

**POLİMER FIRÇA-NANOPARÇACIK HİBRİT SİSTEMLERİN  
HAZIRLANMASI VE BİYOSENSÖR UYGULAMALARI**

**Adem ZENGİN**

**DOKTORA TEZİ**

**KİMYA**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**EKİM 2013**

**ANKARA**

Adem ZENGİN tarafından hazırlanan “Polimer Fırça-Nanoparçacık Hibrit Sistemlerin Hazırlanması Ve Biyosensör Uygulamaları” adlı bu tezin Doktora tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Tuncer ÇAYKARA

.....

Tez Danışmanı, Kimya Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Kimya Anabilim Dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Oya ŞANLI

.....

Kimya Anabilim Dalı, G.Ü.

Prof. Dr. Tuncer ÇAYKARA

.....

Kimya Anabilim Dalı, G.Ü.

Prof. Dr. Bekir SARI

.....

Kimya Anabilim Dalı, G. Ü.

Doç. Dr. Tamer UYAR

.....

Malzeme Bilimi, UNAM, Bilkent Ü.

Doç. Dr. Uğur TAMER

.....

Analitik Kimya Anabilim Dalı, G.Ü.

Tez Savunma Tarihi: 25/10/2013

Bu tez ile G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Doktora derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Şeref SAĞIROĞLU

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## **TEZ BİLDİRİMİ**

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Adem ZENGİN

**POLİMER FIRÇA-NANOPARÇACIK HİBRİT SİSTEMLERİN  
HAZIRLANMASI VE BİYOSENSÖR UYGULAMALARI  
(Doktora Tezi)**

**Adem ZENGİN**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
Ekim 2013**

**ÖZET**

Bu çalışmanın ilk aşamasında, silisyum (100) yüzeyler üzerinde yüzeyde başlatılan tersinir katılma-ayrılma zincir transfer polimerleşme (RAFT) yöntemi ile sülfidril uç gruplara sahip sıcaklık duyarlı poli((2-metoksietoksi etil)metakrilat) P(MEO<sub>2</sub>-MA) fırçalar sentezlenmiştir. Elde edilen fırçaların yapısal karakterizasyonu için X-ışınları fotoelektron spektroskopisi (XPS) ve grazing angle aksesuarlı fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi (GA-FTIR) kullanılmıştır. Polimer fırçaların hidrofilik/hidrofobik karakteri su değme açısı ölçümleri ile ve yüzey morfolojileri atomik kuvvet mikroskobu (AFM) ile belirlenmiştir. Hazırlanan polimer fırçaların elipsometre karakterizasyonu sonucu yüzeyler üzerinde yaklaşık 27 nm kalınlığında, 0,7 zincir/nm<sup>2</sup> aşılama yoğunluğunda ve yüzeydeki iki makromolekül arası uzaklığın ise 1,35 nm olduğu belirlenmiştir. Sıcaklık kontrol elementli su değme açısı ölçümleri ile hazırlanan polimer fırçaların yaklaşık olarak 34 °C faz geçiş sıcaklığına sahip olduğu belirlenmiştir. Polimer fırçaların üzerine ortalama çapları 15 nm olan altın nanoparçacıklar immobilize edilerek polimer fırça-nanoparçacık hibrit sistem hazırlanmıştır. Hibrit sistemde bulunan altın nanoparçacık yoğunluğu AFM ile 185 parçacık/μm<sup>2</sup> olarak belirlenmiştir. Hazırlanan hibrit sistemlerin yüzeyde güçlendirilmiş



Raman spektroskopisi (surface enhanced Raman spectroscopy, SERS) temelli olması ve Hepatit B teşhisinde kullanılabilmesi için yüzeyler üzerinde “sandviç tip” DNA hibritleşmesi gerçekleştirilmiştir. Oda sıcaklığında Hepatit B teşhisi için tayin edebilme sınırı 0,44 fM ve faz geçiş sıcaklığının üzerinde ise 0,13 fM olarak belirlenmiştir. Ayrıca yapılan detaylı analizler sonucunda, silisyum yüzeyinde hazırlanan hibrit sistemin klinik olarak kullanılabilme potansiyelinin olduğunu göstermiştir.

Çalışmanın ikinci kısmında ise, ilk olarak ortalama çapları 62 nm olan silika nanoparçacıklar sentezlenmiştir. Parçacıkların yüzeyi 3-iyodopropil tirmetoksisilan (IPTS) molekülü ile modifiye edildikten sonra yüzeyde başlatılan tersinir zincir transfer katalizlenmiş polimerleşme (RCTP) yöntemi ile ortalama 7 nm kalınlığında poli(glisidil metakrilat) P(GMA) fırçalar sentezlenmiştir. Polimer fırçalar üzerine ilk olarak anti-karsino embriyojenik antijen (anti-CEA) ve daha sonra karsino embriyojenik antijen (CEA) bağlanmıştır. Hazırlanan hibrit sistemin SERS temelli olabilmesi için manyetik gümüş nanotanecikler sentezlenmiş, Raman etiket molekülü ve anti-CEA ile modifiye edilmiştir. CEA bağlı silika nanotanecikler ile anti-CEA bağlı manyetik gümüş nanotanecikler arasında “sandviç kompleks” oluşturulmuştur. SERS karakterizasyonu ile hazırlanan hibrit sistemin dış manyetik alan yokken CEA antijeni tayin edebilme sınırı 0,08 ng/mL, dış manyetik alan varken ise 1 pg/mL olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, hibrit sistemin akciğer kanseri hastalığının teşhisinde klinik olarak kullanabilme potansiyelinin olduğunu göstermiştir.

**Bilim Kodu** : 201.1.117

**Anahtar Kelimeler** : polimer fırça, nanoparçacık, SERS, Hepatit B, CEA

**Sayfa Adedi** : 207

**Tez Yöneticisi** : Prof. Dr. Tuncer ÇAYKARA

**PREPARATION OF POLYMER BRUSH-NANOPARTICLE HYBRID  
SYSTEMS AND THEIR BIOSENSOR APPLICATIONS.**

**(Ph. D. Thesis)**

**Adem ZENGİN**

**GAZİ UNIVERSITY**

**GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

**October 2013**

**ABSTRACT**

In the first part of this study, temperature sensitive poly((2-methoxyethoxy)ethyl) methacrylate [P(MEO<sub>2</sub>-MA)] brushes with sulfidryl end group on silicon (100) disc surface were synthesized via reversible addition-fragmentation chain transfer polymerization. The structural characterizations of P(MEO<sub>2</sub>-MA) brushes were carried out by X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) and grazin angle Fourier transform infrared spectroscopy (GA-FTIR). Their hydrophilic/hydrophobic characters and surface morphologies were conducted by water contact angle measurements and atomic force microscopy (AFM), respectively. As the results of ellipsometry characterization, thickness, grafting density and distance of two adjacent macromolecules were found to be 27 nm, 0.7 chain/nm<sup>2</sup> and 1.35 nm, respectively. The P(MEO<sub>2</sub>-MA) brushes had a phase transition temperature at 34 °C determined by temperature controlled water contact angle measurements. Polymer brush-nanoparticle hybrid systems were prepared after immobilization of gold nanoparticles with an avagare diameter of 15 nm on polymer brushes. The gold nanoparticle density on the hybrid system by AFM was calculated as 185 particles/nm<sup>2</sup>. “Sandwich type” DNA hybridizations were done on the hybrid system for Hepatit B detection

and based on surface enhanced Raman spectroscopy (SERS). The limit of detection for Hepatit B was found to be as 0.44 fM and 0.13 fM at room temperature and above phase transition temperature, respectively. Moreover, detailed analysis of the hybrid systems showed that they can be potentially used in clinical applications.

In the second part of this study, silica nanoparticles with an average diameter of 62 nm were first prepared and then poly(glycidyl methacrylate) PGMA brushes with an average thickness of 7 nm were synthesized via reversible chain transfer catalyzed polymerization (RCTP) on the silica nanoparticles after the modification with 3-iodotrimethoxysilane (IPTS). Anti-carcinogenic embryonic antigen (anti-CEA) and embryonic antigen (CEA) molecules were bound on the polymer brushes. Meanwhile, magnetic silver nanoparticles were also synthesized and modified with Raman reporter molecules and anti-CEA to be based on SERS of the prepared hybrid system. Finally, "Sandwich complexes" were produced between CEA coated silica nanoparticles and anti-CEA coated magnetic silver nanoparticles. The detection limit of the hybrid system was found to be 0.08 ng/mL without an external magnetic field and 1 pg/mL with an external magnetic field. The results of these studies also indicated that the hybrid system can be potentially used in clinical applications such as lung cancer detection.

Science Code : 201.1.117

Keywords : polymer brushes, nanoparticles, SERS, Hepatit B, CEA

Page Number : 207

Supervisor : Prof. Dr. Tuncer ÇAYKARA

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimden bugüne kadar destek ve ilgisini esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocam Prof. Dr. Tuncer ÇAYKARA'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarının şekillenmesine yardımcı olan ve bilgilerinden yararlandığım tez izleme komitesi üyesi hocalarım Prof. Dr. Bekir SARI ve Doç. Dr. Tamer UYAR'a çok teşekkür ederim.

Tez çalışmalarında özellikle biyouygulama kısmında yardımcı olan ve biyoanaliz sistemlerinin karakterizasyonunda önüme yeni kapılar açan değerli hocam Doç. Dr. Uğur TAMER'e ve araştırma grubuna sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimim boyunca her zaman yanımda olan değerli arkadaşlarım Dr. Ferat ŞAHİN ve Dr. Eylem TURAN'a çok teşekkür ederim.

110T715 nolu proje kapsamında çalışmalarımı destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)'na teşekkürlerimi sunarım.

Bu tezin ortaya çıkmasında her zaman destek veren, hiçbir zaman yalnız bırakmayan, sabırları ve anlayışları için nişanlım Derya KÖMEÇOĞLU ve ailesine, bugüne kadarki eğitim hayatımda her zaman ve koşulsuz yanımda olan aileme çok çok teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

|                                                                                                                                |      |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ÖZET .....                                                                                                                     | iv   |
| ABSTRACT .....                                                                                                                 | vi   |
| TEŞEKKÜR.....                                                                                                                  | viii |
| İÇİNDEKİLER .....                                                                                                              | ix   |
| ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....                                                                                                      | xiii |
| ŞEKİLLERİN LİSTESİ .....                                                                                                       | xiv  |
| SİMGELER VE KISALTMALAR .....                                                                                                  | xxii |
| 1. GİRİŞ .....                                                                                                                 | 1    |
| 2. POLİMER FIRÇALAR .....                                                                                                      | 5    |
| 3. KONTROLLÜ/YAŞAYAN POLİMERLEŞME .....                                                                                        | 10   |
| 3.1. Tersinir Katılma-Ayrılma Zincir Transfer (Reversible<br>addition-fragmentation chain transfer, RAFT) Polimerleşmesi ..... | 11   |
| 3.1.1. RAFT polimerleşmesinde kullanılan ajanlar .....                                                                         | 15   |
| 3.1.2. RAFT yönteminde kullanılan monomerler .....                                                                             | 18   |
| 3.1.3. İdeal RAFT polimerleşmesini etkileyen deneysel koşullar.....                                                            | 18   |
| 3.1.4. RAFT yöntemi ile elde edilen polimerlerde uç grup<br>dönüşümleri .....                                                  | 20   |
| 3.1.5. RAFT yöntemi ile yüzey modifikasyonları .....                                                                           | 21   |
| 3.2. Tersinir Zincir Transfer Katalizli Polimerleşme (Reversible<br>chain transfer catalyzed polymerization, RCTP) .....       | 24   |
| 4. RAMAN VE YÜZEYDE GÜÇLENDİRİLMİŞ RAMAN SAÇILMALARI .....                                                                     | 28   |
| 4.1. Raman Saçılması .....                                                                                                     | 28   |
| 4.1.1. Raman saçılmasını oluşturan geçişler .....                                                                              | 29   |

**Sayfa**

|                                                                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.1.2. IR ve Raman spektrumlarının kıyaslanması.....                                                                       | 31 |
| 4.2. Yüzeyde Güçlendirilmiş Raman Saçılması .....                                                                          | 35 |
| 4.2.1. Elektromagnetik (EM) güçlendirme mekanizması .....                                                                  | 36 |
| 4.2.2. Kimyasal güçlendirme (CE) mekanizması.....                                                                          | 38 |
| 4.2.3. SERS aktif yüzeyler .....                                                                                           | 41 |
| 4.2.4. Biyolojik uygulamalar .....                                                                                         | 43 |
| 5. DENEYSEL KISIM .....                                                                                                    | 45 |
| 5.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler .....                                                                                    | 45 |
| 5.2. Silisyum Yüzeylerin Temizlenmesi.....                                                                                 | 45 |
| 5.3. Temizlenmiş Yüzeylerin Organik Moleküllerle Modifiye Edilmesi .....                                                   | 46 |
| 5.3.1. Amin uç gruplu kendiliğinden düzenlenen tek tabakalarının<br>hazırlanması .....                                     | 46 |
| 5.3.2. RAFT ajanının sentezi.....                                                                                          | 46 |
| 5.3.3. RAFT ajanının APTS bağlı yüzeylere kovalent bağlanması ....                                                         | 48 |
| 5.3.4. RAFT polimerleşmesi ile sıcaklık duyarlı P(MEO <sub>2</sub> -MA)<br>fırçaların hazırlanması .....                   | 49 |
| 5.3.5. Altın nanoparçacıkların sentezi .....                                                                               | 50 |
| 5.3.6. Polimer fırça bağlı yüzeylere altın nanoparçacıkların<br>immobilizasyonu.....                                       | 51 |
| 5.3.7. Sıcaklık duyarlı altın nanoparçacık esaslı polimerik fırçalar<br>üzerine DNA immobilizasyonu ve hibridizasyonu..... | 52 |
| 5.4. Silika Nanoparçacık-Polimer Fırça Hibrit Sistemin Hazırlanması .....                                                  | 54 |
| 5.4.1. Silika nanoparçacıkların sentezi ve modifiye edilmesi.....                                                          | 54 |
| 5.4.2. Yüzeyde başlatılan RCTP yöntemi ile poli(glisidil metakrilat)<br>fırçaların hazırlanması .....                      | 54 |

**Sayfa**

|                                                                                                           |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 5.5. Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ve Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @Ag Nanoparçacıkların Sentezi ..... | 55 |
| 5.6. Sandviç Kompleksin Hazırlanması.....                                                                 | 57 |
| 6. YÜZEYLERİN VE NANOPARÇACIKLARIN KARAKTERİZASYONU .....                                                 | 59 |
| 6.1. X-ışınları Fotoelektron Spektroskopisi (X-ray Photoelectron Spectroscopy, XPS ) .....                | 59 |
| 6.2. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spektroskopisi .....                                               | 59 |
| 6.3. Elipsometre .....                                                                                    | 59 |
| 6.4. Atomik kuvvet mikroskobu (AFM) .....                                                                 | 60 |
| 6.5. Su değme açısı ölçümleri.....                                                                        | 60 |
| 6.6. Floresans mikroskobu .....                                                                           | 60 |
| 6.7. Yüzeyde Güçlendirilmiş Raman Spektroskopisi (Surface Enhanced Raman Spectroscopy, SERS) .....        | 60 |
| 6.8. Geçirimli Elektron Mikroskobu (Transmission Electron Microscopy, XPS) .....                          | 61 |
| 6.9. Titreşen Örnek Magnetometresi (Vibrating Sample Magnetometer, VSM) .....                             | 61 |
| 6.10. Jel Geçirgenlik Kromatografisi (Gel Permeation Chromatography, GPC) .....                           | 61 |
| 7. SONUÇ VE TARTIŞMA .....                                                                                | 62 |
| 7.1. RAFT Ajanının Karakterizasyonu .....                                                                 | 62 |
| 7.1.1. BDTD'nin yapısal karakterizasyonu .....                                                            | 62 |
| 7.1.2. CDSP'nin yapısal karakterizasyonu .....                                                            | 64 |
| 7.2. Silisyum Disk Yüzeylerinde APTS Molekülünün Kendiliğinden Düzenlenen Tek Tabakalarının Oluşumu ..... | 68 |
| 7.3. APTS Sonlu Yüzeyler Üzerine RAFT Ajanı CDSP'nin Kovalent Bağlanması .....                            | 76 |

**Sayfa**

|                                                                                                                                |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 7.4. Sıcaklık Duyarlı P(MEO <sub>2</sub> -MA) Fırçaların Hazırlanması .....                                                    | 80  |
| 7.4.1. Çözelti ve Yüzeyde Polimerleşme Kinetiği .....                                                                          | 80  |
| 7.4.2. P(MEO <sub>2</sub> -MA) polimer fırçaların faz geçiş sıcaklığının belirlenmesi .....                                    | 98  |
| 7.4.3. RAFT ajanı kalıntısının indirgenmesi (tritiyokarbonat grubunun sülfidril grubuna dönüştürülmesi) .....                  | 102 |
| 7.5. Altın Nanoparçacıkların Karakterizasyonu .....                                                                            | 108 |
| 7.5.1. Tohum büyütme yöntemiyle sentezlenen altın nanoparçacıkların karakterizasyonu.....                                      | 108 |
| 7.5.2. Sitrat indirgeme yöntemiyle sentezlenen altın nanoparçacıkların karakterizasyonu.....                                   | 112 |
| 7.6. Sıcaklık Duyarlı P(MEO <sub>2</sub> MA) Fırçalar Üzerine Altın Nanoparçacık İmmobilizasyonu .....                         | 113 |
| 7.7. DNA Hibridizasyonu .....                                                                                                  | 123 |
| 7.8. Akciğer Kanseri Teşhisi için Polimer-Fırça Nanoparçacık Hibrit Sistemlerinin Hazırlanması .....                           | 143 |
| 7.8.1. SiO <sub>2</sub> nanotaneçiklerin modifiye edilmesi ve karakterizasyonu .....                                           | 143 |
| 7.8.2. SiO <sub>2</sub> nanoparçacıklar üzerinde polimer fırça hazırlanması .....                                              | 150 |
| 7.8.3. Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ve Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @Ag nanoparçacıkların sentez ve karakterizasyonu ..... | 159 |
| 8. SONUÇLAR .....                                                                                                              | 179 |
| KAYNAKLAR .....                                                                                                                | 185 |
| ÖZGEÇMİŞ .....                                                                                                                 | 206 |



## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

| Çizelge                                                                                                                                                                                                             | Sayfa |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Çizelge 7.1. Aşılama parametrelerinin polimerleşme süresi ile değişimi .....                                                                                                                                        | 93    |
| Çizelge 7.2. Farklı polimerleşme sürelerine ait polimer fırçaların bağlanma enerjileri ve elementel bileşimleri (Tüm bağlanma enerjileri C 1s C-C/C-H bağlanma enerjisi olan 285 eV'a göre kalibre edilmiştir)..... | 97    |
| Çizelge 7.3. Literatürdeki DNA tabanlı analiz sistemlerinin karşılaştırılması .....                                                                                                                                 | 136   |
| Çizelge 7.4. Serum örneklerinden hastalık DNA örneklerinin hibrit sistem ile geri kazanımı .....                                                                                                                    | 141   |

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

| Şekil                                                                                                                                                                                                                                                       | Sayfa |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Şekil 2.1. Polimer fırçaların şematik gösterimi: (a) Makroskobik yüzey (altın, cam, silisyum, mika v.b.) üzerindeki polimer fırçalar, (b) Kolloidal parçacıklar (altın, silika, TiO <sub>2</sub> , gümüş nanoparçacıklar) üzerindeki polimer fırçalar ..... | 5     |
| Şekil 2.2. Tabaka-tabaka polimer filmlerin hazırlanmasının şematik gösterimi : (a) Kaplama yönteminin şematik gösterimi, (b) Yüzeydeki polimer fimlerin gösterimi, (c) Kullanılan polianyon ve polikasyonların kimyasal yapıları.....                       | 6     |
| Şekil 2.3. Yüzey boyunca aşılama yönteminin şematik gösterimi .....                                                                                                                                                                                         | 7     |
| Şekil 2.4. Yüzeye ve yüzeyden aşılama yöntemlerinin şematik gösterimi.....                                                                                                                                                                                  | 8     |
| Şekil 2.5. Yüzeyler üzerine adsorbe olmuş polimerlerin mantar ve fırça konformasyonlarının şematik gösterimi.....                                                                                                                                           | 9     |
| Şekil 2.6. Farklı yapılara sahip polimer fırçaların şematik gösterimi.....                                                                                                                                                                                  | 9     |
| Şekil 3.1. Serbest radikal polimerleşmesinin RAFT yöntemine dönüştürülmesinin şematik gösterimi .....                                                                                                                                                       | 12    |
| Şekil 3.2. RAFT polimerleşmesinin mekanistik gösterimi.....                                                                                                                                                                                                 | 14    |
| Şekil 3.3. RAFT polimerleşmesinde kullanılan ajanlar .....                                                                                                                                                                                                  | 15    |
| Şekil 3.4. Z grubunun kararlaştırıcı etkisinin büyüyen makroradikal kararlılığı ve ara radikal kararlılığı üzerine etkisi .....                                                                                                                             | 17    |
| Şekil 3.5. Monomer türüne göre R ve Z gruplarının seçilmesi. Z grubu için soldan sağa doğru katılma hızı azalırken, ayrılma hızı artar. R grubu için soldan sağa doğru ayrılma hızı azalır .....                                                            | 18    |
| Şekil 3.6. Çeşitli uç grup dönüşümlerinin gösterimi.....                                                                                                                                                                                                    | 21    |
| Şekil 3.7. RAFT polimerleşmesi ile yüzeye aşılama yöntemi .....                                                                                                                                                                                             | 22    |
| Şekil 3.8. (a) Başlatıcının yüzeye kovalent bağlanması ve ardından RAFT polimerleşmesi (b) RAFT ajanının yüzeye kovalent bağlanması ve ardından RAFT polimerleşmesi .....                                                                                   | 23    |
| Şekil 3.9. Yüzeyde başlatılan RAFT polimerleşmesinde R ve Z grup yaklaşımlarının şematik gösterimi .....                                                                                                                                                    | 24    |

| Şekil                                                                                                                                                                                                                       | Sayfa |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Şekil 3.10. Tersinir aktivasyonun şematik gösterimi (b,c ve d) ve RCTP yöntemindeki tersinir aktivasyon mekanizmasının gösterimi .....                                                                                      | 25    |
| Şekil 4.1. Rayleigh ve Raman saçılmalarının elektronik düzeyde gösterimi .....                                                                                                                                              | 30    |
| Şekil 4.2. Tipik bir Raman spektrumu .....                                                                                                                                                                                  | 31    |
| Şekil 4.3. Mesitilen molekülüne ait IR ve Raman spektrumları.....                                                                                                                                                           | 32    |
| Şekil 4.4. Karbondioksit molekülünün simetrik titreşimi esnasındaki elektron bulutu değişiminin şematik gösterimi .....                                                                                                     | 34    |
| Şekil 4.5. EM mekanizmasının şematik gösterimi .....                                                                                                                                                                        | 37    |
| Şekil 4.6. CE mekanizmasında yük transferinin şematik gösterimi .....                                                                                                                                                       | 40    |
| Şekil 5.1. RAFT ajanı sentez basamaklarının şematik gösterimi .....                                                                                                                                                         | 48    |
| Şekil 5.2. Parçacık sentezlerinin şematik gösterimi: (a) $Fe_3O_4$ nanoparçacıklar (b) $Fe_3O_4@Ag$ nanoparçacıklar .....                                                                                                   | 56    |
| Şekil 7.1. BDTD'nin ATR-FTIR spektrumu .....                                                                                                                                                                                | 63    |
| Şekil 7.2. BDTD ye ait $^1H$ -NMR spektrumu .....                                                                                                                                                                           | 64    |
| Şekil 7.3. CDSP'ye ait ATR-FTIR spektrumu .....                                                                                                                                                                             | 65    |
| Şekil 7.4. CDSP'ye ait $^1H$ -NMR spektrumu .....                                                                                                                                                                           | 66    |
| Şekil 7.5. CDSP'ye ait $^{13}C$ -NMR spektrumu.....                                                                                                                                                                         | 67    |
| Şekil 7.6. CDSP'ye ait LC-MS spekturumu .....                                                                                                                                                                               | 67    |
| Şekil 7.7. Silisyum disk yüzeyinde APTS tek tabaka oluşumunun şematik gösterimi .....                                                                                                                                       | 70    |
| Şekil 7.8. Hidroksillenmiş silisyum disklerin 2D,3D AFM görüntüleri ile yükseklik dağılım ve su değme açısı görüntüleri gösterimi .....                                                                                     | 71    |
| Şekil 7.9. Bekletme süresine karşılık (a) Su değme açısı ve tabaka kalınlığının değişimi, (b) RMS değerinin değişimi (grafik içinde görülen resimler $5 \mu m \times 5 \mu m$ alanın AFM görüntüleri, z skala: 10 nm) ..... | 73    |

| <b>Şekil</b>                                                                                                                                                                                               | <b>Sayfa</b> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Şekil 7.10. APTS derişimine karşılık (a) Su değme açısı ve tabaka kalınlığının değışimi, (b) RMS değerin değışimi (grafik içinde görülen resimler 5 µm x 5 µm alanın AFM görüntüleri, z skala: 10 nm)..... | 75           |
| Şekil 7.11. Bekletme süresinin 2 saat ve derişimin hacimce %1 olduğu durumdaki 2D, 3D AFM görüntüleri ile yükseklik dağılım ve su değme açısı görüntüleri.....                                             | 75           |
| Şekil 7.12. CDSP'nin amin sonlu yüzeylere kovalent olarak bağlanması.....                                                                                                                                  | 76           |
| Şekil 7.13. CDSP bağlı silisyum disklerin 2D, 3D AFM görüntüleri ile yüksekli dağılım ve su değme açısı görüntüleri.....                                                                                   | 77           |
| Şekil 7.14. Silisyum disklerin ATR-FT-IR spektrumlar, (a) Temiz silisyum, (b) APTS modifiye silisyum, (c) CDSP modifiye silisyum yüzey...                                                                  | 78           |
| Şekil 7.15. (A) Temiz silisyum, (B) APTS modifiye ve (C) CDSP modifiye silisyum disklerin XPS spektrumları .....                                                                                           | 79           |
| Şekil 7.16. (A) APTS bağlı, (B) CDSP bağlı silisyum disklerin yüksek çözünürlüklü XPS spektrumları .....                                                                                                   | 80           |
| Şekil 7.17. Monomer dönüşümün polimerleşme süresince değışimi.....                                                                                                                                         | 82           |
| Şekil 7.18. Çözelti polimerleşmesine ait yarı-logaritmik kinetik eğrisi.....                                                                                                                               | 83           |
| Şekil 7.19. Polimerin mol kütlelerinin ve PDI değerlerinin dönüşümle değışimi.....                                                                                                                         | 85           |
| Şekil 7.20. P(MEO <sub>2</sub> -MA) için farklı polimerleşme sürelerine ait GPC kromatogramları .....                                                                                                      | 86           |
| Şekil 7.21. Çözeltide bulunan serbest RAFT ajanı varlığında silisyum disk yüzeyinde RAFT polimerleşmesi.....                                                                                               | 87           |
| Şekil 7.22. Silisyum disk yüzeylerde sıcaklık duyarlı polimer fırça sentezinin şematik gösterimi .....                                                                                                     | 88           |
| Şekil 7.23. Polimer tabaka kalınlığının polimerleşme süresince değışimi .....                                                                                                                              | 89           |
| Şekil 7.24. P(MEO <sub>2</sub> -MA) fırçalara ait farklı polimerleşme sürelerinde alınmış ATR-FTIR spektrumları .....                                                                                      | 90           |
| Şekil 7.25. Elipsometrik kalınlığın polimerin mol kütle ile değışimi .....                                                                                                                                 | 92           |

| <b>Şekil</b>                                                                                                                                                                | <b>Sayfa</b> |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Şekil 7.26. Polimerleşme süresi 12 saat olduğu durumdaki 2D, 3D AFM görüntüleri ile yükseklik dağılım eğrisi.....                                                           | 94           |
| Şekil 7.27. Farklı polimerleşme sürelerine ait polimer fırçaların XPS spektrumları .....                                                                                    | 95           |
| Şekil 7.28. Polimer fırçalara ait yüksek çözünürlüklü XPS spektrumları (polimerleşme süresi 12 saat) .....                                                                  | 96           |
| Şekil 7.29. (a) Polimer fırçaların sıcaklık-değme açısı eğrisi (polimerleşme süresi 12 saat), (b) Bu değişime ait birinci türev eğrisi .....                                | 99           |
| Şekil 7.30. LCST altındaki ve üstündeki sıcaklıklardaki yüzeylerin 2D, 3D AFM görüntüleri ile yükseklik dağılım eğrileri .....                                              | 101          |
| Şekil 7.31. Sıcaklık ile tersinir (a) Su değme açısının, (b) RMS değerinin değişimi.....                                                                                    | 102          |
| Şekil 7.32. (a) İndirgemedен önce ve (b) İndirgemedен sonra cam yüzeyinden alınan UV-GB spektrumları (Polimerleşme süresi 12 saat) .....                                    | 103          |
| Şekil 7.33. (a) İndirgeme öncesi ve (b) İndirgeme sonrası elde edilen XPS genel spektrumları ile S 2p yüksek çözünürlük XPS spektrumları (Polimerleşme süresi 5 saat) ..... | 104          |
| Şekil 7.34. Sülfidril uç gruba sahip polimer fırçaların sıcaklıkla su değme açılarındaki değişim ve bu değişimin birinci türev eğrisi.....                                  | 106          |
| Şekil 7.35. Sülfidril uç gruba sahip polimer fırçaların LCST altında ve üstündeki sıcaklıklarda 2D, 3D AFM görüntüleri ve yükseklik dağılım eğrileri .....                  | 107          |
| Şekil 7.36. Altın nanoparçacıkların oluşum mekanizması .....                                                                                                                | 109          |
| Şekil 7.37. Farklı tohum çözeltiler kullanılarak elde edilen parçacıkların TEM görüntüleri .....                                                                            | 110          |
| Şekil 7.38. Tohum miktarının değiştirilmesiyle elde edilen parçacıkların UV-GB spektrumları: (a) 1.0 mL (b) 2.0 mL (c) 2.5 mL ve (d) 5.0 mL tohum çözeltisi .....           | 111          |
| Şekil 7.39. Sitrat indirgeme yöntemiyle elde edilen parçacıkların (a)Düşük, (b)Yüksek büyütme TEM görüntüleri ve (c) UV-GB spektrumu .....                                  | 113          |

| Şekil                                                                                                                                                                                                                         | Sayfa |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Şekil 7.40. İmmobilizasyon süresine karşı elde edilen UV-GB spektrumları ile absorbans değerlerindeki değişim P(MEO <sub>2</sub> -MA) fırça modifiye edilmiş cam yüzeyler “blank” olarak kullanılmıştır) .....                | 114   |
| Şekil 7.41. Bağlı altın miktarının immobilizasyon süresi ile değişimi .....                                                                                                                                                   | 116   |
| Şekil 7.42. Altın nanoparçacık immobilize edilmiş yüzeylerin (a) Genel ve (b,c) Au 4f ve S 2p yüksek çözünürlük XPS spektrumları (altın nanoparçacık immobilizasyon süresi: 16 saat) .....                                    | 117   |
| Şekil 7.43. Bağlı altın miktarının açılı ile değişimi .....                                                                                                                                                                   | 119   |
| Şekil 7.44. Altın nanoparçacık immobilize olmuş yüzeylerin (A) Yüksek alan 5x5 µm <sup>2</sup> , (B) Düşük alan 1x1 µm <sup>2</sup> 2D AFM görüntüleri .....                                                                  | 120   |
| Şekil 7.45. (a)Farklı sıcaklıklarda alınan SERS spektrumları, (b) Sıcaklığın fonksiyonu olarak SERS şiddetlerindeki değişim ve (c) Bu değişimin birinci türev eğrisi .....                                                    | 121   |
| Şekil 7.46. Sıcaklıkla SERS şiddetinin tersinir değişimi .....                                                                                                                                                                | 122   |
| Şekil 7.47. Sıcaklığın LCST altın ve üstünde olduğu durumlarda parçacık bağlı yüzeylerin 2D AFM görüntüleri .....                                                                                                             | 123   |
| Şekil 7.48. Altın nanoparçacık bağlı silisyum yüzeylere prob-ssDNA bağlanmasının şematik gösterimi.....                                                                                                                       | 125   |
| Şekil 7.49. (a) MB modifiye prob-ssDNA derişimlerine karşılık elde edilen SERS spektrumları ve (b) 1620 cm <sup>-1</sup> referans alınarak farklı prob-ssDNA derişimlerine karşı SERS şiddetindeki değişim.....               | 126   |
| Şekil 7.50. Cy5 etiketli prob-ssDNA farklı derişimlerine karşı elde edilen floresans görüntüleri (Skala: 100 µm) .....                                                                                                        | 128   |
| Şekil 7.51. (a) MB modifiye prob-ssDNA adsorpsiyon süresine karşılık elde edilen SERS spektrumları ve (b) 1620 cm <sup>-1</sup> referans alınarak farklı prob-ssDNA adsorpsiyon süresine karşı SERS şiddetindeki değişim..... | 129   |
| Şekil 7.52. Cy5 etiketli prob-ssDNA farklı adsorpsiyon sürelerine karşı elde edilen floresans görüntüleri (Skala: 100 µm) .....                                                                                               | 130   |
| Şekil 7.53. Prob-ssDNA bağlı yüzeyler üzerinde “sandviç tip” hibridizasyonun şematik gösterimi .....                                                                                                                          | 131   |

| Şekil                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Sayfa |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Şekil 7.54. (A) Farklı derişimlerdeki hedef-ssDNA ile muamele edilmiş sıcaklık duyarlı yüzeylerin SERS spektrumları, (B ve C) 1294 $\text{cm}^{-1}$ referans alınarak log ([DNA]) karşı SERS şiddetlerindeki değişim (grafiklerdeki standart saplamalar beş farklı ölçüm sonucu elde edilmiştir. T = 25 °C) ..... | 133   |
| Şekil 7.55. Farklı derişimlerdeki hedef-ssDNA ile muamele edilmiş sıcaklık duyarlı yüzeylerin 1294 $\text{cm}^{-1}$ referans alınarak log ([DNA]) karşı SERS şiddetlerindeki değişim (grafiklerdeki standart sapmalar beş farklı ölçüm sonucu elde edilmiştir. T = 37 °C)...                                      | 135   |
| Şekil 7.56. Farklı hedef-ssDNA türlerine karşı elde edilen SERS şiddetleri (1293 $\text{cm}^{-1}$ dalga sayındaki şiddet referans alınmıştır. Standart saplamalar beş farklı ölçüm sonucu elde edilmiştir. ssDNA iplikçik derişimi: 0,6 pM; T= 25 °C) .....                                                       | 137   |
| Şekil 7.57. Hibridizasyon sonrasında yüzeylerin rejenere edilmesinin şematik gösterimi .....                                                                                                                                                                                                                      | 139   |
| Şekil 7.58. SERS tabanlı hibrit sistemin rejenerasyon sayısı ve kararlılığının incelenmesi (1293 $\text{cm}^{-1}$ dalga sayındaki saçılma şiddeti referans olarak alınmıştır. Standart saplamalar beş farklı ölçüm sonucu elde edilmiş olup ssDNA iplikçik derişimi: 0,6 pM ve T=25 °C) .....                     | 140   |
| Şekil 7.59. Silika nanotaneçiklerin oluşma mekanizmasının şematik gösterimi .....                                                                                                                                                                                                                                 | 144   |
| Şekil 7.60. Modifiye edilmemiş silika nanoparçacıkların TEM görüntüsü ...                                                                                                                                                                                                                                         | 144   |
| Şekil 7.61. Silika nanoparçacıkların IPTS ile modifiye edilmesi .....                                                                                                                                                                                                                                             | 145   |
| Şekil 7.62. IPTS bağlı silika nanoparçacıkların TEM görüntüsü.....                                                                                                                                                                                                                                                | 146   |
| Şekil 7.63. (a) Modifiye edilmemiş $\text{SiO}_2$ ve (b) $\text{SiO}_2$ @IPTS parçacıkların su değme açısı görüntüleri.....                                                                                                                                                                                       | 147   |
| Şekil 7.64. (a) Modifiye edilmemiş $\text{SiO}_2$ ve (b) $\text{SiO}_2$ @IPTS parçacıkların ATR-FTIR spektrumları .....                                                                                                                                                                                           | 147   |
| Şekil 7.65. (a) Modifiye edilmemiş $\text{SiO}_2$ ve (b) $\text{SiO}_2$ @IPTS parçacıkların XPS spektrumları .....                                                                                                                                                                                                | 148   |
| Şekil 7.66. IPTS bağlı silika nanoparçacıkların yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu .....                                                                                                                                                                                                                           | 150   |

| <b>Şekil</b>                                                                                                                                                                      | <b>Sayfa</b> |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| Şekil 7.67. Dönüşümün polimerleşme süresince değişimi .....                                                                                                                       | 151          |
| Şekil 7.68. Çözeltili polimerleşmesine ait yarı-logaritmik kinetik eğrisi.....                                                                                                    | 152          |
| Şekil 7.69. Polimerin mol kütlesinin ve PDI değerlerinin dönüşümle değişimi.....                                                                                                  | 153          |
| Şekil 7.70. Farklı polimerleşme sürelerine ait GPC kromatogramları.....                                                                                                           | 154          |
| Şekil 7.71. PGMA fırça sentezinin şematik gösterimi.....                                                                                                                          | 155          |
| Şekil 7.72. Farklı polimerleşme sürelerine ait XPS spektrumları : (A) 1 saat, (B) 4 saat, (C) 8 saat, (D) 10 saat .....                                                           | 156          |
| Şekil 7.73. SiO <sub>2</sub> @PGMA hibrit sisteme ait yüksek çözünürlüklü XPS spektrumları (polimerleşme süresi 10 saat) .....                                                    | 157          |
| Şekil 7.74. SiO <sub>2</sub> @PGMA hibrit parçacıkların TEM görüntüsü (Polimerleşme süresi 10saat) .....                                                                          | 158          |
| Şekil 7.75. Silika nanoparçacıkların uzaklaştırılmasıyla elde edilen nanoyapıların TEM görüntüsü (Polimerleşme süresi 10saat)...                                                  | 159          |
| Şekil 7.76. Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ve Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> @Ag nanoparçacıklara ait UV-GB spektrumları .....                                                    | 162          |
| Şekil 7.77. (a) Demir, (b) Manyetik gümüş nanoparçacıkların TEM görüntüsü .....                                                                                                   | 163          |
| Şekil 7.78. (a) Manyetik nanoparçacıkların ve (b) Fe 2p yüksek çözünürlük XPS spektrumları.....                                                                                   | 164          |
| Şekil 7.79. (a) Gümüş kaplı manyetik nanoparçacıkların genel XPS spektrumu, (b) Fe 2p ve (c) Ag 3d elementlerinin yüksek çözünürlük XPS spektrumları.....                         | 165          |
| Şekil 7.80. (a) Manyetik ve (b) Gümüş kaplı manyetik nanoparçacıkların VSM eğrileri ile parçacıkların manyetik alan varlığında gösterdikleri davranışın fotografik gösterimi..... | 166          |
| Şekil 7.81. Manyetik gümüş nanoparçacıkların modifiye edilmesinin şematik gösterimi .....                                                                                         | 167          |



| Şekil                                                                                                                                                                                                                                       | Sayfa |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Şekil 7.82. (a) Manyetik gümüş, (b) Saf MBA, (c) MBA modifiye edilmiş manyetik gümüş, (d) Sadece anti-CEA modifiye edilmiş manyetik gümüş, (e) MBA ve anti-CEA modifiye edilmiş manyetik gümüş nanoparçacıklara ait SERS spektrumları ..... | 168   |
| Şekil 7.83. (a) MBA bağlı ve (b) MBA ve anti-CEA bağlı manyetik gümüş parçacıklarına ait XPS genel spektrumu .....                                                                                                                          | 170   |
| Şekil 7.84. Sandviç kompleks oluşumunun şematik gösterimi .....                                                                                                                                                                             | 171   |
| Şekil 7.85. Sandviç kompleksin TEM görüntüsü (CEA derişimi: 80 ng/mL).....                                                                                                                                                                  | 172   |
| Şekil 7.86. (a) Farklı CEA derişimine karşılık elde edilen SERS spektrumları, (b) CEA derişimine karşılık $1586\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısındaki bandın SERS şiddetindeki değışikliğı gösteren grafik .....                                | 173   |
| Şekil 7.87. Farklı protein derişimlerine karşılık SERS şiddetlerindeki değışimi .....                                                                                                                                                       | 174   |
| Şekil 7.88. Serum örneklerinde (a) Farklı CEA derişimine karşılık gelen SERS spektrumları, (b) CEA derişimine karşılık $1586\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısındaki bandın SERS şiddetindeki değışikliğı gösteren grafik .....                   | 175   |
| Şekil 7.89. Dış manyetik alan uygulanarak yapılan SERS analizinin şematik gösterimi .....                                                                                                                                                   | 176   |
| Şekil 7.90. Manyetik alanın Raman saçılmasına etkisi .....                                                                                                                                                                                  | 177   |
| Şekil 7.91. Dış manyetik alan varlığında elde edilen kalibrasyon grafiğı ....                                                                                                                                                               | 178   |

## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

| <b>Kısaltmalar</b>           | <b>Açıklama</b>                                                 |
|------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| <b>AFM</b>                   | Atomik kuvvet mikroskobu                                        |
| <b>Anti-CEA</b>              | Anti-karsino embriyogenik antijen                               |
| <b>APTS</b>                  | (3-aminopropil)triethoksilan                                    |
| <b>BDTD</b>                  | Bis(dodesil sulfanil tiyokarbonil)disülfür                      |
| <b>BSA</b>                   | Bovin serum albümin                                             |
| <b>CDSP</b>                  | 4-siyano-4-(dodesilsulfaniltiyokarbonil sulfanil pentanoik asit |
| <b>GPC</b>                   | Jel geçirgenlik kromatografisi                                  |
| <b>MBA</b>                   | Merkapto benzoik asit                                           |
| <b>PGMA</b>                  | Poli(glisidil metakrilat)                                       |
| <b>P(MEO<sub>2</sub>-MA)</b> | Poli(2-(2-metoksietoksi)etil metakrilat)                        |
| <b>RAFT</b>                  | Tersinir katılma-ayrılma zincir transferi                       |
| <b>RCTP</b>                  | Tersinir zincir transfer katalizlenmiş polimerleşme             |
| <b>SERS</b>                  | Yüzeyde güçlendirilmiş Raman spektroskopisi                     |
| <b>TEM</b>                   | Geçirimli elektron mikroskobu                                   |
| <b>XPS</b>                   | X-ışınları fotoelektron spektroskopisi                          |
| <b>VSM</b>                   | Titreşen örnek magnetometresi                                   |
| <b>UV-GB</b>                 | Ultraviyole-görünür bölge                                       |

## 1.GİRİŞ

Gerek biyolojik sistemlerde gerekse sentetik (yapay) malzemelerde olası herhangi bir etkileşim ara yüzeylerde meydana gelmektedir. Bu nedenle “biyo-ara yüzeyler” ve bununla ilişkili biyolojik sistem-malzeme arasındaki etkileşimler, biyo-malzemenin çalışmasında oldukça büyük öneme sahiptir. Bununla birlikte bu etkileşimlerin kontrol edilebilmesi de elde edilecek biyo-malzemenin *in vivo* ve/veya *in vitro* çalışmalardaki performansını da doğrudan etkilemektedir. Temel olarak, bir biyo-ara yüzey DNA, RNA, protein, antikor gibi bir biyomolekül ile bir katı yüzeyin (cam, altın, silisyum, mika vs.) etkileşmesi ile hazırlanabilirken kompleks ara yüzeyler, membran, virüs ya da hücre gibi daha büyük biyolojik sistemlerin organik, inorganik veya yapay herhangi bir malzeme ile etkileştirilmesi sonucunda hazırlanır. Bu açıdan bakıldığında, biyolojik sistemler ve yüzey arasındaki etkileşimlerinin etkinliği yüzeyin kimyasal yapısı, ıslanabilirliği, topografik yapısı gibi kimyasal ve fiziksel özellikler tarafından belirlenmektedir. Bundan dolayı biyomalzeme tasarımında kullanılacak olan yüzeyin özelliklerinin kontrolü ve düzenlenebilmesi oldukça önemlidir. Nanoteknolojinin ilerlemesi ile birlikte kullanılacak olan yüzeylerin bu tür fizikokimyasal özelliklerinin kontrol edilebilme şansı artmaktadır. Özellikle yüzey karakterizasyon yöntemlerinin gelişmesi ile hazırlanacak olan yüzeylerin tüm özelliklerini kontrol etmek daha da kolaylaşmakta ve sonuçta biyo-malzemelerin uygulama sahasındaki yüzey işlevselliği kontrol altına alınmaktadır.

Nanoteknoloji ile paralel bir ilerleme kaydeden moleküler biyoloji ve nanobiyoteknoloji alanlarında yapılan çalışmalar sayesinde günümüzde biyolojik sistemlerin çalışması ile ilgili önemli sonuçlar elde edilmiştir. Özellikle canlı bir hücrede gerçekleşen çoğu reaksiyonların doğrudan ya da dolaylı olarak izlenmesine olanak sağlayan nano-ölçekte görüntüleme ajanları sayesinde birçok biyolojik olaylar takip edilmektedir. Canlı hücrelerde meydana gelen reaksiyonlardan özellikle antijen-antikor etkileşimi, DNA hibritleşmesi, enzim-substrat ilişkileri günümüzde birçok çalışmaya esin

kaynağı olmuştur. Özellikle nanobiyoteknolojinin sunduğu imkanlar çerçevesinde canlı bir hücrede gerçekleşen reaksiyonlar taklit edilerek bir çok yeni nesil ve nano-ölçekte malzemeler üretilmiş ve sonuçta hastalıkları erken, hızlı ve güvenilir bir şekilde tespit eden oldukça işlevsel nano-biyomoleküler algılayıcılar üretilmiştir. Hazırlanan bu algılayıcıların nano-ölçekte işlevsel olması sonucu günümüzde oldukça kompleks olan teşhis/tanı analiz cihazlarının yerini daha küçük, daha hafif analiz cihazları almıştır.

Günümüzde nanoteknolojinin gelişmesiyle atılan en önemli adımlardan biri de, hastalıkların erken teşhisine imkan veren birçok yeni nesil biyosensör tasarlanabilmesidir. Bir biyosensör, temel olarak belirli bir yüzey (silisyum, altın vb.) ve immobilize edilmiş prob molekül (antikor, DNA, enzim vb.) ikilisinden oluşmaktadır. Biyosensörler, immobilize edilmiş olan hedef molekül (hastalık etkeni molekül) ile eşlenik molekül arasında meydana gelen spesifik etkileşimler sonucu olası fizikokimyasal değişimlerin (iletkenlik, kırılma indisi, film kalınlığı gibi) belirli bir tarayıcı ile işlenerek anlamlı sinyallere dönüştürülmesi şeklinde çalışırlar. Sonuç olarak prob molekül/hedef molekül etkileşiminin hangi noktalarda meydana geldiği dolayısıyla biyomolekülün türü belirlenerek hücre içinde oluşan biyo-işaretçi molekülünün belirlenmesi ile hastalıkların erken ve hızlı bir şekilde teşhisi sağlanmış olur. Günümüzde biyosensör tasarımında destek malzemesi olarak kullanılacak yüzey, biyomolekül bağlanmadan önce bir ara molekül ile bağlanır. Genellikle ara molekülün yüzeylere bağlanmasında kendiliğinden düzenlenen tek tabakalar (KDDT) yöntemi kullanılır [Miura ve ark., 2008; Johnson ve ark., 2008]. Bu yöntem, temel olarak yüzeye özgü organik bir molekül ile yüzey arasındaki etkileşime dayanmaktadır. Meydana gelen etkileşimler sonucu yüzeyler üzerinde organik moleküle ait düzenli tek tabakalar oluşur. Bu yöntem her ne kadar hazırlanması bakımından kolay olsa bile mekanik dayanımlarının düşük olması, biyomolekül bağlanması sırasında moleküler kırılmaların olması ve tek tabaka oluşumundan sonra gerekli olan kimyasal dönüşümlerin oldukça zor yapıyor olması gibi dezavantajları bulunmaktadır. Bu dezavantajlarından ötürü bu yöntemlerle

hazırlanan biyosensörlerin hassasiyetleri düşük olmaktadır [Endo ve ark., 2005]. Bu tür dezavantajları ortadan kaldırabilmek için biyomolekül bağlanmadan önce ara bağlayıcı olarak polimer fırçalar kullanılabilir. Belirli bir yüzey üzerinde gergin polimerik tabakalar olarak tanımlayabileceğimiz polimer fırçalar sayesinde yüzeyler üzerinde oldukça esnek yapılar oluşturularak biyomolekül bağlanma esnasında meydana gelebilecek moleküler kırılmaların önüne geçilebilir. Bunun yanı sıra polimer fırçaların fonksiyonel grup çeşitliliğinin fazla ve film morfolojilerinin kontrol edilmesinin kolay olması gibi avantajları vardır. Bu avantajları sayesinde, polimer fırça temelli bir çok biyosensör dizaynı gerçekleştirilmiştir [Zhang ve ark., 2005; Pirri ve ark., 2006; Zelikin ve ark., 2007; He ve ark., 2008; Kanayama ve ark., 2009].

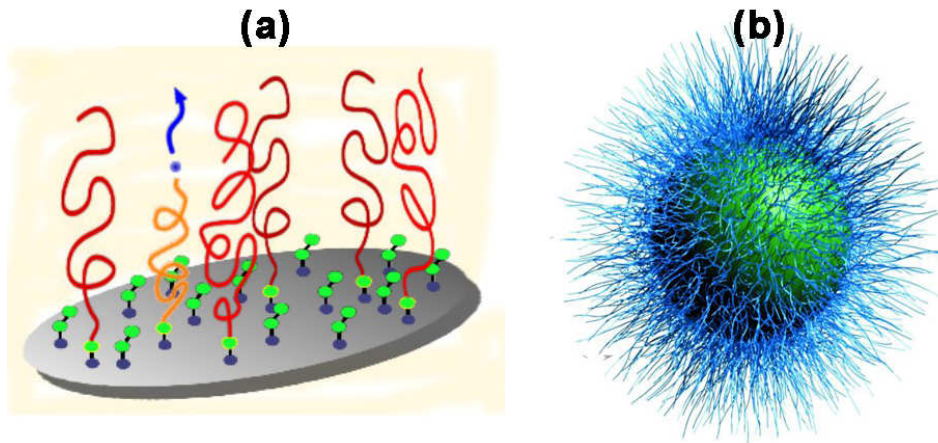
Bir biyosensörde meydana gelen değişikliklerin anlamlı sinyallere dönüştürülerek takip edilebilmesi sensörün çalışmasını etkileyen diğer en önemli parametrelerden birisidir. Günümüzde, sensörlerde gerçekleşen biyokimyasal reaksiyonlardan sonra meydana gelen fizikokimyasal olaylar değişik şekillerde takip edilmektedir. Örneğin iletkenlik, kalorimetrik, floresans ve yüzey plazmon rezonans tabanlı bir çok sensör hazırlanmıştır [Park ve ark., 2002; Wang ve ark., 2010; Wang ve ark., 2010; Nelson ve ark., 2001]. Bu yöntemlerin dışında sensör yüzeyine immobilize edilmiş biyomoleküller arasında meydana gelen reaksiyonların takibinde yüzeyde güçlendirilmiş Raman spektroskopisi (surface enhanced Raman spectroscopy, SERS) oldukça önemli bir yere sahiptir. Diğer metodlar ile karşılaştırıldığında SERS, en az numune hazırlama, ucuz reaktiflerin kullanıldığı, kolay, hızlı ve güvenilir bir biyoanaliz tekniğidir. Bu yöntem sayesinde oldukça karmaşık sistemlerde bile analiz yapılarak takip edilen biyomoleküller hakkında oldukça hassas ve güvenilir bilgiler elde edilmektedir. Bu yöntem kullanılarak günümüzde klinik alanda kullanılan tanı tekniklerinden tekrarlanabilirliği ve hassasiyeti oldukça yüksek biyosensörler hazırlanmaktadır [Hyangah ve ark., 2009]. Böylece bu spektroskopik yöntem sayesinde hastalık etkeni olan molekülü çok düşük derişimlerde tayin

edebilme özelliği vardır. Bilindiği gibi hastalık etkeni molekülü tayin etmede kullanılan bir çok serolojik testten doğru sonuç alabilmek için hastalık etkeni molekülün serumda belirli bir derişime ulaşması gerekmektedir. Dolayısıyla çoğu serolojik test hastalığın erken teşhisine imkan vermemektedir. SERS sayesinde bir çok hastalık etkeni molekül uygun sensör tasarımı ile hastalığın çok erken seviyelerde teşhis edilmesine olanak vermektedir.

Bu çalışma kapsamında hem polimer fırça kullanımının hem de SERS yönteminin avantajları birleştirilerek literatür çalışmalarından farklı olarak iki ayrı polimer fırça-nanoparçacık hibrit sistem hazırlanmıştır. İlk biyosensörde Hepatit B hastalığının teşhisinde kullanılmak üzere SERS tabanlı heterojen analiz sistemi hazırlanmıştır. İkinci biyosensör tasarımında ise nanoparçacıklar üzerine polimer fırçalar sentezlendikten sonra akciğer kanseri hastalığının teşhisinde kullanılabilecek SERS tabanlı homojen analiz sistemi hazırlanmıştır. Her iki sistemde çeşitli yüzey ve nanoparçacık karakterizasyon yöntemleri ile analiz edilmiş ve elde edilen hibrit sistemlerin hastalıkların teşhisinde kullanılabilirliği test edilmiştir.

## 2. POLİMER FIRÇALAR

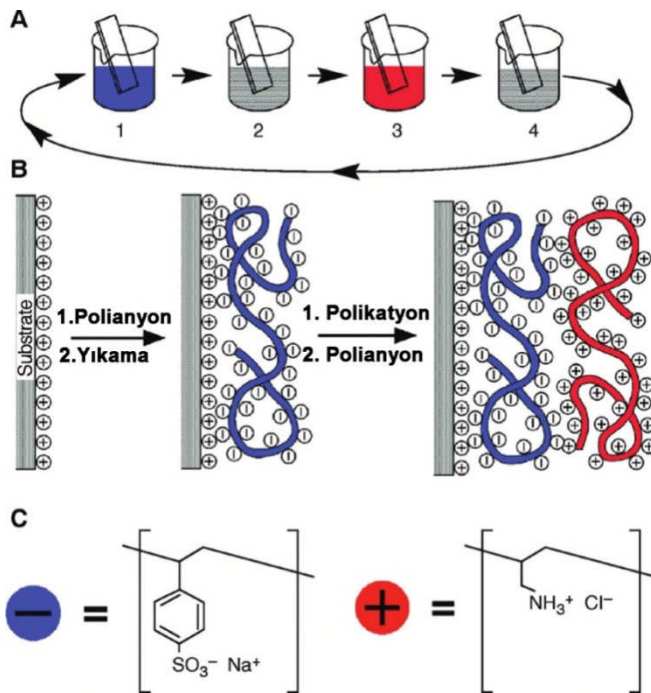
Belirli bir yüzey (altın, cam, mika ya da koloidal parçacıklar) üzerinde polimerlerin bir ucunun yüzeye fiziksel ya da kovalent olarak bağlanması sonucu oluşan gergin polimer zincirlerine polimer fırçalar denir. Yüzey üzerinde bağlanan polimerlerin miktarı arttıkça polimer zincirleri arasında hidrofobik ve/veya hidrofilik etkileşimler artar ve bunun sonucunda polimer zincirleri entropiden kaynaklı “uzamış (gergin veya çubuk)” konformasyonunu tercih eder [Advincula ve ark., 2003; Advincula ve ark., 2004]. Polimer fırçaların hazırlanma tekniğine de bağlı olmak üzere polimer fırçalar yüzey üzerinde hemen hemen eşit boyda ve homojen olarak dağılırlar [Hooper ve ark., 2001]. Bu düzenlilik ve konformasyon sayesinde polimerlerin türü ve özellikle uç grupların değiştirilmesi ile biyouyumlu, biyoaktif, hidrofobik-hidrofilik özellikte yüzeyler hazırlanabilir.



Şekil 2.1. Polimer fırçaların şematik gösterimi : (a) Makroskobik yüzey (altın, cam, silisyum, mika v.b.) üzerindeki polimer fırçalar, (b) Koloidal parçacıklar (altın, silika, TiO<sub>2</sub>, gümüş nanoparçacıklar) üzerindeki polimer fırçalar.

Polimer fırçalar, fiziksel ve kimyasal adsorpsiyon olmak üzere iki yöntemle hazırlanmaktadır. Fiziksel adsorpsiyonda polimerler yüzey üzerine van der Waals veya elektrostatik türü etkileşimlerle adsorbe olarak polimer fırçalar oluşur. Bu yolla oluşan polimer fırçalar düşük bağlanma yoğunluğuna sahip

olmakla birlikte polimerin camsı geçiş sıcaklığının üzerine ısıtıldıklarında yüzey üzerinde desorpsiyon olmaya başlar [Advincula ve ark., 2004; Hooper ve ark., 2001; Ravindranath ve ark., 2007]. Bu teknikle günümüzde hala kullanılmaktadır ve özellikle güçlü elektrostatik etkileşime dayanan tabaka-tabaka polimer filmlerin hazırlanmasında (Şekil 2.2) dikkat çekici yere sahiptir.



Şekil 2.2. Tabaka-tabaka polimer filmlerin hazırlanmasının şematik gösterimi : (a) Kaplama yönteminin şematik gösterimi, (b) Yüzeydeki polimer filmlerin gösterimi, (c) Kullanılan polianyon ve polikasyonların kimyasal yapıları [Decher ve ark., 1992].

Kimyasal adsorpsiyon yöntemi ise kendi arasında üç alt başlığa ayrılmaktadır:

#### Yüzeye aşılama yöntemi

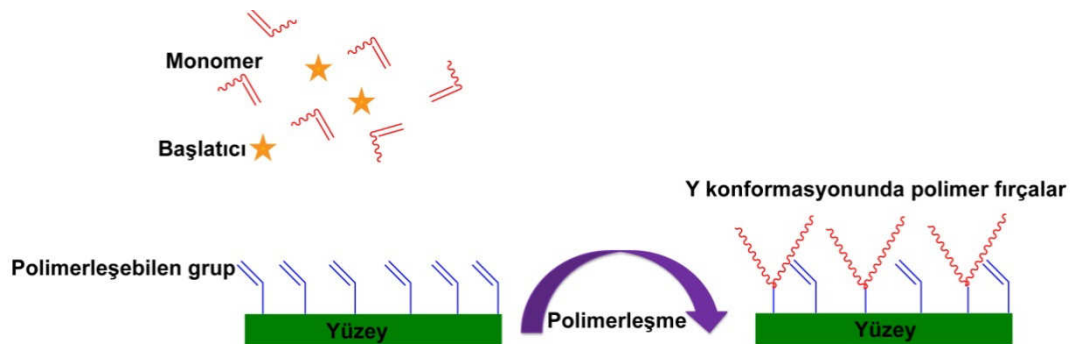
Bu yöntemde yüzey polimerin uç grubu ile uygun bir kimyasal grup ile fonksiyonelleştirildikten sonra yüzey polimer çözeltisine daldırılarak polimerin kimyasal olarak adsorplanması sağlanır. Adsorbe olan polimerin diğer



polimer zincirinin adsorpsiyonunu kolaylaştırılacak yönde hızlı bir şekilde düzenlenemediğinden bir başka deyişle entropik düzenlenmenin çok yavaş olmasından dolayı düşük bağlanma yoğunluğuna sahip polimer fırçalar elde edilir [Sidorenko ve ark, 2002; Mezzenga ve ark., 2000].

### Yüzey boyunca aşılama yöntemi

Bu yöntemde yüzey monomerik birim içeren bir molekül ile modifiye edilir. Ardından yüzey, monomer ve başlatıcı içeren çözeltiye daldırılır. Uygun bir sıcaklıkta polimerleştirme başlatılır. Bu yöntemle elde edilen fırçalar yüzeye aşılama yöntemine göre daha fazla olur ancak elde edilen polimerler “Y” şeklinde bir konformasyona sahiptir [Coulembier ve ark., 2005].

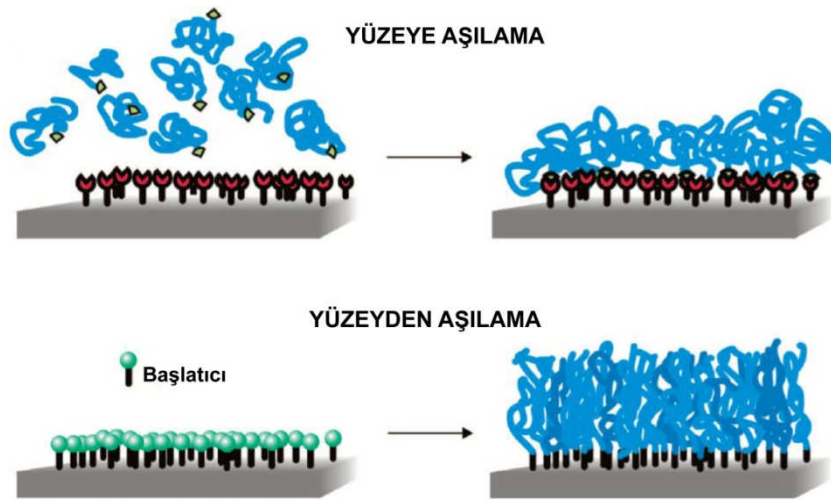


Şekil 2.3. Yüzey boyunca aşılama yönteminin şematik gösterimi.

### Yüzeyden aşılama yöntemi

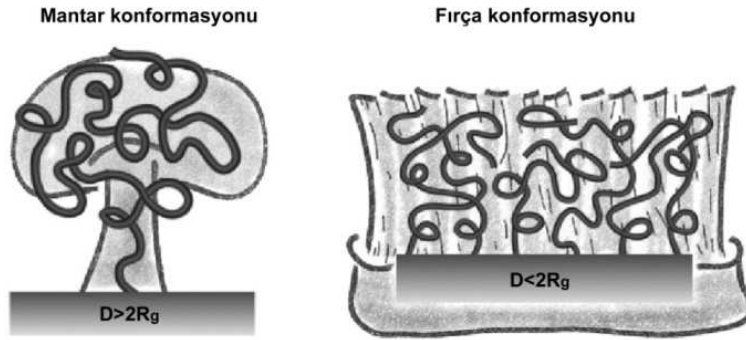
Bu yöntemde ilk olarak başlatıcı yüzeye kovalent olarak bağlanması sağlanır. Daha sonra yüzey, monomer ve serbest başlatıcı içeren çözeltiye daldırıldıktan sonra polimerleşme başlatılır. Bu yöntemde yukarıda bahsi geçen yöntemlere göre daha yoğun, sık istiflenmiş ve homojen dağılmış polimer fırçalar elde edilir. Monomerin yüzeyde büyüyen aktif uçlu radikallere doğru difüzyonuna dayanan bu yöntem günümüzde en çok kullanılan yöntem olmakla birlikte birçok uygulama alanı içinde önemli bir yere sahiptir. Yüzeyden aşılama yönteminde aşılama yoğunluğunu etkileyen en önemli

faktör monomerlerin, yüzey üzerinde büyüyen aktif makroradikallere doğru difüzyonudur. Bu nedenle bu yöntemde diğer yöntemlere göre daha uzun zincir uzunluğuna sahip polimer fırçalar sentezlenebilir [Biesalski ve ark., 2002; Zhou ve ark, 2002]. Şekil 2.4.'de yüzeye ve yüzeyden aşılama yöntemleri şematik olarak gösterilmiştir.



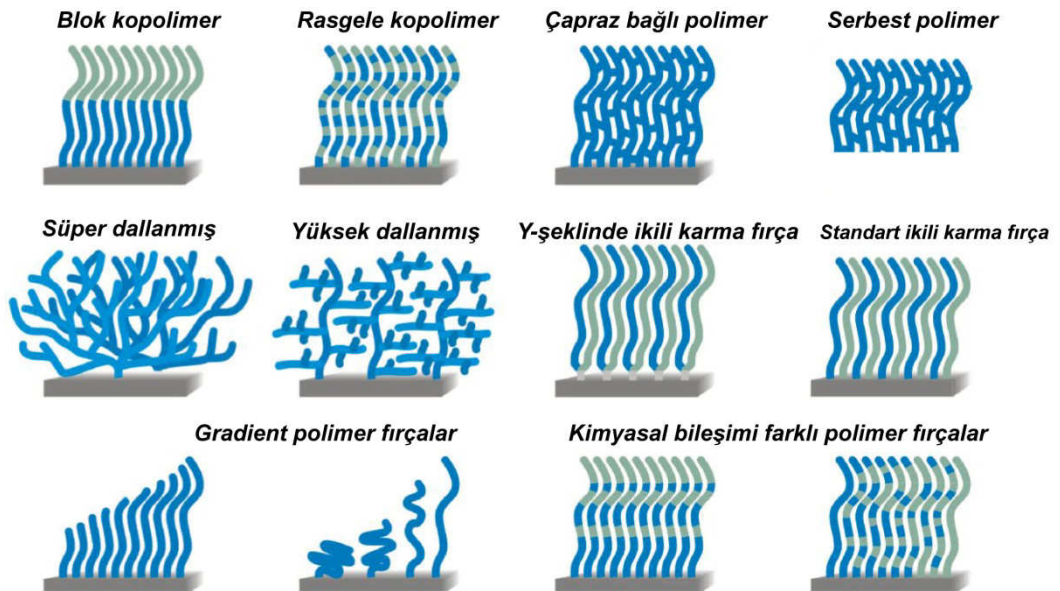
Şekil 2.4. Yüzeye ve yüzeyden aşılama yöntemlerinin şematik gösterimi [Barbey ve ark., 2009].

Yüzeye aşılama ve yüzeyden aşılama yöntemleri ile elde edilen polimerik tabakaların konformasyonu fırça ya da mantar konformasyonunda olabilir (Şekil 2.5). Adsorbe olmuş iki makromolekül arasındaki uzaklık makromolekülün jirasyon yarı çapının iki katından küçük ( $D < 2R_g$ ) ise polimerin fırça konformasyonunda, büyük ise ( $D > 2R_g$ ) mantar konformasyonundadır [Jordan, 2006].



Şekil 2.5. Yüzeyler üzerine adsorbe olmuş polimerlerin mantar ve fırça konformasyonlarının şematik gösterimi [Rühe, 2004].

Yüzeyde başlatılan farklı polimerleştirme yöntemleri ile farklı kompozisyonlarda ve yapılarda polimer fırçalar sentezlenmektedir (Şekil 2.6). Bu yöntemlerinden en önemlisi mol kütlelerinin, yapı ve mol kütlesi dağılımının kontrolünü sağlamada kullanılmakla birlikte yüzeyde homojen dağılmış polimer fırçaların sentezinde de sıklıkla kullanılan “kontrollü/ yaşayan” polimerleşme teknikleridir.



Şekil 2.6. Farklı yapıya sahip polimer fırçaların şematik gösterimi [Barbey ve ark., 2009].

### 3. KONTROLLÜ/YAŞAYAN POLİMERLEŞME

Yaşayan polimerleşme terimi ilk olarak 1956 yılında yüksek vakum altında gerçekleştirilen anyonik polimerleşme sırasında hiçbir yan reaksiyonun gerçekleşmemesi sonucu Szwarc tarafından kullanılmıştır [Szwarc, 1956; Szwarc ve ark., 1956]. Daha sonra 1987 yılında kontrollü polimerleşme terimi ortaya çıkmış ve kontrollü polimerleşmenin sadece hazırlanan polimerin mimari yapısının (lineer, blok, yıldız, dendrimer) ve uç grup fonksiyonelliğini içerdiği rapor edilmiştir [Matyjaszewski, 1987]. Görüldüğü gibi yaşayan terimi radikalik reaksiyonları içerirken, kontrollü terimi polimerin yapısını içermektedir ve bu iki terimin birbirinden farklı olduğu ortaya çıkmaktadır. Bir başka deyişle, yaşayan bir polimerleşme türü her zaman kontrollü, kontrollü olan bir polimerleşme türü ise her zaman yaşayan olmak zorunda değildir. Bu fikirlerin ortaya atılmasından kısa bir süre sonra, 1990 yılında gerçekleştirilen çalışmalarla farklı kontrollü/yaşayan polimerleşme mekanizmaları keşfedilmiş ve yaşayan olan bir polimerleşmenin aynı zamanda kontrollü olduğu da gösterilmiştir [Matyjaszewski ve Davis, 2002]. Günümüzde ise kontrollü terimi ile yaşayan terimi birbirlerinin yerine kullanılabilir.

Yaşayan polimerleşme reaksiyonları olarak da bilinen kontrollü radikal polimerleşme yöntemleri, polimer zincirinin kontrollü büyümesini sağlayan ve dar mol kütlesi dağılımını elde etmeye yarayan farklı polimerleşme mekanizmalarından oluşur. Bir nevi katılma mekanizmasına sahip olan yaşayan polimerleşme reaksiyonlarında büyüyen polimer zincirinin sonlanma adımı ya ortadan kaldırılmış yada yok sayılabilecek düzeyde olmaktadır. Daha doğrusu, sonlanma ve başlama basamakları dış etmenlerle kontrollü bir şekilde yapılır. Bu sayede polimerin mol kütlesi ve polimer zincirlerinin uç grupları kontrol edilebilir. Zincir sonuna eklenebilecek farklı fonksiyonel gruplar ile polimerin fiziksel özellikleri de kontrol altına alınabilir.

Sonlanma ve zincir transferi reaksiyonlarının olmadığı (dejeneratif zincir transferleri hariç) yaşayan polimerleşme mekanizmalarında polimer zincirinin

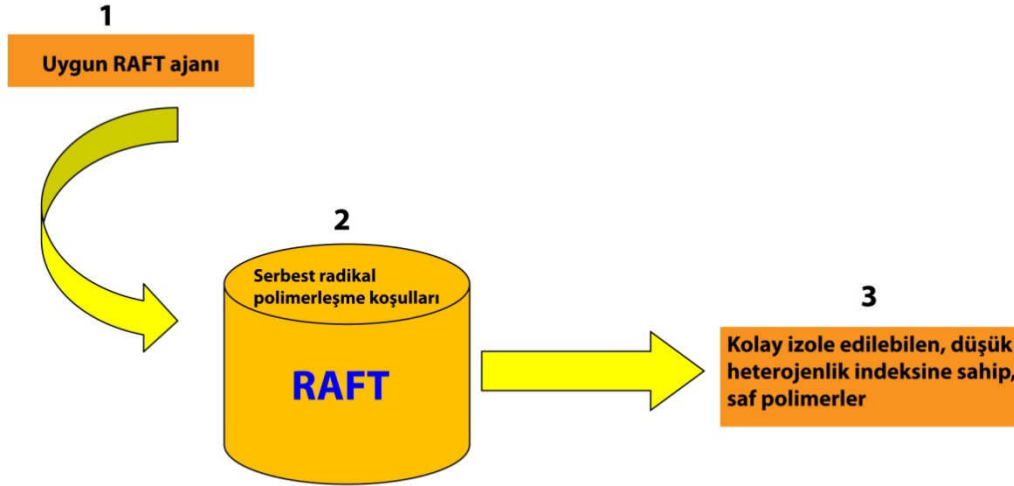
büyüme hızı hemen hemen sabittir ve reaksiyon sonunda elde edilen polimer moleküllerinin zincir büyüklükleri birbirine çok yakındır; yani monodisperse yakın heterojenlik indeksi ( $M_w / M_n < 1,1$ ) vardır. Kontrollü polimerleşme yöntemlerinde polimerleşme monomer tükeninceye kadar devam eder ve ilave monomer eklenmesiye devam ettirilebilir. Bu özellik sayesinde reaksiyonun istenilen adımlarında farklı monomerler eklenerek blok kopolimerler elde edilebilir. Ayrıca bu yöntemlerin en önemli özelliği mol kütlesinin polimerleşme süresi ile doğrusal olarak değişmesidir. Bu polimerleşme türlerinin diğer özellikleri ise polimerin mol kütlesinin, başlatıcı ve monomer arasındaki stokiometrik oran ile kontrol edilebilir olması ve büyüyen aktif zincirlerin sayısının monomer dönüşümünden bağımsız ve polimerleşme süresince sabit olmasıdır [Quirk ve Lee, 1992].

Günümüzde atom transfer radikal polimerleşme (ATRP), tersinir katılma-ayrılma zincir transfer polimerleşme (RAFT), azotoksit vasıtalı polimerleşme (NMP), kontrollü anyonik, katyonik, halka açılması, halka açılması metatez polimerleşmesi gibi yaşayan polimerleşme çeşitleri bulunmaktadır. Ayrıca son zamanlarda tersinir zincir transfer katalizli polimerleştirme (RCTP) yöntemi de yeni nesil “kontrollü/yaşayan” polimerleştirme yöntemleri arasındadır.

### **3.1. Tersinir Katılma-Ayrılma Zincir Transfer (Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer, RAFT) Polimerleşmesi**

Yaşan/kontrollü polimerleşme yöntemleri sayesinde yapı, kompozisyon ve fonksiyonellik açısından oldukça geniş polimerler sentezlenebilmektedir. Kontrollü polimerleştirme örneklerinden biri olan RAFT polimerleştirme yöntemi 1998 yılında birbirlerinden bağımsız olarak çalışan Rizzardo ve Charmot tarafından geliştirilmiştir [Rizzardo ve ark., 1998; Charmot ve ark.,1998]. Bu tarihten itibaren RAFT yöntemi kullanılarak özellikle yıldız, tarak, blok kopolimer, çekirdek-kabuk yapısında nanoparçacıklar ve dallanmış yapıya sahip polimerler sentezlenmiş, biyo ve moleküler elektronik

uygulamalarında oldukça geniş kullanım alanlarına sahip olmuştur [Barner ve ark., 2003; Chen ve ark., 2006; Fischer, 2011].



Şekil 3.1. Serbest radikal polimerleşmesinin RAFT yöntemine dönüştürülmesinin şematik gösterimi.

RAFT polimerleştirme diğer polimerleştirme yöntemlerinden ayıran en önemli özellik RAFT yönteminin serbest radikal polimerleşme ekipmanları ile çalışmasıdır. Bir başka deyişle serbest radikal polimerleşme yöntemindeki çözücü, monomer, başlatıcı ve sıcaklık aynı olmak üzere çözelti ortamına monomerin yapısına uygun genel olarak tiyokarboniltiyol ( $-S(C=S)$ ) yapısına sahip ve RAFT ajanı olarak adlandırılan ilave maddenin konulması ile birlikte serbest radikal polimerleşme, kontrollü RAFT yöntemine dönüştürülmektedir (Şekil 3.1). Ortama ilave edilen ajanın türü, derişimi ve reaktifliği ayarlanarak oluşacak olan polimerlerin mol kütlesi, mol kütlesi dağılımı ve polimerlerin uç grupları kontrol altına alınabilir.

ATRP yönteminde elde edilen polimerlerin metal safsızlık barındırması ve bu metaller nedeniyle polimerlerin çoğunun sentez sonrasında yeşil/siyah renkli olması, bu metallerin sentez sonrasında bazik alüminadan geçirilerek uzaklaştırılması gibi ilave işlemlerin gerekmesi ve ayrıca gerek ATRP gerekse NMP tekniklerinde özellikle karboksilli asit içeren grupların kontrollü polimerileştirmenin sağlanamaması gibi dezavantajları vardır. Tüm bu

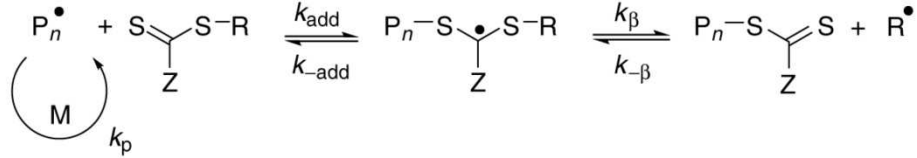
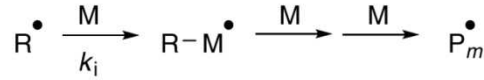
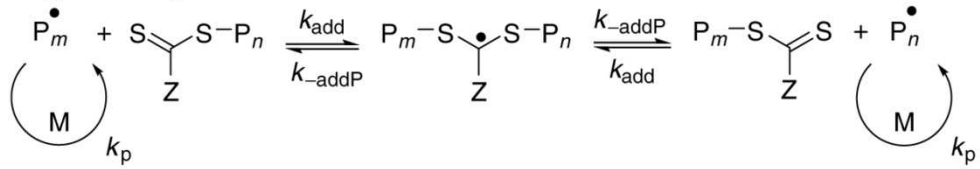
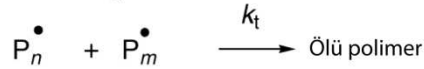
dezavantajlar sayesinde RAFT yöntemi oldukça dikkat çekici bir yere sahiptir. RAFT polimerleşmesinde en önemli kısıtlayıcı etkenler RAFT ajanlarının toksisitesinin yüksek olması, kötü kokuya sahip olması ve ticari olarak ajanların bulunamaması (bazı firmalar bu kimyasalları satışa sunmuş olsalar bile RAFT endüstriyel alanda daha yaygınlaşmadığı için fiyatları oldukça yüksektir) şeklinde sıralanabilir.

RAFT polimerleşmesine mekanistik açıdan bakıldığında beş farklı basamağı vardır [Moad ve ark., 2005]:

*Başlama basamağı:* RAFT polimerleştirme yönteminin ilk adımı serbest radikal polimerleşmesinde olduğu gibi başlar. RAFT yönteminde peroksit gibi genel başlatıcılar kullanıldığı gibi azobisisobütironitril (AIBN) ve 4,4'-azobis(4-siyanovalerik asit) (ACVA) gibi başlatıcılar sıklıkla kullanılır. Başlatıcının ışık yada ısı ile parçalanmasından oluşan radikal, monomer ile reaksiyon girer ve aktif uçlu makroradikaller oluşturur. Bu makroradikalin değişimi normal radikal polimerleştirme yöntemine göre oldukça düşüktür.

*Zincir transfer basamağı:* Başlama basamağında oluşan makroradikal ortamda bulunan RAFT ajanına atak yapar ve ilk olarak RAFT ajanını da içeren makroradikal oluşur. Daha sonra bu makroradikalden R grubu ayrılarak ilk makro RAFT ajanı oluşur.

*Yeniden başlama ve zincir dengesi basamağı:* RAFT ajanından ayrılan R grubunun yapısına monomer ilave edecek kadar aktifliğinin çok yüksek olması istenir. Ayrılan R grubu ortamdaki monomerle ard arda reaksiyona girerek aktif uçlu yeni bir makroradikal oluşturur. Oluşan bu makroradikal ayrılma basamağında oluşan ve RAFT ajan kalıntısı içeren ölü polimere atak yaparak serbest radikal başlatıcısı tarafından oluşturulan polimerlerin yapıdan ayrılmasına ve tekrar yapısına monomer ilave etmesine neden olur.

**Başlama Basamağı****Zincir Transfer Basamağı****Yeniden Başlama Basamağı****Zincir Dengesi Basamağı****Sonlanma Basamağı**

Şekil 3.2. RAFT polimerleşmesinin mekanistik gösterimi [Moad ve ark., 2005].

