



**T. C.
SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**LANGMUIR BLODGETT TEKNİĞİ İLE
LİPOZOMAL SİSTEMİ OLUŞTURAN BİLEŞİKLERİN
YÜZEY BASINCI TEK TABAKA ALAN İZOTERMLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Esra KAYAŞ

(20189211002)

Biyomühendislik Ana Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Uğur SALGIN

SİVAS

ŞUBAT 2022

Esra KAYAŞ'ın hazırladığı ve “**LANGMUIR BLODGETT TEKNİĞİ İLE LİPOZOMAL SİSTEMİ OLUŞTURAN BİLEŞİKLERİN YÜZEY BASINCI TEK TABAKA ALAN İZOTERMLERİ**” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı	Prof. Dr. Uğur SALGIN Sivas Cumhuriyet Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Dr. Öğr. Üyesi Onur DÖKER Mersin Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Dr. Öğr. Üyesi Nagihan SOYER Sivas Cumhuriyet Üniversitesi	

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Özlem Pelin CAN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 20.08.2014 tarihli ve 7 sayılı kararı ile kabul edilen Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırlanmıştır.





Bütün hakları saklıdır.

Kaynak göstermek koşuluyla alıntı ve gönderme yapılabilir.

© Esra KAYAŞ, 2022

ETİK

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tez Yazım Kılavuzu

(Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- ✓ Bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- ✓ Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- ✓ Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- ✓ Bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- ✓ Tezin herhangi bir bölümünü, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi veya bir başka üniversitede, bir başka tez çalışması olarak sunmadığımı; beyan ederim.

15.02.2022

Esra KAYAŞ

ÖZET

LANGMUIR BLODGETT TEKNİĞİ İLE LİPOZOMAL SİSTEMİ OLUŞTURAN BİLEŞİKLERİN YÜZEY BASINCI TEK TABAKA ALAN İZOTERMLERİ

Esra KAYAŞ

Yüksek Lisans Tezi

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Uğur SALGIN

2022, 55+xiv sayfa

Çalışmada lipozomal sistemlerin tek tabakasını için soya fasulyesinden izole edilmiş 1,2-Dipalmitoylsn-glycero-3-phosphocholine (DPPC) ve kolesterol (CHOL) bileşikleri model lipitsel materyal olarak kullanılmıştır. Susuz kloroform içinde çözülmüş olan DPPC ve CHOL'un tekli ve ikili sistemlerinden oluşan çözeltilerin Langmuir Blodgett tekniği ile yüzey basıncına karşı tek tabaka alan izotermi ölçülmüştür. Langmuir Blodgett sisteminde tek tabaka filmlerin oluşturulmasında alt faz olarak sodyum fosfat tamponu kullanılmıştır. Tampon üstüne eklenen lipidler homojen bir şekilde eklenmiş ve Tampon yüzeyine lipidler homojen bir şekilde eklenmiş ve Langmuir Blodgett sisteminde bariyerlerin sıkıştırılması sırasında istenilen yüzey basıncı (π) değerlerine karşılık gelen tek tabaka yüzey alanı (A) değerleri ölçülmüştür. DPPC ve CHOL'un saf ya da belli molar derişimdeki ikili çözeltilerinin ($\pi - A$) izoterm grafiğinden yararlanarak artık Gibbs serbest enerjisi (ΔG_{exc}) değerleri hesaplanmıştır

Anahtar kelimeler: Langmuir-Blodgett, Yüzey basıncı, Tek tabaka yüzey alanı, 1,2-Dipalmitoylsn-glycero-3-phosphocholine, Kolesterol

ABSTRACT

SURFACE PRESSURE MONOLAYER SURFACE AREA ISOTHERMS OF COMPOUNDS FORMING THE LIPOSOMAL SYSTEM WITH LANGMUIR-BLODGETT TECHNIQUE

Esra KAYAŞ

Master of Science Thesis

Department of Bioengineering

Supervisor: Prof. Dr. Uğur SALGIN

2022, 55+xiv pages

In the study, 1,2-Dipalmitoylsn-glycero-3-phosphocholine (DPPC) isolated from soybean and cholesterol (CHOL) were used as model lipid materials for the monolayer of liposomal systems. The isotherms of monolayer surface area versus surface pressure of solutions consisting of mono and binary systems of DPPC and CHOL dissolved in anhydrous chloroform were measured by Langmuir Blodgett technique. In the Langmuir Blodgett system, sodium phosphate buffer was used as the subphase for the formation of monolayer films. Lipids were added homogeneously onto the buffer surface and the monolayer surface area (A) values corresponding to the desired surface pressure (π) values were measured by compressing the barriers in the Langmuir Blodgett system. The residual Gibbs free energy (ΔG_{exc}) values were calculated by using the ($\pi - A$) isotherm graph of pure or binary solutions of DPPC and CHOL at certain molar concentrations.

Keywords: Langmuir-Blodgett, Surface pressure, Monolayer surface area, 1,2-Dipalmitoylsn-glycero-3-phosphocholine, Cholesterol.

KATKI BELİRTME VE TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde, başlangıcından sonuna kadar araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve her türlü yardımlarını esirgemeyen karşılaştığım problemlerin çözümünde, tez yazımında en az benim kadar emek veren danışman hocam Sayın **Prof. Dr. Uğur Salgın’a** teşekkür ederim.

Yükseklisansa başladığım ilk günden beri en az danışman hocam kadar benimle ilgilenen ve danışman hocamın yokluğunda çekinmeden sorularımı sorup bilgilerinden ve deneyimlerinden faydalandığım saygıdeğer hocam **Prof. Dr. Sema Salgın’a** ve deneysel çalışmalarım konusunda her türlü yardım ve bilgi desteği gösteren savunmam için en iyi şekilde hazırlanmamı sağlayan değerli hocam **Dr. Öğr. Üyesi Nagihan Soyer’e** katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Ayrıca tez yazma sürecinde aynı laboratuvar ortamını kullandığımız değerli arkadaşlarım **Sn. Feyza Uçan Yağcı** ve **Sn. Abdallah A. K. Algherbawı’** ye aynı zamanda yüksek lisansta tanıştığım ve tanıştığımız gün bana hocam diye hitap edip hoca olmadığım için kendimi tuhaf hissetmemi sağlayan aynı bölüm kaderdaşı olduğum ve dostluğumuzun her daim devam etmesini istediğim çok kıymetli arkadaşım **Sn. Evrim Meriç Yelkuvan’a** desteklerinden ve yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Yükseklisansım boyunca her türlü destekleri ile yanımda olan ve verdikleri fikir ve yönlendirmelerle bana her daim yol gösteren çok kıymetli **Sevgili Ailem’e** sonsuz teşekkürlerimi iletmek isterim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
KATKI BELİRTME VE TEŞEKKÜR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
ŞİMGELER DİZİNİ	xii
KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 Tek ve Çift Tabakalı Fosfolipit Sistemler	2
2.1.1 Fosfolipit tek tabaka sistemleri	7
2.1.2 Fosfolipit çift tabaka sistemleri	7
2.2 Langmuir Blodgett Film Tabakası ve Temel Kavramlar	8
2.2.1 Yüzey gerilimi	10
2.2.2 Yüzey aktif maddeler	12
2.2.3 Yüzey basıncı	14
2.2.4 Langmuir Blodgett tekniği ile fosfolipit tek tabaka sistemlerinin oluşturulması	16
2.3 Kaynak Araştırması	21
3. MATERYAL VE METOD	31
3.1 Materyal	31
3.2 Metod	33
3.2.1 Alt faz çözeltisi ve lipozom çözeltilerinin hazırlanması	34
3.2.2 Film hazırlık aşaması ve cihaz yüzey temizliği	34
3.2.3 Langmuir Tek Tabakaların Oluşturulması	35
4. DENEYSEL BULGULAR	36
4.1 Yüzey Basıncı-Alan İzotermi	36
4.2 Çözeltilerin İdeal Tek Tabaka Yüzey Alanları	41
4.3 Çözeltilerin Deneysel ve İdeal Tek Tabaka Yüzey Alanlarının Farkı	48
4.4 Çözeltilerin Artık Serbest Gibbs Enerjisi Fonksiyonundaki Değişim	47
KAYNAKLAR	49
ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1	2
Şekil 2.2	4
Şekil 2.3	5
Şekil 2.4	6
Şekil 2.5	11
Şekil 2.6	12
Şekil 2.7	13
Şekil 2.8	15
Şekil 2.9	16
Şekil 2.10	17
Şekil 2.11	18
Şekil 2.12	20
Şekil 2.13	20
Şekil 2.14	29
Şekil 3.1	33
Şekil 3.2	34
Şekil 4.1	37
Şekil 4.2	37
Şekil 4.3	39
Şekil 4.4	39
Şekil 4.5	41
Şekil 4.6	42
Şekil 4.7	42
Şekil 4.8	43
Şekil 4.9	43
Şekil 4.10	44
Şekil 4.11	44
Şekil 4.12	45
Şekil 4.13	47
Şekil 4.14	49

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1	Lipozomların avantajları
Çizelge 2.2	Lipzomların dezavantajları
Çizelge 2.3	Lipozomların boyutlarına göre sınıflandırılması
Çizelge 2.4	LB filmlerin fiziksel özelliklerine göre bazı kullanım alanları
Çizelge 3.1	Deneyde kullanılan bazı molekül ve kimyasalların bazı fizikokimyasal özellikleri
Çizelge 4.1	Chol derişimine bağılı olarak farklı yüzey basınçlarına karşılık gelen deneysel ve ideal tek tabaka yüzey alanları

SİMGELER DİZİNİ

A	: Alan, $m^2/molekül$
A_1	: Saf DPPC bileşeninin moleküler alanı, $m^2/molekül$
A_2	: Kolesterol bileşeninin moleküler alanı, $m^2/molekül$
A_{12}	: DPPC/Kolesterol bileşiminin moleküler alanı, $m^2/molekül$
A_{exc}	: Deneysel ve teorik alanlar arasındaki artık alan, $m^2/molekül$
C_S^{-1}	: Karşılıklı sıkıştırma modülü, N/m
N	: Avogadro sayısı ($6,02 \times 10^{23}$, molekül/mol)
t	: Zaman, s
T	: Mutlak sıcaklık, K
T_m	: Zincir erime sıcaklığı, K
γ	: Bir film tabakasının bulunduğu durumdaki yüzey gerilimi, N/m
γ_0	: Alt faz yüzeyinin yüzey gerilimi, N/m
χ_1	: DPPC bileşeninin mol kesri
χ_2	: Kolesterol bileşeninin mol kesri
χ_{chol}	: Kolesterol konsantrasyonu
ΔG_{exc}	: DPPC/Kolesterol bileşiminin artık Gibbs enerjisi, J/kmol
π	: Yüzey basıncı, N/m

KISALTMALAR DİZİNİ

AFM	: Atomik Kuvvet Mikroskopisi
ATR	: Attenuated Total Reflectance
CHOL	: Kolesterol
DOPC	: Dioleoxl Fosfatidilkolin
DPPC	: Dipalmitoilfosfatidilkolin
DPPE	: Disterolfosfatidilethanolamine
FeCl₃	: Ferric Klorid
Fe₃O₄	: Ferro Ferric Oksit
FTIR	: Fourier Transform İnfrared
GUV	: Dev Unilamellar Lipozom
LB	: Langmuir-Blodgett
LC	: Sıvı Yoğunlaştırılmış Bölge
LE	: Sıvı Genleşmiş Bölge
LUV	: Büyük Unilamellar Lipozom
MLV	: Çok Tabakalı Unilamellar Lipozom
Milli-Q	: Deiyonize Su
Na₂ EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit Disodyum
POPC	: 1-palmitil-2-oleoil-sn-glisero-3-fosfokolin
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
SUV	: Unilamellar Lipozom
TATa	: 2,4,6-tri-1,3,5-triazin
TEM	: Geçirimli Elektron Mikroskobu
TN1Ta	: 2,4,6-tri-1,3,5-triazin
TN2Ta	: 2,4,6-tri-1,3,5-triazin
UV-Vis	: Ultraviyole Görünür Spektrofotometresi

1. GİRİŞ

Nanoteknoloji alanındaki ilkelerin ve metodolojinin biyoteknolojik sorunlara uygulanması farklı alanlarda, yeni uygulamalarda devrim yaratacak bir disiplin sağlamaktadır. Nanoteknolojik uygulamalar birçok yönetime dayandığı gibi en önemli yöntem olan ilaç salınımı sistemlerini de kapsamaktadır ve bu alanlardaki yaklaşımlar, çözümler bulmaya çalışılarak, biyolojik ortamda etkinlik açısından test edilen malzemeler ve süreçler üretilmeye dayanmıştır. Dolayısıyla alternatif nanoteknoloji, tıbbi uygulamalarda kullanılmak üzere mühendislik ve fizik bilimlerinden geliştirilen materyalleri ve süreçleri yönlendirmede ve etkilemede biyolojik ilkeleri daha yakından kullanmaktadır (Ferrari ve Martin, 2007).

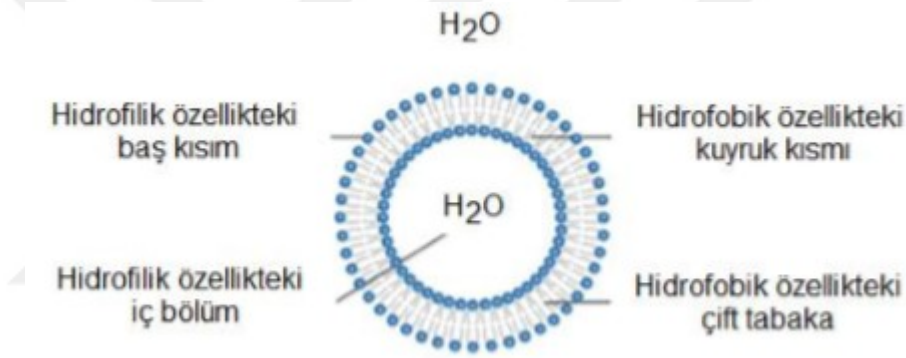
İnsan tıbbi uygulamaları için teknolojilerin başarısı, makromoleküllerin hücre membranlarında etkileşimi ve dahil edilmesinin ve aslında membranın kendisinin temel özelliklerinin iyi anlaşılmasına dayanır. Literatürde yapı ve işlevleri hakkında geniş bir literatüre sahip olan hücrelerdeki lipid zarlar, biyolojik sistemlerin ve biyolojik makromoleküllerin kendi moleküler birleşimine dayanan “akıllı nanoyapılar” tasarlamak için olağanüstü bir model oluşturur (Ferrari ve Martin, 2007).

Bu bağlamda, biyolojik moleküller olan lipozomlar, lipidlerin su içinde bir iç sulu fazın bir lipid çift katmanlı yapı ile çevrelendiği, küresel, kendi kendine kapalı sistemler olarak dağıtılmasıyla oluşturulur. Son yıllarda hem hidrofobik hem de hidrofilik ilaçlar, sırasıyla lipozomların lipid çift tabakası ve sulu faz bölmeleri içinde aynı anda taşınabileceğinden, lipozomların ilaç dağıtım taşıyıcıları olarak potansiyele sahip olduğu kanıtlanmıştır. DPPC, nötr yükü ve eylemsizliği nedeniyle çok çeşitli uygulamalar için lipozomları hazırlamak için genellikle ana fosfolipid olarak kullanılır (Chou ve Chang 2000). Langmuir-Blodgett teknolojisi, lipidler, fosfolipidler veya glikolipidler gibi organik moleküllerin, serbest enerjilerini en aza indirmek ve Langmuir filmi adı verilen çözünmeyen bir monolyer oluşturmak için gaz ve sıvı faz arasındaki bir hava/su arayüzünde kendilerini yönlendirmek için belirli özelliklerine dayanmaktadır (Ferrari ve Martin, 2007).

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Tek ve Çift Tabakalı Fosfolipit Sistemler

Lipit vezikülleri (lipozomlar), ilk olarak 1961 yılında Bangham tarafından kan ve pıhtı üzerindeki araştırmalar sonucu keşfedilmiş olup (Başoğlu, 2014), fosfolipit çift tabakanın yapay olarak kapsül içinde tutulmasıyla oluşturulan yapılardır (Wilczewska ve ark. 2012; Akbarzadeh ve ark. 2013). Şekil 2.1’de yapısı gösterilen lipozomlar, sulu sistemlerde kendiliğinden hızlı bir şekilde modifikasyona uğrayan fosfolipitlerin suyu çevreleyerek oluşturdukları küresel sistemlerdir (Akbarzadeh ve ark. 2013). Yapı ve içerik bakımından hücre zarı ile benzerlik gösteren bu sistemler termodinamik açıdan kararlı olan amfifilik veziküllerdir (Akbarzadeh ve ark., 2013; Dinçyürek Ekici, 2018).



Şekil 2.1 Fosfolipit çift tabakadan oluşan lipozomun şematik gösterimi (Dinçyürek Ekici, 2018).

Hidroforobik moleküller, lipit çift tabakanın içinde kalırken hidrofilik moleküller, veziküllerde en dışta ve membran tabakasının ortasında kalmaktadır ve bu nedenle oldukça esnek bir yapıya sahiptir. Lipozomların özellikleri onları oluşturan lipit çeşidine, yüzey yüküne, boyutuna ve hazırlama metoduna göre değişiklik gösterebilirler. Fosfolipit çift tabakayı oluşturan bileşenler, lipozomun sertliğini veya akışkanlığını aynı zamanda çift tabakanın yükünü de belirleyebilmektedir (Michel ve Gradzielski, 2012). Lipozomların bir diğer özelliği de suda ve yağda çözünen etken maddeleri kontrollü bir şekilde serbest hale getirmeleri ve hedef bölgeye taşımalarıdır. Ayrıca Çizelge 2.1 ve Çizelge 2.2’de lipozomların genel avantaj ve dezavantajları özetlenmiştir. Lipozomlar in vitro koşullarda tampon çözeltiler içinde ve 4°C de ve azot

gazı altında uzun süre bozulmadan kalabilir fakat biyolojik sıvılar içinde in vitro ve in vivo koşullarda bu dayanıklılığı gösteremezler (Bozkır ve Duman, 1996).

Çizelge 2.1 Lipozomların avantajları (Akbarzadeh ve ark., 2013).

İlaçların terapotik etkinliğini artırır.
Kapsülleme yoluyla stabiliteyi artırır.
Toksik olmayan, esnek, biyouyumlu, tamamen biyolojik olarak parçalanabilir ve immünojenik değildir.
Kapsüllenmiş ajanın toksisitesini azaltır.
Hassas dokuların toksik ilaçlara maruziyetini azaltmaya yardımcı olur.

Çizelge 2.2 Lipozomların dezavantajları (Akbarzadeh ve ark., 2013).

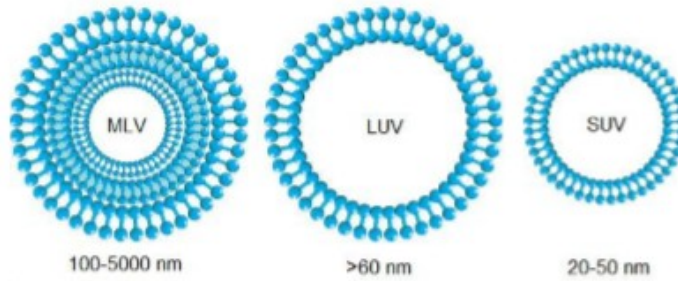
Düşük çözünürlük
Kısa yarılanma ömrü
Fosfolipid, oksidasyon ve hidroliz gibi reaksiyonlara girebilir.
Kapsüllenmiş ilaç moleküllerin sızıntısı ve füzyonu
Ürün maliyeti yüksek
Düşük kararlılık

30 nm ile birkaç mikrometre arasında büyüklüğe sahip olan lipozomlar, Çizelge 2.3’de belirtildiği gibi boyutlarına göre farklı isimlerde sınıflandırılır. Boyutları 20 nm ile 100 nm arasında değişen lipozomlar küçük unilamellar lipozomlar (SUV), boyutları 100 nm’den büyük olan lipozomlar ise büyük unilamellar lipozomlardır (LUV). LUV’lardan daha büyük olan ve 1000 nm’den büyük olan lipozomlar dev unilamellar lipozomlar (GUV) olarak adlandırılır. İki veya daha az lipit çift tabakasına sahip lipozomlar (MLV) çok hücrelidir ve birkaç yüz nm ile birkaç mikron arasında değişen boyutlara sahiptir (Gradzielsk, 2003; Akbarzadeh ve ark., 2013).

Çizelge 2.3 Lipozomların boyutlarına göre sınıflandırılması (Zhang et al., 2002; Jesorka and Orwar, 2008).

