



T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEŞİTLİ SÜRFAKTAN KARIŞIMLARININ YÜZEY GERİLİM ÖLÇÜMLERİNİN VE DNA ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Rabia GEMİCİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Haziran-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.

Rabia GEMİCİ

24/06/2011

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÇEŞİTLİ SÜRFAKTAN KARIŞIMLARININ YÜZEY GERİLİM ÖLÇÜMLERİNİN VE DNA ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Rabia GEMİCİ

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Gülnare AHMETLİ
Prof. Dr. Refika KURBANLI

2011, 74 Sayfa

Jüri
Doç. Dr. Gülnare AHMETLİ
Prof. Dr. Erol PEHLİVAN
Doç. Dr. Ahmet KOÇAK

Bu tez çalışmasında çeşitli sürfaktanların bir araya gelerek misel oluşturması, yüzey gerilim etkileri, kritik misel konsantrasyonları ve DNA' nın sürfaktan/polimer karışımları ile etkileşimleri incelenmiştir. Bu kapsamda çalışmalar üç bölüm altında toplanmıştır; birinci bölümde katyonik sürfaktanlar (TTAB-HPyCl) ile non-iyonik sürfaktanların ($C_{12}E_5$-$C_{16}E_{20}$), TRIS/EDTA tampon çözeltisi ile karışımlarının yüzey gerilimleri ölçülmüş ve kritik misel konsantrasyonları hesaplanmıştır. Sürfaktan konsantrasyonu arttıkça, karışımın yüzey geriliminin azaldığı ve karışımların kritik misel konsantrasyonunun da arttığı gözlenmiştir. İkinci bölümde katyonik sürfaktan HPyCl ve PEG karışımlarının yüzey gerilimleri ölçülmüştür. HPyCl/PEG karışımının konsantrasyonu arttıkça karışımın yüzey geriliminin azaldığı görülmüştür. Üçüncü bölümde ise fluoresans spektroskopi yöntemi ile Rh-B boyar maddesi kullanılarak DNA' nın HPyCl/PEG karışımları ile etkileşimi incelenmiş, karışıma DNA eklenildiğinde DNA ile sürfaktan/polimer karışımının elektrostatik etkileşiminin arttığı ve fluoresans şiddetini azalttığı gözlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlarla teorinin örtüştüğü sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: DNA, kritik misel konsantrasyonu, polietilenglikol, yüzey aktif madde, yüzey gerilimi

ABSTRACT

MS THESIS

INVESTIGATION OF VARIOUS SURFACTANT MIXTURES SURFACE TENSION MEASUREMENTS AND THEIR EFFECTS ON DNA

Rabia GEMİCİ

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN CHEMICAL ENGINEERING

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Gülnare AHMETLİ
Prof. Dr. Refika KURBANLI

2011, 74 Pages

Jury
Assoc. Prof. Dr. Gülnare AHMETLİ
Prof. Dr. Erol PEHLİVAN
Assoc. Prof. Dr. Ahmet KOÇAK

In this thesis variety of surfactants came together to form micelles, the effects of surface tension, critical micelle concentration and the DNA surfactant/polymer mixtures and interactions were investigated. In this context works are grouped under three parts: In first part, cationic surfactants (TTAB-HPyCl) non-ionic surfactants ($C_{12}E_5$-$C_{16}E_{20}$) wtih TRIS/EDTA buffer solution mixtures surface tensions calculated and critical micelle concentration of mixtures was measured. It is observed when surfactant concentration has increased, surface tension of the mixture decreased and the critical micelle concentration of the mixture increased. In second part, HPyCl and PEG mixtures' surface tensions were measured. When the HPyCl/PEG mixture concentration has increased, surface tension decreased. In third part, DNAs attractions with surfactant/polymer mixtures has examined with fluorescence spectroscopy method and adding DNA to the mixture, electrostatic interactions between DNA and surfactant/polymer mixture has increased and the fluorescence intensity decreased. It is concluded from this study, the results overlapped with the theory.

Keywords: critical micelle concentration, DNA, polyethylene glycol, surfactant, surface tension

ÖNSÖZ

Çeşitli Sürfaktan Karışımlarının Yüzey Gerilim Ölçümlerinin ve DNA Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması adlı bu çalışma Selçuk Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü'nde yüksek lisans bitirme tezi olarak hazırlanmıştır.

Çalışma süresi boyunca benden bilgilerini ve yardımlarını esirgemeyen ve de çalışmalarımı yönlendirmemde büyük emekleri olan değerli hocalarım Sn. Prof. Dr. Refika KURBANLI ve Sn. Doç. Dr. Gülnare AHMETLİ'ye,

Çalışmalarımda desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen hocalarım Sn. Prof. Dr. İbrahim KARATAŞ'a, Sn. Prof. Dr. Mustafa ERSÖZ'e ve Arş. Gör. Esra MALTAŞ'a,

Bütün yaşamım boyunca zorluklara karşı yılmadan mücadeleyi öğreten, her konuda yanımda olan annem Fatma GEMİCİ ve babam İzzet GEMİCİ' ye, hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen ablam Aslıhan GEMİCİ ve kardeşim Ömer Faruk GEMİCİ' ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Rabia GEMİCİ
KONYA-2011

İÇİNDEKİLER

TEZ BİLDİRİMİ ..... **iii**
ÖZET ..... **iv**
ABSTRACT ..... **v**
ÖNSÖZ ..... **vi**
İÇİNDEKİLER ..... **vii**
SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **viii**

1.GİRİŞ **1**
1.1.Sürfaktan (Yüzey Aktif Madde) 2
1.2. Sürfaktan Çeşitleri 3
1.3. Misel Oluşumu 5
1.4. Karışık Misel Oluşumu ve Etkileşimi 7
1.5. Yüzey Gerilimi 9
1.6. Yüzey Gerilimine Etki Eden Faktörler 10
1.7. Yüzey Gerilim Ölçüm Yöntemleri 11
1.7.1. Du Noüy Halka Metodu 13
1.7.2. Sarkan Damla (Pendant Drop) Metodu 16
1.8. Sürfaktan-Polimer Etkileşimi 19
1.9. DNA (Deoksiribonükleik Asit) 21
1.10. DNA Transfeksiyonu 24
1.10.1. DNA nın Küçük Moleküllerle Etkileşimi 25
1.10.2. DNA/ Katyonik Sürfaktan Etkileşimi 26
1.10.3 DNA-Katyonik Komplekslerle Non-iyonik Sürfaktanların Etkileşimi 28
1.11. Lüminesans Spektrokopisi 29
1.12. Ultraviyole (Görünür Bölge) Spektrofotometresi (UV Spektroskopisi) 30

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **32**

3. MATERYAL VE YÖNTEM **37**
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler 37
3.2. Deneylerde Kullanılan Cihaz ve Aletler 39
3.3. Sürfaktan Karışımlarının Yüzey Gerilimlerinin Ölçülmesi 40
3.4. DNA/Sürfaktan Etkileşiminin İncelenmesi için Yapılan Deneyler 44

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA **46**
4.1. Sürfaktan Karışımlarının Yüzey Gerilim Bulguları 46
4.2. Sürfaktan/Polimer Karışımlarının Yüzey Gerilim Ölçüm Bulguları 62
4.3. Sürfaktan/Polimer Karışımlarının DNA ile Etkileşim Bulguları 64
4.3.1. DNA/Sürfaktan/Polimer Karışımlarının Spektrometre Cihazı Ölçüm Bulguları 64
4.3.2. DNA/Sürfaktan/Polimer Karışımlarının UV Görüntüleri 66

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER **68**
5.1. Sonuçlar 68
5.2. Öneriler 70

KAYNAKLAR **71**
ÖZGEÇMİŞ **74**

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simge	Açıklama
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit
HPyCl	Heksadesil Piridinyum Klorit
KMK	Kritik Misel Konsantrasyonu
TRIS	Trihidroksimetil Aminometan
TTAB	Tetradesil Trimetil Amonyum Bromit
PEG	Polietilen Glikol
Rh-B	Rhodamine-B

1.GİRİŞ

Yüzey aktif maddeler (Sürfaktanlar), günlük yaşantımızda birçok alanda kullanılmakta ve endüstriyel olarak büyük boyutlarda üretilmekte olan maddelerdir. Yüzey aktif maddeleri yapılarında hidrofilik (suyu seven) bir baş grup ve hidrofobik (suyu iten) bir kuyruk grubu içeren ve çeşitli çözücüler içinde misel gibi kümeleşmeler oluşturabilen amfifilik yapıdaki moleküllerdir. Amfifilik yapılarından kaynaklanan ilginç ara yüzey ve çözelti özellikleri sayesinde sadece kağıt, çimento, maden, tarım, eczacılık gibi birçok endüstriyel sektörde değil aynı zamanda tıp, nanoteknoloji, biyoteknoloji gibi popüler alanlarda da yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Lange, 1999). Yüzey aktif madde uygulamaları yıllardır endüstride önemli bir yere sahiptir. Başta temizlik maddeleri olmak üzere gıda, ilaç, ziraat, tekstil, elyaflar, kimya ve polimer endüstrisinde yaygın olarak kullanmaktadırlar.

Yüzey aktif madde moleküllerinin başlıca fiziksel özellikleri yüzey gerilimi, yüzey viskozitesi ve fazlar arasındaki elektriksel potansiyel farklarında ölçülebilen değişikliklerdir. Endüstriyel açıdan da önem taşıyan diğer özellikleri ise ıslatma, deterjan etkisi, yayılma ve dağılma, hidrotropi (çözündürme), emülsiyon oluşturma (sıvı-sıvı karışımı) ve köpüklenme olarak sıralanabilir.

Yüzey aktif madde-polimer karışımlarının uygulamaları da günlük hayatın neredeyse her bölümünde bulunan endüstriyel ürünlerden (deterjanlar, kozmetikler, boyalar ve yüzey kaplayıcılar, kaydırıcılar, yapıştırıcılar ve gıda ile eczacılık ürünleri dahil olmak üzere) biyolojik sistemlere (membran yapısı ve fonksiyonu, lipid transferi gibi) kadar çeşitlilik göstermektedir (Goddard ve Ananthapadmanabhan, 1993).

DNA (deoksiribo nükleik asit) genetik bilgiyi taşıyan kalıtımsal bir materyaldir. DNA transfeksiyonu biyolojik olarak öneminden ve biyoteknolojik uygulamalardan dolayı geniş olarak çalışılan bir konudur. Bu işlemlerin yapılmasının temel nedeni gen tedavisinde yer değiştirme ve/veya eksik, yetersiz genlerin tedavisidir. Bu teknik DNA yı viral ya da non-viral vektörleri ökaryot hücrelerle tanıştırır. DNA ve hücre duvarı negatif yüklü olduklarından dolayı uygun elektrostatik etkileşim elde edileceğinden katyonik (non viral) vektörler olan ‘sürfaktanlar’ tercih edilmiştir.

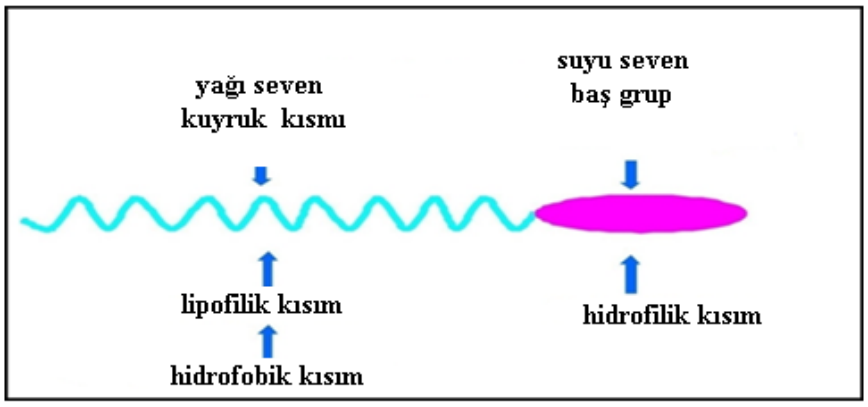
Bu tez çalışmasında çeşitli sürfaktan ve sürfaktan/polimer karışımlarının fizikokimyasal özelliği olan yüzey gerilimlerinin ölçülerek kritik misel yoğunluklarının

bulunması ve DNA nın kimyasal yapısından (anyonik polielektrolit) yararlanılarak DNA ile etkileşiminin fluoresans spektrometre yöntemi ile gözlenmesi amaçlanmıştır.

Literatürde sürfaktan karışımlarının DNA ile etkileşmesi ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Bu tez çalışmasında ise literatürdeki çalışmalardan farklı olarak sürfaktan/polimer karışımlarının DNA ile etkileşimi de gözlenmiştir.

1.1.Sürfaktan (Yüzey Aktif Madde)

İngilizce de "yüzey" anlamına gelen 'surface' kelimesinden türemiş, 'surface active agent' sözcüklerinin harflerinden oluşan kısaltması 'surfactant' olarak dilimize sürfaktan olarak geçmiştir ve yüzey aktif madde yerine kullanılır. Suda sulu bir çözeltide veya susuz ortamda çözündüklerinde sıvı yüzeyini küçülten, yani yüzey gerilimini azaltan maddelerdir (Galioğlu, 1991). Çözücünün su olduğu durumda hidrofilik (suyu seven) bir baş grubu ve hidrofobik (suyu sevmeyen) bir kuyruk grubu bulunan amfifilik (hidrofobik ve hidrofilik karakterli yapı) yapıdaki moleküller olarak da tanımlanmaktadırlar. (Şekil 1.1)

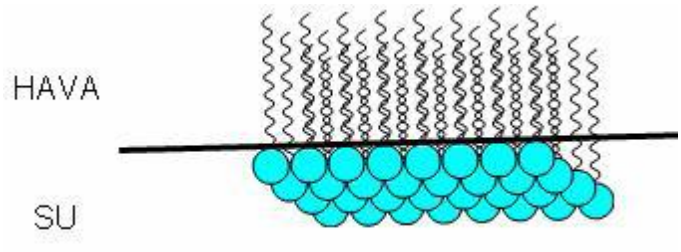


Şekil 1.1. Sürfaktanın genel yapısı

Sulu çözeltide sürfaktanların davranışı, hidrofobik kısmının çözeltiden ayrılma ve hidrofilik kısmının çözeltiye doğru yönelme eğilimi ile tayin edilir. Bu çift yönlü eğilim, ara yüzeylerde sürfaktanların adsorpsiyonu ve miseller gibi agregatların oluşumunu sağlamaktadır.

Sürfaktan suda veya sulu bir çözeltide çözündüğünde yüzey gerilimini etkileyen, çoğunlukla azaltan, kimyasal bir bileşiktir. Hidrofilik bir baş ve hidrofobik bir kuyruktan oluşan sürfaktan molekülleri, hava ile suyun birleştiği yerde yoğunlaşırlar.

Yüzey aktif maddeleri diğer amfifillerden ayıran temel özellik hava-su ara yüzeyine adsorplanarak yüzey gerilimini düşürebilmeleridir. (Şekil 1.2)



Şekil 1.2. Hava-su arayüzeyi

Sürfaktan moleküllerinin, hidrofobik grupları sudan uzakta su/hava ara yüzeylerinde ve hidrofilik grupları da çözelti içinde adsorplanır. Bunun bir sonucu olarak, ara yüzeydeki su moleküllerinin bazıları hidrokarbon veya polar olmayan gruplar ile yer değiştirir. Ara yüzeyde sürfaktan moleküllerinin adsorpsiyonu sonucu su molekülleri arasındaki etkileşim kuvveti azalır ve çözeltinin yüzey geriliminde bir düşme meydana gelir (Geçgel, 2008).

1.2. Sürfaktan Çeşitleri

Sürfaktan çeşitleri oluşumları ve iyonik yükleri bakımından değerlendirildiğinde farklı gruplara ayrılırlar.

Sürfaktanlar oluşumları bakımından iki grupta incelenirler:

-Sentetik Sürfaktanlar

-Doğal Sürfaktanlar

Doğal Sürfaktanlar

Doğal olarak oluşan amfifiller, basit lipitler (örneğin, karboksil asit esterleri), kompleks lipitler (örneğin fosfor, azot veya şeker içeren yağ asitleri), kolik ve deoksikolik asit gibi safra asitlerini içerirler (Taner, 2006).

Sentetik Sürfaktanlar

Sentetik sürfaktanlar hidrofilik (suyu seven) gruplarının yükleri açısından, molekülün yüzey aktif kısmıyla taşınan yüke göre non-iyonik (iyonik olmayan), anyonik, katyonik ve amfoterik olarak sınıflandırılırlar.

Non-İyonik Sürfaktanlar

Molekülün hidrofilik kısmı iyonik yüke sahip değildir. Sulu ortamda çözündükleri ve dağıldıkları zaman yüklü tanecik oluşturmazlar. Hidrofilik eğilimleri, su molekülleri ile hidrojen bağı yapıp yapmadıklarına bağlıdır. Uzun bir hidrofobik alkil grup ile yüksek polariteli nötral grup veya grupların birleştirilmesiyle oluşurlar; sülfat, sülfonat veya karboksilat anyonları (Galioğlu, 1991). Fizikokimyasal özellikleri, elektrolitler tarafından belirgin bir şekilde etkilenmez. Yüksek sıcaklıklarda suda daha az çözünür ve daha hidrofobik hale gelirler. Polar grup olarak ya bir polietere ya da polihidroksil birimlerine sahiptir. Non-iyonik sürfaktanların büyük bir kısmında polar grup, oksietilen birimlerinden oluşan bir polieter veya polihidroksil polar gruplarıdır. Bu grupta en geniş kullanım alanı olan madde alkol etoksilatlardır.
Örnek olarak; Sodyum dodesil sülfat (SDS), Poli oksietilen alkol, alkilfenol etoksilat, Penta etilenglikolmonodesil eter.

Anyonik sürfaktanlar

Yükleri negatiftir. Anyonik yüzey aktif maddeler önemli biyolojik aktiviteler gösterirler. Nişasta (Merta ve Stenius, 1999), proteinler (Nielsen ve ark., 2000), peptitler ve DNA (Marques ve ark., 2000) gibi çeşitli biyolojik olarak aktif makro moleküllere bağlanarak ya da çeşitli hücre öğelerinin (fosfolipit hücre zarları gibi) içerisine girerek bu kısımların fonksiyonlarını yerine getirememelerine sebep olurlar. Örnek olarak; Sabunlar, alkil benzen sülfonatlar (ABS).

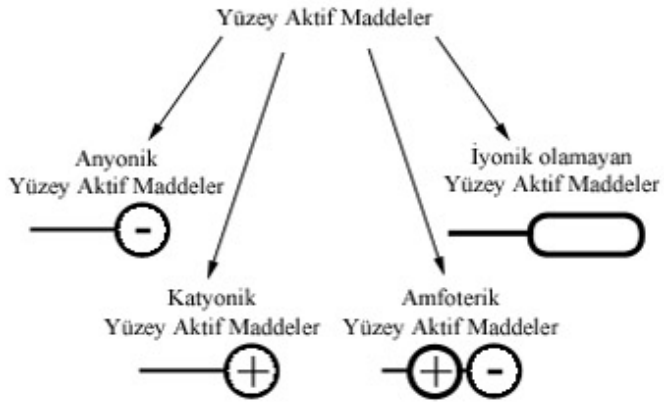
Katyonik sürfaktanlar

Yükleri pozitiftir. Yüzeyde güçlü olarak adsorplandıklarından dolayı katyonik sürfaktanlar yüzey modifikasyonlarında kullanılmaktadırlar. Büyük bir çoğunluğu,

katyonik yük taşıyan azot atomuna dayanmaktadır. Yapılarında yer alan azot atomunun katyonik elektriksel yük taşımasından dolayı katyonik yüzey aktif maddeler olarak adlandırılmaktadırlar. Anyonik yüzey aktif maddelerle geçimsizdirler ancak non-iyonik ve zwitter iyonik yüzey aktif maddelerle uyumludurlar (Rosen M.J.,1978). Örnek olarak; Setiltrimetilamonyum bromür (CTAB) ($CH_3(CH2_{)15}N^+(CH_3)_3Br^-$)
Dodesilamin hidroklorür ($CH_3(CH_2)_{11}NH_3^+Cl^-$)
Hekzadesiltrimetil amonyum bromür ($CH_3(CH_2)_{15}N(CH_3^+)Br^-$)

Amfolitik sürfaktanlar

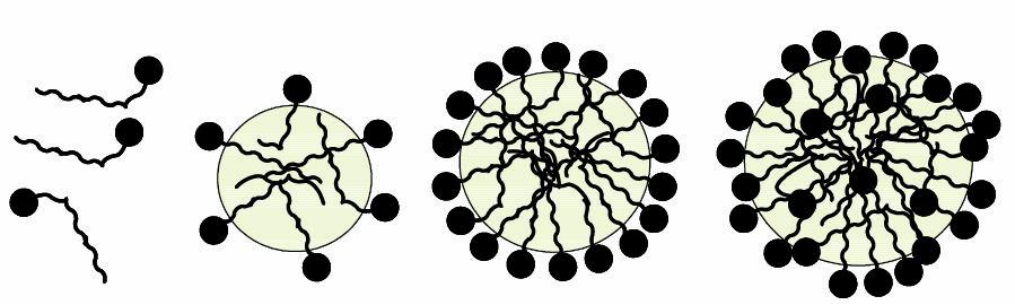
Hem negatif hem pozitif yük taşırlar. Yüzey aktif madde moleküllerinin hidrofobik kısımları genellikle uzun hidrokarbon zincirleridir ancak düz zincir halindeki uzun alkil grupları, dallanmış zincirli uzun alkil grupları, uzun zincirli alkil benzen grupları, alkil naftalin grupları, reçine türevleri, yüksek molekül ağırlıklı propilen oksit polimerleri, polisiloksan grupları gibi farklı yapıları içerebilirler. Hidrofobik grubun yapısı yüzey aktif maddelerin özellikleri üzerinde etkilidir (Hande Ünsal, 2008).



Şekil 1.3. Yüzey aktif maddelerin sınıflandırılması

1.3. Misel Oluşumu

Yüzey aktif madde moleküllerinin hidrofobik kısımlar iç bölgede, hidrofilik kısımlar ise dış yüzeyde su ile temas halinde olacak şekilde meydana getirdikleri kümeleşmeler misel adını almaktadır (Şekil 1.4).

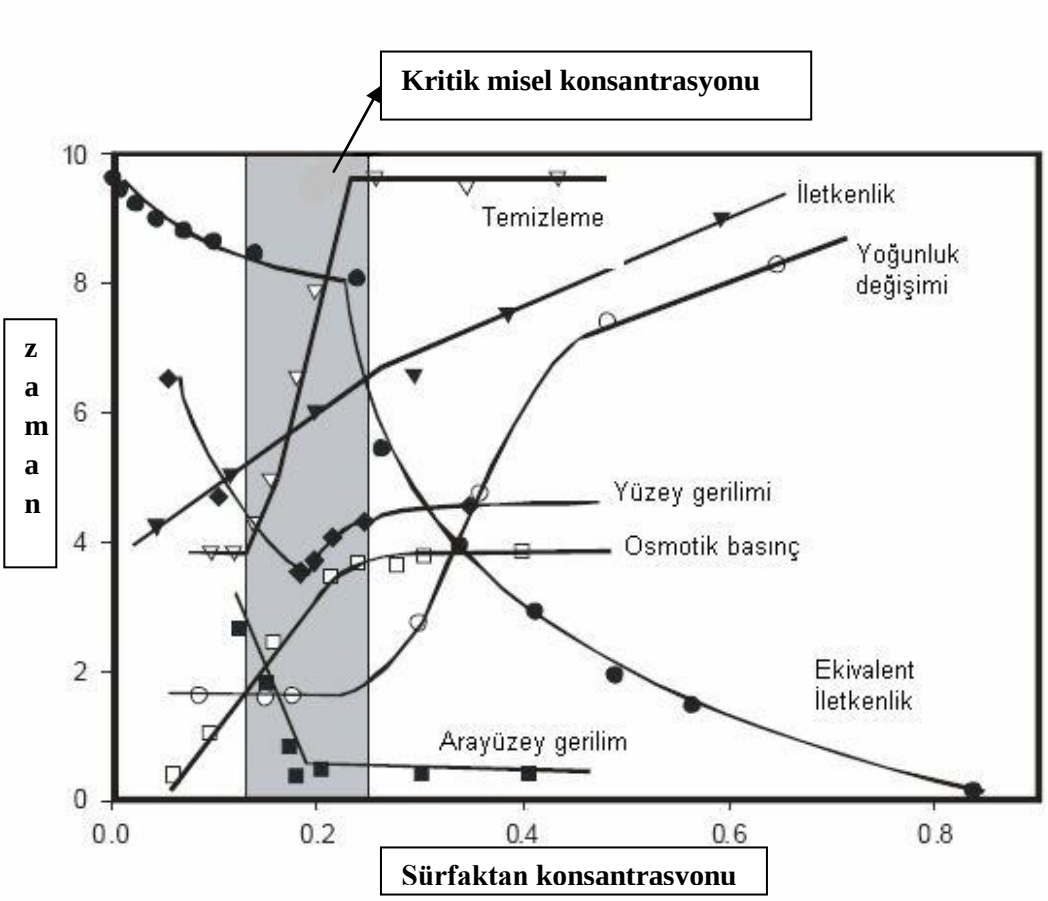


Şekil 1.4. Misel oluşumunun şematik gösterimi

Suyun içinde apolar bir maddenin çözünmesi bu yapılanmayı arttırır ve bu nedenle sistemin serbest enerjisinde artış meydana gelir. Bu artışın fiziksel sonucu olarak yüzey aktif madde molekülleri sistemin serbest enerjisini düşürmek için hava-su ara yüzeyine adsorplanırlar veya moleküler kümeleşmeler oluştururlar. Monomerlerin misellere dönüşmesi hidrokarbon kısım etrafındaki su yapılanmasının bozulması anlamına gelmektedir. Böylelikle su molekülleri için düzenli bir konumdan düzensiz bir konuma geçiş gerçekleşir ve bu da entropide artışa ve serbest enerjide azalmaya neden olur (Elworthy, 1968). Amfifillerin ara yüzeyde adsorpsiyonunun bir sonucu olarak, yüzey (hava/su) veya ara yüzey (yağ/su) geriliminde bir azalma meydana gelir. Bir kez yüzey amfifiller ile doyunca, sistemin Gibbs enerjisini düşürmek için alternatif metotlar bulunmalıdır. Olası bir alternatif mekanizma, çözeltiden amfifil fazının ayrılmasıdır. Bu da istenmedik hidrokarbon-su temasını engelleyebilir. Bu yaklaşımın asıl zorluğu, aynı zamanda enerjitik olarak istenmeyen bir durum olan, sudan molekülün hidrofobik kısımlarının çıkartılmasıdır. Misel gibi küçük agregatların oluşumu, bir uyuşma sağlar ve oluşan mikrofazlarda, hidrofobik alkil kuyruklarının agregatın merkezinde izole edildiği, agregatın kabuğunu oluşturan hidrofilik baş grupların su ile sürekli teması sağladığı düşünülmektedir (Geçgel, 2008).

Misel oluşumu belli bir yüzey aktif madde derişiminden sonra meydana gelir. Yüzey aktif madde molekülleri artık yüzeyde adsorplanacak yer bulamadıkları için çözeltinin içine doğru ilerleyerek misel oluştururlar. Yeterli miktarda sürfaktan çözeltide çözündüğünde, yüzey gerilimi, hidrokarbonlardaki çözünürlük, iletkenlik gibi çözelti özelliklerinden bazıları önemli ölçüde değişir. Bu değişimlerin gözlenmeye başlandığı minimum sürfaktan konsantrasyonuna kritik misel konsantrasyonu ‘KMK’ denir. Bu şekilde misel oluşumunun başladığı an KMK olarak adlandırılır ve çözelti içerisindeki maddenin monomerik ya da kümeleşmiş olmasına bağlı olan herhangi bir fiziksel özelliğin derişimle değişimi incelenerek tespit edilebilir. En yaygın olarak

kullanılan teknikler yüzey gerilimi, bulanıklık, difüzyon, iletkenlik, ozmotik basınç, çözünürleştirme ve fluoresans yöntemleridir.



Şekil 1.5. Kritik misel konsantrasyonundan sonra meydana gelen fiziksel özelliklerdeki belirgin değişikliklerin gösterilmesi

Seyreltik çözeltilerinde sürfaktan normal çözünen gibi davranmaktadır. Fakat belirli konsantrasyonların üzerinde osmotik basınç, iletkenlik, türbidite ve yüzey gerilimi gibi büyüklükler genel değişim niteliğinden anormal bir sapma gösterirler. Kritik misel konsantrasyonu bu fiziksel özelliklerin yüzey aktif madde derişimine karşı grafiğe geçirilmesi halinde bir kırılma noktası olarak gözlenir (Şekil 1.5).

1.4. Karışık Misel Oluşumu ve Etkileşimi

İkili sürfaktan sistemleri, konsantrasyonun fonksiyonu olarak bazı fiziksel özelliklerde göze çarpan değişim gösterirler. Bu değişimler bir tek sürfaktan çözeltisindeki misellerin oluşumu ile birleştirilir. İkili çözeltilerde oluşan miseller her iki sürfaktandan ibaret bulunabilir ve sulu fazdaki monomerik türler ile dengedir

(Rubingh, 1979). KMK civarında, misel oluşumunu sağlayan iki sürfaktan karışımının oluşturduğu çözeltinin özellikleri tekli sürfaktan çözeltilerinin çözelti özelliklerinin arasında ya da bunların dışında yer alır (Okano ve Tamuro, 2000). KMK üzerine ikili sürfaktan karışımlarının fiziksel davranışlarının tanımı, sulu faz ve miseller arasındaki sürfaktan bileşenlerinin dağılımı ve KMK' nın değerine bağlıdır. Gerekli olan böyle bir tanım monomer konsantrasyonunun birinci derece önemli olduğu, *adsorpsiyon* olayı, misel konsantrasyonunun ilginç parametreler olduğu, *çözündürme* olayıdır.