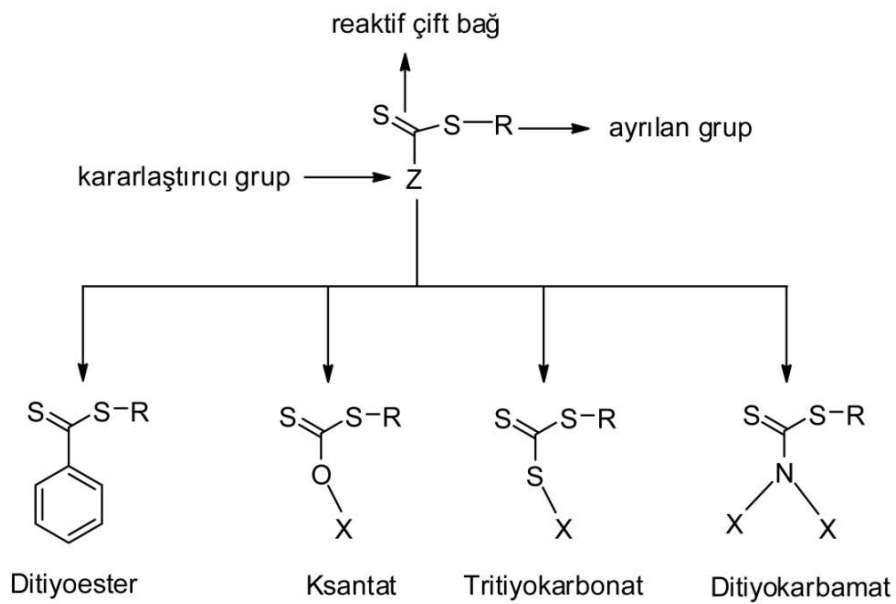
**Sonlanma basamağı:** İdeal RAFT yönteminde sonlanma basamağı radikal derişiminin azaltılması ile bastırılabilir ancak ortamda aktif makroradikallerin bulunması ayrı ayrı sonlanma ya da birleşerek sonlanmaların olması kaçınılmazdır. Sonlanma basamağının %5-%10 aralığında olması durumunda bir başka deyişle yaşayan polimerlerin %90-%95 seviyesinde olması durumunda polimerleştirmenin kontrollü olduğu söylenebilmektedir.

Mekanizmadan da anlaşılacağı üzere RAFT polimerleşmesinde en önemli parametre RAFT ajanının doğru seçilmesidir. Çünkü, ortama ilave edilen ajanın türü, derişimi ve reaktifliği ayarlanarak oluşacak olan polimerlerin fiziksel özellikleri kontrol altına alınabilir. RAFT ajanının doğru seçilmemesi polimerleşmenin kontrollü olma özelliğinin düşmesine ve hatta polimerleşmede serbest radikal polimerleşmesinin baskın gelmesine sebep olabilir [Wang ve ark., 2005].



### 3.1.1. RAFT polimerleşmesinde kullanılan ajanlar

RAFT polimerleşmesinde kullanılan ajanların genel yapısı Şekil 3.3'de verilmiştir. Tipik bir RAFT ajanında tiyokarboniltiyol grubu dışında yapıdan kolaylıkla ayrılan ve polimerleşmede yeniden başlama basamağında rol alan R grubu ile polimerleşmede ara radikal kararlılığından sorumlu olan Z grubundan oluşmaktadır.



Şekil 3.3. RAFT polimerleşmesinde kullanılan ajanlar.

RAFT polimerleşmesinin kontrollü olma özelliği bir başka deyişle RAFT ajanı etkinliği polimerleşmede kullanılacak olan monomere, polimerleşme şartlarına (sıcaklık, çözücü vb) ve ajandaki R ve Z gruplarının yapısına bağlıdır [Adamy ve ark., 2003; Mayadunne ve ark., 1999]. R grubu polimerleşmeye katılırken, Z grubu polimerleşmeye katılmaz ancak polimerleşmede oluşan tiyokarboniltiyol ara radikallerinin kararlılığını önemli ölçüde etkiler.

İdeal bir RAFT ajanı aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır [Mod ve ark., 2008]:

1) Başlangıçtaki RAFT ajanı ve polimerleşme esnasında oluşan makro-RAFT ajanları reaktif tiyokarbonil grubu (C=S) içermelidir (büyük  $k_{add}$ ).

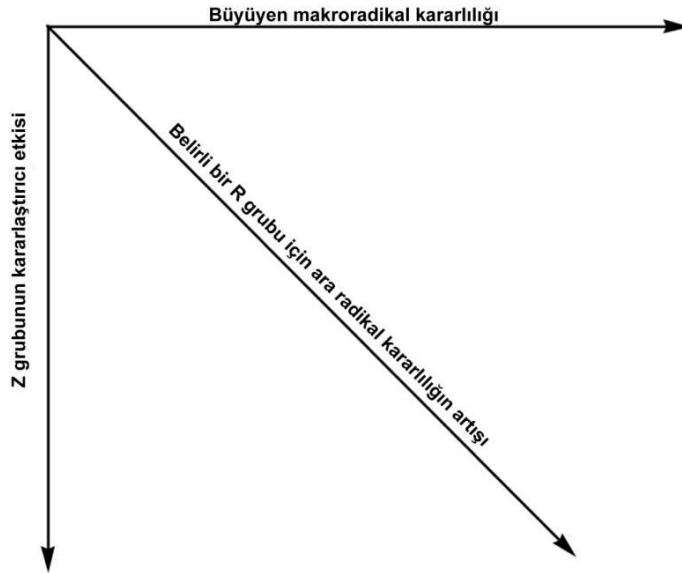
2) Ara radikaller çok hızlı bir şekilde bozulmalıdır (büyük  $k_{\beta}$ , zayıf S-R bağı) ve hiçbir şekilde yan reaksiyonlar vermemelidir.

3) Ara radikallerin bulunduğu denge, ayrılma reaksiyonlarının olduğu tarafa doğru baskın olmalıdır ( $k_{\beta} \geq k_{-add}$ ).

4) Ayrılan radikaller ( $R^*$ ) polimerleşmeyi yeniden başlatacak kadar etkin olmalıdır ( $k_i \geq k_p$ ).

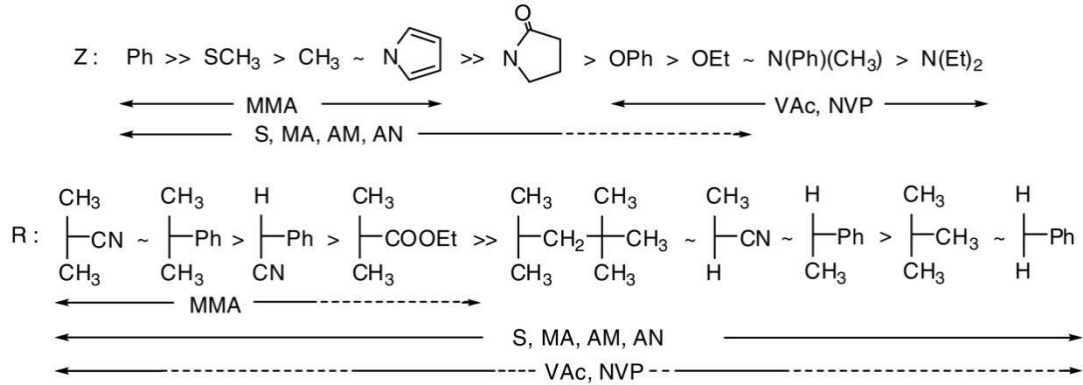
R ve Z gruplarının kimyasal yapısı, zincir transfer basamağındaki (bu basamak aynı zamanda denge öncesi basamak olarak da bilinir) hız sabitlerinin büyüklüğünü belirler ve bu hız sabitleri üzerine sıcaklığın etkisi çok azdır [Theis ve ark.,2006; Theis ve ark.,2005; Kowollik ve ark., 2001]. Özellikle, zincir transfer basamağında oluşan ara radikallerin ayrılma hız sabitlerinin kuantum kimyasal hesaplamalarla R ve Z grubuna doğrudan bağlı olduğu gösterilmiştir [Feldermann ve ark., 2004; Kwak ve ark., 2004]. Belirli bir R grubu için (örneğin siyanoizopropil grubu), Z grubu metil grubu yerine fenil grubununun bulunması ara radikal kararlılığını artırır. Bu durum katılma hız sabitinin artmasını sağlarken, ayrılma hız sabitinin düşmesine yol açar [Kwak ve ark., 2004; Monteiro ve ark., 2001; Wang ve ark., 2003]. Polimerleşme sırasında büyüyen radikallerin reaktivliği ile Z grubunun kararlaştırıcı etkisi arasındaki ilişki Şekil 3.4'de gösterilmiştir. Şekilden de anlaşılacağı üzere belirli bir R grubu için, Z grubunun kararlaştırıcı etkisi arttıkça ara radikal kararlılığı ve makroradikal reaktivliği artmaktadır. Bir başka deyişle zincir transfer basamağındaki denge katılma yönüne doğru kaymaktadır [Moad ve Kowollik, 2008]. Bununla birlikte R grubunun yapısı ara radikal kararlılığına dolaylı olarak katkıda bulunur. Örneğin R grubunun ter-bütül grubu yerine fenil grubunun bulunması ara radikal kararlılığını önemli ölçüde katkıda bulunur ancak bu durum, yeniden başlama basamağının

gecikmesine ve sonuçta polimerleşme hızının düşmesine ve/veya belirli bir inhibisyon süresinin olmasına yol açabilir. Görüldüğü gibi R ve Z grupları çoğu zaman antagonistik bir etki gösterir [Favier ve Charreyre, 2006].



Şekil 3.4. Z grubunun kararlaştırıcı etkisinin büyüyen makroradikal kararlılığı ve ara radikal kararlılığı üzerine etkisi [Moad ve Kowollik, 2008].

RAFT polimerleşmesinde kullanılan ajanların etkinliği R ve Z gruplarının yapısı ile birlikte monomerin yapısını da direkt olarak bağlıdır. Kullanılan monomer ile özellikle ajanının R grubunun yapısı birbirine benzer olduğunda polimerleşmenin kontrollü olma özelliği daha belirgin hale gelir [Li ve ark., 2005; Perrier ve ark, 2004; Bang ve ark, 2006]. Şekil 3.5'de bazı monomerler ile ajanın R ve Z grubu arasındaki ilişki verilmektedir. Şekil incelendiğinde metakrilat türevlerini polimerleştirmede kullanılan ajanların akrilat ve stirenik monomerlerin polimerleşmesinde kullanılabilir. Bununla birlikte akrilat türevlerini polimerleşmesinde kullanılan her ajanın metakrilat türevi monomerlerin polimerleşmesinde kullanılamamaktadır. Ayrıca vinil asetat (VAc) ve N-vinil pirlidon (NVP) gibi etkinliği düşük monomerlerin polimerleşmesinde ditiyoester ya da tritiyokarbonat türü ajan yerine ksantat ya da ditiyokarbamat türevi ajanlar kullanılabilir [Chieffari ve ark., 2003; Moad ve ark., 2000].



Şekil 3.5. Monomer türüne göre R ve Z gruplarının seçilmesi. Z grubu için soldan sağa doğru katılma hızı azalırken, ayrılma hızı artar. R grubu için soldan sağa doğru ayrılma hızı azalır [Moad ve ark., 2005].

### 3.1.2. RAFT yönteminde kullanılan monomerler

RAFT polimerleşmesinde anyonik, katyonik, nötral ve iç tuz (zwettironik) monomerler kendilerine uygun RAFT ajanları ile uygun koşullarda kontrollü bir şekilde polimerleştirilebilir.

### 3.1.3. İdeal RAFT polimerleşmesini etkileyen deneysel koşullar

Polimerleşmede kullanılacak olan monomer ve RAFT ajan yapılarının yanı sıra ideal RAFT polimerleşmesinin gerçekleşmesinde bir çok deneysel parametre rol oynamaktadır.

#### Sıcaklığın etkisi

Sıcaklığın artması ile birlikte polimerleşme ortamında bulunan radikallerin reaktifliklerinin artmasına ve dolayısıyla polimerleşme hızının artmasına sebep olmaktadır. Bununla birlikte, sıcaklık artışı radikalik reaksiyonların seçiciliğinin düşmesine ve tüm transfer reaksiyonlarının (aktivasyon enerjisi yüksek olanlar dahil) gerçekleşmesine sebep olmaktadır [Roos ve ark., 2000]. RAFT polimerleşmesi dikkate alındığında sıcaklığın artması, ayrılma

reaksiyonlarının daha baskın olmasına sebep olmaktadır [Colombani ve ark., 1999]. Ara radikallerin kararlı olduğu durumlarda, sıcaklık artışı inhibisyon süresinin düşmesine ya da hiç olmamasına ve heterojenlik indeksi daha düşük polimerlerin oluşmasını sağlar [Favier ve ark., 2004].

#### Basıncın etkisi

Genel olarak, yüksek basınç polimerleşme hızını artırır. Artan basınçla birlikte aktif makro-radikallerin büyümesi hızlanırken, sonlanma reaksiyonlarının hızı düşer [Odlan, 1995]. RAFT polimerleşmesi dikkate alındığında katılma reaksiyonlarının hızı basınçla artarken, ayrılma reaksiyonlarının hızı basınçla düşer [Arita ve ark., 2004]. Günümüzde, normal atmosferik basınç altında polimerleşmeyen monomerler yüksek basınç altında RAFT yöntemi ile polimerleştirilmektedir [Rzayev ve ark., 2002].

#### Başlatıcı türü

RAFT polimerleşmesinde kullanılan başlatıcılar, serbest radikal polimerleşmede kullanılan başlatıcılar ile aynıdır. RAFT polimerleşmesinde termal başlatıcılar (AIBN gibi) ve peroksitler (benzoik peroksit gibi) kullanılabilir. Bununla birlikte UV ya da  $\gamma$ -radyasyonu ile polimerleşme başlatılabilir [Quinn ve ark., 2002; Hong ve ark., 2001].

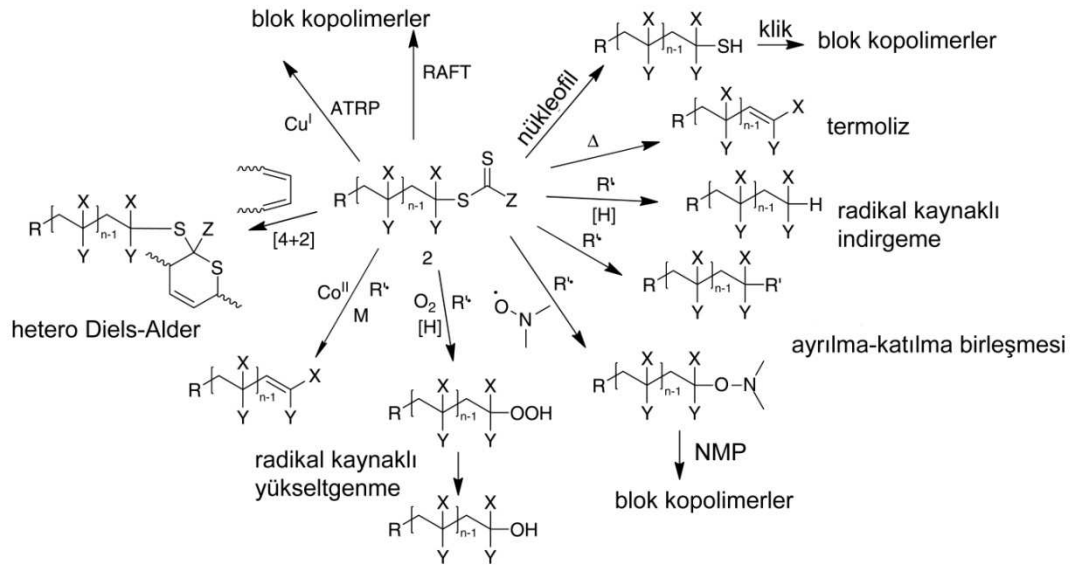
#### RAFT ajanı ve başlatıcı molar oranı

Ajan ve başlatıcı arasındaki molar oran polimerleşme kinetiğı, mol kütlesi ve dağılımı açısından önemlidir. Ortamda bulunan ajan derişimi her zaman başlatıcı derişiminden fazla olmalıdır. Böylece, başlatıcının bozunması ile oluşan radikal derişimi ajan derişiminden düşük olacak ve bunun sonucunda polimerleşmenin RAFT mekanizmasına göre gerçekleşmesi sağlanacaktır [Favier ve ark., 2004]. Ancak bu oranın çok yüksek olması durumunda ara

radikallerin karşılıklı birleşerek sonlanmasına yol açabilir [Kowollik ve ark., 2001; Schilli ve ark., 2002].

#### **3.1.4. RAFT yöntemi ile elde edilen polimerlerde uç grup dönüşümleri**

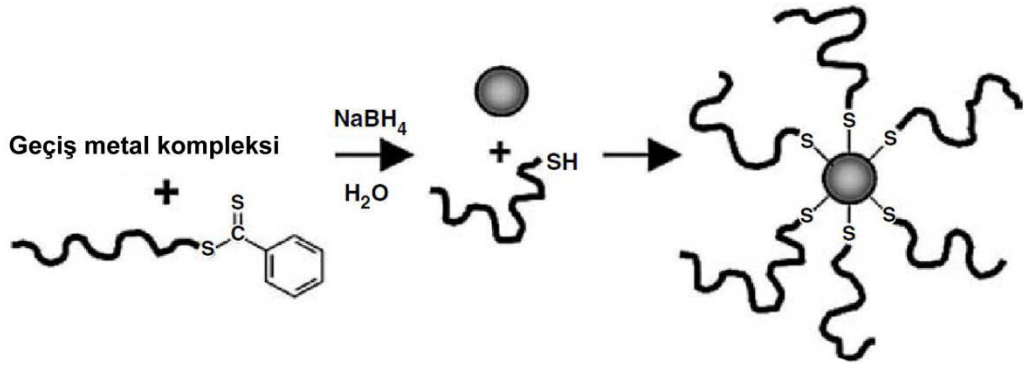
RAFT polimerleşmesi sonrasında elde edilen polimerlerde uç grup olarak tiyokarboniltiyol grupları bulunur. Elde edilen polimerlerin uygulamalarda amaca yönelik kullanılabilmesi için uygun uç grup fonksiyonelliğinin olması istenir. Özellikle tiyokarboniltiyol gruplarının birincil aminlerle reaksiyona girip sülfidril gruplarına dönüşmesi sentez sonrasında polimerlerin ikincil modifikasyona imkan vermesi bir avantaj iken protein immobilizasyon çalışmalarında bu özellik bir dezavantajdır [Moad ve ark., 2005; Zengin ve ark., 2013]. Tiyokarboniltiyol gruplarının toksik özelliğinin olması, fluoresans malzemeleri sönmölendirme özelliğinin olması elde edilen polimerlerin biyomedikal alanlarda kullanımını kısıtlamaktadır [Farinha ve ark., 2007; Chen ve ark., 2002]. Bununla birlikte polimerlerin kullanılan RAFT ajanının yapısına bağlı olarak renkli olması (ditiyoester içeren ajanlar için pembe renk, tritiyokarbonat içeren ajanlar için sarı renkli polimerler elde edilir), zamanla tiyokarboniltiyol gruplarının bozulması sonucu oldukça kötü kokulu yan ürünlerin elde edilmesi gibi dezavantajları vardır. Tüm bu özellikler nedeniyle RAFT polimerleşmesi sonunda elde edilen polimerlerin kullanılacak olan uygulama alanına göre uç grup dönüşümleri yapılmalıdır. Bu dezavantajlarının yanı sıra gerçekleştirilecek olan uygun dönüşümler sayesinde iki farklı kontrollü polimerleşme yöntemi örneğın, RAFT-ATRP [Chen ve ark., 2000], RAFT-NMP [Ao ve ark., 2007] birleştirilerek blok kopolimer sentezi gerçekleştirilebilir. Şekil 3.6 da polimerleşme sonrasında gerçekleştirilen uç grup dönüşümleri ile bazı ikincil modifikasyonlar gösterilmektedir.



Şekil 3.6. Çeşitli uç grup dönüşümlerinin gösterimi [Moad ve ark., 2010].

### 3.1.5. RAFT yöntemi ile yüzey modifikasyonları

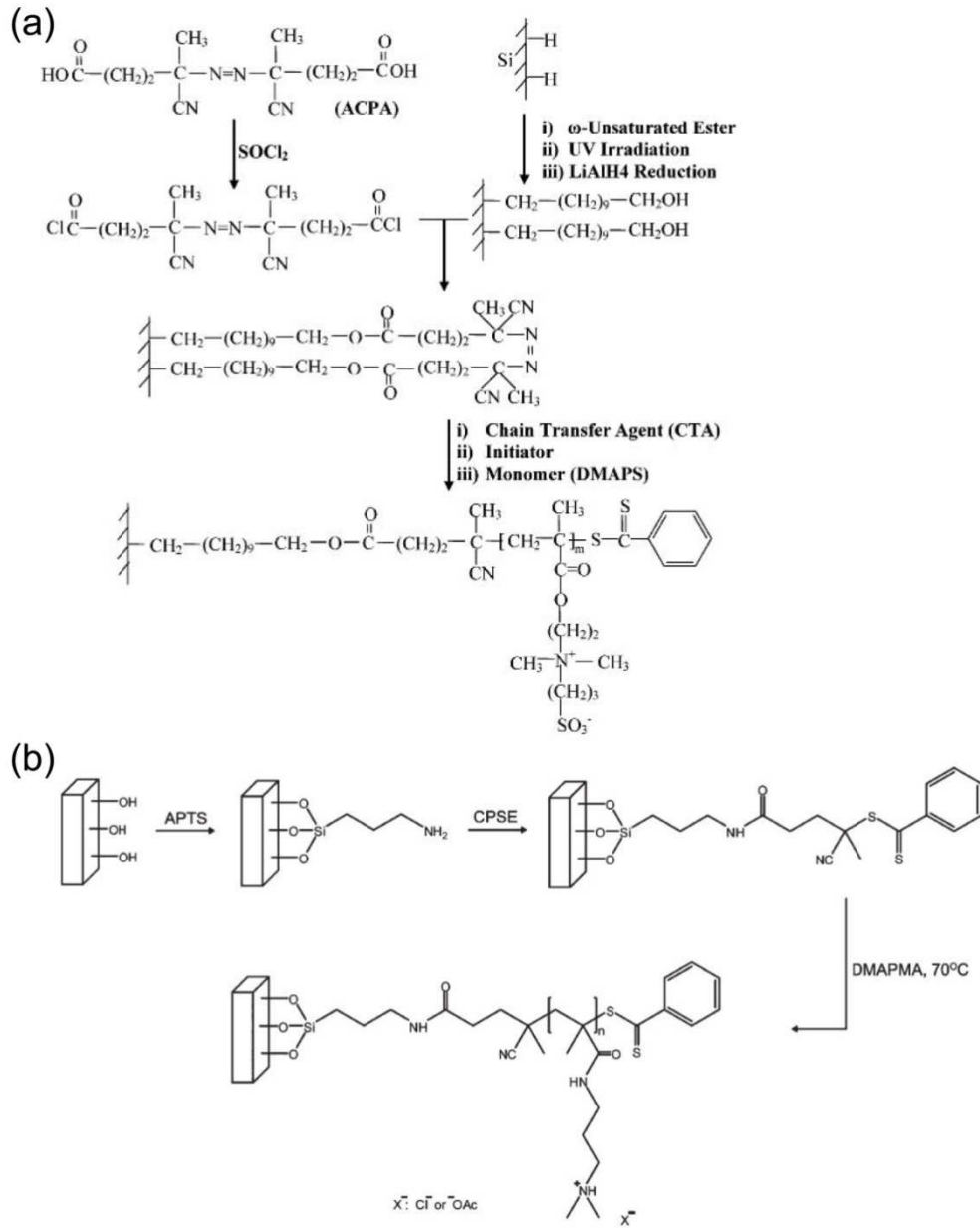
RAFT polimerleşmesi ile yüzey modifikasyonu genel polimer fırça hazırlama tekniklerinde olduğu gibi “yüzeye aşılama” ve “yüzeyden aşılama” olarak iki farklı yöntemle hazırlanabilir. Yüzeye aşılama yönteminde RAFT polimerleşmesi yapıldıktan sonra polimerin uç gruplarındaki R ve Z grubunda bulunan fonksiyonel gruplar sayesinde belirli bir yüzeye kovalent bağlanması sağlanabilir. Örneğin, RAFT polimerleşmesi gerçekleştirildikten sonra uç grupta bulunan tiyokarboniltiyol gruplarının, ortamda bulunan bir geçiş metal kompleksi varlığında ( $\text{Na}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_3\text{RhCl}_6$ ) indirgenmesi ile hem metal nanoparçacıklar hem de sülfidril uç gruba sahip polimerler elde edilir. Daha sonra bu polimerlerin metal nanoparçacıklara bağlanması ile yüzeye aşılama tamamlanmış olur (Şekil 3.7). Bu yöntem yüzeyden aşılama yönteminin tüm dezavantajlarını içermekle birlikte, polimerlerin mol kütlesi ve aşılama koşulları değiştirilerek farklı aşılama yoğunluklarına sahip polimer tabakası hazırlanabilir.



Şekil 3.7. RAFT polimerleşmesi ile yüzeye aşılama yöntemi [Lowe ve ark., 2002].

Yüzeyde başlatılan RAFT polimerleştirme yönteminde ya başlatıcı ya da RAFT ajanı yüzeye kovalent bağlanarak iki şekilde gerçekleştirilebilir. Serbest radikal polimerleştirmede kullanılan başlatıcı yüzeye kovalent bağlandıktan sonra yüzey monomer, serbest başlatıcı, RAFT ajanı içeren çözeltiye daldırılarak polimerleştirme gerçekleştirilir. Bu yöntem özellikle kullanılan RAFT ajanının yüzeye kovalent bağlanmasını sağlayacak uygun bir fonksiyonel grup içermediğinde tercih edilen bir yöntemdir (Şekil 3.8a). Diğer yöntemde ise yüzey ilk önce RAFT ajanında bulunan fonksiyonel gruba uygun bir fonksiyonel grup ile modifiye edilir ve daha sonra RAFT ajanı yüzeye kovalent bağlanır. RAFT ajan modifiye edilmiş yüzeyler monomer, başlatıcı ve serbest RAFT ajanı kullanılarak polimerleştirme gerçekleştirilir (Şekil 3.8b). Her iki durumda da yüksek yoğunluğa ve homojen dağılmış polimer fırçaların elde edilmesine imkan verir.

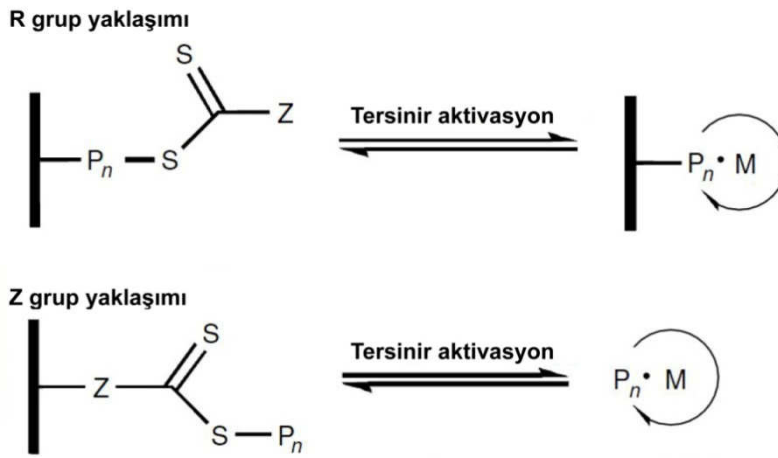




Şekil 3.8. (a) Başlatıcının yüzeye kovalent bağlanması ve ardından RAFT polimerleşmesi [Zhai ve ark., 2004], (b) RAFT ajanının yüzeye kovalent bağlanması ve ardından RAFT polimerleşmesi [Gurbuz ve ark., 2011].

Yüzeyden aşılama yönteminde, RAFT ajanının R ve Z grubundan bağlanma şekline göre iki farklı yaklaşım vardır (Şekil 3.9). R grubu yaklaşımında RAFT ajanı yüzeye R grubundan bağlanır ve yüzey polimerleşmede rol alan büyük bir grup olarak davranır. Böylelikle büyüyen makroradikaller yüzeyde uç grup olarak kalır ve yapısına monomer ilave etmeye devam ederek büyümeyi

sürdürür. Z grubu yaklaşımında ise RAFT ajanı yüzeye Z grubundan bağlanır. Bu yaklaşımda makroradikaller her zaman çözelti içerisinde oluşur ve daha sonra yüzeylere zincir transfer reaksiyonları ile bağlanır. Bu açıdan bakıldığında Z grubu yaklaşımı “yüzeye aşılma” yöntemine benzemektedir. Dolayısıyla, Z grubu yaklaşımı ile yüzeyde başlatılan polimerleşmelerdeki aşılama yoğunluğu R grubu yaklaşımına göre daha düşüktür.



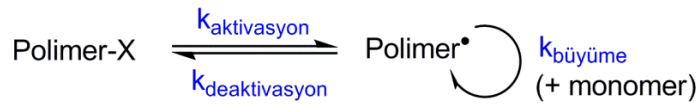
Şekil 3.9. Yüzeyde başlatılan RAFT polimerleşmesinde R ve Z grup yaklaşımlarının şematik gösterimi [Li ve ark., 2008].

### 3.2. Tersinir Zincir Transfer Katalizli Polimerleşme (Reversible Chain Catalyzed Transfer Polymerization, RCTP)

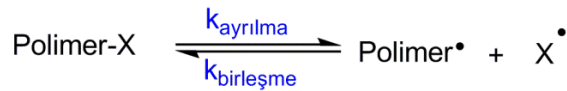
Yaşayan radikal polimerleşme yöntemleri, düşük heterojenlik indeksine sahip polimerlerin sentezi için yaygın olarak kullanılan yöntemlerdir. Temel olarak yaşayan polimerleşme yöntemleri sönmüş türlerin (Polimer-X) ile yaşayan Polimer• türlere dönüşümünü sağlayan tersinir aktivasyonuna dayanır (Şekil 3.10). Mol kütlelerinin ve heterojenlik indeksinin iyi bir şekilde kontrolü için çok sayıda aktivasyon-deaktivasyon çevriminin olması gerekmektedir [Fukuda ve ark., 2004; Goto ve ark., 2004; Fischer ve ark., 2001].

Son zamanlarda bazı kalay, germanyum, fosfor ve azot bileşikleri tersinir aktivasyon için katalizör olarak kullanılmasıyla yeni tür yaşayan polimerleşme yöntemi geliştirilmiştir [Goto ve ark., 2006; Goto ve ark., 2007; Goto ve ark., 2007]. Bu bileşiklerin tersinir şekilde işleyen aktivatör olarak kullanılması yeni bir aktivasyon-deaktivasyon mekanizmasının da ortaya çıkmasını sağlamıştır.

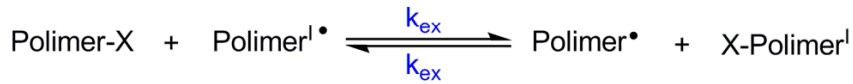
(a) Tersinir aktivasyon (genel gösterim)



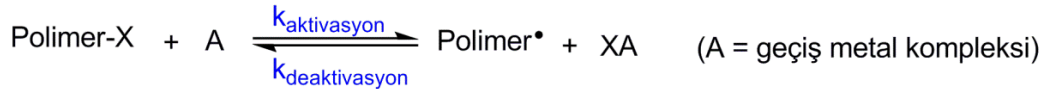
(b) Ayrılma-Birleşme (AB)



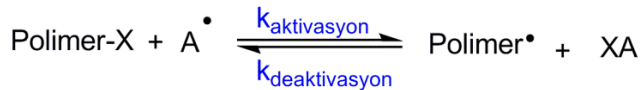
(c) Dejenaratif (yer değiştirme) zincir transferi (DT)



(d) Atom transfer (AT)



(e) Tersinir zincir transfer (RT)



(X = iyot ve XA = GeI<sub>4</sub>, PI<sub>3</sub>, N-iodosüksinimit)

Şekil 3.10. Tersinir aktivasyonun şematik gösterimi (b,c ve d) ve RCTP yöntemindeki tersinir aktivasyon mekanizmasının gösterimi [Goto ve ark., 2008].

Birçok yaşayan polimerleşme yöntemi mekanistik açıdan üç ana sınıfa ayrılır: Ayrılma-birleşme (AB), dejenaratif zincir transfer (DT) ve atom transfer (AT) mekanizmalarıdır.

AB mekanizmasında, Polimer-X türler termal olarak ya da fotokimyasal olarak Polimer• radikali ile ortamda kararlı bir şekilde durabilen X• radikali (oluşan bu radikal ortamdaki diğer radikaller ile değil sadece ve sadece aktif büyüyen polimer zinciri ile reaksiyon oluşturması istenir) oluşturulur. Bu tür kararlı radikal oluşturarak ayrılma-birleşme mekanizmasını kusursuzca yürüten radikallere örnek olarak (2,2,6,6-tetrametilpiperidinil-1-oksi) ve (N-ter butil-1-dietilfosfono-2,2-dimetilpropil nitroksit) gibi azot-oksit bileşikler örnek olarak verilebilir [Georges ve ark., 1993; Benoit ve ark., 2000]. Bu kararlı radikal bileşiklerin kullanılması ile yapılan polimerleşme yöntemine ise azotoksit vasıtalı polimerleşme (NMP) denir.

DT mekanizmasında aktif olarak büyüyen Polimer<sup>1</sup>• makroradikalin Polimer-X ölü türlerine atak yapması ile başlar. Bunun sonucunda aktif olan Polimer• radikali ile Polimer<sup>1</sup>-X ölü türleri oluşur. Görüldüğü gibi bu mekanizma X türünün yer değiştirme reaksiyonudur. Bu mekanizmaya uyan iki tür polimerleşme yöntemi vardır : (1) Emülsiyon polimerleşmesinde sıklıkla kullanılan ve polimerin mol kütlesi kontrolü sağlamada etkin olan iyot vasıtalı polimerleşme [Matyjaszewski ve ark., 1995], ve (2) RAFT polimerleşmesindeki zincir dengesi basamağı dejenaratif transferi içerir.

AT basamağında ise bir metal geçiş kompleksi (genelde bakır kompleksleri) ile ölü türde bulunan X grubunu (genelde klor ya da brom) kopararak aktif olarak büyümeye hazır Polimer• radikaline dönüştürür. Bu mekanizma atom transfer radikal polimerleşmesinin (ATRP) temelini oluşturur.

RT mekanizmasında ise ortamda serbest radikal polimerleşme başlatıcısı (benzoil peroksit, azobis isobütironitril gibi), monomer, deaktivatör (Gel<sub>4</sub>, Pl<sub>3</sub> ve N-iyodosüksinimit gibi) ve düşük mol kütleli alkil iyodürler (1-feniletil, PE-I iyodür gibi) kullanılır. Serbest radikal başlatıcısı ile oluşturulan aktif uçlu makroradikaller ilk olarak deaktivatörler ile reaksiyona girerek Polimer-I ölü türlerini oluşturur. Örneğin deaktivatör olarak Gel<sub>4</sub> kullanıldığında bu reaksiyon sonucunda Gel<sub>3</sub>• radikalini oluşturur ki bu radikal daha sonra

aktivatör olarak görev yapar.  $\text{GeI}_3\bullet$  radikali ortamda bulunan düşük mol kütleli alkil iyodürden iyot atomunu etkili bir şekilde koparır bunun sonucunda  $\text{PE}\bullet$  radikali ya da Polimer $\bullet$  radikali oluşur. Daha sonra bu radikal sayesinde tersinir aktivasyon-deaktivasyon başlatılmış olur.

RCTP yöntemi literatürde çok yeni olması nedeniyle bu polimerleşme hakkında bilgiler oldukça kısıtlıdır. RCTP yönteminde en önemli basamak kullanılacak olan deaktivatör (bir başka deyişle katalizör ya da zincir transfer ajanı) seçimidir. Yapılan çalışmalar sonucunda sitirenik monomerler için  $\text{GeI}_4$ ,  $\text{R}_2\text{PH}$  ( $\text{C}=\text{O}$ ) gibi bileşikler kontrolü sağlamada en iyi deaktivatörlerdir. Metakrilat(amat) türü monomerler için  $\text{GeI}_4$ , tolil- $\text{GeI}_3$ ,  $\text{PI}_3$ , N-iyodosüksinimit deaktivatörleri kontrolü sağlamada en etkili bileşiklerdir [Wolpers ve ark., 2011].

RCTP yöntemi ile hazırlanan polimerlerin uç grubunda iyot atomu bulunduğundan bu polimerleşme yöntemi ile ortama yeniden deaktivatör, alkil iyodür ve monomer ilavesi ile kopolimer sentezi de gerçekleştirilebilir [Goto ve ark., 2008].

## 4. RAMAN VE YÜZEYDE GÜÇLENDİRİLMİŞ RAMAN SAÇILMALARI

### 4.1. Raman Saçılması

Belirli bir dalga boyundaki monokromatik ışın demeti şeffaf bir ortamdan geçirildiğinde ışın demetinin geliş açısına bağlı olarak çeşitli açılarla her yöne saçılırlar. Saçılan bu ışınlar arasında çok az da olsa monokromatik ışın demetinin dalga boyundan daha küçük ya da daha büyük dalga boylarında ışınlar da bulunur. Gelen ışın demetinin dalga boyundan farklı ışınların varlığı ve saçılan ışınların ortamda bulunan maddeye göre değiştiği ilk defa 1921 yılında Hintli fizikçi Chandrasekhara Venkata Raman tarafından keşfedilmiş ve yaptığı sistematik çalışmalar neticesinde 1930 yılında kendisine Nobel ödülü verilmiştir [Raman ve Krishnan, 1921].

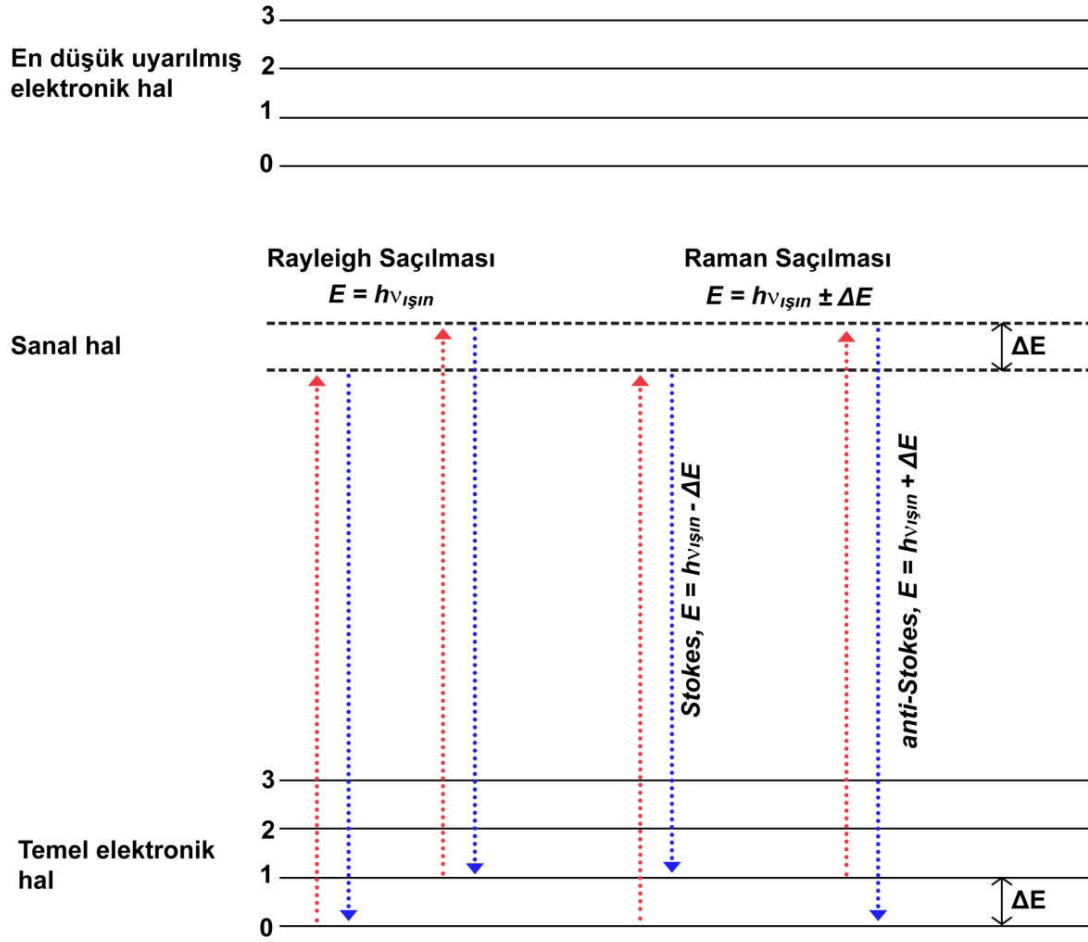
Raman spektroskopisi lazerlerin keşfine kadar kimyacılar tarafından pek rağbet görmemiştir. Çünkü, lazerler keşfedilmeden önce Raman spektrumları çok zayıf oluyor ve bunlardan yararlanmak pek kolay olmuyordu. Ayrıca, Raman spektroskopisinde kullanılan monokromatik ışın demetinin madde içerisinde ya da ortamda bulunan safsızlıklarla floresans olayı meydana getirmesi idi. Bu olumsuzluklar lazerlerin keşfinden sonra büyük ölçüde ortadan kaldırılmıştır. Çünkü, eskiden Raman spektroskopisinde kısa dalga boylu ışınlar (civa buharı gibi) kullanılırken günümüzde infrared ışınları bile kullanılmaktadır (infrared ışınları maddede floresans veya fosforesans olayı meydana getirmez). Buna ilave olarak Fourier dönüşümlü Raman spektroskopisi cihazları da kullanılabilmektedir [Gündüz, 2004].

Günümüzde Raman spektroskopisinde ışın kaynağı olarak infrared ya da görünür bölge monokromatik ışın kaynakları kullanılmaktadır. Analizi yapılacak olan madde üzerine monokromatik ışın demeti yollandığında madde tarafından saçılan ışınlar gönderilen ışın demetine 90°'lik açıya çok yakın bir açıyla spektrometreyle incelenmektedir. Saçılma ile oluşan bu ışın

demetine Raman ışınları denilmektedir. Raman ışınlarının şiddeti genel olarak gelen ışın şiddetinden  $10^5$  kat daha düşüktür [Bubert ve Jenett, 2002].

#### 4.1.1. Raman saçılmasını oluşturan geçişler

Raman spektroskopisinde kullanılan monokromatik ışın kaynağı madde ile etkileştiğinde Rayleigh ve Raman olarak adlandırılan temelde iki farklı saçılma türü ortaya çıkar [Ru ve Etchegoin, 2009]. Rayleigh türü saçılmada gelen ışın demeti molekül ile etkileştiğinde temel elektronik hal seviyesinde bulunan elektronun temel elektronik seviye ile en düşük uyarılmış enerji seviyesi arasında sanal bir titreşim enerji düzeyine çıkar ve kısa bir tutulma anından sonra tekrar temel elektronik hal seviyesine döner (Şekil 4.1). Şekilden de anlaşılacağı üzere Rayleigh saçılmasında herhangi bir enerji kaybı yoktur. Bir başka deyişle gelen ışın ile molekül arasındaki çarpışma esnek bir olaydır. Rayleigh saçılmasının yanı sıra ışın demetinin çok küçük bir kısmı Raman saçılmasına da uğrar. Raman saçılmasında ise foton ile madde etkileştiğinde temel elektronik halden ya da temel elektronik hal titreşim seviyesinden uyarılma ile sanal hal bölgesine bir geçiş olur. Bu aşamadan sonra iki durum söz konusudur: (1) Eğer molekül  $\Delta E$  enerji kaybı ile temel elektronik hale dönmüşse Stokes saçılması; (2) Eğer molekül  $\Delta E$  enerji kazanmış ise anti-Stokes saçılması gözlenir. Görüldüğü gibi uyarılma ile bir enerji değişimi olduğu için Raman saçılması, ışın demeti ile molekül arasında inelastik bir olay sonrası meydana gelmektedir. Bunun sonucunda Raman ışınları Rayleigh ışınlarından  $\pm \Delta E$  kadar farklı olur. Bu enerji farkı temel elektronik 0. titreşim enerji düzeyi ile 1. titreşim enerji düzeyi arasındaki enerji farkıdır. İncelenen molekül aynı zamanda IR aktif ise onun adsorplayacağı enerji de bu enerji farkı kadar olacak ve sonuçta Raman frekans kaymasıyla infrared absorpsiyon pik frekansının aynı olduğunu gösterir [Gündüz, 2004].

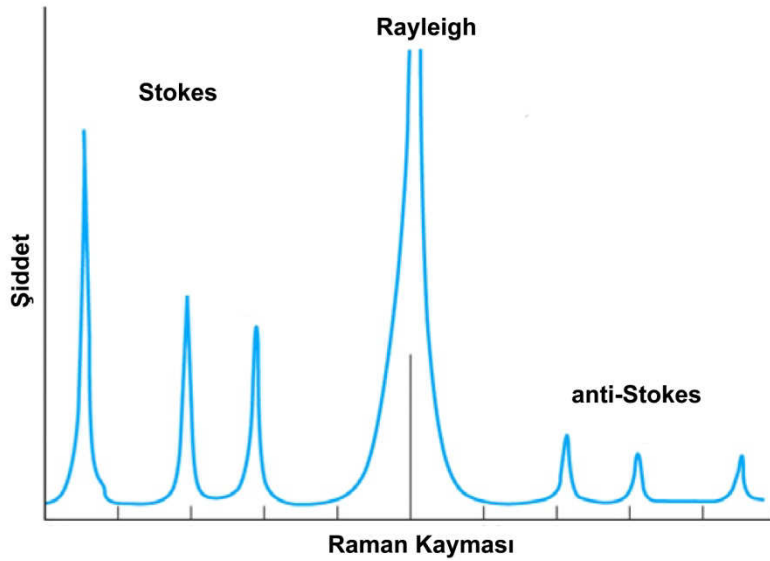


Şekil 4.1. Rayleigh ve Raman saçılmalarının elektronik düzeyde gösterimi.

Raman spektroskopisinde yukarıda anlatıldığı gibi üç farklı saçılmanın olması bir Raman spektrumunda da üç farklı pik elde edilmesi gerekliliğini açık bir şekilde göstermektedir. Monokromatik bir ışın ile madde uyarılıp Raman spektrumu alındığında Şekil 4.2'de gösterildiği gibi üç farklı pik ortaya çıkar: Rayleigh ışın piki, Stokes ışın piki ve anti-Stokes ışın piki [Ru ve Etchegoin, 2009]. Şekilden de anlaşılacağı üzere şiddet açısından en fazla olan pik Rayleigh saçılmasına ait olan piktir. Çünkü, oda sıcaklığında temel hal elektronik seviyesinden sanal enerjiye uyarıldıktan sonra tekrar temel hal enerji seviyesine dönen moleküllerin sayısı çok daha fazladır. Spektrum incelenmeye devam edildiğinde anti-Stokes pikleri Stokes piklerinden oldukça zayıftır. Anti-Stokes saçılması için ışın demeti molekülden enerji alarak daha düşük dalga boylu ışın demeti haline gelir ancak bu dönüşümü



gerçekleştiren foton sayısının çok az olması Raman spektrumunda pik şiddetlerinin düşük çıkmasına sebep olmaktadır. Pik şiddetlerinin yanı sıra Rayleigh ışınının dalga sayısı ile Raman saçılmasının dalga sayısı arasında belirli bir frekans farkı vardır ve bu fark Raman kayması olarak bilinir. Raman kaymalarının diğer titreşim temelli spektroskopik tekniklerinden farklı olarak belirli bir matematiksel işareti vardır. Bir başka deyişle bir Raman kayması +100 ise bunun anlamı Raman kaymasının, Rayleigh saçılmasına ait dalga sayısından 100 birim kadar büyük, -100 ise Raman kaymasının, Rayleigh saçılmasına ait dalga sayısından 100 birim kadar küçüktür. Bu nedenle bir Raman spektrumunda Raman kaymasının işareti “ $\pm$ ” dir. Bunun sonucunda Raman kayması pozitif olanlar anti-Stokes kaymaları, negatif olanlar ise Stokes kaymaları olarak bilinir.



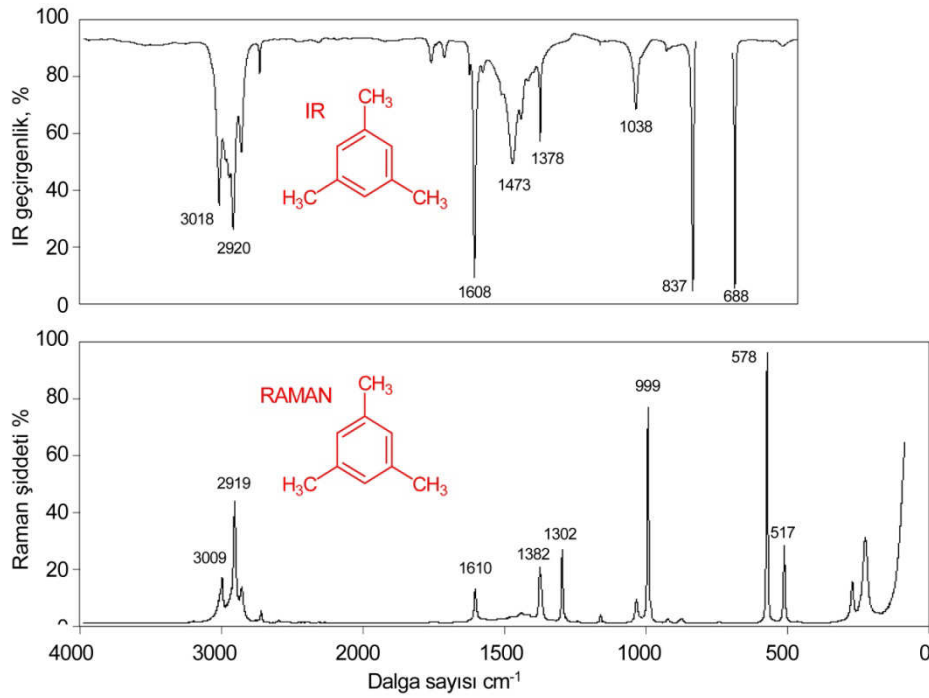
Şekil 4.2. Tipik bir Raman spektrumu.

#### 4.1.2. IR ve Raman spektrumlarının kıyaslanması

Raman spektroskopisi tıpkı IR spektroskopisi gibi titreşim enerjisi üzerine kurulmuştur. Raman saçılması sırasında gelen ışının dalga boyu ile saçılan ışının dalga boyu arasındaki orta infrared bölgesine düşmektedir. Bu bakımdan her iki teknik benzerlik gösterse de tekniklerin dayandığı temel olaylar birbirinden oldukça farklıdır ve birbirlerinin tamamlayıcısı olarak

düşünülebilir. Raman spektroskopisinin infrared spektroskopisine göre en önemli avantajı su veya su buharının herhangi bir zararı olmamasıdır. Hatta bazı durumlarda su çözücü olarak kullanılabilir [Moldenhauer ve ark., 2005].

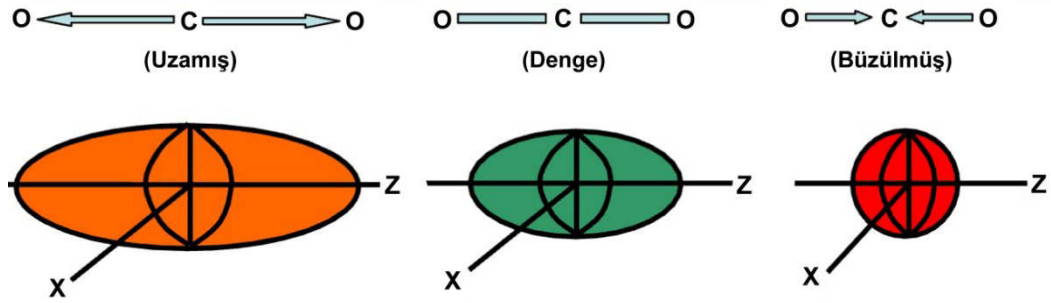
Bir Raman spektrumunda gözlenen enerji kaymaları, onun infrared absorpsiyon band enerjilerine denk geliyorsa bu titreşim şekli hem Raman aktif hem de IR aktif olarak yorumlanabilir. Şekil 4.3'de iki tip spektrumun benzerliği gösterilmiştir. İki bileşiğin birbirine eşit dalga sayısında ve Raman kayması değerlerinde birkaç piki vardır. Ancak, her iki spektrumda da bulunan piklerin bağıl büyüklükleri birbirinden oldukça farklıdır, ayrıca spektrumun birinde bulunan bazı pikler diğer spektrumda bulunmamaktadır.



Şekil 4.3. Mesitilen molekülüne ait IR ve Raman spektrumları [Ru, 2009].

Bir maddenin IR aktif olabilmesi için belirli titreşim şeklinin dipol momentinde bir değişiklik olması gerekmektedir. Sadece bu şekilde gelen ışın molekülle etkileşir ve onu bir üst titreşim enerji düzeyine çıkartır. Bununla birlikte bir molekülün Raman aktif olabilmesi için molekülün belirli bir polarizlenebilme özelliğine sahip olması gerekmektedir. Polarizlenebilme, saçılma olayında

bağ etrafına yayılmış olan elektronlar, ışın demetinin düşürülmesi ile ani bir bozulmaya uğraması ve bu durumun molekülde ani bir dipol moment oluşturması şeklinde tanımlanabilir. Daha sonra elektronlar normal haline dönerken bir emisyon söz konusudur. Bu dönüşümlerin olması durumunda molekülün Raman aktif olduğu söylenebilir. Bir molekülde elektron yoğunluğu arttıkça, bağ uzunluğu kısaltıkça polarizlenebilme özelliği azalmaktadır. Görüldüğü gibi bir molekülün IR ve Raman aktiflikleri birbirinden oldukça farklıdır. Örneğin, azot, klor, ve hidrojen gibi homonükleer bir molekülün, ne denge konumunda, ne de iki çekirdek arasındaki uzaklığını değiştiren bir gerilme titreşimi durumunda, dipol momenti sıfırdır ve sonuçta IR aktif değildirler. Diğer taraftan, böyle bir molekülün iki atomu arasındaki bağın polarize olabilmesi, gerilme titreşimleri ile periyodik olarak, en yüksek ayrılmada bir maksimuma ve en fazla yakınlaşmada bir minimuma ulaşarak, sürekli bir faz değişimi gösterir [Larkin, 2011]. Bu titreşim şeklinin frekansında bir Raman kayması oluşturur. Bu açıdan bakıldığında Raman spektroskopisinin IR spektroskopisine bir diğer üstünlüğü ise spektrumda parmak izi bölgesinin IR spektrumlarında olduğu gibi karmaşık olmamasıdır. Bir başka deyişle Raman spektrumunda parmak izi bölgesinde elde edilen pikler keskin olup fonksiyonel gruplar rahatlıkla tespit edilebilir. Bu durum parmak izi bölgesinde ortaya çıkan piklerden sorumlu olan titreşim modlarına ait polarizlenebilmenin oldukça yüksek olmasından kaynaklanmaktadır [Yıldız ve ark., 1997]. Şekil 4.4'de karbondioksit molekülünün simetrik titreşim boyunca elektron bulutu şeklinin değişimi verilmiştir. Şekilden de anlaşılacağı üzere simetrik titreşim sırasında bağ uzunluğunun artması bir başka deyişle elektron bulutunun bağlar arasında yayvanlaşması polarizlenebilmeyi artırırken, büzülmüş konumda yani bağ uzunlukları kısaltıldığında elektron bulutunun darlaşması polarizlenebilmeyi azaltmaktadır.



Şekil 4.4. Karbondioksit molekülünün simetrik titreşimi esnasındaki elektron bulutu değişiminin şematik gösterimi [Smith ve Dent, 2005].

Normal Raman spektroskopisi (NRS) sulu ortamda çalışmaya olanak sağlamasına rağmen, düşük şiddet ve hassasiyetle çalışıyor olması nedeniyle, zamanla yerini Rezonans Raman Spektroskopisi (RRS) bırakmıştır. RRS, floresans girişiminin daha az olduğu spektrumların eldesinde, konjuge aromatik yapılara karşı verdiği cevap ve elde edilen sinyallerin daha net olması bakımından NR'ye göre oldukça üstün bulunmuştur [Efrima ve ark., 2009]. Rezonans Raman saçılım olayı, bir analitin elektronik absorpsiyon pikine oldukça yaklaşan dalga boyları ile uyarılması sonucu Raman şiddetlerinin büyük ölçüde güçlendiği bir durumdur. Bu koşul altında çoğu Raman piklerinin şiddetleri  $10^2$  ile  $10^6$  kat kadar kuvvetlenir. Bunun sonucunda rezonans Raman spektrumları  $10^{-8}$  M' a kadar düşürülebilen analit derişimlerinde kullanılabilir. Bu duyarlılık düzeyi, çoğunlukla 0,1 M'dan daha yukarı derişimlerle sınırlı normal Raman çalışmaları ile çelişkilidir. Rezonans kuvvetlendirmesi, kromofor ile ilgili Raman bantları ile kısıtlanmış olduğundan rezonans Raman spektrumları genellikle sadece birkaç çizgiden oluşur. Bunun da ötesi, rezonans Raman spektrumları oldukça seçimli olarak elde edilebilirler. Çünkü uyarma, spesifik absorpsiyon bantlarına hedeflenebilir [Skoog ve ark., 1998].

Bir diğer Raman yöntemi olan yüzeyde güçlendirilmiş Raman saçılması (Surface enhanced Ramanspectroscopy, SERS) ise geliştirilip NR ve RRS'nin önüne taşınmıştır. Özellikle mikroorganizma çalışmalarında, tanımlamaya yönelik sonuçların NR ve RRS ile elde edilebilmesine karşılık,

bu sonuçlarla birlikte üç problem hala süregelmektedir. Bu problemler; hassasiyet, miktar ve spektral data üzerinde seçicilik ile sıkışıklık problemleri, bunların dışında bir diğer önemli husus ise cihazın fiyatıdır [Robinson ve ark., 2000; Safarik ve ark., 1995]. SERS bu problemleri çözmekte oldukça başarılı bir teknik olup bakteri tanımlanmasında ve diğer çalışmalarda uygun genel bir yöntem haline gelmiştir. Ayrıca SERS-aktif substratların floresansı söndürmesi ölçümlerde sinyal/gürültü oranını da arttırmaktadır. Bu şekilde elde edilen kuvvetlendirme ile daha hassas ölçümlerin SERS substratları ile gerçekleştirilmesi mümkün kılınmıştır [Campion ve ark., 1998].

#### 4.2. Yüzeyde Güçlendirilmiş Raman Saçılması

Yüzeyde güçlendirilmiş Raman saçılması ilk olarak 1974 yılında Fleischman tarafından piridin molekülünün sulu çözeltisinden pürüzlü gümüş elektrotlar üzerine adsorbe edilmesiyle keşfedilmiştir [Fleischman ve ark., 1974]. Bu çalışmada, elde edilen saçılmanın elektrotun pürüzlülüğü sonucu artan yüzey alanına ve dolayısıyla daha fazla piridin molekülünün adsorbe olması sonucu olarak güçlendirilmiş Raman saçılmasının olduğunu ifade etmişlerdir. Daha sonra Van Duyne ve Creighton birbirlerinden bağımsız olarak yaptıkları çalışmalarda güçlü Raman saçılmasının sadece pürüzlü elektrotun yüzey alanına bağlı olmadıklarını göstermişlerdir [Jeanmaire ve Van Duyne, 1977; Albrecht ve Creighton, 1977]. Yapılan bu çalışmalarda yüzey alanının artması sonucu saçılmanın normal Raman saçılmasına göre 10 kat daha fazla olması gerekirken elde edilen saçılmanın  $10^6$  kat fazla olması saçılmanın verimini artıran farklı mekanizmaların olduğunu göstermektedir.

Yüzeyde güçlendirilmiş Raman saçılmasının nasıl gerçekleştiği konusunda bir çok teorik ve deneysel çalışmalar yapılmış ancak günümüzde dahi bu saçılmanın nasıl güçlendiği konusunda tam bir görüş birliğine varılamamıştır. Bununla birlikte elektromagnetik güçlendirme ve kimyasal güçlendirme mekanizmaları olarak adlandırılan iki temel mekanizmanın saçılmanın verimini arttırdığı genel olarak kabul görmüş mekanizmalardır [Kneipp ve

ark., 2002; Etchegoin ve ark., 2003; Otto ve ark., 1992]. Bu mekanizmalarda saçılmanın metal yüzeyi ile adsorbe olan moleküllerin elektromagnetik rezonans tarafından oluşturulan büyük bir lokal alanın oluşması ve daha sonra metal ile adsorbe olan moleküllerin elektronik yapılarının etkileşmesi sonucu rezonans Raman sürecine benzer elektronik geçişlerin olmasına dayanmaktadır.

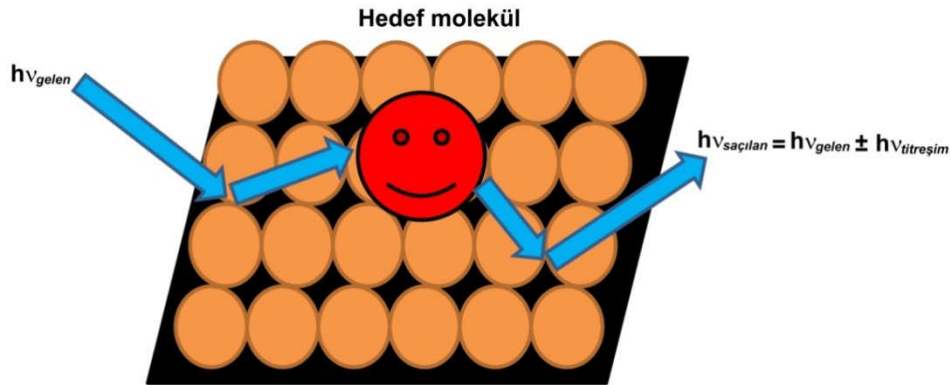
#### 4.2.1. Elektromagnetik (EM) güçlendirme mekanizması

EM mekanizmasının anlaşılabilmesi için pürüzlü ve pürüzsüz yüzeyler, küresel parçacıklar, metalik nanoparçacıklar ve elipsoid parçacıklar kullanılarak bir çok deneysel ve teorik çalışmalar yapılmıştır [Etchegoin ve ark., 2003; Otto ve ark., 1992]. Özellikle bazı metal parçacıkların ışın demeti tarafından indüklenen yüzey plazmon rezonanslarının etkileşmesi ile yüzeye adsorbe olan molekülün saçılmasının artırdığı noktalar olarak betimlenen “hot spot” oluşum mekanizması kabul görmüştür [Etchegoin ve ark., 2003].

Yapılan hesaplamalar sonucunda EM güçlendirmenin metalik nanoyapıların lokal alanlarının dördüncü kuvvetiyle doğru orantılı olarak değiştiğini, güçlendirmenin uyarma ve saçılma alanlarının parçacıkların yüzey plazmonları ile rezonansa geldiğinde saçılmanın güçlendiği gözlenmiştir. EM güçlendirmenin olması için moleküllerin yüzey ile direkt olarak temasta olma zorunluluğu yoktur ancak molekül ile yüzey arasındaki mesafe arttıkça EM azalmaktadır. Bu azalış aralarındaki mesafenin 12. kuvvetiyle ters orantılıdır [Kneipp ve ark., 2002]. Diğer taraftan EM, iki parçacık arasındaki mesafeye de bağlıdır. Çok güçlü bir EM olabilmesi için en ideal durum parçacıkların birbirleriyle direkt olarak temasta olmasıdır. Parçacıklar arasındaki mesafenin artması yüzey plazmon etkileşimlerinin düşmesine sebep olacağından Raman saçılma şiddetinin de düşmesine sebep olacaktır. Parçacıklar arasındaki mesafe yaklaşık olarak çaplarının 2,5 katı olduğunda EM minimum olmaktadır. İzole halde, küresel yapıdaki gümüş ve altın nanoparçacıklardan elde edilen maksimum EM güçlendirmesi  $10^6$ - $10^7$

arasında değişmektedir [Caceres ve ark., 2013]. Nanoparçacıklar arasındaki mesafe örneğin iki altın nanoparçacığı arasındaki mesafe 1 nm olduğunda  $10^{12}$  gibi güçlendirme faktörüne sahip olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte bu parçacıkların herhangi bir bölgesinde küresel yapıdan sapma olduğunda bir başka deyişle yapı çubuk şekline yaklaştıkça güçlendirme faktörü  $10^{11}$  değerine ulaşmaktadır [Xu ve ark., 2000].

Şekil 4.5’de EM mekanizmasının basit bir şekilde şematik olarak gösterilmiştir. Şekilden de anlaşılacağı üzere gelen ışın sayesinde parçacıklar tarafından oluşturulan yüzey plazmonu, elektrik alan sayesinde adsorbe olan molekül üzerine aktarılır ve molekülden saçılan ışın yüzey üzerine tekrar plazmon oluşturur ve böylelikle saçılma güçlendirilir.



Şekil 4.5. EM mekanizmasının şematik gösterimi.

Özetle, EM güçlendirme aşağıdaki özelliklere sahip olmalıdır [Kneipp ve ark., 2002; Aroca, 2006]:

- Plazmon rezonans uyarılması izole nanoparçacıklar, topaklaşmış parçacıklar ya da pürüzlü yüzeylerde meydana gelir. Plazmon rezonans parçacığının ya da pürüzlü yüzeyin türüne, büyüklüğüne ve şekline bağlıdır. Bimetalik yapılar, nanokabuk yapılar ve nanotellerde de EM güçlendirme gözlemlenebilir.

- Lokal EM güçlendirmeler, molekülün yüzeye kovalent olarak bağlanması ile fiziksel adsorpsiyona göre daha büyük olur. EM güçlendirme uzun mesafeli bir etkileşim ile de gerçekleşebilir. Bu durumda molekül ile parçacık/yüzey arasındaki mesafe en fazla 10 nm olmalıdır.
- EM mekanizması genel olarak adsorbe olmuş molekülün türünden bağımsızdır.

Yukarıda bahsi geçen özellikle EM güçlendirmenin molekülün türünden etkilenmemesi özelliği dikkate alındığında altın ya da gümüş nanoparçacıklar ile etkileşime giren tüm moleküllerin EM güçlendirme faktörlerinin olmasının yanı sıra bu faktörlerin de birbirine çok yakın olması gerekirdi. Elektrokimyasal olarak yapılan çalışmalarda güçlendirme faktörünün uygulanan farklı potansiyellerde molekülün yapısında meydana getirilen değişikliklerle güçlendirme faktörlerinin değiştiği ve maksimum  $10^{14}$  gibi güçlendirme faktörü elde edildiği gösterilmiştir [Li ve ark., 2005]. Bu çalışmalar neticesinde saçılma veriminin sadece EM mekanizması ile olmadığı buna ilaveten “kimyasal güçlendirme” mekanizmasının da rol aldığı anlaşılmıştır.

#### 4.2.2. Kimyasal güçlendirme (chemical enhancement, CE) mekanizması

Kimyasal, eletronik ya da birinci tabaka etkisi olarak adlandırılan mekanizma, EM mekanizmasının aksine kısa mesafeli (molekül parçacık yüzeyine bağlı) bir etkileşim sonucu olup EM mekanizması kadar ayrıntılı bilinmemektedir [Campion ve Kambhampati, 1998; Otto ve ark., 1992]. CE mekanizmasını EM mekanizmasından ayrı tutup tek başına incelemek oldukça zordur. Çünkü CE mekanizmasının toplam güçlendirmeye katkısı EM mekanizmasından  $10^3$ - $10^5$  kat daha düşüktür. Ayrıca bu iki mekanizmanın deneysel olarak toplam saçılmaya olan katkısını ayırabilecek bir sistemin olmaması CE hakkında bilgilerin kısıtlı olmasına sebep olmaktadır. Bununla



birlikte, CE mekanizmasını anlamak hem bilimsel anlamda hem de analitik uygulamalar açısından çok önemlidir. Çünkü SERS spektrumları adsorbe olan molekül ve çevresi hakkında özellikle molekülün nanoparçacıklarla etkileşimini, parçacık yüzeyindeki yönelmesini ve lokal elektrik alanın polarizasyonu hakkında bilgiler içerir [Aroca, 2006].

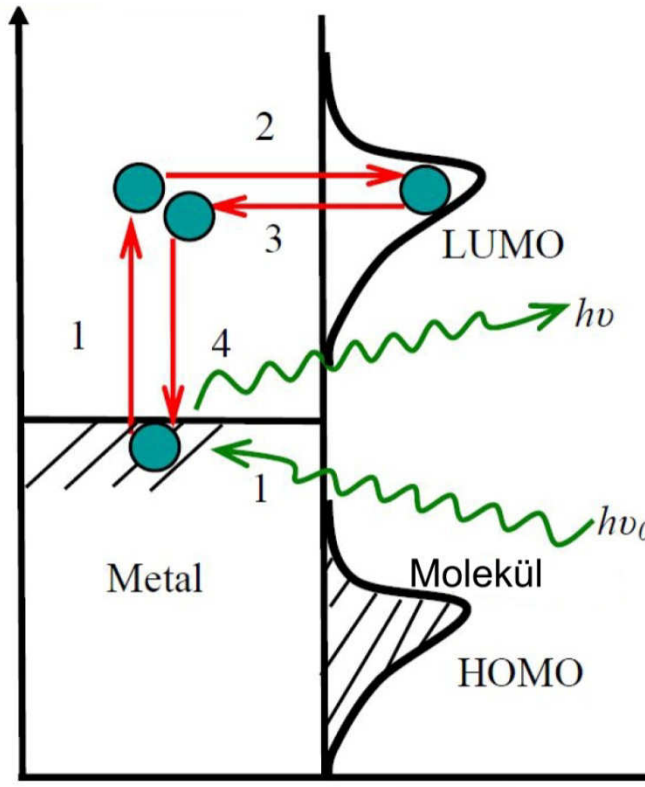
CE mekanizması rezonans Raman mekanizmasına benzemektedir. Şekil 4.6'da bir elektrot yüzeyine adsorbe olmuş moleküle ait yük transfer mekanizması gösterilmiştir. Rezonans Raman süreci, en yüksek dolu molekül orbitali (HOMO) ve en düşük boş molekül orbitali (LUMO) arasındaki yüksek enerji farkından kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte rezonans Raman saçılması foton tarafından başlatılan, metal ile adsorbe olmuş molekül arasındaki yük transferinden kaynaklanmaktadır. Meydana gelen elektronik geçişlerin, lokal elektron yoğunluk halinin dalga fonksiyonu ile çakışma ihtimalinin çok yüksek olduğu Fermi seviyelerinde olduğu düşünülmektedir [Campion ve ark.,1998; Vo-Dinh, 1998]. CE mekanizması, metal-molekül ikili sistemi üzerine düşürüldüğünde aşağıdaki olaylar sonucu oluşur [Vo-Dinh, 1998]:

(1) Metal üzerine  $h\nu_0$  kadar bir foton düşürüldüğünde, ışın tarafından metal yüzeyinde elektron delik çifti (kopan elektronun oluşturduğu boşluk) oluşur.

(2) Uyarılma sonucu kopan elektronlar adsorbe olan moleküldeki olası LUMO orbitaline geçer ve bunun sonucunda yük transferi ile uyarılmış elektronik hal oluşur.

(3) Uyarılmış elektron hal sonucunda negatif iyon (molekül-elektron) oluşur ve bu iyonun geometrisi başlangıçtaki molekülün geometrisinden oldukça farklıdır. Bunun sonucunda elektron metale geri döner ve adsorbe olan molekül çekirdeği bu yük transferi sırasında durulma hareketi yapar.

(4) Metale dönen elektronlar en başta oluşturulan elektron delik çiftine yerleşir ve bu esnada titreşimsel olarak uyarılmış nötral molekülden  $h\nu_{\text{saçılan}}$  enerjisinde Raman saçılması gözlenir.



Şekil 4.6. CE mekanizmasında yük transferinin şematik gösterimi [Tian ve Ren, 2003].

Her iki mekanizma göz önüne alındığında güçlendirilmiş Raman saçılmasının aşağıdaki özelliklere sahip olması gerekmektedir [Tian ve Ren, 2003].

- Elde edilecek en az güçlendirme faktörü  $10^6$  olmalıdır. Bir çok geçiş metali zayıf güçlendirme faktörlerine sahiptir. Pt, Rh, Ni, Co ve Fe metallerinin güçlendirme faktörü  $10^3$ - $10^4$  arasında değişirken Pd ise  $10^1$  güçlendirme faktörüne sahiptir.

- Yüzey pürüzlülüğü 5-200 nm aralığında olmalıdır. Ayrıca yüzeyler üzerinde ilave atomlar, ilave atomik kümelenmeler, basamaklı yapıda atomik düzenlenmeler güçlendirmeye katkıda bulunur.
- Bir çok molekül yüzeye kovalent ya da fiziksel olarak bağlanabilir ancak güçlendirme faktörleri birbirinden çok farklı olabilir. Bu durum metal ve molekül arasındaki bağ tipi direkt olarak etkiler.

Saçılma mekanizmalarının farklı olması sebebiyle normal Raman ve SERS spektrumları birbirinden farklı olabilir. SERS spektrumları band şiddetleri bakımından normal Raman band şiddetlerinden farklıdır. Bununla birlikte, SERS de molekül-metal etkileşimlerinden dolayı band frekanslarında ve genişliklerinde değişiklikler gözlenebilir. Özellikle kullanılan lazerin dalga boyuna göre band şekillerinde önemli değişiklikler olabilir. Molekül-metal etkileşimlerinden dolayı seçimlilik kuralı gereği normal Raman'da görülmeyen bantlar SERS de gözlenebilir [Ayars ve ark., 2000]. Normal Raman saçılmasına göre büyük değişikliklerin olmasına rağmen SERS spektrumları moleküllerin özellikle biyomoleküllerin “parmak izi” bölgesi hakkında çok fazla bilgi vermektedir.

#### 4.2.3. SERS aktif yüzeyler

SERS çalışmalarında kullanılacak olan yüzeylerin iyi bir güçlendirme faktörüne sahip olması, tekrarlanabilirliğin yüksek olması, kolaylıkla hazırlanabilir ve uzun bir zaman diliminde kararlı bir SERS sinyali veriyor olması gibi bazı özelliklerinin olması gerekmektedir. Bununla birlikte SERS yüzeyi hazırlamada başka bir malzeme kalıp olarak kullanılıyorsa, bu kalıp malzemenin de inert, mekanik olarak kararlı ve SERS inaktif olması gerekmektedir.

SERS aktif yüzeylerin hazırlanmasında geçiş metalleri için elektrokimyasal yöntemle akım kontrollü yükseltgenme-indirgenme dönüşümü ile metal

nanotellerin sentezi için kalıp kullanma ve kimyasal dağlama (etching) yöntemleridir [Tian ve ark., 2002; Pérez ve ark., 2000]. Daha önce de belirtildiği gibi geçiş metallerinin güçlendirme faktörleri metal türüne bağlı olarak maksimum  $10^4$  değerindedir. Bu nedenle geçiş metalleri ile günümüzde SERS aktif yüzey hazırlamada pek kullanılmamaktadır. Son 20 yıl içerisinde yukarıda bahsi geçen yöntemler dışında özellikle altın ya da gümüş içerikli SERS yüzeyi hazırlamada bir çok yöntem geliştirilmiştir. Örneğin sol-jel yöntemi ile altın nanoparçacık hazırlanması [Seitz ve ark., 2003], sandviç tip nanoparçacıklar [Daniels ve Chumanov, 2005], plazma güçlendirilmiş kimyasal buhar kaplama ve fiziksel buhar kaplama teknikleri kullanılarak  $\text{Ag@SiO}_2$  nanoparçacıkların hazırlanması [Sun ve Grundmeier, 2006], gümüş nanoparçacıkların fotokimyasal yöntem ile yüzeylere kaplanması [Kundu ve ark., 2004], kendiliğinden düzenlenen metal nanoparçacık tek tabakalar [Freeman ve Katherine, 1995], iki boyutlu gümüş filmlerinin hazırlanması [Hu ve ark., 2002], tabaka-tabaka yöntemi ile metal nanoparçacık tabakaların hazırlanması [Aroca ve ark., 2005] ile SERS aktif yüzeyler hazırlanabilir.

İnce tabaka kromatografisinde (İTK) kullanılan dolgu maddesinin (genellikle silika ya da alümina) gümüş ile modifiye edilmesi sonucu SERS aktif yüzeyler hazırlanarak İTK ve SERS teknikleri birleştirilebilir [Szabo ve ark., 1997; Lyon ve ark., 1998]. Optik fiberlerin uç kısmının SERS substratı ile kaplanması ile elde edilen “SERS optik fiber prob”lar sayesinde yeni SERS analiz tekniği de geliştirilmiştir [Stokes ve Von-Dinh, 2000]. En çarpıcı SERS tekniği ise atomik kuvvet mikroskobu (AFM) ya da taramalı tünelleme mikroskobu (STM) tekniklerinde kullanılan iğnelerin (tip) gümüş ya da altın parçacıklar ile modifiye edilip birkaç nanometre seviyesinde analit tabakasına yaklaşması sonucu güçlü SERS sinyallerin alınmasını sağlayan ve iğne ile güçlendirilmiş Raman spektroskopisi (tip-enhanced Raman spectroscopy, TERS) olarak bilinen tekniktir [Buchel ve ark., 2001; Mihalcea ve ark., 2001]. Diğer bir çarpıcı örnek ise nanoküre lithografi yöntemi ile yüzeyler üzerinde düzenli yapılarda ve birbirlerine oldukça yakın nanoparçacık desenlerin

oluşturulmasıdır. Bu yöntem kullanılarak büyük ve kontrollü plazmon rezonansları oluşturularak daha hassas çalışan SERS aktif yüzeyler hazırlanabilir [Jensen ve ark., 2000; Hillenbrand ve Keilmann, 2001].

Nanoteknoloji alanındaki bu ilerlemelerin yanı sıra altın ya da gümüş içerikli çeşitli şekillerde anizotropik nanoyapıların hazırlanmasındaki sentetik yöntemlerin ilerlemesi de SERS aktif yüzeyler hazırlanmasında büyük adımlar atılmıştır. Özellikle çekirdek-kabuk yapısında, çubuk, üçgen prizma, küp, pirinç, dambıl yapısındaki parçacıklar rahatlıkla sentezlenerek SERS yüzeyleri hazırlanabilir [Liu ve ark., 2005; Mclellan ve ark., 2007; Wiley ve ark., 2007]. Farklı yapılardaki bu parçacıklar sayesinde Raman saçılma verimi artırılabilir. Ayrıca, saçılmanın yakın-IR bölgesine kaydırılarak biyolojik ortamda (örneğin canlı bir hücrede) SERS analizi gerçekleştirilebilir. Zira, yakın-IR bölgesindeki uyarılmalar biyolojik örnek incelenmesinde sıklıkla karşılaşılan fluoresans olayını minimize etmekle birlikte canlı hücrenin ışınlamadan kaynaklı zarar görmesini önlemektedir.

#### 4.2.4. Biyolojik uygulamalar

SERS tekniği ile biyolojik moleküllerle çalışma sırasında bir takım avantaj ve dezavantajları beraberinde getirir. Avantajları arasından ön plana çıkan, *in situ* çalışmalarda sulu sistemlerde kullanılabilme kabiliyetidir. Dezavantajlarından biri ise oldukça kuvvetli lazer tarafından uyarılan örnek dokularının zarar görmesidir. Fakat; Raman spektroskopisi tekniğine uygun çalışabilecek biyolojik örnekler için oldukça geniş ölçekte sistemler geliştirilmiş durumdadır [Klar ve ark., 1998]. Polar gruplar; karboniller, aminler ve amidlerin Raman spektrumları oldukça zayıftır. Bu Raman spektroskopide dezavantaj olarak görünen bir durumdur. Buna rağmen -S-S-, -SH, -CN, -C=C- ve aromatik halkalar spesifik karakterizasyonlar için ayırıcı kuvvetli bandlar gösterirler. Karbonat ve fosfat gibi diğer gruplar da ayırım sağlayabilecek Raman bandları verirler. Raman ile fiziksel formlardaki değişiklikleri tespit etmek mümkündür.

