiyel Ölçümü

Kolloidin yüzey yük yoğunluğunu ölçmek için Malvern Zeta Potansiyel cihazı (Malvern Zetasizer 3000HS) kullanılmıştır. Sentezlenen PMMA-AAc kolloidi negatif yükle yüklüdür, dolayısıyla kolloid yüzeyine önce PAH ardından PSS kaplanarak kolloidin yüzeydeki yük yoğunluğu arttırılmıştır. PAH/PSS kaplama sayısı isteğe göre yapılabilir. Tablo 9.1'de sentezlenen kolloidin ve yapılan polielektrolit kaplamaları sonucu değişen zeta potansiyel ölçümleri listelenmiştir. Elde edilen verilere göre polielektrolit ile kaplamalar yüzeydeki yük değerlerini pozitif ve negatif olarak değiştirmiştir (Şekil 9.3).

Tablo 9.1. Kolloid yüzeyinin polielektrolitler ile kaplama yapıldıktan sonra zeta potansiyel değerleri.

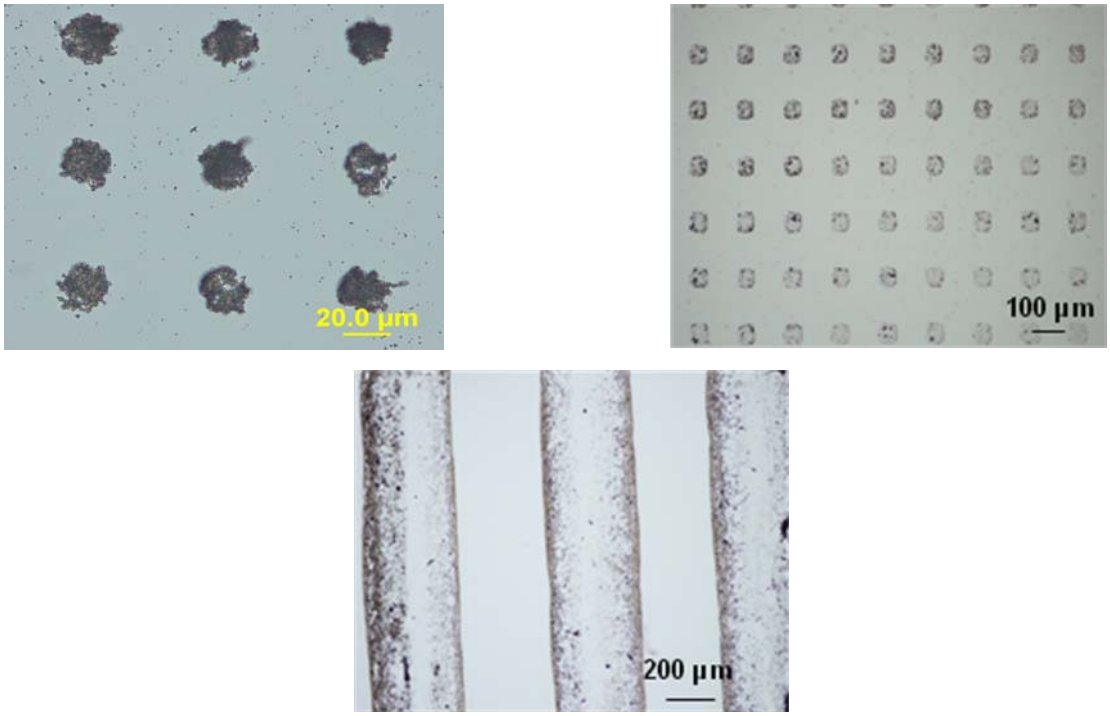
Örneğin Adı	Zeta Potansiyel (mV)
PMMA-AAc	-56
PMMA-AAc/PAH	52
PMMA-AAc/PAH/PSS	-55
PMMA-AAc/PAH/PSS/PAH	49
PMMA-AAc/PAH/PSS/PAH/PSS	-50
PMMA-AAc/PAH/PSS/PAH/PSS/PAH	51



Şekil 9.3. Kolloid yüzeyinin her bir kaplama sonucu alınmış zeta potansiyel ölçümleri.

9.1.2. Katı Yüzey Üzerine Desenlenmiş Kolloidin Optik Mikroskop ile İncelenmesi

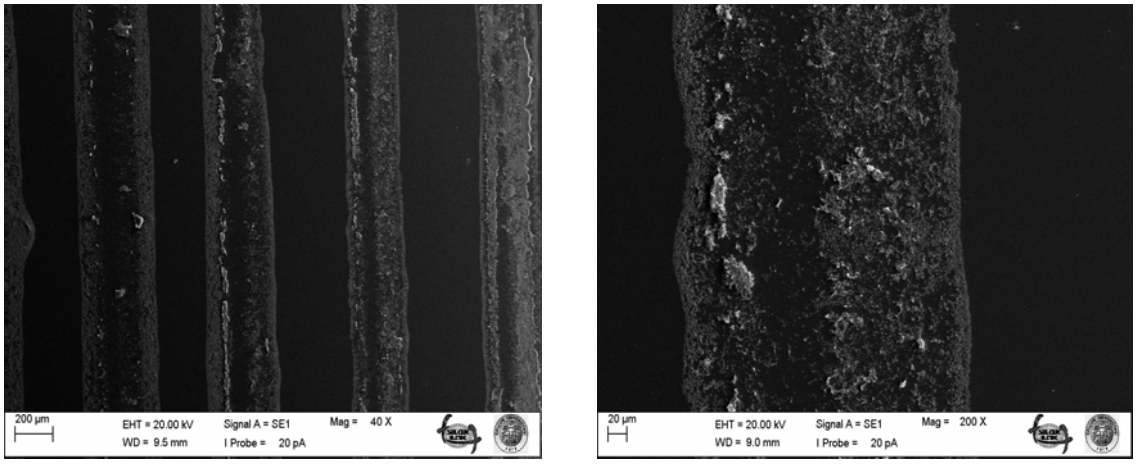
Mikrokontakt baskılama yöntemi ile PMMA-AAc kolloidinin cam yüzeyine desenlenmesi optik mikroskop ile incelenmiştir. Elde edilen mikroskop resimlerine bakılarak kullanılan PDMS'in yapısına göre PMMA-AAc kolloidlerinin yüzeyde desenlendiği görülmektedir (Şekil 9.4).



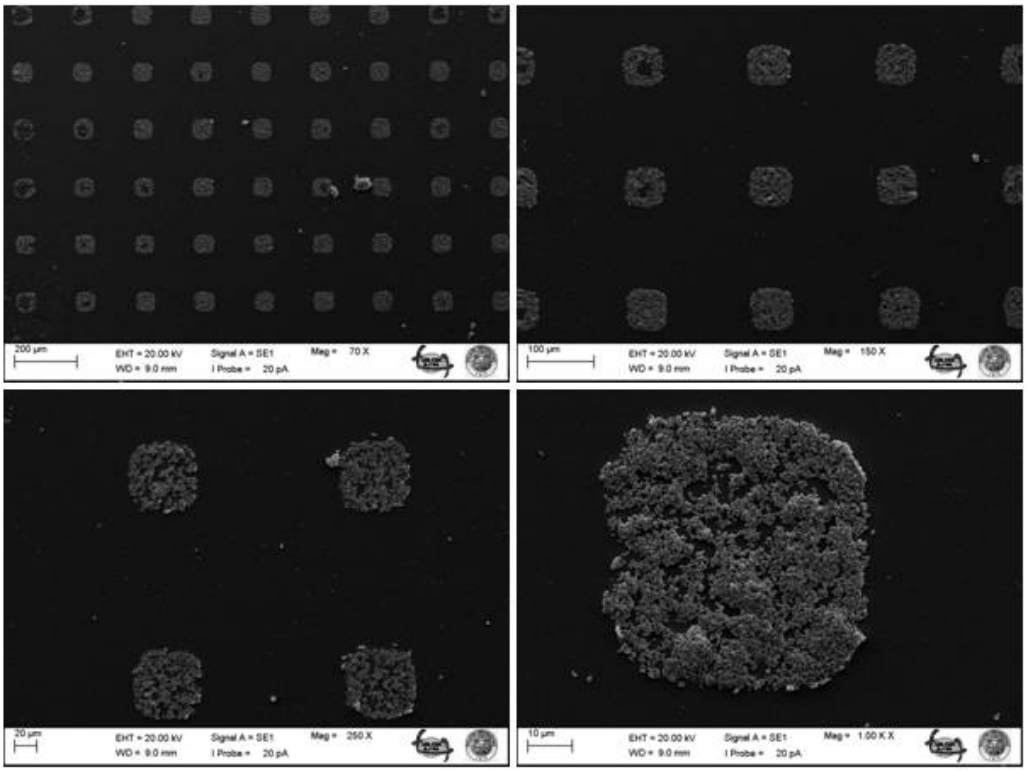
Şekil 9.4. Cam yüzeyine farklı boyutlarda desenlenmiş PMMA-AAc kolloidinin optik mikroskop görüntüleri.

9.1.3. Katı Yüzey Üzerinde Desenlenmiş Kolloid'in SEM ile İncelenmesi

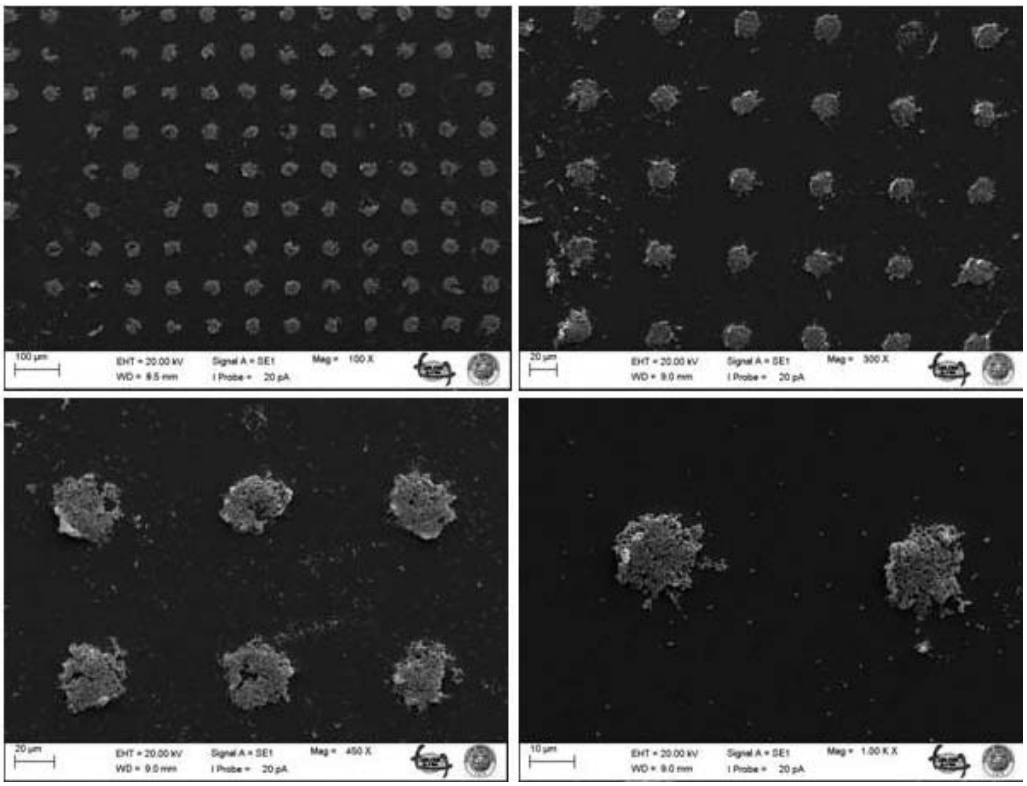
Mikrokontakt baskılama yöntemi ile PMMA-AAc kolloidinin cam yüzeyine desenlenmesi taramalı elektron mikroskobu ile incelenmiştir. Elde edilen görüntülere bakılarak kullanılan PDMS'in yapısına göre PMMA-AAc kolloidlerinin yüzeyde desenlendiği görülmektedir (Şekil 9.5).