Karışık sistemlerde ilk önce KMK analitik olarak tanımlanmalıdır. Benzer yapılı sürfaktan karışımlarından oluşan miseller nerdeyse idealdir. Yani o bir *pseudo* faz olarak düşünüldüğünde ideal çözelti teorisi karışımının termodinamiğini tanımlar (Shinoda, 1963). Bununla birlikte iyonik-noniyonik veya anyonik-katyonik sürfaktan içeren karışık miseller ideallikten sapma gösterirler. İdeal olmayan karışık sistemlerin farklı kombinasyonları arasında florokarbon ve hidrokarbon sürfaktanlarından ibaret olan böyle karışımların da ideal karışımdan kesin bir sapma gösterdikleri bulunmuştur (Clint, 1975). Ayrıca karışık misel bileşimi, sürfaktanların mol oranıyla değişmektedir. Karışık misel oluşumunun gözlendiği çözeltilerde, karışık misel oluşumu noniyonik sürfaktanın moleküler karakterizasyonuna bağlıdır (Ogino ve ark., 1984). Clint, miselleşme faz ayırım modelini ve düzenli çözelti yaklaşımını kullanarak bu ideal olmayan davranışı başarılı bir şekilde açıklamıştır (Clint, 1975). Bilinen kompozisyonun monomeri ile dengedeki karışık misellerin kompozisyonunu hesaplayan yeni bir metot Scamehorn tarafından bulundu (Nguyen, 1986). Bu metod, bir *pseudo* faz olarak davranan karışık misele Gibbs-Duhem eşitliğini uygular.

Pseudo faz ayırım modelini misellere uygulamak için,

- Monomer-misel dengesi buhar-sıvı dengesine analog olarak düşünülür.
- Burada yalnız ikili sistemler düşünülür
- Monomer seklindeki her bir sürfaktanın yeteri kadar seyreltik olduğu düşünülür.

İdeal olan karışık misel oluşumlarının termodinamiği açıklanırken Clint (1975), miselleşmede *pseudo* faz ayrım modeli eğer ‘ideal olarak’ düşünülürse; birinci sürfaktanın monomer konsantrasyonu;

$$C_1^m = x_1 . (CMC_1) \qquad (1.1)$$

Burada x_1; karışık miselde sürfaktan 1’ in mol kesrini, CMC_1; birinci sürfaktanın(saf haldeki) kritik misel konsantrasyonunu ifade eder. Karışımda ikinci bir sürfaktan olursa eşitlik şu hale gelmiştir;

$$1/ CMC = \alpha / CMC_1 + (1- \alpha) / CMC_2 \quad (1.2)$$

Burada α; toplam karışık çözünende sürfaktan 1 in mol kesri, CMC karışımın kritik misel konsantrasyonudur. 1.2 eşitliğinden ideal davranışta iki sürfaktan karışımının kritik misel konsantrasyonu kolaylıkla bulunur. Rubingh ideal davranıştan sapmayı açıklamak için miselleşmenin faz ayırım modelini ve düzenli çözelti teoremini kullanarak şu eşitliği elde etmiştir:

$$C_1^m = x_1 . f_1 . (CMC_1) \quad (1.3)$$

Burada f_1; aktiflik katsayısıdır. Düzenli çözelti teoreminden faydalanarak;

$$f_1 = \exp [\beta.(1-x_1)]^2 \quad (1.4)$$

(1.3) eşitliğinde yerine konularak, ard arda çözümleme ile etkileşim parametresi β hesaplanmıştır;

$$x_1 . \exp[\beta.(1-x_1)]^2 = \alpha.CMC/CMC_1 \quad (1.5)$$

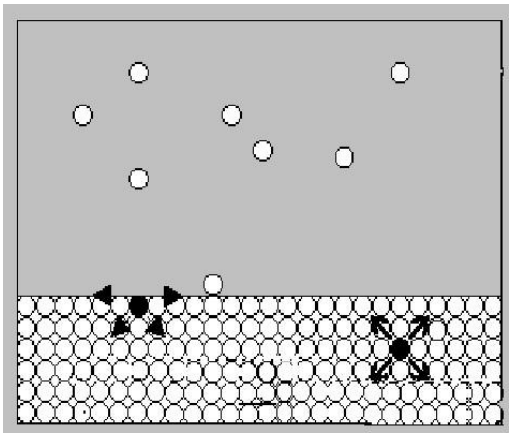
$$\beta = \ln [(\alpha.CMC) / (CMC_1 . x_1)] / (1 - x_2)^2 \quad (1.6)$$

x_2; karışık miselde sürfaktan 2' nin mol kesrini ifade etmektedir.

1.5. Yüzey Gerilimi

Sıvılarda kohezyon kuvvetleri molekülleri bir arada tutar. Şekil 1.6 da görüldüğü gibi sıvının iç kısmındaki her bir molekül bir diğeriyle çevrili haldedir ve her yönden üzerine etkiyen toplam kuvvet vektörü sıfırdır. Bu da molekülün sıvı içerisinde kararlı bir halde olmasını sağlar. Bununla beraber, yüzeydeki moleküller içteki ve kendisine komşu olan moleküller tarafından çekilir. Fakat içteki çekimi dengeleyecek dışarıdan bir çekime sahip değildir. Çünkü dışarıda buhar fazında çok az molekül vardır. Bu yüzden yüzeydeki her bir molekül yüzeye dik ve içeriye dönük güçlü bir etkileşime maruz kalmaktadır. Yüzeydeki moleküller içteki moleküllerden daha hızlı ve sürekli bir şekilde içeriye doğru hareket eder. Bu olay yüzeydeki moleküllerin sayısını, bu da sıvının yüzey alanını azaltmaktadır. Bu yüzey daralması içteki yerleşme olası

maksimum molekül sayısında olana kadar devam eder ve sıvının yüzeyinde bir gerilime sebep olur. Buna sıvının "yüzey gerilimi" denir (Erbil, 2006).



Şekil 1.6. Yüzeydeki ve içteki bir sıvı molekülünün etrafındaki moleküllerle etkileşiminin şematik gösterimi

Termodinamik olarak da yüzey geriliminin sebebi, sıvının kendi yüzeyinin serbest enerjisini minimuma indirmeye çalışması yani, sıvının toplam yüzey alanını minimuma indirmeye çalışmasıdır. Bundan dolayı bir küre, verilen bir hacim için en küçük yüzey alanına sahip olan geometrik sekil olduğundan, sıvı damlaları yüzey gerilimi etkisiyle küreseldir. Küçük bir damlacık için yüzey gerilimi, yüzeyde etkili kuvveti dengelemek üzere damlacık içerisindeki iç basıncın artmasına neden olur. Yüzey gerilimin etkisi altındaki sıvı yüzeyi öteki kısımlardan daha farklı özelliklere sahiptir. (Bayrak, 2009). Bir çözelti içerisinde farklı sıvılara ait moleküller birbiri içerisine karıştıkça ara yüzey gerilimi düşer. Yüzeyler arası gerilim sıfır iken iki sıvının molekülleri her oranda birbiri içerisine girer (Erbil, 1997).

1.6. Yüzey Gerilimine Etki Eden Faktörler

Tüm sıvılarda kuvvet metodu kullanılarak yüzey gerilimi ölçülebilir. Bu doğrudan sıvıyı oluşturan kendi molekülleri ve sıvının buhar fazına geçmesini engelleyen moleküller arasındaki etkileşimden (çekim kuvvetlerinden) ortaya çıkar. Fiziksel çekim kuvvetleri pek çok farklı tiptedir ve hepsi kısa mesafelerde etkin olan kuvvetlerdir. Makroskopik yüzeyin bir ucundan diğer ucuna sergilenen toplam kuvvet, bütün farklı türde moleküler arası kuvvetlerin toplamıdır. Yüzey şekil oluşumumun toplam enerjisi kütlesel sıvı içerisinde boşluk doldururcasına hareket eden moleküllerin

mesafelere göre hareketlerinden elde edilebilir. Mesafeyle kuvvet değiştikçe, toplam enerji kuvvetin mesafeye göre integrasyonuyla elde edilir. Bu hesaplama ve varsayımlar buhar-sıvı ara yüzeyinde molekülleri bir arada tutan kuvvetlerin ve moleküllerin yerleşimlerinin anlaşılmasında ve bunların geliştirilmesi açısından önemlidir. Moleküler arası kuvvetler, iki veya daha fazla molekül arasındaki kimyasal ya da fiziksel etkileşimden ortaya çıkar (Bayrak, 2009). Birincil bağlar ve metalik bağlar genellikle katı forma dönüşmede faaliyet gösteren büyük serbest enerjileriyle birlikte oldukça kuvvetlidirler. Fakat yine de su molekülleri arasındaki hidrojen bağları ve cıva molekülleri arasındaki metalik karakterli bağlar sebebiyle, değişmez bir şekilde katı forma dönüşümde etkin olanlar diye sınıflandırılamazlar.

Atom ve moleküller arasındaki ikincil etkileşim kuvvetleri, genellikle Van der Waals kuvvetleri gibi kümülatif olarak bir büyüklüğe sahip olan dispersiyon merkezi gibi ayrı ayrı yönlenen kuvvetlerdir. Kimyasal ve metalik bağların çekim kuvvetleri açısından büyük önemi vardır ve her ikisi de yüzey gerilimine katkıda bulunur. Maddelerin kısmi bağ enerjileri hesaplanıp, birim alana düsen bağ sayısıyla çarpılarak yüzey geriliminin belirlenmesine yönelik pek çok çalşma yapılmıştır. Fakat fiziksel çekim kuvvetleri yüzey geriliminin belirlenmesinde daha fazla önemlidirler. Özellikle yönlü karakteristik sergilemeyen dispersiyon kuvvetleri önemlidir (Princen, 1969). Sıcaklık arttığı zaman moleküllerin kinetik hareketlenmeleri ve buharlaşma eğilimleri artar. Bunun sonucu olarak moleküllerin arasında olması beklenen moleküler etkileşimler azalır, ve yüzey gerilim azalır (bazı erimiş metaller bu varsayımdan istisnai davranış sergileyebilir). Pek çok sıvı için sıcaklık artışlarındaki yüzey gerilimi düşmesi uzun periyotlar içerisinde ortalama olarak doğrusaldır. Sıvıların yüzey gerilimi 0 ila 100ºC lik aralıkta 5 ila 74 mNm^{-1} aralığında değişir. Erimiş tuzlar yaklaşık olarak 50-500 mNm^{-1}, erimiş metallerde yaklaşık olarak 500-1000 mNm^{-1} yüzey gerilimine sahiptir (100ºC den daha yüksek sıcaklıklar için) (Erbil, 1997).

1.7. Yüzey Gerilim Ölçüm Yöntemleri

Yüzey gerilimi ölçümleri ilk olarak 1916 öncesinde “hataların komedisi” isimli çalışmayla açıklanmıştır. Bu isim verilmiştir çünkü zayıf denel ölçümler ve doğru olmayan yorumlar sebebiyle hatalar meydana gelmiştir (Padday, 1969). Normal laboratuar koşulları altında sıvıların yüzey gerilimini ± 0,05 dyn/cm hassasiyetle ölçebilmek mümkündür. Bazı metotlar hesaplanmaya dahil edilmek üzere sıvının

yoğunluğuna ihtiyaç duyarlar. Sıvı yoğunluğunu gerçek değerine yakın olarak tespit edebilmek önemlidir. Ayrıca kontrollü çalışmalarda sıcaklığın ölçülmesi de önemlidir.

Sıvıların yüzey ve ara yüzey gerilimlerinin belirlenmesi için pek çok metot mevcuttur ve uygun metodun seçimi, ölçülecek sıvının doğasına bağlıdır. Örneğin saf sıvıların yüzeyleri bir saniyeden kısa bir sürede ve kesin bir şekilde dengeye gelir. Fakat yüzey aktif maddeli saf veya ikili çözeltilerin dengeye ulaşması bazen uzun zaman alabilmektedir (Bayrak, 2009).

Tüm sıvılarda kuvvet metodu kullanılarak yüzey gerilimi ölçülebilir. Bu doğrudan sıvıyı oluşturan kendi molekülleri ve sıvının buhar fazına geçmesini engelleyen moleküller arasındaki etkileşimden (çekim kuvvetlerinden) ortaya çıkar. Fiziksel çekim kuvvetleri pek çok farklı tiptedir, ve hepsi kısa mesafelerde etkin olan kuvvetlerdir. Yüzey ve ara yüzey gerilimlerinin ölçümü için kullanılabilen birçok metod; statik, koparma ve dinamik olarak sınıflandırılabilir. Statik metotlar genellikle koparma metotlarından (özellikle yüzey aktif maddeler içerdiğinde) daha büyük bir potansiyel sunar, fakat koparma metotları uygulamada daha uygundur. Statik metodlar; wilhelmly plak metodu**,** asılı damla metodu, kapiler yükselme metodu; koparma metodu olarak halka metodu; dinamik metod olarak da salınımlı fıskiye metodu bulunmaktadır. Çizelge 1.1' de uygunluklara göre yapılmış gözlemlere dayanarak mevcut yüzey gerilimi ölçüm metotlarıyla ilgili bir çizelge verilmiştir. Çizelgede belirtilen metotların tümünde yüzey geriliminin statik değerinin ölçülebileceği ortaya konulmuştur. Yani buharıyla dengedeki sıvının yüzey geriliminin bulunabileceği belirtilmiştir.

Çizelge 1.1. Yüzey gerilimi ölçüm metotları (Padday, 1969)

Metod	**Saf Sıvılar**	**Çözümler**
Damla Profili	Yeterli ve tatmin edici	Yüzey aktif madde varlığında çok uygun
Sarkan Damla Profili	*Yeterli tatmin edicidir fakat deneysel olarak sınırlıdır*	*Saf sıvılarda doğruluğu tatmin edici*
Kapiler Yükselme	Yeterli ve tatmin edici	Eğer temas açısı 0º den değişiyorsa uygun değildir
Wilhemly Plaka	Çok çabuk ve kolay ölçüm, fakat atmosferik kontaminasyon riski yüksek	Yüzey aktif madde varlığında doğruluk tatmin edici
Du Noüy Halka	*Yeterli ve tatmin edici*	*Uygun değil*
Damla Ağırlığı	Tahmini atmosferik kontaminasyon varlığında tatmin edici	Olası yüzey aktif madde varlığında zayıf sonuç
Maksimum Kabarcık Basıncı	Ölçümün basarıyla tamamlanması biraz zor	Olası yüzey aktif madde varlığında zayıf sonuç

1.7.1. Du Noüy Halka Metodu

Bilinen en eski yüzey gerilimi ölçüm metotlarından biri olup, ilk olarak 1878' de uygulanmış ve 1919' da Fransız bilim adamı Du Noüy tarafından bükülme dengesi eklenerek geliştirilmiştir (Padday, 1969, Erbil, 2006).



Şekil 1.7. Platinyum-İridyum Du Noüy halkası

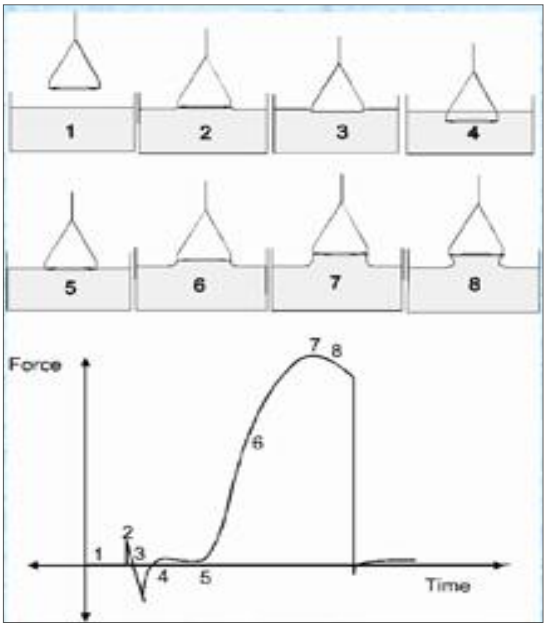
Halkanın sıvıdan tam çekilmesi sırasında sıvı monotabakası koptuğundan, bunun yüzey gerilimine eşit olduğu düşünülmüştür ve aşağıdaki eşitliğe göre,

$$\gamma = mg\ 4\pi R \qquad (1.5)$$

mg , R çapındaki halkaya yukarı doğru uygulanan maksimum kuvvettir. Fakat daha sonra yapılan bir çalışmada sıvının halka temasıyla elde edilen menisküsün, plakanın sıvıya temasıyla elde edilen menisküsle aynı olmadığı sebebiyle eşitlik (1.1) in yanlış olduğu bulunmuştur. Bunu izleyen farklı çalışmalarla F düzeltme faktörü türetilmiş ve aşağıdaki gibi uygulanmıştır.

$$\gamma = (mg\ 4\pi R).F \qquad (1.6)$$

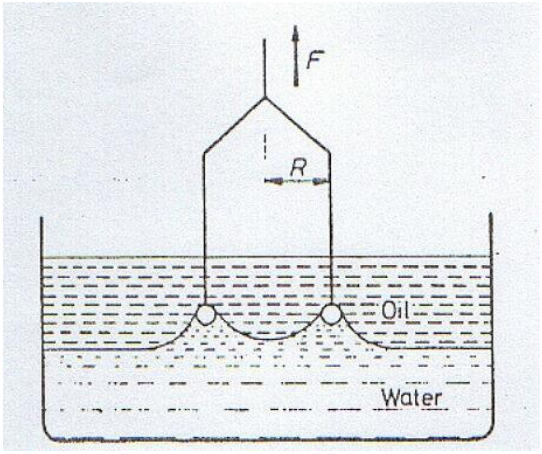
Düzeltme faktörünün fiziksel önemi, halkanın sıvının yüzeyine daldırılıp, çıkarılırken ard arda gelen aşamaların iyi anlaşılmasında ortaya çıkar. Anlatılmak istenen Du Noüy halkasını oluşturan telin uygulanan kuvvetle (f), menisküs oluşturmaya başladığıdır.



Şekil 1.8. Du Noüy halkası kullanılarak yapılan yüzey gerilimi ölçümünde, ortaya çıkan aşamalar ve yüzey gerilimi ölçüm aşamalarında Du Noüy halkasına uygulanan kuvvetin zamana bağlı değişim grafiği

Ölçümle ilgili gelişimi Şekil 1.4 yardımıyla kısaca açıklanırsa; birinci durumda halka yüzeyin üstünde ve denge kuvveti sıfırdır. İkinci durumda halka yüzeye değer ve bir miktar pozitif kuvvetle beraber tamamen ıslanır. Üçüncü durumda sıvı yüzeyinin içine girmesiyle birlikte kaldırma kuvveti gibi bir takım etkilerle karsılaştığından negatif kuvvet ölçümü ortaya çıkar. Dördüncü durumda halkanın yatay ıslanma etkileşimleri sebebiyle çok küçük miktarlarda pozitif kuvvet şarjı mümkündür. Besinci durumda halka sıvı dışına çekilmeye başlandığında, halkanın üst kısmı sıvı yüzeyine değmeye baslar ve ölçülen kuvvet artmaya baslar. Altıncı durumda, bir sonraki maksimum kuvvet ölçümüne kadar ki asamaya kadar, en fazla hacimde su molekülü halka üzerine yapışır ve kuvveti arttırmaya devam eder. Yedinci aşamada yüzey gerilimi değerine orantılı olacak şekilde, halkayı sıvıdan koparmak için maksimum kuvvete ihtiyaç vardır ve ölçülen kuvvet değeri en yüksektir. Bu noktada uygulanan kuvvet en yüksek olduğundan, bir sonraki aşamada sıvı yüzeyinden koparma gerçekleşecektir. Yine bu noktada, yani kuvvetin halkayı koparmak için en yüksek kuvvetin uygulandığı bu noktada, halkanın sudan kopan serbest üst kısmıyla, sıvıdan kopmak üzere olan alt tarafı arasındaki mesafe sıvıdan sıvıya değişir ve yüzeyden koparma işlemi olmaksızın, en yüksek çekme kuvvetinin tespitinin kolay bir yolu yoktur. Sekizinci aşamada halka tamamen sıvıdan kopar ve ölçülen kuvvet tekrar sıfıra eşitlenir.

En yüksek kuvvetle çekim anında Şekil 1.4. yedinci pozisyondan da görüleceği gibi yüzey gerilimi telin her iki tarafından kopma noktasından bir düzlem oluşturur. Bu düzlem kenarlarını ciddi bir hata olmaksızın, telin iç ve dış kısımları eşit olarak kabul edebiliriz. Kopma esnasında oluşan bu düzlem küçük ama önemli bir miktar sıvı hacmi meydana getirir. Düzeltme faktörü (F) hem bu ekstra hacim etkisini hem de ölçülen, bilenen halka çapıyla (R) , koparma esnasında oluşan düzlemin çapını oluşturan yarıçap (R ') arasındaki uyuşmazlığı hesaba alır. Bu düzeltme faktörleri Çizelgelaştırılarak, farklı kaynaklarda yer almaktadır (Padday, 1969).

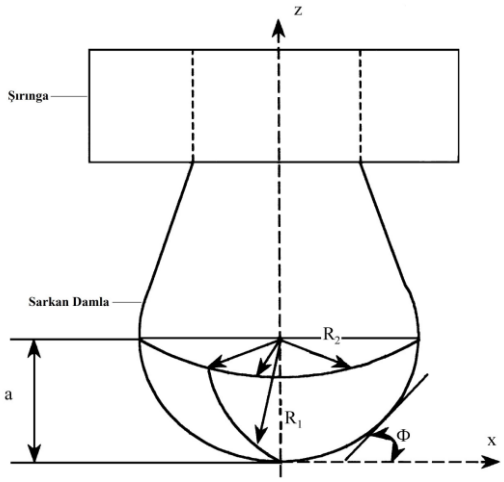


Şekil 1.9. Halka Metodunun uygulanmasının şematik gösterimi

Şekil 1.9 ' da da görüleceği gibi halka metodu kullanılarak havayla direk temasta olan sıvıların yüzey gerilimleri ölçüldüğü gibi, birbiriyle karışmayan, farklı yoğunluklardaki ara yüzey veren iki sıvının ara yüzey gerilimleri ölçülebilir. Fakat ara yüzey gerilimi ölçümlerinde alttaki yoğun sıvının halkayı ıslatması sebebiyle halka üzerindeki temas açısı değeri sıfırdan büyük olacaktır. Bu nedenle halka metodunda ara yüzey geriliminde ek doğrulama katsayısına ihtiyaç duyulmaktadır. Aksi takdirde düzgün ara yüzey gerilimi ölçümü mümkün değildir. Ara yüzey gerilimindeki temel detay sıvıların birbirleriyle doyurulmuş olması, net bir faz ayrımı vermesi ve ölçüm yapılan düzeneğin titreşimden uzak olması gerekmektedir (Bayrak, 2009). Gerek yüzey gerilimi ölçümlerinde gerek ara yüzey gerilimi ölçümlerinde kullanılan halka telin temizliği oldukça önemlidir ve doğrudan sonuca etki ettiğinden, çalışmaya başlamadan önce ölçüm yapılacak halkanın temiz olması gerekmektedir.

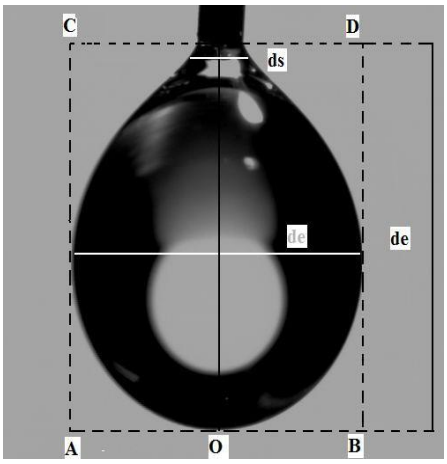
1.7.2. Sarkan Damla (Pendant Drop) Metodu

Yüzey geriliminin ölçülebilmesi için optik contact angle-yüzey tensiyometresi cihazı kullanılmıştır ve sarkan damla metodu seçilerek ölçüm yapılmıştır. Sarkan damla şekli Laplace eşitliğinin sahip olduğu bağıl yoğunluk değerinden ortaya çıkar ve şekil 1.10' da görüldüğü gibi bir menisküs verir. Bu metodun damla ağırlığı ve damla hacmi metotlarıyla karıştırılmaması gerekmektedir. Çünkü diğer metotlarda bir damla ayrılması (kopması) söz konusuyken bu metotta bir damla kopması asla söz konusu değildir. Bu sebeple sarkan damla metodu tam anlamıyla bir denge metodu olup, kısa süreli olmayan statik çalışmalar için oldukça uygundur. Ayrıca sarkan damla metodu birbirine karışmayan iki sıvı arasında ara yüzey gerilimi için uygun bir metottur.



Şekil 1.10. Sarkan damla profilinin geometrisi.

Metod sarkan damla profilinin kaydedilmesi ve çizelgeler kullanılarak elde edilen yüzey geriliminden çizim hattının kesin bileşenlerinden sonuca gidilmesinden ibarettir. Sarkan damla profili elde edebilmek için damlanın oluştuğu kapilerin vida adımlı şırıngayla kontrol edilmesi gereklidir.



Şekil 1.11. Sarkan damla profili için çizim hatları

Sarkan damla profili kendi simetri ekseni boyunca şekil 1.11' de gösterilmektedir. Teoride en azından profilin tam doğru olarak bilinen iki parametresinden doğru yüzey gerilimini çıkarmak mümkündür. Pratikte zorluk birbiriyle alakalı iki doğrusal parametre bulabilmektir, ölçüm kolaylıkla yapılabilmektedir. Bu zorlukta sarkan damla profiline uygulanacak basit çizim hatlarının boyutlarından sıvıların yüzey gerilimlerinin türetilebileceği gösterilerek giderilmiştir (Bayrak, 2009). Şekil 1.11' de gösterilen profilde ilk ölçülen yatay çap, d_e olarak gösterilmiştir. Ardından *AOB* taban çizgisinin *O* noktasından *de* kadar uzağına *AOB* ye paralel *CD* hattı çizilmiştir. Böylece profilin *CD* hattı üzerindeki yatay çapı d_s elde edilmiştir. Ölçülen d_e ve d_s değerlerinde *a* oranı (*S*) elde edilmiştir:

$$S = ds/de \tag{1.7}$$

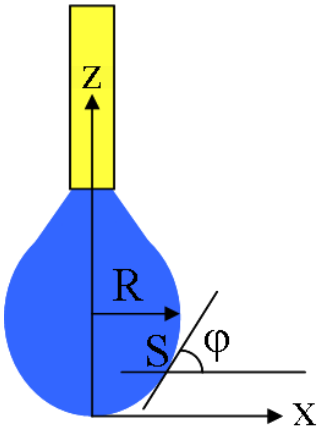
Günümüzde sarkan damla metodu şırıngaya bağlı iğne ucunda asılı duran damlanın Young-Laplace eşitliği ile işlemesinin yaparak yüzey ve ara yüzey gerilimi ölçümlerini vermektedir. Eşitlikte yer alan denklemler,

$$dx/dS = \cos\phi \tag{1.8}$$

$$dz/dS = \sin\phi \tag{1.9}$$

$$d\phi/dS = 2 + \beta z - \sin\phi/x \tag{1.10}$$

şeklindedir.