Literatürde geçen çoğu çalışma kimyasal bağlanma, genomikler, proteomikler, protein etkileşimleri, katı faz sentez çalışmaları ile DNA, protein analizi ve hücre çalışmalarına dayanmaktadır. Ayrıca gıda ve biyomedikal alanlarında yayınlanmış birçok çalışma da mevcuttur. SERS'in yaygın bir teknik olarak kullanıldığı alanlara birkaç örnek vermek gerekirse amino asit kristallerindeki geçişleri [Zhang ve ark., 2000], tek hücreli bakteriler [Schuster ve ark., 2000], bakteri sporları [Alexander ve ark., 2003], mikroorganizmaların karakterizasyonu [Sackalingum ve ark., 1999], fungi [Arcangeli ve ark., 2000], hububat karışımları [Piot ve ark., 2001], lipozom kompleksleri [Matsi ve ark., 2000], küf [Zheng ve ark., 2002], iyi huylu ve kötü huylu tiroid dokularında meydana gelen oluşumlar [Manfait ve ark., 2000] üzerine çalışmalar oldukça yaygındır. Raman saçılması üzerine SERS; tıp alanında ve *in situ* çalışmalarda türlerin tayini, kromofor gruba sahip birçok biyolojik molekül ile çalışma uyumluluğu açısından yararlı bir teknik olmuştur.

## 5. DENEYSEL KISIM

### 5.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışma kapsamında kullanılan tüm kimyasallar Sigma-Aldrich (Steinheim, Almanya) firmasından saflık derecesi yüksek olacak şekilde temin edilmiş ve aksi belirtilmediği sürece herhangi bir saflaştırma işlemi yapılmadan kullanılmıştır. Azobisisobütironitril (AIBN, %98 saflıkta) Acros Organic (Geel, Belçika) firmasından temin edilmiş ve kullanılmadan önce iki kez metanolde kristallendirilmiş ve sonra  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır. 2-((2-metoksietoksi) etil metakrilat) ( $\text{MEO}_2\text{-MA}$ ) içerisindeki inhibitör kolon kromatografisi ile ayrılmış ve saflaştırılmış monomerler hemen kullanılmayacaksa  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir. Dimetilformamit (DMF, HPLC saflığında) ise  $\text{CuSO}_4$  üzerinde distile edildikten sonra kullanılmıştır. Etiketli ve etiketsiz tüm DNA tek iplikçikleri HPLC saflığında, tuzsuz olacak şekilde Bioneer firmasından (Daejeon, Kore) temin edilmiştir. Çalışma kapsamında kullanılan silisyum yüzeyler (100) oryantasyonunda, 0,5 mm kalınlığında ve 125 mm çapında olup Shin-Etsu (Japonya) firmasından satın alınmıştır. Tüm deneylerde ultra saf su kullanılmıştır.

### 5.2. Silisyum Yüzeylerin Temizlenmesi

Silisyum disk yüzeyinde kendiliğinden düzenlenen tekli tabakaları hazırlamadan önce doğal oksit tabakası asidik ve bazik yıkamalarla aktif hidroksil gruplarına dönüştürülmüştür. Bunun için 1 cm x 1 cm ebatlarında kesilmiş silisyum diskler ultrasonik banyoda  $50^{\circ}\text{C}$ 'da saf su ile 15 dakika, daha sonra yine ultrasonik banyoda  $50^{\circ}\text{C}$ 'da etanol ile 15 dakika organik kirliliğin uzaklaştırılması için yıkanmıştır. Yıkanan yüzeyler hidroflorik asit çözeltisinde 20 saniye bekletilmiş ve hemen bu işlemten sonra 1:1:5 (v/v) ( $\text{NH}_4\text{OH}:\text{H}_2\text{O}_2:\text{H}_2\text{O}$ ) bazik yıkama çözeltisi içerisinde  $65^{\circ}\text{C}$ 'da 30 dakika bekletilmiştir. Daha sonra, yüzeyler ultrasonik banyoda saf su ile tekrar yıkanmıştır. Bu işlemten sonra, yüzeyler 1:1:5 (v/v) ( $\text{HCl}:\text{H}_2\text{O}_2:\text{H}_2\text{O}$ ) asidik

yıkama çözeltisi içerisinde 65 °C'da 30 dakika bekletilmiştir. Son olarak yüzeyler saf su ile yıkanmış ve azot gazı ile kurutulmuştur.

### **5.3. Temizlenmiş Yüzeylerin Organik Moleküllerle Modifiye Edilmesi**

#### **5.3.1. Amin uç gruplu kendiliğinden düzenlenen tek tabakalarının hazırlanması**

Silisyum yüzeyler üzerinde aminosilan tek tabakalarını oluşturmak için, hidroksillenmiş yüzeyler, 3-aminopropil trimetoksisilan (APTS)'nin toluen içerisinde hazırlanmış %1 lik çözeltileri içerisinde çeşitli zaman aralıklarında (0-24 saat) oda sıcaklığında bekletilmiştir. Çözelti içerisinde alınan silisyum diskler üzerinde kimyasal olarak bağlanmayan molekülleri uzaklaştırmak amacı ile yüzeyler 15 dakika boyunca ultrasonik banyoda sırasıyla toluen, toluen/metanol ve metanol ile yıkanmıştır. Daha sonra yüzeyler azot gazı ile kurutulmuştur.

APTS derişiminin kendiliğinden düzenlenmeye olan etkisi hacimce % 0,5-5,0 lik toluen içerisindeki çözeltileri kullanılarak yukarıda elde edilen optimum sürede ve oda sıcaklığında hidroksillenmiş yüzeylerin bu çözeltiler içerisinde bekletilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Daha sonra yüzeyler 15 dakika boyunca ultrasonik banyoda sırasıyla toluen, toluen/metanol ve metanol ile yıkanmış ve en son azot gazı ile kurutulmuştur.

#### **5.3.2. RAFT ajanının sentezi**

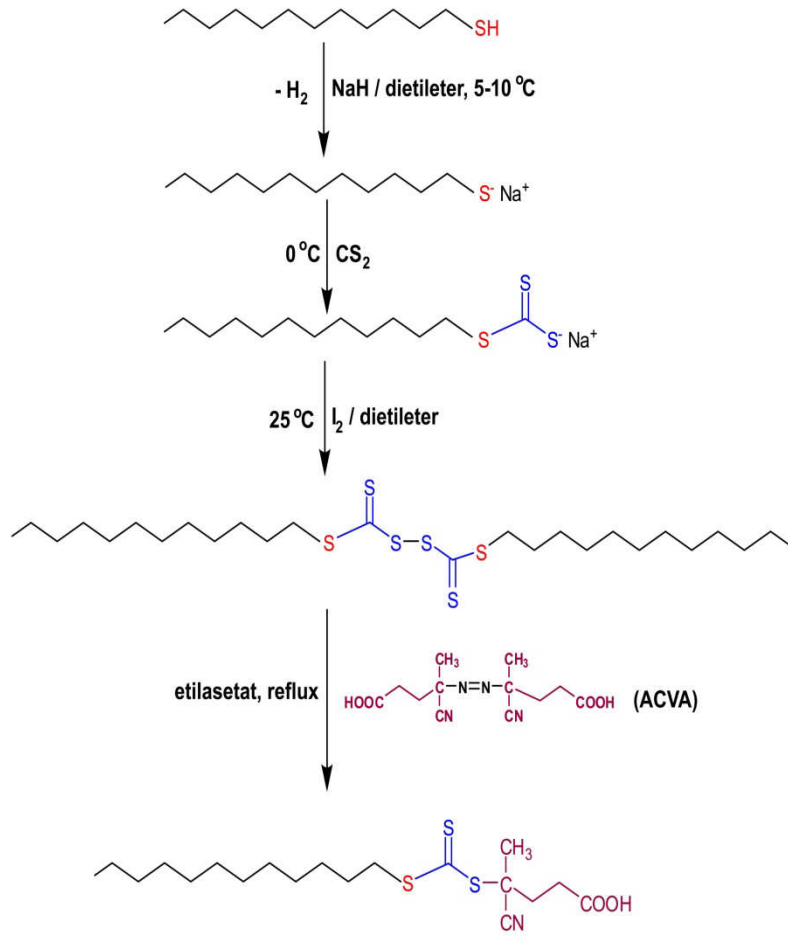
Metakrilat/metakrilamit monomer türevleri için oldukça uygun bir ajan olan 4-siyano-4-(dodesil sulfanil tiyokarbonil) sulfanil pentanoik asit (CDSP) tercih edilmiştir. Literatürdeki en genel RAFT ajan sentez yöntemlerinin modifiye edilmesiyle CDSP sentezlenmiştir [Thang ve ark., 1999]. Sentez prosedürü aşağıdaki gibidir:



n-dodesiltiyol (15,4 g, 76 mmol), 150 mL dietileter içerisinde karıştırılmakta olan sodyum hidrür (3,15 g, 79 mmol. Ticari NaH mineral yağ içerisinde bulunmaktadır. Sentezde kullanılmadan önce mineral yağ kuru tetrahidrofuran ile uzaklaştırıldıktan sonra NaH süzölmüş ve vakumda kurutulduktan sonra kullanılmıştır) süspansiyonu içerisinde 5-10 °C'de on dakika içerisinde damla damla ilave edilmiştir. İlave tamamlandıktan sonra reaksiyon karışımı 0 °C' ye kadar soğutulmuş ve karbon disülfür (6,0 g, 79 mmol) karışım içerisinde 20 dakika boyunca damla damla ilave edilmiştir. Meydana gelen sarı renkli S-dodesil tritiyokarbonat süzölmüş ve herhangi bir saflaştırma yapılmadan bir sonraki adımda kullanılmıştır.

Bir önceki basamakta elde edilen S-dodesil tritiyokarbonat (14,6 g, 49 mmol) 100 mL dietileter içerisinde süspanse edildikten sonra moleküler iyot ( 6,3 g, 25 mmol) on dakika aralıklarla kısmi ilaveler yapılmış ve karışım oda sıcaklığında ve karanlıkta 4 saat karıştırılmıştır. Bu süre sonunda çöken NaI süzölerek uzaklaştırılmış ve elde edilen sarı-kahverengi çözeltiden aşırı iyotu uzaklaştırmak için sodyum tiyosülfat çözeltisi ile yıkanmıştır. Yıkama işlemi su ile tekrarlandıktan sonra çözelti sodyum sülfat üzerinde kurutulmuştur. Kurutulan çözeltiden dietil eterin uzaklaştırılması ile soluk sarı renkli bis (dodesil sulfanil tiyokarbonil)disülfür (BDTD) elde edilmiştir (13,4 g, verim : % 96, erime noktası : 34-36 °C ).

50 mL etil asetat içerisinde bulunan 4,4'- azobis-4-siyanovalerik asit (ACVA; 2,10 g, 75 mmol) ve BDTD (2,77 g 50 mmol) 18 saat boyunca geri soğutucu altında kaynatılmıştır. Bu süre sonunda elde edilen çözeltiden uçucu maddelerin vakumda uzaklaştırılmasıyla elde edilen kaba ürün su ile ekstrakte edilmiş ve çözelti sodyum sülfat üzerinde kurutulduktan sonra etilasetat döner buharlaştırıcıda uzaklaştırılmış ve sarı renkli 4-siyano-4-(dodesilsülfaniltiyokarbonil)sülfanil pentanoik asit elde edilmiştir. Elde edilen ürün iki kez hekzanda kristallendirilmiştir.(3,61 g, verim : %86, erime noktası: 64-68 °C). RAFT ajan sentezi sırasında izlenen sentetik yol Şekil 5.1'de şematik olarak verilmiştir.



Şekil 5.1. RAFT ajanı sentez basamaklarının şematik gösterimi.

### 5.3.3. RAFT ajanının APTS bağlı yüzeylere kovalent bağlanması

Amin sonlu yüzeyler üzerine RAFT ajanının kovalent bağlanması için ilk olarak RAFT ajanı uç grubunda bulunan serbest karboksilik asit grubunun süksinimit esterine dönüştürülerek amin grubuna karşı daha ilgili hale getirilmiştir. Bunun için 10 mmol CDSP ve 10 mmol N- hidroksisüksinimit (NHS) 20 mL etilasetat içerisinde çözüldükten sonra karışıma 10 mmol N,N-disikloheksilkarbodiimit (DCC) ilave edilmiş ve karışım karanlıkta 24 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Reaksiyon sonrasında oluşan beyaz çökelek süzme işlemi ile ayrılmış ve 10 mL etilasetat ile yıkanmıştır. Sarı renkli olan süzüntüden çözücünün uzaklaştırılmasıyla elde edilen soluk sarı renkli ürün (CDSP-NHS ester) vakumda kurutulmuştur. Aktif ester

grubuna dönüştürülen CDSP daha sonra APTS bağlı yüzeyler üzerine kovalent bağlanması gerçekleştirilmiştir.

5 mmol CDSP-NHS 20 mL etilasetat içerisinde çözüldükten sonra APTS modifiye silisyum diskler bu çözelti içine konulduktan sonra karanlıkta ve 50 °C'de yavaş bir şekilde 48 saat boyunca karıştırılmıştır. Bu süre sonunda çözeltiden alınan diskler sırasıyla etilasetat, diklorometan ve tekrar etilasetat ile ultrasonik banyoda 5 dakika boyunca yıkanmış ve daha sonra azot gazı ile kurutulmuştur.

#### 5.3.4. RAFT polimerleşmesi ile sıcaklık duyarlı P(MEO<sub>2</sub>-MA) fırçaların hazırlanması

Polimer fırça sentezinde polimerleşme hem yüzey üzerinde hem çözelti içerisinde aynı anda gerçekleştirilmiştir. Bu amaç doğrultusunda 150 mmol MEO<sub>2</sub>-MA, 1,2 mmol serbest RAFT ajanı CDSP ve 0,24 mmol AIBN 35 mL DMF içerisinde  $[MEO_2-MA]_0 / [CDSP]_0 / [AIBN]_0 = 125/1/0,2$  olacak şekilde çözünmesi sağlanmıştır. Daha sonra bu çözelti yedi adet eşit hacimli ve yüzeylerin manyetik karıştırıcıdan etkilenmesini önleyecek ve ortasında *O-ring* bulunan vialler içerisine eşit hacimlerde konulmuştur. Daha sonra bu çözeltiler içerisine RAFT ajanı bağlı silisyum diskler konularak viallerin ağzı septum ile kapatılmıştır. Her bir çözelti su-buz banyosuna daldırılmış ve çözeltilerden 15 dakika süreyle azot gazı geçirilmiştir. Bu süre sonunda vialler 60 °C'deki yağ banyosuna daldırılır ve manyetik olarak karıştırılmıştır. Belirli zaman aralıklarında (0,5-12 saat) vialler yağ banyosundan alınmış ve viallerin ağzı açılarak hızlı bir şekilde sıvı azot içerisine daldırılarak reaksiyonun aniden durması sağlanmıştır. Örnekler oda sıcaklığına getirildikten yüzeyler DMF ile üç kez 10 dakika süreyle ultrasonik banyoda yıkanarak yüzey üzerine fiziksel olarak tutunmuş monomer, ajan, polimer gibi moleküllerin uzaklaşması sağlanmıştır. Daha sonra yüzeyler azot gazı ile kurutulmuş ve polimer fırça içerisine hapsolmuş olası çözücü moleküllerini uzaklaştırabilmek için yüzeyler 120 °C'da 2 saat boyunca vakumda

bekletilmiştir. Çözeltideki sıvıdan bir miktar alınıp  $^1\text{H-NMR}$  karakterizasyonu için saklanırken diğer kısmı soğuk dietileter ile çöktürülmüştür. Çöz-çöktür işlemi üç kez tekrarlandıktan sonra elde edilen sarı renkli viskoz sıvı vakumda kurutulur ve Büyüklükçe Ayırma Kromatografisi (GPC) karakterizasyonu için hazır hale getirilir. Çözeltide oluşan polimerin karakterizasyonunda ilk olarak  $^1\text{H-NMR}$  kullanılmış ve her bir zaman aralığına ait % dönüşümler belirlenmiştir. Bunun için ilk olarak çözelti içerisinde bulunan DMF vakumda uzaklaştırıldıktan sonra  $\text{CDCl}_3$  içerisinde çözünmüştür. Monomerin ve polimerin ester grubuna komşu metilen protonlarının integrasyon oranlarından dönüşüm hesaplanmıştır.

### 5.3.5. Altın nanoparçacıkların sentezi

#### Tohum büyütme yöntemiyle parçacık sentezi

*Tohum parçacıkların hazırlanması:*  $2,5 \times 10^{-4}$  M  $\text{HAuCl}_4$  ve  $2,5 \times 10^{-4}$  M trisodyum sitrat içeren 20 mL'lik çözelti içerisine 0,6 mL 0.1M soğuk  $\text{NaBH}_4$  hızlı bir şekilde ilave edilmiş ve herhangi bir karıştırma işlemi gerçekleştirilmemiştir. Çözelti 3 saat oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletildikten sonra kullanılmıştır [Jana ve ark., 2001].

*Büyüme çözeltisinin hazırlanması:* 200 mL  $2,5 \times 10^{-4}$  M  $\text{HAuCl}_4$  çözeltisinin içerisine 6 g katı setiltrimetilamonyum klorür (CTAB) ilave edilmiş ve tüm katı çözününceye kadar ısıtılmıştır. Daha sonra çözelti oda sıcaklığına getirildikten sonra stok çözelti olarak kullanılmıştır.

*Tohum büyütme:* 7,5 mL stok büyüme çözeltisinin üzerine 50  $\mu\text{L}$  0,1 M askorbik asit ilave edilmiştir. Oluşan şeffaf renkli çözelti içersine değişik oranlarda tohum çözeltisi (1,0 mL; 2,0 mL; 2,5 mL; 5,0 mL) ilave edilmiş ve karışım 10 s kadar karıştırılmıştır. Daha sonra çözeltiler oda sıcaklığında ve karanlıkta 3 saat boyunca bekletilmiştir (tohum çözelti miktarı 2,0 mL olması durumunda ileri bir saflaştırma yapılmıştır. Yapılan saflaştırma işlemi

şöyledir: Daha sonra partiküller +4 °C'de bekletilerek tüm CTAB molekülerinin kristalleşmesi sağlanmış ve süzme işleminden sonra kristaller buzlu su ile yıkanmıştır. Süzüntü daha sonra 12500 rpm ve +4 °C de santrifüjlenmiş ve daha sonra aynı sıcaklık ve rpm'de sırasıyla etanol, etanol/su ve tekrar su ile santrifüjlenerek saflaştırma işlemi gerçekleştirilmiştir).

#### Sitrat indirgeme yöntemi

50 mL %0,01  $\text{HAuCl}_4$  içeren çözelti kaynama sıcaklığına kadar ısıtılmıştır. Daha sonra bu çözelti içersine %1'lik trisodyum sitrat çözeltisinden 750  $\mu\text{L}$  ilave edilmiştir. Kaynama 10 dakika daha devam ettirilmiş ve ardından 15 dakika oda sıcaklığında karıştırılmaya devam edilmiştir. Bu süre sonunda parçacıklar 6500 rpm de 10 dakika 3 kez santrifüjlenerek aşırı miktardaki sitrat iyonların uzaklaşması sağlanmıştır [Grabar ve ark., 1995].

#### **5.3.6. Polimer fırça bağlı yüzeylere altın nanoparçacık immobilizasyonu**

Sentezlenen polimer fırçaların uç grubunda dodesil tritiyokarbonat grubu bulunmaktadır. Altın nanoparçacıkların bu yüzeylere immobilize edilebilmesi için dodesil tritiyokarbonat gruplarının sülfidril (-SH) gruplarına çevrilmesi gerekmektedir. Bunun için polimer fırça modifiye silisyum diskler 0,1M  $\text{NaBH}_4$  sulu çözeltisi içersine konulduktan sonra çözelti 24 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Daha sonra yüzeyler bol saf su ile yıkandıktan sonra azot gazı ile kurutulmuştur.

Sülfidril uç gruplara sahip polimer fırçalar üzerine altın nanoparçacıklar immobilize edebilmek için yüzeyler 3,0 mL partikül çözeltisi içersinde oda sıcaklığında 24 saat boyunca bekletilmiştir. Daha sonra yüzeyler üzerinde fiziksel olarak adsorbe olmuş nanoparçacıkları uzaklaştırmak için yüzeyler ultrasonik banyo içinde saf su ile 10 dakika boyunca yıkanmış ve ardından azot gazı ile kurutulmuştur.

### 5.3.7. Sıcaklık duyarlı altın nanoparçacık esaslı polimerik fırçalar üzerine DNA immobilizasyonu ve hibridizasyonu

Altın nanoparçacık immobilize edilmiş silisyum yüzeyler üzerine ilk olarak 3'-ucu tiyollenmiş ve 5'-metilen mavisi (MB) ile modifiye edilmiş prob tek sarmal DNA (prob-ssDNA; 3'-SH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-TAT GGT GTA GTA GGT-MB-5') immobilize edilmiş ve immobilizasyon için gerekli optimum koşullar SERS ile belirlenmiştir.

#### prob-ssDNA derişiminin etkisi

Optimum prob-ssDNA derişiminin belirlenmesi amacıyla altın nanoparçacık immobilize edilmiş yüzeyler farklı derişimlerde prob-ssDNA içeren pH 7,0 fosfat tamponunda oda sıcaklığında ve karanlıkta 24 saat boyunca bekletilmiştir. Daha sonra yüzeyler üzerinde fiziksel olarak bağlanan DNA iplikçiklerinin uzaklaştırılması için yüzeyler PBS yıkama tamponu (10 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>/NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,3 M NaCl, ve pH = 7,0) ile üç kez yıkandıktan sonra azot gazı ile kurutulmuştur.

#### prob-ssDNA immobilizasyon süresinin etkisi

Optimum immobilizasyon süresinin belirlenmesi amacıyla altın nanoparçacık immobilize edilmiş yüzeyler yukarıda belirlenen optimum derişimde farklı zaman aralıklarında oda sıcaklığında ve karanlıkta farklı sürelerde (0,5-12 saat) bekletilmiştir. Ardında yüzeyler PBS tamponu ile üç kez yıkandıktan sonra azot gazı ile kurutulmuştur.

#### Hibridizasyon çalışmaları

Prob-ssDNA için optimum koşullar belirlendikten sonra yüzeyler üzerinde hibridizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Hibridizasyon işlemlerinde SERS spektrumlarında spektral girişimlerin olmaması amacıyla *metilen*

*mavisi modifiye edilmemiş prob-ssDNA* kullanılmıştır. Hibridizasyon işlemine geçmeden önce prob-ssDNA bağlanmamış altın nanoparçacıkların yüzeyi ilk önce 1-propantiyol (PT) ile pasifize edilmiştir. Bunun için yüzeyler 2 mM PT etanol çözeltisi içerisinde 24 saat boyunca bekletildi ve ardında sırasıyla etanol, etanol/su ve su ile üç kez yıkandı. Daha sonra yüzeyler azot gazı ile kurutuldu. Daha sonra, prob-ssDNA bağlı yüzeyler çeşitli derişimlerde PBS hibridizasyon tamponunda (100 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>/NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0,75 M NaCl, ve pH = 7,0) bulunan hedef-ssDNA (5'-ATA CCA CAT CCA TAT AAC TGA AAG CCA-3') içeren çözeltiler içerisinde 2 saat boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra hibritleşmemiş hedef-DNA iplikçiklerini yüzeyden uzaklaştırmak için PBS yıkama tamponu ile yıkanmış ve azot gazı ile kurutulmuştur.

Hazırlanan hibrit sistemde Hepatit B hastalığının teşhisinde kullanılabilirliğini ve geliştirilen yöntemin hastalık teşhisinde hassasiyetini belirleyebilmek için sitrat indirgeme yöntemi ile sentezlenmiş altın nanoparçacıklar 5'- ucu tiyollenmiş ve 3'- indosiyanın yeşili (ICG, Raman etiketi) ile modifiye edilmiş etiket-ssDNA (5'-SH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-TGG CTT TCA GTT ATA-3'-ICG) ile modifiye edilmiştir: 1 mL sentezlenmiş olan altın nanoparçacık çözeltisi santrifüjlendikten sonra PBS hibridizasyon tamponu ile yıkanmış ve daha sonra 10 µM etiket-ssDNA içeren 0,5 mL PBS hibridizasyon tamponunda dispers edilmiş ve karışım oda sıcaklığında 2 saat karıştırılmıştır. Bu süre sonunda parçacıklar santrifüjlendikten sonra 0,5 mL PBS hibridizasyon tamponunda bekletilmiştir. Daha sonra bu çözeltilerden 100 µL alınıp hedef-ssDNA bağlı silisyum yüzeyler üzerine yüzeyin tamamını kaplayacak şekilde damlatılmış ve 2 saat oda sıcaklığında ve karanlıkta hibridizasyonun gerçekleşmesi sağlanmıştır. Bu süre sonunda silisyum yüzeyler PBS yıkama tamponu ile yıkandıktan sonra azot gazı kurutularak SERS analizine hazır hale getirilmiştir.

## 5.4. Silika Nanoparçacık-Polimer Fırça Hibrit Sistemin Hazırlanması

### 5.4.1. Silika nanoparçacıkların sentezi ve modifiye edilmesi

50 mL etanol içerisinde 4 mL %29'luk  $\text{NH}_4\text{OH}$  konulduktan sonra elde edilen çözelti 60 °C'de 200 rpm hızında 30 dakika boyunca karıştırılmıştır. Daha sonra bu çözelti içersine 1,5 mL TEOS ilave edildi ve çözelti bu sıcaklıkta 24 saat boyunca karıştırılmıştır. Bu süre sonunda elde edilen viskoz çözelti oda sıcaklığına kadar soğutulmuş ve oluşan parçacıklar 9000 rpm'de 30 dakika boyunca santrifüjlenerek parçacıklar saflaştırılmış ve en son 50 mL etanol içerisinde dağıtılmıştır.

Silika nanoparçacıklar üzerine ilk olarak 3-iyodopropil trimetoksisilan (IPTS) bağlanmıştır. IPTS bağlamak için 100 mg silika nanotanecek 50 mL toluen içinde dispers edildikten sonra 1 mL IPTS ve 100  $\mu\text{L}$  trietil amin (katalizör) eklenmiştir. Daha sonra elde edilen çözelti geri soğutucu altında, karanlıkta ve azot atmosferinde 8 saat boyunca kaynatılmıştır. Bu süre sonunda çözelti oda sıcaklığına soğutulmuş ve tanecikler 9000 rpm'de 30 dakika boyunca üç kez santrifüjlenmiş ve her bir santrifüj işleminden sonra tanecikler etanol ile yıkanmıştır. Daha sonra tanecikler oda sıcaklığında ve vakumda bir gece boyunca kurutulmuştur.

### 5.4.2. Yüzeyde başlatılan RCTP yöntemi ile poli(glisidil metakrilat) fırçaların hazırlanması

Silika nanoparçacıklar IPTS ile modifiye edildikten sonra yüzeyde başlatılan RCTP yöntemiyle PGMA polimer fırçalar sentezlenmiştir. Polimerleşme hem parçacık yüzeyinde hem de çözelti içerisinde gerçekleştirilmiştir. Bunun için monomer olarak glisidil metakrilat (GMA), polimerleştirmede sönümlenmiş polimer türlerin oluşması için düşük mol kütleli alkil iyodür olarak feniletil iyodür (PE-I), katalizör, aktivatör veya zincir transfer ajanı olarak adlandırılan



N-iyodo süksinimit (NIS), polimerleşmede başlatıcı olarak azobis izobütironitril AIBN ve çözücü olarak DMF kullanılmıştır.

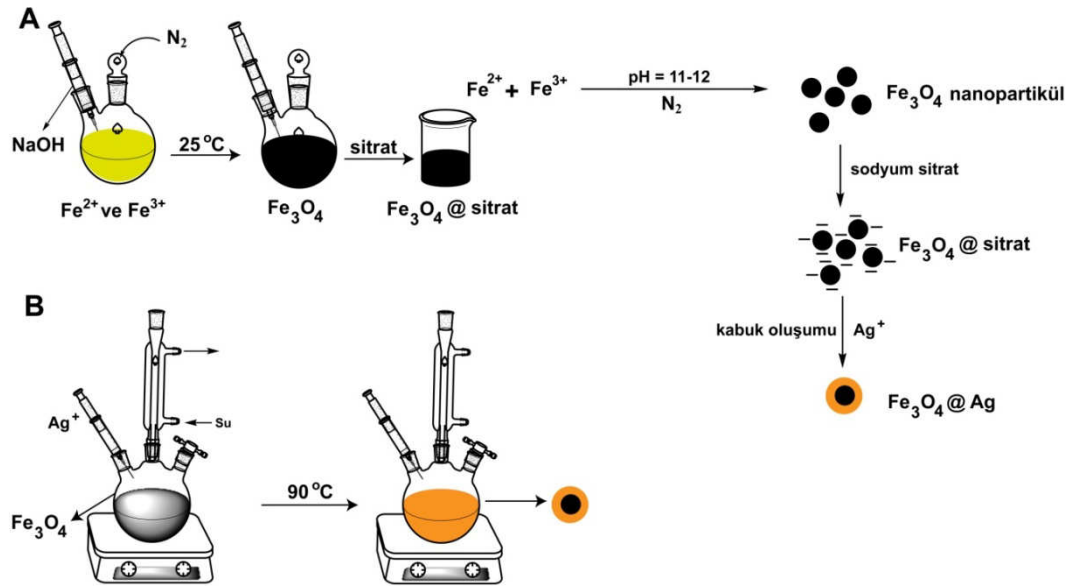
$[GMA]_0/[PE-I]_0/[AIBN]_0/[NIS]_0 = 30/0,3/0,1/0,01$  olacak şekilde 30 mL DMF stok çözeltisi hazırlanmıştır. Daha sonra bu çözelti 6 eşit hacimli vialler içerisine konulmuştur. Her bir vial daha sonra 20 mg silika nanoparçacık konulmuştur. Her bir vial ultrasonik banyoda 30 dakika boyunca sonike edilmiş ve aynı zamanda sistemden azot gazı geçirilerek çözünmüş oksijenin uzaklaşması sağlanmıştır. Bu süre sonunda vialler 80 °C'ye ısıtılmış yağ banyosuna konulmuş ve polimerleşme başlatılmıştır. Belirli zaman aralıklarında (1-10 saat) vialler yağ banyosundan alınmış ve sistemin ağzı açılarak sıvı azot içine daldırılarak polimerleşmenin aniden durması sağlanmıştır. Örnekler oda sıcaklığına getirildikten sonra çözeltiden bir miktar alınıp 6000 rpm'de 30 dakika boyunca santrüj edilmiş ve üst faz olarak kalan sıvı  $^1H$ -NMR analizi için hazır hale getirildikten sonra her bir zaman aralığına ait % dönüşümler belirlenmiştir. Parçacıklardan çözeltide oluşan polimerlerin uzaklaşması için DMF ile 6 kez yıkanmıştır. Tüm yıkama çözeltileri birleştirilmiş ve soğuk metanol ile çözeltide oluşan polimerlerin çökmesi sağlandıktan sonra jel geçirgenlik kromatografisi (GPC) analizi için hazır hale getirildi. Elde edilen PGMA kaplı silika nanoparçacıklar ise ( $SiO_2@PGMA$ ) vakumda kurutuldu.

### 5.5. $Fe_3O_4$ ve $Fe_3O_4@Ag$ Nanoparçacıkların Sentezi

$Fe_3O_4$  nanoparçacıklar,  $Fe(II)$  ve  $Fe(III)$  iyonlarının oranı alkali çözelti içerisinde 0,5 tutularak, bu iyonların birlikte çöktürülmesi ile sentezlenmiştir [Gupta ve ark., 2005]. 1,28 M  $FeCl_3$  ve 0,64 M  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ , 50 mL deiyonize su içerisinde çözüldükten sonra demir tuzları çözünene kadar şiddetli bir şekilde karıştırılmıştır. Daha sonra elde edilen çözelti içerisine 100 mL 1M NaOH çözeltisinden 40 dakika boyunca damla damla ilaveler yapılmış ve karıştırma işlemine 1 saat devam edilmiştir. NaOH eklenmesiyle oluşan

demir tuzlarının ileri derecede yükseltgenmesini önlemek için reaksiyon azot gazı atmosferinde gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen demir tuzları 4000 rpm de 5 dakika boyunca santrifüj işlemi üç defa tekrar edildikten sonra çözelti içerisinde 2M  $\text{HClO}_4$  ile yıkanmış ve azot atmosferinde 3 saat bekletilerek  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  parçacıklar elde edilmiştir. Oluşan siyah çözelti 20 dakika boyunca 10000 rpm hızında santrifüjlenerek aşırı miktardaki asitin uzaklaşması sağlanmıştır. Oluşan demir hidroksit tuzlarının kontrollü bir şekilde yükseltgenmesiyle manyetik özelliğe sahip demir parçacıkları oda koşullarında sentezlenmiştir (Şekil 5.2). Elde edilen nanoparçacıkların su içerisindeki kararlılığını artırabilmek için demir nanoparçacıkların etrafı sitrat grubuyla kaplanmıştır. Bunun için bir üst aşamada oluşan parçacıklar ilk önce 125 mM sodyum sitrat çözeltisi ile üç kez yıkanmış ve en son parçacıklar 125 mL 125mM sodyum sitrat çözeltisi içerisinde dağıtılmıştır.



Şekil 5.2. Parçacık sentezlerinin şematik gösterimi: (a)  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparçacıklar (b)  $\text{Fe}_3\text{O}_4 @ \text{Ag}$  nanoparçacıklar.

$\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparçacıkları sentezinin ardından manyetik parçacıklar üzerine sitrat indirgeme yöntemiyle gümüş tabakası ile kaplanmıştır. Yukarıda

sodyum sistrat çözeltisi içerisinde dispers edilen çözeltiden 1 mL alınıp, 0,02 g/L sodyum sitrat içeren 100 mL su içerisine ilavesinin ardından karışım ultrasonik banyoda 30 dakika boyunca sonike edilmiştir. Ardından, karışım kaynama sıcaklığına getirilmiş ve karışım kaynamaya başladığında 5 mL 12,5 mM  $\text{AgNO}_3$  çözeltisi ilave edilmiştir. Karışım 15 dakika daha kaynatıldıktan sonra oda sıcaklığına soğutulmuştur. Elde edilen açık turuncu renkli karışımdan parçacıklar mıknatıs yardımıyla toplanmış ve önce su daha sonra etanol ile üç kez yıkanmıştır. Mıknatısla toplanan tanecikler oda sıcaklığında, karanlıkta ve vakumda kurutulmuştur. Yapılan deneysel işlemler Şekil 5.2'de şematize edilmiştir.

### 5.6. Sandviç Kompleksin Hazırlanması

Manyetik gümüş nanoparçacıklar sentezlendikten sonra “sandviç kompleks”te bileşen olarak kullanılabilmesi için Raman etiketi (merkaptobenzoik asit) ve anti-CEA ile modifiye edilmiştir. Bunun için 5 mg manyetik gümüş nanoparçacık, 25 mL etanol içerisinde dispers edildikten sonra çözelti içerisinde 1 mM olacak şekilde 4-merkaptobenzoik asit (MBA) ilave edildi ve karışım oda sıcaklığında ve karanlıkta 24 saat boyunca döner karıştırıcıda karıştırılmıştır. Bu süre sonunda parçacıklar mıknatıs yardımıyla toplandıktan sonra üçer kez sırasıyla etanol, etanol/su, su ve fosfat tamponu ile (PBS, pH 7,4) yıkanmış ve en son 5 mL PBS tamponu içinde dispers edilmiştir. Daha sonra bu karışımdan 1 mL alınmış ve 10  $\mu\text{L}$  2mg/mL anti-CEA içeren fosfat tamponu ilave edilmiştir. Elde edilen karışım oda sıcaklığında 1 saat boyunca karıştırılmıştır. Bu süre sonunda parçacıklar mıknatıs yardımıyla toplanıp PBS tamponu ile üç kez yıkanmıştır. Manyetik gümüş parçacığı üzerinde kalan boş yerleri doldurmak ve ayrıca spesifik olmayan etkileşimleri engellemek için karışıma 10  $\mu\text{L}$  serum albumin (ağırlıkça %2 lik çözeltisi) ilave edilerek oda sıcaklığında 30 dakika boyunca karıştırılmıştır. Bu süre sonunda parçacıklar mıknatıs yardımıyla toplanmış ve 1 mL PBS tamponu içerisinde dağıtılmıştır.

Manyetik gümüş nanoparçacıklar üzerine anti-CEA bağlandıktan sonra PGMA fırça bağlı silika nanoparçacıklar üzerine de ilk olarak anti-CEA proteini bağlanmıştır. Bunun için yukarıda anlatılan işlemlerin aynısı yapılmıştır. Anti-CEA kaplı silika tanecikler, farklı derişimlerde CEA içeren çözeltiler (0-120 ng/mL) içersinde 1 saat bekletildikten sonra parçacıklar santrifüj yardımıyla toplanmış ve PBS tamponu ile yıkanmıştır. Ardından parçacıklar fosfat tamponu içinde dağıtılmıştır. Antijen kaplı silika nanoparçacık çözeltisinden 500 µL ve antikor kaplı manyetik gümüş nanoparçacık çözeltisinden 500 µL karıştırılmış ve karışım oda sıcaklığında 1 saat boyunca döner karıştırıcıda karıştırılmıştır. Elde edilen manyetik sandviç kompleks mıknatıs yardımıyla toplandıktan sonra PBS ile yıkanmış ve elde edilen kompleks yapı silisyum disk yüzeyine damlatılarak SERS ile karakterize edilmiştir.

## **6. YÜZEYLERİN VE NANOPARÇACIKLARIN KARAKTERİZASYONU**

### **6.1. X-Işınları Fotoelektron Spektroskopisi (X-ray Photoelectron Spectroscopy, XPS)**

Yüzeylerin kimyasal analizi SPEC ESCA (Berlin, Almanya) marka Mg/Al çift anotlu XPS sistemi ile Mg K $\alpha$  uyarılması ( $h\nu = 1245$  eV) kullanılarak  $10^{-9}$  torr ultra yüksek vakumda yapılmıştır.

### **6.2. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spektroskopisi**

RAFT ajanı sentezi sırasında oluşan ara ürünler, RAFT ajanının ve silika nanoparçacıkların yapısal karakterizasyonunda Thermo Nicolet 6700 ATR (attenuated total reflectance, birleştirilmiş toplam yansıtımlı) aksesuarlı FTIR spektrofotometresi (ATR-FTIR) ile yapılmıştır. Silisyum disk yüzeyindeki her bir modifikasyon sonrasında meydana gelen yapısal değişiklikler sıvı azot ile soğutulan CdTe dedektörlü Thermo Nicolet 6700 Grazing Angle aksesuarlı FTIR (GA-FTIR) spektrofotometresi kullanılmıştır.

### **6.3. Elipsometre**

Her bir modifikasyon sonrasında silisyum disk yüzeylerin kalınlıklarında meydana gelen değişiklikler Elipsometri (T&T) analizi ile belirlenmiştir. 633 nm dalga boyunda lazer kaynağı kullanılmış ve ölçümler 70°'lik açıda alınmıştır. Analiz sırasında ölçüm sonuçlarının alınabilmesi için Si/SiO<sub>2</sub>/Organik tabaka/hava optik modeli oluşturulmuştur. Oluşturulan bu modelde kırılma indisleri sırasıyla 3,8650; 1,4605; 1,47; 1,0 olarak alınmıştır.

#### **6.4. Atomik Kuvvet Mikroskobu (Atomic Force Microscopy, AFM)**

Hazırlanan yüzeylerin morfolojileri Park System XE-70 sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ölçümler yarı-kontakt (tapping) mod ile frekans aralığı 995-1001 kHz olan silisyum kristal yapısındaki iğne sensörler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen görüntüler XEI version 7.1 paket programı ile analiz edilerek yüzey pürüzlülüğü (RMS) belirlenmiştir.

#### **6.5. Su Değme Açısı Ölçümleri**

Değme açısı ölçümleri flaş kamera aksesuarlı Krüss DSA-100 marka otomatik ganimetre ile yapılmıştır. Su değme açıları oda sıcaklığında ve yüzeylere 5,0  $\mu$ L su damlatılarak gerçekleştirilmiştir. Su değme açıları DAS3 paket programı ile otomatik olarak belirlenmiştir.

#### **6.6. Floresans Mikroskobu**

Yüzeyler üzerinde hibritleşmenin gerçekleşip gerçekleşmediği Floresans mikroskobu (Olympus BX51) ile araştırılmıştır. Ölçümler 100 büyütme ile yeşil filtre kullanılarak karanlıkta alınmıştır. Sistemde ışık kaynağı olarak ksenon lamba kullanılmıştır.

#### **6.7. Yüzeyde Güçlendirilmiş Raman Spektroskopisi (Surface Enhanced Raman Spectroscopy, SERS)**

Proje kapsamında DeltaNu Examiner Raman Mikroskop sistemi (A.B.D.) kullanılmıştır. Mikro-raman sistemi 785 nm lazer ve CCD detektör, optik sistemlerini içermektedir. Enstrüman parametreleri olarak: 20x objektif, yaklaşık 30  $\mu$ m lazer spot çapı, 150 mW lazer gücü ve 10 saniye örnekleme süresi kullanılmıştır.

### **6.8. Geçirimli Elektron Mikroskobu (Transmission Electron Microscopy, TEM)**

Altın, silika ve manyetik gümüş nanoparçacıkların TEM karakterizasyonunda 120 kV hızlandırıcı voltaj altında çalışan FEI Tecnai G<sup>2</sup> Spirit cihazı kullanılmıştır. Örnekler karbon kaplı bakır ızgaralar üzerine damlatılıp, oda sıcaklığında bir gece boyunca kurutulduktan sonra karakterize edilmiştir.

### **6.9. Titreşen Örnek Magnetometresi (Vibrating Sample Magnetometer, VSM)**

Manyetik nanoparçacıkların doygunluk mıknatıslanma değerleri oda sıcaklığında Fiziksel Ölçüm Sistemleri (PPMS, Quantum Design) kullanılarak karakterize edilmiştir.

### **6.10. Jel Geçirgenlik Kromatografisi (Gel Permeation Chromatography, GPC)**

Çözelti ortamında sentezlenen polimerlerin mol kütleleri ve mol kütlesi dağılımları  $0,5 \times 10^3$  –  $5,16 \times 10^4$  g/mol polistiren (Shodex) standartlar kullanılarak GPC ile ölçülmüştür (Waters, Breeze). GPC ölçümleri Waters R410 Differansiyel Refraktif indeks dedektör ve ikili HPLC pompa sistemi kullanılarak Styragel kolonlarda THF çözücü sisteminde, 1,0 mL/dakika akış hızında, 25 °C'de gerçekleştirilmiştir. Mol kütleleri Universal Kalibrasyon yöntemi ile belirlenmiştir.

## 7. SONUÇ VE TARTIŞMA

### 7.1. RAFT Ajanının Karakterizasyonu

RAFT polimerleşme yönteminin temeli serbest radikal polimerleşme yöntemine dayanır. Bir başka deyişle RAFT yönteminin serbest radikal polimerleşme ekipmanları ile çalışması sonucu polimerleştirme yapılırken RAFT ajanının doğru seçilmesi kontrolü sağlamada en önemli basamaktır. Literatürde birçok RAFT ajanının bulunması ile birlikte her RAFT ajanı her monomer ile kullanılamamaktadır. Genel bir deyişle, metakrilat/metakrilamit türevi monomerlerini polimerleştirmede kullanılan RAFT ajanı akrilat/akrilamit türevi monomerleri polimerleştirmede kullanılabilir ancak akrilat/akrilamit monomerlerinin polimerleştirmede kullanılan ajanlar ile metakrilat/metakrilamit monomerlerini polimerleştirmede kullanılamaz. Bunun en önemli sebebi RAFT polimerleşmesinde ara radikal kararlılığının ajan yapısı ile birlikte monomerin yapısına da direkt olarak bağlı olmasındandır.

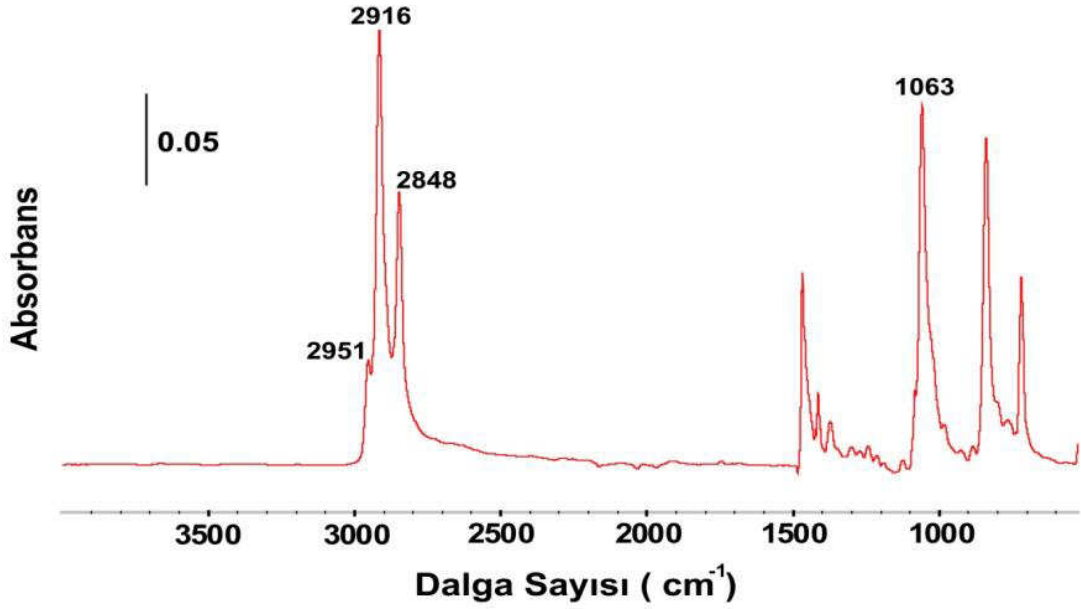
Bu çalışmada RAFT ajanı olarak metakrilat/metakrilamit monomerler için uygun olan CDSP tercih edilmiştir. CDSP karakterizasyonundan önce izole edilebilen ve yüksek verimde elde edilen ara ürünlerinden biri olan bis (dodesil sulfanil tiyokarbonil)disülfür (BDTD)'ün yapısal karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

#### 7.1.1. BDTD'nin yapısal karakterizasyonu

*ATR-FTIR analizi:* Sentez ortamından kolaylıkla izole edilebilen ve yüksek verimle oluşan BDTD'nin ilk olarak ATR-FTIR analizi gerçekleştirilmiştir. Şekil 7.1'de BDTD'ye ait ATR-FTIR spektrumu görülmektedir. Spektrumdan da görüldüğü gibi  $2951\text{ cm}^{-1}$  deki bant metil grubundaki  $\text{-C-H}$  asimetrik gerilme titreşimine karşılık gelen bant,  $2916$  ve  $2848\text{ cm}^{-1}$  de bulunan bantlar metilen grubunda bulunan  $\text{-C-H}$  asimetrik ve simetrik gerilme titreşimlerine karşılık



gelen bantlar bulunmaktadır.  $1063\text{ cm}^{-1}$  de yer alan bant  $\text{--C=S}$  grubundaki  $\text{--C-S}$  gerilmesine ait banttır.



Şekil 7.1. BDTD'nin ATR-FTIR spektrumu.

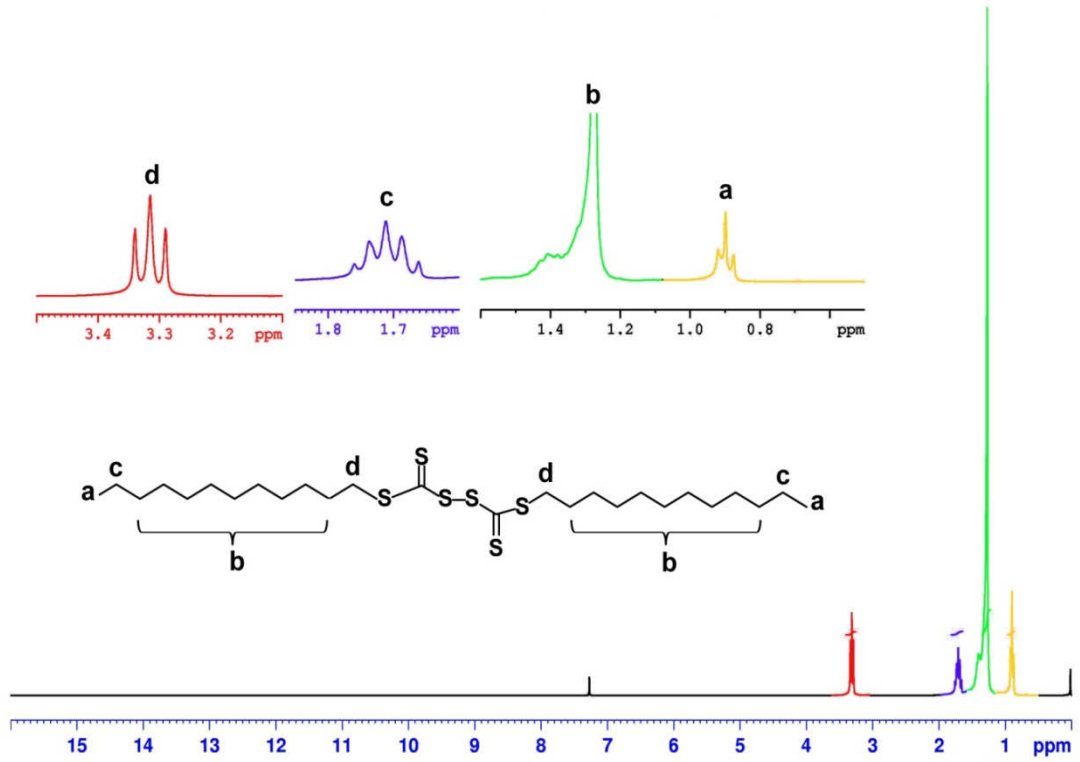
$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) Analizi: Şekil 7.2'de BDTD'ye ait  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu verilmiş ve elde edilen kimyasal kaymalar ve bu kaymalara karşılık gelen protonlar aşağıda açıklanmıştır.

$\delta = 0,90$  ppm de bulunan üçlü pik zincir uçlarında bulunan alifatik  $\text{--CH}_3$  grubundaki hidrojenlere aittir (6H).

$\delta = 1,30$  ppm de bulunan geniş birli pik  $\text{--CH}_2$  grubundaki hidrojenlere aittir. (36H).

$\delta = 1,71$  ppm de bulunan çoklu pikler metil grubuna komşu  $\text{--CH}_2$  grubundaki hidrojenlere aittir (4H).

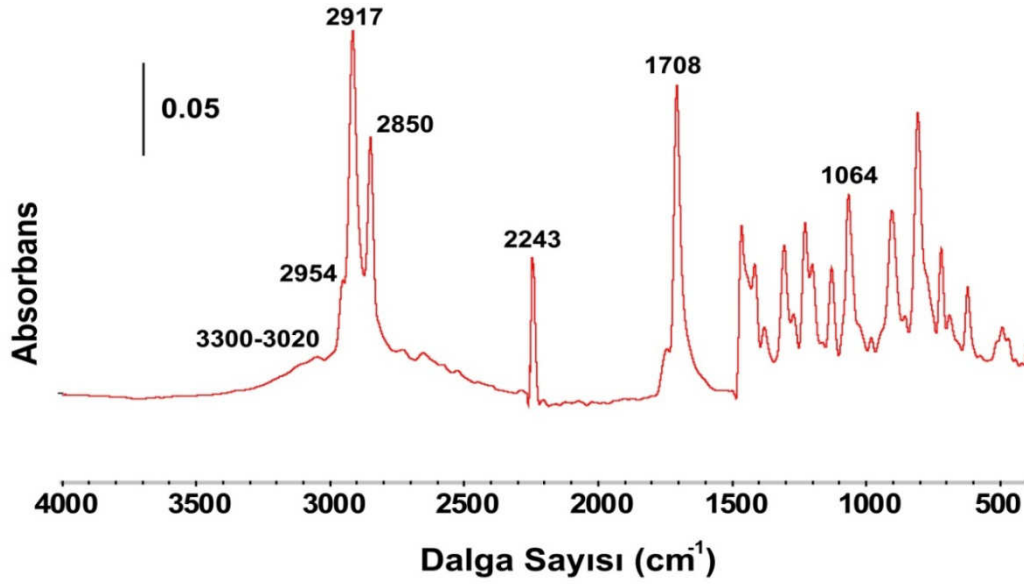
$\delta = 3,31$  ppm de bulunan üçlü pikler  $\text{--CH}_2\text{S}$  grubundaki hidrojenlere ait piklerdir (4H).



Şekil 7.2. BDTD ye ait  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu.

### 7.1.2. CDSP'nin yapısal karakterizasyonu

*ATR-FTIR Analizi:* BDTD'nin yapısal karakterizasyonu ile yüksek saflıkta sentezlendiği anlaşıldıktan sonra BDTD ve ACVA arasında meydana gelen radikalik reaksiyondan yararlanılarak CDSP sentezi gerçekleştirilmiştir. BDTD'nin karakterizasyonunda olduğu gibi ilk olarak ATR-FTIR analizi yapılmış ve sonuçta elde edilen spektrum Şekil 7.3'de verilmiştir. Spektrumdan da görüldüğü gibi  $3300\text{-}3020\text{ cm}^{-1}$  aralığında görülen bant –COOH grubuna,  $1708\text{ cm}^{-1}$  görülen bant –COOH grubundaki C=O grubuna ait banttır.  $2954\text{ cm}^{-1}$  de görülen bant metil grubundaki –C-H asimetric gerilme titreşimine karşılık gelen bant,  $2917$  ve  $2850\text{ cm}^{-1}$  de bulunan bantlar metilen grubunda bulunan –C-H asimetric ve simetric gerilme titreşimlerine karşılık gelen bantlar bulunmaktadır.  $2243\text{ cm}^{-1}$  de gözlenen bant –CN grubuna ait olup  $1064\text{ cm}^{-1}$  gözlenen bant C=S grubuna aittir.



Şekil 7.3. CDSP'ye ait ATR-FTIR spektrumu.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) Analizi: Şekil 7.4'de CDSP'ye ait  $^1\text{H-NMR}$  spektrumu verilmiş ve elde edilen kimyasal kaymalar ve bu kaymalara karşılık gelen protonlar aşağıda açıklanmıştır.

$\delta = 0,90$  ppm de bulunan üçlü pik alifatik zincir grubunda bulunan  $-\text{CH}_3$  grubundaki hidrojenlere aittir (3H).

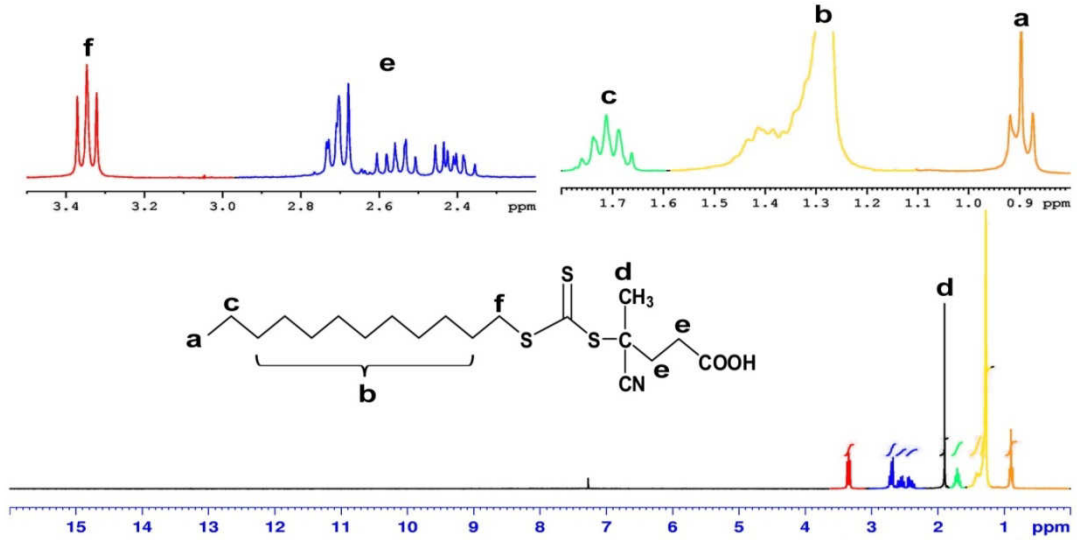
$\delta = 1,30$  ppm de bulunan geniş birli pik alifatik zincir grubundaki  $-\text{CH}_2$  gruplarındaki hidrojenlere aittir (18H).

$\delta = 1,71$  ppm de bulunan çoklu pik alifatik zincirdeki metil grubuna komşu  $-\text{CH}_2$  grubundaki hidrojenlere aittir (2H).

$\delta = 1,90$  ppm de bulunan birli pik valerik asit grubundaki  $-\text{CH}_3$  grubundaki hidrojenlere aittir (3H).

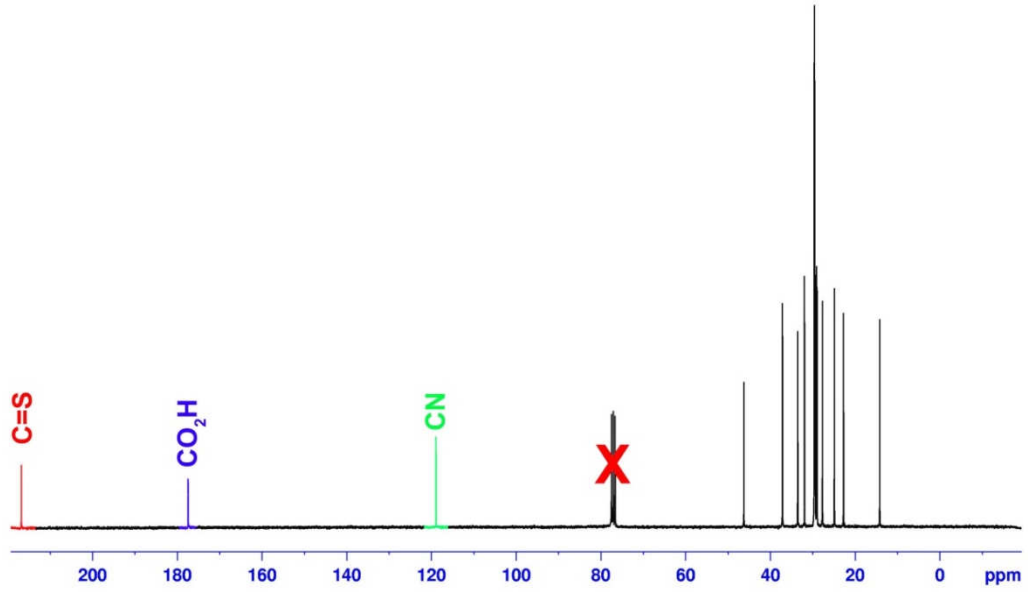
$\delta = 2,30-2,80$  ppm arasında bulunan çoklu pik asit grubuna komşu  $-\text{CH}_2\text{CH}_2$  grubundaki hidrojenlere aittir (4H).

$\delta = 3,38$  ppm de bulunan üçlü pik  $-\text{CH}_2\text{S}$  grubundaki hidrojenlere aittir (2H).



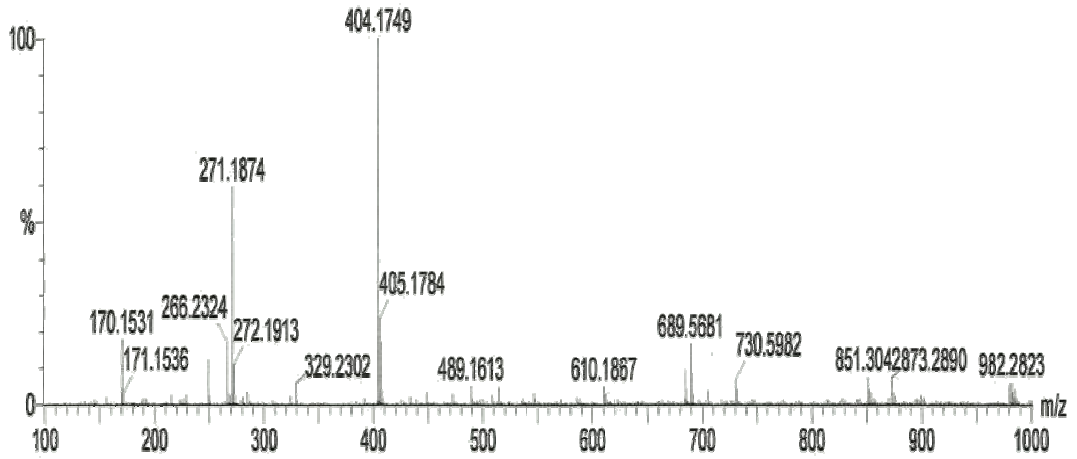
Şekil 7.4. CDSP'ye ait  $^1\text{H}$ -NMR spektrumu.

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz) Analizi : CDSP'ye ait  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu Şekil 7.5'de verilmiştir. Spektrumdan da görüldüğü gibi  $\delta = 216,79$  ppm de görülen  $-\text{C}=\text{S}$  grubundaki,  $\delta = 176,85$  ppm de görülen  $-\text{COOH}$  grubundaki,  $\delta = 118,88$  ppm de görülen pik  $-\text{CN}$  grubundaki  $\delta = 46,21$  ppm de görülen pik  $-\text{CH}_3-\text{C}-\text{CN}$  grubundaki karbon,  $\delta = 37,10$  ppm de  $-\text{CH}_2\text{S}$  grubundaki,  $\delta = 33,51$  ppm de görülen pik  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$  grubundaki,  $\delta = 22,68$  ppm de görülen pik  $-\text{CH}_3-\text{C}(\text{S})-\text{CN}$  grubundaki,  $\delta = 28,92$  ppm de görülen pik  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$  grubundaki ve  $\delta = 14,11$  ppm de görülen pik alifatik zincir ucundaki  $-\text{CH}_3$  grubundaki karbon atomlarına aittir. Yapıda bulunan diğer metilen grupların kimyasal kayma değerleri  $\delta = 31,91$ ;  $29,61$ ;  $29,53$ ;  $29,45$ ;  $29,41$ ;  $29,33$ ;  $29,06$ ;  $28,98$ ;  $27,66$ ;  $24,86$  ppm olarak bulunmuştur.



Şekil 7.5. CDSP'ye ait  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumu.

*CDSP'nin Kütle Spektrumu:* CDSP'ye ait kütle spektrumu Şekil 7.6'da verilmiştir. Bileşiğin kütle spektrumunda  $[\text{M}+\text{H}]^+$  piki 404,1749 da gözlenmiştir. Teorik molekül kütlesi ise 403,1752 olarak belirlenmiştir.



Şekil 7.6. CDSP'ye ait LC-MS spekturumu.

Yapılan tüm yapısal karakterizasyonu sonucu RAFT ajanı olarak kullanılacak olan CDPS'nin yüksek saflıkta sentezlendiği anlaşılmıştır.

## 7.2. Silisyum Disk Yüzeylerinde APTS Molekülünün Kendiliğinden Düzenlenen Tek Tabakalarının Oluşumu

Belirli bileşenlerin basit ve düzensiz bir yapıdan daha düzenli, karmaşık ve belirli bir fonksiyona sahip bir yapı oluşturmaları olarak tanımlanabilecek olan kendiliğinden düzenlenme kavramı doğada kusursuz bir şekilde işlemektedir. Yaşayan canlı bir hücre kendiliğinden düzenlenme kütüphanesi gibi düşünülebilir. Buna en çarpıcı örnek iki farklı DNA sarmalının hidrojen bağları ile bir araya gelip belirli bir fonksiyona sahip DNA çift sarmalın oluşması verilebilir. Diğer bir örnek ise multi-enzim komplekslerinin oluşmasıdır. Bu oluşumun ilk basamağında alt birimleri oluşturacak olan enzimler molekül içi kendiliğinden düzenlenme ile katlanarak hidrofobik aminoasit yan grupları merkeze doğru, hidrofilik aminoasit yan gruplar ise dışarıya doğru yönelerek bir katlanma işlemi gerçekleştirilir. Daha sonra bu alt birimler moleküller arası kendiliğinden düzenlenme ile bir araya gelerek multi-enzim kompleksini oluştururlar [Zhang ve ark., 2002].

Bileşenlerin bağımsız olduklarında gösterdikleri fonksiyonların kendiliğinden düzenlenme sonucu bir üst yapıya geçerek daha farklı ve daha iyi özellikler sahip olduğunun anlaşılması sonucu bilim adamları kendiliğinden düzenlenmeden esinlenmiş ve “kendiliğinden düzenlenen tek tabakalar” adında sistemler oluşturmuşlardır. Kendiliğinden düzenlenen tek tabakalar oluşumuna ilk örnek Langmuir-Blodgett film tekniği verilebilir. Bu teknikte amfifilik moleküllerin hava-su ara yüzeyinde düzenlenmesi sağlandıktan sonra bu düzenlenmiş yapının bir yüzeye doğru sıkıştırılması ile tekli tabakalar elde edilir [Knokler ve ark., 1999]. Bu teknik ile oluşturulan tabakaların yüzeylere hidrojen bağı, van der Waals kuvvetleri gibi kovalent olmayan etkileşimler ile yüzeylere bağlı olması tek tabakaların kararlılığının düşük olmasına neden olmaktadır. Günümüzde hala kullanılan bu yöntemin diğer bir dezavantajı ise biyosensör uygulamalarında özellikle protein adsorpsiyonu çalışmalarında proteinin tersiyer yapısının çok kolay bir şekilde bozularak denatüre olmasına ve sonuçta sensörün düşük hassasiyette

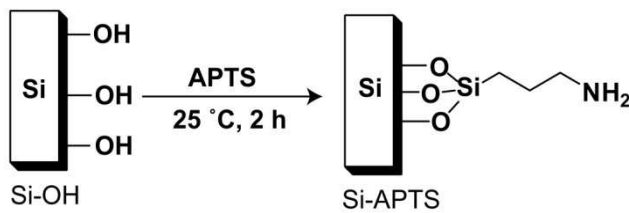
çalışmasına neden olmaktadır [Owaku ve ark., 1995]. Bu yöntemin geliştirilmesinin ardından 1983 yılında Nuzzo ve Allara'nın altın yüzeyi üzerinde dialkildisülfürlerin kendiliğinden düzenlenmesi sonucu hemen hemen kristalin yapılar oluşturduğunu göstermişlerdir [Nuzzo ve Allara,1983]. Altın yüzeyinde oluşturulan tekli tabakaların uzun zaman kararlı olmasına rağmen yüksek sıcaklıklarda yüzeyden moleküllerin desorbe olması bu yöntemle hazırlanan yüzeylerin kullanım alanını kısıtlamaktadır [Yamada ve ark., 2000].

Kendiliğinden düzenlenen tekli tabaka hazırlanmasında sıklıkla kullanılan diğer yüzeyler ise metal oksit yüzeylerdir. Bu yüzeyler üzerinde düzenlenmeye uğrayacak moleküllerin genel olarak  $R_nSiX_{(4-n)}$  formülüne sahip olup iki farklı fonksiyonel grup içeren organosilan molekülleridir. Burada R hidrolize dayanıklı bir grup olup hazırlanan yüzeylerin fonksiyonelliğinden sorumludur. X ise kolayca hidroliz olabilen ve molekül yüzeyler üzerine bağlanmasından sorumludur. Bu tip moleküllerin silisyum yüzeyine kendiliğinden düzenlenmesi dört adımda gerçekleşir: (1) Yüzeyler üzerinde bulunan oksit tabakasının çeşitli temizleme yöntemleri ile  $-OH$  gruplarına çevrildikten sonra bu grupların hidrofilik olmasından kaynaklanan yüzeyler üzerinde birkaç tabaka kalınlığında su molekülleri bulunur. Organosilanda bulunan X grubu eğer metoksi/etoksi grubu ise metanol/etanol çıkışı ile X grubu eğer klor atomu ise HCl çıkışı ile hidroliz olarak  $Si(OH)_3$  grubuna dönüşürler, (2) Hidroliz olan bu gruplar yüzeye daha da yaklaşırlar, (3) Organosilan molekülündeki hidroksil grubu ile yüzey üzerindeki hidroksil grupları arasında ilk reaksiyon gerçekleşir ve organosilan molekülleri yüzeye kovalent bağlanmış olur, (4) Kovalent bağlanmış olan silan molekülleri arasında kondensasyon reaksiyonu gerçekleşerek polisiloksan ağ örgüsü oluşur ve silan moleküllerinin silisyum disk yüzeyine kovalent bağlanması tamamlanmış olur [Tillman ve ark., 1988].

Yukarıda anlatılan mekanizma organosilan moleküllerin yüzeyde kendiliğinden düzenlenmesine en klasik yaklaşım olup mekanizma üzerine

alışmalar günümüzde devam etmektedir. Mekanizmanın tam aydınlatılmamış olmasının sebebi bu tip moleküllerin yüzeyler üzerinde kendiliğinden düzenlenmesini etkileyen bir çok parametrenin olmasından kaynaklanmaktadır. Örneğın organosilan molekülündeki hidrolize olabılen grup sayısı, organosilan molekülünün şekil, büyüklük ve kimyasal yapısı, yüzey üzerinde adsorbe olmuş su miktarı, çözücü türü, yüzey gerilimi, geometrik yapısı, organosilani çözme kapasitesi, adsorbe olmuş suyu ekstrakte gücü ve uçuculuğu, organosilan molekülünün derişimi, sıcaklık, çözelti yaşı, adsorpsiyon süresi ve yüzeyde oluşturulan hidroksil gruplarının sayısı gibi bir çok parametre doğrudan ya da dolaylı olarak kendiliğinden düzenlenme sürecini etkilemektedir [Netzer ve ark., 1983].

Organosilan moleküllerinin silisyum yüzey üzerinde kendiliğinden düzenlenme sonucu oluşacak olan tekli ya da çoklu tabaka yüzeylerin tüm fizikokimyasal özelliklerini değiştireceğinden ve bu tabaka oluşumunun yeknesak olmamasından dolayı çalışma kapsamında kendiliğinden düzenlenecek olan APTS molekülü için diğer tüm koşullar sabit tutularak sadece süre ve derişim etkisi araştırılmıştır. şekil 7.7'de APTS molekülünün silisyum disk yüzeyinde tek tabaka oluşturması şematik olarak gösterilmiştir.

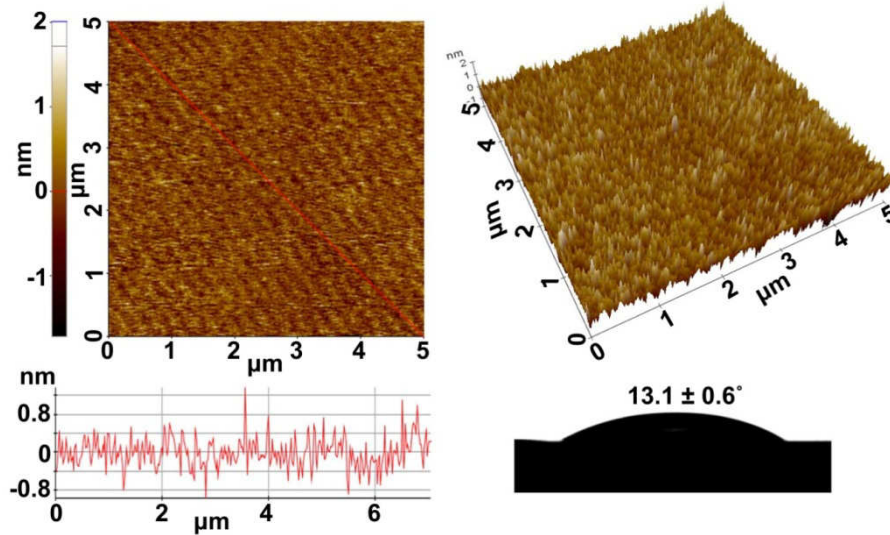


şekil 7.7. Silisyum disk yüzeyinde APTS tek tabaka oluşumunun şematik gösterimi.

APTS molekülünün silisyum yüzeylere bağlanması sağlamak için ilk önce silisyum yüzeyinde bulunan organik kirlilikler asidik ve bazık yıkamalarla yüzey üzerinden temizlenmiş ve yüzeyler üzerinde hidroksil gruplarının oluşması sağlanmıştır. Hidroksillenmiş yüzeylerin morfoloji AFM analizi ile karakterize edilmiştir. şekil 7.8'de görüldüğü gibi temizlenmiş yüzeyler



oldukça pürüzsüz olup yüzey pürüzlülüğünün bir ölçüsü olan RMS değeri ise 0,22 nm dir. Yüzeylerin su değme açısı ise yaklaşık  $13^\circ$  bulunmuştur. Görüldüğü gibi hidroksillenmiş yüzeyler oldukça hidrofilik özelliğe sahiptir. Bunun en önemli sebebi aktiveleştirilen silisyum yüzeyinde kirliliklerin kalmaması ve yüzeyde çok sayıda hidroksil grubunun oluşması şeklinde yorumlanabilir. Literatürde hidroksillenmiş yüzeylerin su değme açı değerleri farklılık göstermektedir. Silisyum yüzeyinde yapılan bir çalışmada temiz silisyum yüzeylerin su değme açılarını  $0^\circ$  olarak bulmuşlardır [Cras ve ark., 1999].



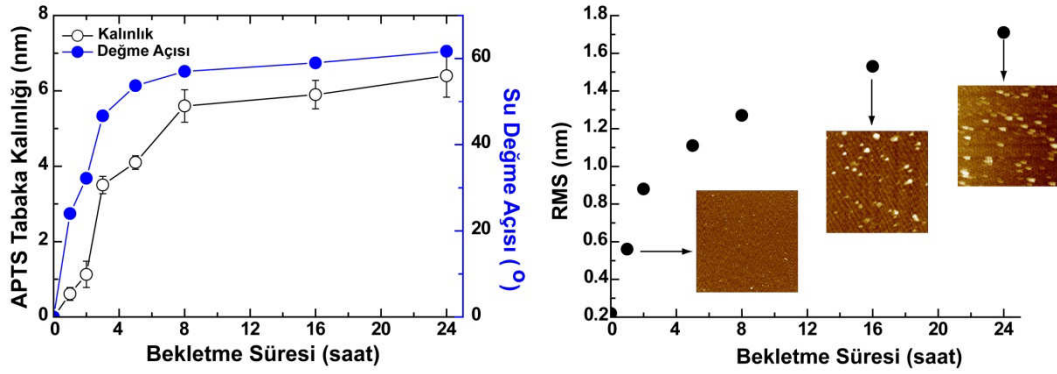
Şekil 7.8. Hidroksillenmiş silisyum diskerin 2D, 3D AFM görüntüleri ile yükseklik dağılım ve su değme açısı görüntüleri.

Yang ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada aktiveleştirilmiş silisyum yüzeylerin su değme açısını  $5^\circ$  olarak bulmuşlardır [Yang ve ark., 2008]. Wang ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada hidroksillenmiş silisyum yüzeyin su değme açısını  $20^\circ$  olarak bulmuşlardır [Wang ve ark., 2005]. Genel olarak hidroksillenmiş silisyum yüzeyin su değme açısının yüzeyin hidrofiliğinden dolayı  $20^\circ$  den az olması gerekmektedir [Kulkarni ve ark., 2005]. Silisyum disk yüzeyine APTS bağlanmadan önce yüzey kalınlığı elipsometre ile karakterize edilmiş ve 2,1 nm olarak bulunmuştur. Elipsometrik ölçümler Si/SiO<sub>2</sub>/organik tabaka/hava elipsometrik modeli kullanılarak

gerçekleştirilmiştir. Oluşturulan model içerisinde yüzey pürüzlülüğü dikkate alınmamıştır. Bu nedenle bu çalışma kapsamında elde edilen kalınlık değerleri kesin kalınlık değil etkin kalınlık olarak düşünülmelidir. Bu doğrultuda silisyum yüzeylerin yüksek kalınlık değerine sahip olması optik modelde yer almayan pürüzlülüğün dolaylı ve/veya analiz sırasında yüzeye adsorbe olan atmosferik kirliliklerden kaynaklanmış olabilir.

Silisyum disk üzerinde aminosilan tek tabakalarını oluşturmak için, hidrosillenmiş yüzeyler, APTS'nin toluende hazırlanmış %1 lik çözeltileri içerisinde çeşitli zaman aralıklarında (0-24 saat) oda sıcaklığında bekletilmiştir. Çözelti içerisinde alınan silisyum yüzeyler üzerinde kimyasal olarak bağlanmayan molekülleri uzaklaştırmak amacı ile yüzeyler 15 dakika boyunca ultrasonik banyoda sırasıyla toluen, toluen/metanol ve metanol ile yıkanmıştır. Daha sonra yüzeyler azot gazı ile kurutulmuştur. Şekil 7.9a' da silisyum disklerin APTS çözeltisi içerisinde bekletme süresine karşılık su değme açıları ve APTS tabaka kalınlıklarının değişimi görülmektedir. Bekletme süresinin artması ile birlikte hem su değme açıları hem de tabaka kalınlıklarında artış meydana gelmiştir. Bekletme süresi 2 saat olduğunda tabaka kalınlığı  $1,13 \pm 0,35$  nm iken yüzeylerin su değme açısı  $32,2 \pm 0,3^\circ$  olarak bulunmuştur. Bekletme süresi 24 saat olduğunda bu değerler sırasıyla  $6,4 \pm 0,57$  nm ve  $61,7 \pm 1,32^\circ$  olarak değişmektedir. APTS molekülünün teorik olarak hesaplanan moleküler uzunluğu yaklaşık 1 nm dir ve su değme açıları genellikle  $22-68^\circ$  arasında değişmektedir [Denise ve ark., 1999]. Buna göre ilk 2 saat sonunda APTS molekülü silisyum disk yüzeyinde tek tabaka şeklinde filmler oluştururken bekletme süresinin artması ile APTS molekülü çoklu tabaka oluşturacak şekilde düzenlenmektedir.

Şekil 7.9b' de bekletme süresine karşılık RMS değerlerinin değişimi görülmektedir. Bekletme süresi 2 saatten düşük olduğunda örneğin bekletme süresi 1 saat olduğunda AFM görüntüsünden de anlaşılacağı üzere yüzeyin büyük bir bölümü silisyumdan oluşmaktadır.



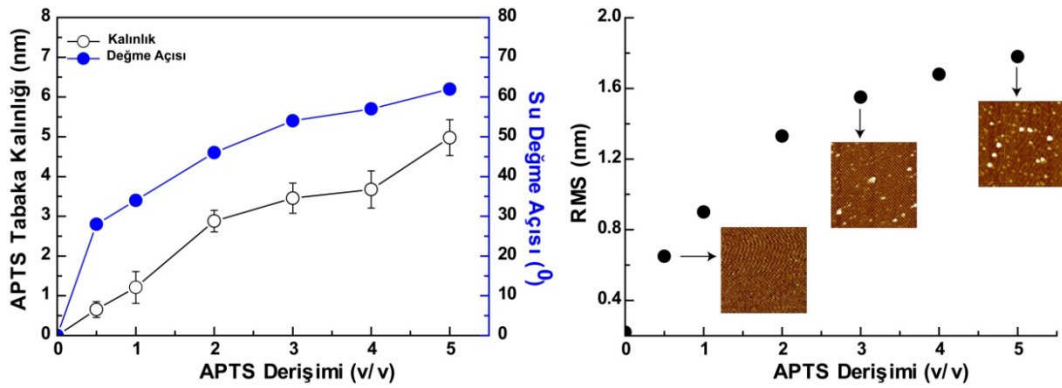
Şekil 7.9. Bekletme süresine karşılık (a) Su değme açısı ve tabaka kalınlığının değişimi, (b) RMS değerinin değişimi (grafik içinde görülen resimler 5  $\mu\text{m}$  x 5  $\mu\text{m}$  alanın AFM görüntüleri, z sakala : 10 nm).

Bu aşamadaki yüzeyin RMS değeri ise 0,56 nm dir. Bekletme süresi 2 saatten fazla olduğunda örneğin 24 saatlik süresinin sonunda AFM görüntüsünden de anlaşılacağı üzere yüzey üzerinde nano-kümelenmeler bulunmaktadır. Bu kümelenmeler sonucu yüzeyin RMS değeri 1,71 nm gibi yüksek bir değere ulaşmaktadır. Bu kümelenmelerin nedeni aminosilan molekülünün çoklu tabakalar şeklinde film oluşturduğunun da kanıtıdır. Su değme açıları, tabaka kalınlıkları ve yüzey morfolojileri dikkate alındığında 2 saatlik sürenin optimum bekletme süresi olduğu anlaşılmaktadır.