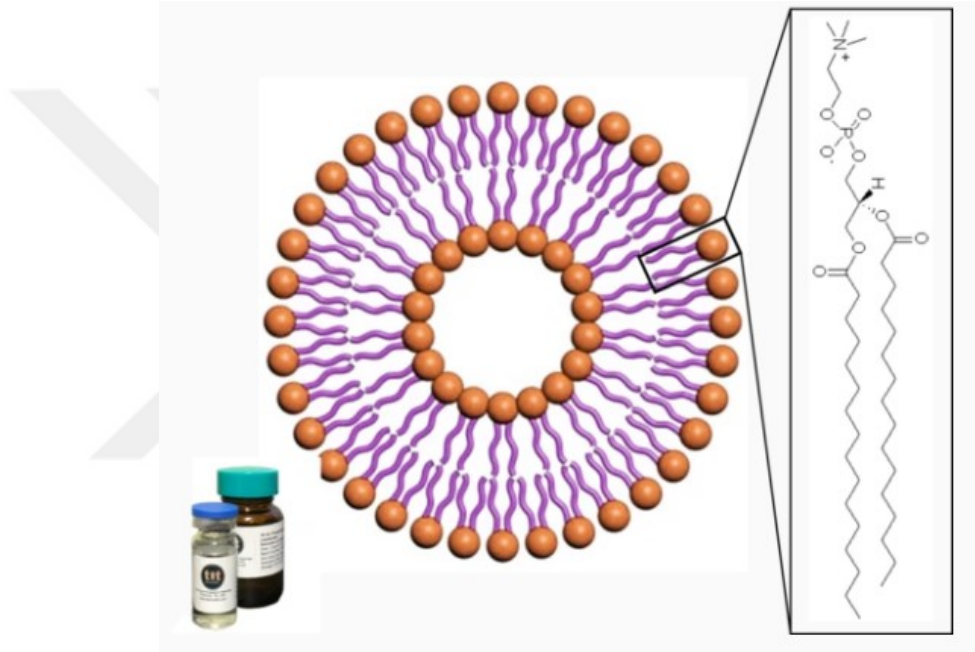
Lipozom tipi	Boyutu	Hazırlama yöntemleri
MLV	<10 µm	İnce film hidrasyonu
SUV	20-100 nm	Yüksek-enerjili sonik parçalanma, Ekstrüzyon, Yüksek basınç homojenizasyonu, Solvent enjeksiyonu
LUV	100-1000 nm	Donma-çözülme döngüsü, Ekstrüzyon, Deterjan diyalizi
GUV	>1000 nm	Elektroformasyon, Katı-film hidrasyonu, Deterjan diyalizi

Lipozomlar boyut sınıflandırmasına ek olarak, katman sayılarına göre tek tabakalı (monolayer), çift tabakalı (bilayer) ve çok tabakalı (multilayer) olarak da sınıflandırılmaktadır. MLV'ler, iki tabaka arasındaki boşlukların birbirine yaslanmış lamelleri arasındaki itici hidrasyon kuvvetleri ile Van der Waals ve elektrostatik çekim kuvvetleri arasındaki dengenin bir sonucu olarak ortaya çıkar. LUV ve SUV'larda su fazı sadece bir çift lipit tabakası tarafından çevrelenmiştir ve burada ifade edilen farklı lipozom türlerinin yapısı Şekil 2.2'de gösterilmiştir (Maurer ve ark., 2001; Yurdakul ve Atav, 2007).



Şekil 2.2 Lipozomların tabakalarına ve boyutlarına göre sınıflandırılması (Dinçyürek Ekici, 2018).

Lipozom formülasyonunda kullanılan fosfolipitler, biyolojik membranların lipid kütlelerinin %50'sinden daha fazlasını oluşturmaktadır (Başoğlu, 2014). Biyolojik membranlar, polar baş grubunun yapısı, zincir uzunluğu ve doymamışlık derecesine göre farklılıklar gösteren yapılardır (Bach ve Wachtel, 2003). Fosfolipitler doymuş ve doymamış olarak sınıflandırılır. Doymuş fosfolipitlere dipalmitol fosfotidil kolin (DPPC) ve disteol fosfotidil etanolamine (DPPE) örnek verilebilir. Doymamış fosfolipitlere ise örnek olarak dioleoyl fosfotidil kolin (DOPC) verilebilir. Katı desteklerde lipidlerin yüksek kalitede bir lamel yapısını oluşturmak için, Langmuir-Blodgett (LB) tekniği en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir (Başoğlu, 2014).



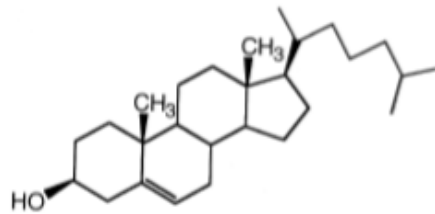
Şekil 2.3 DPPC fosfolipitin kimyasal gösterimi (Url-1).

Szceś ve ark., (2012), amfifilik moleküllerin langmuir tek tabakaları oluşturan materyaller olduğunu ve amfifilik moleküllerin oluşturduğu Langmuir tek tabakaların, LB tekniğinde yaygın olarak kullanıldığını ve bu veziküllerin belirli dokulara veya hücrelere vermek üzere hem hidrofilik hem de hidrofobik olan farklı maddelerin kapsüllenmesine izin verdiğini, dolayısıyla amfifilik moleküllerin bir sulu alt fazın yüzeyinde kendiliğinden biriktirildiklerinden dolayı tıpta yoğun bir şekilde kullanıldıklarını bildirmişlerdir. İlaçların taşınması için araç olarak etkinlikleri, bileşimleri, çoklu yayılmaları, zeta potansiyelleri ve ilaç yükleme yetenekleri gibi fizikokimyasal parametrelerine bağlıdır.

Fosfolipitler hücre zarlarının ve yüzey aktif maddelerinin mekanik özelliklerini incelemek için bir model olarak kullanılmıştır. Nanopartiküllerden oluşan ince filmlerde, biyosensörlerde, yüksek hassasiyetli rezonatörlerde, filtrasyon cihazlarında ve esnek elektronik cihazlarda potansiyel uygulamalar olduğu gösterilmiştir. Özellikle Langmuir tek tabakaları, üçüncü boyuta uzanan iki boyutlu malzemeler olarak dikkate değer mekanik özelliklere sahiptir (You ve ark., 2013). Biyolojik membranlar, polar baş grubunun yapısı, hidrokarbon zincir uzunluğu ve doymamışlık derecesine göre farklılık gösteren çok çeşitli fosfolipid molekülleri içeren karmaşık yapılardır. Memeli hücre zarlarında, kolesterol de bulunur. Kolesterolün biyomembranlarda yapısal olduğu kadar düzenleyici bir rol oynadığı bilinmektedir (Bach ve Wachtel, 2003).

Kolesterol, fosfolipitle birlikte hücre membranında bulunur ve fosfolipid zar yapısının ve dinamiğinin başlıca değiştiricilerinden biridir (Parasassi ve ark., 1994). Kolesterol ve fosfolipit suda çözünmezler. Dolayısıyla fosfolipit ve kolesterolün karışımları organik çözücülerde çözülür (Bach ve Wachtel, 2003). Hung ve ark., (2007), karışık tek tabakadaki fosfolipitler üzerinde yoğunlaştırıcı etkisinden dolayı kolesterolü, lipozomlar arasında benzersiz yapan özelliklerden biri olduğunu ve bu etkinin, hava-su ara yüzeyinde fosfolipid başına düşen alanın, kolesterol varlığında azaldığının yapılan tek tabaka deneylerinde tespit edildiğini bildirmişlerdir.

Kimyasal formülü Şekil 2.4’de de gösterilen kolesterol molekülünün büyük bir bölümü, fosfolipit çift tabakanın hidrokarbon bölgesinde bulunur ve fosfolipit çift tabakanın geçirgenliğini azaltır (Martin ve Yeagle, 1978). Kolesterol derişiminin düşük olduğu durumda termodinamik olarak iki farklı alan söz konusudur; Kolesterolü zengin olan alan, fosfolipit çift tabakalarda kolesterol seviyesi molce %22 mol’den düşük olan tek fazdır. kolesterolü zayıf alan ise saf fosfolipid çift tabakanın özelliklerine benzer özelliklere sahiptir (McMullen ve McElhaney, 1996).



Şekil 2.4 Kolesterol molekülünün kimyasal yapısı (Bach ve Wachtel, 2003).

2.1.1 Fosfolipit tek tabaka sistemleri

Amfifilik moleküller, suda çözünemediklerinden dolayı hava-su ara yüzeyinde serbest enerjilerini minimize ederek “Langmuir Filmi” adı verilen tek tabaka filmi oluştururlar. Langmuir tek tabakanın katı bir substrat üzerine aktarılmasıyla LB filmler üretilir (Girard-Egrot ve Blum, 2007; Vatansever, 2015). LB filmleri, yüksek yapısal kaliteye sahip bir şekilde hazırlamak için ön koşullardan birisi stabiledir (Szczes ve ark., 2012).

Fosfolipit tek tabaka sistemler, saf fosfolipit filmler için sıvı ile genişmiş (LE) ve sıvı yoğunlaştırılmış (LC) faz geçişi sergiler. İkili lipit filmler için çökme yüzey basıncı kolesterol miktarıyla birlikte değişir. Kolesterol miktarı, tek tabakalı lipit bileşenlerin karışabilirlik durumunu ve aralarındaki etkileşimin varlığını gösterir. DPPC tek tabakasına kolesterolün eklenmesi sıkıştırma modülü değerlerinde bir artışa neden olur. Dolayısıyla ikili DPPC/kolesterol tek tabakaları saf DPPC filmlerine kıyasla daha serttir. Kolesterol miktarının artmasıyla ikili lipit tek tabaka, saf kolesterol filminkine benzer hale gelir (Szczes vd., 2012). Ek olarak, hava-su ara yüzeyindeki fosfolipit/kolesterol ikili tek tabaka sistemi, kolesterolün belirli bir yoğunlaşma etkisine sahip olduğunu göstermiştir (Hollars ve Dunn, 1998).

Fosfolipit tek tabaka sıkıştırıldığında, mükemmel olarak termodinamik bir dengeye sahip değildir. Tek tabakanın kararlı olarak dengede olması için yayılma basınçlarını aşan yüzey basınçlarında sıkıştırılmamalıdır. Aynı zamanda, tek tabakanın kararlılığı, amfifilik moleküllerin yayıldığı yüzeyin alt fazındaki çözünürlüğüne de bağlıdır. Bununla birlikte çözünmeyen amfifilik moleküller için çözünmeye karşı bir bariyer vardır ve doymuş alt faz konsantrasyonu ile dengeye çok rahat yaklaşılabılır (Szczes vd., 2012).

2.1.2 Fosfolipit çift tabaka sistemleri

Saf fosfolipit çift tabaka membranlar, lipide özgü ve hidrokarbon zincirinin erimesiyle ilişkili olan keskin ana faz geçişleri sergilemektedir. Zincir erime sıcaklığının (T_m) altındaki sıcaklıklarda, fosfolipit moleküller bir yerde iç içe sıkıca birleşirler. Bu birbirleriyle kenetlenmeleri, hidrokarbon zincirleri arasında oluşan *Van der Waals* etkileşimlerinden dolayıdır. Bu nedenle çift tabaka katı halde (jel fazında) veziküller halinde karakteristik açısallığını gösterir. Bunun tersine T_m sıcaklığının üzerindeki sıcaklıklarda lipitler, yanal ve tabakalar arası hareketlilik gösterirler ve membran

akışkanlığını etkilerler. Faz geçişleri sırasında çift tabaka, vezikül membranlarının geçirgenliğini ve moleküllerin vezikül içinden serbestlenmesini sağlar. Bu özellik, lipozomların nano-taşıyıcılar olarak ilaç dağıtım teknolojisinde tercih edilmesini sağlamaktadır. Çünkü faz geçiş sıcaklığının açılmasıyla kapsül içine yerleştirilen moleküllerin isteğe bağlı serbestlenmesi sağlanabilir (Başoğlu, 2014).

2.2. Langmuir Blodgett Film Tabakası ve Temel Kavramlar

Nanometre boyutundaki amfifilik moleküllerin sıvı yüzeyinden katı bir yüzey üzerine transfer edilmesi sonucu oluşan ince filmlere Langmuir-Blodgett filmler adı verilir (Sarı, 2005). Irving Langmuir, amfifilik moleküllerin suda çözünmemesi özellikleri nedeniyle bu molekülleri kullanarak hava-su ara yüzeyinde film oluşturmayı başarmıştır ve bu süreç 1932 yılında ona Nobel ödülü kazandırmıştır. Katherine Blodgett ise karboksilik asit zincirinin çok tabakalı depozisyonu ile ilgili ilk çalışmayı yapan bilim insanıdır. Yüzeyde yönelmiş moleküllerden oluşan filmler Langmuir modeline göre oluşurken, katı yüzeye sıvı fazdan molekül transferini ilk kez gerçekleştiren Blodgett olmuştur. Amfifilik moleküllerin kullanılarak filmlerin oluşturulabileceği bu teknik Langmuir-Blodgett (LB) tekniği olarak literatüre girmiştir (Schwartz, 1997; Egrot ve ark., 2005; Blum ve Egrot, 2007; Cabaj ve ark., 2010; Gür ve Meral, 2012; Vatansever, 2015; Gür, 2005; Kurihara, 1996).

Organik filmlerin katı bir yüzey üzerine yayılması farklı tekniklerle sağlanabilir. LB tekniği ile oluşturulan filmler homojen kalınlıklı olup kalınlıkları birkaç nanometreden mikrometreye kadar değişebilir (Gübbük, 2006). LB tekniği ince film hazırlama işlemlerinde en avantajlı tekniklerden birisidir. Bu tekniğin avantajları ise şu şekildedir (Vatansever, 2015).

- DPPC/Kolesterol ikili lipit tek tabakanın daha geniş bir alana ve homojen olarak yayılmasının sağlanması,
- Tabaka içeriğinin çeşitlendirilmesiyle çok tabakalı yapıların üretilmesi,
- DPPC/Kolesterol ikili lipit tek tabakanın çeşitli substrat üzerine yayılmalarının sağlanması,
- Faz değişimleri ve yapı değişimlerinin incelenmesi,
- Lipidlerin ve proteinlerin yapıları için araştırmalar yapılması ve model biyolojik membranların oluşturulması,

- Moleküler düzeyde yüksek hızlı mikro sensörlerin geliştirilmesi için imkan sağlanması,
- Çözülebilir polimerlerin ince filmlerinin oluşturulmasında rahatlık sağlanması

LB filmleri oluşturan amfifilik moleküllerin katı bir yüzey üzerine yayılma tekniği 2 temel adımdan oluşmaktadır:

- i. İlk adımda öncelikle sıvı ara yüzeyinde Langmuir filmleri denilen ve amfifilik moleküllerin yüzeye tutunması sonucunda tek tabakalar oluşturulmaktadır.
- ii. İkinci adımda ise oluşturulan Langmuir filmler, katı bir alt faz üzerine alınmaktadır. Sıvı yüzeyinde organize olmuş tek katmanlar katı alt fazın sıvı içerisine belirli bir hız ve yönde daldırılmasıyla tek tabakanın kendiliğinden alt faza tutunması sağlanır ve alt faz üzerinde tek moleküllü bir tek tabaka oluşturulur (Akday, 2017).

Amfifilik moleküller suda çözünmeyen ve uçucu bir çözelti olan kloroform içerisinde çözündürülür ve bu amfifilik molekülleri içeren kloroform çözeltisi su yüzeyine damlatıldığında, amfifilik moleküller su yüzeyine yapışarak yüzeyin tamamına yayılır. Çözücünün buharlaşması beklenir ve buharlaşma sonrasında bir molekül kalınlıklı ara yüzey filmi ortaya çıkar. Bu durumda, amfifilik moleküllerin baş kısmı hidrofilik olmasından dolayı su içinde dağılmış haldedir. Moleküllerin kuyruk kısmı ise hidrofobik olmasından dolayı suyun dışında olacak şekildedir (Egrot ve ark., 2005; Vatansever, 2015).

Tek tabakalar, tek molekül kalınlığında ince filmler olup gerek spesifik organik moleküllerin sentez olanakları gerekse de gelişmiş ince film kaplama teknolojileri ile bir nanometre boyutlarda elektriksel, optik ve biyolojik olarak aktif bileşenleri oluşturmak mümkündür (Vatansever, 2015).

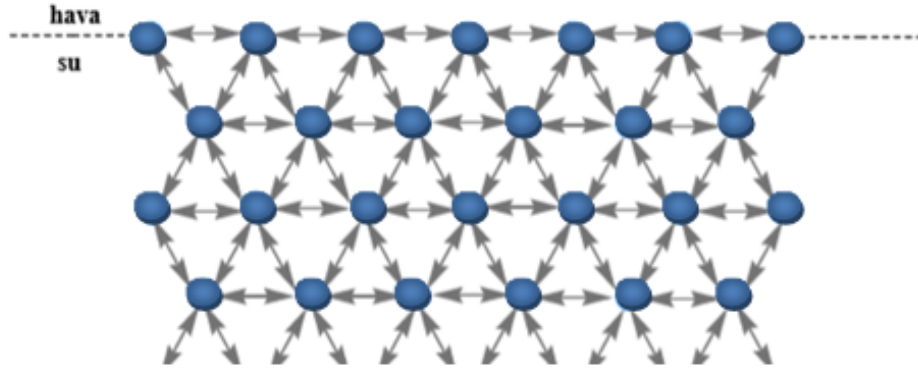
Hava-su ara yüzünde oluşan bir lipit tek tabakanın yüzey alanı azaldıkça, lipit tek tabakasında meydana gelen yapısal değişikliklere karşılık iki boyutlu faz geçişleri meydana gelir. Özellikle Langmuir tek tabakaları, üçüncü boyuta yayılabilen iki boyutlu malzemeler olarak dikkate değer mekanik özelliklere sahiptir (Girard-Egrot ve Blum, 2007). Amfifilik moleküllerin organize olmasıyla oluşan tek tabakaların hava-su ara yüzünden katı bir substrata kontrollü transferi, yeni malzemelerin oluşturulması için ilk

moleküler ölçekli teknolojidir. İnce filmlerde tekrarlanabilirlik, kusur sorunları ve karmaşık moleküllerin paketlenmesi hakkında temel bir anlayış eksikliği, Langmuir-Blodgett filmleri ve bu filmde yapılan cihazların pratik uygulamalarını engellemeye devam etmiştir. Bununla birlikte, modern yüksek çözünürlüklü x-ışını kırınımı ve tarama probu mikroskobu, ince organik filmler içeren temel soruların çoğunu çözmek için ideal bir araç olduğunu kanıtlamıştır (Zasadzinski ve ark., 1994; Vatansever, 2015). LB tekniğini anlayabilmek için çeşitli kavramların açıklanması gerekir. Bu kavramlar aşağıda sırasıyla açıklanmıştır.

2.2.1 Yüzey gerilimi

Yüzey iki akışkanın ara yüzüdür. Deney sırasında akışkanlar sıvı faz ve gaz fazı ise yapılan ölçüm yüzey gerilim ölçümüdür. Eğer akışkanların her ikisi de sıvı faz ise, yapılan ölçüm ara yüzey ölçümüdür. Her iki durumda da, yoğun olan akışkan ağır faz, yoğunluğu ağır faza göre daha az olan akışkan ise hafif fazdır (Gür, 2015). LB film oluşturmada önce tek tabaka oluşturulması istenen organik molekülün su yüzeyi üzerindeki davranışları incelenmelidir. Bu nedenle yüzey gerilimi konusu hakkında bilgi edinilmelidir (Oğuzhan, 2011).

Sıvı yüzeyi, yüzeyde bulunan moleküller ile yığın içinde bulunan moleküller arasındaki ortam farklılığından dolayı artık enerjiye sahiptir. Yüzeydeki bu artık enerjiye serbest Gibbs enerjisi denir (Gür, 2015). Yüzeyde oluşan bu serbest enerji, sıvı içinde bulunan moleküllerin birbirlerine karşı çekim uygulamasına neden olur (Vatansever, 2015; Girard-Egrot ve Blum, 2007). Su içerisinde bulunan hidrojen bağları belirli kuvvetler (kohezyon kuvvetleri) tarafından oluşturulur ve bu kuvvetler gevşek yapılı, ağ örgülü yapılar oluşturur (Şekil 2.5), (Vatansever, 2015; Girard- Egrot ve Blum, 2007; Oğuzhan, 2011). Kohezyon olarak ta isimlendirilen yüzey gerilimi ara yüzeyde mevcut olan kohezif enerjinin bir ölçüsüdür ve bu çekim maddesel özelliklere bağlıdır. Sıvı içinde oluşan bu etkileşimler, moleküller arasında, tüm yönlerde eşit şiddette bir çekim olduğu için dengededir (Gür, 2015).

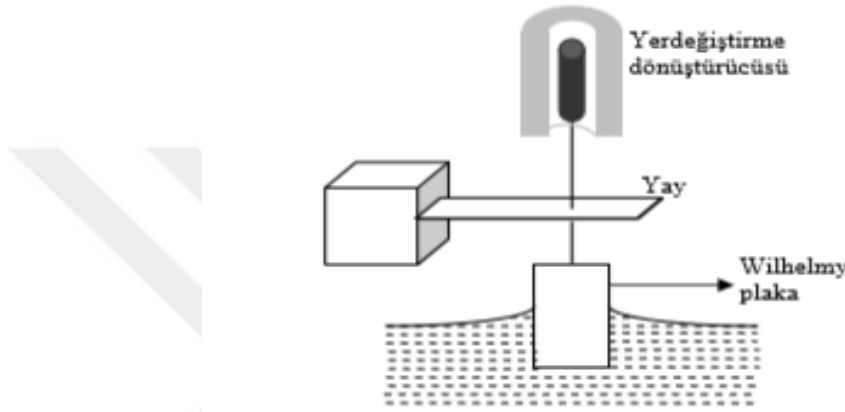


Şekil 2.5 Hava-su ara yüzeyinde oluşan yüzey gerilimi (Oğuzhan, 2011).