(a)



(b)

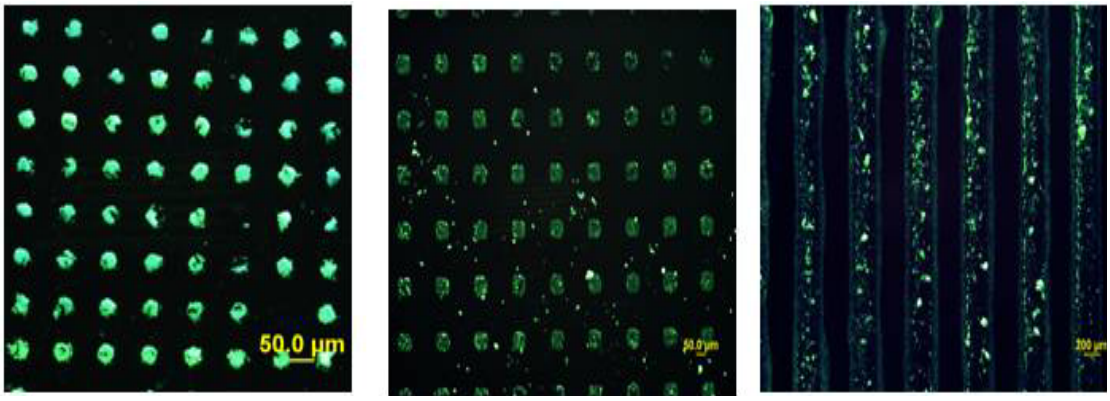


(c)

Şekil 9.5. Katı yüzey üzerine μCP yöntemi ile desenlenmiş PMMA-AAc kolloidinin SEM görüntüleri; **(a)** 300 μm genişliğinde paralel olarak elde edilmiş desenler, **(b)** 50 μm genişliğinde kare olarak elde edilmiş desenler, **(c)** 20 μm genişliğinde dairesel olarak elde edilmiş desenler.

9.1.4. Kolloid Üzerine Adsorplanmış Albumine ait Floresans Sonuçları

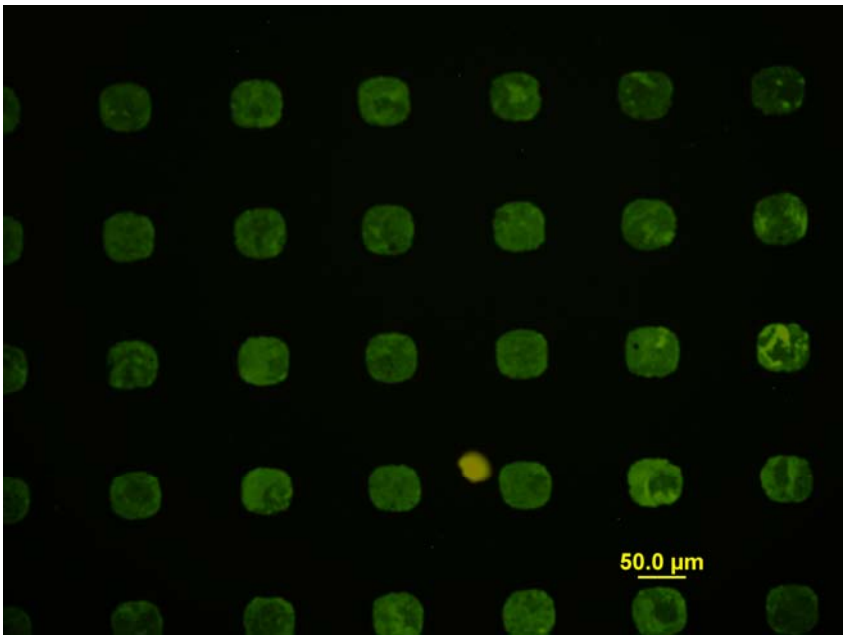
Son olarak PMMA-AAc kolloidinin yükü polielektrolit kaplamalar (PAH/PSS/PAH/PSS/PAH) sonucunda pozitif olarak yüklenmişti. FITC-Albumin yapısının yükü ise negatiftir. Bu durumda desenlenmiş kolloidlerin üzerine biyomolekülün bağlanması düşünülmüştür. Elde edilen floresans görüntülerine bakıldığında desenlenmiş PMMA-AAc kolloidinin üzerine FITC-Albuminin başarılı bir şekilde bağlandığı görülmektedir (Şekil 9.6).



Şekil 9.6. Biyomolekülün desenlenmiş kolloid üzerine adsorplanmasından sonraki floresans görüntüleri.

9.2. FITC-Albuminin Silikon Wafer Yüzeyinde Doğrudan Desenlenmesine ait Floresans Mikroskobu Sonucu

Temizlenmiş ve aktifleştirilmiş silikon wafer yüzeyine yapılan PAH kaplamasından sonra negatif yüklü FITC-Albuminin mikrokontakt baskılama metodu ile doğrudan desenlenmesi floresans mikroskobu altında incelenmiştir. Elde edilen görüntüye bakılarak kullanılan PDMS'in yapısına bağlı olarak yaklaşık 50 µm genişliğindeki desenlerin yani FITC-Albumin yapısının yüzey üzerinde oluştuğu anlaşılmaktadır (Şekil 9.7).

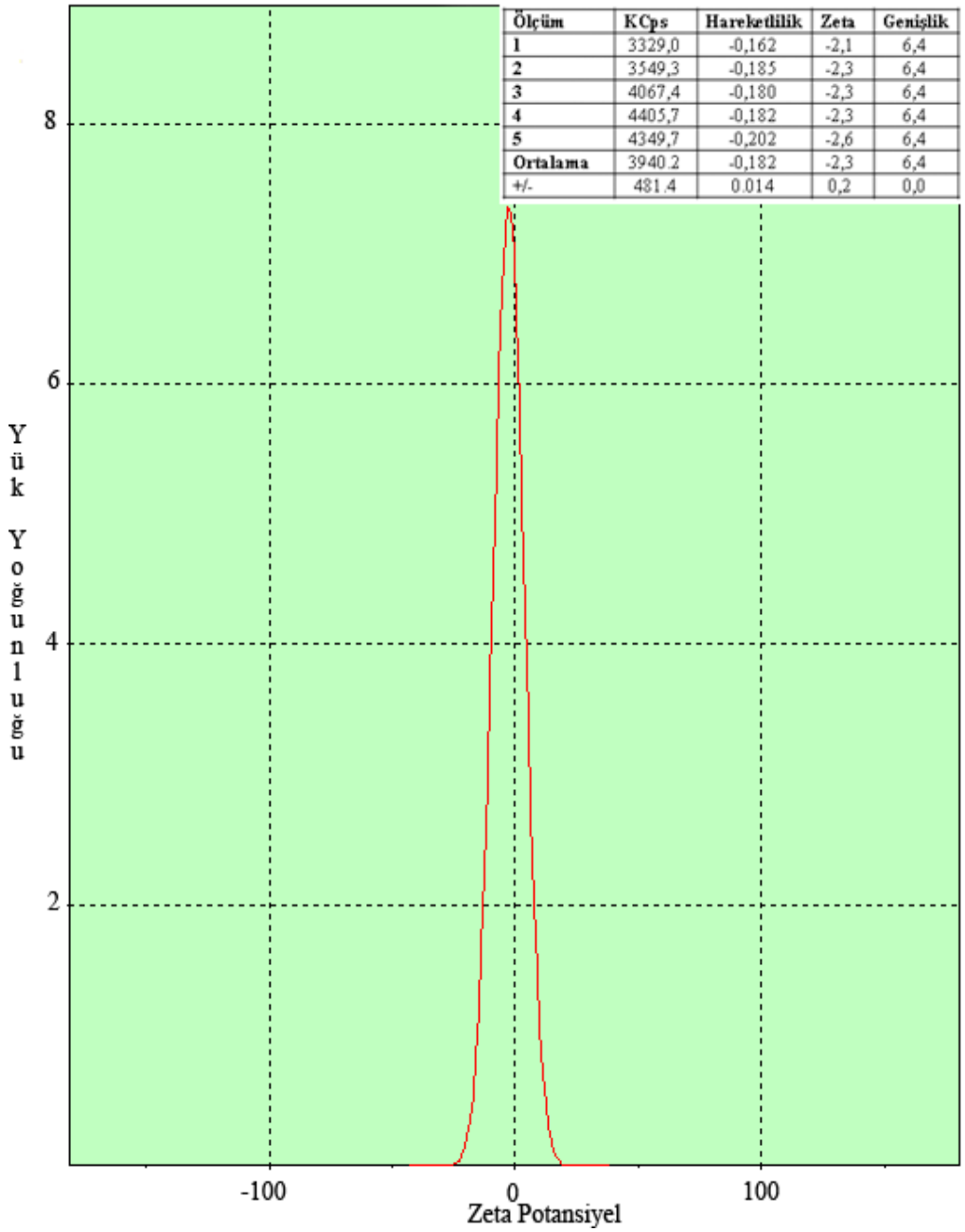


Şekil 9.7. Cam yüzeyine dogrudan desenlenmiş FITC-Albumin'e ait floresans mikroskobunda alınmış görüntü.

