T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PEPTİT JELLERİN VİSKOELASTİK ÖZELLİKLERİNİN PASİF MİKROREOLOJİ YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ

Aslı GENÇASLAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
FİZİK ANABİLİM DALI

2017

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PEPTİT JELLERİN VİSKOELASTİK ÖZELLİKLERİNİN PASİF MİKROREOLOJİ YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ

Aslı GENÇASLAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
FİZİK ANABİLİM DALI

2017

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PEPTİT NANOFİBER JELLERİN VİSKOELASTİK ÖZELLİKLERİNİN PASİF MİKROREOLOJİ YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ

Aslı GENÇASLAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
FİZİK ANABİLİM DALI

Bu tez 20./.6/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile kabul/red edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Deniz KAYA

Yrd. Doç. Dr. Şerafettin YALTKAYA

Yrd. Doç. Dr. M. İlker BEYAZ

ÖZET

PEPTİT JELLERİN VİSKOELASTİK ÖZELLİKLERİNİN PASİF MİKROREOLOJİ YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ

Aslı GENÇASLAN

Yüksek Lisans Tezi, Fizik Anabilim Dalı
Danışman : Yrd. Doç. Dr. Deniz KAYA
Haziran 2017, 64 sayfa

Tüm organik yapılar arasında peptitler biyouyumluluk, kimyasal çeşitlilik, proteinlere olan benzerliği ve kendiliğinden düzenlenme (self-assembly) özelliklerinden dolayı önemli bir yere sahiptir. Peptit tabanlı moleküllerin oluşturduğu peptit amfifil yapıları ilaç sektörü, doku mühendisliği, görüntüleme araçları ve enerji depolama gibi bir çok farklı alanda kullanılır. Bu sebeple peptit amfifillerin oluşturduğu nanofiber yapılarının mekanik özelliklerini bilmek, bu yapıların değişik alanlarda uygulanabilirliğini araştırma açısından önemlidir. Malzemelerin yapısal özelliklerini incelemede kullanılan klasik reometreler malzemeye dış kuvvet uygulayarak tepkisini ölçer ve bu ölçüm sonucunda tepkinin ortalama bir değerini yansıtır. Bölgesel ölçümün mümkün olmayışı ve ölçüm için istenilen hacim miktarının en az 5-10 ml olması, biyomalzemeler gibi sentezlenmesi zor ve inhomojen özellik gösteren sistemleri incelemeyi zorlaştırır. Üstelik peptit amfifil moleküllerinin kendiliğinden düzenlenme ile oluşturduğu kırılgan nanofiber yapı dış kuvvetin varlığında zarar görmektedir. Bu nedenle bu gibi malzemelerin karakteristik özellikleri incelenirken kullanılacak metodun hassasiyeti çok önemlidir.

Bu çalışmada kontrollü bir şekilde Bilkent UNAM'da sentezlenmiş olan iki farklı peptit amfifilin bir araya gelmesiyle oluşan nanofiber yapısının karakteristik özellikleri pasif mikroreoloji metodu ile incelenmiştir. Pasif mikroreoloji metodunda ölçüm için malzeme hacminin 5-10 μl kadar olması yeterlidir. Bu metot ihtiyaç duyduğu dış kuvveti, malzemeye eklenen koloit parçacıklarının yaptığı Brownian hareketiyle sağlamış olup ölçüm sırasında ağ yapısında herhangi bir tahribata yol açmamıştır. Ayrıca bu teknik klasik yöntemlerden farklı olarak bölgesel ölçüm yapabilme imkanı tanımasıyla inhomojen özellik gösteren malzemelerin karakteristik özelliklerini belirlemede kolaylık sağlar. Bu metotta farklı yüzey kimyasına (COOH ve NH_2 yüzey grupları) ve farklı yarıçapa (0,5-1 μm) sahip koloit parçacıklarının peptit jel içinde yaptığı Brownian hareketi floresan mikroskopu ile görüntülendi ve görüntüler kaydedildi. Görüntü analiz programı IDL (**I**nteractive **D**ata **L**anguage) kullanılarak peptit jellerin viskoelastik özellikleri belirlenerek bölgesel olarak heterojenlik gösteren yapısı haritalandırılmıştır. Aynı jel yapısının içine gömülecek olan farklı yüzey kimyası ve yarıçapa sahip koloit parçacıklarının jel yapısını nasıl etkilediği araştırılmıştır.

ANAHTAR KELİMELER: Peptit Amfifil, Reometre, Mikroreoloji,
Pasif Mikroreoloji, Dijital Video Mikroskopi,
Parçacık İzleme, Brownian Hareketi

JÜRİ: Yrd. Doç. Dr. Deniz KAYA (Danışman)
Yrd. Doç. Dr. Şerafettin YALTKAYA
Yrd. Doç. Dr. M. İlker BEYAZ

ABSTRACT

INVESTIGATION OF VISCOELASTIC PROPERTIES OF PEPTIDE GELS WITH PASSIVE MICRORHEOLOGY METHOD

Aslı GENÇASLAN

MSc Thesis, in Physics
Supervisor : Asst. Prof. Dr. Deniz KAYA
June 2017, 64 pages

Among all organic structures, peptides have an importance due to their biocompatibility, chemical diversity, similarity to proteins and self-assembly characteristics. Peptide amphiphile, which consist of peptide-based molecules are used in a variety of fields such as pharmaceutical industry, tissue engineering, imaging devices and energy storage. Therefore knowing the mechanical properties of the nanofiber structures plays an important role in investigating the feasibility of their use in various fields. The typical rheometer which is used to examine the structural characteristics of the materials, measures the response of the material by applying an external force on it and displays an average value of the response. The lack of local measurement and a minimum volume requirement of 5-10 ml to perform the measurement makes it difficult to examine the systems that are inhomogeneous and difficult to synthesise. Moreover, the fragile nanofiber structure formed by the spontaneous configuration of the peptide amphiphile molecules is damaged by the presence of an external force.

In this study, the characteristic features of the nanofiber structure formed by the combination of two different peptide amphiphiles which are synthesised in a controlled manner in Bilkent UNAM were analyzed with using passive microrheology method. In passive microrheology method, a sample volume of 5-10 μl is sufficient for the measurement. The external force required for the measurement is provided by Brownian motion, which is originated from the colloid particles added to the material, and it did not cause any damage to the reticular structure in the course of the measurement. In addition, contrary to the conventional methods, this technique enables to determine the characteristic features of inhomogeneous materials by making it possible to perform local measurements. In this method, Brownian motion of the colloid particles in the peptide gel which have different surface chemistries (amine and carboxil group) and different radius (0,5-1 μm) is imaged by a fluorescence microscope, and the images were recorded. By using the image analyzing software IDL (**I**nteractive **D**ata **L**anguage), the viscoelastic properties of the peptide gels were determined and their structures that have local heterogeneities were investigated. The effects of differences in surface chemistry and radius of the colloid particles embedded in the same gel structure are investigated.

KEYWORDS:Peptide Amphiphile, Rheometer, Microrheology,
Passive Microrheology, Digital Video Microscopy,
Particle Tracking, Brownian Motion

COMMITTEE: Asst. Prof. Dr. Deniz KAYA (Supervisor)
Asst. Prof. Dr. Şerafettin YALTKAYA
Asst. Prof. Dr. M. İlker BEYAZ

ÖNSÖZ

Proteinin oluşması, hemoglobin polipeptitlerinin hemoglobin proteinini oluşturması, örümcek ağları ve RNA'nın ribozomları oluşturması gibi doğada kendiliğinden düzenlenme (self assembly) olayını gerçekleştiren çok sayıda biyolojik olay mevcuttur. Doğada çok çeşitli şekillerde karşımıza çıkan bu gibi olağanüstü yapıların oluşumunda anahtar rol üstlenen ve bu mekanizmayı tetikleyen yapılar uzunca bir süredir bilimciler tarafından merak konusu olmuştur. Yeni nesil malzemelerin tasarlanması ve geliştirilmesi için öncelikle rastgele bir şekilde kendiliğinden düzenlenlenen bu gibi yapıların tanınması gerekir. Çünkü yeni nesil biyouyumlu malzemeleri geliştirmek, taşıyıcı sistemleri tasarlamak ya da enerji depolamada kullanılacak malzemelerin geliştirilmesi ancak kendiliğinden düzenlenen yapıları iyi anlamakla mümkündür. Bu gibi süreçleri anlamak için incelenen sistemler arasında özellikle peptit tabanlı yapıların ön plana geçtiğini gördüm. Çünkü basit yapıları, biyouyumluluk ve biyobozunabilirlik ve sentezlenme aşamasında kontrol edilebilir özelliklere sahip olması bu süreçleri anlama konusunda çok geniş imkanlar sunar. Böylesi hassas yapılara sahip malzemelerin karakteristik özellikleri incelenirken bu sürecin yönünü değiştirecek herhangi bir etkinin olmaması gerekir. Bu sebeple böylesi önemli süreçleri incelemede kullanılacak metotların iyi seçilmesi gerekir. Pasif mikroreoloji tekniği, peptit jeller gibi kendiliğinden düzenlenme sonucu oluşan yumuşak malzemeleri incelemede ciddi kolaylıklar sağlar. Bu tez çalışmasında pasif mikroreoloji tekniği kullanılarak Bilkent UNAM (Uluslararası Nanoteknoloji Araştırma Merkezi) tarafından sentezlenen peptit amfifil yapılarının kendiliğinden düzenlenmesi sonucu oluşan jel yapısı incelecek olup bu alanda yapılacak olan çalışmalara destek olacağını düşünmekteyim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca her konuda büyük sabırla yardımını ve desteğini gördüğüm, eğitici ve öğretici yönünü, insani ve ahlaki değerlerini örnek aldığım, yanında çalışmaktan büyük gurur duyduğum Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Fizik Bölümü Öğretim Üyesi değerli danışman hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Deniz KAYA'ya en içten teşekkürlerimi sunarım. Bu tez çalışmasında kullanılan malzemelerin Bilkent UNAM'da sentezlenmesinde ve gerekli verilerin alınmasında emeği geçen Doç. Dr. M. Özgür GÜLER ve Göksu ÇINAR'a teşekkürlerimi sunarım. Deneyin yapılışı sırasında desteklerini hiç esirgemeyen ekip arkadaşım Gizem Büşra KELLER'e ve Fizik Bölümü doktora öğrencisi Can ERTUGAY'a yardımlarından dolayı teşekkür ederim. Lisans ve lisansüstü eğitimim boyunca bana çok şey katan bölüm hocalarıma çok teşekkür ederim.

Özel olarak maddi manevi hiç bir konuda desteklerini esirgemeyen değerli aileme teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışmasına yaptığı katkıyla Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK) (Proje No: 114M143) teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET ii
ABSTRACT iv
ÖNSÖZ v
İÇİNDEKİLER vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ vii
ŞEKİLLER DİZİNİ viii
ÇİZELGELER DİZİNİ ix
1. GİRİŞ 1
1.1. Moleküllerin Kendiliğinden Düzenlenmesi 1
2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI 4
2.1. Mikroreoloji 4
2.1.1. Aktif mikroreoloji 5
2.1.2. Pasif mikroreoloji 5
2.2. Viskoz Bir Ortamda Brownian Hareketi 6
2.3. Langevin Denklemi ve FDT 9
2.3.1. Hız otokorelasyon fonksiyonu 11
2.3.2. MSD ve Stokes-Einstein eşitliği 13
2.4. Genelleştirilmiş Langevin ve Genelleştirilmiş Stokes-Einstein Denklemi 16
2.5. Parçacık İzleme 19
2.5.1. Dijital video mikroskopi 19
2.6. Tek Parçacık Mikroreoloji 21
2.7. Mikroreolojide Parçacık Yüzeyinin Etkisi 22
2.8. Mikroreolojide Ağ Gözeneğinin Boyutu ve Parçacık Çapının Etkisi 24
3. MATERYAL VE METOT 29
3.1. E_3PA ve K_3PA Moleküllerinin Sentezlenmesi 29
3.1.1. E_3PA ve K_3PA moleküllerinin jelleşmesi 29
3.2. Örnekleri Hazırlama 30
3.2.1. Peptit Jele Negatif Yüklü Parçacıkların Eklenmesi 31
3.2.2. Peptit jele pozitif yüklü parçacıkların eklenmesi 31
3.2.3. Peptit jel karışımını görüntülemeye hazır hale getirme 32
3.3. Parçacık İzleme Mikroreolojisi ve Dijital Video Mikroskopi 32
3.3.1. Floresan mikroskopuyla görüntü alma 32
3.3.2. IDL'de görüntü analizi 33
3.3.2.1. Görüntü filtreleme 34
3.3.2.2. Parçacık konumlarının tespit edilmesi 35
3.3.2.3. Sahte parçacıkları temizlemek 36
3.3.2.4. Konum ile izi birbirine bağlamak 37
3.3.3. Parçacık izlerinden MSD verisini elde etme 38
3.4. Ortamın Viskoelastik Özelliklerini Belirleme 40
4. BULGULAR 42

4.1. PA Nano Yapıların Mekanik ve Viskoelastik Karakterizayonu 42
4.2. Viskoz ve Viskoelastik Bir Ortamdaki Parçacığın Brownian Hareketi ve MSD Değeri 43
4.3. PA İçindeki Koloitlerin Brownian Hareketi 45
4.3.1. Farklı yoğunluklu ortamda bulunan koloit parçacığı..... 45
4.3.2. Aynı özellikli ortamdaki zıt yüklü parçacıklar 46
4.3.3. Aynı özellikli ortamdaki aynı yüklü farklı çaplı koloit parçacıkları.. 47
4.4. PA Ağının Gözenek Boyutu ve Parçacık Boyu Arasındaki İlişki 48
4.5. Bölgesel Heterojenliğin İncelenmesi 50
4.5.1. Ayrı ayrı her bir parçacığın keşfettiği mikro ortamlar 50
4.5.2. PA içindeki farklı mikro ortamların haritalandırılması 51
4.6. PA Ağının Viskoelastik Özellikleri 51
5. TARTIŞMA 54
6. SONUÇ 56
7. KAYNAKLAR 57
8. ÖZGEÇMİŞ

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

k_B	Boltzman sabiti
k_BT	Termal enerji
τ	Gecikme zamanı
δ	Adım uzunluğu
n	Adım sayısı
D	Difüzyon katsayısı
η	Sıvı viskozitesi
α	Sıvının sönümlenme katsayısı
F_E	Dış kuvvetlerin toplamı
F_T	Toplam kuvvet
F_R	Rastgele kuvvet
K	Kinetik enerji
E	Eşbölüşüm teoremi
$G^{'}$	Elastik modül
$G^{''}$	Viskoz modül
$\xi(t)$	Hafiza fonksiyonu
$\mathcal{L}$	Laplace işlemcisi
s	Laplace frekansı
$\widetilde{\xi}(s)$	Laplace alanındaki hafiza fonksiyonu
$\widetilde{G}(s)$	Laplace alanındaki komplex kayma modülü
ξ	Ağın gözenek boyutu

Kısaltmalar

PA	Peptit amfifil
UNAM	Uluslararası Nanoteknoloji Araştırma Merkazi
IDL	Interactive Data Langeuage
MSD	Yer değiştirmenin ortalama karesi
AFM	Atomik kuvvet mikroskopu
DWS	Difüzyon dalga spektroskopi
FDT	Fluctuation dissipation theorem
LDPT	Lazer sapmalı parçacık izleme
TEM	Geçirimli elektron mikroskopu
SEM	Taramalı elektron mikroskopu
GLE	Genelleştirilmiş Langevin denklemi
GSER	Genelleştirilmiş Stokes-Einstein İlişkisi
E_3PA	Negatif yüklü peptit amfifil molekülü
K_3PA	Pozitif yüklü peptit amfifil molekülü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. İki amino asitin bir araya gelmesiyle oluşan peptit bağının gösterimi (Berg vd 2002) 1

Şekil 1.2. Dört bölümden oluşan PA molekülünün kimyasal yapısı 3

Şekil 2.1. Klasik reometrelerin ve mikroreoloji tekniklerinin ölçüm yapabildiği frekans aralıkları 5

Şekil 2.2. Bir parçacığın Brownian hareketi 7

Şekil 2.3. Mikron boyutlu m kütleli parçacığa rastgele çarpan sıvı molekülleri (Sjögren 2012) 11

Şekil 2.4. Tipik bir parçacık izleme mikroreoloji deneyinin şematik gösterimi (Chen 2010). 21

Şekil 2.5. Tek parçacık mikroreolojisinin şematik gösterimi 21

Şekil 2.6. Farklı yüzey kimyasına sahip çeşitli parçacıkları izleyerek elde edilen F-actinin mikroreolojisi 23

Şekil 2.7. Proteine karşı dirençli olmayan koloit parçacığının ağ içindeki durumu 24

Şekil 2.8. Ağ içine gömülü parçacığın çapı ile ağın gözeneği arasındaki ilişki 25

Şekil 2.9. F-actin ağı içinde bulunan farklı çapa sahip koloit parçacıklarının MSD eğrisi 27

Şekil 2.10. Farklı çapa sahip parçacıklar kullanılarak gerçekleştirilen tek parçacık mikroreoloji 28

Şekil 3.1. Bilkent UNAM'da sentezlenen E_3PA ve K_3PA moleküllerinin kimyasal yapıları 29

Şekil 3.2. E_3PA ve K_3PA moleküllerinin bir araya gelmesiyle oluşan nanofiber yapısının TEM ve SEM görüntüsü 30

Şekil 3.3. 1 μm çaplı koloit parçacıklarının içinde bulunduğu jel yapısını görüntüye hazır getirme 33

Şekil 3.4. 0,1 mM konsantrasyon değerine sahip E_3PA ve K_3PA moleküllerinin oluşturduğu jel içinde bulunan 1 μm çaplı karboksilatla kaplı koloit parçacıklarının görüntüsü 34

Şekil 3.5. 0,1 mM konsantrasyon değerine sahip jel içinde bulunan 1 μm çaplı karboksilatla kaplı tek bir koloit parçacığının işlenmemiş ve filtrelenmiş görüntüsü 35

Şekil 3.6. Konumu belirli tek bir parçacığın merkezi parlaklık konumunun tespit edilmesi 36

Şekil 3.7. Görüntü içinde bulunan parçacıkların aydınlık seviyesine karşı çizilen eksantrisite değeri 37

Şekil 3.8. 0,1 mM konsantrasyon değerine sahip E_3PA ve K_3PA karışımı içindeki her bir koloit parçacığın izi..... 38

Şekil 3.9. PA içindeki koloit parçacıklarının τ gecikme zamanının bir fonksiyonu olarak çizilen topluluk ortalamalı MSD grafiği..... 39

Şekil 3.10. 0,1 mM konsantrasyon değerindeki peptit jelin viskoelastik modülü ... 40

Şekil 3.11. 0,1 mM konsantrasyon değerindeki peptit jelin elastik (mavi) ve viskoz (kırmızı) modülü 41

Şekil 4.1. E_3PA ve K_3PA yapılarının bir araya gelerek oluşturdukları peptit jel yapısının salınımlı reometre ile yapılan ölçüm sonucunda elde edilen elastik ($G^{'}$) ve viskoz ($G^{''}$) modülü..... 42

Şekil 4.2. E_3PA ve K_3PA yapılarının bir araya gelerek oluşturdukları peptit jel yapısının salınımlı reometre ile yapılan ölçüm sonucunda elde edilen kompleks viskozite değeri 43

Şekil 4.3. Viskoz ve viskoelastik ortam içindeki koloit parçacığının τ gecikme zamanına göre çizilen MSD eğrisi 44

Şekil 4.4. Farklı konsantrasyonlara sahip PA jel içindeki 0,5 μm çaplı karboksilatla kaplanmış koloit parçacığın MSD grafiği 46

Şekil 4.5. Farklı konsantrasyonlara sahip PA jel içindeki 1 μm çaplı karboksilatla kaplanmış koloit parçacıklarının MSD grafiği 46

Şekil 4.6. 1 μm çaplı zıt yüklü koloit parçacıklarının 0,1 mM yoğunluklu ortamda yaptıkları Brownian hareketinin grafiği 47

Şekil 4.7. 1 μm ve 0,5 μm çaplı negatif yüklü koloit parçacıklarının 0,2 mM yoğunluklu ortamda yaptıkları Brownian hareketinin grafiği 48

Şekil 4.8. 1mM'lık PA nanofiber ağı içindeki 0,5 μm çaplı negatif yüklü parçacık 49

Şekil 4.9. 0,5 μm'lik koloit parçacıklarının keşfettiği mikro ortamlar 50

Şekil 4.10. 0,3 mM yoğunluklu PA içindeki 0,5 μm'lik koloit parçacıkların ortalama MSD histogramı 52

Şekil 4.11. 0,3 mM yoğunluklu PA yapısının renkli gösterimi 52

Şekil 4.12. 0,5 μm çaplı negatif yüklü koloit parçacığının farklı konsantrasyon değerlerinde yansıttığı modüller 53

Şekil 4.13. 0,1 mM'lık PA jelinin viskoelastik, elastik ve viskoz modülü 53

ÇİZELGELER DİZİNİ

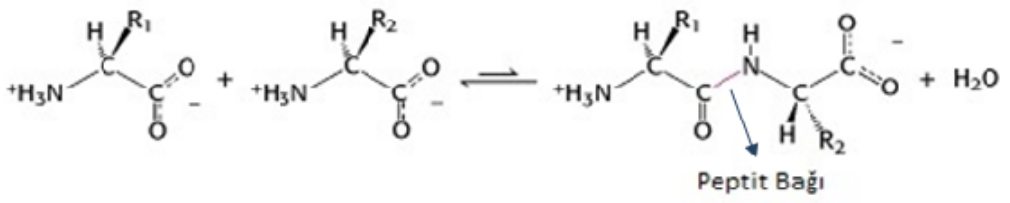
Çizelge 3.1. Negatif yüklü koloit parçacıklarının eklendiği PA karışımı 31

Çizelge 3.2. Pozitif yüklü koloit parçacıklarının eklendiği PA karışımı 32

1. GİRİŞ

1.1. Moleküllerin Kendiliğinden Düzenlenmesi

Doğada bulunan yaklaşık 300 çeşit kadar amino asitin yalnızca 20 tanesi canlı yapısındaki protein oluşumuna katılırlar. Amino asitler hem amin (NH_2) hem de karboksil (COOH) fonksiyonel gruplarını içeren bileşiklerdir. Bir amino asitin amin grubunda bulunan bir H ile diğer bir amino asitin karboksil grubunda bulunan OH'ın birleşmesiyle ortaya H_2O molekülü çıkar ve böylece iki amino asit arasında peptit bağı kurulmuş olur (Şekil 1.1). İki amino asit arasında peptit bağının kurulmasıyla oluşan bileşiğe dipeptit, üç amino asitin birleşmesiyle oluşan bileşiğe tripeptit ve 20 veya daha fazla amino asitin bir araya gelerek oluşturdukları yapı da polipeptit olarak adlandırılır. Polipeptitlerinde 3 boyutlu yapı oluşturacak şekilde katlanmasıyla da proteinler oluşmaktadır.



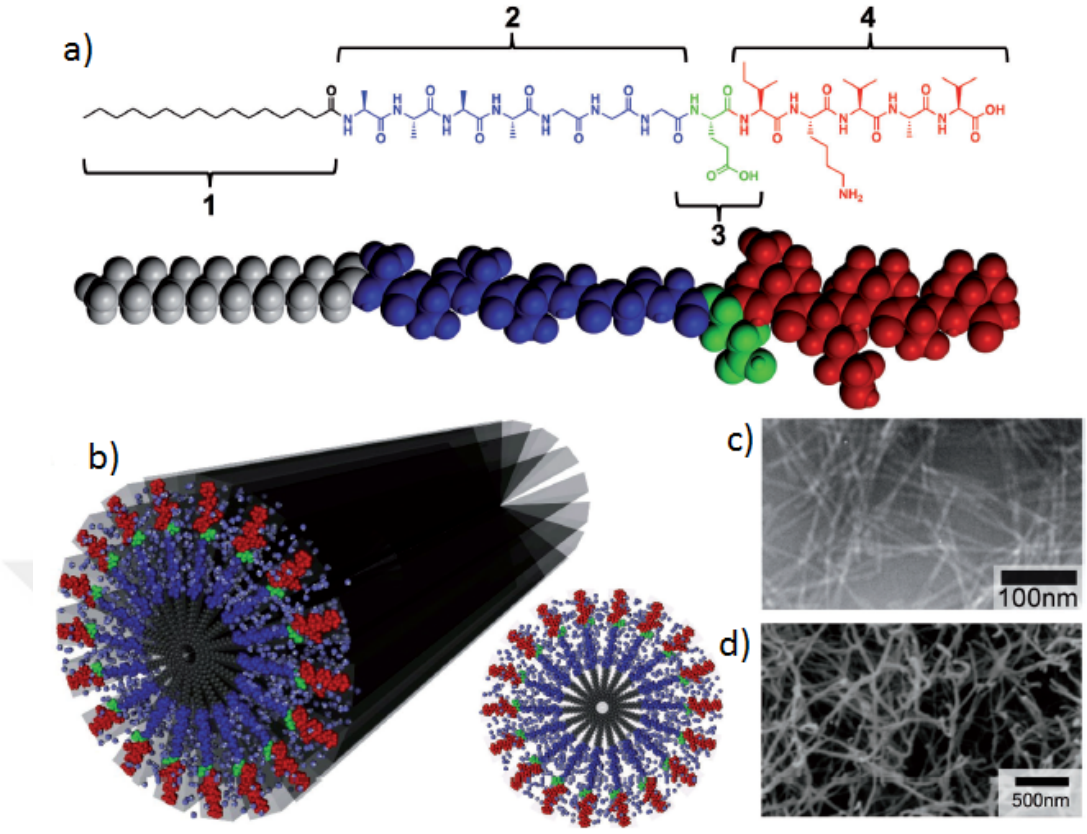
Şekil 1.1. İki amino asitin bir araya gelmesiyle oluşan peptit bağının gösterimi (Berg vd 2002)

Proteinleri oluşturan polipeptitlerin 3 boyutlu olarak katlanma süreci kendiliğinden düzenlenme (self-assembly) olarakta bilinir. Moleküllerin kendiliğinden düzenlenmesi tüm biyolojik sistemlerde görülmekle birlikte çok çeşitli biyolojik yapılarında temelini oluşturmaktadır (Whitesides 1991). Protein oluşumu, su içindeki lipid moleküllerinin yağ damlacıklarını oluşturması, hemoglobin polipeptitlerin hemoglobin proteinini oluşturması, kolajen oluşumu, örümcek ağı ve RNA'nın oluşturduğu ribozomlar gibi doğada çok sayıda kendiliğinden düzenlenme örnekleri mevcuttur (Çakmak 2011). Doğada çeşitli formlarda karşımıza çıkan bu ilham verici süreçler bilimcilerin keşifler yapması ve yeni nesil malzemelerin geliştirilmesi için sonuz bir kaynak sunmaktadır. Yeni dönemin öncüsü olan yeni materyalleri sentezlemek ve tasarlamak için kendiliğinden düzenlenme olayında anahtar rol üstlenen ana parçaların iyi bilinmesi gerekmektedir. Çünkü biyolojik sistemlerdeki reaksiyonlar, çeşitli yollarla biyolojik yapıyı oluşturan kendiliğinden düzenlenme mekanizmasına dayanmaktadır (Whitesides 1991). Termodinamik denge koşulları altında gerçekleşen kendiliğinden düzenlenme işlemi yüklü grupları ve elektrik dipollerini içeren elektrostatik etkileşimler, hidrojen bağları, iyonik bağlar, van der Waals etkileşimleri ve yüklü ve yüksüz grupların suyla olan etkileşimleri dahil olmak üzere kovalent olmayan etkileşimler tarafından

yapısal olarak kararlı bir şekilde moleküllerin kendiliğinden düzenlenmesi olarak bilinir (Semino 2008 ve Brooks ve Karplus 1986). Proteinler, nükleik asitler ve fiziksel ve kimyasal bakımdan çeşitlilik gösteren biyomoleküllerden ziyade peptitler sahip oldukları basit yapıları, göreli fiziksel ve kimyasal kararlılıkları nedeniyle kendiliğinden düzenlenme mekanizmasını incelemek adına önemli bir yere sahiptir (Colombo 2007). Peptitler, bünyelerinde bulundurdukları farklı miktarlardaki amino asitlere ve bunların bir araya gelerek oluşturdukları dizilimlere ve kimyasal yapıları tarafından belirlenen yük yapısına göre çeşitlilik göstermektedir. Ayrıca peptitlerin yapısında bulunan çok yönlülük, biyouyumluluk ve biyobozunabilirlik özelliklerinden dolayı tıbbi uygulamalarda kendi kendine bir araya gelen yapıları oluşturmada anahtar rol üstlenmiştir (Mandal 2014). Peptitlerin bu gibi çok yönlü yetenekleri sayesinde kontrol edilebilir yapısal özelliklere sahip yeni malzemelerin üretilmesinde çeşitli imkanlar sunar.

