

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**FARKLI MATERYALLERDEN YAPILMIŞ
MİKROREAKTÖRLERİN STERİLİZASYON
GEREKSİNİMLERİ**

Cansu YAVUZ

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Özlem YEŞİL ÇELİKTAŞ

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Sunuş Tarihi: 4.12.2015

Bornova-İZMİR

2015

Cansu YAVUZ tarafından yüksek lisans tezi olarak sunulan “**Farklı Materyallerden Yapılmış Mikroreaktörlerin Sterilizasyon Gereksinimleri**” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 04.12.2015 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı : Doç. Dr. Özlem YEŞİL ÇELİKTAŞ

Raportör Üye: Doç. Dr. Barbaros ÇETİN

Üye: Yard. Doç. Dr. Sultan GÜLÇE İZ

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum **“Farklı Materyallerden Yapılmış Mikroreaktörlerin Sterilizasyon Gereksinimleri”** başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

.... / / 2015

Cansu YAVUZ

ÖZET**FARKLI MATERYALLERDEN YAPILMIŞ
MİKROREAKTÖRLERİN STERİLİZASYON
GEREKSİNİMLERİ**

YAVUZ, Cansu

Yüksek Lisans Tezi, Biyomühendislik Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Özlem YEŞİL ÇELİKTAŞ

Aralık 2015, 55 sayfa

Mikroakışkan teknolojileri, mikro ölçekteki biyokimyasal sistemlerin analizleri ve sentezleri için büyük potnsiyel göstermektedir. Mikroakışkan sistemleri, biyolojik denemeler için yüksek verimlilikle analiz performansı, az miktarda örnek ya da reaktif kullanımı (μL , nL, pL) ve tek hücre analizi, hücre bazlı denemeler ve hücre kültürü çalışmalarına olanak sağlamaktadır.

Bu tez çalışması kapsamında, polimetilmetakrilat (PMMA) ve polidimetilsiloksan (PDMS) materyallerinden yapılmış olan mikroçiplere, standart sterilizasyon metotları (UV, ısı, etilen oksit ve hidrojen peroksit) ve süperkritik karbondioksit (ScCO_2) yöntemi uygulanarak, mikroçiplerin sterilizasyonunun sağlanması ve materyal karakteristikleri açısından incelenmesi amaçlanmıştır.

Mikroçiplerin yapıldığı malzemelerin sterilizasyon uygulamaları sonrasında materyal karakterizasyonunun yapılması amacıyla Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) analizi, Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometre (FTIR) analizi, Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) analizi ve yüzey pürüzlülük analizleri yapılmıştır.

PMMA ve PDMS mikroçiplerin ScCO_2 sterilizasyon uygulamaları sonucunda optimum değerler sırasıyla 120 bar, 40°C, 60 dakika ve 80 bar, 40°C, 30 dakika olarak elde edilmiştir. Çalışma sonucunda, sterilizasyon metotlarının polimerlerin ana özelliklerine negatif etkisi olmadığı görülmüştür. Ancak, yüzey

pürüzlülüğü ve mikrokanal profilleri uygulamaları ardından negatif şekilde etkilendiği görülmüştür.

Anahtar sözcükler: Mikroreaktör, Mikroçip, Sterilizasyon, ScCO_2 , SEM, FTIR, DSC, pürüzlülük

ABSTRACT**STERILIZATION REQUIREMENTS OF MICROREACTORS
BY FABRICATED DIFFERENT MATERIALS**

YAVUZ, Cansu

MSc in Bioengineering Department

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ozlem YEŞİL ÇELIKTAS

December 2015, 55 pages

Microfluid technologies have shown great potential formicroscale biochemical systems for analysis and synthesis. Microfluid devices are provided for biological assays to perform analysis with efficient throughput and use of samples or reagents in small fluid amounts (μL , nL , pL) and analysis of single cells, cell-based assays and long-term cell culture.

In this thesis, the aim was to analyze the characteristics of the material and to provide sterilization conditions after applied standart sterilization techniques (UV, heat, ethylene oxide and hydrogen peroxide) and supercritical carbondioxide (ScCO_2) to microchips by fabricated from polydimethylsiloxane (PDMS) and polymethylmethacrylate (PMMA).

Material Characterization of microchips after sterilization treatments was achieved with Scanning Electron Microscpe (SEM) analysis, Fourier Tranform Infrared Spectroscopy (FTIR) analysis, Differential Scanning Calorimetry (DSC) and surface roughness analysis.

The optimum sterilization parameters for ScCO_2 of PMMA and PDMS microchips were elicited as 120 bar, 40°C , 60 min and 80 bar, 40°C , 30 min, respectively. In the results of this study, sterilization techniques was not altered negatively the main properties of the polymers. However, surface roughness and microchannel profiles were negatively affected.

Keywords: Microreactor, Microchip, ScCO_2 , Sterilization, SEM, FTIR, DSC, roughness

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sürecinde danışmanlığımı yapan, bilgi ve deneyimleriyle katkıda bulunan değerli hocam Doç. Dr. Özlem YEŞİL ÇELİKTAŞ'a

Çalışmada kullanılan mikroreaktörlerin üretimini yapan ve tez çalışmam boyunca bilgilerini ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Barbaros Çetin'e

Çalışmalardaki mikroreaktörlerin yüzey pürüzlülük ve kanal profilini analizlerini gerçekleştiren Samad Nadimi Babil Oliaei'e

Çalışmadaki PDMS mikroçiplerin DSC analizlerini gerçekleştirdiği için Hossein Alijani'e

Çalışmalarımı gerçekleştirdiğim Öncül Akışkan Teknolojileri ve Uygulamaları Laboratuvarından tüm çalışma arkadaşlarıma

Bu çalışmaya maddi desteklerinden dolayı 14-MÜH-045no'lu EU BAP Projesi'ne

Her zaman yanımda olan maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen başta sevgili annem Senem'e ve abim Caner'e olmak üzere tüm aile bireylerime ve hayatım boyunca her zaman yanımda olduğunu hissettiren biricik dostum Ezgi Özliseli'ye en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
TEŞEKKÜR	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xvii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	2
2.1. Mikroakışkan Sistemleri.....	2
2.2. Mikroakışkan sistemlerinin avantajları ve uygulama alanları	2
2.3. Mikroreaktörlerin Üretim Yöntemleri	7
2.3.1. Fotolitografi	7
2.3.2. Islak ve kuru aşındırma.....	8
2.3.3. İnjektasyon Kalıplama.....	9
2.3.4. Mikro mekanik işleme	10
2.3.4. Sıcak kabartma	11
2.4. Mikroçiplerin Üretiminde Kullanılan Polimerler	11
2.4.1. Polidimetilsiloksan (PDMS)	11
2.4.2. Polimetilmetakrilat (PMMA)	13
2.4.3. Polikarbonat (PC)	14
2.4.4. Off-Stoichiometry Thiol-Enes (OSTE)	14
2.5. Biyomedikal Alanda Kullanılan Sterilizasyon Metotları	14
2.5.1. UV sterilizasyonu	14
2.5.2. Isı sterilizasyonu	15

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

2.5.3. Etilen oksit sterilizasyonu.....	15
2.5.4. Hidrojen peroksit sterilizasyonu.....	16
2.5.5. Süperkritik karbondioksit sterilizasyonu.....	16
3. MATERYAL VE YÖNTEMLER.....	18
3.1. Mikrobiyolojik Analiz Ortamlarının Hazırlanması.....	18
3.2. Mikroçiplerin Üretimi.....	19
3.3. Sterilizasyon Uygulamaları.....	20
3.3.1. Süperkritik ScCO ₂ sterilizasyonu.....	20
3.3.2. Isı sterilizasyonu.....	21
3.3.3. UV sterilizasyonu.....	22
3.3.4. Etilen oksit sterilizasyonu.....	22
3.3.5. Hidrojen peroksit sterilizasyonu.....	22
3.4. Materyal Karakterizasyon Analizleri.....	22
3.4.1. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi.....	22
3.4.2. Fourier dönüşümlü infrared spektrofotometre (FTIR) analizi.....	23
3.4.3. Differansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizi.....	23
3.4.4. Yüzey profili ve pürüzlülük analizi.....	23
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	25
4.1. Mikroçiplerdeki sterilizasyon uygulamaları.....	25
4.2. Materyal Karakterizasyon Çalışmaları.....	27
4.2.1. PMMA mikroçiplerin materyal karakterizasyon analizleri.....	27
4.2.2. PDMS mikroçiplerin materyal karakterizasyon analizleri.....	35
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	41

İÇİNDEKİLER (devam)Sayfa

KAYNAKLAR DİZİNİ.....	45
ÖZGEÇMİŞ.....	54

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Mikrosistemlerde doku organizasyonu, hücre kültürü ve analizi (Ali et al., 2006)	5
2.2. Ticarileştirilmiş tanı kitleri (Yetisen et al., 2013).....	6
2.3. Fotolitografi yöntemi, pozitif ve negatif rezist (Krishnan, 2012)	7
2.4. İzotropik (sol) ve anizotropik (sağ) aşındırmalarının görünüşü (Ogden,2013).9	
2.5. Yatay düzlemde sıkıştırma yapan enjeksiyon kalıplama cihazından görüntü (Röttning et al., 2002).....	10
2.6. 30 mikrometre boyutunda olan mikromatkap görüntüsü (Brandner, 2007)....	10
2.7. PMMA kimyasal yapısı (Rahbar, 2010).....	13
3.1. TSB ve TGB ortamları	18
3.2. PMMA mikroçip ve üretiminde kullanılan kalıp	19
3.3. Kıvrımlı kanal geometrisine sahip mikroçip	20
3.4. Süperkritik CO ₂ cihazından genel görünüm	21
3.5. Kanal yüzeyindeki pürüzlülük ölçüm görüntüsü	24
3.7. Kanal yüzeyindeki belli lokasyonun yüzey pürüzlülük profili.....	24
3.7. Kanal ortalama pürüzlülük ölçümlerinin görüntüsü	24
4.1.PMMA mikroçiplerin SEM görüntüsü	27
4.2.Süperkritik ScCO ₂ sterilizasyonunu ait FTIR spektrumu	28
4.3.Standart sterilizasyon metotlarına ait FTIR spektrumu	29
4.4.PMMA mikroçiplerin DSC termogramı	31
4.5. Ortalama yüzey pürüzlülüğüne ait diyagram.....	33
4.6. Kanal profillerine ait grafikler	33
4.7. PDMS mikroçiplere ait FTIR spektrumu	35
4.8. PDMS mikroçiplerin DSC termogramı	37

ŞEKİLLER DİZİNİ(devamı)ŞekilSayfa

4.9. Kanal profillerine ait grafikler	39
---	----

ÇİZELGELER DİZİNİÇizelgeSayfa

2.1. Islak ve kuru aşındırmanın avantajları ve dezavantajları(Bradner, 2007).....	8
2.2. PDMS fiziksel ve kimyasal özellikleri(Tang and Whitesides, 2009).....	12
2.8. Süperkritik CO ₂ ile viral inaktivasyonu (Perut, 2012).....	17
2.9. Süperkritik CO ₂ ile gıda ürünlerinin sterilizasyonu (Perut, 2012).....	17
3.1. TSB ve TGB ortamlarının hazırlanması	18
5.1. Sterilizasyon yöntemlerinin genel değerlendirilmesi	41

1.GİRİŞ

Mikroakışkan teknolojisinin yaşam bilimlerindeki uygulamaları, son yıllarda oldukça hızlı bir gelişme göstermiştir. Özellikle, protein ve peptid haritalama, nükleik asitlerin analizi, moleküllerin ve hücrelerin karakterizasyonu, ilaç keşfi, medikal tanı ve tedavi, biyosensör ve immünolojik testlerin geliştirilmesinde kullanılmaktadır. Mikroçipler bu uygulama alanları için, hızlı kütle ve ısı transferi, düşük reaktif kullanımı, küçük ve kontrol edilebilir bir mikroçevre sağlamaları ve tekrar üretilebilir olmaları pek çok avantaj sunmaktadır (Guillaumenta et al., 2013; Tana et al., 2010; Moorthy and Beebe, 2003; Baraket et al., 2013; Yesil Celiktas, 2014).

Mikroakışkanların biyomedikal alandaki uygulamaları için, özellikle hücre kültürü çalışmaları için sterilizasyon önemli bir kriterdir. Günümüzde, Standart sterilizasyon metotları, UV, ısı sterilizasyonu, etilen oksit ve hidrojen peroksit sterilizasyonu gibi mikroorganizmaların yok edilmesi için tercih edilmektedir. Ancak, bu teknikler, ısıya duyarlı biyomateryaller ve polimerik medikal cihazlar için sahip oldukları bazı eksikliklerden ötürü tercih edilmemektedir (Checinska et al., 2011; Kitazaki et al., 2014; White et al., 2006; Zhang et al., 2006). Bu nedenle, Süperkritik karbondioksit (ScCO_2) sterilizasyonu biyolojik patojenler için yeni sterilizasyon tekniği olarak olarak belirtilmiştir. Karbondioksit düşük kritik sıcaklık ve basınç değerlerine sahip olması, ucuz, nontoksik olması, inert ve yanıcı gaz olmaması gibi avantajlar bulundurmaktadır (Checinska et al., 2011; Luthera et al., 2013; Ratcharaka and Sane, 2014; Pasquali et al., 2008).

Bu tez çalışmasında, polimetilmetakrilat (PMMA) ve polidimetilsiloksan (PDMS) materyallerinden yapılmış olan mikroçiplere, standart sterilizasyon metotları (UV, ısı, etilen oksit ve hidrojen peroksit) ve süperkritik karbondioksit (ScCO_2) yöntemi uygulanarak, mikroçiplerin sterilizasyonunun sağlanması ve materyal karakterizasyonun yapılması hedeflenmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Mikroakışkan Sistemleri

Mikroakışkan sistemleri, 10 ile 100 mikrometre boyutundaki kanal sistemlerini kullanarak 10^{-9} ile 10^{-18} litre miktarındaki akışkanların işleme tabi tutulduğu ve hareket ettirildiği sistemler olarak tanımlanmaktadır (Whitesides, 2006). Her geçen yıl mikroakışkan teknolojilerine olan ilgi, biyoteknoloji, tanı ve teşhis, medikal ve farmasötik endüstrisindeki uygulamalarda artmaktadır. Mikroakışkan teknolojisinin tarihi gelişiminde, 1950’li yıllarda nanolitre ölçeğinde yapılan çalışmaların bugünün gelişen teknolojisi için önemli bir yer tutmakta olduğu belirtilmektedir. 1979 yılında minyatürize edilmiş gaz kromatografisinin mikrokanallarda gerçekleştirilen bu çalışmanın önemli bir mihenk taşı olduğu belirtilmiştir (Haeberle et al., 2007). Mikroreaktörler, mikroteknoloji ve hassas mühendislik teknikleri ile üretilmiş minyaturize edilmiş reaksiyon sistemleri olarak tanımlanmaktadır (Sahare et al., 2014). Bu sistemler, mikrofabrikasyon teknikleri ile ya da mikrokapillerin birleştirilmesi ve modifiye edilmesi ile üretilmektedirler (Ziaie et al., 2004).

2.2. Mikroakışkan Sistemlerin Avantajları ve Uygulama Alanları

Mikroakışkan sistemleri, hızlı kütle ve ısı transferi, düşük miktarda örnek ve reaktif kullanımı, ayırma ve deteksiyon işlemlerinde yüksek hassasiyet sağlaması, düşük maliyet, hızlı analiz, laminar akış özelliği gösterme, yüksek hacim yüzey oranı ve tekrarlanabilirlik gibi avantajları sayesinde pek çok uygulama alanı bulmaktadır (Whitesides et al., 2006). Ayrıca, mikrosistemlerin kapalı ve kontrollü çevre koşullarını sağlaması egzotermik, toksik reaksiyonlar uygulamaları için de büyük avantaj sağlamaktadır. Laminer akış rejiminin olması, kalış süresi dağılımlarının tahminlenmesi ve doğrulanması için de kolaylık sağlamaktadır (Jöhnisch et al., 2004).

Mikroreaktör uygulamaları protein ve peptid haritalama, nükleik asitlerin analizi, moleküllerin ve hücrelerin karakterizasyonu gibi çalışmalarda kullanılmaktadır. Bu çalışmalar, ilaç keşfi, medikal tanı ve tedavi, biyosensör

ve immünolojik testlerin geliştirilmesinde büyük öneme sahiptir (Haswell and Skelton, 2000; Kerby et al., 2006).

Mikroreaktörler, sıcaklık kontrolü, tekrarlanabilirlik, sensör kullanarak in situ reaksiyon görüntüleme, hızlı ısı ve kütle transferi, hızlı sonuç alma, optimizasyon süreci boyunca düşük kimyasal madde kullanımı gibi pek çok avantajlar sağlamaktadır. Mikroreaktörler ve süperkritik akışkanların birlikte kombine edildiği sistemler, yani ‘‘Süperkritik mikroakışkanlar’’ kimyasal işlemler açısından büyük potansiyel sağlamaktadır. Mikrosistemler yüksek yüzey hacim oranı sağlamaları sayesinde ekzotermik reaksiyonların çok daha iyi ısı transferi ve kütle transferi iletimlerini sağlar. Düşük kimyasal kullanımı, deneysel çalışmalarda maliyeti düşürdüğü gibi aynı zamanda çevreye zararı minumuma düşürmektedir. Kontrol edilebilir reaksiyon hacimleri sayesinde yüksek basınç uygulamaları gibi zor reaksiyon proseslerinde gelecek vaat etmektedir (Assmann et al.,2012; Marre et al., 2012).