Kendiliğinden düzenlenme sürecini etkileyen diğer önemli bir parametre de organosilan derişimidir. Derişimin optimum miktarda olmaması durumunda hem yüzeyde hem çözelti içersinde oligomerleşme meydana gelir. Bunun sonucunda yüzey üzerinde tek tabaka oluşumu yerine yüzey üzerinde çoklu tabaka oluşumu meydana gelerek homojen olmayan yığılaşmalar olur ve böylece oluşacak film özelliklerinde önemli ölçüde değişiklikler olur. Bu yığılaşmaların olmasının en önemli sebebi yüzeyler üzerine adsorbe olmuş su miktarının yüzey üzerine yaklaşan silan molekülünden fazla olması sonucu yüzeyde üzerinde reaksiyona girmeden kalan su çözelti içersinde oligomerleşmeye yol açar [Luzinov ve ark., 2000]. Bunun yanı sıra çözeltide optimum miktardan daha fazla silan molekülü bulunması ise yüzey üzerinde

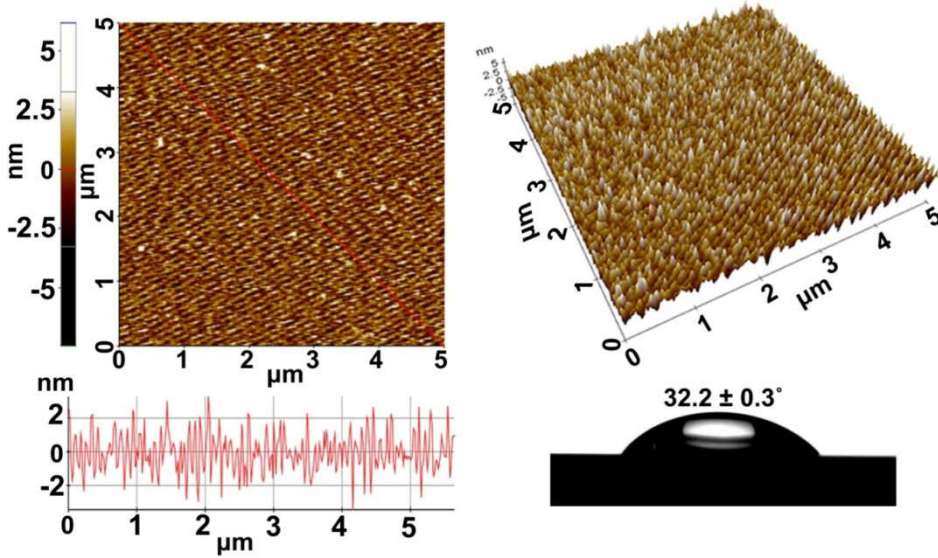
tekli ve çoklu tabaka oluşumuna neden olarak hem düzenli yapıların hem de düzensiz yapıların birlikte bulunmasına yol açacaktır [Demirel ve ark., 2007].

APTS derişiminin kendiliğinden düzenlenmeye olan etkisi hacimce % 0,5-5,0 lik toluen içerisindeki çözeltileri kullanılarak yukarıda elde edilen optimum sürede ve oda sıcaklığında silisyum disklerin bu çözeltiler içerisinde bekletilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Şekil 7.10a'da APTS derişimine karşılık su değme açıları ve tabaka kalınlıklarının değışimi gösterilmektedir. Derişimin %1'in altında olması durumunda örneğin %0,5 lik derişimde yüzey kalınlığı  $0,65 \pm 0,2$  nm iken su değme açısı  $28 \pm 1,1^\circ$  dir. Derişim arttıkça hem su değme açıları hem de yüzey kalınlıklarında artış vardır. Derişim %1 iken bu değerler sırasıyla  $34 \pm 1,3^\circ$ ;  $1,21 \pm 0,4$  nm ve derişim %5 olduğunda sırasıyla  $62 \pm 1,2^\circ$  ve  $4,98 \pm 0,5$  nm değerine ulaşmaktadır. Görüldüğü gibi derişim % 1 olduğunda APTS molekülü tek tabakalı film, derişim çok yüksek olduğunda çok tabakalı (yaklaşık 5 tabaka) film oluşturmaktadır. Şekil 7.10b'de yüzey RMS değerlerinin zamanla değışimi ve AFM görüntüleri bulunmaktadır. Şekilden de görüldüğü gibi derişim ile birlikte RMS değerleri artmaktadır. Derişim %1 den düşük olduğunda RMS değeri düşük olmakla birlikte (RMS = 0,65 nm) düşük yüzey kaplamasına, derişim %5 olduğunda yüksek yüzey kaplamasına sahiptir ancak yüzey üzerinde yığılşmalar meydana geldiğinden moleküler düzenlilik minimum durumdadır. Bu yığılşmalar yüzey üzerinde düzensizliğe sebep olduğunda RMS değeri 1,78 nm değerine ulaşmıştır. Su değme açıları, tabaka kalınlıkları ve RMS değerleri dikkate alındığında 2 saatlik bekletme sürenin optimum süre ve %1 lik APTS derişiminin optimum derişim olduğu anlaşılmaktadır.



Şekil 7.10. APTS derişimine karşılık, (a) Su değme açısı ve tabaka kalınlığının değışimi, (b) RMS değerin değışimi (grafik içinde görülen resimler 5  $\mu\text{m}$  x 5  $\mu\text{m}$  alanın AFM görüntüleri, z skala: 10 nm).

Şekil 7.11'de APTS molekülünün %1 lik derişim ve 2 saatlik bekletme süresi sonunda elde edilen yüzeyin morfolojisi ile su değme açıları görüntüsü bulunmaktadır.



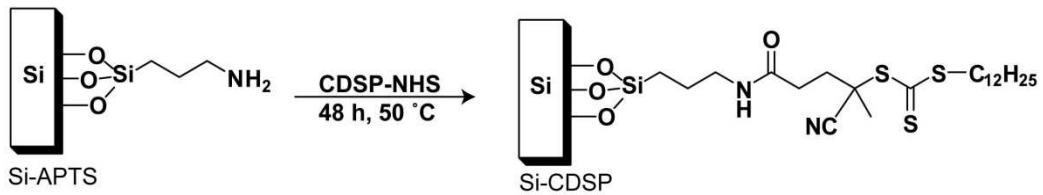
Şekil 7.11. Bekletme süresinin 2 saat ve derişimin hacimce %1 olduğu durumdaki 2D, 3D AFM görüntüleri ile yükseklik dağılım ve su değme açısı görüntüleri.

Şekil 7.11'deki 2D ve 3D AFM görüntülerine bakıldığında yüzeyin morfolojisi hidroksillenmiş yüzeyin morfolojisinden oldukça farklıdır. APTS molekülü

yüzey üzerinde oldukça homojen dağılmış olup herhangi bir kümelenme meydana gelmemiştir. Bunun sonucunda RMS değeri 0,88 nm dir. Yükseklik dağılım eğrisinden de anlaşılabileceği üzere silisyum disk yüzeyinin büyük bir bölümü homojen olarak APTS ile kaplanmıştır.

### 7.3. APTS Sonlu Yüzeyler Üzerine RAFT Ajanı CDSP'nin Kovalent Bağlanması

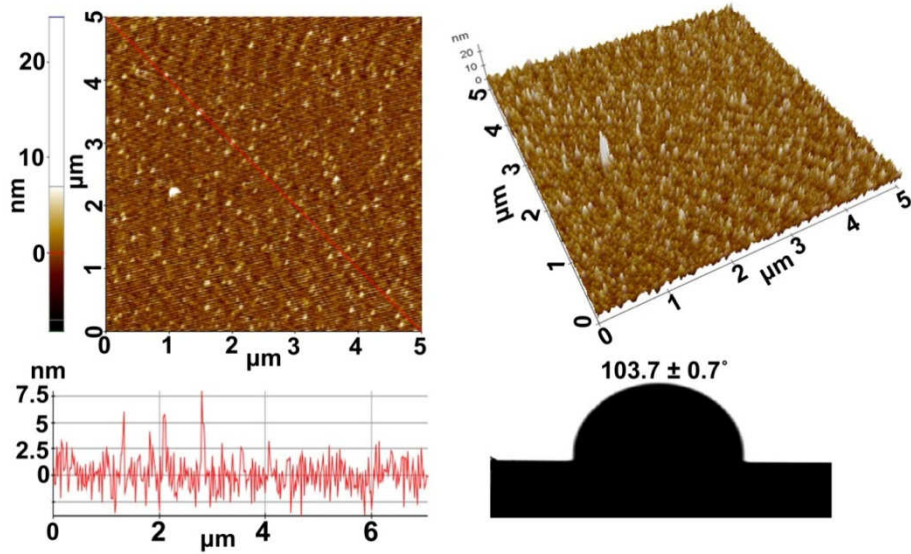
Amin sonlu yüzeyler üzerine RAFT ajanının kovalent bağlanması için ilk olarak RAFT ajanı uç grubunda bulunan serbest karboksilik asit grubunun süksinimit esterine (CDSP-NHS) dönüştürülerek amin grubuna karşı daha ilgili hale getirilmiştir. Elde edilen aktif ester sayesinde CDSP-NHS ile amin grupları arasında tipik amitleşme reaksiyonu sonucu CDSP silisyum disk yüzeylere kovalent olarak bağlanmış olur. CDSP'nin silisyum yüzeyine kovalent olarak bağlanması Şekil 7.12'de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 7.12. CDSP'nin amin sonlu yüzeylere kovalent olarak bağlanması.

CDSP bağlı yüzeylerin morfolojisi AFM ile karakterize edilmiştir. Şekil 7.13'den de görülebileceği gibi CDSP bağlı silisyum disklerin morfolojisi APTS bağlı silisyum disklerin yüzey morfolojisinden oldukça farklıdır (Bknz Şekil 7.11). CDSP molekülleri üzerine çok az miktarda kümelenme olmakla birlikte homojen olarak dağıldığı söylenebilir. Silisyum disk yüzeyinde oluşturulan APTS-CDSP ikil tabakadan ötürü yüzey pürüzlülüğü, RMS = 1,24 nm olarak belirlenmiştir. Su değme açısı ise yaklaşık olarak 104° gibi bir değerle hidrofobik özellik kazanmıştır. Yüzeydeki moleküllerin yönelmesinin tayininde de sıklıkla kullanılan su değme açısı ölçümleri sayesinde yüzeydeki molekülün istiflenmesi hakkından da kaba bir bilgi elde edilebilir. CDSP'nin

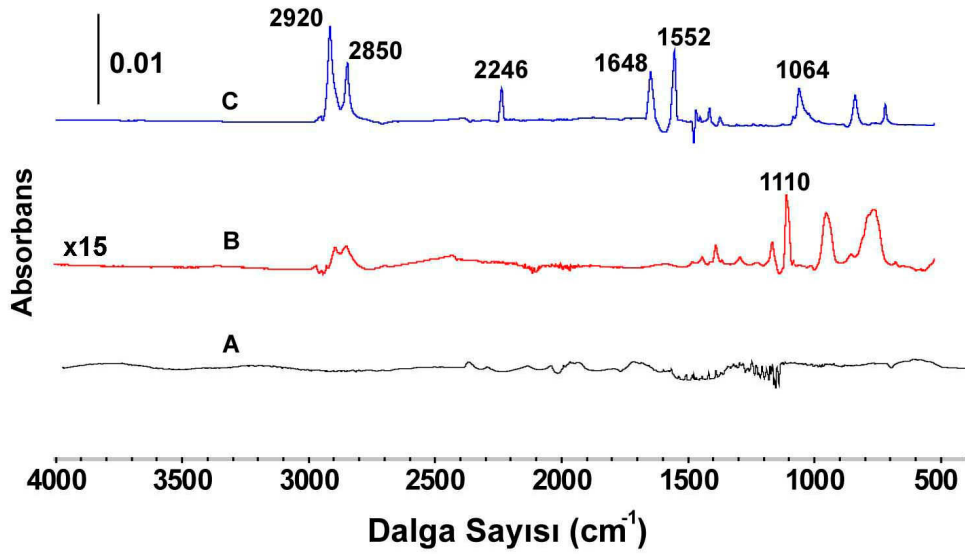
yapısında bulunan ve yüzeyde uç grup olarak kalan uzun alkil zinciri ve bu zincirlerin sık istiflenmesinden dolayı yüzey oldukça hidrofobik bir hale gelmiştir. En kaba yorumla su değme açısı ölçümü CDSP'nin silisyum disk yüzeyine bağlandığı söylenebilir.



Şekil 7.13. CDSP bağlı silisyum disklerin 2D, 3D AFM görüntüleri ile yükseklik dağılım ve su değme açısı görüntüleri.

APTS ve CDSP modifiye silisyum disklerin yapısal karakterizasyonu GA-FTIR ile kimyasal bileşim analizi XPS ile karakterize edilmiştir. Şekil 7.14'de APTS ve CDSP modifiye edilmiş silisyum disklerin yüzeyden alınan GA-FTIR spektrumları görülmektedir. Şekil 7.14b'den de görüldüğü gibi  $2920\text{ cm}^{-1}$  ve  $2850\text{ cm}^{-1}$  de metilen grubuna ait asimetric ve simetric titreşim bantları görülmektedir. APTS modifiye yüzeylerde uç grup olarak bulunan  $\text{NH}_2$  grubuna ait bant titreşimi, düşük sinyal/gürültü oranından ötürü tayin edilememiştir. Bu durum amin sonlu yüzeyler için literatürde sıklıkla rastlanan bir durumdur [Wang ve ark., 2005]. CDSP ile modifiye edilmiş silisyum disklerin GA-FTIR spektrumunda (Şekil 7.14c) metilen gruplarının asimetric ve simetric gerilmelerine ilaveten  $2246\text{ cm}^{-1}$  'de  $-\text{CN}$  grubunun,  $1648\text{ cm}^{-1}$  ve  $1552\text{ cm}^{-1}$  de amit I ile amit II bağlarının ve  $1064\text{ cm}^{-1}$  de  $-\text{C}=\text{S}$  bağının titreşim bantları görülmektedir. GA-FTIR sonuçlarından da anlaşılacağı üzere APTS ve CDSP silisyum disk yüzeyleri üzerine kovalent olarak bağlanmıştır.



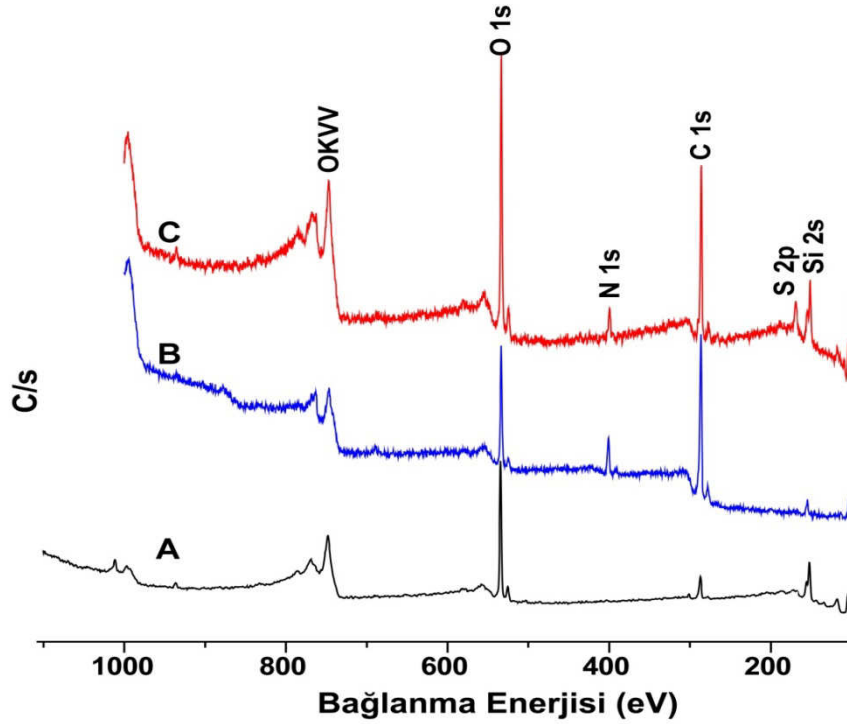


Şekil 7.14. Silisyum disklerin GA-FTIR spektrumları, (a) Temiz silisyum, (b) APTS modifiye silisyum, (c) CDSP modifiye silisyum yüzey.

XPS sayesinde katı yüzeyler üzerine hazırlanan kendiliğinden düzenlenen tekli ve çoklu tabakaların kimyasal bileşimi hakkında bilgiler elde edilebilir. Her bir elementin her bir elektronuna ait bağlanma enerjilerinin belirli olması ve bu enerjilerin kimyasal çevre ile değişmesi sonucu yüzeye kovalent olarak bağlanmış atomların hakkında önemli bilgiler verir. Temiz (hidroksillenmiş silisyum), APTS ve CDSP bağlı silisyum disklerin XPS spektrumları Şekil 7.15’de gösterilmiştir. Hazırlanan silisyum disklerin XPS spektrumları incelendiğinde temizlenmiş, APTS bağlı ve CDSP bağlı yüzeyler için OKVV Auger elektronları dışında 534 eV’de O 1s, 285 eV’de C1s ve 152 eV’de Si 2s pikleri görülmektedir. APTS bağlı silisyum yüzeylerde 400 eV’de gözlenen N 1s piki ve CDSP bağlı silisyum disklerde 165 eV’de gözlenen S 2p pikleri APTS ve CDSP’nin yüzeyler üzerine kovalent olarak bağlandığının en açık kanıtıdır [Gurbuz ve ark., 2011]. Temiz silisyum disklerde gözlenen O 1s piki ıslak aşındırma sonrasında yüzeyde oluşan oksit tabakasından kaynaklanmaktadır. Çok düşük miktarda gözlenen C 1s piki ise yüzey üzerine atmosferik safsızlıkların adsorplanmasından kaynaklanmaktadır. Literatürde temiz silisyum disklerin atmosferik safsızlıkları adsorplayabileceği çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir [Yuan ve ark., 1997; Satyanarayana ve ark.,



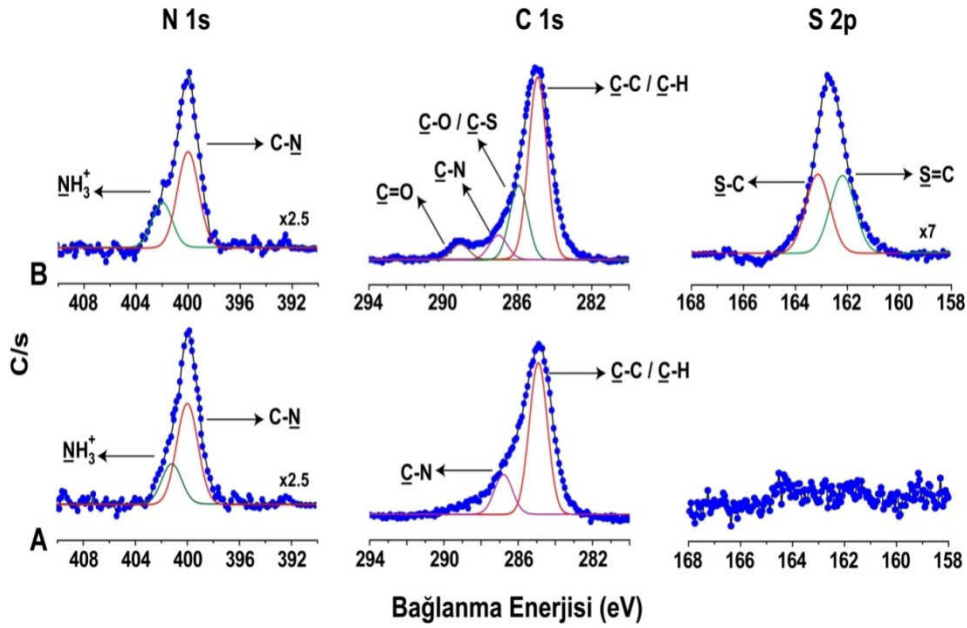
2005]. Ayrıca bu durum temiz silisyum disklerin elipsometrik kalınlığının 2,1 nm gibi yüksek bir değeri çıkmasının ayrı bir açıklamasıdır.



Şekil 7.15. (A) Temiz silisyum, (B) APTS modifiye ve (C) CDSP modifiye silisyum disklerin XPS spektrumları.

XPS tekniği kullanılarak yüzeye kovalent bağlı bulunan moleküllerdeki atomların bağıl miktarları hakkında bilgi elde edilebilir (Şekil 7.16). Toplam C içeriği %34 olmakla birlikte APTS bağlı yüzeylerde 285 eV de C-C/C-H ve 287 eV de C-N olmak üzere iki farklı kimyasal çevreye sahip karbon atomu bulunmaktadır. APTS molekülünün silisyum disk yüzeylere kovalent bağlandığının en açık kanıtı olan N atomu toplam bağıl olarak %13,7 içeriğe sahip biri 399,9 eV de C-N diğeri 401,3 eV de  $\text{NH}_3^+$  olmak üzere iki farklı kimyasal çevreye sahiptir. APTS molekülünde bulunan amin grubu yüzeyde bulunan silanol gruplarıyla asit-baz tepkimesine girerek yüzeyden proton koparma gücüne sahiptir. Bu nedenle yüzeyde uç grup olarak hem amin grubu hem de amonyum grubu bulunmaktadır. Atomik hassasiyet faktörleri ve pik alanları kullanılarak yapılan hesaplamalarda yüzeyde bulunan azot

atomunun %64'ü  $\text{NH}_2$  grubu, %36'sı  $\text{NH}_3^+$  şeklindedir. Bu oranlar literatürle uyum içerisindedir [Zhang ve ark., 2004]. Ayrıca teorik C/O oranı 1,0 iken bu oran deneysel olarak 0,85 olarak hesaplanmıştır. Görüldüğü gibi deneysel C/O oranının teorik deneyden düşük olmasının sebebi yüzeyin atmosferik kirlilikler tarafından kontamine edildiğinin göstergesidir [Gurbuz ve ark., 2011].



Şekil 7.16. (A) APTS bağlı, (B) CDSP bağlı silisyum disklerin yüksek çözünürlüklü XPS spektrumları.

Silisyum disk yüzey RAFT ajanı ile modifiye edildikten sonra yüzey üzerinde RAFT polimerleştirme yöntemi ile polimerik fırçalar sentezlenmiştir.

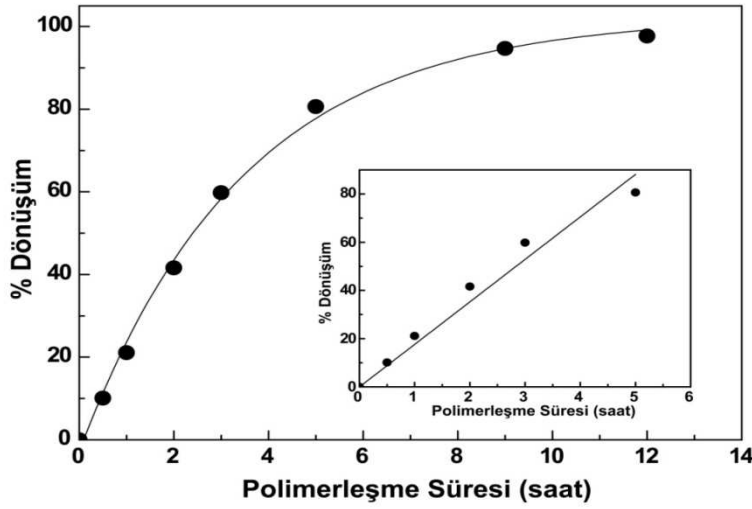
## 7.4. Sıcaklık Duyarlı P(MEO<sub>2</sub>-MA) Fırçaların Hazırlanması

### 7.4.1. Çözelti ve Yüzeyde Polimerleşme Kinetiği

Polimer fırça sentezinde polimerleşme hem yüzey üzerinde hem çözelti içerisinde aynı anda gerçekleştirilmiştir. Bu amaç doğrultusunda belirli oranlarda monomer, serbest RAFT ajanı, başlatıcı çözücü içerisinde çözüldükten sonra belirli sıcaklıkta polimerleşme başlatılmıştır. Belirli zaman

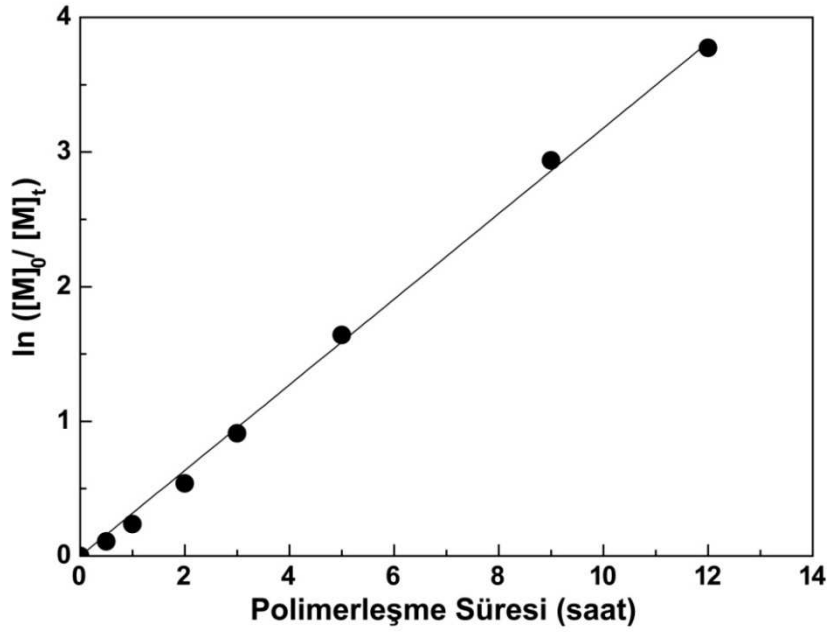
aralıklarında (0,5-12 saat) vialler yağ banyosundan alınır ve viallerin ağzı açılarak hızlı bir şekilde sıvı azot içerisine daldırılarak reaksiyonun aniden durması sağlanır. Örnekler oda sıcaklığına getirildikten yüzeyler çözücü ile ultrasonik banyoda yıkanarak yüzey üzerine fiziksel olarak tutunmuş monomer, ajan, polimer gibi moleküllerin uzaklaşması sağlanmıştır. Daha sonra yüzeyler azot gazı ile kurutulmuş ve polimerik fırça içerisine hapsolmuş olası çözücü moleküllerini uzaklaştırabilmek için yüzeyler yüksek sıcaklıkta vakumda bekletilmiştir. Çözeltideki sıvıdan bir miktar alınıp  $^1\text{H-NMR}$  karakterizasyonu için saklanırken diğer kısmı soğuk dietileter ile çöktürülmüştür. Çöz-çöktür işlemi üç kez tekrarlandıktan sonra elde edilen sarı renkli viskoz sıvı vakumda kurutulur ve GPC karakterizasyonu için hazır hale getirilir. Çözeltide oluşan polimerizasyonun karakterizasyonunda ilk olarak  $^1\text{H-NMR}$  kullanılmış ve her bir zaman aralığına ait % dönüşümler belirlenmiştir. Bunun için ilk olarak çözelti içerisinde bulunan DMF vakumda uzaklaştırıldıktan sonra  $\text{CDCl}_3$  içerisinde çözünmüştür. Monomerin ve polimerin ester grubuna komşu metilen protonlarının integrasyon oranlarından dönüşüm hesaplanmıştır.

Bir polimerleştirme yönteminin yaşayan olabilmesi için asgari üç koşul gereklidir. Bunlar; düşük polidispersiteye sahip olmalı, yalancı birinci dereceden polimerleşme kinetiğine uymalı ve polimerin mol kütlesinin dönüşümle doğrusal olarak değişmelidir [Quirk ve ark., 1992]. Şekil 7.17’de polimerleşme süresi ile monomer dönüşümün değişimini veren grafik görülmektedir. Elde edilen grafikten de görüldüğü gibi polimerleşme süresi ile dönüşüm ilk beş saat içerisinde lineer olarak değişerek bu süre sonunda yaklaşık %81 dönüşüme ulaşmaktadır. Bu süre sonunda 9. ve 12. saatlerde dönüşüm sırasıyla %94 ve %97,7 ulaşmış ve ortamdaki monomerin çok büyük bir kısmı polimere dönüştüğünde dönüşüm hemen hemen sabitlenmiştir.



Şekil 7.17. Monomer dönüşümün polimerleşme süresince değişimi.

Şekil 7.18’de polimerleşmeye ait yarı-logaritmik kinetik eğrisi görülmektedir. Değişimin doğrusal olması nedeniyle polimerleşme kinetiğinin yalancı birinci dereceden kinetiğe uyduğu söylenebilir. Dolayısıyla, buradaki çalışma şartlarında polimerleşmenin yaşayan/kontrollü olduğu söylenebilir. Kinetik eğrinin eğiminden polimerleşmenin görünen hız sabiti,  $k_p^g = 8,6 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$  olarak belirlenmiştir. Görüldüğü gibi ortamda bulunan RAFT ajanı sayesinde zincir transfer basamağının olmasına ve bu basamağın hızlı olması sonucu zincir dengesi hız basamağını direkt olarak etkilemesi ile bu iki reaksiyon basamağının uyumlu olarak çalışmasına neden olur. Bunun sonucu monomer kontrollü bir şekilde polimerleştirilmiştir. Bir başka deyişle birinci dereceden kinetik davranışa uyması polimerleşme süresince aktif radikal derişiminin sabit kaldığını gösterir [Liu ve ark., 2006].



Şekil 7.18. Çözelti polimerleşmesine ait yarı-logaritmik kinetik eğrisi.

RAFT polimerleştirme sonucu oluşan polimerlerin teorik mol kütlesi aşağıdaki formül ile verilir [Mori ve ark., 2006] :

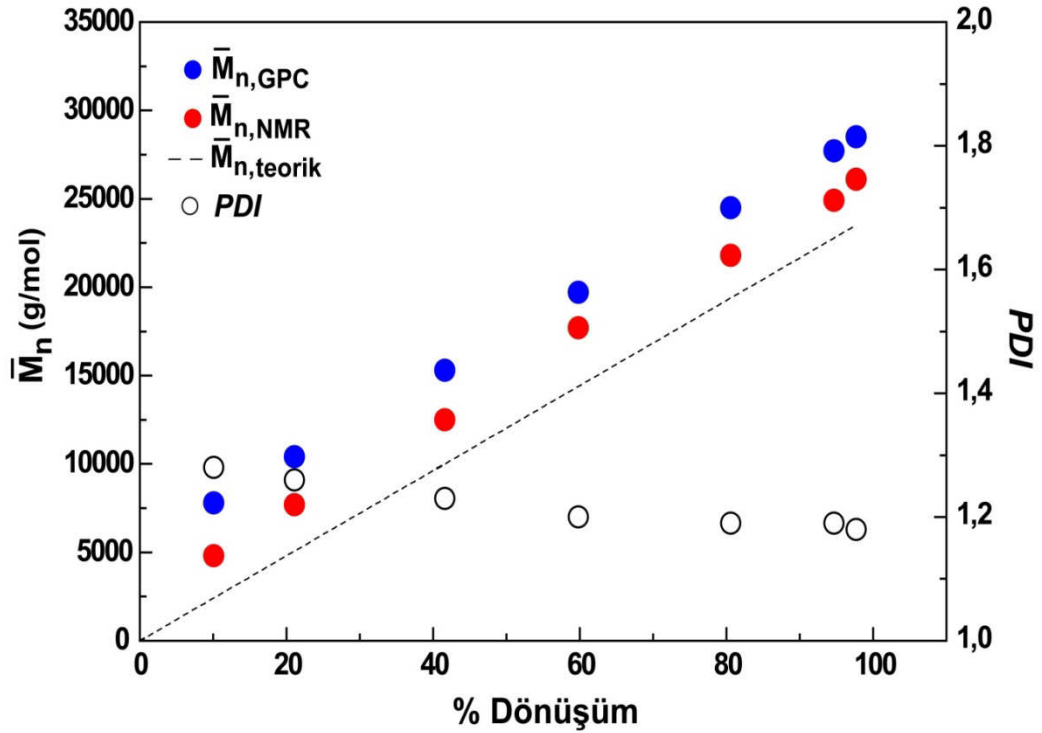
$$\bar{M}_{n, \text{teorik}} = \frac{[M]_0}{[CTA]_0 + 2f[I]_0(1-e^{-kt})} \times \alpha \times M_{\text{monomer}} + M_{CTA} \quad (7.1)$$

Eşitlikteki  $M_{\text{monomer}}$  ve  $M_{CTA}$  sırasıyla monomer ve zincir transfer ajanının mol kütleleri,  $[M]_0$ ,  $[CTA]_0$  ve  $[I]_0$  sırasıyla monomer, zincir transfer ajanının ve başlatıcının başlangıç derişimini göstermektedir. Eşitlikteki paydanın sağ tarafında bulunan  $f$  başlatıcı etkinliğini ve  $k_d$  ise herhangi bir  $t$  anındaki başlatıcının bozunma hız sabitini göstermektedir.  $\alpha$  ise monomer dönüşümünü simgelemektedir. İdeal RAFT polimerleşmesinde başlatıcının bozunmasıyla oluşan polimer miktarı minimumdur. Bu nedenle oluşan polimer miktarı zincir transfer ajanı miktarı yanında ihmal edilebilir düzeydedir. Bu durumda Eş. 7.1 basit olarak Eş. 7.2'ye dönüşmüş olur.

$$\bar{M}_{n,teorik} = \frac{[M]_0}{[CTA]_0} \times \alpha \times M_{monomer} + M_{CTA} \quad (7.2)$$

Çözelti ortamında oluşan polimerlerin mol kütesinin monomer dönüşümüyle değişimi Şekil 7.19'da gösterilmiştir. Grafik incelendiğinde,  $M_{n,teo}$ ,  $M_{n,NMR}$  ve  $M_{n,GPC}$  değerlerinin % dönüşümle doğrusal olarak arttığı belirlenmiştir. % dönüşüm yaklaşık olarak 10-97 aralığında değiştiğinde teorik mol kütesi 2800-23400 g/mol arasında değişirken GPC ve NMR dan elde edilen mol kütleleri sırasıyla 7800-28500 g/mol ve 4800-26100 g/mol arasında değişmektedir. Ayrıca polimerlerin polidispersite indeksi (PDI) değerlerinin tüm polimerleşme süresince 1,3'ten küçük olup dönüşümün artmasıyla birlikte PDI değerleri düşmektedir. Mol kütesi değişiminin monomer dönüşümüyle doğrusal olması polimerleşmenin yaşayan/kontrollü olma özelliğini açıkça göstermektedir. Elde edilen grafik incelendiğinde teorik mol kütesinin dönüşümle değişimi sonucu elde edilen eğri orijinden geçmektedir. Bu durum, RAFT polimerleşmesinde reaksiyon süresince serbest radikal polimerleşmesinden daha baskın olmasının bir sonucudur. RAFT polimerleşmesinin serbest radikal polimerleşmesinde olduğu gibi başladığı bilinmektedir. Şayet ortam koşulları (sıcaklık, monomer/CTA çifti türü ve derişimi, başlatıcı türü ve derişimi) iyi ayarlanmadığında polimerleşme hem serbest radikal hem de RAFT polimerleşmesi ile birlikte yürür. Bir başka deyişle, polimerleşme bir süre RAFT polimerleşmesi ile yürürken belli bir süre sonunda serbest radikal polimerleşmesine dönebilir. "Hibrit davranış" olarak da isimlendirilen bu durum en açık bir şekilde dönüşüm-mol kütesi grafiklerinde teorik eğrinin pozitif bir kesim noktasının olmasıyla kendini gösterir [Favier ve ark., 2006; Szablan ve ark., 2004]. Elde edilen eğri orijinden geçtiğinden dolayı bu çalışmadaki polimerleşme koşullarının ideal RAFT polimerleşmesi için uygun olduğunun göstergesi olabilir. Şekil 7.19 incelenmeye devam edildiğinde GPC den elde edilen mol kütleleri teorik mol kütlelerinden oldukça farklıdır. Bu durum GPC analizi sırasında kullanılan polistiren standartları ile P(MEO<sub>2</sub>-MA) polimerlerin hidrodinamik çaplarının birbirinden farklı kaynaklanmasından olabilir [Tang ve ark., 2003]. Ayrıca

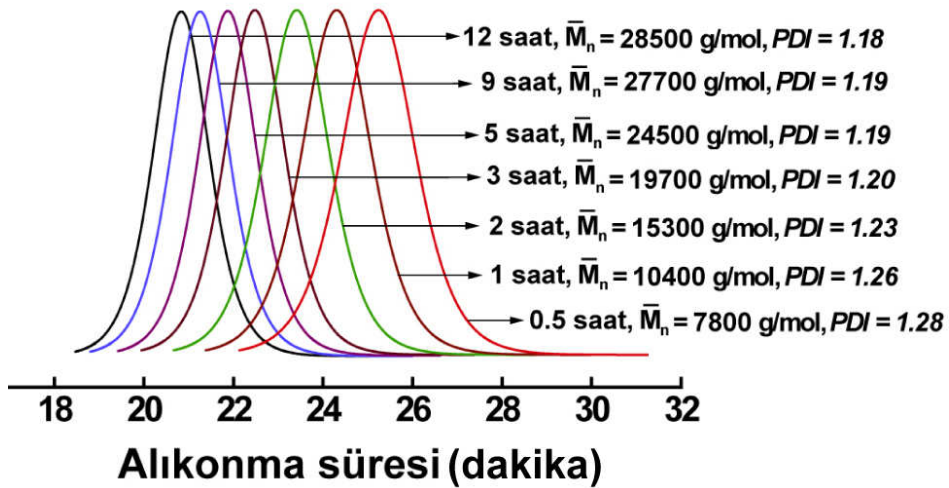
NMR dan elde edilen mol kütleleri de teorik mol kütlelerinden farklıdır. Bu durum ise Eş. 7.1 de başlatıcının bozunması ile oluşan polimerlerin ihmal edilip Eş. 7.2 ile hesaplama yapılmasından kaynaklanmış olabilir [Mori ve ark., 2006].



Şekil 7.19. Polimerin mol kütlesinin ve PDI değerlerinin dönüşümle değişimi.

Farklı polimerleşme sürelerine ait GPC kromatogramları Şekil 7.20'de gösterilmiştir. Elde edilen kromatogramlar incelendiğinde tümünün *unimodal* ve *simetrik* olduğu görülmektedir. Herhangi bir omuzun ya da kuyruğun görülmemesi RAFT polimerleşmesi sırasında bimoleküler sonlanmaların özellikle makro CTA radikallerinin (zincir transfer ve zincir dengesi basamaklarında oluşan) ortamda bulunan diğer aktif radikal türler tarafından söndürülmediği söylenebilir. Özellikle zincir dengesi sırasında macro CTA'ya transfer yerine, gelen aktif uçlu makroradikallerin makro CTA ile birleşerek üç kollu yıldız polimerleri oluşturduğu RAFT polimerleşmesinde özellikle ditiyobenzoat aracılığı ile yapılan polimerleştirmelerde sıklıkla karşılaşılan bir durumdur [Konkolewicz ve ark., 2008; Ting ve ark., 2011].

Ayrıca GPC kromatogramları incelendiğinde mol kütesinin artışı ile birlikte daha düşük alıkonma sürelerine doğru kayma vardır. Tüm bu sonuçlar incelendiğinde P(MEO<sub>2</sub>-MA) polimerleri çözelti içerisinde kontrollü bir şekilde sentezlendiği söylenebilir.



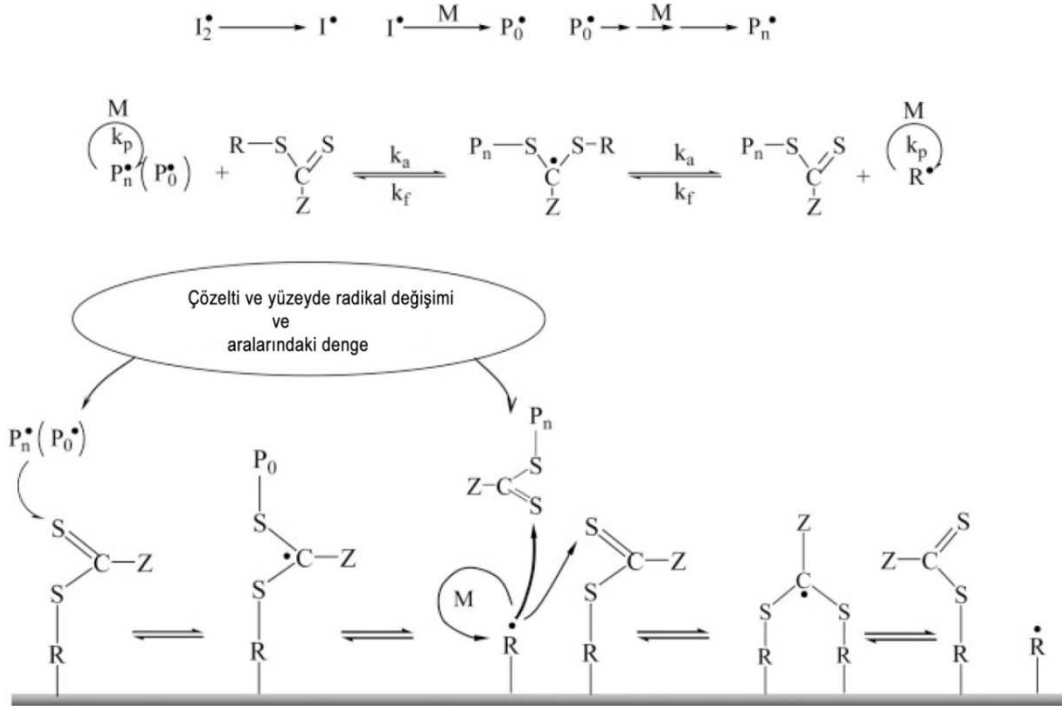
Şekil 7.20. P(MEO<sub>2</sub>-MA) için farklı polimerleşme sürelerine ait GPC kromatogramları.

Yüzeyde başlatılan RAFT polimerleştirme ile P(MEO<sub>2</sub>-MA) polimerik fırçaların sentezinde monomer/ajan/başlatıcı içeren çözeltiye RAFT ajanı modifiye edilmiş silisyum diskler konulduğunda polimerleşme hem yüzeyde hem de çözelti ortamında aynı anda gerçekleşmektedir. Bu çalışmada RAFT ajanı silisyum disk yüzeylere R grubundan kovalent olarak bağlanmıştır. Bu yaklaşım sayesinde çözelti ortamında oluşan aktif uçlu oligomer ya da polimerlerin yüzeye daha kolay düfüzlenmesi sağlanmıştır. Bunun sonucunda yüzeydeki polimerleşmenin kontrollü olma özelliği de artırılmış olur.

Yüzeye bağlı ajan ile aynı kimyasal yapıya sahip serbest RAFT ajanı ortama ilave edildikten sonra Şekil 7.21' de gösterildiği gibi çözelti içerisinde oluşan radikaller yüzeydeki RAFT ajanına atak yaptıktan sonra yüzeye kovalent bağlanır. Yüzeydeki radikaller açısından bakıldığında üç farklı reaksiyon gözlenebilir : RAFT polimerleşmesinin başlaması, yüzeydeki komşu RAFT



ajanına transfer ve daha sonra çözeltide serbest RAFT ajanına dönüşümü. Çözeltiden yüzeye radikal transferi ile yüzeyden çözelteye radikal transferi denge içerisindedir. Tüm bu reaksiyonların dengesi ile yüzeyde başlatılan RAFT polimerleşmesinin kontrollü olma özelliğini taşır [Li ve ark., 2008].

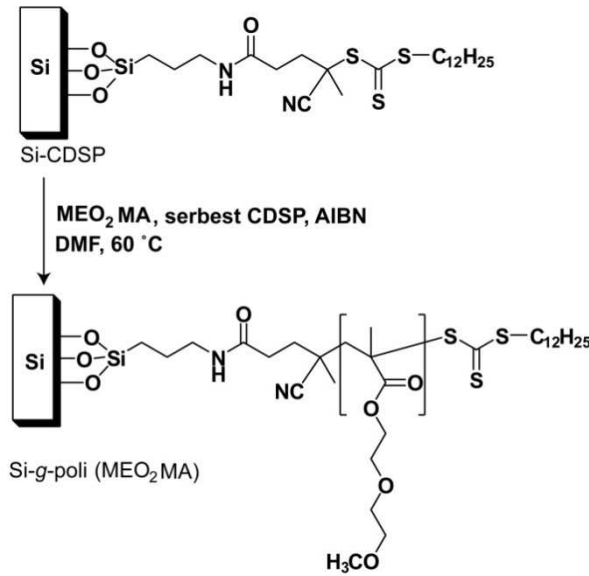


Şekil 7.21. Çözeltide bulunan serbest RAFT ajanı varlığında silisyum disk yüzeyinde RAFT polimerleşmesi [Li ve ark., 2008].

Ortama konulan serbest RAFT ajanı sayesinde yüzeyde oluşan polimerlerin sıyrılmasına gerek kalmadan çözeltide oluşan polimerlerin standart tekniklerle karakterize edilmesi sayesinde polimerik fırçalar hakkında da bilgi edilebilir. Bunun sebebi çözelti kinetiği ile yüzey kinetiğinin benzer davranışlar göstermesindendir. Ayrıca silisyum diskler üzerinde aşılama ile oluşturulan polimer fırçaların küçük alanda az olduğu düşünüldüğünde yüzeyde oluşan polimerik fırçaların sıyrılması ve karakterizasyonu oldukça zordur. Bu nedenle burada yapılan çalışmalar kapsamında yüzey üzerindeki polimerlerin mol kütlesinin ve heterojenlik indeksinin çözeltideki ile aynı

olduğu kabul edilmiştir ve kabul literatür ile uyum içerisinde [Turan ve ark., 2012; Ozturk ve ark., 2010; Turan ve ark., 2010].

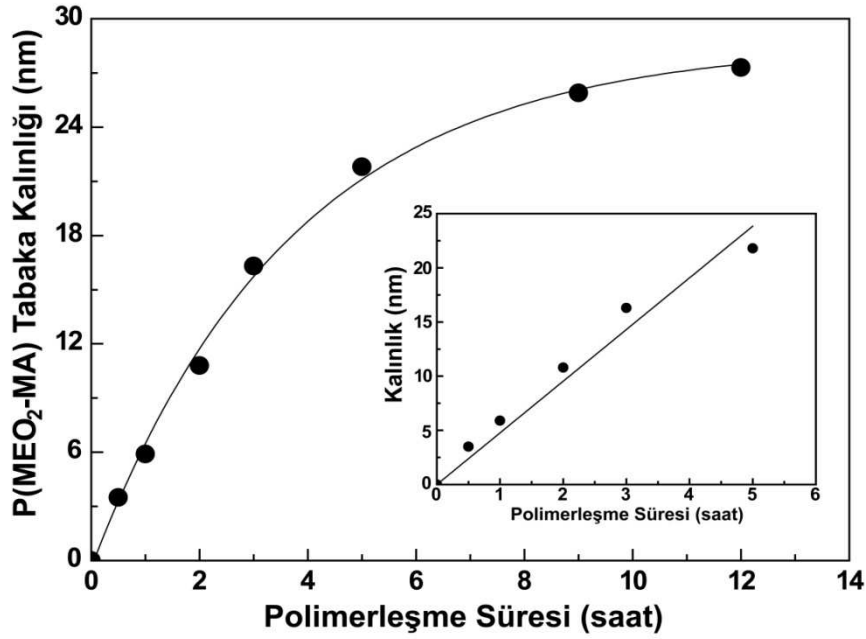
CDSP bağlı yüzeyler üzerinde sıcaklık duyarlı P(MEO<sub>2</sub>-MA) fırçaların sentezi Şekil 7.22'de şematize edilmiştir.



Şekil 7.22. Silisyum disk yüzeylerde sıcaklık duyarlı polimer fırça sentezi.

Yüzeyde başlatılan polimerleşme ile ilgili ilk olarak yüzeyler vakumdan alınır alınmaz elipsometrik kalınlıklar ölçülmüştür. Şekil 7.23'de polimerleşme süresine bağlı olarak P(MEO<sub>2</sub>-MA) fırça kalınlıklarının zamanla değişimi gösterilmiştir. Grafik incelendiğinde polimerleşmenin ilk beş saat içerisinde polimerik fırça kalınlığı zamanla doğrusal olarak artmış ve elipsometrik kalınlığı 21,8 nm olan polimerik fırçalar elde edilmiştir. Bu süre sonunda 9. ve 12. saat sonunda tabaka kalınlığı bu iki süre için çok fazla artmamış olup sırasıyla 25,9 nm ve 27,3 nm değerlerine ulaşmıştır. Doğrusal artıştan sonra kalınlığın hemen hemen sabit kalması ortamdaki monomerin çok büyük bir kısmının harcanmasındandır (çözelti kinetiğinde 12 saatlik süre sonunda monomer %97,7 lik dönüşüme sahiptir). Görüldüğü gibi kalınlığın zamanla değişimi çözelti kinetiğindeki dönüşümün zamanla değişimi ile benzer eğilim göstermektedir. Bu da yüzey "kinetiği ile çözelti kinetiği benzerdir" kabulünün

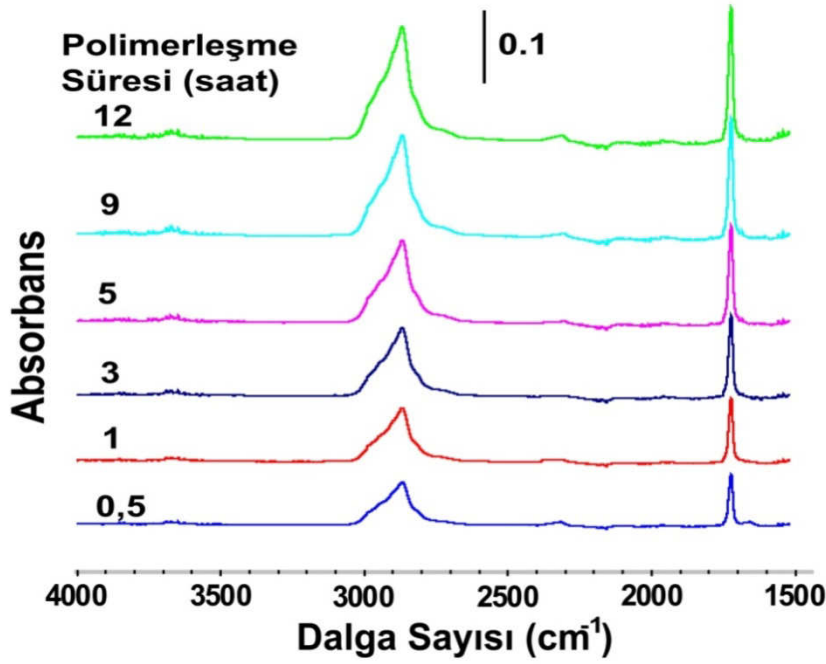
geçerli olduğunu gösterir. Bununla birlikte polimerik fırça kalınlığının zamanla doğrusal olarak değişmesi yüzeydeki polimerleşmenin de kontrollü olduğu söylenebilir. Grafiğin eğiminden tabaka kalınlığının zamanla değişimi ~ 5 nm/saat olarak belirlenmiştir.



Şekil 7.23. Polimer tabaka kalınlığının polimerleşme süresince değişimi.

Hazırlanan polimerik fırçaların yapısal karakterizasyonu GA-FTIR ile gerçekleştirilmiştir. Şekil 7.24'de farklı polimerleşme sürelerine ait silisyum disk yüzeyindeki polimerik fırçalara ait GA-FTIR spektrumu gösterilmiştir. GA-FTIR analizi sırasında aminosilan ve CDSP'den gelen metil ve metilen gruplarının katkısını ve CDSP'den gelen karbonil grubunun polimerik fırça spektrumuna olan katkısını ihmal etmek için RAFT ajanı bağlı silisyum diskler *baseline* olarak kullanılmıştır. Böylelikle elde edilen spektrumların sadece polimerik fırçalara ait olması sağlanmıştır. Spektrumlar incelendiğinde 2900  $\text{cm}^{-1}$ -3000  $\text{cm}^{-1}$  aralığındaki bantlar C-H titreşimlerine karşılık gelen bant olup, 1723  $\text{cm}^{-1}$  ise C=O titreşimine karşılık gelen banttır. Polimerleşme süresi arttıkça her iki bantın da absorbanlarının da arttığı gözlemlenmiştir ancak polimerleşme süresinin 9 ve 12 saat olması durumunda bu sürelerde beklenildiği gibi absorbandsda önemli bir değişiklik olmamıştır. Elipsometre ve

GA-FTIR ile yapılan analiz sonucunda polimerleşme süresi arttıkça yüzey üzerinde polimerleşme derecesinin arttığı söylenebilir.



Şekil 7.24. P(MEO<sub>2</sub>-MA) fırçalara ait farklı polimerleşme sürelerinde alınmış GA-FTIR spektrumları.

Elipsometrik kalınlıklardan yararlanılarak yüzeye adsorbe olmuş (makro)moleküllerin kantitatif analizi yapılabilir [Zdyrko ve ark., 2003]. Yüzeye adsorbe olmuş molekül derişimi (yüzey kaplama miktarı),  $\Gamma$  (mg/m<sup>2</sup>), elipsometrik kalınlık,  $h$  (nm) ve (makro)molekülün yoğunluğu,  $\rho$  (g/cm<sup>3</sup>, P(MEO<sub>2</sub>-MA) için 1.02 g/cm<sup>3</sup>) olmak üzere aşağıdaki eşitlikle hesaplanır:

$$\Gamma = h \rho \quad (7.3)$$

Yüzey yoğunluğu (makromolekül için zincir yoğunluğu),  $\sigma$  (zincir/nm<sup>2</sup>),  $N_A$  : Avagadro sayısı,  $M$  (g/mol) mol kütlesi olmak üzere aşağıdaki eşitlikle hesaplanır :

$$\sigma = \Gamma N_A 10^{-21} / M = (6,023 h \rho \times 100) / M \quad (7.4)$$

Eş. 7.4'de de görüldüğü gibi polimerin mol kütlesine karşılık elipsometrik kalınlıklar grafiğe geçirildiğinde grafiğin eğiminden makromoleküllerin yüzey üzerindeki zincir yoğunluğu hesaplanabilir.

Yüzey üzerine adsorbe olmuş makro moleküller arası uzaklık,  $D$  (nm), olmak üzere aşağıdaki eşitlikle hesaplanır :

$$D = (4/\pi\sigma)^{1/2} \quad (7.5)$$

İyi bir çözücünde bulunan polimerin zincir konformasyonu jirasyon yarıçapı,  $R_g$  (nm) ile makro moleküller arası uzaklık karşılaştırılarak belirlenebilir [Cochran ve ark., 2003] :

$$R_g = b \overline{DP}_n / 6^{3/5} \quad (7.6)$$

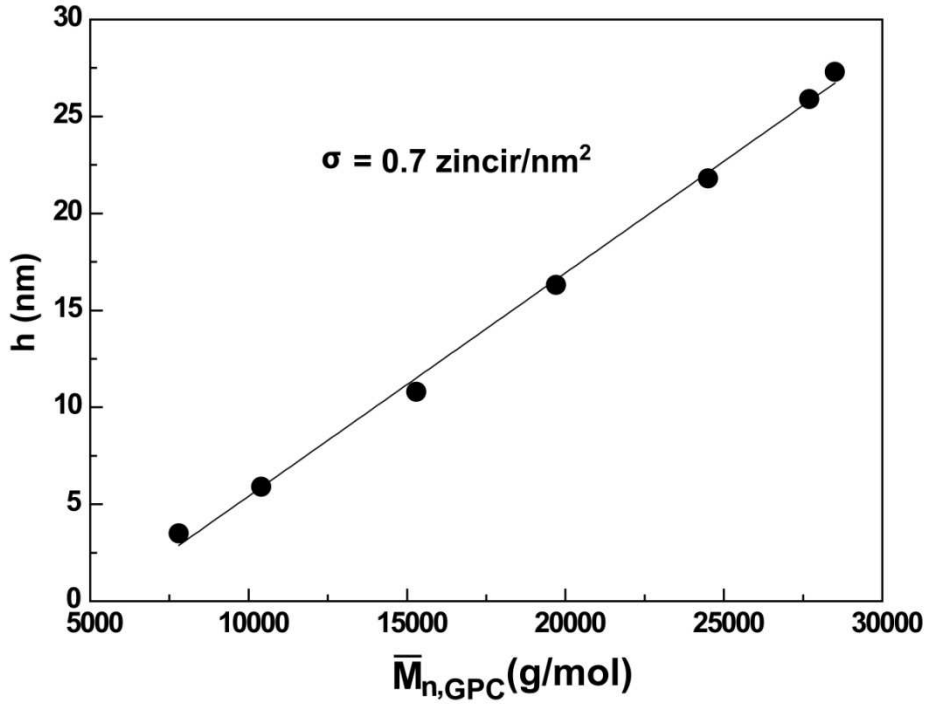
Burada  $\overline{DP}_n$  polimerleşme derecesi,  $b$  istatistiksel segment uzunluğunu (MEO<sub>2</sub>-MA için 0,7 nm) simgelemektedir.

İyi bir çözücü içerisinde bulunan yüzeye aşılınmış polimer fırçalar için de geçerli olan Alexander–de Gennes modelinden türetilmiş polimerik fırçaların şişmiş teorik kalınlığı aşağıdaki eşitlik ile bulunabilir [de Gennes, 1987] :

$$L = b \overline{DP}_n \phi / D^{2/3} \quad (7.7)$$

Elipsometrik kalınlıklardan ve  $M_{n,GPC}$  değerlerinden yararlanılarak yüzeyden aşılınmış polimer fırçaların zincir yoğunluğu Eş. 7.4 ile bulunabilir. Şekil 7.25'de  $M_{n,GPC}$  değerlerine karşılık elipsometrik kalınlık ile değişimi gösterilmektedir. Grafikten anlaşılacağı üzere polimerin mol kütlesi ile elipsometrik kalınlıklar doğru orantılı olarak değişmektedir. Grafiğin eğimi bulunduktan sonra Avagadro sayısı ve serbest polimerin öz kütlesi ile

çarpıldığında makromoleküllerin yüzey üzerindeki zincir yoğunluğu 0,7 zincir/nm<sup>2</sup> olarak bulunmuştur.



Şekil 7.25. Elipsometrik kalınlığın polimerin mol kütlesi ile değişimi.

Makromoleküllerin zincir yoğunluğundan yararlanarak yüzeye adsorbe olmuş iki makromolekül arası uzaklık Eş. 7.5 kullanılarak 1,35 nm olarak hesaplanmıştır. Elde edilen değer oldukça küçük olması makro moleküllerin yüzey üzerinde oldukça sıkı bir şekilde istiflenmiş olduğunu göstermektedir. Makro moleküllerin zincir yoğunluğu ve aralarındaki uzaklık yüzeydeki polimerlerin desorbe olmadığı sürece belirli bir sıcaklık ve monomer/CTA/başlatıcı mol oranlarında polimerleşme süresi boyunca sabit kalmakta ancak diğer aşılama parametreleri ( $\Gamma$ ,  $L$  gibi) polimerleşme süresi boyunca değişmektedir.

Polimerleşme süresinin artmasıyla birlikte yüzey derişimi (ya da yüzey kaplaması) 3,57-27,8 mg/m<sup>2</sup> aralığında değişirken teorik şişme kalınlığı da 12,7-85,9 nm aralığında değişmektedir. Burada önemli olan yüzey üzerinde

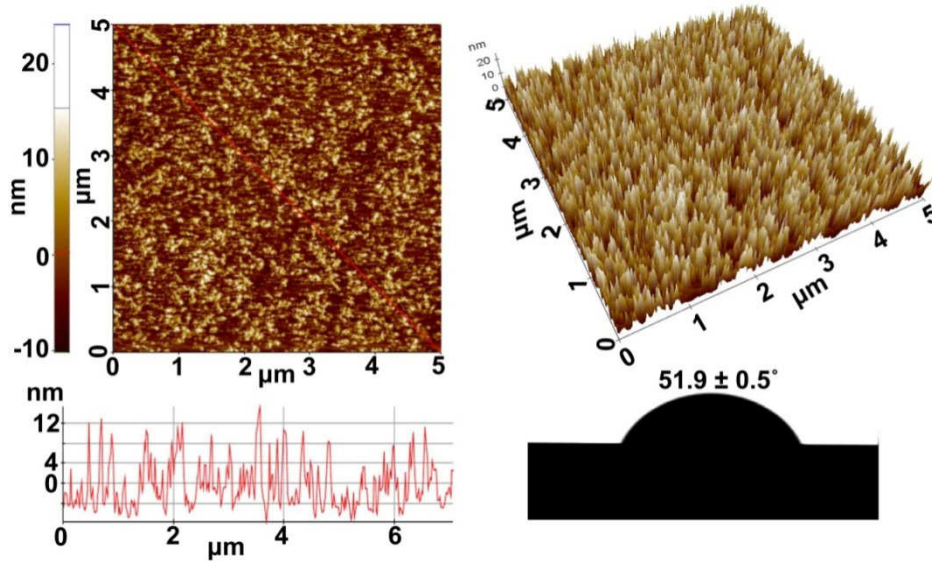
bulunan polimerlerin konformasyonu hakkında bilgi veren  $D/2R_g$  oranıdır. Eğer bu oran 1'den küçükse yüzeydeki polimerlerin fırça konformasyonunda, 1'den büyük olursa mantar konformasyonunda olduğu bilinmektedir. Çizelge 7.1'den de görüldüğü gibi tüm zaman aralıklarında yüzeyde bulunan polimerler fırça konformasyonundadır. Ayrıca polimerleşme süresi arttıkça teorik şişme kalınlıklarında da artış vardır. Bu kalınlık artışının sebebi polimerleşme süresi arttıkça polimerleşme derecesi artmış ve bunun sonucunda komşu polimer fırçalar arasındaki etkileşimin de artarak daha gergin polimerik fırçalar oluşmasına sebep olmuş şeklinde yorumlanabilir.

Çizelge 7.1. Aşılama parametrelerinin polimerleşme süresi ile değişimi.

| <b>Polimerleşme</b>  |                                               |                            |                            |
|----------------------|-----------------------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| <b>Süresi (saat)</b> | <b><math>\Gamma</math> (mg/m<sup>2</sup>)</b> | <b><math>D/2R_g</math></b> | <b><math>L</math> (nm)</b> |
| <b>0,5</b>           | 3,57                                          | 0,310                      | 12,7                       |
| <b>1</b>             | 6,02                                          | 0,261                      | 22,1                       |
| <b>2</b>             | 11,0                                          | 0,205                      | 38,5                       |
| <b>3</b>             | 16,6                                          | 0,175                      | 55,4                       |
| <b>5</b>             | 22,2                                          | 0,154                      | 70,5                       |
| <b>9</b>             | 26,4                                          | 0,143                      | 81,5                       |
| <b>12</b>            | 27,8                                          | 0,139                      | 85,9                       |

Yüzeyde bulunan polimerik fırçaların morfolojisi AFM kullanılarak belirlenmiştir. Şekil 7.26' da polimerleşme süresinin 12 saat olduğu durumdaki polimerik fırçalara ait yüzey morfolojileri gösterilmektedir. Polimerleşme süresi 12 saat olduğunda görüldüğü gibi 5µm x 5 µm alanının hemen hemen tamamı polimer ile kaplanmıştır. Özellikle 3D morfoloji görüntüsünden de anlaşılacağı üzere polimerler fırça konformasyonundadır.

Yüzey üzerinde hemen hemen boş bölge kalmadığından ve çözelti ortamındaki monomerin büyük bir kısmı (%97,7 si) polimere dönüştüğünden dolayı yüzey kaplama değeri elde edilebilecek üst sınır değerlerdedir. Bu süre sonunda yüzey pürüzlülük değeri, RMS = 2,13 nm olarak belirlenmiştir. Ayrıca yüzeye zincir transfer ajanı bağlanması ile hidrofobik özellikte olan yüzeyler polimerleşme sonrasında yaklaşık 52° lik su değme açısı ile hidrofilik özellik kazanmıştır. Bu durum P(MEO<sub>2</sub>-MA) fırçaların hidrofilik özelliğinin doğal bir sonucudur.

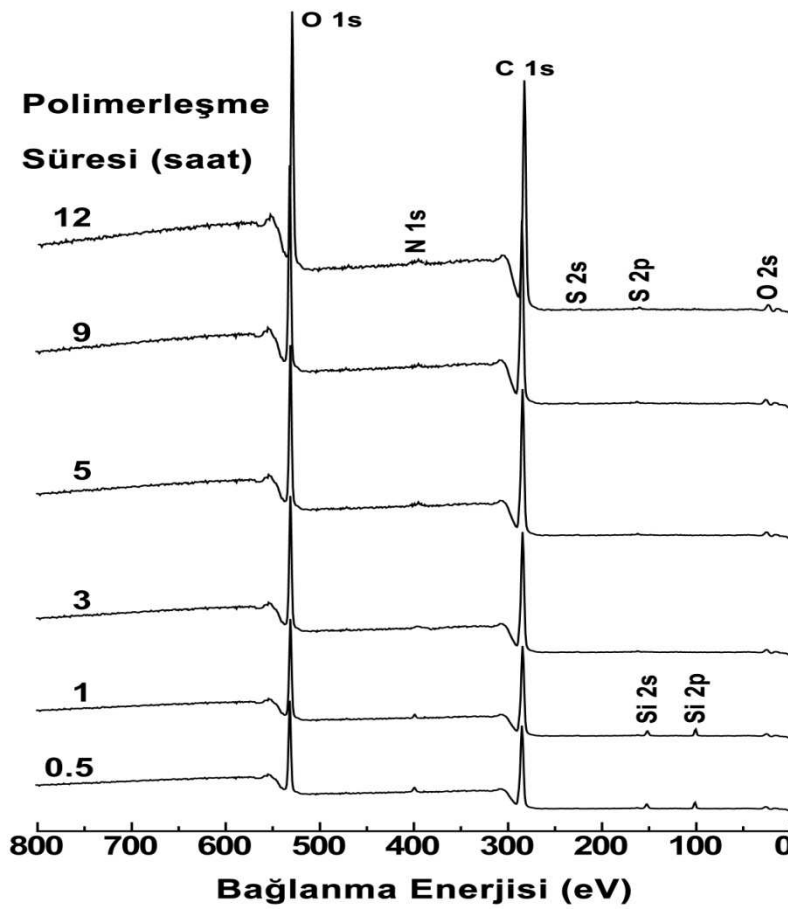


Şekil 7.26. Polimerleşme süresi 12 saat olduğu durumdaki 2D, 3D AFM görüntüleri ile yükseklik dağılım eğrisi.

Yüzeyden başlatılan RAFT polimerleştirme yöntemiyle hazırlanan polimerik fırçaların kimyasal karakterizasyonunda XPS tekniği de kullanılmıştır. XPS ile yüzeyde kovalent olarak bağlanmış olan polimerik fırçalarda bulunan C, O, S, N atomlarının varlığı ve bağıl miktarları belirlenmiştir. Şekil 7.27'de farklı polimerleşme süresine ait XPS spektrumu verilmiştir. Spektrumlar incelendiğinde yüzey üzerinde O 1s, C 1s, N 1s, S 2p ve Si 2p elementlerine ait bağlanma enerjilerinin yaklaşık olarak 532 eV, 400 eV, 285 eV, 165 eV ve 103 eV olarak belirlenmiştir. Polimerleşme süresinin artmasıyla birlikte O 1s ve C 1s şiddetinin bağıl olarak artması yüzey üzerinde polimerleşme



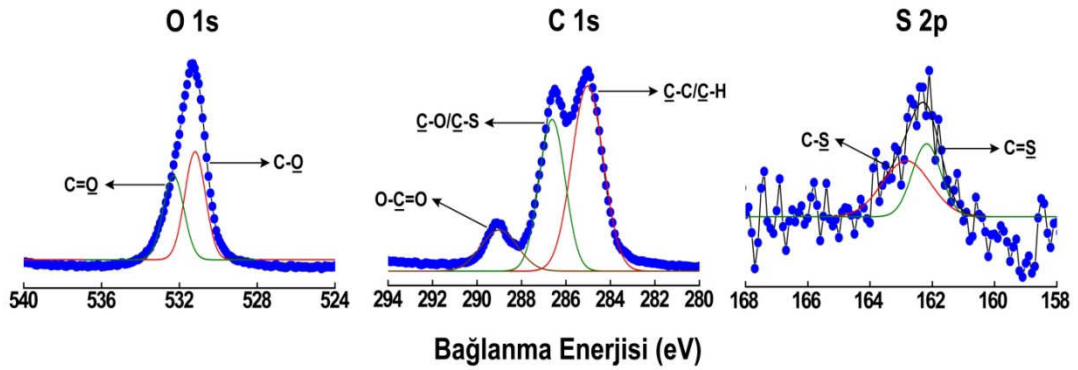
süresi ile polimerleşme derecesinin arttığının güçlü bir kanıtıdır. Ayrıca bu durum polimerleşme süresi ile yüzey kaplama değerinin artması ile de uyum içindedir. Her bir süreye ait spektrumlarda S 2p ve S 2s piklerinin varlığı polimerik fırçaların uç gruplarında RAFT ajanının varlığına ve dolayısıyla yüzeyde başlatılan polimerleştirmenin kontrollü/yaşayan özellikte olduğunun göstergesi olduğu kabul edilebilir.



Şekil 7.27. Farklı polimerleşme sürelerine ait polimer fırçaların XPS spektrumları.

Spektrum incelenmeye devam edildiğinde polimerleşme süresinin 1 saati aşması durumunda Si 2s, Si 2p ve ajanın R grubunda bulunan N 1s elementleri tayin edilememiştir. Bu durum X-ışınlarının en fazla 10 nm derinliğe kadar giriciliğe sahip olmasından kaynaklanmaktadır [Kitano ve ark., 2009]. Nitekim, polimerleşme süresi 3 saat olduğunda polimer fırçaların

elipsometrik kalınlıkları 16,3 nm olarak belirlenmiştir. Şekil 7.28’de polimerleşme süresinin 12 saat olduğunda yüzeydeki polimer fırçalara ait yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu verilmiştir. Spektrumdan da görüldüğü gibi biri 532,6 eV’da  $\text{C}=\text{O}$  ve diğeri 531,2 eV’da  $\text{C}-\text{O}$  olmak üzere iki farklı kimyasal çevreye sahip ve toplam % 30,7 bağıl derişiminde O 1s elementi bulunmaktadır. %69,6 bağıl derişimde ve 285,0 eV, 286,6 eV ve 289,0 eV olmak üzere sırasıyla  $\text{C}-\text{C}/\text{C}-\text{H}$ ,  $\text{C}-\text{O}/\text{C}-\text{S}$  ve  $\text{O}-\text{C}=\text{O}$  üç farklı kimyasal çevreye sahip C 1s elementi ile bağıl olarak toplam %0,4 oranında biri 163,1 eV  $\text{C}=\text{S}$  de diğeri 162,1 eV de  $\text{C}-\text{S}$  olmak üzere iki farklı kimyasal çevreye sahip S 2p elenti bulunmaktadır. XPS ile C/O derişim oranı 2,32 olarak belirlenmiştir ve teorik C/O oranı 2,25 ile oldukça uyum içerisinde.



Şekil 7.28. Polimer fırçalara ait yüksek çözünürlüklü XPS spektrumları (polimerleşme süresi 12 saat).

Silisyum yüzeyler üzerinde kovalent bağılı sıcaklık duyarlı polimer fırçaların farklı polimerleşme sürelerine ait kimyasal bileşimi Çizelge 7.2’de özetlenmiştir.

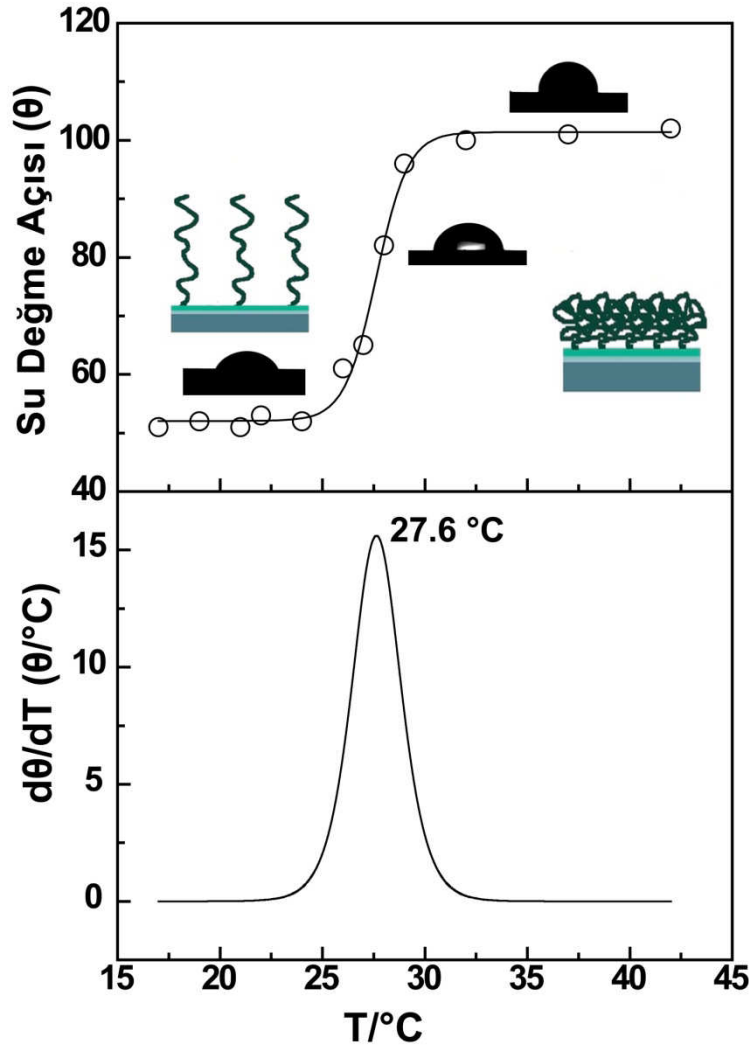
Çizelge 7.2. Farklı polimerleşme sürelerine ait polimer fırçaların bağlanma enerjileri ve elementel bileşimleri.  
(Tüm bağlanma enerjileri C 1s C-C/C-H bağlanma enerjisi olan 285 eV'e göre kalibre edilmiştir. *a*: bağlanma enerjisi, *b*: bağıl atomik derişim).

| Yüzey             | O 1s  |             | N 1s             |            | C 1s  |               |         | S 2p       |       |            |
|-------------------|-------|-------------|------------------|------------|-------|---------------|---------|------------|-------|------------|
|                   | C=O   | C-O (Si-O)  | C-N <sup>+</sup> | C-N        | C=O   | C-O/C-S (C-N) | C-C/C-H | S-C        | S=C   | Si 2p      |
| <b>Süre, 0,5h</b> |       |             |                  |            |       |               |         |            |       |            |
| B.E. (eV)         | 532,4 | 531,2       | 402,1            | 400,1      | 289,1 | 286,7         | 285,0   | 163,1      | 162,1 | 107,9      |
| B.A.D. (%)        |       | <b>26,7</b> |                  | <b>4,1</b> |       | <b>60,3</b>   |         | <b>5,6</b> |       | <b>3,3</b> |
| <b>Süre, 1h</b>   |       |             |                  |            |       |               |         |            |       |            |
| B.E. (eV)         | 532,4 | 531,2       | 402,1            | 400,1      | 289,1 | 286,6         | 285,1   | 163,1      | 162,2 | 108,0      |
| B.A.D. (%)        |       | <b>28,5</b> |                  | <b>2,1</b> |       | <b>64,3</b>   |         | <b>3,4</b> |       | <b>1,7</b> |
| <b>Süre, 3h</b>   |       |             |                  |            |       |               |         |            |       |            |
| B.E. (eV)         | 532,5 | 531,2       | 402,1            | 400,1      | 289,0 | 286,6         | 285,0   | 163,1      | 162,1 | 108,0      |
| B.A.D. (%)        |       | <b>29,7</b> |                  | <b>0,3</b> |       | <b>67,1</b>   |         | <b>2,9</b> |       | -          |
| <b>Süre, 5h</b>   |       |             |                  |            |       |               |         |            |       |            |
| B.E. (eV)         | 532,4 | 531,2       | 402,1            | 400,1      | 289,1 | 286,8         | 285,1   | 163,1      | 162,1 | 108,0      |
| B.A.D. (%)        |       | <b>30,1</b> |                  | -          |       | <b>67,8</b>   |         | <b>2,1</b> |       | -          |
| <b>Süre, 9h</b>   |       |             |                  |            |       |               |         |            |       |            |
| Enerji (eV)       | 532,5 | 531,4       | 402,1            | 400,1      | 289,1 | 286,7         | 285,1   | 163,0      | 162,2 | 108,0      |
| Derişim (%)       |       | <b>30,4</b> |                  | -          |       | <b>68,5</b>   |         | <b>1,1</b> |       | -          |
| <b>Süre, 12h</b>  |       |             |                  |            |       |               |         |            |       |            |
| B.E. (eV)         | 532,6 | 531,2       | 402,1            | 400,1      | 289,0 | 286,6         | 285,0   | 163,1      | 162,1 | 108,0      |
| B.A.D. (%)        |       | <b>30,7</b> |                  | -          |       | <b>69,1</b>   |         | <b>0,4</b> |       | -          |

Çizelge 7.2 incelendiğinde polimerleşme süresinin artmasıyla birlikte polimer fırçalarda bulunan oksijen ve karbon içeriği bağıl olarak artarken azot, kükürt ve silisyum elementlerinin bağıl miktarlarında azalma vardır. Polimerleşme süresinin 3 saat ve üzerinde olması durumunda silisyum ve azot elementleri tayin edilememiştir. Yukarıda belirtildiği gibi bu durum X-ışınlarının yüzey üzerinde en fazla 10 nm derinliğe kadar ulaşmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca her bir polimerleşme süresi için deneysel C/O bağıl miktarla oranı teorik C/O oranı olan 2,25 değerine oldukça uyumlu olması sıcaklık duyarlı polimer fırçaların yüzey üzerinde kontrollü bir şekilde polimerleştirildiğinin bir başka deyişle yüzey üzerindeki polimer fırçaların hemen hemen eşit boyda olduğunun ayrı bir kanıtı olabilir.

#### **7.4.2. P(MEO<sub>2</sub>-MA) polimer fırçaların faz geçiş sıcaklığının belirlenmesi**

Yüzeyde başlatılan RAFT polimerleştirme yöntemi ile hazırlanan sıcaklık duyarlı poli (MEO<sub>2</sub>-MA) polimer fırçaların alt kritik çözünme sıcaklığı (AKÇS veya LCST) sıcaklık kontrol elementli su değme açısı cihazı ile belirlenmiştir. Analiz yapılırken her bir sıcaklık değişiminde ısı dengenin sağlanması için ölçüm alınmadan önce 10 dakika beklenilmiştir. Her bir sıcaklık için yüzeyin üç farklı noktasından su değme açısı ölçülmüş ve ortalaması alınmıştır. Her bir ölçüme ait standart sapma 0,5°'den küçüktür. Sıcaklık değme açısı ve bu değişime ait birinci türev eğrileri Şekil 7.29'da verilmiştir. Şekil 7.29a incelendiğinde üç farklı bölge görülmektedir. Düşük sıcaklık bölgelerinde sıcaklık ile değme açıları fazla değişmemiştir ve polimer fırçalar su ile iyi bir şekilde solvatize olmaktadır. Orta sıcaklık bölümünde ise sıcaklık değişimi ile su değme açısı büyük oranda değişmekte ve belirgin bir geçiş gözlenmektedir. Yüksek sıcaklık bölgesinde ise sıcaklık ile su değme açısı önemli ölçüde değişmemektedir. Bu bölgelerde polimer fırçalar su ile etkileşimi minimum olup yüzey hidrofobik özelliktedir. Yüzeye kovalent olarak bağlanmış P(MEO<sub>2</sub>-MA) fırçaların faz geçiş sıcaklığı türev eğrisinin elde edilmesiyle 27,6 °C olarak belirlenmiştir.