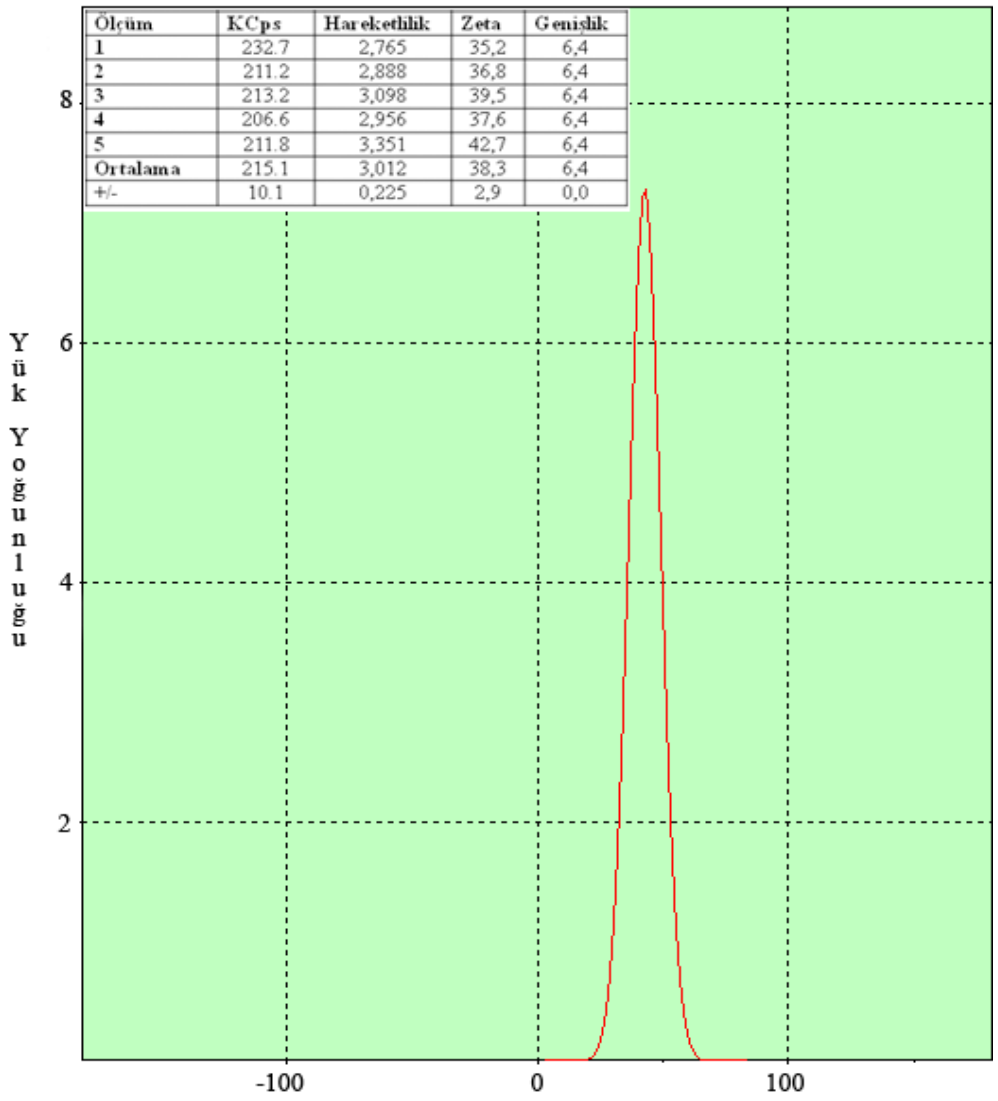
9.3. Biyofilm Uygulamalarına Ait Araştırma Sonuçları

9.3.1. Cam Yüzeyi Üzerinde Maya Hücreleri Tabakalarının Oluşturduğu Biyofilme ait Sonuçlar

Maya hücrelerinin dış duvarının selüloz ve polisakkaritten oluşması nedeniyle negatif yüklüdür (Şekil 9.8). PAH ile muamele edildikten sonra maya hücreleri pozitif yüklü hale gelmişlerdir (Şekil 9.9).



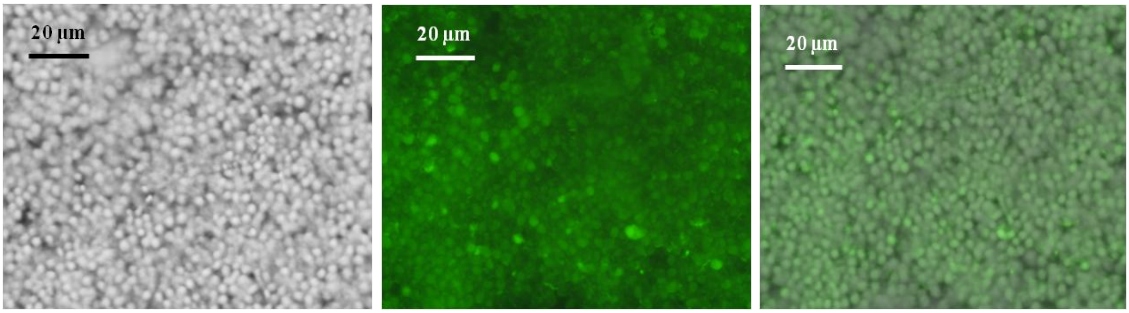
Şekil 9.8. Maya hücresinin saf su içersinde dağıtıldıktan sonra alınmış zeta potansiyel ölçümü.



Şekil 9.9. Maya hücresinin PAH ile kaplandıktan sonra alınmış zeta potansiyel ölçümü.

Maya hücrelerinin yüzeyi pozitif yüklü hale getirildikten sonra aktifleştirilmiş cam yüzeyi üzerine tek tabaka halinde kaplanmıştır. Şekil 9.10(a) cam yüzeyi üzerinde maya hücrelerinin oluşturduğu birinci tabakanın optik mikroskop görüntüsüdür. Birinci tabakanın üzerine ikinci bir maya hücresi tabakası oluşturulmaya çalışılmış ve bu sefer maya hücreleri FDA ile muamele edilmiştir. Buradaki amaç hücrelerin aktivitelerini görüntüleyebilmektir. Hücrelerin aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılan FDA nötraldir ve düşük moleküler ağırlığa sahiptir. Normalde floresant olmayan ve apolar yapıdaki bu madde hücre membranı içerisinden geçebilmektedir. Mavi ışıkla uyarıldığında çok canlı yeşil olan floresein polar ve hücre membranına girebilme kabiliyeti düşük olan bir maddedir. Böylece, canlı hücreler floresein ile etkileşerek floresant hale gelmektedirler. Bununla birlikte zarar görmüş membran veya canlı

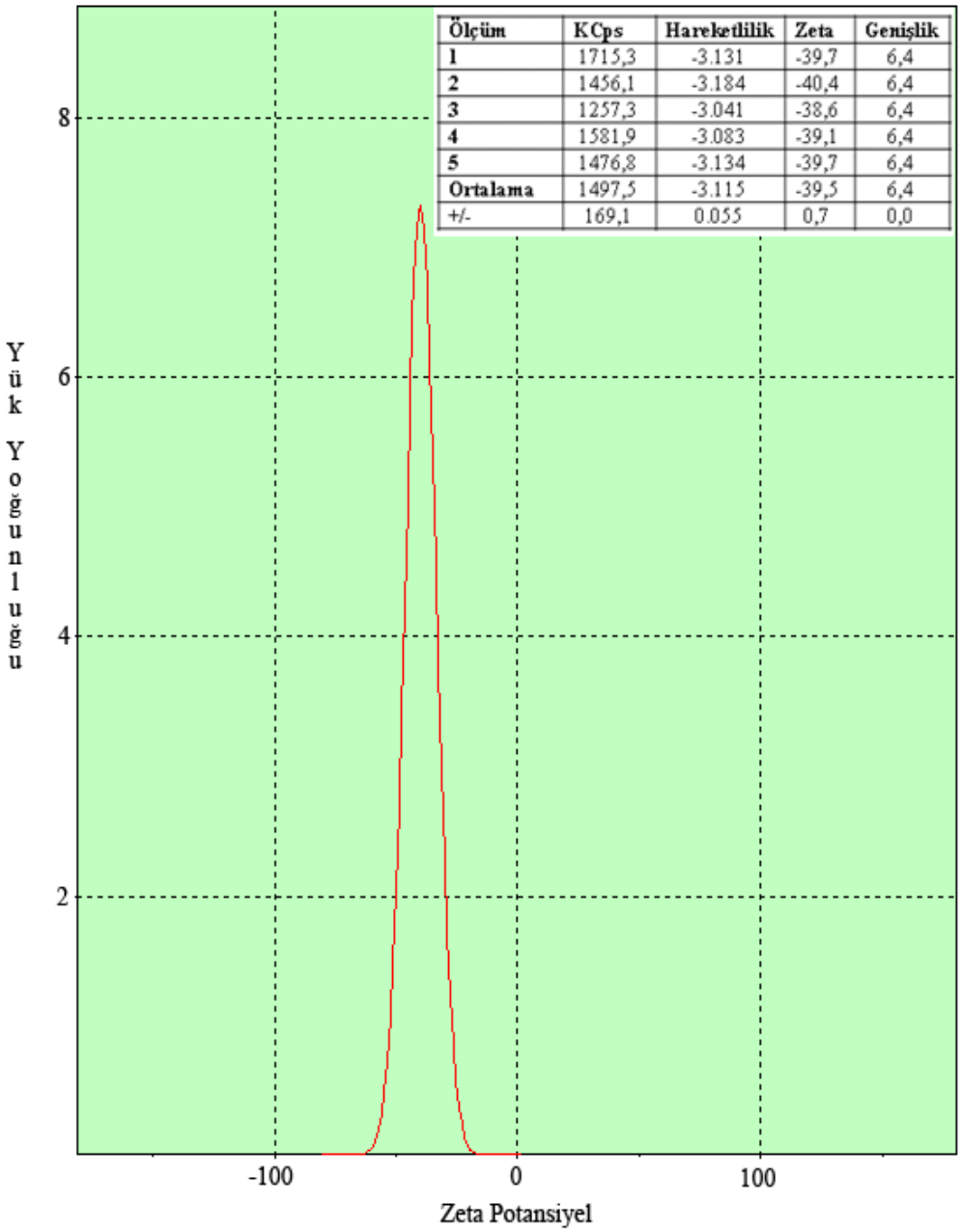
olmayan esteraz enzimleriyle birlikte bulunan hücreler floresein ile çok küçük bir miktar etkileşir ve çok az floresant özellik gösterir. FDA ile muamele edilmiş PAH kaplı maya hücreleriyle oluşturulan ikinci tabakadan önce PSS ile katı substrat yüzeyi tekrar negatif yüklü hale getirilmiş ve ikinci tabaka maya hücreleri elde edilmiştir. Şekil 9.10(b) ikinci tabaka maya hücrelerine ait floresans mikroskop görüntüsüdür. Şekil 9.10(c) ise maya hücrelerinin aktivitelerini kontrol etmek için aynı bölgeden çekilmiş optik ve floresans görüntülerin çakıştırılmış halidir. Çakıştırılmış görüntüden maya hücrelerinin kaplama işlemleri bittikten sonra canlı kalabildiklerini göstermektedir.