Assmann et al. (2012) tarafından süperkritik akışkanlar kullanılarak vanilin ekstraksiyonu mikroreaktör içerisinde gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalara ek olarak, Tiggelaar et al., (2007) tarafından cam mikroreaktörlerin yüksek basınç uygulamaları için dizayn, fabrikasyonu ve uygulamasına yönelik yapılan çalışmada, üretilen çiplerin 400 bar basınç değerlerine kadar çalıştığı kanıtlanmıştır. Bu sayede, güvenli ve hızlı şekilde yüksek basınç reaksiyonlarının gerçekleştirilmesine yönelik uygulamalara temel oluşturmuştur.

Medikal uygulama alanlarında mikrosistemlerin kullanımı temel olarak ilaç taşınımı, biyosensör uygulamaları ve minimize edilmiş biyomedikal cihazlar olarak ortaya çıkmaktadır. Mikroakışkan prensibi ile çalışan cihazların, kontrollü ilaç salınımı, ilaç keşfi ve görüntüleme, hücre manipülasyonları, doku iskelelerinin geliştirilmesi, kök hücre çalışmaları, protein analizleri ve nano ipler ile immünolojik testler, genetik analizler, düşük maliyetli hızlı tanı kitleri, hasta başı tanı kitleri, viral deteksiyonlar gibi alanlarda kullanımı yaygındır (Li and Zhou, 2013).

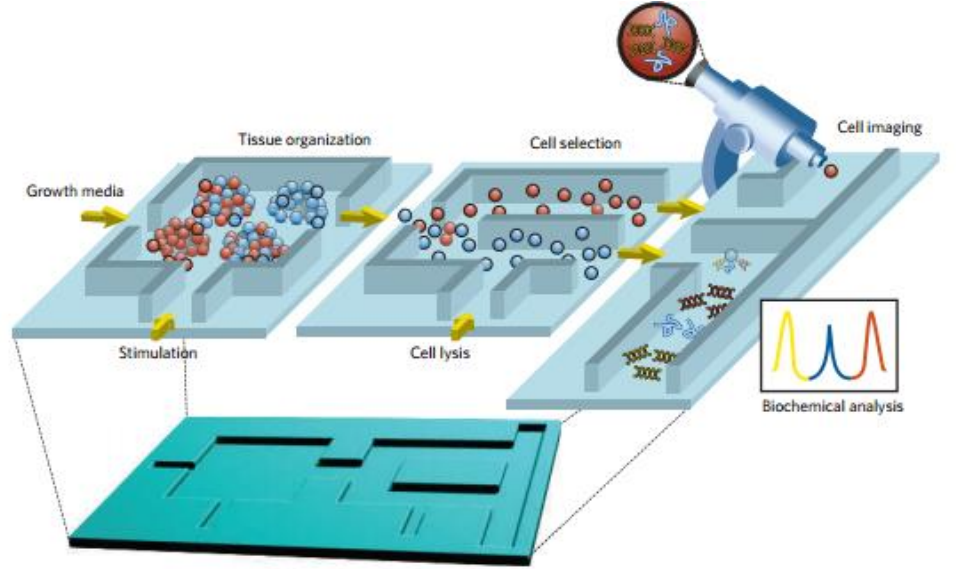
Mikroakışkan özelliklerinin kullanıldığı hasta başı kitler (POC) klinik bir laboratuvar ortamı olmadan hastanın kendi başına gerçekleştirebileceği analiz sistemleri olarak tanımlanmaktadır. 1990'lı yıllarda mikroakışkan teknolojilerinde gelişmeler (mikroelektronik ve malzeme teknolojisi açısından) hasta başı kitlerin uygulamalarına daha yoğunlaşmıştır. Hasta başı kitler, infekte hastalıkların uzaktan kontrol edilmesi ve analizlerinin gerçekleştirilmesinde büyük potansiyel sağlamaktadır. Bu kitlerin, düşük miktarda reaktif ve örnek kullanımı, düşük maliyeti, kolay kullanımı, taşınabilirlik sağlamaları ve hızlı analiz sonucu vermeleri en önemli avantajlarıdır. Analizler için oldukça düşük miktarlarda kan, idrar ve tükürük salgısı kullanılmaktadır (Lee et al., 2010; Sia et al., 2008).

Sağlık uygulamalarında hastalıkların teşhisi maliyet açısından önemli bir yer tutmakta olduğu bilinmektedir. Hasta başı kitlerin kullanımı ile maliyet düşmekte olup aynı zamanda pahalı reaktiflerin minimum kullanımı sağlanır ve üretim maliyeti azalır (Dutse et al., 2011).

Hücre biyolojisi uygulamaları mikroakışkan sistemler ile yeni uygulamalara olanak sağlamaktadır. Hücrelerinin boyutları açısından uygun olması ve PDMS gibi kullanılan malzemenin düşük toksisite içermesi, yüksek optik transparanlık sağlaması ve gazlar için yüksek geçirgenliğe sahip olması mikroçip uygulamaları için büyük kolaylık sağlamaktadır. Bu sayede, hücre-hücre etkileşimi ve hücre-ekstra sellüler matriks etkileşimi gibi hücre biyolojisinde kapsamlı çalışmalara olanak sağlanmaktadır (Ali et al., 2006).

Sticker et al. (2015) yaptığı çalışmada, mikroçip teknolojisini kullanarak doku, organ ve vücut sistemlerini minyatürize ederek hücresel etkileşimleri ve hücrelerin mikroçevre ile olan etkileşimine ışık tutmaktadır. Uygulamada, fibroblast hücreleri, endotelial hücreler ve mezenkimal hücreler kullanılarak biyouyumluluk, hidrofilitate ve permeabilite açısından hücre bazlı deneyler yapılmıştır.

İn vivo hücre kültürü biyolojik uygulamalar açısından önemli bir mihenk taşı olup lab üzeri çiplerin kullanımı ile pek çok hücresel faktörün incelenebileceği kapsamlı denemeler yapılabilmektedir (Şekil 2.1.). Üç boyutlu ekstra sellüler matriksin mikofabrikasyonu ile hücrelerin birbiri ile etkileşim ve mikroçevre ile etkileşimi nutrient ve oksijen tüketimini baz alarak gözlenilmektedir (Ali et al., 2006).



Şekil 2.1. Mikrosistemlerde doku organizasyonu, hücre kültürü ve analizi (Ali et al., 2006).

Günümüzde, mikroakışkan mantığı kullanılarak yapılmış ticari hasta başı kitlelere örnek olarak Abbott firmasının i-stat kan analiz sistemi ve Biosite firmasının triage immunoassay sistemi örnek olarak verilmektedir (Chin et al., 2012). Bunun yanında, en eski ticarileştirilmiş hasta başı kiti olarak tanımlanan kandaki glukoz seviyesini ölçen kit sistemidir. Bu kit sistemi, kan örneğinin membran ile ayrılmasından sonra enzimler ile reaksiyonun elektrokimyasal analiz edilmesi mantığıyla üretilmiştir (Mark et al., 2012). Bu örneklerin yanında Şekil 2.2.'de bazı ticarileştirilmiş kit örneklerini sunmaktadır (Yetisen et al., 2013).



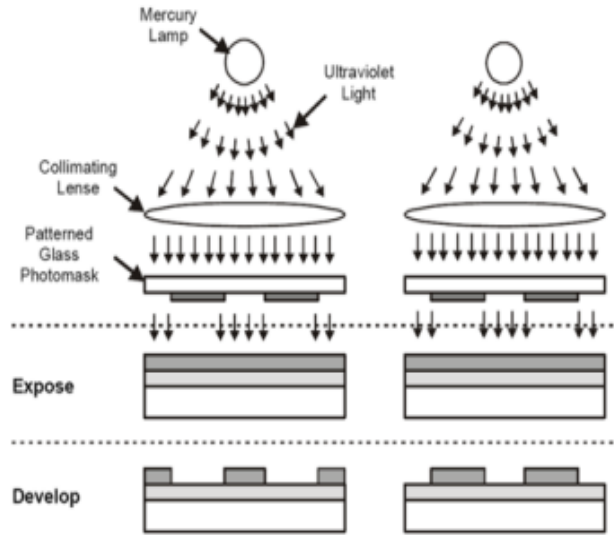
Şekil 2.2. Ticarileştirilmiş tanı kitleri A,Determine™ HIV 1/2 Ag/Ab Combo B, Determine™ TB LAM Ag test C, QuickVue Influenza D, Clearview® Malaria E, Directigen™ EZ Flu F, ICON HP G, ImmunoCard STAT!® *E. coli* O157 Plus H ve RAID™ 5(Yetisen et al., 2013).

Mikroakışkan teknolojilerinin global market pazarında 2011 yılında \$ 5.1 milyar ve 2012 yılında \$ 5.6 milyar iken bu değerin 2017 yılında \$ 10.3 milyarı bulacağı yapılan piyasa araştırmaları sonucu söylenmektedir (Mark et al., 2012).

2.3. Mikroçiplerin Üretim Yöntemleri

2.3.1. Fotolitografi

Fotolitografi geniş kullanım alanı olan bir litografi yöntemidir. Bu prosesin genel işleyişi, UV ışınına maruz bırakılan kalıba ışığa duyarlı polimerin transferidir. Plaka üzerindeki özellikleri ve modeli belirlemek için opak kalıplar (krom veya demiroksit) içeren optik maskeler (genellikle kuartz, asetat) kullanılır. Fotorezistteki kalıbın, substrata transferi için aşındırma gibi teknikler kullanılır. Fotomaskenin uygun kombinasyonları ve kalıpların ışığa maruz bırakılması gibi birbirini izleyen işlemler sonucu çoklu katman yapısının oluşmasını sağlar (Apaydın, 2009; McCreddy, 2000).



Şekil 2.3. Fotolitografi yöntemi, pozitif ve negatif rezist (Krishnan, 2012).

Şekil 2.3.'te görüleceği üzere, Okside silikon plaka vakum altında tutularak fotorezist denilen ışığa duyarlı materyal ile belli kalınlıkta kaplanır. Bir cam maske ya da transparan kalıp kontrollü şekilde UV radyasyonuna maruz bırakılarak silikon tabaka rezist materyal ile kaplanır. Bir pozitif fotorezist olduğu gibi kalıbın modelini alırken bir negatif fotorezist ana kalıbın negatif halini alır (Krishnan, 2012).

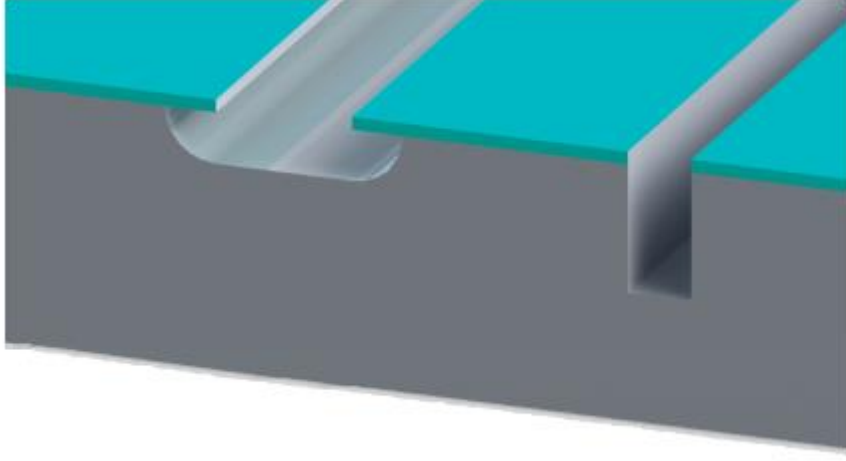
2.3.2. Islak ve kuru aşındırma

Kuru ve ıslak aşındırma tekniği silikon bazlı teknolojiler de iyi bilinmektedir. Metaller için, aşındırmanın oldukça ucuz ve mikro ölçek boyutlarında serbest formda yapıların elde edilmesi için iyice anlaşılmış bir tekniktir. Işığa duyarlı polimer maske aşındırma için metale uygulanır. Maske ışığa maruz bırakılarak yapı tabakaları aşındırılmış olunur (Bradner, 2007).

Islak aşındırma, sıvı aşındırıcı ile katı substrat arasında gerçekleşen kimyasal reaksiyonlara materyalin maruz bırakılması ile gerçekleşir. Kuru aşındırma, katı substrat yüzeyinin gaz fazındaki bileşen ile ya da plazma ile fiziksel olarak iyon değişimine tutularak gerçekleştirilmektedir (Ogden, 2013). Islak ve kuru aşındırmanın avantajları ve eksik yönleri Çizelge 2.1.'de özetlenmiştir. Şekil 2.4.'de ıslak ve kuru aşındırmanın izotropik ve anizotropik yüzey görüntüsü verilmiştir.

Çizelge 2.1. Islak ve kuru aşındırmanın avantajları ve dezavantajları(Bradner, 2007).

Islak aşındırma	Kuru aşındırma
Atmosfer koşullarında	Vakum altında
Düşük maliyet	Yüksek maliyet
< 1nm küçük büyüklükler için yetersiz	< 100 nm küçük büyüklüklere uygunluk
Zararlı kimyasal kullanımı	Düşük seçicilik
İzotropik	Anizotropik

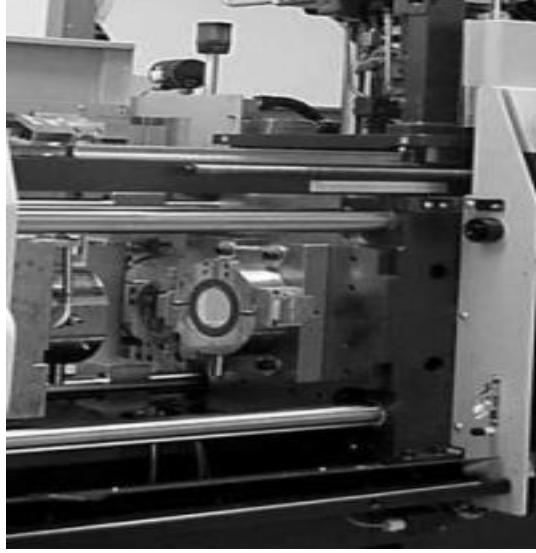


Şekil 2.4. İzotropik (sol) ve anizotropik (sağ) aşındırmalarının görünüşü (Ogden,2013).

2.3.3. Enjeksiyon kalıplama

Enjeksiyon kalıplama yöntemi 1980’li yıllardan belli ticari olarak da kullanılan mikro üretim metotudur. Mikro enjeksiyon kalıplama, büyük üretim kapasitesi ve düşük üretim maliyeti sağlayan mikrofabrikasyon yöntemlerinden biridir. Bu yöntemde, metal kalıbın mikro ölçekteki yapısının polimerik ürüne dönüştürülmesi amaçlanır. Bu işlem esnasında, materyal besleme gözünden plastikleştirme gözüne iletilerek materyal eritilmiş ve yumuşak hale getirilir. Basınçlandırılan materyal kalıp çukuruna enjekte edilir. Ardından, materyal kalıbın şeklini alması için belli bir süre soğutulur (Şekil 2.5.) (Brandner, 2007; Röttning et al., 2002).

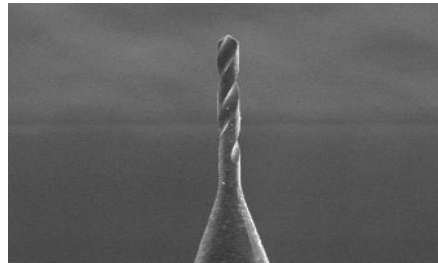
İnjeksiyon kalıplama, üretim kapasitesi, çok çeşitli materyal kullanımına uygun olması, mikro ölçekte üretilere olanak sağlaması ve pek çok cihazın üretimine ticari olarak kullanılabilmesi gibi avantaj sunmaktadır. Ancak, bazı geometrik dizaynların tekrar kalıplanmasında sorunlar yaşanabilmektedir ve bunun yanında yüksek cihaz maliyeti gibi kısıtlar bulunmaktadır. Bu sorunun aşılması için bazı parametrelerin (kalıp dizaynı, materyal ve işlem koşulları) tekrardan optimizasyonu gerekebilir (Becker and Gartner, 2008).



Şekil 2.5. Yatay düzlemde sıkıştırma yapan enjeksiyon kalıplama cihazından görüntü (Röttning et al., 2002)

2.3.4. Mikro mekanik işleme

Bazı materyallerin (asal metaller ya da tantalum) korozyon uygulamalara, aşındırma yöntemi ile mikrofabrikasyon işlemine uygun olmaması nedeniyle tercih edilen bir yöntemdir. Paslanmaz çelik ve hasteloy alaşımları gibi metal alaşımlarından mikroyapılar üretilir. Materyalin özelliklerine göre lazer işleme ya da mekanik hassas işleme kullanılmaktadır. İşleme teknolojisindeki gelişmelerle bu teknik çok daha küçük boyutlarda çalışmaya olanak sağlamaktadır (Şekil 2.6.). Pirinç, bakır ve doğal elmas mikroaraçlar uygulama için kararlılık sağlamasının yanında paslanmaz çelik, nikel alaşımları gibi her materyal için kullanım olanağı sunmaktadır (Brandner, 2007).



Şekil 2.6. 30 mikrometre boyutunda olan mikromatkap görüntüsü (Brandner, 2007).