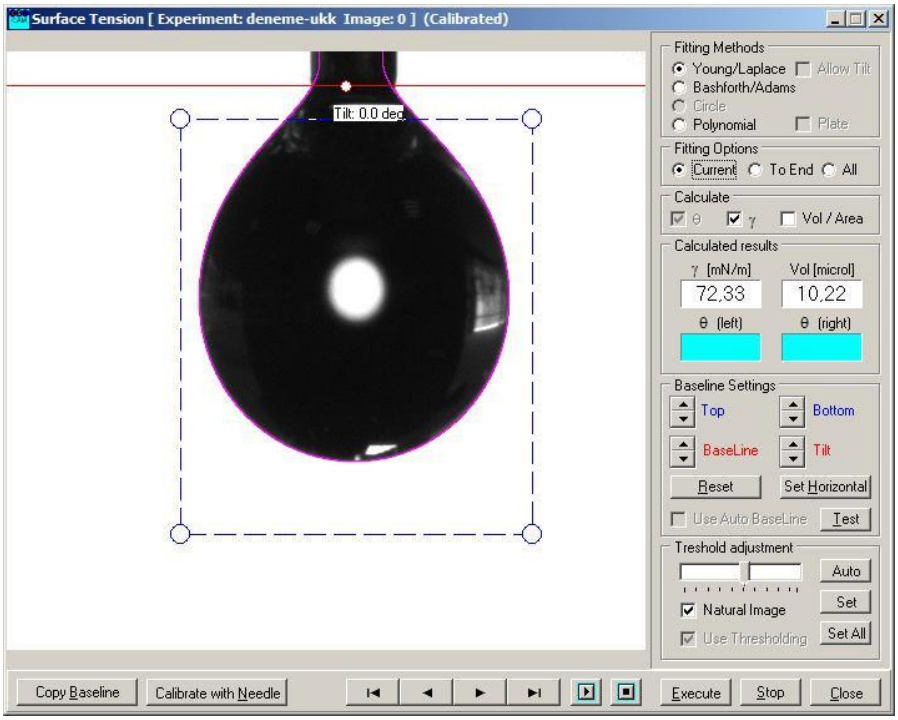
Şekil 1.12. Sarkan damla metodunda Young-Laplace eşitliği kullanılarak damla şekil analizi

Tamamıyla Young-Laplace temelli sarkan damla metodu kullanılarak elde edilen yüzey ve arayüzey gerilimi ölçümleri sonuçlarının doğruluğu diğer metodları kullanılarak elde edilenle aynı olabilir. Buradaki fark ± 0,1 % kadardır. Şekil 1.12 de gösterildiği gibi sarkan damladan kopma olmaksızın ince şırınganın ucunda sıvı asılı kaldığında, damla sekli sıvının yüzey gerilimi yer çekimsel kuvvetin arasındaki

dengenin sonucu olarak sarkan damlanın profilinden hesaplanır. Bu sistemde önce havadaki sarkan sıvı damlası (veya sıvı içerisinde yukarı doğru sekilenen hava kabarcığı) fotoğraflanır. Ardından iki boyutlu Kartezyen koordinatlar içinde damla profillerini belirlemek ve hacimlerini hesaplamak üzere bilgisayar görüntü işleme teknikleri uygulanır. Sıvı ara yüzeyde yüzey ve ara yüzey gerilimi aşağıdaki formülle damla şekliyle ilgilidir.

$$\gamma = \Delta g d^{2} / \beta \qquad (1.11)$$

Eşitlikteki β yukarıda bahsedildiği gibi şekil faktörüdür (Bond sayısı). Bu optik sistem cihazların temelini oluşturan modern bilgisayar yazılımları, β için Young- Laplace eşitliği çözümleri için tekrarlanabilir yaklaşımlar sunar. Şekil 1.12 de görüldüğü gibi bu yazılımlar tüm damla profiline teorik olarak en iyi eğri uydurma eşleşimini uygular. Genelde en uygun eğri uydurma, birkaç doğru noktadan ziyade, damla profili üzerindeki az sayıdaki tam doğru noktalarla elde edilir. Damla profilinin dijital ortamdaki görüntüsü, elde edilen görüntünün piksel çözünürlüğü sebebiyle ister istemez hassasiyette sınırlıdır. Ardından yazılımda görüntüye eksenel simetrik damla sekil analizi uygulanır. Aynı zamanda temas açısı ve yüzey geriliminin simultane olarak belirlenmesi de gereklidir.



Şekil 1.13. Sarkan damla profil görüntüsü kullanılarak, sistem yazılımından eksenel simetrik eğri uydurma metoduyla yüzey gerilimi ölçümü.

Yazılım temelli görüntü işleme tekniklerinin gelişimi nedeniyle geleneksel metottaki damla şekliyle ilgili çeşitli Çizelgelara dayalı yaklaşımların önemi azalmıştır. Damla profilinin belirlenmesi süresince, damla boyutları çok yüksek hassasiyetle ölçülmelidir. İğne ucunun çapı, doğru ölçüm elde edebilmek için (r/a) < 0,05 gibi yeterli küçüklükte olmalıdır. Birbirine karışmayan sıvılarda ara yüzey gerilimi ölçümlerinde damla iğne ucunda asılı şekilde durur ve profili belirlenir, sıvı ile iğne arasındaki temas açısı değerine dayanmaz. Bu metod sadece küçük hacimde sıvıya ihtiyaç duyar. Viskoz sıvı, erimiş madde ve yüzey aktif madde eklenerek oluşturulmuş çözeltiler için sıcaklık kontrollü çalışmalara da oldukça yatkındır (Bayrak, 2009).

1.8. Sürfaktan-Polimer Etkileşimi

Sürfaktan-polimer karışımlarının geniş bir uygulaması vardır. Sürfaktan-polimer etkileşimlerinin birçok türü, hem sürfaktan (katyonik, anyonik, noniyonik), hem de polimerin (nötral veya polielektrolit) doğasına bağlı olarak meydana gelir. (Tüfekçi, 2010). Bu konu ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır (Brackman ve Engberts, 1993, Jonsson vd.1998, Goddard ve Ananthapadmanabhan, 1993, Goddard, 1994, Breuer ve Robb, 1972). Bu çalışmalar, bu alanda yürütülen araştırmaların büyük bir kısmının anyonik sürfaktanların (genellikle sodyum dodesil sülfat) çeşitli polimerler ile olan etkileşimi üzerine odaklandığını göstermekte ve birçok deneysel metodu içermektedir. Bu deneysel metodlar; yüzey gerilimi, elektriksel iletkenlik, viskozite, bulutlanma noktası ve çözündürme ölçümleri, hem diyaliz hem de iyon seçici elektrotların kullanıldığı bağlayıcı çalışmaları, Fluoresans spektroskopisi, NMR spektroskopisi, ışık saçılması ve küçük açılı nötron saçılmasının kullanıldığı spektroskopik çalışmaları ve kalorimetri ile volumetrik metodları içeren termodinamik çalışmaları içermektedir. (Goddard ve ark., 1993).



Şekil 1.14. Sulu çözeltide bir sürfaktan-polimer kompleksinin şematik gösterimi

Şekil 1.14 de görüldüğü gibi bu modelde polimer, yaklaşık olarak polimer monomerlerinin %10'u arayüzeye bağlanarak misel/su arayüzeyinde etkileşirken, polimerin geri kalan kısmı çözeltide ilmik oluşturur.

Sürfaktan-polimer komplekslerinin oluşumu, düzenli misel oluşumu durumundaki gibi, denge dializ ve iyon seçici elektrot ölçümlerinin ortak bir prosesi ile gözlemlenir (Goddard ve Ananthapadmanabhan, 1993). Düzenli misel oluşumundaki gibi, sürfaktanların iyonik olmayan polimerler ile olan assosiasyonu, bir güçler dengesi ile meydana gelir. Bu güçler dengesi, aşağıdakileri içine alan elektrostatik ve hidrofobik etkileşimleri kapsamaktadır (Lindman ve Thalberg, Goddard ve Ananthapadmanabhan, 1993):

a) Polimer ve sürfaktan molekülleri arasındaki hidrofobik etkileşimler,

b) Sürfaktan molekülleri arasındaki hidrofobik etkileşimler,

c) Polimer molekülleri arasındaki hidrofobik etkileşimler,

d)Polimer ve sürfaktan molekülleri arasındaki elektrostatik etkileşimler, bunlar sürfaktan ve polimerin doğasına bağlı olarak itme veya çekme şeklinde olabilir,

e) Sürfaktan molekülleri arasındaki elektrostatik etkileşimler, bunlar doğaları gereği itme şeklindedir ve bu yüzden polimerin varlığından dolayı bunların bir modifikasyonu, sürfaktanın kendi kendine olan agregasyonunu kolaylaştırır,

f) Polimer molekülleri arasındaki elektrostatik etkileşimler.

Nötral polimer durumunda d) ve f) şıklarının katkısı oldukça az olacaktır. Aslında assosiasyon için temel itici güç hidrifobik etkileşimdir ki bu da çözeltideki polimer ile

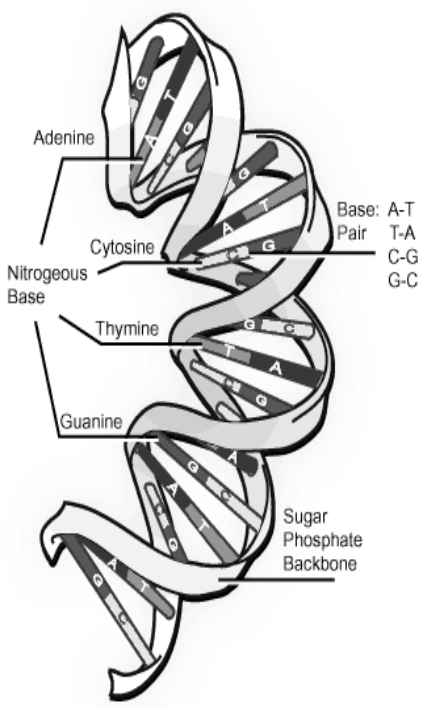
etkileşimler tarafından modifiye edilmiş, çözeltide bulunan sürfaktan molekülleri arasında meydana gelen hidrofobik etkileşimdir. Genellikle katyonik sürfaktanların, anyonik sürfaktanlara göre iyonik olmayan polimerler ile daha az güçlü etkileşimler kurduğu gözlemlenmiştir (Brackman ve Engberts, 1993, Brackman ve Engberts, 1991, Goddard, 1994, Hayakawa ve Kwak, 1991). Nötral bir polimerin sulu bir sürfaktan çözeltisine ilavesinin, sürfaktana bağlı olarak, sulu çözeltideki sürfaktanın KMK değerinden daha düşük bir konsantrasyonda agregat oluşumuna neden olduğu gözlenmiştir. Bu konsantrasyon, kritik agregasyon veya assosiasyon konsantrasyonu olarak adlandırılarak T_1 veya C_1 olarak gösterilmektedir. Sürfaktanın konsantrasyonu arttıkça, sürfaktan moleküllerinin polimere bağlanması, sürfaktan aktivitesinin sürfaktan konsantrasyonundaki herhangi bir ilave artışın düzenli sürfaktan misellerinin oluşumuna yol açtığı bir noktaya erişene kadar devam eder. T_2 veya C_2 olarak bilinen bu nokta, sık sık polimer için doygunluk konsantrasyonu olarak ilişkilendirilmiştir. Fakat C_2, polimerin sürfaktan ile doyduğu noktaya karşılık gelmemektedir. Bu nokta, herhangi bir sürfaktan ilavesinin düzenli miselleri oluşturmaya başladığı bir noktaya karşılık gelmektedir (Gilanyi ve Wolfram, 1985).

Bir çok yazar tarafından sürfaktan-polimer etkileşiminin doğasını tarif etmede kullanılan "bağlanma" terimi, protein-sürfaktan etkileşimi durumundaki gibi polimer üzerindeki spesifik merkezler ile sürfaktanın bir etkileşimini işaret ettiğinden dolayı uygun olmayabilir. Genellikle, bir sürfaktan çözeltisine polimer ilavesinin, agregasyon prosesinde bir değişime neden olduğu kabul edilir ve bu yüzden assosiasyon veya agregasyon, etkileşimi en iyi şekilde tanımlar (Tüfekçi, 2010).

1.9. DNA (Deoksiribonükleik Asit)

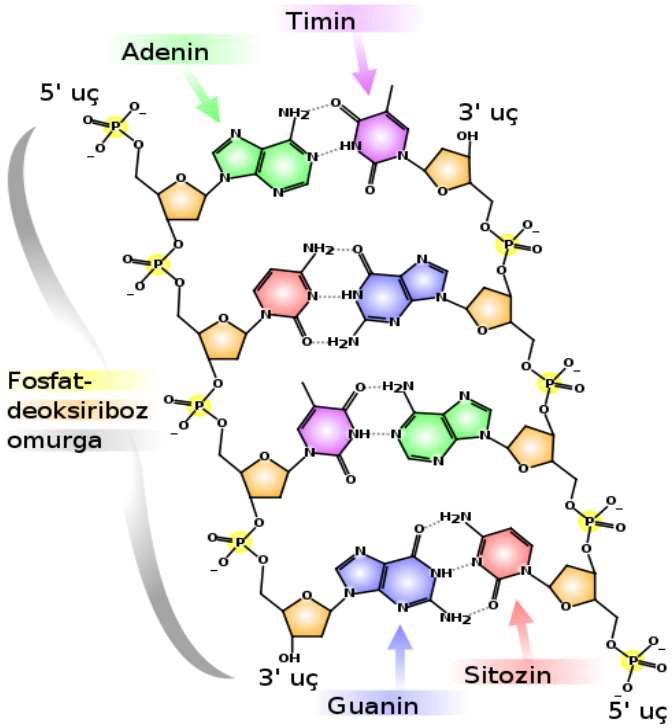
Deoksiribonükleik asit veya kısaca DNA, tüm organizmalar ve bazı virüslerin canlılık işlevleri ve biyolojik gelişmeleri için gerekli olan genetik talimatları taşıyan bir nükleik asittir. DNA' nın başlıca rolü bilginin uzun süreli saklanmasıdır. Protein ve RNA gibi hücrenin diğer bileşenlerinin inşası için gerekli olan bilgileri içermesinden dolayı DNA; bir kalıp, şablon veya reçeteye benzetilir. Bu genetik bilgileri içeren DNA parçaları gen olarak adlandırılır. Ama başka DNA dizilerinin yapısal işlevleri vardır (kromozomların şeklini belirlemek gibi), diğerleri ise bu genetik bilginin ne şekilde (hangi hücrelerde, hangi şartlarda) kullanılacağının düzenlenmesine yararlar.

Kimyasal olarak DNA, nükleotit olarak adlandırılan basit birimlerden oluşan iki uzun polimerden oluşur. Bu polimerlerin omurgaları, ester bağları ile birbirine bağlanmış şeker ve fosfat gruplarından meydana gelir. Bu iki iplik birbirlerine ters yönde uzanırlar. Her bir şeker grubuna baz olarak adlandırılan dört tip molekülden biri bağlıdır. DNA'nın omurgası boyunca bu bazların oluşturduğu dizi, genetik bilgiyi kodlar. Her kısım baz negatif yük içerir. Yüksek negatif yük yoğunluğundan dolayı serbest DNA suda çözünebilir.



Şekil 1.15. DNA nın yapısı

DNA’ nın yapısı, şekilde de görüldüğü gibi her biri sağ taraflı sarmala dolanan her iki ipliği de hidrojen bağı ile birbirine tutunan azot bazlı iki polinükleotid iplikten oluşur. Yani bir polideoksiribonükleotid'dir, yani çok sayıda deoksiribonukleotid bir araya gelerek DNA'yı oluşturur.



Şekil 1.16. DNA nın yapısının hidrojen bağları ve tamamlayıcı baz eşleşmeleri ile şematik gösterimi

Şekil 1.16' da görüldüğü gibi nükleotidler bir pentoz şekerinin (DNA'da deoksiriboz, RNA'da bunun 2. Karbonuna bağlı bir hidroksil grubu eksiktir; riboz) bir baz (pürin veya pirimidin bazlarından biri) ve bunu diğer nükleotidlere fosfodiester bağı ile bağlayan bir fosfat grubundan oluşur. Fosfodiester bağı ile bir nükleotidin deoksipentozuna ait hidroksil grubu diğer nükleotidin deoksipentozuna ait hidroksil grubuna bir fosfat grubu aracılığıyla bağlanmıştır. İşte deoksiriboz-fosfat iskeleti, DNA zincirinin ana çatısını oluşturur. DNA iki zincir halinde ve iki zincir birbirine sarmal yapacak tarzda sarılı bulunur. İki zincirin ortasında ise bazlar vardır. Her bir zincirdeki bazlar karşı zincirdeki sadece bir çeşit bazla birbirlerine bağlanır. Buradaki önemli nokta; iki polinükleotid ipliğinin bir değil, birbirini tamamlayıcı nitelikte olmasıdır. Daima Adenin-Timin ile, Sitozin-Guanin ile eşleşir. Adenin ve Timin arasında 2, Guanin ve Sitozin arasında ise 3 hidrojen bağı vardır. Fosfat gruplarının dışarıda yer alması ise yapının kutupsallığı ve tüm net negatif yük verimliliği ile ilgili bilgi sahibi olmamızı sağlar. Böylece DNA molekülü anyonik polielektrolit olarak görülebilmektedir (Conrad, 2003).

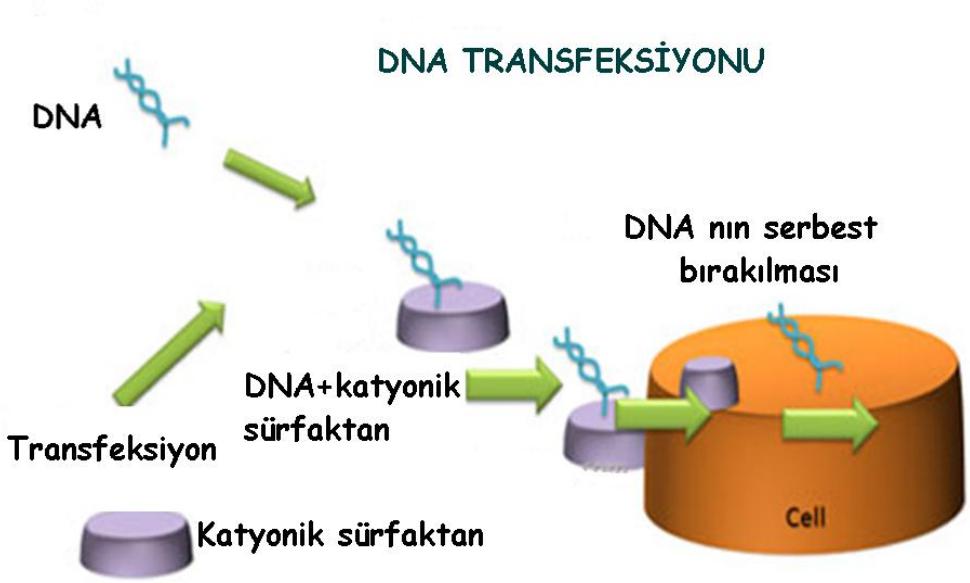
1.10. DNA Transfeksiyonu

Transfeksiyon; ökaryotik hücre plasma membranında, geçici por (delik) oluşumu ile hücre dışı yabancı materyallerin hücre içine alımıdır. DNA transfeksiyonu; hücre zarından hücreye doğru özellikli etkileşimlerle uygulanabilen çekirdekte tanımlanan bir güvenilir teslim yöntemidir. Ancak DNA' nın polianyonik yapısından ve hücre yüzeyinin anyonik yük bakımından zengin olmasından dolayı bağlanma ve hücre içi teslimin gerçekleşmesi karmaşıktır. Genellikle, DNA ile virüslü veya sentetik vektörlerin DNA ile etkileşimi ortak kullanılan bir tekniktir. Halen DNA transfeksiyonunda, virüslü vektörlerin çok daha etkili olduğu yüksek teslim ve % 90' ın üzerinde verim sağladığı bilinmektedir. Sentetik vektörlerin tasarımı ve yapımındaki başlıca güçlük transfeksiyon işlemini, virüslü vektörlerin geçerli sınırlamalarına dayandırmasıdır. Bu sınırlamalar beraberinde; sınırlı DNA taşıma kapasitesi, üretim-paketleme problemleri ve sistemin pahalı olması gibi istenilmeyen durumlar ortaya çıkmaktadır. Böylece sentetik vektör ve DNA etkileşimi araştırmaları gün geçtikçe artmaktadır. Bununla birlikte sentetik vektör ve DNA etkileşimlerinde başlıca 3 engel ortaya çıkmaktadır:

- Plasma hücresine ulaştırmada düşük iletim yolu
- DNA moleküllerinin serbest bırakılmasının yetersiz olması ve sınırlı kararlılık göstermesi
-Çekirdek hedefi eksikliği

DNA transfeksiyonunda kullanılan diğer yöntemlerden direk enjeksiyon yönteminden verimlilik alınmaktadır ancak yavaş ve uygun olmayan çok sayıdaki hücreyi de etkilemektedir. Gen silahları; benzer şekilde çok sayıdaki hücreyi etkilemektedir ve çoğunlukla laboratuar ortamında ya da yapay koşullarda kullanılmaktadır. Elektroporasyon yöntemi de yüksek verim sağlanabilen bir yöntemdir ancak yüksek voltaj kullanımından dolayı yüksek hücre ölüm oranına neden olduğundan sınırlı olarak kullanılmaktadır.

Kimyasal yöntemler negatif yüklü DNA ile pozitif yüklü türlerin etkileşimini gösterir, bu türler genellikle yağlar ve polimerlerdir. Polimer ve yağ aracılı transfeksiyon yöntemi; liposomları kullanarak yoğunlaştırma, kapsama ve DNA ya teslim edilmesi yöntemidir (F.L. Graham ve ark., 1973).

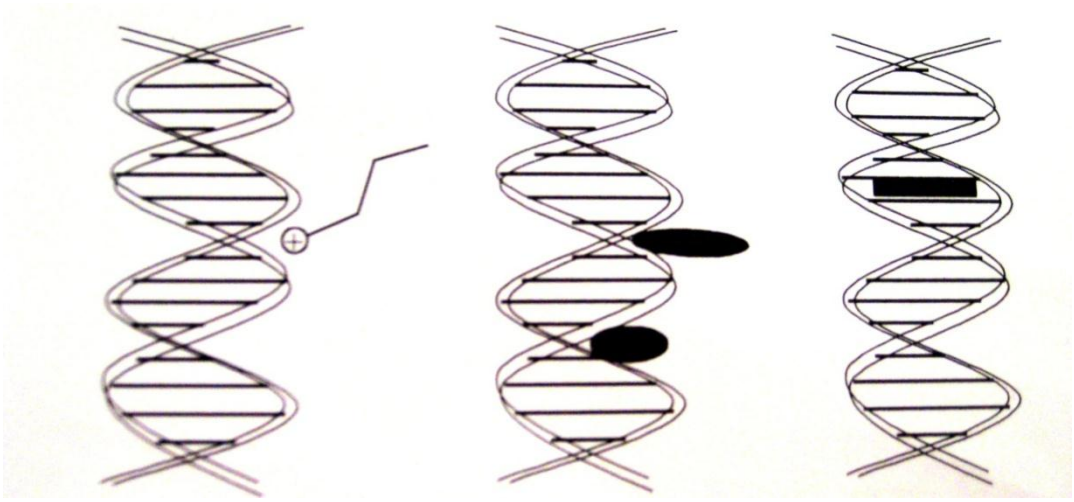


Şekil 1.17. DNA Transfeksiyonun şematik gösterimi

Bu işlemin yapılmasının temel nedeni gen terapide uygulanan yer değiştirme ve/veya kayıp-eksik genlerin tedavisidir. Ayrıca bu teknik DNA yı viral ya da non-viral ökaryot hücrelerle tanıştırır. Non-viral vektörler, katyonik çeşitler yani yağlar ve sürfaktanlardır. Katyonik türlerin kullanılmasının nedeni ise DNA ve hücre duvarları (negatif yüklü) ile uygun elektrostatik etkileşimlerindendir.

1.10.1. DNA nın Küçük Moleküllerle Etkileşimi

Molekül ve iyonlar tersinir olarak çift sarmallı DNA'yı 3 şekilde etkileyebilirler (Şekil 1.10).



a) Elektrostatik **b)** Bağlayıcı Oluk **c)** Araya Ekleme

Şekil 1.18. DNA' yı Bağlama Çeşitleri

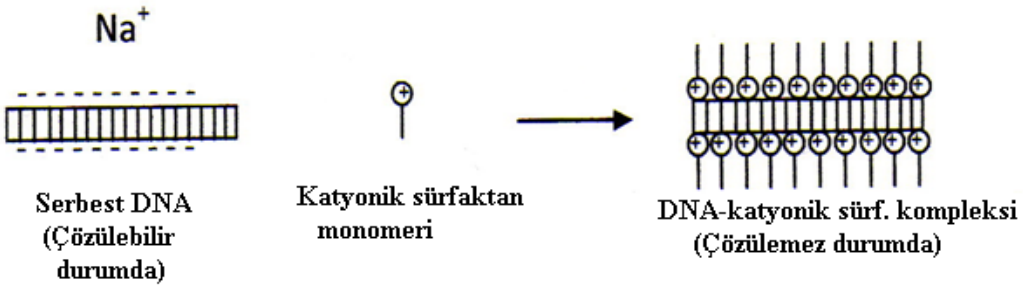
Elektrostatik etkileşimler; spesifik olmayan şeker-fosfat omurgasını, bağlayıcı oluk etkileşimleri çift sarmallarda yapılan etkileşimleri, araya ekleme iki sarmal arasındaki etkileşimleri ifade eder (Conrad, 2003).

Bu çalışmada deneysel sistemler temel olarak; DNA ile katyonik sürfaktanların elektrostatik etkileşimlerini içermektedir. Bundan dolayı DNA nın elektrostatik etkileşimi daha ön planda yer almıştır. Nükleik asitler fosfat gruplarla birlikte eşit boşlukta anyonik yük ayrımı sarmal boyunca 0,17 nm (her iki temel kısım için) olan yüksek yük yoğunluklu anyonik polielektrolitlerdir. DNA ve zıt yüklü türlerin işbirliği sonucu tüm reaksiyon boyunca karşı yüklü iyonların bırakılması durumu söz konusudur (K.Wagner ve ark.,2000). Eğer katyonik türlerin eklenilmesi, DNA nın doğal yük dengesini (her DNA bazında yaklaşık 0,8 iyon) aşarsa, daha sonraki karşı yüklü iyonların serbest bırakılması bağlanmayı artırabilir ve DNA nın çökmesi, sıkıştırma oluşması ve hatta doğal yapısının bozulmasına sebep olabilir (P. G.Arscott ve ark., 1990).

1.10.2. DNA/ Katyonik Sürfaktan Etkileşimi

DNA'nın polianyonik yapısına bağlı olarak; katyonik sürfaktanlarla etkileşimi ve bağlanması aynı yüklü polielektrolit çözeltilerine benzer olarak kritik misel yoğunluğunu azaltılması ve elektrolit eklenilmesi ile benzer etkiler gösterir. Katyonik sürfaktan/ DNA karışımları, polimer sistemlerde olduğu gibi, DNA nın sahip olduğu net anyonik yüke bağlı olarak bağlanma ve seyreltik konsantrasyonlarda sürfaktan moleküllerinin misel oluşturmasına yol açmaktadır (H.L. Frisch ve ark., 1956, A.V. Gorelav ve ark., 1998). Buna karşılık olarak elektrostatik bağlanmaya anyonik ve non-iyonik sürfaktanların çok küçük bir etki yarattıkları ya da hiç etki yaratmadıkları ispatlanmıştır (S.Z.Bathaie ve ark., 1999). DNA'nın anyonik yapısı DNA omurgasındaki fosfatların dış tarafında yer almasından dolayı katyonik sürfaktan molekülleri tarafından kolayca erişilebilir olduğunu göstermektedir. Son etkileşimler sürfaktanın katyonik baş gruplarının DNA'nın anyonik fosfat gruplarına elektrostatik olarak bağlandığını göstermektedir. (R.Dias ve ark., 2000, D.Matulis ve ark., 2002). Bu süreci sürfaktanın kuyruk grubunun hidrofobik etkileşimi ile misel benzeri kümeleşmenin DNA sarmalının oluğunda oluşumu takip eder. (C.H.Spink ve J.B.Charies, 1997). Yük nötralizayonu veya benzer olarak kritik çökelme konsantrasyonu (kritik çökme konstantrasyonu; her DNA nükleotidinde yaklaşık 0,8

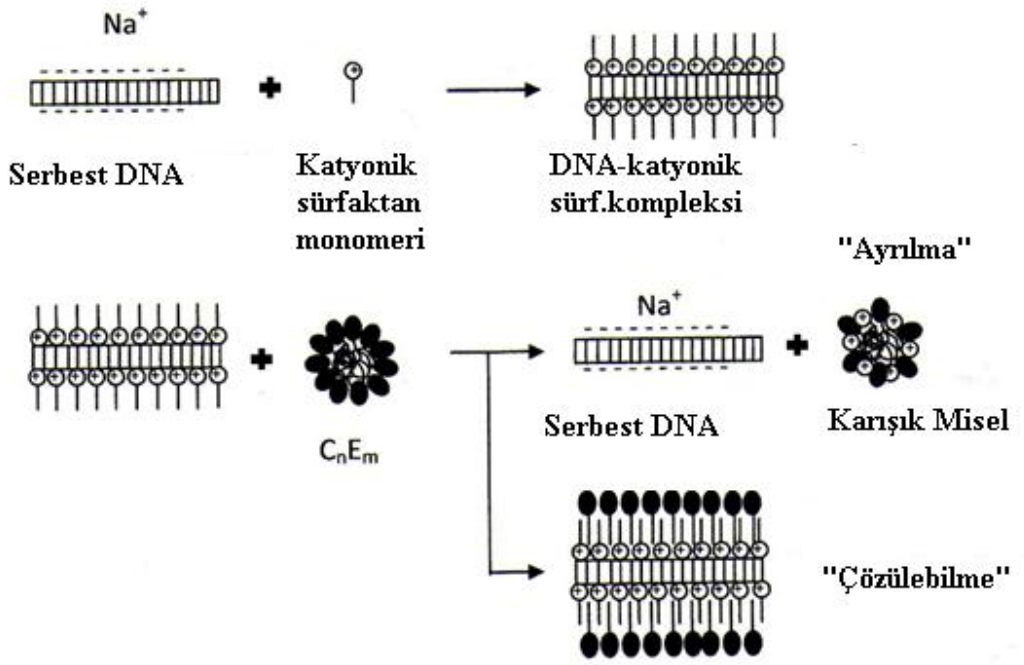
sürfaktan molekülü bulunmasıdır) hidrofobik özelliğin artmasıyla, çözelti çözünmesini azaltır ve DNA yapısında değişiklikler meydana getirir ve hatta DNA-katyonik sürfaktan karışımında çökme oluşumuna neden olur (P.Smith ve ark., 2000, S.M. Mel'nikov ve ark.,1995). DNA/katyonik sürfaktan karışımları genel olarak çözülemez durumdadırlar ancak ikinci bir sürfaktan ve farklı çözücülerin eklenilmesi gibi durumlar incelenmektedir. (R.Ghirlando ve ark., 1992, B.Lindman ve ark., 1999, Conrad Corbyn ve ark., 2009)



Şekil 1.19. Serbest DNA ya katyonik sürfaktan eklenilmesinin şematik gösterimi

Yukarıdaki Şekil 1.18' de görüldüğü gibi katyonik sürfaktanın negatif yüklü DNA nın fosfat grubuna bağlanması ile DNA katyon bağlarının değişimi ile ilerler. Bu işlem pozitif yükü azaltır ve DNA-sürfaktan kompleksini hidrofobik (su sevmeyen) hale getirir. Katyonik sürfaktanı serbest DNA' ya ekleyerek kompleksin çökmesine ve yığılmasına neden olur.