Biyomalzemeler olarak kendiliğinden düzenlenen peptit tabanlı nanoyapılar eşsiz bir potansiyele sahiptir (Lim 2008 ve Ulijn 2008). Peptit tabanlı üretilen yeni nesil malzemeler ve yapılar çevresel ve tıbbi sensörler, dayanıklı ve biyouyumlu malzemeler, enerji depolama, taşıyıcı sistemler, doku mühendisliği, görüntüleme araçları, suyu sevmeyen hidrofobik yüzeyler gibi teknoloji, sanayi ve endüstri alanında kullanımı yaygındır (Mandal 2014, Ulijn 2010 ve Rica 2010). Kısacası peptitlerin sahip olduğu bu gibi pozitif özelliklerinden esinlenerek nanotüpler, nanofiberler ve hidrojellerin dahil olduğu bir çok nanoyapılar üretilmiştir (Gazit 2007, Zhao vd 2010 ve Hamley 2011).

Makro düzeyden, mikro ve nano düzeye kadar bir çok alanda karşımıza çıkan peptit yapıları; siklik peptitleri, amiloyid türevli peptitler (nanotüp, nano vezikül vb) ve peptit amfifil (PA) gibi bir çok nanoyapıya organize olabilir (Jeon ve Shell 2014). Yapısında hem hidrofilik (suyu seven) hem de hidrofobik (suyu sevmeyen) özellikleri bir arada bulunduran PA'ler çeşitli nano yapılarla bir araya geldiği bilinen ve amfifilik yüzey aktif maddelerin yapısal özelliklerini biyoaktif peptit fonksiyonlarıyla birleştirdiği moleküler bir yapıdır (Webber 2010). Şekil 1.2'de 4 temel bölümden oluşan temsili bir PA molekülünün kimyasal yapısı resmedilmiştir (Hartgerink 2001 ve Silva 2004). İlk bölüm doymuş alkil kuyruktan oluşan, istenilen uzunlukta ayarlanabilen ve su ile etkileşime girmekten kaçınan hidrofobik kısımdır (Webber 2013). İlk kısma göre daha kısa olan ikinci kısımda moleküller arasında β yaprağının oluşmasıyla hidrojen bağı oluşarak kısa bir peptit dizisi oluşur (Webber 2013). Üçüncü kısımda sudaki çözünürlüğü artıran ya da asidik ve bazik özellikli amino asitlerin olduğu yüklü kısım bulunmaktadır. Gerekli düzeyde yapılan pH değişiklikleri ya da extra tuz ilavesiyle kendiliğinden düzenlenmeyi başlatarak jelleşmeyi tetikleyecek olay burada gerçekleşir. Son kısım ise hidrofobik kısma karşı olan, proteinlere ya da biyomoleküllere bağlananarak yapıya aktiflik kazandıran bölümdür (Webber 2013).



Şekil 1.2. a) Dört farklı bölümden oluşan temsili bir PA yapısı. b) PA molekülünün moleküler olarak resmedilen hali. Ayrıca nanofiberler haline gelme ile sonuçlanan kendiliğinden düzenlenme ve tek bir kesitinin çizimi. c) Nanofiberlerin geçirimli elektron mikroskopu (TEM) görüntüsü. d) Nanofiberlerin taramalı elektron mikroskopu (SEM) görüntüsü (Webber 2013)

2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI

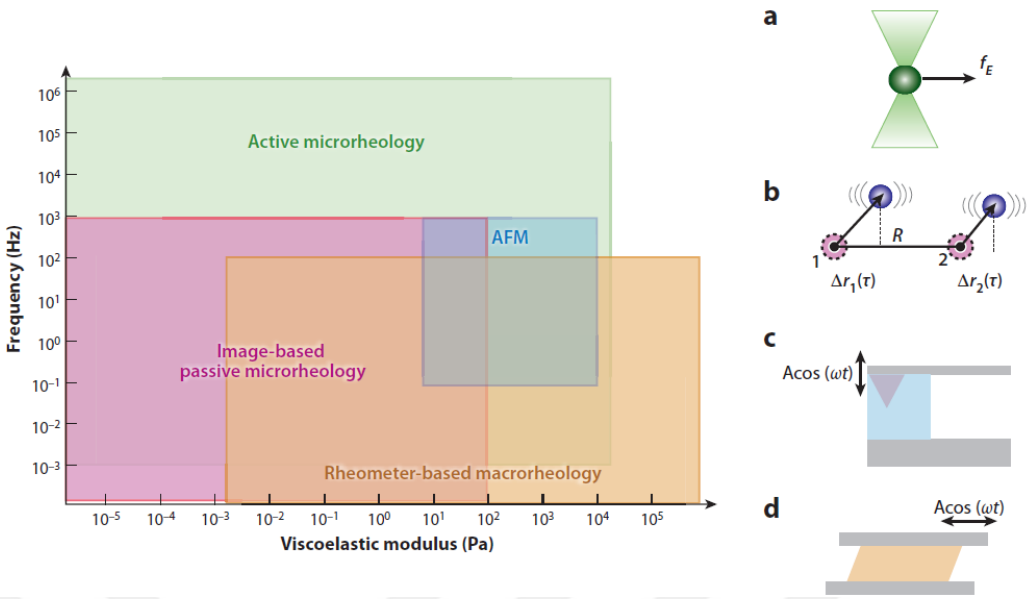
2.1. Mikroreoloji

Geleneksel reometre ölçümleri yumuşak malzemelerin davranışlarını ve akışını incelemede oldukça değerli bilgiler sunar. Reometreler genellikle yapıların yeniden düzenlenmelerini ve malzemelerin mekanik tepkilerini geniş bir aralıkta tespit etmek için kullanılabilir. Ancak bu tip reolojik ölçümler tüm sistemler için uygun değildir. Örneğin bol miktarlarda elde etmesi zor olan biyomalzemeleri ya da oldukça pahalı malzemeleri incelemede problem yaratır. Çünkü klasik reometreler reolojik ölçümü yapılacak malzemenin en az 5-10 mL hacminde olmasını gerektirir. Ayrıca malzemenin uygulanan kuvvete karşı verdiği tepkinin ortalama değerini verir ve inhomojen malzemeleri bölgesel olarak incelemeye izin vermez.

Bu tip problemlerle baş edebilmek için 1995 yılında Mason ve Weitz tarafından mikroreoloji adında yeni bir teknik geliştirildi (Mason ve Weitz 1995). Mikroreoloji, mikroskopik boyutta parçacıkları malzeme içine gömerek onların gözlenebilen hareketlerinden yumuşak alanın viskoelastik özelliklerini belirleyen ve yüksek frekans aralığında malzeme tepkisini analiz etmeye izin veren tekniktir (Mason vd 1997). Mikroreoloji aktif ve pasif mikroreoloji olmak üzere ikiye ayrılır. Aktif mikroreolojide malzemelerin karakteristik özelliklerini incelemek için optik cımbız, atomik kuvvet mikroskopu (AFM) gibi metotlar kullanılır (Alcaraz vd 2002, Ashkin 2000, Ashkin 1998, Mackintosh ve Schmidt 1999 ve Jhon 1996). Pasif mikrorolojide difüzyon dalga spektroskopisi (DWS), lazer sapmalı parçacık izleme (LDPT) ve dijital video mikroskopi kullanılmaktadır (Crocker vd 2000, Slopek vd 2006, Chae ve Furst 2005, Mason vd 1997 ve Mason ve Weitz 1995). Genel olarak pasif mikroreoloji yumuşak ya da heterojen sistemler için kullanılırken aktif mikroreoloji daha sert malzemelerin reolojik ölçümlerinde kullanılır.

Klasik reometreler ile mikroreoloji metotlarının reolojik ölçümler sonucunda ulaştıkları frekans aralıkları farklı olsa da temelinde malzemenin reolojik özellikleri hakkında bilgi edinmek vardır. Şekil 2.1'de klasik reometre ve mikroreoloji teknikleri kullanılarak incelenen karmaşık sıvıların viskoelastik modülü, kullanılan teknikteki frekans aralıklarına göre verilmiştir.

Mikreoloji tekniği, klasik reometrelerin koyduğu sınırlamaların üstesinden gelmeye çalışır. Klasik reometrelerde tasarımdan kaynaklı olarak yüksek frekanslardaki reolojik tepkilerin ölçümünü yapmak zordur. Çünkü yüksek frekanslarda eylemsizlik etkisi devreye girer ve bu aralıkta malzemenin reolojik özellikleri doğru bir şekilde ölçülemez. Ama eylemsizlik etkisi mikroreoloji deneylerinde frekans aralığı mega hertz boyutuna ulaşıncaya kadar ihmal edilebilir (Mason vd 1997, Mason ve Weitz 1995, Mason vd 1997 ve Mackintosh ve Schmidt 1999). Ek olarak, yalnızca tüm malzemenin verdiği ortak tepkinin ölçüsünü veren geleneksel reometrelerin aksine mikroreoloji



Şekil 2.1. Yumuşak malzemeler ya da karmaşık malzemeleri incelemek için kullanılan tekniklerin frekans ve viskoelastik modül aralıkları. a) Parçacıklara kuvvet uygulayan optik cımbız. b) Pasif mikroreolojide iki parçacığın birbiriyle olan ilişkisini kullanan dijital video mikroskop. c) Atomik kuvvet mikroskopuyla deforme edilen malzeme. d) Reometre tabanlı makro reoloji (Chen vd 2010)

deneylerinde kullanılan farklı boyutlardaki koloit parçacıkları aracılığıyla bölgesel yapı analizi yapılır (Crocker vd 2000 ve Mason vd 1997). Mikroreolojinin bu yaklaşımıyla malzeme içindeki koloit parçacıklarının yapı içindeki yer değiştirmesi, koloitlerin etrafını saran ortamın reolojik özelliklerini yansıtır.

2.1.1. Aktif mikroreoloji

Mikroreolojinin aktif metodunda malzeme içine gömülen koloit parçacığını hareket ettirmek için manyetik ve elektrik alanlar gibi bir dış kuvvet kullanılır. Bu kuvvetler mikron boyutundaki koloit parçacığının etrafını saran ortamın özelliklerini incelemek için koloit parçacığına uygulanan kuvvetle malzemeye gerilim (*stress*) uygulanır. Uygulanan gerilimle birlikte difüzif davranış sergileyen koloit parçacığının hareketinden ortamın reolojik özellikleri hesaplanır. Aktif mikroreolojide uygulanan bu dış kuvvetler de atomik kuvvet mikroskopu, manyetik ya da optik cımbız aracılığıyla sağlanır (Ashkin 1998, Ashkin 2000, Alcaraz vd 2002, Mackintosh ve Schmidt 1999 ve Jhon 1996).

2.1.2. Pasif mikroreoloji

Pasif mikroreoloji tekniği, herhangi bir dış kuvvet olmadan malzeme içine gömülen koloit parçacıklarının yapmış olduğu rastgele hareketlerden malzemenin reolojik özelliklerine ulaşmayı hedefler. Aktif mikroreolojide parçacıklara uygulanan dış kuvvetten farklı olarak, koloit parçacıklarının hareketi malzeme içindeki termal

dalgalanmaların yönlendirmesiyle sağlanır (Crocker vd 2000 ve Mason vd 1997). Bu termal dalgalanmalar k_B Boltzman sabiti ve T Kelvin sıcaklığı olmak üzere k_BT enerji seviyesindedir. Normal sıcaklık ve basınç altında termal dalgalanmaların sahip oldukları enerji yaklaşık olarak $4{,}11x10^{-21}$ J kadardır. Gömülü mikron boyutlu parçacıklar, etrafını saran ortamdan kaynaklı olarak ya basit difüzyona uğrarlar ya da Brownian hareketi yaparlar (Crocker vd 2000 ve Mason vd 1997). Dolayısıyla dış kuvvet olmadan malzemenin vereceği tepki ortamdaki koloit parçacıkların termal dalgalanmalardan kaynaklı yer değiştirmesidir. Pasif ölçüm tekniklerinde gömülü mikro kürelerin sahip oldukları k_BT termal enerjisiyle hareket edebilmeleri için malzemenin yeterince yumuşak olması gerekir (He 2009).

r yarıçaplı koloit parçacıklarının G' elastik modülüne sahip bir malzemenin L uzunluğunu şekil değişikliğine uğratabilmesi için sahip olduğu termal enerji yoğunluğunun elastik enerjiye eşit olması beklenir (Landau ve Lifshitz 1986).

$$\frac{k_BT}{r^3} = \frac{G'L^2}{r^2} \tag{2.1}$$

Sıcaklık değişimindeki farkın büyük olmadığı durumlarda viskoelastik özellik sergileyen malzemenin elastik modülünün üst limiti, hem koloit parçacıklarının boyutuna hem de L mertebesinde yer değiştirme yapan parçacıkların hareketini tespit edebilme düzenine bağlı olarak pasif mikroreoloji tekniğiyle ölçülebilir (Gardel 2004). Bu aralık aktif mikroreoloji ölçümleri ile ulaşılabilen değerden daha küçük olmasına rağmen çok sayıda yumuşak malzemelerin reolojik özelliklerini araştırmak için yeterlidir (Gardel 2004). Ayrıca uygulanılan herhangi bir dış kuvvet olmadığından dolayı elde edilen ölçüm sonuçlarının her zaman lineer viskoelastik bölgede olması pasif mikroreoloji tekniğini oldukça avantajlı kılar.

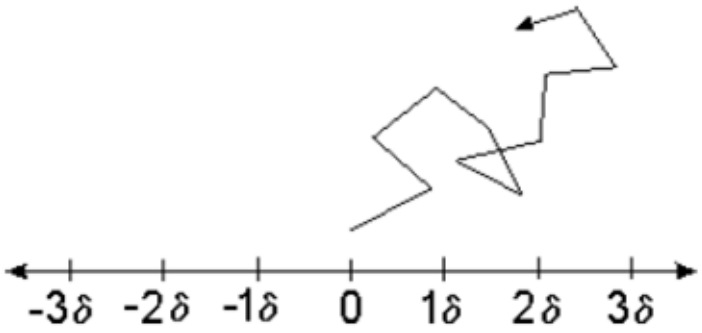
Pasif mikroreoloji deneyinde erişilebilir karmaşık modül ve frekans aralığından tam olarak yararlanabilmek için malzeme içindeki gömülü parçacıkların MSD değerini hassas bir şekilde ölçmek gerekir ve bunun için de iyi derecede zamansal ve mekansal çözünürlüğe sahip tekniklerin kullanılması gerekir. MSD, τ gecikme zamanının bir fonksiyonu olarak doğrudan parçacık konumunun izinden ya da ışık saçılımı deneylerinden elde edilebilir. Parçacık yerlerini tespit etme yöntemleri arasında zamansal ve mekansal çözünürlük önemli ölçüde farklılık gösterebilir. Ayrıca bu tekniklerde koloit parçacıkları üzerinden alınan ortalama değerlerin istatistiksel olarak doğruluklarını sağlama yetenekleri önemli ölçüde farklıdır. Bu tez çalışmasında parçacık izleme tekniklerinden *dijital video mikroskopi* kullanılacaktır.

Malzemeye gömülen koloit parçacığının sahip olduğu termal enerjiden kaynaklı yaptığı Brownian hareketini incelemek için parçacığın içinde bulunduğu viskoelastik malzemenin frekansa bağlı reolojisi kullanılır. Ama viskoelastik ortamın elastikliğini hesaba katmak için öncelikle tamamen viskoz bir ortamda bulunan mikron boyutundaki koloit parçacıklarının basit difüzyonunu ya da Brownian hareketini incelemek daha

yararlı olur (Gardel 2004).

2.2. Viskoz Bir Ortamda Brownian Hareketi

Brownian hareketi, bir gaz ya da bir sıvı içinde asılı kalmış büyük parçacıkların, ortam moleküllerinin kendilerine çarpması sonucu yaptıkları rastlantısal hareket olarak tanımlanabilir. Bu hareketi 1827 yılında gözlemleyen İngiliz botanikçi Robert Brown harekete neden olan durumu tam açıklayamadı. 1905 yılında Albert Einstein *Brownian Hareketi Üzerine İncelemeler* adlı makalesini yayınladı. Bu makalesinde ısının moleküler kinetik teorisine göre bir sıvı içinde asılı kalmış, mikroskopik olarak görünen cisimler sıvı moleküllerinin hareketi sebebiyle mikroskop ile görünebilecek büyüklükte hareket ettiğini ve böylesine bir hareketin Brownian hareketi olacağını belirtti (Einstein 1905). Şekil 2.2'de Brownian hareketi yapan parçacığın yer değiştirmesi resmedilmiştir.



Şekil 2.2. Sağa veya sola gitme olasılığı eşit olan bir Brownian parçacığının 0 noktasından başlayarak yaptığı rasgele hareket (Muldrew 2012)

δ adım uzunluğu ve τ iki adım arasındaki zaman farkı olmak üzere n adım sonra parçacığın yapacağı hareket,

$$\mathrm{x}\left(\mathrm{n}\right) = \mathrm{x}\left(\mathrm{n}-1\right) \pm \delta \tag{2.2}$$

Denklem (2.2) ile verilir. Bu adımı N tane parçacık gerçekleştirirse, N tane parçacığın yapmış olduğu yer değiştirmenin ortalaması olacak şekilde Denklem (2.3) şeklinde ifade edilir.

$$\langle \mathrm{x}\left(\mathrm{n}\right) \rangle = \frac{1}{\mathrm{N}} \sum_{\mathrm{i}=1}^{\mathrm{N}} \mathrm{x_i}\left(\mathrm{n}\right) \tag{2.3}$$

Denklem (2.2) ile verilen tek bir Brownian parçacığının hareketi Denklem (2.3) yerine

yazılırsa eşitliği (2.4) elde edilir.

$$\langle x\,(n)\rangle = x_i\,(n-1) \pm \delta \tag{2.4}$$

Her bir adımda yapılan δ yer değiştirmesinin $\pm$ işareti, parçacığın yapmış olacağı yer değiştirmenin ortalamasını sıfır yapar. Bu durumda önemli olan parçacıkların bulundukları yerden bir başka yere gitmesi olduğu için yapılan yer değiştirmenin yönden bağımsız olması gerekir. Bu nedenle yer değiştirmenin karesinin ortalaması alınırsa parçacıkların t zamanı içinde nasıl yayılım gösterdiği görülebilir.

$$\left\langle x^2\,(n)\right\rangle = x_i^2\,(n-1) \pm 2\delta x_i\,(n-1) + \delta^2 \tag{2.5}$$

Yukarıdaki açıklamayı göz önünde bulundurursak $\pm 2\delta x_i\,(n-1)$ teriminin işleme katkısı sıfır olur ve Denklem (2.6) elde edilir.

$$\left\langle x^2\,(n)\right\rangle = x_i^2\,(n-1) + \delta^2 \tag{2.6}$$

Başlandıç durumunda $x_i\,(0) = 0$ olmak üzere, Denklem (2.5)'ten yola çıkarak ilk adımın $\langle x^2\,(1)\rangle = \delta^2$, ikinci adımın $\langle x^2\,(2)\rangle = 2\delta^2$ ve üçüncü adımın $\langle x^2\,(3)\rangle = 3\delta^2$ olduğu elde edilir. Bu durumda n. adımdaki MSD ifadesi, $\langle x^2\,(n)\rangle = n\delta^2$ şeklinde yazılır. Bu durumda her adım arası geçen zaman τ olmak üzere n adım sonunda parçacığın yapmış olduğu yer değiştirme süresi t= τn olur ve eşitlik (2.6) düzenlenirse Denklem (2.7),

$$\left\langle x^2\,(n)\right\rangle = \frac{t}{\tau}\delta^2 \tag{2.7}$$

elde edilir. Parçacıkların yapmış oldukları rastgele hareketten dolayı meydana gelen moleküler difüzyon, Brownian hareketiyle ilişkilendirilir. Difüzyon terosinin yapıtaşlarından olan Fick'in difüzyon yasaları 1855 yılında Adolf Fick tarafından yapılmıştır. Fick'in yasalarından yaklaşık 50 yıl sonra Einstein, parçacığın yaptığı Brownian hareketi ile ortamın difüzyon katsayısını içeren denklemi tanımladı.

$$\left\langle x^2\,(\tau)\right\rangle = 2D\tau \tag{2.8}$$

Eşitlik (2.8), difüzyon katsayısı D olmak üzere mikroskopik hareket ile makroskopik bir büyüklük olan difüzyon arasındaki ilişkiyi temsil eder ve genellikle *Einstein-Smoluchowski* eşitliği olarakta adlandırılır.

Denklem (2.7) ile Denklem (2.8) ilişkilendirilirse, D difüzyon katsayısının $\frac{2\delta^2}{\tau}$ sabitine eşit olduğu görülür. Dolayısıyla D difüzyon parametresinin ortam sabiti olduğu sonucuna ulaşılır. Termodinamik denge durumlarında Einstein'in (2.8) numaralı

denklemi,

$$D = \frac{2k_B T}{\alpha} \tag{2.9}$$

şeklinde sistemi karakterize eden makroskopik büyüklükler cinsinden de yazılabilir. Denklem (2.9), Einstein'ın difüzyon için elde ettiği ikinci ilişkidir. Burada T denge sıcaklığını, m parçacık kütlesini α ise sıvının sönümlenmesini temsil eden *Navier-Stokes* katsayısıdır. Bu ilişkiyi tanımlamak için Langevin'in geliştirdiği yaklaşım takip edilebilir (Muldrew 2012).

2.3. Langevin Denklemi ve FDT

Brownian hareketinin teorik olarak tanımı Einstein ve Smoluchowski tarafından 1905 ve 1906 yıllarında birbirlerinden bağımsız olarak yapıldı. Bu ilk modeller Brownian parçacığının eylemsizliğini hesaba katmadı. Eylemsizlik etkisinin hesaba katılarak Brownian hareketi yapan parçacığın hareketinin daha detaylı tanımı 1908'de P. Langevin tarafından yapıldı (Langevin 1908 ve Pottier 2010). Langevin'in geliştirdiği modeli anlamak için Brownian hareketi yapan tek bir parçacığı düşünerek başlayabiliriz (Pottier 2010). Klasik mekaniğe göre bir sıvı içindeki mezoskopik bir parçacığın hareket denklemi Newton'un ikinci yasasıyla tarif edilebilir (Reif 1965).

$$m\frac{dv}{dt} = F_E + F_T \tag{2.10}$$

Denklem (2.10)'da bahsi geçen F_E yerçekimi alanı ya da elektrik alanı gibi dış kuvvetlerin toplamı, F_T ise Brownian hareketi yapan parçacığın üzerine sıvı moleküllerinin uyguladığı toplam kuvvettir ve eşitlik (2.11)'deki gibi ifade edilir.

$$F_T = \sum_{i=1}^{N} F_i \tag{2.11}$$

Parçacığın yapmış olduğu harekete dair tam bir açıklama yapmak için mevcut olan N tane durum üzerinden diferansiyel denklemin çözülmesi gerekir. Bu şekilde çözümün oldukça zor olacağından dolayı basit tekniklerin geliştirilmesi gerekir. Örneğin bu problem için Langevin'in yaklaşımı, küresel parçacığın yapacağı hareketin denkleminde etrafını saran ortamın etkilerini de dahil eden klasik bir yaklaşımdır. Stokes yasasından yararlanılarak parçacık sıvı etkileşiminin tanımı viskoz kuvvet dikkate alınarak yapılır ve eşitlik (2.12) ile verilir.

$$F = -\alpha v \tag{2.12}$$

Eşitlik (2.12)'de *Navier-Stokes eşitliği* olarak bilinen sıvının sönümlenme katsayısı α,

$$\alpha = 6\pi\eta r$$

şeklinde ifade edilir.