2.3.5. Sıcak kabartma

Sıcak kabartma, vakum altında camsı geçiş sıcaklığının üzerinde olan yumuşamış polimerlerin bir desene kalıptan kabartma işlemidir. Büyük ticari uygulamalar için polikarbonat ve polimetilmetakrilat örnek olarak gösterilmektedir (Becker and Heim, 2000). Bu yöntemde, elastomerik kalıp uygun solvent ile etkileşimi sağlanıp polimerin yumuşak hale gelir ve polimer kalıbın yapısını alır. Sıcak kabartma işlemi plastik materyaller için oldukça ucuz maliyet, yüksek verimlilikte üretim sağlamaktadır. Ancak, sıcaklık, basınç ve vakum kontrollünün sağlanması için pahalı cihazlara ihtiyaç duyulması bu yöntemin büyük kısıtıdır (Becker and Gartner, 2008; Kim et al., 2013).

2.4. Mikroçiplerin üretiminde kullanılan polimerler

2.4.1. Polidimetilsiloksan (PDMS)

PDMS, $[\text{SiO}(\text{CH}_3)_2]$ monomerinden oluşan, siloksan bağlarının varlığının yapısına yüksek seviyede vizkoelastikiyet sağladığı elastomer materyaldir. PDMS, laboratuvar üzeri çiplerinin ve mikro total analiz sistemlerinin üretiminde sıklıkla substrat olarak kullanılan bir polimerdir. Düşük üretim maliyetinin olması, hızlı ve basit yöntemlerle üretilebilmesi ve yüksek optik transparanlık sağlaması öncelikli avantajlarındandır. Bunun yanı sıra, kimyasal olarak inert olması, termal kararlılık, gaz geçirgenliği (canlı hücre çalışmaları oldukça önemli kriter), kolay manipulasyon, biyouyumlu ve nontoksik olması, silikondan daha ucuz ve mikroyapıların geliştirilmesinde kolaylık sağlaması diğer avantajlarındadır (Çizelge 2.2.) (Mcdonald and Whitesides, 2002; Tang and Whitesides, 2009).

Düşük büzüşme oranına sahip olması ve mikroölçek boyutlarında tekrarlanabilirlik sağlaması bu polimerin litografi prosesi için uygun olmasını sağlamaktadır. Son yıllarda, mikroakışkan ve mikro elektro mekanik sistemlerin (MEMS) biyomedikal uygulamalarında, PDMS' in yüksek elastikiyet özelliği sağlaması cam, silikon ve diğer sert polimerlere göre daha çok tercih edilmesini sağlamaktadır. Ancak, PDMS düşük kimyasal uyumluluk (organik solvent kullanımı sonucunda şişme etkisi oluşması) ve düşük dayanıklılığa sahip olması (yüksek basınç uygulamaları) gibi bazı sınırlamalara sahiptir (Mata et al., 2005; Tang and Whitesides, 2009).

Çizelge 2.2. PDMS fiziksel ve kimyasal özellikleri(Tang and Whitesides, 2009)

Özellik	Karakteristikleri
Optik	Transparan
Elektrik	Yalıtkan
Mekanik	Elastomerik
Termal	Yalıtkan
Arayüzey	Düşük yüzey serbest enerjisi
Permeabilite	Düşük permeabilite
Reaktivite	İnert
Toksisite	Non-toksik

Polimerlerdeki şişme etkisi (swelling effect) polimer ve solventin karışımından sonra polimer yapısında meydana gelen deformasyonların sebep olduğu termodinamik bir olaydır. Polimerin şişme mekanizması, öncelikle polimerin yüzeyinin solventi absorblaması ile başlar, difüzyon kuvvetleri sayesinde solvent polimerin içine penetre olur ve polimerin yapısında bulunan solvent polimerin zincir yapısına penetre olarak polimerin genişlemesi ile son

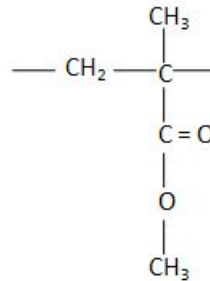
bulmaktadır. Bu etki polimerlerin geçirgenliğini artırırken seçiciliği düşürmektedir (Farid, 2010).

Mikroakışkan uygulamalarında bu etki büyük önem arz etmektedir. Mikrokanallarda oluşan şişme etkisi, kanalların kesit alanını değiştirebileceği gibi aynı zamanda akış profili ve hızını da etkilemektedir. Kanal boyutlarındaki değişim mikroakışkan komponentlerinde kanal ile olan bağlantısını olumsuz şekilde etkilemektedir (Lee et al., 2003).

2.4.2. Polimetilmetakrilat (PMMA)

PMMA, metilmetakrilatın polimerizasyonu (Şekil 2.7.) ile oluşan, biyouyumlu, optik özelliklere sahip olan, düşük maliyetli, uygun fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olan ve hidrofobik özelliğiyle mikroakışkan teknolojileri uygulamalarında önemli bir avantajlar sağlamaktadır. Ayrıca, kuartz ve cam ile kıyaslandığında, kimyasal inert özellik göstermesi ve hidrolize dirençli olması büyük avantaj sağlamaktadır. PMMA poroz yapıda olmayan bir polimer olduğundan biyomoleküler çalışmalarda kontaminasyon olasılığını ortadan kaldırmaktadır (Hong et al., 2010; Rahbar, 2010).

PMMA' ın camsı geçiş sıcaklığında civarında yapılan çalışmalarda, mikroyapısında deformasyonlar olduğu bunu önlemek için yüzey modifikasyon teknolojisini kullanılarak aşılacağı belirtilmektedir (Zhang et al., 2014).



Şekil 2.7. PMMA kimyasal yapısı (Rahbar, 2010)

2.4.3. Polikarbonat (PC)

Polikarbonatlar, termoplastik bir malzeme olup, düşük maliyetlerinin olması, yüksek dirençliliğe ve düşük nem absorbasına sahip olması, yüksek camsı geçiş sıcaklığı göstermeleri ve görülebilir transparanlığa sahip olması gibi özellikleri ile mikroakışkan teknolojilerinde avantaj sağlamaktadır. Bu polimerin dezavantajı, düşük organik solvent dirençliliği, UV absorbansı ve yapısında yer alan bisfenol A (BFA)'nın toksik olmasıdır. PC, biyomedikal çalışmalarda ve polimeraz zincir reaksiyonu gibi biyoanaliz uygulamalarında kullanılmaktadır (Ogonczyk et al., 2010, Rajabi et al., 2012).

2.4.4. Off-Stoichiometry Thiol-Enes (OSTE)

OSTE polimeri thiol ene monomerlerinin epoksi monomerleri ile reaksiyonu sonucunda oluşan final materyaldir. Hızlı polimerizasyon sağlaması, mükemmel opaklık sağlaması, prosesin ucuz olması, düşük büzüşme stresine sahip olması, biyouyumlu bağlanması, kimyasal inertlik ve örneklerle düşük oranda etkileşimde olması, solvent dirençliliği, kararlı yüzey modifikasyonlarına olanak sağlaması gibi avantajlar göstermektedir. Ancak, polimeraz zincir reaksiyonu gibi yüksek sıcaklık uygulamalarında düşük camsı geçiş sıcaklığına sahip olduğundan bu uygulamalar için özel modifikasyonlar (polimerin içeriğine yeni bir monomer eklenmesi gibi) gerektirmektedir (Carlborg et al., 2011).

2.5. Biyomedikal Alanda Kullanılan Sterilizasyon Metotları

2.5.1. UV sterilizasyonu

UV ışınları, sterilizasyon ve biyomateryallerin yüzey modifikasyonlarını gerçekleştirmek amacıyla geniş kullanım alanı bulmaktadır (Pashlukeva et al., 2010). Bu yöntem, aynı zamanda endüstriyel çalışmalarda da tercih edilmektedir. UV ışınları mikroorganizmaların DNA'larına zarar vererek mikroorganizmaların yok edilmesini sağlarlar (Igawuch et al., 2002; Moraes et

al., 2013).UV uygulaması, ısıya dayanıksız materyallerin sterilizasyon uygulamaları için avantaj sağlamaktadır (Zhang et al., 2006).

Literatürde, UV ışınları kardiyovasküler materyal ve cihazlarda, parmasötik materyallerde, ortopedik ve diş implantlarında (titanyum alaşımı implantların hem sterilizasyonu hem de yüzey modifikasyonu için), biyoteknoloji alanında (nanopartiküllerin ve polimerlerin sterilizasyonu) sterilizasyon amaçlı kullanılmaktadır (Benson, 2002; Gatica et al., 2002; Li et al., 2013; Artemenko et al., 2012).

2.5.2. Isı sterilizasyonu

Isı sterilizasyonu, gıda ve ilaç sanayisi gibi bir çok alanda sıklıkla tercih edilen bir yöntemdir. Isı sterilizasyonu, otoklav cihazı içerisinde 121°C’de belli basınç değerinde ve uygulama süresi ile uygulamanın yapıldığı ve sonucunda mikroorganizmaların yok edildiği bir yöntemdir. Bu uygulamanın avantajı, ucuz olması, etkili bir yöntem olması, uygulamasının kolay olmasıdır. Ancak, ısıya duyarlı malzemeler açısından dezavantaj yaratmaktadır (Moreas et al., 2013; Rogers, 2012; Sandle, 2013; Draenert and Delius, 2007; Lau et al., 2015).

2.5.3. Etilen oksit sterilizasyonu

Etilen oksit, yaygın olarak kullanılan kimyasal sterilizasyon ajanı olup, bakterisidal, virüsidal ve sporisidal etki göstermektedir. Bu yöntemin düşük sıcaklıkta ve yüksek verimlilik değerinde sterilizasyon sağladığı bilinmekle birlikte yanıcı bir gaz olması, çevreye zararlı etkilerinin olması ve işlem sonrasında kalıntı olması gibi dezavantajları vardır (Cheinska et al., 2011; Mendes et al., 2007; Hsiao et al., 2012).

2.5.4. Hidrojen peroksit sterilizasyonu

Hidrojen peroksit, toksik olmaması ve geniş spektrumlu mikroorganizmalara karşı yeterli sterilizasyon sağlamaktadır. Ancak, hidrojen peroksit, çok fazla miktarda serbest radikal üretmektedir. Bu serbest radikallar, sterilize edilmiş materyalin kimyasını bozacağı gibi insan sağlığına ve çevre güvenliğini de tehlike altına sokmaktadır (Kitazaki et al., 2014; White et al., 2006; Kirchner et al., 2013).

2.5.5. Süperkritik karbondioksit sterilizasyonu

Süperkritik CO₂ sterilizasyonu, biyomateryallerin, poroz yapıya sahip medical cihazların ve ısıya duyarlı malzemelerin biyolojik patojenlere karşı sterilizasyonunda alternatif ve yeni bir teknik olduğu belirtilmektedir (Checinska et al., 2011; Zhang et al., 2006). CO₂ düşük kritik sıcaklık ($T_c = 31.1\text{ }^{\circ}\text{C}$) ve düşük kritik basınç ($P_c = 7.38\text{ MPa}$) değerlerine sahip, ucuz, toksik olmayan, inert ve yanıcı olmayan bir solventtir (Luthera et al., 2013; Ratcharaka and Sane, 2014; Pahquali et al., 2008). ScCO₂, sıvı benzeri yoğunluğa, gaz benzeri difüzyon hızına ve gaz benzeri viskoziteye ve kompleks yapılara penetre olmasını sağlayan sıfır yüzey gerilimine sahiptir (Zhang et al., 2006; Ortuno et al., 2012; Hossain et al., 2015).

ScCO₂, gıda sanayinde, kimya ve tıp uygulamalarında ve pek çok alanda uygulama alanı bulmaktadır. ScCO₂, sterilizasyon amaçlı kullanımının dışında, nanoteknoloji alanında partikül oluşumuna, kimya alanında ekstraksiyon çalışmalarına ve aerojel oluşumuna katkı sağlamaktadır (Yamada et al., 2015).

ScCO₂, biyolojik patojenleri kimyasal ve fiziksel olarak yok etmektedir. Özellikle, bakteri, virüs ve endosporlara karşı etkili sterilizasyon sağlamaktadır (Hossain et al., 2015). Perrut (2012) tarafından yapılan çalışmada, ScCO₂'in sterilizasyon amaçlı olarak çok farklı biyolojik patojenlere karşı kullanıldığı ve sonuçta kontaminasyon kaynaklarını ortadan kaldırdığı gösterilmiştir (Çizelge 2.8. ve Şekil 2.9.).

Çizelge 2.8. Süperkritik CO₂ ile viral inaktivasyonu (Perut, 2012)

Virüs	Genom	Akışkan ve koşulları	Süre(dakika)	İndirgeme faktörü(log ₁₀)
Sindbis	RNA	N ₂ O 250bar,37°C	90	2.4
BVDV	RNA	N ₂ O 250bar,37°C	<120	>6.3
PRV	DNA	N ₂ O 250bar,37°C	90	>4.3
Polio 1	RNA	N ₂ O 250bar,37°C	120	3.1
Reo 3	RNA	N ₂ O 250bar,37°C	120	2.0
Murine-C	RNA	N ₂ O 14-340,22-60°C	1-120	1.0->5.5
Murine-C	RNA	N ₂ O +EtOH 210bar,41°C	30	1.1
Adeno	DNA	R22 210bar,50°C	1-30	>5.1
Polio	RNA	R22 210bar,50°C	1-30	4.1-4.2
HAV	RNA	R22 210bar,50°C	1-30	1.0-1.3
Reo	RNA	R22 210bar,50°C	1-30	0.9-1.0
EMC	RNA	R22 210bar,50°C	1-30	2.3
TGE	RNA	R22 210bar,50°C	1-30	>2.5
HIV	RNA	N ₂ O+CO ₂ 210bar,22°C	1-30	2-3

Çizelge 2.9. Süperkritik CO₂ ile gıda ürünlerinin sterilizasyonu (Perut, 2012)

Materyal	İşlem	Solvent	Basınç (bar)	Sıcaklık (°C)	Zaman (dakika)
Üzüm suyu	Sürekli	CO ₂	75	40	30
Süt	sürekli	CO ₂	150	35-38	15
Portakal suyu	sürekli	CO ₂	80-90	38	30-120
Portakal suyu	Sürekli+ membran	CO ₂	75	40	1
Elma suyu	Yarı kesikli	CO ₂ ve N ₂ O	100-200	36	0-50
Kivi suyu	Yarı kesikli	CO ₂ ve N ₂ O	100	35	15
Şeftali suyu	Yarı kesikli	CO ₂ ve N ₂ O	100	35	15
Domates sosu	Kesikli ve sürekli	CO ₂	75-100	35-45	10-75
Pirinç	kesikli	CO ₂	1-100	40-60	30

3. MATERYAL VE YÖNTEMLER

3.1. Mikrobiyolojik Analiz Ortamlarının Hazırlanması

Triptik Soy Broth (TSB) ve Thioglycollate Broth (TGB) ortamları sterilizasyon uygulamaları sonrasında, sırasıyla aerobik ve anaerobik mikroorganizmaların belirlenmesi amacıyla, mikroçipler için mikrobiyolojik analiz ortamları olarak kullanılmıştır (Sahat et al., 2010).

Çizelge3.1. TSB ve TGB ortamlarının hazırlanması

TSB	30 g
Distile su	1 L
TGB	29 g
Distile su	1 L

Tabloda belirtilen bileşenler belirtilen oranlarda tartıldıktan sonra, TSB (sigma) ve TGB (sigma) ortamları ayrı ayrı olarak hazırlanarak manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılarak homojen ortamlar elde edilmiştir. Hazırlanan ortamlar, ortam kavanozlarına doldurularak ağzıları kapatıldıktan sonra ortamların sterilizasyonun gerçekleştirilmesi amacıyla 121°C’de 30 dakika ısı sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Elde edilen steril ortamlar, kontrol amacıyla iki gün boyunca + 25°C’de (oda sıcaklığında) muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.1. TSB ve TGB ortamları

Sterilize edilmiş mikroçip örnekleri TSB ve TGB ortamları ile iki farklı sıcaklık değerinde, 27°C ve 37°C’de 7 gün boyunca inkübatörde inkübe edilmiştir.

3.2. Mikroçiplerin Üretimi

PMMA ve PDMS mikroçipler, sırasıyla enjeksiyon kalıplama ve PDMS kalıplama yöntemi kullanılarak İhsan Doğramacı Bilkent Üniversitesi Mikro Sistem Tasarım ve Üretim Merkezi’nde üretilmişlerdir. Kullanılan kalıplar, CNC sistemi (Deckhel Maho DMU 50) yüksek hassasiyetli mekanik işleme ile üretilmiştir. Kalıp materyali olarak paslanmaz çelik kullanılmıştır (CK-50 AISI 1.1050). PMMA mikroçiplerde mikrokanalların uzunluğu 20 mm ve genişlik ve derinlik 240 μm ’dir. PMMA mikroçipler için materyal olarak Evonik Plexiglas 6N kullanılmıştır (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. PMMA mikroçip ve üretiminde kullanılan kalıp (Koska, 2013)

PDMS mikroçipler, öncelikle PDMS polimer silikon elastomer viskoz sıvısı (SYLGARD™ 184 SILICONE ELASTOMER) ve onun çapraz bağlayıcı ajanının (SYLGARD 184 CURING AGENT) belirli oranda karıştırılarak elde edilen karışımın, kalıba dökülüp ardından ısıya tabi tutulduktan sonra lam yüzeyiyle plazma temizleyici (HARRICK PLAZMA, PDC-32G) kullanılarak yüzeylerin aktifleştirilmesi sağlanıp mikroçipler üretilmişlerdir. Şekil 3.3.’de 100 μl iç hacimli, kıvrımlı kanal geometrisine sahip mikroçip gösterilmiştir.