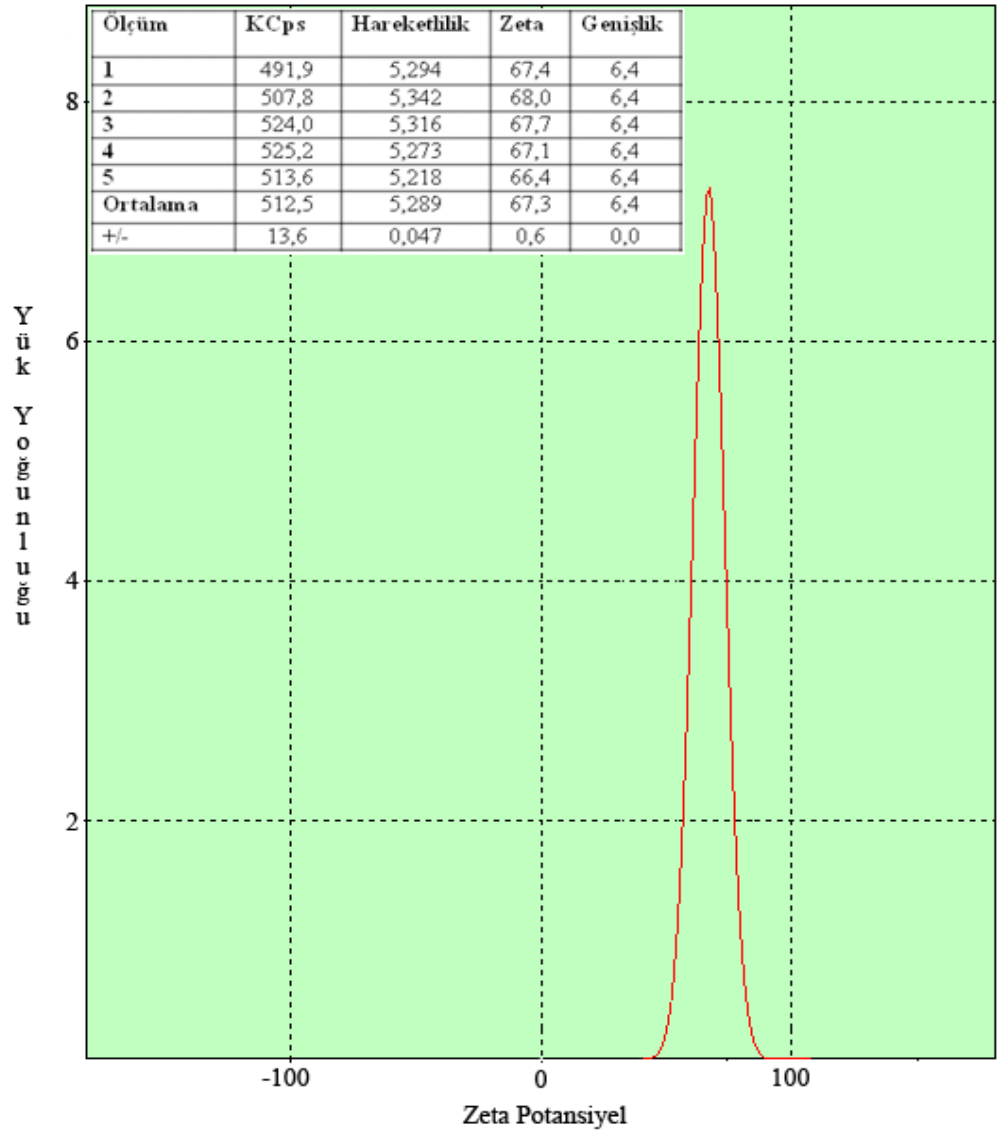
Şekil 9.10. Cam substrat yüzeyi üzerinde iki tabakalı maya hücrelerinin mikroskop görüntüleri; **(a)** optik mikroskop görüntüsü **(b)** floresans görüntüsü **(c)** optik ve floresans görüntülerinin çakıştırılmış görüntüsü.

9.3.2. Cam Yüzeyi Üzerinde Maya ve Klorella Hücreleri Tabakalarının Oluşturduğu Biyofilm

Klorella hücreleri hücre duvarında bulunan karboksilik asit grupları nedeniyle negatif yüklüdür (Şekil 9.11). PAH ile muamele edildikten sonra klorella hücreleri pozitif yüklü hale gelmişlerdir (Şekil 9.12).

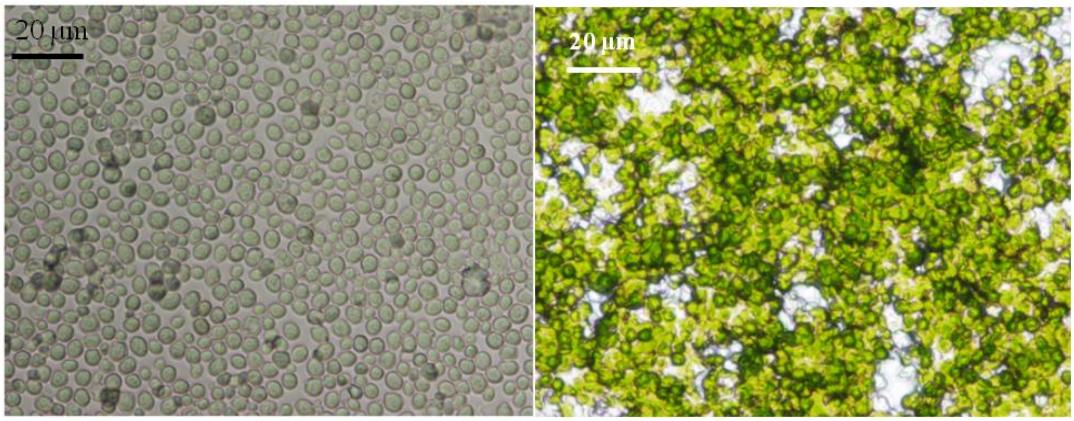


Şekil 9.11. Klorella hücrelerinin sulu çözelti içerisinde alınmış zeta potansiyel ölçümü.



Şekil 9.12. Klorella hücrelerinin PAH ile kaplandıktan sonra alınmış zeta potansiyel ölçümü.

Maya hücrelerinin yüzeyi pozitif yüklü hale getirildikten sonra aktifleştirilmiş cam yüzeyi üzerine tek tabaka halinde kaplanmıştır. Şekil 9.13(a) cam yüzeyi üzerinde maya hücrelerinin oluşturduğu birinci tabakanın optik mikroskop görüntüsüdür. Birinci tabakanın üzerine bu defa ikinci tabaka olarak klorella hücreleri oluşturulmaya çalışılmıştır. Bu amaçla önce katı substrat yüzeyi PSS ile muamele edilmiş ve ardından ikinci tabakanın kaplanmasına geçilmiştir. Şekil 9.13(b) maya hücreleri üzerinde bulunan klorella hücrelerine ait optik mikroskop görüntüsüdür. Bu görüntüden anlaşılacağı üzere iki farklı türde olan klorella hücreleri ile maya hücreleri bir arada bulunabilmekte yani doğada karşılaştığımız simbiyotik (ortak) yaşam gibi bir durum laboratuar şartlarında ortaya çıkmıştır.

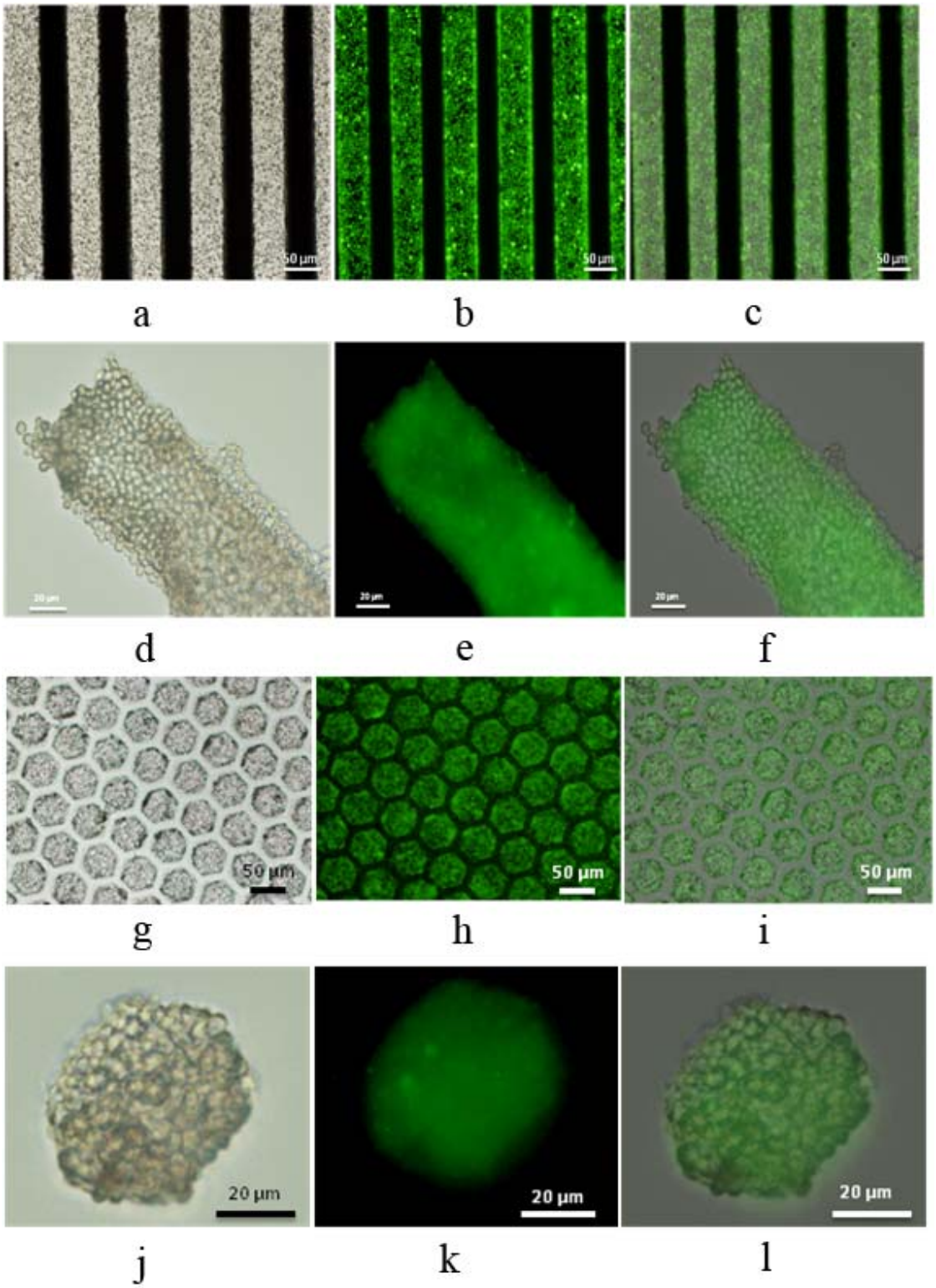


(a) **(b)**

Şekil 9.13. Cam substrat yüzeyi üzerinde maya ve klorella hücrelerinin iki tabakalı biyofilmi; **(a)** maya hücrelerinin oluşturmuş olduğu birinci tabakanın optik mikroskop görüntüsü, **(b)** klorella hücrelerinin oluşturmuş olduğu ikinci tabakanın optik mikroskop görüntüsü.