Ancak bu klasik sonuç, hareketsiz bir küre üzerindeki akışın düzgün olduğu göz önünde tutularak elde edilebilir. Ama düzensiz, sonu olmayan ve $F_E = 0$ olduğu durumlarda, hızında exponansiyel azalma görünen bir parçacık için açıklanamayan bir durumdur. Langevin modelinde F_T kuvvetinin bünyesinde bulundurduğu Stokes terimi ve küresel parçacıklarla sıvı moleküllerinin sürekli çarpmasını temsil eden F_R terimi dikkate alınır. Burada F_R terimi zamana bağlı ancak parçacık hızından bağımsızdır (Reif 1965). Bu durumda küresel parçacığın hareket denklemi Denklem (2.10)'dan Denklem (2.13)'e dönüşür.

$$m\frac{dv}{dt} = -\alpha v + F_R \tag{2.13}$$

Rastgele F_R kuvvetine sahip Langevin denklemi, stokastik süreçlerde tanımlanan denklemler arasındaki ilk örnektir. Bu nedenle denklemin çözümü de rastgele zamanın bir fonksiyonu olacaktır. F_R rastgele kuvvetin tanımlanması için bu kuvvetin N farklı şekilde gerçekleşeceğini $\left\{\tilde{F}_1(t)\,\tilde{F}_2(t)\,;\tilde{F}_3(t)\,;\cdots;\tilde{F}_N(t)\right\}$ ve N tane gerçekleşmesi olası durum için parçacıkların $t = 0$ anındaki hızının v_0 olduğunu varsayalım. Bu koşullar göz önünde bulundurulursa N tane hareket denklemi yazılır ve içinde barındırdığı $\tilde{F}_i(t)$ rastgele kuvvetlerinden dolayı birbirlerinden farklı olur. Aynı şekilde t zamanına bağlı olarak N farklı hız bulunmaktadır. Ortaya çıkan bu karışıklığı basitleştirmek adına mevcut N tane çözümün ortalaması alınır

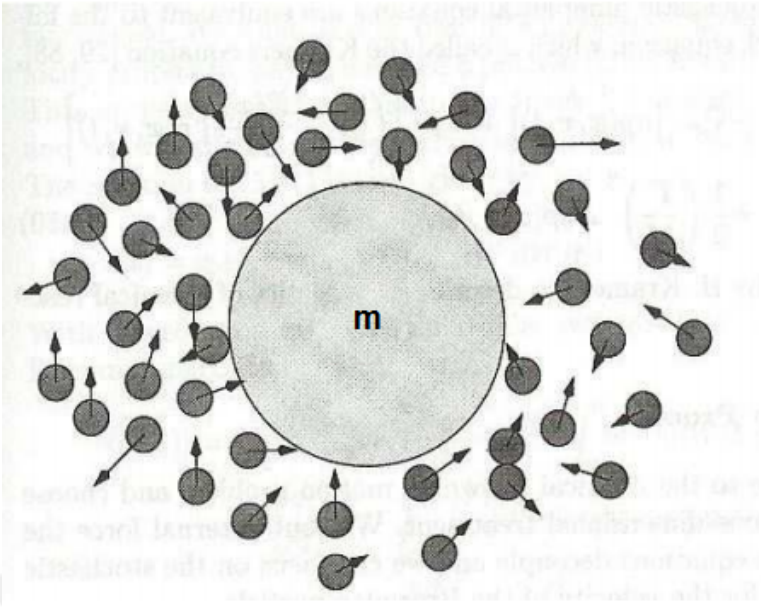
$$\tilde{F}_R(t) = \frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N}\tilde{F}_i(t)$$

$$\left\langle\tilde{F}_R(t)\right\rangle = \left\langle\tilde{F}_i(t)\right\rangle = 0 \tag{2.14}$$

Şekil 2.3'te sıvının sürtünme etkileri hesaba katılarak m kütleli parçacıkla sıvı molekülleri arasında meydana gelen rastgele çarpışma resmedilmiştir. Bu çarpışmayla oluşan rastgele kuvvet ortamın homojen ve izotrop oluşundan dolayı F_R rastgele kuvvetin ortalaması sıfırdır.

Rastgele çarpışmalardan kaynaklı olarak kuvvetin sıfır olmasıyla birlikte küresel parçacıkların üzerine yalnızca sürtünme kuvveti etki eder. Denge durumunda olan bir parçacığın bulunduğu ortam üzerinde herhangi bir dış kuvvet olmadığından sahip oldukları ortalama hız da sıfırdır.

t_1 ve t_2 zaman aralığında rastgele kuvvetler arasındaki korelasyon rastgele değişkenlerden



Şekil 2.3. Mikron boyutlu m kütleli parçacığa rastgele çarpan sıvı molekülleri (Sjögren 2012)

bağımsızdır ve Denklem (2.15) ile verilir.

$$\left\langle \tilde{F}_R\left(t_1\right)\tilde{F}_R\left(t_2\right)\right\rangle = b\delta\left(t_1 - t_2\right) \tag{2.15}$$

Yukarıdaki eşitlite bulunan braketler ($\langle\cdots\rangle$) stokastik değişken F_R'nin dağılımına göre alınan ortalamayı temsil ederken b ise parçacıkların hareketinden kaynaklı dalgalanan kuvvetin uzunluğunu temsil eder ve Gaussian dağılımının varyasyonundan bulunur.

2.3.1. Hız otokorelasyon fonksiyonu

$t = 0$'da v_0 ilk hızı olmak üzere, eşitlik (2.13) ile verilen Langevin denkleminin her iki tarafı $e^{\frac{\alpha t}{m}}$ ile çarpılırsa eşitlik (2.16) elde edilir.

$$v\left(t\right) = v_0 e^{-\frac{\alpha t}{m}} + \int_0^t \frac{e^{-\frac{\alpha\left(t-t'\right)}{m}}}{m} F_R\left(t'\right) dt' \tag{2.16}$$

Denklem (2.16)'da hız fonksiyonunun ortalaması alınır ve $\langle v\left(t\right)\rangle$ ortalama hız,

$$\left\langle v\left(t\right)\right\rangle = v_0 e^{-\frac{\alpha t}{m}} \tag{2.17}$$

şeklinde elde edilir.

Eşitlik (2.17), herhangi bir dış kuvvet olmaksızın parçacıkların sahip olduğu hızın ortalamasını verir. Ayrıca, viskoz bir akışkanda parçacığın yaptığı hareket, sahip olunan enerjiyi tükettiğini gösterir. Yani v_0 ilk hızıyla hareketine başlayan bir parçacık t zaman

sonra hareketine $e^{-\frac{\alpha t}{m}}$ çarpanı kadar gecikir. Oysaki Robert Brown sudaki parçacıkların yönünün ve hızının değiştiğini ve sürekli bir hareket içinde olduğunu belirtmişti (Brown 1828).

Rastgele kuvvet F_R, sürtünme kuvveti olan $-\alpha v$'den bağımsız olduğundan dolayı rastgele kuvvet hızdan bağımsızdır denir.

$$\langle F_i v_j \rangle = 0 \tag{2.18}$$

Eşitlik (2.17) ile verilen $v(t)$ hızının karesinin ortalaması alınır, t_1 ve t_2 zamanlarında rastgele iki kuvvetin birbiriyle olan $\langle \tilde{F}_R(t_1) \tilde{F}_R(t_2) \rangle = b\delta(t_1 - t_2)$ ilişkisinden yararlanarak hızın karesinin ortalaması Denklem (2.19)'a dönüşür.

$$\langle v(t) v(t) \rangle = v_0^2 e^{-\frac{2\alpha t}{m}} + \frac{1}{m^2} \int_0^t \int_0^t e^{-\frac{\alpha\left(t-t'\right)}{m}} e^{-\frac{\alpha\left(t-t''\right)}{m}} b\delta\left(t' - t''\right) dt' dt''$$

$$\langle v(t) v(t) \rangle = -\frac{m}{2\alpha} v_0^2 e^{-\frac{2\alpha t}{m}} + \frac{b}{2\alpha m}\left[1 + e^{-\frac{2\alpha t}{m}}\right] \tag{2.19}$$

Büyük zaman ölçeklerinde ($t \to \infty$) Denklem (2.19)'a göre sıvı içinde bulunan parçacık denge durumuna ulaşır. Hız korelasyon fonksiyonu t_1 ve t_2 zaman aralığında anlamlıdır ve bu nedenle sabit olan başlangıç hızına bağlı değildir.

$$\lim_{x\to\infty} \langle v^2(t) \rangle = \frac{b}{2\alpha m} \tag{2.20}$$

Denge konumuna ulaşan parçacığın sahip olduğu kinetik enerji,

$$\langle K \rangle = \frac{1}{2} m \langle v^2(t) \rangle$$

şeklinde verilir ve Denklem (2.20)'den yararlanarak eşitlik (2.21) elde edilir.

$$\langle K \rangle = \frac{b}{4\alpha} \tag{2.21}$$

T sıcaklığında bulunan parçacık termodinamik dengeye ulaşır ve b sabitini bulmak için tek boyuttaki eş bölüşüm teoreminden yararlanılır,

$$\langle E \rangle = \frac{1}{2} k_B T \tag{2.22}$$

$$\lim_{x\to\infty} \frac{1}{2} m \langle v^2(t) \rangle = \frac{1}{2} k_B T$$

ve b sabiti elde edilir.

$$b = 2k_B T\alpha \tag{2.23}$$

Bulunan b sabiti Denklem (2.15)'te yerine konularak,

$$\left\langle \tilde{F}_R(t_1)\,\tilde{F}_R(t_2)\right\rangle = 2k_B T\alpha\delta(t_1 - t_2) \tag{2.24}$$

eşitliği elde edilir. FDT (*Fluctuation Dissipation Theorem*) olarak bilinen bu denklem, termal dengede bulunan bir sistemin tepkisindeki dalgalanmalarla ilgilidir. Denklem, bir parçacığın rastgele hareketine sebep olan F_R kuvvetinin enerji kaybına yol açan $-\alpha v$ sürtünme kuvvetiyle aynı kökene sahip olduğunu söyler. Denge durumunda olan bir sistem göz önünde tutulduğunda, fiziksel bir değişkendeki termal dalgalanmaları sayısal olarak tahmin eder. FDT, termodinamik dengedeki bir sisteme uygulanan küçük bir kuvvete verilen tepkiyle kendiliğinden gelişen bir dalgalanmaya karşı verilen tepkinin aynı olacağı varsayımına dayanır (chandler 1987).

2.3.2. MSD ve Stokes-Einstein eşitliği

Tamamen viskoz ortamda bulunan mikro parçacıklar Brownian hareketi yaparlar. Parçacık hareketinin dinamiği her bir parçacığın zamana bağlı konum korelasyon fonksiyonunda ortaya çıkar. Bu korelasyon fonksiyonu daha çok bir parçacığın MSD değeri olarak bilinir. MSD, bir parçacığın yaptığı yer değiştirmenin ortalamasının bir ölçüsüdür.

$$\left\langle \Delta x_i^2\right\rangle = \left\langle \left|x_i(t+\tau) - x_i(t)\right|^2\right\rangle \tag{2.25}$$

Eşitlikte yer alan $x_i(t+\tau) - x_i(t)$ ifadesi, t zaman aralığı üzerinden i. parçacık tarafından yapılan yolculukta alınan mesafedir.

Parçacığın MSD ifadesini elde etmek için (2.13) numaralı Langevin denklemi tek boyutta,

$$v = \frac{dx}{dt} \qquad \text{ve} \qquad \frac{dv}{dt} = \frac{d\dot{x}}{dt}$$

ifadelerinden yararlanılarak elde edilir.

$$m\frac{d\dot{x}}{dt} = -\alpha\dot{x} + F_R \tag{2.26}$$

Eşitlik (2.26)'nın her iki tarafı x ile çarpılır.

$$m x \frac{d^2x}{dt^2} = -\alpha x \dot{x} + x F_R \tag{2.27}$$

Denklem (2.27)'yi çözebilmek için,

$$x \frac{dx}{dt} = \frac{1}{2} \frac{dx^2}{dt}$$

ve

$$x \frac{d^2x}{dt^2} = \frac{1}{2} \frac{d^2x^2}{dt^2} - \left(\frac{dx}{dt} \right)^2$$

eşitlikleri, Denklem (2.27)'de yerlerine konulur.

$$\frac{m}{2} \frac{d^2x^2}{dt^2} - m \left(\frac{dx}{dt} \right)^2 = -\frac{\alpha}{2} \frac{dx^2}{dt} + x F_R \tag{2.28}$$

Tek boyutta eş bölümüm teoremini temsil eden Denklem (2.22) ve $\langle F_R \rangle = \langle F_R x \rangle = \langle F_R v \rangle = 0$ ifadesinden yararlanılarak,

$$\frac{m}{2} \left\langle \frac{d^2x^2}{dt^2} \right\rangle - k_B T = -\frac{\alpha}{2} \left\langle \frac{dx^2}{dt} \right\rangle \tag{2.29}$$

eşitliği elde edilir. İşlem kolaylığı açısından,

$$y = \left\langle \frac{dx^2}{dt} \right\rangle$$

denilirse Denklem (2.29) aşağıdaki gibi ifade edilir.

$$\dot{y} - \frac{\alpha}{m} y = \frac{2 k_B T}{m} \tag{2.30}$$

Denklem (2.30), I. mertebeden adi diferansiyel denklemdir. Bu denklemi çözmek için eşitliğin her iki tarafı $e^{\frac{\alpha t}{m}}$ ile çarpılır,

$$y = \frac{2 k_B T}{m} \left[1 - e^{-\frac{\alpha t}{m}} \right]$$

ve y değeri yerine konularak Brownian hareketi yapan parçacığının MSD denklemi elde

edilir.

$$\left\langle x^2 \right\rangle = \frac{2k_B T}{\alpha}\left[t - \frac{m}{\alpha}\left(1 - e^{-\frac{\alpha t}{m}}\right)\right] \tag{2.31}$$

Denklem (2.31)'de yer alan $\frac{m}{\alpha}$ katsayısı t zamanının değerine bağlı olarak değişmektedir.

- $t \ll \frac{m}{\alpha}$

olduğu durumda Denklem (2.31)'de yer alan $e^{\frac{-\alpha t}{m}}$ ifadesi,

$$e^{\frac{-\alpha t}{m}} = 1 - \frac{\alpha}{m}t + \left(\frac{\alpha}{m}\right)^2 t^2 - \left(\frac{\alpha}{m}\right)^3 t^3 + \cdots$$

şeklinde Taylor seriye açılır ve Denklem (2.31)'de yerine konulursa

$$\left\langle x^2 \right\rangle = \frac{2k_B T}{\alpha}\left[t - \frac{m}{\alpha}\left(1 - 1 + \frac{\alpha}{m}t - \left(\frac{\alpha}{m}\right)^2 t^2 + \cdots\right)\right]$$

elde edilir ve ifade düzenlenir.

$$\left\langle x^2 \right\rangle = \frac{k_B T}{m}t^2 \tag{2.32}$$

Bu denklem, kısa zaman aralığı boyunca sabit termal hızla hareket eden ve serbest bir parçacık gibi davranan parçacığın MSD ifadesini temsil eder. Eşitlikten yola çıkarak bu davranışı sergileyen parçacığın termal hızı bulunur.

$$v = \left(\frac{k_B T}{m}\right)^{\frac{1}{2}} \tag{2.33}$$

- $t \gg \frac{m}{\alpha}$

durumunda,

$$e^{-\frac{\alpha t}{m}} \to 0$$

olur ve parçacığın MSD ifadesi,

$$\left\langle x^2 \right\rangle = \frac{2k_B T}{\alpha}t \tag{2.34}$$

şeklinde elde edilir. Denklem (2.34)'ten parçacığın MSD ifadesiyle t zamanı arasında,

$$\left\langle x^2 \right\rangle \propto t$$

ilişkisi olduğu görülür ve bu durum parçacığın difüzif hareket sergilediğinin göstergesidir. Einstein'in bulduğu eşitlikten ve Denklem (2.9) yararlanılarak tek boyutta D difüzyon katsayısı $\frac{k_B T}{\alpha}$ ile Langevin'in hareket denkleminden bulunan MSD ifadesi Denklem (2.34) ile birleştirilerek Denklem (2.35) elde edilir (Mason vd 1996).

$$\left\langle x^2\left(t\right)\right\rangle = 2dDt \tag{2.35}$$

Tek boyutta $\alpha = 6\pi\eta r$ olmak üzere $t \gg \frac{m}{\alpha}$ için parçacığın MSD ifadesi,

$$\left\langle x^2\left(t\right)\right\rangle = \frac{k_B T}{3\pi\eta} t \tag{2.36}$$

şeklinde yazılır. 3 boyutta D difüzyon katsayısı,

$$\eta = \frac{k_B T}{6\pi D r} \tag{2.37}$$

elde edilir. *Stokes-Einstein* denklemi olarak bilinen bu ifade, T sıcaklığında η viskoziteli sıvıda Brownian hareketi yapan r yarıçaplı bir mikro kürenin difüzyon katsayısını verir (Kubo 1966, Squires ve Mason 2010).

2.4. Genelleştirilmiş Langevin ve Genelleştirilmiş Stokes-Einstein Denklemi

Langevin dinamikleri çok küçük çaplı çözücü moleküllerin bulunduğu bir ortamdaki büyük çaplı parçacıkların yapmış olduğu hareket ile bütünleşmiş bir modelleme tekniğidir (Reif 1965). Langevin denkleminde (Denklem 2.13) tamamen viskoz bir sıvı içindeki parçacıkların hareketi tanımlanmıştır. Ancak malzemelerin çoğu hem viskoz hem de elastik özellik sergileyen viskoelastik özelliğe sahip karmaşık yapılardır. Bu nedenle böylesine karmaşık bir ortam içindeki Brownian hareketi yapan parçacığın davranışı, viskoz sıvı içinde bulunan parçacığın hareketinden daha karmaşıktır ve hareketini tanımlamak için klasik Langevin denklemi kullanılamaz (Yang 2011). Bu karmaşık durumu anlayabilmek için Langevin denklemi genelleştirilmiştir ve karmaşık bir sıvının viskoelastik özelliklerini hesaplamak için kullanılır (Morrison 2001 ve Larson 1999). Bir sıvı içinde rastgele hareket eden parçacığa etki eden kuvvetleri de içinde barındıran genelleştirilmiş Langevin denklemi (GLE),

$$m\dot{v} = -\int_0^t dt' \xi\left(t - t'\right) v\left(t'\right) + F_R \tag{2.38}$$

şeklinde tanımlanır. GLE'de yer alan $\xi\left(t\right)$, sıkıştırılamaz karmaşık sıvının bölgesel viskoelastik tepkisi tanımlayan hafıza fonksiyonudur. Denklemde yer alan integral, parçacık üzerine etkiyen gerilime (*stress*) bağlı geçmiş davranışı hesaplar ve bir süre sonra parçacığın içinde bulunduğu ağsı yapının, parçacığı geri bırakabilmesi için sıvıda enerjinin depolanmasına izin verir. Rastgele kuvvet F_R parçacığı harekete zorlar ve hem

anlık hem de depolanan stokastik enerjiyi içerir ve sonrasında bu enerjiyi ortama geri bırakır.

GLE, hızlı bir şekilde salınan bir küre üzerinde zamana bağlı sürtünmeyi açıklamak için gerekli olan denklemin Markovian olmayan halinin genelleştirilmiş halidir. Viskoz sürtünme Langevin denklemindeki (Denklem 2.13) gibi kürenin anlık hızıyla değil geçmişteki tüm zamanlardaki hızıyla orantılıdır (Denis ve Morris 1990). Genelleştirilmiş Langevin denkleminde viskoelastik hafıza fonksiyonu ($\xi(t)$) ile hız otokorelasyon fonksiyonu arasındaki ilişkiyi tanımlamak için tek taraflı Laplace dönüşümü ve eşbölüşüm teoremi kullanılır (Mason vd 1997).

$$\frac{dv(t)}{dt} = -\frac{1}{m}\int_0^t dt'\xi(t-t')\,v(t') + \frac{1}{m}F_R \tag{2.39}$$

Eşitliğin her iki tarafı $t = 0$ anındaki parçacığın ilk hızı $v(0)$ ile çarpılır.

$$\frac{d}{dt}\langle v(t)\,v(0)\rangle = -\frac{1}{m}\int_0^t dt'\xi(t-t')\langle v(t)\,v(0)\rangle + \frac{1}{m}\langle F_R(t)\,v(0)\rangle \tag{2.40}$$

Klasik Langevin denkleminde (Denklem 2.18) ile ifade edildiği gibi rastgele kuvvetin geçmiş hızlarla arasında olan herhangi bir bağ yoktur (Yang 2011). Yukarıda yer alan denklemde kolaylık olması açısından $C(t) = \langle v(0)\,v(t)\rangle$ denilsin.

$$\frac{dC(t)}{dt} = -\frac{1}{m}\int_0^t dt'\xi(t-t')\,C(t') \tag{2.41}$$

Eşitliğin her iki tarafında Laplace dönüşümü uygulanır ve denklem t zaman alanından **s** Laplace frekans alanına taşınmış olur.

$$\mathcal{L}\left\{\frac{dC(t)}{dt}\right\} = \mathcal{L}\left\{-\frac{1}{m}\int_0^t dt'\xi(t-t')\,C(t')\right\} \tag{2.42}$$

Elde edilen Denklem (2.42)'in sol tarafına,

$$\mathcal{L}\left\{\frac{dC(t)}{dt}\right\} = \int_0^\infty e^{-st}\frac{dC(t)}{dt}dt$$

şeklinde bir dönüşüm uygulanırsa aşağıdaki ifade elde edilir (Weber ve Arfken 2003).

$$\mathcal{L}\left\{\frac{dC(t)}{dt}\right\} = s\widetilde{C}(s) + C(0) \tag{2.43}$$

Denklem (2.42)'in sağ tarafına,

$$\mathcal{L}\left\{\int_0^t dzF_1(t-z)\,F_2(z)\right\} = f_1(s)\,f_2(s)$$

dönüşümü uygulanarak aşağıdaki eşitlik elde edilir (Weber ve Arfken 2003).

$$-\mathcal{L}\left\{\frac{1}{m}\int_0^t dt'\xi\left(t-t'\right)C\left(t'\right)\right\}=-\frac{\widetilde{\xi}\left(s\right)\widetilde{C}\left(s\right)}{m} \tag{2.44}$$

Elde edilen (2.43) ve (2.44) numaralı denklemler Denklem (2.42)'de yerlerine yazılarak,

$$\widetilde{C}\left(s\right)=\frac{mC\left(0\right)}{ms+\widetilde{\xi}\left(s\right)} \tag{2.45}$$

eşitliği elde edilir ve $C\left(t\right)$'nin eşiti yukarıdaki denklemde yerine yazılır.

$$\langle\widetilde{v}\left(s\right)v\left(0\right)\rangle=\frac{m\left\langle v^2\left(0\right)\right\rangle}{ms+\widetilde{\xi}\left(s\right)} \tag{2.46}$$

Tek boyutta eş bölüşüm teoremi,

$$\frac{1}{2}m\left\langle v^2\left(t\right)\right\rangle=\frac{1}{2}k_BT$$

kullanılarak Denklem (2.46), Denklem (2.47) haline dönüşür.

$$\langle\widetilde{v}\left(s\right)v\left(0\right)\rangle=\frac{k_BT}{ms+\widetilde{\xi}\left(s\right)} \tag{2.47}$$

Eylemsizlik terimi **ms** çok yüksek frekanslar $(\sim \text{MHz})$ dışında ihmal edilebilir ve hız otokorelasyon fonksiyonu ile MSD ile ilişkilendirilirse aşağıdaki eşitlik elde edilir (Levine ve Lubensky 2000).

$$\langle\widetilde{v}\left(s\right)v\left(0\right)\rangle=\frac{s^2}{2}\mathcal{L}\left\{\left\langle\Delta r^2\left(t\right)\right\rangle\right\}=\frac{s^2}{2}\left\langle\widetilde{\Delta r^2}\left(s\right)\right\rangle \tag{2.48}$$

Hız otokorelasyon fonksiyonu, MSD'nin Laplace dönüşümü cinsinden yazıldığı zaman, Laplace alanındaki hafıza fonksiyonu için aşağıdaki denklem elde edilir (Gardel vd 2005).

$$\widetilde{\xi}\left(s\right)=\frac{6k_BT}{s^2\left\langle\Delta r^2\left(s\right)\right\rangle} \tag{2.49}$$

Denklem (2.49), ilgilenilen malzemedeki Brownian hareketi yapan parçacığın hareket edebilme yeteneği ile MSD değeri arasındaki ilişkiyi temsil eder (Squires ve Mason 2010). Malzemenin ortalama viskoelastik değeri ile hafıza fonksiyonunu ilişkilendirmek için Stokes yasası, frekansa bağlı komplex viskoziteyi içinde barındırarak genelleştirilir (Mason ve Weitz 1995). Bu durum Laplace frekans alanında hafıza fonksiyonu ile

kompleks kayma modülü arasındaki ilişki aşağıdaki gibidir.

$$\widetilde{G}(s) = \frac{s\widetilde{\xi}(s)}{6\pi r} \tag{2.50}$$

Malzemenin esneklik modülü ile malzeme içinde Brownian hareketi yapan parçacığın MSD değeri, Denklem (2.49) ve Denklem (2.50) birleştirilirek bulunur (Gardel vd 2005).

$$\left\langle \Delta r^2(s) \right\rangle = \frac{k_B T}{\pi r s \widetilde{G}(s)} \tag{2.51}$$

Elde edilen bu denklem kompleks sıvılar için Stokes-Einstein denkleminin frekansa bağlı olarak genelleştirilmiş halidir. Tamamen viskoz sıvı içinde difüz eden serbest bir parçacık için,

$$\left\langle \Delta r^2(s) \right\rangle = \frac{6D}{s^2} \tag{2.52}$$

Genelleştirilmiş Stokes-Einstein denklemi (GSER) daha önceden frekanstan bağımsız olan viskozite için de yazılabilir. Genelleştirilmiş Stokes Einstein denkleminin bu sonucu ile Brownian hareketi yapan parçacıkların MSD değerinin zaman içindeki evrimi incelenerek frekansa bağlı viskoelastik lineer tepki ölçülebilir (Gardel vd 2005).

2.5. Parçacık İzleme

Temel prensibi Brownian hareketine dayandırılan parçacık izleme teknikleri difüzif davranışı ve taşınım özelliklerini tespit etmede kullanılan yaygın ve basit bir tekniktir. LDPT, DWS ve dijital video mikroskopi başta olmak üzere görüntü yakalamak için farklı metodolojileri vardır (Crocker vd 2000, Mason vd 1997 ve Slopek vd 2006). Brownian hareketi, istatistiksel olarak rastgele bir süreç olduğundan dolayı parçacık analizi için fazla sayıda veri elde etmek önemlidir (Qian 2000). Parçacık izleme teknikleri genellikle DNA, protein ve hücreler gibi biyomalzemeler, koloitler ve küresel ya da küresel olmayan parçacıkları gözlemlemede kullanılabilir. Brownian hareketinin bu gibi uygulamalarının yanı sıra akışkan hızının ölçümünde ve çökelme süreçlerinde de kullanılabilir. Mikroreoloji ayrıca polimerler ve biyomalzemeler gibi viskoelastik davranış sergileyen karmaşık sıvıların yapısını incelemede kullanılan en önemli parçacık izleme uyglamalarındandır. Ayrıca parçacık izleme teknolojisi jelleşme sürecini izlemek içinde kullanılabilir. Bu tez çalışmasında jelleşme dinamiğini incelemek için parçacık izleme tekniklerinden dijital video mikroskopi kullanılacaktır.

2.5.1. Dijital video mikroskopi

Malzeme yapısını incelemede kullanılan mikron boyutundaki parçacıkların hareketini takip etmek, bu tez çalışmasındaki en kritik noktalardan biridir. Bu

takibi gerçekleştirebilmek için yüksek çözünürlüklü görüntüleme kapasitesine sahip optik mikroskop ve dijitalleştirilmiş görüntüleri analiz etmek için görüntü işleme algoritmalarına ihtiyaç vardır.

Dijital video mikroskopi metodu, pasif mikroreolojide kullanılan oldukça yaygın ve basit bir tekniktir. Tipik bir video tabanlı deneyde zamanın bir serisi olarak mikroskoptan alınan görüntüler CCD kamerayla (*Charge Coupled Device*) görüntülenir ve kaydedilir (Gardel vd 2005). Video görüntüleri, görüntü tutucu (*frame grabber*) ile donatılmış bir bilgisayar kullanılarak sayısallaştırılır (dijitalleştirilir). Dijitalleştirilmiş görüntüler her bir karedeki parçacık konumlarını tespit etmek için analiz edilir. Parçacık merkezlerinin doğru bir şekilde tespit edilebilmesi için her bir parçacığın görüntüsüne karşılık gelen piksel sayısının 4 ya da daha fazla olması gerekir.