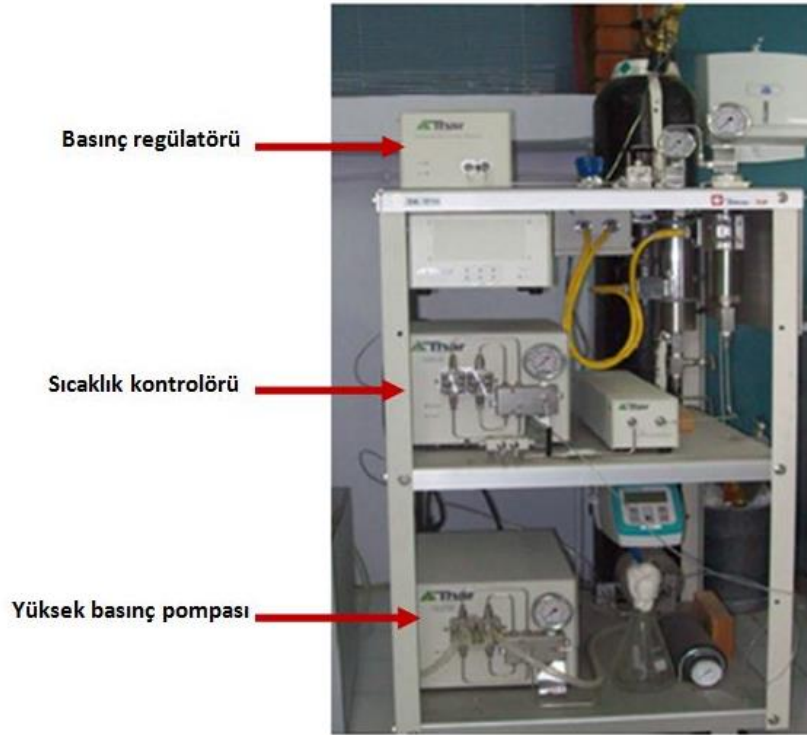


Şekil 3.3. Kıvrımlı kanal geometrisine sahip mikroçip

3.3. Sterilizasyon Uygulamaları

3.3.1. Süperkritik CO₂ sterilizasyonu

Süperkritik CO₂ sterilizasyonu için SFE-100 sistemi kullanılmıştır (Thar Instruments Inc., UK,2006). Mikroçipler özel sterilizasyon kartuşlarının içine koyularak reaksiyon haznesine yerleştirilmiştir. Sterilizasyonlar basınç ve sıcaklık kontrolünün otomatik olarak sağlandığı koşullar altında gerçekleştirilmiştir. Süperkritik CO₂ işlemi daha önceden ayarlanmış sıcaklık ve basınç değerlerine ulaştığında başlamaktadır. Tüm sterilizasyon işlemlerinde CO₂ akış hızı olarak 10 g/dakika uygulanmıştır. Sterilizasyon işlemi sonunda, CO₂ tüpünün vanası kapatılarak sistemdeki basıncın düşmesi için yaklaşık olarak 45 dakika beklenilmiştir.



Şekil 3.4. Süperkritik CO₂ cihazından genel görünüm

Süperkritik CO₂ sterilizasyon uygulamalarında optimum değerlerin belirlenmesi amacıyla, PMMA mikroçiplerde sıcaklık (25, 40, 50, 60°C), basınç (70, 100, 120, 150, 250 bar), zaman (30, 45, 60, 90 min) ve PDMS mikroçiplerde sıcaklık (25, 40°C), basınç(75, 80, 100, 120 bar), zaman (30, 45, 60 min) değerleri kullanılarak sterilizasyon işlemi uygulanmıştır ve optimum parametre değerleri elde edilmiştir.

3.3.2. Isı sterilizasyonu

Isı sterilizasyonu diğer adıyla otoklav işlemi 115 kPa basınçta 121°C’de 30 dakika doymuş su buharı muamele edilme esasına dayanmaktadır. Bu işlem sırasında, mikroorganizmalar metabolik ve yapısal komponentlerinde özellikle replikasyon bileşenlerinde tahribat oluşması nedeniyle mikroorganizmaların yok edilmesi sağlanmaktadır. Bu işlem için, mikroçipler boş kavanozlara yerleştirilerek ısı sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Ardından, örnekler steril kabin koşullarında mikrobiyolojik TSB ve TGB ortamlarına ekilerek daha önceden belirtilmiş olan koşullarda inkübe edilmiştir.

3.3.3. UV sterilizasyonu

UV sterilizasyonunda, mikroçipler 254 nm dalga boyundaki UV ışınlarına her bir yüzeyi 45 dakika maruz bırakılacak şekilde toplamda 90 dakika işleme tabi tutulmuştur. Mikroçipler petri kabının içine yerleştirildikten sonra UV sterilizatör cihazının içine konulmuştur (GOLDTERM,UV 1679 model) ve örnekler steril kabin koşullarında mikrobiyolojik TSB ve TGB ortamlarına ekilerek inkübe edilmiştir.

3.3.4. Etilen oksit sterilizasyonu

Etilen oksit sterilizasyonunda; bakterisidal, sporsidal ve virüsidal etkilere sahip etilen oksit kullanılarak nükleik asitler tahrip edilmesi ile hücrelerin ölümünün gerçekleşmesi amaçlanmıştır. Bu tez kapsamında, mikroçipler 55°C’ de 3 saat boyunca 5 mg/ml konsantrasyonundaki Etilen oksite maruz bırakılmıştır ve 12 saat boyunca mikroçipler havalandırılmıştır (Axis AX-60&AX135 series).

3.3.5. Hidrojen peroksit sterilizasyonu

Hidrojen peroksit sterilizasyonunda; bakterisidal, virüsidal, sporsidal ve fungusidal etkilere sahip olan hidrojen peroksit kullanılarak mikrobiyal yaşam formları öldürülmüş olmaktadır. Mikroçiplere, 1 saat boyunca hidrojen peroksit sterilizasyonu uygulanmıştır ve ardından 48 saat boyunca ışıktan ve sıcaktan korunarak örneklerin havalandırma işlemi gerçekleştirilmiştir.

3.4. Materyal Karakterizasyon Analizleri

3.4.1. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi

Sterilizasyon uygulamaları sonucunda elde edilen örneklerin morfolojik incelemeleri için SEM cihazı (FEI,Quanta 200 F) kullanılmıştır. Örnekler 1 bar basınç altında oda sıcaklığında kurutulduktan sonra 10 nm kalınlığında altın tabakası ile kaplanarak analiz yapılmıştır (Gatan 682, kaplama sistemi).

Tez çalışmasında elde edilen SEM görüntüleri, İhsan Doğramacı Bilkent Üniversitesi Ulusal Nanoteknoloji Araştırma Merkezi'nde yapılmıştır.

3.4.2. Fourier dönüşümlü infrared spektrofotometre (FTIR) analizi

Örneklerin kimyasal bağ yapılarındaki değişimlerin görüntülenmesinde Perkin Elmer Spectrum 100 cihazı ile 650-4000 dalga boyu aralığında araştırılmıştır. Analiz işlemi, Ege Üniversitesi Tekstil Mühendisliği Bölümünde gerçekleştirilmiştir.

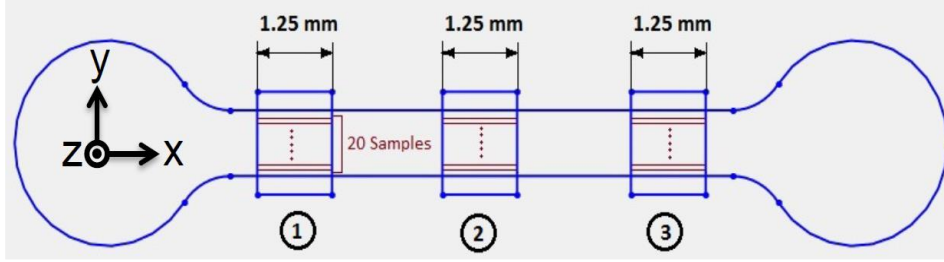
3.4.3. Differansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizi

Farklı sterilizasyon metotlarının uygulanmasının ardından mikroçiplerin termal özelliklerindeki değişimleri gözlemlemek için DSC analizi gerçekleştirilmiştir (TAInstruments, Q2000). Örneklerin analizi, nitrojen beslemesi 50 ml/dakika, sıcaklık aralığı 30 ile 250°C ve ısıtma hızı 10°C/dakika olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Analiz işlemi, İhsan Doğramacı Bilkent Üniversitesi Ulusal Nanoteknoloji Araştırma Merkezi'nde yapılmıştır.

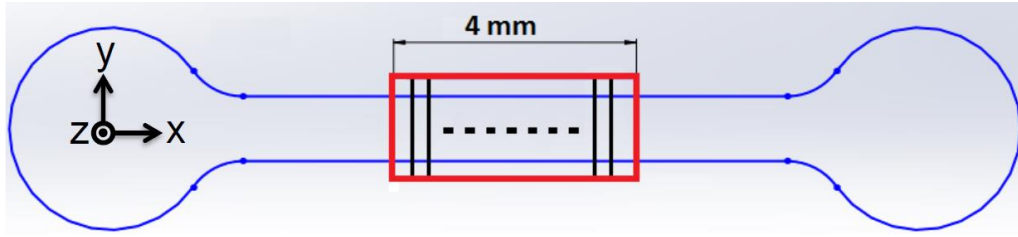
3.4.4. Yüzey profili ve pürüzlülük analizi

Farklı sterilizasyon tekniklerinin etkilerini yüzey ve mikrokanal profili, 3 boyutlu topografisi açısından araştırmak için lazer taramalı mikroskop kullanılmıştır (Keyence VKX100). Aritmetik pürüzlülük ortalama (R_a) değeri, taranan yüzey boyunca yüzey düzensizliklerinin aritmetik ortalama uzunluğu olarak tanımlanan yüzey pürüzlülüğünün ölçümünde kullanılmaktadır. Çip yüzeyinden ve mikrokanal yüzeyinden yüzey topografisi ölçülerek ortalama değerler elde edilmiştir. Kanal yüzeyindeki ölçümler için, üç farklı kısımdan 1.25mm boyunca taranarak 20 örneğin ölçümü gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.5.). Aynı zamanda, Şekil 3.6.'da kanal yüzeyi ölçümleri için dört farklı kısımda 1.25 mm tarama uzunluğu ile 20 örnek ölçülmüştür. Pürüzlülük ölçümlerindeki dalgalanmaları elimine etmek için 0.25 mm kesici filtre ölçülenmiş pürüzlülük profillerine uygulanmıştır. Pürüzlülükte birincil yüzeysel profil etkileri uygun

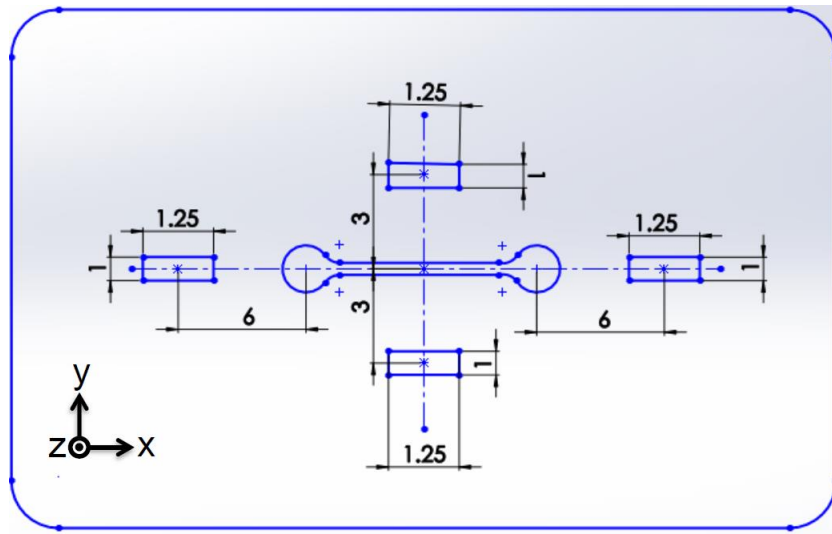
matematiksel düzeltmeler uygulanarak elimine edilmiştir. Mikrokanalların ortalama profilleri, ilgili alanın içerisine yerleştirilmiş 100 farklı kısımda profil ölçümleri kullanılarak elde edilmiştir ve bu işlem Şekil 3.7.'de açıklanmıştır. Bu analiz, İhsan Doğramacı Bilkent Üniversitesi, Makina Mühendisliği Bölümü, Mikrosistem Tasarım ve Üretim laboratuvarında yapılmıştır.



Şekil 3.5. Kanal yüzeyindeki pürüzlülük ölçüm görüntüsü



Şekil 3.6. Kanal yüzeyindeki belli lokasyonun yüzey pürüzlülük profili



Şekil 3.7. Kanal ortalama pürüzlülük ölçümlerinin görüntüsü

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Mikroçiplerdeki sterilizasyon uygulamaları

Bu tez kapsamında, PMMA ve PDMS mikroçipler için süperkritik ScCO₂ sterilizasyon uygulamalarının optimizasyonu ana hedeflerden birini oluşturmaktadır.

Öncelikle, PMMA mikroçiplerde sıcaklık (40°C), zaman (60 dakika) ve akış hızı (10 g/dakika) sabit tutularak belli basınç değerleri (70, 100, 120, 150, 250 bar) uygulanmıştır. Bu koşullar altında, sterilite açısından en iyi sonuç 120 bar’ da elde edilmiştir. İkinci adımda, 120 bar basınçta, akış hızı 10g/dakika ve 60 dakika uygulama süresi sabit tutularak belli sıcaklık değerleri (25, 40, 50, 60°C) test edilmiştir. 40°C’nin üzerindeki sıcaklıklarda basıncın etkisiyle birlikte PMMA polimerinde opaklaşma görülmüştür. Bu nedenle, mikroçiplerin sterilitesi ve polimerin transparanlığı açısından uygun sıcaklık değeri olarak 40°C bulunmuştur. Son olarak, sıcaklık ve basınç değerleri sabit tutularak optimum sterilizasyon süresinin bulunması için 30 dakika, 45 dakika ve 60 dakika muamele edilmiştir. Sonuç olarak, PMMA mikroçipler için optimum parametre değerleri 120 bar, 40°C ve 60 dakika olarak bulunmuştur.

PDMS mikroçipler için süperkritik ScCO₂ sterilizasyonu optimizasyonu için öncelikle sabit sıcaklık (40°C), uygulama süresi (60 dakika) ve akış hızı (10 g/dakika) olacak şekilde sabit tutularak farklı basınç değerleri (75, 80, 100, 120 bar) denenmiştir. Sterilite açısından uygun sonuç 80 bar’da elde edilmiştir. Ardından, uygun sıcaklık değerinin bulunması için 80 bar’ da 60 dakika ve akış hızı sabit şekilde 25 ve 40°C değerleri denenmiş ve 40°C uygun bulunmuştur. Son olarak, uygulama süresinin optimizasyonu için 30 dakika, 45 dakika ve 60 dakika’da sterilizasyon işlemi uygulanmış ve 30 dakika’da sterilizasyonun korunduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak, PDMS mikroçipler için optimum parametre değerleri 80 bar, 40°C ve 30 dakika olarak belirlenmiştir.

Hızlı basınç düşüşleri ya da sistemin hızlı basınçsızlaştırılması hücresel tahribe ve membran parçalanmalarına neden olduğu literatürde yer almıştır (Nakamura et al., 1994; Castor and Hong, 1991). Bu nedenle, polimerlerin şişme etkisinden kaçınmak için yaklaşık olarak 45 dakika boyunca yavaş bir şekilde süperkritik cihazından CO₂ uzaklaştırılmıştır.

Çalışma kapsamında, aynı zamanda PMMA ve PDMS mikroçiplere standart sterilizasyon protokolleri uygulanarak süperkritik ScCO₂ sterilizasyonu ile materyal karakterizasyon kısmında ayrıntılı olarak sonuçlar ortaya konulmuştur ve karşılaştırılmıştır.