Şekil 7.29. (a) Polimer fırçaların sıcaklık-değme açısı eğrisi (polimerleşme süresi 12 saat), (b) Bu değişime ait birinci türev eğrisi.

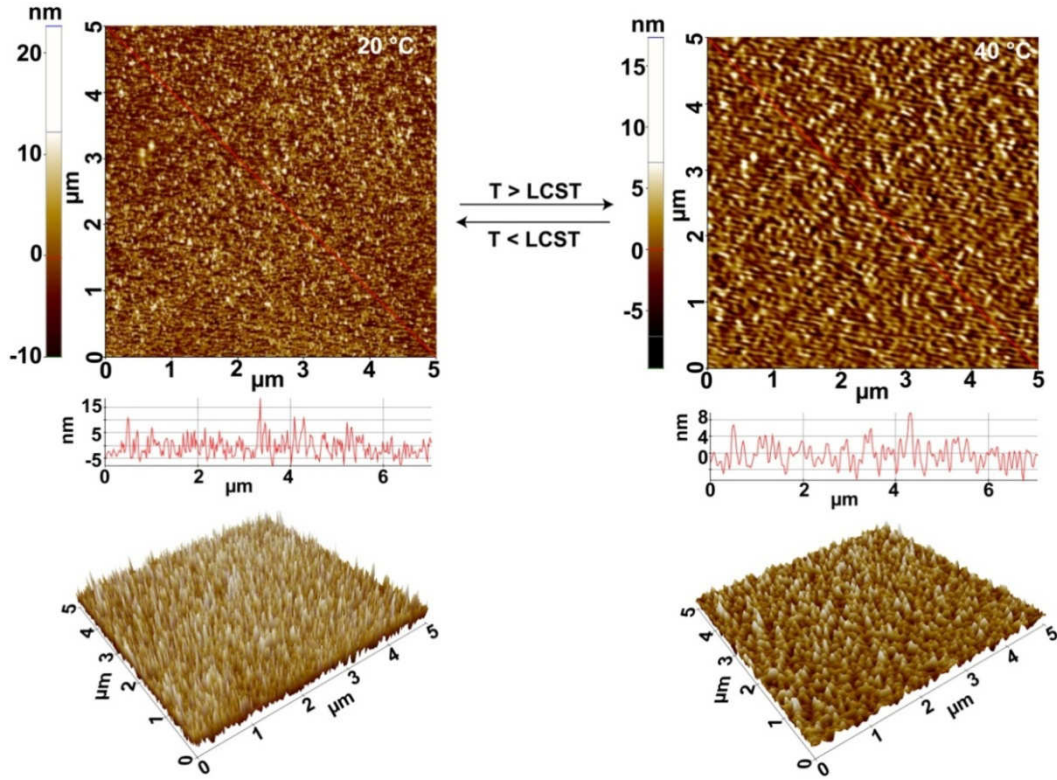
Kitano ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada altın nanoparçacıklar üzerine çözelti ortamında ATRP yöntemi ile sentezledikleri  $\text{P}(\text{MEO}_2\text{-MA})$  makromoleküllerini adsorbe etmişler ve polimerin faz geçiş sıcaklığını  $25^{\circ}\text{C}$  olarak belirlemişlerdir [Kitano ve ark., 2009]. Bir başka çalışmada ise cam yüzeyi üzerine ATRP yöntemi ile  $\text{P}(\text{MEO}_2\text{-MA})$  sentezlemişler ve faz geçiş sıcaklığını  $26,2^{\circ}\text{C}$  olarak bulmuşlardır [Kitano ve ark., 2010]. Laloyaux ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ATRP tekniği ile silisyum disk yüzeyinde  $\text{P}(\text{MEO}_2\text{-MA})$  sentezlemişler ve faz geçiş sıcaklığını  $34^{\circ}\text{C}$  olarak rapor etmişlerdir [Laloyaux ve ark., 2010]. Aynı polimer kullanılmasına

rağmen faz geçiş sıcaklıklarındaki bu farklılık faz geçiş sıcaklığının polimer film kalınlığının, yüzeydeki polimer fırçanın zincir yoğunluğu, polimerin mol kütlesi ve polimerin uç gruplarının hidrofilik/hidrofobik olması gibi birçok parametreden etkilenmesidir.

Şekil 7.29a'da gösterilen su değme açılarından da anlaşılabileceği üzere polimer fırçalar LCST altındaki sıcaklıklarda yaklaşık olarak 55°'lik su değme açısına sahip olup hidrofilik özellikte iken LCST üzerinde yaklaşık olarak 102°'lik su değme açısıyla hidrofobik özelliktedir. Poli(MEO<sub>2</sub>-MA) fırçaların sıcaklıkla böyle farklı özelliklere sahip olması polimer fırçaların inter-moleküler ve intra-moleküler etkileşimlerin sıcaklıkla farklı olmasından kaynaklanmaktadır. LCST altındaki sıcaklıklarda polimer fırçalarda bulunan C=O ve C-O-C gruplar inter-moleküler etkileşimlerle hidrojen bağı oluşturmaya çok yatkın olup su ile kolayca etkileşerek hidrofilik özellik kazanmışlardır. LCST üzerindeki sıcaklıklarda ise polimer zincirlerinin bükülmesi nedeniyle su moleküllerinin C=O ve C-O-C grupları ile etkileşime girip hidrojen bağı etkileşimi olmamasından dolayı yüzeyler hidrofobik özellik kazanmıştır.

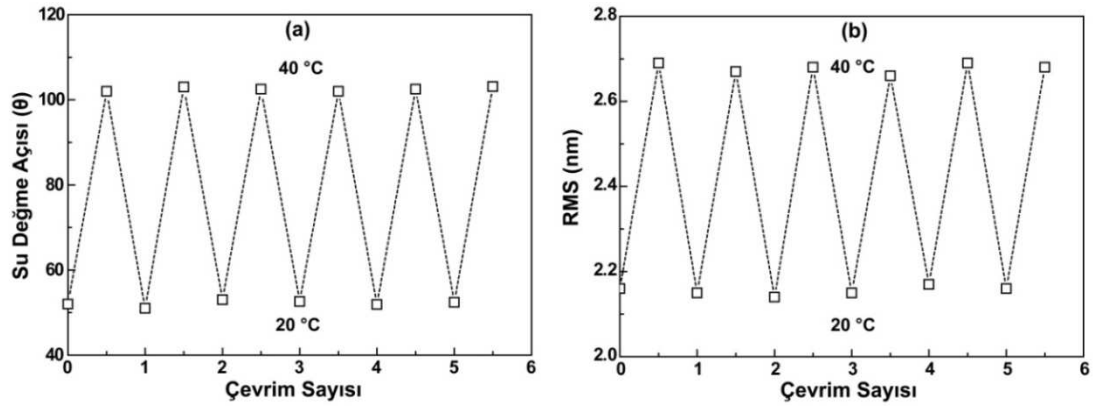
Yüzeylerin LCST altındaki ve üzerindeki sıcaklıklarda yüzey morfolojisi sıcaklık kontrollü AFM ile karakterize edilmiştir. Isıl dengenin sağlanması için her bir sıcaklık değişiminde sonra 10 dk süre beklenilmiştir. Şekil 7.30'da 20 °C ve 40 °C'da yüzeylere ait 2D, 3D yüzey morfolojileri ile yükseklik dağılım eğrileri verilmiştir. Sıcaklık LCST altında olduğunda yüzey morfolojilerinden de anlaşılabileceği üzere polimer fırçalar yüzey üzerinde fırça konformasyonundadır. Bu durumda polimer fırçaların yüzey üzerinde oldukça gergin bir şekilde bulunduğu kabul edilmektedir. Sıcaklık LCST üzerine çıkarıldığında polimer fırçalar zincir bükülmeleri ile yüzey üzerinde mantar tipi yapılar oluşmuştur. Bu durum sıcaklığın artışı ile birlikte gergin yapıdan yumak yapısına geçtiği kabul edilmektedir. Bu değişimler nedeniyle yüzey homojenliğinde de azalmalar meydana gelmiştir. Bu sonucunda yüzey

pürüzlülüğünün bir ölçüsü olan RMS değeri 2,13 nm den 2,68 nm değerine yükselmiştir.



Şekil 7.30. LCST altındaki ve üstündeki sıcaklıklardaki yüzeylerin 2D, 3D AFM görüntüleri ile yükseklik dağılım eğrileri.

Hazırlanan polimerik fırçaların sıcaklık ile konformasyonel değişiminin tersinir olup olmadığı yine sıcaklık kontrollü AFM ve su değme açıları ölçümü ile yapılmıştır. Şekil 7.31’de görüldüğü gibi 5 dönüşüm sonrasında dahi polimer fırçaların su değme açıları hidrofilik özellikten hidrofobik özelliğe (veya tersi) değişimi tersinir niteliktedir. Yüzey pürüzlülüğü ise sıcaklık değişimi ile birlikte bağıl olarak pürüzsüz bir yüzeyden pürüzlü bir yüzeye (veya tersi) yine tersinir olarak değişmektedir.



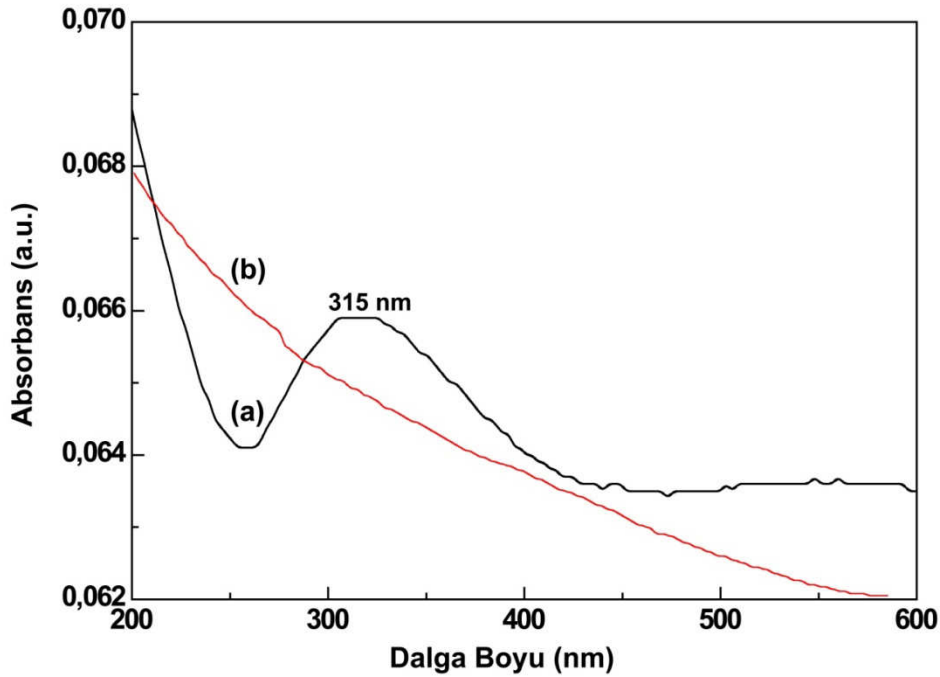
Şekil 7.31. Sıcaklık ile tersinir (a) Su değme açısının, (b) RMS değerinin değişimi.

#### 7.4.3. RAFT ajanı kalıntısının indirgenmesi (tritiyokarbonat grubunun sülfidril grubuna dönüştürülmesi)

Silisyum disk yüzeyinde P(MEO<sub>2</sub>-MA) fırçalarının uç grubunda mekanizma gereği dodesiltritiyokarbonat (C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>-S-C(=S)-S) grupları bulunmaktadır. Bu yüzeyler üzerine altın nanoparçacıkları immobilize edebilmek için bu grupların sülfidril (-SH) uç grubuna dönüştürülmesi gereklidir. Bu amaçla silisyum diskler 10 mL 0,1M NaBH<sub>4</sub> çözeltisi içersine konulduktan sonra 24 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı. Yüzey, çözeltiden alındıktan sonra su ile yıkanıp azot gazı ile kurutuldu. Yüzey üzerinde indirgenmenin olup olmadığı ilk önce UV-GB spektroskopisi ile araştırılmıştır. UV-GB analizinde P(MEO<sub>2</sub>-MA) fırçaları cam yüzeyler üzerinde sentezlenmiş ve indirgeme işlemi yukarıda anlatıldığı gibi yapılmıştır. Şekil 7.32'de indirgenmeden önce ve sonra UV-GB spektrumları verilmektedir. RAFT ajanında bulunan tritiyokarbonat grubu aynı zamanda kromofor grup olup genelde 305-315 nm aralığında tek bir absorbands vermektedir [Skrabania ve ark., 2011]. Şekil 7.32a'dan da görüldüğü gibi yaklaşık 315 nm dalga boyunda maksimum absorbands gözlenmiştir. Bu durum cam yüzeyinde de P(MEO<sub>2</sub>-MA) fırçaların kontrollü bir şekilde sentezlendiğinin göstergesidir. Yüzeyler NaBH<sub>4</sub> ile muamele edildiğinde 315 nm dalga boyunda maksimum absorbands



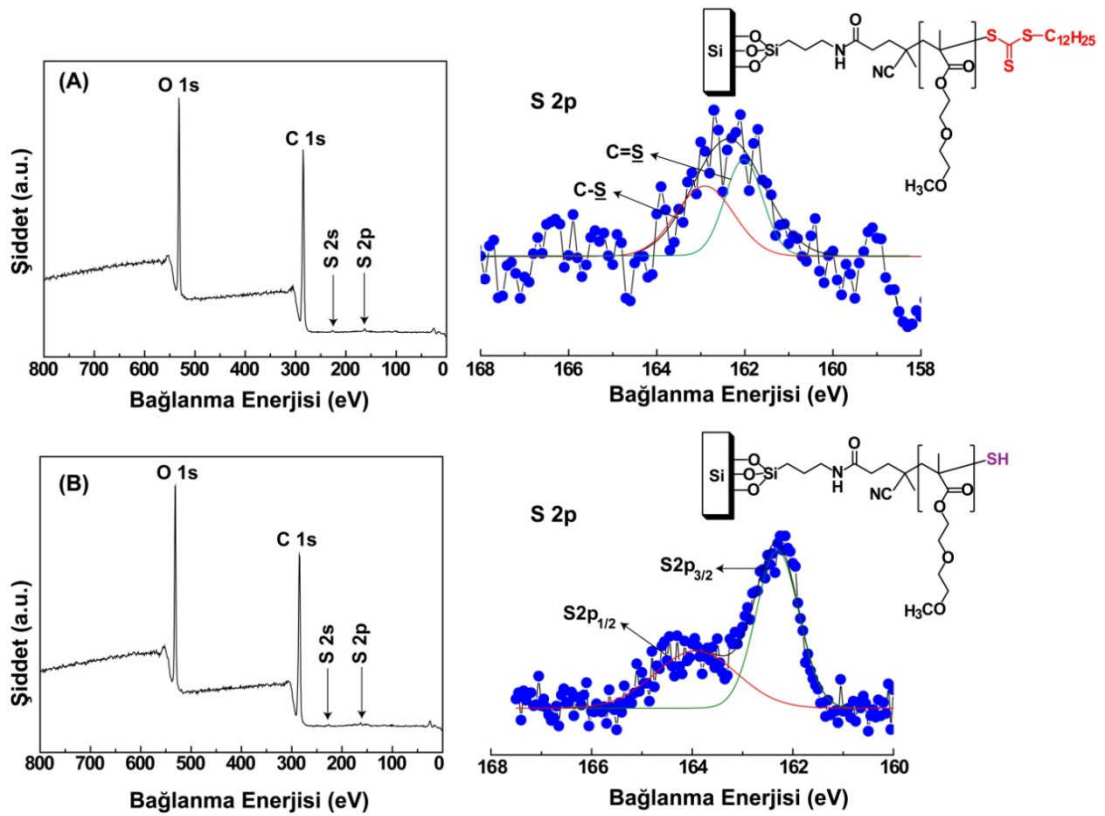
kaybolmuştur (Şekil 7.32b). Bu durum yüzeydeki tritiyokarbonat uç grupların kantitatif bir oranda sülfidril uç grubuna dönüştüğünü göstermektedir.



Şekil 7.32. (a) İndirgmeden önce ve (b) İndirgmeden sonra cam yüzeyinden alınan UV-GB spektrumları (Polimerleşme süresi: 12 saat).

Silisyum disk yüzeyinde indirgenmenin gerçekleştiği aynı zamanda XPS analizi ile de kanıtlanmıştır. Şekil 7.33'de indirgmeden önce ve sonra elde edilen XPS genel spektrumu ile yüksek çözünürlük S 2p spektrumları verilmiştir. Tritiyokarbonat ve sülfidril uç gruplu polimer fırçaların XPS genel spektrumunda (Şekil 7.33a ve b) bağlanma enerjileri yaklaşık 532 eV, 285 eV, 220 eV ve 163 eV olan sırasıyla O 1s, C1s, S 2s ve S 2p elementlerine ait pikler bulunmaktadır. İndirgeme yapılmadan önce silisyum yüzeyindeki toplam olarak % 2,1 bağıl oranında kükürt elementi bulunmaktadır (XPS analizi ile atomik derişimi bağıl olarak % 0,1 ve daha fazlasını tayin edilebildiğinden dönüşümün gerçekleşip gerçekleşmediğinin kontrolünde polimerizasyon süresi 5 saat olduğu durumdaki silisyum yüzeyler kullanılmıştır, Bknz. Çizelge 7.2). Bu değer indirgeme yapıldıktan sonra % 0,71 değerine düşmüştür. Tritiyokarbonat grubunda teorik olarak 3 adet

kükürt atomu, indirgemenin sonra 1 kükürt atomuna sahip sülfidril grubuna dönüşmektedir. Görüldüğü gibi indirgemenin önceki ve sonraki kükürt elementinin bağıl miktarları dikkate alındığında indirgeme reaksiyonu sonucunda hemen hemen tüm tritiyokarbonat gruplarının sülfidril gruplarına dönüştüğü söylenebilir.



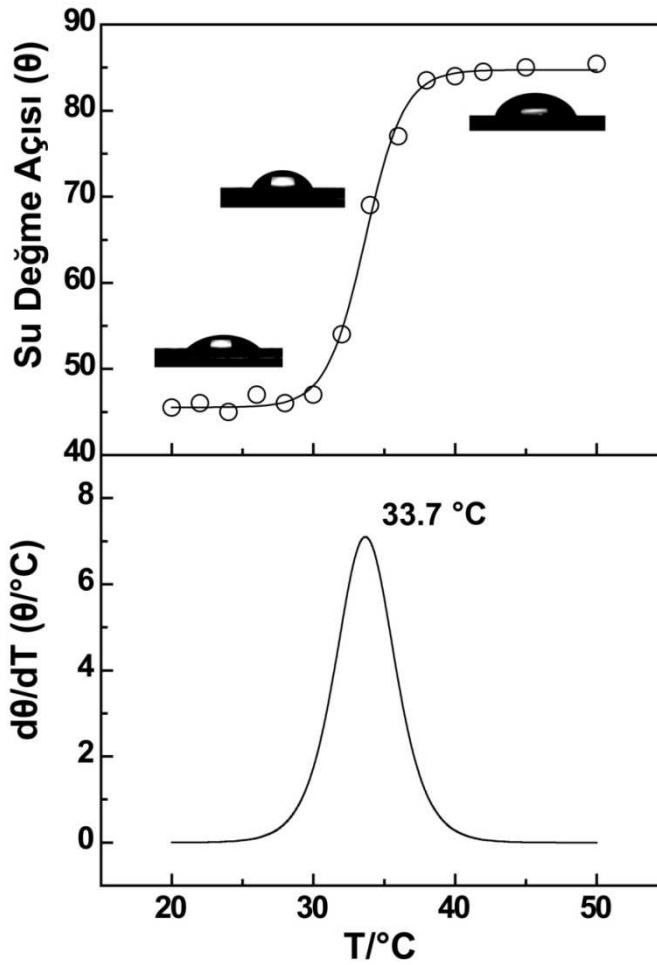
Şekil 7.33. (a) İndirgeme öncesi ve (b) İndirgeme sonrası elde edilen XPS genel spektrumları ile S 2p yüksek çözünürlük XPS spektrumları (Polimerleşme süresi 5 saat).

Şekil 7.33 de ayrıca indirgemenin önce biri yaklaşık olarak 162 eV bağlanma enerjisinde  $C=S$  ve diğeri yaklaşık 163 eV bağlanma enerjisinde  $C-S$  olmak üzere iki farklı kimyasal çevreye sahip kükürt elementi de bulunmaktadır. Bununla birlikte yüzey üzerinde indirgeme gerçekleştiğinde tek bir kimyasal çevreye sahip kükürt elementi bulunmaktadır. Spektrumdan da görüldüğü gibi biri 162,3 eV bağlanma enerjisinde  $S 2p_{3/2}$  ve diğeri 164,1 eV bağlanma enerjisinde  $S 2p_{1/2}$  olmak üzere tek bir kimyasal çevreye sahip kükürt

elementi bulunmaktadır. Bu durum tüm tiritiyokarbonat gruplarının indirgenerek sülfidril gruplara dönüştürüldüğünü destekler niteliktedir.

Sıcaklık duyarlı polimerlerin LCST değeri polimer çözeltisinin derişimi, çözelti ortamında tuz, yüzey aktif maddenin bulunması ile bunların türü ve derişimi, polimerin yapısı ve bileşimi, mol kütlesi ve polimerin uç grup türüne doğrudan bağlıdır [Uyama ve ark., 1992; Xia ve ark., 2005; Xia ve ark., 2006; Park ve ark., 2006; Park ve ark., 2007; Huber ve ark., 2008 ]. LCST kavramı temelde entropik düzenlenmeye dayandığından yukarıda bahsi geçen özelliklerin en önemlisi polimerin uç gruplarının hidrofilik/hidrofobik karakteridir. Genel olarak uç grubun hidrofobik karakteri arttıkça LCST değerinde düşme, hidrofilik karakteri arttığında LCST değerinde artış meydana gelir. Chung ve grubunun yaptıkları bir çalışmada amin sonlu poli(N-izopropil akrilamit) polimeri sentezlemişler ve amin uç grubunu n-nonil grubu ile değiştirdiklerinde LCST değerinde 2 °C azalma, n-dodesil grubuyla değiştirdiklerinde ise 8 °C azalma gözlemişlerdir [Chung ve ark., 1997]. Huber ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada sıcaklık duyarlı poli(2-propil-2-oksazolin) sentezlemişler ve polimerin metil uç grubunu dodesil grubuyla değiştirdiklerinde LCST değerinin 47 °C'den 28 °C'ye düştüğünü belirlemişlerdir [Huber ve ark., 2008]. Silisyum yüzeylerde P(MEO<sub>2</sub>-MA) fırçalarda dodesiltiritiyokarbonat hidrofobik uç karakteri indirgeme işlemi sonrasında nispeten daha hidrofilik sülfidril grubuna dönüştürülmüştür. Polimer fırçaların uç grubunun hidrofobik karakterinin değişmesinin LCST değerinde herhangi bir değişikliğin olup olmadığı sıcaklık kontrollü su değme açısı ölçümleri ile araştırılmıştır. Şekil 7.34'de sülfidril uç gruba sahip polimer fırçaların su değme açılarında meydana gelen değişiklikler sıcaklığın fonksiyonu olarak gösterilmiştir. Grafik incelendiğinde sülfidril uç grubuna sahip polimer fırçalar oda sıcaklığında yaklaşık 45° su değme açısına sahipken, belirli bir sıcaklık artışı ile birlikte su değme açıları artmış ve belirli bir sıcaklıktan sonra ise su değme açılarında bir artış olmayarak 85° değerine ulaşarak nispeten daha hidrofobik bir karaktere sahip olmuştur. Sıcaklık-su değme açısı değişiminin birinci türevi alındığında sülfidril uç gruba sahip

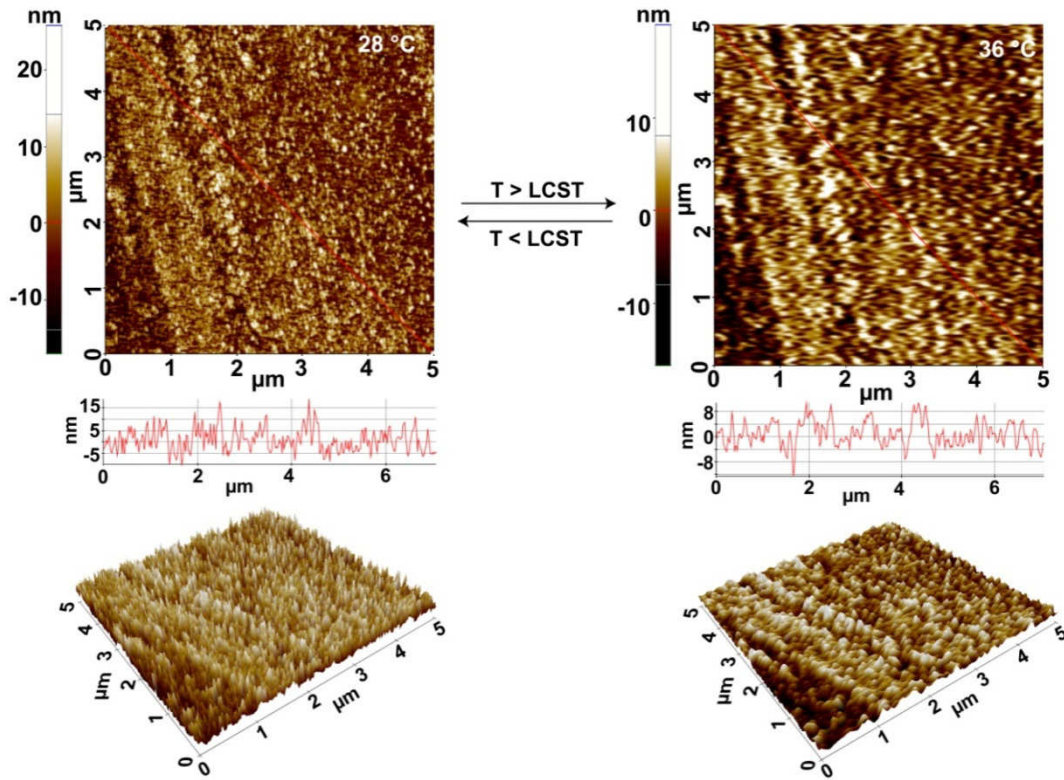
polimer fırçaların LCST değeri yaklaşık 34 °C olarak belirlenmiştir. Görüldüğü gibi polimer uç grubunun n-dodesil grubundan sülfidril grubuna dönüştürüldüğünde LCST değerinde sülfidril grubunun hidrofilik karakterinden dolayı yaklaşık 6 °C artış gözlenmiştir (n-dodesil uç gruplu polimer fırçaların LCST değeri 27,6 °C olarak belirlenmişti).



Şekil 7.34. Sülfidril uç gruba sahip polimer fırçaların sıcaklıkla su değme açılarındaki değişim ve bu değişimin birinci türev eğrisi.

Sülfidril uç gruba sahip polimer fırçaların LCST altındaki ve üstündeki morfolojileri sıcak kontrollü AFM analizi ile belirlenmiştir. AFM analizi sırasında sülfidril uç gruba sahip fırçaların LCST altındaki sıcaklık olarak 28 °C referans alınmış ve böylece n-dodesil uç gruplu polimer fırçaların LCST üstündeki sıcaklıkta çalışılarak olası değişimler kontrol edilmiştir. Şekil

7.35'de sülfidril uç gruba sahip polimer fırçaların LCST altındaki ve üstündeki sıcaklıklarda 2D, 3D görüntüleri ve yükseklik dağılım eğrileri verilmiştir.



Şekil 7.35. Sülfidril uç gruba sahip polimer fırçaların LCST altında ve üstündeki sıcaklıklarda 2D, 3D AFM görüntüleri ve yükseklik dağılım eğrileri.

Sıcaklık LCST altında olduğunda 3D AFM görüntüsünden de açıkça görüldüğü gibi polimerler fırça konformasyonundadır. Bir başka deyişle indirgeme sonrasında polimer fırçaların konformasyonunda herhangi bir değişikliğe sebep olmamıştır. Ayrıca bu sıcaklık değeri daha öncede belirtildiği gibi n-dodesil uç gruplara sahip fırçaların LCST değerine oldukça yakındır. Görüldüğü gibi bu sıcaklıkta herhangi bir faz değişiminin gözlenmemesi indirgenmenin gerçekleştiğinin fiziksel bir göstergesi olabilir. Sıcaklık LCST değerinin üzerine çıkarıldığında (36 °C) bir faz değişimi sonucu yüzeyde mantar tipi yapılar oluşmuştur. Bu değişim sonrasında yüzeylerin RMS değeri 2,15 nm değerinden 2,67 değerine yükselmiştir.

Hazırlanan polimer fırçalar sülfidril uç grubuna dönüştürüldükten sonra yüzeyler üzerine altın nanoparçacık immobilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bunun için ilk önce altın nanoparçacıkların sentezi ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir.

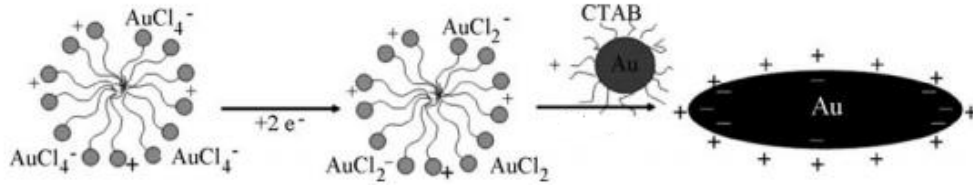
### **7.5. Altın Nanoparçacıkların Karakterizasyonu**

Küresel yapıda altın nanoparçacıkların sentezinde genel olarak iki yöntem kullanılır. İlk yöntem tohum büyütme yöntemi olarak bilinen ve setiltrimetil amonyum klorür'ün (CTAB) çözelti ortamında misel oluşturmaya dayanan yöntemdir [Jana ve ark., 2001]. Diğer yöntem ise günümüzde sıklıkla kullanılan sitrat indirgeme yöntemidir [Grabar ve ark., 1995]. Bu yöntemde altın iyonları yüksek sıcaklıkta sodyum sitrat ile indirgemesine dayanmaktadır. Çalışma kapsamında her iki yöntemle parçacık sentezi gerçekleştirilmiş ve homojen ürün ve çap dağılımını veren yöntem belirlenmiştir. SERS platformu olarak kullanılacak olan polimer fırça-nanoparçacık hibrit sistemlerinde tekrarlanabilir SERS sinyalinin alınabilmesi için immobilize edilecek olan altın nanoparçacıkların çapının 20 nm'den düşük olması gerektiği rapor edilmiştir [Diamenti ve ark., 2009]. Bu nedenle bu çalışma kapsamında homojen ürün dağılımı ile 20 nm'den düşük çaplı parçacıklar temel alınacaktır.

#### **7.5.1. Tohum büyütme yöntemiyle sentezlenen altın nanoparçacıkların karakterizasyonu**

Tohum büyütme yöntemiyle monodispers kolloidal nanoparçacıkların sentezi 1920 yılından beri kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde genellikle 2-5 nm arasında küresel şekle sahip altın nanoparçacıklar tohum olarak kullanılmakta ve hekzadesiltrimetil amonyum klorür (CTAB) yüzey aktif varlığında büyütülerek belirli bir yapı ve çapa sahip altın nanoparçacıklar sentezlenebilmektedir. Şekil 7.36'da tohum büyütme yöntemi şematik olarak

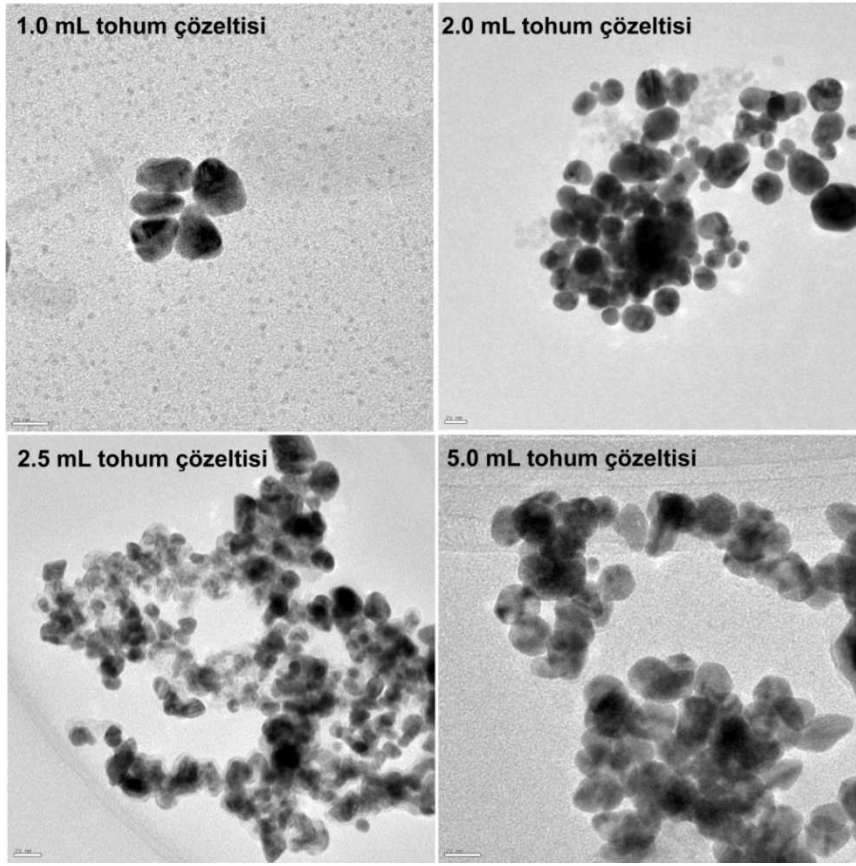
gösterilmiştir. Bu yöntem genellikle altın nanoçubuk ve küresel yapıdaki altın nanoparçacıkların sentezi için kullanılmaktadır [Juste ve ark., 2005].



Şekil 7.36. Altın nanoparçacıkların oluşum mekanizması.

Altın parçacıkların oluşum mekanizması tam olarak aydınlatılmamış olmakla birlikte genel kanı CTAB miseli üzerine adsorbe olmuş serbest altın iyonları indirgeme ajanı olarak kullanılan askorbik asit ilavesi ile  $\text{Au}^{3+}$  iyonu  $\text{Au}^+$  iyonuna indirgenmekte ve ilave edilen tohum nanoparçacıklar çekirdek merkezi olarak davranarak CTAB ikili tabakasına sahip altın nanoparçacıklar sentezlenmektedir.

Tohum büyütme yöntemiyle sentezlenen altın nanoparçacıkların oluşumunda birçok parametre kritik rol oynamaktadır. Kullanılan yüzey aktif maddenin türü ve derişimi, indirgemedede kullanılan indirgeyici türü ve derişimi, ortamda bulunan ilave iyon türleri ( $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{I}^-$  gibi) ve derişimleri, tohum parçacıkların çapı ve miktarı, sıcaklık ve ortamda bulunan serbest altın miktarı gibi parametreler oluşacak olan parçacığın bütün fiziksel özelliklerini doğrudan etkiler. Optimizasyon çalışmalarında sadece tohum miktarının etkisi incelenmiştir. Bu çalışma yapılırken, ortamdaki diğer türlerin derişimi ve miktarları sabit tutulmuş sadece tohum nanoparçacıkların hacimsel miktarları 1,0 -5,0 mL arasında değiştirilerek incelenmiştir. Şekil 7.37'de farklı tohum çözeltileri kullanılarak elde edilen parçacıkların TEM görüntüleri verilmiştir.

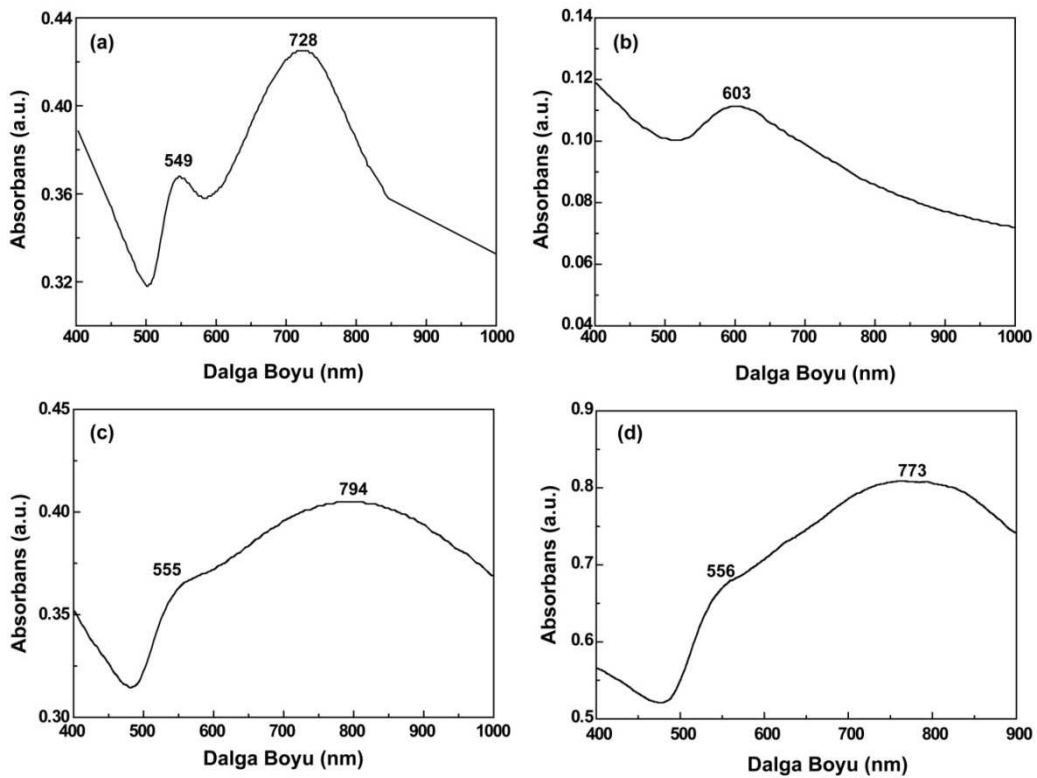


Şekil 7.37 Farklı tohum çözeltiler kullanılarak elde edilen parçacıkların TEM görüntüleri.

Şekilden de anlaşılacağı üzere farklı miktarlarda tohum miktarının kullanılmasıyla farklı yapı ve çaplara sahip parçacıklar elde edilmiştir. Tohum miktarının 1,0 mL olması durumunda anizotropik parçacık oluşumu baskın hale gelmiş ve çözelti açık pembe rengi almıştır. Bu partiküllere ait UV-GB spekturumuna bakıldığında (Şekil 7.38a) iki farklı dalga boyunda maksimum absorbansa sahip olması anizotropik büyümeyi destekler durumdadır. Anizotropik parçacıkların farklı yüzeylere sahip olması bir başka deyişle bu tip parçacıklarda atomların farklı uzaysal yönelmelerinin olması sebebiyle yaklaşık olarak 550 nm de çıkan maksimum absorbans oluşan parçacıkların nispeten daha kısa olan kenarlarına ait iken yaklaşık olarak 728 nm de çıkan maksimum absorbans ise oluşan anizotropik parçacıkların nispeten daha uzun olan kenarlarındaki altın atomlarına aittir. Tohum çözelti miktarı 2,0 mL olması durumunda çoğu parçacık izotropik bir başka deyişle küresel yapıya



sahip olmakla birlikte kısmen topaklanmış parçacıklarda bulunmaktadır. Bu parçacıkların UV-GB spektrumuna bakıldığında (Şekil 7.38b) yaklaşık olarak 603 nm de tek maksimum absorbans vermesi izotropik bir büyümenin olduğunu göstermekle birlikte topaklanmanın da meydana geldiğini göstermektedir. Keza başlangıçta kırmızı olan çözelti rengi 3 saat sürenin sonrasında çözelti açık kahverengine dönüşmüştür. Yapılan analiz sonucunda parçacık çapları 10-45 nm arasında değişmektedir. Tohum miktarının artırılması ile birlikte çap artışı ile hem anizotropik parçacık oluşumu baskın hale gelmiş hem de parçacıklar bir araya gelerek büyük topaklanmalar oluşturmuşlardır.



Şekil 7.38. Tohum miktarının değiştirilmesiyle elde edilen parçacıkların UV-GB spektrumları: (a) 1,0 mL, (b) 2,0 mL, (c) 2,5 mL ve (d) 5,0 mL tohum çözeltisi.

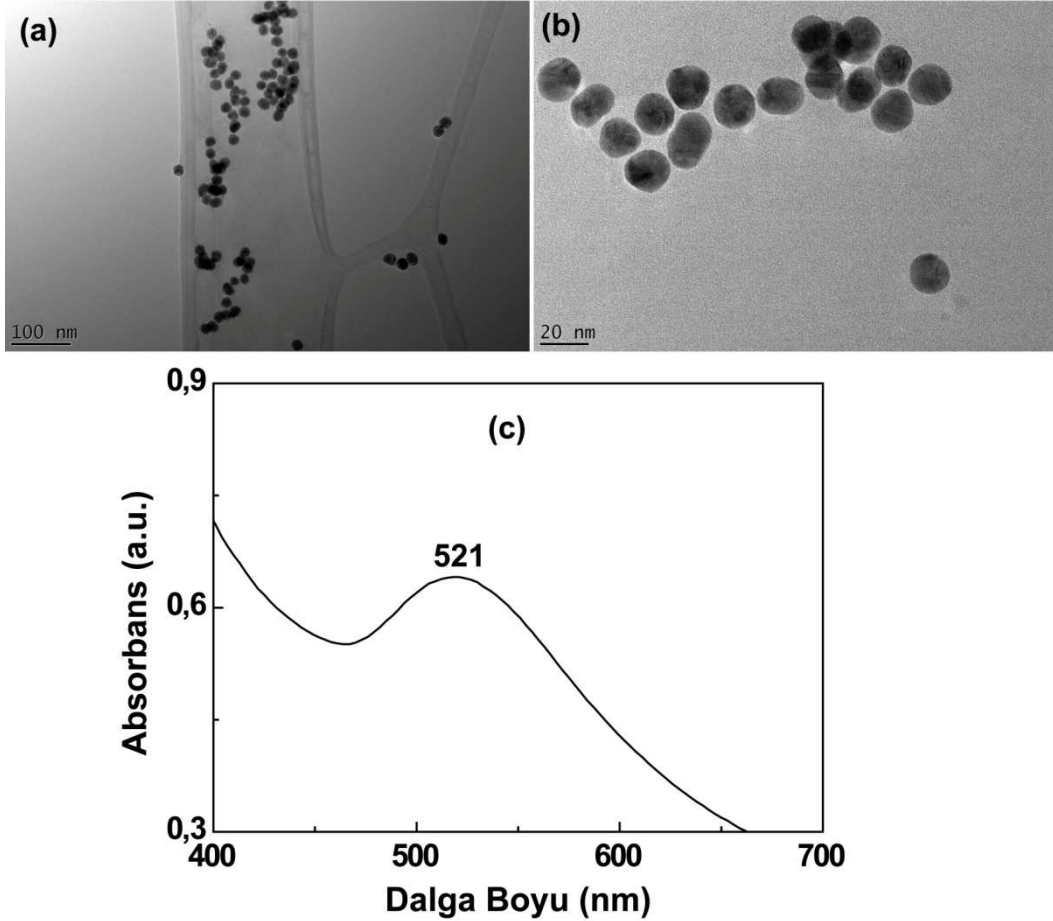
UV-GB spektrumları incelendiğinde (Şekil 7.38c ve d) iki farklı maksimum absorbansa sahip olması ve spektrumların yayvan olması anizotropik parçacık oluşumu ile birlikte topaklaşmanın olduğunu da göstermektedir.

Bununla birlikte gözlemsel olarak parçacıkların çözelti renklerinin belirli bir süre sonunda koyu kahverengi olması topaklaşmanın meydana geldiğini göstermiştir. Tohum büyütme yöntemi ile sentezlenen parçacıkların çap dağılımı ve türünün homojen olmaması sebebiyle SERS sinyallerinde tekrarlanabilirlik oldukça düşük olacaktır. Her ne kadar, anizotropik parçacıkların ve topaklanmış parçacıkların Raman saçılması çok kuvvetli olmasına rağmen her seferinde aynı büyüklükte topaklanmış parçacıkların sentezlenmesinin oldukça güç olması nedeniyle SERS platformu olarak bu parçacıkların kullanımını kısıtlamaktadır. Bu nedenle küresel parçacıkların sentezinde ikinci bir yöntem olan sitrat indirgeme yöntemi denenmiştir.

#### **7.5.2. Sitrat indirgeme yöntemiyle sentezlenen altın nanoparçacıkların karakterizasyonu**

Sitrat indirgeme yöntemiyle elde edilen parçacıkların TEM görüntüleri Şekil 7.39a ve 7.39b’de verilmiştir. Görüntülerden de anlaşılacağı üzere elde edilen parçacıklar küresel şekilde olup ortalama çapı 15 nm olarak belirlenmiştir. Oluşan parçacıkların UV-GB spektrumu incelendiğinde (Şekil 7.39c) 550 nm de maksimum absorbands vermesi oluşan parçacıkların içeriğinin altın olduğunu göstermekle birlikte elde edilen spektrumun hem nispeten dar bir dağılım vermesi hem de tek bir absorbands vermesi parçacıkların izotropik bir şekilde oluştuğunu ve herhangi bir topaklanmanın olmadığını göstermektedir. Nitekim çözelti rengi indirgenmenin başlangıcında mavi iken yaklaşık olarak 70 saniye sonra çözelti şarap kırmızısı rengini almış ve bu rengini yaklaşık olarak oda sıcaklığında bir ay boyunca muhafaza etmiştir ( bu sürenin sonunda çözelti açık kahverengini almıştır). Görüldüğü gibi elde edilen parçacık dağılımı oldukça homojen olması SERS sinyalinin de tekrarlanabilir olmasına büyük ölçüde katkı sağlayacaktır. Bununla beraber polimer fırça-altın nanoparçacık hibrit sistemlerinde kritik çaptan (20 nm) küçük olması böyle bir sistemde kullanabilirliğine olanak sağlamaktadır. Bu nedenle SERS çalışmalarında tohum büyütme yöntemi ile

sentezlenen parçacıklar yerine sitrat ile indirgeme yöntemiyle sentezlenen parçacıklar kullanılacaktır.

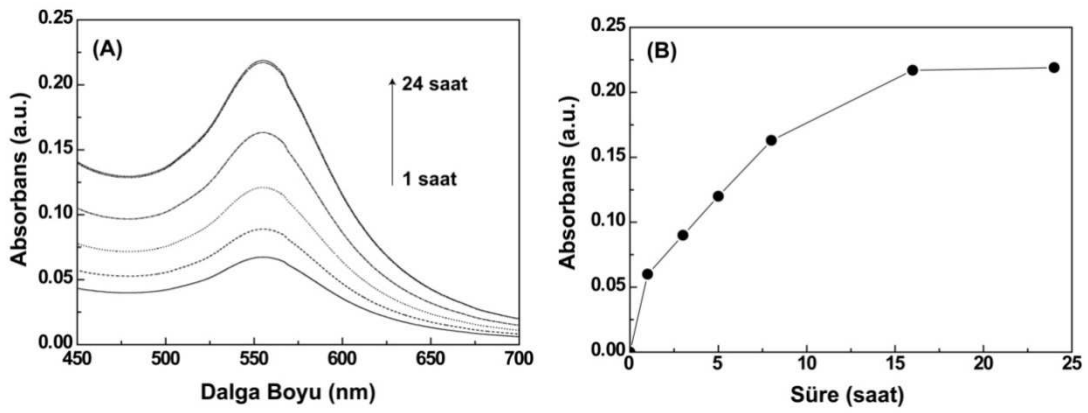


Şekil 7.39. Sitrat indirgeme yöntemiyle elde edilen parçacıkların (a) Düşük, (b) Yüksek büyütmeli TEM görüntüleri ve (c) UV-GB spektrumu.

#### 7.6. Sıcaklık Duyarlı P(MEO<sub>2</sub>MA) Fırçalar  zerine Altın Nanoparçacık İmmobilizasyonu

Altın nanoparçacıklar sentezlendikten sonra sülfidril uç gruba sahip sıcaklık duyarlı polimer fırça ile modifiye edilmiş silisyum yüzeyler üzerine bu parçacıkların immobilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bunun için silisyum veya cam yüzeyler 3,0 mL sitrat indirgeme yöntemiyle hazırlanan altın nanoparçacık c zeltileri içerine konulmuş ve c zelti oda sıcaklığında ve karanlıkta döner karıştırıcıda karı tırılmı tır. Belirli zaman aralıklarında

karişımdan alınan yüzeyler deiyonize su ile 5 dakika boyunca sonike edilmiş ve ardından azot gazı ile kurutulmuştur. şekil 7.40'da çeşitli zaman aralıklarında cam yüzeyinden alınan UV-GB spektrumları ile zamana karşı absorbans değeri değişimini gösteren grafik verilmiştir. Analiz sırasında cam yüzeyler deiyonize su içeren küvetlere konulmuş ve daha sonra 1saat beklenerek polimer fıręaların şişmesi sağlandıktan sonra analiz geręekleřtirilmiřtir.

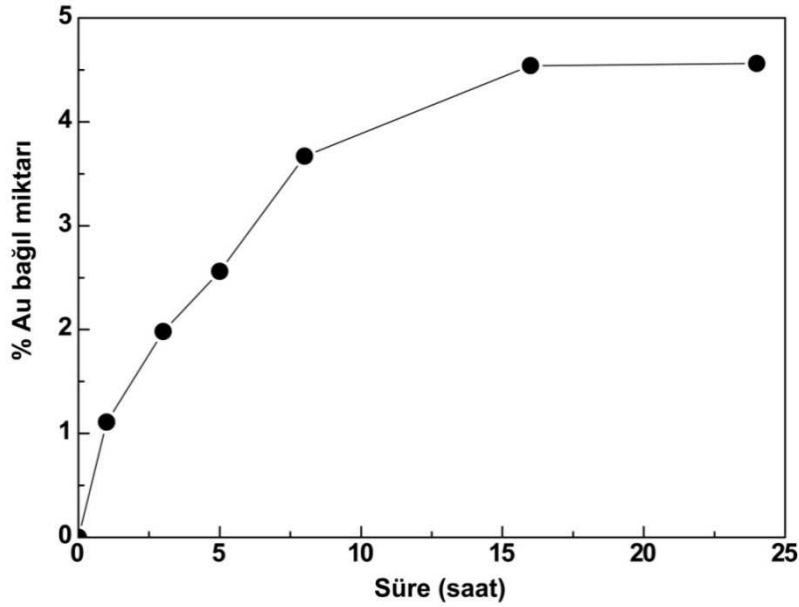


şekil 7.40. İmmobilizasyon süresine karşı elde edilen UV-GB spektrumları ile absorbans değerindeki değişim P(MEO<sub>2</sub>-MA) fıręa modifiye edilmiş cam yüzeyler “blank” olarak kullanılmıştır).

şekil 7.40a incelendiğinde yüzeyler üzerine altın nanoparęacık immobilize edildiğinde yaklaşık 554 nm dalga boyunda maksimum absorbans vermesi yüzeylere altın nanoparęacıkların immobilize edildiğinin bir göstergesidir. Bununla birlikte immobilizasyon süresince bu dalga boyundan daha yüksek dalga boyunca kaymaması ve spektrum genişliklerinin hemen hemen değişmemesi tüm zaman aralıkları için altın nanoparęacıkların yüzey üzerinde topaklaşmadığını göstermektedir [Nath ve ark., 2004]. Ayrıca altın nanoparęacıkların çözelti içerisindeki maksimum absorbans verdiği dalga boyu 521 nm (Bknz şekil 7.39) belirlenmişti. Görüldüğü gibi altın nanoparęacıklar belirli bir yüzeye immobilize edildiğinde maksimum absorbansı daha uzun dalga boyuna kayması yüzey üzerindeki paręacıkların çözelti içerisindeki paręacıklara göre optik alan yoğunluğunun daha düşük olmasından ve paręacıkların cam yüzeyine immobilize olması sonucu kırılma

indisinin değişmesinden dolayı kaynaklanmaktadır [Tokarev ve ark., 2004; Nath ve ark., 2004]. Şekil 7.40b incelendiğinde immobilizasyon süresinin artması ile absorbands değerlerinde de artış meydana gelmiş ve 16 saat immobilizasyon süresinden sonra absorbands maksimum değerine ulaşarak sabitlenmiştir. Bu durum immobilizasyon süresinin artması ile birlikte cam yüzeyindeki altın nanoparçacık sayısının arttığını ve 16 saat immobilizasyon süresi sonunda yüzeyin tamamı altın nanoparçacık ile kaplandığını göstermektedir. Elde edilen bu veriler P(MEO<sub>2</sub>-MA) fırçaların altın nanoparçacıkların homojen bir şekilde immobilizasyonu için uygun olduğunu da göstermektedir.

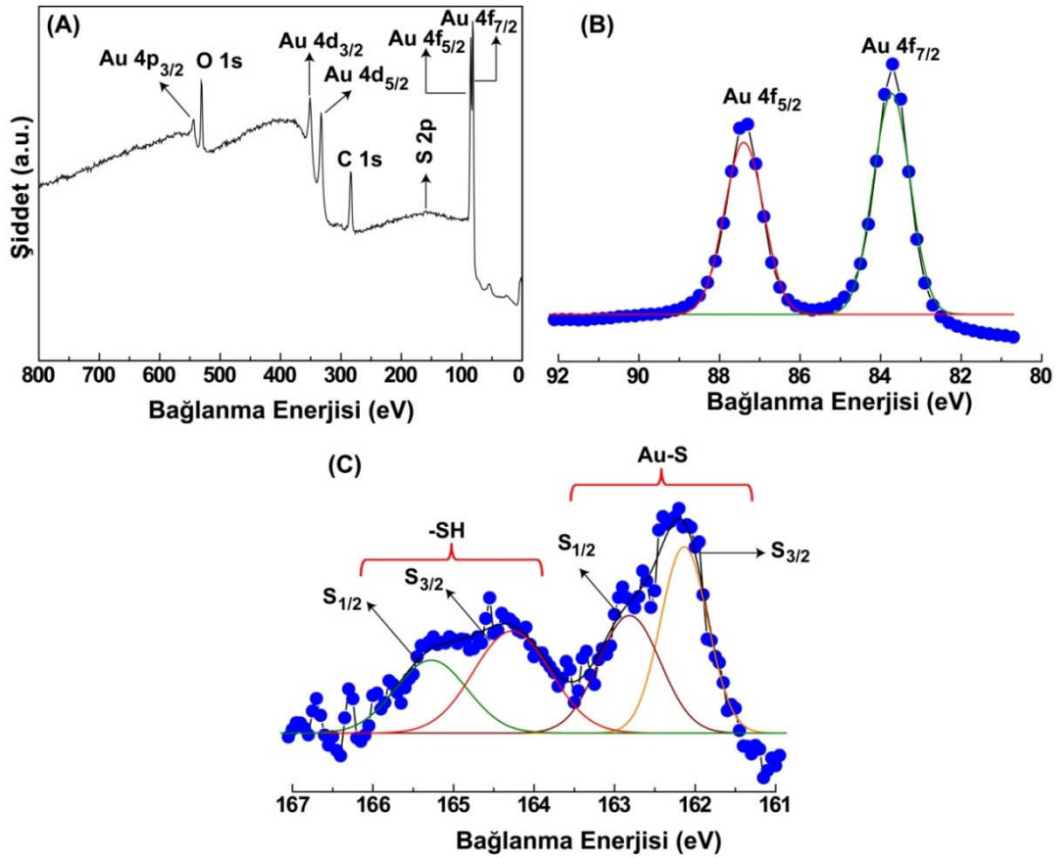
İmmobilizasyon süresi ile silisyum yüzeyindeki bağıl altın elementinin miktarı XPS analizi ile belirlenmiştir. Şekil 7.41'de altın elementinin bağıl miktarının immobilizasyon süresi ile değişimi gösterilmektedir. Şekil incelendiğinde, immobilizasyon süresi 1-16 saat aralığında değiştğinde silisyum yüzeyindeki altın elementinin bağıl miktarı % 1,11-4,56 aralığında değişmekte ve bu süre sonunda altın miktarında önemli bir artış olmamaktadır. Bu durum 16 saat immobilizasyon süresi ile yüzeyin tamamının altın parçacıklar ile kaplandığını göstermektedir. Bu sonuçlar UV-GB analizini de destekler niteliktedir.



Şekil 7.41. Bağlı altın miktarının immobilizasyon süresi ile değişimi.

İmmobilizasyon süresinin 16 saat olması durumunda elde edilen XPS genel spektrumu ile Au 4f ve S 2p yüksek çözünürlük XPS spektrumları Şekil 7.42'de gösterilmektedir. Altın nanoparçacık immobilize edilmiş silisyum yüzeylerin XPS genel spektrumuna incelendiğinde yaklaşık olarak 544 eV, 352 eV, 332 eV, 87 eV ve 84 eV bağlanma enerjilerinde sırasıyla Au 4p<sub>3/2</sub>, Au 4d<sub>3/2</sub>, Au 4d<sub>5/2</sub>, Au 4f<sub>5/2</sub> ve Au 4f<sub>7/2</sub> piklerinin görülmesi yüzeyde bulunan parçacıkların altın içerikli olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte biri 83,7 eV bağlanma enerjisinde, diğeri 87,4 eV bağlanma enerjisinde ikili Au 4f piklerinin elde edilmesi (Şekil 7.42b) yüzey üzerinde Au<sup>0</sup> şeklinde altın elementinin bulunduğu en güçlü kanıttır. Ayrıca 85 eV civarında herhangi bir pikin elde edilmemesi +1 yükseltgenme basamağına sahip altın iyonunun bulunmadığına ve böylece altın parçacıklar üzerine adsorbe olmuş altın iyonlarının olmadığını göstermektedir [Gupta ve ark., 2010]. Yüzeyler üzerine altın nanoparçacık immobilizasyonundan sonra S 2p yüksek çözünürlük XPS spektrumu incelendiğinde (Şekil 7.42c) ise 4 farklı pik elde edilmiştir. 162,0 eV ve 162,9 eV bağlanma enerjilerinde altın atomuna bağlı kükürt elementine ait pikler ile 164,2 eV ve 165,4 eV bağlanma enerjilerinde altın atomuna bağlanmamış serbest sülfidril grubundaki kükürt elementine ait piklerin

gözlenmesi yüzeylerde altın nanoparçacıkların kovalent olarak bağlandığını ve sterik etki nedeniyle altın parçacıkların bağlanmadığı serbest sülfidril grubunun olduğunu göstermektedir.

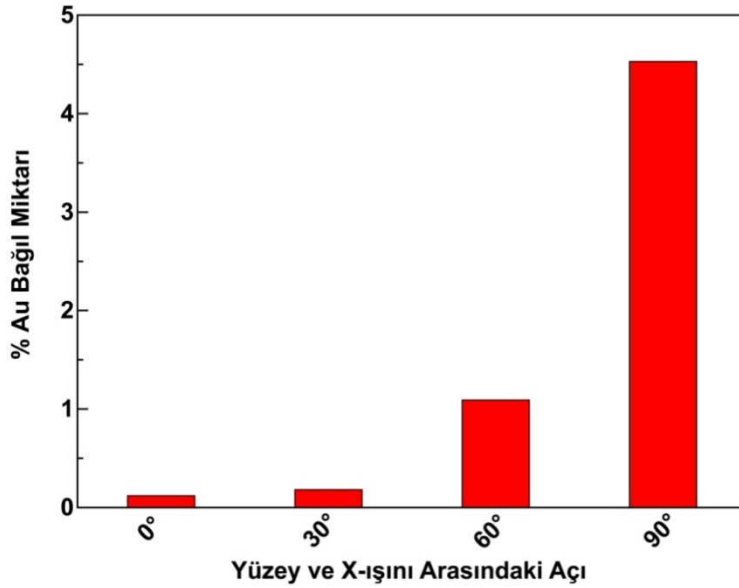


Şekil 7.42. Altın nanoparçacık immobilize edilmiş yüzeylerin (a) Genel ve (b,c) Au 4f ve S 2p yüksek çözünürlük XPS spektrumları (altın nanoparçacık immobilizasyon süresi: 16 saat).

Sülfidril uç gruplara altın nanoparçacık immobilizasyonu sonrasında tüm altın nanoparçacıkların yüzeylerin uç kısmında olduğu düşünülmektedir. Hazırlanan P(MEO<sub>2</sub>-MA) fırçaların aşılama yoğunluğu 0,7 zincir/nm<sup>2</sup> ve yüzeye aşılansmış makromoleküller arası uzaklık ise 1,35 nm olarak bulunmuştu. Polimer fırçaların yüzey üzerinde maksimum aşılama yoğunluğu 1,0 zincir/nm<sup>2</sup> olduğu düşünüldüğünde P(MEO<sub>2</sub>-MA) fırçaların yüzey üzerinde sıkı bir şekilde istiflendiği göstermektedir. Bununla birlikte makromoleküller arası uzaklığın parçacığın çapından oldukça düşük olması

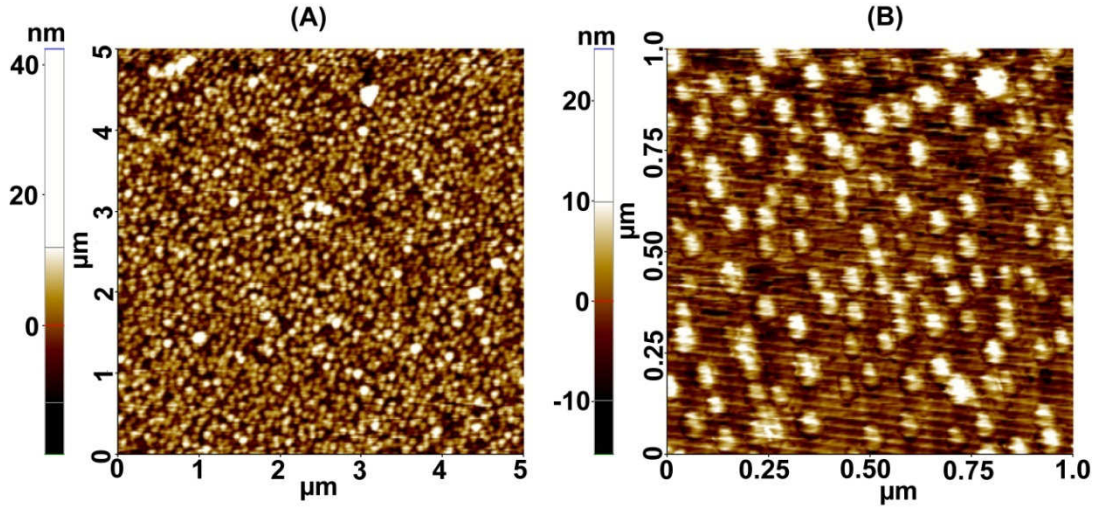
altın nanoparçacıkların hiçbir zaman silisyum yüzeyi ile etkileşime girmediğini sadece polimer fırçalar ile etkileştiğini göstermektedir. İyi bir çözücünde bulunan polimer fırçaların segmental hareketlerinin de iyi olması sülfidril grubu ile altın parçacığın karşılaşma ihtimalini artırmasının yanı sıra bir kısım parçacığın da polimer fırçanın içine doğru difüzlenebilme ihtimalini de artırmaktadır. İmmobilize edilen altın nanoparçacıkların yüzeylerde uç grup olarak konumlandığını XPS ile de kanıtlanmıştır. XPS karakterizasyonu sırasında X-ışını ile yüzey arasındaki açı (*take-off angle*) 90° ile 0° aralığında değiştirilmiş her bir açı değişikliğinde bağlı altın miktarındaki değişimler incelenmiştir. Şekil 7.43'de farklı temas açlarına karşılık bağlı altın miktarındaki değişim gösterilmiştir. Şekil incelendiğinde açının sıfır değerine yaklaşması ile birlikte altın elementinin bağlı miktarı da oldukça azalmıştır. Bu sonuç altın nanoparçacıkların hemen hemen tümünün uç grup şeklinde bulunduğunu göstermektedir. Bununla birlikte açı değerinin sıfır olması durumunda dahi altın elementinin olduğu belirlenmiştir. Bu durum iki şekilde açıklanabilir: (1) Yüzeyler çözücüden çıkarılıp kurutulduğunda polimer fırçalar tekrar entropik bir düzenlenmeye uğrayarak büzülme davranışı gösterirler ve böylece uç gruptaki parçacıklar polimer zincirlerin içine doğru kıvrılmış olabilir; (2) Altın nanoparçacıkların çok küçük bir kısmı, aynı polimer zinciri ya da komşu iki polimer zincirinde bulunan dietilen glikol gruplarının şelatlaştırıcı etki göstererek altın ile dietilen glikol grupları arasında yalancı taç eter şeklinde kompleks yapı oluşturmuş da olabilir [Diamenti ve ark., 2009; Gupta ve ark., 2010].





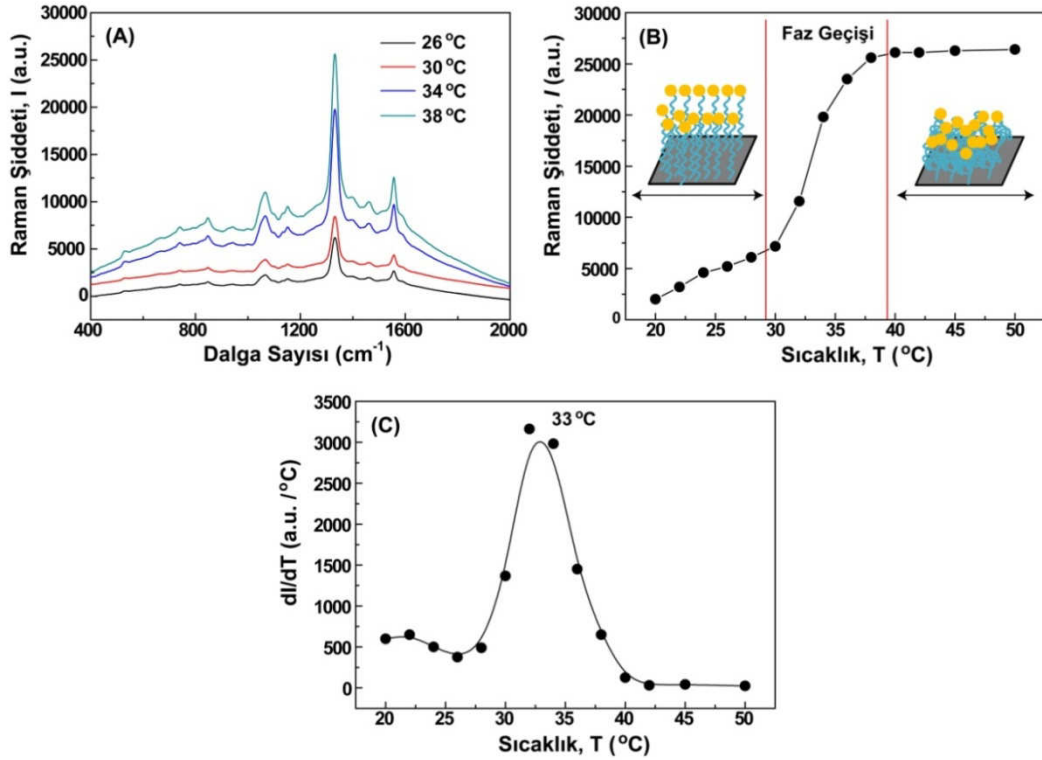
Şekil 7.43. Bağlı altın miktarının açı ile değişimi.

Sıcaklık duyarlı polimer fırçaların üzerinde nanoparçacıkların dağılımı AFM ile karakterize edilmiştir. Şekil 7.44'de yüksek alan ( $5 \times 5 \mu\text{m}^2$ ) ile düşük alan ( $1 \times 1 \mu\text{m}^2$ ) için iki boyutlu AFM görüntüleri verilmiştir. Şekilden de anlaşılacağı üzere altın nanoparçacıklar yüzeyler üzerinde homojen bir şekilde dağılmışlardır. Görüntü üzerinden dört farklı bölgede bulunan partiküllerin sayısı XEI programı ile sayılmış ve ortalama partikül sayısı  $185 \text{ partikül}/\mu\text{m}^2$  olarak belirlenmiştir. Yüzeyler üzerine altın nanoparçacık immobilize edildikten sonra RMS değeri  $6,48 \text{ nm}$  olarak belirlenmiştir. Her iki AFM görüntüsü incelendiğinde altın nanoparçacıkların şeklinin küresel yapıdan saptığı görülmektedir. Bu durum AFM analizinde kullanılan iğne ile yüzeydeki parçacıkların etkileşmesinden kaynaklanmaktadır. Bir başka deyişle AFM iğnesi yüzeyi taradığında altın nanoparçacıkları yüzey üzerinden koparmaya zorlamaktadır ("tip-surface convolution effect"). Parçacıklar yüzey üzerinde kovalent olarak bağlı bulunduğundan yüzeyde iğnenin etkisiyle parçacık şeklinde ve görünen çaplarında değişiklik olmaktadır [Minko ve ark., 2002; Gupta ve ark., 2008; Zhang ve ark., 2008; Williams ve ark., 2013]. Nitekim, 20 nanoparçacık üzerinden yapılan analizde parçacıkların yükseklik değerleri ortalama  $19 \text{ nm}$ , genişlik değerleri  $42 \text{ nm}$  olarak belirlenmiştir.



Şekil 7.44. Altın nanoparçacık immobilize olmuş yüzeylerin (A) Yüksek alan 5x5  $\mu\text{m}^2$ , (B) Düşük alan 1x1  $\mu\text{m}^2$  2D AFM görüntüleri.

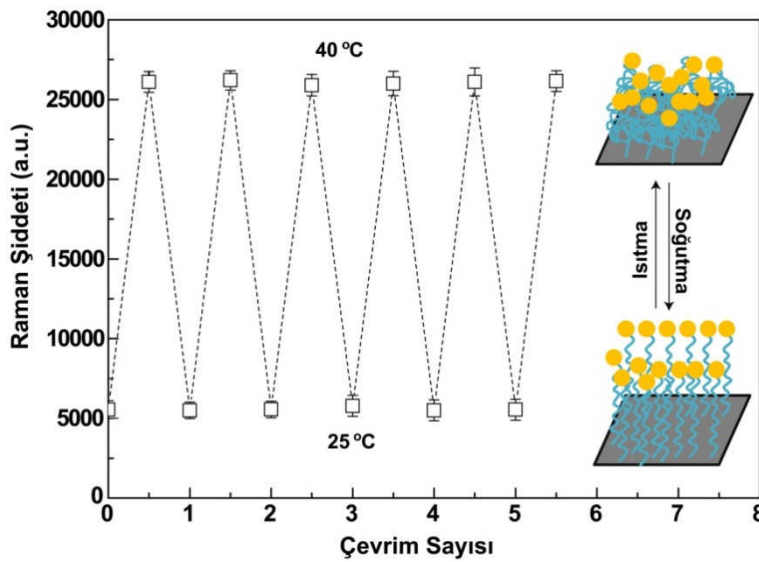
Hazırlanmış olan polimer fırça/altın nanoparçacık hibrit sistem sayesinde elde edilen silisyum yüzeyler altın nanoparçacıkların Raman saçılımını kantitatif olarak artırmasından dolayı bu yüzeyler SERS platformu olarak kullanılabilir. Özellikle polimer fırçaların sıcaklık duyarlı olması ve faz geçiş sıcaklığının vücut sıcaklığına yakın olması hazırlanan bu platformun aynı zamanda biyo-uygulamalarda “akıllı yüzey”ler olarak kullanılmasına olanak vermektedir. P(MEO<sub>2</sub>-MA) fırçaların sıcaklığı değiştirilerek Raman sinyalinin de kontrol edilebilir olması hazırlanan bu platformun ayrı bir özelliğidir. Hazırlanan SERS aktif hibrit sistemin sıcaklık değişimine karşı nasıl tepki verdiği SERS analizi ile araştırılmıştır. Bunun için hazırlanan yüzeyler ilk olarak 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) ile modifiye edildikten sonra çeşitli sıcaklıklara kadar ısıtılmış ve her bir sıcaklık değişimlerinde ısı dengelinin sağlanması için 10 dakika beklenilmiştir.



Şekil 7.45. (a) Farklı sıcaklıklarda alınan SERS spektrumları, (b) Sıcaklığın fonksiyonu olarak SERS şiddetlerindeki değişim ve (c) Bu değişimin birinci türev eğrisi.

Şekil 7.45'de farklı sıcaklıklarda alınan SERS spektrumları, sıcaklığın fonksiyonu olarak Raman saçılma şiddeti ile bu değişimin birinci türev eğrisi verilmiştir. Şekil 7.45a'da görüldüğü gibi sıcaklık artışı ile birlikte band şiddetlerinde artış meydana gelmektedir. Bu artış sıcaklığın artmasıyla birlikte nanoparçacıklar arasındaki uzaklığın azalması ile birlikte lokal elektromagnetik alanın artmasından kaynaklanmaktadır [Hill ve ark., 2010]. SERS sinyallerinin parçacıklar arası uzaklığın lokal elektromagnetik alanın 12. kuvvetiyle ters orantılı olduğu bilindiğinden nanoparçacıklar arasındaki uzaklığın azalışı SERS sinyallerinin artmasına çok fazla katkısı bulunmaktadır. Polimerin sıcaklıkla konformasyonel değişikliğe uğraması sonucu nanoparçacıklar arası uzaklık ise artırılabilir veya azaltılabilir. Sıcaklıkla SERS şiddetinin değişimi Şekil 7.45b'de gösterilmiştir (referans olarak 1338 cm<sup>-1</sup>dalga sayısındaki aromatik nitro grubu alınmıştır). Sıcaklık 20-28 °C aralığında değiştirildiğinde SERS şiddetlerinde belirli oranda bir

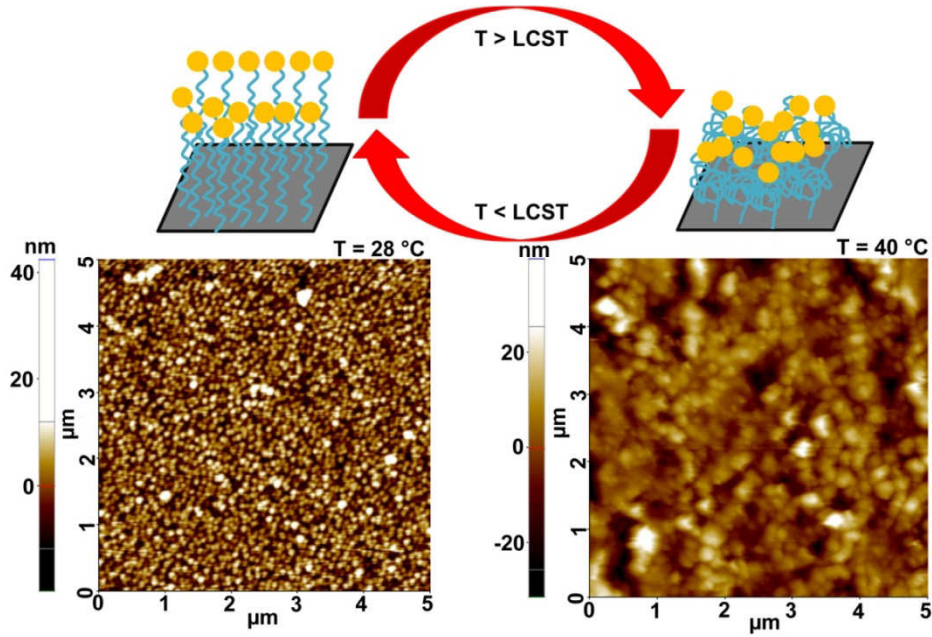
artış varken, sıcaklık 30-40 °C aralığında değiştiğinde SERS şiddetlerinde önemli ölçüde artış gözlenmiştir. Daha sonra ise sıcaklığın artırılması SERS şiddetlerinde herhangi bir değişikliğe yol açmamıştır. Sıcaklık, polimerlerin konformasyonel değişimin uğrayacağı sıcaklığa yaklaştığında uç grup olarak bulunan parçacıklar birbirine doğru yaklaşır ve SERS şiddetlerinde artış meydana gelir. SERS şiddetlerinin sıcaklığa göre birinci türevi alındığında (Şekil 7.45c) polimer fırçaların faz geçiş sıcaklığı 33 °C olarak belirlenmiştir. Su değme açısı ile yapılan çalışmada faz geçiş sıcaklığı 33,7°C olarak belirlenmişti. Görüldüğü gibi altın nanoparçacıkların immobilizasyonu polimerlerin faz geçiş sıcaklığında herhangi bir değişime neden olmamıştır. Bununla birlikte LCST altındaki ve üzerindeki sıcaklıklara ısıtma-soğutma çevrimleri sonucu SERS sinyallerin oldukça tekrarlanabilir olduğu da belirlenmiştir (Şekil 7.46). Sıcaklıkla SERS şiddetinin kontrol edilebiliyor olması hazırlanan hibrit sistemin özellikle klinik uygulamalarda yeni bir yol açacağı düşünülmektedir.



Şekil 7.46. Sıcaklıkla SERS şiddetinin tersinir değişimi.

Polimer fırçaların LCST değerinin üstündeki sıcaklıklarda yüzey üzerindeki altın nanoparçacıkların nasıl bir dağılım gösterdiği sıcaklık kontrollü AFM analizi ile belirlenmiştir. Şekil 7.47'den de görüleceği gibi sıcaklığın LCST

üzerinde olduğu durumda parçacıklar bir araya gelerek topaklaşmış yapılar oluşturmuşlardır. Bu topaklaşma sonucu RMS değeri 6,48 nm den 10,2 nm değerine yükselmiştir.



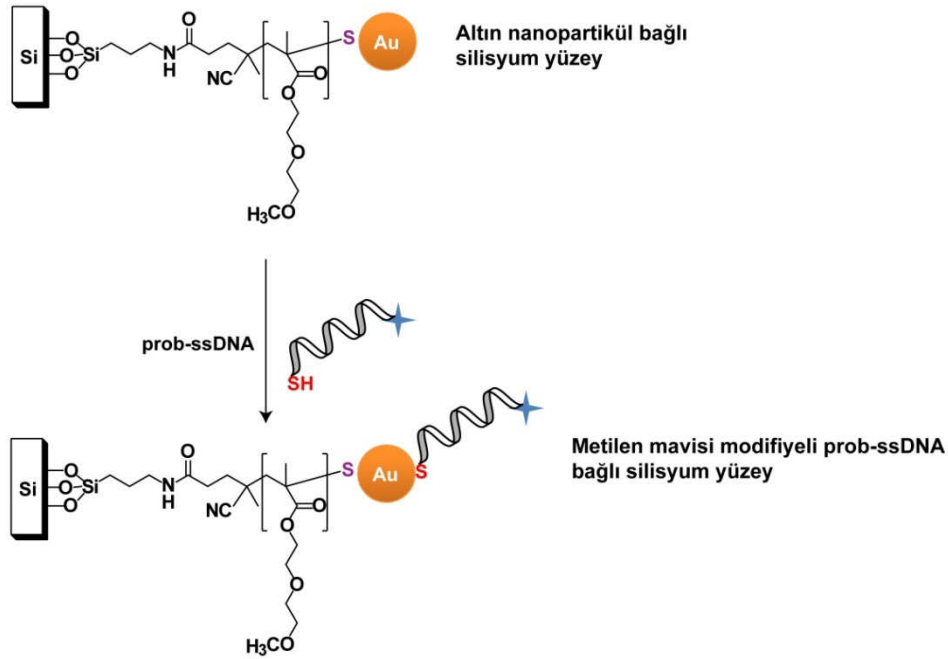
Şekil 7.47. Sıcaklığın LCST altın ve üstünde olduğu durumlarda parçacık bağlı yüzeylerin 2D AFM görüntüleri.