9.3.3. Desenlenmiş Biyofilmin Mikroskop ile İncelenmesi

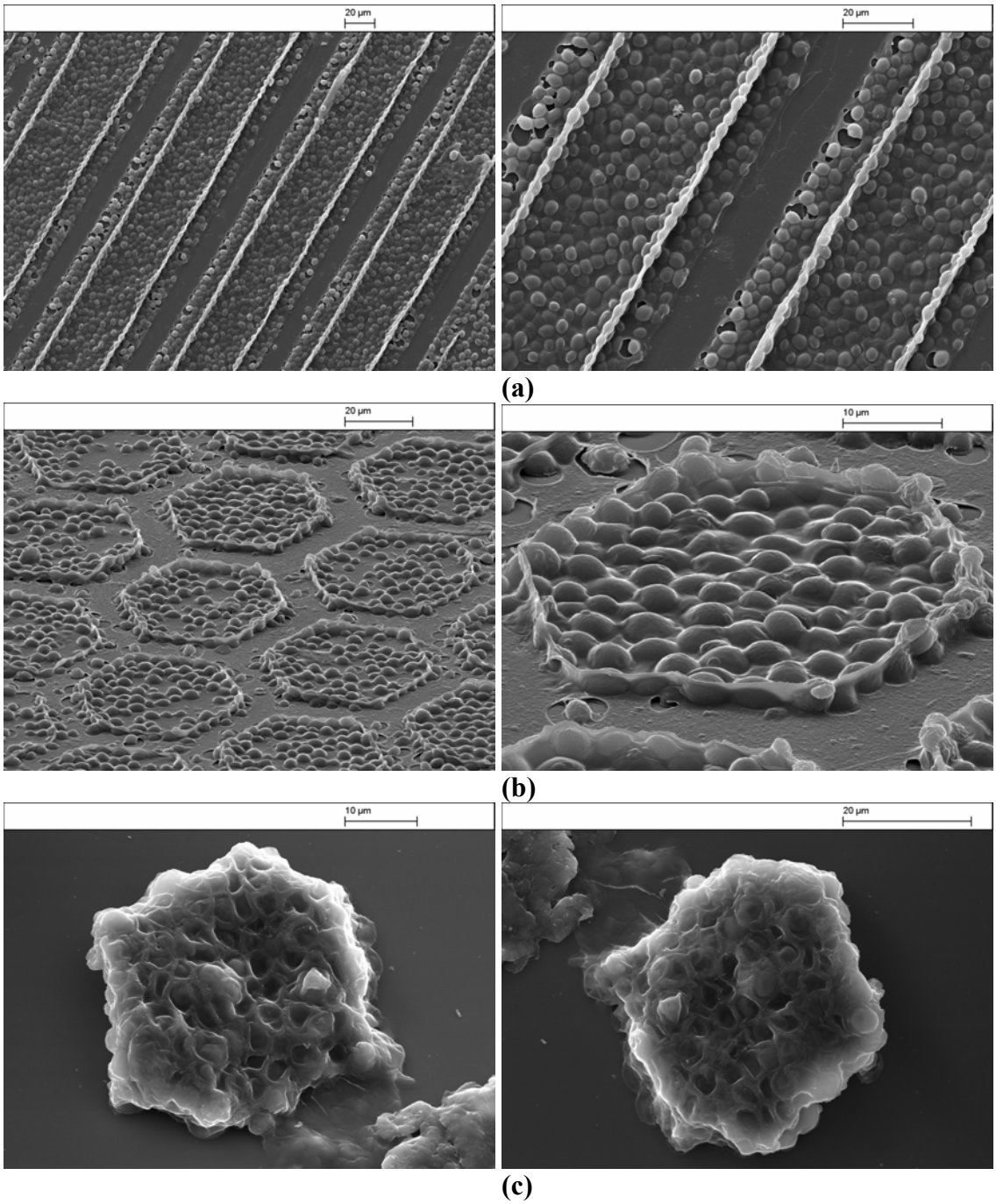
Substrat yüzeyi üzerinde desenlenmiş ve süspansiyon ortamına alınmış biyofilmin optik ve floresans mikroskop görüntüleri alınmıştır. Aynı zamanda floresans mikroskobuyla görüntü alınırken görüntü alınan aynı bölgenin optik mikroskopta resmi çekilmiş ve üst üste çakıştırma yapılmıştır. Buradaki amaç FDA ile muamele edilmiş ikinci tabakadaki hücrelerin canlılıklarını koruyup koruyamadığını tespit etmekdir. Mikroskop görüntülerinden hücrelerin halen aktivitelerini korudukları anlaşılmıştır (Şekil 9.14).



Şekil 9.14. Paralel şekilde desenlenmiş biyofilmin substrat üzerinde; **(a)** optik mikroskop görüntüsü, **(b)** floresans mikroskop görüntüsü, **(c)** optik ve floresans görüntülerinin çakıştırılmış hali, paralel şekilde desenlenmiş biyofilmin çözelti içerine alındıktan sonraki; **(d)** optik mikroskop görüntüsü, **(e)** floresans mikroskop görüntüsü, **(f)** optik ve floresans görüntülerinin çakıştırılmış hali, hekzagonal şekilde desenlenmiş biyofilmin substrat üzerinde; **(g)** optik mikroskop görüntüsü, **(h)** floresans mikroskop görüntüsü, **(i)** optik ve floresans görüntülerinin çakıştırılmış hali, hekzagonal şekilde desenlenmiş biyofilmin çözelti içerine alındıktan sonraki; **(j)** optik mikroskop görüntüsü, **(k)** floresans mikroskop görüntüsü, **(l)** optik ve floresans görüntülerinin çakıştırılmış görüntüsü.

9.3.4. Desenlenmiş Biyofilmin SEM ile İncelenmesi

Desenlenmiş biyofilmin yüzey morfolojisinin araştırılması amacıyla, desenlenen yüzeyin SEM görüntüleri alınmıştır. Şekil 9.15(a) ve (b)'de verilen sadece paralel ve hekzagonal olarak yüzeyde desenlenmiş biyofilme ait SEM görüntüleridir. Şekil 9.15(c)'de ise desenlenmiş biyofilmin yüzeyden süspansiyon ortamına alındıktan sonra elde edilen SEM görüntüsü verilmiş ve süspansiyon ortamında desenlenmiş biyofilmin yapısının bozulmadığı açıkça gözlenmiştir.



Şekil 9.15. Cam yüzeyi üzerinde desenlenmiş maya hücrelerine ait SEM görüntüleri; **(a)** Paralel olarak desenlenmiş maya hücreleri, **(b)** Hekzagonal olarak desenlenmiş maya hücreleri, **(c)** Cam yüzeyinden süspansiyon ortamına alınmış hekzagonal maya hücreleri deseni.

10. SONUÇ ve ÖNERİLER

10.1. Sonuçlar

Sunulan tez kapsamında biyofilm uygulamalarına yönelik olarak kolloidal maddenin yüzey üzerinde desenlenmesi, karakterizasyonu ve biyomolekülün adsorplanmasına yönelik bulguların elde edilmesine çalışılmıştır. Ayrıca polielektrolit ve tabakalı kaplama metodu kullanılarak biyomateryalin yüzey üzerinde desenleri oluşturulmaya çalışılmış ve substrat yüzeyi üzerinden desenin sıyrılarak süspansiyon ortamına aktarılması gerçekleştirilmiştir. Soft litografi uygun, düşük maliyetli ve biyolojik olarak uyumlu yapıların oluşumu için çok güçlü bir mikroüretim tekniği olarak karşımıza çıkmaktadır.

Çalışma kapsamında elde edilen önemli bulgular aşağıda özetlenmiştir.

- Kolloidal özellikteki PMMA-AAc maddesinin sentezi emülgatörsüz polimerizasyon yöntemiyle yapılmış ve çapı 250-350 nm arasında değişen polimer kürecikler elde edilmiştir. Nam ve ark. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada ise 125 nm boyutunda PMMA kolloidi sentezlenmiştir. Bizim yaptığımız sentez reaksiyonunda akrilik asitin kolloid yapısına girmesi boyutu arttırmış olabileceği düşünülmektedirr.
- Kolloidlerin katı yüzey üzerinde desenlenmesi için mikrokontakt baskılama yöntemi kullanılmıştır (Ha ve ark., 2000).
- Desenlenen kolloid üzerine biyomolekülün adsorplanması incelenmiş ve negatif yüklü FITC-Albuminin yüzeyde bulunan pozitif yüklü kolloid desenleri üzerinde adsorplandığı floresans mikroskobu ile gözlenmiştir (Hamada ve ark., 2003).
- Aktifleştirilmiş Si wafer yüzeyi üzerine FITC-Albumin bu sefer doğrudan desenlenmiştir. Bunun için negatif yüklü Si wafer yüzeyi önce PAH ile pozitif yüklü hale getirilmiş ardından mikrokontakt basklılama metodu ile negatif yüklü FITC-Albumin doğrudan desenlenmiştir. Miao ve Helseth (2008) tarafından yapılan bir çalışmada ise negatif yüklü cam yüzeyi pozitif bir polielektrolit ile muamele edildikten sonra bovin serum albuminin farklı konsantrasyonlarda cam yüzeyi üzerine depozisyonu araştırılmıştır.