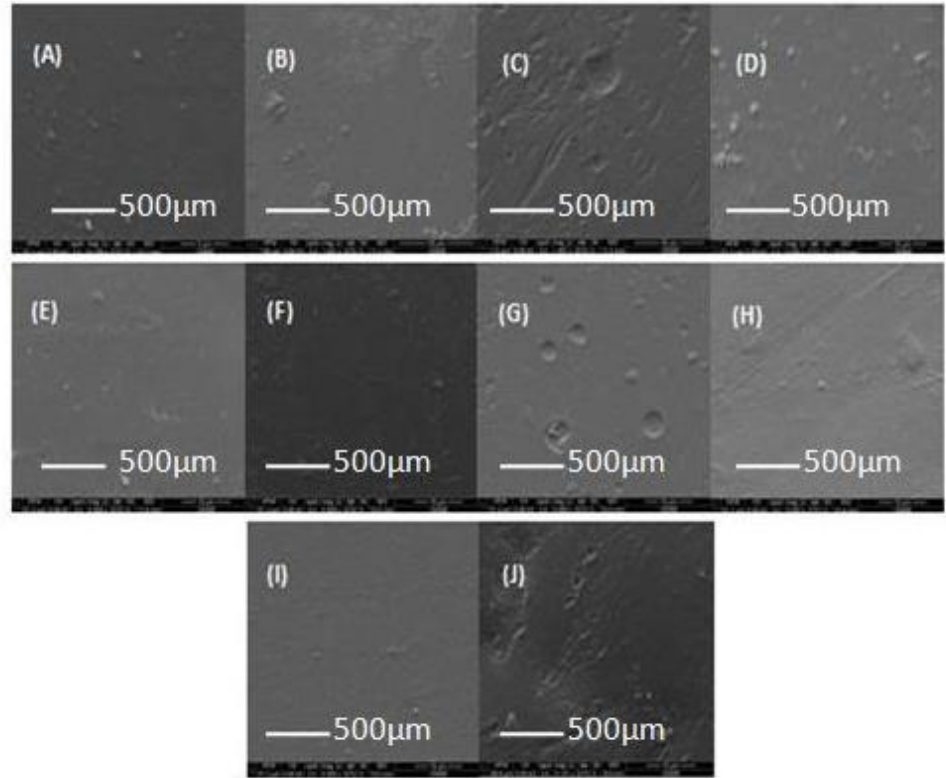
Isı sterilizasyonunda, 121°C’de 20 dakika boyunca doymuş buhar ile; UV sterilizasyonunda, 254 nm dalga boyunda UV ışınlarına the yüzey 45 dakika maruz kalacak şekilde toplamda 90 dakika muamele edilmiştir. Kimyasal sterilizasyon yöntemleri olan hidrojen peroksit ve etilen oksit uygulamaları özel sterilizasyon cihazlar içerisinde otomatik olarak yapılmıştır.

Sterilizasyon uygulamalarından sonra mikroçipler TSB ve TGB ortamlarına alınarak 27 ve 37°C’de 7 gün boyunca mikrobiyolojik çoğalma olup olmadığına bakılmıştır.

4.2. Materyal Karakterizasyon Çalışmaları

4.2.1. PMMA mikroçiplerin materyal karakterizasyon analizleri

4.2.1.1. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi



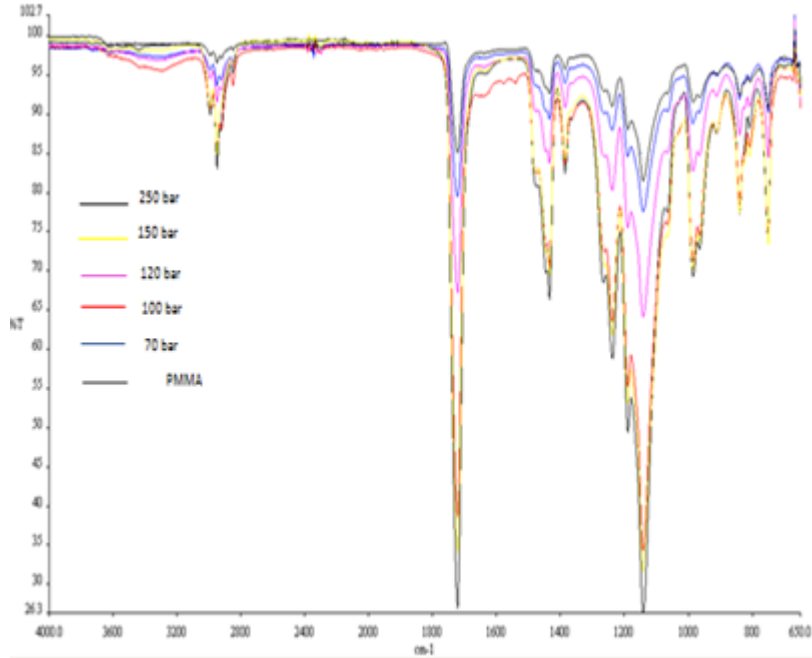
Şekil 4.1. PMMA mikroçiplerin SEM görüntüsü, (A) sterilizasyon işlemi görmemiş PMMA mikroçip, süperkritik ScCO₂ sterilizasyon uygulaması (B) 70 bar, (C) 100 bar, (D) 120 bar, (E) 150 bar ve (F) 250 bar, (G) ısı sterilizasyonu, (H) etilen oksit sterilizasyonu, (I) hidrojen peroksit sterilizasyonu ve (J) UV sterilizasyonu

Farklı sterilizasyon yöntemlerinin uygulandığı PMMA mikroçiplerin, materyal yüzey morfolojisi açısından araştırılması için SEM analizi yapılmıştır. Sterilizasyon işlemi görmemiş ve görmüş örneklerin SEM mikrogörüntüsü Şekil 4.1.'de görülmektedir. Çalışmada, basınç değerleri arttıkça bunun yüzey morfolojiine etkisinin negatif bir şekilde olduğu açıkça görülmüştür. SEM görüntülerine bakıldığında, 150 bar ve 250 bar denemelerinde yüzeyde çatlak ve oyukların oluştuğu olduğu görülmektedir (Şekil 4.1. (E) ve (F)). Ayrıca, 70

bar ve 120 bar denemelerinde materyal yüzeyinin tıpkı işlem görmemiş PMMA yüzeyi gibi görüldüğü SEM görüntüleri ile bulunmuştur (Şekil 4.1. (B) ve (D)). Ancak, 70 bar'da sterilite koşullarının sağlanmadığı da yapılan mikrobiyolojik sterilite denemeleri ile gösterilmiştir.

Standart sterilizasyon yöntemleri yüzey morfolojisi açısından karşılaştırıldığında, ısı sterilizasyona tabi tutulmuş mikroçiplerin olumsuz şekilde etkilendiği, mikroçiplerin uygulamadan sonra gözle görülür şekilde opaklaştığı ve yüzey morfolojisinde düzensizlikler (çukurlar) oluştuğu Şekil 4.1.(G)'de gösterilmiştir. UV sterilizasyonunda da yüzey morfolojisinde düzensizlikler elde edilmiştir (Şekil 4.1.(J)). Diğer taraftan, etilen oksit ve hidrojen peroksit gibi kimyasal sterilizasyon yöntemlerinin uygulamaları sonucunda materyalin yüzeyinde herhangi bir olumsuz etki gözlemlenmemiştir (Şekil 4.1.(H) ve (I)).

4.2.1.2. Fourier dönüşümlü infrared spektrofotometre (FTIR) analizi

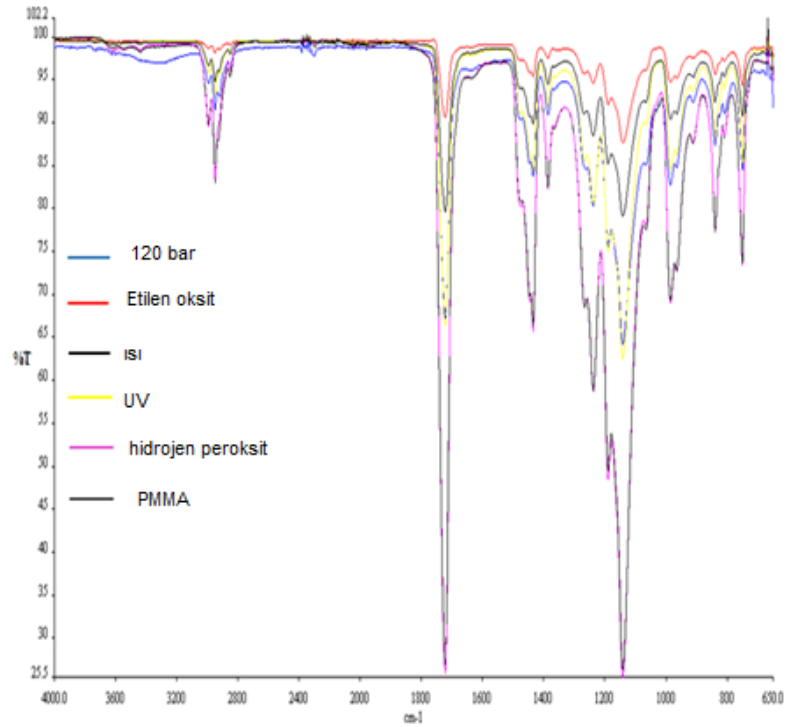


Şekil 4.2. Süperkritik ScCO₂ sterilizasyonunu ait FTIR spektrumu

FTIR analizi, kimyasal yapıdaki farklı bağları göstererek sterilizasyon uygulamaları sonrasında örneklerin kimyasal bağ yapılarındaki değişimin

gösterilmesinde kullanılmıştır. Literatürde, polimetilmetaakrilatların FTIR spektrumları 600 ile 4000 cm^{-1} dalga boyları arasında ölçülmekte olup spesifik molekül bağ karakteristikleri hakkında fikir vermektedir.

Daha önceden yapılmış çalışmalarda elde edilen değerlerde, PMMA örneklerine ait FTIR spektrumlarında majör pik olarak görülen 2950 cm^{-1} elde edilen pikler C-H bağlarına, 750 ile 810 cm^{-1} dalga boyundaki pikler C=O bağlarına, 900 ile 1000 cm^{-1} elde edilen pikler C-C bağlarına, 1238 cm^{-1} dalga boyunda pikler C-O bağlarına, 1300 ile 1500 cm^{-1} dalga boyundaki CH_3 bağlarına ve 1730 cm^{-1} elde edilen pik ise C=O bağına ait olan piklerdir. Ayrıca, 3000 ile 4000 cm^{-1} dalga boyları arasında O-H bağlarına ait pikler gözlenir ve bu pikler örneğin içerisinde var olan nemin göstergesidir (Hari et al., 2010; Huth et al., 2012; Emmons et al., 2007).



Şekil 4.3.Standart sterilizasyon metotlarına ait FTIR spektrumu

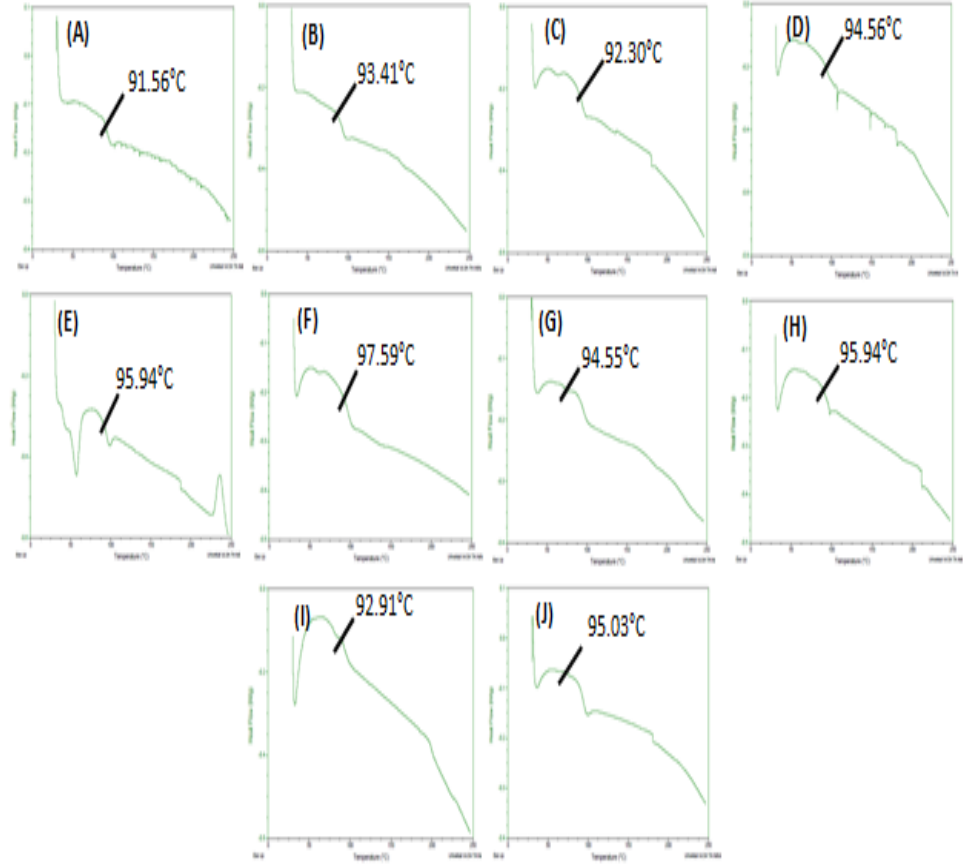
Şekil 4.2. ve 4.3'te sterilizasyon uygulamaları ardından örneklerin FTIR spektrumları sunulmuştur. Spektrumlar incelendiğinde, farklı sterilizasyon uygulamaları ardından aynı dalga boylarında benzer pikler verildiği gözlemlenmiştir. Fakat, aynı geçirgenlik değerleri elde edilmemiştir. Farklı

geçirgenlik değerlerinin gözlemlenmesi yeni bağ oluşumunun olduğunu anlamına gelmemektedir.

Chen et al. (2008) yaptığı çalışmada, PMMA mikroçiplerin kızılötesi bazlı polimerizasyon yöntemi ile üretimini gerçekleştirilerek daha sonra bu mikroçipleri, iyonik bileşenlerin ayırma ve deteksiyon çalışmalarında kullanılmıştır. Liu et al. (2004), PMMA mikroçiplerin yüzeyini polietilenglikol (PEG) ile kaplayarak elektroosmotik akışın kullanıldığı mikropiller elektroforez uygulamalarında spesifik olmayan proteinleri ayırma işlemlerine uygulamışlardır. Bu iki çalışmada, FTIR analizi kullanılarak kimyasal bağ yapısında değişim gözlenmiştir.

Bu tez çalışmasında, PMMA materyalinin sterilizasyon uygulamaları sonucunda reaktif moleküler gruplarda önemli değişim oluşmadığı tespit edilmiştir. Bu durum, PMMA malzemesini enzimatik kataliz çalışmaları (hidroliz gibi) ve yüzey modifikasyonları (hidrofobik yüzey modifikasyonu) uygulamaları için elverişli kılmaktadır.

4.2.1.3. Differansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizi



Şekil 4.4. DSC termogramı (A) sterilizasyon işlemi görmemiş PMMA mikroçip, Süperkritik ScCO₂ sterilizasyonu (B) 70 bar, (C) 100 bar, (D) 120 bar, (E) 150 bar ve (F) 250 bar, (G) UV sterilizasyonu, (H) hidrojen peroksit sterilizasyonu, (I) etilen oksit sterilizasyonu ve (J) ısı sterilizasyonu

DSC termogramları, işlem görmemiş PMMA mikroçipleri ile sterilizasyona tabi tutulmuş PMMA mikroçiplerin camsı geçiş sıcaklık değerleri (T_g) açısından karşılaştırmak için kullanılmıştır (Şekil 4.4.). Camsı geçiş sıcaklığı, ısı kapasitesindeki değişimin polimer zincir yapısındaki nasıl bir değişim yaratacağını tanımlamaktadır. Literatürde, PMMA polimerinin camsı geçiş sıcaklığı yaklaşık 100-105°C olarak tanımlanmıştır (Uosaki and Moriyoshi, 1999).

Standart sterilizasyon yöntemlerinin (UV, ısı, hidrojen peroksit ve etilen oksit) uygulandığı örneklerin, saf PMMA örneğinin T_g değerinden (91.56°C) çok az farkla benzer camsı geçiş sıcaklık değerlerine sahip olduğu Şekil 4.4.'te

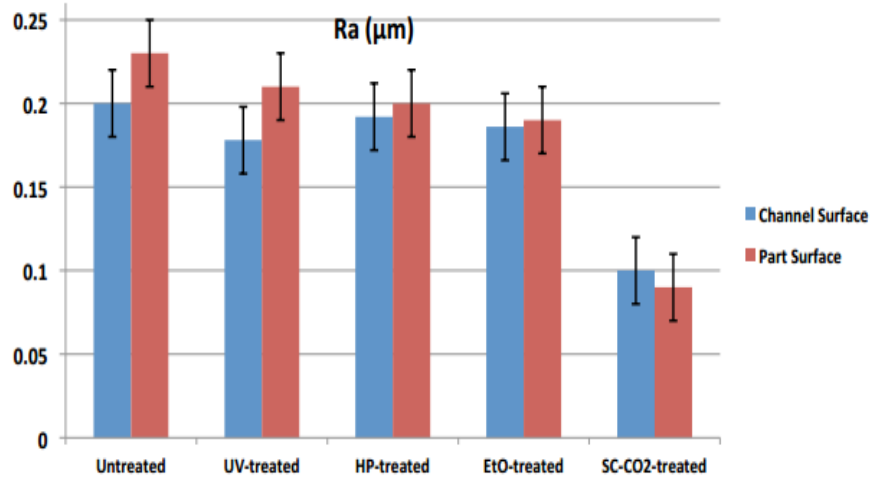
görülmüştür. Süperkritik CO₂ sterilizasyonu uygulanan mikroçipler karşılaştırıldığında, 70 bar'dan 250 bar'a camsı geçiş sıcaklıkları açısından önemli bir değişim gözlemlenmemiştir (Şekil 4.4.(B)-(F)). Ancak, 150 ve 250 bar'da PMMA mikroçiplerde gözle görülür opaklaşma meydana gelmiştir.