Dijital video mikroskopi, 1996 yılında J. C. Crocker ve D. G. Grier tarafından geliştirildi (Crocker ve Grier 1994). Dijital video mikroskopide parçacıkların hareketleri doğrudan kaydedilir ve görüntü işleme programlarında kullanılan algoritmalar sayesinde MSD'ye dönüştürülür. Bu tez çalışmasında parçacık izlemek için değerli bir web kaynak olan E. R. Weeks, J. C. Crocker ve grubunun parçacık izleme yöntemlerinden yararlanılacaktır (Weeks ve Crocker 2000). Bu web sitesinde parçacık izlemeyle ilgili verilen ayrıntılı bilginin yanı sıra *IDL*, *MatLab* ve *C++* için parçacık izlemede kullanılacak temel kodlar bulunmaktadır.

Diğer parçacık izleme metotlarından farklı olarak dijital video mikroskopi, frekans aralığı 100 Hz'den daha az frekans aralığına sahip dijital videonun hızıyla sınırlandırılmıştır. Ancak dijital video mikroskopi, eş zamanlı olarak çok sayıdaki parçacığın takibini yapabilir ve doğrudan yer değiştirmenin gözlemi yapılabilir. Dijital video mikroskopi, eş zamanlı olarak yüzlerce mikron boyutundaki koloit parçacığının rastgele hareketini takip etme ve ayrı ayrı her bir parçacığın yörüngesini koruyarak tüm parçacık topluluğunun ortalama MSD değerini elde etme yeteneğine sahiptir.

Reolojik özellikleri hesaplamak için dijital video mikroskopi aracılığıyla kaydedilen koloit parçacıklarının sergilediği difüzif davranış, koloit parçacıklarının ortama verdiği reolojik tepkinin bir yansımasıdır (Crocker vd 2000, Mason vd 1997). Bu difüzif davranış MSD ile tanımlanır. Tek bir parçacığın hareketiyle ilişkilendirilen tek nokta mikreolojide gecikme zamanı τ'nun bir fonksiyonu olarak MSD enklem 2.25 ile ifade edilir.

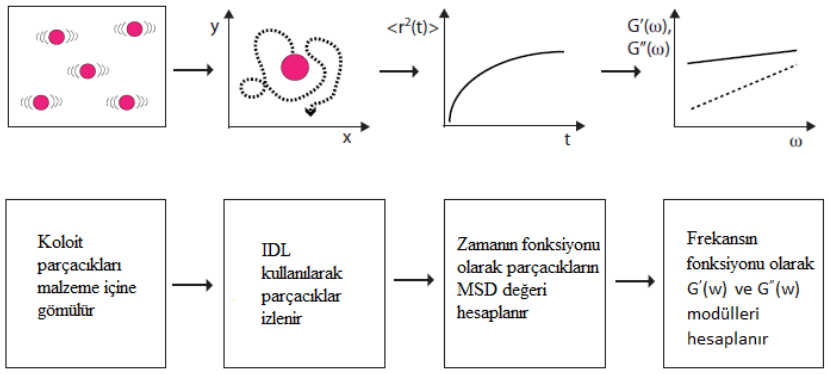
$$\left\langle \Delta x_i^2 \right\rangle = \left\langle \left| x_i\left(t+\tau\right) - x_i\left(t\right) \right|^2 \right\rangle$$

Bu metodun temel konsepti Brownian hareketine, GLE ve GSER'ye dayanır (Mason ve Weitz 1995 ve Mason 2000). Örneğin polimer jel ya da biyomalzemeler gibi karmaşık yapılı bir ortamda bulunan mikron boyutundaki parçacıkların davranışı GLE ile tanımlanır. Ayrıca kaydedilen bu davranış, sırasıyla ağın enerjiyi depolama ve enerjiyi dağıtma modülü olan $G'\left(w\right)$ ve $G''\left(w\right)$ ile malzemenin komplex modülünü bünyesinde

bulunduran frekansa bağlı GSER (2.52) aracılığıyla reolojik verilere dönüştürülebilir.

$$\left\langle \Delta r^2\left(s\right)\right\rangle = \frac{k_B T}{\pi r s \widetilde{G}\left(s\right)}$$

Dijital video mikroskopi, parçacığın malzeme içindeki τ gecikme zamanına bağlı elde edilen MSD eğrisiyle ve GSER kullanılarak elde edilen frekansa bağlı reolojik özellikler Şekil 2.4'teki gibi özetlenebilir. Bu tez çalışmasında parçacıkların konumlarının ve izlerinin tespit edilmesinde Crocker ve arkadaşlarının geliştirdiği algoritmaların bulunduğu IDL yazılım paketi kullanılacaktır (Crocker ve Grier 1996).

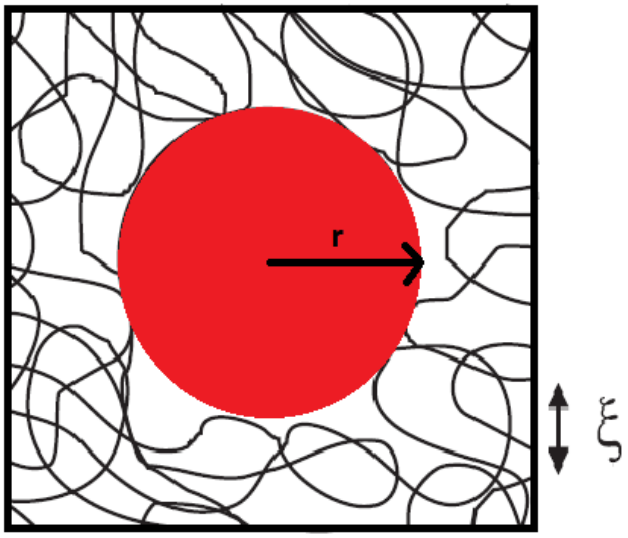


Şekil 2.4. Tipik bir parçacık izleme mikroreoloji deneyinin şematik gösterimi (Chen 2010).

2.6. Tek Parçacık Mikroreoloji

Tek parçacık mikroreolojisi, özellikle kompleks sıvıların reolojik özelliklerini ölçmede son yıllarda geliştirilmiş olan kullanışlı ve yeni bir deneysel tekniktir (Mason vd 1997, Xu vd 1998 ve Mason vd 1997). Şekil 2.5'te resmedildiği gibi temelinde bir ortam içinde hareket eden tek bir parçacığın gözlemine dayanır.

Tek parçacık mikroreoloji deneyleri, küçük hacimli malzemelerin klasik ölçümlerle erişilemeyen frekans aralıklarında verdiği reolojik tepkinin özelliklerini araştırmak için kolaylık sağlayan güçlü bir araçtır. Tek bir parçacığın bulunduğu ortamdaki parçacığın hareketi, Brownian hareketiyle tanımlanır ve bu parçacığın da içinde bulunduğu ortamın özelliğini yansıttığı varsayılır (Gardel vd 2005). Tek bir parçacıktan alınan veriler parçacığın etrafını saran ortamın viskoelastik tepkisini ve reolojik özelliklerini yansıtır (Mason vd 1997). Bu metodun en önemli özelliği başta biyomalzemeler olmak üzere bir çok komplex malzemenin bölgesel olarak heterojenliğini incelemede etkili olmasıdır. İlk olarak 1997 yılında Mason ve arkadaşları bu deneysel



Şekil 2.5. Polimer jel yapısını oluşturan ağsı yapı içindeki tek bir koloit parçacığı (Schnurr vd 1997)

tekniği kullanarak konsantre edilmiş DNA solüsyonunun tepkisini incelediler (Mason vd 1997). Elde edilen veriler klasik reoloji sonuçlarıyla kıyaslandığında birbirlerine paralel sonuçlar elde ettiler. Ama klasik reoloji deneyleri yalnızca malzemenin verdiği ortalama tepkiyi incelerken tek nokta mikroreoloji deneyi malzemeyi bölgesel olarak değerlendirme imkanı sunar.

Brownian hareketine dayandırılarak zamanın bir fonksiyonu olarak elde edilen MSD, en önemli fiziksel özelliktir. Ağsı yapı içinde Şekil 2.5'te tek bir koloit parçacığının resmedildiği gibi, tek parçacık mikroreolojisinde her bir koloit parçacığının ayrı ayrı takip edilmesiyle ortalama MSD değeri elde edilir. Koloit parçacıkları ile malzemenin reolojik özellikleri arasında köprü görevi gören GSER aracılığıyla malzemenin zamana ya da frekansa bağlı kayma modülüne dönüştürülür (Mason ve Weitz 1995, Mason vd 1997).

Tek parçacık mikroreolji deneyleri bazı avantajları sunarken belirli kısıtlamalarıda beraberinde getirir. Teorik olarak koloit parçacıklarının hareketi, etrafını saran ortamın viskoelastik özeliğinin bir yansımasıdır. Ancak bu incelenecek her malzeme tipi için her zaman uygun olmayabilir. Homojen ve izotropik malzeme için GSER, içinde bulunan her bir koloit parçacığının hareketinden elde edilen malzemenin kompleks kayma modülünü her zaman doğru bir şekilde verir. Aksine heterojen malzeme içinde bulunan her bir koloit parçacığının hareketi, malzemenin viskoelastik özelliği yerine içinde bulunduğu bölgesel ortamın özelliğini yansıtır ve böylece farklı parçacıklar kullanılarak malzeme içindeki farklı bölgeler keşfedilir (Song 2011). Bu durumlar doğrultusunda tek parçacık kullanılarak gerçekleştirilen mikroreoloji deneyinde kullanılan koloitlerin yüzey kimyası

ve boyutları önemli etkiye sahiptir.

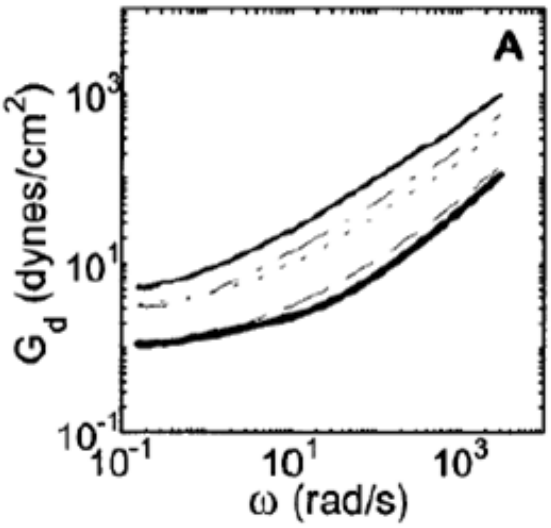
2.7. Mikroreolojide Parçacık Yüzeyinin Etkisi

Karmaşık yapılı malzemelerin yapısal özelliklerinin incelenmesinde kullanılan mikroreoloji teknikleri, böylesi yapıları oluşturan temel fonksiyonların iç yüzünü anlamada yardımcı olur. Ancak deneysel verilerin analizi sonucunda yorum yapabilmek için ağ ile koloit parçacığı arasındaki etkileşimin yeterince iyi bilinmesi gerekmektedir (Valentine vd 1997). Valentine ve arkadaşları deney sırasında seçtikleri bazı koloit parçacıklarının kendilerini içinde bulundukları mikro ortamın farklı özelliklerine göre ayarladıklarını tespit ettiler.

Mikroreoloji deneylerindeki ortamı izlemesi için gömülen koloit parçacıklarının yer değiştirmesi, parçacık ve ağ arasındaki yapısal ve kimyasal etkileşimlerin yanı sıra bölgesel viskoz ve elastik kuvvetlere karşı da son derece hassastır (Valentine vd 1997). Eğer incelenecek malzeme içine eklenen koloit parçacıkları içinde bulunduğu bölgenin yapısını değiştiriyorsa elde edilen veriler güvenilir olmayacaktır. Parçacıklar ile malzeme arasında gerçekleşebilecek böylesine etkileşimlerin varlığı önemli bir problemdir ve genel olarak koloitler ve protein yapılı ağlar arasındaki kimyasal etkileşimler göz ardı edilmemelidir. Bu nedenle incelenecek malzemenin analizi yapılmadan evvel parçacık ve ağ arasındaki etkileşimlerin iyi biliniyor olması gerekmektedir. Bu tip etkileşimlerin doğasını araştırmak için McGrath ve arkadaşları F-actin ağına çeşitli koloit parçacıklarını ekleyerek sistemin mikroreolojisini incelediler (McGrath vd 2000). Parçacık hareketlerinden elde etikleri veriler doğrultusunda F-actin ağının viskolastik özelliğinin parçacığın yüzey kimyasına bağlı olduğunu tespit ettiler (Şekil 2.6).

Ağın içinde bulunan koloit parçacığıile ağ arasında gerçkleşecek hernhangi bir etkileşim ağın yapısını değiştirme ya da bölgesel olarak küçük heterojenliklerin oluşumuna neden olur. Şekil 2.7-a ve 2.7-b'de görüldüğü gibi ağ ile etkileşime giren koloit parçacığı ağı oluşturan ipliklere yapışır. Bu durumda parçacığın hareketi ağın dalgalanmasını yansıtmamaktadır. Ayrıca proteine karşı dayanıklı olmayan r yarıçaplı koloit parçacığının ağın gözenek boyutu olan ξ'den küçük olması parçacığın oyuk duvarına yapışmasına da neden olur. Böylelikle küçük ortamları keşfetmesi beklenen koloit parçacıklarından yanlış reolojik bilgilerin alınması, ağın yapısal özelliklerinin belirlenmesinde büyük belirsizliklere yol açmaktadır (Valentine vd 1997).

Bu durumun aksine çapraz bağlı olmayan esnek polimer solusyonlarında (polietilen oksit) parçacığın yüzey kimyasının herhangi bir etkisinin olmadığı Dasgupta ve arkadaşları tarafından gözlenmiştir (Dasgupta 2002). Dolayısıyla yeni bir sistem üzerinde tek parçacık mikroreoloji deneyi gerçekleştirilirken elde edilen sonuçları yorumlamadan önce ilk olarak malzeme içinde izleyici parçacık olarak kullanılacak koloitlerin yüzey kimyasını test etmek gereklidir.



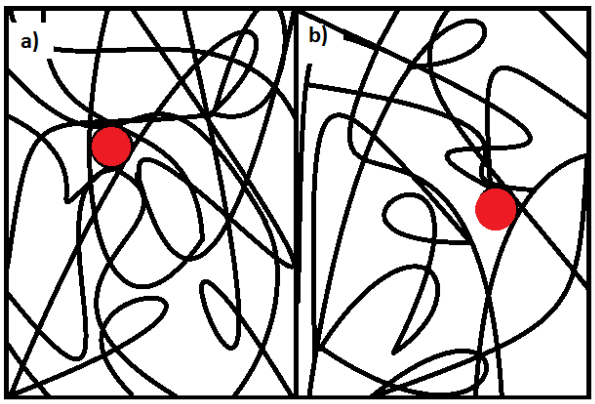
Şekil 2.6. En yüksek modülden en düşük modüle göre sıralanacak olursa; ince düz çizgi polisilin kaplı polistiren parçacıkları (PLY-PS), kesikli noktalı çizgi karboksilatlı polistiren parçacıklar (COO-PS), noktalı çizgi %6 biyotinlenmiş aktindeki streptavidin-conjugated parçacıkları (STA), kesikli çizgi biyotinlenmemiş aktindeki STA parçacıkları, kalın düz çizgi sığır serum albüminli polistiren (BSA-PS) parçacıkları (McGrath vd 2000)

2.8. Mikroreolojide Ağ Gözeneğinin Boyutu ve Parçacık Çapının Etkisi

Mikroreoloji deneylerinin analizi malzemenin mikro yapısına ve parçacık-ağ arasındaki ilişkinin doğasına bağlı olduğu kadar parçacık çapı ve ağın gözenek boyutuna da bağlıdır. Bu nedenle incelenecek malzemenin yeterince sert oluşu ya da yapısal uzunluk ölçeğinin mikron boyutunda olması böylesi malzemelerle çalışmayı zorlaştırır.

Malzeme içine eklenen koloit parçacıklarının boyutunun etkisi, tek parçacık mikroreoloji deneyinde yaşanabilecek bir diğer sorundur. GSER'nin en önemli varsayımlarından birisi de ölçümü yapılacak malzemeye eklenen koloit çapının, malzemenin tüm yapısal uzunluk ölçeklerinden daha büyük olmak zorunda oluşudur ($r \gg \xi$). Tek parçacık mikroreolojisinde malzemenin kompleks modülü, ayrı ayrı her bir koloitin hareketinden hesaplandığından dolayı malzemenin vereceği tepki, koloit boyutunun malzemenin uzunluk ölçeklerinden daha büyük olması koşuluyla ölçülebilir (Song 2011).

Malzeme ile etkileşime girmeyen r çaplı koloit parçacığı malzemenin gözenek boyutu ξ'den yeterince büyük olduğunda (Şekil 2.8-a), parçacığın yaptığı Brownian hareketi bölgesel olarak malzemenin verdiği tepkinin bir ölçüsü olur (Gardel 2004 ve Gisler ve Weitz 1999). Bu durumda ortamda bulunan koloit parçacığının MSD değeri ile frekansa bağlı GSER ilişkilendirilerek malzemenin frekansa bağlı elastik modülü (G') ve viskoz modülü (G'') hesaplanabilir (Gittes ve MacKintosh 1998). Ağ



Şekil 2.7. a) r<ξ olmak üzere proteini absorbe eden ve ağa yapışan koloit parçacığının bulunduğu mikro ortamın konsatrasyonunu değiştirmesi. b) r<ξ olmak üzere çok küçük miktarlarda proteini absorbe eden koloit parçacığının gözeneğin duvarına yapışması (Valentine vd 1997)

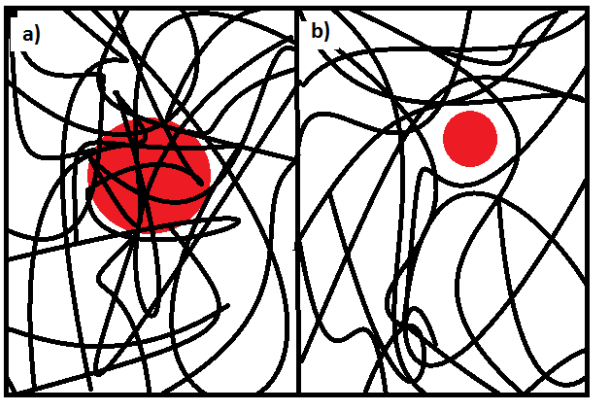
ile herhangi bir kimyasal etkileşime girmeyen parçacığın çapı ağ gözeneğinin boyutu ile yaklaşık olarak aynı ise (r$\sim$ ξ) parçacığın MSD bilgisinden içinde bulunduğu mikro ortamın özelliği incelenebilir (Gardel vd 2003 ve Gardel 2004). Ancak Şekil 2.8-b'de resmedildiği gibi r$\ll$ ξ olduğu durumda, koloit parçacığı ağ gözeneğinin içine doğru hareket eder. Parçacığın hareketi sadece içinde bulunduğu ortamın viskoelastik tepkisinin bir ölçüsü olmakla kalmaz aynı zamanda da oyuk duvarlarının neden olduğu yapısal engellemelerinde bir ölçüsü olur(Valentine vd 2001). Gözenek içindeki parçacıkların hareketleri malzemenin toplu özelliklerinden ziyade daha çok bu gözeneklerin yapısal ve mekanik özellikleri hakkında bilgi edinilebilir.

Gözenek boyutu ξ=0,3 μm ve hacimce ağırlığı 0,9 mg olan F-actin içinde bulunan tüm koloit parçacıklarının hareketlerinden elde edilen MSD verilerinin ortalamasının alınmasıyla elde edilen topluluk ortalamalı MSD eğrisi Şekil 2.9'da resmedilmiştir. Tüm parçacıklar üzerinden alınan topluluk ortalamalı MSD eğrisinde 0,23, 0,32 ve 0,42 μm'lik çaplı parçacıkların MSD verisinde görünen düzlük, koloitlerin F-actin ağı tarafından kısıtlandığının ya da gözenek içinde hapsolduğunun kanıtıdır. Eğer MSD'de görünen bu düzlük ağın G$'$ elastikliğinin bir ölçüsü ise aralarındaki ilişki Denklem 2.53 ile verilir.

$$\left\langle \Delta x^2 \left(\tau \to \infty\right)\right\rangle = \frac{k_B T}{\pi G' r} \tag{2.53}$$

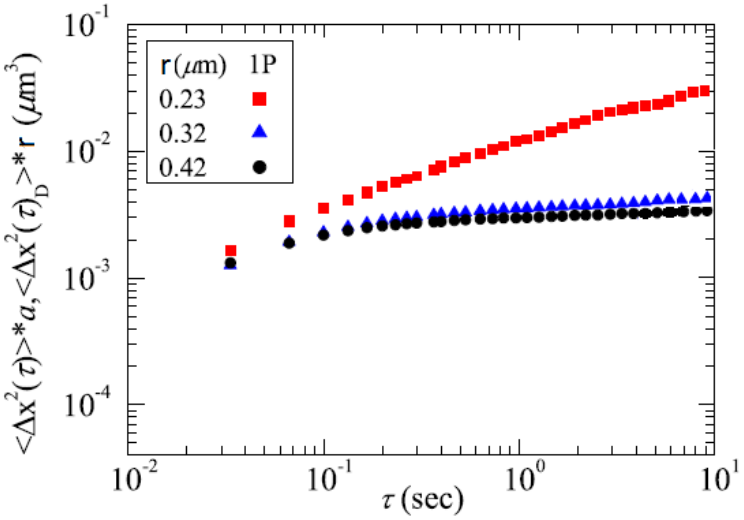
Eğer MSD'deki düzlük ξ uzunluğundaki ağ gözeneğin bir ölçüsü ise

$$\xi = r + \left\langle \Delta x^2 \left(\tau \to \infty\right)\right\rangle^{\frac{1}{2}} \tag{2.54}$$



Şekil 2.8. Proteine karşı dirençli olan koloit parçacığı ile ağın gözenek boyutu arasındaki ilişki. a) r$\gg$ ξ durumunda parçacığın hareketi doğrudan ağın lineer viskoelastik özelliğini yansıtır. b) r$\ll$ ξ durumunda koloit parçacığının hareketi içinde bulunduğu mikro ortamın viskozitesine ağ ile arasındaki hidrodinamik etkileşime karşı duyarlıdır (Valentine vd 1997)

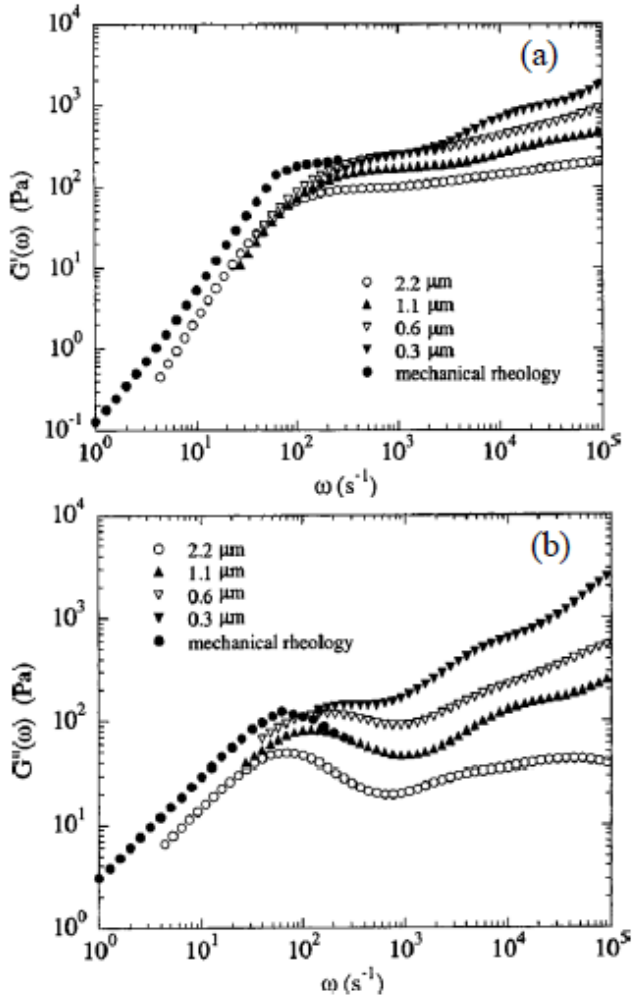
şeklinde verilir. Burada gözenek boyutu parçacığın MSD değerindeki düzlüğün kare kökü ile çapının toplamı kadardır.



Şekil 2.9. ξ=0,3 ve hacimce ağırlığı 0,9 mg F-actin içinde bulunan koloit parçacıklarından kırmızı renkli olan 0,23 μm'lik, mavi renkli olan 0,32 μm'lik ve siyah renkli olan ise 0,42 μm'lik koloit parçacıklarının MSD eğrisini temsil etmektedir (Gardel 2004)

Lu ve Solomon, polimer solüsyonlarının mikroreolojisini incelemek için parçacık boyutunun etkisi üzerine araştırma yaptılar (Lu ve Solomon 2002). Şekil 2.10'da resmedildiği gibi, boyutları farklı olan parçacıkların içinde bulunduğu ortamdan yansıyan G' ve G'' değerlerinin, yüksek frekanslara doğrı gidildikçe (w>10^2 Hz) bariz şekilde farklılaştığını gözlediler. Bu aralıkla ağın enerjiyi dağıtma özelliğini temsil eden viskoz modülün (G'), frekansın artmasıyla birikte azalan bir davranış sergilediği ve bu davranışın büyük çaplı parçacıklarda daha berlirgin olduğu gözlenir.

Bir çok alanda etkin bir şekilde kullanıldığı gibi biyoloji alanında da kullanılan tek parçacık izleme mikroreolojisi yaşayan hücrelerin zar reolojisini, dinamiğini ve mekaniğini anlamaya yönelik zarın yüzeyine eklenen parçacıkların düfizif davranışını inceler (Lau vd 2003 ve Chen vd 2003). İki boyutlu arayüzey etkileşimlerinde kullanılan bu teknik ile elde edilecek reolojik bilginin yardımıyla yüzeydeki moleküler etkileşmeleri anlamada kullanılabilir (Yim ve Fuller 2003).