Ortam derişiminden dolayı ara yüzeyde bulunan bir molekül, sıvı yığın ortamı içinde bulunan bir molekülden daha az sayıda molekülle çevrilidir. Bundan dolayı ara yüzeydeki kuvvet dengesi bozulmaktadır (Vatansever, 2015).

Hava-su ara yüzeyindeki moleküller dengeleyici olmayan kuvvetlerin etkisindedir. Bunun nedeni moleküller arasındaki etkileşimlerin düzensizliği ve ara yüzeyde sıvı faz üzerinde daha büyük etkileşimlerin olması durumudur. Dolayısıyla yığın ortama karşı net bir çekici kuvvet ortaya çıkar. Sıvı yüzeyinin genişlemesine karşı çekici kuvvet, sistemin serbest enerjisini artırır. Ara yüzeyde bir denge söz konusu olduğunda ise moleküllerin çoğu yüzeyden ayrılmalıdır. Ancak, başlangıçta ara yüzeyde çekici kuvvetin etkisiyle difüze olan molekül sayısı daha fazla olur ve yüzeydeki moleküller arasında ortalama atomik ayrılma artar. Ara yüzeyden yığın faza geçen yüzey moleküllerinin sahip olduğu aktivasyon enerjisi, yığın fazdan yüzeye difüze olan moleküllerle eşitlenene kadar artar. Yüzey moleküllerine göre ortaya çıkan kuvvete lineer kuvvet denir ve yüzey gerilimi olarak da isimlendirilmektedir. Yüzey gerilimi sabit sıcaklıkta değişmez fakat sıcaklık arttıkça yüzey gerilimi azalır (Blum ve Egrot, 2007; Vatansever, 2015). Su gibi polar sıvılar, moleküller arası etkileşimleri güçlü olmalarından dolayı yüksek yüzey gerilimine sahiptirler (Gür, 2015; Vatansever, 2015; Girard-Egrot ve Blum, 2007). Suyun yüzey gerilimi atmosferik basınç altında ve 25°C’de 71.97 mN/m’dir. Diğer sıvılara kıyasla bu değer oldukça yüksek bir değerdir ve suyu diğer sıvılara göre daha iyi bir alt faz yapmaktadır (Girard-Egrot ve Blum, 2007; Vatansever, 2015). Moleküller arasındaki etkileşimin kuvvetini azaltan herhangi bir faktör yüzey gerilimini düşürür. Dolayısıyla sistemin sıcaklığında bir yükseliş

meydana gelirse yüzey geriliminde bir düşüş gözlenir. Ayrıca herhangi bir safsızlık durumunda, özellikle sürfaktan moleküller yüzey gerilimini düşürür (Gür, 2015). Bu durumda yüzey gerilimi, yüzey basıncı kullanılarak anlaşılırken, yüzey basıncı ise Wilhelmy plakası ile ölçülür. Şekil 2.6’da Wilhelmy plakası gösterilmektedir. Wilhelmy plakası kullanılarak tek tabakanın bulunduğu hava-su ara yüzeyinde asılmış olan plaka üzerindeki aşağı yönlü kuvvet ölçülür. Ölçülen bu kuvvet, plaka boyutları yardımıyla yüzey gerilimine çevrilir. Tek tabakanın yüzeye transferi sonucunda yüzey geriliminde farklılaşma olur. Bu farklılık ise yüzey basıncı (π) olarak alınmaktadır (Akbay, 2017).



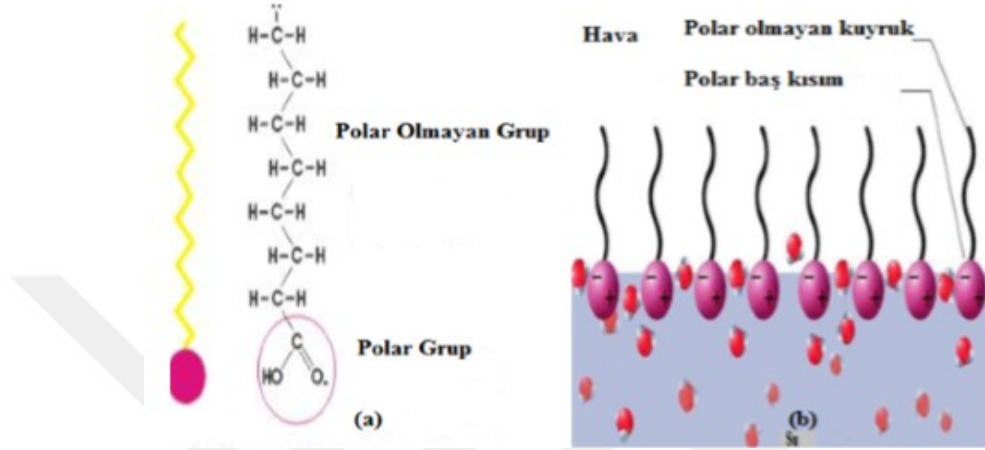
Şekil 2.6 Yüzey gerilim ölçümü için kullanılan Wilhelmy plaka sistemi (Uzunoglu, 2008).

Su üzerindeki moleküllerin Wilhelmy plakası üzerine transfer olması istenmez, dolayısıyla temizlenme sırasında moleküller plakadan hemen ayrılmalıdır. Filtre kağıdı en yaygın kullanılan plaka malzemesidir. Yüzey basınç dengesine karşı bariyerin sıkıştırma hareketi bilgisayar destekli bir sistem kullanılarak motor yardımıyla ayarlanabilir. Bu yöntem tek tabaka moleküllerin katı yüzeye transferi için kullanışlı bir yöntemdir (Robert, 1990).

2.2.2 Yüzey aktif maddeler (Süpfektanlar)

Tüm amfifilik moleküller (süpfektanlar), yüzey aktif maddeler olup önceki bölümlerde de bahsedildiği gibi sıvı yüzeyinde organize olup tek tabaka oluştururlar (Gür, 2015). Teknolojik ve biyolojik olarak önemli olan moleküllerin büyük bir sınıfını oluşturan süpfektanlar bir çözücü için düşük afinite gösteren ve çözücüyle etkileşim içinde bulunan liyofilik graplardan oluşmaktadır. Şekil 2.7’de gösterildiği gibi hidrofilik kısım polar grupları (-OH, -COOH, -NH₄, gibi) içermesine rağmen hidrofobik kısım

hidrokarbon veya florokarbon zincirlerini içerir (Egrot vd., 2005; Vatansever, 2015). Sürfektanlar yapılarının böyle olması sebebiyle bir çözelti içinde misel, çift katman, vezikül gibi yapılarının oluşumundan ve ara yüzeylerdeki düzenlemelerden sorumludur (Gür, 2015).



Şekil 2.7 Amfifilik moleküllerin genel yapısı (a) ve ara yüzeydeki amfifilik moleküllerin gösterimi (b) (Url-3).

Sürfektanların hidrofilik baş ve hidrofobik kuyruk kısımlarının fiziksel ve kimyasal özellikleri sayesinde, karışım içinde yığın oluşturma davranışı ve ara yüzeylere olan uyumu belirlenebilir (Vatansever, 2015; Gür, 2015). Bu özellikler arasındaki dengeye bağlı olarak hem ara yüzeyde hem de yığında, çok çeşitli kendi-kendine oluşan yapıların varlığı gözlenmiştir (Gür, 2015). Yığılşmayı sağlayan kuvvet, sistemin serbest enerjisini azaltacağından bir sürfektan molekülü, su ile etkileşime girdiğinde hava-su ara yüzeyinde birikmeye başlar ve birikme sonucunda suyun yüzey geriliminde bir azalma gözlenir (Vatansever, 2015; Gür, 2015). Bundan dolayı LB film oluşturmak için kullanılacak moleküllerin su içerisinde çözünmemesi ve yüzey üzerinde organize edilebilmesi dolayısıyla su yüzeyi üzerine yayılabilmektedir (Akbay, 2017).

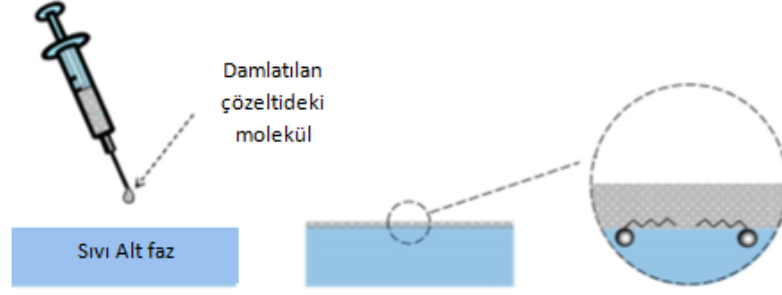
Amfifilik moleküller için hidrokarbon zincirlerinin uzunluğu önemlidir. Çünkü tek tabakaların oluşabilmesi için, hidrokarbon zinciri yeterli uzunlukta olmalıdır. Yapılan çalışmalar neticesinde LB sisteminde kullanılabilecek amfifilik moleküllerin hidrokarbon sayısının 12'den fazla $\{(CH_2)_n, n>12\}$ olması gerektiği belirtilmiştir. Hidrokarbon zincir uzunluğu normalden kısa ise amfifilik moleküller suda çözünemez fakat yine de su yüzeyinde misel oluşturma eğilimi gösterirler. Bu miseller suda

çözünebildiğinden dolayı ara yüzeyde tek tabaka oluşumuna engel olurlar. Öte yandan eğer zincir çok fazla uzunsa amfifilik moleküller su yüzeyinde kristalize olma eğilimi gösterirler, dolayısıyla bu durum da tek tabaka oluşumuna engel olur. LB tekniğinde kloroform (polar) ve hekzan (apolar), çözücü olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Gür, 2015).

2.2.3 Yüzey basıncı

Hava-su ara yüzeyinde, yüzey molekülleri ile yığında bulunan moleküller arasındaki ortam farklılığından dolayı ortaya çıkan (Vatansever, 2015; Gür, 2015) ve yüzey geriliminin (γ) ölçülmesiyle bulunan (Girard-Egrot ve Blum, 2007) artık Gibbs serbest enerjine Bölüm 2.2.1’de değinilmişti. Suyun yüzey gerilimi atmosferik basınçta ve 20 °C’de 72.8 mN/m’dir ve bu değer diğer sıvılarla karşılaştırıldığında oldukça yüksek bir değerdir. Dolayısıyla su, LB film çalışmaları için uygun bir alt faz olmaktadır (Gür, 2015).

Amfifilik molekülleri yüzeye taşımanın en yaygın yolu onu uçucu bir çözücünde çözmektir (Gür, 2015). Bu amfifilik molekül içeren çözücünün oluşturduğu çözelti, Şekil 2.8’de gösterildiği gibi su yüzeyine mikrolitrelik şırınga kullanılarak damlatılır. Çözelti mevcut olan tüm alanı kaplamak için çok hızlı yayılır ve çözücünün buharlaşması beklenir. Buharlaşma sonrasında film adı verilen tek tabakalar oluşur (Vatansever, 2015). Tek tabakanın oluşması yüzey gerilimini etkiler (Girard-Egrot ve Blum, 2007). Moleküller yüzeye ilk yayıldıklarında aralarındaki mesafe fazla olduğundan dolayı moleküller arasındaki etkileşimlerde zayıftır. Bu durumda tek tabaka, iki boyutlu gaz fazdır ve suyun yüzey gerilimi üzerine çok küçük etki eder. Eğer tek tabaka bariyerler yardımıyla sıkıştırılırsa ve dolayısıyla yüzey alanı azaltılırsa (Vatansever, 2015), moleküller arası mesafe de azaldığı için yüzey gerilimi de azalır (Girard-Egrot ve Blum, 2007) ve moleküller arasında, birbirlerine karşı itici bir kuvvet uygulanmaya başlar (Vatansever, 2015).



Şekil 2.8 Moleküllerin sıvı yüzeyine mikroşırınga ile yayılması (Moghaddam ve ark., 2011).

Basıncın iki-boyutlu analogu olarak ilişkilendirilen ve film tarafından birim uzunluk başına uygulanan kuvvet ‘Yüzey Basıncı’ olarak adlandırılır (Vatansever, 2015). Bu iki-boyutlu analog basınç, π olarak ifade edilir ve Denklem [2.1] ile hesaplanır (Gür, 2015).

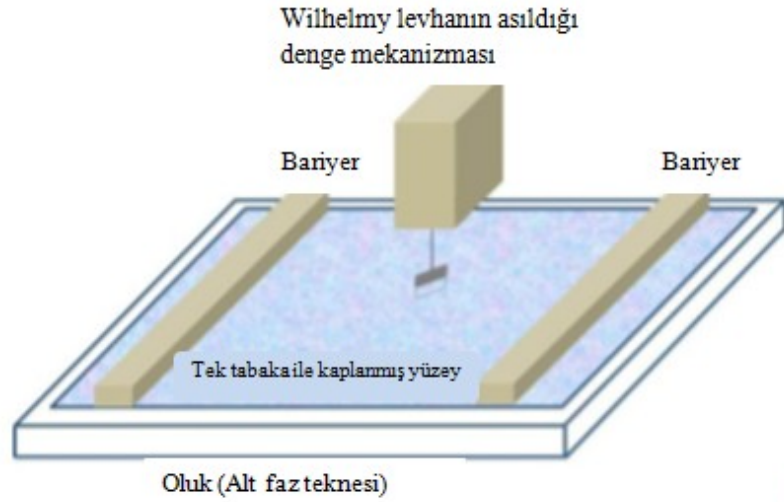
$$\pi = \gamma - \gamma_0 \quad [2.1]$$

Burada;

γ : Bir film tabakasının bulunduğu durumdaki yüzey gerilimi

γ_0 : Temiz alt faz yüzeyinin yüzey gerilimidir.

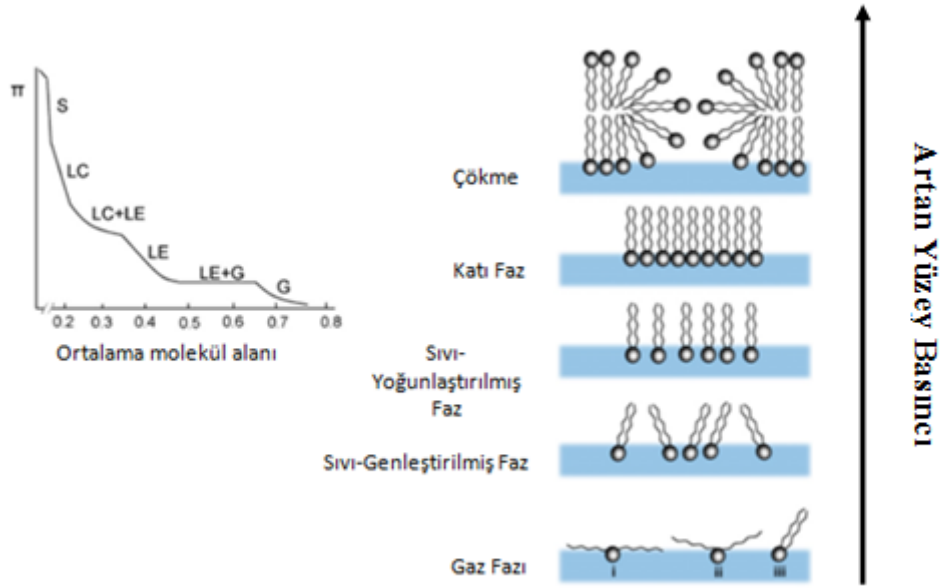
Şekil 2.9’da, yüzey basıncını ölçmek için kullanılan Wilhelmy plakanın asıldığı elektronik terazi ve mevcut yüzey alanını azaltmak için eş zamanlı çalışan bariyerler gösterilmiştir (Gür, 2015).



Şekil 2.9 Langmuir film dengesinin temsili gösterimi (Gür, 2015).

2.2.4 Langmuir Blodgett tekniği ile fosfolipit tek tabaka sistemlerinin oluşturulması

Moleküller arası etkileşimin en az olduğu ve molekül başına düşen alanın en büyük olduğu yani en düzensiz durum, Langmuir-Blodgett film maddesinin yüzeye yeni serptiği ve bariyerlerin tamamen açık olduğu durumdur. Şekil 2.10'da gösterildiği gibi düzensizliği belirtmek amacıyla bu faz, gaz fazı olarak adlandırılır. Bariyerler yavaş yavaş kapanmaya başladığı durumda moleküller arası etkileşim artarken molekül başına düşen alan azalır ve Wilhelmy Plakası'na moleküller tarafından basınç yapılmaya başlar. Bu durum moleküllerin yarı düzenli şekilde bulunmasından dolayı sıvı faz olarak adlandırılır. Bariyerler kapatılmaya devam edildiğinde moleküller birbirine iyice yaklaşır, yüzey basıncı çok hızlı bir şekilde artarken yüzey alanının sabit kalması su yüzeyinde ince ve düzenli bir katmanın oluştuğunu gösterir. Bu durumda ise moleküller en düzenli haldedir, bundan dolayı bu faz katı faz olarak adlandırılır. Bu aşamadan sonra bariyerler kapatılmaya devam edilirse moleküller üst üste binerek dağılır. Bu faz ise çökme (dağılma) fazı olarak adlandırılır (Akbay, 2017).

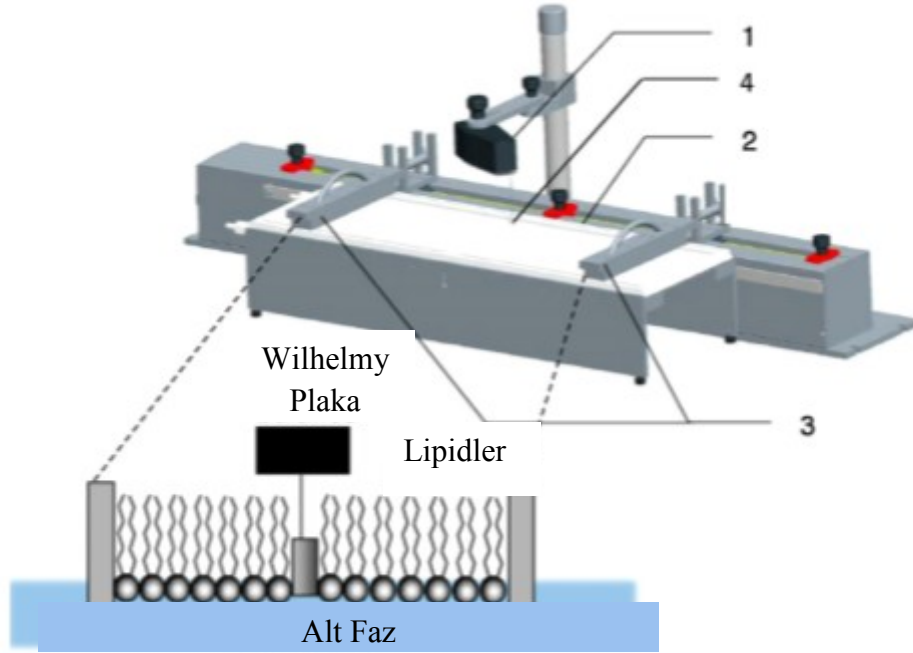


Şekil 2.10 Bariyer konumu ve moleküllerin su yüzeyindeki davranışları (G: Gaz fazı, LE: Sıvı- genleştirilmiş, LC: Sıvı- yoğunlaştırılmış ve S: Katı faz (Moghaddam ve ark., 2011).

LB filmler moleküllerin en organize olduğu katı faz olarak bilinen en kararlı basınç aralığında üretilmelidir. Çünkü bu aralıkta, basınçta hızlı bir yükseliş görülürken, yüzey alanı sabit kalmaktadır. Bu durum moleküllerin sıvı-gaz ara yüzeyinde son derece düzenli bir yapıda olduklarını gösterir ve kararlı filmlerin oluşturulmasını sağlar. Amfifilik bir molekülün tek-tabaka özellikleri yüzey alanına karşı yüzey basıncının grafik edilmesi yoluyla oluşturulan yüzey basıncı (π)-alan (A) izotermi ile incelemektedir. Bu izoterm bir amfifilik bir molekülün tek-tabaka oluşturup oluşturmadığının bir göstergesidir ve her bir moleküle özgü olarak değişir (Akbaş, 2017). Diğer bir ifadeyle π -A izoterm grafiği, su yüzeyinde oluşturulan LB ince film maddesinin su yüzeyindeki karakteristik özelliklerinin incelenmesi ve LB film üretimi için gerekli olan basınç değerinin bulunması için kullanılır (Açıkbaş, 2006).

LB filmler, Langmuir-Blodgett cihazı kullanılarak elde edilir ve bu işlem için film hazırlama tekneleri kullanılır. Film hazırlama tekneleri, yüzey aktif moleküllerin oluşturulması ve bu moleküllerin homojen bir şekilde biriktirilmesi için kullanılmaktadır. İlk kez hava-su ara yüzeyinde tek tabakaları kontrol etmek için bariyerli tekneyi dizayn eden kişi Agnes Pockels'dur. Agnes Pockels, manuel olarak ilk ince film teknesini geliştirmiş ve hava-sıvı ara yüzeyinde organik moleküller ile ince

film üretmiştir (Giles ve Forrester, 1971). Günümüzde bilgisayar kontrollü olarak kullanılan Langmuir-Blodgett cihazı ve bileşenleri, bu tasarımda bariyerler teknenin kenar kısımlarına yerleştirilmiştir. Günümüze kadar Langmuir-Blodgett film tekneleri teknolojik olarak oldukça gelişmiş ve bilgisayar kontrollü hale gelmiştir. Şekil 2.11’de verilen tekne sisteminde, sıvı yüzeyinin alanını değiştirebilecek bir bariyer mekanizması vardır. Bu bariyer sistemi ve bariyer motoru ile ara yüzey üzerinde yüzen tek tabakalar sıkıştırılarak yüzey basıncı kontrol edilebilir. Ayrıca sistemde LB filmlerin kaplandığı yüzeyi hareket ettirebilecek bir dipper (daldırma) mekanizması mevcuttur. Bu mekanizmada, katı yüzeyi tutucu bir motor sayesinde aşağı ve yukarı yönlü hareket ederek tek tabakaların katı bir yüzeye alınmasını sağlar (Navathe ve ark., 2001).