1.10.3 DNA-Katyonik Komplekslerle Non-iyonik Sürfaktanların Etkileşimi



Şekil 1.20. DNA-katyonik sürfaktan kompleksine non-iyonik sürfaktan eklenilmesi oluşan mekanizmaların şematik gösterimi

Katyonik sürfaktanı serbest suda çözenebilir DNA' ya eklediğimzde Şekil 1. 19' da olduğu gibi, DNA birbirine bağlan DNA/katyonik sürfaktan kompleksini oluşturur. Katyonik sürfaktanın pozitif yüklü baş grubu dış yüzeyi katyonik sürfaktanın hidrofobik kuyruk grubu ile bağlı olan bir kompleks oluşturmak için. Elektrostatik olarak DNA nın negatif yüklü fosfat grubuna bağlanır. İkinci bir sürfaktan eklenmesi kompleksi ya tamamen çözer ya da ayrılma meydana getirir. Ayrılma olayında; non-iyonik sürfaktan eklenilmesi, katyonik sürfaktanı hidrofobik etkileşimlerle DNA yüzeyinden uzaklaştırır serbest DNA elde edebilmek için ve ek olarak DNA sız katyonik/non-iyonik sürfaktan miseli oluşturur. Non-iyonik sürfaktan eklenildiğinde hidrofobik etkileşimlerin katyonik sürfaktan ve misellerin elektrostatik ve hidrofobik etkileşimlerinin üstesinden yeterince gelecek kadar güçlü ise ayrılma olayı enerji olarak daha avantajlıdır.

Çözünme olayında ise ikinci sürfaktanın katyonik sürfaktan/DNA kompleksinin hidrofobik yüzeyinin bağlarını koparacağı düşünülür. Hidrofobik kuyruk grubu hidrofobik yüzeye bağlayınca kompleks, ikinci sürfaktanın hidrofilik baş grubunu bıraktırır ve üçlü hidrofilik suda çözünür kompleks sunar. Çözünme olayı hidrofobik etkileşimlerin katyonik sürfaktan ve ikinci sürfaktan misellerinin katyonik sürfaktan/DNA bağlamada etkileşimleri arasında zayıf bir bağlantı var ise meydana gelmesi beklenmektedir.

1.11. Lüminesans Spektrokopisi

Spektroskopi, bir örnekteki atom, molekül veya iyonların, bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri sırasında soğurulan veya yayılan elektromanyetik ışımanın ölçülmesi ve yorumlanmasıdır (Erdik,1998). Moleküler fluoresans spektroskopisi, optik yöntemlerden biri olan spektrofotometri ile ilgili analitik bir yöntemdir. Fluoresans spektroskopisi numunelerde bulunan çok düşük konsantrasyonlardaki türlerin tayinine olanak sağladığı için biyokimyada, besin endüstrisinde, farmakolojide, klinik numunelerin analizinde olmak üzere oldukça tercih edilen bir yöntemdir.

Bir molekülün absorbladığı ışık enerjisini tekrar ışık enerjisi olarak verme olayına lüminesans denir. Bir molekül UV veya görünen ışığı absorbladığı zaman, elektronlardan biri daha yüksek enerji seviyesine çıkar. Elektron temel seviyesine döndüğü zaman ise fluoresans veya bir başka lüminesans olayı meydana gelir. Uyarılmış bir atom veya molekül kararsızdır. Fazla enerjisini atarak temel hale dönmek ister. Atom veya molekül temel enerji düzeyine dönerken fazla enerjisinin tümünü veya bir kısmını ışık şeklinde atabilir. Böylece sistemde bir ışık yayılması gözlenir. Bu ışık yayılması olayına lüminesans denir. (Maltaş, 2005). Uyarılmış durumundaki birçok molekül fazla enerjilerini komşu moleküllerle çarpışarak ısısal dağıtma ile harcar. Bazı moleküller ise bu fazla enerjilerini ışıma yaparak harcar ve temel duruma dönerler. Soğurulmuş ışının yeniden yayınması genel olarak fotolüminesans veya lüminesans olarak tanımlanır. Fotolüminesans, fluoresans veya fosforesans yayma olmak üzere iki şekilde olabilir (Lakowicz, 1986). Fluoresans ve fosforesansın her ikisi de ışın enerjisini absorblayarak uyarılmış hale gelen bir molekül, iyon veya atom tarafından absorblanan bu ışın enerjisinin ışın yayılması şeklinde geri verilmesi anlamına gelen fotolüminesansın çeşitleridir. Basitçe lüminesans olarak ifade edilir (Schenk,1980).

Fluoresansı Etkileyen Faktörler

Fluoresansa etki eden çeşitli faktörler vardır; çözünmüş oksijen etkisi, gelen ışının dalga boyunun ve şiddetinin etkisi, sıcaklık etkisi, pH etkisi. Ancak DNA/sürfaktan etkileşiminin gözlenmesi ile ilgili genellikle aşağıdaki etkiler üzerinde durulmuştur.

Maddenin Yapısının Etkisi: Moleküllerde düzlemsellik, dönmenin engellenmiş olması, konjugasyon ve halka sayısının artması genellikle fluoresans verimini artırır. Halkalı bir organik molekülde halkanın elektron yoğunluğunu artıran sübstitüentler (asıl bileşimde

bulunan atomun yerini alan başka atom) de molekülün fluoresans veriminin artmasını sağlar.

Çizelge 1.2. Aromatik halkaya bağlı bazı sübsititüentlerin halkanın fluoresans özellikleri üzerindeki etkisi

Sübstitüent etkisi	Işın şiddetine etkisi	Dalga boyuna etkisi
COOH-CHO-COOR	Artar	Azalır
NH2-NHR1-NR2	Artar	Artar
OH, OMe, OEt	Artar	Artar

Çözücü Etkisi: Uyarılmış molekül temel haline oranla polar ise çözücünün polaritesinin artması ile uyarılmış enerji düzeyi daha kararlı hale geleceği için uyarılmış ve temel enerji düzeyleri arasındaki enerji farkı azalır ve fluoresans dalga boyu artar.

Konsantrasyon Etkisi: Fluoresans ışımasının şiddeti, maddenin konsantrasyonla doğru orantılıdır. Fluoresans konsantrasyon arttıkça artar, ancak belli bir noktada konsantrasyon çok fazla arttırıldığında hemen hemen sabit kalır.

Fluoresans analizinin başlıca iki avantajı spektrofotometrik analizden çok daha düşük konsantrasyonlarda ölçüm yapılabilmesi ve potansiyel olarak çok daha seçici olmasıdır. Çünkü uyarma ve emisyon dalga boylarının her ikisi de değiştirilebilir. Dezavantajı ise bazı örneklerde fluoresans analizinde çok yüksek kesinlik ve doğruluk elde edilememesidir (genel doğruluk seviyesi ±2-10'dur) (Maltaş, 2005). Fluoresans spektroskopisi, gelişmiş fluoresans cihazına dayalı teknikler sayesinde doğru hassas, hızlı, güvenilir sonuçlara ve yorumlara ulaşılmasını sağlayan optik bir yöntemdir. Tepkime oluşumlarına, etkileşimlerine çok duyarlı ve etkindir. Yöntemin en önemli üstünlüğü soğurum yöntemine kıyasla çok daha az miktarlardaki maddelerin analizinin yapılabilmesi yani duyarlılığıdır. Ayrıca fluoresans gösteren maddelerin çok fazla sayıda olmaması yöntemin seçiciliğini diğerlerine kıyasla arttırmaktadır. Fakat diğer taraftan bu son özellik yöntemin uygulama alanını sınırlı tutmaktadır (Şener, 2006). Pek çok numune için, günümüzde yüksek duyarlılık seçicilik ve doğruluğa sahip fluorometrik analiz yöntemleri geliştirilmektedir.

1.12. Ultraviyole (Görünür Bölge) Spektrofotometresi (UV Spektroskopisi)

Çözelti içindeki madde miktarını çözeltiden geçen veya çözeltinin tuttuğu ışık miktarından faydalanarak ölçme işlemine fotometri, bu tip ölçümde kullanılan cihazlara da fotometre denir. Analiz edilen örnek üzerine ışık demetinin bir kısmını filtreler

kullanarak ayıran ve gönderen aletler kolorimetre veya fotometre olarak adlandırılırken, yarıklar ya da prizmalar aracılığı ile bu seçiciliği yapan aletler spektrofotometre olarak adlandırılırlar. Maddenin ışığı absorplamasını incelemek için kullanılan düzeneğe absorpsiyon spektrometresi veya absorpsiyon spektrofotometresi adı verilir. Bir spektrofotometre düzeneği, başlıca ışık kaynağı, dalga boyu seçicisi (monokromatör), dedektörden oluşur; dedektörde elektrik sinyaline çevrilen optik sinyal bir kaydedici veya bir galvanometre ile ölçülür. Ana bileşenlere ek olarak spektrofotometrede ışığı toplamak, odaklamak, yansıtmak, iki demete bölmek ve örnek üzerine belli bir şiddette göndermek amacıyla mercekler, aynalar, ışık bölücüleri, giriş ve çıkış aralıkları vardır. Örnek, kullanılan dalga boyu bölgesinde ışığı geçiren maddeden yapılmış örnek kaplarına (küvet) konularak ışık yoluna yerleştirilir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Literatürde genel olarak katyonik/non-iyonik, anyonik/non-iyonik ikili veya üçlü sürfaktan karışımlarının yüzey gerilimleri, fizikokimyasal özellikleri farklı cihazlarda deneysel olarak bulunarak, çeşitli ideal olmayan misel teorileri ile karşılaştırılmaları, sürfaktan/polimer karışımları ile ilgili çalışmalar ve DNA/sürfaktan karışımlarının etkileşimleri ile ilgili çalışmalara yer verilmiştir.

P.M. Holland ve D.N. Rubingh (1982), çok bileşenli ideal olmayan karışık misel teorisi modelinden faydalanarak yaptığı çalışmalarda ideal olmayan üç farklı sürfaktan karışımlarını (üçlü karışım) incelemişlerdir. Net etkileşim parametresi (β) kullanılarak Nelder-Mead'in basit fonksiyon minimizasyonundan yararlanılarak oluşturulan modelden elde edilen KMK (kritik misel konsantrasyon)ları ile deneysel sonuçlar karşılaştırılmıştır. Yapılan ön çalışmaların çok bileşenli model ile uyumlu sonuçlar verdiği gözlenmiştir.

A. Gracia ve ark. (1989), çok bileşenli ideal olmayan karışık misel teorisi modeli, düzenli çözelti yaklaşımı ile ikili ve üçlü sürfaktan karışımlarının cmc lerini hesaplamada kullanılmışlardır. Anyonik sürfaktan olarak SDBS (sodyum dodesil benzen sülfonat), katyonik sürfaktan olarak TTAB (tetradesiltrimetil amonyum bromit) ve non-iyonik sürfaktan olarak da OP(EO)n (polioksietilen oktilfenol) kullanılmıştır. Karışımların kmk' ları; yüzey gerilimine karşı mol fraksiyonu grafiklerinden okunmuştur. Yüzey gerilimleri, Whelmely plaka metodu kullanılarak dijital tensiyometre ile ölçülmüştür. Bütün ölçümler 25°C' daki di-iyonize ve distile su ile elde edilmiştir. İkili oluşmuş misellerde; anyonik/non-iyonik etkileşimi, katyonik/non-iyonik etkileşime kıyasla oldukça yüksektir. Bu büyük farklılık, iyonik moleküllerin kutup başlarındaki farklı yüklerinden kaynaklanan yüksek elektrostatik etkileşimden kaynaklanmaktadır. Yapılan deneysel sonuçlar ile teorik ön çalışma sonuçları birbirine oldukça yakın olarak gözlenmiştir.

B. M. Razavizadeh ve ark. (2004), iyonik/non-iyonik sürfaktan karışımlarını termodinamik olarak incelemek amacıyla, alkil trimetil amonyum bromit (C_nTAB, n=12,14,16,18) ve Triton X-100 sürfaktanlarını kullanmışlardır. Her bir karışım için KMK değerleri yüzey gerilimlerinden ve potensiyometrilerinden bulunmuştur. Yüzey gerilimleri ve potensiyometreleri verileri ile iyonik sürfaktanın serbest monomer konsantrasyonu (M_1), sürfaktanın misel mol fraksiyonunu (x_i) ve ayrılma derecesi (α) bulunmuştur. Ayrıca Triton X-100 ünden serbest monomer konsantrasyonu PFG-NMR

tekniği ile bulunmuştur. Misel fazdaki aktiflik katsayısı için yeni bir denklem türetilmiştir. Böylece çeşitli mol oranlarındaki C_nTAB/Triton X-100 karışımlarının Serbest Gibbs Enerjisi (GE) ve birbirine bağlı parametreleri tanımlanmıştır.

Sıvı halde ikili ve üçlü birleşimleri halinde karışık misel oluşumu ve arayüzey özelliklerini Aijz Ahmad Dar ve ark. (2008), hekzadesiltrimetil amonyum bromit(C_{16}Br), hekzadesilbenzildimetil amonyum klorit (C_{16}BzCl) ve polioksietilen setil eter (Brij 58) 25°C' da, 30 mM sıvı NaCl ile tensiyometrik tekniklerle çalışılmışlardır. Karışımların misel ve adsorbsiyon karakterleri, aktiflik katsayısı, ortak arayüzey parametresi ve miselleşmenin serbest enerjisi, Clint, Rosen, Rubingh, Blanckstein, Maede, Rubingh-Holland'ın teoritik yaklaşımları uygulanarak gözlemlenmiştir. Deneysel aşamada, KMK' larını bulabilmek için karışımların yüzey gerilimleri 25°C' da Kruss 9 tensiyometresinde, yüzük metodu ile ölçülmüştür. Teorik yaklaşımlarla deneysel sonuçlar karşılaştırılmıştır. Yapılan çalışmalar modifiye edilmiş Rubingh-Holland metodunun Rosen'in metoduyla birlikte uygulanabileceğini, üçlü sürfaktan karışımlarının bu model ile analiz edilebileceği gösterilmiştir.

Tejas Joshi ve ark., (2005), yaptıkları çalışmada; ikili sürfaktan karışımlarının etkileşimini incelemek amacıyla, dodesil sülfat (NaDS), magnezyum dodesil sülfat ($Mg(DS)_2$) ve non-iyonik sürfaktanlardan da dodesil dodekapolietilen glikol eter ($C_{12}E_{12}$) ve dodesil pentadekapolietilen glikol eteri ($C_{12}E_{15}$) sulu çözeltilerinde farklı mol oranlarında kullanmışlardır. Yüzey gerilimi, viskometri ve dinamik ışık tarayıcı metodları kullanılmıştır. Karışık misellerin birleşim ve etkileşim parametresi β; KMK' lar kullanılarak farklı sistemlerde Rubingh' nin teorisinden faydalanılarak bulunmuştur. Karışık sürfaktan sistemlerinde bireysel ideal olmayı gösteren metal dodesil sülfatın (MDS)/$C_{12}E_m$ (m=12, 15) sürfaktan ile karışımlarının aktiflik katsayıları (f_1 ve f_2) değerlendirilmiştir. Karşı iyonlarının karışık misellere özel bir etkisi; $Mg(DS)_2$ 'nin karşı iyonların güçlü yoğunlaşmalarından dolayı NaDS' ye kıyasla non-iyonik sürfaktanlarla daha düşük bir etkileşimi ile gözlenmiştir. Ayrıca karışık misellerin kararlılık faktörleri de; Maeda'nın yaklaşımında, non-iyonik sürfaktanların baş gruplarının farklılıklarına bağlı olduğu gözlenmiştir.

Ünal Geçgel (2008), in yapmış olduğu çalışmada; anyonik sürfaktan sodyum dodesilsülfatın (SDS), poli(vinilpiroldin) (PVP) ve farklı molekül ağırlıklarında poli (etilenglikol) (PEG) gibi değişik miktarlarda nötral suda çözünür polimerler içeren çözeltilerindeki agregasyonu yüzey gerilimi, iletkenlik ve boya çözündürme gibi deney teknikleri kullanılarak incelenmiştir. Sürfaktan ve polimer arasındaki etkileşimlerin ilk

olarak başladığı kritik agregasyon konsantrasyonu ve alışılmış misellerin oluşmaya başladığı polimerin doygunluk konsantrasyonu tayin ederek, kritik agregasyon konsantrasyonun polimer konsantrasyonu ve sıcaklık artışı ile azaldığı, polimer doygunluk noktasının polimer konsantrasyonun artması ile arttığı, sıcaklık artışı ile azaldığı ve polimer molekül ağırlığının azalması ile azaldığı gözlenmiştir.

Dutta P. ve ark., (2002), 2,6-p-toluidinonaftalin sülfonat (TNS)' ın çözme dinamikleri pikosaniye zaman emisyon spektroskopisi ile çözülmüş polietilen glikol (PEG) ve sodyum dodesil sülfattan (SDS) oluşan bir polimer-sürfaktan agregasyonu kullanarak çalışmışlardır. PEG için SDS kritik agregasyon konsantrasyonu (CAC), 4.5 ± 0.5 mM olarak bulunmuştur. TNS çözme dinamikleri PEG-SDS agregasyonu olarak; iki bileşen 90 ± 10 PS (31%) ve 570 ± 50 PS (% 69) olarak açıklanmıştır. PEG-SDS agregasyonunun çözme dinamiklerinin suya, tek başına SDS ya da tek başına PEG'e göre, su molekülleri polimer zincirleri ve misel (SDS) yüzey arasında sıkışmış sınırlı hareketiyle kıyaslandığında daha yavaş olduğu gözlenmiştir.

Annuaziata O. ve ark. (2002), polietilen glikolun (PEG) γD kristalin proteininin sıvı çözeltilerindeki, sıvı-sıvı faz ayrılmasındaki etkilerini araştırmışlardır. PEG' un biyokimyada ve endüstriyel uygulamalarda sıkça kullanılan bir hidrofilik non-iyonik polimer olmasından ve hücre bileşenleriyle olan biyolojik etkileşiminden biyoteknolojik uygulamalarda sıkça yararlanıldığı göz önünde bulundurulmuştur. PEG'un genellikle sıvı-sıvı ayrılması ve biyomakromoleküllerin çöktürülmesinde kullanıldığı bilinmektedir. PEG-su-protein üçlü karışımların faz geçiş ölçümleri UV adsorbsiyonu ve ultrafiltrasyon yöntemleri ile yapılmıştır. PEG konsantrasyonunun ve PEG' un molekül ağırlığı arttıkça faz ayrım sıcaklığının arttığı gözlenmiştir. Faz ayrım sıcaklığının artmasının, PEG konsantrasyonu ve protein-protein etkileşimine bağlı olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca PEG bölümlenmesi, PEG konsantrasyonu farkı bulunan bir arada olan sistemde deneysel olarak ölçülmüş ve PEG' un molekül ağırlığı ile arttığı gözlemlenmiştir.

Mandeep Singh Bakshi ve Hidekazu Doe (1999), yaptıkları çalışmada HPyCl'nin farklı mol fraksiyonlarındaki, HPyCl-TTAB sürfaktan karışımları ile PEG (200-400-600 ve 4000) un oluşturdukları ikili karışımların iletkenlikleri ölçülmüştür. Her bir iletkenlik eğrisi tek kırılma verirken PEG 4000' li karışım iki kırılma vermiştir. İletkenlik verilerinden karışımların kritik misel konsantrasyonu, karşı iyon birlikteliği ve sürfaktan hidrokarbon zincirinin standart Gibbs Serbest Enerjileri hesaplanmıştır. PEG-misel (tek sürfaktan) etkileşimlerinin, karışık misel (iki sürfaktan)–PEG

etkileşimleri ile benzerlik gösterdiği gözlemlenmiştir. Sonuçlar PEG' un orta yapı kırma etkisi ve PEG' un misel çözelti yüzeyinde adsorblanması ile açıklanmıştır. Ayrıca misel-PEG etkileşimlerinin PEG'un molekül ağırlığı arttıkça daha güçlü olduğu gözlemlenmiştir.

P. Corbyn Conrad (2003), katyonik sürfaktan olan TTAB (Tetradesil trimetil amonyum bromür) ya da HP_yCl (Heksadesil pridinyum klorür) ile non-iyonik sürfaktanlar olan $C_{12}E_{23}$, $C_{16}E_{20}$, $C_{12}E_8$, $C_{12}E_5$ (alkil polioksietilen eterler) ile DNA etkileşimi ile ilgili kapsamlı bir çalışma yapmıştır. Farklı konsantrasyonlarda ikili sürfaktan karışımları ve EDTA/TRIS tampon çözeltisi kullanılarak hazırlanan karışımlarının DNA eklenildiğinde oluşan karışımlarında katyonik sürfaktandan dolayı önce kendiliğinden birleşme sonucu çökme meydana geldiği, daha sonra çözülme olayının meydana geldiğini Fluoresans mikroskopi cihazı ile gözlemlemiştir. Ayrıca foton korelasyon spektroskopisi ve viskozimetri cihazları ile farklı konsantrasyonlardaki üçlü TTAB/non-iyonik sürfaktanlar/DNA karışımının, serbest DNA nın ölçümleri yapılarak DNA nın serbest bırakılması için gerekli olan vizkozite ve konstantrasyon değerleri yorumlanmıştır.

T. Hianik ve ark. (2010), katyonik sürfaktanlar benzalkonyum klorür ve 1-heksadesil pridinyum klorür konstantrasyon aralıklarını 0,1 μM dan 1 mM a kadar değiştirerek; bir dana DNA sını ve 19-mer çift sarmallı DNA yı UV-VIS spektroskopi, floresan spektroskopi ve akustik dalga detektörü cihazını kullanarak incelemişlerdir. Yüksek konstantrasyonlarda hazırlanan sürfaktan karışımlarının UV adsorsbsiyonun arttırdığı ve erime sıcaklığını azalttığı, her iki sürfaktanında floresana sebep olduğu ve nükleik asit sarmalının arasına eklenebildiği gözlenmiştir. Düşük konsantrasyonlu karışımların akustik dalga detektörünün yüzeyinde, rezonans frekansını arttırdığı ve hareketsel direnç gösterdiği gözlenmiştir.

Zhao X. ve ark. (2007), DNA ve ikiz katyonik sürfaktan sulu çözeltisi trimetilen-1,3-bis (dodesildimetillamonyum bromür) (12-3-12) arasındaki etkileşimler, UV-VIS geçirgenliği, zeta potansiyeli ve fluoresans emisyon spektrumu tarafından incelenmiştir. Elektrostatik ve hidrofobik etkileşimler nedeniyle DNA sürfaktana bağlı misel benzeri yapı fluoresans spektrumu tarafından belirlenmiştir. DNA / 12-3-12 kompleksleri için kritik agregasyon konsantrasyonunun (CAC), sodyum bromür (NaBr) eklenilmesi ile tuz-iyon dengesine bağlı olduğu bulunmuştur. Yüksek sürfaktan konsantrasyonunda, NaBr ile DNA / sürfaktan agrega oluşumunu kolaylaştırır. Etidiyum bromür (EB) un yer değiştirmesi sürfaktan ve DNA arasındaki güçlü uygun bağlanmayı göstermektedir.,

NaBr eklendiğinde yüksek sürfaktan konsantrasyonunda sadece DNA ile sürfaktan bağlayıcılığını değil, DNA / EB kompleksinin kararlılığını da etkilemiştir.

Rungsardthong U. ve ark. (2003), DNA-katyonik polimer kompleksleşme optimizasyonunun non-viral gen teslimatındaki önemi ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. Sistematik zayıf katyonik polielektrolitin iyonizasyon derecesinin etkisini (Poli [2 - (dimetilamino) etil metakrilat] veya DMAEMA homopolimer) DNA ile komplekslerini oluşturmadaki yeteneklerini sistematik olarak değerlendirmeyi amaçlamışlardır. pH değerini 4.0 'den 8.0'a kadar değiştirerek termodinamik özelliklerinin etkileri analiz edilmiştir. pH düşürüldüğünde (aynı zamanda düşük monomer nükleotid molar oranı 0.8:1 kullanılarak, ki bu oran serbest DNA' nın göçünü geciktirmek için gerekli orandır) katyonik polimerin iyonizasyon derecesi yükselmiş ve böylece DNA bağlamadaki yakınlık artmıştır. İzotermal titrasyon mikrokalorimetre çalışmaları daha da güçlü bir etkileşimin daha düşük pH değerlerinde meydana geldiğini doğrulamıştır. Düşük pH değerlerinde daha verimli yoğunlaşma jel elektroforezi yükleme kuyularında yoğun küresel kompleksleri ile birlikte, yüksek polimer / DNA oranlarında meydana gelen yığılma olmadan karmaşık boyutların azaldığı gözlenmiştir. Fizikokimyasal veriler düşük pH sonuçlarının daha küçük ve daha karmaşık kompleksleri, DMAEMA homopolimer iyonizasyonunun arttığını göstermiştir.

DNA' nın dodesil trimetil amonyum bromür (DTAB) katyonik sürfaktanı ile oluşturduğu karışımlardaki kararlılığı ve faz davranışları Monica Rosa, Rita Dias ve ark. (2005), tarafından incelenmiştir. Dairesel dikroizm, UV emilimi ve diferansiyel taramalı kalorimetre yöntemleri kullanılarak, hiçbir tuz ilavesi olmadan saf DNA' lar için tek sarmal oluşturduğu, küçük bir miktar 0,1 mM NaBr eklendiğinde ise, DNA moleküllerinin çift sarmal oluşturdukları gözlemlenmiştir. Dahası, yüksek konsantrasyonlarda DNA, doğal DNA kendini tarama etkisi sebebiyle en istikrarlı yapısında olmuştur. DNA/sürfaktan sistemin faz diyagramı incelenerek, tuz etkisinin faz davranışları üzerinde tek iplikçikli DNA (ssDNA) ve çift iplikçikli DNA (dsDNA) arasında amfifilik etkileşim farkından oluştuğu gözlemlenmiştir. Sürfaktanların farklı zincir uzunlukları ile ss ve dsDNA arasındaki ilişki farkı hidrofobik ve elektrostatik etkileşimleri arasında bir etkileşimden dolayı olduğu ikincisinin de polimer esneklik etkisi altında olduğu yorumlanmıştır. DNA konsantrasyonu ile faz ayrım geçişlerinde, ss ve ds DNA' nın kararlılık değişikliklerine göre değişiklik gösterdiği görülmüştür.

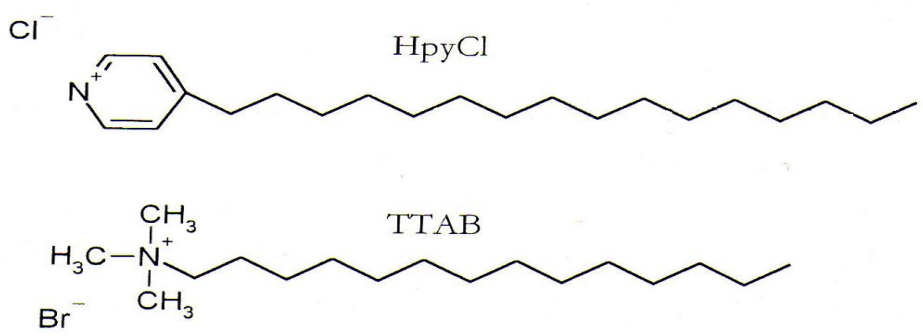
3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu bölümde katyonik sürfaktan/non-iyonik sürfaktan karışımlarının, katyonik sürfaktan/polimer karışımlarının yüzey gerilimlerinin ölçümü, sürfaktanlar ile DNA karışımlarının etkileşimi, kullanılan kimyasal maddeler ve bunların özellikleri, yapılan deneyler anlatılmıştır.

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Katyonik Sürfaktanlar

Katyonik sürfaktan olarak; tetradesil trimetil amonyum bromit (TTAB, Sigma, % 99) ve heksadesil piridinyum klorit (HP_yCl, Fluka, >%98) kullanılmıştır. Herhangi bir saflaştırmaya gidilmemiştir. HPyCl' nin 25 °C' deki KMK = (0,3 - 9) $x10^{-4}$M ve TTAB' in 25 °C' deki KMK = 8 $x10^{-4}$M (Pasupati ve ark.,1971).



Şekil 3.1. HP_yCl ve TTAB' ın moleküler yapısının gösterimi

Non-iyonik sürfaktanlar

Non-iyonik sürfaktan olarak alkil polioksietilen glikol eterler kullanılmıştır. Genel yapısı $H(CH_2)_n$-$(O\text{-}CH_2\text{-}CH_2)_m$-OH şeklindedir ve kısaca C_nE_m şeklinde gösterilirler. Bu çalışmada Pentaetilen glikol monododesil eter-$C_{12}E_5$ (Sigma, UK, %99) ve polioksietilen 20 izoheksadesil eter - $C_{16}E_{20}$ (Nikkol, Japan, > %99) kullanılmıştır.

$C_{12}E_5$' nin erime sıcaklığı 25°C, 25 °C deki KMK = 6.4 x 10^{-5} M' dur.