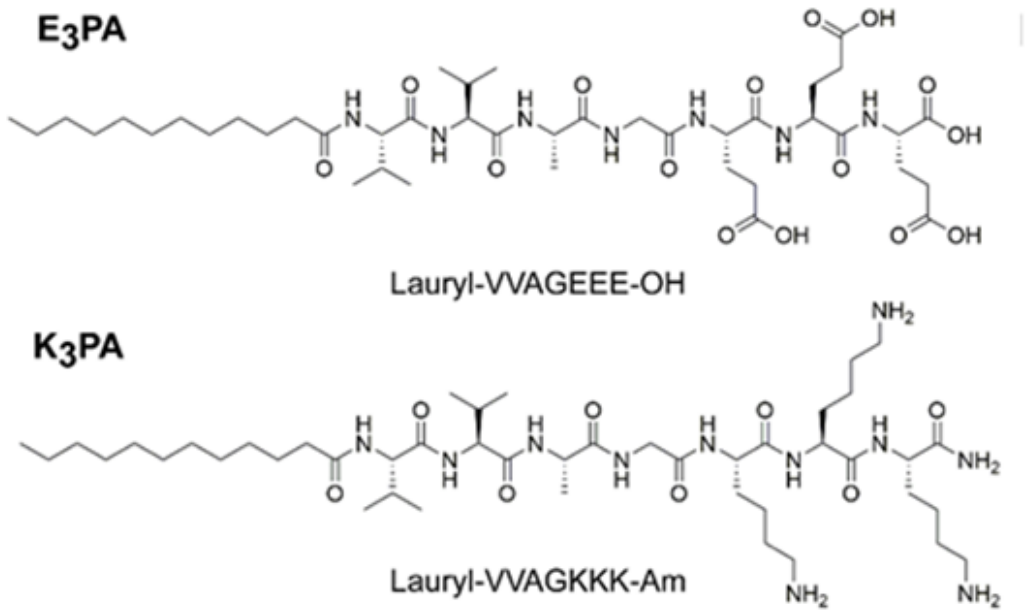


Şekil 2.10. Farklı boyutlardaki parçacıklar kullanılarak %4 molekül ağırlığına sahip polimer solusyonuyla ilişkilendirilen a) elastik modül (G') ve b) viskoz modül (G'') (Lu ve Solomon 2002).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. E_3PA ve K_3PA Moleküllerinin Sentezlenmesi

E_3PA ve K_3PA molekülleri, Yrd. Doç. Dr. Deniz KAYA tarafından yürütülmüş olan 114M143 numaralı TUBİTAK projesi kapsamında Bilkent UNAM (Uluslararası Nanoteknoloji Araştırma Merkezi) tarafından katı faz peptit sentezi kullanılarak sentezlenmiştir. PA moleküllerinin uç kısımlarında yüksek molekül ağırlıklı katı fazın kullanılarak kademeli bir şekilde amino asitlerin eklenmesiyle peptit zincirleri oluşturulmuştur. Fizyolojik koşullarda lizin içeren K_3PA molekülü bazik özellik sergileyip pozitif yüklü iken E_3PA molekülleri bünyesinde bulundurduğu glutamik asitten kaynaklı olarak negatif yüklüdür. Bir araya gelerek kendiliğinden düzenlenme olayını gerçekleştirerek nanofiber oluşturan E_3PA ve K_3PA moleküllerinin kimyasaş yapısı Şekil 3.1 ile verilmiştir.



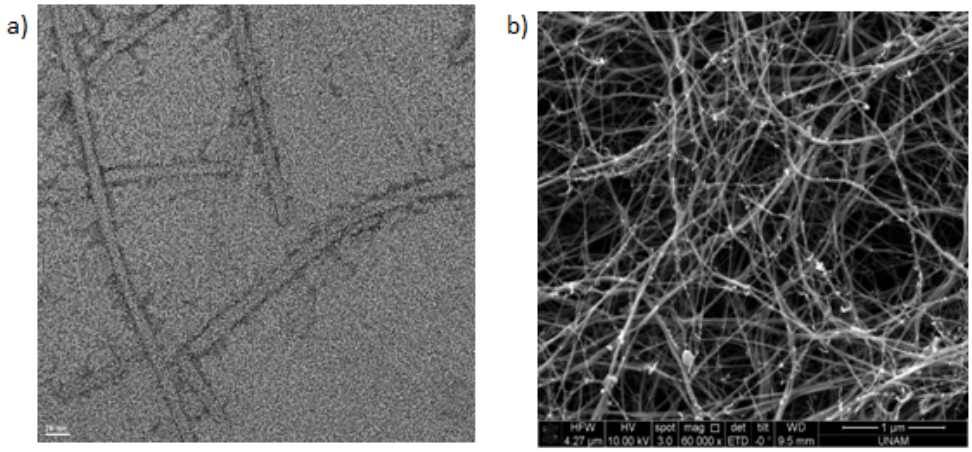
Şekil 3.1. Bilkent UNAM'da sentezlenen E_3PA ve K_3PA moleküllerinin kimyasal yapıları

3.1.1. E_3PA ve K_3PA moleküllerinin jelleşmesi

E_3PA ve K_3PA molekülleri alifatik kuyruk, β yaprağını (β sheet) oluşturan

'VVAG' motif ve fizyolojik koşullar altında elektrostatik etkileşimler, hidrojen bağları ve hidrofobik etkileşimler aracılığıyla kendiliğinden düzenlenmeyi tetikleyen zıt yüklü amino asitlerden oluşmaktadır. UNAM tarafından yapılan zeta potansiyeli ölçümleri doğrultusunda 1 mM'lık E_3PA ve K_3PA moleküllerinin sırasıyla 3:4 oranında karıştırılmasıyla nanofiber oluşumu gözlenmiştir. Zıt yüklü E_3PA ve K_3PA moleküllerinin sulu çözeltilerinin karıştırılmasıyla elde edilen nanofiber yapısının yakından görüntülenmesi için Bilkent UNAM'da bulunan FEI markalı Tecnai G2 F30 model TEM kullanılmıştır (Şekil 3.2-a). Oluşan nanofiber yapısının iskelet yapısının görüntülenmesi için de Bilkent UNAM'da bulunan FEI marka Quanta 200 FEG SEM kullanılmıştır (Şekil 3.2-b).

Biyomoleküllerin kendiliğinden düzenlenme sürecinde bir araya gelme olayını tetikleyen kritik konsantrasyon değerinin belirlenmesi kendiliğinden bir araya gelme koşullarını, mekanizmasını ve yapı-fonksiyon ilişkisini anlamak için çok önemlidir. PA moleküllerinde bir araya gelme sürecinin başlamasıyla birlikte kendiliğinden düzenlenme süresince alkil kuyruk ve moleküller arasındaki hidrofobik etkileşimlerle molekül yapısında bulunan hidrofobik moleküller kapsüllenebilmektedir.



Şekil 3.2. E_3PA ve K_3PA moleküllerinin bir araya gelmesiyle oluşan nanofiber yapısının a) TEM ve b) SEM görüntüsü

3.2. Örnekleri Hazırlama

1 mM stok solüsyonu olarak elde bulunan E_3PA ve K_3PA solüsonları deiyonize su kullanılarak 0,1-0,2-0,3-0,4-0,5 ve 0,6 mM'lık konsantrasyon değerlerine seyreltildi. Farklı konsantrasyon değerlerine sahip E_3PA ve K_3PA solüsyonları birbirleriyle karıştırılmadan önce ayrı ayrı 15 dk boyunca sonike edildi.

Jel karışımının içine konulacak koloit parçacıkları TUBİTAK projesi kapsamında

Çizelge 3.1. Negatif yüklü koloit parçacıklarının eklendiği PA karışımı

Numune	Konsantrasyon Değeri (mM)	Numune Yükü	Bir Araya Gelme	Parçacık Yükü	Parçacık Konsantrasyonu (mg/ml)
E_3PA	0,1	-	Yok	-	0,01
K_3PA	0,1	+	Yok	-	0,01
E_3PA ve K_3PA Karışımı	0,1	Nötr	Var	-	0,01

Sigma Aldrcih adlı web sitesinden alınmış olup her bir parçacık karışımının hacimce ağırlığı yaklaşık olarak %2,5 ya da 2,5 mg/ml' dir. Görüntüleme için karışımın içine konulacak olan koloit parçacık karşımlarından bir miktar alınarak hacimce ağırlığının yeterli olacağını bildiğimiz %10 değerinde seyreltildi ve ölçüm kolaylığı açısından son konsantrasyon değeri olarak %1'de karar kılındı.

Çalışmada kullanılacak olan 3 farklı koloit parçacıklarından çapı 0,5 μm olan koloitler karboksilatla kaplanmış olup negatif yüklüdür. Diğer ikisi 1 μm çapında olup karboksil ve amin ile modifiye edilmiş olup sırasıyla negatif ve pozitif yüklüdür.

3.2.1. Peptit Jele Negatif Yüklü Parçacıkların Eklenmesi

0,1 mM'a seyreltilmiş olan negatif yüklü E_3PA içine karboksilatla kaplı koloit parçacığı 29:1 oranında konularak toplam hacim 30 μl'ye tamamlandı. E_3PA içindeki koloitlerin karışım içinde düzgün dağılması için yaklaşık 15 dk vorteks ile çalkalandı ve karışımın üzerine 0,1 mM konsantrasyon değerine sahip toplam 40 μl hacmindeki K_3PA eklendi. Elde edilen karışımın kendiliğinden düzenlenme sürecini etkilememek için herhangi bir çalkalama ya da sonike etme işlemi uygulanmadı.

PA solüsyonlarının bir araya gelme kritik konsantrasyon değerindeki 0,1 mM'lık E_3PA ve K_3PA karıştırılmadan önceki hali ve negatif yüklü parçacıklarla karıştırıldıktan sonraki hali Çizelge 3.1'de verilmiştir.

3.2.2. Peptit jele pozitif yüklü parçacıkların eklenmesi

0,1 mM'a seyreltilmiş olan pozitif yüklü E_3PA solüsyonunun içine amin ile kaplanmış pozitif yüklü koloit parçacığı 39:1 oranında eklenerek toplam hacim 40 μl'ye tamamlandı. K_3PA içindeki koloitlerin karışım içine düzgün dağılması için yaklaşık 15 dk vorteks ile çalkalandı ve karışımın üzerine 0,1 mM konsantrasyon değerine sahip 30 μl hacmindeki E_3PA eklendi. Elde edilen karışımın kendiliğinden düzenlenme sürecini etkilememek için herhangi bir çalkalama ya da sonike etme işlemi uygulanmadı.

PA solüsyonlarının bir araya gelme kritik konsantrasyon değerindeki 0,1 mM'lık E_3PA ve K_3PA karıştırılmadan önce ve pozitif yüklü parçacıklarla karıştırıldıktan sonraki hali Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Pozitif yüklü koloit parçacıklarının eklendiği PA karışımı

Numune	Konsantrasyon Değeri (mM)	Numune Yükü	Bir Araya Gelme	Parçacık Yükü	Parçacık Konsantrasyonu (mg/ml)
E_3PA	0,1	-	Yok	+	0,01
K_3PA	0,1	+	Yok	+	0,01
E_3PA ve K_3PA Karışımı	0,1	Nötr	Var	+	0,01

3.2.3. Peptit jel karışımını görüntülemeye hazır hale getirme

Negatif yüklü 0,1 mM konsantrasyon değerine sahip E_3PA solüsyonuna yukarıda belirtilen miktarda negatif yüklü 1 μm çaplı koloit parçacıklarının eklenmesiyle elde edilen 30 μl'lik karışıma 40 μl K_3PA'nın eklenmesiyle kendiliğinden düzenlenme süreci tetiklenmiş oldu. Lam üstüne eni ve boyu sırasıyla 0,5-2 cm olan parafinlerden iki tanesi aralarında yaklaşık 0,5 cm boşluk olacak şekilde karşılıklı yerleştirildi ve üstü lamel ile kapatılarak örnek hücresi oluşturuldu. Mikro pipet yardımıyla içinde koloit parçacıklarının olduğu nanofiber jel karışımından yaklaşık 15 μl alındı ve önceden hazırlanmış olan örnek haznesine pipetlendi. Örnek haznesine konan jel ile havanın temasını engellemek adına açık olan yerler epoksi yardımıyla kapatıldı. Görüntülenmeye hazır hale gelen jel yapısının floresan mikroskopu altındaki görüntüsü alındı (Şekil 3.3). Brownian hareketi yapan koloit parçacıklarının floresan mikroskopu altındaki görüntüsünü yakalama süreci Akdeniz Üniversitesi Histoloji Bölümü'nde gerçekleştirildi.

3.3. Parçacık İzleme Mikroreolojisi ve Dijital Video Mikroskopi

3.3.1. Floresan mikroskopuyla görüntü alma

Örnek haznesindeki numune, Akdeniz Üniversitesi Histoloji bölümünde Olympus BX61 markalı floresan mikroskopa ait Olympus DP30 marka kamera ve 100x ve 1,3 NA değerlerine sahip yağ daldırmalı objektif ile görüntülendi. Görüntülenmeye hazır hale getirilen numunelerin tamamı, parçacıkların 90-120 saniye kadar görüş alanında kalmasını sağlayacak elastikliktedir. Farklı konsantrasyon değerine sahip içinde 1 μm çaplı koloit parçacıklarının bulunduğu örnek için saniyede 29 görüntü yakalama hızına sahip DP30 marka kamera kullanılarak 120 saniyelik görüntüler alındı. 0,5 μm çapındaki koloit parçacıklarının içinde bulunduğu karışım için, 1364x1024 piksel CCD çip genişliğine sahip kamera 1x1 bin durumunda saniyede yaklaşık 14,5 görüntü karesi yakalanarak yaklaşık 120 saniyelik görüntü alındı. Hazırlanan örneklerin hemen hemen hepsi, yaklaşık 90-120 saniye kadar koloit parçacıklarının görüş alanında kalmasını



Şekil 3.3. 1 μm çaplı koloit parçacıklarının içinde bulunduğu jel yapısını görüntüye hazır getirme

sağlayacak elastikliktedir.

3.3.2. IDL'de görüntü analizi

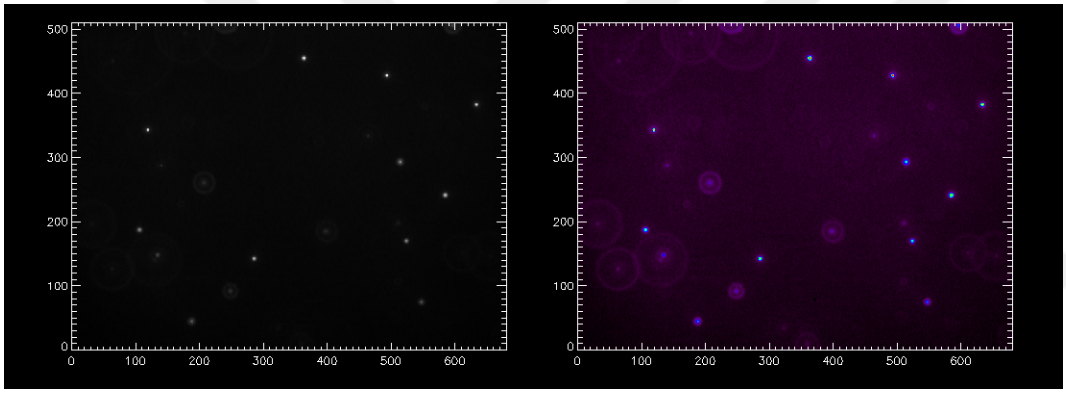
Floresan mikroskopu kullanılarak alınan görüntüler bütünü, analog ortamdan dijital ortama aktarılırken görüntülerde bir takım gürültüler bulunmaktadır. Bu gibi gürültülerden görüntüyü arındırmak ve gerekli reolojik hesaplamaları yapmak için IDL görüntü analizi programı kullanılacaktır.

Dijital video işlemedeki son gelişmeler, koloidal süspansiyonlar üzerinde çalışmak için yeni fırsatlar sunar. Video mikroskopi ile birleştirilen dijital video analizi, ayrı ayrı her bir koloit parçacığının izlerinin tespitinde çok büyük kolaylık sağlar. Perrin'nin Brownian hareketi üzerine yapmış olduğu fotoğrafik çalışmadan bu yana kaydedilen görüntülerin analizi; 2 ve 3 boyutlu sistemlerdeki faz geçişlerinin araştırılması, koloit dinamiğini dış kuvvetlerin varlığında incelenmesi ve birbirinden yalıtılmış koloit mikroküre çifleri arasında doğrudan olan etkileşimleri ölçmek için kullanılır (Crocker ve Grier 1996, Crocker ve Grier 1994 ve Kepler ve Fraden 1994). Koloit parçacıklarının video görüntülerinin analizi ayrı ayrı görüntülerdeki kusurları düzeltmek, doğru bir şekilde parçacıkların izlerini bulmak, dijital görüntüde parçacıkmış gibi algılanan yanlış tanımları ortadan kaldırmak ve parçacıkların konumlarını bir sonraki görüntü karesindeki konumuyla birleştirerek parçacık izini belirlemek şeklinde 4 aşamada gerçekleştirilir (Crocker ve Grier 1996). Bu tez çalışmasında oldukça önemli bir yere sahip bu aşamalar üst düzey bir programlama dili olan, ücretsiz olarak edinilebilen, astronomi ve yerbilimlerinde yoğun olarak kullanılan IDL (*Interactive Data Language*)

ile gerçekleştirildi (Crocker ve Grier 1996).

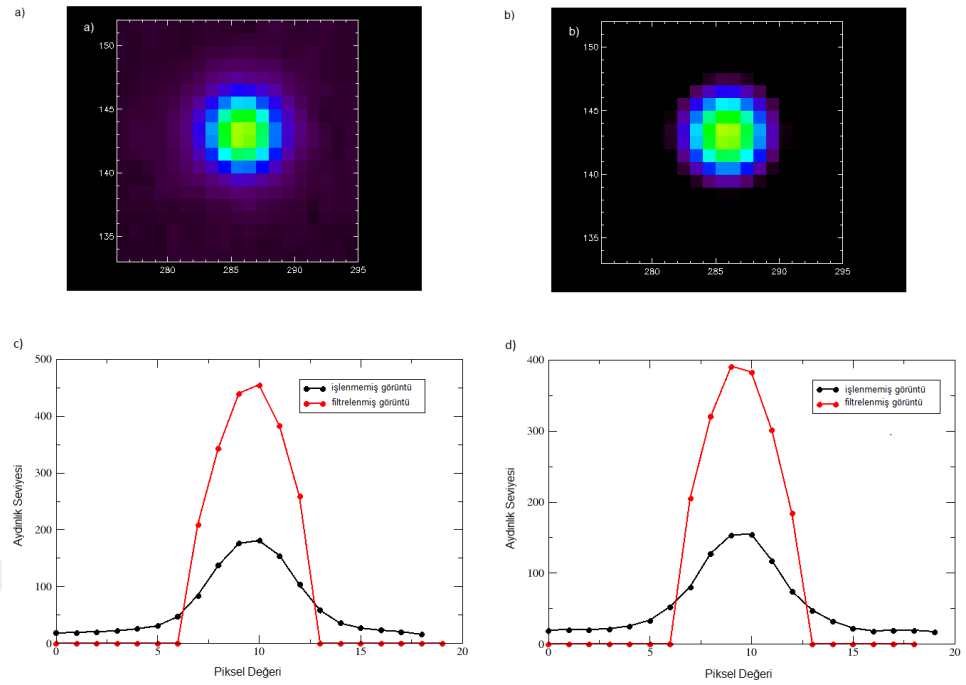
3.3.2.1. Görüntü filtreleme

0,1 mM konsantrasyon değerine sahip E_3PA ve K_3PA moleküllerinin oluşturduğu jel içinde bulunan 1 μm çaplı kaplı koloit parçacıklarının görüntüsü floresan mikroskopundaki Olympus DP30 marka kamera ile 2x2 binleme ile 680x510 piksel boyutlarında tiff formatı ile kaydedildi. Şekil 3.3'te verilmiş olan yüksek görüntü kalitesine sahip renksiz ve renkli görüntü hem arka plan parlaklığında kademeli olarak değişen parlaklıklardan hem de her bir dijitalleştirilen piksellerdeki hatalardan kaynaklı olarak karlı görüntüye sahip olması gibi bir dizi gürültü içermektedir. Bu tiff görüntüsündeki gürültülerden görüntüyü arındırmak için IDL'de filtreleme işleme uygulanır. (Crocker ve Grier 1996). 100x yağ batırmalı objektif ile alınan görüntülerdeki 1 μm'lik koloit parçacıklarının büyüklükleri yaklaşık olarak 5-7 piksel aralığında gözlenmiştir (Olympus DP30 kamera görüntüsü için 1 piksel yaklaşık 0,259 μm'dir).



Şekil 3.4. 0,1 mM konsantrasyon değerine sahip E_3PA ve K_3PA moleküllerinin oluşturduğu jel içinde bulunan 1 μm çaplı karboksilatla kaplı koloit parçacıklarının görüntüsü. a) Dijital ortama aktarılan kusurlu görüntünün siyah beyaz hali. b) Dijital ortama aktarılan gürültülü görüntünün renkli hali

Görüntü karesinde bulunan gürültülerin bir kısmından kurtulmak için yapılan filtreleme işlemiyle ortalama arka plan yoğunluğu ön plana çıkarıldı. Böylelikle orijinal parçacıkların olduğu bölgeler keskin tepe noktalı dairesel lekeler ile düşük yoğunluklu bir arka plan elde edildi. Şekil 3.5.a'da konumu belirtilmiş x ve y eksenleri arasında kalmış koloit parçacığının işlenmemiş görüntüsü bulunmaktadır. Şekil 3.5.a'da yaklaşık 7 piksellik bir çapa sahip koloit parçacığı için kare matris şekilde Gauss maskesi oluşturuldu. Oluşturulan Gauss maskesi ile işlenmemiş görüntüdeki parçacık ile çarpıldı ve siyah arka plan üzerine daha aydınlık piksel değerlerine sahip görüntü elde edildi (Şekil 3.5.b). Gauss maskesi oluşturularak elde edilen filtreli görüntünün aydınlık seviyesi ile işlenmemiş görüntünün aydınlık seviyesi birbirinden çok farklıdır. Şekil 3.5.a'da işlenmemiş görüntüde x eksenine karşılık gelen piksel değerlerinin aydınlık



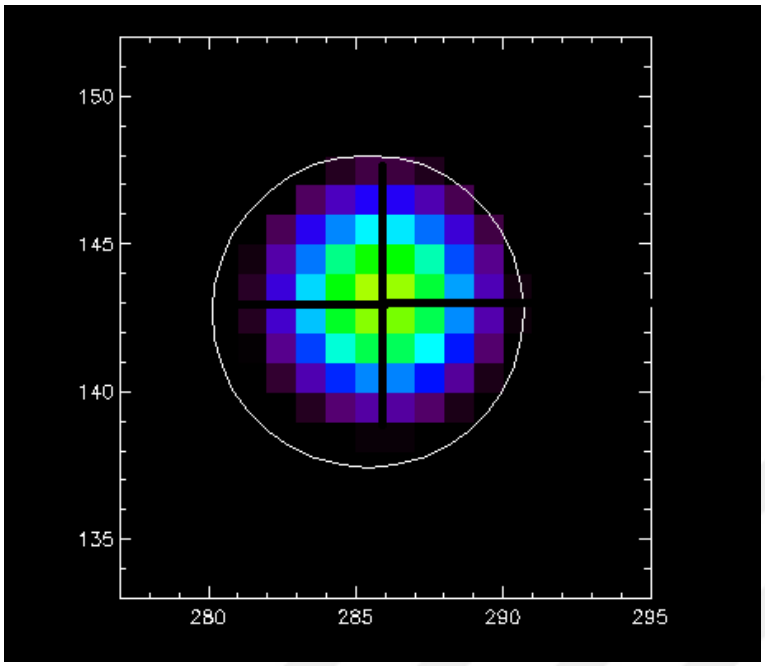
Şekil 3.5. 0,1 mM konsantrasyon değerine sahip jel içinde bulunan 1 μm çaplı karboksilatla kaplı tek bir koloit parçacığının görüntüsü a) İşlenmemiş renkli görüntü. b) Filtrelenmiş renkli görüntü. c) X eksenine karşılık gelen aydınlık seviyeleri. d) Y eksenlerine karşılık gelen aydınlık seviyeleri

seviyesi (siyah çizgi), Şekil 3.5.b'de verildiği gibi Gauss maskesi ile çarpılarak filtreleme işlemi yapıldığında maksimum değere ulaşır (kırmızı çizgi) (Şekil 3.5.c ve Şekil 3.5.d). Filtreleme işlemi, bir sonraki aşamada parçacık konumunu piksel altı hassasiyetle bulmak için önemli bir adımdır.

3.3.2.2. Parçacık konumlarının tespit edilmesi

Filtreleme işlemi kullanılarak tek bir parçacık için yapılan işlemler tüm görüntü üzerine uygulanarak gürültünün en aza indiği karanlık bir arka plan üzerinde daha parlak piksel değerleri elde edildi. Her noktanın en parlak pikseline karşılık gelen parçacık merkezini bulma işlemi gerçekleştirildi. Bir önceki adımda parçacığa geçirilen maskenin merkezi dışında kalan parlak alanlar ise parçacık konumunu daha hassas bir şekilde tespit etmek için kullanıldı (Crocker ve Grier 1996). Koloit parçacıklarının konumlarını tespit ederken işlenmemiş görüntüdeki parçacıklara uygulanan Gauss maskesinin merkezi parlaklık konumu her bir parçacık için hesaplandı. Aynı parçacık üzerinden birden fazla merkez bulmaktan kaçınmak ve parçacık konumlarını bulurken hatayı en aza indirmek için bu aşamada kullanılan maskenin boyutu, ya filtreleme adımında kullanılan Gauss maskesinin çapı kadar ya da bir kaç piksel büyüğünde oluşturulmalıdır. Örneğin, 7 ya da 9 piksellik bir alanı kaplayan parçacık için kullanılacak maske boyutunun 11 olarak seçilmesi, konum bulmadaki hatayı minimuma indirmeye yardımcı olur (Crocker ve

Hoffman 2007). Şekil 3.5.b'de Gauss maskesi geçirilmiş parçacık, maske boyutu 11 piksel olacak şekilde maskelendi ve Şekil 3.6'daki gibi daire içine alındı.

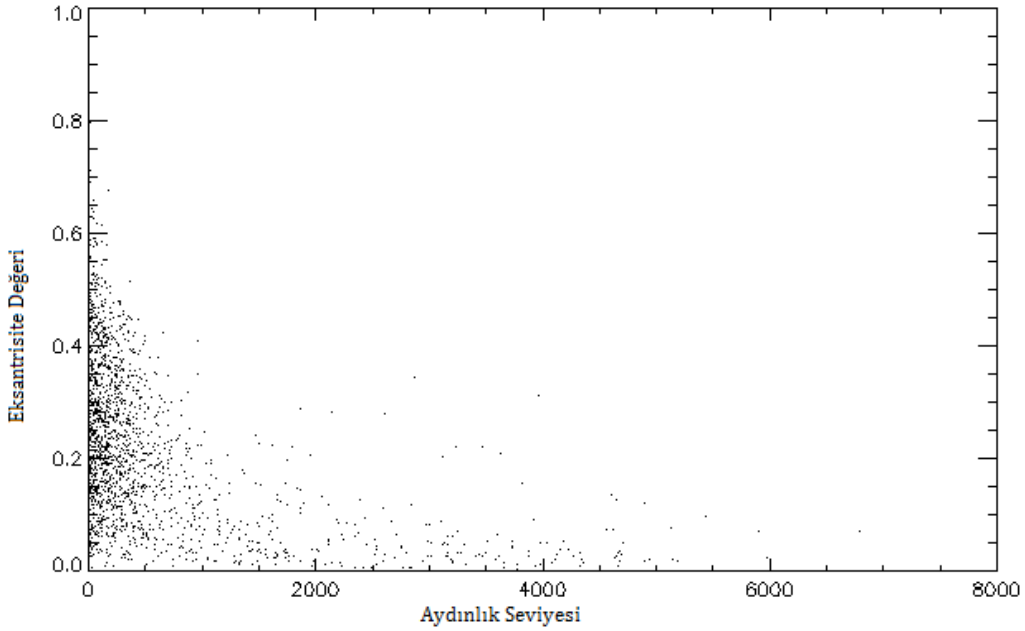


Şekil 3.6. Konumu belirli tek bir parçacığın merkezi parlaklık konumunun tespit edilmesi

Parçacıkların parlaklık merkezinden konumunu tespit ederken, Gauss maskesi uygulanan bölgede bulunan parçacıklar için x-y eksenlerindeki parlaklık merkez konumlarının yanı sıra parçacık merkez parlaklıkları, yarıçapları ve eksantrisitesi de bir sonraki aşamalarda kullanılmak üzere hesaplandı.