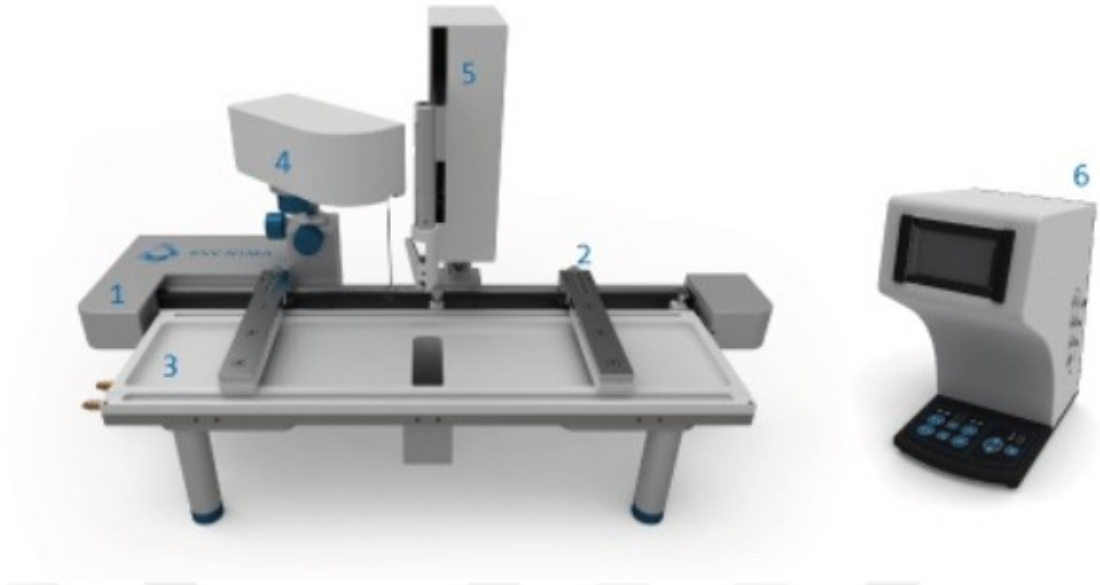
Şekil 2.11 Langmuir-Blodgett film teknesinin şematik gösterimi: (1) denge, (2) temiz alt faz ile doldurulmuş yüzey, (3) bariyerler, (4) Wilhelmy plaka (Moghaddam ve ark., 2011).

Tekne ayrıca yüzey dengesini kontrol edecek bir basınç sensör mekanizmasına sahip olmalıdır. Bölüm 2.2.1’de bahsedilen ve Wilhelmy Plakası olarak adlandırılan bu mekanizma, su yüzeyindeki tek tabakaların oluşturduğu yüzey geriliminin değişimini basınç değişimi olarak algılar ve kontrol sistemine aktarımını sağlar (Navathe ve ark., 2001).

LB filmlerinin hazırlanması sırasında su-hava ara yüzeyinde bulunan, düzgün bir şekilde sıralanmış tek tabaka moleküllerinin yönelimini ve yapısını etkileyen faktörler; temizlik, ortamdaki tozlar, sıcaklık ve titreşimdir. Kararlı bir film elde etmek için LB film teknesi çevresinde gerekli önlemler alındıktan sonra film oluşumuna geçilmelidir. Tek tabaka oluşumunda kullanılan madde miktarı çok az olduğundan gözle görülemeyen maddeler bile safsızlığa neden olarak tek tabakaların sıvı-gaz ara yüzeyinde düzgün sıralanmasını engelleyerek film kararlılığını düşürmektedir. Bu yüzden LB filmleri hazırlanırken çalışma ortamının ve kullanılacak malzemelerin temizliğine büyük önem verilmelidir (Oğuzhan, 2011). Yüzeylerin temizliği ve hidrofilik hale gelebilmesi için uygulanan çeşitli yöntemler vardır. 4:1 oranında derişik H_2SO_4 ve H_2O_2 karışımı ile (pirana çözeltisi) yüzey muamele edilebilir (Flink ve ark.,2001; Li ve ark., 2004). Diğer bir metot 4M NaOH ile veya derişik HCl ile katı yüzeylerin muamelesidir (Blount ve ark., 1980). Bunların yanı sıra 1:1:5 oranında NH_4OH (28%), H_2O_2 (37%), H_2O ile hazırlanan bir çözelti ile (RCA çözeltisi) yüzeyler muamale edilerek de katı yüzey temizlik aşamasından geçirilerek hidrofilik özellik kazandırılabilir (Edwards ve ark., 2000).

Kirliliğe neden olabilecek maddelerin başında LB çalışmalarında ara faz olarak kullanılan su gelmektedir. Sudaki kirlilik, iyonlar ve yabancı maddelerden kaynaklanmaktadır bu nedenle ultra saf su (18.2 MΩcm özdirence sahip) kullanılması gerekmektedir (Oğuzhan, 2011). Hava da laboratuvar koşullarında kirlilik kaynağı olabilecek bir diğer etkindir. Filmin özellikle optik uygulamalarda kullanılmak amacı ile hazırlanması durumunda toz parçacıklarının filmin içine girmesi ışığın saçılmasına sebep olabileceğinden kapalı çalışma ortamı oluşturmaya dikkat edilmelidir. Bu amaçla mika ya da cam gibi saydam bir malzemeden yapılmış kutuya LB cihazı yerleştirilmekte ve film üretimi bu ortamda gerçekleştirilmektedir (Civan, 2007). LB film teknesini kullanacak olan kişinin de film üretimini titizlikle gerçekleştirmesi çalışmacıdan kaynaklanan kirlilikleri en aza indirgemiş olur. Temizlik kontrolünün ardından yüzey basıncı /alan değişimine ait grafiği elde etme aşamasına geçilir (Oğuzhan, 2011).

Günümüzde bilgisayar kontrollü olarak kullanılan Langmuir-Blodgett cihazı Şekil 2.12’de ve cihazın bileşenleri Şekil 2.13’de gösterilmiştir.



Şekil 2.12 Langmuir Blodgett cihazı (Url-4).



Şekil 2.13 Langmuir Blodgett cihazının bileşenleri (Url-4).

Şekil 2.12 ve Şekil 2.13’de gösterildiği gibi Langmuir-Blodgett cihazı 6 kısımdan oluşmaktadır:

1. Çerçeve: Büyük yada küçük olabilir. Büyüklük teknenin üst yüzey alanına bağlıdır.
2. Bariyerler: Oluşturulacak olan tek tabakanın sıkıştırılması için kullanılır. Bariyerler hidrofilik bir yapıdadır ve bariyer pozisyonlarını cihazın yazılımı belirler. Aynı zamanda sıkıştırma sırasında meydana gelebilecek sızıntıları önler.

3. Tekne: Alt fazın bulunduğu yerdir ve hidrofobik bir yapıdadır.
4. Yüzey basınç sensörü: Wilhelmy plakasına uygulanan kuvvetin ölçümünde büyük bir hassasiyet gösteren kısımdır.
5. Daldırma mekanizması:
6. Arayüz birimi: Kontrol ünitesidir. Cihazın kısa yoldan kontrol edilmesini sağlayan bölümdür (Ayluçtarhan, 2015).

2.3 Kaynak Araştırması

Briuglia ve ark., (2015) çalışmalarında kontrollü ve stabil ilaç salınım materyalleri hazırlamak için lipidlerdeki en uygun kolesterol miktarını araştırmak kolesterolün lipozom stabilitesini ve in vitro ortamda ilaç salınımı üzerindeki etkisi araştırmışlardır. Çalışmalarında lipozom olarak DMPC, DPPC ve DSPC fosfolipitleri kullanmışlardır ve lipozom çözeltilerini kloroform içerisinde çözerek hazırlamışlardır ve lipit/kolesterol oranı olarak %100 lipid, %80–20, %70–30, %60–40 ve %50–50 oranlarını kullanmışlardır. Hazırlanan çözeltilerden kuru lipid film elde etmek için fosfat tamponlu salin kullanılarak hidrate etmişlerdir. Yapısal kusurları gidermek için he lipidin geçiş sıcaklığının (DMPC 40°C, DPPC 50°C, DSPC 70°C) üzerindeki Bir sıcaklıkta 1 saat bekletmişlerdir ve lipozom stabilitesi için çözeltiyi 37°C ve 50°C olmak üzere iki farklı sıcaklıkta saklayarak formülasyonların stabilitesini test etmişlerdir. Karakterizasyon analizleri için zeta potansiyeli, FTIR, ATM cihazlarını kullanmışlardır. Stabilitate sonuçlarına dayanarak, her lipid için en stabil iki formülasyonu kullanmışlardır [DMPC (%50–50 ve %70–30), DPPC (%60–40 ve %70–30) ve DSPC (60–40 ve %70–30)]. Çalışmalarının sonucunda literatürdeki tercih edilen bilgileri doğruladıklarını bildirmişlerdir.

Neunert ve ark., çalışmalarında yeni sentezlenen dl-a-tokoferil β -D-glukopiranozid tokoferol glikozidik türevinin hava/su ara yüzeyindeki DPPC fosfolipid tek tabakasının moleküler organizasyonunu ve faz geçişlerini değiştirmedeki rolünü araştırmışlardır. Tüm mol fraksiyonları aralığında DPPC ile karıştırılmış dl-a-tokoferil β -D-glukopiranozid' in iki bileşenli Langmuir filmleri su yüzeyinde oluşturulmuştur. Çözeltileri yüzeye yaydıktan sonra filmlerin ilk sıkıştırılması gereken hız değerini 0,041

$\text{nm}^2/\text{dk.moleköl}$ olarak belirlemişlerdir. Alt faz sıcaklık parametresi olarak 20°C de çalışmışlardır. Langmuir film tekniği kullanılarak, DPPC tek tabakasının dl-a-tokoferil β -D-glukopiranozid ilavesinin neden olduğu moleküler organizasyon ve faz geçiş değişikliklerini belirlemişlerdir. dl-a-tokoferil β -D-glukopiranozid'in fosfolipid filme dahil edilmesinin onu daha az yoğun ve daha az düzenli hale getirdiğini ve sonuç olarak sıvı yoğunlaştırılmış alan oluşumunu engellediğini, bu molekülün, yüksek yüzey basınçlarında bile hava/su arayüzünde kalmasına izin verdiğini gözlemlemişlerdir. Çökme yüzey basıncındaki değişiklikler, dl-a-tokoferil β -D-glukopiranozid moleküllerinin DPPC tek tabakasında yüksek konsantrasyonlarda bile hava/su arayüzünde kaldığı sonucuna varmışlardır.

Hao ve ark., (2016) çalışmalarında, hava-su arayüzeyinde DPPC tek tabakasındaki demir oksit (Fe_3O_4) nanopartiküllerin penetrasyon davranışını ve adsorpsiyonunu araştırmışlardır. Çalışmada kullanılan lipitler, 0,1 mg/ml konsantrasyona sahip kloroform/metanol (3:1 v/v) içinde çözdürmüşlerdir. Lipit çözeltileri mikrosiringa ile yüzeye damlatılarak adsorpsiyon eğrisi elde etmişlerdir. Saf DPPC eğrisi 10 mN/m yüzey basıncında LE-LC arasında belirgin karakteristikleri ortaya çıkardığını bildirmişlerdir. DPPC lipidine nanopartikül eklendiğinde ve nanopartikül konsantrasyonu arttığında DPPC tek tabakasının izotermi daha geniş bir yöne dağılmıştır. Çalışmada en kararlı eğrilerin elde edildiği, LE ve LC fazları için, π değerleri 5 mN/m ve 15 mN/m olarak seçilmiştir. Elde edilen verilerden π -t eğrisini elde etmişlerdir ve grafikte Fe_3O_4 konsantrasyonunun kademeli olarak arttığını gözlemlemişlerdir. Son olarak çalışmanın karakteristik analizi için AFM cihazı kullanmışlardır ve tek tabakaya eklenen partiküllerin penetrasyonunun, tek tabakanın yüzey basıncına ve lipid çözeltilerinin konsantrasyonuna bağlı olduğu sonucuna varmışlardır.

Sarkar ve ark., (2010), çalışmalarında fosfolipit kullanarak demir oksit nanopartiküllerin oluşumunu incelemişlerdir. 1 mg/ml konsantrasyondaki DPPC molekülünü kloroform ile karıştırıp elde ettikleri DPPC çözeltilerinden ve bu çözeltilere demir iyonlarının ilave edilmesiyle oluşan yeni çözeltilerden belirli miktarlarda alıp yüzeye yaymışlardır. π - t eğrisinden π değerlerinin ferric klorid (FeCl_3) konsantrasyonuyla birlikte yavaş yavaş arttığını gözlemlemişlerdir. Çalışmalarında saf DPPC tek tabakasının, LE-LC geçiş bölgesinin 10 mN/m yüzey basıncında olduğunu ve DPPC ile demir oksit

nanopartiküllerin oluşumu nedeniyle LE-LC faz değişim bölgesinin, saf DPPC faz değişim bölgesine göre daha yüksek basınç değerinde kırılma verdiğini gözlemlemişlerdir. Son olarak ise UV-vis, SEM, TEM cihazlarını kullanarak karakterizasyon analizi yapmışlardır.

Xu ve ark., (2019), Hidrofilik ve hidrofobik Fe_3O_4 nanopartiküllerin, 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glisero-3-fosfokolin (POPC) ve DPPC üzerindeki etkisini LB tekniği ve AFM cihazı kullanarak incelemişlerdir. Deneyde, Saf DPPC tek tabaka için LE-LC faz geçiş bölgesini literatürle uyumlu olan 4.5 mN/m yüzey basıncında gözlemlemişlerdir. POPC konsantrasyonu 0.25 (DPPC: 0.75) durumunda LE-LC fazının geçiş noktasının değişmediğini ve hala gözlenebilir olduğu sonucuna varmışlardır. Ancak POPC konsantrasyonu 0.5 ve 0.75 e yükseldiğinde faz geçişi ortadan kaybolmuştur. Saf DPPC tek tabakalarının sınır alanı sadece 38.8 Å iken, saf POPC'nin sınır alanı 65.76 Å'dir. Hidrofilik / hidrofobik Fe_3O_4 NP'ler alt faza ilave edildikten sonra, tek tabakalardaki sınır alanı artmıştır ve hidrofobik Fe_3O_4 NP'lerin alanı hidrofilik Fe_3O_4 NP'lerin alanından daha büyük olduğunu gözlemlemişlerdir. Elde ettikleri Yüzey basıncı ve alan değerlerinden sıkıştırılabilirlik katsayılarını hesaplayıp konsantrasyon değerlerine karşı sıkıştırma modüllerini grafik çizmişlerdir ve saf DPPC ve POPC tek tabakalarının $C_{s,max}^{-1}$ değerleri sırasıyla 202.89 mN/m ve 86.78mN/m olduğunu ve bunların sırasıyla sıvı jel fazında ve sıvı fazında olduklarını görmüşlerdir. POPC oranı arttıkça, POPC / DPPC tek tabakalarının $C_{s,max}^{-1}$ değerleri azalır, bu da karışık lipidlerin faz geçişlerinin jel fazının (DPPC) ve sıvı fazın (POPC) bir arada bulunduğunu gösterir. Karışık tek tabakaların karışabilirliğini ve stabilitesini ölçmek için ΔG_{exc} ve A_{exc} değerlerini hesaplayıp konsantrasyon değerlerine karşı grafik çizmişlerdir. Elde ettikleri deneysel veriler ve gözlemler sonucunda POPC moleküllerinin mevcudiyetinde, hidrofobik Fe_3O_4 nanopartiküller, tekli tabakaların çökme basıncını önemli ölçüde etkilemekte ve bu da çökme basıncının önemli ölçüde düşmesine neden olmaktadır. Sonuçlar, hidrofobik Fe_3O_4 nanopartiküllerin lerin, karışık POPC / DPPC tek tabakalarının LE ve LC fazını büyüttüğünü göstermiştir. Karışık POPC/DPPC tek tabakasının sıkıştırılabilirlik modülü hidrofilik Fe_3O_4 nanopartiküller için artmıştır, ancak hidrofobik Fe_3O_4 nanopartiküller için bunun tersi olmuştur.

Szceś vd. (2012), Langmuir tek tabaka ile DPPC/Kolesterol tek tabaka bileşenlerinin stabilitesini araştırmışlardır ve çalışmada elde ettikleri A değerlerinden yüzey basıncının

5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 mN/m'a karşılık gelen A değerlerini kullanarak $\pi - A$ izoterm grafiğini elde etmişlerdir. Başka bir çalışmada da, Costin ve Barnes (1975) octadecanol-dokosil sülfat ikili bileşeninin yüzey basınç alan izotermi arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Tüm tek tabakalar için substrat, 0.1 M KCl çözeltisine 0.0001 M Na₂EDTA'nın eklenmesiyle oluşturulmuştur. Yayma çözeltisi olarak benzen (% 40, Merck) ve metanol (% 40, Merck) kullanmışlardır. Her bir tek tabakalı bileşim için en az bir izotermi normalden daha yavaş bir sıkıştırma hızında çalıştırmışlardır (hız 7 yerine 27.5 mm.dk⁻¹ hız 5 yerine 6.9 mm.dk⁻¹), ancak hiçbir önemli etki gözlemleyememişlerdir. Bununla birlikte, dokosil sülfat tek tabakasının, oktadekanol tek tabakasından daha sıkıştırılabilir ve ortalama olarak daha geniş yüzey alanları kapladığı sonucuna varmışlardır. Karışık tek tabakalarda, oktao dekanol oranının artırılması, izotermi 13 mN/m'den daha düşük yüzey basınçlarında daha düşük moleküler alanlara kaymasına ve tüm yüzey basınçlarında izotermi dikliğinde bir artışa neden olmuştur. Ancak sıkıştırılabilirlikler önemli bir eğilim göstermemiştir. Karışık tek tabakaların bazılarında, saf oktadekanol tek tabakasından daha küçük moleküler alanlar gözlenmiştir. Bu küçük alanların gerçek olduğunu ve daha önce tartışılan deneysel zorluklardan kaynaklanmadığını gösteren birkaç değerlendirme olduğunu ve bu hususlardan en önemlilerinin de, alan verilerinin tekrarlanabilirliği ve kendi kendine tutarlılığı ve bu karışık tek tabakaların yüksek yüzey basınçlarında gelişmiş buharlaşma dirençleri olduğunu bildirmişlerdir. Bir tek tabaka, denge yayılma basıncından daha yüksek ve çökme basıncından daha düşük bir yüzey basıncına sıkıştırıldığında ve sabit alanda tutulduğunda, genellikle yüzey basıncında yavaş bir aşağı doğru kayma sergilediğini ve bu tür eğilimin gözlemlenmesi, tek tabakanın stabilitesinin bir ölçüsü olduğunu vurgulamışlardır. Prosedürdeki her adımın tamamlanmasında yüzey basıncı değerlerini, sıkıştırmadan hemen sonra, t=0 saniye; t=300 saniyede; ve t = 500 saniyede olmak üzere not etmişlerdir. Çalışmalarında ise, Oktadekanol-dokosilsülfat sistemi için, bileşime karşı molekül başına alan grafikleri karışık filmler için tek tabakalı alanların, tüm bileşimlerde ve tüm yüzey basınçlarında karşılık gelen karıştırılmamış film alanlarından daha az olduğu sonucunu ortaya koymuşlardır.