$C_{16}E_{20}$' nın erime sıcaklığı 38-43 °C, 25 °C deki KMK = 3.9 x 10^{-6} M' dur (N.M. Van Os., 1993).

Polietilen Glikol (PEG)

Polietilen Glikol 400 Merck tarafından temin edilmiştir. Kimyasal açılımı; $HO\text{-}CH_2\text{-}CH_2(\text{-}O\text{-}CH_2\text{-}CH_2)\text{-}OCH_2\text{-}CH_2\text{-}OH$ şeklindedir.

Çizelge 3.1. PEG 400'ün karakteristik özellikleri

Özellikler	**Değer**
Yoğunluk (g/mL)	1.124-1.126
Ortalama moleküler kütle (g/gmol)	267-295
Kütle kimliği (IR)	380-420

TRIS/EDTA tampon çözeltisi

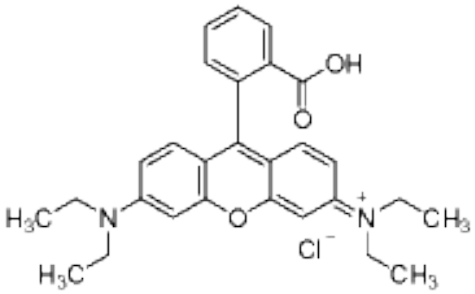
Sulu çözeltileri hazırlarken tampon çözelti olarak Trihidroksimetil aminometan (TRIS, serbest formda, Fluka, U.K. , >%99.8) ve Etilendiamin tetraasetik asit (EDTA, Fluka, U.K. >%99.8) kullanılmıştır. EDTA, DNA ya güçlü şekilde bağlanabilecek olan ve istenilmeyen çok amaçlı metal iyon safsızlıklarının giderilmesi amacıyla eklenilmiştir. Bütün çözeltilerin pH=7.6 olarak ayarlanmıştır ve 25 $^{\circ}$C sıcaklığında hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltilerin hepsi 66.7 mM TRIS ve 6.7 mM EDTA tampon çözeltisi içermektedir.

Deoksiribo Nükleik Asit (DNA)

DNA Sodyum tuzu (Na= 6%, H_2O=12,2%), Sigma,U.K., Luminescence spektrofotometre cihazında ve UV görüntüleme sistemi cihazında kullanılmıştır. Saf DNA tuzunu çözmek için TE (TRIS-EDTA buffer) tampon çözeltisi kullanılmıştır.

Rhodamine-B (pembe)

Rhodamine-B absorblanan dalga boyunda uyarma ışık tarafından uyarıldığı zaman ışık yayan organik bir moleküldür. DNA boyar maddesi olarak luminescence spektrometre cihazında ölçüm yapabilmek için Rh-B (Sigma, %95 boya içerikli) kullanılmıştır. Etanol ile çözülmüştür ve Rhodamine-B den $2x10^{-5}$ M' lik çözelti hazırlanarak, ölçümü yapılacak çözeltilerde kullanılmıştır.



Şekil 3.2. Rhodamine-B nin moleküler yapısının gösterimi

Etidyum Bromür (Et-Br)

DNA boyar maddesi olarak UV görüntüleme sisteminde görüntü alabilmek için Et-Br (5 mg/ml stok) kullanılmıştır. Et-Br' ün 50 mg' ının 10 ml distile suda manyetik çalkalayıcı üzerinde birkaç saat karıştırılarak çözünmesi ile elde edilmiştir.

3.2. Deneylerde Kullanılan Cihaz ve Aletler

1. Su Sirkülasyon Cihazı (0-100 °C, Grant) (Department of Chemistry, The University of Hull, Surfactant and Colloid Group, Hull/ U.K.)

2. pH metre cihazı, (Jenway, 3010) (Department of Chemistry, The University of Hull, Surfactant and Colloid Group, Hull/ U.K.)

3. Du Noűy Yüzey Tensiyometresi (Krűss K12) (Department of Chemistry, The University of Hull, Surfactant and Colloid Group, Hull/ U.K.)

4. Optical Contact Angle ve Yüzey Tensiyometresi (KSV, CAM 200) **(**Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Prof Dr. Mustafa Ersöz, Fizikokimya Laboratuvarı/KONYA)

5. Luminescence spektrometre cihazı (Perkin Elmer, LS55) **(**Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Fizikokimya Laboratuvarı/KONYA)

6. Vilber Lourmat Ultraviyole Görüntüleme Sistemi- jel görüntüleme sistemi (Quantum ST4, FR.) (Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü Fizikokimya Laboratuvarı/KONYA)

7. Karıştırıcı (Nüve SL 350) (Selçuk Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü/ KONYA)

8. Analitik terazi (Precisa XB 220 A) (Selçuk Üniversitesi, Mühendislik- Mimarlık Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü/ KONYA)

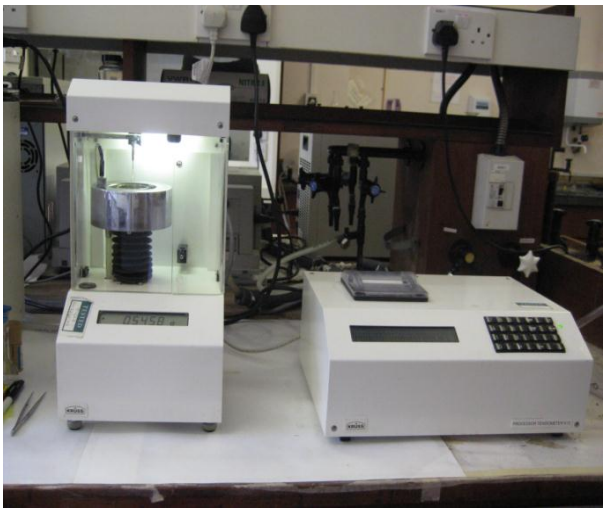
Deneylerde kullanılan cam ve diğer malzemeler: 50-100 ve 1000 ml lik büretler, termometre-rodajlı 0-200 °C, erlen, beher, huni, pipet, mezür, spatül, damlalık, 50 ml lik piknometre, otomatik mikropipet (0-25 µl, 0-100µl, 100-500µl). (Selçuk Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü Polimer ve Plastikler Araştırma Laboratuarı; Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Fizikokimya Laboratuvarları-Selçuk Üniversitesi / KONYA).

3.3. Sürfaktan Karışımlarının Yüzey Gerilimlerinin Ölçülmesi

Sulu çözeltilerdeki sürfaktan karışımlarının yüzey gerilimleri ölçülerek kritik misel yoğunluklarını belirlenmiştir. Ölçümlerde sıcaklık 25.0 ± 0,2 °C sıcaklığında Grant su sirkülasyon cihazı ile kontrol edilmiştir. Yüzey gerilimleri Krűss K12, du Noűy yüzey tensiyometresi cihazı ve Optical Contact Angle ve Yüzey Tensiyometresi ile ölçülmüştür.



Şekil 3.3. Su Sirkülasyonu Cihazı



Şekil 3.4. Du Noűy yüzey tensiyometresi cihazı

Platinyum/iridyum du Noűy halkası kullanılmıştır (R=9,545mm, r= 0,185mm). Cihazda ağır faz olarak yoğunluğu 0,9982 g/ml olan su, hafif faz olarak yoğunluğu 0,0013 g/ml olan hava seçilmiştir. Otomatik hesapla metodu seçilerek ölçüm yapılmıştır. Her ölçme işleminden önce, doğru ölçüm alabilmek için du Noűy halkasının bunsen beki alevi ile beyaz renkli ateş çıkana denk temizlenmesi ve cihaza takılınca da kalibre edilmesi gerekmektedir. Hazırlanan çözeltiler özel yapılmış küçük cam bir kaba konularak karışımların ölçümleri alınır. Doğru sonuç alabilmek için cam kabın çok temiz olması gerekmektedir. Cam kap önce etanol ve saf su yıkanır, daha sonra etanolik potasyum hidroksit çözeltisi (% 85 saflıkta KOH ve her litresinde saf etanol % 98, içeren karışım) içinde birkaç saat bekletilir, tekrar saf su ile yıkandıktan sonra kuruması için kurutucuya konulur. Farklı konsantrasyonlarda sürfaktan karışımlarının ölçümünden önce bu işlem tekrarlanır. Yüzey aktif maddeler cam kabın yüzeyinde de kalıntı ve kirlilik bırakabileceğinden, temiz bir cam kullanılması ve hassas ölçüm yapılması çok önemlidir. Bu cihazın çalışma prensibi bölüm 1.7.1 de anlatılmıştır. Du Noűy halkasının cam kap içerisindeki sürfaktan karışımına değip, denge sağlandığı anda ölçüm alınmaktadır. Karışımın yüzey gerilimi ölçümünde çıkan değer sabitlenene kadar bu işlem devam eder. Düşük konsantrasyonlar hazırlanan karışımların ölçümleri yapılırken dengeye gelme sürelerinin daha uzun olduğu gözlemlenmiştir. Böylece yüzey gerilimini ölçme işlemi daha uzun sürmektedir.

TTAB-$C_{16}E_{20}$, TTAB-$C_{12}E_{5,}$ HP_YCl-$C_{16}E_{20}$, sürfaktan karışımlarının yüzey gerilim ölçümleri bu cihazda yapılmıştır. Önceden hazırlanan 1000 ml' lik TRIS/EDTA stok çözeltisinden 50 ml alınmıştır. Di-iyonize saf su ile 10 mM' lik TTAB stok çözeltisi, 10 mM $C_{16}E_{20}$ ve 10 mM $C_{12}E_5$ stok çözeltileri hazırlanmıştır. Bu stoklardan farklı konsantrasyonlarda karışımlar oluşturularak 100 ml' e tamamlanarak, ölçümler bu son karışımdan alınarak yapılmıştır. Sürfaktan stok çözeltilerinden ne kadar (mM) çözelti alınacağı ise şu yolla hesaplanmıştır; öncelikle grafiklerin $X_{sürfaktan}$= 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 ve 1.0' a göre çizileceği varsayılarak yola çıkılmıştır. Aşağıdaki hesaplamalarda katyonik sürfaktan olarak TTAB ve non-iyonik sürfaktan olarak $C_{12}E_5$ için yapılan hesaplama yöntemi örnek gösterilmiştir:

$$X_{TTAB}+X_{C12E5}=1 \tag{3.1}$$

$$X\ \mathrm{TTAB} = \frac{nTTAB}{n\mathrm{TTAB} + n\mathrm{C12E5}} \tag{3.2}$$

Bu iki denklemden;

$$n_{C12E5} = \frac{nTTAB\ x\ X_{C12E5}}{1 - X_{C12E5}} \quad (3.3)$$

X_{TTAB}: TTAB sürfaktanının mol kesri

X_{C12E5}: $C_{12}E_5$ sürfaktanının mol kesri

n= mol sayısı

n_{C12E5} bulunur ve buradan (3.4) eşitliği kullanılarak $C_{12}E_5$ in derişimi bulunur.

$$c = \frac{n}{V} \quad (3.4)$$

c= derişim (mol/ml)

V= hacim (ml)

Stok TTAB çözeltisinden en düşük konsantrasyon olarak 0,01 mM TTAB alınması varsayılarak;

$$M_1 x V_1 = M_2 x V_2 \quad (3.5)$$

M_1= Stok çözelti konsantrasyonu

V_1= Stok çözeltiden almamız gereken çözelti hacmi

M_2= Son çözeltinin konsantrasyonu

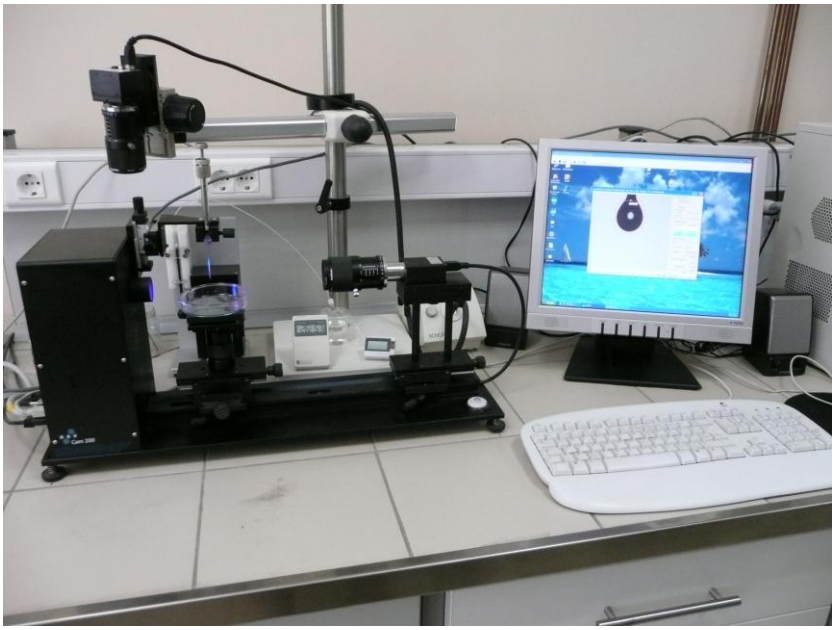
V_2= Son çözeltinin hacmi

Yukarıdaki (3.5) denkleminden faydalanılarak, ölçümü yapılacak olan (TTAB+$C_{12}E_5$+TRIS/EDTA) son karışım için; hem TTAB stok çözeltisinden, hem de $C_{12}E_5$ stok çözeltisinden ne kadar (ml) alınacağı hesaplanır. Çok fazla hesaplama gerektirdiğinden bu işlemler excellde yapılmıştır. X_{TTAB}=0,2 için yapılan hesaplamalar sonucunda, istenilen mol kesrinde (0,2) karışımın konsantrasyonu bulunmuştur ve yüzey gerilimleri tensiyometre cihazı ile ölçülmüştür. Kritik misel konsantrayonunu tespit etmek için, karışım konstantrasyonun ln değerleri de hesaplanmış ve bütün sonuçlar çizelge halinde Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. X_{TTAB} =0,2 için TTAB, $C_{12}E_5$ ve TTAB+$C_{12}E_5$+TRIS/EDTA çözeltilerinin molariteleri ve cihazda ölçülen yüzey gerilimleri

Çözelti	**[TTAB] /mM**	**[$C_{12}E_5$] /mM**	**[TTAB+$C_{12}E_5$+TRIS/EDTA] /mM**	**ln (karışım)**	**γ/mNm^{-1}**
1	$1x10^{-3}$	$4x10^{-3}$	$5\ x10^{-3}$	-5,298317367	45,32
2	$5x10^{-3}$	$2\ x10^{-2}$	$2,5\ x10^{-2}$	-3,688879454	36,75
3	$1x10^{-2}$	$4\ x10^{-2}$	$5\ x10^{-2}$	-2,995732274	31,88
4	$2x10^{-2}$	$8\ x10^{-2}$	$1\ x10^{-1}$	-2,302585093	29,56
5	$5x10^{-2}$	$2\ x10^{-1}$	$2,5\ x10^{-1}$	-1,386294361	29,66
6	$7x10^{-2}$	$2,8x10^{-1}$	$3,5\ x10^{-1}$	-1,049822124	30,25
7	$9x10^{-2}$	$3,6\ x10^{-1}$	$4,5\ x10^{-1}$	-0,798507696	29,77
8	$1,5x10^{-1}$	$6\ x10^{-1}$	$7,5x10^{-2}$	-0,287682072	29,69

Yüzey gerilimlerinin ölçümünde ikinci bir cihaz olarak optical contact angle-yüzey tensiyometresi cihazı kullanılmıştır. Bu cihazın çalışma prensibi sarkan damla metodu olarak bölüm 1.7.2. de anlatılmıştır. Ölçüm yapmadan önce hazırlanan karışımların yoğunluklarını bulmamız gerekmektedir. Herhangi iki karışımın yoğunluğunu bulabilmek için piknometreden faydalanılmıştır. Piknometrenin içinde hiç nem kalmayacak şekilde sabit tartıma getirilir ve desikatör'de saklanır. Öncelikle boş iken hassas terazide kütlesine bakılır, sonra içi çözelti ile tepeleme doldurulduktan sonra taşırmalı kapağı üzerine kapatılarak fazla hacim dışarıya atılır. Daha sonra üzeri kağıt havlu ile hiç ıslaklık kalmayacak şekilde kurulanır. Ardından brüt kütlesi hassas terazi ile tekrar ölçülür. Brüt kütleden darası çıkarılarak sıvının net kütlesi hesaplanır. Yoğunluk; kütle/hacim' den çözeltilerin belli sıcaklıktaki yoğunlukları hesaplanmıştır.



Şekil 3.5. Optical Contact Angle cihazı

Contact angle cihazında pendant drop (sarkan damla) metodu ile ölçüm yapılmıştır. HPyCl+PEG+TRIS/EDTA karışımlarının yüzey gerilimleri bu cihaz yardımı ile ölçülmüştür. Ağır faz olarak su, hafif faz olarak hava seçilerek ölçüm yapılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda (X_{HPyCl}= 0,2, 0,4, 0,6, 0,8) için ölçümler yapılmıştır. Bunlardan X_{HPyCl}= 0,2 için yapılan ölçüm sonucu elde edilene veriler çizelge 3.3’ de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3. X_{HPyCl} = 0,2 için HPyCl ve PEG çözeltilerinin hesaplanan molariteleri ve cihazda ölçülen yüzey gerilimleri

HPyCl/mM	PEG/mM	HPyCl+PEG+TRIS/EDTA /mM	γ/mNm^{-1}
$1x10^{-1}$	$2,5x10^{-4}$	$100,25x10^{-4}$	59,79
$2x10^{-2}$	$5x10^{-4}$	$205x10^{-4}$	60,80
$5x10^{-2}$	$12,5x10^{-4}$	$512,5x10^{-4}$	52,30
$1x10^{-1}$	$25x10^{-3}$	$125x10^{-3}$	52,75
$5x10^{-1}$	$125x10^{-3}$	$625x10^{-3}$	40,86

3.4. DNA/Sürfaktan Etkileşiminin İncelenmesi için Yapılan Deneyler

DNA/sürfaktan etkileşimin görülebilmesi için Luminescence Spektrometre cihazı ve UV görüntüleme sistemi (jel görüntüleme sistemi) cihazı kullanılmıştır. Bütün ölçümler Selçuk Üniversitesi, Kimya bölümü, Fizikokimya Laboratuarında yapılmıştır. Lüminesens spektrometre cihazında DNA' nın HPyCl ve PEG ile etkileşimi, Rh-B-DNA boyar maddesi kullanılarak gözlemlenmiştir.



Şekil 3.6. Luminescence Spektrometre Cihazı

Önceden hazırlanmış olan $2x10^{-5}$ M lık stok Rh-B çözeltisinden 100 µL, 0,01 mg/ml DNA stok çözeltisinden 500 µl, 0,01 mM stok HPyCl çözeltisinden 200 µl ve 0,09 mM stok PEG çözeltisinden 50 µl alınarak, karışımlar 10 ml'e tamamlanmıştır.

Çizelge 3.4. Ölçümü yapılan numunelerin verileri

Çözelti (10 ml)	Rhodamine-B/ µl	DNA/ µl	HPyCl/ µl	PEG/ µl
1	100	-	-	-
2	100	500	-	-
3	100	-	200	50
4	100	500	200	50
5	100	-	200	-
6	100	500	200	-
7	100	500	200	100

Çizelge 3.4’ de gösterildiği gibi; burada gözlemlenmek istenen DNA/HPyCl/PEG etkileşimi olduğundan; önce sadece Rh-B, sonra Rh-B+DNA, daha sonra DNA’lı-DNA’sız, düşük ve yüksek konsantrasyonlu PEG yer aldığı numuneler hazırlanarak ölçüm yapılmıştır. Lüminesans spektroskopisinin de düşük konsantrasyonlarda doğru sonuçlar tayin ettiği bilindiğinden alınan numuneler yeterli görülmüştür.

DNA/HPyCl/PEG etkileşimini görüntülemek amacı ile de vilber lourmat ultraviyole görüntüleme sistemi cihazı kullanılmıştır. Her çözeltiden birkaç damla alınarak camın üzerine konularak görüntüleri alınmıştır. Bu cihazda Rh-B-HpyCl-PEG çözeltisinin, Rh-B-DNA çözeltisinin, Rh-B -DNA-HpyCl çözeltisinin, Rh-B-DNA-HpyCl-çözelti halindeki PEG, Rh-B -DNA-HpyCl yüzeyde toplanan PEG’ li çözeltilerin görüntüleri alınmıştır.



Şekil 3.7. Ultraviyole görüntüleme sistemi cihazı

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Sürfaktan Karışımlarının Yüzey Gerilim Bulguları

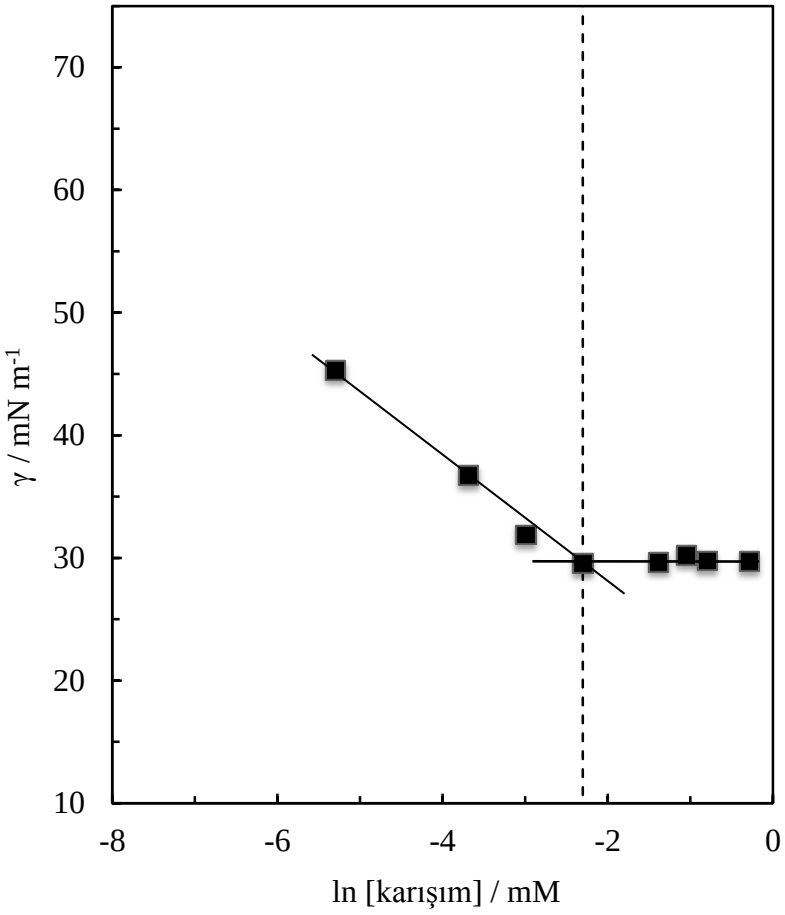
TTAB-$C_{12}E_5$, TTAB-$C_{16}E_{20}$, HP_YCl-$C_{16}E_{20}$ sürfaktan karışımlarının yüzey gerilim kritik misel yoğunlukları yüzey tensiyometresi cihazı ile ölçülmüştür.

TTAB-$C_{12}E_5$ sürfaktan karışımlarının yüzey gerilimleri

Stok çözeltilerinden farklı mol kesirlerinde alınan sürfaktan karışımlarının yüzey gerilimleri ölçülmüştür. X_{TTAB} = 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 için ölçümler yapılmıştır. Ancak bütün bulguları göstermek yerine aynı şekilde ölçüm yapılan 3 numunenin ölçümlerine yer verilmiştir. X_{TTAB} = 0,2, 0,4 ve 0,8 için olan yüzey gerilim bulgularına sırasıyla Çizelge 4.1., 4.2. ve 4.3. de verilmiştir.

Çizelge 4.1. X_{TTAB} =0,2 için TTAB, $C_{12}E_5$ ve TTAB+$C_{12}E_5$+TRIS/EDTA çözeltilerinin molariteleri ve cihazda yüzey gerilimleri

Çözelti	[TTAB] /mM	[$C_{12}E_5$] /mM	[TTAB+$C_{12}E_5$+TRIS/EDTA] /mM	ln(karışım)	γ□/mNm^{-1}
1	$1x10^{-3}$	$4x10^{-3}$	$5x10^{-3}$	-5,298317367	45,32
2	$5x10^{-3}$	$2x10^{-2}$	$2,50x10^{-2}$	-3,688879454	36,75
3	$1x10^{-2}$	$4x10^{-2}$	$5x10^{-2}$	-2,995732274	31,88
4	$2x10^{-2}$	$8x10^{-2}$	$1x10^{-1}$	-2,302585093	29,56
5	$5x10^{-2}$	$2x10^{-1}$	$2,50x10^{-1}$	-1,386294361	29,66
6	$7x10^{-2}$	$2,80x10^{-1}$	$3,50x10^{-1}$	-1,049822124	30,25
7	$9x10^{-2}$	$3,60x10^{-1}$	$4,50x10^{-1}$	-0,798507696	29,77
8	$1,50x10^{-1}$	$6x10^{-1}$	7,50x10-^{1}	-0,287682072	29,69

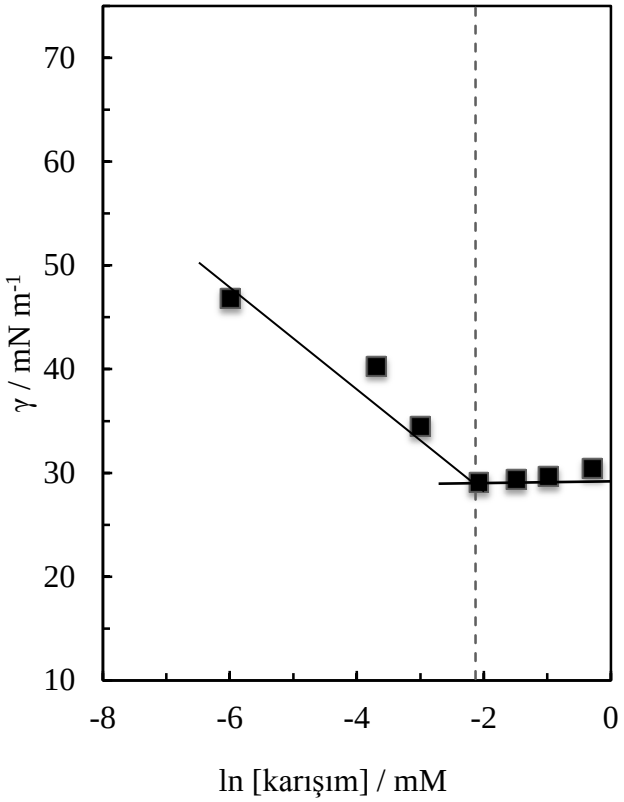


Şekil 4.1. TTAB/$C_{12}E_5$ sürfaktan karışımlarının X_{TTAB}=0,2 mol oranlarındaki KMK grafiği (Koşullar 6.7 mM EDTA ve 66.7 mM TRIS, 25$^{°C}$, pH=7.6 , ------ Karışımların KMK' larını göstermektedir.)

Şekil 4.1' den ln [karışım] değerinin yaklaşık -2,303 olduğu noktadan sonra karışımın yüzey geriliminde belirgin bir değişiklik olmadığı gözlenmektedir. Bu noktanın karışımın kritik misel konsantrasyonu olduğu kabul edilmiş ve KMK değeri yaklaşık olarak 0,1 mM hesaplanmıştır.

Çizelge 4.2. X_{TTAB} =0,4 için TTAB, $C_{12}E_5$ ve TTAB+$C_{12}E_5$+TRIS/EDTA çözeltilerinin molariteleri ve ölçülen yüzey gerilimleri

Çözelti	**[TTAB] /mM**	**[$C_{12}E_5$] /mM**	**[TTAB+$C_{12}E_5$+TRIS/EDTA] /mM**	**ln (karışım)**	**γ/mNm^{-1}**
1	$1x10^{-3}$	$1,50x10^{-3}$	$2,50x10^{-3}$	-5,991464547	46,81
2	$1x10^{-2}$	$1,50x10^{-2}$	$2,50x10^{-2}$	-3,688879454	40,31
3	$2x10^{-2}$	$3x10^{-2}$	$5x10^{-2}$	-2,995732274	34,5
4	$5x10^{-2}$	$7,50x10^{-2}$	$1,25x10^{-1}$	-2,079441542	29,11
6	$9x10^{-2}$	$1,35x10^{-1}$	$2,25x10^{-1}$	-1,491654877	29,4
7	$1,50x10^{-1}$	$2,25x10^{-1}$	$3,75x10^{-1}$	-0,980829253	29,7
8	$3x10^{-1}$	$4,50x10^{-1}$	$7,50x10^{-1}$	-0,287682072	30,4

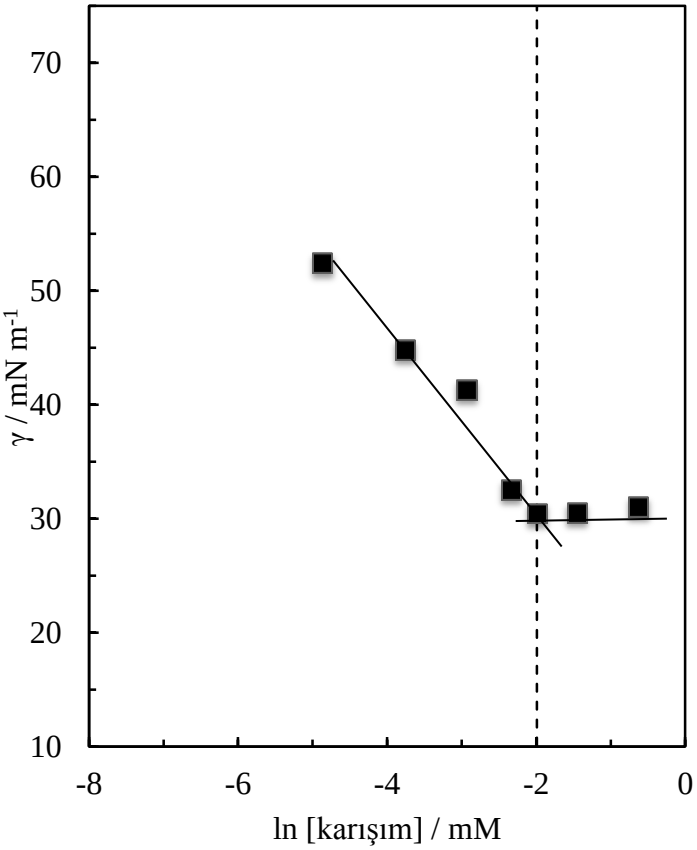


Şekil 4.2. TTAB/$C_{12}E_5$ sürfaktan karışımlarının X_{TTAB}=0,4 mol oranlarındaki KMK grafiği (Koşullar 6.7 mM EDTA ve 66.7 mM TRIS 25$^{\circ C}$, pH=7.6 , ------ Karışımların KMK larını göstermektedir.)