Bir çalışmada, düşük basınçlardan 400 bar'a kadar basınç artışında, camsı geçiş sıcaklığında doğrusal olarak düşüş meydana geldiği belirtilmiştir (Handa et al., 1996). Aslında, sıkıştırılmış gazlarda polimerlerin dört farklı camsı geçiş eğilimi gösterdiği Lattice teorisi ve Gibbs-Di Marzio ölçütün (polimerdeki gazın çözünürlüğü, polimerin fleksibilitesi, akışkanın kritik sıcaklığı) kullanılması ile açığa çıkarılmıştır. PMMA ile CO₂ etkileşimi, camsı geçiş eğiliminde camlaşma eğilimini (Tip 4) tekrar geri gösterdiği belirtilmiştir (Uosaki and Moriyoshi, 1999). CO₂'in polimer matriks içerisindeki difüzyon hızlarının artmasında ve zincirler arası mesafesinin artmasında etkin rol oynamasından dolayı polimerlerin plastikleşmesine neden olduğu belirtilmiştir (Bayraktar ve Kiran, 2008).

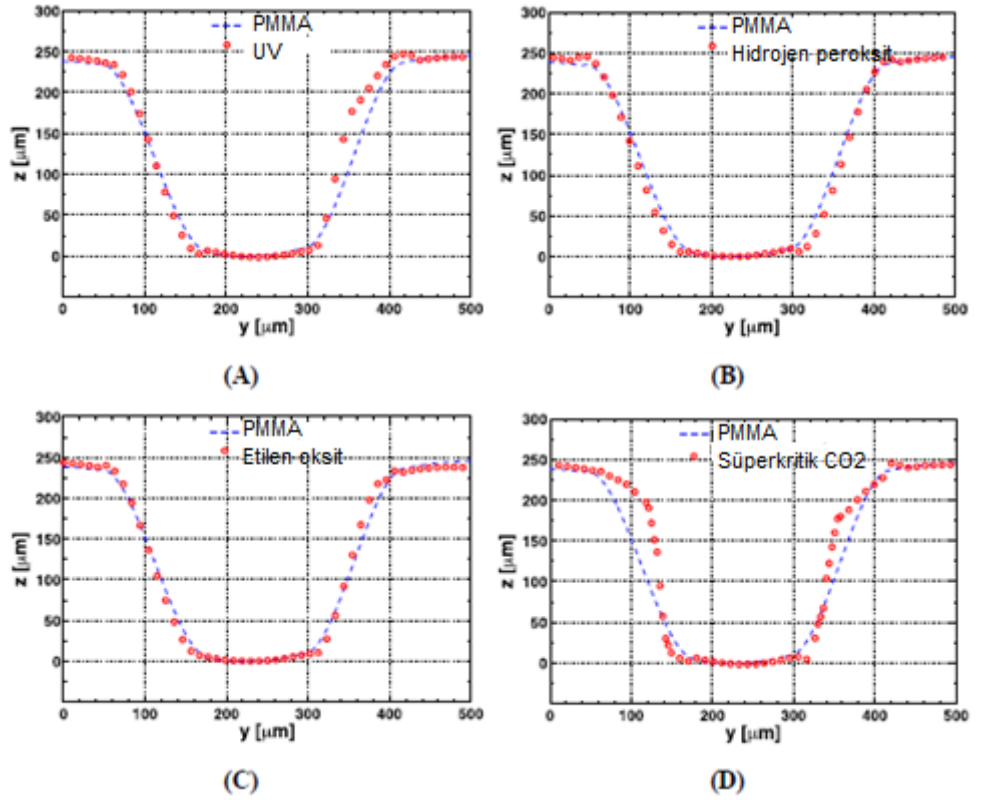
Literatürde yer alan bir çalışmada, PMMA ve COC polimerlerini UV ve ozonla uygulaması ile camsı geçiş sıcaklıklarından düşük sıcaklıkta bağlanması gerçekleştirilerek düşük maliyetli ve yüksek verimli yeni üretim yöntemi geliştirilmiştir. Polimerler kendi camsı geçiş sıcaklıklarının üzerinde bağlanma eğiliminde olduklarından bu çalışmada yeni bir uygulama yönteminin kullanılmasıyla düşük camsı geçiş sıcaklığında etkileşim sağlanmıştır (Tsao et al., 2007).

Sterilizasyon yöntemlerinin uygulanmasının ardından PMMA polimerinin ısı kapasitesinde (T_g sıcaklığı) önemli fark gözlemlenmemesi polimerin zincir yapısında değişiklik olmadığını göstermiştir. Bu sonuçlar çerçevesinde, PMMA malzemesinin kararlı bir camsı geçiş sıcaklığı profili göstermesi medikal uygulamalarda ve ekzotermik reaksiyon uygulamalarında avantaj sağlayacaktır.

4.2.1.4. Yüzey profili ve pürüzlülük analizi



Şekil 4.5. Ortalama yüzey pürüzlülüğüne ait diyagram



Şekil 4.6. Kanal profillerine ait grafikler (A) İşlem görmemiş PMMA ile UV sterilizasyonuna tabi tutulmuş örneğin karşılaştırılması, (B) İşlem görmemiş PMMA ile hidrojen peroksit sterilizasyonuna tabi tutulmuş örneğin karşılaştırılması, (C) İşlem görmemiş PMMA ile etilen oksit sterilizasyonuna tabi tutulmuş örneğin karşılaştırılması, (D) İşlem görmemiş PMMA ile Süperkritik ScCO₂ sterilizasyonuna tabi tutulmuş örneğin karşılaştırılması

Şekil 4.5.'te görüldüğü üzere, her bir sterilizasyon yönteminin hem kanalda hem de çip yüzeyindeki yüzey pürüzlülüğünü düşürdüğü gözlemlenmiştir. Ancak, bu düşüş ScCO₂ uygulaması dışındaki örnekler için %20'den azdır. Hidrojen peroksit ve etilen oksit uygulamaları yüzeyde kanal yüzeyinden daha belirgin etkiler göstermiştir. UV uygulaması hem yüzeyde hem de kanalda aynı etkilere sahiptir. Diğer taraftan, ScCO₂ uygulaması yüzey pürüzlülüğünü önemli bir şekilde düşürmüştür. Isı sterilizasyonu örneğin yüzey olarak bozulmasından dolayı ölçüm alınamamıştır.

Literatürde yer alan bir çalışmada, Nikcevic et al. (2007) enjeksiyon kalıplama ile üretilen PMMA mikroçiplerin kapiler elektroforez uygulamasında, yüzey pürüzlülüğünün kanal içinde akışı nasıl etkilediği üzerine denemeler yapmıştır. Sonuçta, yüzey pürüzlülüğünün ayırma verimliliğini etkilemediği sadece kanal içindeki kalış süresini az bir oranda artırdığı görülmüştür. Bir başka çalışmada, PMMA mikroçipleri yeni bir yöntem olan CO₂ lazer kesme yöntemi ile üretilerek mikrokanallardaki yüzey pürüzlülüğü düşürülmüştür (Huang et al., 2010).

Ogilvie et al. (2010) yaptığı çalışmada, solvent gaz uygulaması kullanılarak PMMA ve siklik olefin kopolimerin tersinmez bağlanması sağlanmış bu sayede üretilen mikroakışkan reaktörlerin kanal yüzey pürüzlülüğünün düşürüldüğü görülmüştür. Bir başka çalışmada, PMMA ile siklik olefin kopolimerinden yeni mikroyapılar oluşturularak boyutları küçük olan analitlerin (DNA vb.) etkin bir şekilde ayrımı gerçekleştirilmiştir (Garcia et al., 2013).

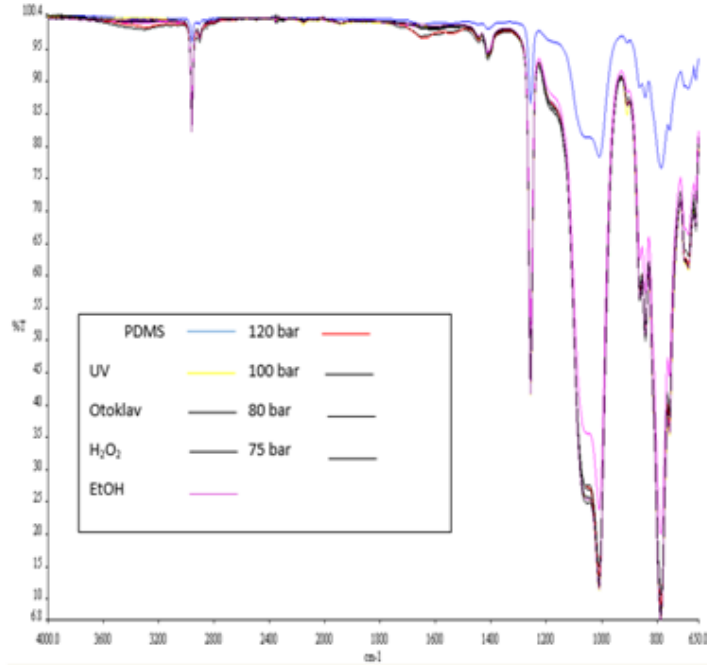
Bu tez çalışmasında, yüzey pürüzlülüğünün süperkritik CO₂ sterilizasyonu uygulamasında önemli oranda düşmesi, biyolojik bileşenlerin ayrılmasına yönelik uygulamalarda (elektroforez vb.) ve farklı polimerlerin bağlanması ile gerçekleştirilen mikroçip üretimlerinde önemli avantajlar sağlayacaktır.

Şekil 4.6.'da ortalama kanal profili için saf PMMA örneği, etilen oksit örneği, hidrojen peroksit örneği, UV örneği ve süperkritik CO₂ örneği

kullanılmıştır. Etilen oksit ve hidrojen peroksit uygulamalarının kanaldaki profile etkileri oldukça az olduğu görülmüştür. UV uygulamasında, kanalın sol taraftaki duvarında önemli bir deformasyon gözükmez iken sağ tarafın duvarında önemli bir sapma elde edilmiştir. Süperkritik ScCO_2 uygulaması mikroçiplerin kanal profillerine negatif etki gösterdiği bulunmuştur.

4.2.2. PDMS mikroçiplerin materyal karakterizasyon analizleri

4.2.2.1. Fourier dönüşümlü infrared spektrofotometre (FTIR) analizi



Şekil 4.7. PDMS mikroçiplere ait FTIR spektrumu

FTIR analizi, sterilizasyon uygulamalarından sonra örneklerin kimyasal bağ yapısında değişiklik olup olmadığının test etmek amacı ile gerçekleştirilmiştir. Özellikle Si-O-Si bağlarının varlığını tespit etmek, PDMS materyalin içeriğinde değişim olmadığının önemli bir göstergesidir.

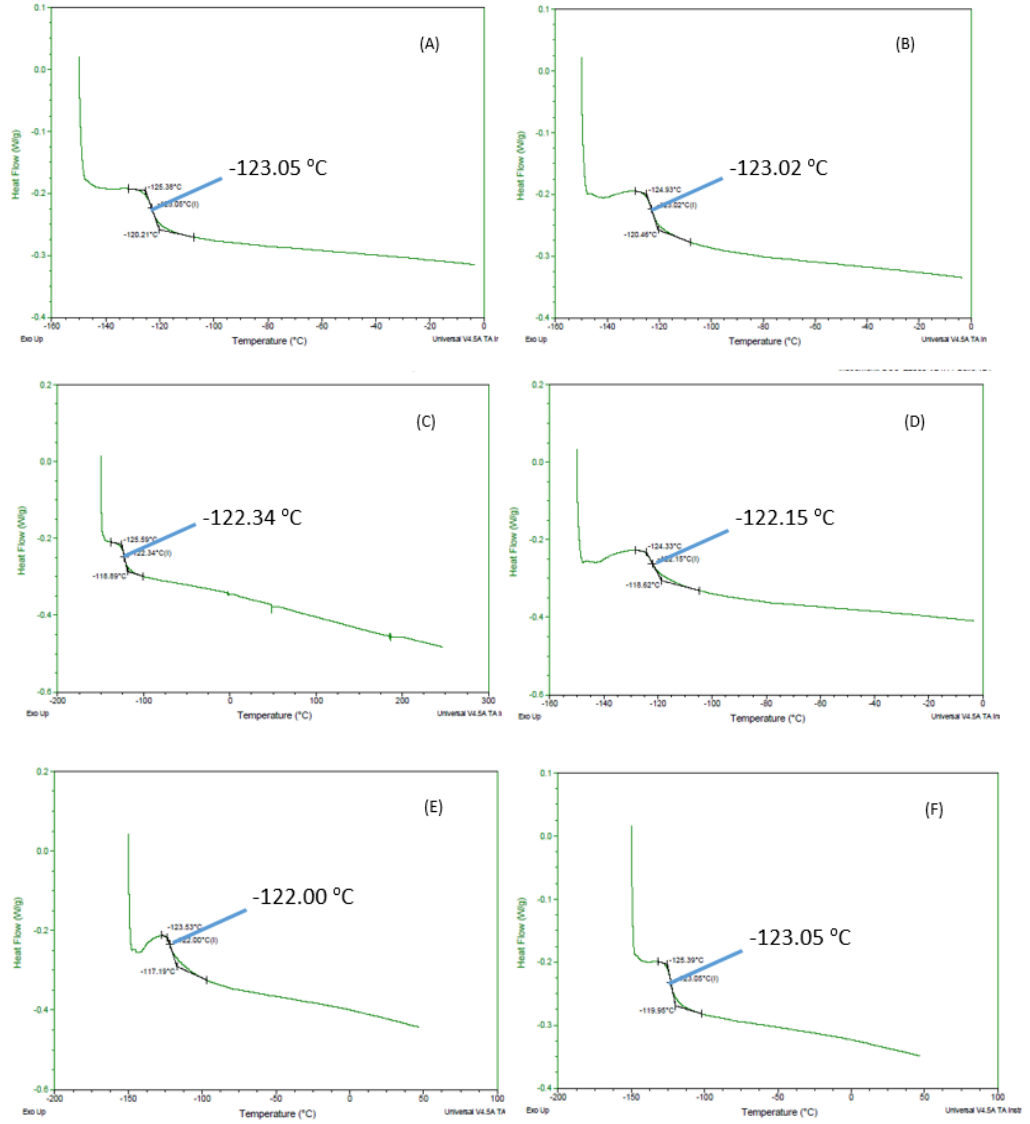
Şekil 4.7.'de sterilizasyon uygulamaları ardından örneklerin FTIR spektrumları sunulmuştur. Spektrumlar incelendiğinde, farklı sterilizasyon uygulamaları ardından aynı dalga boylarında benzer pikler verildiği

gözlemlenmiştir. Daha önceden yapılmış çalışmalarda elde edilen değerlerde, PDMS örneklerine ait FTIR spektrumlarında majör pik olarak görülen 2950 cm^{-1} elde edilen pikler C-H bağlarına, 1400 ile 1600 cm^{-1} dalga boyundaki pikler Si-CH bağlarına, 1000 cm^{-1} dalga boyu civarında elde edilen pikler Si-O-Si bağlarına, 875 cm^{-1} dalga boyunda pikler Si-O bağlarına, 800 cm^{-1} dalga boyu civarındaki Si-CH₃ bağlarına ait olan piklerdir. Ayrıca, 3000 ile 4000 – cm^{-1} dalga boyları arasında O-H bağlarına ait pikler gözlenir ve bu pikler örneğin içerisinde var olan nemin göstergesidir (Hanoosh and Abdelrazaq, 2009; Mata et al., 2005; Cai et al., 2010).

Literatürde yer alan bir çalışmada, PDMS mikrokanağını sistein amino asidi ile modifikasyona uğrattırıp altın nanopartikül ile kaplanan kanalda dopamin ve histidin gibi aminoasitlerinin ayırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda, kanalların modifikasyonunun aminoasitlerin ayırma işlemleri açısından iyi stabilite sağladığı yönünde sonuçlar elde edilmiştir (Wang et al., 2007). Başka bir çalışmada, Zhang et al. (2009), PDMS mikroçiplerin kanallarının PEG ile etkileşiminin protein adsorpsiyonunu artırdığı ve uzun süre yüzey stabilitesinin korunduğu gösterilmiştir.

Bu tez çalışmasında, PDMS mikroçiplere uygulanan sterilizasyon yöntemlerinin malzemenin moleküler yapısında önemli değişikliğe neden olmaması, mikrokanaalarda gerçekleştirilen hidroliz, sentez (polimerizasyon) ve yüzey modifikasyon uygulamaları açısından büyük avantaj sağlayacaktır.

4.2.2.2. Differansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizi



Şekil 4.8. DSC termogramı (A) sterilizasyon işlemi görmemiş PDMS mikroçip, Süperkritik ScCO₂ sterilizasyonu (B) 80 bar, (C) etilen oksit sterilizasyonu, (D) hidrojen peroksit sterilizasyonu, (E) ısı sterilizasyonu ve (F) UV sterilizasyonu

Şekil 4.8.'de işlem görmemiş PDMS mikroçipleri ile sterilizasyona tabi tutulmuş PDMS mikroçiplerin camı geçiş sıcaklık değerleri (T_g) DSC termogramlarında sunulmuştur. PDMS yarı kristalinite özelliği gösteren ve yapısında bulunan polisiloksan bağlarının düşük sıcaklıklarda bağ yapısında esneklik sağlaması nedeniyle oldukça düşük camı geçiş sıcaklığına sahiptir.

PDMS'in literatürde camsı geçiş sıcaklığı 150 K olarak belirtilmiştir (Kuo, 1999; Brom et al., 2004; Shemella et al., 2011).