π ve A değerleri kullanılarak lipid bileşenler arasındaki etkileşimlerin durumunun değerlendirilmesi, ideal bir karışımın molekül başına ortalama moleküler alanın hesaplanması için Denklem [2.2] kullanılır (Dynarowicz vd., 1999). Ortalama

moleküler alan A_{12} ile ifade edilir ve birimi $\text{\AA}^2/\text{molekül}$ sayısıdır. A_{12} , her bir derişim değerindeki π değerleri kullanılarak hesaplanır. A_1 saf DPPC bileşeninin alan değeridir ve tüm hesaplamalarda, ilgili derişimin ilk alan değeri olarak alınır. A_2 değeri ise saf kolesterol bileşeninin alan değeridir ve tüm hesaplamalarda ilgili derişimin son alan değeri olarak alınır. x_1 ve x_2 ise sırasıyla DPPC ve kolesterol bileşeninin mol kesirleridir. x_1 ve x_2 mol kesirleri birbirlerini 1'e tamamlamalıdır. Tüm A ve tüm π değerleri kullanılarak 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 mN/m yüzey basıncı için hesaplanan A_{12} değerleri, kolesterol derişimlerine karşı grafik çizilir. Szcześ vd. (2012) 'de çalışmalarında elde ettikleri A değerlerinden yararlanarak A_{12} değerlerini hesaplamışlardır.

$$A_{12} = A_1 x_1 + A_2 x_2 \quad [2.2]$$

A_{12} : Farklı mol kesirlerinde hazırlanmış olan lipid çözeltisi içindeki DPPC/Kolesterol bileşiminin moleküler alanı ($\text{\AA}^2/\text{molekül}$)

A_1 : Saf DPPC bileşeninin moleküler alanı ($\text{\AA}^2/\text{molekül}$)

A_2 : Kolesterol bileşeninin moleküler alanı ($\text{\AA}^2/\text{molekül}$)

x_1 : DPPC bileşeninin mol kesri

x_2 : Kolesterol bileşeninin mol kesri

DPPC/Kolesterol tek tabaka bileşenleri arasındaki ortalama moleküler alanın değerlendirilmesine ek olarak DPPC ve kolesterol lipid bileşenlerinin arasındaki güçlü etkileşimler, A_{exc} ile ifade edilir. A_{exc} , deneysel ve teorik alanlar arasındaki farkı ifade eden artık alandır. Dolayısıyla gerçek karışımların alan izotermi ve saf haldeki karışımların alan izotermi gösterir ve Denklem [2.3] kullanılarak hesaplanır.

$$A_{exc} = A_{12} - (A_1 x_1 + A_2 x_2) \quad [2.3]$$

Deneysel olarak hesaplanan değerler gerçek alan değerleridir ve A_{12} ile gösterilir. Teorik olan değerler ise ideal alanı temsil eder ve Denklem [2.3]'de $A_1x_1 + A_2x_2$ olarak ifade edilir. x_1 ve x_2 değerleri DPPC ve Chol değerlerinin (örneğin DPPC/Chol için %100 DPPC, % 0,75/ % 0,25, % 0,50/ % 0,50, % 0,25/% 0,75 ve %100 kolesterol) toplamının 1 olacağı şekilde alınır. A_1 ve A_2 değerleri sırasıyla ilgili basınçtaki elde edilen değerlerden ilk alan değeri ve son alan değeri olarak alınır. A_{exc} değerlerini bulmak için Denklem [2.2] kullanılarak hesaplanan A_{12} değerleriyle, hesaplanan $A_1x_1 + A_2x_2$ değerlerinin farkı alınır ve A_{exc} elde edilir. DPPC ve kolesterol molekülleri arasındaki etkileşimleri ve artık alanın ne kadar fazla olduğunu görebilmek için A_{exc} değerlerine karşılık x_{chol} değerleri grafiğe çizilir.

Belli derişimdeki DPPC/Chol lipit çözeltilerinden yola çıkarak elde edilen tek tabakalar arasındaki güçlü etkileşimlerin değerlendirilmesi sonrasında bu etkileşimlerin sonuçları kantitatif olarak analiz edilir. Lipit bileşenlerinin kantitatif analizi, belli derişimlerden hazırlanmış DPPC/Kolesterol bileşiminin artık Gibbs enerjisi (ΔG_{exc}) ile sağlanır. Costin ve Barnes (1975), ΔG_{exc} 'nin değerlerini Denklem [2.4] kullanılarak hesaplamaktadır.

$$\Delta G_{exc} = N \int_0^\pi (A_{12} - x_1A_1 - x_2A_2) d\pi \quad [2.4]$$

Burada;

N : Avogadro sayısı (6.02×10^{23} molekül/mol).

Bir elementin birmolündeki atom sayısı ya da bir bileşiğin bir molündeki molekül sayısını ifade eder. $(A_{12} - x_1A_1 - x_2A_2)$ ifadesi denklem [2.3]'de belirtildiği gibi A_{exc} 'ye eşittir. İntegral kurallarından yararlanarak birimlerin oranlamaları, birim dönüşüm tablosunun da kullanımıyla birlikte yapılır. Birimlerin sadeleşmesi sonrası $6.02 \times A_{exc}$ sonucu ortaya çıkmaktadır. Dolayısıyla ΔG_{exc} ifadesi $6.02 \times A_{exc}$ değerine eşit olmaktadır. Denklem [2.4] kullanılarak her bir derişim değeri için hesaplanan A_{exc} değerleri 6.02 ile çarpılarak ΔG_{exc} değerleri elde edilir ve kolesterol konsantrasyon değerlerine karşı ΔG_{exc} değerleri grafik çizilir.

ΔG_{exc} ilgili tek bileşenli filmdeki moleküller arasındaki etkileşimlere atıfta bulunarak belli derişimlerde hazırlanmış karışımlardan oluşan DPPC/Kolesterolden oluşturulan tek tabakalardaki bileşenler arasındaki etkileşimlerin bir ölçüsüdür. Bu nedenle ΔG_{exc} 'nin negatif değerleri, karışımdaki bileşenler arasındaki etkileşimlerin, kendi saf hallerine kıyasla daha çekici veya daha az itici olduğunu gösterir. Diğer yandan ΔG_{exc} 'nin pozitif değerleri, belli derişimlerde hazırlanmış karışımlardan oluşan DPPC/Kolesterolden oluşturulan filmdeki etkileşimlerin tek bileşenli tek tabakalardakilerden daha az bağıl çekim kuvveti veya daha itici olduğunu gösterir. Ayrıca ΔG_{exc} değerleri ne kadar düşüğe lipit çözeltisi içindeki DPPC/Kolesterol bileşiminin tek tabakaları o kadar kararlı olur (Hąc-Wydro ve Wydro, 2007).

Tek tabakaların durumu, sıkıştırılabilirliğin karşılığı olan sıkıştırma modülü değerleriyle dengelenmiştir. Sıkıştırma modülü C_s^{-1} ile ifade edilir ve Denklem [2.5] ile bulunmaktadır (Davies ve Rideal, 1963). Denklem [2.5]'de A ifadesi her bir yüzey basıncındaki sıralı iki A değerinin ortalamasıdır (örneğin $A_1 + A_2/2$, $A_2 + A_3/2$). Dolayısıyla toplam A_{ort} değeri sayısı, toplam A değeri sayısından 1 eksik olmalıdır. $d\pi$ ifadesi matematiksel teoremlerden iki yüzey basıncı değerinin farkını (örneğin $\pi_2 - \pi_1$, $\pi_3 - \pi_2$) ifade eder. dA ifadesi, $d\pi$ ifadesine benzer olarak iki alan değerinin farkını (örneğin $A_2 - A_1$, $A_3 - A_2$) ifade eder. Dolayısıyla $d\pi/dA$ değerleri (örneğin $\pi_2 - \pi_1/A_2 - A_1$, $\pi_3 - \pi_2/A_3 - A_2$) ifade edildiği şekilde hesaplanır. $d\pi/dA$ değerlerinin sayısı toplam yüzey basıncı ve alan değerlerinin sayısından 1 eksik olmalıdır. Dolayısıyla A_{ort} değerlerinin sayısı $d\pi/dA$ değerlerinin sayısına eşit olmaktadır. C_s^{-1} değerleri Denklem [2.5] kullanılarak her bir DPPC/Kolesterol derişimi için hesaplanan A_{ort} değerleri ile, her bir DPPC/Kolesterol derişimi için hesaplanan $d\pi/dA$ değerlerinin çarpımları sonucu elde edilir. Yüzey basıncı değerlerine karşı tek tabakanın sıkıştırılabilirlik durumunun analizi için her bir DPPC/Kolesterol derişimi için ayrı ayrı hesaplanan C_s^{-1} değerlerine karşılık π_{ort} değerleri grafiğe çizilir. π_{ort} değerleri, sıralı iki yüzey basıncı değerinin ortalaması (örneğin $\pi_1 + \pi_2/2$, $\pi_2 + \pi_3/2$) şeklinde alınır dolayısıyla toplam π_{ort} değeri sayısı toplam yüzey basıncı değeri sayısından 1 eksik olmalıdır.

$$C_s^{-1} = -A \frac{d\pi}{dA} \quad [2.5]$$

Burada;

C_s^{-1} : Karşılıklı sıkıştırma modülü (mN/m)

A : Alan ($\text{\AA}^2/\text{molekül}$)

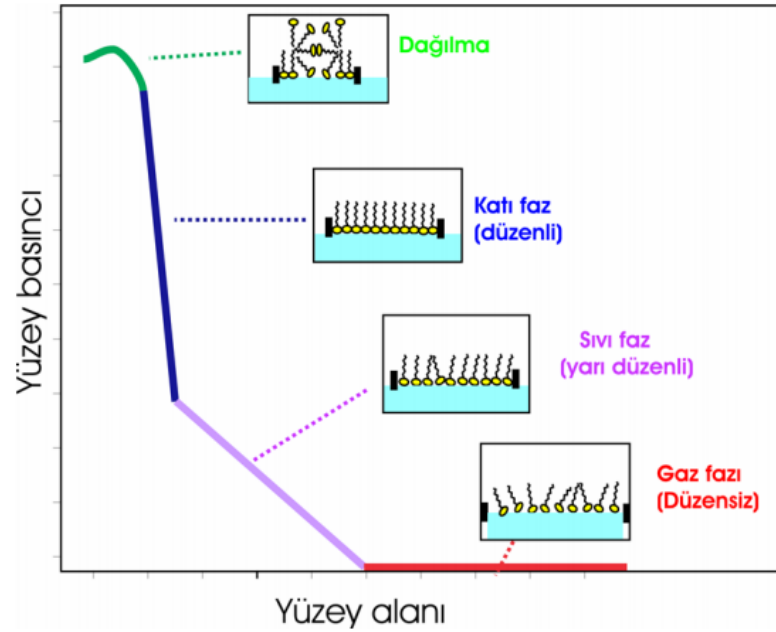
π : Yüzey basıncı (mN/m)

LB film üretimi yapılacak olan ortamın, tozdan arınmış, titreşimden yalıtılmış olması ve içinde bulunduğu havanın son derece temiz, herhangi bir organik çözücü madde içermemesi gerekmektedir (Gürfidan, 2011). Temizlik işleminin ardından, tek tabakayı oluşturan amfifilik molekülleri saf su ile karışmayan uçucu bir çözücü içinde, çözücü olarak hem çok uçucu hemde çabuk yayılan bir madde olması sebebiyle susuz kloroform tercih edilmektedir (Gürfidan, 2011). Genel olarak bir deneyde amfifilik moleküllerin seyreltik çözeltisi mikro litrelik şırınga yardımıyla alt faz yüzeyine yayılır (Şekil 2.8), (Blum ve Egrot, 2007).

Yayılan moleküller sıkıştırılır ve çeşitli faz dönüşümleri meydana gelir. Su yüzeyinde moleküllerin yeterli uzaklıkta olması amacıyla sürfektanların başlangıç miktarı düşük tutulur (Blum ve Egrot, 2007). Bu durumda moleküller birbirlerine küçük kuvvetler uygularlar. Oluşan tek tabaka molekülleri arasındaki büyük uzaklıklardan dolayı moleküller iki boyutlu gaz faz olarak düşünülebilir. Sürfektan molekülleri, agregat oluşumuna doğal bir eğilim göstermelerine rağmen gaz fazda tek tabaka alt fazın serbest enerjisi üzerine küçük bir etkiye sahiptir. Böylece sıvı yüzey gerilimi değişmeden kalır ve yüzey basıncı çok küçüktür. Mobil sıkıştırıcı bariyer sistemi yardımıyla tek tabakanın mevcut alanı azaltıldığında moleküller birbirine daha çok yaklaşır, moleküller arası uzaklık azalır ve yüzey gerilimi düşer. Moleküllerin hidrokarbon zincirleri etkileşmeye başlar. Tek tabakanın sıkıştırılması esnasında, amfifilik moleküller kendiliğinden düzenlenme eğilimindedir. Tek tabaka üç boyutlu gaz, sıvı ve katı fazların analoğu olarak pek çok faz dönüşümü geçirir ve son olarak sıvı yüzeyinde oldukça düzenli bir yüzen tek tabaka oluşturur. Molekül başına alan her bir molekül başına ortalama mevcut alanı belirtir. Birim molekül başına alanının yüzey basıncının bir fonksiyonu olarak görüntülenmesi tek tabakanın yüzey basıncı/alan (π -A) izotermlerinin ortaya çıkmasına sebep olur. Fazlar olarak isimlendirilen belirli bölgeler izotermilerin incelenmesiyle belirlenebilir. Sıkıştırma işlemine devam edildikçe

izotermde farklılıklar meydana gelir. Birim molekül başına geniş alanda, tek tabaka gaz faz olarak ortaya çıkar. Bu durumda moleküler etkileşimler küçüktür ve ara yüzey filminde herhangi bir yanıl adezyon yoktur. Bu faz genel olarak yüzey basıncı 0.5 mN/m'den düşük olduğu durumda ortaya çıkar. Tek tabaka molekülleri sıkıştırılmaya devam edilirse gaz fazdan sıvı faza dönüşüm gerçekleşir. Sıkıştırılmaya devam edildikçe katı faza geçilir. Bu fazda, moleküller su yüzeyinde düzenli bir şekilde dizilmiş haldedir ve moleküllerin katı desteğe transferi bu fazda gerçekleştirilir (Schwartz, 1997; Egrot vd., 2005; Uzunoğlu, 2008). Katı yüzeyinden uzaklaştıldığında moleküller arası (katı, sıvı veya gaz) etkileşim kuvvetleri zayıfladığından adsorplanan tabakanın bir molekül kalınlığında olduğu temeline dayanır. Adsorban yüzeyinde aynı enerjiye sahip belirli sayıda aktif bölge bulunduğu ve adsorpsiyonun tersinir olduğu varsayımlarına dayanır. Yüzeye adsorpsiyon hızı, yüzeyden moleküllerin desorpsiyon hızına eşit olduğuunda dengeye ulaşılır. Langmuir izotermi tek tabakada adsorpsiyon olduğunu ve yüzeyin homojen olduğunu kabul eden bir izotermidir. Bu homojen yüzeyi denge anına kadar doldurur. Denge anında maksimum adsorplama miktarına ulaşılmış olunur (Taşyürek, 2016).

Şekil 2.14'da ideal bir izoterm grafiğini ve bu grafik üzerindeki faz geçişlerini göstermektedir.



Şekil 2.14 İdeal bir izoterm grafiği ve faz geçişleri (Açıkbaş, 2006).

Genel olarak bu izoterm;ler;

- i. Hava-su ara yüzeyindeki tek tabaka stabilitesi hakkında
- ii. İki boyutlu sistemlerde moleküllerin düzenlenmesi hakkında
- iii. Faz geçişleri ve yapısal değişimleri hakkında bilgi sağlarlar (Egrot vd., 2005).

Yüksek teknoloji kullanılan organik ince film üretim metodu olan bu teknik nanometre mertebesinde filmlerin üretiminde kullanılmakta, katmanlar halinde tekrar eden yapısı ve yüksek homojenlik ile bilimsel araştırmalar ve teknolojik uygulamalarda daha da önem kazanmaktadır (Kurihara, 1996). Çizelge 2.4’de bu filmlere ait fiziksel özellikler ve bu özelliklere ilişkin bazı kullanım alanları verilmiştir.

Çizelge 2.4 Langmuir-Blodgett filmlerin fiziksel özelliklerine göre bazı kullanım alanları (Akday, 2017) .

Langmuir-Blodgett Filmlerin Özelliği	Kullanım Alanları
Piezoelektrik	Stres Algılama Devreleri, Biyolojik Sensörler
Dalga klavuzları	Telekominikasyon
Piroelektrik	Termal Dedektörler, IR Dedektörleri
Fotoluminesans Elektrolüminesans	Organik LED’ler, Sıvı Kristal Göstergeler
Işığa duyarlılık	Optik Hafızalar
Yağlama	Bir moleküler tek katman sürtünmeyi ciddi anlamda azaltabilir.
İletkenlik	Mikro-elektronik devreler arası bağlantı sağlama
Moleküler algılama	Sensörler

3. MATERYAL ve METOD

3.1 Materyal

Lipozomal sistemlerin çift tabakasının temel bileşimlerini oluşturmak amacıyla; Sigma–Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Almanya) firmasından satın alınan soya fasulyesinden izole edilmiş kolesterol (CHOL, saflık derecesi $\geq 99\%$, Sigma C8667) ve DPPC (1,2-Dipalmitoylsn-glycero-3-phosphocholine, saflık derecesi $\geq 99\%$, Sigma P4329) fosfolipiti lipitsel materyal olarak kullanılmıştır. Lipit çözeltisini hazırlamak amacıyla organik çözücü olarak Sigma–Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Almanya) firmasından satın alınan susuz kloroform (saflık derecesi $\geq 99\%$, Sigma 288306), temizlik aşaması için sulu kloroform (saflık derecesi $\geq 99\%$, Merck 1.02444) ve sulu etanol (saflık derecesi $\geq 99\%$, Merck 1.00983) kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan bu molekül ve kimyasalların bazı fizikokimyasal özellikleri Çizelge 3.1’ de verilmiştir

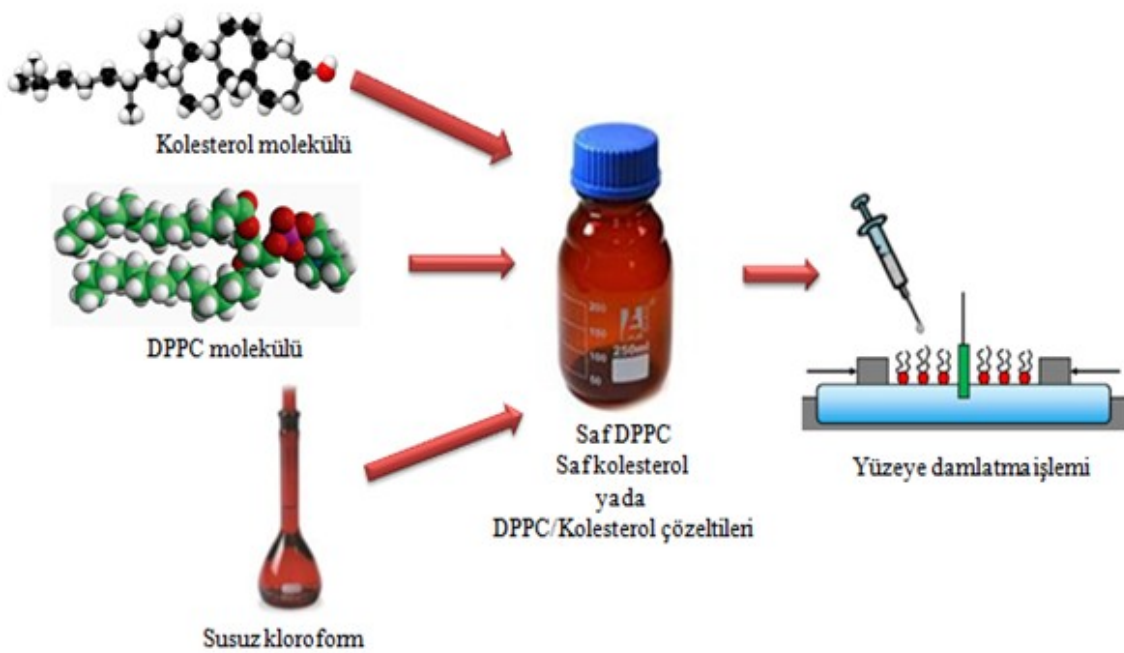
Çizelge 3.1 Deneyde kullanılan molekül ve kimyasalların bazı fizikokimyasal özellikleri

Molekül/ Kimyasal adı	Molekül formülü	Molekül ağırlığı (g/mol)	Erime noktası (°C)	Kaynama noktası (°C)	Sudaki çözünürlük (mg/L)	Yoğunluk (g/cm ³)	Kritik misel konsantrasyonu/ Yüzey gerilimi (mN/m)
DPPC	C ₄₀ H ₈₀ N ₀ P	734,04 g/mol	41,4°C	-	-	-	4,6± 0,5*10 ⁻¹⁰ mN/m
Kolesterol	C ₂₇ H ₄₆ O	386,654 g/mol	148°C	360°C	0,095 mg/L (30°C)	1,052 g/cm ³	-
Kloroform	CHCl ₃	119,38 g/mol	-63,5°C	61,15°C	80,9 mg/L (20°C)	1,489 g/cm ³	27,1 mN/m
Etanol	C ₂ H ₅ OH	46,06844 g/mol	-114,3°C	78,4°C	Tamamıyla	0,789 g/cm ³	22 mN/m
Saf su	H ₂ O	18,02 g/mol	0°C	100°C	-	999972,0 g/cm ³	71,97 mN/m
Disodyum hidrojen fosfat	Na ₂ HPO ₄	141.96 g/mol	250°C	-	118 g/L (25°C)	1.7 g/cm ³	-
Sodyum dihidrojen fosfat	NaH ₂ PO ₄	156.01 g/mol	-	-	-	-	-

3.2 Metod

3.2.1 Alt faz çözeltisi ve fosfolipid tek tabaka çözeltilerinin hazırlanması

Saf DPPC, saf kolesterol ve farklı DPPC/kolesterol oranları kullanılarak ($x_{\text{DPPC}} = 0,25$, $x_{\text{DPPC}} = 0,50$, $x_{\text{DPPC}} = 0,75$, saf kolesterol ve saf DPPC) fosfolipid tek tabaka çözeltileri susuz kloroform içerisinde hazırlanarak ve birbirleri içerisinde çözünmesi sağlanarak yüzeye damlatılacak hale getirilmiştir (Şekil 3.1).