3.3.2.3. Sahte parçacıkları temizlemek

Filtrelenmiş görüntüde yer alan tüm parçacıkların parlaklık ağırlıklı maksimum noktaları hesaplanmıştı. Ancak bu işlemler sırasında ham görüntülerdeki gürültüler yeterince filtrelenmemiş olabilir. Böylesi durumların varlığı bir sonraki adımda merkezi konumlardan yola çıkarak tespit edilecek parçacık izlerinin bulunmasında ve ortamların mikro özelliği hakkında çıkarımlarda bulunurken hatalı yorumlara yol açar. Bu gibi durumları önceden tespit etmek için Şekil 3.7'de verilen parlaklığa karşı çizilen eksantrisite grafiğine bakılarak ilk olarak parlaklıkları düşük seviyede olan yerler belirlendi. Sonra eksantrisite değeri belirli bir değerin üzerinde olan değerler veri içinden çıkartıldı. Örneğin, deneyde kullanılan parçacıkların küresel olmalarından dolayı eksantrisitesinin 0'a yakın olması beklendiğinden analiz aşamasında 0,2'den büyük değere sahip olan veriler göz ardı edildi.

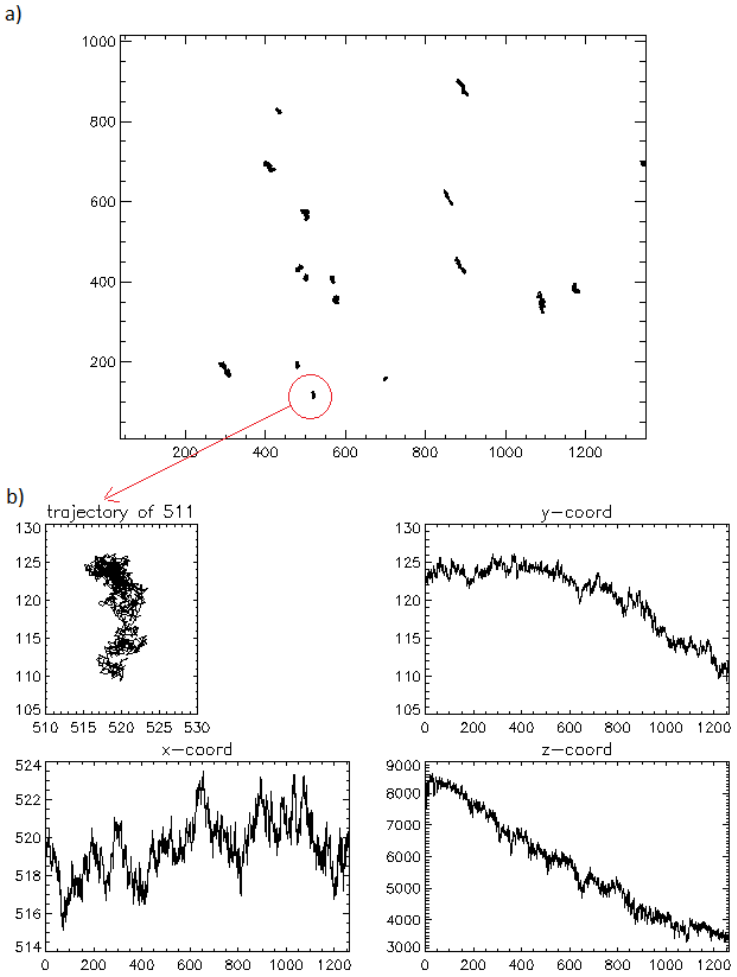


Şekil 3.7. Görüntü içinde bulunan parçacıkların aydınlık seviyesine karşı çizilen eksantrisite değeri

3.3.2.4. Konum ile izi birbirine bağlamak

Jel içinde 1 μm çaplı parçacıkların yaptığı Brownian hareketi 2x2 binleme ile saniyede yaklaşık 29 kare yakalayacak şekilde toplam 3480 kareden oluşan 2 dk'lık video kaydı alındı. Bu video kaydını oluşturan 3480 tane görüntü karesi tiff formatında kaydedildi. Tek bir görüntü karesine uygulanan adımların elde bulunan 3480 görüntü karesine uygulanmasıyla her bir görüntü karesinde bulunan olası parçacıkların merkezi parlaklıklarından konumları hassas bir şekilde hesaplandı. Elde edilen bilgiler kullanılarak her bir görüntüdeki parçacık konumu, kendisinden sonra gelen parçacık konumu ile birleştirilerek Şekil 3.8.a'daki gibi parçacık izleri oluşturuldu. 3480 görüntü karesinde konumları tespit edilip izi hesaplanan her bir parçacık numaralandırıldı. Örneğin z ekseni aydınlık seviyesini temsil etmek üzere 511 numaralı parçacığa ait x ve y eksenlerindeki konum bilgisi Şekil 3.8.b'deki gibidir.

Kamera gürültüsündeki rastgele dalgalanmaların görüntü kareleri içinde parçacıkmış gibi algılanan parlaklıklara yol açması gibi karşılaşılan belirli durumlar vardır. Ancak parçacıkmış gibi algılanan merkezi parlaklıklar kendisinden sonra gelen en fazla bir kaç karede görünür ya da hiç görünmez. Böylece gürültüden kaynaklı olan parlaklık merkezleri çok az sayıdaki ardışık karelerde görünse bile bunlar çok kısa yörüngeler oluşturur. Kolaylıkla tespit edilen bu durumlar ortadan kaldırılarak bu adımda



Şekil 3.8. a) 0,4 mM konsantrasyon değerine sahip E_3PA ve K_3PA karışımı içindeki her bir koloit parçacığın izi. b) 511 numaralı parçacığın izi

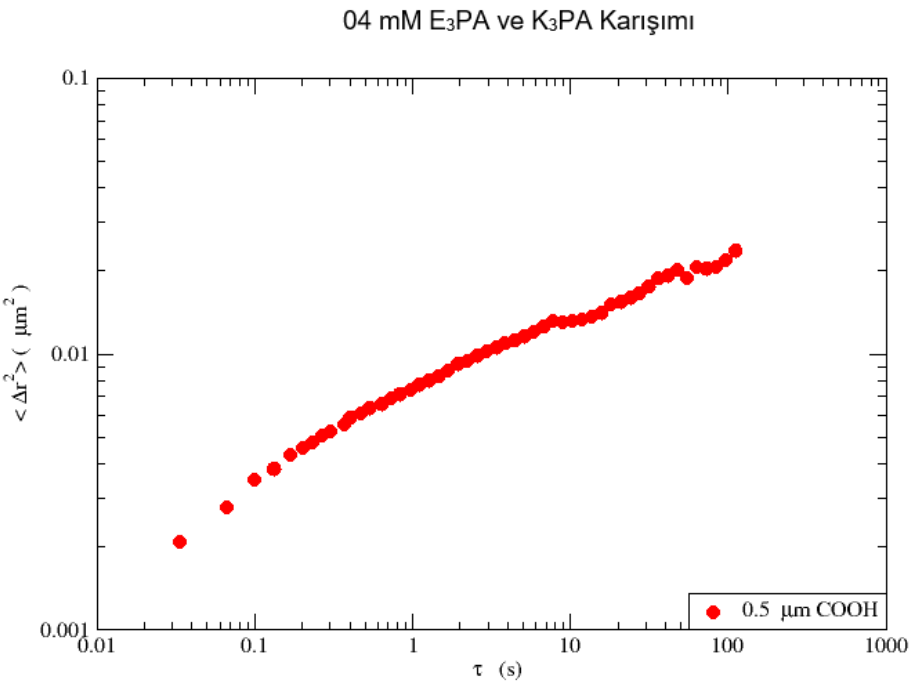
da görüntüyü gürültüden arındırma işlemi yapılır.

3.3.3. Parçacık izlerinden MSD verisini elde etme

Belirli filtreleme ve gürültü temizleme işlemlerinden sonra merkezi parlaklık konumları tespit edilen parçacıkların kendisinden sonra gelen ardışık karelerdeki konumları birbirlerine bağlanarak parçacıkların izleri elde edildi. Bu parçacıkların malzeme içindeki hareketini tek bir parçacık için ele alırsak eğer parçacığın hareketinin düzenli değil rastlantısal olduğu görünür (Şekil 3.8.b)

Matematiksel olarak MSD, belirli bir zaman içerisinde seyehat eden bir parçacığın yerdeğiştirmesinin karesinin ortalaması olarak ifade edilir ve burada bahsi geçen zaman τ gecikme zamanı olup, ardışık iki görüntü arasındaki süredir (Crocker ve Hoffman 2007). Önceki adımlarda her bir parçacık için ayrı ayrı hesaplanan x ve y koordinatlarının

ayrı ayrı karelerinin ortalaması alınarak hesaplanan $\langle \Delta r^2(\tau) \rangle$ (MSD) değeri, tüm τ gecikme zamanı üzerinden alınan topluluğun ortalamasını temsil eder. Örneğin, 0,4 mM konsantrasyon değerine sahip E_3PA ve K_3PA karışımı içindeki bütün parçacıklar üzerinden alınan topluluk ortalamalı MSD değerinin τ gecikme zamanına göre grafiği Şekil 3.9'daki gibidir.



Şekil 3.9. PA içindeki koloit parçacıklarının τ gecikme zamanının bir fonksiyonu olarak çizilen topluluk ortalamalı MSD grafiği

Ayrıca görüntü karesi içinde tespit edilen tüm parçacıklar üzerinden alınan topluluk ortalamalı MSD eğrisi, tek bir parçacık içinde yapılabilir. Böylelikle koloit parçacıkların PA içinde yaptıkları Brownian hareketlerinden ortamın reolojik özellikleri hakkında bilgi alınır.

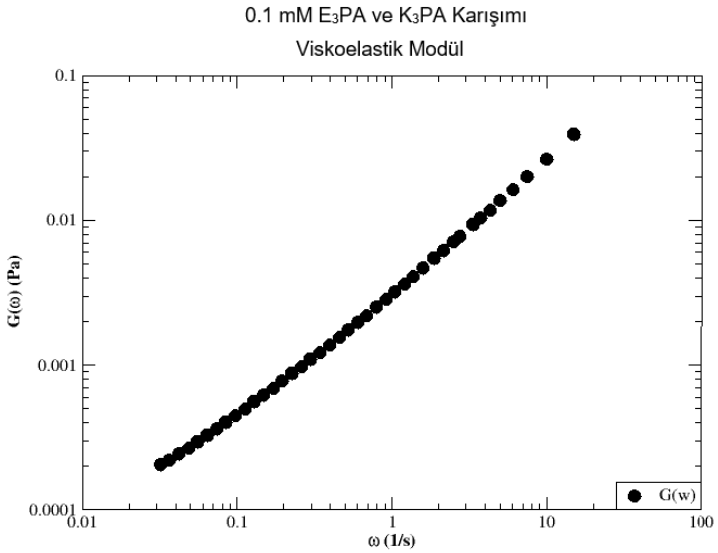
Malzeme içinde hareket eden koloit parçacıkların MSD değeri elde edilirken ardışık kareler arasındaki τ gecikme zamanı, her biririnin x ve y düzlemindeki yer değiştirmesi, x ve y düzlemindeki yer değiştirmenin karesi, iki boyuttaki MSD ($\langle \Delta r^2(\tau) \rangle$) değeri ve toplam işlem sayısı hesaplandı. Buradaki $\langle \Delta r^2(\tau) \rangle$ hesabı, Denklem 2.25'te verilen MSD denklemine göre gerçekleştirildi. Böylelikle ortamın reolojik özelliklerini belirlemede yapı taşı konumunda bulunan MSD değeri hesaplanmış oldu.

$$\left\langle \Delta x_i^2 \right\rangle = \left\langle \left| x_i(t+\tau) - x_i(t) \right|^2 \right\rangle$$

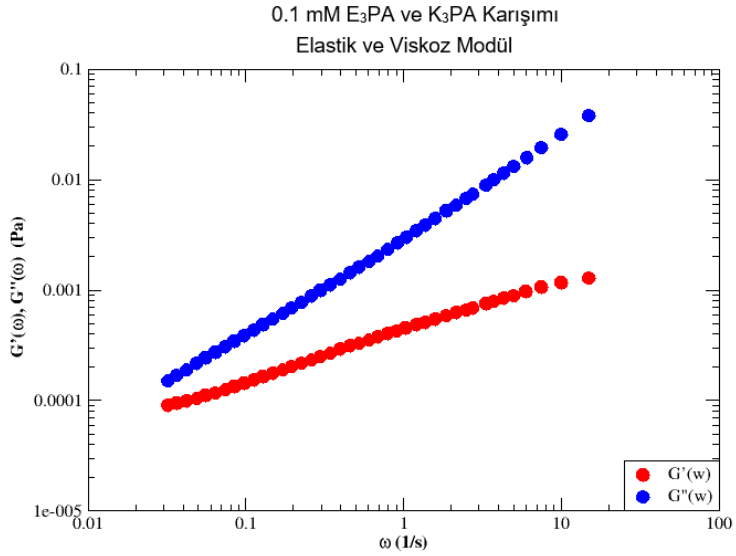
3.4. Ortamın Viskoelastik Özelliklerini Belirleme

Koloit parçacığının içinde bulunduğu ortamın viskoelastik özellik sergilemesi malzeme içinde Brownian hareketi yapan parçacıkların MSD değerlerinde farklılıkların olmasına sebep olur. Aynı malzemenin içinde farklı ortamları deneyimleyen koloit parçacıklarının içinde bulunduğu ortamın viskoelastik özelliğini belirmek için ihtiyaç duyulan MSD verileri bir önceki aşamada hesaplanmış olup veriler kaydedilmiştir.

MSD hesabı sırasında kaydedilen veriler kullanılarak ortamın viskoelastikliği hakkında sayısal olarak bilgi alındı. Eşitlik (2.1)'de verilen MSD ile ortamın viskoelastik modülü olan $\widetilde{G}(s)$ arasındaki ilişkiden yararlanılarak ortalama bir viskoelastik modül elde edildi. Şekil 3.10'da frekansın bir fonksiyonu olarak elde edilen 0,1 mM konsantrasyon değerine sahip PA jel yapısının $\widetilde{G}(s)$ viskoelastik modülü verilmiştir. Elde edilen viskoelastik modül elastik modül (G') ve viskoz modül (G'')'nün toplamı olup Şekil 3.11' deki gibi ayrı ayrım da ifade edilebilir.



Şekil 3.10. 0,1 mM konsantrasyon değerindeki peptit jelin viskoelastik modülü

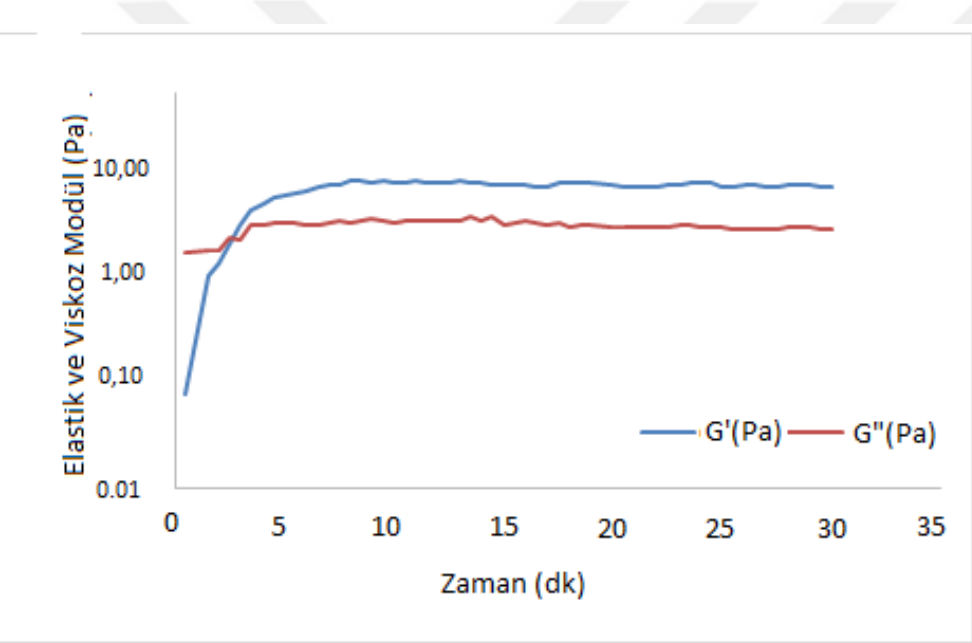


Şekil 3.11. 0,1 mM konsantrasyon değerindeki peptit jelin elastik (mavi) ve viskoz (kırmızı) modülü

4. BULGULAR

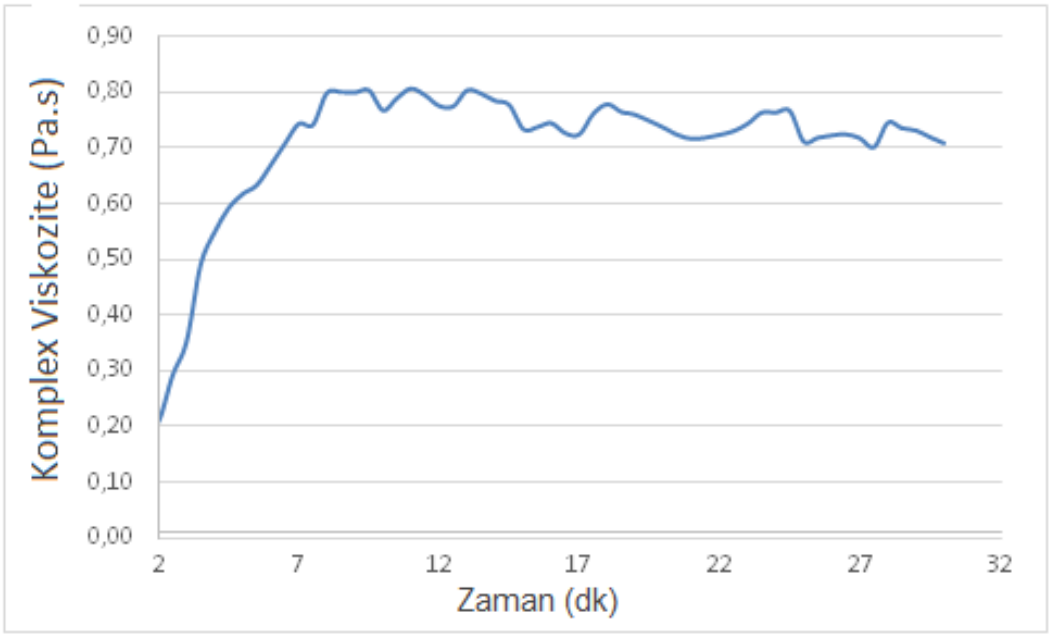
4.1. PA Nano Yapıların Mekanik ve Viskoelastik Karakterizayonu

Bu tez çalışmasında kullanılan peptit amfifil yapıları, bir araya geldikleri zaman nanofiber oluşumunu tetikleyen etkileşimler göz önünde bulundurularak tasarlandı. Reolojik ölçüm için 1 mM konsantrasyon değerine sahip E_3PA ve K_3PA yapılarının sulu çözeltileri sırasıyla 3:4 oranında karıştırıldı. Bir araya gelme olayının başlamasıyla birlikte oluşan nanofiber ağının viskoelastik özellikleri Bilkent UNAM'da salınımlı reometre kullanılarak incelendi. Bu ölçümler sonucunda viskoelastik özelliğe sahip nanofiber ağ yapısının enerjiyi depolayan elastik kısmının ($G^{'}$) enerjiyi dağıtan viskoz kısımdan ($G^{''}$) daha yüksek olduğu sonucuna ulaşıldı (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. E_3PA ve K_3PA yapılarının bir araya gelerek oluşturdukları peptit jel yapısının salınımlı reometre ile yapılan ölçüm sonucunda elde edilen elastik ($G^{'}$) ve viskoz ($G^{''}$) modülü

PA yapısının bir araya gelerek oluşturduğu ağın kompleks viskozite değerinin zamana bağlı değişimi Şekil 4.2 ile verilmiştir. Nanofiber oluşumunun başlamasıyla birlikte ortamın komplex viskozite değerinin 2-7 dk arasında artış sergilediği, zaman ilerledikçe ortamdaki ağın yoğunluğundan dolayı maksimum 0,8 Pa.s değerine ulaştığı görüldü.



Şekil 4.2. E_3PA ve K_3PA yapılarının bir araya gelerek oluşturdukları peptit jel yapısının salınımlı reometre ile yapılan ölçüm sonucunda elde edilen kompleks viskozite değeri

4.2. Viskoz ve Viskoelastik Bir Ortamdaki Parçacığın Brownian Hareketi ve MSD Değeri

Parçacıkların yapmış oldukları rasgele hareketten dolayı meydana gelen moleküler difüzyon Brownian hareketi ile ilişkilendirildi. Eşitlik (2.8)'de verilen tek boyuttaki ifade 2 boyutta genelleştirilirse tamamen viskoz bir ortamda Brownian hareketi yapan parçacığın MSD değeri ile ortamın difüzyon parametresi arasındaki ilişki Stokes-Einstein ilişkisi,

$$\eta = \frac{k_B T}{6\pi D r} \tag{4.1}$$

d boyut sayısı olmak üzere yukarıdaki gibi verilir. Parçacığın içinde tamamen difüze olduğu viskoz ortamın η viskozite katsayısı,

$$\left\langle r^2(\tau) \right\rangle = 2dD\tau \tag{4.2}$$

şeklinde verilir. Vizkoz ortamın izotropik oluşu D difüzyon parametresinin sabit olmasını gerektirir. Bu durumda MSD ve τ arasındaki ilişkiyi tanımlarsak,

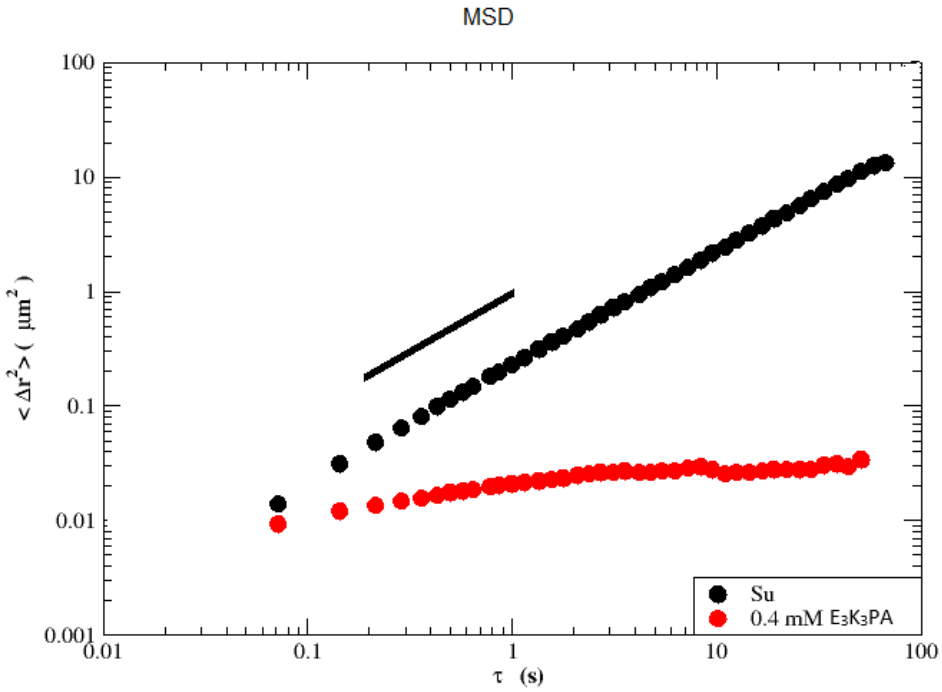
$$\left\langle r^2(\tau) \right\rangle \sim \tau^{\alpha}$$

elde edilir ve $\alpha = 1$ ise ortam izotropiktir denir. Ancak viskoelastik bir ortamda bulunan bir parçacığın hareketi bu kadar basit olmayacak, parçacık ortamın viskoelastikliğini yansıtacak şekilde hareket edecektir (Denklem 2.51).

$$\left\langle \Delta r^2\,(s) \right\rangle = \frac{k_B T}{\pi r s \widetilde{G}\,(s)}$$

Yukarıda bahsi geçen teorik bilgiler ışığında 0,5 μm çaplı karboksilatla kaplanmış koloit parçacıklarının tamamen vizkoz bir ortam olan sudaki ve 0,4 mM konsatrasyon yoğunluğuna sahip E_3PA ve K_3PA'nın oluşturduğu viskoelastik nanofiber ağındaki hareketliliği incelendi. Koloit parçacıklarının tamamen viskoz ve viskoelastik ortamdaki hareketini incelemek için τ gecikme zamanının fonksiyonu olacak şekilde topluluk üzerinden alınan ortalama MSD grafiği çizildi (Şekil 4.3).

Şekil 4.3'te su içindeki koloit parçacıklarının tamamen difüze olduğu ve $\langle \Delta r^2\,(s) \rangle$'nin τ gecikme zamanıyla birlikte lineer artış sergilediği görüldü. Ancak PA jel içinde bulunan parçacıkların hareketi τ gecikme zamanından bağımsız olduğu görülür. Yaklaşık 0,03 μm^2'de MSD eğrisi bir düzlüğe ulaştığı görülür. Bu da ağın elastikliğinin bir ölçüsü olmak üzere G' ~0,175 Pa değerinde olduğu bulundu.



Şekil 4.3. Viskoz ve viskoelastik ortam içindeki koloit parçacığının τ gecikme zamanına göre çizilen MSD eğrisi

4.3. PA İçindeki Koloitlerin Brownian Hareketi

Akdeniz Üniversitesi Histoloji Bölümü'ndeki floresan mikroskopu ile alınan video görüntüler IDL görüntü analizi programı kullanılarak aşağıdaki adımlar takip edildi:

- görüntüyü onarma
- parçacıkların konumlarını tespit etme
- parçacıkmış gibi algılanan gürültülerden görüntüyü temizleme
- konum ile yörüngeyi birbirine bağlama

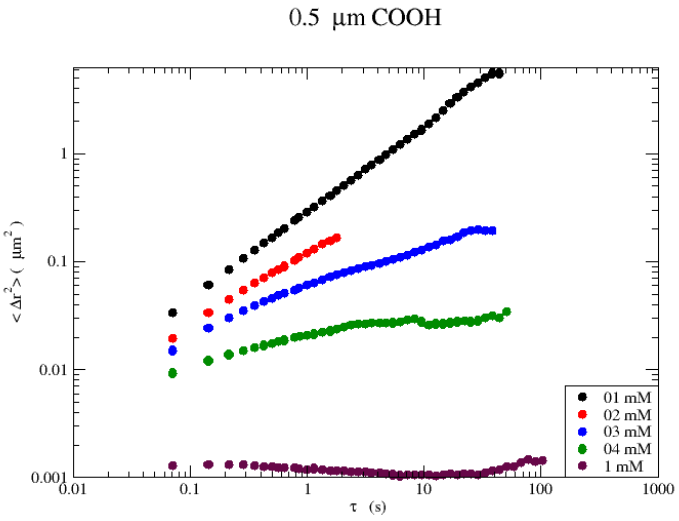
Elde edilen izler kullanılarak parçacıkların bulunduğu ortam içinde yaptığı Brownian hareketinin bir ölçüsü olan MSD değerleri elde edilerek parçacıkların keşfettiği ortamların özellikleri belirlendi. Farklı çap ve yük değerlerine sahip parçacıklar kullanılarak parçacık çapının mikroreoloji ölçümlerindeki önemi, parçacık yükünün ortamın reolojik özelliklerini değiştirip değiştirmediği ve aynı malzeme içindeki farklı mikro ortamların heterojenliği hakkında araştırmalar yapıldı.