Şekil 4.2' den ln [karışım] değeri yaklaşık -2,13 noktasından sonra karışımın yüzey geriliminde belirgin bir değişiklik olmadığı gözlenmektedir. Bu noktanın karışımın KMK'nu olduğu kabul edilmiş ve KMK değeri yaklaşık 1,22x10^{-1} mM hesaplanmıştır.

Çizelge 4.3. X_{TTAB} =0,6 için TTAB, $C_{12}E_5$ ve TTAB+$C_{12}E_5$+TRIS/EDTA çözeltilerinin molariteleri ve ölçülen yüzey gerilimleri

Çözelti	**[TTAB] /mM**	**[$C_{12}E_5$] /mM**	**[TTAB+$C_{12}E_5$+TRIS/EDTA] /mM**	**ln(karışım)**	**γ/mNm^{-1}**
1	1x10^{-3}	6,67x10^{-3}	7,67x10^{-3}	-4,870873352	52,4
2	1x10^{-2}	1,33x10^{-2}	2,33x10^{-2}	-3,757872326	44,81
3	2x10^{-2}	3,33x10^{-2}	5,33x10^{-2}	-2,931193752	41,32
4	5x10^{-2}	4,67x10^{-2}	9,67x10^{-2}	-2,336486645	32,52
5	7x10^{-2}	6,67x10^{-2}	1,37x10^{-1}	-1,990210408	30,47
6	1x10^{-1}	1,33x10^{-1}	2,33x10^{-1}	-1,455287233	30,5
7	2x10^{-1}	3,33x10^{-1}	5,33x10^{-1}	-0,628608659	31,1
8	5x10-1	6,67x10^{-1}	1,17	0,15415068	31,7



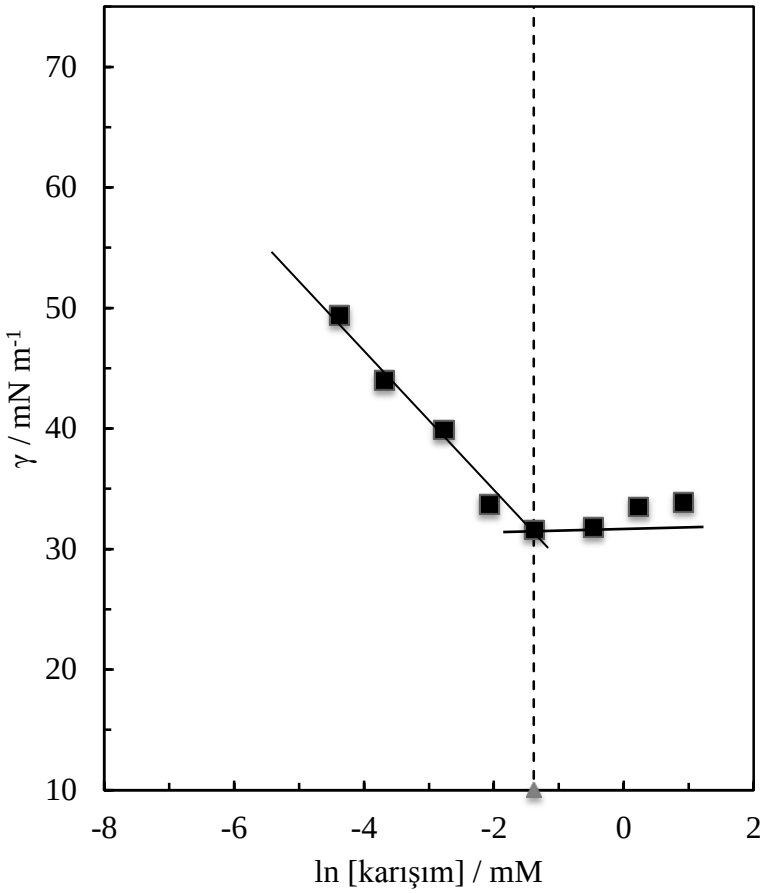
Şekil 4.3. TTAB/$C_{12}E_5$ sürfaktan karışımlarının X_{TTAB}=0,6 mol oranlarındaki KMK grafiği (Koşullar 6.7 mM EDTA ve 66.7 mM TRIS 25°C, pH=7.6 , ------ Karışımların KMK larını göstermektedir)

Şekil 4.5' den ln [karışım] değeri yaklaşık -1,99 noktasından sonra karışımın yüzey geriliminde belirgin bir değişiklik olmadığı gözlenmektedir. Bu noktanın karışımın KMK'nu olduğu kabul edilmiş ve KMK değeri yaklaşık $1{,}37x10^{-1}$ mM olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.4. X_{TTAB} =0,8 için TTAB, $C_{12}E_5$ ve TTAB+$C_{12}E_5$+TRIS/EDTA çözeltilerinin molariteleri ve ölçülen yüzey gerilimleri

Çözelti	**[TTAB] /mM**	**[$C_{12}E_5$] /mM**	**[TTAB+$C_{12}E_5$+TRIS/EDTA] /mM**	**ln (karışım)**	**γ/mNm^{-1}**
1	$1x10^{-2}$	$2{,}50x10^{-3}$	$1{,}25x10^{-2}$	-4,382026635	49,37
2	$2x10^{-2}$	$5x10^{-3}$	$2{,}50x10^{-2}$	-3,688879454	44,01
3	$5x10^{-2}$	$1{,}25x10^{-2}$	$6{,}25x10^{-2}$	-2,772588722	39,89
4	$1x10^{-1}$	$2{,}50x10^{-2}$	$1{,}25x10^{-1}$	-2,079441542	33,7
5	$2x10^{-1}$	$5x10^{-2}$	$2{,}50x10^{-1}$	-1,386294361	31,6
6	$5x10^{-1}$	$1{,}25x10^{-1}$	$6{,}25x10^{-1}$	-0,470003629	31,8
7	1,00	$2{,}50x10^{-1}$	1,25	0,223143551	33,5

8	2,00	$5x10^{-1}$	2,50	0,916290732	33,91

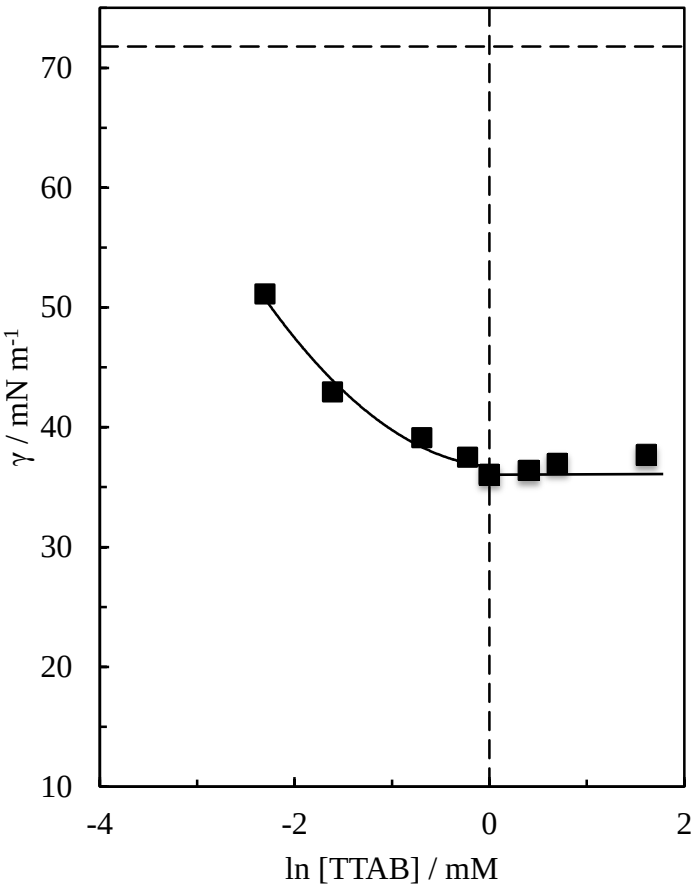


Şekil 4.4. TTAB/$C_{12}E_5$ sürfaktan karışımlarının X_{TTAB}=0,8 mol oranlarındaki KMK grafiği (Koşullar 6.7 mM EDTA ve 66.7 mM TRIS 25°C, pH=7.6 , ------ Karışımların KMK'larını göstermektedir.)

Şekil 4.4' den ln [karışım] değeri yaklaşık -1.39 noktasından sonra karışımın yüzey geriliminde sabitlenme gözlenmektedir Bu noktanın bu karışımın KMK değeri olduğu görülmektedir ve yaklaşık $2,5x10^{-1}$ mM olarak hesaplanmıştır.

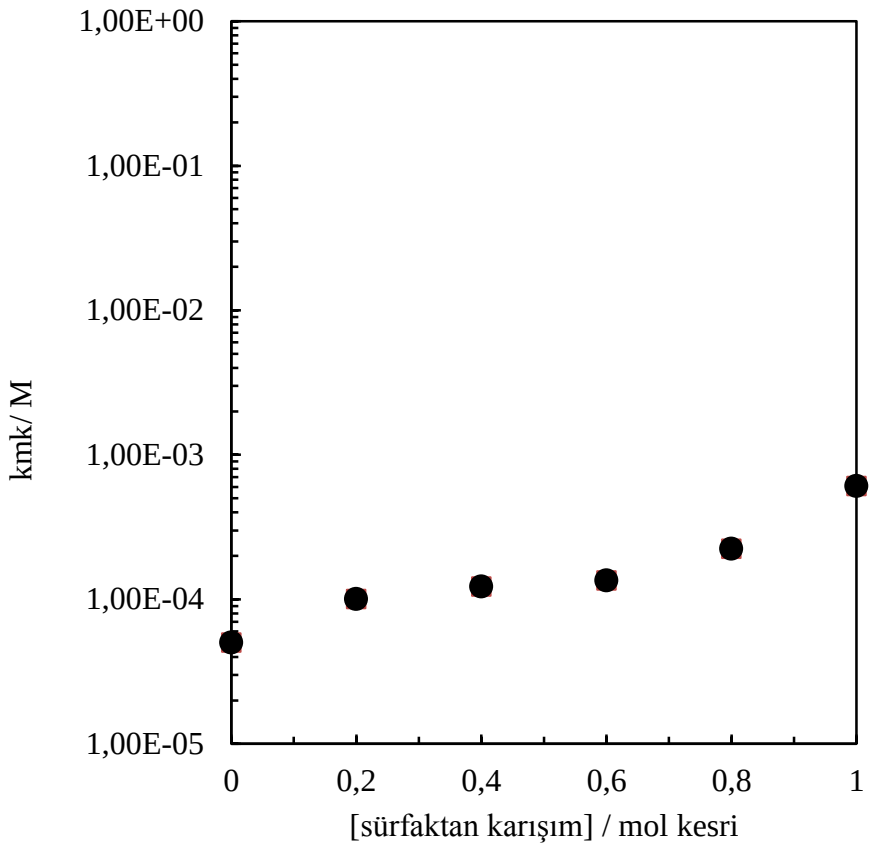
Çizelge 4.5. X_{TTAB} =1 için TTAB+TRIS/EDTA çözeltilerinin molariteleri ve ölçülen yüzey gerilimleri

Çözelti	**[TTAB]/mM**	**ln([TTAB]/mM)**	**γ/mNm^{-1}**
1	0,1	-2,302585093	51,11
2	0,2	-1,609437912	42,92
3	0,5	-0,693147181	39,1
4	0,8	-0,223143551	37,5
5	1	0	36,0
6	1,5	0,405465108	36,4
7	2	0,693147181	37,0
8	5	1,609437912	37,7



Şekil 4.5. TTAB/$C_{12}E_5$ sürfaktan karışımlarının X_{TTAB}=1 mol oranındaki KMK grafiği (Koşullar 6.7 mM EDTA ve 66.7 mM TRIS 25°C, pH=7.6, dikey ------ TTAB'ın KMK'sının göstermektedir, yatay ---- ise saf suyun KMK nunu göstermektedir.)

Şekil 4.5' den ln [TTAB] değeri 0'ı gösterdikten sonra karışımın yüzey geriliminde belirgin bir değişiklik olmadığı gözlenmektedir. Bu noktanın karışımın KMK'nu olduğu kabul edilmiş ve KMK değerinin yaklaşık olarak 0,606 mM hesaplanmıştır.



Şekil 4.6. Farklı mol kesirlerindeki TTAB/$C_{12}E_5$ sürfaktan karışımlarının KMK grafiği (Koşullar 25$^{\circ C}$, pH=7.6, işaretlenmiş noktalar deneysel sonuçları göstermektedir.)

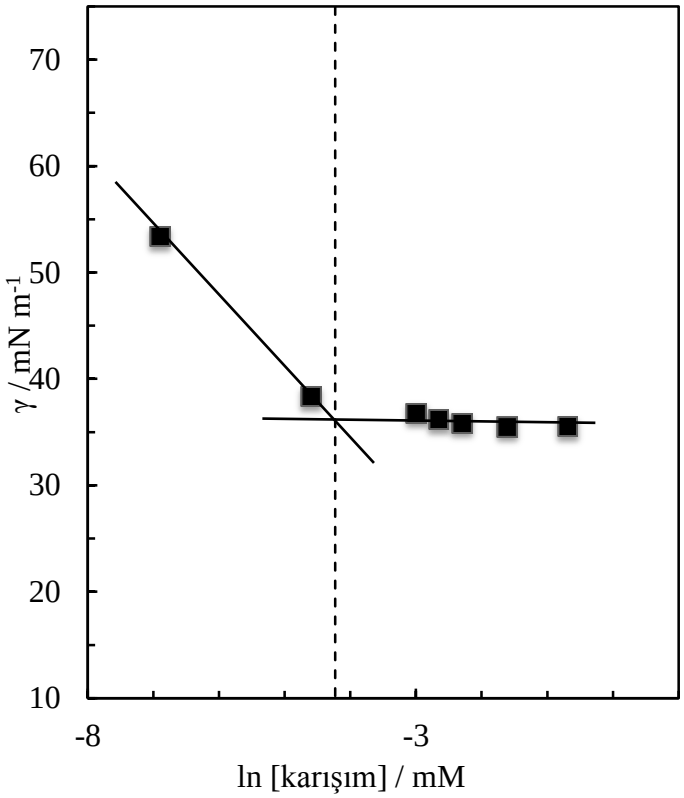
Şekil 4.6' dan da görüleceği gibi sürfaktan karışımının konsantrasyonu arttıkça karışımın kritik misel konsantrasyonu da artmıştır. Ayrıca her bir karışımın çizelgesi kendi içinde incelendiğinde, TTAB konsantrasyonu arttığında karışımın yüzey geriliminin düştüğü gözlenmiştir.

TTAB-$C_{16}E_{20}$ sürfaktan karışımlarının yüzey gerilimleri

X_{TTAB} =0,2, 0,4, 0,6, 0,8 için ölçümler yapılmıştır. Bu ölçümler için olan yüzey gerilim sonuçları sırasıyla Çizelge 4.6., 4.7., 4.8 ve 4.9' da verilmiştir.

Çizelge 4.6. X_{TTAB} =0,2 için TTAB, $C_{16}E_{20}$ ve TTAB+$C_{16}E_{20}$+TRIS/EDTA çözeltilerinin molariteleri ve ölçülen yüzey gerilimleri

Çözelti	[TTAB] /mM	[$C_{16}E_{20}$] /mM	[TTAB+$C_{16}E_{20}$+TRIS/EDTA]	ln(karışım)	γ/mNm^{-1}
1	1x10^{-4}	9x10^{-4}	1x10^{-3}	-6,907755279	53,41
2	1x10^{-3}	9x10^{-3}	1x10^{-2}	-4,605170186	38,37
3	5x10^{-3}	4,50x10^{-2}	5x10^{-2}	-2,995732274	36,82
4	7x10^{-3}	6,30x10^{-2}	7x10^{-2}	-2,659260037	36,22
5	1x10^{-2}	9x10-2	1x10^{-1}	-2,302585093	35,87
6	2x10^{-2}	1,80x10^{-1}	2x10^{-1}	-1,609437912	35,53
7	5x10^{-2}	4,50x10^{-1}	5x10^{-1}	-0,693147181	35,56

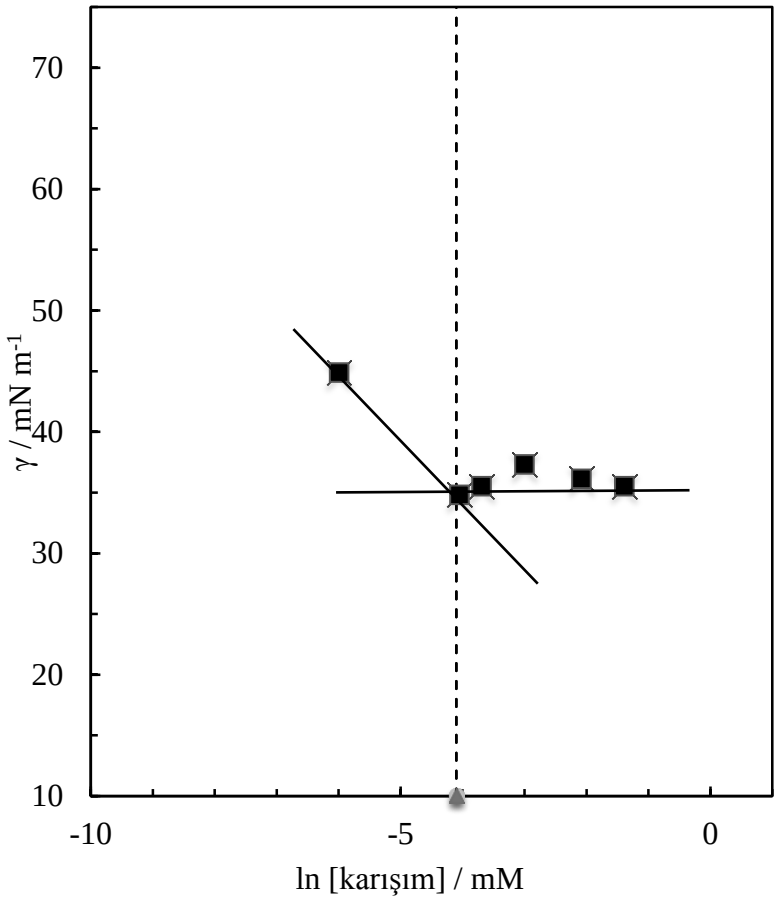


Şekil 4.7. TTAB/$C_{16}E_{20}$ sürfaktan karışımlarının X_{TTAB}=0,2 mol oranındaki KMK grafiği (Koşullar 6.7 mM EDTA ve 66.7 mM TRIS 25$^{\circ C}$, pH=7.6 , ------ Karışımların KMK larını göstermektedir.)

Şekil 4.6' dan ln [karışım] değeri yaklaşık -4,25 noktasından sonra karışımın yüzey geriliminde belirgin bir değişiklik olmadığı gözlenmektedir. Bu noktanın karışımın KMK'nu olduğu kabul edilmiş ve KMK değeri yaklaşık olarak 1,45x10^{-2} mM hesaplanmıştır.

Çizelge 4.7. X_{TTAB} =0,4 için TTAB, $C_{16}E_{20}$ ve TTAB+$C_{16}E_{20}$+TRIS/EDTA çözeltilerinin molariteleri ve ölçülen yüzey gerilimleri

Çözelti	[TTAB] /mM	[$C_{16}E_{20}$] /mM	[TTAB+$C_{16}E_{20}$+TRIS/EDTA] /mM	ln (karışım)	γ /mNm^{-1}
1	1x10^{-3}	1,50x10^{-3}	2,50x10^{-3}	-5,991464547	44,88
2	7x10^{-3}	1,05x10^{-2}	1,75x10^{-2}	-4,045554398	34,8
3	1x10^{-2}	1,50x10^{-2}	2,50x10^{-2}	-3,688879454	35,51
4	2x10^{-2}	3x10^{-2}	5x10^{-2}	-2,995732274	37,31
5	5x10^{-2}	7,50x10^{-2}	1,25x10^{-1}	-2,079441542	36,12
6	1x10^{-1}	1,50x10^{-1}	2,50x10^{-1}	-1,386294361	35,5

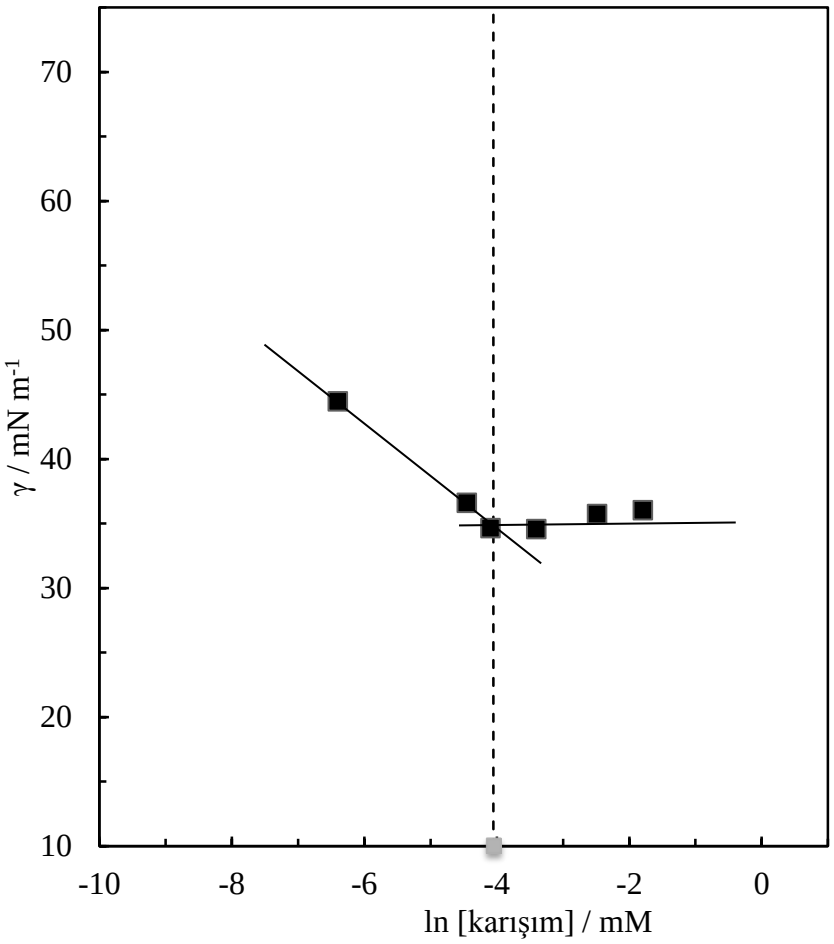


Şekil 4.8. TTAB/$C_{16}E_{20}$ sürfaktan karışımlarının X_{TTAB}=0,4 mol oranındaki KMK grafiği (Koşullar 6.7 mM EDTA ve 66.7 mM TRIS 25$^{\circ C}$, pH=7.6 , ------ Karışımın KMK'nunu göstermektedir.)

Şekil 4.7' den ln [karışım] değeri yaklaşık -4,1 noktasından sonra karışımın yüzey geriliminde belirgin bir değişiklik olmadığı gözlenmektedir. Bu noktanın karışımın KMK'nu olduğu kabul edilmiş ve KMK değerinin yaklaşık 1,65x10^{-2} mM olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.8. X_{TTAB} =0,6 için TTAB, $C_{16}E_{20}$ ve TTAB+$C_{16}E_{20}$+TRIS/EDTA çözeltilerinin molariteleri ve ölçülen yüzey gerilimleri

Çözelti	**[TTAB] /mM**	**[$C_{16}E_{20}$] /mM**	**[TTAB+$C_{16}E_{20}$+TRIS/EDTA] /mM**	**ln (karışım)**	**γ/mNm^{-1}**
1	$1x10^{-3}$	$6,67x10^{-4}$	$1,67x10^{-3}$	-6,396929655	44,44
2	$7x10^{-3}$	$4,67x10^{-3}$	$1,17x10^{-2}$	-4,451019506	36,57
3	$1x10^{-2}$	$6,67x10^{-3}$	$1,67x10^{-2}$	-4,094344562	34,62
4	$2x10^{-2}$	$1,33x10^{-2}$	$3,33x10^{-2}$	-3,401197382	34,55
5	$5x10^{-2}$	$3,33x10^{-2}$	$8,33x10^{-2}$	-2,48490665	36,72
6	$1x10^{-1}$	$6,67x10^{-2}$	$1,67x10^{-1}$	-1,791759469	38,02



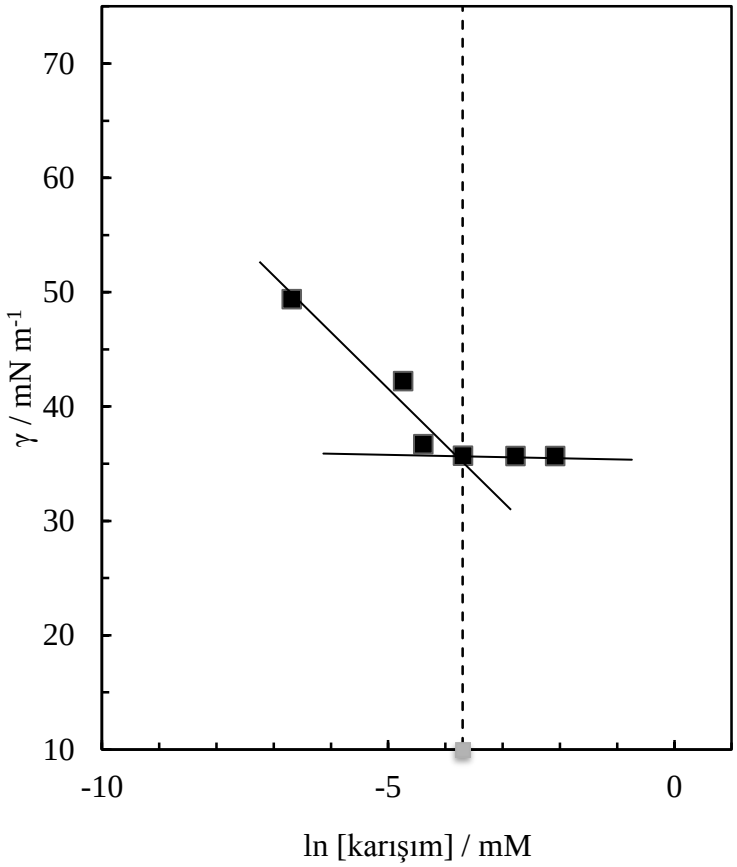
Şekil 4.9. TTAB/$C_{16}E_{20}$ sürfaktan karışımlarının X_{TTAB}=0,6 mol oranındaki KMK grafiği (Koşullar 6.7 mM EDTA ve 66.7 mM TRIS 25$^{\circ C}$, pH=7.6 , ------ Karışımın KMK'nunu göstermektedir.)