### 7.7. DNA Hibridizasyonu

Silisyum yüzeyler üzerine altın nanoparçacık bağlandıktan sonra yüzeyler üzerine Raman aktif boyar maddeleri ile modifiye edilmiş tek iplik DNA (ss-DNA) kullanılarak hazırlanan hibrit sistemin tanı kiti olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. DNA hibridizasyon takibinde kullanılacak olan DeltaNu Examiner Raman Microscope (Deltanu Inc., Laramie, WY) üzerinde 785 nm lazer kaynağı bulunmaktadır. Lazerin dalga boyu ile hibridizasyonda kullanılacak olan boyar maddelerin uyarılma dalga boyu ile rezonansa geldiğinde güçlü ve tekrarlanabilir SERS sinyalleri elde edilmektedir. Şayet boyar maddenin uyarılma dalga boyu ile lazerin dalga boyu rezonansa gelmezse SERS sinyallerinde önemli ölçüde azalma olmaktadır. Bir başka deyişle gürültü/sinyal oranı çok büyük olmaktadır [Fales ve ark., 2011]. Biris

ve arkadaşlarının karbon nanotüp üzerinde kanser hücreleriyle yaptıkları bir çalışmada lazerin dalga boyunun elde edilen Raman spektrumun özelliklerini nasıl değiştirdiğini göstermişlerdir [Biris ve ark., 2009]. Geiman ve grubunun yaptıkları bir çalışmada on adet ticari boyar maddenin normal Raman ve SERS analizini gerçekleştirmişlerdir. Yaptıkları bu çalışmada boyar maddenin spektral özelliklerinin kullanılan lazer kaynağının dalga boyu ile doğrudan alakalı olduğunu göstermişlerdir [Geiman ve ark., 2009]. Son zamanlarda yapılan hesaplamalar ve deneysel çalışmalar SERS analizinde anlamlı sinyaller elde edebilmek için kullanılan lazer kaynağı ile birlikte incelenecek olan molekülün doğru seçilmesi gerektiği gösterilmiştir [Puebla ve ark., 2012; Stokes ve ark., 2007]. Bu nedenle anlamlı ve tekrarlanabilir SERS sinyalleri alabilmek için indocyanin yeşili (ICG,  $\lambda_{\text{excitation}} = 750 \text{ nm}$ ) ve metilen mavisi (MB,  $\lambda_{\text{excitation}} = 763 \text{ nm}$ ) modifiyeli DNA tek iplikçikleri tercih edilmiştir. Bu boyar maddeler ile 785 nm dalga boyunda lazer kullanılarak yapılan bazı SERS çalışmalarında anlamlı sinyallerin alındığı gösterilmiştir [Fales ve ark., 2011; Kneipp ve ark., 2005]. Bahsi geçen boyar maddelerin kullanılmasıyla hazırlanan polimer fırça-altın nanoparçacık hibrit sistemin SERS platformu olarak kullanılabilirliğinde hassasiyet ve tekrarlanabilirlik önemli ölçüde artırılmış olacaktır.

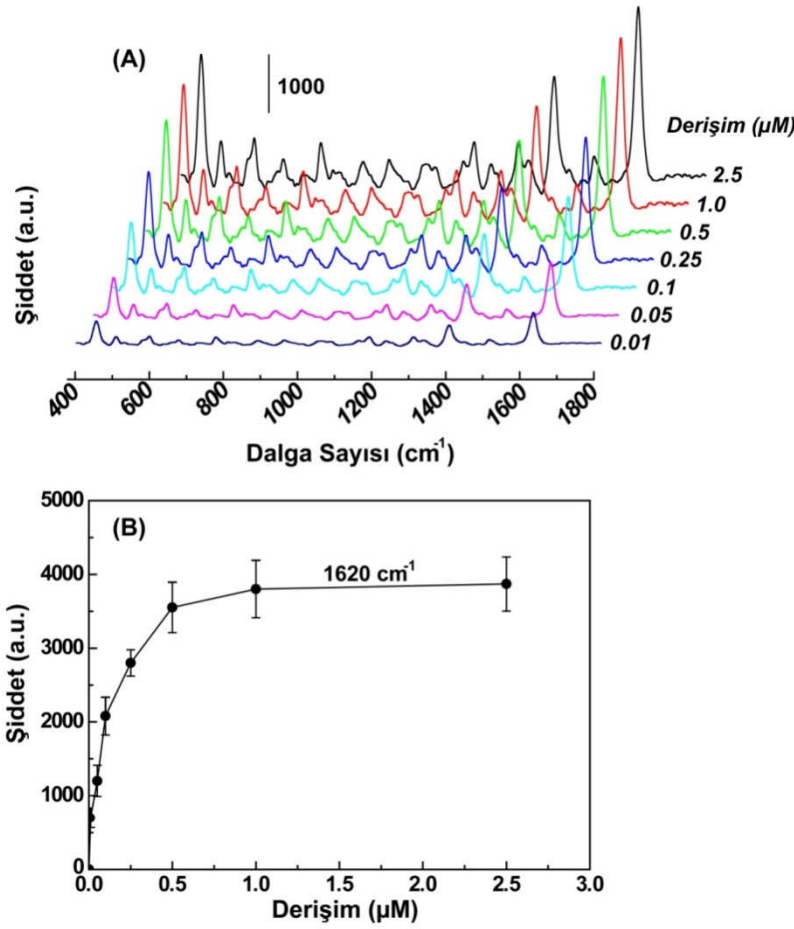
Silisyum yüzeylere altın nanoparçacık immobilizasyonundan sonra hazırlanan hibrit sistemin Hepatit B teşhisinde kullanılacak SERS tabanlı analiz sisteminin geliştirilmesi için yüzeylere ilk olarak 3' ucu tiyollenmiş ve 5' ucu SERS analizi için metilen mavisi (MB) boyaları ile modifiyeli DNA tek iplikçigi bağlanmıştır. Bunun için ilk önce prob-ssDNA optimum adsorpsiyon derişimi belirlenmiştir. Altın nanoparçacık kaplı yüzeyler farklı derişimlerde prob-ssDNA içeren çözeltiler içerisine konulmuş ve 24 saat boyunca oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletilmiştir. Bu süre sonunda yüzeyler çözeltilerden alındıktan sonra yüzeye fiziksel olarak bağlanmış ssDNA türlerinin uzaklaşması için yıkama tamponu ile yıkanmış ve daha sonra yüzeyler azot gazı ile kurutulmuştur. Yapılan bu işlemler Şekil 7.48'de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 7.48. Altın nanoparçacık bağlı silisyum yüzeylere prob-ssDNA bağlanmasının şematik gösterimi.

Hazırlanan herhangi bir DNA çiplerinde hassas ve tekrarlanabilir sonuçlar alınabilmesi için DNA iplikçiklerinin yüzeylere bağlanmasında optimum koşulları belirlemek en kritik aşamalardan birisidir. Özellikle prob DNA iplikçiklerinin yüzeyler üzerinde en düzgün şekilde kovalent bağlanması sağlandığı takdirde hedef DNA iplikçiklerinin de düzgün bir şekilde bağlanmasına yol açacak ve böylece hassasiyet ve tekrarlanabilirlik artacaktır [Zhang ve ark., 2007; Hessner ve ark. 2003]. Bu nedenle bu çalışma kapsamında ilk olarak optimum prob-ssDNA derişimi belirlenmiştir. Şekil 7.49'da metilen mavisi (MB) modifiyeli prob-ssDNA molekülüne ait SERS spektrumları ile SERS şiddetinin prob-ssDNA derişimi ile değişimi verilmiştir.





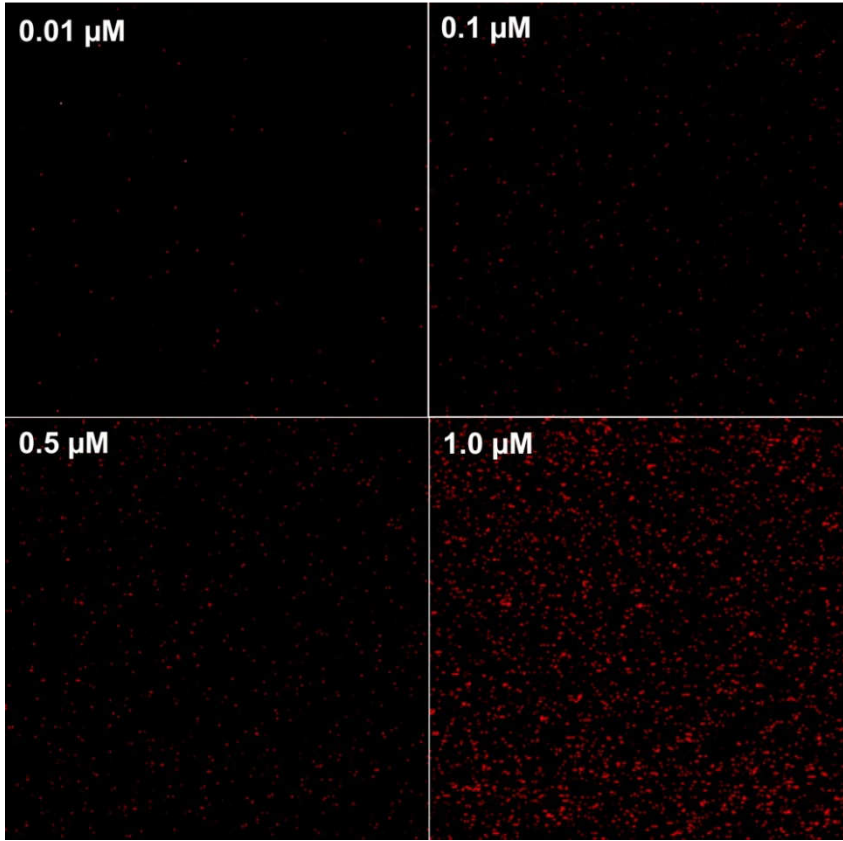
Şekil 7.49. (a) MB modifiye prob-ssDNA derişimlerine karşılık elde edilen SERS spektrumları ve (b)  $1620 \text{ cm}^{-1}$  referans alınarak farklı prob-ssDNA derişimlerine karşılık SERS şiddetindeki değişim.

Şekil 7.49a incelendiğinde tüm prob-ssDNA derişimlerinde MB karakteristik tüm bantları görölmektedir [Dong ve ark., 2011]. Bu bantlardan en önemlileri  $453 \text{ cm}^{-1}$  dalga sayısında C-N-C deformasyonuna karşılık gelen saçılma bandı,  $1502 \text{ cm}^{-1}$  dalga sayısında C-C halka gerilmesine ve  $1620 \text{ cm}^{-1}$  dalga sayısında C-N gerilmesine karşılık gelen saçılma bandının görölmesi tüm derişimler için prob-ssDNA iplikçiklerinin yüzeyler üzerine kovalent olarak bağlandığının göstergesidir. Spektrumlar incelendiğinde derişim artması ile birlikte Raman saçılma miktarlarında artış meydana gelmektedir. Spektrumlarda saçılma şiddeti bakımından en baskın band olan C-N gerilmesi ( $1620 \text{ cm}^{-1}$ ) referans alınıp derişime karşılık grafiğe geçirilmiştir (Şekil 7.49b). Grafik incelendiğinde prob-ssDNA derişimi arttıkça SERS



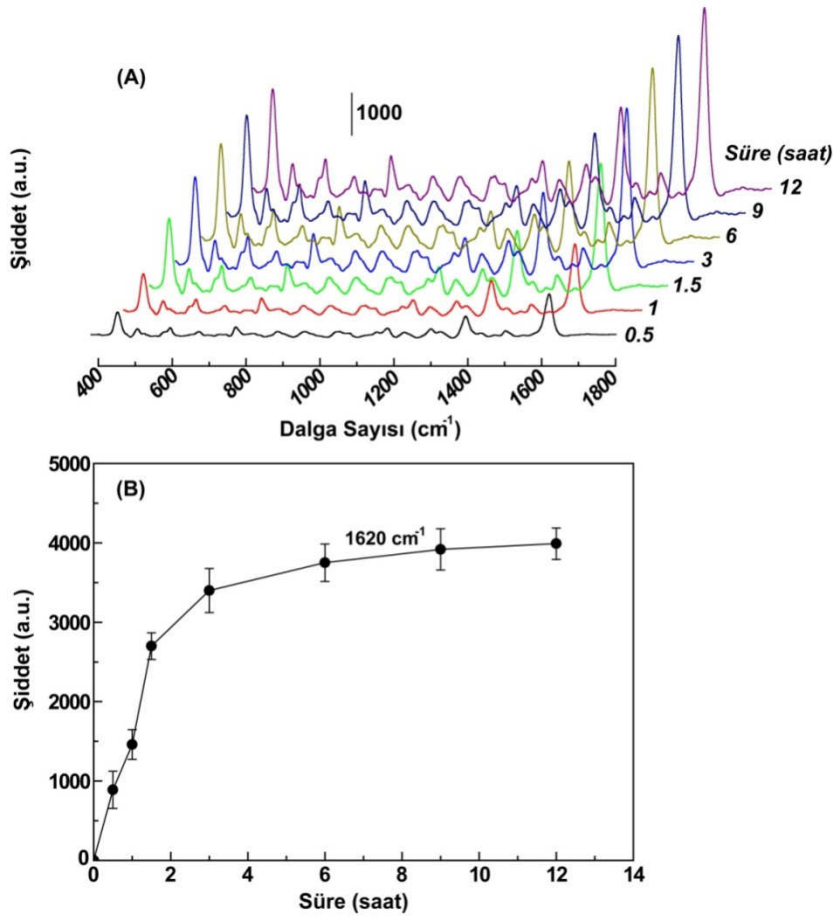
şiddetinde de artış meydana gelmiştir. Bununla birlikte derişim 1,0  $\mu\text{M}$ 'dan daha fazla olduğunda SERS şiddetinde önemli bir artış olmamıştır. Bu durum altın nanoparçacıkların prob-ssDNA bakımından doygunluğa ulaştığı söylenebilir. Sonuç olarak prob-ssDNA'nın yüzeylere bağlanabilmesi için optimum derişimin 1,0  $\mu\text{M}$  olduğu anlaşılmaktadır.

Altın nanoparçacık kaplı silisyum yüzeylere yukarıdaki derişimlerde Cy5 etiketli prob-ssDNA bağlanmış ve floresans mikroskobu ile incelenmiştir. Meilen mavisi boyar maddesi aynı zamanda yakın-IR bölgesi (NIR) florofofor madde olup klinik uygulamalarda NIR bölgesinde görüntüleme ajanı (kontrast ajanı) olarak kullanılmaktadır [Neto ve ark., 2003]. Metilen mavisi modifiyeli herhangi bir biyomolekülün floresans mikroskobu ile takip edilebilmesi için 760 nm dalga boyunda uyarılması gerekmektedir [Kobayashi ve ark., 2007]. Çalışma kapsamında kullanılan floresans mikroskobunda ise WG filtresi bir başka deyişle 510-550 nm dalga boyu aralığında çalışan yeşil filtre bulunmaktadır. Bu nedenler, hibridizasyon takibinde daha anlamlı floresans sinyallerin alınması amacıyla prob-ssDNA'nın bir ucu Cy5 ( $\lambda_{\text{excitation}} = 550 \text{ nm}$ ) boyası ile modifiye edilmiştir. Şekil 7.50'de farklı DNA derişimlerine karşılık elde edilen floresans görüntüleri gösterilmektedir. Şekil incelendiğinde derişim 0,01  $\mu\text{M}$  olduğunda yüzey üzerinde DNA miktarı düşükken derişimin artırılmasıyla yüzeyler üzerinde DNA miktarı artmaktadır. Derişim 1,0  $\mu\text{M}$  olduğundan ise görüldüğü gibi yüzeyin hemen hemen tamamı prob-ssDNA ile kaplanmıştır. Elde edilen bu veriler sayesinde prob-ssDNA için optimum derişimin 1,0  $\mu\text{M}$  olduğu söylenebilir.



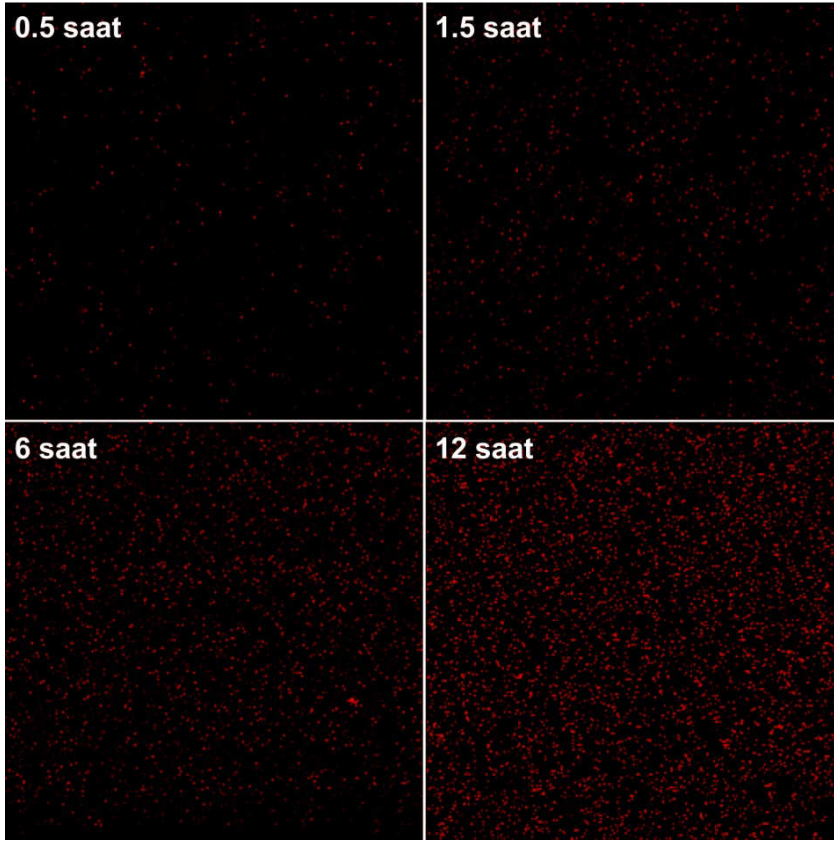
Şekil 7.50. Cy5 etiketli prob-ssDNA farklı derişimlerine karşı elde edilen fluoresans görüntüleri (Skala: 100  $\mu\text{m}$ ).

Yüksek hassasiyette çalışan ve güvenilir sonuçlar veren bir DNA çip tasarımında diğer kritik basamaklardan birisi de prob-ssDNA iplikçığının immobilizasyon süresidir. Hazırlanan hibrit sistem üzerine prob-ssDNA bağlanmasında immobilizasyon süresinin etkisini inceleyebilmek için yüzeyler optimum derişimde prob-ssDNA içeren çözeltiler içersinde çeşitli zaman aralıklarında bekletilmiş ve yıkama işlemlerinden sonra kurutularak SERS analizi gerçekleştirilmiştir. Şekil 7.51’de farklı immobilizasyon sürelerinde elde edilen spektrumlar verilmiştir.



Şekil 7.51. (a) MB modifiye prob-ssDNA adsorpsiyon süresine karşılık elde edilen SERS spektrumları ve (b) 1620  $\text{cm}^{-1}$  referans alınarak farklı prob-ssDNA adsorpsiyon süresine karşı SERS şiddetindeki değişim.

Şekil 7.51a incelendiğinde adsorpsiyon süresinin artmasıyla birlikte SERS spektrumların şiddetleri artmıştır. Bu durum adsorpsiyon süresi ile yüzeydeki DNA miktarında artış olduğunun göstergesidir. 1620  $\text{cm}^{-1}$  dalga sayısındaki bandın şiddeti referans alınıp adsorpsiyon süresine karşı grafiğe geçirildiğinde (Şekil 7.51b) adsorpsiyon süresinin artmasıyla bandın saçılma şiddetleri artmaktadır ancak adsorpsiyon süresi 12 saat olduğunda saçılma şiddetinde bir önceki süreye (9 saat) göre önemli bir artış olmamıştır. Bu durum 12 saatlik adsorpsiyon sonucu yüzey DNA yönünden doymuş olduğunu göstermektedir. SERS analiz sonuçları dikkate alındığında immobilizasyon süresi 12 saat olduğunda prob-ssDNA bağlanmasının optimum olduğu söylenebilir.

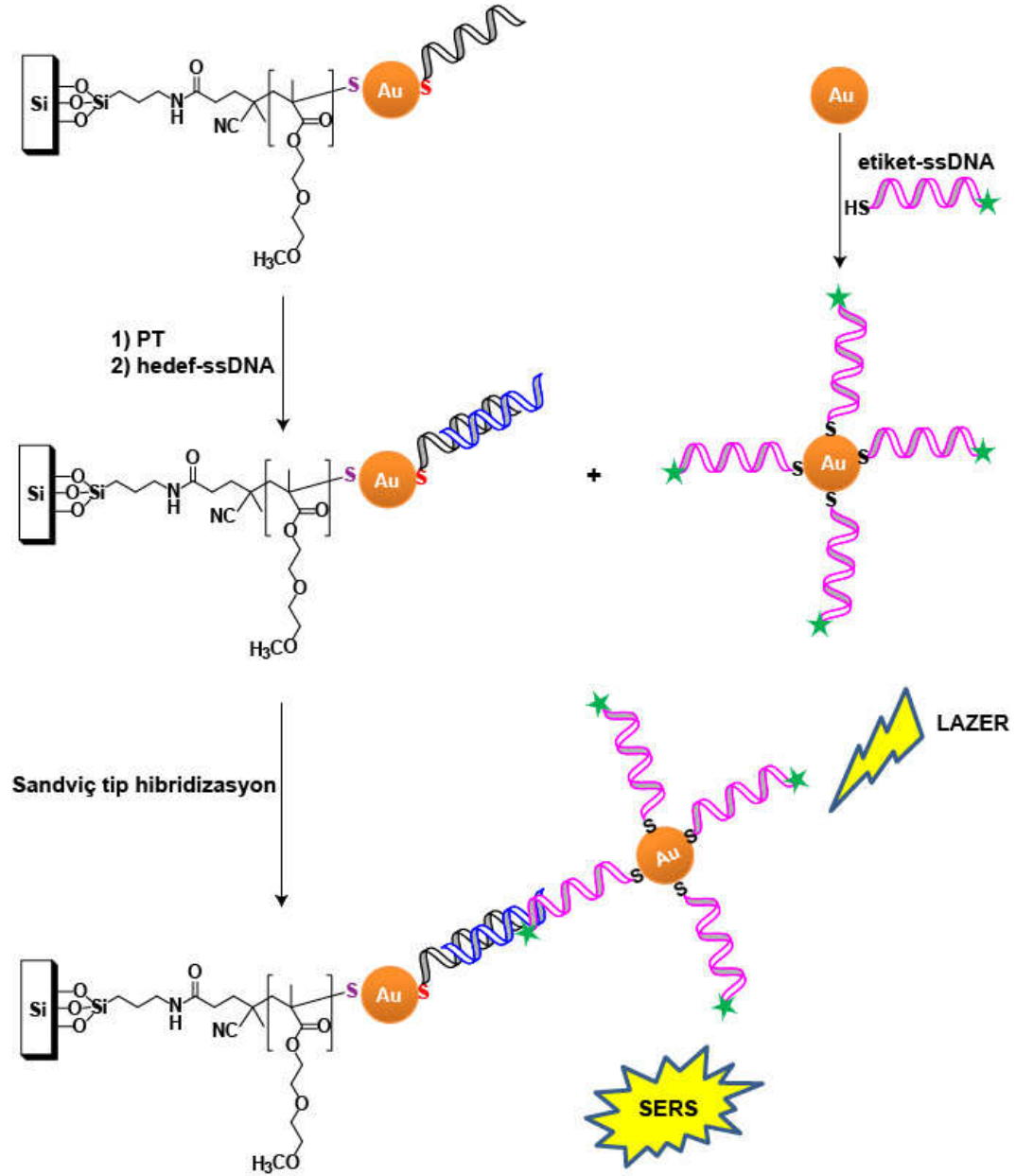


Şekil 7.52. Cy5 etiketli prob-ssDNA farklı adsorpsiyon sürelerine karşı elde edilen floresans görüntüleri (Skala : 100  $\mu$ m).

Optimum adsorpsiyon süresi floresans mikroskopu analiz ile de desteklenmiştir. Şekil 7.52 incelendiğinde adsorpsiyon süresi arttıkça yüzeydeki DNA miktarında artış meydana gelmiştir. Adsorpsiyon süresi 12 saat olduğunda ise yüzeyin hemen hemen tamamının DNA ile kaplandığını göstermektedir.

Yüzeyler üzerine prob-ssDNA bağlandıktan sonra yüzeyler üzerine hedef DNA iplikçiklerinin bağlanması ile ilk DNA hibritleşmesi gerçekleştirilmiştir. Hibritleşme için farklı derişimlerde (0,001 fM-6,0  $\mu$ M) hedef DNA iplikçikleri kullanılarak hazırlanan hibrit sistemin tayin edilebilme sınırı hakkında bilgiler toplanmıştır. Bunun yanı sıra hazırlanan hibrit sistemin SERS tabanlı olması için ve elde edilecek olan sinyallerin hassasiyetini/tekrarlanabilirliğini artırmak için ICG etiketli DNA iplikçığı ile modifiye edilmiş altın nanoparçacıklar

kullanılmıştır. Böylece yüzeyler üzerinde ikinci bir hibritleşme gerçekleştirilerek “sandviç tip” yapı oluşturulmuştur (Şekil 7.53).



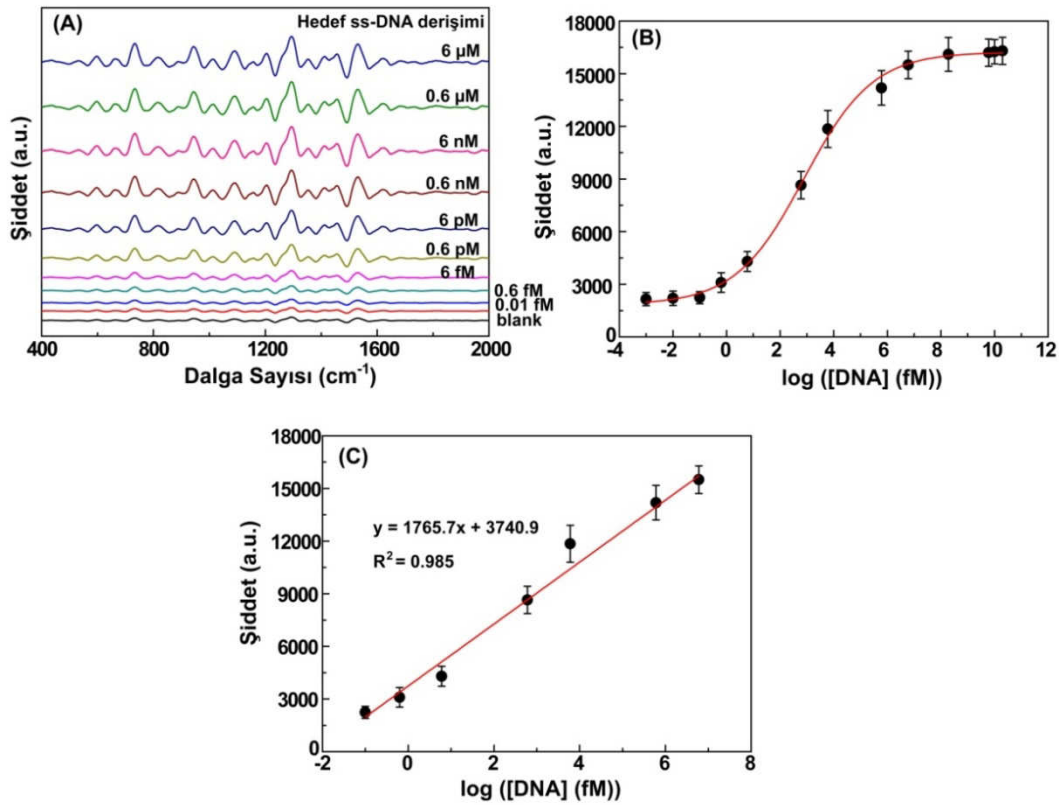
Şekil 7.53. Prob-ssDNA bağlı yüzeyler üzerinde “sandviç tip” hibridizasyonun şematik gösterimi.

Hibritleşme yapılmadan önce ilk önce *etiketsiz* ve 3'-ucu tiyollenmiş prob-ssDNA bağlanmıştır. Böylece metilen mavisi ile indocyanin yeşili boyar maddelerine ait spektrumlarının karışması engellenerek sadece etiket ss-

DNA takip edilerek yüzeyler üzerindeki hedef-ssDNA hakkında bilgiler dolaylı yöntemle takip edilmiştir. Bunların yanı sıra prob-ssDNA bağladıktan sonra yüzeyler üzerinde non-spesifik bağlanmaları engellemek için altın nanoparçacıkların boş yüzeyleri (prob-ssDNA bağlanmamış) propantiyol (PT) ile doldurularak tüm altın nanoparçacık yüzeyleri pasifize edilerek hedef-ssDNA'nın sadece prob-ssDNA ile etkileşmesi sağlanmıştır. "Sandviç tip" hibritleşme için yapılan işlemler Şekil 7.53'de şematize edilmiştir.

Hazırlanan hibrit sistemin Hepatit B teşhisinde kullanılabilirliğini test etmek için hibridizasyon tamponunda farklı derişimlerde hedef-ssDNA içeren çözeltiler kullanılmış ve yukarıda bahsedildiği gibi etiket-ssDNA içeren altın nanoparçacıklar ile etkileştirilerek SERS ile karakterize edilmiştir. Şekil 7.54'de çeşitli hedef-ssDNA derişimleri ile muamele edilerek elde edilen "sandviç hibrit" sisteme ait SERS spektrumu ile bunlara ait kalibrasyon grafiği görölmektedir (en baskın pik olan  $1294\text{ cm}^{-1}$  referans alınmıştır). Şekil 7.54a incelendiğinde tüm eşlenik-ssDNA derişimlerinde ICG' nin karakteristik tüm bantları görölmektedir [Kneipp ve ark., 2005]. Bu bantlardan en önemlileri,  $1293\text{ cm}^{-1}$  ve  $1528\text{ cm}^{-1}$  dalga sayısında C-C halka gerilmesine ve  $1620\text{ cm}^{-1}$  dalga sayısında C-N gerilmesine ve  $1091\text{ cm}^{-1}$  dalga sayısında C-S asimetric gerilmesine karşılık gelen saçılma bandının görölmesi tüm derişimler için etiket-ssDNA iplikçiklerinin yüzeyler üzerine bağlandığının göstergesidir. Şekilden de görüleceği gibi DNA derişiminin artması ile birlikte SERS şiddetlerinde artışlar meydana gelmektedir. DNA derişimi  $0,6\text{ fM}$  ve daha az olduğunda SERS şiddetlerinde önemli bir değişiklik olmamıştır. Bu durum yüzeylerde bu derişim aralığında gerçekleşen hibridizasyonun SERS cihazının tayin edebileceği bir aralıkta olmamasından kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte spektrumlarda blank olarak belirtilen spektrum ise yüzeyler üzerinde hedef-ssDNA olmadan etiket-ssDNA ile etkileştirilmesi sonucu elde edilmiştir. Yüzeylerde hedef-ssDNA olmadan da belirli bir spektrumun elde edilmesinin sebebi yüzeyler üzerinde non-spesifik bağlanmaların olduğunu göstermektedir [Kang ve ark., 2010; Li ve ark., 2013]. Spektrumlar DNA derişimi  $0,6\text{ }\mu\text{M}$  ve daha fazla olduğunda ise SERS şiddetleri hemen hemen

değişmemiştir. Bu durum yüzeylerin hibridizasyon bakımından doyduğunun göstergesidir. Şekil 7.54b incelendiğinde SERS şiddetindeki anlamlı ilk artış hedef-ss DNA derişimi 0,6 fM olduğunda meydana gelmiştir. Kaba bir yorumla hazırlanan bu sistemin tayin edebilme sınırı (LOD) 0,6 fM olduğu söylenebilir.



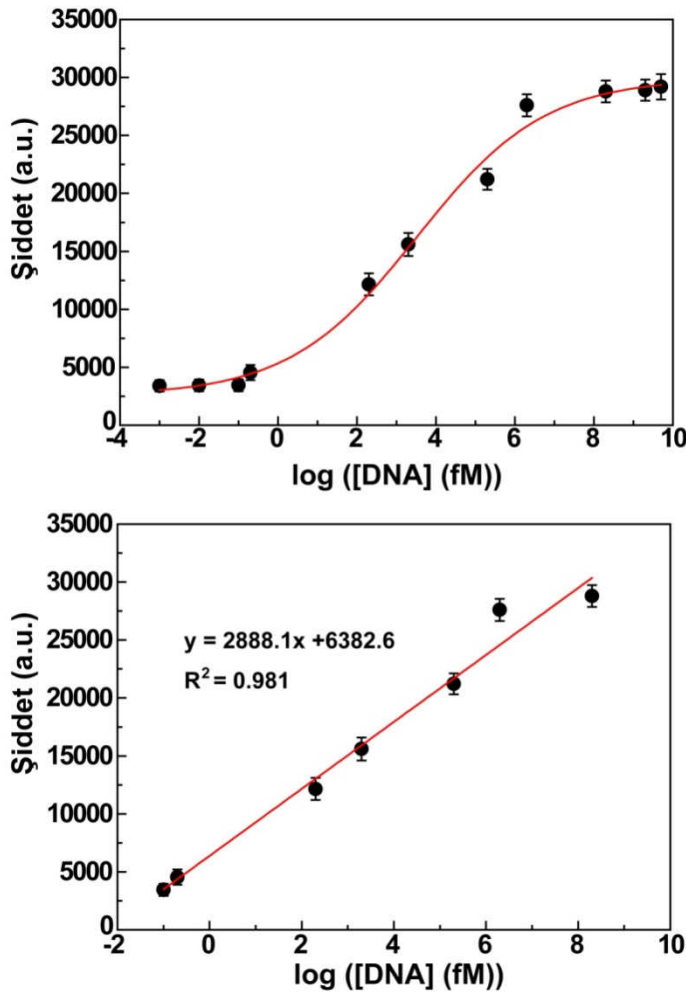
Şekil 7.54. (A) Farklı derişimlerdeki hedef-ssDNA ile muamele edilmiş sıcaklık duyarlı yüzeylerin SERS spektrumları, (B ve C) 1294  $\text{cm}^{-1}$  referans alınarak  $\log([DNA])$  karşı SERS şiddetlerindeki değişim (grafiklerdeki standart sapmalar beş farklı ölçüm sonucu elde edilmiştir.  $T = 25^\circ\text{C}$ ).

Elde edilen grafiğin doğrusal olduğu bölge referans alınıp grafiğe geçirildiğinde (Şekil 7.54c) korelasyon katsayısı ( $R^2$ ) 0.985 olan ve  $y = 1765.7\log([DNA] \text{ (fM)}) + 3740.9$  şeklinde tanımlanan bir doğru denklemi elde edilmiştir. Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği'nin (International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC) tayin edilebilme sınırının hesaplanması için belirlediği 3s/m kriteri (s: hedef-ss DNA ile etkileştirilmemiş

yüzeylerin on farklı okuma sonucu elde edilmiş SERS şiddetlerin standart sapması ve m: kalibrasyon grafiğinin eğimi) [Gilfrich ve ark., 1984] dikkate alınarak yapılan hesaplama sonucu hazırlanan sıcaklık duyarlı polimer fırça-altın nanoparçacık hibrit sistemlerin Hepatit B teşhisindeki tayin edilebilme sınırı 0,44 fM olarak belirlenmiştir.

Hazırlanan hibrit sistemin sıcaklık duyarlı olması dışardan uygulanacak olan herhangi bir ısı işlem ile hibrit sistemin tayin edilebilme sınırı değiştirilebilir. Bunu test etmek amacıyla farklı derişimlerde (0,001 fM-2,0  $\mu$ M) hedef-ssDNA kullanılarak "sandviç tip" hibridizasyon gerçekleştirilmiş ve yüzeyler 37 °C'ye ısıtılmış ve ısı dengenin sağlanması için 10 dakika süre ile beklenmiş ve daha sonra SERS analizi gerçekleştirilmiştir. Şekil 7.55'de gösterildiği gibi farklı hedef-ssDNA derişimlerinin logaritmik fonksiyonuna karşılık SERS şiddetlerindeki değişim gösterilmektedir. Şekilden de anlaşılacağı üzere log [DNA] arttıkça SERS şiddetlerinde de artış olmaktadır. Bu değişimin doğrusal olduğu aralık dikkate alındığında korelasyon katsayısı 0,996 olan  $y = 2888,1x + 6382,6$  olan bir doğru denklemi elde edilmiştir. Yapılan hesaplamalar sonucunda tayin edilebilme sınırı 0,13 fM olarak bulunmuştur. Görüldüğü gibi ısı işlem sonrasında tayin edilebilme sınırı yaklaşık olarak 3 kat düşürülmüştür. Sıcaklığın polimer fırçanın LCST değeri üzerinde olması sonucu silisyum yüzeyine ilk aşamada bağlanmış olan altın nanoparçacıklar ile hibridizasyon sonrasında yüzeye bağlanan altın nanoparçacık arasındaki mesafe kısalmış ve bunun sonucunda elektromagnetik güçlendirmenin artması sonucu daha düşük derişimlerde anlamlı SERS sinyallerinin toplanmasına imkan vermiştir.





Şekil 7.55. Farklı derişimlerdeki hedef-ssDNA ile muamele edilmiş sıcaklık duyarlı yüzeylerin  $1294\text{ cm}^{-1}$  referans alınarak  $\log ([\text{DNA}])$  karşı SERS şiddetlerindeki değişim (grafiklerdeki standart saplamalar beş farklı ölçüm sonucu elde edilmiştir.  $T = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

Literatürde DNA hibritleşmesi kullanılarak floresans, elektrokimyasal ve kolorimetri temelli bir çok sensör dizaynı gerçekleştirilmiştir (Çizelge 7.3). Tablodan da anlaşılacağı gibi çalışma kapsamında silisyum yüzeylerinde hazırlanan hibrit sistemin mevcut sensörlere göre oldukça düşük tayin edilebilme sınırına sahiptirler. Bu durum, hazırlanan SERS substratın lokal plazmonik alanı sayesinde sinyal güçlendirme etkisinin olması, SERS cihazlarının bahsi geçen cihazlara göre gürültü/sinyal oranının düşük olması, polimer fırça kullanımı ile birlikte yüzeylerde moleküler kırılmaların önlenmesi

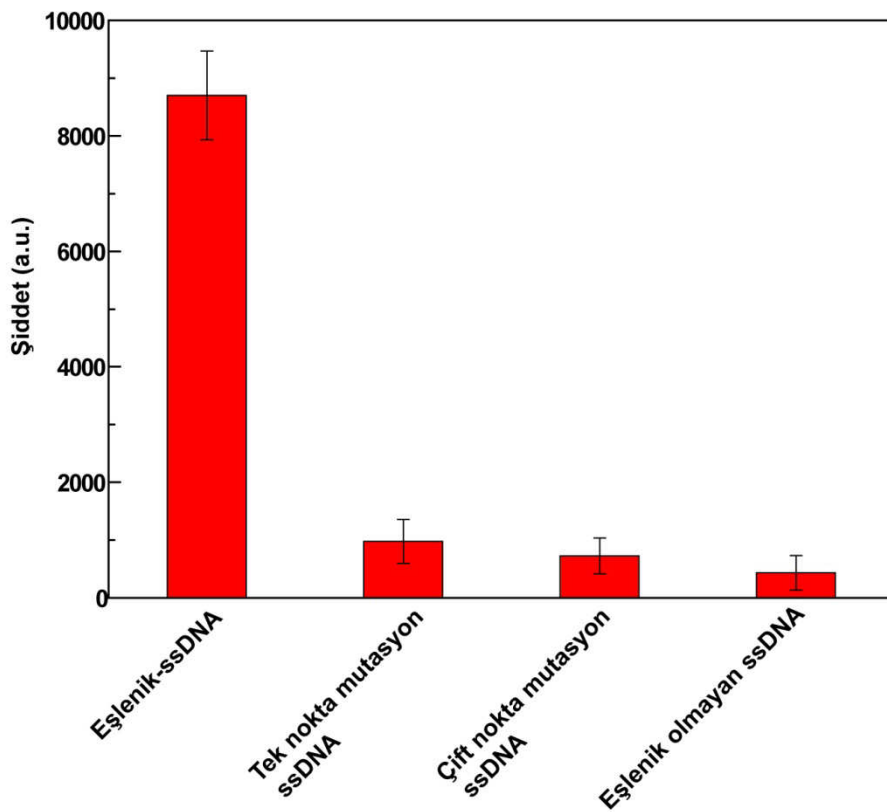
(basit organik moleküllerin çoğu rijid yapıya sahiptir) gibi bir çok parametrenin etkili olmasından kaynaklanmaktadır.

Çizelge 7.3. Literatürdeki DNA tabanlı analiz sistemlerin karşılaştırılması.

| Sensör Yapısı                   | Analiz Tekniği            | Tayin Edilebilme Sınırı | Referans             |
|---------------------------------|---------------------------|-------------------------|----------------------|
| DNA/Au mikroarray               | Yüzey plazmon görüntüleme | 10 nM                   | Nelson ve ark., 2001 |
| Au nanoparçacık/DNA/Au yüzey    | Yüzey plazmon yansıtma    | 10 fM                   | He ve ark., 2000     |
| Boya/DNA/kuantum nokta          | Fluoresans                | 4 nM                    | Wang ve ark., 2010   |
| Metilen mavisi/DNA/elektrot     | Elektrokimya              | 100 fM                  | Xia ve ark., 2010    |
| Au nanoparçacık/DNA/Au elektrot | İletkenlik                | 500 fM                  | Park ve ark., 2002   |
| Pb–Sn/DNA/Al substrat           | Taramalı kalorimetri      | 80 fM                   | Wang ve ark., 2010   |
| Au nanoparçacık                 | Kolorimetri               | 1 pM                    | Xu ve ark., 2012     |

DNA çip çalışmaların diğer en önemli faktörlerden birisi de hazırlanan çip sisteminin spesifikliğıdir. Çalışma kapsamında hazırlanan hibrit sistemin spesifikliğini bir başka deyişle seçiciliğini test edebilmek için tek nokta mutasyonlu hedef-ss DNA (5'-ATA **G**CA CAT CCA TAT AAC TGA AAG

CCA-3'), çift nokta mutasyonlu hedef-ssDNA (5'-ATA **G**CA CAT CCA TAT AAC TGA **T**AG CCA-3') iplikçik ve eşlenik olmayan tek iplikçik DNA (5'- AAA TCA GGT TAT TCC ATA TAA-3') kullanılarak test edilmiştir. Prob-ssDNA bağlı silisyum yüzeyler üzerine DNA iplikçik içeren her bir çözeltiden belirli miktar damlatıldıktan ve yüzeyler yıkanıp kurutulduktan sonra etiket-ssDNA/altın nanoparçacık ilişkisi ile muamele edildikten sonra SERS analizi gerçekleştirilmiştir.

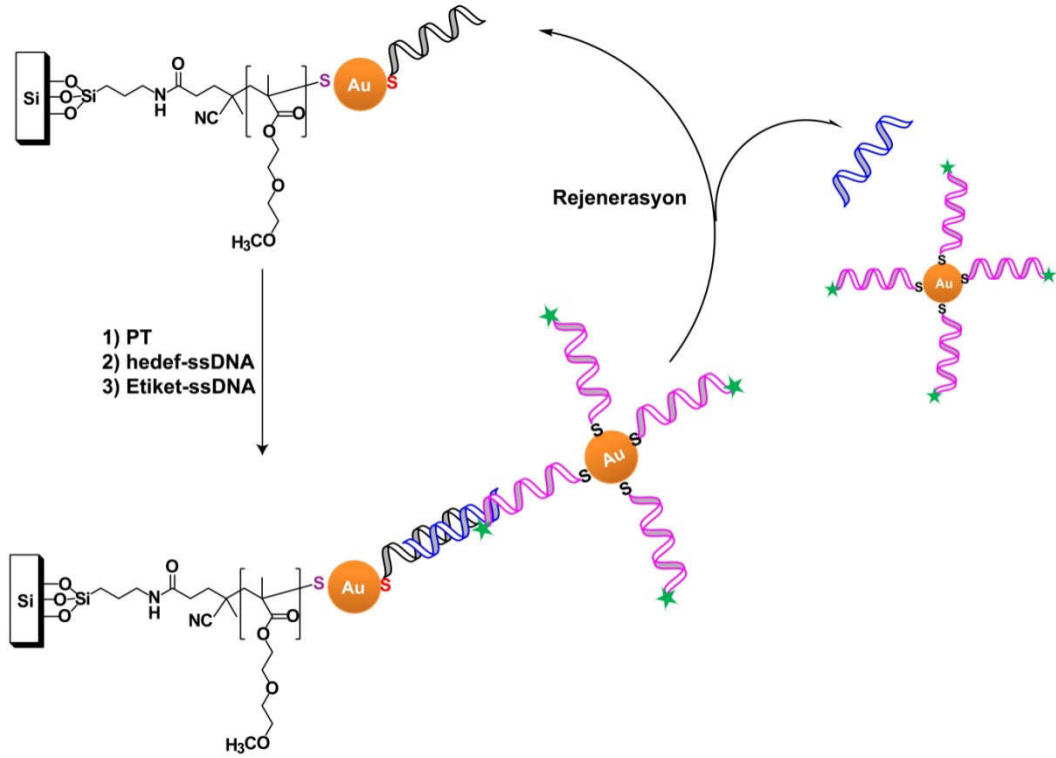


Şekil 7.56. Farklı hedef-ssDNA türlerine karşı elde edilen SERS şiddetleri ( $1293\text{ cm}^{-1}$  dalga sayındaki şiddet referans alınmıştır. Standart saplamalar beş farklı ölçüm sonucu elde edilmiştir. ssDNA iplikçik derişimi: 0,6 pM;  $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

Şekil 7.56'da  $1293\text{ cm}^{-1}$  dalga sayısında elde edilen SERS şiddetinin değişimi gösterilmiştir. Grafikten de anlaşılacağı üzere tek nokta mutasyona uğramış DNA iplikçığının SERS şiddetinin eşlenik-ssDNA bağlı yüzeylere göre yaklaşık 9 kat, çift nokta mutasyona uğramış DNA iplikçiklerinin ise yaklaşık 12 kat ve eşlenik olmayan DNA iplikçığının ise yaklaşık 20 kat daha

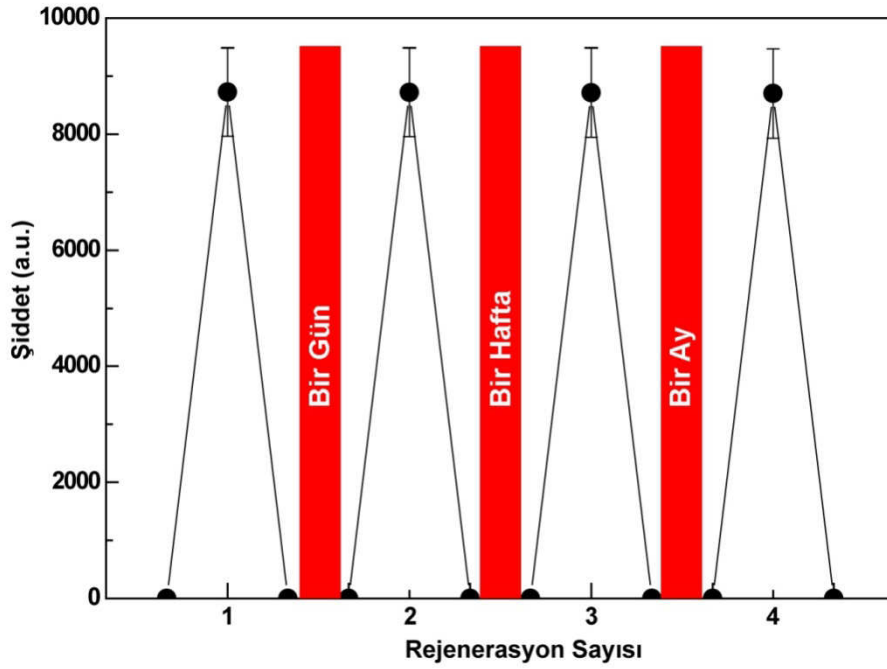
az SERS şiddetine sahiptir. Elde edilen sonuçlardan anlaşılacağı üzere hazırlanan hibrit sisteminin seçiciliğinin yüksek olduğunu göstermektedir. Tek nokta, çift nokta ve eşlenik olmayan DNA iplikçilerinde az da olsa SERS sinyallerinin alınması prob-ssDNA ile diğer DNA iplikçikleri arasında non-spesifik etkileşimlerin olmasındandır [He ve ark., 2012; Wang ve ark., 2010; Liang ve ark., 2007].

Hazırlanan bir DNA çipin klinik uygulamalarda seçiciliğinin olmasının yanı sıra DNA çipin stabilitesi, rejenerasyon sayısı hem maliyet açısından hem de kullanılabilirlik bakımından oldukça önemlidir. Çalışma kapsamında hazırlanan SERS tabanlı hibrit sistemin stabilitesi, rejenerasyon sayısı ile birlikte incelenmiştir. Prob-ssDNA bağlı silisyum disk yüzeylerine hedef-ssDNA bağlanıp “sandviç tip” hibridizasyon gerçekleştirildikten sonra yüzeyler %10'luk SDS çözeltisi içerisinde 50 °C'de 1 saat boyunca bekletilmiş ve yüzeyler su ile yıkanıp kurutularak SERS analizine hazır hale getirilmiştir. Yüzeylerin nispeten daha düşük SDS çözeltilerinde bekletilmesi DNA iplikçikleri arasındaki hidrojen bağlarını koparak zincirlerin açılmasına ve sonunda eşlenik DNA'nın yüzeyden kopmasına neden olur. Bu işlem yüzeye kovalent olarak bağlı bulunan prob-ssDNA'nın yüzeydeki konumunu etkilemez ve sonuçta yüzeyler hibridizasyon öncesine çevrilmiş olur [Wang ve ark., 2012]. DNA çip üzerinde yapılan rejenerasyon basamağı Şekil 7.57'de şematize edilmiştir.



Şekil 7.57. Hibridizasyon sonrasında yüzeylerin rejenere edilmesinin şematik gösterimi.

Yüzeyler kurutulduktan sonra nispeten derişik SDS çözeltisinde bekletilerek yüzeylerden eşlenik-ssDNA iplikçığının uzaklaşması sağlanmıştır. Bu aşamadan sonra tekrar hibridizasyon yapılarak SERS analizi gerçekleştirilmiş ve daha sonra yüzeyler buzdolabında (+4 °C) belirli süreler bekletilerek rejenerasyon-hibridizasyon işlemleri tekrar edilmiştir. Şekil 7.58’de farklı günlerde rejenerasyon sayısı ile birlikte SERS şiddetlerindeki değişim verilmiştir. Grafik incelendiğinde birinci rejenerasyon ve bir gün buzdolabında bekletilmesinden sonra SERS şiddetlerinde herhangi bir değişiklik olmamış ve bu durum bir ay bekletme ve dördüncü rejenerasyon dahi geçerlidir.



Şekil 7.58. SERS tabanlı hibrit sistemin rejenerasyon sayısı ve kararlılığının incelenmesi ( $1293\text{ cm}^{-1}$  dalga sayısındaki saçılma şiddeti referans olarak alınmıştır. Standart saplamalar beş farklı ölçüm sonucu elde edilmiş olup ssDNA iplikçik derişimi:  $0,6\text{ pM}$  ve  $T= 25\text{ }^{\circ}\text{C}$  ).

Çalışma kapsamında hazırlanan hibrit sistemin hedef DNA iplikçliğini tanıması, bu tanıma özelliğinin yüksek seçicilikte olması ve kararlılığının yüksek olması aynı zamanda bu sistemlerin klinik uygulamalarda kullanılabilme potansiyeline sahip olduğunu da göstermektedir. Klinik uygulamalarda aynı zamanda hızlı ölçümlerin ve minimum örnek kullanıma prensibi de göz önüne alındığında analitik bir cihaz olarak SERS cihazının da klinik uygulamalarda kullanılan cihazlara alternatif olabilecek bir özellikte olduğu söylenebilir. Hazırlanan hibrit sistemin klinik olarak uygulanabilirliğini test etmek için serum örnekleri içerisine çeşitli derişimlerde hedef-ssDNA (hastalık-ssDNA) ilave edilmiş ve daha sonra bu çözeltilerden belirli miktar yüzeylere damlatılmış ve ardından etiket-ssDNA/altın nanoparçacık ikilisi ile muamale edilerek SERS ile oda sıcaklığında karakterize edilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 7.4'de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde geri kazanım oranının oldukça yüksek olması ve bağıl standart sapmaların oldukça düşük olması (aynı zamanda matriks etkisinin ihmal edilebilecek

düzeyde olduğu düşünülebilir) hazırlanan teşhis sisteminin klinik uygulamalar için kullanılabilirliğini destekler niteliktedir.

Çizelge 7.4. Serum örneklerinden hastalık DNA örneklerinin hibrit sistem ile geri kazanımı.

| Serumdaki<br>hastalık DNA<br>derişimi | Bulunan DNA<br>derişimi | % Geri kazanım <sup>a</sup> | % Bağlı<br>standart sapma <sup>b</sup> |
|---------------------------------------|-------------------------|-----------------------------|----------------------------------------|
| <b>0</b>                              | -                       | -                           | -                                      |
| <b>0,8 fM</b>                         | 0,78 ± 0,03 fM          | 97,5                        | 3,85                                   |
| <b>2,4 fM</b>                         | 2,39 ± 0,10 fM          | 99,6                        | 4,18                                   |
| <b>0,8 nM</b>                         | 0,61 ± 0,03 nM          | 101,6                       | 4,91                                   |
| <b>2,4 nM</b>                         | 2,41 ± 0,11 nM          | 100,4                       | 4,56                                   |
| <b>0,8 pM</b>                         | 0,79 ± 0,02 pM          | 98,8                        | 2,53                                   |

<sup>a</sup> Her bir derişim için beş farklı okumanın ortalama sonucudur.

<sup>b</sup> bağıl standart sapma = (standart sapma/ortalama değer) X 100

Günümüzde klinik uygulamalarda bireyin Hepatit B ile infekte olup olmadığı ELISA (Enzyme- Linked Immuno Sorbent Assay) testi ile anlaşılmaktadır. ELISA testi temel olarak antijen-antikor etkileşimine dayanmaktadır. Hepatit B teşhisinde kullanılan ELISA tekniğinde prob-antikor ilk olarak Hepatit B antijenini yakaladıktan sonra antijen-antikor ikilisi bu sefer enzim bağılı ikinci bir antikor ile etkileştirilir. Ortama enzim substratının ilavesi ile gerçekleşen enzimatik reaksiyon sonucu ortamda bulunan ilave reaktifler renkli bir ürün oluşturur. Oluşan renkli ürünün emit ettiği ışığın miktarı uygun bir okuyucu ile anlamlı sinyallere dönüştürüldükten sonra Hepatit B miktarı teşhis edilmiş olur. Hepatit B teşhisinde ELISA testininin kullanılmasını kısıtlayan en önemli etken hastalığın erken teşhise imkan verememesidir. Hastalığın erken dönemlerinde antikor seviyesi düşük olduğundan bu yöntem ve diğer

serolojik testler her zaman doğru sonuç vermeyebilir. Bununla birlikte belirti vermeyen taşıyıcılar, antikorun henüz oluşmadığı vakalar, taşıyıcı annelerden doğan bebekler ve immunolojik reaksiyon göstermeyen hastalarda bu testte yetersiz kalmaktadır. Hepatit B teşhisi için klinik olarak uygulanan ve ELISA testine göre daha avantajlı olan diğer bir yöntem ise Polimeraz Zincirleme Tepkimesi (PCR) dir. Bu yöntemde hastalıklı bireyde bulunan virüs DNA'sının bir bölümünün kopyalanması ve çoğaltılması esasına dayanır. Bu teknikte özel enzimlerin kullanılması, işlemlerin birden farklı sıcaklıklarda yapılıyor olması ve en az bir kaç hafta hastalık evresinin olması gibi dezavantajları vardır. Çalışma kapsamında hazırlanan hibrit sistemin en önemli özelliği ELISA ve PCR sistemlerinin bu dezavantajlarını karşılayacak düzeyde olmasıdır. Ayrıca SERS analizinin oldukça kısa süreli olması ve örneklerin analiz sırasında hiçbir zarar görmemesi gibi avantajları da vardır. Ayrıca piyasada bulunan el tipi SERS cihazları da kullanılarak salgın hastalık durumlarında olay yerinde ve anında analiz yapılabilecek düzeyde olması hazırlanan çiplerin kullanım alanlarını artıracak düzeydedir.

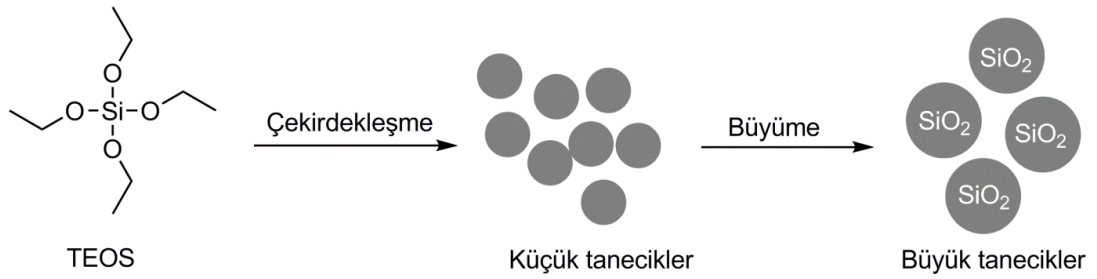


## 7.8. Akciğer Kanseri Teşhisi İçin Polimer Fırça-Nanoparçacık Hibrit Sistemlerin Hazırlanması

Çalışmanın bu aşamasında, akciğer kanseri hastalığının teşhisi için hassasiyeti yüksek, hızlı ve güvenilir sonuçlar veren polimer fırça-nanoparçacık hibrit sistemi ile SERS tabanlı bir tanı kiti hazırlanmıştır. Bu amaçla ilk önce destek materyali olarak kullanılacak olan silika ( $\text{SiO}_2$ ) nanoparçacıklar sentezlenmiş ve daha sonra bu parçacıklar üzerinde polimerleşmeyi başlatacak olan 3-iodopropil trimetoksisilan (IPTS) molekülü ile modifiye edilmiş ve RCTP yöntemi ile poli(glisidil metakrilat) (PGMA) polimer fırçaları sentezlenmiştir. Daha sonra bu parçacıklar üzerine akciğer kanseri belirteci olan anti-karsino embriyogenik antijen (anti-CEA) kovalent olarak bağlandıktan sonra CEA antijeni bağlanmıştır. Hazırlanan sistemin SERS tabanlı olabilmesi için manyetik gümüş nanoparçacıklar sentezlendikten sonra Raman etiketi ve anti-CEA ile modifiye edilmiştir. CEA kaplı silika nanotanecikler ile anti-CEA kaplı manyetik gümüş nanotanecikler etkileştirilerek “sandviç” kompleksin oluşması sağlanmıştır. Oluşan bu kompleks yapının SERS ile karakterize edilmesi ile sonucu hazırlanan biyosensör hakkında bilgiler toplanmıştır.

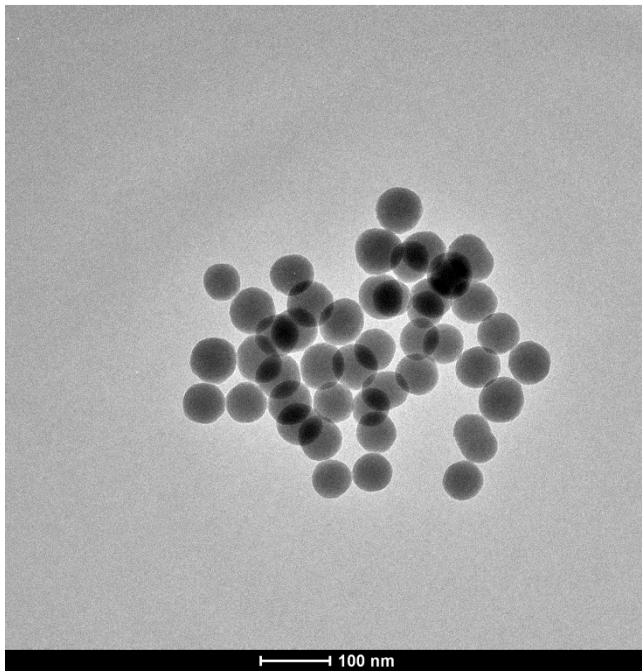
### 7.8.1. $\text{SiO}_2$ nanotaneciklerin modifiye edilmesi ve karakterizasyonu

$\text{SiO}_2$  nanoparçacıklar, tetraetil ortosilikat (TEOS) molekülünün bazik hidrolizine dayanan ve Stöber metodu olarak bilinen yöntemle sentezlenmiştir [Stöber ve ark., 1968]. Bu yöntemde TEOS hidrolize uğradıktan sonra küçük çapta silika nanotanecikleri oluşmakta ve daha sonra hidroliz süresince bu tanecikler çekirdekleşme merkezi olarak davranarak nispeten daha büyük çapa sahip tanecikler oluşmaktadır (Şekil 7.59).



Şekil 7.59. Silika nanotaneceklerin oluşma mekanizmasının şematik gösterimi.

Oluşan parçacıkların karakterizasyonunda ilk olarak TEM kullanılmıştır. Parçacık içeren çözeltiden 10  $\mu\text{L}$  bakır ızgara üzerine damlatılmış ve oda sıcaklığında kurutulmuştur. Sentezlenen parçacıkların TEM görüntüsü Şekil 7.60'da gösterilmiştir.



Şekil 7.60. Modifiye edilmemiş silika nanoparçacıkların TEM görüntüsü.

Şekilden de görüldüğü gibi parçacıklar küresel yapıya sahip olup oldukça homojen bir ürün dağılımına sahiptir. 140 parçacık üzerinden yapılan hesaplama sonucu parçacıkların ortalama çapı 62 nm olarak belirlenmiştir. Görüntüde birkaç yerde partiküller üst üste gelmiştir. Bu durum silika nanoparçacıkların topaklaşmasından ötürü değil yalnızca silika

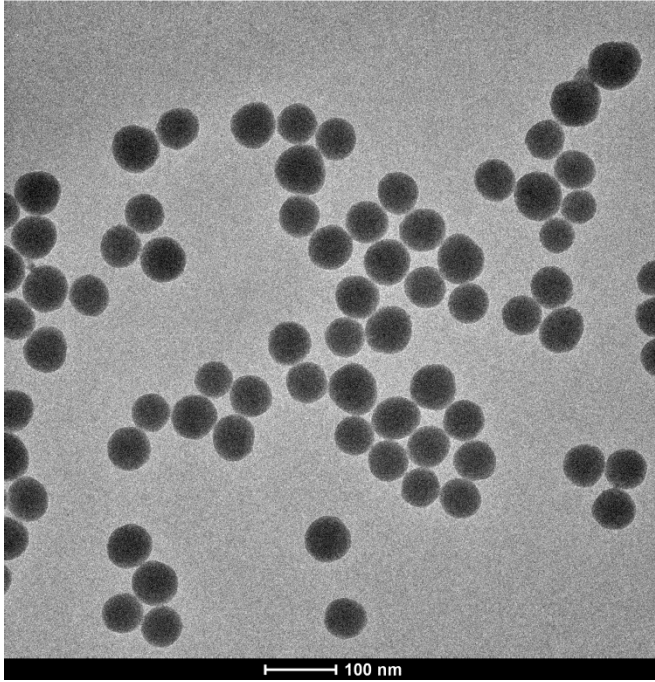
nanotanecekler üzerinde hidrolizden sonra oluşan hidroksil gruplarının bulunmasından kaynaklanmaktadır. Bir başka deyişle hidroksil grupları arasındaki etkileşimler sayesinde parçacıklar birbirine oldukça yakın konumlanmışlardır.

Silika nanoparçacıklar sentezlendikten sonra yüzeyde başlatılan RCTP yöntemi ile PGMA fırçaları sentezlemek için tanecikler IPTS ile modifiye edilmiştir (Şekil 7.61). Silika nanoparçacıklar üzerinde bulunan hidroksil grupları ile IPTS molekülünde bulunan metoksi grupları arasında gerçekleşen önce hidroliz ve daha sonra kondenzasyon reaksiyonları sonucu IPTS molekülü silika nanoparçacıklar üzerine kovalent bağ ile tutunur.



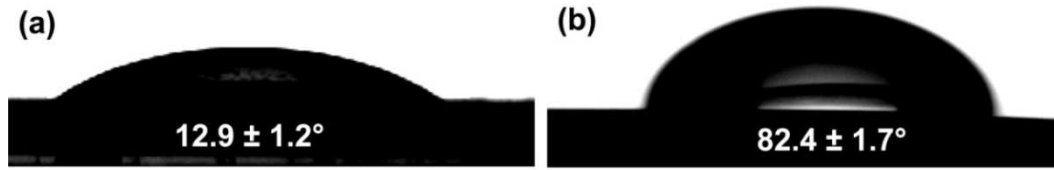
Şekil 7.61. Silika nanoparçacıkların IPTS ile modifiye edilmesi.

IPTS modifiye edilmiş silika nanoparçacıkların ( $\text{SiO}_2\text{@IPTS}$ ) çap dağılımı ve morfolojisini belirlemek için TEM karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu parçacıklara ait TEM görüntüsü Şekil 7.62'de verilmiştir. Görüntüden de anlaşılacağı üzere modifikasyon işleminden sonra parçacıkların şekli ve homojenliğinde herhangi bir değişiklik olmamıştır. Bununla birlikte 124 tane parçacık üzerinden yapılan hesaplamalarda parçacıkların ortalama çapı pek fazla değişmemiş ve 63 nm olarak belirlenmiştir. Ayrıca bir önceki işleme göre parçacıklar arasında van der Waals etkileşimlerinin baskın gelmesi sonucu parçacıklar arası uzaklık artmıştır.



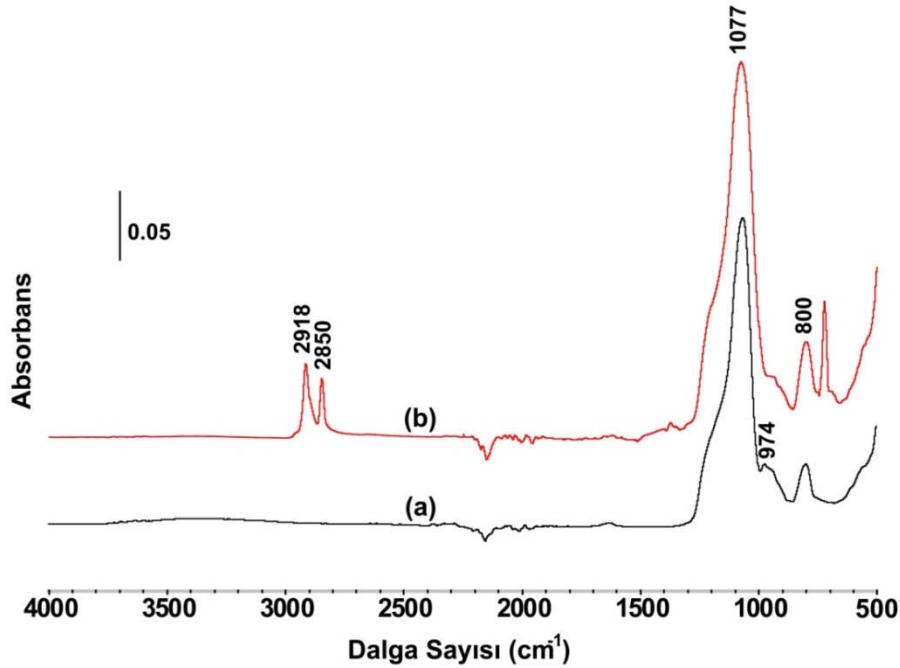
Şekil 7.62. IPTS bağlı silika nanoparçacıkların TEM görüntüsü.

Modifiye edilmiş ve edilmemiş silika nanoparçacıkların karakterizasyonunda su değme açısı ölçümleri de gerçekleştirilmiştir. Su değme açısı, her ne kadar parçacıkların yapısal karakteri hakkında bilgi vermese dahi parçacık yüzeyinde meydana gelen değişikliklere göre farklı cevap verebilmektedir. Yaklaşık 100 mg modifiyeli ve modifiyesiz silika nanoparçacıklar pellet haline getirildikten sonra 5  $\mu$ L su damlacığı pelletler üzerine damlatılmış ve su değme açıları ölçülmüştür. Elde edilen su değme açısı görüntüleri Şekil 7.63'de verilmiştir. Silika nanoparçacıklar modifiye edilmeden önce (Şekil 7.63a) yüzeylerinde bulunan hidroksil grupları sayesinde su değme açısı yaklaşık  $13^\circ$  değerini alarak oldukça hidrofilik bir özelliğe sahiptir. Silika nanoparçacıklar IPTS ile modifiye edildikten sonra su değme açısı yaklaşık  $82^\circ$  değerine ulaşarak hidrofobik özellik kazanmıştır (Şekil 7.63b). Bu durum yüzeylerin üzerinde uç grup olarak hidrofobik grubun (iyot) olmasından kaynaklanmaktadır. Bir başka deyişle, silika nanoparçacıkların üzerinde IPTS molekülünün varlığını göstermektedir.



Şekil 7.63. (a) Modifiye edilmemiş  $\text{SiO}_2$  ve (b)  $\text{SiO}_2$ @IPTS parçacıklarının su değme açısı görüntüleri.

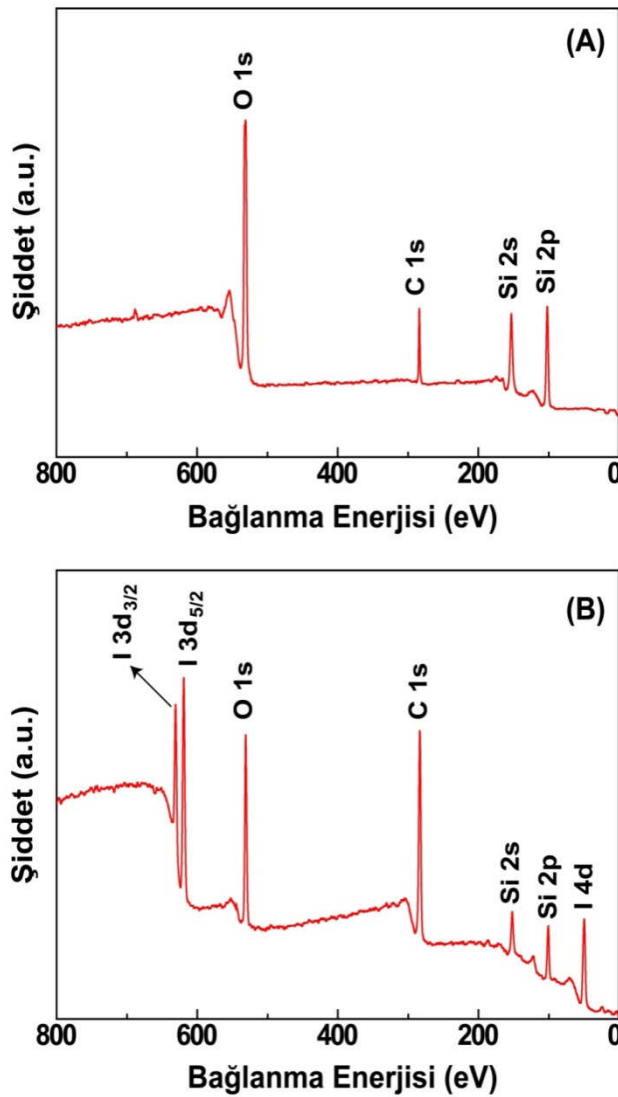
Nanoparçacıkların yapısal karakterizasyonunda ilk olarak ATR-FTIR spektroskopisi kullanılmıştır. Şekil 7.64a'da modifiye edilmemiş silika nanoparçacıkların FTIR spektrumuna bakıldığında  $1077$ ,  $974$  ve  $800 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenen bandlar  $\text{SiO}_2$  bağının gerilme ve deformasyon titreşimlerine karşılık gelmekte olup  $3500\text{-}3000 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenen geniş band silika nanoparçacıklar yüzeyindeki silanol ( $\text{Si-OH}$ ) ve yüzeye adsorbe olan su moleküllerinden kaynaklanmaktadır. Silika nanoparçacıklar IPTS ile modifiye edildikten sonra  $\text{Si-O-Si}$  bağına ait deformasyon ve gerilme titreşimlerine ait bantlarının absorpsiyonu artmıştır (Şekil 7.64b). Bu durum silika parçacıkların üzerine organosilan tabakasının oluştuğunu göstermektedir.



Şekil 7.64. (a) Modifiye edilmemiş  $\text{SiO}_2$  ve (b)  $\text{SiO}_2$ @IPTS parçacıklarının ATR-FTIR spektrumları.

Şekil 7.64b incelenmeye devam edildiğinde  $2918$  ve  $2850\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenen metilen gruplarına ait asimetrik ve simetrik titreşim bantlarının gözlenmesi de silika nanoparçacıklar üzerinde IPTS molekülünün varlığını göstermektedir.

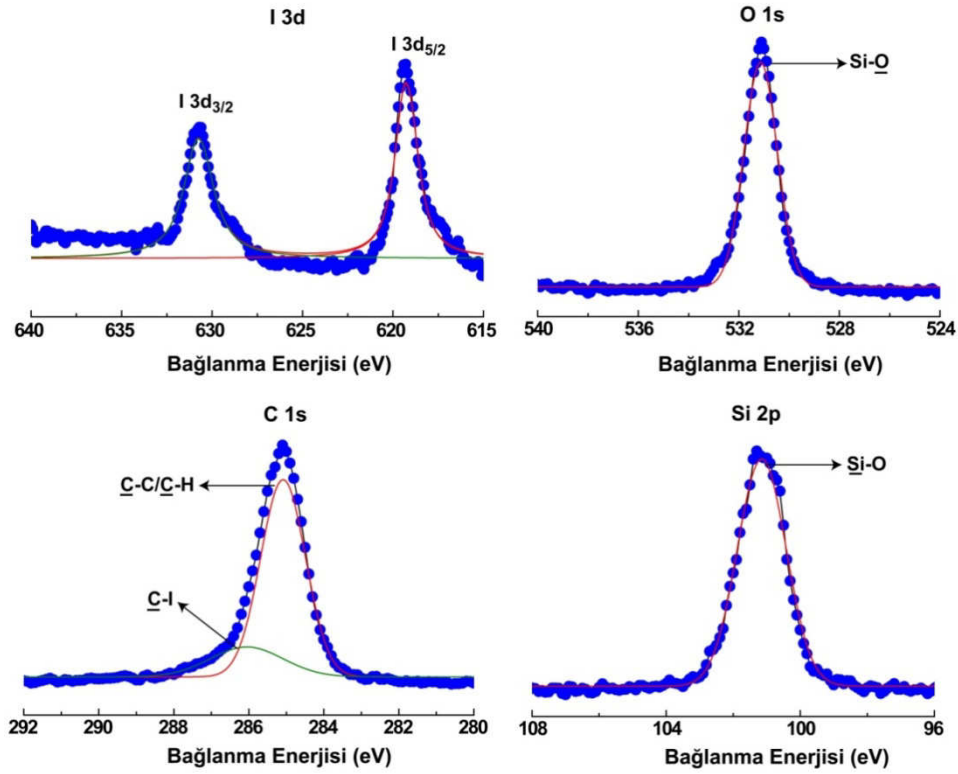
Nanoparçacıkların yapısal karakterizasyonunu ardından kimyasal bileşimi XPS ile belirlenmiştir. Boş ve IPTS kaplı silika nanoparçacıkların XPS spektrumları Şekil 7.65'de gösterilmiştir.



Şekil 7.65. (a) Modifiye edilmemiş  $\text{SiO}_2$  ve (b)  $\text{SiO}_2$ @IPTS parçacıkların XPS spektrumları.

Boş silika nanoparçacıkların XPS spektrumuna bakıldığında (Şekil 7.65a) O 1s, Si 2s ve Si 2p elementlerine ait bağlanma enerjilerinin yaklaşık olarak sırasıyla 531 eV, 153 eV ve 103 eV olarak belirlenmiştir. Yaklaşık olarak 285 eV'da ortaya çıkan karbon piki parçacıkların analiz sırasında atmosferik kirliliklerden ve/veya karbondioksit adsorpsiyonundan kaynaklanmaktadır [Chen ve ark., 2011; Kurokawa ve ark., 2011]. Silika nanoparçacıklar IPTS ile modifiye edildikten sonra C 1s pik şiddetinin bağıl olarak artması ile iyot elementine ait 630 eV'da  $3d_{3/2}$ , 620 eV'da  $3d_{5/2}$  ile 50 eV'da 4d piklerinin gözlenmesi silika nanoparçacıkların üzerine kovalent olarak bağlanmış IPTS molekülünün olduğuna en açık kanıttır.

Silika nanoparçacıkların üzerinde kovalent olarak bağlı olan IPTS molekülündeki atomların bağıl miktarı ile aynı tür elementlerin farklı kimyasal çevreye sahip atomların belirlenebilmesi için yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu alınmıştır (Şekil 7.66). Şekilden de anlaşılacağı üzere toplam % 21,1 bağıl tek bir kimyasal çevreye sahip iyot elementi ile toplam % 9,2 bağıl oranında tek bir kimyasal çevreye sahip oksijen elementi bulunmaktadır. Biri 286,1 eV'da  $\underline{C}-I$  ve diğeri 285 eV'da  $\underline{C}-C/\underline{C}-H$  olmak üzere toplam % 60,4 bağıl oranında karbon elementi bulunmaktadır. Bununla birlikte toplam bağıl miktarı % 9,2 olan ve tek bir kimyasal çevreye sahip Si elementi bulunmaktadır. Teorik olarak  $C/I = 3,0$  bağıl oranı ile deneysel  $C/I=2,86$  bağıl oranının birbirine yakın olması IPTS molekülünün parçacık üzerinde kovalent bağ ile bağlandığının diğer bir göstergesidir.



Şekil 7.66. IPTS bağlı silika nanoparçacıkların yüksek çözünürlüklü XPS spektrumu.

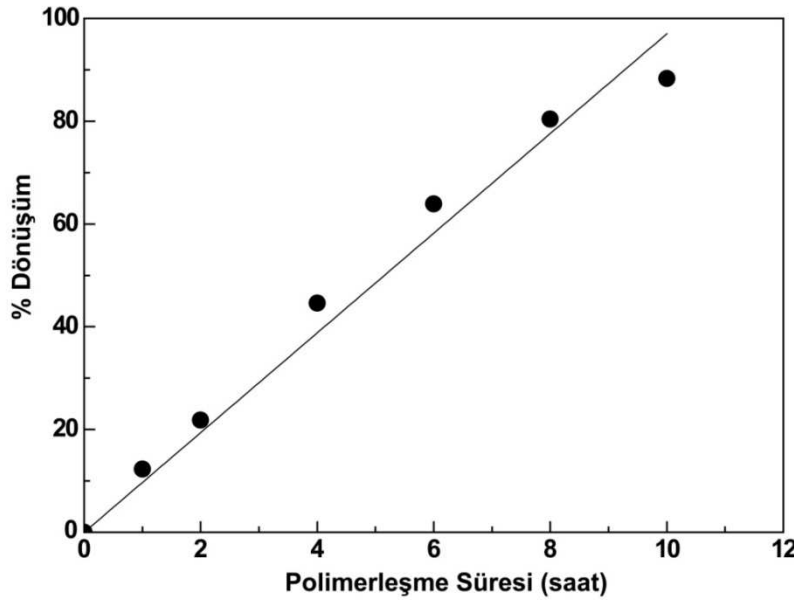
### 7.8.2. SiO<sub>2</sub> nanoparçacıklar üzerinde polimer fırça hazırlanması

Silika nanoparçacıklar IPTS ile modifiye edildikten sonra yüzeyde başlatılan RCTP yöntemiyle PGMA polimer fırçalar sentezlenmiştir (SiO<sub>2</sub>@PGMA). Polimerleşme hem parçacık yüzeyinde hem de çözelti içerisinde gerçekleştirilmiştir. Bunun için monomer olarak gilisidil metakrilat (GMA), polimerleştirmede sönümlenmiş polimer türlerin oluşması için düşük mol kütleli alkil iyodür olarak feniletıl iyodür (PE-I), katalizör, aktivatör veya zincir transfer ajanı olarak adlandırılan N-iodo süksinimit (NIS), polimerleşmede başlatıcı olarak azobis izobütironitril (AIBN) ve çözücü olarak dimetilformamit (DMF) kullanılmıştır.