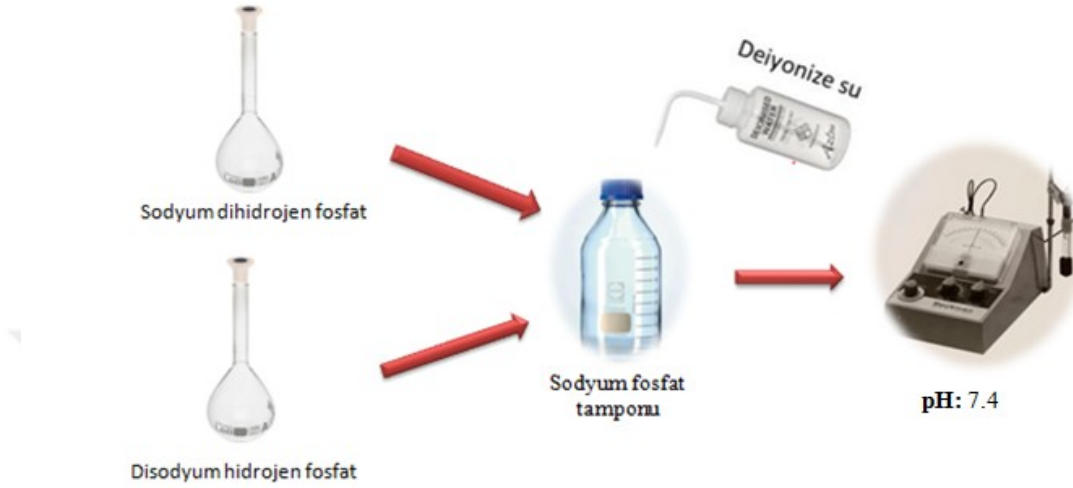
Şekil 3.1 Saf DPPC, saf kolesterol ve DPPC/Kolesterol çözeltilerinin hazırlanması ve yüzeye damlatma işlemi

- **NaF tampon çözeltisi:** 0,2 M 250 ml NaF tampon çözeltisi;

Bileşen	M _w	Miktar
Sodyum dihidrojen fosfat	156,01 g	7,80 g
Disodyum hidrojen fosfat	141,96 g	7,098g

yukarıda verilen prosedüre uygun şekilde hazırlandı. Literatür de verildiği şekilde pH:7.4 de verilen değerlerden yararlanılarak disodyum hidrojen fosfattan 40,5 ml, sodyum dihidrojen fosfattan 9,5 ml alınıp balon joje de karıştırıldı ve üzerine 50 ml Milli-Q saf su eklenerek 0,2 M 100 ml çözelti hazırlandı (Şekil 3.2), (Url-5). Analitik

hesaplamalar yardımıyla 0,2 M 100 ml tampon çözeltisinden, 0,001 M 1 L stok çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan 0,001 M 1 L stok çözeltiden 10 ml alınarak, 990 ml Milli-Q saf su üzerine eklendi, sonikatörde (Elmasonic, S 30 H) sonike edildi ve daha sonra alt faz olarak kullanıldı.



Şekil 3.2 Alt faz olarak kullanılan sodyum fosfat tamponunun hazırlanış aşaması

3.2.2 Film hazırlık aşaması ve cihaz yüzey temizliği

Cihaz ve yüzey temizliği hakkında detaylı bilgi Bölüm 2.2.4’ de verilmiş olup deneye başlanmadan önce temizlik, esasına uygun bir şekilde gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada, tekne üzerine tüm yüzeyi temizlemeye yetecek kadar kloroform dökülüp kurulanmıştır, daha sonra yüzeye etanol dökülüp her noktası etanol ile temas edecek şekilde işlem yapılmıştır, son olarak ise saf su ile durulanıp tekrar kurulanmıştır. İkinci aşamada ise bariyerler tekne temizliğinde olduğu gibi aynı işlem uygulanarak önce etanol daha sonra saf su ile temizlenmiştir ve kurulanmıştır. Kurulanan tekne ve bariyerler cihazdaki yerine takılıp bariyerlerin komut işlemleri için ihtiyaç duyulan bilgisayar sistemi açılmıştır. Bariyerler tamamen açık konuma getirilmiştir ve tekne üzerine alt faz olarak sodyum fosfat tamponu belirli bir seviyeye gelene kadar eklenmiştir. Bariyerlere kapanma komutu verilmiştir ve bariyerler kapanırken bir vakum sistemi yardımıyla yüzeyindeki olası kirlilikler süpürülmüştür. Yüzeyden azalan alt faz yerine ikinci kez alt faz eklenip vakum sistemi ile tekrar yüzeydeki olası kirlilikler süpürülmüştür. Wilhelmy plakası sulu kloroforma batırılıp dezenfekte edilmiştir ve LB cihazında tekne üzerindeki alt faz ile temas edecek şekilde uygun yerine yerleştirilmiştir. Wilhelmy plakası

takıldıktan sonra plakadan gelebilecek olası kirliliklere karşı tekneye üçüncü kez alt faz eklenip yüzeydeki kirlilikler vakum sistemi ile süpürülerek tekne ve bariyer sistemi moleküllerin yüzeye damlatılması için hazır hale getirilmiştir.

3.2.3 Langmuir tek tabakaların oluşturulması

Yüzeye serpilecek çözeltinin ve kullanılan alt fazın sıcaklığı, sıcak su banyosu desteği ile LB sistemi termometresi kullanılarak 25°C olarak dengelenmiştir. Sıcaklık kontrolü yapılarak hazırlanan çözeltilerden mikrosiringa ile 20 µl çekilerek alt faz üzerine damlatılmıştır ve LB cihazına kapanma komutu verilerek tek tabaka filmler elde edilmiştir.

Tez çalışması boyunca maddelerin izoterm incelemeleri ve ITO yüzeylerin modifikasyonu KSV-NIMA model Langmuir-Blodgett cihazı ile yapılmıştır. Tez konusunun gerçekleştirilmesinde birinci derecede etkili olan bu cihaz önceki bölümlerde ayrıntılı bir şekilde anlatılmıştır.

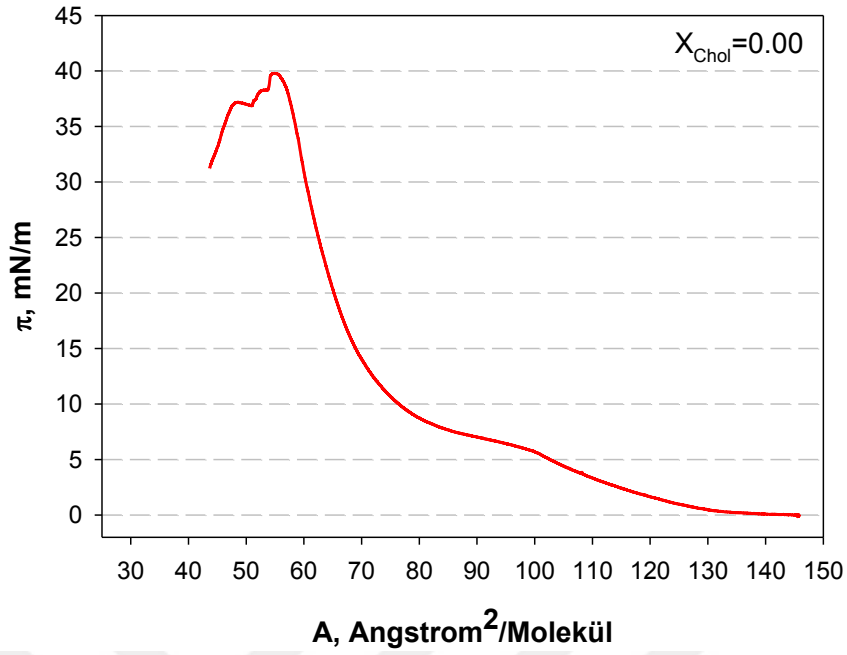
4. DENEYSEL BULGULAR

4.1 Yüzey Basıncı-Alan İzotermi

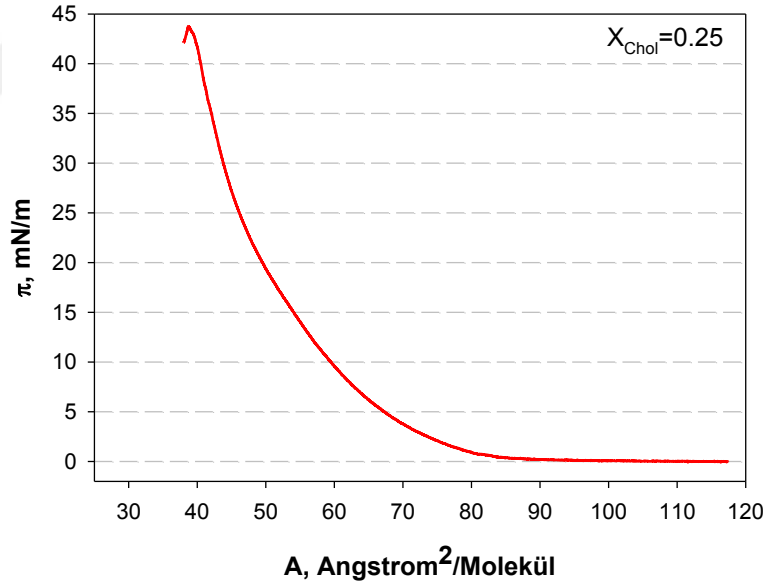
Çalışmada, LB ortam sıcaklığı 25 °C sabit tutularak 20 µL susuz kloroform ile hazırlanan toplam derişimi 1 mg/mL olan DPPC+Chol ikili sistemlerinden oluşan çözeltiler kullanılmıştır. Chol'e bağı olarak bu çözeltilerin mol kesirleri $x_{\text{Chol}} = 0, 0.25, 0.50, 0.75$ ve 1 şeklindedir. Chol mol kesrine göre her bir çözeltinin hava/su ara yüzeyinde kararlı ve yüzen film tabakalarının oluşup oluşmadığı π -A izoterm çalışmalarıyla belirlenmiştir. İncelenen her bir x_{Chol} değeri için elde edilen π -A izotermi sırasıyla Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4 ve Şekil 4.5'de gösterilmiştir. Bu süreçte LB bariyerlerinin yaklaşma hızları 5 mm/dakika koşullarında sabit tutulmuştur. Alt faz olarak pH=7.4 koşullarında 0.001 M sodyum fosfat tamponu kullanılmıştır.

Saf DPPC için π -A izotermi Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Yüzey alanının azalması alt faz üzerine dağıtılmış olan DPPC moleküllerinin düzensiz geçiş formu (gaz fazı) yaklaşık 135 Å²/Molekül değerinden sonra yarı düzenli forma (sıvı faz) doğru bir geçiş yapmaya başladığı görülmektedir. Yüzey alanının 135-80 Å²/Molekül olduğu koşullarda yarı düzenli form sürecinin devam ettiği ve bu süreçte yüzey basıncının da 10 mN/m'ye ulaştığı görülmektedir. Yüzey üzerine dağıtılmış DPPC moleküllerinin bulunduğu alanın 80 Å²/Molekül olduğu koşullardan itibaren azalması ile birlikte, yüzey üzerindeki DPPC moleküllerinin düzenli geçiş formuna (katı form) yaklaşmaktadır. Yüzey alanının 80-55 Å²/Molekül olduğu bu koşullarda gözlenen geçiş formunda yüzey alanının azalması ile birlikte yüzey basıncının 10 mN/m'den 40 mN/m'ye artmıştır. DPPC moleküllerinin sıkıştırılma işlemi devam ettirildiğinde ise artık düzenli formun 55 Å²/Molekül'den küçük yüzey alan değerlerinde dağılmaya başlamaktadır. 100 Å²/Molekül değerinde DPPC için bir kırılma olduğu görülmektedir. Literatürde de benzer kırılımlar görülmektedir ((Blum ve Egrot, 2007). Szcześ vd., 2012).

Chol'e göre $x_{\text{Chol}} = 0.25$ olduğu koşullarda hazırlanan DPPC+Chol ikili sistemi için π -A izotermi Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1 $x_{\text{Chol}} = 0$ için yüzey basıncı alan izotermi.



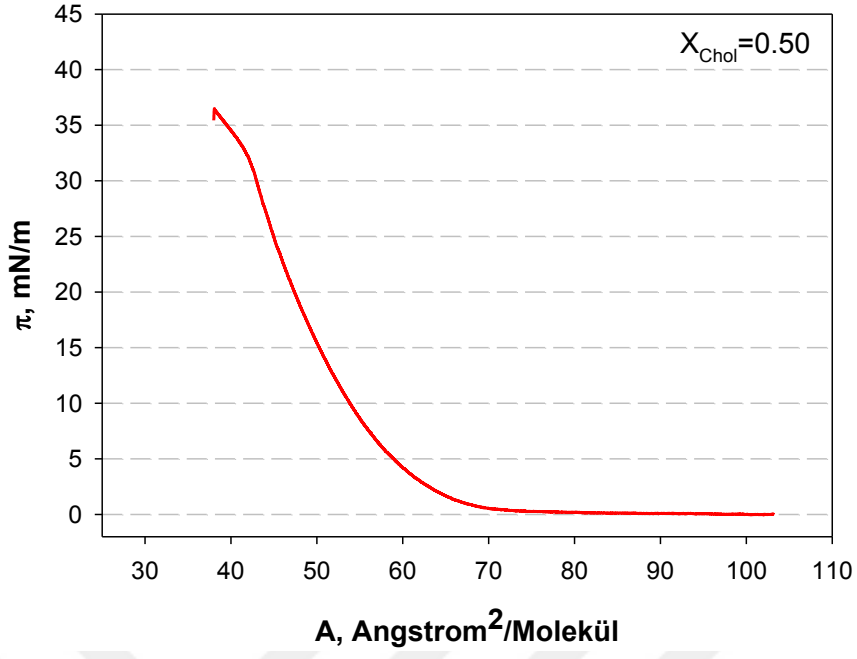
Şekil 4.2 $x_{\text{Chol}} = 0.25$ için yüzey basıncı alan izotermi.

Yüzey alanının azalması alt faz üzerine dağıtılmış olan DPPC+Chol moleküllerinin düzensiz geçiş formu (gaz fazı) yaklaşık $90 \text{ Å}^2/\text{Molekül}$ değerinden sonra yarı düzenli forma (sıvı faz) doğru bir geçiş yapmaya başladığı görülmektedir. Yüzey alanının $90\text{-}60 \text{ Å}^2/\text{Molekül}$ olduğu koşullarda yarı düzenli form sürecinin devam ettiği ve bu süreçte yüzey basıncının da 10 mN/m 'ye ulaştığı görülmektedir. Yüzey üzerine dağıtılmış

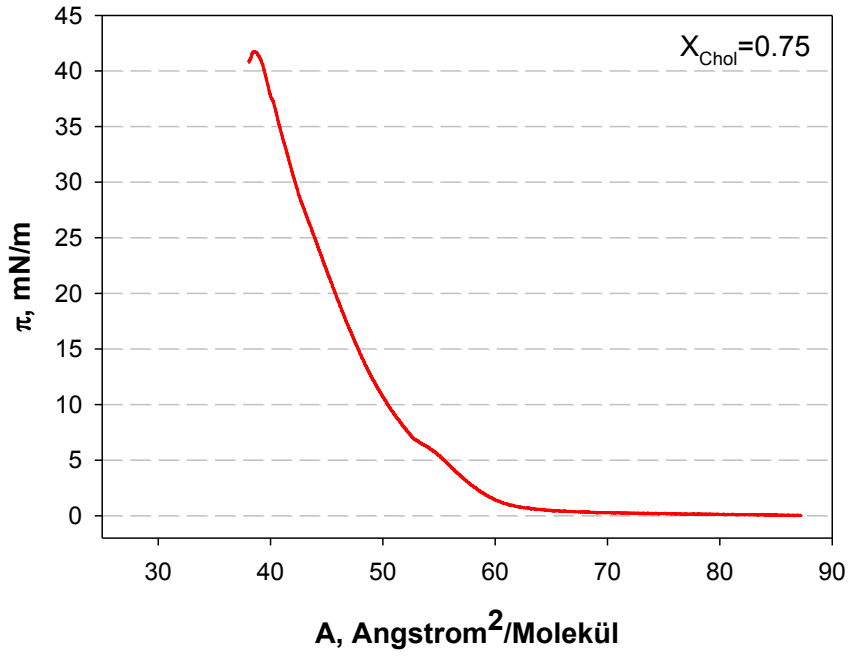
DPPC+Chol moleküllerinin bulunduğu alanın $60 \text{ Å}^2/\text{Molekül}$ olduğu koşullardan itibaren azalması ile birlikte, yüzey üzerindeki DPPC+Chol moleküllerinin düzenli geçiş formuna (katı form) yaklaşmaktadır. Yüzey alanının $80\text{-}55 \text{ Å}^2/\text{Molekül}$ olduğu bu koşullarda gözlenen geçiş formunda yüzey alanın azalması ile birlikte yüzey basıncının 10 mN/m 'den 44 mN/m 'ye artmıştır. DPPC+Chol moleküllerinin sıkıştırılma işlemi devam ettirildiğinde ise artık düzenli formun $40 \text{ Å}^2/\text{Molekül}$ 'den küçük yüzey alan değerlerinde dağılmaya başlamaktadır.

Chol'e göre $x_{\text{Chol}} = 0.50$ olduğu koşullarda hazırlanan DPPC+Chol ikili sistemi için π -A izotermi Şekil 4.3'de gösterilmiştir. Yüzey alanının azalması alt faz üzerine dağıtılmış olan DPPC+Chol moleküllerinin düzensiz geçiş formu (gaz fazı) yaklaşık $70 \text{ Å}^2/\text{Molekül}$ değerinden sonra yarı düzenli forma (sıvı faz) doğru bir geçiş yapmaya başladığı görülmektedir. Yüzey alanının $70\text{-}55 \text{ Å}^2/\text{Molekül}$ olduğu koşullarda yarı düzenli form sürecinin devam ettiği ve bu süreçte yüzey basıncının da 10 mN/m 'ye ulaştığı görülmektedir. Yüzey üzerine dağıtılmış DPPC+Chol moleküllerinin bulunduğu alanın $55 \text{ Å}^2/\text{Molekül}$ olduğu koşullardan itibaren azalması ile birlikte, yüzey üzerindeki DPPC+Chol moleküllerinin düzenli geçiş formuna (katı form) yaklaşmaktadır. Yüzey alanının $55\text{-}40 \text{ Å}^2/\text{Molekül}$ olduğu bu koşullarda gözlenen geçiş formunda yüzey alanın azalması ile birlikte yüzey basıncının 10 mN/m 'den 36 mN/m 'ye artmıştır. DPPC+Chol moleküllerinin sıkıştırılma işlemi devam ettirildiğinde ise artık düzenli formun $40 \text{ Å}^2/\text{Molekül}$ 'den küçük yüzey alan değerlerinde dağılmaya başlamaktadır.

Chol'e göre $x_{\text{Chol}} = 0.75$ olduğu koşullarda hazırlanan DPPC+Chol ikili sistemi için π -A izotermi Şekil 4.4'de gösterilmiştir.



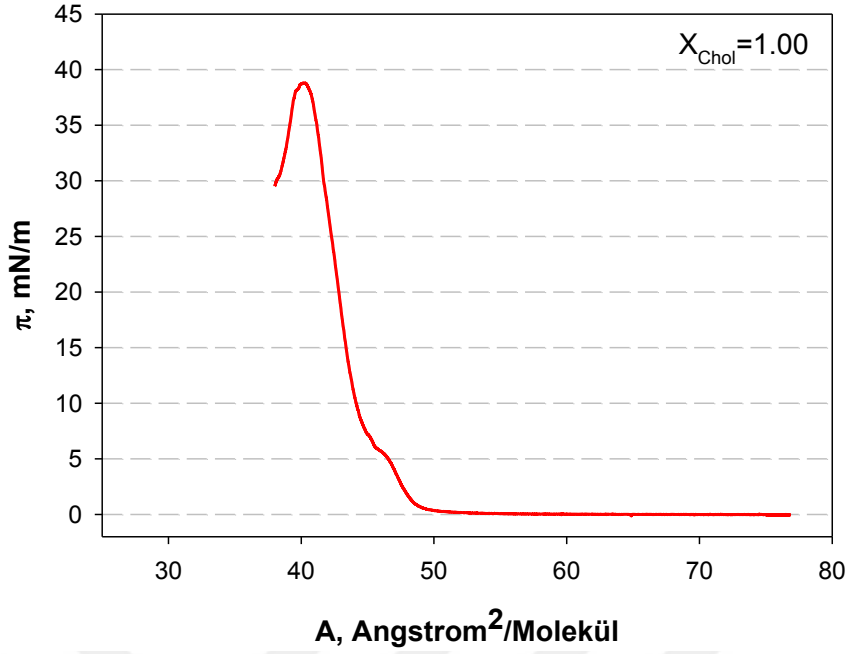
Şekil 4.3 $x_{\text{Chol}} = 0.50$ için yüzey basıncı alan izotermi.



Şekil 4.4 $x_{\text{Chol}} = 0.75$ için yüzey basıncı alan izotermi.