Şekil 4.9' dan ln [karışım] değeri yaklaşık -4,05 noktasından sonra karışımın yüzey geriliminde belirgin bir değişiklik olmadığı gözlenmektedir. Bu noktanın karışımın

KMK'nu olduğu kabul edilmiş ve KMK değerinin yaklaşık $1{,}74x10^{-2}$ mM olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.9. X_{TTAB} =0,8 için TTAB, $C_{16}E_{20}$ ve TTAB+$C_{16}E_{20}$+TRIS/EDTA çözeltilerinin molariteleri ve ölçülen yüzey gerilimleri

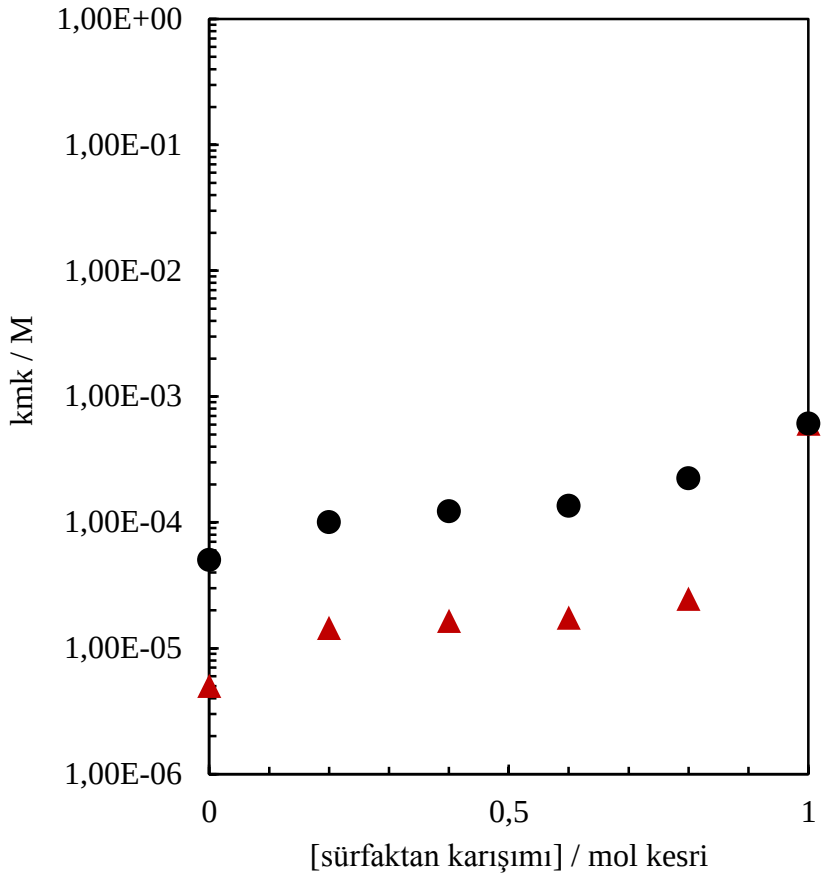
Çözelti	[TTAB] /mM	[$C_{16}E_{20}$] /mM	[TTAB+$C_{16}E_{20}$+TRIS/EDTA] /mM	ln (karışım)	γ/mNm^{-1}
1	$1x10^{-3}$	$2{,}50x10^{-4}$	$1{,}25x10^{-3}$	-6,684611728	49,39
2	$7x10^{-3}$	$1{,}75x10^{-3}$	$8{,}75x10^{-3}$	-4,738701579	42,22
3	$1x10^{-2}$	$2{,}50x10^{-3}$	$1{,}25x10^{-2}$	-4,382026635	36,69
4	$2x10^{-2}$	$5x10^{-3}$	$2{,}50x10^{-2}$	-3,688879454	35,7
5	$5x10^{-2}$	$1{,}25x10^{-2}$	$6{,}25x10^{-2}$	-2,772588722	35,66
6	$1x10^{-1}$	$2{,}50x10^{-2}$	$1{,}25x10^{-1}$	-2,079441542	35,67



Şekil 4.10. TTAB/$C_{16}E_{20}$ sürfaktan karışımlarının X_{TTAB}=0,8 mol oranındaki KMK grafiği (Koşullar 6.7 mM EDTA ve 66.7 mM TRIS 25°C, pH=7.6 , ------ Karışımın KMK'nunu göstermektedir.)

Şekil 4.10' dan ln [karışım] değeri yaklaşık -3,7 noktasından sonra karışımın yüzey geriliminde belirgin bir değişiklik olmadığı gözlenmektedir. Bu noktanın karışımın

KMK'nu olduğu kabul edilmiş ve KMK değeri yaklaşık olarak $2,47*10^{-2}$ mM hesaplanmıştır.



Şekil 4.11. Farklı mol kesirlerindeki TTAB/$C_{12}E_5$ ve TTAB/$C_{16}E_{20}$ sürfaktan karışımlarının KMK grafiği (Koşullar 25°C, pH=7.6, ● TTAB/$C_{12}E_5$ sürfaktan karışımlarının, ▲TTAB/$C_{16}E_{20}$ sürfaktan karışımlarının deneysel sonuçlarını göstermektedir.)

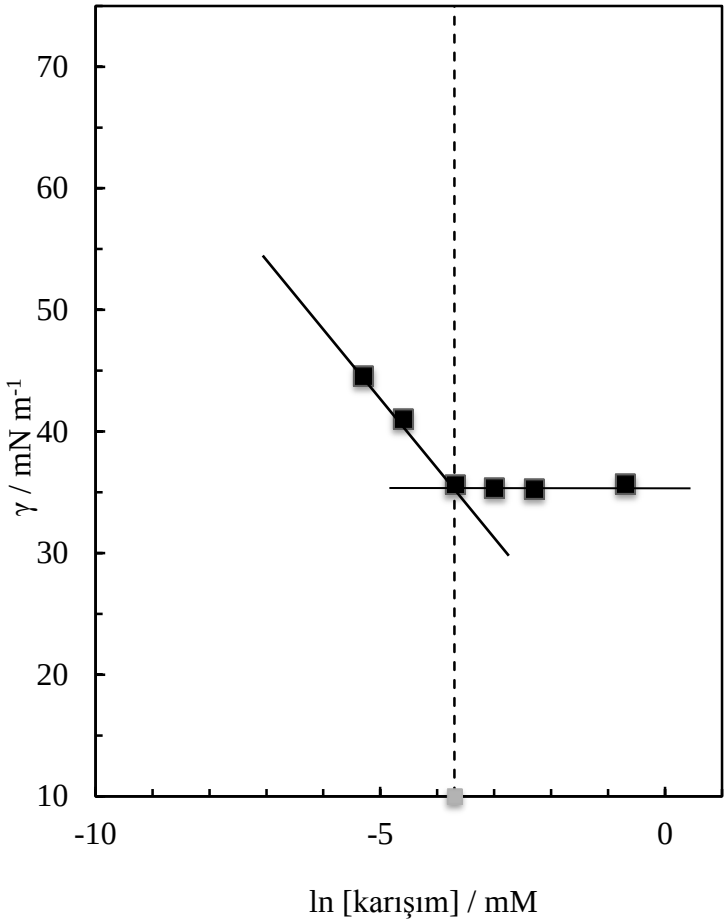
Şekil 4.11' den sürfaktan karışımının konsantrasyonu arttıkça karışımın kritik misel konsantrasyonu da arttığı net bir şekilde görülmektedir. Yapılan bu ölçümlerden TTAB+$C_{16}E_{20}$+TRIS/EDTA karışımı için, TTAB+$C_{12}E_5$+TRIS/EDTA karışımı ile benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca her bir karışımın Çizelgesu kendi içinde incelendiğinde, sürfaktan konsantrasyonu arttığında yüzey geriliminin düştüğü gözlenmiştir. Yapılan deneylerin sonuçları incelendiğinde; $C_{16}E_{20}$ ile yapılan karışımlarda, $C_{12}E_5$ ile yapılan karışımlara oranla daha düşük KMK değerleri elde edildiği görülmektedir.

HPyCl-$C_{16}E_{20}$ sürfaktan karışımlarının yüzey gerilimleri

X_{HPyCl} = 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 için tensiyometre cihazında ölçümler yapılmıştır. Yüzey gerilim ölçüm sonuçlarına sırasıyla Çizelge 4.10., 4.11. ve 4.12.' de verilmiştir.

Çizelge 4.10. X_{HPyCl}=0,2 için HPyCl, $C_{16}E_{20}$ ve HPyCl+$C_{16}E_{20}$+TRIS/EDTA çözeltilerinin molariteleri ve ölçülen yüzey gerilimleri

Çözelti	[HPyCl] /mM	[$C_{16}E_{20}$] /mM	[HPyCl+$C_{16}E_{20}$+TRIS/EDTA] /mM	ln (karışım)	γ/mNm^{-1}
1	1x10^{-3}	4x10^{-3}	5x10^{-3}	-5,298317367	44,56
2	2x10^{-3}	8x10^{-3}	1x10^{-2}	-4,605170186	41,03
3	5x10^{-3}	2x10^{-2}	2,50x10^{-2}	-3,688879454	35,65
4	1x10^{-2}	4x10^{-2}	5x10^{-2}	-2,995732274	35,35
5	2x10^{-2}	8x10^{-2}	1x10^{-1}	-2,302585093	35,28
6	1x10^{-1}	4x10^{-1}	5x10^{-1}	-0,693147181	35,68

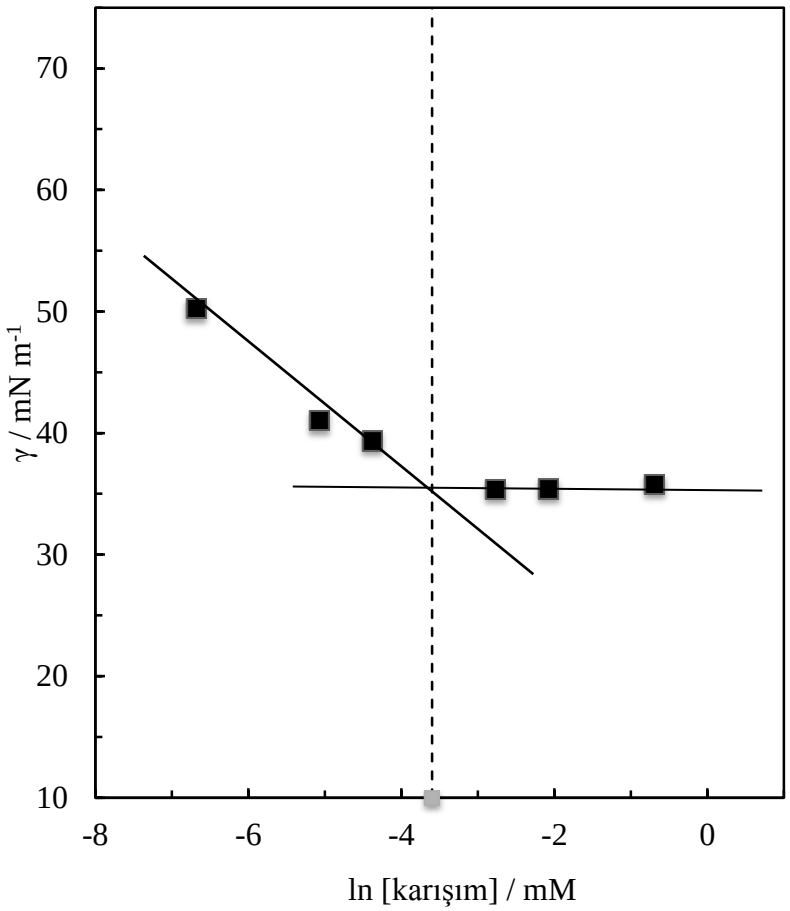


Şekil 4.12. HPyCl/$C_{16}E_{20}$ sürfaktan karışımlarının X_{HPyCl}=0,2 mol oranındaki KMK grafiği (Koşullar 6.7 mM EDTA ve 66.7 mM TRIS 25°C, pH=7.6 , ------ Karışımın KMK'nunu göstermektedir).

Şekil 4.12' den ln [karışım] değeri yaklaşık –3,7 noktasından sonra karışımın yüzey geriliminde belirgin bir değişiklik olmadığı gözlenmektedir. Bu noktanın karışımın KMK'nu olduğu kabul edilmiş ve KMK değeri yaklaşık olarak 2,47x10^{-2} mM hesaplanmıştır.

Çizelge 4.11. X_{HPyCl}=0,4 için HPyCl, $C_{16}E_{20}$ ve HPyCl+$C_{16}E_{20}$+TRIS/EDTA çözeltilerinin molariteleri ve ölçülen yüzey gerilimleri

Çözelti	**[HPyCl] /mM**	**[$C_{16}E_{20}$] /mM**	**[HPyCl+$C_{16}E_{20}$+TRIS/EDTA] /mM**	**ln (karışım)**	**γ/mNm^{-1}**
1	$1x10^{-3}$	$2,50x10^{-4}$	$1,25x10^{-3}$	-6,684611728	50,28
2	$5x10^{-3}$	$1,25x10^{-3}$	$6,25x10^{-3}$	-5,075173815	41,04
3	$1x10^{-2}$	$2,50x10^{-3}$	$1,25x10^{-2}$	-4,382026635	39,36
4	$5x10^{-2}$	$1,25x10^{-2}$	$6,25x10^{-2}$	-2,772588722	35,40
5	$1x10^{-1}$	$2,50x10^{-2}$	$1,25x10^{-1}$	-2,079441542	35,43
6	$2x10^{-1}$	$3x10^{-1}$	$5x10^{-1}$	-0,693147181	35,8

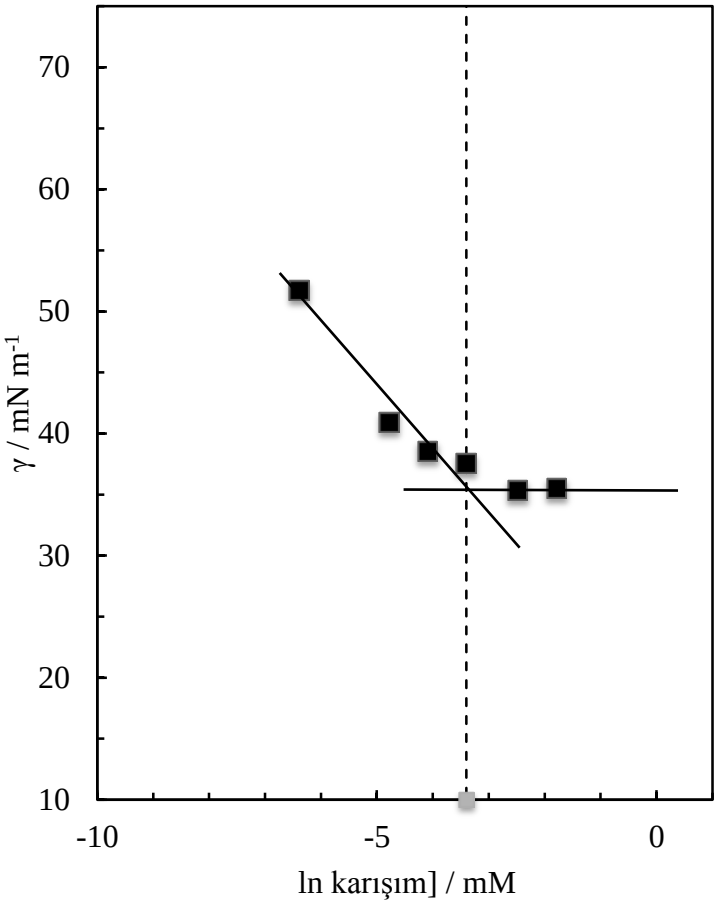


Şekil 4.13. HPyCl/$C_{16}E_{20}$ sürfaktan karışımlarının X_{HPyCl}=0,4 mol oranındaki KMK grafiği (Koşullar 6.7 mM EDTA ve 66.7 mM TRIS 25$^{°C}$, pH=7.6 , ------ Karışımın KMK'nunu göstermektedir).

Şekil 4.13' den ln [karışım] değeri yaklaşık –3,6 noktasından sonra karışımın yüzey geriliminde sabitlenme gözlenmektedir. Bu noktanın karışımın KMK'nu olduğu kabul edilmiş ve KMK değeri yaklaşık olarak $2,73x10^{-2}$ mM hesaplanmıştır.

Çizelge 4.12. X_{HPyCl}=0,6 için HPyCl, $C_{16}E_{20}$ ve HPyCl+$C_{16}E_{20}$+TRIS/EDTA çözeltilerinin molariteleri ve ölçülen yüzey gerilimleri

Çözelti	[HPyCl] /mM	[$C_{16}E_{20}$] /mM	[HPyCl+$C_{16}E_{20}$+TRIS/EDTA] /mM	ln(karışım)	γ/mNm^{-1}
1	1x10^{-3}	6,67x10^{-4}	1,67x10^{-3}	-6,396929655	51,7
2	5x10^{-3}	3,33x10^{-3}	8,33x10^{-3}	-4,787491743	40,9
3	1x10^{-2}	6,67x10^{-3}	1,67x10^{-2}	-4,094344562	38,52
4	2x10^{-2}	1,33x10^{-2}	3,33x10^{-2}	-3,401197382	37,58
5	5x10^{-2}	3,33x10^{-2}	8,33x10^{-2}	-2,48490665	35,33
6	1x10^{-1}	6,67x10^{-2}	1,67x10^{-1}	-1,791759469	35,5

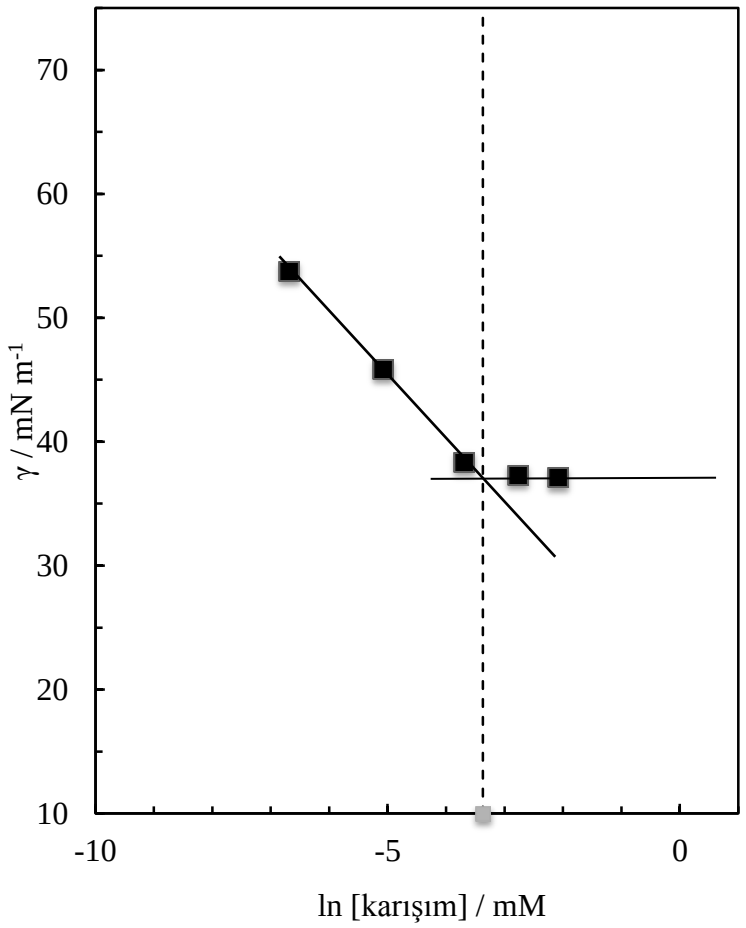


Şekil 4.14. HPyCl/$C_{16}E_{20}$ sürfaktan karışımlarının X_{HPyCl}=0,6 mol oranındaki KMK grafiği (Koşullar 6.7 mM EDTA ve 66.7 mM TRIS 25°C, pH=7.6 , ------ Karışımın KMK'nunu göstermektedir).

Şekil 4.14' den ln [karışım] değeri yaklaşık -3,4 noktasından sonra karışımın yüzey geriliminde sabitlenme gözlenmektedir. Bu noktanın karışımın KMK'nu olduğu kabul edilmiş ve KMK değeri yaklaşık olarak 3,33x10^{-2} mM hesaplanmıştır.

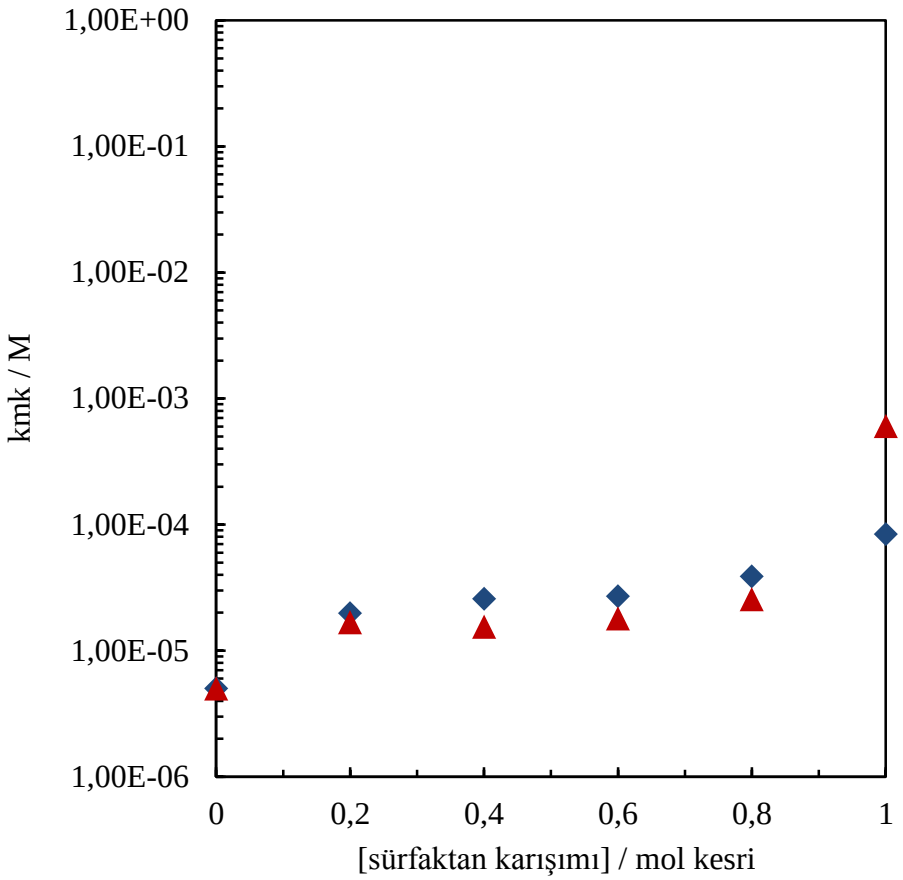
Çizelge 4.13. X_{HPyCl}=0,8 için HPyCl, $C_{16}E_{20}$ ve HPyCl+$C_{16}E_{20}$+TRIS/EDTA çözeltilerinin hesaplanan molariteleri ve ölçülen yüzey gerilimleri

Çözelti	[HPyCl] /mM	[$C_{16}E_{20}$] /mM	[HPyCl+$C_{16}E_{20}$+TRIS/EDTA] /mM	ln (karışım)	γ/mNm^{-1}
1	1x10^{-3}	2,50x10^{-4}	1,25x10^{-3}	-6,684611728	53,79
2	5x10^{-3}	1,25x10^{-3}	6,25x10^{-3}	-5,075173815	45,87
3	2x10^{-2}	5x10^{-3}	2,50x10^{-2}	-3,688879454	38,39
4	5x10^{-2}	1,25x10^{-2}	6,25x10^{-2}	-2,772588722	37,33
5	1x10^{-1}	2,50x10^{-2}	1,25x10^{-1}	-2,079441542	37,12



Şekil 4.15. HPyCl/$C_{16}E_{20}$ sürfaktan karışımlarının X_{HPyCl}=0,8 mol oranındaki KMK grafiği (Koşullar 6.7 mM EDTA ve 66.7 mM TRIS, 25°C, pH=7.6 , ------ Karışımın KMK'nunu göstermektedir).

Şekil 4.15' den ln [karışım] değeri yaklaşık -3,37 noktasından sonra karışımın yüzey geriliminde sabitlenme gözlenmektedir Bu noktanın karışımın KMK'nu olduğu kabul edilmiş ve KMK değeri yaklaşık olarak 3,43x10^{-2} mM hesaplanmıştır.



Şekil 4.16. Farklı mol kesirlerindeki TTAB/$C_{16}E_{20}$ ve HPyCl/$C_{16}E_{20}$ sürfaktan karışımlarının KMK grafiği (Koşullar 25°C, pH=7.6, ◆ HPyCl/$C_{16}E_{20}$ sürfaktan karışımlarının, ▲ TTAB/$C_{16}E_{20}$ sürfaktan karışımlarının deneysel sonuçlarını göstermektedir.)

Şekil 4.16' dan görüleceği gibi, TTAB+$C_{16}E_{20}$+TRIS/EDTA ile yapılan karışımlarla HPyCl+$C_{16}E_{20}$+TRIS/EDTA karışımlar kıyaslandığında HPyCl ile yapılan karışımlarda daha yüksek KMK değerleri elde edilmiştir. Yapılan ölçümler sonucunda HPyCl+$C_{16}E_{20}$+TRIS/EDTA karışımlarının yüzey gerilim ölçümleri incelendiğinde sürfaktan konsantrasyonu arttıkça karışımın yüzey gerilimi azaldığı gözlenmiştir. Ayrıca HPyCl ile yapılan karışımların yüzey gerilimlerinin, TTAB ile yapılan karışımlara göre daha düşük olduğu gözlenmiştir.

4.2. Sürfaktan/Polimer Karışımlarının Yüzey Gerilim Ölçüm Bulguları

HP_YCl-PEG sürfaktan/polimer karışımlarının yüzey gerilimleri contact angle-yüzey gerilim tensiyometresi cihazı ile damla metodu kullanılarak ölçülmüştür.

X_{HPyCl} = 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 için ölçümler yapılmıştır. Yüzey gerilim bulgularına sırasıyla Çizelge 4.14, 4.15, 4.16 ve 4.17' de yer verilmiştir.

Çizelge 4.14. X_{HPyCl}=0,2 için HPyCl, PEG çözeltilerinin molariteleri ve ölçülen yüzey gerilimleri

Çözelti	[HPyCl] /mM	[PEG] /mM	γ /mNm^{-1}	β
1	0,02	0,08	70,80	0,239795
2	0,05	0,2	50,32	0,260514
3	0,1	0,4	53,63	0,252276
4	0,5	2	40,86	0,276497
5	1	4	40,82	0,269876

Çizelge 4.15. X_{HPyCl}=0,4 için HPyCl, PEG çözeltilerinin molariteleri ve ölçülen yüzey gerilimleri

Çözelti	[HPyCl] /mM	[PEG] /mM	γ /mNm^{-1}	β
1	0,02	1,33 x10^{-2}	52,23	0,246990
2	0,05	3,33x10^{-2}	45,93	0,258611
3	0,1	6,66x10^{-2}	41,68	0,266185
4	0,5	3,33x10^{-1}	34,52	0,276964
5	1	6,66X10^{-1}	34,21	0,287568

Çizelge 4.14 ile 4.15 karşılaştırıldığında X_{HPyCl} = 0,2' den elde edilen yüzey gerilimleri X_{HPyCl} = 0,4' e oranla daha yüksek çıkmıştır. Sürfaktan/polimer konsantrasyonu arttıkça yüzey geriliminin de arttığı görülmektedir. 0,1 mM HPyCl ile oluşturulan karışımlardan sonraki karışımlardaki yüzey gerilimlerinde sabitlenme görülmektedir. Bu nokta polimer/sürfaktan karışımın kritik agregasyon konsantrasyonu olarak tanımlanabilir.

Çizelge 4.16. X_{HPyCl}=0,6 için HPyCl, PEG çözeltilerinin molariteleri ve ölçülen yüzey gerilimleri

Çözelti	[HPyCl] /mM	[PEG] /mM	γ /mNm^{-1}	β
1	0,02	3x10^{-2}	52,19	0,248385
2	0,05	7,5x10^{-2}	47,66	0,250024
3	0,1	1,5x10^{-1}	42,73	0,26372
4	0,5	7,5x10^{-1}	35,81	0,274212
5	1	1,5	36,1	0,284361

Çizelge 4.17. X_{HPyCl}=0,8 için HPyCl, PEG çözeltilerinin molariteleri ve ölçülen yüzey gerilimleri

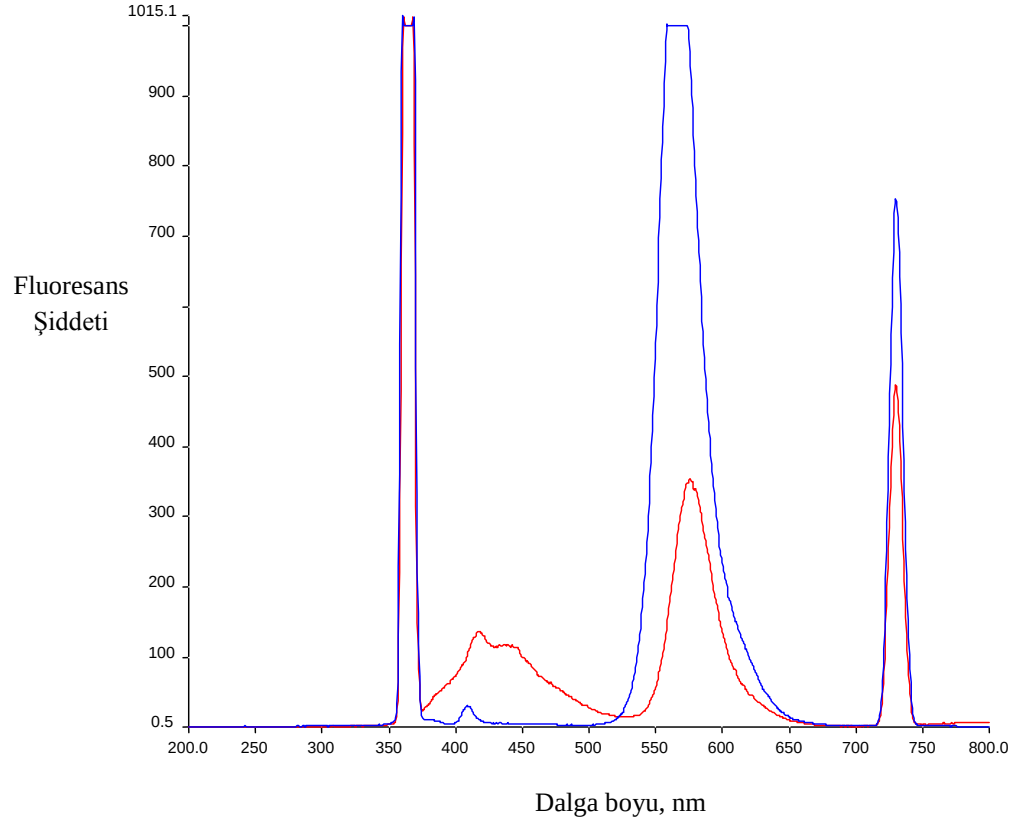
Çözelti	[HPyCl] /mM	[PEG] /mM	γ /mNm^{-1}	β
1	0,02	0,08	63,37	0,243077
2	0,05	0,2	43,91	0,271834
3	0,1	0,4	39,65	0,277896
4	0,5	2	40,25	0,278972
5	1	4	39,51	0,278779

Çizelge 4.16 ile 4.17 karşılaştırıldığında X_{HPyCl} =0,6' dan elde edilen yüzey gerilimleri ile X_{HPyCl} =0,8' den elde edilen ölçümler birbirine oldukça yakın çıkmıştır. oranla daha yüksek çıkmıştır. X_{HPyCl} = 0,2 ve 04' de de görüldüğü gibi 0,1 mM HPyCl ile oluşturulan karışımlardan sonraki karışımlardaki yüzey gerilimlerinde sabitlenme görülmektedir. Bu nokta HPyCl+PEG+TRIS/EDTA karışımının kritik agregasyon konsantrasyonu olarak tanımlanabilir. Ayrıca cihazdan alınan ölçümler sonucunda konsantrasyon arttıkça β etkileşim parametresinin arttığı gözlenmiştir.