- Biyofilm uygulamalarına yönelik ilk olarak aynı tip hücreler ve daha sonra iki farklı hücre biyofilm oluşumu için kullanılmıştır. Hücrelerin yüzey üzerinde birarada tutulması ve canlı kalması için yöntem geliştirilmiştir. Ayrıca tekrarlanabilir bir yolla biyofilm üretimi bulunmaya çalışılmıştır.
- Üretilen biyofilmin yüzeyden sıyrılarak çözelti ortamına transferi amaçlanmıştır. Çünkü serbest biyofilm üretimi yeni bir metot olarak karşımıza çıkmaktadır. Biyofilmin yüzeyden çözelti ortamına aktarılması seyreltik asit çözeltisi ile başarılmıştır. Süspansiyon ortamına aktarılan hücreler böylece daha kolay saklanabilir ve kullanılabilir. Bu metodun bakteriler için uygulanabileceği düşünülmektedir.
- Bu çalışma serbest haldeki biyofilmin oluşturulması ve kontrolü için yeni olanaklar açmakla birlikte polielektrolit ve tabakalı kaplama metodu kullanılarak aynı ve farklı cins hücrelerin birarada bulunduğu yapay bir simbiyotik yaşam örneği gösterilmiştir. Tabakalı kaplama metodu bu açıdan biyoteknolojik uygulamalar için oldukça önemli bir tekniktir. Saga ve ark. (2006) tarafından yapılan bir çalışmada yeşil sülfür fotosentetik bakterisi olan *Chlorobium tepidum* tabakalı kaplama metodu kullanılarak cam yüzeyi üzerinde immobilize edilmiştir.

10.2. Öneriler

Biyomoleküllerin desenlenmesi arzusu için birkaç sebep sayılabilir: desenlenmiş biyomateryalin biyosensör, nöronal ağ sistemleri, doku mühendisliği ve küçültülmüş ilaç görüntüleme deneylerinde kullanılabilmesi (Yi ve ark., 2006). Bizim desenlediğimiz biyomateryal (albumin, maya hücresi) yapıların mikrobiyoanalitik aygıtlarında, mikroakışkanlar ve biyo-mikroelektromekanik sistemlerinde potansiyele sahip olabileceğini söyleyebiliriz. Nanometre seviyede iyi düzenlenmiş ve iyi kontrol edilebilen iki ve üç boyutlu yapıların oluşturulması ve saklanması gelecek nesil optik, elektronik ve manyetik materyaller ve cihazlar yapımında kullanılması için oldukça önemlidir. Birçok araştırmacı ve firma sadece geleneksel materyaller (örneğin inorganik maddeler) kullanarak bu tür yapıların oluşturulması üzerine yoğunlaşmıştır (Belcher ve ark., 2008). Bu tezde gösterildiği gibi biyofilmin yüzey üzerinde desenlenmesi ve çözelti ortamına aktarılması ve halen aktivitelerini korumuş olmaları gelecek için umut vaad etmektedir. Ayrıca elde edilen biyofilm desenlerinin süspansiyon ortamında kolay saklanabilmesi, çok küçük bir alana ihtiyaç duyması, oda sıcaklığında çözelti içerisinde

aktivitelerini kaybetmiyor olmaları diğer biyofilm saklama metodlarına göre bu metodu üstün kılmaktadır.

KAYNAKLAR

Abdelghani, A., Jacquin, C., 2000, Structural characterization of GaAs/thiol/electrolyte interface, Materials Letters, 46, 320-326.

Antipov, A., Sukhorukov, G.B., Leporatti, S., Radtchenko, I.L., Donath, E., Möhwald, H., 2002, Polyelectrolyte nultilayer capsule permeability control, Colloids Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspect, 198-200, 535–541.

Arya, S.K., Prusty, A.K., Singh, S.P., Solanki, P.R., Pandey, M.K., Datta, M., Malhotra, B.D., 2007, Cholesterol biosensor based on N-(2-aminoethyl)-3-aminopropyl-trimethoxysilane self-assembled monolayer, Analytical Biochemistry, 363, 210-218.

Atalay, T., 2004, Kolloid Kimyası, Selçuk Üniversitesi Eğitim Fakültesi Kimya Eğitimi Anabilim Dalı, Konya.

Bain, C.D., Evall, J., Whitesides, G.M., 1989, Formation of monolayer by coadsorption of thiols on gold: variation in the head group, tail group and solvent, Journal of American Chemical Society, 111, 7155- 7164.

Belcher, A.M., Lee, S.W., Iverson, B.L., Lee, S.K., 2008, Fabricated Biyofilm Storage Device, United States Patent Application, 20080242558.

Bernotski, N.A., Xiong, X., Wang, K., Jewell-Larsen, N.E., Böhringer, K.F., Formation of Two-Dimensional Colloidal Sphere Arrays on Micro-Patterns, http://www.ee.washington.edu/research/mems/publications/2005/conferences/fnano-5-bernotski.pdf.

Bigelow, W.C., Pickett, D.L., Zisman W., 1946, Oleophobic monolayers. 1. Films adsorbed from solution in non-polar liquids, Journal of Colloid and Interface Science, **1**, 513-538.

Blount, H.N., Janzen, E.G., 1980, Spin trapping with covalently immobilized α-Phenyl-N[(1-Hydroxy-2-methyl)-2propyl] nitrone, Journal of Physical Chemistry, 557-558.

Braun, P.V., Wiltzius, P., 1999, Microporous materials-Electrochemically grown photonic crystals, Nature, 402, 603-604.

Brushan, B., Liu, H., 2005, Nanotribological properties and mechanisms of alkylthiol and biphenyl thiol self-assembled monolayers studied by AFM, Physical Review B, 63, 1-11.

Bush, B., Xu, G., Carraro, C., Maboudian, R., 2006, Layer-by-layer self-assembled conductive thin films for MEMS applications, Sensors and Actuators A: Physical, 126, 1, 194-200.

Cabrita, J.F., Abrantes, LM., Viana, A.S., 2005, N-Hydroxysuccinimide-terminated self-assembled monolayers on gold for biomolecules immobilisation, Electrochimica Acta, 50, 2117–2124.

Çağlayan, M.O., 2009, Biyomoleküler Tanı Sistemleri için Taşınabilir, Gerçek Zamanlı ve Etiketsiz Biyosensör Geliştirilmesi ve Karakterizasyonu, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.

Calabrese, B.S., Pickard, M., Vazquez-Duhalt, R., Heller, A., 2002, Electroreduction of O_2 to water at 0.6 V NHE at pH 7 on the 'wired' Pleurotus ostreatus Laccase Cathode, Biosensors & Bioelectronics, 17, 1071–1074.

Caruso, F., Trau, D., Möhwald, H., Renneberg, R., 2000, Enzyme encapsulation in layer-by-layer engineered polymer multilayer capsules, Langmuir, 16, 1485–1488.

Chaki, N.K., Aslam, M., Sharma, J., Vijayamohanan, K., 2001, Applications of self-assembled monolayers in materials chemistry, Proceeding of the Indian Academy of Science, 113, 659-670.

Chandekar, A., Sengupta, S.K., Whitten, J.E., 2007, Template-Directed Patterning of Polymers and Biomaterials, Microscopy Research and Technique, 70, 506-512.

Chen, C.S., Mrksich, M., Huang, S., Whitesides, G.M., Ingber, D.E., 1997, Geometric control of cell life and death, Science, 276, 1425-1428.

Chen, C.S., Mrkisch, M., Huang, S., Whistesides, G.M., Ingber, D.E., 1998, Micropatterned surfaces for control of cell shape, position, and function, Biotechnology Progress, 14, 356–363.

Chen, T., Barton, S.C., Binyamin, G., Gao, Z.Q., Zhang Y.C., Kim, H.H., Heller, A., 2001, A miniature biofuel cell, Journal of American Chemical Society, 123, 8630–8631.

Chong, L.W., Lee, Y.L., Wen, T.C., 2007, Surface modification of indium tin oxide anodes by self-assembly monolayers: Effects on interfacial morphology and charge injection in organic light-emitting diodes, Thin Solid Films, 515, 2833-2841.

Chrisey, L.A., O'Ferrall, C.E., Spargo, B.J., Dulcey, C.S., Calvert, J.M., 1996, Fabrication of Patterned DNA Surfaces, Nucleic Acids Research, 24, 3040-3047.

Couto, SR., Herrera, J.L.T., 2006, Industrial and biotechnological applications of laccases: A review, Biotechnology Advances, 24, 500–513.

Decher, G., 1997, Fuzzy nanoassemblies: toward layered polymeric multicomposites, Science, 277, 1232–1237.

Decher, G., Eckle, M., Schmitt, J., Schmitt, J., Struth, B., 1998, Layer-by-layer assembled multicomposite films, Current Opinion in Colloid and Interface Science, 3, 32-39.

Delamarche, E., Bernard, A., Schmid, H., Michel, B., Biebuyck, H., 1997, Patterned Delivery of Immunoglobulins to Surfaces using Microfluidic Networks, Science, 276, 779–781.

Demirel, G., Caykara, T., Akaoglu, B., Cakmak, M., 2007, Construction of a novel multilayer system and its use for oriented immobilization of immunoglobulin G, Surface Science, 601, 4563-4570.

Donath, E., Sukhorukov, G.B., Caruso, F., Davis, S.A., Mohwald, H., 1998, Novel hollow polymer shells by colloid-templated assembly of polyelectrolytes, Angewandte Chemie-International Edition, 37, 2202–2205.

Donzel, C., Geissler, M., Bernard, A., Wolf, H., Michel, B., Hilborn, J., Delamarche, E., 2001, Hydrophilic Poly(dimethylsiloxane) Stamps for Microcontact Printing, Advanced Materials, 13, 1164-1167.

Dyer, P.E., Maswadi, S.M., Walton, C.D., Ersoz, M., Fletcher, P.D.I., Paunov, V.N., 2003, 157-nm laser micromachining of N-BK7 glass and replication for microcontact printing, Applied Physics A-Materials Science and Processing, 77, 391-394.

Feng, S., Bein, T., 1994, Growth of Oriented Molecular Sieve Crystals on Organophosphonate Films, Nature, 368, 834-836.

Ferry, Y., Leech, D., 2005, Amperometric detection of catecholamine neurotransmitters using electrocatalytic laccase electrode, Electroanalysis, 17, 2113–2119.

Fischlechner, M., Zschörnig, O., Hofmann, J., Donath, E., 2005, Engineering virus functionalities on colloidal polyelectrolyte lipid composites, Angewandte Chemie-International Edition, 44, 2892–2895.

Flink, S., Veggel, F.C.J.M., Reinhoudt, D.N., 2001, Functionalization of self-assembled monolayers on glass and oxidized silicon wafers by surface reactions, Journal of Physical Organic Chemistry, 14, 407-415.

Freire, R.S., Duran, N., Kubota, L.T., 2001, Effects of fungal laccase immobilization procedures for the development of a biosensor for phenol compounds, Talanta, 54, 681–686.