Yüzey alanının azalması alt faz üzerine dağıtılmış olan DPPC+Chol moleküllerinin düzensiz geçiş formu (gaz fazı) yaklaşık $60 \text{ Å}^2/\text{Molekül}$ değerinden sonra yarı düzenli forma (sıvı faz) doğru bir geçiş yapmaya başladığı görülmektedir. Yüzey alanının $60-50 \text{ Å}^2/\text{Molekül}$ olduğu koşullarda yarı düzenli form sürecinin devam ettiği ve bu süreçte yüzey basıncının da 10 mN/m^2 'ye ulaştığı görülmektedir. Yüzey üzerine dağıtılmış DPPC+Chol moleküllerinin bulunduğu alanın $50 \text{ Å}^2/\text{Molekül}$ olduğu koşullardan itibaren azalması ile birlikte, yüzey üzerindeki DPPC+Chol moleküllerinin düzenli geçiş formuna (katı form) yaklaşmaktadır. Yüzey alanının $50-40 \text{ Å}^2/\text{Molekül}$ olduğu bu koşullarda gözlenen geçiş formunda yüzey alanının azalması ile birlikte yüzey basıncının 10 mN/m^2 'den 42 mN/m^2 'ye artmıştır. DPPC+Chol moleküllerinin sıkıştırılma işlemi devam ettirildiğinde ise artık düzenli formun $42 \text{ Å}^2/\text{Molekül}$ 'den küçük yüzey alan değerlerinde dağılmaya başlamaktadır.

Saf Chol π -A izotermi Şekil 4.5'de gösterilmiştir. Yüzey alanının azalması alt faz üzerine dağıtılmış olan Chol moleküllerinin düzensiz geçiş formu (gaz fazı) yaklaşık $48 \text{ Å}^2/\text{Molekül}$ değerinden sonra yarı düzenli forma (sıvı faz) doğru bir geçiş yapmaya başladığı görülmektedir. Yüzey alanının $48-45 \text{ Å}^2/\text{Molekül}$ olduğu koşullarda yarı düzenli form sürecinin devam ettiği ve bu süreçte yüzey basıncının da 5 mN/m^2 'ye ulaştığı görülmektedir. Yüzey üzerine dağıtılmış Chol moleküllerinin bulunduğu alanın $45 \text{ Å}^2/\text{Molekül}$ olduğu koşullardan itibaren azalması ile birlikte, yüzey üzerindeki Chol moleküllerinin düzenli geçiş formuna (katı form) yaklaşmaktadır. Yüzey alanının $45-40 \text{ Å}^2/\text{Molekül}$ olduğu bu koşullarda gözlenen geçiş formunda yüzey alanının azalması ile birlikte yüzey basıncının 5 mN/m^2 'den 38 mN/m^2 'ye artmıştır. Chol moleküllerinin sıkıştırılma işlemi devam ettirildiğinde ise artık düzenli formun $44 \text{ Å}^2/\text{Molekül}$ 'den küçük yüzey alan değerlerinde dağılmaya başlamaktadır.

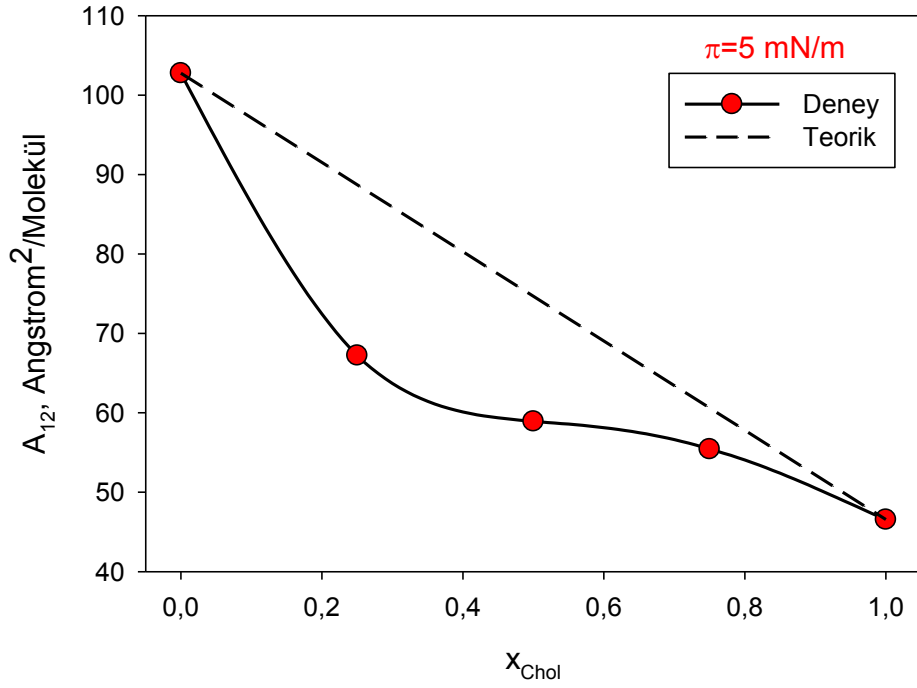


Şekil 4.5 $x_{\text{Chol}} = 1$ için yüzey basıncı alan izotermi.

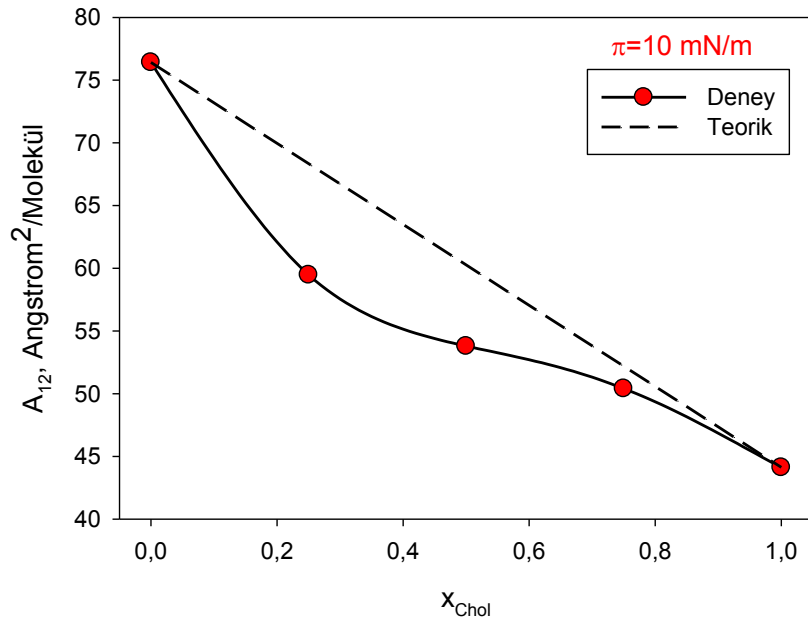
4.2 Çözeltilerin İdeal Tek Tabaka Yüzey Alanları

π -A izotermi amfifilik bir molekülün tek tabaka özelliğinin ve tek tabaka oluşumunun en yaygın göstergesidir. Bu izoterm sabit sıcaklıkta alt faz üzerindeki tek tabaka moleküllerinin sürekli olarak sıkıştırılmasıyla elde edilir. Hava-su ara yüzeyinde tek tabakanın oluşup oluşmadığını değerlendirmek için tüm π değerlerine karşı A değerleri Bölüm 4.1’de verilen tüm şekillerde görüldüğü gibi grafiğe çizilir. Bu grafiklerde verilen π -A izotermelerindeki yüzey basıncının; $\pi=5, 10, 15, 20, 25, 30$ ve 35 mN/m ’a karşılık gelen A değerleri kullanılarak Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8, Şekil 4.9, Şekil 4.10, Şekil 4.11 ve Şekil 4.12’de gösterilen x_{Chol} değerlerine karşı hem deneysel (A) hem de ideal (A_{12}) tek tabaka yüzey alanları grafiğe geçirilmiştir.

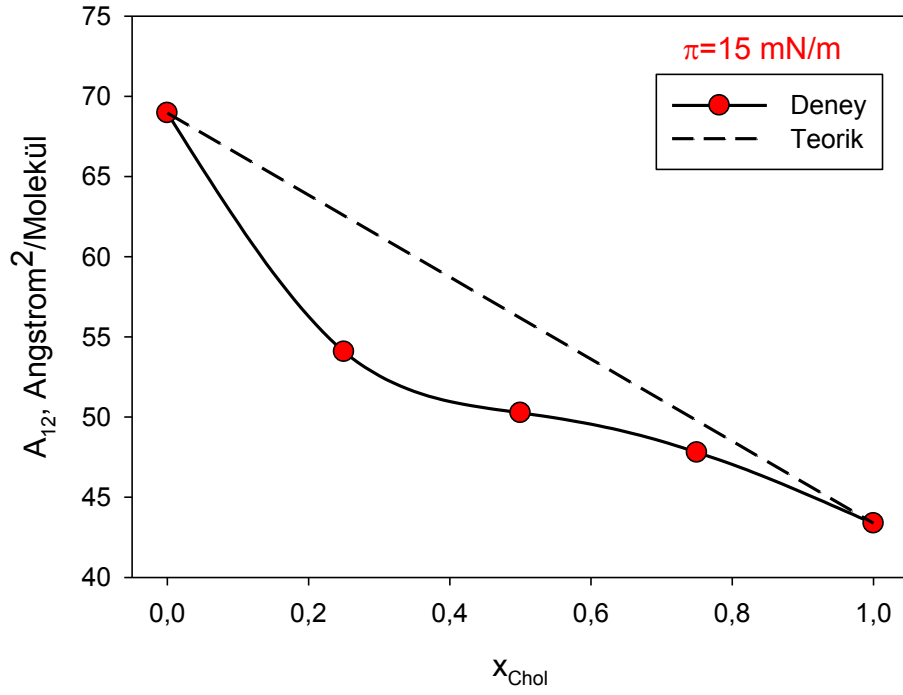
Saf DPPC ($x_{\text{Chol}} = 0$) ve saf Chol ($x_{\text{Chol}} = 1$) değerlerinden yararlanarak her bir yüzey basıncı için ideal yüzey alan değerleri ($x_1A_1 + x_2A_2$) lineer regrasyon yöntemi ile teorik olarak saptanmıştır. Saf DPPC ve saf Chol dışında oluşan ikili sistemlerin



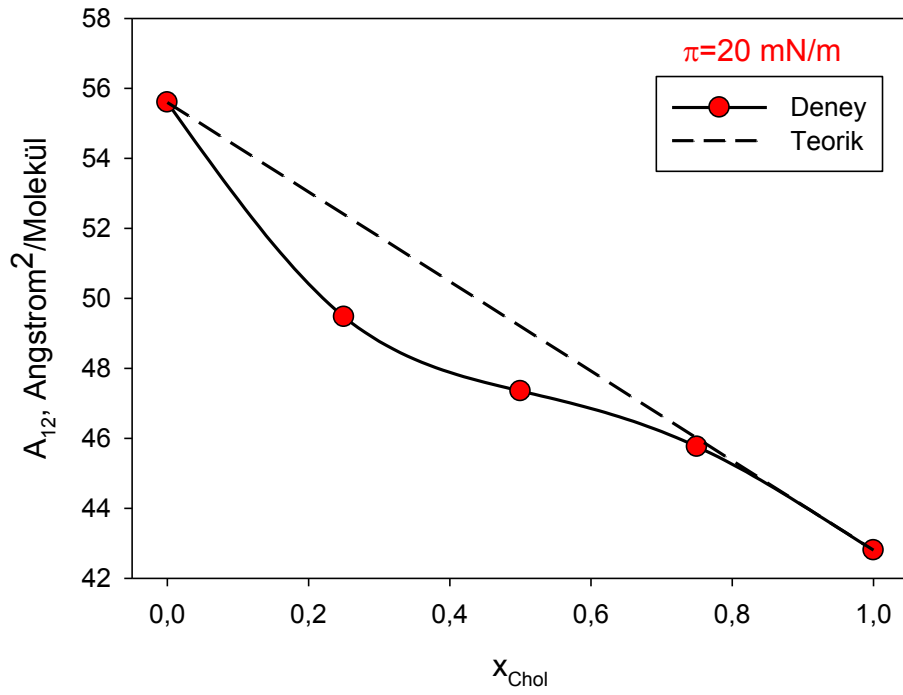
Şekil 4.6 $\pi = 5 \text{ mN/m}$ koşullarında deneysel ve teorik tek tabaka yüzey alanının x_{Chol} ile değişimi



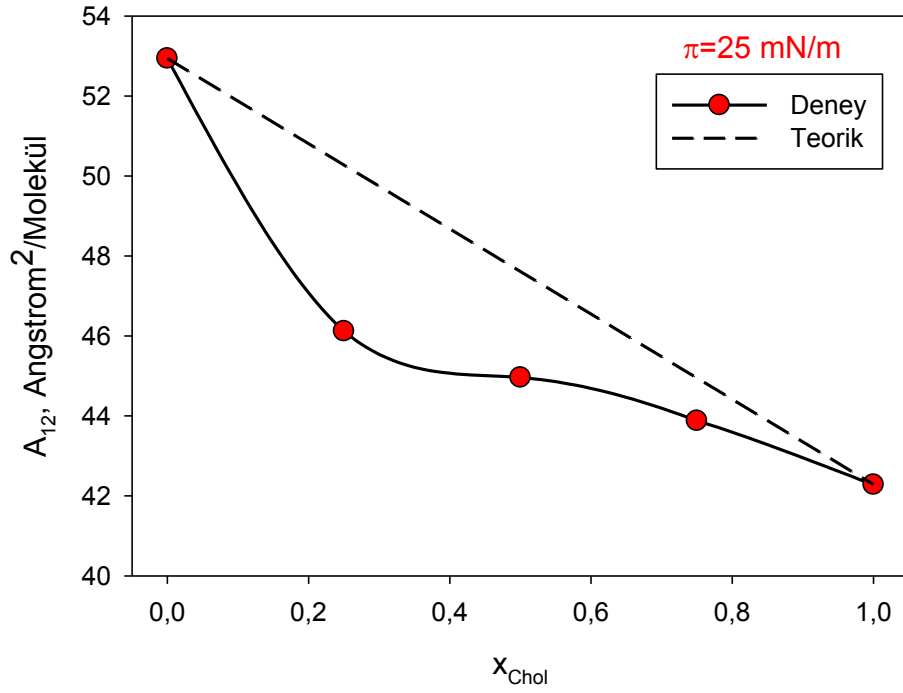
Şekil 4.7 $\pi = 10 \text{ mN/m}$ koşullarında deneysel ve teorik tek tabaka yüzey alanının x_{Chol} ile değişimi



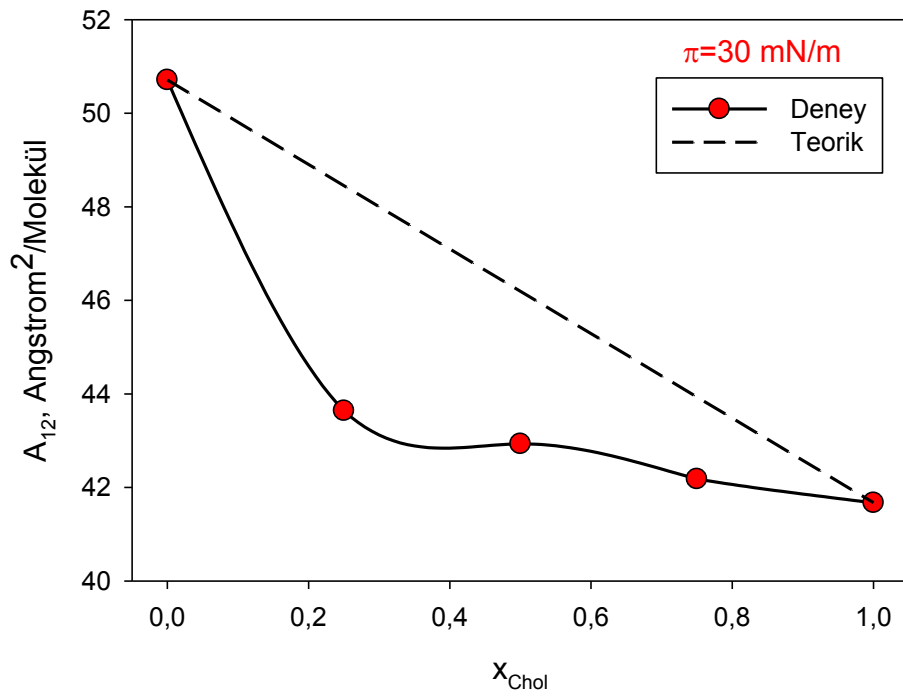
Şekil 4.8 $\pi = 15 \text{ mN/m}$ koşullarında deneysel ve teorik tek tabaka yüzey alanının x_{Chol} ile değişimi



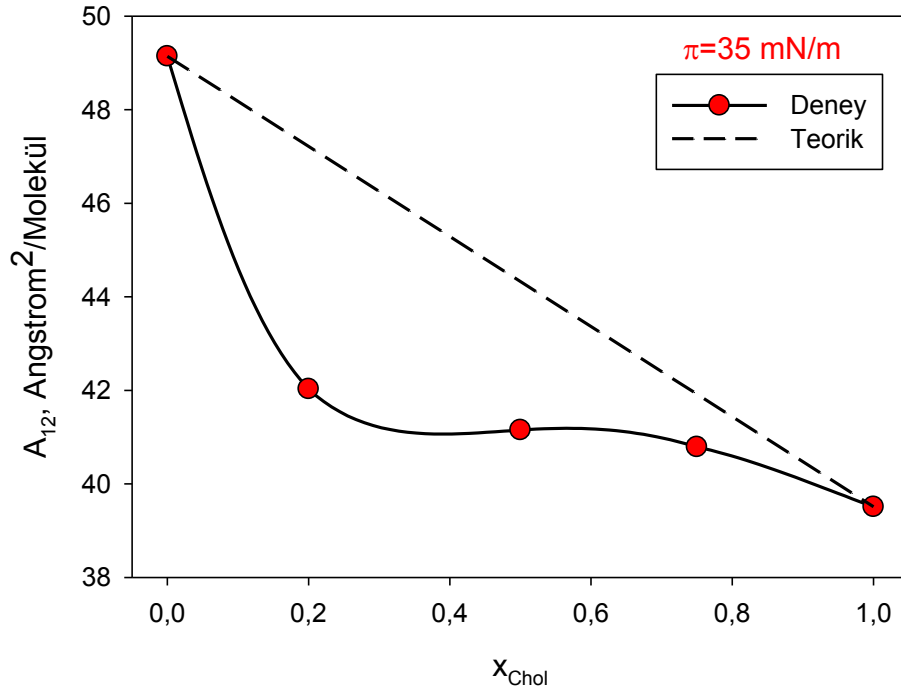
Şekil 4.9 $\pi = 20 \text{ mN/m}$ koşullarında deneysel ve teorik tek tabaka yüzey alanının x_{Chol} ile değişimi



Şekil 4.10 $\pi = 25 \text{ mN/m}$ koşullarında deneysel ve teorik tek tabaka yüzey alanının x_{Chol} ile değişimi



Şekil 4.11 $\pi = 30 \text{ mN/m}$ koşullarında deneysel ve teorik tek tabaka yüzey alanının x_{Chol} ile değişimi



Şekil 4.12 $\pi = 35$ mN/m koşullarında deneysel ve teorik tek tabaka yüzey alanının x_{Chol} ile değişimi.

İdeal tek tabaka yüzey alanlarının tüm yüzey basınç koşullarında deneysel değerlerden daha fazla olduğu saptanmıştır. Elde edilen bulguların literatür ile uyumlu olduğu görülmektedir (Szczęs vd., 2012). Ayrıca Çizelge 4.1’de bu değerlerin sayısal olarak değerleri gösterilmiştir.