RCTP yöntemi ile yapılan polimerleştirmede ilk olarak çözelti kinetiği incelenmiştir. Şekil 7.67’de zamanla monomer dönüşümünün değişimi verilmektedir. Polimerleşme süresi 1-10 saat aralığında değiştiğinde

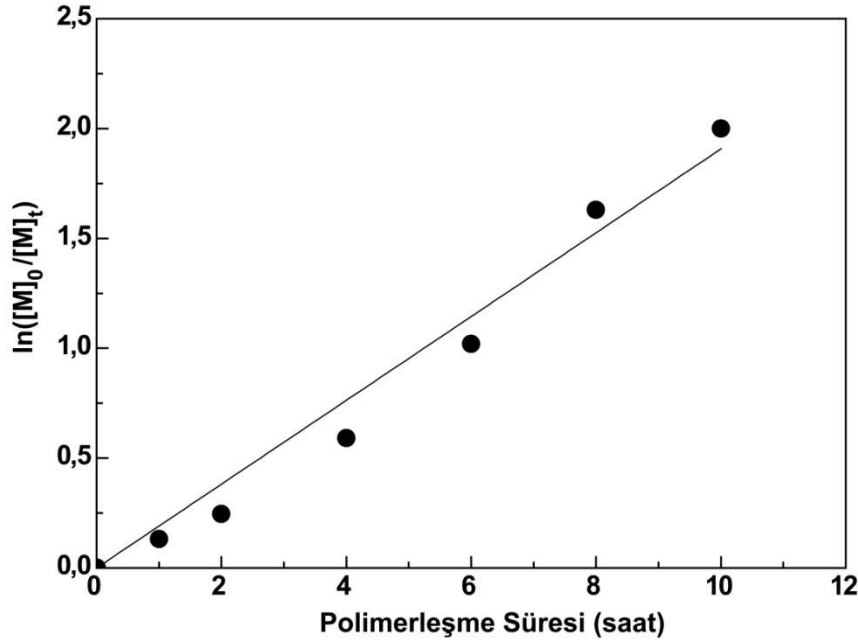


monomer dönüşümü %12,3-88,3 aralığında değişen doğrusal bir grafik elde edilmiştir (korelasyon katsayısı,  $R^2 = 0,991$ ).



Şekil 7.67. Dönüşümün polimerleşme süresince değişimi.

Monomer dönüşüm yüzdeleri belirlendikten sonra polimerleşmeye ait yarı-logaritmik grafiği çizilmiştir (Şekil 7.68). Şekilden de görüleceği gibi yarı-logaritmik grafiğin doğrusal olması ( $R^2=0,987$ ) nedeniyle polimerleşme kinetiğinin yalancı birinci dereceden kinetiğe uyduğu söylenebilir. Kinetik eğrinin eğiminden polimerleşmenin görünen hız sabiti,  $k_p^g = 5,5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$  olarak belirlenmiştir. Gerek monomer dönüşümünün zamanla doğrusal olması gerekse yarı-logaritmik eğrinin doğrusal olması polimerleşmenin bu koşullar altında yaşayan/kontrollü olduğunu göstermektedir. Bir başka deyişle, AIBN ile oluşan Polimer• makroradikali etkin bir şekilde NIS ile reaksiyona girerek NIS• radikali ile Polimer-I oluşur. Bu koşullar altında NIS• radikali PE-I molekülünden iyot atomunu kopararak aktivasyon-deaktivasyon çevriminin çok fazla sayıda olmasına neden olmuş ve böylece polimerleşmenin kontrollü olması sağlamıştır. Bir başka deyişle polimerleşme süresince aktif türlerin derişimi sabit kalmıştır.



Şekil 7.68. Çözelti polimerleşmesine ait yarı-logaritmik kinetik eğrisi.

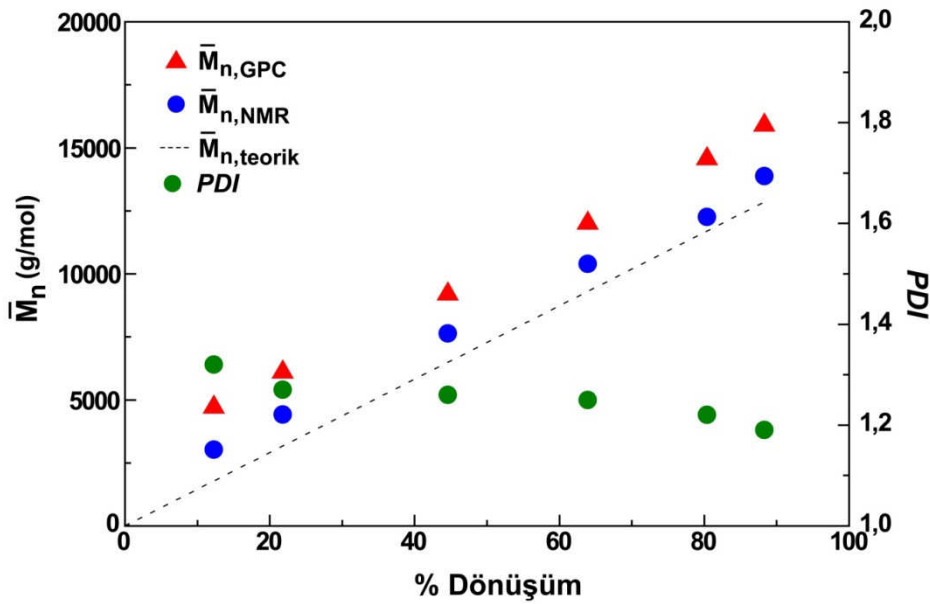
RCTP yöntemiyle sentezlenen polimerlerin teorik mol kütlesi aşağıdaki formül ile hesaplanabilir [Tokarev ve ark., 2004] :

$$\bar{M}_{n, \text{teorik}} = \frac{[M]_0}{[A-I]_0 + 2f[I]_0(1-e^{-kt})} \times C \times M_{\text{monomer}} + M_{A-I} \quad (7.8)$$

Eşitlikteki  $M_{\text{monomer}}$  ve  $M_{A-I}$  sırasıyla monomer ve düşük mol kütleli alkil iyodürün mol kütleleri,  $[M]_0$ ,  $[A-I]_0$  ve  $[I]_0$  sırasıyla monomer, alkil iyodürün ve başlatıcının başlangıç derişimini göstermektedir. Eşitlikteki paydanın sağ tarafında bulunan  $f$  başlatıcı etkinliğini ve  $k_d$  ise herhangi bir  $t$  anındaki başlatıcının bozunma hız sabitini göstermektedir.  $C$  ise monomer dönüşümünü simgelemektedir. Serbest radikal başlatıcılarının kullanıldığı ideal yaşayan/kontrollü polimerleşme yöntemlerinde (NMP, RAFT, RCTP) başlatıcının bozunmasıyla oluşan polimer miktarı minumumdur. Bu nedenle oluşan polimer miktarı zincir transfer ajanı miktarı yanında ihmal edilebilir düzeydedir [Wolpers ve ark., 2011; Perier ve ark, 2005]. Bu durumda Eş. 7.8 basit olarak Eş. 7.9'a dönüşmüş olur.

$$\bar{M}_{n, \text{teorik}} = \frac{[M]_0}{[A-I]_0} \times C \times M_{\text{monomer}} + M_{A-I} \quad (7.9)$$

Çözelti ortamında oluşan polimerlerin mol kütlesinin monomer dönüşümüyle değişimi Şekil 7.69'da gösterilmiştir. Grafik incelendiğinde,  $M_{n, \text{teo}}$ ,  $M_{n, \text{NMR}}$  ve  $M_{n, \text{GPC}}$  değerlerinin % dönüşümle doğrusal olarak arttığı belirlenmiştir. % dönüşüm yaklaşık olarak 12-83 aralığında değiştiğinde teorik mol kütlesi 2000-12800 g/mol arasında değişirken GPC ve NMR dan elde edilen mol kütleleri sırasıyla 4700-15900 g/mol ve 3030-13880 g/mol arasında değişmektedir. Ayrıca polimerlerin PDI değerleri tüm polimerleşme süresince 1,4'ten küçük olup dönüşümün artmasıyla birlikte PDI değerleri düşmektedir.

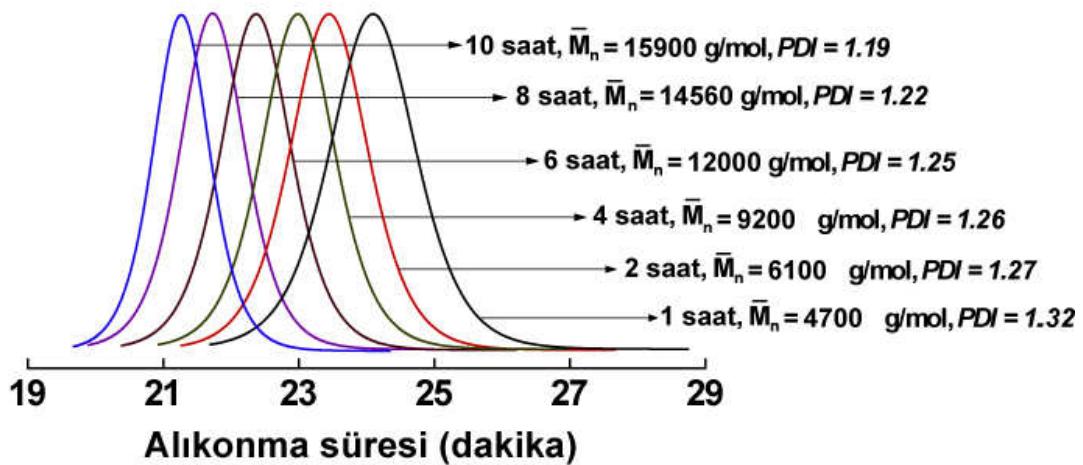


Şekil 7.69. Polimerin mol kütlesinin ve PDI değerlerinin dönüşümle değişimi.

Mol kütlesi değişiminin monomer dönüşümüyle doğrusal olması polimerleşmenin yaşayan/kontrollü olma özelliğini destekler niteliktedir. Elde edilen grafik incelendiğinde teorik mol kütlesinin dönüşümle değişimi sonucu elde edilen eğri orijinden geçmektedir. Bu durum, RAFT polimerleşmesinde olduğu gibi RCTP yönteminde de reaksiyon süresince RCTP mekanizmasının serbest radikal mekanizmasından daha baskın olduğunu

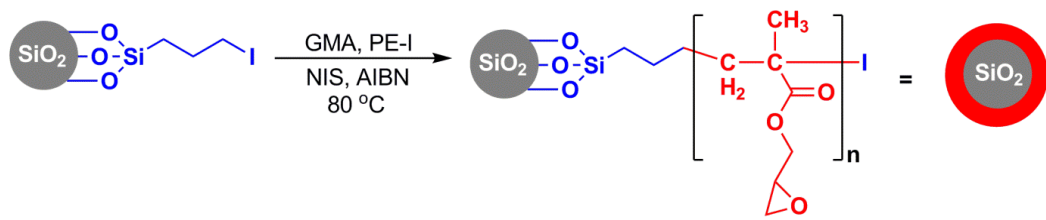
göstermektedir. Elde edilen eğri orijinden geçtiğinden dolayı bu çalışmadaki polimerleşme koşullarının ideal RCTP polimerleşmesi için uygun olduğunun göstergesi olabilir. Şekil 7.69 incelenmeye devam edildiğinde GPC den elde edilen mol kütleleri teorik mol kütlelerinden oldukça farklıdır. Bu durum GPC analizi sırasında kullanılan polistiren standartları ile P(GMA) polimerlerin hidrodinamik çaplarının birbirinden farklı olmasından kaynaklanmış olabilir. Ayrıca NMR dan elde edilen mol kütleleri de teorik mol kütlelerinden farklıdır. Bu durum ise Eş. 7.8 de başlatıcının bozunması ile oluşan polimerlerin ihmal edilip Eş. 7.9 ile hesaplama yapılmasından kaynaklanmış olabilir.

Farklı polimerleşme sürelerine ait GPC kromatogramları Şekil 7.70’de gösterilmiştir. Elde edilen kromatogramlar incelendiğinde tümünün *unimodal* ve *simetrik* olduğu görülmektedir. Herhangi bir omuzun ya da kuyruğun görülmemesi RCTP polimerleşmesi sırasında bimoleküler sonlanmaların olmadığını göstermektedir. Ayrıca GPC kromatogramları incelendiğinde mol kütlesinin artışı ile birlikte daha düşük alıkonma sürelerine doğru kayma vardır. Tüm bu sonuçlar incelendiğinde P(GMA) polimerleri çözelti içerisinde kontrollü bir şekilde sentezlendiği söylenebilir.



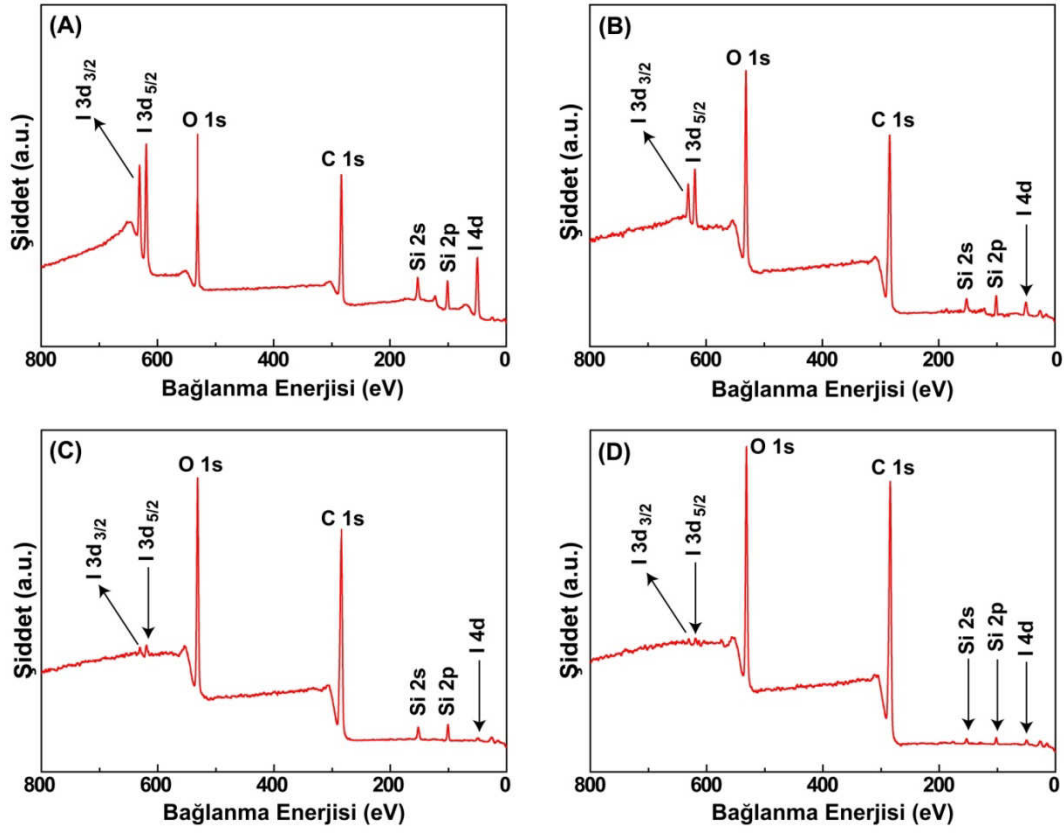
Şekil 7.70. Farklı polimerleşme sürelerine ait GPC kromatogramları.

Silika nanoparçacıklar üzerinde de polimerleşmenin gerçekleşmesi için iyot elementi içeren bir organosilan ile modifiye edilmelidir. Böylece çözelti oluşan NIS<sup>•</sup> radikali hem parçacık yüzeyindeki iyot atomunu hem de PE-I molekülünde iyot atomunu kopararak aktivasyon/deaktivasyon çevrimini başlatmış olur. Böylece hem çözelti içerisinde hem de parçacık yüzeyinde polimerleşme başlatılmış olur. Şekil 7.71'de PGMA fırçaların sentezi şematik olarak gösterilmiştir.



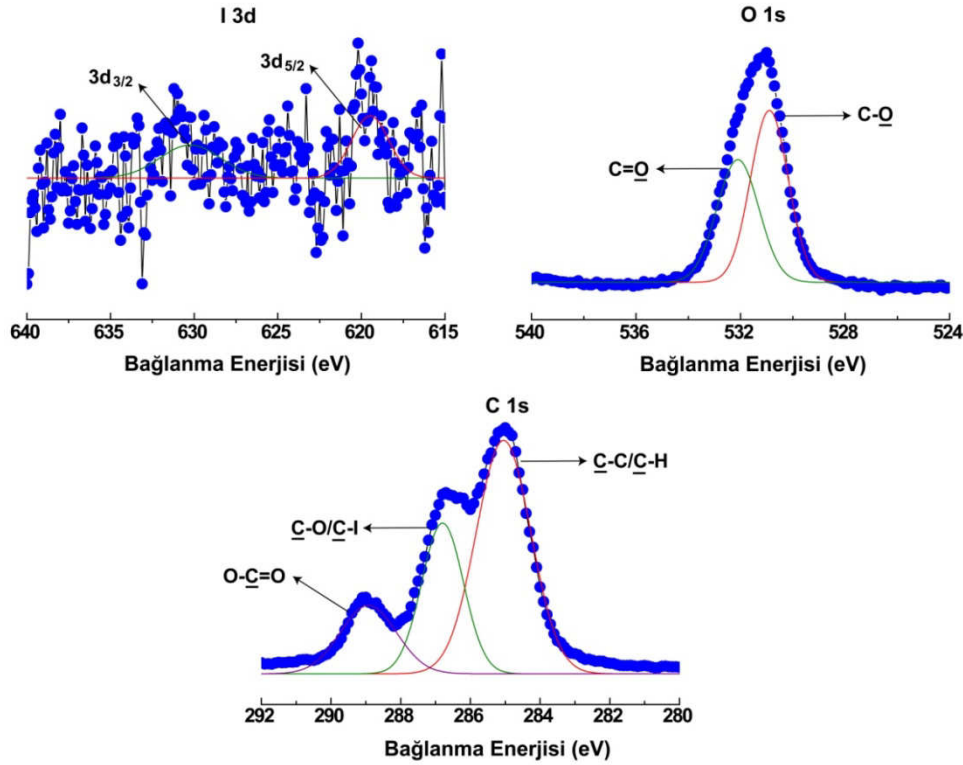
Şekil 7.71. PGMA fırça sentezinin şematik gösterimi.

Şekil 7.72'de farklı polimerleşme sürelerine ait XPS spektrumları gösterilmiştir. Spektrumlar incelendiğinde silika parçacık üzerinde I 3d<sub>3/2</sub>, I 3d<sub>5/2</sub>, O 1s, C 1s, Si 2s, Si 2p ve I 4d elementlerine ait bağlanma enerjileri sırasıyla yaklaşık olarak 630 eV, 619eV, 531 eV, 285 eV, 153 eV ve 103 eV ve 49 eV olarak belirlenmiştir. Polimerleşme süresinin artmasıyla birlikte karbon ve oksijen elementlerinin bağıl miktarlarında artış var iken I, Si elementlerinin bağıl miktarlarında azalma meydana gelmiştir. Bu durum polimerleşme süresiyle monomer dönüşümü ile uyum içerisindedir. Spektrumlar incelendiğinde her bir polimerleşme süresi sonrasında iyot elementinin karakteristik piklerinin tayin edilmesi polimer fırçaların uç gruplarında iyot elementinin bulunduğunu bir başka deyişle parçacık yüzeyinde de aktivasyon/deaktivasyon çevrim sayısının kontrollü polimerleşme olmasına yetecek kadar olduğunu da göstergesidir. Ayrıca, polimerleşme süresinin 10 saat olması durumunda dahi Si elementine ait piklerin gözlenmesi silika parçacıkların üzerindeki PGMA fırçaların kalınlığının 10 nm (X-ışınlarının maksimum girebildiği kalınlık) den daha küçük olduğunu göstermektedir.



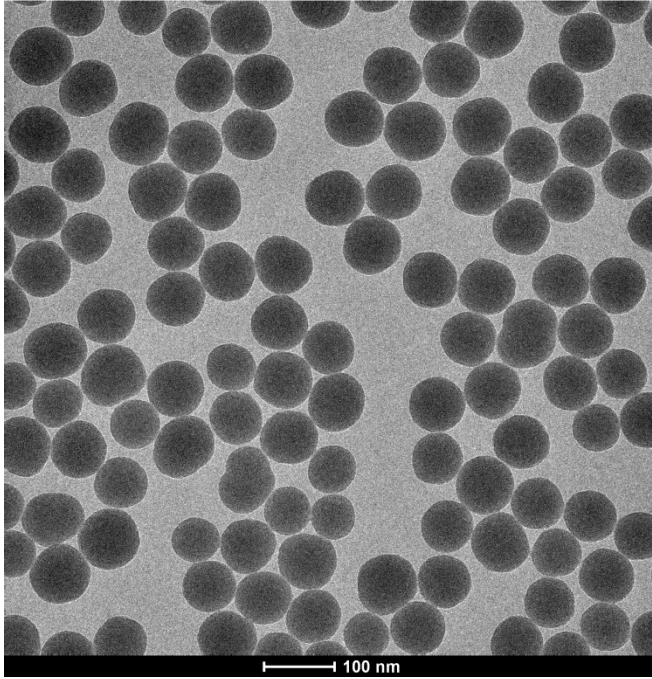
Şekil 7.72. Farklı polimerleşme sürelerine ait XPS spektrumları : (A) 1 saat, (B) 4 saat, (C) 8 saat, (D) 10 saat.

Şekil 7.73’de polimerleşme süresinin 10 saat olduğu durumdaki PGMA kaplı silika nanoparçacıkların yüksek çözünürlük XPS spektrumu verilmiştir. Spektrumdan da görülebileceği gibi % 2,4 bağıl oranında tek bir kimyasal çevreye sahip iyot atomu ile toplam % 32,1 bağıl oranında biri 532,1 eV’da  $C=O$  ve 531,0 eV’da  $C-O$  (Si-O) olmak üzere iki farklı kimyasal çevreye sahip oksijen elementi bulunmaktadır. Toplam bağıl oranı % 63,7 oranında 289,9 eV, 286,7 eV ve 285,0 eV’da olmak üzere sırasıyla  $O-C=O$ ,  $C-O/C-I$  ve  $C-C/C-H$  üç farklı kimyasal çevreye sahip karbon elementi bulunmaktadır. Teorik bağıl C/O oranını 2,0 ile deneysel bağıl C/O oranı 1,98 birbiri ile uyum içerisindedir.



Şekil 7.73. SiO<sub>2</sub>@PGMA hibrit sisteme ait yüksek çözünürlüklü XPS spektrumları (polimerleşme süresi 10 saat).

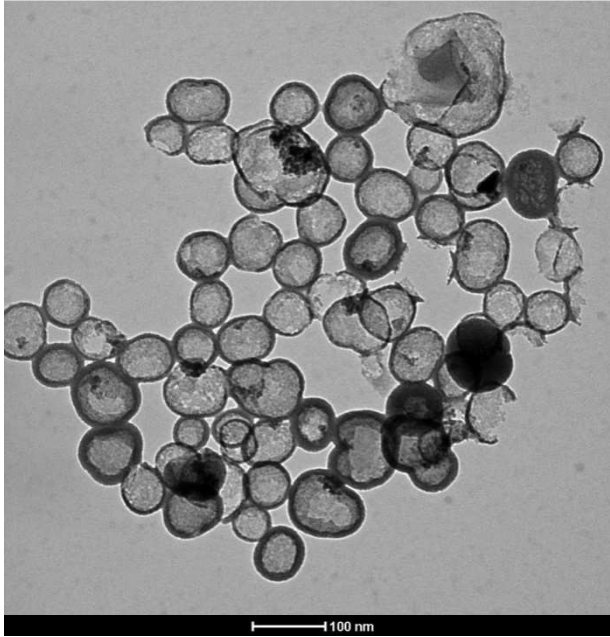
Polimerleşme süresinin 10 saat olduğu durumda elde edilen hibrit parçacıkların TEM görüntüsü şekil 7.74'de verilmiştir. Silika parçacıklar üzerinde polimerleşme gerçekleştirildikten sonra 98 nanoparçacık üzerinden yapılan hesaplamalar sonucu ortalama 77 nm olarak bulunmuştur. IPTS bağlı nanoparçacıkların ortalama çapı ise 63 nm olarak belirlenmişti. Bu durum silika nanoparçacıklar üzerinde yaklaşık olarak 7 nm kalınlığında PGMA tabakası olduğunu göstermektedir. Bu kalınlık değeri XPS analizinde 10 saat polimerleşme sonrasında silisyum atomuna ait piklerin gözlenme sebebini açıkça ortaya koymaktadır. Ayrıca, TEM görüntülerinde polimer tabakası net olarak görülmemektedir. Bunun sebebi, parçacıklar ile arka plan arasında bir kontrast farkının olmamasından kaynaklanmış olabilir [Fan ve ark., 2007; Zengin ve Caykara, 2013; Zengin ve Caykara, 2013].



Şekil 7.74. SiO<sub>2</sub>@PGMA hibrit parçacıkların TEM görüntüsü (Polimerleşme süresi 10 saat).

Hazırlanan hibrit parçacıklar, çeşitli boyama teknikleri ile parçacık ile polimer tabakası arasında kontrast farkını artırması sonucu parçacık üzerindeki polimer tabakasını daha belirgin hale getirilebilir. Bu amaç için genellikle OsO<sub>4</sub> ya da uranil asetat gibi zehirli ve oldukça pahalı maddeler kullanılmaktadır. Polimer tabakasının TEM ile karakterize edilmesinde tercih edilen ikinci bir yöntem ise polimer fırçaların çapraz bağlanmasının ardından çekirdek parçacıklarının uzaklaştırılması esasına dayanmaktadır. Bu çalışmada silika nanoparçacıklar üzerinde PGMA fırçalar sentezlendikten sonra etilendiamin ile çapraz bağlanmış ve daha sonra silika nanoparçacıklar hidroflorik asit ile muamele edilerek yapıdan uzaklaştırılması sağlanmıştır. Şekil 7.75' de silika nanoparçacıkların uzaklaştırılması ile elde edilen yapıların (polimerik nanoyüzükler) TEM görüntüsü verilmiştir. Yapılan hesaplamalar sonucunda yaklaşık olarak polimer tabakasının kalınlığı 7,5 nm olarak belirlenmiştir. Görüntü de daha açık renkte poröz yapıların görülmesinin nedeni silika nanoparçacıkların dağıldığını ancak dağılama sonrasında herhangi bir diyaliz işlemi yapılmadığından parçalanma ürünlerinin yapıdan tam uzaklaştıramadığından kaynaklanmıştır.





Şekil 7.75. Silika nanoparçacıkların uzaklaştırılmasıyla elde edilen nanoyapıların TEM görüntüsü (Polimerleşme süresi: 10 saat).

Silika nanoparçacıklar üzerine PGMA fırçalar sentezlendikten sonra polimerde bulunan epoksi gruplarının halka açılması reaksiyonu sonucu anti-karsino embriyonik antijen (anti-CEA) kovalent olarak bağlanmıştır. Daha sonra antikora özgü antijen bağlanmıştır. Anti-CEA ve Raman etiketi (4-merkaptobenzoik acid, MBA) bağlı manyetik gümüş nanoparçacıklar ile antijen kaplı silika parçacıklar arasında “sandviç kompleksi” oluşturularak antijen miktarı SERS ile karakterize edilmiştir.

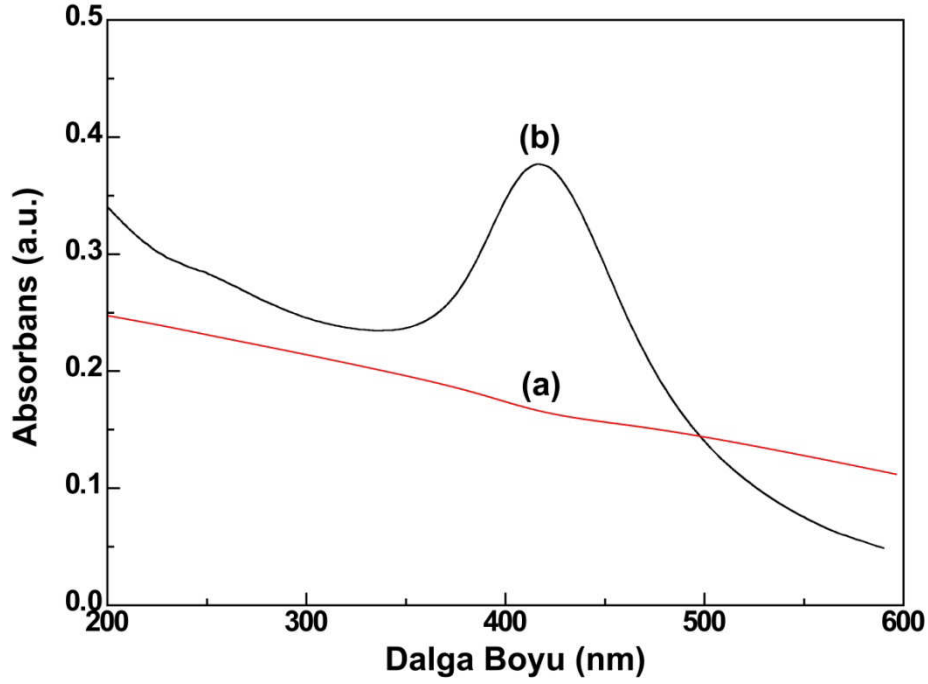
### 7.8.3. $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ve $\text{Fe}_3\text{O}_4$ nanoparçacıkların sentez ve karakterizasyonu

Manyetik nanoparçacıklar; manyetik akışkanlar, manyetik rezosans görüntüleme (MRI), kataliz, gıda, güvenlik ve klinik olarak bir çok uygulama alanı vardır [Lu ve ark., 2004; Tsang ve ark., 2004]. Çeşitli yapılarda, çaplarda ve morfojik yapılarda manyetik nanoparçacıklar sentezlenebilmesine rağmen bu tip parçacıkların uygulama alanlarında etkin bir şekilde kullanılabilmesi için kararlılığın oldukça iyi olması gerekmektedir. Bir çok uygulama alanında manyetik nanoparçacıkların çapları 10-20 nm aralığında olduğunda optimum kararlılıkta olurlar ve uygulama için elverişli

hale gelirler. Bu  $\text{\AA}$ ap aralığındaki nanoparçacıklar tek bir manyetik parçacık şeklinde davranırlar ve bloklama sıcaklığının (manyetik momentin azalmaya başladığı andaki sıcaklık) üzerinde süperparamanyetik özellik göstererek uygulanan manyetik alana büyük bir atom grubu şeklinde cevap verirler. Bu avantajları sayesinde oda sıcaklığında topaklaşma/kümelenme riski olmadan parçacıklar stabil halde kalabilir ancak 5-20 nm  $\text{\AA}$ ap aralığındaki bu parçacıklar büyük yüzey alanı/hacim oranından kaynaklanan yüksek enerjiye sahip olduklarından dolayı bağıl bir kararsızlıkları vardır. Bu yüksek enerjiyi parçacıklar topaklaşarak azaltmaya çalışırlar ve sonuçta başlangıçtaki yapı ve  $\text{\AA}$ aplarından farklı parçacıklar oluşur. Laboratuvar ortamında sıklıkla karşılaşılan bu durumu bertaraf edebilmek için parçacıkların üzeri sentez sırasında ya da sonrasında kararlılığını artırıcı koruyucu gruplar ile modifiye edilirler. Poli(vinil pirolidon), poli(etilen glikol) gibi polimerler, oleik asit veya sodyum dodesil sülfat gibi yüzey aktif maddeler, sodyum sitrat gibi organik tuzlar ve silika, altın, gümüş gibi tabakalar koruyucu grup olarak kullanılmaktadır. Her ne kadar bu tip ikincil modifikasyonlar parçacıkların manyetik alana cevap verme süresini uzatsa da parçacıkların çok uzun bir süre kararlı kalmalarını sağladığından dolayı daha avantajlıdır.

Manyetik nanoparçacıklar farklı şekillerde ve fazlarda, demir oksitler örneğin  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  ve  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , saf metaller (Fe, Co), spinel tip ferromagnetler ( $\text{MgFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  ve  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ), ve alaşımlar ( $\text{CoPt}_3$  ve  $\text{FePt}$ ) şeklinde sentezlenebilmektedir [Neveu ve ark., 2002; Grasset ve ark., 2002; Sun ve ark., 2002]. Özellikle demir oksitlerin sentezinde ikili çöktürme yöntemi ile termal bozunma yöntemi sıklıkla kullanılmaktadır. İkili çöktürme yönteminde  $\text{Fe}^{2+}$  ve  $\text{Fe}^{3+}$  tuzlarının bazik ortamda çöktürülmesi temeline dayanmaktadır. Termal bozunma yönteminde ise  $\text{Fe}(\text{CO})_5$  ya da  $\text{Fe}(\text{acac})_3$  (demir(III)aseti asetonat) komplekslerinin yüksek sıcaklıkta bozunması temeline dayanmaktadır. İkili çöktürme yönteminin oda sıcaklığında sentezlenebilir olması ve termal bozunma yöntemine göre kristal kusuru minimum olan parçacıklar oluşması nedeniyle çalışma kapsamında ikili çöktürme yöntemi tercih edilmiştir.

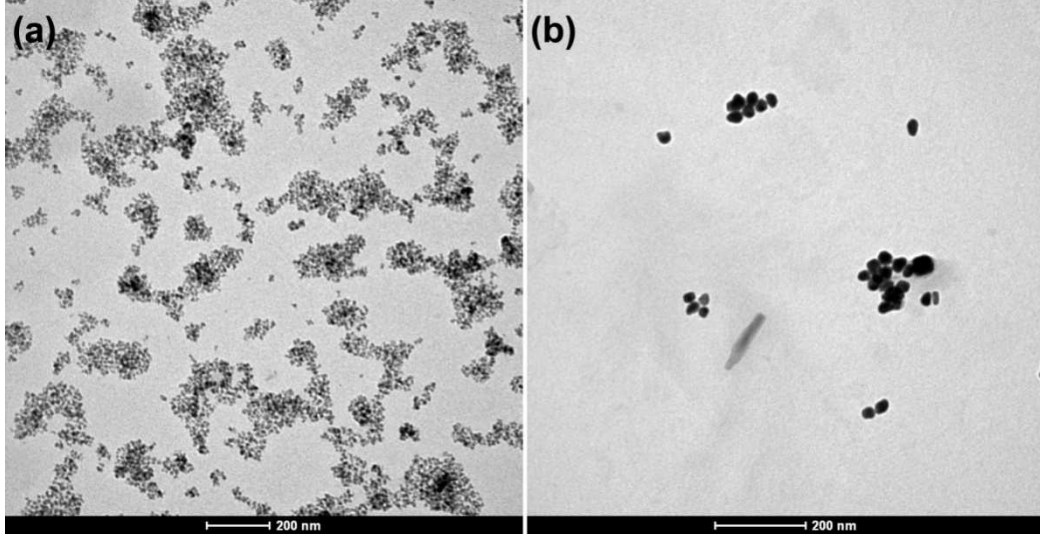
Çalışma kapsamında, manyetik parçacıklar ikili çöktürme yöntemi ile sentezlenmiş ve parçacıkların bulundukları ortamda kararlı kalabilmeleri için ilk olarak sodyum sitrat ile kaplanmıştır. Daha sonra parçacıkların SERS bileşeni olarak kullanımını sağlamak amacıyla manyetik parçacıkların üzeri sitrat indirgeme yöntemi ile gümüş ile kaplanmıştır. Sentez sonrasında gümüş tabakasının üzeri de sodyum sitrat ile kaplı olduğundan kararlılık daha da artırılmıştır. Sentezlenen manyetik parçacıklara ait UV-GB spektrumları Şekil 7.76'da verilmiştir. Soy metallerde, iletkenlik bandındaki elektronların toplam osilasyon hareketi yüzeyde büyük bir elektrik alanı oluşturur ve bu alan altın veya gümüş nanoparçacık elektromanyetik radyasyonla rezonansa girdiğinde nanoparçacığın ışığı absorplama ve saçılma özelliği önemli ölçüde artmaktadır. Bu olay nanoparçacığın absorpsiyon özelliğini en kuvvetli absorplama yapabilen moleküllerden onlarca kat daha fazla olmasını sağlar. Her iki nanoparçacığın spektrumlarına bakıldığında gümüş kaplı demir nanoparçacıkların 418 nm de absorpsiyon bandı tipik gümüş nanoparçacıklarına ait absorpsiyondan kaynaklanmaktadır. 418 nm gözlenen bu bant demir nanoparçacıkların gümüş ile kaplandığının bir kanıtıdır. Çalışılan dalga boyu aralığında demir nanoparçacıklarına ait herhangi bir pik gözlenmemiştir. Gerçekleştirilen bu deneyde demir parçacıklar gümüş ile kaplandıktan sonra çözeltide gümüş nanoparçacıkların kalmamasına özen gösterilmiştir. Bunun için manyetik nanoparçacıklar mıknatıs yardımıyla toplandıktan sonra manyetik olmayan gümüş parçacıkları uzaklaştırılmış ve bu işlem üç kez tekrar edilmiştir. Dolayısıyla, UV-GB spektrumunda gözlenen band yalnızca gümüş kaplanmış demir nanoparçacıklarına ait absorbanstan ileri gelmektedir.



Şekil 7.76. (a)  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  ve (b)  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Ag}$  nanoparçacıklara ait UV-GB spektrumları.

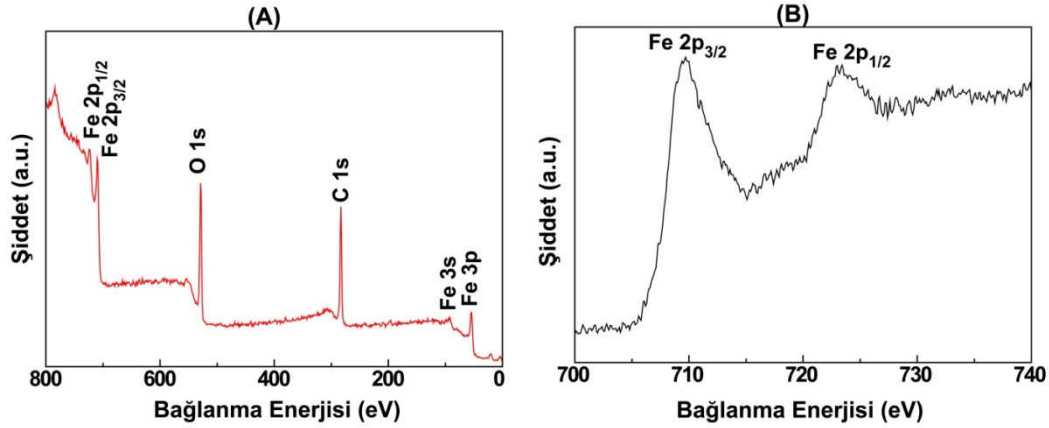
Demir nanoparçacıkların yapılarının daha net olarak görüntülerini almak için TEM ölçümleri gerçekleştirilmiştir. TEM ölçümleri için sentezlenen demir nanoparçacıkların seyreltik çözeltisinden karbon kaplı bakır ızgara üzerine damlatılarak kurutulmuş ve TEM ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Şekil 7.77a'da elde edilen demir nanoparçacıkların TEM görüntüleri görülmektedir. TEM görüntülerinden 82 parçacık üzerinden yapılan hesaplamalar sonucu parçacıkların ortalama çapı 11 nm olduğu belirlenmiştir. TEM görüntüsünden de anlaşılacağı üzere yüksek manyetik momente sahip olduklarından dolayı demir parçacıkları kurutulduktan sonra topaklaşmışlardır. Manyetik demir nanoparçacıkların sentezinden sonra parçacıkların etrafı yüksek sıcaklıkta, sitrat indirgeyici ajanı kullanılarak gümüş tabakası ile kaplanmıştır. Bu yöntemle elde edilen manyetik gümüş nanoparçacıkların TEM görüntüsü Şekil 7.77b'de verilmiştir. Görüntüden de anlaşılacağı üzere yüksek manyetizasyonundan ötürü kuru halde agregasyona uğramış haldedir. Yapılan analiz sonucunda gümüş kaplı manyetik nanoparçacıkların ortalama

çapı 27 nm olarak belirlenmiştir. Bir başka deyişle demir nanoparçacıkların üzeri yaklaşık olarak 8 nm kalınlığında gümüş ile kaplanmıştır.



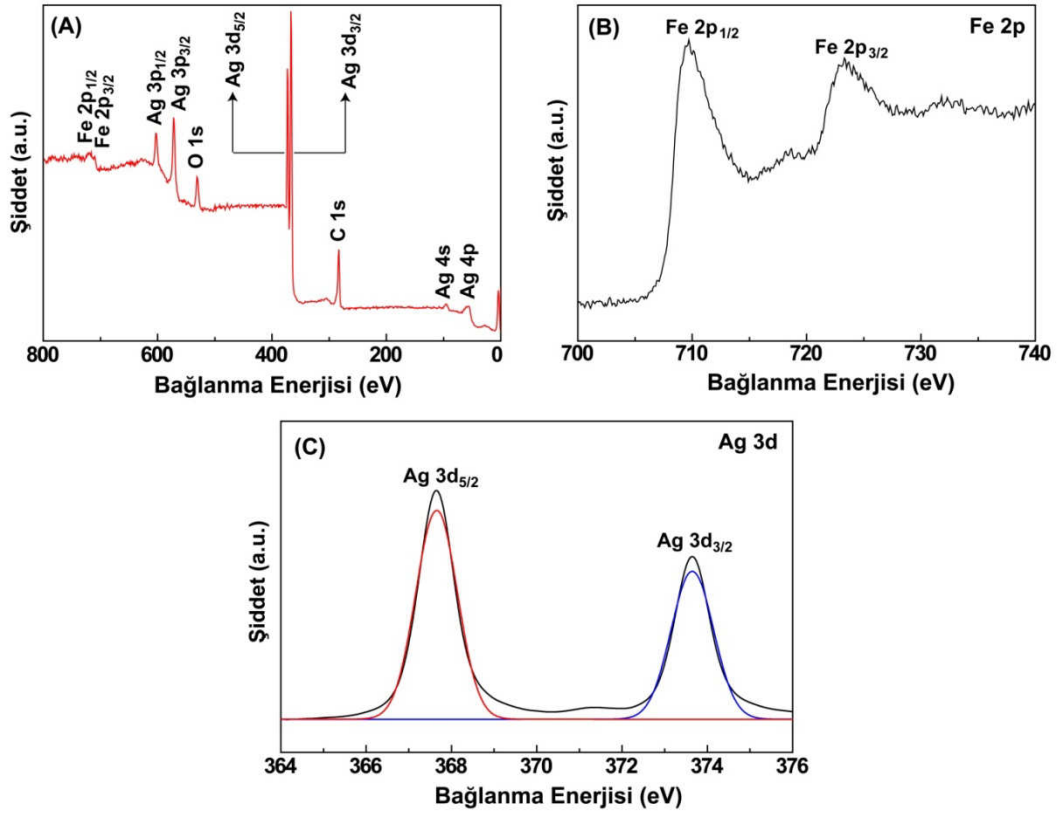
Şekil 7.77. (a) Demir, (b) Manyetik gümüş nanoparçacıkların TEM görüntüsü.

Manyetik nanoparçacıkların kimyasal analizi XPS karakterizasyonu ile gerçekleştirilmiştir. Şekil 7.78'de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparçacıkların XPS spektrumu verilmiştir. Spektrumdan da görüldüğü gibi Fe  $2p_{1/2}$ , Fe  $2p_{3/2}$ , O 1s, Fe 3s ve Fe 3p elementlerine ait bağlanma enerjilerinin yaklaşık olarak 723 eV, 710 eV, 532 eV, 91 eV ve 53 eV olarak belirlenmiştir. 285 eV civarında ortaya çıkan C 1s piki demir nanoparçacıklar üzerinde koruyucu grup olan sitrat gruplarındaki karbon elementinden kaynaklanmaktadır.  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparçacıkların yüksek çözünürlük Fe 2p XPS spektrumunda ise (Şekil 7.78b) 723,1 eV'da ve diğeri 709,6 eV'da olmak üzere iki farklı kimyasal çevreye sahip demir elementinin bulunduğunu göstermektedir.



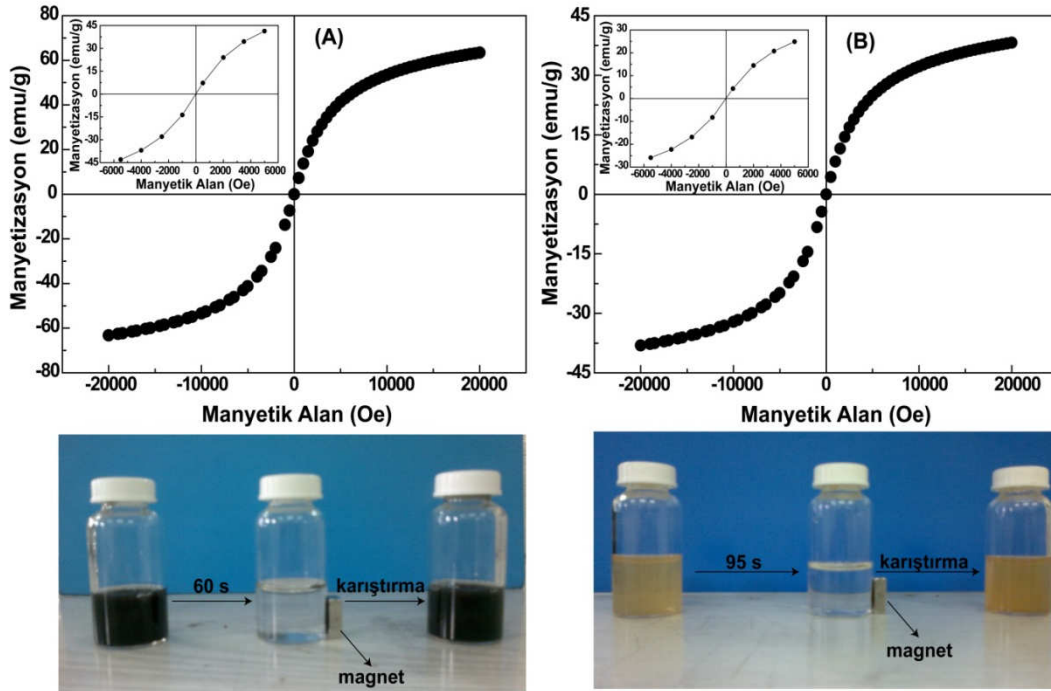
Şekil 7.78. (a) Manyetik nanoparçacıkların ve (b) Fe 2p yüksek çözünürlük XPS spektrumları.

Manyetik nanoparçacıklar üzerine sitrat indirgeme sonucu elde edilen çekirde-kabuk yapısındaki parçacıkların XPS spektrumuna bakıldığında ise (Şekil 7.79a) demir elementinin karakteristik piklerinin yanı sıra Ag  $3p_{1/2}$  (602 eV), Ag  $3p_{3/2}$  (572 eV), Ag  $3d_{5/2}$  (373 eV), Ag  $3d_{3/2}$  (367 eV), Ag 4s (91 eV), Ag 4p (53 eV) piklerinin görülmesi manyetik nanoparçacıkların üzerinde gümüş tabakasının varlığını göstermektedir. Ayrıca 285 eV ve 532 eV civarında C 1s ile O 1s piklerinin varlığı gümüş tabakasının etrafında sitrat grubunun varlığını göstermektedir. Bununla birlikte Fe 2p elementinin yüksek çözünürlük XPS spektrumunda (Şekil 7.79b) gümüş kaplanmadan önceki bağlanma enerjilerinde iki farklı pik vermesi indirgeme sonrasında kimyasal yapısında herhangi bir değişim olmadığını göstermektedir. Ag 3d elementinin yüksek çözünürlük XPS spektrumunda ise (Şekil 7.79c) biri 373,6 eV ve diğeri 367,6 eV bağlanma enerjilerinde sırasıyla  $3d_{5/2}$  ve  $3d_{3/2}$  piklerinin bulunması manyetik parçacıklar üzerinde metalik gümüş tabakasının oluştuğunun en güçlü kanıtıdır.



Şekil 7.79. (a) Gümüş kaplı manyetik nanoparçacıkların genel XPS spektrumu, (b) Fe 2p ve (c) Ag 3d elementlerinin yüksek çözünürlük XPS spektrumları.

Hazırlanan manyetik nanoparçacıkların dış bir manyetik alanda davranışlarını incelemek ve doygunluk manyetizasyon değerlerini belirleyebilmek için VSM ile karakterize edilmiştir. Hazırlanan manyetik ve gümüş kaplı manyetik nanoparçacıkların oda sıcaklığında elde edilen VSM eğrileri Şekil 7.80'de verilmiştir. Her iki nanoparçacıkta oda sıcaklığında manyetizasyon ve demanyetizasyon eğrilerinin orijinden geçmesi bir başka deyişle herhangi bir histerizi (manyetik alan sıfır olduğunda dahi belirli bir manyetizasyon değerinin olması) gözlenmemesi her iki nanoparçacığın oda sıcaklığında süperparamanyetik özellikte olduğunu göstermektedir. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacığının doygunluk manyetizasyon değeri 63,4 emu/g olarak bulunmuş iken bu parçacığın üzeri gümüş tabakası ile kaplandığında ise 38,7 emu/g değerine düşmüştür. Meydana gelen bu azalma gümüş tabakasının kaplanması ile bağlı olarak demir içeriğinin azalmasından kaynaklanmaktadır.



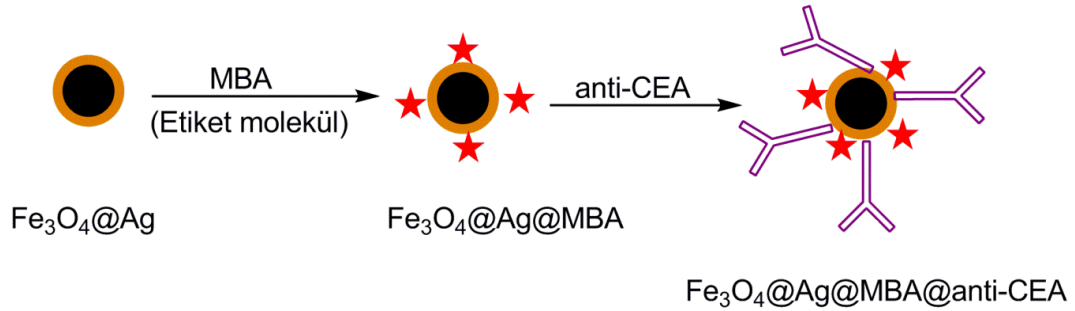
Şekil 7.80. (a) Manyetik ve (b) Gümüş kaplı manyetik nanoparçacıkların VSM eğrileri ile parçacıkların manyetik alan varlığında gösterdikleri davranışın fotografik gösterimi.

Şekil 7.80 incelenmeye devam edildiğinde siyah renkte olan  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparçacıklar dışarıdan bir manyetik alan uygulandığında yaklaşık 60 saniyede tamamın toplanarak karışımın şeffaf bir renk aldığı gözlenmiştir. Dış manyetik alan kaldırılıp hafif bir çalkalama ile parçacıkların iyi bir şekilde dispers olduğu gözlenmiştir. Manyetik nanoparçacıkların üzeri gümüş tabakası ile kaplandığında ise çözelti sarı/yeşil rengini almış ve dış bir manyetik alan uygulandığında parçacıkların yaklaşık 95 saniye içerisinde tamamen toplandığı görülmüştür. Parçacıkların manyetik alana bir önceki duruma göre daha geç cevap vermesi doygunluk manyetizasyon değerinin azalmasından kaynaklanmaktadır. Daha sonra hafif bir şekilde çalkalama ile parçacıkların iyi bir şekilde dispers olduğu gözlemlenmiştir. Parçacıkların iyi dispersiteye sahip olmasının sebebi parçacık etrafında anyonik sitrat gruplarının bulunmasından kaynaklanmaktadır.

Manyetik gümüş nanoparçacıklar sentezlendikten sonra “sandviç kompleks”te bileşen olarak kullanılabilmesi için Raman etiketi (merkaptobenzoik asit) ve anti-CEA ile modifiye edilmiştir. Manyetik gümüş



nanoparçacıkların modifikasyon basamakları Şekil 7.81'de şematize edilmiştir.

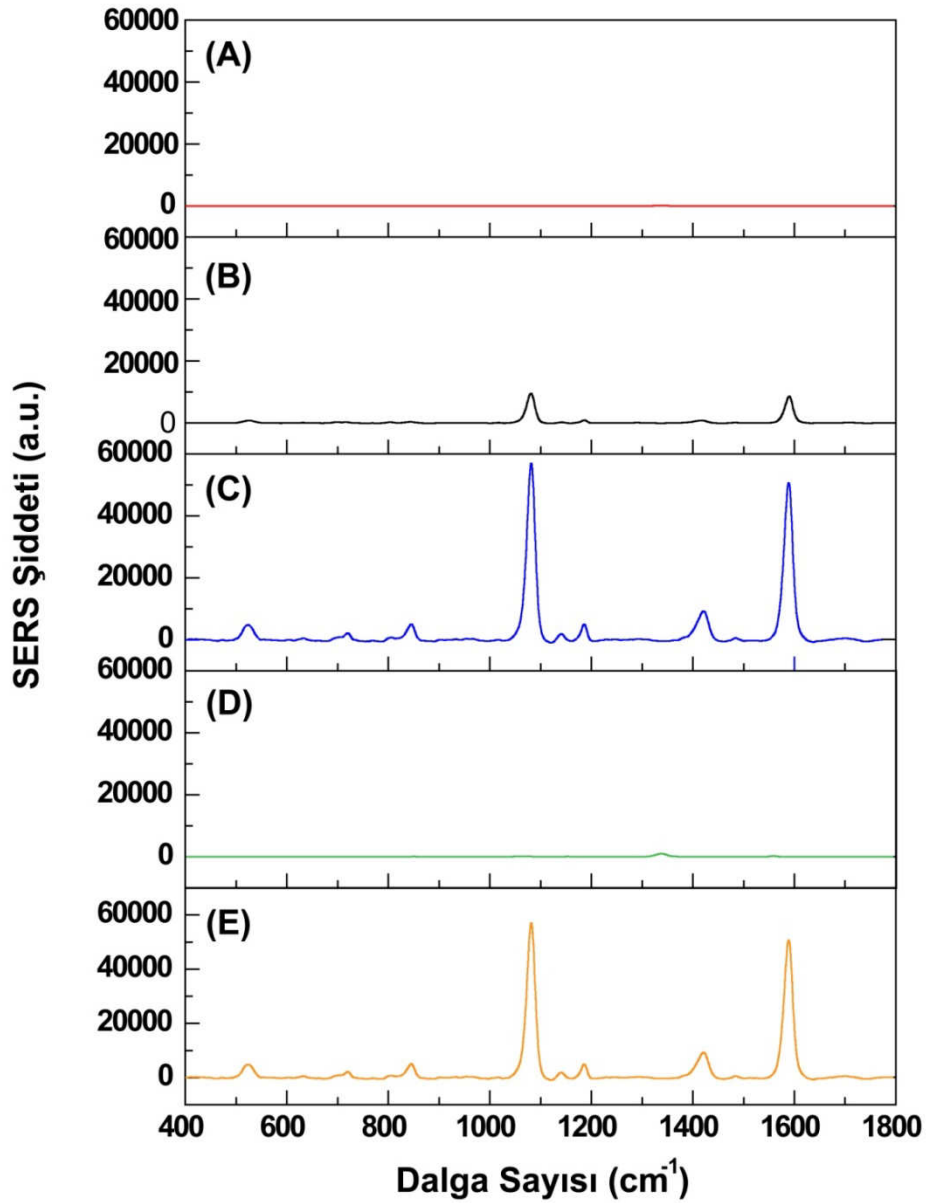


Şekil 7.81. Manyetik gümüş nanoparçacıkların modifiye edilmesinin şematik gösterimi.

Elde edilen protein kaplı manyetik nanoparçacık üzerine ne kadar proteinin bağlandığını belirleyebilmek için Bradford denemesi yapılmıştır [Gong ve ark., 2007]. Bu denemede Coomassie Blue G-250 boyası kullanılmıştır. Herhangi bir protein olmadığında boyanın rengi kahverengidir. Ortamda protein olduğunda renk maviye dönmekte ve ortamdaki protein miktarına bağlı olarak 595 nm de absorsiyon yapan ürün vermektedir. Yapılan analiz sonrasında manyetik gümüş nanoparçacıklara bağlanan anti-CEA miktarı  $3,41 \times 10^{-12}$  µg/parçacık olarak belirlenmiştir.

Manyetik gümüş nanoparçacıklar üzerine yapılan her bir modifikasyon basamağı SERS ile takip edilmiştir. Şekil 7.82'de her bir işlemten sonra alınan SERS spektrumları verilmiştir. Spektrumlar incelendiğinde saf manyetik gümüş parçacıkların herhangi anlamlı bir pik elde edilmemiştir (Şekil 7.81a). Bu durum parçacıkların Raman sinyallerinde herhangi bir girişim yapmayacağını açıkça göstermektedir. Saf MBA'nın SERS spektrumu incelendiğinde ise (Şekil 7.82b)  $1081 \text{ cm}^{-1}$  ve  $1590 \text{ cm}^{-1}$  dalga sayılarında benzen halkasına ait saçılmalardan kaynaklanan bantlar elde edilmiş ancak SERS saçılması oldukça düşüktür. Bununla birlikte manyetik gümüş nanoparçacıklar MBA molekülü ile modifiye edildiğinde  $1079 \text{ cm}^{-1}$  ve  $1586 \text{ cm}^{-1}$  deki tipik bantları elde edilmiş ve dalga sayılarında meydana gelen

kayma MBA molekülünün kovalent olarak bağlandığını göstermektedir (Şekil 7.82c).

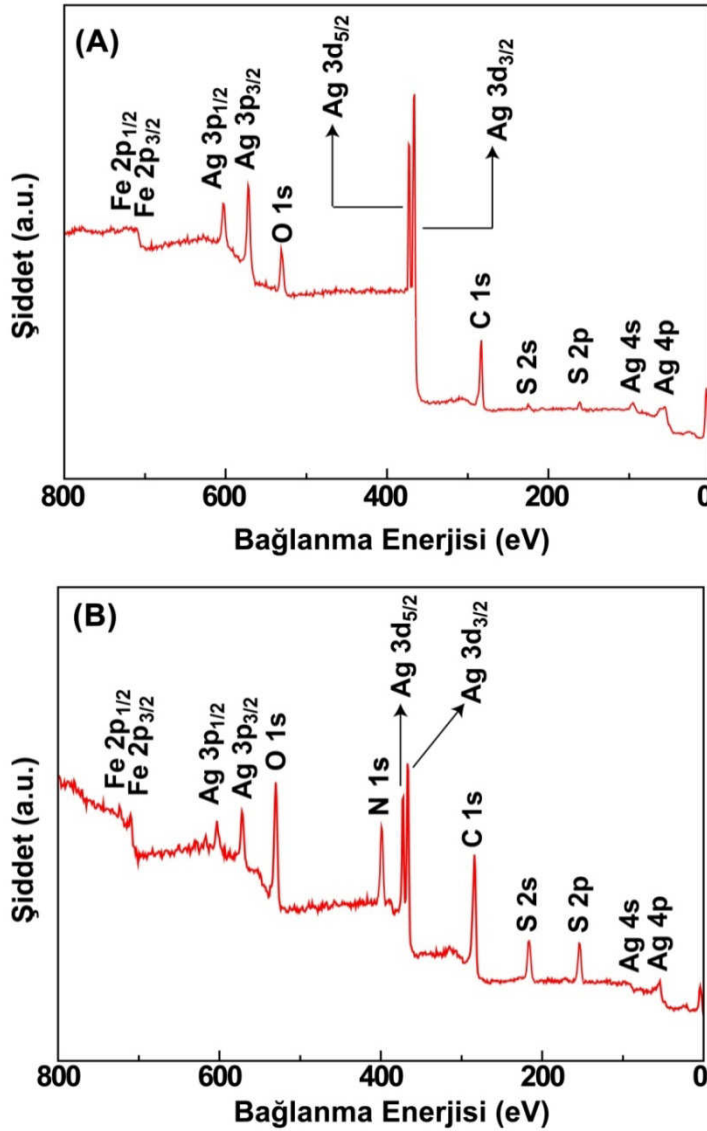


Şekil 7.82. (a) Manyetik gümüş, (b) Saf MBA, (c) MBA modifiye edilmiş manyetik gümüş, (d) Sadece anti-CEA modifiye edilmiş manyetik gümüş, (e) MBA ve anti-CEA modifiye edilmiş manyetik gümüş nanoparçacıklara ait SERS spektrumları.

Ayrıca saf MBA molekülüne göre MBA modifiye edilmiş parçacıkların SERS şiddeti oldukça fazladır. Manyetik gümüş nanoparçacıklar MBA molekülü olmadan sadece anti-CEA ile modifiye edildiğinde ise (Şekil 7.82d) anlamlı

SERS sinyalleri alınamamıştır. Bununla birlikte manyetik parçacıklar MBA varlığında anti-CEA ile modifiye edildiğinde (Şekil 7.82e) güçlü SERS sinyalleri alınmıştır. Bu durum parçacık yüzeyinde proteinin olması SERS sinyallerinde herhangi bir etkisinin olmadığını açıkça göstermektedir. Tüm bu sonuçlar, MBA ve anti-CEA ile fonksiyonelleştirilmiş manyetik nanoparçacıkları iyi SERS aktivitesi olduğunu ve sonuçta oldukça etkili SERS tabanlı immunoassay çalışmalarında kullanılabileceğini açıkça göstermektedir.

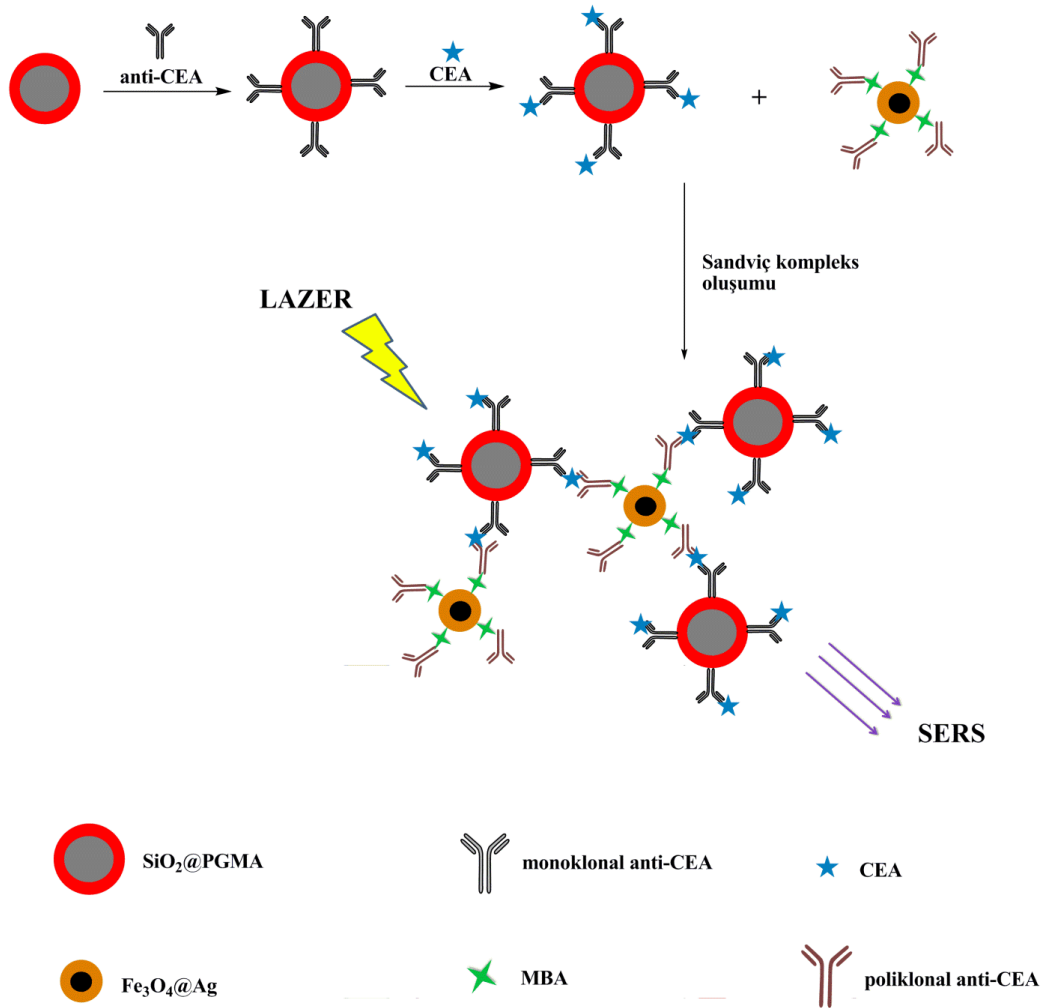
MBA bağlı manyetik gümüş nanoparçacıkların kimyasal karakterizasyonu gerçekleştirilmiş ve XPS spektrumu Şekil 7.83a'da verilmiştir. XPS spektrumundan da görülebileceği gibi Fe ve Ag elementlerine ait karakteristik piklerinin bulunması modifikasyon işleminden sonra yapılarında herhangi bir değişikliğin olmadığı anlaşılmaktadır. Bunun yanı sıra MBA molekülündeki -SH grubu ile gümüş arasında meydana gelen etkileşim nedeniyle Ag-S bağı oluşmuş ve spektrumda yaklaşık 220 eV bağlanma enerjisinde S 2s ve yaklaşık 162 eV bağlanma enerjisinde S 2p pikleri elde edilmiştir. MBA bağlı manyetik gümüş nanoparçacıklar üzerine anti-CEA proteini bağlandığında (Şekil 7.83b) ise bir önceki duruma göre S 2s ve S 2p pik şiddetlerinin artması ile yaklaşık olarak 400 eV bağlanma enerjisinde N 1s elementinin gözlenmesi parçacıklar üzerine proteinin bağlandığını göstermektedir.



Şekil 7.83. (a) MBA bağlı ve (b) MBA ve anti-CEA bağlı manyetik gümüş parçacıklarına ait XPS genel spektrumu.

Manyetik gümüş nanoparçacıklar üzerine anti-CEA bağlandıktan sonra PGMA fırça bağlı silika nanoparçacıklar üzerine de ilk olarak anti-CEA proteini bağlanmıştır. Bunun için yukarıda anlatılan işlemlerin aynısı yapılmıştır. Anti-CEA kaplı silika tanecikler, farklı derişimlerde CEA içeren çözeltiler (0-120 ng/mL) içerisinde bekletildikten sonra parçacıklar santrifüj yardımıyla toplanmış ve PBS tamponu ile yıkanmıştır. Ardından parçacıklar fosfat tamponu içerisinde dispers edilmiştir. Antijen kaplı silika nanoparçacık ile antikor kaplı manyetik gümüş nanoparçacık çözeltisi ile karıştırılmış ve

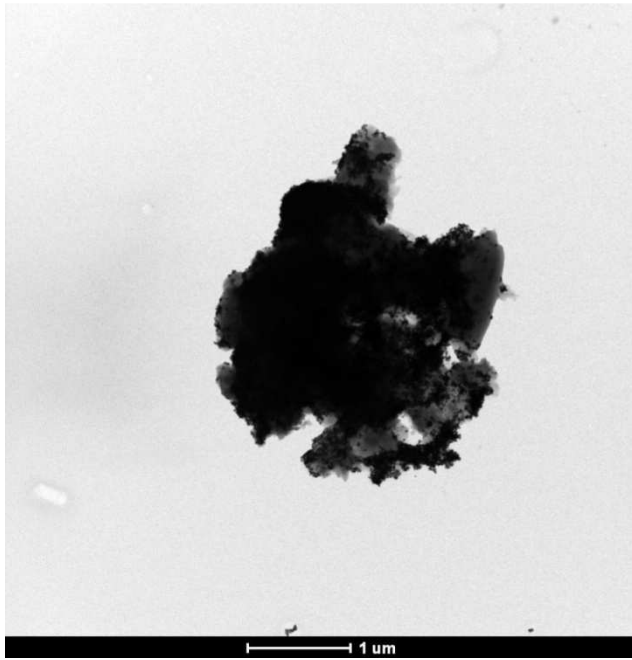
karışım oda sıcaklığında döner karıştırıcıda karıştırılmıştır. Elde edilen manyetik sandviç kompleks mıknatıs yardımıyla toplandıktan sonra PBS ile yıkanmış ve elde edilen kompleks yapı silisyum disk yüzeyine damlatılarak oda sıcaklığında kurutulmuştur. Yapılan deneysel işlemler Şekil 7.84'de şematize edilmiştir.



Şekil 7.84. Sandviç kompleks oluşumunun şematik gösterimi.

Antijen bağlı silika nanoparçacık (CEA derişimi: 80 ng/mL) ile antikor bağlı manyetik gümüş nanoparçacıkların etkileştirilmesi sonucu elde edilen sandviç kompleksin TEM görüntüsü Şekil 7.85'de verilmiştir. Görüntüden de anlaşılacağı üzere sandviç kompleks oluşumu sonrasında büyük

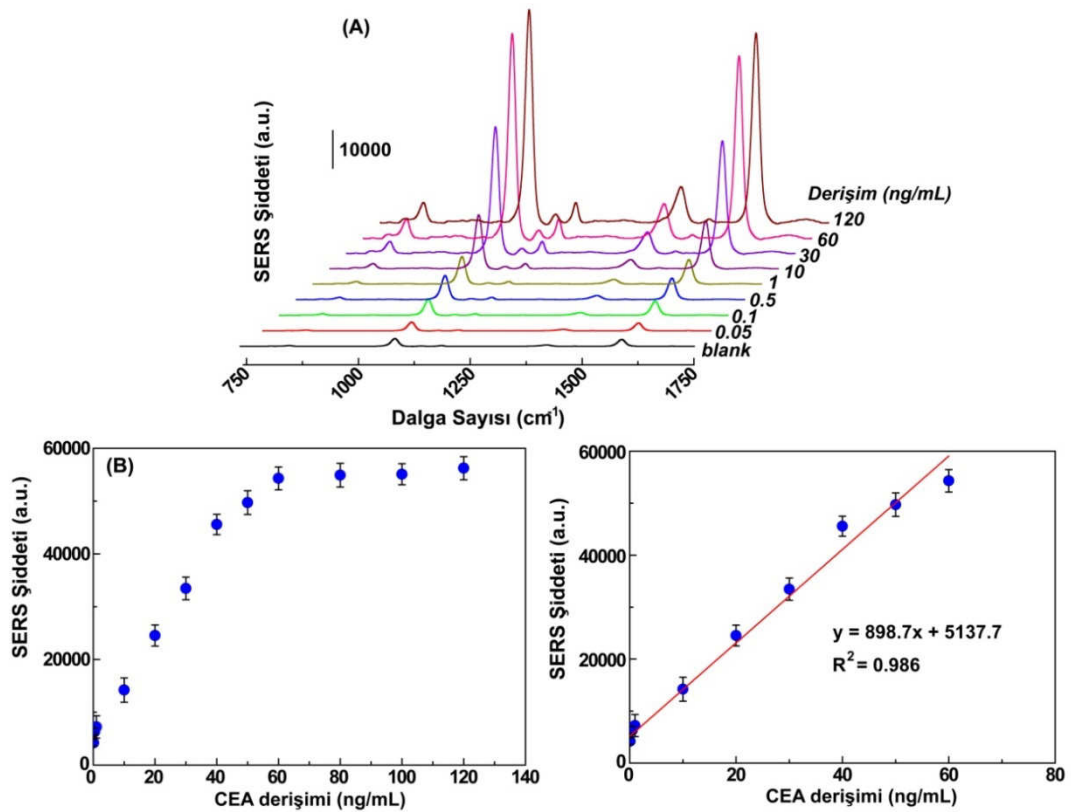
kümelenmeler oluşmuştur. Bu durum antijen içeren manyetik parçacıklarla antikor içeren manyetik olmayan parçacıkların birbirlerinin tamamlayıcısı olmasından kaynaklanmaktadır.



Şekil 7.85. Sandviç kompleksin TEM görüntüsü (CEA derişimi: 80 ng/mL).

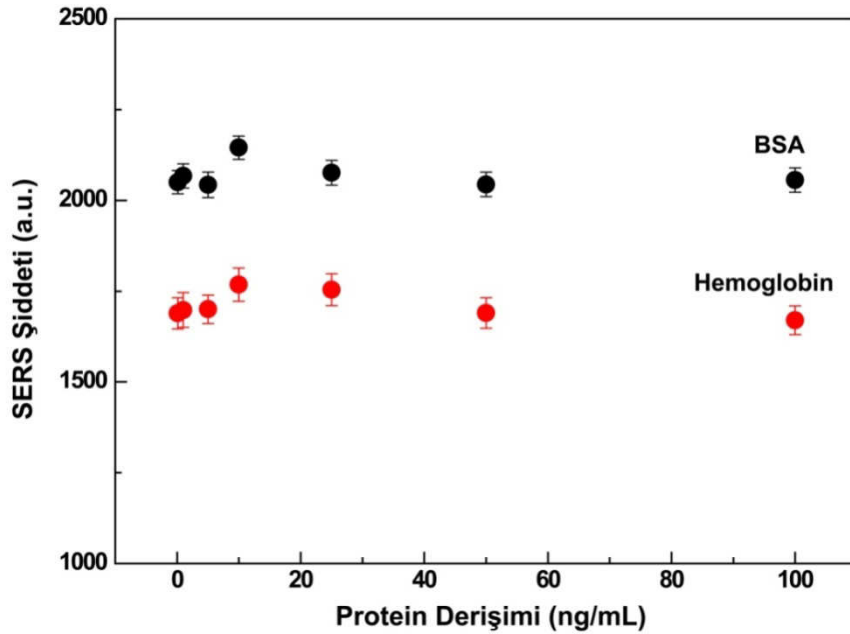
Yukarıda oluşan manyetik sandviç kompleks silisyum disk yüzeyine damlatılmış ve oda sıcaklığında kurutulmuştur. Daha sonra silisyum diskler üzerine lazer düşürülmüş ve SERS sinyalleri toplanmıştır. Şekil 7.86'da farklı CEA derişimlerine karşılık gelen SERS spektrumları verilmiştir. Spektrumlardan da anlaşılacağı üzere silika nanoparçacıklar üzerinde CEA miktarı arttıkça sandviç komplekste gümüş nanopartikül sayısı artmıştır. SERS aktif partikül sayısının artması ise Raman saçılma miktarı da artmıştır. Spektrumda gözlenen “blank” olarak adlandırılan spektrum silika nanoparçacık üzerine CEA antijeni yerine serum albumin kullanılarak elde edilen spektrumdur. Antijen olmadığı halde sinyallerin alınmasının sebebi spesifik olmayan etkileşimlerden kaynaklanmaktadır. Spektrumda en baskın pik olan ve benzen halkasına ait saçılmadan kaynaklanan  $1586\text{ cm}^{-1}$  dalga sayısındaki band referans alınıp CEA derişimine karşılık bu bandın SERS

şiddeti grafiğe geçirilmiştir (Şekil 7.86b). Grafikten de anlaşılacağı üzere CEA derişimi arttıkça SERS şiddeti artmakta ve CEA derişimi 60 ng/mL ve daha fazla olduğunda ise SERS şiddeti maksimum değerini alarak doygunluğa ulaşmaktadır. Bu değişimdeki doğrusal aralık dikkate alınıp analiz edildiğinde  $y = 898,7x + 5137,7$  şeklinde korelasyon katsayısı 0,986 olan bir doğru denklemi elde edilmiştir (grafikteki standart sapma değerleri 6 farklı okuma sonucu elde edilmiştir). Yapılan hesaplamalar sonucu hazırlanan sistemin tayin edilebilme sınırı 0,08 ng/mL olarak belirlenmiştir. Bir başka deyişle bu sistemle 0,08 ng/mL-60 ng/mL aralığında CEA tayini yapılabilir. CEA derişiminin 60 ng/mL'den daha fazla olması durumunda ise belirli oranlarda seyreltme işlemi yapılarak böyle bir sistemle yine tayin edilebilir.



Şekil 7.86. (a) Farklı CEA derişimine karşılık elde edilen SERS spektrumları,(b) CEA derişimine karşılık 1586 cm<sup>-1</sup> dalga sayısındaki bandın SERS şiddetindeki değişikliği gösteren grafik.

Hazırlanan hibrit sistemin seçiciliğini test etmek için antikor bağlı silika nanoparçacıklar üzerine CEA antijeni yerine farklı derişimlerde serum albumin ve hemoglobin bağlanmış ve daha sonra antikor bağlı gümüş nanoparçacıklarla etkileştirilerek sandviç kompleks oluşturulmuştur. Şekil 7.87’de farklı derişimlerde albumin ve hemoglobin kullanılmasına karşılık SERS şiddetlerinin değışimi verilmiştir. Belirli değerlerde okunan SERS şiddetleri ise spesifik olmayan adsorpsiyondan kaynaklanmaktadır. Grafik incelendiğinde artan protein derişimlerine karşılık SERS şiddetlerinde önemli bir değışiklik olmamıştır. Bu durum hazırlanan sistemin sadece CEA antijenine özgü olduğunu açıkca göstermektedir. Bu özgüllük sayesinde kan gibi oldukça karmaşık sistemlerde dahi tayin edilebilme imkanını sunmaktadır.

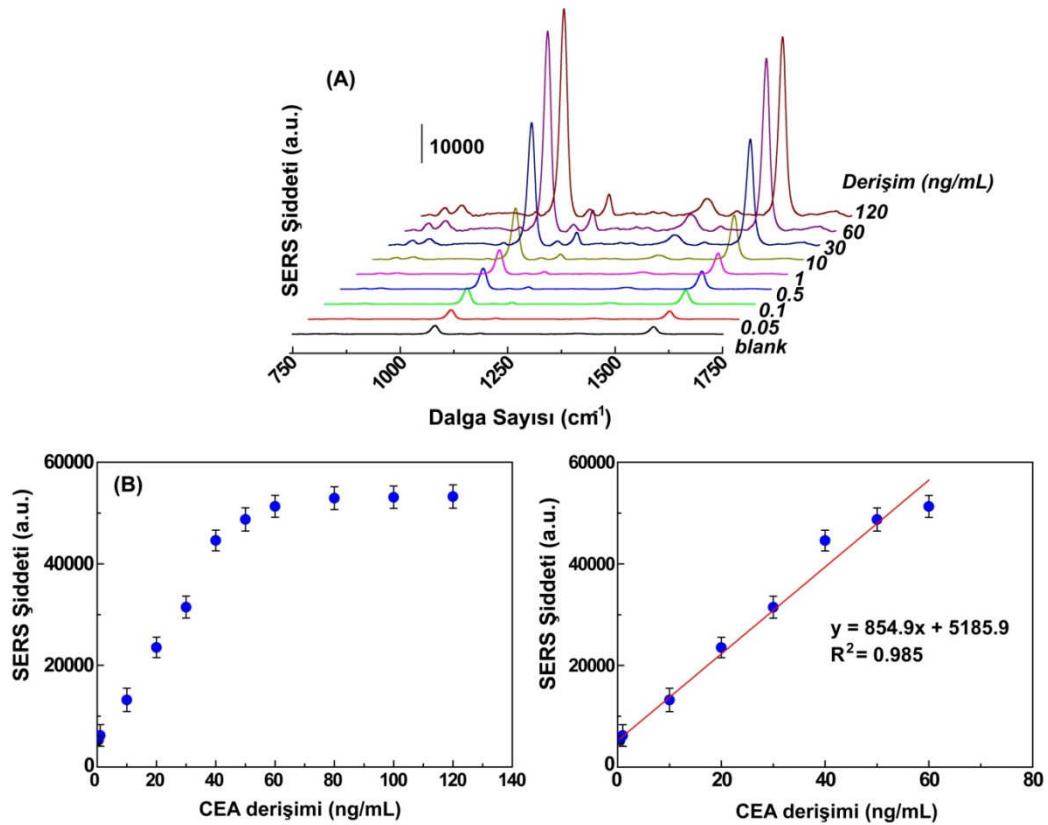


Şekil 7.87. Farklı protein derişimlerine karşılık SERS şiddetlerindeki değışimi.