Gates, B., Xia, Y.N., 2000, Fabrication and characterization of chirped 3D photonic crystals, Advanced Materials, 12, 1329-1332.

Ghoul, H., Backuet, M., Morcellet, M., 2003, Uptake of heavy metals from synthetic aqueous solutions using modified PEI-silica gels, Waters Research, 37, 729-734.

Gooding, J.J., Hibbert, D.B., 1999, The application of self- assembled alkanethiol monolayers to enzyme biosensors, Trends in Analytical Chemistry, 18, 525-533.

Graham, T., 1864, On the Properties of Silicic Acid and Other Analogous Colloidal Substances, Journal of the Chemical Society of London, 17, 318-323.

Grego, S., Jarvis, T., Stoner, B., Lewis, J., 2004, Investigation of the Layer-by-Layer Assembly of Colloid Crystals on a Templated Substrate, Materials Research Society Symposium Proceedings, 820, R5.4.1-R5.4.6.

Guan, F., Chen, M., Yang, W., Wang, J., Zhang, R., Yang, S., Xue, Q., 2004, Fabrication of patterned polyaniline microstructure through microcontact printing and electrochemistry, Applied Surface Science, 230, 131-137.

Gübbük, İ.H., 2006, Tek Moleküllü Tabakaların Fonksiyonelleştirilmesi ve Uygulamaları, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Konya.

Gün, İ., Ekinci, F.Y., 2009, Biyofilmler:Yüzeylerdeki Mikrobiyal Yaşam, Gıda, 34, 165-173.

Ha, K., Lee, Y.L., Jung, D.K., Lee, J.H., Yoon, K.B., 2000, Micropatterning of Oriented Zeolite Monolayers on Glass by Covalent Linkage, Advanced Materials, 12, 1614-1617.

Hamada, K.I., Yamashita, K., Serizawa, T., Kitayama, T., Akashi, M., 2003, Adsorption of Bovine Serum Albumin onto Poly(methyl metacrylate) Stereocomplex Films with a Molecularly Regulated Nanostructure, Journal of Polymer Science:Part A:Polymer Chemistry, 41, 1807-1812.

Hammond, P.T., Whitesides, G.M., 1995, Formation of polymer microstructures by selective deposition of polyion multilayers using patterned selfassembled monolayers as a template, Macromolecules, 28, 7569–7571.

Hammond, P.T., 1999, Recent explorations in electrostatic multilayer thin film assembly, Current Opinion in Colloid and Interface Science, 4, 430-442.

Hidber, P.C., Helbig, W., Kim, E., Whitesides, M., 1996, Microcontact Printing of Palladium Colloids:Micron-Scale Patterning by Electroless Deposition of Copper, Langmuir, 12, 1375-1380.

Hillebrandt, H., Tanaka, M., 2001, Electrochemical Characterization of Self-Assembled Alkylsiloxane Monolayers on Indium-Tin Oxide (ITO) Semiconductor Electrodes, Jounal of Physical Chemistry B, 105, 4270-4276.

Holtz, J.H., Asher, S.A., 1997, Polymerized colloidal crystal hydrogel films as intelligent chemical sensing materials, Nature, 389, 829-832.

Hooper, A. E., Werho, D., Hopson, T., Palmer, O., 2001, Evaluation of amine- and amide-terminated self-assembled monolayers as molecular glues for Au and SiO_2 substrates, Surface and Interface Analysis, 31, 809-814.

Jiang, P., Cizeron, J., Bertone, J.F., Colvin, V.L., 1999, Preparation of macroporous metal films from colloidal crystals, Journal of American Chemical Society, 121, 7957-7958.

Jiang, P., Ostojic, G.N., Narat, R., Mittleman, D.M., Colvin, V.L., 2001, The fabrication and bandgap engineering of photonic multilayers, Advanced Materials, 13, 389-393.

Ji H., Finot E., Dabestani R., Thundat, T., Brown, G., Britt, P.F., 2000, A novel self assembled monolayer (SAM) coated microcantilever for low level caesium detection, Chemical Communication, 457-458.

Johnson, S.A., Ollivier, P.J., Mallouk, T.E., 1999, Ordered mesoporous polymers of tunable pore size from colloidal silica templates, Science, 283, 963-965.

Kane, R.S., Takayama, S., Ostuni, E., Ingber, D.E., Whitesides, G.M., 1999, Patterning proteins and cells using soft lithography, Biomaterials, 23, 2363-2376.

Karakeçili A., 2006, Mikrodesenli Biyoaktif Malzemelerin Dizaynı, Karakterizasyonu ve Doku Mühendisliğindeki Uygulamaları, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.

Keskin, C.S., 2008, Nano Boyutlu Kristal Yapılı Polistiren Kolloitlerin Bazı Metal İyonu Optik Sensörlerinin Yapımında Kullanılması, Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya.

Kim, J.G., Blech, V., Takama, N., Kim, B.J., Nano-scale Surface Patterning by Micro Contact Printing Using a Novel Type of PDMS Stamp, http://limmshp.iis.u-tokyo.ac.jp/mediawiki/images/8/8d/ISMN_04_proceeding-JGKim-Vblech.pdf.

Kim, J.K., Shin, D.S., Chung, W.J., Jang, K.H., Lee, K.N., Kim, Y.K., Lee, Y.S., 2004, Effects of polymer grafting on a glass surface for protein chip applications, Colloids and Surfaces B:Biointerfaces, 33, 67-75.

Kohli, N., Worden, R.M., Lee, I., 2005, Intact Transfer of Layered, Bionanocomposite Arrays by Microcontact Printing, Chemical Communications, 3, 316-318.

Kumar, A., Whitesides, G.M., 1994, Patterned Condensation Figures as Optical Diffraction Gratings, Science, 263, 60-62.

Lange, S.A., Benes, V., Kern, D.P., Horber, J.K.H., Bernard, A., 2004, Microcontact Printing of DNA Molecules, Analytical Chemistry, 76, 1641-1647.

Love, J.C., Estroff, L.A., Kribel, K.J., Nuzzo, G.R, Whitesides, G.M., 2005, Self-assembled monolayers of thiolates on metals as a form of nanotechnology, Chemical Review, 105, 1103-1169.

Lvov, Y., Haas, H., Decher, G., Mohwald, H., Kalachev, A., 1993, Assembly of polyelectrolyte molecular films onto plasma treated glass, Journal of Physical Chemistry, 97, 12835-12841.

Markovich, I., Mandler, D. 2001, Preparation and characterization of octadecylsilane monolayers on indium-tin oxide (ITO) surfaces, Journal of Electroanalytical Chemistry, 500, 453-460.

Marks, T.J., Zhu, P., Kang, H., Facchetti, A., Evmeneko, G., Dutta, P., 2003, Vapor Phase Self Assembly of Electrooptic Thin Films via Triple Hydrogen Bonds, Journal of American Chemical Society, 125, 11496-11497.

Martele, Y., Callewaerta, K., Naessens, K., Van Daeleb, P., Baetsb, R., Schacht, E., 2003, Controlled patterning of biomolecules on solid surfaces, Materials Science and Engineering C: Biomimetic and Supramolecular Systems, 23, 341–345.

Miao, Y.H., Helseth, L.E., 2008, Adsorption of Bovine Serum Albumin on Polyelectrolyte-coated Glass Substrates:Application to Colloidal Lithography, Colloids and Surfaces B:Biointerfaces, 66, 299-303.

Moses, S., Brewer, S.H., Kraemer, S., Fuierer, R.R., Lowe, L.B., Agbasi, C., Sauthier, M., Franzen, S., 2007, Detection of DNA hybridization on indium tin oxide surfaces, Sensors and Actuators B, 125, 574-580.

Müler, W., Ringsdorf, H., Rump, E., Wildburg, G., Zhang, X., Angermaier, L., Knoll, W., Liley, M., Spinke, J., 1993, Attempts to mimic docking processes of the immune system: Recognation-induced formation of protein multiplayers, Science, 262, 1706-1708.

Nam, H.J., Kwon, Y.U., Yung, D.Y., 2008, Fabrication of poly(methyl methacrylate) colloidal monolayer on chemically modified silicon surface and hemispherical platinum nanoshell, Applied Surface Science, 255, 3400-3406.

O'Brien, J.C., Stickney, J.T., Porter, M.D., 2000, Self-Assembled Double-Stranded DNA (dsDNA) Microarrays for Protein:dsDNA Screening Using Atomic Force Microscopy, Journal of American Chemical Society, 122, 5004-5005.

Ozin, G.A., 2000, Panoscopic materials: synthesis over 'all' length scales, Chemical Communications, 6, 419-432.

Park, T.H., Schuler, M.L., 2003, Integration of cell culture and microfabrication technology, Biotechnology Progress, 19, 243-253.

Patel, N., Padera, R., Sanders, G.H., Cannizzaro, S.M., Davies, M.C., Langer, R., Roberts, C.J., Tendler, S.J., Williams, P.M., Shakesheff, K.M., 1998. Spatially controlled tissue engineering on biodegradable polymer surface, Proceeding International Symposium on Controlled Release Bioactive Materials, 25, 109–110.

Poole, CP ve Owens, FJ., 2003, Introduction to Nanotechnology, John Wiley & Sons, Inc., United State, 1-8.

Qureshi, N., Annous, B.A., Ezeji, T.C., Karcher, P., Maddox, I.S., 2005, Biofilm reactors for industrial bioconversion processes: employing potential of enhanced reaction rates, Microbial Cell Factories, 4, Article Number:24.

Rakhmatullina, E., Braun, T., Kaufmann, T., Spillmann, H., Malinova, V., Meier, W., 2007, Functionalization of gold and silicon surfaces by copolymer brushes using surface-initiated ATRP, Macromolecular Chemistry and Physics, 208, 1283-1293.

Renault, J.P., Bernard, A., Bietsch, A., Michel, B., Bosshard, H.R., Delamarche, E., 2003, Fabricating Arrays of Single Protein Molecules on Glass Using Microcontact Printing, Journal of Physical Chemistry B, 107, 703-711.

Roy, J.J., Abraham, T.E., Abhijith, K.S., Sujith, K.P.V., Thakur, M.S., 2005, Biosensor for the determination of phenols based on Cross-Linked Enzyme Crystals (CLEC) of laccase, Biosensors & Bioelectronics, 21, 206–211.

Saga, Y., Kim, T.Y., Hisai, T., Tamiaki, H., 2006, Assembly of extramembranous light-harvesting complexes of green sulfur photosynthetic bacterium Chlorobium tepidum on glass surface by electrostatic layer-by-layer adsorption, Thin Solid Films, 500, 278-282.