4.3. Sürfaktan/Polimer Karışımlarının DNA ile Etkileşim Bulguları

4.3.1. DNA/Sürfaktan/Polimer Karışımlarının Spektrometre Cihazı Ölçüm Bulguları

Karışımların lüminesens spektrometre cihazı ile yapılan ölçümleri sonucunda fluoresans şiddetine bağlı olarak çeşitli grafikler elde edilmiştir.

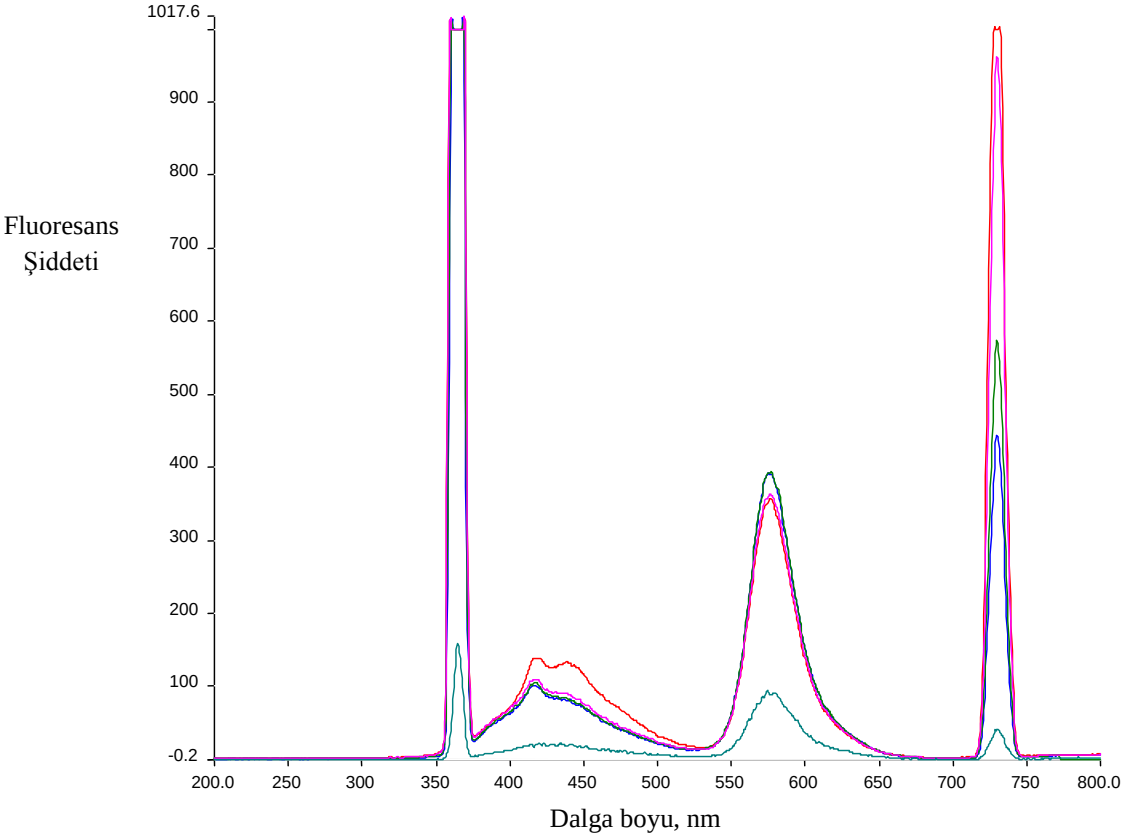


mavi pik: Rhodamine-B

kırmızı pik: DNA/Rhodamine-B karışımı

Şekil 4.17. Rhodamine-B ve DNA/Rhodamine-B karışımının uyarma ve emisyon spektrumu ($2x10^{-5}$ mM Rhodamine-B, 0,01 mg/ml DNA)

Şekil 4.17’ de görüleceği gibi tek başına Rhodamine-B piki oldukça yüksek çıkmıştır. fluoresans şiddeti 1100 olarak ölçülmüştür. Oysa DNA ile etkileşime sokulduğu anda pikin oldukça düştüğü gözlemlenmiştir. Rhodamine-B/DNA karışımının piki 322 olarak ölçülmüştür. Bu sonuç; DNA’ nın Rh-B ile etkileşim gösterdiğini, fluoresans şiddetinin de azaldığını göstermiştir.



Mavi pik: Rhodamin-B /HPyCl/PEG

Kırmızı pik: Rhodamine-B /DNA/HPyCl/PEG

Yeşil pik: Rhodamin-B/HPyCl

Pembe pik: Rhodamin-B/DNA/HPyCl

Açık yeşil pik: Rhodamine-B/DNA/HPyCl/PEG (yüksek konsantrasyonlu)

Şekil 4.18. Rhodamin-B/HPyCl/PEG, Rhodamine-B/DNA/HPyCl/PEG (düşük konsantrasyonlu), Rhodamin-B/HPyCl, Rhodamin-B/DNA/HPyCl, Rhodamine-B/DNA/HPyCl/PEG (yüksek konsantrasyonlu) karışımlarının uyarma ve emisyon spektrumu ($2x10^{-5}$ mM Rhodamine-B, 0,01 mg/ml DNA, 0,01mM HPyCl, 0,09 mM PEG)

Şekil 4.18’ den görüleceği gibi öncelikle mavi ve kırmızı piki yorumlarsak; mavi pikte Rd-DNA-HPyCl karışımı yer almaktadır ve bu karışıma DNA eklendiği zaman kırmızı pik ortaya çıkmıştır yani fluoresans şiddetinde artma gözlenmektedir. Bunun nedeni olarak DNA’nın katyonik sürfaktan ve polimer ile etkileşiminde bir bağlanma,

misel oluşturduğu bulgusuna varılabilir. Elbette konsantrasyonun artması ve çözücü etkisi gibi nedenler de şiddeti artırmıştır.

Çizelge 4.18. Numune çözeltilerin luminescens spektrometre ile ölçülen fluoresans şiddetleri

Numune çözelti	**Fluroseans Şiddeti**
Rhodamine-B	1100
Rhodamine-B/HPyCl	392
Rhodamine-B/DNA	322
Rhodamine-B/DNA/HPyCl	362
Rhodamine-B/DNA/HPyCl/PEG	356
Rhodamine-B/HPyCl/PEG	390
Rhodamine-B/DNA/HPyCl/PEG (yüksek konstrasyonlu)	89

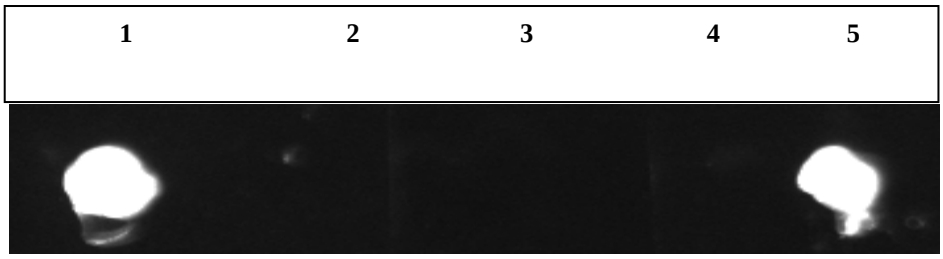
Çizelge 4.18' den de daha net görülebileceği gibi Rhodamine-B/DNA çözeltisine, HPyCl eklenildiği zaman fluoresans şiddeti artmıştır. Yani HPyCl' nin bir miktarının DNA' ya bağlanması Rhodamine-DNA etkileşimini azaltmıştır.

DNA etkisinin en çok gözlendiği durum; Rd-HPyCl-PEG karışımına DNA eklenildiğinde, başta 390 olan fluoresans şiddetinin azalarak 362 olmasıdır. Yani DNA eklenilmesi etkileşimi artırmıştır, elektrostatik olarak negatif yüklü serbest DNA' nın katyonik sürfaktan olan HPyCl ile etkileşime girerek bir kompleks oluşturduğu düşünülebilir. Ayrıca PEG etkisi ile de gözlenmektedir. Bütün çözeltilerde aynı miktarda kullanılan PEG, konsantrasyonu artırılarak hazırlanmış olan çözeltinin piklerinin karşılaştırılması yapılırsa; Rhodamine-B/DNA/HPyCl/PEG karışımının fluoresans şiddeti 356 iken, PEG konsantrasyonu artılınca 89' a düşmektedir.

Rhodamine-B/HPyCl karışmının fluoresans şiddeti 392 iken; Rhodamine-B/HPyCl/PEG karışmının şiddeti 390 dır. PEG eklenildiğinde karışımın fluoresans şiddeti düşmüştür.

4.3.2. DNA/Sürfaktan/Polimer Karışımlarının UV Görüntüleri

DNA etkisini daha iyi gözlemlemek için karışımların UV Görüntüleme cihazında (jel görüntüleme sistemi) UV görüntüleri alınmıştır.



Şekil 4.19. Karışımların UV görüntüleme cihazında elde edilen görüntüleri (**1**-Rh-HPyCl-PEG**, 2**-Rh-DNA, **3**-Rh-DNA-HPyCl, **4**-Rh- DNA-HPyCl-PEG (Çözelti), **5**-Rh- DNA-HPyCl-PEG (Yüzeyde Toplanan)

İlk görüntü olan Rh-HPyCl-PEG karışımından, diğer karışımlara kıyasla bir görüntü alınabilmiştir. Görüntüler genellikle PEG varlığında gözlemlenmiştir. 1. ve 3. görüntü arasındaki farkı buradan da görebiliriz. Çözelti halindeki PEG' un görüntüsü çok belirgin değil iken, DNA etkileşimi sonucu yüzeyde toplanmış olan (bir misel gibi) PEG' un olduğu karışımın görüntüsü daha net görülebilmektedir. 3. görüntüde katyonik sürfaktan etkisi ile kompleks oluşturan DNA' dan pek bir görüntü alınamamasına rağmen, 5. görüntüde PEG' un karışımdaki görüntüsü net bir şekilde görülebilmektedir.

Fluoresans spektroskopi ve UV görüntüleme cihazından alınan görüntülere bakılarak DNA' ya katyonik sürfaktan/polimer karışımı eklenildiğinde serbest DNA ve karışık misel oluşturan 'ayrılma' nın meydana geldiği yorumu yapılabilmektedir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Bu tez çalışmasında öncelikle TTAB+$C_{12}E_5$, TTAB+$C_{16}E_{20}$ ve HPyCl+$C_{16}E_{20}$ sürfaktan karışımlarının yüzey gerilimleri, tensiyometre cihazında ölçülmüştür. Karışımlar farklı oranlarda sürfaktan mol kesirleri ($X_{sürfaktan}$ =0,2, 0,4, 0,6, 0,8) ile hazırlanarak ölçüm yapılmıştır. Her bir karışımın yüzey gerilim ölçümleri incelendiğinde, sürfaktan konsantrasyonu arttığında karışımın yüzey geriliminin düştüğü gözlenmiştir. Deneysel olarak elde edilen bu sonuç; yüzey aktif madde molekülünü yığın fazdan yüzeye çıkarmak, su molekülünü yığın fazdan yüzeye çıkarmaktan daha kolay olması (yani daha az enerji gerektirmesi) sebebiyle yüzey aktif maddeler bulundukları çözeltinin yüzey gerilimini düşürür teorik bilgisini de desteklemiştir.

Karışımların kritik misel konsantrasyon grafikleri ayrı ayrı incelendiğinde sürfaktan karışımların konsantrasyonu arttıkça karışımlarınn kritik misel konsantrasyonu da arttığı gözlenmiştir. TTAB+$C_{16}E_{20}$+TRIS/EDTA karışımı ile TTAB+$C_{12}E_5$+TRIS/EDTA karışımı kıyaslandığında; $C_{16}E_{20}$ ile yapılan karışımın kritik misel konsantrasyonlarının $C_{12}E_5$ ile yapılan karışıma oranla daha düşük değerler elde edildiği gözlenmiştir. Bunun nedeni $C_{16}E_{20}$ non-iyonik sürfaktanının, katyonik sürfaktan TTAB ile daha fazla elektrostatik etkileşim göstermesi ve bir sürfaktana her CH_2 (metilen) grubun eklenilmesi o sürfaktanın hidrofobikliğini artırması olarak yorumlanabilir. Genel olarak teorideki karışıma non-iyonik sürfaktan eklendikçe karışımın kritik misel konsantrasyonunun düştüğü deneysel olarak da gözlemlenmiştir.

TTAB+$C_{16}E_{20}$+TRIS/EDTA karışımları ile HPyCl+$C_{16}E_{20}$+TRIS/EDTA karışımları kıyaslandığında; HPyCl ile yapılan karışımların yüzey gerilimlerinin, TTAB ile yapılan karışımlara göre daha düşük olduğu ve HPyCl ile yapılan karışımlarda daha yüksek kritik misel konsantrasyon değerleri elde edilmiştir.

HPyCl+PEG+TRIS/EDTA karışımı için contact angle cihazında ölçülen yüzey gerilimleri incelendiğinde sürfaktan/polimer konsantrasyonu arttıkça karışımın yüzey gerilimi azaldığı görülmüştür. 0,1 mM HPyCl ile oluşturulan karışımlardan sonraki karışımlardaki yüzey gerilimlerinde sabitlenme görülmektedir. Bu değer HPyCl+PEG+TRIS/EDTA karışımının kritik agregasyon konsantrasyonu (kak) olarak

tanımlanabilir. Bununla birlikte yine cihazdan alınan ölçümler sonucunda sürfaktan/polimer konsantrasyonu arttıkça β etkileşim parametresinin arttığı gözlenmiştir. HPyCl+$C_{16}E_{20}$+TRIS/EDTA karışımı ile HPyCl+PEG+TRIS/EDTA karışımı karşılaştırıldığında, PEG' un olduğu karışımların yüzey gerilimlerinde daha yüksek ölçümler alınmıştır.

Lüminesans spektroskopi cihazıyla sürfaktan/polimer karışımının DNA ile etkileşimi incelenmiştir. Spektroskopiden alınan grafikten; $2x10^{-5}$ mM Rhodamine-B ve 0,01 mg/ml DNA içeren DNA/Rhodamine-B karışımında, Rhodamine-B piki oldukça yüksek çıkmış, fluoresans şiddeti 1100 olarak ölçülmüştür. Rhodamine-B/DNA karışımının piki ise 322 olarak ölçülmüştür. Bu sonuç DNA' nın Rhodamine-B ile etkileşim gösterdiğini, fluoresans şiddetinin de azaldığını göstermiştir.

$2x10^{-5}$ mM Rh-B, 0,01 mg/ml DNA, 0,01mM HPyCl, 0,09 mM PEG içeren Rh-B/HPyCl/PEG, Rh-B/DNA/HPyCl/PEG (düşük konsantrasyonlu), Rh-B/HPyCl, Rh-B/DNA/HPyCl, Rh-B/DNA/HPyCl/PEG (yüksek konsantrasyonlu) karışımların spektroskopiden alınan grafiği incelendiğinde, karışıma DNA eklendiğinde fluoresans şiddetinde artma gözlenmiştir. Bunun nedeni olarak DNA'nın katyonik sürfaktan ve polimer ile etkileşiminde bir bağlanma, misel oluşturduğu bulgusuna varılabilir. Ayrıca konsantrasyonun artması ve çözücü etkisi gibi nedenler de şiddeti artırmıştır.

Rhodamine-B/DNA çözeltisine, HPyCl eklenildiği zaman fluoresans şiddeti artmıştır. Yani HPyCl' nin bir miktarının DNA' ya bağlanması Rhodamine-DNA etkileşimini azaltmıştır. DNA etkisinin en çok gözlendiği durum ise, Rh-B/HPyCl/PEG karışımına DNA eklenildiğinde, başta 390 olan fluoresans şiddetinin azalarak 362 olmasıdır. Yani DNA eklenilmesi etkileşimi artırmıştır, elektrostatik olarak negatif yüklü serbest DNA' nın katyonik sürfaktan olan HPyCl ile etkileşime girerek bir kompleks oluşturduğu düşünülebilir. Ayrıca PEG etkisi ile de gözlenmektedir. Bütün çözeltilerde aynı miktarda kullanılan PEG, konsantrasyonu artırılarak hazırlanmış olan çözeltinin piklerinin karşılaştırılması yapılırsa; Rh-B/DNA/HPyCl/PEG karışımının fluoresans şiddeti 356 iken, PEG konsantrasyonu artılınca 89' a düşmektedir. PEG miktarı artırıldıkça yine elektrostatik olarak bir etkileşim meydana geldiği düşünülebilir. PEG un konsantrasyon miktarının da karışımın DNA ile etkileşiminde oldukça önemli olduğu gözlenmiştir. Rh-B/HPyCl karışımının fluoresans şiddeti 392 iken; Rh-B/HPyCl/PEG karışımının şiddeti 390' dır. Arada 2 birimlik bir fark az olarak görünse bile bu durum bize, sürfaktan molekülleri arasındaki elektrostatik etkileşimlerin ki bunlar doğaları gereği itme şeklindedir, polimerin varlığından dolayı bunların bir

modifikasyonu, sürfaktanın kendi kendine olan agregasyonunu kolaylaştırdığı düşünüldüğünden bir azalma meydana geldiği gözlenmektedir.

Sürfaktan/polimer karışımı ile DNA etkileşimini daha iyi gözlemlemek için karışımların UV Görüntüleme cihazında (jel görüntüleme sistemi) UV görüntüleri alınmıştır. Görüntüler genellikle PEG varlığında elde edilebilmiştir. Şekil 4.19'dan 1. görüntüde Rh-HPyCl-PEG var iken görüntü alınabilmiştir ancak 3. görüntüde Rh-DNA-HPyCl karışımın görüntüsü alınamamıştır. Ayrıca 4.görüntüde çözelti halindeki PEG' un görüntüsü çok belirgin değil iken, DNA etkileşimi sonucu yüzeyde toplanmış olan (bir misel gibi) PEG' un olduğu karışımın görüntüsü daha net görülebilmektedir. 3. görüntüde katyonik sürfaktan etkisi ile kompleks oluşturan DNA' dan pek bir görüntü alınamamıştır ancak 5. görüntüde PEG' un etkileşimi ile net bir görüntü alınabilmiştir. Bu sonuçlardan PEG varlığında DNA'nın daha çok etkileşime girdiği yorumu yapılabilmektedir.

5.2. Öneriler

Daha sonra yapılacak çalışmalarda; DNA/sürfaktan/polimer etkileşimini daha iyi gözlemlemek için fluoresans mikroskopi cihazı ve foton korelasyon cihazı kullanılması daha iyi görüntü elde edilmesini ve etkileşimi daha iyi görebilmemizi sağlayabilir.

KAYNAKLAR

Annunziata, O., Asherie, N., Lomakin, A., Pande, J., Ogun O. and Benedek, G.B., 2002, Effect of polyethylene glycol on the liquid-liquid phase transition in aqueous protein solutions, *The National Academy of Sciences*, 99, (22), 14165-14170.

Arscot, P.G., Li, A-Z. and Bloomfield, V.A., 1990, Biopolymers, 30, 619.

Bakshi, M. S., and Doe, H., 1999, Hexadecylpridinium chloride trimethyltetradecylammonium bromide mixed micelles in polyethlene glycol-water mixtures, *Colloid&Polymer Science*, 72, 2041-2047.

Bayrak, A.B., 2009, Birbirine karışmayan sıvılarda mercek oluşumu ve temas açılarının ölçümü,Yüksek Lisans Tezi, *Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gebze, 20-44

Baykut, S., Berkem, A., 1975, Fizikokimya, *İstanbul Üniversitesi Yayınları*, İstanbul, 279-280, 282-283, 289-290.

Bathaie, S.Z., Moosavi-Movahedi, A.A. and Saboury, A.A., 1999, Energetic and binding properties of DNA upon interaction with dodecyl trimethylammonium bromide, Nucleic Acid Research , 27 (4), 1001-1005.

Corbyn, C.P., Fletcher, P.D.I., Gemici, R., Dias, R. S. and Miguel, M.G., 2009, Re-dissolution and de-compaction of DNA-cationic surfactant complexes using non-ionic surfactants, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 11, 11568-115576.

Corbyn, C. P., 2003, Interactions of Cationic and Non-ionic Surfactans with DNA, BSc (Hons) Thesis, AMRSC, The University of Hull, Hull, 12-65.

Dias, R., Mel'nikov ,S., Lindman, B., and Miguel, M.G., 2000, Interaction between DNAand cationic surfactants: effect of DNA conformation and surfactant headgroup, *Langmuir*, 16, 14446-144452.

Duttaa P., Sena S., Mukherjeea S and Bhattacharyya K., 2002, Solvation dynamics of TNS in polymer (PEG)–surfactant (SDS) aggregate, *Chemical Physics Letters*, 359, (1-2), 15-21

Erdik,E., Sarıkaya, Y., 1998, Temel Üniversite Kimyası, Ankara, 30-42.

Elworthy, P.H., Florence, A.T., Macfarlane, C.B., 1968, Solubilization by Surface Active Agents, *Chapman and Hall Ltd*., 124-145.

Erbil, H. Y., 2006, Surface Chemistry Solid and Liquid Interfaces, *Blackwell Publishing*, 9, 308-310.

Erbil H. Y., 1997, Surface Tension of Polymers, Handbook of Surface and Colloid Chemistry, Ed. Birdi, K.,S., *CRC Pres Inc*., 259-306.

Fritsch, H.L. and Simha R., 1956, Rhelogy-Theory and Applications, Ed. F.R. Eirich, *Academic Press Inc*, Newyork, 1, 124-138.

Galioglu, A. O., 1991, Yüzey Aktif Maddeler , *İTÜ-Fen Edebiyat Fakültesi Yayınları*, İstanbul, 1-19.

Ghirlando, R., Wachtel, E.J., Arad, T. and Minsky A., 1992, DNA packaging induced by micellar aggregates: a novel in vitro DNA condensation system, Biochemistry, (31) 31, 7110-9.

Gilanyi, T. and Wolfhim, E. 1985, Microdomains in Polymer Solutions; Dubin, P., Ed., *Plenum Press*, New York, 284-315.

Gorelov, A.V., Jacquier, J.C., McLoughlin,D.M. and Dawson, K.A., 1998, A Simple and effective separation and purification procedure for dna fragments using dodecyltrimethylammonium bromide, (9), 307-313.

Lakowicz, J.R., 1986, Principles of Fluorescence Spectroscopy, *Plenum Press*, New York and London, 312-315.

Marques, E., Miguel, M., Dias, R., Melnikov, S., Khan, A., Lindman, B., 2000, Gel formation and association in systems of cationic surfactant vesicles and oppositely charged polymers., *Polym Prep.*, 8, 41-737

Merta, J., Stenius, P., 1999, Interactions between cationic starch and mixed anionic Surfactants, *Colloids Surf.*, (77), 149-367.

Matulis, D., Rouzina, I., and Bloomfield, V.A., 2002, Thermodynamics of cationic lipid binding to DNA and DNA condensation: roles of electrostatics and hydrophobicity,.*J. Am. Chem.Soc*., 124(25),7331-7342.

Maltaş, E., 2005, Biyolojik ortamlardaki bazı eser elementlerin fluorometrik yöntemle tayini, Yüksek lisans tezi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Konya, 4-18.

Mel'nikov S., Kahn M.O., Lindman B., Jönsson B., 1999, Anomalous salt effects on DNA conformation: experiment and theory, *J.Am.Chem.Soc*., 32 (26), 8836-8840.

Nielsen, A. D., Borch, K., Westh, P., 2000, Thermochemistry of the specific binding of C12 surfactants to bovine serum albumin., *Biochim Biophys Acta*., 1479 (1-2), 321-331.

Nguyen, C.M., Rathman J. F. and Scamehorn J. F. Scamehorn, 1985, Thermodynamics of mixed micelle formation, *Academic Press*, 112 (2), 438-446.

Ogino, K, Tsubaki, N, Abe, M., 1984, Solution properties of mixed surfactant system, J. *Colloid Interface Sci*., 98 (1), 78-83.

Okano, T., Tamuro, T., 2000, Micellization and adsorbed film formation of a binary mixed system of anionic -nonionic surfactants, *Langmuir*, 16, 1508-1514.

Mukerjee P., Mysels J.K., 1971, Criticial micelle concentrations of aqueous surfactant systems,*United States Department of Commerce*, Washington D.C., (106-140)
Rosen, M.J., 1978, Surfactants and Interfacial Phenomena, *John Wiley&Sons*, New York, 48-79.

Rubing, D. N., 1979, Solution Chemistry of Surfactant, Mittal K.E., *Plenium Press*, New York, 337-342.

Schenk G.H., 1980, Molecular Fluorecence and Phosphorescence., Eds:Bauer, H.H. and O'Reilly, J.E.Fifth ed., *Allan and Bacon Inc*., USA, (9), 288-255,

Shinado, K., 1963, Colloid Surfactants, *Academic Press*, New York, 218-234.

Spink, C.H. and Charies J.B., 1997, Direct measurement of sodium ion release from DNA on binding of cationic ligands , J.A*m.Chem.Soc*., 119, 10920.

Tanzer, T., 2006, Katyonik alkiltrimetil amonyum bromür sürfaktanlar ile C.I.reaktive orange 16 etkileşimi, *Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Yüksek Lisans Tezi, Edirne, 17-23.

Tüfekçi, S., 2010, Mikroemülsiyon Çözeltilerinin Fiziksel Özellikleri, Polimer-Sürfaktan Etkileşimleri, *Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Yüksek Lisans Tezi, Edirne, 6-15.

Türker Şener, Leyla, 2006, Fluoresans spektroskopisi yöntemlerinin biyolojik etkileşimlerin ve enzimatik etkinliklerin incelenmesinde kullanımı, *İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Yüksek lisans tezi, İstanbul, 8-30.

Rungsardthong U., Ehtezazi T., Bailey L., Armes P.S., Garnett C.M., Stolnik S.,2003,Effect of Polymer Ionization on the Interaction with DNA in Nonviral Gene Delivery Systems, *Biomacromolecules*, 4 (3), 683–690

Ünsal, H., 2008, Hibrit yüzey aktif maddeleri kullanılarak çok bölmeli misellerin elde edilmesi, *Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 5-10.

Van Os, N.M., Haak, J.R., and Rupert, L. A. M., 1993, Physico-Chemical Properties of selected anionic, cationic and non-ionic surfactants, *Elsevier*, Amsterdam, 86-114.

Wagner, K., Harries D., May, S., Kahl, V., Radler, J.O. and Ben-Sahul, A., 2000, Direct evidence for counterion release upon cationic lipid-DNA condensation, Langmuir, 16 (2), 303-306.

Zhaoa X., Shanga Y., Honglai L., Ying H., 2007, Complexation of DNA with cationic gemini surfactant in aqueous solution, *Journal of Colloid and Interface Science*, 314, (2), 478-483.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Rabia GEMİCİ
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Bolvadin / 25.04.1984
Telefon : 0505 618 71 25
Faks : -
e-mail : rabiagemici@hotmail.com

EĞİTİM

Derece		**Adı, İlçe, İl**	**Bitirme Yılı**
Lise	:	Meram Anadolu Lisesi, Meram, KONYA	2002
Üniversite	:	Ankara Üniversitesi, Tandoğan, ANKARA	2008 (Ocak)
Yüksek Lisans	:	Selçuk Üniversitesi, Selçuklu, KONYA	
Doktora	:	-	

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	**Kurum**	**Görevi**
2009	Dış Ticaret Müsteşarlığı	DTS Denetmen Yrd.

UZMANLIK ALANI

YABANCI DİLLER

İngilizce

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

Yüksek lisans eğitiminin ders aşamasında, 2009 yılı bahar yarıyılında (Şubat-Haziran) ERASMUS programı ile The University of Hull, Hull, İngiltere' ye gitmiştir. Burada sürfaktanlar ile ilgili çeşitli çalışmalar yapmış ve bu yaptığı çalışmalardan bir makale yayınlanmıştır.

YAYINLAR

Corbyn, C.P., Fletcher, P.D.I., Gemici, R., Dias, R. S. and Miguel, M.G., 2009, Re-dissolution and de-compaction of DNA-cationic surfactant complexes using non-ionic surfactants, *Physical Chemistry Chemical Physics*, (11), 11568-115576.