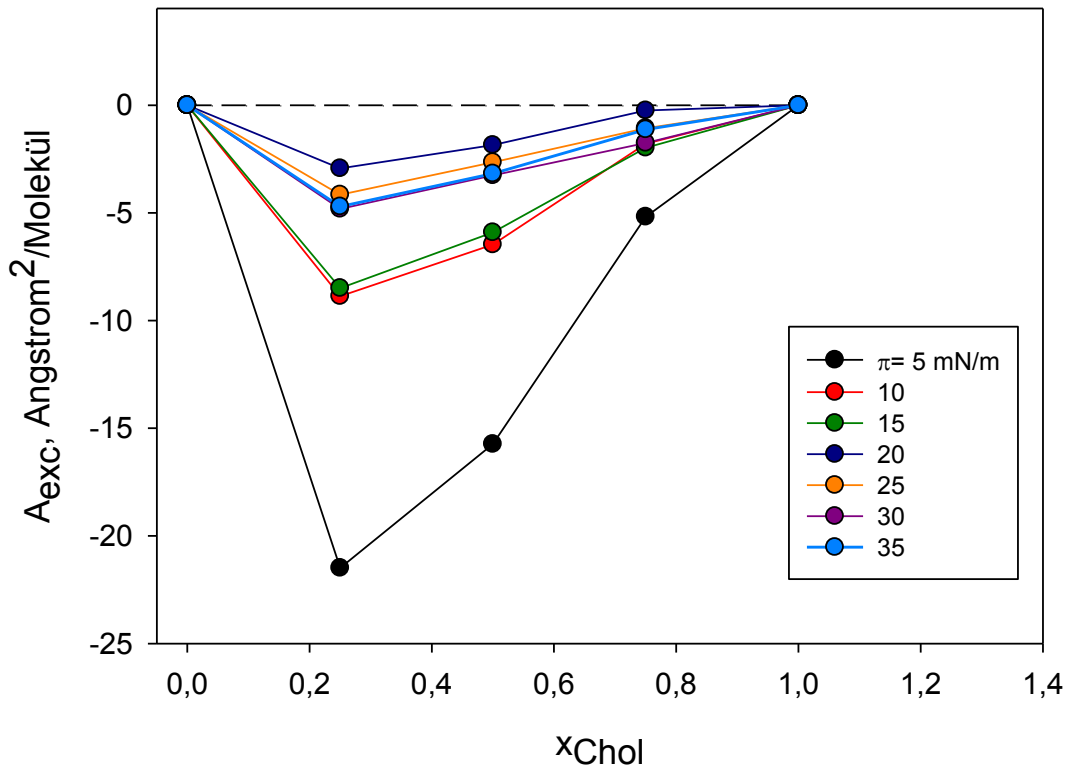
Çizelge 4.1 Chol derişimine bağlı olarak farklı yüzey basınçlarına karşılık gelen deneysel ve ideal tek tabaka yüzey alanları

π (mN/m)	x_{Chol}	Deneysel , A	İdeal, $x_1A_1+x_2A_2$	$A-(x_1A_1+x_2A_2)$
5	0	102,75	102,75	0
	0.25	67,21	88,7	-21,49
	0.50	58,91	74,65	-15,74
	0.75	55,42	60,6	-5,18
	1	46,55	46,55	0
10	0	76,41	76,41	0
	0.25	59,47	68,335	-8,865
	0.50	53,79	60,26	-6,47
	0.75	50,4	52,185	-1,785
	1	44,11	44,11	0
15	0	68,96	68,96	0
	0.25	54,07	62,5625	-8,4925
	0.50	50,26	56,165	-5,905
	0.75	47,79	49,7675	-1,9775
	1	43,37	43,37	0
20	0	55,6	55,6	0
	0.25	49,47	52,4	-2,93
	0.50	47,35	49,2	-1,85
	0.75	45,76	46	-0,24
	1	42,8	42,8	0
25	0	52,94	52,94	0
	0.25	46,12	50,275	-4,155
	0.50	44,96	47,61	-2,65
	0.75	43,88	44,945	-1,065
	1	42,28	42,28	0
30	0	50,71	50,71	0
	0.25	43,64	48,45	-4,81
	0.50	42,93	46,19	-3,26
	0.75	42,18	43,93	-1,75
	1	41,67	41,67	0
35	0	49,14	49,14	0
	0.25	42,03	46,7325	-4,7025
	0.50	41,15	44,325	-3,175
	0.75	40,79	41,9175	-1,1275
	1	39,51	39,51	0

4.3 Çözeltilerin Deneysel ve İdeal Tek Tabaka Yüzey Alanlarının Farkı

Farklı yüzey basıncı koşullarında x_{Chol} ile deneysel ve ideal tek tabaka yüzey alanları farkının ($A_{\text{exc}} = A - (x_1 A_1 + x_2 A_2)$) değişimi Şekil 4.13’de gösterilmiştir. $x_{\text{Chol}} = 0.25$ olduğu koşullarda tüm yüzey basıncı koşullarında bu farkların mutlak değerce yüksek olduğu görülmektedir.

DPPC+Chol ikili sistemlerin için yüzey basıncının 5 mN/m’den 20 mN/m’ye artması ile A_{exc} değerleri mutlak değerce önce azalmakta daha sonra yüzey basıncının artması ile arttığı saptanmıştır.

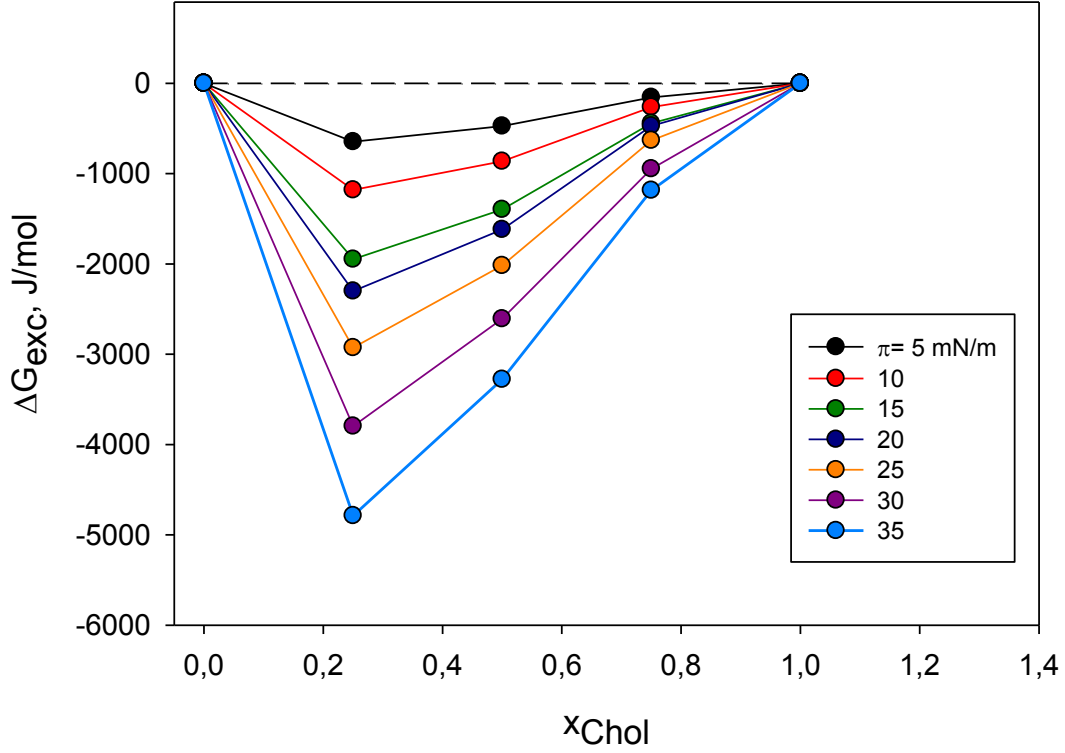


Şekil 4.13 Farklı yüzey basıncı koşullarında x_{Chol} ile deneysel ve ideal tek tabaka yüzey alanları farkının değişimi.

4.4 Çözeltilerin Artık Serbest Gibbs Enerjisi Fonksiyonundaki Değişim

Artık Gibbs enerjisi olarak ifade edilen ΔG_{exc} , tek bileşenli filmi oluşturan moleküller arasındaki etkileşimler ile DPPC+Chol gibi ikili sistemlerden oluşan tek tabaka bileşenler arasındaki etkileşimin bir ölçüsüdür. Bu tez çalışması kapsamında moleküller arasındaki artık Gibbs enerjisinin etkileşimi Denklem [2.4] kullanılarak hesaplanmıştır. Hesaplanan bu değerlerden yararlanarak DPPC+Chol ikili sistemleri için x_{Chol} 'ün bir

fonksiyonu olarak lipid sistemlerinin artık serbest Gibbs enerjilerinin değişimleri Şekil 4.14'de gösterilmiştir.



Şekil 4.14 DPPC+Chol ikili sistemleri için x_{Chol} 'ün bir fonksiyonu olarak lipid sistemlerinin artık serbest Gibbs enerjilerinin değişimi.

ΔG_{exc} 'nin negatif değeri moleküller arasındaki etkileşimlerin ilgili saf filmdeki etkileşime kıyasla daha az itici veya daha çekici olmasının bir ölçüsüdür. Çünkü hidrokarbon zincirlerindeki cis-çift bağ/bağlardan gelen büküm ve kıvrılma etkileri, tekli tabakaların moleküler sıkıştırılmasını etkilemektedir. ΔG_{exc} 'nin pozitif değeri karışık filmdeki etkileşimin tek bileşenli tek tabakaya göre daha az çekici veya daha itici olduğunu gösterir. Düşük ΔG_{exc} değerleri karışık tek tabaka da daha stabildir. Tek tabaka ideal olarak karıştırılmışsa, ΔG_{exc} sıfır olmalıdır.

KAYNAKLAR

- Açıkbaş, Y.** (2006) 1,3-Bis-(4-imino-3-hidroksi-benzoikasit) indan maddenin Langmuir-Blodgett ince film özelliklerinin incelenmesi. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 31-32s, Balıkesir.
- Adamson, A.W., Gast, A.P.** (1997). Physical chemistry of surface. A wiley-intercience publication: John Wiley & Sons, Inc, Newyork.
- Akbay, Y.** (2017). Bazı organik bileşik türevlerinden langmuir-blodgett filmlerinin üretimi ve karakterizasyonu. *B.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 20-33s, Balıkesir.
- Akbarzadeh, A., Rezaei-Sadabady, R., Davaran, S., Joo, SW., Zarghami, N., Hanifehpour, Y., Samiei, M., Kouhi, M., Nejati-Koshki, K.,** (2013). Liposome: classification, preparation, and applications. *Nanoscale Res Lett.*, 8(1), 1-2.
- Ayluçtarhan, M.** (2015). Siklodekstrin nanoküreler kullanılarak ultrafiltrasyon membranlar ile su arıtımı için etkin bir teknolojinin geliştirilmesi. *Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 25s, Sivas.
- Bach, D., Wachtel, E.** (2003). Phospholipid/cholesterol model membranes: formation of cholesterol crystallites. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1610(2), 187-188.
- Başoğlu, H.** (2014). Protoporfirin yüklü manyetolipozomların biyofiziksel karakterizasyonu. *A.D.Ü Sağlık Bilimleri Biyofizik Anabilim Dalı* (Doktora Tezi), 21-28s, Aydın.
- Biltonen, R.L., Lichtenberg, D.,** (1993). The use of differential scanning calorimetry as a tool to characterize liposome preparations. *Chemistry and Physics of Lipids* 64(1-3): 129-142.
- Blount, H.N., Janzen, E.G.** (1980). Spin trapping with covalently immobilized α -Phenyl-N[(1-Hydroxy-2-methyl)-2propyl] nitron J. *Phys. Chem*, 84 (5), 557-558.
- Bozkır, A., Duman, E.** (1996). Lipozomların Kan ve Plazmadaki Stabiliteleri. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 25(1), 1-2.
- Briuglia, M.L., Rotella, C., McFarlane, A., Lamprou, D.A.** (2015). Influence of cholesterol on liposome stability and on in vitro drug release. *Drug delivery and translational research*, 5(3), 231-242.
- Cabaj, J., Soloduch, J., Olesky, A.N.** (2010). Langmuir-Blodgett Film Based Biosensor for Estimation of phenol derivatives. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 143, 508-509.
- Chou, T. H., Chang, C. H.** (2000). Thermodynamic characteristics of mixed DPPC/DHDP monolayers on water and phosphate buffer subphases. *Langmuir*, 16(7), 3385-3390.
- Civan, M.** (2007). Bazı organik moleküller ile üretilen üretilen Langmuir-Blodgett filmlerin moleküler yapılarının fourier transform kızılötesi spektrometresi kullanılarak incelenmesi. *Hacettepe Üniversitesi Fizik Mühendisliği Anabilim Dalı* (Yüksek Lisans Tezi), 10-11s, Ankara.
- Costin, I. S., Barnes, G. T.** (1975). Two-component monolayers. II. Surface pressure-area relations for the octadecanol-dodocyl sulphate system. *Journal of colloid and interface Science*, 51(1), 115-116.
- Davies, J.T., Rideal, E.K.** (1963). Interfacial phenomena. *Akademic pres*, 218-278p, New York.

- Dinçyürek Ekici, D.** (2018). Meme kanseri tedavisi için nanolipozomal antikanser ilaç sistemleri ve tasarımı. *Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Doktora Tezi)*, 5-7s, Sivas.
- Dynarowicz-Latka, P., Kita, K.** (1999). Molecular interaction in mixed monolayers at the air/water interface. *Advances in colloid and interface science*, 79(1), 1-17.
- Edward, N.V., Jarrendahl, K., Aspnes, D.E., Robbie, K., Powell, G.D., Cobet, C., Eser, N., Richter, W., Madsen, L.D.** (2000). Real-time assessment of selected surface preparation regimens for 4H-SiC surfaces using spectroscopic ellipsometry. *Surface Science*, 464, 703-707.
- Ferrari, M., Martin, D. K.** (2007). Nanobiotechnology of biomimetic membranes. *Springer Science*, 1-45p. New York.
- Flink, S., Veggel, F.C.J.M., Reinhoudt, D.N.** (2001). Functionalization of self assembled monolayers on glass and oxidized silicon wafers by surface reactions. *J of Physical Organic Chemistry*, 14, 408.
- Giles, C. H., Forrester, S. D.** (1971). The origins of the surface film balance: Studies in the early history of surface chemistry, part 3. *Chemistry and Industry*, 43-53.
- Girard-Egrot, A. P., Godoy, S., Blum, L. J.** (2005). Enzyme association with lipidic Langmuir-Blodgett films: interest and applications in nanobioscience. *Advances in Colloid and Interface Science*, 116(1-3), 205-207.
- Girard-Egrot, A. P., Blum, L. J.** (2007). Langmuir-Blodgett technique for synthesis of biomimetic lipid membranes. *In Nanobiotechnology of biomimetic lipid membranes*, 23-31.
- Gradzielski, M.** (2003). Vesicles and vesicle gels-structure and Dynamics of formation. *J. Phys. Condes. Matter.*, 15, 656-658.
- Guzmán, E., Ferrari, M., Santini, E., Liggieri, L., Ravera, F.** (2015). "Effect of silica nanoparticles on the interfacial properties of a canonical lipid mixture." *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 136, 971-980.
- Gübbük, H. İ.** (2006). Tek moleküllü tabakaların fonksiyonelleştirilmesi ve uygulamaları. *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Doktora Tezi)*, 5s, Konya.
- Gür, B., Meral, K.** (2012). Preparation and Characterization of Mixed Monolayers and Langmuir-Blodgett films of Merocyanine 540/Octadecylamine Mixture. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 414, 282.
- Gür, B.** (2015). Merosiyanin 540 dye bileşiminin ince filmlerinin hazırlanması ve fotofiziksel özelliklerinin incelenmesi. *A.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü (Doktora Tezi)*, 26-43s, Erzurum.
- Gürfidan, L.** (2011). Farklı uzunlukta alkil zinciri bulunduran inorganik ligandların Langmuir-Blodgett ince filmlerinin hazırlanması ve uygulamaları. *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Yüksek Lisans Tezi)*, 10-11s, Konya.
- Hac-Wydro, K., Dynarowicz-Latka, P.** (2006). Interaction between nystatin and natural membrane lipids in Langmuir monolayers—the role of a phospholipid in the mechanism of polyenes mode of action. *Biophysical chemistry*, 123(2-3), 154-161.
- Hac-Wydro, K., Wydro, P.** (2007). The influence of fatty acids on model cholesterol/phospholipid membranes. *Chemistry and physics of lipids*, 150(1), 68.
- Hao, C., Li, J., Mu, W., Zhu, L., Yang, J., Liu, H., Sun, R.** (2016). Adsorption behavior of magnetite nanoparticles into the DPPC model membranes. *Applied Surface Science*, 362, 121-125.

- Hollars, C. W., Dunn, R. C.** (1998). Submicron structure in L- α -dipalmitoylphosphatidylcholine monolayers and bilayers probed with confocal, atomic force, and near-field microscopy. *Biophysical journal*, 75(1), 343.
- Hung, W.C., Lee, M.T., Chen, F.Y., Huang, H.W.** (2007). The condensing effect of cholesterol in lipid bilayer. *Biophysical journal*, 92(11), 3960.
- Jesorka, A., Orwar, O.** (2008). Liposomes: Technologies and analytical applications. *Annu. Rev. Anal. Chem.*, 1, 802-832.
- Koynova, R., Caffrey, M.** (1998). Phases and phase transitions of the phosphatidylcholines. *Biochimica Et Biophysica Acta-Reviews on Biomembranes* 1376(1): 91-145.
- Kurihara, K.** (1996). Langmuir-Blodgett Films in Advanced Molecular Engineering. *Colloids and Surfaces A:physicochemical and Engineering Aspects*, 425-426, Japan.
- Li, L. S., Da, S. L., Feng, Y. Q., Liu, M.** (2004). Preparation and characterization of ptert-butyl-calix[6]-1,4-benzocrown-4-bonded silica gel stationary phase for liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1040, 53-61.
- Martin, R. B., Yeagle, P.L.** (1978). Models for lipid organization in cholesterol-phospholipid bilayers including cholesterol dimer formation. *Lipids*, 13(9), 594.
- McMullen, T.P., McElhaney, R.N.** (1996). Physical studies of cholesterol-phospholipid interaction. *Current opinion in colloid & Interface Science*, 1(1), 83.
- Maurer, N., Fenske, D. B., Cullis, P. R.** (2001). Developments in liposomal drug delivery systems. *Emerging Biotherapeutic Technologies*, 1, 923-947.
- Michel, R., Gradzielski, M.** (2012). Experimental Aspects of Colloidal Interactions in Mixed Systems of Liposome and Inorganic Nanoparticle and Their Applications. *Int J Mol Sci.*, 13(9), 11611-11613.
- Moghaddam, B., Ali, M. H., Wilkhu, J., Kirby, D. J., Mohammed, A. R., Zheng, Q., & Perrie, Y.** (2011). The application of monolayer studies in the understanding of liposomal formulations. *International journal of pharmaceutics*, 417(1-2), 235-244.
- Navathe, C.P., Dashora, B.L., Jaiswal, A., Thakur, D.S., Roy, U.N., Kukreja, L.M.** (2001). An indigenously Developed Electronic Control System For Langmuir-Blodgett Film Deposition Set-Up. *Sadhana*, Vol. 26, Part 3, 213-225.
- Neunert, G., Makowiecki, J., Piosik, E., Hertmanowski, R., Polewski, K., Martynski, T.** (2016). Miscibility of dl- α -tocopherol β -glucoside in DPPC monolayer at air/water and air/solid interfaces. *Materials Science and Engineering: C*, 67, 362-368.
- Oğuzhan, Ö.** (2011). Langmuir-Blodgett metodu kullanılarak triazin türevi ile ITO yüzeyinin modifikasyonu. *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Yüksek Lisans Tezi)*, 4-5,14-15s, Konya.
- Parasassi, T., Conti, F., Glaser, M., Gratton, E.** (1984). Detection of phospholipid phase separation. A multifrequency phase fluorimetry study of 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene fluorescence. *Journal of Biological Chemistry*, 259(22), 14011.
- Parasassi, T., Ravagnan, G., Rush, R.M., Gratton, E.** (1993). Modulation and dynamics of phase properties in phospholipid mixtures detected by Laurdan fluorescence. *Photochemistry and photobiology*, 57(3), 403.
- Roberts, G.** (1990). Langmuir-Blodgett Films. Plenum Press, New York.
- Sarı, H.** (2005). Langmuir-Blodgett (LB) filmler için elektrot fabrikasyonu ve bu türden yarıiletken filmlerin elektriksel ölçümleri (Kesin Rapor). *Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri*, 3s, Ankara.

- Sarkar, R., Pal, P., Mahato, M., Kamilya, T., Chaudhuri, A., & Talapatra, G. B.** (2010). On the origin of iron-oxide nanoparticle formation using phospholipid membrane template. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 79(2), 384-389.
- Schwartz, D.K.** (1997). Langmuir-Blodgett film structure. *Surface Science Reports*, 27, 241-247.
- Shimshick, E. J., McConnell, H.M.** (1973). Lateral phase separation in phospholipid membranes. *Biochemistry*, 12(12), 2351-2352.
- Szczęś, A., Jurak, M., Chibowski, E.** (2012). Stability of binary model membranes-prediction of the liposome stability by the Langmuir monolayer study. *Journal of colloid and interface science*, 372(1), 212-216.
- Taylor, K.M.G., Morris, R.M.** (1995). Thermalanalysis of phase-transition behavior in liposomes. *Thermochimica Acta* 248: 289-301.
- Uzunoğlu, T.** (2008). II-VI yarıiletken nanoparçacık içeren organik langmuir-blodgett ince filmlerin özelliklerinin incelenmesi. *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* (Doktora Tezi), 6-11, Ankara.
- Vatansever, Ö.** (2015). Sudan organik kirleticilerin giderimi için siklodestrin nanosünger sentezi ve membranlara uygulanması. *C.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 19-26s, Sivas.
- Vogel, N.** (2012). Surface patterning with colloidal monolayers. *Springer Science & Business Media*, 1-261.
- Wilczewska, A.Z., Niemirowicz, K., Markiewicz, K.H., Car, H.** (2012). Nanoparticles as drug delivery systems. *Pharmacol Rep*, 64(5), 1022.
- Xu, Z., Hao, C., Xie, B., Sun, R.** (2019). Effect of Fe₃O₄ Nanoparticles on Mixed POPC/DPPC Monolayers at Air-Water Interface. *Scanning*, 212-216.
- Yurdakul, A., Atav, R.** (2007). Lipozomların yapısı ve sınıflandırılması. *Tekstil ve konfeksiyon*, 4.
- You, S.S., Rashkov, R., Kanjanaboos, P., Calderon, I., Meron, M., Jaeger, H.M., Lin, B.** (2013). Comparision of the mechanical properties of self-assembled langmuir monolayers of nanoparticles and phospholipids. *Langmuir*, 29(37), 11751.
- Zasadzinski, J. A., Viswanathan, R., Madsen, L., Garnæs, J., Schwartz, D. K.** (1994). Langmuir-blodgett films. *Science*, 263(5154), 1726-1727.
- Url-1**< <https://ttscientific.com/products/dppc-liposomes>>, alındığı tarih: 27.01.2020
- Url-2**< <http://url.ac/k4t4> >, alındığı tarih: 10.11.2019.
- Url-3**< <http://url.ac/k4t4> >, alındığı tarih: 10.11.2019.
- Url-4**< <https://www.biolinscientific.com/measurements/langmuir-and-langmuir-blodgett>>, alındığı tarih: 03.12.2019.
- Url-5** <<https://www.ou.edu/research/electron/bmz5364/buffers.html>>