Satyanarayana, N., Sinha, S. K., 2005, Tribology of PFPE overcoated self assembled monolayers deposited on Si surface, Journal of Physics D: Applied Physics, 38, 3512-3522.

Shingvi R., Kumar A., Lopez G.P., Stephanopoulos G.N., Wang D., Whitesides G.M., 1994, Engineering cell shape and function, Science, 264, 292-296.

Shiratori, S.S., Rubner, M.F., 2000, pH-dependent thickness behavior of sequentially adsorbed layers of weak polyelectrolytes, Macromolecules, 33, 4213-4219.

Sigal G.B., Mrksich, M., Whitesides, G.M., 1998, Effect of surface wettability on the adsorption of proteins of proteins and detergents, Journal of American Chemical Society, 120, 3464–7343.

Sigal, G.B., Bambad, C., Baberis, A., Strominger, J., Whitesides, G.M., 1996, A self assembled monolayer for the binding and study of histidine tagged proteins by surface plasmon resonance, Analytical Chemistry, 68, 490-497.

Smith, R.K., Lewis, P.A., Weiss, P.S., 2004, Patterning self-assembled monolayers, Progress in Surface Science, 75, 1-68.

Stupp, S.I., Braun, P.V., 1997, Molecular manipulation of microstructures: Biomaterials, ceramics, and semiconductors, Science, 277, 1242-1248.

Sugimura, H., Hozumi, A., Kameyama, T., Takai, O., 2002, Organosilane self-assembled monolayers formed at the vapour/solid interface, Surface and Interface Analysis, 34, 550-54.

Toca-Herrera, J.L., Krastev, R., Bosio, V., Küpcü, S., Pum, D., Fery, A., Sara, M., Sleytr, U.B., 2005, Recrystallization of bacterial S-layers on flat polyelectrolyte surfaces and hollow polyelectrolyte capsules, Small, 1, 339–348.

Tuncer, M., 2010, Lakkaz, Kısım 2:Potansiyel Endüstriyel ve Biyoteknolojik Uygulamaları, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 22, 65-103.

Ulman, A., 1991, An introduction to ultra thin organic films from Langmuir-Blodgett to self assembly, Academic Pres, Inc.

Ulman, A., 1996, Formation and structure of self-assembled monolayers, Chemical Review, 96, 1533-1554.

Velev, O.D., Lenhoff, A.M., Kaler, E.W., 2000, A class of microstructured particles through colloidal crystallization, Science, 287, 2240-2243.

Von Weimarn, P.P., 1906, Der Kolloide Zustand als Allgemeine Eigenschaft der Materie (I-III), Russian Physical Chemistry, Gesellschaft.

Wang, A., Tang, H., Cao, T., Salley, S.O., Simon, K.Y., 2005, In vitro stability of organosilane self-assembled monolayers and multiplayers, Journal of Colloid and Interface Science, 291, 438-447.

Wang, D.Y., Caruso, F., 2001, Fabrication of polyaniline inverse opals via templating ordered colloidal assemblies, Advanced Materials, 13, 350-353.

Wang, W., Zhai, J., Bai, F., 2002, Growth of long CdS nanowires using a carboxylic acid-functionalized self-assembled monolayer as substrate, Chemical Physics Letters, 366, 165-169.

Wang, Y., Qian, W., Tan, Y., Ding, S., Zhang, H., 2007, Direct electrochemistry and electroanalysis of hemoglobin adsorbed in self-assembled films of gold nanoshells, Talanta, 72, 1134- 1140.

Weiner, S., Addadi, L., 1997, Design strategies in mineralized biological materials, Journal of Materials Chemistry, 7, 689-702.

Wijnhoven, J.E.G.J., Vos, W.L., 1998, Preparation of photonic crystals made of air spheres in titania, Science, 281, 802-804.

Wilber, J.L., Whitesides, G.M., 1999, Nanotechnology, G. Timp, ed., Springer-Verlag, Germany.

Von Weimarn, P.P., 1906, Der kolloide Zustand als allgemeine Eigenschaft der Materie (I-III), Russian Physical Chemistry Gesellschaft.

Xia. Y.N., Mrksich, M., Kim, E., Whitessides, G.M., 1995, Microcontact printing of octadecdylsiloxane on the surface of silicon dioxide and its application in microfabrication, Journal of American Chemical Society, 117, 9576-9577.

Xia, Y.N., Kim, E., Mrksich, M., Whitesides, G.M., 1996, Microcontact printing of alkanethiols on copper and its application in microfabrication, Chemistry of Materials, 8, 601-605.

Xia, Y.N., Gates, B., Yin, Y.D., Lu, Y., 2000, Monodispersed colloidal spheres: Old materials with new applications, Advanced Materials, 12, 693-713.

Xu, G.H., Ko, H., 2000, Formation of OTS self-assembled monolayer on glass surface investigated by AFM, Chemical Journal of Chinese Universities-Chinese, 21, 1257-1260.

Yamasaki, T., Tsutsui, T., 1998, Spontaneous emission from fluorescent molecules embedded in photonic crystals consisting of polystyrene microspheres, Applied Physics Letters, 72, 1957-1959.

Yang, L., Li, Y., 2005, AFM and impedance spectroscopy characterization of the immobilization of antibodies on indium-tin oxide electrode through self-assembled monolayer of epoxysilane and their capture of Escherichia coli O157:H7, Biosensors & Bioelectronics, 20, 1407-1416.

Ye, P. D., Wilk, G. D., Yang, B., Kwo, J., Chu, S. N. G., Nakahara, S., Gossmann, H.J. L., Mannaerts, J.P., Hong, M., Ng, K.K., Bude, J., 2003, GaAs metal–oxide–semiconductor field-effect transistor with nanometer-thin dielectric grown by atomic layer deposition, Applied Physics Letters, **83**, 180-182.

Yi, D.K., Kim, M.J., Turner, L., Breuer, K.S., Kim, D.Y., 2006, Colloid lithography-induced polydimethylsiloxane microstructures and their application to cell patterning, Biotechnology Letters, 28, 169-173.

Yönten, V., 2010, Maya Kültürlerinin Biyofilm Oluşturma Özelliklerinin Araştırılması, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Van.

You, Z.Z., 2007, Combined AFM, XPS, and contact angle studies on treated indium–tin-oxide films for organic light-emitting devices, Materials Letters, 61, 3809-3814.

Yuan, W., Oouji, W.J.V., 1997, Characterization of organofunctional silane films on zinc substrates, Journal of Colloid and Interface Science, 185, 197-200.

Zheng, H.P., Lee, I., Rubner, M.F., Hammond, P.T., 2002, Two component particle arrays on patterned polyelectrolyte multilayer templates, Advanced Materials, 14, 569-572.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Mustafa ÖZMEN
Uyruğu : T. C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Konya, 1981
Telefon : 0332 223 3893
Faks : 0332 241 2499
e-mail : musozmen@gmail.com

EĞİTİM

Derece		Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	:	Özel Tür-mak Süper Lisesi, Konya	1999
Üniversite	:	S.Ü., Fen-Edebiyat F., Kimya Bölümü, Konya	2003
Yüksek Lisans	:	S.Ü., Fen Bilimleri E., Kimya ABD, Konya	2006
Doktora	:	S.Ü., Fen Bilimleri E., Kimya ABD, Konya	

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2005-devam ediyor	S.Ü. Fen F., Kimya Bölümü	Araş. Gör.

YABANCI DİLLER

İngilizce

YAYINLAR

G. Arslan, **M. Ozmen**, B. Gunduz, X. Zhang, M. Ersoz, "Surface modification of glass beads with aminosilane monolayer", Turkish Journal of Chemistry, 30, 2006, 203-210.

G. Arslan, **M. Ozmen**, I. Hatay, I.H. Gubbuk, M. Ersoz, "Microcontact Printing of an alkylsilane monolayer on the surface of glass", Turkish Journal of Chemistry, 32, 2008, 313-321. (Yüksek Lisans)

K. Can, **M. Ozmen**, M. Ersoz, "Immobilization of albumin on aminosilane modified superparamagnetic magnetite nanoparticles and its characterization", Colloids and Surfaces B:Biointerfaces, Volume 71, Issue 1, 2009, 154-159.

A.K.F. Dyab, **M. Ozmen**, M. Ersoz and V.N. Paunov, "Fabrication of novel anisotropic magnetic microparticles", Journal of Materials Chemistry, 19, 2009, 3475-3481.

G. Arslan, A. Tor, H. Muslu, **M. Ozmen**, I. Akin, Y. Cengeloglu, M. Ersoz, "Facilitated transport of Cr(VI) through a novel activated composite membrane containing Cyanex 923 as a carrier", Journal of Membrane Science, Volume 337, Issues 1-2, 2009, 224-231.

M. Ozmen, K. Can, M. Ersoz, "Immobilization of albumin on indium-tin oxide (ITO) surface via isocyanate linkage", Journal of Electroanalytical Chemistry, Volume 633, Issue 1, 2009, 228-234.

M. Ozmen, K. Can, I. Akin, G. Arslan, A. Tor, Y. Cengeloglu, M. Ersoz, "Surface modification of glass beads with glutaraldehyde: Characterization and their adsorption property for metal ions", Journal of Hazardous Materials, Volume 171, Issues 1-3, 2009, 594-600.

M. Ozmen, K. Can, G. Arslan, A. Tor, Y. Cengeloglu, M. Ersoz, "Adsorption of Cu(II) from aqueous solution by using modified Fe_3O_4 magnetic nanoparticles", Desalination, Volume 254, Issues 1-3, 2010, 162-169.

K. Can, **M. Ozmen**, L. Gurfıdan, I.H. Gubbuk, E. Kaymak, M. Ersoz, Z. Ozbek, R. Capan, "Fabrication of octyltriethoxysilane Langmuir-Blodgett thin film", Journal of Optoelectronics and Advanced Materials, Volume 12(7), 2010, 1552-1555.

D. Zhang, R.F. Fakhrullin, **M. Ozmen**, H. Wang, J. Wang, V.N. Paunov, G. Li, W.E. Huang "Functionalization of whole-cell bacterial reporters with magnetic nanoparticles", Microbial Biotechnology, Volume 4(1), 2011, 89-97.

E. Maltas, **M. Ozmen**, H. Cingilli Vural, S. Yildiz, M. Ersoz "Immobilization of albumin on magnetite nanoparticles", Materials Letters, Volume 65, Issues 23-24, 2011, 3499-3501.

PATENT

Y. Zeng, W. Huang, D. Zhang, R.F. Fakhrullin, **M. Özmen**, V.N. Paunov "Construction and application for magnetic nanoparticles (MNPs) coating biosensor", PR of China patent application, Ref. No: ZL201010513790.5, 2010.