4.3.1. Farklı yoğunluklu ortamda bulunan koloit parçacığı

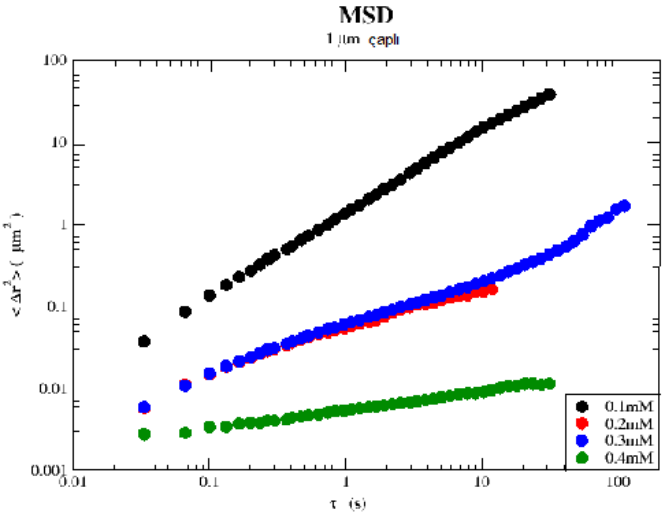
Bu çalışmada ilk olarak 0,5 μm çapa sahip karboksilatla kaplı koloit parçacığının farklı yoğunluklu ortamlarda yapmış olduğu Brownian hareketi incelendi. Yoğunluk değerinde alt sınır değer olarak belirlenen 0,1 mM konsantrasyon değerinden başlayarak sırasıyla 0,2-0,3-0,4 ve 1 mM yoğunluğundaki peptit jel içinde koloit parçacıklarının Brownian hareketi video kamera ile görüntülendi. IDL'de bahsi geçen adımlar her bir durum için tekrarlanmış olup gerekli hesaplamalar yapıldıktan sonra Şekil 4.4 elde edildi.

Bir sonraki aşamada 1 μm çapa sahip karboksilatla kaplı koloit parçacığın 0,1-0,2-0,3 ve 0,4 mM yoğunluklu ortamda yaptığı Brownian hareketi kaydedilerek görüntüler IDL'de işlendi. Ortam yoğunluğunun artmasıyla nanofiber miktarının artması 1 μm çapa sahip parçacıkların daha az titreşim yapmasına neden olduğu gözlendi. Bu sebeple çapı 1 μm olan parçacıklar için ölçümün yapılabileceği ortam yoğunluğunun son limiti olarak 0,4 mM belirlendi. Artan yoğunluklu ortamda 1 μm çapa sahip parçacıkların MSD eğrisi Şekil 4.5'teki gibi elde edildi.

Her iki negatif yüklü parçacıkların keşfettiği mikro ortamlar üzerinden alınan topluluk ortalamalı MSD değerinin, fiber yoğunluğunun az olduğu konsantrasyon miktarlarında yüksek olduğu gözlendi. Ancak düşük yoğunluklu ortam içinde parçacıklar tam difüzif hareket etmemekle birlikte, yüksek konsantrasyon değerlerine göre bu ortamda daha rahat ettiği gözlendi.



Şekil 4.4. Farklı konsantrasyonlara sahip PA jel içindeki 0,5 μm çaplı karboksilatla kaplanmış koloit parçacığın MSD grafiği

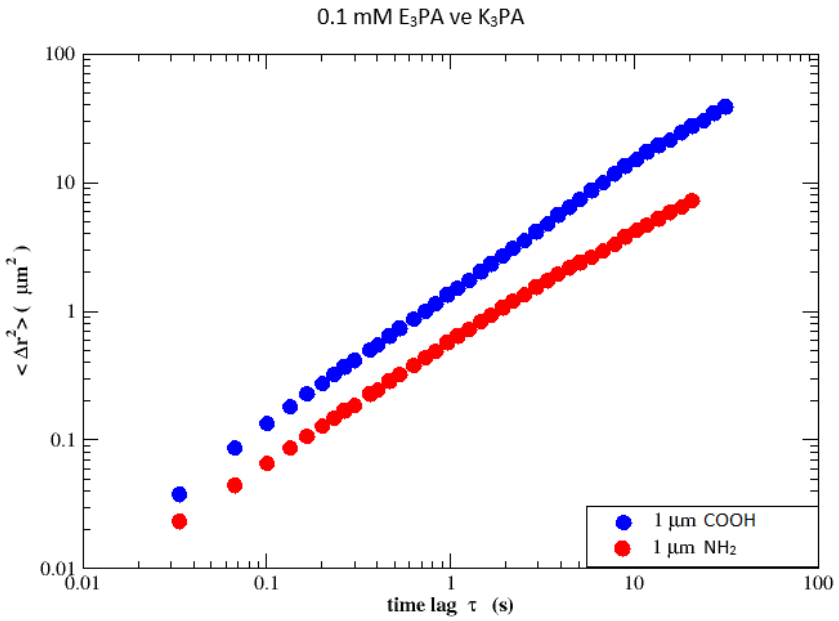


Şekil 4.5. Farklı konsantrasyonlara sahip PA jel içindeki 1 μm çaplı karboksilatla kaplanmış koloit parçacıklarının MSD grafiği

4.3.2. Aynı özellikli ortamdaki zıt yüklü parçacıklar

E_3PA ve K_3PA moleküllerinin kimyasal yapılarında bulundurdukları (Şekil 3.1) zıt yüklü amino asitlerin varlığı gerekli fizyolojik koşullar altında bir araya geldiklerinde aralarında meydana gelen elektrostatik etkileşimler, oluşan hidrojen bağları ve hidrofobik etkileşimlerden dolayı kendiliğinden düzenlenme sürecine girerler. Bir araya gelme sürecinin başlamasıyla birlikte nötürlenen yapının içine aynı çapa sahip zıt yüklü amin ve

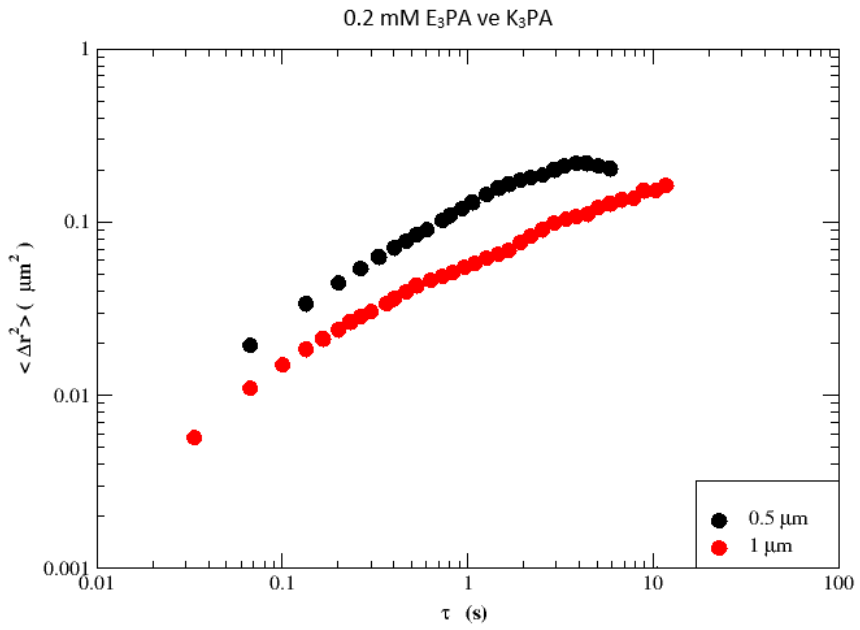
karboksilatla kaplı parçacıklar ayrı ayrı eklendi. Bunu yapmaktaki motivasyon kaynağı parçacık ile ağ arasında herhangi bir etkileşin olup olmadığını incelemektir.
İlk olarak karboksilatla kaplı parçacık 0,1 mM yoğunluklu PA jel yapısı içine bırakıldı. Bu ortamda parçacıkların yaptığı Brownian hareketinin video görüntüsü kaydedildi ve IDL'de gerekli aşamalardan geçirilerek parçacık izlerinden MSD değerleri hesaplandı. Aynı işlemler bu kez de amin kaplı parçacıklar için yapıldı ve farklı yüke sahip parçacıkların aynı ortamda yapmış oldukları Brownian hareketi Şekil 4.6 ile gösterildi. Görüntü karesi içinde bulunan tüm parçacıklar üzerinden hesaplanan topluluk ortalamalı MSD eğrisi incelendiğinde negatif yüklü koloit parçacıklarının pozitif yüklü parçacıklara nispeten daha fazla hareket ettiği görüldü.



Şekil 4.6. 1 μm çaplı zıt yüklü koloit parçacıklarının 0,1 mM yoğunluklu ortamda yaptıkları Brownian hareketinin grafiği

4.3.3. Aynı özellikli ortamdaki aynı yüklü farklı çaplı koloit parçacıkları

Burada aynı koşullar altında aynı konsantrasyon değerine sahip ortama bırakılan parçacıkların ağ içinde yaptıkları hareketin incelenmesi sonucu ortamdan yansıttıkları karakteristik özellikler incelenmiştir. 0,2 mM yoğunluklu PA jeli içine gömülen karboksilatla kaplı 1 μm ve 0,5 μm çaplı parçacıkların yapmış olduğu hareketten alınan bilgiler ışığında Şekil 4.7 elde edildi.

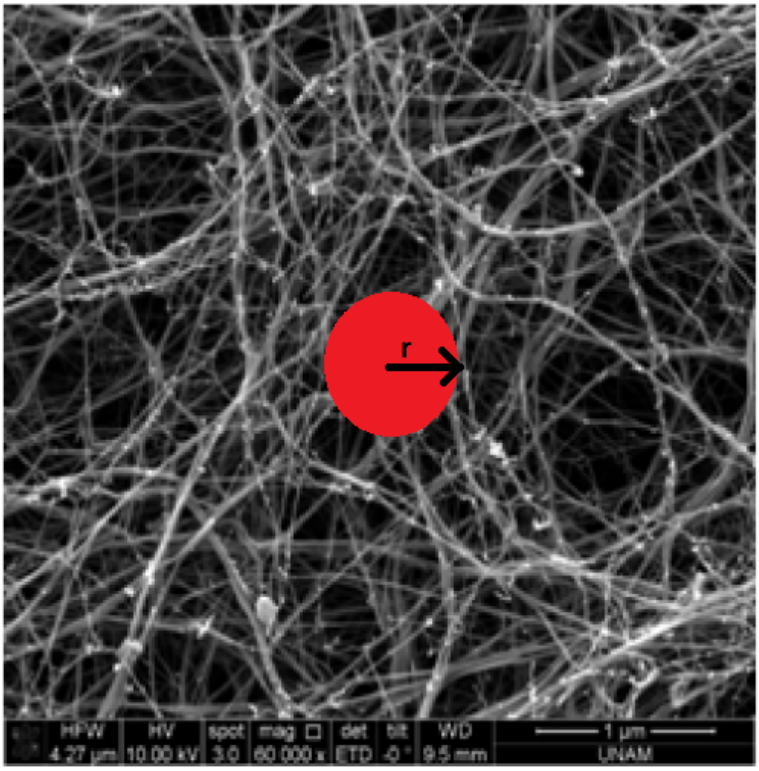


Şekil 4.7. 1 μm ve 0,5 μm çaplı negatif yüklü koloit parçacıklarının 0,2 mM yoğunluklu ortamda yaptıkları Brownian hareketinin grafiği

4.4. PA Ağının Gözenek Boyutu ve Parçacık Boyu Arasındaki İlişki

Parçacık izleme deneylerinde koloit parçacıkları ile ağ arasındaki etkileşimin olmadığı durumlarda veriler yorumlanırken izleyici çapının ve malzeme yapısını oluşturan ağın gözenek boyutu oldukça önemli bir yere sahiptir. Bu tez çalışmasında kullanılan PA moleküllerinin bir araya gelerek oluşturduğu nanofiber ağının SEM görüntüsü Şekil 3.5-b'de verilmiştir. 1 mM konsantrasyon değerine sahip E_3PA ve K_3PA hacimsel olarak 3:4 oranında karıştırılmasıyla elde edilen nanofiber ağına 0,5 μm çaplı negatif yüklü parçacığın eklenmiş hali Şekil 4.8 ile verilmiştir.

Nanofiber çapının yaklaşık 20 nm olduğu jel yapısı içinde bulunan koloit parçacığının çapı, böylesine yoğun nanofiberlerin bulunduğu ortamın gözenek boyutundan çok büyük olduğu görünmektedir. Ancak konsantrasyon miktarının azalması ortamdaki nanofiberlerin oluşturduğu ağ yapısının gözenek boyutunu etkilemektedir. Şekil 4.4, farklı konsantrasyon değerindeki PA yapısı içindeki 0,5 μm çaplı negatif yüklü parçacıkların hareketinden elde edilen topluluk ortalamalı MSD eğrisini göstermektedir. Bu grafikte yeşil küçük noktalarla temsil edilen 0,4 mM konsantrasyon yoğunluğuna sahip PA yapısı içindeki parçacıkların belirli bir zamandan sonra MSD eğrisinde görünen düzlük 2 farklı şekilde yorumlanabilir. Bunlardan ilki, parçacık çapı ağın gözenek boyutundan büyükse parçacığın hareketi ağın elastikliğinin bir ölçüsüdür ve bu durum



Şekil 4.8. 1mM'lık PA nanofiber ağı içindeki 0,5 μm çaplı negatif yüklü parçacık

Denklem (2.53) ile verilir.

$$\left\langle \Delta x^2 \left(\tau \to \infty\right)\right\rangle = \frac{k_B T}{\pi G' r}$$

0.4 mM konsantrasyon değerine sahip sistemin MSD eğrisinde düzlüğün meydana geldiği $\left\langle \Delta r^2 \left(\tau \to \infty\right)\right\rangle$ değeri, Denklem 2.53'te yerine konulduğu zaman ağın elastikliğinin ölçüsü $G^{'} \sim 0;0887$ Pa çıkmaktadır.

MSD'de gözlenen bu durumun bir diğer sebebi ise parçacık hareketinin ağ gözenek boyutunun bir ölçüsünü yansıtması olabilir. Eğer parçacık ağ gözeneğinin içindeyse ξ gözenek boyutu olmak üzere bu durum Denklem (2.54) ile ifade edilir.

$$\xi = r + \left\langle \Delta x^2 \left(\tau \to \infty\right)\right\rangle^{\frac{1}{2}}$$

Yukarıdaki denklemden yola çıkarak 0,4 mM konsantrasyon değerine sahip ağ içindeki 0,5 μm çaplı negatif yüklü parçacıkların hareketinden elde edilen bilgiyle ağın gözenek boyutu ξ ~0,67 μm çıkmaktadır.

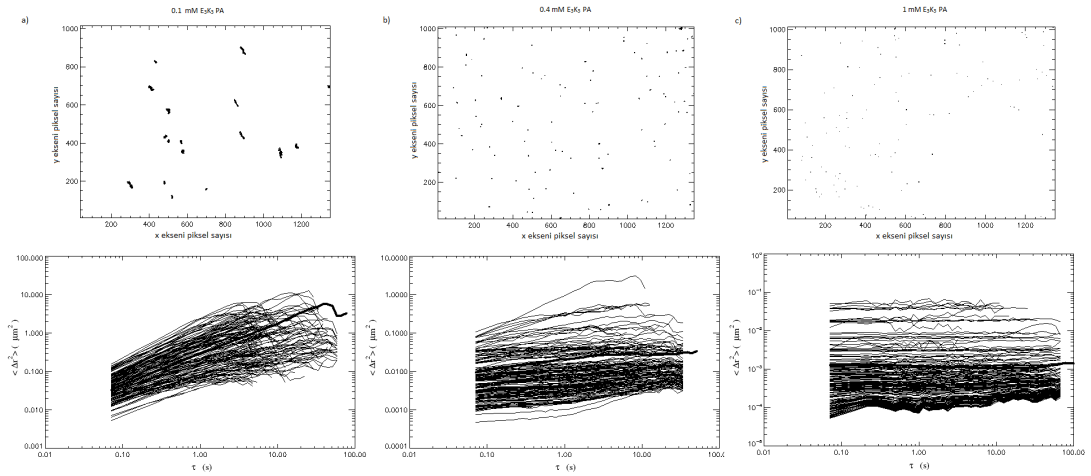
4.5. Bölgesel Heterojenliğin İncelenmesi

Video mikroskop kullanılarak desteklenen pasif mikroreoloji tekniğinin güçlü taraflarından biriside bölgesel heterojen yapıları açığa çıkarabilmesidir. Malzeme içindeki farklı bölgelerin yapısal özellikleri klasik reometreler kullanılarak ölçülemez. Ancak bu teknikle jel içine gömülü parçacıkların MSD verileri ayrı ayrı hesaplanarak her bir parçacığın deneyimlediği ortamın özellikleri hakkında bilgi sahibi olunabilir.

4.5.1. Ayrı ayrı her bir parçacığın keşfettiği mikro ortamlar

PA içinde bulunan parçacıkların yaptığı Brownian hareketi, içinde bulunduğu yapının özelliği hakkında bilgiler taşır. Ancak topluluk üzerinden alınan ortalama tepki, ortamın mekaniğini anlama konusunda değerli bilgiler versede parçacıkların içinde olduğu mikro ortamları karakterize etmede başarılı değildir. Bu nedenle parçacıkları ayrı ayrı incelemek mikro ortamları karakterize etmede kolaylık sağlar.

0,1 mM, 0,4 mM ve 1 mM yoğunluk değerlerine sahip PA nanofiber jel yapısının mikro ortamlarını keşfetmesi için 0,5 μm çaplı karboksilatla kaplı koloit parçacığı kullanıldı. Koloit parçacıklarının içinde bulunduğu ortamda yaptıkları Brownian hareketleri incelendi ve tek tek bütün parçacıkların izi hesaplandı. İz hesaplanırken her bir parçacığa ait bilgi korunarak gerekli kodlar yazıldı. Ayrı ayrı her bir parçacığın τ gecikme zamanına karşı $\langle \Delta r^2(\tau) \rangle$ grafikleri Şekil 4.9'deki gibi çizildi.



Şekil 4.9. 0,5 μm'lik koloit parçacıklarının keşfettiği mikro ortamlar. a) 0,1 mM'lık PA içindeki koloitlerin izi ve bireysel MSD eğrileri. b) 0,4 mM'lık PA içindeki koloitlerin izi ve bireysel MSD eğrileri. c) 1 mM'lık PA içindeki koloitlerin izi ve bireysel MSD eğrileri

Ortamdaki nanofiber yoğunluğunun artmasıyla birlikte parçacık hareketlerinin yavaşladığı görülmektedir. Şekil 4.9'daki a, b ve c grafiklerinde koyu çizgi tüm koloit parçacıkları üzerinden alınan ortalama MSD eğrisini temsil etmektedir. 0,1

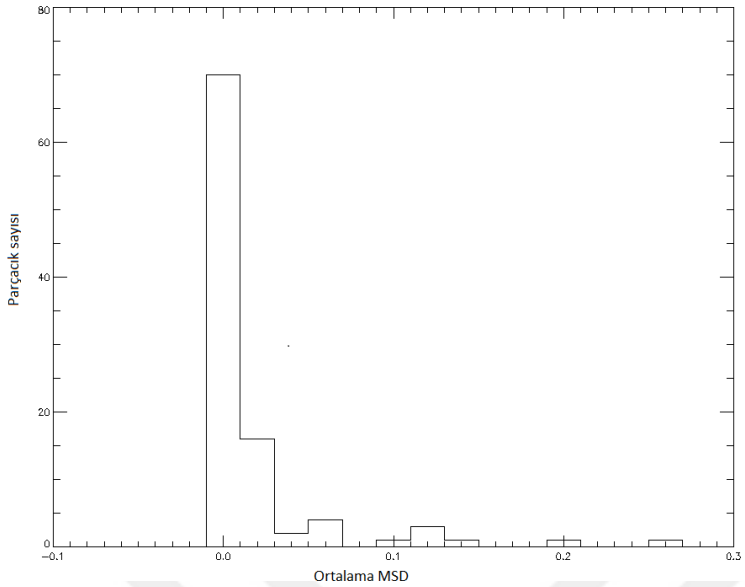
mM yoğunluklu PA içinde bulunan toplam 123 parçacığın MSD verilerinin topluluk ortalama değeri yaklaşık 0,476 μm^2 bulundu. Şekil 4.9'da görüldüğü üzere her bir koloit parçacığının içinde bulunduğu mikro ortamın reolojik özelliğini yansıttığı görünür. Konsantrasyon miktarının artmasıyla ortamda bulunan nanofiber miktarıda artış gösterir. Ortamın yoğunluğunun artması parçacık hareketliliğinin azalmasına yol açar. 0,4 mM konsantrasyon değerine sahip PA yapısının mikro ortam çeşitliliği 0,1 mM'a göre daha fazla olduğu gözlenir. 0,4 mM içinde izi sürülen toplam 158 parçacık üzerinden hesaplanan topluluk ortalamalı MSD değeri 0,0234 μm^2 olup ortalama 0,152 μm'lik yer değiştirme mevcutken, 462 numaralı parçacık yaklaşık 1,19 μm yer değiştirmiştir. Yoğunluğun maksimum olduğu 1 mM konsantrasyon değerindeki PA jelin diğerlerine göre daha sert olduğu ve parçacıkların ortalama 0,036 μm hareket ettiğini gösterir. Her bir koloit parçacığının deneyimlediği farklı ortamların varlığı Şekil 4.10'daki gibi histogram çizilerekte gösterildi. Şekil 4.10'da 0,3 mM konsantrasyon değerine sahip ortamda bulunan 0,5 μm çaplı parçacığın ayrı ayrı MSD eğrisi ve histogramı gösterildi.

4.5.2. PA içindeki farklı mikro ortamların haritalandırılması

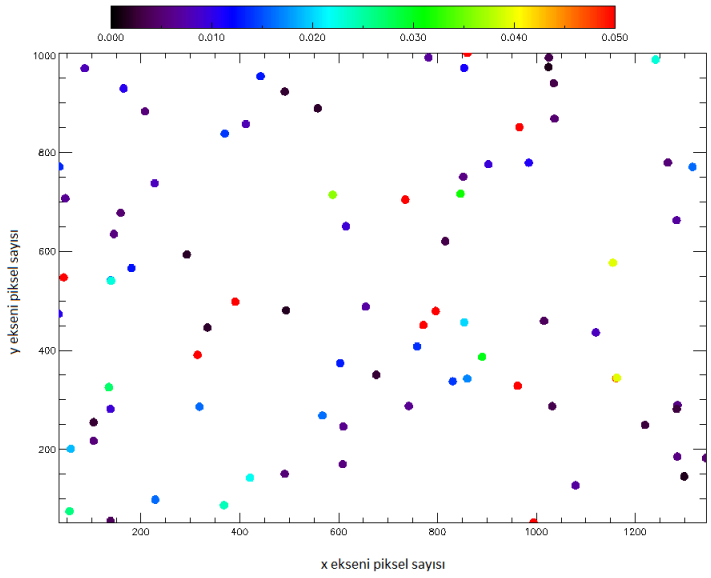
Görüntü analizi programı kullanılarak gerekli hesaplar sonucu elde edilen her bir parçacığa ait MSD verisinden, parçacıkların içinde bulunduğu heterojen yapının hangi parçacığa denk geldiği haritalandırıldı. Haritalandırmada kullanılan renkler parçacıkların MSD büyüklüklerine göre belirlendi. Kırmızı renkli olanlar heterojen yapı içinde bulunan koloitlerin en rahat hareket edebildiği bölgeyken koyu mor ve lacivert olan renkler MSD değeri küçük olan parçacıkların bulunduğu daha sert yapıyı temsil etmektedir. 0,3 mM PA içinde bulunan 0,5 μm çaplı negatif yüklü koloit parçacıklarının MSD verilerinden edinilen bilgiyle histogramı çizildi (Şekil 4.10). Histogramdan yola çıkarak ortalama MSD değeri 0,05 μm^2 (yaklaşık 0,22 μm'lik bir yerdeğiştirme) ve üstü olanlar Şekil 4.11'de görüldüğü gibi 10 parçacık kırmızı ile etiketlendi.