Hazırlanan sistemin gerçek örneklerde uygulanabilirliğini araştırmak için belirli miktar serum örneği içerisinde CEA antijeni ilave edilerek stok çözeltisi hazırlanmıştır. Daha sonra 500 µL anti-CEA kaplı parçacık çözeltisi ile belirli miktarda stok kan çözeltisi ilave edilerek çözeltilerdeki CEA derişimi 0-120



ng/mL aralığında olacak şekilde ayarlanmıştır. Elde edilen karışım oda sıcaklığında 1 saat boyunca karıştırıldıktan sonra santrifüj yardımıyla parçacıklar toplanmış ve ardından 500  $\mu$ L PBS tamponu içerisinde dağıtılmıştır. Daha sonra bu karışım içersine 500  $\mu$ L antikor kaplı manyetik gümüş nanoparçacıkları ilave edilmiş ve karışım 1 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Bu süre sonunda parçacıklar mıknatıs ile toplanmış, PBS ile yıkanarak silisyum disk yüzeyine damlatılmıştır. Daha sonra oda sıcaklığında SERS analizi gerçekleştirilmiştir. Şekil 7.88'de serum örneklerinde farklı CEA derişimlerine karşı elde edilen SERS spektrumları gösterilmektedir.

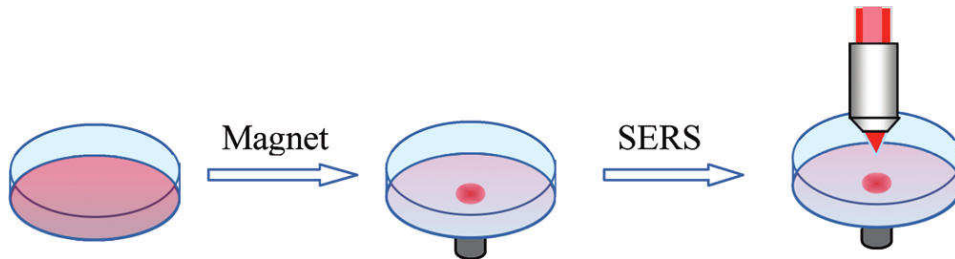


Şekil 7.88. Serum örneklerinde (a) Farklı CEA derişimine karşılık elde edilen SERS spektrumları, (b) CEA derişimine karşılık  $1586\text{ cm}^{-1}$  dalga sayısındaki bandın SERS şiddetindeki değışikliği gösteren grafik.

Spektrumlar incelendiğinde CEA derişiminin artmasıyla birlikte band şiddetlerinde artış meydana gelmiş ve fosfat tamponunda elde edilen

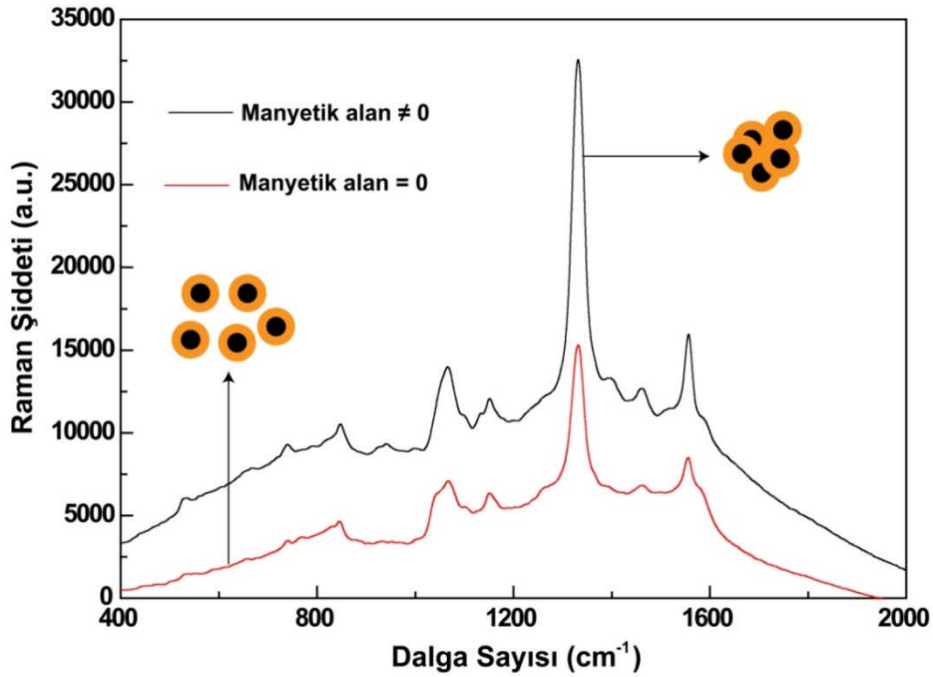
spektrumlarla hemen hemen benzer eğilim göstermişlerdir. CEA derişimine karşılık SERS şiddeti grafiğı geçirildiğinde (referans olarak yine  $1586\text{ cm}^{-1}$  deki band kullanılmıştır) CEA derişiminin artması ile SERS şiddetleri artmış ve  $60\text{ ng/mL}$  ve daha fazla olduğunda ise SERS şiddetleri doygunluk seviyesine ulaşmıştır. CEA derişimi ile orantılı olarak artan derişim aralığı dikkate alındığında korelasyon katsayısı  $0,985$  olan  $y = 854,9x + 5185,9$  olan bir doğru denklemi elde edilmiştir. Yapılan hesaplamalar sonucunda serum örnekleri içinde tayin edilebilme sınırı  $0,089\text{ ng/mL}$  olarak belirlenmiştir. Görüldüğü gibi tampon çözelti içinde çizilen kalibrasyon grafiğinin eğimi ( $898,7$ ) gerekse tayin edilebilme sınırının ( $0,08\text{ ng/mL}$ ) serum örnekleri için elde edilen değerlere çok yakın olması hazırlanan sistemin kan gibi çok karışık matrislere uygulanabilirliğini açıkça göstermektedir.

Silika nanoparçacık üzerinde sentezlenen PGMA fırçalar her ne kadar dış etkilere (sıcaklık, pH gibi) karşı bir duyarlılığı olmasa dahi hazırlanan sandviç kompleks dış manyetik alana oldukça duyarlıdır. Bu nedenle sandviç komplekse dış bir manyetik alan uygulandığında SERS şiddetlerinde artış meydana gelebilir. Bunu test etmek için manyetik gümüş nanoparçacıklar SERS çalışmalarında sıklıkla Raman etiketi olarak kullanılan 5,5'-ditiyobis(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) ile modifiye edildikten sonra parçacıklar su içersinde dispers edildikten sonra karışım cam petri içersine konulmuş ve petri kabın alt kısmına mıknatıs koyarak parçacıkların mıknatıs üzerine toplanması sağlandıktan sonra SERS lazeri bu toplanmış parçacık üzerine düşürülmüştür (Şekil 7.89).



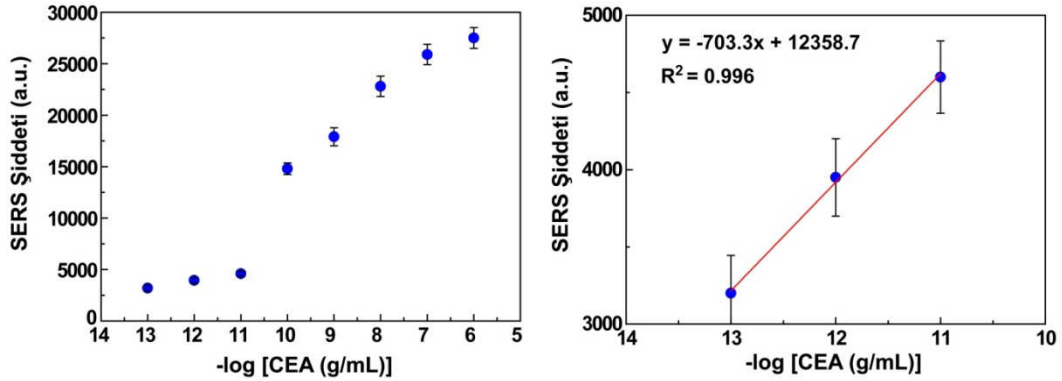
Şekil 7.89. Dış manyetik alan uygulanarak yapılan SERS analizinin şematik gösterimi.

Dış manyetik alan varlığında ve yokluğunda DTNB ile modifiye edilmiş manyetik gümüş nanoparçacıklara ait SERS spektrumları Şekil 7.89'da verilmiştir. Spektrumlar incelendiğinde manyetik alan varlığında elde edilen SERS şiddetinin manyetik alan olmadığı durumdaki saçılma şiddetinden yaklaşık 2 kat daha fazladır. Dışarıdan manyetik alan uygulandığında parçacıklar arasında uzaklık azalmakta ve parçacıklar topaklaşmaktadır. Böylece parçacıklar arasında meydana gelen etkileşmeler sonucu optik alan yoğunluğunda artış meydana gelmekte ve sonuçta Raman saçılma şiddetinde artış olmaktadır.



Şekil 7.90. Manyetik alanın Raman saçılmasına etkisi.

Hazırlanan sandviç kompleksleri arasında uzaklığın azaltılması sonucu Raman saçılmasının artırılması aynı zamanda tayin edilebilme sınırının daha da düşmesine yol açabilir. Bunu test etmek için farklı CEA derişimleri kullanarak (0-1,0  $\mu\text{g/mL}$  PBS tamponu) sandviç kompleks hazırlanmış ve Şekil 7.90'da gösterildiği gibi manyetik alan ile toplanmış ve SERS analizi gerçekleştirilmiştir. Şekil 7.91'de farklı CEA derişimlerinin logaritmik fonksiyonuna karşılık SERS şiddetlerindeki değişim gösterilmektedir.



Şekil 7.91. Dış manyetik alan varlığında elde edilen kalibrasyon grafiği.

Şekilden 7.91'den de anlaşılacağı üzere  $-\log [\text{CEA}]$  arttıkça SERS şiddetlerinde de artış olmaktadır. Bu değişimin doğrusal olduğu aralık dikkate alındığında korelasyon katsayısı 0,996 olan  $y = -703,3x + 12358,7$  olan bir doğru denklemi elde edilmiştir. Yapılan hesaplamalar sonucunda tayin edilebilme sınırı 1 pg/mL olarak bulunmuştur. Görüldüğü gibi dış manyetik alan varlığında tayin edilebilme sınırı yaklaşık olarak 80 kat düşürülmüştür. Elde edilen sandviç komplekslerin de manyetik alan ile birbirine çok yaklaşması sonucu daha da büyük topaklar oluşmuştur. Bunun sonucunda Raman saçılması artmış ve tayin edilebilme sınırı oldukça düşük sınırlara ulaşmıştır.

Hazırlanan sandviç immunosensör yapı sayesinde piko gram seviyesinde antijen tayini büyük bir hassasiyetle tayin edilmiştir. Elde edilen nanosensörün günümüzde ticari olarak bulunan tanı kitlerine alternatif olabilecek özelliği de bulunmaktadır.

## 8. SONUÇLAR

- ❖ RAFT ajanı CDSP sentezlenmiş ve FTIR,  $^1\text{H}$ -NMR,  $^{13}\text{C}$ -NMR, LC-MS ile karakterize edilerek kimyasal yapısı aydınlatılmıştır.
- ❖ Silisyum yüzeylerdeki doğal oksit tabakası çeşitli yıkama çözeltileri ile uzaklaştırılmış ve sonunda hidroksil sonlu silisyum yüzeyler elde edilmiştir.
- ❖ Hidroksillenmiş silisyum yüzeylerin tabaka kalınlığı 2,1 nm, su değme açıları ise yaklaşık olarak  $13^\circ$  olarak belirlenmiştir. AFM ile yapılan karakterizasyonunda RMS değeri 0,22 nm olarak belirlenmiştir.
- ❖ Hidroksillenmiş silisyum yüzeyler üzerinde APTS molekülünün kendiliğinden düzenlenen tek tabakaları hazırlanmıştır. Su değme açıları ve elipsometrik kalınlıklarının belirlenmesiyle yapılan optimizasyon çalışmalarında APTS molekülünün en düzenli tek tabakaları oda sıcaklığında, toluende hazırlanmış %1 (v/v)'lik çözeltilerinde 2 saat boyunca bekletilmesiyle elde edilmiştir.
- ❖ Optimum koşullarda hazırlanan APTS tabakasının elipsometrik kalınlığı 1,2 nm, su değme açıları yaklaşık  $32^\circ$  olarak belirlenmiştir. AFM ile yapılan karakterizasyonu sonucu RMS değeri 0,88 nm olarak belirlenmiştir. Ayrıca FTIR ve XPS analizleri ile APTS molekülünün yüzeyler üzerine kovalent olarak bağlandığı belirlenmiştir.
- ❖ Yüzeyler amin uçlu gruplu hale getirildikten sonra yüzeyler üzerine RAFT ajanı CDSP bağlanmıştır. Bu bağlanma sonucunda yüzeylerin su değme açıları yaklaşık  $104^\circ$  değerine ulaşarak hidrofobik karakter kazanmıştır. FTIR ve XPS analizleri sonucu CDSP molekülünün yüzeylere kovalent olarak bağlandığı belirlenmiştir. Yüzeylerin RMS değeri ise 1,24 nm olarak bulunmuştur.

- ❖ Yüzeyler üzerine CDSP bağlandıktan sonra hem yüzeyde hem de çözelti içerisinde polimerleşme gerçekleştirilmiştir.
- ❖ Çözelti oluşan polimerlerin karakterizasyonu ile polimerleşmenin kontrollü olduğu anlaşılmıştır.
- ❖ Yüzeyde başlatılan polimerleşmenin elipsometrik karakterizasyonu sonucu kontrollü olduğu ve tabaka kalınlığının zamanla değişimi  $\sim 5$  nm/saat olarak belirlenmiştir.
- ❖ Yüzeyde gerçekleştirilen polimerleşmede, yüzeyler üzerindeki polimer fırçaların zincir yoğunluğu  $0,7$  zincir/nm<sup>2</sup> olarak bulunmuştur.
- ❖ Polimerleşme süresinin artmasıyla birlikte yüzey derişimi (ya da yüzey kaplaması)  $3,57-27,8$  mg/m<sup>2</sup> aralığında değişirken teorik şişme kalınlığı da  $12,7-85,9$  nm aralığında değiştiği belirlenmiştir.
- ❖ 12 saatlik yüzeyde polimerleşme sonrasında polimer fırçaların su değme açıları yaklaşık  $52^\circ$ , elipsometrik kalınlıkları  $27,3$  nm ve yüzey RMS değeri  $2,13$  nm olarak belirlenmiştir.
- ❖ Her bir polimerleşme süresi için yapılan XPS karakterizasyonu sonucu polimer fırçaların teorik kimyasal bileşimi ile deneysel teorik bileşimin uyumlu olduğu gösterilmiştir.
- ❖ Sıcaklık duyarlı P(MEO<sub>2</sub>-MA) fırçaların alt kritik çözünme sıcaklığı (LCST), sıcaklık kontrollü su değme açısı analizi  $27,6$  °C olarak belirlenmiştir.
- ❖ Polimer fırçaların LCST altındaki ve üstündeki sıcaklıklarda AFM analizi ile faz geçişi sonrası yüzey morfolojileri belirlenmiştir. RMS değerinin ve su değme açılarının sıcaklık ile tersinir olarak değiştiği belirlenmiştir.

- ❖ Polimer fırçaların uç grubunda bulunan dodesil tritiyokarbonat grupları indirgenerek sülfidril gruplarına dönüştürülmüştür. Reaksiyonun gerçekleştiği UV-GB ve XPS ile kanıtlanmıştır.
- ❖ İndirgeme sonrasında polimer fırçaların LCST değeri yaklaşık olarak 6 °C artarak 33,7 °C değerine ulaşmıştır.
- ❖ Tohum büyütme ve sitrat indirgeme yöntemleriyle altın nanoparçacıklar sentezlenmiş ve SERS platformunda kullanımı için sitrat indirgeme yönteminin uygun olduğu anlaşılmıştır.
- ❖ Sitrat indirgeme yöntemi ile sentezlenen altın nanoparçacıkların UV-GB analizinde 521 nm dalga boyunda maksimum absorbanans verdiği gözlenmiştir. TEM ile yapılan analiz sonucunda ise parçacıkların ortalama çapı 15 nm olarak belirlenmiştir.
- ❖ Hazırlanan altın nanoparçacıklar sülfidril uç gruplu polimer fırça üzerine immobilize edilmiştir. UV-GB ve XPS analizi ile optimum immobilizasyon süresi 16 saat olarak belirlenmiştir.
- ❖ Nanoparçacık immobilizasyonunda farklı açılarda alınan gerçekleştirilen XPS karakterizasyonu ile hemen hemen tüm altın nanoparçacıkların yüzeylerde uç grup olarak bulunduğu belirlenmiştir.
- ❖ Optimum koşullarda gerçekleştirilen altın nanoparçacık immobilizasyon sonrasında gerçekleştirilen AFM analizi ile yüzeylerdeki ortalama partikül sayısı 185 partikül/  $\mu\text{m}^2$  ve yüzey RMS değeri 6,48 nm olarak belirlenmiştir.
- ❖ Polimer fırçaların LCST üzerindeki sıcaklıklarda altın nanoparçacıkların topaklaşma eğiliminde olduğu ve bu topaklaşma sonucu yüzey RMS değerinin 10,2 nm değerine yükseldiği belirlenmiştir.

- ❖ Yüzeyler üzerine bir ucu tiyollenmiş ve diğer ucu metilen mavisi ile modifiye edilmiş prob-ssDNA bağlanmıştır. SERS ile yapılan optimizasyon çalışmalarında optimum bağlanma süresinin 12 saat, optimum DNA derişiminin 1,0  $\mu$ M olduğu belirlenmiştir. Optimizasyon aynı zamanda fluoresans mikroskobu ile belirlenmiş ve SERS sonuçları ile uyum içinde olduğu belirlenmiştir.
- ❖ Prob-ssDNA bağlanmasından sonra yüzeyler üzerine hedef-ssDNA bağlanmış ve ardından indosiyanin yeşili modifiyeli ve altın nanoparçacık üzerine bağlı etiket-ssDNA bağlanmıştır. Oda sıcaklığında yapılan SERS analizi ile Hepatit B teşhisi için hazırlanan hibrit sistemin tayin edilebilme sınırı 0,44 fM olarak belirlenmiştir.
- ❖ Polimer fırçaların LCST değerinin üzerinde yapılan SERS analizi ile Hepatit B teşhisinde hibrit sistemin tayin edilebilme sınırı 0,13 fM olarak belirlenmiştir.
- ❖ Hazırlanan hibrit sistemin, farklı ss-DNA iplikçikleri ile yapılan çalışmada seçiciliğinin oldukça yüksek olduğu gösterilmiştir.
- ❖ Hazırlanan hibrit sistemlerin bir ay süre sonrasında bile oldukça yüksek aktivite gösterdiği belirlenmiştir.
- ❖ Silika nanoparçacıklar Stöber yöntemi ile sentezlenmiş ve TEM ile ortalama çapı 62 nm olarak belirlenmiştir.
- ❖ Silika nanoparçacıklar üzerine ilk olarak IPTS molekülü bağlanmış ve TEM ile ortalama çapı 63 nm olarak belirlenmiştir. Ayrıca IR ve XPS analizi ile IPTS molekülünün nanoparçacıklar üzerine kovalent olarak bağlandığı anlaşılmıştır.



- ❖ Modifiye edilmemiş silika nanoparçacıkların su değme açısı yaklaşık  $13^\circ$  ve IPTS modifiye edilmiş parçacıkların ise yaklaşık olarak  $82^\circ$  bulunmuştur.
- ❖ Hem silika nanoparçacıklar üzerinde hem de çözelti içerisinde polimerleşme gerçekleştirilmiştir.
- ❖ Çözelti içinde oluşan polimerlerin karakterizasyonu sonucu polimerleşmenin yaşayan/kontrollü davranışta olduğu belirlenmiştir.
- ❖ Nanoparçacık yüzeyinde gerçekleştirilen farklı polimerleşme sürelerinde yapılan XPS karakterizasyonu sonucu nanoparçacıkların bağıl olarak karbon ve oksijen içeriği artarken, silisyum ve iyot atomlarının bağıl miktarı azalmaktadır.
- ❖ 10 saat polimerleşme süresi sonrasında nanoparçacıkların TEM ile yapılan karakterizasyonu sonucu yaklaşık olarak 7 nm polimer fırça tabakasına sahip olduğu belirlenmiştir.
- ❖  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  yapısında manyetik nanoparçacıklar sentezlenmiş ve TEM karakterizasyonu sonucu ortalama çapı 11 nm olarak belirlenmiştir.
- ❖ Sitrat indirgeme yöntemi ile  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Ag}$  yapısında çekirdek-kabuk nanoparçacıkları sentezlenmiş ve UV-GB bölgesinde 418 nm dalga boyunda maksimum absorpsiyon verdiği görülmüştür. XPS analizi ile manyetik parçacıkların üzerinde gümüş tabakasının varlığı kanıtlanmıştır. Ayrıca TEM ile yapılan karakterizasyonda ortalama 8 nm gümüş tabakasının olduğu belirlenmiştir.

- ❖ Her iki manyetik nanoparçacığın oda sıcaklığında süperparamanyetik özellikte olduğu belirlenmiştir.  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparçacıkların doygunluk manyetizasyon değeri 63,4 emu/g iken  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Ag}$  parçacıkların ise 38,7 emu/g olarak belirlenmiştir.
- ❖  $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Ag}$  nanoparçacıkları üzerine anti-CEA bağlandıktan sonra Bradford denemesi yapılmış ve bağlanan anti-CEA miktarı  $3,41 \times 10^{-12}$   $\mu\text{g}/\text{parçacık}$  olarak belirlenmiştir.
- ❖ XPS karakterizasyonu sonrasında özellikle 400 eV civarında N 1s pikinin gözlenmesi parçacık yüzeylerine kovalent bir bağlanma olduğunu göstermektedir.
- ❖ Silika nanoparçacıklar üzerine de anti-CEA immobilizasyonun ardından CEA antijeni bağlanmış ve en son olarak anti-CEA bağlı manyetik gümüş nanoparçacıklar ile “sandviç kompleks”in oluşması sağlanmıştır. hiçbir dış manyetik alan olmadan gerçekleştirilen SERS analizi ile hazırlanan hibrit sistemin CEA antijeni tayin edebilme sınırı 0,08 ng/mL olarak belirlenmiştir.
- ❖ SERS analizi sırasında dış bir manyetik alan uygulanması sonucu hazırlanan hibrit sistemin CEA antijeni tayin edebilme sınırı 1 pg/mL olarak belirlenmiştir.
- ❖ Farklı proteinler kullanılarak yapılan seçicilik çalışmasında hibrit sistemin CEA antijenine karşı oldukça seçici davrandığı belirlenmiştir.

## KAYNAKLAR

Adamy, M., van Herk, A.M., Destarac, M., Monteiro, M. J., "Influence of the Chemical Structure of MADIX Agents on the RAFT Polymerization of Styrene", **Macromolecules**, 36: 2293-2301 (2003).

Advincula, R.C., "Surface Initiated Polymerization from Nanoparticle Surfaces", **Journal of Dispersion Science and Technology**, 24, 343-361, (2003).

Advincula, R.C., Brittain, W.J., Caster, K.C., R  he, J., "Polymer Brushes", **WILEY VCH Verlag GmbH&Co. KGaA**, Germany, 1-77, (2004).

Albrecht, M., Creighton, J., "Anomalous intense Raman spectra of pyridine at a silver electrode", **Journal of the American Chemical Society**, 99: 5215-5217 (1977).

Alexander, T. A., Pelligrino, P. M., Gilespe, J. B., "Near-Infrared Surface enhanced Raman Scattering Mediated Detection of Single Optically Trapped Bacterial Spores", **Proceedings of SPIE-The International Society for Optical Engineering**, 57: 1340-1345 (2003).

Ao, Y., He, J., Han, X., Liu, Y., Wang, X., Fan, D., Xu, J., Yang, Y., "Kinetic analysis of the cross reaction between dithioester and alkoxyamine by a Monte Carlo simulation", **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, 45:374–387 (2007).

Arcangeli, C., Cannistraro, S., "In situ Raman microspectroscopic identification and localization of carotenoids: approach to monitoring of UV-B Irradiation stress on Antarctic fungus", **Biopolymers**, 57: 179-186 (2000).

Arita, T., Buback, M., Janssen, O., Vana, P., "RAFT-Polymerization of Styrene up to High Pressure: Rate Enhancement and Improved Control", **Macromolecular Rapid Communication**, 25: 1376-1381 (2004).

Aroca, R. F., Goulet, P. J. G., dos Santos, D. S., Alvareaz-Puebla, R.A., Oliveira, O. N., "Silver Nanowire Layer-by-Layer Films as Substrates for Surface-Enhanced Raman Scattering", **Analytical Chemistry**, 77: 378-382 (2005).

Aroca, R., "Surface-enhanced Vibrational Spectroscopy", **John Wiley & Sons, Co.**, 101-102 (2006).

Ayars, E. J., Hallen, H. D., Jahncke, C. L., "Electric Field Gradient Effects in Raman Spectroscopy", **Physical Review Letters**, 85: 4180-4183 (2000).

Bang, J., Kim, S. H., Drockenmuller, E., Misner, M. J., Russell, T. P., Hawker, C. J., "Defect-Free Nanoporous Thin Films from ABC Triblock Copolymers", ***Journal of American Chemical Society***, 128: 7622–7629 (2006).

Barbey, R., Lavanant, L., Paripovic, D., Schüwer, N., Sugnaux, C., Tugulu, S., Klok, H.A., "Polymer Brushes via Surface-Initiated Controlled Radical Polymerization: Synthesis, Characterization, Properties, and Applications", ***Chemical Reviews***, 109:5437-5527, (2009).

Benoit, D., Grimaldi, S., Robin, S., Finet, J. P., Tordo, P., Gnanou, Y., "Kinetics and Mechanism of Controlled Free-Radical Polymerization of Styrene and n-Butyl Acrylate in the Presence of an Acyclic  $\beta$ -Phosphonylated Nitroxide", ***Journal of the American Chemical Society***, 122: 5929-5939 (2000).

Biesalski, D., Johannsmann, J., Rühle, J., "Synthesis and swelling behavior of a weak polyacid brush", ***Journal of Chemical Physics***, 117:4988-4994, (2002).

Biris, A. S., Galanzha, E. I., Li, Z., Mahmood, M., Xu, Y., Zharov, V. P., "In vivo Raman Flow Cytometry for Real-time Detection of Carbon Nanotube Kinetics in Lymph, Blood, and Tissues", ***Journal of Biomedical Optics***, 14: 021006(1)-021006(10) (2009).

Bubert, H., Jenett, H., "Surface and Thin Film Analysis", ***Wiley-VCH Verlag GmbH***, Germany, 254-255, (2002).

Buchel, D., Mihalcea, C., Fukaya, T., Atoda, N., Tominaga, J., Kikukawa, T., Fuji, H., "Sputtered silver oxide layers for surface-enhanced Raman spectroscopy", ***Applied Physics Letters***, 79: 620-623 (2001).

Caceres, R. C., Dawson, C. D., Formanek, P., Fishcer, D., Simon, F., Janke, A., Uhlmann, P., Stamm, M., "Polymers as Templates for Au and Au@Ag Bimetallic Nanorods: UV-Vis and Surface Enhanced Raman Spectroscopy", ***Chemistry of Materials***, 25: 158-169 (2013).

Campion, A., Kambhampati, P. "Surface-Enhanced Raman Scattering", ***Chemical Society Reviews***, 27: 241-250 (1998).

Chen, G., Huynh, D., Felgner, P. L., Guan, Z., "Tandem Chain Walking Polymerization and Atom Transfer Radical Polymerization for Efficient Synthesis of Dendritic Nanoparticles for Bioconjugation", ***Journal of the American Chemical Society***, 128: 4298–4302 (2006).

Chen, J., Liu, M., Chen, C., Gong, H. And Gao, C., "Synthesis and Characterization of Silica Nanoparticles with Well-Defined Thermoresponsive

PNIPAM via a Combination of RAFT and Click Chemistry”, **ACS Applied Materials & Interfaces**, 3: 3215-323 (2011).

Chen, M., Ghiggino, K. P., Mau, A. W. H, Rizzardo, E., Thang, S.H., Wilson, G.J., “Synthesis of light harvesting polymers by RAFT methods”, **Chemical Communications**, 2276–2277 (2002).

Chen, X. P., Qiu, K.Y., Swift, G., Westmoreland, D.G., Wu, S.Q., “A novel thermal iniferter for radical polymerization”, **European Polymer Journal**, 36:1547–1554 (2000).

Chiefari, J., Mayadunne, R. T. A., Moad, C. L., Moad, G., Rizzardo, E., Postma, A., Skidmore, M. A., Thang, S. H., “Thiocarbonylthio Compounds (S=C(Z)S–R) in Free Radical Polymerization with Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer (RAFT Polymerization). Effect of the Activating Group Z”, **Macromolecules**, 36: 2273–2283 (2003).

Chon, H., Lee, S., Son, S. W., Oh, C. H., Choo, J., “Highly Sensitive Immunoassay of Lung Cancer Marker Carcinoembryonic Antigen Using Surface-Enhanced Raman Scattering of Hollow Gold Nanospheres”, **Analytical Chemistry**, 81: 3029–3034 (2009).

Chung, J. E., Yokoyama, M., Suzuki, K., Aoyagi, T., Sakurai Y., Okano T., “Reversibly thermo-responsive alkyl-terminated poly(N-isopropylacrylamide) core-shell micellar structures”, **Colloids and Surfaces B-Biointerfaces**, 9: 37-48 (1997).

Cochran, E. W., Morse, D. C., Bates, F. S., “Design of ABC Triblock Copolymers Near the ODT with the Random Phase Approximation”, **Macromolecules**, 36: 782-792 (2003).

Colombani, D., “Driving forces in free radical addition–fragmentation processes”, **Progress in Polymer Science**, 24: 425-480 (1999).

Coulembier, O., Degee, P., Gerbaux, P., Wantier, P., Barbaud, C., Flammang, R., Guerin, P., Dubois, P., “Synthesis of Amphiphilic Poly((R,S)- $\beta$ -malic acid)-graft-poly( $\epsilon$ -caprolactone): “Grafting From” and “Grafting Through” Approaches”, **Macromolecules**, 38:3141-3150,(2005).

Cras, J. J., Taitt C. A. R., Nivens D. A., Ligler F. S., Comparison of Chemical Cleaning Methods of Glass in Preparation for Silanization, **Biosensors and Bioelectronics**, 14: 683-688 (1999).

Daniels, J. K., Chumanov, G., “Nanoparticle–Mirror Sandwich Substrates for Surface-Enhanced Raman Scattering”, **Journal of Physical Chemistry B**, 109: 17936-17942 (2005).

De gennes, P. G., "Polymers at an Interface; A Simplified View", **Advances in Colloid and Interface Science**, 27: 189-209 (1987).

Decher, G., Hong, J. D., Schmitt, J., "Buildup of ultrathin multilayer films by a self-assembly process: III. Consecutively alternating adsorption of anionic and cationic polyelectrolytes on charged surfaces", **Thin Solid Films**, 210: 831-835 (1992).

Denise, F., Petri, S., Wenz, G., Schunk, P., Schimmel, T., "An Improved Method for the Assembly of Amino-Terminated Monolayers on SiO<sub>2</sub> and the Vapor Deposition of Gold Layers", **Langmuir**, 15: 4520-4523 (1999).

Diamanti, S., Arifuzzaman, S., Genzer, J., Vala, R. A., "Tuning Gold Nanoparticle–Poly(2-hydroxyethyl methacrylate) Brush Interactions: From Reversible Swelling to Capture and Release", **ACS Nano**, 3: 807-818 (2009).

Dong, X., Gu, H., Liu, F., "Effect of Halide ions on the Surface-enhanced Raman Spectroscopy of Methylene Blue for Borohydride-reduced Silver Colloid", **Journal of Physics: Conference Series**, 277: 012030(1)-012030(6) (2011).

Efrima, S., Zeiri, L. "Understanding SERS of Bacteria", **Journal of Raman Spectroscopy**, 40: 277-288 (2009).

Endo, T., Kerman, K., Nagatani, N., Takamura, Y., Tamiya, E., "Label-Free Detection of Peptide Nucleic Acid DNA Hybridization Using Localized Surface Plasmon Resonance Based Optical Biosensor", **Analytical Chemistry**, 77: 6976-6984 (2005).

Etchegoin, P., Cohen, L. F., Brown, R. J. C., Milton, M. J. T., Gallop, J. C., "Electromagnetic contribution to surface enhanced Raman scattering revisited", **Journal of Chemical Physics**, 119: 5281-5289 (2003).

Fales, A. M., Yuan, H., V-Dinh, T., "Silica-Coated Gold Nanostars for Combined Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) Detection and Singlet-Oxygen Generation: A Potential Nanoplatform for Theranostics", **Langmuir**, 27: 12186-12190 (2011).

Fan, Q. L.; Neoh, K. G.; Kang, E. T.; Shuter, B.; Wang, S. C. "Solvent-free atom transfer radical polymerization for the preparation of poly(poly(ethyleneglycol) monomethacrylate)-grafted Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles: Synthesis, characterization and cellular uptake", **Biomaterials**, 28, 5426–5436 (2007).

Farinha, J.P.S., Relogio, P., Charreyre, M-T., Prazeres, T.J.V., Martinho, J.M.G., "Understanding Fluorescence Quenching in Polymers Obtained by RAFT", **Macromolecules**, 40: 4680–4690 (2007).

Favier, A., Charreyre, M. T., Pichot, C., "A detailed kinetic study of the RAFT polymerization of a bi-substituted acrylamide derivative: influence of experimental parameters", **Polymer**, 45: 8661-8674 (2004).

Favier, A., Charreyre, M-T., "Experimental Requirements for an Efficient Control of Free-Radical Polymerizations via the Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer (RAFT) Process", **Macromolecular Rapid Communications**, 27: 653-692 (2006).

Feldermann, A., Coote, M. L., Stenzel, M. H., Davis, T. P., Kowollik, C. B., "Consistent Experimental and Theoretical Evidence for Long-Lived Intermediate Radicals in Living Free Radical Polymerization", **Journal of the American Chemical Society**, 126: 15915–15923 (2004).

Fischer, H., "The Persistent Radical Effect: A Principle for Selective Radical Reactions and Living Radical Polymerizations", **Chemical Reviews**, 101: 3581-3610, (2001).

Fleischmann, M., Hendra, P., McQuillan, A., "Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode", **Chemical Physics Letters**, 26: 163-166 (1974).

Freeman, R. G., Katherine, C., "Self-Assembled Metal Colloid Monolayers: An Approach to SERS Substrates", **Science**, 267: 1629-1632 (1995).

Fukuda, T., "Fundamental kinetic aspects of living radical polymerization and the use of gel permeation chromatography to shed light on them", **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, 42: 4743-4755 (2004).

Geiman, I., Leona, M., Lombardi, J. R., "Application of Raman Spectroscopy and Surface-Enhanced Raman Scattering to the Analysis of Synthetic Dyes Found in Ballpoint Pen Inks", **Journal of Forensic Science**, 54: 947-952 (2009).

Georges, M. K., Veregin, R. P. N., Kazmaier, P. M., Hamer, G. K., "Narrow molecular weight resins by a free-radical polymerization process", **Macromolecules**, 26: 2987-2988 (1993).

Gilfrich, J. V., Birks, L. S., "Estimation of Detection Limits in X-ray Fluorescence Spectrometry", **Analytical Chemistry**, 56: 77-79 (1984).

Gong, J.L., Liang, Y., Huang, Y., Chem, J. W., Jiang, J. H., Shen, G. L., Yu, R. Q., "Ag/SiO<sub>2</sub> core-shell nanoparticle-based surface-enhanced Raman probes for immunoassay of cancer marker using silica-coated magnetic nanoparticles as separation tools", **Biosensors and Bioelectronics**, 22: 1501-1507 (2007).

Goto, A., Fukuda, T., "Kinetics of living radical polymerization", ***Progress in Polymer Science***, 29: 329-385 (2004).

Goto, A., Hirai, N., Wakada, T., Nagasawa, K., Tsuj, Y., Fukuda, T., "Living Radical Polymerization with Nitrogen Catalyst: Reversible Chain Transfer Catalyzed Polymerization with N-Iodosuccinimide", ***Macromolecules***, 41: 6261- 6264 (2008).

Goto, A., Tsuji, Y., Fukuda, T., "Reversible chain transfer catalyzed polymerization (RTCP): A new class of living radical polymerization", ***Polymer***, 46: 5177-5185 (2008).

Goto, A., Zush, H., Hirai, N., Wakada, T., Kwak, Y., Fukuda, T., "Germanium- and Tin-Catalyzed Living Radical Polymerizations of Styrene and Methacrylates", ***Macromolecular Symposia***, 248: 126-131 (2007).

Goto, A., Zushi, H., Kwak, Y., Fukuda, T., "Germanium- and Tin-Catalyzed Living Radical Polymerizations of Styrene", ***ACS Symposium Series***, 944: 595-603, (2006).

Gotoi, A., Zush, H., Hirai, N., Wakada, T., Kwak, Y., Fukuda, T., "Living Radical Polymerizations with Germanium, Tin, and Phosphorus Catalysts – Reversible Chain Transfer Catalyzed Polymerizations (RTCPs)", ***Journal of the American Chemical Society***, 29: 13347-13354, (2007).

Grabar, K. C., Freeman, R. G., Hommer, M. B., Natan, M. J., "Preparation and Characterization of Au Colloid Monolayers", ***Analytical Chemistry***, 67: 735-743 (1995).

Grasset, F., Labhsetwar, N., Li, D., Park, D. C., Saito, N., Haneda, H., Cador, O., Roisnel, T., Mornet, S., Duguet, E., Portier, J., Etourneau, J., "Synthesis and Magnetic Characterization of Zinc Ferrite Nanoparticles with Different Environments: Powder, Colloidal Solution, and Zinc Ferrite–Silica Core–Shell Nanoparticles", ***Langmuir***, 18: 8209-8216 (2002).

Gündüz, T., "İnstrumental Analiz", ***Gazi Kitabevi***, Ankara, 401-407 (2004).

Gupta, A.K., Gupta, M., "Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications", ***Biomaterials***, 26:3995–4021 (2005).

Gupta, S., Agrawal, M., Uhlmann, P., Simon, F., Stamm, M., "Gold Nanoparticles Immobilized on Stimuli Responsive Polymer Brushes as Nanosensors", ***Macromolecules***, 41: 8152-8158, (2008).

Gupta, S., Agrawal, M., Uhlmann, P., Simon, F., Stamm, M., "Poly(N-isopropyl acrylamide)–Gold Nanoassemblies on Macroscopic Surfaces:



Fabrication, Characterization, and Application”, **Chemistry of Materials**, 22: 504-509 (2010).

Gurbuz, N., Demirci, S., Yavuz, S., Caykara, T., “Synthesis of Cationic N-[3-(dimethylamino)propyl]methacrylamide Brushes on Silicon Wafer via Surface-initiated RAFT Polymerization”, **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, 49: 423-431 (2011).

He, L., Musick, M. D., Nicewarner, S. R., Salinas, F. G., Benkovic, S. J., Natan, M. J., Keating, C. D., “Colloidal Au-Enhanced Surface Plasmon Resonance for Ultrasensitive Detection of DNA Hybridization”, **Journal of American Society**, 122: 9071–9077 (2000).

He, P., Zheng, W., Tucker, E. Z., Gorman, C. B., He, L., “Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer Polymerization in DNA Biosensing”, **Analytical Chemistry**, 80: 3663-3669 (2008).

Hessner, M. J., Wang, X., Hulse, K., Meyer L., Wu, Y., Nye, S., Guo, S. W., Ghosh, S., “Three Color cDNA Microarrays: Quantitative Assessment Through the Use of Fluorescein-labeled Probes”, **Nucleic Acids Research**, 31: 14-18 (2003).

Hill, R. T., Mock, J. J., Urzhumov, Y., Sebba, D. S., Oldenburg, S. J., Chen, S. Y., Lazarides, A. A., Chilkoti, A., Smith, D. R., “Leveraging Nanoscale Plasmonic Modes to Achieve Reproducible Enhancement of Light”, **Nano Letters**, 10: 4150-4154 (2010).

Hillenbrand R and Keilmann F “Optical oscillation modes of plasmon particles observed in direct space by phase-contrast near-field microscopy”, **Applied Physics B**, 73: 239-243 (2001).

Hong, C-Y, You, Y-Z, Bai, R-K, Pan, C-Y., Borjihan, G., “Controlled polymerization of acrylic acid under  $^{60}\text{Co}$  irradiation in the presence of dibenzyl trithiocarbonate”, **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, 39: 3934-3939 (2001).

Hooper, A. E., Werho, D., Hopson, T., Palmer, O., “Evaluation of amine- and amide-terminated self-assembled monolayers as ‘Molecular glues’ for Au and  $\text{SiO}_2$  substrates”, **Surface and Interface Analysis**, 31: 809-814 (2001).

Hu, J., Zhao, B., Xu, W., Xie, Y., Li, B., “The Raman Detection of Single Molecule at the Aggregated Silver Particle Films on Air-water Interface”, **Chemical Journal of Chinese Universities**, 23: 123-125 (2002).

Huber, S., Hutter, N., Jordan, R., “Effect of end group polarity upon the lower critical solution temperature of poly(2-isopropyl-2-oxazoline)”, **Colloid and Polymer Science**, 286: 1653-1661 (2008).

Huber, S., Jordan, R., "Modulation of the lower critical solution temperature of 2-Alkyl-2-oxazoline copolymers", ***Colloid and Polymer Science***, 286: 395-402 (2008).

Jana, N. R., Gearheart, L., Murphy, C. J., "Seeding Growth for Size Control of 5–40 nm Diameter Gold Nanoparticles", ***Langmuir***, 17: 6782-6786 (2001).

Jeanmaire, D., Van Duyne, R., "Surface raman spectroelectrochemistry: Part I. Heterocyclic, aromatic, and aliphatic amines adsorbed on the anodized silver electrode", ***Journal of Electroanalytical Chemistry***, 84: 1-20 (1977).

Jensen, T. R., Malinsky, M. D., Haynes, C. L., Van Duyne, R. P., "Nanosphere Lithography: Tunable Localized Surface Plasmon Resonance Spectra of Silver Nanoparticles", ***Journal of Physical Chemistry B***, 104: 10549-10556 (2000).

Johnson, P. A., Levicky, R., "Polymercaptosiloxane Anchor Films for Robust Immobilization of Biomolecules to Gold Supports", ***Langmuir***, 19:10288-10294 (2003).

Jordan, R., "Surface-Initiated Polymerization I", ***Advanced Polymer Science***, 197: 1-45, (2006).

Kanayama, N., Shibata, H., Kimura, A., Miyamoto, D., Takarada, T., Maeda, M., "RAFT-Generated Polyacrylamide-DNA Block Copolymers for Single-Nucleotide Polymorphism Genotyping by Affinity Capillary Electrophoresis", ***Biomacromolecules***, 10: 805-813 (2009).

Kang, T., Yoo, S. M., Yoon, I., Lee, S. Y., Kim, B., "Patterned Multiplex Pathogen DNA Detection by Au Particle-on-Wire SERS Sensor", ***Nano Letters***, 10: 1189–1193 (2010).

Kitano, H., Kago, H., Matsuura, K., "Temperature-responsive Polymer Brush Constructed on a Colloidal Gold Monolayer", ***Journal of Colloids and Interface Science***, 331: 343-350 (2009).

Kitano, H., Kondo, T., Suzuki, H., Ohno, K., "Temperature-responsive Polymer-brush Constructed on a Glass Substrate by Atom Transfer Radical polymerization", ***Journal of Colloids and Interface Science***, 345: 325-331 (2010).

Klar, T., Perner, M., Grosse, S., von Plessen, G., Spirk, W., Feldmann, G., "Surface-Plasmon Resonances In Single Metallic Nanoparticles", ***Physical Review Letters***, 80: 4249-4252 (1998).

Kneipp, J., Kneipp, H., Rice, W. L., Kneipp, K., "Optical Probes for Biological Applications Based on Surface-Enhanced Raman Scattering from

Indocyanine Green on Gold Nanoparticles”, **Analytical Chemistry**, 77: 2381-2385 (2005).

Kneipp, K., Kneipp, H., Itzkan I., Surface-enhanced Raman scattering and biophysics”, **Journal of Physics: Condensed Matter**, 14: R597-R624 (2002).

Knokler, C. M., Schwartz, D. K., “Langmuir and self assembled monolayers”, **Current Opinion in Colloid and Interface Science**, 4: 46-51 (1999).

Kobayashi, K., Sasaki, M., Ohsawa, N., Yasuda, K., Kotani, M., “Fluorescence and Its Density-Dependent Quenching of a Sub-Monolayer Film of Methylene Blue Prepared by Dip Coating”, **Journal of Physical Chemistry C**, 111: 268-271 (2007).

Konkolewicz, D., Hawket, B. S., Weale, A. G., Perrier, S., “RAFT Polymerization Kinetics: Combination of Apparently Conflicting Models”, **Macromolecules**, 41: 6400-6412 (2008).

Kowollik, C. B., Davis, T. P., Heuts, J. P. A., Stenzel, M. H., Vana, P., Whittaker, M., “RAFTing down under: Tales of missing radicals, fancy architectures, and mysterious holes”, **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, 41: 365–375 (2003).

Kowollik, C. B., Quinn, J. F., Morsley, D. R., Davis, T. P., “Modeling the reversible addition–fragmentation chain transfer process in cumyl dithiobenzoate-mediated styrene homopolymerizations: Assessing rate coefficients for the addition–fragmentation equilibrium”, **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, 39: 1353-1365 (2001).

Kulkarni, S. A., Mirji, S. A., Mandale, A. B., Gupta, R. P., Vijayamohanan, K. P., “Growth Kinetics and Thermodynamic Stability of Octadecyltrichlorosilane Self-assembled Monolayer on Si (100) Substrate”, **Materials Letters**, 59: 3890-3895 (2005).

Kundu, S., Mandal, M., Pal, T., “Photochemical deposition of SERS active silver nanoparticles on silica gel”, **Journal of Photochemistry and Photobiology A**, 162: 625-632 (2004).

Kurokawa, Y., Hirose, H., Moriya, T. And Kimura, C., “Cleaning by Brush-Scrubbing of Chemical Mechanical Polished Silicon Surfaces Using Ozonized Water and Diluted HF”, **Japanese Journal of Applied Physics**, 38: 5040-5043 (1999).

Laloyaux, X., Mathy, B., Nysten, B., Jonas, A. M., “Surface and Bulk Collapse Transitions of Thermoresponsive Polymer Brushes”, **Langmuir**, 26: 838-847 (2010).

Largin, P. J., "IR and Raman Spectroscopy: Principles and Spectral Interpretation", **Elsevier Publishing**, USA, 13-15 (2011).

Li, C. Z., Benicewicz, B. C., "α-Cyanobenzyl dithioester reversible addition–fragmentation chain-transfer agents for controlled radical polymerizations", **Journal Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, 43, 1535–1543 (2005).

Li, D., Luo, Y., Li, B-G., Zhu, S., "Effect of Rate Retardation in RAFT Grafting Polymerization from Silicon Wafer Surface", **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, 46: 970-978 (2008).

Li, J-M., Ma, W-F., You, L-J., Guo, J., Hu, J., Wang, C-C., "Highly Sensitive Detection of Target ssDNA Based on SERS Liquid Chip Using Suspended Magnetic Nanospheres as Capturing Substrates", **Langmuir**, 29: 6147–6155 (2013).

Li, K. R., Stockman, Bergman, R. J., "Enhanced second harmonic generation in a self-similar chain of metal nanospheres", **Physical Review B**, 72: 153401-153405 (2005).

Li, Y., Schädler, L. S., Benicewicz, B. C., "Surface and particle modification via the RAFT process: Approach and properties", Handbook of RAFT Polymerization, Barner-Kowollik, C., **Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA**, Weinheim. 423-453 (2008).

Liang, Y., Gong, J-L., Huang, Y., Zheng, Y., Jiang, J-H., Shen, G-L., Yu, R-Q., "Biocompatible Core-shell Nanoparticle-based Surface-enhanced Raman Scattering Probes for Detection of DNA Related to HIV Gene Using Silica-Coated Magnetic Nanoparticles as Separation Tools", **Talanta**, 72: 443-449 (2007).

Liu, G. L., Lu, Y., Kim, J., Doll, J. C., Lee, L. P., "Magnetic Nanocrescents as Controllable Surface-Enhanced Raman Scattering Nanoprobes for Biomolecular Imaging", **Advanced Materials**, 17: 2683-2688 (2005).

LIU, X-H., Zhang, G-B., Lu, X-F., Liu, J-Y., Pan D., Li, Y-S., "Dibenzyl trithiocarbonate Mediated Reversible Addition–fragmentation Chain Transfer Polymerization of Acrylonitrile", **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, 44: 490-498 (2006).

Lowe, A. B., Sumerlin, B. S., Donovan, M. S., McCormick, C. L., "Facile Preparation of Transition Metal Nanoparticles Stabilized by Well-Defined (Co)polymers Synthesized via Aqueous Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer Polymerization", **Journal of the American Chemical Society**, 124: 11562–11563 (2002).

Lu, A-H., Schmidt, W., Matoussevitch, N., Pinnermann, H. B., Spliethoff, B., Tesche, B., Bill, E., Kiefer, W., Schüth, F., "Nanoengineering of a Magnetically Separable Hydrogenation Catalyst", **Angewandte Chemie International Edition**, 43: 4303-406 (2004).

Luzinov, I., Juthongpiput, D., Vinson, A. L., Cregger, T., Foster, M. D., Tsukruk, V., V., "Epoxy-Terminated Self-Assembled Monolayers: Molecular Glues for Polymer Layers", **Langmuir**, 16: 504-516 (2000).

Lyon, L. A., Keating, C. D., Fox, A. P., Baker, B. E., He, L., Nicewarner, S. R., Mulvaney, S. P., Natan M. J., "Raman Spectroscopy", **Analytical Chemistry**, 70:341-362 (1998).

MANFAIT, M., Lamaze, P., Lamfarraj, H., Pluot, M., Sockalingum, G. D. "Biomedical Spectroscopic Vibrational Spectroscopy and Other Novel Techniques", **Proceedings of SPIE-The International Society for Optical Engineering**, 3918: 135-143, (2000).

Matsi, H., Pan, S., "Conformation Change of Poly(dG-dC) Poly (dG-dC) In Cationic Polyamine Liposome Complexes: Effect of Charge Density and Flexibility of Amine Chains In Headgroups", **Journal of Physical Chemistry B**, 104, 8871-8875, (2000).

Matyjaszewski, K. "Theoretical Basis and Kinetic Sense of Covalent Propagation in Cationic Polymerization", **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, 25: 765-773 (1987).

Matyjaszewski, K., Davis, T. P., "Handbook of Radical Polymerization", **Wiley-Interscience A John Wiley & Sons, Inc. Publication**, USA, 362-406, (2002).

Matyjaszewski, K., Gaynor, S., Wang, J-S., "Controlled Radical Polymerizations: The Use of Alkyl Iodides in Degenerative Transfer", **Macromolecules**, 28: 2093-2095, (1995).

Mayadunne, R.T.A., Rizzardo, E., Chiefari, J., Chong, Y. K., Moad, G., Thang, S. H., "Living Radical Polymerization with Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer (RAFT Polymerization) Using Dithiocarbamates as Chain Transfer Agents", **Macromolecules**, 32: 6977-6980 (1999).

Mclellan, J. M., Li, Z. Y., Xia, Y. N., "The SERS Activity of a Supported Ag Nanocube Strongly Depends on Its Orientation Relative to Laser Polarization", **Nano Letters**, 7: 1013-1017 (2007).

Mezzenga, R., Boogh, L., Manson, J.A.E., "Effects of the Branching Architecture on the Reactivity of Epoxy-Amine Groups", **Macromolecules**, 33:4373-4379, (2000).

Mihalcea, C., Buchel, D., Atoda, N., Tominaga, J., "Intrinsic Fluorescence and Quenching Effects in Photoactivated Reactively Sputtered Silver Oxide Layers", ***Journal of the American Chemical Society***, **123**: 7172-7173 (2001).

Minko, S., Patil, S., Datsyuk, V., Simon, F., Eichhorn, K. J., Motornov, M., Usov, D., Tokarev I., Stamm M., "Synthesis of Adaptive Polymer Brushes via Grafting To Approach from Melt", ***Langmuir***, **18**: 289-296 (2002).

Miura, Y., Yamauchi, T., Sato, H., Fukuda, T., "The self-assembled monolayer of saccharide via click chemistry: Formation and protein recognition", ***Thin Solid Films***, **516**, 2443-2449, (2008).

Moad, G., Rizzardo, E., Thng, S. H., "Living Radical Polymerization by the RAFT Process", ***Australian Journal of Chemistry***, **58**: 379-410 (2005).

Moad, G., Chiefari, J., Krstina, J., Postma, A., Mayadunne, R. T. A., Rizzardo, E., Thang, S. H., "Living free radical polymerization with reversible addition – fragmentation chain transfer (the life of RAFT)", ***Polymer International***, **49**, 993–1001 (2000).

Moad, G., Kowollik, C.B., "The mechanism and kinetics of the RAFT process: Overview, Rates, Stabilities, Side Reactions, Product Spectrum and Outstanding Challenges" Handbook of RAFT polymerization, Edt. C.B. Kowollik, ***Wiley-VCH***, 51-104, 2008.

Moad, G., Rizzardo, E., Thang, S. H., "Radical addition-fragmentation chemistry in polymer synthesis", ***Polymer***, **49**: 1079-1131 (2008).

Moad, G., Rizzardo, E., Thang, S. H., "End-functional polymers, thiocarbonylthiogroup removal/transformation and reversible addition–fragmentation–chain transfer (RAFT) polymerization", ***Polymer International***, **60**: 9–25 (2011).

Moldenhauer, J., Yvon, P. "Environmental Monitoring Using Scan RDI", ***J. Environmental Monitoring: A Comprehensive Handbook***, River Grove: IL and Bethesda, 249-260, (2005).

Monteiro, M.J., De Barbeyrac, J., "Free-radical polymerization of styrene in emulsion using a reversible addition - Fragmentation chain transfer agent with a low transfer constant: Effect on rate, particle size, and molecular weight", ***Macromolecules***, **34** 4416-4423 (2001).

Mori, H., Matsuyama, M., Sutoh, K., Endo, T., "RAFT Polymerization of Acrylamide Derivatives Containing L-Phenylalanine Moiety", ***Macromolecules***, **39**: 4351-4360 (2006).

Nath, N., Chilkoti, A., "Label-Free Biosensing by Surface Plasmon Resonance of Nanoparticles on Glass: Optimization of Nanoparticle Size", **Analytical Chemistry**, 76: 5370-5378 (2004).

Nelson, B. P., Grimsrud, T. E., Liles, M. R., Goodman, R. M., Corn, R. M., "Surface Plasmon Resonance Imaging Measurements of DNA and RNA Hybridization Adsorption onto DNA Microarrays", **Analytical Chemistry**, 73: 1-7 (2001).

Netzer, L., Sagiv, J., "A new approach to construction of artificial monolayer assemblies", **Journal of American Chemical Society**, 105: 674-676 (1983).

Neto, A. O., Duarte, N., Vicente, W., Viario, F., Evora, P., "Methylene blue: an effective treatment for contrast medium-induced anaphylaxis", **Medical Science Monitor**, 9: 102-106 (2003).

Neveu, S., Bee, A., Robineau, M., Talbot, D., "Size-Selective Chemical Synthesis of Tartrate Stabilized Cobalt Ferrite Ionic Magnetic Fluid", **Journal of Colloid Interface Science**, 255: 293-298 (2002).

Nuzzo, R. G., Allara, D. L., "Adsorption of bifunctional organic disulfides on gold surfaces", **Journal of American Chemical Society**, 105: 4481-4483 (1983).

Odian, G., "Principles of Polymerization", Third edition, **John Wiley & Sons, Inc.**, New York, 297-298 (1991).

Otto, A., Mrozek, I., Grabhorn, H., "Surface-enhanced Raman scattering", **Journal of Physics: Condensed Matter**, 4: 1143-1212 (1992).

Owaku, K., Goto, M., Yoshihito, I., Aizawa, M., "Protein A Langmuir Blodgett film for antibody immobilization and its use in optical immunosensing", **Analytical Chemistry**, 67: 1613-1616 (1995).

Ozturk, E., Turan, E., Caykara, T., "Fabrication of Ultrahydrophobic Poly(lauryl acrylate) Brushes on Silicon Wafer via Surface-initiated Atom Transfer Radical Polymerization", **Applied Surface Science**, 257: 1015-1020 (2010).

Park, J. S., Kataoka, K., "Comprehensive and Accurate Control of Thermosensitivity of Poly(2-alkyl-2-oxazoline)s via Well-Defined Gradient or Random Copolymerization", **Macromolecules**, 40: 3599-3609, (2007).

Park, J. S., Kataoka, K., "Precise Control of Lower Critical Solution Temperature of Thermosensitive Poly(2-isopropyl-2-oxazoline) via Gradient Copolymerization with 2-Ethyl-2-oxazoline as a Hydrophilic Comonomer", **Macromolecules**, 39: 6622-6630 (2006).

Park, S-J. T., Taton, A., Mirkin, C. A., "Array-Based Electrical Detection of DNA with Nanoparticle Probes", **Science**, 295: 1503–1506 (2002).

Pérez, R., Rupérez, A., Laserna, J., "Study of experimental parameters for improved adsorbate detectability in SERS using etched silver substrates", **Surface and Interface Analysis**, 30: 592-596 (2000).

Perrier, S., Takolpuckdee, P., "Macromolecular Design via Reversible Addition– fragmentation Chain Transfer (RAFT)/xanthates (MADIX) Polymerization", **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, 43: 5347-5393 (2005).

Perrier, S., Takolpuckdee, P., Westwood, J., Lewis, D. M., "Versatile Chain Transfer Agents for Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer (RAFT) Polymerization to Synthesize Functional Polymeric Architectures", **Macromolecules**, 37: 2709–2717 (2004).

Piot, O., Autran, J.C., Manfalt, M., "Investigation by Confocal Raman Microspectroscopy of the Molecular Factors Responsible for Grain Cohesion in the *Triticum aestivum* Bread Wheat. Role of the Cell Walls in the Starchy Endosperm", **Journal of Cereal Science**, 34: 191-205 (2001).

Pirri, G., Chiari, M., Damin, F., Meo, A., "Microarray Glass Slides Coated with Block Copolymer Brushes Obtained by Reversible Addition Chain-Transfer Polymerization", **Analytical Chemistry**, 78: 3118-3124 (2006).

Puebla R. A. A., "Effects of the Excitation Wavelength on the SERS Spectrum", **Journal of Physical Letters**, 3: 857-866, (2012).

Quinn, J. F., Barner, L., Rizzardo, E., Davis, T. P., "Living free-radical polymerization of styrene under a constant source of  $\gamma$  radiation", **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, 40: 19-25 (2002).

Quirk, R. P., Lee, B., "Experimental Criteria for Living Polymerizations", **Polymer International**, 27: 359-367 (1992).

Quirk, R. P., Lee, B., "Experimental Criteria for Living Polymerizations" **Polymer International**, 27: 359-367 (1992).

Raman, C. V., Krishnan, K. S., "A new type of secondary radiation", **Nature**, 121: 501-502 (1921).

Ravindranath, R., Ajikumar, P. K., Bahulayan, S., Hanafiah, N. B. M, Baba, A., Advincula, R. C., Knoll, W., Valiyaveetil, S., "Ultrathin Conjugated Polymer Network Films of Carbazole Functionalized Poly(p-Phenylenes) via Electropolymerization", **Journal Physical Chemistry**, 23: 6336-6343, (2007).



Robinson, R. K., Batt, C. A., Patel, P. D., "Encyclopedia of Food Microbiology", **San Diego Academic Press**, 1088-1095 (2000).

Roos, S. G., Müller, A. H. E., "Evidence for chain transfer in the atom transfer radical polymerization of butyl acrylate", **Macromolecular Rapid Communication**, 21: 864-867 (2000).

Ru, E. L., Etchegoin, P., "Principles of Surface Enhanced Raman Spectroscopy", **Elsevier Publishing**, Amsterdam, 42-44 (2009).

Rühe, J., "Polymer brushes: On the way to tailor-made surfaces", Polymer Brushes, Advincula, R. C., Brittain, W. J., Caster, K. C., Rühe, J., **WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA**, Weinheim, 1-32 (2004).

Rzayev, J., Penelle, J., "Controlled/Living Free-Radical Polymerization under Very High Pressure", **Macromolecules**, 35: 1489-1490 (2002).

Safarik, I., Safarikova, M., Forsythe, S. J., "A Review: the Application of Magnetic Separations In Applied Microbiology", **Journal of Applied Bacteriology**, 78: 575-585 (1995).

Satyanarayana, N., Sinha, S. K., "Tribology of PFPE Overcoated Self-assembled Monolayers Deposited on Si Surface", **Journal of Physics D: Applied Physics**, 38: 3512-3522 (2005).

Schilli, C., Lanzendörfer, M. G., Müller, A. H. E., "Benzyl and Cumyl Dithiocarbamates as Chain Transfer Agents in the RAFT Polymerization of N-Isopropylacrylamide. In Situ FT-NIR and MALDI-TOF MS Investigation", **Macromolecules**, 35: 6819-6827 (2002).

Schuster, K. C., Reese, I., Urlab, E., Gapes, J. R., Lendl B., "Multidimensional Information on the Chemical Composition of Single Bacterial Cells by Confocal Raman Microspectroscopy", **Analytical Chemistry**, 72: 5529-5534 (2000).

Seitz, O., Chehimi, M., Greaves, S., Watts, J., "Preparation and characterisation of gold nanoparticle assemblies on silanised glass plates", **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 218: 225-239 (2003).

Sidorenko, A., Zhai, X.W., Simon, F., Pleul, D., Tsukruk, V. V., "Hyperbranched Molecules with Epoxy-Functionalized Terminal Branches: Grafting to a Solid Surface", **Macromolecules**, 35: 5131-5139, (2002).

Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, T. A., Kiliç, E., Köseoglu, F., Yilmaz, H. "Enstrümantal Analiz ilkeleri (eds) Raman Spektroskopisi", **Bilim Yayincilik**, Ankara, 441-442 (1998).

Skrabania, K., Miasnikova, A., Bivigou-Koumba, A. M., Zehm D., Laschewsky A., "Examining the UV-vis absorption of RAFT chain transfer agents and their use for polymer analysis", ***Polymer Chemistry***, 2: 2074-2083 (2011).

Smith, E., Dent, G., "Modern Raman Spectroscopy - A Practical Approach", ***John Wiley & Sons, Ltd***, England, 2-3, (2005).

Sockalingum, G. D., Lamfarraj, H., Beljebbar, A., Pina, P., Delavenne, M., Witthuhn, F., Allouch, P., Manfait, M., "Vibrational spectroscopy as a probe to rapidly detect, identify, and characterize micro-organisms", ***Proceedings of SPIE-The International Society for Optical Engineering***, 3608: 185-194 (1999).

Stöber W., Fink A., "Controlled growth of monodisperse silica spheres in the micron size range", ***Journal of Colloid and Interface Science***, 26: 62-69 (1968).

Stokes, R. J., Macaskill, A., Lundahl, P. J., Smith, W. E., Faulds, K., Graham, D., "Quantitative Enhanced Raman Scattering of Labeled DNA from Gold and Silver Nanoparticles", ***Small***, 3: 1593-1601 (2007).

Sun, G. G., Grundmeier, G., "Surface-enhanced Raman spectroscopy of the growth of ultra-thin organosilicon plasma polymers on nanoporous Ag/SiO<sub>2</sub>-bilayer films", ***Thin Solid Films***, 515: 1266-1274 (2006).

Sun, S., Zeng, H., "Size-Controlled Synthesis of Magnetite Nanoparticles", ***Journal of American Chemical Society***, 124, 8204-8205 (2002).

Szablan, S., Toy, A. A., Davis, T. P., Hao, X. J., Stenzel, M. H., Hong C. Y., "Reversible Addition Fragmentation Chain Transfer Polymerization of Sterically Hindered Monomers: Toward Well-defined Rod/coil Architectures", ***Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry***, 42: 2432-2443 (2004).

Szabo, N. J., Winefordner, J. D., "Evaluation of Two Commercially Available TLC Materials as SER Substrates", ***Society for Applied Spectroscopy***, 51: 965-975 (1997).

Szwarc, M., "Living polymers", ***Nature***, 178: 1168-1169 (1956).

Szwarc, M., Levy, M., Milkovich, R., "Polymerization initiated by electron transfer to monomer. A new method of formation of block polymers", ***Journal of American Chemical Society***, 78(11): 2656-2657 (1956).

Tang, C. B., Kowalewski, T., Matyjaszewski, K., "Preparation of Polyacrylonitrile-block poly(n-butyl acrylate) Copolymers Using Atom Transfer Radical Polymerization and Nitroxide Mediated Polymerization Processes", ***Macromolecules***, 36: 1465-1473 (2003).

Thang, S. H., Chong, Y. K., Mayadunne R. T. A., Moad, G., Rizzardo, E., "A novel synthesis of functional dithioesters, dithiocarbamates, xanthates and trithiocarbonates", ***Tetrahedron Letters***, 40: 2435-2438 (1999).

Theis, A., Davis, T. P., Stenzel, M. H., Kowollik, C. B., "Probing the reaction kinetics of vinyl acetate free radical polymerization via living free radical polymerization (MADIX)", ***Polymer***, 47: 999–1010 (2006).

Theis, A., Feldermann, A., Charton, N., Stenzel, M. H., Davis, T. P., Kowollik, C. B., "Access to Chain Length Dependent Termination Rate Coefficients of Methyl Acrylate via Reversible Addition–Fragmentation Chain Transfer Polymerization", ***Macromolecules***, 38: 2595–2605 (2005).

Tian, Z. Q., Ren, B., Wu, D. Y., "Feature Article Surface-Enhanced Raman Scattering: From Noble to Transition Metals and from Rough Surfaces to Ordered Nanostructures", ***Journal of Physical Chemistry B***, 106: 9463-9483 (2002).

Tillman, N., Ulman, A., Schildkraut, J. S., Penner, T. L., "Incorporation of phenoxy groups in self assembled monolayers of trichlorosilane derivatives. Effect of film thickness, wettability, and molecular orientation", ***Journal of American Chemical Society***, 110: 6136-6344 (1988).

Ting, S. R. S., Davis, T. P., Zetterlund, P. B., "Retardation in RAFT Polymerization: Does Cross-Termination Occur with Short Radicals Only?", ***Macromolecules***, 44: 4187-4193 (2011).

Tokarev L., Minko S., Fendler J.H., Hutter E., "Nanosensors Based on Responsive Polymer Brushes and Gold Nanoparticle Enhanced Transmission Surface Plasmon Resonance Spectroscopy", ***Journal of the American Chemical Society***, 126: 15950-15951 (2004).

Tsang, S. C., Caps, V., Paraskevas, I., Chadwick, D., Thompsett, D., "Magnetically Separable, Carbon-Supported Nanocatalysts for the Manufacture of Fine Chemicals", ***Angewandte Chemie International Edition***, 43: 5645-5649 (2004).

Turan, E., Caykara, T., "A Facile Route to End-functionalized Poly(Nisopropylacrylamide)Brushes Synthesized by Surface-initiated SET-LRP", ***Reactive and Functional Polymers***, 71: 1089-1095 (2012).

Turan, E., Caykara, T., "Construction of Hydroxyl-terminated Poly(Nisopropylacrylamide)Brushes on Silicon Wafer via Surface-initiated Atom Transfer Radical Polymerization", ***Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry***, 48: 5842-5847 (2010).

Uyama, H., Kobayashi, S., "A Novel Thermo-Sensitive Polymer. Poly(2-isopropyl-2-oxazoline)", **Chemistry Letters**, 9: 1643-1646 (1992).

Vo-Dinh, T., "Surface-enhanced Raman spectroscopy using metallic nanostructures", **Trends in Analytical Chemistry (Personal Edition)**, 17: 557-582 (1998).

Wang, A., Tang, H., Cao, T., Salley, S. O., Simon, K. Y., "In Vitro Stability Study of Organosilane Self-assemble Monolayers and Multilayers", **Journal of Colloid and Interface Science**, 291: 438-447 (2005).

Wang, C., Ma, L., Chen, L.-M., Chai, K. X., Su, M., "Scanning Calorimetric Detections of Multiple DNA Biomarkers Contained in Complex Fluids", **Analytical Chemistry**, 82: 1838-1843 (2010).

Wang, R., McCormick, C. L., Lowe, A. B., "Synthesis and Evaluation of New Dicarboxylic Acid Functional Trithiocarbonates: RAFT Synthesis of Telechelic Poly(n-butyl acrylate)s", **Macromolecules**, 38: 9518-9525 (2005).

Wang, X., Ishii, Y., Ruslinda, A. R., Hasegawa, M., Kawarada, H., "Effective Surface Functionalization of Nanocrystalline Diamond Films by Direct Carboxylation for PDGF Detection via Aptasensor", **ACS Applied Materials & Interfaces**, 4: 3526-3534 (2012).

Wang, X., Lou, X., Wang, Y., Guo, Q., Fang, Z., Zhong, X., Mao, H., Jin, Q., Wu, L., Zhao, H., Zhao, J., "QDs-DNA Nanosensor for the Detection of Hepatitis B Virus DNA and the Single-base Mutants", **Biosensors and Bioelectronics**, 25: 1934-1940 (2010).

Wiley, B. J., Chen, Y. C., Mclellan, J. M., Xiong, Y. J., Li, Z. Y., Ginger, D., Xia, Y. N., "Synthesis and Optical Properties of Silver Nanobars and Nanorice", **Nano Letters**, 7: 1032-1036 (2007).

Williams, S. E., Davies, P. R., Bowen, J. L., Allender, C. J., "Controlling the Nanoscale Patterning of Au NPs on Silicon Surfaces", **Nanomaterials**, 3: 192-203 (2013).

Wolpers, A., Ackermann, L., Vana, P., "H-Phosphonic Acid Derivatives as Catalysts for Reversible Chain Transfer Catalyzed Polymerization (RTCP) at Ambient and High Pressure", **Macromolecular Chemistry and Physics**, 212: 259-265 (2011).

Xia, F., White, R. J., Zuo, X., Patterson, A., Xiao, Y., Kang, D., Gong, X., Plaxco K. W., Heeger A. J., "An Electrochemical Supersandwich Assay for Sensitive and Selective DNA Detection in Complex Matrices", **Journal of American Chemical Society**, 132: 14346-14348 (2010).

Xia, Y., Burke, N. A. D, Stöver, H. D. H., "End Group Effect on the Thermal Response of Narrow-Disperse Poly(N-isopropylacrylamide) Prepared by Atom Transfer Radical Polymerization", **Macromolecules**, 39: 2275-2283 (2006).

Xia, Y., Yin, X. C., Burke, N. A. D., Stöver, H. D. H., "Thermal Response of Narrow-Disperse Poly(N-isopropylacrylamide) Prepared by Atom Transfer Radical Polymerization", **Macromolecules**, 38: 5937-5943 (2005).

Xu, H. X., Aizpurua, J., Kall, M., Apell, P., "Electromagnetic contributions to single-molecule sensitivity in surface-enhanced Raman scattering", **Physical Review E**, 62: 4318-4324 (2000).

Xu, W., Xie, X., Li, D., Yang, Z., Li, T., Liu, X., "Ultrasensitive Colorimetric DNA Detection using a Combination of Rolling Circle Amplification and Nicking Endonuclease- Assisted Nanoparticle Amplification (NEANA)", **Small**, 8: 1846-1850 (2012).

Yamada, R., Wano, H., Uosaki, K., "Effect of temperature on structure of the self assembled monolayer of decanethiol on Au(111) surface", **Langmuir**, 16 : 5523-5525 (2000).

Yıldız, A., Genç Ö., Bektas S., "Enstrümental Analiz Yöntemleri", 2.Baskı. **Hacettepe Üniversitesi Yayınları**, Ankara, (1997).

Yuan, W., Oouji, W. J. V., "Characterization of Organofunctional Silane Films on Zinc Substrates", **Journal of Colloid and Interface Science**, 185: 197-209 (1997).

Zdyrko, B., Klep, V., Luzinov I., "Synthesis and Surface Morphology of High-Density Poly(ethylene glycol) Grafted Layers", **Langmuir**, 19: 10179-10187 (2003).

Zelikin, A. N., Such, G. K., Postma, A., Caruso, F., "Poly(vinylpyrrolidone) for Bioconjugation and Surface Ligand Immobilization", **Biomacromolecules**, 8: 2950-2953 (2007).

Zengin, A., Tamer, U., Caykara, T., "A SERS-Based Sandwich Assay for Ultrasensitive and Selective Detection of Alzheimer's Tau Protein" **Biomacromolecules**, DOI: 10.1021/bm400968x (2013).

Zengin, A., Tamer, U., Caykara, T., "Synthesis of superparamagnetic and thermoresponsive hybrid nanoparticles via surface-mediated RAFT polymerization of di(ethylene glycol) ethyl ether acrylate and (oligoethylene glycol) methyl ether acrylate", **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, 51: 3420-3428 (2013).

Zhai, G., Yu, W. H., Kang, E. T., Neoh, K. G., Huang, C. C., Liaw, D. J., "Functionalization of Hydrogen-Terminated Silicon with Polybetaine Brushes via Surface-Initiated Reversible Addition-Fragmentation Chain-Transfer (RAFT) Polymerization", **Industrial & Engineering Chemistry Research**, 43: 1673-1680 (2004).

Zhang, F., Srinivasan, M. P., "Layer-by-layer Assembled Gold Nanoparticle Films on Amine-terminated Substrates", **Journal of Colloid Science**, 319: 450-456 (2008).

Zhang, F., Srinivasan, M. P., "Self-Assembled Molecular Films of Aminosilanes and Their Immobilization Capacities", **Langmuir**, 20: 2309-2314 (2004).

Zhang, J., Wang, Z., Liu, J., Chen, S., Liu, G., "Self-Assembled Nanostructures", Series Editor, Lockwood, D. J., **Kluwer Academic Publishers**, USA, 53-64 (2002).

Zhang, Q., Subramanian, V., "DNA Hybridization Detection with Organic Thin Film Transistors: Toward Fast and Disposable DNA Microarray Chips", **Biosensors and Bioelectronics**, 22: 3182-3187 (2007).

Zhang, S. L., Zhu, B. F., Freire P. T. C., "Proceedings of the International Conference on Raman Spectroscopy", **New York: John Wiley & Sons**, 440-441 (2000).

Zhang, Z., Knoll, W., Foerch, R., "DNA Hybridization on Plasma-Polymerized Allylamine", **Macromolecules**, 38: 1271-1276 (2005).

Zheng, J., Zhou, Q., Zhou, Y., Lou, T., Cotton, T.M., Chumanov G., "Surface-enhanced resonance Raman spectroscopic study of yeast iso-1-cytochrome c and its mutant", **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 530: 75-81 (2002).

Zhou, Q., Fan, X., Xia, C., Mays, J., Cristofoli, W., Advincula, R., "Living Anionic Surface-Initiated Polymerization (LASIP) of Styrene from Clay Nanoparticles Using Surface Bound 1,1-Diphenylethylene (DPE) Initiators", **Langmuir**, 18:4511-4518, (2002).

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

**Soyadı, Adı** : ZENGİN, Adem  
**Uyruğu** : TC  
**Doğum tarihi ve yeri** : 03.10.1982, Ankara  
**Medeni Hali** : Bekar  
**e-mail** : [ademzenginn@gmail.com](mailto:ademzenginn@gmail.com)

### Eğitim

| Derece   | Eğitim Birimi                      | Mezuniyet Tarihi |
|----------|------------------------------------|------------------|
| Y.Lisans | G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü/Kimya | 2009             |
| Lisans   | G.Ü. Fen-Edb. Fak./Kimya Bölümü    | 2007             |
| Lise     | İncirli Lisesi (YDA)               | 2002             |

### Yabancı Dil

İngilizce

### Yayınlar

1. A. Zengin, T. Caykara, 'Immobilization of immunoglobulin G in a highly oriented manner on a Protein A terminated multilayer system', **Applied Surface Science**, 257, 2111 (2011).

2. **A. Zengin**, T. Caykara, "Formation and properties of surface-anchored amine-terminated poly(dimethylsiloxane) assemblies with tunable physico-chemical characteristics" **Thin Solid Films** , 519, 3135 (2011).
3. U.Tamer, İ. H. Boyacı, E. Temur, **A. Zengin**, İ.Dinçer, Y. Elerman, 'Fabrication of magnetic nanoparticles for biomolecule immobilization and dedection' **Journal of Nanoparticle Research**, 13, 3167 (2011).
4. E. Turan, **A. Zengin**, T. Caykara, "Synthesis of poly(N-isopropylacrylamide) with a low molecular weight and a low polydispersity index by SET-LRP", **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, 49, 5116, (2011).
5. **A. Zengin**, T. Caykara, "A Protein-A Terminated Bilayer System on Silicon Wafer: Preparation and Oriented Immobilization of Immunoglobulin G", **Materials Science and Engineering C**, 32, 1107 (2012).
6. **A. Zengin**, T. Caykara, "RAFT-Mediated Synthesis of Poly[(Oligoethylene Glycol) Methyl Ether Acrylate] Brushes for Biological Functions" **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, 50, 4443, (2012).
7. E. Temur, **A. Zengin**, I.H. Boyaci, F. C. Dudak, H. Torul, U. Tamer, "Attomole sensitivity of Staphylococcal Enterotoxin B (SEB) detection using aptamer modified Surface Enhanced Raman Scattering SERS probe" **Analytical Chemistry**, 84,10600 (2012).
8. **A. Zengin**, E. Yildirim, T. Caykara, "RAFT-Mediated Synthesis and Temperature-Induced Responsive Properties of Poly(2-(2-Methoxyethoxy)ethyl Methacrylate) Brushes", **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, 51, 954, (2013).



9. **A. Zengin**, U. Tamer, T. Caykara, "Synthesis of superparamagnetic and thermoresponsive hybrid nanoparticles via surface-mediated RAFT polymerization of di(ethylene glycol) ethyl ether acrylate and (oligoethylene glycol) methyl ether acrylate" **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, 51, 3420, (2013).
  
10. **A. Zengin**, G. Karakose, T. Caykara, " Poly(2-(dimethylamino)ethyl methacrylate) brushes fabricated by surface-mediated RAFT polymerization and their response to pH" **European Polymer Journal**, 49, 3350, (2013).
  
11. **A. Zengin**, U. Tamer, T. Caykara, "A SERS-based sandwich assay for ultrasensitive and selective detection of Alzheimer`s tau protein" **Biomacromolecules**, 14, 3001, 2013.
  
12. **A. Zengin**, E. Yildirim, U. Tamer, T. Caykara, "Surface molecularly imprinted polymer core-shell superparamagnetic nanoparticles for rapid enrichment and separation of cholesterol" **Analyst**, 138, 7238, 2013.
  
13. **A. Zengin**, A. Bozkurt, I.H. Boyaci, S. Özcan, P. Daniel, F. Lagarde, A. Gibaud, J-M. Greneche, D. Cetin, Z. Suludere, P. Guttman, U. Tamer, "Anisotropic core-shell  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ @Au magnetic nanoparticles and effect of the immunomagnetic separation volume on the capture efficiency" (submitted).
  
14. **A. Zengin**, U. Tamer, T. Caykara, "Extremely Sensitive Sandwich Assay of Kanamycin Using Surface-Enhanced Raman Scattering of 2-Mercaptobenzothiazole Labeled Au@Ag nanoparticles" (submitted).