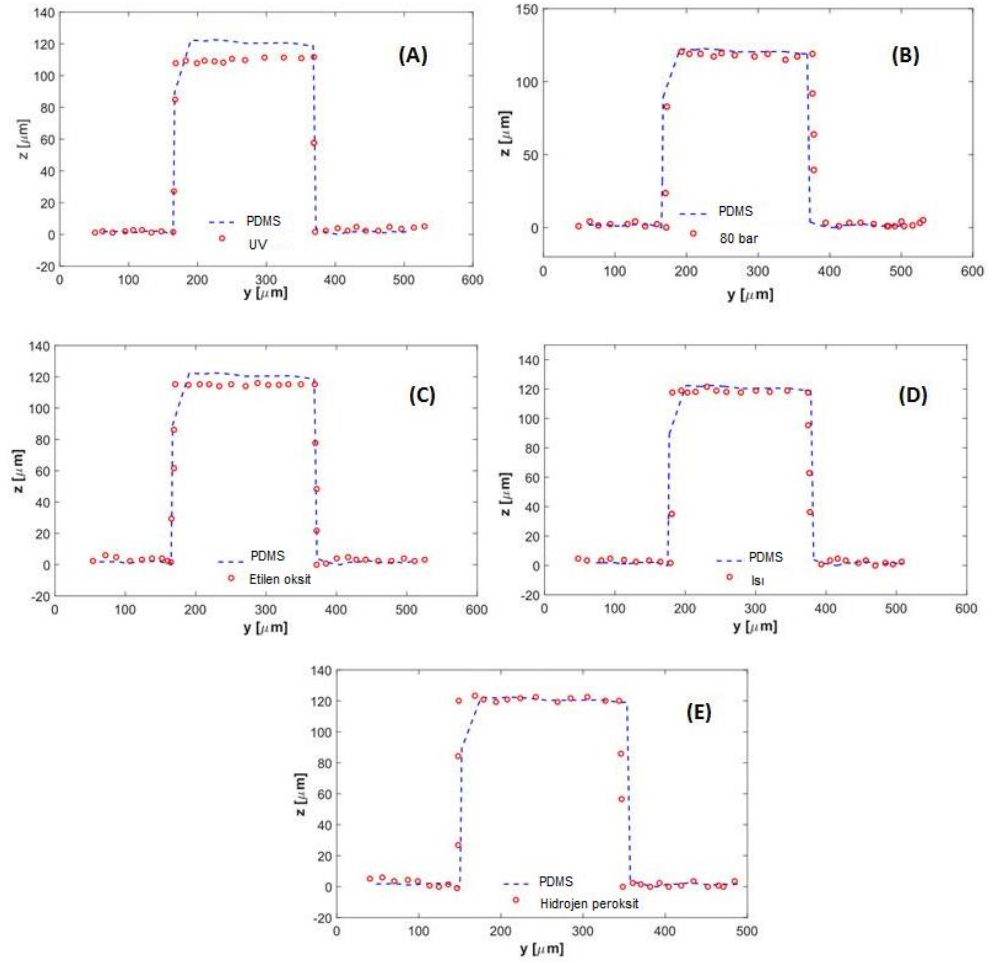
Standart sterilizasyon yöntemlerinin (UV, ısı, hidrojen peroksit ve etilen oksit) ve süperkritik CO₂ sterilizasyonunun uygulandığı örnekler saf PDMS örneğiyle camsı geçiş sıcaklığı açısından karşılaştırıldığında önemli bir değişim olmadığı ortaya konulmuştur (Şekil 4.8.).

PDMS polimerinin bir solvent ile etkileşiminde, şişme derecesi arttıkça polimerin kristalinitesinin azaldığı belirtilmiştir. Bu duruma, bağlararası bozunmanın ve Gibbs serbest enerjisinin azalmasının etkisinin olduğunu düşünülmektedir (Yang et al., 2000).

DSC analizi sonucunda, sterilizasyon uygulamaları ardından PDMS polimerinin Tg sıcaklıklarında işlem görmemiş örnek ile aynı değerlere sahip olması molekül zincir yapılarında değişimin olmadığını göstermektedir. Bu sonuç doğrultusunda, PDMS'in yüksek sıcaklık uygulamalarında kullanımının çok uygun olmayacağı öngörülmektedir.

PDMS'in dışında düşük camsı geçiş sıcaklığına sahip diğer bir polimer olan OSTE, İsveç Kraliyet Teknoloji Enstitüsü Polimer Bölümü tarafından geliştirilmiş olup biyouyumlu, kimyasal olarak inert bir polimerdir. OSTE, düşük solvent dirençliliği göstermesi ve örneklerle düşük oranda etkileşimde olması uygulamalar açısından önemli avantajlar sağlamaktadır. Ancak, Tg değerinin 50°C civarında olmasından ötürü polimeraz zincir reaksiyonu gibi yüksek sıcaklık uygulamaları için özel modifikasyonlar (polimerin içeriğine yeni bir monomer eklenmesi gibi) gerektirmektedir (Carlborg et al., 2011). Bu yaklaşım, gerekli görüldüğünde PDMS polimeri için de uygulanabilir.

4.2.2.3. Kanal profili analizi



Şekil 4.9. Kanal profillerine ait grafikler (A) İşlem görmemiş PDMS ile UV sterilizasyonuna tabi tutulmuş örneğin karşılaştırılması, (B) İşlem görmemiş PDMS ile Süperkritik ScCO_2 sterilizasyonuna tabi tutulmuş örneğin karşılaştırılması, (C) İşlem görmemiş PDMS ile etilen oksit sterilizasyonuna tabi tutulmuş örneğin karşılaştırılması, (D) İşlem görmemiş PDMS ile ısı sterilizasyonuna tabi tutulmuş örneğin karşılaştırılması, (E) İşlem görmemiş PDMS ile hidrojen peroksit sterilizasyonuna tabi tutulmuş örneğin karşılaştırılması

Şekil 4.9.'daki kanal profili analizi için saf PDMS, UV, ısı, süperkritik CO_2 , etilen oksit ve hidrojen peroksit örnekleri kullanılmıştır. UV, süperkritik CO_2 , etilen oksit ve ısı uygulamalarının mikroçiplerin kanal profillerine negatif etki gösterdiği saptanmış olup kanal yüksekliğinde sırasıyla %8, %2, %5 ve %1'lik sapmalar meydana gelmiştir. Hidrojen peroksit uygulamasının mikrokanal profilinde sapmaya neden olmadığı tespit edilmiştir.

Literatürde, Lima et al. (2008) yaptığı çalışmada mikrokanallarda mikrosirkülasyon denemeleri ile mikrodamarlardaki kan akışını anlamaya çalışmıştır. Çalışmada, PDMS mikrokanallarda gerçekleştirilen farklı akış hızı denemelerinin kanal profilinin akışa doğrudan etkisinin olduğu görülmüştür. Başka bir çalışmada, kanal profilindeki değişimlerin kanal içindeki akış hızının profilini asimetrik şekilde etkilediği belirtilmiştir (Yasuda et al., 2005).

Hidrojen peroksit uygulaması dışındaki diğer sterilizasyon uygulamalarının kanal profilinde negatif etkiler oluşturması bu mikroçipler ile gerçekleştirilecek çalışmaları olumsuz etkileyecektir.

5.SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması kapsamında, süperkritik karbondioksit sterilizasyonun ve standart sterilizasyon metotlarının PMMA ve PDMS mikroçiplerin materyal karakteristiklerinde muhtemel değişimlerin olup olmadığı gösterilmiştir (Çizelge 5.1.). Bunun yanında, PMMA ve PDMS mikroçiplerin süperkritik karbondioksit sterilizasyonu optimasyonu için denemeleri yapılmış ve sterilitenin sağlandığı koşul değerleri 120 bar, 40°C, 60 dakika ve 80 bar, 40°C, 30 dakika olarak elde edilmiştir.

Çizelge 5.1. PMMA ve PDMS mikroçiplerin uygulanan sterilizasyon yöntemleri ve elde edilen analiz sonuçları açısından genel değerlendirmesi (- negatif bir etki, + negatif bir etkinin gözlenmediği anlamında)

	PMMA mikroçiplerin materyal analizleri				PDMS mikroçiplerin materyal analizleri		
Sterilizasyon yöntemi	SEM	FTIR	DSC	Kanal profili/ Yüzey pürüzlülüğü	FTIR	DSC	Kanal profili
ScCO ₂	+	+	+	-/-	+	+	-
UV	-	+	+	-/+	+	+	-
Isı	-	+	+	ölçüm yok/+	+	+	-
EtoH	+	+	+	+/+	+	+	-
H ₂ O ₂	+	+	+	+/+	+	+	+

PMMA mikroçiplerin SEM, FTIR ve DSC analizlerinde polimerin ana özellikleri ile ilgili olarak negatif bir etki oluşmadığı gözlemlenmiştir. Ancak, kanal profili açısından negatif etkilerin olduğu görülmüştür. Bunun yanı sıra, kimyasal sterilizasyon yöntemleri olan etilen oksit ve hidrojen peroksit sterilizasyon uygulamalarında gözle görülür herhangi bir değişim meydana gelmemişken, ısı sterilizasyonu

sonucunda gözle görülür bir şekilde opaklaşma meydana geldiği görülmüştür. Bu sonuç göz önünde bulundurulduğunda, optik görüntüleme esaslı deteksiyon çalışmaları için dezavantaj oluşturabileceği öngörülmektedir.

PDMS mikroçiplerin FTIR ve DSC analizlerinde polimerin ana materyal karakteristikleri ile ilgili olarak negatif sonuçlar elde edilmemiştir. Ancak, yüksek basınç ve sıcaklık uygulamalarında ve ısı sterilizasyonu uygulamalarında polimerde şişme etkisi gözle görülür bir şekilde fark edilmiştir. Bu etki, kanal profilini doğrudan olumsuz etkilemektedir.

FTIR ve DSC analizlerinde, polimerlerin moleküler yapılarında değişim olmaması PMMA ve PDMS mikroçiplerin kataliz reaksiyonlarında, yüzey modifikasyon uygulamalarında ve biyolojik bileşenlerin ayırma-dedeksiyon denemelerinde önemli avantaj sağlamaktadır.

Yüzey pürüzlülüğü ve kanal profilleri sonuçlarına bakıldığında, PMMA mikroçiplerin yüzey pürüzlülüğünün sterilizasyon yöntemleri uygulanması ile düşürülmüş olup uygulamalar açısından avantaj sağlamaktadır. PMMA ve PDMS mikroçiplerin kanal profillerine bakıldığında, negatif etkiler gözlemlenmiş olup mikrokanallar gerçekleştirilecek olan enzimatik reaksiyon ve kinetik çalışmalarına, kanal içinde akış hızı denemelerine ve biyolojik bileşenlerin ayırma dedeksiyon denemelerine olumsuz etkisi olacaktır.

Sterilizasyon uygulamalarında mikroçiplerin kanal profillerini dayanıklı hale getirmek ve uygulamalara karşı daha dayanıklı polimerler elde etmek için polimerlerin yüzeylerinde modifikasyonlar yapılması ya da uygulamalarda çeşitli modifikasyonlara gidilerek malzeme açısından minimum deformasyonun oluşması sağlanabilir.

Tüm sterilizasyon uygulamalarının sonuçları göz önüne alındığında bu çalışmanın yeniliği, her bir yöntemin maliyeti, uygulama süresi, toksik etki gösterip göstermemesi gibi özelliklerinin ele alınarak kendi içinde güçlü ve zayıf yönlerinin olduğu ortaya konulmuş olmasıdır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Ali, J. E., Sorger, P. K. and Jensen, K. F.**, 2006, Cells on chips, *Nature*, 442:403-411 pp.
- Apaydın, E.**, 2009, Microfabrication Techniques For Printing On Pdms Elastomers For Antenna And Biomedical Applications, Doctoral thesis, Ohio state University, America, 145 pp.
- Artemenko, A., Kylian, O., Choukourov, A., Gordeev, I., Prtr, M., Vandrovcova, M., Polonskyi, O., Bacakova, L., Slavinska, D. and Biedeman, H.**, 2012, Effect of sterilization procedures on properties of plasma polymers relevant to biomedical applications, *Thin Solid Films*, 520:7115–7124 pp.
- Assmann, N., Kaiser, S., Rohr and P. R.**, 2012, Supercritical extraction of vanillin in a microfluidic device, *Journal of Supercritical Fluids*, 67:149–154 pp.
- Bayraktar, Z. ve Kiran, E.**, 2008, Gradient blending of poly(dimethylsiloxane) with polystyrene and polyethylene in supercritical carbon dioxide, *Journal of Supercritical Fluids*, 44:48–61 pp.
- Baraket, A., Zine, N., Lee, M., Bausells, J., Jaffrezic-Renault, N., Bessueille, F., Yaakoubi, N. and Errachid, A.**, 2013, Development of a flexible microfluidic system based on a simple and reproducible sealing process between polymers and poly(dimethylsiloxane), *Microelectronic Engineering*, 111:332–338 pp.
- Becker, H. and Heim, U.**, 2000, Hot embossing as a method for the fabrication of polymer high aspect ratio structures, *Sensors and Actuators A: Physical*, 83(1-3) : 130-135 pp.
- Becker, H. and Gartner, C.**, 2008, Polymer Microfabrication Technologies For Microfluidic Systems, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 390: 89-111 pp.
- Benson, R.B.**, 2002, Use of radiation in biomaterials science, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 191:752–757 pp.
- Brandner, J.J.**, 2007, Fabrication of Microreactors Made from metals and ceramics, *Microreactors in Organic Synthesis and catalysis*, ed. By thomas Wirth, Chapter 1, 1-17 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Brom, H. B., Romijn, I. G., Kamerlingh, J. G. M., Vleuten, M. V.D. and Michels, M.A.J.,** 2004, Ageing effects around the glass and melting transitions in poly(dimethylsiloxane) visualized by resistance measurements, *Applied Physical Letter*, 85: 570-574 pp.
- Cai, D., Neeyer, A., Kuckuk, R., Heise and H. M.,** 2010, Raman, mid-infrared, near-infrared and ultraviolet–visible spectroscopy of PDMS silicone rubber for characterization of polymer optical waveguide materials, *Journal of Molecular Structure*, 976:274–281 pp.
- Castor, T. P. and Hong, G. T.,** 1991, Critical fluid disruption of microbial cells, in: M. Mc Hugh (Ed.), *Proceedings 2nd International Symposium on Supercritical Fluids*, 139–142 pp.
- Checinska, A., Fruth, I. A., Green, T. L., Crawford, R. L. and Paszczynski, A. J.,** 2011, Sterilization of biological pathogens using supercritical fluid carbon dioxide containing water and hydrogen peroxide, *Journal Microbiological Methods*, 87:70–75 pp.
- Chen, Y., Duan, H., Zhang, L. and Chen, G.,** 2008, Fabrication of PMMA CE microchips by infrared-assisted polymerization, *Electrophoresis*, 29-24: 4922-4929 pp.
- Chin, C. D., Linder, V. and Sia, S. K.,** 2012, Commercialization of microfluidic point-of-care diagnostic devices, *Lab Chip*, 12:2118-2134 pp.
- Corcione, C. E. and Frigione, M.,** 2012, Characterization of Nanocomposites by Thermal Analysis, *Materials*, 5: 2960-2980 pp
- Deniz, S., Baran, N., Akgün, M., Akgün, N. A. and Dinçer, S.,** 2004, Synthesis and Characterization of Block Copolymers Using Polysiloxane Based Macroazoinitiator, *Turkish Journal of Chemistry*, 28: 645-657pp.
- Draenert, G.F. and Delius, M.,** 2007, The mechanically stable steam sterilization of bone grafts, *Biomaterials*, 28:1531–1538 pp.
- Dutse, S. W. and Yusof, N. A.,** 2011, Microfluidics-Based-Lab-on-chip systems in DNA-based biosensing: an overview, *Sensors*, 11:5754-5768 pp.
- Emmons, E. D., Kraus, R. G., Duvvuri, S. S., Thompson, J. S. and Covington, A. M.,** 2007, High-pressure infrared absorption spectroscopy of Poly(Methyl Methacrylate), *Journal Polymer Science Part B Polymer Physics*, 45:358-367 pp.
- Farid, O. M.,** 2010, Investigating membrane selectivity based on polymer swelling, Doctoral Thesis, University of Nottingham, UK, 246 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Garcia, C. D., Chumbimuni-Torres, K. Y. and Carrilho, E.,** 2013, Capillary Electrophoresis and Microchip capillary Electrophoresis, *Wiley*.
- Gatica, N. H., Jones, G. L. and Gardella, J. A.,** 1993, Surface characterization of titanium alloys sterilized for biomedical applications, *Applied Surface Science*, 68:107–121 pp.
- Guillaumenta, R., Erriguiblea, A., Aymonier, C., Marreb, S. and Subra-Paternault, P.,** 2013, Numerical simulation of dripping and jetting in supercritical fluids/liquid micro coflows, *Journal of Supercritical Fluids*, 81:15– 22 pp.
- Haeberle, S. and Zengerle, R.,** 2007, Microfluidic platforms for lab-on-a-chip applications, *Lab Chip*, 7:1094-1110 pp.
- Handa, Y.P., Kruus, P. and O'Neill, M.,** 1996, High-pressure calorimetric study of plasticization of poly(methyl methacrylate) by methane, ethylene, and carbon dioxide, *Journal of Polymer Science, Part B Polymer Physics*, 34:2635-2639 pp.
- Hanoosh, W. S. and Abdelrazaq, E. M.,** 2009, Polydimethyl Siloxane Toughened Epoxy Resins: Tensile Strength and Dynamic Mechanical Analysis, *Malaysian Polymer Journal*, 4:52-61 pp.
- Haris, M. R. H., Kathiresan, S. and Mohan, S.,** 2010, FT-IR and FT-Raman spectra and normal coordinate analysis of polymethylmethacrylate, *Der Pharma Chemica* 2, 4:316-323 pp.
- Haswell, S. J. and Skelton, V.,** 2000, Chemical and biochemical microreactors, *Trends Analytical Chemistry*, 19, 389–395 pp.
- Hossain, S., Rahman, N. N., Balakrishnan, V., Rajinon, Z. A. and Kadir, M. O.,** 2015, Mathematical modeling of *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, and *Bacillus sphaericus* inactivation in infectious clinical solid waste by using steam autoclaving and supercritical fluid carbon dioxide sterilization, *Chemical Engineering Journal*, 267:221–234 pp.
- Hsiao, C. Y., Liu, S. J., Ueng, S. W. and Chan, E.,** 2012, The influence of γ irradiation and ethylene oxide treatment on the release characteristics of biodegradable poly(lactide-co-glycolide) composites, *Polymer Degradation and Stability*, 97:715–720 pp.
- Huang, Y., Liy, S, Yang, W. and Yu, C.,** 2010, Surface, Roughness Analysis and Improvement of PMMA-Based Microfluidic Chip Chambers by CO₂ Laser Cutting, *Applied Surface Science*, 256(6): 1675-1678 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Huth, F., Govyadinov, A., Amarie, S., Nuansing, W., Keilmann, F. and Hillenbrand, R.,** 2012, Nano-FTIR Absorption of Molecular Fingerprints at 20 nm Spatial Resolution, *Nano Letters*, 12:3973-3978 pp.
- Iwaguch, S., Matsumura, K., Tokuoka, Y., Wakui, S. and Kawashima, N.,** 2002, Sterilization system using microwave and UV light, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 25:299–304 pp.
- Jähnisch, K., Hessel, V., Löwe, H. and Baerns, M.,** 2004, Chemistry in microstructured reactors, *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 43, 406–46 pp.
- Joenig, J. L.,** 2001, Infrared and Raman spectroscopy of polymers, *Rapra review reports*, 12-2: 6-27 pp.
- Kerby, M. B., Legge, R. S. and Tripathi, A.,** 2006, Measurements of kinetic parameters in a microfluidic reactor, *Analitical Chemistry*, 78, 8273–80 pp.
- Kim, M., Moon, B. U. and Hidrovo, C. H.,** 2013, Enhancement of the thermo-mechanical properties of PDMS molds for the hot embossing of PMMA microfluidic devices, *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 23: 1-10 .pp
- Kirchner, P., Oberlander, J., Suso, H. P., Rysstad, G., Keusgen, M. and Schöning, M.J.,** 2013, Monitoring the microbicidal effectiveness of gaseous hydrogen peroxide in sterilization processes by means of a calorimetric gas sensor, *Food Control*, 31:530-538 pp.
- Kitazaki, S., Tanaka, A. and Hayashi, N.,** 2014, Sterilization of narrow tube inner surface using discharge plasma, ozone, and UV light irradiation, *Vacuum*, 1-4 pp.
- Koska, A. K.,** Injection molding of polymeric microfluidic devices, M.S. Thesis, Bilkent University, Ankara, Turkey; 2013.
- Krishnan, H.,** 2012, Feasibility Study of Using PDMS as an Alternate Transmittance Cell Kit in an FTIR Spectrometer, Master thesis, Concordia University, Canada, 123 pp.
- Kuo, A.C.M.,** 1999, Poly(dimethylsiloxane), Polymer Data Handbook, Oxford University Press Inc., 411-435 pp.
- Lau, W.L., Reizes, J., Timchenko, V., Kara, S. and Kornfeld, B.,** 2015, Heat and mass transfer model to predict the operational performance of a steam sterilisation autoclave including products, *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 90:800–811 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lee, W. G., Kim, Y. G., Chung, B. G., Demirci, U. and Khademhosseini, A.,** 2010, Nano/Microfluidics for Diagnosis of infectious diseases in developing countries, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62:449-457 pp.
- Lee, J. N., Park, C. and Whitesides, G. M.,** 2003, Solvent Compatibility of Poly(dimethylsiloxane)-Based Microfluidic Devices, *Analytical Chemistry*, 75: 6544-6554 pp.
- Li, L., Mak, K. Y., Shi, J., Leung, C. H., Wong, C. M., Leung, C. W., Mak, C. S. K., Chan, K. Y., Chan, N. M. M., Wu, E. X. and Pong, P.W. T.,** 2013, Sterilization on dextran-coated iron oxide nanoparticles: Effects of autoclaving, filtration, UV irradiation, and ethanol treatment, *Microelectronic Engineering*, 111:310–313 pp.
- Lima, R., Wada, S., Tanaka, S., Takeda, M., Ishikawa, T., Tsubota, K., Imai, Y. and Yamaguchi, T.,** 2008, In vitro blood flow in a rectangular PDMS microchannel: experimental observations using a confocal micro-PIV system, *Biomedical Microdevices*, 10-2: 153-167 pp.
- Liu, J., Pan, T., Woolley, A. T. and Lee, M. L,** 2004, Surface-modified poly(methyl methacrylate) capillary electrophoresis microchips for protein and peptide analysis, *Analytical Chemistry*, 76-23: 6948-6958 pp.
- Luthera, S. K., Schustera, J. J., Leipertza, A. and Braeuera, A.,** 2013, Microfluidic investigation into mass transfer in compressible multi-phase systems composed of oil, water and carbon dioxide at elevated pressure, *Journal of Supercritical Fluids*, 84:121–131 pp.
- Mark, D., Stetten, F. V. and Zengerle, R.,** 2012, Microfluidic Apps for off-the-shelf instruments, *Lab Chip*, 12: 2464-2468 pp.
- Marre, S., Roig, Y. and Aymonier, C.,** 2012, Supercritical microfluidics: Opportunities in flow-through chemistry and materials science, *Journal of Supercritical Fluids*, 66:251– 264 pp.
- Mata, A., Fleischman, A. and Roy, S.,** 2005, Characterization of Polydimethylsiloxane (PDMS) Properties for Biomedical Micro/Nanosystems, *Biomedical Microdevices*, 7:281–293 pp.
- McCreedy, T.,** 2000, Fabrication techniques and materials commonly used for the production of microreactors and micro total analytical systems, *Trends in Analytical Chemistry*, 19(6):396-401 pp.
- Mendes, G., Brandao, T. and Silva, C.,** 2007, Ethylene oxide sterilization of medical devices: A review, *American Journal of Infection Control*, 35:574–581 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Moorthy, J. and Beebe, D.J.**, 2003, In situ fabricated porous filters for microsystems, *Lab Chip*, 3:62–66 pp.
- Moraes, M. A., Weska, R. F. and Beppu, M. M.**, 2013, Effects of sterilization methods on the physical, chemical, and biological properties of silk fibroin membranes, *Journal of Biomedical Materials Research Part B Applied Biomaterials*, 102:869-876 pp.
- Nakamura, K., Enomoto, A., Fukushima, H., Nagai, K. and Hakoda, M.**, 1994, Disruption of microbial cells by the flash discharge of high-pressure carbon dioxide, *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, 58:1297–1301 pp.
- Nikcevic, I., Lee, S. H., Piruska, A., Ahn, C. H., Ridgway, T. H., Limbach, P. A., Wehmeyer, K. R., Heineman, W. R. and Seliskar, C. J.**, 2007, Characterization and performance of injection molded poly(methylmethacrylate) microchips for capillary electrophoresis, *Journal of Chromatography*, 22: 444–453pp.
- Ogden, S.**, 2013, High-pressure Microfluidics, Doctoral Thesis, Uppsala university, Sweden, 54 pp.
- Ogilvie, I. G., Sieben, V. J., Floquet, C. F., Zmijan, R., Mowlem, M. C. and Morgan, H.**, 2010, Reduction of surface roughness for optical quality microfluidic devices in PMMA and COC, *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 20: 6-10 pp.
- Ortuno, C., Pastor, M. T., Mulet, A. and Benedito, J.**, 2012, Supercritical carbon dioxide inactivation of *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae* in different growth stages, *The Journal of Supercritical Fluids*, 63:8–15 pp.
- Pashkuleva, I., Marques, A. P., Vaz, F. and Reis, R. L.**, 2010, Surface modification of starch based biomaterials by oxygen plasma or UV-irradiation, *Journal of Mater Science: Mater Med*, 21:21–32 pp.
- Pasquali, I., Andanson, J. M., Kazarian, S. G. and Bettini, R.**, 2008, Measurement of CO₂ sorption and PEG 1500 swelling by ATR-IR spectroscopy, *Journal of Supercritical Fluids*, 45:384–390 pp.
- Ratcharaka, O. and Sane, A.**, 2014, Surface coating with poly(trifluoroethyl methacrylate) through rapid expansion of supercritical CO₂ solutions, *Journal of Supercritical Fluids*, 89:106–112 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Riau, A. K., Mondal, D., Yam, G. H. F., Setiawan, M., Liedberg, B., Venkatraman, S. S. and Mehta, J. S.,** 2015, Surface Modification of PMMA to Improve Adhesion to Corneal Substitutes in a Synthetic Core–Skirt Keratoprosthesis, *Applied Materials Interfaces*, 7 (39): 21690–21702 pp.
- Rogers, W.J.,** 2012, Steam and dry heat sterilization of biomaterials and medical devices, *Biomaterials*, 20–55 pp.
- Röttning, O., Röpke, W., Becker, H. and Gartner, C.,** 2002, Polymer Microfabrication Technologies, *Microsystem Technologies*, 8:32-36 pp.
- Qiu, J. D., Wang, L., Liang, R. P. and Wang, J. W.,** 2009, Microchip CE analysis of amino acids on a titanium dioxide nanoparticles-coated PDMS microfluidic device with in-channel indirect amperometric detection, *Electrophoresis*, 30-19: 3472-3481 pp.
- Sahare, P., Ayala, M., Vazquez-Duhalt, R. and Agrawal, V.,** 2014, Immobilization of peroxidase enzyme onto the porous silicon structure for enhancing its activity and stability, *Nanoscale Resource Letters*, 9:409-418 pp.
- Sahay, B. M., Dahake, S., Mendiratta, D. K., Deotale, V., Premendran, B., Dhande, P. S. and Narang, P.,** 2010, Bacteriological profile of epidural catheters, *JK Science Journal of Medical Education & Research*, 12:23-26 pp.
- Sandle, T.,** 2013, Steam sterilisation, *Sterility, Sterilisation and Sterility Assurance for Pharmaceuticals*, 93–109 pp.
- Shemella, P. T., Laino, T., Fritz, O. and Curioni, A.,** 2011, Molecular Motion of Amorphous Silicone Polymers, *The journal of Physical Chemistry*, 115:2831-2835 pp.
- Sia, S. K. and Kricka, L. J.,** 2008, Microfluidics and point of care testing, *Lab Chip*, 8:1982–1983 pp.
- Sticker, D., Rothbauer, M., Lechner, S., Hehenberger, M. T. and Ertl, P.,** 2015, Multi-layered, membrane-integrated microfluidics based on replica molding of a thiol–ene epoxy thermoset for organ-on-a-chip applications, *Lab Chip*, DOI: 10.1039/c5lc01028d.
- Tana, H.Y., Lokea, W.K. and Nguyenb, N.T.,** 2010, A reliable method for bonding polydimethylsiloxane (PDMS) to polymethylmethacrylate (PMMA) and its application in micropumps, *Sensors and Actuators B*, 151:133–139 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Tiggelaar, R. M., Lopez, F. B., Hermes, D. C., Rathgen, H., Egberink, R. J., Mugele, F. G., Reinhoudt, D. N. and Berg, A.,** 2007, Fabrication, mechanical testing and application of high-pressure glass microreactor chips, *Chemical Engineering*, 131:163–170 pp.
- Toh, A. G. G., Wang, Z. F. and Ng, S. H.,** 2008, Fabrication of Embedded Microvalve on PMMA Microfluidic Devices through Surface Functionalization, *MEMS congress*, 9-11 April, Institute of Manufacturing Technology, Singapore
- Tsao, C. W., Hromada, L., Liu, J., Kumar, P. and DeVoe, D. L.,** 2007, Low temperature bonding of PMMA and COC microfluidic substrates using UV/ozone surface treatment, *Lab Chip*, 7: 499–505 pp.
- Uosaki, Y. and Moriyoshi, T.,** 1999, Glass transition behaviour of poly(methyl metacrylate) in compressed gases, in: M.H. Manghnani, W.J. Nellis, M.F. Nicol (Eds.), *Science and Technology of High Pressure: Proceedings of the AIRAPT-17*, Honolulu, Hawaii, 2:818- 821 pp.
- Wang, W., Zhao, L., Zhou, F., Zhu, J. J. and Zhang, J. R.,** 2007, Electroosmotic flow-switchable poly(dimethylsiloxane) microfluidic channel modified with cysteine based on gold nanoparticles, *Talanta*, 73-3: 534-539 pp.
- White, A., Burns, D. and Christensen, T. W.,** 2006, Effective terminal sterilization using supercritical carbon dioxide, *Journal of Biotechnology*, 123:504-515 pp.
- Whitesides, G. M.,** 2006, The origins and the future of microfluidics, *Nature*, 442:368-373 pp.
- Vargün, E.,** 2009, Living Radical Polymerization Of Hydroxyethyl Methacrylate And its Block Copolymerization With Poly(Dimethyl Siloxane) Macroazoinitiator, Doctorate Thesis, Department of Polymer Science and Technology, Middle East Technical University, Ankara
- Yang, H., Nguyen, Q. T., Ding, Y. D., Long, Y.C. and Ping, Z.,** 2000, Investigation of poly(dimethyl siloxane) (PDMS)–solvent interactions by DSC, *Journal of Membrane Science*, 164: 37-43 pp.
- Yamada, R., Suzuki, Y., Yasuda, M. and Ogino, H.,** 2015, Immobilization of proteins on synthetic resins using supercritical, *The Journal of Supercritical Fluids*, in press.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Yasuda, K., Sugiura, Y. and Mori, N.,** 2006, Direct measurements of velocity profiles in flows of polymer solutions through a rectangular microchanner with a PDMS surface, *Journal of the society of Rheology*, 34-1: 41-45 pp.
- Yesil-Celiktas, O.,** 2014, Patenting trends in enzyme related microfluidic applications, *Biochemical Engineering*, 92:53-62 pp.
- Yetisen, A. K., Akram, M. S. and Lowe, C. R.,** 2013, Paper-based microfluidic point-of-care diagnostic devices, *Lab Chip*, 13:2210-2251 pp.
- Zhang, J., Davis, T. A., Matthews, M. A., Drews, M. J., LaBerge, M. and An, Y. H.,** 2006, Sterilization using high-pressure carbon dioxide, *Journal of Supercritical Fluids*,38:354–372 pp.
- Zhang, Z., Feng, X., Luo, Q. and Liu, B. F.,** 2009, Environmentally friendly surface modification of PDMS using PEG polymer brush, *Electrophoresis*, 30-18: 3174-3180pp.
- Ziaie, B.,** 2004, Hard and soft micromachining for BioMEMS: review of techniques and examples of applications in microfluidics and drug delivery, *Advanced Drug Delivery Review*,56, 145–172 pp.

ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Zonguldak’da doğan Cansu YAVUZ ilk ve ortaöğrenimini Zonguldak’ta tamamladı ve 2008 yılında Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomühendislik Bölümü’nde başladığı lisans öğrenimini 2012 yılında tamamladı. Ardından Ege Ünivesitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik ABD’nda yüksek lisans öğrenimine başladı.

İndekslerce Taranan Dergilerdeki Yayınları

Yavuz C., Oliaei S.N.B., Cetin B., Yesil-Celiktas O. (2016) Sterilization of PMMA microfluidics chips by various techniques and investigation of material characteristics. Journal of Supercritical Fluids, 107, 114-121.

Uluslar Arası Toplantılarda Sunulan Bildiriler

Yavuz C., Cetin B., Yesil-Celiktas O., Sterilization of microchips for biomedical applications, 2nd Novel Fluidic Technologies and Applications Workshop, 9-10 April, 2015, İzmir, Turkey, Sözlü Bildiri.

Yavuz C., Cetin B., Yesil-Celiktas O., Sterilization requirements of microchips by fabricated different materials, Novel Fluidic technologies and applications with an emphasis on collaboration, 21-22 April, 2014, İzmir, Turkey, Poster Bildirisi.

Mesleki Faaliyetler

2nd Novel Fluidic Technologies and Applications Workshop, 9-10 April, 2015, İzmir, Turkey, Organizasyon Komitesi Üyesi

Novel Fluidic Technologies and Applications with an Emphasis on Collaboration Workshop, 21-22 April, 2014, İzmir, Turkey, Organizasyon Komitesi Üyesi

Araştırma Projeleri,

BAP, 14-MÜH-045. Farklı Materyallerden Yapılmış Mikroreaktörlerin Sterilizasyon Gereksinimleri, Araştırmacı, 2014-2015.

TUBİTAK, 113M050, Mikroakışkan sistemlerde sol-gel teknolojisi odaklı enzimatik tepkimeler: deneysel çalışma ve model geliştirme, Bursiyer, 2013-2014.

BAP, 11-MÜH-063. *Coniothyrium fuckelii* suşu ile katı kültür ortamında kolesterol ilaç etken maddesi lovastatin üretimi ve optimizasyonu, Araştırmacı, 2011-2012.