4.6. PA Ağının Viskoelastik Özellikleri

Jelin içine gömülü parçacıkların jel içinde yaptıkları Brownian hareketinden elde edilen MSD verileri düşük yoğunluklu jel sistemlerinde daha yüksek değerde çıkmaktadır. Bu durum parçacık hareketinin ağ yoğunluğunun artmasıyla birlikte kısıtlandığını göstermektedir. 0,5 μm çaplı negatif yüklü koloit parçacıklarının MSD verilerinden edinilen bilgiyle hesaplanılan G, G' ve G'' değerleri Şekil 4.12'deki gibi elde edilmiştir. MSD verilerine paralel olarak yoğunluk arttıkça G viskoelastik modül değerleri de artmıştır. Burada yaklaşık olarak 1000 kat bir veri aralığı (0,001 -1 Pa) mevcuttur. Yoğunluğun en fazla olup yer değiştirmenin en az olduğu 1 mM'lık jel içindeki koloit parçacıklarının G'' değerleri belli bir frekans değerinden sonra ölçülemeyecek kadar küçük çıkmıştır. Ortamın elastikliğinin viskozluğundan daha büyük olduğu bariz açık olan bir sistemde yapılan ölçüm sonucunda orataya çıkan $G'>G''$ ifadeside bu durumu destekler niteliktedir. Ayrıca 0,4 mM ve 0,3 mM yoğunluklarında da aynı durumlar ortaya çıkmıştır. Nispeten daha akışkan olduğu tahmin edilen 0,1 mM



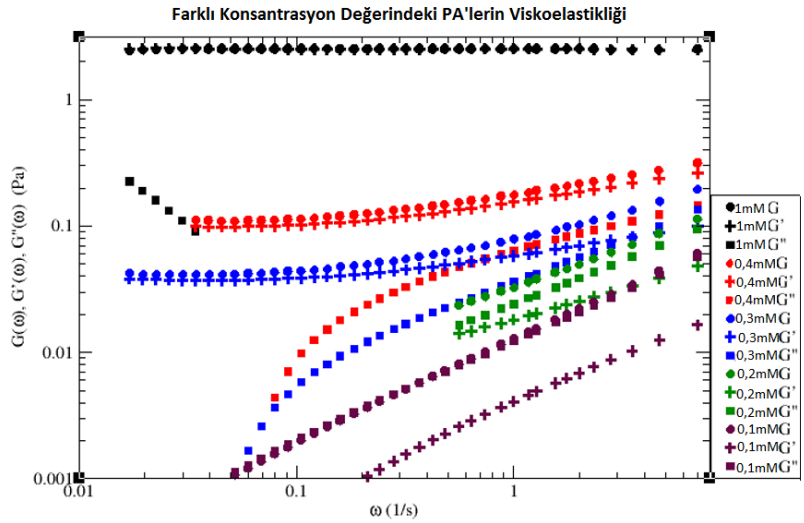
Şekil 4.10. 0,3 mM yoğunluklu PA içindeki 0,5 μm'lik koloit parçacıkların ortalama MSD histogramı



Şekil 4.11. 0,3 mM yoğunluklu PA yapısının renkli gösterimi

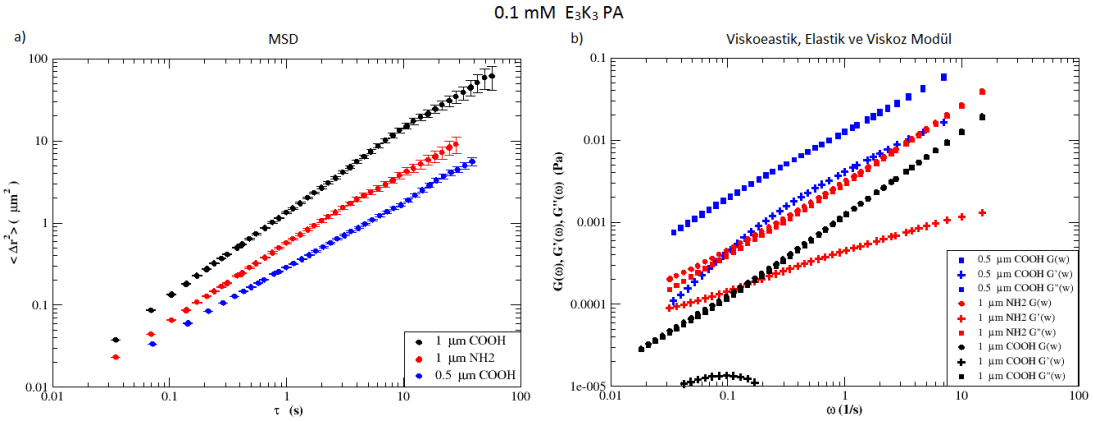
ve 0,2 mM yoğunluklarda ise $G' = G''$ olduğu frekanslar mevcuttur ve bütün yoğunluklar bu veriler ışığında viskoelastik özellik göstermektedir. Benzer ilişkiler 1 μm çaplı negatif yüklü koloit parçacıkları içinde gözlendi.

Ortamın mikreojik özelliklerini belirlemede anahtar rol üstelenen MSD değeri, ortamın elastikliği hakkında bilgi verir. 0,1 mM yoğunluklu PA jeli içindeki 0,5 μm çaplı koloit parçacıklarının MSD değerinin fazla olduğu 1 μm çaplı negatif yüklü parçacıklar



Şekil 4.12. 0,5 μm çaplı negatif yüklü koloit parçacığının farklı konsantrasyon değerlerinde yansıttığı modüller

üstünden alınan topluluk ortalamalı viskoelastik değeri en düşük olan değeri verdiği (siyah noktalar)durum Şekil 4.13'te gösterildi.



Şekil 4.13. a) 0,1 mM PA içindeki 0,5 μm çaplı (mavi içi dolu daire) ve 1 μm çaplı(siyah içi dolu daire) negatif yüklü koloitler ile 1 μm çaplı pozitif yüklü parçacıkların (kırmızı içi dolu daire) MSD eğrisi. b) Viskoelastik modül (içi dolu daire), elastik modül (artı) ve viskoz modül (içi dolu kare)

5. TARTIŞMA

Mikroreolojik ölçümlerde kullanılan koloit parçacıklarının malzeme içinde yaptıkları Brownian hareketi, parçacık ve ağ arasındaki yapısal ve kimyasal etkileşimlerin yanı sıra içinde bulundukları mikro ortamlardaki elastik ve viskoz kuvvetlere karşı da çok duyarlıdır. Bu durum bize karmaşık yapılı malzemelerin bir takım özelliklerini belirlemede fırsat sunar. Ancak PA nanofiber yapısının oluşumundaki rastgele sürecin bilinmemesi belirli verileri yorumlarken bir takım hatalara yol açabilir. Genel olarak malzeme içinde bulunan koloit parçacıkları ile malzeme arasında meydana gelen kimyasal özellikler göz ardı edilemez ve nanofiberlerin çok olduğu yüksek yoğunluklarda, ağ yapısının viskoelastik özellikleri yorumlarınırken bir takım sorunları doğurur. Bu sebeple karmaşık biyomalzemelerin karakteristik özellikleri incelenirken koloit parçacığının ağ ile etkileşime girip girmediği kontrol edilmelidir. Çünkü ağ ile etkileşime giren koloit parçacıklar ağın yapısal özelliklerini değiştirebilir.

Jelin içine gömülü parçacıkların ortalama kare yerdeğiştirme verileri düşük yoğunluklu jel sistemlerinde daha yüksek değerde çıkmakta olup, bu sonuç parçacıkların düşük yoğunluklu ortamda daha fazla hareket ettiği sonucunun bir yansımasıdır. Şekil 4.4'te görüldüğü gibi parçacıkların hareketlerinden edinilen bilgiye göre yoğunluk arttıkça jel sistemlerinin daha elastik bir durum sergilediği gözlenmektedir. Bu sonuç parçacıkların bulundukları mikro ortamda daha az titreştiklerini ve jel yoğunluğunun artması ile titreşimlerin bağıntılı bir şekilde azalmakta olduğunun göstergesidir. En yoğun jel sisteminde ağın elastikliği en üst düzeye doğru çıkmış ve MSD değerleri neredeyse zamandan bağımsız olarak aynı değeri göstermekte olduğu gözlenmiştir.

Bir başka sonuç işe hiç bir yoğunlukta sistem tamamen viskoz değildir. Yani sistemlerin hiç birinde parçacıklar tam anlamıyla difüze olmamıştır. Viskoz bir sistemde MSD, geciken zamanın birinci dereceden bir fonksiyonudur ve eğimin 1 olması beklenir. Elimizdeki sistemin MSD verilerinde $\langle \Delta r^2(\tau) \rangle$ ifadesi τ gecikme zamanından bağımsız olup α<1'dir. Bu durum bulgular kısmında Şekil 4.3 ile ifade edilmiştir. Bu özellik sistemimizi viskoz sıvılardan ayıran özelliklerden biridir. En düşük jel yoğunluğunda dahi sistemin viskoz olmadığı gözlenmiştir. Bu analiz sayesinde bir jel sisteminin sol-jel geçişi detaylı bir şekilde çalışılabilir. MSD verileri μm^2 cinsinden olup 0,1 mM ve 1 mM peptit molekül yoğunlukları arasında 1000 katlık bir değişim söz konusudur.

Bu tez çalışmasında kullanılan PA nanofiber jel yapısının en yüksek konsantrasyon değerinde olduğu 1 mM'da ağ gözenek boyutunun kullanılan parçacık çaplarına göre çok çok düşük oluşu ($r \gg \xi$), bizi ortam elastikliğinin sürekli olduğu sonucuna götürmektedir (Şekil 4.12). Ancak yoğunluğun azalması ile birlikte ortamda bulunan fiber miktarının azalması, ağ gözenek boyutunun artmasına neden olur ve bu durumda parçacık hareketleri 2 farklı şekilde yorumlanır. Bunlardan ilki parçacık çapı r'nin gözenek boyutu ξ'den çok büyük olduğu durumdur. Bu durumda parçacığın hareketi direkt olarak ağın elastikliğinin bir ölçüsüdür ve Denklem (2.53) ile ifade edilir. 0,4 mM yoğunluklu PA için bu durum incelendiğinde ağın elastiklik modülü 0,087 Pa çıkmıştır. Şekil 4.12'de 0,4 mM

yoğunluklu ağın elastik modülü yaklaşık 0,1 Pa olarak görünmekte olup bu yaklaşımın doğruluğunu destekler niteliktedir. İkincisi parçacık çapı ile ağın gözenek boyutunun neredeyse birbirine yakın olduğu durumdur. Bu durumda parçacığın hareketi, içinde bulunduğu içi sıvı dolu ağın gözenek boyutunun bir ölçüsüdür. 0,4 mM yoğunluklu PA içinde hareket eden parçacıklardan edinilen bilgiyle ağ gözenek boyutunun yaklaşık olarak 0,67 μm olduğu bulundu. Bu değer, ölçüm için kullanılan parçacık boyutundan yaklaşık 0,17 μm daha fazladır.

Tek parçacık mikroreolojisinde her bir parçacığın içinde bulunduğu mikro ortamların özelliklerini yansıttığı varsayılır ve bu sebeple keşfedilen bu ortamlar mikroreoloji deneylerinde heterojenliğin yorumlanmasında büyük önem taşımaktadır. Bulgular bölümünde ele alınan her bir parçacığın keşfettiği mikro ortamlar Şekil 4.9 ile özetlenmiştir. Ortamda nanofiber yoğunluğunun artması parçacık hareketliliğini etkilediği açıkça gözlenmektedir. Ayrıca nanofiber yoğunluğunun artması malzeme içinde Brownian hareketi yapan her bir parçacığın keşfettiği mikro ortamın özelliklerini de değiştirmektedir. Şekil 4.9'da görüldüğü üzere 0,4 mM konsantrasyon değerine sahip ortamda bulunan 0,5 μm'lik koloitlerin keşfettiği ortamın çeşitliliği 0,1 mM'lık sisteminkine göre daha fazladır. 1 mM konsantrasyon değerine sahip ortamdaki parçacıkların keşfettiği mikro ortamların durumu ise bir bütün olarak ele alındığında kendi içerisinde tutarlı heterojenliklere sahip olduğu bilgisine ulaşılmaktadır.

PA içinde bulunan koloit parçacıklarının keşfettiği mikro ortamlar, tek parçacık mikroreoloji tekniği ile incelendi. Parçacıkların MSD verileri kullanılarak parçacığın malzeme içindeki yerleri tespit edildi ve bulundukları bölgeler parçacıkların hareket edebilme kabiliyetlerine göre renklendirildi (Şekil 4.11). Bu verilerden yola çıkarak kesin bir sonuç olmamakla birlikte parçacık hareketlerinin birbirlerinden bağımsız olduğunu söylenebilir.

6. SONUÇ

Mikroreoloji deneylerinde koloit parçacıkları kullanılarak gerçekleştirilen tek parçacık izleme deneylerinde verilerin yorumlanmasının ne derece hassas ve önemli olduğu literatürde geniş bir şekilde ele alınmıştır. Bu sebeple elde edilen verilerin yorumlanması sırasında belirsizlikleri en aza indirmek için kullanılan parçacıkların çapının ve yüklerinin ve ağ ile etkileşime girip girmediğinden emin olmak gerekmektedir.

Bu tez çalışmasında iki çift farklı peptit molekülünün oluşturduğu amiloid benzeri nanojel yapılarının mikroreolojik ölçümlerinin yapılması amaçlanmıştır. E_3PA ve K_3PA sistemlerinin oluşturduğu nanojel yapılarda kullanılan negatif ve pozitif yüklü koloit parçacıklarının nanojel içinde homojen olarak dağıtılması başarılmıştır. Dolayısıyla yine amiloid benzeri peptit nanofiber yapılarını temsil eden bir sistemin viskoleastik parametreleri ölçülebilmiştir. Koloit parçacıkları ile PA yapısının oluşturduğu nanofiber ağın etkileşimlerini daha iyi anlamak için yoğunluğa bağlı karışımlar hazırlanabilir ve bu yapıların SEM görüntülerinde heterojen yapı olup olmadığı ortaya konmalıdır. Ayrıca koloit parçacıklarının yüzey yük dağılımının kontrol edilmesiyle malzeme ile daha az elektrostatik etkileşime girmesi sağlanabilir.

Elektrostatik etkileşimler, hidrojen bağları, van der Waals etkileşimleri vb. gibi etkileşimlerle kendiliğinden düzenlenen bu yapılar sıcaklıktan mutlaka etkilenecektir. Yüksek sıcaklık değerlerinde fiber yapılarının birbirleriyle olan etkileşimlerinin azalması ortamın giderek daha da viskoz bir hal almasına yol açacak olup ortamın elastikliğinin azalması beklenmektedir. Bir sonraki çalışmada sıcaklık kontrolü yapılarak malzeme içinde bulunan koloitlerin MSD bilgileri elde edilip, ortamın sıcaklıkla değişen reolojik özellikleri incelenebilir.

7. KAYNAKLAR

BERG, J. M., TYMOCZKO, J. L. and STRYER, L. 2002. Biochemistry, Fifth Edition. W. H. Freeman, New York, 99 p.

ÇAKMAK, S. 2011. Nanofiberler. *Nanobülten*, 13: 28-29.

WHITESIDES, G. M., MATHIAS, J. P. and SETO, C. T. 1991. Molecular Self Assembly and Nano-chemistry. *Science*, 254: 1312-1319.

SEMINO, C. E. 2008. Self-assembling Peptides: From Bio-inspired Materials to Bone Regeneration. *Journal of Dent. Res.*, 87(7): 606-616.

BROOKS, L. C., KARPLUS, M. and PETTITT, B. M. 1986. PROTEINS: A Theoretical Perspective of Dynamics,Sturucture, and Thermodynamics. J. Wiley and Sons, pp. 1-7.

COLOMBO, G., SOTO, P. and GAZIT, E. 2007. Peptide Self-assembly at the Nanoscale: A Challenging Target for Computational and Experimental Biotechnology. *Trends in Biotechnology*, 25: 211-218.

MANDAL, D., SHIRAZI, A. N. and PARANG, K. 2014. Self-assembly of Peptides to Nanostructures. *Org. Biomol. Chem.*, 12: 3544-3561.

LIM, Y. B., MOON, K. S. and LEE, M. 2008. Rod-coil Block Molecules: Their Aqueous Self-Assembly and Biomaterials Application. *Journal of MAterials Chemistry*, 18: 2909-2918.

ULIJN, R. V. and SMITH, A. M. 2008. Designing Peptide Based Nanomaterials. *Chem. Soc. Rev.*, 37: 664-675.

ULIJN, R. V. and ZELZER, M. 2010. Next-generation Peptide Nanomaterials: Molecular Networks, Interface and Supramolecular Functionality. *Chem. Soc. Rev.*, 39: 3351-3357.

RICA, R. D. L. and Matsui, H. 2010. Applications of Peptide and Prorein-based Materials in Biotechnology . *Chem. Soc. Rev.*, 39: 3499-3509.

GAZIT, E. 2007. Self-assembled Peptide Nanostucture: The Design of Molecular Building Blocks and Their Technological Utilization. 2007 *Chem. Soc. Rev.*, 36: 1263-1269.

ZHAO, X., PAN, F., YASEEN, M., SHAN, H., HAUSER, C. A. E., ZHANG, S. and LU, J. R. 2010. Molecular Self-assembly and Applications of Designer Peptide Amphiphiles. *Chem. Soc. Rev.*, 39: 3480-3498.

HAMLEY, I. W. 2011. Self-assembly of Amphiphilic Peptides. *Soft Matter*, 7: 4122-4138.

JEON, J. and SHELL, M. S. 2014. Self-assembly of Cyclo-diphenylalanine Peptides in Vacuum. *Journal Phys. Chem.*, 118: 6644-6652.

WEBBER, M. J, CHUI, H. and STUPP, S. I. 2010. Self-assembly of Peptide of Amphiphiles: From Molecules to Nanostructure to Biomaterials. *Biopolymers*, 94: 1-18.

HARTGERINK, J. D., BENIASH, E. and STUPP, S. I. 2001. Self-assembly and Mineralization of Peptide Amphiphile Nanofibers. *Science*, 294: 16841688.

SILVA, G. A., CZEISLER, C., NIECE, K. L., BENIASH, E., HARRINGTON, D. A. and KESSLER, J. A. 2004. Sellective Differentiation of Neural Progenitor Cells by High-Epitope Density Nanofibers. *Science*, 303: 13521355.

WEBBER, M. J., BERNS, E. J. AND STUPP, S. I. 2013. Supramolecular Nanofibers of Peptide Amphiphiles for MEdicine. *Israel Jour. of Chem.*, 53: 530-554.

MASON, T. G. and WEITZ, D. A. 1995. Optical Measurements of Frequency Dependent Linear Viscoelastic Moduli of Complex Fluids. *Physical Review Letters*, 74: 1250-1253.

MASON, T. G., GANESAN, K., VAN ZANTEN, J. H., WIRTZ, D. and KUO, S. C. 1997. Particle Tracking Microrheology of Complex Fluids. *Physical Review Letters*, 79: 3282-3285.

ASHKIN, A. 1998. Forces of A Single Beam Gradient Laser Trap on A Dielectric Sphere in the Ray Optics Regime. *Methods in Cell Biology*, 55: 1-27.

ASHKIN, A. 2000. History of Optical Trapping and Manipulation of Small-Neutral Particle, Atoms, and Molecules. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, 6: 841-856.

ALCARAZ, J., BUSCEMI, L., PUIG, D. M. M., Colchero, J., BARO, A., NAVAJAS, D. 2002. Correction of Microrheological Measurements of Soft Samples with Atomic Force Microscopy for the Hydrodynamic Drag on the Cantilever. *Langmuir*, 18: 716-721.

JOHN, M. S., KwWON, T. M., CHOI, H. J. and KARIS, T. E. 1996. Microrheological Study of Magnetic Particle Suspensions. *Industrial Engineering Chemistry Research*, 35: 3027-3031.

MACKINTOSH, F. C. and SCHMIDT, C. F. 1999. Microrheology. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 4: 300-307.

SLOPEK, R. P., MCKINLEY, H. K., HENDERSON, C. L. and BREEDVELD, V. 2006. In Situ Monitoring of Mechanical Properties During Photopolymerization With Particle Tracking Microrheology. *Polymer*, 47: 2263-2268.

CHAE, B. S., FURST, E. M. 2005. Probe Surface Chemistry Dependence and Local Polymer Network Structure in F-Actin Microrheology. *Langmuir*, 21: 3084-3089.

MASON, T. G., GANG, H. and WEITZ, D. A. 1997. Diffusing Wave Spectroscopy Measurements of Viscoelasticity of Complex Fluids Particle Tracking Microrheology of Complex Fluids. *Journal of the Optical Society of America A: Optics, Image Science, and Vision*, 14: 139-149.

CROCKER, J. C VALENTINE, M. T., WEEKS, E. R., GISLER, T., KAPLAN, P. D., YODH, A. G., WEITZ, D. A. 2000. Two Point Microrheology of Inhomogeneous Soft Materials. *Physical Review Letters*, 85: 888-891.

HE, J. 2009. Microrheology and Dynamics of F-Actin Networks. Ph.D. Brown University, 58 p.

CHEN, D. T. N., WEN, Q., JANMEY, P. A., CROCKER, J. C. and YODH, A.G. 2010. Rheology of Soft Matter. *Annu. Rev. Condens. Matter Phys.*, 1: 301-322.

GARDEL, M. L. 2004. Elasticity of F-actin Networks. Ph.D. Harvard University, 6-44 p.

EINSTEIN, A. 1905. Investigation On The Movement of The Theory Brownian Movement. *Annalen der Physik*, 17: 549.

MULDREW, K. 2012. Diffusion, University of Calgary, Depts. of Cell Biology & Anatomy and Surgery, Canada.

LANDAU, L. D. and LIFSHITZ, E. M. 1986. Fluids Mechanics. *Pergamon Press.*, Oxford.

LANGEVIN, P. 1908. On the Theory of Brownian Motion. *C. R. Acad. Sci.*, 146: 530-533.

REIF, F. 1965. Fundamentals of Statistical and Thermal Physics: The Langevin Equation, Waveland, USA.

POTTIER, N. 2010. Nonequilibrium Statistical Physics. *Oxford University Press.*, pp. 235-236 , USA.

SJÖGREN, L. 20012. Brownian Motion: Langevin Equation. `http://physics.gu.se/\~{}frtbm/joomla/media/mydocs/LennartSjogren/kap6.pdf`. Son Erişim: 29.11.2016.

BROWN, R. 1828. Brief Account of Microscopical Observation Made on The Particles Contained in The pollen of Plants. *Philosophical Magazine N. S* , 4: 161-173.

CHANDLER, D. 1987. Introduction to Modern Statistical Mechanics. Oxford University Press., Oxford.

MASON, T. G., GANG, H. and WEITZ, D. A. 1996. Reology of Complex Fluids Measured by Dynmaic Light Scattering. *J. of Mol. Struct.*, 383: 81-90.

KUBO, G. The Fluctuation-Dissipation Theorem. Vol. 29, Reports on Progress in Physics, pp. 255-284 , New York.

SQUIRES, T. M. and MASON, T. G. 2010. Fluid Mechanics of Microrheology. *Annual Reviews Fluid Mech*, 42: 413-438.

SCHNURR, B., GITTES, F., MACKINTOSH, F. C. and SCHMIDT, C. F. 1997. Determining Microscopic Viscoelasticity in Flexible and Semiflexible Polymer Networks from Thermal Fluctuations. *Macromolecules*, 30: 7781-7792.

VALENTINE, M. T., PERLMAN, Z. E., GARDEL, M. L., SHIN, J. H., MATSUDAIRA, P., MITCHISON, T. J. and WEITZ, D. A. 2004. Colloid Surface Chemistry Critically Affects Multiple Particle Tracking Measurements of Biomaterials. *Biophys J.*, 86: 4004-4014.

GISLER, T. and WEITZ, D. A.1999. Scaling of The Microrheology of Semidilute F-actin Solutions. *Phys. Rev. Lett.*, 82: 1606-1609.

GITTES, F. AND MACKINTOSH, F. C. 1998. Dynamic Shear Modulus of A Semiflexible Polymer Network. *Phys. Rev. Lett.*, 58: 1241-1244.

YANG, N. 2011. Microrheology and Microstructure of Poly Based Physical Gels. The University of Western Ontario, 27 p.

MORRISON, F. A. 2001. Understanding Rheology. *Oxford University Press.*, New York.

LARSON, R. G. 1999. The Structure and Rheology of Complex Fluids. *Oxford University Press.*, New York.

DENİS, J. E. and Morris, G. 1990. Statistical Mechanics of Nonequilibrium Liquids. *Cambridge University Press.*, New York.

WEBER, H. and Arfken, G. B. 2003. Essentials of Math Methods for Physicists. *Academic Press.*, pp. 788, United States.

LEVINE, A. J. and Lubensky, T. C. 2000. One and Two Particle Microrheology. *Physical Review Letters*, 85: 1774-1777.

GARDEL, M.L., Valentine, M.T., Weitz, D.A. 2005. Microrehology. `http://squishycell.uchicago.edu/papers/urheo_chapter.pdf`, Son Erişim: 30.11.2016.

QUIAN, H. 2000. Single Particle Tracking: Brownian dynamics of viscoelastic materials.*Biophysical Journal*, 79: 137-143.

WEEKS, E. R. and Crocker, J. C. 2000. Particle tracking using idl. `http://www.physics.emory.edu/faculty/weeks/idl/tracking.html.` , Son Erişim: 30.11.2016.

MASON, T. G. 2000. Estimating The Viscoelastic Moduli of Complex Fluids Using The Generalized Stokes-Einstein Equation *Rheologica Acta* , 39: 371-378.

CROCKER, J. C. and GRIER, D. G. 1996. Methods of Digital Video Microscopy For Colloidal Studies. *Journal of Colloid and Interface Science* , 179: 298-310.

CHEN, D. T. N. 2010. Microrheology of Soft Matter. Ph.D. Thesis, University of Pennsylvania, 92 p.

XU, J., VIASNOFF, V. and WIRTZ, D. 1998. Compliance of Actin Filament Networks Measured by Particle Tracking Microrheology and Diffusing Wave Spectroscopy. *Rheologica Acta* , 37: 387-398.

WU, C. Y. 2009. Particle Dynamics and Microrheology at Liquid-Liquid Interface. Ph.D. Thesis, Texas Tech University, 93 p.

SONG, Y. 2011. Microrheology and Particle Dynamics at Liquid-Liquid Interfaces. Ph.D. Thesis, Arizona State University, 35 p.

MCGRATH, J. L., HARTWING, J. H. and KUO, S. C. 2000. The Mechanics of F-actin Microenvironments Depend on the Chemistry of Probing Surfaces. *Biophysical Journal* , 79: 3258-3266.

VALENTINE, M. T., KAPLAN, P. D., THOTA, D., CROCKER, J. C., GISLER, T., PRUD'HOMME, R.K., BECK, M. and WEITZ, D. A. 2001. Investigating the microenvironments of Inhomogeneous Soft Materials With Multiple Particle Tracking. *Phys. Rev. E*, 64: 061506.

DASGUPTA, B. R., TEE, S. Y., CROCKER, J. C., FRISKEN, B. J. and WEITZ, D. A. 2002. Microrheology of Polyethylene Oxide Using Diffusing Wave Spectroscopy and Single Scattering. *Phys. Rev. E*, 5: 65.

GARDEL, M. L., VALENTINE, M. T., CROCKER, J. C., BAUSCH, A. R. and WEITZ, D. A. 2003. M,crorheology of Entagled F-actin Solutions. *Physical Review Letters*, 91: 158302.

LU, Q. and SOLOMON, M. 2002. Probe Size Effects on the Microrheology of Associating Polymer Solutions. *Physical Review Letters E*, 6: 66.

LAU, A. W. C., HOFFMAN, B. D., DAVIES, A., CROCKER, J. C. and LUBENSKY, T. C. 2003. Microrheology, Stress Fluctuations, and Active Behavior of Living Cells. *Physical Review Letters*, 198101/1-4.

CHEN, D. T., WEEKS, E. R., CROCKER, J. C., ISLAM, M. F.; VERMA, R., GRUBER, J., LEVINE, A. J., LUBENSKY, T. C. and YODH, A. G. 2003 Rheological Microscopy: Local Mechanical Properties from Microrheology.

Physical Review Letters, 90 (10): 108301.

YIM, K. S. and FULLER, G. G. 2003. Influence of Phase Transition and Photoisomerization on Interfacial Rheology. *Rheologica Acta*, 37: 387-398.

CROCKER, J. C. and GRIER, D. G. 1994. Microscopic Measurement of the Pair Interaction Potential of Charge-Stabilized Colloid. *Physical Review Letters*, 73: 352.

KEPLER, G. M. and FRADEN, S. 1994. Attractive Potential Between Confined Colloids at Low Ionic Strength. *Phys. Rev. Lett.*, 73: 356.

CROCKER, J. C. and HOFFMAN, B. D. 2007. Multiple Particle Tracking and Two Point Microrheolog in Cells. *Methods in Cell Biology*, 83: 141-178.

ÖZGEÇMİŞ



Aslı GENÇASLAN 1987 yılında Kayseri'de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Kayseri'de tamamladı. 2006 yılında girdiği Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Fizik Bölümü'nden 2012 yılında mezun oldu. 2014 yılında Akdeniz Üniversitesi Fizik Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı.